

한국식품영양학회지

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

Vol. 37, No. 1, February 2024



한국식품영양학회

THE KOREAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION

<http://ksfn.kr>

한국 식품 영양 학회지

The Korean Journal of Food and Nutrition

2024년도 학회 임원명단

| | | | |
|-------|--|--|---|
| 고문 | 민경찬(전 신한대학교) 김현오(전 장안대학교) 조미자(전 동남보건대학교) 김재근(전 계명문화대학교) 최부돌(전 신구대학교) | 이성동(전 고려대학교) 김광호(전 창원문성대학교) 안창순(전 안산대학교) 안용근(전 충청대학교) 이영순(전 계명문화대학교) | 오승희(전 포항대학교) 서정숙(전 을지대학교) 소명환(전 부천대학교) 조득문(전 동부산대학교) 이애랑(전 숭의여자대학교) |
| 명예회장 | 윤옥현(김천대학교) 장재선(가천대학교) 이성호(계명문화대학교) | 최병범(신한대학교) 이광수(장안대학교) 이수정(부천대학교) | 장상문(대구보건대학교) 최향숙(경인여자대학교) |
| 회장 | 김미옥(대구보건대학교) | | |
| 차기회장 | 류혜숙(상지대학교) | | |
| 총괄부회장 | 노재필(신구대학교) | | |
| 부회장 | 김옥선(장안대학교) 김중희(서일대학교) | 서영호(원광보건대학교) 권종숙(신구대학교) | 강시연(산해들) 홍승희(신한대학교) |
| 감사 | 이종경(한양여자대학교) | 황보미향(계명문화대학교) | |
| 총무이사 | 최은영(부천대학교) | | |
| 학술이사 | 정혜연(숭의여자대학교) | 김미자(강원대학교) | 최현숙(충청대학교) |
| 편집이사 | 이호진(한국교통대학교) 이연리(대전보건대학교) | 백진경(을지대학교) | 권수연(신구대학교) |
| 재무이사 | 박미혜(김천시어린이급식관리지원센터) | | |
| 사업이사 | 정민재(신구대학교) | | |
| 홍보이사 | 최승균(숭의여자대학교) | | |
| 지부장 | 서울·강원지부 최남순(배화여자대학교) 대전·충청지부 김현주(대전보건대학교) 부산·경남지부 최수경(울산과학대학교) | 경기·제주지부 강민정(연성대학교) 대구·경북지부 방현경(대구보건대학교) 광주·호남지부 송희순(광주보건대학교) | |

편집위원회

| | | | |
|-------|---|---|--|
| 편집위원장 | 이연리(대전보건대학교) | | |
| 편집위원 | 이호진(한국교통대학교) 심기현(숙명여자대학교) 김훈(중앙대학교) 김영모(목포과학대학교) 김미숙(단국대학교) 한규호(Obihiro Univ.) | 백진경(을지대학교) 문민선(㈜이룸) 김기대(경남대학교) 용해인(충남대학교) 이세호(㈜중앙타프라) | 이연리(대전보건대학교) 강민정(연성대학교) 한규상(호남대학교) 조미영(배재대학교) 김현정(제주대학교) |

윤리위원회

| | | | |
|-------|----------------------------|--------------------------|--------------|
| 윤리위원장 | 김미옥(대구보건대학교) | | |
| 부위원장 | 이호진(한국교통대학교) | | |
| 윤리위원 | 김옥선(장안대학교) 김영모(목포과학대학교) | 배운정(한국교통대학교) 문민선(㈜이룸) | 심기현(숙명여자대학교) |

Editor: Hojin Lee Ph. D.
61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk, 27909, Republic of Korea
Tel: +82-43-820-5338 Fax: +82-43-820-5850, E-mail: hojin@ut.ac.kr

학회지 구독이나 회원관리 및 회비관련 문의: 010-8290-8980, E-mail: ksfan88@hanmail.net
논문투고관련 문의: 010-4907-3711, E-mail: foodnutr1@naver.com
주소: 대구광역시 북구 영송로 15 대구보건대학교 식품영양학과 내((우)41453)
전화: 053-320-1366, 팩스: 053-320-1440

Copyright ©2024 by The Korean Society of Food and Nutrition
This work was supported by the Korean Federation of Science and Technology Societies(KOFST) grant funded by the Korean government.

본 사업은 기획재정부의 복권기금 및 과학기술정보통신부의 과학기술진흥기금으로 추진되어 사회적 가치 실현과 국가 과학기술 발전에 기여합니다.

한국식품영양학회지

제 37권 1호 2024년 2월

목 차

<연구논문>

- 1 Dextran Sodium Sulfate 유발 마우스 대장염에서 *Lactiplantibacillus plantarum* JSA22 쌀 발효물의 효과
..... 유지송 · 선다현 · 최현석 · 김민섭 · 유명환 · 진종식 · 김동근 · 최혜선 · 박정호 · 김용성 · 이문영
- 9 효소처리 초당옥수수 식혜의 이화학적 특성 인병호 · 이재준 · 장다빈 · 이원중 · 윤아름 · 김성규 · 이경행
- 17 유산균에 의해 변화된 황기-포스트바이오틱스 다당류가 대식세포에 미치는 영향
..... 김연숙 · 신현영 · 정원비 · 하은지 · 구자평 · 신지영 · 유광원
- 30 숙성에 의한 흑밤의 영양성분 분석과 항산화 활성 이문희 · 이지수 · 양지원 · 김인범 · 박윤제
- 40 증자시간에 따른 생천마의 품질특성 변화 송영은 · 김은주 · 한현아 · 이송이 · 김창수 · 안민실
- 48 Effect of Glutamic Acid and Monosodium Glutamate on Oxidative Stability of Riboflavin Photosensitized Oil-in-Water Emulsion
..... Ji-Yun Bae and Mi-Ja Kim

- 57 ■ 학회소식
- 59 ■ 저자 체크표
- 60 ■ 저작권 이전 동의서
- 61 ■ 연구윤리서약서
- 62 ■ 한국식품영양학회 회칙
- 68 ■ 한국식품영양학회 연구윤리 규정
- 79 ■ 한국식품영양학회 논문 투고 규정

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

Vol. 37, No. 1, February 2024

CONTENTS

<Original Articles>

- 1 Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* JSA22-fermented Rice Drinks against Dextran Sodium Sulfate-induced Colitis in Mice
..... Jisong You, Dahyun Seon, Hyun Seok Choi, Min Seob Kim, Myeong Hwan Yu, Jong Sik Jin,
Dong Keun Kim, Hye Sun Choi, Jung Ho Park, Yong Sung Kim and Moon Young Lee
- 9 Physicochemical Characteristics of Enzyme-treated Super Sweet Corn *Sikhye*
..... Byung-Ho In, Jae-Jun Lee, Da-Bin Jang, Won-Jong Lee, Ah-Rum Yoon, Sung-Kyu Kim and Kyung-Haeng Lee
- 17 Effect of *Astragalus membranaceus*-postbiotics Polysaccharide Changed by Lactic Acid Bacteria on Macrophage
..... Yeon Suk Kim, Hyun Young Shin, Won Bi Jeong, Eun Ji Ha, Ja Pyeong Koo, Ji-Young Shin and Kwang-Won Yu
- 30 Analysis of Nutritional Composition and Antioxidant Activity of Black Chestnut by Aging
..... Moon Hee Lee, Ji Su Lee, Ji Won Yang, In Beom Kim and Youn-Je Park
- 40 Quality Characteristics of Fresh *Gastrodia elata* according to Different Steaming Time
..... Young Eun Song, Eun Ju Kim, Hyun Ah Han, Song Yee Lee, Chang Su Kim and Min Sil Ahn
- 48 Effect of Glutamic Acid and Monosodium Glutamate on Oxidative Stability of Riboflavin Photosensitized Oil-in-Water Emulsion
..... Ji-Yun Bae and Mi-Ja Kim
-
- 57 ■ News of the Korean Society of Food and Nutrition
- 59 ■ Checklist for Original Article
- 60 ■ Copyright Transfer and Statement of Originality Korean Journal of Food and Nutrition
- 61 ■ Declaration of Ethical Conduct in Research
- 62 ■ The Rules of the Korean Society of Food and Nutrition
- 68 ■ Research Ethics Rules of the Korean Society of Food and Nutrition
- 79 ■ Guidelines for Submitting Manuscripts

Dextran Sodium Sulfate 유발 마우스 대장염에서 *Lactiplantibacillus plantarum* JSA22 쌀 발효물의 효과

유지송 · 선다현 · 최현석* · 김민섭** · 유명환* · 진종식*** · 김동근**** ·
최혜신***** · 박정호***** · 김용성***** · †이문영*****

원광대학교 의과대학 생리학교실 석사과정생, *원광대학교 의과대학 생리학교실 박사과정생,
원광대학교 의과대학 생리학교실 연구교수, *전북대학교 한약자원학과 교수, ****전북대학교 한약자원학과 석사과정생,
*****농촌진흥청 농업연구사, *****강북삼성병원 소화기내과 교수, *****주식회사 것앤드푸드헬스케어 수석연구원,
*****원광대학교 의과대학 생리학교실 교수

Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* JSA22-fermented Rice Drinks against Dextran Sodium Sulfate-induced Colitis in Mice

Jisong You, Dahyun Seon, Hyun Seok Choi*, Min Seob Kim**, Myeong Hwan Yu*, Jong Sik Jin***,
Dong Keun Kim****, Hye Sun Choi*****, Jung Ho Park*****, Yong Sung Kim***** and †Moon Young Lee*****

Master's Student, Dept. of Physiology, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University School of Medicine, Iksan 54538, Korea

*Doctor's Student, Dept. of Physiology, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University School of Medicine, Iksan 54538, Korea

**Research Professor, Dept. of Physiology, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University School of Medicine, Iksan 54538, Korea

***Professor, Dept. of Oriental Medicine Resources, Jeonbuk National University, Iksan 54596, Korea

****Master's Student, Dept. of Oriental Medicine Resources, Jeonbuk National University, Iksan 54596, Korea

*****Researcher, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16613, Korea

*****Professor, Dept. of Gastroenterology, Kangbuk Samsung Hospital, Seoul 03181, Korea

*****Chief Researcher, Gut & Food Healthcare Co., Ltd., Seongnam 13528, Korea

*****Professor, Dept. of Physiology, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University School of Medicine, Iksan 54538, Korea

Abstract

This study investigated the effect of *Lactiplantibacillus plantarum* JSA22-fermented rice drinks on dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis in mice. Twenty-four mice were randomly assigned; No colitis (Con), colitis with tap water (DSS-only), colitis with unfermented rice (DSS-UFR), and colitis with fermented rice (DSS-FR). After inducing colitis with 2% DSS for 5 days, they were given Tap water, UFR drink, or FR drink for an additional 6 days. The DSS-FR group had significantly lower Disease Activity Index (DAI) scores compared to the DSS-only group, but no significant difference with the DSS-UFR group. Colon length was reduced in the DSS-only group. The DSS-only group had significantly higher IL-6 mRNA levels compared to the Con group, while the DSS-FR groups showed significantly lower IL-6 mRNA levels compared to the DSS-only group. These results suggest that rice drinks fermented with *Lactiplantibacillus Plantarum* JSA22 ameliorate the severity of DSS-colitis, by potentially reducing proinflammatory cytokines.

Key words: inflammatory bowel disease, dextran sodium sulfate, rice, *Lactiplantibacillus plantarum* JSA22, inflammatory cytokines

† Corresponding author: Moon Young Lee, Professor, Dept. of Physiology, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University School of Medicine, Iksan 54538, Korea. Tel: +82-63-850-6774, Fax: +82-504-004-6774, E-mail: lmy6774@hanmail.net

서 론

최근 인간의 장내미생물총이 건강에 미치는 중요한 역할이 확인되었고 다양한 질병과 연관되는 장내미생물총의 이상이 보고되었다(Lynch & Pedersen 2016; Belizário 등 2018). 이러한 개념을 기반으로 장내미생물총을 정상화하는 다양한 치료적 방법들이 사용되고 있으며, 이중 가장 흔히 사용되는 프로바이오틱스는 급성 감염성 설사, 항생제 연관 설사, 과민성 장증후군, 염증성 장질환, 신생아 괴사성 장염 등에 사용되고 있다(Hill 등 2014; Lee 등 2019). 프로바이오틱스 균주 중에서 전통적으로 발효 음식에 사용되어 온 유산균 *Lactiplantibacillus(Lb.)*와 *Bifidobacterium*은 가장 연구가 많이 되었는데, 그 중 *Lb. plantarum*은 dextran sodium sulfate(DSS) 유발 대장염 모델에서 항염증 효과가 보고되었다(Wang 등 2019; Xia 등 2020; Pan 등 2021). 농촌진흥청에서 전통 장류로부터 분리한 *Lb. plantarum* JSA22는 식물성 유산균으로 우수한 항균력과 내산성을 나타내며, 유전자 분석에서 lysine 생합성에 관련된 효소의 완전한 유전자 세트를 가지고 있는 것으로 확인되었다(Ahn & Choi 2014; Choi 등 2023).

프로바이오틱스는 정제, 요거트, 발효음식 등의 다양한 형태로 투여될 수 있고 *Lb. bulgaricus*나 *Streptococcus thermophilus* 등으로 우유를 발효시킨 요거트는 흔하게 소비되는 형태이다(Nagaoka S 2019). 그러나 유제품의 경우 유당 불내증, 우유 알레르기, 콜레스테롤 증가와 같은 문제점들이 제기되어 이에 대한 대안으로 쌀, 귀리, 옥수수, 보리, 수수 등 다양한 곡물이 연구되고 있다(Choi 등 2023). 특히 쌀은 다른 곡물에 비해 가스 생성이 적어 과민성장증후군 환자에서 우선적으로 권고되기 때문에 주목을 받고 있다(Sultan 등 2022). 쌀 발효물은 지방 함량이 적고 유산균에 대한 성장 촉진 효과를 가지며 항염증, 항산화, 항스트레스 등 다양한 효과들을 지니고 있어 DSS 유발 대장염 쥐모델의 증상을 개선시킨다(Oh 등 2020). *Lb. plantarum* JSA22로 쌀을 발효시킨 경우 *Lb. rhamnosus* GG로 발효시킨 것에 비해 aspartate가 감소하고 lysine이 유의하게 증가하여 aspartate를 lysine으로 전환시킨다. 또 GABA 생산도 증가시켰고 항산화능을 나타냈다. 인간 분변을 이용한 *in vitro* 발효 실험에서는 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 투여하면 분변 내 *Lb.*와 *Bifidobacteria*가 증가하고 단쇄지방산 중 acetate와 butyrate 농도가 증가되는 것이 확인되었다. 또한 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물이 정상 마우스의 비장에서 T 세포 집단에 영향을 주지 않고 B 세포의 비율을 감소시켰다(Choi 등 2023).

이처럼 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물의 다양한 효과가 드러나고 있지만, 대장염 마우스 모델에서의 효과는 밝혀져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 12주령 수컷 C57BL/6 마우

스에 DSS 유발 대장염 모델을 형성하여 *Lb. plantarum* JSA22 균주를 이용한 쌀 발효물의 대장염 증상 개선 효과와 항염증 효과를 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. *Lb. plantarum* JSA22를 이용한 쌀 발효물 제조

본 연구에 사용된 쌀(*Oryza sativa* L., Sam-Gwang)은 농촌진흥청에서 개발된 품종으로 2021년 수원에서 재배된 시료이며, *Lb. plantarum* JSA22(KACC81105BP) 균주는 전통 장류에서 분리되어 한국 미생물 은행(KACC, Wanju, Korea)에 기탁되어 있다. 쌀가루 12.5%(w/v) 및 쌀배아유 50%(v/v) 혼합액에 설탕 3%(w/v)를 가하여 121°C에서 15분 동안 멸균하여 제조된 쌀 페이스트를 40°C 이하로 방냉하고 호모게나이저(HG15A, DAIHAN SCI, Seoul, Korea)로 균질화하였다. *Lb. plantarum* JSA22는 MRS (Merck, Darmstadt, Germany) 액체배지에 전배양(660 nm, OD :1.0, 10⁹ CFU/mL) 후 멸균된 PBS (pH 7.2)로 2회 씻어내어 준비하였다. 이를 0.1%(v/v) 농도로 쌀 페이스트에 초기 농도 10⁶ CFU/mL로 접종하여, 30°C에서 30시간 동안 발효한 후, 성인 제공량에 해당하는 농도와 양(10⁹ CFU/mL, 180 mL)을 마우스의 11주령 평균 몸무게와 하루 음수량(약 10 mL)에 맞게 일정 농도로 희석하여 실험 시료로 사용하였다(Choi 등 2023).

2. 실험 동물

11주령의 수컷 C57BL/6 마우스 24마리를 (주샘타코(Osan, Korea)로부터 구입하여 1주간의 적응기 후 실험에 사용하였다. 모든 생쥐는 22°C, 명암주기 12시간이 조절되는 환경에서 사육하였다. 사료와 일반 식수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 연구는 원광대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 진행되었다(승인번호 WKU22-121). 군당 평균 체중이 비슷하도록 정상 대조군(Con, n=6), 일반 식수군(DSS-only, n=6), 비발효 쌀 원료 투여군(DSS-UFR, n=6), 쌀 발효물 투여군(DSS-FR, n=6)의 총 4군으로 무작위 할당하였다. 실험에 사용된 발효물은 *Lb. plantarum* JSA22를 이용해 제조한 쌀 발효물을 사용하였고, 비발효물은 발효 균주가 포함되지 않은 동일한 쌀 원료를 사용하였다.

3. 대장염 유도 및 시료 투여

실험 시작 5일간 정상 대조군은 일반 식수를 섭취하게 하였고 대장염군은 일반 식수에 2.0%(wt/vol) DSS(MP biomedical, Ontario, USA)를 섞어 섭취하게 하였다. 5일간의 DSS 투여가 완료된 후 모든 군에서 일반 식수를 섭취하도록 하였고 동시에 DSS-UFR군과 DSS-FR군에서 각각 비발효 쌀

원료와 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 섭취하도록 하였다. 실험 시작 11일차에 모든 실험 동물을 희생시켰다.

4. 질병활성도 측정

대장염의 임상적 증상을 평가하기 위하여 체중 감소 정도, 설사, 육안적 혈변을 0점에서 4점까지 점수를 부여하여 대장염의 중증도를 점수화하는 질병활성도(disease activity index, DAI)를 측정하였다(Alex 등 2009). 개별 실험 쥐의 DAI는 동일한 관찰자에 의해서 DSS 제공 시작 시점부터 각 시료 투여 종료 시까지 매일 동일한 시간에 측정되었다.

5. 루미놀 반응 검사

육안으로 확인하는 혈변의 정도를 객관적 지표로 확인하기 위해 기존 루미놀 방법을 변형하여 분변 내 혈액의 양을 측정하였다(Park & Tsunoda 2018). 루미놀 분석을 위하여 모든 개체의 변을 실험 시작 1일차부터 마지막 날까지 매일 4 시간 동안 수집해 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 모든 변이 모아진 후에 각 날짜별로 각 개체의 일정한 양의 변을 증류수에 넣어 섞었고, 이를 12,000 rpm으로 5분간 원심 분리하여 상층액을 수집하였다. 수집된 상층액에 루미놀 용액(Officeahn, Gwangju, Korea)을 넣어 반응시켜 발색된 양을 Image J Software(National Institute of Health, Bethesda, MD, USA)로 측정하여 비교하였다.

6. 대장 길이 측정 및 조직 채취

실험 종료 후 희생시킨 동물의 맹장부터 항문 직전까지 적출하여 대장 길이를 측정하였다. 대장 길이 측정 후 분자생물학적 분석을 위해 대장 내용물을 모두 제거하고 대장 점막을 분리하여 -80°C 에서 냉동 보관하였다.

7. RNA 분리, cDNA 합성 및 RT-qPCR 분석

장 점막 내 염증반응 정도 비교를 위해 RT-qPCR(Exicycler™ 96, Bioneer, Daejeon, Korea)을 시행하였다. 실험 동물의 원위부 대장 조직의 점막에서 RNA를 추출(Bioneer, Daejeon, Korea)하고 cDNA(Bioneer, Daejeon, Korea)를 합성하였다. RT-qPCR 반응 조건은 95°C 에서 30초간 반응시킨 다음, 95°C 에서 15초, 54°C 에서 30초, 72°C 에서 30초를 한 주기로 하여

40 cycle 동안 증폭하였다. 본 실험에 사용된 *GAPDH*, *IL-6*, *TNF- α* 유전자의 프라이머 서열은 다음과 같다(Table 1).

8. 통계학적 분석

모든 분석결과는 SPSS program(SPSS version 23, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하였으며 oneway-ANOVA를 사용하여 통계 처리를 한 후 사후검정으로 LSD test를 사용하여 분석하여 검증하였다. $p < 0.05$ 이하일 때 유의성이 있다고 간주하였다.

결과 및 고찰

1. 대장염 증상 개선 효과

쥐에 DSS를 투여하면 염증성 장질환 중 궤양성 대장염 환자의 임상 증상과 비슷하게 혈변, 체중 감소, 설사의 증상들이 나타난다(Chassaing 등 2014). 각 연구마다 사용된 DSS 농도와 투여 기간은 다르며 본 연구에서는 2% DSS를 5일간 투여하여 급성 대장염 모델을 수립하였다. 본 실험에서 DSS 대장염 유발 후 일반 식수, 비발효 쌀 원료 및 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 투여하면서 매일 사료 섭취량, 체중, 질병활성도를 측정하였다. 사료 섭취량 및 체중은 DSS로 대장염이 유발된 군들에서 정상 대조군에 비하여 약물을 투여한 시점부터 7일째까지 감소하였고, 시간 경과에 따라 회복되는 경향을 보였다(Fig. 1A, Fig. 1B). 또한 질병활성도를 측정했을 때 일반 식수를 투여한 군에 비하여 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 투여한 군에서 7, 8일째 유의하게 점수가 더 낮았으며($p < 0.05$), 점수 차이는 11일째까지 지속되었으나 통계적 유의성은 없었다. 9일째 이후 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물 투여군과 일반 식수군 사이에 질병활성도의 통계적 유의성이 나타나지 않은 이유는 질병활성도 항목 중 7일째 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물 투여군이 일반 식수군에 비해 질병활성도 중 유의한 차이를 보이던 체중 감소와 설사 점수가 9일째 이후 모든 군에서의 사료 섭취량 증가와 함께 체중 회복으로 인해 점수 차이가 좁혀진 것 때문으로 생각된다. 반면 비발효 쌀 원료를 투여한 군의 질병활성도 점수는 일반 식수 투여군과 차이가 없었다(Fig. 1C). 본 실험 결과를 고려하였을 때 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물은 DSS에 의해 유도

Table 1. Primer sequences used for real-time quantitative PCR

| Gene | Forward primer sequences | Reverse primer sequences |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>GAPDH</i> | CAT CAC TGC CAC CCA GAA GAC TG | ATG CCA GTG AGC TTC CCG TTC AG |
| <i>IL-6</i> | ATC CAG TTG CCT TCT TGG GAC TGA | TAA GCG TCC GAC TTG TGA AGT GGT |
| <i>TNF-α</i> | CGG GCA GGT CTA CTT TGG AG | ACC CTG AGC CAT AAT CCC CT |

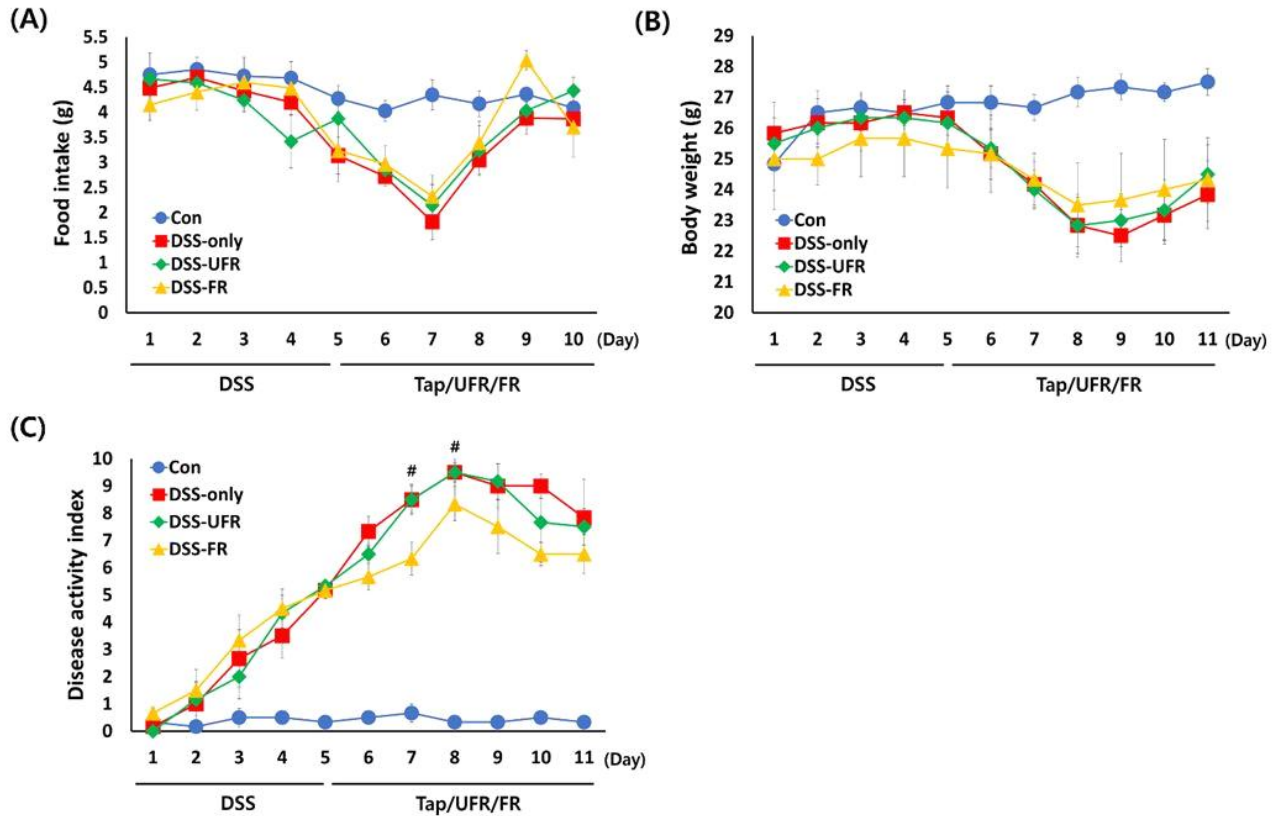


Fig. 1. Effects of fermented rice products on disease activity in DSS-induced colitis mice. (A) Food intake, (B) Body weight, (C) Disease activity index (DAI) score [#]Denotes significant difference between the DSS-only and DSS-FR group ([#] $p < 0.05$, $n = 6$).

된 대장염 증상을 경감시키는 데 기여하는 것으로 생각된다.

본 연구에서는 증상의 객관적 비교를 위해 분변 루미놀 반응을 이용하여 분변 내 혈액양을 정량화하였고, *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물은 일반 식수 투여군에 비해 6일째부터 낮은 반응을 보이다가 11일째 유의하게 낮은 소견을 관찰할 수 있었다($p < 0.001$). 그러나 비발효 쌀 원료 투여군에서는 루미놀 반응의 감소가 유의하지 않았다(Fig. 2). 이는 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물의 투여가 대장염 증상 중 하나인 혈변의 정도를 약화시키는 데 효과가 있었음을 의미한다. 기존 연구에서도 DSS 유발 대장염 모델에서 *Lb. plantarum* AR326 단일 균주 투여나(Wang 등 2019), *Lb.*와 *bifidobacterium* 4종의 복합 균주를 투여한 경우 증상 점수를 감소시켰고(Toumi 등 2014), *Saccharomyces cerevisiae*와 *Weissella cibaria*로 발효시킨 쌀 발효물을 투여한 경우도 증상 점수를 감소시켰다(Oh 등 2020). 본 연구에서는 대조군으로 증류수를 투여한 군만 사용한 기존 쌀 발효물 연구(Kim 등 2023)와 달리 발효시키지 않은 쌀 원료를 투여한 군과도 비교하였다. 이는 쌀눈 자체도 phytosterols, oryzanol, tocopherols와

같은 생리활성 물질이 풍부해 항산화 효과를 나타낼 수 있기 때문에(Lee 등 2020) 쌀 영양소가 아닌 균주 발효에 의한 효과만을 검증하기 위해 본 실험에 발효시키지 않은 쌀 원료를 투여한 군을 양성 대조군으로서 적용하였다. 그 결과 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물은 일반 식수 투여군 뿐만 아니라 비발효 쌀 원료 투여군에 비교해서도 유의한 증상 개선 효과를 보여 발효 자체가 효과적임을 알 수 있었다.

2. 대장 길이 변화에 대한 효과

DSS로 유발된 대장염 쥐모델은 대장 길이의 감소가 관찰되는데(Chassaing 등 2014; Eichele & Kharbanda 2017), 기존 연구에서 프로바이오틱스나 쌀 발효물을 투여한 후 짧아진 대장의 길이가 회복되는 것이 보고되어 있다(Toumi 등 2014; Wang 등 2019). 본 실험에서는 DSS로 대장염을 유발하고 일반 식수를 제공한 군에서 대장염이 없는 정상 대조군에 비해 유의하게 대장의 길이가 감소하였다($p < 0.05$). 반면 쌀 발효물 투여군과 비발효 쌀 원료 투여군은 정상 대조군과 비교하였을 때 대장 길이의 차이가 없었다(Fig. 3). 질병활성도 증상

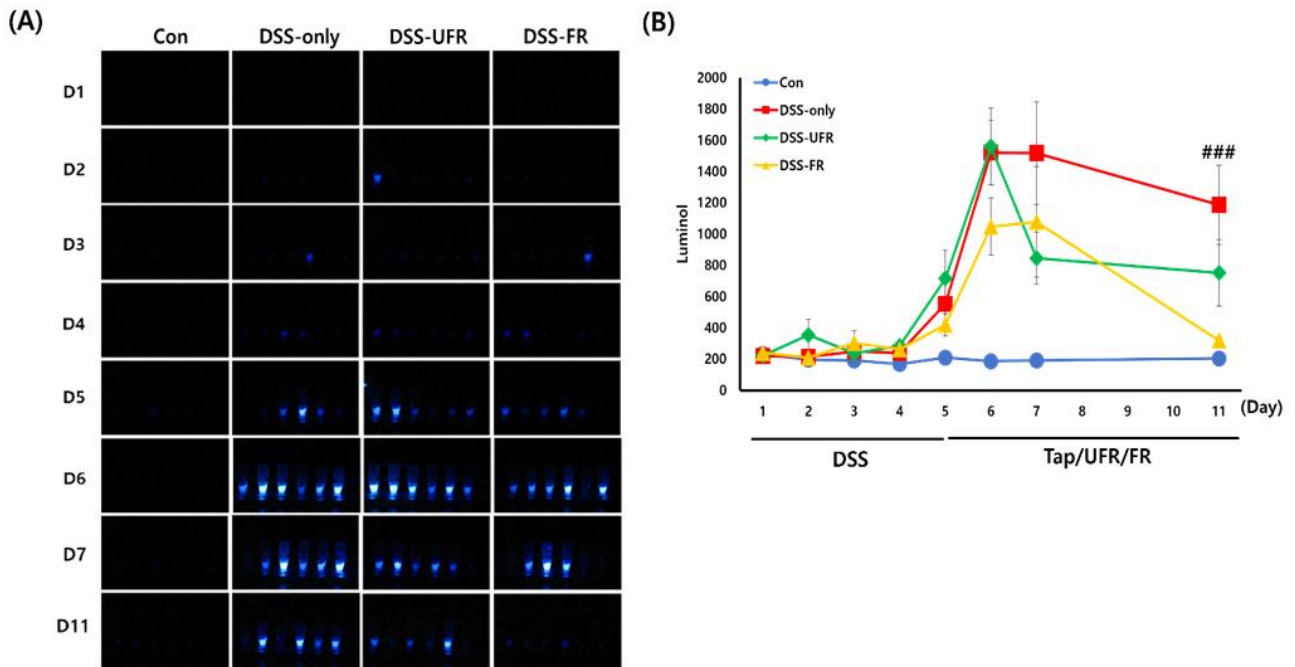


Fig. 2. Effects of fermented rice products on luminol response test in DSS-induced colitis mice. (A) The representative image of luminol response test. (B) The statistical analysis of luminol response test. ^{###}Denotes significant difference between the DSS-only and DSS-FR group (^{###} $p < 0.001$, $n = 6$).

점수와 달리 대장 길이의 경우 쌀 발효물 투여군과 비발효 쌀 원료 투여군 사이에 차이가 없었는데, 이는 쌀 원료 자체도 항산화 효과가 있으므로 일반 식수에 비해 DSS로 유발된 대장염의 조직학적 회복에는 어느 정도 효과가 있었다는 것을 시사한다(Lee 등 2020).

3. 전염증성 사이토카인에 대한 효과

염증성 장질환 환자나 DSS 유발 대장염 쥐에서는 전염증성 사이토카인 TNF- α , IL-1 β , IL-6 등이 증가하고 대장염의 중증도와 연관된다(Saez-Lara 등 2015; Wang 등 2019). 본 연구에서는 가장 강력한 전염증성 사이토카인으로 염증성 장질환 치료제의 주된 타겟인 TNF- α 와 염증성 장질환 환자나 DSS 유발 대장염 쥐 모델에서 상승하는 전염증성 사이토카인 중 대표적인 IL-6의 발현을 측정하였다. DSS로 대장염을 유발하고 일반 식수를 제공한 군은 정상 대조군에 비해 IL-6의 발현이 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 대장염 유발 후 비발효 쌀 원료를 투여한 경우 일반 식수를 투여한 군과 차이가 없었지만 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 투여한 군은 유의하게 IL-6 발현이 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 4A). TNF- α 의 mRNA 발현도 대장염 유발 후 일반 식수나 비발효 쌀 원료 투여군에서 증가하는 경향을 보였고 쌀 발효물 투여군은 감소하는 경향을 보였으나 유의하지 않았다(Fig. 4B).

유산균인 *Lb.*나 *Bifidobacterium*은 TNF- α , IL-1 β , IL-6과 같은 전염증성 사이토카인을 억제해 염증반응을 조절하는 것이 알려져 있고, DSS 유발 대장염 쥐에 *Lb.*를 투여한 이전 연구에서는 TNF- α , IL-1 β , IL-6 등의 발현 감소가 대장염 증상을 완화시키는 것과 연관되었다(Liu 등 2011; Wang 등 2019). 본 연구와 유사하게 DSS 유발 대장염 쥐 모델에 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Weissella cibaria*로 발효시킨 쌀 발효물을 투여한 이전 실험에서도 유사하게 전염증성 사이토카인의 감소가 증상 점수 개선과 연관되어 프로바이오틱스를 이용한 발효물도 항염증 효과가 있음을 보여주었다(Oh 등 2020). *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물은 항염증 효과와 함께 butyrate를 증가시키는 것으로 알려져 있다(Choi 등 2023). Butyrate는 대장 상피의 중요한 에너지원이며 장 상피 세포의 성장과 증식, 점액 분비를 자극하고(Scheppach 등 1992; Zhang 등 2016; Couto 등 2020), DSS 유발 대장염 쥐 모델에서 TLR4/NF- κ B 신호 전달 경로를 억제하여 TNF- α , IL-6와 같은 전염증성 사이토카인의 발현을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Ortega-Cava 등 2003; Couto 등 2020). 본 연구에서 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 투여했기 때문에 *Lb.*의 효과와 함께 쌀 혹은 그 발효 대사체가 항염증 과정에 작용했을 가능성이 있다. 특히 본 연구에서는 비발효 쌀 원료를 투여한 경우보다 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물이 전염증성

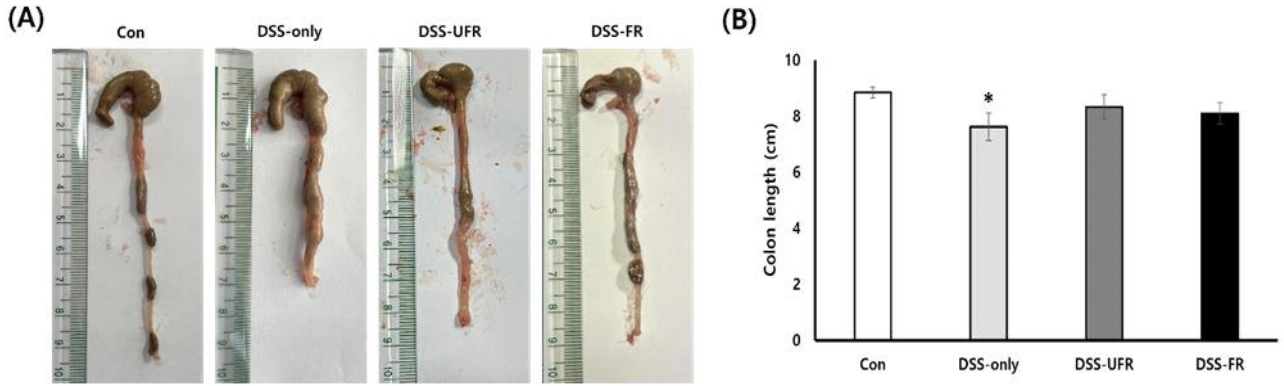


Fig. 3. Effect of fermented rice products on length of colon in DSS-induced colitis mouse. (A) The representative image of colon length. (B) The statistical analysis of the colon length. *Denotes significant difference between control and the DSS-only groups ($p < 0.05$, $n = 6$).

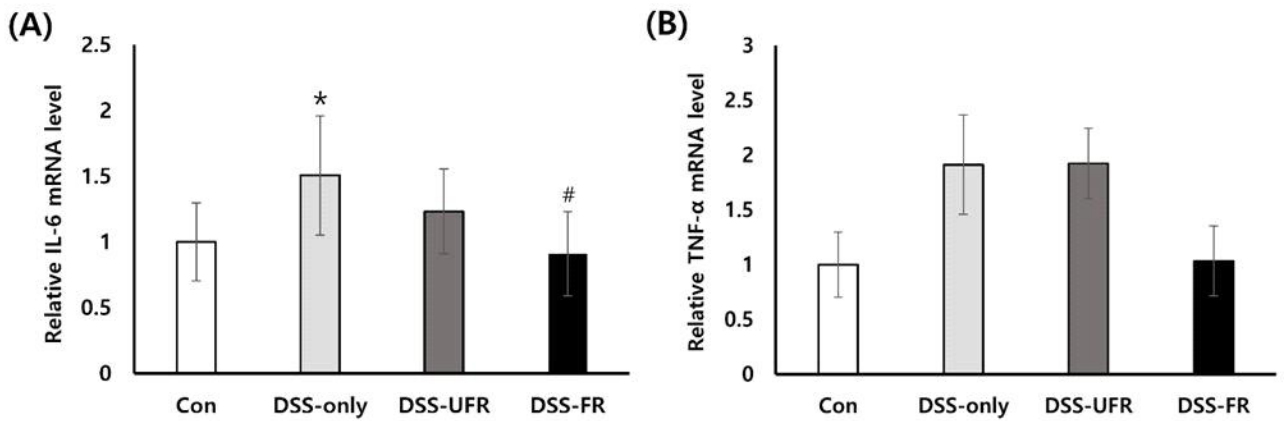


Fig. 4. Effect of fermented rice products on the colonic inflammatory marker expression in DSS-induced colitis mice. Relative mRNA expression levels of IL-6 (A) and TNF- α (B) in the colon tissues between groups. *Denotes significant difference between control and the DSS-only groups ($p < 0.05$). #Denotes significant difference between DSS-only and DSS-FR group ($p < 0.05$, Con, $n = 6$; DSS-only, $n = 5$; DSS-UFR, $n = 6$; DSS-FR, $n = 6$).

사이토카인 감소에 더 효과적임을 알 수 있었다. 본 실험에서 단쇄지방산의 변화 결과를 제시하지 못한 제한점이 있지만, 이전 연구 및 본 실험 결과를 종합하면 DSS 유발 대장염 쥐 모델에서 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물의 투여는 장 내 butyrate 등의 증가를 통해 TLR4/NF- κ B 신호 전달 경로를 저해하고 TNF- α 와 IL-6의 발현을 억제하여 대장염 증상 및 장 내 염증 정도를 개선시키는 것으로 사료된다. 따라서 추가 연구를 통해 DSS 유발 대장염 모델에서 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물 투여로 인한 butyrate 등을 포함한 단쇄지방산의 변화, 장내 장벽 기능에 미치는 영향을 구체적으로 규명할 필요가 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 DSS로 유도된 궤양성 대장염 동물 모델에서 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물의 대장염 증상 개선 효과 및 항염증 효과를 확인하고자 하였다. 2% DSS를 투여하여 대장염을 유도하였고 회복 기간동안 일반 식수, 비발효 쌀 원료, *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물을 투여하였다. 질병활성도, 분변 내 혈액의 양, 대장 길이의 변화를 확인한 결과, DSS 유발 대장염 모델 중 일반 식수 투여군에 비하여 쌀 발효물 투여군에서 질병활성도와 혈변의 정도가 유의하게 감소하였으며 DSS에 의해 축소된 대장 길이가 회복되었다. 전염증성 사이토카인 IL-6와 TNF- α 의 mRNA 발현을 분석한 결

과, 일반 식수군에서 IL-6와 TNF- α 의 발현이 증가하였으나 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물 투여군에서는 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물이 전염증성 사이토카인의 발현을 완화시킴으로써 DSS에 의해 유도된 대장염 증상을 개선하는 것으로 사료된다. 종합하면, *Lb. plantarum* JSA22 쌀 발효물은 전염증성 사이토카인의 발현을 완화시킴으로써 대장염 증상 개선 및 항염증 효과에 도움을 줄 수 있는 소재로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구개발사업(PJ016707)으로 수행된 결과입니다.

References

- Ahn YJ, Choi HS. 2014. Potential probiotic properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from fermented soybean product. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:749-755
- Alex P, Zachos NC, Nguyen T, Gonzales L, Chen TE, Conklin LS, Centola M, Li X. 2009. Distinct cytokine patterns identified from multiplex profiles of murine DSS and TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 15:341-352
- Belizário JE, Faintuch J, Garay-Malpartida M. 2018. Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: New frontiers for treatment of metabolic diseases. *Mediators Inflammation* 2018:2037838
- Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. 2014. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Curr Protoc Immunol* 104:15.25.1-15.25.14
- Choi HS, Seong H, Kim SA, Song Y, Sim EY, Kang H, Han NS. 2023. Lysine-fortified rice germ yogurt fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* JSA 22 and its beneficial health effects. *J Funct Foods* 109:105787
- Couto MR, Gonçalves P, Magro F, Martel F. 2020. Microbiota-derived butyrate regulates intestinal inflammation: Focus on inflammatory bowel disease. *Pharmacol Res* 159:104947
- Eichele DD, Kharbanda KK. 2017. Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. *World J Gastroenterol* 23:6016-6029
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. 2014. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 11:506-514
- Kim KY, Son JD, Hwang SJ, Lee JK, Park JY, Park KI, Oh TW. 2023. Fermented glutinous rice extract mitigates DSS-induced ulcerative colitis by alleviating intestinal barrier function and improving gut microbiota and inflammation. *Antioxidants* 12:336
- Lee MG, Chun BH, Dhungana SK, Park JJ, Kim ID. 2020. Quality characteristics and antioxidant potential of rice-germ rice processed with different heat treatments. *Int J Sci* 9:16-21
- Lee MY, Choi SC, Kim YS. 2019. The role of gut microbiota and use of probiotics in the treatment of upper gastrointestinal diseases. *Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res* 19:99-105
- Liu YW, Su YW, Ong WK, Cheng TH, Tsai YC. 2011. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* K68 ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in BALB/c mice via the anti-inflammatory and immunomodulatory activities. *Int Immunopharmacol* 11:2159-2166
- Lynch SV, Pedersen O. 2016. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med* 375:2369-2379
- Nagaoka S. 2019. Yogurt production. In Kanauchi M (Ed.), *Lactic Acid Bacteria: Methods and Protocols*. pp.45-54. Humana
- Oh WS, Jung JC, Choi YM, Mun JY, Ku SK, Song CH. 2020. Protective effects of fermented rice extract on ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate in mice. *Food Sci Nutr* 8:1718-1728
- Ortega-Cava CF, Ishihara S, Rumi MAK, Kawashima K, Ishimura N, Kazumori H, Udagawa J, Kadowaki Y, Kinoshita Y. 2003. Strategic compartmentalization of toll-like receptor 4 in the mouse gut. *J Immunol* 170:3977-3985
- Pan Y, Ning Y, Hu J, Wang Z, Chen X, Zhao X. 2021. The preventive effect of *Lactobacillus plantarum* ZS62 on DSS-induced IBD by regulating oxidative stress and the immune response. *Oxid Med Cell Longev* 2021:9416794
- Park AM, Tsunoda I. 2018. Forensic luminol reaction for detecting fecal occult blood in experimental mice. *Biotechniques* 65:227-230

- Saez-Lara MJ, Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Gil A. 2015. The role of probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria in the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and other related diseases: A systematic review of randomized human clinical trials. *BioMed Res Int* 2015: 505878
- Scheppach W, Sommer H, Kirchner T, Paganelli GM, Bartram P, Christl S, Richter F, Dusel G, Kasper H. 1992. Effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis. *Gastroenterology* 103:51-56
- Sultan N, Varney JE, Halmos EP, Biesiekierski JR, Yao CK, Muir JG, Gibson PR, Tuck CJ. 2022. How to implement the 3-phase FODMAP diet into gastroenterological practice. *J Neurogastroenterol Motil* 28:343-356
- Toumi R, Soufli I, Rafa H, Belkhefja M, Biad A, Touil-Boukoffa C. 2014. Probiotic bacteria *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* attenuate inflammation in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice. *Int J Immunopathol Pharmacol* 27:615-627
- Wang G, Liu Y, Lu Z, Yang Y, Xia Y, Lai PFH, Ai L. 2019. The ameliorative effect of a *Lactobacillus* strain with good adhesion ability against dextran sulfate sodium-induced murine colitis. *Food Funct* 10:397-409
- Xia Y, Chen Y, Wang G, Yang Y, Song X, Xiong Z, Zhang H, Lai P, Wang S, Ai L. 2020. *Lactobacillus plantarum* AR113 alleviates DSS-induced colitis by regulating the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway and gut microbiota composition. *J Funct Foods* 67:103854
- Zhang Q, Wu Y, Wang J, Wu G, Long W, Xue Z, Wang L, Zhang X, Pang X, Zhao Y, Zhao L, Zhang C. 2016. Accelerated dysbiosis of gut microbiota during aggravation of DSS-induced colitis by a butyrate-producing bacterium. *Sci Rep* 6:27572

Received 15 November, 2023

Revised 08 January, 2024

Accepted 15 January, 2024

효소처리 초당옥수수 식혜의 이화학적 특성

인병호 · 이재준* · 장다빈* · 이원종* · 윤아름* · 김성규** · †이경행***
한국교통대학교 식품영양학과 대학원생, *한국교통대학교 식품영양학전공 학부생,
클래식영농조합법인 대표, *한국교통대학교 식품영양학전공 교수

Physicochemical Characteristics of Enzyme-treated Super Sweet Corn *Sikhye*

Byung-Ho In, Jae-Jun Lee*, Da-Bin Jang*, Won-Jong Lee*, Ah-Rum Yoon*,
Sung-Kyu Kim** and †Kyung-Haeng Lee***

Graduate School Student, Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

*Student, Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

**CEO, Classicfarms, Koesan 28002, Korea

***Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

Abstract

To produce super sweet corn *sikhye*, substituted for sweetener, the ratio of rice and super sweet corn was adjusted and processed with complex enzymes during saccharification, and their physicochemical and sensory properties were analyzed. The soluble solid content of the control and Corn-5 showed significantly high content at 13.50 °Brix, and the reducing sugar content of Corn-5 showed the highest content at 9.45%. The control showed the lowest free sugar content among all the experimental groups, excluding maltose content. In the enzyme-treated corn *sikhye* group, as the amount of super sweet corn increased, the content of sucrose decreased and the contents of glucose and fructose increased. The content of ascorbic acid and polyphenol compounds increased as the amount of super sweet corn increased. DPPH and ABTS radical scavenging abilities increased with increasing ratio of super sweet corn and enzyme treatment compared to the control. In the case of sensory evaluation, Corn-3, which substituted 30% of super sweet corn for rice and treated with enzymes, showed higher evaluations in taste, sweetness, and overall preference than those of the control.

