

발간등록번호

11-1541000-001059-01

보안과제(), 일반과제(○)

108044-3

토란을 이용한 항비만 · 면역증진식품소재 및 고부가가치 가공제품 개발

(Development of high valued taro products
with biological properties)

토란을 이용한 고부가가치 가공제품 개발(제1세부)

(Development of high-value taro products)

토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품개발(제2세부)

(Anti-obesity activity of taro and development of its functional materials)

토란의 면역증진 효과 구명(위탁과제)

(Characterization of immuno-stimulating polysaccharide from Taro)

한국식품연구원

농림수산물자료실



0003025

농림수산물부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “토란을 이용한 항비만·면역증진식품소재 및 고부가가치 가공제품 개발”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2011년 6 월 24 일

주관연구기관명 : 한국식품연구원
주관연구책임자 : 김 윤 숙
세부연구책임자 : 최 희 돈
연 구 원 : 최 인 욱
연 구 원 : 박 용 곤
연 구 원 : 박 호 영
연 구 원 : 문 지 혜
위탁연구기관명 : 경 기 대 학 교
위탁연구책임자 : 신 광 순
참 여 기 업:(주)세종고려인삼

요 약 문

I. 제 목

토란을 이용한 항비만 · 면역증진식품소재 및 고부가가치 가공제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 한국 산업이 전반적인 위기에 처해있고 벼 농가의 주요 대체작물로 재배되기 시작하여 생산량이 증가하고 있는 토란 또한 소비 축소에 따른 타격을 받고 있다. 선진국에 비하여 가공 토란의 소비율이 매우 적으므로 토란의 소비 촉진을 위한 우수성 확보 및 고부가가치 제품 개발이 매우 시급하다. 웰빙식품, 즉 건강식품을 지향하는 시대에 토란의 성분을 분석하고 다양한 가공 방법으로 응용하여 기능성 성분을 다량 함유한 토란을 원료로 국내 소비자들의 기호에 맞는 다양한 고부가가치 가공식품을 개발하는 것은 물론 항비만, 면역증진 활성 등 기능성을 평가하여 그 효능을 과학적으로 입증하고 기능성을 갖는 소재를 분리 분석하고, 그 소재를 이용한 다양한 기능성 함유 제품 개발에 적용시켜 토란의 소비를 증대 및 국민의 건강 향상 및 해외시장 개척으로 외화 획득에 기여하고자 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

최종목표를 달성하기 위해 연구내용에 따라 다음과 같이 제 1, 2 세부과제 및 위탁과제로 구성하였다.

제 1 세부과제 : 토란을 이용한 고부가가치 가공제품 개발

가. 토란의 품종별 식품학적 특성

- 품종별 토란분말의 영양성분 및 이화학적 특성 조사

나. 토란분말의 가공적성 연구

- 토란분말의 건조, 볶음, 증자 등의 전처리 조건 검토
- 토란분말의 아린맛 제거 조건 검토

다. 고부가가치 가공제품 제조기술 개발

- 유동식형 환자식 제품
- 후레이크형 토란제품 개발
- 유당/비유당처리형 토란 스낵제품 개발
- 찌토란 제품개발

제 2 세부과제 : 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품개발

- 가. 토란의 항비만 효능 평가
- 나. 토란의 비만억제 효능 평가
- 다. 항비만 효능을 갖는 토란 함유 기능성 식품개발

위탁 과제 : 토란의 면역증진 효과 구명

- 가. 토란의 고분자 획분의 면역증강 활성 검색
- 나. 면역증강 고분자 획분의 부분정제 및 면역 증진활성 평가
- 다. *In vivo*에서의 고분자 획분의 면역증강 활성 실험

IV. 연구개발 결과

각 세부과제별 연구개발결과를 요약하면 다음과 같다.

제 1 세부과제 : 토란을 이용한 고부가가치 가공제품 개발

- 가. 토란의 품종별 식품학적 특성

국내산 토란 품종인 알토란, 조생종 및 재래종 토란분말의 영양성분과 이화학적 특성의 비교 및 분석을 통하여 토란 가공 제품 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다. 일반성분의 경우 세 품종 토란의 수분이 5.74~10.30%의 범위로 나타났으며 알토란은 조단백 및 조지방이 다른 품종에 비해 높게 나타났다. 토란은 총 17종의 아미노산을 함유하고 있었으며 주된 지방산은 linoleic acid, palmitic acid 및 oleic acid이었다. 알토란과 조생종의 칼륨함량은 전체 무기질 함량에 대해 약 83% 정도를 함유하고 있었다. 전분함량은 조생종 토란이, 식이섬유 함량은 알토란이 높았으며 비타민 C의 경우 재래종이 높게 함유하고 있었다. 수분 흡수지수는 재래종 토란이 높았으며, 수분용해지수는 알토란이 가장 높은 수치를 나타내었다. DSC에 의한 품종별 토란분말의 호화개시온도는 재래종 토란분말이 낮게 나타났으며 호화 최대온도도 호화개시온도와 유사한 경향을 나타내었다. 품종별 토란분말의 RVA 특성에서 호화개시온도 46.77~49.30℃의 범위로 나타났다. 알토란에 비해 조생종과 재래종은 유의적으로 높은 최고 점도와 최종 점도를 나타내었다. 토란전분은 95℃ holding 하는 동안에도 점도가 상승하여 최고 점도에 이르는 graph의 경향을 보였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 세 품종 중 알토란의 경우 식이섬유, 무기질, 필수아미노산, 유리당 등의 영양성분이 상당히 높게 함유되어 건강기능성 식품으로 활용가치가 높을 것으로 판단된다. 또한 이들 세 품종의 토란분말은 호화 개시온도가 높게 나타났으며, 알토란은 높은 수분용해성을 가지며 재래종 및 조생종의 높은 점도를 나타내어 이들의 분말 특성을 이용하여 빵, 케이크, 비스킷 등의 첨가제 및 선식 등의 분말 가공제품으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

나. 토란분말의 가공적성 연구

토란의 영양소 손실을 최소화하고 가공 활용도를 높이기 위해서 분말화 건조방법 및 볶음, 증자의 전처리 가공방법을 달리하여 토란 분말을 제조하고 몇 가지 성분과 물리적 특성 변화를 조사하였다. 열풍건조(40℃, 60℃, 80℃)와 동결건조의 방법으로 제조된 토란 분말의 수분함량과 식이섬유 함량은 열풍건조 온도가 높아질수록 감소하였고 비타민 C 함량은 동결건조한 토란분말에서 가장 높게 나타났다. 수분흡수지수는 열풍건조 온도가 높아질수록 증가하는 경향을 나타내었고 수분용해지수는 동결건조한 토란분말이 가장 높았으며 열풍건조한 토란분말은 건조온도가 높아질수록 감소하였다. 열역학적 특성을 알아보기 위한 DSC 측정의 호화개시온도는 열풍건조와 동결건조한 토란분말에서 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, RVA 특성에서는 열풍건조시 온도가 높아질수록 호화개시온도가 점차 낮아지고 최고점도는 증가하였다. 볶음이나 증자처리를 한 토란분말의 식이섬유 함량은 무처리군보다 더 낮게 나타났다. 또한 증자처리한 토란분말이 볶음 처리한 토란분말보다 수분흡수지수가 높았고 수분용해지수는 유의적 차이를 보이지 않았다. 볶음 처리한 토란분말의 DSC 측정 결과 볶음 처리 온도가 높아질수록 호화개시온도와 최대호화온도도 낮아지는 경향을 나타내었다. RVA 특성에서는 볶음 온도가 높아질수록 호화개시온도가 증가하고 최고점도와 최종점도는 점차 감소하였다. 또한 토란의 아린맛 제거 조건을 검토하기 위하여 품종별 및 전처리별 total oxalate, water soluble oxalate 및 calcium oxalate의 함량을 비교하였다. 토란의 품종별로 total oxalate 함량은 재래종이 가장 높았으며 그 중 water soluble oxalate 함량이 높게 나타났다. 건조조건에 따라서는 동결건조한 토란분말이 가장 높게 나타났으며 특히 calcium oxalate의 함량이 열풍건조한 토란에 비하여 높게 나타났다. 토란을 상압증자 및 가압증자시 total oxalate 함량은 열풍건조 했을 때 보다 높게 나타났으며 볶음처리시 온도가 150℃에서 210℃로 증가함에 따라 total oxalate의 양은 크게 증가하였고 대부분 water soluble oxalate가 차지하였다. 토란을 물이나 소금물에 수침하거나 물에 끓였을 때 oxalate의 함량이 급격하게 감소하였고, 특히 calcium oxalate의 감소에 큰 효과가 있는 것으로 나타나 토란의 아린맛 제거를 위하여 물을 이용하여 끓여 내거나 수침의 방법으로 토란의 아린맛 성분인 oxalate를 제거하는데 효과가 있음을 알 수 있었다.

다. 고부가가치 가공제품 제조기술 개발

유동식형 환자식 제품을 개발하기 위하여 시중에 판매되는 토란 죽제품의 재료를 탐색하였다. 일본 제품에서 많이 사용하는 가다랑이 베이스는 국내 소비자에게

는 선호도가 다소 낮은 것으로 판단되어 우리나라 국민의 정서에 적합하다고 생각되는 좀 더 풍부한 강한 향미를 가지는 토란죽을 개발하기 위하여 닭발을 이용하여 베이스로 사용하였다. 기준 배합을 설정하기 위하여 닭발 베이스에 곡류 등 기본 원료를 배합하여 토란 죽을 개발하였다. 후레이크 형태의 토란제품을 개발하기 위하여 감자와 토란을 혼합하여 제조한 기본 flake에 설탕, 소금, 버터분말, 크림분말의 조미를 하여 토란 original flake를 제조하였다. 또한 토란 flake에 대하여 부드러운 식감을 가지는 creamy한 형태의 제품과 sweet한 형태의 으깬 토란제품을 개발하였다. 기본 oil fried 토란칩의 가공조건으로 아린맛을 제거하기 위해 0.5%의 소금물에 수침하고 1분 블랜칭 조건이 필요하였으며, 20 brix 말토덱스트린(DE 5)에 당침하였을 때 crispness한 조직감이 개선되었다. 또한 같은 조건의 전처리 조건으로 만들어진 토란 칩을 감압유탕 처리하였을 때 조지방 함량이 급격히 감소하였다. 또한 토란을 이용하여 동결건조 토란칩을 제조시 블랜칭 처리에 따라 조직감에 차이를 나타내었으며 너무 오래 블랜칭 할 경우 동결건조 후 균열이 생겨 외관이 좋지 않았으며 조직감도 저하되었다. 동결건조 후 올리고당에 당침하는 것이 적합하였으며 이후에 고온에서 단시간 동안 열풍건조 후에 바삭한 식감을 가지게 되었다. 전자레인지의 마이크로웨이브 처리를 하였을 때 토란의 세포를 구성하는 세포벽을 파괴하지 않고 토란 세포내의 전분립을 조리하게 되기 때문에 조리된 후에 경도를 증진시켜 바삭한 식감보다는 질기고 눅눅한 식감을 나타내었다. 따라서 토란에 protease 처리한 후 마이크로웨이브 처리 시 조직감이 개선되었고 전자레인지에서 건조시간이 단축되었다. 또한 전자레인지 건조 후 식품표면의 수분 증발에 따라 마름현상이 나타나 칩의 조직감이 좋지 않아 효소처리 후 7% 말토덱스트린(DE 15-20)을 도포하여 마이크로웨이브 건조를 하여 조직감을 개선하였다. 레토르트 쥘 토란을 개발하기 위하여 올리고당 및 4%의 설탕과 5%소금물의 혼합용액에 열탕한 후 진공포장 하여 이를 autoclave에 증자시켜 레토르트 형태의 쥘 토란을 개발하였다.

제 2 세부과제 : 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품개발

토란 추출물에 의한 체내로의 지방흡수를 저해하는 정도를 측정하기 위하여 lipase 저해활성을 조사하였다. 토란의 70% 에탄올 추출물을 chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol로 극성이 낮은 용매에서 극성이 높은 용매로 순차적으로 계통분획하였으며 농도에 의존적이지 않는 경향을 보였으며 각 분획별 저해활성도 낮아 토란의 lipase 저해활성은 미미한 것으로 나타났다. 토란 추출물의 지방세포분화 억제효과를 관찰하기 위하여 추출물을 3T3-L1 preadipocyte에 투여한 후 adipocyte로

의 분화억제력을 조사한 결과, 토란추출물에 의한 지방세포 분화가 농도 의존적으로 저해됨을 알 수 있었다. 그러나 물 추출물과 메탄올 추출물과의 차이는 거의 없었으며 메탄올 추출물의 용매분획들에서도 현저한 저해효능 차이는 보이지 않았다. 토란분말 물 추출액의 HMG-CoA reductase 억제 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며 IC₅₀ 은 0.01868 mg/ml로 HMG CoA reductase에 대한 억제 활성을 보였다. 따라서 체내 콜레스테롤 합성 억제효능이 기대되어 콜레스테롤 대사를 고려한 동물 실험 검증이 필요하다고 결론되었다.

고지방 식이를 급여한 마우스의 체중과 체내 지질함량에 미치는 토란분말의 효과를 규명하고자 하였다. 4주령의 수컷 C57BL6 mice를 4가지 처리군으로 나누어 8주간 사육하였다. 고지방 대조군(HF)의 체중은 정상식이군(Normal)에 비해 약 75%가 증가하였으며 HF-Taro 20% 및 HF-Taro 30% 처리군에서는 고지방 대조군에 비해 각각 12.5%, 14%가 감소하여 고지방식이에 토란분말을 첨가시 마우스의 체중을 효과적으로 낮추었다. 또한 혈청 중성지방의 농도는 고지방 대조군(HF)은 정상식이군(Normal)에 비해 약 89%가 증가하였으며 HF-Taro 20% 및 HF-Taro 30% 처리군에서는 고지방 대조군에 비해 각각 62%, 81%가 감소하였다. 총 콜레스테롤 농도 및 LDL 콜레스테롤 농도도 유의적으로 감소하여 토란분말 첨가에 의하여 지질개선 효과를 나타내었다. 토란분말의 간기능 개선효과는 고지방 식이에 의하여 간세포질에 지방공포가 많이 출현하였으나 토란분말 첨가군에서는 상대적으로 지방침착이 억제되었고 지방세포의 크기를 유의적으로 감소시켰다. 또한 간조직의 중성지질 및 총 콜레스테롤 농도는 정상식이군에 비해 고지방 대조군에서 각각 3.6배, 1.8배 증가하였으나 토란분말 첨가군에서는 유의적으로 감소하였다. 결론적으로 고지방 식이에 토란분말을 첨가하여 마우스에 급여했을 때 비만을 억제하고 혈청 지질을 저하시키는 효과를 확인하였다.

선발된 피실험자를 대상으로 토란 tablet을 1일 3회 5알(총 21 g)을 식사 30분 전에 물과 먹게 하였다. 실험이 진행되는 5주 동안 실험자 전체의 평균 체중은 72.4±15.02 kg에서 71.7±14.61 kg으로 약 0.7 kg정도 감소되었다. 5주 동안 체중이 감소한 인원은 8명으로 약 0.3 kg~2.4 kg의 감소를 나타내었다. 전체 지원자의 혈중 총 콜레스테롤 농도는 실험 개시일에 전체 평균 216.30±29.39 mg/dL로 지원자 10명중 7명이 정상수치 보다 높게 나타났으나 5주 동안 토란 tablet을 섭취한 후 198.80±31.97 mg/dL로 약 8%가 감소하였다. 콜레스테롤 수치가 높았던 7명의 지원자 중 5명의 콜레스테롤 수치가 감소하였으며 그중 3명의 지원자는 정상범위까지 감소하였다. 또한 혈중 중성지질 수치도 실험 개시일에 171.40±142.62 mg/dL에서 5주 후 136.30±114.87 mg/dL로 실험개시일에 비해 20.5%가 감소하였다. 혈중

HDL-cholesterol과 LDL cholesterol은 큰 변화를 나타내지 않았다. 따라서 토란 tablet 섭취 후 피실험자의 지질대사에 영향을 미쳐 혈중콜레스테롤과 중성지방의 감소를 유도하는 것으로 나타났으며 고콜레스테롤 혈증과 같은 질환예방에 토란분말의 효과가 기대된다. 항비만 효능을 갖는 토란 함유 기능성 식품개발을 위하여 토란을 분말과 과립, tablet 형태로 제조하였다.

위 탁 과 제 : 토란의 면역증진 효과 구명

토란(Taro, the corms of *Colocasia esculenta*)에 존재하는 점질다당의 새로운 이용방안을 모색하기 위해 토란으로부터 다당을 분리하여 각종 선천면역계 자극 활성 및 항진이 활성을 평가하고 활성 다당의 구조 분석을 행하였다. 토란의 냉수추출물에서 얻은 조다당 Taro-0는 DEAE-Sepharose FF 및 Sephadex G-100를 이용한 두 차례의 연속적 chromatography를 행하여 Taro-4-I으로 정제하고 이들의 구조적 특성을 검토하였다. 토란 유래 면역활성 다당 Taro-4-I은 구성당 분석 및 methylation analysis에 의한 당쇄 결합양식의 해석 등에 의해 그 구조를 규명하였다. Taro-4-I은 분자량 약 200 kDa의 다당체로 구성당 조성을 확인한 결과, galactose (38.9%)와 mannose (19.2%)를 높은 비율로 함유하고 있었으며 arabinose (1.7%) 및 glucose (4.2%)를 미량 함유하고 있었다. 본 당쇄의 결합양식을 규명하기 위해 methylation analysis를 행한 결과, Taro-4-I은 terminal Galp, 3-linked Galp 및 4-linked Manp를 포함한 총 10종의 결합으로 구성되어 있었으며 2,4,6-branched Manp 잔기와 같은 Taro-4-I 고유의 특징적 결합을 포함하고 있었다. 또한 Taro-4-I의 미세구조를 규명하기 위해 exo- α -D-galactosidase 및 endo-b-1,4-D-mannanase를 이용한 연속 가수분해 및 해석도 행하였다. 이상의 결과로부터 토란 유래 면역활성 다당 Taro-4-I은 (1 \rightarrow 4) 결합 mannan 주쇄에 galactopyranosyl oligo당이 측쇄로 분지된 galactomannan으로 판단되었으며 주쇄가 측쇄에 의해 모두 고도로 분지된 특징이 있음을 알 수 있었다.

한편 정제 다당 Taro-4-I은 인체 초기 면역반응에 있어 중요한 역할을 담당하는 보체계 활성화 실험을 수행한 결과, Taro-4-I은 농도 의존적으로 높은 항보체 활성을 보였다. 또한 anti-human C₃를 이용한 면역 전기영동 실험과 Ca⁺⁺이온이 제거된 상태에서의 항보체 활성 실험을 통해 토란으로부터 유래한 Taro-4-I은 고전 경로(classical pathway)와 부경로(alternative pathway) 모두를 경유하여 활성을 나타내고 있음을 확인하였다. 한편, 토란 다당 Taro-4-I은 *in vitro* 세포독성 실험에서 mouse 복강 유래 macrophage와 암세포주인 Colon26-M3.1 및 B16BL6에 대해서 모두 직접적인 세포독성을 나타내지 않은 반면, macrophage를 자극하여 다양한

cytokine, 특히 IL-6, TNF- α 및 IL-12의 생산을 농도의존적으로 유도하였다. 또한, 종양 및 암세포에 대한 직접적인 세포독성을 갖는 NK cell 활성화 실험에 있어 Taro-4-I을 mouse에 정맥 주사한 후 얻어진 NK세포는 Yac-1 종양 세포주에 대한 높은 치사작용을 보였다. 또한 B16BL6 melanoma를 이용한 폐암전이 실험모델에서도 Taro-4-I은 50 mg/mL의 저용량 투여에서도 종양의 전이를 강력하게 억제하였다.

이상의 결과로부터 토란은 이제까지 알려진 건강에 유익한 성분 이외에도 galactomannan 형태의 다당을 함유하고 있으며, 이 다당에 의해 인체 건강에 유익한 면역증강 활성화 및 항전이 활성을 기대할 수 있음 확인할 수 있었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

본 연구의 결과 토란의 이화학적 성분 및 가공적성에 대한 data 확보 및 이에 대한 논문 1건 게재, 1건 투고 완료하였으며 국내산 토란을 이용한 다양한 고부가가치 가공제품 제조기술 개발 및 이에 대한 특허 2건 출원 완료하였다. 토란의 항비만, 면역증진효능을 평가하여 고부가가치를 가지는 고기능성 소재 제조기술을 개발하였으며 이에 대한 특허 2건을 출원하였고 학술논문 1건 게재를 완료하였으며 3건은 투고 완료하였다. 본 연구에서 개발된 모든 기술은 토란 가공 업체에 기술이전 함으로써 개발 제품의 생산 및 보급에 적극 활용 계획이나 토란 농가 및 이에 관련된 업체들이 영세하여 제품 생산에 필요한 시설 투자 및 기술이전을 두려워하는 실정으로 기술을 수용할 업체를 광범위하게 물색하고 있다.

SUMMARY

(영문 요약문)

I. Title

Development of high valued taro products with biological properties

II. Purpose and Necessities

Recently, as the industrial sector in Korea has generally contracted, the production of taro, which has been cultivated as a major alternative crop for rice farmers, has also been influenced by a general reduction in consumption. Since the rate of consumption of processed taro is very low in Korea compared to advanced countries, it is essential to know the excellence of taro and to develop high-value products so as to promote the consumption of taro. This study was performed not only to develop a variety of high-value processed foods from taro, which has various functional components, by analyzing the components of taro and by applying various processing methods suited to the preference of domestic consumers, but also to evaluate its anti-obesity and immunity-stimulating activities by proving its efficacies scientifically, by separating its functional ingredients, and by applying those ingredients to the development of various functional foods to increase the consumption of taro, to improve people's health, and to further contribute to the acquisition of foreign currency through overseas markets.

III. Content and Scope

The study was organized into parts 1, 2 and a commissioned project according to the study content to accomplish the final goals.

Part I : Development of high-value taro products

- A. The characteristics of food components of taro
 - Nutrient composition and physicochemical properties of taro powder by species
- B. Processing properties of taro powder
 - Investigating of pre-treatment condition including drying, roasting, and steaming of taro powder

- C. Investigating of conditions for eliminating the acrid taste of taro powder
- D. Development of manufacturing technology for high-value processed foods
 - Liquid-type products for patient diet
 - Development of flake-type taro products
 - Development of fried/non-fried-type taro snacks
 - Development of steamed taro products

Part II: Anti-obesity activity of taro and development of its functional materials

- A. Evaluation of the anti-obesity activity of taro
- B. Evaluation of the obesity-suppressing activity of taro
- C. Development of functional materials using taro containing anti-obesity activity

Part III: Characterization of immuno-stimulating polysaccharide from Taro

- A. Search for immunity-stimulating activity of high-molecular fraction of taro
- B. Partial purification of immunity-stimulating high-molecular fraction and evaluation of immunity-stimulating activity
- C. *In vivo* experiment for immunity-stimulating activity of high-molecular fraction

IV. Results

The results of the research and development for each part of the project are summarized as follows.

Part I : Development of high-value taro products

- A. Characteristics of food components of taro

This study was conducted to provide basic data for the development of taro processed foods via comparison and analysis of the nutrients and the physicochemical properties of taro powder originating from domestic taro such as Altoran, Josaengjong and Jaeraejong. The moisture content of the three species ranged from 5.74~10.30%, with Altoran having a higher crude protein and crude fat content compared to other species. Taro contains a total of 17 amino acids and major fatty acids including linoleic acid, palmitic acid and oleic

acid. The potassium content of Altoran and Josaengjong was about 83% of the total mineral content. The starch content was high in Josaengjong taro; the fiber content was high in Altoran, and the vitamin C content was high in Jaeraejong. The water absorption index (WAI) was high in Jaeraejong taro, while the water solubility index (WSI) was the highest in Altoran. The initial gelatinization temperature of taro powder by DSC was low in Jaeraejong taro powder, while the maximum gelatinization temperature also showed a similar tendency. As for the RVA characteristics of taro powder by species, the initial gelatinization temperature ranged from 46.77~49.30°C. Josaengjong and Jaeraejong, compared to Altoran, showed significantly higher maximum viscosity and final viscosity. Taro powder showed a tendency towards increased viscosity when holding the temperature at 95°C to reach the maximum viscosity. From the above results, it was found that Altoran had a higher nutrient content, including dietary fiber, minerals, essential amino acids, and free sugars, among the three species, and is thus considered to have high applicability as a health functional food. Because these three kinds of taro powder showed a high initial gelatinization temperature, with Altoran showing high water solubility, and Josaengjong and Jaeraejong showing higher viscosity, it is considered that taro can be used as an additive for bread, cakes or biscuits, and as a powdered processed product using the characteristics of taro powder.

B. Processing properties of taro powder

Several nutrients and physicochemical properties were studied by manufacturing taro powder with different drying methods and the pre-treatment methods of roasting or steaming, to minimize nutritional loss and to increase the processing utilization of taro. The moisture content and dietary fiber content of taro powder manufactured by hot air drying (40°C, 60°C, 80°C) and freeze drying decreased as the temperature of hot air increased, and the vitamin C content was the highest in freeze dried taro powder. The WAI tended to increase as the hot air temperature increased. The WSI was the highest in the freeze dried taro powder. The onset temperature of gelatinization by DSC measurement was not significantly different between hot air dried and freeze dried taro powder, while for the RVA characteristics, the initial gelatinization temperature gradually

decreased and the maximum viscosity increased as the hot air temperature increased. The dietary fiber content of taro powder treated by roasting or steaming was lower than that of the non-treated groups. Also, steamed taro powder had a higher WAI than roasted taro powder, but there were no significant differences in WSI. The DSC measurement of roasted taro powder showed that the initial gelatinization temperature and the maximum gelatinization temperature tended to decrease as the roasting temperature increased. As regards the RVA characteristics, the initial gelatinization temperature increased and the maximum viscosity and the final viscosity gradually decreased as the roasting temperature increased.

C. Investigating of conditions for eliminating the acrid taste of taro powder

The contents of total oxalate, water soluble oxalate, and calcium oxalate were compared by species and by pre-treatment to examine the condition for eliminating the acrid taste of taro. For species differences, the total oxalate content was the highest in Jaeraejong, among which the water soluble oxalate content was high. As regards the drying condition, it was the highest in the freeze dried taro powder, and the calcium oxalate content in particular was higher compared to the hot air dried taro powder. The total oxalate content was higher when the taro was treated by atmospheric steaming or pressure steaming compared to hot air drying, and the total oxalate content increased significantly when the roasting temperature was increased from 150°C to 210°C. The oxalate content decreased greatly when taro was immersed(in water or salt water) or boiled. It was particularly effective in lowering the calcium oxalate content, suggesting that it could be effective in eliminating oxalate, which causes the acrid taste of taro, by immersing or boiling taro in water.

D. Development of manufacturing technology for high-value processed foods

The ingredients of taro gruel currently available in the market were studied with a to developing liquid diet-type products for patients. Korean consumers are thought to have a low preference for the bonito base commonly used in Japanese products, and thus a base using chicken legs was used to develop a taro gruel with a richer and stronger flavor and taste for the Korean population.

To establish the reference combination, taro gruel was developed by mixing a chicken leg base with basic ingredients such as grains. To develop flake-type taro products, potatoes and taro were mixed to make basic flakes, and then sugar, salt, butter powder, and cream powder were added to make the original taro flake. Also, creamy and sweet mashed taro product were developed. Concerning the processing condition for basic oil-fried taro chips, it was necessary to immerse taro slices in 0.5% salt water to eliminate the acrid taste and to perform blanching, and the crispy texture was improved when sugared (in 20 brix maltodextrin). Also, when taro chips manufactured under the same pre-treatment condition were vacuum fried, the crude fat content decreased greatly. Freeze dried taro chips were manufactured with well-preserved nutrients, a crisp texture, and a sweet taste. The texture changed depending on the blanching treatment, and, when the blanching lasted too long, the appearance of the product was poor because of cracking after freeze drying and the quality of the texture declined. It was suitable for oligosaccharide after freeze drying, and crispness was obtained after a short period of hot air drying at a high temperature. The microwave treatment of taro in a microwave range resulted in a chewy, damp texture rather than a crisp texture because it cooks the starch granules inside the taro cells without destroying the cell walls and thereby increases hardness after cooling. Thus, texture was improved when treated in a microwave oven after protease enzyme treatment, and the drying time in the microwave range was shortened. Also, the texture was improved by microwave drying after applying 7% maltodextrin (DE 15-20) following enzyme treatment. The retort steamed taro was developed by hot water treatment in a mixture of oligosaccharides or 4% sugar, and 5% salt water, and then vacuum packed and steamed in an autoclave.

Part II : Anti-obesity activity of taro and development of its functional materials

The lipase inhibitory activity was studied to measure the degree of inhibition of taro extract on lipid absorption in the body. 70% ethanol extract of taro was systemically fractionated from a low-polarity solvent to a high-polarity solvent with chloroform, ethyl acetate, and *n*-butanol. The lipase inhibitory activity

of taro appeared to be minimal because it was not concentration-dependent and showed a low inhibitory activity by each fraction. To observe the inhibitory effect of taro extract on adipocyte differentiation, the extract was administered to 3T3-L1 preadipocytes and the inhibitory effect on differentiation to adipocytes was studied. The fat cell differentiation was inhibited by taro extract in a concentration-dependent manner. However, no difference was observed between water extract and methanol extract, and the solvent fractions of methanol extract did not show any significant inhibitory effects. The HMG-CoA reductase inhibitory activity of the water extract of taro powder was increased in a concentration-dependent manner, and IC_{50} was 0.01868 mg/ml, suggesting the inhibitory activity on HMG CoA reductase. Therefore, it can be concluded that verification by animal experimentation, taking into consideration the cholesterol metabolism, is necessary for an inhibitory effect on cholesterol biosynthesis in the body.

The effect of taro powder on the bodyweight and the body fat content of mice fed on a high-fat diet was studied. A group of 4-week-old male C57BL6 mice was divided into 4 treatment groups and studied for 8 weeks. The body weight of the high-fat diet control group (HF) increased by 75% compared to the normal diet group (Normal), and decreased by 12.5% and 14% in the HF-Taro 20% and the HF-Taro 30% groups, respectively, compared to the high-fat control group. The addition of taro powder to the high-fat diet effectively decreased the mice' body weight. Also, serum triglycerides increased by 89% in the HF group compared to the Normal group, and decreased by 62% and 81% in the HF-Taro 20% and the HF-Taro 30% groups, respectively, compared to the HF group. Total cholesterol and LDL-cholesterol were significantly decreased, showing the lipid-improving effect of taro powder. The effect of taro powder on improving the hepatic function showed that many lipid vacuoles appeared in the cytoplasm of the liver after the high-fat diet, but that lipid accumulation was relatively suppressed in the taro powder-added groups, and the size of the fat cells significantly decreased. Also, hepatic triglycerides and total cholesterol were increased 3.6 times and 1.8 times, respectively, in the HF group compared to the Normal group, but significantly decreased in groups treated with taro powder. In conclusion, the addition of taro powder to high-fat

diet in mice suppressed obesity and lowered their serum lipids.

Taro tablets were given to selected subjects (5 tablets (21g total), 3 times a day, with drinking water) 30 minutes before each meal. During the 8-week experimental period, the subjects were allowed to have their usual meals. During the five weeks of the experiment, the average body weight of all the subjects decreased by 0.7 kg from 72.4 ± 15.02 kg to 71.7 ± 14.61 kg. The number of subjects whose bodyweight decreased during the five weeks was eight, with a decrease of 0.3~2.4 kg. The serum total cholesterol of the subjects was 216.30 ± 29.39 mg/dL at the initial day of the experiment, and 7 out of 10 subjects showed higher than normal values, but these then decreased to 198.80 ± 31.97 mg/dL, i.e., a decrease of about 8%, after taking taro tablets for five weeks. Among the seven subjects with a higher cholesterol value, five subjects saw a decrease in their cholesterol values while three had normal values. Also, serum triglycerides concentration was 171.40 ± 142.62 mg/dL on the first day of the experiment but they decreased by 20.5% after five weeks to 136.30 ± 114.87 mg/dL. Serum HDL-cholesterol and LDL-cholesterol showed no significant changes. Therefore, the taro tablets affected the lipid metabolism of the subjects and induced a decrease in the level of serum cholesterol and triglycerides, and thus it is expected to prevent chronic diseases such as hypercholesterolemia. Taro has been manufactured in the form of powder, granules, and tablets for the development of functional foods with an anti-obesity effect.

Part III: Characterization of immuno-stimulating polysaccharide from Taro

To examine the new practical utilization of mucilages in taros (the corms of *Colocasia esculenta*), the polysaccharides were isolated from *C. esculenta* and their immuno-stimulating activities and structural analysis were carried out. The immuno-stimulating polysaccharide, Taro-4-I was purified to homogeneity from the crude polysaccharide (Taro-0) from the corms of *C. esculenta* by two subsequent column chromatographies using DEAE-Sepharose FF and Sephadex G-100 and structural characterization of Taro-4-I was carried out. The primary structure of Taro-4-I was elucidated by sugar composition and methylation analysis using GC and GC-MS. The molecular mass was estimated as 200 kDa

and it mainly consisted of galactose (38.9%) and mannose (19.2%) in addition to two minor sugars such as arabinose (1.7%) and glucose(4.2%). Methylation analysis indicated that Taro-4-I comprised at least 10 different glycosyl linkages such as terminal Galp, 3-linked Galp and 4-linked Manp in addition to a characteristic linkage, 2,4,6-brached Manp residue. To analyze the fine structure of Taro-4-I, it was sequentially digested by exo- α -D-galactopyranosidase and endo- β -1,4-D-mannanase. These analyses suggested that Taro-4-I belongs to be a highly branched galactomannan which has a (1 \rightarrow 4)-mannan backbone with galactopyranosyl oligosaccharide side chains.

On the other hand, Taro-4-I showed a higher anti-complementary activity in a dose-dependent fashion. Results obtained by crossed immunoelectrophoresis using anti-human C₃ and anti-complementary activity in the absence of Ca⁺⁺ ion suggested complement activation by Taro-4-I from *C. esculenta* occur *via* both alternative and classical pathways. In an *in vitro* cytotoxicity analysis, Taro-4-I did not affect the growth of peritoneal macrophages and cancer cell lines such as Colon26-M3.1 and B16BL6 cells. Peritoneal macrophages stimulated with Taro-4-I produced various cytokines such as IL-6, TNF- α and IL-12. In an assay for natural killer (NK) cell activity, *i.v.* administration of Taro-4-I significantly augmented NK cytotoxicity against YAC-1 tumor cells. In experimental lung metastasis of B16BL6 melanoma cells, prophylactically *i.v.* administration of Taro-4-I potently inhibited lung metastasis at a low dose of 50 μ g/mouse.

From these results, one can conclude that the corms of *C. esculenta* contains polysaccharides in addition to healthy components, and these polysaccharides appears to improve immune-stimulating and anti-metastatic activities beneficial to human health.

V. Outcome and Future Applications

From the outcomes of this study, data concerning the physicochemical properties and the processing properties of taro have been obtained, and one paper on this topic has been published while another has been submitted for publication. Also, the manufacturing technology for various high-value processed foods using domestic taro was developed and two patents have been applied for this technology. The manufacturing technology for high-value functional ingredients has been developed via

the evaluation of the anti-obesity and immunity-stimulating effects of taro, and two patents on this technology have been applied for this technology, while one paper has been published in a scientific journal and 3 papers submitted for publication. All the technologies developed in this study have been planned for active use in the production and distribution of developed products through technology transfer to domestic taro processing companies. However, the current situation is that taro farmhouses and the related companies are small in scale and are afraid of investing in equipment and facilities and of carrying out the technology transfer required for production, so companies capable of accommodating the technology have been widely searched for.

CONTENTS

SUMMARY (Korean)	3
SUMMARY (English)	10
TABLE OF CONTENTS (English)	19
TABLE OF CONTENTS (Korean)	20
Chapter 1. Summary of study	22
Chaper II. Present State of Research and Development at Home and Abroad ...	29
Chapter III. Contents and Results	32
Part I : Development of high-value taro products	32
I. Materials and methods	32
II. Results and discussions	44
Part II : Anti-obesity activity of taro and development of its functional materials	92
I. Materials and methods	92
II. Results and discussions	99
Part III : Characterization of immuno-stimulating polysaccharide from Taro ·	122
I. Materials and methods	122
II. Results and discussions	135
Chapter IV. Accomplishment and subsequent contributions	164
Chapter V. Application of the results	165
Chapter VI. Overseas information obtained during performing this project	166
Chapter VII References	167

목 차

요 약 문	3
SUMMARY(영문요약문)	10
TABLE OF CONTENTS	19
목 차	20
제 1 장 연구개발 과제의 개요	22
제 1 절 연구의 목적	22
제 2 절 연구개발의 필요성	22
제 3 절 연구범위	26
제 2 장 국내외 기술개발 현황	29
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	32
제 1 절 토란을 이용한 고부가가치 가공제품 개발(한국식품연구원)	32
1. 재료 및 방법	32
가. 토란의 품종별 식품학적 특성	32
나. 토란분말의 가공적성 검토	33
다. 토란의 아린맛 제거 조건 검토	35
라. 고부가가치 가공제품 제조기술 개발	36
2. 결과 및 고찰	44
가. 토란의 품종별 이화학적 특성 조사	44
나. 토란분말의 가공적성 검토	51
다. 토란의 아린맛 제거 조건 검토	58
라. 고부가가치 가공제품 제조기술 개발	60
제 2 절 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품개발(한국식품연구원)	92
1. 재료 및 방법	92
가. 토란의 항비만 효능 평가	92
나. 토란의 비만억제 효능평가	95

다. 항비만 효능 함유 토란소재 개발	98
2. 결과 및 고찰	99
가. 토란의 항비만 효능평가	99
나. 토란의 비만억제 효능평가	106
다. 항비만 효능 함유 토란소재 개발	118
제 3 절 토란의 면역증진 효과 구명(위탁과제 : 경기대학교)	122
1. 재료 및 방법	122
가. 재료	122
나. 시약 및 실험동물	122
다. 완충용액	123
라. 토란 유래 다당의 분리 및 정제	123
마. 토란 유래 선천면역계 자극 활성 다당 Taro-4-I의 구조 분석	125
바. 토란 유래 다당의 선천면역계 자극 활성능 측정	129
2. 결과 및 고찰	135
가. 토란의 면역증진 활성에 대한 추출 용매 및 조건별 검색	135
나. 토란 유래 다당의 분리 및 정제	139
다. 선천면역계 활성 다당 Taro-4-I의 구조분석	148
라. 토란 유래 다당의 면역계 자극 활성	153
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	164
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	165
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	166
제 7 장 참고문헌	167

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제 1 절 연구의 목적

최근 한국 산업이 전반적인 위기에 처해있고 벼 농가의 주요 대체작물로 재배되기 시작하여 생산량이 증가하고 있는 토란 또한 소비 축소에 따른 타격을 받고 있다. 선진국에 비하여 가공 토란의 소비율이 매우 적으므로 토란소비 촉진을 위한 우수성 확보 및 고부가가치 제품 개발이 매우 시급하다. 국내 소비자들의 기호에 맞는 제품 개발과 동시에 국내 생산 토란의 기능적 우수성을 알려 특성에 맞춘 다양한 가공품을 개발하여 고부가가치 산업화를 목표로 하고 더불어 국내 토란을 해외시장에 수출하여 해외시장 확대 및 외화 획득에 기여하고자 한다.

제 2 절 연구개발의 필요성

토란(*Colocasia esculenta* (L.) Schott)은 우자, 토련, 토지, 흑토라고 불리며 근채류로 분류되는 주요 농작물이다. 토란은 천남성(*Araceae*)과에 속하며 전세계적으로 100 속이 있으며 1,500 품종 이상이 분포하고 있다(1). 식용 가능한 토란은 *Colocasia*와 *Xanthosoma* 속이 있으며 *C. esculenta* 종이 가장 잘 알려져 있다(2). 부위에 따라 우, 우자, 우두, 우경, 우엽으로 나뉜다. 열대 아시아 원산으로 재배하는 다년초 식물로, 약간 습한 곳에서 잘 자라며 구경은 타원형, 겉은 섬유로 싸여 있고, 옆에 작은 구경이 달려 있다. 전 세계적으로 열대 또는 아열대 지방에서 재배되며 아프리카와 태평양 연안 지역의 생산량이 많으며 이 지역에서는 매우 유용한 식용자원이다. 국내 주요산지는 중부이남 지방으로 습기가 충분하고 비옥한 토양에서 생산 재배되는 고온성식물이며 7월 하순부터 수확하나 보통 10월에서 11월에 채취한다. 소비지역에 따라 taro, eddoe, dasheen, cocoyam으로도 불리나 taro가 가장 많이 사용되어지는 이름이다.

웰빙식품, 즉 건강식품을 지향하는 시대에 맞추어 토란의 성분을 분석하고 다양한 가공 방법으로 응용하여 기능성 성분을 다량 함유한 토란을 원료로 다양한 고부가가치 가공식품을 개발하는 것이 필요하다. 또한 항비만, 면역증진 활성 등 기능성을 평가하여 그 효능을 과학적으로 입증하고 기능성을 갖는 소재를 분리 분석하고, 그 소재를 이용한 다양한 기능성 함유 제품 개발에 적용시킨다면 토란의 소비를 증대 및 국민의 건강 향상에 크게 기여할 것으로 생각된다.

가. 기술적 측면

- 토란은 수확시기가 제한되어 있고 저장기간이 짧기 때문에 일시적으로 출하되는 과잉 공급에 따른 농가의 피해가 있다. 현재 우리나라의 경우 과잉 생산의 처리에 문제가 있어 과잉분은 저온저장 하는 등 여러 저장수단으로 물동량을 조절하지만 적절한 가공제품의 개발이 필요하다.
- 토란은 가공시 수분함량이 많고 점질물질이 있어서 가공하는데 어려움이 많다. 우리나라에서는 주로 토란탕, 토란병, 토란단자 및 토란 김치 등으로 이용되었다고 알려져 있으나 현재 우리나라에서 토란의 주 소비 형태는 생과 형태로 가정에서 간단히 조리 후 섭취하는 형태의 가공 상품화에 대한 기술 연구가 미흡한 상태이다.
- 토란 가공의 가장 보편적인 가공방법은 건조하여 분말화하는 것이다. 건조방법은 동결건조법, 열풍건조법, 천일 건조 등이 사용될 수 있다. 국내의 토란소비를 촉진하기 위해서는 단순한 전분가공에서 벗어나 음료 및 토란 소재 활용 가공제품이 필요하다. 현재 토란의 대량소비를 촉진시킬 수 있는 대중성 있는 건강지향 식품이나 고부가가치 가공제품의 개발은 매우 미흡한 실정이다.
- 유동형 환자식의 경우 토란은 불규칙한 매우 작은 입자구조를 가진 전분으로 구성되어 있으며 이를 섭취할 경우 소화력이 우수한 특징이 있어 환자식, 노인식 등에 적용이 매우 기대되는 작물이다. 본 연구에서 개발하고자하는 유동형 환자식 제조기술을 이용할 경우 토란전분의 우수한 특징을 살릴 수 있는 점을 반영할 수 있는 기술이 될 것이다.
- 찢 토란과 으깬 토란은 어린이 간식, 환자식, 노인식 및 아침식사 대응으로 우수한 먹을거리이지만 가정에서 만들 때는 껍질제거, 아린 맛 제거와 찢는 과정을 거쳐야 하므로 간편성을 추구하는 소비자의 요구에 맞지 않아 조리가 간편한 가공제품으로 개발될 경우 대량 소비 가능성이 높을 것으로 예상된다. 감자의 경우 서구에서는 으깬 감자가 후레이크 형 제품이 출시되어 가정 또는 업소에서 간단한 준비에 의해 섭취할 수 있어 감자의 소비처가 되고 있다. 국내에서 토란을 이용하여 적절한 전처리공정을 통하여 으깬 토란을 후레이크형 제품으로 개발한다면 기호식품으로서 뿐만 아니라 제빵, 제면, 식사용 가공 시리얼 등 토란 가공제품 제조를 위한 중간 소재로도 활용될 수 있을 것이다.

- 토란스낵은 감자칩과 비슷하게 토란을 얇게 절단한 후 기름에 튀기는 제조공정을 거쳐 생산할 수 있어 토란을 주재료 한 유당처리 스낵제품을 생산할 수 있다. 그러나 유당 처리식품이 가지고 있는 유통과정 중의 산패문제와 열량 과다에 대한 부담감을 해결하기 위하여 기름에 튀기지 않으면서도 유당처리스낵과 같은 조직감을 나타내는 비유당처리 토란 스낵제품을 개발한다면 토란의 많은 수요를 창출할 것으로 기대된다.
- 항비만, 면역증진 활성 등 기능성은 현대사회에 대두되는 대표적인 성인병을 제어하기 위하여 필요한 생리활성이다. 이러한 활성은 토란에서 기대된다고 알려져 있으나 체계적인 입증이 부족하므로 과학적 방법으로 효능을 평가하여 입증하고 기능성을 갖는 소재를 분리 분석하는 기술 및 소재화 기술을 통하여 다양한 기능성 함유 제품 개발이 필요하다.

나. 경제 · 산업적 측면

- 최근 한·미 FTA 등 수입농산물의 증가로 농업의 위기를 맞고 있으며 농가 소득 증대 및 웰빙 붐에 따른 안전하고 기능성이 높은 농산물 공급에 주력할 필요성이 대두되고 있다.
- 최근 웰빙식품 · 건강식품을 지향하는 시대에 토란은 기능성성분을 다량 함유한 웰빙식품 원료소재이나 그 이용성이 매우 미미하므로 토란의 생리적 우수성을 입증하고 이를 이용한 고부가가치의 다양한 가공식품 개발을 통하여 향후 토란 소비를 증대는 물론 수출을 통한 해외시장 확대 및 외화 획득에 기여하고자 한다.
- 썬 토란 등 본 연구에서 개발하고자 하는 가공제품은 서구에서도 개발되지 않은 형태의 제품으로서 장기 유통할 수 있는 기술이 개발될 경우 국내에서의 소비뿐만 아니라 썬 토란의 소비가 큰 중국 등 외국으로의 수출 가능성도 높은 제품으로 기대된다.

다. 사회 · 문화적 측면

- 현대인의 생활수준 향상으로 식생활에 큰 변화가 오면서 각종 성인병이 증가하고 있을 뿐만 아니라 교통의 발달로 인해 운동량 또한 줄게 되어 비만인의 비율

이 지속적으로 증가를 하고 있고 스트레스로 인한 면역능 감소 등이 증가하고 있는 추세이다. 토란이 함유하고 있는 유효성분들은 여러 가지 생리활성이 있을 것으로 기대되며 이러한 기능성 토란의 생리활성 물질들을 이용하여 기능에 맞는 다양한 가공 제품으로의 개발이 기대된다. 또한 토란의 면역 증진 활성 검색 및 효능 연구를 통한 다양한 식품 개발로써 토란 그 자체로의 판매 보다 높은 부가가치를 갖는 기능성식품을 개발하고 산업화할 수 있다.

- 2030년에는 60%에서 70%의 인구가 과다 체중이 될 것이며, 40%에서 50%가 비만이 될 것이라 예상되고 있으며, 비만으로부터 파생되는 성인병 발병률 또한 급속하게 증가할 것으로 예상된다. 효과적인 비만해소를 위해서 운동과 함께 식이요법과 행동수정요법 등이 연구되었고, 특히 식이요법이 중요한 요인으로 부각되면서 다이어트에 관련된 저지방식품, 건강보조식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 토란의 lectin 성분과 같은 비영양성분과 높은 섬유소 함량은 항비만 효과를 나타낼 것으로 기대 된다.

제 3 절 연구범위

	목 표	내 용	연 구 범 위
1 차 년 도	<p><세부 1> 토란을 이용한 고부가 가치 가공제품 개발 -토란의 식품학적 특성 및 가공적성 연구</p>	<p>○이화학적 특성 조사</p> <p>○전처리 조건 설정</p> <p>○유동식형 환자식 제품 가공적성 조사 ○후레이크형 토란 제품 가공적성 조사</p>	<p>-단백질, 지질, 식이섬유, 무기질 등 일반성분 분석</p> <p>-유리아미노산, 유리당, 유기산 지방산 조성 분석</p> <p>-폴리페놀 화합물 등 이화학적 특성성분 구명</p> <p>-용해성, 열안정성, 볶음처리 등 전처리 조건</p> <p>-아린맛 제거조건 검토</p> <p>-토란의 유동식 가공적성 조사</p> <p>-토란의 후레이크 가공적성 조사</p>
	<p><세부 2> 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품 개발 -토란의 항비만 효능 구명</p>	<p>○토란의 항비만 효능평가</p>	<p>-추출조건별로 획분의 조제</p> <p>-유효분획 선별</p> <p>-유효성분 분석</p> <p>-항비만 활성 측정</p>
	<p><위탁> 토란의 면역증진 효과 구명</p>	<p>○토란의 고분자 획분의 면역증강 활성 검색</p>	<p>-열수, 냉수, 산/알칼리 용액, 유기용매 등의 추출용매, 추출 온도, 추출시간 및 추출횟수로 구분, 추출조건별로 고분자 획분조제</p> <p>-추출된 다양한 고분자 획분들을 대상으로 면역증강 활성 검색</p> <p>-면역증강 활성의 검색은 mitogen 활성, macrophage 활성, Peyer's patch를 통한 골수세포 증식인자의 생산, 항보체 등의 검색방법을 이용 실시</p>

	목 표	내 용	연 구 범 위
2 차 년 도	<p><세부 1> 토란을 이용한 고부가 가치 가공제품 개발 -고부가 가치 가공제품 제조기술 개발</p>	<p>○후레이크형 토란 제품 개발</p> <p>○유당/비유당처리형 토란 스낵제품 개발</p>	<p>-토란 후레이크의 조미기술개 발 -저장성 증진 기술 확립 -현장적용을 위한 최적 공정 검토</p> <p>-토란의 스낵 가공적성 검토 -토란스낵의 품질 향상을 위 한 적정 전처리 기술 개발</p>
	<p><세부 2> 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식 품 개발 -토란의 항비만 효능 구명</p>	<p>○토란의 비만억제 효능 평가</p>	<p>-동물모델을 이용한 항비만 효과 구명 -임상 실험을 통한 항비만 효과구명</p>
	<p><위탁> 토란의 면역증진 효과 구명</p>	<p>○면역증강 고분자 획분의 부분정제 및 면역증진 활성 평가</p>	<p>-면역증강 활성을 갖는 고분 자 획분의 화학적 성질 검토 -정제를 위한 고분자 획분의 분획 및 예비정제 -면역증강 고분자 획분의 다 양한 크로마토그래피를 통한 활성물질의 정제 -정제 진행과 함께 구성당의 분석 활성분체의 물질 구명 -부분정제물의 면역증진 활성 평가 ; macrophage 활성측정 ; 장관면역 활성 측정</p>

	목 표	내 용	연구범위
3 차 년 도	<p><세부 1> 토란을 이용한 고부가 가치 가공제품 개발 -고부가 가치 가공제품 제조기술 개발</p>	<p>○ 유탕/비유탕 처리형 토란 스낵제품 개발</p> <p>○ 찌토란 제품 개발</p>	<p>-유탕/비유탕처리형 스낵제품 제조기술 확립</p> <p>-찌토란 제조를 위한 적정 전 처리 조건 확립 -찌토란 열처리 조건 확립 -찌토란의 살균 조건 및 포장 유통 조건 확립 -제품의 저장성 검토</p>
	<p><세부 2> 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품 개발 -비만 효능 함유 기능 성 가공식품 개발</p>	<p>○ 항비만 효능을 갖는 토란 함유 기능성 식품개발</p> <p>○ 면역증진효능을 갖는 소재 개발</p>	<p>-토란을 주재료로 기타 부재 료 혼합을 통한 기능성 최적 배합비 도출</p> <p>-유효성분의 가공적성 조사 -식품 소재화</p>
	<p><위탁> 토란의 면역증진 효과 구명</p>	<p>○ <i>In vivo</i>에서의 고분자 획분의 면역증강 활성 실험</p>	<p>-정제시료를 경구투여 및 정 맥 주사한 후 대조군과의 면 역증강 활성 비교 검토</p>

제 2 장 국내외 기술개발 현황

토란은 아열대지방에서 재배되는 괴경작물로 동남아시아, 중앙아프리카, 태평양 섬, 필리핀, 인도, 일본 등에서 재배된다.(3). 국내에서는 2007년을 기준으로 209 ha의 재배면적에서 3,378톤이 생산되고 있다(4). 전 세계적으로 토란관련 연구는 토란의 영양성분 분석(5), 토란 전분의 특성 및 건조방법(6-8), achu(토란 페이스트)의 가공방법에 따른 이화학적 특성과 소화성(9, 10), 아린맛 성분(11-13), 토란 PPO의 활성 억제(14)에 관한 연구가 대부분을 차지하고 있다. 일본의 경우 토란의 재배 및 수확, 가공에 관한 연구가 과거부터 활발히 이루어지며, 식용부위에 따라 모구용, 종구용 또는 곱용품종으로 구분하나 우리나라에서는 이용부위에 따른 품종 분류가 명확하게 구분되어 있지 않고 교잡실생에 의한 신품종성립, 품종분화 및 육종사업은 이루어지지 않고 있다(2, 15). 토란의 녹말은 입자가 작아서 음식을 만들어 먹으면 소화가 매우 잘되어 하와이나 태평양의 섬에서는 유아식으로 이용되고 있다(2). 우리나라에서 토란을 이용한 음식으로는 토란국, 토란병, 토란김치 등이 있으며, 태평양의 섬에서는 곱거나 삶거나 기름에 볶아 먹거나 토란을 발효시켜 포이(Poi)라는 발효식품을 만들어 먹기도 한다(6, 16). 최근에는 토란 가루의 호화온도 상승의 효과와 노화 지연 등의 특성을 이용하여 복합분 형태로 식품에 첨가하여 응용하거나(6, 7), 토란가루의 수분과 지방흡수력의 물성을 이용하여 빵, 케이크, 비스킷 등의 첨가제로 사용하고 있다(8). 또한 기름에 튀긴 토란칩과 토란가루를 사출시켜 파스타, 씨리얼, 팽창시킨 snack 등의 다양한 가공식품의 소재로 사용되고 있으며(5, 17), 상업적 안정제의 훌륭한 대체 물질로도 주목받고 있다(18, 19).

