

## 효소처리 통밀가루를 첨가한 머핀의 미네랄 생체이용률 및 품질 특성

이신영<sup>1</sup> · 이광연<sup>1</sup> · 이현규<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>한양대학교 식품영양학과

### Mineral bioavailability and physicochemical properties of muffins prepared with enzyme-treated whole wheat flour

Sin Young Lee<sup>1</sup>, Kwang Yeon Lee<sup>1</sup>, and Hyeon Gyu Lee<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Hanyang University

**Abstract** The effects of phytase and cellulase treatment on the bioavailability of iron, calcium, and zinc in whole wheat flour and their food applications were evaluated in this study. Whole wheat flour was treated with phytase and cellulase either individually or in combination and incubated at 50°C for 2 h; the concentrations used for the individual enzymes were 2%, 10%, and 20%. The concentration of the combination enzyme was 20% with a mixing ratio of 5:5. Total dietary fiber and phytate contents were reduced as the concentrations of phytase and cellulase increased. The bioavailability of iron, calcium, and zinc was notably improved after *in vitro* digestion in 20% cellulase, combination enzyme, and 20% phytase, respectively. Muffins made with cellulase- and phytase-treated whole wheat flour showed improved quality and bioavailability of minerals. Phytase- and cellulase-treated whole wheat flour may be useful for development of functional food products with improved bioavailability of minerals.

**Keywords:** whole wheat flour, phytase, cellulase, muffin, mineral

## 서 론

경제발전과 더불어 외식산업의 발전으로 현대인의 식생활 전반에 걸쳐 많은 변화를 가져오게 되었고, 식생활의 서구화는 고 열량의 식사를 섭취하는 반면 필수영양소의 부족으로 영양 불균형을 가져오고 있다. 이러한 식생활 패턴의 변화는 비만이나 당뇨병, 동맥 경화, 심장병 등의 성인병을 유발하게 함에 따라 식이섬유 및 다양한 생리활성 물질이 풍부한 전곡립에 대한 관심이 높아졌다. 전곡립(Whole grain)에는 식이섬유, 저항전분, 비타민, 무기질 등이 풍부하여 관상동맥성 심장질환, 대장암, 당뇨병과 같은 서구형 질병 발생위험을 낮추는데 도움을 준다(Pham 등, 2007). 그러나 전곡립 내에 비타민 및 무기질, 생리활성 성분이 함유되어 있더라도 전곡립 세포벽의 구성성분들과 강하게 결합된 상태로 존재하므로 생체 이용률이 매우 낮아 실질적인 생리활성 효과를 기대하기 어려운 실정인데(Carnonara 등, 1996), 특히, 식이섬유와 phytate는 미네랄과 킬레이트 화합물 형성하여 미네랄의 체내 이용률을 저해하는 인자로 알려져 있다(Luo 등, 2010).

곡류와 두류에 주로 함유되어 있는 phytate (myo-inositol hexakisphosphate, InsP6)는 씨앗의 중요한 구성성분으로 곡류 내 인의 주요한 저장형태이며 발아와 성장에 필수적인 물질이면서 주요한 무기질의 저장형태이다(Maga, 1982). Phytate는 2가의 양이

온인 철분, 아연, 칼슘 등과 함께 불용성 화합물 형태로 킬레이트 하려는 성질이 강한데, 사람의 소화기관에서는 phytate를 분해할 수 있는 효소의 양이 적어서 phytate와 결합한 무기질은 이용되지 못하고 체외로 배설되므로 철분, 아연, 칼슘, 마그네슘 등의 무기질의 체내 이용률을 감소시키는 인자로 알려져 있다(Cheryan, 1980; Cosgrove, 1966). 철분의 결핍은 빈혈, 인지 기능의 저하, 면역력의 저하를 야기하는 것으로 알려져 있다(Hurrell, 2004). 또한, 칼슘의 결핍은 골밀도를 저하시켜 골절, 골다공증의 위험을 높이며, 아연이 부족하게 되면 호흡기 감염 위험도가 높아지고, 어린이 및 청소년의 성장을 감소시킨다(Harland와 Oberleas, 1987).

식이섬유는 식품에 부피를 주고 물과 결합할 수 있는 능력을 지녀 식품의 에너지 밀도를 낮출 뿐 아니라 소화기관 내에 음식물이 머무는 시간을 줄이고 대변을 부드럽게 하여 변비와 게실을 완화시키는데 도움이 된다. 또한 겔을 형성하는 성질을 가져 혈중 콜레스테롤과 혈당을 낮추어 당뇨나 관상 심장질환의 위험을 줄인다(Jenkins 등, 1978). 하지만, 식이섬유소 역시 철분, 칼슘, 아연과 같은 미네랄과 킬레이트 화합물을 형성하는 성질로 인하여 미네랄의 체내 이용률을 떨어뜨린다고 알려져 있다(Thebaudin 등, 1997).

곡류와 두류 식품들의 미네랄의 체내 흡수 및 이용률은 앞서 말한 phytate, 식이섬유와 같은 항영양인자 때문에 제한적이다(Lestienne 등, 2005a). 따라서, 미네랄의 이용률을 증가시키고자 두류의 phytate 저감화가 미네랄 이용률에 미치는 영향 등(Lestienne 등, 2005b; Luo 등, 2010; Luo와 Xie, 2012) 두류에 대한 관련 연구가 많이 이루어져 있는 반면, 곡류의 phytate와 식이섬유의 함량을 감소시키면서 자체의 생리활성 성분의 이용가능성을 높이고자 하는 연구는 미비한 상태이다.

\*Corresponding author: Hyeon Gyu Lee, Department of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 04763, Korea  
Tel.: +82-2-2220-1202  
Fax: +82-2-2281-8285;  
E-mail: hyeonlee@hanyang.ac.kr  
Received July 15, 2022; revised August 8, 2022;  
accepted August 10, 2022

많은 산업에서 두류의 phytate 저감화를 위하여 수침, 발효, 분쇄, 로스팅, 발아 등을 방법을 이용하고 있다(Fageer 등, 2004; Hurrell 등, 2002; Lestienne 등, 2005b; Temple 등, 2002). 하지만, 이러한 방법들은 다른 영양소 및 생리활성 물질들을 손상시킬 수 있고(Martinez 등, 1996), 오랜 시간이 걸리기 때문에 산업에서 이용하기에는 비경제적이다. 이에 반해 효소처리는 온화한 조건에서 phytate를 감소시킬 수 있으면서 다른 영양소에 영향을 주지 않으므로(Greiner와 Konietzny, 2006), phytase를 이용하면 곡류의 phytate 함량을 효과적으로 감소시키며 미네랄의 체내 이용률을 증가시킬 수 있다고 알려져 있다(Frontela 등, 2008).