Key words: super sweet corn, enzyme treatment, physicochemical property, *sikhye*

서 론

옥수수(*Zea mays* L.)는 2020년 기준으로 전 세계에서 생산되는 가장 많은 곡물 중의 하나이며 주로 감미료용, 사료용, 간식용 등 다양한 용도로 이용되고 있다(FAO 2022). 옥수수는 일반옥수수, 찰옥수수, 튀김옥수수 단옥수수 등 용도에 따라 다양하게 분류되고 있으며 우리나라에서는 주로 찰옥수수를 재배하여 간식용으로 주로 이용되어지고 있다(Lee & Yoon 2019).

옥수수 품종 중 초당옥수수(Super sweet corn, *Zea mays*

saccharata Sturt.)는 당 함량이 20 °Brix 이상으로 일반 옥수수보다 당도가 높으면서 식미가 부드러우면서도 높은 당 함량으로 미생물 및 병충해 피해에 취약하여 소비기한이 짧은 단점을 가지고 있어(Yang 등 2007) 이를 원료로 한 새로운 가공 및 제품개발이 필요하다.

한편, 식혜는 보리로 만든 엿기름의 β -amylase의 작용으로 고두밥을 당화시켜 만든 우리나라의 대표적인 전통 음료로(Ann YG 1999) 당화 과정 중 전분이 glucose, maltose 등으로 분해되어 이로 인해 단맛과 특유의 풍미를 낸다(Hwang 등 2020). 국내 시판 전통 음료에 대한 기호도와 섭취빈도 조사

† Corresponding author: Kyung-Haeng Lee, Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5334, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: leekh@ut.ac.kr

연구에 따르면 녹차에 이어 식혜가 두 번째로 높게 나타나 (Lee & Byun 2006) 시판 전통 음료 중 식혜에 대한 높은 선호도를 알 수 있다. 현재 식혜의 산업적인 제조방법으로 널리 사용되고 있는 방법은 고두밥을 당화 후 설탕이나 스테비아 등의 당류 또는 식품첨가물인 감미료를 첨가하고 있어(Ann & Lee 1995) 식품영양학적 가치는 열량원 제공에 그치고 있다. 국내 선행연구에 따르면 식혜 제조 시 식품영양학적 가치를 부여하기 위해 헛개나무열매를 이용(Kim 등 2007)하거나 베리류(Yang 등 2015), 천궁(Kim & Park 2012), 도라지(Jeong & Yu 2013), 옥수수수염(Cho & Joo 2010) 등의 연구가 보고되었으나, 초당옥수수를 이용한 식혜 개발 연구는 찾아볼 수 없다. 초당옥수수는 당도가 높아 식품산업에서 식혜 제조 시 첨가되는 스테비아 등의 인공감미료를 대체하여 식혜에 식품영양학적 가치를 부여하기에 적합한 식품소재라고 생각된다.

식품가공기술 중 효소처리 기술은 제품의 감미도를 상승시키거나 점도의 변화, 수율향상 및 조직감 조절 등의 목적으로 다양하게 사용되고 있다(Lee 등 2021). 이와 같은 효소처리 기술은 초당옥수수의 단점을 보완하고 당도를 보다 향상시켜 식품소재로서의 활용 가능성을 넓힐 수 있을 것으로 사료된다.

따라서, 본 연구에서는 초당옥수수의 상품으로서의 단점을 해소하고 단맛과 기능성을 보다 높이고자 초당옥수수 알곡에 효소처리를 하여 초당 옥수수의 이화학적 및 항산화 활성 변화를 분석하였으며(In 등 2023) 이를 바탕으로 식혜 제조 시 효소와 초당옥수수를 활용하여 식혜의 식품영양학적 가치를 높이고 감미료 첨가를 대체한 음료를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에서 사용한 초당옥수수는 2023년도 7월에서 8월

에 충청북도 괴산군 불정면 농가에서 구입하여 시료로 사용하였다. 초당옥수수를 사용한 식혜 제조를 위하여 첨가하기 적합한 효소는 초당옥수수 효소처리 추출물을 이화학적으로 분석하여(In 등 2023) 높은 가용성 고형분 함량 및 항산화 활성 등을 종합적으로 평가 후 선정하여 사용하였다. 식혜 제조에 사용된 쌀은 충북농산에서 구입한 2023년도 11월에 도정된 쌀을 이용하였고 당화를 위한 엿기름은 2023년도 11월에 구입하여 사용하였다.

초당옥수수의 효소처리를 위한 효소는 (주)대중자임스(Seoul, Koera)에서 구입한 α -amylase계의 AMG 300L BrewQ(300 AGU/g), 및 invertase계의 Inverlyve P(400 IGU/g)와 (주)노보자임스(Bagsvaerd, Denmark)에서 구입한 cellulase계의 Cellucast 1.5 L(700 EGU/g)를 사용하였다.

2. 효소처리 초당옥수수 식혜 제조

효소처리 초당옥수수 식혜의 제조는 Ann YG(1999)의 방법을 참조하여 Table 1의 구성에 따라 제조하였다. 효소처리 초당옥수수 식혜 제조에 사용한 효소는 앞선 초당옥수수 효소처리 추출물 실험을 통하여 최적의 효소인 amylase, cellulase, invertase를 혼합하여 식혜 제조에 이용하였다. 즉 실험군으로는 고두밥만 사용하여 제조한 대조군(Control), 고두밥의 50%를 초당옥수수 알곡 마쇄물로 대체하여 엿기름으로 제조한 실험군(Corn-control), 고두밥 대신 초당옥수수 알곡 마쇄물을 10%, 30%, 및 50% 각각 대체하고 amylase, cellulase, invertase를 혼합한 복합효소를 첨가하여 제조한 실험군(Corn-1, Corn-3, Corn-5)으로 하였다.

식혜제조를 위한 엿기름 추출액은 엿기름이 전체 중량 10%가 되도록 물을 가하여 60°C에서 2시간 추출한 다음 착즙하여 고형분은 버리고 냉장고에 12시간 방치하여 상등액만 사용하였다. 당화는 60°C에서 5시간 동안 당화시켜 제조하였고(Control, Corn-control). Corn-1, Corn-3 및 Corn-5 실험군은 60°C에서 4시간 당화시킨 후 복합효소를 가하여 추가로 1시간 당화하여 총 5시간을 당화시켰다. 당화 후 모든 실

Table 1. Formula for preparation of the enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| Sample | Control | Corn-Control | Corn-1 | Corn-3 | Corn-5 |
|----------------------|---------|--------------|--------|--------|--------|
| Super sweet corn (g) | - | 100.0 | 20.0 | 60.0 | 100.0 |
| Cooked rice (g) | 200.0 | 100.0 | 180.0 | 140.0 | 100.0 |
| Malt powder (g) | 80.0 | 80.0 | 80.0 | 80.0 | 80.0 |
| Water (mL) | 720.0 | 720.0 | 720.0 | 720.0 | 720.0 |
| Cellulase (mL) | - | - | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| Amylase (mL) | - | - | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| Invertase (g) | - | - | 0.4 | 0.4 | 0.4 |

협균은 효소를 불활성화하기 위하여 100℃에서 20분 동안 가열하여 실행시켰다.

3. 효소처리 초당옥수수 식혜의 이화학적 분석

1) 가용성 고형분 및 환원당 함량

효소처리 초당옥수수 식혜를 각 제조법에 따라 제조하고 가용성 고형분 함량은 굴절 당도계(PAL-2, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였고 환원당 함량은 dinitrosalicylic acid(DNS)에 의한 비색법을 이용하여 추출물 1 mL에 DNS 시약 2 mL를 첨가하여 10분간 가열하고 냉각한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다(Chae 등 2000).

2) 유리당 함량

효소처리 초당옥수수 식혜의 유리당 함량은 0.45 µm membrane filter를 통과시키고 HPLC(Waters, Millipore Co-Operative, Milford, MA, USA)로 측정하였으며 column은 Supelcosil TM LC-NH₂(5 µm, 25 cm×4.6 mm; Supelco., Bellefonte, PA, USA), Detector는 RI detector(waters 410), 이동상은 acetonitrile: water(75:25, v/v), column 온도는 40℃로 하여 측정하였다(Yu 등 2020).

3) 항산화 성분 함량

효소처리 초당옥수수 식혜 내 항산화 성분인 ascorbic acid, flavonoid 화합물, polyphenol 화합물의 함량 측정을 위하여 다음과 같이 측정하였다.

Ascorbic acid의 함량은 Park 등(2008)의 방법에 따라 시료 0.2 mL에 10% trichloroacetic acid(TCA) 0.8 mL를 가하고 원심 분리기에서 3,041×g 로 5분간 원심분리시킨 후 여과하고 여액 0.5 mL에 2% metaphosphoric acid 1.5 mL와 10% phenol reagent 0.2 mL를 혼합하여 상온에서 10분간 방치 후 UV-Vis spectrophotometer(Uvikon XL 70, Sacoman, Ales, France)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Flavonoid 화합물의 함량은 Moreno 등(2000)의 방법에 따라 시료 0.1 mL에 80% ethanol 0.9 mL를 가하여 이 혼합액 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 80% ethanol 4.3 mL를 각각 가하고 상온에서 40분간 방치 후 415 nm에서 흡광도 값을 측정하였으며 표준물질로는 quercetin(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

Polyphenol 화합물은 각 효소처리 시료 1 mL에 phenol reagent 0.5mL와 10% Na₂CO₃ 1 mL, 증류수 7.5 mL를 차례대로 혼합하여 30분간 방치 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질로는 tannic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하였다

(AOAC법 1995).

4) 항산화 활성

효소처리 초당옥수수 식혜의 항산화 활성을 측정하기 위하여 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능을 측정하였다.

DPPH radical 소거능은 6배 희석한 시료 2 mL에 0.2 mM DPPH 2 mL 첨가 및 혼합 후 상온에서 30분간 반응하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois MS 1958).

ABTS radical 소거능은 ABTS 시약(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 제조한 후 하루 동안 암소에 방치한 시약의 흡광도 값이 1.5 이하가 되도록 증류수로 희석한 후 희석된 ABTS 시약 1 mL에 11배 희석한 시료 0.05 mL를 첨가하고 상온에서 90분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re 등 1999).

4. 관능평가

효소처리 초당옥수수 식혜의 관능적 품질 평가를 조사하기 위하여 청주시, 증평군 지역에 거주하는 19~64세 성인 남녀 총 16명(남녀 각 8명씩)으로 자발적으로 동의한 자를 대상으로 관능평가를 진행하였으며 시료의 맛, 향, 색, 단맛, 목넘김, 종합적 기호도에 대하여 대단히 싫다(dislike extremely) 1점, 보통이다(neither like nor dislike)를 4점, 대단히 좋다(like extremely)를 7점으로 하는 Likert 7점 척도법에 따라 측정하였다(IRB 승인번호: KNUT-2023-HR-30-33).

5. 통계처리

SPSS 26.0(IBM Corporation, Armonk, NY, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었으며, 실험군 간 차이를 one-way ANOVA로 분석한 후, Duncan's multiple range test로 실험군 간 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 가용성 고형분 및 환원당 함량

효소처리 초당옥수수 식혜를 제조하고 가용성 고형분 및 환원당 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다.

가용성 고형분은 쌀 식혜 대조군과 효소처리 초당옥수수 식혜 Corn-5의 경우 13.50 °Brix로 모든 식혜군보다 유의적으로 높은 측정값을 나타냈으며, 효소처리를 하지 않은 초당옥수수 식혜 실험군(Corn-control)의 경우 9.60 °Brix로 유의적으로 가장 낮은 측정값을 나타냈다. 이와 같은 이유는 식혜 제조 시 고두밥의 함량이 적고 복합 효소처리를 하지 않았기 때문에 낮은 값을 나타내는 것으로 초당옥수수를 첨가한 식

Table 2. Changes in soluble solid, reducing sugar content of enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| | Sample | | | | |
|-----------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Control | Corn-Control | Corn-1 | Corn-3 | Corn-5 |
| Soluble solid (°Brix) | 13.50±0.00 ^{a1)} | 9.60±0.00 ^d | 12.97±0.58 ^b | 12.90±0.00 ^e | 13.50±0.00 ^a |
| Reducing sugar (%) | 8.80±0.05 ^c | 6.08±0.04 ^d | 8.95±0.01 ^b | 8.93±0.01 ^b | 9.45±0.01 ^a |

¹⁾ Values with different superscripts within a row (^{a-d}) were significantly different ($p < 0.05$).

해 제조 과정에서 복합 효소처리 시 가용성 고형분 함량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

환원당 함량은 쌀 식혜 대조군은 8.80%였으며, 초당옥수수 함량이 높아질수록 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 가용성 고형분의 함량의 결과와 마찬가지로 원료로 사용한 고두밥의 양이 줄어들었기 때문인 것으로 판단되었다. 효소처리 초당옥수수 식혜의 경우 초당옥수수 첨가 후 복합효소 처리로 대조군보다는 높은 환원당 함량을 보였고 초당옥수수 첨가량에 따라서는 비율이 높아질수록 상승하는 경향을 나타내었고 Corn-5 실험군이 다른 실험군보다는 높은 환원당의 함량을 보였다.

Kim JS(2012)는 식혜 제조 시 오디 첨가 비율에 따른 식혜의 특성을 비교한 결과, 오디 첨가 식혜의 가용성 고형분 함량은 오디의 첨가 비율이 증가할수록 유의적으로 증가하는 경향을 보여 본 연구결과와 유사한 결과를 보였다.

2. 유리당 함량

효소처리 초당옥수수 식혜의 유리당은 glucose, fructose, sucrose, maltose가 검출되었으며 그 결과는 Table 3과 같다.

식혜 실험군에 따른 유리당 함량 차이는 glucose와 fructose의 경우 대조군이 가장 낮은 함량을 나타내었고 효소처리 초당옥수수 식혜군은 초당옥수수의 함량이 증가할수록 함량이 증가하는 경향을 나타내어 Corn-5가 유의적으로 가장 높은 함량을 나타내었다. Sucrose의 경우 대조군이 0.023%의 함량을 나타내었고, 초당옥수수 식혜 대조군이 0.454%로 가장 높

은 함량을 보였다. 효소처리 초당옥수수 식혜군은 초당옥수수 함량이 증가할수록 sucrose의 함량이 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 복합효소 중 invertase의 작용에 의해 초당옥수수에 함유된 sucrose가 glucose와 fructose로 가수분해되어 sucrose의 함량이 감소하고 glucose 및 fructose의 함량이 증가한 것으로 생각된다. Maltose의 경우 대조군이 8.936%로 가장 높은 함량을 나타내었으며 다른 식혜군은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Jung 등(2017)의 효소처리에 따른 야생복숭아 당절임액의 특성 연구에서는 야생복숭아에 cellulase 및 pectinase 효소 처리 시 glucose 및 fructose의 함량이 유의적으로 증가하는 것으로 나타나 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

3. 항산화 성분 함량

효소처리 초당옥수수 식혜의 항산화 성분 함량 측정은 ascorbic acid, polyphenol 및 flavonoid 화합물을 측정하였으며 그 결과는 Table 4와 같다.

Ascorbic acid의 함량의 경우, 대조군 및 초당옥수수 식혜 대조군이 4.87 mg%로 측정되었다. 효소처리 초당옥수수 식혜군의 함량은 Corn-5에서 6.10 mg%, Corn-3에서 5.93 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며 Corn-1에서 4.75 mg%로 측정되어 효소처리 및 초당옥수수의 함량이 증가함에 따라 유의적으로 함량이 증가하는 경향을 보였다.

Flavonoid 화합물 함량의 경우, 식혜 내 함량이 매우 적었으나 실험군 중에서는 초당옥수수 식혜 대조군이 1.65 µg%

Table 3. Changes in free sugar contents of enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| Sample | Free sugar (%) | | | |
|--------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Glucose | Fructose | Sucrose | Maltose |
| Control | 1.028±0.004 ^{e1)} | 0.229±0.002 ^d | 0.023±0.001 ^b | 8.936±0.010 ^a |
| Corn-Control | 1.325±0.011 ^d | 0.291±0.020 ^c | 0.454±0.003 ^a | 4.568±0.034 ^b |
| Corn-1 | 1.355±0.010 ^c | 0.315±0.005 ^c | 0.018±0.001 ^c | 4.670±0.043 ^b |
| Corn-3 | 1.874±0.007 ^b | 0.486±0.012 ^b | 0.010±0.003 ^d | 5.030±2.524 ^b |
| Corn-5 | 2.409±0.006 ^a | 0.674±0.027 ^a | 0.003±0.003 ^e | 6.793±0.404 ^b |

¹⁾ Values with different superscripts within a column (^{a-c}) were significantly different ($p < 0.05$).

Table 4. Ascorbic acid, polyphenols and flavonoids contents of enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| | Sample | | | | |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Control | Corn-Control | Corn-1 | Corn-3 | Corn-5 |
| Ascorbic acid (mg %) | 4.87±0.22 ^{b1)} | 4.87±0.13 ^b | 4.75±0.22 ^b | 5.93±0.53 ^a | 6.10±0.19 ^a |
| Polyphenol (mg %) | 18.25±0.90 ^e | 25.69±0.34 ^b | 21.27±0.14 ^d | 24.44±0.11 ^c | 32.09±0.18 ^a |
| Flavonoid (µg %) | 1.12±0.23 ^b | 1.65±0.00 ^a | 0.85±0.00 ^{bc} | 0.31±0.23 ^d | 0.58±0.47 ^{cd} |

¹⁾ Values with different superscripts within a row (^{a-c}) were significantly different ($p < 0.05$).

가장 높은 함량을 나타내었고 쌀 식혜 대조군이 1.12 µg%로 나타났다. 효소처리 초당옥수수 식혜군에서는 초당옥수수 함량에 따른 flavonoid 화합물 함량의 경향을 보이지는 않았다.

Polyphenol 화합물의 함량은 대조군이 18.25 mg%로 가장 낮은 함량을 나타내었으나 Corn-5 실험군은 32.09 mg%로 유의적으로 가장 높은 함량을 나타내었으며 효소처리 초당옥수수 식혜군에서 초당옥수수 함량이 증가할수록 함량이 증가하였고 초당옥수수 식혜 대조군과 비교할 때 복합 효소처리에 의해 polyphenol 화합물의 함량이 증가하는 것으로 나타나 효소처리가 조직의 연화 등으로 그 함량을 증가시키는 것으로 판단되었다.

Hwang & Sohn(2020)의 아로니아 착즙액을 첨가하여 제조한 식혜의 품질특성에 관한 연구에서는 아로니아 착즙액의 첨가량이 증가할수록 총 polyphenol 화합물 함량이 유의적으로 증가하여 본 연구와 유사한 경향을 보였다.

4. 항산화 활성

효소처리 초당옥수수 식혜의 항산화 활성을 측정할 결과는 Table 5와 같다.

DPPH 라디칼 소거능의 경우 쌀 식혜 대조군은 58.78%로 가장 낮은 활성을 나타냈으며, 초당옥수수 함량이 가장 높은 Corn-5이 69.28%로 유의적으로 가장 높은 활성을 나타냈다. 효소처리 초당옥수수 식혜의 DPPH 라디칼 소거능은 초당옥수수 함량이 증가할수록 활성이 증가하는 경향을 나타내었고, 초당옥수수 식혜 대조군이 62.33%로 측정되어 효소처리 시 증가하는 경향을 나타내는 것으로 확인되었다.

ABTS 라디칼 소거능은 쌀 식혜 대조군이 62.71%로 가장 낮은 활성을 보였다. 효소처리 초당옥수수 식혜군의 Corn-5의 경우 74.92%로 유의적으로 가장 높은 활성을 나타내었으며 초당옥수수 함량이 증가할수록 활성이 증가하는 경향을 나타내었다. 초당옥수수 식혜 대조군의 경우 70.83%로 효소처리 시 ABTS 라디칼 소거능이 증가하는 경향을 나타내는 것으로 나타났다.

Kim & Park(2012)의 천궁 열수 추출물을 첨가한 식혜의 품질 특성에 관한 연구에서 천궁 열수 추출물의 첨가량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로 증가하는 결과를 나타내어 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다. 특히, 초당옥수수 식혜 대조군과 비교하여 같은 비율로 제조한 효소처리 초당옥수수 식혜의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능이 높은 것으로 보아 식혜 제조 과정에서 초당옥수수 효소처리 시 항산화 활성에 긍정적인 요인으로 작용하는 것을 확인할 수 있었다.

한편, 초당옥수수 식혜를 분석한 각각의 항산화 성분들과 항산화 활성들에 대한 상관분석(Table 6)에서는 polyphenol 화합물과 ABTS 라디칼 소거능간의 r값이 0.942로 가장 높은 것으로 나타났다.

5. 관능평가

효소처리 초당옥수수 식혜의 관능평가 측정된 결과는 Table 7과 같다.

맛(taste)의 경우, 효소처리 초당옥수수 식혜군의 Corn-3가 4.44로 유의적으로 가장 좋게 평가되었으며 초당옥수수 식혜

Table 5. Antioxidant activities of enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| | Sample | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Control | Corn-Control | Corn-1 | Corn-3 | Corn-5 |
| DPPH radical scavenging activity (%) | 58.78±0.80 ^d | 62.33±0.41 ^c | 60.02±1.04 ^d | 64.79±0.98 ^b | 69.28±0.37 ^a |
| ABTS radical scavenging activity (%) | 62.71±1.36 ^d | 70.83±0.55 ^b | 66.85±0.34 ^c | 71.61±0.27 ^b | 74.92±1.29 ^a |

¹⁾ Values with different superscripts within a row (^{a-d}) were significantly different ($p < 0.05$).

Table 6. Correlation coefficients among antioxidant compounds and antioxidant activity in enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| | Ascorbic acid | Flavonoids | Polyphenols | DPPH radical scavenging | ABTS radical scavenging |
|-------------------------|---------------|------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| Ascorbic acid | 1.000 | | | | |
| Flavonoids | -0.669 | 1.000 | | | |
| Polyphenols | 0.672 | -0.214 | 1.000 | | |
| DPPH radical scavenging | 0.709 | -0.321 | 0.885 | 1.000 | |
| ABTS radical scavenging | 0.711 | -0.255 | 0.942 | 0.936 | 1.000 |

Table 7. Sensory evaluation of enzyme-treated super sweet corn *sikhye*

| | Sample | | | | |
|--------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | Control | Corn-Control | Corn-1 | Corn-3 | Corn-5 |
| Taste | 3.88±1.50 ^{ab1)} | 3.31±1.54 ^b | 4.31±1.25 ^{ab} | 4.44±1.21 ^a | 4.00±1.10 ^{ab} |
| Flavor | 4.25±1.18 | 4.56±1.46 | 4.06±1.12 | 4.38±1.02 | 4.56±0.81 |
| Color | 3.94±1.57 | 4.44±1.63 | 4.19±1.17 | 4.31±1.30 | 3.94±1.06 |
| Sweet taste | 3.63±1.26 ^{ab} | 3.44±1.67 ^b | 3.81±1.47 ^{ab} | 4.69±1.30 ^a | 4.19±1.33 ^{ab} |
| Swallowing | 4.69±1.45 ^a | 3.50±1.15 ^c | 4.56±1.36 ^{ab} | 4.00±1.10 ^{abc} | 3.69±1.01 ^{bc} |
| Overall preference | 4.00±0.51 ^{ab} | 3.56±1.59 ^b | 4.44±1.41 ^{ab} | 4.81±1.28 ^a | 4.19±1.28 ^{ab} |

¹⁾ Values with different superscripts within a row (^{a-c}) were significantly different ($p < 0.05$).

대조군이 3.31로 유의적으로 가장 나쁘게 평가되었다. 향(flavor)의 경우, 모든 식혜군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 미미하지만 초당옥수수의 함량이 증가할수록 좋게 평가되는 경향을 나타내었다. 색(color)의 경우에는 모든 식혜군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 초당옥수수 식혜 대조군이 약간 높게 평가되는 경향을 나타내었다. 단맛(sweet taste)은 효소처리 초당옥수수 식혜군의 Corn-3가 4.69로 유의적으로 가장 좋게 평가되었다. 쌀 식혜 대조군, Corn-1 및 Corn-5의 경우 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 초당옥수수 식혜 대조군이 3.44로 유의적으로 가장 낮게 나타났다. 목넘김(swallowing)의 경우, 쌀 식혜 대조군이 4.69로 유의적으로 가장 좋게 평가되었으며, 초당옥수수 식혜 대조군이 3.50로 유의적으로 가장 나쁘게 평가되었다. 효소처리 초당옥수수 식혜군의 경우에는 초당옥수수의 함량이 증가할수록 나쁘게 평가되는 경향을 나타내었으며 이는 식혜 제조 후 효소처리된 초당옥수수의 알갱이가 마시는 과정에서 목넘김의 관능적 평가에 부정적인 요인으로 작용한 것으로 사료된다. 종합적 기호도(overall preference)에서는 효소처리 초당옥수수 식혜군의 Corn-3가 4.81로 유의적으로 가장 좋게 평가되었으며 이는 전반적인 맛과 단맛이 긍정적인 요

인으로 작용한 것으로 사료된다. 초당옥수수 식혜 대조군의 경우 3.56로 가장 나쁘게 평가되었으며, 쌀 식혜 대조군, Corn-1 및 Corn-5은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Park SI(2006)은 가루녹차를 0~3% 첨가한 식혜에서 맛, 단맛 및 종합적 기호도에서 첨가량이 증가할수록 유의적으로 선호도가 증가하는 경향을 보이거나, 가루녹차 3% 첨가 식혜에서 선호도가 감소하는 경향을 나타내 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. Kim JS(2012)의 오디를 첨가한 식혜 특성 연구에서 첨가 비율에 따른 종합적 기호도는 첨가 비율이 증가할수록 선호도가 증가하는 경향을 보이거나 오디 30% 첨가 식혜에서 선호도가 감소하는 것으로 보여 유사한 결과를 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 효소처리 초당옥수수 식혜 제조 시 첨가되는 효소처리 초당옥수수의 비율이 증가함에 따라 가용성 고형분 및 환원당의 함량이 증가함을 확인할 수 있었으며 항산화 성분 함량 및 항산화 활성 또한 증가하였다. 관능적 품질 평가의 경우 일반적인 쌀로 만든 식혜보다 효소처리 초당옥수수 식혜의 맛, 단맛, 종합적 기호도 평가에서 높은 평가를 받은 경향을 보였다. 또한, 초당옥수수 함량이 가장 높은 Corn-5 실험군보다 함량이 적은 Corn-3 실험

군이 전반적으로 높은 평가를 나타내었다.

요약 및 결론

감미료 대체한 초당옥수수 식혜를 제조하기 위하여 밥과 초당옥수수의 비율을 조절하고 당화시 복합효소를 처리하여 제조한 후 이들의 이화학적 및 관능적 특성을 분석하였다. 가용성 고형분 함량은 쌀 식혜 대조군과 Corn-5가 13.50 °Brix로 유의적으로 가장 높은 함량을 보였고, 환원당 함량의 경우 Corn-5가 9.45%로 높은 함량을 나타내었다. 유리당 함량은 쌀 식혜 대조군의 경우 maltose를 제외한 유리당 함량은 모든 식혜군에서 가장 낮은 값을 나타내었으며 효소처리 초당옥수수 식혜군은 초당옥수수 함량이 증가할수록 sucrose의 함량이 감소하고 glucose 및 fructose의 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. Ascorbic acid 및 polyphenol 화합물의 함량은 초당옥수수 함량이 증가함에 따라 그 함량이 증가하는 경향을 나타내었지만 flavonoid 화합물의 함량은 모든 실험군에서 매우 적은 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능에서는 쌀 식혜 대조군에 비하여 초당옥수수 첨가 비율 상승과 효소처리에 의해 소거능이 증가하였다. 관능평가의 경우, 쌀 식혜 대조군보다 Corn-3가 맛, 단맛, 종합적 기호도 평가에서 높은 평가를 보여 식혜 제조 시 초당옥수수 첨가와 효소처리 기호도가 증가하는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로 초당옥수수를 활용한 식혜 개발 시 효소처리하여 제조한 Corn-3가 가장 우수한 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 과제(결과물)는 2023년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반 지역혁신사업(2021RIS-001)과 2023년 한국교통대학교 산학협력단 지원을 받아 수행하였습니다.

References

- Ann YG. 1999. Preparation of traditional malt-sikhye: 2. Preparation by malt. *Korean J Food Nutr* 12:170-176
- Ann YG, Lee SK. 1995. A study of sikhye. *Korean J Food Nutr* 8:165-171
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. Association of Official Analytical Chemist
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Chae SK, Kang KS, Ma SJ, Bang GW, Oh MH, Oh SH. 2000. Standard Food Analysis. pp.299-301, 403-404. Jigumunhwasa
- Cho KM, Joo OS. 2010. Manufacture of sikhe (a traditional Korean baverage) using corn silk extracts. *Korean J Food Preserv* 17:644-651
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. 2022. World Food and Agriculture: Statistical Yearbook 2022. Available from <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cc2211en> [cited 16 October 2023]
- Hwang ES, Shon EM, Lee S. 2020. Quality characteristics and antioxidant activity of sikhye according to rice type. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 49:592-600
- Hwang ES, Sohn EM. 2020. Quality characteristics and antioxidant activity of sikhye made with different amount of aronia juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 49:946-952
- In BY, Jang DB, Lee JJ, Lee WJ, Yoon AR, Kim SK, Lee KH. 2023. Changes in physicochemical and antioxidant properties of by enzyme-treated super sweet corn extracts. *Korean J Food Nutr* 36:526-534
- Jeong SI, Yu HH. 2013. Quality characteristics of sikhe prepared with the roots powder of doraji (*Platycodon grandiflorum* A. DE. Candolle). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:759-765
- Jung KM, Kim SH, Jeong YJ, Choi MA. 2017. Quality characteristics and antioxidant effect of sugar preserved wild peach (*Prunus persica* L.) juice by enzymatic treatment. *Culin Sci Hosp Res* 23:25-33
- Kim GS, Park GS. 2012. Quality characteristics of sikhye prepared with *Cnidium officinale* Makino water extracts. *J East Asian Soc Diet Life* 22:868-878
- Kim HH, Park GS, Jeon JR. 2007. Quality characteristics and storage properties of sikhye prepared with extracts from *Hovenia dulcis* Thunb. *Korean J Food Cookery Sci* 23:848-857
- Kim JS. 2012. Quality characteristics of sikhea with mulberry fruit. *Korean J Culin Res* 18:206-215
- Lee KH, Joo GY, Kim CY, Han KJ, Jang DB, Yun JH, Yu KW, Bae YJ. 2021. Physicochemical quality change of enzyme-treated *Centella asiatica* and preparation of jam using enzyme-treated *Centella asiatica*. *Korean J Food Nutr* 34:612-620
- Lee YJ, Byun GI. 2006. A study on the preference and intake frequency of Korean traditional beverages. *Korean J Food*

- Cult* 21:8-16
- Lee YJ, Yoon WB. 2019. Characterization of quality changes of whole super sweet corn (*Zea mays saccharata* Sturt.) during thermal sterilization for shelf-stable products. *J Appl Biol Chem* 62:25-30
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71:109-114
- Park SI. 2006. Application of green tea powder for *sikhe* preparation. *Korean J Food Nutr* 19:227-233
- Park YK, Kim SH, Choi SH, Han JG, Chung HG. 2008. Changes of antioxidant capacity, total phenolics, and vitamin C contents during *Rubus coreanus* fruit ripening. *Food Sci Biotechnol* 17:251-256
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- Yang JW, Jung SK, Song KM, Kim YH, Lee NH, Hong SP, Lee KH, Kim YE. 2015. Quality characteristics of *sikhye* made with berries. *J East Asian Soc Diet Life* 25:1007-1017
- Yang SK, Hong SB, Lee SS. 2007. Planting time for the economic yield of a super sweet corn hybrid in the southern part of Korea. *Koeran J Crop Sci* 52:325-333
- Yu KW, Bae YJ, Bae YJ, Joo GY, Kim CY, Yun JH, Lee KH. 2020. Qualities analysis of domestic soybean cultivars. *Korean J Food Nutr* 33:666-671

Received 22 December, 2023

Revised 09 January, 2024

Accepted 15 January, 2024

유산균에 의해 변화된 황기-포스트바이오틱스 다당류가 대식세포에 미치는 영향

김연숙 · 신현영* · 정원비** · 하은지** · 구자평** · 신지영*** · †유광원****

한국교통대학교 식품영양학전공 대학원생, *고려대학교 대학원 의생명융합학과 러닝헬스시스템 융합전공 대학원생,
한국교통대학교 식품영양학전공 학부생, * (주)코시스바이오 연구소장, ****한국교통대학교 식품영양학전공 교수

Effect of *Astragalus membranaceus*-postbiotics Polysaccharide Changed by Lactic Acid Bacteria on Macrophage

Yeon Suk Kim, Hyun Young Shin*, Won Bi Jeong**, Eun Ji Ha**,
Ja Pyeong Koo**, Ji-Young Shin*** and †Kwang-Won Yu****

Graduate School Student, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

*Graduate School Student, Transdisciplinary Major in Learning Health System, Dept. of Integrated Biomedical & Life Science, Korea University, Seoul 02841, Korea

**Undergraduate Student, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

***R&D Director, Cosis-Bio Co., Ltd., Jincheon 27867, Korea

****Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

Abstract

To increase industrial applicability of *Astragalus membranaceus* (AM) as immunostimulating materials, hot-water extract (AME) was prepared from AM and fermented with Kimchi-lactic acid bacteria (*Lactobacillus sakei* & *Leuconostoc mesenteroides*) to prepare fermented AM-postbiotics (FAME). Although FAME prepared from AM-postbiotics did not show a significant enhancement in macrophage stimulating activity compared to non-fermented AME, crude polysaccharide (FAME-CP) fractionated by EtOH precipitation from FAME showed significantly higher macrophage stimulating activity than AME-CP. Compared to AME-CP, FAME-CP showed dramatic changes in component sugar and molecular weight distribution. FAME-CP was a polysaccharide with a major molecular weight distribution of 113.4 kDa containing Man (44.2%), Glc (19.3%), Gal (10.2%), GalA (10.2%), and Ara (7.4%) as sugar components. FAME-CP with enhanced macrophage stimulatory activity not only increased expression levels of mRNA genes encoding macrophage-activated factors (iNOS, TNF- α , MCP-1, IL-6, and COX-2), but also led the nuclear translocation of activated p65 and c-Jun. In conclusion, crude polysaccharide from AM-postbiotics fermented with lactic acid bacteria could increase industrial applicability as a functional material with enhanced immunostimulating activity than AME-CP.

Key words: *Astragalus membranaceus*, lactic acid bacteria, postbiotics, macrophage, crude polysaccharide

서 론

코로나 19, Mpox(엡폭스)와 같은 감염병의 확산으로 인해 건강을 스스로 진단하고 관리하는 셀프 메디케이션(self-medication) 트렌드가 확산하고 있으며, 이에 따라 면역 관련

건강기능식품에 대한 관심이 증가하고 있다(Kim 등 2021; Kim 등 2023a). 지금까지 면역 기능을 증진시키는 원료로는 생약(Lee 등 2004), 천연물(Shin 등 2021) 및 프로바이오틱스(Seo & Lee 2007) 등이 보고되고 있는데, 특히 생약은 자연으로부터 동물, 광물, 미생물 등에서 얻은 자원을 건조 및 정제

† Corresponding author: Kwang-Won Yu, Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5333, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: kwyu@ut.ac.kr

등의 가공을 통해 의약품으로 사용하거나 의약품의 원료로 쓰는 것을 말하며, 이는 낮은 부작용과 적은 독성을 가지고 있어 한국을 포함한 동양권에서 민간요법 및 한방 등의 약제로 사용되어 왔다(Lee & Rhee 2015; Shin 등 2021). 이러한 생약 중 하나인 황기(*Astragalus membranaceus*)는 대한민국 약전에 수록되어 있는 콩과(Leguminosae)에 속하는 여러해살이 다년생 초본식물로, 단너삼으로도 불리고 있으며, 한국, 중국 등 아시아 지역과 유럽 및 아프리카 일부 지역에서 자생하고 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등 2007; Tran 등 2017). 황기는 사포닌, 폴리페놀 및 플라보노이드 계열의 저분자 물질과 고분자의 다당류 등 약리적인 활성을 갖는 성분을 다량 함유하고 있는데(Bae HK 2021), 특히, 황기 다당류(*Astragalus polysaccharide*; APS)에는 글루칸 및 이형 다당류(heteropolysaccharide) 등을 함유하고 있어 면역 촉진제 또는 조절제로 활용될 뿐만 아니라, 항종양, 항노화, 혈당 조절 및 항바이러스 등의 약리적인 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Zheng 등 2020).

최근, 생약 및 천연물의 생리활성 증대를 위한 목적으로 발효를 통한 생물학적 전환기법을 이용한 다양한 연구가 진행되고 있으며(Sung 등 2013; Jeong 등 2017; Kim 등 2019), 이를 기능성 소재로 산업화하고 제품을 개발하기 위한 노력이 끊이지 않고 있다. 특히, 프로바이오틱스(probiotics)와 같은 유산균 발효를 통한 postbiotics 제조는 생리활성의 증진에 크게 기여하는 장점이 있어, 이를 개발하여 기능성 식품의 소재로 활용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있는 것으로 알려져 있다(Ha 등 2010; Shin 등 2022). 한편, 프로바이오틱스는 적정량을 섭취하였을 때 몸에서 유익한 효과를 내는 균을 의미하는 반면, 포스트바이오틱스(postbiotics)는 미생물 자체의 균체 성분과 함께 그들이 생산하는 대사산물을 포함하여 인체에 유익한 영향을 미치는 기능성 대사산물을 가리킨다(Kim & Park 2021). 현재, 대부분의 프로바이오틱스는 산에 취약하여 위산 및 담즙산에 의해 쉽게 사멸된다고 알려져 있으나(Chang 등 2015), 포스트바이오틱스는 비교적 프로바이오틱스에 비해 안정하다고 보고되고 있으며, 천연물에 발효를 접목하여 제조한 포스트바이오틱스의 기능성 소재화에 대한 연구가 관심을 받고 있다(Kim 등 2022a; Shin 등 2022; Kim 등 2023b). 현재, 유산균에 의해 조제된 포스트바이오틱스는 염증 및 면역조절, 유해균 억제, 정장작용, 항암 및 항균작용 등의 약리적인 효능이 보고되고 있다(Cuevas-González 등 2020; Kim 등 2022a). 한편, 다양한 유산균이 분포하는 김치에는 주로 *Lactobacillus* 속, *Leuconostoc* 속, *Weissella* 속 등의 유산균들이 발효에 관여하고 있는데(Kang 등 2019), 이들 균체는 면역증강, 종양 억제, 항돌연변이, 항비만 등의 다양한 효능을 가지는 것으로 알려져 있다(Lee 등

2016).

본 연구는 코로나 19와 같은 감염병 유행에 따라 면역 관련 식품 및 기능성 식품의 소비 추세가 증가하면서 면역 활성이 증진된 생약재-환을 제조/판매하고 있는 산업체로부터 면역 활성이 증진된 새로운 환 제품을 출시하기 위한 소재를 개발하기 위해 진행되었다. 따라서, 생약재 환 원료로서 많이 사용되고 있는 황기(*A. membranaceus*)의 열수추출물을 이용하여 시판 김치로부터 분리한 *Lactobacillus sakei* 및 *Leuconostoc mesenteroides*(Kim 등 2022a)를 접종하고 발효시켜 황기-포스트바이오틱스를 제조하고, 비발효 황기와 *in vitro* 상에서 대식세포 활성을 비교하여 면역활성이 증진된 생약-포스트바이오틱스 소재를 이용하여 산업적으로 활용 가능한 면역활성 소재의 개발 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 황기 열수추출물과 황기-포스트바이오틱스 조제 및 조다당 획분의 분획

본 연구에서는 2022년 경기도에서 재배된 황기(*A. membranaceus*; AM)를 (주)에이치푸드(Pocheon, Korea)에서 구매하여 -70°C (Ilshin Biobase, Seoul, Korea)에서 보관하면서 사용하였다. 황기 열수추출물(AME)은 건조물 중량의 20배(w/v) 물을 가하여 decoction 방법으로 추출 및 원심분리(8,000 rpm, 4°C , 20 min, Gyrogen Co., Ltd., Daejeon, Korea) 후 상등액을 회수하고 여과하여(Advantec, Tokyo, Japan) 불용성 침전물을 제거하고, 여과액을 감압농축기(Eyela, Tokyo, Japan)로 농축 후 동결건조(Ilshin Biobase, Seoul, Korea)하여 조제하였다. 다음으로 황기-포스트바이오틱스(FAME)는 (주)코시스바이오(Jincheon, Korea)에서 Kim 등(2022a)이 시판 김치에서 분리·동정한 유산균(*Lactobacillus sakei*와 *Leuconostoc mesenteroides*)을 AME에 1×10^7 CFU/mL 접종하여(5% 비율) 35°C 에서 24시간 배양하고 121°C 에서 15분간 멸균한 후 원심분리(8,000 rpm, 4°C , 20 min)로 상등액을 회수하여 농축 및 동결건조로 조제하였다. 다음으로 AME와 FAME는 소량 증류수로 용해시키고 95% 주정을 5배(w/v) 첨가하여 충분히 교반한 후 원심분리를 통해 침전물을 회수하고 투석(MWCO 12-14 kDa, Spectrum Lab. Inc., Rancho Dominguez, CA, USA), 농축 및 동결건조로 황기 열수추출물 조다당 획분(AME-CP)과 황기-포스트바이오틱스 조다당 획분(FAME-CP)으로 각각 분획하였다(Fig. 1).

2. 세포주 배양 조건 및 대식세포 자극활성

한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB, Seoul, Korea)에서 RAW 264.7 대식세포주를 입수하여 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM; Hyclone, San Angelo, TX,

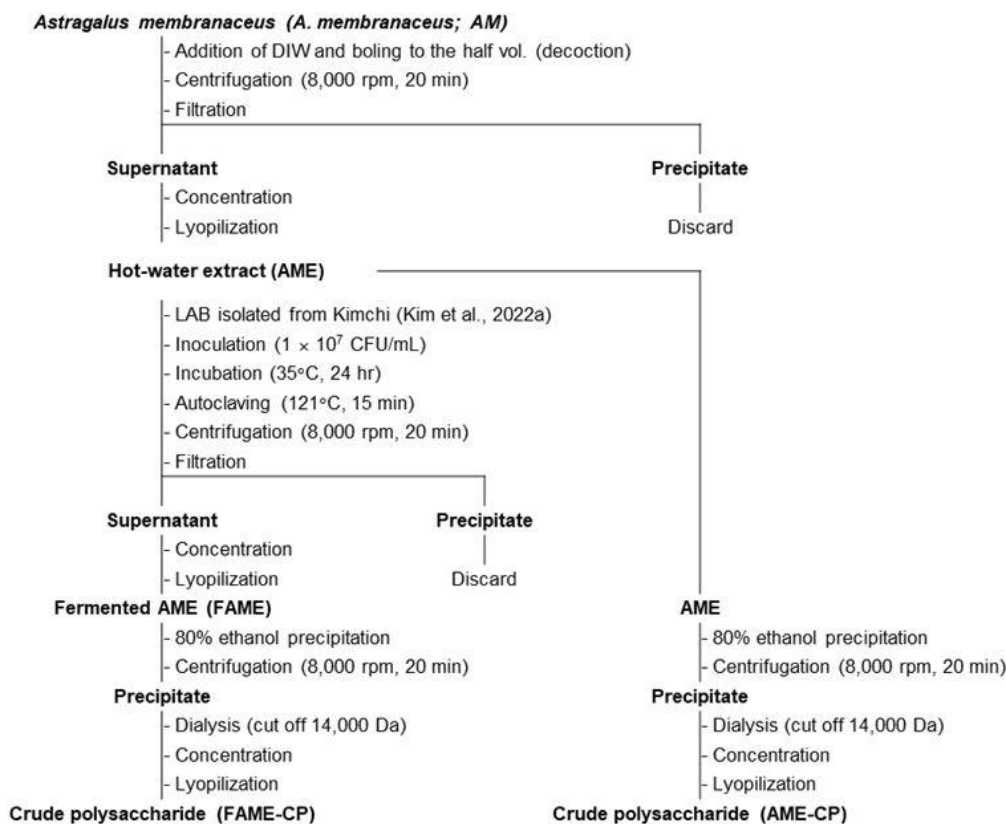


Fig. 1. Fractionation scheme of crude polysaccharide isolated from AME and FAME.

