

Achyranthes japonica Nakai-Rice Pilsner 맥주박 열수 추출물의 영양성 및 기능성

오소형 · 정범균 · 천지연
순천대학교 식품공학과

Nutritional and Functional Properties of Water Extracts from *Achyranthes japonica* Nakai-Rice Pilsner Byproducts

So-Hyeong Oh, Beom-Gyun Jeong, and Jiyeon Chun
Department of Food Science and Technology, Suncheon National University

ABSTRACT Two byproducts, brewer's spent grain (BSG; germinated rice and malt) and brewer's spent material (BSM; *Achyranthes japonica* Nakai), were collected during the manufacture of pilsner beer using *A. japonica* Nakai and germinated rice. Water extracts of BSG and BSM were prepared at different temperatures (25°C, 60°C, and 100°C) for 5 h, and their nutritional and functional properties were investigated. γ -Aminobutyric acid (GABA), saponin, and niacin contents were higher in extracts prepared at 60°C for more than 3 h than the other extracts, whereas total polyphenol content, DPPH radical scavenging activity, and reducing power were higher in samples extracted at 100°C for 1 h compared to the other ones. Overall, water extraction at 60°C for 3 h was desirable to effectively collect both nutritional and functional components from BSG and BSM. Under these conditions, BSM extracts showed 4~18 times high niacin and folate contents, 1.4 times high total phenolic content, and 11~60 times high antioxidant activities compared to BSG extracts. This study shows that pilsner beer byproducts would be good sources of health beneficial components, especially GABA, saponin, water soluble vitamins, and polyphenolics.

Key words: *Achyranthes japonica* Nakai, pilsner, brewer's spent grain, aqueous extraction, functional components

서 론

맥주는 전 세계적으로 인기 있는 주류 중의 하나이며 보리를 발아시킨 맥아와 호프를 주원료로 사용한다. 맥주는 국내 주류 선호도에서 1위를 차지하고 있으며 수입 맥주 출고량은 다양한 세계 맥주의 소비로 인하여 해마다 큰 폭으로 증가하고 있다(1). 국내 맥주 생산은 대기업 맥주의 생산 및 판매 점유율이 전체 맥주의 약 95%를 차지하고 있지만, 소규모 맥주업체의 시장점유율은 0.1%에 불과한 실정이다. 최근 microbrewery 맥주 업체의 시설기준 완화 및 세금 인하와 함께, 수제 맥주의 타 영업매장으로서의 유통 및 판매를 할 수 있도록 2014년도에 주세법이 개정되면서 국내 다양한 microbrewery 맥주 개발이 활발히 전개되고 있다. Microbrewery 맥주의 경우 대기업에서 생산하는 획일적인 품질 및 특성과 달리 다양한 지역 특산물이나 독특한 제조 방식을 이용할 수 있어 소비자들의 다양한 맥주 기호도를 충족시킬

수 있을 뿐 아니라 품질의 고급화를 꾀할 수 있으므로 국내 맥주 시장의 다양화와 고품질화에 기여할 것으로 보인다.

국내 맥주 제조에 사용되는 주원료인 맥아와 호프는 해외로부터 전량 수입하고 있는 실정으로 중소기업의 맥주 생산비 저감화가 어려워 대기업과의 가격 경쟁 우위를 선점하기 어려운 실정이다. 따라서 국내 microbrewery 맥주사의 경우 대기업과의 시장경쟁에서 우위를 선점하기 위해서는 지역 특성 부여 및 품질 고급화 전략을 통한 제품 차별화 전략이 필요하다. 최근 값비싼 수입산 맥아를 대체 및 국내 쌀 소비 촉진을 위하여 쌀을 발아한 미아를 이용한 맥주 개발이 시도되고 있다(2,3). 쌀을 발아한 미아의 사용은 증가한 아밀라제 활성과 쌀에서 기인하는 부드러운 풍미로 인하여 맥주 제조 시 품질 향상에 긍정적인 영향을 주는 것으로 알려져 있다(4). 이외에도 다양한 기능성 재료를 이용하여 제조된 주류는 소비자의 건강 지향적 선호도를 만족시킬 수 있어 다양한 웰빙형 microbrewery 맥주 제조가 시도되고 있다(5).

한편 맥주 제조 시 맥아나 기타 특산자원은 당화나 농축 공정 이후 발효공정 이전에 제거되는데 이때 얻어지는 주정박(brewer's spent grain and material, BSGM)에는 단백질, 지방, 섬유질 등의 다양한 유용 영양소 및 기능성 물질이

상당량 존재하는 것으로 보고되어 있다(6,7). 맥주 제조 시 얻어지는 BSGM은 전체 양조 산업에서 생성된 부산물 중 약 85%로 가장 많은 양을 차지하고 있으며, 맥주 100 L당 약 20 kg의 BSGM이 발생하는 것으로 보고되어 있다(7). 국내에서는 맥주 부산물이 대부분 반추동물의 사료원으로 이용되고 있으나(8,9), 국외의 경우 맥주 부산물을 가루로 이용하여 빵, 머핀, 쿠키, 케이크, 와플, 도넛과 브라우니 등과 같이 기능성 개선 목적의 2차 가공 식품으로 활용하는 시도가 널리 이루어지고 있다(10,11). 이렇게 맥주 BSGM을 이용하여 제조한 식품은 첨가하지 않은 제품에 비하여 단백질, 필수 아미노산, 섬유질 등의 함량이 높아 영양학적 가치가 우수할 뿐만 아니라 폴리페놀 함량과 항산화능이 높은 것으로 보고되어 기능성 면에서도 우수한 식품자원이라고 평가되고 있다(10,12). 이렇듯 국외에서는 맥주박을 이용한 다양한 영양 및 기능성 개선 식품의 개발은 시도되고 있으나, 국내 소규모 맥주 생산에 있어서 맥주박의 활용을 위한 영양성 및 기능성 가치 평가에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 최근 전남지역 특산자원을 이용하여 제조된 우슬쌀 필스너 맥주(*Achyranthes japonica* Nakai and Rice Pilsner, ARP) 제조 시 발효 전 당화(맥아와 미아)와 농축(우슬) 공정에서 얻어지는 맥주박의 유용성분 추출 특성을 조사하여 식품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

시약

분석에 사용된 thiamine hydrochloride, nicotinic acid, nicotinamide, folic acid, γ -aminobutyric acid(GABA), gallic acid, L-ascorbic acid 표준품은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 diosgenin 표준품은 Tokyo Chemical Industry Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Folin-Ciocalteu's phenol reagent와 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)은 Sigma-Aldrich Co.에서, potassium ferricyanide, trichloroacetic acid 및 ferric chloride는 Wako Co.(Osaka, Japan)에서 구입하였다. 엽산 분석에 사용된 분석균주는 *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*(ATCC 7469)를 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. 기타 사용된 시약은 특급 및 HPLC 등급을 사용하였으며, 증류수는 water purification system (Aqua Max^{MT}-Ultra, Young Lin Instrument Co., Anyang, Korea)으로 정제된 물을 사용하였다.

