

GOVP1200136465

(19th)

641.6445

L2938

최 종
연구보고서

산지 곶감 부산물의 생체 기능성 탐색과 활용 기술 개발

Development of Utilization Technology and
Health-benefit Function Study of Dried Persimmon
By-products

연구기관
경북대학교

농림부

최 종 보 고 서

1999년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 산지 꽃감 부산물의 생체 기능성 탐색과 활용 기술 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

- 첨부 : 1. 최종보고서 10부
2. 최종보고서 디스켓 1매

2001년 11월 15일

주관연구기관 : 경북대학교

총괄연구책임자 : 정 신 교 (인)

주관연구기관장 : 경북대학교 총장

직 인

농 립 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "산지 꽃감 부산물의 생체 기능성 탐색과 활용 기술 개발에 관한 연구" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001년 11월 15일

주관연구기관명 : 경북대학교

총괄연구책임자 : 정 신 교

연 구 원 : 최 종 욱

연 구 원 : 강 우 원

연 구 원 : 이 병 우

연 구 원 : 박 승 우

연 구 원 : 김 종 수

연 구 원 : 김 미 연

연 구 원 : 김 영 찬

협동연구기관명 : 계명대학교

협동연구책임자 : 이 인 선

연 구 원 : 양 의 주

연 구 원 : 서 화 정

요 약 문

I. 제 목

산지 꽃감 부산물의 생체 기능성 탐색과 활용 기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

감은 전국적으로 연간 200,000M/T 이상 생산되며 이 중 뽕은감은 건조 가공되어 꽃감으로 제조된다. 꽃감 제조시 버려지는 감의 과피가 꽃감 생산 지역의 환경위생에 심각한 문제를 초래하고 있다. 감 과피는 카로티노이드, 탄닌, 식이섬유 등의 성분이 풍부하게 존재하고 있어 유용성분과 이의 다양한 생체기능성 연구가 수반되어 신규 기능성 소재로서 활용기술을 개발하는데 연구의 목적이 있다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 꽃감 부산물의 효율적 가공 이용 기술 개발

감피의 효율적인 가공 이용 기술을 개발하기 위하여 먼저 꽃감 제조용 원료감 7 품종의 일반성분 및 지방산, 아미노산, 비타민류를 분석하였으며, 유용성분인 카로티노이드 화합물과 페놀성 화합물의 함량을 조사하였다. 감피의 효율적인 건조 공정을 확립하기 위하여 천일 및 열풍건조를 통한 수분함량과 색도의 변화를 조사한 결과 40℃, 5시간 열풍건조구가 적당한 것으로 나타났다. 또한 건조 감피 분말의 입도에 따른 저장 중 총카로티노이드 화합물과 β -카로틴 함량 변화를 조사하였다.

감피를 이용한 가공품으로 감피 첨가 감잎차, 감피 첨가 식빵 및 감피 식초를 제조하고 품질특성을 조사하였다. 감피 첨가로 인해 감피 혼합차의 카로티노이드 함량이 높아졌으며, 추출물의 항산화 활성도 약간 증가하는 효과가 있었다. 감피 첨가함량을 5, 10, 15% 첨가하여 반죽특성, 호화특성 및 물성의 차이를 조사하고 식빵을 제조하였다. 감피 첨가 수준이 높아질수록 반죽의 점도가 낮아지고, 반죽 시간이 길어지는 것으로 조사되었다. 기기분석 및 관능검사를 통한 식빵의 품질특성을 조사한 결과 5%의 감피 첨가 수준이 적당한 것으로 나타났다. 감피를 이용하여 알코올 발효 및 초산발효를 통하여 식초를 제조한 후 발효특성 및 발효 중의 이화학적 특성을 조사하였다. 또한 감피 식초 제조 시 가수량, 당함량, 발효시간을 변수로 하여 제조 조건을 최적화하였다. 감피를 이용한 단미사료의 개발을 위하여 산란계에 대한 급여효과를 검정하였다. 감피 첨가 사료의 급여에 의해 폐사율은 낮아지고, 산란율을 조금 증가하는 경향을 보였다. 난의 무게와 색도를 조사한 결과에서는 감피 급여에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 향후 지속적인 급여에 따른 산란계의 생육 및 난의 품질특성 조사가 필요할 것으로 생각된다.

2. 꽃감 부산물의 생체 기능성 검정

감피 메탄올 추출물의 항산화성, 돌연변이원성, 항고혈압활성, 항종양활성, 항당뇨활성 등 생체 기능성을 조사하였다. 또한 감피 첨가 사료 급여 흰쥐의 혈당강하 효과 및 지질대사 개선 효과를 시험하였다.

DPPH 라디칼 소거능, hydroxyl 라디칼 소거능, 지질과산화 억제 시험을 통한 항산화성 시험에서 품종에 따라 약간의 차이는 있으나 감피 추출물이 비교적 높은 항산화성을 가지는 것으로 조사되었다.

항고혈압 시험에서는 품종별로 다소 차이를 보여 10~20%의 ACE 저해활성을 보였다. 또한 감피 메탄올 추출물은 Ames test에서 변이원성이 없는 것으로 나타났으며, TA 98과 TA 100에 대하여 50~60% 정도의 돌연변이 억제활성을 가지는 것으로 조사되었다.

MTT assay를 이용한 항종양활성 시험에서 U937(Human Leukemia carcinoma)과

SNU-668(Human Gastric carcinoma)에 대하여 강한 억제활성을 보여보였으나, HepG2(Human hepatocellular carcinoma)에 대해서는 그다지 강한 활성을 보이지 않았다.

감피 첨가 식이를 급여한 당뇨쥐의 혈당을 다소 낮추는 효과가 있었으며, 혈청 지질 대사의 개선효과 등 부분적으로 당뇨병 개선효과가 있는 것으로 나타났으며, 5% 감피 분말 첨가군이 10% 첨가군 보다 당뇨병 개선효과가 우수한 것으로 나타났다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 꾀감 부산물의 효율적 가공 이용 기술 개발

감 과피의 7 품종의 일반성분 및 지방산, 아미노산, 비타민류를 분석하였으며, 유용성분인 카로티노이드 화합물과 페놀성 화합물의 함량을 조사하였다. 유리당은 glucose, fructose의 함량이 sucrose에 비하여 높았고, 주된 지방산은 oleic, linolenic acid 이었다. 또한 eicosapentaenoic acid(EPA)도 미량 확인되었다. 총아미노산은 aspartic acid, glutamic acid 함량이 높았으며 총 식이섬유는 38.48~ 57.18 mg/100 g으로 불용성 식이섬유 함량이 높았다. 비타민 A, C의 함량은 품종에 따라 차이가 있었다. 감피의 효율적인 건조 공정을 확립하기 위하여 천일 및 열풍건조를 통한 수분함량과 색도의 변화를 조사한 결과 40℃, 5시간 열풍건조구가 적당한 것으로 나타났다. 또한 건조 감피 분말의 입도에 따른 저장 중 총카로티노이드 화합물과 β -카로틴 함량 변화를 조사하였다. β -카로틴의 함량은 건조 온도 및 입도에 따라 차이가 있으나 대개 저장 40일이 경과하여 약 60% 정도 소실되었다. 감피를 이용한 가공품으로 감피 혼합차, 감피 첨가 식빵 및 감피 식초를 제조하고 품질특성을 조사하였다. 감피 첨가로 인해 감피 혼합차의 카로티노이드 함량이 높아졌으며, 추출물의 항산화 활성도 약간 증가하는 효과가 있었다. 감피 첨가함량을 5, 10, 15% 첨가하여 반죽특성, 호화특성 및 물성의 차이를 조사하고 식빵을 제조하였다. 감피 첨가 수준이 높아질수록 반죽의 점도가 낮아지고, 반죽 시

간이 길어지는 것으로 조사되었다. 기기분석 및 관능검사를 통한 식빵의 품질특성을 조사한 결과 5%의 감피 첨가 수준이 적당한 것으로 나타났다. 감피를 이용하여 알코올 발효 및 초산발효를 통하여 식초를 제조한 후 발효특성 및 발효 중의 이화학적 특성을 조사하였다. 또한 감피 식초 제조시 가수량, 당함량, 발효시간을 변수로 하여 제조 조건을 최적화하였다. 감피를 이용한 단미사료의 개발을 위하여 산란계에 대한 급여효과를 검정하였다. 감피 첨가 사료의 급여에 의해 폐사율은 낮아지고, 산란율을 조금 증가하는 경향을 보였다. 난의 무게와 색도를 조한 결과에서는 감피 급여에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 본 연구를 통하여 감피는 유용한 성분을 구비한 자원으로서 사료 및 식품 소재로서 다양하게 활용될 수 있는 자원임이 확인되었다. 따라서 산지에서 버려지는 감피의 기능성 소재화를 위한 수집, 건조, 분쇄 및 보존에 대한 일련의 산업화 공정에 대한 지속적인 연구와 향후 더욱 다양한 제품 개발이 지역적 차원에서 필요하다.

2. 꽃감 부산물의 생체 기능성 검정

꽃감 부산물인 감피를 품종별로 메탄올 추출물의 항산화성, 돌연변이원성, 항고혈압 활성 및 항종양활성, 항당뇨활성 등 생체 기능성을 조사하였다. 또한 감피 첨가 사료 급여 흰쥐의 혈당강하 효과 및 지질대사 개선 효과를 시험하였다. DPPH 라디칼소거능, hydroxyl 라디칼 소거능, 지질과산화 억제 시험을 통한 항산화성 시험에서 품종에 따라 약간의 차이는 있으나 감피 추출물이 비교적 높은 항산화성을 가지는 것으로 조사되었다. 항고혈압 시험에서는 품종별로 다소 차이를 보여 10~20%의 ACE 저해활성을 보였다. 또한 감피 메탄올 추출물은 Ames test에서 변이원성이 없는 것으로 나타났으며, TA 98과 TA 100에 대하여 50~60% 정도의 돌연변이 억제활성을 가지는 것으로 조사되었다. MTT assay를 이용한 항종양활성 시험에서 U937(Human Leukemia carcinoma)과 SNU-668(Human Gastric carcinoma)에 대하여 강한 억제활성을 보였으나, HepG2(Human hepatocellular carcinoma)에 대해서는 그다지 강한 활성을 보이지 않았다. 감피 첨가 식이를 급여한 당뇨쥐의 혈당을 다소 낮추는 효과가 있었으며, 혈청 지질대사의 개선효과 등 부분적으로

당뇨병 개선효과가 있는 것으로 나타났으며, 5% 감피 분말 첨가군이 10% 첨가군 보다 당뇨병 개선효과가 우수한 것으로 나타났다. 따라서 꾀감 부산물인 감피를 활용한 당뇨병 예방 및 치료 식품의 개발과 임상실험을 통한 항당뇨 효과의 검증이 요망된다. 또한 감과피 중의 당뇨예방 성분인자의 구명과 이의 예방 및 치료적 메카니즘 연구 역시 시급히 필요하다.

SUMMARY

I. Title

Development of Utilization Technology and Health-benefit Function Study of Dried Persimmon By-products

II. Objective and Importance of the Project

Annually over 200,000M/T of persimmon is produced and some of them are processed to dried persimmon in Korea. By-product of dried persimmon is discarded and induce the severe environment contamination of production area. Persimmon peel contains many useful components like as carotenoids, tannin, dietary fiber. Therefore the research of its health-benefit function and utilization technology should be developed.

III. Scope and Contents of the Project

1. Development of Effective Utilization Technology of Dried Persimmon By-products
Seven kinds of persimmon peels were examined on the proximate composition, fatty acid, amino acid and vitamin C and A. Furthermore dietary fiber, carotenoid and total phenolic compounds were examined. On the result of sun-drying and convection hot air-drying experiment of persimmon peel, the optimum drying condition of persimmon peel was convection hot air-drying at 40°C, 5 hrs. Carotenoids and β -carotene contents of dried persimmon peel were examined during 60 days storage. Persimmon peel vinegar, bread, mixed type tea were prepared using dried persimmon peel and their quality characteristics were examined. Adding 5% persimmon peel was

optimum for making persimmon peel bread and carotenoid and antioxidative activity of persimmon peel mixed tea was increased. The alcohol and acetic acid fermentation and physicochemical characteristics of persimmon peel vinegar were examined. In order to develop feed additives using persimmon peel, the feeding effect to laying hen was examined.

2. Health-benefit Function Study of Dried Persimmon By-products

The antioxidative activity, antimutagenic activity, angiotension converting enzyme inhibitory activity, anti-tumor effect and anti-diabete effect of seven kinds of persimmon peel extract were examined *in vitro*. Furthermore decreasing effect of blood glucose and promoting effect of lipid metabolism of persimmon peel feeding rat were examined. Persimmon peel extract showed comparatively strong antioxidative activity by DPPH test, hydroxyl radical scavenging effect and lipid peroxidation inhibition effect.

Persimmon peel extract also showed strong growth inhibition effect on U937(human leukemia carcinoma) and SNU-668(human gastric carcinoma) by MTT assay. Blood sugar level of streptozocin induced rat fed persimmon peel was decreased and their serum lipid metabolism was promoted. 5% of persimmon peel fed group showed higher anti-diabete effect than 10% fed group.

IV. Results and Recommendations

1. Development of Effective Utilization Technology of Dried Persimmon By-products

Seven kinds of persimmon peels were examined on the proximate composition, fatty acid, amino acid and vitamin C and A. Furthermore dietary fiber, carotenoid and

total phenolic compounds were examined. Contents of glucose and fructose were higher than sucrose content and main fatty acid were oleic and linolenic acid. Minor contents of eicosapentaenoic acid was ascertained. Aspartic acid and glutamic acid were major amino acid and total dietary fiber contents was the range of 38.48~ 57.18 mg/100 g, higher in insoluble dietary fiber. The contents of vitamin A and C were different from thier kinds. On the result of sun-drying and convection hot air-drying experiment of persimmon peel, the optimum drying condition of persimmon peel was convection hot air-drying at 40°C, 5 hrs. Carotenoids and β -carotene contents of dried persimmon peel were examined during 60 days storage. Persimmon peel vinegar, bread and mixed type tea were prepared using dried persimmon peel and their quality characteristics were examined. Adding 5% persimmon peel was optimum for making persimmon peel bread and carotenoid and antioxidative activity of persimmon peel mixed tea was increased. The alcohol and acetic acid fermentation and physicochemical characteristics of persimmon peel vinegar were examined. In order to develop feed additives using persimmon peel, the feeding effect to laying hen was examined. It was verified that persimmon peel was useful resources containing much functional components utilizable to various food and feed. Therefore the macro level application study for drying and processing of persimmon peel and more varied development of functional food using persimmon peel should be urgently needed.

2. Health-benefit Function Study of Dried Persimmon By-products

The antioxidative activity, antimutagenic acitivity, angiotension converting enzyme inhibitory activity, anti-tumor effect and anti-diabete effect of seven kinds of persimmon peel extract were examined *in vitro*. Furthermore decreasing

effect of blood glucose and promoting effect of lipid metabolism of persimmon peel feeding rat were examined. Persimmon peel extract showed comparatively strong antioxidative activity by DPPH test, hydroxyl radical scavenging effect and lipid peroxidation inhibition effect.

Persimmon peel extract also showed strong growth inhibition effect on U937(human leukemia carcinoma) and SNU-668(human gastric carcinoma) by MTT assay. Blood sugar level of streptozocin induced rat fed persimmon peel was decreased and their serum lipid metabolism was promoted. 5% of persimmon peel fed group showed higher anti-diabete effect than 10% fed group. Therefore development of diabete prevention and curing food using persimmon peel and their effect to human should be studied. Furthermore the anti-diabetes compound and their mechanism study also should be studied.

CONTENTS

I. Introduction	1
II. Development of Effective Utilization Technology of Dried Persimmon By-products	3
1. preface	3
2. Material and methods	4
1) Analyses of useful component of persimmon peel	4
2) Establishment of efficient drying process of persimmon peel	8
3) Bread making mixed with persimmon peel	8
4) Development of animal feed with persimmon peel	12
5) Preparation of mixed type tea with persimmon peel	14
6) Preparation of vinegar with persimmon peel	14
3. Results and discussion	17
1) Analyses of useful component of persimmon peel	17
2) Establishment of efficient drying process of persimmon peel	25
3) Bread making mixed with persimmon peel	31
4) Development of animal feed with persimmon peel	39
5) Preparation of mixed type tea with persimmon peel	43
6) Preparation of vinegar with persimmon peel	50

III. Health-benefit Function Study of Dried Persimmon By-products	61
1. Preface	61
2. Material and methods	62
1) Preparation of crude extract	62
2) Antioxidative activity	62
3) Angiotension converting enzyme inhibitory activity	63
4) Mutagenicity and antimutagenic activity	64
5) MTT assay	66
6) Anti-diabetic effect	66
7) Dying with Oil Red O	66
8) Feeding effect of persimmon peel on streptozocin treated rats	67
3. Results and discussion	68
1) Antioxidative activity	68
2) Angiotension converting enzyme inhibitory activity	70
3) Mutagenicity and antimutagenic activity	71
4) MTT assay	75
5) Anti-diabetic effect	78
6) Dying with Oil Red O	80
7) Feeding effect of persimmon peel on streptozocin treated rats	81
Reference	84

목 차

제 1 장 서 문	1
제 2 장 곶감 부산물의 효율적 가공 이용 기술 개발	3
제 1절 서 설	3
제 2절 재료 및 방법	4
1. 감피의 유용성분 분석	4
2. 감피의 효율적 건조 공정 확립	8
3. 감피 첨가 식빵의 제조	8
4. 감피를 이용한 단미사료의 개발	12
5. 감피 혼합차의 제조	14
6. 감피 식초의 제조	14
제 3절 결과 및 고찰	17
1. 감피의 유용성분 분석	17
2. 감 과피의 효율적 건조 공정 확립	25
3. 감피 첨가 식빵의 제조	31
4. 감피를 이용한 단미사료의 개발	39
5. 감피 혼합차의 제조	43
6. 감피 식초의 제조	50

제 3 장 꽃감 부산물의 생체 기능성 검증	61
제 1절 서 설	61
제 2절 재료 및 방법	62
1. 조추출물 조제	62
2. 항산화성 시험	62
3. 항고혈압성	63
4. 변이원성 및 항돌연변이원성	64
5. MTT assay	66
6. 항당뇨효과	66
7. Oil Red O 염색	66
8. STZ-유도 당뇨모델을 이용한 감피 분말의 혈당 강하효과 및 지질대사의 개선효과 검색	67
제 3절 결과 및 고찰	68
1. 항산화성	68
2. 항고혈압성	70
3. 변이원성 및 항돌연변이원성	71
4. MTT assay	75
5. 항당뇨효과	78
6. Oil Red O 염색	80
7. STZ-유도 당뇨모델을 이용한 감피 분말의 혈당 강하효과 및 지질대사의 개선효과 검색	81
참고문헌	84

제 1 장 서 론

감은 매년 전국적으로 약 30,000 ha의 면적에 연간 200,000 M/T 이상 생산되는 국내의 주요 과실로서 그 생산량이 최근 들어 급격히 증가하고 있는 국내의 주요 과실 중의 하나이다. 국내에서 생산되는 감은 단감과 뽕은감의 두 종류로 나누며 단감은 남부지역에서 광범위하게 재배되고 있고 뽕은감은 경북지역 등 북부지역에서 주로 재배되어 탈삼하여 생과로 이용되거나 건조하여 꺾감으로 이용되고 있다. 최근 들어 감이 동맥경화, 고혈압 등의 성인병 예방에도 효과가 있는 것으로 알려져 국내에서도 식초, 차, 아이스크림 등 다양한 형태로 가공되어 소비되고 있으나 이중 상당수가 건조 가공되어 꺾감으로 유통되고 있다. 특히 경북 상주지역은 전통적으로 삼백(쌀, 누에, 꺾감)의 고장으로 알려져 있을 만큼 뽕은감의 생산량이 높고 일조량 및 기후가 꺾감의 제조에 적합하여 연간 10,000 M/T 이상의 감이 가공 처리되어 전국적으로 연중 유통되고 있으며 점차 소비자의 기호도 증가하여 그 가공량도 증가일로에 있다. 대개 상주 지역의 꺾감 제조는 10월 중순부터 11월 하순까지 거의 달포에 걸쳐 이루어지고 있다. 따라서 이시기에 막대한 양의 감 껍질이 처치곤란으로 농가 주위나 전답, 야산 등지에 버려지고 있으며, 미생물, 충해 등에 의해 그대로 부패되므로 농촌지역의 미관을 해치고 큰 환경 문제로 작용하여 상주군에서도 커다란 행정적 문제로 대두되고 있다. 감의 과피는 카로티노이드 등의 색소 성분과 탄닌 등의 폴리페놀 성분과 식이섬유 등이 풍부한 자원으로 다양한 기능성을 가지고 있어 신소재로서 활용가치가 높다. 그러나 농가의 일손 부족과 영세한 지방자치단체의 재정 때문에 수집과 활용방안이 도외시되어 기본적 조사 및 연구가 전무한 상태이다.