USA)에 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco, Waltham, MA, USA)과 1% penicillin/streptomycin(GenDEPOT, Katy, TX, USA)을 첨가한 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양을 진행하였다. 대식세포 활성화를 확인하기 위해 RAW 264.7을 2×10^6 cells/mL로 96-well plate에 200 µL씩 각각 분주하여 배양기에서 monolayer를 형성할 때까지 안정화시켰다. 이후, 부착된 세포를 제외하고 상등액을 모두 제거하고 serum-free DMEM(SFM)과 적절한 농도로 희석한 시료를 처리하여 24시간 동안 재배양하였다. 이후 산화질소(nitric oxide; NO)는 griess assay(Tursun 등 2016)로, tumor necrosis factor (TNF)-α(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), monocyte chemoattractant protein(MCP)-1(BD biosciences, San Diego, CA, USA) 및 interleukin(IL)-6(BD biosciences) 등은 sandwich ELISA 방법을 이용하여 분석을 진행하였으며, 각각 sodium nitrate 및 reference standard로 표준 곡선을 그려 함량을 계산하였다. 또한 시료처리에 따른 세포독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT; Invitrogen) 시약을 이용하여 측정하였으며, 무처리군(negative control; NC) 대비 세포 생존율(viability; %)로 나타냈다.

3. 구성분 및 구성당 분석

비발효 황기 및 황기-포스트바이오틱스 조다당획분의 구성분 분석은 DuBois 등(1956)의 phenol-sulfuric acid법으로 증성당을, Blumenkrantz & Asboe-Hansen(1973)의 *m*-hydroxybiphenyl 법을 이용해 산성당 함량을 분석하였으며, 표준물질로 glucose (Glc; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 및 glucuronic acid (Glc A; Sigma Aldrich)를 이용하여 w/w(%)으로 나타냈다. 단백질 함량은 Bradford MM(1976)의 방법에 따라 bovine serum albumin(BSA; Invitrogen)을 표준물질로서 사용하여 분석하였으며, 총 폴리페놀 함량 분석은 표준물질로 gallic acid(Sigma Aldrich)를 사용하여 Kim 등(2016)의 방법을 이용하여 분석하였다. 또한, 조다당획분의 구성당 분석은 Honda 등(1989) 및 Shin 등(2021)의 방법을 참고하여 먼저, 시료에 2 M trifluoroacetic acid(TFA; Sigma Aldrich)를 처리하여 aldose 단위로 분해하고 0.3 M NaOH와 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazoline (PMP; Sigma Aldrich)을 가하여 단당류와 PMP를 결합시킨 유도체로 전환시켰다. 이후 0.3 M HCl를 가하여 유도체를 중화시키고 물 및 chloroform(2상 용매계)으로 분리 및 추출한 후 물 층만을 분리하여 PVDF membrane filter(0.45 µm, Jaema Trade Inc., Gwangwon, Korea)로 여과하여 HPLC로 분석을 진

행하였다. HPLC 분석에 사용된 조건은 Table 1에 나타냈으며, 분석 결과는 peak area와 response factor를 이용하여 mole %로 계산하였다.

4. 분자량 분포

비발효 황기와 황기-포스트바이오틱스 조다당획분의 분자량 분포는 high performance size exclusion chromatography (HPSEC)로 평가하였다. 즉, 적당한 농도로 희석한 시료를 PVDF membrane filter로 여과하고 Table 1의 조건으로 분석하였는데, 표준물질은 galactose(Gal; Sigma Aldrich) 및 다양한 분자량의 pullulan(Shodex, Tokyo, Japan)을 이용하였고, retention time(RT)를 통해 표준곡선을 작성한 후 시료의 RT와 비교하여 kDa으로 계산하였다.

5. qRT-PCR을 이용한 대식세포 활성화 인자의 mRNA 유전자 발현량 분석

RAW 264.7 세포를 8×10^5 cells/mL로 60 mm dish에 5 mL씩 각각 분주하고 배양기에서 monolayer를 형성할 때까지 세포를 안정화하였다. 이후 배양 상등액을 모두 제거하고 SFM과 일정한 농도로 희석한 시료를 처리하여 24시간 동안 재배양하였다. 배양 완료 후 상등액을 완전히 제거하고 phosphate-buffered saline(PBS)을 이용하여 세척하고 RNeasy Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였으며, 분리된 RNA는 260 및 280 nm의 범위에서 Nanoquant Infinite M200 Pro(Tecan, Mannedorf, Switzerland)를 이용하여 흡

광도를 측정하여 정량하였다. 한편, cDNA 합성은 ReverTraAce qPCR RT Master Mix kit(Toyobo Co., Ltd., Osaka, Japan)를 이용하였다. mRNA 발현은 SYBR green PCR kit(Toyobo)를 제조사의 방법에 따라 사용하여 real-time PCR분석을 진행하였으며, Quant Studio 3 real-time PCR system(Applied Biosystems, Waltham, MA, USA)으로 분석하였다. 각각의 유전자 발현은 동일한 시료를 처리한 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 발현량을 이용하여 보정하였으며, 자세한 primer sequence는 Table 2에 나타냈다.

6. 면역 형광법을 이용한 대식세포 활성화 관련 전사인자의 관찰

대식세포 내 대표적인 신호전달 전사인자인 NF- κ B(p65)와 AP-1의 전사인자 중 하나인 cJun의 핵 내로의 이동 여부는 면역형광법을 이용해 육안으로 확인하였다. 즉, 24-well plate 안에 12 mm cover slip을 각각 넣고 0.1% gelatin을 500 μ L씩 분주하여 30분간 방치하고, 여분의 상등액은 제거하였다. 이후 RAW 264.7 세포주를 2.2×10^5 cells/mL로 조정하여 각각 900 μ L를 분주하고 배양기에서 3시간 동안 안정화를 진행하였으며 시료를 100 μ L 처리한 후 다시 배양기에서 3시간 동안 재배양하였다. 배양 후 4% formaldehyde(Sigma Aldrich)를 500 μ L씩 가하고 15분간 방치하여 고정하였으며, 이후 각 well 안에 300 μ L의 5% BSA(in 0.1% Trion X-100; Sigma Aldrich/1 \times PBS)를 처리하여 암소에서 1시간 동안 반응시켰다. 다음으로 PBS를 이용하여 세척한 뒤 1차 항체(p65 및

Table 1. HPLC analytical condition for component sugar and molecular weight distribution of crude polysaccharide isolated from AME and FAME

| Analysis | Component sugar (A) | Molecular weight (B) |
|--------------------|--|--|
| HPLC system | Dionex Ultimate 3000 (Dionex, Idstein, Germany) | Agilent 1260 Infinity series (Agilent Technologies Co., Ltd., Palo Alto, CA, USA) |
| Column | YMC-Triart C18 (YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan) | Superdex 75 Increase 10/300 GL (Cytiva, Marlborough, MA) |
| Column size | 250 \times 4.6 mm, 5 μ m | 300 \times 10 mm, 8.6 μ m |
| Column temperature | 30 $^{\circ}$ C | Room temperature (RT) |
| Flow rate | 1.0 mL/min | 0.5 mL/min |
| Eluent | 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.7):Acetonitrile 82:18 | 50 mM ammonium formate |
| Injection volume | 20 μ L | 20 μ L |
| Detector | UV/Vis Detector (Dionex, Idstein, Germany) | Refractive Index Detector (RID) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) |
| Integrator | Chromleon 7 | Agilent Chemstation |

Table 2. The primer sequence of the mouse for qRT-PCR

| Genes | Primer | Primer sequence (5'→3') | Accession number |
|--------------|---------|-------------------------|------------------|
| <i>iNOS</i> | Forward | GGTGAAGGGACTGAGCTGTT | NM_010927.4 |
| | Reverse | ACGTTCTCCGTTCTCTTGACAG | |
| <i>TNF-α</i> | Forward | CCCACGTCGTAGCAAACCA | NM_013693.3 |
| | Reverse | CTTTGAGATCCATGCCGTTGG | |
| <i>MCP-1</i> | Forward | CTGCATCTGCCCTAAGGTCT | NM_011333.3 |
| | Reverse | AGTGCTTGAGGTGGTTGTGG | |
| <i>IL-6</i> | Forward | TCACAGAGGATAACCACTCCC | NM_031168.2 |
| | Reverse | GAATTGCCATTGCACAACCTCTT | |
| <i>COX-2</i> | Forward | TGAGTACCGCAAACGCTTCT | NM_011198.4 |
| | Reverse | CAGCCATTTCTTCTCTCTCTGT | |
| <i>GAPDH</i> | Forward | GGGTCCCAGCTTAGGTTTCATC | NM_001289726.1 |
| | Reverse | CCAATACGGCCAAATCCGTTTC | |

cJun; Cell signaling, Denvers, MA, USA)를 처리하여 12시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 2차 항체(Alexa Fluor 488 anti-rabbit IgG; Cell signaling)를 처리하여 암실에서 70분 동안 반응시키고 cover slip을 분리하여 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 slide glass에 함께 처리한 다음 광학현미경(IX73; Olympus, Waltham, MA, USA)를 이용하여 세포의 형태를 육안으로 관찰하였다.

7. 통계처리

모든 시험은 3회 반복하여 분석하였으며, 결과는 평균±표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었다. RAW264.7의 대식세포 자극 활성화 및 유전자 발현량은 SPSS V26(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용한 Student's *t*-test로 계산하여 각각 $p<0.05$, $p<0.01$ 및 $p<0.001$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 또한, 시료의 화학적 특성 중 구성분 분석의 경우, 성분간 유의성 평가를 위해 ANOVA를 실시하여 각 측정값 간의 유의성을 Duncan's multiple range test로 $p<0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 황기-포스트바이오틱스의 대식세포 자극 활성화 비교평가

본 연구에서 이용된 마우스 유래 RAW 264.7 대식세포주는 선천면역계에서 중추적인 역할을 수행하며, 외부물질의 침입에 대한 방어막 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다 (Yu 등 2012). 또한, 활성화된 대식세포는 탐식작용과 함께 다양한 사이토카인과 케모카인의 분비작용을 통해 외부의

물질로부터 숙주를 보호하고 면역체계를 조절한다(Son 등 2022). 본 연구에서는 대식세포 자극 활성을 검토하기 위하여 먼저, RAW 264.7 세포주에 대한 황기 열수추출물(AME) 및 황기-포스트바이오틱스(FAME)의 대식세포 활성을 비교 평가하였다. 먼저, Fig. 2A에 시료 처리에 따른 RAW 264.7 세포주의 세포독성 평가를 나타냈다. 황기 열수추출물 및 황기-포스트바이오틱스는 5-100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 NC 대조군 대비 80% 이상의 세포 생존율을 나타냄으로써, 시료 처리에 따른 세포독성은 나타나지 않는 것으로 확인되었다 (López-García 등 2014). 이후 대식세포 활성화 관련 인자인 NO, TNF- α , MCP-1 및 IL-6의 생성능을 평가하였다. 먼저, 면역계에서 외부물질에 대한 체내 방어 물질로 알려진 NO의 생성능을 평가한 결과(Fig. 2B), 양성 대조군으로 이용된 LPS 처리군은 1 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 NC 대조군(5.6 μM) 대비 74.6 μM (약 13.3배 증가)의 생성능을 나타내었고, AME는 50과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 14.7과 33.7 μM (2.6과 6.0배 증가)의 농도-의존적인 생성능을 나타내었으나, FAME는 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서만 8.5 μM (1.5배 증가)의 생성능을 나타내었다. 또한, TNF- α , MCP-1 및 IL-6 생성능에서도(Fig. 2C~Fig. 2E), AME는 50과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도범위에서 FAME에 비해 통계적으로 우수한 TNF- α 및 MCP-1 생성능을 나타냈을 뿐만 아니라, IL-6의 경우에도 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 FAME보다 통계적으로 유의한 생성능이 확인되었다. AME 및 FAME간 대식세포 자극 활성을 비교한 결과, AME가 FAME에 비해 통계적으로 우수한 면역자극 활성을 보였는데 이는 열수추출물에는 폴리페놀, 플라보노이드 및 유리당 등의 저분자 물질과 고분자 물질이 혼재되어 있어, 고분자 계열의 물질이 대식세포 활성화에 활성물질로 작용한다는 여러 연구의 보고

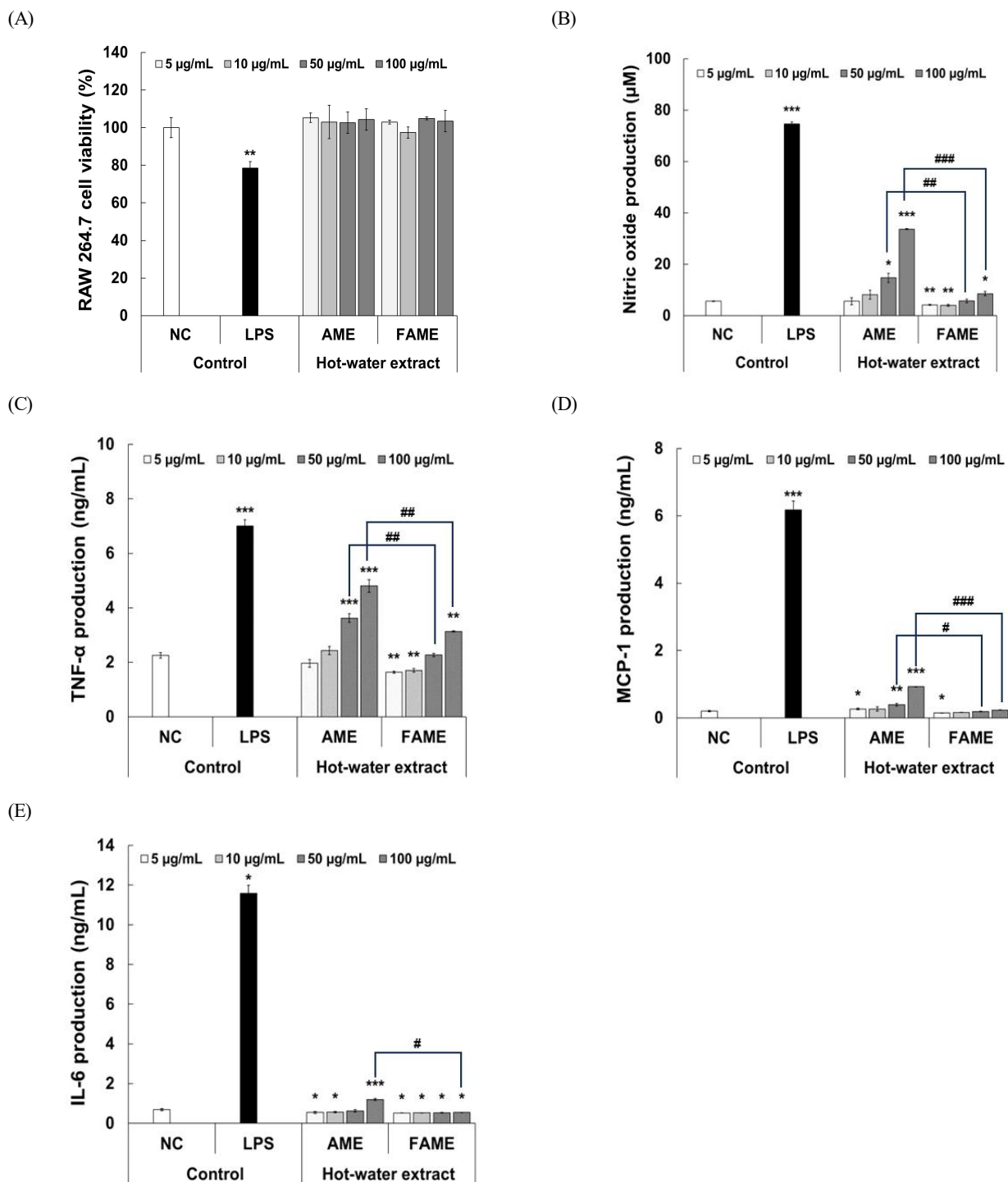


Fig. 2. Macrophage stimulating activity of AME and FAME. RAW 264.7 cells were treated with AME and FAME for 24 hr, and evaluated cytotoxicity effect (A), and production of nitric oxide (B), TNF- α (C), MCP-1 (D), and IL-6 (E). Results are expressed as mean \pm S.D. of three independent tests in triplicate. Different asterisks on the column indicate significant differences between negative control (NC) and each group by Student's *t*-test. The crosshatch patterns expressed significant differences between samples within the same concentrations. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001. NC; negative control, LPS; lipopolysaccharide (1 μ g/mL); positive control, AME; hot-water extracts from AM, FAME; AM-postbiotics.

(Hwang & Shin 2008; Lee H 2012)로부터, 저분자 물질의 존재가 면역활성화에 방해를 가져오는 것으로 추정할 수 있었다. 따라서, 비발효 황기 AME와 FAME의 저분자 물질을 제거하고 고분자 물질을 증가시키기 위하여, 가장 빠르고 간단하게 선택적으로 고분자 물질만을 분리할 수 있는 것으로 보고된 주정 침전법(Shin 등 2021)으로 조다당획분을 분획한 후 대식세포 자극 활성을 재평가하였다.

2. 황기-포스트바이오틱스 조다당 획분의 대식세포 자극 활성 비교평가

일반적으로 열수추출물에 주정을 첨가하여 얻은 침전물은 주로 고분자인 다당류 또는 단백질다당을 포함하고 있는데, 이러한 고분자물질은 대식세포 활성화에 관여한다고 보고되고 있다(Kim 등 2010). 따라서, 본 연구에서는 비발효 황기 열수추출물(AME)과 AME에 김치 유산균을 발효시켜 조제한 황기-포스트바이오틱스(FAME)에 고분자 물질만을 선택적으로 분리하기 위해 주정 침전법을 이용하여 조다당 획분(AME-CP와 FAME-CP)을 분획한 후 대식세포 활성화를 평가하였다. 먼저 시료처리에 대한 세포독성 평가를 분석한 결과(Fig. 3A), 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 NC 대조군 대비 세포 생존율이 80% 이상인 것은 물론이고, 모든 시료의 대부분 농도에서 오히려 NC 대조군 대비 통계적으로 유의한 대식세포주의 증식능을 확인할 수 있었다. 이러한 대식세포 증식능은 탐식작용 증가, NO 및 다양한 cytokine 분비와 함께 면역작용을 증진에 크게 영향을 끼치는 것으로 보고되고 있어(Yu 등 2012), 황기 열수추출물과 황기-포스트바이오틱스로부터 분리된 조다당 획분은 면역 작용을 증진시키는 대식세포 활성화에 기여할 수 있을 것으로 판단되었다. 대식세포 활성화와 관련되어 있는 인자 중 먼저, NO의 생성능을 확인한 결과(Fig. 3B), AME-CP는 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 NC 대조군 대비 32.9~39.5 μM (1.1~1.3배 증가)의 생성능을 보였고 FAME-CP는 35.2~43.5 μM (약 1.2~1.5배 증가)로 유의적으로 AME-CP와 유사한 NO 생성능을 나타냈다. 그러나 TNF- α 와 MCP-1의 생성능(Fig. 3C, Fig. 3D)에서는 NO 결과와 달리, FAME-CP가 AME-CP에 비해 각각 NC 대조군 대비 478.4~1,412.0 pg/mL(4.7~14배) 및 677.4~1,988.9 pg/mL(1.4~4.0배)의 유의적으로 우수한 생성능을 나타냈다. 또한, 감염이나 조직손상에 의해 항상성이 파괴되면서 면역반응 활성화를 통해 숙주 방어에 기여하는 IL-6의 생성능 결과(Fig. 3E)에서는, AME-CP가 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 모든 농도에서 NC 대조군(90.2 pg/mL) 대비 100.0 pg/mL(1.11배 증가) 수준의 생성능을 나타낸 반면, FAME-CP는 1~10 $\mu\text{g/mL}$ 까지는 AME-CP와 유사한 생성능을 나타내었으나, 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 NC 대조군 대비 284.1 pg/mL(3.15배 증가)로 AME-CP보다 통계적으로 우수한 IL-6 생성

능을 나타냈다. Kim 등(2018)의 연구에서 보리에 효모 및 유산균 등의 접종을 통해 발효되어 얻어진 조다당 획분이 우수한 대식세포 자극 활성을 나타냈다는 보고는 본 연구결과와 유사하였는데, 이는 발효를 통한 활성 성분의 변화가 대식세포 활성화에 영향을 주는 것으로 판단되었다. 결론적으로, 주정 침전을 통해 얻은 FAME-CP는 AME-CP에 비해 모든 바이오 마커에서 통계적으로 우수한 대식세포 자극 활성을 나타내었는데, 발효가 대식세포 활성화 물질의 변화를 초래하여 면역활성을 증진시킨 것으로 추정되어 포스트바이오틱스의 조제 및 조다당 획분 소재의 산업적 활용이 가능할 것으로 판단되어, 조다당 획분에 대한 구성분 및 구성당 분석을 진행하였다.

3. 황기-포스트바이오틱스 조다당 획분의 구성분 및 구성당 분석

AME-CP와 FAME-CP에 함유되어 있는 구성분 분석 결과는 Table 3에 나타내었다. AME-CP의 경우에는 중성당이 87.8%로 주성분이고 산성당은 11.4% 함유되었으며, 단백질(0.5%)과 총 폴리페놀(0.3%)은 소량 함유되어 있었다. 한편, FAME-CP의 경우에는 중성당 74.4%와 산성당 18.6%로 AME-CP와 유의적으로 큰 차이를 보이지는 않았으나 중성당은 감소하면서 산성당이 증가하였고, 단백질과 총 폴리페놀은 4.7% 및 2.3%로 증가되어 이러한 구성분의 변화는 발효에 따른 고분자 변화 및 유산균 대사물로부터 기인하는 것으로 확인할 수 있었다. 한편, HPLC를 이용한 구성당 분석(Table 3)의 결과에서, 먼저 AME-CP는 glucose(Glc)가 83.1%로 주 구성당임을 확인하였고, 그 외 galacturonic acid(GalA, 7.1%), galactose(Gal, 3.2%) 및 arabinose(Ara, 3.0%) 소량 함유되어 glucan-type의 다당류가 주로 분포하는 것으로 확인되었다. 그러나 면역활성이 증진된 FAME-CP는 mannose(Man)가 44.0%로 주 구성당임을 보였고 그 외에도 Glc(19.3%), Gal(11.6%), GalA(10.2%) 및 Ara(7.4%)가 함유되어 비발효 황기 조다당과는 다른 다당류 분포를 나타내어 유산균이 발효 중 다당류의 변화를 초래한 것으로 확인되었다. Shahrajabian 등(2019)의 연구에서는 황기 다당류에는 starch, inulin 및 cellulose 등 다양한 다당류가 분포한다고 알려져 있는데, 본 연구결과와 빗대어 볼 때, AME-CP의 높은 Glc의 함량은 starch 및 cellulose 등의 알파 혹은 베타 글루칸 타입의 다당류가 분포하는 것으로 추정되었다. 한편, FAME-CP는 Glc 현저한 감소와 Man의 증가를 확인할 수 있었으며, 이러한 결과는 김치 유래 유산균 *Lactobacillus sakei* 및 *Leuconostoc mesenteroides*이 글루칸 타입의 다당류를 분해하여 새로운 대사산물의 생성을 유도하는 것으로 보인다. Kim 등(2022b)의 연구에 따르면, 유산균 중 *Lactobacillus* spp. 및 *Leuconostoc*

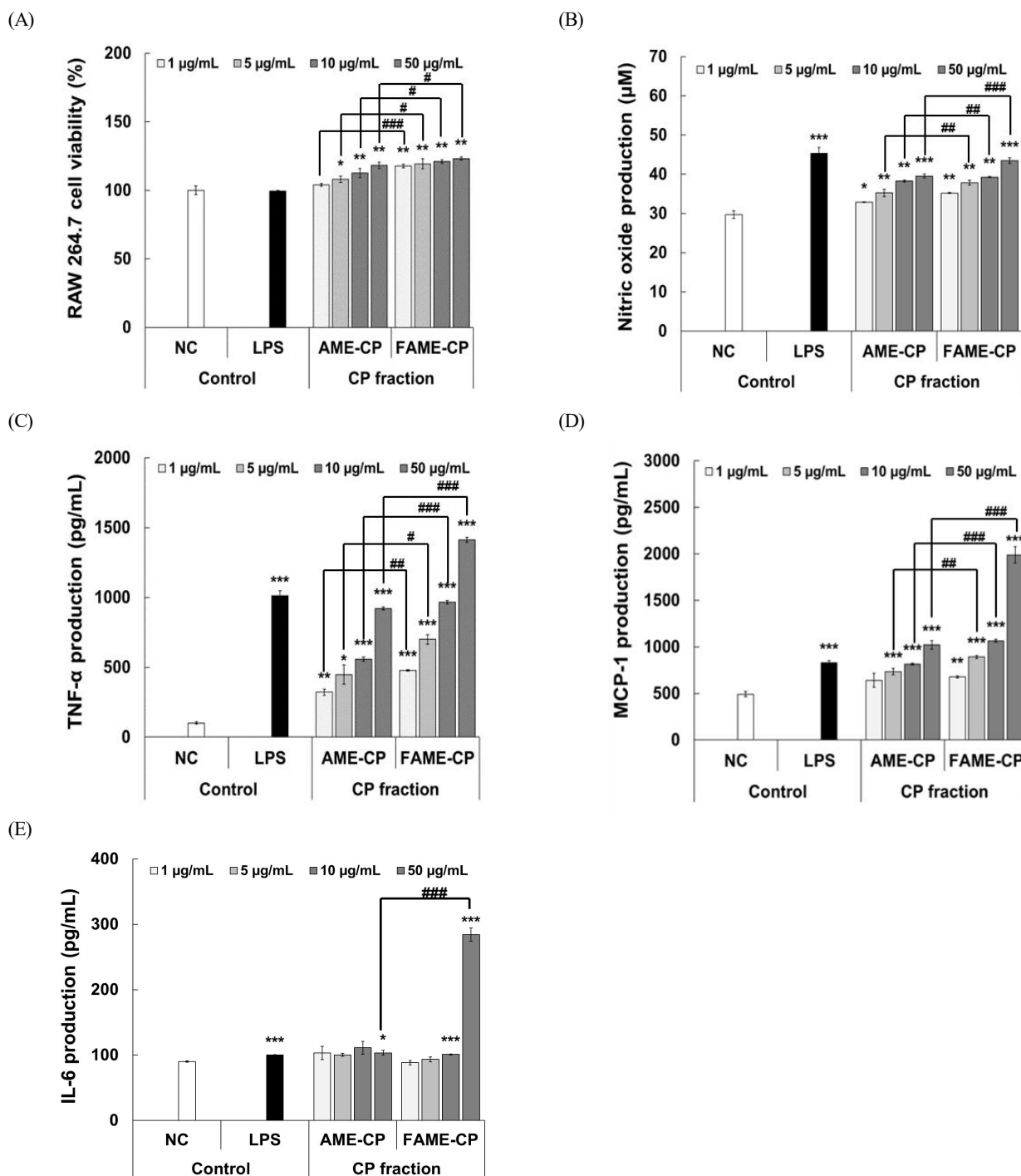


Fig. 3. Macrophage stimulating activity of crude polysaccharide isolated from AME and FAME. RAW 264.7 cells were treated with crude polysaccharide isolated from AME and FAME for 24 hr, and evaluated cytotoxicity effect (A), and production of nitric oxide (B), TNF- α (C), MCP-1 (D), and IL-6 (E). Results are expressed as mean \pm S.D. of three independent tests in triplicate. Different asterisks on the column indicate significant differences between negative control (NC) and each group by Student's *t*-test. The crosshatch patterns expressed significant differences between samples within the same concentrations. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001. NC; negative control, LPS; lipopolysaccharide (1 µg/mL); positive control, AME; hot-water extracts from AM, FAME; AM-postbiotics, CP; Crude polysaccharide.

Table 3. Chemical property and component sugar of crude polysaccharide isolated from AME and FAME

| Chemical property | Crude polysaccharide | |
|-------------------|-------------------------|-----------------------|
| | AME-CP | FAME-CP |
| Neutral sugar (%) | 87.8±1.3 ^{a1)} | 74.4±0.6 ^a |
| Uronic acid (%) | 11.4±0.3 ^b | 18.6±0.3 ^b |
| Protein (%) | 0.5±0.1 ^c | 4.7±0.4 ^c |
| Polyphenol (%) | 0.3±0.1 ^c | 2.3±0.3 ^d |
| Monosaccharide | Component sugar (mol %) | |
| Mannose | 0.8±0.0 | 44.2±0.1 |
| Rhamnose | 1.2±0.0 | 2.3±0.0 |
| Glucuronic acid | 1.4±0.0 | 2.5±0.1 |
| Galacturonic acid | 7.1±0.0 | 10.2±0.3 |
| Glucose | 83.1±0.0 | 19.3±0.1 |
| Galactose | 3.2±0.0 | 11.6±0.1 |
| Xylose | 0.2±0.0 | 1.1±0.1 |
| Arabinose | 3.0±0.0 | 7.4±0.0 |
| Fucose | 0.1±0.0 | 1.5±0.0 |

¹⁾ Means with different small letters in the same column are significantly different between groups at $p < 0.05$ level through one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test.

spp. 등의 균주가 발효 과정에서 Glc를 분해하여 새로운 대사산물을 생성한다고 보고하여 이를 뒷받침하고 있으며, 분해하여 새롭게 생성된 mannan 타입의 대사산물이 대식세포 활성화를 효과적으로 유도하는 것으로 추정되었다. 한편, 김치 유산균이 발효를 통해 직접적으로 다당류의 변화를 관여하는지의 여부는 추후 FAME-CP의 대식세포 활성 다당획분을 다양한 open chromatography 등의 방법을 통해 정제하여 동정한 후 김치 유산균 대사과정에서의 상관성을 밝혀 규명하고자 한다.

4. 황기-포스트바이오틱스 조다당 획분의 분자량 분포

AME-CP와 FAME-CP의 분자량 분포를 확인하기 위해 HPSEC를 이용하여 분석한 결과, AME-CP의 분자량 분포는 0.2, 0.4, 106.6 kDa의 물질이 혼재되어 있는 것이 확인된 반면, FAME-CP는 0.2, 0.4, 113.4 kDa의 물질이 혼재되어 있는 것으로 확인되었다(Fig. 4). AME-CP와 비교하여 FAME-CP는 0.2~0.4 kDa의 물질이 크게 감소된 것을 확인할 수 있었는데 이는 유산균의 발효를 통해 0.2~0.4 kDa의 물질이 분해되어 새로운 대사산물의 생성을 유도하는 것으로 추정되었다. 이러한 분자량 분포결과를 구성당 결과와 함께 종합해보면, 유산균 발효는 주로 저분자를 구성하고 있는 Glc가 Man를 주

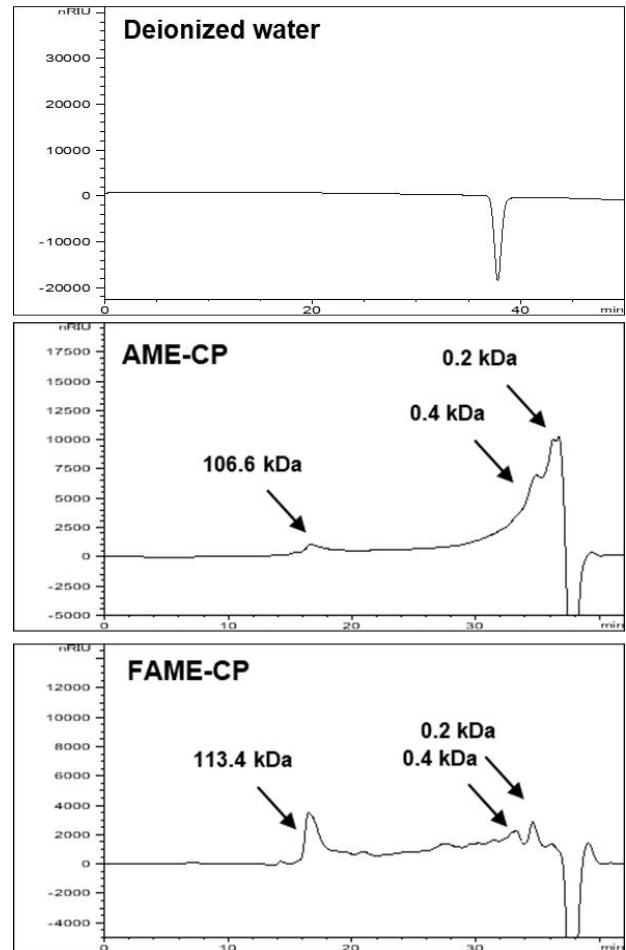


Fig. 4. Molecular weight distribution chromatogram of crude polysaccharide isolated from AME and FAME.

요 구성당으로 함유하는 대사산물의 생성을 유도하고, 이러한 Man의 주 구성당 다당류가 대식세포 활성화에 기여하는 것으로 추정되었다. 향후 이러한 발효 중의 다당 생성 및 변화 등 및 이들이 대식세포 활성화에 기여하는 기전에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 판단되나, FAME-CP가 면역 자극 활성을 나타내는 생약-포스트바이오틱스 소재로의 활용될 가능성은 제시할 수 있음이 확인되었다.

5. 황기-포스트바이오틱스 조다당 획분에 의한 대식세포 활성화 인자의 유전자 발현량 분석

황기-포스트바이오틱스 조다당 획분은 대식세포 활성화 인자인 NO, TNF- α , MCP-1 및 IL-6의 생성능을 비발효 황기 조다당 획분에 비해 효과적으로 자극하는 것을 확인하였다. FAME-CP의 대식세포 활성 측정의 또 다른 방법으로 FAME-CP 처리에 따른 활성화 인자의 mRNA 발현량을 qRT-PCR을 이용하여 분석하였다(Fig. 5). 먼저, NO 생성에

관여하는 중요한 효소인 inducible nitric oxide synthase(iNOS)의 mRNA 유전자 발현량에서 FAME-CP는 1-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 범위에서 NC 대조군 대비 119.4-1,209.5배의 농도-의존적인 mRNA 발현의 증가를 확인할 수 있었다. TNF- α 의 mRNA 발현량도 FAME-CP 처리 시 동일 농도 범위에서 NC 대조군 대비 7.9-45.1배의 농도-의존적으로 mRNA 발현량을 증가시켰다. 또한, MCP-1 및 IL-6의 mRNA 발현량도 NC 대조군 대비 1-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 범위에서는 농도-의존적으로 1.3-33.5 배 및 602.2-1,787.2배의 mRNA 발현량의 증가를 유도했다. 한편, prostaglandin E2와 같은 면역 매개체를 생산하여 면역 활성을 유도하는 cyclooxygenase-2(COX-2)도 NC 대조군 대비 1-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 범위에서 645.7-1,046.3배의 농도-의존적인 mRNA 발현량의 증가를 나타냈다. 이러한 결과로부터, FAME-CP는 대식세포 활성화 관련 인자들의 mRNA의 유전자 발현량 증가를 유도하여 세포 외로 분비되는 대식세포

활성화 인자의 생성을 촉진하는 것으로 확인되어 이러한 기작에 관련되어 있는 핵심 신호전달 경로를 확인하고자 하였다.

6. 황기-포스트바이오틱스 조다당 획분에 의한 p65 및 cJun의 핵 내로의 전이

FAME-CP의 처리에 따른 대식세포 활성화 기작을 확인하기 위하여 대표적인 대식세포 활성화 기작인 NF- κB 및 mitogen activated protein kinase(MAPK)의 활성화를 면역형광법을 이용하여 육안으로 분석하였다(Kim 등 2018). NF- κB 신호전달 경로는 NF- κB subunit인 p65의 인산화를 유도하여 I $\kappa\text{B}\alpha$ 의 인산화와 분해를 유도하고 인산화된 p65는 핵 내로 이동하는 것으로 알려져 있다(Janssen-Heininger 등 2000). 또한, MAPK의 전사인자인 activator protein-1(AP-1) 중 cJun은 대식세포가 자극되어 활성화가 유도되면 자극에 의해 인산화가 유도되고 핵 내로 이동하여 대식세포를 활성화에 관여

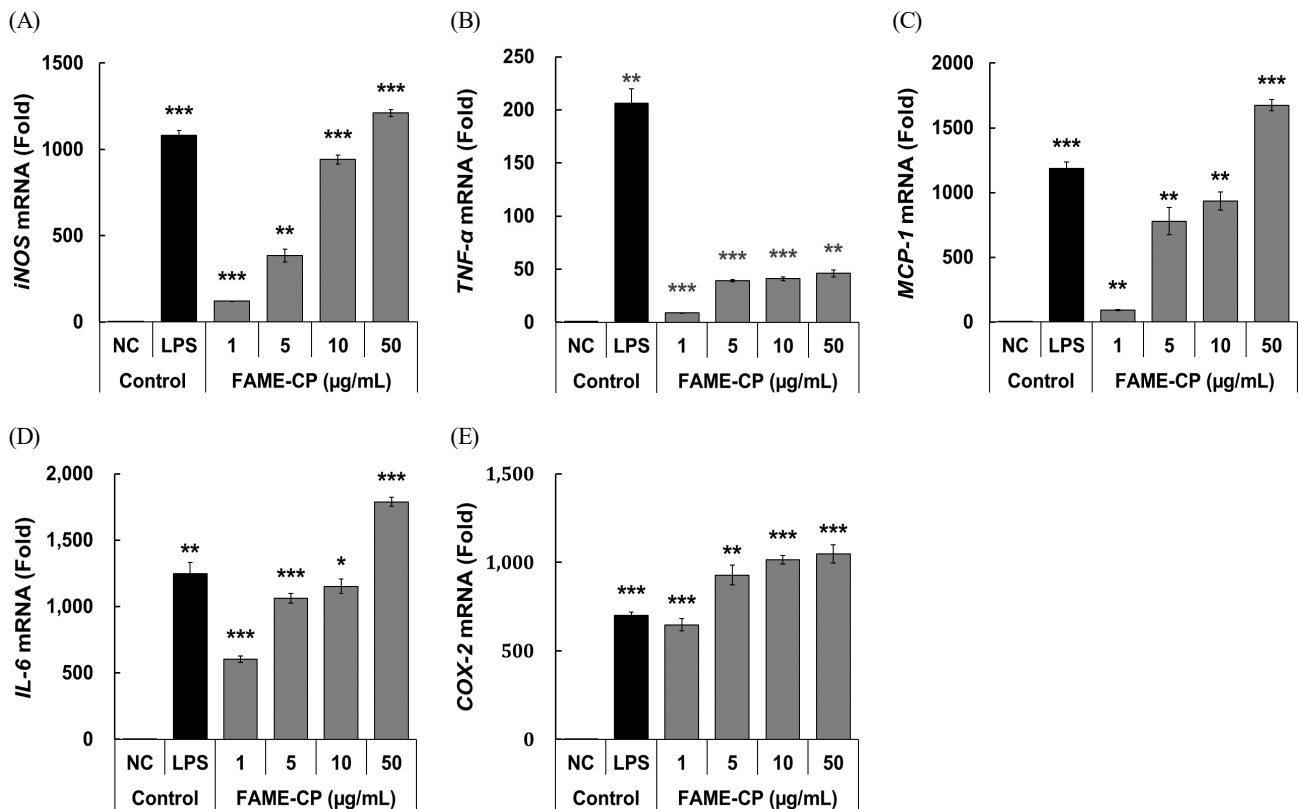


Fig. 5. Effect of FAME-CP on macrophage stimulating factors-mRNA gene expression in RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were treated with FAME-CP for 24 hr and evaluated mRNA gene expression of iNOS (A), TNF- α (B), MCP-1 (C), IL-6 (D), and COX-2 (E). Results are expressed as mean \pm S.D. of three independent tests in triplicate. Different asterisks on the column indicate significant differences between negative control (NC) and each group by Student's *t*-test. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001. NC; negative control, LPS; lipopolysaccharide (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$); positive control, FAME; AM-postbiotics, CP; crude polysaccharide.

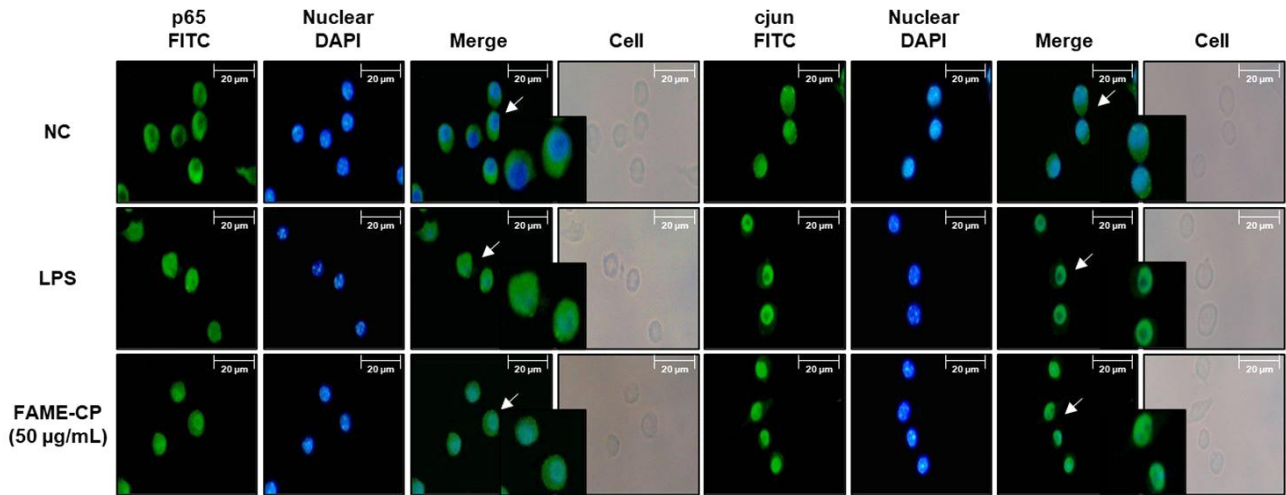


Fig. 6. Effect of FAME-CP on nuclear translocation of activated p65 and cJun in RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were seeded into 0.1% gelatin-coated coverslip and then treated with FAME-CP for 3 hr. RAW 264.7 cells were fixed and immunostained with FITC conjugated anti-p65 and anti-cJun antibody and the nucleus was counterstained with DAPI. NC; negative control, LPS; lipopolysaccharide (1 $\mu\text{g/mL}$); positive control, FAME; AM-postbiotics, CP; crude polysaccharide.

하는 것으로 알려져 있다(Choo 등 2017). 따라서, 이러한 기작의 관여 여부를 육안으로 관찰하고자, RAW 264.7 세포주에 FAME-CP를 처리한 후 p65 및 cJun의 핵 내로의 이동 여부를 확인하였다. 먼저, 음성대조군 NC에서는 FITC-표시된 p65 및 cJun(merge; 녹색)이 세포질에 다량 존재하여 핵(merge; 푸른색)과 세포질의 경계가 뚜렷한 것을 확인할 수 있었으나, 양성대조군인 LPS 처리군에서는 p65 및 cJun이 세포질에만 존재하던 NC에 비해 p65 및 cJun이 핵 내(merge; 초록색)로 이동하여 핵과 세포질의 경계가 불분명해지는 것을 보여주었다(Fig. 6). 한편, FAME-CP의 처리는 LPS 처리군과 유사하게 FITC-표시된 p65 및 cJun이 핵 내(merge; 초록색)로 전이됨에 따라 NC 대조군에 비해 핵과 세포질의 경계가 불분명해진 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 Son 등(2022)의 연구에서 시료 처리에 의해 활성화되었을 때 RAW 264.7 세포주는 세포질에서 핵 내로 전사인자가 전이되는 것을 확인할 수 있었으며, 이와 유사하게 FAME-CP의 처리에 의해 핵 내로 전사인자가 이동하는 것을 확인할 수 있었다. RAW 264.7 세포주는 활성화되지 않은 상태에서 p65는 세포질에 존재하고 시료 처리에 의해 활성화된 세포는 I κ B α 의 분해를 유도하고 p65를 핵 내로 전이시키는 것으로 확인되어(Park 등 2019), 대식세포에서 FAME-CP 처리에 의해 세포질에서 p65 및 cJun의 상위경로, 즉 NF- κ B 및 MAPK의 인산화 과정을 거쳐 최종적으로 전사인자 p65 및 cJun이 핵 내로 이동하는 것으로 추정되었다. 앞서 본 논문에서 제시한 결과와 같이 핵 내에서 mRNA의 발현을 유도(Fig. 5)하고 이를 세

포 외로 분비하는 것으로 확인되었으며(Fig. 3), 향후, immunoblotting을 이용하여 p65 및 cJun의 translocation에 대한 결과를 입증하고자 NF- κ B 및 MAPK 경로의 인산화를 분석하고자 하며 추가적으로, 대식세포 표면에 있는 패턴인식 수용체(pattern recognition receptor)의 종류에 따라 미치는 영향을 검토하여 대식세포 활성화에 기여하는 세포내 메커니즘을 추가로 확인하고자 한다.

