

다양한 열 처리방법에 대한 나물류의 엽산 잔존율

정재은¹ · 정혜정² · 현태선³ · 박수진¹ · 천지연^{1,*}

¹순천대학교 식품공학과, ²전주대학교 한식조리학과, ³충북대학교 식품영양학과

Folate retention in *Namul* according to various heating methods

Jae Eun Jung¹, Hea-Jeong Jeong², Taisun Hyun³, Su-Jin Park¹, and Jiyeon Chun^{1,*}

¹Department of Food Science and Technology, Suncheon National University

²Department of Korean Cuisine, Jeonju University

³Department of Food and Nutrition, Chungbuk National University

Abstract Selected leafy vegetables, widely used for Korean *Namul* dishes, were heat-treated in different ways and their folate retention was investigated. The *Lactobacillus casei* method was applied for folate estimation and validated to ensure reliability of analytical data. The folate content in *Namul* highly varied, from 29.7 to 293.4 µg/100 g, depending on the heating methods and the types of vegetables. Most of the *Namul* variants showed increased folate content on heat treatment. Frying yielded higher folate retention than the other cooking methods (blanching, steaming, baking, and pan-frying), and pig weed showed the highest folate retention (3.3 times, 293.4 µg/100 g). *L. casei* assay for folate estimation showed 95.7% recovery and relative standard deviations less than 2% for both reproducibility and repeatability, indicating good accuracy and precision. Quality of the folate assay was assured by monitoring a quality control chart and a proficiency test (z -score = -0.1) during the entire of study.

Keywords: folate retention, *Namul*, cooking method, method validation

서 론

엽산은 '잎'을 뜻하는 라틴어 'folium'에서 유래된 수용성 비타민 B군 중 하나로, 잎 채소류에 널리 분포되어 있으며 1941년 시금치 잎에서 처음으로 추출되었다. 엽산은 체내에서 아미노산 및 핵산 합성에 중요한 조효소로 작용하며 결핍 시 DNA 손상이 복구되지 않거나 복구과정에서 돌연변이가 발생할 수 있다. 이 때 발암원유전자 또는 종양 억제유전자에 영향을 줄 경우 암이 발생할 수 있는 것으로 보고되어 있다(Duthie, 1999; Kim 등, 1997). 특히 임신부의 엽산 섭취 부족은 태아의 신경관결손(neural tube defect)을 초래하여 기형아 출산율을 증가시키는 것으로 알려져 있어(Ball, 2012; Park 등, 2003) 미국의 경우 주요 소비 식품인 밀가루에 엽산을 강화하는 것을 의무화하여 기형아 출산 예방책으로 사용하고 있으며, 유럽의 경우도 엽산 강화를 권장하는 정책을 쓰고 있다. 한국의 경우 엽산 섭취가 비교적 충분한 식단을 유지해 왔기 때문에 정책적으로 엽산 강화의 필요성이 대두되지 않았으나, 최근 식생활 패턴의 서구화, 다양한 조리법의 보편화, 간편조리 식품 소비의 증가 등에 따라 한국 국민들의 엽산 섭취 수준에 대한 재평가가 필요하다.

엽채류는 국외의 경우 주로 샐러드 형식으로 조리과정 없이 섭취

하지만 국내에서는 나물, 반찬, 찌개 등 주로 열처리를 이용한 다양한 조리법으로 조리된 후 섭취되기 때문에 엽채류 식단으로부터의 정확한 엽산 섭취량 조사를 위해서는 조리방법에 따른 엽산 잔존율에 대한 연구가 선행되어야 한다. 최근 국외에서도 식품 조리법에 따른 엽산 함량의 변화 및 잔존율에 관한 연구(Delchier 등, 2013; Hefni와 Witthft, 2014; Maharaj 등, 2015)와 미국 농무성(United States Department of Agriculture, USDA)에서도 다양한 조리방법에 따른 식재료의 엽산 함량에 관한 국가 데이터베이스 구축이 지속적으로 이루어지고 있다. 하지만 이러한 자료들은 대부분 국외의 자원에 관한 데이터로 식재료나 조리 방법, 섭취 방법이 다른 우리나라의 국민영양보건정책을 위한 자료로 활용하기 위해서는 현재 국내에서 소비되고 있는 자원과 조리조건을 고려한 데이터베이스 구축이 필요하다. 특히 조리 전후의 엽산 잔존율에 관한 연구 자료의 신뢰도 확보를 위해서는 조리법의 표준화뿐만 아니라 분석법 검증과 분석 품질의 지속적인 관리가 중요하며 이는 보다 정확하고 실효성 있는 국민영양건강 정책으로 활용 가능한 국가데이터베이스 구축에 필수 요소이다.

엽산은 구조적으로 pteridine, para-aminobenzoic acid, glutamate로 구성되어 있으며 식품 중에는 탄수화물 및 단백질과 결합한 형태로 존재한다. 식품 중 이들은 대부분 glutamate가 3-11개 결합된 polyglutamate 형태로 존재하며, 엽산 강화식품의 경우에는 안정성이 우수한 folic acid 합성 형태로 존재한다(Ball, 2012). 식품에서 엽산은 다른 성분과 결합되어 존재하기 때문에 trienzyme을 이용하여 엽산을 추출한 다음(Kim 등, 2014; Park 등, 2015) 주로 HPLC법(Hefni와 Witthft, 2014; Johansson 등, 2008)이나 엽산에 반응하여 생육하는 미생물을 이용하는 미생물학적 분석법(Chun 등, 2006; Park 등, 2015; Tamura, 1990)이 일반적이다. 국제적으