특히 과실류의 과피는 일광 중의 자외선을 차단하고 미생물 및 충해를 방지하여 자체 성분의 분해로 인한 품질 열화를 방지하는 일차적 보호막으로 작용하므로 여러 생리 활성이 강한 다양한 성분을 함유하고 있어 기능성 소재로서 활용가치가 높다. 최근 각종 성인병 및 암 등의 발병에 이러한 생체 성분의 산화적 손상을 유발하는 free radical의 관여가 수다히 보고되고 있다. 따라서 감 껍질이 가진 다양한 생리활성과 유효성분이 구

명되고 적절히 수분 등을 제거하고 가공되면 꾀감 제조 후의 폐기물인 감 과피는 경제성이 높은 신규 기능성 소재로서 활용도가 높다. 그러므로 감 껍질을 재활용하기 위하여 생체 내외적인 다양한 생리 활성과 관련 성분에 관한 연구와 전처리 및 가공 처리 등을 통한 새로운 기능성 자원으로의 활용에 관한 연구가 기술적으로 이루어져야만 한다. 또한 유망한 지역 특산품의 생산을 장려하고 환경 위생 문제를 해결하고, 폐기 농산물의 재활용 및 우리 농산물 애호심과 애향심을 더욱 고취하기 위해서는 감 껍질에 대한 유용 자원화 연구가 시급히 요망된다.

제 2 장 꽃감 부산물의 효율적 가공 이용 기술 개발

제 1절 서 설

꽃감 제조는 10월 중순부터 11월 하순까지 거의 달포에 걸쳐 이루어지고 있다. 따라서 이 시기에 꽃감 제조시 발생하는 막대한 양의 감 껍질이 처치곤란으로 농가 주위나 전답, 야산 등지에 버려지고 있으며, 미생물, 충해 등에 의해 그대로 부패되므로 농촌지역의 미관을 해치고 큰 환경 문제. 과실류의 과피는 일광 중의 자외선을 차단하고 미생물 및 충해를 방지하여 자체 성분의 분해로 인한 품질 열화를 방지하는 일차적 보호막으로 작용하므로 여러 생리 활성이 강한 다양한 성분을 함유하고 있어 기능성 소재로서 활용가치가 높다. 특히 감의 과피는 카로티노이드 등의 색소 성분과 탄닌 등의 폴리페놀 성분과 식이섬유 등이 풍부한 자원으로 다양한 기능성을 가지고 있어 신소재로서 활용가치가 높다. 그러나 농가의 일손 부족과 영세한 지방자치단체의 재정 때문에 수집과 활용 방안이 도외시되어 기본적 조사 및 연구가 전무한 상태이다.

본 연구는 산지에서 폐기되고 있는 감 과피의 효율적인 이용 가능성을 검토하고자 우선 꽃감 제조용 원료감을 품종별로 수집하여 이들의 유용성분을 조사하고, 효율적인 건조공정을 확립하여 건조공정 및 보존에 따른 유용성분의 변화를 조사하였다. 건조 감피를 이용한 감피 첨가 식빵과 감피 혼합차, 감피식초를 제조하여 품질특성을 조사하여 감피의 가공 이용 가능성을 검토하였다. 또한 감피를 이용한 사료개발을 통하여 동물급여 효과를 시험하고 이를 통한 감피를 이용한 단미사료 개발 가능성을 검토하였다.

제 2절 재료 및 방법

1. 감과피의 유용성분 분석

가. 실험재료

본 실험에 사용한 재료는 꽃감 제조용 원료감(상주등시, 고종시, 월하시, 청도반시, 함안수시, 평택무, 황야) 7종을 수세 후 박피하여 동결건조 후 4℃에서 보관하면서 성분 분석용 시료로 사용하였다.

나. 일반성분

수분은 105℃ 상압가열건조법으로, 조단백질은 Kjeldahl법으로, 조지방은 Soxhelt 추출법으로, 회분은 550℃에서 회화하여 구하고, 조섬유는 Henneger Stohmann법을 개량한 AOAC 방법에 따라 구하고, 가용성 무질소물은 100에서 수분, 조단백질, 조지방, 회분, 조섬유의 값을 제한 값으로 하였다.

다. 유리당

유리당 분석은 n-헥산을 가하여 탈지한 시료 1 g에 70% 에탄올을 가하여 80℃ 수욕 상에서 환류 냉각하면서 2시간 동안 가용성 당을 추출한 후 여과하였다. 여액을 50 mL로 정용하여 활성탄을 가하여 1시간 정치시켜 색소를 제거한 후 Sep-Pak C₁₈ cartridge와 0.45 μM membrane filter를 통과시킨 여액을 HPLC(LC-10A, Shimadzu Co., Japan)로 분석하였다. 이때 사용한 column은 carbohydrate(6.5 mm×300 mm)였으며, 이동상은 H₂O를 분당 0.5 mL로 용출시켰으며, 검출기는 굴절을 검출기를 사용하였다.

라. 지방산

시료 5 g에 chloroform:methanol(2:1) 혼합액 100 mL를 가하여 homogenizer로 균질화 하였다. 혼합액을 분액여두에 옮긴 후 진탕기에서 4시간 혼합한 다음 여과하였다. 여

액을 감압 농축한 후 0.5 N KOH/MeOH 용액 10 mL를 가하여 검화한 후 BF₃ 5 mL를 가하여 메틸에스테르화시키고 헵탄 2 mL를 가하여 1분간 가열하였다. 여기에 포화염화나트륨 용액 30 mL를 가하여 진탕혼합 한 후 분리된 상층을 GC(HP 5890 gas chromatograph, Series II)로 분석하였다. 이때 분석조건은 HP-FFAP(25 m×0.20 mm×0.2 μM) column을 사용하여 120℃에서 1분간 유지시키고, 240℃까지 분당 5℃씩 승온시킨 후 15분간 유지하였다. 주입기와 검출기의 온도는 각각 230℃와 250℃였으며, 검출기는 불꽃이온화검출기를 사용하였고, 운반가스는 질소를 사용하여 1 mL/min의 속도로 흘렸다.

마. 아미노산

총아미노산 분석은 시료 0.5 g에 6 N 염산 10 mL를 가하여 질소가스를 5분간 충전 후 밀봉하여 110℃에서 24시간 가수분해시킨 다음 냉각하고 염산은 감압농축하여 제거하였으며 증류수로 남은 염산을 세척한 후 건조시켰다. 건조시킨 시료를 구연산 완충액(pH 2.2)으로 용해하여 5 mL로 정용하고 0.45 μM membrane filter로 여과한 후 아미노산 자동분석기(Pharm Asia Biochrom 20, Biotech. Co., Swiss)로 분석하였다. 분석칼럼은 amino acid analysis column Na form(∅4.6×250 mm)을 사용하였으며 이동상은 buffer A(0.2 M sodium citrate, pH 3.20), buffer B(0.2M sodium citrate, pH 4.25), buffer C(1.2 M sodium citrate, pH 4.25), buffer D(0.4 M sodium hydroxide)를 동량으로 혼합한 용액으로 하였으며, 유속은 0.4 mL/min, 발색시약은 닌하이드린, 분석시간은 42분으로 하였다.

유리아미노산 분석은 시료 1 g에 75% 에탄올을 가하여 수욕상에서 30분간 2회 반복 추출한 후 여과하였다. 여액을 감압 농축하여 건조물을 얻고 이를 구연산 완충액에 용해하였다. 이를 디에틸에테르로 탈지한 후 5 mL로 정용하고 Sep-Pak C₁₈ cartridge와 0.45 μM membrane filter를 통과시킨 후 총아미노산과 같은 조건에서 분석하였다.

바. 식이섬유

식이섬유의 정량은 건조 감피 분말에 체내 소화효소인 α -amylase, pepsin, pancreatin을 처리하여 가수분해한 후 95% ethanol을 가하여 원심분리하여 침전되는 물질을 분리하여 총식이섬유(total dietary fiber: TDF)로 하고 그 후 증류수를 가하여 이에 녹지 않는 성분을 불용성 식이섬유(insoluble dietary fiber: IDF)로, 그리고 상정액에 95% ethanol을 가하여 침전되는 성분을 가용성 식이섬유(soluble dietary fiber: SDF)로 하였다.

식이섬유량의 계산식은 다음과 같다.

$$\text{Insoluble dietary fiber(\%)} = \frac{D1 - A1 - P1}{W} \times 100$$

$$\text{Soluble dietary fiber(\%)} = \frac{D2 - A2 - P1}{W} \times 100$$

W : Weight of sample

D1 : Weight of insoluble fraction after drying

D2 : Weight of soluble fraction after drying

A1 : Ash weight of insoluble fraction

A2 : Ash weight of soluble fraction

P1 : Crude protein weight of insoluble fraction

P2 : Crude protein weight of soluble fraction

사. 비타민 A

시료 1 g에 에탄올 30 mL, 피로갈롤 1 mL와 10% 수산화칼륨 용액 3 mL을 가하여 환류시키면서 검화시킨 후 석유에테르 30 mL로 3회 추출하였다. 추출액을 감압건고 후 잔류물을 이소프로판올에 용해시켜 HPLC(Sp 8800, spectra 2000, Spectra Physics Co.)로

분석하였다. 이때 사용한 column은 Licosphere 100RP-18(4×250 mm)를 사용하였고, 이동상은 MeOH:H₂O(9:1)로 분당 0.8 mL의 속도로 흘렸으며, UV 325 nm에서 검출하였다.

아. 비타민 C

비타민 C 함량은 시료 일정량에 5% metaphosphoric acid 용액을 가하여 추출한 후 여과한 다음 100 mL로 정용한 것을 측정용 시료로 하여 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNP) 비색법을 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

자. 총페놀성 화합물

페놀성 화합물의 총함량은 Prussian blue법으로 측정하였다. 시료 1 g에 60% 메탄올 100 mL를 가하여 2회 환류 추출하여 여과하여 50 mL로 정용한 여액을 시험용 시료로 사용하였다. 시험용액 100 μ L에 증류수 3 mL, 0.016 M K₃Fe(CN)₆ 1 mL, 0.01 M FeCl₃/0.1 N HCl 1 mL를 넣고 혼합한 후 15분간 실온에서 방치한 후, stabilizer(H₂O: 1% gum arabic: 85% phosphoric acid = 3:1:1, v/v/v)를 5 mL 첨가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 페놀성 화합물의 총함량은 gallic acid로 작성한 검량곡선에 준하여 gallic acid에 대한 당량으로 환산하였다.

차. 카로티노이드

총카로티노이드 함량은 건조분말 2 g을 50 % 메탄올로 추출하여 수용성 색소를 제거한 후 잔사를 상온에서 아세톤으로 2회 추출하였다. 추출액을 감압농축하여 40℃에서 농축하고 디에틸에테르와 포화염화나트륨용액으로 세척하였다. 상등액을 20 mL로 농축하고, 상온에서 10% 에탄올성 수산화칼륨 용액으로 24시간 검화시킨 후, 포화염화나트륨용액으로 3시간 동안 분리시켰다. 상등액을 무수 황산나트륨으로 탈수시키고 40℃에서 농축하였다. 클로로포름에 용해한 후 465 nm에서 흡광도를 측정하여 10% β -카로틴의 흡광도와 비교하여 카로티노이드 함량을 정량하였다.

2. 감 과피의 효율적 건조 공정 확립

가. 건조 방법

꽃감 제조 후 발생된 상주등시 과피를 천일건조의 경우 오전 9시부터 오후 6시까지 통풍이 잘 되는 실외에서 건조하였으며, 열풍건조는 40, 60, 80℃에서 cabinet형 열풍건조기를 사용하며 건조하면서 수분함량의 변화를 측정하였다.

나. 색도

건조 감피 분말의 색도는 Hunter 색차계를 사용하여 L, a, b 값으로 나타내었다.

다. 분쇄 입도에 따른 분말의 저장 안정성 시험

상주등시 과피를 40℃ 및 55℃에서 열풍 건조 후 각각 40~60, 80~100, 100~120 mesh로 분쇄한 후 37℃에서 60일간 보존하면서 총카로테노이드 및 β -carotene 함량을 측정하였으며, 색도의 변화는 색차계를 이용하여 측정하였다.

3. 감피 첨가 식빵의 제조

가. 실험 재료

실험용 감피 분말은 상주등시 품종으로 55℃에서 열풍 건조하여 180~200 mesh로 분쇄하여 냉암소에 보존하면서 사용하였다. 제빵용 밀가루(대한제분, 강력 1등급), 설탕(제일제당, 가는정백당), 소금(한주소금, 정제염), 마아가린(서울하인즈, 다이애나), 쇼트닝(서울하인즈, 알프스쇼트닝), 이스트푸드(오뚜기), 생이스트(제니코), 전지분유(서울우유), 배합수(상수도, 비어과), 계란(전란)은 시중에서 구입하여 사용하였다.

나. 식빵의 재료 배합비

식빵 제조시 사용된 재료는 Table 1과 같이 밀가루 1000 g, 설탕 100 g, 소금 20 g, 마아가린 25 g, 쇼트닝 25 g, 이스트푸드 2 g, 생이스트 35 g, 계란 55 g, 전분유 20 g,

물 580 g으로 배합하여 대조구으로 하였으며 각 대조구의 밀가루를 제외한 나머지 재료 조건을 모두 고정한 후 밀가루와 감피 분말 첨가량을 달리하여 배합하였다.

Table 1. Formulars for bread prepared with persimmon peel powder (unit: g)

Ingredient	Persimmon peel powder(%)			
	Control	5	10	15
Flour	1000	950	900	850
PPP ¹⁾	0	50	100	150
Sugar	100	100	100	100
Salt	20	20	20	20
Magarine	25	25	25	25
Shortning	25	25	25	25
Yeast food	2	2	2	2
Yeast	35	35	35	35
Egg(net)	55	55	55	55
Milk powder	20	20	20	20
Water	580	580	580	580

¹⁾PPP means persimmon peel powder.

다. 식빵의 제조

식빵의 제조는 직접반죽법(all in mixing-straight method)으로 하였고 제조방법은 Fig. 1과 같다. 재료들을 배합표에 의거하여 정확히 계량한 후 전 재료를 믹싱볼에 넣고 배합하였다. 반죽후의 온도를 $27 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 75%의 발효실에서 60분간 1차 발효시킨 후 분할증량을 600 g으로 둥글리기한 후 실온에서 20분간 중간발효를 시켰다. 가스를 제

거한 후 straight 성형하여 팬닝하고, 35℃, 상대습도 85%에서 50분간 2차 발효하여 전 기데크오븐에서 상열 180℃, 하열 200℃로 35분간 구운 후 실온에서 40분간 냉각하였다.

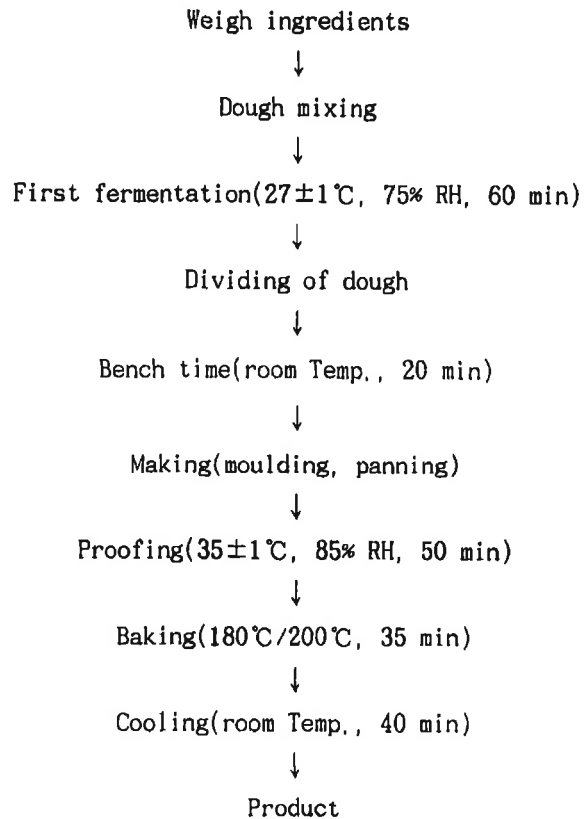


Fig. 1. Bread making process by the straight dough method.

라. 반죽의 호화 특성 및 믹싱 시간

감피 분말을 첨가한 식빵의 호화특성은 Rapid Visco Analyzer(RVA, Newport scientific, Ltd, Australia)를 사용하여 측정하였다. 즉, 밀가루에 감피 분말을 0, 5, 10, 15% 첨가한 복합분을 11%(w/w)의 수용액으로 제조하여 50℃에서 95℃까지 1.5℃/min

의 속도로 가열하고 95℃에서 5분간 유지시킨 후 동일한 속도로 50℃까지 냉각하면서 측정하였으며 각 시료는 2회 반복하여 측정하였다.

마. 텍스처 측정

감피 분말 첨가 반죽과 식빵의 기계적 텍스처의 측정은 Texture analyzer(TA-XT2i, SMS Co. Ltd., England)를 이용하여 2회 반복한 puncture test로 얻은 TPA(texture profile analysis) curve로부터 견고성(hardness), 부착성(adhesiveness), 탄성(springness), 응집성(cohesiveness), 겹성(gumminess), 씹힘성(chewiness)을 측정하였다. 이때 측정 조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s, distance 10 mm의 조건으로 직경 5 mm의 cylindrical probe를 사용하여 3회 반복 측정하였다.

바. 색도 측정

감피 분말 첨가 식빵의 색도는 색차계(JS-555, Japan)를 사용하여 명도(L), 적색도(a), 황색도(b) 및 ΔE 값을 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

사. 관능검사

감피 분말 첨가가 식빵의 관능적 특성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 선발된 14명의 검사요원에게 실험의 목적 및 방법을 주지시킨 다음 각 시료에 대하여 색(color), 냄새(odor), 맛(taste), 외관(appearance), 씹힘성(chewiness), 부착성(adhesiveness) 및 전반적 기호도(overall acceptability)에 대하여 9점 측정법으로 시행하였다.

아. 주사현미경 관찰

감피 첨가 식빵의 내부 표면구조는 주사형 전자현미경(scanning electron microscope, S-2300, Hitachi Co., Japan)으로 측정하였다. 시료는 일정한 크기로 절단한 후 진공건조 시킨 다음 금으로 코팅한 후 400배의 배율로 확대 관찰하였다.

4. 감피를 이용한 단미사료의 개발

가. 시험기간 및 시험장소

본 실험은 2000년 7월 3일 ~ 2000년 7월 30일(4주), 2001년 4월 2일 ~ 2001년 4월 29일(4주)까지 2차례로 나누어서 경기도 이천시 소재 흥성이천농장에서 실시하였다. 이때 사용한 축종은 하이라인 산란계(갈색) 45주령 21,000마리를 각각 시험구와 대조구로 구분하여 시험하였다.

나. 원료의 전처리

원료는 1999년 10월경 상주시에서 꾀감 생산후 발생된 껍질을 현지에서 1차 선별 작업후 이송한 다음 50℃에서 16시간 열풍건조 한 후 60 mesh로 분쇄, 포장 한 다음 상온에서 저장하면서 동물시험에 사용하였다.

다. 사료배합

동물실험을 위한 사료의 배합은 Table 2와 같이 산란계 기본사료를 대조구로 하였으며, 시험구는 기본사료에 분말화된 꾀감 부산물을 0.08%(800g/ton)로 첨가하여 소형배합기에서 혼합한 후 배합하였다.

라. 조사항목

시험기간중 산란계의 수수변동(생존수수 및 도태 폐사), 산란능력(왕특란, 특란, 대란, 중란, 소란, 파란등), 산란을 등을 백분율로 나타내었다.

마. 평균 난중

시험기간중 매주마다 계란을 대조구, 시험구에서 각각 300개를 무작위로 수집하여 칭량한 다음 평균 중량으로 환산하였다.

Table 2. Formula and chemical composition of the experimental diets

Ingredients	Contents
Corn, yellow	59.28
Wheat	5.00
Wheat bran	11.10
Soybean meal(44%)	20.97
Tallow	0.80
T.C.P.	1.30
Limestone	0.70
Salt	0.30
Methionine	0.08
Vitamin. mixture ¹	0.15
Choline chloride	0.05
Antibidtics ²	0.05
Variables	0.22
Total	100
<hr/>	
TME(kcal/kg) ³	2,900
Crude protein(%)	16.02
Calcium(%)	0.80
Phosphorus(%)	0.64
Lysine	0.80
Methionine	0.33
Met+Cys	0.63

¹ Vitamin mixture contains the following. in 1 kg : 7,800,000IU of vit A, 1,700,000IU of vit D₃, 20,000IU of vit E, 2,000 mg of vit K₃, 2,000 mg of vit B₁, 6,000 mg of vit B₆, 18 mg of vit B₁₂, 10,000 mg of Pantothenic, 30,000 mg of Niacin, 120 mg of biotin, 1,000 mg of Folic acid, 40,000 mg of FeSo₄, 200 mg of CoSo₄, 4,000 mg of CuSo₄, 55,000 mg of MnSo₄, 40,000 mg of ZnSo₄, 370 mg of Ca(1o₃)₂, 130 mg of Na₂SeO₃

² Salinomycin and CTC-HCl was used

³ Calculated value

바. 난황의 색상 분석

시험기간중 마지막주의 계란을 대조구, 시험구에서 각각 30개를 무작위로 수집하여 Hunter Color기기(Hunter Lab Universal Software)로 L, a, b값을 측정하였다.

