

최        종  
연구보고서

콩배아 및 11s 대두단백질을 이용한 기능성

제품 : 기능성 두부개발

Development of functional product using  
soybean embryo and soy 11s protein

건국대학교 유전공학연구소

농        립        부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “콩배아 및 11s 대두단백질을 이용한 기능성 제품 : 기능성 두부 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 10월 14일

주관연구기관명 : 건국대학교

총괄연구책임자 : 이 형 환

세부연구책임자 : 박 갑 주

연 구 원 : 조 동 회

연 구 원 : 손 준 구

연 구 원 : 김 인 호

연 구 원 : 이 창 호

연 구 원 : 오 세 훈

연구보조원 : 김 혜 연

연구보조원 : 안 준 호

연구보조원 : 이 명 진

연구보조원 : 허 미 연

연구보조원 : 김 민 정

협동연구기관명 : 용인대학교

협동연구책임자 : 김 강 성

위탁연구기관명 : 한 식 연

위탁연구책임자 : 김 영 언

# 요 약 문

## I. 제 목

콩배아 및 11s 대두단백질을 이용한 기능성 제품 : 기능성 두부 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

저가의 수입콩에 의해 잠식되어 있는 국산콩의 자급률을 50%이상으로 높여 국내 콩재배 농가의 소득증대 및 활성화 도모하기 위해 국산콩을 이용한 고부가가치 가공식품제제를 연구 개발이 시급한 실정이다.

따라서 본 연구를 통하여

1. 재래식 국산콩으로부터 분리한 11S 단백질과 배아를 이용하여 부가가치가 높은 기능성두부를 제조하며
2. 대두로부터 순환기계 질환의 예방 및 치료를 위한 콜레스테롤 저하 기능성 식품을 (두부와 음료) 개발할 목적으로 본 연구를 착수하였다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구의 내용으로는 제 1차년에 11S 대두단백질 및 콩배아의 생리활성 기능성 연구, 11S 대두단백질 및 콩배아의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구, 신규 천연 두부응고제의 개발 연구, 선발된 콩품종의 성분분석, 11S protein의 분리, 11S protein 두부 제조, 두부의 기능성 성분 분석, Protein drink의 formulation 개발, Protein drink의 storage stability, 생약재로부터 제11S 대두단백질 두부 및 콩배아

두부에 대한 신규 천연물 두부응고제의 개발 연구를 수행하고 제2차년 연구의 내용으로는 11S 대두단백질 두부시제품의 항산화 및 간세포활성 기능성 연구, 11S 단백질 두부시제품의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구, 콩배아 두부시제품의 생리활성 기능성 연구, 콩배아 두부시제품의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구, 배아 두부 제조 및 배아 두부의 기능성 성분 분석, 두부제조에 영향을 미치는 인자 연구, 두부의 이화학적 특성 및 관능검사, 배아음료의 formulation 개발 및 관능 검사 등을 통하여 콩배아 및 11s 대두단백질을 이용한 기능성 제품(기능성 두부) 개발을 완료 한다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구의 결과는 이미 11s두부 및 대두두부 개발 및 기능성 연구에 관해 한 건의 특허가 국내 출원되어 있고 11s두부 및 대두를 이용한 기능성 두유음료 개발에 관한 또 한 건의 기술을 특허출원 준비 중에 있으며 또한 본 연구팀은 이들 연구 결과들을 SCI급 국제학술지(일본 약학회지)에 1편의 논문을 게재하였고 또 한편의 논문을 한국식품과학회지(SCIE)에 투고 중에 있다. 더불어서 본 연구팀의 개발 기술은 모두 참여기업인 (주)바이오빅스에 기술 이전하여 사업화하기로 계획되어 있으므로 본 연구의 결과들은 실제 국내산 대두를 이용하여 고부가가치 기능성 제품을 연구, 생산하고자 하는 여타 연구기관, 기업 등에 많은 정보와 기술을 제공하여 줄 것으로 사료된다.

## SUMMARY

This study sought to investigate the ameliorating effects of soy 11S protein, soybean embryo, soy 11S protein tofu and soybean embryo tofu on the impacts of alcohol consumption in rat hepatocytes and in reducing total cholesterol levels and total lipid levels in the serum. Liver histology and the clinically important enzyme markers (Aspartate Aminotransferase: AST and Alanine Aminotransferase: ALT) of rats, administered with both alcohol and soy 11S protein treatments, were compared with those in the control group. The treatment regimen (11S soy protein extract and soybean curd) significantly reduced serum ALT and AST levels, indicating the hepato-protective effects of soy 11S protein. Furthermore, total cholesterol and total lipid levels were significantly reduced. In addition to preventing the presence of lipid droplets and secondary lysosomes, electron microscopy indicated that the administration of the soy 11S protein treatment preserved important hepatocyte structures. These results indicate that soy 11S protein can positively mediate the effects of alcohol on hepatocytes and general liver functions.

# CONTENTS

## (영 문 목 차)

SUMMARY in KOREA -----	1
SUMMARY -----	4
CONTENTS -----	5
CHAPTER 1 OUTLINE of the RESEARCH PROJECT -----	7
SECTION 1 -----	7
SECTION 2 -----	7
SECTION 3 -----	15
CHAPTER 2 STATUS of DEVELOPMENT in DOMESTIC and FOREIGN -----	16
CHAPTER 3 RESULTS and CONTENTS of DEVELOPMENT -----	18
SECTION 1 -----	18
SECTION 2 -----	20
CHAPTER 4 ACHIEVEMENT DEGREE of OBJECTIVE and CONTRIBUTION to the RELATED FIELD -----	197
CHAPTER 5 The PLAN of PRACTICAL USE of the RESULT -----	198
CHAPTER 6 FOREIGN INFORMATION ACQUIRED during DEVELOPMENT -----	199
CHAPTER 7 REFERENCES -----	204

## 목 차

제 출 문	1
요 약 문	2
목 차	6
제 1 장 연구개발과제의 개요	7
제 1 절 연구의 목적	7
제 2 절 연구의 필요성	7
제 3 절 연구의 범위	15
제 2 장 국내외 기술개발 현황	16
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	18
제 1 절 연구개발 수행 내용	18
제 2 절 연구개발 수행 방법 및 결과	20
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	198
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	199
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	200
제 7 장 참고문헌	204

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발의 목적

1. 11S 대두단백질의 대량분리
2. 11S 대두단백질의 기능성 연구
3. 콩배아의 기능성 연구
4. 11S 대두단백질 두부 시제품의 기능성 연구
5. 콩배아 두부 시제품의 기능성 연구
6. 11S 단백질을 이용한 음료 개발
7. 배아를 이용한 음료 개발
8. 생약재료부터 두부응고제 스크리닝 연구(위탁연구과제)

### 제 2 절 연구의 필요성

#### 1. 연구개발의 필요성

##### 가. 기술적 측면

##### ① 순환기계질환을 예방할 수 있는 치료식 개발의 필요성

○ 국민 식생활의 급격한 서구화로 인하여 영양과다로 인한 고지혈증, 동맥경화증의 유병율이 증가하고 있다. 이러한 순환기질환은 합병증의 심각성으로 생산성과 삶의 질을 저하시키고 그에 따른 과도한 의료 경비 지출로 인하여 단순한 의료 문제에 그치지 않고 21세기를 바라보는 오늘의 가정, 사회 및 경제에 무거운 짐이 되고 있다. 또한, 이러한 질환에 대한 약품의 보조 요법 또는 예방을 위하여 기능성 식품의 중요성이 부각되고 있다.



○ 최근 국내 한 병원의 보고에 의하면 수검자의 약 40%가 고지혈증을 나타내고 있다. 고지혈증이란 혈액중 triglyceride의 농도가 140mg/dl이상이거나, cholesterol 농도가 220mg/dl이상인 경우로 특히 고 cholesterol 혈증은 순환기계통의 성인병과 관계가 깊은 것으로 알려져 있다. 1999년 현재 사망원인에 따른 아래의 Table 1을 보면 남녀 모두 순환기계 질환에 해당되는 뇌혈관 질환과 심장질환이 1,2위를 차지하고 있다.

○ 최근 10년간 순환기계질환에 의한 사망률이 90년 인구 10만명당 163.9명에서 99년 122.0명으로 25.6% 감소를 하였으나 남녀 모두 사망원인의 1위를 차지하고 있고, 허혈성심질환의 사망률은 90년 인구 10만명당 10.4명에서 18.5명으로 77.9%가 증가하였다. 이는 동물성지방섭취의 증가, 비만, 스트레스, 흡연 증가 및 운동부족 현상이 심화된데 따른 것으로 앞으로도 계속 증가할 것으로 보인다. 이러한 순환기계질환의 고지질 및 고콜레스테롤혈증을 개선하기 위해 약물 요법으로 지질 강하제를 사용하는데 장기간 복용시 소화 장애와 간기능 장애 그밖에도 근육 손상이 올 수 있는 것으로 알려져 있으며 식이 요법이 중요한 것으로 알려져 있다. 대두단백질의 경우 이러한 순환기계질환을 예방하는 콜레스테롤의 저하 효과가 입증되어 이를 이용한 식품으로 질환을 예방 개선하는 것이 매우 바람직한 것으로 생각되고 있다.

Table 1. Major causes of death in 1999 (per 100,000 persons)

	1위	2위	3위	4위	5위
남자	뇌혈관질환 69.3	심장질환 41.7	운수사고 38.4	간질환 37.8	폐암 32.8
여자	뇌혈관질환 76.7	심장질환 36.5	당뇨병 22.0	위암 17.6	운수사고 14.0

② 질환 개선 식품을 통한 의료비 지출 증대의 억제 및 국민 건강 개선 부응

○ 국민 식생활의 급격한 서구화로 인하여 영양과다로 인한 고지혈증, 동맥경화증의 유병률이 증가하고 있다. 이러한 순환기계질환은 합병증의 심각성으로 생산성과 삶의

질을 저하시키고 그에 따른 과도한 의료 경비 지출로 인하여 단순한 의료 문제에 그치지 않고 21세기를 바라보는 오늘의 가정, 사회 및 경제에 무거운 짐이 되고 있다. 1997년을 기준으로 국내 의료비는 17조여원에 달하고 있으며 국민 1인당 연간 진료비의 지출도 1990년 83,996원에서 1996년 190,286원으로 증가되었다 (Table 2).

Table 2. Annual medical expenses

Year	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
Amount	8조3천억	9조3천억	10조3천억	12조	14조	15조	17조

○ 향 후 사회 경제적인 짐이 될 소지가 있는 의료비 증가의 현 시점에서 최근 소비자들은 생활이 향상됨에 따라 건강지향 식품과 천연 식품을 사용한 치료보조 식품을 선호하게 되었다. 따라서 특수 생체 기능을 갖는 대두 기능성 식품을 경제적으로 생산하여 보급할 경우 안전성이 높고 경쟁력이 있을 뿐 아니라 순환기 질환의 치료 보조 수단으로 사용될 수 있을 것이다. 이러한 치료 보조 식품은 의료비를 절감시킬 뿐 아니라 국민의 건강을 증진시키고 복지를 위하여 필요하다. 이러한 치료 보조 식품은 구미에서는 “Designer Food” 또는 “Nutraceutical”로 일본에서는 “특정보건용식품” 또는 “기능성식품”으로 불리며 최근 EU 산하 연구기관의 보고에 따르면 2009년 이후에는 일반화 될 것으로 예측되고 있다.

○ 대두의 질환 개선 효과에 대한 연구 및 보고가 해외에서 근래에 이르러 매우 활발히 소개되고 있다. 최근에 의한 연구에서 관상동맥경화증 환자를 대상으로 대두 단백질 분획별로 식품을 제조하여 8주간 투여 한 적응성 및 지질대사에 미치는 임상 효과를 조사한 결과 11S globulin을 단백질원으로 하여 제조한 음료 섭취환자의 LDL-cholesterol 농도가 7.6% 감소하였고 HDL-cholesterol은 15%나 증가하여 죽상동맥경화증의 지표인 LDL/HDL의 비가 감소하였으며, Apo A-I 농도가 증가하여 11S globulin이 인체 지질대사 개선에도 효과가 있음이 입증하였다.

○ 한편 콩 배아에는 인체에 유용한 생리활성 물질인 isoflavone과 인지질이 다량 함유되어 있음이 알려졌다 (Table 3). 특히 isoflavone은 항골다공증효과 이외에 전

립선암, 유방암 등에 대한 항암효과가 입증되었으며, 아울러 항염효과, 지질대사의 개선과 관련된 항동맥경화효과 등 다양한 약리효과가 있어 이를 이용한 기능성 식품의 개발에 성공할 경우 국민건강 개선에 상당한 효과를 거둘 수 있을 것으로 사료된다.

○ 따라서 본 연구에서는 대두로부터 분리한 11S 단백질과 배아를 이용하여 순환기계 질환의 예방 및 치료를 위한 콜레스테롤 저하 기능성 치료식을 개발하고자 한다. 개발된 제품이 치료식으로 제 역할을 할 수 있기 위하여서는 제품에 대한 소비자의 선호도 (consumer acceptance)가 높아야 하며 조리하기가 간편하여야 한다. 따라서 오래 전부터 우리의 식탁을 장식하여 온 연식품을 11S 단백질과 배아를 이용하여 만들어 보급할 경우 국민건강 향상에 상당히 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

### ③ 대두를 이용한 가공식품과 현대인의 건강

○ 대두는 오래 전부터 우리 나라를 비롯, 중국·일본 등 동양권에서 널리 이용되는 식품으로 문헌에 의하면 2000년의 역사를 갖는다 (Table 4, 5). 이렇게 긴 역사와 전통을 가진 대두가공식품 (두부, 두유 등)이 현재까지 변치 않고 전래되어 온 것은 타 식품에 비해 맛이 담백하고 만족감이 있으며, 동물성 단백질에 비견할 만한 필수아미노산을 고루 갖추고 있는 고유의 특성 때문이라 할 수 있다. 60, 70년대까지만 하더라도 대두가공식품은 단백질식품으로 국민건강에 큰 역할을 했으며, 최근에는 과도한 영양섭취 및 비균형성 음식으로 인한 비만이나 성인병에 대비키 위한 건강식품으로서도 각광 받는 식품으로 부상했다.

Table 3 대두와 배아의 성분비교

성분 \ 구분		대두	배아
단백질(%)		33	39.5
지방(%)		21.7	14.7
탄수화물	당질(%)	24.6	22.3
	섬유(%)	4.2	10.8
수분(%)		11.7	7.4
회분(%)		5.0	5.3
비타민	<b>V-B1(mg)</b>	0.88	1.06
	<b>V-B2(mg)</b>	0.30	0.36
	V-B6(mg)		1.25
	V-B12( $\mu$ g)		0.1
	V-E(mg)	28	32
	V-A(IU)	8	
	니코틴산(mg)	2.2	2.47
	바이오틴( $\mu$ g)		29.2
	엽산(mg)		0.17
	콜린(%)		0.24
	이노시톨(%)		0.31
	판토텐산(mg)		1.45
Isoflavone (%)		1	3.5
회분	Ca(mg)	230	
	Fe(mg)	8.6	
	K (mg)	1900	

Table 4. 주요제품별 추정 생산량 및 판매액(99년도)

(단위: 톤, 백만원)

제품명 \ 구분	원료사용량	제품생산량	판매액
일반두부	115,900	347,700	347,700
포장두부	5,200	28,080	17,550
연두부	4,300	20,640	12,900
유부	3,100	2,790	11,160
기타	372	1,256	1,884
계	128,872	400,466	391,194

○ 두부는 해마다 4,000억원 이상이 판매되는 중요한 전통식품이나, 전 근대적인 유통구조, 화학응고제의 이용 등으로 인하여 소비자들로부터 불신을 받고 있는 대표적인 식품의 한 예가 되고 있다.

Table 5. 연도별 두부 제조에 이용된 콩 공급 현황

(단위 : M/T)

도별 \ 년	1996	1997	1998	1999
공급 창구				
연식품연합회	136,023	132,826.5	133,335	118,177
농수산물유통공사				10,695
계	136,023	132,826.5	133,335	128,872

○ 두유는 해마다 2,000억원 이상이 팔리는 기호식품으로, 특히 우유를 싫어하는 성인들과, 유당 불내증이 있는 소아 및 다이어트에 관심이 있는 여성들을 주 소비계층으로 하고 있다. 최근에는 항암효과가 입증된 식물성 호르몬인 isoflavone이 두유에 다량 함유되어 있음이 알려져 동양 3국 이외에 구미에서도 폭발적인 인기를 끌고 있다. 배아나 11S 단백질을 이용하여 새로운 기능성 음료를 개발할 경우 대두가공식품의 새로운 활로가 기대된다.

○ 11S 단백질은 전체 콩단백질의 40% 이상을 점유할 뿐 아니라 분리하기가 비교적 용이하다는 (cold precipitation method이나 salt precipitation method 등) 특징을 갖고 있다. 따라서 scale up process에 따른 몇 가지의 기술적인 문제점만 보완된다면 11S 단백질을 이용한 고기능성 대두가공식품의 제조는 기술적으로 feasible한 process라 판단된다.

○ 대두배아는 두유 또는 두부제조 공장 등에서 부산물로 생산되는 데 현재는 전량 수출되거나 가축사료로 이용되고 있다. 따라서 배아를 기능성식품 생산에 이용할 경우 배아 및 두부의 고부가가치화를 실현할 수 있다.

#### 나. 경제·산업적 측면

○ 1993년부터는 두부 및 유사식품까지 시장이 개방되어 있는 상태이며 특수지를 이용한 포장으로 보존기간이 6개월 이상이나 되는 제품을 생산하여 세계 여러 나라에 수출하는 일본제품의 경우 머지 않아 우리의 시장을 잠식할 가능성이 있다. 수분함량이 적어 보존성이 뛰어난 건조두부나 유부, 중국이나 대만의 두견이란 제품들도 수입 가능한 품목이며 따라서 두부 시장도 가까운 시일내 외국제품이 범람할 수 있다.

○ 국산콩의 수입콩에 대한 경쟁력을 확보하여, 식용콩의 국내산 비율을 농림부에서 계획하는 바와 같이 50%로 끌어올릴 경우 예상되는 농가소득 증대는 약 2000억원에 해당하며 (두부용 콩의 국산콩 허용 비율이 100%로 될 경우의 예상 수치임) 또한 외화 절감효과도 2,700불에 해당한다. 부수적으로 점차 무기화 되고 있는 식량의 자급률을 향상시켜 국가안보에 기여할 수 있다.

○ 최근의 통계에 의하면 1970년까지 식품가공에 이용된 콩은 전량 국산콩으로 충당이 되었으나, 1997년부터는 대두식품가공에 이용된 콩은 거의 전량이 (년간 약 120 만톤) 수입콩인 것으로 알려졌다. 국내산 콩의 낮은 자급률은 국산콩의 높은 가격 (국산콩 2000원/kg, 수입콩 700원/kg)에 따른 경쟁력 저하와 이에 따른 콩 재배면적의 감소와 콩의 낮은 단보당 수익률 등에 기인한다. 이와 같이 국산콩은 가격적인 측면에서 수입산에 비해 그 격차가 5~6배 차이가 남으로 국산콩의 경쟁력

을 향상시켜 자급율을 끌어올리기 위하여서는 무엇보다도 국산콩과 국산콩가공제품의 우수성을 과학적으로 입증하여 소비를 적극적으로 유도해야 할 필요가 있다.

○ 따라서 우리 나라 각 지방에서 나는 전통콩의 기능성 및 가공특성의 우수성을 입증하고 이를 (11S 단백질과 배아) 이용하여 고 기능성 대두식품(두부 및 음료)을 개발할 경우 콩의 수요가 높아져 농어민의 소득 증대에 기여하는 바가 매우 클 것으로 본다.

#### 다. 사회·문화적 측면

○ 두부와 두유에는 단백질, 지질, 탄수화물이 골고루 함유되어 있는 영양식품일 뿐만 아니라 생리활성기능을 수행하는 물질들이 함유되어 있음이 밝혀졌다. 표에서와 같이 대두가공식품에는 질병의 방지와 회복 및 노화방지 기능을 갖는 물질이 존재하며 그 중요성이 강조되고 있다. 그러나 이와 같은 연구는 주로 미국을 비롯한 일본 등의 선진국에서 진행되어 온 바, 우리나라 고유의 대두 품종을 이용한 두부에 대하여서는 체계적인 연구가 아직 진행되지 못한 상태에 있다.

○ 대두가공식품은 영양적인 측면에서 풍부하고 기능면에서 성인병의 예방과 치료에 효과가 있기 때문에 이와 같은 기능성 식품의 식생활 체계의 도입을 국민에게 건강하고 밝은 사회문화생활을 영위하게 한다. 각종 성인병으로 인한 국민의존의 가중을 두부로 예방함으로써 가계의 경제생활을 풍요롭고 원활하게 할 수 있다.

○ 또한, 최근에는 유전자재조합 농산물(GMO)이 국내에 다량 수입되어 유통되고 있는데, 1997년에 총 수입량 162만톤 중 49만톤이 GMO 콩일 것으로 추정된다. GMO 농산물로 만든 두부는 알레르기 유발 문제, 항생제 내성 문제, 독성 문제 등 안전성에 관한 논란이 끊임없이 제기될 수 있으므로, 이는 우리에게 중요한 관심사가 아닐 수 없다. 따라서 본 연구에서는 국내산 대두를 이용하여 기능성 식품을 개발하여 국내산 콩의 소비를 진작 부각시키고, 아울러 국민건강을 증진시키는 데 궁극적인 목표가 있다.

## 제 3 절 연구의 범위

### 가. 1차년도

1. 11S 대두단백질 및 콩배아의 생리활성 기능성 연구
2. 11S 대두단백질 및 콩배아의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구
3. 신규 천연 두부응고제의 연구
4. 선발된 콩품종의 성분분석
5. 11S protein의 분리
6. 11S protein 두부 제조
7. 두부의 기능성 성분 분석
8. Protein drink의 formulation 개발
9. Protein drink의 storage stability
10. 생약재로부터 제11S 대두단백질 두부 및 콩배아 두부에 대한 신규 천연물 두부응고제 개발

### 나. 2차년도

1. 11S 대두단백질 두부시제품의 항산화 및 간세포활성 기능성 연구
2. 11S 단백질 두부시제품의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구
3. 콩배아 두부시제품의 생리활성 기능성 연구
4. 콩배아 두부시제품의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구
5. 배아 두부 제조
6. 배아 두부의 기능성 성분 분석
7. 두부제조에 영향을 미치는 인자
8. 두부의 이화학적 특성 및 관능검사
9. 배아음료의 formulation 개발 및 관능 검사



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내

○ 두부와 관련된 연구결과는 다수 있지만 콩의 기능성 성분을 이용한 두부 제조와 두유에 대한 연구는 국내외적으로 아직 전무한 실정이다. 현재 국내의 두부관련 연구를 조사하여 보면 장 등(1995)은 농촌진흥청에서 추천한 14가지 장려 콩품종을 대상으로 두부를 제조하여 콩과 두부의 화학적 조성, 텍스처어 특성과 관능적 특성 등이 보고된 바 있다. 그밖에 두부의 보존에 대한 연구에서 송 등은 침지수의 pH를 조절하여 두부 저장 시험을 한 결과, 0.15~0.2%의 초산수에 계속 침지하면 30℃에서도 100시간이나 보존할 수 있다고 하였다. 한편 최 등은(1998) 두유에 함유되어 있는 isoflavone의 함량을 보고하였다.

○ 최 등에 의한 연구에서 관상동맥경화증 환자를 대상으로 대두 단백질 분획별로 식품을 제조하여 8주간 투여 한 적응성 및 지질대사에 미치는 임상 효과를 조사한 결과 11S globulin을 단백질원으로 하여 제조한 음료 섭취 환자의 LDL-cholesterol 농도가 7.6% 감소하였고 HDL-cholesterol은 15%나 증가하여 죽상동맥경화증의 지표인 LDL/HDL의 비가 감소하였으며, Apo A-I 농도가 증가하여 11S globulin이 인체 지질대사 개선에도 효과가 있음이 입증하였다.

### 2. 국외

○ 대두 단백질은 대표적인 식물성 단백질 급원으로 콩기름 역시 식품의 중요 소재로 널리 사용되고 있으며, 대두 단백질은 단순히 동물성 단백질의 대체 단백질로써 뿐만 아니라 그 영양생리 기능면에서도 연구 및 사용에 각광을 받고 있으며, 주요한 대두 단백질의 기능을 Table 6에 기재하였다.

○ 대두 단백질은 고콜레스테롤혈증의 환자의 혈장 콜레스테롤을 감소시키고 특히 LDL-cholesterol을 감소시킨다고 보고되었으며, 최근의 Apo-E 결핍 mouse를 이용

한 실험은 대두단백질 섭취가 동맥경화 병변의 발생을 억제시킴을 보여 주었다. 자연발생고혈압쥐 (Spontaneous Hypertensive Rat)에게 3종류의 단백질원을 투여 비교시 대두 단백질이 혈압 상승 억제 작용이 있음이 관찰되었으며, casein과 비교시 대두 단백질이 체지방을 현저히 감소시켰다고 보고되어 비만 억제에도 효과가 있음이 알려졌다. 최근의 한 연구결과에 따르면 대두단백질이 췌장과 장간막 림프절의 림프구의 항체 생산을 증가 시켰으며 특히 IgA의 생산능을 증가시켰다. 그 외에도 뇌졸중 자연 발생 쥐를 이용한 대두 단백질의 뇌졸중 억제작용과 혈당치 저하 효과, 골다공증 예방 효과, 항암 효과, 수명연장 효과, 근력 증강 효과 등의 다양한 영양생리기능이 보고되었다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 연구개발 수행 내용

#### 1. 제1차년 연구개발 수행 내용

##### <주관 기관 연구 과제>

1. 11S 대두단백질 및 콩배아의 생리활성 기능성 연구
2. 11S 대두단백질 및 콩배아의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구
3. 신규 천연 두부응고제의 연구

##### <협동 기관 연구 과제>

1. 선발된 콩품종의 성분분석
2. 11S protein의 분리
3. 11S protein 두부 제조
4. 두부의 기능성 성분 분석
5. Protein drink의 formulation 개발
6. Protein drink의 storage stability

##### <위탁 기관 연구 과제>

1. 생약재료부터 제11S 대두단백질 두부 및 콩배아 두부에 대한 신규 천연물 두부 응고제 개발

## 2. 제2차년 연구개발 수행 내용

### <주관기관 연구 과제>

1. 11S 대두단백질 두부시제품의 항산화 및 간세포활성 기능성 연구
2. 11S 단백질 두부시제품의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구
3. 콩배아 두부시제품의 생리활성 기능성 연구
4. 콩배아 두부시제품의 항고혈압, 항고혈장 지질 효능 연구

### <협동 기관 연구 과제>

1. 배아 두부 제조
2. 배아 두부의 기능성 성분 분석
3. 두부제조에 영향을 미치는 인자
4. 두부의 이화학적 특성 및 관능검사
5. 배아음료의 formulation 개발 및 관능 검사

## 제 2 절 연구개발 수행 결과

### 1. 제 1차년도 연구개발 수행 결과

#### <주관 기관 연구 과제>

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 체중이  $200\pm 10\text{g}$ 인 Sprague Dawley 종(SD계 Rat)의 4주된 음성 흰쥐를 대한 실험동물 센터에서 구입하여 다시 4주간 본 대학의 동물 사육실에서 적응 시켰다. 4주간 적응 시키는 동안 사육실의 온도와 습도는 각각  $22\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $50\pm 5\%$ 로 항온 항습을 유지하였고 식이는 고형사료(삼양사)와 음용수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

4주 간의 적응기간이 끝난 후 6주 간 매일  $5\text{g/kg/day}$ 의 양의 알코올 및 실험시료를 투여하였다. 사육 마지막 날 동물을 overnight로 14시간 절식시킨 후 ethyl ether로 약하게 마취시켰고 마취상태에서 헤파린을 처리하지 않은 주사기와 시험관을 이용하여 후대정맥에서  $3\text{ml}$  이상의 혈액을 채취하여 상온에서 30분간 처리 후  $3,000\text{rpm}$ 의 속도로 15분간 저온( $4^\circ\text{C}$ ) 원심분리 시켜 혈청을 얻었다. 이 혈청은 Aspartate Aminotransferase(AST:혈청 SGOT), Alanine Aminotransferase:혈청 SGPT), Lactate Dehydrogenase(LDH), Cholesterol, Total Lipid(총지질) 분석에 사용하였다. 채혈 직후 간과 신장을 적출하여, 즉시 냉각된 생리 식염수로 세척하고 여과지로 표면의 물기를 제거하여 무게를 측정하였으며 무게 측정 후 간은 조직학적 검사를 하기 위해 적출 직후에 일부( $1\times 1\times 1\text{cm}$ )를 절편 하여 10% 중성 formalin 액에 고정시켰다.

## 2. 실험군의 분류

5주간 적응시킨 체중이 330g(9주령) 전후의 흰쥐를 한 군 당 8마리씩 배치하여 정상군(Normal Control)은 증류수, 음성대조군(Negative Control)은 알코올, 양성대조군 A(Positive Control A)와 양성대조군 B(Positive Control B)는 알코올과 시판되고 있는 A사의 숙취 해소제(Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul) 및 알코올과 B사의 간 질환 치료 및 혈액순환 개선제(Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul & Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul)를 투여하였다. 실험군은 2군으로 분류하였는데 알코올과 대두에서 분리한 11s protein을 투여한 실험군 1, 알코올과 대두의 배아를 투여한 실험군 2로 설정하였다. 이때 식이는 고품 사료(삼양사)를 자유 공급하였고 시료는 각각 경구투여 하였으며, 알코올은 쥐 한 마리가 하루에 먹는 음용수의 양을 계산하여 한 마리당 5g/kg/day의 알코올을 섭취하도록 음용수와 함께 공급하였다. 각 군의 처리는 Table 1과 같다.

Table 1. Experimental designs

Groups	No. of rats treated	Compositions of alcohol plus medicinal extracts treated
Normal control	8	Non-alcohol
Negative control	8	Alcohol + D.W
Positive control A	8	Alcohol + solution A(HCS)
Positive control B	8	Alcohol + solution B(ALDCS+CBPS)
Experimental group 1	8	Alcohol + 11s Protein
Experimental group 2	8	Alcohol + Embryo bud

HCS : Hangover cure solution (Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul)

ALDCS : Alcoholic liver disease cure solution (Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul)

CBPS : Circulation of blood promotable solution (Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd. Seoul)

SMS1 : Saeng-maek-san with pumpkin

### 3. 시료의 제조

#### (1) 11s Protein

0.01M의 Tris-HCl buffer(pH 8.0) : soybean을 10 : 1의 비율로 만든 혼합물을 저온에 보관하여 침전시킨다. 침전이 되면 침전물을 1시간 동안 magnetic bar를 이용하여 잘 혼합하고 6,000rpm에서 30분간 원심분리를 하였다. 원심분리 후 침전물은 제거하고 상층액을 옮겨 pH 6.4로 맞추어 주고 0~6℃에서 3시간 이상 24시간 미만 동안 방치하였다가 10,000×g의 속도로 6℃에서 30분간 원심분리 한다. 이때 상층액은 버리고 침전물에 증류수를 첨가하여 pH를 7.5~8로 맞추어 투석하여 건조시킨 후 Biuret 방법을 이용하여 정량분석을 실시하였다. 분리된 시료는 4℃에 보관한 후 실험에 사용하였다.

#### (2) 배아(Embryo bud)

대두에서 배아 부분만을 따로 분리하여 사용하였으며 실험에 사용한 대두배아는 주식회사 정식품 으로부터 2003년 2월 국산대두배아를 구입하여 사용하였다.

### 4. 시료의 투여

#### (1) 11s Protein 및 배아

60kg의 한국 성인 남자의 단백질 권장량인 1g/kg/day를 기준으로 하여 이의 10%를 11s protein 으로 섭취하는 것으로 계산한 후 각 군에 해당하는 실험동물의 평균 체중을 매주 측정하여 이에 맞는 양을 매일 오전 같은 시간에 6주간 경구투여 하였다.

### 5. 체중 및 장기의 중량계측

체중은 시료를 투여하기 하루 전부터 부검하기 하루 전까지 6주 동안 일주일에 한번씩 같은 시간에 측정하였다. 장기의 중량은 부검 후에 실험동물의 후대정맥을 찾아서 3ml 이상의 혈액을 채혈한 후 간, 신장을 각각 적출하고 생리식염수로 깨끗이

세척한 후 그 중량을 측정하였다.

#### 6. 생화학적 검사(AST, ALT, LDH, Cholesterol, Total Lipid)

EDTA free tube에 혈액을 채우고, 30분간 실온에 방치한 후 3,000rpm의 속도로 15분간 저온(4℃) 원심분리 하여 얻은 혈청을 이용하여 AST, ALT, LDH, Cholesterol, Total Lipid를 측정하였다.

##### (1) AST(Aspartate aminotransferase : 혈청 SGOT)

원심분리 하여 얻은 혈청의 활성치는 AST kit(Boehringer Mannheim, Germany)을 사용하여 다음과 같은 원리로 측정하였다. 검체 중의 GOT 작용으로 aspartic acid와 alpha-ketoglutaric acid는 oxaloacetic acid와 L-glutamic acid로 변화한다. 생성된 oxaloacetic acid는 조효소 NADH의 존재 하에 MDH 작용으로 malate가 생성되는데 NADH가 NAD<sup>+</sup>로 산화될 때, 340nm의 파장에서 흡광도의 감소를 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Japan)를 이용하여 측정하였다.

##### (2) ALT(Alanine aminotransferase : 혈청 SGPT)

ALT의 활성치는 ALT kit(Boehringer Mannheim, Germany)을 사용하여 다음과 같은 원리로 측정하였다. 검체 중의 GPT 작용으로 L-alanine과 alpha-ketoglutaric acid는 pyruvic acid와 L-glutamic acid로 변화한다. 생성된 pyruvate는 조효소 NADH의 존재 하에 LDH작용으로 lactate가 생성되고 NADH가 NAD<sup>+</sup>로 산화될 때, 340nm의 파장에서 흡광도의 감소를 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

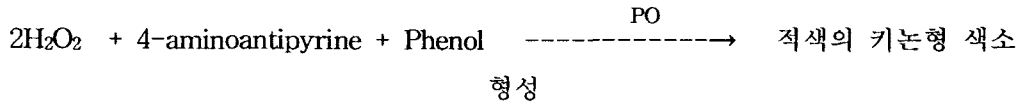
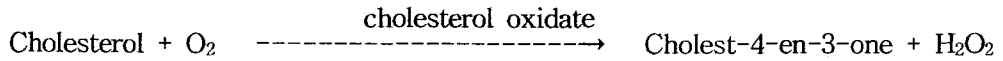
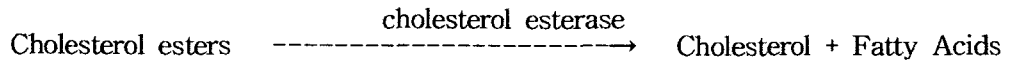
##### (3) LDH(Lactate Dehydrogenase)

LDH의 활성치는 LDH kit(Boehringer Mannheim, Germany)을 사용하여 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

##### (4) Cholesterol

Cholesterol은 enzymatic colorimetric test를 이용하여 다음과 같은 원리로 측정하였다.





이 원리로 R208 영동 cholesterol - R 시약(영동제약, 한국)을 사용하여 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Japan)를 이용 cholesterol 양을 측정하였다.

#### (5) Total Lipid(총지질)

Total Lipid는 Sulfo-phospho-vanillin을 이용하는 방법으로 검체에 직접 황산을 넣어서 가열한 후, 인산 바닐린 혼액과 반응시켜서 생기는 분홍색 파장을 540nm에서 측정하여 농도를 구하였다. Total Lipid는 총지질 측정용 시약 kit(국제시약 주식회사, 한국)을 사용하여 생화학 분석기 (Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 성장과 체중변화량

장기간의 알코올을 섭취하는 체중감소의 원인이 된다는 연구 결과가 많은 학자들에 의해 발표 되어 왔다. 이러한 이유는 알코올 섭취로 인해 산소의 소비가 증가되고 대사율이 증가되며 세포 내 microsome에서 알코올 산화기구의 ATP 생성이 저하 되기 때문인 것으로 알려져 있다. 본 연구 결과도 이와 유사한 경향을 나타내었으며, 시료투여 6주간의 성장과 체중변화량을 측정한 결과를 Table 2, Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. 1주간의 체중 증가량은 정상군(Normal control)이 가장 높은 증가량을 보였으며, 2주째와 3주째의 체중변화량에서는 음성대조군(Negative control)의 체중증가량이 정상군(Normal control)보다 높은 수치를 나타내었다. 이런 결과는 알코올 섭취로 인하여 체내에 콜레스테롤과 지방이 축적된 결과로 분석할 수 있으며 장기간 알코올을 섭취한 6주차에는 정상군에 비하여 음성대조군의 체중이 떨어진 것을 볼 수 있었다. 4주째와 5주째의 체중변화량은 실험군 1과 실험군 2의 체중변화량이 정상군(Normal control)과 가까운 수치를 보였으며 높은 유의성( $p < 0.5$ )을 나타내었고, 6주째의 체중변화량은 양성대조군 A(Positive control A)와 실험군 2가 정상군(Normal control)의 수치와 비슷한 높은 유의성을 나타내었다( $p < 0.5$ ). 최종 체중변화량을 분석한 결과는 다음과 같다. 정상군(Normal control)은  $121.55 \pm 16.29g$ 의 최종 체중변화량을 보였고, 음성대조군(Negative control)은  $108.60 \pm 9.33g$ 의 최종 체중변화량이 나타내어 만성적인 알코올 섭취로 인한 영양분의 체내 흡수율이 정상군(Normal control)이나 양성대조군(Positive control), 그리고 실험군(Experimental group)1, 2보다 떨어진 것으로 연구결과가 나타났다. 이런 분석 결과로 미루어 보아 실험군(Experimental group)1, 2가 만성적인 알코올 섭취로 인한 영양분의 체내 흡수율 감소를 보완하여 줄 수 있는 것으로 나타났으며, 특히 배아를 투여한 실험군 2가 다른 군에 비해 영양분의 체내 흡수율이 높은 것으로 나타났다

Table 2. Estimation of the body weights of rat groups treated with alcohol and medicinal extracts

Groups	Change of the body weight(g) for 6 weeks treatments		
	0	1	2
Normal control	340.00±16.71	373.00±19.41	396.72±19.56
Negative control	335.68±9.76	365.43±6.30	390.23±3.80
Positive control A	341.53±11.11	365.72±13.56	386.35±17.73
Positive control B	332.77±12.61	360.13±16.31	384.22±18.42
Experimental group 1	334.13±8.01	364.68±13.86	386.32±15.52
Experimental group 2	333.12±9.52	363.33±13.91	373.97±23.74

Table 2. Continued

Groups	Change of the body weight(g) for 6 weeks treatments		
	3	4	5
Normal control	415.32±24.34	432.35±26.25	445.73±25.19
Negative control	416.22±4.13	429.28±2.03	437.37±4.25
Positive control A	402.23±15.38	423.02±13.48	437.57±10.53
Positive control B	402.02±18.09	420.97±22.02	435.07±22.03
Experimental group 1	404.95±17.21*	422.50±17.56*	435.92±18.67
Experimental group 2	401.67±16.85**	419.62±15.73*	433.63±15.37

Table 2. Continued

Groups	Change of the body weight(g) for 6 weeks treatments	
	6	6-0
Normal control	461.55±26.86	121.55±16.29
Negative control	444.28±3.72	108.60±9.33
Positive control A	456.55±14.34	115.02±5.04
Positive control B	448.02±19.43	115.25±7.87
Experimental group 1	449.25±18.23	115.12±12.90*
Experimental group 2	450.00±17.71*	116.88±10.40*

Normal control group was fed with water. Negative control group was fed with alcohol and water. Positive control group A was fed with alcohol and hangover cure solution (Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul). Positive control group B was fed with alcohol, alcoholic liver disease cure solution (Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul) and circulation of blood promotable solution (Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul). The body weight of each rat was measured weekly. Each value was represented as Mean standard deviation of six rats. \*:Significantly different from the negative control group(\*p<0.5, \*\*:p<0.1) by Student's T-test.

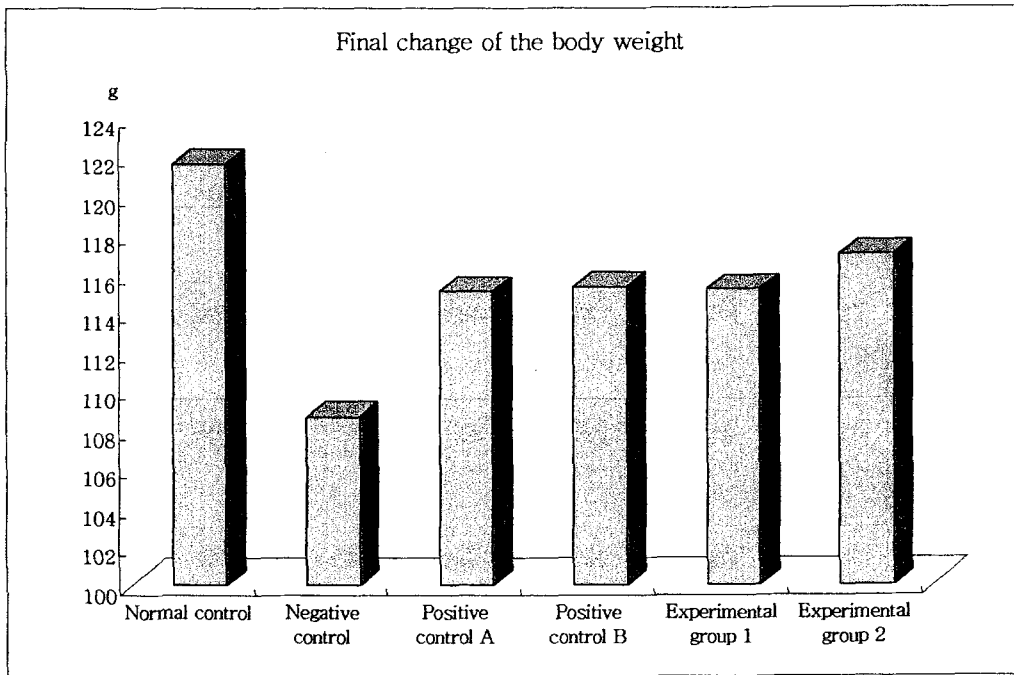


Fig. 1. Final change of the body weight

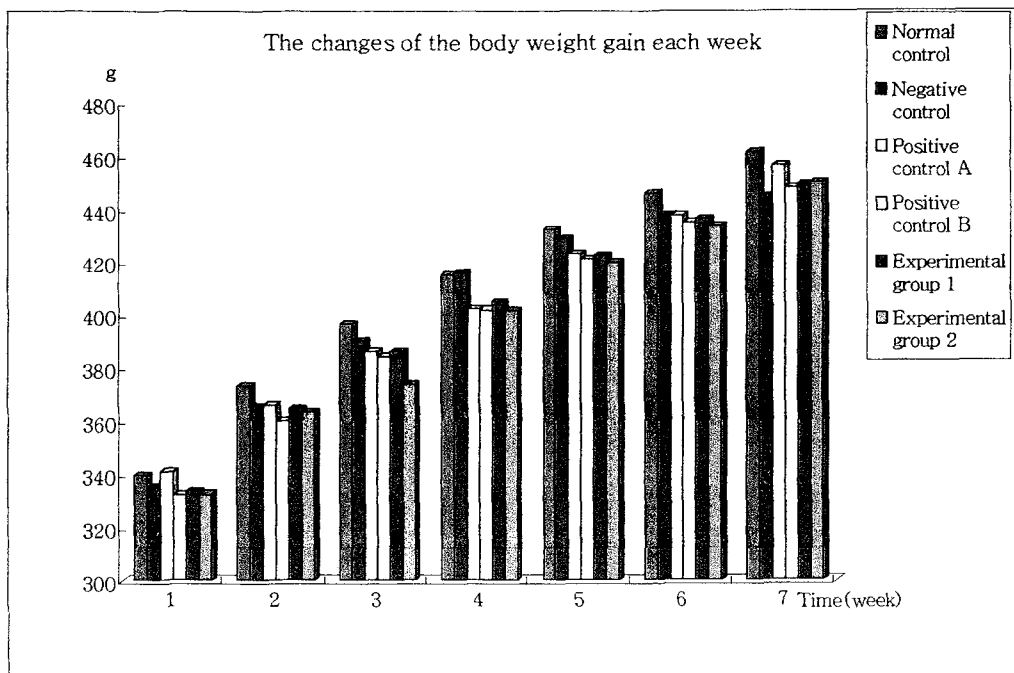


Fig. 2. The body weight of rats

## 2. 장기의 중량

알코올을 장기적으로 섭취하면 지방간 및 간장의 섬유화로 간이 비대해지게 된다. 간의 중량은 알코올 섭취에 의해 간 조직 내에 지질이 축적됨으로써 알코올을 섭취시킨 모든 군에서 증가되었다는 연구가 보고 되었으며 본 실험의 결과도 이와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 3과 Fig. 3, Fig 4에 나타난 결과를 보면 실험동물의 체중 100g당 간 중량 %는 실험군 1, 실험군 2의 수치가 각각  $2.970 \pm 0.22$ ,  $2.962 \pm 0.20$ 로 정상군(Normal control)의 수치인  $2.900 \pm 0.12$ 에 가깝게 나타남으로써 음성대조군(Negative control)의  $3.105 \pm 0.08\%$ 에 비해 낮은 경향을 보였다. 특히 실험군 1과 실험군 2는  $p < 0.5$ 의 높은 유의성을 나타내었다. 체중 100g당 신장 중량 %는 정상군이  $0.649 \pm 0.06$ 이고, 음성대조군이  $0.649 \pm 0.06$ 로 나타났다. 양성대조군(Positive control)의 신장 중량 % 수치는  $0.657 \pm 0.04$ 와  $0.659 \pm 0.04$ 이며, 실험군 1, 2(Experimental group)는 각각  $0.661 \pm 0.04$ ,  $0.664 \pm 0.01\%$ 로 정상군(Normal control)에 가깝게 나타났다. 이 중 실험군 1의 수치가 높은 유의성을 보였고( $p < 0.5$ ), 양성대조군(Positive control) 그리고 실험군 2가 유의적으로 높은 수치를 보였다( $p < 0.1$ ).

Table 3. Estimation of the liver and the kidney weights of rat groups

Groups	Liver(% of body weight)    Kidney(% of body weight)	
	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Normal control	$2.900 \pm 0.12$	$0.649 \pm 0.06$
Negative control	$3.105 \pm 0.08$	$0.691 \pm 0.03$
Positive control A	$2.947 \pm 0.24$	$0.657 \pm 0.04$
Positive control B	$2.921 \pm 0.22$	$0.659 \pm 0.04$
Experimental group 1	$2.970 \pm 0.22^*$	$0.661 \pm 0.04^*$
Experimental group 2	$2.962 \pm 0.20^*$	$0.664 \pm 0.01^{**}$

Normal control group was fed with water. Negative control group was fed with alcohol and water. Positive control group A was fed with alcohol and hangover cure solution (Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul). Positive control group B was fed with alcohol, alcoholic liver disease cure solution

(Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul) and circulation of blood promotable solution (Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul). The body weight of each rat was measured weekly. Each value was represented as Mean standard deviation of six rats. \*:Significantly different from the negative control group(\* $p < 0.5$ , \*\*: $p < 0.1$ ) by Student's T-test.

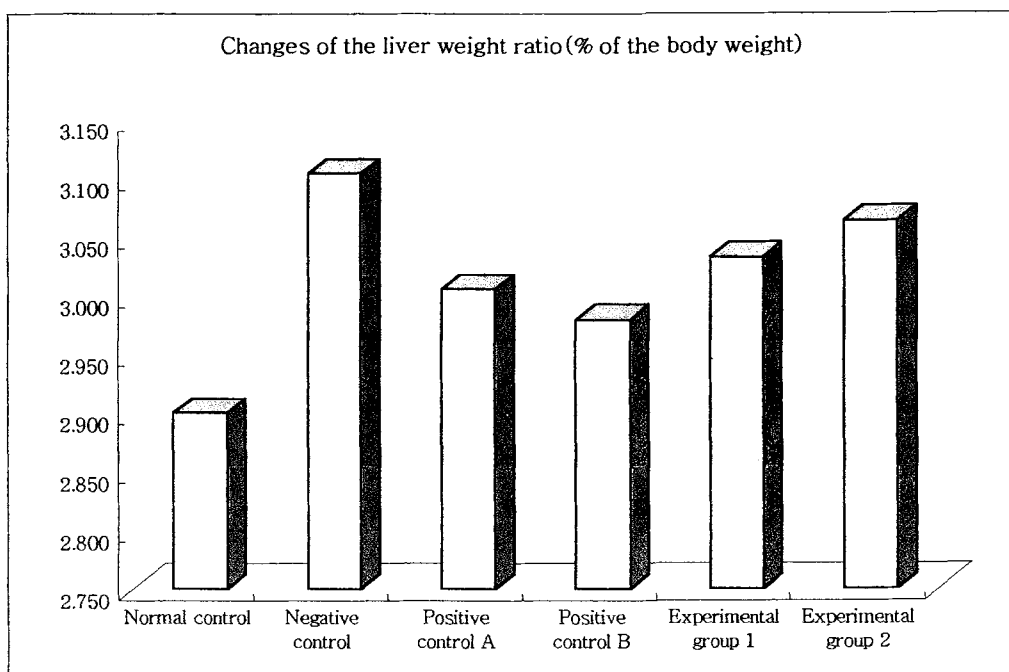


Fig. 3. Changes of the liver weight ratio(% of the body weight) of rat groups

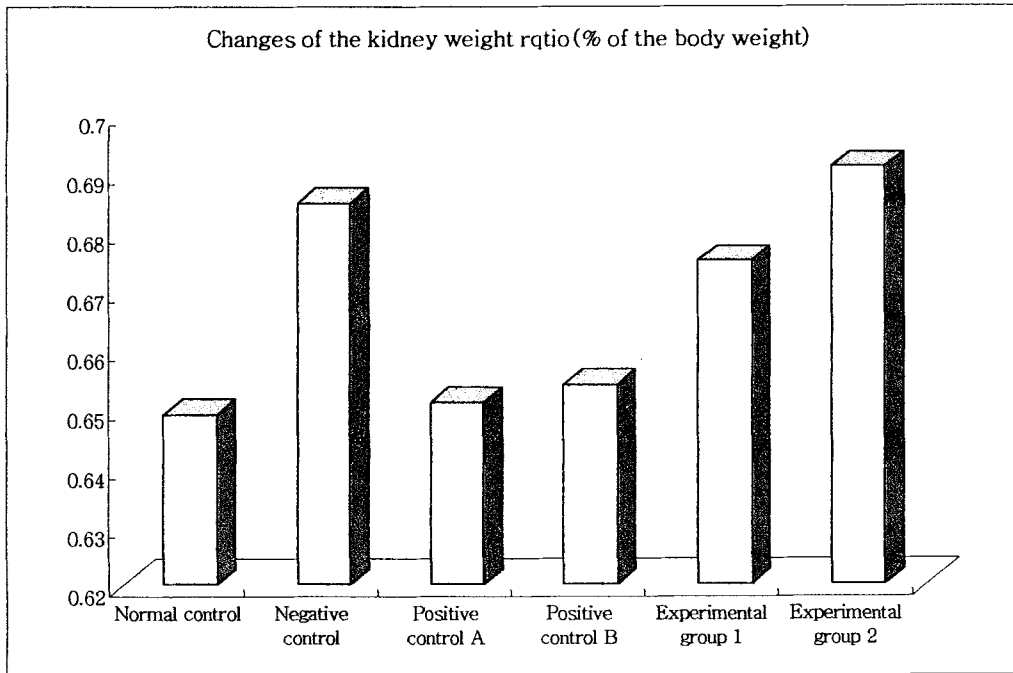


Fig. 4. Changes of the kidney weight ratio(% of the body weight) of rat groups

### 3. AST와 ALT의 활성

#### (1) AST 활성

Table 4와 Fig. 5에 나타난 바와 같이 정상군(Normal control)의 혈장 중 AST 수치는  $71.67 \pm 6.59$  U/L 이나 알코올을 장기간 투여한 음성대조군(Negative control)의 AST 수치는  $87.83 \pm 10.74$ 로 상승을 보여 장기간의 알코올 투여로 인한 간 손상이 유도됨을 보여주고 있다. 이에 반해 실험군 1과 실험군 2의 AST 수치는 각각  $68.67 \pm 10.93$  U/L,  $72.67 \pm 2.80$  U/L 으로 나타났고, 유의성 역시 높게 나타나( $p < 0.05$ ) 양성대조군 A( $76.50 \pm 10.23$  U/L) 보다 더 뛰어난 AST 상승 억제효과를 나타낸 것을 알 수 있었다.



## (2) ALT 활성

일반적으로 알코올의 장기간 섭취는 AST, ALT의 활성치를 증가시키는 경향이 있으며 이는 곧 간 기능의 활성이 감소됨을 보여주는 것이다. 간 기능이 저하될 때 간에서 제일 먼저 나타나는 임상 증상의 하나가 AST, ALT 활성의 증가이며, 특히 혈장 ALT는 간세포 변성과 괴사를 예민하게 반영하여 상승하기 때문에 특히 간담도 질환의 유력한 지표로서 널리 이용되고 있다. Table 4와 Fig. 6에 나타난 ALT 효소 활성치에서는 정상군(Normal control)의 ALT 수치가  $45.50 \pm 5.21$  U/L로 나타났으며 이에 반해 음성대조군(Negative control)은  $94.83 \pm 13.20$  U/L으로 정상군(Normal control)에 비해 매우 높은 수치를 나타내어 장기간의 알코올 투여로 인한 간 손상을 확인할 수 있었다. 특히 실험군 1, 실험군 2의 수치는 각각  $42.67 \pm 9.52$  U/L,  $46.17 \pm 5.98$  U/L로 정상군(Normal control)의 수치와 비슷하게 측정되었으며 유의성 역시 매우 높은 것으로( $p < 0.0001$ ) 분석되었다. 본 연구에서 나타난 결과를 살펴보면 장기간의 알코올 섭취로 인한 간 기능장애에 11s Protein과 대두에서 분리한 배아, 가미 호박 생맥산으로 만든 배아 두부가 손상된 간의 회복 효과를 높여주는 것을 알 수 있었으며 장기간 투여하였을 경우 간 기능 장애의 회복 기능이 현저히 증가하는 연구 결과를 나타낸 것으로 사료된다.