Phytase는 phytate를 가수분해하여 이노시톨과 무기인산을 생성하는 인산 가수분해효소이다. Phytase를 동물의 사료에 첨가하게 되면 무기인산의 공급을 높이고 총 인산의 배설을 감소시키므로, 산업에서 두류 등에 많이 포함되어 있는 phytate를 감소시켜 미네랄의 이용률을 높일 수 있어 영양학적 가치를 증진시킬 수 있다. Cellulase는 동물 사료산업에서 처음 사용되었고 그 후, 식품에 응용되었는데 곡류와 채소의 항 영양인자 및 세포벽 성분을 가수분해하여 영양적 가치를 높여주는 것으로 알려져 있으며(Bhat, 2000), 특히 식이섬유소와 미네랄의 결합을 약하게 하여 체내 미네랄의 이용률을 증진시킬 수 있다고 보고되었다(Wang 등, 2008). Phytase를 이용하여 phytate 함량을 감소시킨 가공식품에 대한 연구는 주로 제빵의 발효과정 중에 phytase를 첨가하여 최종제품의 phytate 함량과 phytase 활성 측정 및 제품특성에 대해 치중되어 왔으며(Daniels와 Fisher, 1981; Haros 등, 2001; Nielsen 등, 2007), 머핀, 케익과 같은 발효과정 없이 제과에서 원료자체의 phytate 저감화를 통해 미네랄 이용률을 증진시키고자 하는 연구와 최종 제품의 미네랄 체내 이용률에 관한 연구는 제한적이다. 따라서 본 연구에서는 phytase와 cellulase를 단일 또는 복합으로 처리한 통밀가루의 성분변화를 분석하고 위·장관소화 후 철분, 칼슘 및 아연의 체내 이용률에 대해 평가하였다. 또한, 효소처리한 통밀가루의 식품산업에서 기능성 소재로의 이용가능성을 탐색하기 위해 머핀을 제조하여 머핀의 품질특성 측정하여 산업적 이용의 기초 자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 통밀가루(Bob's red mill, Milwaukie, OR, USA)는 서울시 중구의 방산시장에서 구입하였다. *E. coli*로부터 얻어진 phytase (Finase<sup>®</sup> L, activity 5000 ppu/g, optimum pH 4.5-6.0, AB enzymes GmbH, Darmstadt, Germany)는 ㈜비전바이오텍(Bision Corporation, Seongnam-si, Korea)에서 제공받아 사용하였으며, Cellulase (Cellulclast<sup>®</sup> 1.5L, ≥700 endoglucanase units/g of solution, from *Trichoderma reesei*, 최적 활성온도 50-60°C, 최적 pH 4.5-6.0)는 Novozyme Korea (Seoul, Korea)에서 구매하여 사용하였다. Total dietary fiber assay kit (TDF-100A), Sodium phytate (P0109)는 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

머핀 제조에 사용한 재료는 통밀가루(Bob's red mill), 설탕 (CJ, Seoul, Korea), 쇼트닝(Ottogi, Seoul, Korea), 탈지분유(Seoul milk, Seoul, Korea), 베이킹 파우더(Jenico, Seoul, Korea), 전란파우더(Poonglim foods Co., Ltd, Seoul, Korea), 소금(CJ)는 서울시 중구의 방산시장에서 구매하여 사용하였다.

### 효소처리 통밀가루 제조

통밀가루를 500 mesh 체에 내린 후, 3배의 0.1 M acetate buffer를 가한 뒤 30분간 실온에서 잘 교반 시킨 후, 통밀가루 건중량의 2%, 10% 및 20%의 phytase 와 cellulase를 첨가하고, cellulase와 phytase를 5:5 비율로 총 20% 첨가하여 50°C의 shaking water bath (WB-6, Daihan Scientific Co., Seoul, Korea)에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 5,000×g, 15분간 원심분리(Optima TL, Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA)하여 상등액을 40°C dry oven에서 24시간 건조하여 미세분쇄기(RT-02, Mill-Tech, Taipei, Taiwan)로 마쇄한 뒤 100 mesh체에 내려 냉장 보관 하였다.

### 총 식이섬유 함량

효소 분해를 위하여 시료 0.5 g에 MES/TRIS buffer (MES 0.05 M과 TRIS 0.05 M 증류수 1 L에 녹여 6 N NaOH로 pH 8.2로 조정)를 각 20 mL씩 첨가한 후, α-amylase 25 μL를 가하여 95°C의 shaking water bath에서 100 rpm의 속도로 15분간 반응시킨 후 shaking을 중단하고 25분간 진탕하였다. Shaking water bath의 온도를 60°C로 낮추고 protease solution (protease 50 mg, 증류수 1 mL) 50 μL를 가하여 60°C의 shaking water bath (WB-6, Daihan Scientific Co.)에서 100 rpm의 속도로 30분간 진탕하고 0.561 N HCl과 6 N NaOH를 이용하여 pH를 4.2±0.5 사이로 조정하였다. 다시 amyloglucosidase 150 μL를 첨가하여 60°C에서 30분간 반응시킨 후, Celite를 넣어 항량한 유리여과기에 효소 분해한 시료를 넣어 감압여과 한 다음 70°C로 예열한 증류수 5 mL을 가하여 세척하였다. 수용성 식이섬유는 여과된 시료에 60°C로 예열한 95% 에탄올을 4배 용량으로 가하고 78%, 95% 에탄올, 아세톤 순으로 각각 7.5 mL을 가하여 두 번씩 세척 및 여과한 다음, 유리여과기를 건조기에서 105°C로 24시간 동안 건조 후 1시간 동안 데시케이터에 방냉하여 잔사량을 구하였다. 한편, 불용성 식이섬유는 여과한 후 남은 잔사에 95% 에탄올, 아세톤 순으로 각각 5 mL을 가하여 2회 세척 후 105°C로 24시간 동안 건조 후 1시간 동안 데시케이터에 방냉하여 잔사량을 구하였다. 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유의 잔사는 525°C 회화로(Difital Muffle Furnace, F-05, Daihan Scientific Co.)에서 5시간 동안 회화 후 회분량을 구하여 다음과 같은 식으로 그 양을 구하였다. 총 식이섬유 (Total dietary fiber)는 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유의 합으로 계산하였다.

$$\text{식이섬유소(\%)} = \{(\text{시료평균잔사} - \text{회분량} - \text{공시험}) / \text{시료무게}\} \times 100$$

### Phytate 함량

시료의 phytate 함량은 Haung과 Lantzsch(1983)의 방법을 약간 변형하여 분석하였다. 시료 0.2 g에 2% (v/v) HCl-10% (w/v) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 5 mL을 넣고, 실온에서 교반기로 200 rpm으로 3시간 동안 추출한 뒤 Whatman No. 4 여과지(20-25 μm, Whatman International Ltd., Kent, UK)로 여과하였다. 여과액 1 mL을 falcon tube에 담은 후 FeCl<sub>3</sub>(FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O) 1.2 mL을 첨가하고 75분간 끓는 물에서 가열하였다. 실온에서 1시간 동안 냉각시킨 3,500 rpm에서 15분간 원심분리 하여 얻은 상층액을 여과지(11 μm, No. 1, Whatman International Ltd.)로 여과하여 분석시료로 사용하였다. 분석시료 1 mL에 Wade Reagent [0.03% (w/v) FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O와 0.3% (w/v) sulfosalicylic acid를 증류수 100 mL로 용해] 0.25 mL

첨가하여 5초 동안 교반시키고, 상온에서 10분간 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer (Biomate 3S, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다. 표준물질로는 sodium phytate를 5, 10, 20, 40 및 50 µg/mL 농도로 희석하여 표준곡선을 작성하여 효소처리 정도에 따른 phytate 함량은 모두 3회 이상 반복실험 하였다.

#### 미네랄 bioavailability

##### 미네랄 함량 분석

시료 1 g을 550°C의 회화로(Difital Muffle Furnace, F-05, Daihan Scientific Co.)에서 5시간 동안 회화한 후 회분을 0.5 N HNO<sub>3</sub> 5 mL을 가하여 골고루 균질화 시킨 후 GF/C (90 mm, Whatman International Ltd.) 여과지로 여과하고 0.5 N HNO<sub>3</sub> 12.5 mL로 정용한 다음 ICP (Inductively coupled plasma spectrometer, Thermo Jarrel Ash, Franklin, MA, USA)로 칼슘, 아연, 철분의 함량을 분석하였다.