5. 감피 혼합차의 제조

가. 감피 혼합차의 제조

실험에 사용된 감피 혼합차 제조용 감잎은 9월 하순에 채취한 것으로, 채취 후 흐르는 물에 세척한 후 1분간 steaming하였다. 찐 감잎은 그늘에서 24시간 동안 건조시킨 다음, 1 cm의 폭으로 절단하였다. 볶음 공정은 pan을 이용하여 1분간 볶은 후 실온에서 냉각하였다. 여기에 상주등시 감피분말을 160~180 mesh로 분쇄하여 최종 차 중량 2.5 g에 대하여 5, 10, 15, 20% 첨가 tea bag을 제조하였다.

나. 감피 혼합차의 품질특성

감피 혼합차의 일반성분, 총페놀함량, 총카로티노이드 함량, 색도를 측정하여 감피 첨가 비율에 따른 품질특성을 조사하였다.

다. 감피 혼합차의 항산화성

감피 첨가량을 달리한 tea bag에 70℃ 증류수 100 mL를 가하여 3분간 stir 상에서 추출한 추출액을 항산화성 시험 용액으로 하여 DPPH 라디칼과 hydroxyl 라디칼 소거능을 측정하였다.

6. 감피 식초의 제조

가. 재료

본 실험에 사용된 감피는 상주군 일대에서 재배, 생산되어 꽃감으로 가공한 후 미활용한 감피를 건조하여 사용하였다.

나. 주모 및 종초

주모 및 종초는 건조된 감피에 물을 가하여 불린 후 착즙한 여액에 YPD(yeast extract 1%, peptone 2%, dextrose 2%, agar 2%) 배지로 생육시킨 *Saccharomyces cerevisiae* DJ 97을 접종하여 28℃에서 38 시간 배양한 후 10%(v/v)의 주모를 사용하였으며, 초산발효를 위해 *Acetobacter aceti*를 감피 알콜발효액에 접종시켜 진탕배양기에서 30℃, 200 rpm에서 발효시켜 산이 4.5%일 때 종초로 사용하였다.

다. 실험계획

감피식초 제조를 위하여 건조된 감피를 분쇄한 후 각각 10%(v/v)의 주모를 접종하여 28℃ incubator에서 수립된 실험조건으로 알콜발효시켰고, 초산발효는 알콜발효가 끝난 발효액을 여과한 후 종초를 10%(v/v) 접종한 후 조건별로 발효시켜 알콜함량, 초산함량 및 당함량을 측정하기 위한 분석시료로 사용하였다. 1단계 알콜발효조건은 가수량(X_1), 초기당함량(X_2)과 발효시간(X_3)으로, 2단계 초산발효조건은 초기산도(X_1), 교반속도(X_2)와 발효시간(X_3)을 설정하여 3개의 발효조건이 5수준(-2, -1, 0, 1, 2)으로 부호화하여 각각 설정된 16개의 조건으로 실험을 행하였다.

라. 알콜함량

배양액을 원심분리한 후 상등액을 증류하여 alcohol hydrometer로 측정한 값을 Gay Lussac table로 환산하여 계산하였다.

마. 초산함량

총산은 0.1 N NaOH용액으로 중화적정하여 초산함량(%)으로 환산하였다.

바. 갈색도 및 탁도 측정

갈색도 및 탁도는 일정량의 시료를 취하여 각각 UV-Spectrophotometer(Shimadzu UV-1601 PC, Japan)를 이용하여 각각 420 nm와 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 감피의 유용성분 분석

가. 일반성분

꽃감제조용 원료 감피의 품종별로 일반성분을 조사한 결과는 Table 3에 나타내었다. 수분함량은 7.07~10.24%, 조단백 3.31~3.85%, 조지방 1.74~3.01%, 조회분 2.38~3.49%, 조섬유 8.93~15.02%, 가용성 무질소물은 67.88~73.29%였다. 조단백질, 조지방, 조회분의 함량은 품종별로 차이가 없었으나, 조섬유의 경우 품종별로 다소 차이를 보여 평핵무의 경우 15.02%로 가장 낮은 함량을 보인 황여에 비하여 두배 정도 높게 나타났다.

Table 3. Proximate composition of persimmon peels (%)

	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Crude fiber	N-free extract
황여	10.16	3.31	1.74	2.57	8.93	73.29
월하시	10.24	3.70	3.01	2.56	11.92	68.57
고종사	9.71	3.74	2.52	3.49	10.48	70.06
평핵무	8.17	3.85	1.94	3.14	15.02	67.88
상주등시	7.07	3.59	1.99	3.69	12.37	71.29
청도반시	8.83	3.52	2.43	2.38	13.30	69.54
함안수시	9.21	3.59	2.13	3.16	12.24	69.67

나. 유리당

곶감 제조용 원료 감피의 유리당 함량을 HPLC로 분석한 결과는 Table 4와 같다. 7종의 감피에서 모두 sucrose, glucose, fructose가 분리 확인되었다. 그 중 sucrose의 함량이 0.15~0.50 g/100 g으로 다른 유리당에 비하여 낮게 나타났다. Glucose와 fructose의 함량은 각 품종별로 거의 동일한 함량을 나타내었다. 함안수시의 경우 3종의 유리당 함량이 다른 품종에 비하여 높게 나타난 반면 청도 반시의 경우 가장 낮은 유리당 함량을 나타내었다.

Table 4. Contents of free sugars in persimmon peels (g/100 g)

	Sucrose	Glucose	Fructose
형여	0.25	2.56	2.47
월하시	0.50	2.62	2.48
고종시	0.35	2.47	2.51
평해무	0.39	2.44	2.09
상주동시	0.39	2.62	2.38
청도반시	0.15	1.87	1.88
함안수시	0.48	3.65	3.73

다. 지방산 조성

품종별 감피의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 5에 나타내었다. 감피에서 11종의 지방산을 확인하였으며, 이 중 myristic acid(C_{14:0}), palmitic acid(C_{16:0}), oleic acid(C_{18:1}) 및 linolenic acid(C_{18:3})가 주된 지방산으로 확인되었으며 oleic acid(C_{18:1})

의 함량이 가장 높게 나타났다. 그 외에 Eicosanoic acid(C_{20:0}), gadoleic acid(C_{20:1}), eicosapentenoic acid(C_{20:5}) 등도 미량 존재하였다. 품종에 따른 지방산 조성 및 함량은 뚜렷한 차이를 보이지 않았으며 포화지방산의 함량은 34.7~42.9%, 불포화지방산은 57.1~65.3%를 차지하고 있었다.

Table 5. Contents of fatty acids in persimmon peels (Unit : Area %)

	횡여	월하시	고종시	평핵무	상주등시	청도반시	함안수시
14:0	13.7	19.4	16.2	16.7	15.5	15.4	13.9
16:0	19.0	20.3	22.8	19.4	21.3	23.2	17.2
16:1	12.7	12.8	15.5	14.6	14.1	14.5	15.3
18:0	2.4	2.2	3.4	2.5	2.7	2.9	2.8
18:1	24.6	20.9	20.1	17.8	21.0	23.6	23.1
18:2	3.5	2.9	3.1	5.8	4.3	3.2	3.7
18:3	21.2	18.9	15.5	19.5	17.7	14.0	21.1
20:0	0.5	0.5	0.9	0.8	1.0	0.7	0.4
20:1	0.6	0.4	1.3	1.2	0.6	0.6	0.7
21:0	0.5	0.5	0.4	0.4	0.6	0.5	0.4
20:5	1.3	1.2	0.8	1.3	1.2	1.4	1.4
SFA	36.1	42.9	43.7	39.8	41.1	42.7	34.7
USFA	63.9	57.1	56.3	60.2	58.9	57.3	65.3

라. 유리아미노산

감피로부터 유리아노산 함량을 조사한 결과는 Table 6에 나타내었다. 16종의 아노산

이 확인되었으며 유리아미노산의 함량은 3.69~28.31mg/100 g으로 품종별로 차이를 보였다. 상주동시의 경우 가장 높은 유리아미노산 함량을 보였고 함안수시의 경우 가장 낮은 함량을 나타내었다. 아미노산 조성과 함량은 품종에 따라 조금씩 차이를 나타내었으나 전반적으로 arginine, alanine, proline의 함량이 다소 높게 나타났으며 7 품종 모두에서 methion은 미량 검출되었다.

마. 총아미노산

품종별 감피의 총아미노산을 분석한 결과는 Table 7과 같이 모두 16종이 확인되었다. 총아미노산의 함량은 244.84~371.45 mg/100 g으로 나타났으며 상주동시의 경우 371.45 mg/100 g으로 가장 높은 총아미노산 함량을 나타내었다. 총아미노산 중에서는 전반적으로 aspartic acid, glutamic acid의 함량이 높게 나타났고, histidine과 threonine의 함량은 낮게 나타났다. 또한 leucine, lysine, valin 등 필수 아미노산의 함량이 높게 나타났으나 평핵무의 경우 valine이 2.79 mg/100 g, lysine이 6.56 mg/100 g으로 다른 품종에 비하여 낮은 함량을 보였고 상주동시의 경우에는 methion은 검출되지 않았다.

Table 6. Free amino acid contents of persimmon peel

(mg/100 g)

	황여	월하시	고종시	평해무	상주등시	청도반시	함안수시
ASP	0.88	0.85	1.33	1.39	3.46	1.90	0.35
SER	0.72	0.46	0.58	0.57	1.63	1.16	0.21
GLU	0.74	1.07	1.70	2.21	3.14	2.00	0.48
GLY	0.27	0.22	0.56	0.70	0.43	0.32	0.14
HIS	0.11	0.10	0.12	0.19	2.12	0.47	0.05
ARG	1.36	0.16	0.38	0.25	0.42	2.87	0.14
THR	0.48	0.52	0.62	0.45	5.53	0.69	0.29
ALA	1.63	1.67	2.15	2.10	1.84	1.80	1.28
PRO	2.91	2.55	3.30	1.10	6.75	3.78	0.11
TYR	0.37	0.35	0.51	0.63	0.56	0.41	0.34
VAL	0.08	0.08	0.27	0.34	0.96	0.12	0.04
MET	t*	t	t	t	t	t	t
LYS	0.16	0.21	0.50	1.03	0.42	0.27	0.13
ILE	0.06	0.07	0.23	0.26	0.52	0.09	0.05
LEU	0.11	0.10	0.39	0.62	0.47	0.16	0.06
PHE	0.06	0.03	0.19	0.37	0.06	0.06	0.02
Total	9.94	8.44	12.83	12.21	28.31	16.1	3.69

*t: trace

Table 7. Total amino acid contents of persimmon peel

(mg/100 g)

	횡여	월하시	고종시	평핵무	상주등시	청도반시	함안수시
ASP	29.24	31.28	29.66	34.59	42.09	27.99	28.60
SER	16.35	13.85	14.62	22.05	18.00	12.70	13.69
GLU	29.55	30.63	23.74	24.35	55.42	28.65	29.37
GLY	18.21	17.47	13.22	15.77	23.17	16.19	17.27
HIS	6.35	5.41	6.33	24.44	8.50	5.00	5.58
ARG	7.92	12.67	9.77	6.63	16.88	15.06	13.57
THR	16.24	14.84	19.36	8.65	22.69	13.34	15.94
ALA	20.12	19.63	18.26	11.17	25.62	18.84	19.64
PRO	40.26	21.13	30.03	57.91	31.18	17.64	15.68
THR	8.36	61.6	7.22	10.70	7.95	5.19	16.56
VAL	10.51	15.80	4.65	2.79	25.57	14.98	20.17
MET	4.17	2.37	10.26	26.41	0.000	3.52	2.47
LYS	17.68	20.42	12.36	6.56	27.25	19.85	21.29
ILE	9.56	14.06	14.98	8.54	20.44	13.38	15.38
LEU	13.28	19.72	16.02	15.56	27.69	20.04	19.97
PHE	21.26	13.68	21.04	23.42	19.00	12.47	13.49
Total	269.06	249.12	251.52	299.54	371.45	244.84	268.67

바. 식이섬유

감피 분말의 식이섬유 함량은 Table 8과 같다. 감피의 식이섬유는 가용성 pectin과 gum류가 주를 이루는 가용성 식이섬유가 2.44~7.09 g/100 g, cellulose와 불용성 pectin이 주를 이루는 불용성 식이섬유가 34.89~50.76 g/ 100g으로 불용성 식이섬유의 함량이 월등하게 높게 나타났다. 상주등시에서 가용성 식이섬유의 함량이 가장 낮았으며, 불용성 식이섬유는 횡여에서 가장 낮게 나타났으나 이외 다른 품종별 간에는 큰 차이를 보이지 않았다. 감피 분말중 식이섬유의 총 함량은 39.48~57.19 g/100g을 차지하였다.

Table 8. Dietary fiber contents of persimmon peel (g/100 g)

	SDF	IDF	TDF
횡여	4.59	34.89	39.48
월하시	6.43	50.76	57.19
고종시	5.95	43.25	49.20
평핵무	7.46	45.38	52.84
상주등시	2.44	37.91	40.35
청도반시	5.54	42.85	48.39
함안수시	7.09	42.14	49.23

사. 비타민류

품종별 감과피의 비타민 A와 C의 함량을 조사한 결과는 Table 9와 같다. 비타민 A의 함량은 20.02~60.60 mg/100 g으로 고종시, 상주등시, 횡여 가장 높게 나타났으며, 비타

민 C의 함량은 24.69~106.01 mg/100 g으로 품종간에 다소 함량의 차이를 보였다. 황여, 평핵무, 청도반시에서 높은 함량을 보였으며, 고종시, 상주등시의 경우 비교적 낮은 비타민 C 함량을 나타내었다.

Table 9. Content of vitamin A and C in persimmon peel
(mg/100 g)

	Vitamin A	Vitamin C
황여	44.07	106.01
월하시	36.56	72.99
고종시	60.60	24.69
평핵무	31.04	104.27
상주등시	49.30	47.28
청도반시	20.02	85.39
함안수시	30.20	68.64

아. 카로티노이드 및 총페놀

품종 감피의 총카로티노이드 및 페놀성 화합물의 함량을 조사한 결과는 Table 10과 같다. 총카로티노이드 함량은 179~340 mg/100 g으로 품종에 따라 차이를 보였다. 가장 많은 함량을 보인 품종은 상주등시 품종으로 340.6 mg/100 g이었으며, 그 외에 청도반시가 310.5 mg/100 g, 고종시가 264.9 mg/100 g으로 높은 함량을 보였다. 반면 황여, 함안수시, 월하시에서는 다소 낮은 총카로티노이드 함량을 보였다.

총페놀 함량은 44.07~196.98 mg/100 g으로 품종간에 다소 큰 차이를 보였다. 총페

늘 함량이 가장 높은 품종은 함안수시였으며 상주등시가 44.07 mg/100g으로 가장 낮은 함량을 나타내었다. 황여, 평핵무, 청도반시에서도 비교적 높은 총페놀 함량을 보였다

Table 10. Total carotenoids and phenolic compounds in persimmon peel (mg/100 g)

	Total carotenoid	Total phenol
황여	189.0±21.4	161.52±9.8
월하시	179.4±11.4	101.41±4.7
고종시	264.9±15.7	108.57±6.4
평핵무	279.3±9.5	153.06±9.9
상주등시	340.6±12.7	44.07±7.5
청도반시	310.5±16.3	142.32±6.6
함안수시	210.9±20.1	196.98±5.4

2. 감 과피의 효율적 건조 공정 확립

가. 건조곡선

상주등시 품종을 수세 후 박피하여 과피를 천일 및 열풍건조에 따른 수분함량의 변화는 Fig 2와 3에 나타내었다. 천일 건조 구간에서는 건조 후 8시간까지 매우 빠른 건조율을 보였으며 일몰 후에도 어느 정도의 건조가 진행되었다. 이후 건조 5일까지는 완만한 건조를 보이다가 건조 5일 이후는 더 이상의 수분 손실이 일어나지 않아 건조가 완료된 것으로 판단되었다. 열풍건조 구간에서는 40℃에서는 건조 5시간, 60℃에서는 4시간, 80℃에서는 건조 1시간만에 건조가 모두 완료된 것으로 나타났다.

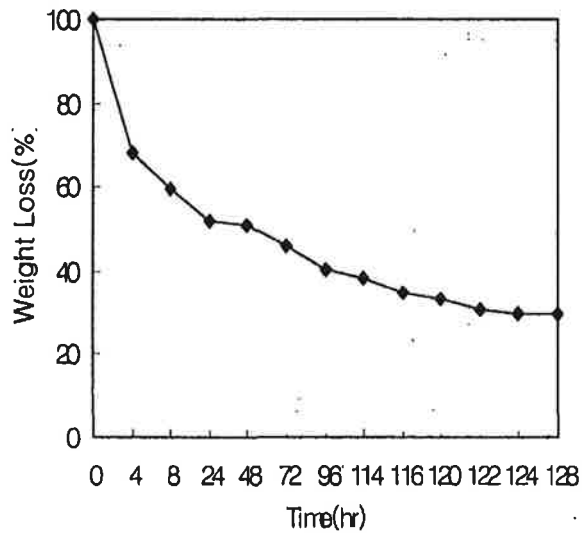


Fig. 2. Drying curve of persimmon peel by sun-drying.

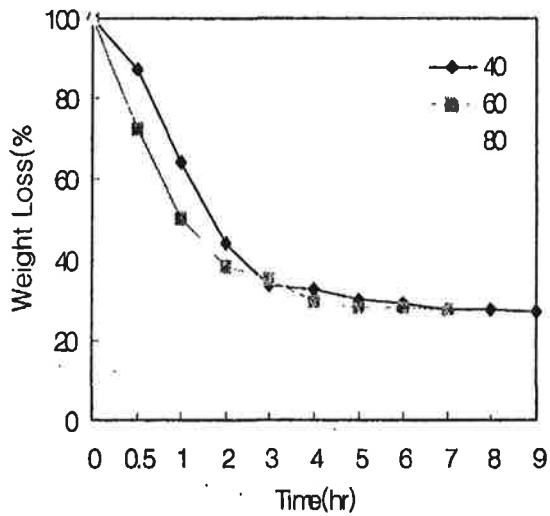


Fig. 3. Drying curve of persimmon peel by hot air drying.

나. 색도

상주등시 품종을 수세 후 박피하여 과피를 천일 및 열풍건조시킨 후 기계적 색도를 Hunter 색차계를 측정 한 결과는 Table 11과 같다. 40℃와 60℃ 열풍건조 구간에서는 건조 후 L값이 증가하였으나 80℃ 열풍건조구간과 천일 건조 구간에서는 오히려 L값이 감소하여 건조 후 과피의 백색도다 오히려 더 낮아지는 경향을 보였다. a값의 경우에는 모든 건조 구간에서 감소하였는데 건조 구간에 따른 큰 차이를 보이지 않았다. 반면 b값의 경우 건조온도에 따라 감소경향이 뚜렷하게 나타났는데 건조 온도가 높을수록 b값의 감소 폭이 크게 나타났다. 그러나 천일건조의 경우 b값은 60℃와 80℃ 건조 구간보다 오히려 높게 나타났다. 전반적인 색도의 변화를 나타내는 ΔE 값은 40℃와 60℃ 열풍건조구에서는 23.62±2.35와 28.75±3.62로 40.77±2.98인 80℃ 열풍건조구에 비하여 색도의 변화가 적었으며, 천일건조의 경우에는 26.66±4.10로 40℃ 열풍건조구와 비슷한 색도의 변화를 보였다. 따라서 천일건조의 경우 장시간의 건조 시간이 요구되나 색도의 유지 측면에서는 우수한 것으로 판단된다. 열풍건조의 경우에도 건조시간과 색도 유지 측면을 고려할 때 40℃의 열풍건조가 적당하다고 사료된다.

Table 11. Change of L, a, b values during hot air drying and sun-drying

	Fresh	40℃	60℃	80℃	Sun-drying
L	57.42±1.48	68.41±0.79	62.11±1.27	50.88±0.81	49.10±1.89
a	22.06±6.17	7.46±0.46	7.04±0.96	8.26±0.30	8.77±0.57
b	53.76±5.77	38.77±0.72	29.68±1.76	15.94±0.30	32.17±1.11
ΔE	0	23.62±2.35	28.75±3.62	40.77±2.98	26.66±4.10

다. 분말 입도에 따른 보존성 시험

상주등시 과피를 40℃와 55℃에서 열풍건조한 후 40, 80, 100 mesh로 분쇄한 후 37℃에서 60일간 보존하면서 총카로티노이드 함량, β -carotene 함량 및 색도의 변화를 조사한 결과를 Table 12와 13에 나타내었다. 감피 분말의 색도는 분쇄 입도에 따라 차이를 나타내었는데 40℃ 열풍건조 구간의 경우 분쇄 입도가 커질수록 L값은 증가하고, a값은 감소하였으며 b값은 거의 변화가 없었다. 55℃의 경우는 L값은 증가하였으나 a와 b값은 거의 변화가 없었다. 보존 기간에 따른 색도의 변화는 40℃ 열풍건조 구간의 경우 L값은 보존 기간에 따른 변화가 관찰되지 않았으며 a값은 보존 4주일이 경과하면서 감소를 보였으며, b값도 보존 4주 후에 약간의 감소를 보였으며 분말 입도에 따른 구간별 차이는 나타나지 않았다. 55℃ 열풍건조 구간의 경우는 보존 기간에 따라 L값의 변화는 나타나지 않았으나 a값과 b값은 보존 8주 후에는 약간의 감소를 나타내었다.