Table 4. Enzyme activity of AST and ALT in plasma

Groups	AST(U/L)	ALT(U/L)
	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Normal control	71.67±6.59	45.50±5.21
Negative control	87.83±10.74	94.83±13.20
Positive control A	76.50±10.23	46.33±7.81
Positive control B	71.00±4.94	43.67±7.71
Experimental group 1	68.67±10.93**	42.67±9.52 <sup>#</sup>
Experimental group 2	72.67±2.80**	46.17±5.98 <sup>#</sup>

Normal control group was fed with water. Negative control group was fed with alcohol and water. Positive control group A was fed with alcohol and hangover cure solution (Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul). Positive control group B was fed with alcohol, alcoholic liver disease cure solution (Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul) and circulation of blood promotable solution (Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul). The body weight of each rat was measured weekly. Each value was represented as Mean standard deviation of six rats. \*,#:Significantly different from the negative control group(\*p<0.1, \*\*:p<0.05, \*\*\*:p<0.01, #:p<0.0001) by Student's T-test.

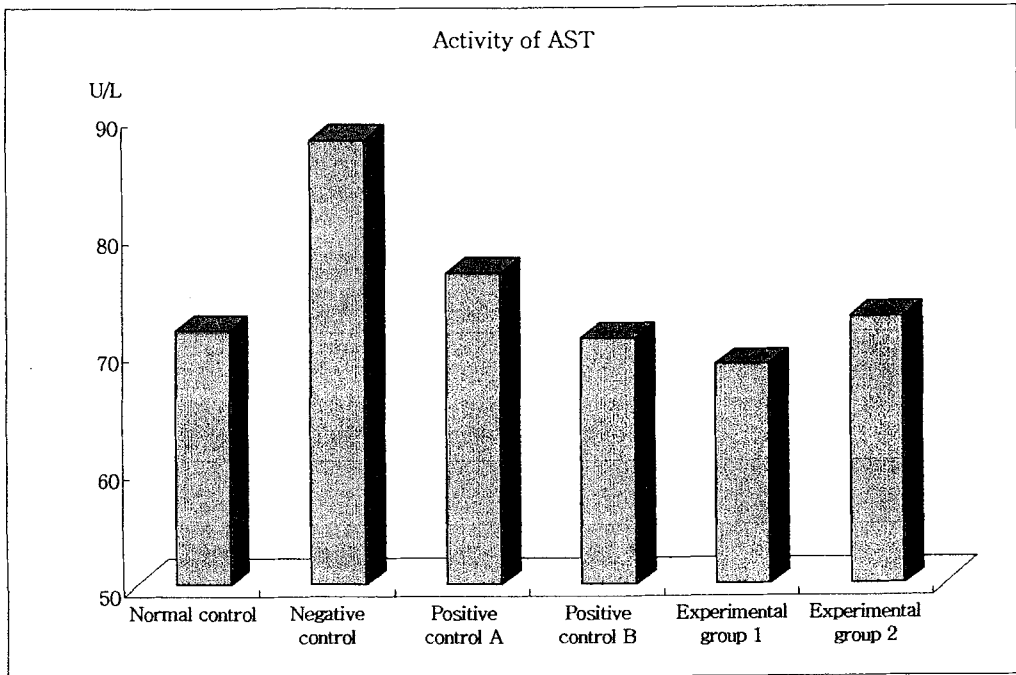


Fig. 5. Activity of AST

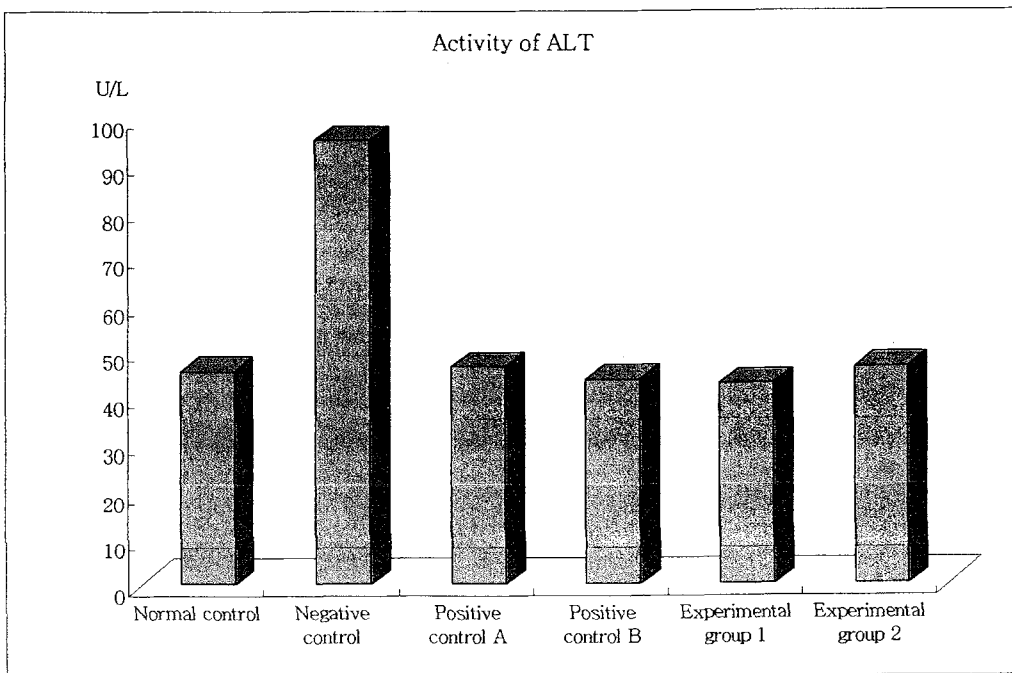


Fig. 6. Activity of ALT

#### 4. LDH 활성

LDH (lactate dehydrogenase)는 젖산 탈수 효소라고도 하며, 몸 안의 당이 분해되어 에너지로 변할 때 작용하는 효소의 하나로 여러 조직 세포 중에 함유되어 있어 세포가 파괴되면 혈중 LDH는 높아진다. 혈중 LDH는 간 질환, 심장질환, 혈액 질환 등에서 고 활성을 보이는 경우가 많아 이 질환을 스크리닝 하는데 유용한 검사이다. 검사의 수치가 정상이거나 정상수치 보다 낮은 경우는 모두 정상으로 간주하는 반면, Table 5와 Fig. 7에서 보는 바와 같이 음성대조군(Negative control)의 1189.00±197.89U/L 과 같이 높은 수치는 간 질환이 유도되었음을 충분히 뒷받침하는 수치로 분석 할 수 있으며, 실험군(Experimental group)1, 2 모두 LDH의 수치를 낮추어 주는데 효과적으로 작용한 것을 볼 수 있었다. 특히 실험군 1의 11s Protein과 실험군 2의 국산 대두에서 분리한 배아는 LDH 수치를 낮추는데 아주 탁월한 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

Table 5. Lactate Dehydrogenase activities

Groups	LDH(U/L)
	Mean±S.D.
Normal control	879.67±245.54
Negative control	1189.00±197.89
Positive control A	834.00±401.08
Positive control B	252.50±83.85
Experimental group 1	395.33±220.17 <sup>#</sup>
Experimental group 2	354.17±124.23 <sup>#</sup>

Normal control group was fed with water. Negative control group was fed with alcohol and water. Positive control group A was fed with alcohol and hangover cure solution (Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul). Positive control group B was fed with alcohol, alcoholic liver disease cure solution (Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul) and circulation of blood promotable solution (Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul). The body weight of each rat was measured weekly. Each value was represented as Mean standard deviation of six rats. \*,#:Significantly different from the negative control group(\*p<0.5, \*\*:p<0.1, \*\*\*:p<0.05, #:p<0.0001) by Student's T-test.

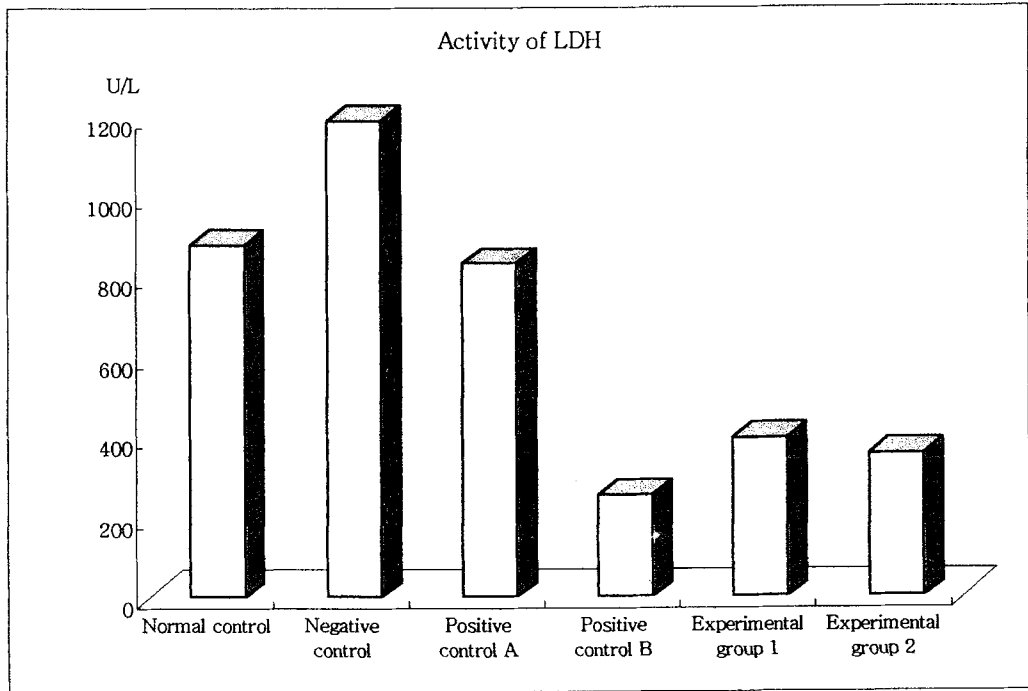


Fig. 7. Activity of LDH

##### 5. Total Cholesterol and Total Lipid contents in the serum

Table 6, Fig. 8과 Fig. 9에 나타난 연구 결과를 보면 혈청 total cholesterol의 농도에 있어서 정상군(Normal control)에 비해 그 수치가 크게 감소되지는 않았으나 실험군 1, 실험군 2의 수치가 유의성 있게( $p < 0.1$ ) 감소한 결과를 볼 수 있었다.

Total lipid의 구성은 Total cholesterol(free cholesterol + ester cholesterol), Phospholipid, Triglyceride(TG), Free fatty acid, 당지질, 고급 알코올, 스테로이드 호르몬, 그리고 지용성 비타민 등으로 이루어져 있다. Table 6과 Fig. 9에 나타난 연구 결과를 보면 정상군(Normal control)의 Total lipid의 농도가  $331.33 \pm 47.87 \text{ mg/dl}$ 이고, 음성대조군(Negative control)의 농도는  $392.67 \pm 23.53 \text{ mg/dl}$ 으로 정상군(Normal control)에 비해 높은 수치의 Total lipid 농도를 나타내었다. 실험군(Experimental group)1, 2는 각각  $342.83 \pm 43.60 \text{ mg/dl}$ ,  $372.17 \pm 16.46 \text{ mg/dl}$ 의 수치의 농도를 나타내어 음성대조군에 비해 Total lipid의 농도가 낮아 실험군(Experimental group)1, 2 모두 혈액 중 Total lipid의 농도를 낮추어 주는 작용을

하는 것으로 분석되었다. 특히 실험군1의 농도는 정상군의 농도와 거의 비슷한 농도를 나타내었으며 매우 높은 유의성을 보여( $p < 0.01$ ) 그 효과가 아주 탁월하다고 할 수 있다. 최근 혈액 중 높은 cholesterol 농도가 동맥경화증 등 심장 순환기계 질환 유발의 주요인자로 작용한다는 보고에 비추어 각 개인의 혈청 cholesterol 농도를 낮추는 약품과 식품의 개발에 노력하여 cholestyramine, probucol 등 혈장 cholesterol을 낮추는 의약품이 개발되고 있다. 이를 일부 치료에 이용하고 있지만, 일반 대중이 고 콜레스테롤혈증의 예방 차원에서 널리 섭취할 수 있는 식품에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다. 이에 대해 Table 6의 결과는 11s Protein과 대두에서 분리한 배아, 그리고 가미 호박 생맥산을 첨가한 배아 두부가 고 콜레스테롤혈증의 예방과 치료에 있어 도움을 줄 수 있는 후보물질로서의 가능성을 제시해주는 연구 결과를 나타낸 것으로 사료된다.

Table 6. Lipid concentrations in the serum of rat groups

Groups	Total Cholesterol(mg/dl)	Total Lipid(mg/dl)
	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Normal control	88.00±11.33	331.33±47.87
Negative control	114.67±21.21	392.67±23.53
Positive control A	92.50±10.35	360.83±77.94
Positive control B	92.17±9.43	347.17±39.40
Experimental group 1	94.83±9.37**	342.83±43.60***
Experimental group 2	92.67±5.14**	372.17±16.46*

Normal control group was fed with water. Negative control group was fed with alcohol and water. Positive control group A was fed with alcohol and hangover cure solution (Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul). Positive control group B was fed with alcohol, alcoholic liver disease cure solution (Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul) and circulation of blood promotable solution (Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul). The body weight of each rat was measured weekly. Each value was represented as Mean standard deviation of six rats. \*:Significantly different from the negative control group(\* $p < 0.1$ , \*\*: $p < 0.05$ , \*\*\*: $p < 0.01$ ) by Student's T-test.

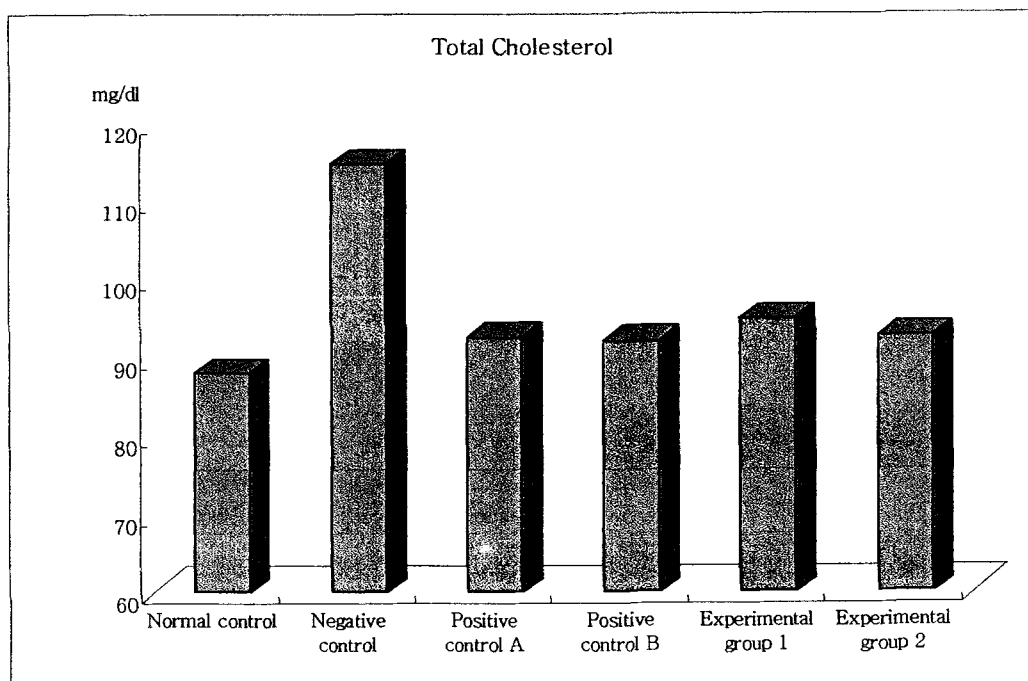


Fig. 8. Total Cholesterol concentrations in the serum

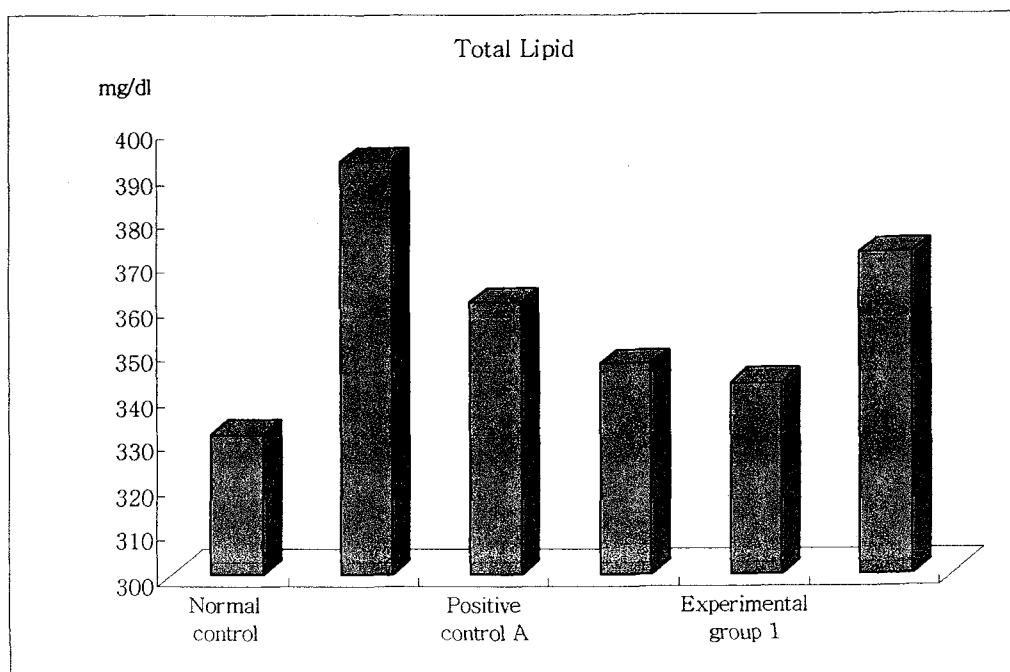


Fig. 9. Total Lipid concentrations in the serum

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Preparation of Soybean Embryo**

Soybean embryos which were segregated from the whole soybean by Dr. Chung's Food Co., Ltd. were used in this experiment. The dried soybean embryos were purchased from Dr. Chung's Food Co., Ltd. in February 2003. The dried soybean embryo solution was prepared by boiling the dried soybean embryos in distilled water. The boiled soybean embryos were then ground into a solution (along with the water used for boiling). The solution was then cooled at room-temperature for one hour. This solution was prepared daily to prevent any loss of nutritional value.

### **Animal Models**

#### **(a) Preparation of Animal Models**

Young adult male Sprague-Dawley rats weighing 20010g were obtained from Daehan Biolink Co., Ltd. (Seoul, Korea). All subjects were kept under constant laboratory conditions (temperature: 22<sup>o</sup>C, relative humidity: 45%, 12h light/dark cycle). The subjects were fed a commercially available diet (Samyang Assorted Diet produced by Samyang Co., Ltd., Korea) and were allowed free access to drinking water (distilled).

After a 4-week adaptation period, 24 subjects (2 per cage) were then randomly assigned into 4 experimental groups (n=6) as follows: (i) normal controls administered water, (ii) negative controls administered ethanol/water, (iii) positive controls administered ethanol/water and a solution of LCS (*Alcodex*: Guju Pharmaceutical Co., Ltd., Seoul) and BPS (*Vasoclean*: Cho-A Pharmaceutical Co., Ltd., Seoul.), both commercially available and (iv) rats administered ethanol/water and soybean embryo solution. Summarized in Table 1. Ethanol/water intake of 5g/kg/day was achieved. At the end of this 5-week period (4 weeks adaptation + 1 week of alcohol), the subjects weighed an



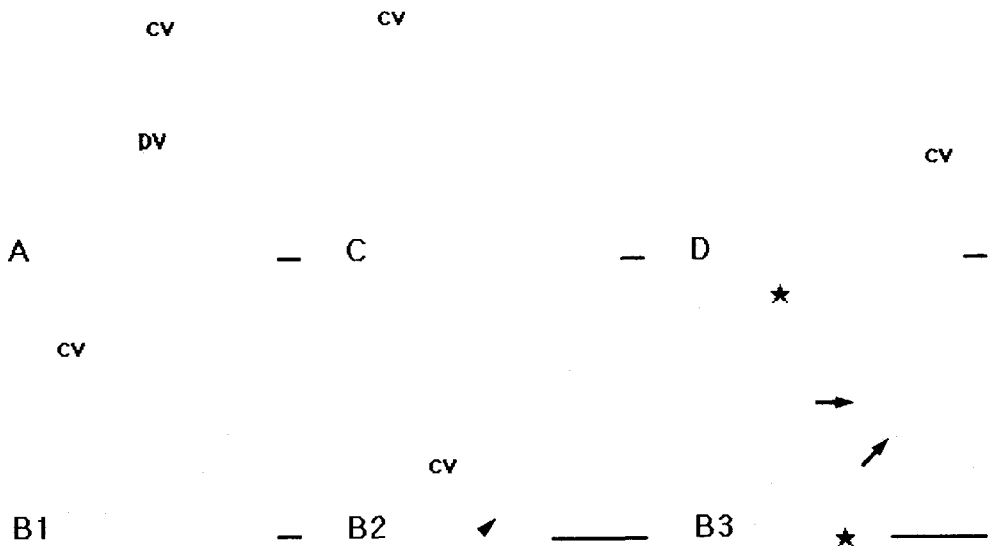
average of 330g. All subjects were orally administered (syringe-fed) either a treatment solution or a placebo (distilled water for the normal control group, alcohol and distilled water for the negative control group) on a daily basis for the same time period. The syringe feedings were made at about the same time everyday. Food consumption and water (or alcohol and water solution) measurements were made daily. Body weight measurements were made weekly.

## **RESULTS**

### **Histological Studies**

#### **(a) Light Micrographs of Hepatic Tissue**

Figure 1 shows the lightmicrographs of the hepatocytes from the experimental groups. Figure 1-A is the normal hepatic tissue from the normal control group (cv: central vein, pv: portal vein). Figure 1-B (B1-B3) are the hepatic tissues from the negative control group that evidence the liver damage brought about by long-term alcohol consumption. Figure 1-B shows the degeneration of the hepatocytes (B2: arrowhead) and the dilatation of the sinusoids (B3: asterisks). A few eosinophilic Mallory bodies (B3: arrows) can also be seen. Furthermore, the accumulation of small lipid droplets can also be seen. Figure 1-C is the hepatic tissue of positive control group, whose morphology is similar to that of the normal control group except for the infiltration of inflammatory cells (arrow heads) near the portal area. Figure 1-D is the hepatic tissues of experimental treatment group, whose morphology is similar to that of the normal control group.



**Fig. 1. Light Micrographs of Hepatic Tissue in Alcohol Fed Rats**

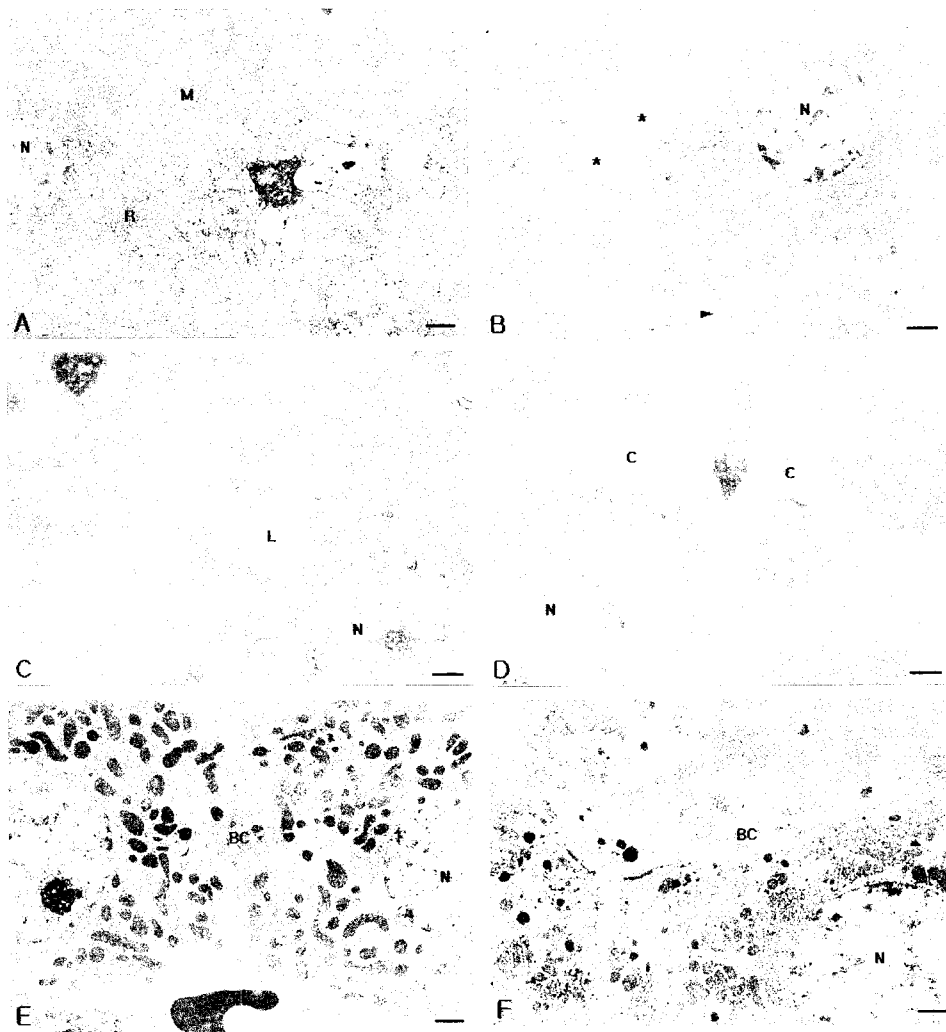
(A) Hepatic tissue from the normal control group. (B1,B2,B3) Hepatic tissue from the negative control group (fed alcohol and water only). (C) Hepatic tissue from the positive control group (treated with alcohol, alcoholic liver disease cure solution and blood circulation promotion solution). (D) Hepatic tissue from the experimental treatment group (treated with a soybean embryo solution). **cv**: Central Vein, **pv**: Portal Vein, **bd**: Bile Ductule, **asterisk**: Dilatation of Sinusoids, **arrow**: Mallory Body, **arrowhead**: Inflammatory Cell. Scale bar=40  $\mu$ m. Cell staining was carried out by the H&E staining method. Magnification: A, B1, C, and D (100), B2 and B3 (400)

**(b) Electron Micrographs of Hepatocytes**

Figure 2 shows the electron micrographs ( 10,000) of the hepatocytes from the experimental groups (N: nucleus of hepatocyte, M: mitochondria, R: rough endoplasmic reticulum, L: lipid droplet, BC: bile canaliculus).

The normal control group, Figure 2A, exhibits normal hepatocyte morphology. Figures 2B, 2C and 2D are electron micrographs of the negative control group. Hepatocytes in Figure 2B and 2C show degenerative signs

(asterisks) such as clear areas and dilated biliary canaliculi (arrowhead) without microvilli. The hepatocytes also exhibit a diffuse accumulation of lipid droplets (L) in the cytoplasm. Figure 2D shows the increase of collagen in the hepatic lobule. Figure 2E is electron micrograph of the positive control group, which exhibited normal hepatocyte structures. Figure 2F is electron micrograph of experimental treatment group. It shows the normal morphology of hepatocytes (as with the normal control group) with none of the degenerative signs exhibited in the negative control group



**Figure 2. Electron Micrographs of Hepatocytes**

(A) Hepatocytes from the normal control group. (B, C, D) Hepatocytes from the negative control group (fed alcohol and water only). B. Hepatocytes show degenerative signs (asterisks) and dilated biliary canaliculi (arrowhead) without microvilli. C. Hepatocytes exhibit diffuse accumulation of lipid droplets in the cytoplasm. D. Hepatocytes show the increase of collagen in the hepatic lobule. (E) Hepatocytes from the positive control group, which was treated with alcohol, LCS & BPS. Hepatocytes show normal morphology. (F) Hepatocytes

from the experimental treatment group. Hepatocytes show normal morphology.

**M:** Mitochondria, **N:** Nucleus of the Hepatocyte, **R:** Rough Endoplasmic Reticulum, **L:** Lipid Droplet, **BC:** Bile Canaliculus, **asterisk:** Degenerative Sign of Hepatocyte, **arrowhead:** Dilated Bile Canaliculus. Scale bar=1  $\mu$ m, Magnification: 10,000

## DISCUSSION

As seen from the data found, alcohol consumption for a prolonged period (7 weeks), affected the normal growth of the subjects, as evidenced by the minimal gain in body weight of the negative control group when compared to the other experimental groups. This data is in line with the fact that consumption of alcohol can have malnutritive effects, for example, when alcohol is substituted for carbohydrates, subjects tend to lose weight, indicating that they derive less energy from alcohol than from food.<sup>17)</sup> This data also implies that the subjects treated with soy solution were seen to have absorbed more nutrients (weight gain), even in the face of chronic alcohol consumption. The experimental treatment group had statistically significant ( $p < 0.5$ ) gains in weight (when compared to the negative controls). Furthermore, these gains were higher than the other alcohol-treated groups. These results are strengthened by the fact that all experimental groups, with the exception of the normal control group, consumed roughly the same amount of food, as shown in Table 3 (average weekly dietary intake). These results show that the weight gain or lack of it in the case of the negative controls cannot be attributed to differences in the amount of food consumed.

Hypertrophy of the liver can be seen as an indicator of fatty liver and fibrosis of the liver caused by the accumulation of lipids due to long-term alcohol consumption.<sup>18)</sup> The results of this study are inclined to agree with this finding. Lee's research<sup>19)</sup> showed that the liver's weight as a percentage of

the total body weight in subjects with alcohol-induced liver damage were higher than subjects which were administered a treatment. The subject group which was fed a treatment solution had a lower liver weight to body weight ratio when compared to the alcohol-only group, this finding was also paralleled in this study. Furthermore, fatty liver is the first stage of liver deterioration in heavy drinkers, and interferes with the distribution of oxygen and nutrients to the liver cells.<sup>20</sup>)Alcohol also directly affects lipocytes in the liver, causing the deposition of collagen, the characteristic protein of the fibrous tissues. Long-term alcohol consumption transforms lipocytes into collagen-producing myofibroblast-like cells.<sup>21,22</sup>)The light micrographs of the negative controls show the degeneration of the hepatocytes, as evidenced by the dilatation of the sinusoids, the presence of eosinophilic Mallory bodies, an accumulation of inflammatory cells, and the accumulation of small lipid droplets. Mallory bodies are characteristic cytoplasmic hyaline inclusions in hepatocytes reflecting a morphologic manifestation of chronic liver cell injury.<sup>23</sup>) These findings are typical of alcohol induced liver damage. On the other hand, the hepatic tissue of the experimental treatment group exhibits morphology very similar to that of the normal control group, physical evidence for the hepato-protective effects of the soybean embryo solution. Further physical evidence can be found from the electron micrographs of the negative control group, which show degenerative signs, such as, clear areas and dilated biliary canaliculi without microvili. The hepatocytes also exhibit a diffuse accumulation of lipid droplets in the cytoplasm. The electron micrographs also show the increase of collagen in the hepatic lobule. The experimental treatment group shows the normal morphology of hepatocytes (as with the normal control group) with none of the degenerative signs exhibited in the negative control group. The histological studies show that the soybean embryo solution exhibits hepato-protective effects, ameliorating the impact of long-term alcohol consumption. Finally,

serum ALT and AST levels parallel the histological data. Degradation of normal liver functions is indicated by the increased levels of serum AST and ALT enzymes which are normally concentrated in the hepatic tissue. Free radicals, byproducts of oxidation, attack the hepatocytes, causing the degradation of cell membranes (lipid peroxidation). This process may destroy the integrity of the membranes both within and surrounding the cell, seriously compromising cell function.<sup>24</sup>) Increased levels of AST and ALT enzymes in the serum can be caused by fatty liver, or exposure to these byproducts, resulting in metabolic problems of the liver and hepatocyte death. The elevated AST level in the negative control group can be attributed to the liver damage induced by long-term alcohol consumption, confirming previous research. The serum AST levels of the experimental treatment group were significantly lower when compared to the negative control group ( $p < 0.05$ ) and similar to the normal control group, indicating the hepato-protective effects of the treatments. ALT serum levels of the experimental treatment group were significantly lower than the negative control group ( $p < 0.0001$ ) and were similar when compared with the normal control group. These results also confirm the extent of hepatic damage the negative control group sustained due to long-term alcohol consumption.

With regards to the total cholesterol level, comparing the normal control group and to the treatment and negative control groups, significant differences (all at more than  $p < 0.1$ ) were found in levels of serum cholesterol, indicating that the treatment was effective in ameliorating the effects of alcohol consumption. This finding parallels the findings of a host of other studies in which it was found that soy proteins lowered the serum cholesterol levels of the subjects.<sup>13,14,25,26</sup>) With regards to the total lipids level, the experimental treatment group was found to be significantly different from the negative controls ( $p < 0.05$ ). This finding also finds support in the research of Lovati and

Baum,5,8,9)and this result is significant in light of the fact that high levels of cholesterol are seen to be major causal factors in the development of atherosclerosis and subsequent cardiovascular diseases.

This research highlights the various potential benefits (hepato-protective and hypercholesterolemic effects in the face of long-term alcohol consumption) of the soybean embryos, suggesting future areas for research.



### <협동 기관 연구 과제>

**Abstract:** 배아와 11S의 아미노산 조성 및 함량을 분석한 결과는 다른 아미노산에 비해 glutamic acid, aspartic acid 순으로 비교적 높게 나타났다. Glutamic acid의 함량은 6410.0-19977.5 mg%로 나타났고 곡류에는 제한 아미노산이지만 콩의 주요 아미노산인 lysine 함량은 3485.7~5833.7 mg%로 나타났으며 다른 아미노산에 비해 가장 적게 함유되어 있는 아미노산은 cysteine인 것으로 나타났고, 다음으로는 methionine, histidine, tyrosine 및 threonine 순으로 적게 나타났다. Cysteine의 함량은 608.9-1219.3 mg%로 나타났다. 아미노산 함량을 비교하면 11S, 배아 순으로 아미노산 함량이 많은 것으로 나타났다. 11S와 배아를 원료로한 두부에 있어 두부를 실온과 4℃에서 저장하면서 시간의 경과에 따른 저장성 실험 결과에서 저장 시간이 경과할수록 colony 수는 증가하였으며 일반두부에서 가장 많이 검출되었고 혼합두부에서 colony 수가 가장 적게 나타났다. 특히 저온 살균한 그룹이 하지 않은 그룹보다 colony의 수가 더 적게 나타났다. 저장 온도에 따른 두부의 보존성을 비교하면 4℃에서 저장한 두부가 실온에 저장한 두부보다 더 오래 저장되었고 colony의 수도 더 느리게 증가되었다.

# 실험 재료 및 방법

## 1. 재료

본 실험에 사용된 메주콩 (황금콩)은 시중 농협에서 구입했다. 11S는 탈지한 대두에서 분리하여 사용하였다. 그밖에 GDL (Glucono- $\delta$ -lactone), 유기산, urea, SDS, DTT (DL-Dithiothreitol) 등의 시약은 Sigma (USA)사에서 구입하여 사용하였다.

## 2. 콩의 외형적 특성

### (1) 무게

콩의 백립중은 종피가 파괴된 종자, 분할된 종자, 이물질 등을 제거하여 선별한 건전립 100립을 취하여 3반복으로 무게를 칭량한 후 평균값으로 나타내었다.

### (2) 길이

콩을 100개 취한 후 콩의 부위를 수직길이, 장폭, 단폭 및 배꼽길리와 종피의 두께를 caliper로 이용하여 5반복 측정하여 평균값으로 나타냈는데, 종피 두께의 측정 부위로는 배꼽의 반대쪽을 택하였다.

### (3) 색도

색도 측정은 색차계(Color JC801, Color Techno System Co., Ltd. Japan)를 사용하여 L값(명도), a값(적색도), b값(황색도)를 측정하였는데 측정 전 모든 시료는 분쇄하여 입도가 80~100 mesh가 되도록 하였다. 이때 사용한 표준 백판은 L=100.04, a=3.61, b=10.77이었다.

### (4) 일반성분분석

일반성분 분석은 AOAC법(AOAC, 15th ed.)에 의하여 수분함량은 105℃에서 상압 건조하여 측정하였고, 조단백 함량은 micro-kjeldahl법으로 측정하였으며 질소계수 6.25를 사용하여 환산하였다. 조지방 함량은 시료를 Soxhlet 장치를 사용하여 65℃에서 8시간 petroleum ether로 추출하였다. 회분함량은 550℃ 직접 회화법을 사용

하여 측정하였다. 탄수화물 함량은 100에서 수분함량, 조단백 함량, 조지방 함량, 회분 함량을 뺀 값을 사용하였다. 각 실험을 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

#### (5) 지방산 조성 분석

지방질은 silicic acid 컬럼 크로마토그래피에 의하여 중성지방질, 당지방질 및 인지방질로 분리하였다. Silicic acid는 콜로이드성 미립자를 제거하기 위하여 증류수로 2번 washing하고, methyl alcohol로 2번 washing하여 105~110℃에서 12시간 활성화시켰다. 1.76×42.8cm column을 사용하여 flow rate는 1~3 mL/min으로, solvent volume은 bed volume의 6배로 하여 chloroform, acetone, methyl alcohol의 순서로 용출시켜, 중성지방질은 chloroform, 당지방질은 acetone, 인지지방질은 methyl alcohol 용출시켜 분획하였다. 각 지방질 분획을 분석하기 전에 먼저 유리지방산을 얻기 위하여 지방질을 비누화 한 후 가스크로마토그래피를 이용하여 지방산을 분석하였다. 시료 0.2 g을 정확히 취해 이형 플라스크에 넣고 0.5 N MeOH-NaOH 4 mL을 첨가하여 냉각관을 설치하였고 30분간 반응시킨 후 BF<sub>3</sub>-methanol 5 mL첨가하고 2분 후에 냉각관을 통해 hexane 3 mL을 넣고 1분 후에 saturated salt solution을 첨가해 hexane층을 25 mL 삼각 플라스크에 옮겼다. 이에 과량의 무수 sodium sulfate를 넣어 hexane층에 잔류하는 수분을 제거한 다음 여과하여 지방산 분석 시료로 사용하였다. GC를 이용한 분석조건은 Table 1과 같다.

#### (6) 아미노산 조성 및 함량 측정

60~70 mesh가 되도록 분쇄한 콩분말 0.25 g을 칭량하여 ampule에 넣고 6 N-HCl 15 mL를 가한 다음 질소가스로 치환하여 신속하게 밀봉하였다. 이를 110℃ 오븐에서 24시간 가수분해시킨 뒤 방냉하여 탈이온수로 50 mL 정용플라스크에 정용 후 0.2 μm membrane filter로 여과하여 AccQ-Tag(1993)방법으로 유도체화시킨 다음 아미노산을 HPLC로 분석하였다. 이때 column은 Nova-Pak C18 (3.9×150 mm, Nova, Switzerland), injection volume는 5μl, flow rate는 1 mL/min이고, 검출기는 fluorescence, 이동상은 0.14M sodium acetate(A), 60% acetonitrile(B)를 gradient 방법으로 분석하였다.

#### (7) Isoflavone 함량 분석

각 시료를 분쇄하여 건조시킨 0.1 g을 정확히 칭량하여 0.1% acetic acid를 포함한 70% ethanol 수용액 0.5 mL을 가하여 교반한 후 실온에서 24시간 방치하여 추출하였다. 이것을 원심분리(12,500 rpm, 5min)한 후 상층액을 취하여 membrane filter(0.45  $\mu$ m, Whatman, Germany)로 여과하여 HPLC 분석 시료로 사용하였다. Isoflavone은 aglycon인 daidzein, glycitein, genistein과 그들의 포도당 배당체인 daidzin, glycitin, genistin, malonyl-daidzin, malonyl-glycitin, malonyl-genistin, acetyl-daidzin, acetyl-glycitin, acetyl-genistin으로 12가지의 성분을 HPLC로 검출하였다. JASCO(Japan)사의 HPLC system을 이용하였으며 column은 ODS A303(4.6×250 mm, YMC, U.S.A)을 사용하고, UV detector 254 nm에서 측정하였고 flow rate는 1.0 mL/min이었다. Solvent 조건은 Table 2와 같다.

#### (8) 올리고당 함량 분석

시료 1.0 g에 10% alcohol 25 mL를 가하고 30℃의 water bath에서 1시간 추출 후에 10% lead acetate를 5 mL 첨가하여 단백질을 제거하였다. 추출액을 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 취하여 membrane filter(0.45  $\mu$ m, Whatman, Germany)로 여과하여 HPLC 분석 시료로 사용하였다. 분석조건은 JASCO사의 HPLC system을 이용하였으며 column은 KR100-10NH<sub>2</sub>(4.6×250 mm, Kromasil, Sweden)을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile과 water를 70:30비로 혼합한 용매를 사용하여 분석하였다. 유속은 2.0 mL/min으로 조절하였고, injection volume은 20  $\mu$ l였으며 RI 930 detector(Jasco, Japan)로 분석하였다. 올리고당 분석에 사용된 표준물질은 sucrose, raffinose, stachyose의 3종류였다.

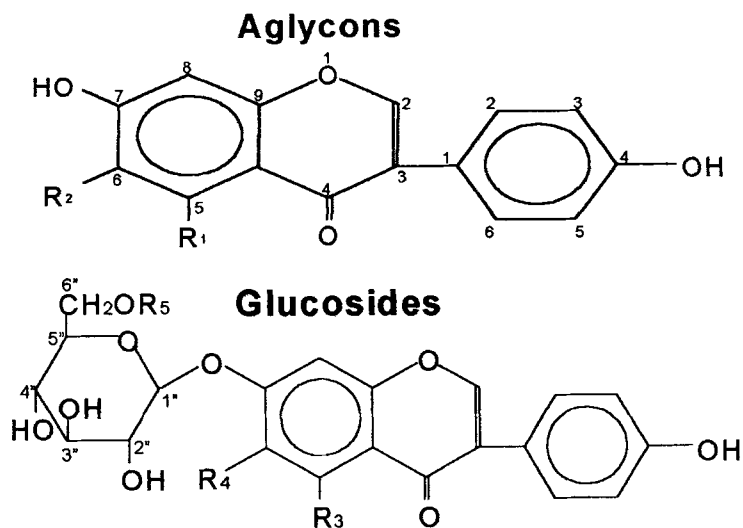
#### (9) 원료 콩 종실, 자엽, 배축의 phytic acid 함량 측정

Phytic acid의 함량 측정을 위한 시료의 제조는 Hartland와 Oberlass(1977)에 의한 온교환수지 방법을 이용하였으며, phytic acid 함량은 Latta와 Ersknin(1980)에 의한 비색법으로 측정하였다. 시료 0.5 g에 2.4% HCl 30 mL을 가한 후 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 이를 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 냉장

보관하여 사용하였다. 한편 직경이 1.0×15 cm column에 음이온 교환 수지 (AG1-X8, Bio-Red Lab) 1.5 g을 충전한후 0.7 M NaCl로 활성화시켰으며 이를 증류수로 Cl<sup>-</sup>이온이 검출되지 않을 때까지 충분히 씻어 주었다. 여기에 추출한 상등액을 5배 희석하여 10 mL를 주입하였으며, 증류수 20 mL와 0.05 M NaCl 25 mL로 씻어 주어 무기인을 제거하고 0.7 M NaCl 15 mL를 가하여 phytate를 용출한 후 이 용액을 30 mL로 정용하였다. 이 희석 용액 3 mL에 Wade 시약(Ferric chloride 0.03%와 sulfosalicylic acid 0.3%) 1 mL를 넣어 발색시켜, 500 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하고, phytic acid(dodecasodium salt)를 표준물질로 작성한 표준 곡선에 의해 phytic acid를 정량하였다.

#### (10) Saponin 분석

본 실험에서 이용한 saponin의 분석방법은, 먼저 탈지한 분말 콩 1g을 80% methanol에 녹여 80℃에서 water bath에서 4hr 추출한 후 농축하여 완전 건조시킨 다음 7% methanolic-HCl를 가해 80℃에서 3hr동안 가수분해하여 중화시켜 다시 evaporator로 건조시켜 ethyl ether 50 mL를 취해 shaking 후에 ether층만 취해 filtering하여 농축 후에 methanol을 취해 filtering HPLC 분석시료로 사용하였다.



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Compounds
H	H				didzein
OH	H				genistein
H	OCH <sub>3</sub>				glycitein
		H	H	H	daidzin
		OH	H	H	genistin
		H	OCH <sub>3</sub>	H	glycitin
		H	H	COCH <sub>3</sub>	6''-O-acetyldaidzin
		OH	H	COCH <sub>3</sub>	6''-O-acetylgenistin
		H	OCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	6''-O-acetylglycitin
		H	H	COCH <sub>2</sub> COOH	6''-O-malonyldaidzin
		OH	H	COCH <sub>2</sub> COOH	6''-O-malonylgenistin
		H	OCH <sub>3</sub>	COCH <sub>2</sub> COOH	6''-O-malonylglycitin

Fig. 1. Chemical structure of 12 isoflavone isomers in soybean

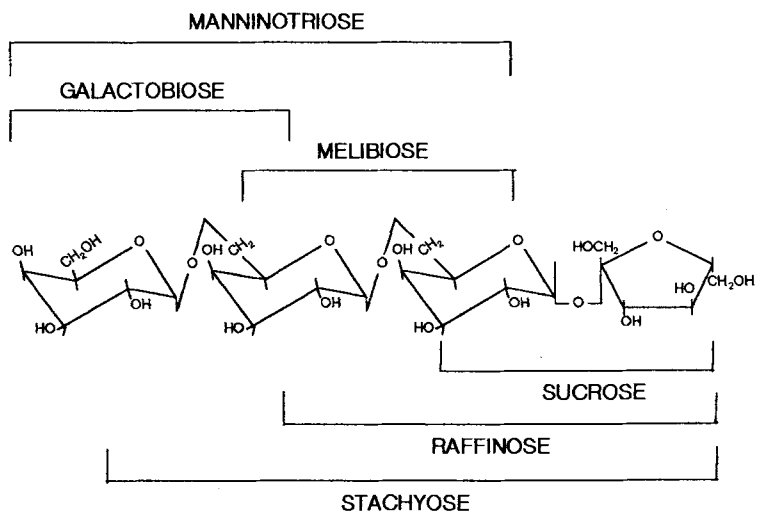


Fig. 2. Components of soy oligosaccharide.

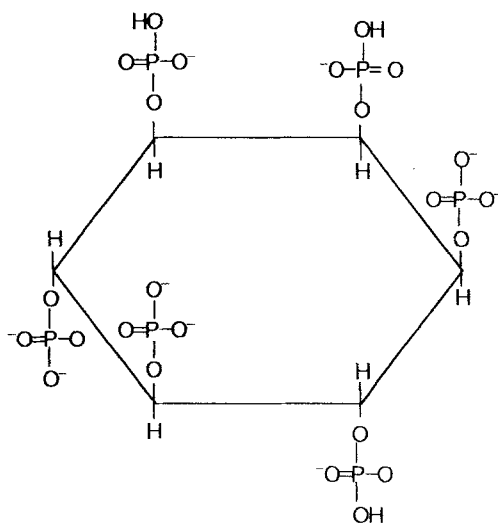


Fig. 3. Structure of phytic acid.

**Table 1. Gas chromatography conditions for analysis of fatty acid composition**

Conditions	
Column	Supelco wax-10 capillary column
Detector	Flame Ionization Detector (FID)
Carrier gas	He (1 mL/min)
Column temperature	180°C
Injection temperature	250°C
Injection volume	0.4 µL
Detector temperature	250°C

**Table 2. HPLC solvent system for determination of isoflavone of soybean**

Time(min)	solvent composition(%)	
	solvent A	solvent B
0	15	85
50	35	65
55	35	65
60	100	0
75	15	85

solvent A : 0.1% acetic acid in acetonitrile

solvent B : 0.1% acetic acid in water



**Table 3. Rheometer conditions for *tofu***

Conditions	
Test type	Mastication
Max weight	10 kg
Table speed	120 mm/min
Adaptor type	15 mm round
Sample type	Hexahedron (1.5×1.5×1.5 cm)

### 3. 11S protein의 분리 및 amino acid composition

#### (1) 추출 방법에 따른 11S protein의 수율 비교

11S의 추출 방법에 따른 수율 비교에는 다음의 3가지 방법을 이용하였다.

#### 11S Recovery method 비교

##### Aqueous extraction method:

Soy bean flour+DW (1:10, wt:wt) → stirring → pH 7.5 fixing → centrifugation at 8000 rpm for 30 min → supernatant pH 6.4 → overnight at 4℃ → centrifugation → precipitate recovery as 11S (시료 10 g +D.W. 100 mL)

##### Nagano method:

Soy bean flour+DW (1:10, wt:wt) → stirring → pH 7.5 fixing → centrifugation at 8000 rpm for 30 min → addition of sodium bisulfite (0.98g/1L) to the supernatant → pH 6.4 fixation → overnight at 4℃ → centrifugation → precipitate recovery as 11S

##### Thanh Method:

Soy bean flour+0.03M tris-HCl buffer, pH 8.0 (1:10, wt:wt) → stirring → pH 7.5 fixing → centrifugation at 8000 rpm for 30 min → supernatant pH 6.4 → overnight at 4℃ → centrifugation → precipitate recovery as 11S

#### (2) 11S의 아미노산 분석

60~70 mesh가 되도록 분쇄한 배아와 11S 0.25 g을 칭량하여 ampule에 넣고 6 N-HCl 15 mL을 가한 다음 질소가스로 치환하여 신속하게 밀봉하였다. 이를 110℃ 오븐에서 24시간 가수분해시킨 뒤 방냉하여 탈이온수로 50 mL 정용플라스크에 정용 후 0.2 μm membrane filter로 여과하여 유도체화시킨 다음 아미노산을

HPLC로 분석하였다. 이때 column은 Nova-Pak C<sub>18</sub> (3.9×150 mm, Nova, Switzerland), injection volume는 5 µL, flow rate는 1 mL/min이고, 검출기는 fluorescence, 이동상은 0.14 M sodium acetate(A), 60% acetonitrile(B)를 gradient 법으로 분석하였다.

#### 4. 두부 제조 실험

##### (1) Soybean flour를 이용한 두부 제조에 있어 제조 온도의 영향

두부의 제조에 영향을 미치는 제 인자를 알아보기 위하여 탈지대두와 증류수를 이용하여 두부를 제조하였다. Soybean flour 625 g에 증류수 2.5 L를 섞고 2시간 동안 stirring하여 단백질을 추출하였다. 2 N NaOH를 이용하여 용액의 pH를 8.0으로 고정한 다음 원심분리기를 이용하여 8000 rpm, 20 ℃에서 30 min 간 분리하여 상등액을 취하였다. 두부 제조를 위하여 단백질 농도를 3.53%로 고정한 후 온도, 지방의 무게, 응고제의 양 등이 두부의 수율 및 품질에 미치는 영향을 살펴보았다. 본 실험의 목적은 응고제 첨가온도에 따른 두부의 생산량 변화 및 생성된 두부의 품질 변화를 알아보는 것이다. 즉 두미를 온도 조건에 (90℃, 85℃, 80℃, 75℃, 70℃, 65℃) 따라 20분간 지속적으로 가열시키고, 콩기름과 응고제를 20 g과 12 g을 각각 넣고 온도를 유지하며 5분 동안 단백질의 응고를 유도하였다. 반응이 완료되면 용기를 찬물에 담구어 온도를 상온으로 낮추고 내용물을 성형틀에 넣어 압축성형 시켰다.

1700 mL Soybean flour 두부



온도 조건 (90℃, 85℃, 80℃, 75℃, 70℃, 65℃ )

각각의 온도별로 20분간 유지

Water bath로 온도 유지 (5분)



콩기름 (20g), 응 고 제 (12g) 첨가

Water bath로 온도 유지 (5분)



( 60~65℃ ) 찬물에 담아 온도를 낮춘다.



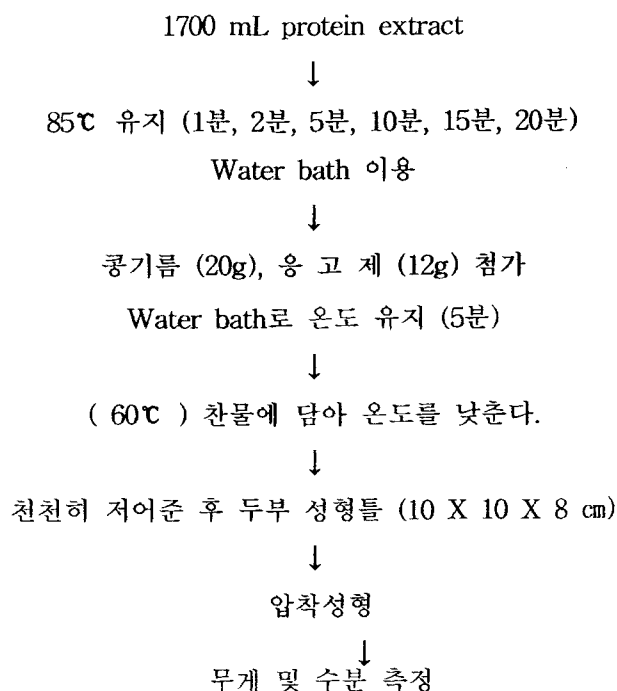
천천히 저어준 후 두부 성형틀 (10 X 10 X 8 cm)에 부어줌



압착성형

(2) Soybean flour를 이용한 두부 응고에 있어 응고 시간의 영향

Soybean flour를 이용하여 제조한 두부의 경우 예비 실험을 통하여 80℃ 이상의 온도에서 단백질을 변성시키는 과정이 두부단백질의 응고에 필수적인 전처리 과정임을 확인하였다. 본 실험에서는 두미의 최적 가열 시간을 알아본다.



(3) 두부 제조에 미치는 응고제 첨가량의 영향

Defatted soy flour 625 g에 증류수 2.5 L를 넣고 2시간 동안 상온에서 교반하여 두부 제조에 필요한 단백질을 추출하였다. 단백질 용액의 pH를 8.0으로 고정하고 원심분리에 의해 대두박을 제거하였다. 용액의 단백질 함량과 부피를 각각 3.53% 과 1700 mL으로 하여 두부를 제조하였다. Defatted soy flour에는 지방이 극소량 존재하므로 두부제조시 식용유를 20 g씩 첨가하였다.