실험 재료 및 전처리

ARP 맥주 제조에 사용되는 맥아는 수입산 2종(pilsner, carapils)으로 Weyermann Malzfabrik Co.(Bamberg, Germany)에서 구입하였으며, 미아는 새일미(2015년, 신안, 한

국) 벼를 농가에서 구입하여 증류수에 24시간 침지한 다음 24시간 동안 발아 후 건조하여 사용하였다. 우슬(최부리의 뿌리)은 전남 함평에서 2015년 11월부터 12월까지 채취하여 세척한 회우슬을 구매하였으며, 기능성 성분의 효과적인 추출을 위해 130°C에 1시간 동안 증기처리 후 40°C에서 24시간 건조하는 과정을 2회 반복 처리한 다음 맥주 제조에 사용하였다.

맥주 및 맥주박 제조

ARP 맥주를 Fig. 1과 같은 공정으로 담주영농조합법인(담양, 한국)에서 600 L 용량으로 제조하였으며, 제조 시 얻어지는 두 가지 맥주박을 당화 및 농축 공정 후 각각 수거하였다. 당화 공정에서 얻어지는 맥주박(brewer's spent grain, BSG)은 필스너 맥주 제조 시 사용된 수입산 맥아와 국산 미아가 pilsner : carapils : 미아=16:1:8(w/w/w)의 비율로 구성되어 있으며, 농축공정 후 얻어지는 맥주박(brewer's spent material, BSM)은 첨가된 우슬을 100°C에서 90분 동안 맥아즙 농축공정 후 얻어지게 된다. 본 연구에 사용된 두 가지 ARP 맥주박은 -70°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

맥주박 열수 추출액 제조

ARP 맥주박 유용성 성분의 열수 추출 특성을 조사하기 위한 열수 추출 방법은 다음과 같다. 먼저 BSG(맥아-미아) 및 BSM(우슬)을 각각 250 mL 삼각플라스크에 10 g씩 넣은 후 증류수 100 mL를 가한 다음 25, 60, 100°C로 조절된 진탕항온수조(HB-205SW, Hanbeak Co., Ltd., Bucheon, Korea)에서 각각 0, 1, 2, 3, 4, 5시간 동안 추출하였다. 추출액은 실온으로 냉각한 후 맥주박을 여과(Whatman No.1, GE Healthcare, Little Chalfont, UK)한 다음 100 mL로 정용하여 분석에 사용하였다.

GABA 분석

GABA 함량은 Jo 등(13)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 추출액 시료는 0.45 μ m syringe filter(SF13-HLB 45-GM, Futecs Co., Daejeon, Korea)로 여과하였으며, AccQ-Fluor TM reagent kit(Waters Co., Milford, MA, USA)으로 유도체화한 다음 HPLC 시스템(1200 Series, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 이용하여 분석하였다. 사용된 칼럼은 ZORBOX Eclipse XDB C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μ m, Agilent Technologies)이며 칼럼 온도는 30°C였다. GABA 성분은 형광검출기를 이용하여 여기 파장 340 nm와 형광파장 435 nm에서 검출하였다. 이동상은 A(40 mM sodium phosphate monobasic, pH 7.8)와 B(acetonitrile : methanol : water=4.5:4.5:1, v/v/v)를 Table 1과 같은 조건으로 분석하였으며, 이때 이동상 유속은 1.0 mL/min, 시료주입량은 20 μ L였다.

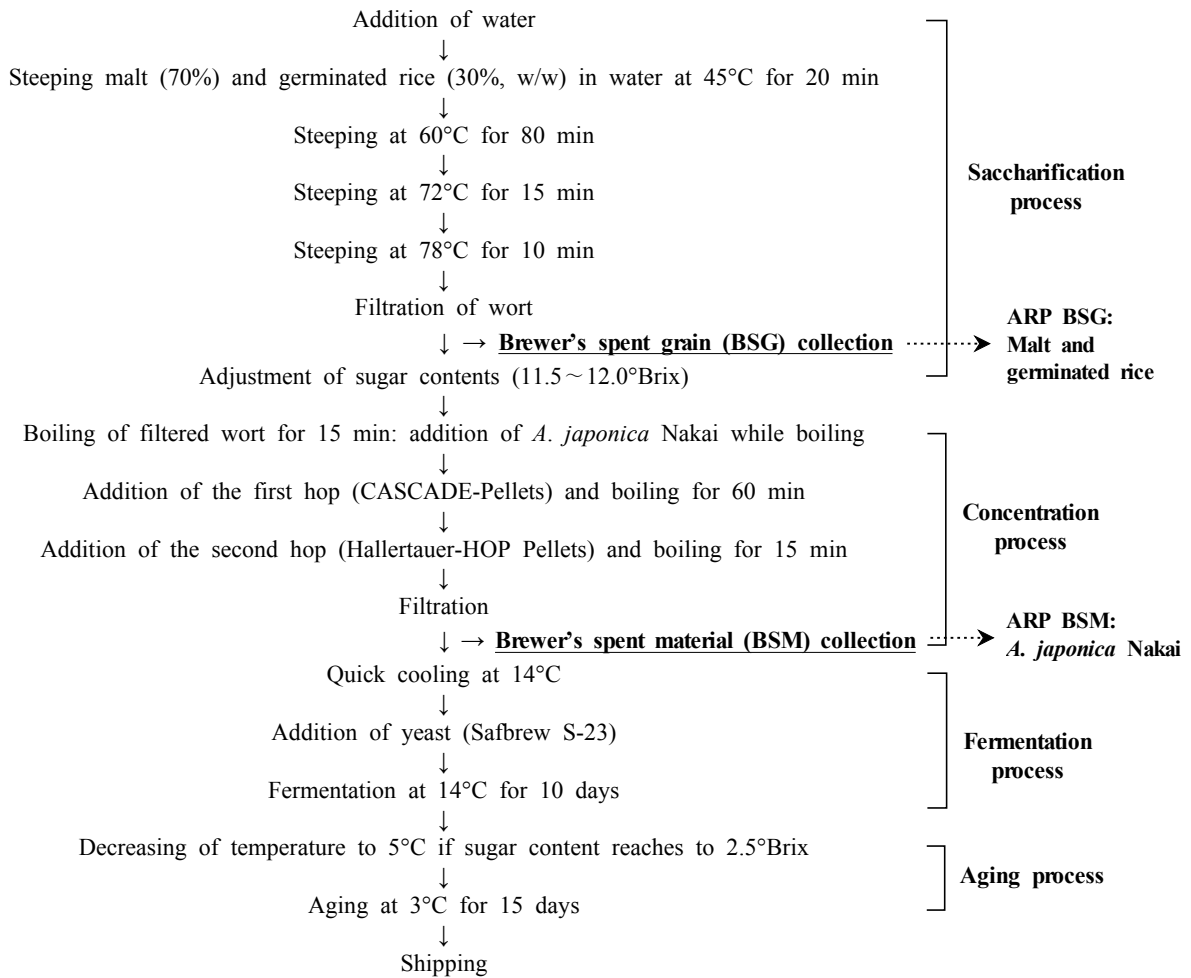


Fig. 1. A process flow of ARP (*A. japonica* Nakai-Rice Pilsner) beer manufacture.

