

팽화처리가 화분 및 이를 첨가한 밀엿강정의 품질특성에 미치는 영향

이지예¹ · 서정희^{1,*}
¹강원대학교 식품영양학과

Effect of puffing treatment on the quality characteristics of bee pollen and its addition to wheat flour-puff yeot-gangjeong

Jiyea Lee¹ and Jeonghee Surh^{1,*}

¹Department of Food and Nutrition, Kangwon National University

Abstract To test bee pollen as an ingredient for heat-processed foods, bee pollen was puffed under heat at various pressures and examined for its physicochemical properties and antioxidant activities. As the puffing intensity increased, the browning index, total reducing capacity, and DPPH radical scavenging activity of the bee pollen increased significantly ($p < 0.001$). This was attributed to the formation of Maillard reaction products during the puffing process. The wheat flour-puff yeot-gangjeong added with puffed bee pollen showed significantly ($p < 0.01$) higher antioxidant activities than its counterpart with raw bee pollen. In addition, the gangjeong retained the physicochemical characteristics of the puffed bee pollen such as color, soluble solids, titratable acidity, and pH. The results showed that the puffed bee pollen could potentially be used as an ingredient in thermally processed foods and retain its superior antioxidant properties.

Keywords: bee pollen, yeot-gangjeong, puffing, antioxidant, Maillard reaction

서론

화분(bee pollen)이란 미세한 입자의 꽃가루가 꿀벌의 타액과 꿀에 의해 묻혀진 결정으로 꿀벌의 뒷다리에 부착된 상태로 운반되며 벌집 주변에 설치된 채분기에 의해 화분이 분리되면서 채집이 이루어진다(Thakur와 Nanda, 2020). 화분은 탄수화물(~54%), 단백질(~21%), 지방(~5%), 식이섬유(~9%)를 상당량 함유하고 있고, 화분 50 g 당 함유된 각종 무기질과 비타민은 일일 권장 섭취량(Recommended Daily Intake, RDI)을 충족할 수 있어 영양밀도가 높은 원료로 평가되고 있다(Thakur와 Nanda, 2020). 또한 화분은 카로티노이드, 플라보노이드, 페놀성 물질 등 수소 및 전자 공여능이 우수한 항산화 물질을 상당량 함유하고 있어 항염증, 항암, 항균, 항동맥경화 및 면역증진 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(de Florio Almeida 등, 2017; Thakur와 Nanda, 2020). 화분 속 페놀함량은 벌, 식물 등에 영향을 받으므로 지리적 위치에 따라 함량분포가 690-213,200 µg/g으로 매우 넓은 편이긴 하나(Thakur와 Nanda, 2020), 최근 연구에 따르면 국내산 화분은 갈산당량으로 7,060-8,593 µg/g의 페놀성분을 함유하고 있어 항산화 원료로 가능성을 보여주었다(Lee와 Surh, 2021). 이를 근거로 화

분을 영양 공급원으로뿐 아니라 식품에 산화방지활성을 부여할 기능성 원료로 식품산업에 적용하고자 한 연구가 진행되고 있다. 육가공품인 소시지(de Florio Almeida 등, 2017)와 블랙푸딩(Anjos 등, 2019)에 화분을 첨가하여 산화안정성을 개선한 연구, 화분을 첨가한 글루텐 프리 빵(Conte 등, 2018)과 비스킷(Krystyan 등, 2015) 제품개발 연구 등이 대표적 사례로, 대부분의 연구가 열처리 공정을 거쳐 제조 및 조리되는 시스템에서 이루어졌다.

식품의 열처리 공정은 구성성분 사이의 화학반응을 촉진하며, 이 중 당과 단백질 사이의 메일라드 갈변반응은 반응온도와 시간에 비례하여 식품을 갈변시키고 높은 수준의 라디칼 소거활성과 환원력을 지닌 메일라드 갈변반응 산물(Maillard Reaction Products, MRPs)을 생성한다(Vhangani와 Wyk, 2013). 이는 가열처리가 원료의 항산화 활성을 향상시킬 전략이 될 수 있음을 보여준다. 이에 본 연구에서는 화분의 항산화 활성을 증진시켜 열처리 가공식품의 원료로 활용하기 위해 화분에 열처리 공정을 적용하였다. 물, 기름, 공기, 수증기 등 다양한 열전달 매체를 사용하는 가열방법 중 본 연구는 고온의 환경에서 식품에 고압을 가한 후 단기간에 압력을 해제하여 식품을 부풀게 하는 팽화공정(Yi 등, 2016)을 선정하였다. 이는 팽화(puffing) 시 가해지는 고강도 가열처리가 메일라드 갈변반응 등 식품 내부의 화학반응을 가속화시킬 수 있으며, 특히 물, 기름을 사용하지 않아 열전달 매체를 통한 유효성분의 손실이 일어나지 않기 때문이다. 또한 본 연구에서는 열처리하지 않은 생화분을 유탕처리 식품에 부가하여 산화안정성을 개선한 선행연구(Lee와 Surh, 2021)를 확장하여, 동일한 강정 제조 과정에 팽화처리 화분을 부가하고 산화방지활성이 보유되는지 확인함으로써 항산화 원료로서 팽화처리 화분의 식품적용성을 검토하였다.

*Corresponding author: Jeonghee Surh, Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Kangwon National University, Samcheok, Gangwon 25949, Korea
Tel: +82-33-540-3314
Fax: 8+2-33-540-3319
E-mail: jsurh@kangwon.ac.kr
Received April 1, 2022; revised May 24, 2022;
accepted May 25, 2022