##### 미네랄의 *in vitro* 소화

칼슘, 아연, 철분의 체내 이용율에 대한 평가는 Lönnerdal 등 (1993)의 방법을 약간 변형하여 실험하였다. 체내 *in vitro* 위장간 소화모형을 적용하기 전, pepsin 용액은 0.2 g pepsin (P6887, 3200-4500 U/mg protein, from porcine gastric mucosa, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)을 5 mL의 0.1 M HCl 용액에 용해하였고, pancreatin-bile extract 용액은 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> 용액의 1 mL 당 pancreatin 1.85 mg, bile extract 11 mg을 용해하여 준비하였다. 2 g의 시료를 20 mL의 증류수에 골고루 분산시킨 뒤 37°C의 water bath (WB-6, Daihan Scientific Co.)에 10분간 진탕 시켰다. 1 M HCl 용액을 이용하여 교반기 위에서 pH 2.0으로 조정 한 뒤, 앞서 준비한 pepsin 용액 1 mL을 첨가한 뒤 뒤 37°C의 shaking water bath (WB-6, Daihan Scientific Co.)에서 100 rpm의 속도로 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 시료에 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> 용액을 이용하여 pH 4.0으로 조정한 후 pancreatin-bile extract 용액 5 mL을 첨가한 뒤, 다시 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> 를 첨가하여 pH 7.0으로 조절한 후 2시간 동안 100 rpm의 shaking water bath (WB-6, Daihan Scientific Co.)에서 진탕하였다. 진탕이 끝난 소화물은 10,000×g, 4°C 조건에서 30분간 원심 분리한 후 상등액을 40°C 건조기에서 48시간 건조시켜 칼슘, 아연, 철분의 함량을 분석하였다. 미네랄의 이용률은 효소처리 통밀가루의 미네랄의 함량과 *In vitro* 소화 후 용출되어 나온 미네랄의 비율을 %로 표현 하였다.

#### 머핀의 제조

시료의 배합비율은 Rupasinghe 등(2008)의 방법을 이용하여 Table 1과 같으며, 효소처리 된 통밀가루는 각 효소별로 미네랄 이용률이 가장 높았던 20%의 phytase, cellulase 및 cellulase/phytase 샘플을 이용하였다. 효소처리 통밀가루의 대체 비율을 0, 25, 50, 75, 및 100%로 하여 머핀을 제조하였다. 머핀의 반죽은 반죽기(Kitchen Aid, Joseph, MI, USA)를 이용하여 실온에 방치한 쇼트닝에 설탕을 세 번에 나누어 첨가하며 6의 속도로 3분간 크림 상태로 믹싱 후 전란파우더를 넣고 6의 속도로 1분 30초간 반죽 하였다. 물을 넣고 2의 속도로 30초간 혼합한 후, 체질한 통밀가루, 베이킹파우더 및 소금을 넣어 1의 속도로 30초, 4의 속도로 1분 30초간 반죽한다. 종이 머핀컵을 깎 머핀틀에 50 g씩 넣고 190°C로 예열 된 오븐에서 25분간 구워낸 후 상온에서 1시간 냉각한 후 분석에 이용하였다.

#### 머핀의 부피 및 색도

머핀의 부피는 머핀을 구운 후 1시간 방냉 시킨 후, Volscan profiler (VSP 600, Stable Micro System Ltd., Godalming, UK)을 이용하여 specific volume을 측정하였다. 머핀의 crumb 색도는 머핀을 수평으로 자른 단면을 색차계(DP-400, Minilta Co., Ltd., Osaka, Japan)을 이용하여 L\* (lightness), a\* (redness), b\* (yellowness)를 측정하였으며 각 시료당 4회 반복하여 측정하였다. 표준 측정조건은 L\*: 96.07, a\*: 0.99, b\*: 2.01이었다.

#### 머핀의 조직감 특성

머핀의 조직감은 1.5×1.5×1.5 cm의 크기로 잘라서 Texture analyzer (TA-XT2, Stable Micro System Ltd., Godalming, UK)를 이용하여 TPA (Texture Profile Analysis)를 측정하였다. 직경 35 mm 원형 probe를 이용하여 측정 시 조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, test speed 1.0 mm/s, post-test speed 1.0 mm/s로 하여 경도 (hardness), 탄력성(springness), 응집성(cohesiveness), 씹힘성(chewiness)을 측정하였다. 또한, 머핀을 폴리에틸렌 지퍼백에 넣어 실온에서 3일 저장 후 경도를 측정하여 노화도의 지표로 사용하였다.

#### 머핀의 phytate함량

머핀을 구워 실온에서 1시간 방냉 시킨 후, 동결 건조하여 얻은 시료를 phytate 함량분석에 사용하였다. 효소처리 통밀가루의 phytate 함량 분석법과 같은 방법을 이용하여 측정하였다.

**Table 1.** Formulation of muffin substituted with different replacement levels of enzyme treated whole wheat flour

Ingredients	Level of replacement				
	0%	25%	50%	75%	100%
Whole wheat flour (g)	102.15	76.61	51.08	25.53	-
Enzyme treated whole wheat flour (g)	-	25.53	51.08	76.61	102.15
Water (g)	96.39	96.39	96.39	96.39	96.39
Sugar (g)	46.50	46.50	46.50	46.50	46.50
Vegetable oil (g)	41.64	41.64	41.64	41.64	41.64
Skim milk powder (g)	7.71	7.71	7.71	7.71	7.71
Baking powder (g)	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87
Egg powder (g)	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35
Salt (g)	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39

**머핀의 미네랄 bioavailability**

동결건조하여 얻은 시료를 앞서 효소처리 통밀가루의 미네랄 bioavailability를 측정할 방법을 이용하여 측정 머핀에서 철분, 칼슘, 및 아연의 이용률을 측정하였다.

**통계분석**

모든 실험결과는 SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Science)을 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)으로 비교 분석하였으며 각 측정 평균값 간의 유의성은  $p < 0.05$  수준으로 Duncan's multiple range test를 사용하여 검증하였다. 모든 실험결과는 3회 실시하여 얻어진 평균값과 표준편차로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**효소처리 통밀가루의 총 식이섬유 및 phytate 함량**

식이섬유소는 철분, 칼슘, 아연 등과 같은 양이온과 결합하려는 성질로 미네랄의 흡수를 방해하는 항영양인자 중 하나로 알려져 있다(Gillooly 등, 1984). 효소처리 정도에 따른 총 식이섬유 함량은 효소의 종류에 관계없이 농도에 따라 감소하는 경향을 보였다(Table 2). Cellulase를 처리하였을 때, 효소의 양이 증가함에 따라 총 식이섬유는 25-30% 감소하였으나, 효소 농도에 따른 유의적인 차이는 없었다( $p > 0.05$ ). 이는 밀에 cellulase를 처리하였을 때 효소농도에 따른 총 식이섬유의 양의 차이가 없었던 Weinberg 등(1995)의 연구와 유사한 경향이었다. Phytase 처리군에서도 총 식이섬유의 양이 25-27% 감소되었는데, 이는 faba bean flour에 phytase를 처리하였을 때, 총 식이섬유의 양이 감소한 것과 같은 유사하였는데(Luo와 Xie, 2012), 펙틴, gum mucilages, hemicelluloses 및 polysaccharide 등과 같은 수용성 부분의 감소로 인해 총 식이섬유소가 감소하였다고 설명하였다. Cellulase/Phytase복합 처리하였을 때 약 38% 유의적으로 감소하여( $p < 0.05$ ), 단일 처리군 보다 더 큰 감소량을 보여 cellulase와 phytase 복합처리로 인한 상승효과가 나타났으며, 이는 통밀가루 내 fiber-phytate complexes와 관련이 있는 것으로 사료된다(Luo 등, 2010).