요약 및 결론

면역자극 물질로서 황기(*Astragalus membranaceus*; AM)의 산업적 적용 가능성을 높이고자, AM으로부터 열수추출물(AME)을 제조하고 김치-유산균(*Lactobacillus sakei* 및 *Leuconostoc mesenteroides*)을 접종하고 발효시켜 황기-포스트바이오틱스(FAME)를 조제하였다. 황기 포스트바이오틱스로 조제된 FAME는 비발효-황기에 비해 대식세포 자극 활성이 향상되지 않았으나, 주정 침전으로부터 분리된 조다당류(crude polysaccharide; CP) FAME-CP는 AME-CP에 비해 활성이 크게 향상되었다. 또한, FAME-CP는 AME-CP와 비교해볼 때, 구성당 및 분자량 분포에서 극적인 변화를 보였으며, FAME-CP는 Man(44.2%), Glc(19.3%), Gal(10.2%), GalA(10.2%) 및 Ara(7.4%)를 구성당으로 함유하는 113.4 kDa의 주요 분자량을 갖는 다당류였다. 대식세포 자극활성이 강화된 FAME-CP는 대식세포 자극 활성화 인자(iNOS, TNF- α , MCP-1, IL-6 및 COX-2)의 mRNA 발현량을 증가시켰을 뿐만 아니라, 활성

화된 p65와 cJun의 핵 내로의 전위를 유도하였다. 결론적으로, 유산균으로 발효된 황기-포스트바이오틱스로부터 조제된 조다당 획분은 비발효-황기 조다당 획분에 비해 면역자극 활성이 강화된 기능성 물질로서 산업적 적용 가능성을 높일 수 있음을 확인하였다.

감사의 글

본 논문은 2023년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반 지역혁신 사업의 결과입니다(2021RIS-001; 프로젝트랩).

References

- Bae HK. 2021. Bioactive characteristics of the *Astragalus membranaceus* ethanol & bioconversion extracts as functional cosmetic materials. *J Korean Appl Sci Technol* 38: 1265-1272
- Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem* 54:484-489
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254
- Chang BY, Han JH, Cha BS, Ann SH, Kim SY. 2015. Optimization of culture condition for enhancing the probiotics functions. *J Food Hyg Saf* 30:295-301
- Choo SB, Yang H, Jeong DY, Jeong SY, Ryu MS, Oh KH, Yoo YC. 2017. Immunomodulating effect of extract of *cheonggukjang* fermented with *Bacillus amyloliquefaciens* (SRCM100730) on RAW 264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46:1300-1307
- Cuevas-González PF, Liceaga AM, Aguilar-Toalá JE. 2020. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Res Int* 136:109502
- DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28:350-356
- Ha JH, Jeong MH, Seo YC, Choi WY, Kim JS, Kim HH, Ahn JH, Lee HY. 2010. Enhancement of antioxidant activities of bark of *Berberis koreana* Palibin by lactic acid fermentation. *Korean J Med Crop Sci* 18:421-428
- Honda S, Akao E, Suzuki S, Okuda M, Kakehi K, Nakamura J. 1989. High-performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives. *Anal Biochem* 180:351-357
- Hwang YC, Shin KS. 2008. Characterization of immunostimulating polysaccharides isolated from Korean persimmon vinegar. *Korean J Food Sci Technol* 40:220-227
- Janssen-Heininger YMW, Poynter ME, Baeuerle PA. 2000. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor κ B. *Free Radic Biol Med* 28:1317-1327
- Jeong BS, Kim SH, Kim HP. 2017. Effect of fermented *Cirsium japonicum* extract on testosterone deficiency syndrome. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46:790-800
- Kang SE, Kim MJ, Kim TW. 2019. Diversity and role of yeast on kimchi fermentation. *J Korean Soc Food Cult* 34: 201-207
- Kim BH, Jeong SJ, Jang JO, Lee JH, Park YE, Kim JG, Kwon GS, Hwang HS, Lee JB. 2019. Increased antioxidative activity of fermented *Ligusticum striatum* Makino ethanol extract by bioconversion using *Lactobacillus plantarum* BHN-LAB 129. *J Life Sci* 29:846-853
- Kim BY, Park SS. 2021. The concepts and applications of postbiotics for the development of health functional food product. *Curr Top Lact Acid Bact Probiotics* 7:14-22
- Kim DH, Kwon SK, Han KD, Ji IB. 2021. Analysis of consumers' characteristic factors affecting the intake of health functional food. *Korean J Food Mark Econ* 38:23-42
- Kim G, Shin HY, Jeong SB, Ha EJ, Jeong EJ, Shin JY, Yu KW. 2022a. Enhanced macrophage stimulatory activities of extracts from kimchi lactic acid bacteria-fermented mixed herbal medicines. *Korean J Food Nutr* 35:399-410
- Kim GS, Yang KH, Kim HK, Kim JE, Yun HN, Yu JW, Kim BS. 2022b. Antioxidant and immunomodulatory effect of lactic acid bacteria fermented barley sprout hot water extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:1027-1035
- Kim H, Suh HJ, Shin JY, Hwang JH, Yu KW. 2016. Physiological activity of roasted coffee prepared from fermented green coffee bean with *Monascus ruber* mycelium. *Korean J Food Nutr* 29:1-11
- Kim H, Yoon HS, Jeong JH, Jeong HS, Hwang JH, Yu KW. 2010. Enhancement of immunostimulation by fractionation of active polysaccharide from fermented ginseng with *Phellinus linteus* mycelium in solid culture. *Korean J Food Sci Technol* 42:223-232

- Kim H, Kim D, Lee S, Choi J, Lim B. 2023a. Curation service strategy for health functional food: Focusing on case studies of customized health functional food in Korea. *Serv Mark J* 16:63-78
- Kim HW, Jee HS, Shin KS. 2018. Polysaccharide isolated from fermented barley extract activates macrophages via the MAPK and NF- κ B pathways. *Korean J Food Sci Technol* 50:555-563
- Kim MJ, Lim KR, Jung TK, Yoon KS. 2007. Anti-aging effect of *Astragalus membranaceus* root extract. *J Soc Cosmet Sci Korea* 33:33-40
- Kim Y, Shin H, Kim H, Jeong E, Kim H, Seo M. 2023b. Anti-inflammatory active polysaccharide from postbiotics of *Cordyceps militaris* mycelium-liquid culture. *Korean J Food Nutr* 36:6-16
- Lee H. 2012. Immuno-stimulating activities of mannose-rich polysaccharides isolated from Korean black raspberry wine. *Korean J Food Sci Technol* 44:343-349
- Lee KH, Bong YJ, Lee HA, Kim HY, Park KY. 2016. Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45:12-19
- Lee KH, Rhee KH. 2015. Screening of anti-inflammatory herbs having the activation of MAPK family proteins. *Korean J Food Nutr* 28:343-350
- Lee MK, Choi GP, Ryu LH, Lee GY, Yu CY, Lee HY. 2004. Enhanced immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell lines. *Korean J Med Crop Sci* 12:36-42
- López-García J, Lehocný M, Humpolíček P, Sába P. 2014. HaCaT keratinocytes response on antimicrobial atelocollagen substrates: Extent of cytotoxicity, cell viability and proliferation. *J Funct Biomater* 5:43-57
- Park HR, Lee SJ, Im SB, Shin MS, Choi HJ, Park HY, Shin KS. 2019. Signaling pathway and structural features of macrophage-activating pectic polysaccharide from Korean citrus, *cheongkyool* peels. *Int J Biol Macromol* 137:657-665
- Seo JH, Lee H. 2007. Characteristics and immunomodulating activity of lactic acid bacteria for the potential probiotics. *Korean J Food Sci Technol* 39:681-687
- Shahrajabian MH, Sun W, Cheng Q. 2019. A review of astragalus species as foodstuffs, dietary supplements, a traditional Chinese medicine and a part of modern pharmaceutical science. *Appl Ecol Environ Res* 17: 13371-13382
- Shin HY, Kim H, Jeong EJ, Kim HG, Shin JC, Choi SY, Suh HJ, Moon SK, Yu KW. 2022. Immunostimulatory polysaccharide fractionated from a liquid culture by *Phellinus linteus* Mycelium. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:19-27
- Shin HY, Kim H, Shin JY, Lee SJ, Yu KW. 2021. The physiological activity of crude polysaccharide solvent extracted from herbal medicine mixture. *Korean J Food Nutr* 34:36-46
- Son SU, Lee SJ, Shin KS. 2022. Immunostimulating and intracellular signaling pathways mechanism on macrophage of rhamnogalacturonan-I type polysaccharide purified from radish leaves. *Int J Biol Macromol* 217:506-514
- Sung SK, Rhee YK, Cho CW, Kim YC, Lee OH, Hong HD. 2013. Physicochemical properties and antioxidative activity of fermented *Rhodiola sachalinensis* and Korean red ginseng mixture by *Lactobacillus acidophilus*. *Korean J Food Nutr* 26:358-365
- Tran HNK, Nguyen VT, Han KH, Moon KS, Kim JA, Min BS. 2017. Analysis and stability test of the extracts from astragali radix, paeoniae radix, and corni fructus for toxicity study. *Korean J Pharmacogn* 48:248-254
- Tursun X, Zhao Y, Talat Z, Xin X, Tursun A, Abdulla R, AkberAisa H. 2016. Anti-inflammatory effect of *Rosa rugosa* flower extract in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Biomol Ther* 24:184-190
- Yu AR, Park HY, Choi IW, Park YK, Hong HD, Choi HD. 2012. Immune enhancing effect of medicinal herb extracts on a RAW 264.7 macrophage cell line. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:1521-1527
- Zheng Y, Ren W, Zhang L, Zhang Y, Liu D, Liu Y. 2020. A review of the pharmacological action of *Astragalus* polysaccharide. *Front Pharmacol* 11:349

Received 13 December, 2023

Revised 18 January, 2024

Accepted 23 January, 2024

숙성에 의한 흑밤의 영양성분 분석과 항산화 활성

이문희 · 이지수* · 양지원* · 김인범** · 박윤제***,****

공주대학교 응용생명공학과 박사과정 학생, *공주대학교 식품공학과 석사과정 학생, ** (주)밤마을 대표이사,
공주대학교 식품공학과 교수, *공주대학교 응용생명공학과 교수

Analysis of Nutritional Composition and Antioxidant Activity of Black Chestnut by Aging

Moon Hee Lee, Ji Su Lee*, Ji Won Yang*, In Beom Kim** and †Youn-Je Park***,****

Ph.D. Student, Dept. of Applied Biotechnology, Kongju National University, Yesan 32439, Korea

**M.S Student, Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 32439, Korea*

***CEO, Bammaeul Co., Ltd., Kongju 32590, Korea*

****Professor, Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 32439, Korea*

*****Professor, Dept. of Applied Biotechnology, Kongju National University, Yesan 32439, Korea*

Abstract

Black chestnut (BC) was obtained through aging of fresh chestnut (FC) at 80°C for 15 days. Proximate and mineral compositions along with colors of FC and BC were evaluated. With aging, moisture contents decreased by 50%, whereas sugar contents, carbohydrate contents, and calories increased. Contents of minerals (Fe, P, Ca, Na, Mg, K) were significantly higher in FC than in BC, showing an order of Mg < Ca < P < K in both FC and BC. Using a Hunter color system, it was found that lightness (L), redness (a), and yellowness (b) values of FC were higher than those of BC. Antioxidant and cytotoxic activities of hot water and ethanol (50, 80, 100%) extracts prepared from FC and BC were evaluated. Extraction yields were lower with FC than with BC. Among water and ethanol extracts, water extract showed the highest DPPH radical scavenging activity for both FC and BC. IC₅₀ values for ABTS+ radical scavenging activities increased after aging. Cytotoxicities of FC and BC extracts were similar to each other. They were different against various cell lines (3T3, HeLa, and Sarcoma-180). These results suggest that BC could be used as a new processed food using chestnut.

Key words: black chestnut, antioxidant activity, cytotoxic activity, proximate composition, mineral contents

서 론

밤나무는 우리나라와 중국, 일본 등에서 발견되는 수종으로 해발 700 m 아래의 비교적 해가 잘 들고 따뜻한 산골짜기 숲 속이나 마을 주변 등에서 자란다. 우리나라에서는 전통적으로 밤나무를 울(栗), 잎을 울엽(栗葉), 꽃을 울화(栗花), 종자를 울자(栗子)라고 표현하고 있으며, 밤나무의 씨, 꽃, 잎, 껍질은 주로 약재로 사용하여 왔다. 열매인 밤은 식용으로 널리 애용하고 있을 뿐만 아니라, 한방에서도 주름살, 하혈, 지혈, 건위(健胃), 보신(補腎) 작용 및 칠독(漆毒)의 해독제(解

毒劑)로서 효능(効能)이 있는 것으로 알려져 있다(Im RJ 1999).

2022년 기준으로 밤 수출은 전년대비 3.5%, 평년대비 4.3% 감소하였는데, 이는 밤나무의 재배면적 감소와 고령목 비율 증가, 인건비 상승 등으로 인해 밤 생산량이 감소하였기 때문이다(Korea Rural Economic Institute 2023). 실제 밤 생산량은 연평균 4.4% 정도 감소하고 있으며, 밤 소비량도 점차 감소하고 있다(Korea Rural Economic Institute 2022). 일반적인 밤의 소비 형태는 생밤보다 군밤, 삶은 밤 등 가공한 형태로 구입하여 섭취하고 있다(Seok 등 2019). 이러한 이유는 생밤은 손질이 힘들어 이용하기 어려운 반면에, 밤 가공 제품은

† Corresponding author: Youn-Je Park, Professor, Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 32439, Korea. Tel: +82-41-330-1486, Fax: +82-41-330-1489, E-mail: ypark@kongju.ac.kr

섭취하기에 비교적 편리하기 때문이다. 따라서 밤의 부가가치를 높이고, 소비를 촉진하기 위해서는 새로운 밤 가공방법의 개발과 상품화 연구가 필요하다.

식품을 가공하는 다양한 방법 중 하나인 고온의 열처리에 의한 숙성 가공법은 적당한 온도와 조건에서 오랜 시간 방치하여 발효와 같은 화학 변화를 일으키게 하는 것으로, 새로운 성분이 생성되어 영양소가 변화하거나 물성 변화가 일어난다(Lee 등 2015; Jang 등 2018). 숙성을 이용한 대표적인 식품에는 흑마늘, 흑양파, 흑생강 등이 있으며, 이들은 숙성기간을 통해 과당 함량이 증가하여 먹기 좋은 맛과 조직으로 변화되며, 높은 온도에서 가공할 경우 비효소적 갈변반응이 일어나 색이 진해진다(Jang 등 2008; Lee HS 2010). 율피도 숙성기간이 경과될수록 단맛이 증가하고 떫은맛은 감소하며, 총페놀 함량의 증가와 더불어 DPPH, hydroxyl 라디칼 소거능이 높아져 항산화력이 증가된다(Kim 등 2017).

이렇듯 숙성은 식품 저장 과정에서 풍미를 향상시켜 기호성을 높이고 항산화 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있으나, 밤을 숙성하여 그 효과를 보고한 연구는 없다. 따라서 본 연구에서는 생밤과 흑밤을 활용하여 일반성분, 무기이온, 항산화 활성 및 세포독성을 분석하여 숙성에 의한 밤의 성분 및 생리활성의 변화를 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에서 사용한 밤은 (주)밤마을(Gongju, Korea)에서 가공한 것을 제공받아 시료로 사용하였다. 시료에 사용한 밤은 대표적인 밤 생산지로 알려진 충청남도 공주시 정안 지역의 인공육묘로 조성된 밤나무 조성림에서 재배하여 2021년 9월 중순에 수확한 밤을 사용하였으며, 밤의 품종은 과육이 단단하여 식감이 우수하고 당도와 저장성이 뛰어나다고 알려진 옥광밤 품종을 사용하였다. 생밤은 단순히 껍질을 벗긴 것을 사용하였고, 흑밤은 생밤 2 kg을 6 L 스테인리스스틸 내솥 용기에 담아 향온이 유지되는 보온 밥솥(CRP-HUF10BS, Cuckoo electronics, Yangsan, Korea)에 완전 밀폐시켜 80℃에서 15일간 숙성하여 제조하였다. 흑밤 및 생밤은 껍질이 다 벗겨진 상태로 폴리에틸렌 팩에 넣어 진공 포장한 후, 4℃에서 보관하며 실험에 사용하였다.

2. 일반성분 분석

생밤과 흑밤의 일반성분 함량 분석은 AOAC(2019)법에 따라 분석하였다. 수분함량은 건조기(OF-21E, Jiotech Co., Ltd, Daejeon, Korea)를 이용하여 105℃ 상압 가열 건조법으로 측정하였고, 조회분은 회화로(FX-27, Daihan scientific Co., Ltd,

Wonju, Korea)를 사용하여 550℃에서 건식회화법으로 측정하였다. 조단백질 함량은 Kjeldahl 증류장치(DNP1500, Raypa, Barcelona, Spain)를 이용하여 Kjeldahl법으로 분석하여 얻은 질소량에 밤의 질소계수인 5.30을 곱하여 계산하였고, 조지방 함량은 soxhlet 추출장치(C-WBA, Changshin science, Busan, Korea)를 이용하여 soxhlet 추출법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 시료의 총 중량에서 수분, 회분, 단백질, 그리고 지방 함량을 제외한 함량으로 표시하였다. 시료의 총 식이섬유 함량 분석은 AOAC(2019)법에 따라 분석하였다. 즉, 식이섬유 분석용 효소 α -amylase(A6380-1G, Sigma-Aldrich, Missouri, USA), protease(P5380, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) 그리고 amyloglucosidase(10115-1G-F, Sigma-Aldrich, Missouri, USA)를 순차적으로 반응시킨 후 에탄올 침전물은 여과하여 침전 잔사량을 구하였고, 잔사 중 회분과 조단백질 함량을 감하여 식이섬유의 무게를 계산하였다. 열량은 앞서 나온 결과 값인 조단백질, 조지방 그리고 당질의 함량에 단백질 4, 지방 9, 당질 4의 계수를 곱하여 각각의 에너지를 킬로칼로리(kcal) 단위로 산출하고 값을 모두 더하여 계산하였다.

3. 무기이온 분석

생밤과 흑밤 시료 중의 무기이온(Mg, Al, Cu, Fe, P, Zn, Ca, K) 분석 방법은 식품공전 일반시험법(Korea Food & Drug Administration 2018)에 따라 실험하였다. 막자사발로 곱게 분쇄한 시료 0.3 g에 10 mL의 질산(Daejung, Siheung, Korea)을 처리한 후, microwave digestion system(8000 MPS, Perkin Elmer, Beaconsfield, UK)을 이용하여 30 bar, 170℃에서 10분 동안 시료를 완전히 용해하였다. 용해된 시료를 상온으로 식힌 후 3차 증류수로 53 g이 되도록 정용한 다음 여과지(Whatman No.2, Whatman Co., Maidstone, UK)로 여과한 후 시험 용액으로 사용하였다. 시험 용액 중의 무기이온 분석은 유도결합 플라즈마 분광분석기(Optima 5000 DV, Perkin Elmer, Beaconsfield, UK)를 이용하여 Jeong 등(2012)의 방법으로 분석하였다. 플라즈마 가스는 아르곤가스를 0.8 MPa의 압력으로 사용하였고, gas flow는 plasma 15 L/min, nebulizer 0.8 L/min로, 온도는 6,000K으로 설정하였다. 시료는 autosampler를 이용하여 주입하였고 시료의 유속은 1.5 mL/min으로 하여 분석하였다.

4. 색도 측정

실험에 사용된 생밤 및 흑밤은 색차계(Chrome Meter CR-300, Minolta Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 색도를 측정하였다. 분쇄하지 않은 원물 상태의 생밤과 흑밤을 이용하여 각각의 표면을 3회 반복하여 측정하였다. 색도는 명도(lightness)를 나타내는 L값, 적색도(redness)를 나타내는 a값과 황색도(yellowness)를 나타내는 b값으로 나타내었다. 사용된 표준 색판의 L값은

95.62, a값은 0.66, b값은 1.06으로 측정되었다.

5. 추출물 제조

생밤과 흑밤의 항산화력 및 세포 독성 측정을 위하여 용매 별로 추출물을 제조하였다. 먼저 생밤과 흑밤을 각각 믹서기(HMF-300S, Hanil, Seoul, Korea)로 약 5분간 분쇄하였다. 추출 용매는 water 및 50, 80, 100% 에탄올을 이용하였으며 각각 밤과 1:10의 비율로 혼합한 다음 60°C 수욕상에서 150 rpm으로 24시간 동안 교반하며 추출하였다. 추출액은 Whatman No.2 여과지를 이용하여 감압여과한 후, rotary vacuum evaporator(Rotary evaporator N-N Series, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 60°C에서 5배 농축하였다. 농축액을 -80°C에 얼린 다음 동결건조기(Freeze dryer, Ilshin Lab Co., Dongducheon, Korea)를 이용하여 5 mTorr에서 72시간 동안 동결건조한 후 건조된 분말을 시료로 사용하였다. 각 시료의 용매별 추출 수율은 생밤과 흑밤의 중량 대비 최종 동결건조된 분말 중량의 백분율로 나타내었다.

6. DPPH 라디칼 소거능 측정

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) 라디칼 소거 활성을 측정할 Yang 등(2012)의 방법을 따라 진행하였다. Dimethyl sulfoxide(DMSO; 472301-500ML, Sigma-Aldrich, Missouri, USA)를 이용하여 시료를 완전히 용해시킨 후 0.45 µm PVDF 필터(Millex® PVDF syringe filter, Millipore, Massachusetts, USA)로 여과하여 제조하였다. 25, 50, 100, 200 µg/mL 농도의 시료 용액 20 µL에 180 µL의 0.1 mM DPPH 용액을 가한 후 20분간 암실에서 반응시킨 다음 micro plate reader(INFINITE 200 PRO, TECAN, Mannedorf, Switzerland)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값을 이용하여 아래의 식에 의해 라디칼 소거능(%)을 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료군 흡광도}}{\text{대조군 흡광도}}\right) \times 100$$

7. ABTS⁺에 의한 항산화력 측정

ABTS⁺ 라디칼 소거능은 Jun 등(2014)의 방법으로 분석하였다. 7 mM 2,2'-azinobi(3-ethylbezothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS; A1888, Sigma-Aldrich, Missouri, USA)와 2.45 mM potassium persulfate(379824-5G, A1888, Sigma-Aldrich, Missouri, USA)를 실온의 암실에서 12시간 동안 방치하여 라디칼을 생성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 phosphate buffer solution(PBS)으로 희석하여 실험에 사용하였다. 시료는 DMSO를 이용하여 완전히 용해시킨 후 0.45 µm PVDF 필터로 여과하여 실험에 이용하였다. 시료 20 µL에 ABTS 시약

을 180 µL 첨가하여 암실에서 10분간 반응시킨 후 micro plate reader를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 아래 식에 의해 라디칼 소거능을 산출한 후 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 시료의 농도(IC₅₀, mg/mL)로 나타내었다.

$$\text{ABTS+ 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료군 흡광도}}{\text{대조군 흡광도}}\right) \times 100$$

8. 세포독성 평가

암세포로서 마우스 섬유아세포인 3T3, 인간의 자궁경부암 세포인 HeLa, 마우스 육종암세포인 Sarcoma-180을 이용하여 MTT[3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay를 시행하였다. 측정 방법은 An 등(2012)의 방법을 변형하여 실시하였다. 세포주를 96 well plate에 5×10⁴ cells/mL로 분주한 후 5% CO₂, 37°C에서 24시간 동안 배양하여 충분히 부착시켰다. 부착된 세포에 시료를 농도별(2.5, 5, 10 mg/mL)로 처리하여 48시간 동안 반응시킨 다음 각각의 well에 5 mg/mL MTT용액(M2128-1G, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) 10 µL를 첨가하여 3시간 동안 반응시켰다. 상층액을 제거한 후에 DMSO 50 µL를 첨가하여 잘 녹인 다음 micro plate reader를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 이용하여 아래의 식에 의해 세포 생존율(%)을 계산하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \left(\frac{\text{시료군 흡광도} - \text{blank 흡광도}}{\text{대조군 흡광도} - \text{blank 흡광도}}\right) \times 100$$

9. 통계처리

본 실험은 모두 3반복으로 수행하였고 얻은 결과값은 평균±표준편차(mean±SD)로 표시하였다. 일반성분, 무기이온 및 색도에 대한 통계분석은 F 검정법을 사용하여 유의수준 0.05에서 등분산성을 검정하였고, 등분산인 경우 Student t-test를 실시하여 p<0.05, p<0.01, p<0.001로 표기하였고, 등분산이 기각되면 Aspin-Welch t-test를 실시하여 유의수준 0.05에서 양측 검정으로 유의성을 확인하였다. DPPH, ABTS 및 세포 독성에 대한 결과는 SPSS(Statistical Package for the Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) version 27 프로그램으로 분석하였고, 실험군간 평균 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검정하였으며 p<0.05 수준에서 유의성을 부여하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분

생밤 및 흑밤의 일반성분을 분석한 결과, 생밤에서 흑밤으로 변화하면서 탄수화물 함량은 100 g당 26.23 g에서 57.97

g으로 약 2배 증가하였고, 당류의 함량은 100 g당 4.77 g에서 29.63 g으로 약 6.1배 증가하였다(Table 1). 이는 흑밤의 제조 과정 중 높은 온도에서 숙성기간을 거치는 동안 효소 반응에 의하여 당류가 증가된 것으로 보이며, 이와 같은 결과는 율피의 환원당 함량이 생울피는 2.31%, 숙성 15일차 율피는 11.13%로 율피를 숙성하는 동안 환원당의 함량이 약 4.8배 증가된 Kim 등(2017)의 결과와 유사하였다. 또한 수분 함량은 2배 가까이 감소한 반면 무게 대비 열량은 100 g당 110.30 kcal에서 240.10 kcal으로 2배 가량 증가하였는데, 이는 수분 함량이 절반으로 줄어들면서 나타난 현상으로 판단된다. Kim 등(2015)의 연구에 의하면 흑마늘의 경우 수분 함량이 숙성 후 1.2배 감소하였는데, 흑밤의 수분 함량이 숙성 단계에서 감소한 것과 일치하였다. 한편 회분과 식이섬유, 조단백질은 생밤과 흑밤에서 유의적인 차이를 나타내지 않는 반면, 조지방은 1.5배 증가하였는데, 마늘의 경우 조회분은 1.1배, 조단백은 1.2배, 조지방은 2.2배가 증가하여 숙성에 의해 조지방 함량이 조회분 및 조단백보다 크게 변화되는 것과 유사하게 나타났다. 그러나, 마늘보다는 밤의 변화가 상대적으로 적게 나타났는데, 이는 시료 및 숙성 조건의 차이에 의한 것으로 판단된다.

2. 무기이온

생밤과 흑밤의 무기이온 함량을 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다. 생밤 및 흑밤의 K 함량은 1,745.29 mg/L 및 586.87 mg/L로 분석한 무기이온 중 가장 높은 함량을 나타내었고, Mg<Ca<P 순으로 높은 함량을 나타내었다. Massantini 등(2021)의 연구에서도 밤의 무기이온 중 K가 가장 높은 함

Table 1. Proximate composition and dietary fiber of fresh chestnut and black chestnut

| Nutrient | Sample (%) | |
|----------------------|----------------------------|----------------|
| | Fresh chestnut | Black chestnut |
| Crude protein | 3.03±0.06 ¹⁾ | 2.90±0.10 |
| Crude lipid | 0.57±0.12 ²⁾ | 0.90±0.10 |
| Crude ash | 0.97±0.06 | 0.87±0.06 |
| Carbohydrate | 26.23±0.06 ^{***} | 57.97±0.32 |
| Sugar | 4.77±0.15 ^{***} | 29.63±0.31 |
| Dietary fiber | 5.93±0.15 | 5.70±0.10 |
| Moisture | 69.20±0.00 ^{***} | 37.37±0.32 |
| Calorie (kcal/100 g) | 110.30±1.06 ^{***} | 240.10±1.04 |

¹⁾ Mean±S.D. (n=3).

²⁾ Means with star markers are significantly different between fresh chestnut and black chestnut by student's *t*-test (**p*<0.05, ****p*<0.001).

량을 나타내어 본 연구와 일치하였고, Jeong 등(2012)도 밤의 무기이온 중 K가 가장 높고, Ca<Mg<P 순으로 높게 나타나 분석 결과와 유사하였다. 한편 흑밤의 무기이온 함량은 Zn을 제외하고 생밤보다 매우 낮게 측정되었다. Jeon 등(2016)은 85°C에서 숙성한 흑토란을 제조한 후 무기이온 함량을 측정한 결과 Fe, P, Ca, Na, Mg, K의 함량이 모두 감소하였고, 이는 토란의 숙성과정에서 수분이 빠져나가며, 무기이온이 용출되어 나타난 현상이라고 보고하였다. 본 연구에서도 흑밤의 무기이온 함량 감소가 숙성과정 중 수분 감소에 따른 무기이온 용출에 의한 것으로 판단된다.

3. 색도

생밤 및 흑밤의 색도는 Table 3에 나타내었다. 생밤의 명도(L)는 65.81이었으나, 숙성 후 흑밤은 30.11로 측정되어 약 2배 낮아졌으며, 적색도(a)는 생밤 3.00에서 흑밤 2.11로 약간 줄어들었으나 유의적인 차이는 없었다. 황색도(b)는 생밤 24.79에서 숙성 후 흑밤 2.66으로 약 9배 가량 줄어들어 가장 높은 변화를 나타내었다. Bedmíček 등(2021)에 의하면, 7가지 마늘을 숙성한 흑마늘의 평균 명도는 83.95에서 18.11로 4.6배 낮아졌고, 평균 황색도는 22.03에서 4.69로 4.7배 감소하였다. 원료 생강과 숙성 후 흑생강의 색도를 측정한 연구에서도 원료 생강의 명도는 70.89이었으나, 숙성 후 25.47로 낮아졌고 적색도는 -7.96에서 6.71로 높아진 반면 황색도는 38.39에서 숙성 후 16.15로 감소하였다(Lee & Kim 2020). 이와 같은 결과로 볼 때 숙성 공정이 대부분의 식품에서 색도 변화를 발생시키며, 특히 명도 및 황색도의 변화에 큰 영향

Table 2. Mineral content of fresh chestnut and black chestnut

| Mineral | Sample (ppm) | |
|---------|--------------------------------|----------------|
| | Fresh chestnut | Black chestnut |
| Mg | 412.19±11.68 ^{**1)2)} | 202.20±0.38 |
| Al | 63.91±2.00 ^{***} | 7.61±0.06 |
| Cu | 7.35±0.73 ^{**} | 0.06±0.07 |
| Fe | 56.73±1.15 ^{***} | 33.31±0.05 |
| Na | 127.41±2.54 ^{***} | 104.64±0.96 |
| P | 752.49±14.17 ^{***} | 267.52±0.66 |
| Zn | 6.26±0.29 [*] | 7.14±0.04 |
| Ca | 482.96±15.01 ^{**} | 245.01±0.28 |
| K | 1,745.29±41.45 ^{***} | 586.87±3.70 |

¹⁾ Mean±S.D. (n=3).

²⁾ Means with star markers are significantly different between fresh chestnut and black chestnut by student's *t*-test (**p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001).

Table 3. Colorimetric characteristics of fresh chestnut and black chestnut

| Sample | Hunter's color value ¹⁾ | | |
|----------------|------------------------------------|-----------|--------------------------|
| | L | a | b |
| Fresh chestnut | 65.81±0.57 ^{***2)} | 3.00±1.30 | 24.79±2.25 ^{**} |
| Black chestnut | 30.11±0.63 | 2.11±0.56 | 2.66±0.10 |

¹⁾ Values are means±S.D. (n=3). L, lightness; a, redness; b, yellowness.

²⁾ Means with star markers are significantly different between fresh chestnut and black chestnut by student's *t*-test (^{**} $p<0.01$, ^{***} $p<0.001$).

을 미치는 것으로 보인다. 비발효 가공식품에서 갈변은 캐러멜 반응, maillard 반응 등에 의하여 일어나는데, 흑밤의 갈변은 고온의 열처리에 의해 숙성되는 동안 α -amino group이 당과 반응하여 비효소적으로 갈변되는 maillard 반응이 관여된 것으로 판단된다(Kim 등 2018).

4. 추출 수율

생밤 및 흑밤의 용매별 추출 수율을 비교한 결과, 생밤은 80% 에탄올로 추출하였을 때 6.56%로 가장 높은 수율을 나타내었고, 100% 에탄올 추출물은 6.45%로 시료 중 두 번째로 높은 수율을 나타내었으나, 두 시료간 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 흑밤 또한 80% 에탄올을 이용하여 추출하였을 때 18.30%로 가장 높은 수율을 나타내었다(Fig. 1). 또한 생밤과 흑밤의 추출 수율은 물 추출 조건에서 각각 5.33%, 11.76%로 흑밤이 2.21배 높았고, 50% 에탄올 추출 조건에서도 각각 4.50%, 12.30%로 흑밤이 2.73배 높았으며, 100% 에탄올 추출 조건에서 각각 6.45%, 12.30%로 흑밤이 1.91배 높은 함량으로 측정되어, 모든 추출 용매 조건에서 생밤보다 숙성 후 흑밤의 추출 수율이 증가하였다. Purev 등(2012)의 연구에서도 생마늘과 흑마늘을 알코올 함량과 온도 및 추출 시간에 따른 수율을 측정한 결과, 추출 조건에 따라 1.39~13.01배까지 생마늘보다 숙성된 흑마늘의 수율이 증가하였다. 또한 Kim 등(2017)은 흑올피의 숙성이 진행됨에 따라 가용성 고형물의 함량이 증가되었는데, 이는 숙성 중 장시간의 열처리를 통해 올피 내 화합물이 구조적 변화를 일으켜 성분 용출이 용이해졌기 때문인 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 흑밤의 숙성 과정 중 열처리로 인하여 불용성 성분들이 가용화되어 생밤보다 흑밤의 추출 수율이 증가한 것으로 판단된다.

한편 물 추출물과 100% 에탄올 추출물을 비교하였을 때 생밤과 흑밤의 물 추출 수율은 각각 5.33%, 11.76%였으나, 100% 에탄올 추출 수율은 각각 6.45%, 12.30%로 나타나 물보다 에탄올의 추출 수율이 높은 것을 알 수 있었다. Nam 등(2014)도 오미자를 물과 70% 에탄올을 이용하여 추출하였을

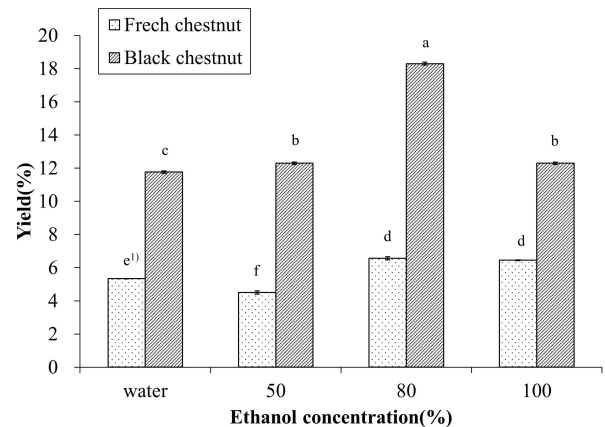


Fig. 1. Extraction yields of fresh chestnut and black chestnut. ¹⁾ Means with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

때 물 추출 수율보다 에탄올 추출 시 수율이 1.85배 증가한다고 보고하였다. 결과적으로 생밤보다는 숙성된 흑밤을 사용하고 80% 에탄올을 이용하여 추출하면 가용성 함량을 높여 고수율의 추출물을 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

5. DPPH 라디칼 소거능

생밤 및 흑밤 모두 물 추출물이 에탄올 추출물보다 전반적으로 높은 항산화 활성을 나타내었다(Table 4). 생밤 및 흑밤의 물 추출물은 시료 농도 200 mg/mL에서 각각 89.24%, 51.07%의 저해율을 나타내며, 모든 추출 용매 중 가장 높은 항산화 활성을 보였다. 이는 견올과의 항산화 효과가 에탄올 추출물보다 물 추출물에서 더 높게 나타난 것과 일치하였다(Kim 등 2014). 또한 시료 농도 200 mg/mL에서 모든 용매의 추출물이 흑밤보다 생밤에서 높은 항산화 활성을 나타내었다. Hwang JY(2011)의 연구에서는 90°C에서 증숙한 밤의 폴리페놀 함량이 10분 후 1.5배, 20분 후 1.7배 줄어들었고, Park 등(2019)의 연구에서도 강황 추출물을 25°C 및 90°C에 처리하여 항산화 물질의 열 안정성을 분석한 결과, 25°C에서는 항산화 활성이 유지된 반면, 90°C에서는 항산화 활성이 크게 감소하였다. 장기간의 열처리에 의해 밤에 포함된 폴리페놀 성분이 줄어들며, 항산화 활성이 낮아지는 것으로 판단된다(Duodu KG 2011). 시료 농도 200 mg/mL에서는 생밤 추출물이 흑밤 추출물보다 모든 농도에서 항산화 활성이 높았으나, 100 mg/mL의 농도에서는 유의적인 차이가 나지 않았다. 50 mg/mL의 농도에서는 100%, 80% 에탄올을 이용한 추출물에서 흑밤 추출물이 생밤 추출물보다 항산화 활성이 약간 높았으며, 다른 용매에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 25 mg/mL의 농도에서는 전반적으로 흑밤 추출물의 항산화

Table 4. DPPH radical scavenging activity (%) of water and ethanol extracts of fresh chestnut and black chestnut

| Sample | Ethanol concentration (%) | Sample concentration (mg/mL) | | | |
|----------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 25 | 50 | 100 | 200 |
| Fresh chestnut | Water | 12.40±2.76 ^{a1)2)} | 19.88±2.78 ^a | 42.90±8.00 ^a | 89.24±1.69 ^a |
| | 50 | 4.09±1.77 ^c | 7.40±1.46 ^c | 24.09±2.68 ^b | 61.48±2.84 ^b |
| | 80 | 3.97±1.06 ^c | 9.86±2.95 ^{de} | 21.17±1.10 ^b | 58.97±0.84 ^b |
| | 100 | 9.52±1.22 ^b | 13.23±1.91 ^{cd} | 23.30±2.83 ^b | 50.24±1.38 ^c |
| Black chestnut | Water | 12.98±0.81 ^a | 19.11±3.64 ^{ab} | 39.24±5.41 ^a | 51.07±2.11 ^c |
| | 50 | 4.95±1.02 ^c | 10.60±2.11 ^{de} | 24.15±1.48 ^b | 37.14±3.05 ^d |
| | 80 | 6.11±0.63 ^c | 15.30±1.59 ^{bc} | 20.62±1.25 ^b | 36.91±0.33 ^d |
| | 100 | 11.19±0.75 ^{ab} | 17.62±1.02 ^{ab} | 23.27±2.45 ^b | 37.65±0.94 ^d |

1) Mean±S.D. (n=3).

2) Means with different superscripts in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

활성이 생밤 추출물보다 높게 측정되었으나 유의미한 차이는 나타나지 않았다. 한편 생밤 추출물과 흑밤 추출물은 모두 대부분의 농도에서 IC_{50} 값을 계산하지 못할 정도의 매우 낮은 항산화 활성을 나타내었다. Barreira 등(2008)은 밤나무의 꽃, 잎, 밤 외피, 밤 내피 그리고 밤 과육의 항산화 활성을 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 IC_{50} 으로 나타내었는데, 밤 과육만 매우 낮은 항산화 활성을 보여 IC_{50} 값으로 나타내지 못하였다. 이는 밤 과육 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 매우 낮게 나타난 본 연구 결과와 일치한다.

6. ABTS⁺에 의한 항산화력

생밤 및 흑밤 추출물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 시료의 라디칼 소거능이 50%가 되는 농도인 IC_{50} 값으로 나타내었다 (Fig. 2). 100% 에탄올을 이용하여 추출하였을 때, 생밤 추출물은 IC_{50} 값이 5.9 mg/mL로 추출 용매 중 가장 높은 항산화 활성을 나타내었고 흑밤은 13.5 mg/mL로 추출 용매 중 가장 낮은 항산화 능력을 나타내었다. 이와 반대로 50% 에탄올을 이용하여 추출하였을 때에는 생밤 추출물의 IC_{50} 은 7.1 mg/mL로 추출 용매 중 가장 낮은 항산화 활성을 나타내었고, 흑밤 추출물은 11.1 mg/mL로 추출 용매 중 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다. 추출 용매의 에탄올 함량에 따른 ABTS⁺ 라디칼 소거능의 변화는 생밤 추출물과 흑밤 추출물에서 서로 반대되는 경향을 나타내었다. 생밤 추출물의 항산화 활성은 물 추출물보다 50% 에탄올 추출물이 더 낮았지만 에탄올 함량이 증가할수록 다시 증가하였고, 반대로 흑밤 추출물은 물 추출물보다 50% 에탄올 추출물의 항산화 활성이 더 높았지만, 에탄올 함량이 증가할수록 다시 감소하였다.

한편, 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거능 측정 실험에서 생밤과 흑밤 모두 물 추출물이 가장 높은 항산화 활성을 나타낸 결과와 상이하였다. 이는 ABTS⁺와 DPPH 라디칼 소거

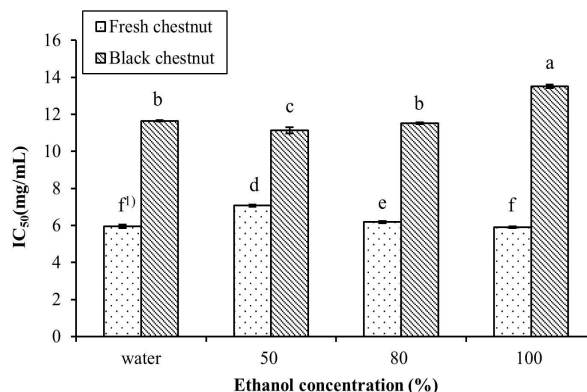


Fig. 2. ABTS⁺ radical scavenging activity (IC_{50}) of fresh chestnut and black chestnut extracts. 1) Means with different superscripts in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

능 측정법은 모두 항산화 활성을 측정하는 방법이나, DPPH 라디칼 소거능 측정법은 폐놀성 및 방향성 아민 화합물이 함유된 시료에서 자유 라디칼을 소거하여 항산화 활성을 측정하는데 비해 (Prior 등 2005; Shi 등 2009), ABTS⁺ 라디칼 소거능 측정법은 양이온 라디칼을 소거하는 극성 및 비극성 물질의 전자공여능을 측정하기 때문에 나타나는 현상이다 (Wang 등 1998). 따라서 항산화 물질의 특성에 따라 각 라디칼을 소거하는 정도가 다르므로 항산화 활성에 차이를 나타낸 것으로 판단된다 (Lee 등 2010).

7. 세포독성

3T3 세포에서 100% 에탄올을 이용한 생밤 추출물의 세포 생존율은 2.5, 5, 10 mg/mL의 농도에서 각각 122.49, 110.76, 95.35%를 나타내었고, 흑밤 추출물의 세포 생존율 또한

122.40, 115.69, 112.12%를 나타내어 모든 처리 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다(Fig. 3). 그러나 물을 이용하여 추출한 생밤 추출물은 동일한 농도에서 각각 41.86, 39.53, 32.72%의 세포 생존율을 나타내었고, 흑밤 추출물은 각각 44.38, 39.49, 34.26%의 세포 생존율을 나타내어 매우 높은 세

포 독성을 나타내었다. 자궁경부암세포인 HeLa 세포에서는 모든 생밤과 흑밤 추출물의 세포생존율이 61.56% 이하로 강한 세포독성을 나타내었으며, 생밤 및 흑밤 모두에서 물 추출물이 100% 에탄올 추출물보다 더 높은 세포 독성을 나타내었다. Jung 등(2016)의 연구에서도 HeLa 세포에 대한 율피

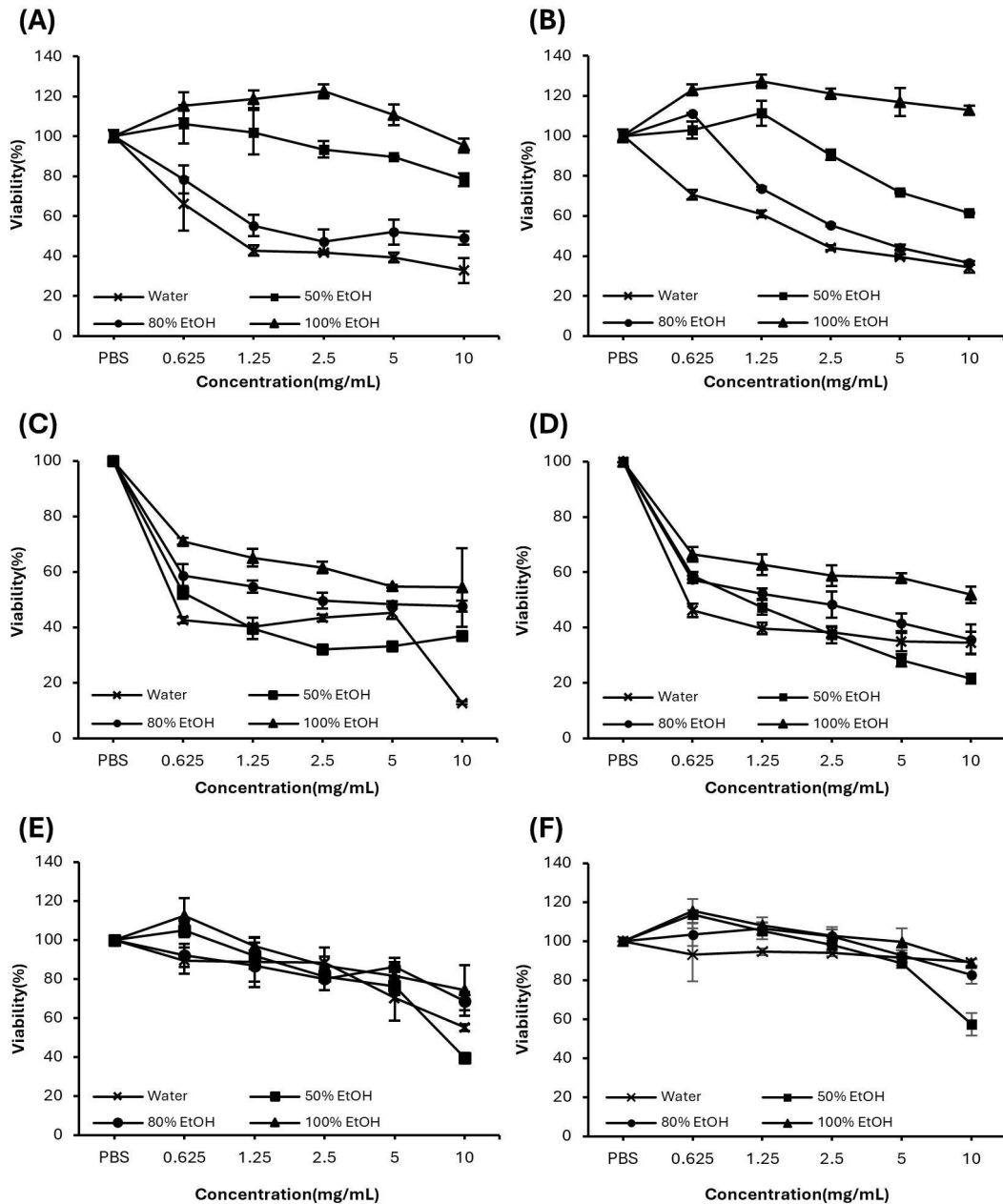


Fig. 3. Cytotoxicity of fresh chestnut and black chestnut extracts. (A) Cytotoxicity of fresh chestnut extracts in 3T3 cells, (B) Cytotoxicity of black chestnut extracts in 3T3 cells, (C) Cytotoxicity of fresh chestnut extracts in HeLa cells, (D) Cytotoxicity of black chestnut extracts in HeLa cells, (E) Cytotoxicity of fresh chestnut extracts in Sarcoma-180 cells, (F) Cytotoxicity of black chestnut extracts in Sarcoma-180 cells.