*Corresponding author: Jiyeon Chun, Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea
Tel: +82-61-750-3258
E-mail: cjyfall@sunchon.ac.kr
Received July 31, 2019; revised September 23, 2019; accepted September 24, 2019

로 구축되고 있는 식품영양성분데이터베이스는 데이터의 상호 호환 가능성을 위해 분석법을 통일하는 것이 필요하며, 현재 미국 USDA와 FDA, 한국 농진청, 식약처 등은 모두 업산에 대한 국가데이터베이스 구축을 위한 분석법으로 기기 분석보다는 미생물법을 이용하고 있다. 미생물법은 HPLC법에 비하여 민감성이 좋아 낮은 농도의 업산 함량 분석이 가능하지만, 업산 농도에 따라 반응하는 미생물 생육도를 정량법으로 이용하고 있기 때문에 미생물을 다루고 데이터를 해석하는 분석자의 숙련도가 재현성 있는 결과를 얻는데 중요한 요인이 된다. 특히 국가 영양성분 데이터베이스로의 활용을 위해서는 분석법 검증과 함께 분석자의 분석수행특성을 평가하여 분석데이터의 신뢰도를 확보하는 것이 매우 중요하다(Deeks 등, 2017; Hartmann 등, 2015; Montville 등, 2013).

따라서, 본 연구에서는 국내에서 소비되는 7종 나물 자원에 대하여 다양한 열처리 방법으로 조리 시 업산 함량의 잔존을 변화를 조사하여 이를 국가영양성분 데이터베이스로 활용하고자 하였다. 나물류의 업산 함량 분석은 trienzyme 추출 및 *Lactobacillus casei*를 이용한 미생물법이 사용되었으며 분석 결과의 신뢰도 확보를 위해 분석법 검증, 분석품질관리 및 분석숙련도를 평가하였다.

재료 및 방법

시약

Folic acid 표준품, α -amylase 및 protease는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, folate conjugase (chicken pancreas)는 Pel-Freeze Biologicals (Rogers, AR, USA)에서 구입하였다. 업산 분석에 사용된 *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* (ATCC 7469)는 ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에서 구입하였고, Lactobacilli agar AOAC, Lactobacilli broth AOAC, folic acid casei medium은 Difco (Beckton-Dickinson, Sparks, MD, USA)에서 구입하여 냉장보관하며 배양배지로 사용하였다. 증류수는 water purification system (Aqua MaxTM-Ultra, Young Lin Instrument Co., Anyang, Korea)으로 정제하여 사용하였으며, 이 외에 사용된 모든 시약은 GR 등급 이상을 사용하였다.

시료 준비

머위(*Petasites japonicus*), 비름(*Amaranthus mangostanus* L.), 세발나물(*Spergularia rubra*), 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.), 아욱(*Malva verticillata* L.), 원추리(*Hemerocallisfulva* L.), 취나물(*Aster scaber*), 총 7종을 농수산물시장(Jeonju, Korea)에서 구매한 즉시 증류수로 세척 후 비가식 부위를 제거하여 손질한 후 시료로 사용하였다. 사용된 조리 기구는 인덕션(DaeRyung, Seoul, Korea), 전기튀김기(DK-201, Delki, Goyang, Korea), 컨벤션 오븐(fscw61, fujimak, Tokyo, Japan), 전자레인지(700W, 2,450 MHz, RE-C23RWS, Samsung, Suwon, Korea), 프라이팬(Living art, Incheon, Korea)을 사용하였다. 모든 시료를 세척한 다음 머위는 8 cm 정도의 크기로, 비름, 쑥갓, 아욱, 원추리, 취나물은 세척 후 6 cm 정도의 크기로 손질하였다.

시료 조리방법은 조리 전문가 및 국가영양성분 데이터베이스를 생산하고 있는 식품의약품안전처와 협의하여 총 5가지 표준 조리법으로 조리하였다. 삶기는 팬에 증류수를 넣고 인덕션 수치 2,500 조건으로 가열 후 팬을 인덕션 수치 1,400 조건으로 낮춰 1-5분간 삶았다. 굵기는 인덕션 수치 1,400 조건으로 가열하여 물기가 없는 팬에 1.5-7분간 조리했다. 볶기는 1회 조리 시 식용유

양을 10 mL로 하였으며, 인덕션 수치 1,400 조건으로 한 후 1-8분 동안 조리했다. 튀기기는 식용유를 170°C로 가열 후 0.5-3.5분간 조리 한 다음 키친타올 3겹으로 3번 문질러 기름기를 제거했다. 찌기는 팬에 증류수를 넣고 인덕션 수치 2,500 조건으로 가열 후 1,400 조건으로 낮춰 1-6분간 쪄 다음 체에 놓고 3분간 물기를 제거했다. 시료는 3회 이상 반복 조리한 후 모든 시료를 균질기(HGBSS, Waring, Torrington, CT, USA)로 균질화하고 소분하여 -70°C에서 보관하며 분석에 사용하였다.