토란은 수확 후 기계적 손상과 증산, 발아, 절단이나 박피 시 조직연화 및 갈변 현상에 의해 품질이 저하된다(20). 그리고 수분함량이 많아 장기간 저장이 불가능하기 때문에 수확 후 건조시켜 분말화하는 가공과정을 통해 상품화해야 할 필요가 있다. 토란을 분말화하면 수분활성도가 낮아져 저장성이 좋아지며 죽 및 여러 가공제품에 손쉽게 첨가할 수 있는 장점이 있다(21). Aboubakar 등(22)은 여섯 가지 종의 토란을 분말 및 전분의 형태로 제조하여 물리화학적 및 열적 특성을 연구하였으며, Njintang 등(9)은 다섯 가지 종의 토란분말의 기능적 특성을 비교하고 죽 형태로 제조 시 관능적 특성을 조사하였다. 이에 더불어 Njintang 등(10)은 토란죽의 재료로 이용되는 토란분말 제조 시 삶는 시간 및 건조온도가 이화학적 특성에 미치는 영향과 소화성에 대해 연구되어졌다.

토란 특유의 미끈거리는 성분은 뮤틴으로 이것이 체내에서 글루크론산을 만들어 간장이나 신장을 튼튼히 해주고 노화방지도 좋다고 알려져 있으나 관련 연구는 거의 보고 되어 있지 않다. 토란의 아릿한 맛은 칼슘옥살레이트와 호모젠티신산

이라고 알려져 있다. 이는 아린맛 뿐만 아니라 무기질과 결합하여 생체 내 이용도를 낮추므로 가공 시에는 제거해 주는 것이 좋다. 정상적인 식품에서 생 토란은 거의 사용되지 않고 데치거나 소금물 또는 쌀뜨물에 담귀 됨으로써 아린 맛을 제거할 수 있다고 한다. 이에 따라 토란의 가공처리별로 옥살산의 함량에 대해 연구함으로써 아린맛 제거 방법에 대한 연구가 증가하고 있다(12, 13). 이외에도 lectin을 비롯한 trypsin inhibitor, amylase inhibitor 등의 비영양소가 함유되어 있다(23-25). 따라서 토란을 이용하여 관능적, 영양적 특성을 고려한 가공제품으로 개발하기 위해서는 이들 비영양 성분을 불활성화 할 수 가공 처리방법에 대한 연구가 필요하다. 토란은 해독의 특효약으로 관절염 치료효과가 높아 퇴행성 골 관절염으로 기인된 통증 및 부종에 부착하여 치료로 사용하는 외에도 신진대사촉진, 피부미용, 비만, 항고혈압, 피로회복, 변비예방 효과가 알려져 있으나 이러한 주장을 뒷받침할 수 있는 과학적인 근거가 부족하다. 또한 이러한 활성을 최대 이용할 수 있는 가공방법의 개발이 미비하다.

가공제품의 경우 토란을 이용한 기술은 일본에서 대부분 연구 보고된 것으로 토란분말 또는 전분을 이용한 제빵원료, 만두의 소재료 및 면류의 제조기술, 토란 전분의 점질성을 이용한 첨가제로서 아이스크림의 제조에 사용하는 것이 알려져 있다. 국내에 토란의 가공수요가 정착되지 못한 주원인은 다양한 가공제품의 개발이 미비하고 대중적 소비로 이끌지 못하였기 때문이다. 따라서 토란을 이용한 가공제품을 개발하여 토란을 상품성이 있는 제품으로 고부가 가치화할 필요성이 있다. 국내에서는 토란 가공 및 가공제품 개발과 관련된 연구가 거의 이루어지지 않고 토란 PPO의 갈변억제 기술과 전분특성 및 isolectin에 대한 연구들이 일부 보고되어 있는 정도이다. 특히 본 연구에서 목표로 하고 있는 즉석식품, 스낵식품 등에 대한 연구는 거의 이루어져 있지 않다. 본 연구에서 목표로 하고 있는 토란 후레이크나 찢 토란 제품에 관한 연구도 거의 이루어지지 않은 상태로 후레이크나 찢 토란이 성공적으로 개발될 경우 토란의 활용 및 소비의 확대가 기대된다.

<국내·외의 관련 연구현황>

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
카메룬 Ngaundere 대학	taro전분의 특성 변화 연구	토란 전분을 achu의 생산에 적용
뉴질랜드 Lincoln 대학	토란의 조리시 수산함량 변화	토란 소비의 부정적 영향 불식을 위한 홍보
미국 Hawaii 대학	토란의 영양성분 연구	토란 건조칩과 poi 가공품의 정확한 영양성분 정보제공
대만 대만 대학교	토란 페이스트의 품질 연구	당과 유화제 사용에 의한 페이스트의 특성 변화 정보 제공
마이크로네시아연방 섬식품연합	지역 토란의 품종별 영양성분 연구	지역 생산 토란의 영양적, 기호적 특성 연구로 식이를 통한 국민 건강 홍보
미국 Hawaii 대학	아린 맛 성분의 성질	아린 맛의 성질을 파악하여 아린맛에 의한 손실을 최소화
인도 중앙 구근작물연구소	토란에 의한 소화효소의 저해효과	저해효과에 의한 해충으로부터의 방어

토란 가공에 대한 기존 특허는 토란의 전분 이용 분야에 치중되어 있어 스낵, 즉석조리식품 등 고부가가치 가공제품에 대한 특허는 미비하다. 또한 토란의 항비만 효능 및 소재화 연구와 토란의 면역증진 효능 및 소재화 연구에 대한 특허도 없는 실정이다.

토란 가공에 대한 기존 논문은 토란의 발효 또는 전분분야에 치중되어 있고 토란의 항비만 효능 및 소재화 연구에 대한 논문은 렉틴 단백질의 분리 및 효능에 치중되어 있으므로 토란 섬유소의 영향과 토란의 면역증진 효능 및 소재화 연구는 미비하다.

국내 및 국외시장의 제품 분석결과, 토란은 최소가공처리제품으로 생산 및 판매가 이루어지고 있으며 스낵, 즉석식품, 환자식제품 등의 개발은 미비하다. 또한 토란의 기능성을 이용한 제품은 거의 없어 본 연구의 결과로 도출된 고부가가치 가공제품, 항비만, 면역증진 활성을 가지는 소재의 개발은 토란 소비의 신규 시장을 도출할 수 있는 새로운 기초가 될 것이다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 토란을 이용한 고부가가치 가공제품 개발 (제 1세부과제 : 한국식품연구원)

1. 재료 및 방법

가. 토란의 품종별 식품학적 특성

(1) 재료

본 실험에서 사용된 토란은 품종별로 알토란, 조생종 및 재래종 토란으로 2008년 전라남도 구례군에서 재배하여 수확한 것을 재료로 사용하였다.

(2) 토란분말의 제조

품종별 토란의 껍질을 제거하고 얇게 slice 하여 동결건조한 후 mixer를 이용하여 분쇄하였으며, 분쇄한 토란 분말을 60 mesh의 체를 통과시켜 균일한 입자를 가지는 토란분말을 제조하였고 이를 밀봉하여 4℃에 보관하면서 시료로 사용하였다.

(3) 일반성분

토란의 품종별 일반성분은 AOAC법(26)에 따라 수분함량은 105℃에서 상압 가열 건조법을 이용하여 분석하였고, 조단백질은 Micro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 법, 회분은 건식회화법으로 정량하였다.

(4) 아미노산 조성

토란분말에 6 N HCl 용액을 가하고 질소가스를 충전한 후 110℃에서 24시간 가수분해하고 감압 농축시켰다. 이를 0.45 μm membrane filter로 여과하고 여액 중 일부를 취해 유도체 시약 methanol : triethylamine : water : phenyl isothiocyanate(PITC) (7:1:1:1, v/v) 혼합용액을 첨가하여 유도체화한 다음 이를 감압 건조하였다. 건조물을 용해하여 pico-tag 방법에 따라 HPLC로 분석하였다(27). 이때의 분석조건은 instrument: JASCO HPLC system(Japan Spectroscopic Co., Tokyo, Japan), column: pico-tag, column temp.: 40℃, eluent: pico-tag eluent A & B, flow rate: 1.0 mL/min, chart speed: 1.0 cm/min, detector: UV 254 nm, injection volume: 10 μL이었다.

(5) 지방산

지방산 분석은 품종별 토란분말을 *n*-hexane으로 추출하여 얻은 지질 200 mg을 0.5 N NaOH(in methanol) 5 mL을 가하여 가수분해 시킨 후 BF₃촉매 하에 methyl ester를 만들어 GC(HP5890, Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다(28).

(6) 무기질

토란분말을 예비탄화한 후 550°C 회화로에서 회화시킨 회분에 염산을 가하여 용해시키고 일정량으로 정용한 후 ICP-AES(inductively coupled plasma, JA38 PLUS, ISA instrument S.A., Longjumeau, France)로 분석하였다(29). ICP-AES의 작동조건은 power: 1 kW for aqueous, nebulizer pressure: 3.5 bars for meinhasd type C, aerosol flow rate: 0.3 L/min이었으며, 각 무기질 검출과장은 Ca: 393.37, Mg: 279.55, Na: 588.99, K:766.49, P: 213.62, Fe: 238.20 nm 였다.

(7) 유리당

토란분말 1 g과 80% 에탄올 40 mL을 혼합한 후 80°C의 shaking incubator에서 100 rpm의 속도로 shaking하여 유리당을 추출시켰다. 이를 여과하여 10,000×g에서 20분 동안 원심분리한 후 상등액을 취해 0.45 μm membrane filter로 여과시켜 HPLC로 분석하였다(30). 이때의 분석조건은 Carbohydrate column(4.6×250 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고 acetonitrile: water (80:20, v/v) 용액을 1.2 mL/min의 속도로 40°C에서 RI detector를 사용하여 분석하였다.

(8) 전분, 식이섬유 및 Vit C 함량 측정

총 전분 함량은 McCleary 등(31)의 방법에 따라 total starch assay kit(Megazyme International Ireland Ltd., Bray, Ireland)를 사용하여 측정하였다. 식이섬유 함량은 Prosky 등(32)의 방법에 따라 total dietary fiber assay kit(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 측정하였다. 토란 분말의 비타민 C의 함량은 DNP 법(33)에 의해 측정하였다.

나. 토란분말의 가공적성 검토

(1) 건조방법을 달리한 토란분말의 제조

알토란의 껍질을 제거 후 얇게 슬라이스하여 완전건조 상태에 도달할 수 있는 조건으로 설정된 40°C 열풍건조기에서 16시간, 60°C 열풍건조기에서 6시간, 80°C 열

풍건조기에서 3시간 동안 열풍건조하거나, 또는 동결건조기를 이용하여 동결건조한 후 mixer를 이용하여 분쇄하였다. 분쇄한 토란분말을 60 mesh의 체를 통과시켜 균일한 입자를 가지는 토란분말을 제조하였으며 이를 밀봉시켜 4℃에서 보관하여 시료로 사용하였다.

(2) 볶음 처리 및 증자 처리한 토란분말의 제조

알토란의 껍질을 제거한 후 얇게 슬라이스하여 60℃로 열풍건조하여 물밀로 조분쇄하였다. 이를 150℃, 180℃, 210℃의 열풍건조기에서 10분 동안 볶음처리 후 mixer로 분쇄하여 60 mesh의 체를 통과시켜 균일한 입자를 가지는 볶음 처리 토란분말을 제조하였다. 또한 알토란을 슬라이스하여 95℃에서 30분 동안 상압증자하거나 121℃에서 15분 또는 30분 가압증자하였다. 이를 60℃ 열풍건조기에서 말린 후 mixer로 분쇄하여 60 mesh의 체를 통과시켜 증자처리 토란분말을 제조하였다. 각 토란분말은 밀봉시켜 4℃에 보관하여 시료로 사용하였다.

(3) 수분흡수지수(WAI) 및 수분용해지수(WSI)

WAI(Water Absorption Index)값과 WSI(Water Solubility Index)값은 Lim (34)의 방법으로 측정하였다. 토란 분말 1 g에 증류수 30 mL를 잘 혼합하여 25℃에서 1분간 mixing한 후 17,888× g에서 15분간 원심분리하였다. 상등액은 미리 무게를 구한 수분정량 수기에서 건조하여 고형분량을 WSI로 측정하였다.

(4) DSC

토란분말의 열역학적 특성은 시차주사열량계(DSC7, Perkin-Elmer Co., Waltham, MA, USA)를 사용하여 분석하였다(35). 토란분말과 증류수를 1:2의 비율로 가수하여 aluminum pan에 넣고 밀봉하여 시료에 수분확산을 위하여 1시간 동안 실온에서 방치한 후 사용하였다. 이때 온도는 30℃에서 130℃까지 10℃/min의 속도로 가온시켰으며, reference는 빈 시료팬을 사용하였다. 이로부터 얻은 DSC thermogram으로부터 엔탈피를 구하였고, 호화개시온도(T_o : onset temperature)와 피크온도(T_p : peak temperature)를 분석하였다.

(5) RVA

토란 전분의 pasting 특성은 Rapid visco-analyzer(RVA-3D, Newport Sci., Warriewood, Australia)를 사용하여 측정하였다(36). 알루미늄 용기에 토란분말을 12%(w/w) 농도가 되도록 칭량하고 이에 가수하여 30 mL로 정용하고 플라스틱 회

전축을 이용하여 충분히 교반시킨 시료를 RVA-3D로 점도변화를 측정하였다. 온도 프로그램은 작동 후 1분 동안은 50℃를 유지, 4분 안에 95℃로 가열, 3분 동안 95℃로 유지, 4분 안에 50℃로 냉각 후 1분 동안 50℃로 유지하였다. 페달의 회전속도는 160 rpm으로 고정하여 페이스트 점도를 측정하였다. 곡선으로부터 페이스트 온도 (pasting temperature), 최고점도(peak viscosity), 최저점도(trough viscosity), 최종 점도(final viscosity)를 각각 산출하였다.

(6) 색도

색도는 색도계 (Color QUEST II, Hunter Associates Laboratory Inc. Reston, VA, USA)를 이용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness/greenness), 황색도(b, yellowness/blueness)로 나타내었다.

다. 토란의 아린맛 제거 조건 검토

(1) 시료 제조

토란의 아린맛에 대하여 품종 및 전처리 방법에 따른 영향을 알아보려고 하였다. 품종별로 알토란, 조생종 및 재래종의 토란을 동결건조 후 분말화하여 사용하였다. 또한 건조방법에 따른 영향을 알아보기 위하여 토란의 대표 품종인 알토란의 껍질을 제거 후 얇게 슬라이스하여 40℃에서 16시간, 60℃에서 6시간, 80℃에서 3시간 동안 열풍건조하거나, 동결건조기를 이용하여 동결건조한 후 mixer를 이용하여 분쇄하였다. 또한 볶음 및 증자 조건에 따른 영향을 알아보기 위하여 60℃로 열풍건조로 말린 후 롤밀로 조분쇄하고 150℃, 180℃, 210℃의 열풍건조기에서 10분 동안 볶음처리 하거나, 95℃에서 30분 동안 상압증자 및 121℃에서 15분 또는 30분 가압증자한 후 60℃ 열풍건조기에서 건조하였다. 이를 mixer로 분쇄하여 60 mesh의 체를 통과시켜 균일한 입자를 가지는 증자처리 토란분말을 제조하였다. 수침조건으로는 물, 1% 소금물 및 5% 소금물에서 5시간 동안 수침한 후 60℃ 열풍건조기에서 말린 후 mixer로 분쇄하여 60 mesh의 체를 통과시켜 균일한 입자를 가지는 증자처리 토란분말을 제조하였다.

(2) Calcium oxalate 함량 측정

토란의 Calcium Oxalate의 함량은 Holloway(37)의 방법으로 측정하였다. 토란을 건조하여 분쇄한 시료 1 g에 증류수 25 mL 또는 0.25 M H₂SO₄ 용액 25 mL를 가하고, 내부표준물질로서 10% glutaric acid 용액을 1 mL 첨가한 후, boiling water bath에서 10분간 열처리하고 최종부피가 100 mL로 되도록 정용하였다. 이를

0.45 μm 여과지를 이용하여 여과하고 HPLC(Japan Spectroscopic Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 분석하였다. 컬럼은 Agilent Eclipse XDB-C₁₈(Agilent technologies, CA, USA), 검출기는 UV detector를 사용하여 214 nm의 파장에서 측정하였다. 이동상은 0.0125 M H₂SO₄ 용액을 사용하였으며, 유속은 0.5 mL/min으로 하고 최종 주입되는 양은 20 μL 로 하였다. 분석을 위한 표준물질인 oxalate는 Sigma Co.(USA) 제품을, glutaric acid는 Acros Organics(USA)의 제품을 사용하였으며, 표준곡선 $y=15805x+202.5$ ($R^2=0.9956$)에서 검량하였다.

(3) 호모젠티신산(homogentisic acid) 함량 측정

토란의 호모젠티신산 함량은 Han (38)등의 방법을 변형하여 측정하였다. 토란을 건조하여 분쇄한 시료 2 g에 70% 에탄올 20 mL를 가하여 80°C에서 3시간동안 환류추출한 후 여과하고 또 다시 70% 에탄올로 2시간 추출하여 여과하였다. 여액을 evaporator로 농축하여 10 mL로 정용한 후 0.45 μm 여과지를 이용하여 여과하고 HPLC(Japan Spectroscopic Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 분석하였다. 컬럼은 Agilent Eclipse XDB-C₁₈(Agilent technologies, CA, USA), 검출기는 UV detector를 사용하여 291 nm의 파장에서 측정하였다. 이동상은 Methanol과 5 mM sulphuric acid solution을 혼합하여 gradient 조건 하에서 흘려주었으며, 유속은 0.7 mL/min으로 하고 최종 주입되는 양은 20 μL 로 하였다. 분석을 위한 표준물질인 homogentisic acid는 Sigma Co.(USA) 제품을 사용하였으며, 표준곡선 $y=13948x+4278.3$ ($R^2=0.9999$)에서 검량하였다.

라. 고부가가치 가공제품 제조기술 개발

(1) 유동식형 환자식 제품 개발

(가) 토란 죽의 제조공정

일본에서 시판되는 토란을 원료로 한 죽제품의 시제품을 구입하거나 국내에서 토란죽의 제조에 사용하는 원료를 조사하여 분류하고 이에 기초한 토란 죽 제품의 기준 배합비를 설정하였다. 이를 여러 가지 배합 비율로 혼합하여 관능검사를 통하여 배합비를 조정하면서 최적의 배합비를 설정하고 가열처리하여 시제품을 제조하였다.

원부재료는 혼합하여 센 불에서 끓여 끓기 시작하면 불을 약하게 하여 10분 정도 경과한 후 10분간 방치하여 점차적인 호화를 유도하였다. 다시 약한 불에서 5분 가열한 후 알루미늄 라미네이트 포장재 파우치에 열 충전하여 포장한 후 밀봉하고 살균하였다. 살균된 파우치는 충분히 냉각하였다.

Table 1-1. 기존 토란 죽에 사용되는 원료

제품 유형	종류	비고
I	토란, 간장, 식물 섬유, 가쓰오 예끼스, 쌀발효 조미료, 전분, 청주, 설탕, 다시마예끼스파우더, 조미료(아미노산등)	일본제품
II	쌀, 야채(우엉, 당근, 죽순), 닭고기, 표고버섯, 간장, 유부라게(튀김류), 쌀발효 조미료, 식물유지, 콜라겐 펩타이드, 전분, 식물섬유, 가쓰오부시 예끼스, 가쓰오부시 예끼스 파우더, 치킨예끼스, 참깨, 소금, 난각 칼슘, 조미료(아미노산 등)	일본제품
III	토란, 쌀, 간장	국내 전통적 제조법

(2) 후레이크형 토란제품 개발

(가) Basic 토란 후레이크 제조

토란을 박피하고 슬라이스 하여 70~75℃에서 20분간 예비 가열하였다. 예비가열된 토란을 냉각수에 침지시켜 20분간 냉각시켰다. 냉각된 토란을 스팀을 이용하여 30분간 쪄 후 으갠 토란의 형태로 제조하였다. 이를 열풍건조기에서 60℃로 건조하여 이를 mixer로 분쇄한 후 80 mesh 체에 통과하여 basic 토란 후레이크를 제조하였다. 이 때 으갠 토란에 첨가되는 감자전분, 옥수수전분, 밀전분 및 말토덱스트린과 유청분말 및 유화제의 최적 배합비를 선정하였다(Fig. 1-1).

(나) Mix 토란 후레이크 제조

Original 토란 후레이크는 위에서 선정된 basic 토란 후레이크에 base로 감자, 감자와 토란의 혼합 (1:1) 및 토란을 적용하여 버터분말, 크림분말, 소금과 설탕으로 조미하여 original 후레이크의 배합비를 선정하다. 부드러운 식감의 creamy한 토란 후레이크는 original 후레이크에 크림분말의 함량을 증가시켜 제조하였다. 또한 Sweet한 토란 후레이크의 제조를 위하여 전지분유, 생크림분말, 필라티노스, 유청단백 및 비타민 C와 사과농축분말을 이용하여 후레이크의 최적 배합비를 선정하였다.

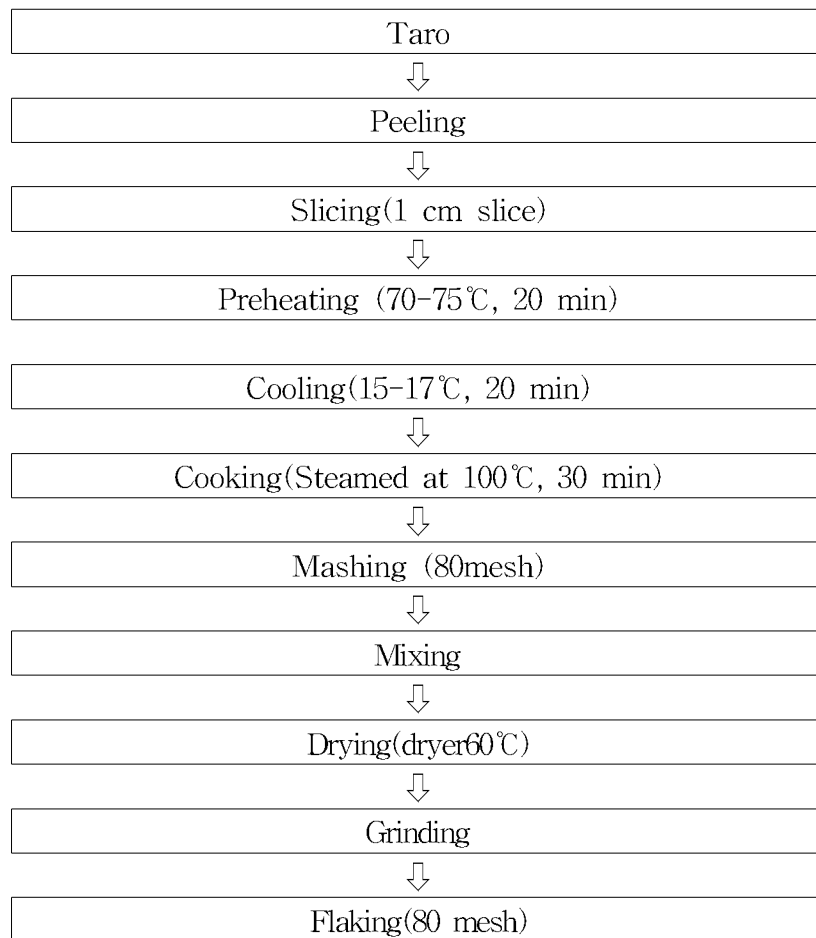


Fig. 1-1. Schematic procedure for producing taro flake

(3) 유탕/비유탕처리형 토란 스낵제품 개발

(가) Oil fried 토란칩 제조

1) 동결 처리

토란을 박피하여 2.0±0.2 mm의 두께로 절단한 후 물기를 제거하여 바로 180°C의 대두유에 튀긴 chip과 -70°C deep freezer에 동결시켜 180°C의 대두유에 튀긴 토란칩을 비교하였다.

2) NaCl 용액 침지처리

토란을 박피하여 2.0±0.2 mm의 두께로 절단한 후 물기를 제거하여 동결한 것(control)과 각각 물, 0.1% NaCl 용액, 0.5% NaCl 용액에 1시간 동안 침지처리를 한 토란을 동결시켜 180°C의 대두유에 2분 30초 동안 튀겼다.

3) Blanching 처리

Blanching 시간에 따른 영향을 알아보기 위하여 토란을 0.5% 소금물에 1시간 동안 침지한 후 80-90℃의 열수에 30초, 1분, 1분 30초 동안 blanching 처리하였다. 또한 토란을 침지과정 대신 0.5% 소금물에서 30초, 1분, 1분 30초씩 blanching 처리하였다. 이를 동결하여 180℃의 대두유에서 2분 동안 튀긴 후 비교하였다.

4) 당침조건 선정

당침조건을 선정하기 위하여 토란을 0.5% 소금물에 1시간 동안 침지하여 1분 동안 blanching한 후 이를 말토덱스트린 용액(40 °Bx)에 당침하였다. 말토덱스트린은 DE값별로 DE 5, 10, 15-20을 사용하였으며 2시간동안 당침 시킨 토란을 동결시켜 180℃의 대두유에서 1분 30초 정도 튀겼다. 또한 말토덱스트린(DE5)의 당농도에 따른 영향을 알아보기 위하여 말토덱스트린(DE 5) 용액을 20, 30, 40, 50 °Bx로 제조하여 토란을 2시간 동안 당침한 후 이를 동결시켜 180℃ oil에서 2분 10초 정도 튀겨 이를 분석하였다.

5) 튀김 oil 선정

위에서 선정된 blanching과 당침조건으로 처리한 토란을 각각 대두유, 옥수수유, 현미유, 카놀라유, 팜유를 사용하여 180℃에서 2분 10초 정도 튀겼으며 이를 비교하였다.

(나) 감압유탕 토란칩 제조

토란을 박피하여 2.0 또는 4.0±0.2 mm로 두께를 조절하여 절단한 후 0.5%소금물에 1시간동안 침지 하였다. 이를 blanching 시간별로 30초, 1분의 조건과 당침조건으로 20, 40 Brix 말토덱스트린에 2시간 당침하여 8개 조건의 시료를 제조하여 감압유탕 하였다. 감압유탕의 온도는 처음 시작온도 105℃에서 시작하여 시료를 투입함에 따라 90℃에서 30분 튀기게 되며 이때의 진공압력은 20 kpa로 하여 감압유탕 토란칩을 제조하였다.

(다) 동결건조 스낵

1) 동결건조 처리공정

토란을 박피하여 2.0±0.2 mm의 두께로 절단한 후 두 가지의 공정으로 동결건조 스낵을 제조하였다. 토란을 동결건조한 후 동결건조물을 설탕 40 Bx의 시럽에

10분 동안 침지하여 열풍건조기에서 60℃에서 8시간 건조하였다. 다른 공정으로는 토란을 설탕 40 Bx의 시럽에 10분 동안 침지하여 시럽침지를 한 후 이를 동결건조하여 스낵을 제조하였다.

2) Blanching 처리

Blanching 시간에 따른 영향을 알아보기 위하여 토란을 박피하여 2.0±0.2 mm의 두께로 절단한 후 80-90℃의 열수에 30초, 1분, 2분, 3분 동안 blanching 처리하였다. 이를 deep freezer에 넣어 -70℃에서 동결시킨 후 동결건조하여 동결건조물을 얻었다. 동결건조된 토란을 설탕 40 Bx의 시럽에 10분 동안 침지하여 열풍건조기에서 60℃에서 8시간 건조하였다.

3) 침지 시럽 선정

토란을 슬라이스하여 80-90℃의 열수에서 2분 동안 blanching한 후 이를 동결건조 시켰다. 동결건조물에 침지시럽으로 대조구로 설탕 30%, 시럽1-올리고당 30%, 시럽2-설탕: 올리고당: MD (10%: 20%: 10%), 시럽3-설탕: 올리고당: MD(10%: 10%: 20%), 시럽4-설탕: 스테비오사이드(10%: 0.2%)의 여러 시럽에서 10분 침지하여 이를 열풍건조기에서 60℃에서 8시간 건조하였다.

4) 건조조건 선정

토란을 슬라이스하여 80-90℃의 열수에서 2분 동안 blanching한 후 이를 동결건조 시켰다. 동결건조물에 침지시럽으로 올리고당 30%에 10분 동안 침지하였다. 이를 열풍건조기에서 고온에서 단시간에 건조 또는 저온에서 장시간의 건조에 따른 기계적 조직감과 관능적 특성으로 건조조건을 선정하고자 하였다. 건조온도 및 시간은 60℃에서 8시간, 80℃에서 3시간, 100℃에서 2시간, 120℃에서 1시간으로 설정하여 이를 비교하였다.



Fig. 1-2. Schematic procedure for obtaining freeze-drying taro snack.

(라) 전자레인지 토란스낵

1) 효소제 처리

토란을 박피하여 1.0 ± 0.2 mm의 두께로 슬라이스하였다. 토란세포의 세포벽을 파괴하기 위한 방법으로 효소제를 사용하였으며 사용한 효소제로 cellulase, pectinase, amylase 및 protease를 0.2%의 농도로 제조하여 토란슬라이스에 처리한 후 50°C 의 incubator에서 교반하면서 30분 동안 처리하였다. 효소처리한 토란을 칩 트레이에 담아 전자레인지에서 2450 MHz의 주파수로 700 W의 전력조건으로 마이크로웨이브를 4분~4분 30초 동안 처리하였다. 이를 60°C 의 열풍건조기에서 10분 동안 추가 건조를 하여 전자레인지 토란칩을 제조하였다.

2) 효소제 농도선정

Protease의 처리농도를 결정하기 위하여 토란 슬라이스에 protease를 각각 0.2, 0.5, 1.0, 1.5%의 농도로 제조하여 처리한 후 50°C 의 incubator에서 교반하면서 30분 동안 처리하였다. 효소처리한 토란을 칩 트레이에 담아 전자레인지에서 2450 MHz의 주파수로 700 W의 전력조건으로 마이크로웨이브를 4분 30초 동안 처리하였다. 이

를 60℃의 열풍건조기에서 10분 동안 추가 건조를 하여 전자레인지 토란칩을 제조하였다.

3) 말토덱스트린 처리

토란을 박피하여 protease를 1.0%의 농도로 제조하여 토란슬라이스에 처리한 후 말토덱스트린을 DE값별(DE 5, DE 10, DE 15~20)로 각각 5.0%의 농도로 제조하여 토란 슬라이스에 10분 동안 처리하였다. 이를 건져서 물기를 제거한 후 칩트레이에 담아 전자레인지에서 2450 MHz의 주파수로 700 W의 전력조건으로 마이크로웨이브를 4분 동안 처리하였다. 이를 60℃의 열풍건조기에서 10분 동안 건조를 하여 전자레인지 토란칩을 제조하였다.

4) 말토덱스트린 농도선정

토란을 박피하여 protease를 1.0%의 농도처리한 후 말토덱스트린(DE 15~20)을 각각 3.0, 5.0, 7.0, 10.0%로 제조하여 효소처리한 토란슬라이스에 10분 동안 처리하였다. 이를 건져서 물기를 제거한 후 칩트레이에 담아 전자레인지에서 2450 MHz의 주파수로 700 W의 전력조건으로 마이크로웨이브를 4분 동안 처리하였다. 이를 60℃의 열풍건조기에서 10분 동안 건조를 하여 전자레인지 토란칩을 제조하였다.

5) 마이크로웨이브 처리시간 선정

위에서 선정된 조건에 따라 1.0%의 protease 처리와 7.0%의 말토덱스트린(DE 15~20)에 침지한 토란을 칩트레이에 담아 전자레인지에서 2450 MHz의 주파수로 700 W의 전력조건으로 마이크로웨이브 처리하였다. 이때 마이크로웨이브 처리시간을 각각 3분-4분 30초 처리하여 최적의 처리시간을 선정하였다.

(4) 찐 토란

1) 예비가열 처리

레토르트 형태의 찐토란을 제조하기 위한 과정에서 예열처리에 따른 조직감 및 관능적 기호도를 비교하였다. 토란을 박피하여 예열처리 조건으로 무처리구, 75℃에서 30분, 85℃에서 30분, 95℃에서 30분의 조건으로 예열처리를 하였다. 이를 PE film에 넣어 진공포장한 후에 autoclave에 넣어 100℃에서 20분 동안 열처리 하였다(95℃, 30분 처리구는 제외). 열처리한 찐토란은 바로 10℃의 냉각수에 넣어 냉각하였다.

2) 침지액 처리-조미

토란을 박피한 후 단맛을 부여하기 위하여 40 Bx의 설탕, 포도당, 과당 및 올리고당에 침지하였다. 침지액의 온도는 75℃로 30분 동안 침지한 후 이를 건져내어 PE film에 넣어 진공포장한 후에 autoclave에 넣어 100℃에서 20분 동안 열처리 하였다. 또한 짠맛을 부여하기 위한 염수 조건으로 2%의 소금물, 2% 소금물과 5%의 설탕물 혼합용액, 4%의 소금물, 4%의 소금물과 5%의 설탕물 혼합용액에서 침지하였다. 침지액의 온도와 침지시간은 위와 같았다. 침지처리 후 이를 건져내어 PE film에 넣어 진공포장한 후 autoclave에 넣어 100℃에서 20분 동안 열처리 하였다.

3) 레토르트 열처리 조건

토란을 박피하여 침지액으로 선정된 올리고당 40 Bx와 4%의 소금물과 5%의 설탕물 혼합용액에서 75℃에서 30분 동안 침지하였다. 이를 위와 같이 진공포장한 후 autoclave에 넣어 열처리하였다. 이때의 조건으로 90, 100, 110, 120℃에서 각각 20분 동안 열처리를 한 후 10℃의 냉각수에 담아 이를 냉각한 후 분석을 행하였다.

(5) 가공제품 가공적성 검토

1) 조지방 함량 측정

토란칩의 조지방 함량은 지방 추출용 Soxhlet 장치를 이용하여 에테르 추출법으로 16시간 동안 추출하여 측정하였다.

2) 색도

색도는 색차계(Color QUEST II, Hunter Associates Laboratory Inc., Cambridge, MA, USA)를 이용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness/greenness), 황색도(b, yellowness/blueness)로 나타내었다. 이 때 표준 백색판의 L, a, b값은 100, 0, 0 이었다.

3) Water absorption index(WAI), solubility

시료 2 g을 50 mL cornical tube에 넣고 미리 30℃로 데운 증류수 30 mL를 넣어 30℃ water bath에서 10분과 20분에 교반해주면서 수화시킨 후 원심분리(3000rpm, 15분)하여 상층액을 다른 튜브에 옮기고 남아있는 튜브와 겔의 무게를 측정하여 아래의 식으로 WAI를 구하였고, 상층액 10 mL을 120℃에서 4 h 동안 건조하여 무게를 측정하여 solubility를 측정하였다.

4) 경도 측정

경도를 평가하기 위하여 Texture Analyser(TA.XTplus, Stable Micro Systems Ltd., England)를 사용하여 측정하였다. 시료의 중앙부위를 선택하여 측정하였으며 이때 얻어지는 force-distance curve로부터 경도(hardness)를 측정하였다. 한 시료 당 15회 반복 측정하여 평균치로 표시하였다.

5) 관능검사

관능 평가항목은 색, 맛, 향, 조직감의 기호도와 전체적 기호도를 평가하였으며 토란 flake는 증량에 뜨거운 물을 4배 섞어서 잘 혼합한 후 으갠 토란형태가 된 것으로 평가하였다. 평가항목은 색, 맛, 향, 질감의 기호도와 전체적 기호도를 특성 항목으로 9점 척도법(기호도는 9점법으로 매우 좋다-9점, 좋다-7점, 보통이다-5점, 싫다-3점, 매우 싫다-1점)으로 측정하였다. 관능검사요원은 10명을 선발하여 훈련하였으며 관능검사의 오류를 제거하기 위해 시료는 무작위로 순서를 정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 토란의 품종별 이화학적 특성 조사

(1) 일반성분

본 실험에서 사용된 품종별 토란분말의 일반성분을 측정한 결과는 Table 1-2와 같았다. 토란분말의 수분함량은 알토란이 52.74%로 가장 낮게 나타났으며 조생종과 재래종의 수분함량은 각각 10.16과 10.30%로 알토란에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 조단백 함량은 알토란과 재래종이 각각 11.41과 11.48%로 조생종에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 조지방 함량은 알토란이 2.30%로 조생종과 재래종에 비하여 높은 함량을 나타내었다. 세 품종의 토란 중에서 조생종은 조단백 및 조지방 함량이 가장 적은 것으로 분석되었다. 회분함량은 재래종이 6.92%로 가장 높았으며 조생종이 4.70%로 가장 낮게 나타났다. 토란의 일반성분에 대해 식품성분표에서 수분 83.2%, 조단백 2.5%, 조지방이 0.2%인 결과를 나타낸 바 있다. 본 실험에서 사용한 세 품종의 토란 중에서 알토란과 재래종의 경우 식품성분표에 비해 조단백이 4배 이상의 높은 것으로 나타났으며 조지방의 경우에도 세 품종 모두 이들보다 높은 것으로 나타나 단백질과 지방 함량이 우수한 것으로 사료된다.

Table 1-2. Proximate composition of taro flour according to cultivars

	(%, dry basis)		
	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Moisture	5.74±0.04 ^{1) b2)}	10.16±0.02 ^a	10.30±0.18 ^a
Crude protein	11.41±0.04 ^a	8.54±0.06 ^b	11.48±0.09 ^a
Crude lipid	2.30±0.08 ^a	0.96±0.01 ^b	0.99±0.04 ^b
Ash	5.85±0.01 ^b	4.70±0.01 ^c	6.92±0.01 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=2)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p < 0.05$)

(2) 아미노산 조성

토란의 품종별 아미노산 조성을 비교한 결과는 Table 1-3과 같았다. 토란으로 부터 총 17종의 아미노산이 검출되었으며 총 아미노산 함량은 알토란이 9,992.3 mg%로 가장 풍부하게 함유하였으며, 조생종 토란이 6,928.9 mg%로 가장 적게 함유하고 있었다. 3종의 토란 모두 aspartic acid와 glutamic acid가 차지하는 비율이 높았으며 전체 아미노산 함량의 약 30%를 차지하였다. 필수아미노산인 phenylalanine과 leucine등이 비교적 높게 나타난 반면, histidine과 threonine, methionine의 함량이 3종류의 품종 모두 적게 함유되어 있었다. 토란은 다른 식물성 단백질과 마찬가지로 histidine, threonine 및 methionine의 함량은 매우 낮아 토란의 제한 아미노산으로 나타났다고 보고한 바 있다. 필수아미노산은 알토란이 3,789.4 mg%로 총 아미노산의 38%로 차지할 정도로 높게 나타났으며 조생종과 재래종은 각각 2,538.7과 3,020.0 mg%로 알토란의 필수아미노산의 함량이 높아 영양면에서 우수한 풍부한 품종으로 사료된다.

Table 1-3. Amino acid composition of taro flour according to cultivars

	(mg%, dry basis)		
	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Aspartic acid	1,609.7	1,274.1	1,632.8
Serine	780.0	470.8	505.9
Glutamic acid	1,241.2	816.0	1,080.8
Glycine	568.9	288.3	522.1
Histidine	189.9	137.4	169.9
Threonine	433.1	327.7	363.8
Arginine	579.2	422.9	749.4
Alanine	413.0	334.0	372.6
Proline	416.4	307.9	398.8
Cystein	173.2	175.5	72.0
Tyrosine	421.3	300.7	295.3

Valine	571.1	386.8	468.5
Methionine	66.3	47.4	51.7
Lysine	489.2	343.9	396.9
Isoleucine	358.1	249.4	332.4
Leucine	1,045.3	571.6	690.7
Phenylalanine	636.4	474.5	546.1
Total	9,992.3	6,928.9	8,649.7

(3) 지방산 조성

품종별 토란의 지방산 조성은 Table 1-4에서 나타낸 바와 같이, 주된 지방산은 linoleic acid(46.5~51.4%), palmitic acid(21.7~25.8%) 및 oleic acid(12.3~18.7%)이었으며 불포화 지방산이 포화지방산보다 상대적으로 많이 함유되어 있었다. 품종별로 지방산 조성의 양에는 큰 차이를 보이지 않았으며 조생종의 경우 linoleic acid가 51.4%로 매우 높은 수준으로 함유하고 있었다.

Table 1-4. Fatty acid composition of taro flour according to cultivars

	(% lipid 100g)		
	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Palmitic acid(16:0)	21.7	25.2	25.8
Stearic acid(18:0)	4.3	2.5	2.8
Oleic acid(18:1)	18.7	12.3	15.5
Linoleic acid(18:2)	46.5	51.4	48.3
Linolenic acid(18:3)	8.8	8.6	7.6
Total	100.0	100.0	100.0

(4) 무기질 조성

품종별 토란분말의 무기질 함량은 Table 1-5와 같았다. 알토란, 조생종, 재래종 세 품종 모두 칼륨, 인, 마그네슘, 칼슘을 많이 함유하고 있었으며 그 중에서도 토란에 가장 풍부하게 존재하는 무기질은 칼륨으로, 알토란과 조생종의 칼륨함량은 전체 무기질 함량에 대해 약 84%정도를 함유하고 있었다. 인은 재래종이 778.61±9.72 mg%를 함유하여 알토란과 조생종이 각각 223.50±12.42 mg%와 215.77±4.73 mg%인 것에 비해 3배 높은 함량을 보였다. 마그네슘은 알토란과 재래종이 각각 127.75±7.18 mg%와 125.79±1.38 mg%로 나타났다. 재래종은 칼슘이 161.21±1.12 mg%, 나트륨이 39.41±2.17 mg%로 3종중 가장 높은 함량을 보였으며 철은 가장 소량 존재하는 무기질로 알토란이 7.60±0.31 mg%로 가장 높았다.

Table 1-5. Mineral composition of taro flour according to cultivars

	(mg%, dry basis)		
	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Ca	90.64±2.67 ^{1) b2)}	59.73±0.04 ^c	161.21±1.12 ^a
Fe	7.60±0.31 ^a	5.76±0.11 ^b	5.75±0.01 ^b
Na	16.77±1.22 ^b	15.76±0.93 ^b	39.41±2.17 ^a
Mg	127.75±7.18 ^a	92.70±0.61 ^b	125.79±1.38 ^a
P	223.50±12.42 ^b	215.77±4.73 ^b	778.61±9.72 ^a
K	2,432.22±15.68 ^{ab}	2,132.40±4.81 ^b	2,783.32±202.18 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=2)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p < 0.05$)

(5) 유리당 함량

품종별 토란분말의 유리당 함량을 측정된 결과(Table 1-6), 토란의 주요 당 성분은 glucose, fructose 및 sucrose이었으며 그 중 sucrose의 함량이 가장 많았다. Sucrose의 경우 토란에서 많은 양을 차지하나 대부분의 근채류에서 전분-sucrose의 전환이 수확 후 중요한 대사료, 전환정도는 저장조건에 따라 달라진다. 알토란의 경우, fructose는 1.28±0.01%, glucose가 1.05±0.09%, sucrose가 2.36±0.01%로 다른 품종에 비해 높은 유리당 함량을 나타낸 반면, 재래종은 fructose는 0.73±0.07%, glucose는 0.51±0.04%로 가장 낮은 유리당 함량을 나타냈다.

Table 1-6. Free sugar composition of taro flour according to cultivars

	(% , dry basis)		
	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Fructose	1.28±0.01 ^{1) a2)}	1.12±0.06 ^a	0.73±0.07 ^b
Glucose	1.05±0.09 ^a	0.94±0.01 ^a	0.51±0.04 ^b
Sucrose	2.36±0.01 ^a	1.68±0.13 ^b	2.09±0.15 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=2)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p < 0.05$)

(6) 전분, 식이섬유 및 비타민 C함량

토란의 품종별 전분, 식이섬유 및 비타민 C함량을 비교한 결과는 Table 1-7과 같았다. 전분함량은 조생종 토란이 56.04%로, 알토란과 재래종이 약 49%정도인 것에 비해 유의적으로 높은 함량을 나타내었다. 식이섬유 함량은 알토란이 17.60%로 다른 두 품종에 비해 높았으며 조생종이 12.97%로 가장 적게 나타났다. 감자와 고구마의 식이섬유 함량이 각각 5.72와 8.78%인 것에 비해 토란의 식이섬유 함량이

월등히 높은 것을 알 수 있었다. 토란분말의 비타민 C 함량은 알토란은 30.55 mg%(fresh weight 기준으로 5.41 mg%), 조생종이 31.61 mg%(fresh weight 기준으로 6.74 mg%) 및 재래종이 39.49 mg%(fresh weight 기준으로 6.72 mg%)를 함유하고 있었다.

Table 1-7. Total starch, dietary fiber and vitamin C composition of taro flour according to cultivars

	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Total starch(% , dry basis)	49.48±0.56 ^{1)b2)}	56.04±0.38 ^a	49.46±0.14 ^b
Dietary fiber(% , dry basis)	17.60±0.06 ^a	12.97±0.36 ^c	14.28±0.01 ^b
Vitamin C (mg% , dry basis)	30.55±0.07 ^a	31.61±5.67 ^a	39.49±0.95 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$)

(7) 수분 흡수지수 및 용해지수

품종별 토란분말의 수분흡수지수와 수분용해지수는 Table 1-8에 나타내었다. 일반적으로 선식이나 breakfast cereal 등은 주스나 우유 등을 첨가해서 먹기 때문에 이러한 점에서 분말의 수분흡수지수와 용해지수는 중요한 가공적성 요인으로 알려져 있다. 수분 흡수지수는 재래종 토란분말이 4.12±0.28로 상당히 높았으며, 이것은 전분 입자내의 비결정성 부분에 영향을 받아 전분입자의 비결정성 부분이 많거나 전분입자의 치밀도가 낮으면 수분 흡수도가 큰 것으로 알려져 있다. 알토란과 조생종 토란분말의 경우 수분흡수지수는 유의적 차이를 나타내지 않았다.

수분용해지수는 알토란 분말이 31.05%로 가장 높은 수치를 나타내었으며 조생종과 재래종 분말은 각각 21.18과 20.88%로 큰 차이를 나타내지 않았다.

Table 1-8. Water absorption index and water solubility index of taro flour according to cultivars

	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Water absorption index (WAI)	2.72±0.01 ^{1)b2)}	2.40±0.05 ^b	4.12±0.28 ^a
Water solubility index (WSI, %)	31.05±0.47 ^a	21.18±0.25 ^b	20.88±0.42 ^b

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$)

(8) DSC

DSC를 이용하여 측정된 토란분말의 열역학적 특성으로(Table 1-9), 세 시료 모두 일정한 엔탈피를 갖는 1개의 흡열반응 곡선을 나타내었다. 품종에 따른 토란분말의 호화개시온도(T_o)는 알토란 분말의 경우 89.04°C, 조생종 토란분말은 89.91°C로 두 품종간의 차이는 없었으나 재래종 토란분말은 84.98°C로 호화가 시작되는 온도가 다른 품종에 비해 낮게 나타났다. 호화최대온도(T_p)는 알토란과 조생종 품종은 각각 93.75와 93.40°C로 큰 차이를 보이지 않았으나 재래종 토란의 경우 90.60°C로 낮은 호화온도를 나타내어 호화개시온도에서와 유사한 경향을 나타내었다. 엔탈피의 크기는 입자 내 전분분자의 질서정도를 반영하는데 호화엔탈피는 알토란이 7.59 J/g, 조생종이 7.06 J/g인 것에 비해 재래종은 10.28 J/g로 높게 나타나 재래종의 경우 전분 입자가 호화되는데 저항을 더 가지며, 전분구조를 무정형으로 하는데 많은 에너지가 필요함을 나타내었다. 토란 분말은 토란전분에 비하여 높은 호화개시온도를 보이는데 이는 토란 분말 중에 존재하는 점액질에 기인한다고 보고된 바 있다.

Table 1-9. DSC characteristics of taro flour according to cultivars

	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
T_o ¹⁾ (°C)	89.04±0.95 ^{4)a5)}	89.91±0.07 ^a	84.98±0.52 ^b
T_p ²⁾ (°C)	93.75±0.76 ^a	93.40±1.64 ^a	90.60±1.08 ^a
ΔH ³⁾ (J/g)	7.59±0.88 ^a	7.06±1.97 ^a	10.28±3.00 ^a

¹⁾ T_o :onsettemperature

²⁾ T_p :peaktemperature

³⁾ ΔH :enthalpy

⁴⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

⁵⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$)

(9) RVA

품종별 토란분말의 RVA 특성을 조사한 결과는 다음과 같았다(Table 1-10). 호화개시온도란 RVA pasting curve에서 온도가 증가함에 따라 처음으로 점도가 증가하기 시작하는 점에서의 온도로, 본 연구에서 사용된 토란 3품종은 46.77~49.30°C의 범위를 가지는 것으로 나타났다. 호화 개시 온도는 아밀로스 함량 및 무정형부분에서의 분자간의 회합정도 등이 영향을 미치는데 전분 입자구조가 치밀할수록 느리게 팽윤되어 높은 호화 온도를 갖게 된다고 알려져 있다. 알토란 분말의 최고 점도는 1,574.00 cP로 나타났으며, 조생종과 재래종은 2,937.00 cP와 2,881.50 cP로 알

토란보다 유의적으로 높은 최고 점도를 나타내었다. 최종점도는 조생종이 4,638.00 cP로 가장 높게 나타난 반면, 알토란은 3,466.00 cP로 가장 낮게 나타났다. Breakdown은 95℃에서 50℃로 냉각시킬 때 전분입자가 깨어지는 정도를 나타낸 것으로, 조생종이 1,691.50 cP로 가장 높게 나타났고 알토란이 839.00 cP로 낮게 나타났다. Setback은 냉각 후에 점도가 상승하는 정도로 재배열에 의한 노화현상을 나타내는데, 조생종이 3,392.50 cP로 높게 나타났고 알토란과 재래종은 유의적 차이를 나타내지 않았다. 또한 보통의 전분 amylograph의 특성이 95℃ 이전에는 최고점도에 도달하다가 15분 holding하는 동안 점도가 감소하는 양상과 다르게 토란전분은 95℃ holding 하는 동안에도 점도가 상승하여 최고 점도에 이르는 graph의 특성을 나타낸다고 보고하였으며 본 실험에서 사용된 3종의 토란 모두 비슷한 graph 형태를 나타내었다.

Table 1-10. RVA pasting properties of taro flour according to cultivars

	Altoran	Josaengjong	Jaeraejong
Pasting temp.(℃)	49.30±1.41 ^{1)a2)}	46.77±0.34 ^b	49.00±0.39 ^a
Peak viscosity(cP)	1,574.00±304.06 ^b	2,937.00±138.59 ^a	2,881.50±48.79 ^a
Through viscosity(cP)	735.00±8.49 ^c	1,245.50±89.80 ^b	1,895.00±39.60 ^a
Final viscosity(cP)	3,466.00±206.48 ^c	4,638.00±26.87 ^a	4,178.50±85.56 ^b
Breakdown	839.00±295.57 ^b	1691.50±48.79 ^a	986.50±9.19 ^b
Setback	2,731.00±197.99 ^b	3,392.50±62.93 ^a	2,283.50±45.96 ^b

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$)

(10) 색도

품종별 토란분말의 색도는 Table 1-11과 같았다. 분말의 백색도인 L값은 알토란, 조생종 및 재래종이 각각 92.76, 93.75 및 92.68로 큰 차이를 보이지 않았다. 적색도는 3가지 품종 모두 낮은 수치를 보였으며, 황색도를 나타내는 b값은 조생종이 8.05인 반면 재래종이 10.29로 상대적으로 높아 차이를 나타냈다.

Table 1-11. Hunter color values of taro flour according to cultivars

	Color(L, a, b)		
	L	a	b
Altoran	92.76±0.03 ^{1)a2)}	-1.07±0.01 ^a	9.09±0.03 ^b
Josaengjong	93.75±0.07 ^a	-1.27±0.02 ^a	8.05±0.05 ^b
Jaeraejong	92.68±0.02 ^a	-1.17±0.01 ^a	10.29±0.10 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p<0.05$)

나. 토란분말의 가공적성 검토

(1) 건조방법에 따른 분말특성 변화

(가) 색도

토란의 분말화 건조방법에 따른 색도의 변화를 Table 1-12에 나타내었다. L값(명도)은 40℃에서 열풍건조시 90.95, 60℃에서 열풍건조시 90.93, 80℃에서 열풍건조시 89.37로 건조온도가 높아질수록 점차 낮아지는 경향을 보이나 그 차이는 미미하였고 동결건조한 토란분말의 L값이 92.76으로 가장 높게 나타났다. b값(황색도)은 열풍건조의 온도가 높아질수록 8.10에서 10.55까지 점차 증가하였고 토란 분말이 가열에 의해 갈변현상이 일어나 L값은 감소하고 a값과 b값이 증가하는 것으로 생각되었다.

Table 1-12. The effects of drying method on Hunter's color value and moisture content of taro flours

	L ¹⁾	a ²⁾	b ³⁾	ΔE
40℃ hot-air drying	90.95	-0.43	8.10	8.04
60℃ hot-air drying	90.93	-0.49	8.50	8.34
80℃ hot-air drying	89.37	-0.17	10.55	10.85
freeze drying	92.76	-1.07	9.09	7.95

¹⁾L: Degree of lightness (white +100 ↔ 0 black)

²⁾a: Degree of redness (red +100 ↔ -80 green)

³⁾b: Degree of yellowness (yellow +70 ↔ -80 blue)

(나) 수분 함량 및 비타민 C 함량

토란의 분말화 건조방법에 따른 수분함량과 비타민 C의 함량은 Table 1-13과 같았다. 토란 분말의 수분함량은 40℃에서 열풍건조시 7.46%, 60℃에서 열풍건조시 6.13%, 80℃에서 열풍건조시 5.61%를 나타내며 건조온도가 높아질수록 수분함량이 점차 감소하였고 동결건조한 토란분말은 5.74%의 비교적 낮은 수분함량을 나타내었다. 비타민 C의 함량은 동결건조한 토란분말이 30.65 mg%로 가장 높았으며 40℃에

서 열풍건조한 토란분말의 비타민 C는 6.46 mg%, 60℃에서 열풍건조시에는 6.26 mg%, 80℃에서 열풍건조시에는 5.04 mg%로 건조온도가 높을수록 비타민 C의 함량이 점차 감소하며 건조시 열에 의해 비타민 C가 손실되는 것으로 생각된다.

Table 1-13. The effects of drying method on Vitamin C contents of taro flours

	Moisture(%)	Vit.C(mg%)
40℃ hot-air drying	7.46±0.63 ^a	6.46±0.10 ^{1) b2)}
60℃ hot-air drying	6.13±0.56 ^b	6.26±1.51 ^b
80℃ hot-air drying	5.61±0.09 ^b	5.04±1.39 ^b
freeze drying	5.74±0.04 ^b	30.55±0.07 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different (p<0.05)

(다) 식이섬유 함량

토란분말의 건조방법에 따른 식이섬유 함량의 변화를 측정된 결과(Table 1-14), 40℃ 열풍건조한 토란분말이 26.13±0.49 g/100g dry basis로 가장 높았고 60℃에서 열풍건조한 토란의 식이섬유는 18.35±0.56 g/100g dry basis, 80℃에서 열풍건조한 토란의 식이섬유는 17.25±0.31 g/100g dry basis로 나타나며 건조 온도가 높아질수록 식이섬유의 함량이 점차 감소하였다. 동결건조한 토란분말은 17.60±0.06 g/100g dry basis의 식이섬유를 함유하였다.