효소처리한 통밀가루의 phytate 함량은 Table 2에서 보는 바와 같이 phytase 처리 시 효소의 농도가 증가할수록 phytate 함량은 유의적으로 감소하였으나( $p < 0.05$ ), 효소 농도별에 따른 차이는 크지 않았다. 효소처리를 하지 않은 통밀가루의 phytate 함량은 63.95

µg/g였으며, 20% phytase 처리 시 46.88 µg/g으로 약 28% 감소하였다. 또한, cellulase 처리 시에도 phytate의 함량이 효소농도가 증가함에 따라 감소하였는데, 특히 20% cellulase 처리 시 49.52 µg/g으로 가장 감소하였으며, Slominski 등(1999)도 canola meal에 cellulase를 처리 하였을 때 phytate가 감소됨을 보여 본 연구결과와 유사하였다. Cellulase/ Phytase복합 처리에서도 phytate는 47.67 µg/g으로 약 26% 감소하였으나, 복합처리에 의한 상승효과는 미비하였다.

**효소처리 통밀가루의 미네랄 bioavailability**

Phytase와 cellulase를 단일 또는 복합 처리한 통밀가루의 미네랄의 체내 이용률은 Table 2에 나타내었다. 통밀가루의 철분의 체내 이용률은 24.51%였으며 효소의 농도(2-20%)에 따라 41.67에서 81.59%로 증가하였는데, 이는 faba bean flour에 phytase와 cellulase 처리 시 철분의 용해도를 높일 수 있다는 연구결과(Luo 등, 2010; Lestienne 등, 2005a)와 유사하였다. 특히 20%의 cellulase를 통밀가루에 처리하였을 때 철분의 체내 이용률은 처리하지 않았을 때보다 약 3.3배로 가장 크게 증가하였고, 복합처리에 의한 상승효과는 나타나지 않아 식이섬유가 통밀가루에서 철분과의 chelation에 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다(Luo 등, 2010).

Phytase와 cellulase를 각각 단일 처리하였을 때 효소 농도에 따른 칼슘의 이용률은 농도가 증가함에 따라 7.80%에서 25.99%로 증가하였다. 특히 cellulase/phytase를 복합 처리 하였을 때 칼슘의 이용률은 39.99%로 무처리군(7.80%)에 비해 약 5.1배 증가하여 복합처리에 의한 상승효과를 나타내었다. Cellulase 처리는 식이섬유 분자로부터 칼슘의 용출을 도와 소장에서의 흡수율을 높이며(Luccia와 Kunkel, 2002), phytate 감소 역시 칼슘의 이용률 향상에 도움을 주었을 것으로 사료된다.

아연의 생체 이용률은 단일과 복합효소 처리 시 모두 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). Phytase와 cellulase를 단일로 처리하였을 때, 20%의 농도에서 아연의 생체 이용률이 각각 66와 40%로 가장 높았고 무처리군 보다 최고 2.8배 증가 하였다. Cellulase/phytase복합 처리군은 cellulase 처리군 보다는 높았지만, phytase 처리군 보다는 낮게 나타나, 통밀가루에서의 phytase 처리는 아연과 phytate의 chelation에 의해 아연의 체내 이용률 증진에 더 효과적이었던 것으로 생각된다.

**Table 2. Total dietary fiber, phytate content, and mineral bioavailability of whole wheat flour treated with phytase, cellulase, and cellulase/phytase**

Sample	Enzyme (%)	Total dietary fiber (%)	Phytate (µg/g)	Mineral bioavailability (%)		
				Fe	Ca	Zn
Raw	-	21.41±1.08 <sup>a</sup>	63.95±1.92 <sup>a</sup>	24.51±2.95 <sup>d</sup>	7.80±1.12 <sup>f</sup>	23.54±3.19 <sup>e</sup>
Phytase	2	16.08±0.52 <sup>b</sup>	50.29±2.44 <sup>cd</sup>	41.67±3.59 <sup>e</sup>	18.32±0.06 <sup>e</sup>	41.36±0.51 <sup>c</sup>
	10	15.71±0.15 <sup>b</sup>	47.97±1.17 <sup>de</sup>	44.27±3.30 <sup>e</sup>	19.03±0.17 <sup>e</sup>	40.48±1.11 <sup>c</sup>
	20	15.64±1.15 <sup>b</sup>	46.88±1.63 <sup>e</sup>	63.77±7.76 <sup>b</sup>	24.50±0.64 <sup>b</sup>	66.00±1.36 <sup>a</sup>
Cellulase	2	16.07±0.94 <sup>b</sup>	55.95±2.84 <sup>b</sup>	65.82±8.87 <sup>b</sup>	20.86±1.85 <sup>d</sup>	35.69±0.44 <sup>d</sup>
	10	15.98±0.06 <sup>b</sup>	52.00±2.22 <sup>c</sup>	65.54±3.60 <sup>b</sup>	22.71±1.31 <sup>c</sup>	37.53±0.23 <sup>cd</sup>
	20	15.09±0.92 <sup>b</sup>	49.52±2.16 <sup>cde</sup>	81.59±2.29 <sup>a</sup>	25.99±0.11 <sup>b</sup>	40.00±0.76 <sup>c</sup>
Cellulase/phytase	20	13.39±0.41 <sup>c</sup>	47.67±0.45 <sup>de</sup>	73.89±1.73 <sup>ab</sup>	39.99±2.00 <sup>a</sup>	54.0±6.28 <sup>b</sup>

\*Means±SD

<sup>a-c</sup>Values with various subscripts within the same column are significantly various among samples at  $\alpha=0.05$  level by Duncan's multiple range test.

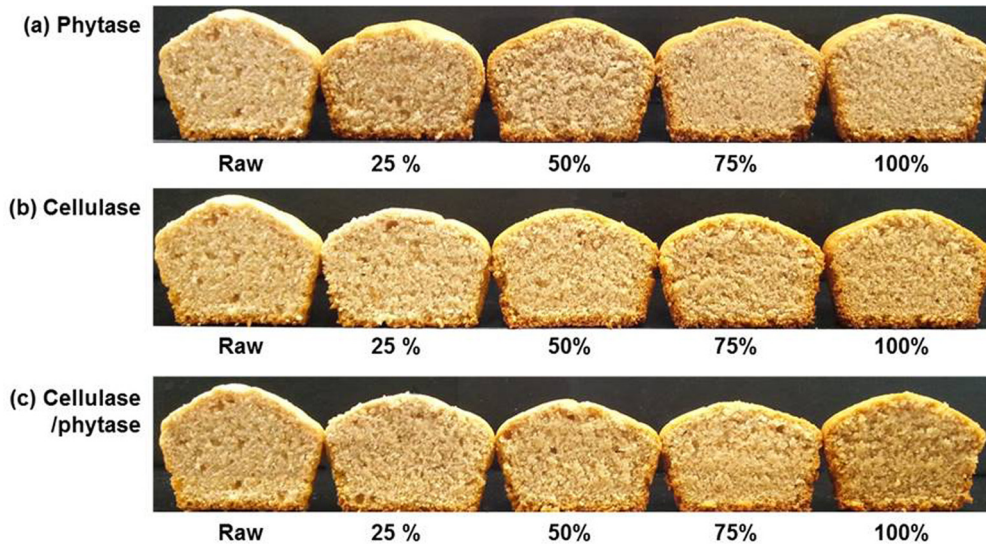


Fig. 1. Appearance of muffins prepared with phytase, cellulase, and cellulase/phytase treated whole wheat flour.