#### (4) 대두두부와 11S 두부의 제조

일반두부를 만들기 위하여 대두 90 g를 증류수 1700 mL에 첨가한 후 mixer로 5분간 마쇄하여 단백질을 추출을 유도하였다. 두유를 85℃로 가열하고 비지를 200 mesh 여과포로 걸러주었다. 두유가 75℃가 되면 응고제 GDL을 9 g첨가하고 천천히 저어준 뒤 두부 성형틀 (10×10×8 cm)에 천을 깔고 응고물을 넣어 2 kg의 추로 20분간 압착성형 하였다. 흑태두부는 흑태 90 g을 이용하여 일반두부 제조방법과 동일한 방법으로 제조하였다. 배아두부는 배아 90 g을 이용하여 일반두부 제조방법과 동일한 방법으로 제조하였다. 11S두부는 11S 60 g을 이용하여 일반두부 제조방법과 동일한 방법으로 두유단계에 콩기름을 30g 더 첨가하여 제조하였다.

#### 5) 응고제 종류에 따른 두부 단백질의 응고 메커니즘 측정

일반두부, 11S두부 및 배아두부 3가지를 동결건조기 (Clean vac 8B, Hanil, Korea)를 이용하여 건조시킨 후 분말상태로 4℃에서 보관하여 시료로 사용하였다. pH를 2~12로 맞춘 0.1 M의 KCl-HCl buffer,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  buffer 및 Tris-NaOH buffer 용액 10 mL과 시료 0.1 g을 5분동안 vortexing한 후 8,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 상등액을 취하여 BCA법으로 단백질 함량을 측정하였다. 0~6 M의 urea 용액 10 mL과 시료 0.1 g도 위와 같은 방법으로 단백질 함량을 측정하였다. 0~1%의 SDS 용액 10 mL과 시료 0.1 g도 위와 같은 방법으로 단백질 함량을 측정하였다. 또한 pH 8인 0.1 M의  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  buffer 용액 10 mL에 0~0.2 M이 되도록 DTT를 첨가하고 시료 0.1 g을 넣어 위와 같은 방법으로 단백질 함량을 측정하였다. 6 M urea 용액 10 mL에 0~0.2 M이 되도록 DTT를 첨가하고 시료 0.1 g을 넣어 위와 같은 방법으로 단백질 함량을 측정하였다. 0.4% SDS 용액 10 mL에 0~0.2 M이 되도록 DTT를 첨가하고 시료 0.1 g을 넣어 위와 같은 방법으로 단백질 함량을 측정하였다. 또한 0.4% SDS 용액 10 mL에 0~0.2 M이 되도록 DTT를 첨가하고 시료 0.1 g을 넣어 pH를 8과 12로 맞춘 뒤 위와 같은 방법으로 단백질 함량을 측정하였다.

## 6) 두부의 저장성 실험

일반두부, 11S두부 및 배아두부 3가지를 저온 살균한 그룹과 하지 않은 그룹으로 나누는 뒤 실온과 4℃에서 보관하며 미생물 실험에 이용하였다. PCA (Plate count agar, Difco, USA) 배지에 100 μL씩 접종한 다음 37℃에서 24시간동안 배양한 후 colony 수를 계수하였다. 균수는 CFU (colony forming unit)/g으로 나타내었다.

## 7) 통계분석

모든 측정결과는 3번 반복 실험하여 각 시료들 간의 유의성 검정은 SAS (Statistic Analysis System, USA)를 이용하여 분산 분석을 행한 후 Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 그 유의성을 검정하였다.

## 5. 제품의 이화학적 특성 측정

### (1) 두부의 일반성분 분석

일반성분 분석은 AOAC법 (AOAC, 14th ed.)에 의하여 수분은 상압가열 건조법, 회분은 직접 회화법, 단백질은 Micro-Kjeldahl법을 사용하여 측정하였다. 각 실험은 3회 반복하여 얻은 평균값을 사용하였다.

### (2) 두부의 색도 측정

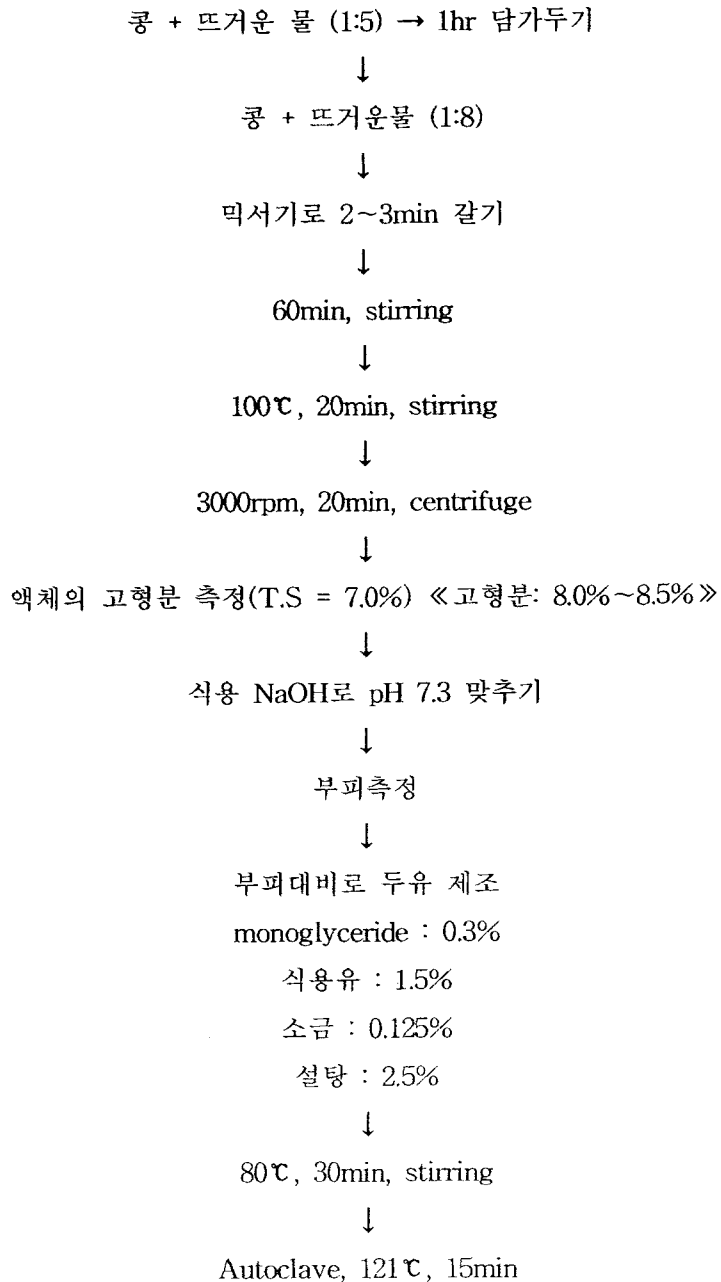
두부의 색도는 분광색차계 (Color JC801, Color Techno System, Tokyo, Japan)를 사용하여 L (명도), a (적색도) 및 b (황색도)값을 측정하였다. 이때 사용한 표준백판의 L값은 98.63, a값은 0.19 및 b값은 -0.67이었다.

### (4) 두부의 조직감 측정

조직감은 두부를 동일한 크기 (1.5×1.5×1.5 cm)로 잘라내어 Rheometer (COMPAC-100, Sun Scientific, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 직경 15 mm, 두께 1 mm의 원형 probe를 이용하여 두부의 견고성 (hardness), 부착성 (adhesiveness), 응집성 (cohesiveness), 탄력성 (springiness), 껌성 (gumminess) 및 파쇄성 (brittleness)을 측정하였다. Rheometer를 이용한 측정조건은 Table 4과 같다.

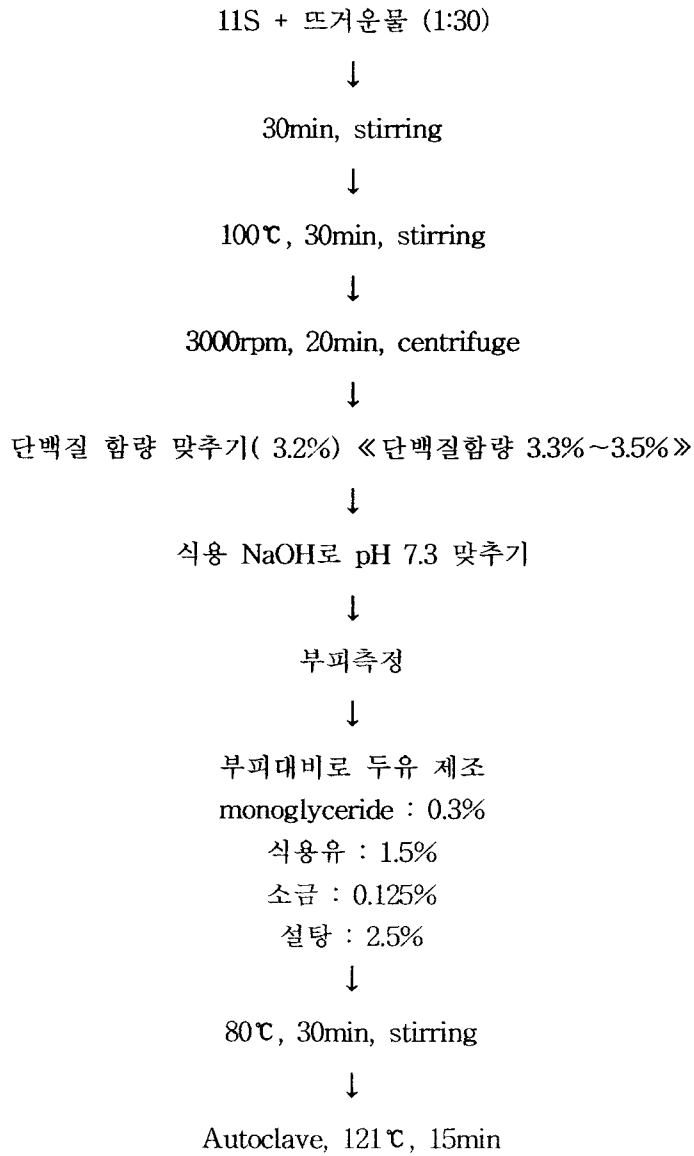
## 6. 두유의 제조실험

(1) 대두를 이용하여 제조한 두유의 formulation은 다음과 같다.





(2) 11S두유의 formulation은 다음과 같다.



## 7. 제품의 관능검사

### (1) 두부 시료의 준비 및 제시

시료는 기호도검사 하기 전에 3×3cm 크기로 약 20g으로 잘라 임의의 세자리 숫자를 적은 접시에 각각 한 조각씩 담아 제시 하였다. 모든 시료의 평가 사이에 입가심을 할 수 있도록 증류수와 빨는 컵을 함께 제시하였다.

소비자 검사는 식품영양학과 남녀 대학생 80명을 대상으로 실시하였다. 기호검사는 9점척도(hedonic scale)를 이용하여 표시하도록 하였으며 1점으로 갈수록 '아주 싫다'에서 9점으로 갈수록 '아주 좋다'를 표시하도록 하였다. 평가된 특성은 외관(appearance)특성의 색(color), 향미(flavor) 특성의 고소한맛(savory), 비린맛(beany), 떫은맛(astringency), 쓴맛 (bitter)그리고 조직감(texture) 특성의 단단한 정도(hardness), 탄력성 (springness), 거친정도 (adhesiveness) 및 전반적인 기호도(overall acceptability) 순서대로 진행되었다

SAS/STAT(SAS Institute, Inc., SAS User's Guide Statistical Analysis Systems Inc., Raleigh, NC, USA. 1996)를 이용하여 분산분석 하였고 시료간의 평균치 차이의 유무는 Duncan's multiple range test에 의해 다중 비교를 하였다.

### (2) 두유의 관능적 특성

시료는 소비자검사 하기 1시간 전에 제조하여 임의의 세자리 숫자를 적은 종이컵에 각각 20ml정도씩 담아 제시 하였다. 모든 시료의 평가 사이에 입가심을 할 수 있도록 생수와 빨는 컵을 함께 제시하였다. 소비자 검사는 식품영양학과 남녀 대학생 60명을 대상으로 실시 하였다. 기호검사는 9점척도(hedonic scale)를 이용하여 표시하도록 하였으며 1점으로 갈수록 '아주 싫다'에서 9점으로 갈수록 '아주 좋다'를 표시하도록 하였다. 평가된 특성은 냄새 (aroma) 특성의 비린냄새 (beany), 고소한 냄새(savory)이고 외관(appearance)특성의 색(color), 향미(flavor) 특성의 고소한맛(savory), 단맛(sweetness), 떫은맛(astringency), 쓴맛(bitter)그리고 조직감(texture) 특성의 점도(viscosity)및 전반적인 기호도(overall acceptability) 순서대로 진행되었다. SAS/STAT(SAS Institute, Inc., SAS User's Guide Statistical Analysis Systems Inc., Raleigh, NC, USA. 1996)를 이용하여 분산분석 하였고 시료간의 평균치 차이의 유무는 Duncan's multiple range test에 의해 다중 비교를 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 원료 대두의 이화학적 특성

#### 1) 무게

원료 콩의 백립중을 계산하여 본 결과 13.44 g으로 나타났다. 콩을 60~80 mesh로 분쇄한 분말에 대한 색도 측정 결과, L, a, b값을 **Table 4**에 나타내었다. 시료 콩은 종피색이 황색인 콩이다. 백색도를 나타내는 L값의 표준이 100.04로 L값이 커질수록 백색에 가까워지고, a값은 커질수록 적색에 가까워지며, 그 값이 작아질수록 녹색에 가까워진. 한편 b값은 황색도를 나타낸다.

**Table 4. Color and color difference of the soybean sample**

Variety	L	a	b
Soybean	78.56 <sup>d</sup>	5.40 <sup>d</sup>	28.4 <sup>e</sup>

L = white ↔ black, a = red ↔ green, b = yellow ↔ blue

#### 2) 일반성분

시료에 대한 일반 성분은 **Table 5**와 같다. 조단백 함량은 38.7%로 나타났으며 조지방 함량은 20.8%로 높은 함량을 보였다. 수분 함량은 11.5% 이었으며 회분 함량은 5.0%이었다. 일반적으로 이들 성분들의 함량은 품종에 따라 차이가 크고, 재배 환경 및 환경 요인에 의해 영향을 많이 받는 것으로 알려져 있다.

**Table 5. Proximate composition of the soybean sample** (unit : %, w/w)

Variety	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash	Carbohydrate
Soybean	10.5	38.7	20.8	4.5	26.2

### 3) 지방산 조성

시료 콩으로부터 추출한 총지방질의 지방질 종류의 구성비는 **Table 6**과 같다. 지방질은 가운데 중성지방, 인지질 및 당지방질의 순서로 함량이 낮았다. 총지방질의 지방산 조성은 **Table 7**과 같다. 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 54.0%로서 가장 많았으며, oleic acid(18:1), palmitic acid(16:0) 순으로 불포화지방산인 이들 세 지방산이 80%이상을 차지하였으며, 주요 지방산으로는 stearic acid(18:0)가 2.9~4.6%로서 가장 낮게 나타났고, 주요 지방산 이외에 myristic acid(14:0), arachidic acid(20:0) 및 behenic acid(22:0)는 미량 검출되었다. 한편 인지지방질의 지방산은 각각 **Table 8**과 같다. 인지지방질의 지방산 조성을 보면 linoleic acid(18:2)의 함량이 가장 높으며 다음은 palmitic acid(16:0)의 함량이 높았다. 이는 중성지방질 및 당지방질의 경우와는 다른 결과이었다.

**Table 6. Percentage of lipid fraction in soybean (%)**

Lipid	Soybean
Neutral lipid	98.3
Glycolipid	0.2
Phospholipid	1.6

**Table 7. Fatty acid composition of total lipid of soybean (%)**

Fatty acid	Soybean
Myristic acid (14:0)	0.2
Palmitic acid (16:0)	11.4
Stearic acid (18:0)	4.6
Oleic acid (18:1)	23.4
Linoleic acid (18:2)	52.2
Linolenic acid (18:3)	7.1
Arachidic acid (20:0)	0.2
Behenic acid (22:0)	0.3
SFA	16.5
UFA	82.7

SFA : Saturated Fatty Acid

UFA : Unsaturated Fatty Acid

**Table 8. Fatty acid composition of phospholipid of soybean (%)**

Fatty acid	Soybean
Palmitic acid (16:0)	21.2
Stearic acid (18:0)	5.5
Oleic acid (18:1)	13.1
Linoleic acid (18:2)	54.3
Linolenic acid (18:3)	6.0

### 3) 아미노산 조성 및 함량

시료의 아미노산 조성 및 함량을 분석한 결과는 **Table 9**와 같다. 콩의 아미노산은 aspartic acid, serine, glutamic acid, glycine, histidine, threonine, arginine, alanine, proline, cysteine, tyrosine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine, phenylalanine으로 17종이 분석되었는데, 이 중 glutamic acid, aspartic acid 순으로 비교적 높은 것으로 나타났다. Aspartic acid는 164.9 mg/g protein의 함량을 나타냈으며, 곡류에는 제한 아미노산이나 콩의 주요 아미노산인 lysine 함량은 56.5 mg/g protein이었다. 콩에 가장 적게 함유되어 있는 아미노산은 methionine인 것으로 나타났고 다음으로는 cysteine, histidine 순으로 적게 나타났다.

**Table 9. Amino acid content of the soybean sample**  
(unit: mg/gprotein)

Amino acid	Soybean
Asp	103.1
Ser	28.0
Glu	155.9
Gly	37.2
His	22.2
Thr	26.0
Arg	57.4
Ala	38.2
Pro	42.2
Cys	5.7
Tyr	29.0
Val	43.8
Met	2.9
Lys	56.5
Ile	42.7
Leu	64.2
Phe	43.7
Total	798.6

#### 4) 원료 콩 종실, 자엽, 배축의 isoflavone 함량

콩에 존재하는 주요 isoflavone 함량은 품종 및 환경에 따라 다양하게 나타난다. 주요 isoflavone은 aglycone인 genistein, daidzein, glycitein과 그들의 포도당 결합 유도체들로 12가지 정도가 밝혀져 있다. HPLC를 이용하여 isoflavone을 분석하는 방법은 시료를 malonyl, acetyl 유도체화 시킬 필요 없이 직접 분석할 수 있는 편리함이 있어 본 실험에서는 Wang와 Murpy(1994)의 방법을 보완하여 분석하였다. Isoflavone은 식물성 에스트로겐으로 알려진 화합물로서 특히 곡류와 콩에 많이 함유되어 있다. 콩에 함유된 주요 isoflavone은 daidzin과 genistin인데, 이들은 대장 내 미생물에 의해 estrogen 구조 유사체인 daidzein과 genistein으로 전환되며, 콩의 씹쓸한 뒷맛에 관여하는 성분으로 이를 제거하기 위한 연구가 시도되어 왔으나 (Okubo et al., 1992), 콩의 식물성화합물(isoflavone)은 콩 자체의 기능성분들 때문에 특별한 관심이 있다.

콩 종실의 총 isoflavone 함량은 Table 10과 같이 729.6 mg/100g으로 품종간의 차이를 나타냈었고 대부분 glucosides 형태로 존재하였다. Anlin et al.(1995)은 녹색 종피의 콩들에서 isoflavone 함량이 낮고 검정색 종피의 콩이 isoflavone 함량이 높은 편이라고 보고하였고, 김석동(1996)은 노란콩이며 소립종에서 isoflavone 함량이 높은 것으로 보고하였다. 따라서 종피의 색과 무게보다는 동일한 품종이라도 재배 환경, 수확년도에 따라 다양하게 나타나는 것으로 유전적인 품종 특성이 크게 관여한다고 보여진다. 종실 전체 isoflavone 함량이 주로 6"-O-malonyl genistin, 6"-O-malonyl daidzin 및 6"-O-malonyl glycitein의 형태로 80% 이상을 차지하는데 acetyl화된 형태로는 미량 존재한다. 그러나 malonyl 유도체는 열에 불안정하여 쉽게 배당체로 전환이 일어난다. 이는 김성란, 김석동(1997)의 경우 같은 품종이라도 재배지역에 따라 즉 온도가 낮은 지방의 품종이 월등히 높은 함량분포를 나타냈다는 결과가 이를 뒷받침하고 있다. 그러므로 콩에서의 실질적인 isoflavone은 genistein, daidzin과 이들의 aglycone인 genistein, daidzein으로 볼 수 있다.

콩 종실을 whole soybean, 배축(hypocotyl), 및 자엽(cotyledon)으로 나누어 isoflavone 함량을 분석한 결과는 Table 10, 11과 12에 나타내었다. 배축의 isoflavone 함량이 자엽에 isoflavone 함량보다 높았다. 배축과 자엽에 존재하는



isoflavone은 다른 기작 및 다른 유전요인에 의하여 축적될 것이라는 보고 (Tsukamoto at al., 1995)와 같이, 배축의 경우 자엽보다 환경의 영향을 적게 받으면서 고농도로 isoflavone을 축적하는 기작이 존재하리라고 판단된다. 따라서 교배육종을 통해 배축에 isoflavone을 더욱 축적시켜 생리활성 물질로의 이용방안을 모색하고, 그 동안 콩 제품의 좋지 않은 뒷맛을 초래해 온 isoflavone 성분을 자엽에서 제거시켜 콩제품 가공시 배축과 자엽을 분리 이용하는 시도가 가능할 것으로 보인다(김성란과 김석동, 1996).

**Table 10. Isoflavone content of whole seeds in soybean** (unit : mg/100g)

Variety	Glucoside			Malonyl			Acetyl			Aglycon			Total isoflavones
	Din	Glin	Gin	Din	Glin	Gin	Din	Glin	Gin	Dein	Glein	Gein	
Soybean	33.4	12.0	43.3	174.1	20.1	233.8	14.3	4.9	nd	7.6	26	8.8	407.9

Abbreviations: Din, daidzin; Glin, glycitin; Gin, genistin; Gein, daidzin; Glein, glycitein; Gein, genistein; tr, trace; nd, no detected.

**Table 11. Isoflavone content of hypocotyl** (unit : mg/100g)

Variety	Glucoside			Malonyl			Acetyl			Aglycon			Total isoflavones
	Din	Glin	Gin	Din	Glin	Gin	Din	Glin	Gin	Dein	Glein	Gein	
Soybean	425.5	441.4	111.9	1351.1	532.1	377.8	25.1	28.9	tr	74.8	57.7	26.2	3453.3

Abbreviations: Din, daidzin; Glin, glycitin; Gin, genistin; Gein, daidzin; Glein, glycitein; Gein, genistein; tr, trace; nd, no detected.

**Table 12. Isoflavone content of cotyledon**

(unit : mg/100g)

Variety	Glucoside			Malonyl			Acetyl			Aglycon			Total isoflavones
	Din	Glin	Gin	Din	Glin	Gin	Din	Glin	Gin	Dein	Glein	Gein	
Soybean	42.4	nd	67.8	115.8	4.9	211.6	16.3	nd	nd	9.2	2.3	12.2	482.5

Abbreviations: Din, daidzin; Glin, glycitin; Gin, genistin; Gein, daidzin; Glein, glycitein; Gein, genistein; tr, trace; nd, no detected.

Isoflavone의 함량은 hypocotyl에서 월등히 높게 나타났다. 또한 12개의 isoflavone isomers 가운데 malony type이 acetyl type과 aglycone type에 비하여 높게 분포하였음을 확인하였다. 대두를 이용하여 두부 및 두유를 제조할 경우 콩의 마세 등의 과정 중에 isoflavone 성분의 유출이 일어난다. 따라서 최종 제품의 isoflavone 함량을 조사한 결과를 **Table 13**에 나타내었다.

**Table 13. Isoflavone content of soybean products**

Product	Isoflavone (mg/100g)		
	glycosides	aglycones	total
tofu	43.2	1.2	44.4
soymilk	65.5	2.3	67.8

#### 5) 올리고당 함량

시료의 올리고당 함량은 HPLC를 이용하여 분석하였으며, 올리고당은 sucrose, raffinose, stachyose의 함량은 측정하였고 그 결과는 Table 14에 나타내었다.

올리고당은 설탕에 비해 감미도가 70%이하이며, 충치예방 또는 발생을 완화시키며, 장내세균 중 유익하다고 알려진 비피더스균을 증식시키며, 변비 등을 완화시키는 동시에 장내 부패산물의 생성을 억제하는 등의 장점을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 성숙한 종실에 함유된 가용성 당의 주요 성분은 sucrose, raffinose, stachyose 등이 있다. Raffinose, stachyose는 콩 뿐만 아니라 식물에 광범위하게 분포되어 있으며, 특히 legume에 다량 함유되어 있다. 콩 중에는 stachyose가 약 4%, raffinose가 약 1%, sucrose가 약 5% 존재한다고 보고하였다(Kennedy, 1985). 본 실험에 사용한 시료의 총 올리고당 함량은 10.3%로 나타났다.

**Table 14. Content of oligosaccharides of the soybean** (unit : % w/w)

Variety	Sucrose	Raffinose	Stachyose	Total
Soybean	5.1	1.3	3.9	10.3

#### 6) 원료 콩 종실, 자엽, 배축의 phytic acid 함량

본 실험에서 사용한 실험 방법의 phytic acid 회수율을 조사한 결과 평균 102.7%에 해당하였다. 대두의 부위별(cotyledon, hypocotyl) phytic acid 함량 분석 결과는 Table 15과 같다. 종실 전체의 phytic acid 함량은 2.17%이었다. 대두의 phytic acid에 대하여 Latta 등(1980)은 1.8%의 phytic acid가 함유되어 있다고 보고하였고, 국내 연구는 대부분이 phytic acid를 제거하는 실험이 많은 부분을 차지하고 최근에 와서 phytic acid 함량 분석 실험이 이루어지고 있다. 국내 대두에서 1.35~2.67%의 범위로 분포한다고 보고하여 본 실험과 비슷한 결과를 보였다.

**Table 15. Content of phytic acid in soybean (%)**

variety	hypocotyl	cotyledon	whole seed
soybean	0.99	2.35	2.17

## 7) Saponin 함량

콩 saponin은 group A, group B, group E등 세 group으로 구분되는데 본 실험에서 는 saponin 함량을 group A와 group B에 대해 HPLC로 분석하여 그 결과를 **Table 16, 17**에 나타내었다. 배축과 자엽에서 본 saponin는 자엽보다는 배축에 많은 양이 있음을 볼 수 있었다. 배축의 총 saponin 함량은 55.96 mg으로 나타났다.

**Table 16. Content of saponin in hypocotyl of soybean**

(unit : mg/100mL)

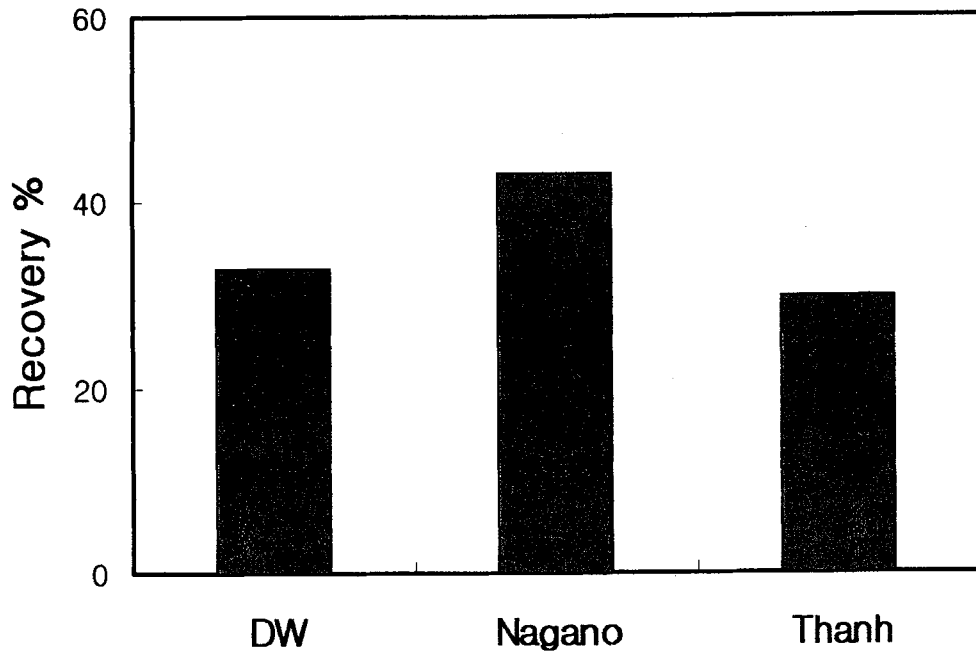
	Sapogenol A	Sapogenol B	Total
Soybean	38.99±2.48	16.96±1.29	55.96±1.19

**Table 17. Content of saponin in cotyledon of soybean**

(unit : mg/100mL)

	Sapogenol A	Sapogenol B	Total
Soybean	0.54±0.08	0.27±0.04	0.82±0.12

## 2. 추출 방법에 따른 11S protein의 회수율



**Fig. 4.** Recovery of 11S according to different isolation methods. Full fat soybean flour was used as the protein source. Recovery percentage is defined as (recovered 11S / total 11S) x 100.

### 1) 11S protein의 추출 방법 비교

대두로부터 11S protein을 추출하는데 있어 주로 사용되는 방법은 Thanh method, Nagano method, aqueous extraction method 등 3가지이다. 각 방법의 추출 수율을 살펴본 결과를 **Fig. 4**에 나타내었다. Thanh method과 증류수를 이용한 추출 방법은

(aqueous extraction method) 단백질 수율이 28-32%로 비교적 낮게 나타났으나 Nagano method은 수율이 43% 정도로 비교적 높게 나타났다. Defatted soy flour를 이용하여 11S 단백질을 추출할 경우 full fat soy flour를 이용할

경우와 같이 유사한 경향을 나타냈으나, 수율은 모든 방법에 있어 전반적으로 10-15% 가량 높게 나타났다 (Fig. 5). 따라서 aqueous extraction method은 기타 방법에 비하여 간편하며, 경제적이며, 수율적인 측면에서도 기타 방법과 비교하여 크게 낮지 아니하므로, 이 방법이 11S protein의 추출에 이용되었다.

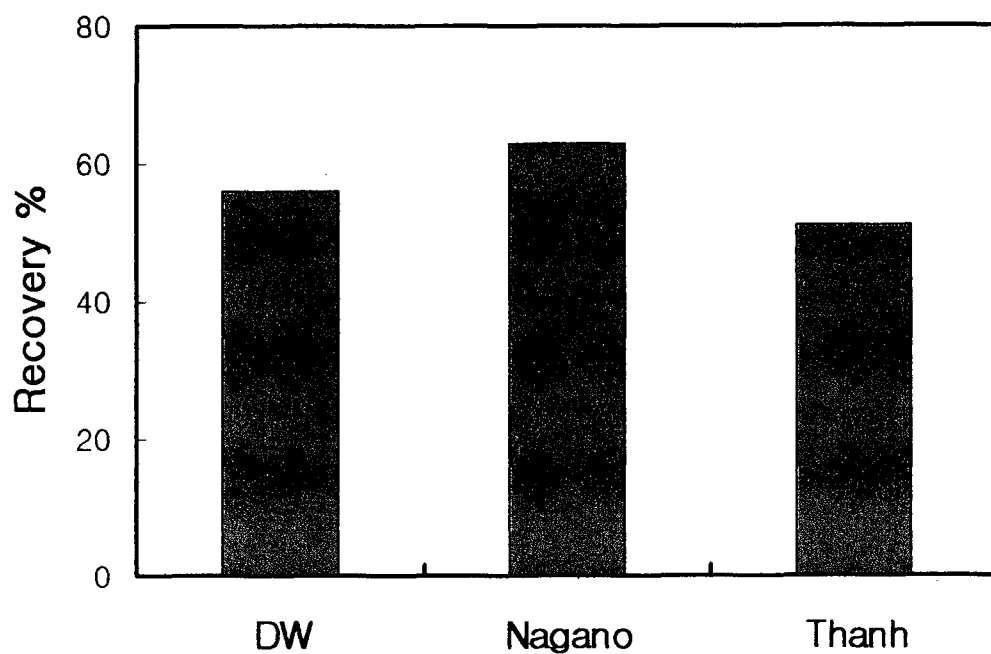
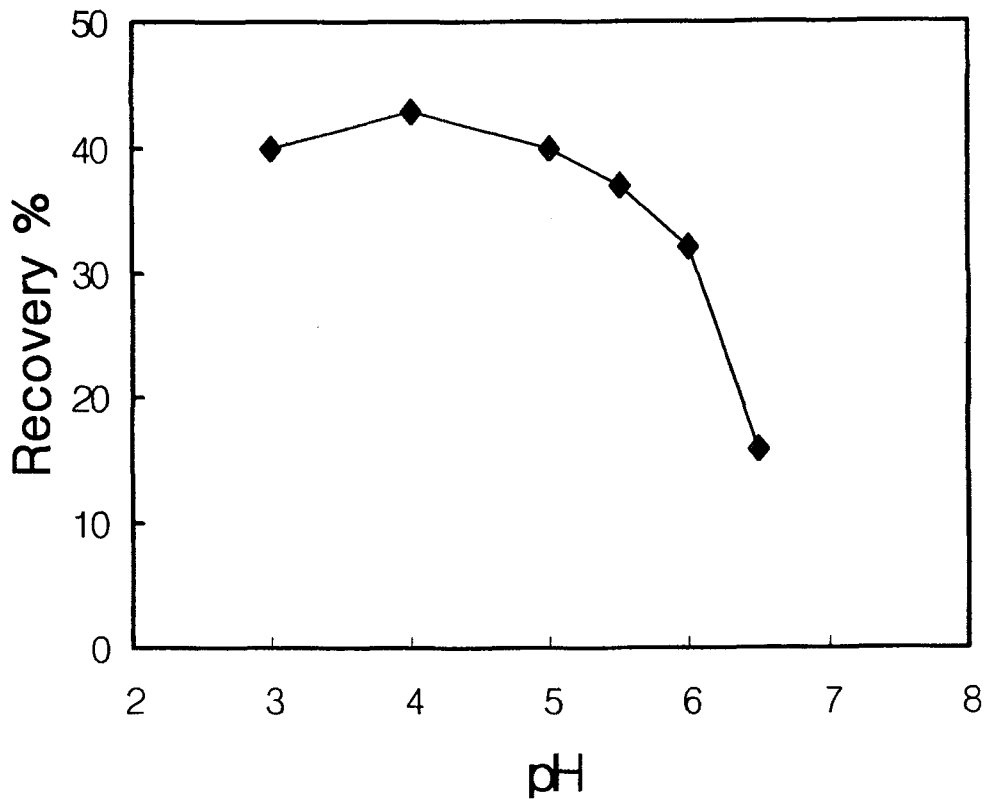


Fig. 5. Recovery of 11S according to different isolation methods. Defatted soybean flour was used as the protein source. Recovery percentage is defined as  $(\text{recovered 11S} / \text{total 11S}) \times 100$ .



**Fig. 6.** Recovery of protein from full fat soy flour according to precipitation pH

2) pH가 11S protein 추출에 미치는 영향

Precipitation pH에 따른 대두단백질의 수율은 pH 3.5-4.5에서 가장 높게 나타났으나 (Fig. 6) pH 5.5 이하에서는 11S protein 이외에도 7S 등 contaminant의 침전량이 증가하므로 회수된 단백질에서 11S protein의 순도는 감소하게 된다. 따라서 11S protein으로 구성된 두부를 제조하기 위해서는 precipitation pH를 6.4로 유지하여야 하며 이때 단백질의 yield는 15%에 해당한다. Defatted soy flour를 원료로 하여 추출할 경우 pH 6.4에서 11S protein의 수율은 42%로 급격히 증가하였다. 이는 defatted soy flour의 경우 full fat soy flour와 달리 지방에 의한 단백질의 추출이 영향을 받지 않기 때문인 것으로 사료된다 (Fig. 7).

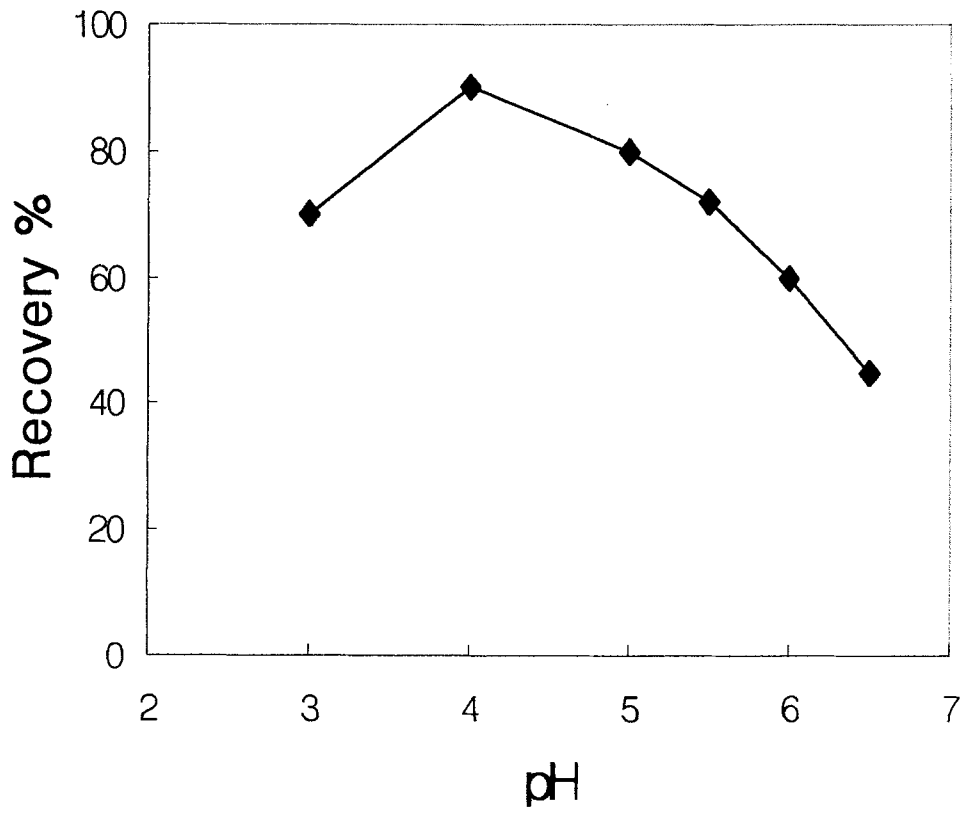


Fig. 7. Recovery of protein from defatted soy flour according to precipitation pH



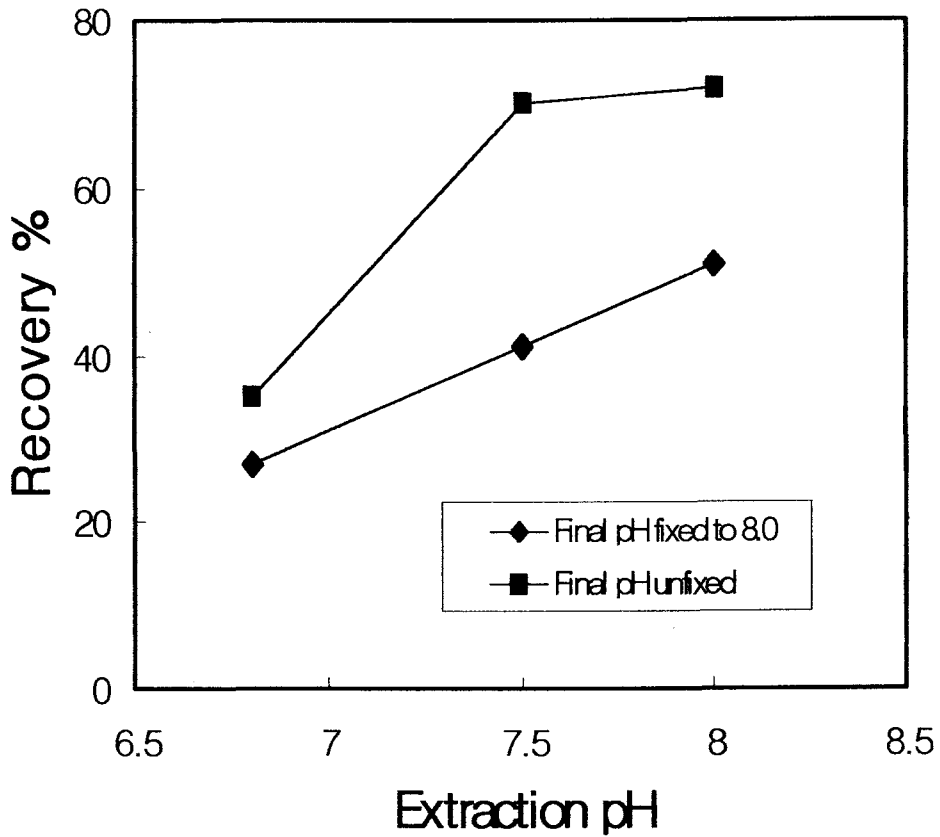


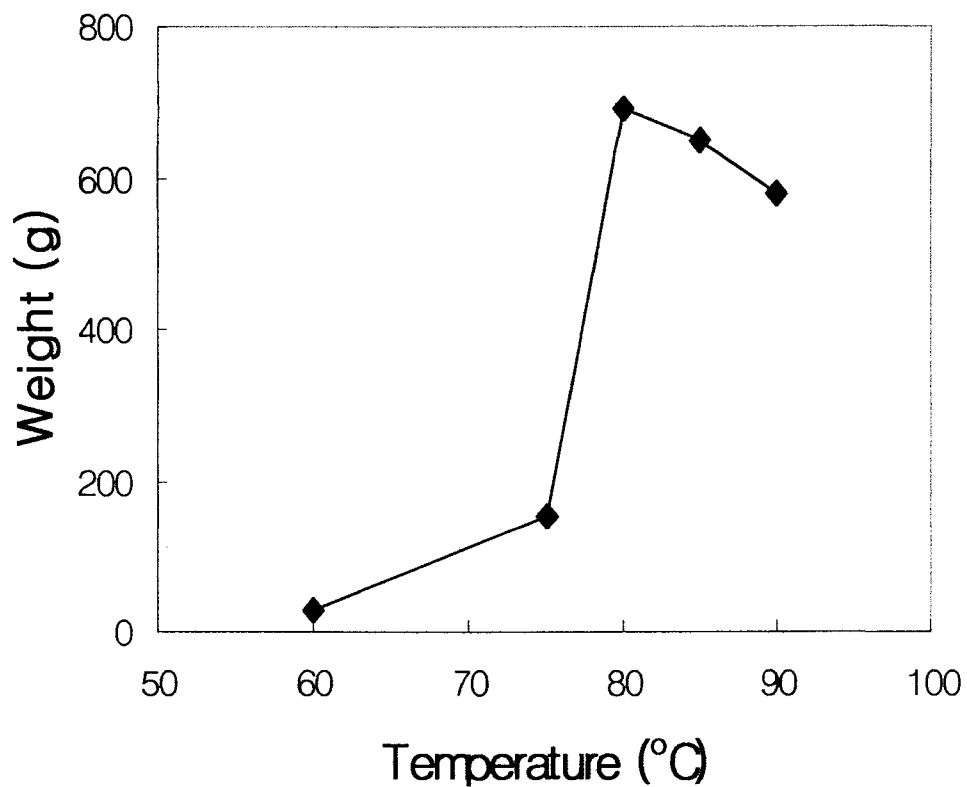
Fig. 8. Extraction yield of protein from defatted soy flour, at different extraction pH, with and without adjusting pH of the final 11S solution to 8.0.

pH 6.4에서 precipitate된 단백질에 증류수를 넣고 단백질을 용해시키기 위하여 NaOH를 첨가하여 단백질 용액의 pH를 8.0로 조정하는 경우와 NaOH를 넣지 않은 경우를 비교하였다. 결과에서와 같이 단백질 용액의 pH를 약염기로 만든 경우에 있어 11S의 수율이 높게 나타났다 (Fig. 8). 따라서 11S protein의 효과적인 추출을 위하여서 raw material로 defatted soy flour를 사용하였고, 11S protein의 selective precipitation을 위하여 추출액의 pH를 6.4로 조정하였으며, final protein solution의 pH를 8.0으로 adjust하여 시료를 준비하였다.

### 3. 두부 제조에 영향을 미치는 인자

#### 1) 두미의 가열 온도가 두부수율에 미치는 영향

본 실험을 통하여 두미단백질을 80℃ 이상에서 변성시키는 과정이 두부단백질의 응고에 필수적인 것으로 판단된다. 90℃, 85℃, 및 80℃에서 가열처리된 두미단백질은 응고제 첨가에 의해 aggregate되었으나 75℃ 이하에서 가열된 두미단백질은 aggregation 현상을 보이지 않았다 (Fig. 9). 이때 생성된 두부의 수분 함량 변화와 rheological properties는 Fig. 10 및 Table 18과 같다. 따라서 두부를 제조하기 위하여서는 두미를 85℃에서 가열하여 대두단백질의 열변성을 일으키는 과정이 대두단백질의 aggregation에 필요한 pretreatment로 나타났다. 이와 같은 방법에 의해 생성된 두부는 수분 함유량이 높아 부드러운 texture를 갖게 된다.



**Fig. 9.** Effects of heating temperature of protein extract for 20 min on weight of tofu formulated.

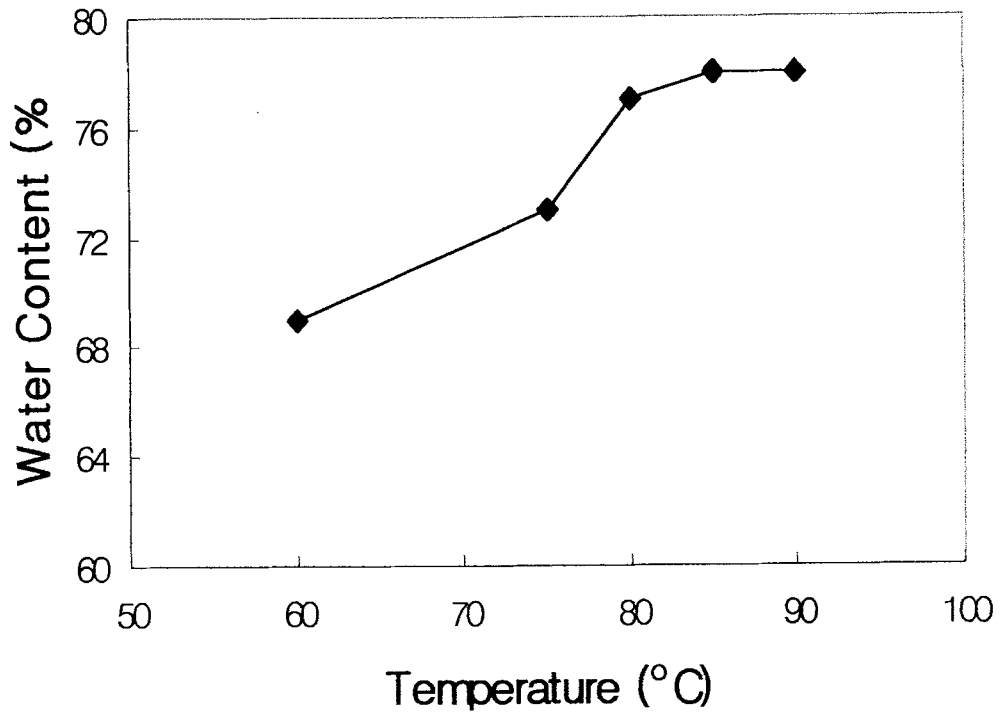


Fig. 10. Effects of heating temperature of protein extract for 20 min on water content of tofu formulated

Table 18. Physicochemical properties of tofu formulated

	두부 (80℃)	두부 (85℃)	두부 (90℃)
Hardness (Dyne/cm <sup>2</sup> )	429134.43	560694.57	512011.22
Adhesivness (%)	-105	-106	-73
Cosiveness (%)	9.706	16.322	15.875
Sprigness (%)	13.18	36.36	25.88
Gumminess (g)	107.89	176.26	100.63
Brittleness (g)	6.99	59.75	25.55

Fig. 11은 85℃에서 가열 시간에 따른 두부의 생성량을 조사한 결과이다. Maximum quantity를 얻기 위하여서는 두미를 5-12분가량 가열하는 것이 prerequisite하였다. 한편 두미의 가열 시간이 5분 이하일 경우 대두단백질의 변성이 충분히 일어나지 않아 응고제를 첨가하여도 단백질의 aggregation이 발생하지 않는 것으로 나타났다.

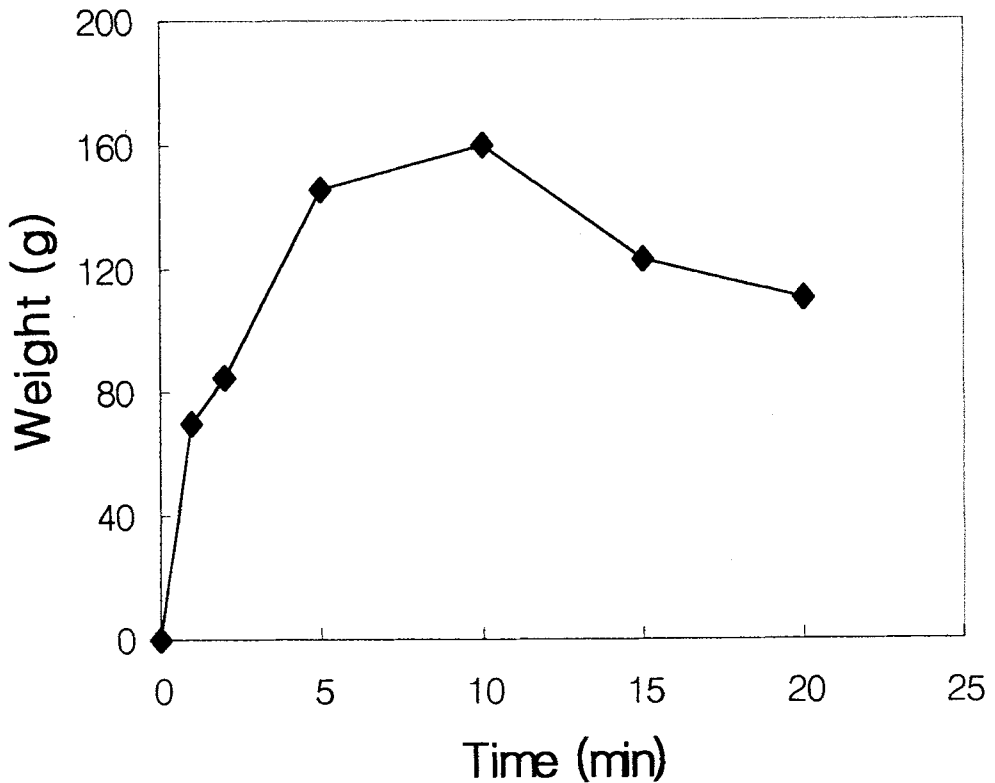
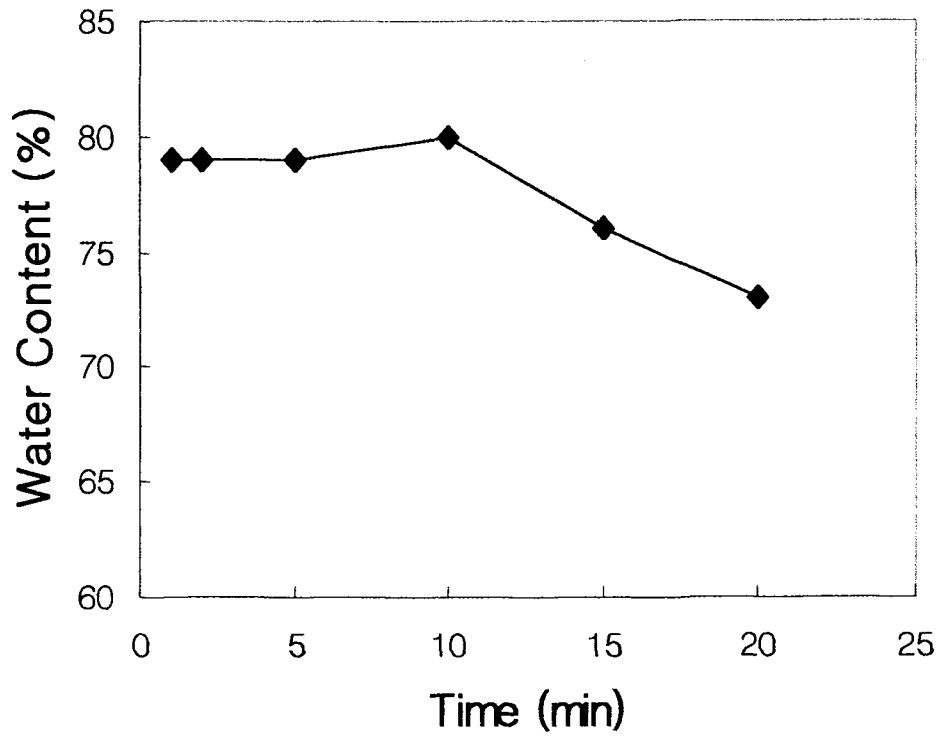


Fig. 11. Effects of heating time of protein extract at 85°C on weight of tofu formulated

Fig. 12는 이때 생성된 두부의 water content를 나타내고 있다. 두부의 가열이 1-10분 사이일 경우 생성된 두부의 water content는 약 80% 정도였으나 가열 시간이 10분을 초과할 경우 대두 단백질의 overheating에 의해 단백질의 보수력이 떨어져 두부의 water content가 낮게 되었다. 이는 단백질 subunit 사이에 형성되는 disulfide bond 와 hydrophobic interaction이 단백질과 water molecule 사이의 hydrogen bonding을 저해하기 때문인 것으로 판단된다.