Table 1-14. The effects of drying method on total dietary fiber of taro flours

	Total dietary fiber (g/100g dry basis)
40℃ hot-air drying	26.13±0.49 ^{1) a2)}
60℃ hot-air drying	18.35±0.56 ^b
80℃ hot-air drying	17.25±0.31 ^b
freeze drying	17.60±0.06 ^b

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different (p<0.05)

(라) 수분흡수지수(WAI) 및 수분용해지수(WSI)

건조방법을 달리하여 제조한 토란분말의 수분흡수지수(WAI) 및 수분용해지수(WSI)를 측정하였다(Table 1-15). 40℃에서 열풍건조한 토란분말의 수분흡수지수는 2.50±0.09인데 비해 60℃와 80℃에서 열풍건조한 토란분말의 수분흡수지수는 3.66±0.08과 3.41±0.11로 나타나며 건조온도가 높을수록 수분흡수지수가 높아지는 경향을 보였다. 이와 달리 수분용해지수는 건조온도가 높아질수록 26.84%에서

21.24%로 감소하였고 동결건조한 토란분말은 31.05%로 가장 높은 수치를 나타내었다.

Table 1-15. The effects of drying method on Water Absorption Index(WAI) and Water Solubility Index(WSI) of taro flours

	WAI	WSI(%)
40°C hot-air drying	2.50±0.09 ^{1)c2)}	26.84±0.66 ^b
60°C hot-air drying	3.66±0.08 ^a	23.56±0.27 ^c
80°C hot-air drying	3.41±0.11 ^b	21.24±0.01 ^d
freeze drying	2.72±0.01 ^c	31.05±0.47 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$)

(마) DSC

토란분말의 호화 중 열역학적 특성을 알아보기 위하여 DSC를 이용하여 측정한 결과(Table 1-16), 40°C에서 열풍건조한 토란분말의 호화개시온도(T_o)는 88.90°C, 60°C에서 열풍건조한 토란분말은 87.76°C, 80°C에서 열풍건조한 토란분말은 88.66°C, 동결건조한 토란분말은 89.06°C로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 최대호화온도(T_p)는 40°C에서 열풍건조시 95.58°C, 60°C에서 열풍건조시 93.38°C, 80°C에서 열풍건조시 94.31°C, 동결건조시 93.75°C로 시료간의 유의적인 차이가 없었다. 호화엔탈피(ΔH)는 40°C와 80°C에서 열풍건조한 토란분말이 각각 13.44±4.93 J/g과 11.38±0.05 J/g이고 동결건조한 토란분말은 7.59±0.88 J/g으로 가장 낮은 값을 나타내었으나 건조방법에 의한 유의성은 보이지 않았다. 따라서 40°C, 60°C, 80°C의 열풍건조 및 동결건조와 같은 분말화 건조방법은 토란분말의 열역학적 특성에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

Table 1-16. The effects of drying method on DSC (Difference scanning calorimetry) characteristics of taro flours

	T_o ¹⁾ (°C)	T_p ²⁾ (°C)	ΔH ³⁾ (J/g)
40°C hot-air drying	88.90±0.93 ^{4)a5)}	95.58±1.44 ^a	13.44±4.93 ^a
60°C hot-air drying	87.76±0.89 ^a	93.38±0.73 ^a	9.46±0.47 ^a
80°C hot-air drying	88.66±0.18 ^a	94.31±0.12 ^a	11.38±0.05 ^a
freeze drying	89.04±0.95 ^a	93.75±0.76 ^a	7.59±0.88 ^a

¹⁾ T_o :onsettemperature

²⁾ T_p :peaktemperature

³⁾ ΔH :enthalpy

⁴⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

⁵⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$)

(바) RVA

건조방법을 달리한 토란분말의 RVA 특성을 조사한 결과는 Table 1-17과 같았다. Pasting temperature는 40℃에서 열풍건조한 토란분말은 52.30±0.28℃, 60℃에서 열풍건조한 토란분말은 51.15±0.07℃, 80℃에서 열풍건조한 토란분말은 46.65±0.35℃로 건조온도가 높아질수록 점차 낮아졌고 동결건조한 토란분말과도 유의적인 차이를 나타내었다. 최고점도(peak viscosity)는 열풍건조 온도가 높아질수록 1279±4.24 cP에서 1896±32.53 cP로 증가하였으며 60℃와 80℃에서 열풍건조한 토란분말이 동결건조한 토란분말보다 더 높게 나타났다. 최저점도(through viscosity)와 최종점도(final viscosity)도 이와 같은 경향을 나타내었다. 냉각 중 전분입자가 붕괴되기 쉬운 정도를 나타내는 breakdown과 냉각 후 노화의 정도를 나타내는 setback은 동결건조한 토란분말에서 가장 높게 나타났다.

Table 1-17. The effects of drying method on RVA(Rapid visco-analyzer) pasting properties of taro flours

	40℃ hot-air drying	60℃ hot-air drying	80℃ hot-air drying	freeze drying
Pasting temp.(℃)	52.30±0.28 ^a	51.15±0.07 ^{ab}	46.65±0.35 ^c	49.30±1.41 ^b
Peak viscosity(cP)	1279.00±4.24 ^b	1640.50±105.36 ^{ab}	1896.00±32.53 ^a	1574.00±304.06 ^{ab}
Through viscosity(cP)	752.00±18.38 ^b	886.00±155.56 ^b	1271.50±51.62 ^a	735.00±8.49 ^b
Final viscosity(cP)	2398.00±8.49 ^c	2946.50±40.31 ^b	3315.50±37.48 ^a	3466.00±206.48 ^a
Breakdown	527.00±14.14 ^a	754.50±50.20 ^a	624.50±19.09 ^a	839.00±295.57 ^a
Setback	1646.00±26.87 ^c	2060.50±115.26 ^b	2044.00±89.10 ^b	2731.00±197.99 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p < 0.05$)

(2) 볶음 및 증자 처리에 따른 분말특성 변화

(가) 색도

볶음 처리와 증자처리에 의한 토란분말의 색도변화를 측정된 결과는 Table 1-18에 나타내었다. 150℃에서 볶음 처리한 토란의 L값은 84.78, 180℃에서 볶음 처리한 토란은 77.97, 210℃에서 볶음 처리한 토란은 70.36이었다. 볶음 처리 온도가 높을수록 토란분말의 명도는 감소하며 a값(적색도)과 b값(황색도)은 증가하였다. 또한 95℃에서 30분 동안 상압증자한 토란분말의 L값은 84.03, 121℃에서 가압증자한 토란분말의 L값은 81.38으로 가압증자한 토란분말이 상압증자한 토란분말보다 L값은 더 낮고 b값은 더 높았다. 볶음처리군과 증자처리군 모두 무처리군의 L값(90.93)에 비해 상당히 낮은 L값을 나타내며 볶음처리와 증자처리에 의해 토란의 갈변이 일어난 것으로 생각된다.

Table 1-18. The Hunter's color value of taro flours prepared with different roasting and steaming conditions

	L ¹⁾	a ²⁾	b ³⁾	ΔE
roasted at 150°C	84.78	1.72	12.54	15.74
roasted at 180°C	77.97	3.04	15.28	23.36
roasted at 210°C	70.36	4.07	15.75	31.05
steamed 30 min at 95°C	84.03	-0.73	5.97	13.48
steamed 15 min at 121°C	81.38	-0.17	8.38	17.16
steamed 30 min at 121°C	81.38	-0.12	9.52	17.54

1)L: Degree of lightness (white +100 ↔ 0 black)

2)a: Degree of redness (red +100 ↔ -80 green)

3)b: Degree of yellowness (yellow +70 ↔ -80 blue)

(나) 식이섬유

볶음 또는 증자 처리에 의한 토란분말의 식이섬유 함량의 변화를 측정된 결과 (Table 1-19), 모든 처리구의 식이섬유 함량이 볶음이나 증자처리를 하지 않은 토란분말의 식이섬유 함량(18.35±0.56 g/100g dry basis)보다 낮게 나타났다. 180°C에서 볶음한 토란 분말의 식이섬유 함량은 14.86±0.13 g/100g dry basis로 150°C에서 볶음처리한 토란의 13.61±0.03 g/100g dry basis와 210°C에서 볶음처리한 토란의 13.57±0.04 g/100g dry basis보다 약간 높게 나타났으나 큰 유의적 차이는 보이지 않았다. 마찬가지로 증자 처리구에서도 상압증자의 경우 15.21±0.02 g/100g dry basis, 가압증자한 토란은 15.42±0.06 g/100g dry basis와 15.96±0.02 g/100g dry basis의 식이섬유 함량을 나타내었고 가압조건과 시간에 따라서는 토란분말의 식이섬유 함량이 유의적 차이가 없었다. 그러나 볶음 처리한 토란분말의 식이섬유 함량은 증자처리한 토란의 식이섬유 함량에 비하여 유의적으로 낮은 값을 나타내어 볶음 처리에 의한 식이섬유의 감소를 관찰할 수 있었다.

Table 1-19. The total dietary fiber of taro flours prepared with different roasting and steaming conditions

	Total dietary fiber (g/100g dry basis)
roasted at 150°C	13.61±0.03 ^{1)d2)}
roasted at 180°C	14.86±0.13 ^e
roasted at 210°C	13.57±0.04 ^d
steamed 30 min at 95°C	15.21±0.02 ^b
steamed 15 min at 121°C	15.42±0.06 ^b
steamed 30 min at 121°C	15.96±0.02 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different (p<0.05)

(다) 수분흡수지수(WAI) 및 수분용해지수(WSI)

볶음처리 또는 증자 처리에 의한 토란분말의 수분흡수지수와 수분용해지수는 Table 1-20과 같았다. 150℃에서 볶음처리한 토란분말의 수분흡수지수는 3.04±0.10, 180℃에서 볶음처리한 토란분말은 3.78±0.04, 210℃에서 볶음처리한 토란분말은 3.61±0.01이었다. 볶음처리를 하지 않은 토란분말의 수분흡수지수는 3.66±0.08로 큰 차이를 보이지 않았다. 증자처리를 한 토란분말의 수분흡수지수는 4.40~4.99로 볶음처리를 한 토란분말보다 높았으며 증자 과정을 거치면서 분말의 내부치밀도가 낮아져 수분흡수지수가 증가한 것으로 생각된다. 또한 식이섬유의 함량이 높을수록 수분보유능력이 커지므로 볶음 처리군보다 증자처리군의 수분흡수지수가 더 높게 나타났다. 수분용해지수는 볶음처리한 토란분말과 증자처리한 토란분말이 큰 차이는 나지 않았으나, 볶음처리나 증자처리를 하지 않은 토란분말(23.56) 보다는 현저히 낮은 값을 나타내었다.

Table 1-20. The Water Absorption Index(WAI) and Water Solubility Index(WSI) of taro flours prepared with different roasting and steaming conditions

	WAI	WSI(%)
roasted at 150℃	3.04±0.10 ¹⁾²⁾	8.60±0.24 ^a
roasted at 180℃	3.78±0.04 ^d	6.96±0.02 ^c
roasted at 210℃	3.61±0.01 ^e	6.05±0.01 ^d
steamed 30 min at 95℃	4.99±0.07 ^a	7.89±0.42 ^{ab}
steamed 15 min at 121℃	4.40±0.03 ^c	7.34±0.15 ^{bc}
steamed 30 min at 121℃	4.69±0.08 ^b	8.24±0.58 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different (p<0.05)

(라) DSC

볶음처리 또는 증자 처리에 따른 토란분말의 열역학적 특성은 DSC를 이용하여 측정하였다(Table 1-21). 150℃에서 볶음처리한 토란분말의 호화개시온도(T_0)는 85.40℃, 180℃에서 볶음처리한 토란분말은 83.57℃, 210℃에서 볶음처리한 토란분말은 77.43℃로 나타나며 볶음처리 온도가 높아질수록 호화개시온도가 낮아지는 경향을 나타내었다. 최대호화온도(T_p)도 볶음처리 온도가 증가함에 따라 92.70℃, 89.92℃, 85.70℃로 감소하였다. 호화엔탈피(ΔH)의 변화는 150℃와 210℃에서 볶음처리한 토란분말에서 11.78 J/g과 12.00 J/g로 180℃에서 볶음처리한 토란분말(9.29 J/g)보다 높게 나타났으나 유의적 차이는 없었다. 볶음처리 후 열풍건조 과정을 거친 토란분말은 모두 일정한 엔탈피를 갖는 흡열반응 곡선을 나타내는 반면 증자처리를 하여 건조시킨

토란분말은 호화개시온도와 최대호화온도 및 엔탈피를 갖지 않는 곡선으로 나타났다.

Table 1-21. The DSC (Difference scanning calorimetry) characteristics of taro flours prepared with different roasting and steaming conditions

	T_o ¹⁾ (°C)	T_p ²⁾ (°C)	ΔH ³⁾ (J/g)
roasted at 150°C	85.40±0.43 ^{4)a5)}	92.70±0.01 ^a	11.78±0.55 ^a
roasted at 180°C	83.57±0.05 ^b	89.92±0.60 ^b	9.29±1.03 ^a
roasted at 210°C	77.43±0.54 ^c	85.70±0.13 ^c	12.00±2.76 ^a
steamed 30 min at 95°C	n.d. ⁶⁾	n.d.	n.d.
steamed 15 min at 121°C	n.d.	n.d.	n.d.
steamed 30 min at 121°C	n.d.	n.d.	n.d.

¹⁾ T_o : onset temperature

²⁾ T_p : peak temperature

³⁾ ΔH : enthalpy

⁴⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

⁵⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p < 0.05$)

⁶⁾n.d.: not detected

(마) RVA

볶음처리 또는 증자처리에 따른 토란분말의 RVA 특성을 조사한 결과(Table 1-22), Pasting temperature는 150°C에서 볶음처리한 토란분말이 46.05±0.07°C, 180°C에서 볶음처리한 토란분말은 47.8±0.42°C, 210°C에서 볶음처리한 토란분말은 48.6±0.57°C로 볶음처리 온도가 높아질수록 점차 증가하였다. 또한 최고점도(peak viscosity)와 최저점도(through viscosity) 및 최종점도(final viscosity)는 볶음처리 온도가 증가할수록 점차 감소하였다. 180°C와 210°C에서 볶음처리를 하는 경우에는 그 감소폭이 매우 크게 나타나며 150°C에서 볶음처리한 토란분말과 유의한 차이를 보였고 볶음처리를 하지 않은 토란분말보다는 현저히 낮은 값을 나타내었다. 냉각 중 전분입자가 붕괴되기 쉬운 정도를 나타내는 breakdown과 냉각 후 노화의 정도를 나타내는 setback도 볶음 온도가 높아질수록 감소하였다. 증자처리를 하여 건조시킨 토란분말은 호화개시온도가 나타나지 않았다.

Table 1-22. The RVA (Rapid visco-analyzer) pasting properties of taro flours prepared with different roasting and steaming conditions

	roasted at 150°C	roasted at 180°C	Roasted at 210°C	steamed 30 min at 95°C	steamed 15 min at 121°C	steamed 30 min at 121°C
Pasting temp.(°C)	46.05±0.07 ^{1) b2)}	47.80±0.42 ^b	48.60±0.57 ^a	n.d. ³⁾	n.d.	n.d.
Peak viscosity(cP)	698.50±72.83 ^c	107.00±0.01 ^d	42.50±0.71 ^d	1978.00±255.97 ^a	1740.50±55.86 ^a	1456.00±46.67 ^b
Through viscosity(cP)	572.50±58.69 ^c	99.00±0.01 ^d	40.00±1.41 ^d	1488.00±137.18 ^a	1431.00±65.05 ^a	1036.50±38.89 ^b
Final viscosity(cP)	1304.50±118.09 ^b	220.00±2.83 ^c	61.50±0.71 ^c	1857.00±173.95 ^a	1799.50±70.00 ^a	1329.50±45.96 ^b
Breakdown	126.00±14.14 ^c	8.00±0.01 ^c	2.50±0.71 ^c	490.00±118.79 ^a	309.50±9.19 ^b	419.50±7.78 ^{ab}
Setback	732.00±59.40 ^a	121.00±2.83 ^d	21.50±0.71 ^c	369.00±36.77 ^b	368.50±4.95 ^b	293.00±7.07 ^c

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different (p<0.05)

³⁾n.d.: not detected

다. 토란의 아린맛 제거 조건 검토

(1) Calcium Oxalate 함량

아린맛은 떫은맛과 쓴맛이 혼합하여 나타나는 불쾌한 맛으로 죽순, 고사리, 우영, 토란 등에서 볼 수 있는 맛으로 아린맛을 제거하기 위해서 물에 담그거나 데친다. 아린맛 성분은 무기염류(Ca, K, Mg), 배당체, 유기산(oxalate), alkaloid(tannin) 등이다. Oxalate는 식물계에 널리 분포하고 있는데, Na⁺, K⁺과 NH₄⁺ 등의 수용성 이온들과 결합되어 있는 soluble oxalate와 Ca²⁺, Mg²⁺과 Fe²⁺등의 무기질과 결합되어 있는 insoluble oxalate 형태로 존재하며, 이를 합하여 total oxalate의 함량으로 나타낸다. 옥살산칼슘(calcium oxalate)은 Ca과 같은 무기질의 흡수를 방해할 뿐 아니라 옥살산칼슘이 결정화 되면서 신장 결석을 유도시킬 수 있기 때문에 인체에 유해한 물질로 알려져 있다. 토란의 아린맛 제거 조건을 검토하기 위하여 품종별 및 전처리별 total oxalate, water soluble oxalate 및 calcium oxalate의 함량을 비교하였다(Fig. 1-3). 토란의 품종별로 total oxalate함량은 재래종이 1098.97 mg/ 100g dry basis로 가장 높았으며 그 중 water soluble oxalate 함량이 749.54 mg/ 100g dry basis로 알토란과 조생종 토란에 비해 높게 나타났다. 이들의 calcium oxalate 함량은 알토란이 약간 높았으나 큰 차이를 보이지 않았다. 건조조건에 따라서는 동결건조한 토란분말이 857.93 mg/100g dry basis로 가장 높게 나타났으며 특히

calcium oxalate의 함량이 열풍건조한 토란에 비하여 높게 나타났다. 40-60℃의 열풍건조 온도에 따라서 total oxalate, water soluble oxalate 및 calcium oxalate의 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 토란을 상압증자 및 가압증자시 total oxalate 함량은 747.73-834.45 mg/100g dry basis로 열풍건조 했을 때 보다 높게 나타났다. 또한 토란을 열풍건조하여 이를 볶음처리하였을 때 볶음 온도가 150℃에서 210℃로 증가함에 따라 total oxalate(874.70-993.54 mg/100g dry basis)의 양은 크게 증가하였으며 대부분 water soluble oxalate가 차지하였다. 또한 토란을 100℃의 끓는 물에 넣어 15분 및 30분 동안 끓였을 때 total oxalate의 함량은 각각 333.78 및 292.87 mg/100g dry basis로 가장 낮게 나타났다. 토란을 물, 1% 소금물 및 5%의 소금물에 수침한 후에 oxalate의 함량을 측정한 결과, 418.38-456.34 mg/100g dry basis로 나타났다. 토란을 물이나 소금물에 수침하거나 물에 끓였을 때 oxalate의 함량이 급격하게 감소하였고 특히 calcium oxalate의 감소에 큰 효과가 있는 것으로 나타났다.

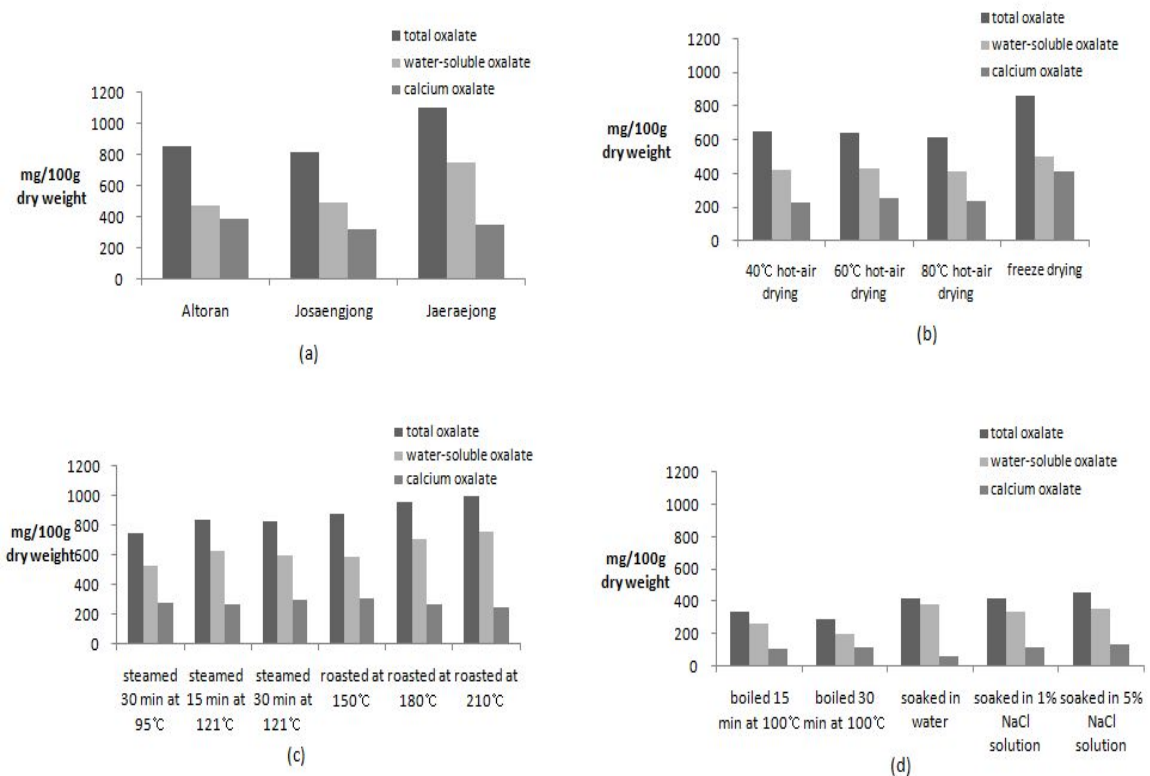


Fig. 1-3. 토란의 품종별 및 전처리별 total oxalate, water-soluble oxalate 및 calcium oxalate 함량; (a) 품종별, (b) 건조조건, (c) 증자 및 볶음조건, (d) 수침조건.

(2) 호모젠티신산(homogentisic acid) 함량

품종별 토란의 호모젠티신산 함량을 측정한 결과(Fig. 1-4), 알토란은 173.14 ± 7.11 mg/100g dry weight, 조생종은 177.58 ± 3.43 mg/100g dry weight, 재래종은 155.76 ± 10.84 mg/100g dry weight으로 나타나며 세가지 품종 간에 유의적 차이는 나타나지 않았다.

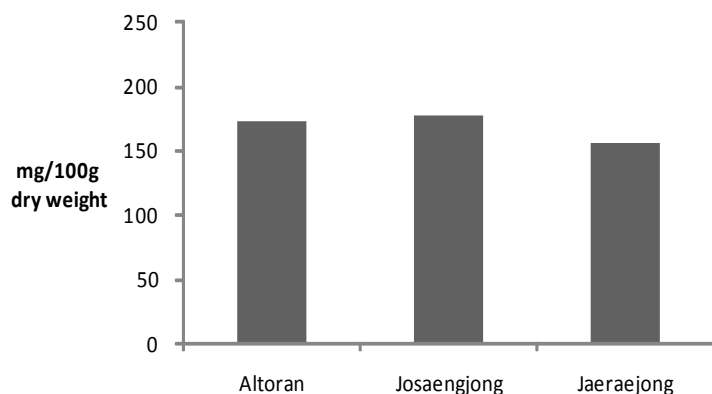


Fig. 1-4. 품종에 따른 토란분말의 Homogentisic acid 함량 측정.

라. 고부가가치 가공제품 제조기술 개발

(1) 유동식형 환자식 제품개발

(가) 가다랑이 추출액 베이스 죽제품의 배합비 및 특성

토란 죽제품 개발을 위한 기준 배합을 설정하기 위하여 곡류 등 기본 원료를 선정하였다. 이를 여러 가지 배합 비율로 혼합하여 물성 및 관능검사를 통하여 배합 비를 조정 하면서 최적의 배합 비를 설정하고자 하였다. 가다랑이 추출액을 베이스로 한 토란 죽의 최종 배합비는 Table 1-23과 같았다. 세절토란을 사용하고 쌀을 주 곡물원으로 하여 제조한 배합 A의 제품은 살균후 포장하였을 때 곡류의 형태가 허물어지고 물성이 선호되지 않는 단점이 있었다. 곡립이 살균조건에도 유지될 수 있는 곡물로 수수, 울무, 기장을 도입하였을 때 전체적인 물성 선호도가 증가하였다. 짠맛을 부여하기 위하여 간장분말을 사용하였으며 가장 적절한 함량은 4 g으로 결정되었다. 고소한 맛을 부여하기 위하여 깨소금을 배합하는 시도를 하였으나 이는 선호도가 낮았다. 따라서 가다랑이 베이스 토란죽의 최적 배합비는 E로 결정하였다.

Table 1-23. 죽제품의 배합비 및 특성

원료	A	B	C	D	E
세절 토란	100	100	100	100	75
쌀	100	100	100	100	75
수수	-	20	20	20	20
율무	-	-	50	50	50
기장	-	20	20	20	20
분말간장	1.8	1.8	4	5.3	4
깨소금	-	-	-	3	-
가다랑이 추출액*	600	600	600	800	600
선풀도	3.67	4.13	5.67	5.33	6.13

*가다랑이 추출액은 가다랑이 100g, 다시마 100g을 물 2L에 넣고 가열하여 충분히 우려낸 후 부직포로 여과하여 제조하였다.

(나) 닭발 추출액 베이스 죽제품의 배합비 및 특성

일본 제품에서 많이 사용하는 가다랑이 베이스는 국내 소비자에게는 선풀도가 다소 낮은 것으로 판단되어 우리나라 국민의 정서에 적합하다고 생각되는 좀 더 풍부한 강한 향미를 가지는 토란죽을 개발하기 위하여 닭발을 이용한 베이스를 제조하여 사용하였다. 닭발 추출액 베이스 토란 죽제품 개발을 위한 기준 배합을 설정하기 위하여 곡류 등 기본 원료를 선정하였다. 이를 여러 가지 배합 비율로 혼합하여 물성 및 관능검사를 통하여 배합 비를 조정 하면서 최적의 배합 비를 설정하고자 하였다. 닭발 추출액을 베이스로 한 토란 죽의 최종 배합비는 Table 1-24와 같았다. 세절토란을 사용하고 쌀을 주 곡물 원료로 하여 제조한 배합 I의 제품에 비하여 찹쌀을 도입한 배합 II 제품은 살균 후에도 농후감이 우수하였으며 버섯과 죽순을 세절하여 첨가한 배합 III은 전체적인 관능적 품질이 가장 우수한 것으로 분석되었다.

Table 1-24. 죽제품의 배합비 및 특성

원료	I	II	III
세절 토란	65	65	65
쌀	50	50	50
찹쌀	-	5	5
수수	20	10	5

율무	50	50	30
기장	20	20	15
분말간장	4	4	4
표고버섯(세절)	-	-	25
죽순(세절)	-	-	25
닭발 추출액*	600	600	600
선풀도	7.13	7.33	8.53

*닭발 추출액은 닭발300 g, 생강, 마늘을 각각 10g 씩 물 2L에 넣고 가열하여 충분히 우려낸 후 부직포로 여과하여 제조하였다.

(2) 후레이크형 토란제품 개발

(가) Basic 토란 후레이크 제조

1) 전분종류 및 함량변화

토란 flake를 제조하기 위해서 기본 base를 구성하고자 감자전분, 옥수수전분, 밀전분과 같은 여러 종류의 전분과 말토덱스트린과 같은 가수분해 형태의 전분을 첨가하였다(Table 1-25). 색과 향에서는 큰 차이를 나타내지 않았으나 맛에 있어서 말토덱스트린 첨가시 감미가 되어 기호도가 높게 나타났으며 밀전분의 경우 이취와 색의 흑변으로 기호도가 저하되었다. 가장 큰 차이는 질감에서 나타났으며 감자전분을 첨가하였을 때는 다소 까끌까끌한 질감을 나타내었으며 옥수수전분을 첨가시 부드러웠으나 맛이 저하되었다. 밀전분은 상대적으로 동량의 물을 첨가시 점도가 낮으며 묽어져 식감이 좋지 않았다. 말토덱스트린을 첨가한 flake는 물에 잘 용해되며 부드러운 식감을 나타내었고 적당히 감미가 되어 종합적 기호도가 가장 높게 평가되었다. 일반적으로 flake에 전분을 첨가 시 향상된 수 분산성과 드립건조시 부착성을 감소시키며 고체함량의 증가로 인한 생산율을 증가시키고 으갠 형태의 감자나 토란의 점착성을 증가시켜 주는 효과를 나타낸다.

Table 1-25. Sensory characteristics of taro flake added with different starch

원부재료	F1	F2	F3	F4	F5
으갠 토란(%)	100	95	95	95	95
전분(%)	-	감자전분 5	옥수수전분 5	밀전분 5	Maltodextrin (DE 14-20) 5
	100	100	100	100	100

색	5.60±1.95 ^a	6.60±0.89 ^a	6.40±1.14 ^a	5.40±2.07 ^a	5.80±1.92 ^a
맛	4.60±1.14 ^a	4.80±1.30 ^a	4.60±1.52 ^a	5.00±1.00 ^a	5.60±1.14 ^a
향	5.60±1.14 ^a	5.20±0.45 ^a	5.20±0.45 ^a	5.40±0.55 ^a	5.40±0.55 ^a
질감	5.60±2.07 ^a	5.20±1.30 ^a	5.40±1.82 ^a	5.20±1.10 ^a	6.20±0.45 ^a
종합적 기호도	5.00±1.87 ^a	5.00±1.00 ^a	5.20±1.79 ^a	5.20±1.03 ^a	5.80±1.48 ^a

2) 말토덱스트린 함량변화

으깬 토란에 말토덱스트린을 함량별로 첨가하였을 때 관능적 기호도를 평가하였다. 말토덱스트린 3%를 첨가하였을 때 토란자체의 아린맛을 나타내며 잘 혼합되지 않아 퍽퍽하고 갈갈한 느낌이 있었으며, 5%로 첨가하였을 때 적당한 단맛과 질감을 가지며 분말이 뜨거운 물에 잘 혼합되었다. 7%로 첨가하였을 때는 flake를 물에 용해하였을 때 점도가 낮아 식감이 저하되었다. 말토덱스트린의 첨가농도에 따라 토란 flake를 물에 용해시 점도가 감소하고 이에 따라 식감이 저하되므로 토란에 말토덱스트린을 5%의 농도로 첨가하기로 하였다(Table 1-26).

Table 1-26. Sensory characteristics of taro flake prepared in different mixing ratio of maltodextrin

원부재료	F6	F7	F8
으깬 토란(%)	97	95	93
말토덱스트린(%)	3	5	7
	100	100	100
색	5.83±0.75 ^a	5.83±0.41 ^a	5.83±0.41 ^a
맛	5.00±0.89 ^b	6.50±0.84 ^a	5.67±0.82 ^{ab}
향	5.17±0.98 ^a	5.83±0.75 ^a	5.50±0.55 ^a
질감	5.33±1.75 ^a	6.67±0.52 ^a	5.50±0.84 ^a
종합적 기호도	5.00±1.67 ^a	6.50±0.84 ^a	5.50±.84 ^a

3) 유청분말 함량변화

토란 flake를 제조시 부드러운 식감을 위하여 유청분말을 첨가하고자 하였다

(Table 1-27). 유청분말 첨가시 질감이 부드러워지는 개선효과가 있었으나 첨가농도가 증가함에 따라 열풍건조 후 토란 flake의 색이 노랗게 갈변되고 뜨거운 물에 용해하였을 때 뭉어졌다. 따라서 유청분말을 1%로 첨가하기는 것이 적당하다고 판단하였다.

Table 1-27. Sensory characteristics of taro flake prepared in different mixing ratio of whey powder

원부재료	F9	F10	F11	F12
으깬 토란(%)	95	94	92	90
말토덱스트린(%)	5	5	5	5
유청분말(%)	0	1	3	5
	100	100	100	100
색	5.83±0.75 ^a	5.83±0.41 ^a	6.33±0.82 ^a	6.17±0.75 ^a
맛	6.00±0.63 ^a	6.17±0.98 ^a	6.00±0.89 ^a	5.33±1.51 ^a
향	6.00±0.63 ^a	6.33±0.82 ^a	6.00±0.63 ^a	5.83±1.33 ^a
질감	5.67±1.21 ^{ab}	6.67±0.82 ^a	6.33±1.21 ^{ab}	5.17±1.47 ^b
종합적 기호도	5.83±0.75 ^{ab}	6.83±0.75 ^a	6.33±0.82 ^{ab}	5.33±1.37 ^b

4) 유화제 함량변화

토란 flake의 기본 base로 말토덱스트린 5%와 유청분말 1%를 첨가한 것에 유화제 첨가하여 flake의 질감을 향상시키고자 하였다(Table 1-28). Flake 제조에 있어서 유화제는 일반적으로 유리전분을 코팅해 건조기로 mash 부착 및 점착성을 줄여주며 윤활성이 있어 가공 시 토란이나 감자의 세포손상을 감소시켜주는 효과를 가진다. 유화제(S-570, Ryoto, Japan)를 0.1%,0.5%로 첨가시 뜨거운 물에서 분말이 잘 혼합되며 질감이 부드러워 지는 효과를 나타내었다. 유화제를 0.1%와 0.5%가 큰 차이를 나타내지 않아 0.1%의 농도로 사용하기로 하였다.

Table 1-28. Sensory characteristics of taro flake prepared in different mixing ratio of emulsifier

원부재료	F13	F14	F15
으깬 토란(%)	94	93.9	93.5
말토덱스트린(%)	5	5	5
유청분말(%)	1	1	1
유화제(%)	0	0.1	0.5
	100	100	100
색	6.57±0.79 ^a	6.43±1.40 ^a	6.00±0.82 ^a
맛	5.43±0.53 ^a	6.43±0.98 ^a	6.00±1.00 ^a
향	5.71±1.70 ^a	5.86±0.69 ^a	5.86±0.70 ^a
질감	5.14±0.90 ^a	6.14±0.90 ^a	5.86±1.21 ^a
종합적 기호도	5.71±0.76 ^a	6.86±1.21 ^a	6.43±1.13 ^a

5) 색도

Basic 토란 후레이크의 최적 배합을 선정하기 위하여 각 조건별로 제조한 토란 후레이크의 색도는 다음과 같았다(Table 1-29). 첨가되는 전분종류에 따라 후레이크의 색도는 큰 차이를 나타내지 않았다. 기존의 토란만 첨가한 후레이크에 밀전분을 첨가시 후레이크의 명도가 낮아지고 황색도도 높게 나타나 색이 저하되었으며 이외의 전분 첨가시 색도는 큰 차이를 나타내지 않았다. 또한 말토덱스트린 함량 변화에 따라 색도는 큰 변화가 없었으나 여기에 유청분말의 첨가 농도가 증가함에 따라 후레이크의 열풍 건조시 갈변반응이 일어나 황색도가 증가하는 현상을 나타내었다.

Table 1-29. Changes in color value of taro flakes

	L	a	b
무첨가	83.74±0.21	0.39±0.02	7.08±0.13
감자전분 5% 첨가	83.33±0.35	-0.05±0.04	6.11±0.33
옥수수전분 5% 첨가	86.06±0.02	-0.41±0.04	6.36±0.01
밀전분 5% 첨가	82.49±0.21	0.83±0.02	7.61±0.33

MD ^{D)} 5% 첨가	84.69±0.07	-0.07±0.01	5.66±0.34
MD 3%	82.67±0.25	0.35±0.09	5.73±0.28
MD 5%	84.69±0.07	-0.07±0.01	5.66±0.34
MD 7%	84.02±0.04	0.26±0.06	5.64±0.48
유청분말 무첨가	84.69±0.07	-0.07±0.01	5.66±0.34
유청분말 1% 첨가	82.44±0.07	0.18±0.04	6.70±0.30
유청분말 3% 첨가	84.16±0.13	-0.31±0.01	7.52±0.28
유청분말 5% 첨가	84.06±0.07	-0.22±0.04	8.13±0.31
유화제 무첨가	82.44±0.07	0.18±0.04	6.70±0.30
유화제 0.1% 첨가	84.05±0.01	-0.26±0.04	7.59±0.16
유화제 0.5% 첨가	84.81±0.04	-0.32±0.05	7.87±0.16

^{D)} Maltodextrin (DE 15-20)

6) 수분흡수지수 (WAI) 및 수분용해지수 (WSI)

각 배합별로 제조된 토란 후레이크의 수분흡수지수(WAI) 및 수분용해지수(WSI)는 다음과 같았다(Table 1-30). 으깬 토란에 첨가되는 전분 종류에 따른 수분흡수지수는 3.63~4.74 g/g을 나타내었다. 전분을 무첨가한 토란 분말이 4.22 g/g으로 나타난 것에 비해 밀전분과 말토덱스트린을 첨가시 수분흡수지수는 감소되었다. 이에 비하여 수분용해지수는 전분 무첨가군과 5%의 감자전분 및 옥수수전분을 첨가하였을 때 큰 차이를 나타내지 않았으나 밀전분과 말토덱스트린을 첨가시 크게 증가하였다. 또한 첨가되는 말토덱스트린의 함량이 증가함에 따라 수분용해지수가 높아지는 경향을 보여 말토덱스트린 첨가시 flake의 용해성을 향상시켜 주는 것으로 판단된다. 토란에 5%의 말토덱스트린을 첨가하고 유청분말의 함량이 변화를 주었을 때 수분흡수지수가 증가하였으며 수분용해지수는 크게 증가하였으며 유화제의 함량에 따라는 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 으깬 토란에 말토덱스트린과 유청분말 및 유화제를 첨가함으로써 후레이크의 수분흡착지수 및 용해지수를 향상시킬 수 있었다.

Table 1-30. Changes in water absorption (WAI) and water solubility index (WSI) of taro flakes

	WAI(g/g)	WSI(%)
무첨가	4.22±0.13	15.39±0.45
감자전분5%	4.74±0.18	14.41±0.17
옥수수전분5%	4.41±0.20	12.73±0.63
밀전분 5%	3.63±0.01	44.10±1.09
MD ¹⁾ 5%	4.11±0.14	36.22±0.74
MD 3%	4.31±0.06	29.03±0.09
MD 5%	4.11±0.14	36.22±0.74
MD 7%	4.75±0.09	42.64±1.06
유청분말 무첨가	4.11±0.14	36.22±0.74
유청분말 1% 첨가	4.85±0.05	41.18±0.31
유청분말 3% 첨가	5.08±0.04	48.91±2.02
유청분말 5% 첨가	4.80±0.01	52.21±0.13
유화제 무첨가	4.85±0.05	41.18±0.31
유화제 0.1% 첨가	4.41±0.07	41.47±0.46
유화제 0.5% 첨가	4.45±0.03	41.42±0.56

¹⁾ Maltodextrin (DE15-20)

(나) Mix 토란 후레이크 제품개발

1) Original 토란 후레이크 제조

으깬 형태의 토란제품을 위하여 기본 토란 flake에 여러 가지 조미를 함으로써 간단한 식사대용으로 사용할 수 있고 다이어트 식품으로 손쉽게 사용할 수 있도록 하였다. 기본 original 토란 후레이크의 base로 감자, 감자와 토란의 혼합, 토란을 각각 사용하여 flake 제조하였으며 이를 조미를 하였을 때, 감자 flake만 사용한 제품은 색이 노랗고 외관적으로 기호도가 높게 나타났으며 그 다음으로는 감자와 토란의 혼합제품이 좋게 나타났다. 토란만 사용하여 제조하였을 때는 flake의 색이 흑변이 되어 외관적인 면에서 기호도가 저하되었다. 맛의 경우에는 토란이나 감자만을 단독으로 사용하였을 경우 감자는 퍽퍽하고 토란은 미끌거리면서 까끌한 감이 입에 남아서 기호도가 좋지 못한 반면 둘을 혼합하여 제조하였을 때는 식감이 부드러워

지면서 감자의 약간의 짠맛과 토란의 고소한 맛이 혼합되어 기호도가 상승되는 효과를 보였다. 따라서 토란과 감자를 1:1로 혼합한 flake에 설탕, 소금, 버터분말, 크림분말의 조미를 하여 토란 original flake를 제조하였다(Table 1-31).

Table 1-31. Mixture designs and sensory characteristics of original taro flakes

원부재료	FO1	FO2	FO3
Basic flake(%)	Potato 90.98	Potato and taro (1:1) 90.98	Taro 90.98
소금(%)	2	2	2
설탕(%)	4	4	4
버터분말(%)	2	2	2
크림분말(%)	1	1	1
후추분말(%)	0.02	0.02	0.02
	100	100	100
색	7.00±1.41 ^a	6.50±0.76 ^a	5.75±1.49 ^a
맛	6.00±0.76 ^{ab}	7.00±1.07 ^a	5.13±1.13 ^b
향	6.00±1.07 ^a	6.00±0.93 ^a	5.63±0.92 ^a
질감	6.38±0.92 ^a	6.88±0.64 ^a	5.13±1.25 ^b
종합적 기호도	6.38±0.74 ^b	7.25±0.71 ^a	5.13±0.99 ^c

2) Creamy 토란 후레이크 제조

토란 flake에 대하여 부드러운 식감을 가지는 creamy한 형태의 제품을 만들고자 하였다(Table 1-32). 이에 따른 배합비로 크림분말의 함량을 증가시키고 이를 잘 분산시키기 위하여 유화제를 첨가하였으며 이에 따른 basic flake의 함량을 조절하였다. 색과 향에 있어서는 크림분말의 함량이 증가함에 따라 큰 차이를 나타내지 않았다. 크림분말의 함량이 낮은 경우 질감이 다소 딱딱하였으며 크림분말을 22%의 높은 함량으로 첨가시 질감이 지나치게 묽어져 으깬 토란 제품형태 보다는 죽과 같은 상태가 되어 적합하지 않았다. 크림분말을 8%, 15% 로 첨가한 것이 질감에 있어서 가장 부드러웠으며 그중에서도 크림분말을 8%의 농도로 첨가한 것이 적당한 질감을 가지면서 고소한 맛이 풍부하고 조미가 잘 어울려져 기호도가 높게 평가되었다. 따라서 으깬 형태의 토란제품에 있어서 상대적으로 토란 함량이 높으면서 다

큰 부재료와 크림의 함량이 비교적 적은 8%의 농도로 creamy한 식감의 토란 flake를 제조할 수 있었다.

Table 1-32. Mixture designs and sensory characteristics of creamy taro flake

원부재료	FC1	FC2	FC3	FC4
Basic flake(%) ¹⁾	90.98	82.28	72.78	63.78
소금(%)	2	2	2.5	2.5
설탕(%)	4	4.5	5	5.5
버터분말(%)	2	2	2	2
크림분말(%)	1	8	15	22
유화제(%)	-	1.2	2.7	4.2
후추분말(%)	0.02	0.02	0.02	0.02
	100	100	100	100
색	6.29±1.25 ^a	7.14±0.90 ^a	6.86±1.21 ^a	6.71±1.38 ^a
맛	5.57±0.53 ^b	7.29±0.76 ^a	6.29±1.25 ^b	5.71±0.76 ^b
향	6.14±0.38 ^a	6.57±0.79 ^a	6.29±0.95 ^a	6.00±0.82 ^a
질감	5.43±0.53 ^b	7.00±0.58 ^a	6.14±1.07 ^{ab}	5.29±1.25 ^b
종합적 기호도	5.86±0.38 ^b	7.57±0.53 ^a	6.43±0.79 ^b	5.86±0.90 ^b

¹⁾Taro and potato (1:1)

3) Sweet 토란 후레이크 제조

토란 flake를 이용하여 sweet한 형태의 으갠 토란제품을 만들하고자 하였다 (Table 1-33). 단맛을 부여하기 위하여 기존의 original 토란 후레이크에 비하여 상대적으로 토란 flake의 비율을 줄여야 했으며 필라티노스와 같은 감미료와 설탕의 양을 증가시켰다. 또한 생크림분말 및 파파야 다이스와 파인애플 다이스를 첨가하였다. 그 결과, 기존의 설탕과 전지분유 및 생크림 분말을 위주로 sweet한 맛을 내기 위해 배합하였을 때는 분유 자체의 느끼하고 이미가 강하게 나타났으며 식감이 좋지 않았다. 여기에 필라티노스의 양을 증가시킴으로써 점도를 부여해주어 토란 후레이크의 까끌거리고 텁텁한 식감이 부드러워졌으며 사과농축분말을 첨가함으로써 향상된 감미를 나타내어 기호도가 증가하였다.

Table 1-33. Mixture designs and sensory characteristics of sweet taro flake

원부재료	FS1	FS2	FS3
Basic flake(%) ¹⁾	60	60	60
전지분유(%)	10	5	5
생크림 분말(%)	5	5	2
필라티노스(%)	10	20	20
유청단백(%)	5	0	0
설탕(%)	8	5	5
소금(%)	1.8	1.2	1.2
비타민C(%)	0.2	0.2	0.2
사과농축분말(%)	-	3.6	6.6
	100	100	100
과과야다이스(%)	2.5	2.5	2.5
파인애플다이스(%)	2.5	2.5	2.5
색	6.43±1.40 ^a	6.57±0.98 ^a	6.71±0.95 ^a
맛	5.71±0.95 ^a	6.43±1.72 ^a	6.43±1.40 ^a
향	5.57±0.79 ^a	5.43±0.96 ^a	5.71±1.11 ^a
질감	5.71±1.25 ^a	6.43±1.40 ^a	6.00±1.15 ^a
종합적 기호도	6.00±1.15 ^a	6.43±1.62 ^a	6.29±1.11 ^a

(3) 유탕/비유탕처리형 토란 스낵제품 개발

(가) Oil fried Chip

1) 동결처리에 따른 영향

튀김과정전의 토란의 동결과정의 유무에 따른 관능적 기호도와 조직감을 측정하였다(Table 1-34, 35). 동결하지 않은 토란을 튀긴 것은 색이나 향에서 토란 고유의 향미가 남아있었으나 맛과 조직감은 동결시켜 튀긴 토란칩이 훨씬 바삭하였으며 이에 따라 전체적 기호도도 높게 나타났다. 이는 동결시킨 후 튀기게 되면 토란이 함유하는 수분과 oil의 교환이 이루어지면서 더욱 바삭해지는 질감을 가지게 된다.

Table 1-34. Changes in sensory characteristics of taro chips with freezing treatment

	외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도
동결 안함	5.00±2.21 ^a	5.10±2.08 ^a	4.60±0.70 ^b	6.20±1.32 ^a	3.70±0.95 ^b	4.10±0.88 ^b
동결한 것	5.10±1.45 ^a	4.80±1.13 ^a	5.70±1.25 ^a	5.60±1.07 ^a	7.10±0.73 ^a	6.40±1.17 ^a

Table 1-35. Changes in hardness of taro chips with freezing treatment by texture analyzer

	Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
동결 안함	413.80±70.51	2.00±1.32
동결한 것	326.97±74.36	1.23±0.60

2) NaCl 침지 처리에 따른 영향

토란의 아린맛 제거와 조직감 개선을 위하여 물과 0.1, 0.5% 소금물에 각각 침지하여 관능적 특성과 조직감을 비교하여 보았다(Table 1-36, 37). 대조구에 비하여 0.5%의 소금물에 토란을 침지하여 튀겼을 때 칩의 외관과 색이 개선되었으며, 토란 칩의 바삭한 조직감이 증가하는 것으로 나타났다.

Table 1-36. Changes in sensory characteristics of taro chips after soaking with water and 0.1, 0.5% NaCl solution

	외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도
No treat	4.57±1.13 ^b	4.86±1.35 ^b	5.29±0.76 ^b	5.43±0.53 ^b	5.57±1.27 ^b	4.86±0.69 ^b
수침	5.71±0.95 ^{ab}	5.86±1.07 ^{ab}	6.57±0.53 ^a	6.29±0.49 ^{ab}	6.71±0.76 ^a	6.43±0.53 ^a
0.1% 소금물침지	5.57±1.13 ^{ab}	5.86±1.07 ^{ab}	6.58±0.98 ^a	6.14±0.90 ^{ab}	6.71±0.76 ^a	6.43±0.79 ^a
0.5% 소금물침지	6.14±1.21 ^a	6.43±0.98 ^a	6.71±0.95 ^a	6.71±0.95 ^a	6.86±0.90 ^a	7.14±0.69 ^a

Table 1-37. Changes in hardness of taro chips after soaking with water and 0.1, 0.5% NaCl solution

	Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
No treat	326.97±74.36	1.23±0.60
water	374.80±82.08	1.83±0.83
0.1% NaCl solution	299.23±76.97	1.15±0.55
0.5% NaCl solution	310.20±77.24	2.00±0.67

3) Blanching 처리의 영향

Chip 제조시 blanching 처리는 감자나 토란의 polyphenol oxidase를 불활성화시켜 chip의 갈변을 막아주고 조직감을 향상시켜 준다. 0.5% 소금물에 토란을 침지한 후 blanching 시간의 차이를 두어 관능적 특성과 조직감의 변화를 검토하였다. Blanching을 하지 않은 대조구에 비하여 blanching 처리를 하였을 때 토란칩의 관능적 및 조직감면의 기호도가 증가하였다(Table 1-38). 그중에서도 0.5% 소금물에 침지 후 1분 동안 blanching하여 토란을 튀겼을 때 가장 바삭한 식감을 나타내어 높은 기호도를 나타내었다. 기계적 조직감에 있어서 blanching 시간이 길어짐에 따라 토란이 조직이 연화되어 튀김 후 경도가 낮게 나타났다(Table 1-39).

또한 0.5% 소금물에 바로 blanching하였을 때 조직감은 약간 개선되었으나 전체적으로 외관이 심하게 줄어들고 갈변이 일어나 칩의 색이 저하되었으며 탄맛이 강하게 나타나 소금물에서 blanching처리를 하는 것은 적합하지 않는 것으로 나타났다(Table 1-38).

Table 1-38. Changes in sensory characteristics of taro chips after blanching in water and 0.5% NaCl solution

		외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도
No treat		4.71±1.25 ^a	4.57±0.79 ^b	5.00±0.82 ^b	4.86±1.07 ^b	5.86±1.07 ^b	5.14±0.69 ^c
blanching in water	30초	5.71±0.76 ^a	5.43±0.79 ^a	5.71±0.95 ^{ab}	5.71±0.76 ^{ab}	6.14±0.69 ^{ab}	6.00±0.58 ^b
	1분	5.86±1.07 ^a	5.86±0.70 ^a	6.29±0.76 ^a	6.14±0.90 ^a	7.00±0.82 ^a	6.86±0.90 ^a
	1분30초	5.86±1.07 ^a	5.57±0.79 ^a	5.86±0.38 ^{ab}	5.86±1.07 ^{ab}	6.71±0.76 ^{ab}	6.00±0.58 ^b
blanching in 0.5% NaCl	30초	5.00±0.82 ^a	5.14±0.69 ^a	5.71±0.49 ^a	5.57±0.53 ^a	6.00±1.00 ^a	5.57±0.54 ^a
	1분	5.43±0.98 ^a	5.43±0.98 ^a	5.71±0.76 ^a	5.57±0.54 ^a	5.86±0.90 ^a	5.43±0.98 ^a
	1분30초	5.43±0.79 ^a	5.43±0.79 ^a	5.29±0.76 ^a	5.43±0.53 ^a	6.29±0.95 ^a	5.43±0.98 ^a

Table 1-39. Changes in hardness of taro chips after blanching in water and 0.5% NaCl solution

		Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
No treat		310.20±77.24	2.00±0.67
blanching in water	30초	404.77±97.36	1.22±0.44
	1분	363.38±90.07	2.00±1.10
	1분30초	287.16±50.56	2.00±1.25

blanching	30초	315.24±79.76	1.33±0.49
in 0.5% NaCl	1분	313.41±84.84	1.22±0.44
	1분30초	206.37±34.19	1.09±0.30

4) 말토덱스트린의 D.E.값에 따른 영향

토란칩의 당침과정으로 인하여 단맛부여와 표면에 피막형성으로 인해 기름흡수를 감소시키고 제품의 crispness를 증진시키고자 하였다. DE값이 5인 말토덱스트린에 당침한 것에 비해 DE 10의 말토덱스트린에 당침한 것이 짠맛과 단맛이 조화를 이루었다. DE값이 15-20인 말토덱스트린에 당침하였을 때는 단맛이 증가하였고 DE값이 높을수록 감미도가 증가하는 전분당의 특성을 잘 반영하고 있었다(Table 1-40). 토란칩의 조직감은 당침에 사용한 말토덱스트린의 DE값이 5에서 10으로 증가함에 따라 토란칩의 경도는 증가하였으나 peak 수는 약간 감소하였다. DE값이 15-20인 말토덱스트린에 당침하였을 때는 경도가 가장 낮았으며 peak 수가 1.50로 crispness는 감소하였다(Table 1-41). 토란의 관능 특성 중 조직감에 있어서 DE값이 증가함에 따라 기호도가 감소하는 경향을 나타내었으며 이는 crispness의 감소와 관계가 있는 것으로 사료된다. 관능적 특성과 기계적 조직감의 crispness의 특성에 기인하여 DE값이 5인 말토덱스트린에 당침하는 조건을 선정하였다. 이외에 올리고당(40 °Bx)을 당침액으로 사용하였을 때 높은 온도에서 칩에 걸부분은 갈변되어 색이 까맣게 변하고 가운데 부분은 익지 않아 토란칩의 당침액으로 적당하지 않은 것으로 판단되었다.

Table 1-40. Changes in sensory characteristics of taro chips with maltodextrin having different dextrose equivalent

	외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도	
No treat	6.67±0.52 ^a	6.50±0.55 ^a	5.17±0.75 ^b	5.83±0.41 ^a	6.00±1.10 ^b	5.17±0.75 ^b	
malto- dextrin (40°Bx)	D.E. 5	5.67±0.52 ^b	5.83±0.75 ^{ab}	6.17±0.75 ^{ab}	6.00±0.63 ^a	7.67±1.03 ^a	6.67±1.17 ^a
	D.E. 10	4.67±0.82 ^c	5.17±0.75 ^b	6.67±0.82 ^a	5.50±1.05 ^a	6.83±1.17 ^{ab}	6.67±1.03 ^a
	D.E.14-20	4.50±0.55 ^c	5.00±0.63 ^b	6.00±1.26 ^{ab}	5.50±1.05 ^a	6.17±0.75 ^b	5.67±0.82 ^{ab}

Table 1-41. Changes in hardness of taro chips with maltodextrin having different dextrose equivalent

	Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
0.5% 소금물수침(1hr) 후 blanching 1분	363.38±90.07	2.00±1.10
D.E. 5	574.21±164.84	2.36±1.60
malto- dextrin (40°Bx)	651.87±115.57	1.80±1.03
D.E. 14-20	499.27±101.15	1.50±1.27

5) 당농도의 영향

말토덱스트린(DE 5)을 당침액으로 사용하였을 때 당농도에 따른 관능적 특성을 비교하였다(Table 1-42). 20, 30 °Bx의 당침액을 사용하였을 때 토란칩의 색이 연하면서 노르스름하게 나타났으나 40, 50 Bx에 당침하여 튀겼을 때 외관과 색은 갈변으로 인하여 저하되었고 맛은 쓴맛이 감지되어 좋지 않았다. 조직감은 말토덱스트린의 농도가 증가함에 따라 경도가 증가하였으며 전처리한 dextrin의 농도가 높을수록 crispness도 증가하는 경향을 보였다(Table 1-43). 관능평가 결과에 따라서 20°Bx의 말토덱스트린(DE)에 당침하는 것이 가장 좋은 조건으로 선정되었다.