업산 추출

시료 중 업산은 Chun 등(2006)의 protease, α -amylase, folate conjugase, 총 3종의 효소를 이용하는 tri enzyme 추출법에 따라 추출하였다. 시료 중 업산을 추출 시 시료가 없는 공시험(blank test)을 함께 진행하여 효소 자체에서 기인되는 내인성 업산 함량을 측정하여 시료 중 업산 함량 값에서 제외시켰다. 먼저 -70°C에 냉동 보관된 시료를 해동시킨 후 100 mL 광구 삼각플라스크에 0.5-1 g씩 칭량하였다. 튀기기, 볶기 등의 조리법에 의해 지방 함량이 높은 시료(5% 이상)는 hexane으로 지방을 제거한 후 시료 추출에 사용하였다. Sodium phosphate buffer (pH 7.8) 20 mL와 증류수 30 mL를 가한 후 항온수조에서 100°C로 15분간 끓였다. 시료는 흐르는 물에 식힌 후 protease (2 mg/mL) 1 mL와 sodium phosphate buffer (pH 7.8) 10 mL를 가하여 37°C shaking incubator에서 3시간 동안 처리하였다. 그 후 시료를 100°C에서 10분간 끓여 protease를 불활성화시키고 흐르는 물에 냉각하였다. α -Amylase (20 mg/mL) 1 mL와 toluene 0.5 mL를 가한 다음 2시간 동안 37°C shaking incubator에서 처리하였다. 마지막으로 folate conjugase solution (5 mg/mL in assay buffer, pH 7.8) 4 mL를 가한 후 37°C shaking incubator에서 16시간 처리한 다음 100°C에서 10분간 끓여 효소를 불활성화시켰다. 다음으로 HCl 용액으로 시료의 pH를 4.5로 조정 한 다음 100 mL로 정용하고 추출용액을 잘 혼합한 다음 여과지(Whatman No. 1)로 여과하여 *L. casei* assay용 추출액으로 사용하였다.

업산 분석

시료 추출액의 업산 함량 분석은 Park 등(2015)의 방법에 따라 *L. casei*가 업산의 농도에 따라 성장하는 생육도 측정법으로 분석하였다. 분석 당일 *L. casei*를 depletion media에 접종한 후 약 6시간 동안 37°C 항온기에서 배양하였다. 멸균증류수 150 μ L을 96-well plate에 넣고 시료 추출액을 단계 희석한 다음 각각의 well에 *L. casei*와 ascorbic acid가 함유된 분석배지 150 μ L씩을 가한 후 37°C에서 20-22시간 동안 배양하였다. Microplate reader (Eon, Biotek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 595 nm에서 탁도를 측정하였다. 추출액의 업산 함량은 업산에 대한 *L. casei* 성장도를 측정하고, 업산 표준용액의 검량선과 대조하여 계산하였다. 검량선은 Gen5 데이터 분석 소프트웨어(version 2.04, Biotek Instruments, St. Winooski, VT, USA)를 사용하였으며 계산된 업산 함량은 μ g/100 g으로 나타내었다. 분석품질관리와 공시험도 같은 방법으로 시료와 함께 분석하였다.

분석법 검증

분석법 검증은 AOAC 가이드라인(AOAC, 2002)에 따라 측정하였다. 정확성(recovery, %)은 인증표준물질(certified reference material, CRM)을 분석하여 참값의 근접성을 확인하였다. 인증표준물질은 European Commission (EC)에서 개발한 BCR (community bureau of reference)-485를 Resource Technology (Laramie, WY,

USA)에서 구입하였으며, CRM 분석 후 EC에서 제시한 참값과 분석으로 얻어진 측정값을 이용하여 측정값/인증값×100으로 정확성을 계산하였다. 정밀성은 품질관리(quality control, QC) 시료를 추출부터 분석까지 하루에 독립적으로 5반복 분석하여 반복성(repeatability, inter-day precision)을 계산하였으며, 5일간 하루에 3반복씩 분석한 결과를 재현성(reproducibility, intra-day precision)으로 계산하여 검증하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantitation, LOQ)는 표준용액을 단계별로 희석하여 진행하였으며, 계산 가능한 최소 농도의 O.D.값의 평균에 3배의 표준편차를 더한 값을 LOD, 평균에 10배의 표준편차를 더한 값을 LOQ로 계산하였다.

분석품질관리

분석품질관리는 AOAC 가이드라인(AOAC, 2002)의 단일 실험실 분석품질관리기준에 따라 수행하였다. 품질관리도표(quality control chart, QC chart)의 초기 기준선은 상대표준편차가 5% 이내인 최소 10개의 데이터를 사용하여 설정하였으며, 관리 상하한선(upper and lower control lines, UCL, LCL)과 조치 상하한선(upper and lower action lines, UAL, LAL)을 평균±2×표준편차와 평균±3×표준편차 수준으로 설정하여 실험이 진행된 전 기간 동안 엽산 함량 분석 시 QC 시료를 함께 분석하여 품질을 모니터링하였다. 외부적으로 분석품질을 관리하기 위하여 영국 환경식품 농림부에서 주관하는 국제정도관리 능력시험 프로그램인 FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme) Proficiency Test (PT) 2186에 참가하여 엽산분석 품질을 평가하였다. 시료는 breakfast cereal이었으며 실험 전까지 -70°C에 보관하며 사용하였다. 분석결과는 FAPAS PT 2186에 참가한 31개 외부 실험실의 엽산 분석 결과와 비교하여 z-score를 산출하여 비교 평가하였다.

가공계수(processing factor) 및 잔존율(true retention)

가공계수와 잔존율은 Kim 등(2010)과 USDA(2007)에 따라 각각 측정하였다. 가공계수는 가공 중에 생기는 시료의 중량 변화를 계산하는 지표로 조리 후 중량/조리 전 중량×100으로 계산하여 %로 나타내었다. 시료의 엽산 잔존량 계수는 조리 전과 후의 중량을 고려하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{잔존량 계수}(\%) = \{(Nc \times Gc) / (Nr \times Gr)\} \times 100$$

Nc: 조리 후 영양소함량(g/g)

Gc: 조리 후 중량(g)

Nr: 조리 전 영양소함량(g/g)

Gr: 조리 전 중량(g)

통계 분석

각 실험은 모두 3회 이상 반복실험을 통해 결과를 얻었으며, 결과의 통계 처리는 SPSS program (version 12.0, Statistical Package for the Social Science, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 조사된 항목에 대해 평균과 표준편차를 구하였으며, 각 항목의 평균값의 차이는 유의수준 p<0.05에서 일원 분산분석법(one-way ANOVA test)을 이용하여 검증하였고, 시료 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 검증하여 분석 평가하였다.

