

## 조리조건에 따른 은행알의 4'-O-methylpyridoxine (ginkgotoxin) 함량 및 항산화 활성 변화

홍서정 · 장진아 · 황현정 · 조미숙\*  
이화여자대학교 식품영양학과

### Changes in 4'-O-methylpyridoxine (ginkgotoxin) and antioxidant activity in ginkgo biloba seeds in different cooking conditions

Seo Jung Hong, Jin A Jang, Hyun Jung Hwang, and Mi Sook Cho\*

Department of Nutritional Science & Food Management, Ewha Womans University

**Abstract** The purpose of this study was to examine the best cooking condition to decrease 4'-O-methylpyridoxine (MPN, ginkgotoxin) and increase the antioxidative effect. We also examined the change in color of ginkgo biloba seeds after different cooking methods and times. MPN content was decreased with an increase in the cooking time. For the reduction of MPN content, the most efficient cooking method was pan-frying. In particular, MPN content was largely reduced after 8 min of pan-frying. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity and total flavonoid content were increased after 11 min of pan-frying and this level was maintained until 14 min. The total phenolic compound content was maintained for up to 30 min by steaming and 11 min by pan-frying. Therefore, the optimum condition was established by pan-frying from 8 to 11 min.

**Keywords:** ginkgo biloba seeds, ginkgotoxin, 4'-O-methylpyridoxine, antioxidant activity

## 서 론

은행나무(*Ginkgo biloba* L.)는 은행나무과(Ginkgoaceae)에 속하는 단 하나의 식물이며, 한국, 일본 및 중국 등 주로 아시아에서 자라는 식물이다(1). 은행나무의 열매인 은행은 오래 전부터 다양한 요리에 이용되었는데, 찹쌀가루와 섞어 은행단자 등과 같은 떡류에 이용되어 왔으며, 고급요리나 전통음식의 고명으로도 이용되어 왔다(2). 요리의 재료로 이용되는 것 외에도, 수 천 년 동안 중국에서는 은행을 기관지 관련 질환의 치료제로 사용해왔으며, 열매 뿐만 아니라 그 잎과 뿌리까지 한방과 민간요법에서 기침, 야뇨증 등 여러 질환에 대한 약물 및 치료제로 쓰여 왔다(3). 또한 항산화성을 가지고 있어 은행의 항산화 효과에 관련된 연구도 진행되어왔다(4,5).

한편, 은행에는 중독을 일으키고 독성 작용을 하는 시안배당체(cyanogenic glucosides)와 vitamin B6 유도체인 4'-O-methylpyridoxine (MPN, ginkgotoxin)이 함유되어있다(6). 시안배당체는 효소에 의해 분해되어 시안화수소를 생성하여 청색증 등을 유발하지만, 가열하면 효소가 불활성화 되어 독성이 생성되지 못하며, MPN은 열에 비교적 안정하여 조리를 하여도 불활성화 되지 않

는다고 알려져 있다(7). MPN은 과다 섭취 시 체내에서 vitamin B6와 서로 경쟁 작용을 하여 glutamate decarboxylase 조효소의 작용을 억제시키고, gamma-aminobutyric acid (GABA)의 합성을 감소시켜 결국 경련을 초래하며(6), 이에 따라 각성성 또는 간대성 발작, 구토, 그리고 의식 소실 등의 증상이 나타난다고 알려져 있다(8,9). 이와 같은 이유로 식품의약품안전처에서는 은행을 어른은 하루 10알 미만, 어린이는 2-3알 이내로 섭취량을 제한하고 있다. 이러한 제한된 섭취 때문에 은행은 생산량에 비해 소비가 잘 이뤄지지 않고 있는데, 우리나라의 은행 총 생산량은 2010년 기준 3,600톤으로 그 생산량은 많지만 국내 은행 사용량은 총 생산량의 20% 정도이며, 나머지 80%는 가공되지 않은 상태로 대부분 일본으로 수출되고 있는 실정이다(10).

이렇듯 은행 섭취의 안전성과 부작용이 문제시 되고 있으며 섭취량이 제한되어 있지만, 은행의 독성에 관한 연구는 국내에서는 거의 없으며, 은행에 대한 연구는 주로 은행잎에 한정되어 있다. 은행에 대한 국내 선행 연구로는 은행 종실 및 잎 추출물의 항산화 효과에 대한 연구(4), 내피 제거 은행 연구(2), 은행 분말을 첨가한 죽 및 떡에 관한 연구(11), 은행 분말을 첨가한 청포묵에 관한 연구(5) 등이 진행되었다.