Table 1-42. Changes in sensory characteristics of taro chips with various concentrations of maltodextrin solution (DE 5)

	외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도	
20°Bx	6.67±0.82 ^a	7.00±0.63 ^a	6.33±0.82 ^a	6.17±1.17 ^a	6.83±0.98 ^a	7.17±1.17 ^a	
말토 덱스트린 (DE 5)	30°Bx	6.00±0.89 ^{ab}	6.17±1.17 ^{ab}	6.17±1.17 ^a	6.00±0.89 ^a	6.83±0.75 ^a	6.50±0.55 ^a
40°Bx	4.83±0.75 ^c	5.33±0.52 ^b	5.67±1.37 ^a	5.83±1.17 ^a	5.33±0.52 ^b	5.83±0.98 ^a	
50°Bx	5.00±0.89 ^{bc}	5.33±1.52 ^b	5.67±1.63 ^a	5.83±1.17 ^a	5.33±1.37 ^b	5.83±1.72 ^a	

Table 1-43. Changes in hardness of taro chips with various concentrations of maltodextrin solution (DE 5)

		Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
말토 텍스트린 (DE5)	20°Bx	518.34±163.26	2.08±1.12
	30°Bx	575.39±67.17	2.30±1.83
	40°Bx	574.21±164.84	2.36±1.60
	50°Bx	824.76±155.74	2.73±1.90

6) 튀김유의 영향

토란칩의 튀김유에 따른 관능적 특성과 조직감을 비교하였다(Table 1-44, 45). 관능적 특성은 외관과 색의 경우 옥수수유와 카놀라유를 사용하였을 때 기름을 많이 흡수되어 기호도가 저하되었으며 현미유나 팜유의 경우 외관과 색이 좋았다. 맛과 조직감의 경우 튀김유에 따라 유의적으로 큰 차이를 보이지 않았으나 향의 경우 현미유와 팜유를 사용한 것이 높게 평가되었다. 따라서 외관과 색, 향 등의 전체적인 특성에 의해 현미유를 사용한 것이 가장 좋았으며 옥수수유와 카놀라유는 적당하지 않은 것으로 판단되었다. 기계적 조직감의 경우 대두유와 현미유를 사용한 것이 경도와 crispness가 높게 나타났다

Table 1-44. Changes in sensory characteristics of taro chips with different frying oils

		외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도
말토 텍스트린 (DE5, 20°Bx)	대두유	6.67±0.82 ^a	6.67±1.03 ^{ab}	6.33±0.82 ^a	6.33±0.82 ^a	6.50±1.05 ^a	6.83±0.98 ^{ab}
	옥수수유	5.17±0.75 ^b	5.33±0.52 ^c	6.33±1.03 ^a	5.67±0.82 ^a	6.50±1.05 ^a	5.83±0.75 ^b
	현미유	6.83±0.41 ^a	6.83±0.41 ^a	6.00±0.63 ^a	6.67±1.21 ^a	6.33±0.82 ^a	7.33±0.82 ^a
	카놀라유	6.17±0.75 ^a	5.83±0.75 ^{bc}	5.83±0.41 ^a	5.67±1.03 ^a	6.50±0.55 ^a	5.67±0.82 ^b
	팜유	6.67±0.52 ^a	6.50±0.84 ^{ab}	6.50±1.05 ^a	6.50±1.22 ^a	6.50±1.05 ^a	6.33±1.21 ^{ab}

Table 1-45. Changes in hardness of taro chips with different frying oils

		Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
	대두유	518.34±163.26	2.08±1.12
말토 텍스트린 (DE5, 20°Bx)	옥수수유	380.85±114.86	1.50±0.65
	현미유	531.50±198.14	1.82±1.07
	카놀라유	506.34±146.48	1.64±1.01
	팜유	472.53±95.01	1.33±0.49

7) 조지방 함량

Oil frying 토란칩의 조지방 함량은 30.51~49.80%로 나타났으며 frying 후 탈유 과정이 이루어지지 않아 조지방 함량이 높게 나타난 것으로 사료된다(Table 1-46).

Table 1-46. Changes in oil content in oil fried taro chips

동결처리	침지	Blanching	당침	Oil	조지방 함량(%)
생토란	no treat	no treat	no treat	대두유	30.51±4.33
동결처리	no treat	no treat	no treat	대두유	38.98±3.90
동결처리	0.5% NaCl 침지	no treat	no treat	대두유	45.59±2.50
동결처리	0.5% NaCl 침지	1min	no treat	대두유	49.80±0.99
동결처리	0.5% NaCl 침지	1min	MD(DE5) 20Bx	대두유	49.03±1.64
동결처리	0.5% NaCl 침지	1min	MD(DE5) 20Bx	현미유	40.66±3.64

(나) 감압유탕 토란칩

토란칩의 두께(2 mm or 4 mm)와 blanching 시간(30초 or 1분) 및 당침액의 농도(20 °Bx or 40 °Bx)에 따른 8개의 시료를 감압유탕 하였다. 이들의 외관, 색, 맛, 향 및 조직감과 전체적인 기호도에 대하여 관능평가를 실시하였다(Table 1-47). 토란칩의 두께에 대하여 4 mm의 두께는 너무 단단한 조직감을 가져 바삭한 식감이 적었으며 2 mm의 두께가 적당하였다. Blanching 시간에 따른 큰 차이는 없었으며 말토텍스트린 40 °Bx로 당침시 조직감에 있어서 칩의 경도가 증가하여 전반적으로 기호도가 저하되었다. 관능평가 결과, 감압유탕 토란칩에 대하여 두께 2 mm로 blanching 처리를 1분을 한 후

말토덱스트린 20 °Bx에 당침하는 것을 최적 조건으로 선정하였다. Texture analyzer로 측정된 토란칩의 경도는 4 mm의 두께와 40°Bx의 말토덱스트린에 당침하였을 때 경도가 증가하였다(Table 1-48). Oil frying chip에 비하여 감압유탕 토란칩의 조지방 함량은 감소하였다. 토란칩의 두께가 4 mm일 때 조지방 함량이 더 높게 나타났으며 blanching 시간에는 영향을 크게 받지 않았다(Table 1-49). 당침 시 40 °Bx의 말토덱스트린을 사용한 경우 조지방 함량이 적게 나타났으며 이는 말토덱스트린이 chip의 표면에 피막을 형성하여 기름 흡수를 감소시킨 것으로 판단된다.

Table 1-47. Changes in sensory characteristics of vacuum fried taro chips

두께	Blanching time	당농도 (°Bx)	외관	색	맛	향	조직감	전체적 기호도
2mm	30sec	20	6.43±0.79 ^a	6.43±1.40 ^a	5.00±1.00 ^a	5.00±0.82 ^a	6.14±1.68 ^a	5.29±0.76 ^{ab}
		40	6.57±0.79 ^a	6.43±1.13 ^a	5.57±1.13 ^a	5.57±0.98 ^a	5.57±1.40 ^a	5.86±1.21 ^{ab}
	1min	20	6.57±1.51 ^a	6.14±1.21 ^a	5.43±1.27 ^a	5.14±1.21 ^a	6.71±1.50 ^a	6.29±0.76 ^a
		40	6.14±1.68 ^a	6.00±1.73 ^a	5.29±2.14 ^a	5.57±2.15 ^a	5.43±2.30 ^a	5.57±1.90 ^{ab}
4mm	30sec	20	7.29±0.95 ^a	7.14±0.90 ^a	5.57±1.99 ^a	5.71±1.80 ^a	4.86±1.68 ^a	5.00±.53 ^{ab}
		40	6.57±1.40 ^a	6.86±1.10 ^a	4.86±1.46 ^a	4.57±1.51 ^a	5.00±1.41 ^a	4.43±0.98 ^b
	1min	20	7.00±1.00 ^a	6.57±1.62 ^a	5.43±2.07 ^a	5.29±1.98 ^a	5.90±1.91 ^a	5.43±1.90 ^{ab}
		40	6.57±1.40 ^a	6.71±0.76 ^a	6.14±1.46 ^a	5.86±1.68 ^a	5.86±1.46 ^a	5.86±1.46 ^{ab}

Table 1-48. Changes in hardness of vacuum fried taro chips

두께	Blanching time	당농도 (Bx)	Maximum force(hardness)	Crispness (peak number)
2mm	30sec	20	552.85±136.76	2.00±1.35
		40	952.18±227.61	3.00±1.85
	1min	20	788.08±211.35	3.00±1.24
		40	876.99±195.17	2.60±1.07
4mm	30sec	20	811.20±167.12	2.55±1.86
		40	998.79±297.34	3.38±0.92
	1min	20	830.64±191.22	2.50±0.84
		40	1232.03±221.31	3.33±1.73

Table 1-49. Changes in oil content of vacuum fried taro chips

두께	Blanching time	당농도 (Bx)	조지방 함량(%)
2mm	30sec	20	24.90±4.15
		40	9.77±3.89
	1min	20	26.99±0.73
		40	11.75±1.90
4mm	30sec	20	30.06±0.08
		40	24.92±4.94
	1min	20	35.73±2.06
		40	22.75±3.83

(다) 동결건조

1) 동결건조 처리공정 선정

토란을 이용하여 영양성분이 잘 보존되고 바삭한 조직감을 제공하며 감미를 부여하는 동결건조 토란칩을 제조하고자 하였다. 동결건조 스낵을 제조하기 위한 공정으로 토란을 동결건조한 후의 당침과 건조과정을 거친 것과 토란을 당침을 시켜 이를 동결건조하여 제조하는 두 가지의 방법으로 제조하였으며 관능검사를 통하여 이를 비교하였다(Table 1-50). 두 공정을 통해 제조된 토란칩은 토란의 색이 잘 유지되었고 향도 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 당침 후의 동결건조를 하였을 경우 당침과정 동안 토란 조직내에서 미끌거리는 성분이 빠져나오면서 이를 동결건조하게 되기 때문에 아린맛이 강하게 느껴졌다. 조직감에 있어서 동결건조를 한 것에 당침을 한 것은 당액을 금방 흡수하여 골고루 침지되고 열풍건조를 통해 바삭하였으나 당침한 토란을 동결건조 하였을 때는 조직이 눅눅하고 정과 같은 느낌으로 제조되었고 입안에 달라붙는 느낌이 강하였다. 따라서 토란을 동결건조하여 이를 당침한 후 열풍건조를 하는 과정으로 토란칩을 제조하기로 하였다.

Table 1-50. 동결건조 토란칩의 제조공정에 따른 관능평가

	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도
공정 1	6.38±1.51	6.25±1.49	5.70±1.25	6.38±1.30	5.60±1.07	7.10±0.73	6.40±1.17
공정 2	6.00±2.21	6.10±2.08	4.60±0.70	6.20±1.32	6.70±0.91	4.10±0.88	5.02±0.92

공정1: 동결건조 후 시럽침지, 공정2: 시럽침지 후 동결건조

2) 블랜칭 조건

토란을 슬라이스하여 블랜칭 처리로 조직을 연화시켜 당액의 침투와 조직감을 개선하고자 하였다. 토란을 이용한 동결건조 스낵 제조시 블랜칭 무처리구 보다는 블랜칭 처리를 하는 것이 기호도 측면에서 바람직하였다. 외관과 색에 있어서는 큰 차이를 나타내지 않았으나 블랜칭 처리를 하지 않았을 경우 당침처리를 한 후에도 토란 특유의 미끌거리는 점액질 성분이 그대로 동결건조 되어 씹쓸한 아린맛과 뒷맛이 남아 기호도를 저하시켰다. 블랜칭 처리에 따라 조직감에 차이를 나타내었으며 2분의 블랜칭 처리가 가장 바삭한 식감을 가졌다. 블랜칭을 3분정도 처리할 경우 칩 가운데 부분에 균열이 생겨 동결건조 토란을 당침하여 열풍건조 할 경우 모양이 깨져 외관이 좋지 않았으며 조직감도 낮게 나타났다. 따라서 동결건조 전에 블랜칭 처리를 2분 동안 하는 것이 바람직하였다(Table 1-51). 블랜칭 처리별 토란칩의 색도는 백색도와 적색도 및 황색도에서 큰 차이를 나타내지 않았으며 토란 고유의 흰색 그대로 보존되었다.

블랜칭 하지 않고 제조한 토란칩의 경도는 516.00 g이었으며 80℃에서 30초~2분 블랜칭 할 경우 토란칩의 경도는 476.48~523.76 g으로 대조구에 비하여 비슷하거나 감소하였다. 블랜칭을 3분 처리할 경우 오히려 경도가 536.93 g로 증가하였다(Table 1-52).

Table 1-51. 토란칩 관능평가-blanching 조건

	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도	
No treat	6.38±1.51	6.25±1.49	5.63±1.41	6.38±1.30	6.75±1.49	6.25±1.28	6.00±1.20	
blanching in water	30초	6.25±1.28	6.38±1.31	6.75±0.71	6.63±1.19	7.25±1.04	6.88±0.99	6.75±1.28
	1분	6.88±1.46	6.50±1.41	6.88±1.13	6.38±1.06	6.88±1.46	6.50±0.93	6.38±1.30
	2분	6.50±0.93	6.63±0.92	6.25±1.04	7.00±0.93	7.13±0.99	7.13±1.13	7.50±1.31
3분	4.75±0.89	5.88±1.13	5.50±1.07	5.88±0.99	6.75±1.28	5.88±0.83	5.38±1.06	

Table 1-52. 토란칩 색도 및 기계적 조직감-blanching 조건

	L	a	b	경도(g)	
No treat	82.78±1.94	-1.98±0.34	11.25±0.86	516.00±111.06	
blanching in water	30초	74.82±3.30	-2.28±0.47	8.47±1.62	523.76±82.33
	1분	75.40±2.28	-2.18±0.14	7.70±0.98	476.48±202.76
	2분	77.73±3.62	-1.70±0.19	7.38±0.87	485.69±141.24
	3분	74.25±0.97	-2.03±0.18	7.66±0.37	536.93±95.64

3) 시럽침지 조건

설탕 30% 농도의 시럽으로 제조한 토란칩을 대조군으로 하여 동결건조 후 다양한 시럽에 침지하여 토란칩을 제조하였다. 올리고당을 사용한 토란칩은 색과 향이 좋았으며 단맛과 함께 바삭하였으나 점착성이 다른 것에 비해 높게 나타났다. 설탕의 비율을 낮추면서 단맛을 부여하고 끈적임이 적은 시럽 코팅을 위하여 설탕과 올리고당 혼합 시럽에 말토덱스트린을 첨가하였으며 이는 설탕을 경화시키는 기능을 하여 끈적임이 없게 하는 것으로 알려져 있다. 시럽에 말토덱스트린을 첨가한 결과, 칩의 색이 부분적으로 황색을 띄었으며 조직감에 있어서 바삭함이 저하되었다. 시럽에 말토덱스트린의 비율을 높였을 때 입에 달라붙는 점착성이 감소하였으나, 칩의 바삭한 느낌은 감소하였고 끝에 텁텁한 느낌이 남아 좋지 않았다. 스테비오사이드는 감미를 부여하며 설탕에 비해 200-300배 높은 감미도를 가지며 칼로리는 설탕보다 낮아 다이어트에 효과적인 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 설탕의 비율을 줄이고 스테비오사이드를 소량 첨가하여 당액으로 사용하였으며 이때 칩의 높은 단맛을 내었으나 끝에 쓴맛이 남아 좋지 않았으며 바삭함이 저하되었다(Table 1-53). 토란칩의 색도는 설탕과 올리고당의 혼합시럽에 말토덱스트린을 첨가하였을 경우 황색도가 증가하는 경향을 나타내었다. 이 중 올리고당에 당침한 것이 토란 고유의 색이 잘 유지되었다.

다양한 시럽에 침지 후 열풍건조하여 제조한 토란칩의 경도는 다음과 같았다(Table 1-54). 대조구 (설탕 30%)의 경도는 485.69 g였으며 올리고당에 침지한 토란칩은 680.51 g로 경도가 증가하였다. 설탕에 올리고당과 말토덱스트린을 첨가하였을 경우 토란칩의 경도는 652.03, 576.10 g로 나타났으며 올리고당과 말토덱스트린은 설탕을 경화시키는 기능을 하였으며 이때 말토덱스트린보다 올리고당의 비율의 증가에 따라 경도가 더 증가하는 경향을 나타내었다. 설탕에 스테비오사이드를 첨가하였을 때는 경도(960.69 g)가 크게 증가하였다. 따라서 동결건조한 토란을 30%의 올리고당 시럽에 침지하는 것이 기호도면에서 맛과 바삭함에서 가장 좋았으며 이를 조건으로 선정하였다.

Table 53. 토란칩 관능평가-당침 조건

	외관	색	향	맛	아린맛	바삭함	점착성	전체적 기호도
시럽1	7.33±0.52 ^a	7.33±0.52 ^a	6.50±1.22 ^a	7.00±0.89 ^a	7.00±1.10 ^a	7.00±0.89 ^a	6.50±0.84 ^a	7.00±1.10 ^a
시럽2	6.50±0.55 ^{ab}	6.50±0.55 ^{ab}	5.50±1.38 ^a	5.83±1.33 ^a	6.17±1.17 ^a	6.67±1.03 ^a	6.17±0.98 ^{ab}	6.00±0.89 ^{ab}
시럽3	5.33±1.37 ^{bc}	5.83±0.98 ^b	5.67±1.21 ^a	5.83±0.41 ^a	6.17±1.17 ^a	6.50±1.05 ^a	5.33±1.03 ^b	5.50±1.05 ^b
시럽4	5.67±0.82 ^c	6.00±0.89 ^b	6.33±1.03 ^a	6.33±0.82 ^a	6.67±0.52 ^a	6.17±1.47 ^a	6.00±0.63 ^{ab}	6.50±1.05 ^{ab}

시럽1: 올리고당 30%, 시럽2: 설탕: 올리고당: MD (10%: 20%: 10%), 시럽3: 설탕: 올리고당: MD(10%: 10%: 20%), 시럽4: 설탕: 스테비오사이드(10%: 0.2%)

Table 54. 토란칩 색도 및 기계적 조직감-당칩 조건

	L	a	b	Maximum force(hardness)
Control	77.73±3.62	-1.70±0.19	7.38±0.87	485.69±141.24
시럽1	73.36±2.42	-2.32±0.30	9.99±2.98	680.51±216.98
시럽2	77.18±0.16	-2.59±0.22	12.42±1.50	652.03±356.29
시럽3	76.54±5.04	-2.68±0.42	13.22±2.27	576.10±207.32
시럽4	71.72±5.23	-2.37±0.25	11.04±1.85	960.69±219.82

Control: 설탕 30%, 시럽1: 올리고당 30%, 시럽2: 설탕: 올리고당: MD (10%: 20%: 10%), 시럽3: 설탕: 올리고당: MD(10%: 10%: 20%), 시럽4: 설탕: 스테비오사이드(10%: 0.2%)

4) 건조조건 선정

토란을 동결건조하여 시럽침지 후 열풍건조 할 때의 건조온도와 시간을 달리하여 토란칩을 제조하였다. 관능검사 결과 낮은 건조온도인 60℃에서 8시간 건조시킨 토란칩은 바삭함과 점착성이 상대적으로 낮게 나타났으며 건조온도가 증가함에 따라 바삭함은 증가하였다. 고온인 100, 120℃에서 단시간 건조시킨 토란칩은 고소한 향이 강하여 기호도가 증가하였다. 맛과 조직감적인 측면에서 100℃에서 2시간 건조시키는 것이 가장 적합하였다(Table 1-55).

토란칩의 색도는 건조온도가 증가함에 따라 황색도가 증가하였으며 60℃에서는 토란 고유의 색이 유지되었고, 120℃에서 1시간 건조시켰을 때 갈변이 심하여 적색도와 황색도가 가장 높게 나타났다. 토란칩의 경도는 60℃에서 680.51(g)로 가장 높았고 그 다음은 100℃에서 건조시킨 것이었다. 건조온도가 80과 120℃에서 건조시킨 토란칩의 경도는 각각 451.08, 433.12 (g)로 감소하였다(Table 1-56).

Table 1-55. 토란칩 관능평가-건조조건

	외관	색	향	맛	아린맛	바삭함	점착성	전체적 기호도
60℃,8hr	6.29±1.25 ^{ab}	6.29±1.50 ^{ab}	5.29±0.49 ^b	5.43±0.79 ^b	6.71±0.95 ^a	6.00±1.15 ^b	5.43±0.79 ^a	5.57±0.79 ^c
80℃,3hr	7.00±0.58 ^a	6.71±0.49 ^a	6.57±0.98 ^a	7.00±0.58 ^a	6.86±0.90 ^a	6.86±0.69 ^{ab}	6.14±0.90 ^a	6.86±0.90 ^{ab}
100℃,2hr	5.57±0.79 ^{bc}	5.29±1.25 ^{bc}	6.86±0.90 ^a	7.43±0.53 ^a	6.57±0.79 ^a	7.14±0.90 ^a	6.14±1.21 ^a	7.14±0.69 ^a
120℃,1hr	4.71±1.60 ^c	4.29±1.11 ^c	6.86±1.07 ^a	6.29±1.98 ^{ab}	6.14±1.21 ^a	7.00±1.00 ^{ab}	6.29±1.38 ^a	6.00±1.15 ^{bc}

Table 1-56. 토란칩 색도 및 기계적 조직감-건조조건

	L	a	b	Maximum force(hardness)
60℃,8hr	79.85±2.19	-2.16±0.26	8.29±0.70	680.51±216.98
80℃,3hr	71.50±1.61	-2.27±0.02	10.77±1.30	451.08±64.13
100℃,2hr	76.29±7.66	-2.34±0.34	15.60±1.40	636.83±49.31
120℃,1hr	68.84±5.51	5.83±1.72	34.73±2.99	433.12±98.18

(라) 전자레인지 토란스낵

1) 효소제 처리

스낵제조를 위하여 전자레인지의 마이크로웨이브 처리를 하였을 때 토란의 세포를 구성하는 세포벽을 파괴하지 않고 토란 세포내의 전분립을 조리하게 되기 때문에 조리된 후에 경도를 증진시켜 바삭한 식감보다는 질기고 눅눅한 식감을 나타내었다. 따라서 조직감을 개선시키기 위하여 토란에 다양한 효소를 처리하였다. 생토란에 효소처리시 전체적으로 전자레인지에서 건조시간이 단축되었다. 먼저 pectinase를 0.2% 처리 시 마이크로웨이브 건조 후 바로 눅눅해지고 외관이 심하게 갈변되어 적당하지 못하였다. Amylase를 0.2% 처리시 무처리구와 비슷하며 맛과 조직감의 개선효과를 나타내지 않았다. Cellulase와 protease를 0.2% 농도로 처리하였을 때 전체적 기호도가 가장 높았으며 cellulase 처리시 맛이 가장 좋았으나 protease 처리시 조직감적인 측면과 향에 있어서 가장 바삭하고 감자칩과 같은 고소한 향이 나타났다(Table 1-57).

효소제 처리에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감에 대한 결과는 Table 1-58과 같았다. 무처리구는 816.50 (g)을 나타내었으며, 처리한 효소제별로 pectinase는 904.07 (g)로 가장 높았으며, 관능평가 결과에서도 눅눅한 조직감을 나타내었다. Cellulase 처리구와 amylase 처리구는 각각 753.84, 651.70 (g)을 나타내었다. 이중 protease 처리구는 576.98 (g)로 경도가 가장 낮게 낮으며 관능평가에서도 조직감이 가장 바삭한 것으로 나타났다. 전자레인지 스낵제조에 있어서 조직감 개선의 요인이 중요하기 때문에 효소제로 protease를 선정하였다.

Table 1-57. 효소제 처리에 따른 전자레인지 토란스낵의 관능적 기호도

Sample	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도
Control	5.43±0.98 ^b	5.29±1.11 ^c	6.57±0.79 ^a	6.14±1.21 ^{ab}	6.57±0.53 ^a	5.86±1.07 ^a	5.86±0.90 ^b
Cellulase 처리	7.57±0.98 ^a	7.43±0.98 ^a	6.71±0.49 ^a	7.00±1.00 ^a	6.71±1.25 ^a	6.29±1.38 ^a	7.14±0.69 ^a

Pectinase 처리	5.43±1.27 ^b	5.86±1.07 ^{bc}	7.00±1.00 ^a	4.86±1.57 ^b	5.57±1.40 ^a	4.14±1.46 ^b	4.57±1.27 ^c
Amylase 처리	5.43±1.27 ^b	5.71±1.38 ^{bc}	6.43±0.98 ^a	6.71±1.11 ^a	6.86±0.69 ^a	7.00±1.00 ^a	6.57±0.98 ^{ab}
Protease 처리	6.71±0.95 ^{ab}	6.86±0.69 ^{ab}	7.43±0.98 ^a	6.57±1.72 ^a	6.57±2.07 ^a	7.29±1.11 ^a	7.14±0.69 ^a

Table 1-58. 효소제 처리에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감

Sample	Maximum force (g)
Control	816.50±140.74
Cellulase 처리	753.84±162.06
Pectinase 처리	904.07±222.30
Amylase 처리	651.70±156.84
Protease 처리	576.98±93.27

2) 효소제 농도선정

토란칩 제조시 protease 처리농도에 따른 관능평가와 기계적 조직감을 비교하였다. 생토란에 protease 처리농도가 1.0%까지 높아짐에 따라 외관과 색에 있어서 토란칩의 갈변이 줄어들고 색이 밝아졌으며 1.5%일 때는 외관에 대한 기호도가 감소하였다. 그러나 효소제 처리농도에 따른 향과 맛은 큰 차이가 없었다. 조직감은 효소제 처리농도가 높을수록 토란의 조직이 연해지며 수축되어 바삭한 느낌을 나타내었으나 1.5%의 농도에서는 조직감에서 눅눅하고 쓴맛이 나타나며 아린맛을 더욱 부각시켰다(Table 1-59). 토란에 protease 처리농도에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감에 대한 결과는 Table 1-60과 같았다. Protease를 0.2% 첨가하였을 때 576.98 (g)의 경도를 나타내었으며 protease를 0.5~1.5%로 처리하였을 때는 경도가 362.06~381.27 (g)로 큰 차이를 나타내지 않았다. 관능적 평가의 결과에 따라서 생토란에 protease를 1.0%의 농도로 처리하기로 선정하였다.

Table 1-59. Protease 처리농도에 따른 전자레인지 토란스낵의 관능적 기호도

Sample	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도
Protease 0.2%	6.00±1.00 ^b	6.00±1.00 ^b	6.29±0.95 ^a	6.57±1.13 ^a	7.14±1.35 ^a	6.14±1.07 ^b	6.43±0.53 ^b
Protease 0.5%	6.71±0.76 ^{ab}	6.57±0.79 ^b	7.14±0.38 ^a	6.86±0.69 ^a	6.86±1.21 ^a	6.86±0.69 ^b	7.14±1.07 ^{ab}
Protease 1.0%	7.57±0.79 ^a	7.43±0.79 ^a	6.71±0.95 ^a	7.43±1.13 ^a	7.00±1.41 ^a	8.00±0.82 ^a	7.86±0.90 ^a
Protease 1.5%	6.57±0.98 ^{ab}	6.71±0.76 ^b	6.86±0.69 ^a	7.00±1.15 ^a	6.86±0.90 ^a	6.00±1.00 ^b	6.57±0.79 ^b

Table 1-60. Protease 처리농도에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감

Sample	Maximum force (g)
Protease 0.2%	576.98±93.27
Protease 0.5%	362.06±59.31
Protease 1.0%	370.08±69.30
Protease 1.5%	381.27±78.32

3) 말토덱스트린 처리

전자레인지 건조 후 식품표면의 수분 증발에 따라 마름현상이 나타나 칩의 조직감이 좋지 않았다. 따라서 생토란에 1.0%의 protease로 효소처리를 한 후 말토덱스트린을 도포하여 마이크로웨이브 건조를 하였다. 관능평가 결과, 칩의 외관과 색은 부분적인 갈변외에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 맛에 있어서도 유의적인 차이를 나타내지 않았다. DE값이 5인 말토덱스트린에 코팅하여 마이크로웨이브 건조시 눅눅하고 맛이 좋지 않았다. DE값이 10인 말토덱스트린을 사용 시 맛이나 조직감에서 무처리구와 차이를 보이지 않았다. 그러나 DE값이 15~20인 말토덱스트린에 코팅하였을 때는 관능적 기호도가 개선되었다(Table 1-61). 특히 이전의 효소처리 후의 제조한 토란칩은 토란의 조직이 연화되어 마이크로웨이브 건조 후에 crust의 조직감을 갖는 반면 말토덱스트린(DE 15~20)을 처리하였을 때 chip의 바삭한 조직감을 가져 식감이 훨씬 개선되었다. 토란스낵의 경도는 말토덱스트린 무처리구의 경우 경도가 370.08 (g)로 나타났으며 말토덱스트린 코팅에 따라 경도가 증가하였다. 그중에서 DE값이 15~20인 말토덱스트린에 코팅하였을 때 경도가 422.32 (g)로 나타났으며 관능적으로 가장 바삭한 식감을 나타내었다(Table 1-62).

Table 1-61. 말토덱스트린 코팅에 따른 전자레인지 토란스낵의 관능적 기호도

Sample	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도
Control	6.57±1.40 ^{ab}	6.86±1.35 ^a	6.14±1.07 ^a	5.86±0.90 ^a	5.14±1.77 ^a	6.57±0.53 ^{ab}	6.29±0.95 ^b
Maltodextrin (DE 5)	7.57±1.13 ^a	7.00±1.00 ^a	6.86±1.35 ^a	5.71±0.76 ^a	6.29±1.25 ^a	5.57±0.98 ^b	6.14±0.69 ^b
Maltodextrin (DE 10)	5.71±1.11 ^b	6.29±1.60 ^a	6.43±1.51 ^a	5.86±1.77 ^a	5.71±1.38 ^a	6.29±1.11 ^{ab}	6.00±1.29 ^b
Maltodextrin (DE 15~20)	6.71±1.89 ^{ab}	7.43±1.71 ^a	7.00±1.53 ^a	7.00±1.15 ^a	6.57±1.13 ^a	7.29±1.11 ^a	7.86±0.90 ^a

Table 1-62. 말토덱스트린 코팅에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감

Sample	Maximum force (g)
Control	370.08±69.30
Maltodextrin (DE 5)	540.03±123.17
Maltodextrin (DE 10)	540.58±169.05
Maltodextrin (DE 15~20)	422.32±138.16

4) 말토덱스트린 농도선정

위에서 선정된 말토덱스트린(DE 15~20)을 3.0~10.0%의 농도로 제조하여 토란슬라이스에 침지처리하였다. 관능평가 결과, 외관은 말토덱스트린 농도가 높을수록 기호도가 좋았으며 말토덱스트린을 7.0 및 10.0%의 농도로 처리하였을 때 토란자체의 아린맛이 줄어들고 고소하여, 맛에 있어서 기호도가 증가하였다(Table 1-63). 말토덱스트린 처리농도에 따라 가장 큰 영향을 받는 요인은 조직감이었다. 처리농도가 높을수록 바삭하여 식감이 증가하였다. 조직감적인 측면에서 말토덱스트린을 7.0 및 10.0%의 농도에서 큰 차이를 나타내지 않아 7.0%의 말토덱스트린에 침지하는 조건을 선정하였다. 말토덱스트린을 3~10% 농도로 처리하였을 때 토란칩의 경도는 476.72~490.12 (g)로 큰 차이를 나타내지 않았다(Table 1-64).

Table 1-63. 말토덱스트린 농도에 따른 전자레인지 토란스낵의 관능적 기호도

Sample	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도
3% Malto-dextrin	6.83±0.75 ^{ab}	6.83±0.98 ^a	6.17±1.33 ^a	6.00±0.89 ^b	6.17±0.98 ^b	6.17±0.75 ^c	6.00±0.63 ^c
5% Malto-dextrin	6.00±0.89 ^b	6.17±0.75 ^a	6.17±0.98 ^a	7.33±0.52 ^a	7.17±0.75 ^{ab}	7.17±0.41 ^b	7.17±0.31 ^b
7% Malto-dextrin	7.33±0.82 ^a	7.00±0.89 ^a	6.50±0.84 ^a	7.83±0.98 ^a	7.33±1.03 ^a	8.17±0.41 ^a	8.17±0.41 ^a
10% Malto-dextrin	7.00±0.27 ^a	6.80±0.75 ^a	6.67±0.52 ^a	7.67±0.82 ^a	7.17±0.75 ^{ab}	8.00±0.75 ^a	8.00±0.52 ^a

Table 1-64. 말토덱스트린 농도에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감

Sample	Maximum force (g)
3% Maltodextrin	480.61±126.79
5% Maltodextrin	482.58±105.13
7% Maltodextrin	476.72±122.80
10% Maltodextrin	490.12±75.20

5) 마이크로웨이브 처리시간 선정

마이크로웨이브 처리시간을 3분~4분 30초간 처리하여 토란스낵을 제조하였으며 이를 관능평가 한 결과(Table 1-65), 외관과 색에 있어서 3분 30초와 4분간 마이크로웨이브 처리를 하는 것이 적당하였다. 4분 30초 처리구는 표면이 부분적으로 타서 외관과 색의 기호도가 저하되었다. 조직감은 마이크로웨이브 처리시간에 따라 바삭감이 증가하여 기호도가 상승되었다. 맛에 대한 기호도는 4분 처리구가 가장 높게 나타났으며 고소하였다. 4분 30초 처리구에 경우에는 고소하지만 탄맛과 씹쓸한 뒷맛을 나타내어 기호도가 저하되었다. 마이크로웨이브 처리시간에 따른 토란스낵의 경도는 3분 처리시 529.85 (g)로 가장 높았으며 이는 처리시간이 충분하지 않아 토란스낵이 눅눅하여 이에 따라 경도가 증가한 것으로 판단된다. 3분과 3분 30초 처리시 각각 396.81과 397.41 (g)로 나타났으며 4분 30초 처리시에는 474.19 (g)로 경도가 약간 증가하였다(Table 1-66). 결과를 종합하여 볼 때 4분 30초 처리시 조직감에 있어서 바삭함은 다소 증가하였지만 표면이 부분적으로 타서 외관과 색 및 맛에 있어서 좋지 못하였다. 따라서 전자레인지 토란스낵 제조시 마이크로웨이브 처리시간으로 4분간 처리하는 것이 적합하다고 판단되었다.

Table 1-65. 마이크로웨이브 처리시간에 따른 전자레인지 토란스낵의 관능적 기호도

Sample	외관	색	향	맛	아린맛	조직감	전체적 기호도
3 min	6.00±0.58 ^{ab}	6.29±0.76 ^b	6.57±0.98 ^a	6.43±1.40 ^a	6.57±1.51 ^a	6.14±1.46 ^b	6.00±1.00 ^b
3min 30sec	7.29±0.95 ^a	7.29±0.95 ^a	6.29±0.76 ^a	6.71±0.76 ^a	6.71±0.69 ^a	7.14±0.69 ^{ab}	6.71±0.49 ^{ab}
4 min	7.43±1.27 ^a	7.86±0.69 ^a	6.71±0.49 ^a	7.57±1.27 ^a	7.00±0.82 ^a	7.71±1.11 ^a	7.71±1.11 ^a
4 min 30 sec	6.33±1.03 ^{ab}	6.17±0.98 ^b	6.50±1.05 ^a	7.33±1.21 ^a	7.17±0.75 ^a	7.83±0.98 ^a	7.33±0.82 ^a

Table 1-66. 마이크로웨이브 처리시간에 따른 전자레인지 토란스낵의 기계적 조직감

Sample	Maximum force (g)
3 min	529.85±88.45
3min 30sec	396.81±95.63
4 min	397.41±161.25
4 min 30 sec	474.19±75.28

(4) 찐토란

(가) 예열처리에 의한 찐토란의 품질 및 관능특성 변화

예열처리에 의한 찐토란의 색도와 경도 및 관능적 기호도는 다음과 같았다 (Table 1-67, 68). 예열처리에 따라 색도는 큰 차이를 보이지 않았으며 경도의 경우는 95℃에서 예열처리한 찐토란이 172.66 (g)으로 가장 높게 나타났으며 무처리구와 75, 85℃의 예열처리구는 114.33~135.19 (g)로 큰 차이를 나타내지 않았다. 관능적 기호도는 조미를 하지 않았기 때문에 외관이나 색, 향, 맛과 질감 등에서 큰 차이를 나타내지 않았다.

Table 1-67. 예열처리에 의한 찐토란의 색도와 기계적 조직감

		색 도			경 도 (g)
		L	a	b	
대조구		75.08±0.99	-0.74±0.16	3.24±0.34	114.33±14.59
예열처리구	75℃	76.04±0.25	-1.00±0.12	4.65±0.35	135.19±59.79
	85℃	73.32±0.39	-0.68±0.13	4.06±0.31	115.27±10.30
	95℃	74.65±2.15	-0.22±0.12	4.19±0.22	172.66±57.52

Table 1-68. 예열처리에 의한 찐토란의 관능적 기호도

	대조구	예열처리구		
		75℃	85℃	95℃
외관	6.86±1.35 ^a	6.71±1.25 ^a	7.14±0.69 ^a	6.43±1.27 ^a
색	6.86±1.34 ^a	6.57±1.40 ^a	7.14±0.69 ^a	6.00±1.41 ^a
향	7.00±0.58 ^a	7.00±0.58 ^a	6.71±0.95 ^a	6.43±1.13 ^a
맛	6.57±0.79 ^a	6.71±0.95 ^a	6.71±1.11 ^a	6.43±1.13
아린맛	7.29±0.49 ^a	7.29±0.49 ^a	7.29±0.49 ^a	7.29±0.76 ^a
조직감	6.43±1.13 ^a	6.29±1.11 ^a	6.57±1.51 ^a	5.29±0.76 ^a
종합적 기호도	6.43±0.79 ^a	6.57±0.79 ^a	6.43±1.51 ^a	5.43±1.13 ^a

(나) 침지액 침지-단맛

찐토란을 제조할 때 조직연화 및 단맛을 부여하기 위하여 당액에 담가 열탕처리 하였다. 이러한 공정에 따른 찐토란의 색도와 경도는 다음과 같았다(Table 1-69). 당액으로 설탕과 포도당 및 고과당을 사용하였을 때 b값이 높았으며 외관의 갈변이 심하였다. 이에 비하여 울리고당을 사용하였을 때 적색도와 황색도 낮게 나

타났다. 경도는 포도당과 고과당을 사용하였을 경우 각각 199.63과 165.22 (g) 로 높게 나타났으며 올리고당을 사용하였을 때 125.95 (g)로 낮게 나타났다.

관능적 기호도는 설탕, 포도당 및 고과당을 사용하였을 경우 갈변이 심하여 외관과 색이 좋지 못하였다. 설탕과 포도당을 당액을 사용할 경우 끝에 남는 맛과 텁텁함 때문에 기호도가 감소되었으며 고과당은 단맛이 강하고 향에 있어서 기호도가 높게 평가 되었지만 심한 갈변 때문에 제품의 품질이 좋지 못하였다. 올리고당은 토란 고유의 색을 잘 유지하고 단맛이 적당하였으며 질감에 있어서 너무 무르지 않아 적당한 당액으로 평가되었다(Table 1-70).

Table 1-69. 당침처리에 의한 찐토란의 색도와 기계적 조직감

		색 도			경 도 (g)
		L	a	b	
당침처리	설탕	67.43±0.62	1.92±0.64	10.34±0.06	139.55±20.79
	포도당	74.65±0.76	2.92±0.04	10.25±0.23	199.63±55.16
	올리고당	72.00±1.74	0.67±0.04	7.14±0.14	125.95±39.91
	고과당	68.02±0.10	0.41±0.44	8.83±0.42	165.22±71.66

Table 1-70. 당침처리에 의한 찐토란의 관능적 기호도

	당침처리			
	설탕	포도당	올리고당	고과당
외관	6.00±0.89 ^{ab}	5.50±1.38 ^{bc}	7.17±1.17 ^a	4.50±1.05 ^c
색	6.50±0.84 ^a	5.67±1.03 ^{ab}	6.66±1.37 ^a	4.83±1.33 ^b
향	6.50±1.05 ^a	6.33±0.82 ^a	6.00±0.89 ^a	6.67±0.52 ^a
맛	6.33±1.03 ^a	6.00±1.26 ^a	7.50±1.38 ^a	6.50±1.38 ^a
아린맛	6.83±0.75 ^a	6.83±0.75 ^a	7.00±1.67 ^a	6.83±0.98 ^a
조직감	5.83±1.17 ^a	5.33±1.21 ^a	7.00±1.78 ^a	5.50±1.22 ^a
종합적 기호도	5.67±1.51 ^a	5.50±1.05 ^a	7.16±1.83 ^a	6.33±0.82 ^a

(다) 침지액 침지-짠맛

찐토란에 짠맛을 부여하고 산화되는 속도를 늦추기 위하여 염수에 담가 열탕처리하였다. 색도는 당용액에 열탕하였을 때 보다 L값이 높게 나타났으며 소금물에 침지하였을 때는 황색도가 낮게 나타나 갈변을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단

되었다. 소금물과 설탕물 혼합 용액은 황색도가 높았으며 외관으로 보기에 부분 적 갈변을 나타내었다. 경도는 4%의 소금물용액에 열탕하였을 때, 155.14 (g)로 높게 나타났으며 2%소금물과 5%설탕물 혼합 용액에 열탕하였을 때 127.81 (g)로 가장 낮 게 나타났다(Table 1-71).

관능적 기호도는 소금물에 열탕한 것이 갈변이 적어 외관과 색에서는 높게 나 타났으나 향과 맛에서는 혼합용액에서 조화롭게 나타났다. 그중에서도 4%의 소금물 과 5%의 설탕물을 혼합한 용액에 열탕하였을 때 아린맛이 느껴지지 않았으며 조식 감에 있어서 무르지 않고 아삭하였다. 또한 전체적으로 토란 특유의 미끈거리는 질 감이 크게 감소하였다(Table 1-72).

Table 1-71. 염수처리에 의한 찐감자의 색도와 기계적 조직감

		색 도			경 도 (g)
		L	a	b	
염수처 리	2%소금물	71.35±0.58	0.68±0.06	5.60±0.20	137.35±70.77
	2%소금물+5%설탕물	67.67±0.99	3.20±0.50	10.07±0.68	127.81±40.40
	4%소금물	73.21±0.47	1.92±0.23	8.05±0.84	155.14±54.58
	4%소금물+5%설탕물	74.65±2.14	1.58±0.22	9.52±0.53	146.32±41.69

Table 1-72. 염수처리에 의한 찐감자의 관능적 기호도

	염수처리			
	2%소금물	2%소금물+ 5%설탕물	4%소금물	4%소금물+ 5%설탕물
외관	6.57±1.3	6.00±0.82	7.00±1.15	6.29±1.50
색	6.57±0.53	5.71±0.95	6.86±1.35	6.43±1.62
향	6.57±1.40	7.29±1.25	7.00±1.00	7.00±1.00
맛	5.86±1.21	6.00±1.15	5.86±2.12	7.29±1.80
아린맛	5.86±1.46	7.14±1.10	7.00±1.15	7.57±0.98
조직감	5.71±1.38	5.86±1.35	6.57±1.72	7.29±1.38
종합적 기호도	5.86±1.10	6.14±1.07	6.14±1.95	7.57±1.40

(라) 레토르트 열처리 조건별

레토르트 조건에 대한 예비실험으로 autoclave에서 열처리 온도를 달리하여 찐 토란을 제조하였다(Table 1-73, 74). 열처리 조건은 90-120℃의 다양한 온도에서 20

분 동안 행하였다. 최적 당액으로 선정된 올리고당(40 Bx)에 열탕처리 한 찐토란은 autoclave 열처리 온도가 증가함에 따라 명도는 감소하였으며 100와 110℃의 열처리 조건이 황색도가 높지 않았다. 120℃의 조건에서는 적색도와 황색도가 상당히 높게 나타났다. 경도는 100℃에서 열처리한 찐토란이 136.80 (g)으로 가장 낮았으며 열처리 온도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다.

관능평가 결과, 90℃의 열처리구는 토란이 익지 않아 전체적인 기호도에 영향을 미쳤다. 120℃의 조건은 높은 열처리 온도로 인하여 심한 갈변현상을 나타내었으며 이것이 외관과 색에 큰 영향을 미쳤다. 또한 맛에서 탄맛이 많이 감지되어 적당하지 않았다. 따라서 100℃에서 20분 동안 autoclave 처리하는 것이 조직감에 있어서 무르고 단맛에 대한 침투가 잘되어 맛이 조화로웠다.

4%의 소금물과 5%의 설탕물의 혼합용액에 열탕한 찐토란의 색도는 autoclave 열처리 온도가 증가함에 따라 명도가 감소하였고 적색도는 증가하였다. 황색도의 경우 90 및 120℃에서 20분 동안 열처리한 찐토란이 각각 9.31과 8.42로 높은 값을 나타내었다. 경도는 90℃에서 20분 열처리한 것은 870.22 (g)로 거의 생토란과 같은 조직감을 나타내었고 열처리 온도에 따라 감소하여 120℃에서 열처리한 것이 128.08 (g)로 가장 낮게 나타났다. 찐토란의 열처리에 따른 색도와 경도를 검토하였을 때 가장 갈변이 적고 적당한 경도를 가지고 있는 100와 110℃의 열처리 조건이 적당하였다. 관능검사 결과, 90℃의 조건은 생토란과 같은 흰색으로 호화가 되지 않아 맛과 조직감이 좋지 않았으며, 110℃에서 열처리 한 것은 조직감과 외관은 좋게 나타났으나 나머지 처리구에 비하여 짠맛이 강하게 나타나 기호도가 저하되었다. 120℃의 열처리 조건은 심한 갈변현상을 나타내었고 온도가 너무 높아 물러져 질감이 좋지 않았다. 따라서 100℃에서 20분의 autoclave 열처리 조건이 가장 적합한 것으로 확인되었다.

Table 1-73. Autoclave 열처리 온도에 따른 찐토란의 색도와 기계적 조직감

		색 도			경 도 (g)
		L	a	b	
올리고당 (40Bx)	90℃, 20분	85.68±0.88	0.36±0.06	9.67±0.57	1332.90±247.89
	100℃, 20분	65.20±0.41	1.53±0.18	1.76±0.21	136.80±45.36
	110℃, 20분	67.92±0.35	1.28±0.28	5.93±0.31	169.10±54.85
	120℃, 20분	63.98±0.13	3.00±0.13	10.74±0.04	223.82±69.48

		색 도			경 도 (g)
		L	a	b	
4%소금물+ 5%설탕물	90℃, 20분	87.20±0.09	0.11±0.05	9.31±0.14	870.22±104.36
	100℃, 20분	67.42±0.03	0.81±0.22	2.47±0.11	164.73±47.28
	110℃, 20분	65.49±0.69	2.10±0.19	3.52±0.31	147.83±37.06
	120℃, 20분	64.56±0.30	2.37±0.16	8.42±0.16	128.08±45.49

Table 1-74. Autoclave 열처리 온도에 따른 찐토란의 관능적 기호도

	올리고당(40Bx)			
	90℃, 20분	100℃, 20분	110℃, 20분	120℃, 20분
외관	4.50±1.69 ^b	7.25±1.28 ^a	6.13±0.83 ^a	3.88±0.83 ^b
색	4.50±2.00 ^b	6.88±0.99 ^a	6.00±0.76 ^a	4.00±0.76 ^b
향	4.63±1.30 ^b	6.76±1.28 ^a	6.63±1.30 ^a	5.25±1.83 ^{ab}
맛	4.63±1.60 ^b	7.00±1.07 ^a	6.38±0.92 ^a	5.13±0.99 ^b
아린맛	5.50±1.69 ^b	7.38±0.74 ^a	6.76±1.16 ^{ab}	5.88±1.36 ^b
조직감	4.00±1.77 ^c	7.00±1.07 ^a	6.00±1.07 ^{ab}	5.00±0.93 ^{bc}
종합적 기호도	4.00±1.41 ^c	7.00±0.93 ^a	6.38±0.92 ^a	5.13±0.99 ^b

	4%소금물+5%설탕물			
	90℃, 20분	100℃, 20분	110℃, 20분	120℃, 20분
외관	3.75±1.75 ^b	7.00±1.07 ^a	6.38±1.06 ^a	4.75±1.67 ^b
색	3.88±1.46 ^b	6.88±0.99 ^a	6.25±1.04 ^a	4.75±1.67 ^b
향	4.88±1.46 ^b	6.88±0.99 ^a	6.75±1.17 ^a	6.25±1.28 ^a
맛	4.50±1.07 ^c	7.88±0.83 ^a	6.13±0.83 ^b	6.25±1.49 ^b
아린맛	4.38±1.41 ^b	7.13±0.64 ^a	6.38±1.06 ^a	6.88±0.99 ^a
조직감	3.75±1.58 ^c	7.25±0.46 ^a	6.25±0.71 ^{ab}	5.88±1.55 ^b
종합적 기호도	3.75±1.28 ^c	7.63±0.74 ^a	6.63±0.92 ^{ab}	6.13±1.36 ^b



Fig 1-5. Autoclave 열처리 온도에 따른 찐토란의 외관

제 2 절 토란의 항비만 효능 구명 및 기능성 가공식품개발 (제 2세부과제 : 한국식품연구원)

1. 재료 및 방법

가. 토란의 항비만 효능평가

(1) 토란의 유효성분 함량

(가) 총 폴리페놀(Total polyphenol) 및 플라보노이드(Flavonoid) 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent 법(39)을 이용하여 측정하였다. 회석한 각 추출물을 0.125 mL 취하고 여기에 0.5 mL 증류수를 넣은 후 0.125 mL의 Folin-Ciocalteu 시약을 가하여 6분간 반응시킨 후 1.25 mL의 7% 탄산나트륨 용액을 첨가하였다. 이를 3 mL의 증류수를 가하여 회석한 후 90분간 발색시켜 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정치는 농도별 catechin를 이용한 standard curve와 비교하여 mg catechin equiv./g으로서 표시하였다. 총 플라보노이드 함량은 Jia 등(40)과 유사한 방법으로 측정하였다. 회석한 각 추출물 0.25 mL과 1.25 mL의 증류수를 테스트튜브에 넣고 5% sodium nitrite 0.075 mL을 첨가한 후 5분간 정치하였다. 여기에 0.15 mL의 10% aluminum chloride를 첨가하여 6분간 반응시킨 후 1N NaOH 0.5 mL과 증류수 0.275 mL을 첨가하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정치는 농도별 (-)-catechin을 이용한 standard curve와 비교하여 mg catechin equiv./g으로서 표시하였다.

(나) DPPH radical 소거활성 및 ABTS radical 소거활성

DPPH radical 소거능은 Williams 등(41)의 방법을 변형하여 측정하였다. 회석한 추출물 0.5 mL에 0.1 mM DPPH 용액 1 mL와 에탄올 1 mL를 넣고 10초간 섞고 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 $ABTS^+ \cdot$ cation decolorization assay 방법(42)에 의하여 시행하였다. 7 mM 2,2-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)와 2.45 mM potassium persulfate를 최종 농도로 혼합하여 실온인 암소에서 14시간 동안 방치하여 $ABTS^+ \cdot$ 을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되게 5 mM phosphate buffer saline(PBS)로 희석하였다. 희석된 용액 0.99 mL에 시료 0.01 mL를 가하여 6분 동안 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 라디칼 소거활성은 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 추출물의 농도인 IC_{50} 값으로 나타내었다.

(2) 토란의 lipase 저해활성

Lipase 활성저해 효과 측정은 Fig. 2-1과 같이 하였다. 표의 농도로 reaction mixture를 만들어 37℃에서 15분간 반응시킨 후 405 nm에서 absorbance 측정하였다. Blank는 enzyme대신 증류수를 사용하였으며 대조구는 시료 대신 용매를 사용하였다. Lipase activity(%)는 아래의 식으로 계산하였다.

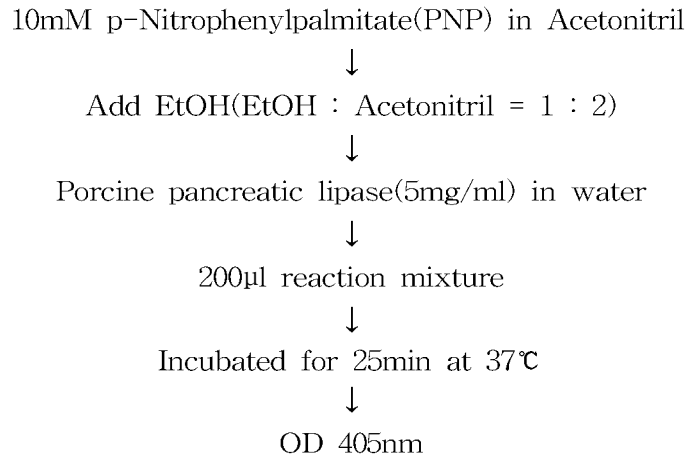


Fig. 2-1. Lipase activity 측정방법

Table 2-1. Reaction mixture의 조성

Total reaction mixture - 200µl
Enzyme(porcine pancreatic lipase) - 0.30mg/ml
Sample - 1.0mg/ml,
PNP - 0.167mM
Tris-HCl buffer - 0.061M (pH 8.5)

Lipase activity(%) = (시료의 OD값 - blank의 OD값) / 대조구의 OD값

(3) 지방세포 분화억제효능(3T3-L1 cell)

3T3-L1을 분화시키고 지방축적(adipogenesis)을 유도하여 특정한 소재의 첨가가 지방축적에 미치는 영향을 측정하는 방법으로서 pre-adipocyte 상태의 3T3-L1 cell line에 dexamethason, isobuthylmethylxanthine 그리고 insulin으로 처리하여 cell의 분화(differentiation)를 유도하면 PPAR γ 등의 지방합성 촉진 인자들의 발현이 일어나고 궁극적으로 지방의 세포내 축적이 이루어진다. 대체적으로 3T3-L1 cell line의 pre-adipocyte 기간을 포함하여 9일 안에 지방의 축적이 일어나며 축적

된 지방구를 Oil Red O 용액으로 추출하고 520nm에서 흡광도를 측정함으로써 세포내 지방축적 정도를 측정하는 방법이다. 본 연구에서는 토란의 물추출물, 메탄올 추출물 및 메탄올 추출물의 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물의 분획물의 anti-adipogenic activity를 측정하기 위하여 3T3-L1 pre-adipocyte에 인슐린 등과 같은 adipocyte inducer를 첨가하여 adipogenesis를 유도하였으며, 추출물을 inducer들과 함께 첨가하여 adipogenesis의 발생을 억제시키는 정도를 측정하였다.