**Fig. 12.** Effects of heating time of protein extract at 85°C on water content of tofu formulated

2) GDL의 첨가량이 두부 제조에 미치는 영향

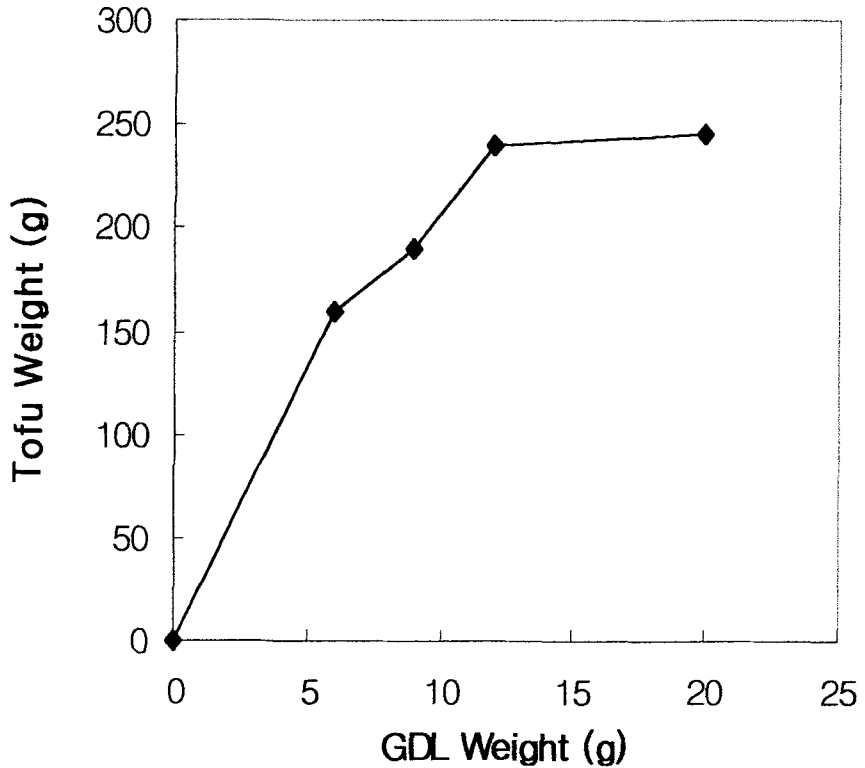
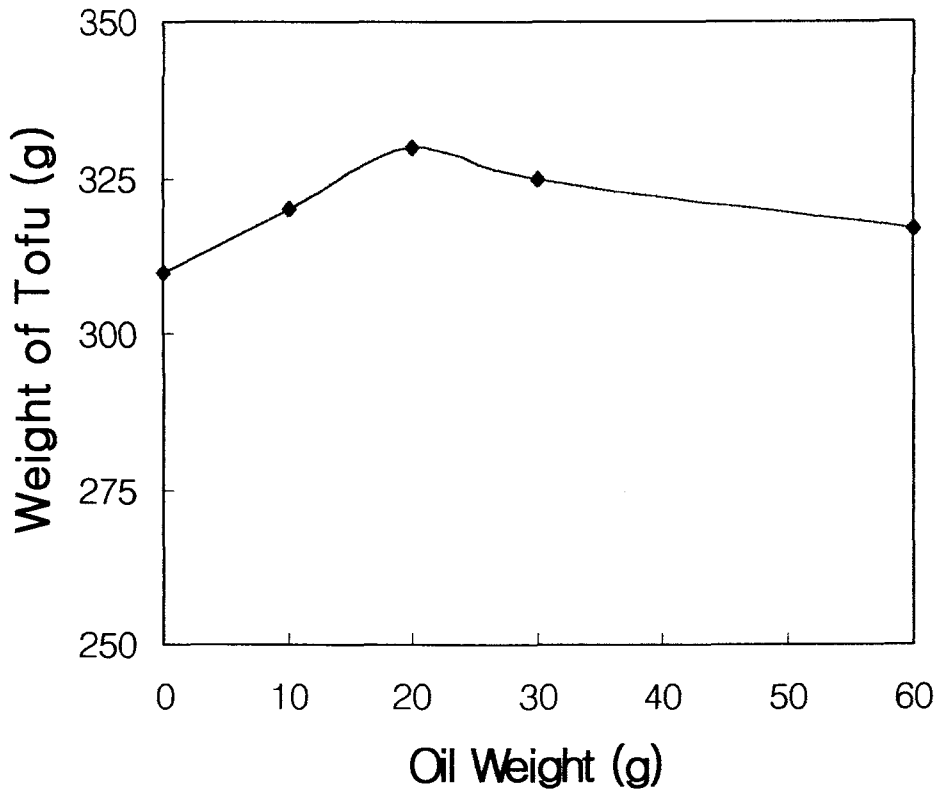


Fig. 13. Effect of GDL added on tofu weight (defatted soy flour formulation)

GDL의 첨가량과 두부의 formation 사이의 관련성을 조사하였다. GDL의 첨가량이 증가함에 따라 제조된 두부의 무게는 비례하게 증가하였으나 12 g 이후부터는 생성된 두부의 양은 일정한 수준을 유지하였다 (Fig. 13). GDL은 높은 온도에서 gluconic acid로 분해되어 대두단백질을 isoelectric point precipitation에 의한 응고를 유발하는 것으로 알려졌다. GDL의 양이 10 g 이하일 경우 acid의 생성이 충분하지 않아 두부의 생성이 저해되는 것으로 판단된다.





**Fig. 14.** Weight of tofu formed according to weight of oil added to protein solution 60g/1700mL (deffated soy flour 이용)

식용유 첨가량 변화에 따른 제조된 두부의 무게를 살펴보면 식용유 20 g에서 가장 많은 양의 두부가 생성되었다 (**Fig. 14**). 두부의 주 성분은 수분 이외에 단백질과 지방질 이므로 두부의 제조에는 단백질 이외에 지방질이 필요하다. 두부 조직에 있어 지방질은 protein matrix 사이에 위치하고 있는 것으로 생각되며, 지방질은 두부의 관능 및 texture를 향상시키는데 중요한 역할을 한다. 첨가된 지방질의 양이 20 g 이상일 경우 두부의 생성은 오히려 저해되는 양상을 보였다.

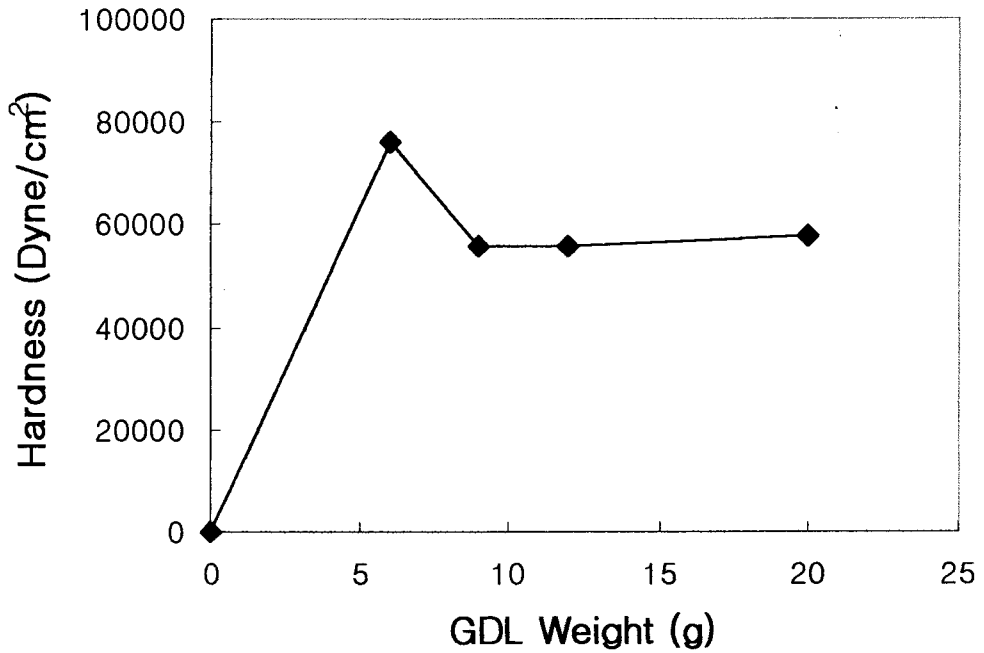


Fig. 15. Effect of GDL weight on hardness of tofu

두부의 hardness는 GDL의 첨가량에 의해 영향을 받는다. GDL의 무게가 5 g일 때 가장 단단한 두부가 만들어 졌으며 이때 (Fig. 15) 두부의 hardness는 80,000 dyne/cm<sup>2</sup> 이었다. 그 이상의 GDL을 첨가하면 두부의 hardness는 80,000 dyne/cm<sup>2</sup> 에서 60,000dyne/cm<sup>2</sup>으로 떨어지게 되었으나 추가적인 GDL의 첨가에 의하여서도 두부의 hardness는 일정한 수준을 유지하는 양상을 보였다.

**Table 19.** Colorimeter characteristics of tofu made with soybean flour with oil supplementation

	두 부 (0g)	두 부 (10g)	두 부 (20g)	두 부 (30g)	두 부 (60g)
<b>L</b>	73.68	74.50	75.45	75.11	75.33
<b>a</b>	9.02	8.86	8.99	9.77	9.34
<b>b</b>	9.34	8.34	10.13	11.05	9.61

첨가된 응고제의 함량이 증가함에 따라 두부의 whiteness는 증가하였다(Table19).

**Table 20.** Rheometer characteristics of tofu made with soybean flour with oil supplementation

	두 부 (0g)	두 부 (10g)	두 부 (20g)	두 부 (30g)	두 부 (60g)
<b>Hardness (Dyne/cm<sup>2</sup>)</b>	50767.46	70562.03	74032.54	57436.83	48672.06
<b>Adhesiveness (g)</b>	-2	-1	-1	-1	-1
<b>Cohesiveness (%)</b>	17.79	14.49	15.38	11.37	10.27
<b>Springiness (%)</b>	32.45	54.01	47.73	38.43	37.35
<b>Gumminess (g)</b>	32.55	37.26	35.67	29.55	33.21
<b>Brittleness (g)</b>	18.68	27.65	29.92	12.47	13.54

지방 성분의 첨가에 따른 두부의 rheological characteristics를 Table 20에 나타내었다. 지방의 첨가량이 10-20 g일 때 가장 단단한 두부가 제조되었다. 두미에 그 이상의 지방을 첨가할 경우 생성된 두부는 usen부와 유사한 경도를 보였다.

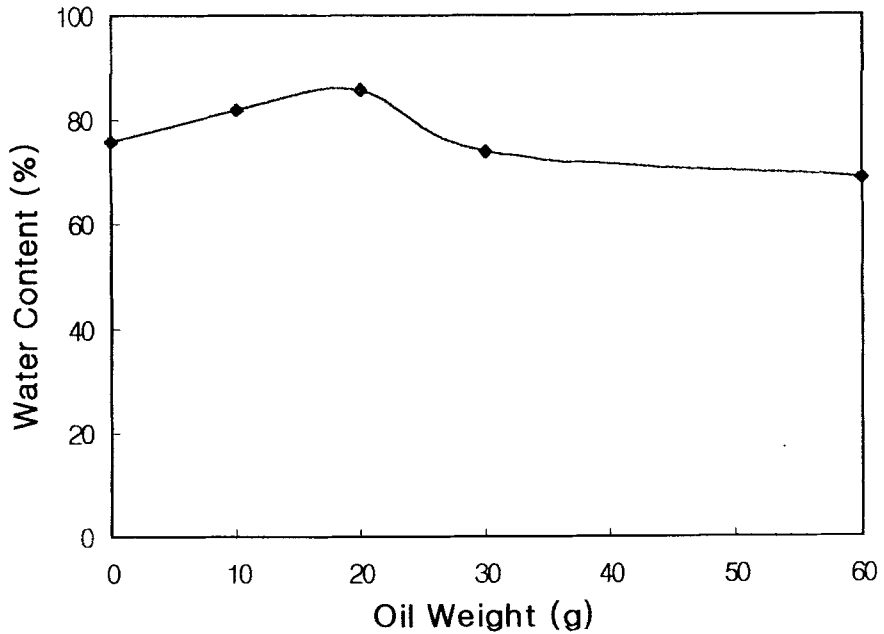
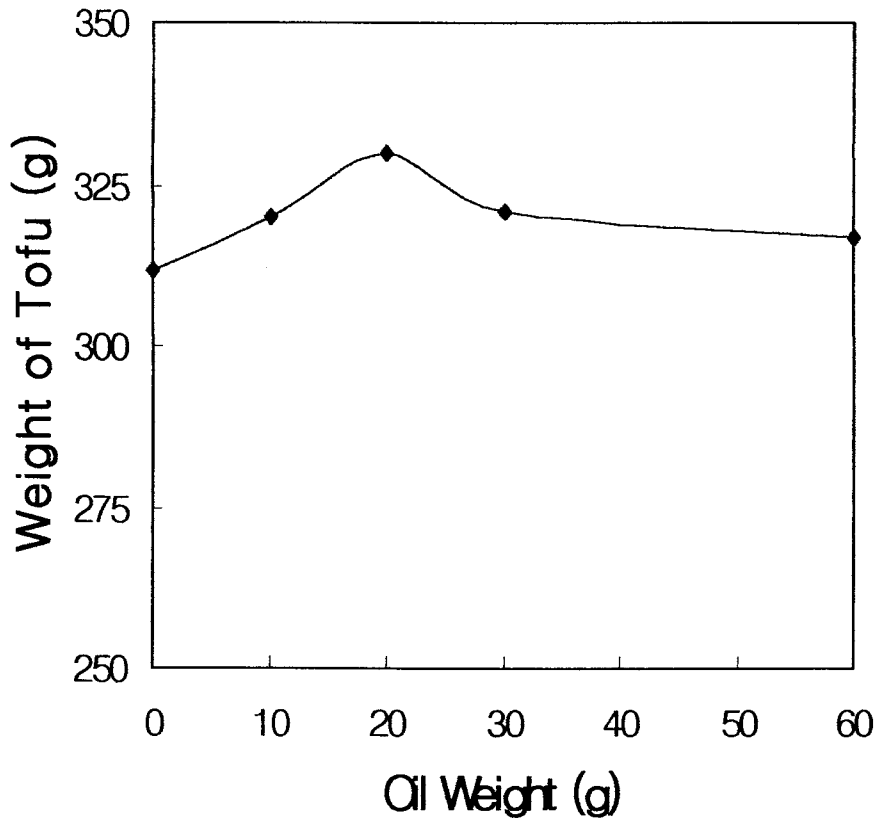


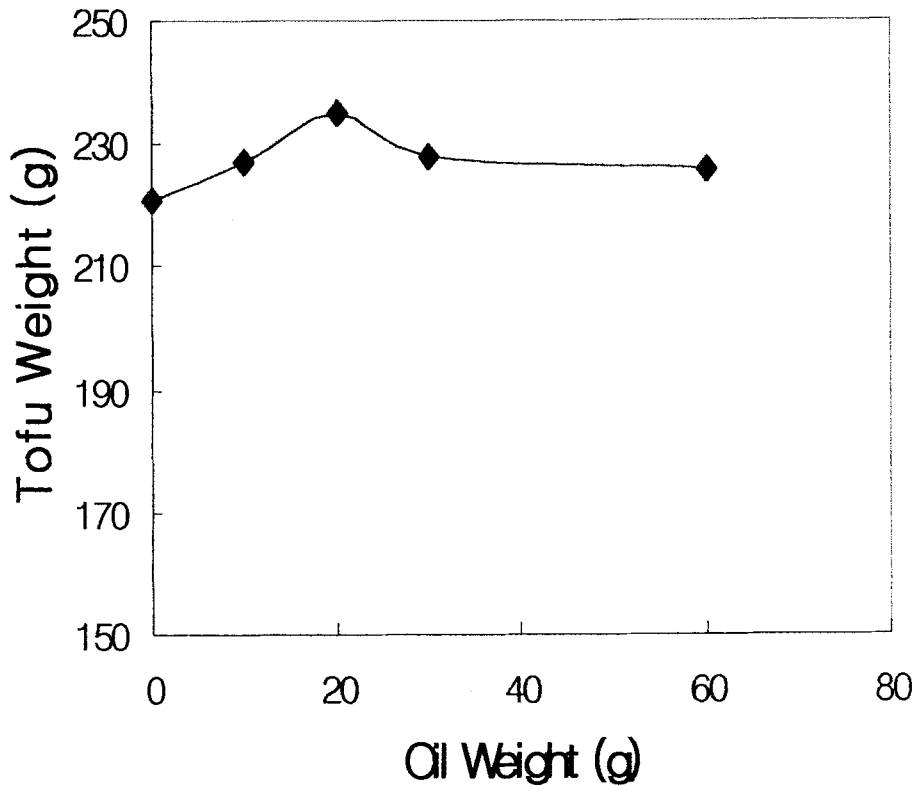
Fig. 16. Water content of tofu according to weight of oil added during formulation process 60g/1700mL

Defatted soy flour를 이용하여 제조된 두부의 경우 첨가된 식용유의 량이 20 g에서 가장 높은 수분함량을 보였다 (Fig. 16). 그 이상의 식용유를 첨가하여 제조된 두부에서는 water content가 감소하는데 이는 높은 함량의 지방이 두부조직과 물 분자 사이의 결합을 방해하기 때문에 나타나는 현상으로 판단된다. 따라서 quality가 우수한 두부의 제조에 있어서는 대두 원료의 단백질 함량뿐만 아니라 지방질의 함량이 중요한 인자임을 나타내고 있다.



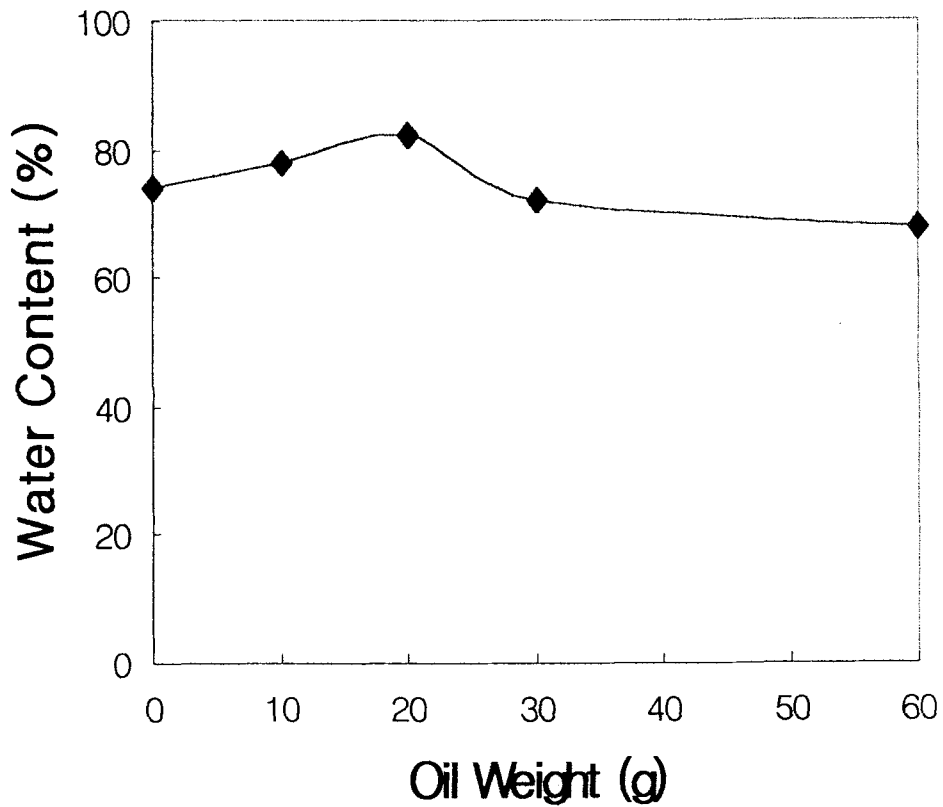
**Fig. 17.** Amount of tofu formed according to weight of oil added to defatted soy flour solution with protein concentration of 3.5%, 1700 mL.

탈지대두분을 이용하여 두부를 제조할 경우 지방성분의 부족으로 딱딱한 단백질 응고물이 만들어진다. 따라서 일반적인 물리화학적 특성을 가진 두부를 제조하기 위해서는 단백질 추출액에 두부 응고제를 첨가하기 전에 지방성분을 인위적으로 첨가하여야 한다. **Fig. 17**에서는 지방 첨가량에 따른 제조된 두부의 양을 살펴본 결과이다. 지방질을 20 g 첨가하였을 때 가장 많은 양의 두부가 제조되었다.



**Fig. 18.** Weight of tofu formed according to weight of oil added to 11S protein solution 60g/1700mL

11S 단백질을 이용한 두부의 제조 경우에도 지방질을 20 g 첨가하였을 때 가장 많은 양의 두부가 제조되었다 (Fig. 18).



**Fig. 19.** Water content of tofu according to weight of oil added during formulation process 60g/1700mL 11S solution.

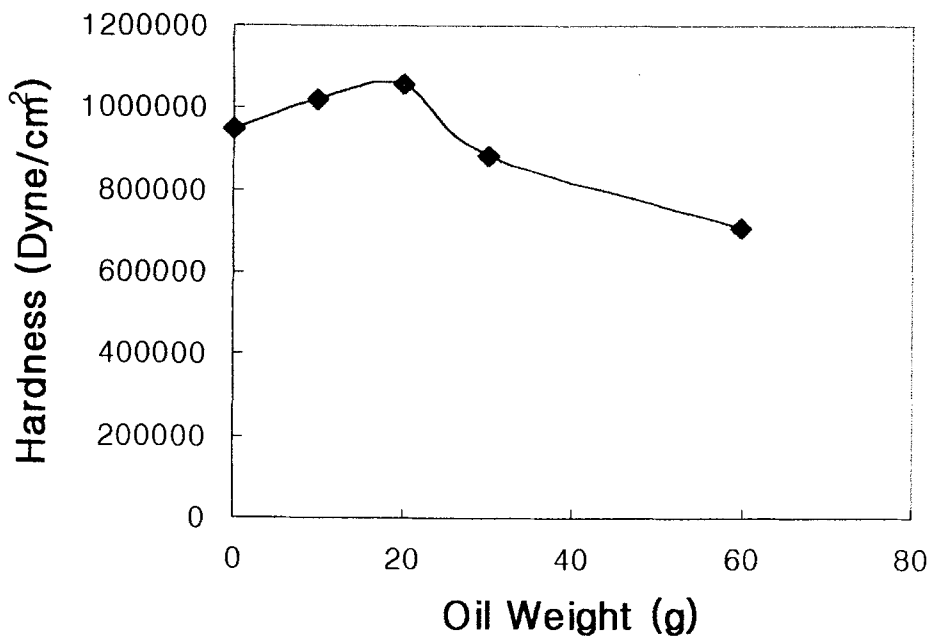
11S 단백질을 이용한 두부의 제조 경우에도 지방질을 20 g 첨가하였을 때 가장 높은 수분함량을 보였다 (**Fig. 19**).

**Table 21.** Colometer characteristics of tofu made with 11S extracted protein with oil supplementation

	두 부 (0g)	두 부 (10g)	두 부 (20g)	두 부 (30g)	두 부 (60g)
<b>L</b>	80.26	81.26	81.25	80.74	80.33
<b>a</b>	6.04	5.08	5.77	6.00	10.49
<b>b</b>	11.04	10.24	9.52	10.11	7.96

11S protein을 원료로 하여 만들어진 두부에 있어서도 soy flour tofu나 soybean tofu와 같은 결과를 보였다.





**Fig. 20.** Rheometer characteristics of tofu made with 11S protein with oil supplementation.

11S 단백질을 이용하여 만든 두부의 경우 첨가한 지방질에 따라 두부의 rheological properties에 차이가 있는 것으로 나타났다. 지방질의 무게가 20 g일 때 가장 높은 hardness를 보였다 (**Fig. 20**). 그 이상의 oil을 첨가하여 제조된 두부는 hardness가 감소하는 것으로 나타났다. 이는 높은 함량의 oil이 단백질 사이의 interaction을 저해하므로 나타나는 현상인 것으로 사료된다.

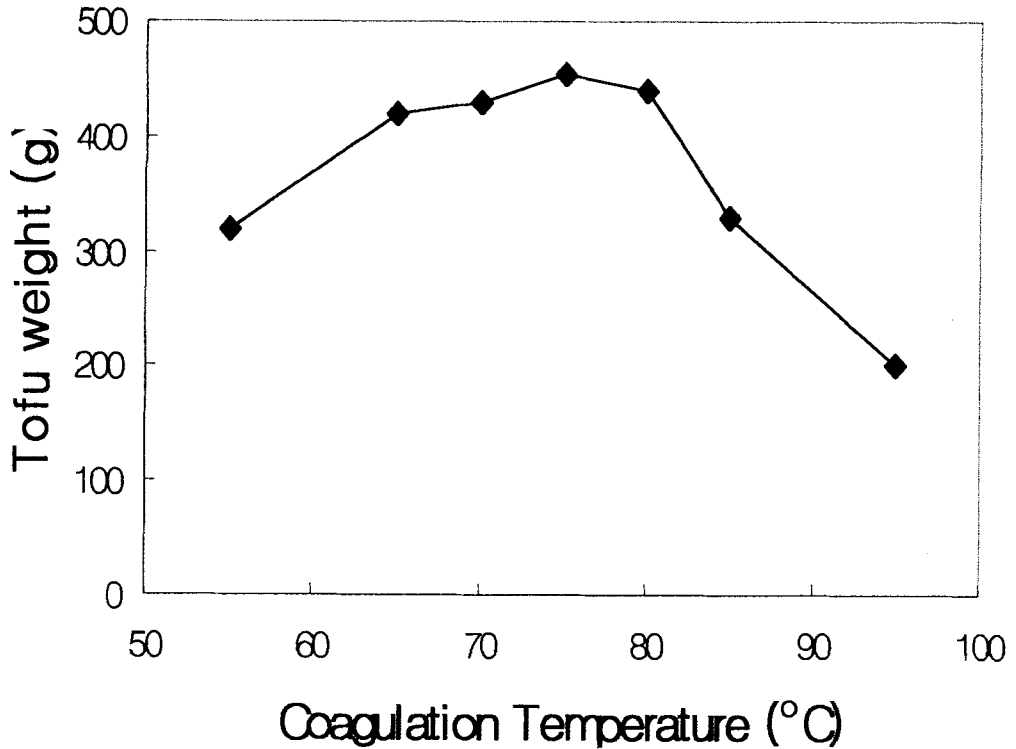
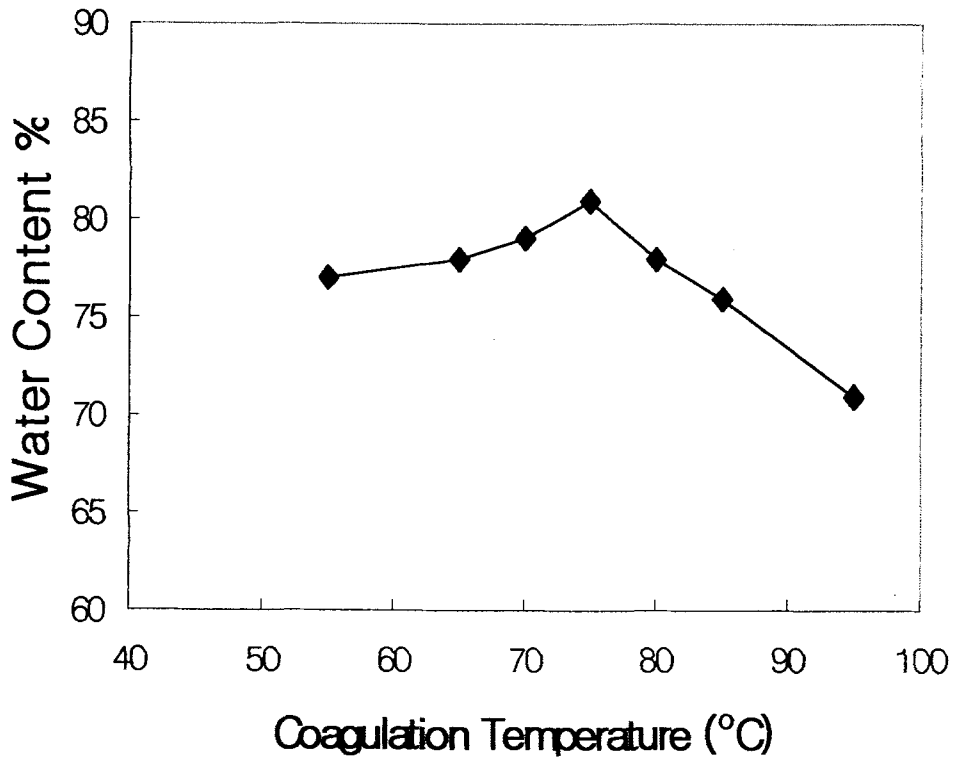


Fig. 21. GDL 첨가 온도에 따른 생성된 두부의 무게 (95 ℃에서 20분간 유지 후 각 온도에서 gdl 첨가)

콩단백질의 응고에 영향을 미치는 인자로서는 단백질의 변성 정도, 응고제 첨가 온도 및 응고제의 양 등이 있다. Defatted soy flour를 이용하여 제조한 두부의 경우 앞서 실험한 결과에 따라 지방질 및 GDL의 무게가 각각 20 g 및 12 g에서 가장 많은 두부가 제조되었음을 확인하였다 (Fig. 21). 이때 응고제의 첨가 온도는 70-80 ℃가 가장 적당하였다. 한편 대두단백질이 응고되기 위하여서는 단백질이 미리 열 변성이 되어야 하므로 본 실험을 위하여서 GDL을 첨가하기 앞서서 단백질을 95 ℃에서 20분간 denaturation 시켰다.



**Fig. 22.** GDL 첨가 온도에 따른 생성된 두부의 수분함량 변화 (95 ℃에서 20분간 유지 후 각 온도에서 gdl 첨가)

응고제 첨가 온도에 따른 두부의 수분함량 변화를 살펴본 결과 80 ℃에서 가장 높은 함수율을 보였다 (Fig. 22). Coagulation temperature가 낮을 경우 단백질 사이의 interaction이 충분하지 않아 3차원적인 그물 구조의 생성이 저조하여 물의 entrapping이 제대로 형성되지 않을 것으로 판단되며, 아울러 너무 높은 가열 온도에서는 과도한 protein aggregation에 의해 protein molecules와 water molecules 사이에 bonding 저해되어 이와 같은 현상이 나타나는 것으로 사료된다.

#### 4. 두부의 이화학적 특성 측정

제조된 두부의 수분함량, ash 함량 및 단백질 함량을 Table 22 과 Table 23에 나타내었다.

Table 22. Water and ash content of tofu<sup>1)</sup>

Variety	Water (%)	Ash (%)
<i>General tofu</i> <sup>2)</sup>	73.52 <sup>b</sup>	0.32 <sup>d</sup>
<i>Huktae tofu</i>	75.66 <sup>a</sup>	0.34 <sup>d</sup>
<i>Germ tofu</i>	68.07 <sup>d</sup>	0.45 <sup>c</sup>
<i>11S tofu</i>	57.92 <sup>f</sup>	0.12 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup>Means of three replications. Same letters in a column are not significantly different each other ( $p < 0.05$ ). <sup>2)</sup> coagulants: General tofu, GDL; Huktae tofu, herb extracts; Germ tofu, GDL; 11S tofu, GDL

Table 23. Protein content of tofu<sup>1)</sup>

Variety	Protein (%)
<i>General tofu</i> <sup>2)</sup>	45.44 <sup>bc</sup>
<i>Huktae tofu</i>	54.89 <sup>b</sup>
<i>Germ tofu</i>	53.82 <sup>bc</sup>
<i>11S tofu</i>	45.15 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Means of three replications. Same letters in a column are not significantly different each other ( $p < 0.05$ ). <sup>2)</sup> Coagulants: General tofu, GDL; Huktae tofu, herb extracts; Germ tofu, GDL; 11S tofu, GDL

### 3) 두부의 색도

두부의 색도를 비교 측정된 결과는 **Table 24**에 나타내었다. 두부의 a값도 4.20~4.42로 비슷하게 평가되었다. 색의 노란 정도를 나타내는 b값은 10.36~10.59로 평가되며 유의적인 차이를 보였다. 흑태두부는 콩 자체의 색이 어둡기 때문에 63.37로 유의적이 차이를 보이며 어둡게 평가되었다. 일반두부의 a값은 유의적인 차이를 보이며 -0.78로 가장 낮게 평가되었다. b값은 배아두부가 13.55로 가장 높게 평가되었고 모든 두부가 유의적인 차이를 보이며 흑태두부가 7.73과 4.57로 가장 낮게 평가되었다.

**Table 24.** Colormeter characteristics of tofu<sup>1)</sup>

Variety	L <sup>2)</sup>	a	b
<i>General tofu</i> <sup>3)</sup>	77.51 <sup>c</sup>	-0.78 <sup>f</sup>	12.72 <sup>b</sup>
<i>Huktae tofu</i>	63.37 <sup>f</sup>	9.10 <sup>b</sup>	7.73 <sup>g</sup>
<i>Germ tofu</i>	79.53 <sup>b</sup>	2.55 <sup>d</sup>	13.55 <sup>a</sup>
<i>11S tofu</i>	82.13 <sup>a</sup>	2.76 <sup>d</sup>	9.55 <sup>f</sup>

<sup>1)</sup>Means of three replications. Same letters in a column are not significantly different each other (p<0.05)

<sup>2)</sup>L, Light scale (100 = pure white, 0 = black); a, redness (+100 = red, -80 = green); b, yellowness (+70 = yellow, -70 = blue)

<sup>3)</sup>coagulants: General tofu, GDL; Huktae tofu, herb extracts; Germ tofu, GDL; 11S tofu, GDL

#### 4) 두부의 조직감

두부의 조직감을 비교 측정한 결과는 **Table 25**에 나타내었다. 일반두부, 흑태두부, germ 두부 및 11S 두부의 조직감을 비교 측정한 결과에서 볼 수 있듯이 부착성은 흑태두부 및 배아두부를 제외하고는 유의적인 차이를 보이지 않았고 배아두부가 -289 g으로 가장 약하게 평가되었다. 견고성과 부착성을 제외한 특성에서는 모든 두부가 유의적인 차이를 보였다. Lu et al(1980)은 두부조직은 부드러워야 바람직하다고 하였고 김태영(1994)은 두부의 기호성이 높기 위해서는 견고성이 낮고 부착성이 어느 정도 유지되어야 한다고 하였다.

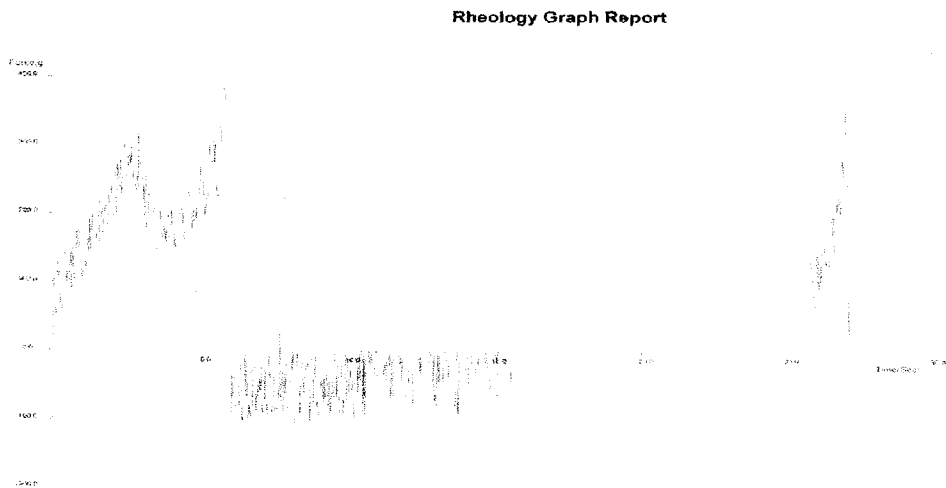


Fig. 23. Textural characteristics curve of General tofu.

Table 25. Textural characteristics of tofu<sup>1)</sup>

	Hardness (Dyne/cm <sup>2</sup> )	Adhesiveness (g)	Cohesiveness (%)	Springiness (%)	Gumminess (g)	Brittleness (g)
<i>General tofu</i>	216081 <sup>c</sup>	-102 <sup>a</sup>	9.82 <sup>d</sup>	13.91 <sup>d</sup>	34.07 <sup>e</sup>	4.73 <sup>d</sup>
<i>Huktae tofu</i>	211975 <sup>c</sup>	-178 <sup>c</sup>	7.48 <sup>e</sup>	7.34 <sup>f</sup>	27.34 <sup>f</sup>	2.10 <sup>e</sup>
<i>Germ tofu</i>	328285 <sup>bc</sup>	-289 <sup>d</sup>	4.37 <sup>f</sup>	5.72 <sup>g</sup>	26.52 <sup>f</sup>	1.35 <sup>e</sup>
<i>11S tofu</i>	344419 <sup>bc</sup>	-114 <sup>a</sup>	9.88 <sup>d</sup>	10.30 <sup>e</sup>	67.48 <sup>b</sup>	6.74 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup>Means of three replications. Same letters in a column are not significantly different each other (p<0.05)

## 5. 응고 mechanism과 두부의 저장성 연구

### 1) 응고제 종류에 따른 두부 단백질의 응고 메커니즘

상등액의 단백질 함량을 측정한 결과는 Fig. 24-31과 같다. 먼저 상등액의 단백질 함량을 비교하면 general tofu, 11S tofu, hypocoty tofu 순으로 단백질 함량이 많은 것으로 나타났으며 비슷한 경향으로 증가하거나 감소하였다. pH를 2~12로 맞춘 buffer 용액을 이용한 실험은 pH가 4~5의 등전점일 때 단백질을 침전시키므로 그 영향을 받아 상등액의 단백질 함량은 pH 4에서 가장 적었다가 pH가 높아질수록 계속 증가하였다. 0~6 M 농도의 urea 용액을 이용한 실험은 urea가 단백질의 hydrogen bond (수소 결합)를 파괴시키지만 용액의 농도가 높아져도 상등액의 단백질 함량에는 별로 영향을 미치지 않았다. 0~1% 농도의 SDS 용액을 이용한 실험은 SDS가 단백질의 hydrophobic bond (소수성 결합)를 파괴시키므로 용액의 농도가 높아질수록 상등액의 단백질 함량은 계속 증가하였다. pH 8 buffer, 6 M urea 및 0.4% SDS 용액에 0~0.2 M의 농도로 DTT를 첨가한 용액을 이용한 실험은 DTT가 단백질의 disulfide 결합을 파괴시키므로 3종류의 용액이 차이는 있었으나 농도가 높아질수록 상등액의 단백질 함량은 모두 계속 증가하였으며 pH와 SDS보다 더 많은 영향을 미쳤다. 0.4% SDS 용액에 0~0.2 M의 농도로 DTT를 첨가하고 pH를 8과 12로 맞춘 용액을 이용한 실험은 pH, SDS 및 DTT의 상호작용으로 농도가 높아질수록 계속 증가하여 상등액의 단백질 함량이 68.33~78.92% 까지 나타났으며 pH를 맞춘 buffer 용액을 이용한 실험에서처럼 pH 8보다 pH 12에서 더 많이 나타났다. 결과적으로 두부의 단백질은 위의 실험한 용액에 의해서 pH의 영향을 받으며 3차구조의 소수성 결합과 disulfide 결합이 잘 풀리는 것으로 나타났고 2차구조의 수소 결합은 잘 풀리지 않는 것으로 나타나 3종류의 두부가 모두 비슷한 응고 메커니즘을 보였다.



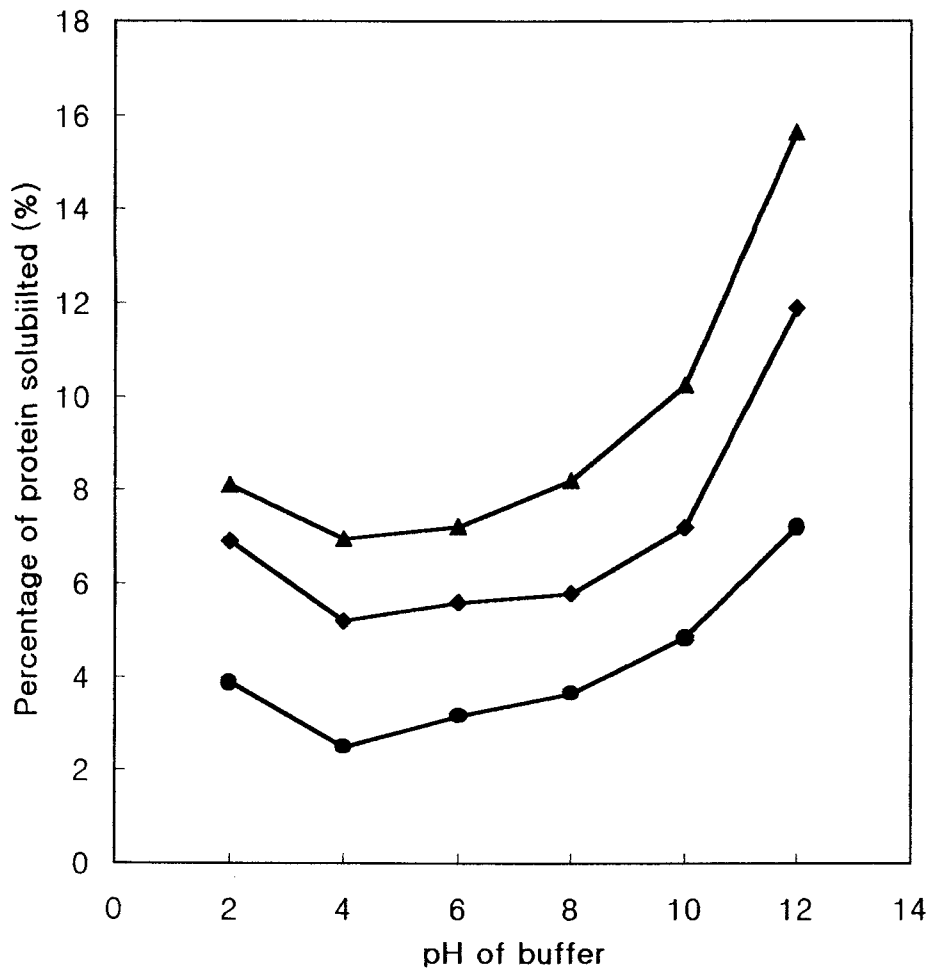


Fig. 24. Solubilisation of tofu protein at different pH of buffer.

●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocoty tofu

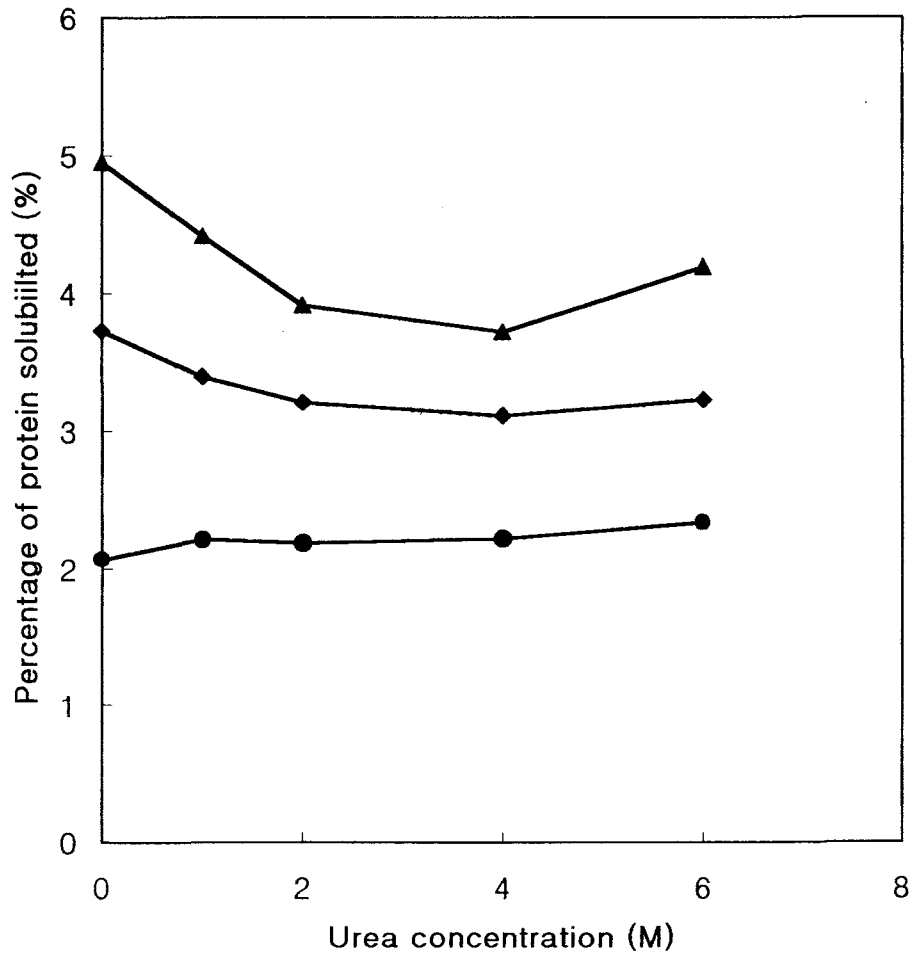


Fig. 25. Solubilisation of tofu protein at different concentration of urea

●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocoty tofu

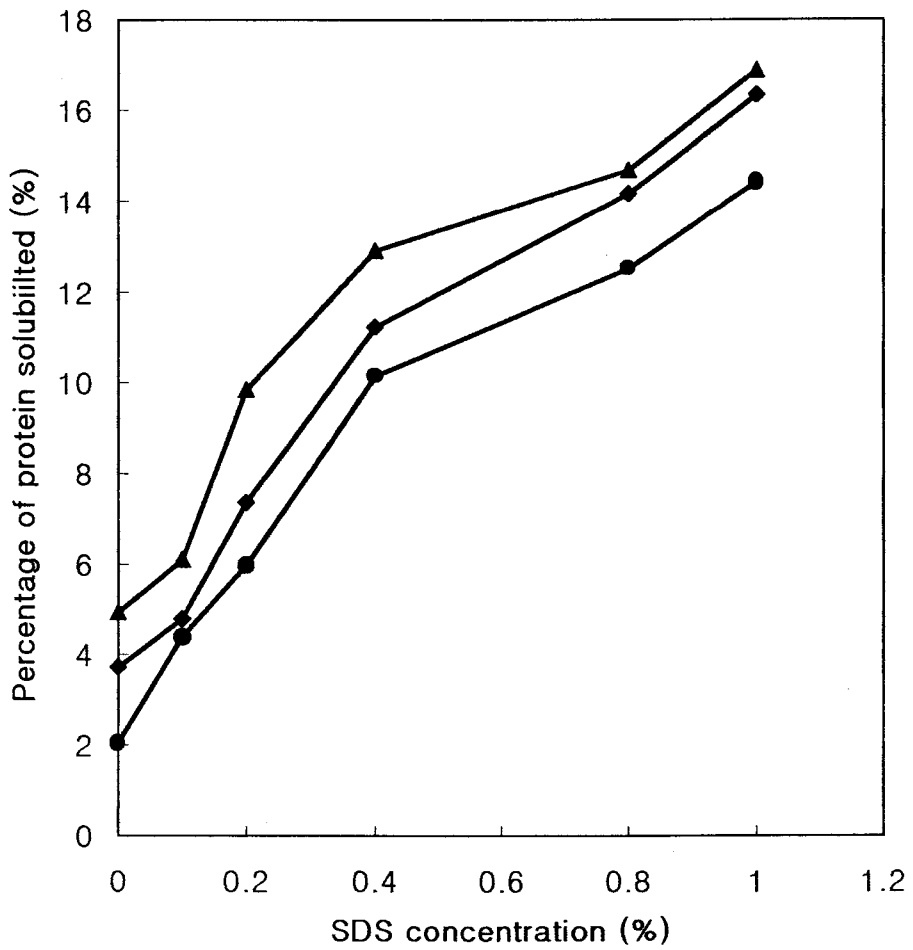


Fig. 26. Solubilisation of tofu protein at different concentration of SDS.