또한 은행은 일반적으로 날 것을 그대로 섭취하기보다는 삶거나 찌고 볶는 등의 형태로 섭취되는 경우가 대부분이다. 서로 다른 조리 방법과 조리 시간은 은행의 독성 함량 및 항산화 기능성에 영향을 줄 수 있기 때문에(12) 각기 다른 조리과정을 거치면서 은행에 함유된 독성 함량 및 항산화 기능성의 변화 양상을 알아보는 것은 매우 의미 있는 연구가 될 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 가정에서 은행을 주로 섭취하는 방법인 삶기, 찌기, 볶기 3가지의 조리법과 각 조리법 별 5가지 조

\*Corresponding author: Mi Sook Cho, Department of Nutritional Science & Food Management, Ewha Womans University, Seoul 03760, Korea  
Tel: +82-2-3277-4427  
Fax: +82-2-3277-2862  
E-mail: misocho@ewha.ac.kr  
Received May 4, 2017; revised July 9, 2017;  
accepted August 12, 2017

리시간을 설정하여 조리조건에 따른 은행의 색 변화, 독성 함량 및 항산화성의 변화를 비교 분석하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 은행은 재래종으로 2014년 11월에 충남 예산에서 수확한 것으로 영농조합에서 내피가 제거된 냉동 상태로 일괄 구입하였다. 구입한 은행은 냉동상태(-20°C)로 보관하면서 실험 당일 필요한 만큼만 실온에 꺼내어 1시간 해동 후 실험에 사용하였다. Ginkgotoxin standard (supplied as chloride salt)는 PhytoLab (St. Dutendorfer, Germany), β-glucosidase, quercetin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), tannic acid는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Acetonitrile (HPLC grade)은 J.T Baker (St. Broad, NJ, USA)에서, methanol (HPLC grade)은 Tedia (St. Tedia Way, Fairfield, CA, USA)에서, phosphoric acid (CAS(7664-38-2))는 Daejung (Gyeonggi, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

#### 시료의 제조

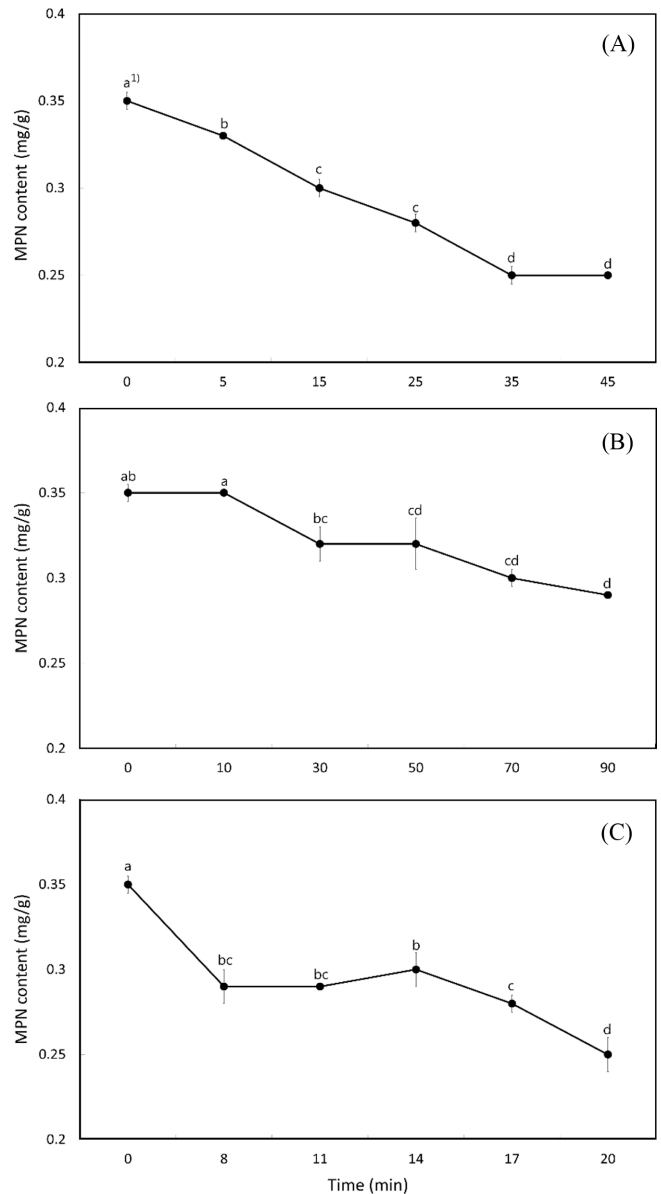
은행은 내피가 제거된 상태로 삶기, 찌기, 볶기의 3가지 방법으로 조리하였다. 각 조리방법에 따른 조리 시간의 설정은 수 차례 예비실험을 통한 결과를 바탕으로, 관능적으로 섭취 가능한 범위 내에서 조리방법 별 5가지 시간 조건으로 설정하였다(Table 1). 삶기는 은행 무게의 5배에 해당하는 물을 냄비에 붓고 물이 끓기 시작하면 은행을 넣어 각 5분, 15분, 25분, 35분, 45분간 삶은 후 은행을 체로 건져 물기를 제거하였다. 찌기는 찜 받침기를 넣은 냄비에 물을 붓고 물이 끓기 시작하면 은행을 넣어 10분, 30분, 50분, 70분, 90분간 찌 후 은행을 체로 건져 물기를 제거하였다. 볶기는 기름을 두르지 않은 프라이팬을 이용하여 적외선 방사온도계(SK-8900, SATO, Japan)로 계측하여 180°C에서 8분, 11분, 14분, 17분, 20분간 저어가며 볶았다(Fig. 1). 은행 조리 시에는 모두 핫플레이트(SHP-1500I, SHINIL, Chungnam, Korea)를 이용하였으며, 온도 확인은 적외선방사온도계(SATO, Japan)를 이용하여 5분 간격으로 확인하였다. 제조된 시료는 열기를 식힌 후 폴리에틸렌(LDPE) 지퍼백에 담아 밀봉하여 -20°C에서 냉동 보관하였다. 시료가 완전히 냉동된 후에 동결건조기(IIShinBioBase, Gwangju, Korea)를 이용하여 분쇄 후 실험에 사용하였다.