결과 및 고찰

엽산 분석법 검증

Trienzyme-*L. casei*를 이용한 엽산 분석의 정확성 검증을 위해

Table 1. Accuracy of trienzyme-*L. casei* method for folate

Sample	Folate content (µg/100 g)		Recovery (%)
	Certified value ²⁾	Analytical value ³⁾	
BCR ¹⁾ -485 (mixed vegetable)	315.00±28.00	301.44±10.14	95.7

¹⁾BCR indicates community bureau of references (Bureau Communautaire de References).

²⁾The certified value of folate was provided by European Commission.

³⁾The analytical value was obtained by microbiological assay in the current study.

Table 2. Precision of trienzyme-*L. casei* method for folate

Parameters ¹⁾	Precision	
	Repeatability ²⁾	Reproducibility ³⁾
Mean±SD	170.46±1.84	172.20±3.18
RSD (%)	1.1	1.8

¹⁾Mean (µg/100 g). Standard deviation. Relative standard deviation (%)=SD/Mean×100.

²⁾Repeatability refers to the results of independent determination carried out on a sample by independently analyzing a QC sample five times in triplicates on the same day.

³⁾Reproducibility refers to the results of independent 5 determination in triplicates obtained by analyzing a QC sample once a day for 5 days.

CRM을 분석한 결과는 Table 1과 같다. EC에서 제공하는 mixed vegetable의 인증값은 315 µg/100 g이었으며, tri-enzyme-*L. casei* assay법으로 분석된 엽산 함량은 301.44±10.14 µg/100 g으로 회수율 95.7%를 얻었다. AOAC 가이드라인(AOAC, 2002)이 제시하는 회수율 수용범위는 시료 중의 분석 성분 농도가 100 µg/100 g 일 때 75-120%로, 본 연구에서 사용된 분석법이 우수한 정확성을 보이고 있음을 보여준다. 분석법의 정밀성 검증은 QC 시료인 시판 영양강화 밀가루를 반복성과 재현성을 측정하여 평가하였다(Table 2). 반복성과 재현성의 분석 평균값에 대한 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)는 각각 1.1%와 1.8%이었다. 시료 농도 100 µg/100 g일 때 AOAC 가이드라인(AOAC, 2002)이 제시하는 수용 RSD 범위가 반복성이 8%이고, 재현성이 16%인 것에 비교하였을 때 본 실험에서 실행한 분석법이 우수한 정밀성을 보였다고 평가되어진다. LOD와 LOQ는 각각 0.139 µg/100 g와 0.307 µg/100 g으로 나타났다. Alaburda 등(2008)은 영양강화 밀가루의 엽산 함량을 HPLC법으로 분석 시 LOD와 LOQ가 각각 0.06과 0.19 mg/g이었다고 보고하였는데 이와 비교해 볼 때 본 연구에서 사용된 *L. casei*를 이용한 미생물학적 분석법의 LOD와 LOQ가 더 낮은 것을 알 수 있었다. 이는 *L. casei*를 이용한 미생물 법이 HPLC 분석법보다 높은 민감도를 나타내기 때문으로, 엽산 함량이 낮은 시료의 경우 더 바람직할 것으로 판단된다.

분석품질평가

AOAC 가이드라인(AOAC, 2002)에서 제시된 내부 분석품질관리는 분석 매개 변수의 변화, 즉 환경요인, 기기 및 기기부속물, 실험 중 사용된 물질, 분석자 등에 대한 반응 정도를 확인하는 것으로 정의되고 있다. 본 실험이 진행되는 총 4개월 동안 QC chart를 작성하여 내부 분석품질을 관리하였다(Fig. 1). QC chart의 기준값은 170.1 µg/100 g이었으며, UCL 및 LCL은 각각 179.8, 160.4 µg/100 g으로 기준하였고, UAL 및 LAL은 각각 184.6, 155.5 µg/100 g을 기준으로 하였다. 품질관리는 총 18회 실시하였

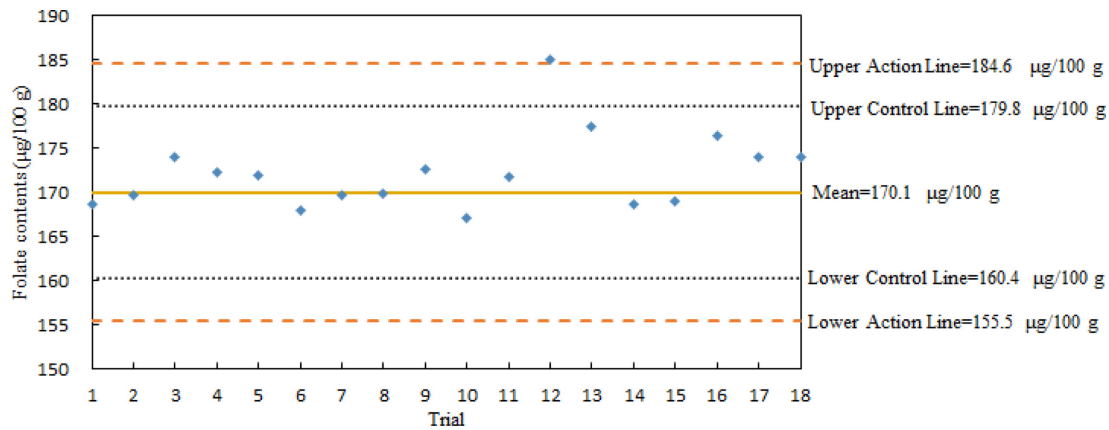


Fig. 1. A quality control chart of folate analysis by using trienzyme-*L. casei* method. Upper and lower control lines=mean±2SD, Upper and lower action lines=mean±3SD. Each trial was the mean of duplicate analysis done once of twice a week.