Table 1. Gradient condition of HPLC mobile phases for γ -aminobutyric acid analysis

Time (min)	A (%)	B (%)
0	100	0
3.8	100	0
28	50	50
36	0	100
44	100	0
50	100	0

총사포닌 분석

총사포닌 함량은 Hiai 등(14)의 방법으로 측정하였다. 시료액 100 μ L에 8% vanillin 100 μ L를 가하여 혼합한 후 냉수에서 15분간 방치한 다음 72% H₂SO₄ 1 mL를 가하여 잘 혼합하였다. 항온수조(WB-20M, Jeio Tech Co., Daejeon, Korea)에서 60°C, 20분간 반응시킨 후 실온으로 냉각한 다음 microplate reader(Eon, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 흡광도를 544 nm에서 측정하였다. 표준곡선의 검량선 작성은 diosgenin을 사용하였으며, total saponin content를 μ g diosgenin equiv-

alents(DE)/100 mL로 나타내었다.

티아민 및 나이아신 분석

티아민 및 나이아신 함량은 식품공전(15)의 방법을 일부 변형하여 HPLC 시스템(1200 Series, Agilent Technologies)으로 분석하였다. 시료액은 0.45 μ m syringe filter (SF13-HLB45-GM, Futecs Co.)로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. 칼럼은 YMC-PACK ODS-AM(C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μ m, YMC Co., Kyoto, Japan)을 사용하였으며 diode array detector(DAD, Agilent Technologies)를 이용하여 270 nm에서 검출하였다. 이때 이동상 조건은 Table 2와 같고 유속량 0.8 mL/min, 시료주입량 20 μ L, 그리고 칼럼 온도는 40°C였다.

엽산 분석

엽산 함량은 *L. casei*가 엽산 농도에 따라 생육하는 성장도를 측정하는 Chun 등(16)의 방법을 이용하여 분석하였다. *L. casei*는 실험 당일 depletion media(Lactobacilli broth : folic acid casei medium=1:1, v/v)에 접종한 후 37°C에

Table 2. Gradient condition of HPLC mobile phases for thiamine and niacin analyses

Time (min)	A (%): 5 mM sodium 1-hexanesulfonate (0.75% acetic acid and 0.02% triethylamine)	B (%): methanol
0	100	0
8	100	0
20	75	25
30	60	40
31	100	0
39	100	0

서 6시간 배양하여 사용하였다. Folic acid 용액(2 ng/mL), ascorbic acid 용액(0.1 g/mL) 및 시료 추출액은 각각 0.45 µm syringe filter로 여과하여 사용하였으며, 시료 추출액은 멸균 증류수를 이용하여 농도에 따라 단계 희석하여 사용하였다. Folic acid casei media 배지에 6시간 동안 depletion media에서 배양시킨 *L. casei* broth를 접종(5 µL/mL)하고, ascorbic acid 용액(10 µL/mL)을 가하여 잘 혼합하여 분석 배지로 준비하였다. 96 well microplate에 표준용액, 단계 희석한 시료액을 150 µL씩 넣은 후 준비한 분석배지를 150 µL씩 가하여 잘 혼합한 다음 뚜껑을 덮고 37°C 배양기(HB-103M, Hanbeak Co., Ltd.)에서 18~20시간 배양시켰다. Microplate reader를 이용하여 흡광도 595 nm에서 균 생육 정도를 나타내는 탁도를 측정하였다. 시료와 표준용액의 탁도를 비교하여 시료액의 엽산 함량을 계산하였다. 엽산 함량은 Bio-Tek(Winooski, VT, USA)의 Gen5 데이터 분석 소프트웨어를 이용하여 계산하였으며 µg/100 mL로 나타내었다.

총폴리페놀 분석

총폴리페놀 함량은 Singleton 등(17)의 방법으로 측정하였다. 추출액 200 µL를 증류수 1 mL와 잘 혼합하고 50% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 µL와 5% sodium carbonate 용액 200 µL를 차례로 가하여 잘 혼합한 다음 1시간 동안 암실에 방치하였다. Microplate reader를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였고 총폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준품으로 계산하여 µg gallic acid equivalent(GAE)/100 mL로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능 Blois(18)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료액을 96 well microplate에 각각 60 µL씩 취하고, 0.1 mM DPPH 용액을 240 µL 가하여 잘 혼합한 다음 암실에서 30분간 방치하였다. Microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 gallic acid를 표준물질로 사용하여 계산한 다음 µg GAE/100 mL로 나타내었다.

환원력 측정

환원력은 Oyaizu(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료액 200 µL, 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 200 µL, 1% potassium ferricyanide 용액 200 µL를 가하여 잘 혼합하였다. 50°C 진탕항온수조에서 20분간 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 200 µL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액은 1,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액 100 µL를 96 well microplate에 취한 다음 증류수 100 µL를 가하여 잘 혼합하였다. 상등액과 5:1 비율(v/v)로 0.1% ferric chloride 20 µL를 가하여 잘 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원력은 µg GAE/100 mL로 나타내었다.

통계분석

본 연구의 실험 결과는 Statistics Package for the Social Science(SPSS, ver. 22.0 for window, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 통계 처리하여 분석하였다. 평균과 표준편차를 얻고 시료 간의 유의적 차이를 Duncan의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)으로 $\alpha=0.05$ 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

ARP 맥주박의 GABA 및 사포닌 열수 추출 특성

ARP 제조 시 얻어지는 두 가지 맥주박 BSG와 BSM의 기능성 성분으로 GABA와 사포닌을 선정하고 이들 각각의 열수 추출 특성을 조사하였다. GABA는 혈압강하, 당뇨병 예방, 불안증 및 우울증 완화 등과 같은 효과를 나타내는 기능성 성분으로 알려져 있다(20). 식물체에서 L-glutamic acid로부터 glutamate decarboxylase의 촉매작용에 의한 탈탄산 과정을 통해 GABA가 생합성될 수 있으며 보리와 벼와 같은 곡물의 경우 발아과정 중 GABA 함량이 증가한다고 보고되어 있다(21). Waters 등(11)은 맥아를 이용하여 맥주 제조 시 BSG의 총단백질 함량은 22.13%이며 그중 GABA 함량이 0.26%를 차지하고 있다고 보고하여 맥주 당화과정 이후에도 상당량의 GABA 성분이 잔존하고 있음을 보여주었다.