(4) 담즙산 흡착능

담즙산 흡착능은 Adiotomore 등(43)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 토란의 60°C 열수 추출물을 50 mg/ml의 농도로 희석하여 시료 4 mL을 투석막(MW 6,000-8,000)에 넣고 15 mM taurocholic acid 1 mL를 가하여 잘 혼합하고 밀봉한 후 10 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0)가 40 mL이 채워진 bag에 넣어 shaking incubator를 이용하여 37°C에서 120 rpm으로 1시간 교반하였다. 투석막에서 빠져 나온 투석물의 taurocholic acid의 농도는 Boyd 등(44)의 spectroscopic 방법에 의해 측정하였으며 담즙산염 흡착능은 다음 식에 대입하여 산출하였다.

$$\text{Adsorption Capacity (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: total bile acid in dialysates incubated with sample

B: total bile acid in dialysates incubated without sample

(5) HMG-CoA reductase 억제 활성

체내 콜레스테롤 합성 억제는 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA)가 mevalonate로 되기 위해 필요한 HMG-CoA reductase (HMGR)의 저해 도로 평가하였다. 이 과정은 생체 내 콜레스테롤 합성시 첫번째 rate-limiting 단계로서 이 과정이 억제되면 체내 콜레스테롤 합성은 억제된다. 현재 고콜레스테롤증의 치료제로 많이 쓰이는 statin류들이 모두 이 효소의 억제가 주요 target이다. HMGR 억제활성은 이 과정에서 산화되는 NADPH 양을 340 nm에서 측정함으로써 평가하였다. 기질(0.18 mM HMG-CoA)을 제외한 반응액(10 mM 인산염 완충용액 (pH 7.0), 0.4 M dithiothreitol, 0.12 mM NADPH)에 시험액와 HMGR 조효소액 1ul (14.4 ug protein)을 혼합하여 37°C 수욕조에서 5분간 반응시킨 후 37°C로 미리 예열한 기질(HMG-CoA)을 넣고 분광광도계 (Jasco V-530 spectrophotometer, Model TUDC 12B4, Japan Servo Co. Ltd. Japan)로 340 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하였다. 최종 반응액의 부피는 250 uL였으며, 대조구에는 기질대신 증류수를 넣어 사용하였다. 효소 억제 활성은 시료의 흡광도 변화값을 백분율로 환산

한 후 이를 100에서 빼줌으로서 저해율을 계산하였다. 본 실험에서 사용한 HMGR 조효소액은 syrian hamster의 *hmgr* gene을 포함하는 pkFT7-21 재조합 plasmid를 *E. coli* BL21에서 발현, 정제하여 사용하였다. 조효소액의 단백질 함량은 단백질 정량은 bicinochonic acid (BCA) micro-assay 방법으로 시행하였다.

나. 토란의 비만억제 효능평가

(1) 토란분말의 항비만 효능 평가 (동물실험)

(가) 실험동물의 사육 및 식이조성

1) 토란분말의 제조

토란분말의 *in vivo* 항 비만기전을 연구하기 위해 실험에 사용한 토란은 전라남도 구례군에서 2008년에 생산된 알토란을 시료로 사용하였으며, 구입한 시료는 실험에 사용할 때까지 2~5°C에서 보관하였다. 토란분말은 알토란의 껍질을 제거하여 슬라이스한 후 95°C에서 30분 동안 상압증자 하여 60°C 열풍건조기에서 말린 후 mixer로 분쇄하여 60 mesh의 체를 통과시켜 균일한 입자를 가지는 증자처리 토란분말을 제조하였다. 각 토란분말은 밀봉시켜 4°C에 보관하여 시료로 사용하였다.

2) 실험동물 사육 및 식이조성

실험동물은 4주령의 수컷 C57 BL/6J mice를 오리엔트 바이오(Orient Bio Inc., Seongnam, Korea)로 부터 분양받아 1주일간 정상식으로 적응기간을 가진 후 실험 식이를 공급하였다. 실험식이의 조성은 Table 2-2와 같으며, 정상식이군은 AIN-76A diet #100000(Dytes Inc., Bethlehem, PA, USA)을 급여하였고, 실험군의 비만을 유도하기 위하여 AIN-76A 식이를 기준으로 하여 lard를 31%, 고 콜레스테롤 혈증을 유도하기 위하여 콜레스테롤 0.5%를 첨가하여 고지방 식이를 제조하였다. 또한 토란분말의 체중감량 및 지질저하 효과를 살펴보기 위하여 고지방식이에 토란분말을 20% 및 30% 첨가하여 실험식이를 제조하였다(Table 2-2). 실험군은 난괴법에 의하여 정상 식이군(Normal), 고지방 대조군(HF), 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)의 4가지 처리군으로 나누어 8주간 사육하였다. 실험동물들은 환경조절 된 사육실(조명 6:00 pm-6:00 am, 온도 22±2°C)에서 각 실험군당 10마리로 하여 한 cage당 2-3마리씩 분리하여 사육하였다. 사육 중 식이는 하루에 한번씩 평균적인 섭취량에 맞추어 제한적으로 공급하였으며, 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 모든 실험식이는 사육기간 동안 냉동 보관 하였다.

사육기간 중 실험동물의 체중은 주 1회 측정하였으며, 식이섭취량은 매일 일정

시간에 식이급여량과 잔량을 측정하여 산출하였다. 식이효율(food efficiency ratio: FER)은 8주간의 총 식이 섭취량에 대한 체중증가량의 비(FER = body weight gain(g)/food intake(g))로 계산하였다.

Table 2-2. Composition of experimental diets (g/100 g diet)

	HF ¹⁾	HF-Taro 20% ²⁾	HF-Taro 30% ³⁾
Taro powder	0	20	30
Casein	26	22	20
Corn starch	6	0	0
Sucrose	0	0	0
Dextrose	20	12	5
Soybean oil	3.5	2.5	2.0
Lard	31	31	31
Cellulose	6	5	4.5
AIN-mineral mixture	5	5	5
AIN-Vitamin mixture	1.3	1.3	1.3
TBHQ	0.002	0.002	0.002
Cysteine	0.4	0.4	0.4
Choline bitrate	0.3	0.3	0.3
Cholesterol	0.5	0.5	0.5
Total	100	100	100

¹⁾HF: high fat diet

²⁾HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%

³⁾HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%

3) 해부 및 장기적출

사육기간이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후, 안와채혈법으로 채혈하였으며 채혈한 혈액은 즉시 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 혈청을 분리하여 분석시료로 사용하였다. 또한 간과 신장 및 고환의 장기조직과 신장지방과 부고환 지방 및 갈색지방은 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수에 행군 후 표면의 수분을 제거하여 중량을 측정한 후, 간과 부고환 주위 지방은 즉시 액체질소에 급냉시켜 -70℃에 냉동 보관하였다.

4) 지질 및 콜레스테롤 분석

분리한 혈청을 이용하여 중성지방(Triglyceride, TG), TC(total cholesterol), HDL-콜레스테롤(high density lipoprotein), LDL-콜레스테롤(low density

lipoprotein)은 혈청자동분석기(Hitachi 747, Hitachi, Japan)를 이용하여 분석하였다.

간의 지질은 간조직의 10배량의 용매(chloroform : methanol = 2 :1)를 가하여 반복추출하고 용매를 휘발시켜 지질을 얻었으며, 이때의 총 지질함량은 중량법으로 구하였고, 추출한 지질을 ethanol로 15 mL로 정용하여 혈청에서의 분석과 동일한 방법으로 총 중성지질, 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤을 분석하였다.

5) 혈액생화학적 분석

시험 종료시 채혈한 혈액으로부터 혈청을 분리하여 aspartate transaminase(AST)와 alanine transaminase(ALT), glucose 치를 측정하였다.

혈청 leptin 농도는 mouse leptin immunoassay kit (R&D, USA)를 사용하여 분석하였으며 혈중 insulin 함량은 kit(Cebtrak Lab, Animal Inc. Mouse Insulin ELISA Kit)를 이용하여 분석하였다.

6) 간조직의 지질침착도 및 침착양상 관찰

간조직 및 지방조직 세포의 형태학적 관찰을 위해 적출한 간과 부고환 조직의 일부를 적출하여 10% formaldehyde 용액에 고정 및 탈수 후 paraffin 투과과정을 거쳐 포매하였다. 박질편기로 약 4 μ m 두께로 박질하여 hematoxylin-eosin (HE)으로 염색하고, xylene으로 투명화시켜 봉입한 다음 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 토란분말의 항비만 효능 평가 (임상실험)

(가) 토란 Tablet 제조

토란을 증자처리하여 분말화한 후 유청단백, 필라티노스, 맥주효모, 사과농축액 및 볶음 콩가루를 혼합하였고 비타민C와 죽염은 물에 충분히 용해하여 첨가하였다. 여기에 물과 주정을 첨가하여 혼합한 후 토란 분말을 과립을 쳐서 50 $^{\circ}$ C에서 건조하였다. 이를 (주)송인제약에 의뢰하여 tablet 형태로 제조하였다.

(나) 조사대상자

연구에 참여한 대상자는 한국식품연구원에 재직 중인 사람 중에서 신체계측과 채혈 및 설문지조사 작성 등의 연구 활동에 참여하고 준수하기로 동의한 지원자 중에서 질병이 있거나 최근에 심각한 질병을 앓은 사람을 제외하고 선정하였다. 선정된 지원자에게는 실험목적, 내용, 준수사항을 전달하고 실험 시작 전에 임상실험 참여에 대한 동의를 얻은 후 실시하였다.

(다) 실험기간 및 식이섭취

실험기간은 총 5주이었으며, 섭취방법은 1일 3회 5알(총 21 g)을 식사 30분 전에 물과 먹게 하였다. 5주간의 실험기간 중 식사는 자신의 일상식을 섭취하도록 하였다. 또한 자신의 고유한 식사섭취 패턴과 일상 활동 정도를 의도적으로 바꾸지 말고 그대로 유지하면서 섭취하도록 하였다.

(라) 신체계측

피 실험자의 신장은 실험 시작 전에 측정하였고 측정방법은 맨발로 직립자세를 취하여 신장계로 0.1 cm 까지 측정하였다. 체중과 체지방은 매주 측정하였으며, 체중은 디지털 체중계(UM-018, Tanita, china) 위에 표시된 지점에 정확히 올라서서 0.1 kg까지 측정하였다. 체지방율(%)은 생체전기저항분석(bioelectrical impedance analysis)을 이용한 체지방측정기기(In Body2.0, Biospace, Korea)로 피측정자의 연령, 신장 및 성별을 입력하고 맨발로 체지방 측정기기 위에 표시된 지점에 정확히 올라서게 하여 측정하였다. 체질량지수(body mass index, BMI, kg/m²)와 Obesity index는 신장과 체중을 측정하여 다음 식에 대입하여 구하였다.

$BMI = \text{body weight (kg)}/\text{height (m}^2)$

$Obesity\ index = \text{Body weight}/\text{standard weight} \times 100$

(마) 혈액분석

실험 식이를 섭취하기 직전과 급여 후 5주가 경과하였을 때 공복상태에서 정맥혈을 채취하여 glucose, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 요산, BUN(blood urea nitrogen), creatinine 수치를 측정하였다. 이는 연세모두 병원(성남시, 야탑동)에 의뢰하여 혈청자동분석기(Hitachi 7170, Hitachi, Japan)를 이용하여 분석하였다.

다. 항비만 효능 함유 토란소재 개발

(1) 토란분말 제조

토란을 분말화하는 과정은 토란을 정선한 후 흙 등 오물이 많고 거친 껍질부분을 제거하기 위하여 박피기로 일차 처리한 후 수작업으로 표면이 깨끗하게 박피하였다. 박피한 토란은 2~3 mm로 세절하였으며 생 토란이 가진 아린맛을 제거하고 갈색화를 일으키는 갈색화효소를 불활성화하기 위한 목적으로 autoclave에서 121℃ 30분 처리하거나 시료를 대량 처리할 경우 steam 발생기를 이용하여 떡시루에서

15분간 증자 처리하였다. 증자한 토란 편은 60℃ 열풍건조기에서 건조하거나 또는 -40℃에서 동결한 후 동결건조하였다. 건조된 토란 편은 roller mill로 분쇄한 후 ball mill로 미세분쇄하여 토란 분말로 하였다.

볶은 토란 분말은 열풍 건조된 토란 편을 이중 솥에서 직화로 볶음한 후 roller mill로 조분쇄하고 다시 ball mill로 미분쇄하여 사용하였다.

(2) 토란 과립제조

과립의 제조는 토란을 증자 후 열풍 건조한 분말에 유당, 수용성전분, 설탕, 올리고당, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨을 혼합하여 여기에 물을 가하여 믹서기에 혼합하였다. 이들을 반죽한 다음 20 mesh 체로 과립화하고 50℃에서 열풍건조하였다.

(3) 토란 Tablet 제조

토란을 준비한 후 이를 깨끗이 세척하여 2-3 mm의 두께로 절단하고, 절단된 토란은 스팀발생기를 이용하여 떡시루에 대량으로 15분 동안 증자 처리하였다. 증자한 토란은 열풍건조기에서 60℃의 온도로 함수량이 5-25가 함유되도록 건조한다. 건조한 토란은 roller mill로 조분쇄하고 믹서기를 이용하여 60 mesh이하의 분말로 선별하였다. 이러한 토란분말에 기호도 증진을 위하여 유청단백, 필라티노스, 맥주 효모, 사과농축액 및 볶음 콩가루를 혼합하였고 비타민C와 죽염은 물에 충분히 용해하여 첨가하였다. 위와 같이 주재료와 부재료가 일정 비율로 혼합되면, 여기에 물과 주정을 첨가하여 다시 혼합한 후 반죽한다. 이 반죽물을 채를 이용하여 과립을 쳐서 이를 (주)송인제약에 의뢰하여 1500 mg의 tablet 형태로 제조하였다.

2. 결과 및 고찰

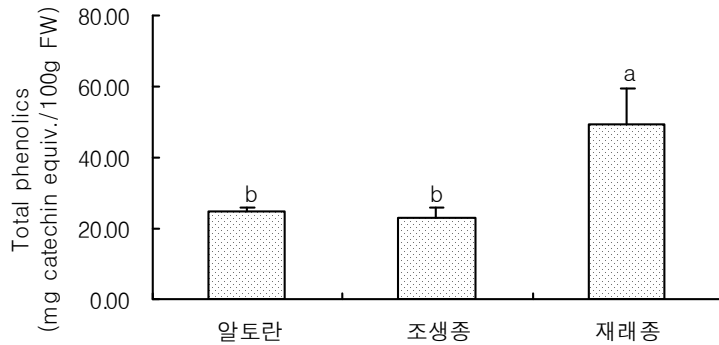
가. 토란의 항비만 효능평가

(1) 토란의 유효성분 함량

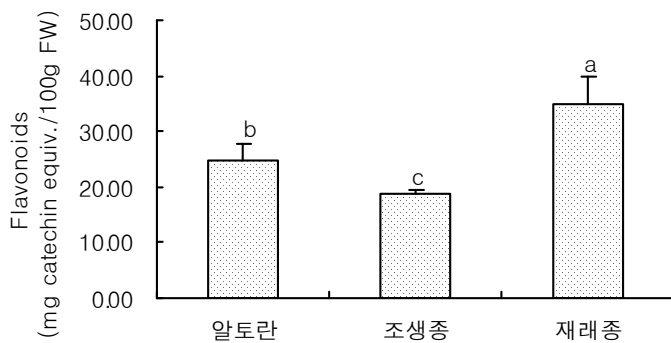
(가) 총 폴리페놀(Total polyphenol) 및 플라보노이드(Flavonoid) 함량

품종별 세 토란의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 2-2와 같았다. 총 폴리페놀 함량은 재래종 토란이 49.37 mg catechin equiv./100 g(F.W)를 나타내어 가장 높게 나타난 반면 알토란과 조생종은 각각 24.99, 23.05 mg catechin equiv./100 g(F.W)으로 나타나 유의적 차이를 보이지 않았다. 플라보노이드 함량의

경우 역시 재래종 토란이 34.87 mg catechin equiv./100 g(F.W)로 가장 높은 수치를 나타내었으며 조생종 토란이 18.95 mg catechin equiv./100 g(F.W)로 가장 낮게 나타났다.



(A)

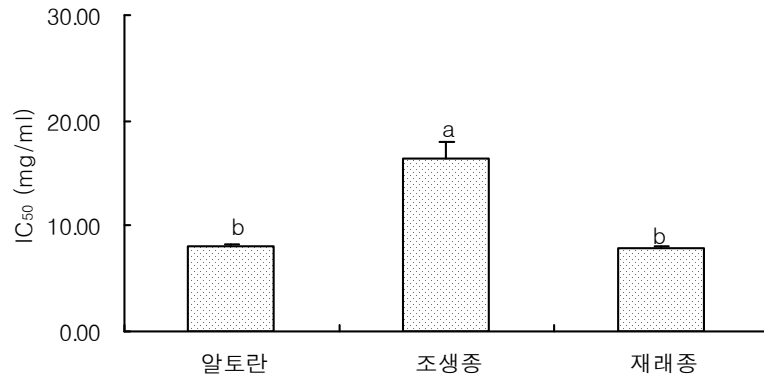


(B)

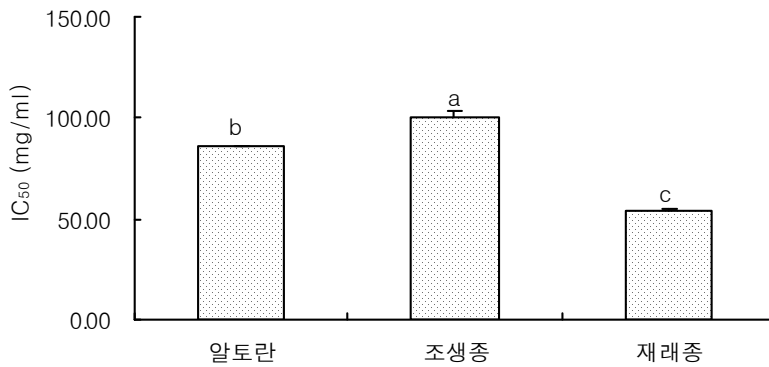
Fig. 2-2. Total phenolic content(A) and total flavonoid content(B) of three varieties of taro flour.

(나) DPPH radical 소거활성 및 ABTS radical 소거활성

DPPH radical 소거능(Fig. 2-3. A)은 50%의 소거활성을 보일 때의 각 시료의 농도로 비교하였는데, 알토란과 재래종 토란은 8.0 mg/mL과 7.81 mg/mL의 농도에서 50%의 소거활성을 나타내어 높은 라디칼 소거활성을 지녔으며, 조생종 토란의 경우 16.34 mg/mL로 소거활성이 상대적으로 낮게 나타났다. ABTS radical 소거능(Fig. 2-3. B)은 재래종 토란이 53.30 mg/mL의 농도에서 50%의 소거활성을 보여 다른 품종에 비해 가장 높은 효과를 지녔다.



(A)



(B)

Fig. 2-3. DPPH radical scavenging(A) and ABTS radical scavenging(B) activity of three varieties of taro flour.

(2) 토란의 lipase 저해활성

토란추출물에 의한 체내로의 지방흡수를 저해하는 정도를 측정하기 위하여 lipase 저해활성을 조사하였다. 토란의 70% 에탄올 추출물을 chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol로 극성이 낮은 용매에서 극성이 높은 용매로 순차적으로 계통 분획하였으며 토란 에탄올 추출물의 체장 지방소화효소 활성저해능은 4-methylumbelliferyl oleate(4-MU oleate)를 기질로 하는 방법으로 측정하였다.

토란의 lipase 저해활성은 농도에 의존적이지 않는 경향을 보였으며 각 분획별 저해활성도 낮아 토란의 lipase 저해활성은 미미한 것으로 나타나 토란의 lipase 저해 활성에 의한 지방의 체내로의 흡수를 저해하는 것은 기대할 수 없었다(Table 2-3).

Table 2-3. Lipase inhibition activity of extracts of taro

	Lipase inhibition (%)		
	50ppm	100ppm	500ppm
chloroform frac.	1.53±1.37 ¹⁾	1.34±0.47	2.73±0.72
ethyl acetate frac.	0.16±0.69	0.37±2.07	4.56±0.66
butanol frac.	1.41±0.76	0.55±0.49	1.74±0.93
water frac.	2.95±1.27	3.61±1.15	2.12±1.95

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

(3) 지방세포 분화억제효능(3T3-L1 cell)

토란 추출물의 지방세포분화 억제효과를 관찰하기 위하여 추출물을 3T3-L1 preadipocyte에 투여한 후 adipocyte로의 분화억제력을 조사한 결과, 토란추출물에 의한 지방세포 분화가 농도의존적으로 저해됨을 알 수 있었다. 그러나 물추출물과 메탄올 추출물과의 차이는 거의 없었으며 메탄올 추출물의 용매분획들에서도 현저한 저해효능 차이는 보이지 않았다.

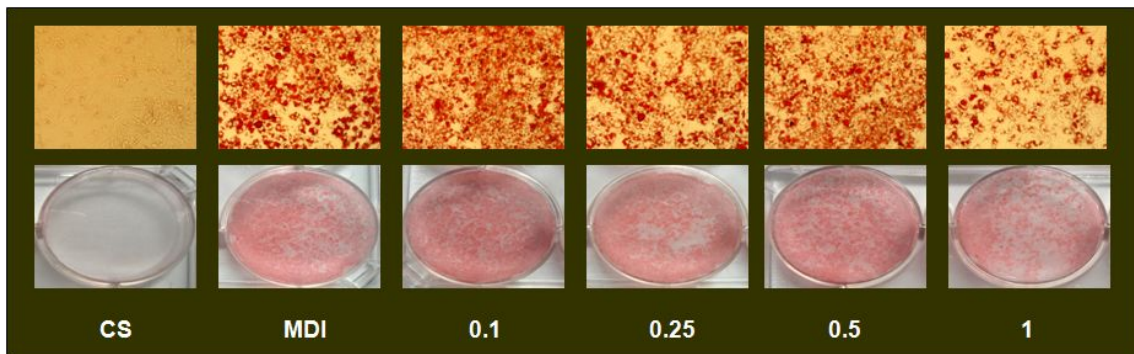
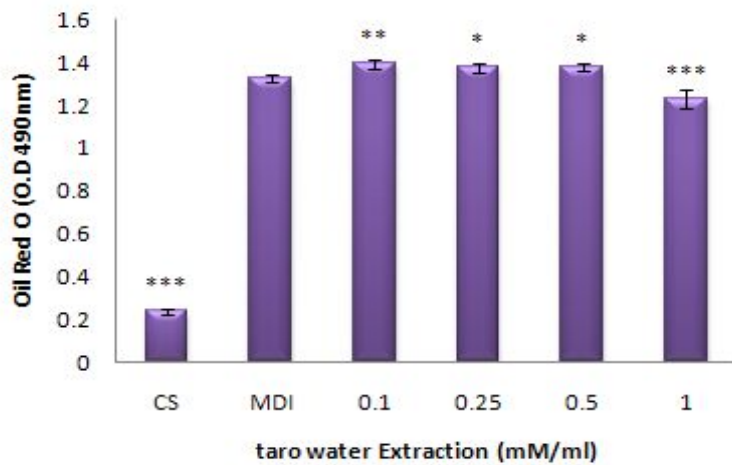


Fig. 2-4. 토란 물 추출물의 지방세포분화 억제 효과

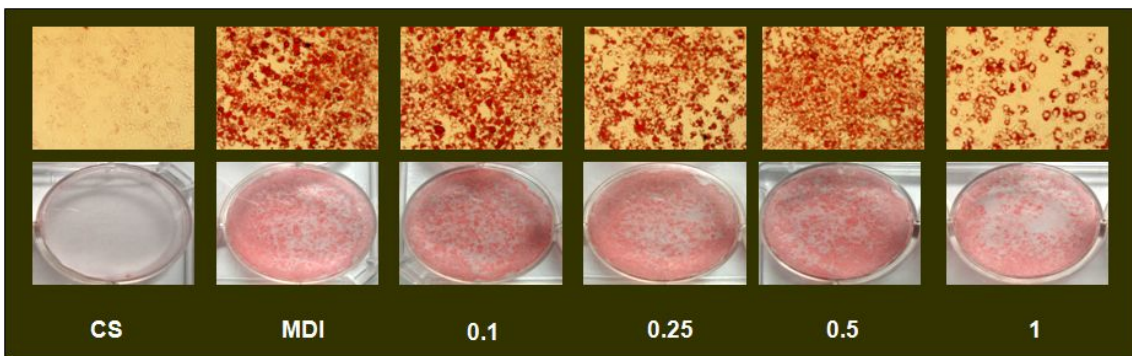
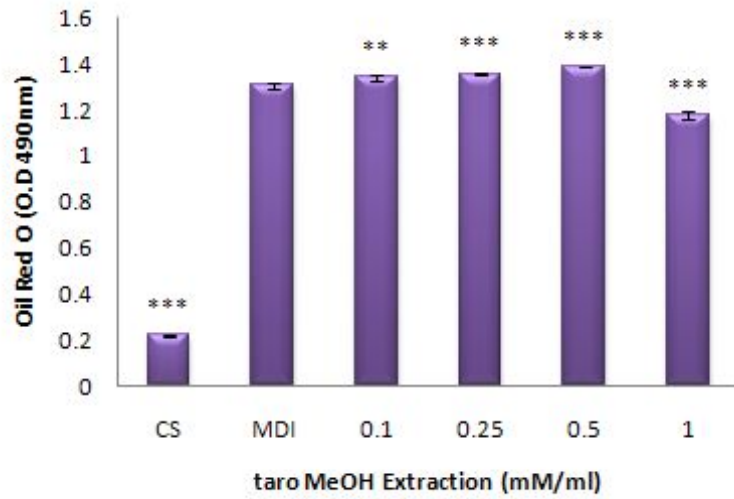


Fig. 2-5. 토란 메탄올추출물의 지방세포분화 억제 효과

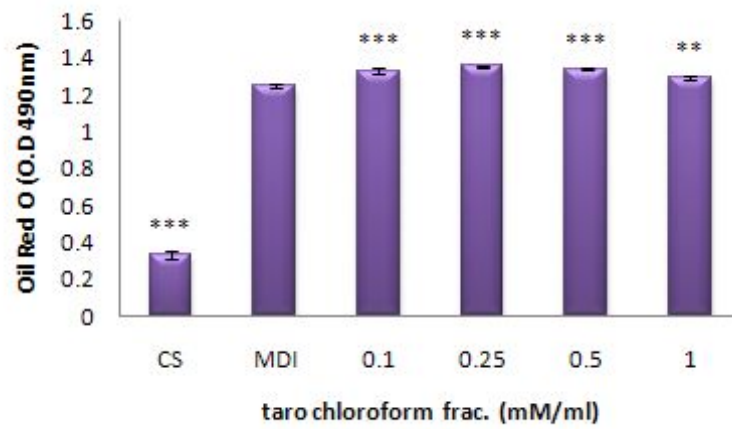


Fig. 2-6. 토란 메탄올추출물의 클로로포름 분획의 지방세포분화 억제 효과

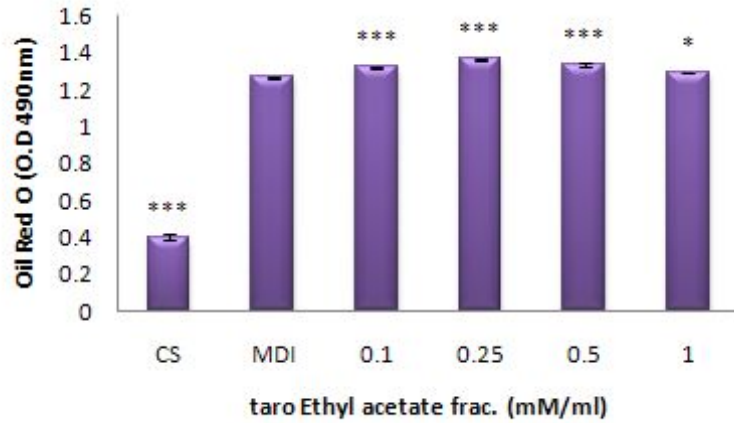


Fig. 2-7. 토란 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획의 지방세포분화 억제 효과

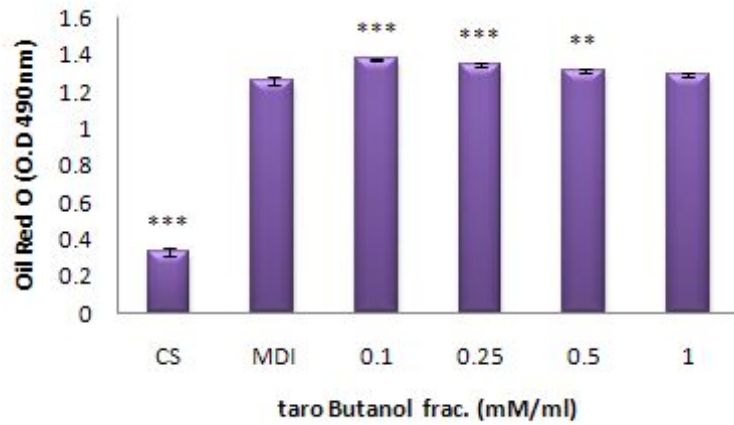


Fig. 2-8. 토란 메탄올추출물의 부탄올 분획의 지방세포분화 억제 효과

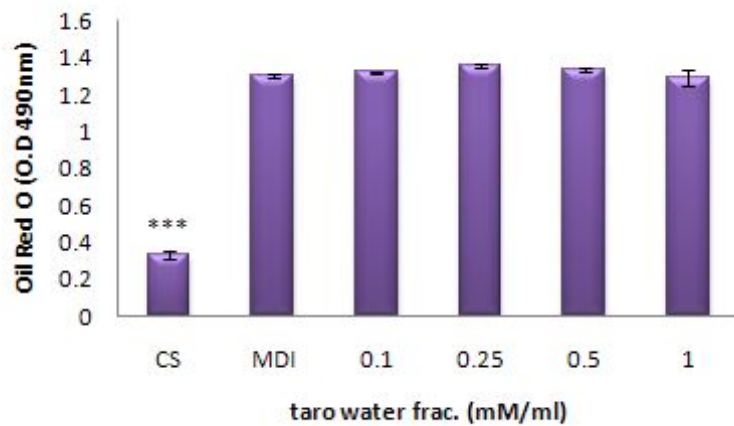


Fig. 2-9. 토란 메탄올추출물의 물 분획의 지방세포분화 억제 효과

(4) 담즙산 흡착능

담즙산 흡착능은 Adiotomore 등의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 품종별 토란분말을 60°C에서 열수추출 하여 얻은 추출물에 대해 담즙산 흡착능을 비교하였다(Table 2-4). Bile acid는 micelle 형성을 통해 지방질 대사에 관여하며 식이섬유의 종류에 따른 점성에 의해 소장내에서 소수성인 bile acid와 식이섬유가 흡착되어 bile acid의 분해대사 및 체내 이용성이 떨어진다고 알려져 있다. 본 실험에서 품종별 토란분말의 농도 50 mg/mL에서 조생종이 22.49%로 다른 품종에 비해 높은 흡착능을 보였으며 투석된 투석물안의 taurocholic acid의 농도도 0.15 mM로 가장 낮아 시료와 taurocholic acid의 흡착정도가 다른 품종의 토란에 비해 높음을 나타내었다. 재래종 토란의 경우 2.04%의 가장 낮은 담즙산 흡착능을 나타내었다.

Table 2-4. 토란분말 물 추출물의 Bile acid adsorption capacity

	Bile acid adsorption capacity(%)	Taurocholic acid in dialysate(mM)
알토란	12.47±3.27 ^{1)b2)}	0.17±0.01 ^{ab}
조생종	22.49±3.83 ^a	0.15±0.01 ^b
재래종	2.04±0.01 ^c	0.20±0.01 ^a

¹⁾Each value represents mean±S.D. (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p < 0.05$)

(5) HMG-CoA reductase 억제 활성

토란분말 물 추출액의 HMG-CoA reductase 억제 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며 IC₅₀ 은 0.01868 mg/ml로 HMG CoA reductase에 대한 억제 활성을 보였다. 따라서 체내 콜레스테롤 합성 억제효능이 기대되어 콜레스테롤 대사를 고려한 동물 실험 검증이 필요하다고 결론되었다.

Table 2-5. 토란분말 물 추출물의 HMG-CoA reductase 억제 활성

Sample	conc. (mg/ml)	Vol.	Inhibition rate(%)
토란	0.1	20 ul	77
	0.02	20 ul	57
	0.01	20 ul	43

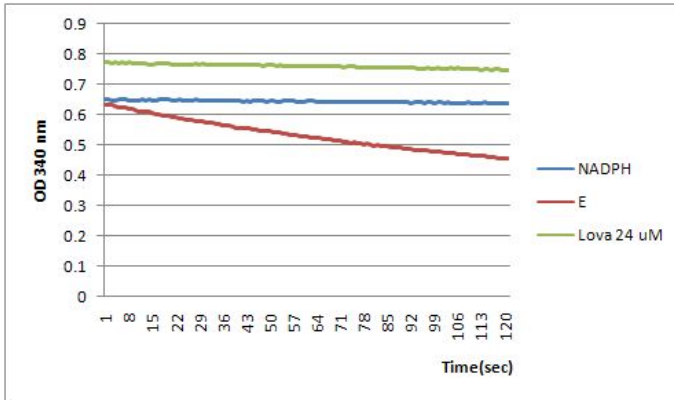


Fig. 2-10. 효소원 활성화 검증

나. 토란의 비만억제 효능평가

(1) 토란분말의 항비만 효능 평가 (동물실험)

(가) 체중변화와 식이섭취량 및 식이효율

토란분말의 첨가가 고지방 식이를 섭취한 마우스의 체중 증가에 미치는 영향을 측정하였다. 체중변화에 있어서 고지방 대조군(HF)에서는 정상 식이군(Normal)에 비해 급여 1주일 후부터 체중증가가 높게 나타났으며 8주후에는 14.5 g의 체중차이를 보였다(Fig. 2-11). 토란 첨가군은 고지방 대조군에 비해 체중증가가 적었으나 정상 식이군보다는 높게 나타났다. 정상 식이군(Normal)과 고지방 대조군(HF) 및 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)의 4가지 처리군으로 나누어 8주간 사육 후 이들의 체중변화와 식이섭취량 및 식이효율을 조사한 결과는 Table 2-6과 같았다. 8주 동안의 체중증가량은 고지방 대조군(HF)이 17.50 ± 1.23 g 으로 나타나 가장 큰 체중증가를 보였으며 토란 20%와 30%의 첨가군에서는 각각 13.18 ± 1.42 g와 12.84 ± 0.83 g로 고지방 대조군에 비해 낮은 체중증가량을 나타내었다. 식이 섭취량은 $15.66 \pm 0.44 \sim 16.46 \pm 0.57$ g/week로 유의적으로 큰 차이를 나타내지 않았으며 또한 식이효율도 고지방 대조군이 $13.99 \pm 1.37\%$ 인 것에 비해 토란분말 첨가군은 낮게 나타났으며 특히 토란 30% 첨가군에서 $10.03 \pm 0.01\%$ 로 가장 낮은 식이효율을 나타냈다.

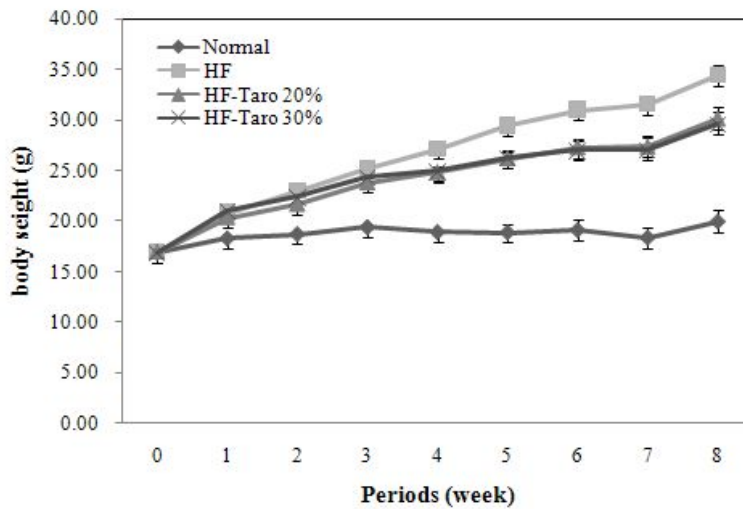


Fig. 2-11. Effects of taro powder on changes of body weight in mice fed with high-fat diets. (Normal: normal diet HF: high fat diet HF-Taro 20%: HF + taro powder 20% HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%)

Table 2-6. Food intake and food efficiency ratio in mice fed with high-fat diets containing taro powder for 8 weeks

Group	Food intake(g/week)	Body weight gain(g)	FER(%)
Normal ¹⁾	16.46±0.57 ^a	3.07±0.73 ^c	2.34±0.63 ^c
HF ²⁾	15.66± 0.44 ^a	17.50±1.23 ^a	13.99±1.37 ^a
HF-Taro 20% ³⁾	15.98±0.09 ^a	13.18±1.42 ^b	10.31±1.17 ^b
HF-Taro 30% ⁴⁾	16.00±0.66 ^a	12.84±0.83 ^b	10.03±0.01 ^b

¹⁾Normal: normal diet

²⁾HF: high fat diet

³⁾HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%

⁴⁾HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%

(나) 주요 장기 무게 및 지방조직 무게

각 식이섭취군의 주요 장기의 중량을 살펴보았을 때, 고지방 대조군의 간의 중량은 정상 식이군에 비해 유의적으로 증가하였고, 신장 및 고환의 중량은 정상 식이군과 유의적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 토란분말 첨가군의 경우 간의 중량은 약간 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. 신장과 고환의 중량은 고지방 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 2-7).

부고환주위지방(좌/우), 신장주위지방(좌/우) 및 갈색지방량은 Table 2-8과 같

왔다. 부고환주위지방은 고지방 대조군에서 2.02 ± 0.25 g 으로 정상 식이군이 0.23 ± 0.03 g인 것에 비해 증가하였다. 반면 토란분말 20%와 30% 첨가군에서는 1.51 ± 0.18 , 1.40 ± 0.16 g으로 감소하였다. 신장주위지방에서도 비슷한 경향을 나타내었으며 갈색지방 중량도 고지방 대조군에 비해 토란 분말 첨가 시 유의적으로 감소하였다. 따라서 토란분말은 체지방감소에 효과적인 소재임을 확인할 수 있었다.

Table 2-7. Weights of major organs of mice fed with high fat diets containing taro powder for 8 weeks

Group	Weight (g)			
	Liver	kidney(left)	kidney(right)	Testis
Normal ¹⁾	0.83 ± 0.13^b	0.13 ± 0.04^a	0.14 ± 0.01^a	0.15 ± 0.01^b
HF ²⁾	1.13 ± 0.14^a	0.16 ± 0.02^a	0.16 ± 0.02^a	0.17 ± 0.03^{ab}
HF-Taro 20% ³⁾	0.98 ± 0.09^{ab}	0.15 ± 0.01^a	0.15 ± 0.01^a	0.18 ± 0.03^{ab}
HF-Taro 30% ⁴⁾	1.11 ± 0.09^a	0.12 ± 0.00^a	0.15 ± 0.02^a	0.20 ± 0.01^a

¹⁾Normal: normal diet

²⁾HF: high fat diet

³⁾HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%

⁴⁾HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%

Table 2-8. Weights of adipose tissue of mice fed with high fat diets containing taro powder for 8 weeks

Group	Weight (g)		
	Epididymal fat	Perirenal fat	Brown adipose fat
Normal ¹⁾	0.23 ± 0.03^c	0.07 ± 0.01^c	0.10 ± 0.03^c
HF ²⁾	2.02 ± 0.25^a	0.77 ± 0.10^a	0.19 ± 0.02^a
HF-Taro 20% ³⁾	1.51 ± 0.18^b	0.53 ± 0.08^b	0.17 ± 0.03^b
HF-Taro 30% ⁴⁾	1.40 ± 0.16^b	0.48 ± 0.08^b	0.17 ± 0.02^b

¹⁾Normal: normal diet

²⁾HF: high fat diet

³⁾HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%

⁴⁾HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%

(다) 혈청 지질 농도 변화

혈청 지질 농도에 미치는 영향은 Fig. 2-12와 같았다. 혈청의 중성지방(TG)의 농도는 정상 식이군(Normal)의 경우 24.60 ± 4.93 mg/dL이었고 이에 비해 고지방 대조군(HF)에서는 46.50 ± 17.93 mg/dL로 정상 식이군에 비해 상대적으로 높은 값을 나타내었다. 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)은 각각 17.64 ± 5.11 , 9.01 ± 2.87 mg/dL로 고지방 대조군에 비해 유의적으로 낮은 농도를 나타내었으며, 이는 정상 식이군 보다도 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다. 토란분말 30% 첨가군에서는 가장 낮은 수치를 나타내어 토란분말의 섭취가 중성지질 감소에 우수한 효과를 지닌 것으로 판단된다.

총 콜레스테롤(TC)함량과 LDL 콜레스테롤 함량은 정상 식이군에 비하여 고지방 대조군에서 증가하였고, 토란분말 첨가군에서는 고지방 대조군에 비해 상대적으로 낮은 경향을 나타내었다. HDL 콜레스테롤은 심혈관질환과 높은 연계성이 있어 HDL 콜레스테롤의 혈중농도가 낮으면 심장병, 동맥경화 등의 위험성이 크다고 알려져 있다. HDL콜레스테롤 함량은 고지방 대조군에서 118.36 ± 10.57 mg/dL로 높은 수치를 나타내었으며, 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)에서 각각 99.76 ± 7.17 mg/dL과 89.36 ± 1.67 mg/dL로 낮아졌으나, 전체 콜레스테롤에 대한 HDL 콜레스테롤의 비율로 나타내었을 때 고지방 대조군이 0.51인 것에 비해 토란분말 20, 30% 첨가군에서 각각 0.54 ± 0.02 와 0.56 ± 0.02 로 증가하는 경향을 나타내었다.

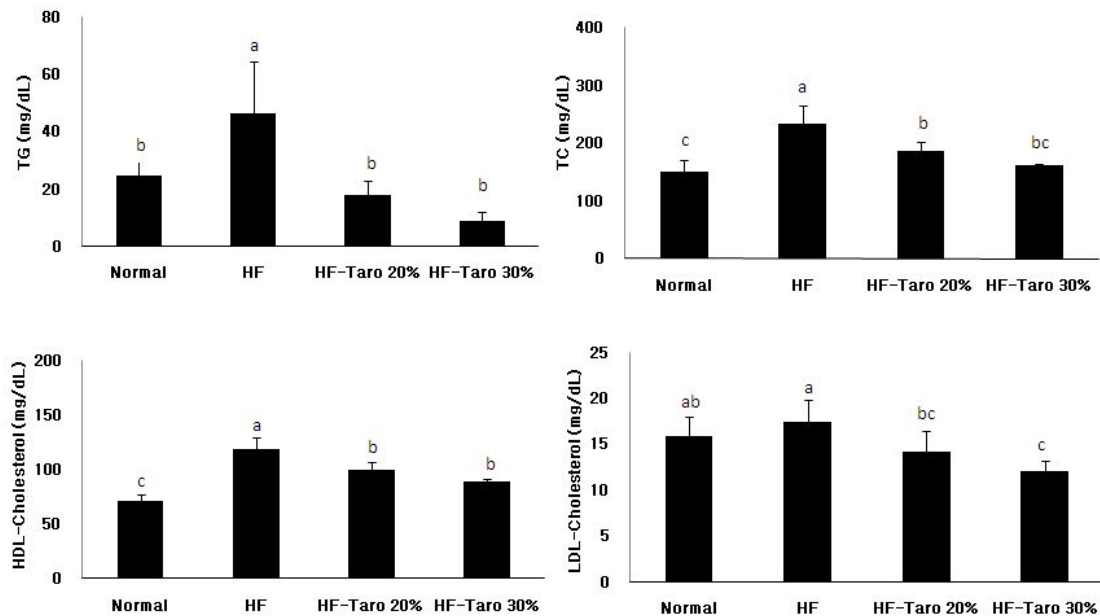


Fig. 2-12. Effects of taro powder on plasma lipid profiles in mice fed with high-fat diets. (Normal: normal diet, HF: high fat diet, HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%, HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%)

(라) 혈청 leptin농도 및 인슐린 수치 변화

혈청 렙틴 농도는 Fig. 2-13과 같이 정상 식이군이 0.00149 ng/mL이고, 고지방 대조군에서 42.09 ng/mL로 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)에서 각각 19.36, 19.32 ng/mL로 나타나 고지방 대조군에 비해 유의성을 보이며 렙틴 농도가 감소하였다. 렙틴은 에너지가 과잉 축적될 경우 생성이 증가하여 비만지표로 사용될 수 있으며 체중 및 체지방과 상관관계가 높다. 따라서 토란분말 첨가시 혈청 렙틴 농도가 감소한 것은 체중 및 지방 조직량의 감소에 기인하는 것으로 판단되었다. 혈청 내 인슐린농도는 Fig. 2-13과 같이 고지방 대조군이 1.21 ng/mL로 정상 식이군 1.03 ng/mL에 비하여 증가하였으나 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)에서 각각 1.15, 1.12 ng/mL로 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 혈청 내 인슐린 함량은 체중 및 내장지방 증가에 따라 증가하는 것으로 보고되고 있으며 토란분말에 의한 인슐린 함량의 감소는 체중 감소와 연관이 있는 것으로 사료된다.

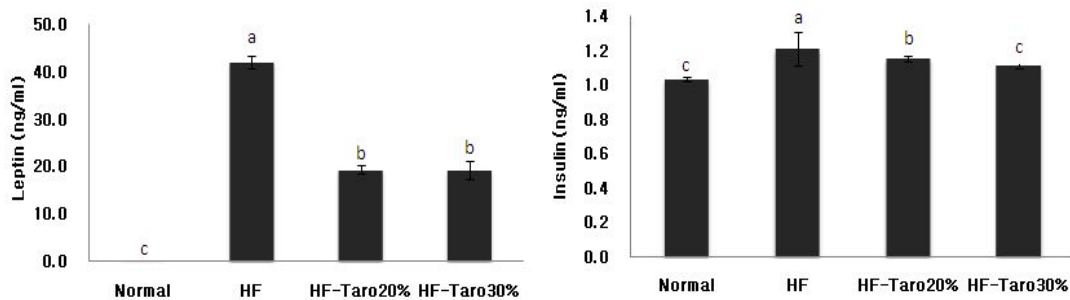


Fig. 2-13. Effects of taro powder on serum leptin level and insulin concentration in mice fed with high-fat diets. (Normal: normal diet, HF: high fat diet, HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%, HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%)

(마) 간기능 개선효과

1) 간비대 개선 효과

고지방 대조군의 간의 중량은 정상 식이군에 비해 유의적으로 증가하였고, 토란분말 첨가군의 경우 간의 중량은 감소하였으며, 실험동물의 희생 직후 촬영한 간의 형태는 진한 선홍색의 정상 식이군과 달리 고지방 대조군은 옅은 분홍색으로 변하였고 황색의 지방들이 침착된 전형적인 지방간의 형상을 나타내었다. 반면 토란분말 첨가군의 경우 지질 침착이 적었으며 정상 식이군과 유사한 형상을 유지하였다(Fig. 2-14).

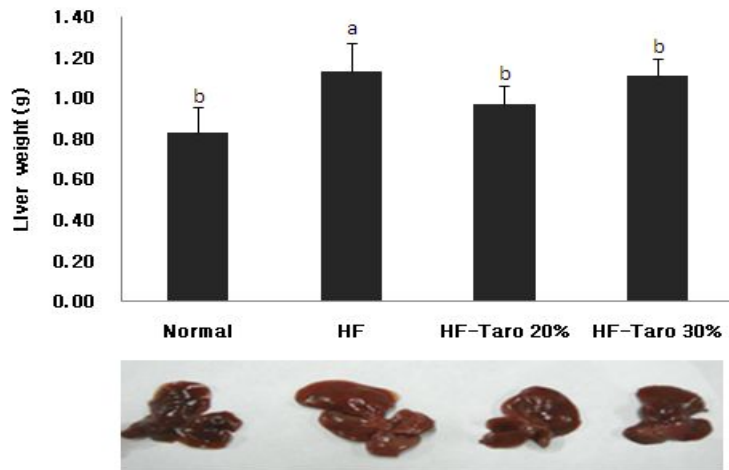


Fig. 2-14. Weights of liver of mice fed with high fat diets containing taro powder for 8 weeks. (Normal: normal diet, HF: high fat diet, HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%, HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%)

2) 지질침착도

지방질의 축적을 확인하기 위하여 마우스의 간을 적출하여 간 조직의 H&E staining 결과(Fig. 2-15), 고지방 대조군은 간세포 내 지방 축적이 뚜렷이 관찰되었으며 세포질에 크고 작은 지방 소적으로 인해 간세포질의 지방공포가 많이 출현하였다. 토란분말을 첨가한 군에서는 간세포 내 지방침착이 뚜렷하게 억제되었다. 또한 정상 식이군에 비해 고지방식을 급여시 부고환 지방세포의 hypertrophy가 관찰되었으며 토란분말을 첨가한 고지방 식이의 급여는 부고환지방 세포의 크기를 유의적으로 감소시키는 경향을 나타내었다.

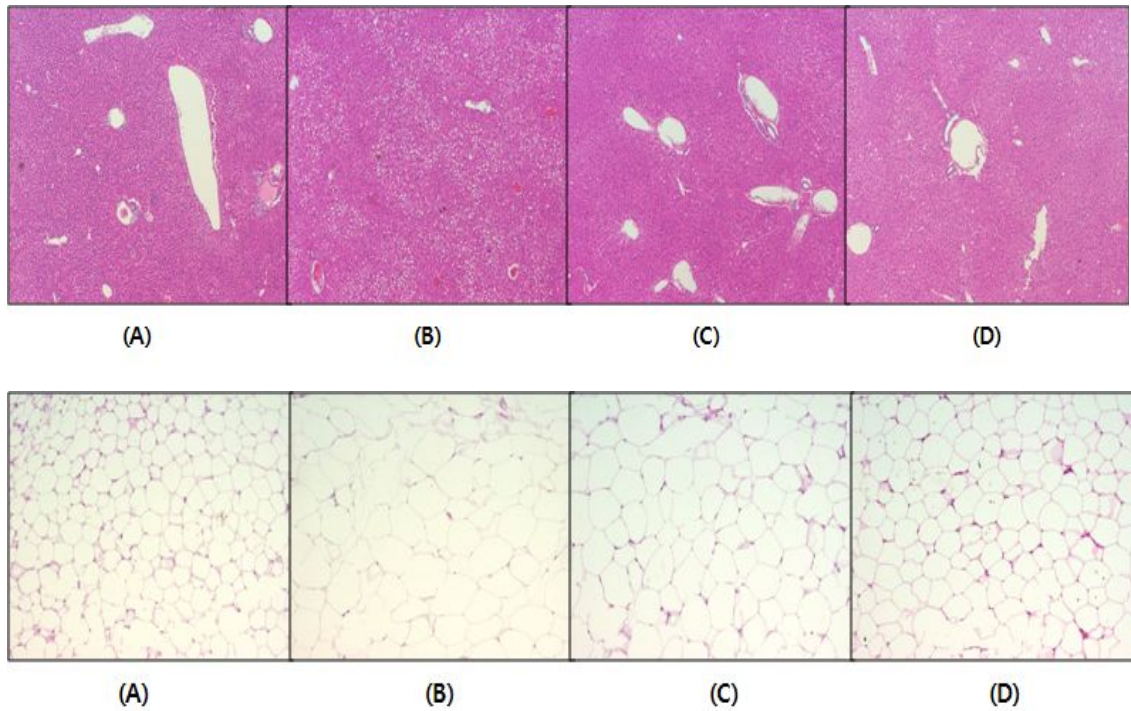


Fig. 2-15. Histological change of liver tissue in groups. (A): Normal diet, (B): High fat diet, (C): High fat-20% taro powder, (D): High fat-30% taro powder.

3) 간지질 저하 효과

간의 총 지방과 중성지방 및 콜레스테롤 함량을 조사한 결과는 Fig. 2-16과 같았다. 간의 단위 무게 당 총 fat의 양은 정상 식이군이 0.04 ± 0.02 g/g liver로 가장 낮았으며 고지방 대조군에서는 0.13 ± 0.01 g/g liver로 가장 높게 나타났다. 반면 토란분말 첨가군에서는 고지방 대조군에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으며, 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)에서 0.07 ± 0.03 g/g liver로 큰 감소를 나타내었다.

간의 중성지방(TG)함량은 정상 식이군이 202.16 ± 76.62 mg/g liver인 것에 비해 고지방 대조군이 725.92 ± 219.11 mg/g liver로 나타나 매우 증가하였으며, 이에 비해 토란분말 첨가군은 간의 중성지방 함량이 감소하였으며 특히 토란분말 30% 첨가군은 286.67 ± 19.26 mg/g liver로 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 간의 총콜레스테롤 함량 또한 비슷한 경향을 나타내었으며 토란분말 첨가 시 농도 의존적으로 콜레스테롤 수준이 감소하였으며 토란 30% 첨가군에서 31.65 ± 4.52 mg/g liver를 나타내어 간의 콜레스테롤 침착을 효과적으로 저하시켰다. HDL 콜레스테롤은 $1.30 \pm 0.24 \sim 2.72 \pm 0.50$ mg/g liver를 나타내었으며 전체콜레스테롤에 대한 HDL 콜레스테롤의 비율은 정상 식이군이 가장 높았으며 고지방 대조군과 토란분말 첨가군 사이에 유의적으로 큰 차이를 보이지 않았다.