#### 추출물의 제조

추출물의 추출방법은 시료 20 g에 1 L의 증류수를 가수하여 충분히 혼합한 후 환류냉각 장치가 부착된 추출장치(DH.WHM12038, Heating Mantel, Wise Therm, Wertheim, Germany)로 80°C에서 4 시간 동안 추출하였으며, 이를 감압여과(Filter Papers No. 2, Whatman™, Buckinghamshire, UK)하고 회전증발 농축기(Rotavapor R-3, BUCHI, Flawil, Switzerland)로 농축한 뒤 완전히 분말화 하여 실험에 사용하였다.

**Table 1. Cooking conditions at different methods and times**

Method	Time (min)					Temperature (°C)
Boiling	5	15	25	35	45	100
Steaming	10	30	50	70	90	100
Pan-frying	8	11	14	17	20	200



**Fig 1. 4'-O-methylpyridoxine (MPN) content of ginkgo biloba seeds at different methods and times (A: Boiling, B: Steaming, C: Pan-frying).** <sup>11</sup>Values with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

#### 색도

색도는 색차색도계(Spectrophotometer CM-600D, Konica Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였으며, L값(lightness), a값(red-ness) 및 b값(yellowness)을 측정하였다.

#### 4'-O-methylpyridoxine (MPN) 함량 분석

은행의 독성성분인 4'-O-methylpyridoxine (MPN)의 함량 분석은 AOAC의 방법(13)을 본 연구에 맞게 변형하여 실험을 진행하였다. 본 실험에서는 0.1 M HCl 용매에 녹인 ginkgotoxin standard (1,000 ppm)를 농도별로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 동결건조 분말 1 g을 10 mL 물에 녹인 후 진탕배양기(Shaking Incubator, DAIHAN Scientific, Gangwon-do, Korea)에서 2시간 동안 추출하였다(37°C, 100 rpm). 추출한 시료를 원심분리(2500 rpm, 5 분)한 후에 1 mL를 취해 10 mg β-glucosidase 32 unit을 넣어

**Table 2. HPLC conditions for MPN analysis of ginkgo biloba seeds at different methods and times**

Instruments	Shimadzu HPLC system LC20-A		
column	Phenomenex, Gemini 5u C18 (5µm, 4.6×150 mm)		
	A (%)	B (%)	
Time	Water+pH 1.8 (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	A solvent/MeOH (1/1, v/v)	
Mobile phase	0	100	0
	15	15	85
	16	15	85
	17	100	0
	35	100	0
Flow rate	0.5 mL/min		
Temperature	30°C		
Detector	Fluorescence (295 nm/395 nm)		
Injection volume	10 µL		

ginkgotoxin glucoside가 가수분해 되도록 37°C에서 100 rpm으로 1시간 동안 진탕배양기로 추출한 후, 0.45 µm Syringe filter (MiniUniPrep, Whatman, Piscataway, NJ, USA)로 여과 후 시험용액으로 하여 HPLC (LC20-A, Shimadzu, Japan)로 분석하였다. Gemini 5u C18 column (4.6×150 mm, 5 µm, Phenomenex)을 사용하였고, column oven의 온도는 30°C, 이동상은 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (solvent A)와 MeOH (solvent B)를 이용하였고, 0.5 mL/min 유속으로 295 nm/395 nm 조건으로 분석하였다(Table 2).

### DPPH radical 소거능

시료의 DPPH radical 소거능은 Brand-Williams 등(14)의 방법을 변형하여 측정하였다. Methanol에 용해시킨 0.2 mM DPPH 100 µL에 시료 100 µL를 혼합하여 20분 동안 암소방치 한 후 분광광도계(SPECTRAMax 340 Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 소거능으로 나타냈다.

$$(\%) = [1 - (A1 - A2) / A0] \times 100$$

A0: Control의 흡광도

A1: Sample의 흡광도

A2: Blank(without sample)의 흡광도

### 총 페놀 화합물 함량

총 페놀 화합물 함량은 산화-환원 반응에 의한 색의 변화로 그 양을 측정하는 방법인 Folin-Denis법(15)을 변형하여 실시하였다. 먼저 Folin-Denis reagent 80 µL에 시료 40 µL를 혼합하여 실온에서 3분간 안정화 하였다. 이후 10% sodium carbonate 80 µL를 첨가한 뒤 실온에서 1시간 반응시킨 뒤 분광광도계를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 페놀 화합물의 함량은 tannic acid를 사용하여 작성된 검량 곡선으로부터 phenol 화합물을 정량하여 시료 1 g 중의 mg tannic acid equivalents (TA)g로 표시하였다.