본 연구에서 제조한 ARP 맥주의 BSG는 맥아와 미아와 같은 발아 곡물의 7:3 비율로 혼합된 곡물로 이들 중 GABA 성분의 온도에 따른 추출 특성 변화를 조사하였다(Fig. 2). BSG를 추출온도 25°C와 100°C에서 추출 시 초기 1시간 동안 GABA 함량이 빠르게 용출되어 1시간 후 각각 218.0 µg/100 mL와 197.7 µg/100 mL의 최고 GABA 함량을 보였으며, 25°C에서는 1시간 이후 추출시간이 지나면서 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 한편 60°C에서는 BSG 열수 추출액의 GABA 함량이 서서히 증가하여 추출 4시간 후 207.9 µg/100 mL로 가장 높은 값을 나타냈다. 이러한 결과를 볼 때 ARP 맥주 BSG로부터 GABA를 추출 시 25°C와 100°C

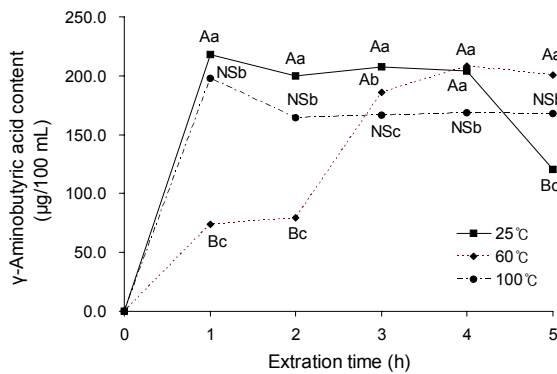


Fig. 2. Changes in γ -aminobutyric acid content of water extracts from BSG of pilsner manufacture. BSG indicates brewer's spent grain (malt and germinated rice). Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P < 0.05$). NS: not significant.

에서 1시간 또는 60°C의 중온에서는 약 3~4시간 이내의 추출시간이 바람직한 것으로 보이며, 장시간의 추출은 GABA 함량의 손실을 가져오는 것으로 보인다. 한편 Lin 등(22)은 차잎으로부터 GABA 성분을 추출 시 에탄올보다 열수용액에서 추출률이 높았으며, 25, 50, 75, 95°C의 네 가지 온도 조건에서 50°C와 75°C에서 추출 시 GABA 함량이 더욱 높게 나타났다고 보고하여 일반적으로 차를 음용 시 사용되는 중온의 온도가 GABA 함량 추출에 효율적임을 보여주었다. 본 연구에서 제조한 펄스너 맥주는 45~78°C의 중온 범위에서 총 2시간 정도의 당화가 이루어지므로 이 과정 중 상당량의 맥아와 미아의 GABA 성분이 추출되었을 것으로 생각된다. 또한, BSG의 열수 추출로 잔여 GABA 성분을 일부 회수할 수 있을 것으로 보인다.

한편 ARP 맥주 제조 시 농축공정에 첨가된 우슬(*A. japonica* Nakai, AJN)은 비름과에 속하는 여러해살이 초본식물인 쇠무릎의 뿌리로 한국, 중국, 일본 등 아시아 지역에 자생하며 saponin, oleanolic acid, 20-hydroxyecdysone, triterpenoid 계열의 inokosterone, ecdysterone과 식물성 steroid 계열인 β -sitosterol, stigmasterol 등 다양한 약리 성분을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(23,24). 이러한 약리성분들로 인하여 우슬은 항염증, 항관절염, 항산화능, 항암, 혈액순환 개선 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되어 있으며, 특히 사포닌은 항암, 항염증, 면역 등에 효과적인 것으로 알려져 있다(25,26).

본 연구에서는 ARP 제조 시 농축공정 이후 얻어지는 BGM의 주요 기능성 성분을 사포닌으로 선정하고 BSM의 온도에 따른 열수 추출 특성을 조사하였다(Fig. 3). BSM 열수 추출액의 사포닌 함량은 GABA 성분과 같이 모든 추출 온도에서 초기 1시간 동안 빠르게 용출되는 것으로 나타났다. 그 이후 지속된 5시간 동안 60°C에서는 증가하고 100°C에서는 감소하는 유의적인 경향을 나타내었으나, 1시간 이후의 사포닌 함량에서의 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았다.

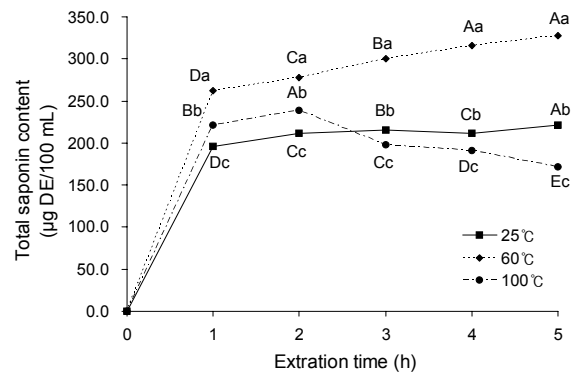


Fig. 3. Changes in total saponin content of water extracts from BSM of pilsner manufacture. BSM indicates brewer's spent material (*A. japonica* Nakai). Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P < 0.05$).

결과적으로 가장 높은 사포닌 함량을 보인 추출액은 60°C에서는 5시간 추출한 시료로 사포닌 함량은 328.0 $\mu\text{g DE}/100 \text{ mL}$ 를 나타내었다. 이렇듯 고온의 열처리가 사포닌의 안정성에 영향을 미친다는 것은 다른 연구 사례에서도 확인된다. Choi 등(27)은 100°C 이상의 온도에서 30분 이상 가열 처리 시 ginsenoside-Rb₁은 상관없이 모두 분해되며 ginsenoside-Rb₂, -Rc, -Rd 등과 같은 다른 사포닌도 조금씩 분해되어 전체적으로 총사포닌 함량이 감소한다고 보고하였으며, Sung과 Yang(28) 또한 인삼 엑기스 제조 시 사포닌의 이상적인 추출조건을 고온보다는 80°C 이하에서 40시간 내외가 적합하다고 보고하였다. 본 연구 결과에서도 60°C 추출조건에서는 추출시간 5시간 동안 사포닌 함량이 서서히 증가했으나 100°C에서는 추출 2시간 이후부터 감소하는 경향을 나타내어, 고온의 열처리로 인한 불안정한 ginsenoside의 손실이 나타나는 것으로 보인다. 따라서 ARP 맥주 BSM의 사포닌 성분의 추출조건으로 60°C와 같은 중온이 바람직할 것으로 보인다.