총카로티노이드 및 β -carotene의 함량은 40℃ 열풍건조의 경우 55℃ 열풍건조구보다 초기 함량이 더 높게 나타났으며 보존기간이 증가할수록 지속적인 감소 현상을 나타내었다. 40℃의 경우 보존 20일 만에 25%, 40일에는 35%, 60일에는 20%의 총카로티노이드가 잔존하였으며, β -carotene의 함량도 거의 유사한 경향을 보였으며 분쇄 입도간의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. 55℃의 경우에도 총카로티노이드 및 β -carotene의 감소현상이 일어났으나 40℃에 비하여 보존 40일까지는 감소율이 다소 낮게 나타났으나 보존 60일 경과 후 약 25%의 잔존율을 보였다.

Table 12. Changes in total carotenoids and β -carotene content of persimmon peel during storage at 37°C according to fineness

Days	Carotenoid	40°C hot air drying			55°C hot air drying		
		40 mesh	80 mesh	100 mesh	40 mesh	80 mesh	100 mesh
0	T. C*	347.5	320.8	295.4	280.4	269.7	289.3
	β -C	30.2	31.4	28.4	24.4	21.1	21.9
20	T. C	260.4	286.2	246.4	255.4	245.7	261.3
	β -C	20.3	18.9	21.3	15.2	16.4	12.3
40	T. C	120.5	143.3	125.5	132.6	154.7	139.8
	β -C	11.3	10.9	10.3	7.5	6.8	6.9
60	T. C	69.4	88.3	74.7	88.4	72.3	76.8
	β -C	7.7	6.9	6.7	6.6	5.8	5.4

*T. C : total carotenoids, β -C: β -carotene

Table 13. Changes of L, a, b values of persimmon peel during storage at 37°C according to fineness

Days	Color	40°C hot air drying			55°C hot air drying		
		40 mesh	80 mesh	100 mesh	40 mesh	80 mesh	100 mesh
0	L	68.41	71.39	74.52	45.65	58.77	60.92
	a	7.46	5.78	3.99	12.38	8.53	12.45
	b	38.77	40.79	38.87	15.44	25.89	29.65
20	L	70.99	73.21	72.19	46.71	60.47	56.66
	a	7.98	4.67	4.02	8.68	9.29	9.45
	b	37.58	40.78	39.22	14.32	21.43	24.42
40	L	72.37	75.87	75.67	46.53	59.88	57.51
	a	3.35	2.20	1.63	8.76	9.22	9.33
	b	33.33	34.08	33.2	14.39	21.90	24.10
60	L	68.98	70.92	72.20	44.13	56.56	50.69
	a	4.29	2.95	2.00	6.44	7.54	8.52
	b	33.27	34.21	30.10	11.82	17.32	20.28

3. 감피 첨가 식빵의 제조

가. 반죽의 호화 특성, pH 및 믹싱 시간

감피 분말 첨가에 따른 반죽의 호화특성 및 믹싱시간을 시험한 결과는 Fig. 1과 Table 1과 같다. 호화개시 온도는 대조구는 69.2℃이고 5% 첨가구의 경우 64.6℃로 감소하였으나 10% 첨가구에서는 69.9℃로 다시 증가하였다. 최고점도는 대조구에서 167 B.U., 5% 첨가구 80 B.U., 10% 첨가구 59 B.U., 15% 첨가구 72 B.U.로 대조구에 비하여 감피 분말 첨가구에서 낮게 나타났다. 50℃로 냉각 후 점도는 대조구는 134 B.U.로 다시 증가되었으나 5%일 때 13 B.U., 15%일 때 37 B.U.로 점도의 증가가 일어나지 않았다. 일반적으로 최고점도는 전분입자의 팽창과 연관이 있으며, 식이섬유와 무기질에 의해서 전분의 호화가 지연되는 것으로 알려져 있다. 감피 첨가에 의한 믹싱 시간은 감피 분말 첨가량이 증가할수록 대조구는 10분, 5%일 때 12분, 10%일 때 14분, 15%일 때 17분으로 증가하는 경향을 보였다. 반죽의 gluten 형성에는 수분, 단백질 함량, 전분함량, amylase와 같은 효소의 작용 pH, 반죽온도 등 여러 가지 요인이 관여한다. 감피 분말 첨가에 의한 반죽의 pH의 변화를 살펴보기 위하여 반죽 후 pH를 조사한 결과 대조구의 경우 pH가 5.63에서 감피 분말 첨가량이 5, 10, 15%로 증가됨에 따라 pH가 5.27, 5.14, 5.02의 순으로 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 감피 분말 첨가에 의해 믹싱시간이 길어지는 것은 pH 저하에 의한 gluten 단백질 형성이 저해되거나 amylase와 같은 효소의 활성화에 변화를 가져온 것으로 사료되며 추후 반죽의 pH와 gluten 형성에 관한 구체적인 연구가 요망된다.

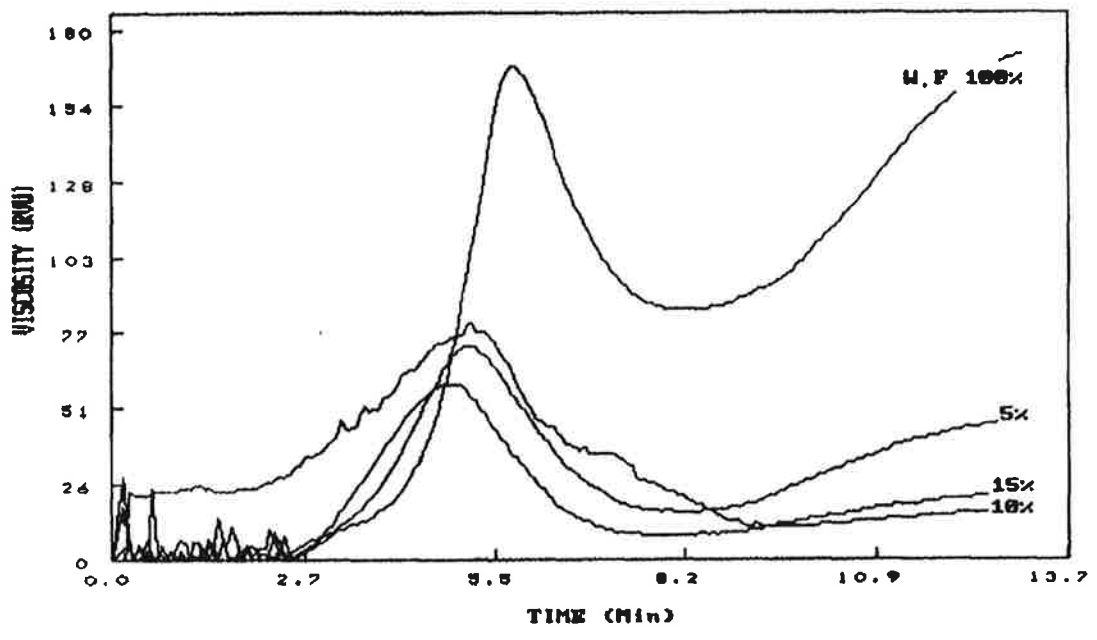


Fig. 1. Gelatination profile of dough added with persimmon peel powder.

Table 1. Gelatination characteristics of dough prepared with persimmon peel powder

PPP ¹⁾ content (%)	Initial gelatination Temp. (°C)	Maxinum viscosity (B.U.)	Final viscosity (B.U.)	Mixing time (min)
Control	69.20	167	134	10
5	64.65	80	13	12
10	69.95	59	18	14
15	68.55	72	37	17

¹⁾PPP means persimmon peel powder.

나. 텍스처 특성

Texture analyzer를 사용하여 측정된 반죽과 제품의 기계적 텍스처 특성은 Table 2와 같다. 반죽의 경우 견고성(hardness), 겹성(gumminess)과 씹힘성(chewiness), 부착성(adhesiveness)은 감피 분말 첨가에 의해 증가되었고, 탄성(springness)과 응집성(cohesiveness)은 감피 분말 첨가에 영향을 받지 않았다. 감피 분말 첨가량에 따라서는 5%와 10% 첨가구에서는 대조구에 비하여 견고성, 겹성, 씹힘성이 조금 증가하였으나 15% 첨가구의 경우 급격한 증가를 보였다. 식빵의 경우에는 탄성, 응집성 및 씹힘성이 감피 분말 첨가에 의해 증가하였고 견고성과 부착성은 오히려 감소하였다. 또한 겹성은 반죽에서는 감피 분말 첨가에 의해 증가하였으나 식빵에서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았다. 반죽의 경우와 마찬가지로 5% 첨가구와 10% 첨가구 사이에는 측정값들이 큰 차이를 보이지 않았지만 15% 첨가구에서는 측정값들이 큰 차이를 보였다. 따라서 10%까지의 감피 분말 첨가는 식빵의 텍스처에 큰 변화를 가져오지 않는 것으로 나타났다.

Table 2. Texture profile analysis of dough and bread prepared with persimmon peel powder

ppp ¹⁾ content (%)	Hardness (g)	Adhesiveness (gs)	Springness	Cohesiveness	Gumminess (g)	Chewiness
Control	294.20±9.5 ^{a2)}	-240.08±10.6 ^{a3)}	0.968±0.01 ^a	0.850±0.02 ^a	249.90±3.6 ^a	241.91±3.7 ^a
Dough						
5	326.87±10.5 ^a	-346.16±18.1 ^b	0.971±0.02 ^a	0.855±0.04 ^a	279.55±9.1 ^{ab}	271.31±8.8 ^{ab}
10	375.23±34.6 ^a	-366.20±10.8 ^b	0.971±0.01 ^a	0.844±0.01 ^a	331.14±24.6 ^b	321.71±24.9 ^b
15	742.22±66.1 ^b	-756.57±44.1 ^c	0.972±0.01 ^a	0.856±0.02 ^a	634.70±49.6 ^c	617.10±48.0 ^c
Bread						
Control	91.61±3.9 ^a	-5.12±1.3 ^a	1.991±0.6 ^a	0.705±0.03 ^a	64.65±5.4 ^a	131.75±49.5 ^a
5	78.92±5.3 ^b	-4.28±0.8 ^{ab}	2.708±0.3 ^{ab}	0.772±0.05 ^a	60.99±5.9 ^a	166.41±33.1 ^{ab}
10	73.82±2.4 ^b	-2.24±0.7 ^b	3.319±0.1 ^b	0.807±0.06 ^b	59.55±3.4 ^a	187.13±15.6 ^{ab}
15	52.91±3.3 ^c	-0.01±0.0 ^c	5.881±0.0 ^c	1.184±0.04 ^c	61.24±2.1 ^a	360.12±11.5 ^c

¹⁾Abbreviation is the same as Table 1.

²⁾Values with different superscript in the same columns are significantly different at 5% level.

³⁾Values are mean±S.E. (n=9)

다. 색도

감피 분말 첨가 식빵의 기계적 색도를 측정된 결과는 Table 3에 나타내었다. 대조구에 비하여 감피 분말 첨가구들에서 명도(L)는 감소하고 적색도(a)와 황색도(b)는 증가하였다. 첨가량에 따라서는 5%와 10% 첨가구간에는 뚜렷한 색도의 차이를 보이지 않았지만 15% 첨가구의 경우에는 백색도가 큰 폭으로 감소하였다. 황색도의 경우에는 오히려 15% 첨가구에서 5%와 10% 첨가구에 비하여 더 낮은 값을 보였다. 전반적인 색도의 변화를 나타내는 ΔE 값은 5%와 10% 첨가구에서 각각 25.70과 27.89로 첨가량에 따른 차이를 보이지 않았으나 15% 첨가구의 경우 35.00으로 감피 분말을 15% 이상 첨가할 경우 색도의 변화가 크며 식빵의 내부가 어두운 갈색을 띠는 것으로 나타났다. 감피 첨가에 따른 이러한 식빵의 색도변화는 제빵 과정 중 감피 구성 성분인 당 및 아미노산 성분의 열처리에 따른 메일라드반응에 의한 것으로 생각된다.

Table 3. Color values of bread prepared with persimmon peel powder

PPP ¹⁾ content(%)	L value	a value	b value	ΔE
Control	74.46±7.4 ^{a2)}	-1.84±0.9 ^{a3)}	17.44±2.5 ^a	0
5	55.51±5.9 ^b	6.56±1.0 ^b	32.64±3.4 ^b	25.70±3.3
10	54.35±6.3 ^b	8.64±1.3 ^{bc}	33.68±2.8 ^b	27.89±4.1
15	44.53±6.1 ^c	11.69±1.1 ^c	27.53±3.2 ^b	35.00±2.9

¹⁾Abbreviation is the same as Table 1.

²⁾Values with different superscript in the same raw are significantly different at 5% level.

³⁾Values are mean±S.E. (n=3)

라. 관능적 특성

감피 첨가 식빵의 색(color), 외관(appearance), 맛(taste), 냄새(odor), 씹힘성(chewiness), 부착성(adhesiveness) 및 전반적인 기호도(overall acceptability)에 대한 관능검사 결과는 Table 4와 같다. 식빵의 내부 색에 있어서는 대조구가 가장 높은 점수를 얻었으며 감피 분말 첨가량이 증가할수록 낮은 점수를 얻었다. 이는 감피 첨가에 의한 황색도와 적색도의 증가가 관능적 측면에서 부정적으로 작용한 것으로 생각된다. 그러나 식빵 단면의 기공상태를 평가한 외관에 대해서는 대조구와 5% 첨가구에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 따라서 5% 감피 첨가 수준은 색에 있어서는 차이를 보이거나 빵 내부 조직에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 냄새의 경우 감피 분말 첨가에 의해 낮은 점수를 얻었으나 맛에 있어서는 대조구와 5% 첨가구간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 감피 분말이 식빵의 색상에는 큰 영향을 미치나 기공상태나 맛에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 입안에서의 씹힘성과 부착성을 검사한 결과 감피 분말의 첨가가 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 부착성의 경우에는 5% 첨가구가 치아에 가장 많이 부착되었고 첨가량이 많을수록 부착성은 낮아졌다. 이는 TPA에 의한 조직감 시험에서 부착성이 감소하는 경향과 일치하였다. 전반적인 기호도에서는 대조구, 5%, 10%, 15% 첨가구의 순으로 감피 첨가 비율이 높아질수록 관능적인 기호도는 감소하는 것으로 나타났으나 대조구와 5% 첨가구간에는 유의적인 차이는 보이지 않았다. 따라서 감피 분말을 5%까지 첨가를 해도 식빵 고유의 백색에 대한 선호도 때문에 색에 있어서는 부정적인 영향을 미치나 맛이나 조직감, 전반적인 기호도에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 이상의 결과에 따르면 감식빵 제조시 감피 첨가 비율은 5% 이내의 첨가 수준이 적정 할 것으로 생각되며 이에 다른 원료 소맥분의 대체 효과도 그만큼 기대된다고 할 수 있다.

Table 4. Sensory characteristics of bread prepared with persimmon peel powder

	PPP ¹⁾ content(%)			
	Control	5	10	15
Color	7.5 ^{ab2)}	5.9 ^b	4.6 ^b	2.8 ^c
Appearance	6.4 ^a	6.1 ^a	4.8 ^b	3.4 ^c
Odor	6.5 ^a	5.4 ^b	3.8 ^c	3.0 ^c
Taste	6.8 ^a	6.4 ^a	4.6 ^b	3.4 ^c
Chewiness	6.1 ^a	5.6 ^{ab}	5.2 ^{ab}	4.2 ^b
Adhesiveness	5.0 ^{ab}	5.5 ^a	4.8 ^{ab}	4.1 ^b
Overall acceptability	6.6 ^a	5.5 ^a	3.4 ^b	2.2 ^c

¹⁾Abbreviation is the same as Table 1.

²⁾Values with different superscript in the same row are significantly different at 5% level.

마. 식빵의 내부 구조

감피 첨가 식빵을 제조한 후 내부 단면의 구조를 주사현미경으로 400배의 배율로 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 대조구와 5% 첨가구에서는 gluten이 잘 발달되어 얇은 층들이 관찰되고 기공이 비교적 균일하게 분포되어 있으며 표면도 부드러운 상태를 유지하고 있었다. 반면 15% 첨가구에서는 빵세포를 형성하는 gluten 구조에 감피 분말 입자들이 많이 결합한 것이 관찰되었으며 이들이 gluten 형성을 저해하여 빵의 견고성이 감소하고 표면도 거칠어지는 것으로 나타났다. 따라서 감피 분말이 입자 형태로 gluten 구조에 결

함함으로써 gluten 상호간의 내부 결합을 일부 저해하므로 감피 첨가 식빵은 대조구에 비하여 견고성 및 부착성이 작은 것으로 사료된다.

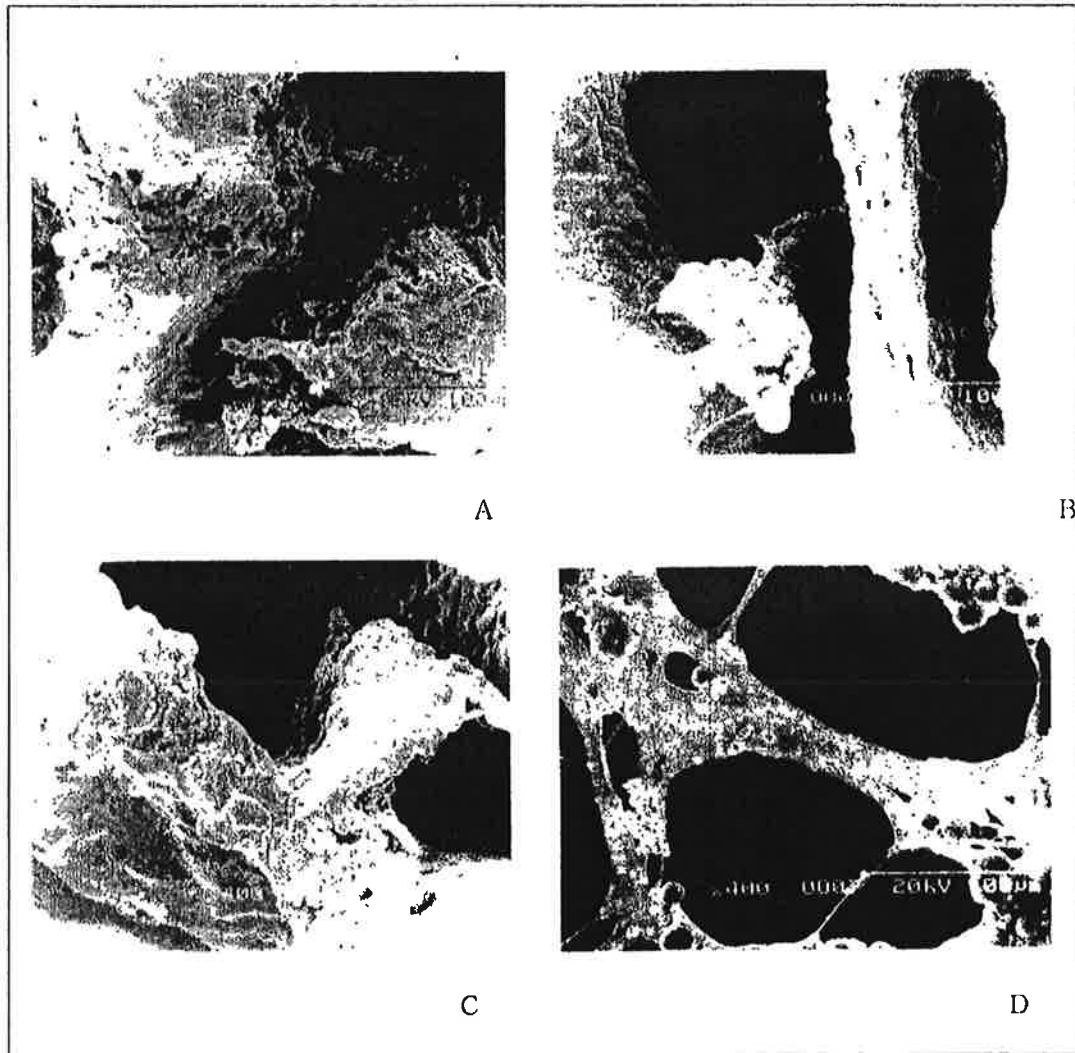


Fig. 2. Scanning electron micrograph of bread prepared with persimmon peel powder. A, control; B, 5% of PPP; C, 10% of PPP; D, 15% of PPP.