Table 3. Volume and crumb color of muffins prepared with phytase, cellulase, and cellulase/phytase treated whole wheat flour

Sample	Level of replacement (%)	Total volume (mL)	Specific volume (mL/g)	Crumb color		
				L*	a*	b*
Raw	-	67.90±1.50 <sup>c</sup>	1.62±0.03 <sup>d</sup>	52.08±0.69 <sup>a</sup>	4.43±0.23 <sup>g</sup>	12.68±0.34 <sup>a</sup>
Phytase	25	69.05±0.07 <sup>de</sup>	1.64±0.00 <sup>cd</sup>	49.27±0.88 <sup>b</sup>	4.65±0.14 <sup>f</sup>	12.52±0.26 <sup>ab</sup>
	50	69.90±0.40 <sup>cd</sup>	1.64±0.01 <sup>cd</sup>	48.19±0.93 <sup>c</sup>	4.70±0.12 <sup>f</sup>	12.34±0.22 <sup>abc</sup>
	75	70.75±0.21 <sup>c</sup>	1.69±0.00 <sup>abc</sup>	46.82±0.80 <sup>de</sup>	4.96±0.10 <sup>de</sup>	12.30±0.19 <sup>bc</sup>
	100	71.83±0.07 <sup>a</sup>	1.72±0.01 <sup>a</sup>	44.62±0.96 <sup>f</sup>	4.99±0.09 <sup>cde</sup>	11.60±0.29 <sup>d</sup>
Cellulase	25	69.45±0.38 <sup>cd</sup>	1.62±0.00 <sup>d</sup>	49.71±0.70 <sup>b</sup>	4.89±0.14 <sup>e</sup>	12.35±0.14 <sup>abc</sup>
	50	70.25±0.07 <sup>cd</sup>	1.63±0.00 <sup>d</sup>	47.50±0.95 <sup>cd</sup>	5.09±0.17 <sup>cd</sup>	12.45±0.20 <sup>ab</sup>
	75	71.00±0.14 <sup>bc</sup>	1.69±0.00 <sup>ab</sup>	46.55±0.72 <sup>e</sup>	5.14±0.14 <sup>c</sup>	12.35±0.14 <sup>abc</sup>
	100	73.10±0.00 <sup>a</sup>	1.70±0.00 <sup>ab</sup>	43.86±0.61 <sup>g</sup>	5.37±0.27 <sup>b</sup>	12.00±0.24 <sup>c</sup>
Cellulase/phytase	25	69.10±0.70 <sup>de</sup>	1.62±0.01 <sup>d</sup>	49.06±0.75 <sup>b</sup>	5.04±0.20 <sup>cde</sup>	12.65±0.62 <sup>ab</sup>
	50	70.53±0.78 <sup>c</sup>	1.66±0.04 <sup>bcd</sup>	46.45±0.59 <sup>e</sup>	5.36±0.17 <sup>b</sup>	12.54±0.57 <sup>ab</sup>
	75	70.60±0.05 <sup>c</sup>	1.68±0.00 <sup>abc</sup>	44.77±0.86 <sup>f</sup>	5.43±0.18 <sup>b</sup>	12.50±0.29 <sup>ab</sup>
	100	72.13±0.83 <sup>ab</sup>	1.70±0.00 <sup>ab</sup>	42.88±0.86 <sup>h</sup>	5.68±0.21 <sup>a</sup>	12.38±0.46 <sup>ab</sup>

\*Means±SD

<sup>a-h</sup>Values with various subscripts within the same column are significantly various among samples at  $\alpha=0.05$  level by Duncan's multiple range test

### 효소처리 통밀가루 첨가 머핀의 물리적 특성

효소처리 통밀가루의 대체 비율별 머핀의 외관과 부피 및 색도 측정 결과는 각각 Fig. 1과 Table 3에 나타내었다. 효소 처리군의 대체비율이 높을수록 머핀의 부피는 유의적으로 증가하였고( $p<0.05$ ), 특히, phytase를 처리한 통밀가루 100%로 만든 머핀의 부피가 가장 높았는데, fungal phytase를 제빵 중 발효과정에 첨가하였을 때, 빵의 specific volume이 증가하여 본 결과와 유사하였다(Haros 등, 2001).

무처리군으로 제조한 머핀 crumb의 밝기를 나타내는 L\*값은 52.08이었으나 효소처리 통밀가루의 비율이 높아질수록 감소하는 경향이였다. a\*값은 적색도를 나타내는 지표로 무처리군 머핀에서 4.43이었으나, 단일 및 복합 효소처리 통밀가루의 비율이 높아질수록 a\*값이 증가하였다. Cellulase/phytase 복합으로 처리 통밀가루로 제조한 머핀에서 그 값이 5.68로 유의적으로 가장 많이 증가하였다( $p<0.05$ ). 아울러 황색도를 나타내는 b\*값은 무처리군

머핀에서 12.68로 효소처리 통밀가루의 대체 비율이 높을수록 감소하는 경향이였으나, 복합 처리 군에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 식이섬유소를 첨가한 스펀지 케익의 crumb 색도가 식이섬유소의 색과 일치하였던 연구결과와 유사한데, 스펀지 케익을 굽는 과정에서 crumb부분은 crust에 비해 상대적으로 온도가 높지 않아 카라멜 반응이 일어나지 않기 때문에 스펀지 케익에 첨가한 시료의 색의 영향이라고 설명하였다(Lebesi와 Tzia, 2011). 이와 같이 phytase와 cellulase 처리 후 통밀가루의 색이 진해졌던 것과 같은 경향으로 머핀의 crumb 색이 변한 것으로 생각된다.

### 효소처리 통밀가루 첨가 머핀의 조직감 특성

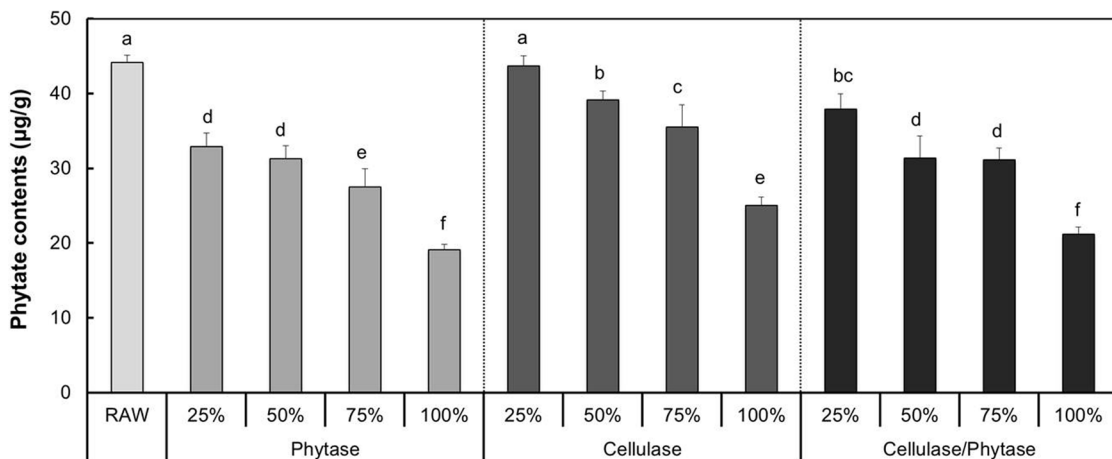
효소처리 통밀가루로 제조한 머핀의 0일과 3일의 조직감 특성은 Table 4과 같다. 머핀의 hardness는 무처리군이 3.44 N로 가장 높은 값을 나타내었고, 효소처리 통밀가루의 대체비율이 높을수록 감소하는 경향이였다. Phytase 처리군으로 제조한 머핀의

**Table 4.** The textural properties and hardness increase of muffins prepared with phytase, cellulase, and cellulase/phytase treated whole wheat flour