ARP 맥주박의 나이아신 열수 추출 특성

쌀과 보리와 같은 곡류 중에는 티아민, 나이아신, 엽산 등의 수용성 비타민 B군이 풍부한 것으로 알려져 있다. 이 중 나이아신은 니코틴산과 니코틴아미드의 생리활성을 나타내는 유도체들을 통칭하며, 펠라그라 질병의 예방과 치료, 혈액순환 촉진과 콜레스테롤 감소 등에 효과적인 것으로 알려져 있다(29). ARP 맥주박 BSG와 BSM을 열수 추출 시 모든 조건에서 티아민은 검출되지 않았으며 온도에 따른 추출액의 나이아신 함량 변화는 Fig. 4에 나타내었다. ARP 맥주 BSG 추출액의 나이아신 함량은 25°C와 60°C에서 추출 1시간 이내에 빠르게 증가한 이후 5시간까지 유의적인 증가를 보였으나 그 차이가 미미하였으며, 100°C에서는 초기 1시간 동안의 나이아신 추출량이 25°C와 60°C에 비하여 약 1/3~1/2 수준에 미쳤으나 이후 지속해서 증가하여 추출 5시간에서 최고값(60.7 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$)을 나타내었다. 이는

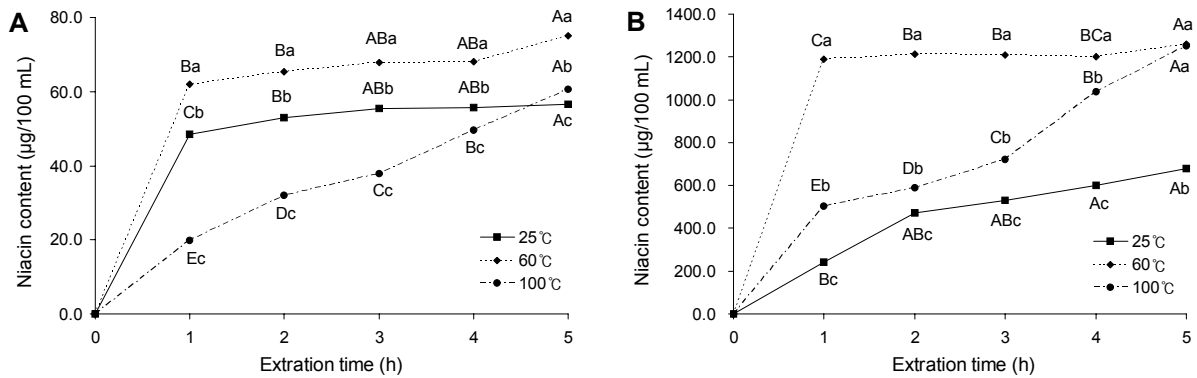


Fig. 4. Changes in niacin contents of water extracts from BSG (A) and BSM (B) of pilsner manufacture. BSG and BSM indicate brewer's spent grain (malt and germinated rice) and material (*A. japonica* Nakai), respectively. Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P < 0.05$).

25°C에서 5시간 추출된 나이아신 함량(56.5 µg/100 mL)과 비슷한 수준이었으나 60°C에서 1시간 추출된 나이아신 함량(62.1 µg/100 mL)보다는 낮은 수준이었다(Fig. 4A).

한편 ARP 맥주 BSM을 세 온도 조건에서 추출한 결과 60°C에서는 추출 초기 1시간 동안 총나이아신 추출량의 94%에 해당하는 1,188.5 µg/100 mL의 나이아신이 추출되었는데, 이는 25°C와 100°C에서 1시간 동안 추출된 함량에 비하여 각각 4.9배와 2.4배 높은 수준이었으나 이후 추출 5시간 동안 거의 변화가 나타나지 않았다(Fig. 4B). 한편 25°C와 100°C에서는 추출 5시간 동안 나이아신 추출 함량이 지속해서 증가하였는데 100°C에서 5시간 후 1,252.7 µg/100 mL의 나이아신 함량을 나타내어 60°C에서 5시간 추출된 시료의 1,259.9 µg/100 mL와 유사한 수준을 나타내었다.

Ahn(30)과 Kim 등(31)은 나이아신은 가열에 의한 영향이 적은 수용성 비타민으로 원재료 조리 후 국물 중에 나이아신의 용출이 비교적 용이하나 가열에 의해 파괴되지 않기 때문에 열수 추출 과정에서 안정적으로 검출된다고 보고하였다. 또한, Han 등(32)은 국수호박을 100°C에서 15분간 삶았을 때 티아민 함량은 원재료보다 감소하였으나 나이아신 함량은 변화가 없었다고 보고하여 열에 대한 안정성이

높음을 보여주었다. 본 연구에서도 ARP 맥주박인 BSG와 BSM 모두 100°C의 고온을 포함한 모든 온도 조건에서 추출속도에 차이가 있었으나 추출 5시간 동안 감소하는 경향이 나타나지 않아 열수 추출 공정에 상당히 안정한 것을 확인할 수 있었다. 따라서 ARP 맥주박으로부터 나이아신과 같이 열에 안정한 수용성 비타민 성분을 열수 추출을 통해 회수할 수 있을 것으로 보이며, 추출시간 절감을 위해서는 60°C가 효율적인 조건으로 보인다.

ARP 맥주박의 엽산 열수 추출 특성

ARP 맥주박 BSG와 BSM에 잔존하는 엽산의 열수 추출 특성을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. BSG의 경우 초기 추출 1시간 동안 엽산 추출이 빠르게 진행되었고 추출속도는 100°C, 60°C, 25°C 순으로 높은 것으로 나타났으며, 이후 추출 5시간 동안 25°C와 60°C에서는 큰 변화가 관찰되지 않은 반면 100°C의 경우 지속해서 증가하여 가장 높은 엽산 추출량(154.0 µg/100 mL)을 나타내었다(Fig. 5A). 이는 25°C와 60°C에서 5시간 추출된 엽산량(각각 68.5 µg/100 mL와 75.4 µg/100 mL)에 비하여 약 2배 이상 높은 수준이었다. 한편 ARP 맥주박 BSM의 경우 25°C와 100°C에서는 추출

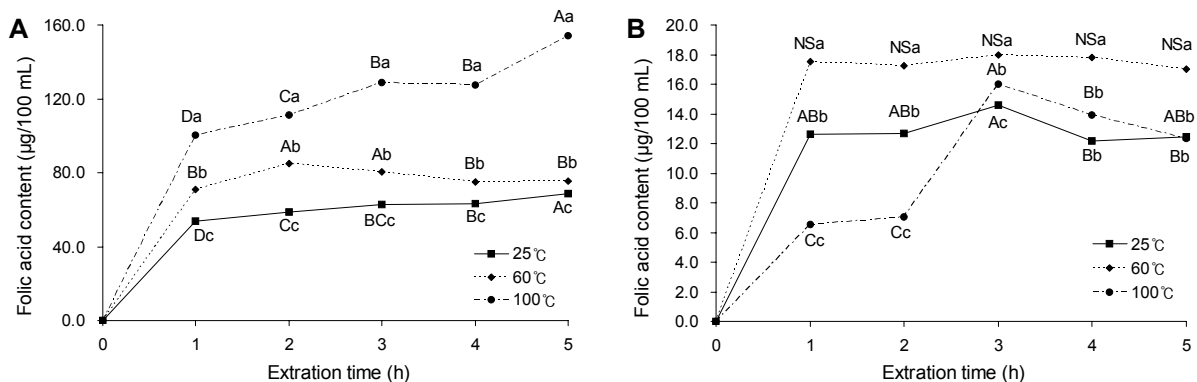


Fig. 5. Changes in folic acid content of water extracts from BSG (A) and BSM (B) of pilsner manufacture. BSG and BSM indicate brewer's spent grain (malt and germinated rice) and material (*A. japonica* Nakai), respectively. Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P < 0.05$). NS: not significant.