재료 및 방법

실험재료 및 시약

실험에 사용한 생화분은 신흥벌꿀(Yeongju, Korea)에서 생산된 천연 100% 국내산 벌화분이며 팽화처리된 화분과 함께 동해안 청정꿀벌 영농협동조합(Samcheok, Korea)으로부터 2021년 10월에 공급받았다. 공급처에 따르면, 팽화화분은 곡물을 튀겨내는 팽화기에 생화분을 넣고 밀폐한 후 서로 다른 압력(2.5, 3, 5, 6, 8 kgf/cm²) 하에서 동일한 시간동안 열을 가하여 제조되었다(Fig. 1). 생화분 및 팽화처리한 화분은 믹서기(SHMF-3500SS, Hanil electric, Seoul, Korea)를 이용하여 1분 동안 분말화하여 실험에 사용하였다. 밀렛강정 제조를 위해 유당처리 제품인 퍼핑콩(Ecofood, Daejeon, Korea)과 조청(Daesang, Seoul, Korea) 그리고 물엿과 설탕(CJ Cheiljedang, Seoul, Korea)을 온라인 시장에서 구입하였다. 분석에 필요한 시약인 sodium hydroxide, ethanol, hexane, butanol, chloroform, methanol은 Daejung Chemical & Metals Co., Ltd. (Siheung, Korea)의 제품을 사용하였으며 oxalic acid, gallic acid, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), barium chloride dihydrate, FeSO₄·7H₂O, ammonium thiocyanate, *p*-anisidine, acetic acid는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다. Sodium carbonate, hydrogen chloride는 Showa Chemical Industry Co. (Tokyo, Japan)에서 구입하였으며 cumene hydroperoxides (80%)는 Thermo Fisher Scientific (Chicago, IL, USA)에서 구입하였다. 모든 시약 제조에는 탈염·탈이온수를 사용하였다.

화분의 화학적 특성

화분의 수분함량은 105°C의 건조기(OF-12, Jeio Tech, Gimpo, Korea)에서 상압가열건조법으로 측정하였다(AOAC, 1990). 가용성 고형분, pH, 적정산도(titratable acidity)를 분석하기 위해 다음의 과정으로 추출물을 준비하였다. 분말상태 화분 1g에 증류수 9 mL를 넣어준 뒤 진탕하여 3,091×g에서 20분 동안 원심분리(5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany)한 후 상층액을 여과(Qualitative filter paper No. 2, Whatman, Maidstone, England)하여 화분 물 추출물로 사용하였다. 가용성 고형분은 굴절계(N-1α, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며 °Bx 단위로 나타내었다. 물 추출물의 pH는 pH meter (725P, Istek, Seoul, Korea)로 측정하였다. 적정산도는 물 추출물의 pH가 8.4에 도달할 때까지 0.1 N NaOH를 이용해 중화정정을 하였으며 결과는 acetic acid (60.00 g/molar equivalent) 함량으로 나타내었다.

화분의 물리적 특성

팽화처리가 화분의 색 특성에 미치는 영향을 보고자 페트리 접시 바닥에 0.3 cm 두께로 화분 분말을 균등하게 펼친 후 색차계(CR400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan)를 이용하여 명도(Lightness, L), 적색도(Redness, a), 황색도(Yellowness, b)를 측정

하였다. 또한 화분의 색 특성을 분광학적 방법으로 측정하기 위해 화분 물 추출물의 흡광도를 420와 520 nm에서 각각 측정하였다(EON microplate spectrophotometer, Biotek Instruments, Winooski, VT, USA). 이때 사용한 추출물은 화분의 화학적 평가에서 사용된 것과 동일한 과정으로 준비하였다. 갈변지수(browning index)는 420 nm에서의 흡광도 값을 사용하였으며, 색 강도(color intensity)는 420와 520 nm의 흡광도값을 합하여 산출하였다(Yeom과 Surh, 2018). 화분의 외관은 iPhone 11 (Apple, Cupertino, CA, USA)을 이용해 촬영하였다.

물 결합력은 시료 3 g을 falcon tube에 담고 냉수(6°C)와 온수(69°C)를 각각 30 mL씩 첨가하여 0, 15, 30분 후 간헐적으로 교반하였다. 이후 원심분리기(5810R, Eppendorf)를 이용해 3,091×g에서 20분 동안 원심분리하여 상층액을 제거하고 침전물의 무게를 측정하였다. 물 결합력은 시료의 무게증가률(%)로 나타내었다.

화분의 항산화 활성

추출용매의 극성지수(polarity index, PI)에 따른 항산화 활성 평가를 위해 시료 1 g에 증류수 (PI=9.0), 에탄올(PI=5.1), 헥산(PI=0)을 각각 9 mL씩 첨가하고 진탕한 뒤 25°C, 180 rpm의 항온수조(BS-21, Jeio Tech)에서 16시간 동안 추출하였다. 그 후 3,091×g에서 20분 동안 원심분리(5810R, Eppendorf)하여 상층액을 여과(Qualitative Filter paper No. 2, Whatman)한 뒤 분석에 사용하였다.

먼저, 분광학적 방법으로 페놀물질의 존재유무를 확인하기 위해, 페놀물질의 흡수 파장인 285 nm에서 추출물의 흡광도(EON microplate spectrophotometer, Biotek Instruments)를 측정하였다(Yeom과 Surh, 2019). 총 환원력은 Folin-Ciocalteu's reagent 법(Singleton 등, 1999)에 따라 각 추출물 1 mL에 10% Folin-Ciocalteu's reagent 1 mL를 첨가하여 교반한 후 5분 동안 반응시켰다. 이후 10% Na₂CO₃ 1 mL를 넣고 1시간 동안 어두운 곳에서 정치하였다. 최종 반응물의 흡광도(EON microplate spectrophotometer, Biotek Instrument)를 700 nm에서 측정하였다. 총 환원력은 갈산당량(gallic acid equivalents)으로 산출하였다.

DPPH 라디칼 소거활성(Brand-Williams 등, 1995)은 추출물 0.1 mL에 0.15 mM의 DPPH (in 70% ethanol) 시약 1 mL를 첨가하고, 200 μL씩 96 well plate 셀에 분주하여 525 nm에서 5분 간격으로 5시간 동안 흡광도(Biotek Instruments)를 측정하였다. 흡광도의 유의적 변화가 관찰되지 않은 시점에서 각 시료의 DPPH 라디칼 소거활성을 계산하였다. Blank는 추출물 대신 동량의 추출용매를, 양성 대조군은 0.2 mM gallic acid를 사용하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 blank 대비 반응물에 의해 감소된 흡광도를 %로 계산하여 산출하였다.