●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocoty tofu

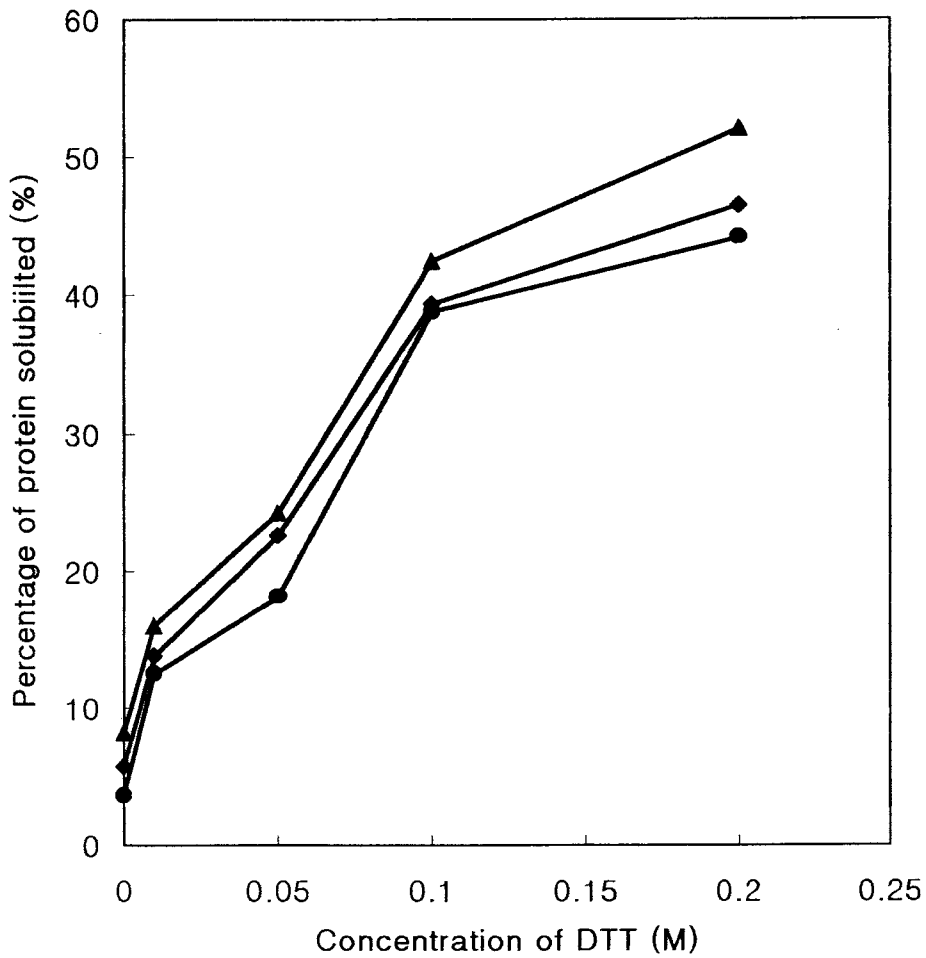


Fig. 27. Solubilisation of tofu protein due to different concentration of DTT in  $\text{H}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  buffer. ●, General tofu; ◆, IIS tofu; ▲, hypocoty tofu

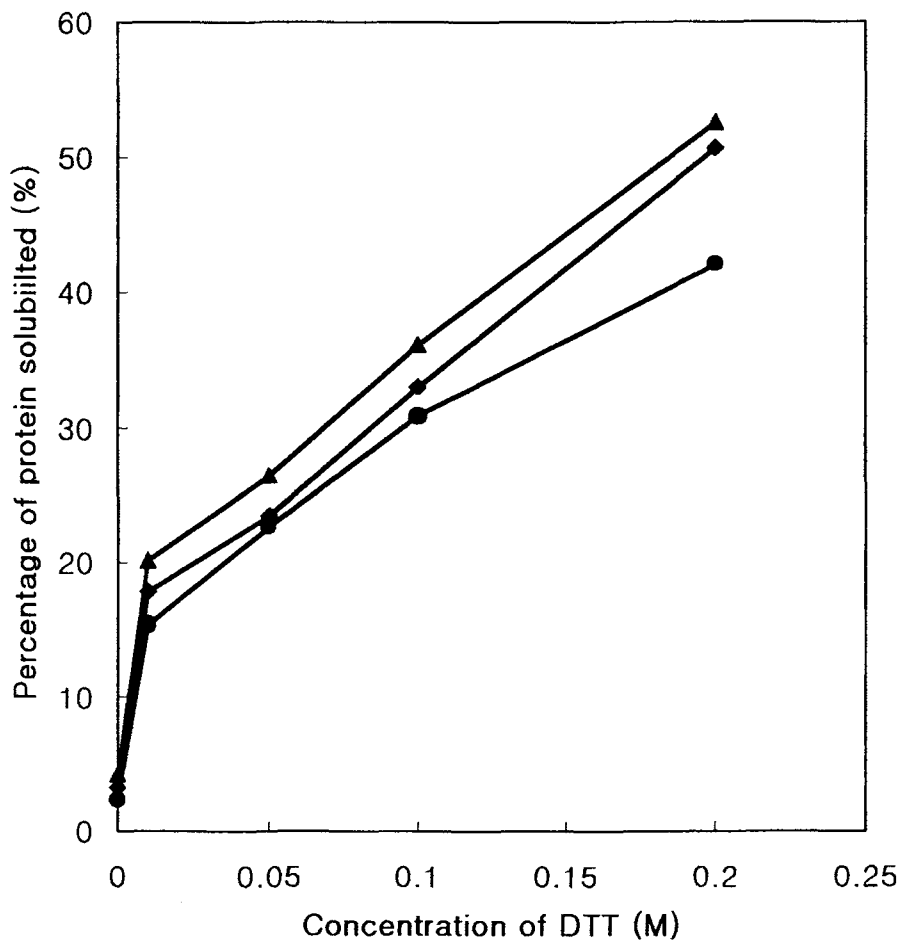
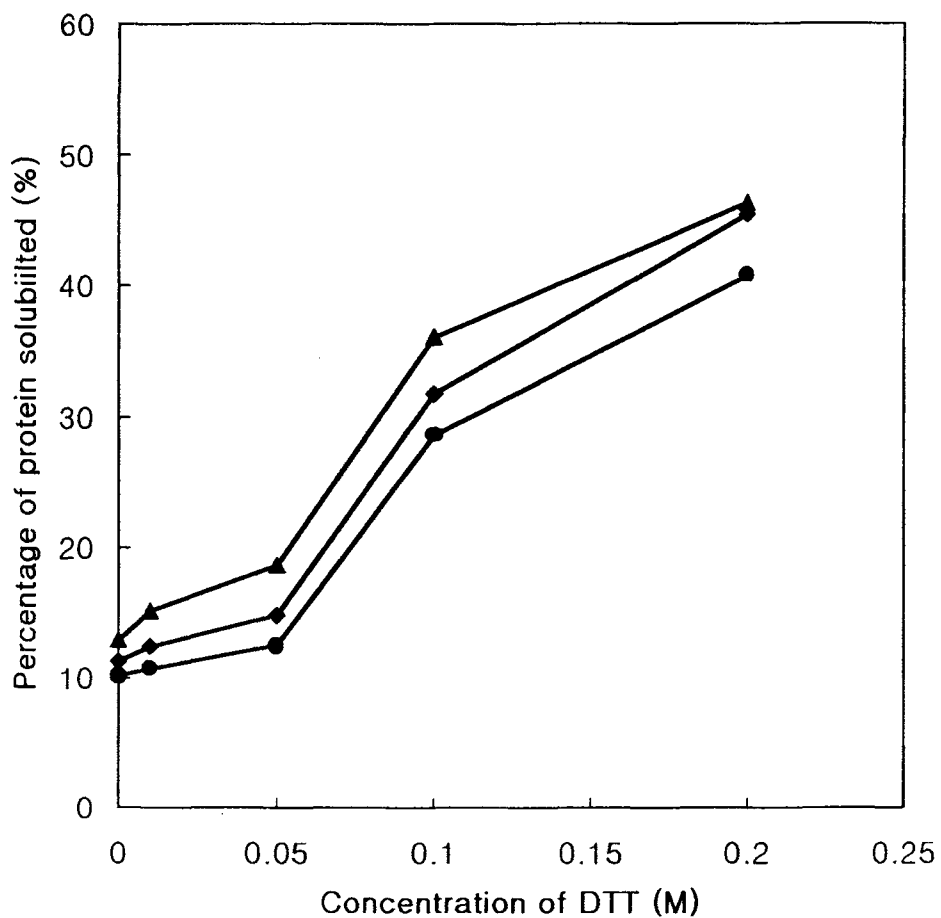
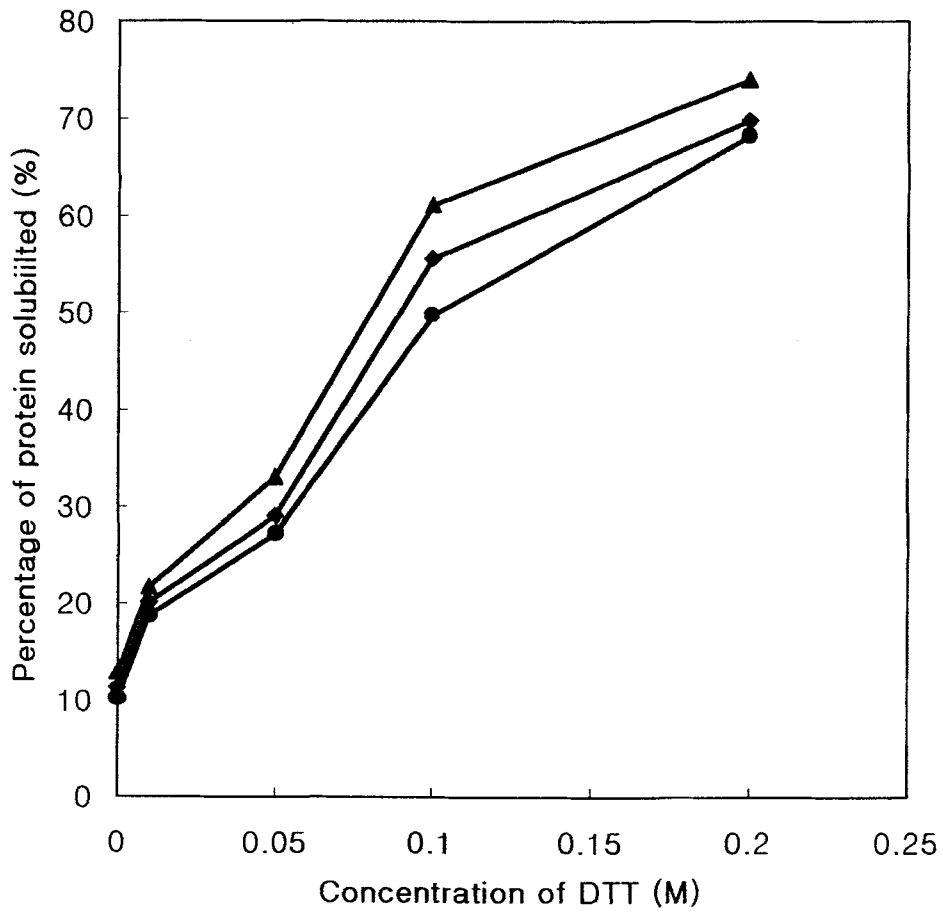


Fig. 28. Solubilisation of tofu protein due to different concentration of DTT in 6 M urea. ●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocoty tofu



**Fig. 29.** Solubilisation of tofu protein due to different concentration of DTT in 0.4% SDS. ●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocoty tofu



**Fig. 30.** Solubilisation of tofu protein due to different concentration of DTT in 0.4% SDS (pH 8). ●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocoty tofu

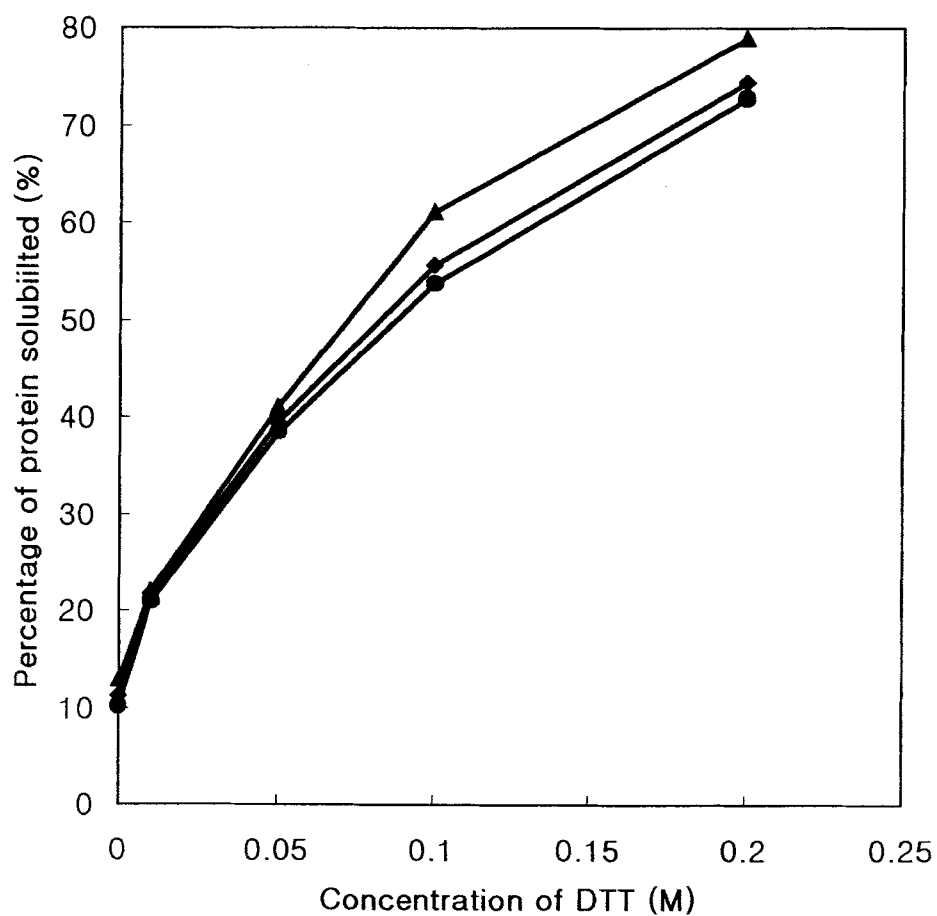


Fig. 31. Solubilisation of tofu protein due to different concentration of DTT in 0.4% SDS (pH 12). ●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocotyl tofu



## 2) 두부의 저장성

두부를 실온과 4℃에서 저장하면서 시간의 경과에 따른 세균수의 변화는 Fig. 32와 33에 나타내었다. 일반두부는 저장 시간이 경과할수록 colony 수는 증가하였으며 일반두부에서 가장 많이 검출되었고 11S두부에서 colony 수가 가장 적게 나타났다. 식품은 미생물의 원인으로 부패하게 되며 일반적으로 시중에서 판매하는 두부는 상온에서 보관하고 있는데 상온에서 보관할 때는 보통 저장기간이 하루정도라고 한다.

또한 저장온도에 따른 두부의 보존성을 비교해보면 4℃에서 저장한 두부가 실온에 저장한 두부보다 더 오래 저장되었고 colony의 수도 더 느리게 증가되었는데 이것은 저온이 미생물의 생육을 억제시킨 결과라고 하였다 (Frazier and Westhoff, 1978). Champagene et al(1991)은 4℃와 25℃에서 두부를 저장하면서 미생물의 성장을 비교하였는데 25℃에서는 미생물의 성장이 하루만에 109 CFU/g에 도달하여 부패하였고, 반면에 4℃에서는 미생물의 성장이 느려 15일 동안에 108 CFU/g가 되어 저장온도가 낮을수록 두부의 저장성이 증대된다고 하였으며 Grover et al (1983)과 이혜원(1984)도 저장온도를 낮출수록 보존성이 증대한다고 하여 비슷한 경향을 보였다.

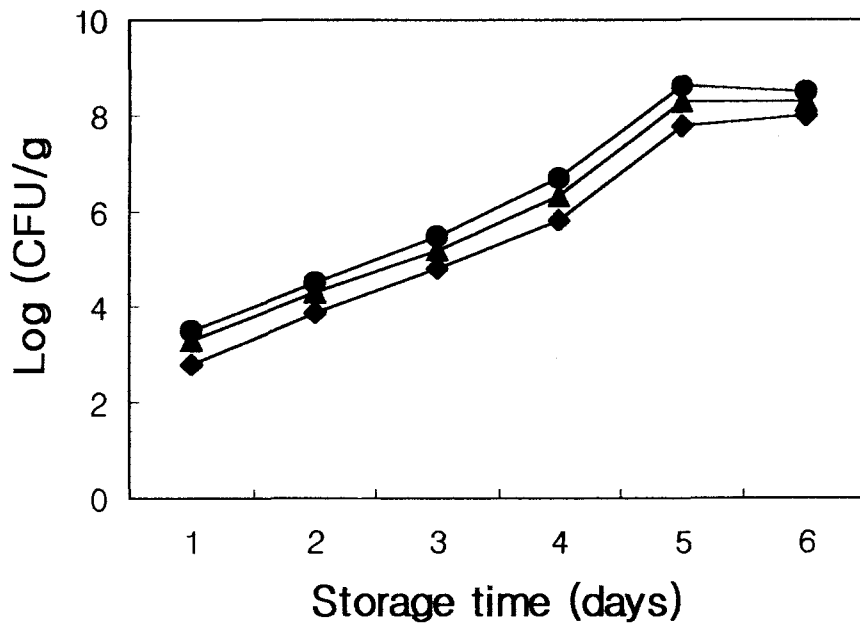


Fig. 32. Changes in total microbial count of tofu during storage at room temperature. ●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocotyl tofu

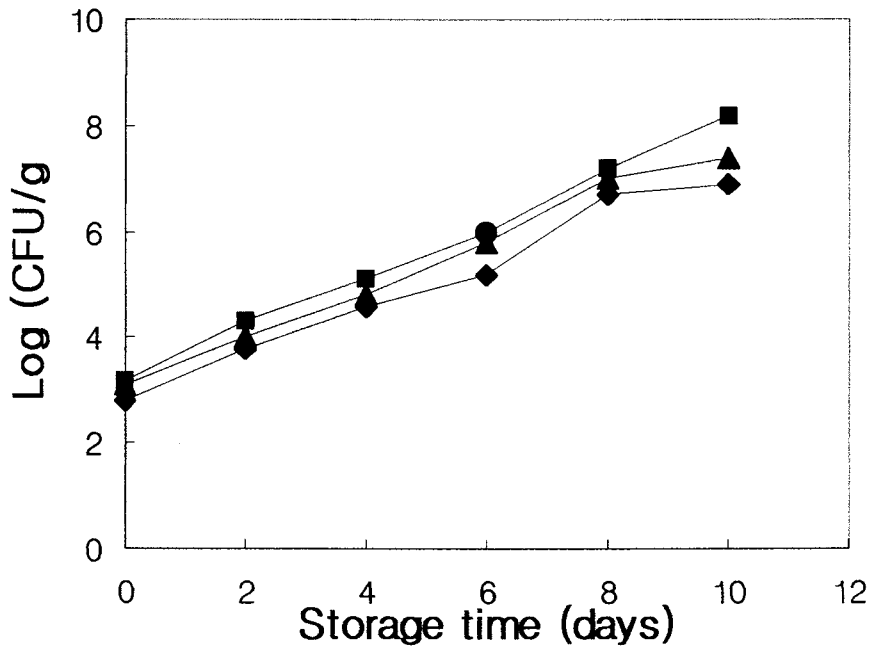


Fig. 33. Changes in total microbial count of tofu during storage at 4°C

●, General tofu; ◆, 11S tofu; ▲, hypocotyl tofu

## 실험 재료 및 방법

### 1. 기존 두부응고제의 종류 및 기능

두부기술의 핵심은 응고기술이다. 그러므로 두부의 품질은 응고공정에 의하여 크게 좌우된다고 하겠다. 두부를 생산함에 있어 중요한 사항은 모든 공정의 제조 조건을 항상 일정하게 하는 것이며, 가수(加水)량·가열시간·온도 등을 측정하여 관리하는 것이다. 응고반응은 두유중의 대두 단백질과 응고제와의 화학반응이다. 이러한 화학반응의 조건에 따라 두유의 응고상태가 변화하고 응고제의 종류에 따라 맛이 변화된다. 반응조건의 요인으로는 두유의 농도, 온도, 응고제의 첨가량 등이 있다. 일반적으로 단백질은 물성면(物性面)으로 유화성, 발포성, 응고성 등 여러 가지 특성을 갖고 있다. 그 중 단백질 응고반응에는 여러 가지가 있는데, 예를 들면 계란의 단백질 알부민은 열에 의해 응고되고, 요구르트는 유산균에 의해 의해 생성되는 유산에 의해 pH가 저하되어 산에 의해 응고하는 반응을 이용한다. 비 가열 대두단백질은 자체로는 소화가 잘 되지 않고 응고제에 의한 응고반응도 약하나, 가열을 하게 되면 열 변성을 함과 동시에 소화성도 개량되고 화학적 성질도 변화된다.

A. 열 변성한 대두 단백질은 다음과 같은 화학반응으로 응고된다.

a) 금속염(Ca, Mg)에 의한 응고반응

단백질은 가용성의 2가(價) 또는 3가의 금속이온에 의해 응고하는데 가장 좋은 예가 두부이다. 칼슘이나 마그네슘 이온은 대두의 단백질인 글리시닌(glycinine)의 분자사이에 가교(架橋)를 만들고, 단백질분자와 반응하여 응고물을 만든다.

b) 산(酸) 응고

어떤 pH에서는 (+)(-) 전하의 양이 같아져서 분자 전체로서는 전기적 중성이 되는데, 이때의 pH치를 등전점(等電點)이라한다. 대두단백질의 경우 pH 4.5정도가 등전점이다. 두유를 산성으로 할 때 침전이 용이하게된 단백질이 응고되는데 글루

코노델타락톤이 이 반응을 두유를 응고시킨다.

위와 같이 두부의 핵심 기술은 두유의 응고기술이다. 예로부터 간수잡이는 두부공장에서 최고의 기술자로 대접받고 있다. 응고기술의 핵심은 응고제의 성질을 얼마만큼 간파하고 있으나에 달려 있다. 두유의 온도, 농도, 물의 경도 등 여러 가지 복합적인 조건이 최적의 응고조건을 만들어 주어야 하는 것이다. 대도시에서 선호하는 두부는 대개 부드럽고 탄력있는 두부이며, 시골에서 선호하는 두부는 대개 조직이 단단한 두부이다. 그러므로 각 응고제의 성질을 잘 이용하면 여러 종류의 두부를 만들 수 있다. 또한 본인이 자유지도차 두부공장을 방문해서 두부생산과정을 지켜보면, 응고제 첨가시 함께 첨가하는 식염의 양이 너무 많은 것을 볼 수 있다. 신장병, 고혈압등 성인병환자들은 물론 건강한 사람에게도 과량의 소금섭취는 좋지 않다. 또한 소금의 맛이 강하게 되면 두부 고유의 맛을 떨어뜨릴수 있다. 소금의 적당한 첨가량은 두부를 맛 보았을 때 짠맛을 거의 못 느낄 정도의 양이 좋다. 밥을 예로 들어보면, 밥 맛이 가장 좋을때의 소금첨가량은 0.003%라는 연구결과가 있다. 두부도 마찬가지로 두유에 대하여 0.003%~0.004%정도 첨가하는 것이 적당하다고 판단된다. 천일염에는 간수성분을 함유하므로 과량을 첨가하게 되면 단단한 두부가 될 수 있다.

우리나라에서 일반적으로 많이 사용하는 두부 응고제는 황산칼슘, 염화마그네슘, 글루코노델타락톤, 염화칼슘등의 단일품과 그것들을 혼합한 복합체이다.

## 1. 황산칼슘(Calcium Sulfate)

( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  분자량 172.27)

백색의 결정분말이다. (응고제 투입시 두유의 온도는 약80℃ 정도가 적당)

황산칼슘의 제조방법은 황산나트륨의 용액에 염화칼슘의 용액을 반응시켜 만드는 합성법과 원석(原石) 자체가 황산칼슘인 천연석고를 단순 부석하여 만드는 방법이 있다.

현재 우리나라에서 소비되고 있는 황산칼슘은 거의 중국에서 수입되는 천연자원이다. 중국은 천연석고(황산칼슘)자원이 아주 풍부하다. 우리나라는 몇 년 전만 하더라도 자체기술로 화학적 합성품인 황산칼슘을 생산한 적이 있었으나, 중국산 천

연칼슘은 원석 자체를 분쇄하여 가공하는데, 이 과정에서 입자가 가늘면 속효성이 있고, 조잡하면 저효성이 된다. 그러므로 두유를 응고 시킬 때 황산칼슘의 입자가 고운 것이 조잡한 입자보다 일반적으로 적게 들어간다. 황산칼슘은 물에 약0.25% 정도만 용해되는 난용성으로, 이 같은 성질로 인해 두부를 만드는데 사용하기 쉽고 서서히 두부 속에 녹아들어 칼슘이온이 천천히 단백질과 결합해 응고되므로 보수성이 높은 두부가 만들어진다. 따라서 두부의 조직이 부드러워지고 수율 또한 증가되므로 응고제중 가장 선호하는 것으로 생각된다. 그러나 두부의 맛은 떨어지므로 소금·GDL등과 혼합하여 사용하는 예가 많다. 예전의 석회두부사건 때문인지 황산칼슘을 석회로 오인하는 소비자들이 많은데, 홍보부족으로 인한 결과라 생각된다. 황산칼슘이 건강보조식품과 특수영양식품에도 사용될 만큼 칼슘의 주요 공급원이다. 두부에 칼슘이 많은 이유도 바로 이 때문이다.

· 황산칼슘의 사용방법

대두에 대하여 약2%정도를 물에 용해하여 사용한다. 이때의 두유온도는 약80℃ 정도가 적당하며, 짓는 것은 될 수 있는 한 천천히 하는 것이 좋다.

## 2. 염화마그네슘(Magnesium Chloride)

( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  분자량 203.30)

무색-백색의 분말, 결정성 덩어리, 알맹이 또는 조각이다.(응고제 투입시 두유의 온도는 75~80℃ 정도가 적당)

천일염의 부산물인 간수의 주성분이 염화마그네슘이며, 현재 일본에서 니가리라 하여 가장 많이 이용되고 있는 응고제이기도 하다. 일본 후생성에서는 니가리를 바닷물로부터 염을 뺀 나머지 모액(母液)으로 정의하고 있다. 이 모액(母液)을 농축한 농후간수를 염화마그네슘 액이라 하고, 농축하여 굳게 한 간수를 염화마그네슘이라 한다. 염화마그네슘은 약간의 짠맛과 쓴맛이 있으며, 그것으로 인해 두부를 만들었을 때 풍미를 높일 수 있다. 조선시대에는 천일염의 부산물로 얻어진 염화마그네슘이 비소 등의 중금속검출 우려로 황산칼슘등으로 대체 사용되기도 했다고 한다. 그러나 요즘 판매되고 있는 염화마그네슘은 정제가 이루어진 것으로 염려할 문제는 아니다. 염화마그네슘은 흡습성이 높아 개방된 상태로 방치하면 조해(고체

가 대기중의 습기를 흡수하여 용해되는 것)되어 반 액체로 되므로 사용하고 남은 염화마그네슘은 밀봉하여 보관해야 한다.

#### 염화마그네슘의 사용방법

두유통에 있는 두유(약80℃)를 나무주걱을 이용하여 시계방향으로 소용돌이치도록 급히 젓고 재빨리 멈춘 다음, 염화마그네슘액(대두의 약2%정도의 염화마그네슘을 물에 표화상태로 녹여만들)을 두유의 흐름이 있을 때 1/3가량 주입한다. 그 다음 1/3의 염화마그네슘액은 두유의 상층 부분에 서서히 저어가며 뿌려주고 두유통의 뚜껑을 덮어 약10분간 방치한다. 나머지 1/3은 두부의 표면위에 뿌려주면서 약20초간 천천히 상층부분을 저어주고 다시 약10분간 방치한다. 염화마그네슘을 사용하기는 이처럼 까다롭다.

### 3. 글루코노 델타 락톤(Glucono- $\delta$ -Lactone)

( $C_6H_{10}O_6$  분자량 178.15)

백색의 결정 또는 결정성분말로서 냄새가 없거나, 약간의 냄새가 있으며 맛은 처음엔 달고 이어 약간 신맛을 나타낸다.(응고제 투입시 두유의 온도는 85~90℃정도가 적당하다.)

황산칼슘, 염화칼슘, 염화마그네슘은 염류에 의한 응고반응을 하는 반면, 글루코노 델타락톤은 산(酸)에 의해 응고반응을 한다. 글루코노델타락톤은 물에 녹아 일정량이 분해되어 글루콘산이 되는데, 이 산(酸)에 의해 응고가 서서히 진행되므로 지효성 응고제라 할 수 있다. 지효성 응고제는 보수성이 큰 연두부, 순두부, 비단두부(기누고시두부)등을 만드는데 용이하고, 염화칼슘, 염화마그네슘등의 속효성 응고제는 유부, 경두부등 보수성이 적은 두부를 만드는데 용이하다. 글루코노델타락톤은 보통 우리가 흔히 볼 수 있는 연두부의 응고제이기도 하다. 이 응고제는 전분을 이용하여 발효법, 감압증류등으로 만들어지기 때문에 단맛이 있으며, 물에 녹여 두면 신맛이 증가하므로 사용할 때마다 바로 물에 녹여 사용해야 한다. 두유와 응고반응을 할 때 보수성이 높으므로 두부의 수율을 높일 목적과 탄력있는 두부를 만들 목적으로 다른 응고제와 혼합하여 많이 사용된다.

### 4. 염화칼슘(Calcium Chloride)

(CaCl<sub>2</sub> · 0~2H<sub>2</sub>O)

백색의 결정, 덩어리, 조각, 알맹이 또는 분말로써 냄새가 없다.(응고제 투입시 두유의 온도는 75~80℃정도가 적당하다.)

물에 잘 녹고 보수성이 적어 단단한 두부가 만들어진다. 그러므로 유부제조시 사용되고 있고 일반두부제조에는 두부 수율의 감소등의 이유로 많이 사용되고 있지 않다. 요즈음은 소비자들이 말랑말랑한 두부를 선호하고 있기 때문이다. 일부 시골에서는 단단한 두부를 선호하므로 춘두부등 단단한 두부제조시 다른 응고제와 혼합하여 사용하기도 한다. 흡습성과 조해성이 강하므로 보관시 밀봉하여 보관해야 한다. 염화칼슘의 사용량은 대두에 대하여 약2%내외가 적당함.

## 5. 복합응고제

염화칼슘, 염화마그네슘, 황산칼슘, 글루코노델타락톤등을 주로 하여 일정량을 혼합·가공하여 만든다. 염화칼슘, 염화마그네슘은 속효성의 성질이 있고, 글루코노델타락톤과 황산칼슘은 지효성의 성질이 있으므로 이들의 성질을 이용하여 여러 가지 복합응고제를 만들 수 있다.

본인이 94년 일본 두부박람회참회에 참관했을 때 수집했던 복합응고제의 내용성분을 다음과 같이 몇 가지 소개 하고자 하며, 이를 응용하여 고품질의 두부를 생산하는데 도움이 되었으면 하는 바램이다.

### 복합응고제 I

#### ①내용성분

황산칼슘 37%, GLD 37%, 기타 식품소재 2%, 염화마그네슘 14%, 구연산나트륨 10%

②사용량 : 두유 1ℓ 에 3~4g 사용

③사용상 주의 : 냉수에 녹인 후 사용하기 바람

④보존상 주의 : 냉암소에 보존하고, 사용 후 잔량은 반드시 밀봉해 둔다.

⑤특장(特長)



가) 비단두부(기누고시두부), 일반두부에 적합한 두부 응고제이다.

나) 염화마그네슘의 결점이 보완되어, 감미가 있고 탄력이 있으며 풍미가 있는 맛 있는 두부가 만들어진다.

### 복합응고제Ⅱ

#### ①내용성분

황산칼슘 54%, 염화마그네슘 26%, 구연산나트륨 18%, 기타 식품소재 2%

②사용량 : 두유 1ℓ 에 3.5~4.5g(응고온도 : 70~85℃)

두유농도가 10~11%일 때에는 위의 양을 사용하고, 두유농도가 8~9%일 때에는 위의 양보다 적게 사용

③사용상 주의 : 흡습성이 강하므로 반드시 밀폐하여 보관

④보존상 주의 : 냉암소에 보존하고, 사용 후 잔량은 반드시 밀봉 해 둔다.

#### ⑤특장(特長)

가) 특히, 일반두부에 적합한 두부 응고제제 이다.

나) 탄력있는 두부가 만들어진다.

다) 염화마그네슘만을 사용한 것 보다 감미가 좋고 풍미가 있는 두부가 만들어진다.

라) 흡습성이 적고 사용하기 용이한 것으로 품질이 안정한 두부가 만들어진다.

### 복합응고제Ⅲ

①내용성분 : A-GDL 25%, 황산칼슘 45%, 염화마그네슘 20%, 기타 식품소재 10%  
B-G이 45%, 황산칼슘 30%, 염화마그네슘 15%, 기타 식품소재 10%

②사용방법 : 두유 1ℓ 에 3~4g(응고온도 70~80℃) 물에 녹일 때에는 냉수를 사용하고, 용해되면 바로 사용한다.

③보존상 주의 : 습기가 적은 곳에 보관하고, 사용후 잔량은 반드시 밀폐 보관한다.

#### ④특장(特長)

가) 염화마그네슘 두부의 풍미를 지닌 맛있는 부두가 된다.

나) 품질의 안정성이 우수하고, 상요이 용이한 제제이다.

다) 조직이 탄력 있는 두부가 만들어진다.

라) 비단두부(기누고시두부), 일반두부에 적합한 응고제이다.1. 한약재 추출

한약재 43가지에 대하여 각각 100g을 약탕기에 넣고 물 1,500ml를 가한 후 2시간 반 동안 추출하였다. 추출물을 4,500rpm으로 30분간 centrifugation 하고 vacuum filtration 한 후 여액의 최종 volume을 400ml로 조절하였다. 추출물은 냉장보관 하면서 실험에 사용하였다.

## 2. 두부의 제조 공정

1. Bean powder 100g + D.W. 1000ml (통상 10% 두유 액)

2. Boil for 40 min with stirring

3. Add 4-5 drops of soybean oil When bubble is configured

4. Pressure Filtering of the sample with gauze, and isolate soybean milk and bean curd refuse

5. Cooling test sample to 92<sup>0</sup>C, and transfer 50ml of soybean milk to each beakers

6. Add 10%(v/v, 5ml) of each herb complexes to the test beakers.

\* 최초 bean powder 100g 에 대해 시료 2g 의 비율로 첨가

- Herb complex의 量 계산이 난해하므로 (v/v)으로 soybean milk 50ml(5g)에 대해 시료 5ml의 비율로 첨가

- Control인 Mgcl<sub>2</sub>는 soybean milk 50ml (5g)의 2%(0.1g) 첨가 (20% Mgcl<sub>2</sub> 용액 0.5ml 첨가)

7. Shake each test beakers as soon as possible.

8. Stand each test beakers at R/T for 1 hr.

9. After 1 hr, measure pH & O.D.(280nm) of each samples.

### 3. 천연물 추출물 엑기스 제조 공정

한의학 서적 및 한의사들의 권고에 의하여 두부응고제로서의 가능성이 있는 43종의 단일 한약재 및 13종 한약재 복합물을 선정하여 이들을 2002년 10월 경동한약재 시장 및 대구 약령시장에서 구입하여 사용하였고 구입이 어려운 한약재는 강원도, 충청남, 북도 및 전라도등지의 산에서 자연산을 채취하여 실험재료로 사용하였다. 43종의 단일 한약재는 한약재 각 50g에 증류수 1500 ml을 넣어 2-3 시간 약탕기(대응약탕기)에서 추출한 후 가제를 이용하여 1차 여과하고 8000 xg에서 15분간 원심분리한 엑기스를 4℃에 보관하였다가 사용하였고 13종의 복합한약재는 한약재 복합물 총 150-300g에 증류수 1500 ml을 넣어 2시간 30분 동안 약탕기(대응약탕기)에서 추출한 후 가제를 이용하여 1차 여과하고 8000 xg에서 15분간 원심분리한 엑기스를 4℃에 보관하였다가 사용하였다. 또한 가미호박생맥산을 구성하는 주요 한약재인 오미자는 이 한약재 150g에 증류수 1500 ml을 넣어 2시간 30분 동안 약탕기(대응약탕기)에서 추출한 후 가제를 이용하여 1차 여과하고 8000 xg에서 15분간 원심분리한 엑기스를 4℃에 보관하였다가 시료로 사용하였다.

### 4. 두부 응고

증류수와 soybean flour의 비율이 10 : 1이 되도록 하여 통상 10% 두유액을 만든다. 20분정도 끓인 후 거즈로 여과하고 약 82℃ 정도까지 식힌다. 10% 두유액과 한약재 추출액의 양이 9 : 1의 비율이 되도록 한약재 추출물을 각각 첨가하고, 즉시 pH값을 측정한다. 1시간 방치 후 다시 pH값을 측정하고 육안으로 관찰하여 입자와 gel화의 정도를 상(+++), 중(++), 하(+)로 나타내었다.

20% MgCl<sub>2</sub>를 control로 기준하고 입자와 gel화를 모두 상(+++)이라 하였다. 이에 각 한약재 추출액을 첨가하여 응고시킨 sample들을 비교하여 입자와 gel화를 정하였다.

## 결과 및 고찰

실험 결과는 Table 1 및 2와 같다. 즉, 오미자는 control인 20% MgCl<sub>2</sub>와 비슷한 입자화, gel화를 보였으며 이에 미치지 못했지만 오배자와 상심자 역시 입자화와 gel화를 보였다. 오미자와 오배자 추출물은 낮은 pH를 나타내고 입자화와 gel화 형성능이 매우 컸다. 상심자의 경우 오미자와 오배자만큼은 산성을 띠지 않았지만 어느 정도 입자화와 gel화를 보였다. 그러나 상심자와 비슷한 산성을 나타내는 다른 한약재 추출물을 첨가한 sample에서는 입자화와 gel화가 나타나지 않은 것으로 보아 한약재 추출물의 pH 수치가 두부를 응고시키는데 절대적인 영향을 미친 것으로는 생각되지 않았다. 따라서 오미자, 오배자 및 상심자 추출물을 두부응고제로 이용하고자 하며 현재 이를 최종 검토하여 오미자추출물을 신규 천연물 두부응고제로 개발하였다.

13종의 복합한약재추출물은 가미호박생맥산에서 가장 좋은 두부응고능을 나타내어 이를 이용한 신규 천연물 두부 응고제의 개발이 가능할 것으로 판단되었다.

Table 1. 43종의 단일한약재 추출액을 이용한 두부응고시 pH 변화와 입자화 및 gel화 형성능 평가

시 료	sample pH	1hr 응고 후 pH	입자화	gel화	O.D. (280nm)
control*	8.16	5.86	+++	+++	2.712
1. 갈근	5.93	6.58	-	-	269.9
2. 감초	5.50	6.64	-	-	232.3
3. 거심맥	5.18	6.69	-	-	218.0
4. 결명자	5.19	6.60	-	-	277.0
5. 팍향	5.15	6.62	-	-	254.9
6. 구기자	5.05	6.51	-	-	222.8

Table 1.-continued

시 료	sample pH	1hr 응고 후 pH	입자화	gel화	O.D. (280nm)
control*	8.16	5.86	+++	+++	2.712
7. 길경	4.70	6.59	-	-	187.9
8. 당귀	5.32	6.61	-	-	302.3
9. 동충하초	6.20	6.70	-	-	222.5
10. 라복자	5.21	6.69	-	-	232.1
11. 맥문동	5.65	6.59	-	-	222.4
12. 박하	5.29	6.56	-	-	221.6
13. 백출	5.61	6.62	-	-	279.5
14. 복분자	4.60	6.40	-	-	244.7
15. 빌랑	4.50	6.60	-	-	266.1
16. 산약	5.23	6.54	-	-	265.8
17. 상심자	4.14	6.23	+	-	62.72
18. 석창포	4.11	6.52	-	-	295.8
19. 소자	5.57	6.62	-	-	322.1
20. 승마	5.01	6.53	-	-	198.7
21. 오미자	3.10	5.18	+++	+++	2.321
22. 오배자	3.90	5.83	++	+	2.986
23. 원지	4.78	6.57	-	-	243.9
24. 육계피	4.15	6.61	-	-	242.3
25. 은행	5.81	6.62	-	-	218.2
26. 의인	5.29	5.88	-	-	288.4

Table 1.-continued

시 료	sample pH	1hr 응고 후 pH	입자화	gel화	O.D. (280nm)
control*	8.16	5.86	+++	+++	2.712
27. 인삼	5.58	5.96	-	-	275.3
28. 작약	6.08	6.72	-	-	266.3
29. 지부자	6.19	6.67	-	-	213.5
30. 진피	5.68	6.12	-	-	243.5
31. 창이자	5.28	5.92	-	-	212.7
32. 창출	5.64	5.58	-	-	265.0
33. 천궁	4.76	5.76	-	-	244.0
34. 천황련	4.11	5.82	-	-	213.0
35. 치자	5.45	6.06	-	-	284.9
36. 토사자	6.16	6.89	-	-	200.8
37. 하수오	5.13	6.11	-	-	215.9
38. 행인	5.34	5.96	-	-	219.2
39. 향부자	5.47	6.02	-	-	227.4
40. 현삼	5.01	6.09	-	-	228.4
41. 홍화인	5.28	5.87	-	-	236.9
42. 황금	6.70	6.82	-	-	222.5
43. 황기	5.50	6.21	-	-	273.5

control\* : 20% MgCl<sub>2</sub>

Table 2. 13종의 복합한약재 추출액을 이용한 두부응고시 pH 변화와 입자화 및 gel화 형성능 평가

			pH	O.D. (280nm)	비고
No. 1	입 자 +++ Gel 化 +		5.66	2.745	
No. 2	입 자 Gel 化				
No. 3	입 자 - Gel 化 ++		6.23	69.90	
No. 4	입 자 +++ Gel 化 +		5.52	2.771	
No. 5	입 자 - Gel 化 -		6.59	227.1	cfg. 후 pellet 형성되지 않음
No. 6	입 자 + Gel 化 +++		5.77	2.820	
No. 7	입 자 ++ Gel 化 +++		5.74	2.771	
No. 8	입 자 + Gel 化 +++		5.80	25.13	
No. 9	입 자 + Gel 化 ++		5.80	2.978	
No. 10	입 자 - Gel 化 -		6.50	204.9	cfg. 후 pellet 형성되지 않음
No. 11	입 자 +++ Gel 化 +		5.24	2.899	
No. 12	입 자 +++ Gel 化 -		4.81	16.24	
No. 13	입 자 - Gel 化 -		6.48	176.1	cfg. 후 pellet 형성되지 않음
control	입 자 + Gel 化 ++		5.51	2.899	

생맥산 구성한약제의 효능(출전 : 동의보감을 비롯한 한방 문헌)

1. 맥문동 (麥門冬) : (1) 백합과(躑躅科). 치계초(治階草) *Ophiopogon japonicus* KER-GAWLER. [소엽맥문동(小葉麥門冬)] 괴근(槐根)의 건조품. (2) 포도당·점액질·소량의  $\beta$ -sitosterol·vitamin A모양의 물질. (3) 윤조생진(潤燥生津)·화담지해(化痰止咳)

▷기원(起源) : 백합과 식물인 치계초의 괴근을 건조한 것이다.

▷효능(效能) : 양음윤조(養陰潤燥)·생진지해(生津止咳)

▷주치(主治) : 폐조건해(肺燥乾咳)·토혈(吐血)·객혈(咯血)·폐(肺)·폐옹(肺癰)·열건구조(咽乾口燥)·허로번열(虛勞煩熱)

★ 맥문동 스테로이드 사포닌의 항암활성, 인체생리활성에 관한 연구 결과가 발표됨(대전대학교 한의학과, 경희대학교 생명과학과, 대구카톨릭대학교 약학대학)

2. 오미자 (五味子) : (1) 오미자과. 북오미자(北五味子) *Schizandra chinensis* BALL. (오미자)의 성숙과실의 건조품. (2) citral 등의 정유·schizandrin·vitamin A 모양의 물질·vitamin C·유기산. Ether 추출물(抽出物)에 각종 약리(藥理)가 인정되어 있음. (3) 렴폐자신(斂肺滋腎)·생진렴두(生津斂肚)·삼정지사(澀精止瀉). 중추신경계흥분(中樞神經系興奮)·진해담(鎮咳痰)·자궁흥분(子宮興奮)·항균(抗茵)·Transaminarze 강하작용(降下作用)이 인정됨. 폐신양허(肺腎陽虛)에 사용

오미자(五味子)[ *Schisandra Chinensis* Baill]

▷기원(起源) : 본품은 목란과(木蘭科) 식물인 북오미자(北五味子)의 성숙한 과실(果實)을 건조한 것이다.

▷효능(效能) : 렴폐지해(斂肺止咳)·익신삼정(益腎澀精)

▷주치(主治) : 폐허(肺虛)로 인한 천해(喘咳)·자한(自汗)·도한(盜汗)·몽유골정(夢遺骨精)·구사불지(久瀉不止)·구건작갈(口乾作渴)

본품은 오미(五味)를 고루 갖추고 있는데, 특히 산(酸)·미(味)가 탁월하므로 소모된 폐기(肺氣)를 수렴(收斂)하여 익기생진(益氣生津)하고, 아울러 익신기(益腎氣)하여 진원(眞元)을 고섭(固攝)한다. 그 성질이 따뜻하되 건조하지 않아 폐신(肺腎)의 음허(陰虛)와 양허(陽虛)를 막론하고 모두 사용할 수 있다. 일반적으로 폐허(肺



虛)로 인한 천해(喘咳)·자한(自汗)·도한(盜汗)·신허(腎虛)로 인한 골정(骨精)·구사불지(久瀉不止) 등을 치료하는 데 사용한다.

★ 오미자 추출물의 동맥경화, 고혈압 예방 및 치료 활성에 관한 연구 결과가 발표됨(성신여자대학교 식품영양학과, 호남대학교 생물학과)

3. 인삼(人蔘) : (1) 오갈피나목과. 인삼(人蔘) *Panax ginseng* G.A.MEY.(인삼)의 근(根)의 건조품. (2) panacene · panaquilon · panaxin · ginsenin · 인삼산(人蔘酸) · aitamin A · B<sub>1</sub> · B<sub>2</sub> · C, 자당 · 포도당 · 과당 · 맥아당 · choline · 무기염 · 고미질(苦味質) · 점액(粘液)등. (3) 대보원기(大補元氣) · 안신익지(安神益智) · 건비익기(健脾益氣) · 생진(生津). 신경계흥분(神經系興奮) · 부신피질기능흥분(副腎皮質機能興奮) · 성선자극(性腺刺戟)Hormone모양의 작용 · 강심 · 혈당강하(血糖降下) · 소화흡수와 신진대사 항진(亢進) · 항이뇨(抗利尿) · 항 Anaphylaxis 등의 작용. 주로 금성쇼크와 만성쇠약자에게 사용.

인삼(人蔘)[*Panax ginseng* C.A.Mry]

▷기원 : 오미과 식물인 인삼의 근을 8~9월에 채취하여 건조한 것이다.

▷효능 : 대보원기(大補元氣) · 생진지갈(生津止渴) · 고탈안신(固脫安神)

▷주치 : 식욕부진(食慾不振) · 권태(倦怠) · 반위(反胃) · 구토(嘔吐) · 건망(健忘) · 소갈(消渴) · 소아만경풍(小兒慢驚風) · 일질의 기혈진액부족증(氣血津液不足證)

★ 인삼 사포닌의 항암활성, 항고지혈증, 혈전방지효과, 간기능활성에 관한 연구 결과가 발표됨(대전대학교 한의학과, 경희대학교 한의학과 이화여자대학교 식품영양학과 등)

4. 황기(黃耆) : (1)콩과. 황기 *Astragalus membranaceus* BGE.(황기)의 뿌리의 건조품. (2) 엽산 · corin · amino acid 등. (3) 보기승양(補氣升陽) · 고표지한(固表止汗) · 탁독배농(托毒排膿)

황기(黃耆)[*Cadonopsis pilosula*(Franch.) Nannf]

▷기원 : 콩과 식물인 황기의 뿌리를 가을에 채취하여 건조한 것이다.

▷효능 : 생용(生用)하면 익기고표(益氣固表) · 이수소종(利水消腫) · 탁농(托農). 보

중익기(補中益氣)한다

▷주치 : 자한(自汗)·도한(盜汗)·혈비(血痺)·부종(浮腫) 혹은 아물지 않는 경우를 치료하고, 내장노권(內傷勞倦)·탈항(脫肛)·기허혈탈(氣虛血脫)·기허(氣虛)·혈허증상(血虛症狀)을 치료한다.

본품은 기허(氣虛)를 치료하는 요약(要藥)이야. 기허불함(氣虛不陷)인 경우에 사용하면 보기승양(補氣升陽)하고, 표허불고(表虛不固)인 경우에 사용하면 고표지한(固表止汗)하며, 기혈부족(氣血不足)에 사용하면 액기생혈(益氣生血)하며, 기허부종(氣虛不腫)에 사용하면 온양이수(溫陽利水)하고, 기허혈비(氣虛血痺)에 사용하면 온경화혈(溫經和血)한다.

★ 황기 추출물의 간기능 생리활성에 관한 연구 결과가 발표됨(한국인삼초연구원 등)

5. 호로(葫蘆, 호박) : (1) 박과. *Lagenaria siceraria*(MOLINA.) STANDL.(밤나무꽃)의 과실(호롱박).(2) 포도당, pentosan 등. (3) 이수(利水)·해열(解熱)·거습소종(濕消腫)

★ 호박추출물의 노화방지, 항산화 활성 효과에 관한 연구 결과가 발표됨(목포대학교 식품영양학과 등)

생맥산(生脈散) <내외상관혹론(內外傷辨惑論)>

맥문동(麥門冬) 12g 인삼(人蔘) 6g 오미자(五味子) 5g <수전복(水煎服)>

▷적응증(適應症) : 폐음허(肺陰許)로 인한 권태무력(倦怠無力)·호흡곤란·현기증·해수·열감(熱感) 등.

▷효능 : 익기생진(益氣生津)하고 림음지한(斂陰止汗)하는 효능이 있다.

▷주치 : 기음부족(氣陰不足)으로 인한 체권기단나연(體倦氣短懶言), 구갈다한(口渴多汗), 인건설조(咽乾舌燥),하고 맥(脈)이 허약(虛弱)한 증상(症狀)과 구해(久咳)에 의한 상폐(傷肺)로 기음(氣陰)이 양상(兩傷)되어 나타나는 건해다기(乾咳短氣), 자해(自咳)등의 증상(症狀)을

## 2. 제 2차년도 연구개발 수행 결과

### <주관 기관 연구 과제>

**Abstract** : 본 연구에서, 우리는 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부가 숙취로부터의 보호작용, 심장 혈관계 질환과 알코올에 의한 간염으로부터 보호해주는 결과로서 알코올 섭취 후의 손상으로부터 흰 쥐의 간 세포에 보호작용의 유무를 조사했다. 우리는 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부의 간 보호 영향을 알코올을 섭취한 흰 쥐에서 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부의 투여를 전후하여 AST와 ALT의 효소 혈청 수치를 통해 측정하였다. AST와 ALT의 혈청 수치는 알코올을 섭취시킨 실험군보다 11S 단백질 두부 또는 대두 배아 두부를 투여한 실험군에서 두드러지게 낮게 측정되었음을 알 수 있었다. 고지혈증과 동맥 경화증을 유발하는데 의학적으로 중요한 총 콜레스테롤과 총 지질의 혈청 수치 또한 측정하였다. 본 연구에서 이러한 혈청 수치들은 알코올을 섭취시킨 음성대조군에서보다 11S 단백질 두부 또는 대두 배아 두부를 투여한 실험군에서 두드러지게 낮게 측정되었음이 보고되었다. 본 연구에서 실험군에 처리하는 동안 발견된 사실들은, 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부가 간-보호 작용과 알코올 섭취 후 손상과 알코올에 유발된 간 질환에서 개선되는 효과와 지질 대사를 향상시킨다는 것을 알 수 있었다. 이러한 자료들은 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부가 알코올에 유래된 손상으로부터 흰 쥐의 간 세포의 예방과 치료에 있어 도움을 줄 수 있는 후보 물질로서의 가능성을 제시해 주는 연구결과를 나타낸 것으로 사료된다.

## 서 론

알코올은 적당히 마시면 신체의 피로감과 정신적인 스트레스를 해소하는데 도움을 주고 소화액의 분비를 자극하여 식욕을 증대시킬 수 있으며, 최근에 적당량의 알코올 섭취가 HDL-콜레스테롤 농도 상승과 관련하여 동맥경화증과 같은 심혈관계 질환을 예방할 수 있다는 가설이 제기되기도 했었다. 그러나, 지나친 음주는 간, 심장 그리고 췌장과 같은 내부 장기에 손상을 입히고 마침내 알코올 중독으로까지 악영향을 미치기도 한다. 단시간동안의 과도한 알코올의 섭취는 알데히드의 축적, 고혈압, 빈맥과 쇼크의 원인이 되기도 한다. 또한 간 내에서의 지질 산화나 소포체에서 약물대사의 활성을 방해하기도 한다. 만성적인 알코올 섭취 시에는 적응성을 유도하여 알코올 및 약물의 대사가 증가되고 지단백의 생성이 가속화되어 간세포의 손상을 가져오게 한다. 즉, 섭취하는 알코올의 양, 섭취기간 등에 따라 간의 손상 정도가 달라지는 것이다.

알코올은 소장에서의 상층 부분에서 빠르게 흡수된다. 알코올 성분을 많이 함유한 혈액은 정맥과 소화관의 모세혈관을 통해 간으로, 거의 매일 간세포에 영향을 미치게 한다고 보고되었다. 우리 신체 내에 있는 간세포는 충분한 양의 알코올 탈수소 효소를 방출하여 적당한 비율로 알코올을 산화시킨다. 신체 기능의 손상과 알코올 섭취로 인한 손상은 주로 두 가지 방법으로 작용한다: 1) 신체의 식이 섭취에 관한 정상적인 기능을 방해함으로써 야기되는 영양 결핍 현상 2) 특히 중추적으로 간에 영향을 미치는 직접적인 독성의 영향으로 야기되는 장기의 병변으로 나타난다.

간은 인체에 있어 가장 큰 내부 장기이다. 간의 기능은 생명과도 직접적으로 연관되고 인체의 대사 활성화에 있어서 중요한 역할을 하는데 필수적인 기능을 하고 있다. 간은 순환하는 혈액을 여과시키고, 독성의 물질들을 제거하고 파괴시키기도 한다. 또한 담즙을 생산함으로써 지방을 소화시켜주며 흡수하기 유리하게 용해성으로 정제시켜주기도 한다. 간은 필수적인 영양분인 콜레스테롤을 합성시키고, 당분을 대사로 변화시키거나 저장하고, 비타민을 저장하고 간이나 다른 신체 안에서 이용하기 위해 단백질을 축적시킨다. 간은 또한 배설하기 위해 대사물의 부산물을 요소로 전환시킨다. 게다가, 간은 혈액 응고의 대사에도 중요한 역할을 한다. 다행히도, 간의 기능은 일생동안 중요한 장기의 기능이 지속될 수 있게 소생시키기도 한다. 신체에 있어 간의 정상적인 기능은 연구의 대상물로서 그 중요성이 강조된다고 본다.

간세포는 다양한 세포이하의 구획에서 각각 정해진 에탄올 대사에 있어 세 가지 경로를 포함 한다: (i) cytosol 또는 세포의 용해될 수 있는 단편에 있어 알코올 탈수소효소의 경로, (ii) 소포체에 위치한 microsomal 에탄올의 산화 경로, (iii) peroxisome에 위치한 catalase 경로. 이러한 각각의 경로들은 특이한 대사와 acetaldehyde, 독성의 대사산물의 생성에 있어 세 가지 경로의 결과물들의 독성의 장애물을 합성시킨다.

알코올의 섭취는 간에 직접적으로 유독할 뿐만 아니라, 영양 결핍의 증상도 나타난다. 비록 에탄올에 에너지가 충분하지만, 장기간의 하루 동안에 섭취한 2,000 칼로리 이상의 알코올은 체중을 증가시키기에는 충분하지 못하다고 보고 된다. 또한, 알코올이 탄수화물, 칼로리로 대체되거나, 실험동물의 체중이 감소된다는 것은 식이를 섭취하는 것보다 알코올을 섭취하면서 에너지를 빼앗기는 효과를 나타낸다고 사료된다.

알코올은 직접적으로 간에 유독하다. 이러한 직접적인 간세포의 손상은 알콜성 간 질환으로 나타나며 유리기에 의한 원인으로 분석되고 있다. 유리기의 공격에 의한 일반적인 결과는 지질 peroxidation의 현상에 의한 간세포막의 연속적인 퇴화를 가져온다고 보고 되고 있다. 연구자들은 만성적인 알코올의 섭취가 흰 쥐에서의 지질 peroxidation이 간 손상에 영향을 주는 것으로 유도된다고 보고 되고 있다.

알코올이 간 손상을 유래하는 일반적인 세 가지 현상으로 지방간과, 간염, 간 경변으로 나타난다고 한다. 대략 90~100% 정도의 심각한 알코올 중독자들은 간의 비대함을 50% 이상의 알코올 중독자에서는 간염을 15~30% 정도의 알코올 중독자에서는 간 경변이 나타난다고 보고 되어 있다.

지방간이란 간염과 달리 간세포 자체의 염증이나 파괴가 아니고 간세포 속에 지방이 축적된 상태를 말한다. 축적된 지방자체는 간세포에는 큰 독성이 없어 심하지 않은 경우에는 증상이 없는 경우가 많고 간 기능이 정상이거나 조금 저하되는 경우가 대부분으로 나타난다.

지방간이 심해져서 간세포속의 지방덩어리가 커지면 핵을 포함한 간세포의 기능이 저하된다. 즉 세포 속의 축적된 지방으로 인하여 간세포 사이에 있는 미세혈관과 임파선을 압박하여 간 내의 혈액과 임파액의 순환에 장애가 생기게 되며, 그 결과 간세포는 산소와 영양공급을 적절히 받을 수 없어 간 기능이 저하된다.

알콜성 간 경변은 알코올에 유래된 간 손상의 가장 심각한 형태라고 본다. 미국에서 26,000명의 사망자 중 40~90 퍼센트가 알코올과 관련된 간 경변으로 나타났다. 간 경변은 간 활동의 원동력인 간세포가 사멸하고 섬유성 결합조직이 증식하면서 광범위한 섬유화가 일어나고 간 기능부전이 나타나는 것으로 보고 되고 있다. 이것은 오랫동안

염증으로 시달려 온 간세포가 병과 싸우는 사이 무수히 죽고 오그라들고 다시 재건되어 매듭이 지어지고 실타래를 포개어 놓은 것 같은 섬유화의 과정을 겪는 등, 수없이 많은 변화가 겹쳐 울퉁불퉁 쭉그러지는 현상이다. 간경변증은 흔히 만성간염이 낫지 않을 경우 오래되면 발생하는 병으로 알고 있다. 간염의 경우는 간의 염증이 소멸되면 원래의 상태로 돌아갈 수 있으나 간경변증은 일단 섬유화(흔 혹은 흉터의 생성)가 생기기 때문에 원래대로의 정상간으로 돌아갈 수가 없다. 또, 많은 합병증을 가져오거나 일부에서는 간염으로 발전하여 사망하게 되므로 무엇보다도 간염에 걸리지 않는 것이 중요하다. 지방간이나 간염은 정상간으로 회복될 수 있지만, 간경변증이 되면 간이 굳어 버리므로 정상복원 될 수 없다. 연구자들은 알코올에 유도된 결과들로 인한 심각한 질병들을 기초적인 절차와 치료 가능한 방법으로 준비하지 않으면 안 된다고 사료된다.

대두의 기원은 4,000~5,000년 전 중국으로부터 유래되었다고 보고 되어 있다. 그리고 1700년대 유럽으로 소개되었다고 보고 되어 있다. 그러나, 나쁜 기후, 토양 조건 때문에 유럽에서의 대두 경작은 제한되어 있다고 보고 된다. 대두는 주로 씨앗으로부터 경작되고, 극동지방에서, 대두는 두부, 두유 등과 같은 전통적인 음식으로도 만들어지는 반면, 서부지방에서는 기름이나 지방이 제거된 사료대용으로 만들어진다고 보고 된다. 이것은 주로 동물의 사료로 쓰인다. 대두는 탄수화물, 지방, 단백질, 섬유소와 칼슘 그리고 음식에 영양학적으로 균형 잡힌 좋은 재료로 쓰인다고 보고 된다. 고단백질 함유량과 균형 잡힌 아미노산의 구성물은 대두 단백질의 중요한 근원이고 고기와 유제품의 대체물로도 쓰인다고 한다. 대두는 인간이 섭취하는 식품에서 1% 미만으로 사용되고 있고 그 나머지는 동물의 사료로서 쓰이고 있다. 후에는, 채소의 단백질의 요구가 기대되고 있다. 또한 최근에는 대두 단백질이 혈액 콜레스테롤 수치를 감소시켜준다는 보고가 나옴에 따라 서부지역에서는 대두 식품의 소비가 급증하고 있다고 한다. 영양학적, 경제적, 건강에도 도움이 되는 콩류는 미래의 연구에 중요한 초점으로 부상되고 있음이 보고 되고 있다.