3시간까지 엽산 함량이 증가하여 각각 최대값 14.6 µg/100 mL와 16.2 µg/100 mL를 보인 이후 감소하는 경향을 보였으나, 60°C에서는 추출 1시간 동안 빠르게 추출되어 최대값(17.5 µg/100 mL)을 보인 이후 큰 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 5B). 각 온도에서의 엽산 최대 추출량은 유의적으로 차이가 있었으나 14.6~17.5 µg/100 mL의 범위로 그 차이가 미미한 수준이었다.

엽산은 수용성 비타민 B군 중 하나로 체내에서 비타민 활성을 나타내는 pteric acid의 모든 유도체를 일컬으며, DNA와 RNA 합성 및 아미노산 대사에 필수적인 역할을 담당하고 엽산 결핍 임신부의 경우 태아의 신경관 손상으로 인한 기형아 출산율이 증가하는 것으로 알려져 있다(33). 엽산은 비교적 열에 안정한 성분으로 알려져 있어 식품의 가공 중 상당량이 파괴 없이 잔존할 수 있는 것으로 보고되어 있다(34,35). 본 연구에서도 ARP 맥주 BSG와 BSM의 경우 100°C에서 각각 5시간과 3시간 동안은 감소하는 경향 없이 증가하는 것으로 나타나 고온에서의 열처리에도 안정한 것을 확인할 수 있었다. 효율적인 추출조건은 BSG는 100°C-5시간, BSM은 60°C-1시간이 바람직한 것으로 보이며, 엽산의 추출량을 비교해 볼 때 BSG 열수 추출액이 BSM 추출액보다 엽산 함량이 약 8.8배 더 높게 나타났다. Chang(36)은 시판 음료 161종을 수거하여 엽산 함량을 조사한 결과 우유 및 요구르트 제품이 22~37.5 µg/100 mL, 과일주스 및 과일음료는 21 µg/100 mL, 스포츠음료 24 µg/100 mL, 두유 7.3~25 µg/100 mL의 수준이었다고 보고하였으며, USDA(37) 자료에 따르면 맥아음료의 경우 14.0~50.0 µg/100 mL 수준의 엽산이 함유된 것으로 보고되어 있다. 이러한 음료 중의 엽산 함량과 비교해 볼 때 본 연구에서 BSG와 BSM 열수 추출액의 엽산 함량(각각 154.0 µg/100 mL와 17.5 µg/100 mL)은 상당히 높은 수준인 것으로 보인다.

ARP 맥주박의 총폴리페놀 열수 추출 특성

페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있으며 phe-

nolic hydroxyl기를 가지고 있는 방향족 화합물들을 총칭하는데, 이러한 화합물은 항산화, 항암 작용 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있어 식품 중 이들 함유량 수준에 많은 관심이 모아지고 있다. 특히 곡류나 특용작물과 같은 식물체에 폴리페놀 성분이 풍부히 존재하는 것으로 알려져 있어 본 연구에서 회수한 ARP 맥주박으로부터 폴리페놀 성분의 회수가 가능한지를 조사하였다. ARP 맥주박 BSG와 BSM의 열수 추출 시 총폴리페놀 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. ARP 맥주 BSG의 폴리페놀 성분은 모든 온도에서 초기 1시간 동안 빠르게 추출되었으며, 추출 속도는 추출시간 1시간 기준으로 100°C(260.2 µg GAE/100 mL), 60°C(187.5 µg GAE/100 mL), 25°C(152.7 µg GAE/100 mL)의 순으로 높게 나타났다(Fig. 6A). 한편 추출 1시간 이후 100°C에서는 폴리페놀 함량의 추출이 지속해서 증가했고 25°C와 60°C에서는 약 2~3시간까지 유의적으로 증가하였으나, 함량 수준으로는 큰 차이가 나타나지 않았다. BSG 추출액 중 가장 높은 폴리페놀 함량을 보인 시료는 100°C에서 5시간 추출한 시료(350.3 µg GAE/100 mL)로 25°C와 60°C에서 5시간 추출한 시료에 비하여 약 1.8~2.1 배 높은 총폴리페놀 함량을 나타내었다. ARP 맥주 BSM의 경우도 BSG의 추출 특성과 유사한 경향을 나타내었는데, 초기 추출 1시간 동안 대부분의 폴리페놀 성분이 추출되었으며 추출량은 100°C(323.2 µg GAE/100 mL), 60°C(282.9 µg GAE/100 mL), 25°C(248.6 µg GAE/100 mL)의 순이었고 그 이후의 추출시간에 의한 뚜렷한 증감은 관찰되지 않았다.

본 연구와 같이 폴리페놀 성분의 추출률이 고온에서 높아지는 경향은 선행 연구에서도 찾아볼 수 있다. Lee 등(38)은 다양한 국내 벼 품종을 70% 에탄올에서 추출 시 추출온도가 증가할수록 총폴리페놀 함량이 증가하였다고 보고하였으며, Ruenroengklin 등(39)도 리치(*Litchi chinensis* Sonn.) 껍질을 60% 에탄올로 추출 시 30~80°C 범위에서 온도가 높아질수록 폴리페놀 성분의 추출량이 증가하였다고 보고하였다. 한편 Koh 등(40)은 민들레 잎을 70°C에서 1, 2,

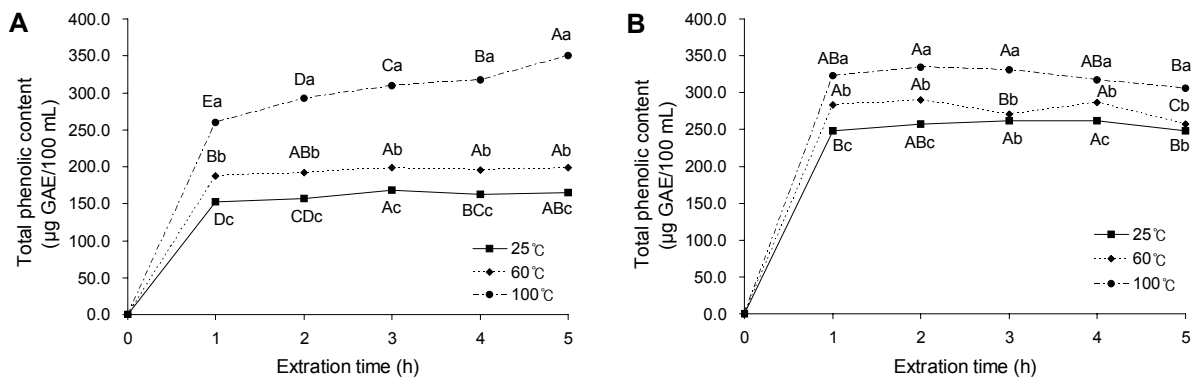


Fig. 6. Changes in total phenolic content of water extracts from BSG (A) and BSM (B) of pilsner manufacture. BSG and BSM indicate brewer's spent grain (malt and germinated rice) and material (*A. japonica* Nakai), respectively. Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P<0.05$).