4. 감피를 이용한 단미사료의 개발

가. 1차년도 동물실험

1) 수수변동, 산란능력, 총란수 및 산란율

4주간 시험기간중 수수변동(생존수수 및 도태 폐사); 산란능력(왕특란, 특란, 대란, 중란, 소란, 파란등), 총산란수, 산란율 등을 조사한 결과 Table 1과 같다. 폐사율은 시험구가 대조구보다 낮은 경향을 나타내며, 전체적으로 산란율은 초기에는 높았으나 시간이 지나면서 1주째보다 산란율이 떨어진다. 이는 하절기의 고온다습한 기온과 무관하지 않는 것으로 사료된다. 또 산란능력(왕특란 기준)을 비교하여 볼 때 초기 1~2주는 대조구가 시험구 보다 높은 경향이나 3~4주째는 시험구가 대조구보다 높은 경향을 나타내고 있다. 그러나 파란율은 시험구가 오히려 높게 나타났다. 따라서 전체적인 측면에서 볼 때 계란의 크기와 판매에 따른 경제적인 측면을 고려할 때 좀 더 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Table 1. 하이라인 산란계의 수수변동, 산란능력 및 산란율

주 기	폐사율(%)	산란 능력 (%)						산란율(%)	
		왕특	특란	대란	중란	소란	파란		
1주	시험구	0.026	28.13	58.26	6.55	-	5.24	1.82	84.05
	대조구	0.036	29.42	58.11	6.14	-	4.67	1.66	82.30
2주	시험구	0.035	27.85	58.47	6.71	-	5.05	1.92	82.40
	대조구	0.039	28.04	57.92	7.25	-	4.83	1.96	79.40
3주	시험구	0.023	31.40	56.54	5.97	-	4.23	1.86	82.66
	대조구	0.034	29.58	57.95	6.79	-	4.13	1.55	76.40
4주	시험구	0.027	30.84	57.72	5.97	-	3.72	1.75	83.03
	대조구	0.030	28.97	57.05	6.81	-	5.54	1.63	78.07

2) 평균난중 무게

시험기간중 1주일 간격으로 계란을 대조구, 시험구에서 각각 300개를 무작위로 수집하여 칭량 한 다음 평균 중량으로 조사한 결과 Table 2와 같다. 시험구와 대조구간 그리고 주기별에 따른 난중의 무게에 대한 유의차는 없으나 전체적으로 난중의 평균무게는 증가하는 경향이다.

Table 2. 평균난중의 무게조사

주 기		평균난중무게(g)
1주	시험구	56.4
	대조구	56.6
2주	시험구	57.5
	대조구	57.1
3주	시험구	58.2
	대조구	57.9
4주	시험구	58.4
	대조구	58.0

3) 난황의 색상 비교

시험 마지막주(2000년 7월 29일)에 산란한 계란에서 대조구, 시험구 각각 30개의 계란을 무작위로 수집하여 난황만 분리한 다음 Hunter Color기(Hunter Lab Universal Software)로 L, a, b값을 측정하여 그 평균값은 결과 Table 3과 같다. 적색도를 나타내는 a값과 황색도를 나타내는 b값을 비교해 볼 때 시험구가 대조구 보다 색상의 값이

약간 높게 나타나지만 유의차는 없으며, 또한 명도의 L값도 시험구가 약간 높은 경향으로 나타났다.

Table 3. 계란 난황의 색차 비교

항 목	대조구	시험구
L	57.09	57.37
a	9.18	9.29
b	29.97	30.55
ΔE	63.49	64.82

나. 2차년도 동물실험

1) 폐사율 및 산란율

4주간 시험기간중 폐사율 및 산란율 등을 조사한 결과 Table 5와 같다. 폐사율은 시험구가 대조구보다 낮은 경향이며 또한 산란율도 전체적으로 높게 나타났다. 대체로 기본사료에 감피 분말을 0.1%(1kg/ton)로 첨가한 시험구가 전반적으로 시험성적이 높은 것으로 생각되며 콧감의 부산물에 있는 색소 및 폴리페놀 성분이 산란능력에 영향을 미칠 것으로 판단되나 짧은 시험기간 및 시험두수 등을 고려할 때 좀 더 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Table 5. 하이라인 산란계의 폐사율 및 산란율

주 기		폐사율(%)	산란율(%)
1주	시험구	0.020	85.01
	대조구	0.028	84.30
2주	시험구	0.026	86.40
	대조구	0.029	85.40
3주	시험구	0.023	86.87
	대조구	0.029	85.70
4주	시험구	0.021	87.03
	대조구	0.027	86.02

3) 평균난중 무게

시험기간중 1주 간격으로 4회에 걸쳐 대조구, 시험구에서 각각 300개를 무작위로 수집하여 칭량 한 다음 평균 중량으로 조사한 결과 Table 6과 같다. 실험기간 중의 평균 난중은 시험구에서는 57.1~58.6 g, 대조구에서는 56.7~58.1 g으로 실험기간에 따른 난의 무게 변화와 시험구와 대조구간의 난의 무게 차이는 거의 나타나지 않았다. 이상의 결과를 요약해 보면 꾀감의 부산물에 존재하는 β 케로틴의 색소 성분과 폴리페놀 성분이 산란계에서 대조구보다 시험성적에서 높게 나타나 부산물의 이용 측면에서는 긍정적이나, 경제적인 측면에서 부산물의 회수, 전처리 및 건조 등으로 이어지는 공정으로 제조하여 첨가할 경우 현실적으로 어려움이 많다고 사료된다

Table 6. 평균난중의 무게조사

주 기		평균난중무게(g)
1주	시험구	57.1
	대조구	56.7
2주	시험구	57.5
	대조구	57.0
3주	시험구	58.3
	대조구	57.9
4주	시험구	58.6
	대조구	58.1

5. 감피 혼합차의 제조

가. 일반성분

감피 혼합차의 일반성분을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 수분 8.88~10.69 g/100 g, 조단백질 2.87~3.82 g/100 g, 조지방 2.35~3.34 g/100 g, 조회분 2.56~3.49 g/100 g으로 조사되었다. 조섬유의 함량은 11.66~14.30 g/100 g으로 감피 첨가량이 증가할수록 약간 감소하는 경향을 보였다.

Table 1. Proximate composition of persimmon leaf tea mixed with peel powder (g/100 g)

contents	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Crude fiber	N-free extract
Control	9.76	2.87	3.34	2.57	14.30	67.16
5%	8.88	3.15	3.09	2.56	13.97	68.35
10%	9.15	3.33	2.94	3.49	13.05	68.04
15%	10.69	3.82	2.35	3.14	11.85	68.15
20%	8.89	3.59	3.21	2.69	11.66	69.96

나. 총카로티노이드 및 총페놀성 화합물

감피 첨가량에 따른 감피 혼합차의 총카로티노이드 화합물 및 총페놀성 화합물의 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 대조구의 총카로티노이드 함량은 10.23 mg/100 g이었으나 감피 첨가량이 증가할수록 카로티노이드의 함량이 증가하는 것으로 나타났으며 감피를 20% 첨가하였을 경우 무첨가구에 비하여 4배 가량의 높은 카로티노이드 함량을 보였다.

총페놀성 화합물은 대조군에서 1,326.5 mg/100 g이었으며 감피 첨가량이 증가할수록 총페놀 함량이 감소하는 경향을 보여 총카로티노이드 함량과는 반대의 경향을 보였다. 또한 5% 첨가구와 10% 첨가구, 15%와 20% 첨가구의 경우에는 비슷한 함량을 보였다.

Table 2. Total carotenoids and phenolic compounds in persimmon leaf tea mixed with peel (mg/100 g)

	Total carotenoid	Total phenol
Control	10.23±1.5	1,326.5±43.7
5%	17.63±3.1	1,193.4±27.6
10%	26.19±2.6	1,074.7±29.1
15%	33.23±1.9	894.6±17.6
20%	42.60±4.4	861.2±22.4

다. 색도

어린 감잎을 채취하여 1분간 전후 24시간 건조시켜 파쇄하여 다시 1분간 볶음처리하여 감피 분말을 5, 10, 15, 20%가 되도록 첨가한 감피 혼합차를 제조하여 색도를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 무첨가구의 색도는 L값 43.87, a값 1.60, b값이 5.83 이었으며 감피 첨가구의 경우에는 L값 41.66~47.33, a값 1.30~1.83, b값이 5.72~6.48로 감피 첨가에 의한 뚜렷한 색도의 변화는 관찰되지 않았다. ΔE 값은 15% 첨가구까지는 0.21~2.32였으나 20% 첨가구의 경우에는 3.46으로 다른 첨가구에 비하여 높게 나타나 20% 이상 첨가할 경우 감잎차의 색도에 영향을 줄 것으로 생각된다.

Table 3. Color values of persimmon leaf tea mixed with persimmon peel powder

	L value	a value	b value	ΔE
Control	43.87±2.08	1.60±0.21	5.83±0.67	0
5%	41.66±2.42	1.30±0.17	6.48±0.23	2.32
10%	44.06±3.94	1.66±0.03	5.75±0.95	0.21
15%	42.94±1.45	1.83±0.21	5.72±1.44	0.96
20%	47.33±2.12	1.40±0.29	5.92±0.86	3.46

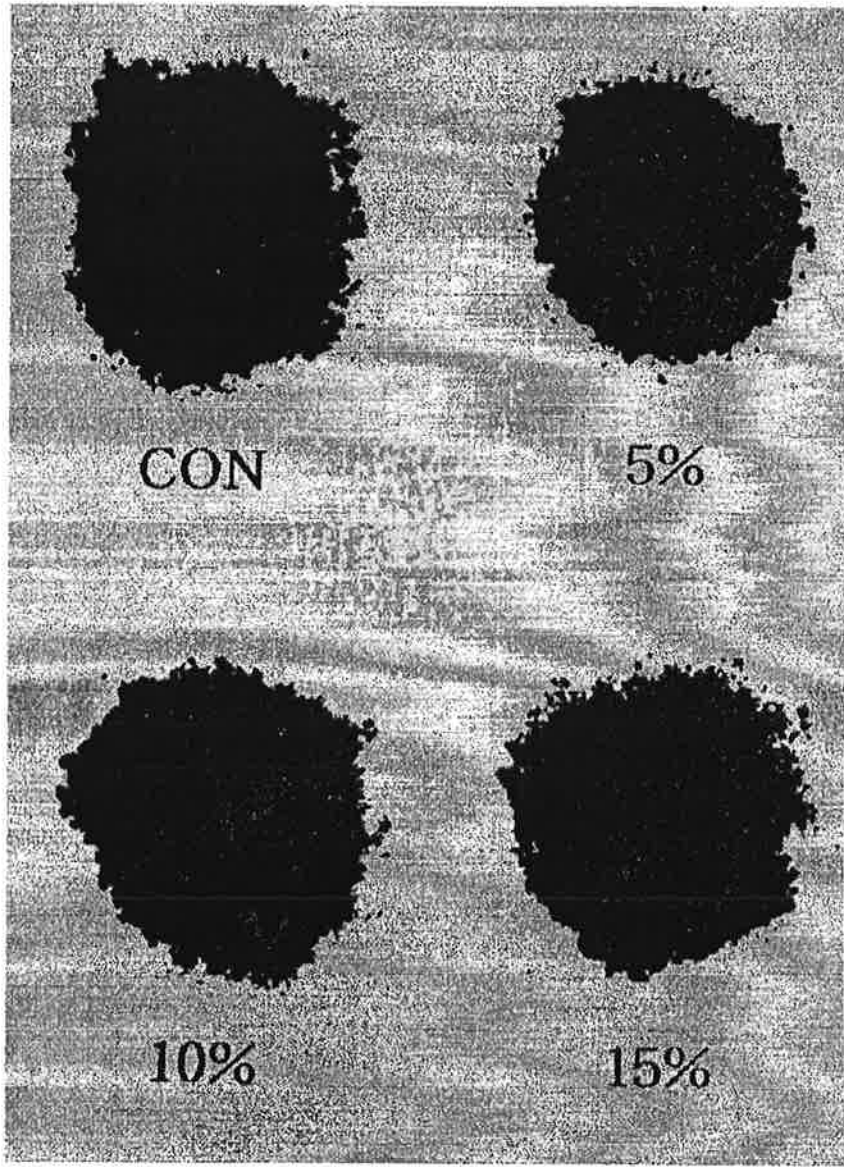


Fig. 1. Photograph of persimmon leaf tea mixed with persimmon peel powder.

라. 항산화성

감피 혼합차를 티백의 형태로 제조한 후 일상적인 음용 조건인 $80 \pm 5^\circ\text{C}$, 증류수 100 mL로 3분간 추출하였다. 감피 첨가에 따른 추출물의 항산화성의 상승효과를 시험하기 위하여 hydroxyl radical과 DPPH radical에 대한 소거활성을 시험하였다. 추출액을 각각 50 μL 와 10 μL 를 첨가하여 hydroxyl radical에 대한 소거활성을 시험한 결과는 Fig. 2와 같이 모든 실험구에서 90% 정도의 라디칼 소거활성을 보였으며, 감피 첨가구와 무첨가구간에 차이를 보이지 않았다. 또한 감피 첨가량에 따른 차이도 보이지 않았다. DPPH radical 소거활성을 시험한 결과는 Fig. 3과 같다. 무첨가구와 감피 5% 첨가구 사이에서는 거의 유사한 활성을 보였으나, 감피 첨가량을 10%와 15%로 증가시킬 경우 감피 첨가에 의해 DPPH radical 소거활성이 다소 감소하는 경향을 보였다. 이는 감피 첨가에 따라 감잎의 첨가량의 상대적인 감소로 감잎 중의 페놀성 화합물의 함량이 상대적으로 감소한 것에 기인한 것으로 생각된다. 그러나 감피 첨가량을 20%로 증가시킨 경우에는 오히려 DPPH radical 소거활성이 무첨가구에 비하여 증가하는 것으로 나타났다.

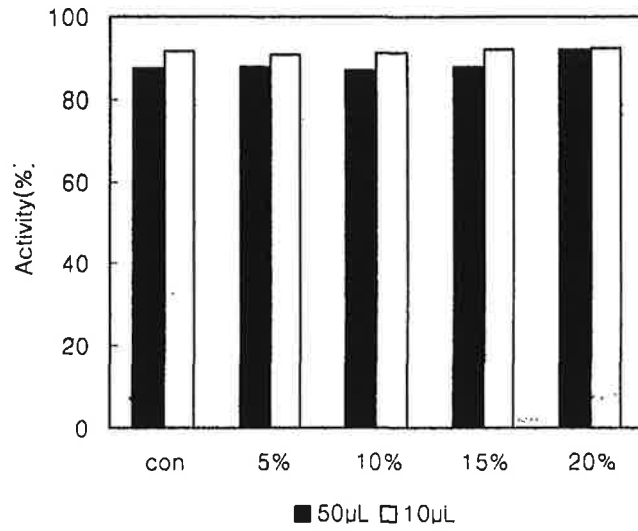


Fig. 2. Hydroxyl radical scavenging activity of persimmon leaf tea mixed with persimmon peel

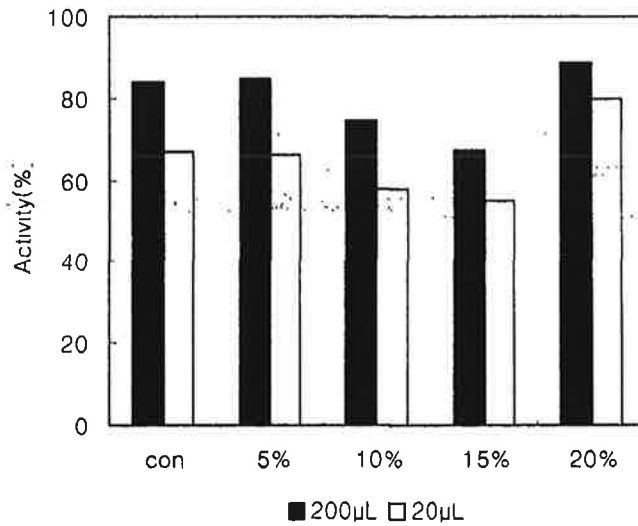


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of persimmon leaf tea mixed with persimmon peel.

6. 감피 식초의 제조

가. 알콜발효

전국 생산량의 절반을 차지하며 감 생산단지로 유명한 상주군에서 구입한 감피를 이용하여 감피식초를 제조하고자 1차적으로 알콜발효에 대한 이화학적 특성을 모니터링하였다. 감피를 이용하여 알콜 발효시 주요한 변수인 가수량(7~15 mL/g), 초기 당함량(12~16 °brix) 및 발효시간(46~54 hr)을 달리하면서 실험한 결과 Table 1과 같은 실험값을 얻었고, 반응표면에 의한 회귀분석 결과 회귀식은 Table 2와 같았다. 1차 알콜발효시 세가지 조건(가수량, 초기 당함량, 발효시간)에 따른 알콜함량의 변화를 반응표면으로 분석한 결과 R^2 는 0.8806이고 유의성은 5% 이내였다. 알콜함량의 변화에 가장 큰 요인을 주는 인자는 초기 당함량이었으며, 발효시간, 가수량 순으로 영향도가 낮게 나타났다(Table 3). 알콜함량에 가장 낮은 영향인자인 발효시간을 48시간으로 고정한 후 3차원 반응표면을 그린 결과 Fig. 1과 같은 안장점의 형태를 나타내었다. 알콜함량은 가수량과 초기 당함량이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었다. 발효최적 알콜생성 조건은 가수량이 12.68 mL/g, 초기당함량이 12.41 °brix 및 발효시간이 48.05 hr일 때였다(Table 4). 1단계 알콜발효 중 산도변화를 측정하여 회귀식으로 나타낸 결과는 Table 2와 같았으며 R^2 는 0.9149이고, 유의성은 5% 이내에서 인정되었다. 산도에는 가수량이 발효시간이나 초기당의 함량보다 더 큰 변수요인으로 나타났다(Table 3). 최소의 산도를 나타낸 조건은 가수량이 12.18 mL/g, 초기당함량이 13.72 °brix 및 발효시간이 46.22 hr일 때였다(Table 4). 잔당의 함량에 대한 회귀식 결과 R^2 는 0.8016이고 유의성은 인정되지 않았다(Table 2). 잔당은 초기당 함량이 발효시간 및 가수량보다 더 큰 변수요인으로 나타났다. 잔당이 최소의 함량을 나타내는 조건은 가수량이 13.07 mL/g, 초기 당함량이 12.61 °brix 및 발효시간이 52.00 hr일 때였다.

Table 1. Experimental data for alcohol contents, acidity and residual sugar concentration under different conditions of added water, initial sugar concentration and fermentation time for persimmon peel alcohol fermentation

Exp. No.	Fermentation conditions			Chemical properties		
	Added water (mL/g)	Initial sugar Conc. (°brix)	Fermentation time (hr)	Alcohol content (%)	Acidity (%)	Residual sugar Conc. (°brix)
1	13	15	52	7.6	0.33	6.0
2	13	15	48	7.0	0.32	6.0
3	13	13	52	7.6	0.31	4.0
4	13	13	48	8.0	0.30	4.0
5	9	15	52	7.5	0.36	5.0
6	9	15	48	7.4	0.35	4.0
7	9	13	52	6.4	0.37	4.0
8	9	13	48	7.8	0.36	4.0
9	11	14	50	7.1	0.32	5.0
10	11	14	50	7.1	0.32	4.0
11	7	14	50	7.0	0.42	5.0
12	15	14	50	7.6	0.36	4.2
13	11	12	50	7.4	0.36	4.0
14	11	16	50	7.8	0.36	6.2
15	11	14	46	7.2	0.30	4.0
16	11	14	54	7.4	0.36	4.0

Table 2. Polynomial equations calculated by RSM program for alcohol fermentation¹⁾ conditions for fermentation of persimmon vinegar

Response	Polynomial equation	R ²	Significance
Alcohol content (%)	$Y = 183.065625 - 1.059375X_1 - 10.1125X_2 - 3.975X_3$ $+ 0.0125X_1^2 - 0.10625X_1X_2 + 0.125X_2^2$ $+ 0.046875X_1X_3 + 0.15625X_2X_3 + 0.0125X_3^2$	0.8806	0.0330
Acidity (%)	$Y = 4.778750 - 0.158125X_1 - 0.3200X_2 - 0.0575X_3$ $+ 0.004375X_1^2 + 0.003750X_1X_2 + 0.010000X_2^2$ $+ 0.000625X_3^2$	0.9149	0.0132
Residual sugar conc. (°brix)	$Y = 1.737500 - 1.156250X_1 - 8.8000X_2 + 2.6250X_3$ $+ 0.00625X_1^2 + 0.187500X_1X_2 + 0.15000X_2^2$ $- 0.031250X_1X_3 + 0.062500X_2X_3 - 0.031250X_3^2$	0.8016	0.1202

¹⁾ X₁ : added water (mL/g), X₂ : initial sugar concentration (°brix), X₃ : fermentation time (hr)

Table 3. Analysis of variables for regression model of alcohol content, acidity and residual sugar concentration in alcohol fermentation conditions for fermentation of persimmon vinegar

Fermentation conditions	F-Ratio		
	Alcohol content (%)	Acidity (%)	Residual sugar conc. (°brix)
Added water (ml/g)	5.452**	12.912***	1.009
Initial sugar conc. (°brix)	7.577***	2.441	5.206**
Fermentation time (hr)	6.098**	2.000	0.411

* Significant at 10% level; **Significant at 5% level; ***Significant at 1% level

Table 4. Predicted levels of optimum conditions for alcohol fermentation of persimmon vinegar by the ridge analysis

Responses	Added water (mL/g)	Initial sugar concentration (°brix)	Fermentation time (hr)	Estimated responses	Morphology
Alcohol content (%)	12.68	12.38	48.05	8.22 (Max.)	Saddle point
Acidity (%)	12.18	13.72	46.22	0.30 (Min.)	Minimum
Residual sugar alcohol conc. (°brix)	13.07	12.61	50.00	3.22 (Min.)	Saddle point