대두 단백질은 두 개의 자엽에서 발견되며 알부민 (10%), 수분, 그리고 글로블린 (90%)으로 분리된다고 보고 되어 있다. 대두 글로블린은 2S (15%), 7S (34%), 11S (41.9%) and 15S (9.1%)의 4가지 구획으로 나누어진다. 11S 구획은 순수한 단백질 글리신으로 나타난다. 글리신과  $\beta$ -conglycinin 은 대두 단백질에 있어 가장 중요하다.  $\alpha$ - and  $\nu$ -conglycinin과 함께 단백질 기능의 근원으로 작용하는 저장 단백질로서 형성되어 있다.

고콜레스테롤혈증에서 대두 단백질에 대한 연구는 LDL 수용기의 작용 활성화로 인

해 콜레스테롤의 감소를 가져온다는 가설이 제기되어왔다. LDL 수용기는 콜레스테롤 혈증을 조절하는 세포 기작을 생성하고, 혈액 순환에 있어 콜레스테롤의 증가를 억제하며, 정상적인 기능으로 회복시켜 준다고 보고 되어 있다. 본 연구는 대두 단백질이 간을 알코올에 유도된 손상으로부터 보호하는 효과와 지방간과 간의 섬유증의 발전으로 유도되는 해로운 조건으로부터 보호함을 제시하려 한다.

대두 인지질로 식이 보충은 간 질환과 알코올 중독, 또는 만성적인 영양 비경구투여의 환자에서 linoleic acid (LA) 결핍 위험을 감소시키는 보고가 있다. 인지질은 대부분 LA를 포함시키고 지방산은 세포막 형성에 필수적이다. LA는 우선적으로 음식으로부터 얻어 진다; 적은양으로는 간에서 합성되어지기도 한다. 간 기능이 위태로우면, LA가 결핍되어 있다는 증거이다. 게다가 73.9%의 대두 인지질인 choline 산물은 간 질환, 만성적인 간염, 또는 영양 결핍으로 인한 기능장애, 복통으로 인한 식욕 장애와 같은 증후군을 감소시킨다는 보고가 있다.

대두에 기초한 구성성분은 잠재적으로 건강에 다양하게 이익을 가져다주는데 기여하고 더욱이 장기간 알코올 섭취에 의한 손상으로부터 독성을 약화시키는 보고가 있다. 본 연구에서는 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부의 잠재적으로 이로운 효과를 조사함에 기초하고 있다. 게다가 일반적인 이로운 영양학적 요소들, 대두의 다양한 구성성분들의 이로운 효과를 조사하고 혈청 콜레스테롤 수치를 적절하게 낮춰주고, 간세포막을 보호하며, 영양 결핍의 개선과 간세포의 섬유증을 저해하는 것에 초점을 맞춰 본 연구를 수행하려한다.

# 재료 및 방법

## 1. 재료

### (1) 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부의 준비와 처리

0.01M의 Tris-HCl buffer(pH 8.0) : soybean을 10 : 1의 비율로 만든 혼합물을 저온에 보관하여 침전시킨다. 침전이 되면 침전물을 1시간 동안 magnetic bar를 이용하여 잘 혼합하고 6,000rpm에서 30분간 원심분리를 하였다. 원심분리 후 침전물은 제거하고 상층액을 옮겨 pH 6.4로 맞추어 주고 0°C에서 3시간 이상 24시간 미만 동안 방치하였다. 10,000×g의 속도로 6°C에서 30분간 원심분리 한다. 이때 상층액은 버리고 침전물에 증류수를 첨가하여 pH를 7.5~8로 맞추어 투석하여 건조시킨 후 Biuret 방법을 이용하여 정량분석을 실시하였다. 분리된 시료는 4°C에 보관한 후 실험에 사용하였다. 생맥산(SMS)는 한국 전통 의학서적과 한국 전통 한방 의사들의 추천에 의해 기초되어 준비했다. SMS는 한국 전통 처방을 포함한 다섯 가지 약초의 혼합물로 인삼, 황기, 맥문동, 오미자, 호박을 비례적인 양으로 각각 1 (20 g), 1 (20 g), 1 (20 g), 1 (20 g), and 1 (20 g)으로 준비한다. 음용수 1,500ml를 가하여 2시간 30분 동안 한약 중탕기(대용 중탕기)에서 끓인 후 400ml로 농축시킨다. 농축시킨 한약 시료는 3MM paper(Chromatography 3mm paper, Whatman)로 여과한 후 4°C에 보관하면서 사용하였다. 11S 단백질 두부는 SMS로 응고시켜 사용하였다. 11S 단백질 가루 (100g)에 음용수 1,000ml를 첨가하여 10% 배아액으로 만든 후 잘 저으면서 20분간 끓인다. 이때 기포가 생기면 4~5 방울의 soybean oil을 첨가하여 저어준다. 끓인 11S 단백질 두유액을 gauze를 사용하여 필터 후 배아 milk와 배아 curd refuse를 분리하였다. 11S 단백질 두유액을 92°C까지 식힌 후 50ml의 11S 단백질 두유액을 beakers에 분주한 후 가미 호박 생맥산 10%, 즉 5ml를 첨가하여 1시간 후 각각의 시료의 사진을 찍어 응고정도를 확인하였다. 현재 시판되고 있는 일반 두부 반 모 250g을 기준으로 하여 60kg의 성인 남자가 하루섭취하는 것으로 계산하였다. 11S 단백질 두부는 4.1 g/kg 흰 쥐의 체중으로 4주간 경구 투여하였다. 대두 배아는 (주) 정식품에서 판매하는 것으로서 대두로부터 분리하였다. 건조된 대두 배아는 (주) 정식품에서 2003년 9월에 구입하였다. 대두 배아 용액은 대두 배아를 정제된 물을 끓여서 준비하였다. 이 용액은 끓은 후 상온에서 한 시간 동안 식혔다. 배아 두부의 응고제로 사용한 천연 응고제는 본 연구팀이 개발한 가미 호박 생맥산으로 맥문동, 오미자, 황기와 호박 각각 20g 및 인삼 10g에 음용수



1,500ml를 가하여 2시간 30분 동안 한약 증탕기(대용 증탕기)에서 끓인 후 400ml로 농축시킨다. 농축시킨 한약 시료는 3MM paper(Chromatography 3mm paper, Whatman)로 여과한 후 4℃에 보관하면서 사용하였다. 배아는 국산 대두에서 분리한 것으로 배아 powder 25g에 음용수 235ml를 첨가하여 10% 배아액으로 만든 후 잘 저으면서 20분간 끓인다. 이때 기포가 생기면 4~5 방울의 soybean oil을 첨가하여 저어준다. 끓인 배아 두유액을 gauze를 사용하여 필터 후 배아 milk와 배아 curd refuse를 분리하였다. 배아 milk를 92℃까지 식힌 후 50ml의 soybean milk를 beakers에 분주한 후 가미 호박 생맥산 10%, 즉 5ml를 첨가하여 1시간 후 각각의 시료의 사진을 찍어 응고정도를 확인하였고, 1.5ml eppendorf tube에 시료를 옮긴 후 6,000rpm에서 5분간 원심 분리하여 그 상층액의 pH와 O.D(280nm, 600nm)를 측정하여 응고 정도를 확인하였고 이와는 별도로 배아 milk를 92℃까지 식힌 후 250ml의 soybean milk에 가미 호박 생맥산 25ml를 첨가하여 생맥산 배아 두부를 만들어 실험에 사용하였다.

## (2) 동물 모델과 실험군

실험동물 모델은 초기 체중이 200±10g인 Sprague Dawley 종(SD계 Rat)의 4주된 음성 흰쥐를 대한 바이올링크(Daehan Biolink Co., Ltd)에서 구입하여 실험하였다. 4주간 본 대학의 동물 사육실에서 적응시켰으며 적응시킨 동안 사육실의 온도와 습도를 각각 22±2℃, 50±5%로 항온 항습을 유지하였다. 식이는 자유로운 환경에서 고품사료(삼양사)와 음용수를 섭취하도록 하였다. 4주간의 적응기간이 끝난 후 6주간 매일 5g/kg/day의 양의 알코올 및 실험시료를 투여하였다. 사육 마지막 날 실험동물을 overnight로 14시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취시킨 후 마취상태에서 hepatin을 처리하지 않은 주사기를 이용하여 후대정맥에서 3ml 이상의 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 3,000rpm의 속도로 15분간 저온(4℃) 원심 분리 시켜 혈청을 얻었다. 이 혈청은 Aspartate Aminotransferase(AST : 혈청 SGOT), Alanine Aminotransferase(ALT : 혈청 SGPT), Lactate Dehydrogenase(LDH), Cholesterol, Total Lipid(총지질) 분석에 사용하였다. 채혈 직후 간과 신장을 적출하여, 생리 식염수로 세척하고 여과지로 표면의 물기를 제거하여 장기 무게를 측정하였다. 장기무게 측정 후 간은 조직학적 검사를 하기 위해 적출한 다음에 간의 일부조직(1×1×1cm)을 절편 하여 10% 중성 formalin 액에 고정시켰다.

실험동물의 체중은 각각의 실험군의 초기 전 주의 시작에서의 평균 비율로 계산되었다. 이 방법은 실험을 수행하는 동안 알코올을 투여하는 방법에도 계산되었다. 5주후의 기간에는 실험동물의 평균 체중이 약 330g 정도가 되었다. 6주가 된 후 본 실험을

시작하였다. 6주동안, 알코올 수용액과 정제된 음용수는 모든 군들에서 똑같이 섭취시켰다. 모든 실험동물들은 음용수 또는 알코올 수용액을 자유로운 환경에서 섭취할 수 있게 했다. 모든 실험동물은 주사기로 각각의 실험 처리 용액 또는 유효 성분이 없는 위약을 날마다 경구 투여시켰다. 경구투여 섭식은 매일 같은 시간 때에 수행하였다. 모든 실험동물은 자유로운 섭식을 하게 했다. 식이 섭취와 음용수의 측정은 매일 수행하였고 신체 체중 측정은 주마다 실시하였다.

실험동물들은 6개 군들로 다음과 같이 분류했다. (i) 음용수만 투여시킨 어떤 것도 처리하지 않은 정상군, (ii) 알코올과 음용수를 같이 섭취시킨 음성대조군, (iii) 양성대조군 A(Positive Control A)와 양성대조군 B(Positive Control B)는 알코올과, 시판되고 있는 A사의 숙취 해소제(Condition : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul) 및 알코올과, 시판되고 있는 B사의 간 질환 치료 및 혈액순환 개선제(Alcodex : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul & Vasoclean : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul)를 투여하였다. As shown in Table 1에 나타나 있듯이 11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군은 알코올과 실험 처리 용액인 생맥산으로 응고시킨 11S 단백질 두부와 후자는 대두 배아를 생맥산으로 응고시켜 만든 두부를 재료로 한 실험군이다.

**Table 1. Composition of Experimental Groups**

Groups	No. of rats treated	Compositions of alcohol plus medicinal extracts treated
Untreated	6	Distilled water
Alcohol fed	6	Alcohol + distilled water
Medicinal treatment A	6	Alcohol + solution A(HCS)
Medicinal treatment B	6	Alcohol + solution B(LCS+BPS)
11S protein tofu treatment	6	Alcohol + 11S Protein tofu congealed with SMS
Soybean embryo tofu treatment	6	Alcohol + Soy-bean embryo tofu congealed with SMS

### (3) 식이와 처리군의 구성

양성대조군 A는 제일제당에서 시판되고 있는 숙취해소제 (Condition)를 본 실험에 의 목적으로 사용하였다. 투여량은 사람을 기준으로 (매일 섭취량 : 75 ml/60 kg)하여 평균 실험동물의 체중으로 계산하였을 때의 균형적인 양으로 맞추었다. 양성대조군 B는 시판되고 있는 간 질환 치료 및 혈액 순환 개선제 (Alcodex & Vasoclean)을 실험의 목적으로 사용하였다. 투여량은 사람을 기준으로 (매일 섭취량 LCS 30 ml/60 kg + BPS 60 ml/60 kg)하여 평균 실험동물의 체중으로 계산하였을 때의 균형적인 양으로 맞추었다. 11S Protein Tofu Solution was prepared as explained above. 11S 단백질 두부 처리 용액은 위에서 언급한 바와 같이 준비하였다. 투여량은 매일 단백질 요구량으로 60 kg의 한국 성인 남자를 기준으로 하여 1 g/kg/day으로 하였다. 대두 배아 두부 처리 용액은 위에 언급한 바와 같이 준비하였다. 투여량은 매일 단백질 요구량으로 60 kg의 한국 성인 남자를 기준으로 하여 1 g/kg/day로 하였다. 실험동물에게 먹이는 식이는 시판되고 있는 삼양사에서 준비한 사료를 섭취시켰다.

## 2. 방법

### (1) 체중, 식이, 음용수(알코올과 음용수)의 측정

체중은 1주부터 11주 까지 매주 같은 시간에 측정하였다. 식이의 섭취량은 매일 같은 시간에 측정하였다. 음용수 또는 알코올과 음용수 또한 매일 같은 시간에 측정하였다.

### (2) 혈액 시료와 혈청의 준비

사육 마지막 날 실험동물을 14시간 동안 절식시킨 후 ethyl ether로 약하게 마취시켰고 마취상태에서 헤파린을 처리하지 않은 주사기와 시험관을 이용하여 후대정맥에서 3ml 이상의 혈액을 채취하여 상온에서 30분간 처리 후 3,000rpm의 속도로 15분간 저온 (4℃) 원심분리 시켜 혈청을 얻었다. 이 혈청은 AST, ALT, LDH, Total Cholesterol, Total Lipid 분석에 사용하였다.

### (3) 내부 장기의 무게 측정

채혈 직후 간을 적출하여, 즉시 냉각된 생리 식염수로 세척하고 여과지로 표면의 물기를 제거하여 무게를 측정하였으며 무게 측정 후 간은 조직학적 검사를 하기 위해 적출 직후에 일부(1×1×1 cm)를 절편 하여 10% 중성 formalin 액에 고정시켰다.

### (4) AST (Aspartate aminotransferase: serum SGOT)

원심분리 하여 얻은 혈청의 활성치는 AST kit(Boehringer Mannheim, Germany)을 사용하여 다음과 같은 원리로 측정하였다. 검체 중의 GOT 작용으로 aspartic acid와 alpha-ketoglutaric acid는 oxaloacetic acid와 L-glutamic acid로 변화한다. 생성된 oxaloacetic acid는 조효소 NADH의 존재 하에 MDH 작용으로 malate가 생성되는데 NADH가 NAD<sup>+</sup>로 산화될 때, 340nm의 파장에서 흡광도의 감소를 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Japan)를 이용하여 측정하였다.

**(5) ALT (Alanine aminotransferase: serum SGPT)**

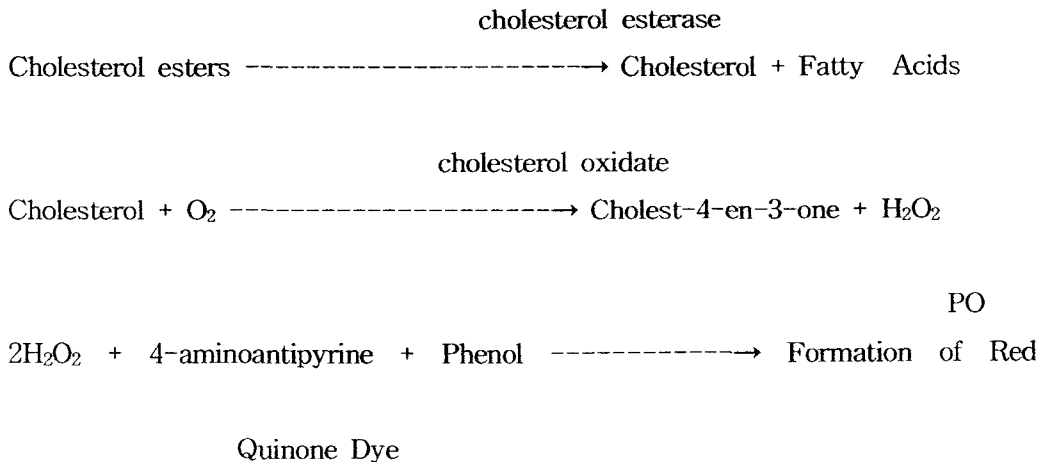
ALT의 활성치는 ALT kit(Boehringer Mannheim, Germany)을 사용하여 다음과 같은 원리로 측정하였다. 검체 중의 GPT 작용으로 L-alanine과 alpha-ketoglutaric acid는 pyruvic acid와 L-glutamic acid로 변화한다. 생성된 pyruvate는 조효소 NADH의 존재 하에 LDH작용으로 lactate가 생성되고 NADH가 NAD<sup>+</sup>로 산화될 때, 340nm의 파장에서 흡광도의 감소를 자동 생화학 분석기 (Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

**(6) LDH (Lactate Dehydrogenase)**

LDH의 활성치는 LDH kit(Boehringer Mannheim, Germany)을 사용하여 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

**(7) Total Cholesterol and Total Lipids**

Total Cholesterol은 enzymatic colorimetric test를 이용하여 다음과 같은 원리로 측정하였다.



이 원리로 R208 영동 cholesterol - R 시약(영동제약, 한국)을 사용하여 자동 생

화학 분석기(Hitachi 747, Japan)를 이용 cholesterol 양을 측정하였다.

Total Lipid는 Sulfo-phospho-vanillin을 이용하는 방법으로 검체에 직접 황산을 넣어서 가열한 후, 인산 바닐린 혼액과 반응시켜서 생기는 분홍색 파장을 540nm에서 측정하여 농도를 구하였다. Total Lipid는 총지질 측정용 시약 kit(국제시약 주식회사, 한국)을 사용하여 생화학 분석기 (Hitachi 747, Japan)로 측정하였다.

#### (8) 통계학적 분석

모든 결과들은 평균 표준 편차로 나타내었다. 자료의 통계학적 사정은 student's t-test로 실험군들간 비교를 하였다.

# 결 과

## 1. 체중의 변화

7주간 장기간 알코올을 투여한 후 실험동물 체중의 변화는 Table 2, Figure 1과 Figure 2에 요약되어 있다. 실험이 수행되는 동안 실험동물의 총 체중변화 증가량을 관찰하였다. 첫 3주동안의 실험동물의 체중증가량에서, 정상군의 증가량은 75.32 g 그리고 음성대조군은 80.54 g으로 나타났다. 양성대조군 A와 양성대조군 B는 각각 60.70 g과 69.25 g으로 나타났다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군은 각각 71.69 g과 68.62 g으로 증가되어 나타났음이 보고 되었다.

앞선 연구에 따라, 알코올 투여군은 정상군과 비교했을 때 체중이 감소되어 나타났다. 이러한 결과에서 나타났듯이 알코올 투여군의 증가된 체중은 장기간 알코올 섭취에 의해 콜레스테롤과 지질의 축적 때문이라고 추측할 수 있다. 학계에는 이러한 만성적인 알코올 섭취는 지질 대사에 이상을 일으키며 고지혈증을 비롯하여 각종의 영양 결핍증에서 볼 수 있는 장기조직의 병리적 소견들이 보고 되어있다. 또한 장기간의 알코올 섭취는 체중감소의 원인이 된다는 연구결과가 많은 학자들에 의해 발표되어 왔다. 이러한 이유는 알코올 섭취로 인해 산소의 소비가 증가되고 대사율이 증가되며 세포 내 microsome에서 알코올 산화기구의 ATP 생성이 저하되기 때문인 것으로 알려져 있다. 그리고 Pikarr's 결과에서 볼 때, 감소된 체중은 알코올 섭취군의 결과로서 식이 섭취와 고에너지 소비의 감소로 나타나는 신체 지질의 감소 때문이라고 할 수 있다. 정상군과 음성대조군에서의 최종 체중변화량은 각각  $121.55 \pm 16.292$  g 과  $108.60 \pm 9.334$  g으로 나타났다. 양성대조군 A와 양성대조군 B의 최종 체중변화량이 각각  $115.02 \pm 5.040$  g,  $115.25 \pm 7.873$  g으로 나타난 반면, 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군은 각각  $112.22 \pm 12.860$  g,  $116.55 \pm 11.352$  g으로 증가한 양을 나타내었다. 본 연구 결과에서도, 알코올의 해로운 영향으로 인해 알코올 섭취군이 다른 실험군들에 비해 적은 영양분을 흡수한 것으로 추측할 수 있다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군은 대두에 기초한 영양분 처리로 인한 개선 효과를 나타낸 것으로 추측할 수 있다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군 모두 알코올 섭취군에 비해 두드러지게 더 높은 체중 증가량을 나타내었음을 알 수 있었다.

이러한 연구 결과들은 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군이 양성대

조군을 제외하고, Table 3와 Figure 3에 나타났듯이 개략적으로 동일한 양의 식이를 섭취한 사실에 뒷받침되고 있다. 평균적으로, 양성대조군 A와 B가 각각 평균적인 주당 식이 섭취가  $37.01 \pm 0.622$  g,  $36.76 \pm 0.586$  g인 반면 음성대조군은  $37.71 \pm 0.639$  g으로 나타났음을 알 수 있었다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군은 식이 섭취가 각각  $35.84 \pm 0.619$  g,  $36.55 \pm 0.574$  g으로 나타났음을 알 수 있었다. 평균 주당 식이 섭취가  $44.09 \pm 2.140$  g으로 나타난 정상군은 제외되었다. 이러한 결과는 체중 증가량의 득 또는 실이 음성대조군에서 다양한 양의 식이 섭취가 크게 영향을 미치지 못한다는 것을 의미한다. Table 2와 3의 조합된 결과로 볼 때, 만성적인 알코올 섭취로 인해 각종의 영양 결핍증에서 볼 수 있는 소견들을 체중 감소의 원인으로 유추할 수 있을 것이다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 투여군에서의 체중의 증가는 그 군들 각각의 처리물질로 인한 개선 효과 때문이라고 볼 수 있을 것이다.

**Table 2. 알코올과의 약추출물로 처리된 실험동물군의 체중 측정**

Groups	Weeks		
	0	1	2
Untreated	$340.00 \pm 16.705$	$373.00 \pm 19.413^*$	$396.72 \pm 19.558^*$
Alcohol fed	$335.68 \pm 9.758$	$365.43 \pm 06.299$	$390.23 \pm 03.801$
Medicinal treatment A	$341.53 \pm 11.108$	$365.72 \pm 13.559$	$386.35 \pm 17.732$
Medicinal treatment B	$332.77 \pm 12.611$	$360.13 \pm 16.312^*$	$384.22 \pm 18.416^*$
11S protein tofu treatment 1	$336.28 \pm 14.218$	$361.13 \pm 08.915$	$379.21 \pm 06.302^*$
Soybean embryo tofu treatment	$337.98 \pm 10.918$	$367.73 \pm 18.338$	$388.32 \pm 20.688$



Table2.Continued

Groups	Weeks		
	3	4	5
Untreated	415.32±24.344	432.35±26.247	445.73±25.195*
Alcohol fed	416.22±04.128	429.28±02.025	437.37±4.250
Medicinal treatment A	402.23±15.385**	423.02±13.477*	437.57±10.534
Medicinal treatment B	402.02±18.087*	420.97±22.023*	435.07±22.035
11S protein tofu treatment	407.97±20.196	422.24±16.334	437.29±13.122*
Soybean embryo tofu treatment	406.60±20.244*	426.28±16.917	441.48±17.847

Table2.Continued

Groups	Change of the body weight(g) after 6 week treatment
	6-0
Untreated	121.55±16.292*
Alcohol fed	108.60±09.334
Medicinal treatment A	115.02±05.040*
Medicinal treatment B	115.25±07.866*
11S protein tofu treatment	112.22±12.865
Soybean embryo tofu treatment	116.55±11.346*

Untreated group was fed with water. Alcohol fed group was fed with alcohol and water. Medicinal treatment group A was fed with alcohol and hangover cure solution (*Condition* : Cheil je dang Co. Ltd., Seoul). Medicinal treatment group B was fed with alcohol, alcoholic liver disease cure solution (*Alcodex* : GUJU pharm. Co. Ltd., Seoul) and circulation of blood promotable solution (*Vasoclean* : CHO-A pharm. Co. Ltd., Seoul). The body weight of each rat was measured weekly. Each value was represented as Mean standard deviation of six rats. \*:Significantly different from the negative control group (\* $p < 0.5$ , \*\*: $p < 0.1$ , \*\*\*: $p < 0.01$ ) by Student's T-test (48).

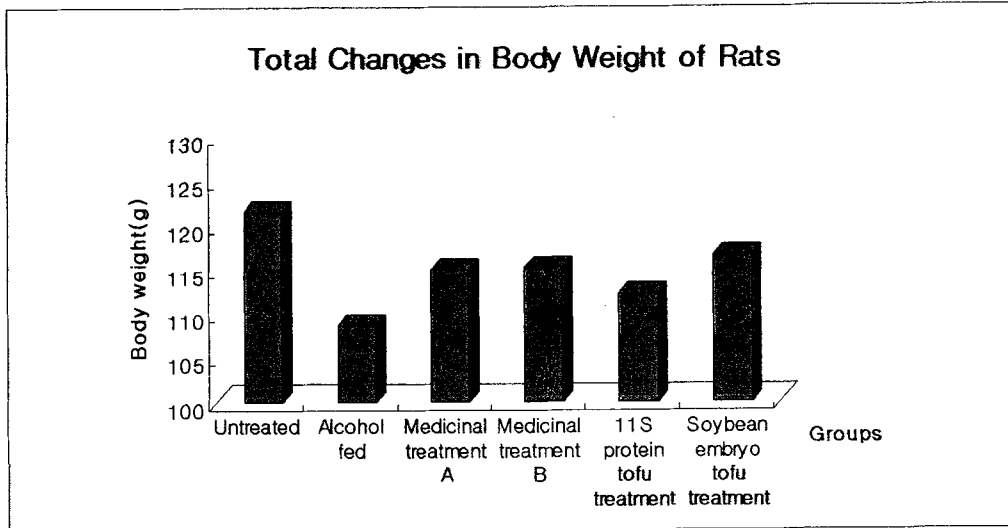


Figure 1. 실험동물 체중의 총 변화량

Untreated group was fed a normal diet and water only. Alcohol fed group was fed alcohol and water only. Medicinal treatment group A was administered a combination of alcohol and hangover cure solution (*Condition* : Cheil Jedang Co., Ltd., Seoul). Medicinal treatment group B was fed a alcohol, alcoholic liver disease cure solution (*Alcodex* : Guju Pharmaceutical Co., Ltd., Seoul) and blood circulation promotion solution (*Vasoclean* : Cho-A Pharmaceutical Co., Ltd., Seoul). Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

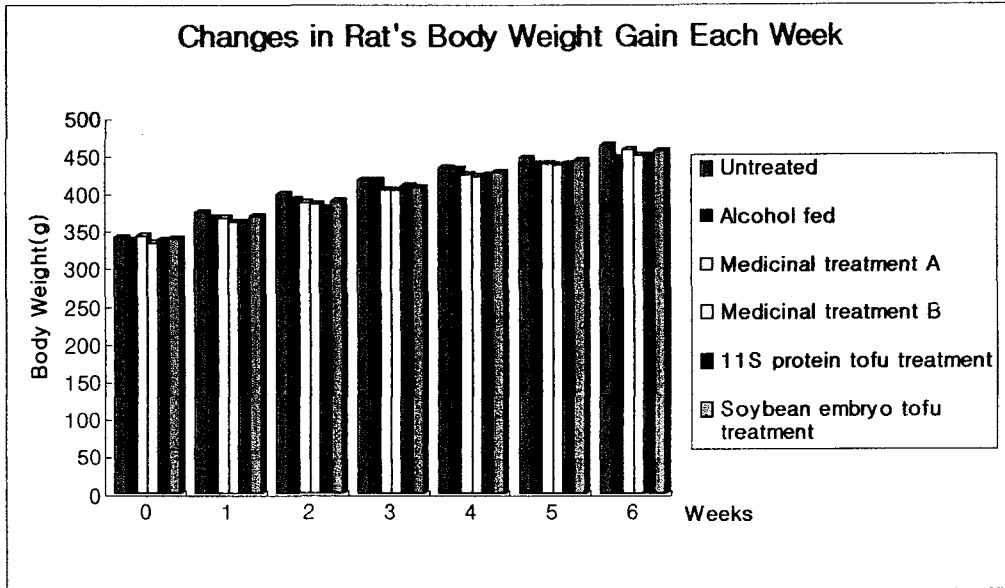


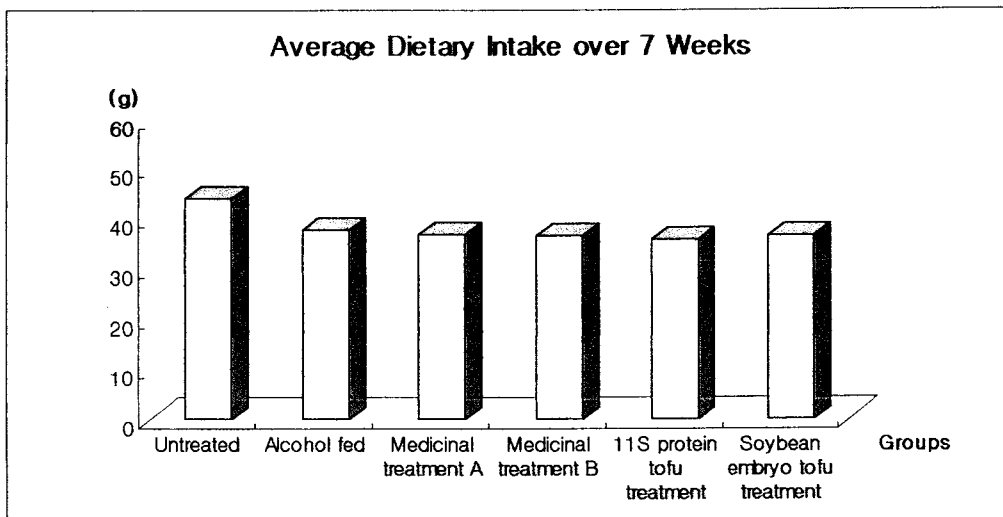
Figure 2. 매 주 실험동물 체중 증가량의 변화

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

**Table 3. 평균 식이 섭취 (7주; 1주의 알코올 적응기간과 6주의 약물 처리기간)**

Groups	Average Dietary Intake in 7 Weeks(g)
	Mean±S.D.
Untreated	44.09±2.140***
Alcohol fed	37.71±0.639
Medicinal treatment A	37.01±0.622**
Medicinal treatment B	36.76±0.586***
11S protein tofu treatment	35.84±0.619**
Soybean embryo tofu treatment	36.55±0.574*

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The body weight of each rat was measured weekly for the duration of the experiment (7 weeks). Each value was represented as the mean ± standard deviation of six rats. Means with different superscript asterisks within a column and significantly different from the negative control group(\*: $p < 0.5$ , \*\*:  $p < 0.1$ , \*\*\*:  $p < 0.05$ , #:  $p < 0.0001$ ) by Student's t-test (48).



**Figure3. 평균 식이 섭취 (7주 : 1주의 알코올 적응기간과 6주의 처리기간)**

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (7 weeks).

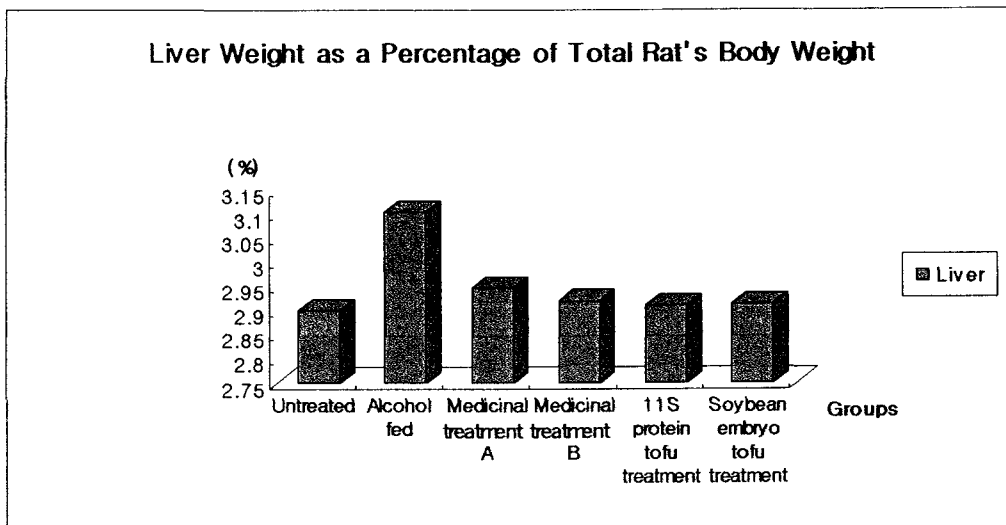
## 2. 간의 무게

실험동물의 총 체중 대 간의 무게의 비율은 Table 4와 Figure 4에 나타내었다. 정상군, 음성대조군 양성대조군 A와 양성대조군 B는 각각  $2.900\pm 0.1244\%$ ,  $3.105\pm 0.0749\%$ ,  $2.947\pm 0.2376\%$  and  $2.921\pm 0.2185\%$ 으로 나타났음을 알 수 있다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 체중 대 간 무게의 비율은 각각  $2.912\pm 0.2745\%$ ,  $2.915\pm 0.1899\%$ 으로 나타났다. 이러한 결과는 음성대조군과 비교해 볼 때 두드러지게 낮게 측정되어 나타났고 정상군과 비교적 비슷하게 측정되어 나타났음을 알 수 있었다. 만성적인 알코올 섭취로 인한 지질의 축적은 간의 비대와 간의 섬유증의 지표로 보이는 총 체중 대 간 무게 비율의 증가로 나타난다고 보고 되었다. 본 연구의 결과는 알코올을 섭취한 간 손상을 입은 실험동물의 총 체중 대 간 무게의 비율이 실험군에 투여한 처리보다 더 낮게 측정되고 Lee의 결과와 일관된 사실을 나타내었다.

**Table 4. 실험동물의 체중 비율로서 간 무게의 평균값**

Groups	Liver
	(% of the body weight) Mean±S.D.
Untreated	$2.900\pm 0.1244^{***}$
Alcohol fed	$3.105\pm 0.0749$
Medicinal treatment A	$2.947\pm 0.2376^*$
Medicinal treatment B	$2.921\pm 0.2185^*$
11S protein tofu treatment	$2.912\pm 0.2471^*$
Soybean embryo tofu treatment	$2.915\pm 0.1899^{**}$

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The body weight of each rat was measured weekly for the duration of the experiment (7 weeks). Each value was represented as the mean  $\pm$  standard deviation of six rats. Means with different superscript asterisks within a column and significantly different from the negative control group(\*: $p<0.5$ , \*\*: $p<0.1$ , \*\*\*: $p<0.05$ , #: $p<0.0001$ ) by Student's t-test (48).



**Figure4. 실험동물의 체중 비율로서 간 무게**

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

### 3. 혈장 내 AST와 ALT의 수치

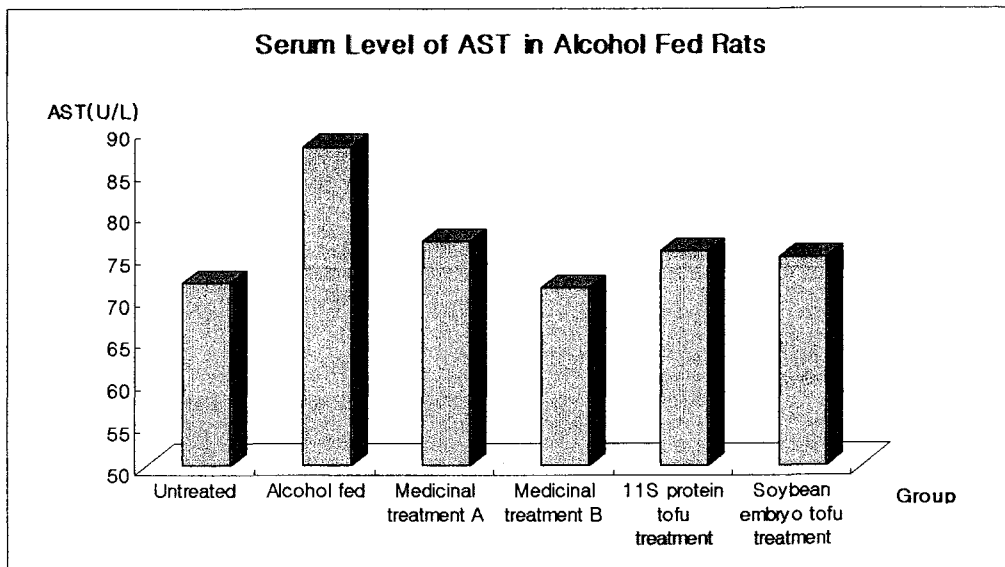
AST의 혈청 수치는 Table 5와 Figure 5에 나타내었다. 정상군 에서의 AST 혈청 수치는  $71.67 \pm 6.593$  U/L로 나타난 반면, 음성대조군에서의 혈청 수치는  $87.83 \pm 10.741$  U/L로 두드러지게 나타났다. 이러한 자료로부터, 정상군의 AST 혈청 수치는 음성대조군의 AST 혈청 수치보다 현저히 더 낮게 측정되어 나타났음을 알 수 있었다. 이 결과에 의한 근거로서, AST 수치는 만성적인 알코올 섭취에 의한 간 손상에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 알코올과 시판되고 있는 숙취 해소제를 함께 섭취한 실험동물군인 양성대조군 A에서의 AST 수치가  $76.50 \pm 10.232$  U/L로 나타났다. 또한 알코올과 간 질환 치료 및 혈액 순환 개선제를 함께 섭취한 실험동물군인 양성대조군 B에서의 AST 수치는  $71.00 \pm 4.940$  U/L로 나타났다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 AST 혈청 수치가 각각  $75.40 \pm 8.432$  U/L과  $74.67 \pm 8.165$  U/L로써, 음성대조군의 AST 수치보다 현저히 낮게 측정되었다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 AST 수치는 정상군의 AST 수치와 비교했을 때 비교적 비슷하게 측정되었다. Table 5와 Figure 6에 나타낸 ALT 효소 활성치에서는 정상군의 ALT 수치가  $45.50 \pm 5.206$  U/L로 나타났으며 이에 반해 음성대조군은  $94.83 \pm 13.197$  U/L로 정상군에 비해 매우 높은 수치를 나타내어 장기간의 알코올 투여로 인한 간 손상을 확인할 수 있었다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 ALT 수치는 각각  $43.21 \pm 6.835$  U/L 과  $44.50 \pm 4.848$  U/L로 나타났다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 ALT 수치는 정상군의 수치와 비슷하게 측정되었으며 유의성 역시 매우 높은 것으로 분석 되었다. 본 연구에서 나타난 결과를 살펴보면 장기간의 알코올 섭취로 인한 간 기능장애에 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부가 손상된 간의 회복 효과를 높여주는 것을 알 수 있었으며 장기간 투여하였을 경우 간 기능 장애의 회복기능이 현저히 증가하는 연구결과를 나타낸 것으로 사료된다.



**Table 5. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 AST와 ALT의 수치**

Groups	AST(U/L)	ALT(U/L)
	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Untreated	71.67±06.593 <sup>***</sup>	45.50±05.206 <sup>*</sup>
Alcohol fed	87.83±10.741	94.83±13.197
Medicinal treatment A	76.50±10.232 <sup>**</sup>	46.33±07.815 <sup>#</sup>
Medicinal treatment B	71.00±04.940 <sup>***</sup>	43.67±07.711 <sup>#</sup>
11S protein tofu treatment	75.40±08.430 <sup>***</sup>	43.21±06.832 <sup>***</sup>
Soybean embryo tofu treatment	74.67±08.165 <sup>***</sup>	44.50±04.848 <sup>#</sup>

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The body weight of each rat was measured weekly for the duration of the experiment (7 weeks). Each value was represented as the mean ± standard deviation of six rats. Means with different superscript asterisks within a column and significantly different from the negative control group(\*:  $p < 0.5$ , \*\*:  $p < 0.1$ , \*\*\*:  $p < 0.05$ , #:  $p < 0.0001$ ) by Student's t-test (48).



**Figure 5. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 AST의 수치**

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

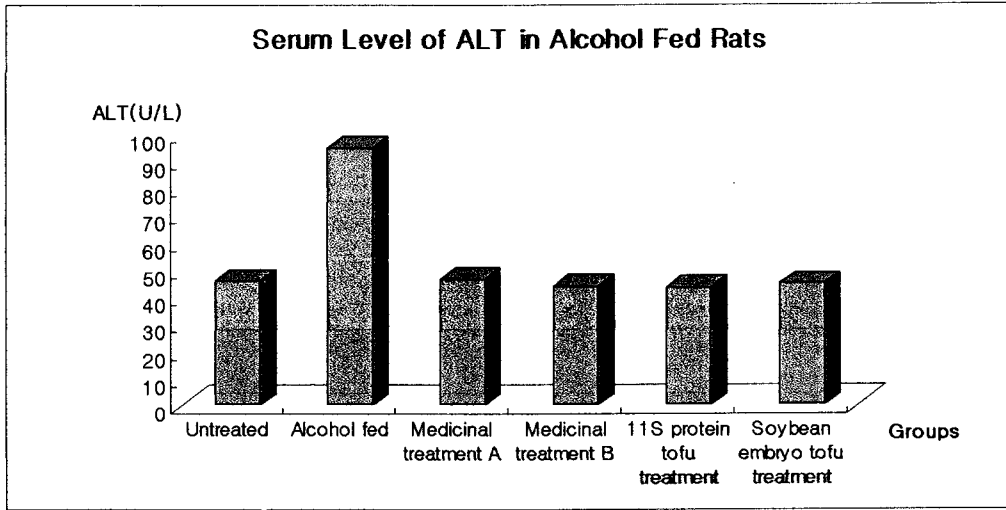


Figure 6. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 ALT의 수치

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

#### 4. 혈청 LDH의 수치

LDH는 젖산 탈수 효소라고도 하며, 몸 안의 당이 분해 되어 에너지로 변할 때 작용하는 효소의 하나로 여러 조직 세포 중에 함유되어 있어 세포가 파괴되면 혈중 LDH는 높아진다. 혈중 LDH는 간 질환, 심장질환, 혈액질환 등에서 고 활성을 보이는 경우가 많아 이 질환을 스크리닝 하는데 유용한 검사이다. 검사의 수치가 정상이거나 정상 수치보다 낮은 경우는 모두 정상으로 간주하는 반면, Table 6 와 Figure 7에서 보는 바와 같이 음성대조군의 LDH 수치가  $1189.00 \pm 197.890$  U/L로 높게 나타난 수치는 간 질환이 유도되었음을 충분히 뒷받침하는 수치로 분석할 수 있다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 LDH 수치는 각각  $767.42 \pm 200.168$  U/L 과  $794.33 \pm 257.002$  U/L로 나타나 음성대조군의 LDH 수치보다 현저히 낮게 측정되었음을 알 수 있었다.

**Table6. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 LDH의 수치**

Groups	LDH(U/L) Mean±S.D.
Untreated	879.67±245.543 <sup>***</sup>
Alcohol fed	1189.00±197.890
Medicinal treatment A	834.00±401.083 <sup>**</sup>
Medicinal treatment B	252.50±083.847 <sup>#</sup>
11S protein tofu treatment	767.42±200.164 <sup>***</sup>
Soybean embryo tofu treatment	794.33±257.002 <sup>***</sup>

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The body weight of each rat was measured weekly for the duration of the experiment (7 weeks). Each value was represented as the mean ± standard deviation of six rats. Means with different superscript asterisks within a column and significantly different from the negative control group(\*: $p < 0.5$ , \*\*:  $p < 0.1$ , \*\*\*:  $p < 0.05$ , #:  $p < 0.0001$ ) by Student's t-test (48).

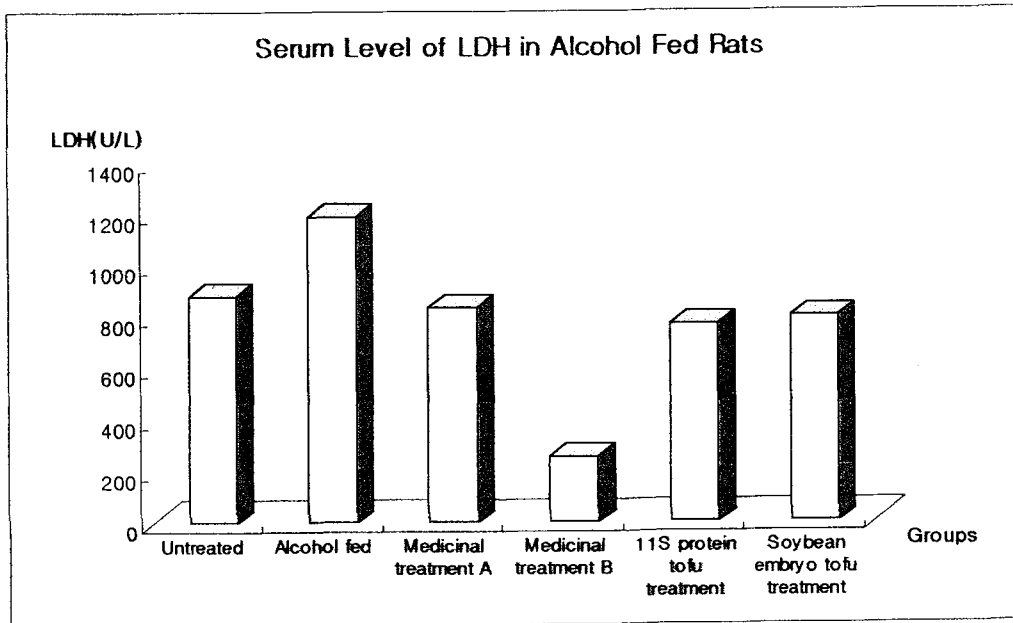


Figure 7. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 LDH의 수치

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

### 5. 혈청 총 콜레스테롤과 총 지질의 수치

Table 7과 Figure 8에 나타난 연구 결과를 보면 혈청 총 콜레스테롤의 농도에 있어서 정상군( $88.00 \pm 11.331$  mg/dl)에 비해 그 수치가 크게 감소되지는 않았으나 11S 단백질 두부 투여군( $64.21 \pm 9.603$  mg/dl)과 대두 배아 두부 투여군( $93.67 \pm 8.165$  mg/dl)의 수치가 유의성 있게 감소한 결과를 볼 수 있었다. 실험군의 콜레스테롤의 수치가 낮게 나온 것은 대두 단백질이 혈액 중의 콜레스테롤 농도를 낮춘다는 보고와 일치하는 것으로 실험물질이 혈액 중의 콜레스테롤 상승을 억제하는 효과가 있

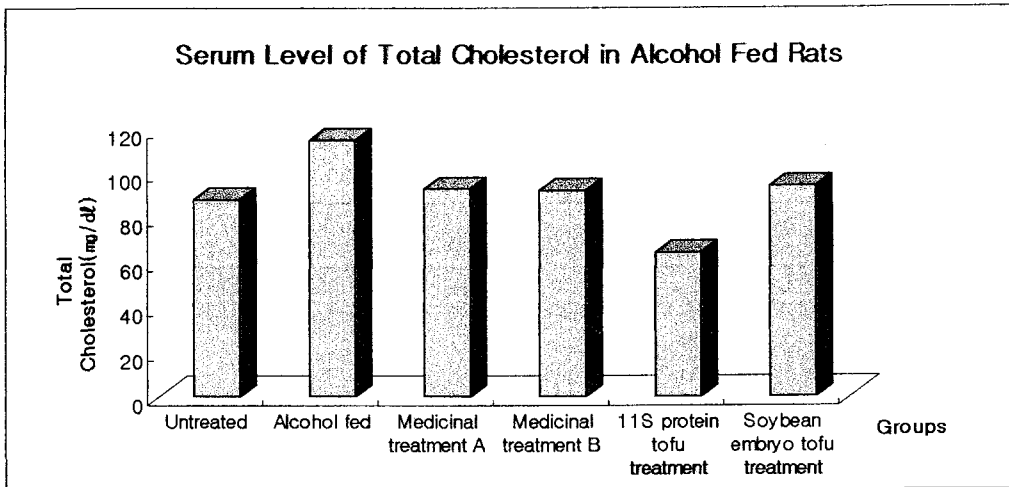
는 것으로 사료된다.

Table 7과 Figure 9에 나타난 연구 결과를 보면 정상군의 총 지질의 농도가 331.33±47.873 mg/dl이고, 음성대조군의 농도는 392.67±23.534 mg/dl으로 정상군에 비해 높은 수치의 총 지질 농도를 나타내었다. 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 총 지질 농도는 각각 300.21±38.435 mg/dl, 327.33±50.670 mg/dl의 농도 수치를 나타내어 음성대조군에 비해 총 지질의 농도가 낮아 두 실험군 모두 혈액 중 총 지질의 농도를 낮추어 주는 작용을 하는 것으로 분석되었다. 특히 11S 단백질 두부 투여군과 대두 배아 두부 투여군의 농도가 정상군의 농도와 거의 비슷한 농도를 나타내었으며 11S 단백질 두부 투여군이 매우 높은 유의성을 보여 그 효과가 아주 탁월하다고 할 수 있다.

**Table 7. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 총 콜레스테롤과 총 지질의 수치**

Groups	Total Cholesterol(mg/dl)	Total Lipid(mg/dl)
	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Untreated	88.00±11.331**	331.33±47.873***
Alcohol fed	114.67±21.210	392.67±23.534
Medicinal treatment A	92.50±10.349**	360.83±77.942**
Medicinal treatment B	92.17±09.432***	347.17±39.398***
11S protein tofu treatment	64.21±09.608**	300.21±38.432*
Soybean embryo tofu treatment	93.67±08.165**	327.33±50.670***

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The body weight of each rat was measured weekly for the duration of the experiment (7 weeks). Each value was represented as the mean ± standard deviation of six rats. Means with different superscript asterisks within a column and significantly different from the negative control group(\*:p<0.5, \*\*:p<0.1, \*\*\*:p<0.05, #:p<0.0001) by Student's t-test (48).



**Figure 8. 알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 총 콜레스테롤의 수치**

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).

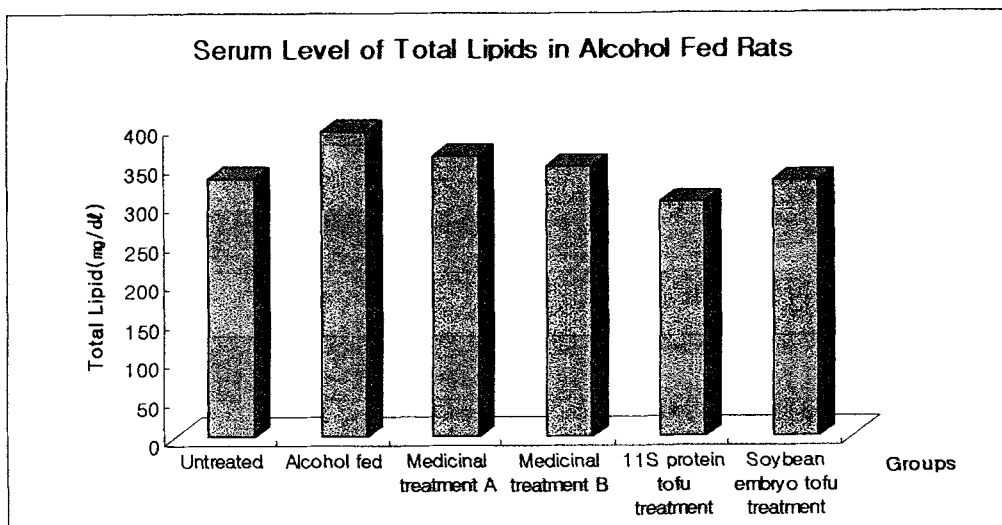


Figure9.알코올을 섭취한 실험동물에서의 혈청 총 지질의 수치

Rats of 11S protein tofu treatment group were pair-fed with ethanol and 11S protein tofu. Soybean embryo tofu treatment group was treated with a soybean embryo tofu and alcohol. The treatment period of 6 groups was for the duration of the experiment (6 weeks).



## 고 찰

오랜 세월동안, 알코올을 섭취한 정상적으로 성장한 흰 쥐들은 알코올을 섭취한 다른 실험군의 최소 획득 체중 증가량에 의해 증명되어져왔다. 자료에서 보듯이, 만성적으로 섭취한 알코올은 알코올이 탄수화물로 대체되는 영양이 불량해지는 효과를 가지고 있다. 그 후 실험동물은 체중이 감소되는 경향을 나타내고, 음식보다는 알코올에서 더 적은 에너지를 유도해내는 것을 나타낸다. 또한 이러한 자료들은 더욱이 만성적인 알코올을 섭취하고 흰 쥐들이 대두로부터 많은 영양분을 흡수할 수 있음을 시사한다. 11S 단백질두부로 처리한 군과 대두 배아 두부로 처리한 군은 알코올을 섭취시킨 군과 비교하였을 때 통계적으로 체중에서 두드러진 증가량을 나타냈다. 게다가, 이러한 증가량은 다른 알코올-섭취 군들에서보다 더 많은 증가량을 나타냈다. 이러한 자료들은 주간 평균 식이 섭취, 모든 실험군(11S 단백질두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군)들은 의약 처리군을 제외하고 동량의 식이를 소비시켰다. 오랜 기간동안의 알코올 섭취는, Table 2와 3에서 유추할 수 있듯이 알코올 섭취군에서 체중이 줄어드는 이유가 영양이 불량해지는 특성 때문일 것이다. 반대로, 의약 처리군들과 실험 처리군(11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군)은 각각의 처리들에 의해 개선됨을 알 수 있었다.

장기간의 알코올 섭취로 인하여, 지질의 축적이 간의 비대와 간의 섬유증을 나타냄을 알 수 있었다. 11S 단백질 두부를 처리한 군과 대두 배아 두부를 처리한 군에서의 흰 쥐들은 체중 대 간과 신장의 무게 비율이 단지 알코올만 섭취시킨 군에서의 흰 쥐들보다 적게 나감을 알 수 있었다. 간의 비대함은 간 기능의 악화와 즉, 알코올 중독자들의 첫 번째 단계에서 나타나는 증상 그리고 간 세포로 산소와 영양분의 분배를 방해시키기도 한다.