### 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Davis법(16)을 변형하여 사용하였으며,

**Table 3. Color of ginkgo biloba seeds at different methods and times**

Method	Time (min)	Color		
		L*	a*	b*
Boiling	0	69.61±1.15 <sup>a1)</sup>	1.33±0.16 <sup>c</sup>	22.15±0.08 <sup>g</sup>
	5	60.75±0.40 <sup>e</sup>	2.06±0.19 <sup>c</sup>	18.17±1.21 <sup>b</sup>
	15	57.90±1.68 <sup>d</sup>	2.11±0.11 <sup>c</sup>	17.51±0.28 <sup>b</sup>
	25	62.70±0.73 <sup>c</sup>	2.48±0.20 <sup>b</sup>	17.43±0.54 <sup>b</sup>
	35	66.49±1.79 <sup>b</sup>	1.69±0.21 <sup>d</sup>	18.35±1.13 <sup>b</sup>
Steaming	45	58.19±0.27 <sup>d</sup>	2.87±0.04 <sup>a</sup>	15.82±0.66 <sup>c</sup>
	0	69.61±1.15 <sup>a</sup>	1.33±0.16 <sup>d</sup>	22.15±0.08 <sup>g</sup>
	10	58.66±2.67 <sup>b</sup>	2.84±0.11 <sup>bc</sup>	18.36±0.61 <sup>b</sup>
	30	58.24±1.35 <sup>b</sup>	2.69±0.18 <sup>c</sup>	16.23±0.19 <sup>ed</sup>
	50	52.95±0.75 <sup>b</sup>	3.02±0.03 <sup>b</sup>	12.88±1.18 <sup>e</sup>
Pan-frying	70	58.24±1.76 <sup>b</sup>	2.86±0.04 <sup>bc</sup>	15.19±0.71 <sup>d</sup>
	90	56.05±0.78 <sup>c</sup>	4.73±0.18 <sup>a</sup>	17.19±0.32 <sup>c</sup>
	0	69.61±1.15 <sup>a</sup>	1.33±0.16 <sup>c</sup>	22.15±0.08 <sup>g</sup>
	8	54.95±0.71 <sup>b</sup>	4.83±0.25 <sup>b</sup>	18.08±0.18 <sup>b</sup>
	11	53.91±1.01 <sup>b</sup>	4.41±0.47 <sup>b</sup>	16.11±0.60 <sup>f</sup>
Pan-frying	14	54.18±2.31 <sup>b</sup>	4.63±0.19 <sup>b</sup>	16.18±0.59 <sup>e</sup>
	17	49.78±0.59 <sup>c</sup>	4.43±0.18 <sup>b</sup>	13.04±0.26 <sup>d</sup>
	20	47.33±1.12 <sup>d</sup>	6.18±0.40 <sup>a</sup>	8.69±0.73 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup>Date was the mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

시료 20 µL에 80% ethanol 160 µL와 10% AlCl<sub>3</sub> 10 µL, 1 M potassium acetate 10 µL를 혼합하여 40분간 암소에서 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin을 사용하였으며, 작성된 검량 곡선으로부터 flavonoid 함량을 정량하고 시료 100 g 중의 mg quercetin equivalents (QE)/100 g으로 나타내었다.

### 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 SPSS program (Version 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었고, 각 처리군 간의 유의성에 대한 검증은 분산분석(ANOVA)을 이용하여 유의성을 확인한 후,  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple test를 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 색도

조리조건에 따른 색도 분석 결과는 Table 3와 같다. 명도를 나타내는 L값은 볶기에서 가장 뚜렷한 변화를 나타내었는데, 볶기의 경우 조리 시간이 가장 짧음에도 L값이 가장 크게 감소하였다. 이는 고온으로 인해 은행의 겉 표면이 갈색으로 변하였기 때문으로 사료된다. 적색도를 나타내는 a값은 조리 방법 별 다른 경향을 나타내었다. 삶기와 찌기는 조리 시간에 따라서는 뚜렷한 경향을 보이지 않았지만, 조리 전과 비교하여 모든 시간대에서 a값이 유의적으로 증가하였다. 볶기는 조리 전(1.33±0.16)과 비교하였을 때, 다른 조리 방법에 비해 a값이 큰 폭으로 증가하였으며 특히 20분(6.18±0.40) 조리 시 가장 크게 증가하였다. 이는 L값과 마찬가지로 고온으로 인해 은행의 표면이 갈색으로 변했기 때문인 것으로 사료된다. 황색도를 나타내는 b값은 조리 전

(22.15±0.08)과 비교하여 모든 조리 조건에서 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 볶기는 조리 시간이 길어질수록 b값이 유의적으로 감소하였으며, 특히 조리 20분(8.69±0.73)에 큰 폭으로 감소하였다. 은행의 노란색은 은행에 함유되어 있는 플라보노이드에 의한 것으로, 플라보노이드는 식물이 가진 중요한 색소 화합물이며 항암, 항 알레르기, 항염 및 항산화 작용을 하는 것으로 알려져 있다(17). 본 연구에서는 조리 시간이 길어짐에 따라 수용성의 플라보노이드가 용출되어 b값이 감소하는 것으로 사료된다. 특히 볶기의 경우 다른 조리 조건에 비해 고온으로 조리하였기 때문에 더 빠른 변화가 나타났으며, 이와 같은 결과를 바탕으로 고온으로 조리하는 볶기가 삶기 및 찌기에 비해 조리 시간 대비 은행의 외관 및 색의 변화가 큰 것으로 나타났으며 세 조리 방법 중 볶기의 방법이 가장 큰 영향을 미치는 조리 방법인 것으로 사료되었다.