Table 3. z-Score of folate analysis in food analysis proficiency test (FAPAS PT-2186)

Test sample	Folate content (µg/100 g)		z-Score
	Certified value	Analytical value	
Breakfast cereal	146.00	143.91±3.35	-0.1

으며, 1회를 제외한 모든 분석값들은 UCL과 LCL 범위 안에 들어갔다. 또한 UAL의 범위를 벗어난 분석일은 결과값을 삭제하고, 추출 및 분석과정을 재정비하였다. 이는 시료를 분석하는 기간 동안 품질관리가 잘 진행되어 신뢰할 수 있는 데이터임을 보여주었다.

FAPAS PT는 분석의 숙련도를 시험하는 국제정도관리 시험으로 분석품질을 외부적으로 평가할 수 있는 공인된 방법이다. 다양한 분석법을 가진 세계의 여러 실험실에서 공인된 기관이 제공하는 분석시험에 참여하고 그 결과의 z-score를 이용하여 평가할 수 있다. Table 3은 FAPAS PT-2186 분석 결과로 breakfast cereal을 시험 시료로 하여 전 세계적으로 총 41개 실험실이 참여한 분석 평가 결과다. 본 연구를 위해 참여한 분석값은 143.91 µg/100 g으로 z-score -0.1을 얻었는데, 이는 평가에 참여한 전체 분석기관의 z-score 값의 ±2 범위에 속하는 값으로 분석 숙련도가 우수함을 보여준다. 한편, 숙련도 시험에 참가한 41개의 실험실 중 28개 실험실이 z-score ±2 범위 안에 들어가 FAPAS PT-2186 시험에서의 분석 숙련도 시험 통과율은 68% 수준임을 알 수 있는데(FAPAS PT-2186 report), 본 연구에서 사용한 trienzyme-

*L. casei*법이 국제적으로 신뢰할 수 있는 수준의 숙련도 높은 분석방법임을 확인할 수 있었다.

조리법에 따른 나물류의 엽산 함량

7종 나물의 5가지 조리법(삶기, 굽기, 볶기, 튀기기, 찌기)에 따른 엽산 함량 변화는 Table 4와 같다. 대부분의 시료들은 조리 전의 엽산 함량보다 조리 후 엽산 함량이 증가함을 보였다. 나물에 따라 다소 차이를 보였지만 삶기, 찌기 등과 같이 조리수를 사용하는 조리방법에서 튀기기, 볶기, 굽기 등과 같은 조리수를 사용하지 않는 조리법보다 비교적 낮은 엽산 함량을 보였다. 조리 방법 중 튀기기는 아욱과 원추리를 제외하고는 모든 나물에서 가장 높은 엽산 함량을 보였다. 특히 비름과 세발나물은 각각 293.4, 223.7 µg/100 g으로 원재료의 엽산 함량보다 5.8-6.8배 높은 함량을 보였다. 반면 찌는 조리방법은 대부분의 나물에서 비교적 낮은 엽산 함량을 보였다. 특히 취나물과 쑥갓은 찌는 조리 방법 처리 후 엽산 함량이 29.7과 65.6 µg/100 g으로 원재료의 함량보다 오히려 감소하였다. Min(1998)은 시금치를 끓는 물에 1분 조리 시 엽산 함량이 19.3% 감소하였고, 3, 5, 20분 조리시간이 증가할수록 엽산의 감소율이 75.4, 83.6, 88.8% 크게 증가하였다고 보고하였다. 본 실험에서 사용된 나물 원재료의 엽산 함량은 아욱이 107.8 µg/100 g, 쑥갓이 76.2 µg/100 g으로 비교적 높은 함량을 보였고, 나머지 5종(취나물, 머위, 원추리, 비름, 세발나물)은 38.3-46.4 µg/100 g의 범위를 보이며 비슷한 함량을 보였다. 조리 후 엽산 함량의 변화는 원재료의 엽산의 함량과는 상관없는 결과를 보였다. 원재료에서 가장 높은 엽산 함량을 보였던 아욱은 조리 후 103.7-186.8 µg/100 g을 보이며 조리법에 따른 변화가 가장

Table 4. Folate contents in various *Namul* affected by different cooking methods (µg/100 g, wet basis)