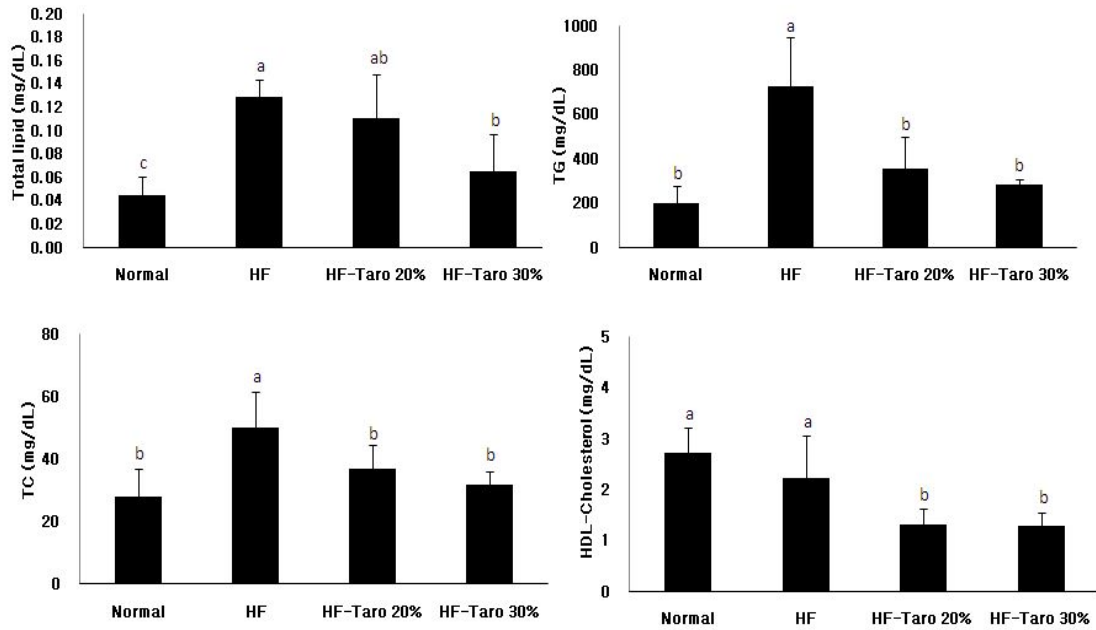


Fig. 2-16. Liver triglyceride and cholesterol concentrations in mice fed with high fat diets containing taro powder for 8 weeks. (Normal: normal diet, HF: high fat diet, HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%, HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%)

4) 간효소수치-AST(GOT), ALT(GPT)

간 효소치인 AST(aspartate transaminase)와 ALT(alanine transaminase)는 간장과 심장에 다량 분포하며 간세포 손상 시 농도가 현저히 상승하므로 이 활성도는 간질환의 지표가 된다. 고지방식이에 의해 지방간 현상을 보인 고지방 대조군의 AST 효소는 264.70 ± 60.45 U/L로 높은 값을 나타내었으나 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)은 AST수치가 각각 148.73 ± 23.03 U/L와 170.56 ± 69.84 U/L로 정상 식이군에 보다는 낮아졌으나 유의적 차이를 나타내지 않았다. 또한 고지방 대조군의 ALT 효소의 농도가 136.38 ± 39.37 U/L인 것에 비해 고지방-토란분말 20%군(HF-Taro 20%), 고지방-토란분말 30%군(HF-Taro 30%)은 ALT 수치가 각각 115.58 ± 37.31 U/L, 113.38 ± 21.88 U/L로 정상 식이군 수준으로 감소하였으나 통계적으로 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 2-17). Glucose 수치는 고지방 대조군에서 유의적으로 증가하였으며, 토란분말 첨가 시 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다.

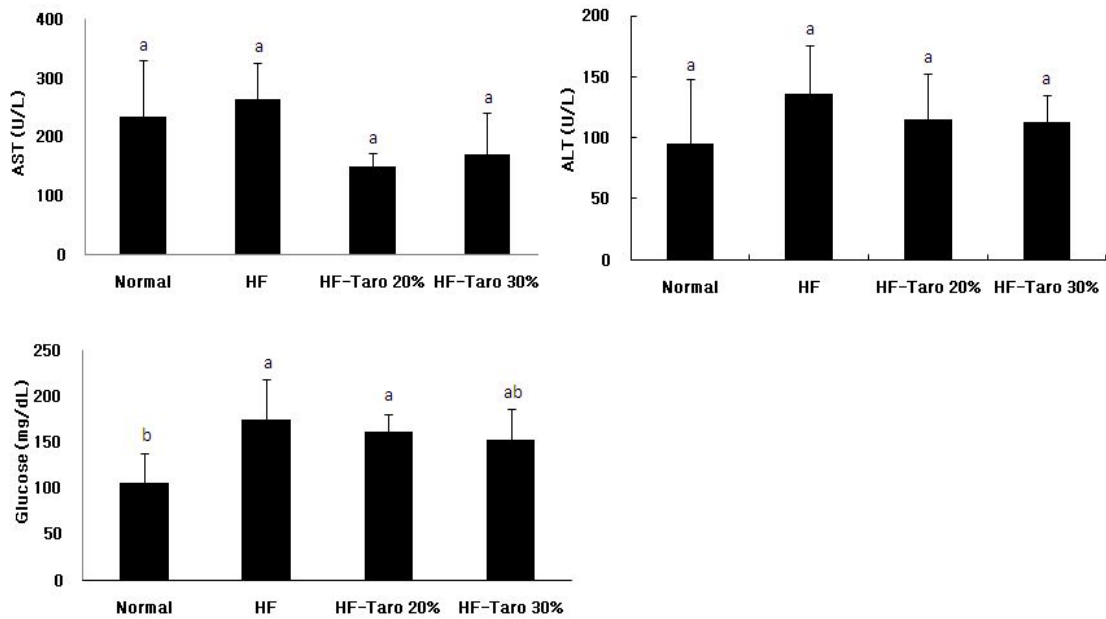


Fig. 2-17. Blood biochemistry in mice fed with high fat diets containing taro powder for 8 weeks. (Normal: normal diet, HF: high fat diet, HF-Taro 20%: HF + taro powder 20%, HF-Taro 30%: HF + taro powder 30%)

(2) 토란분말의 항비만 효능 평가 (임상실험)

(가) 실험대상자의 특징

토란분말의 비만억제 효능평가 실험에 종료일까지 참여한 인원은 남녀 각각 5명씩 총 10명이 참여하였다. 본 실험에 참여한 지원자들의 나이, 신장, 체중, 체질량지수는 Table 2-9와 같았다. 조사대상자의 연령은 여자는 평균 32.60 ± 10.26 세, 남자는 평균 44.40 ± 7.89 세였으며 전체 평균 연령은 38.50 ± 10.64 세이었다. 평균 신장과 체중은 여자는 160.60 ± 4.98 cm와 58.65 ± 2.22 kg, 남자는 173.20 ± 7.73 cm와 83.46 ± 10.26 kg을 나타내어 전체 평균 신장과 체중은 166.90 ± 9.04 cm와 72.4 ± 15.02 kg을 나타내었다. 체질량지수(BMI)는 여자 지원자의 경우에는 23.34 ± 0.45 kg/m^2 로 약간의 과체중을 나타내었고 남자 지원자는 27.91 ± 3.44 kg/m^2 로 전원이 과체중 상태를 나타내어 체중감소가 필요하였다. 비만의 다른 척도인 obesity index에서도 같은 경향을 나타내었다.

Table 2-9. Anthropometric data for human subjects participated in the study

Measurements	Total	female	male
Age	38.50±10.64	32.60±10.26	44.40±7.89
Height (cm)	166.90±9.04	160.60±4.98	173.20±7.73
Body weight(kg)	72.4±15.02	58.65±2.22	83.46±10.26
BMI(kg/m ²) ¹⁾	25.9±3.44	23.34±0.45	27.91±3.44
Obesity index ²⁾	118.81±13.45	110.99±1.88	126.63±15.84

1) BMI = Weight(kg)/ height(m²)

2) Obesity index = Body weight/ standard weight × 100

(나) 체중 및 체질량지수 (Body mass index, BMI)와 체지방의 변화

선발된 지원자를 대상으로 토란 tablet을 5주 동안 섭취하도록 하여 체중, 체질량지수의 변화를 매주 관찰하였다(Table 2-10). 실험이 진행되는 5주 동안 실험자 전체의 평균 체중은 72.4±15.02 kg에서 71.7±14.61 kg으로 약 0.7 kg정도 감소되었다. 여자의 경우는 평균 체중이 58.65±2.22 kg에서 58.43±2.87 kg으로 큰 변화를 나타내지 않았고 남자의 경우에는 83.46±10.26 kg에서 82.36±10.14 kg으로 약간 감소하였다. 이러한 결과는 여성형 비만의 경우 남성형 비만에 비해 지방세포수가 많아 체중조절이 어려워 짧은 기간에 남자의 경우가 더 효과적인 것으로 판단된다. 5주 동안 체중이 감소한 인원은 8명으로 약 0.3 kg~2.4 kg의 감소를 나타내었다. 또한 BMI는 실험 개시일에 25.9±3.44 kg/m²에서 5주 후에 25.6±3.37 kg/m²로, 체지방은 실험 개시일에 30.31±5.13%에서 5주 후에 29.90±5.93%를 나타내어 약간 감소하였으나 큰 차이를 나타내지 않았다(Table 2-10). 실험에 참여한 지원자들에게 구두 질문을 통하여 토란 섭취 후 배변횟수가 증가되었다는 응답이 많았다.

Table 2-10. Change in body weight, BMI and body fat of the subjects when fed taro powder tablet for 5 weeks

Measurements	Group	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week
Weight (kg)	Total	72.4±15.02	72.4±14.78	72.6±14.99	72.2±14.89	72.0±14.86	71.7±14.61
	female	58.65±2.22	58.91±2.77	58.79±3.18	58.63±2.71	58.57±2.96	58.43±2.87
	male	83.46±10.26	83.14±10.25	83.59±9.99	83.04±10.33	82.82±10.41	82.36±10.14
BMI	Total	25.9±3.44	25.9±3.44	25.9±3.55	25.8±3.47	25.8±3.47	25.6±3.37

(kg/m ²)	female	23.34±0.45	23.44±0.68	23.39±0.81	23.33±0.66	23.30±0.79	23.24±0.80
	male	27.91±3.44	27.82±3.55	27.99±3.59	27.78±3.56	27.71±3.58	27.55±3.45
	Total	30.31±5.13	30.66±6.19	29.92±7.03	29.01±5.19	30.09±6.18	29.90±5.93
Body fat (%)	female	30.56±1.03	31.65±3.81	30.33±6.31	29.30±4.39	31.05±2.57	30.83±1.99
	male	30.06±7.62	29.86±8.00	29.60±8.28	28.78±6.26	29.32±8.36	29.16±8.11

(다) 혈액학적 지표의 변화

토란분말의 비만억제 효능평가에 참여한 총 10명의 지원자의 혈액학적 지표로 공복시 혈당, 총 콜레스테롤(Chol), 중성지방(Triglyceride, TG), HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 및 요산, blood urea nitrogen (BUN), creatinine의 농도를 측정 한 결과는 Table 2-11과 같았다. 전체 지원자의 공복시 혈당은 5주의 실험기간 동안 정상범위를 나타내었다. 혈중 총 콜레스테롤 농도는 실험 개시일에 전체 평균 216.30±29.39 mg/dL로 지원자 10명중 7명이 정상수치 보다 높게 나타났으나 5주 동안 토란 tablet을 섭취한 후 198.80±31.97 mg/dL로 약 8%가 감소하였다. 콜레스테롤 수치가 높았던 7명의 지원자 중 5명의 콜레스테롤 수치가 감소하였으며 그중 3명의 지원자는 정상범위까지 감소하였다(Fig. 2-18). 또한 혈중 중성지방 수치도 실험 개시일에 171.40±142.62 mg/dL에서 5주 후 136.30±114.87 mg/dL로 실험개시일에 비해 20.5%가 감소하였다. 혈중 HDL-cholesterol과 LDL cholesterol은 큰 변화를 나타내지 않았다.식이섭유 중 수용성 식이섭유는 콜레스테롤 및 혈당 저하 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 토란은 식이섭유가 상당량 함유되어 있기 때문에 연구 대상자의 혈중 콜레스테롤과 중성지방 농도에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 피실험자의 요산 및 BUN 수치는 큰 변화를 보이지 않았으며 정상범위를 유지하였다. BUN의 경우 신장기능이 저하된 경우 높아지므로 신장기능의 척도로 활용되는데 1명의 피실험자가 기준치보다 약간 높게 나타났으나 임상적으로 문제가 있을 정도의 높은 수치는 아니었다. Creatinine은 근육량의 지표성분으로 근육량이 많은 사람일수록 혈액이나 소변중의 농도가 높다. 실험 개시일에 피실험자의 creatinine수치는 0.77±0.19 mg/dL에서 5주후 1.01±0.24 mg/dL로 남녀모두 약간 증가하였다.

따라서 토란 tablet 섭취 후 피실험자의 지질대사에 영향을 미쳐 혈중콜레스테롤과 중성지방의 감소를 유도하는 것으로 나타났으며 고콜레스테롤 혈증과 같은 질환예방에 토란분말의 효과가 기대된다.

Table 2-11. Changes in blood lipid profiles of the subjects when fed taro powder tablet for 5 weeks

	Baseline	Group	Before	After 5 weeks
Glucose (mg/dL)	60-110 mg/dL	Total	77.70±6.48 ^b	86.70±5.96 ^a
		female	75.20±4.02 ^b	83.20±4.44 ^a
		male	80.20±7.92 ^b	90.20±5.45 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	< 220 mg/dL	Total	216.30±29.39 ^a	198.80±31.97 ^a
		female	206.20±37.10 ^a	178.00±26.64 ^a
		male	226.40±17.67 ^a	219.60±22.57 ^a
Triglyceride (mg/dL)	34-143 mg/dL	Total	171.40±142.62 ^a	136.30±114.87 ^a
		female	96.00±38.07 ^a	89.80±36.27 ^a
		male	246.80±173.50 ^a	182.80±151.55 ^a
HDL cholesterol (mg/dL)	42-74 mg/dL	Total	53.40±9.50 ^a	47.20±6.16 ^a
		female	58.80±10.47 ^a	50.20±7.56 ^a
		male	48.00±4.53 ^a	44.22±2.39 ^a
LDL cholesterol (mg/dL)	< 140 mg/dL	Total	124.50±26.32 ^a	123.00±30.97 ^a
		female	118.80±32.23 ^a	111.80±23.33 ^a
		male	130.20±20.95 ^a	134.20±36.07 ^a
Uric acid (mg/dL)	3-8 mg/dL	Total	5.01±1.41 ^a	4.90±1.53 ^a
		female	3.86±0.56 ^a	3.64±0.65 ^a
		male	6.16±0.93 ^a	6.16±0.94 ^a
Blood urea nitrogen (mg/dL)	8-20 mg/dL	Total	16.15±5.91 ^a	15.34±7.85 ^a
		female	13.50±2.34 ^a	12.12±2.16 ^a
		male	18.80±7.45 ^a	18.56±10.39 ^a
Creatinine (mg/dL)	0.5-1.3 mg/dL	Total	0.77±0.19 ^b	1.01±0.24 ^a
		female	0.64±0.05 ^b	0.88±0.11 ^a
		male	0.90±0.20 ^b	1.14±0.28 ^a

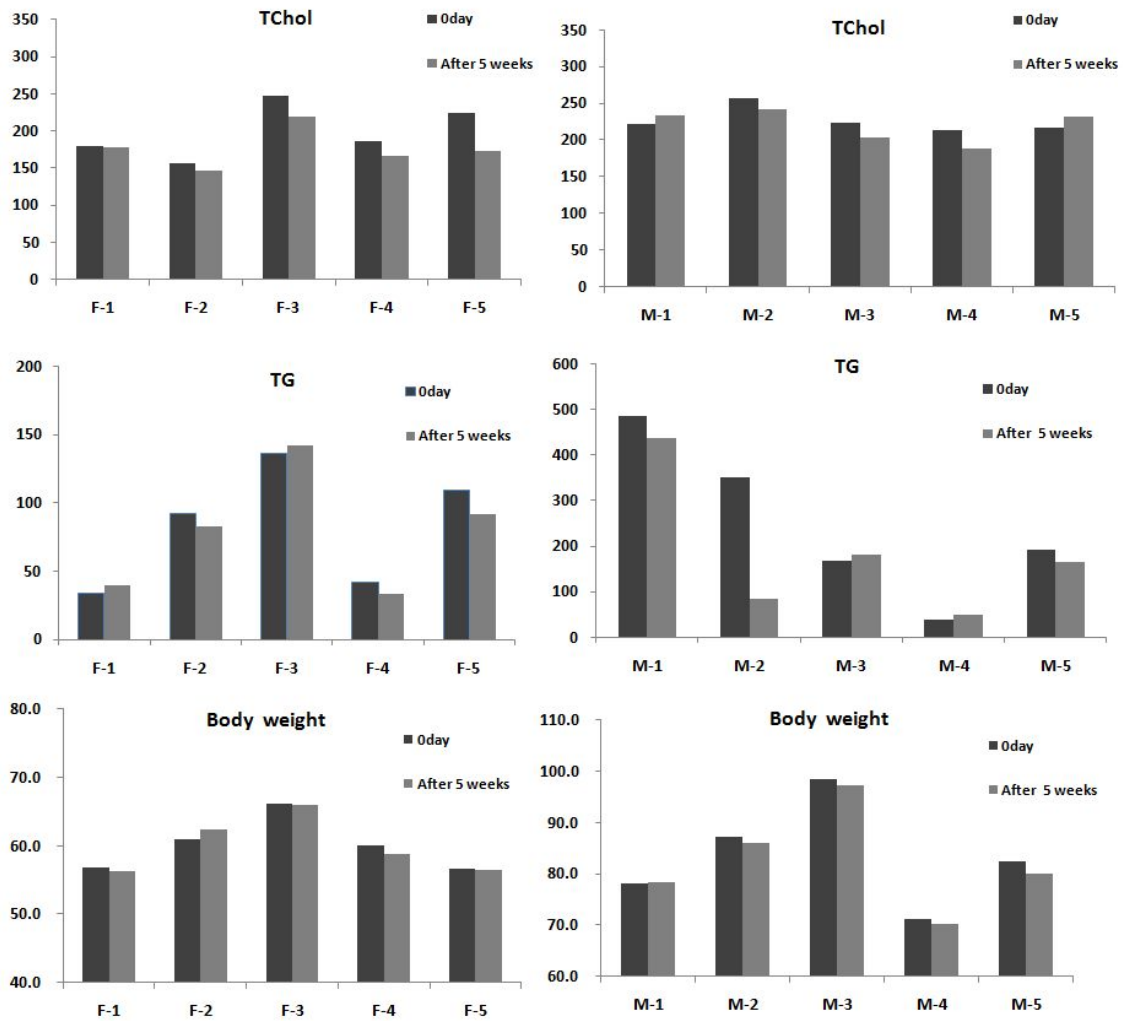


Fig. 2-18. Changes in total cholesterol, triglyceride and body weight of the subjects participated in the study.

다. 항비만 효능 함유 토란소재 개발

(1) 토란분말 제조

대체로 동결건조법은 영양소의 손실을 최소화하고 갈변이 적게 일어나는 장점이 있으나 비용이 높은 단점이 있어 농산 제품의 대량생산 공정으로 채택하는 데 어려움이 있다. 한편 열풍건조법은 토란분말의 색이 어두우며 영양소를 파괴하는 단점이 있으나 그 비용이 낮은 장점이 있어 비용을 고려한 적절한 건조법을 선택할 필요가 있다. 증자한 토란 편을 두가지 건조법으로 처리한 결과는 Table 2-12와 같았다. 열풍건조한 토란편을 분말화한 제품과 동결건조한 토란편을 분말화한 제품 사이에 열풍건조한 토란분말이 색도에 있어 약간 어둡고 적색도가 높으며 황색도가

높은 것으로 나타났으나 관능검사 결과 고소한 맛이 강하며 전체적 기호도가 약간 높은 것으로 나타나 열풍건조법을 토란 분말제조를 위한 방법으로 채택하였다. 이러한 토란분말은 식이섬유, 비타민 C, 무기질 등이 풍부하여 캡슐 및 정제형태의 기능성 식품의 소재로 사용이 가능한 것으로 판단된다.

Table 2-12 건조방법에 따른 토란 분말의 특성

	동결건조토란분말	열풍건조토란분말
색도		
명도(L)	88.30	84.05
적색도(a)	-0.09	0.05
황색도(b)	5.70	9.35
관능품질		
고소한 맛	4.4	4.8
전체적 기호도	5.6	5.7

볶은 토란 분말은 증자 하고 열풍 건조한 토란 편을 이중 솥에서 직화로 볶음 한 후 roller mill로 조분쇄하고 다시 ball mill로 미분쇄하여 제조하였으며 볶음 처리시 명도가 크게 감소하고 적색도 및 황색도가 크게 증가하였으나 관능검사 결과 고소한 맛의 강도가 볶음 처리하지 않은 건조 토란에 비하여 크게 증가하여 토란 특유의 고소한 맛을 부여하는 데 적당한 재료로 생각되었다.

Table 2-13 볶음처리에 따른 토란 분말의 특성

	볶음토란분말	열풍건조토란분말
색도		
명도(L)	76.67	84.05
적색도(a)	3.03	0.05
황색도(b)	15.40	9.35
관능품질		
고소한 맛	7.9	4.8
전체적 기호도	6.3	5.7

(2) 토란 과립제조

토란을 증자시켜 열풍건조한 토란분말에 부재료를 첨가하여 토란과립을 제조하였다. 토란분말은 40%의 농도로 첨가하였으며 여기에 다른 부형제로 유당이나 결합제인 카르복시메틸셀룰로오스를 이용한 경우에도 과립이 잘 유지되었다. 여기에 유당 5%, 덱스트린 10%, 설탕 10%와 올리고당 20%를 첨가하여 과립을 제조하였다.

Table 2-14. 토란과립의 최종 배합비

	성분비(%)
토란분말	40
유당	5
덱스트린	10
설탕	10
올리고당	20
카르복시 메틸 셀룰로오스	15

(3) 토란 Tablet 제조

토란 tablet을 제조하기 위하여 토란분말은 증자시켜 열풍건조하여 제조하였으며 80%의 비율로 첨가된다. 수회의 예비실험을 통하여 부재료의 첨가량을 설정하였다. 영양성분의 보강을 위하여 유청단백과 볶음 콩가루를 각각 4%의 농도로 증가시켰을 때 과립의 고소한 맛이 상승되었다. 비타민 C는 0.3%로 첨가하였으며 감미를 위하여 필라티노스와 사과농축액 등을 첨가하였다. Masking의 목적으로 초코향을 첨가하였으나 기호도를 감소시키는 것으로 나타났다. 물과 주정의 양은 과립 제조를 위해 반죽을 형성할 때 중요하게 작용하며 각각 전체양의 25%의 농도로 넣어서 반죽을 할 때 과립의 모양이 부스러지지 않게 잘 쳐지는 것으로 나타났다. 고품제중 tablet은 가장 생산량이 많은 제형중의 하나이다. Tablet이 많이 사용되는 이유는 1개의 계량단위로서 취급하기 쉽고 복용하기 용이하며 그 제법이 비교적 간단하다. 토란 tablet의 경우 고미, 냄새, 자극에 대한 masking 등이 다른 형태에 비해 용이한 것으로 나타났다.

Table 2-15. Ingredients of taro tablet for clinical study

	배합1	배합2	배합3	배합4	배합5	배합6	배합7	총 소요량 (20kg기준)
토란	9	10	8	40	40	37	80	16kg
유청단백	3	2	0.4	2	2	2	4	800g
필라티노스	3	3	0.6	3	3	3	4.5	900g
맥주효모	2	1	0.2	1	1.5	1.5	3	600g
사과농축액	2	3	0.6	3	3	3	4	800g
비타민 C	-	0.03	0.06	0.3	0.3	0.3	0.3	60g
죽염	-	0.07	0.14	0.7	0.2	0.2	0.2	20g
초코향	-	-	-	-	0.3	-	-	-
볶음콩가루	-	-	-	-	-	3	4	800g
물	-	-	-	12.5	12.5	12.5	25	
주정	-	-	-	12.5	12.5	12.5	25	

제 3 절 토란의 면역증진 활성 구명

(위탁과제 : 경기대학교)

1. 재료 및 방법

가. 재료

본 실험에서 사용된 토란(Taro, the corms of *Colocasia esculenta*)은 경남 곡성 지역에서 2008년 및 2009년 수확한 것을 껍질을 제거한 후, -20℃ 냉동고에서 보관하면서 실험 재료로 사용하였다.

나. 시약 및 실험동물

본 연구에서 다당의 정제에 사용된 DEAE-Sephadex FF (Cl⁻ form)와 Sephadex G-100은 미국 GE healthcare (Uppsala, Sweden)사로부터 구입하였으며, 투석 시 사용된 dialysis tubing (MW cut-off 12,000)은 Sigma (St. Louis, MO, USA)사로부터 구입하였다. 분자량 측정에 사용된 표준물질 pullulan series (P-800, 400, 200, 100, 50, 20, 10 및 5)는 일본 Showa Denko (Tokyo, Japan)사로부터 구입하여 사용하였다.

Mitogen과 macrophage 활성 측정 실험에 사용된 RPMI medium 1640, Penicillin/Streptomycin, Fungizone 등은 Gibco BRL (Grand Island Co., NY, USA)사에서 구입하여 사용하였고, 세포증식능 측정에 사용한 CCK-8 (cell counting kit-8)은 일본 Dojindo (Kumamoto, Japan)사에서 구입하여 사용하였다. 면역활성 대조군으로 사용된 LPS (lipopolysaccharide from *E-coli* O127:B8)는 Sigma사의 제품을 사용하였고, PSK (polysaccharide-K from *Coriolus versicolor*)는 한국 광동제약(Seoul, Korea)에서 시판하는 코포랑[®]으로부터 가용획분을 정제하여 사용하였다. 한편, 항보체 활성에서 사용된 양의 감작적혈구(IgM-hemolysis sensitized sheep erythrocyte, EA cell)는 일본의 Biotest (Tokyo, Japan)사 제품을, 교차 면역 전기영동에 사용된 anti-human C₃는 Sigma사의 제품을 사용하였다. 그 외 본 실험에서 사용된 모든 시약은 시판 1급 이상의 분석용 제품이 사용되었다.

또한 본 실험에 사용된 실험동물은 inbred mice BALB/c mouse (5~6 weeks, ♀)와 C57BL/6 (5~6 weeks, ♀)로 지바이오사(Seoul, Korea)에서 구입하여 일주일 간 적응을 거친 후 실험에 사용하였다. 사육 조건은 23±3℃, 습도 55~70%, 물과 사료는 자유 급식 형태로 유지하였다.

다. 완충용액

항보체 활성 측정에 사용한 GVB⁺⁺ (gelatin-veronal buffered saline, pH 7.4)는 Kabat 등의 방법(45)에 따라 Ca⁺⁺과 Mg⁺⁺ (500 mM 및 2 mM) 이온이 함유되도록 조제하였다. EDTA-GVB⁻용액은 GVB⁺⁺용액에 10 mM ethylene-diamine tetraacetic acid, disodium salt (EDTA)가 함유되도록 조제하였으며, Mg⁺⁺-EGTA-GVB⁻는 GVB⁺⁺ 용액에 10 mM의 EGTA와 2 mM MgCl₂가 함유되도록 조제하여 사용하였다. PBS (phosphate-buffered saline, pH 7.2)는 상법에 따라 조제하여 사용하였다.

라. 토란 유래 다당의 분리 및 정제

(1) 토란 유래 조다당의 분리

전남 곡성에서 수확한 토란을 구입하여 껍질을 제거하고 절편한 후, 토란 5 kg에 10 L의 물을 가하여 상온에서 24시간 냉수추출을 하였다. 토란 냉수추출물은 회전감압 농축장치(rotary vacuum evaporator, EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였고, 여기에 4배 부피의 에탄올을 가하고 하루동안 교반하면서 다당을 침전시켰다. 이 때 침전된 다당을 원심분리기(6000 rpm, 30 min, 4°C)를 이용하여 침전물을 회수하고, 이를 소량의 물에 용해시킨 후 투석막(MW cut-off 12,000, Sigma)을 이용하여 3일간 투석을 행하여 저분자 물질을 제거하였다. 이를 회전감압 농축장치를 이용하여 재차 농축한 후, 동결건조(FreeZone 12 Liter, Labconco, MISSOURI 64132, KANSAS CITY, USA)하여 조다당 획분인 Taro-0를 얻었다(Fig. 3-1).

(2) 토란 유래 다당의 정제

(가) Anion exchange chromatography (AEC)

토란에서 분리한 조다당 Taro-0를 소량의 증류수에 녹인 후, 증류수로 평형화된 DEAE-Sepharose FF (Cl⁻ form, 5.5×25 cm) column에 흡착시킨 후, 증류수를 용출하여 비흡착 획분을 분리하였으며 이후 0.05 M ~ 2 M NaCl 용액으로 단계적으로 용출시켜 흡착 획분을 각각 분리하였다. Anion exchange chromatography column에서 용출된 획분은 fraction collector (1200series, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 분획하고, 각각 중성당, 산성당, 단백질 및 KDO 함량을 측정하여 용출 peak를 작성하였다.

본 이온교환 수지를 통해 조다당 획분 Taro-0에서부터 1개의 비흡착획분 (Taro-1)과 7개의 흡착획분(Taro-2~8)을 얻을 수 있었다. 또한, 각 획분들은 농축, 투석 및 동결건조를 행하여 이후의 실험에 사용하였다(Fig. 3-1).

(나) Gel permeation chromatography (GPC)

이온교환수지를 이용한 정제과정에서 수율과 면역활성이 양호했던 Taro-4 획분 0.5 g을 소량의 물에 용해한 후 50 mM ammonium formate buffer (pH 5.5)로 평형화된 Sephadex G-100 column (4×120 cm)을 이용, gel permeation chromatography (GPC)를 행하였다. 용출액은 7 mL씩 100개의 획분으로 분획하였으며, 각 획분은 중성당함량 분석실험을 거쳐 분자량이 상이한 2개의 획분 Taro-4-I 과 Taro-4-II를 얻을 수 있었다.

그 중 고분자 다당인 Taro-4-I 이 정제도와 수율 및 면역활성에 우수하였으므로 토란 유래 다당의 최종 획분으로 하고 이후의 실험에 사용하였다.

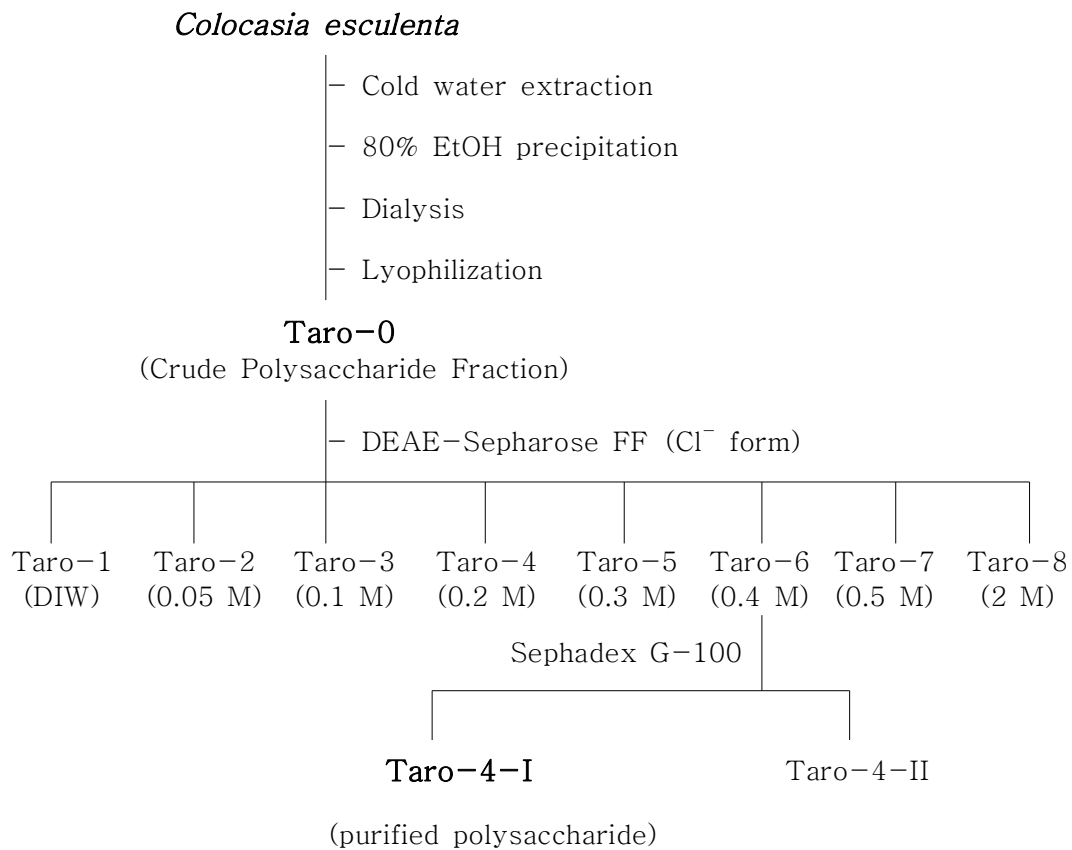


Fig. 3-1. Isolation and purification of immuno-stimulating polysaccharides from *Colocasia esculenta*.

(3) 일반 분석 방법

토란 유래 다당 Taro-4-I 의 일반 성분을 분석하기 위해 중성당의 함량은

galactose를 표준물질로 하여 phenol-sulfuric acid 법(46)으로, 산성당의 함량은 D-galacturonic acid를 표준물질로 하여 *m*-hydroxybiphenyl 법(47)으로, 단백질의 함량은 bovine albumin을 표준물질로 하여 Bradford 법(48)으로, TBA-positive material의 함량은 2-keto-3-deoxy-D-manno-octulosonic acid (KDO)를 표준물질로 하여 thiobarbituric acid 법(49)으로, 각각 정량 분석하였다.

(4) HPLC에 의한 정제 다당의 분자량 측정

높은 정제도와 우수한 면역활성을 나타낸 Taro-4- I의 분자량 측정을 위해 Asahi-Pak GS-520+GS-320+GS-220 packed column을 이용하여 Table 3-1의 분석 조건으로 HPLC (High performance liquid chromatography)를 행하였다. 분자량 측정 시 이용된 표준물질인 pullulan series (P-800, 400, 200, 100, 50, 20, 10 및 5)를 이용하여 각각의 retention time을 구한 후, 각 분자량에 대한 K_{av} 값을 산출하여 얻은 표준곡선으로부터 환산하여 분자량을 결정하였다.

Table 3-1. Analytical condition of HPLC for the determination of molecular weight of polysaccharide

Pump	SP-930D (YOUNG-LIN Co. Ltd., Anyang, Korea)
Detector	Refractive index (356-LC, Varian, USA)
Column	Asahi-Pak GS-520+GS-320+GS-220 packed column (Showa Denko Co., Tokyo, Japan)
Column size	7.6×300 mm each
Column temp.	25°C
Flow rate	0.5 mL/min
Eluent	50 mM ammonium formate buffer (pH 5.5)
Injection vol.	20 mL
Integrator	Autochro data module (Young-Lin Co. Ltd., Anyang, Korea)

마. 토란 유래 선천면역계 자극 활성 다당 Taro-4- I의 구조 분석

(1) Taro-4- I의 구조분석을 위한 연속적인 효소처리

Taro-4- I의 전체 구조를 추정하기 위해서는 구조분석이 용이한 분자량이 작

은 oligo당으로 분해하고 이를 정제하여 해석해야 하므로 이를 위해 연속적인 효소 처리에 의한 가수분해를 행하였다. 이때 사용한 효소는 단편 oligo당의 분리가 용이한 조건을 설정하기 위해, 예비실험을 통하여 분해에 적합한 효소인지 여부를 확인하였으며, 적절한 효소(exo- α -galactosidase 및 endo- β -mannanase)로 판명된 경우, 제조사가 제공한 처리조건을 실험실 조건에 맞게 응용하여 사용하였다.

(2) Exo- α -galactosidase에 의한 가수분해 및 단편조제

Taro-4- I 시료 40 mg을 1.5 mL 의 50 mM ammonium formate buffer (pH 4.7)에 용해시키고, 10 units (10 mL)의 Exo- α -galactosidase (from *A. niger*, Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland)를 가하여 45°C 항온수조에서 72시간 가수분해를 행하고(50), 100°C에서 15분간 중탕하여 잔존효소를 실험시켰다. 이 반응물을 원심분리하여 침전된 불활성 효소 단백을 제거하고 그 상등액은 50 mM ammonium formate buffer (pH 4.7)로 평형화된 Superdex 75 GL column을 이용, HPLC상에서 분획하고 중성당 함량 분석을 실시하였다. 이때 분자량 및 구성 성분이 상이한 AG- I 과 AG- II 두 개의 획분을 얻었고, 이를 동결건조하여 exo- α -galactosidase분해 단편획분을 조제하였다.

(3) Endo- β -mannanase에 의한 가수분해 및 단편조제

Exo- α -galactosidase 처리 과정에서 얻어진 22.6 mg의 AG- I 시료에 0.1 M glycine buffer (pH 8.8)를 가하여 용해시킨 후, 10 units (25.6 mL)의 endo- β -mannanase (from *Bacillus sp.*, Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland)를 가하여 40°C 항온수조에서 72시간 가수분해를 행하고(51), 100°C에서 15분간 중탕하여 잔존효소를 실험시켰다. 이 반응물을 원심분리하여 침전된 불활성 효소 단백을 제거하고 그 상등액은 50 mM ammonium formate buffer (pH 5.5)로 평형화된 Superdex 75 GL column을 이용, HPLC상에서 분획하고 중성당 함량 분석을 실시하였다. 이때 BM- I 하나의 획분을 얻었고, 이를 동결건조하여 endo- β -mannanase 처리 획분을 조제하였다.

Taro-4- I

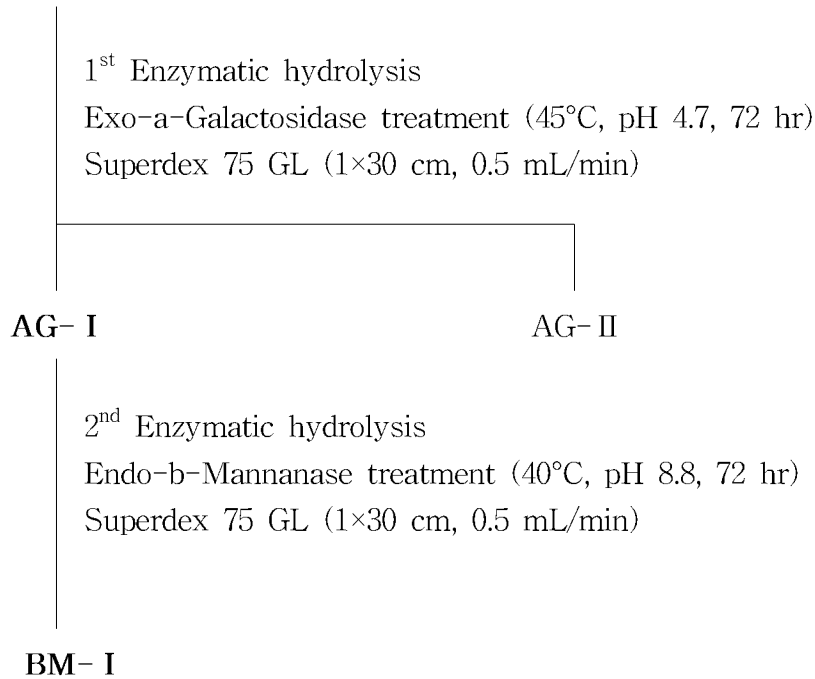


Fig. 3-2. Procedure of sequential enzyme-treatment for structure analysis of Taro-4- I.

(4) 구성당 분석

구성당 분석은 Albersheim 등의 방법(52)을 일부 변형하여 가수분해 후 각 구성당을 alditol acetate로 유도체화 하여 GC를 이용하여 분석하였다. 다당 시료를 2 M TFA (trifluoroacetic acid) 중에서 121°C, 1.5시간 반응시켜 가수분해한 후, 1 mL의 1 M NH₄OH (Ammonia solution)에 용해하여 10 mg의 NaBH₄로 4시간 환원시켰다. Acetic acid를 적당량 가하여 잔존 NaBH₄를 제거한 후, methanol을 가하며 반복 건조함으로써 과량으로 가해진 acetic acid를 제거하여 각 구성당에 상당하는 alditol로 전환하였다. 이 후 각각의 alditol은 1 mL의 acetic anhydride를 가하여 121°C에서 30분 동안 반응시켜 alditol acetate로 전환시켰으며 이를 chloroform/H₂O 2상 용매계로 분리하여 추출하고, 추출물은 건조 후 소량의 acetone에 용해하여 GC 분석용 시료로 사용하였다. Alditol acetate 유도체의 GC분석 조건은 Table 3-2와 같으며, 각 구성당의 mole%는 각 유도체의 peak면적, 분자량 및 FID에 대한 molecular response factor를 각각 산출하여 계산하였다.

Table 3-2. Analytical conditions of gas-liquid chromatography for component sugar analysis

Apparatus	GC ACME-6100 (Young-Lin Co. Ltd., Anyang, Korea)
Detector	Flame ionization detector(FID) (Young-Lin Co. Ltd., Anyang, Korea)
Column	SP-2380 capillary column (Supelco, Bellefonte, USA)
Column size	0.25 mm×30 m, 0.2 mm film thickness
Oven temp.	60°C (1 min) → 220°C (12 min) → 250°C (15 min) 30°C/min 8°C/min
Injector temp.	250°C
Detector temp.	270°C
Carrier gas	N ₂ (1.5 mL/min)

(5) Methyl화 분석에 의한 구조 및 결합위치 결정

(가) Methylsulfinyl carbanion의 조제

Methylsulfinyl carbanion을 조제하기 위해 무수 NaOH 1.26 g에 무수 DMSO (dimethylsulfoxide) 20 mL을 첨가한 후 질소로 충전하며 90°C oil bath 하에서 약 10~15분간 반응시켰다. 반응액이 옅은 녹색을 띠는 시점을 종말점으로 하여 반응을 종결하고 상온까지 냉각시킨 후 3,000 rpm, 30°C에서 원심분리하였다. Methylsulfinyl carbanion이 함유된 상등액은 공기의 접촉이 없도록 질소로 치환하여 소량씩 분주한 후 냉동보관하며 사용하였다.

(나) Methylation

다당 시료의 결합위치를 결정하기 위한 Methyl화는 Hakomori 방법(53)을 이용하여 실시하였다. 데시케이터에서 1~2일 간 충분히 건조한 각 다당 시료(0.5 mg)에 1 mL의 무수 DMSO를 가하고 교반하여 완전히 용해시킨 후, 500 mL methylsulfinyl carbanion (MSCA)를 가하여 4시간 동안 반응시켰다. 이때 다당이

완전히 polyalkoxide로 전환될 수 있도록 필요한 경우 MSCA를 추가로 첨가하였으며 미반응 MSCA의 잔존 여부는 triphenylmethane으로 확인하였다. Polyalkoxide로 전환된 시료는 과량의 CH_3I 를 가하여 methyl화 하였으며, 잔존 CH_3I 는 N_2 gas flushing을 통해 제거 후 Sep-pak C_{18} cartridge를 이용하여 회수하였다.

(다) Methyl화 다당의 가수분해 및 acetyl화

Methyl화된 시료는 2 M TFA 1 mL을 가하여 121°C, 1.5시간 반응시켜 가수분해를 행한 후 건조하였다. 가수분해한 시료는 25% NH_4OH 가 수 drop 첨가된 ethanol에 용해하고 10 mg의 NaBH_4 를 가하여 4시간 동안 개환 및 환원하였으며, acetic acid를 적당량 가하여 잔존 NaBH_4 를 제거하고, methanol을 가하며 반복 건조함으로써 과량으로 가해진 acetic acid를 제거하였다. 이후 1 mL의 acetic anhydride를 가하고, 121°C에서 3시간 동안 반응시켜 partially methylated alditol acetate로 전환하였으며, 이는 2상 용매계(chloroform, H_2O)로 분리, 추출하여 acetone에 용해시켜 GC 및 GC-MS로 분석하였다.

(라) Partially methylated alditol acetate의 GC 및 GC-MS 분석

GC 분석은 SP-2380 capillary column (0.25 mm×30 m, 0.2 mm film thickness, Supelco)이 장착된 Young-Lin ACME-6100 GC를 사용하여 최적온도 조건 [60°C (1 min), 60°C → 180°C (30°C/min), 180°C → 250°C (1.5°C/min), 250°C (5 min)]에서 splitless injection mode (1/20)로 분석하였으며, 이때 carrier gas (N_2)의 flow rate는 1.5 mL/min로 조정하였다.

한편 GC-MS는 SP-2380 capillary column (0.2 mm film, 0.25 mm i.d.×30 m, Supelco, Bellefonte, PA, USA)을 장착한 Agilent 6890N GC system과 5973N mass spectrophotometer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 GC 분석과 동일한 최적온도 조건에서 splitless injection mode (He flow rate : 1.5 mL/min)로 분석하였다. Methyl화된 시료의 유도체는 GC-MS에 의한 fragment ion 분석과 GC의 relative retention time을 조합하여 동정하였으며 각 peak의 molar%는 peak area 및 molecular response factor로 부터 환산하였다.

바. 토란 유래 다당의 선천면역계 자극 활성능 측정

(1) 장관면역 활성측정

장관면역 활성은 Peyer's patch 세포를 매개로한 골수세포 증식정도를 측정함으로써 평가되었다. 즉 $\text{C}_3\text{H}/\text{HeN}$ mouse(자성, 7주령)를 경추탈구하여 치사시킨 후,

복부를 절개하여 소장을 적출하고 소장벽에 붙어 있는 Peyer's patch를 떼어낸 다음, 7% FBS(Sigma Chemical Co., USA)를 함유한 RPMI 1640(Gibco BRL, USA) 배지(RPMI 1640-FBS)가 든 petri dish에 옮겼다. Patch 위에 멸균된 금속체(100 mesh)를 올려놓고 주사기의 고무 부분을 이용하여 조직을 파괴시킴으로서, Peyer's patch로부터 세포를 방출시켰다. 세포 현탁액을 멸균된 금속체(200 mesh)를 이용하여 재차 여과한 후 RPMI 1640-FBS 배지로 세척하였다. 세척 후 동일배지로 세포수를 2.0×10^6 cells/mL가 되도록 조절한 후, microtiter plate(Becton Dickinson Lab., USA)에 180 μ L씩 분주하고 각 시료를 20 μ L씩 분주한 다음, 37°C의 5% CO₂ incubator에서 5일간 배양한 후 상등액을 회수하여 골수세포 증식활성 측정용으로 사용하였다.

한편 골수세포액의 조제는 동일종의 마우스 대퇴부 뼈를 적출한 후, 주사기 바늘을 이용하여 RPMI 1640-FBS 배지를 뼈 속으로 넣어 골수세포를 회수하였다. 골수세포를 위와 같이 여과 및 세척하고, 세포농도를 2.5×10^5 cells/mL로 조정하여 microtiter plate에 100 μ L씩 분주하였다. 그 후 Peyer's patch 세포와 시료를 반응시킨 배양상등액(간접자극) 또는 시료용액(직접자극) 50 μ L와 RPMI 1640-FBS 배지 50 μ L를 각각 plate에 분주한 다음, 37°C, 5% CO₂ incubator에서 6일간 배양하였다. 골수세포 증식활성 측정은 Alamar Blue™ assay법이 이용되었다. 즉 골수세포의 배양종료 18시간 전에 Alamar Blue™ 용액(Biosource Co., USA) 20 μ L를 첨가하여 반응시킨 후에, 골수세포의 증식도를 excitation 544 nm와 emission 590 nm에서 형광분석기(Luminescence spectrophotometer, Perkin Elmer Ltd., UK)로 측정하였다. 골수세포 증식활성화 정도는 시료대신 생리 식염수를 사용한 대조구와 시료 처리구의 골수세포의 증식도를 비교하여 측정하였다.

(2) 매크로파지 활성화능 측정

매크로파지 활성화능 측정은 Suzuki 등의 방법을 실험실 여건에 맞게 다소 변형하여 사용되었다. 즉, ICR mouse(웅성, 6주령)에 5% thioglycollate(TG, Sigma Chemical Co., USA) 배지 2 mL를 복강에 주사하고, 3일 후 유도된 복강내 매크로파지를 RPMI 1640-FBS 배지를 이용하여 회수한 다음 2~3회 세척하였다. 회수한 매크로파지를 1.0×10^6 cells/mL가 되도록 동일한 배지를 이용하여 세포수를 조절한 후, microtiter plate에 200 μ L를 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 2시간 동안 배양함으로써 세포를 well 표면에 부착시켰다. 부착되지 않은 여분의 매크로파지를 RPMI 1640-FBS 배지를 이용하여 세척하고, 동일한 배지 180 μ L를 분주하였다. 여기에 각 농도별 시료 20 μ L를 분주한 후, 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안

배양하였다. 배양액은 상등액을 제거한 후 RPMI 1640-FBS 배지로 세척하였으며, 각 well에 0.1% Triton X-100(Sigma Chemical Co., USA)을 25 μ L씩 분주하여 세포막을 용해시켰다. 마크로파지로부터 유리된 lysosomal phosphatase의 활성측정을 위해, 기질인 p-NPP(p-Nitrophenylphosphate, 1 mg/mL, 0.025 M citrate buffer, pH 5.0, Sigma Chemical Co., USA) 200 μ L를 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 15분 동안 반응시켰다. 반응 후 0.2 M borate buffer(pH 9.8) 50 μ L를 넣어 발색시킨 후, Microtiter Reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) Splenocyte mitogen 활성화능 측정

ICR mouse(웅성, 6주령)를 치사시킨 후 비장을 적출하여 RPMI 1640-FBS 배지가 들어 있는 petri dish에 담근 후, 주사기의 고무마개와 화염멸균한 100 및 200 mesh 금속망을 이용하여 마쇄 및 여과를 실시하여 비장세포액을 얻었다. 이 세포액을 저장액 용혈법(0.2% NaCl 용액, 3 mL로 약 20초간 처리)을 이용하여 적혈구를 제거한 다음, RPMI 1640-FBS 배지로 2~3회 세척한 후, 세포수가 5.0×10^6 cells/mL가 되도록 조절하였다. 이 세포액을 microtiter plate에 90 μ L씩 분주하고 각 시료를 10 μ L씩 첨가하여 37°C, CO₂ incubator에서 3일 동안 배양하였다. 비장 림프구의 증식정도는 MTT법을 이용하여 측정되었다. 즉, 각 well의 세포배양액에 발색시약 MTT 용액(Methylthiazoletetrazolium, Sigma Chemical Co., USA) 50 μ L를 첨가하여 CO₂ incubator에서 5시간 동안 배양하였다. 형성된 MTT-formazan 침전을 회수한 후, 0.04 N HCl/isopropanol(시약 1급) 100 μ L를 이용하여 재차 용해시킨 다음, Microtiter Reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Relative mitogenic activity} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{negative control}}} \times 100$$

(4) 항보체 활성

(가) 정상인 혈청(Normal human serum, NHS)의 제조

건강한 성인의 혈액을 채취하여 실온에서 약 15분간 방치하여 응고시킨 후, 응고된 혈액을 절단하고 약 5분간 상온에서 방치시켰다. 이 혈액을 다시 4°C에서 약 20분간 방치한 다음 원심분리(2,200 rpm, 15 min, 4°C)하여 혈청을 분리한 뒤 미량

원심분리용 튜브에 1 mL씩 분주하여 -70°C에서 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

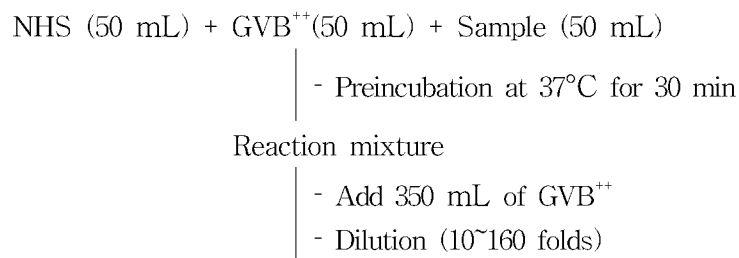
(나) 항보체 활성화능 실험

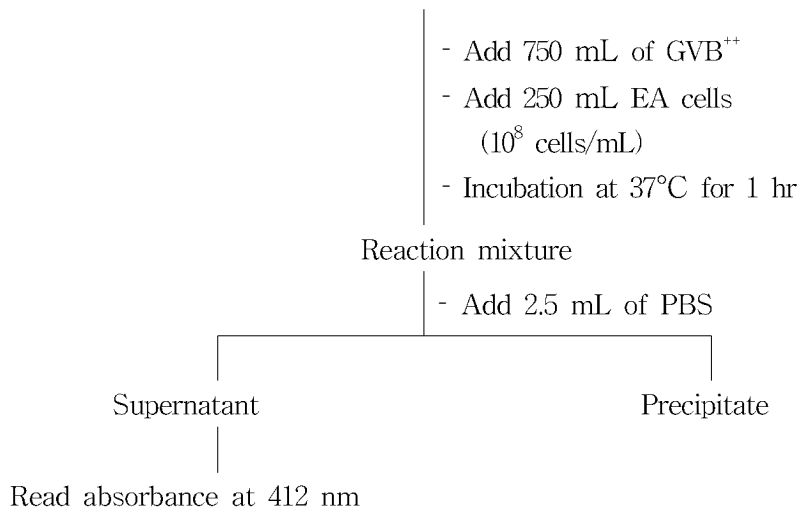
항보체 활성화는 Meyer법을 이용하여 시료에 의한 보체 소비(complement consumption) 후 잔존하는 보체에 의한 적혈구 용혈 정도에 근거를 둔 complement fixation test 방법으로 측정하였다.

여러 농도로 증류수에 용해시킨 시료를 GVB⁺⁺ (gelatin veronal buffer, pH 7.4, 0.1% gelatin, 0.15 mM Ca⁺⁺, 0.5 mM Mg⁺⁺ 함유) 및 정상인의 혈청과 각각 50 mL씩 혼합하여 37°C에서 30분간 1차 반응시켰다. 동 반응액에 GVB⁺⁺ 350 mL를 가하고, 이를 10~160배 까지 연속 희석시킨 후, 750 mL의 GVB⁺⁺와 양의 감작적혈구(IgM-sensitized sheep erythrocyte, EA cell, 1×10⁸ cells/mL)를 250 mL를 가하여 37°C에서 60분간 2차 반응시키고, PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 2.5 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액은 2,000 rpm에서 10분 간 원심분리하였으며, 얻어진 상등액을 412 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 용혈활성을 측정하였다. 항보체 활성화는 정상인의 혈청과 GVB⁺⁺, 증류수만을 반응시킨 음성대조군의 총보체용혈(50% total complement hemolysis, TCH₅₀, %)에 대한 저지율(inhibition of 50% total complement hemolysis, ITCH₅₀, %)으로써 나타내었다. 양성대조군으로는 운지버섯 유래 면역증강제인 PSK (polysaccharide-K)를 사용하여 비교하였다(Fig. 3-3).