화분 첨가 밀렛강정 제조

화분 팽화처리 시 탄화현상에 의해 색 및 향미에 미칠 부정적 영향을 배제하기 위해, 밀렛강정에 첨가할 화분은 2.5 kgf/cm²의 압력에서 팽화처리한 화분을 사용하였다. 화분 첨가량은 Lee와

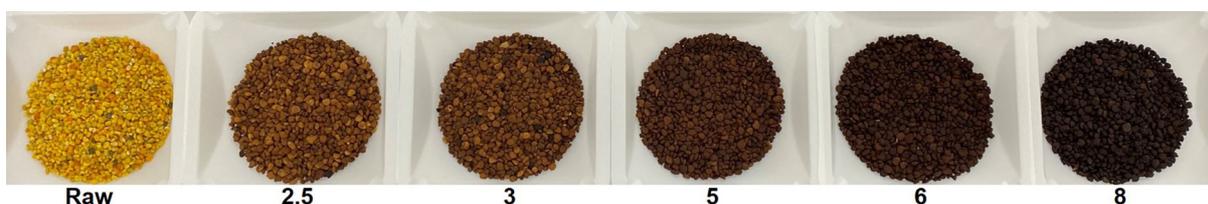


Fig. 1. Appearance of the bee pollen puffed at different pressure (kgf/cm²).

Surh(2021)의 연구결과에 따라 5%로 결정하였다. 이는 선행연구에서 5% 첨가군에서 관능적 기호도가 가장 높았던 점과, 특히 5%를 초과할 경우에는 평가자 대부분이 화분 맛을 인지함에 따라 해당 맛에 대한 개인별 선호가 평가결과에 영향을 주었기 때문이었다. 밀엿강정 제조법은 다음과 같다(Lee와 Surh, 2021). 팬에 설탕 20 g를 펴준 뒤 물엿(30 g)과 조청(60 g)을 순서대로 넣은 후 약한 불에서 짓지 않고 거품이 생길 때까지 끓여주었다. 불을 끄고 정량해둔 화분을 넣고 실리콘 주걱을 이용해 당용액과 충분히 섞어준 뒤 퍼핑공을 넣어 약한 불에서 다시 섞어주었다. 퍼핑공 사이에 끈끈한 실이 보이기 시작하면 불을 끄고 준비한 판에 부어 서로 밀착되도록 성형해준 뒤 굳을 때까지 식혀주었다. 화분 없이 제조한 밀엿강정을 대조군(Control)으로 하였고, 실험군으로는 팽화처리하지 않은 화분을 첨가한 강정(Raw), 팽화처리한 화분을 첨가한 강정(Puffed), 그리고 팽화처리한 화분을 당용액과 섞지 않고 밀엿강정 위에 직접 도포하여 제조한 강정(Puffed-Coated)으로 구성하였다. 제조한 밀엿강정들은 분석을 위해 믹서(SHMF-3500SS, Hanil electric)를 이용하여 1분 동안 균질화한 후 시료로 사용하였다.

화분 첨가 밀엿강정의 이화학적 특성

밀엿강정의 수분함량은 105°C 상압가열건조법으로 분석하였다. 가용성 고형분, pH 그리고 적정산도는 밀엿강정 물 추출물로 분석하였으며, 추출조건과 방법은 앞서 기술한 화분 분석과 동일한 과정을 따랐다. 색 특성은 색차계(CR400, Konica Minolta Sensing)를 이용하여 명도, 적색도, 황색도를 측정하였다.

화분 첨가 밀엿강정의 항산화 활성 및 산화안정성

Lee와 Surh(2021)의 연구에서 화분 에탄올 추출물이 물, 핵산 추출물보다 항산화 활성이 높았던 점을 고려하여, 밀엿강정의 항산화 활성 평가에는 추출용매로 에탄올을 사용하였으며 추출물 준비는 앞서 기술한 화분 추출물 준비과정을 동일하게 따랐다. 285 nm에서 추출물의 흡광도를 측정하여 페놀물질의 존재를 확인하였으며, 총 환원력과 DPPH 라디칼 소거활성으로 밀엿강정의 항산화 활성을 평가하였다. 상세한 분석과정은 화분 추출물 분석과정과 동일하였다.

산화안정성 평가를 위한 추출물은 다음과 같이 준비하였다. 균질화된 밀엿강정 3 g에 클로로포름:메탄올(2:1, v/v) 20 mL를 첨가한 후 1분 동안 균질화하여 3,091×g에서 20분 동안 원심분리(5810R, Eppendorf)하고, 여과(Quailitative Filter paper No. 2, Whatman)한 상층액을 추출물로 분석에 사용하였다. 지방산화 과정에 따라 1차 산화물 지표로는 과산화물, 2차 산화물 지표로는 *p*-anisidine value를 측정하였다. 과산화물은 ferrous 이온(Fe^{2+})이 과산화물에 의해 ferric 이온(Fe^{3+})으로 산화된 후 ammonium thiocyanate와의 반응으로 발색하는 원리의 ferric thiocyanate법(Chapman과 Mackay, 1949)으로 정량하였다. 먼저 $FeCl_2$ 제조를 위해 $FeSO_4 \cdot H_2O$ (2.5 g/25 mL in water)를 교반하면서 barium chloride (2 g/25 mL in water)와 10 N HCl 1 mL를 순서대로 넣어준 뒤 충분히 진탕하여 침전시켜 상층액($FeCl_2$)을 여과(Quailitative Filter paper No. 2, Whatman)하여 사용하였다. 추출물(500 μ L)에 methanol:butanol (2:1, v:v)을 넣어 3 mL로 정용하고 ammonium thiocyanate (7.5 g/25 mL in water) 15 μ L와 동량의 $FeCl_2$ (15 μ L)를 순차적으로 첨가한 후 20분 동안 실온의 어두운 곳에서 정치하였다. 이후 510 nm에서 최종 반응물의 흡광도(EON microplate spectrophotometer, Biotek Instruments)를 측정하였다. 과산화물 함량은 표준물질로 사용한 cumene hydroperoxide 당량으로 산출하

였다. 과산화물 분해로 생성되는 이차산화물의 지표인 *p*-anisidine value의 분석방법은 다음과 같다(Tompkins와 Perkins, 1999). 먼저 *p*-anisidine (0.25 g/100 mL in acetic acid) 용액을 23°C 암실에서 제조하였다. 추출물(5 mL)에 1 mL acetic acid (A0)와 *p*-anisidine (A1)을 각각 넣어준 후 23°C에서 10분 동안 암반응 시켰다. 350 nm에서 최종 반응물의 흡광도(EON microplate spectrophotometer, Biotek Instruments)를 측정하였다. 공시험(A2)을 위해 추출용매인 클로로포름:메탄올(2:1, v/v) 5 mL와 *p*-anisidine 1 mL를 넣어 동일한 조건으로 반응시켜 흡광도를 측정하였다. *p*-Anisidine value는 문헌에 따라 측정된 흡광도를 $[1.2(A1-A2)-A0]$ 의 식에 대입하여 산출하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며 결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. IBM SPSS Statistics (ver. 24.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA)로 일원분산분석(one-way ANOVA)을 이용해 유의수준을 0.05로 설정하고 Duncan법으로 사후검정을 실시하여 시료간의 유의적 차이를 확인하였다.