**4'-O-methylpyridoxine (MPN) 함량**

조리조건에 따른 MPN 함량 분석 결과 모든 조리 방법에서 조리 시간이 증가할수록 MPN의 함량이 감소하는 것으로 나타났다 (Fig. 1). 삶기의 경우 5분(0.33±0.00 mg/g)부터 MPN 함량이 유의적으로 감소하기 시작하였으며, 15분(0.30±0.01 mg/g) 및 35분(0.25±0.01 mg/g)에도 함량이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 조리시간이 길어짐에 따라 MPN의 함량이 계속 감소하는 경향을 나타냈으나, 35분과 45분간의 MPN 함량에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 찌기의 경우, 조리 시간이 90분으로 가장 길었음에도 MPN의 감소가 상대적으로 가장 적게 나타났다. 10분 조리 시에는 조리 전 시료(0.35±0.01 mg/g)와 비교하여 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 30분(0.32±0.02 mg/g)부터 MPN 함량이 유의적으로 감소하기 시작했다. 찌기 또한 조리 시간이 길어질수록 MPN 함량이 낮아지는 경향을 보였으나 30분 이후부터는 큰 차이를 보이지 않았고, 90분(0.29±0.00 mg/g)이 되어서야 30분과 유의적인 차이가 나타났다. 볶기는 단시간 동안 MPN 함량의 가장 큰 감소율을 보였다. 8분에 MPN 함량이 0.29±0.02 mg/g으로 감소하여 가장 큰 폭으로 감소하였는데, 이는 90분 동안 찌기를 한 결과 값과 비슷한 수치였다. 또한 20분(0.25±0.02 mg/g) 일 때 가장 낮은 함량을 보였다. 종합적으로 모든 조리방법에서 조리 시간이 길어짐에 따라 MPN의 함량은 감소하는 경향을 보였으나, 조리시간을 고려하였을 때 볶기가 단시간에 MPN 함량의 감소가 가장 큰 것으로 나타났다. 특히 8분에 가장 큰 폭으로 감소하였기 때문에, 볶기 조리법 활용 시 짧은 시간 동안 조리를 하여도 독성 감소가 크게 나타나 은행 섭취에 따른 부작용의 위험을 감소시킬 수 있다고 사료된다. 반면, 시간 대비 MPN의 감소율이 가장 낮은 조리방법은 찌기인 것으로 나타났다.

**DPPH radical 소거능**

DPPH는 비교적 안정한 free radical로, ascorbic acid, tocopherol, 방향족 화합물 등 항산화 물질에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용하여 측정하는 것이며(18,19), DPPH 소거활성 분석은 천연 추출물의 항산화 활성을 효과적으로 측정할 수 있어 널리 이용되고 있다. 조리조건에 따른 은행의 DPPH 라디칼 소거능을 분석 결과는 Table 4와 같으며, 삶기의 경우 조리하지 않은 은행(46.23±0.08%)과 비교하였을 때 15분 까지 유의적인 변화를 나타내지 않았고 25분 이후부터 시간에 따라 유의적으로 감소하였다. 찌기의 경우 50분 까지 유의적인 변화를 나타내지 않았으며 70분에 다소 증가(47.84±0.05%)한 뒤 90분까지 유지되었다. 볶기의 경우 조리하지 않은 은행(46.23±0.08%)에 비해 8분

**Table 4. DPPH radical scavenging activity of ginkgo biloba seeds at different methods and times**

Method	Time (min)	DPPH radical scavenging activity (%)
Boiling	0	46.23±0.08 <sup>a1)</sup>
	5	46.05±0.15 <sup>a</sup>
	15	45.90±0.12 <sup>a</sup>
	25	41.48±0.05 <sup>b</sup>
	35	36.90±0.12 <sup>c</sup>
Steaming	45	31.44±0.07 <sup>d</sup>
	0	46.23±0.08 <sup>b</sup>
	10	46.19±0.11 <sup>b</sup>
	30	46.02±0.09 <sup>b</sup>
	50	45.98±0.10 <sup>b</sup>
	70	47.84±0.05 <sup>a</sup>
Pan-frying	90	47.91±0.08 <sup>a</sup>
	0	46.23±0.08 <sup>c</sup>
	8	52.08±0.14 <sup>a</sup>
	11	51.99±0.06 <sup>a</sup>
	14	48.55±0.07 <sup>b</sup>
	17	39.47±0.05 <sup>d</sup>
	20	37.28±0.04 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup>Date was the mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are significantly different (p<0.05).

(52.08±0.14%) 동안 볶은 시료가 증가된 활성을 나타냈으며, 11분까지 유의적으로 지속되었다가 14분 이후부터 다시 감소하였다. 이러한 연구결과는 과채류의 항산화 활성에 대한 열처리 효과 연구(20) 등에서도 보고되었는데 참외의 경우 110°C에서 140°C까지 18.63-84.52%로 열처리 온도가 증가할수록 항산화 활성 또한 증가하였지만 150°C에서는 71.09%로 오히려 감소하는 결과가 나타났다. 식물체를 열처리함으로써 결합형의 폴리페놀 성분이 항산화능을 가지는 유리형 형태로 전환되면서 활성이 증가한다는 연구가 다수 보고되고 있는데(21,22) 은행 또한 찌기와 볶기를 통해 유리형의 페놀화합물이 증가하거나 항산화 활성을 가지는 새로운 화합물이 생성되었을 것으로 사료된다. 이와 같이 항산화 활성이 증가되는 은행의 조리법과 조리 시간을 적용하여 은행 분말을 첨가한 청포묵(5), 은행 분말을 첨가한 죽 및 떡 등의 연구(11)와 같이 다양한 메뉴에서 기능성 식품 소재로 이용할 것으로 예상된다.