3시간 동안 열수 추출 시 추출시간에 따라 미량 증가하여 52.81~59.38 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 의 총폴리페놀이 추출되었다고 보고하였다. 이러한 결과들은 식물체에 존재하는 폴리페놀 성분의 추출이 적정 시간 내에서 온도가 높을수록 증가하는 경향을 보이거나, 적정 시간 이상에서는 파괴로 인한 손실이 진행될 수 있으므로 추출 온도에 따른 적정시간을 선정하는 것이 필요할 것으로 보인다. 본 연구에 사용된 맥주박 BSG와 BSM의 경우 폴리페놀 성분의 효과적인 추출을 위해서는 100°C의 고온일수록 추출량이 많아지지만 추출시간은 BSG의 경우 5시간까지, BSM의 경우 3시간 이내가 적절한 것으로 보인다.

ARP 맥주박의 DPPH 라디칼 소거능 열수 추출 특성

DPPH는 분자 내에 자유라디칼을 가지고 있어 항산화체에 의해 환원 시 짙은 자색이 노란색으로 탈색되는 정도에 따라 분석 대상 물질의 항산화능을 측정하는 방법으로 널리 사용되고 있다. ARP 맥주박 BSG와 BSM의 온도 조건을 달리하여 제조한 열수 추출액의 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 7과 같다. ARP 맥주박 BSG를 열수 추출 시 초기 추출 1시간 동안 대부분의 DPPH 라디칼 소거능을 보이는 물질들이 추출된 이후 5시간 동안 괄목할 만한 변화가 관찰되지 않았다 (Fig. 7A). 온도별 특성을 보면 25°C와 60°C에서 1시간 동안 추출된 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 57.7 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$ 와 103.4 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$ 로 비교적 낮은 활성을 나타냈지만, 100°C에서 1시간 추출된 시료는 25°C와 60°C에서 추출된 시료에 비하여 각각 8배와 14배에 해당하는 821.3 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$ 의 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내어 온도에 의한 차이가 매우 크게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 반면, ARP 맥주박 BSM의 열수 추출액의 경우 60°C에서는 초기 1시간, 100°C에서는 초기 2시간 동안 DPPH 라디칼 소거능이 빠르게 증가하여 최대값을 보인 이후 추출 5시간 동안 다소 감소하거나 유지되는 경향을 나타내었다 (Fig. 7B). BSG의 경우 25°C와 60°C의 중저온에서 DPPH 라디칼 소거능 물질의 추출률이 매우 낮은 것과 달리

BSM의 경우 25°C와 60°C에서도 100°C 열수 추출조건에서 추출된 항산화 물질의 수준과 큰 차이가 없는 추출물을 보였다. BSM에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보인 추출조건은 100°C-2시간(1,303.5 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$)이었으며 그다음으로 60°C-1시간(1,148.5 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$), 25°C-1시간(991 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$) 순이었다. 이는 BSG 추출액 중에서 최대 DPPH 라디칼 소거능을 보인 100°C-1시간 추출액보다 약 1.6배 높은 수준이다.

Choi 등(41)의 노루궁뎅이 버섯과 Koh 등(40)의 민들레잎의 열수 추출 특성 연구에서 추출 온도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으며 각각 96.35°C와 83.77°C에서 최고의 DPPH 라디칼 소거능을 보인 이후 감소하는 경향을 보였다고 보고하였다. 또한, 패션후르즈 껍질을 40% 에탄올로 추출 시 항산화능 변화를 연구한 Wong 등(42)도 DPPH 라디칼 소거능이 초기 추출 1시간 이후 가장 높았으며 그 이후 감소한다고 보고하여, 본 연구에서 초기 추출률이 높고 고온의 추출조건에서 DPPH 라디칼 소거능이 높아진 이후 감소하는 경향과 일치한다 하겠다. 따라서 ARP 맥주박으로부터 DPPH 라디칼 소거능을 보이는 항산화 물질의 효율적인 열수 추출조건은 100°C와 같은 고온에서 1~2시간 이내의 시간으로 추출하는 것이 바람직할 것으로 보인다.

ARP 맥주박의 환원력 열수 추출 특성

환원력은 Fe^{3+} -ferricyanide 복합체가 수소를 공여하여 유리라디칼을 안정화시켜 Fe^{2+} 형태로 환원시킬 수 있는 물질들이 얼마나 존재하는지를 조사하여 항산화능을 분석하는 방법이다. ARP 맥주박 BSG와 BSM을 온도를 달리하여 제조한 열수 추출액의 환원력을 조사한 결과는 Fig. 8과 같다. BSG 열수 추출액의 환원력은 DPPH 라디칼 소거능 조사에서 나타난 결과와 같이 25°C와 60°C의 추출조건에 비하여 100°C 추출조건에서 두드러지게 높은 경향을 나타내어 1시간 추출된 시료의 환원력이 100°C(54.6 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$), 60°C(8.6 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$), 25°C(2.4 $\mu\text{g GAE}/100\text{ mL}$)의 순으로 높게 나타났다 (Fig. 8A). 이후 추출 5시간 동

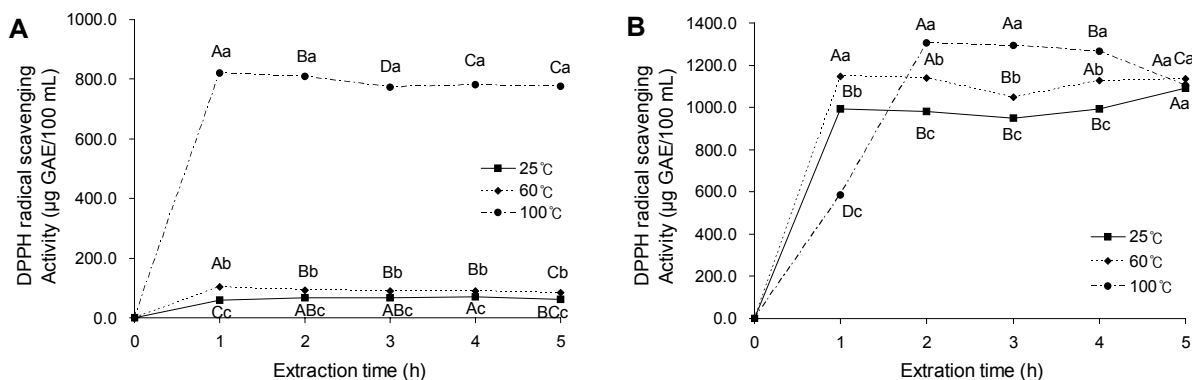


Fig. 7. Changes in DPPH radical scavenging activity of water extracts from BSG (A) and BSM (B) of pilsner manufacture. BSG and BSM indicate brewer's spent grain (malt and germinated rice) and material (*A. japonica* Nakai). Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P < 0.05$).