Sample name	Raw	Boiling	Steaming	Baking	Stir-frying	Frying	Range
Aster (<i>Aster scaber</i>)	39.9±5.5 ^{cd1)}	56.6±12.9 ^b	29.7±6.1 ^d	47.1±4.2 ^{bc}	50.8±7.3 ^{bc}	96.5±6.6 ^a	29.7-96.5
Butterbur (<i>Petasites japonicus</i>)	38.3±5.1 ^c	67.2±10.3 ^{bc}	65.7±6.3 ^{bc}	78.4±13.1 ^b	61.8±1.5 ^{bc}	169.8±32.1 ^a	38.3-169.8
Crown daisy (<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.)	76.2±26.5 ^{de}	98.5±12.7 ^c	65.6±29.9 ^f	190.0±32.8 ^b	157.6±30.1 ^{bc}	249.7±29.8 ^a	65.6-249.7
Curled mallow (<i>Malva verticillata</i> L.)	107.8±8.4 ^c	103.7±5.4 ^c	125.4±6.6 ^{bc}	186.8±14.6 ^{ab}	111.6±5.6 ^{bc}	144.8±13.2 ^{abc}	103.7-186.8
Day lily (<i>Hemerocallis fulva</i> L.)	46.4±16.6 ^d	113.9±20.5 ^{ab}	85.0±30.2 ^{bc}	61.8±17.3 ^{cd}	143.3±23.6 ^a	75.1±20.2 ^{bc}	46.4-143.3
Pig weed (<i>Amaranthus mangostanus</i> L.)	43.0±7.7 ^s	110.4±3.7 ^d	87.5±14.2 ^{ef}	203.2±9.9 ^b	153.6±10.9 ^e	293.4±19.2 ^a	43.0-293.4
Sebal-namul (<i>Spergularia rubra</i>)	38.5±7.0 ^d	103.4±2.6 ^c	91.6±27.3 ^d	58.3±5.7 ^d	66.0±15.9 ^d	223.7±20.8 ^a	38.5-223.7

¹⁾Mean±SD, mean in the same row with different letters (a-g) were significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 5. Processing factor of various cooked *Namul* (%)

Sample names	Raw	Boiling	Steaming	Baking	Stir-frying	Frying
Aster (<i>Aster scaber</i>)	100	71.7	72.7	59.7	57.6	45.6
Butterbur (<i>Petasites japonicus</i>)	100	69.7	63.1	65.5	70.7	43.0
Crown daisy (<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.)	100	72.7	67.4	58.4	59.1	60.1
Curled mallow (<i>Malva verticillata</i> L.)	100	112.5	100.5	78.1	86.3	92.6
Day lily (<i>Hemerocallisfulva</i> L.)	100	96.3	95.5	74.7	75.0	51.7
Pig weed (<i>Amaranthusmangostanus</i> L.)	100	75.9	82.1	57.9	66.4	47.7
Sebal-namul (<i>Spergularia rubra</i>)	100	47.9	63.2	77.7	77.6	33.4

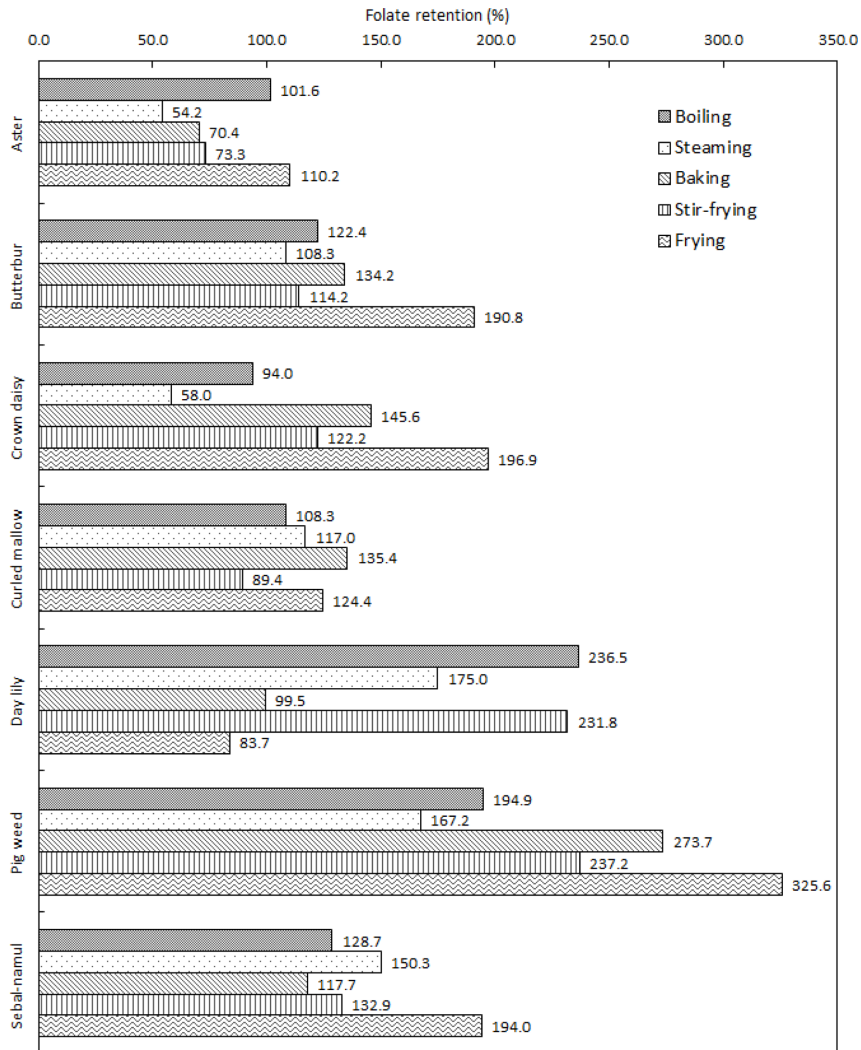


Fig. 2. Percent retention of folate in seven kinds of *Namuls* affected by different cooking methods.