**총 페놀 화합물 함량**

페놀 화합물은 다양한 식물 종자에 널리 분포하고 있고(23), 생체 내 산화 생성물을 제거, 면역체계 자극 효과(24) 등 기능성을 가진 것으로 보고되고 있어 이를 활용한 천연 소재에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

조리조건에 따른 은행의 총 페놀 화합물 함량 분석 결과는 다음과 같으며(Table 5). 삶기와 찌기의 경우 조리 시간이 경과됨에 따라 그 함량이 감소되었다. 특히 25분 이상 삶았을 때 감소되는 폭이 큰 것이 특징인데 이와 같은 결과는 시간이 지남에 따라 페놀 화합물의 성분이 일부 물에 용출되어 빠져나간 것으로 사료된다. 이렇게 용출되는 천연물의 페놀 화합물의 수율을 높이기 위한 연구 또한 지속적으로 이루어지고 있는데, 열처리한 감초추출물의 항산화활성 연구(25)에 따르면 150°C, 3 hr, 가수분해 30% 조건의 고온고압처리장치에서 열처리 한 에탄올 추출물의

**Table 5. Total phenolics compound content and total flavonoid content of ginkgo biloba seeds at different methods and times**

Method	Time (min)	Total phenolic compound content (mg TA/g)	Total flavonoid content (mg QE/100g)
Boiling	0	2.18 ± 0.02 <sup>a1)</sup>	55.28 ± 0.04 <sup>a</sup>
	5	2.12 ± 0.04 <sup>b</sup>	55.04 ± 0.07 <sup>a</sup>
	15	2.07 ± 0.02 <sup>b</sup>	52.91 ± 0.03 <sup>b</sup>
	25	1.85 ± 0.04 <sup>c</sup>	49.72 ± 0.05 <sup>c</sup>
	35	1.66 ± 0.02 <sup>d</sup>	47.25 ± 0.04 <sup>d</sup>
	45	1.42 ± 0.00 <sup>e</sup>	45.12 ± 0.02 <sup>e</sup>
Steaming	0	2.18 ± 0.02 <sup>a</sup>	55.28 ± 0.04 <sup>a</sup>
	10	2.17 ± 0.05 <sup>ab</sup>	55.10 ± 0.05 <sup>a</sup>
	30	2.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	54.87 ± 0.07 <sup>a</sup>
	50	2.11 ± 0.03 <sup>b</sup>	54.01 ± 0.04 <sup>b</sup>
	70	2.08 ± 0.02 <sup>b</sup>	52.59 ± 0.06 <sup>c</sup>
	90	2.04 ± 0.02 <sup>c</sup>	51.01 ± 0.02 <sup>d</sup>
Pan-frying	0	2.18 ± 0.02 <sup>a</sup>	55.28 ± 0.04 <sup>c</sup>
	8	2.19 ± 0.04 <sup>a</sup>	55.35 ± 0.06 <sup>c</sup>
	11	2.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	56.17 ± 0.04 <sup>a</sup>
	14	1.97 ± 0.03 <sup>b</sup>	56.01 ± 0.05 <sup>b</sup>
	17	1.56 ± 0.02 <sup>c</sup>	42.19 ± 0.05 <sup>d</sup>
	20	1.32 ± 0.04 <sup>d</sup>	40.71 ± 0.03 <sup>e</sup>

<sup>1)</sup>Date was the mean±SD of triplicate experiments. Means in the same column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

총 페놀 화합물 함량이(1,391.51 mg/100 g) 무처리 감초 에탄올 추출물의 페놀 화합물 함량(692.23 mg/100 g) 보다 약 2배 높게 나타났다. 효소처리에 의한 인삼 추출물의 항산화 활성 연구(26)에서는 총 페놀 화합물의 함량이 pectinase (2.21%) > α-amylase (0.95%) > protease (0.69%) > cellulase (0.45%) 순으로 나타났다. 이와 같은 연구를 바탕으로 추후 연구를 통해 은행의 페놀 화합물이 용출되기 유리한 열처리, 효소, 추출 등의 최적조건을 확립 한다면 은행 추출물을 활용한 다양한 기능성 제품 개발에 이용 가능 할 것으로 예상된다. 찌기의 경우 조리 전 시료의 함량 (2.18±0.02 mg TA/g)과 비교 했을 때 90분(2.04±0.02 mg TA/g) 처리 이후에도 감소폭은 상대적으로 낮았고, 세 가지의 조리 조건 중 가장 낮은 감소를 보였다. 볶기의 경우 조리 전 시료에 비해 8분과 11분에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 유의적 차이는 나타나지 않았으며, 14분에서 이후부터 20분까지 유의적으로 점차 감소하였다. 또한 세 가지의 조리법 중 가장 단시간 동안 가장 많은 감소율을 보였다. 8분과 11분에서 총 페놀 화합물 함량이 증가한 것은 가열처리에 의해 페놀화합물의 결합이 파괴되거나 고온의 상태에서 새로운 페놀 화합물이 생성되었기 때문으로 사료된다. 이는 땅콩 껍질을 고온에서 볶을 경우 가열처리 시간이 길어질수록 총 페놀 화합물의 함량이 증가했다는 연구와 비슷한 경향을 보였다(27). 따라서 총 페놀 화합물 함량을 위한 세 가지 조리법을 고려 해 보았을 때 조리시간이 길어질수록 모든 조리법에서 감소하는 경향을 나타냈지만, 30분 이내로 찌거나 11분 이내로 볶았을 때는 유의적인 차이가 없이 유지되는 것으로 분석되었다.