AST와 ALT 혈청 수치는 간의 비대함에 의해 증가되고, 또는 산화적인 부산물들에 노출되는 것이 간과 간 세포의 사멸을 일으킨다는 것도 보고되었다. 이러한 사실들은 알코올을 섭취시킨 군에서의 AST와 ALT 증가된 수치가 만성적인 알코올 섭취로 인한 간세포의 손상을 일으킨다. AST와 ALT 혈청 수치 모두 어떤 처리도 하지 않은 정상군과 같이 11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아두부 처리군에서 두드러지게 낮게 측정되었음을 알 수 있었다. 이 사실은 실험군들의 11S 단백질 두

부와 대두 배아 두부의 처리용액이 간 세포-보호 작용을 한다는 것을 나타낸다.

LDH는 거의 모든 신체 조직에서 발견되는 효소이지만 단지 적은 양으로만 혈액에서 일반적으로 검출된다. 세포들이 손상되거나 파괴되었을 때, 세포들은 혈류를 통해 LDH를 방출시킨다. LDH는 거의 모든 신체 조직에서 나타나고, 그래서 LDH 검사가 조직이 급성 또는 만성적으로 손상되는 것과 진척되는 양상의 지표로서도 일반적인 지표로 주로 사용된다. LDH 효소는 심장 질환의 특이한 진단으로 사용되고, 빈혈증과 간 질환에 어떤 기관이 연관이 되어 있는지를 판별할 수 있게 도와주는 데도 쓰인다. LDH의 증가된 수치와 LDH 효소의 변화된 비율은 일반적으로 조직의 어떤 손상을 나타내기도 한다. 이 연구에서 발견한 사실은, 11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군은 모두 LDH의 혈청 수치가 두드러지게 낮게 측정되었다는 것이다.

실험적인 처리군 (11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군)에서의 혈청에서 발견된 총 콜레스테롤 수치는 어떤 처리하지 않은 정상군과 같은 수치로 나타났음을 알 수 있었다. 어떤 처리도 하지 않은 정상군과 11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군과 알코올을 섭취시킨 군을 비교해서 볼 때, 총 콜레스테롤의 수치가 두드러진 차이에서 알 수 있듯이 실험적인 처리용액은 알코올 섭취군에서의 개선된 효과를 나타낸다. 이러한 사실들은 다른 연구에서도 발견되는데 대두 단백질이 어떤 대상에 혈청 콜레스테롤 수치가 낮게 나타남을 알 수 있다. 11S 단백질 두부 처리군과 대두 배아 두부 처리군에서의 총 지질 수치는 양쪽 처리군 모두에서 알코올 섭취시킨 흰 쥐들에서 그 차이가 두드러지게 나타난다. 이러한 사실은 콜레스테롤과 지질의 높은 수치가 동맥경화증과 수반된 심장 혈관의 질환들을 일으키는 주원인 요소로서 나타난다는 것에 의해 뒷받침되어진다고 할 수 있다.

이 연구에서의 간 세포-보호작용과 고콜레스테롤 작용이 만성적인 알코올 섭취를 직면한 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부 그 자체에서, 영양학적인 연구 분야로서 응용될 수 있음을 제시한다고 할 수 있다.

## 요 약

가장 효과적인 방법으로 장기간 알코올을 섭취시킨 흰 쥐에서의 간 세포에 미치는 영향은, 앞선 연구에서의 상당한 사실들에서 건강을 증진시키는 다양한 이득은 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부를 포함한 대두 단백을 섭취시켜 개선되는 효과를 지지시킨다. 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부가 알코올 섭취에 의한 손상으로부터 흰 쥐에서의 간 세포에 보호 작용이 있는지 없는지를 조사하기 위하여 생화학적인 분석을 수행하였다.

1. 혈장 활성의 간 효소로서 AST와 ALT가 간 세포에서 긴밀한 지표로서 존재하는 것과 이 혈청 효소 수치가 간 세포의 손상을 반영하거나 적어도 간 세포 막에서의 삼투성을 증가시킨다는 것을 나타낸다. 본 연구에서, AST와 ALT의 수치는 알코올을 섭취시킨 군과 11S 단백질 두부 또는 대두 배아 두부를 처리한 군에서 비교했을 때 전자보다 두드러지게 낮게 나타남을 알 수 있었다.

2. 고지혈증과 동맥 경화증의 절제와 예방은 총 콜레스테롤과 총 지질의 혈청 수치가 측정됨으로서 알 수 있었다. 본 연구에서 이러한 혈청 수치는 알코올을 섭취시킨 군과 11S 단백질 두부 또는 대두 배아 두부를 처리한 군에서 비교했을 때 전자보다 두드러지게 낮게 나타남을 알 수 있었다.

본 연구에서의 주된 초점은 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부 그 자체로서, 양쪽 모두 천연적인 대두-기초 처리물로서 알코올의 비영양학적인 특성, 간 세포의 손상, 고지혈증과 고콜레스테롤증의 유발을 억제하고 보호한다는 측면이 있다는 것이다. 가장 긍정적인 측면으로서의 11S 단백질 두부와 대두 배아 두부의 영향은 건강 유지에 도움이 되는 대안으로서 만성적인 알코올을 섭취한 간 손상에서의 예방과 치료를 도와준다는 것으로 사료된다.

### <협동 기관 연구 과제>

**Abstract** : 두유 기호도검사의 고소한냄새는 11S두유가 4.88로 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 두유의 외관의 색은 모든 시료군에서 유의적인 기호차이를 보이지 않았으나 대우두유가 5.57로 높은경향을 나타내었다. 두유의 고소한맛은 11S두유가 5.40으로 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 단맛의 기호도 역시 11S두유가 6.05로 유의적으로 높은 기호도를 나타내었다. 조직감의 점도도 역시 모든 시료군에서 유의적인 차이를 보였고 11S두유가 5.32로 높은 경향을 나타내었다. 전반적인 기호도도 모든 시료군에서 유의적인 차이를 보였으며 11S두유가 5.63으로 기호도가 높게 나타났다. 외관의 색 기호도는 일반두부가 7.01로 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 두부의 고소한 맛의 기호도는 모든 시료군에서 유의적인 기호 차이를 보이지 않았으나 한약두부, GDL두부가 일반두부보다 기호도가 높은 경향을 보였다. 두부의 단단한정도는 일반두부의 기호도가 높은 경향을 나타내었다. 탄력성도 마찬가지로 일반두부가 일반두부가 6.38로 유의적으로 높은 기호도를 나타 내었고 그 다음으로 한약두부가 5.46을 나타내며 기호도가 높게 평가 되었으나 5.26을 나타낸 GDL두부와는 유의적으로 기호 차이를 보이지 않았다. 두부의 전반적인 기호도에서는 한약두부가 5.94로 기호도가 높은 경향을 나타내었다.

# 실험 재료 및 방법

## 1. 재료

본 실험에 사용된 메주콩 (황금콩)은 시중 농협에서 구입했다. 11S는 탈지한 대두에서 분리하여 사용하였다. 그밖에 GDL (Glucono- $\delta$ -lactone), 유기산, urea, SDS, DTT (DL-Dithiothreitol) 등의 시약은 Sigma (USA)사에서 구입하여 사용하였다.

## 2. 콩의 외형적 특성

### (1) 일반성분분석

일반성분 분석은 AOAC법(AOAC, 15th ed.)에 의하여 수분함량은 105℃에서 상압 건조하여 측정하였고, 조단백 함량은 micro-kjeldahl법으로 측정하였으며 질소계수 6.25를 사용하여 환산하였다. 조지방 함량은 시료를 Soxhlet 장치를 사용하여 65℃에서 8시간 petroleum ether로 추출하였다. 회분함량은 550℃ 직접 회화법을 사용하여 측정하였다. 탄수화물 함량은 100에서 수분함량, 조단백 함량, 조지방 함량, 회분 함량을 뺀 값을 사용하였다. 각 실험은 3회 반복하여 얻은 평균값을 사용하였다.

### (2) 배아의 지방산 조성 및 함량

지방질은 silicic acid 컬럼 크로마토그래피에 의하여 중성지방질, 당지방질 및 인지방질로 분리하였다. Silicic acid는 콜로이드성 미립자를 제거하기 위하여 증류수로 2번 washing하고, methyl alcohol로 2번 washing하여 105~110℃에서 12시간 활성 화시켰다. 1.76×42.8cm column을 사용하여 flow rate는 1~3 mL/min으로, solvent volume은 bed volume의 6배로 하여 chloroform, acetone, methyl alcohol의 순서로 용출시켜, 중성지방질은 chloroform, 당지방질은 acetone, 인지지방질은 methyl alcohol 용출시켜 분획하였다. 각 지방질 분획을 분석하기 전에 먼저 유리지방산을 얻기 위하여 지방질을 비누화 한 후 가스크로마토그래피를 이용하여 지방산을 분석하였다. 시료 0.2 g을 정확히 취해 이형 플라스크에 넣고 0.5 N MeOH-NaOH 4 mL을 첨

가하여 냉각관을 설치하였고 30분간 반응시킨 후 BF<sub>3</sub>-methanol 5 mL 첨가하고 2 분 후에 냉각관을 통해 hexane 3 mL을 넣고 1분 후에 saturated salt solution을 첨가해 hexane층을 25 mL 삼각 플라스크에 옮겼다. 이에 과량의 무수 sodium sulfate를 넣어 hexane층에 잔류하는 수분을 제거한 다음 여과하여 지방산 분석 시료로 사용하였다. GC를 이용한 분석조건은 Table 1과 같다.

### (3) 아미노산 조성 및 함량 측정

60~70 mesh가 되도록 분쇄한 콩분말 0.25 g을 칭량하여 ampule에 넣고 6 N-HCl 15 mL를 가한 다음 질소가스로 치환하여 신속하게 밀봉하였다. 이를 110℃ 오븐에서 24시간 가수분해시킨 뒤 방냉하여 탈이온수로 50 mL 정용플라스크에 정용 후 0.2 µm membrane filter로 여과하여 AccQ-Tag(1993)방법으로 유도체화시킨 다음 아미노산을 HPLC로 분석하였다. 이때 column은 Nova-Pak C18 (3.9×150 mm, Nova, Switzerland), injection volume는 5µl, flow rate는 1 mL/min이고, 검출기는 fluorescence, 이동상은 0.14M sodium acetate(A), 60% acetonitrile(B)를 gradient 방법으로 분석하였다.

### (4) Isoflavone 함량 분석

각 시료를 분쇄하여 건조시킨 0.1 g을 정확히 칭량하여 0.1% acetic acid를 포함한 70% ethanol 수용액 0.5 mL을 가하여 교반한 후 실온에서 24시간 방치하여 추출하였다. 이것을 원심분리(12,500 rpm, 5min)한 후 상층액을 취하여 membrane filter(0.45 µm, Whatman, Germany)로 여과하여 HPLC 분석 시료로 사용하였다. Isoflavone은 aglycon인 daidzein, glycitein, genistein과 그들의 포도당 배당체인 daidzin, glycitin, genistin, malonyl-daidzin, malonyl-glycitin, malonyl-genistin, acetyl-daidzin, acetyl-glycitin, acetyl-genistin으로 12가지의 성분을 HPLC로 검출하였다. JASCO(Japan)사의 HPLC system을 이용하였으며 column은 ODS A303(4.6×250 mm, YMC, U.S.A)을 사용하고, UV detector 254 nm에서 측정하였고 flow rate는 1.0 mL/min이었다. Solvent 조건은 Table 2와 같다.

### (5) 배축의 phytic acid 함량 측정

Phytic acid의 함량 측정을 위한 시료의 제조는 Hartland와 Oberlass(1977)에 의한 온교환수지 방법을 이용하였으며, phytic acid 함량은 Latta와 Ersknin(1980)에 의한 비색법으로 측정하였다. 시료 0.5 g에 2.4% HCl 30 mL을 가한 후 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 이를 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 냉장 보관하여 사용하였다. 한편 직경이 1.0×15 cm column에 음이온 교환 수지 (AG1-X8, Bio-Red Lab) 1.5 g을 충전한후 0.7 M NaCl로 활성화시켰으며 이를 증류수로 Cl<sup>-</sup>이온이 검출되지 않을 때까지 충분히 씻어 주었다. 여기에 추출한 상등액을 5배 희석하여 10 mL를 주입하였으며, 증류수 20 mL와 0.05 M NaCl 25 mL로 씻어 주어 무기인을 제거하고 0.7 M NaCl 15 mL를 가하여 phytate를 용출한 후 이 용액을 30 mL로 정용하였다. 이 희석 용액 3 mL에 Wade 시약(Ferric chloride 0.03%와 sulfosalicylic acid 0.3%) 1 mL를 넣어 발색시켜, 500 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하고, phytic acid(dodecasodium salt)를 표준물질로 작성한 표준 곡선에 의해 phytic acid를 정량하였다.

### (6) Saponin 분석

본 실험에서 이용한 saponin의 분석방법은, 먼저 탈지한 분말 콩 1g을 80% methanol에 녹여 80℃에서 water bath에서 4hr 추출한 후 농축하여 완전 건조시킨 다음 7% methanolic-HCl를 가해 80℃에서 3hr동안 가수분해하여 중화시켜 다시 evaporator로 건조시켜 ethyl ether 50 mL를 취해 shaking 후에 ether층만 취해 filtering하여 농축 후에 methanol을 취해 filtering HPLC 분석시료로 사용하였다.

## 2. 배아두부의 특성

### (1) 배아두부의 제조

일반두부를 만들기 위하여 대두 90 g를 증류수 1700 mL에 침과한 후 mixer로 5분간 마쇄하여 단백질을 추출을 유도하였다. 두유를 85℃로 가열하고 비지를 200 mesh 여과포로 걸러주었다. 두유가 75℃가 되면 응고제 GDL을 9 g첨가하고 천천

히 저어준 뒤 두부 성형틀 (10×10×8 cm)에 천을 깔고 응고물을 넣어 2 kg의 추로 20분간 압착성형 하였다. 배아두부는 배아 90 g을 이용하여 일반두부 제조방법과 동일한 방법으로 제조하였다. IIS두부는 IIS 60 g을 이용하여 일반두부 제조방법과 동일한 방법으로 두유단계에 콩기름을 30g 더 첨가하여 제조하였다.

### (2) 두유의 저장성 실험

두부를 저온 살균한 그룹과 하지 않은 그룹으로 나눈 뒤 실온과 4℃에서 보관하며 미생물 실험에 이용하였다. PCA (Plate count agar, Difco, USA) 배지에 100 μL씩 접종한 다음 37℃에서 24시간동안 배양한 후 colony 수를 계수하였다. 균수는 CFU (colony forming unit)/g으로 나타내었다.

### (3) 통계분석

모든 측정결과는 3번 반복 실험하여 각 시료들 간의 유의성 검정은 SAS (Statistic Analysis System, USA)를 이용하여 분산 분석을 행한 후 Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 그 유의성을 검정하였다.

## 3. 제품의 이화학적 특성 측정

### (1) 두부의 일반성분 분석

일반성분 분석은 AOAC법 (AOAC, 14th ed.)에 의하여 수분은 상압가열 건조법, 회분은 직접 회화법, 단백질은 Micro-Kjeldahl법을 사용하여 측정하였다. 각 실험은 3회 반복하여 얻은 평균값을 사용하였다.

### (2) 두부의 색도 측정

두부의 색도는 분광색차계 (Color JC801, Color Techno System, Tokyo, Japan)를 사용하여 L (명도), a (적색도) 및 b (황색도)값을 측정하였다. 이때 사용한 표준백판의 L값은 98.63, a값은 0.19 및 b값은 -0.67이었다.

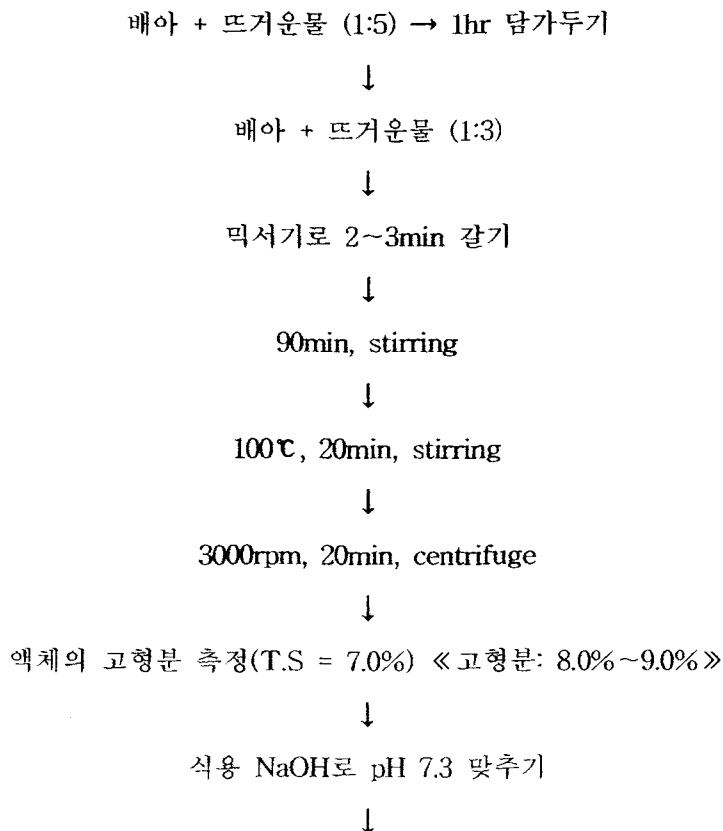


#### (4) 두부의 조직감 측정

조직감은 두부를 동일한 크기 (1.5×1.5×1.5 cm)로 잘라내어 Rheometer (COMPAC-100, Sun Scientific, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 직경 15 mm, 두께 1 mm의 원형 probe를 이용하여 두부의 견고성 (hardness), 부착성 (adhesiveness), 응집성 (cohesiveness), 탄력성 (springiness), 껌성 (gumminess) 및 파쇄성 (brittleness)을 측정하였다. Rheometer를 이용한 측정조건은 Table 4과 같다.

#### 4. 두유의 제조실험

1) 배아두유의 formulation은 다음과 같다.



부피측정



부피대비로 두유 제조

monoglyceride : 0.3%

식용유 : 1.5%

소금 : 0.125%

설탕 : 2.5%



80℃, 30min, stirring



Autoclave, 121℃, 15min

### (2) 대두단백질이 보강된 유자 음료의 제조

선행 연구를 통하여 기호도가 좋게 평가된 유자주스 배합비를 이용하여 기능성 음료를 만들기 위하여 기능성 음료에 pepsin-ISP, alcalase-ISP를 첨가하여 기호도에 대한 관능적 특성을 조사하여 각각의 원료에 적합한 배합비를 알아보고자 하였다.

### (3) 두유 음료의 emulsion activity 증진에 관한 연구

저장 중 두유의 품질 변화를 측정하기 위하여 제품의 emulsion stability를 측정하였다. 두유 제조에 있어 제품의 emulsion stability에 가장 효과적인 유화제를 찾기 위하여 monoglyceride, distilled monoglyceride, span을 test하였다. 대두단백질의 modification이 두유제품의 emulsion stability에 미치는 영향을 알아보았다. 실험 방법은 먼저 대두단백질을 분리하여 pH 7.5 용액에서 maleic anhydride를 이용하여 단백질의 lysine 잔기에 modification을 유도하여 실험 재료로 사용하였다. Modified protein을 dialysis한 후 freeze drying하였다. Ninhydrin reaction에 의해 단백질이 각각 0, 65, 90% modified 되었음을 확인하였다. 이들 단백질의 emulsion에 대한 안전성 기여도를 측정하였다.

## 5. 제품의 관능검사

### 두유의 관능적 특성

시료는 소비자검사 하기 1시간 전에 제조하여 임의의 세자리 숫자를 적은 종이컵에 각각 20ml정도씩 담아 제시 하였다. 모든 시료의 평가 사이에 입가심을 할 수 있도록 생수와 빨는 컵을 함께 제시하였다. 소비자 검사는 식품영양학과 남녀 대학생 60명을 대상으로 실시 하였다. 기호검사는 9점척도(hedonic scale)를 이용하여 표시하도록 하였으며 1점으로 갈수록 '아주싫다'에서 9점으로 갈수록 '아주좋다'를 표시하도록 하였다. 평가된 특성은 냄새 (aroma) 특성의 비린냄새 (beany), 고소한 냄새(savory)이고 외관(appearance)특성의 색(color), 향미(flavor) 특성의 고소한맛(savory), 단맛(sweetness), 떫은맛(astringency), 쓴맛(bitter)그리고 조직감(texture) 특성의 점도(viscosity)및 전반적인 기호도(overall acceptability) 순서대로 진행되었다. SAS/STAT(SAS Institute, Inc., SAS User's Guide Statistical Analysis Systems Inc., Raleigh, NC, USA. 1996)를 이용하여 분산분석 하였고 시료간의 평균치 차이의 유무는 Duncan's multiple range test에 의해 다중 비교를 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 배아의 성분적 특성

#### (1) 배아의 지방산 분석

배아에서 추출한 총지방질의 지방질 종류의 구성비는 **Table 26**에 나타내었다. 배아의 총지방질의 함량은 전체 중량의 8.4%로 나타났고, 중성지방은 96.20%, 당지질은 3.21%, 인지질은 0.59%로 나타났는데 김민정(2000)의 우리나라 전통콩의 지방질이 모두 중성지질, 인지질 및 당지질의 순으로 함량이 낮았다는 결과와는 배아만을 사용하였기 때문에 조금 다르게 나타났다.

배아의 지방산 조성 및 함량을 분석한 결과는 **Table 27**에 나타내었다. 배아의 총지방질은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 40.5%로 가장 많았고, oleic acid(18:1), linolenic acid(18:3) 및 palmitic acid(16:0)의 순으로 96%를 차지하며 불포화지방산의 함량이 높게 나타났다. 배아의 중성지방은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 50.0%로 가장 많았고, oleic acid (18:1), linolenic acid(18:3) 및 palmitic acid(16:0)의 순으로 95%를 차지하며 총지방질과 같이 불포화지방산의 함량이 높게 나타났다. 배아의 당지질은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 39.9%로 가장 많았고, palmitic acid(16:0), oleic acid (18:1) 및 stearic acid(18:0)의 순으로 함량이 높게 나타났다. 배아의 인지질은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 40.1%로 가장 많았고, palmitic acid(16:0), oleic acid (18:1) 및 stearic acid(18:0)의 순으로 당지질과 같이 함량이 높게 나타났다. 배아의 총지방질의 함량은 전체 중량의 8.4%로 나타났고, 중성지방은 96.20%, 당지질은 3.21%, 인지질은 0.59%로 나타났다. 배아의 총지방질은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 40.5%로 가장 많았고, oleic acid (18:1), linolenic acid(18:3)의 순으로 함량이 높게 나타났다. 배아의 중성지방은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 50.0%로 가장 많았고, 총지방질과 같은 순서로 함량이 높게 나타났다. 배아의 당지질은 지방산 중 linoleic acid(18:2)가 39.9%로 가장 많았고, palmitic acid(16:0), oleic acid(18:1)의 순으로 함량이 높게 나타났다. 배아의 인지질은 지방산 중 linoleic acid (18:2)가 40.1%로 가장 많았고, 당지질과 같은 순서로 함량이 높게 나타났다.

2) 배아의 아미노산 조성 및 함량

배아의 아미노산 조성 및 함량을 분석한 결과는 **Table 28**에 나타내었다. 배아의 아미노산은 aspartic acid, serine, glutamic acid, glycine, histidine, threonine, arginine, alanine, proline, cysteine, tyrosine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine, phenylalanine으로 17종이 분석되었는데, 이 중 다른 아미노산에 비해 glutamic acid, aspartic acid 순으로 함량이 비교적 높은 것으로 나타났다. 이것은 김민정(2000)의 우리나라 전통콩의 아미노산 조성 및 함량 결과와 비슷하게 나타났다. Glutamic acid의 함량은 6410.0~19977.5 mg%로 나타났으며 11S가 가장 높게 나타났다. 곡류에는 제한 아미노산이지만 콩의 주요 아미노산인 lysine 함량은 3485.7~5833.7 mg%로 나타났으며 11S가 가장 높게 나타났다. 다른 아미노산에 비해 가장 적게 함유되어 있는 아미노산은 cysteine인 것으로 나타났고, 다음으로는 methionine, histidine, tyrosine 및 threonine 순으로 적게 나타났다. 김동만 등 (1990)은 콩의 아미노산 조성은 품종에 따라 약간의 차이를 보였으며 가장 소량으로 함유된 아미노산은 cysteine, methionine, tyrosine 및 threonine 순이었음을 보고하여 histidine을 제외하고는 비슷한 경향을 보였다. Cysteine의 함량은 608.9~1219.3 mg%로 나타났으며 11S가 가장 높게 나타났다. 모든 아미노산 함량을 비교하면 11S 배아 순으로 아미노산 함량이 많은 것으로 나타났다. 한편 배아의 기타 기능성 성분의 함량은 앞서 1년차 연구에서 서술한 바 있다.

**Table 26.** Percentage of lipid fraction of germ (%)

	Neutral lipid	Glycolipid	Phospholipid
Germ	96.20	3.21	0.59

Table 27. Fatty acid composition of lipid extracted from hypocotyl (%)

	Neutral lipid	Glycolipid	Phospholipid	Total lipid
Capric acid (10:0)	-	-	-	0.2
Lauric acid (12:0)	-	-	-	0.1
Myristic acid (14:0)	0.1	0.4	-	0.2
Palmitic acid (16:0)	10.8	24.5	23.5	10.3
Stearic acid (18:0)	3.7	9.6	12.1	2.5
Oleic acid (18:1)	18.7	17.7	15.4	34.2
Linoleic acid (18:2)	50.0	39.9	40.1	40.5
Linolenic acid (18:3)	15.8	7.8	8.9	11.2
Arachidic acid (20:0)	0.4	0.1	-	0.2
Behenic acid (22:0)	0.2	-	-	0.1
Erucic acid (22:1)	0.1	-	-	0.1
Lignoceric acid (24:0)	0.2	-	-	0.4

Table 28. Amino acid content of germ (mg%)

Amino acid	Germ
Asp	4828.6
Ser	1906.3
Glu	6410.0
Gly	1931.8
His	1125.4
Thr	1631.7
Arg	3105.3
Ala	2417.2
Pro	1888.2
Cys	608.9
Tyr	1285.3
Val	1966.0
Met	712.6
Lys	3485.7
Ile	1716.1
Leu	2786.6
Phe	1711.2
Total	39516.8

### 3) 배아로부터 isoflavone의 분리 정제

한편 배아를 증류수에 침수시키면 대두 안에 들어 있는 isoflavone 성분이 extraction 되는데, 이때 추출되는 isoflavone의 profile은 Fig. 34와 같다. 초기 1-30분 사이에 isoflavone의 유출이 급속히 일어났으며, 그 이후에는 용액 내 isoflavone의 농도는 일정한 값을 유지하였다.

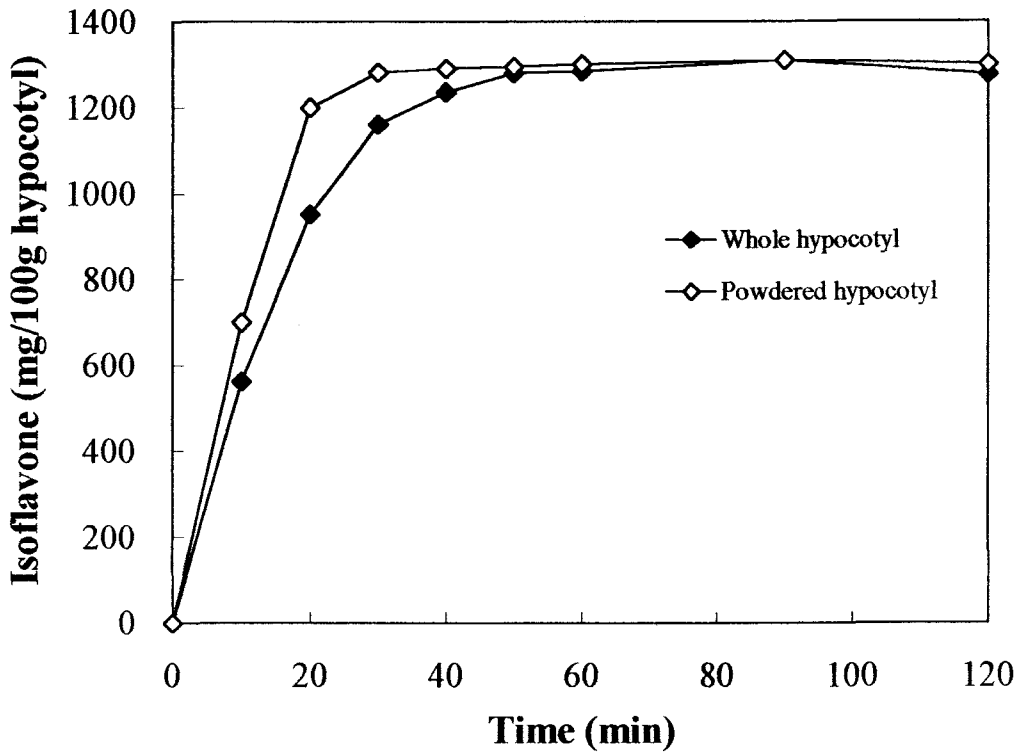


Fig. 34. Effect of particle size on the extraction of isoflavone from soybean hypocotyl. Isoflavones were extracted from 2.0g soybean hypocotyl with 20mL of 80% ethanol at 60°C for 2hr.



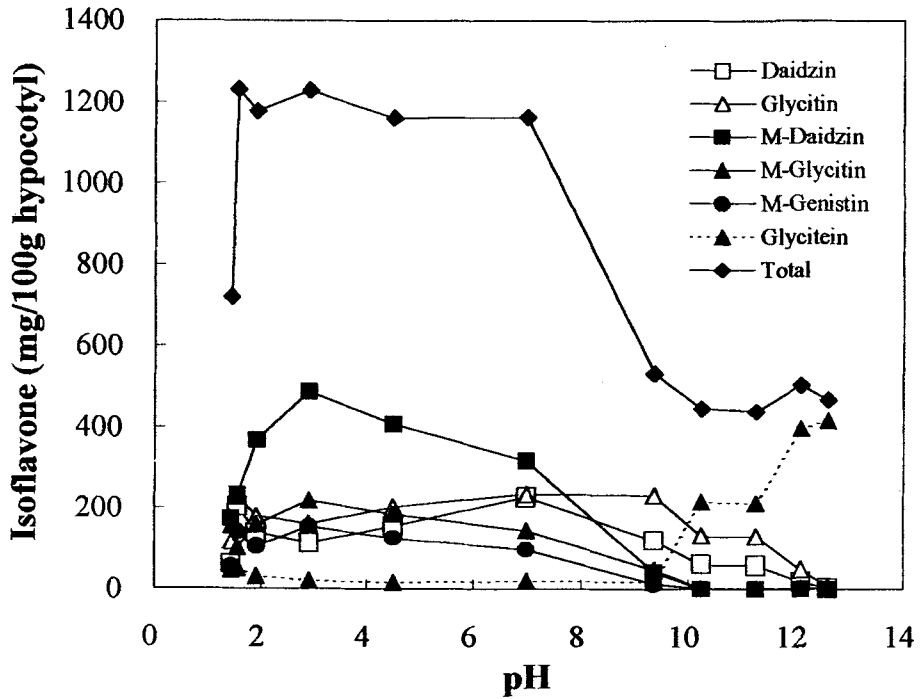


Fig.35. Effect of pH on the extraction of isoflavones.

용액 pH에 따른 isoflavone isomer들의 extraction trend를 조사해 본 결과 대부분의 isomer들은 pH 2-8 사이에서 가장 추출 효율이 높았으며, alkaline region에서는 malonyl type의 분해가 일어나 malonyl derivatives의 감소가 발생하였으며 아울러 aglycone type의 농도는 증가하였다.

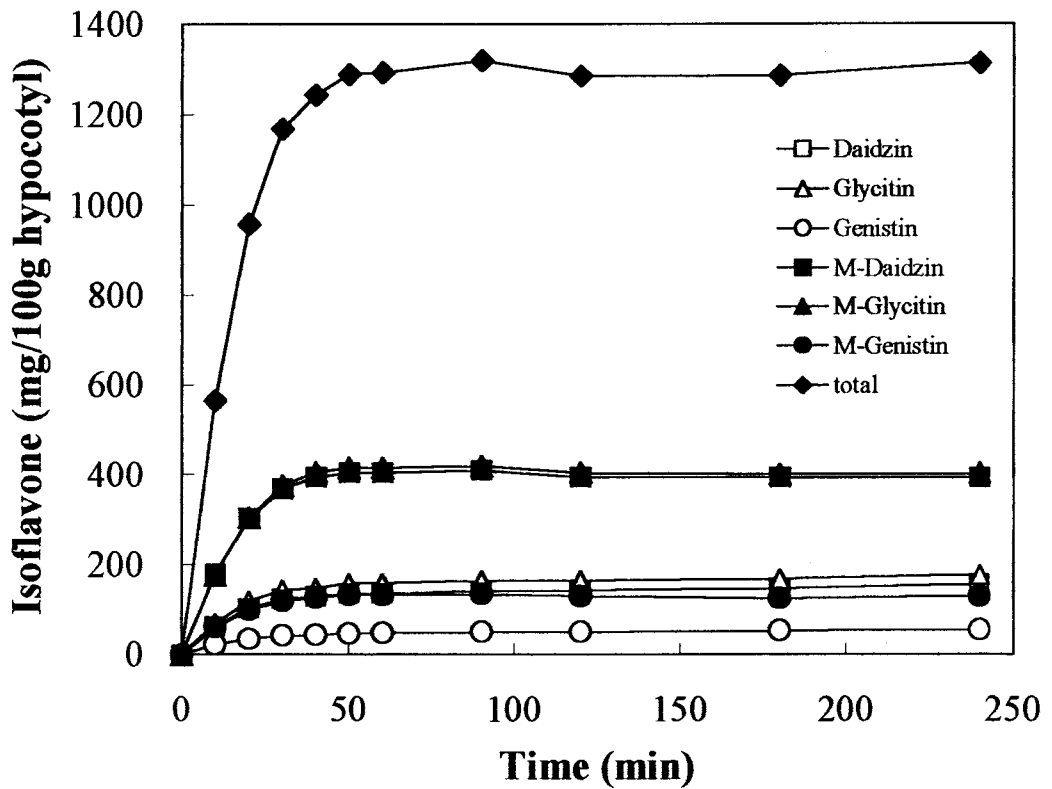


Fig. 36. Extraction of isoflavones and profile of their chemical composition. Isoflavones were extracted from 2.0g soybean hypocotyl with 20mL of 60% aqueous ethanol at 60°C.

Fig. 6은 시간에 따른 isoflavone의 추출 경향을 살펴본 결과이다. Extaction time 1시간 내에 추출이 완료됨을 알 수 있다.

## 6. 두유의 formulation

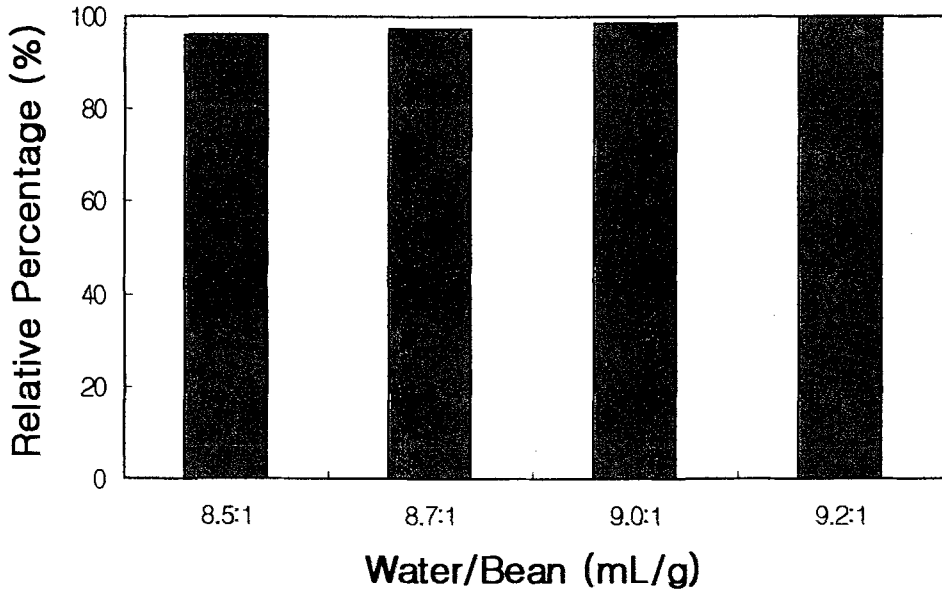


Fig. 37. Water-to-bean ratio에 따른 두유액의(total solid 7.1% 기준) 상대적 회수율

두유를 제조하기 위하여 maximum water-to-bean ratio를 알아보았다 (Fig. 37). 두유액의 solid percent는 최소 7.1%를 유지하여야 하므로 대두 마쇄에 첨가되는 물의 량은 대두 무게의 10배를 넘지 말아야 한다. Water-to-bean ratio가 8:1 이하에서는 마쇄액의 solid percent가 7.1% 이상을 유지하나 마쇄액의 부피는 감소하여 전체적으로 productivity가 낮게 된다. Fig 에서와 같이 water-to-bean ratio가 9.2:1일 때 가장 높은 productivity를 유지하며 마쇄액의 solid concentration이 7.1%이상을 유지할 수 있음을 확인할 수 있다.



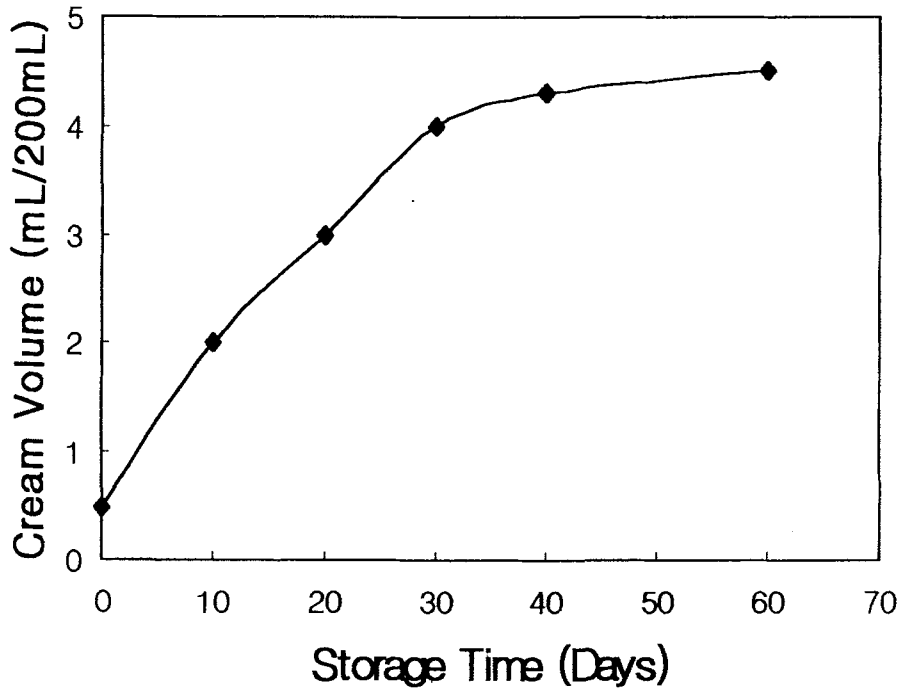


Fig. 39. 저장기간에 따른 분리된 크림층의 부피 변화

두유의 저장 중 크림층의 생성 정도를 acceleration test를 통하여 살펴 본 결과 시간이 경과됨에 따라 크림층의 양이 점차 증가하는 현상을 보였다. 저장 초기 30일까지는 크림층의 양이 급격히 증가하였으나 30일 이후부터는 증가 경향이 다소 둔화되었다 (Fig. 39). 두유의 저장 중 생성되는 cream layer는 주로 protein aggregate와 lipid dropletfiber로 구성되어 있는 것으로 생각된다. 이러한 aggregate의 생성을 최소한으로 줄이기 위하여서는 적절한 emulsifier의 사용과 보다 높은 압력에서 두유유액을 homogenization 처리하여야 한다.

**Table 29.** Effect of solution pH on cream separation of soybean drink

시료 종류		결과
pH	7.0	Cream separation (1-2 mm)
	7.2	Cream separation(1 mm)
	7.4	No cream separation

Cream layer의 생성량은 두유액의 pH에 영향을 받는다. 두유액의 pH가 7.4 이상 일 때 제품의 emulsion이 가장 안정되어 cream layer의 발생이 억제되었다 (Table 29).

**Table 30.** Emulsion activity of different type of emulsifiers

시료 종류		결과
Types of emulsifier	Monoglyceride 0.4%	Cream separation: 1-2 mm within 24 h
	Span 0.4%	Cream separation: 1 mm within 24 h
	Distilled monoglyceride 0.4%	Cream separation: 1 mm within 24 h

두유에는 지방성분이 함유되어 있으므로 저장 중 크립성분의 분리가 일어나 품질 저하 현상이 발생한다. 이를 극복하기 위하여 제조 시 유화제를 첨가하여 homogenization을 하게 되는데 이때 사용되는 유화제의 양과 종류에 따라 제품의 안정도에서 차이가 나게 된다. Table 30에서와 같이 두유 제조에 가장 적합한 유화제는 monoglyceride와 span 이었으며 사용량은 0.4% 정도가 적합한 것으로 나타났다.

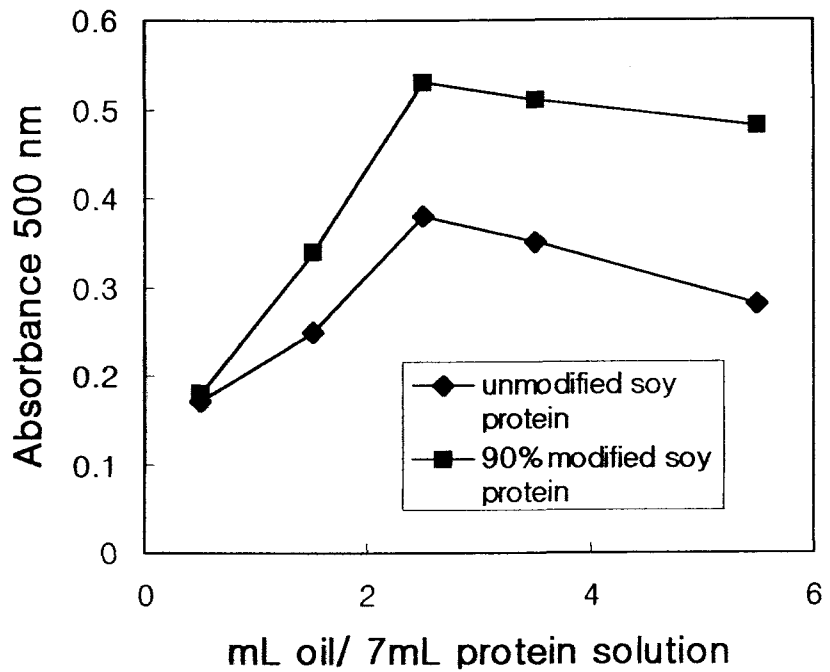


Fig. 40. Emulsifying property of soy protein and modified soy protein

두유는 지방 성분이 함유되어 있으므로 저장 중 층의 분리가 일어난다. 유화제를 이용하며 지방층의 분리를 어느 정도 억제할 수 있으나, 그 효과는 제한적이다. 따라서 대두 단백질을 reversible modification의 한 종류인 maleylation 시키면 두유의 유화안전성은 한층 향상될 것으로 사료되는데 이는 modification에 의하여 단백질의 hydrophobicity가 증가하기 때문이다. Fig. 40에 의하여 maleylation에 의하여 제품의 유화력이 증가하였음을 확인할 수 있었다.

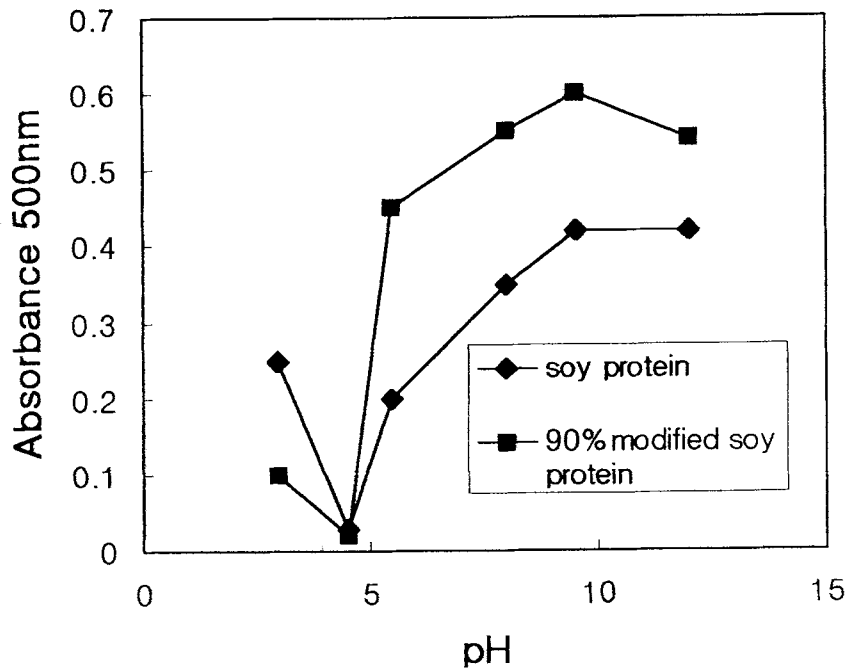


Fig. 41. Effect of pH on emulsifying activity of soy protein and modified soy protein



Modified protein은 등전점 이외의 모든 pH 영역에서 향상된 emulsion activity를 보였다 (Fig. 41). Modified protein의 경우 lysine residue에 결합되어 있는 maleyl기에 의하여 단백질의 charge balance가 shift되어 등전점 이외의 pH 영역에서 solubility가 향상되었으며 아울러 modification에 의하여 단백질의 hydrophobicity가 향상되어 이와 같은 현상을 보였을 것으로 생각된다. Emulsifying activity는 지방층과 물층 사이에서 나타나는 현상이므로 유화제의 charge intensity와 hydrophobicity가 중요한 factor이다.

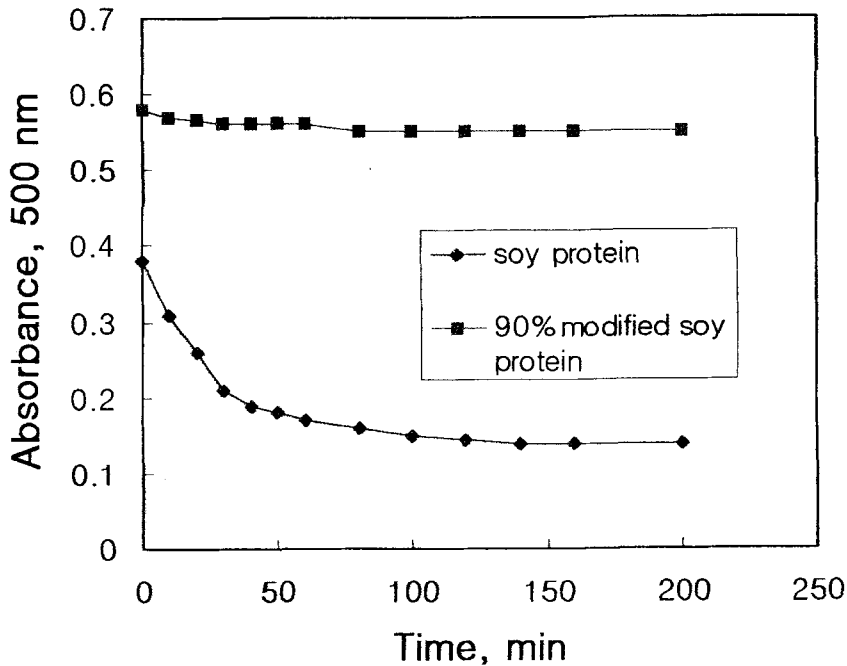


Fig. 42. Emulsion stability of soy protein and modified soy protein

Modified protein은 등전점 이외의 모든 pH 영역에서 향상된 emulsion stability를 보였다 (Fig. 42). 따라서 두유제조에 있어 두유의 저장 중 cream layer와 precipitate의 발생을 억제하기 위하여 두유에 들어 있는 단백질을 citraconic anhydride나 maleic anhydride와 같은 reversible modifying agent로 처리하는 방안이 검토되어야 할 것으로 판단된다.

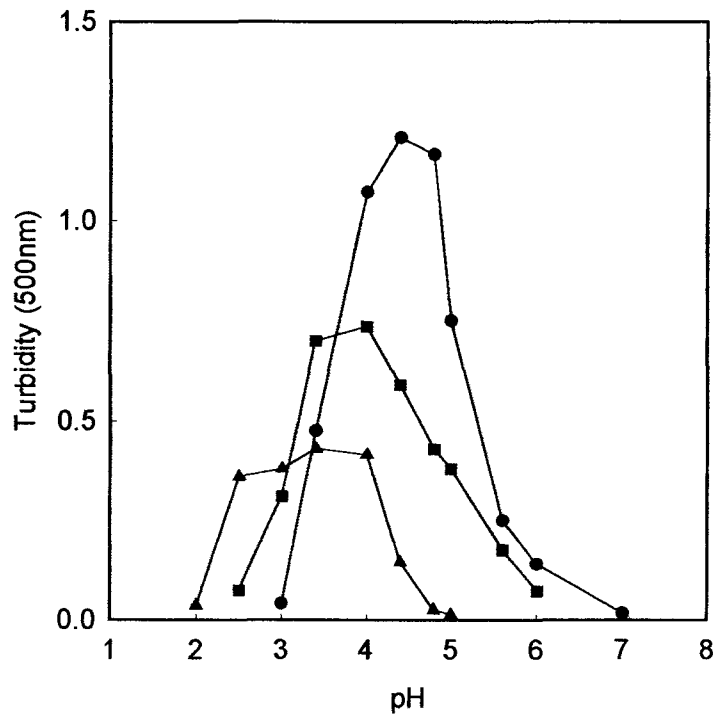
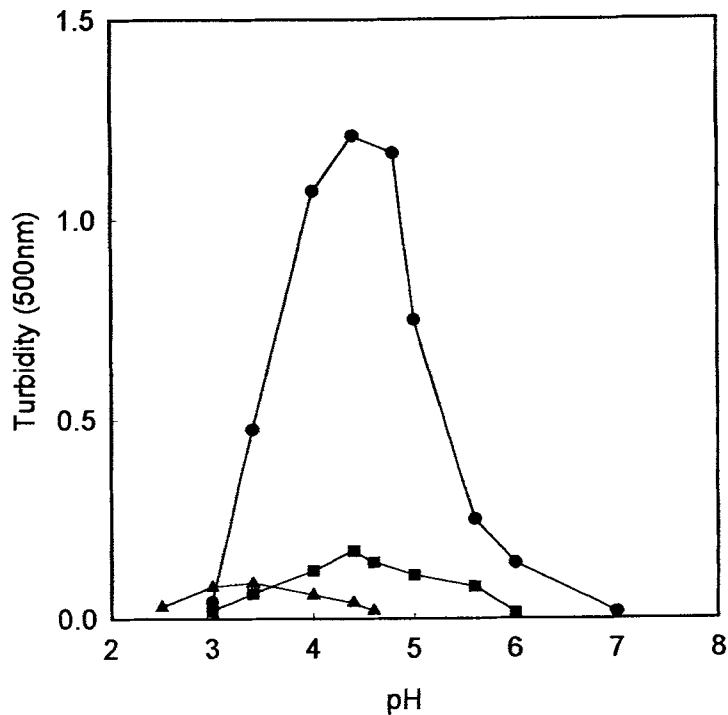


Fig. 43. pH profiles of aggregation of native and maleylated soy protein. 0% (●), 65% (■) and 90%(▲). The protein concentration was 0.02%.

두유 제조에 있어 저장 중 단백질 성분의 solubility 감소 현상에 의한 제품의 quality 저하를 막기 위해 두유단백질을 maleic anhydride를 이용한 reversible modification을 시켰다. Modified protein은 모든 pH 영역에서 향상된 solubility를 보였다 (Fig. 43). Modified protein의 경우 lysine residue에 결합되어 있는 maleyl 기에 의하여 단백질의 charge balance가 shift되어 등점전 이외의 pH 영역에서 solubility가 향상되었다. 따라서 두유 단백질의 chemical modification에 의하여 유통 중 품질의 열화가 일어나지 않는 두유를 제조할 수 있는 길이 열리게 되었다.



**Fig. 44.** Effect of NaCl concentration on aggregation of native soy protein. The protein concentration was 0.02%. Concentration of NaCl used are 0M(●), 0.2M(■) and 0.6M(▲).

Maleylation protein의 salt stability를 살펴보았다. Modified protein은 salt가 존재하는 모든 pH 영역에서 향상된 solubility를 보였다 (Fig. 44). Maleylation protein은 salt의 함량이 높은 제품에서도 사용이 가능한 것으로 나타났다. 따라서 modified protein은 두유뿐만 아니라 여러 식품에 첨가제 또는 안정제로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

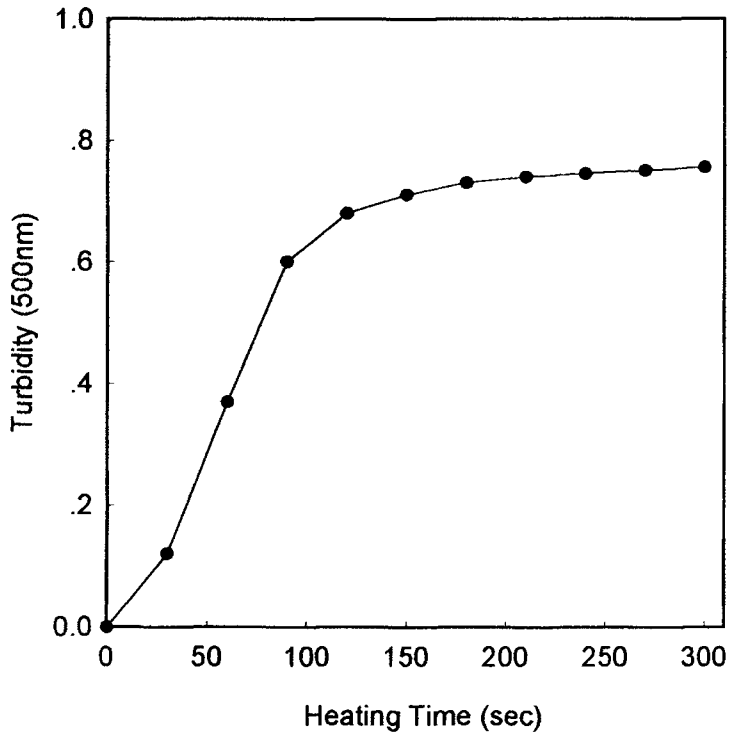


Fig. 45. Effect of heating at 80°C on native glycinin. The protein concentration was 0.05%.