결과 및 고찰

팽화처리한 화분의 이화학적 특성

팽화처리한 화분의 화학적 특성은 Table 1과 같다. 수분함량은 생화분의 경우 17.6%였으며 처리한 압력에 비례하여 2.9%까지 유의적으로($p < 0.001$) 감소하여, 가공 중 70-80% 정도가 감소하였다. 이는 팽화처리 중 기기 내부온도가 물의 비점 이상으로 상승하여 수분 증발을 촉진시켰고, 압력으로 인해 화분 내부의 수분이 외부로 단시간에 방출되었기 때문으로 해석하였다(Yi 등, 2016). 가용성 고형분은 가해진 압력 강도에 반비례하여 생화분 6.0°Bx에서 8 kgf/cm² 처리군 4.1°Bx까지 유의적으로($p < 0.001$) 감소하였다. 이는 팽화처리 시 가해진 열과 압력으로 수분 감소와 함께 화분 속 구성성분의 분자운동이 활발해져 화학반응이 촉진되었기 때문이다. 이로 인해 고분자 중합체가 증가하여 가용성분이 상대적으로 감소한 것으로 해석하였다. 실제로 화분의 외관을 관찰하면 팽화강도가 증가함에 따라 화분에서 갈변반응이 상당히 촉진된 것을 확인할 수 있다(Fig. 1). 색차계로 측정한 기계적 색 특성 결과에서도 명도(L), 황색도(b), 적색도(a)가 유의적으로($p < 0.001$) 감소하였고, 분광학적으로 측정된 화분 물추출물의 갈변지수(browning index)와 색 강도(color intensity) 역시 유의적으로($p < 0.001$) 증가하였다(Fig. 2). 이 결과들은 팽화처리로 화분 내부에서 갈변반응이 촉진되었음을 확인해준다. Thakur와 Nanda (2020)에 따르면 화분에는 메일라드 갈변반응의 기질이 되는 당(50%)과 단백질(20%)이 상당량 함유되어 있다. 한편 적정산도의 경우 팽화처리 강도가 증가할수록 생화분 1,808에서 1,366 mg%까지 감소하다가 이후 다시 증가하여 2,347 mg% 수준을 보였다($p < 0.001$). 이에 따라 pH 측정결과는, 생화분 3.79에서 팽화처리로 4.94까지 증가하다 다시 4.29로 감소하며($p < 0.001$), 전형적으로 적정산도와 음의 상관성($r = -0.465$)을 나타내었다. 화분은 꿀벌에 의한 당분해로 생성된 다양한 유기산을 함유하고 있어, pH 3.49-6.33 정도의 산성-약산성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Thakur와 Nanda, 2020). 팽화처리 시 열과 압력의 증가로 화분 속 유기산 일부가 휘발되어 적정산도가 감소하다가, 이후 구성성분들 사이의 가속화된 갈변반응으로 산성의 메일라드 반응산물(Maillard Reaction Products, MRP)이 축적됨에 따라 산도 증가 및 pH 감소현상이 나타난 것으로 해석하였다. 실제로 MRP의

Table 1. Chemical properties and water-holding capacity of the bee pollen puffed at different pressure¹⁾

Property	Pressure (kgf/cm ²)						Significance ²⁾
	Raw	2.5	3	5	6	8	
Moisture (%)	17.6±0.4 ^a	5.0±0.4 ^{bc}	5.7±0.5 ^b	4.3±0.6 ^{cd}	3.8±0.4 ^d	2.9±0.3 ^e	***
Soluble solids (°Brix)	6.0±0.2 ^a	5.0±0.0 ^b	4.8±0.1 ^c	4.7±0.0 ^c	4.3±0.1 ^d	4.1±0.0 ^e	***
Titrateable acidity (mg% as acetic acid)	1,808±24 ^c	1,562±22 ^d	1,366±85 ^e	1,629±31 ^d	2,042±41 ^b	2,347±32 ^a	***
pH	3.79±0.08 ^e	4.94±0.02 ^a	4.65±0.21 ^b	4.55±0.03 ^{bc}	4.43±0.02 ^{cd}	4.29±0.02 ^d	***
Water-holding capacity (%)							
Cold water (6°C)	44.4±2.9 ^d	100.9±6.6 ^{bc}	97.4±5.9 ^c	111.5±8.6 ^a	110.7±7.3 ^{ab}	110.4±7.0 ^{ab}	***
Hot water (69°C)	51.9±5.6 ^c	115.1±6.9 ^{ab}	107.5±5.1 ^b	113.4±5.1 ^{ab}	120.6±5.9 ^a	120.0±4.8 ^a	***
Significance ³⁾	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

¹⁾Data was expressed as the mean±standard deviation of triplicate.

²⁾*** means that the values within the same row are significantly different at $p < 0.001$.

³⁾NS means 'not significant'. Water-holding capacity was not significantly different between cold water and hot water.