### 총 플라보노이드 함량

플라보노이드란 anthocyanin과 anthoxanthin을 포함하는 비질소성 생물색소로, 현재 약 60여종이 분리되었으며(28), 이와 같은

다양한 플라보노이드 성분은  $O_2$ ,  $O_2$ 와 결합해 안정적인 complex를 형성하여 지질 과산화에 대한 천연 항산화제 등으로 다양하게 이용되고 있다(29). 조리조건에 따른 은행의 총 플라보노이드 함량 분석 결과는 Table 5와 같으며, 삶기의 경우 5분까지 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 15분부터 유의적으로 총 플라보노이드 함량이 감소하는 경향을 보였고 45분 삶았을 때(45.12±0.02 mg QE/100 g)와 조리하지 않은 은행(55.28±0.04 mg QE/100 g)의 총 플라보노이드 함량 차이는 약 10.16 mg QE/100 g인 것으로 분석되었다. 찌기의 경우 30분까지 유의적인 함량의 차이를 나타내지 않았으며, 50분 이후부터 유의적으로 감소하는 경향을 보였고 특히 70분 이상의 시간에서 감소폭이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 은행을 시간에 따라 볶았을 경우 조리하지 않은 은행(55.08±0.04 mg QE/100 g)에 비해 11분(56.17±0.04 mg QE/100 g)과 14분(56.01±0.05 mg QE/100 g)에서 유의적으로 소폭 증가하였다가 17분(42.19±0.05 mg QE/100 g)부터 크게 감소하는 것으로 분석되었다. 이와 같이 조리법과 시간에 따른 총 플라보노이드 함량 결과를 종합해 보았을 때 은행을 11-14분 동안 볶아 먹었을 때 보다 높은 항산화 활성을 기대 할 수 있으며, 삶기보다는 찌기를 하였을 때, 보다 장시간 조리하여도 플라보노이드 함량의 감소폭이 적은 것으로 나타나 이를 활용한 메뉴 개발이 가능 할 것으로 사료된다. 또한 국내산 대두(*Glycine max.* Merr)자원의 플라보노이드 대사체 동정 및 열처리 효과(30) 등의 연구와 같이 후속 연구를 통해 특정 온도 및 시간에서 볶음 처리한 은행에 대한 기능성 플라보노이드의 분리 및 동정이 이루어 진다면 이를 활용한 기능성 식품 뿐만 아니라 향장품 소재로도 활용이 가능 할 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 조리조건에 따른 은행의 이화학적, 독성 및 항산화적 변화를 살펴보기 위해 삶기, 찌기, 볶기 3가지의 조리법과 각 조리법 별 5가지 조리시간을 설정하여 조리조건에 따라 조리된 은행에 대해 분석을 진행하였다. 은행의 외관 변화를 보기 위해 색도 분석을 진행하였고, 독성은 MPN 함량, 항산화적 변화는 DPPH radical 소거능과 총 페놀 화합물 및 총 플라보노이드 함량을 측정하여 비교하였다.

은행의 외관 변화를 감지할 수 있는 색도의 경우, 볶기가 가장 큰 변화를 보였다. 고온으로 인해 표면이 갈색으로 변하여 L 값이 감소하고 a값이 큰 폭으로 증가하는 경향을 보였다. MPN 함량은 볶기가 단시간 동안 큰 감소를 나타내었으며 특히 8분에서 MPN 함량이 큰 폭으로 감소하였다. DPPH radical 소거능은 11분간 볶은 은행에서 기능이 유의적으로 증가한 뒤 14분까지 생물 및 다른 조리조건에 비해 높은 값을 보였다. 총 페놀 화합물 함량은 30분 이내로 찌거나 11분 이내로 볶았을 때 그 함량이 유의적인 차이 없이 유지되는 것으로 나타났고, 총 플라보노이드 함량은 11분 동안 볶은 은행에서 그 함량이 유의적으로 증가한 뒤 14분까지 높은 값을 나타내었다.