적었고, 취나물은 조리 후 29.7-96.5 µg/100 g으로 조리 후 모든 조리방법에서 가장 낮은 엽산의 함량을 보였다. 국내 여러 봄나물을 데친 후 나물 종류에 따라 엽산의 함량을 측정 한 Kim 등 (2014)의 연구에 따르면 갯기름을 제외한 14종의 나물류는 조리 후 유의적인 차이가 없거나 감소한 것으로 나타났고, 반면 갯기름은 2배의 엽산 증가율을 보였다. 일부 식물의 표피 matrix에 존재하는 영양성분들은 가열에 의한 산화효소의 불활성화와 세포벽의 붕괴로 각 성분의 추출효율이 증가될 수 있다고 보고된 바 있어(Choi 등, 2006) 식물 조직의 특성에 따라 그 함량의 변화는

다를 수 있는 것으로 보인다. 본 연구에서 조사된 7종의 나물류는 조리 전의 엽산 함량 대비 조리 후에 엽산 함량이 증가하는 경향을 보였고, 원재료의 엽산 함량과는 상관없이 조리 방법에 따라 엽산 함량의 증가율은 크게 다르게 나타났다. 조리 방법 중에는 특히 튀기기에서 대체적으로 가장 높은 엽산 함량을 보였다. 우리나라에서 나물류는 생으로 섭취보다는 주로 삶거나 기름을 이용해 조리 하는 경우가 대부분이기 때문에 조리 전의 채소에 대한 정보뿐만 아니라 조리 후 변화된 영양소 함량에 관한 신뢰도 높은 자료가 더욱 필요할 것으로 보인다.

조리법에 따른 나물류의 엽산 잔존율

나물류의 조직은 대부분 수분으로 구성되어 있기 때문에 조리 방법에 따른 수분 손실에 따라 영양성분 및 기능성 성분들의 잔존율이 달라질 수 있다. 따라서 7가지 다른 조리 방법으로 조리 후 나물류의 엽산 잔존율 분석을 위해서는 조리법에 따른 시료의 무게 변화를 나타내는 가공계수 또는 가공수율을 고려하는 것이 필요하다. 조리 전 후의 채소 시료의 무게 변화를 고려하여 계산한 중량 가공 수율은 Table 5에 나타내었다. 나물류의 중량은 썩갯의 삶기와 찌기 외에 조리 후 모두 감소함을 보였고 감소되는 양은 시료의 특성 및 조리법에 따라 다르게 나타났다. 원재료의 무게를 100%로 환산 시 조리된 나물류의 중량은 조리 방법에 따라 삶기 47.9-112.5%, 굽기 57.9-78.1%, 볶기 57.6-86.3%, 튀기기 33.4-92.6%, 찌기 63.1-100.5%로 변화하였다. 조리방법 중 조리수를 사용하는 삶기나 수분의 공급이 가능한 찌기와 같은 조리법에서 나물류의 중량 변화가 상대적으로 컸으며 굽기, 볶기에서는 중량 손실이 상대적으로 적었다. 이러한 가공수율의 차이를 고려하여 나물류의 엽산 함량의 조리 후 남아있는 잔존율을 계산한 결과는 Fig. 2와 같다. 취나물과 썩갯은 다른 나물류에 비해 다소 낮은 잔존율을 보였는데, 취나물은 54.2-110.2%, 썩갯은 58.0-196.9%의 잔존율을 보였다. 두 나물 모두 가장 낮은 엽산 함량을 보인 찌기에서 가장 낮은 잔존율을 보였다. 다른 조리 방법에 비해 높은 엽산 함량을 보였던 튀기기는 아욱과 원추리를 제외한 모든 나물에서 가장 높은 잔존율을 보였다. Hefni와 Witthft (2014)는 이집트에서 많이 소비되는 콩과 식물(legume)을 데친 후 엽산 잔존율이 약 136%로 조리 전보다 증가하였고, 찜지 시키거나 autoclaving 조리법을 이용하였을 때도 엽산 잔존율이 증가하였다고 보고하였다. Stea 등(2006)은 브로콜리는 5분 동안 찌기 조리 시 약 140%로 잔존율이 상승함을 보였지만 감자를 삶았을 때는 약 60%의 엽산 잔존율을 보여, 조리 방법과 함께 시료에 따라 잔존율이 다르게 나타나는 것을 알 수 있었다. 본 연구에서도 취나물과 썩갯은 삶기와 찌기에서 감소된 잔존율을 보였지만, 다른 나물류에서는 증가된 잔존율을 보여 나물류에 따라 다른 결과를 보였다. 본 연구에서 채소의 종류와 다양한 조리방법에 의해 식품 속 엽산 함량에 있어 유의적인 차이를 보이는 것을 확인할 수 있었다. 비슷한 나물류라도 그 채소가 지닌 특성에 의해 조리가 진행되는 동안 변화가 클 수 있기 때문에 엽산 잔존율을 계산하는데, 가공계수 및 잔존량 계수 방법, 채소의 종류 등 여러 요인을 함께 고려하는 것이 바람직할 것이다.