Sample	Level of replacement (%)	Hardness (N)		Springiness		Cohesiveness		Hardness increase (N)
		0 day	3 day	0 day	3 day	0 day	3 day	
Raw		3.44±0.20 <sup>a</sup>	8.77±0.61 <sup>a</sup>	0.64±0.02 <sup>e</sup>	0.62±0.03 <sup>e</sup>	0.40±0.00 <sup>d</sup>	0.29±0.01 <sup>c</sup>	3.46±0.64 <sup>a</sup>
Phytase	25	2.32±0.13 <sup>bc</sup>	5.70±0.57 <sup>b</sup>	0.64±0.02 <sup>e</sup>	0.63±0.03 <sup>de</sup>	0.41±0.04 <sup>cd</sup>	0.30±0.01 <sup>bc</sup>	3.35±0.42 <sup>a</sup>
	50	2.22±0.06 <sup>bcd</sup>	5.35±0.37 <sup>bc</sup>	0.66±0.05 <sup>e</sup>	0.64±0.00 <sup>cde</sup>	0.42±0.01 <sup>cd</sup>	0.32±0.01 <sup>abc</sup>	3.13±0.35 <sup>ab</sup>
	75	2.08±0.18 <sup>cde</sup>	4.70±0.13 <sup>cd</sup>	0.68±0.03 <sup>cde</sup>	0.64±0.01 <sup>cde</sup>	0.43±0.00 <sup>bcd</sup>	0.33±0.03 <sup>abc</sup>	2.61±0.05 <sup>bc</sup>
	100	1.84±0.13 <sup>e</sup>	4.10±0.40 <sup>d</sup>	0.71±0.05 <sup>a-d</sup>	0.66±0.02 <sup>bcd</sup>	0.43±0.00 <sup>bcd</sup>	0.33±0.01 <sup>ab</sup>	2.38±0.38 <sup>c</sup>
Cellulase	25	2.35±0.19 <sup>b</sup>	5.79±0.20 <sup>b</sup>	0.66±0.03 <sup>e</sup>	0.63±0.02 <sup>de</sup>	0.40±0.02 <sup>cd</sup>	0.30±0.00 <sup>bc</sup>	3.43±0.37 <sup>a</sup>
	50	2.17±0.08 <sup>bcd</sup>	5.72±0.34 <sup>b</sup>	0.66±0.11 <sup>cde</sup>	0.65±0.02 <sup>b-e</sup>	0.42±0.04 <sup>cd</sup>	0.31±0.01 <sup>bc</sup>	3.49±0.34 <sup>a</sup>
	75	2.29±0.17 <sup>de</sup>	5.35±0.51 <sup>bc</sup>	0.69±0.03 <sup>b-e</sup>	0.67±0.01 <sup>bc</sup>	0.43±0.00 <sup>bcd</sup>	0.32±0.02 <sup>bc</sup>	3.10±0.18 <sup>ab</sup>
	100	1.85±0.11 <sup>e</sup>	4.66±0.24 <sup>d</sup>	0.75±0.01 <sup>a</sup>	0.71±0.01 <sup>a</sup>	0.44±0.03 <sup>bc</sup>	0.32±0.03 <sup>abc</sup>	2.81±0.28 <sup>abc</sup>
Cellulase /phytase	25	2.34±0.07 <sup>bc</sup>	5.80±0.31 <sup>b</sup>	0.64±0.02 <sup>e</sup>	0.61±0.01 <sup>e</sup>	0.43±0.00 <sup>cd</sup>	0.31±0.01 <sup>bc</sup>	3.37±0.39 <sup>a</sup>
	50	2.19±0.23 <sup>bcd</sup>	5.59±0.33 <sup>b</sup>	0.66±0.02 <sup>de</sup>	0.62±0.00 <sup>e</sup>	0.43±0.00 <sup>bcd</sup>	0.31±0.03 <sup>bc</sup>	3.38±0.19 <sup>a</sup>
	75	2.03±0.09 <sup>de</sup>	4.75±0.43 <sup>cd</sup>	0.71±0.03 <sup>abc</sup>	0.68±0.00 <sup>b</sup>	0.47±0.01 <sup>ab</sup>	0.33±0.00 <sup>ab</sup>	2.64±0.47 <sup>bc</sup>
	100	1.90±0.11 <sup>e</sup>	4.32±0.27 <sup>d</sup>	0.73±0.01 <sup>ab</sup>	0.71±0.02 <sup>a</sup>	0.48±0.01 <sup>a</sup>	0.36±0.01 <sup>a</sup>	2.39±0.17 <sup>c</sup>

\*Means±SD

<sup>a-e</sup>Values with various subscripts within the same column are significantly various among samples at α=0.05 level by Duncan's multiple range test

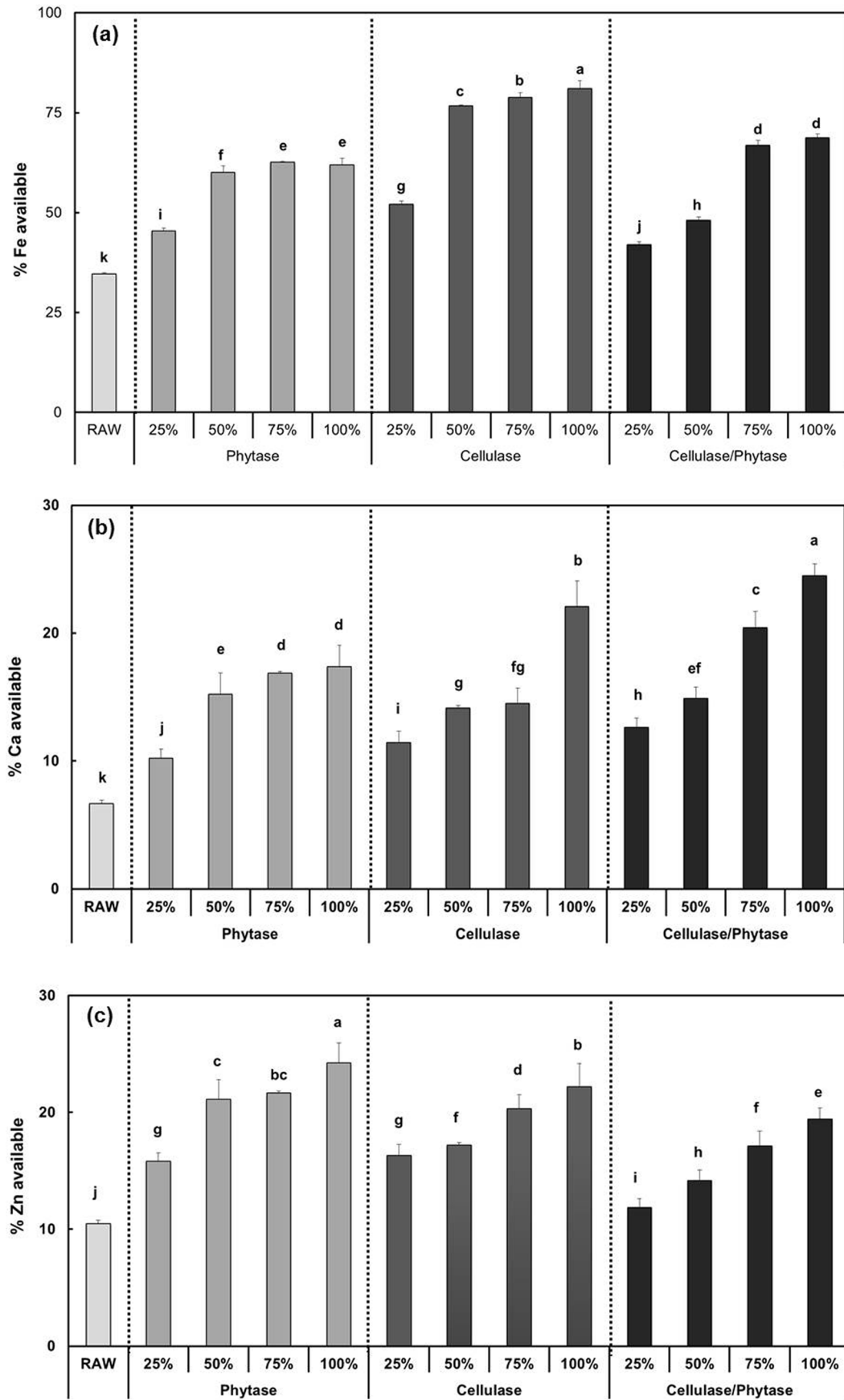


**Fig. 2.** Phytate content of muffins prepared with phytase, cellulase, and cellulase/phytase treated whole wheat flour. <sup>a-f</sup>Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$ .