의 세포독성을 알아본 결과 물 추출물의 IC₅₀ 값이 0.32 mg/mL이고, 에탄올 추출물은 0.75 mg/mL로 물 추출물이 더 높은 항암 효과를 나타내어 본 연구와 일치되는 경향을 나타내었다. Sarcoma-180 세포의 생밤과 흑밤 추출물에 대한 세포 생존율은 대부분의 농도에서 70% 이상을 나타내어 큰 세포독성을 나타내지 않았으며, 생밤과 흑밤 추출물에서 모두 물 추출물과 100% 에탄올 추출물의 세포 생존율이 대부분 유의차를 나타내지 않아서, 물 추출물과 100% 에탄올 추출물 사이의 세포 독성은 유사한 것으로 판단되었다. 다만 생밤 추출물의 세포 생존율이 흑밤 추출물보다 대체적으로 조금 낮게 측정되었다.

한편 생밤 및 흑밤 추출물이 HeLa 세포에 대해서는 강한 독성을 나타낸 반면, Sarcoma-180 세포에 대해서는 세포독성을 거의 나타내지 않았는데, 이는 추출물이 암세포의 종류에 따라 다르게 반응하기 때문인 것으로 판단된다. Sorice 등 (2016)도 울피 추출물을 6가지 인간 종양 세포주에 처리한 결과 HepG2 세포에서만 성장을 강하게 억제한 반면, HaCaT, A375, MCF7, HT29 및 H460 세포에서는 매우 높은 생존율을 나타내어 본 연구와 유사하게 세포에 따라 반응이 달라지는 결과를 보고하였다.

요약 및 결론

생밤과 흑밤의 영양성분과 무기이온 및 색도를 분석하고 물과 50, 80, 100% 에탄올 용매로 추출하여 각 추출조건에서의 항산화 효과 및 세포 독성을 측정하였다. 흑밤의 일반성분 분석에서는 생밤보다 수분함량이 감소한 반면, 당류, 탄수화물, 조지방 함량 및 열량은 증가하였고, 식이섬유나 회분, 조단백 등은 유의적인 차이가 나지 않았다. 무기이온 분석에서 생밤 및 흑밤 모두 K의 함량이 가장 높은 것으로 측정되었고 흑밤보다 생밤의 무기이온 함량이 더 높게 나타났다. 색도 측정 결과 흑밤의 색도는 명도 30.11, 적색도 2.11, 황색도 2.66으로 측정되었으며, 생밤과 비교하여 각각 2.2배, 1.4배, 9.3배 감소하였다. 생밤과 흑밤 추출물의 추출 수율은 모든 조건에서 흑밤이 약 2~3배 높게 나타났다. DPPH를 이용한 항산화 활성은 생밤과 흑밤 모두 물 추출물에서 가장 높게 나타났다. ABTS를 이용하여 항산화 활성을 측정한 결과, 생밤은 100% 에탄올 추출물에서 항산화 활성이 가장 높게 나타났으나 흑밤은 50% 에탄올 추출물에서 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다. 세포독성은 생밤과 흑밤 추출물 사이에 큰 차이가 없었으며, 3T3 세포에서 생밤과 흑밤 추출물 모두 물 추출물은 강한 세포독성을 나타내었으나, 100% 에탄올 추출물은 세포독성을 나타내지 않았다. HeLa 세포에 대해서는 대부분 세포독성을 나타낸 반면, Sarcoma-180 세포에

대해서는 거의 나타내지 않아 세포 종류에 따라 다른 세포독성을 나타내었다. 본 연구를 종합해 볼 때, 밤의 숙성 가공은 당류, 탄수화물, 조지방 및 열량의 증가와 수분의 감소가 일어나 기호성이 증가할 것으로 기대되는 반면, 추출 수율은 증가하지만 항산화 활성은 낮아지고 세포독성은 큰 변화가 없어 전반적으로 생리활성은 감소하는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 2022년 공주대학교 학술연구지원사업의 연구 지원에 의하여 수행한 연구 결과입니다.

References

- An IJ, Kwon JK, Lee JS, Park HS, Kim DC, Choi BJ, Lee KM, Park YJ, Jung JY. 2012. Induction of apoptosis in human cancer cells with *Compositae* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:584-590
- AOAC. 2019. Nuts and nut products. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 21st ed. pp.1-3. Association of Official Analytical Communities
- Barreira JCM, Ferreira ICFR, Oliveira MBPP, Pereira JA. 2008. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chem* 107:1106-1113
- Bedrníček J, Laknerová I, Lorenc F, Probio de Moraes P, Jarošová M, Samková E, Tříška J, Vrchotová N, Kadlec J, Smetana P. 2021. The use of a thermal process to produce black garlic: Differences in the physicochemical and sensory characteristics using seven varieties of fresh garlic. *Foods* 10:2703
- Duodu KG. 2011. Effects of processing on antioxidant phenolics of cereal and legume grains. In Awika JM, Piironen V, Bean S (Eds.), *Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion*. pp.31-54. American Chemical Society
- Hwang JY. 2011. Changes in quality characteristics of peeled chestnuts with storage temperature. *Korean J Food Nutr* 24:71-78
- Im RJ. 1999. *Flora Medica Coreana*. 20th ed. p.86. Hankookmunhwas
- Jang EK, Seo JH, Lee SP. 2008. Physiological activity and antioxidative effects of aged black garlic (*Allium sativum* L.) extract. *Korean J Food Sci Technol* 40:443-448
- Jang GY, Kim DH, Park CH, Shin YS, Kang TS, Jeong HS, Choi J. 2018. Changes in reducing sugar and catalpol

- contents of *Rehmannia* root slurry with aging treatments. *Korean J Food Nutr* 31:559-564
- Jeon YH, Lee JW, Son YJ, Hwang IK. 2016. Characteristics and sensory optimization of taro (*Colocasia esculenta*) under different aging conditions for food application of black taro. *Korean J Food Sci Technol* 48:133-141
- Jeong HR, Jo YN, Jeong JH, Jin DE, Song BG, Jin YR, Kim MJ, Lee U, Heo HJ. 2012. Change in the chemical composition of chestnuts (*Castanea crenata*) from different periods. *Korean J Food Sci Technol* 44:393-400
- Jun DH, Cho WA, Lee JB, Jang MJ, Park JY, Kim SH, Lee JT. 2014. Antioxidant activity of chestnut (*Castanea crenata* S. et Z.) bur fermented by *Lactobacillus casei*. *J Life Sci* 24:1193-1199
- Jung BS, Lee NK, Na DS, Yu HH, Paik HD. 2016. Comparative analysis of the antioxidant and anticancer activities of chestnut inner shell extracts prepared with various solvents. *J Sci Food Agric* 96:2097-2102
- Kim D, Kim KH, Yook HS. 2015. Analysis of active components of giant black garlic. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:1672-1681
- Kim HH, Lee SJ, Chung YH, Kim SH, Sung NJ. 2018. Physicochemical properties and antioxidant activities from hot-air and freeze dried aged black ginger (*Zingiber officinale*). *J Life Sci* 28:153-161
- Kim JH, Lim WJ, Kim MR. 2017. Quality characteristics and antioxidant activities of aged black chestnut inner shells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46:343-349
- Kim JY, Kim SY, Kwon HM, Kim CH, Lee SJ, Park SC, Kim KH. 2014. Comparison of antioxidant and anti-inflammatory activity on chestnut, chestnut sell and leavers of *Castanea crenata* extracts. *Korean J Medic Crop Sci* 22:8-16
- Korea Rural Economic Institute. 2022. Trends and prospects for supply and demand of major short-term forest products. Available from <http://library.krei.re.kr/pyxis-api/1/digital-files/845ce2f0-e038-4a93-b897-539e81a733c8> [cited 22 January 2023]
- Korea Rural Economic Institute. 2023. Forestry observation information. Available from <https://www.krei.re.kr/krei/selectBbsNttList.do?bbsNo=74&key=81> [cited 4 May 2023]
- Korea Food & Drug Administration. 2018. Korean Food Standards Codex. Korea Food & Drug Administration
- Lee GY, So YJ, Jeon YH, Kang HJ, Hwang IK. 2015. Changes in the physicochemical properties and sensory characteristics of burdock (*Arctium lappa*) during repeated steaming and drying procedures. *Korean J Food Sci Technol* 47:336-344
- Lee HS. 2010. Effects on antioxidative capacity and lipid improvement of black garlic according to different aging periods. Ph.D. Thesis, Kyungsoong Univ. Busan. Korea.
- Lee SJ, Kim SH. 2020. Optimization of processing condition for antioxidant activities from aged black ginger using response surface methodology. *J Agric Life Sci* 54:99-108
- Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Antioxidants activity of aged red garlic. *J Life Sci* 20:775-781
- Massantini R, Moschetti R, Frangipane MT. 2021. Evaluating progress of chestnut quality: A review of recent developments. *Trends Food Sci Technol* 113:245-254
- Nam SY, Lee JY, Ko JS, Kim JB, Jang HH, Kim HR, Lee YM. 2014. Changes in antioxidant and antimicrobial activities of *Schizandra chinensis* Baillon under different solvent extraction. *Korean J Int Agric* 26:513-518
- Park CY, Lee KY, Gul K, Rahman MS, Kim AN, Chun J, Kim HJ, Choi SG. 2019. Phenolics and antioxidant activity of aqueous turmeric extracts as affected by heating temperature and time. *LWT-Food Sci Technol* 105:149-155
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53:4290-4302
- Purev U, Chung MJ, Oh DH. 2012. Individual differences on immunostimulatory activity of raw and black garlic extract in human primary immune cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 34:651-660
- Seok HD, Choi JY, Byun SY, Min SH. 2019. Analysis on consumer's preference for non-timber forest product (shiitake, chest nut, persimmon): Social big-data analysis. *J Korean Soc For Sci* 108:97-108
- Shi J, Gong J, Liu J, Wu X, Zhang Y. 2009. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. *LWT-Food Sci Technol* 42:477-482
- Sorice A, Siano F, Capone F, Guerriero E, Picariello G, Budillon A, Ciliberto G, Paolucci M, Costantini S, Volpe MG. 2016. Potential anticancer effects of polyphenols from chestnut shell extracts: Modulation of cell growth, and cytokinomic and metabolomic profiles. *Molecules* 21:1411
- Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVioe EJ, Huang TC, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46:4869-4873

Yang YR, Cho JY, Park YK. 2012. Isolation and identification of antioxidative compounds 3,4-dihydroxybenzoic acid from black onion. *Korean J Food Preserv* 19:229-234

Received 11 January, 2024
Revised 05 February, 2024
Accepted 13 February, 2024

증자시간에 따른 생천마의 품질특성 변화

†송영은 · 김은주* · 한현아* · 이송이* · 김창수** · 안민실

전북특별자치도농업기술원 작물식품과 농업연구관, *전북특별자치도농업기술원 작물식품과 농업연구사,
**전북특별자치도농업기술원 약용자원연구소 농업연구사

Quality Characteristics of Fresh *Gastrodia elata* according to Different Steaming Time

†Young Eun Song, Eun Ju Kim*, Hyun Ah Han*, Song Yee Lee*, Chang Su Kim** and Min Sil Ahn

Senior Researcher, Division of Crops & Food, Jeonbuk State Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea

*Researcher, Division of Crops & Food, Jeonbuk State Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea

**Researcher, Medicinal Plant Resource Research Institute, Jeonbuk State Agricultural Research & Extension Services, Jinan 55440, Korea

Abstract

Gastrodia elata has been used in traditional Chinese medicine for treating headaches, dizziness, and convulsive illness for centuries. *G. elata* has traditionally been processed by steaming or blanching to increase the content and quality of its main ingredients. This study aimed to identify changes in physicochemical properties and active ingredients of *G. elata* depending on the steaming time. Data of this study could be used to develop traditional medicine and health foods. No steaming was used as a control. Steaming time was 5, 10, 20, 30, 60, or 120 min. The drying yield according to the steaming time ranged from 20.2% to 22.9%, with the lowest drying yield at 120 min. As the steaming time increased, gastrodin content increased more than that in fresh *G. elata* due to inhibition of β -glucosidase enzyme activity, 4-hydroxybenzyl alcohol condensation, and parishin decomposition. Steamed *G. elata* did not show higher total polyphenols, total flavonoids, or ABTS radical scavenging activities than fresh *G. elata* even with an increase of steaming time. The steaming time to improve the quality of *G. elata* may varied depending on the size of *G. elata*. Thus, it is important to set the steaming time taking these characteristics into consideration.

Key words: *Gastrodia elata* (*G. elata*), steaming, gastrodin, polyphenols, ABTS

서 론

천마(*Gastrodia elata* Blume)는 한국, 중국, 일본 등에서 자생하는 다년생 난초과 식물이지만 광합성을 하지 못하고 뿌리나 나무버섯균과 땅속에서 덩이줄기를 형성하며 영양분을 공급받으면서 자란다(Lee YM 1990). 천마는 전북 생산량이 전국의 74.6%, 재배 면적은 58.9%를 차지하는 전북 지역특화작목으로(KOSIS 2021), 한의학과 중의학은 경련, 산화적스트레스, 정신장애, 기억력상실, 뇌손상과 염증을 효과적으로 억제하는 것으로 보고하고 있다(Yu 등 2005; Chen & Sheen 2011; Dai 등 2021; Zhang 등 2021). 천마의 주요성분으로는 parishin

과 parishin 유도체 등 페놀 화합물이 주로 존재하며 그 중 중요한 지표성분으로는 gastrodin, 4-hydroxybenzyl alcohol, 4-hydroxybenzaldehyde, vanillin 등이 있으며, 이들 성분들에 대한 많은 연구들이 국내외에 보고 되어 있다(Taniguchi 등, 1981; Zhou 등, 1983; Lee 등 2012; Kim & Park 2013; Tang 등, 2015). 또한 천마는 2000년 식품원료로 등록되어 활용에 대한 관심이 높아지고 있으나, 특유의 독특한 냄새가 소비확대의 제한요인이 되어 이를 감소시키고자 당화방법에 따른 천마의 품질특성(Song 등 2016), 젖산균 발효에 따른 parishin 유도체의 변화(Song 등 2017), 초음파처리 및 효소반응에 의한 천마 불쾌취 감소(Kim 등 2004), 흑천마 및 발효천마에

† Corresponding author: Young Eun Song, Senior Researcher, Division of Crops & Food, Jeonbuk State Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea. Tel: +82-63-290-6041, Fax: +82-63-290-6059, E-mail: sjm964@korea.kr

다른 기능성분 변화(Kim HY 2014) 등의 연구가 보고되어 있다. 또한 약용작물은 수백년 동안 저장기간 연장 및 지표성분의 증대 등 품질 향상을 위한 전처리 과정을 실시하여 왔다. 천마도 오랜기간 동안 생산지역을 중심의 전통적인 경험을 통하여 증자를 실시하여 왔으며 중국약전의 방법과도 일치한다고 보고되어 있다(Li 등 2019). 천마 수확 후 증자와 건조 등에 대한 국내 연구들이(Choi 등 2011; Chu 등 2012; Park 등 2014) 보고되어 있고, 증자 등에 의한 전구물질로부터 화학적 전이, 효소 불활성에 의한 분해억제 등에 의한 유효성분 변화 연구들도 보고되고 있다(Li 등 2019; Ma 등 2021; Xie 등 2023). 이러한 증자, 건조 등 수확 후 처리에 의한 유효성분 변화는 품종, 재배지역에 따른 성분 차이만큼이나 큰 영향을 미칠 수 있는데 완벽한 증자가 이루어지지 못하면 gastrodin의 전구물질들이 gastrodin으로 전환되지 못하고, 반면 과도하게 증자가 되면 천마 표피가 손상되고 전분은 액화되어 생리활성 물질이 손실되고 건조시간이 길어지며 가공효율이 낮아지게 된다(Wang 등 2018). 또한 건조 후 색 변화 등 외관에 나쁜 영향을 끼치게 되어 적절한 증자를 수행하는 것이 매우 중요하다(Xie 등 2023).

따라서 본 연구에서는 건조 전처리인 증자시간에 따른 천마 성분의 품질변화를 분석하여 천마 이용 제품 개발시 기초 자료로 활용하고자 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시험재료 및 시약

시험에 사용한 천마는 2023년 5월에 전북 무주 안성에서 구입하였고, 분석시험에 사용한 시료는 동결건조하여 분말로 조제 후 냉동실에 보관하면서 사용하였다.

천마(성마)의 품질 기준은 무게에 따라 특상품(100 g 이상), 상품(80 g 이상), 중품은 (50 g 이상), 하품(30 g 이상)으로 나누어지며, 시험에 사용한 천마는 무게 52.8~ 60.5 g(평균 57.01), 길이 1,145.0~1,328.5 mm(평균 1,212.0), 두께 26.1~39.01 (평균 30.9 mm)인 중품을 사용하였다(Table 1).

시약은 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(F9252, rutin(R5143), gallic acid(G7384), 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ; T1253), gastrodin(Phl89324), 4-hydroxybenzyl alcohol(H20806)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA), 2,2'-azino-bis(3-ethyl benzo-thiazoline-

6-sulphonicacid(ABTS; A5200)는 TCI(Chuo, Tokyo, Japan) 제 품을 사용하였다, HPLC 분석에 사용한 acetonitrile, metanol, water 용매는 J.T.Baker(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였고, 기타 시약은 특급을 사용하였다.

2. 증자방법

증자시간에 따른 천마의 품질변화를 알아보기 위하여 평균 무게 57.0 g, 길이 1,212.0 mm, 넓이 30.9 mm인 천마를 이용하였다. 증자방법은 째기(직경 38 cm, TB0506-03, Tosco basic, Incheon, Korea)에 물 3 L를 넣고 체망에 면포를 깔아 시료 1.2 kg을 올려놓은 후 물이 끓기 시작하였을 때부터 증자시간을 5분, 10분, 20분, 30분, 60분, 120분으로 설정하였고, 대조로는 무처리를 사용하였다. 시간별로 증자한 시료는 냉동 보관한 후 3일간 동결건조기(LP20, Ilshin BioBase, Seoul, Korea)로 건조, 분쇄한 후 표준망체(500 mesh)를 통과시켜 분석시료로 사용하였다.

3. 이화학적 품질 분석

1) 건조수율

증자시간에 따른 천마의 건조수율은 시간별로 증자 후 60°C 온도로 건조기(WTB binder DE/ED115, Germany)에서 건조한 후 천마의 증자 전 무게 대비 증자 후 무게를 백분율로 표시하였다.

2) pH와 당도

pH와 당도는 증자 후 시료 1 g을 증류수 10 mL로 희석하여 pH 미터(Seven Excellence TM, Mettler Toledo, Switzerland)와 디지털 당도계(Atago, PAL-1, Japan)를 이용하여 측정한다. 후 당도는 희석배수를 곱하였다.

3) 색도

색도는 색도계(CM-5, Konica Minolta, Japan)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황색도)를 측정하였다.

4) 총당

동결건조 시료 1 g에 증류수 20 mL를 가하여 잘 섞어준 후 30분간 초음파 처리하여 원심분리기(3-16K, Sigma, Germany)로

Table 1. Appearance characteristics of the experimental sample of *G. elata*

| Sample | Weight (g) | Length (mm) | Thickness (mm) |
|---------|------------|-----------------|----------------|
| Average | 57.0 | 1,212.0 | 30.9 |
| Range | 52.8~60.5 | 1,145.0~1,328.5 | 26.1~39.0 |

원심분리(4,500 rpm, 20분)하여 상층액을 여과(5B, Adventec, Japan)하고 이 과정을 2회 반복하였다. 여과액을 0.4 μm 실린지 필터로 여과하여 희석한 후 희석액 1 mL, 5% 페놀 1 mL, 95% 황산 5 mL를 넣고 잘 섞은 후 알루미늄 호일로 감싸 20분간 방치 하였다. 분광광도계(Specord, Analytikjena, Germany)를 이용하여 흡광도(470 nm)를 측정하였다. 이때 표준검량선은 포도당(Glucose, Junsei, Japan)용액을 농도별로 제조하여 사용하였다.

4. 물성 측정

증자시간에 따른 천마의 물성은 시간별로 증자한 시료를 1시간 동안 상온에서 방냉한 다음 30 mm 높이로 절단한 후 물성측정기(TA-XT2 plus, Stable micro system, UK)를 이용하여 pre-test speed 2.0 mm/s, test speed 2.0 mm/s, post-test speed 10 mm/s, distance 15.0 mm, probe diameter 5 mm(p/5) 조건으로 처리당 20반복으로 측정하였다.

5. 유효성분 분석

시료 추출은 Zhang 등(2015)의 방법을 약간 변형하여 실시하였다. 즉 동결건조 분말 시료 2.0 g에 80% 메탄올 20 mL를 가한 다음 초음파(POWERSONIC 520, Hwashin Tech, Korea)로 30분 추출한 후 원심분리기(3-16K, Sigma, Germany)로 4,500 rpm, 10분 원심분리하여 상층액을 취하고, 잔사는 동일한 방법으로 한번 더 추출하였다. 상층액을 합하여 감압농축하고 80% 메탄올 5 mL에 용해시킨 후 membrane filter(0.45 μm)로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 분석장비는 UHPLC(Ultimate 3000, Thermo Fisher Sci., USA)을 이용하였고 칼럼은 Eclipse XDB C18(4.6 \times 250 mm, 5 μm), 검출기는 PDA(220 nm)를 사용하였다. 용매는 0.1 % 포름산 용액(A 용매)과 0.1 % 포름산-아세트오니트릴(B 용매)을 사용하였으며, Gradient 조건은 95%(A) 및 5%(B) (0-2분), 45 %(A) 및 55%(B) (2-35 분), 85%(A) 및 15%(B) (35-50분)의 비율로 하였고, 유속은 0.8 mL/min, 주입량은 10 μL 로 하였다. 성분은 표준품으로 검량곡선을 작성하여 정량하였다.

6. 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀함량 분석은 Folin-Ciocalteu's법(Singleton & Rossi 1965)을 변형하여 측정하였다. 동결건조 시료 1 g에 50% 메탄올 30 mL를 넣고 14시간 실온 추출하여 여과(Advantec No. 2, Japan)후 추출액으로 사용하였다. 각 추출액 100 μL 에 2%(w/v) Na_2CO_3 용액 1 mL를 첨가하여 3분간 방치한 후 50%(w/v) Folin-Ciocalteu's reagent 100 μL 를 첨가하여 반응액을 30분 상온 방치한 후 마이크로플레이트 리더(Epoch2, Biotek, Winooski, Vermont, USA)로 흡광도(750 nm)를 측정하

였다. 추출물의 총 폴리 페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 검량선을 작성한 후 시료 1 g 중 mg으로 표시하였다.

7. 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량 분석은 Davis WB(1947) 방법을 변형하여 측정하였다. 시료는 총 폴리페놀 함량 분석 시료와 동일하게 추출하였다. 즉, 시료 0.1 mL에 diethylene glycol 0.15 mL를 가하여 혼합하고 1 N NaOH 용액 20 μL 를 가한 다음 혼합 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 반응하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량곡선은 rutin을 표준물질로 작성한 후 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

8. 항산화활성 분석

1) ABTS 라디컬 소거활성

ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) 라디컬 소거 활성은 Armao 등(2001)의 방법을 변형하여 분석하였다. 분석시료는 80% 메탄올을 사용하여 추출하였다. ABTS 7 mM 용액과 potassium persulfate 245 mM 용액을 조제한 후, 암소에서 12~16시간 반응 후 100% 에탄올로 희석하여 흡광도가 0.70 \pm 0.02가 되도록 조정된 후 ABTS 용액 3 mL와 시료 30 μL 를 혼합하여 30 $^{\circ}\text{C}$, 20분 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power)

FRAP 항산화성은 반응액으로서 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM 염산에 녹인 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) 및 20 mM FeCl_3 를 준비한 다음 acetate buffer, TPTZ/40mM HCl 용액 및 FeCl_3 용액을 10:1:(v/v/v)로 혼합하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 예비반응 시켰다. 시료 0.15 mL와 예비반응된 FRAP 시약 2.85 mL를 섞어 15분간 반응시키고 microplate reader(Power wave XS2, Biotek, USA)를 사용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

9. 통계처리

실험값에 대한 통계분석은 XLSTAT program(Addinsoft, Newpork, USA)을 이용 하여 Duncan's multiple range test 방법으로 평균값 간에 유의수준 $p < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 증자시간에 따른 건조수율 및 물성 변화

천마의 증자시간별 물리적인 특성 중 건조수율은 Fig. 1A와 같다. 건조수율은 증자시간에 따라 20.2~22.9%를 나타내

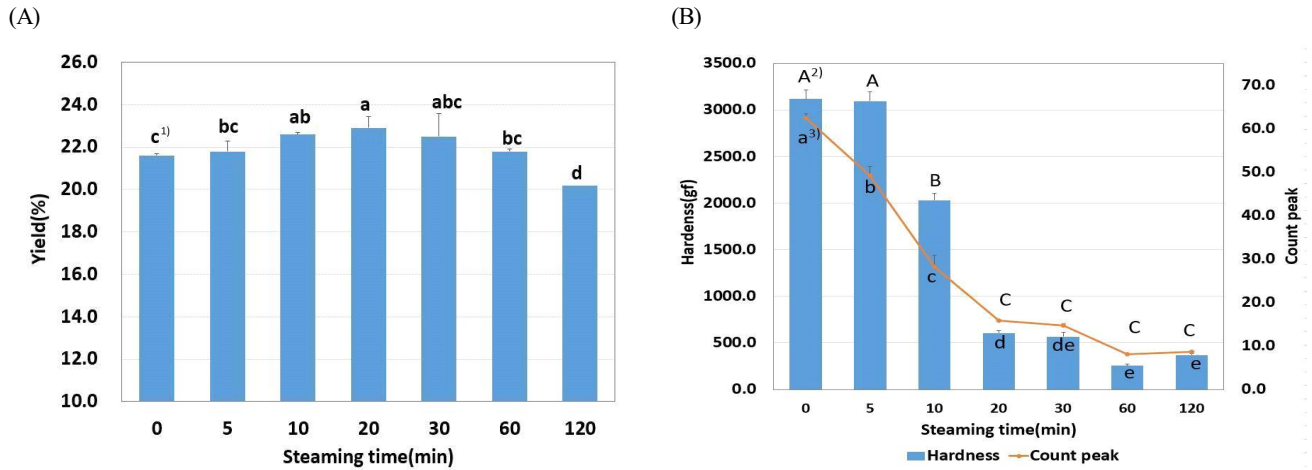


Fig. 1. Drying yield (A), hardness and count peak (B) of *G. elata* according to steaming time. ¹⁾ Values with different letters on bar (a^{-d}) are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). ²⁾³⁾ Values with different capital letters (Hardness, A-C), small letters (Count peak, a^{-e}) on same bar are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

었으며, 증자시간 120분에서 가장 낮았다.

천마의 전분입자는 작은 크기로 구성되어 호화되는 온도가 다른 농산물에 비해 낮아 66.15°C로 보고되어 있다(Xie 등 2023). 천마 전분은 생전분(β화 상태)에서는 물에 녹지 않으나 가열에 의해 수분 흡수 및 전분 팽화가 일어나서, 호화(α화 상태)가 이루어진다. 하지만 과도하게 가열하게 되면 전분 입자가 붕괴되어 콜로이드 상태가 되어 세포 손상, 내부 용질의 손실, 다당류 및 전분의 액화로 인해 세포 밖으로 용출되어 건조수율이 감소하게 되는 것으로 생각된다. 증자시간에 따른 천마의 경도 변화는 Fig. 1B와 같으며 이러한 경도의 감소는 전분의 호화가 증자온도에 따라 점차로 진행됨에 따라 수분 손실로 인한 팽압의 감소와, 전분의 90% 이상을 차지하는 아밀로펙틴의 결합력이 감소하는 결과가 보고되어 있다(Rocculi 등 2009; Guo Q 2016). 또한 증자시간 10분 이후

로 감소폭이 커짐을 알 수 있었는데, 이는 증자 초기에 열에너지가 전달되면서 천마 표면부터 전분 입자의 호화가 이루어져 중심부로 열이 전달되어 나가면서 열에 의한 영향을 크게 받았으나 지속적인 열에너지 전달에 의해 전분 입자의 호화가 거의 이루어진 상태가 되어 열에 의한 변화가 적어 정도의 감소폭이 크지 않았을 것으로 생각된다. 또한 신선한 생체일수록 증가하게 되는 부서짐 정도를 나타내는 count peak 값도 증자시간 증가에 따라 호화가 진행되어 점차 감소하였다.

2. 증자시간에 따른 천마 내부 변화

증자시간에 따른 천마의 내부 단면 변화는 Table 2와 같다. 증자 5분에서는 표면 부위는 호화가 일어났으나 증양부분은 열이 증양부분까지 미치지 못하여 하얀 원모양을 나타내었

Table 2. Internal change of *G. elata* slice according to steaming time

| Steaming time (min) | 0 | 5 | 10 | 20 | 30 | 60 | 120 |
|------------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Slice | | | | | | | |
| Internal temp. ¹⁾ | 20.16 ^{g2)} | 46.29 ^f | 47.63 ^e | 51.24 ^d | 53.94 ^b | 53.62 ^c | 61.83 ^a |

¹⁾ 5 min after steaming, instrument (FT-400, CAS).

²⁾ Values with different letters in same row (a^{-g}) are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

다. 증자 10분에서도 중심부문에 완전히 호화되지 않아 중심부에 원모양이 남아 있었다. 증자 20분 부터는 중심부 원모양이 사라지고 30분 이상이 되면 전분 호화에 의해 색이 증자 전 백색에서 연한 황색으로 변하였다. 60분 이상이 되면 과도하게 호화되어 내부가 갈라지는 현상을 나타내었다.

3. 증자시간에 따른 천마 이화학적 품질 변화

증자시간에 따른 천마의 이화학적 품질특성 변화는 Table 3과 같다. pH는 증자시간이 증가함에 따라 감소하였으나 가용성 고형분은 증자시간에 따라 농도가 증가하였는데 이는 전분이나 기타 물질의 분해와 용출에 의해 가용성 고형분 함량이 증가한 것으로 생각된다. 또한 천마의 외관 변화를 나타내는 색도는 증자시간이 증가함에 따라 명도, 적색도와 황색도는 감소하는 경향을 나타내었다. 천마는 영양성분의 14~15%가 전분으로 이루어져 있고 일정시간에 도달하면 호화가 이루어지게 된다. 증자전 천마의 단면은 하얀색을 나타내다 증자가 진행됨에 열에너지가 천마 표면에서 중심부를 이동하면서 점차 호화가 이루어지면서 점차 연한 황색을 나타내어 최종에는 황색으로 변하게 된다는 Xie 등(2021)의 결과와 일치하였다. 또한 천마를 비절단과 절단(5 mm) 처리하여 증자 전·후 품질을 비교한 결과 비절단은 절단에 비해 색도의 변화가 적었으며, 증자 후는 증자 전에 비해 L, a, b값이 모두 감소하였다는 Choi 등(2011)의 결과와도 일치하였다. 또한 증포횟수에 따른 천마의 품질분석 결과 Park 등(2014)은 수분함량은 1회 증포처리한 천마보다 증포처리를 계속 진행할수록 천마에서 수분함량이 높고, 조희분은 낮았으나 조지방, 조단백 함량은 높은 것으로 보고하였다. Song 등(2016)은 천마를 증자하여 엿기름, 쌀누룩, 효소처리하여 당화한 후 유산균 접종한 발효 천마의 pH는 3.2~3.7, 당도 3.80~4.46 °Bx로 보고하였고, 천마 발효 결과 탄수화물의 함

량은 발효에 의해 감소하였으나, 조지방, 조희분, 조단백, 조섬유는 일반천마보다 더 많이 함유하고 있고 pH는 발효 천마분말이 일반 천마분말보다 알칼리성을 나타내었다는 Kim 등(2010)의 결과가 있다.

4. 증자시간에 따른 천마 유효성분 및 총당 함량 변화

천마의 주요 약리성분은 gastrodin, 4-hydroxybenzyl alcohol이며, parishin 유도체 등 페놀화합물을 주로 포함하고 있다. 따라서 증자시간에 따른 천마의 gastrodin, 4-hydroxybenzyl alcohol 및 총당 함량을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 증자 처리를 하지 않은 천마와 비교하였을때 증자 처리 후에는 gastrodin과 총당 함량은 증가하였고 4-hydroxybenzyl alcohol 함량은 감소하였다. 이러한 결과는 증포 횟수증가에 따라 천마의 주요기능성분인 gastrodin 함량은 증가하고 4-hydroxybenzyl alcohol 함량은 감소하였다는 Park 등(2014)의 연구와도 일치하였다. 이는 천마의 gastrodin이 β-glucosidase 효소에 의해 4-hydroxybenzyl alcohol과 당을 생성하고 4-hydroxybenzyl alcohol은 효소에 의하지 않고 gastrodin으로 condense 된다. 또한 β-glucosidase 효소 활성은 온도가 증가함에 따라 점차 감소하고 효소분해 과정이 억제되는 것으로 알려져 있다. 이러한 이유로 천마는 증자시간이 증가함에 따라 β-glucosidase 효소의 활성 억제와 4-hydroxybenzyl alcohol의 condensation에 의해 gastrodin 함량이 증가한 것으로 나타났다. 그러나 gastrodin 증가와 4-hydroxybenzyl alcohol 감소가 일치하지 않는데 이는 gastrodin의 전구체인 parishin 등이 증자 도중 분해되어 gastrodin을 생성하기 때문으로 생각된다. 건조천마의 탄수화물 함량을 분석한 결과 Hong 등(2006)은 75.78%, Kim 등(2010)의 연구에서는 80.91%로 보고되어 있다. 또한 총당은 증자 전 처리에 비해 증자처리에서 증가하였으며 증자시간이 60분까지 증가함에 따라 증가하다 증자 120분에서는 감소하였다. 이는 증자가 시작되

Table 3. Physiochemical characteristics of *G. elata* according to steaming time

| Steaming time (min) | pH | Soluble solid (°Bx) | L (lightness) ¹⁾ | a (redness) | b (yellowness) |
|---------------------|------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | 5.55±0.05 ^{c(2)(3)} | 3.89±0.19 ^d | 69.16±1.11 ^a | -1.64±0.07 ^a | 10.64±0.67 ^a |
| 5 | 6.01±0.09 ^{ab} | 3.33±0.58 ^d | 54.09±0.73 ^b | -2.49±0.15 ^b | 8.55±0.15 ^b |
| 10 | 6.08±0.02 ^a | 5.89±0.19 ^c | 43.81±0.73 ^c | -3.07±0.07 ^c | 4.76±0.36 ^c |
| 20 | 5.98±0.06 ^b | 6.50±0.50 ^{bc} | 43.72±1.19 ^c | -3.31±0.26 ^d | 4.45±0.03 ^c |
| 30 | 5.98±0.03 ^b | 7.00±0.33 ^b | 45.31±1.67 ^c | -3.66±0.26 ^d | 4.28±0.03 ^c |
| 60 | 5.77±0.04 ^c | 9.00±0.33 ^a | 44.40±0.11 ^c | -3.44±0.16 ^d | 5.35±0.13 ^d |
| 120 | 5.51±0.05 ^d | 9.22±0.17 ^a | 43.53±0.16 ^c | -3.00±0.25 ^c | 7.31±0.37 ^c |

¹⁾ Lightness (L): 0 (black)~100 (white), redness (a): -80 (green)~+100 (red), Yellowness (b): -70 (blue)~+70 (yellow).

²⁾ All values are expressed as mean±S.D. of triplicate determinations.

³⁾ Values with different letters in same column (^{a-c}) are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

Table 4. Gastrodin, 4-hydroxybenzyl alcohol, and total sugar content of *G. elata* according to different steaming time

| Steaming time (min) | Gastrodin (mg/g) | 4-Hydroxybenzyl alcohol (mg/g) | Total sugar (g/100 g) |
|---------------------|----------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| 0 | 1.35±0.01 ^{g1)2)} | 1.36±0.01 ^a | 33.49±2.19 ^c |
| 5 | 2.50±0.03 ^c | 0.88±0.01 ^d | 64.63±1.53 ^d |
| 10 | 2.16±0.01 ^f | 0.99±0.01 ^c | 79.36±5.78 ^c |
| 20 | 3.63±0.01 ^c | 1.08±0.01 ^b | 80.02±0.03 ^c |
| 30 | 3.54±0.02 ^d | 0.98±0.00 ^c | 93.02±6.05 ^b |
| 60 | 4.81±0.02 ^b | 0.99±0.00 ^c | 96.15±1.34 ^a |
| 120 | 7.22±0.03 ^a | 0.88±0.01 ^d | 77.66±1.92 ^c |

¹⁾ All values are expressed as mean±S.D. of triplicate determinations.

²⁾ Values with different letters in same column (^{a-f}) are significantly different among groups by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

있을때는 총당이 증가하기 시작하다가 중심온도가 일정 온도에 도달하게 되면 최고치를 나타내다 점차 감소한다는 Xie 등(2023)의 보고와도 일치하였다. 천마 증자가 진행됨에 따라 전분, 셀룰로오스, 기타물질이 환원당으로 분해되어 총당 함량이 증가하다가 과도하게 증자가 이루어지면 세포벽이 붕괴되어 당이 쉽게 빠져나가 함량이 감소하는 것으로 생각된다. 또한 증자과정 중 일어나는 전분의 호화, 다당류의 가수 분해, 세포벽 기질의 붕괴 등은 천마의 유효성분들의 분리, 이동, 추출에 영향을 주는 것으로 보고되어 있다(Wu 등 2022).

5. 증자시간에 따른 천마 총 폴리페놀, 총플라보노이드 함량 및 항산화활성 변화

천마의 증자시간에 따른 총 폴리페놀 함량과 항산화활성을 측정할 수 있는 ABTS 라디칼 소거활성과 FRAP 환원력을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 증자를 하지 않은 천마와 비교하여 증자한 천마에서 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량,

ABTS 라디칼 소거활성, FRAP 환원력은 감소하였다. 이는 천마의 페놀화합물이 아글리콘(aglycone)과 아글리콘에 당이 결합된 배당체로 구성되어 있고, 항산화활성은 페놀화합물의 화학구조와 아글리콘에 결합된 그룹에 의해 항산화활성이 감소되거나 증가될 수 있다(JorJong 등 2015). 천마의 주요 약리성분인 gastrodin은 배당체 형태이며 β -glucosidase에 의해 아글리콘 형태인 4-hydroxybenzyl alcohol과 당으로 분해하게 된다. 하지만 β -glucosidase 활성은 열처리에 의해 억제되어 4-hydroxybenzyl alcohol 함량이 감소하게 된다. 천마의 성분 중 항산화활성이 가장 높은 성분은 4-hydroxybenzyl alcohol이며 그 다음은 vanillin alcohol, vanillin으로 주로 아글리콘 성분으로 알려져 있는데(Gao 등 2019), 이러한 천마의 4-hydroxybenzyl alcohol 성분의 감소가 항산화활성과 연관된 것으로 생각된다. 또한 증자 천마의 페놀화합물과 항산화활성 감소에 대한 여러 가지 복합적인 원인이 있겠지만 천마 물질 대사 중에 관여하는 여러 효소의 활성 억제와 가공처리에 의한 폴리페놀성분 전환 등에 의한 원인으로 생각되어진

Table 5. Total polyphenol, total flavonoid content, and ABTS radical scavenging activity, FRAP of *G. elata* according to steaming time

| Steaming time (min) | Total polyphenol (mg/g) | Total flavonoid (mg/g) | ABTS radical scavenging IC ₅₀ (mg/mL) | FRAP (mg/g) |
|---------------------|----------------------------|------------------------|--|------------------------|
| 0 | 4.26±0.03 ^{a1)2)} | 0.24±0.01 ^c | 706.90±0.30 ^a | 0.73±0.01 ^a |
| 5 | 1.99±0.00 ^f | 0.18±0.00 ^e | 491.80±2.14 ^f | 0.43±0.00 ^e |
| 10 | 2.57±0.02 ^c | 0.24±0.00 ^b | 912.39±1.89 ^e | 0.66±0.01 ^b |
| 20 | 3.02±0.01 ^b | 0.26±0.01 ^a | 676.53±0.88 ^b | 0.60±0.00 ^c |
| 30 | 2.71±0.02 ^d | 0.22±0.00 ^d | 634.62±1.02 ^d | 0.59±0.00 ^d |
| 60 | 2.72±0.01 ^d | 0.21±0.00 ^d | 641.17±2.47 ^c | 0.66±0.01 ^b |
| 120 | 2.72±0.02 ^c | 0.26±0.00 ^a | 632.39±3.05 ^d | 0.74±0.01 ^a |

¹⁾ All values are expressed as mean±S.D. of triplicate determinations.

²⁾ Values with different letters in same column (^{a-f}) are significantly different among groups by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

다. 그러므로 가공처리에 의해 생성되는 새로운 페놀성 화합물과 항산화활성 관계 등에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요약 및 결론

증자가 미흡하거나 과도한 경우 품질저하에 따른 시간 및 노동력 낭비를 초래할 수 있어 효율적인 천마 증자시간을 구명하고자 증자시간에 따른 품질변화 연구를 수행하였다. 그 결과 증자시간에 따른 천마의 건조수율은 20.2~22.9%를 나타내었으며 120분 증자에서 건조수율은 가장 많이 감소하였다. 증자시간에 따른 gastrodin 함량은 열에 의한 β -glucosidase 효소의 불활성화로 gastrodin 함량은 증자시간이 증가함에 따라 증가하였으나 4-hydroxybenzyl alcohol은 증자 전에 비해 감소하였다. 천마의 gastrodin 등 유효성분과 총 폴리페놀 함량, 내부단면 변화 등을 고려할 때 천마(무게 50~60 g)의 증자시간은 30분 정도가 적당할 것으로 사료가 되지만 천마 각 개체의 크기, 무게, 형태와 증자를 하고자 하는 총 무게, 증자 후 건조 등을 참고하여 적절한 증자가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 지역특화기술개발과제(과제번호: RS-2021-RD012527)지원에 의해 수행되었음.