요 약

본 연구는 국내 나물류 7종을 표준화된 5가지 다른 조리방법으로 조리 후 엽산 함량 변화 및 잔존율을 비교하였다. 엽산 함량 분석은 trienzyme-*L casei* 미생물법을 이용하였으며, 분석법은 정확성, 정밀성, 직선성, 검출한계 및 정량한계 등의 분석수행특성을 측정하여 검증하였으며, 내외부 분석품질관리를 수행하여 분석의 신뢰도와 숙련도를 평가하였다. 모든 분석법 검증은 AOAC에서 제시한 가이드라인에 부합하였으며, 7개월 동안 실시한 내부품질관리 및 숙련도 시험에서 모두 신뢰도 구간에 들어가는 결과를 얻어 본 실험에서 분석된 데이터의 신뢰도를 확보할 수 있었다. 조리법에 따른 나물류의 엽산 함량은 조리 전 엽산 함량과는 상관없이 조리 방법에 따라 유의적으로 다르게 나타났다. 나물의 종류에 따라 엽산 리텐션에 차이를 보였는데 비교적 튀기기 조리 후 높은 엽산 함량을 보였고, 찌기 처리된 시료에서 낮은 함량이 나타났다. 엽산 잔존율은 취나물과 썩갯을 제외한 나

물류에서는 조리에 의해 전반적으로 증가된 잔존율을 보여, 나물류는 열처리 방법을 통한 조리 후 섭취하는 것이 엽산 섭취에 보다 효율적인 것으로 나타났다. 본 연구는 조리 후 변화되는 엽산 함량에 관한 신뢰도 높은 정보를 제공하고 있으므로 이를 국가 영양데이터베이스 구축에 활용 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처의 연구개발비(15162 MFDS039)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Alaburda J, de Almeida AP, Shundo L, Ruvieri V, Sabino M. Determination of folic acid in fortified wheat flours. *J. Food Compos. Anal.* 21: 336-342 (2008)
- AOAC. AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. pp. 18-25 (2002)
- Ball GFM. Water-soluble vitamin assays in human nutrition. Springer, Berlin, Germany. pp. 59-63 (2012)
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* 99: 381-387 (2006)
- Chun J, Martin JA, Chen L, Lee J, Ye L, Eitenmiller RR. A differential assay of folic acid and total folate in foods containing enriched cereal-grain products to calculate μg dietary folate equivalents (μg DFE). *J. Food Compos. Anal.* 19: 182-187 (2006)
- Deeks J, Verreault MF, Cheung W. Canadian Nutrient File (CNF): Update on Canadian food composition activities. *J. Food Compos. Anal.* 64: 43-47 (2017)
- Delchier N, Ringling C, Grandois JL, Aoude-Werner D, Galland R, George S, Rychlik M, Renard CM. Effects of industrial processing on folate content in green vegetables. *Food Chem.* 139: 815-824 (2013)
- Duthie SJ. Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability. *Brit. Med. Bull.* 55: 578-592 (1999)
- Hartmann BM, Heuer T, Hoffmann I. The German Nutrient Database: Effect of different versions on the calculated energy and nutrient intake of the German population. *J. Food Compos. Anal.* 42: 26-29 (2015)
- Hefni M, Witthft CM. Folate content in processed legume foods commonly consumed in Egypt. *LWT-Food Sci. Technol.* 57: 337-343 (2014)
- Johansson M, Furuhausen C, Frølich W, Jgerstad M. Folate content in frozen vegetarian ready meals and folate retention after different reheating methods. *LWT-Food Sci. Technol.* 41: 528-536 (2008)
- Kim BM, Kim SM, Oh JY, Cho YS, Kim SN, Choi Y. The folate contents of 15 edible plants consumed in Korea using trienzyme extraction method. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 1796-1800 (2014)
- Kim HG, Lee KJ, Kim SM, Chung HJ. Nutritional retention factor of 1+ quality grade Hanwoo beef using different cooking methods. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 30: 1024-1030 (2010)
- Kim YI, Pogribny IP, Basnakian AG, Miller JW, Selhub J, James SJ, Mason JB. Folate deficiency in rats induces DNA strand breaks and hypomethylation within the p53 tumor suppressor gene. *Am. J. Clin. Nutr.* 65: 46-52 (1997)
- Maharaj PPP, Prasad S, Devi R, Gopalan R. Folate content and retention in commonly consumed vegetables in the South Pacific. *Food Chem.* 182: 327-332 (2015)
- Min HS. Changes of folate content in spinach by cooking and storage-the comparisons of thermal destruction and loss of folate into cooking water by blanching time of spinach. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 286-290 (1998)

- Montville JB, Ahuja JKC, Martin CL, Heendeniya KY, Omolewa-Tomobi G, Steinfeldt LC, Anand J, Adler ME, LaComb RP, Moshfegh A. USDA food nutrient database for dietary studies (FNDDS), 5.0. *Proc. Food Sci.* 2: 99-112 (2013)
- Park H, Kim YJ, Ha EH, Lee HY, Chang NS, Hong YC, Pang MG, Kim WK. The risk of MTHFR variants, folate and vitamin B12 deficiencies and hyperhomocysteinaemia during pregnancy associated with short gestational age and reduced birth weight. *Environ. Mutagen. Carcinog.* 23: 1-6 (2003)
- Park SJ, Jeong BG, Jung JE, Kim HY, Jung GR, Hwang EJ, Yoon SW, Hyun T, Lee J, Chun J. Validation of trienzyme extraction-microplate assay for folate in Korean ancestral rite food. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44: 716-724 (2015)
- Tamura T. Microbiological assay of folates. In *Folic Acid Metabolism in Health and Disease*. Picciano MF, Stokstad ELR, Gregory JF, eds. John Wiley & Sons Press, New York, NY, USA. pp. 121-137 (1990)
- Stea TH, Johansson M, Jagerstad M, Frolich W. Retention of folates in cooked, stored and reheated peas, broccoli and potatoes for use in modern large-scale service systems. *Food Chem.* 101: 1095-1107 (2006)
- USDA. USDA table of nutrient retention factors, release 6. US Department of Agriculture, Washington, DC, USA (2007)