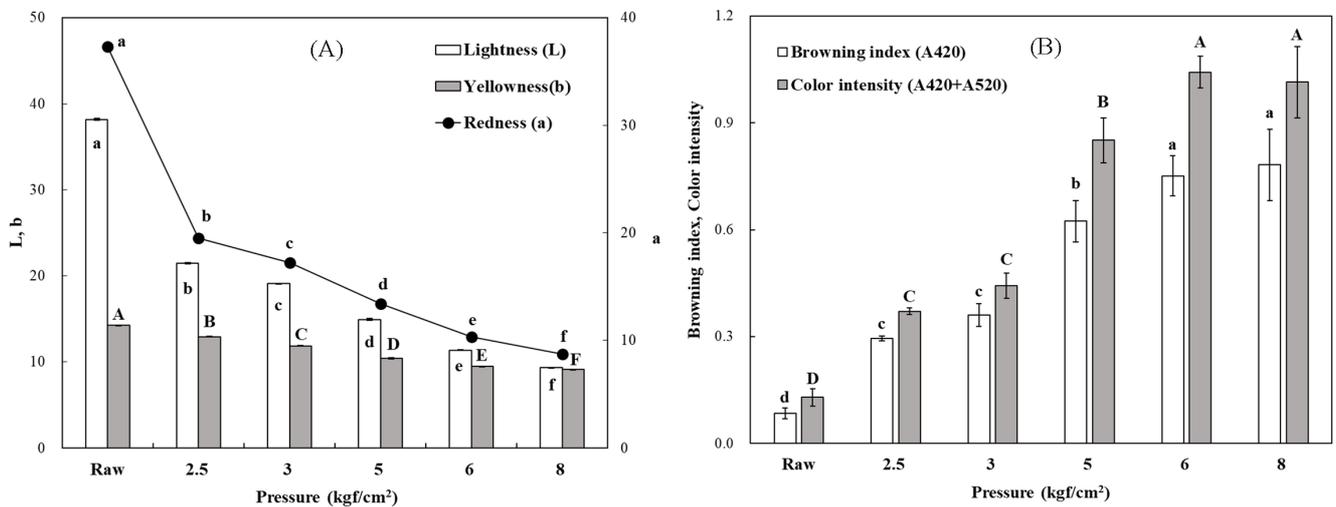


Fig. 2. Lightness, redness, and yellowness of the bee pollen puffed at different pressure (A). Browning index and color intensity of the water extracts from the processed bee pollen (B). A₄₂₀ and A₅₂₀ mean the absorbance at 420 and 520 nm, respectively. Different letters on the same type of graph indicate a significant difference at $p < 0.001$.

pH는 반응온도와 시간이 증가함에 따라 뚜렷이 감소하는 것으로 보고되었으며 메일라드 갈변반응으로 생성된 중합체의 경우 pH가 2.8-4.0 수준으로 알려져 있다(Vhangani와 Wyk, 2013; Kim 등, 2017).

팽화처리한 화분의 물 결합력은 Table 1과 같다. 화분을 냉수에 분산시켰을 경우 생화분의 물 결합력은 44.4%였으나 팽화처리한 화분은 97.4-111.5%로 유의적으로($p < 0.001$) 높았다. 온수에 분산시켰을 때에도 생화분 51.9%, 팽화처리 화분 107.5-120.6%으로 냉수와 동일한 경향을 나타내었으며($p < 0.001$), 분산매의 온도에 따른 유의적 차이는 관찰되지 않았다. 이는 화분을 팽화처리하는 중 고온과 압력으로 인해 세포벽 성분의 분해 및 세포막 성분의 변성으로 수분 침투가 용이해진 것으로 사료된다. 실제 Yi 등(2016)의 연구에서도 팽화처리 후 조직 내부의 세포가 팽창하고 다공성 구조를 이루어 수분의 재흡수율이 높아진 현상이 관찰되었다.

팽화처리한 화분의 항산화 활성

팽화처리한 화분의 항산화 활성은 Fig. 3과 같다. 페놀성 물질이 285 nm에서 자외선을 강하게 흡수하는 특성에 따라, 추출용매의 극성지수가 다른 3종 화분추출물의 흡광도(A285)를 동일한 조건에서 측정하여 비교하였다(Fig. 3A). 팽화강도가 증가할수록 화분추출물의 흡광도는 유의적으로($p < 0.001$) 증가하였고, 흡광도 수준은 에탄올 추출물 0.597-1.748, 물 추출물 0.155-1.233, 헥산 추출물 0.005-0.019로 극성용매로 얻어진 추출물에서 뚜렷이 높았다. 이는 화분에 상당량 존재하는 캄페롤(kaempferol), 케르세틴(quercetin) 등 플라보노이드와 갈산(gallic acid), 페룰산(ferulic acid), p-쿠마린산(p-coumaric acid) 등 페놀산에 의한 것으로 보인다(Thakur와 Nanda, 2020). 페놀성 및 비페놀성 환원물질을 총체적으로 측정하는 총 환원력도 동일한 결과를 나타내었다(Fig. 3B). 즉 총 환원력은 갈산당량으로 에탄올 추출물은 3,915-34,326 µg/g, 물 추출물은 1,422-18,007 µg/g, 헥산 추출물은 27-171 µg/g이었