References

- Arnao MB, Cano A, Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* 73:239-244
- Chen PJ, Sheen LY. 2011. *Gastrodiae Rhizoma* (天麻 tiānmá): A review of biological activity and antidepressant mechanisms. *J Tradit Complement Med* 1:31-40
- Choi SR, Jang I, Kim CS, You DH, Kim JY, Kim YG, Ahn YS, Kim JM, Kim YS, Seo KW. 2011. Changes of components and quality in *Gastrodiae Rhizoma* by different dry methods. *Korean J Med Crop Sci* 19:354-361
- Chu HN, Kim JS, Kim KO, Jeong JK. 2012. Effect of functional components, antioxidant activity and sensory characteristics of *Gastrodiae Rhizoma* by different drying condition. *Korean J Herbol* 27:139-145
- Dai S, Zhang W, Dou Y, Liu H, Chen X, Shi J, Dou H. 2021. Towards a better understanding of the relationships between the structure and antitumor activity of *Gastrodia elata* polysaccharides by asymmetrical flow field-flow fractionation. *Food Res Int* 149:110673
- Davis WB. 1947. Determination of flavanones in citrus fruits. *Anal Chem* 19:476-478
- Gao X, Miao J, Guo X, Song Y, Lv T, Huang L, Gao W, Li X. 2019. Multicomponent quantitative analysis combined with antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activities for the quality evaluation of *Gastrodia elata* from different regions. *Biomed Chromatogr* 33:e4508
- Guo Q. 2016. Study on the Structure and Physicochemical Properties of Rhizoma *Gastrodiae* Starch. Southwest University
- Hong SP, Jeong HS, Jeong EJ, Sin DH. 2006. Quality characteristics of beverage with *Gastrodia elata* Blume extract. *Korean J Food Hyg Saf* 21:31-35
- Jorjong S, Butkhup L, Samappito S. 2015. Phytochemicals and antioxidant capacities of Mao-Luang (*Antidesma bunius* L.) cultivars from Northeastern Thailand. *Food Chem* 181:248-255
- Kim HJ, Kwak IS, Lee BS, Lee HC, Lee EM, Lim JY, Yun YS, Chun BW. 2004. Methods of pretreatment for decrease of discomfortable odor of *Gastrodia elata* Blume. *J Eng Res* 35:135-140
- Kim HT, Park EJ. 2013. Change of major functional components of *Gastrodia elata* Blume with cultivation conditions and harvest times. *Korean J Med Crop Sci* 21:282-288
- Kim HY. 2014. Change of functional substances, gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol in the manufacturing of black *Gastrodia elata* Blume and fermented *Gastrodia elata* Blume. Master's Thesis, Chonbuk National Univ. Jeonju. Korea
- Kim JM, Moon YS, Yoon KY, Suh SG. 2010. Quality properties and preference of fermented *Gastrodia elata* Blume. *Kororean J Horti Sci Technol* 28:507-514
- Korean Statistical Information Service [KOSIS]. 2021. Korean Statistical Information Service. https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=114&tblId=DT_114_2012_S0095&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=K1_38&scrId=&seqNo=&lang_mode=ko&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE&path=%252FstatisticsList%252FstatisticsListIndex.do [cited 4 July 2023]
- Lee YM. 1990. In *Oriental Medicine Dictionary*. p.814. Sammundang

- Lee YR, Kim KY, Lee SH, Kim MY, Park HJ, Jeong HS. 2012. Antioxidant and antitumor activity of methanolic extracts from *Humulus japonicus*. *Korean J Food Nutr* 25:357-361
- Li Y, Liu XQ, Liu SS, Liu DH, Wang X, Wang ZM. 2019. Transformation mechanisms of chemical ingredients in steaming process of *Gastrodia elata* Blume. *Molecules* 24:3159
- Ma J, Deng Y, Wang Y, Liu Q, An J, Li M, Song N, Zhang J, Cheng L, Ma, K. 2021. A comparative study on ingredient and efficiency difference between fresh and steamed *Gastrodia elata* Blume: An herbal material to a novel functional food. *J Funct Food* 82:104512
- Park JP, Chu HN, Kim JS, Kim KO, Lee SI, Jeong JK. 2014. A study of functional components antioxidant activity and sensory characteristics of *Gastrodiae* Rhizoma by steaming-drying cycles. *Korena J Herbol* 29:55-62
- Rocculi P, Romani S, Gómez Galindo, F, Dalla Rosa M. 2009. Effect of minimal processing on physiology and quality of fresh-cut potatoes: A review. *Food* 3:18-30
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am J Enol Vitic* 16:144-158
- Song YE, Choi SR, Song EJ, Seo SY, Lee IS, Han HA, Lee KK, Song YJ, Kim YH, Kim MK, Park SY. 2016. Quality characteristics of fermentation *Gastrodia elata* Blume by saccharifying methods. *Korean J Food Nutr* 29:698-705
- Song YE, Lee IS, Song EJ, Choi MK, Han HA, Shin SH, Choi SR, Lee KK, Kim MK, Park SY. 2017. Changes of off-odor constituent and parishin derivatives of fermentation of *Gastrodia elata* rhizome by lactic acid bacteria strains. *Korean J Food Nutr* 30:973-982
- Tang C, Wang L, Li J, Liu X, Cheng M, Xiao H. 2015. Analysis of the metabolic profile of parishin by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 29:1913-1920
- Taniguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, Kim IH. 1981. Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume. *Chem Pharm Bull* 29:55-62
- Wang X, Wang H, Cao GS, Ma CJ, Xin YZ. 2018. Research and analysis of the dynamic changes of seven chemical compounds from *Gastrodia elata* affected by different steaming time spans. *Chin J Hosp Pharm* 38:595-598
- Wu Z, Gao R, Li H, Liao X, Tang X, Wang X, Su Z. 2022. How steaming and drying processes affect the active compounds and antioxidant types of *Gastrodia elata* Bl. *f. glauca* S. chow. *Food Res Int* 157:111277
- Xie YK, Li XY, Chen C, Zhang WP, Yu XL, Xiao HW, Lu FY. 2023. Effects of steam and water blanching on drying characteristics, water distribution, microstructure, and bioactive components of *Gastrodia elata*. *Plants* 12:1372
- Xie YK, Li XY, Zhang Y, Zheng ZA, Huang LQ, Liu DH, Xiao HW, Liu YH. 2021. Effects of high-humidity hot air impingement steaming on *Gastrodia elata*: Steaming degree, weight loss, texture, drying kinetics, microstructure and active components. *Food Bioprod Process* 127:255-265
- Yu SJ, Kim JR, Lee CK, Han JE, Lee JH, Kim HS, Hong JH, Kang SG. 2005. *Gastrodia elata* Blume and an active component, *p*-hydroxybenzyl alcohol reduce focal ischemic brain injury through antioxidant related gene expressions. *Biol Pharm Bull* 28:1016-1020
- Zhang B, Liu M, Liu G, Li D, Zhou B. 2021. Oral absorption mechanism of the polysaccharides from *Gastrodia elata* Blume base on fluorescence labeling. *Food Res Int* 144: 110342
- Zhang X, Ning Z, Ji D, Chen Y, Mao C, Lu T. 2015. Approach based on high-performance liquid chromatography fingerprint coupled with multivariate statistical analysis for the quality evaluation of *Gastrodia* Rhizoma. *J Sep Sci* 38:3825-3831
- Zhou J, Pu X, Yang Y, Yang T. 1983. The chemistry of *Gastrodia elata* BL. IV. The phenolic compounds of some Chinese species of *Gastrodia*. *Acta Botanica Yunnanica* 5:443-444

Received 13 November, 2023

Revised 06 February, 2024

Accepted 13 February, 2024

Effect of Glutamic Acid and Monosodium Glutamate on Oxidative Stability of Riboflavin Photosensitized Oil-in-Water Emulsion

Ji-Yun Bae and [†]Mi-Ja Kim*

Graduate Student, Dept. of Food and Nutrition, Kangwon National University, Samcheok 25949, Korea

**Associate Professor, Dept. of Food and Nutrition, Kangwon National University, Samcheok 25949, Korea*

Abstract

Effects of glutamic acid (Glu) and monosodium glutamate (MSG) on oxidative stability of oil-in-water (O/W) emulsions with different emulsifier charges during riboflavin (RF) photosensitization were evaluated by analyzing headspace oxygen content and conjugated dienes. Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), Tween 20, and sodium dodecyl sulfate (SDS) were used as cationic, neutral, and anionic emulsifiers, respectively. Glu acted as an antioxidant in CTAB- and Tween-20-stabilized O/W emulsions during RF sensitization, whereas Glu acted as prooxidants in SDS-stabilized O/W emulsions in the dark. However, adding MSG did not have a constant impact on the degree of oxidation in O/W emulsions irrespective of the emulsifier charge. In RF-photosensitized O/W emulsions, the emulsifier charge had a greater influence on antioxidant properties of Glu than on those of MSG.

Key words: glutamic acid, monosodium glutamate, emulsifier charge, O/W emulsion, oxidative stability, riboflavin photosensitization

Introduction

Some amino acids and their derivatives can add taste to foods. Tyrosine, methionine, and histidine have a sweet taste, tryptophan and glycine have a bitter taste (Schiffman & Dackis 1975), and glutamic acid (Glu) and aspartic acid have a sour taste (Zhang et al. 2013). Monosodium glutamate (MSG) is a sodium salt of Glu and is a major taste compound that provides the ‘umami’ flavor to foods (Caliroli et al. 2008), which is an important sensory attribute that influences consumer acceptance of foods. The annual production of MSG was approximately 2 million tons in the year 2007 (Sano C 2009), and the demand for MSG is on the rise, especially in Asian countries, including China, Indonesia, Vietnam, Thailand, and Taiwan. Because food industries use substantial amounts of MSG and amino acids for providing desirable flavor to processed foods, it is necessary to understand the physicochemical properties of MSG and Glu in food systems.

The oil-in-water (O/W) emulsion is an important physical

matrix in foods that are composed of dispersed lipid particles surrounded by emulsifiers and aqueous continuous phase. Oxidative stability is one of the key factors, which determines the sensory attributes in O/W emulsion-type foods. The rates of lipid oxidation in O/W emulsions are influenced by many factors, including the degree of unsaturation in dispersed lipids, emulsifier charges, types and concentration of oxygen molecules, and the presence of antioxidants and prooxidants (McClements & Decker 2000; Chaiyasit et al. 2005; Yi et al. 2016). In addition, prooxidative metal ions and interfacial characteristics of lipid droplets greatly influence the rates of lipid oxidation in O/W emulsions (Mei et al. 1998a; Mei et al. 1998b; Chaiyasit et al. 2005; Laguerre et al. 2015). Therefore, in the industry, measures such as vacuum packaging, low-temperature storage, encapsulation of sensitive additives, and the addition of antioxidants are implemented to prevent lipid oxidation (Berton-Carabin et al. 2014). When foods containing photosensitizers are exposed to light, chemical reactions occur due to photosensitization, which affects the oxidative stability and quality

[†] Corresponding author: Mi-Ja Kim, Associate Professor, Dept. of Food and Nutrition, Kangwon National University, Samcheok 25949, Korea. Tel: +82-33-540-3313, Fax: +82-33-540-3319, E-mail: mijakim@kangwon.ac.kr

of foods. Riboflavin (RF) is a representative hydrophilic photosensitizer (Evans et al. 2002). Lee & Decker (2011) reported that RF photosensitization could induce significant changes in the rates of lipid oxidation in O/W emulsions.

Some amino acids possess antioxidant properties. Based on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) and ferric reducing antioxidant powder assays, researchers have reported that cysteine has significantly high antioxidant activity compared to that of other amino acids (Pérez-Jiménes & Saura-Calixto 2006; Ka et al. 2016). The antioxidant properties of Glu or aspartic acid are significantly low compared to those of cysteine *in vitro* (Ka et al. 2016). However, the antioxidant properties of Glu have been reported in spermatozoa, where it is involved in protecting the plasma membrane from damage by lipid peroxides (Susetyarini RE 2015). Although Glu and MSG are important ingredients in foods, studies regarding their effects on the oxidative stability of O/W emulsions during RF photosensitization are rare in the literature.

The objective of this study was to determine the effects of Glu and MSG on the oxidative stability of O/W emulsions with different emulsifier charges and Glu and MSG concentrations during RF photosensitization.

Materials and Methods

1. Materials

Glu, MSG, RF, cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), Tween 20, and sodium dodecyl sulfate (SDS) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Corn oil was purchased from a local grocery market (Suwon, Korea). Other reagent grade chemicals were obtained from Daejung Chemical Co. (Seoul, Korea).

2. Sample Preparation for the Emulsion and Photosensitization

The O/W emulsions were prepared according to the method reported by Yi et al. (2016). The cationic, neutral, and anionic emulsifiers were CTAB, Tween 20, and SDS, respectively. The emulsifiers were independently added to deionized water at a concentration of 0.25% (w/w), and then varying concentrations of Glu or MSG were added [100, 1,000, and 10,000 ppm (w/w)]. Corn oil was mixed with the above solution at a concentration of 2.5% (w/w). A coarse emulsion was prepared by homogenizing the above mixture for 3 min using an HB501 (Tefal,

Haute-Savoie, France) and passed three times through a nano disperser (ISA-NLM100, Ilshin Autoclave Co., Ltd., Daejeon, Korea) at 34.47 MPa. RF was added to the emulsions to achieve a concentration of 0.13 mM. Sample bottles containing 2 mL emulsion were stored under light (1,333 lux) for 60 h and samples were collected every 20 h. One set of bottles were wrapped with aluminum foil so that the bottles were in the dark. Samples to which Glu or MSG were not added were regarded as controls. Samples were prepared in triplicate at each sampling point (Fig. 1).

3. Zeta Potential and Droplet Size Analysis

The Zeta potential was analyzed based on the method reported by Kim et al. (2016). Zeta potential indicates the difference in potential between the surface of the tightly bound layer of ions on the particle surface and the region of the solution. In general, zeta potential determines emulsion stability. Emulsions containing high zeta potential values above 25 mV are considered more stable. Particle size has a direct impact on the physical stability of the emulsion (the smaller the dispersed particles, the more stable the system). The zeta potential and droplet size of O/W emulsions were determined using a zeta potential analyzer (Nanotrac Wave; Microtrac Inc., Montgomeryville, PA, USA) before and after RF photosensitization.

4. Headspace Oxygen Analysis

Lipid oxidation occurs as lipids react with oxygen, and the headspace oxygen content was analyzed to confirm the reduction

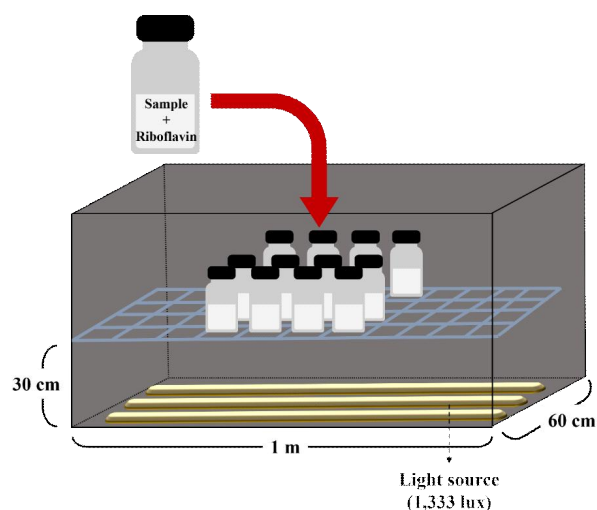


Fig. 1. Schematic design of the photooxidation device.

oxygen levels during lipid oxidation. The headspace oxygen content was analyzed based on the method reported by Yi et al. (2016). Thirty microliters of headspace gas were removed from the headspace in the sample bottle using an air-tight syringe and the oxygen content was determined using a gas chromatograph (GC) equipped with a thermal conductivity detector (TCD). A Hewlett-Packard 7890 GC (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA) was equipped with a 60/80 packed column (3.0 m×2 mm ID, Restek Ltd., Bellefonte, PA, USA) and TCD (Agilent Technologies, Inc.). The flow rate of the helium carrier gas was 200 mL/min. Temperatures of the oven, injector, and TCD were 60°C, 180°C, and 180°C, respectively.

5. Analysis of Conjugated Dienes

In the initiation step of lipid oxidation, polyunsaturated fatty acids containing two or more double bonds converted non conjugated double bonds into conjugated dienes. Conjugated dienes in the samples were determined using the method reported by Mei et al. (1998a), Lee et al. (2014) and Yi et al. (2018). The emulsion sample (120 µL) was mixed with 2.7 mL of methanol/1-butanol (2:1, v/v), and was further mixed by vortexing (three times for 10 s each). The oil phase was recovered and the absorbance at 233 nm was measured using a UV/VIS-spectrometer (Model Genesys 10uv, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

6. Statistical Analysis

The data for the headspace oxygen content, conjugated dienes, zeta potential, and particle sizes were analyzed statistically by ANOVA and Duncan's multiple range test using the SPSS software program version 19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A *p*-value < 0.05 was considered significant.

Results and Discussion

1. Effects of Glutamic Acid on the Oxidative Stability of O/W Emulsions

The effects of Glu on the headspace oxygen content (A) and conjugated dienes (B) in CTAB-stabilized O/W emulsions containing RF under light or in the dark are shown in Fig. 2. Control samples without Glu had the lowest oxidative stability, irrespective of light irradiation (Fig. 2). In case of headspace oxygen content, O/W emulsions with 10,000 ppm Glu had the highest oxidative stability among all samples, including the

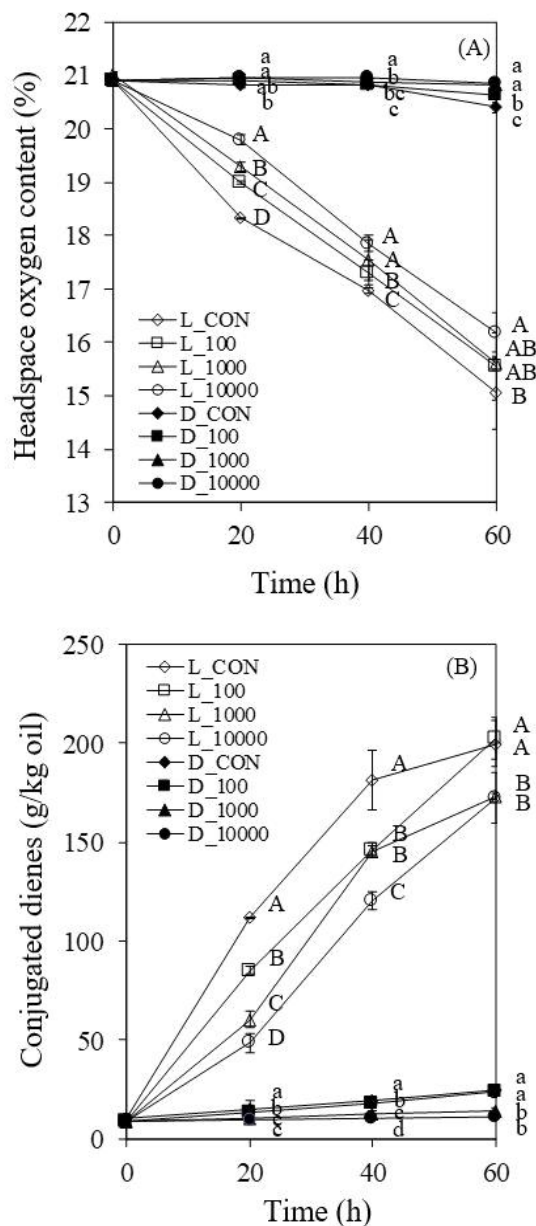


Fig. 2. Effects of glutamic acid on the changes of the headspace oxygen content (A) and conjugated dienes (B) in CTAB-stabilized O/W emulsions containing RF under light irradiation or in the dark for 60 h. 'L' and 'D' indicates the samples under light and in the dark, respectively. '100', '1,000', and '10,000' after 'L' and 'D' are 100, 1,000, and 10,000 ppm glutamic acid, respectively. Different capital and small letters are significantly different among the same treatment time under light or in the dark at 0.05, respectively.

controls (Fig. 2A). The levels of conjugated dienes in the controls were higher than those with Glu over the course of 60

h (Fig. 2B), which is consistent with previous results regarding headspace oxygen content (Fig. 2A). Samples with 1,000 and 10,000 ppm Glu had significantly lower levels of conjugated dienes compared to controls or samples with 100 ppm Glu ($p < 0.05$). As for samples stored in the dark, samples with 1,000 and 10,000 ppm Glu had lower conjugated dienes values compared to controls or samples with 100 ppm Glu (Fig. 2B). Overall, Glu showed concentration-dependent antioxidant properties in CTAB-stabilized O/W emulsions, irrespective of light irradiation.

Effects of Glu on the headspace oxygen content (A) and conjugated dienes (B) in Tween 20-stabilized O/W emulsion containing RF in light and in the dark conditions are shown in Fig. 3. Samples with 10,000 ppm Glu had significantly high headspace oxygen content compared to that in other samples ($p < 0.05$); however, samples with 0, 100, and 1,000 ppm Glu did not show any significant differences after being subjected to light for 60 h ($p > 0.05$). In dark conditions, there were no significant differences in headspace oxygen content, irrespective of the addition of Glu ($p > 0.05$). Samples with Glu had significantly lower levels of conjugated dienes compared to that in samples without Glu ($p < 0.05$). Samples with 10,000 ppm Glu had significantly lower levels of conjugated dienes compared to that in controls subjected to light ($p < 0.05$), which implies that Glu has antioxidant capacities in Tween 20-stabilized O/W emulsions during RF photosensitization.

Effects of Glu on the headspace oxygen content and conjugated dienes in anionic SDS-stabilized O/W emulsions with RF under light or in the dark are shown in Table 1. The headspace oxygen content in control samples under light and in the dark decreased from 20.9% to 14.0% and 19.2%, respectively after 60 h treatment. Under light, antioxidant or prooxidant properties of Glu were not pronounced and no significant difference was observed in headspace oxygen among samples after 60 h treatment, irrespective of the concentration of Glu ($p > 0.05$). During RF photosensitization, Glu (10,000 ppm) showed antioxidant properties in SDS-stabilized O/W emulsions based on measured conjugated dienes. Moreover, the addition of Glu decreased the headspace oxygen content compared to that in controls kept in the dark; this result implies that the presence of Glu accelerated headspace oxygen consumption in the dark (Table 1). These findings were confirmed by the results of assays for conjugated dienes. The presence of Glu accelerated the rates of lipid oxidation in SDS-stabilized O/W emulsion (Table 1).

The concentration of Glu used in this study (100–10,000 ppm)

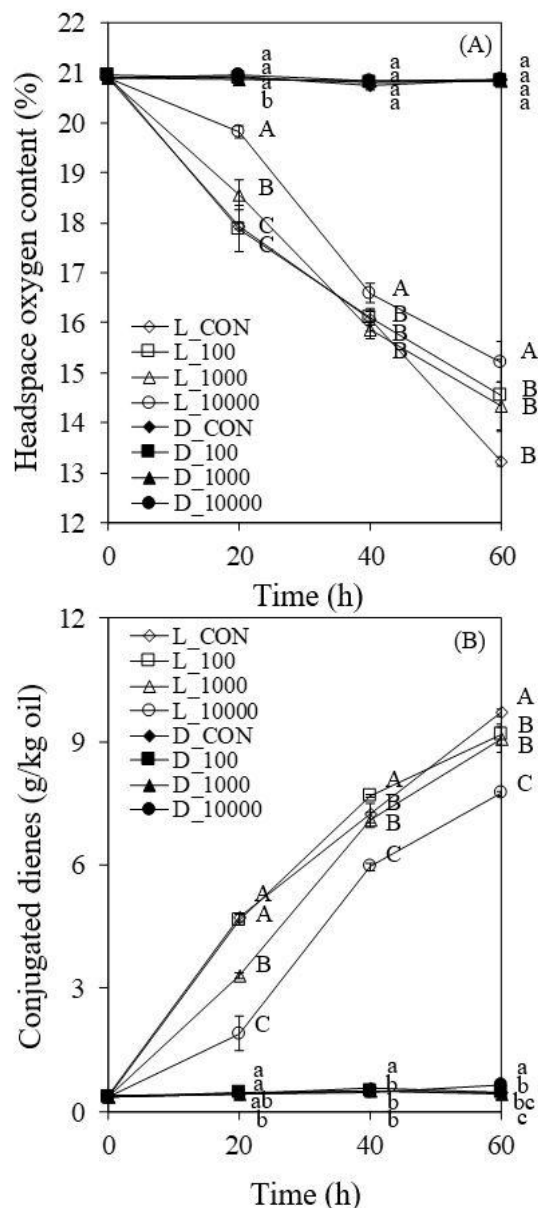


Fig. 3. Changes of the headspace oxygen content (A) and conjugated dienes (B) in Tween 20-stabilized O/W emulsions containing RF under light irradiation or in the dark for 60 h. Different capital and small letters are significantly different among the same treatment time under light or in the dark at 0.05, respectively. Abbreviations are listed in Fig. 2.

is within the 10,000 ppm limit set by the Council of the European Union, European Parliament (1995) for foods. The content of Glu in food products from Italy and USA was between 927 to 3,410 ppm for broths, soups, and soup bases

Table 1. Effect of glutamic acid on the headspace oxygen contents and conjugated dienes in SDS-stabilized oil-in-water emulsions for 60 h riboflavin photosensitization

| Sample | Concentration (ppm) | Headspace oxygen content (%) | | | | Conjugated dienes (g/kg oil) | | | |
|--------|-----------------------|------------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | | 0 h | 20 h | 40 h | 60 h | 0 h | 20 h | 40 h | 60 h |
| Light | Control ¹⁾ | 20.9±0.1 ²⁾ | 18.7±0.1 ^{a3)} | 16.1±0.2 ^a | 14.0±1.3 ^a | 0.4±0.1 | 4.2±0.3 ^a | 7.5±0.3 ^a | 8.2±0.4 ^a |
| | 100 | 20.9±0.1 | 18.0±0.2 ^b | 15.3±0.2 ^b | 14.0±0.3 ^a | 0.9±0.1 | 3.9±0.2 ^a | 7.0±0.3 ^a | 8.4±0.8 ^a |
| | 1,000 | 20.9±0.1 | 18.6±0.1 ^a | 16.1±0.5 ^a | 13.9±0.5 ^a | 0.6±0.1 | 3.1±0.2 ^b | 6.0±0.1 ^b | 8.5±0.3 ^a |
| | 10,000 | 20.9±0.1 | 18.7±0.2 ^a | 16.5±0.5 ^a | 14.7±0.6 ^a | 0.6±0.1 | 2.9±0.1 ^b | 5.5±0.4 ^b | 6.8±0.4 ^b |
| Dark | Control | 20.9±0.1 | 20.8±0.0 ^a | 20.7±0.0 ^a | 19.2±1.4 ^a | 0.4±0.1 | 0.3±0.0 ^b | 1.0±0.0 ^d | 5.2±2.3 ^c |
| | 100 | 20.9±0.1 | 18.9±0.3 ^b | 16.2±0.8 ^c | 14.9±0.5 ^b | 0.9±0.1 | 4.3±0.6 ^a | 7.4±0.7 ^a | 9.7±0.1 ^a |
| | 1,000 | 20.9±0.1 | 19.0±0.3 ^b | 16.8±0.5 ^c | 15.9±0.5 ^b | 0.6±0.1 | 3.7±0.9 ^a | 6.0±0.4 ^b | 7.7±0.4 ^{ab} |
| | 10,000 | 20.9±0.1 | 19.3±0.5 ^b | 17.7±0.2 ^b | 16.2±0.1 ^b | 0.6±0.1 | 3.2±0.9 ^a | 4.9±0.2 ^c | 7.2±0.2 ^{bc} |

¹⁾ Without amino acids.

²⁾ Mean±standard deviation (n=3).

³⁾ In the same column, different small letters mean significant differences ($p<0.05$).

with added monosodium glutamate, and was 2,660 to 7,530 ppm for salad dressings, which are mixtures of oil and water (Populin et al. 2007).

Lipid oxidation driven by RF photosensitization can undergo both type I and type II pathways (Min & Boff 2002). Compared to autoxidation at 55~60 °C, RF photosensitization speeds up the rates of lipid oxidation, and more oxidizing factors are involved, including reactive oxygen species like singlet oxygen and superoxide anion, excited photosensitizers, and lipid radicals (Min & Boff 2002; Lee & Decker 2011).

It is quite interesting to note that Glu showed antioxidant properties in CTAB- and Tween 20-stabilized emulsions under light, while its prooxidative properties were displayed in SDS-stabilized O/W emulsions only in the dark. The charge of an emulsifier surrounding the dispersed lipid particles can affect the oxidative stability by attracting or repelling metal (Mei et al. 1998a; Sun et al. 2011). O/W emulsions containing a cationic emulsifier have been reported to have higher oxidative stability compared to other emulsifier-stabilized O/W emulsions, because of the repulsion between cationic transition metal ions (Mei et al. 1998b). However, the prooxidative property of CTAB was reported in O/W emulsions during RF photosensitization (Yi et al. 2016), and in fatty acid esters containing association colloids (Homma et al. 2016). Kancheva & Kasaikina (2012) reported that cationic surfactants in triacylglycerols increased the rates of lipid oxidation by breaking-down hydroperoxides into free radicals. In addition, the higher pH of the CTAB solution might be the underlying cause of the prooxidant properties of CTAB

in O/W emulsions (Yi et al. 2018). Glu in anionic-charged O/W emulsions may attract more transition metals like iron and copper, and the rates of lipid oxidation accelerate in SDS-stabilized O/W emulsions in the dark.

2. Effect of Addition of Monosodium Glutamate on the Oxidative Stability of O/W Emulsions

Effects of MSG on the headspace oxygen content and conjugated dienes in O/W emulsions during light irradiation or in the dark are shown in Table 2. All samples had lower headspace content compared to that in the 0 h sample during RF photosensitization, irrespective of emulsifier charge. CTAB-stabilized O/W emulsion had the highest headspace oxygen content followed by SDS-stabilized and Tween-20-stabilized O/W emulsions (in decreasing order) after 60 h RF photosensitization (Table 2). The consumption of headspace oxygen increased significantly when MSG was added to the O/W emulsion stabilized with CTAB ($p<0.05$), implying that MSG acted as a prooxidant. There were no significant differences in the headspace oxygen content between Tween-20- and SDS-stabilized samples during RF photosensitization for 60 h ($p>0.05$), implying that the added MSG did not alter the rates of lipid oxidation.

In the dark, MSG showed antioxidant properties in CTAB-stabilized and SDS-stabilized emulsions based on the headspace oxygen and conjugated diene content. However, the prooxidant properties of MSG were found in Tween-20-stabilized samples (Table 2). The addition of MSG provides

Table 2. Effect of monosodium glutamate on the headspace oxygen contents and conjugated dienes in oil-in-water emulsions for 60 h riboflavin photosensitization with different emulsifier charges

| Sample | Concentration (ppm) | Headspace oxygen content (%) | | | Conjugated dienes (g/kg oil) | | |
|----------------|-----------------------|------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 0 h | 40 h | 60 h | 0 h | 40 h | 60 h |
| CTAB | Control ¹⁾ | 21.0±0.0 ²⁾ | 17.2±0.2 ³⁾ | 16.4±0.3 ^a | 0.5±0.0 | 8.5±0.2 ^a | 9.8±0.6 ^a |
| | 100 | 20.9±0.0 | 16.6±0.1 ^{bc} | 15.6±0.2 ^b | 0.4±0.0 | 8.2±0.3 ^a | 9.6±0.4 ^a |
| | 1,000 | 21.1±0.0 | 16.3±0.3 ^c | 15.7±0.5 ^b | 0.4±0.0 | 8.1±0.3 ^{ab} | 9.3±0.3 ^{ab} |
| | 10,000 | 21.0±0.0 | 16.8±0.1 ^b | 15.2±0.3 ^b | 0.4±0.0 | 7.6±0.4 ^b | 8.7±0.0 ^b |
| Light Tween 20 | Control | 20.9±0.0 | 16.1±0.2 ^a | 13.2±0.1 ^a | 0.4±0.0 | 7.2±0.2 ^{ab} | 9.7±0.1 ^c |
| | 100 | 20.9±0.0 | 15.2±0.1 ^b | 13.2±0.4 ^a | 0.3±0.0 | 7.9±0.4 ^a | 12.4±0.5 ^a |
| | 1,000 | 20.9±0.0 | 15.1±0.2 ^b | 13.3±0.1 ^a | 0.3±0.0 | 8.0±0.2 ^a | 12.6±0.2 ^a |
| | 10,000 | 20.9±0.0 | 15.7±0.3 ^a | 13.7±0.4 ^a | 0.4±0.0 | 6.7±0.5 ^b | 10.5±0.2 ^b |
| SDS | Control | 20.9±0.0 | 16.1±0.2 ^a | 14.0±1.3 ^a | 0.4±0.0 | 7.5±0.3 ^a | 8.2±0.4 ^b |
| | 100 | 20.9±0.0 | 16.2±0.3 ^a | 14.5±0.2 ^a | 0.4±0.0 | 7.6±0.2 ^a | 9.0±0.2 ^a |
| | 1,000 | 20.9±0.0 | 16.3±0.2 ^a | 14.7±0.2 ^a | 0.4±0.0 | 7.5±0.3 ^a | 9.0±0.5 ^a |
| | 10,000 | 21.0±0.0 | 16.4±0.2 ^a | 14.8±0.2 ^a | 0.4±0.0 | 7.5±0.9 ^a | 8.3±0.2 ^b |
| Dark CTAB | Control | 21.0±0.0 | 20.8±0.0 ^a | 20.4±0.1 ^b | 0.5±0.0 | 1.0±0.0 ^a | 1.2±0.2 ^a |
| | 100 | 20.9±0.0 | 20.8±0.1 ^a | 20.8±0.1 ^a | 0.4±0.0 | 0.8±0.1 ^{ab} | 0.8±0.2 ^b |
| | 1,000 | 21.1±0.0 | 20.8±0.0 ^a | 20.8±0.1 ^a | 0.4±0.0 | 0.7±0.1 ^{bc} | 0.8±0.0 ^b |
| | 10,000 | 21.0±0.0 | 20.9±0.0 ^a | 20.8±0.0 ^a | 0.4±0.0 | 0.6±0.0 ^c | 0.6±0.1 ^c |
| Dark Tween 20 | Control | 20.9±0.0 | 20.9±0.0 ^a | 20.7±0.1 ^a | 0.4±0.0 | 0.6±0.0 ^b | 0.5±0.0 ^b |
| | 100 | 20.9±0.0 | 20.6±0.1 ^b | 20.6±0.0 ^b | 0.3±0.0 | 0.7±0.1 ^{ab} | 0.7±0.1 ^a |
| | 1,000 | 20.9±0.0 | 20.5±0.1 ^b | 20.4±0.2 ^b | 0.3±0.0 | 1.0±0.3 ^a | 0.7±0.1 ^a |
| | 10,000 | 20.9±0.0 | 20.4±0.1 ^c | 20.3±0.0 ^b | 0.4±0.0 | 0.7±0.0 ^{ab} | 0.8±0.0 ^a |
| SDS | Control | 20.9±0.0 | 20.7±0.0 ^{ab} | 19.2±1.4 ^a | 0.4±0.0 | 1.0±0.0 ^{ab} | 5.2±2.3 ^a |
| | 100 | 20.9±0.0 | 20.6±0.0 ^b | 19.2±0.8 ^a | 0.4±0.0 | 1.3±0.5 ^a | 3.2±0.5 ^{ab} |
| | 1,000 | 20.9±0.0 | 20.7±0.1 ^{ab} | 19.6±0.9 ^a | 0.4±0.0 | 0.9±0.1 ^{ab} | 2.6±1.2 ^b |
| | 10,000 | 21.0±0.0 | 20.8±0.1 ^a | 20.7±0.0 ^a | 0.4±0.0 | 0.6±0.0 ^b | 0.7±0.0 ^b |

¹⁾ Without amino acids.

²⁾ Mean±standard deviation (n=3).

³⁾ In the same column, different small letters mean significant differences ($p<0.05$).

antioxidant properties at 10,000 ppm in O/W emulsions with anionic and cationic emulsifiers in the dark. Compared to the results obtained with Glu, the antioxidant or prooxidant activities of MSG were not substantial.

3. Zeta Potential and Droplet Size Analysis of O/W Emulsions Containing Glu or MSG

Changes in zeta potential and droplet size in O/W emulsions with or without Glu and MSG with different emulsifier charges are shown in Table 3. As the added Glu increased from 0 to 10,000 ppm, the zeta potential of CTAB-stabilized O/W emulsions increased from 47.1 to 81.5 mV, and this trend was

observed even after the 60 h RF photosensitization period. The added Glu may help in the aggregation of more CTAB at the interface of the oil-water droplets. Whereas the zeta potential in Tween 20-stabilized O/W emulsions did not show consistent changes with respect to the presence of Glu. The zeta potential of SDS-stabilized O/W emulsions decreased from -48.8 to -66.7 mV as the concentration of Glu increased from 0 to 10,000 ppm and remained at this level after 60 h treatment (Table 3). Similar to the results of CTAB-stabilized samples, the presence of Glu may help locate an anionic emulsifier easily at the interface between oil-water dispersed phase.

In general, the addition of Glu induced changes in the zeta

Table 3. Changes of zeta-potential and droplet size in oil-in-water emulsions with or without glutamic acid or monosodium glutamate for 60 h with different emulsifier charges

| Sample | Concentration (ppm) | Zeta-potential (mV) | | Size of droplets (nm) | | |
|----------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | 0 h | 60 h | 0 h | 60 h | |
| CTAB | Control ¹⁾ | 47.1±0.2 ^{c2)3)} | 67.3±7.8 ^b | 255.4±11.9 ^b | 225.7±6.0 ^a | |
| | 100 | 71.5±0.1 ^b | 61.6±1.2 ^b | 290.2±0.1 ^a | 239.5±5.8 ^a | |
| | 1,000 | 69.8±2.7 ^b | 70.6±2.8 ^b | 240.5±12.5 ^{bc} | 249.5±5.0 ^a | |
| | 10,000 | 81.5±5.1 ^a | 85.7±10.2 ^a | 220.0±26.5 ^c | 217.6±38.1 ^a | |
| Glutamic acid | Control | -19.8±1.1 ^c | -2.8±4.0 ^a | 249.5±6.9 ^a | 248.0±19.3 ^a | |
| | 100 | -9.5±1.3 ^a | -6.9±3.3 ^a | 251.3±6.4 ^a | 238.3±5.3 ^a | |
| | 1,000 | -15.2±3.2 ^b | -15.3±2.5 ^b | 254.2±1.6 ^a | 253.9±2.7 ^a | |
| | 10,000 | -15.5±2.5 ^b | -15.0±2.9 ^b | 256.4±5.5 ^a | 251.4±11.9 ^a | |
| SDS | Control | -48.8±1.7 ^a | -50.7±6.2 ^a | 218.6±10.4 ^a | 212.1±2.7 ^a | |
| | 100 | -55.4±1.1 ^a | -56.2±1.6 ^{ab} | 218.5±4.3 ^a | 216.6±5.4 ^a | |
| | 1,000 | -53.6±0.9 ^a | -59.1±2.4 ^{bc} | 216.9±3.9 ^a | 216.4±3.9 ^a | |
| | 10,000 | -66.7±7.0 ^b | -65.0±0.3 ^c | 200.9±16.7 ^a | 209.3±9.8 ^a | |
| Monosodium glutamate (MSG) | CTAB | Control | 47.13±0.21 ^b | 67.33±7.84 ^a | 255.37±11.91 ^a | 225.70±6.46 ^a |
| | | 100 | 45.90±11.28 ^b | 63.03±5.83 ^a | 243.50±6.06 ^a | 224.83±20.57 ^a |
| | | 1,000 | 56.57±4.87 ^b | 64.70±2.21 ^a | 198.57±17.76 ^b | 216.53±6.69 ^a |
| | | 10,000 | 71.60±4.29 ^a | 60.67±7.23 ^a | 233.73±33.62 ^{ab} | 224.60±11.47 ^a |
| | Tween 20 | Control | -19.77±1.10 ^b | -2.77±3.95 ^a | 249.53±6.86 ^a | 248.00±19.26 ^a |
| | | 100 | -15.33±0.23 ^a | -23.97±0.57 ^c | 256.57±3.54 ^a | 250.77±5.06 ^a |
| | | 1,000 | -21.63±1.46 ^b | -24.70±2.31 ^c | 252.60±15.34 ^a | 252.20±8.98 ^a |
| | | 10,000 | -21.47±1.03 ^b | -19.47±1.03 ^b | 254.40±14.07 ^a | 249.57±8.36 ^a |
| | SDS | Control | -48.80±1.71 ^a | -50.67±6.16 ^a | 218.60±10.38 ^a | 212.10±2.69 ^a |
| | | 100 | -47.47±0.64 ^a | -54.63±2.25 ^a | 215.10±5.07 ^a | 221.47±6.50 ^a |
| | | 1,000 | -59.03±1.32 ^b | -64.63±2.19 ^b | 211.83±1.00 ^a | 218.37±6.81 ^a |
| | | 10,000 | -104.07±3.55 ^c | -111.23±0.81 ^c | 214.03±5.42 ^a | 201.57±0.49 ^b |

¹⁾ Without amino acids.

²⁾ Mean±standard deviation (n=3).

³⁾ In the same column, different small letters mean significant differences ($p<0.05$).

potential in O/W emulsions with cationic or anionic emulsifiers. It is likely that the presence of Glu induced denser packing of emulsifiers at the oil-water interface. The pH of the continuous phase used was 5.4 (Yi et al. 2018), and a negatively charged form of Glu was predominant. If Glu itself could get loaded on to the interface as an emulsifier, the zeta potential of CTAB-stabilized O/W emulsions would decrease. However, an increase in the zeta potential was observed in CTAB-stabilized O/W emulsions, indicating that Glu may not accumulate at the oil-water interface. In case of SDS-stabilized emulsions, Glu might act as an inducer of tighter packing of SDS at the oil-water interface due to the decrease in negative zeta potential.

The increased oxidative stability in CTAB-stabilized emulsions upon addition of Glu can be explained by changes in the zeta potential. Increased number of positive charges at the interface in CTAB-stabilized emulsions with added Glu might repel prooxidative transition metals, which would then retard the rates of lipid oxidation. Conversely, in SDS-stabilized emulsions with Glu, the decrease in negative charges on the droplets might attract transition metals, which would accelerate the rate of lipid oxidation (Fig. 2, Fig. 3 and Table 1).

Although the scavenging ability of free radicals or the reducing ability of ferric ions of Glu were not high enough (Pérez-Jiménes & Saura-Calixto 2006; Ka et al. 2016), Glu has

charged functional groups and are known to be antioxidants (Chen & Nawar 1991). Amino acid residues within proteins can react with singlet oxygen either via a chemical reaction or by physical quenching (Gracanin et al. 2009). However, the reactivity of Glu with singlet oxygen has not been reported in the literature. The antioxidant properties of Glu in O/W emulsions during RF photosensitization might be due to the inhibition of the type I pathway rather than the type II pathway.

The zeta potentials of CTAB-stabilized emulsions increased significantly as the concentration of MSG increased from 0 to 10,000 ppm before RF photosensitization ($p < 0.05$), and those of the SDS-stabilized samples decreased significantly ($p < 0.05$) (Table 3). The effects of MSG concentration on the zeta potentials of Tween 20-stabilized emulsions were not consistent. Interestingly, after 60 h of RF treatment, there was no significant variation in zeta potentials in CTAB-stabilized emulsions with different concentrations of MSG ($p > 0.05$), whereas there was significant variation in SDS-stabilized emulsions with different concentrations of MSG ($p < 0.05$). Anionic glutamate may get incorporated on the interface of dispersed oil droplets in SDS-stabilized emulsions and decrease the zeta potential substantially.

There were no significant differences in the droplet sizes in samples treated for 60 h—except in case of the 10,000 ppm MSG-added SDS-stabilized emulsion—irrespective of concentration of MSG or the charge of the emulsifier ($p > 0.05$), implying that the added MSG did not show emulsifying properties. Generally, the droplet sizes of CTAB- and SDS-stabilized emulsions were smaller than those of the Tween-20 stabilized samples after RF photosensitization (Table 3).

In solution, MSG gets dissociated into positive sodium ions and negative glutamate ions. The addition of sodium ions can influence the oxidative stability in O/W emulsions. Osborn-Barnes & Akoh (2003) reported that the addition of 0.5 M NaCl results in an increase in secondary oxidation in emulsions containing copper, and explained that the effects of NaCl on oxidation were caused by NaCl-induced changes in the physical properties of the emulsion droplets such as a reduction in the thickness of the double layer. Additionally, Mei et al. (1998b) reported that at NaCl concentrations greater than 17 mM, the zeta potential of the SDS emulsions became less negative. This caused a decrease in the association of iron with SDS emulsion droplets. Overall, the effects of MSG addition on oxidative stability may partly be due to the effect of the cationic sodium

salt and anionic glutamate. Depending on the type of emulsifier charge, the added Glu and MSG exerted different effects on the oxidative stability.

Conclusions

The antioxidant effects of Glu and MSG on the oxidative stability were evaluated in O/W emulsions with different emulsifier charges and RF photosensitization. Glu showed antioxidant properties in emulsions containing cationic and neutral emulsifiers during RF sensitization and acted as a prooxidant in SDS-stabilized O/W emulsions in the dark. Addition of MSG did not show such prominent effects as those of Glu. The oxidative stability of foods with O/W emulsion states containing Glu or MSG should be carefully evaluated, and factors, such as the charges of on droplets, the presence of photosensitizers, and light irradiation must be taken into consideration.

Acknowledgment

This study was conducted with the support of the National Research Foundation of Korea (Basic Research) in 2021 (NRF-2021R1F1A1060533).