나. 초산발효

최적의 이화학적 특성을 지닌 감피식초를 제조하기 위해 1단계에서 알콜발효에 대한 결과 측정결과 가수량이 12 mL/g, 초기 당함량이 12 °Brix 및 발효시간이 48시간으로 고정된 후 알콜발효를 하여 알콜 함량이 7.5%가 되었을 때, 초산발효에 사용하였다. 미활용 되고 있는 감피를 이용하여 저단가 가공식품을 개발함과 동시에 농산물의 고부가가치화를 위해 감피식초를 제조하였고, 16가지 실험조건에 의한 초산발효의 실험결과는 Table 5와 같다. 초산발효의 최적 조건을 설정하고자 초기산도, 교반속도 및 발효시간에 따른 알콜 및 초산함량의 변화를 측정하였다. 2단계 초산발효시 초기산도(0.5~2.5%), 교반속도(50~250 rpm) 및 발효시간(4~8 day)에 따른 알콜함량의 변화에 대한 회귀식을 구한 결과 Table 6와 같은 결과를 나타내었으며, 각각 16가지 조건에 따른 산도의 변화를 회귀분석한 결과 R^2 은 0.9195이었고 유의성은 1% 이내에서 인정되었다. 초산발효시 산함량은 발효시간에 가장 많은 영향을 받았으며, 초기산도와 교반속도의 순으로 영향력이 낮아졌다(Table 8). 최대 산도를 나타내는 조건은 초기산도가 1.91%, 발효시간이 6.53 day 및 교반속도가 63.09 rpm일 때 였다. 총산에 대한 실험값을 3차원 반응표면으로 분석한 결과 Fig. 2와 같다. 총산에 대한 3차원 반응표면을 그릴 때 영향도가 가장 낮은 교반속도를 70 rpm으로 고정시킨 후 초기산도 및 발효시간에 따른 총산의 변화를 살펴보면, 발효시간이 증가할수록 총산의 함량은 증가하는 경향을 나타내었으며, 초기산도가 높을수록 총산이 높게 나타났다. 16가지 실험조건에 대한 초산발효시 잔류알콜을 측정된 결과 R^2 는 0.7427이었고, 잔당의 R^2 는 0.5244, 탁도의 R^2 는 0.7965, 갈색도의 R^2 는 0.7458을 나타내었으며, 유의성은 인정되지 않았다(Table 6). 초산발효시 최대의 잔류 알콜함량을 나타낸 조건은 초기산도가 0.86%, 교반속도가 122.91 rpm 및 발효시간이 4.57 day 일 때 였다. 초산발효시 잔류알콜의 함량의 변화에 가장 큰 영향을 주는 인자는 발효시간이었으며, 그 다음으로 교반속도 및 초기산도의 순으로 나타났다. 잔당의 함량은 초기산도가 0.75%, 교반속도가 216.18 rpm 및 발효시간이 5.95 day 일 때 4.06로 가장 낮았다. 잔당의 함량에 대해서는 초기산도가 가장 많은 영향을 주었으며, 교반속도

와 발효시간의 영향은 거의 나타나지 않았다. 갈색도는 초기산도가 1.50%, 교반속도가 150.00 rpm 및 발효시간이 6.00 day 일 때 0.37로 가장 낮았다. 갈색도에 가장 많은 영향을 주는 인자는 초기산도로 나타났으며, 교반속도 및 발효시간은 잔당에 있어서와 동일하게 거의 영향을 미치지 않았다.

Table 5. Experimental data for alcohol contents, acidity and residual sugar concentration under different conditions of initial acidity, agitation rate and fermentation time for persimmon peel acetic acid fermentation

Exp. No.	Fermentation conditions			Physicochemical properties			
	Initial acidity (%)	Agitation rate (rpm)	Fermentation time (day)	Acidity (%)	Alcohol content (%)	Residual sugar conc. (°brix)	Browning color intensity (O.D.)
1	2.0	200	7	4.68	0.8	5.0	3.600
2	2.0	200	5	3.78	4.0	5.0	2.005
3	2.0	100	7	5.76	0.8	5.0	4.100
4	2.0	100	5	4.68	1.0	5.0	2.150
5	1.0	200	7	4.16	0.6	4.2	10.800
6	1.0	200	5	3.72	2.0	4.0	2.737
7	1.0	100	7	4.12	0.0	5.0	12.300
8	1.0	100	5	3.32	6.2	4.2	2.767
9	1.5	150	6	5.20	2.8	5.0	3.184
10	1.5	150	6	5.20	3.0	5.0	3.656
11	0.5	150	6	2.46	3.4	4.8	20.100
12	2.5	150	6	3.60	2.8	5.4	40.500
13	1.5	50	6	5.70	0.0	5.2	9.180
14	1.5	250	6	3.28	1.2	4.8	5.990
15	1.5	150	4	1.74	4.0	6.0	2.500
16	1.5	150	8	3.84	1.6	5.0	3.990

Table 6. Polynomial equations calculated by RSM program for acetic acid fermentation¹⁾ conditions for fermentation of persimmon vinegar

Response	Polynomial equation	R ²	Significance
Acidity (%)	$Y = -27.7275 + 7.9475X_1 + 0.039575X_2 + 7.618750X_3$ $- 2.17X_1^2 - 0.01210X_1X_2 - 0.000071X_2^2$ $+ 0.1850X_1X_3 - 0.001350X_2X_3 - 0.60250X_3^2$	0.9195	0.0113
Alcohol content (%)	$Y = 24.212500 - 12.275000X_1 - 0.005250X_2 - 2.937500X_3$ $+ 0.200000X_1^2 + 0.033000X_1X_2 - 0.000230X_2^2$ $+ 1.050000X_1X_3 + 0.004500X_2X_3 - 0.025000X_3^2$	0.7427	0.2193
Residual sugar conc. (°brix)	$Y = 7.012500 + 0.925000X_1 - 0.000750X_2 + 0.962500X_3$ $+ 0.100000X_1^2 + 0.005000X_1X_2 - 0.250000X_1X_3$ $- 0.001500X_2X_3 + 0.125000X_3^2$	0.5244	0.6748
Browning color intensity (O.D.)	$Y = 21.979938 - 57.220875X_1 - 0.114906X_2 + 7.986062X_3$ $+ 26.880000X_1^2 + 0.004425X_1X_2 + 0.000417X_2^2$ $- 3.512750X_1X_3 - 0.004563X_2X_3 - 0.043750X_3^2$	0.7458	0.2136

¹⁾ X₁ : initial acidity (%), X₂ : agitation rate (rpm), X₃ : fermentation time (day)

Table 7. Analysis of variables for regression model of alcohol content, acidity and residual sugar concentration and browning color intensity in acetic acid fermentation conditions for fermentation of persimmon vinegar

Fermentation conditions	F-Ratio			
	Acidity (%)	Alcohol content (%)	Residual sugar conc. (°brix)	Browning color intensity (O. D.)
Initial acidity (%)	7.705 ^{***}	1.109	1.067	3.118 [*]
Agitation rate (rpm)	3.841 [*]	1.496	0.342	0.0893
Fermentation time (day)	9.415 ^{***}	2.403	0.443	0.245

* Significant at 10% level; **Significant at 5% level; ***Significant at 1% level

Table 8. Predicted levels of optimum conditions for acetic acid fermentation of persimmon vinegar by the ridge analysis

Responses	Initial acidity (%)	Agitation rate (rpm)	Fermentation time (day)	Estimated responses	Morphology
Acidity (%)	1.91	63.09	6.52	6.40(Max)	Saddle point
Alcohol content (%)	0.86	122.91	4.57	5.89(Max)	Saddle point
Residual sugar alcohol conc. (°brix)	0.75	216.18	5.95	4.06(Min)	Saddle point
Browning color intensity (O. D.)	1.50	150.00	6.00	1.37(Min)	Saddle point

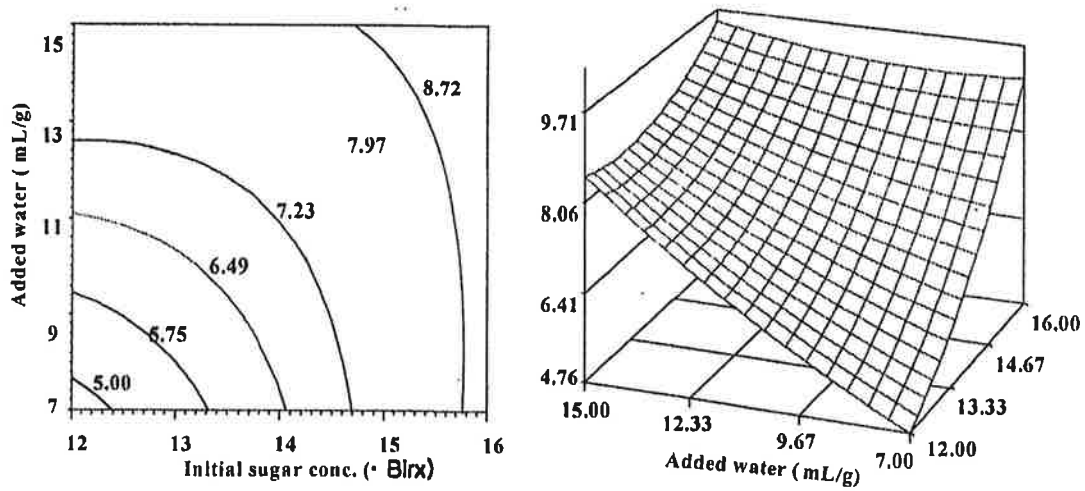


Fig. 1. Contour map and response surface for alcohol content in alcohol fermentation using persimmon at constant values as a function of added water and initial sugar concentration at fermentation time of 48 hr.

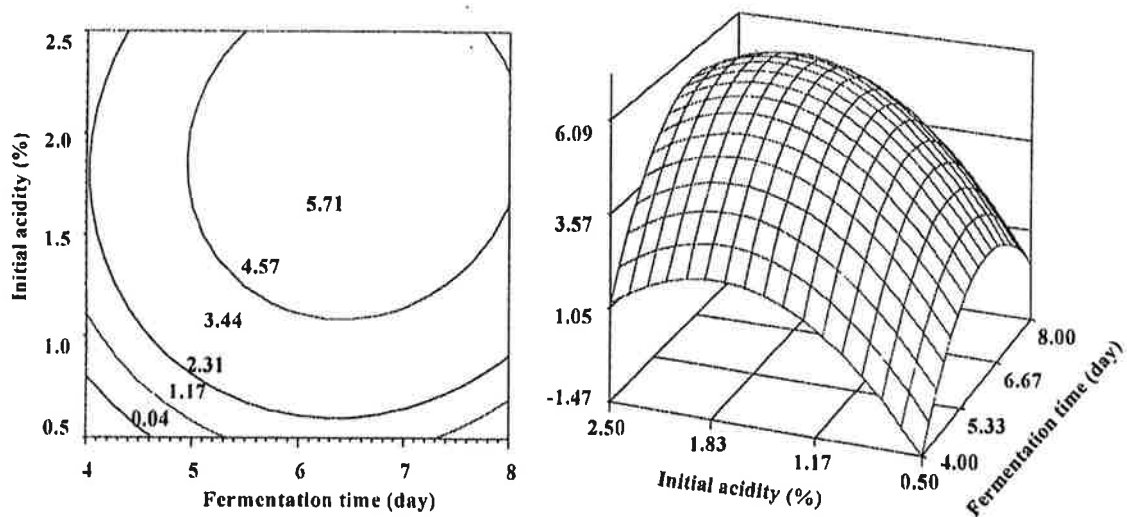


Fig. 2. Contour map and response surface for acidity in acetic acid fermentation using persimmon at constant values as a function of initial acidity and fermentation time at agitation rate of 70 rpm.



Fig. 3. Photograph of persimmon peel vinegar.

제 3 장 꽃감 부산물의 생체 기능성 검정

제 1절 서 설

꽃감 제조시의 부산물인 감피의 신기능성을 검정하고 이를 이용한 기능성 제품 개발이 요구된다. 최근 식품의 기능을 1차 기능-영양, 2차 기능-관능, 3차 기능-생리효과로 나누고, 3차 기능에 대한 연구를 통하여 소위 "Functional food" 또는 "Nutraceutical" 등의 이름으로 개발 연구가 활발하다. 따라서, 꽃감 제조시의 부산물인 감피로부터 우수한 3차기능이 발견되면 충분히 소비자의 요구를 창출할 수 있고, 기능성 식품 소재로서 상업적으로 제품화가 가능하리라 본다.

우리나라 성인에서 암 및 간질환 그리고 심장마비, 뇌경색, 당뇨, 골질환 등의 성인병에 의한 사망률이 높아 상당한 의료비를 요구하고 있다. 이러한 질병은 단기간 내에 발생하는 것이 아니고 유전적 요인과 식생활 등의 환경적 요인에 의해서 일어나므로 예방효과가 있는 식품을 꾸준히 섭취함으로써 면역능력을 증진시킬 수 있어 유전자의 변이와 발암물질이 구조적으로 발현되는 것을 어느 정도 저해할 수 있으며 혈액 순환의 흐름을 원활하게 할 수 있는 등 다양한 건강 증진 효과를 가져올 수 있다.

따라서, 우리나라에서 꽃감 제조시 폐기물로서 버려지는 감피를 본격적으로 이용하여 새로운 상품으로의 개발이 진행된다면 무엇보다 폐자원의 활용뿐만 아니라 환경 개선에도 큰 기여를 할 것이다. 그리고 감피로부터 위에서 언급한 질병예방 및 치료 인자를 찾아냄으로써 소비자의 건강식품에 대한 요구를 만족시키고 수요를 창출할 수 있으며, 또한 버려지는 폐자원인 감피를 이용함으로써 농민들의 소득향상을 기대할 수 있다. 또한 만성 성인질환, 간질환, 위질환, 난치병 등 사회적으로 의료 비용지출이 높은 질환을 평소에 섭취하는 음식을 통하여 예방 혹은 치료하게 함으로써 과중한 사회적 부담을 경감시킬 수 있으며, 감피를 기능성 소재로 개발함으로써 농촌의 소득 안정화를 통하여 농업기반의 유지를 꾀할 수 있을 것이다.

제 2절 재료 및 방법

1. 조추출물 조제

품종별 감피를 70% 메탄올로 추출하여 감압농축하여 생체 기능성 시험 검정용 시료로 사용하고, 종양억제활성 시험은 100% 메탄올로 추출하였다.

2. 항산화성 시험

가. DPPH 라디칼 소거활성

감피의 메탄올 조추출물의 DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 소거활성은 다음과 같이 시험하였다. 에탄올 적정량에 시험액 0.2 mL와 4×10^{-4} M DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 10초간 혼합한 후 10분간 실온에서 방치후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 대조구에 대한 시료 첨가구의 흡광도를 비교하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{Abs}{Abc}\right) \times 100$$

Abc : Absorbance of DPPH solution without sample at 525 nm

Abs : Absorbance of DPPH solution with sample at 525 nm

나. Hydroxyl 라디칼 소거활성

시험관에 0.1 mM Fe²⁺/EDTA 용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 시료액 0.2 mL (10 ppm, 1 ppm)와 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL, 10 mM H₂O₂ 0.2 mL를 가하고 37°C 수욕조에서 4시간 반응시킨 후 2.8% trichloroacetic acid(TCA)용액 1 mL를 가하여 반응을 중지시키고, 1% thiobarbituric acid(TBA)용액 1 mL를 가하여 100°C에서 10분간 가열시킨 후 급속히 냉각하고 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 저해활성은 다음과 같이 계산하였다.

$$\cdot\text{OH radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{A_s - A_o}{A_c - A_o}\right) \times 100$$

Ao : Absorbance of blank at 532nm

Ac : Absorbance of control at 532nm

As : Absorbance of sample at 532nm

다. 지질과산화물 생성억제활성

80% 에탄올에 녹인 시료액 120 μL 를 2.51% linoleic acid 2.88 mL, 40 mM phosphate buffer(pH 7.0)와 혼합한 후 40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 incubation 하였다. 경시적으로 시료액 100 μL 를 75% 에탄올 9.7 mL에 희석한 후 30% ammonium thiocyanate 용액 100 μL 를 가하고 3분 후 20 mM FeCl_2 /3.5% HCl 100 μL 씩을 가하여 강하게 진탕시킨 다음 500 nm에서 흡광도를 측정하여 생성되는 과산화물량을 대조구와 비교하였다. 이때 지질과산화물 생성 억제능은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Lipid peroxidation inhibitory activity(\%)} = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100$$

Ac : Absorbance of control at 500 nm

As : Absorbance of sample at 500 nm

3. 항고혈압성

Rabbit lung powder를 10배 volume의 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3)로 현탁하고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 원심분리하여 효소를 분리하고 이것을 40,000 $\times\text{g}$ 에서 40분간 원심분리하여 그 상등액을 조효소액으로 사용하였으며, 기질은 400 mM NaCl을 함유한 sodium borate buffer 2.5 mL에 Hippuryl-His-Leu 25 mg을 용해하여 기질로 사용하였다.

ACE 저해활성 측정은 소정 농도의 시료 50 μ L에 ACE 조효소액 50 μ L 및 sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μ L를 가하고 37°C에서 5분간 preincubation 시켰다. 여기에 기질용액 50 μ L를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μ L를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15초간 교반 후 3000 rpm에서 5분간 원심분리시켜 상층액 0.5 mL를 취하였다. 이 상층액을 완전히 건조시킨 후 증류수 3 mL를 가하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의하여 ACE 저해율로써 나타내었다.

$$\text{ACE inhibition ratio(\%)} = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

Ac : Absorbance of control at 228 nm

As : Absorbance of sample at 228 nm

4. 변이원성 및 항돌연변이원성

Salmonella typhimurium TA 98과 TA 100을 이용한 Ames test를 실시하였으며, 실험에 사용한 균주의 유전적 특성은 Table 1과 같다.

배지는 minimal glucose agar를 사용하였으며, 조성은 Vogel-Bonner medium E에 1.5% Bacto-Difco agar와 2% glucose를 함유하며, Vogel-Bonner medium E(50X)는 distilled water 670 mL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 g, citric acid monohydrate 100 g, K_2HPO_4 500 g, $\text{NaNH}_4\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 175 g을 함유하게 제조하였다. Top agar는 0.6% Difco agar와 0.5%의 NaCl을 함유하며 top agar 100 mL당 10 mL의 0.5 M L-histidine/0.5 mM biotine 용액을 첨가하여 사용하였다.

시험용 균주의 배양은 untrient broth 용액을 첨가하여 사용하였다.

Table 1. Genotype of *S. typhimurium* TA 98 and TA 100 strains used for mutagenesis test

Strains*	Histidine mutation in strain	Additional mutations in : LPS Repair	Introduced R-factor pKM101
TA 98	<i>hisD3052</i>	<i>rfa(Δ)uvrB</i>	+
TA 100	<i>hisG46</i>	<i>rfa(Δ)uvrB</i>	+

* Two strains were originally derived from *Salmonella typhimurium* LT-2. The deletion(Δ) through *uvrB* also includes the nitrate reductase and biotin genes. the *rfa* mutation eliminate the polysaccharide side of lipopolysaccharide(LPS) that coats the bacterial surface.

돌연변이원성의 시험은 멸균된 cap tube에 top agar 2 mL를 가하고 새로 배양한 균액(37°C, 14 hrs, 210 rpm) 0.1 mL와 시료용액 0.1 mL를 넣어 약 3초 동안 교반한 후 minimal glucose agar 위에 부어 top agar 용액을 균일하게 퍼지게한 다음 37°C에서 48시간 배양한 후 histidine revertant colony를 계측하였다. 이때 positive control (mutagen)은 TA 98에서는 직접변이원으로는 4-nitro-o-phenylenediamine(NPD) 간접변이원으로는 2-aminoflorene(2-AF), TA 100에서는 직접변이원으로 4-nitroquinolineoxide(NQO)를 간접변이원으로는 2-aminoflorene(2-AF)사용하였다. 이때 negative control은 dimethylsulfoxide(DMSO)를 사용하였다.

돌연변이 유발성의 판정은 3개의 plate에 나타난 복귀돌연변이 집락수를 평균하여 negative control의 2배 이상의 복귀돌연변이 집락수가 관찰되거나, 농도 의존성이 있는 것으로 판정하였다.

항돌연변이원성 시험은 균 배양액 및 mutagen을 0.1 mL씩 가한 다음 시료 용액을 각 농도별로 첨가하여 변이원성 시험과 동일하게 배양하여 minimal glucose agar 배지에 생육하는 His⁺ 복귀돌연변이 콜로니 수를 아래의 식으로 환산하여 His⁺ 복귀 돌연변이 지

해율(inhibition ratio)로서 나타내었다.

$$\text{Inhibition ratio(\%)} = \frac{(a-b)}{(a-c)} \times 100$$

a: 변이원에 의해 유도된 His⁺ 복귀돌연변이 콜로니 수

b: 변이원과 시료 처리시 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수

c: 변이원과 시료를 무처리시 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수

5. MTT assay

암세포주는 인간 유래의 U937(혈액암 세포주), SNU-668(위암 세포주) 및 HepG2(간암 세포주)를 사용하였으며, 이들 세포들은 RPMI 1640 배지에 10% FBS(fetal bovin serum)와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하여 MTT assay로 감피 추출물의 암세포 성장 저해효과를 검색하였다.