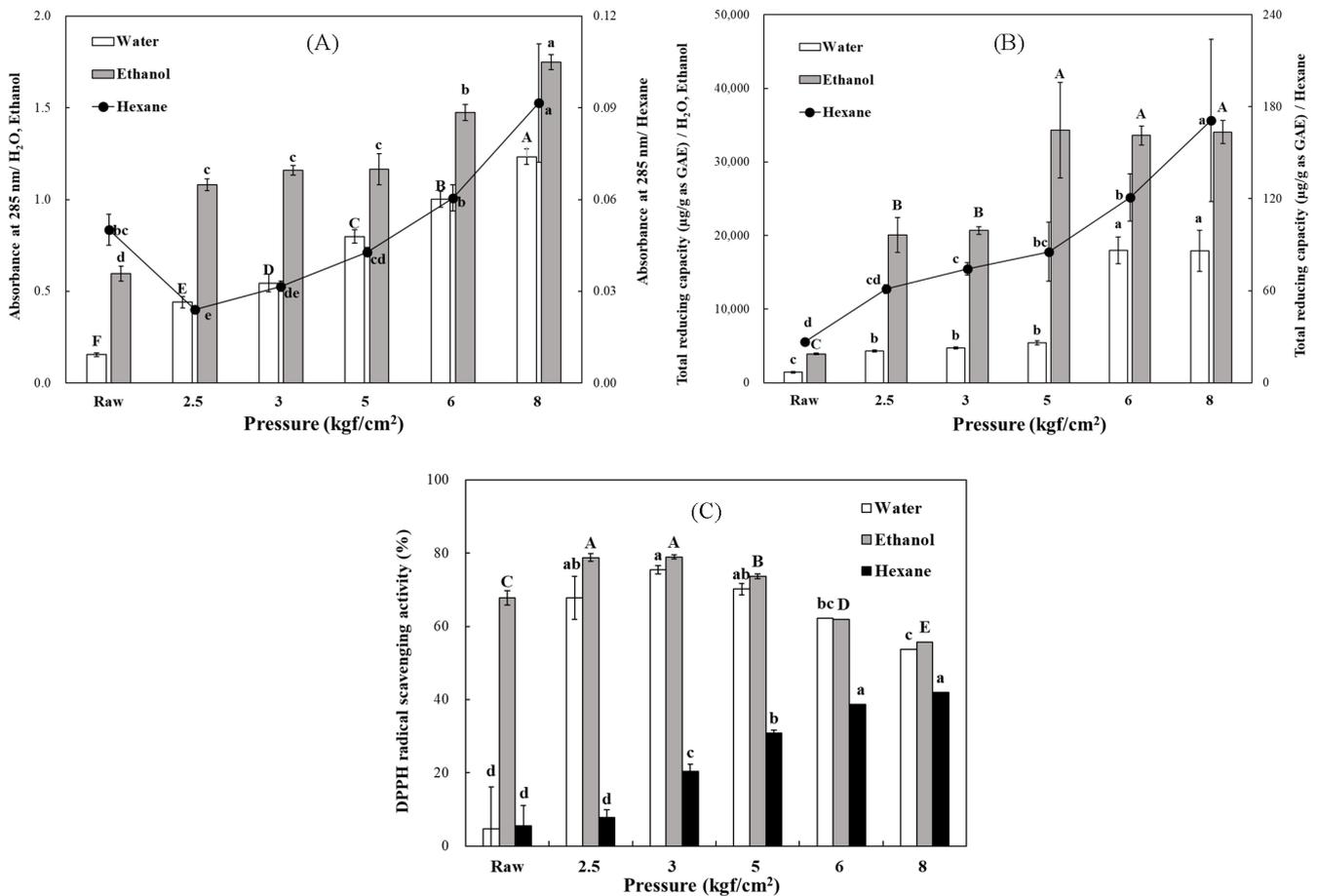


Fig. 3. Presence of phenols (A), total reducing capacity (B) and DPPH radical scavenging activity (C) of the solvent (water, ethanol, and hexane) extracts from the bee pollen puffed at different pressure. Different letters on the same type of graph indicate a significant difference at $p < 0.001$.

으며, 압력이 높아질수록 유의적으로($p < 0.001$) 증가하는 경향을 보였다. 특히 가장 약한 처리 조건이었던 2.5 kgf/cm²에서 팽화처리 화분은 생화분과 비교해 총 환원력이 물 추출물에서 3배, 에탄올 추출물에서 5배 이상 증가하였다. 이는 팽화처리 시 수분감소에 의한 농축효과뿐 아니라, 메일라드 갈변반응으로 환원성 물질이 생성된 결과로 볼 수 있다. 실제로 Vhangani와 Wyk(2013)는 당-아미노산 모델시스템에서 반응온도가 높고 반응시간이 길수록 갈변정도가 크고 이때 생성된 MRP의 라디칼 소거활성과 환원력 역시 높았다고 보고하였다. 일례로 메일라드 갈변반응으로 생성되는 대표적 카보닐 화합물인 리덕톤(reductone)은 엔다이올(enediol)과 카보닐기가 인접한 구조로 탁월한 환원력을 지닌 것으로 알려져 있다(Nooshkam 등, 2019). 고온과 고압 조건에서 일부 항산화 성분은 낮은 안정성으로 인해 분해되기도 하지만, 본 연구에서는 팽화처리 후 화분의 항산화 활성이 전반적으로 증가하였다(Fig. 3). 그러나 상대적으로 높은 압력조건에서는 오히려 고원효과(plateau effect)가 나타났다. 에탄올 추출물의 경우 5 kgf/cm²에서 총 환원력이 더 이상 증가하지 않았고(Fig. 3B) DPPH 라디칼 소거활성은 유의적으로 감소한 현상이 관찰되었다(Fig. 3C). 이는 압력이 상대적으로 높았을 때 화분 추출물의 갈변지수와 색 강도가 비교적 일정한 결과와 관련 지을 수 있다(Fig. 2B). 아미노기와 카보닐기 사이의 화학반응인 메일라드 갈변반응은 산성조건에서 저해되므로(McClements와 Decker, 2007) 상대적으로 높은 압력에서 팽화처리된 화분의 pH가 낮아진 현상을 고

려하면(Table 1), 해당 처리조건에서는 화분의 pH 감소로 갈변반응이 피드백 제어되어 환원력을 보유한 MRP 생성이 느려졌기 때문에 해석된다(Knol 등, 2010).

화분 첨가 밀렛강정의 이화학적 특성

밀렛강정 제조에 사용된 팽화처리 화분은 2.5 kgf/cm²의 압력에서 팽화된 화분으로 이화학적 조성 및 항산화 활성이 생화분과 뚜렷이 구분되었다. 생화분 및 팽화화분을 첨가한 밀렛강정의 이화학적 특성은 Table 2와 같다. 밀렛강정의 수분함량은 화분 첨가군이 무첨가 대조군보다 유의적으로($p < 0.05$) 높았으나, 화분 첨가군들 사이에는 유의적으로 다르지 않았다. 이는 생화분과 팽화처리 화분의 수분함량과 물 결합력 차이에 의한 것으로 보인다(Table 1). 즉 화분은 팽화처리 후 수분함량이 유의적으로 감소하였지만 대신 물 결합력은 높아져 그 차이를 상쇄한 것으로 해석하였다. 그럼에도 화분이 고유로 함유한 상당량의 식이섬유로(Thakur와 Nanda, 2020) 밀렛강정의 수분함량은 무첨가 대조군에 비해 화분 첨가군이 상대적으로 높았던 것으로 보인다. 가용성 고형분의 경우, 팽화처리한 화분 첨가군(Puffed)은 생화분 첨가군(Raw)보다 유의적으로($p < 0.01$) 낮았으며, 이는 팽화처리 후 화분 속 가용성 고형분이 감소했던 현상으로 설명할 수 있다(Table 1). 또한 팽화처리 화분 첨가군(Puffed)은 생화분 첨가군(Raw)보다 적정산도는 유의적으로($p < 0.001$) 낮고(276 vs. 414 mg%) pH는 유의적으로($p < 0.001$) 높아(pH 5.61 vs. 5.35) 팽화화분과 생화분의 특

Table 2. Physicochemical properties of the flour puff *yeot-gangjeong* depending on the processing of bee pollen¹⁾