References

- Berton Carabin CC, Ropers MH, Genot C. 2014. Lipid oxidation in oil in water emulsions: Involvement of the interfacial layer. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 13:945-977
- Cairolì P, Pieraccini S, Sironi M, Morelli CF, Speranza G, Manitto P. 2008. Studies on umami taste. Synthesis of new guanosine 5'-phosphate derivatives and their synergistic effect with monosodium glutamate. *J Agric Food Chem* 56:1043-1050
- Chaiyasit W, McClements DJ, Decker EA. 2005. The relationship between the physicochemical properties of antioxidants and their ability to inhibit lipid oxidation in bulk oil and oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem* 53:4982-4988
- Chen ZY, Nawar WW. 1991. The role of amino acids in the autoxidation of milk fat. *J Am Oil Chem Soc* 68:47-50
- Council of the European Union, European Parliament. 1995. European Parliament and Council Directive No. 95/2/EC of

- 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. *Off J Eur Union L* 61:1-40
- Evans JC, Kodali DR, Addis PB. 2002. Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. *J Am Oil Chem Soc* 79:47-51
- Gracanic M, Hawkins CL, Pattison DI, Davies MJ. 2009. Singlet-oxygen-mediated amino acid and protein oxidation: Formation of tryptophan peroxides and decomposition products. *Free Radic Biol Med* 47:92-102
- Homma R, Johnson DR, McClements DJ, Decker EA. 2016. Influence of iron solubility and charged surface-active compounds on lipid oxidation in fatty acid ethyl esters containing association colloids. *Food Chem* 199:862-869
- Ka HJ, Yi BR, Kim MJ, Lee JH. 2016. Evaluation of antioxidant or prooxidant properties of selected amino acids using *in vitro* assays and in oil-in-water emulsions under riboflavin sensitization. *J Food Sci* 81:C1118-C1123
- Kancheva VD, Kasaikina OT. 2012. Lipid oxidation in homogeneous and micro-heterogeneous media in presence of prooxidants, antioxidants and surfactants. In Catala A (Ed.), *Lipid Peroxidation*. pp.31-62. InTech
- Kim MJ, Lee SJ, Kim CT. 2016. Preparation and stability of capsaicin-loaded nanoemulsions by Microfluidization. *Korean J Food Nutr* 29:985-997
- Laguette M, Bayrasy C, Panya A, Weiss J, McClements DJ, Lecomte J, Decker EA, Villeneuve P. 2015. What makes good antioxidants in lipid-based systems? The next theories beyond the polar paradox. *Crit Rev Food Sci Nutr* 55: 183-201
- Lee JH, Decker EA. 2011. Effects of metal chelator, sodium azide, and superoxide dismutase on the oxidative stability in riboflavin-photosensitized oil-in-water emulsion systems. *J Agric Food Chem* 59:6271-6276
- Lee MJ, Cho MK, Oh SH, Oh CH, Choi DS, Woo JW, Park KH, Jung MY. 2014. Fatty acid composition, contents of tocopherols and phytosterols, and oxidative stability of mixed edible oil of perilla seed and rice bran oil. *Korean J Food Nutr* 27:59-65
- McClements DJ, Decker EA. 2000. Lipid oxidation in oil-in water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J Food Sci* 65:1270-1282
- Mei L, Decker EA, McClements DJ. 1998a. Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation. *J Agric Food Chem* 46:5072-5077
- Mei L, McClements DJ, Wu J, Decker EA. 1998b. Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl. *Food Chem* 61:307-312
- Min DB, Boff JM. 2002. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 1:58-72
- Osborn-Barnes HT, Akoh CC. 2003. Copper-catalyzed oxidation of a structured lipid-based emulsion containing α -tocopherol and citric acid: Influence of pH and NaCl. *J Agric Food Chem* 51:6851-6855
- Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res Int* 39:791-800
- Populin T, Moret S, Truant S, Conte LS. 2007. A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate. *Food Chem* 104: 1712-1717
- Sano C. 2009. History of glutamate production. *Am J Clin Nutr* 90:728S-732S
- Schiffman SS, Dackis C. 1975. Taste of nutrients: Amino acids, vitamins, and fatty acids. *Percept Psychophys* 17:140-146
- Sun YE, Wang WD, Chen HW, Li C. 2011. Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion. *Crit Rev Food Sci Nutr* 51:453-466
- Susetyarini RE. 2015. The level of glutamic acid in the semen of male white rat (*Ratus Norvegicus*) after being treated with tannin of *Pluchea Indica*. *Procedia Chem* 14:152-156
- Yi BR, Kim MJ, Lee JH. 2016. Effects of emulsifier charges on the oxidative stability in oil-in-water emulsions under riboflavin photosensitization. *Food Sci Biotechnol* 25:1003-1009
- Yi BR, Kim MJ, Lee JH. 2018. Antioxidant properties of astaxanthin in oil-in-water emulsions with different-charged emulsifiers under chlorophyll photosensitization. *J Food Sci* 83:589-596
- Zhang Y, Venkatasamy C, Pan Z, Wang W. 2013. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms-A review. *Trends Food Sci Technol* 33:78-92

Received 13 January, 2024
Revised 12 February, 2024
Accepted 16 February, 2024

한국식품영양학회 소식

• 일반소식

1. 2024년 1월 02일(화) : 북대구 세무서 학회 고유번호증 대표자 변경
2. 2024년 01월 02일(화) : 한국과학기술단체총연합회 2023년도 국내학술지 발행지원사업 지원금 결산서 및 결과 보고서 제출
3. 2024년 01월 04일(목) : 2023-2024 인수인계 서울 스퀘어 루싱
4. 2024년 01월 8일(월) : 한국과학기술단체총연합회 2023년도 국내학술지 발행지원사업 지원금 결산서 및 결과 보고서 제출
5. 2024년 01월 9일(화) : 한국연구재단 한국학술지인용색인 홈페이지 학회정보, 학술지, 학술대회 기본 정보 업데이트
6. 2024년 01월 30일(화) : 한국과학기술단체총연합회 대의원으로 김미옥 회장과 노재필 총괄부회장 추천
7. 2024년 02월 03일(토) : 제1차 임원회의 개최, 학회 학술대회 주제, 연간사업계획 등 논의
 춘계학술대회: 2024년 5월 17일(금), 한양대학교 국제회의실
 추계학술대회: 2024년 미정
8. 2024년 02월 06일(화) : 한국과학기술단체총연합회 2023년도 국내학술지 발행지원사업 지원금 예금 이자 반납 완료
9. 2024년 02월 06일(화) : 한국과학기술단체총연합회 2023년도 국내학술대회 지원금 예금이자 반납 완료
10. 2024년 02월 28일(수) : 제57회 한국과학기술단체총연합회 정기총회에 이수정 회장과 김범식 총괄 부회장 참석
11. 2024년 02월 28일(화) : 학술지 제37권 제1호에 연구논문 6편 출판

• 학회 가입 및 회비 납부

1. 회원가입

회원가입 신청서를 작성하신 후 우편 또는 이메일로 총무이사에게 제출하시기 바랍니다. 입회원서 제출 및 회비 납부 완료시 정회원으로 승인됩니다. (홈페이지 <http://ksfn.kr/>)

홍보이사 : 최승균, E-mail : ksfan88@hanmail.net, 010-2637-6330

전화 : 053-320-1366, 팩스 053-320-1440

주소 : (우) 41453, 대구광역시 북구 영송로15(태전동) 대구보건대학교 식품영양학과 내

2. 회원 회비납부

| 신규회원 | 정회원 | 평의원 | 도서관회원 | 단체회원 | 학생회원 | 총신회비 |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| 50,000원 (입회비+가입비) | 40,000원 (연회비) | 50,000원 (연회비) | 50,000원 (연회비) | 100,000원 (연회비) | 20,000원 (연회비) | 400,000원 (평생회비) |

송금계좌 : 국민은행 759701-04-000460 한국식품영양학회
 재무이사 : 박미혜, E-mail:pmh704@naver.com, 010-8290-8980

• 논문투고

1. 논문투고 방법

한국식품영양학회지 홈페이지(<http://ksfn.kr/>)에 안내되어 있는 논문투고규정에 따라 논문을 작성한 다음, 로그인(신규 회원인 경우 회원가입 필수) 후 논문투고를 진행하시기 바랍니다. 학회지 발간 이전에 게재료를 납부하셔야 하며, 주저자와 교신저자 모두 학회 회원으로 가입하셔야 합니다.

2. 논문심사료 및 게재료

논문심사료 : 50,000원

게재료 면당 : 50,000원

송금계좌 : 국민은행, 378801-01-051596, 한국식품영양학회(편집)

편집재무이사 : 백진경, E-mail : jkpaik@eulji.ac.kr, 010-2743-0402

3. 논문접수 담당

편집이사: 이호진, E-mail : foodnutr1@naver.com, 043-820-5338, 010-4907-3711

주소 : (우) 27909, 충청북도 증평군 증평읍 대학로 61 한국교통대학교 식품영양학과

Checklist for Original Article

Title of the manuscript : _____

Please check below items as ✓ mark before submission of the manuscript.

1. General guideline

- Manuscript contained one original manuscript, checklist, statement of copyright transfer, and introduction for authors and was dispatched viz email (Statement of copyright transfer should be dispatched via PDF file)
- Manuscript should be typed in hangul or other word processor with a space of 30 mm from upper, lower, left and right margin, 10.0 pt in font size, and line space of 200%
- Text consisted of cover page, title page, abstract, main text, references, tables and figures in separate pages.
- Main text consisted of INTRODUCTION, Materials AND METHODS, and RESULTS AND DISCUSSION.

2. Cover page

- Title, name of authors, affiliation was described both in English and in Korean.
- Korean and English abbreviated titles were described (Korean : less than 20 letters, English less than 10 words).
- In lower area of cover page, the name, address, email, telephone, fax of the corresponding author or presentation in the scientific meeting were described.

3. Abstract and Keywords

- Word count was equal to or less than 250.
- A total number of word count was described below abstract.
- Keywords were described from MeSH in Medline if possible.

4. Main text

- The other of the subtitle was described according to the Instruction to Authors.
- Reference in the main text were described according to the Instruction to Authors.

5. References

- Every articles in REFERENCES were cited in the main text.
- Abbreviated title of the journals were those from Medline or Korea Med.
- All references were written in English.
- The reference style was followed by the Instruction to Authors.
- PDF file for the journal reference which is not indexed in KoreaMed or PubMed was included.

6. Tables and figures

- The title and legends of table and figures were written in English.
- Photos were in required format.
- The numbers of table and figures were described according to the Instruction to Authors.

Copyright Transfer and Statement of Originality Korean Journal of Food and Nutrition

Title of Manuscript :

Author(s) :

COPYRIGHT TRANSFER

If or when above cited manuscript is accepted for publication, copyright is hereby transferred to the Korean Society of Food and Nutrition. The undersigned confirm that neither the manuscript nor any part of it has been published elsewhere. The following statements are comprehended by the undersigned.

1. The author(s) has right to reuse the article or parts in a collection of their works, in noncommercial textbook, in lecture notes, press releases, and review articles, with the express agreement that full bibliographic references be given to the original copyrighted source.
2. Whenever the Korean Society of Food and Nutrition is asked for permission by others to use or reprint the article except for classroom use, the undersigned author's permission will be required.
3. No proprietary right other than copyright is claimed by the Korean Society of Food and Nutrition.

This agreement must be signed by a corresponding author who has the consent of all authors.

Authorized Name and Title(print)

Signature(s): _____ **Date: 2024.** . .

Declaration of Ethical Conduct in Research

I declare that I have abided by the following Code of Research Ethics while writing this paper.

“First, I have strived to be honest in my conduct, to produce valid and reliable research conforming with the guidance of ethical regulations for the Korean Journal of Food and Nutrition, and I affirm that my paper contains honest, fair and reasonable conclusions based on my own careful research under the guidance of ethical regulations for the Korean Journal of Food and Nutrition.

Second, I have not committed any acts that may discredit or damage the credibility of my research. These include, but are not limited to: falsification, distortion of research findings or plagiarism and false authorship.”

Date _____

Paper Title :

(Corresponding) Author :

(Signature)

Institute :

한국식품영양학회 회칙

제 1장 총 칙

제 1조 (명칭) 본회는 한국식품영양학회(The Korean Society of Food and Nutrition; Korean J Food Nutr)라 칭한다.

제 2조 (목적) 본회는 식품 및 영양분야에 관한 이론과 기술을 연구하고, 이의 응용과 보급을 촉진시켜, 국민 식생활의 향상을 도모함을 목적으로 한다.

제 3조 (사무소의 소재지) 본회의 사무소는 회장이 정하는 곳에 두며, 필요에 따라 지부를 둘 수 있다.

제 4조 (사업) 본회는 제 2조의 목적을 달성하기 위하여 다음의 사업을 행한다.

1. 학회지, 정보지 및 도서의 발간
2. 연구발표, 학술강연회 및 학술토론회의 개최
3. 학술정보의 교환
4. 학술활동의 진흥 및 보조
5. 기타 본 회의 목적 달성에 필요한 사항

제 2장 회 원

제 5조 (구성) 본회의 회원은 정회원, 학생회원, 단체회원, 특별회원 및 명예회원으로 구분한다.

제 6조 (자격)

1. 정회원은 식품학, 영양학 또는 이와 관련된 분야에 종사하는 사람으로서 본 회의 취지에 찬동하여 입회원서를 제출하고, 회비를 납부한 사람으로 한다. 다만, 40세 이상의 정회원으로서 회비의 10배를 일시에 납부한 사람은 종신회원이 된다.
2. 학생회원은 식품학 또는 영양학 분야의 교육기관에 재학 중인 사람으로서 입회원서를 제출하고, 회비를 납부한 사람으로 한다.
3. 단체회원은 입회원서를 제출하고, 회비를 납부한 단체로 한다.
4. 특별회원은 본 회의 발전을 위하여 특별찬조를 한 단체 또는 개인으로 한다.
5. 명예회원은 본회의 발전에 현저히 공헌을 하고, 정년퇴임을 한 정회원으로서 회비를 납부하지 아니한다.

제 7조 (권리와 의무)

1. 본회의 회원은 회비를 납부해야 하며, 평의원은 평의원회비를 납부해야 한다.
2. 회원은 선거권, 피선거권, 기타 회칙이 정하는 권리를 갖는다. 단, 학생회원, 단체회원 및 특별회원은 총회에 참석하여 발언할 수 있으나 선거권 및 피선거권은 갖지 아니한다.

제 3장 임 원

제 8조 (구성) 본회는 다음의 임원을 둔다.

1. 회장 1명
2. 차기회장 1명

3. 부회장은 총괄부회장 외 약간명
4. 총무이사 약간명
5. 학술이사 약간명
6. 편집이사 약간명
7. 사업이사 약간명
8. 재무이사 약간명
9. 홍보이사 약간명
10. 감사 2명
11. 지부장 약간명

제 9조 (임기)

1. 임원의 임기는 회계연도를 기준으로 1년으로 하고, 회장은 중임할 수 있다.
2. 보선된 임원의 임기는 전임자의 잔임 기간으로 한다.

제 10조 (선임)

1. 회장은 차기회장이 승계한다.
2. 차기회장은 다음 각호에 따라 약 1년 이전인 하반기(동계)에 고문회에서 후보를 심의하여 평의원회에서 추천하고 정기총회에서 선출한다.
 - ① 차기회장 후보를 추천할 때는 본회의 현 평의원이고, 최근까지 회비를 납부한 회원 중에서 본회의 임원을 역임하여 학회의 전반적인 흐름을 잘 파악하고 있는 사람으로 하여야 한다.
 - ② 회장은 차기회장 후보 대상자에게 후보신청서를 받아서 고문회에 제출하고, 고문회는 후보를 심의하여 평의원회에서 추천하고 총회에서 선출한다.
3. 부회장은 회장이 임명하고, 부회장 중 1명을 총괄부회장으로 하여 총회의 인준을 받아야 한다.
4. 감사는 총회에서 후보를 추천하고, 총회에서 선출한다. 감사 후보를 추천할 때에는 최근까지 회비를 납부하고 본회의 현 평의원이며, 본회의 임원을 역임한 경력이 있는 사람으로 하여야 한다.
5. 이사 및 지부장은 총괄부회장이 추천하고 회장이 임명한다.
6. 회장의 궐위 시에는 총괄부회장이 회장의 직위를 승계한다. 이 경우 임기는 전임자의 잔임 기간으로 한다.

제 11조(직무) 본회의 임원은 다음의 직무를 수행한다.

1. 회장은 본회를 대표하고, 회무를 총괄하며, 총회, 평의원회, 고문회, 임원회 및 이사회의 의장이 된다.
2. 총괄부회장은 회장의 직무를 보좌하고, 회장의 유고시에 그 직무를 대행한다.
3. 부회장은 학술, 편집, 사업, 재무, 홍보 등 회장이 부여하는 분야를 관장하며 회장을 보좌한다.
4. 감사는 본 회의 모든 재무를 감사하고, 그 결과를 총회에 보고한다.
5. 총무이사는 문서수발, 회의준비 등 회무에 관한 제반사항을 시행하고, 각종 행사 및 회의 내용을 기록 보존한다.
6. 학술이사는 학술발표, 강연, 학술토론 등 학술활동에 관한 업무를 담당한다.
7. 편집이사는 학회지의 편집 및 발간에 관한 업무를 담당한다.
8. 사업이사는 본 회의 발전을 위한 수익사업을 담당한다.
9. 재무이사는 회비, 참가비, 협찬금 등의 수령과 각종 경비의 지출을 담당하고, 그 내용을 기록 보존한다.
10. 홍보이사는 회원수 증대 및 학술대회 참가자수 증대를 위한 홍보업무와 정보화 관련 업무를 담당한다.
11. 지부장은 지역을 대표하고, 지역활동을 주재하며, 본회와 지역간의 연락을 원활하게 한다.

제 12조 (고문)

1. 본회의 발전을 위한 조언과 회칙에서 부여한 임무를 하게 하도록 고문 약간명을 둔다.

2. 고문은 본 학회의 명예회장을 역임한 사람으로 한다.

제 13조 (명예회장)

1. 본회의 발전을 위한 조인과 후원을 하도록 명예회장 약간명을 둔다.
2. 명예회장은 본 학회의 회장을 역임하고 퇴임 때까지로 한다.

제 4장 회 의

제 14조 (회의) 본회의 회의는 총회, 평의원회, 고문회, 임원회, 이사회, 편집위원회 및 윤리위원회로 한다.

제 15조 (총회)

1. 총회는 정회원으로 구성하며, 정기총회와 임시총회로 나눈다.
2. 정기총회는 연 2회 회장이 소집하고, 임시총회는 임원회에서 필요하다고 인정할 때에 회장이 소집한다.
3. 회장은 총회 개최일 7일 이전에 회원들에게 그 소집을 통지하여야 한다.
4. 총회는 출석의원 과반수 찬성으로 의결한다. 가부동수일 경우에는 회장이 결정한다.
5. 총회에서는 다음의 사항을 심의 또는 의결한다.
 - ① 임원선출 및 인준
 - ② 예산 및 결산의 승인
 - ③ 회칙 개정
 - ④ 사업계획의 승인
 - ⑤ 회비의 결정
 - ⑥ 기타 중요한 사항

제 16조 (평의원회)

1. 평의원회는 평의원으로 구성한다.
2. 평의원은 정회원 중 다음의 자격을 갖춘 사람으로 이사회의 추천으로 회장이 위촉한다. 단, 이사회에서 평의원 후보를 추천할 때에는 최근 2년간 학회활동 실적을 참조하고 다음과 같은 사항에 의거하여 추천한다.
 - ① 본 회의 임원을 역임한 회원
 - ② 연구단체 또는 직능단체의 대표성 회원
 - ③ 정회원으로서 장기간 활동한 회원
3. 평의원회는 회장이 필요시 소집하며, 평의원회의 개최일 7일 이전에 그 소집을 통보하여야 한다.
4. 평의원회는 출석의원 과반수 찬성으로 의결한다.
5. 평의원회는 다음의 사항을 심의 또는 의결한다.
 - ① 예산안의 심의
 - ② 사업계획의 심의
 - ③ (삭제) <2016.6.16.>
 - ④ 회장 후보의 추천
 - ⑤ 기타 총회에서 위임받은 사항
6. 부득이한 사유로 평의원회 개최가 어려운 때에는 서신 및 전자우편으로 대체할 수 있다. 이 경우 전체 평의원의 과반수가 응답으로 성립하고, 응답자의 과반수 찬성으로 의결한다.
7. 평의원은 다음과 같은 사항에 의거하여 해임 할 수 있다.
 - ① 회원 탈퇴자
 - ② 학회 설립목적에 위배되는 행위를 한 자에 대하여 이사회의 의결에 의한다.

- ③ 3년 연속 평의원 회비를 납부하지 아니한 자는 평의원 자격이 상실된다.

제 17조 (고문회)

1. 고문회는 회장, 명예회장 및 고문으로 구성하고, 회장이 소집한다.
2. 고문회는 과반수 출석으로 성립하며, 출석회원 과반수 찬성으로 의결한다.
3. 고문회는 다음 사항을 자문 또는 의결한다.
 - ① 학회의 발전을 위한 자문
 - ② 총회 또는 평의원회에서 위임받은 사항
 - ③ 회장후보의 심의

제 18조 (임원회)

1. 임원회는 회장, 차기회장, 부회장, 이사 및 지부장으로 구성하며, 회장이 소집한다.
2. 임원회는 과반수 출석으로 성립하며, 출석 회원 과반수 찬성으로 의결한다.
3. 임원회는 다음의 사항을 심의 또는 의결한다.
 - ① 사업계획에 관한 사항
 - ② 예산 및 결산에 관한 사항
 - ③ 총회에 부의할 안건
 - ④ 시행세칙 및 제 규정의 심의 및 의결
 - ⑤ 임시총회의 소집 여부
 - ⑥ 회칙 개정안 발의
 - ⑦ 각종 회의에서 위임받은 사항
 - ⑧ 윤리규정 위반에 따른 징계 건의에 대한 최종심의 및 의결<신설 2016.6.16.>

제 19조 (이사회)

1. 이사회는 회장, 총괄부회장 및 이사로 구성하며, 회장이 소집한다.
2. 이사회는 과반수 출석으로 성립하며, 출석회원 과반수 찬성으로 의결한다.
3. 이사회는 다음 사항을 심의 또는 집행한다.
 - ① 각종 회의에 제출할 안건 및 보고서의 작성
 - ② 본 회의 제반 사업과 행사의 추진을 위한 세부계획의 수립과 이의 집행
 - ③ 회원가입 신청의 승인
 - ④ 평의원 추천
 - ⑤ 시행세칙 및 제 규정의 입안
 - ⑥ 각종 회의에서 위임받은 사항

제 20조 (편집위원회)

1. 편집위원은 정회원 중에서 편집이사가 추천하고 회장이 위촉하며 임기는 1년이며 중임할 수 있다. 단, 편집이사는 당연직 편집위원으로 한다.
2. 편집위원회 위원장 또는 편집이사가 편집위원회를 소집하며, 과반수 출석과 출석회원 과반수 찬성으로 의결한다.
3. 편집위원회에서는 학회지의 편집에 관한 제반사항을 수행한다.
4. 편집위원회 위원장은 편집위원 중에서 회장이 위촉하고 임기는 1년으로 중임할 수 있다.

제 20조의2 (윤리위원회)

1. 윤리위원회는 본 학회에서 정한 윤리규정을 기초로 연구윤리규정의 위반여부 및 혐의의 진실성 검증을 목적으로 한다.

2. 윤리위원회는 7인 내외로 구성하며 위원장은 학회장으로 하고, 부위원장은 편집이사로 하며, 그 외 인원은 편집이사의 추천을 받아 학회장이 위촉한다.
3. 윤리위원회는 연구윤리 부정행위의 혐의에 대한 보고접수 권한 및 진실성 검증을 위한 조사 권한을 갖는다.[본조신설 2016.6.16.]

제 5장 재 정

제 21조 (재원) 본 회의 재원은 각종 회비, 각종 단체의 보조금, 찬조금, 수익 사업금, 논문 게재료 및 기타 수익금으로 한다.

제 22조 (회비) 본 회의 회비는 임원회의 심의를 거쳐, 총회에서 결정한다.

제 23조 (회계년도) 본 회의 회계연도는 1월 1일에서 12월 31일까지로 한다.

제 24조 (예산 및 결산)

1. 예산안은 재무이사가 편성하고, 임원회 및 평의원회의 심의를 거친 후 총회의 승인을 받아야 한다.
2. 총회에서 예산승인을 받기 전까지는 가예산 상태로 운영하되 임원회 및 평의원회 보고한다.
3. 결산안은 회계연도 종료 즉시 재무이사가 작성하여 임원회의 심의를 거친 후 감사를 받고, 총회의 승인을 받아야 한다.

제 6장 시 상

제 25조 (학회상의 종류) 본 학회에서 시상하는 상의 종류는 다음 각항과 같다.

1. 공로상 : 우리 학회 발전에 현저히 공헌한 사람 또는 단체에 수여한다.
2. 학술상 : 식품영양 분야에서 학술적으로 현저한 연구업적을 남긴 자에게 수여한다.
3. 우수포스터상 : 각 학술대회에서 우수한 포스터 발표를 한 사람(공동발표자 포함)에게 수여한다.

제 26조 (수상자 선정 등) 수상자의 선정기준, 선정방법, 시상 등은 별도의 규정으로 정한다.

제 7장 보 칙

제 27조 (시행세칙) 본 회칙의 시행에 필요한 시행세칙과 제 규정은 이사회에서 입안하고, 임원회의의 심의를 거쳐 평의원회에서 의결한다.

제 28조 (회칙개정) 본 회칙을 개정하고자 할 때에는 임원회 또는 회원 20인 이상이 발의하며, 총회에서 개정한다.

제 29조 (저작권의 귀속)

학회의 업무수행과정에서 발생한 저작권에 대한 저작권법상의 권리는 학회에 귀속됨을 원칙으로 한다. 다만, 위탁저작물의 경우에는 저작권을 원저작자에게 환부할 수 있다. [본조신설 2023. 11. 10.]

제 30조 (정관의 변경)

학회가 정관을 변경하고자 할 때에는 정기총회 또는 임시총회에서 재적 대의원 3분의 2이상의 찬성으로 의결한다. [본조신설 2023. 11. 10.]

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1988년 7월 18일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1991년 10월 19일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1996년 7월 10일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1997년 1월 9일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 1999년 10월 23일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2008년 6월 23일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2008년 12월 18일부터 시행한다. 다만 제8조는 2005년 1월 1일부터 소급 시행하되 종전의 규정에 의한 간사장은 2008년 12월 31일까지 한시적으로 총괄이사로 한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2011년 6월 16일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2012년 6월 22일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2012년 12월 13일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2013년 12월 12일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2015년 8월 20일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2016년 6월 16일부터 시행한다.

부 칙

제 1조 (시행일) 본 회칙은 2023년 11월 10일부터 시행한다.

한국식품영양학회 연구윤리 규정

2008년 6월 23일 제정 2016년 4월 21일 개정
2016년 12월 03일 개정 2023년 11월 10일 개정

제 1장 총 칙

제 1조(연구윤리 정의) 연구윤리란 연구자가 연구를 수행하는데 있어서 정보를 정직하게 전달하고, 자원을 효율적으로 사용하며, 연구결과를 객관적으로 명확하게 보고하여 책임 있는 연구를 수행하는 것을 말한다.

제 2조(윤리규정의 목적) 본 규정은 학문연구의 윤리성과 진실성을 확보하고 부정행위를 공정하게 검증할 수 있는 기준을 제시하여 한국식품영양학회(이하 학회라 약칭함) 회원들에게 연구의 윤리성을 고양하고 부정행위를 방지하는데 그 목적이 있다.

제 3조(윤리규정의 적용대상) 본 규정은 학회에 등록되어 있는 회원을 비롯하여 학회에서 정기적으로 발행하는 모든 간행물(학회지와 학술대회발표집)에 게재되는 내용과 관련 있는 회원 모두에게 적용한다.

제 2장 연구수행의 윤리규정

제 4조(연구의 진실성) 연구를 수행하고 결과를 발표하는 저자와 연구결과를 평가하는 심사자는 모두 학자로서의 양심에 어긋남이 없이 투명하고 진실하게 연구 활동을 수행해야 한다.

제 5조(데이터 관리)

1. 연구자는 연구에 필요한 데이터를 수집하기 이전에 데이터 소유권이 누구에게 있으며 승인이 필요한지 확인하고, 데이터 수집이나 공개에 따르는 자신의 의무와 권리가 무엇인지 명확하게 이해하고 수행하여야 한다.
2. 데이터는 신뢰할 수 있는 타당하고 적절한 방법으로 수집, 기록하고 일정기간 동안 보관하며 필요시 다른 연구자들이 결과 확인이나 다른 목적으로 사용할 수 있도록 이를 공개하여 데이터를 공유할 수 있도록 해야 한다.

제 6조(연구발표) 모든 연구결과는 완전하고 공정한 설명과 함께 정확하게 보고하여야 하며, 연구의 방법, 연구자가 발견한 결과 및 결과에 대한 연구자의 생각이 적절하게 포함되어 있는지 정직하고 투명한 평가가 이루어져야 한다.

제 7조(저작권의 보유) 저작권은 원칙적으로 연구에 중요한 공헌을 한 저자들에게 주어지나 교육 등 공공의 목적으로 사용될 경우에는 학회지 및 학술대회발표집의 발행인인 학회가 그 사용권을 가진다.

제 8조(저자의 순서와 소속표시)

1. 저자란에 실릴 저자의 순서는 공동저자간의 합의 하에 연구에 대한 기여도에 따라 표기하며 저자들은 저자 기재 순서에 대한 원칙을 설명할 수 있어야 한다.
2. 저자의 소속은 연구를 수행할 당시의 소속으로 표기하는 것을 원칙으로 하지만, 이와 다른 관행이 통용되는 분야에서는 그 관행을 따를 수 있다.

제 9조(교신저자 또는 책임저자의 책임) 교신 또는 책임저자는 동료 연구자들을 대표하여 데이터의 정확성, 저자로 기록된 이름, 모든 저자들의 최종 초안 승인, 모든 교신과 질문에 대한 응답 등에 대하여 책임을 지며, 교신저자의 실수나

누락 부분이 자신뿐 아니라 동료 연구자들의 경력에도 큰 영향을 끼친다는 점을 명심하여야 한다. 저자는 출판하는 논문의 연구에 지적인 공헌을 한 자로서 다음 각 호의 자격을 모두 충족하여야 한다.

1. 연구의 구상이나 설계 또는 자료의 수집이나 분석이나 해석을 하는데 있어서 상당한 공헌을 한 자
2. 논문의 초안을 작성하거나 주요내용을 수정한 자
3. 출간될 원고를 최종 승인한 자
4. 연구의 정확성이나 무결성과 관련된 문제를 적절히 조사하고 해결하는 것에 책임이 있음을 동의한 자

제 10조(참고문헌의 인용원칙)

1. 저자는 타인의 연구 내용의 일부를 자신의 연구논문에 원문 그대로 또는 번역하여 인용할 수 있다.
2. 저자는 참고문헌의 출처 표시와 목록 작성의 정확성을 기하여야 한다. 저자명, 학술지의 권·호수, 페이지, 출간 년도 등 인용의 모든 요소를 2차 출처에 의존하지 말고 원 논문에서 직접 확인해야 하며 불가피한 경우에만 재인용을 밝히고 인용해야 한다.

제 3장 연구 부정행위의 윤리규정

제 11조(연구 부정행위의 정의)

1. 연구 부정행위는 연구계획, 연구수행, 연구보고 및 발표, 연구의 심사 및 평가 등에 있어서 발생하는 위조, 변조, 표절, 중복게재 등의 행위를 말한다.
2. “위조”는 존재하지 않는 데이터 또는 연구결과의 기록을 허위로 만들어 보고하고 제출하는 행위를 말한다.
3. “변조”는 연구 자료나 장비 혹은 과정을 조작 하거나 데이터 또는 결과를 변형·삭제함으로써 연구 기록이 정확하게 표현되지 않도록 하는 행위를 말한다.
4. “표절”은 창시자의 공적을 인정하지 않고 저작권법상 보호되는 다른 사람의 아이디어, 연구과정, 연구결과 혹은 표현에 적절한 출처를 명시하지 않고 전체나 일부분을 유용하는 것을 말한다.
5. “중복게재”는 편집인이나 독자에게 이미 출간된 처음의 연구내용을 공지하지 않은 채 완전히 동일하거나 거의 동일한 연구내용을 다른 학술지에 두 번 이상 발표하여 게재하는 것을 말한다.

제 12조(표절의 유형) 표절의 유형은 “아이디어 표절”과 저자를 밝히지 않고 타인이 저술한 텍스트의 일부를 복사하는 “텍스트 표절”, 텍스트의 일부를 조합하거나 단어의 추가, 삽입 또는 동의어로 대체하는 “모자이크 표절” 등이 있다.

제 13조(참고문헌의 왜곡금지)

1. 참고문헌은 논문의 내용과 직접적으로 관련이 있는 문헌만 포함시켜야 한다. 학술지나 논문의 인용지수를 조작할 목적으로 또는 논문의 게재 가능성을 높일 목적으로 관련성에 의문이 있는 문헌을 의도적으로 참고문헌에 포함시켜서는 안 된다.
2. 자신의 데이터나 이론에 유리한 문헌만을 편파적으로 참고문헌에 포함시켜서는 안 되며, 자신의 관점과 모순되는 문헌도 인용해야 할 윤리적 책무가 있다.

제 14조(지양해야 할 관행) 논문의 발표 시, 논문에 기여한 바가 없어 논문 저자로서의 자격이 없는 사람을 저자로 올리는 “명예” 저자 관행, 단순히 숫자를 늘리기 위해 하나의 연구를 여러 갈래로 쪼개어 작은 연구를 여러 개 만드는 관행, 연구를 검토 없이 조급하게 발표하는 관행 등은 지양해야 한다.

제 14조의2(생명윤리) 인간 대상 연구를 시행한 논문을 투고 할 때에는 생명윤리심의위원회의 승인과 연구대상자의 동

의를 받았음을 논문에 명시하고, 동물실험의 경우 연구기관이나 국가 지침을 준수하며 동물실험윤리위원회의 승인을 받았음을 논문에 명시해야 한다. 생명윤리심의위원회 및 동물실험윤리위원회 승인서 사본을 학회 이메일로 제출하여야 하며, 승인의 필요한 연구와 시행일자는 다음과 같다.

-다음-

| 연구방법 | IRB 승인 기재 의무화 시행일자 (시행일자 이후 투고시 의무화) | 비고 |
|---------------------------|---|---------------------------------------|
| 인체적용시험 | 2017년 7월 1일 | 연구자들의 혼란을 최소화하기 위해 유예기간(6개월~1년)을 둠 |
| 동물실험 | 2017년 7월 1일 | |
| 설문조사 (survey, 관능평가 포함) | 2018년 1월 1일 | |

제 4장 논문심사의 윤리규정

제 15조(심사자의 책임과 의무)

1. 심사자는 학회의 편집위원회에서 의뢰하는 논문을 성실하게 심사하고 심사결과를 심사규정이 정한 기일 내에 편집위원회에 보고해야 한다.
2. 심사자는 의뢰된 논문이 자신이 심사하기에 불충분하다고 판단되면 즉시 편집위원회에 논문을 반납하여야 한다.
3. 심사자는 논문의 질, 연구의 실험성, 이론성 및 해석에 관해 엄격한 과학적 기준 및 연구 기준을 적용해 객관적으로 평가해야 하고 자신의 판단에 대하여 적절하게 설명하고 뒷받침할 수 있어야 한다.
4. 심사자는 저자의 지적 독립성을 존중하고 저자가 다른 과학자의 연구를 잘못 인용하는 것을 막아야 하며 이해관계의 상충에 잘 대응해야 한다.
5. 심사자는 논문의 기밀을 유지해야 하고 저자의 동의 없이 아직 검토 중인 미간행 논문에 담긴 정보, 주장, 해석 등을 사용하거나 공개해서는 안 된다.

제 16조(심사자의 비윤리적 행위)

심사자는 공정한 심사와 심사 중 기밀 유지를 위하여 다음과 같은 비윤리적 행위를 삼가 해야 한다.

1. 자신이 맡은 심사를 대학원 학생이나 제 3자에게 부탁하는 행위
2. 심사 중인 논문의 내용을 동료와 논의하는 행위
3. 심사 종료 후 심사 내용의 사본을 반납하거나 분쇄하지 않고 보유하는 행위
4. 논문을 심사하는 과정에서 명예손상이나 인신공격에 해당하는 언어를 쓰는 행위
5. 논문을 읽지 않고 심사 또는 평가하는 행위

제 17조(편집위원회의 책임과 의무) 삭제(2016년 4월 21일)

제 5장 연구윤리규정의 시행 및 윤리위원회

제 18조(윤리규정 준수 의무) 회원은 회원가입과 동시에 자신의 연구 행동을 책임지고 연구 부정행위를 심각하게 받아들여야 하며 본 학회의 연구윤리 규정을 준수할 의무를 갖는다.

제 19조(윤리규정 위반의 보고 및 조사) 회원은 다른 회원이 윤리규정을 위반한 사실이 인지될 경우 그 회원으로 하여금 윤리규정을 환기시키고 위반사항이 바로 잡히지 않을 경우에는 윤리위원회에 즉시 보고한다.

제 20조(윤리위원회의 목적과 구성)

1. 윤리위원회는 본 학회에서 정한 윤리규정을 기초로 연구윤리규정의 위반여부 및 혐의의 진실성 검증을 목적으로 한다.
2. 윤리위원회는 7인 내외로 구성하며 위원장은 학회장으로 하고, 부위원장은 편집이사로 하며, 그 외 인원은 편집위원장의 추천을 받아 학회장이 위촉한다.

제 21조(윤리위원회의 권한)

1. 윤리위원회는 연구윤리 부정행위의 혐의에 대한 보고접수 권한 및 진실성 검증을 위한 조사 권한을 갖는다.
2. 보고된 사안에 대하여 제보자, 피조사자, 증인, 참고인 및 증거자료 등을 통한 폭 넓은 조사를 실시한 후 윤리규정을 위반한 것이 사실로 판정될 경우 학회 정관에 의거하여 제재조치를 할 수 있다.

제 22조(윤리위원회의 판정 및 제재)

1. 위반행위에 대한 검증절차는 예비조사, 본 조사, 판정의 단계로 진행하여야 하며 모든 조사 일정은 6개월 이내에 종료되어야 한다. 단, 이 기간 내에 조사가 이루어지기 어렵다고 판단될 경우 위원장의 승인을 거쳐 조사기간을 연장할 수 있다.
2. 제보자 또는 피조사자가 판정에 불복할 경우 통보를 받은 날로부터 30일 이내에 서면으로 이의를 제기할 수 있으며, 윤리위원회에서 이를 검토하여 필요한 경우 재조사 할 수 있다.

제 23조(제보자 및 조사대상자의 보호)

1. 윤리위원회는 제보자 및 조사대상자가 위반행위의 신고 및 조사를 이유로 불이익이나 부당한 압력 또는 위해 등을 받지 않도록 보호해야 할 의무를 지니며, 이에 대한 대책을 마련해야 한다.
2. 제보자는 위반행위의 신고 이후에 진행되는 조사절차 및 일정 등에 대하여 알려줄 것을 요구할 수 있으며, 윤리위원회는 이에 성실히 응하여야 한다.
3. 연구윤리 규정 위반으로 보고된 회원에게는 조사대상이 된 사안의 개요를 서면 통지하고 정해진 기간내에 소명서를 제출할 기회를 보장하고 본인이 희망하는 경우 본조사 절차 중 1회 이상 윤리위원회의 회의에 출석하여 구술로 해명할 수 있는 기회를 주는 등 충분한 소명 기회를 주어야 한다.
4. 윤리규정 위반에 대하여 학회의 최종적인 결정이 내려질 때까지 윤리위원회는 해당 회원의 명예나 권리가 침해되지 않도록 신원을 외부에 공개해서는 안 된다.

제 24조(징계의 절차 및 내용)

1. 징계 건의가 있을 경우 위원장은 임원회를 소집하여 징계 여부 및 징계내용을 최종적으로 결정한다.
2. 징계가 판정된 회원의 연구결과는 학회지나 학술 대회발표집, 인터넷 홈페이지에서 삭제하고 향후 5년간 논문투고금지, 회원자격 정지 내지 박탈 등의 징계를 하며 이 조치를 대상자의 소속기관에 알리거나 학회지에 공시할 수 있다.

제 25조(윤리규정의 수정)

1. 윤리규정은 수정이 필요한 경우 간사회에서 수정안을 작성하고 임원회에서 심의한 후 평의원회에서 의결한다.
2. 기존의 규정을 준수하기로 서약한 회원은 추가적인 서약 없이 새로운 규정을 준수하기로 서약한 것으로 간주한다.

- 부칙 -

제 1조(효력발효) 본 윤리규정은 2008년 6월 23일부터 효력을 발생한다.

제 2조(효력발효) 본 윤리규정은 2016년 4월 21일부터 효력을 발생한다.

제 3조(효력발효) 본 윤리규정은 2016년 12월 3일부터 효력을 발생한다.

제 4조(효력발효) 본 윤리규정은 2023년 11월 10일부터 효력을 발생한다.

Research Ethics Rules of the Korean Society of Food and Nutrition

Amended on 23/06/2008 Amended on 21/04/2016
Amended on 03/12/2016 Amended on 10/11/2023

Chapter 1 General Provisions

Article 1: Definition of Research Ethics

The term “research ethics” means honestly conveying information in the research conduct, using resources efficiently, and performing responsible study by objectively and accurately reporting study results.

Article 2: Purpose of Ethics Regulations

This regulation aims to enhance research ethics to members of the Korean Society of Food Science and Nutrition (hereinafter referred to as “the Society”) and prevent research misconducts by proposing standards to secure ethics and truth in academic research and fairly verify misconducts.

Article 3: Application Objects of Ethics Regulations

These regulations shall apply to all of the registered members as well as any members related to contents presented in all publications (the journal of the Society and symposium publications) regularly issued in the Society

Chapter 2 Ethics Regulations on Research Conduction

Article 4: Truth in Research

An author who conducts a research and presents its results and a dissertation review committee member who evaluates the research results shall carry out research activity transparent and sincere without doing any act against conscience as scholars

Article 5: Data Management

5.1. A researcher shall confirm the ownership of data and authorization to use the data prior to collecting necessary data. In addition, the researcher must carry out the study with clear understanding on the obligation and right imposed upon the collection or disclosure of data.

5.2. Data shall be collected and recorded through appropriated measures in reliable and valid manner and must be retained for a certain period of time for other researchers to verify results and assessable to be used as other purposes by publicly presenting the findings.

Article 6: Presentation of Research Results

All of the research results shall be accurately reported with a thorough and reasonable explanation. An honest and transparent evaluation must be conducted to examine if research methods and researcher’s opinions are adequately presented in the findings or results of the study.

Article 7: Retention of Copyright

In principle, the copyright is given to the authors who made significant contributions in the research. However, the Society, the publisher of the journal and publications of symposiums, has the right of using the copyright in case the findings are used for the purpose of public interest such as education, and others.

Article 8: Order of Authors and Affiliation

8.1. For the space stating the authors, the order of authors shall be determined pursuant to the contribution made on the research upon the mutual consent among corresponding authors. In addition, the authors shall be able to explain the principles of such orders.

8.2. In principle, the affiliation of the author is stated by the name of the institution at the time of the research conduct. However, when other customary practices are applied in other field, the author may state the affiliation in accordance with custom.

Article 9: Responsibility of the Corresponding Author or Senior Author

The author, as one who makes intellectual contributions to the research published in the paper, must satisfy all of the following qualifications.

9.1. Someone who has made a significant contribution to the conception, design, data collection, analysis, or interpretation of the research

9.2. The individual who has drafted the manuscript or made substantial revisions to its main content

9.3. The person who has given final approval to the version of the manuscript to be published

9.4. Someone who agrees to be accountable for investigating and resolving any issues related to the accuracy or integrity of the research

Article 10: Citation Principles of References

10.1 The author may cite the part of other researchers' study in his/her research paper as the original text or the translated version.

10.2 The author shall take all possible measures to ensure the accuracy in stating sources and making the list of references.

Chapter 3 Ethics Regulations on Misconduct**Article 11: Definition of Research Misconduct**

11.1. The research misconduct is defined as the fabrication, falsification, plagiarism, and other unfair activities generated in the process of designing, carrying out, reporting, and evaluating and assessing the research.

11.2. "Fabrication" means reporting the research data or results, etc. that do not actually exist but have been fabricated.

11.3. "Falsification" means manipulating research data or equipment and process or exhibiting research record inaccurately by deliberately changing or deleting research results.

11.4. "Plagiarism" means using the entire or partial research ideas, processes, results, and etc. protected under copyright law of any other person without citing the appropriate sources and acknowledging the contribution of the founder of such findings.

11.5 "Repeated publication" means publishing an identical or almost similar research in other journals two (2) or more times without stating the initial research contents that have been already presented to publishers or readers.

Article 12: Types of Plagiarism

Types of plagiarism is classified as “idea plagiarism”, “text plagiarism”, copying a part from other persons’ text without citing the source for the ideas of other authors, “mosaic plagiarism”, combining a part of a text with a few words added, inserted, or replaced with synonyms, and others.

Article 13: Prohibition of Distortion in References

13.1. Cited references shall only includes directly related references to the contents of research paper. The author shall not deliberately include irrelevant references for the purpose of intentionally increasing citation index of articles or journals and the probability of publication of the manuscript.

13.2. The author shall not biasedly include only references favorable to data or theories of his/her articles. The author has ethical responsibility to cite references contradicting against his/her point of view.

Article 14: Practices to Avoid

The following practices should be avoided including a practice of “honoring” author by listing unqualified authors who have made no contributions in publishing research papers as one the authors, practice of dividing a research into many studies only to increase the number of published articles, and practice of hastily publishing articles without review process.

Article 14-2 : Bioethics

When submitting a paper that involves research on human subjects, it is necessary to specify in the paper that approval has been obtained from the Institutional Review Board (IRB) for bioethics and consent has been obtained from the research subjects. In the case of animal experiments, compliance with institutional or national guidelines for animal research and approval from the Animal Research Ethics Committee must be stated in the paper. Copies of approval documents from the Bioethics Review Board and the Animal Research Ethics Committee should be submitted to the conference via email. The required approval for research and the date of implementation are as follows.

| Research type | Date of enforce (After date of enforce, make indication of submission) | Note |
|--|--|---|
| human subject | Jul, 1, 2017 | Suspend periods(6 month ~ 1 year) for minimize of researchr's confusion |
| Animal experiment | Jul, 1, 2017 | |
| Question investigation (survey and sensory evaluation) | Jan, 1, 2018 | |

Chapter 4 Ethics Regulations for Dissertation Review**Article 15: Responsibilities and Obligations of Dissertation Examiner**

15.1. The dissertation examiner shall report the review results to the Publishing Committee within the period stipulated in the review regulations by sincerely examining the submitted dissertations.

15.2. The examiner shall immediately turn in the research paper to the Publishing Committee once the submitted dissertation is determined to be inadequate for the examiner to review.

15.3. The examiner shall objectively evaluate the dissertation by applying strict scientific and research standards

regarding the quality of dissertation, the experimentability of research, and conceptuality and interpretation, and must be able to adequately explain or support the assessment made upon his/her judgement.

15.4. The examiner shall respect the author's intellectual independence, prevent the author from wrongfully citing other scientists' research, and well coordinate contradictions that arise out of the relationship between interested parties.

15.5. The examiner shall abide by the confidentiality of research paper that is still in the process of reviewing and shall not publicize any information, assertion, interpretation or any other matters of the unpublished manuscript without the consent of the author.

Article 16: Unethical Acts of Examiner

For fair evaluation and confidentiality, examiners shall refrain from performing any of the following unethical acts.

16.1. an act of assigning research paper view that is requested to the examiner to post-graduate students or any third party

16.2. an act of discussing the contents of research paper while the viewing of the dissertation is still in progress.

16.3. an act of turning in the copy of research paper or retaining the paper without shredding it despite the review process is completed

16.4. an act of using abusive words categorized as a form of defamation of character and personal attack in the process of dissertation review

16.5. an act of evaluating the dissertation without reading the paper

Article 17: Responsibilities and Obligations of the Publishing Committee : Delete(21 April 2016)

Chapter 5 Implementation of the Research Ethics Regulations and the Ethics Committee

Article 18 Duty of Obedience

The members of the Society shall take responsibilities on their research activities upon the signing up as the member, accept research misconduct seriously and they are obligated to comply with the research ethics regulations of the Society.

Article 19 Report and Investigation of Violations of the Ethics Regulations

In case where a member of the Society recognizes the ethics violation of another member, the member must remind the ethics regulations to the another member and shall immediately notify the Ethics Committee when the violations are not corrected.