6. 항당뇨효과

3T3-L1 지방세포를 10% bovin calf serum을 함유한 DMEM 배지에서 37°C의 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 세포를 0.5% BSA와 함께 12-well plate에 24시간 배양한 다음 TNF- α , TNF- α 와 시료로 각각 24시간 처리한 후 배양액 중의 글리세롤과 유리지방산의 함량을 무처리 대조군과 비교하여 항당뇨 효과를 측정하였다.

7. Oil Red O 염색

3T3-L1 지방세포를 10% bovin calf serum을 함유한 DMEM 배지에서 37°C의 5% CO₂ incubator에 4일 배양한 후 oil red O로 세포를 염색한 후 항당뇨 효과를 확인하였다.

8. STZ-유도 당뇨모델을 이용한 감피 분말의 혈당 강하효과 및 지질대사의 개선효과 검색

1) 실험동물

생후 6주된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(180-200 g) 28마리를 rat용 일반고형사료로 10일간 적응시킨 후 평균체중이 유사하도록 group당 7마리씩 4개군으로 나누었다. 즉 실험군의 분류는 control(정상군), D-control(당뇨대조군), D-5%(5% 감피분말 식이 당뇨군) 그리고 D-10% (10% 감피분말 식이 당뇨군)으로 하였다.

2) STZ를 이용한 동물모델의 당뇨병 유발

10일간의 적응이 끝난 후 당뇨군의 동물에 0.01 M citric acid buffer 용액(pH 4.5)에 녹인 STZ(45 mg/kg BW)을 복강내에 1회 주사하여 당뇨를 유발시켰으며 정상군은 동량의 0.01 M citric acid buffer 용액(pH 4.5)을 복강내에 주사하였다. 당뇨유발 확인은 STZ주사 48시간 후 공복상태에서 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 공복시 혈당 수준이 300 mg/dl 이상일 때 당뇨병이 유발된 것으로 간주하였다.

3) 체중변화 및 사료와 수분 섭취량의 조사

실험식이 개시일을 시작으로 충분한 양의 식이와 물을 급여하면서 동물의 체중변화를 관찰하였고 일일 평균 사료 및 수분 섭취량을 측정하였다.

4) 혈당 및 혈청지질의 수준 측정

실험식이 급여 4주 후 실험동물을 희생시키고 채혈하였다. 혈청중 glucose 농도는 glucose oxidase법에 따라 조제된 시약 kit, 총 지질 함량은 phospho-vanillin법, 중성 지방은 중성지방 측정용 kit, 총 콜레스테롤 함량은 총 콜레스테롤 측정용 kit 그리고 HDL-콜레스테롤 농도는 HDL-콜레스테롤 측정용 kit을 각각 사용하여 측정하였다. 실험결과 통계처리는 ANOVA와 Duncan의 다중검정 의해 유의성을 검정하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 항산화성

감피 70% 메탄올 추출물의 항산화 활성을 시험하기 위하여 조추출물을 100 ppm, 10 ppm 농도로 첨가하여 DPPH 라디칼 소거능, hydroxyl 라디칼 소거능, 과산화물 생성억제 활성을 각각 시험하였다. DPPH법에 의한 전자공여능 시험에서는 20% 내외의 비교적 낮은 활성을 나타내었고 황여와 월하시에서는 10% 미만의 낮은 전자공여능을 보였다.

2-deoxyribose의 개열에 의한 TBARS의 생성을 측정하여 hydroxyl 라디칼 소거능을 시험한 결과 대부분의 품종에서 70% 이상의 라디칼 소거능을 나타내었으며, 상주동시와 함안수시의 경우 89.77%와 84.41%로 α -tocopherol(95.43%)과 BHA(97.39%)에는 못 미치나 강한 항산화 활성을 나타내었다.

Linoleic acid를 기질로 하여 과산화물 생성억제능을 시험한 결과 21.01~38.51%의 억제활성을 보였으며, 고종시, 청도반시, 상주동시, 함안수시가 다른 품종에 비하여 약간 높은 활성을 보였다.

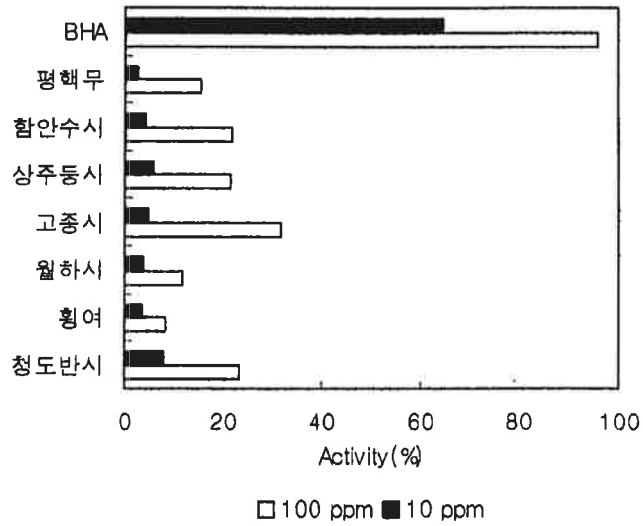


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of persimmon peels.

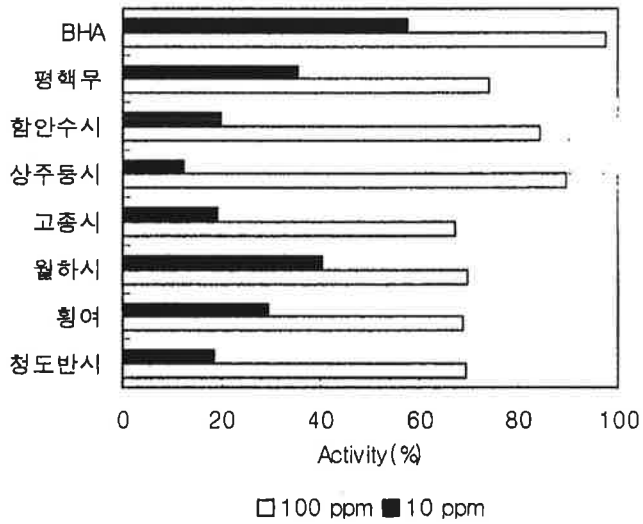


Fig. 2. Hydroxyl radical scavenging activity of persimmon peels.

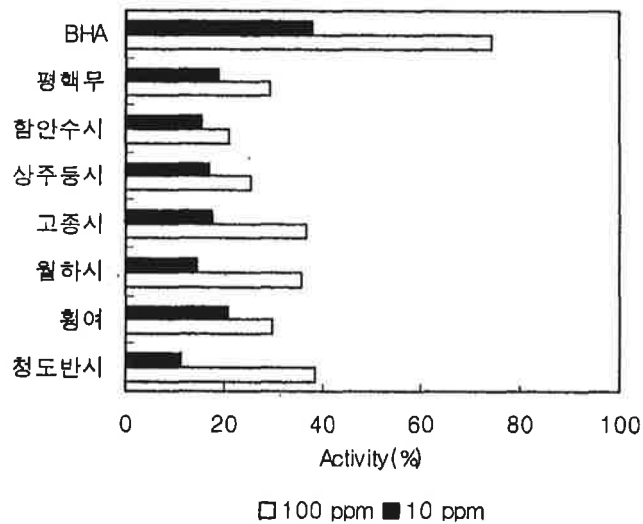


Fig. 3. Lipid peroxidation inhibitory activity of persimmon peels.

2. 항고혈압성

ACE 효소의 저해활성을 측정하여 품종별 감피의 조추출물을 400 ppm 농도로 첨가하여 항고혈압성을 시험한 결과 11.76~58.61%의 저해활성을 보여 품종별로 다소 차이를 보였다. 이때 대조구로 사용한 bradykinin은 87.42%의 저해를 보였다. 품종별로 보면 평핵무, 상주동시, 함안수시에서 비교적 높은 활성을 보인 반면, 황여와 고정시의 경우에는 매우 낮은 저해활성을 보였다.

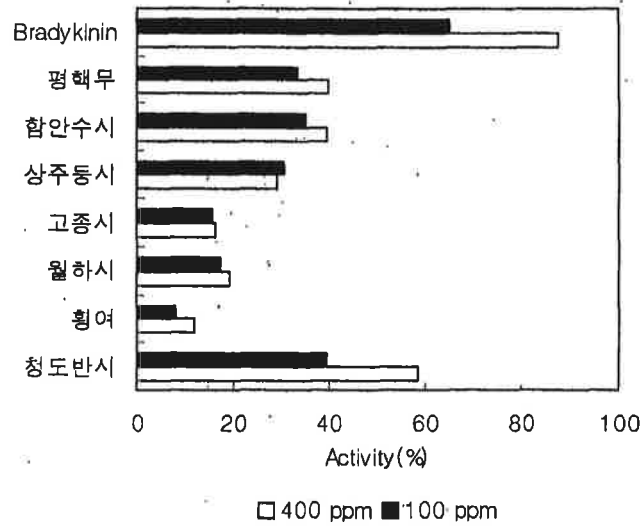


Fig. 4. ACE inhibitory activity of persimmon peels.

3. 변이원성 및 항돌연변이원성

가. 변이원성

*Salmonella typhimurium*의 복귀돌연변이 현상을 Ames test로 감과피 조추출물을 TA 98과 TA 100에 대하여 추출물의 농도를 0.5 mg에서 4.0 mg까지 증가시키면서 변이원성 실험을 한 결과 복귀 돌연변이된 colony 수(histidine revertant)가 농도의존적으로 증가하지 않았다. 또한 대사활성화를 시키기 위하여 S-9 mixture를 첨가하여 돌연변이 유무를 관찰하였을 때도 histidine revertant의 수가 증가하지 않았다. 따라서 감과피의 메탄올 조추출물은 변이원성을 나타내지 않는 것으로 판단되었다.

Table 2. Mutagenicity of persimmon peel against *Samonella typhimurium* TA 98 and TA 100

Cultivars	Dose (mg/plate)	Revertants/plate				
		Without S-9 mix		With S-9 mix		
		TA 98	TA 100	TA 98	TA 100	
Negative	0	21 ± 2	176 ± 7	24 ± 3	192 ± 12	
	0.5	23 ± 2	165 ± 9	21 ± 2	189 ± 14	
	상주등시	1.0	22 ± 1	154 ± 11	23 ± 4	184 ± 15
		2.0	20 ± 3	159 ± 9	22 ± 3	167 ± 13
		4.0	21 ± 4	163 ± 14	25 ± 3	185 ± 11
고종시	0.5	26 ± 5	148 ± 12	21 ± 2	178 ± 12	
	1.0	21 ± 2	177 ± 15	24 ± 1	165 ± 10	
	2.0	21 ± 3	172 ± 18	26 ± 1	168 ± 18	
	4.0	23 ± 1	180 ± 14	27 ± 4	158 ± 17	
월하시	0.5	22 ± 4	162 ± 9	24 ± 5	149 ± 12	
	1.0	24 ± 0	155 ± 17	25 ± 2	153 ± 14	
	2.0	21 ± 1	159 ± 11	26 ± 4	147 ± 15	
	4.0	23 ± 2	148 ± 13	23 ± 6	165 ± 16	
청도반시	0.5	25 ± 4	172 ± 14	24 ± 3	157 ± 21	
	1.0	24 ± 2	170 ± 16	25 ± 2	156 ± 15	
	2.0	23 ± 3	163 ± 12	22 ± 5	182 ± 14	
	4.0	22 ± 3	165 ± 11	20 ± 4	180 ± 18	
함안수시	0.5	24 ± 4	159 ± 10	21 ± 3	168 ± 13	
	1.0	21 ± 2	160 ± 15	23 ± 4	173 ± 12	
	2.0	20 ± 5	177 ± 15	21 ± 2	179 ± 20	
	4.0	21 ± 1	158 ± 14	24 ± 1	162 ± 14	
평해무	0.5	18 ± 4	153 ± 13	23 ± 1	157 ± 16	
	1.0	22 ± 3	169 ± 16	25 ± 4	166 ± 17	
	2.0	23 ± 2	179 ± 12	21 ± 2	158 ± 18	
	4.0	22 ± 5	180 ± 18	20 ± 3	169 ± 15	
횡여	0.5	24 ± 2	189 ± 20	19 ± 5	162 ± 12	
	1.0	25 ± 4	147 ± 21	25 ± 4	154 ± 14	
	2.0	21 ± 1	156 ± 22	25 ± 1	163 ± 19	
	4.0	26 ± 3	166 ± 16	24 ± 2	175 ± 11	

나. 항돌연변이원성

갑피 조추출물을 NPD와 NQO를 직접변이원으로 하여 돌연변이를 유도하면서 TA 98과 TA 100에 대한 돌연변이 억제활성을 측정된 결과 TA 98에는 23~37% 정도, TA 100에는 11~32% 정도의 돌연변이 억제활성을 나타내어 갑피의 70% 메탄올 조추출물은 직접변이원인 NPD와 NQO에 대하여는 강한 돌연변이 억제 효과를 나타내지 못했다. 간접변이원으로 2-AF를 사용하면서 S9 mixture로 대사활성화를 시키면서 돌연변이를 유도한 결과, 1 mg/plate 농도에서 TA 98과 TA 100에 대하여 돌연변이 유발을 억제하였다. 특히 고종시의 경우 frame shift type mutant인 TA 98에 대해서는 44.66%, base pair exchange type mutant인 TA 100에 대해서는 68.31%의 가장 높은 돌연변이 억제활성을 나타내었다. 상주 등시, 월하시, 함안수시에서도 TA 98에 대하여 40% 이상, TA 100에 대하여 50~60%의 돌연변이 억제활성을 보였다. 따라서 갑피의 메탄올 조추출물은 직접변이원 보다는 간접변이원에 대한 돌연변이를 억제하는데 더 효과적이었다. 이는 대사활성과정에서 간접 변이원을 불활성화시키는 것으로 생각되어진다. 또한 품종별로는 직접변이원 및 간접변이원, TA 98과 TA 100 사이의 항돌연변이원성에는 큰 차이가 없었다.

Table 3. Antimutagenic effects of methanol extract from persimmon peels on the mutagenicity induced by direct mutagen(NPD, NQO) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA 100 without S9 mixture

Samples	Revertants/plate(inhibition %)	
	TA 98	TA 100
Spontaneous	22±3	97±15
NPD	3412±346	
NQO		875±134
상주등시	2174±198(37.07)	595±89(32.00)
고종시	2220±164(34.93)	612±107(30.05)
월하시	2312±142(32.23)	648±131(25.94)
청도반시	2578±224(24.44)	603±103(31.08)
함안수시	2441±192(28.45)	625±74(28.57)
평해부	2612±136(23.44)	772±145(11.77)
횡여	2261±245(33.73)	712±98(24.83)

Table 4. Antimutagenic effects of methanol extract from persimmon peels on the mutagenicity induced by indirect mutagen(2-AF) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA 100 with S9 mixture

Samples	Revertants/plate(inhibition %)	
	TA 98	TA 100
Spontaneous	21±4	132±15
2-AF	459±29	950±43
상주등시	254±20(44.66)	376±29(60.42)
고종시	198±26(56.86)	301±34(68.31)
월하시	262±18(42.91)	514±28(45.89)
청도반시	275±17(40.39)	692±42(27.15)
함안수시	269±21(41.39)	455±47(52.10)
평해부	305±19(33.55)	546±25(42.52)
횡여	331±26(27.88)	615±33(35.26)

4. MTT assay

항종양 활성은 부유형 세포(U937 : Human Leukemia carcinoma)와 부착형 세포(SNU-668 : Human Gastric carcinoma, HepG2 : Human hepatocellular carcinoma)에 대하여 각각 실시하였다. 부유형 세포인 U937에서는 대부분의 시료에서 60% 이상의 매우 높은 저해율을 보였으며 그 중에서도 고종시, 청도반시, 함안수시, 평해무를 500 μ g을 주입하였을 때 70% 이상으로 가장 높은 저해율을 보였다(Fig. 5,6). 부착형 세포중 인간의 위암세포인 SNU-668에서는 500 μ g, 1000 μ g에서 저해효과는 미비하였으나(Fig. 7,8), HepG2에서는 50% 이상의 비교적 높은 저해율을 보였으며 특히 1000 μ g/mL 다 500 μ g/mL에서 성적이 우수하였다(Fig. 9,10).

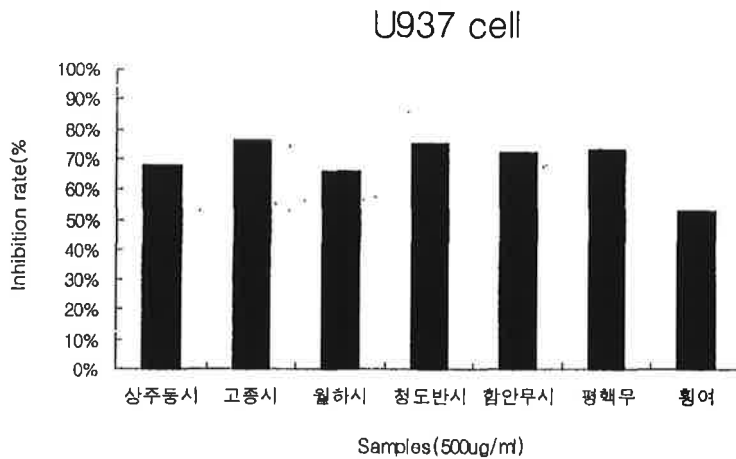


Fig. 5. Inhibitory effect of Persimmon extract(500 μ g/mL) on the group of U937.

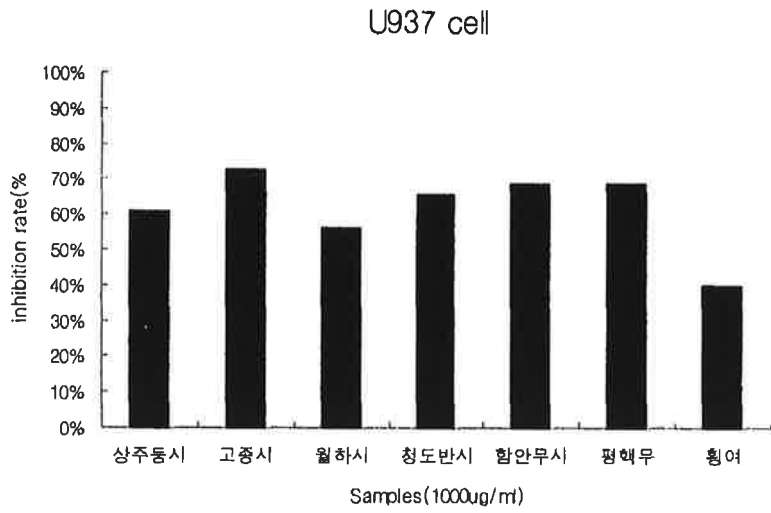


Fig. 6. Inhibitory effect of Persimmon extract(1000 $\mu\text{g/mL}$) on the group of U937.

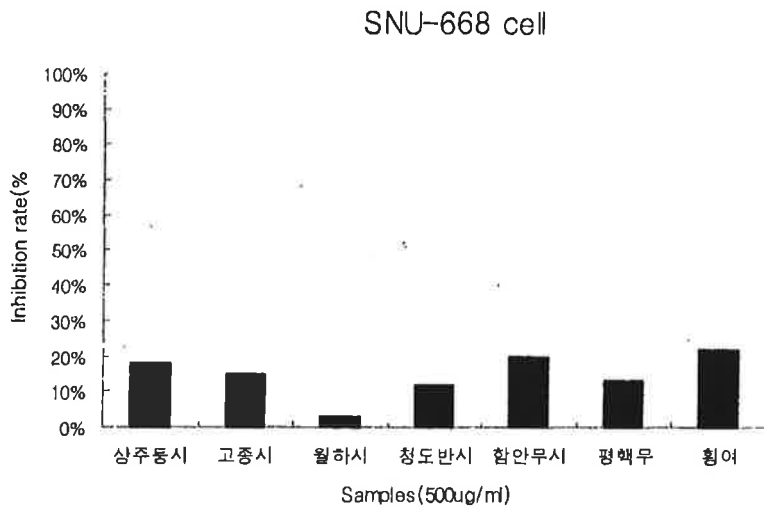


Fig. 7. Inhibitory effect of Persimmon extract(500 $\mu\text{g/mL}$) on the group of SNU-668.