Property	Without bee pollen		With bee pollen		Significance ³⁾
	Control	Raw	Puffed	Puffed-Coated ²⁾	
Moisture (%)	7.3±0.1 ^b	8.2±0.3 ^a	8.3±0.1 ^a	8.0±0.6 ^a	*
Soluble solids (°Bx)	4.02±0.09 ^a	3.95±0.23 ^a	3.42±0.10 ^b	3.82±0.12 ^a	**
Titrate acidity (mg% as acetic acid)	439±39 ^a	414±30 ^a	276±11 ^b	234±7 ^b	***
pH	5.70±0.05 ^a	5.35±0.10 ^c	5.61±0.01 ^{ab}	5.53±0.01 ^b	***
Color					
Lightness (L)	28.72±0.14 ^a	23.40±0.18 ^b	21.35±0.02 ^c	21.44±0.01 ^c	***
Redness (a)	26.47±0.13 ^a	21.34±0.18 ^b	19.44±0.02 ^c	19.59±0.02 ^c	***
Yellowness (b)	16.20±0.07 ^a	12.13±0.11 ^d	12.78±0.02 ^c	13.07±0.01 ^b	***

¹⁾Data was expressed as the mean±standard deviation of triplicate.

²⁾*Yeot-gangjeong* coated with puffed bee pollen on the surface, instead of mixing the bee pollen with syrup.

³⁾*, **, and *** mean that the values within the same row are significantly different at $p<0.05$, $p<0.01$, and $p<0.001$, respectively.

Table 3. Antioxidant activity of the flour puff *yeot-gangjeong* depending on the processing of bee pollen¹⁾

Antioxidant activity	Without bee pollen		With bee pollen		Significance ³⁾
	Control	Raw	Puffed	Puffed-Coated ²⁾	
Presence of phenols (A_{285}) ⁴⁾	0.629±0.122 ^b	0.695±0.122 ^b	0.821±0.041 ^{ab}	0.921±0.142 ^a	NS
Total reducing capacity (µg/g as gallic acid equivalent)	728.0±103.3 ^b	765.3±111.9 ^b	1033.7±130.4 ^a	1142.7±114.1 ^a	**
DPPH radical scavenging activity (%)	32.9±1.7 ^c	35.7±3.1 ^c	42.6±2.5 ^b	48.8±3.0 ^a	***

¹⁾Data was expressed as the mean±standard deviation of triplicate.

²⁾*Yeot-gangjeong* coated with puffed bee pollen on the surface, instead of mixing the bee pollen with syrup.

³⁾** and *** mean that the values within the same row are significantly different at $p<0.01$, and $p<0.001$. NS means 'not significant'.

⁴⁾ A_{285} means the absorbance at 285 nm.

성차이를 그대로 반영하였다. 밀엿강정의 색 특성 역시(Table 2) 팽화처리 화분이 생화분보다 명도, 적색도, 황색도가 유의적으로 낮았던 특성(Table 1) 그대로 반영하였으며, 화분의 팽화처리 유무에 관계없이 화분 첨가 후 밀엿강정의 명도, 적색도, 황색도는 모두 유의적으로($p<0.001$) 낮아졌다(Table 2). 한편, 제품화를 고려하여 밀엿강정의 표면에 팽화화분을 직접 뿌려 제조한 밀엿강정(Puffed-Coated)은 대부분의 이화학적 특성에서 팽화처리 화분 첨가군(Puffed)과 유사하였다.

화분 첨가 밀엿강정의 항산화 활성 및 산화안정성

물, 헥산과 비교해 에탄올 추출물에서 탁월하게 높은 항산화 활성을 보였던 화분의 특성을 고려하여(Fig. 3) 화분 첨가 밀엿강정의 항산화 활성 평가에는 에탄올 추출물을 사용하였다. 그 결과(Table 3), 페놀성 물질의 함량에 비례하는 285 nm에서의 흡광도(A_{285})는 팽화처리한 화분을 첨가한 군들(Puffed, Puffed-Coated)이 높은 경향을 나타내었다($p=0.053$). 이러한 차이는 총 환원력과 DPPH 라디칼 소거활성에서도 동일하게 관찰되었다(Table 3). 즉 팽화처리 화분 첨가군(Puffed)과 생화분 첨가군(Raw)을 비교하면, 총 환원력은 갈산당량으로 1033.7과 765.3 µg/g, DPPH 라디칼 소거활성은 42.6와 35.7%로 팽화처리 화분첨가군이 모두 유의적으로($p<0.001$)로 높았다. 이는 팽화처리 중 화분에서 메일라드 갈변반응으로 형성된 MRP의 항산화 활성이 밀엿강정에 실질적으로 부여된 것으로 보인다. 한편 밀엿강정 제조 시 팽화처리 화분을 당용액과 섞어 열처리한 군(Puffed)과 비교해, 팽화처리 화분

을 강정 표면에 직접 뿌린 군(Puffed-Coated)은 상대적으로 높은 항산화 활성을 나타내었다. 또한 무첨가 대조군과 비교할 때, 생화분 첨가(Raw) 밀엿강정의 항산화 활성을 유의적 수준으로 증가시키지는 못하였다. 화분에 플라보노이드, 페놀산 등이 상당량 존재하고(Thakur와 Nanda, 2020) 팽화공정으로 항산화 활성이 증가했음에도 불구하고(Fig. 3) 추가의 열처리가 행해지는 밀엿강정 제조 후 이러한 현상이 관찰된 것은, 열 및 산소 하에서 플라보노이드 등이 일부 분해되는 특성을 고려하면(Ioannou 등, 2012) 생화분과 팽화처리 화분에 열 안정성이 상대적으로 낮은 항산화 성분이 존재하였음을 시사해준다.

밀엿강정 제조 후 측정된 과산화물 함량은(Table 4) 화분 첨가군(24.7-25.7 µg/g)이 무첨가 대조군(31.0 µg/g)보다 다소 낮은 수준이었으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. 과산화물은 열, 빛, 산소 등 외부환경으로 인해 지방산으로부터 분리된 라디칼(R·)이 삼중항 산소(³O₂)와 결합하여 형성되는 1차 산화물로 알려져 있다(McClements와 Decker, 2007). 밀엿강정의 주재료인 퍼핑콩은 튀김식품으로 지방산화의 기질이 될 수 있으나, 강정 제조 시 사용된 당용액이 퍼핑콩을 코팅하여 산소와의 접촉을 방지하는 방어벽으로 작용함으로써, 화분처리에 의한 추가적 산화방지 효과가 뚜렷이 관찰되지 않은 것으로 보인다. 이로 인해 과산화물 분해로 형성되는 2차 산화물의 수준 역시 무첨가 대조군($p-AV=3.7$)과 화분 첨가군($p-AV=3.2-4.3$)이 서로 유의적으로 다르지 않았던 것으로 보인다(Table 4).