(다) 금속이온 존재에 의한 보체계 활성화능 비교

보체계의 활성화 경로를 확인하기 위해 GVB⁺⁺ buffer와 Ca⁺⁺이온이 선택적으로 제거된 Mg⁺⁺-EGTA-GVB⁺⁺ buffer, Ca⁺⁺과 Mg⁺⁺ 이온이 모두 제거된 EDTA-GVB⁺⁺ buffer를 제조하여 시료 및 NHS와 각각 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 각 반응액은 37°C에서 60분간 재차 보체를 활성화 시키고, PBS 2.5 mL를 가한 후 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 412 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 용혈활성을 측정함으로써 보체계 활성화능을 비교하였다(eq. 1).





$$\text{ITCH}_{50}(\%) = \frac{\text{TCH}_{50} \text{ of control} - \text{TCH}_{50} \text{ of sample}}{\text{TCH}_{50} \text{ of control}} \times 100 \quad (\text{eq. 1})$$

Fig. 3-3. Assay procedures for anti-complement activity.

(라) 2차원 면역전기영동에 의한 보체계 활성화 경로의 검토

보체계 활성화 경로의 확인을 위한 2차원 면역전기영동은 Morrison 등의 방법에 따라 실시하였다. GVB⁺⁺ buffer, Mg⁺⁺-EGTA-GVB⁻⁻ buffer와 EDTA-GVB⁻⁻ buffer에 각각 정상인의 혈청과 정제 다당 시료를 동량으로 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 냉각하였다. 반응액을 barbital buffer(pH 8.6)에 용해시켜 만든 1% agarose gel plate (5×5 cm)의 well에 5 mL씩 loading하고, 4°C에서 약 3시간 동안 1차 전기영동(75 mA/plate)을 실시하였다. 이 후 1% anti-human C₃가 함유된 agarose gel plate 상에서 4°C, 약 15시간 동안 2차 전기영동(25 mA/plate)을 실시하였다. 전개된 gel은 bromophenol blue로 약 10분 간 염색 후 탈색하여 침강선(precipitation line)을 확인함으로써 C₃의 활성화 여부를 관찰하였다.

(5) 정상세포와 암세포에 대한 세포 독성실험

종양세포 및 일반세포에 대한 시료의 세포독성 여부를 확인하고자 mouse에서 획득한 일반세포인 macrophage와 종양세포주인 Colon 26-M3.1과 melanoma B16BL6를 각각 1×10⁴ cells/mL의 농도로 계수한 후 flat-bottomed 96-well microplate에 100 μL씩 분주하고 여러 농도로 조정된 토란 유래 정제 다당 시료를

각 well에 100 μ L씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 3일간 배양하였다. 각 시료농도에 따른 세포 독성의 효과는 CCK-8 (cell counting kit-8, Dojindo Co. Ltd., Kumamoto, Japan)를 5배 희석하여 well 당 50 μ L씩 가한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 30~60분간 반응시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(6) 토란 유래 다당의 cytokine 생산유도 활성화

(가) Macrophage 배양액의 준비

PBS를 이용, 0.5 mg/mL 농도로 조제한 다당 시료 용액에 RPMI 1640을 가하여 500 mg/mL에서 0.2 mg/mL의 농도가 되도록 3배수로 연속 희석하고 flat-bottomed 96-well microplate에 100 μ L씩 분주하였다. 여기에 BALB/c (♀, 6 weeks) mouse의 복강에 5% thioglycollate medium 1 mL를 주입하여 72시간 동안 유도된 macrophage (2.25×10^5 cells/mL of RPMI 1640) 100 μ L를 가한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다(54). 배양 종료 후 1,500 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리 하여 세포배양액 150 μ L를 회수하고 상등액 중에 유도된 cytokine의 함량을 측정하였다.

(나) Sandwich ELISA에 의한 cytokine 측정

Macrophage에 의해 생산된 cytokine의 함량은 sandwich ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)에 의해 분석하였다. 각 cytokine의 항체는 coating buffer에 희석하여 flat-bottomed 96-well microplate에 coating한 후 4°C에서 12시간 방치하였다. Coating이 완료된 microplate는 washing buffer (PBS with 0.05% tween 20, PBST)를 이용하여 3차례 세척하고, assay diluent (PBS with 10% FBS or 2% skim milk) 200 μ L를 가하여 1 시간 동안 방치하여 항체가 붙지 않은 well 표면을 blocking하였다. Blocking 완료 후 각 well은 washing buffer를 이용하여 재차 3회 세척하고, 각 well에 연속 희석한 표준물질(recombinant mouse cytokine)과 면역세포배양액을 각각 50 μ L씩 분주하였다. 이를 실온에서 2시간 동안 방치한 다음 washing buffer로 세척하고 detection antibody (in assay diluent) 100 μ L를 처리하여 실온에서 1시간 방치한 후 재차 세척하였다. Enzyme reagent (avidin-horseradish peroxidase conjugate) 100 μ L를 처리하여 실온에서 30분간 결합시킨 후 substrate solution [tetramethylbenzidine (TMB) and hydrogen peroxide] 100 μ L를 가하여 암소에서 30분간 반응시킨 후 50 μ L의 stop solution [(1 M H₃PO₄) or (2 N H₂SO₄)]을 처리하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(7) 자연 살해 세포에 의한 종양세포 살해능(NK cell activity)

토란으로부터 정제한 Taro-4-I 다당 시료를 BALB/c (6 weeks, ♀) mouse에 농도 별로 정맥주사하고 3일 후에 경추탈구 법으로 치사시켜 무균적으로 비장(spleen)을 적출하였다. Stainless steel mesh를 이용하여 PBS 상에서 마쇄(100 mesh) 및 여과(200 mesh)하여 비장세포를 획득하였다. 0.2% NaCl 5 mL을 15~30초 동안 가하여 혼입된 적혈구를 파괴하고 무혈청 배지로 2~3회 세척 후 세포수가 1×10^6 cells/mL가 되도록 조정하고 이를 effector cell로 사용하였다. NK cell에 대한 감수성이 높은 종양세포 YAC 1을 target cell로 하여 round-bottomed 96-well microplate에 effector cell과 target cell의 비율(E/T ratio)이 100, 50, 25이 되도록 조정하여 가하였다. 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 6시간 배양 후 effect cell의 살해능에 의해 target cell로부터 유리되는 lactate dehydrogenase (LDH)의 발생량을 Cytotox96 (Promega, Madison, WI, USA)를 사용하여 측정하였다. NK cell의 종양세포 살해능은 다음 식에 의해 계산하였다(eq. 2)(55).

NK cell activity(%)

$$= [(\text{실험분비량} - \text{자연분비량}) / (\text{최대분비량} - \text{자연분비량})] \times 100 \quad (\text{eq. 2})$$

(8) 종양세포에 대한 항전이 활성화(Anti-metastasis activity)

시료의 항전이 활성화는 폐(lung)에 대한 고전이성 종양세포주인 melanoma B16BL6를 이용한 실험동물 종양 전이 모델을 이용하였다. 시료에 의한 종양전이 효과를 관찰하기 위해 B16BL6 lung carcinoma (2.7×10^4)를 BALB/c mouse에 정맥주사하였고, 시료는 종양 접종 2일전에 각 농도별로 정맥 주사하였다. 종양접종 14일 뒤 mouse를 치사시키고, 종양세포의 표적기관인 폐를 적출하여 Bouin's solution (Sigma)에서 전이된 종양을 고정시킨 후, 전이된 종양의 colony를 계수하였다. 시료에 의한 항종양전이 효과는 종양만을 접종한 대조군과 비교하여 산출하였다(56).

2. 결과 및 고찰

가. 토란의 면역증진 활성화에 대한 추출 용매 및 조건별 검색

(1) 용매별 mitogen 및 macrophage 활성화능 검색

토란에 존재하는 면역증강 활성능을 검토히기 위해 국내산 토란을 각각 100 g씩 절편(slicing)하고 각종 용매 1,000 mL(냉수, 열수, 50% ethanol, ethylacetate, buthanol 및 1 N NaOH) 용액으로 각각 추출한 뒤, mouse macrophage에 대한 활성화

능을 lysosomal phosphatase activity method에 의해 측정하였다. 그 결과 냉수추출물과 열수추출물 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 LPS (lipopolysaccharide)와 유사한 정도의 높은 활성이 관찰되었으며 기타 용매획분에서는 상대적으로 낮은 활성을 나타내어 유기용매는 부적절한 것으로 판단되었다. 일반적으로 대부분의 식물 추출물의 경우, 물추출물에서 높은 면역활성을 보이는데 이와 잘 일치하였다. 한편 lymphocyte mitogen 활성을 MTT assay 및 alkialine phosphatase 방법을 이용, 측정한 결과 수용성 추출물에서 상대적으로 높은 활성이 관찰되었다(Table 3-3 참조). 이는 토란의 냉수나 열수의 추출조건이 다당이나 단백질 및 고분자류의 추출에 적합한 조건이기 때문에 macrophage의 활성을 자극하는 것은 주로 이러한 고분자일 것으로 생각된다. 면역 활성의 검색 결과를 나타낸 Table 3-3에서, 'cell free'라함은 시료와 면역 세포현탁액을 모두 첨가하지 않은 blank값이며 'saline'은 면역 세포현탁액에 시료대신 생리식염수만을 첨가한 음성 대조군이다. 한편 양성 대조군으로 사용한 LPS는 mouse B-cell의 mitogen으로, conA (concanavalin A)는 T cell의 mitogen으로 알려진 물질로서 시료의 mitogen 활성화 측정을 위한 표준물질로 사용되었다. LPS는 또한 macrophage 활성화 측정의 표준물질로 사용하기도 하였다.

Table 3-3. Mitogenic and macrophage-phosphatase activity of each solvent extract from the roots of *Colocasia antiquorum* Var. *esculenta*.

	Mitogenic activity (MTT assay, %)	Mitogenic activity (A-P assay <FCS>,%)	Macrophage phosphatase activity (%)
Cell free	0±15	0±28	0±12
Saline	100±17	100±16	100±13
LPS(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)			318±23
LPS(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	394±38	265±24	325±34
ConA(5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	690±43	284±31	
Cold water	322±23	425±85	345±15
Hot water	284±32	399±39	301±22
50% Ethanol	98±15	120±28	89±14
Ethylactate	123±19	101±30	113±18
Buthanol	135±4	132±44	121±19
1N NaOH	235±22	288±42	245±11

(2) 추출 용매별 항보체 활성 검색

추출 용매에 따른 토란의 항보체 활성을 검토하기 위해 극성이 상이한 각종 용매로 토란을 추출하고 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서의 Meyer법에 의한 활성을 비교한 결과는 Table 3-4에 나타난 바와 같이 냉수 및 열수 추출물의 경우 활성과 수율 모두에서 양호한 결과를 보였다. 한편 기타 용매계에서는 상대적으로 미미한 수율과 낮은 활성을 보여줌으로써 활성물질 추출에는 부적절한 것으로 판단되었다. 토란의 물 추출물의 활성은 기존에 높은 보체계 활성화능을 보유하고 있다고 보고된 PSK(구름버섯, *β -glucan from *Coliolum versicolor**)와 유사정도의 높은 활성을 나타낸 결과이며 따라서 위 결과를 미루어 볼 때 주로 토란 중 수 가용획분이 높은 활성을 소유한 것으로 판단되었다.

Table 3-4. Anti-complementary activities of several organic solvent extracts from the roots of *Colocasia antiquorum* Var. *esculenta*

Solvent	Anti-complementary activity (ITCH ₅₀ , %)
Cold water	62.8
Hot water	67.9
Ethyl acetate	16.4
50% Ethanol	7.2
1% NaOH	48.0
Buthanol	13.2
PSK*	64.5

(3) 추출 용매별 장관면역 활성 검색

추출 용매에 따른 장관면역활성을 측정하기 위해 Peyer's patch cell을 경유한 골수세포의 증식능(Fig. 3-4 참조)을 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 측정한 결과, Fig. 3-5에 나타난 바와 같이 냉수추출물의 형광강도가 378로 가장 높은 활성을 나타냈다. 이는 양성 대조군인 LPS의 활성과 유사한 정도의 높은 활성이었다.

타 용매 추출물의 경우에는 상대적으로 낮은 활성을 보였다. 특히 유기용매 획분들은 무첨가 대조군 정도의 낮은 활성을 보임으로써 활성 물질의 추출에는 부적절한 것으로 판단되었다.

이상의 결과로부터 토란에서 추출한 각 용매 추출물중 면역활성 성분은 주로 수용성 용매(냉수, 열수 및 1N NaOH용액)에 의해 추출될 수 있으며, 특히 냉수로

추출 시 가장 면역활성이 우수한 추출물을 획득할 수 있음을 알 수 있었다. 토란은 자체의 특성상 많은 점질물을 소유하고 있어 열수 추출시 paste상을 형성하는 등 가공상 문제가 있었으나 면역 활성은 동일 농도에서 비교적 냉수 추출물과 유사 정도인 것으로 판단되었다. 따라서 이후의 실험 과정에서는 토란의 냉수 추출물을 실험에 사용하였다.

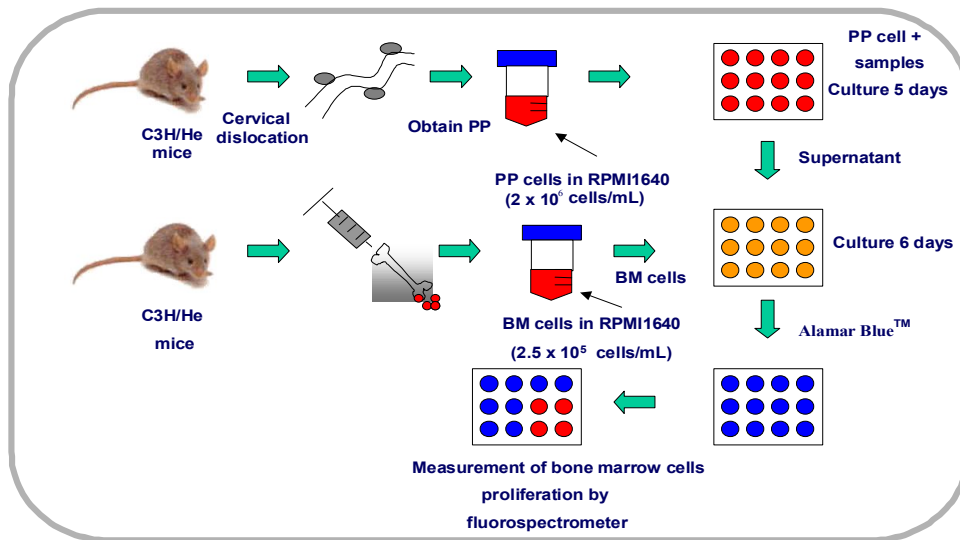


Fig. 3-4. Assay of intestinal immune system modulating activity by measurement of bone marrow cell proliferation.

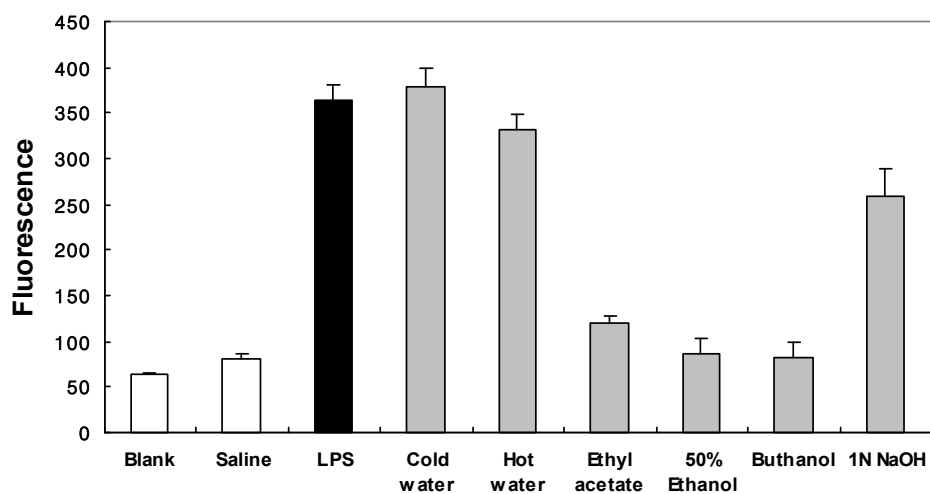


Fig. 3-5. Intestinal immune system modulating activity of water and several solvent extracts from the roots of *Colocasia antiquorum* Var. *esculenta*.

나. 토란 유래 다당의 분리 및 정제

(1) 토란 유래 조다당의 분리 및 제반특성

(가) 토란 유래 조다당의 분리 및 화학적 특성

토란의 면역활성 다당체의 특성 규명을 목적으로 토란으로부터 물 추출물을 조제하고, 이로부터 조다당 획분을 분리하고자 하였다. 토란 생체 5 kg을 mixer를 이용 파쇄하고 3배 부피의 냉수를 이용, 추출하였다. 한편 토란 냉수추출물에 잔존할 것으로 예상되는 전분을 제거하기 위해, 별도로 20,000 U의 α -amylase (Sigma, from barley malts)를 처리하였다. 이렇게 각각 조제된 냉수 추출물 및 효소처리 추출물에 4배 부피의 ethanol을 가하여 침전시킨 후, 세척, 투석 및 동결건조를 거쳐 조다당 획분(Taro-0)과 효소처리 조다당 획분(Taro-E)을 얻었다(Fig. 3-6 참조).

The roots of *Colocasia antiquorum* Var. *esculenta*

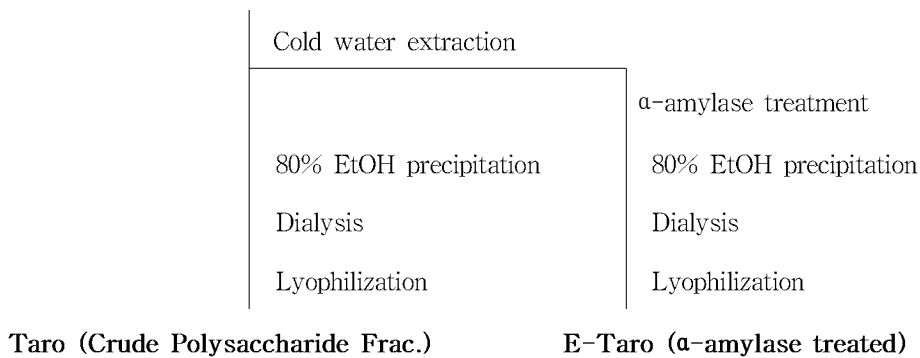


Fig. 3-6. Preparation procedure of crude immuno-stimulating polysaccharide from the roots of *Colocasia antiquorum* Var. *esculenta*.

토란의 조다당 및 효소 처리 조다당 획분의 화학적 조성을 분석한 결과, Table 3-5에 나타난 바와 같이 중성당 77.19-81.07%, 산성당 15.78-20.05%, 단백질 0.90-1.32%의 조성을 보였으며 그 외 KDO물질이 1.44-2.25% 검출되는 특성을 보였다(Table. 3-5). 토란의 조다당 획분 Taro-0의 이 수율은 생체 1 kg당 6.68 g을 보였다.

토란의 조다당 Taro-0와 효소처리 조다당 Taro-E는 가수분해하여 alditol acetate로 유도체를 조제하고 GC에 의해 구성당의 조성을 살펴본 결과, Table 3-5에 나타난 바와 같이 Taro-0 획분은 galactose가 80.3%로 가장 높은 비율로 함유하고 있었으며 mannose 13.6%, glucose 4.5%, arabinose를 1.6% 함유하고 있었다. Taro-E 획분은 galactose를 높은 비율로 함유한 점(67.6%)은 Taro-0과 유사하였지

만 arabinose, mannose 및 glucose의 조성은 다소 상이한 결과를 보였다. 이는 전분 제거의 목적으로 사용된 α -amylase처리 시, 효소에 미량 함유되어 있던 각종 당 분해효소의 작용으로 다당의 주요 당잔기가 절단된 것으로 추측할 수 있었다.

토란 유래 조다당 획분인 taro가 arabinose와 galactose를 높은 비율로 함유하고 있다는 사실로부터 이들이 arabinogalactan 형태로 존재할 가능성이 시사되었으므로 이를 재차 확인하기 위해 β -glucosyl Yariv reagent와의 반응성을 검토하였다. 일반적으로 arabinogalactan은 고등식물에서 주로 발견되는 다당류의 일종으로, 구조적 특성에 따라 I형, II형, 및 기타형으로 구분된다.

Table 3-5. Chemical properties of the crude polysaccharide fractions, Taro-0 and Taro-E from the corns of *Colocasia esculenta*

	<i>Colocasia esculenta</i>		
	Taro-0	Taro-E	
Chemical property			%
Neutral sugar	81.07	77.19	
Uronic acid	15.78	20.05	
Protein	0.90	1.32	
KDO	2.25	1.44	
Component sugar			%
Arabinose	1.60	16.30	
Mannose	13.60	9.50	
Galactose	80.30	67.60	
Glucose	4.50	6.60	

I형 arabinogalactan은 측쇄(side chain)에 arabinosyl oligosaccharide잔기를 갖는 (1→4)- β -D-galactan 주쇄로 구성된 다당을, II형은 (1→3)- β -D-galactan 주쇄에 galactose의 C₆ 위치에서 galactosyl 혹은 arabinosyl 잔기를 갖는 arabino-3,6-galactan을, 그리고 기타형은 arabinogalactan 측쇄를 갖는 pectic polysaccharide를 지칭한다. β -Glucosyl Yariv reagent [1,3,5-tri-(4- β -glucopyranosyl-oxyphenylazo)-2,4,6-trihydroxybenzene]는 arabinogalactan 중의 II형의 arabino- β -3,6-galactan과 특이적으로 반응하여 적색 침전을 형성하는 것으로 알려져 있다(Fig. 3-7 참조).

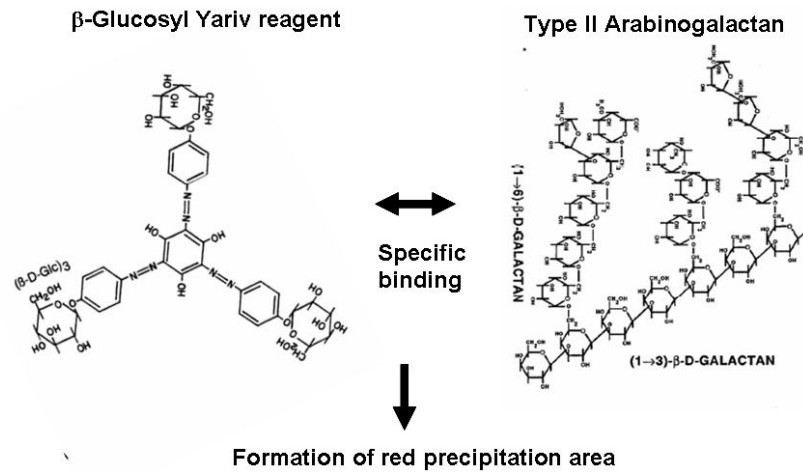


Fig. 3-7. Scheme of the reactivity between arabinogalactan and β -glucosyl Yariv reagent.

이는 다당과 특이적으로 반응하는 유일한 발색 시약으로 알려져 있으므로 이를 이용하여 taro 획분과 β -Glucosyl Yariv reagent의 single radial 젤확산을 행하였다. Fig. 3-8에 나타난 바와 같이 표준 arabino- β -3,6-galactan인 gum arabic은 농도 의존적으로 침전환이 증가하는 양상을 보여 주었으며, taro의 경우 어떠한 침전환도 관찰되지 않았다. 따라서 토란 유래 taro 획분 적어도 II형 arabinogalactan에는 속하지 않는 다당체임을 확인할 수 있었다.

① Control		② Gum Arabic (0.62μg)
③ Gum Arabic 1.25μg		④ Gum Arabic (2.5μg)
⑤ Gum Arabic 5.0μg		⑥ Taro Fraction

Fig. 3-8. Single radial gel diffusion of the crude polysaccharide from the roots of *Colocasia antiquorum* Var. *esculenta*. with β -glucosyl Yariv reagent.

β -Glucosyl Yariv reagent has specific binding affinity to arabino-3,6-galactan. Gum arabic was used as a positive reference.

(나) 토란 유래 조다당의 면역활성 특성

토란의 조다당 획분을 대상으로 면역활성 중 항보체 활성을 측정한 결과는 Fig. 3-9와 같다. 조다당 획분 Taro-0의 항보체 활성은 1000 mg/mL의 농도에서 잘 알려진 시판 면역증강 b-glucan인 PSK (from *Coliolum versicolor*, 구름버섯)와 유사 정도의 활성 즉, ITCH₅₀로 약 52%의 활성을 나타냈으며, Taro-0 획분의 농도 증가에 따라 활성이 증가하는 농도 의존적 경향을 보였다. 한편 효소처리 획분 Taro-E의 경우, 농도 의존적으로 활성이 증가하는 경향을 보였지만, Taro-0에 비해 상대적으로 낮은 활성을 보였다. 이러한 사실은 Taro-E 획분이 시판 미정제 α-amylase를 사용하여 효소처리를 행하였기 때문에 동 효소에 불순물 상태로 존재하는 활성다당의 구조를 일부 분해하는 타 효소의 존재에 의해, 당쇄 결합이 일부 파괴되고 이에 따라 Taro-0에 존재하는 항보체 활성보다 낮은 활성을 나타내는 것임을 추정할 수 있었다. 따라서 이후의 과정은 효소 미처리 Taro-0 획분을 대상으로 실험을 진행하고자 하였다.

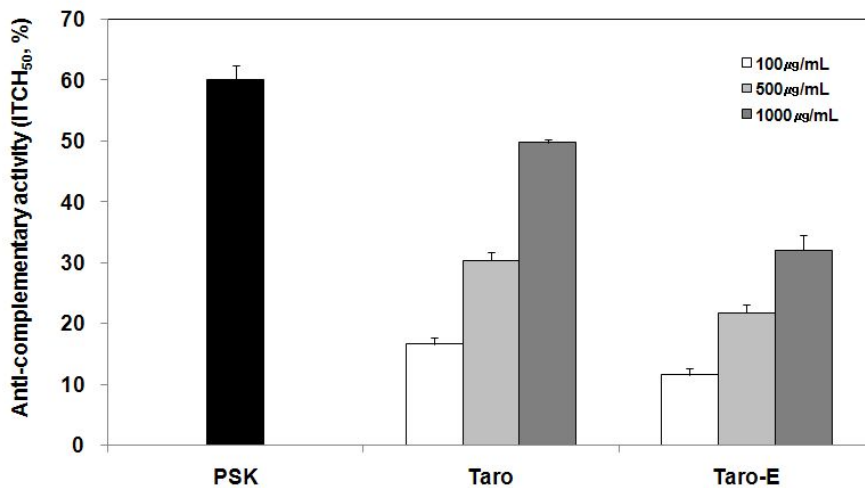


Fig. 3-9. Anti-complementary activity of the crude polysaccharide fractions, Taro-0 and Taro-E from the corns of *Colocasia esculenta*. PSK is a known immuno-active polysaccharide from *Coliolum versicolor*.

(2) 토란 면역활성 다당의 정제

토란의 조다당 획분인 Taro-0로는 정확한 면역활성의 성분규명이 어려우므로 위의 Fig. 3-10에서 제시한 바와 같이 정제를 행하고, 이후의 실험을 진행하고자 하였다. DEAE-Sepharose FF (Cl⁻ form)로 anion exchange chromatography를 시행

한 결과, 1개의 비흡착획분(Taro-1)과 7개의 흡착획분(Taro-2~Taro-8)을 얻을 수 있었다. 이온교환수지에 흡착된 산성 조다당의 분리에서 이온강도가 상이한 용매로 stepwise gradient로 용출 시켜야 분리가 용이하므로 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M, 0.3 M, 0.4 M, 0.5 M, 2.0 M의 NaCl 용액으로 각각 용출하였다. Fig. 3-10에 나타난 바와 같이 각 시료는 각 용매로 용출시켰을 때 복잡한 peak pattern을 보이며 용출되었다. 그러나 전체적으로 증류수로 용출한 비흡착획분(Taro-1)과 0.05 M NaCl 용출획분(Taro-2), 0.1 M NaCl 용출획분(Taro-3) 및 0.2 M NaCl (Taro-4)이 높은 다당 수율을 보였다. 한편 고농도 NaCl 용액에서 용출된 획분들의 경우, 수율은 낮으나 복잡한 peak 형태를 보였다. 그러나 이들의 chromatogram을 조사한 결과, peak는 시료가 추출과정 중 갈색으로 착색되어 있어 검출된 색소물질이 대부분이었다. 이는 재료 중 함유되어 있던 polyphenol성 화합물들이 열수 추출과정에서 산화, 중합한 착색물질로 판단되었다.

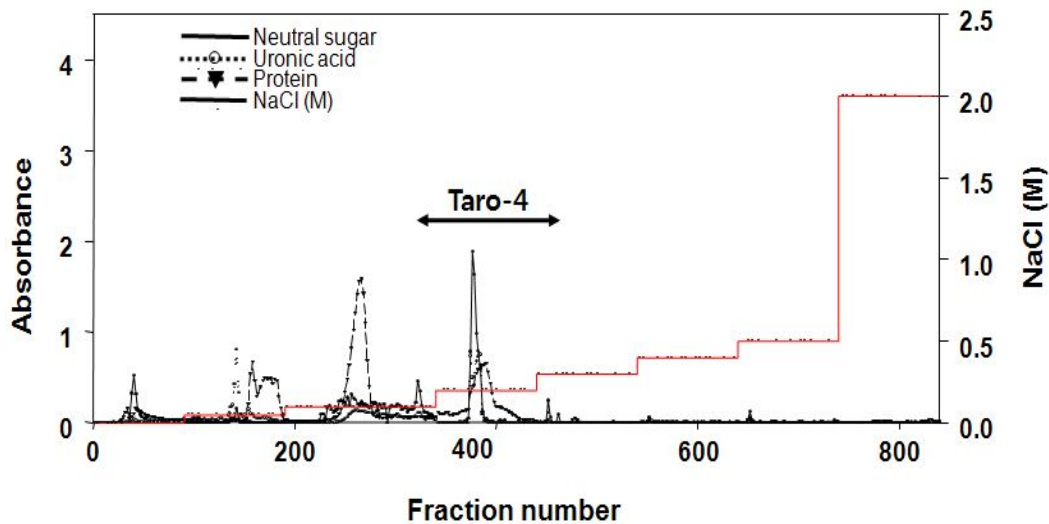


Fig. 3-10. Anion-exchange chromatography of the crude polysaccharide fraction isolated from *Colocasia esculenta* on the column of DEAE-Sepharose FF (Cl⁻ form).

The column was eluted with DIW until sugar was no longer detected and then eluted with 0.05 M ~ 2.0 M NaCl solution by stepwise gradient.

이온교환수지에 의해 정제된 각 획분을 대상으로 항보체 활성으로 면역활성을 측정 한 결과, Fig. 3-11에 나타난 바와 같이 각 획분들은 동일 농도에서 비교적 높은 항보체 활성을 보였으며 시판되고 있는 면역활성물질인 PSK (구름버섯유래 β

-glucan)와 유사 정도의 활성을 보였다. 또한 이들은 어느 정도 활성을 공유하는 것으로 나타났는데 이러한 현상은 식물체로부터 활성다당의 정제 시 일반적으로 나타나는 현상으로, 구조가 약간 상이하고 분자량의 차이 등에 의해 다당의 생리활성이 약간씩 차이나는 데 기인한 것으로 알려지고 있다. 따라서 수율과 활성 모두를 고려했을 경우, 이후의 정제과정을 위해서는 0.2 M NaCl 용출 획분인 Taro-4가 가장 적합할 것으로 판단되었다.

면역 활성과 수율이 양호했던 Taro-4 획분은 50 mM ammonium formate buffer (pH 5.5)로 평형화된 Sephadex G-100 column (2.5×90 cm)에 loading하고 동일 buffer를 이용하여 용출시켜 분자량이 상이한 2개 획분, Taro-4-I 과 Taro-4-II로 분획하였다(Fig. 3-12). 이 중 Taro-4-I 이 정제도와 수율 및 면역활성에 공히 우수하였으므로 토란 활성 다당의 최종 정제 획분으로 하고 이후의 실험에 사용하였다.

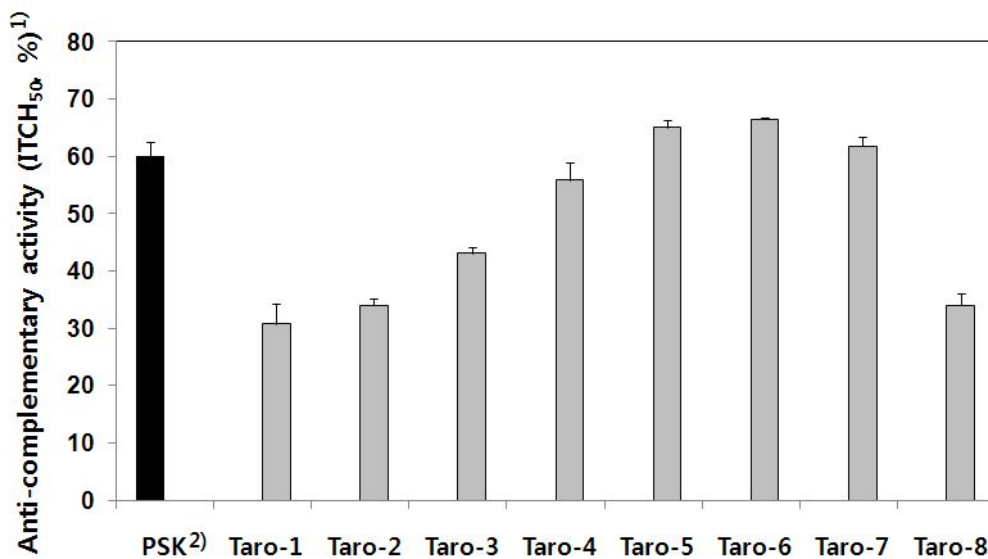


Fig. 3-11. Anti-complementary activities of subfractions obtained from anion-exchange chromatography of Taro-0.

¹⁾The Anti-complementary activity was expressed as the inhibition of 50% total component hemolysis by Mayer's method.

²⁾PSK, a known immuno-active polysaccharide from *Coliolum versicolor* was used as a positive control.

The data were expressed as mean±SD of three separate experiments.

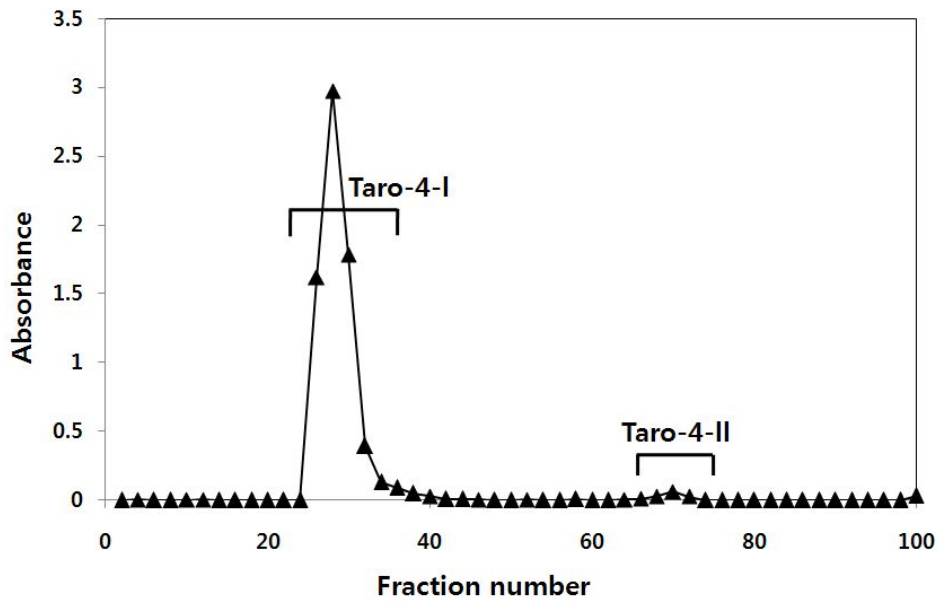


Fig. 3-12. Gel filtration of Taro-4 fraction on the column of Sephadex G-100. Taro-4 was subjected on Sephadex G-100 column (2.5×90 cm) and eluted with 50 mM ammonium formate buffer (pH 5.5) at the flow of 0.2 mL/min.

(3) 토란으로부터 정제한 면역활성 다당의 화학적 특성

정제 과정에서 높은 수율과 활성을 보였던 Taro-4-I 은 순도 및 분자량을 확인하기 위하여 HPLC를 행한 결과, 좌우대칭의 단일 peak를 나타내어 비교적 순수하게 정제되었음을 확인할수 있었으며, 표준물질(pullulan series)을 이용한 분자량 측정 결과 분자량이 200 kDa의 다당체임을 알 수 있었다(Fig. 3-13).

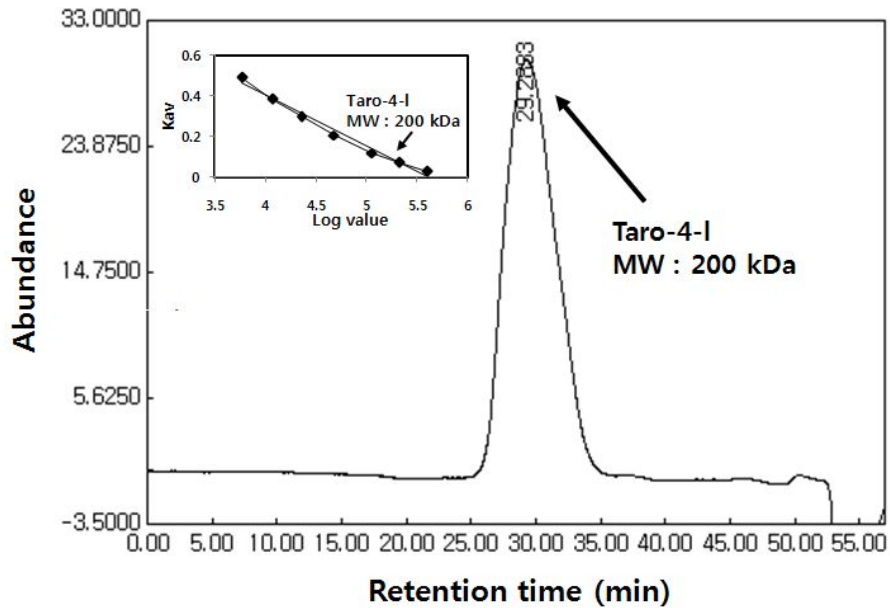


Fig. 3-13. Elution pattern and MW-determination of Taro-4- I purified from *Colocasia esculenta* on size exclusion HPLC.

HPLC equipped with Asahi-Pak GS-520+GS-320+GS-220 linked columns.

토란에서 정제된 다당 Taro-4- I 의 일반 화학특성을 살펴본 결과는 Table 3-6 과 같다. Taro-4- I 은 중성당 64.4%, 산성당 35.6%로 구성되어 있었으며 일반적으로 식물 추출물에서 검출되는 단백질 및 KDO물질은 함유하고 있지 않았다. 한편 Taro-4- I 을 가수분해하여 alditol acetate 유도체로 전환하고 구성당을 분석한 결과, Taro-4- I 은 mannose, galactose 및 galacturonic acid (glucuronic acid)를 각각 19.2%, 38.9%, 35.6%의 높은 비율로 함유하고 있었으며(Table 3-6 및 Fig. 3-14), 그 외 arabinose와 glucose가 미량 검출되었다. Taro-4- I 의 구성당 결과와 토란 다당이 높은 점도를 갖는 물성의 특징에 근거할 때, 이들은 고도로 분지된 mannogalactan, 혹은 galactomannan에 산성당이 결합되어 있는 형태로 존재할 가능성을 강력히 시사하였다.

Table 3-6. Chemical properties of Taro-4- I purified from *Colocasia esculenta*

Chemical composition	(%)
Neutral sugar	64.4
Uronic acid	35.6
Protein	0.0
KDO-liked material ¹⁾	0.0
Component sugar ²⁾	(Mole%) ³⁾
Rhamnose	0.1
Fucose	0.0
Arabinose	1.7
Xylose	0.3
Mannose	19.2
Galactose	38.9
Glucose	4.2
Galacturonic acid+Galucuronic acid	35.6

¹⁾KDO means 2-*keto*-3-deoxy-D-*manno*-octulosonic acid.

²⁾Monosaccharides were analyzed using alditol acetates.

³⁾Mole% was calculated from the detected total carbohydrate.

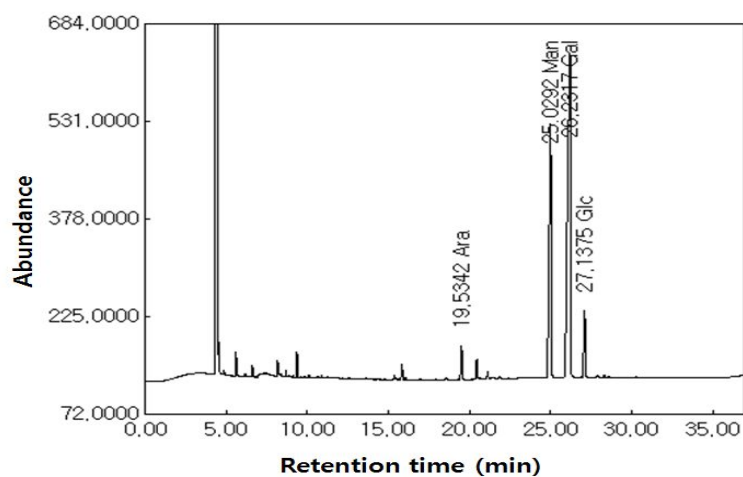


Fig. 3-14. GC chromatogram for the determination of sugar composition of Taro-4- I.

다. 선천면역계 활성 다당 Taro-4-I의 구조분석

(1) Taro-4-I의 methylation analysis에 의한 당쇄 결합양식 분석

다당의 구조 분석에 있어서 당쇄의 결합양식은 다당체의 기본 구조를 해명한다는 점에서 가장 중요한 분석으로 알려져 있다. 핵산 및 단백질의 구성분자인 nucleotide나 amino acid의 사이에 phosphodiester 결합이나 peptide 결합(amide 결합)이라는 동일한 결합양식으로 연결된 데 반하여, 다당은 구성당 사이에 1→2, 1→3, 1→4, 1→6 등의 결합이 가능하며 각 구성당 탄소에서 분지된 형태로 존재할 수 있기 때문에 타 생체 분자에 비해 구조 해석이 어려우며 따라서 결합양식의 분석은 다당의 구조 특성 규명에 있어 가장 중요한 step이라고 할 수 있다. 당쇄 결합양식 분석에 많이 사용되는 methylation analysis는 결합에 참여하지 않은 탄소에 붙은 hydroxyl를 methyl화하고, 가수분해하여 부분적으로 methyl화 된 구성당의 ring을 개환한 후, 남아있는 hydroxyl를 acetylation하여 GC-MS를 이용, fragment ion을 분석하여 구조를 규명하는 복잡한 과정이다.

Fig. 3-15 및 3-16에서 보는 바와 같이 Taro-4-I의 당쇄결합 양식을 분석하고자 methylation 후, GC로 분석한 total ion chromatogram을 확인하고 각 peak의 fragment ion을 GC-MS로 분석하였으며, 이들의 결과를 종합하여 Table 3-7에 구성당 결합 양식의 조성을 종합하여 표시하였다.

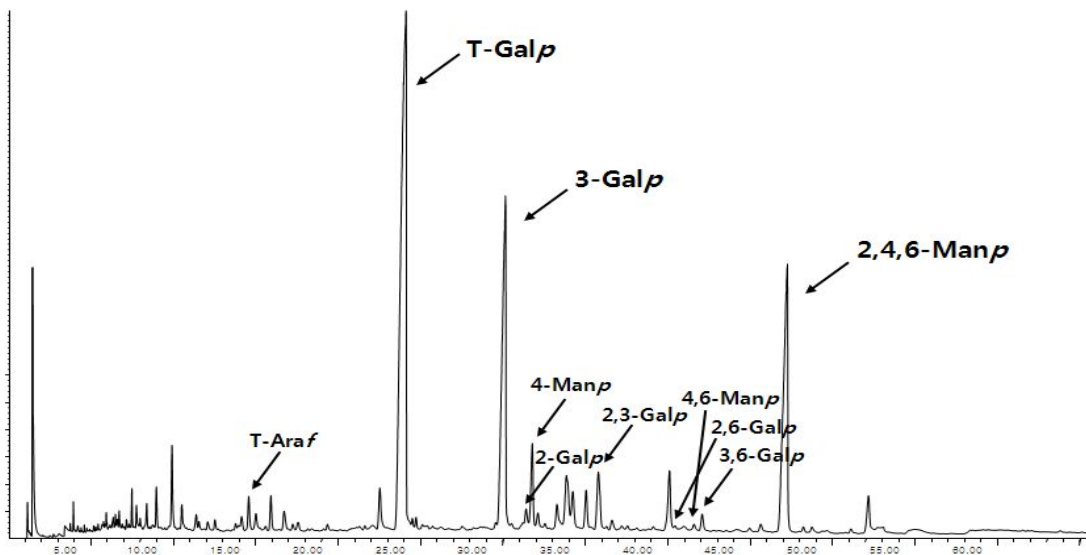


Fig. 3-15. Total ion chromatograms on GC-MS of partially methylated alditol

acetates of Taro-4- I purified from the corns of *Colocasia esculenta*.

Table 3-7에서 보는 바와 같이 Taro-4- I 는 총 10 종의 당쇄가 결합에 참여하고 있었으며 galactose 결합 및 mannose 결합이 높은 비율로 확인되었다. 특히, galactose 잔기의 경우 terminal-Galp가 높은 비율(48.4%)로 검출되었는데 이러한 사실은 비환원성 말단에 존재하는 galactose가 많으며, 따라서 측쇄(side chain)에 galactose 및 이들의 oligo당이 고도로 분지된 galactan이 뺏어나간 형태임을 추정할 수 있었다. 3-linked-Galp와 2,3-branched-Galp 및 3,6-branched-Galp가 높은 비율로 존재하는 사실로부터 galactan 형태로 존재하는 side chain은 1→3결합으로 연결된 galactose core에 C₂ 또는 C₆위치에서 또 다른 galactose가 분지되어 비환원 말단을 구성함을 추정할 수 있었다.

Table 3-7. Methylation analysis of Taro-4- I purified from the corns of *Colocasia esculenta*

Glycosyl residue	Position of methyl group	Deduced glycosidic linkage	Taro-4-1 (Molar %) ¹⁾
Arabinose	2,3,5	T-Araf ²⁾	1.1
Galactose	2,3,4,6	T-Galp	48.4
	3,4,6	2-Galp	0.9
	2,4,6	3-Galp ³⁾	22.0
	3,6	2,3-Galp	3.2
	2,4	3,6-Galp	0.7
	3,4	2,6-Galp	0.1
	Mannose	2,3,6	4-Manp
	2,3	4,6-Manp	0.3
	3	2,4,6-Manp ⁴⁾	19.9
Total			100.0

¹⁾Calculated from the peak area and molecular response factors of each partially methylated alditol acetates in GC and GC-MS.

²⁾T-Araf means non-reducing terminal arabinofuranoside.

³⁾3-Galp means 3-linked galactopyranoside.

⁴⁾2,4,6-Man_p means 2,4,6-branched mannopyranoside.

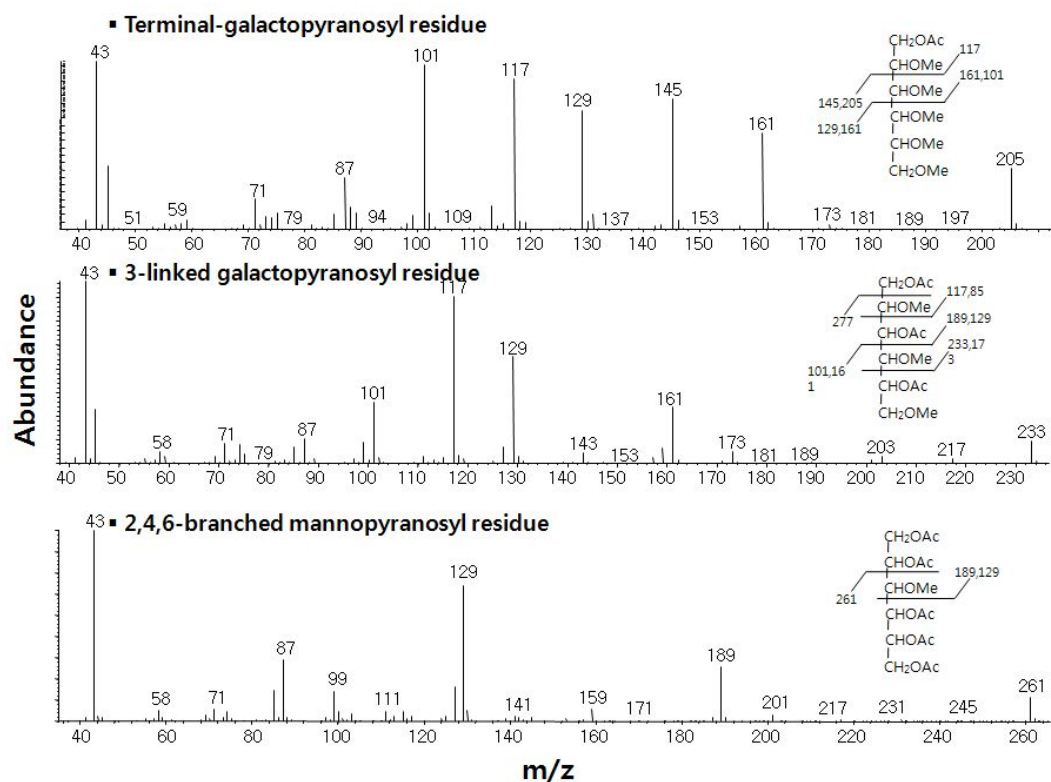


Fig. 3-16. GC-MS fragment ion patterns of three characteristic linkages of Taro-4-I purified from the corns of *Colocasia esculenta*.

한편 mannose 잔기의 경우 비환원 말단의 mannose는 거의 검출되지 않은 반면 4-linked Man_p와 4,6-linked Man_p, 2,4,6-linked Man_p가 높은 비율로 검출되었다(Fig. 3-16 참조). 이러한 사실은 Taro-4-I의 주쇄(main chain)가 (1→4) 결합의 mannan 형태로 존재하며, mannose의 C₆위치에서 다시 한가닥의 측쇄가 뻗어져 나가거나 C₂ 및 C₆위치에서 동시에 두가닥의 측쇄로 뻗어져 나감을 추정할 수 있었다. 특히 토란에서 유래한 Taro-4-I 다당에는 2,4,6-linked Man_p 잔기가 특히 높은 비율로 검출되는 특이한 양상을 보였는데 이러한 사실은 (1→4) 결합으로 연결된 mannose 주쇄에 두가닥으로 galactan 측쇄가 연결된 형태로, 타 식물체 유래의 다당에서는 발견되지 않는 고도로 분지된 형태임을 확인할 수 있었다. 일반적으로 토

란에서 관찰되는 높은 점질류와 생리활성은 이처럼 고도로 분지된 galactomannan에 기인하는 것으로 사료된다. 하지만 다당에 의한 생리활성은 같은 종류로 분류되는 다당이라 하여도 미세 구조가 식물마다 상당한 다양성을 보이고 있으며, 이에 따라 활성의 차이를 보인다고 알려져 있으므로 미세 구조에 대한 연구가 필수적으로 요구되었다.

(2) Taro-4-I의 미세구조 해명을 위한 연속적 효소처리 및 특성분석

(가) Exo- α -galactosidase 처리 및 분석

다당은 고분자의 특성에 기인하여 전체구조를 한 번에 분석할 수 있는 방법이 개발되어 있지 않으므로, 화학적 또는 효소처리에 의해 단편을 조제하고 각 단편의 미세구조를 규명하여 최종적으로 전체 구조를 추정하는 것이 일반적이다. 따라서 본 연구에서는 활성 다당 Taro-4-I을 각종 효소를 처리하여 단편화하고 이들을 분석하고자 하였다. Methylation analysis 결과 Taro-4-I 다당에는 다수의 galactose 측쇄가 존재함을 예측할 수 있었으므로 측쇄 부분의 말단 잔기를 제거할 목적으로 Exo- α -galactosidase (exo-galase)를 처리하고 Superdex 75 GL column을 이용 HPLC를 행한 결과, Fig. 3-17에 나타난 바와 같이 AG-I 및 AG-II의 2개획분으로 분리할 수 있었다. Exo-galase 처리에 의해 단편이 생성했다는 사실은 토란 면역 활성다당 Taro-4-I 중에 side chain이 α -galactan으로 존재하고 있음을 확인케 하였으며 특히 이들이 α -(1 \rightarrow 3)-galactan으로 존재함을 추론할 수 있었다.

그러나 exo-galase 처리에서는 존재하는 galactose 양에 비해 상대적으로 적은 양의 galactose만이 분리되었는데, 이러한 사실은 galactan side chain이 주쇄에 비교적 짧은 oligo당 형태로 결합되어 있으며, 주쇄에서 고도로 분지된 구조로 존재함을 확인케 하였다. Exo-galase는 α -glycosidic linkage로 연결된 galactopyranoside chain에서 비환원성 말단부터 한분자씩 galactose를 제거하여 monomer galactopyranose를 반응물로 만들어 내는 exo-type의 효소인데 일반적으로 다당의 분지점에 이르면 본 효소의 활성부위가 구조적 장애(steric hindrance)를 받아 당쇄 결합의 분해 부위에 이르지 못하게 되고 따라서 galactose 결합의 완전한 분해가 어려운 것으로 해석되었다.

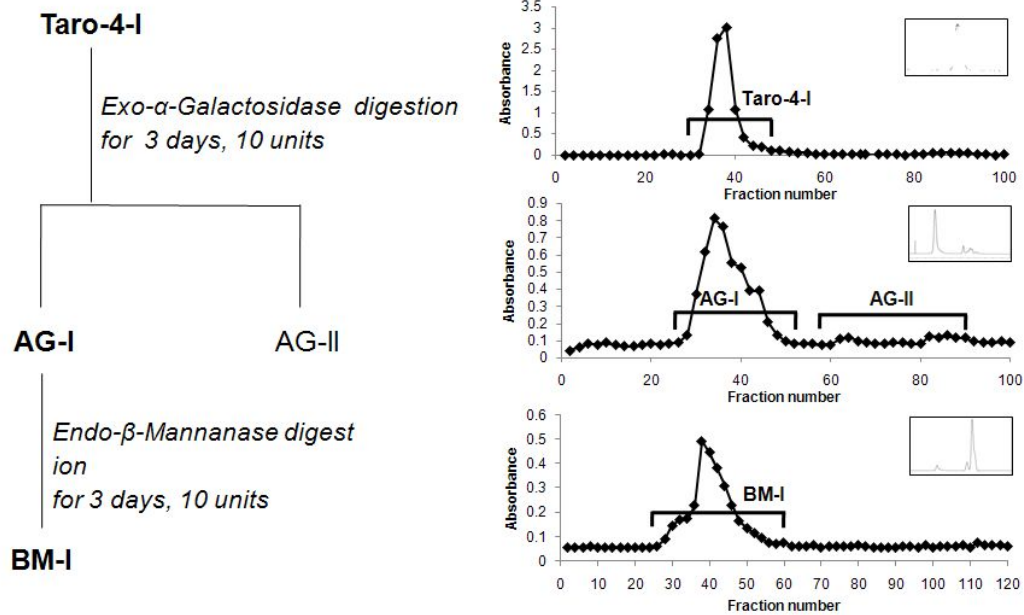


Fig. 3-17. Sequential enzymatic digestion of Taro-4- I for structural characterization and elution patterns of enzyme digests on Superdex 75 GL.