Article 20 Purpose and Composition of the Ethics Committee

20.1. The Committee aims to verify the allegation and truth of research ethics violations in accordance with the ethics regulations stipulated in the Society.

20.2. The Committee shall consist of about seven (7) commissioners. The president of the Society shall serve as the chairman of the Committee and the vice chairman shall serve as the chief of editor. The other members of publishing commissioners shall be appointed by the president of the Society upon the recommendation of the head of the Publishing Committee.

Article 21: Rights of the Ethics Committee

21.1. The Ethics Committee is authorized to receive reports on alligation of the research misconduct and investigate for the verification of truth.

21.2. The Committee may impose sanctions as stipulated in the Society regulations, if violations are verified to be true upon the conduction of extensive investigation with informants, examinees, witnesses, other persons to attend, and submit materials relevant to the case.

Article 22: Judgment and Sanctions of the Ethics Committee

22.1. The verification process of violation shall be conducted in accordance with the phases of preliminary examination, main examination, and judgement and the process must be terminated within six (6) months. Provided, That the investigation period may be extended upon the approval of the chairman of the Committee in case the investigation is deemed difficult to be completed within the stipulated period

22.2. In case an informant or an examinee is dissatisfied with the judgement, those persons may raise an objection in writing within thirty (30) days after they are informed of the notification. In such event, the Ethics Committee may reinvestigate, if necessary, upon the reviewing objection.

Article 23: Protection of Informant and Examinee

23.1. The Committee is responsible for the protection of informant and investigated subject in the event that the informant receives disadvantages or unjust pressure due reporting alleged misconduct and its investigation, the Committee shall take all necessary measures to protect the informant.

23.2. The informant has right to request necessary information on investigation process or schedules after reporting alleged misconduct and the Committee shall faithfully comply with it.

23.3. For members reported for violations of research ethics regulations, a written notification outlining the overview of the case should be provided, ensuring the opportunity to submit a written statement within a specified period. Additionally, the member should be given sufficient opportunity to attend at least one meeting of the ethics committee during the investigation process to provide oral explanations if desired.

23.4. Until the final decision of the society regarding the violation of ethical regulations is reached, the ethics committee should refrain from disclosing the identity of the member to the public to ensure that the member's honor and rights are not infringed upon.

Article 24: Procedures and Contents of Disciplinary Sanctions

24.1. In case where any disciplinary sanctions need to be taken, the chairman of the Committee shall convene the meeting and conclusively determine if disciplinary sanctions will be imposed or not and the forms of sanctions.

24.2. Once the sanction is finalized, the member may be suspended or deprived from research paper submission and member's qualification for the next five (5) years and such measures may be informed or publicized to the subject or his/her affiliated institution and journals.

Article 25: Revision of the Ethics Regulations

25.1. In case where revision of the ethics regulations is required, the amendment shall be prepared by the Board of Directors, deliberated to the Board of Executives, and decided by the resolution of the Advisory Council.

25.2. Members who pledged to comply with the previous regulations shall be deemed to agree to comply with the amended regulations without additional pledge.

Addendum**Article 1: Date of Enforcement**

These regulations shall enter into force on June 23rd, 2008.

Article 2: Date of Enforcement

These regulations shall enter into force on april 21rd, 2016.

Article 3: Date of Enforcement

These regulations shall enter into force on december 3rd, 2016.

Article 4: Date of Enforcement

These regulations shall enter into force on November 10rd, 2023

한국식품영양학회지 논문 투고 규정

| | | | | | | | |
|-------|-----|-----|----|-------|-----|-----|----|
| 1988년 | 7월 | 5일 | 제정 | 1990년 | 12월 | 10일 | 개정 |
| 1996년 | 8월 | 16일 | 개정 | 1998년 | 12월 | 18일 | 개정 |
| 2002년 | 8월 | 8일 | 개정 | 2003년 | 3월 | 8일 | 개정 |
| 2004년 | 3월 | 26일 | 개정 | 2006년 | 3월 | 25일 | 개정 |
| 2009년 | 3월 | 25일 | 개정 | 2010년 | 8월 | 14일 | 개정 |
| 2012년 | 6월 | 22일 | 개정 | 2013년 | 6월 | 20일 | 개정 |
| 2013년 | 9월 | 28일 | 개정 | 2014년 | 6월 | 20일 | 개정 |
| 2015년 | 12월 | 17일 | 개정 | 2016년 | 6월 | 16일 | 개정 |
| | | | | 2023년 | 11월 | 10일 | 개정 |

1. 한국식품영양학회지는 식품·영양에 관한 연구논문, 연구노트, 연구속보 및 총설 등을 게재한다. 단, 총설은 본 학회에서 위촉하거나, 편집위원회의 심의에 의해 정한 경우로 한다.
2. 투고자 중 주 저자와 교신저자는 본회 회원에 한하는 것을 원칙으로 하되, 초청논문은 예외로 한다.
3. 투고논문은 다른 학술지에 발표되지 않은 것이어야 한다.
4. 논문 투고는 학회 홈페이지(<http://ksfn.kr>)의 온라인 논문 투고시스템으로 한다.
5. 원고 투고 관련 문의는 편집이사에게 한다.
6. 논문의 심사, 채택여부, 게재순서, 인쇄순서는 논문 심사규정 및 편집규정에 따른다. 논문의 접수일은 논문이 본 학회 온라인 투고시스템에 도착한 날로 한다.
7. 교신저자는 한국식품영양학회 회원이어야 하며, 회원이 아닌 사람의 논문 게재는 편집위원회의 결의에 따른다.

온라인 투고 (Online Submission)를 원칙으로 한다. 투고방법은 논문 제출서 (Submission Form)를 작성한 후, 논문과 연구 윤리 서약서 및 저작권 이전 동의서 (Authors' Agreement of Ethics Policy & Copyright Transfer)를 제출한다. 인간대상연구와 동물실험 논문은 연구를 수행하기전 기관생명윤리위원회 IRB(Institutional Review Board) 승인서와 동물실험윤리위원회 승인서 사본 (승인번호가 기재된 첫 장만)을 연구 윤리 서약서 및 저작권 이전 동의서 뒷장에 첨부한다.

체계적고찰(Systematic review)과 메타분석(Meta analysis)를 제외한 총설과 초청논문은 편집위원회에서 위촉된 경우에 한하여 게재된다.

위촉에 의해 투고된 원고도 일반 투고 논문과 동일한 심사과정을 거쳐 게재된다.

논문의 심사, 채택여부, 게재순서 등은 편집규정과 심사규정에 의거하여 진행한다. 논문은 3단계 심사절차를 거쳐 게재여부를 결정하며, 3단계 심사절차는 아래와 같다.

1단계 : 편집이사가 간단히 논문 검토 후 1차적인 심사 가부를 결정한다.

2단계 : 편집이사가 정한 2인의 심사위원이 세부심사를 한다.

3단계 : 2단계 심사에서 최종판정이 나지 않은 경우, 1인의 심사위원을 추가로 위촉하여 심사를 한다.

- 심사자 비공개를 원칙으로 하고, 세부 심사절차는 본 학회지 심사 규정에 따른다.

8. 논문은 국문 또는 영문으로 한글 또는 MS워드 파일을 사용하여 컴퓨터로 작성하되, 글씨 크기는 10~12 포인트, 줄 간격은 200%로 한다.

9. 원고 제1면에는 국문과 영문으로 논문제목, 저자 및 소속기관을 나타낸다. 제목 상단에 압축한 소제목 (Running title)을 기재한다. 소제목(Running title)은 논문의 내용을 잘 나타낼 수 있도록 짧게 하며 논문 저자가 두 사람 이상인 경우에는 교신저자 성명 앞에 + 표시를 한다. 소속기관이 다른 경우에는 저자 이름 끝에 위첨자로 *, **, ***을 순서에 따라 붙이고, 해당인의 소속기관 앞에도 같은 부호를 붙인다. 교신저자는 1면 하단에 영문으로 성명, 소속기관, 소속기관 주소, 전화번호, fax 번호, e-mail 주소를 기입한다. 국문 저자명은 저자명 사이에 “”를, 영문은 저자명 사이에 “, ”를 넣는다.

논문 저자 중 소속이 2개 이상일 경우, 여러 기관을 명시하는 것이 가능하다.

모든 저자는 ORCID 등록 시 소속과 직위를 등록해야 하며, 이는 추후 저자신분 확인이 필요할 경우 자료로 활용할 수 있다.

10. 원고 제 2면에는 제목을 국문과 영문으로 표기하고 영문으로 된 Abstract를 첨부한다. 초록은 200단어 내외의 줄 바꿈 없는 단일 문단으로 하되 본문과 분리하여도 논문을 이해할 수 있도록 연구목적, 연구방법, 연구결과가 나타나도록 작성하며, 하단에는 5개 이내의 영문주제어(keywords)를 기입한다(keywords는 모두 소문자 영어로 표기).
11. 논문의 형식은 서론, 재료 및 방법(또는 연구 대상 및 방법), 결과 및 고찰, 요약 및 결론, 이해상충(Conflict of interest), 감사의 글, References의 순서로 함을 표준으로 하며, 쪽 구분 없이 계속 연결하여 작성한다.
12. 연구노트는 어떤 한정된 부분의 발견이나 새로운 실험 방법과 좋은 내용을 정리한 논문으로, 논문형식을 기준으로 작성하되 2,500단어 이내, Table과 Figure 합이 3개 이하를 원칙으로 한다.
13. 모든 표 및 그림의 제목과 설명은 영문으로 한다. 제목은 Table 1, Fig. 1 등의 순서로 표기하며 본문을 참조하지 않아도 내용을 알 수 있을 정도로 간결, 명확하게 기재한다. Table의 제목은 표의 상단에, Fig.의 제목은 그림의 하단에 기재한다. 본문에 인용할 때는 Table 1, Fig. 1 등으로 표시한다. Table이 페이지를 넘어가는 경우에는 제목 끝에 “continued”를 표기해 준다.
14. Table의 밑에 각주(footnote)를 달 때는 Table 내용 중 설명하려는 단어 혹은 문장 아래 아라비아 숫자 1), 2), 3)으로 나타내며 부호들은 사용하지 않는다. *, ** 표시는 통계분석의 유의확률이 $p < 0.05$ 나 $p < 0.01$ 을 나타낼 때만 사용한다. 다중범위 검정에서는 a, b, c, d 등을 사용하고 하단에 그 내용을 표시한다.
15. 모든 표와 그림은 본문 중에 작성하거나, 한 장에 하나씩 작성하여 본문 뒤에 순서대로 첨부한 후 본문 중에 그 위치를 표시하여야 한다. 그림은 사진 또는 컴퓨터로 깨끗이 작성하여 정판원고로 직접 사용될 수 있도록 한다.
16. 본문 중에 인용되는 References는 저자명과 연도별로 인용하며, 영문으로 표기함을 원칙으로 한다. 인용문헌의 기재 예는 다음과 같다.
 - 1) 인용되는 문헌은 해당부위에 영문 성(family name)으로 된 저자명과 연도를 괄호하여 표기한다. **저자가 1인 일 때는 저자의 성과 이름 약자를 모두 표시하고 저자가 2인 일 때는 두 저자의 성만을 표시하고, 3인 이상일 때는 제 1저자 성을 표기하고 ‘등’을 쓴다.** 동일저자의 같은 연도 발표논문인 경우에는 연도 뒤에 a, b, c로 표기한다.

예: 문장 처음에 오는 경우

Kim HJ(2005)는 ...
 Kim & Lee(2007)는 ...
 Kim 등(2008)은 ...
 Park(2007a)은 ...

문장 끝에 오는 경우

(Kim HJ 2005), (Kim & Lee 2007), (Kim 등 2008).

- 2) 본문 중에 인용문헌이 여럿일 경우에는 연도순으로 표기하고, 연도가 같은 경우에는 저자명의 알파벳 순으로 표기한다.

예: (Lee 등 2007; Kim HJ 2008; Park & Kim 2008)

17. 본 학회 학술지에 게재된 논문을 적극적으로 인용(2편 이상)할 것을 권장한다.
18. 저자의 이해상충(Conflict of interest)여부에 대해 기재해야 한다. [본조신설 2023. 11. 10.]

예: There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest. OOO(Author's name) has been an editor since 2023. However, he was not involved in the review process of this manuscript. Otherwise, there was no conflict of interest.

19. **References의 배열은 저자의 영문성의 알파벳 순으로 한다.** 인용문헌에서 게재 학회지의 약어는 국제 약어 기록 관례에 따른다. References의 기재 예는 다음과 같다.

1) 학술잡지

Kim KW, Ko CJ, Park HJ. 2002. Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films. *J Food Sci* 67:218-222

2) 단행본

Brock TD, Smith DW, Madigan MT. 1984. *Biology of Microorganisms*. pp.100-105. Prentice-Hall. Inc.
 AOAC. 1980. *The Association Official Methods of Analysis*. 13th ed. pp.3508-3515

3) Bulletin, 학위논문

Hur YH, Lee SG, Suh JS. 1987. Studies on the change in components of γ -irradiated soybean during fermentation. *Ann Bull Seoul Health Junior College* 7:7-14
 Ciacco CF. 1983. A study on mineral contents in processed foods. Ph.D. Thesis, North Dakota State Univ. Fargo. North Dakota

4) 특허

Bernard S. 1988. Preproofed, frozen and refrigeration and crusty bread and method of making same. US Patent 4,788,067

5) 학회에서 구두 발표된 원고

Huhtanen CN. 1988. Preparation of cold water dispersible cocoa powder. Abstract 21, 42nd Ann Meeting Inst Food Technol Atlanta

6) 인터넷 규정

Korean National Statistical Office. 2007. The statistics of mortality and the cause. Available from <http://www.kostat.go.kr> [cited 20 January 2014]

- 20. 논문 약호는 Chemical Abstracts에 준한다. 학술용어는 가능한 한 한글로 표기한다.
- 21. 수량은 아라비아 숫자로, 단위는 가능한 국제단위(SI unit)로 표기한다. 단위와 술어의 약자는 본 학회가

- 권장하는 방법을 따르되 기타 부득이한 경우에는 본문에 처음 나올 때 설명하여야 한다.
- 22. 교정은 초교에 한하여 저자가 교정하는 것을 원칙으로 하며, 교정 중 내용을 바꾸거나 추가할 수 없다. 단, 논문편집상 필요하다고 인정되는 사항은 편집이사가 이를 교정할 수 있다. 본 학회지에 게재된 논문의 저작권은 본 학회에 귀속된다.
- 23. 투고자는 소정의 게재료를 납부하여야 한다. 또한 칼라사진으로 인쇄할 경우나 별책을 원할 경우에는 투고자가 실비를 부담한다.
- 24. 한 호에 게재되는 논문은 주저자 1명 당 2편으로 제한하며 해당 월의 20일까지 편집완료 된 30편 이내의 논문을 게재한다.
- 25. 본 규정에 명시되지 않은 사항은 편집위원회에서 결정한다.

| 단 위 | 표기방법 | 단 위 | 표기방법 |
|-------------------|----------|---------------------|-------------|
| micrometer | 2 μm | part per million | 20 ppm |
| millimeter | 4 mm | molarity | 0.1 M |
| centimeter | 6 cm | normality | 0.05 N |
| meter | 2 m | | 0.01 N HCl |
| milligram | 2 mg | temperature | 60°C |
| gram | 4 g | | 180°F |
| kilogram | 6 kg | absolute degree | 270K |
| milliliter | 2 mL | mega pascal | 25 MPa |
| liter | 4 L | kilocalorie | 2,000 kcal |
| second | 2 s | gravity | 10,000×g |
| minute | 4 min | | |
| hour | 6 h | 약 어 | |
| milliliter/minute | 2 mL/min | optical density | O.D. |
| meter/second | 4 m/s | dextrose equivalent | D.E. |
| percent | 20% | 범 위 | |
| %(weight/volume) | 20%(w/v) | | 1.0~2.0 mg |
| milligram percent | 100 mg% | | |
| pH | pH 7.0 | 수 식 | (a+b)/(c+d) |

※ 학회지 투고규정이 2023년 11월 10일자로 일부 변경되었습니다.
36권 6호 이후의 논문 투고 시 참고하시기 바랍니다.

Guidelines for Submitting Manuscripts

| | |
|-----------------------|-----------------------|
| Amended on 05/07/1988 | Amended on 10/12/1990 |
| Amended on 16/08/1996 | Amended on 18/12/1998 |
| Amended on 08/08/2002 | Amended on 08/03/2003 |
| Amended on 26/03/2004 | Amended on 25/03/2006 |
| Amended on 25/03/2009 | Amended on 14/08/2010 |
| Amended on 22/06/2012 | Amended on 20/06/2013 |
| Amended on 28/09/2013 | Amended on 20/06/2014 |
| Amended on 17/12/2015 | Amended on 16/06/2016 |
| | Amended on 10/11/2023 |

1. The Journal of the Korean Society of Food and Nutrition publishes research papers, research notes, research updates, and review articles related to food and nutrition. However, the publication of review articles is limited to those appointed by the society or those approved by the editorial board.
2. In principle, the first author and corresponding author among paper contributors shall be limited to only members of the Society excluding invited research papers.
3. Submitted manuscripts should not have been published before in any other journals.
4. The author should submit the manuscript electronically via online submission at the Society's website (<http://ksfn.kr>).
5. For information of Manuscript submission please contact the editor.
E-mail: foodnutr1@naver.com
6. Research paper review, selection, publishing order, printing order shall comply with review and publishing regulations. The receipt date of manuscript shall be the arrival date of manuscript by online submission to the Society.
7. The corresponding author must be a member of the Korean Society of Food and Nutrition, and the publication of papers by non-members is subject to the resolution of the editorial board.
Online submission is the primary method. Authors

should complete the Submission Form and submit the paper along with the Research Ethics Pledge and the Authors' Agreement of Ethics Policy & Copyright Transfer. For research involving human subjects and animal experiments, a copy of the approval from the Institutional Review Board (IRB) and the Animal Research Ethics Committee (only the first page with the approval number) should be attached to the back of the Authors' Agreement of Ethics Policy & Copyright Transfer.

The review articles and invited papers, excluding systematic review and meta-analysis, will be published only when commissioned by the editorial board. Manuscripts submitted through commission undergo the same review process as regular submissions.

The evaluation, acceptance, and order of publication of papers follow the editorial regulations and review rules. The paper undergoes a three-stage review process to determine its publication status, as outlined below.

Stage 1: The editorial director reviews the paper briefly and determines the preliminary assessment.

Stage 2: Two reviewers designated by the editorial director conduct a detailed examination.

Stage 3: If the final decision is not reached in the second stage, one additional reviewer is appointed to conduct further evaluation.

- The principle is to keep the reviewers' identities confidential, and the detailed review procedures follow the regulations outlined in the journal's review guidelines.

8. The language in the manuscript should be Korean or English in A4-size paper setting, typed using a computer with font size of 10~12 points and the line spacing should be set at 200%.
9. The author should provide the title in Korean and English, the author's (or authors') name(s), and affiliation on the first page of the manuscript. The running title should be provided at the upper part of the title page. If the number of authors is two or more, †mark should be indicated in front of corresponding author. If affiliations of authors are different, superscriptions of *, **, *** should be put at the end of authors name in order. The same marks should be put in front of respective affiliation. The corresponding authors should provide author's name in English, affiliation, affiliation address, telephone, fax, and e-mail. The authors' names in Korean should have “-” in between the name and the author's names in English should have “;” in between the name.
If an author is affiliated with two or more institutions, it is permissible to specify multiple affiliations.
All authors must register their affiliations and positions when registering with ORCID or a similar identifier. This information can be utilized as documentation for identity verification if needed in the future.
10. The English abstract should be provided in case of Korean manuscript on the second page of the manuscript. The abstract must not exceed more than 200 words in one paragraph and it should provide a general view of the manuscript by including the research objectives, methods, and results. At the bottom, include up to 5 keywords in English (all in lowercase).
11. The paper should follow the standard format with the following sections in order: Introduction, Materials and Methods (or Study Subjects and Methods), Results and Discussion, Summary and Conclusions, Conflict of Interest, Acknowledgments, and References. The text should be continuously connected without page breaks.
12. Research Notes are brief reports of limited scope that contribute new knowledge. The formatting is the same as the Research Articles. Research Notes are suggested not exceeding 2500 words. The tables and figures are limited up to 3 in any combination.
13. Titles and descriptions of tables and figures should be all provided in English. Titles should be provided in order of Table 1, Fig. 1, and etc. and in clear and precise manner so they could be understandable without referring to the text. The title of table should be given at the top of the table and the title of figure should be given at the bottom of the figure. Tables and figures should be stated as Table 1, Fig. 1 and etc. when they are quoted from the text body.
14. Footnotes should be expressed as Arabic numerals of 1), 2), 3) at the bottom of tables, and no sign should be used. Moreover, *, ** marks must be used to present significance probability of $p < 0.05$ or $p < 0.01$ in statistical analysis. In multiple range test, alphabets of a, b, c, d, and etc. should be used and the explanations should be stated at the bottom.
15. All of the tables and figures may be presented in the middle of the text body or on separate sheets of paper to be attached at the end of the manuscript in order. The exact locations of tables and figures should be properly stated in the text. Pictures must be neatly produced by photography or a computer to be directly used as original images.
16. All sources cited in the text must provide author's name alphabetically and the year, and, in principle, all references must be provided in English. The examples of cited references are as follows:
 - 1) Cited references should be presented as surname in English and the year in parentheses at the corresponding part. For the citation of a **single author**, his/ her **initial(s) and surname** should be provided. For the citation of **two authors**, only **surnames**

should be provided. For one work by **more than three authors**, citation should include only **the surname of the first author** followed by “**et al.**” For two or more works by the same author by year of publication, the signs such as a, b and c should be provided followed by the year.

e.g. **Citation in the beginning of a sentence**

Kim HJ (2005) is ...

Kim & Lee (2007) is ...

Kim et al. (2008) is ...

Park (2007a) is ...

Citation in the end of a sentence

(Kim HJ 2005), (Kim & Lee 2007), (Kim et al. 2008).

- 2) For several citations in the text, the cited sources should be presented in chronological order or in alphabetical order of authors, in case of the same year.
e.g. (Lee et al. 2007; Kim HJ 2008; Park & Kim 2008)
17. KSFAN actively recommends to cite articles (2 or more) published in the journal of the Society.
18. The author must disclose any conflicts of interest. [Added to the regulation on November 10, 2023.]
Example: There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.OOO(Author's name) has been an editor since 2023. However, he was not involved in the review process of this manuscript. Otherwise, there was no conflict of interest.
19. **The arrangement of references shall be put in alphabetical order of author's last name.** Abbreviation of journal in cited references shall comply with international standards for abbreviation. The examples of cited references are as follows:

1) Academic Journal

Kim KW, Ko CJ, Park HJ. 2002. Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films. *J Food Sci* 67:218-222

2) Edited Books

Brock TD, Smith DW, Madigan MT. 1984. Biology of Microorganisms. pp.100-105. Prentice-Hall. Inc.

AOAC. 1980. The Association Official Methods of Analysis. 13th ed. pp.3508-3515.

3) Bulletin, Dissertations

Hur YH, Lee SG, Suh JS. 1987. Studies on the change in components of γ -irradiated soybean during fermentation. *Ann Bull Seoul Health Junior College* 7:7-14.

Ciaccio CF. 1983. A study on mineral contents in processed foods. Ph.D. Thesis, North Dakota State Univ. Fargo. North Dakota

4) Patents

Bernard S. 1988. Preproofed, frozen and refrigeration and crusty bread and method of making same. US Patent 4,788,067

5) Oral Presentation of Manuscript at Symposia

Huhtanen CN. 1988. Preparation of cold water dispersable cocoa powder. Abstract 21, 42nd *Ann Meeting Inst Food Technol* Atlanta

6) Internet Source

Korean National Statistical Office. 2007. The statistics of mortality and the cause. Available from <http://www.kostat.go.kr> [cited 20 January 2014]

20. Article abbreviations should be presented in accordance with Chemical Abstracts. Academic terms, if possible, should be provided in Korean.
21. The quantity always should be express in Arabic numerals and units should be express, if possible, in accordance to the International System of Units (SI). Units and abbreviations of predicate terms shall abide by recommendation provided by the Society. However, in case where there is any unavoidable reason, such exceptions must be clearly explained in the beginning of the text.
22. In principle, revision is accepted during the

proofreading made by only the authors of the manuscript. No changes or insertions shall be made in the contents during the revision. Provided, That matters, in case of deemed necessary, may be revised by an editor. The copyright of all published articles in the journal of KFN shall devolve on the Society.

23. The submitter must pay the specified publication fees. Additionally, if color photographs are to be printed or if separate attachments are requested, the

submitter bears the associated expenses.

24. The number of papers published in one issue is limited to 2 per lead author, and up to 30 papers that have been editorially completed by the 20th of the month are published in the corresponding month.
25. Any matters not explicitly stated in these regulations shall be determined by the Publishing Committee.

※ The submission regulations for the journal have been partially revised as of **November 10, 2023**. Please refer to the updated guidelines when submitting papers for **Volume 36, Issue 6**, and subsequent issues.

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

Vol. 37, No. 1 February 2024

pISSN : 1225-4339

eISSN : 2287-4992

Homepage : <http://ksfn.kr>

Full-text : www.eksfan.or.kr

President

Mi-Ok Kim(Daegu-Health College)

Vice Presidents

Hye Sook Ryu(Sangji Univ.)

Jae Pil Roh(Shingu Univ.)

Ok-Sun Kim(Jangan Univ.)

Young-Ho Seo(Wonkwang Health Science Univ.)

Si Yeon Kang(Sanhaedeul)

Jong Hee Kim(Seoil Univ.)

Jong-Sook Kwon(Shingu Univ.)

Seung-Hee Hong(Shinhan Univ.)

Editor-in-Cheif

Youn-Ri Lee(Daejeon Health Institute of Technology)

Editors

Hojin Lee(Korea National University of Transportation)

Jean Kyung Paik(Eulji Univ.)

Soo-Youn Kwon(Shingu Univ.)

Manuscript editor

Seo Lin Yang

Secretary General

Jean Kyung Paik(Eulji Univ.)

Editorial Board

Ki Hyun Sim(Sookmyung Woman's Univ.)

Hoon Kim(Chung-Ang Univ.)

Young Mo Kim(Mokpo Science Univ.)

MI Sook Kim(Dankook Univ.)

Kyu-Ho Han(Obihiro Univ.)

Min Sun Moon(Erom Corporation)

Gi Dae Kim(Kyungnam Univ.)

Hae In Yong(Chungnam National Univ.)

Se Ho Lee(Junganatafla)

Min Jeong Kang(Yeonsung Univ.)

Gyu Sang Han(Honam Univ.)

Mee Young Joe(PaiChai Univ.)

Hyun Jung Kim(Jeju National Univ.)

Aims & Scope

The Korean Journal of Food and Nutrition (Korean J. Food Nutr.) is the official journal published quarterly in February, April, June, August, October and December each year. Contributions written in English and Korean are welcomed in the form of review articles, research papers, and research notes. This journal aims to promote and encourage the advancement of the field of food science with nutrition. Topics covered include:

- impact of nutritional science on food product development
- nutritional implications of food processing
- nutritional quality of novel foods
- food-nutrient interactions
- use of fermentation and biotechnology in food science/nutrition
- nutritional and physiological aspects of bioactive compounds in food
- dietary requirements and nutritive value of food

ISO abbreviation of journal title

The official title of the journal is 'The Korean Journal of Food and Nutrition' and the abbreviated title is 'Korean J. Food Nutr.'

Year of launching (history)

The Korean Journal of Food and Nutrition was launched in 1988.

Availability of the full-text in the web

The URL address of the Journal is 'www.eksfan.or.kr' where full text is available.

Indexed in database

Some, or all, of the articles in this journal are indexed in Ksfan, DOI/crossref, Google scholar, the National Research Foundation of Korea(NRF) and Korea Citation Index (KCI).

Fund support

This journal was supported by the Korean Federation of Science and Technology Societies (KOFST) Grant funded by the Korean Government.

Subscription information

Correspondence concerning business matters should be addressed to Secretary Treasurer Hyun Sun Lee, Department of Food and Nutrition, Bucheon Univ. 25, Sinheung-ro 59beon-gil, Bucheon-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea.(Cell: 82-10-8786-3449, E-mail: lksj1234@nate.com) The subscription price of this journal is Korean Won, ₩40,000 (US\$ 30.00 or equivalent) annually. Back issues are available.

Contact information

Manuscripts should be submitted via the online Manuscript Central website (<http://ksfn.kr>) Other correspondences can be sent by an e-mail to foodnutr1@naver.com (Editor, Hojin Lee, Major of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, 61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk, 27909 Korea, Cell: +82-10-4907-3711) The manuscript and other required documents including a completed Copyright Assignment Form and Checklist for original article should be emailed as attachments to the above e-mail address.

Publication fee

A page charge is effective for all manuscripts on original research. A review is exempt from page charges, provided it is approved in advance by the Editor-in-Chief. The actual charge per printed page will be notified to the author along with the manuscript for galley proofs.

Published by

The Korean Society of Food Science and Nutrition
Department of Food and Nutrition, Daegu Health College, 15 Yeongsong St., Buk-gu, Daegu, 41453 Korea
Tel: +82-53-320-1366, Fax: +82-53-320-1440 E-mail: ksfan88@hanmail.net

Editorial office of the Korean Journal of Food Science and Nutrition

Major of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, 61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk, 27909 Korea
Tel: +82-43-820-5338, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: hojin@ut.ac.kr

Printed by Guhmok Munhwansa

259-1, Euljiro3-ga, Jung-gu, Seoul, 04549, Korea
Phone: +82-2-2277-3324, Fax: +82-2-2277-3390, E-mail: guhmok@guhmok.com

Editor-in-Chief

Professor, Youn-Ri Lee
Department of Food and Nutrition, Daejeon Health Institute of Technology College, 21 Chungjeong St., Dong-gu, Daejeon, 34504 Korea
Cell: +82-10-4400-7863, E-mail: leeyounri@hit.ac.kr

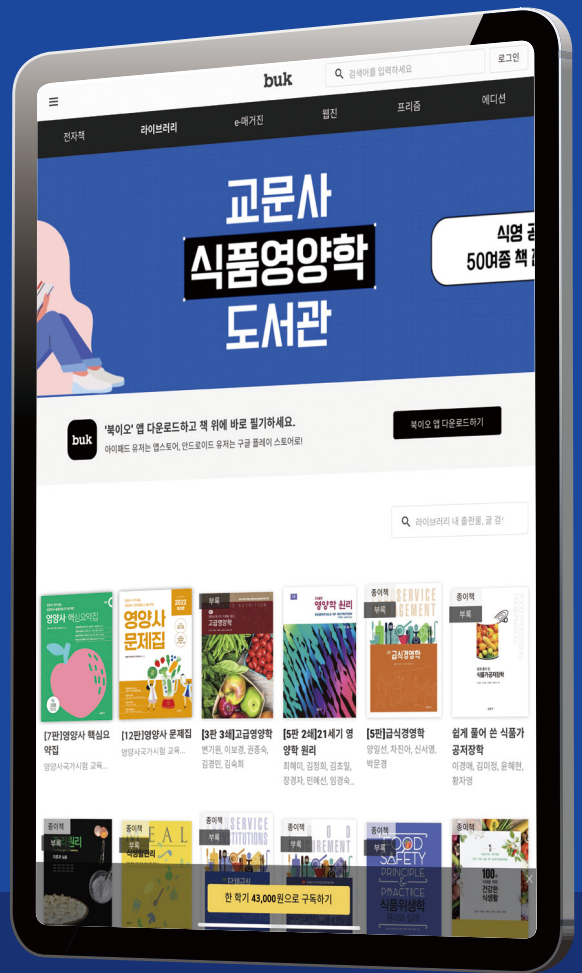
It is printed on acid-free paper.

Copyright ©2024 by The Korean Society of Food and Nutrition

This work was supported by the Korean Federation of Science and Technology Societies(KOFST) grant funded by the Korean government.

교문사 식품영양학 E-Book (50여 종) 구독서비스 실시

최신 영양사 문제집, 영양사 요약집 포함 (계속 업데이트 중)



무거운
도서는
이제 그만!

태블릿
하나로
해결!

더 편하고
더 가볍게
공부하세요!

6개월
43,000원
구독료

학습 효율성은 높여주고! 교재는 가볍게!

식품영양학 강의에 필요한 교재를 태블릿과 모바일을 통해 E-Book으로 만날 수 있습니다.

구독서비스란?

일정 금액으로 정해진 기간동안 교문사에서 출간된 식품영양학 모든 교재를 E-Book으로 열람할 수 있는 구독형 라이브러리 서비스

정용섭 부장 010.4216.9636 subi@gyomoon.com

진경민 차장 010.7130.1350 jinkm@gyomoon.com

서울 및 수도권, 충남, 충북, 대전, 경남, 부산, 전북

서울 및 수도권, 대구, 경북, 강원도, 광주, 전남, 제주



(10881) 경기도 파주시 문발로 116 | TEL 031)955-6111~4 | FAX 031)955-0955
Homepage www.gyomoon.com | E-mail genie@gyomoon.com

한국식품영양관련학과 추천도서 문운당

영양사 시험문제집

개정 제29판 | 2도 인쇄 | 값 43,000원(출간 예정)



문운당 위생사 실기

제11판 | 4도 인쇄 | 값 31,000원(출간 예정)



영양사 요약정리

개정 제25판 | 2도 인쇄 | 값 43,000원(출간 예정)

문운당 위생사 필기

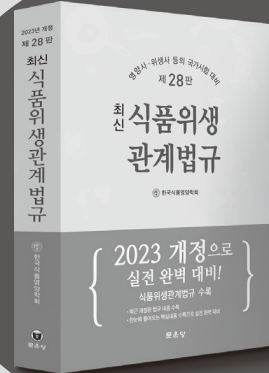
제11판 | 2도 인쇄 | 값 43,000원(출간 예정)

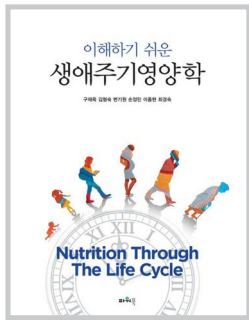
제3판 식품학

2도 인쇄 | 값 24,000원
강의용 보조자료(PPT) 제공

최신 식품위생관계법규

개정 제29판 | 32,000원(출간 예정)





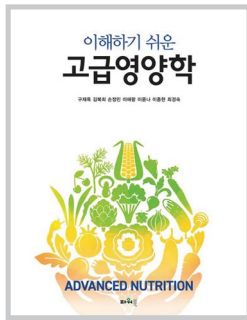
이해하기 쉬운
생애주기영양학

Nutrition Through
The Life Cycle

이해하기 쉬운
생애주기영양학

구재욱 · 김형숙 · 변기원
손정민 · 이종현 · 최경숙

396쪽 | 값 25,000원
978-89-8160-474-5 (93590)



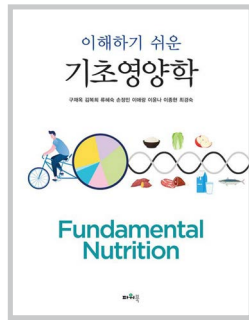
이해하기 쉬운
고급영양학



이해하기 쉬운
고급영양학

구재욱 · 김복희 · 손정민 · 이애랑
이유나 · 이종현 · 최경숙

456쪽 | 값 26,000원
978-89-8160-477-6 (93590)



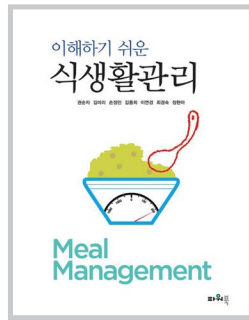
이해하기 쉬운
기초영양학



이해하기 쉬운
기초영양학

구재욱 · 김복희 · 류혜숙 · 손정민
이애랑 · 이유나 · 이종현 · 최경숙

304쪽 | 값 23,000원
978-89-8160-475-2 (93590)



이해하기 쉬운
식생활관리



이해하기 쉬운
식생활관리

권순자 · 김미리 · 손정민 · 김중희
이연경 · 최경숙 · 정현아

324쪽 | 값 23,000원
978-89-8160-483-7 (93590)



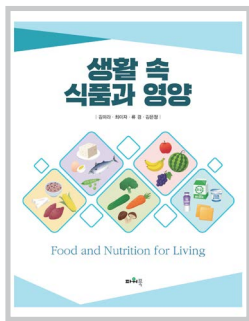
개정판



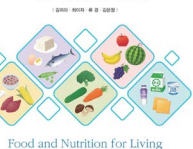
식사요법 및 실습

김미현 · 배운정 · 성미경 · 연지영
이지선 · 임희숙 · 조혜경 · 최미경

500쪽 | 값 27,000원
978-89-8160-480-6 (93590)



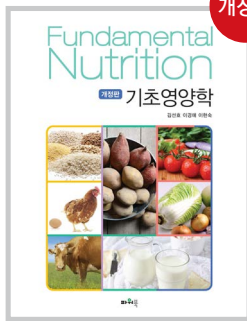
생활 속
식품과 영양



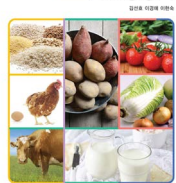
생활 속 식품과 영양

김미라 · 최미자 · 류경 · 김은정

300쪽 | 값 22,000원
978-89-8160-479-0 (93590)



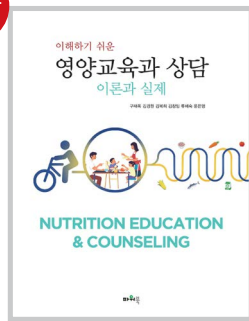
Fundamental
Nutrition



기초영양학

김선호 · 이경애 · 이현숙

376쪽 | 값 24,000원
978-89-8160-471-4 (93590)



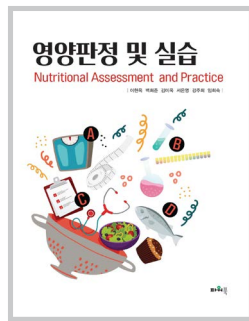
이해하기 쉬운
영양교육과 상담
이론과 실제



이해하기 쉬운 영양교육과 상담
-이론과 실제-

구재욱 · 김경원 · 김복희
김창임 · 류혜숙 · 윤은영

424쪽 | 값 25,000원
978-89-8160-476-9 (93590)



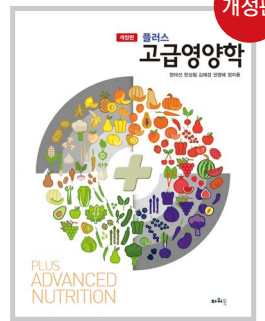
영양판정 및 실습
Nutritional Assessment and Practice



영양판정 및 실습

이현옥 · 백희준 · 김미옥
서은영 · 강주희 · 임희숙

368쪽 | 값 24,000원
978-89-8160-482-0 (93590)



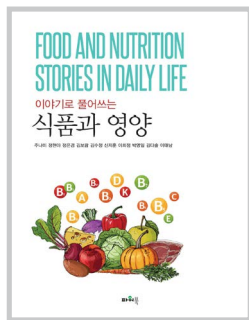
플러스
고급영양학



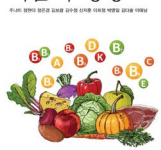
플러스 고급영양학

현대선 · 한성림 · 김혜경
권영혜 · 정자용

576쪽 | 값 29,000원
978-89-8160-488-2 (93590)



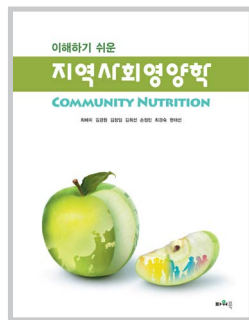
FOOD AND NUTRITION
STORIES IN DAILY LIFE



이야기로 풀어쓰는
식품과 영양

주나미 · 정현아 · 정은경 · 김보람
김수정 · 신지훈 · 이희정 · 박영일
김다솔 · 이태남

304쪽 | 값 22,000원
978-89-8160-478-3 (93590)



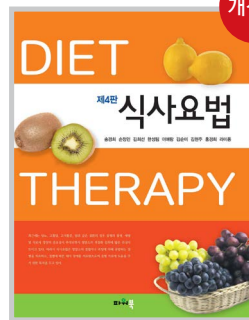
이해하기 쉬운
지역사회영양학
COMMUNITY NUTRITION



이해하기 쉬운
지역사회영양학

최혜미 · 김경원 · 김창임 · 김희선
손정민 · 최경숙 · 현대선

352쪽 | 값 24,000원
978-89-8160-485-1 (93590)



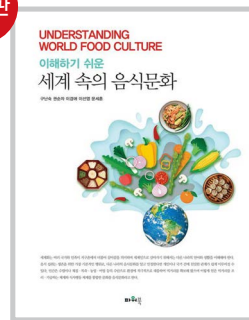
DIET
제4판
식사요법
THERAPY



제4판 식사요법

송경희 · 손정민 · 김희선
한성림 · 이애랑 · 김순미
김현주 · 홍경희 · 라미용

448쪽 | 값 26,000원
978-89-8160-484-4 (93590)



UNDERSTANDING
WORLD FOOD CULTURE

이해하기 쉬운
세계 속의 음식문화



이해하기 쉬운
세계 속의 음식문화

구난숙 · 권순자 · 이경애
이선영 · 문세훈

360쪽 | 값 23,000원
978-89-8160-494-3 (93590)

2024년도 한국식품영양학회 평의원

- | | | |
|---|---|--|
| 강선문(농촌진흥청) 권수연(신구대학교) 권순형(한양여자대학교) 권중숙(신구대학교) 금중화(대전보건대학교) 김건희(덕성여자대학교) 김경민(배화여자대학교) 김광옥 김동희 김명숙(서해대학교) 김미옥(대구보건대학교) 김미자(강원대학교) 김미지(대구보건대학교) 김미현(경일대학교) 김범식(연성대학교) 김병숙(전북과학대학교) 김숙희(혜전대학교) 김순미(가천대학교) 김애정(경기대학교) 김영모(목포과학대학교) 김영성(신한대학교) 김영순(고려대학교) 김옥선(장안대학교) 김정미(대구과학대학교) 김종현(마산대학교) 김종희(서일대학교) 김중배(상지영서대학교) 김지명(신한대학교) 김창입(대전과학기술대학교) 김현정(제주대학교) 김현주(대전보건대학교) 남정혜(경민대학교) 남진식(수원여자대학교) 류혜숙(상지대학교) 문영자 문숙희(경남정보대학교) 박경숙(장안대학교) 박금미(신구대학교) 박영심(신한대학교) 박우포(마산대학교) 박현국(동남보건대학교) 박혜영(농촌진흥청) 박희옥(가천대학교) | 배운정(한국교통대학교) 백승희(신구대학교) 백재은(부천대학교) 백진경(을지대학교) 변기원 변진원 서현창(신구대학교) 손규목 손춘영(동남보건대학교) 송태희(배화여자대학교) 송희순(광주보건대학교) 신경옥(삼육대학교) 신동선(농촌진흥청) 신서영(서일대학교) 신성균(한양여자대학교) 심기현(숙명여자대학교) 심창환(경민대학교) 양성범(단국대학교) 연지영(서원대학교) 오성천(대원대학교) 오세인(서일대학교) 오왕규(동원대학교) 오윤신(을지대학교) 유경혜(대전보건대학교) 윤옥현(김천대학교) 윤지영(숙명여자대학교) 윤택준(유한대학교) 이경행(한국교통대학교) 이광수 이미경(광주보건대학교) 이별나(대구공업대학교) 이보숙 이상현(장안대학교) 이석원(유한대학교) 이성호(계명문화대학교) 이세호((주)중앙타프라) 이수정(부천대학교) 이애랑 이연리(대전보건대학교) 이옥환(강원대학교) 이용권(유한대학교) 이재우(김천대학교) 이재학(서일대학교) | 이정실(경동대학교) 이종현(동남보건대학교) 이주희(경상대학교) 이찬(한서대학교) 이호진(한국교통대학교) 이현옥(연성대학교) 이현주(목포과학대학교) 장상문(대구보건대학교) 장재선(가천대학교) 전순실 정민재(신구대학교) 정사무엘(충남대학교) 정수영(제주한의학연구원) 정하숙(덕성여자대학교) 정혜연(승의여자대학교) 정혜영(가천대학교) 정희선(숙명여자대학교) 조갑연(우송정보대학교) 조우균(가천대학교) 주나미(숙명여자대학교) 차윤환 최경순 최남순(배화여자대학교) 최병범(신한대학교) 최승균(승의여자대학교) 최은영(부천대학교) 최정화(승의여자대학교) 최향숙(경인여자대학교) 최현숙(충청대학교) 최희숙(신안산대학교) 하애화 한규상(호남대학교) 한규호(Obihiro Univ.) 허성미(안동과학대학교) 허채옥 홍승희(신한대학교) 황금희(동강대학교) 황병순(농촌진흥청) 황성연(한경대학교) 황인국(농촌진흥청) 황자영(동남보건대학교) 황혜정 |
|---|---|--|

한국식품영양학회지 제37권 제1호

The Korean Journal of Food and Nutrition
Vol. 37. No. 1. February 2024

발행인 김미옥
편집인 이호진
발행처 한국식품영양학회
 (우) 41453
 대구광역시 북구 영송로 15(태전동)
 대구보건대학교 미래관 501
 Tel: 053-320-1366/ Fax: 053-320-4572
 E-mail: ksfan88@hanmail.net
발행일 2024. 02. 28.
인쇄 거목문화사/거목인포
 Tel: 02-2277-3324
 Fax: 02-2277-3390
 E-mail: guhmok@guhmok.com

Publisher Mi Ok Kim
Editor Hojin Lee
Published by The Korean Society of Food and Nutrition
 Tel: +82-53-320-1366 / Fax: +82-53-320-4572
 E-mail: ksfan88@hanmail.net
Printed Date 2024. 02. 28.
Printed by Guhmok Publishing/Guhmok Info
 Tel: +82-2-2277-3324
 Fax: +82-2-2277-3390
 E-mail: guhmok@guhmok.com

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION

제37권 제1호 2024. 2



한국식품영양학회

THE KOREAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION
<http://ksfn.kr>