hardness가 1.83 N으로 가장 낮은 값을 나타내었지만, cellulase처리군과 복합 처리군과의 유의적 차이는 없었다( $p>0.05$ ). 이는 앞서 측정된 머핀의 부피증가율과 역의 관계임을 확인하였는데, Haros 등(2001)의 연구에서 빵의 hardness가 감소할수록 부피가 증가하였던 결과와 유사한 경향이였다. 또한 hardness는 제빵의 품질에 영향을 주는 요인으로 protease를 처리한 현미빵의 hardness가 감소되어 품질이 향상되었던 결과(Renzetti와 Arendt, 2009)와 같이 효소처리 통밀가루로 제조한 머핀의 hardness 감소는 품질 향상에 영향을 줄 것으로 생각된다. 무처리군의 springiness는 0.64로 가장 낮은 값을 나타내었고, 효소처리 통밀가루의 대체비율이 높을수록 증가하는 경향을 보였다. 또한, cellulase 처리군에서 가장 큰 값을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다( $p>0.05$ ). 아울러, 저장기간이 증가함에 따라 모든 시료에서 springiness는 감소하는 경향을 나타내었다. Cohesiveness는 무처리군으로 제조

한 머핀에서 0.40으로 가장 낮았지만, 효소처리 통밀가루의 대체비율이 증가할수록 증가하는 경향이였다. Cellulase/phytase 복합 처리군에서 0.48로 가장 높은 값을 나타내었지만, 저장 기간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다.

3일 저장 후 머핀의 hardness 증가율은 Table 4와 같은데, 무처리군인 RAW는 3.46 N이었으나 효소처리 군에서 대체비율이 증가할수록 감소하는 경향이였다. Phytase 처리군은 2.38 N, cellulase 처리군은 2.81 N, 복합 처리군은 2.39 N로 나타났으며 효소종류 따른 차이는 나타나지 않았다. 빵이나 케이크는 저장기간 동안 수분손실, 전분의 노화로 품질이 저하되는데, 전분의 노화는 hardness 증가와 상관성이 높다고 알려져 있으며(Song 등, 2000), 효소처리 통밀가루로 제조한 머핀은 무처리군에 비해 노화를 지연시킬 수 있을 것으로 생각된다.



**Fig. 3.** Mineral bioavailability of muffins prepared with phytase, cellulase, and cellulase/phytase treated whole wheat flour. <sup>a-i</sup>Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

**효소처리 통밀가루 첨가 머핀의 phytate 함량**

Phytase, cellulase 단일 또는 복합으로 처리한 통밀가루로 제조한 머핀의 phytate 함량은 Fig. 2에 나타났다. 효소처리 통밀가루의 대체비율이 높을수록 머핀의 phytate 함량은 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). Phytase 처리군 100%로 제조한 머핀의 phytate 함량은 19.09  $\mu\text{g/g}$ 으로 무처리군 머핀의 phytate 함량(44.15  $\mu\text{g/g}$ )보다 약 58%로 가장 크게 감소하였다. 앞서 측정된 효소처리 한 통밀가루의 phytate 함량과 일치함을 알 수 있었다. 또한, 많은 연구에서 제빵의 발효과정 중에 phytase를 첨가하여 phytate의 함량을 낮추는 결과가 보고 되었는데(Frontela 등, 2011; Nielsen 등, 2007; Sanz-Penella 등, 2009), 이번 연구에서 효소처리 통밀가루로 제조한 머핀의 phytate 함량이 감소하는 것과 같이 발효과정이 없는 제과에서도 phytate가 효과적으로 감소할 수 있음을 확인하였다.

**효소처리 통밀가루 첨가 머핀의 미네랄 bioavailability**

효소처리 통밀가루 대체비율에 따른 머핀의 미네랄 체내 이용률을 Fig. 3에 나타내었다. Phytase와 cellulase 단일 또는 복합으로 처리한 통밀가루의 대체비율이 높을수록 철분의 이용률이 증가하였는데, 특히 cellulase를 처리한 통밀가루 100%로 제조한 머핀의 철분 체내 이용률은 81.01%로 무처리군 통밀가루(34.67%)보다 약 2.3배로 가장 크게 증가하였다. 또한, phytase를 처리한 통밀가루 100%로 제조한 머핀의 철분 이용률은 61.94%로 약 1.8배 증가하였고, 복합 처리군에서도 68.71%로 약 2배 증가하였다. 칼슘의 체내 이용률도 효소처리 통밀가루의 대체 비율이 높아질수록 증가하였으며, 특히 복합 처리한 통밀가루 100%로 만든 머핀의 칼슘 체내 이용률이 24.49%로 무처리군 머핀(6.66%)보다 약 3.7배로 가장 크게 증가하였다. Phytase와 cellulase 단일 또는 복합으로 처리한 통밀가루로 제조한 머핀의 아연 체내 이용률 역시 대체 비율이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 특히, phytase 처리군 100%로 제조하였을 때 아연 체내 이용률은 24.25%로 무처리군 머핀(10.48%)보다 약 2.3배 증가하였다. 이러한 철분, 칼슘, 아연의 이용률 증가는 통밀가루를 이용하여 제빵의 발효과정에서 phytase를 첨가 후 빵의 *in vitro* 소화 후, 철분, 칼슘의 용해도가 증가한 연구결과와 유사한 경향이었지만, 아연의 용해도는 감소한 것과 비교하여 향상되었다(Frontela 등, 2011).

**요 약**

본 연구는 통밀가루에 다량 함유되어 있는 미네랄의 체내 이용률을 높여 기능성 소재로의 응용가능성을 조사하고자 phytase와 cellulase를 처리한 통밀가루 미네랄의 체내이용률에 대하여 연구하였다. 이에 통밀가루의 최적 효소 처리 조건을 확립하기 위하여 효소농도별에 따른 이화학적 특성과 phytate 및 식이섬유소의 함량을 분석하였으며, 미네랄 강화 소재로의 이용 가능성을 확인하기 위해 머핀을 제조 후 품질특성 및 미네랄의 체내 이용률을 확인하였다. 통밀가루 건중량의 2, 10 및 20%로 2시간 동안 반응시킨 phytase와 cellulase 단일 효소처리한 시료와 20%의 cellulase/phytase를 5:5 비율로 복합 처리한 시료를 제조하였다. 효소 처리 통밀가루의 총 식이섬유소의 함량은 효소 농도에 따라 감소하였고 특히, 복합 처리군에서 가장 크게 감소하였다. 더불어 phytate 함량은 모든 효소에서 농도가 증가할수록 감소하였다. 효소처리 농도가 증가할수록 철분, 칼슘, 아연의 체내 이용률이 증가하였는데 특히, 철분의 체내 이용률은 cellulase를 처리하였을

때 약 3.3배로 가장 크게 증가하였고, 칼슘은 cellulase와 phytase를 복합으로 처리하였을 때 약 5.1배로 가장 증가하였고, 아연은 phytase를 처리하였을 때 약 2.8배로 가장 크게 증가하였다. 미네랄의 이용률이 가장 높았던 20% phytase, cellulase, cellulase/phytase 처리한 통밀가루를 이용하여 대체 비율(0, 25, 50, 75 및 100%)에 따른 머핀의 품질특성 및 미네랄 체내 이용률을 확인한 결과, 효소 처리 통밀가루로 제조한 머핀의 부피는 무처리군으로 제조한 머핀보다 대체율이 높을수록 증가하였으며, 조직감의 경우 hardness는 감소하였고, springiness와 cohesiveness는 증가하는 경향을 보였다. 그리고 효소처리 통밀가루로 제조한 머핀에서 대체 비율이 증가할수록 철분, 칼슘, 아연의 체내 이용률은 무처리군 머핀보다 증가하였는데, Cellulase 처리군의 철분 체내 이용률은 2.3배, cellulase/phytase 복합 처리군에서 칼슘은 3.7배, phytase 처리군에서 아연은 2.3배로 가장 크게 증가하였다. 이상의 결과로부터 통밀가루에 phytase와 cellulase를 처리한 후 미네랄의 이용률이 증가함을 확인하였고, 효소처리 통밀가루로 제조한 머핀의 품질의 특성이 향상되어 미네랄 이용률 증진 소재로 응용이 가능함을 확인하였다.