(나) Endo-β-(1→4)-mannanase 처리 및 분석

Exo-galase 처리 후, 고분자로 남아 있던 AG- I은 Endo-β-(1→4)-mannanase (endo-mannase)로 재차 처리하고 Superdex 75 GL column을 이용하여 분획한 결과, Fig. 3-17에 나타난 바와 같이 어떠한 분해로 일어나지 않아 BM- I 하나만의 peak로 나타났다. 당쇄결합양식의 분석 결과에서 주쇄로 추정되는 mannan chain은 1→4 결합으로 연결되어 있으며, 이들 즉 대부분의 mannose 잔기는 또다른 2가닥의 측쇄를 소유한 것으로 예측되었다. 따라서 endo-β-mannanase 처리시 고도로 분지된 주쇄인 mannan의 특징으로 인해 구조적 입체 장애를 받아 절단에 제한이 있었음을 추정할 수 있었다.

(3) 선천면역계 자극 활성 다당 Taro-4-I의 전체구조 추정

토란의 면역활성 다당 Taro-4-I의 methylation analysis에 의한 당쇄 결합양식의 분석과 2차례의 효소처리 과정을 거쳐 얻어진 정보를 바탕으로 추정된 Taro-4-I의 예상되는 전체구조는 Fig. 3-18에 도식화한 바와 같다. Taro-4-I의 분자량은 약 200 kDa의 다당체로, 전체 약 1,200여개의 당으로 구성되어 있으며 따라서 이들의 전체 미세 구조를 예측하는 데는 한계가 있었으므로 약 1/30로 축소하여 구조를 추정하였다. 토란의 면역활성 다당Taro-4-I은 ① mannose가 (1→4) 결합으

로 연결된 mannan이 주쇄(main chain)를 구성하고 있으며, 주쇄의 대부분은 mannose의 C₆위치에서 한가닥 또는 C₂ 및 C₆위치에서 동시에 두가닥의 측쇄(side chain)가 측쇄 구조로 연결되어 존재한다. ② 측쇄 구조는 α-(1→3) 결합으로 연결된 짧은 galacto-oligosaccharide로 구성되어 있으며 이들 중 몇몇 잔기는 C₂ 또는 C₆위치에서 galactose 또는 arabinose 잔기가 연결된 구조로 존재함을 최종 추론할 수 있었다. 따라서 토란이 갖는 면역활성은 고도로 분지된 galactomannan에 기인함을 알 수 있었다.

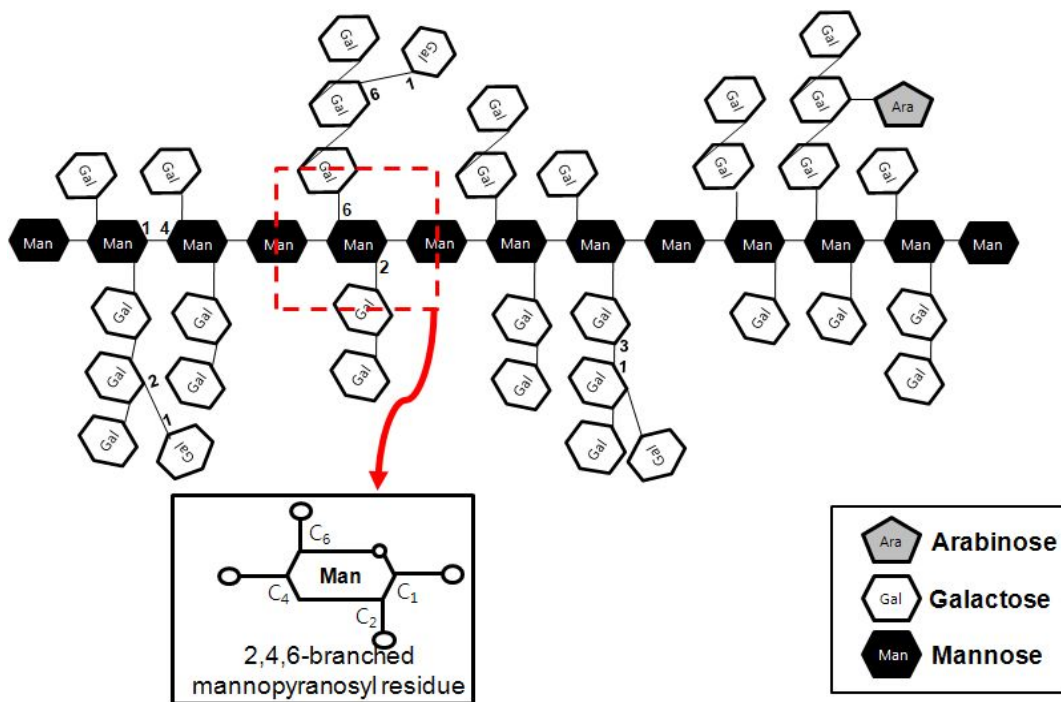


Fig. 3-18. A possible structure of immuno-stimulating polysaccharide, Taro-4- I purified from the corns of *Colocasia esculenta*.

Squares with dotted lines indicate a characteristic linkage in Taro-4- I.

라. 토란 유래 다당의 면역계 자극 활성화

(1) 토란 유래 다당에 의한 보체계 활성화

(가) 토란 유래 다당의 항보체 활성화

인체의 초기 감염 방어에 있어 중요한 역할을 담당하고 있는 보체계에 대하여 토란 다당의 활성화 여부를 측정하기 위해 Meyer의 방법에 따라 항보체 활성을 측정하였다. 양성대조군으로는 운지버섯(*Coriolus versicolor*) 유래 면역 활성화 다당체인 PSK (polysaccharide-K)를 사용하였으며(57), 음성대조군으로써 시료를 첨가하지 않은 증류수를 이용하였다. 음성대조군에서의 활성화 정도를 ITCH₅₀ 0%로 하여

각 시료의 활성화능을 확인한 결과, Taro-4- I 의 1,000 µg/mL의 농도에서 동일 농도를 가한 양성대조군에 준하는 우수한 항보체 활성을 보였다(Fig. 3-19). 양성대조군인 PSK는 현재 항암제로 시판되는 면역활성 다당이며, 일반적으로 1,000 µg/mL의 농도에서 50% 이상의 항보체 활성을 나타내는 다당체는 그 약리성이 통상적으로 인정된다고 알려져 있기 때문에(58), Taro-4- I 의 보체계 활성화능이 우수함을 확인할 수 있었다. 또한 시료의 농도에 차이를 두어 실험한 결과 Taro-4- I 의 활성이 농도 의존적임을 알 수 있었다.

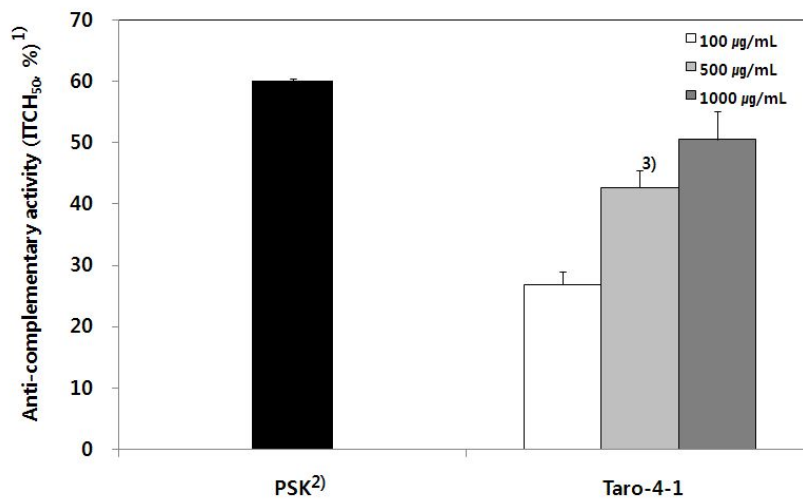


Fig. 3-19. Anti-complementary activity of Taro-4- I purified from the corns of *Colocasia esculenta*.

¹⁾Anti-complementary activity was presented as the inhibition of 50% total complementary hemolysis by Mayer's method.

²⁾Polysaccharide K (PSK), a known immuno-active polysaccharide from *Coriolus versicolor* was used as a positive control.

³⁾Values are the mean of triplicate±SD.

(나) 보체계 활성화 경로의 검토

1) 항보체 활성화에 미치는 금속이온의 영향

보체계의 활성화 경로는 크게 고전경로(classical pathway)와 부경로(alternative pathway)로 구성되어 있으며(59), 고전경로의 활성화에는 Ca⁺⁺ 및 Mg⁺⁺ 모두가 관여하고(60) 부경로에는 Mg⁺⁺만이 선택적으로 관여하고 있다고 보고되어 있다(61). 따라서 특정 금속이온이 제거된 반응계와 기본 반응계의 활성을 비교할 경우, 시료의 보체계 활성화 경로를 예측할 수 있게 된다. 보체계 활성화능이 우수한 것으로 확인

된 Taro-4- I 을 대상으로 특정 금속이온을 제거한 반응계에서 항보체 활성을 측정하였다. Fig. 3-20에서 보는 바와 같이 Ca^{++} 가 선택적으로 제거된 반응계에서는 Ca^{++} 과 Mg^{++} 이 모두 존재하는 기본 반응계에 비해 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 약 60%의 활성을 보였으며, 500 $\mu\text{g/mL}$ 이하에서는 급격히 활성이 감소하는 특징을 보였지만 농도 의존적인 경향은 유지되었다. 한편, Ca^{++} 및 Mg^{++} 모두가 제거된 반응계에서는 활성이 거의 소실됨을 확인하였다. 이는 Taro-4- I 의 보체계 활성화가 고전경로와 부경로 모두를 경유하여 나타남을 말해주는 결과였다.

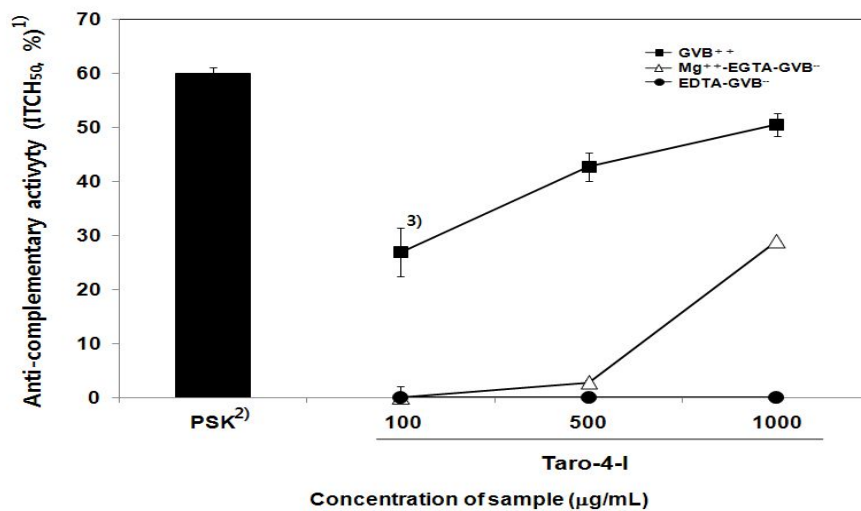


Fig. 3-20. Effect of calcium and magnesium ions on the anti-complementary activity of Taro-4- I from the corns of *Colocasia esculenta*.

(A) GVB⁺⁺ (Ca^{++} and Mg^{++})

(B) Mg^{++} -EGTA-GVB⁻⁻ (Mg^{++} only)

(C) EDTA-GVB⁻⁻ (divalent metal ion free)

¹⁾Anti-complementary activity was presented as the inhibition of 50% total complementary hemolysis by Meyer's method.

²⁾Polysaccharide-K (PSK), a known immuno-active polysaccharide from *Coriolus versicolor* was used as a positive control.

³⁾Values are the mean of triplicate \pm SD.

2) 2차원 면역 전기영동에 의한 보체 활성화 산물의 동정

Meyer법에 의한 항보체 활성 측정법은 1차 반응단계에서 시료 성분의 보체계 활성화에 의한 보체의 소모정도를 측정하는 방법으로, 만일 시료 중 보체의 활성화

가 아닌 특정한 저해성분이 존재할 경우에도 높은 항보체 활성을 나타낼 수 있는 문제점을 갖고 있다(62). 일반적으로 보체계의 고전경로 및 부경로가 활성화 되면 보체계 활성화에서 가장 중요한 성분인 C_3 이 C_{3a} 와 C_{3b} 로 분해되고 이후 연속적으로 C_5 의 활성화, $C_6 \sim C_9$ 의 항원으로의 결합반응을 진행하여 보체계가 활성화된다. 따라서 2차원 면역 전기영동을 이용해 C_3 의 활성화 여부를 확인함으로써 Meyer법에 의해 확인된 시료의 항보체 활성이 보체계 활성화에 기인한 것인지, 혹은 보체 저해인자에 의한 결과인지를 확인할 수 있다.

Taro-4-I 을 기본 반응계와 특정 금속이온이 제거된 반응계에서 각각 반응시킨 후 C_3 인자의 분해여부를 관찰한 결과는 Fig. 3-21과 같다. Ca^{++} 과 Mg^{++} 이 모두 존재하는 정상 반응계에서는 well로부터의 첫 번째 침강선과 두 번째 침강선이 비슷한 비율로 나타남을 확인할 수 있었다. Well로부터 첫 번째 침강선은 C_3 , 두 번째 침강선은 분해산물인 C_{3a} 와 C_{3b} 에 의해 기인함을 고려해 볼 때 이는 Taro-4-I 의 항보체 활성이 보체 저해인자에 의한 것이 아님을 증명할 수 있었다. 반면 금속이온이 모두 제거된 반응계에서는 첫 번째 침강선 만이 뚜렷하게 나타나고 두 번째 침강선은 관찰되지 않았다. 한편 Ca^{++} 만이 선택적으로 제거된 반응계에서는 정상 반응계에서 보다 두 번째 침강선의 높이가 상대적으로 낮아진 것을 확인할 수 있었다. 이는 고전경로가 저해된 상태에서 부경로만으로도 C_3 의 활성화가 일어났음을 의미하며, 따라서 Taro-4-I 에 의한 보체계 활성화는 고전경로 및 부경로 모두를 경유하여 나타남을 재차 확인시켜주는 결과였다.

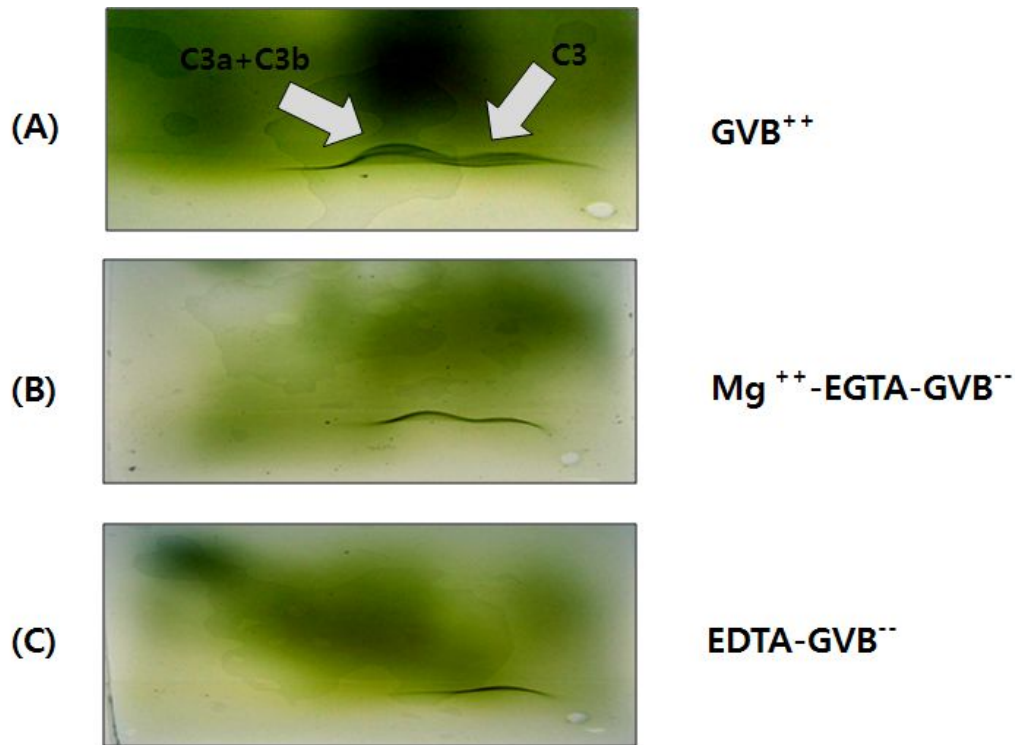


Fig. 3-21. Cross-immunoelectrophoretic patterns of C₃ converted by Taro-4- I in the presence of Ca⁺⁺ ion.

Normal human serum was incubated with the sample in GVB⁺⁺(A), Mg⁺⁺-EGTA-GVB⁻⁻(B) and EDTA-GVB⁻⁻(C) at 37°C for 30 min. The sera were subjected to immuno-electrophoresis using anti-human C₃ antibody to locate C₃ cleavage products.

(2) 토란 유래 다당의 세포 독성

Mouse의 복강으로부터 분리한 일반세포인 macrophage와 종양세포주인 Colon 26-M3.1 및 melanoma B16BL6를 이용하여 Taro-4- I의 세포에 대한 직접 독성 여부를 측정하였다. 1×10⁴ cells/mL로 조정된 종양 및 일반세포주에 Taro-4- I 0.2 μg에서 500 μg까지의 다양한 농도로 가하여 배양한 후 세포의 생존 여부를 확인하였으며 그 결과는 Fig. 3-22 및 3-23에 나타난 바와 같다. 결과에서 제시한 바와 같이 정상세포의 경우 뚜렷한 독성은 나타나지 않았으며 시료 농도 약 2~166 μg/mL에서는 약간의 세포 증식 효과가 관찰되었다.

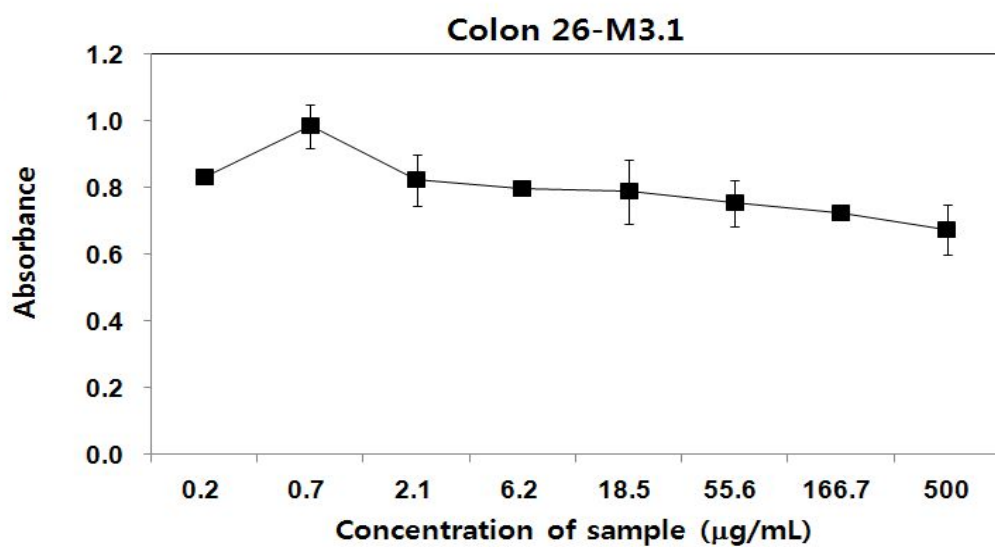


Fig. 3-22. Cytotoxic effect of Taro-4- I purified from the corns of *Colocasia esculenta* on murine peritoneal macrophages *in vitro*.

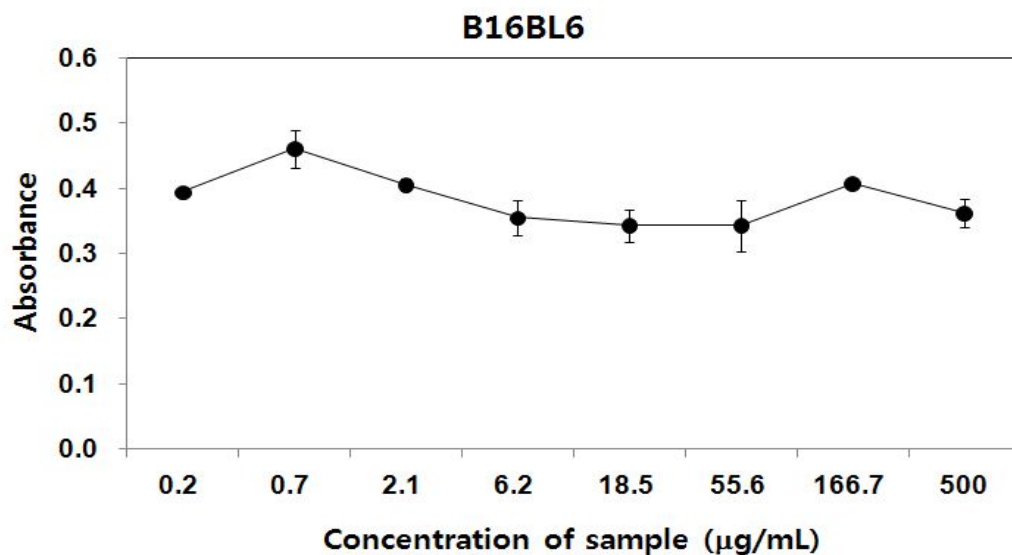


Fig. 3-23. Cytotoxic effect of Taro-4- I purified from the corns of *Colocasia esculenta* on Colon 26-M3.1 and B16BL6 cells *in vitro*.

한편, 각 실험 농도에서 Colon 26-M3.1 및 B16BL6 세포주 모두 세포의 사멸은 관찰되지 않았다(Fig. 3-23). Colon 26-M3.1의 경우 500 $\mu\text{g}/\text{well}$ 의 농도로 갈수록 생육이 감소되는 경향을 나타내었는데, 이는 고농도로 갈수록 독성에 의한 사멸이라 관찰되었지만, 이를 직접적인 세포독성에 근거하라는 결론을 내리기에는 어려운 결과였다. 이상의 결과로부터 Taro-4-I은 일반세포 및 종양세포주에 대해 세포독성을 나타내지 않으며 따라서 암세포에 대해 직접적인 세포독성에 근거한 항암활성은 없음을 추정할 수 있었다.

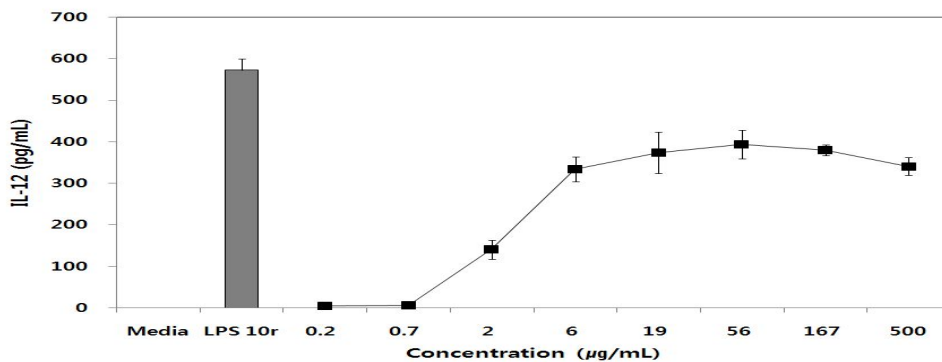
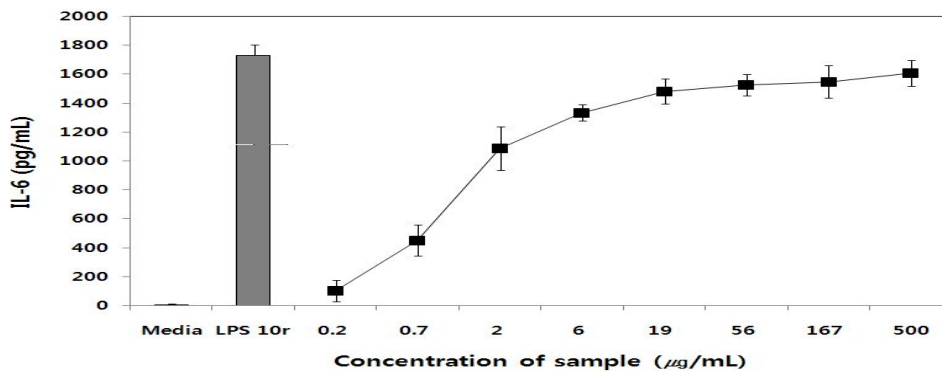
(3) 대식세포(Macrophage)의 cytokine 생산에 미치는 영향

Macrophage는 세균이나 이물질을 탐식, 제거하는 과정에서 여러 가지 cytokine을 분비하여 면역현상을 조절하며, 항원에 대한 면역작용의 중추적인 역할을 하는 세포로서, 항원제시와 림프구의 비특이적 면역작용에 관계하며, 종양세포에 대해서는 직접적인 상해활성을 나타낸다. 또한 TLR (toll like receptor)에 반응하는 물질(LPS 혹은 천연물)은 macrophage를 활성화하여 T세포와 B 세포의 증식, 식균 작용을 위한 대식세포의 활성화, 미생물 감염에 대한 방어 등의 2차 면역반응을 조절할 수 있는 IL-1, IL-6, IL-10, IL-12 및 TNF- α 와 같은 cytokine을 생산한다고 알려져 있다(63).

IL-1, IL-6 및 TNF- α 는 macrophage에 의해 유도되는 대표적인 cytokine으로서 세균감염에 따른 염증반응에 있어서 중추적인 역할을 하며 염증병소에서 그 양이 증가되는 것으로 알려져 있다. IL-6는 IL-1과 협동적으로 작용하여 T 세포와 B 세포의 분화에 관여하고 항암효과가 있다고 보고되었으며, TNF- α 는 특정 암세포에 대한 세포독성과 항 바이러스성 작용이 있고, 급성 및 만성 염증질환에서 일어나는 여러 가지 생체반응에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 한편, IL-12는 NK cell의 활성화 및 Th1 type의 면역 반응을 유도하는 cytokine으로써 암세포와 같은 세포성 외래물질에 대한 반응성을 높이는 작용을 한다고 알려져 있다. 또한 IL-10은 macrophage에 의한 TNF, IL-1, chemokine 및 IL-12의 생성을 교차조절(cross-regulation)함으로써 T 림프구 활성화에 있어 대식세포의 부수적 기능(T 림프구 매개성 특이면역 염증반응)을 저해한다고 알려져 있다(64).

토란 유래 다당 시료의 직접적인 자극에 의한 macrophage의 cytokine 생산을 *in vitro*에서 측정한 결과, 활성화다당 Taro-4-I은 IL-6, IL-12 및 TNF- α 의 생산을 촉진함을 확인하였다(Fig. 3-24). IL-6의 경우 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 낮은 농도에서도 농도 의존적인 높은 생산량의 증가가 관찰되었다. 시료의 각 농도에서 점진적인 농도 의존성을 보였지만 TNF- α 의 생산자극활성은 대체로 낮은 것으로 나타났다. 이러한

결과들로 미루어 보아 토란 유래 다당체 Taro-4-I 은 염증성 면역작용에 있어서 유효한 활성을 가질 것으로 사료되며 이러한 활성을 갖기 위한 최소 시료의 농도는 수 $\mu\text{g/mL}$ 일 것이라 추측된다. 한편 IL-12의 경우, Taro-4-I 의 19 $\mu\text{g/mL}$ 시료 농도까지 농도 의존적 증가 추세를 보였으며 그 이상의 농도에서는 양성대조군인 LPS의 약 70%에 해당하는 높은 IL-12 생산능을 보였다. 그러나 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 생산량이 소폭 감소하는 경향을 보였다. 이는 토란 유래 다당체가 NK cell의 활성화 및 Th1 type의 면역 반응 유도를 통한 cytotoxic T lymphocyte (CTL)의 활성화와 같은 세포매개성 면역에 있어 활성을 갖으리라 예상되며, 그 최적 농도 조건이 수십 $\mu\text{g/mL}$ 부근일 것이라 추측되는 결과였다. 특히 IL-12는 암세포 존재 시, 암세포 치사작용을 하는 NK cell 활성화에 직접 관여하므로 항암 활성 유도에 필수적인 cytokine으로 인정되고 있으므로, Taro-4-I 는 암세포에도 효율적으로 작용할 가능성이 있는 것으로 기대되었다. 본 실험에서 macrophage를 Taro-4-I 에 의해 24시간 자극한 결과, 염증부위에 면역세포의 귀소와 직접 관련이 있는 염증성 cytokine으로 분류되는 TNF- α 및 IL-6의 생산 및 세포성 면역능의 활성화와 직접 관련이 있는 IL-12를 유의하게 생산하는 활성이 있다고 확인되었으므로 토란 유래 다당 Taro-4-I 은 생체방어에 작용하는 면역기구를 활성화(조절)하는 기능이 있다고 판단되었다.



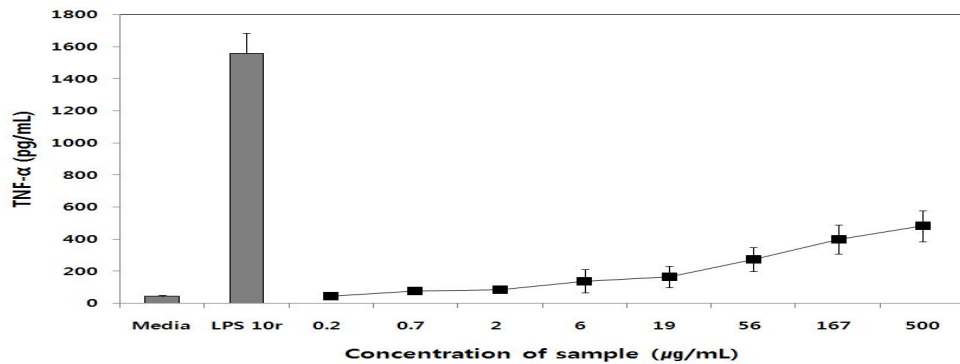


Fig. 3-24. Effect of Taro-4-I on cytokine production by murine peritoneal macrophage.

(4) 자연 살해 세포에 의한 종양세포 살해능(NK cell activity)

NK cell은 암세포 제거능력이 탁월하며, 말초 혈액 내 림프구의 5~10%를 차지하는 대과립 림프구로서 특이항원에 대한 사전 감지 없이 바이러스 감염세포나 암세포를 파괴시키는 자연 면역기능을 갖는 세포로서, 암 환자의 경우 NK cell의 수가 극히 감소되어 있는 것으로 알려져 있다(65). NK cell은 다음 두 가지 작용기작에 의해 작동하는 것으로 알려져 있는데 첫째, 자신의 class I HLA(인간백혈구항원)가 세포표면에 표현되는 세포(자가 세포)는 공격하지 않고, 바이러스에 감염되거나 암세포와 같이 class I HLA가 감소되어있는 세포를 직접적으로 공격하여 제거하는 기능과, 둘째 NK cell이 interleukin과 같은 cytokine을 분비하여 이들에 의해 Tc lymphocyte (Cytotoxic T cell-세포 살해성 T림프구), macrophage (대식세포)와 같이 감염세포 및 암세포에 대한 직접적인 공격능을 갖는 면역세포들을 활성화시키는 기능을 갖는다고 알려져 있다. 따라서 NK cell의 활성화자극효과는 단순한 항암효과의 기대 이외에도 체내 면역력의 증가와 유사한 연장선상에 있다고 할 수 있다(66).

앞선 macrophage의 cytokine생산 자극활성 실험 결과에서 예상되었던 바와 같이 토란 유래 다당 Taro-4-I의 NK cell 자극활성의 결과는 Fig. 3-25와 같다. Target cell (YAC-1)에 대한 effect cell (splenocytes)의 비율(E/T ratio)을 의존적인 종양세포에 대한 살해능을 나타내었다. 그 결과, E/T=100에서 가장 뚜렷한 활성이 관찰 되었으며, 특히 Taro-4-I의 경우 500 μg과 50 μg의 시료농도에서 대조군에 비해 높은 활성이 확인되었다. 또한 실험결과를 통해 500 μg의 고농도 보다는 50 μg의 저농도에서 정상세포 대비 약 250%의 높은 활성을 나타냄을 확인할 수 있었다. 이로써 토란 유래 다당 Taro-4-I은 종양세포에 대한 살해능을 가지는 NK cell의 활성화에 기여함을 확인할 수 있었으며, 또한 이들은 NK cell 자극활성에 의

한 항암활성을 가질 것이라 사료되었다. 이를 통해 토란 유래 다당인 Taro-4- I의 항암 효과는 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 비교적 저농도에서 그 활성이 강력할 것이라 추측할 수 있었다.

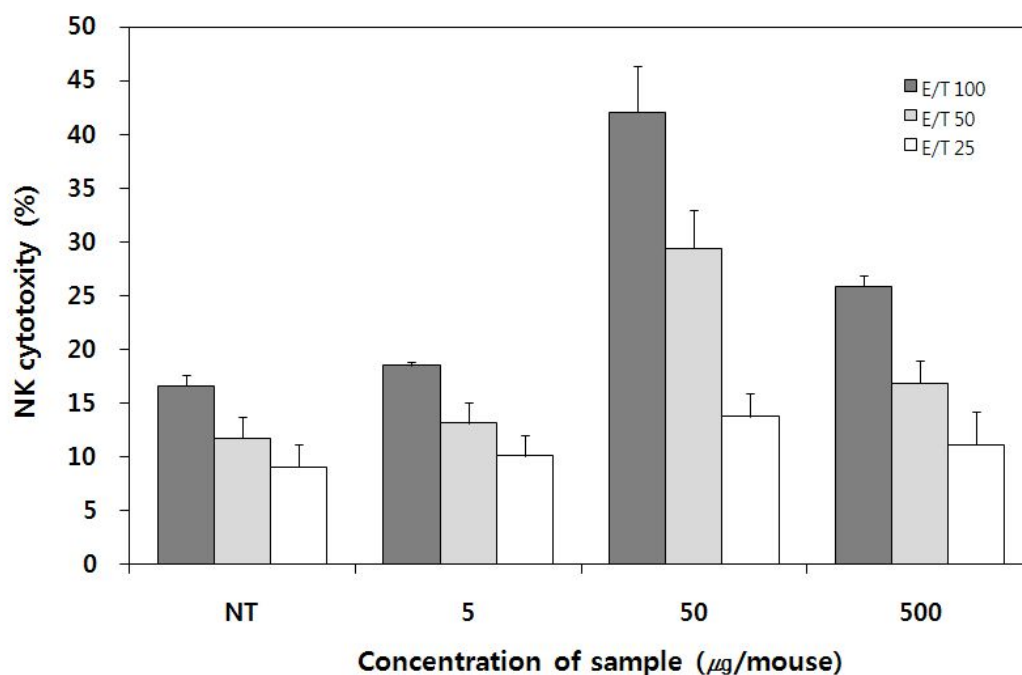


Fig. 3-25. Effect of Taro-4- I on cytolytic activity of NK cells *ex vivo*. NK cells were cultured with YAC- I target in presence or absence of Taro-4- I for 6 hours at 37°C CO₂ incubator.

(5) 종양세포에 대한 항전이 활성(Anti-metastasis activity)

앞선 NK cell activity 실험 결과 강력한 NK cell 활성자극능이 확인된 Taro-4- I 을 대상으로 B16BL6를 종양세포주를 이용한 실험동물 모델에서 항전이 활성을 측정하였다. 실험결과 Table 3-8에서 보는 바와 같이 시료를 투여하지 않은 대조군에서는 약 100개의 전이된 암 colony가 확인된 반면, 5 μg 과 500 μg 의 농도로 Taro-4- I 을 투여한 실험군에서는 약 22개와 18개의 colony가 발견됨으로써 각각 78.1%, 81.9%의 우수한 항전이 활성 효과가 확인되었다.

Table 3-8. Inhibitory effect of Taro-4- I on lung metastasis produced *y i.v.* inoculation of B16BL6 melanoma cells

Dose ($\mu\text{g}/\text{head}$)	Number of lung metastasis		
	Taro-4-1		
	Mean \pm SD	Range	Inhibition %
Untreated	99.2 \pm 13.2	86~112	0%
5 μg	21.8 \pm 5.6	16~27	78.1%
50 μg	3.8 \pm 1.3	2~5	96.8%
500 μg	18 \pm 3.7	14~22	81.9%

Five BALB/c mouse per group were inoculated *i.v.* with 4×10^4 B16BL6 melanoma cells and administered intravenously with the indicated doses of Taro-4- I suspended in PBS on 2 days before tumor inoculation. Mice were killed at 14 days after tumor inoculation for evaluation of tumors.

한편, 50 μg 을 투여한 결과 약 4개의 전이된 colony가 확인됨으로써 96.8%의 가장 높은 항전이 활성을 나타내었다. 이상의 결과는 고농도의 시료투여에서 보다 50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 의 낮은 농도의 투여가 종양의 전이를 저해하는데 유효하다는 특이한 결과로 판단되었다. 이는 앞선 NK cell 자극 활성실험에서 Taro-4- I 이 가장 강력한 자극활성을 나타내었던 농도와 동일한 결과로써 Taro-4- I 에 의한 종양전이 억제효과가 주로 NK cell의 활성화에 기인한 효과임을 예상할 수 있었다. NK cell은 주로 IL-12에 의해 활성화되는 것으로 알려져 있으므로 Taro-4- I 에 의한 macrophage의 IL-12 생산자극에 의해 NK cell의 활성화를 유도, 강력한 항전이 효과를 나타낸 것이라 사료되었다.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분	연도	세부연구개발 목표	달성도	관련분야의 기술 발전 기여도
1차 년도	2008	토란의 식품학적 특성 및 가공적성 연구	100%	토란의 성분 분석으로 영양적, 식품학적 특성의 우수성을 확보하였으며 가공적성 검토를 통한 고부가가치 가공제품 생산의 기초를 마련과 동시에 학술 논문 게재
		항비만 효능 획분 제조	100%	토란 획분의 항비만 활성을 측정하여 활성의 성분 및 활성분체 구명
		면역 증강 활성 검색	100%	토란의 조다당 획분의 구조 및 특성구명을 통한 활성 주장의 과학적 기반조성
2차 년도	2009	토란 후레이크 제품 개발	100%	고부가가치 가공제품의 가공특성조사 및 제품 개발을 통한 기술선도권 확보
		비만 억제 효능 평가	100%	동물 및 임상 시험을 통한 효능 구명 및 결과의 학술 논문 게재
		면역 증강 획분의 구조 규명 및 활성 평가	100% 100%	조다당중 면역 활성 성분의 정제를 통한 구조 구명과 활성 평가로 활성의 본질에 대한 과학적 기초 마련
3차 년도	2010	유당/비유당 토란스낵, 쥘 토란 제품개발	100%	고부가가치 가공제품의 가공특성조사 및 제품 개발을 통한 기술선도권 확보
		지질대사 개선 소재 및 면역증진 소재 개발	100%	개발 원료를 이용한 소재 개발
		면역 증진 효과 구명	100%	면역 활성 및 항암활성 구명을 통한 과학적 기반 확립
최종		고부가가치 가공제품 제조 기술	100%	토란을 이용한 고부가가치 가공제품의 제조기술 확립 및 기술 특허화 및 학술논문 게재
		항비만 효능구명 및 소재 개발	100%	활성 성분 구명 및 소재화를 통한 기술 특허화 및 학술논문 게재
		면역성분 구조 및 효능 구명을 통한 소재 개발	100%	활성 성분의 기전 구명 및 소재화 기술 특허화 및 학술논문 발표

제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

* 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

본 연구를 통하여 개발된 기술은 제조시험이 완료되어 기술이전을 원하는 업체에 기술이전을 적극 추진하고 있다.

* 교육·지도·홍보 등 기술 확산 계획 등

본 연구를 통하여 홍보 1건(토란의 이용, KBS 과학카페 2009)이 있다.

* 특허, 논문 등 지식재산권 확보계획 등

본 연구를 통하여 토란을 포함하는 지방간 예방 및 치료조성물(10-2011-0011988)을 비롯한 특허출원이 4건이 완료되었고 논문실적으로는 품종별 국내산 토란 분말의 영양성분 및 이화학적 특성 등 학술논문 2건이 게재되었으며 Physicochemical properties of taro flours with different drying, roasting and steaming conditions 등 3건이 투고 되었다.

* 추가연구, 타 연구에 활용 계획 등

항산화 소재/면역증진 소재 개발 및 고부가가치 가공제품 생산에 필요한 기술 특허화가 이루어져 기술적 연구에 추가 연구는 필요하지 않은 것으로 판단되나 항비만 활성성분의 활성 측면에서 활성을 증대시킬 수 있는 기술의 도입 및 체내의 흡수 및 동태를 파악할 수 있는 과제가 수행될 경우 기술의 완성도가 증가할 것으로 생각되어 이 분야의 추가연구가 필요하다.

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

토란은 태평양 도서국가에서 자급자족용 농작물 및 상업적인 목적으로 사용되고 있으며 토란의 종구, 줄기 및 잎자루 등은 boiling, baking, frying 및 steaming 등의 다양한 방법으로 가공되고 있다. 태평양의 도서지역에서는 줄기와 잎자루는 데쳐서 시금치처럼 제공되거나 디저트로 잎자루와 코코넛크림과 양파, 콘비프 등과 함께 찌서 먹고 있으며 토란 종구는 chip, fresh 또는 dried 된 poi, 토란분말, 통조림 토란잎 등의 가공제품을 만드는데 사용되고 있다. 또한 잠재적인 상업 제품으로는 토란전분, mucilage, 얼린 토란조각, 패티 등이 있다. 토란칩은 대부분 태평양섬에서 생산되며 제조회사는 하와이, 사모아, 미국에 위치하고 있다. 토란 flake와 얼린 타로케이크는 대만에서 많이 사용되며 얼린 토란 조각은 중국에서 사용되고 있다. 타로 잎을 사용한 보라색 컬러의 아이스크림은 일본, 대만 홍콩, 싱가포르 등에서 많이 볼 수 있다. 2006년 하와이에서 생산된 95%의 토란은 poi로 사용되었으며 poi 제조회사는 거의 대부분 하와이에 한정적으로 있다. Poi는 통조림이나 병조림형태로 만들어져서 hypoallergenic baby food로 사용되거나 동결건조된 poi 분말도 생산되고 있다. 하와이의 두 곳의 제조업체에서는 dehydrate poi powder를 생산하고 있으며 이는 non-allergenic baby food로 수출되고 있다. 토란 전분은 플라스틱이나 화장품에 이용되고 있으며 하와이 품종인 *Maui Lehua*는 poi로 생산되지만 중국 토란으로 불리는 Bun Long 토란은 chip, 분말, 아이스크림, breakfast cereals, flake, noodles, canned taro 등으로 사용되고 있다. 팔라우에서는 토란발효주를 증류하여 소주를 만들기도 한다.

제7장 참고문헌

1. Jeong SW, Jeong JW. Comparison of shelf-life on peeled taro (*Colocasia antiquorum* SCHOTT) stored in various immersion liquids. Korean J. Food Preserv. 9: 154-160 (2002)
2. Kim EK, Kim CJ. Physicochemical and processing property of taro and taro starch. Food Ind. Nutr. 3: 55-64 (1998)
3. Sajeev MS, Manikantan MR, Kingsly ARP, Moorthy SN, Sreekumar J. Texture analysis of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) cormels during storage and cooking. J. Food Sci. 69: 315-321 (2004)
4. Food industry and marketing bureau. 2009 시설채소 온실현황 및 채소류 생산실적. Ministry for food, agriculture, forestry and fisheries, Gyeonggi-do, Korea. pp. 3 (2010)
5. Maga JA. Taro composition and food uses. Food Rev. Int. 5: 443-473 (1992)
6. Kim EK, Chung EK, Lee HO, Yum CA. A study on physicochemical properties of taro during the pretreatment process of making *Toranbyung*. J. East Asian Soc. Dietary Life. 5: 255-262 (1995)
7. Jane J, Shen L, Chen J, Lim S, Kasemsuwan T, Nip WK. Physical and chemical studies of taro starches and flours. Cereal Chem. 69: 528-535 (1992)
8. Godoy CV, Tulin EE, Quevedo ES. Physicochemical properties of raw and blanched taro flours. J. Food Proc. Preserv. 16: 239-252 (1992)
9. Njintang YN, Mbofung CMF, Moates GK, Parker ML, Craig F, Smith AC, Waldron WK. Functional properties of five varieties of taro flour, and relationship to creep recovery and sensory characteristics of achu(taro based paste). J. Food Eng. 82: 114-120 (2007)
10. Njintang YN, Mbofung CMF. Effect of precooking time and drying temperature on the physico-chemical characteristics and in-vitro carbohydrate digestibility of taro flour. Lebensm. Wiss. u. Technol. 39: 684-691 (2006)
11. Savage GP, Catherwood DJ. Determination of oxalates in Japanese taro corms using an in vitro digestion assay. Food Chem. 105: 383-388 (2007)
12. Catherwood DJ, Savage GP, Mason SM, Scheffer JJC, Douglas JA. Oxalate content of cormels of Japanese taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) and the

- effect of cooking. J. Food Composition Anal. 20: 147-151(2007)
13. Bhandari MR, Kawabata J. Cooking effects on oxalate, phytate, trypsin and α -amylase inhibitors of wild yam tubers of Nepal. J. Food Composition Anal. 19: 524-530 (2006)
 14. Lee MY, Lee MK, Kim CY, Park IS. Inhibition of enzymatic browning of taro (*Colocasia antiquorum* var. *esculenta*) by maillard reaction products from glycine and glucose. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1013-1016 (2004)
 15. Kim JC, Lee JE, Kim YS, Son SY. Studies on varietal difference of dry matter production and tuber growth for introduced taro plant. Korean J. Int. Agric. 9: 194-200 (1997)
 16. Allen ON, Allen EK. The manufacture of poi from taro in Hawaii, Hawaii agriculture experiment station, Honolulu Hawaii. (1933)
 17. Crabtree J, Baldry J. The use of taro products in bread making. J. Food Technol. 17: 771-777 (1982)
 18. Onyeike EN, Olungwe T, Uwakwe AA. Effect of heat-treatment and defatting on the proximate composition of some Nigerian local soup thickeners. Food Chem. 53: 173-175 (1995)
 19. Hong GP, Nip WK. Functional properties of precooked taro flour in sorbets. Food Chem. 36: 261-270 (1990)
 20. Jeong JW, Park KJ, Lee HJ, Kim JH, Kwon KH. Effect of immersion liquids on quality characteristics of peeled taro during storage. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 742-750 (2006)
 21. Njintang YN, Mbofung CMF. Development of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) flour as an ingredient for food processing: effect of gelatinisation and drying temperature on the dehydration kinetics and colour of flour. J. Food Eng. 58: 259-265 (2003)
 22. Aboubakar, Njintang YN, Scher J, Mbofung CMF. Physicochemical, thermal properties and microstructure of six varieties of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) flours and starches. J. Food Eng. 86: 294-305 (2008)
 23. Seo YJ. Binding of 3H-lectins from kintoki bean and taro tuber to small intestine of the mouse. J. Korean Soc. Food Nutr. 22: 489-493 (1993)
 24. Ogata F, Makisumi S. Isolation and characterization of trypsin inhibitors from tubers of taro. J. Biochem. 96: 1567-1574 (1984)

25. Seltzer RD, Strumeyer DH. Purification and characterization of Esculentin. A proteinaceous α -amylase inhibitor from the taro root. *J. Food Biochem.* 14: 199-217 (1990)
26. AOAC. Official method of analysis of AOAC Intl. 15thed. Method 777, 780, 788. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1990)
27. Waters Associates. Official method of amino acid analysis. pp. 37. Amino acid analysis system of operators manual of the Waters Associates, Milford, Massachusetts, USA (1983)
28. Metcalf LD, Schumits AA, Pelka JR. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* 38: 514-522 (1996)
29. Osborne DR, Voogt P. The analysis of nutrients in foods. pp. 166-169. In: *Food Science and Technology*. Stewart GF, Mark EM, Chichester CO, Scott JK, Hawthorn J, Von Sydow E (eds). Academic Press, London, UK (1981)
30. Choi HD, Lee HC, Kim SS, Kim YS, Lim HT, Ryu GH. Nutrient components and physicochemical properties of new domestic potato cultivars. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 382-388 (2008)
31. McCleary BV, Gibson TS, Mugford DC. Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase- α -amylase method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 80: 571-579 (1997)
32. Prosky L, Asp N, Swizer TF, Devries J, Furda I. Determination of insoluble and total dietary fiber on foods and food products: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 71: 1017-1023 (1988)
33. Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J. Appl. Biol. Chem.* 52: 70-76 (2009)
34. Lim JH, Kim JH, Seo YH, Moon KD. Effects of low-temperature blanching on physical properties of chestnut powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1216-1220 (1999)
35. Donovan JW. Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymers.* 18: 263-267 (1979)
36. Jung LH, Kim KA, Jeon ER. Gelatinization properties of starch during

- steeping condition of potato. Korean J. Soc. Food Sci. 16: 431-436 (2000)
37. Holloway WD, Argall ME, Jealous WT, Lee JA, Bradbury JH. Organic acids and calcium oxalate in tropical root crops. J. Agric. Food Chem. 37: 337-341 (1989)
 38. Han JH, Jo SG, Lee MJ, Baek SH, Park SH. Contents of homogentisic acid and 3,4-dihydroxybenzaldehyde in the *Pinellia ternata* by various processing method and its safety estimate. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 18: 846-853 (2004)
 39. Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158 (1965)
 40. Jia Z, Tang M and Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64: 555-559 (1999)
 41. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berest C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. u. Technol. 28: 25-30 (1971)
 42. Miller N, Rice-Evans C. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation assay. Free Radical Res. 26: 195-199 (1997)
 43. Adiotomore J, Eastwood MA, Edwards CA, Brydon WG. Dietary fiber: *in vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. Am. J. Clin. Nutr. 52: 128-134 (1990)
 44. Boyd GS, Eastwood MA, Maclean N. Bile acids in the rat: studies in experimental in man. J. Lipid Res. 7: 83-94 (1966)
 45. Kabat EA, Meyer MM, Charles C. Complement and complement fixation; In Experimental Immunology. 2 ed Thomas Publisher ed. p. 133-240 (1964)
 46. Dubois M, Gilles K, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. A colorimetric method for the determination of sugars. Nature. 168: 167 (1951)
 47. Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acid. Anal. Biochem. 54: 484-489 (1973)
 48. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.

- Anal. Biochem. 72: 248-254 (1976)
49. Yamada H, Kiyohara H, Cyong JC, Kojima Y, Kumazawa Y, Otsuka Y. Studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba*. Part 1. Fractionation and biological properties of polysaccharide. *Planta Med.* 50: 163-167 (1984)
 50. Kiyohara H, Yamada H. Carbohydrate chains for expression of complement activating activity in pectic polysaccharides from the roots of *Angelica acutiloba* kitagawa. *Kitasato Arch Exp. Med.* 64: 167-177 (1991)
 51. Ichinose H, Kuno A, Kotake T. Characterization of an exo-beta-1,3-galactanase from *Clostridium thermocellum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 3515-3523 (2006)
 52. Jones TM, Albersheim P. A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides. *Plant Physiol.* 49: 926-936 (1972)
 53. Hakomori SA. A rapid permethylation of glycolipid and polysaccharide catalyzed by methylsulphonyl carbanion in dimethyl sulfoxide. *J. Biochem.* 55: 205-208 (1964)
 54. Janaaway CA. Progress in immunology. Syndromes of diminished resistance to infection. *J. Pediatr.* 72: 885-903 (1968)
 55. Mueller EA, Anderer FA. Chemical specificity of effector cell/tumor cell bridging by a *Viscum album* rhamnogalacturonan enhancing cytotoxicity of human NK cells. *J. Immunopharm.* 19: 69-77 (1990)
 56. Yoon TJ, Yoo YC, Lee SW, Shin KS, Choi WH, Hwang SH, Ha ES, Jo SK, Kim SH, Park WM. Anti-metastatic activity of *Acanthopanax senticosus* extract and its possible immunological mechanism of action. *J. Ethnopharm.* 93: 247-253 (2004)
 57. Tsukagoshi S, Hashimoto Y, Fujii G, Kobayashi H, Nomoto K, Orita K. Krestin (PSK). *Cancer Treat Rev.* 11: 131-155 (1984)
 58. Yamada H, Kiyohara H, Takemoto N. Mitogenic and complement activating activities of the herbal components of *juzentaihoto*. *Planta Med.* 58: 166-170 (1992)
 59. Song WC, Sarrias MR. Complement and innate immunity. *Immunopharm* 49: 187-198 (2000)

60. Laere KM, Beldman G, Voragen AG. A new arabinofuranohydrolase from *Bifidobacterium adolescentis* able to remove arabinosyl residues from double-substituted xylose units in arabinoxylan. *Appl. Microbiol. Biotech.* 47: 231–235 (1997)
61. Marcus RL, Shin HS, Mayer MM. An Alternate Complement Pathway: C-3Cleaving Activity, NotDuetto[unk], on Endotoxic Lipopolysaccharide after Treatment with Guinea Pig Serum; Relation to Properdin. *Proc. Nat Acad Sci. USA* 68: 1351–1354 (1971)
62. Kim JH, Shin KS, Lee H. Characterization and action mode of anti-complementary substance prepared from *Lactobacillus plantarum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 290–295 (2002)
63. Wang H, Actor JK, Indrigo J, Olsen M, Dasgupta A. Asian and Siberian ginseng as a potential modulator of immune function: An in vitro cytokine study using mouse macrophages. *Clin. chim. Acta.* 327: 123–128 (2003)
64. Meyer RA. 2007. *Immunology; From Cell Biology to Disease*. Wiley-VCH ed. p. 102–107.
65. Funk J, Schmitz G, Bach U. Influence of different tumour types on natural cytotoxicity (NK cell activity) and mitogen-induced lymphocyte proliferation in isolated blood lymphocytes from 110 dogs with tumours. *Res. Vet. Sci.* 74: 129–135 (2003)
66. Kantakamalakul W, Jaroenpool J, Pattanapanyasat K. A novel enhanced green fluorescent protein (EGFP)-K562 flow cytometric method for measuring natural killer (NK) cell cytotoxic activity. *J. Immunol. Methods* 272: 189–197 (2003)