SNU-668 cell

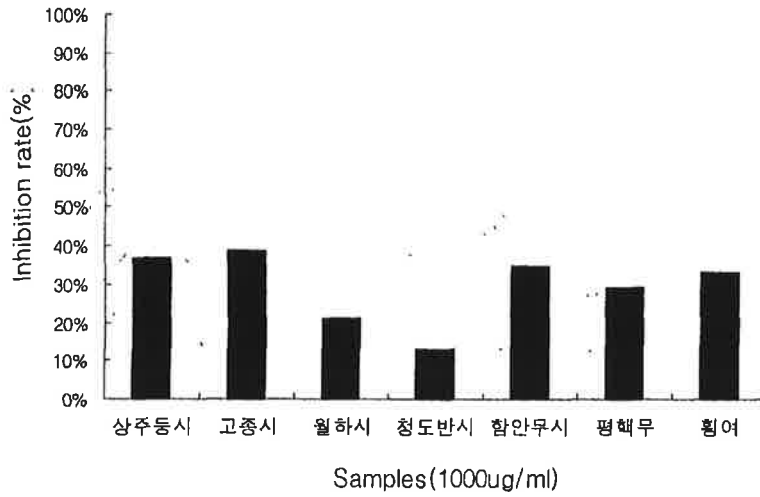


Fig. 8. Inhibitory effect of Persimmon extract(1000 $\mu\text{g/mL}$) on the group of SNU-668.

HepG2 cell

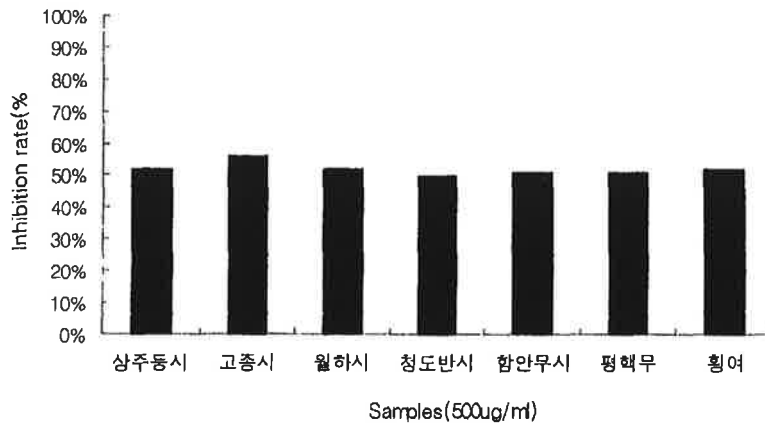


Fig. 9. Inhibitory effect of Persimmon extract(500 $\mu\text{g/mL}$) on the group of HepG2.

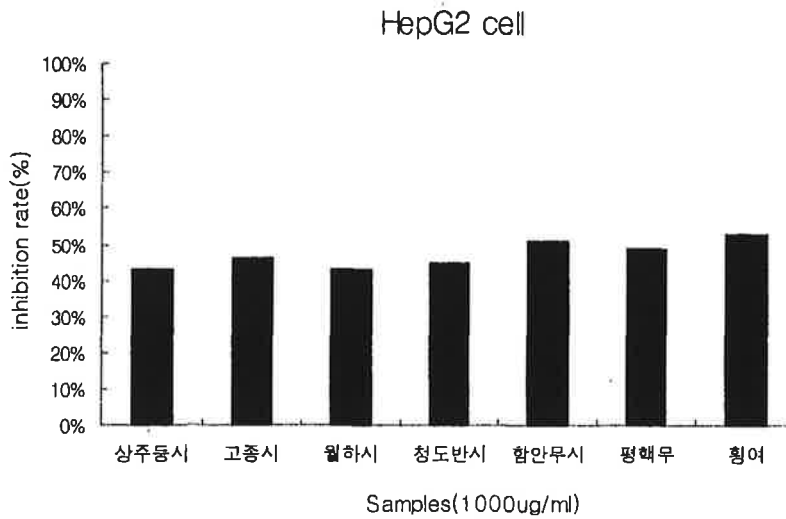


Fig. 10. Inhibitory effect of Persimmon extract(1000 $\mu\text{g/mL}$) on the group of HepG2.

5. 항당뇨효과

항당뇨의 효과는 insulin과 $\text{TNF-}\alpha$ 와의 관계를 이용하여 실험하였다. 3T3-L1 adipocyte cell과 $\text{TNF-}\alpha$ 를 함께 배양하였을 때 $\text{TNF-}\alpha$ 는 glycerol과 free fatty acid의 방출량을 증가시킨다. 이런 지방산의 다량 방출은 insulin 저항성을 증가시키게 되고, 그 결과로 insulin activity 저하를 유도하며 당뇨 수치를 높여주게 된다. 이 과정 중에서 $\text{TNF-}\alpha$ 에 의해 생성된 glycerol과 free fatty acid의 양을 감소시키게 되면 insulin의 activity를 높여주게 되며 항당뇨 효과가 있다고 사료된다. 감피를 시험한 결과 대부분 $\text{TNF-}\alpha$ 에 의해 생성된 glycerol과 free fatty acid의 양을 감소시켰다(Fig. 11).

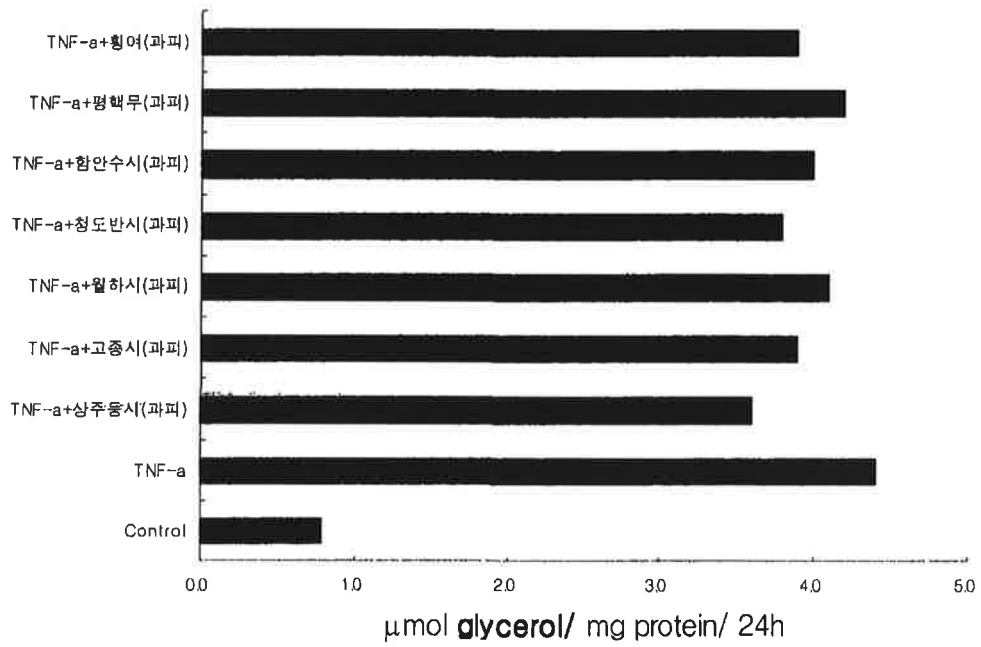


Fig. 11. Effects of TNF- α and persimmon extracts on adipocyte lipolysis.

6. Oil Red O 염색

시료처리에 의해 항당뇨효과가 가장 높은 것을 선정하여 Oil Red O로 염색하여 확인하였다. Oil Red O의 염색은 세포내 지방산이 있게 되면 붉은 색으로 관찰된다. 3T3-L1 세포에 상주등시 과피 추출물을 처리하여 morphorage를 관찰한 결과 세포내에 지방산의 축적으로 인한 Oil Red O 염색이 된 것을 확인 할 수 있었다. 이는 세포내의 glycerol과 free fatty acid의 축적으로 방출량이 감소되며 인슐린의 activity를 증가시키게 되어 항 당뇨 효과가 있음을 관찰하였다(Fig. 12).

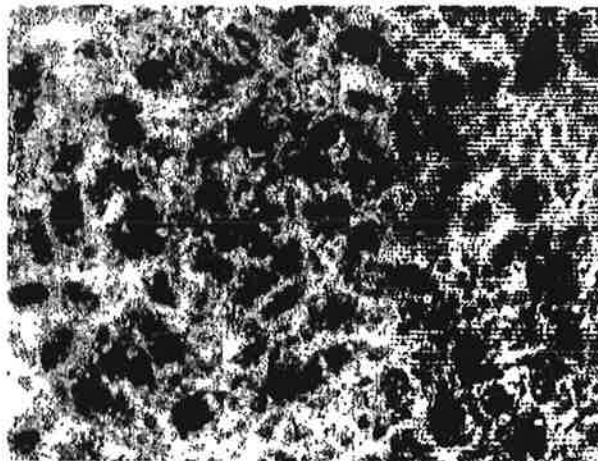


Fig. 12. Staining of 3T3-L1 adipocyte cell treated with persimmon peel extract.

7. STZ-유도 당뇨모델을 이용한 감피 분말의 혈당 강하 효과 및 지질대사의 개선효과 검색

Streptozotocin으로 당뇨를 유도한 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(270-300 g)를 이용하여 감피 분말의 혈당강화 및 지질대사의 개선능력을 검색하였다. 5%와 10%의 감피 분말 첨가 식이군을 정상군과 당뇨대조군과 비교한 결과 혈당과 사료 섭취량은 당뇨군보다 유의적으로 낮았으나($P < 0.001$), 체중변화에 있어서는 유의적인 차이를 인정할 수 없었으며, 모든 당뇨군이 정상군에 비해 유의적으로 낮은 체중증가를 보였다(Table 5). 혈청 중성지방의 수준은 감피 첨가군이 당뇨대조군에 비해 현저한 유의적인 저하를 보였으며($P < 0.05$), 총 콜레스테롤 또한 정상군에 비해서는 다소 높은 수준이었지만 당뇨대조군에 비해서는 유의적인 저하를 보였다($P < 0.005$). HDL-콜레스테롤의 수준은 정상군에 비해 모든 당뇨군들에서 높은 수준을 보였으며, 그중 5% 감피 분말 첨가군이 유의적으로 높은 수준을 보였다($P < 0.005$). 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 감피 첨가군들이 정상군과 당뇨대조군에 비해 유의적으로 높은 비율을 보였으며($P < 0.01$), 그중 5% 감피 분말 첨가군이 가장 높았다. 동맥경화지수 또한 감피 분말 첨가군들이 다른 군들에 비해 유의적으로 낮았으며($P < 0.05$), 5% 감피 분말 첨가군이 역시 가장 낮은 값을 보였다(Table 6). 이상의 결과들로 보아 감피가 전반적으로 당뇨쥐의 혈당을 다소 낮추는 효과가 있고, 혈청 지질대사의 개선효과 등 부분적으로 당뇨병 개선효과가 있는 것으로 보이며, 그중에서도 5% 감피 분말 첨가군이 10% 첨가군 보다 당뇨병 개선효과가 우수한 것으로 나타났다.

Table 5. Body weight, water intakes, food intakes and fasting blood glucose levels of rats fed experimental diet for 4 weeks⁽¹⁾

Groups ²⁾	Body weight change (g/14 day)	Water Intake (mL/day)	Food Intake (g/day)	Fasting blood glucose (mg/dL)
Control	79.00±18.29 ^a	43.88±3.58 ^b	22.78±2.90 ^a	97.33±3.06 ^c
D-control	-6.75±10.41 ^b	242.74±11.08 ^{aa}	40.60±2.30 ^c	404.33±22.28 ^a
D-5%	5.6±28.65 ^{bb}	229.88±26.25 ^a	36.96±2.74 ^{bb}	346.33±4.73 ^b
D-10%	-3.43±22.27 ^{bb}	235.57±19.33 ^{aa}	36.50±3.35 ^b	350.67±13.65 ^{bb}

¹⁾ Values are expressed as mean ± S.E.M (n=5 or 6)

²⁾ Control: Normal group, D-control: Diabetic control group, D-5%: Diabetic group fed 5% Persimmon peel powder, D-10%: Diabetic group fed 10% Persimmon peel powder
Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.001 by Duncan's multiple comparison test

Table 6. Metabolic variables in rats fed experimental diet for 4 weeks⁽¹⁾

Groups ²⁾	Total lipid [*] (mg/dL)	Triglyceride [*] (mg/dL)	Total cholesterol ^{***} (mg/dL)	HDL- cholesterol ^{***} (mg/dL)	HDL-C/TC ratio ^{**}	AI ⁽³⁾
Control	183.85±28.2 ^b	56.06±14.3 ^b	57.65±2.6 ^c	22.83±2.7 ^e	0.42±0.1 ^{bd}	1.30±0.3 ^{bd}
D-control	264.40±30.6 ^{ab}	133.09±51.4 ^a	75.67±8.2 ^a	32.30±5.5 ^{ab}	0.41±0.08 ^b	1.78±0.6 ^{ab}
D-5%	229.43±22.7 ^a	71.69±11.0 ^b	66.94±5.1 ^{bd}	37.02±4.9 ^{ab}	0.56±0.07 ^{ab}	0.92±0.2 ^b
D-10%	233.36±28.7 ^{ab}	79.59±28.3 ^{bd}	63.92±1.3 ^{bc}	29.50±2.3 ^b	0.53±0.05 ^a	0.99±0.0 ^{bd}

¹⁾ Values are expressed as mean ± S.E.M (n=5 or 6)

²⁾ Control: Normal group, D-control: Diabetic control group, D-5%: Diabetic group fed 5% Persimmon peel powder, D-10%: Diabetic group fed 10% Persimmon peel powder

^{*} Significantly different between groups at p < 0.05

^{**} Significantly different between groups at p < 0.01

^{***} Significantly different between groups at p < 0.005

⁽³⁾ AI: Atherogenic index

참고문헌

1. Park, S. N., Choi, S. W., Boo, Y. C., Kim, C. K. and Lee, T. Y. : Effect of flavonoids of Gingseng leaves on erythrocyte membrane against singlet oxygen caused damage. *Korean J. Ginseng Sci.* 14(2), 191(1990)
2. Park, S. N., Choi, S. W. and Boo, Y. C. : Antioxidative properties of Ginseng leaf flavonoids on cellular membranes. *J. Society Cosmetic Chemists of Korea*, 16, 20(1990)
3. Choi, S. W., Osawa, T., Kawakishi, S. and Tashiro, T. : Antioxidative activity of anthocyanin pigments in black rice seeds. Special Presentation, *Korean J. Food Sci. and Technol.*, May 28-29, 1994, Pusan, Korea
4. Tsuda, T., Watanabe, M., Odhima, K., Novinobu, S., Choi, S. W., Kawakishi, S. and Osawa, T. : Antioxidative activity of the anthocyanin pigments, cyanidin 3-*o*- β -D-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.* 42, 2407(1994)
5. Choi, S. W., Kang, W. W., Kawakishi, S. and Osawa, T. : Antioxidative activity of crysanthemine in black rice hulls. *Foods and Biotechnology*, 3(4), 233(1994)
6. Choi, S. W., Kang, W. W., Kim, G. Y., Park, P. S. and Park, M. R. : Antioxidative properties of persimmon leaves. *Foods and Biotechnology*, 5(1), 48(1996)
7. Choi, S. W., Kang, W. W., Cheong, S. K. and Cheon, S. H. : Antioxidative activity of persimmon leaves. *Foods and Biotechnology*, accepted(1996)
8. Neuringer, M., Connor, W.E., Lin, D.S., Barstard, L. and Luck, S. : Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal ω_3 -fatty acid deficiency of retina and brain in Rhexas Minkeys. *Proc. Natl. Aead. Sci.*, 83, 4201(1986)
9. Pratt, D.E. and Birac, P.M. : Source of antioxidant activity of soybeans and

- soy products. *J. Food Sci.*, 44(6), 1720(1979)
10. Pratt, D.E., Pietro, C.D., Porter, W.L. and Giffie, J.W.: Phenolic antioxidants of soy protein hydrolyzates. *J. Food Sci.*, 47(1), 24(1981)
11. Okada, T. and Yamaguch, N.: Antioxidative effect and pharmacology of oryzanol. *J. Jpn. Oil Soc.*, 33(6), 305(1983)
12. Fuluda, Y., Osaxa, T., Namiki, M. and Ozaki, T.: Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agric. Biol. Chem.*, 49(2), 301(1985)
13. Fukuda, Y., Nagata, M., Osawa, T. and Namiki, M.: Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil and the effect of using the oil for frying. *Agric. Biol. Chem.*, 50(4), 857(1986)
14. AOAC : Official method of analysis, 15th., Association of Official Analytical Chemist, p.770, Washington D.C. (1990)
15. Asp, N.G., Johansson, C.G., Hallmer, H. and Siljestrom, M. : Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.*, 31, 476 (1983)
16. Graham, H.D. : Nodified prussian blue assay for total phenolic compound. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 801 (1992)
17. Blois, M.S. : Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199 (1958)
18. Chung, S.K., Osawa, T. and Kawakishi, S. : Hydroxyl radical-scavenging effect of spice and scavenger from brown mustard(*Brassica nigra*) : *Biosci. Biotech. Biochem.* 61(1), 118 (1997)
19. A. Nishikawa, Z. Tanakamaru, F. Furukawa, In-Seon Lee, K. Kasahara, S. Ikezaki and M. Takahashi: Chemopreventive activity of oltipraz against induction of

glandular stomach carcinogenesis in rats by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine, *Carcinogenesis*, Vol.19, no.2 (1998)

20. Murakami A., Kondo A., Nakamura Y., Ohigashi H. and Koshimizu K.: Possible anti-tumor promoting properties of edible plants from Thailand, and identification of an active constituent, cardamonin, of *Boesenbegia pandurata*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 1971-1973, 1993.

21. A. Nakne, A. Numata and T. Minagawa: Endogeneous tumor necrosis factor, Interleukin-6 and gamma interferon levels during *Listeria monocytogenes* infection in mice, *Infection and Immunity*, 60, 523(1992)

23. R. Titus, B. Sherry and A. Cerami : The involvement of TNF, IL-1 and IL-6 in the immune response to protozoan parasites Nonspecific defence. Elsevier Science p. A17(1991)

24. D. A. Smith and S. W. Banks : "Formation and biological properties of isoflavonoid phytoalexins." In: plant flavonoids in biology and medicine: biological, pharmacological and structure-activity relationships", ed. by V. Condy, E. Middleton, Jr. and J. B. Harborne, Alan R. Liss Inc., 1986, pp113

25. Filmer, D. G. 1974. The economics of dietary vitamin feeds. Animal Nutrition Events 31-49.

26. Bethke, R. M., D. C. Kennard, and H. L. Sassaman, 1929. The fat-soluble vitamin content of hen's egg yolk as affected by the ration and management of the layer. *J. Biol. Chem.* 72: 695-706.

27. Sherwood, R. M., and G. S. Fraps. 1935. The vitamin A requirement of hens for egg production. Texas Agricultural Experiment Station Bulletin 514, College Station, TX.

28. Jordan, H. A., G. S. Smith, A. L. Neumann, J. E. Zimmerman and G. W. Vreniman.

1963. Vitamin A nutrition of beef cattle fed corn selage, *J. Anim. Sci.*, 22: 7382
29. Ellman, G. L. "Tissue sulfhydryl group." *Archives of biochemistry and Biophysics* 82(1959) : 70-77.
30. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. "Glutathione S-transferase : The first enzymatic step in mercaputric acid formation." *J. Biol. Chem.* 249 (1974) : 7130-7139.
31. Marklund, S. and Marklund, C. T. "Involvement of the superoxide anion radical in to oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxidē dismutase." *Eur. J. Biochem.* 47(469) (1974) : 311-319.
32. Nishikawa, A., Lee, I. S., Furukawa, F., Kasahara, K. and Kim, S. U. "Effects of *Selaginella tamariscina* on *in vitro* tumor cell growth, p53 expression, G1 arrest
33. 秋谷 清 : MTT assay による 制癌濟感受性試驗. *Oncology and Chemotherapy*, 4(4), 456(1987).
34. Carmichael J, DeGraff WG, Gadzar AF, et al. : Evaluation of a tetrazolium vased semiautomated colorimetric assay : Assessment of chemosensitivity teting. *Cancer Res.*, 47, 936(1987).
35. Goren, T., Castelli, W. P., Hjortland, M. C., Kannel W. B. and Dawber, T. R. : High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease : the Framingham study. *Am. J. Med.*, 62, 707(1997).
36. Doi, K., Kojima, T., harada, M. and Horiguchi, Y. : Effect of mulberry leaves on lipid metabolism in rabbits fed a cholesterol diet. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, 47, 15(1994).
37. Steinverg, D. : Lipoprpteins and atherosclerosis a look back and look ahead. *Atherosclerosis*, 3, 283(1983).

38. P. Pushparaj, C. H. Tan, B. K. H. Tan : Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 69 (2000).
39. I. Ahmed, M. S. Lakahani, M. Gillett, A. John, H. Raza : Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (Karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 51, 155 (2000).
40. Lee, G.D. and Jeong, Y.J. : Optimization on organoleptic properties of Kochujang with addition of persimmon fruits. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27(6), 1132-1136(1998)
41. Jeong Y.J., Seo, J.H., Park, N.Y., Seung, S.R. and Kim, K.S. : Changes in the components of persimmon vinegars by two stages fermentation(II), *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, 6(2) 233-238(1999)
42. Jeong, Y.J., Seo, J.H., Lee, G.D., Park, N.Y. and Choi, T.H. : The quality comparison of apple vinegar by two stages fermentation with commercial apple vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28(2), 353-358(1999)
43. Jeong, Y.J., Seo, K.I., Lee, G.D. and Youn, K.S. : Monitoring for the fermentation conditions of sweet persimmon vinegar using response surface methodology. *J. East Asian Dietary Life*, 8(1), 57-65(1998)