**감사의 글**

이 논문은 2021년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2021R1A2C2013460).

**References**

Bhat MK. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnol. Adv.* 18: 355-383 (2000)

Caronara F, Popp B, Schmid A, Iacobazzi V, Genchi G, Palmieri F, Benz R. The role of sterols in functional reconstitution of water-soluble mitochondria protein from plants. *J. Bioenerg. Biomembr.* 28: 181-189 (1996)

Cheryan M. Phytic acid interactions in food systems. *Crit. Rev. Food Sci.* 13: 297-335 (1980)

Cosgrove DJ. The chemistry and biochemistry of inositol phosphates. *Pure Appl. Chem.* 16: 209-224 (1966)

Daniels DG, Fisher N. Hydrolysis of the phytate of wheat flour during breadmaking. *Brit. J. Nutr.* 46: 1-6 (1981)

Fageer AS, Babiker EE, El Tinay AH. Effect of malt pretreatment and/or cooking on phytate and essential amino acids contents and *in vitro* protein digestibility of corn flour. *Food Chem.* 88: 261-265 (2004)

Frontela C, García-Alonso FJ, Ros G, Martínez C. Phytic acid and inositol phosphates in raw flours and infant cereals: The effect of processing. *J. Food Compos. Anal.* 21: 343-350 (2008)

Frontela C, Ros G, Martínez C. Phytic acid content and “*in vitro*” iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: The effect of processing. *J. Cereal Sci.* 54: 173-179 (2011)

Gillooly M, Bothwell T, Charlton R, Torrance J, Bezwoda W, MacPhail A, Derman D, Novelli L, Morrall P, Mayet F. Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Brit. J. Nutr.* 51: 37-46 (1984)

Greiner R, Konietzny U. Phytase for food application. *Food Technol. Biotechnol.* 44: 123-140 (2006)

Harland BF, Oberleas D. Phytate in foods. *World Rev. Nutr. Diet.* 52: 235-259 (1987)

Haros M, Rosell CM, Benedito C. Use of fungal phytase to improve breadmaking performance of whole wheat bread. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5450-5454 (2001)

Huang WG, Lantzsch HJ. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 34: 1423-1426 (1983)

Hurrell RF, Reddy MB, Burri J, Cook JD. Phytate degradation determines the effect of industrial processing and home cooking on



- iron absorption from cereal-based foods. *Brit. J. Nutr.* 88: 117-123 (2002)
- Hurrell RF. Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 74: 445-452 (2004)
- Jenkins DJ, Wolever TMS, Leeds AR, Gassull MA, Haisman P, Dila-wori J, Goff DV, Metz GL, Alberti KGMM. Dietary fibres, Fiber analogues, and glucose tolerance; Importance of viscosity. *Brit. Med. J.* 1: 1392-1394 (1978)
- Lebesi DM, Tzia C. Effect of the addition of different dietary fiber and edible cereal bran sources on the baking and sensory characteristics of cupcakes. *Food Bioprocess Technol.* 4: 710-722 (2011)
- Lestienne FI, Besancon P, Caporiccio B, Lullien-Pellerin V, Treche S. Relative contribution of phytates, fibers, and tannins to low iron and zinc in vitro solubility in pearl millet flours and grain fraction. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8342-8348 (2005a)
- Lestienne FI, Verniere CI, Mouquet C, Picq C, Treche S. Effect of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chem.* 89: 421-425 (2005b)
- Lönnerdal B, Yuen M, Glazier C, Litov R. Magnesium bioavailability from human milk, cow milk, and infant formula in suckling rat pups. *Am. J. Clin. Nutr.* 58: 392-397 (1993)
- Luccia BH, Kunkel ME. In vitro availability of calcium from sources of cellulose, methylcellulose, and psyllium. *Food Chem.* 77: 139-146 (2002)
- Luo Y, Xie W, Cui Q. Effect of phytase, cellulase and dehulling treatments on iron and zinc in vitro solubility in faba bean (*Vicia faba* L.) flour and legume fractions. *J. Agric. Food Chem.* 58: 2483-2490 (2010)
- Luo Y, Xie W. Effect of phytase treatment on iron bioavailability in faba bean (*Vicia faba* L.) flour. *Food Chem.* 134: 1251-1255 (2012)
- Maga JA. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance and method of analysis. *J. Agric. Food Chem.* 30: 1-9 (1982)
- Martínez C, Ros G, Periago MJ, López G, Ortuño J, Rincón F. Phytic acid in human nutrition. *Food Sci. Technol. Int.* 2: 201-209 (1996)
- Nielsen MM, Damstrup ML, Thomsen AD, Rasmussen SK, Hansen Å. Phytase activity and degradation of phytic acid during rye bread making. *Eur. Food Res. Technol.* 225: 173-181 (2007)
- Sanz-Penella JM, Tamayo-Ramos JA, Sanz Y, Haros M. Phytate reduction in bran-enriched bread by phytase-producing bifidobacteria. *J. Agric. Food Chem.* 57: 10239-10244 (2009)
- Pham VH, Tomoko M, Naofumi M. Dough and bread qualities of flours with whole waxy wheat flour substitution. *Food Res. Int.* 40: 273-279 (2007)
- Renzetti S, Arendt EK. Effect of protease treatment on the baking quality of brown rice bread: From textural and rheological properties to biochemistry and microstructure. *J. Cereal Sci.* 50: 22-28 (2009)
- Rupasinghe HP, Wang L, Huber GM, Pitts NL. Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chem.* 107: 1217-1224 (2008)
- Slominski BA, Cyran M, Guenter W, Campbell LD. Nutritive value of enzyme-treated canola meal. *Enzyme* 40: 145-147 (1999)
- Song JY, Lee SK, Shin MS. Effects RS-3 type resistant starches on breadmaking and quality of white pan bread. *Korean J. Food Cook. Sci.* 16: 188-194 (2000)
- Temple L, Gibson RS, Hotz C. Use of soaking and enrichment for improving the content and bioavailability of calcium, iron, and zinc in complementary foods and diets of rural Malawian weanlings. *J. Food Sci.* 67: 1926-1932 (2002)
- Thebaudin JY, Lefebvre AC, Harrington M, Bourgeois CM. Dietary fibres: Nutritional and technological interest. *Trends Food Sci. Technol.* 8: 41-48 (1997)
- Wang Y, Cheng Y, Ou K, Lin L, Liang J. *In vitro* solubility of calcium, iron, and zinc in rice bran treated with phytase, cellulase, and protease. *J. Agric. Food Chem.* 56: 11868-11874 (2008)
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A. The effect of cellulase and hemicellulase plus pectinase on the aerobic stability and fibre analysis of peas and wheat silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55: 287-293 (1995)