이상의 결과를 바탕으로 조리시간 대비 변화가 크게 나타나는 조리법은 볶기인 것으로 나타났으며, 시간대비 변화가 가장 적은 조리법은 찌기인 것으로 나타났다. 또한 은행의 독성 함량 감소 및 항산화 활성 증가를 위한 최적의 조리 조건은 8분-11분간 볶는 것으로 분석되었다. 본 연구를 통해 서로 다른 조리조건에 따라 은행 속 독성 함량 및 항산화 활성이 변화하는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 변화 양상에 대한 분석은 추후 연구의 기초 자료로서 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

## References

- Kim YJ, Chung SJ, Hwang B, Ko KM, Hwang SJ, Paek YW, Kim GS. Detection of flavonoid compounds by cell culture of *Ginkgo biloba* L. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 11: 1-7 (1996)
- Han JY, Lee YC, Kim KO. Physical and sensory properties of peeled ginkgo nuts prepared under the different dehydration conditions. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 84-91 (2003)
- Kleijnen J, Knipschild P. Ginkgo biloba. Lancet 340: 1136-1139 (1992)
- Bae JO, Lee GD, Kim JS, Yoon HS. Antioxidative effectiveness of extract of nut and leaf of *Ginkgo biloba* L. Agric. Res. Bull. Kyungpook. Natl. Univ. 9: 61-69 (1991)
- Joo SY, Choi HY. Antioxidant activity and quality characteristics of mung bean starch gel prepared with ginkgo nut powder. Korean J. Food Cult. 29: 84-90 (2014)
- Wada K, Ishigaki S, Ueda K, Sakata M, Haga M. An antivitamin B6, 4'-methoxypyridoxine, from the seed of *Ginkgo biloba* L. Chem. Pharm. Bull. 33: 3555-3557 (1985)
- Food Standardization Division. Guideline for safety intake of seed. Available from: <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=675&seq=18555&cmd=v>. Accessed Dec. 07, 2016.
- Hori Y, Fujisawa M, Shimada K, Oda A, Katsuyama S, Wada K. Rapid analysis of 4-O-methylpyridoxine in the serum of patients with Ginkgo biloba seed poisoning by ion-pair high-performance liquid chromatography. Biol. Pharm. Bull. 27: 486-491 (2004)
- Leistner E, Drewke C. *Ginkgo biloba* and ginkgotoxin. J. Nat. Product. 73: 86-92 (2010)
- Kim JM, Lee YC, Kim KO. Effects of convection oven dehydration conditions on the physicochemical and sensory properties of ginkgo nut powder. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 393-398 (2003)
- Kim JM, Suh DS, Kim YS, Kim KO. Physical and sensory properties of rice gruels and cakes containing different levels of ginkgo nut powder. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 410-415 (2004)
- Kim ST, Lee JH, Lee SH, Jang GY, Li M, Kim MY, Yoon N, Lee JS, Jeong HS. Physiological activities of *Ginkgo biloba* sarcotesta extract with heat treatment. Korean J. Food Nutr. 28: 369-375 (2015)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 88th ed. Method 26-9. Improved extraction of ginkgotoxin (4'-O-methylpyridoxine) from ginkgo biloba products. Arlington, VA, USA (2005)
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. U. Technol. 28: 25-30 (1995)
- Isabelle M, Lee BL, Ong CN, Liu X, Huang D. Peroxyl radical scavenging capacity, polyphenolics and lipophilic antioxidant profiles of mulberry fruits cultivated in southern China. J. Agr. Food Chem. 56: 9410-9416 (2008)
- Davis WB. Determination of flavanones in citrus fruits. Anal. Chem. 19: 476-478 (1947)
- Soh WY, Yun S. Science, Culture, Mystery of *Ginkgo biloba*. Chonpascience. Seoul, Korea. p.184 (2011)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nat. 26: 1199-1204 (1958)
- Cha, JY, Jeong JJ, Kim YT, Seo WS, Yang HJ, Kim JS, Lee YS. Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea*) according to harvest periods. J. Life Sci. 16: 683-690 (2006)
- Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR and Jeong HS. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 40:166-170 (2008)
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. The effect of cooking methods total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. J. Agr. Food Chem. 93: 713-718 (2005)
- Yoon SR, Lee MH, Park JH, Lee IS, Kwon JH, Lee GD. Changes in physicochemical compounds with heating treatment of ginseng. J. Korean Soc. Food Nutr. 34: 1572-1578 (2005)
- Lee KY. Antioxidant effects of phenolic compounds isolated from defatted perilla seed flour. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 9-14 (1993)
- Luthria DL, Lu Y, John KM. Bioactive phytochemicals in wheat: Extraction, analysis, processing, and functional properties. J. Funct. Food. 18: 910-925 (2015)
- Woo KS, Jang KI, Kim KY, Lee HB and Jeong HS. Antioxidative activity of heat treated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* fisch) extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 355-360 (2006)
- Kim YC, Cho CW, Rhee YK, Yoo KM, Rho JH. Antioxidant activity of ginseng extracts prepared by enzyme and heat treatment. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 1482-1485 (2007)
- Lee SC, Jeong SM, Kim SY, Park HR, Nam KC, Ahn DU. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls. Food Chem. 94: 489-493 (2006)
- Kim YD, Ko WJ, Koh KS, Jeon YJ, Kim SH. Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of Jeju native citrus fruits during maturation. Korean J. Nutr. 42: 278-290 (2009)
- Choi SR, You DH, Kim JY, Park CB, Kim DY, Ryu J. Antioxidant activity of methanol extracts from *Cudrania tricuspidata* Bureau according to harvesting parts and time. Korean J. Medicinal Crop Sci. 17: 115-120 (2009)
- Shin JH, Kim HW, Lee MK, Jang GH, Lee SH, Jang HH, Hwang YJ, Park KY, Song BH and Kim JB. Effect of thermal treatments on flavonoid contents in domestic soybeans. Korean J. Environ. Agric. 34: 105-110 (2015)