Table 4. Hydroperoxides content and *p*-anisidine value of the flour puff *yeot-gangjeong* depending on the processing of bee pollen¹⁾

Oxidation product	Without bee pollen		With bee pollen		Significance ³⁾
	Control	Raw	Puffed	Puffed-Coated ²⁾	
Hydroperoxides (μg/g)	31.0±1.4	24.7±2.6	25.7±7.4	25.1±2.9	NS
<i>p</i> -Anisidine value	3.7±0.2	3.8±0.6	3.2±0.2	4.3±0.6	NS

¹⁾Data was expressed as the mean±standard deviation of triplicate.

²⁾*Yeot-gangjeong* coated with puffed bee pollen on the surface, instead of mixing the bee pollen with syrup.

³⁾NS means 'not significant'.

요 약

화분을 열처리 가공 원료로 활용하기 위해 압력을 달리하여 팽화처리 화분을 제조하고 이화학적 특성과 항산화 활성을 평가하였다. 팽화강도가 증가함에 따라 화분은 수분함량이 감소하고 갈변도가 유의적으로 증가하였다. 또한 화분의 항산화 활성의 경우, 극성지수가 다른 3종 용매로 얻은 물, 에탄올, 헥산 추출물 모두 총 환원력과 DPPH라디칼 소거활성이 유의적으로 증가하였으며, 특히 극성용매로 얻은 추출물에서 활성이 현저히 높았다. 실험군 중 상대적으로 약한 팽화처리 조건(2.5 kgf/cm²)으로 제조한 화분도 생화분보다 물 추출물에서 3배, 에탄올 추출물에서 5배 이상 높은 활성을 보였다. 이 결과는 팽화처리 후 수분감소로 인한 농축효과뿐 아니라 가속화된 메일라드 갈변반응으로 환원성 물질이 생성된 결과로 해석된다. 이 조건에서 팽화처리된 화분으로 제조한 밀엿강정은 생화분 첨가군과 비교하여 낮은 L, a, b 값과 적정산도, 높은 pH와 항산화 활성을 보여 팽화처리 화분의 특성을 그대로 보여주었다. 이 결과는, 팽화화분이 보유한 메일라드 반응산물(MRP)의 항산화 활성이 밀엿강정에 실질적으로 부여되었음을 보여준다. 그럼에도 불구하고 제조직후 산화방지 효과는 뚜렷이 관찰되지 않았는데, 이는 강정 제조 시 사용한 당용액이 강정과 산소가 직접적으로 접촉하는 것을 방지하였기 때문으로 사료된다. 밀엿강정에서 확인된 항산화 활성을 고려하면, 본 연구 결과는 팽화처리 화분을 첨가한 가공식품의 경우 열처리 직후보다 저장 중 산화안정성이 기대되므로, 이에 대한 후속 연구의 필요성을 시사한다.

감사의 글

이 논문은 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. NRF-2020R1F1A1073688).

References

- Anjos O, Fernandes R, Cardoso SM, Delgado T, Farinha N, Paula V, Estevinho LM, Carpes ST. Bee pollen as a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in black pudding. *LWT-Food Sci. Technol.* 111: 869-875 (2019)
- AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC. 15th ed. Method 984.13. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA (1990)
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 25-30 (1995)
- Chapman RA, Mackay K. The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 26: 630-363 (1949)
- Conte P, Caro AD, Balestra F, Piga A, Fadda C. Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach. *LWT-Food Sci. Technol.* 90: 1-7 (2018)
- de Florio Almeida J, dos Reis AS, Heldt LFS, Pereira D, Bianchin M, de Moura C, Plata-Oviedo MV, Haminiuk CWI, Ribeiro IS, da Luz CFP, Carpes ST. Lyophilized bee pollen extract: A natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. *LWT-Food Sci. Technol.* 76: 299-305 (2017)
- Ioannou I, Hafsa I, Hamdi S, Charbonnel C, Ghoul M. Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour. *J. Food Eng.* 111:208-217 (2012)
- Kim GY, Choi H, Park I. Effect of Maillard reaction products on inhibition of burdock polyphenol oxidase and their antioxidant activities. *Korean J. Food Nutr.* 30: 853-859 (2017)
- Knol JJ, Linssen JPH, van Boekel MAJS. Unravelling the kinetics of the formation of acrylamide in the Maillard reaction of fructose and asparagine by multiresponse modelling. *Food Chem.* 120: 1047-1057 (2010)
- Krystyjan M, Gumul D, Ziobro R, Korus A. The fortification of biscuits with bee pollen and its effect on physicochemical and antioxidant properties in biscuits. *LWT-Food Sci. Technol.* 63: 640-646 (2015)
- Lee J, Surh J. Effect of the addition of bee pollen on the antioxidant activity and oxidation stability of wheat flour-puff *yeot-gangjeong* during storage. *Korean J. Food Cook Sci.* 37: 262-272 (2021)
- McClements DJ, Decker EA. Lipids. pp. 155-216. In: Fennema's Food Chemistry. Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR (ed). CRC Press, Boca Raton, FL, USA (2007)
- Nooshkam M, Varidi M, Bashash M. The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chem.* 275: 644-660 (2019)
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178 (1999)
- Thakur M, Nanda V. Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 98: 82-106 (2020)
- Tompkins C, Perkins EG. The evaluation of frying oils with the *p*-Anisidine value. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76: 945-947 (1999)
- Vhangani LN, Wyk JV. Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) derived from fructose-lysine and ribose-lysine model systems. *Food Chem.* 137: 92-98 (2013)
- Yeom J, Surh J. Effect of heating on the quality characteristics and antioxidant activities of *baekseolgi* made with arrowroot flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* 50: 83-91 (2018)
- Yeom J, Surh J. Physicochemical properties and antioxidant activities of heat-treated arrowroot extract and *baekseolgi* added with arrowroot extract. *Korean J. Food Cook Sci.* 35: 227-235 (2019)
- Yi JY, Zhou LY, Bi JF, Wang P, Liu X, Wu XY. Influence of number of puffing times on physicochemical, color, texture, and microstructure of explosion puffing dried apple chips. *Dry. Technol.* 34: 773-782 (2016)