Native soy protein은 80℃에서 가열할 경우 0-150 second 사이에 급격히 denaturation에 의한 aggregation 현상을 보였으며 150 초 이후에는 turbidity 증가는 완만하게 일어났다 (Fig. 45). 이러한 대두 단백질의 heat unstability는 본 단백질의 식품 첨가물로서의 폭넓은 활용에 제약으로 작용한다. Heat aggregation에 의해 대두단백질을 첨가한 식품에서 침전 현상이 야기되기 때문이다. 따라서 대두 단백질의 이러한 한계를 극복하는 방안으로 단백질의 영향적인 측면을 손상시키지 않고 functionality를 증대시킬 수 있는 reversible chemical modification에 대한 심도 있는 연구가 요구되고 있다.

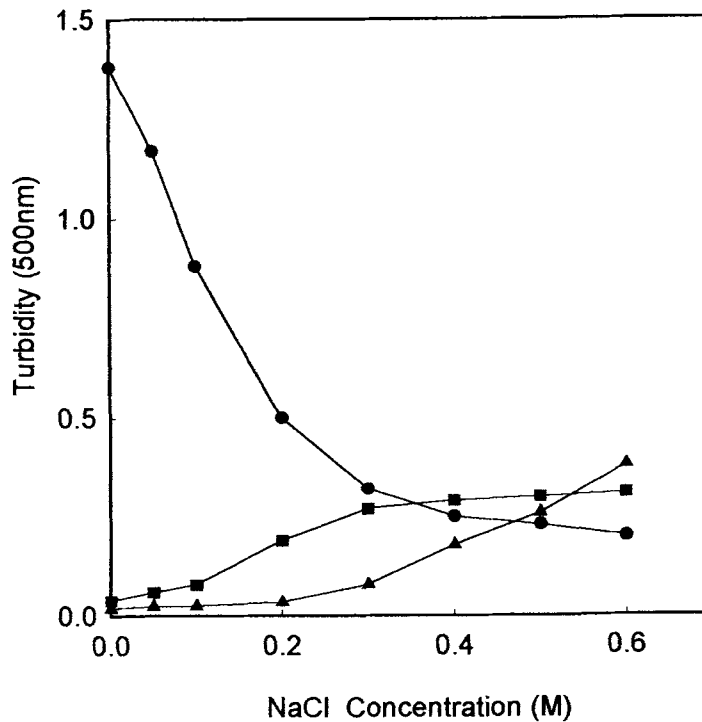


Fig. 46. Effect of NaCl concentration on thermal aggregation of 0%(●), 65% (■) and 90%(▲) maleylated glycinin at pH 7.0. The concentration of protein was 0.06%, heating time was 5min at 80℃.

Modification soy protein은 열과 salt에 의한 denaturation에 resistant 하였으며 따라서 turbidity 발생이 억제되었다 (Fig. 46). 따라서 앞서 언급한 바와 같이 maleylation protein은 salt의 함량이 높은 제품에서도 사용이 가능한 것으로 나타났다. 따라서 modified protein은 두유뿐만 아니라 여러 식품에 첨가제 또는 안정제로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

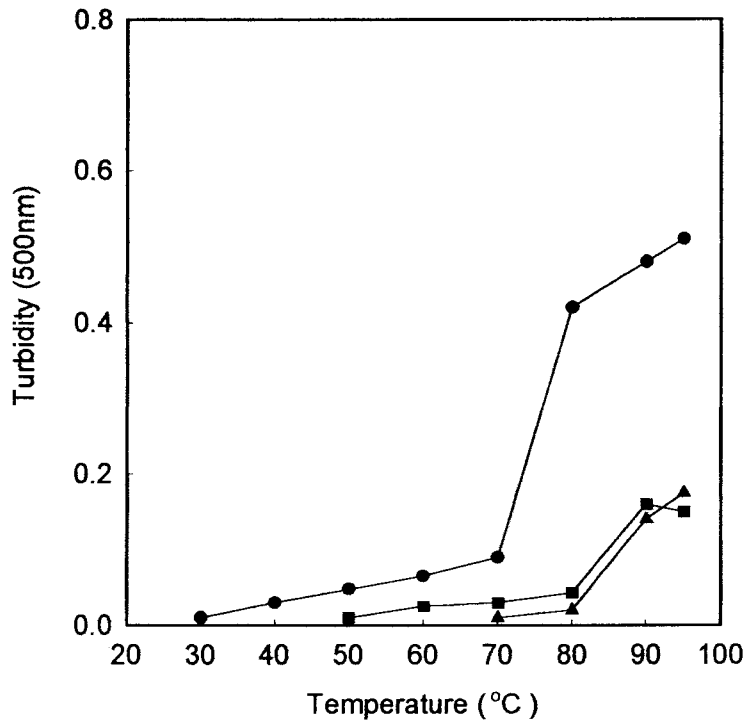


Fig. 47. Effect of temperature on thermal aggregation of 0%(●), 65%(■) and 90%(▲) maleylated glycinin at pH 7.0. The protein concentration was 0.02%, heating time was 5min.

Modification soy protein은 가열에 의한 denaturation에 resistant 하였으며 따라서 turbidity 발생이 억제되었다 (Fig. 47). 이는 대두단백질의 단점으로 지적되었던 열과 salt에 대한 denaturation에 대하여 chemical modification에 의해 resistance가 증가하였음을 보여주고 있다.

## 6. 기능성 음료 formulation

유자 와 soy protein (SP)을 이용하여 기능성 음료를 만들었다. 먼저 기호도가 좋게 평가된 유자쥬스 배합비(Table 31)을 이용하여 pepsin-SP, alcalase-SP를 첨가하여 기호도에 대한 관능적 특성을 통해 원료에 적합한 배합비를 조사하고 각각의 배합비의 특성을 알아보았다 (Table 32-36). 원료가 단백질이어서 향(flavor)면에서 우려하였으나 유자의 독특한 유자향이 있으므로 어린이 등이 마실 때 크게 문제되지 않을 것 같다.

Table 31. Pepsin-SP를 첨가한 유자쥬스 배합비

원 료 명	배 합 비 (%)
pepsin-SP	0.1
유자원액	10.0
고과당	10.0
백설탕	4.0
올리고당	2.0
구연산	0.1
Vit C	0.5
정제수	73.3
합 계	100%

**Table 32.** Pepsin-SP를 첨가한 유자쥬스 품질측정 결과

평가항목	Pepsin-SP를 첨가한 유자쥬스
pH	2.56
。 Brix	16.5
산도 (%)	2.88
탁도	0.687

**Table 33.** Pepsin-SP를 첨가한 유자쥬스 관능검사 결과

평가항목	Pepsin-SP 첨가한 유자쥬스
색상	3.1
향	2.6
신맛	3.0
단맛	2.8
종합적 기호도	3.7

**Table 34.** Alcalase-SP를 첨가한 유자쥬스 배합비

원료명	배합비 (%)
alcalase-SP	0.05
유자원액	10.0
고과당	10.0
백설탕	4.0
올리고당	2.0
구연산	0.1
Vit C	0.5
정제수	73.35
합계	100%



**Table 35.** Alcalase-SP를 첨가한 유자쥬스 품질측정 결과

평가항목	Alcalase-SP 첨가한 유자쥬스
pH	2.57
◦ Brix	16.5
산도 (%)	3.20
탁도	0.909

**Table 36.** Alcalase-SP를 첨가한 유자쥬스 관능검사 결과

평가항목	Alcalase-SP첨가한 유자쥬스
색상	3.3
향	2.8
신맛	3.0
단맛	2.7
종합적 기호도	3.8

#### 7A. 두부 및 두유의 기호도 검사 (실험실에서 만든 두부 이용)

시료는 관능검사 하기 전에 제조하여 2×2cm 크기로 잘라 임의의 세자리 숫자를 적은 접시에 각각 한조각씩 담아 제시 하였다. 모든 시료의 평가 사이에는 입가심을 할 수 있도록 증류수와 빨는 컵을 제시 하였다. 묘사분석에 의한 객관적 관능검사는 관능검사에 경험이 있는 식품영양학을 전공하는 대학생과 대학원생 10명을 선정하여 실시하였다. 예비훈련을 통하여 시료의 검사특성을 개발하고 각 특성의 정의를 확립한 후 특성의 강도 측정 방법을 결정 하였다. 패널요원은 특성의 개념과 강도에 대한 안정된 판단 기준이 확립되어 측정능력의 재현성이 인정될 때까지

계속하여 훈련한 뒤 본 실험에 임하도록 하였다. 패널요원들은 15cm척도를 이용한 두부의 관능 검사표에 각 특성별로 느끼는 강도를 표시 하도록 하였다. 특성 평가 시 오른쪽 끝으로 갈수록 특성의 강도가 강해지고 왼쪽으로 갈수록 특성의 강도가 약해지는 것을 나타내도록 하였다. GDL를 응고제를 사용한 대두두부를 Control로 하여 훈련을 하였으며 선척도 상에 Control의 위치를 결정하였다. 그러나 패널에게는 Control과 같은 시료가 본 실험에 시료로 제시되는 것을 알리지 않았다. 특성이 발현되는 순서에 따라 향미, 조직감, 외관의 순서로 측정 하였다. 외관의 측정이 다른 특성의 측정에 편견을 주지 않도록 향미, 조직감 평가가 끝난 후 외관평가를 마지막에 하였으며 외관평가를 위한 시료를 따로 준비 하였다. 평가특성들은 외관특성의 밝은정도(color), 향미특성의 고소한맛(savory), 비린맛(beany), 떼은맛(astringency), 단단한정도(hardness), 탄력성(springness) 및 거친정도(adhesiveness)를 평가 하였다. 3회이상 반복 실시하여 결과를 SAS/STAT (SAS Institute, Inc., SAS User's Guide Statistical Analysis Systems Inc., Raleigh, NC, USA, 1996)를 이용하여 분산분석 하였고 시료간의 평균치 차이유무는 Duncan's multiple range test에 의해 다중비교 하였다.

Table. 37 Sensory Characteristic of Tofu using Quantitative Descriptive Analysis

응고제		GDL			CaCl <sub>2</sub>		
종류		대두두부	배아두부	11S두부	대두두부	배아두부	11두부
외관 appearance	밝은정도 color (brightness)	10.37 <sup>a</sup>	9.92 <sup>a</sup>	3.41 <sup>d</sup>	7.83 <sup>b</sup>	8.11 <sup>b</sup>	5.65 <sup>c</sup>
향미 flavor	고소한맛 savory	6.55 <sup>cd</sup>	5.33 <sup>de</sup>	8.58 <sup>b</sup>	7.44 <sup>bc</sup>	4.80 <sup>e</sup>	11.36 <sup>a</sup>
	비린맛 beany	4.70 <sup>bc</sup>	6.24 <sup>b</sup>	5.17 <sup>bc</sup>	5.15 <sup>bc</sup>	9.86 <sup>a</sup>	3.54 <sup>c</sup>

	떫은맛 astringency	9.86 <sup>b</sup>	12.18 <sup>a</sup>	5.52 <sup>c</sup>	7.12 <sup>c</sup>	12.25 <sup>a</sup>	3.77 <sup>d</sup>
조직감 texture	단단한정도 hardness	10.25 <sup>a</sup>	11.09 <sup>a</sup>	2.47 <sup>d</sup>	6.27 <sup>b</sup>	7.55 <sup>b</sup>	4.80 <sup>c</sup>
	탄력성 springness	4.93 <sup>ab</sup>	5.46 <sup>a</sup>	1.17 <sup>c</sup>	5.52 <sup>a</sup>	3.66 <sup>b</sup>	4.46 <sup>ab</sup>
	거친정도 adhesiveness	10.30 <sup>a</sup>	11.75 <sup>a</sup>	3.92 <sup>c</sup>	4.91 <sup>c</sup>	7.75 <sup>b</sup>	3.60 <sup>c</sup>

1) Means of three replication. Same letter in a row are not significantly different each other ( $p < 0.05$ )

시료의 외관특성의 밝은정도는 GDL 응고제를 사용한 대두두부가 유의적으로 가장 진하게 평가되었고 그다음으로 GDL 응고제를 사용한 배아두부가 진하게 평가되었으며 두시료간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 향미특성의 고소한맛은 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 11S두부가 가장 강하게 평가 되었으며 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 배아두부가 가장 약하게 평가 되었다. 비린맛은 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 배아두부가 가장 강하게 평가되었고 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 11S두부가 가장 약하게 평가 되었다. 떫은맛은 GDL, CaCl<sub>2</sub> 각각 12.18와 12.25로 가장 강하게 평가 되었고 두시료간의 유의적인 차이는 보이지 않았으며 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 11S두부가 3.77로 가장 약한 떫은맛을 나타내었다. 조직감 특성의 단단한 정도는 GDL 응고제를 사용한 대두두부와 배아두부가 각각 10.25와 11.07로 가장 강하게 평가되었고 두시료간의 유의적인 차이는 보이지 않았으며 GDL 응고제를 사용한 11S두부가 약하게 평가되었다. 탄력성은 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 대두두부가 유의적으로 가장 강하게

평가되었으며 GDL 응고제를 사용한 11S두부가 가장 약하게 평가되었다. 거친 정도는 GDL 응고제를 사용한 대두두부, 배아두부가 각각 10.30와 11.75로 높게 평가되었으며 두 시료간의 유의적인 차이는 보이지 않았으며 CaCl<sub>2</sub> 응고제를 사용한 11S두부가 3.60으로 가장 약하게 평가 되었다 (Table 38).

두유 기호도점사의 고소한 냄새는 11S두유가 4.88로 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다 (Table 38). 두유의 외관의 색은 모든 시료군에서 유의적인 기호차이를 보이지 않았으나 대우두유가 5.57로 높은경향을 나타내었다. 두유의 고소한맛은 11S두유가 5.40으로 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 단맛의 기호도 역시 11S두유가 6.05로 유의적으로 높은 기호도를 나타내었다. 조직감의 점도도 역시 모든 시료군에서 유의적인 차이를 보였고 11S두유가 5.32로 높은 경향을 나타내었다. 전반적인 기호도도 모든 시료군에서 유의적인 차이를 보였으며 11S두유가 5.63으로 기호도가 높게 나타났다.

Table 38. Sensory properties of soymilk manufactured

특성	시료	대두두유	배아두유	IIS두유
냄새 aroma	비린냄새 beany	3.15 <sup>b</sup>	3.00 <sup>b</sup>	4.75 <sup>a</sup>
	고소한냄새 savory	3.58 <sup>b</sup>	3.65 <sup>b</sup>	4.88 <sup>a</sup>
외관 appearance	색 color	5.57 <sup>a</sup>	5.47 <sup>a</sup>	5.30 <sup>a</sup>
향미 flavor	고소한맛 savory	2.50 <sup>c</sup>	4.23 <sup>b</sup>	5.40 <sup>a</sup>
	단맛 sweetness	2.25 <sup>c</sup>	4.53 <sup>b</sup>	6.05 <sup>a</sup>
	쓴맛 bitter	2.12 <sup>c</sup>	3.65 <sup>b</sup>	6.12 <sup>a</sup>
	떫은맛 astringency	2.17 <sup>c</sup>	3.53 <sup>b</sup>	6.07 <sup>a</sup>
조직감 texture	점도 viscosity	4.07 <sup>c</sup>	4.60 <sup>b</sup>	5.32 <sup>a</sup>
전반적인기호도 overall acceptability		2.17 <sup>c</sup>	3.90 <sup>b</sup>	5.63 <sup>a</sup>

1) Same letters in a row are not significantly different each other ( $p < 0.05$ )

7B. 두부 및 두유의 기호도 검사 (시판을 목표로 하여 공장에서 만든 두부)

본 실험실에서 개발된 기술을 이전받아 벤처회사에서 pilot scale로 만든 두부의 관능검사 결과를 Table 39에 나타내었다. 제품의 외관 색 기호도는 일반두부가 7.01로 유의적으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 두부의 고소한 맛의 기호도는 모든 시료군에서 유의적인 기호 차이를 보이지 않았으나 IIS두부가 일반두부보다 기호

도가 높은 경향을 보였다. 두부의 단단한정도는 일반두부의 기호도가 높은 경향을 나타내었다. 탄력성도 마찬가지로 일반두부가 일반두부가 6.38로 유의적으로 높은 기호도를 나타냈다. 두부의 전반적인 기호도에서는 11S두부가 5.94로 기호도가 높은 경향을 나타내었다 (Table 39).

Table 39. 한약두부 소비자 기호도 조사

	시료	11S 두부	배아두부	일반두부
외관 appearance	색 color	4.90 <sup>b</sup>	4.95 <sup>b</sup>	7.01 <sup>a</sup>
향미 flavor	고소한맛 savory	5.60 <sup>a</sup>	5.60 <sup>a</sup>	5.51 <sup>a</sup>
	비린맛 beany	5.14 <sup>a</sup>	5.23 <sup>a</sup>	5.30 <sup>a</sup>
	떫은맛 astringency	5.09 <sup>a</sup>	5.14 <sup>a</sup>	4.84 <sup>a</sup>
조직감	단단한정도 hardness	5.51 <sup>a</sup>	5.50 <sup>a</sup>	5.99 <sup>a</sup>
	탄력성 springness	5.46 <sup>b</sup>	5.26 <sup>b</sup>	6.38 <sup>a</sup>
	거친정도 adhesiveness	5.33 <sup>a</sup>	5.34 <sup>a</sup>	5.81 <sup>a</sup>
전반적인기호도 overall acceptability		5.94 <sup>a</sup>	5.49 <sup>a</sup>	5.59 <sup>a</sup>

1) Same letters in a row are not significantly different each other (p<0.05)

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	평가의 착안점 및 척도, 목표달성도 및 기여도			
	착 안 사 항	척도(점수)	목표달성도(%)	기여도(%)
1차년도(2000)	○ 연구인력	10	100	100
	○ 연구시설	10	100	100
	○ 관련연구실적	10	120	100
	○ 타수행기관과의 협조력	20	100	100
	○ 예상진행도 진척률	20	100	100
	○ 추진력	30	100	100
2차년도(2001)	○ 타수행기관과의 협조력	10	100	100
	○ 예상진행도 진척률	10	100	100
	○ 추진력	30	100	100
	○ 창의력	30	100	100
	○ 습득력	20	100	100
최종평가	○ 기술개발성취도	35	100	100
	○ 연구추진계획성취도	30	100	100
	○ 핵심요소기술완성도	35	100	100

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 1. 추가연구의 필요성

- 없 음

### 2. 타 연구에의 응용

- 천연물 소재 기능성식품의 개발이 세계적인 추세인 바, 국내의 우수한 천연물 자원, 특히 농산물 또는 해산물을 기초소재로 한 여타 연구에 본 연구의 개발 경험이 적절히 응용될 것으로 사료 됨

### 3. 기업화 추진방안

- 본 과제의 참여기업인 (주)바이오빅스에서 본 연구결과의 기술이전을 원하고 있으므로 곧 기업화가 추진될 것으로 예상 됨

### 4. 연구 성과

- 논문게재

국제학술지(일본 약학회지 *Biol. Pharm. Bull* - SCI)에 1편의 논문 게재

- 논문투고

국제학술지(한국식품과학회지 - SCIE)에 1편의 논문 투고 중

- 특허출원

1. 특허출원제목 - 11s두부, 대두배아두부 개발 및 기능성 연구. 국내 특허 출원 중
2. 11s두부 및 대두배아를 이용한 기능성 두유음료 개발 연구. 국내 특허 출원 요청 중



## 제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 1. 신제품의 새로운 경향

2003, 2004년도 국내·외에 출시된 신제품을 분석해보면 특별한 「기능」을 강조하거나 성분을 강화한 식품이 다른 해에 비해 유난히 많은 것으로 조사되었다. 미량의 무기질이나 섬유질 첨가 같은 단순한 기능 강화가 아니라 생리활성 기능을 인정받은 물질을 이용한 이른바 기능성 식품들이 많이 등장했다. 이는 공해와 스트레스에 시달리고 생활이 불규칙한 현대인들이 음료수 하나를 마시더라도 「건강」을 의식하는 경향이 반영된 현상이라는 것이 일반적인 분석이다. 건강보조식품(dietary supplement)은 부작용이 우려되는 의약품보다는 특정 성분이 다량 함유된 식품을 꾸준히 섭취함으로써 질병을 예방하거나 건강을 유지할 수 있게 하는 식품으로 선진국 뿐 아니라 우리나라에도 다양한 제품이 출시되고 있다. 기능성 식품의 기능별 동향을 보면 다음과 같다.

#### ① 성인병 예방용 식품

성인병 예방용 식품은 기능성 식품의 중요한 부분을 차지하고 있는 식품이다. 특히 비만 인구 비율이 높은 미국이나 유럽에서는 체중조절 뿐 아니라 콜레스테롤치를 낮춰주거나 심장병 예방에 도움이 되는 식품이 큰 비중을 차지하고 있다.

#### ② 생체기능조절 물질 이용 식품

미국에서는 1998년 「Method Validation Program」이라는 식물의 생리활성 성분 탐색을 위한 대대적인 프로젝트를 시작했다. 미국의 영양, 허브, 생리활성물질 관련 단체가 협조 체제를 구축하고 있는 이 프로젝트는 전 세계의 식물을 대상으로 생리활성 성분을 탐색하는 것을 목적으로 하고 있다.

#### ③ 노화억제식품

건강하게 오래 살고자하는 욕구는 인간의 공통적인 소망인 만큼 노화를 지연시키기 위한 다방면의 연구가 활발히 진행 중이다. 또 암을 비롯한 각종 성인병, 파킨슨병이나 알츠하이머형 치매 등의 질병의 원인이 체내에 생성되는 유리기(free radical) 특히 지질 과산화물에 의한 것이라는 것이 밝혀지면서 노화를 방지하거나 지연시킬 수 있는 물질 개발이 한창이다.

#### ④ 항알러지식품

기능 강화 식품의 새로운 분야로 떠오르고 있는 것 중 하나가 항알러지 식품이다. 우리나라에서는 아직 익숙하지 않은 분야지만 일본에서는 항알러지 식품이 새로운 기능성 식품 분야로 자리 잡고 있다. 선진국에서는 주거용 세제나 공기청정제 등에 항알러지 제품들이 이미 일반화되어 있다.

### 2. 국제 식품전시회를 통한 기능성 음료의 개발 동향 고찰

#### ① 2002 FMI Show 개요

금번 시카고에서 개최된 FMI Show는 미국 Food Marketing Institute가 주관하는 슈퍼마켓용품관련 최대전시회중의 하나로서 올해는 세계적으로 1,300여 업체가 참가하였고 국내업체도 16개 업체가 참가하였다 한다. 이 전시회에는 대부분 식품원료, 중간소재, 완제품 생산업체, 포장 그리고 식품의 생산, 유통 등과 관련된 기기 제조업체들이 참가하였으며 그 외 일부 생활용품 등도 전시되었다. 전시제품 중에서 본과제의 성격과 관련이 있는 음료부분에서는 약 200여 업체가 참여하였고 건강식품분야에서는 40여 업체, 그리고 민족고유의 식품은 60여 업체가 참여하였다. 특히 음료제품에서는 100% 과일쥬스 등과 같은 무거운 느낌을 주는 음료보다는 천연향미 또는 소량의 천연물 첨가한 가벼운 형태(flavored water등) 제품이 많이 전시되었으며, 동양의 대표적 건강소재인 녹차나 인삼을 기조로 한 음료도 눈에 많이 띄어 전반적으로 부담이 적은 가벼운 형태의 건강지향적 음료에 대한 관심이 높아짐을 알 수 있었다. 그리고 대부분의 용량은 450ml 정도가 큰 주류를 이루고 있었으며 그 이상 되는 경우도 많았다.

#### ② HOFEX 2001 Show 개요

금번 홍콩에서 개최된 HOFEX 2001 Show는 홍콩 Exhibition Services Ltd가 주관하는 식품, 음료 및 서비스관련용품 전시회로서 약 26,500m<sup>2</sup> 전시면적에 3개의 hall에서 동시에 개최되었다. 전시품목 중 본 과제와 관련이 되는 음료류의 경우는 160여 업체, 건강식품분야는 40여 업체가 참여를 하였다. 음료제품에서는 미국 시장에서와 같이 천연향미 또는 소량의 천연물을 첨가한 가벼운 형태(flavored water 등)의 제품이 많았고, 두유, 녹차나 인삼, 항산화제로 함유 음료도 눈에 많이 띄어 동남아 시장 역시 건강제품에 대한 관심이 높음을 알 수 있었다. 용량은 미주시장에 비해 크지가 않고 우리나라와 비슷한 경향이었다.

### ③ 파리 식품박람회(SIAL 2000)을 통해 본 신제품 경향

지난 10월 개최된 파리 식품박람회 (SIAL 2000)에 출품된 가공식품들은 유럽 뿐 아니라 전 세계의 신제품 경향을 한 눈에 볼 수 있는 기회를 제공했다. 이번 박람회에 출품된 신제품의 가장 두드러진 특징은 즐거움을 줄 수 있는 식품, 건강 지향적인 식품, 편리한 식생활을 위한 식품의 증가로 들 수 있는데 배부름 이상의 만족감을 줄 수 있는 식품을 원하는 것은 세계적인 경향으로 보다 다양한 소재와 맛을 즐기고자 하는 소비자의 욕구가 날로 증가하고 있는 추세이다.

## 3. 국내·외 기능성식품의 개발 현황

### ① 국내

우리 나라의 기능성 식품은 일본이나 유럽 등 기능성 식품이 발달된 나라에 비해 미량의 영양성분을 강화한 강화식품이 대부분을 차지하고 있었다.

### ② 일본

일본은 기능성 식품의 발원지답게 굉장히 활발한 시장을 형성하고 있다. 또 국가 차원에서 기능성 식품을 인증하고 제품에 표시를 하도록 해 일반식품으로서 특수 기능을 강조한 식품을 「특정 보건용 식품」으로 따로 규정하고 있어 다양한 제품이 개발되고 있고 소비자들도 이런 식품에 익숙해져 있다. 일본의 기능성 식품 시장은 이미 상당히 활성화된 상태이며 식품의 기능성화 경향이 전반적인 가공식품에 일어나고 있다. 일본인들은 기능 강화 식품에 대해 「일상적인 섭취를 통해 잘못된 생활 습관으로 인해 생길 수 있는 질병을 미연에 방지할 수 있는 식품」으로 인식하고 있다. 따라서 장내 환경개선 식품, 콜레스테롤이 높은 사람을 위한 식품, 혈압이 높은 사람을 위한 식품, 혈당을 낮추기 위한 식품을 특정 보건용 식품으로 분류하고 있다.

### ③ 미국

다양한 기능 강화 식품의 등장에 미국도 예외가 아니었다. 특히 지난해 미국 식품 시장은 영양이나 건강을 생각하는 제품 등장이 더욱 두드러진 한해였다. 그러나 그동안 인기를 끌었던 저 칼로리, 저당 등 「저」를 강조한 식품보다는 「천연」이라는 용어가 소비자의 눈길을 끌었던 한해였다. 또 새로운 향이나 토속적인 조미료

등을 이용한 제품들이 많이 등장한 것이 특징이다. 지난해 미국에서는 대두 추출물 강화 식품이 기능성 식품분야에 새롭게 등장하고 있고 감미료/설탕, 또 「칼슘」, 「무 첨가물」, 「무 방부제」, 「저/무 콜레스테롤」, 「식이섬유」 제품들은 꾸준한 인기를 누리고 있다. 반면 95년 이후 폭발적인 인기를 누렸던 저칼로리, 저설탕, 저지방 제품들은 감소하는 경향을 보였는데 이는 유행처럼 저 칼로리나 저지방 식품을 찾던 미국인들 사이에 저 칼로리 식품에 대한 회의적인 생각이 늘고 있기 때문인 것으로 분석된다. 이에 따라 당도를 유지하면서도 칼로리나 지방을 감소시키는 새로운 소재 개발에 고심하고 있다. 또 체중조절에 효과가 있는 새로운 기능성 소재 개발 연구에도 몰두하고 있어 콩 제품, 특히 동양의 두부에 관한 관심이 크게 증폭되고 있다.

#### ④ 유럽

유럽은 모든 가공식품의 「건강식품화」가 예상될 정도로 새로운 기능 강화 식품들이 많이 등장하고 있으며 특히 지난해 이 같은 현상이 더 두드러졌다. 그러나 미국과 마찬가지로 그 동안 인기를 끌었던 저칼로리, 저당 등의 식품보다는 새로운 생리활성물질을 첨가한 식품들이 새롭게 등장하고 있다.

## 제 7 장 참고문헌

- 강인희(1997). 한국의 맛. 대한교과서, 12.
- 고순남(1991). 분리대두단백 두부의 물리적 특성에 미치는 응고온도 및 응고제의 영향. 세종대학교 대학원 석사학위논문.
- 권태완(1971). 두류. 한국식품연구문헌총람, 한국식품과학회, 1, 1071-1145.
- 김길용(1990). 호박잼의 제조방법. 특허공보, 90-3549.
- 김길용(1990). 남과주 (호박술)의 제조방법. 특허공보, 90-3706.
- 김길용(1990). 호박음료의 제조방법. 특허공보, 90-31.
- 김길용(1990). 호박분말의 제조방법. 특허공보, 90-32.
- 김길용(1990). 호박스넥의 제조방법. 특허공보, 90-12.
- 김길환(1982). 콩, 두부와 콩나물의 과학. 한국과학기술원, 119-133.
- 김동만, 윤혜현, 김길환(1990). 장려품종 콩의 단백질 특성. 한국식품과학회지, 22(4), 386-392.
- 김민정(2000). 우리나라 전통콩의 이화학적 특성과 기능성 성분에 관한 연구. 용인대학교 대학원 석사학위논문.
- 김영희(1998). 오미자로부터 Sterol의 분리. 상지대학교 논문집, 제19집, 12, 475-481.
- 김중만, 김형태, 최용배, 황호선, 김태영(1993). 우유 첨가가 두부 품질에 미치는 영

향. 한국영양식량학회지, 22(4), 437-442.

김태영(1994). 우유첨가 두부 및 두부치즈의 이화학적 품질특성에 관한 연구. 원광대학교 대학원 박사학위논문.

박무현(1994). 구기자를 이용한 건강음료의 개발. 한국식품개발연구원 보고서, I1130-0439.

박용곤(1984). 대두의 수침시간에 따른 조직의 미세구조, 단백질 특성 및 두부수율의 변화. 영남대학교 대학원 석사학위논문.

박용문, 석호문(1995). 호박농축물을 이용한 호박차 및 호박음료의 제조방법. 특허공보, 제081467호.

손헌수(1997). 한국의 두부 연혁과 신규 두부의 개발. 민족과 문화, 제6집, 71-92.

송석훈, 장건형(1964). 두부의 shelf-life 연장에 관한 연구 (제2보). 기술연구보고, 제3집, 육군기술연구소, 3, 5.

송태희, 김상순(1991). 인삼첨가 김치의 가식기간과 기호성에 미치는 영향. 한국식문화학회지, 6, 237.

식품공전(2001). 보건복지부, 218-219.

윤서석(1983). 한국음식. 수학사, 372-374.

윤영미, 손경희(1985a). 두부의 생산량 및 수율에 미치는 지방의 영향.

한국식품과학회지, 1(1), 1.

윤영미, 손경희(1985b). 두부의 구조 및 질감특성에 미치는 지방의 영향.

한국조리과학회지, 1(1), 1-7.

이경원(1982). 국민영양과 대두의 수입정책. 식품과학, 15, 40.

이명환, 안혜숙(1983). 두부 제조시 응고제 및 성형압력이 미치는 영향.

서울여자대학교 논문집, 제12호, 345-359.

이부용, 김동만, 김길환(1990). 한국산 콩품종의 두부 가공 적성에 관한 연구. 한국 식품과학회지, 22(3), 363-368.

이혜원(1984). 두부의 보존성 및 물성에 관한 연구. 서울여자대학교 대학원 석사학위논문.

최서규(1989). 두부제품에 있어서의 당면과제. 한국콩연구회지, 5(1), 5-9.

황경수(1996). 대두단백질의 변성과 식품가공에의 이용. 한국의콩연구, 33(1), 38.

Albert, J.C.(1965). *Economic aspects: Protein-rich food from oil seeds*. Food Technol., 9, 929.

A.O.A.C.(1984). *Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed., Washington D.C., USA, 413.

A Soyatech Publication(1988). *Soya Bluebook*. Soyatech Inc., ME, USA.

Back, N.I., Cho, S.J., Bang, M.H., Lee, I.Z., Park, C.G., Kim, M.S.,

Kim, K.S. and Sung, J.D.(1998). *Cytotoxicity of steroid saponins from the tuber of Liriope platyhylla W.T.* Agri. Chem. Biotechnol., 41, 390-394.

Bae, D.H., Youn, K.S. and Chio, Y.H.(1997). *Effect of various reagents on*

*hardness and formation of coconut tofu*. Food Bio Technol., 6(1), 34-38.

Baek, S.H., Kang, K.H. and Choe, S.N.(1996). *Effect of seaweeds added in preparation of Tofu*. Korean J. Food and Nutr., 9(4), 529-535.

Baik, S.H., Kim, M.K., Yun, S.E. and Joo, H.K.(1996). *Improvement on textural properties of soybean curd by freeze denaturation of soybeans*. Korean J. Food Sci. Technol., 28(2), 267-172.

Berra, R. and Pontecorvo, A.(1975). *New ways of utilizing soy in human diets in Latin America*. J. Am. Oil Chem. Soc., 52(4), 280-282.

Brekhman, I.I. and Dardymov, I.V.(1969). *New substance of plant origin which increase nonspecific resistance*. Ann. Re. Pharm., 9, 419.

Burton, G.W. and Ingold, G.W.(1984). *An unusual type of lipid antioxidant*. Science, 224, 56-63.

Champagene, C.P., Aurouze, B. and Goulet, G.(1991). *Inhibition of undesirable gas production in tofu*. J. Food Sci., 56(6), 1600-1603.

Chang, K.S., Kim, M.J. and Kim, S.D.(1995). *Effect of Ginseng on the preservability and quality of Chinese Cabbage Kimchi*. J. Korean Soc. Food Nutr., 24(2), 313-322.

Cho, G.S.(1997). *Chemical compositions of the green and ripened pumpkin (Cucurbita moschata Duch.)*. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 657-662.

Cho, J.S.(1981). *Food Stuff*. Geejeon Yeongusa, Seoul, Korea, 162-164.

Cho, S.B., Kim, H.J., Yoon, J.I. and Chun, H.S.(2003). *Kinetic study on the*



color deterioration of crude anthocyanin extract from *Schizandra Fruit* (*Schizandra chinensis fructus*). Korean J. Food Sci. Technol., 35(1), 23-27.

Choi, C.B., Park, Y.K., Kang, Y.H. and Park, M.W.(1998). *Effects of pumpkin powder on chemically induced stomach and mammary cancers in Spragur-Dawley rats*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 973-979.

Choi, H.J., Zhang, Y.B. An, B.J. and Choi, C.(2002). *Identification of biologically active compounds from Panax ginseng C. A. Meyer*. Korean J. Food Sci. Technol., 34(3), 493-497.

Choi, U., Shin, D.H., Chang, Y.S. and Shin, J.I.(1992). *Screening of natural antioxidant from plant their antioxidative effect*. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 142-148.

Doston, C.R., Frank, H.A. and Cavaletto, C.G.(1977). *Indirect methods as criteria of spoilage in Tofu (Soybean Curd)*. J. Food Sci., 42, 273-279.

Frazier, W.C. and Westhoff, D.C.(1978). *Food microbiology*. Mcgraw-hill Book Co., 130-142.

Grover, U., Songh, S. and Mital, B.K.(1983). *Studies on extending the shelf-life of soybean curd*. J. Food Science and Tech., 20, 298.

Han, D.S.(1993). *Pharmacognosy*. 5th ed., Dongmyungsa, Seoul, 148.

Hong, J.W., Kim, I.H., Kim, J.H., Kwon, O.S., Lee, S.H., Seo, W.S.,

Kim, C., Kim, E.S. and Chung, Y.H.(2002). *Effects of dietary Astragalus membranaceus, Ginseseng and Onion complex on growth performance and carcass characteristics in finishing pigs*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31(1), 149-154.

Hwang, T.I. and Byoun, K.E.(2000). *Studies on the production of functional soybean curd*. Soonchunhyang J. Nat. Sci., 6(1), 213-216.

Jang, J.G., Lee, K.S., Kwon, D.W., Nam, K.Y. and Choi, J.H.(1983). *Study on the change of saponin contents in relation root age of Panax ginseng*. Korean J. Food and Nutr., 12, 37.

Jang, S.M., Park, N.Y., Lee, J.B. and Ahn H.(2001). *The comparison of food constituent in different parts of Pumpkin*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30(6), 1038-1040.

Jeong, Y.J.(2001). *Monitoring on extraction condition of old pumpkin using response surface methodology*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30, 466-470.

Jhee, O.H. and Yang, C.B.(1996). *Antioxidative activity of extract from Bangah Herb (in Korean)*. Korean J. Food Sci. Technol., 8, 1157-1163.

Jung, G.T., Ju, I.O. and Choi, J.S.(1998). *Studies on drying and preservation of omija (Schizandra chinensis)*. Korean Postharvest Sci. Technol., 5, 217-223.

Jung, G.T., Ju, I.O., Choi, J.S. and Hong, J.S.(2000). *The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of Schizandra chinensis Ruprecht (Omija) seed*. Korean J. Food Sci. Technol., 32, 928-935.

Jung, G.T., Ju, I.O., Choi, J.S. and Hong, J.S.(2000). *Preparation and shelf-life of soybean curd coagulated by fruit juice of Schizandra chinensis RUPRECHT (Omija) and Prunus ume (Maesil)*. Korean J. Food Sci. Technol., 32(5), 1087-1092.

Jung, J.Y. and Cho, E.J.(2002). *The effect of green tea powder levels on storage characteristics of tofu*. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 18(2), 129-135.

Kang, K.C., Park, J.H., Baek, S.B., Jhin, H.S. and Rhee K.S.(1992). *Optimization of beverage preparation form Schizandra chinensis Baillon by response surface methodology*. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 74-81.

Kim, D.H., Lee, K.S.(1992). *Effects of coagulants on storage of packed tofu*. Korean J. Food Sci. Technol., 24(1), 92-96.

Kim, D.H., Lim, M.S. and Kim, Y.O.(1996). *Effect of seaweeds addition on the physicochemical characteristics of soybean curd*. J. Korean Soc. Food Nutr., 25(2), 249-254.

Kim, D.Y.(1973). *Studies on the browning of the red ginseng*. J. Korean Agr. Chem. Soc., 16, 60.

Kim, H.J., Kim, B.Y. and Kim, M.H.(1995). *Rheological studies of the tofu upon the processing conditions*. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 324-328.

Kim, J.M., Baek, S.H. and Hwang, H.S.(1988). *Preparation of the tofu coagulant from egg-shell and it's use*. J. Korean Soc. Food Nutr., 17(1), 25-31.

Kim, J.M., Choi, Y.B., Kim, H.T., Kim, T.Y., Hwang, H.S. and Hwang, S.M.(1991). *Effects of egg-white addition on the quality of soybean curd*. J. Korean Soc. Food Nutr., 20(4), 363-368.

Kim, J.S. and Yoon, H.G.(1996). *The effect of omija on the physical fitness in athlete*. The Journal of Physical Education, 24, 403-418.

Kim, J.W., Lee, J.K. and Hong, J.H.(1997). *Effect of mixed coagulant on the rheological properties of soybean curd*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 26(6),

1096-1101.

Kim, J.Y., Kim, J.H., Kim, J.K. and Moon, K.D.(2000). *Quality attributes of whole soybean flour tofu affected by coagulant and theirs concentration*. Korean J. Food Sci. Technol., 32(2), 402-409.

Kim, K.T., Im, J.S. and Kim, S.S.(1996). *A study of the physical and sensory characteristics of ginseng soybean curd prepared with various coagulants*. Korean J. Food Sci. Technol., 28(5), 965-969.

Kim, K.I., Nam, J.H. and Kwon, T.W.(1973). *On the proximate composition, organic acid and anthocyanins of omija, Schizandra chinensis Baillon*. Korean J. Food Sci. Technol., 5, 178-182.

Kim, M.H., Kim, M.C., Park, J.S., Kim, J.W. and Lee, J.O.(2001). *The antioxidative effects of the water-soluble extracts of plants used as tea materials*. Korean J. Food Sci. Technol., 33, 12-18.

Kim, O.M., U, H., Kim, K.E., Woo, S.M. and Jeong, Y.J.(2002). *Quality characteristic of breads added herb extracts and liquid calcium*. Food Industry and Nutrition, 7(3), 39-43.

Kim, S.D., Ku, Y.S., Lee, I.Z., Kim, I.D. and Youn, K.S.(2001). *General components and sensory evaluation of hot water extract from Liriopsis Tuber*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30(1), 20-24.

Kim, S.D., Ku, Y.S., Lee, I.Z., Kim, M.K. and Park, I.K.(2000). *Major components in fermented beverages of Liriopsis Tuber*. J. East Asian Soc. Dietary Life, 10, 25-30.

Kim, S.J. and Park, K.H.(1996). *Antimicrobial substances in leek (Allium*

*tuberosum*) (in Korean). Korean J. Food Sci. Technol., 28, 604-608.

Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K.(2001). *The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts*. Korean J. Food Sci. Technol., 33, 626-632.

Kim, Y.J., Kim, C.K. and Kwon, Y.J.(1997). *Isolation of antioxidative components of Perillae semen (in Korean)*. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 38-43.

Ko, S.N. and Kim, W.J.(1992). *Effect of coagulants and coagulation temperature on physical properties of ISP-tofu* Korean J. Food Sci. Technol., 24(2), 154-159.

Ku, K.H. and Kim, W.J.(1994). *Effect of heating time and mixed coagulants for prepared SPI tofu* Korean J. Food Sci. Technol., 26, 26-30.

Ku, K.H., Kim, D.W. and Kim, W.J.(1994). *Effect of water addition and heating on textural properties of uncompressed SPI tofu* Korean J. Food Sci. Technol., 26, 31-36.

Kwak, E.J., An, J.H, Lee, H.G., Shin, M.J. and Lee, Y.S.(2002). *A study on physicochemical characteristics and sensory evaluation according to development of herbal sauces of Jujube and Omija* J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31(1), 7-11.

Lee, J.S. and Lee, S.W.(1989). *The studies of composition of free sugar, fatty acid and nonvolatilitic organic acid in part of Omija (Schizandra chinensis Baillon)*. Korean J. Dietary Culture, 4, 177-181.

Lee, J.S. and Lee, S.W.(1990). *Effects of extracts in fruits of Omija (Schizandra chinensis Baillon) on alcohol metabolism*. Korean J. Dietary Culture, 5, 259-263.

Lee, J.Y., Min, Y.K. and Kim, H.Y.(2001). *Isolation of antimicrobial substance from Schizandra chinensis Baillon and antimicrobial effect*. Korean J. Food Sci. Technol., 33, 389-394.

Lee, K.S., Kim, D.H., Baek, S.H. and Choun, S.H.(1990). *Effects of solutions of tofu (soybean curd) on extending its shelf-life*. Korean J. Food Sci. Technol., 22(2), 116-122.

Lee, S.H. and Lim, Y.S.(1997a). *Antimicrobial effects of Schizandra chinensis extract against Listeria monocytogenes*. Korean J. Applied Microbiol. Biotechnol., 25, 442-447.

Lee, S.H. and Lim, Y.S.(1997b). *Effect of Omija (Schizandra chinensis) extract on the growth of lactic acid bacteria isolated from Kimchi*. Korean J. Applied Microbiol. Biotechnol., 25, 224-228.

Lee, S.H. and Lim, Y.S.(1998). *Antimicrobial effects of Schizandra chinensis extract on pathogenic microorganism*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 239-243.

Lee, Y.C., Oh, S.W. and Hong, H.D.(2002). *Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts*. Korean J. Food Sci. Technol., 34(4), 700-709.

Miller, C.D., Denning, H. and Bauer, A.(1952). *Relation of nutrients in commercially prepared soybean curd*. Food Res., 17, 261-265.

Miskovsky, A. and Stone, M.B.(1987). *Effect of chemical preservatives on storage and nutrient composition of soybean curd*. J. Food Sci., 52(6), 1535-1537.

Mok, C.K., Song, K.T., Lee, S.K., Na, Y.J., Park, J.H., Kwon, Y.A. and

Lee, S.J.(2001). *Optimization of roasting process as pre-treatment for extraction of Omija (Schizandra chinensis Baillon)*. Korean J. Food Sci. Technol., 33(3), 333-337.

Moon, S.W. and Jang, M.S.(2000). *Effects of water extract from Omija (Schizandra chinensis Baillon) on Nabak Kimchi preservation*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29(5), 814-821.

Nam, H.K. and Koh, D.H.(1994). *Fatty acid composition of Korean pumpkins*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 7, 95-99.

No, H.K., Beik, K.Y. and Kim, S.J.(2002). *Effect of chitosan-soybean curd on serum lipid metabolism in rats fed high-fat diet*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31(6), 1078-1083.

Oh, S.L., Kim, S.S., Min, B.Y. and Chung, D.H.(1990). *Composition of free sugars, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of L. chinensis M., A. acutiloba S. chinensis B. and A. sessiliflorum S.* Korean J. Food Sci. Technol., 22(1), 76-81.

Park, H.R., Ham, Y.H., Jung, U.H., Jeong, I.Y. and Jo, S.K.(2002). *Genotoxicological safety of hot water extracts of the  $\gamma$ -irradiated Astragali Radix, Atractylodes Rhizoma, and Cimicifugae Rhizoma in vitro*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31(5), 910-916.

Park, M.H.(1993). *Studies on the development of functional food from Chinese Bellflower Roots (Platycodon grandiflorum A. DC)*. Korea Food Research Institute report, I1083-03414.

Park, Y.H.(1995). *A study on the development pumpkin-citron-honey drink*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 24, 625-630.

Park, Y.K., Cha, H.S., Park, M.W., Kang, Y.H. and Seog, H.M.(1997). *Chemical components in different parts of Pumpkin*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 26(4), 639-646.

Pontecorvo, A. and Bourne, M.(1978). *Simple methods for extending the shelf life of soy curd in tropical areas*. J. food Sci., 43, 969.

Ryu, K.S., Kang, C.W., Song, G.S. and Paik, S.W.(1998). *Effect of dietary supplemental Astragalus membranaceus on performance, blood components and meat quality of broiler chicks*. Korean J. Poult. Sci., 25, 185-193.

Saio, K.(1979). *Tofu-relationships between texture and fine structure*. Cereal Food World, 24(8), 342-349.

Sato, E., Miki, E., Gohtani, S. and Yamano, Y. *The effect of preparation conditions on the physical properties and microstructure of Gomatofu*. Nippon Shokuhin Kagaku kaishi, 42, 737-747.

Sekiya, K. and Okuda, H.(1981). *Purification of an antilipolytic (insuline-like) substance from Panax ginseng*. Proc. Symp. Wakan-Yaku, 14, 133.

Shimada, K. and Matsushita, S.(1980). *Gel formation of soybean 7S and 11S proteins*. Agric. Biol. Chem., 44(3), 637.

Shin, Y.S., Lee, K.S. and Kim, D.H.(1993). *Studies on the preparation of yogurt from milk and sweet potato or pumpkin*. Korean J. Food Sci. Technol., 25, 666-671.

Shon, H.J., Bock, J.Y., Bail, S.O. and Kim, Y.H.(1989). *Determination of lignan compounds in fruits of Schizandra chinensis Baillon by capillary-GC (FID)*. J. Korean Agric. Chem. Soc., 32, 350-356.



Song, G.S., Ahn, B.Y., Lee, K.S., Maeng, I.K. and Choi, D.S.(1997). *Effect of hot extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens*. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 1288-1294.

Sun, N. and Breene, W.M.(1991). *Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties*. J. Food Sci., 56(6), 1604.

Tajiri, T.(1993). *Physical properties of tofu produced using citrus fresh fruit juice and Ume-zu as coagulation agent*. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 40, 814-823.

Takagi, S., Dkamoto, N., Akashi, M. and Yasumatsu, K.(1979). *Hydrophobic bonding and S-S bonding in heat denaturation of IIS of soybean protein*. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 26, 139.

Wang, D.Y., Yang, W.Y., Zhai, S.K. and Shen, M.L.(1980). *Effect of Astragalus polysacchrude of ribonucleic acid metabolism*. Acta Biochem. Biophys. Sin., 12, 343-348.

Wu, M.T. and Salunkhe, D.K.(1977). *Extending shelf-life of fresh soybean curds by in-package microwave treatments*. J. Food Sci., 42, 1448-1451.

Yang, H.C., Lee, J.M. and Song, K.B.(1982). *Anthocyanins in cultured omija (Schizandra chinensis Baillon) and its stability*. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 25, 35-43.

Yokozawa, T., Seno, H. and Oura, H.(1975). *Effect of extract on lipid and sugar metabolism. I. Metabolic correlation between liver and adipose tissue*. Chem. Pharm. Bull., 23, 3095.

Yook, C.S.(1997). *An illustrated guide to Asia herb*. Gyeongwon

Publishing Co Inc, Seoul.

Zhang, Y.D., Wang, Y.L., Shen, J.P. and Li, D.X.(1984). *Hypotensive and antiinflammatory effects of Astragalus saponin I*. Acta Pharm. Sin., 12, 43-348.

Weinstein, M. J. and Wagman, G. H., Eds., Antibiotics: Isolation, Separation, Purification, in Journal of Chromatography Library, Vol. 15, Elsevier, Amsterdam, 1978.

Natori, S., Ikekawa, N. and Suzuki, M., Advances in Natural Products Chemistry. Extraction and Isolation of Biologically Active Compounds, John Wiley & Son, New York, 1981.

Wagman, G. H. and Cooper, R., Eds., Natural Products Isolation: Separation Methods for Antimicrobials, Antiviral and Enzyme Inhibitors, in Journal of Chromatography Library, Vol. 43, Elsevier, Amsterdam, 1989.

Mitscher, L. A., Leu, R. P., Bathala, M. S., Wu, W. N., Beal, J. L. and White, R., Antimicrobial Agents from Higher Plants I. Introduction, Rationale and Methodology, Lloydia, 35, 157, 1972.

Pettit, G. R. and Cragg, G. M., Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy, Vol. 2, Plenum Press, New York, 1978.

Pettit, G. R. and Cragg, G. M., Biosynthetic Products for Cancer chemotherapy, Vol. 3, Plenum Press, New York, 1978.

Cardellina, J. H., Step Elution in Gel Permeation Chromatography. A New Approach to Natural Products Separation, J. Nat. Prod., 46, 196, 1983.

MacLeod, A. J., Instrumental Methods for Food Analysis, Elek Science, London,

1973.

Poole, C. F. and Schuette, S. A., *Contemporary Practice of Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1984.

Still, W. C., Kahn, M. and Mitra, A., *Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separation with Moderate Resolution*, *J. Org. Chem.*, 43, 2393, 1978.

Eskins, K. and Dutton, H. J., *Sample Preparation for High-Performance Liquid Chromatography of Plant Pigments*, *Anal. Chem.*, 51, 1885, 1979.

Buchwaldt, L. and Jensen, J. S., *HPLC Purification of Dextrusins Produced by Alternaria brassicae in Culture and Leaves of Brassica napus*, *Phytochemistry*, 30, 2311, 1991.

강삼식, 김영호, 김진웅, 노동석, 성열익, 성충기, 손건호, 정지형, 최재수, 표준엑스와 표준분획 제조법, 전통약물로부터 신약개발 연구법, 서울대학교 천연물과학 연구소, 1992.

Han, B. H. and Suh, D-Y., *Bioassay-directed Studies on Natural Products in Korea*, in *Natural Products Research in Korea*, Seoul National University Press, Seoul, Korea, 1996.

'97과실 및 채소류 가공현황, 농림부 (1998)

1997 농협연감, 농업협동조합중앙회 (1998)

농협조사월보, 2월호, 농업협동조합중앙회 (1999)

농수산물무역정보, 125권, 농수산물유통공사 (1999)

Zajic, J. E., and W. Seffens. *Crit. Rev. Biotech.*, 1:87 (1984)

Hisatuka. K., T. Nakahara, N. Sono and K. Yamada, *Agric. Biol. Chem.*, 35:686 (1971)

Rosemberg, E., *Crit. Rev. Biotech.*, 3:109 (1986)

G. Serrine, *Drug and Cosmetic Ind.*, sept., 26 (1969)

H. Nac, *J. Soc. Cosm. Chemists.*, 21, 85 (1970)

P.M. Elias : *Advances in lipid research*, Academic press. 1991.

A, Elliot : *Textile Res. J.*, 22: 783, 1952.

J. B. Speakman : *Nature* 132: 930, 1993.

CTFA *Cosmetic Ingredient Handbook*, 1st Edition, Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, 1998.

Alan Goldberg : *Alternative Method in Toxicology*, Vol. 1, Mary Aun Liebert, 1983.

R. Takamoto, R Namba, O. Nakata, T. Sawada : *Aual. Chem.* 62(7), 674, 1990.

J. Koyama, J. Nomura, Y. Ohtsu, O. Nakata, M. Takahashi : *Chem. Letters*, 687, 1990.

신화장품학, 동화기술, 1997.

하병조, 화장품학, 수문사, 1999.

화장품과학, 정담, 1999.

Rosser, B.G. and Gores, G.J. : Liver cell necrosis: Cellular mechanism and clinical implications. *Gastroenterology*, 108, 252 (1995)

Takabe, M. and Itokawa, Y. : Thiamine depletion after ethanol and acetaldehyde administration to rabbits. *J Nutr Sci Vitaminol*, 29 : 509, 1983

주충노, 인삼사포닌의 에탄올 해독작용. *화학세계*, 34 ; 767, 1994