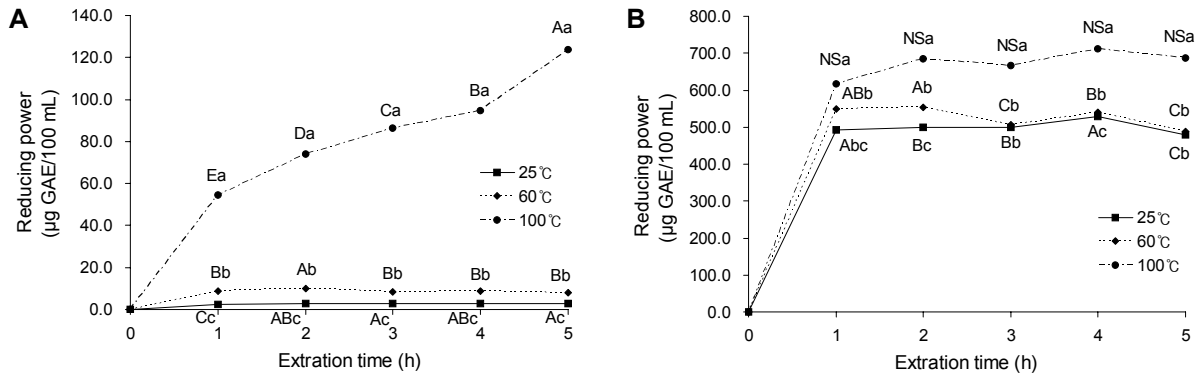


Fig. 8. Changes in reducing power of water extracts from BSG (A) and BSM (B) of pilsner manufacture. BSG and BSM indicate brewer's spent grain (malt and germinated rice) and material (*A. japonica* Nakai). Mean values with capital letters for the same temperature and small letters for the same extraction time are significantly different ($P<0.05$). NS: not significant.

안 25°C와 60°C에서 환원력 향상은 나타나지 않았지만, 100°C에서는 지속적인 증가를 보여 5시간 후 최고의 환원력(123.9 µg GAE/100 mL)을 나타냈는데, 이는 25°C와 60°C 추출조건에 비하여 각각 43배와 12배 높은 수준이었다. 한편 ARP 맥주박 BSM의 열수 추출에서도 동일 추출시간에서 추출온도가 높을수록 환원력이 높아지는 경향이 관찰되었으나, 중저온에서 매우 낮은 환원력을 보인 BSG와 달리 BSM 추출액의 경우 모든 온도에서 초기 1시간 동안 환원력이 빠르게 증가하였으며 이후 추출 5시간 동안 두드러진 증감은 관찰되지 않았다(Fig. 8B). BSM 추출액 중 가장 높은 환원력을 보인 시료는 100°C에서 4시간 추출한 시료로 712.7 µg GAE/100 mL의 환원력을 보였는데, 이는 25°C와 60°C 추출조건보다 약 1.3배 높은 값이었으며 BSG의 100°C-5시간 추출액보다 약 5.8배 높은 수준이었다.

ARP 맥주 제조 시 당화 공정은 비교적 중온 범위인 45~78°C에서 약 2시간 이루어지는 반면에 농축 공정은 100°C와 같은 고온에서 90분간 끓이는 공정으로 진행된다(Fig. 1). Kim 등(43)은 오미자를 열수 추출 시 100°C의 고온에서 항산화능이 높게 나타났다고 보고하였으며, 이외에도 항산화능을 나타내는 성분들이 고온일수록 추출률이 높고 대부분 추출 초기 1~2시간 이내에 이루어진다고 알려져 있다(40-43). 이러한 특성을 고려해 볼 때 ARP 맥주 제조 시 당화공정에서 투입되는 맥아와 미아의 경우 중온에서 추출이 용이한 성분들이 맥주 제조 공정에서 유출되고 고온에서 추출이 용이한 항산화 성분의 손실이 비교적 적었을 것이나, 농축공정에서 첨가되는 우슬의 항산화 성분들은 100°C의 고온에서 용출이 용이한 성분들이 상당량 손실되었을 것으로 생각된다. 이러한 1차 공정조건에 따라서 BSG의 경우 고온에서 추출이 용이한 항산화 물질은 상당량 잔존하게 되어 열수 추출 시 중저온보다는 100°C와 같은 고온의 추출조건에서의 항산화력이 중저온의 조건에 비하여 12~43배까지 높은 특성을 보이는 반면, BSM의 경우 끓임공정 이후 잔존하는 항산화 물질들이 25, 60, 100°C 열수 추출 시 온도에 따른 큰 차이를 보이지 않고 비교적 유사한 수준으로 추

출되는 경향을 보이는 것이라 생각된다. 한편, 우슬은 100°C의 농축과정에서 상당량의 항산화 성분들이 손실되었을 것임에도 불구하고 BSM 열수 추출액의 환원력이 중저온의 공정을 거친 BSG의 열수 추출액에 비하여 높게 나타났는데, 이는 우슬이 미아와 맥아에 비하여 항산화능이 뛰어나며 100°C에서 90분간의 맥즙 농축공정 이후에도 상당량의 항산화 물질이 잔존하고 있음을 보여준다 하겠다.

본 연구에서 얻어진 결과를 종합해 볼 때 ARP 맥주박은 2차 활용이 가능한 유용한 성분을 다량 함유하고 있는 것으로 보이며, 항산화능을 고려해 볼 때 100°C의 고온에서 1시간 추출이 바람직하지만, 60°C에서도 상당량 추출이 가능하므로 사포닌, GABA 등의 기능성 성분 및 수용성 비타민 성분들을 모두 효과적으로 추출하기 위해서는 60°C에서 3시간 추출하는 조건이 바람직한 열수 추출조건인 것으로 판단된다. ARP 맥주박 BSG와 BSM을 60°C에서 3시간 열수 추출 시 얻을 수 있는 유용성 성분의 수준은 기존에 보고된 천마음료(44), 맥아음료(37), 시중 시판 음료(우유, 요구르트, 과일주스, 스포츠 음료, 두유)(36)보다 영양성과 기능성이 비교적 높은 수준으로 ARP 맥주박 열수 추출액을 음료를 포함한 다양한 제품으로의 활용이 가능할 것으로 보인다.

요 약

본 연구는 지역특산자원인 우슬과 발아벼를 이용하여 *Achyranthes japonica* Nakai-Rice Pilsner(ARP) 맥주를 제조하고 얻어지는 맥주박의 활용가치를 평가하여 소규모 맥주 제조사의 부가가치 생산과 제품개발을 위한 기초자료로 활용하고자 수행되었다. ARP 맥주 제조 시 당화 및 농축공정에서 얻어지는 맥주박 brewer's spent grain(BSG, 맥아와 미아)와 brewer's spent material(BSM, 우슬)의 25°C, 60°C, 그리고 100°C 열수 추출액을 제조하고 이들의 영양성 및 기능성을 평가하였다. ARP 맥주박 BSG와 BSM의 열수 추출액의 유용성분 추출량은 추출온도와 시간에 따라 차이를 나타내었으며 γ-aminobutyric acid(GABA), 사포닌, 나

이아신 성분은 60°C에서 3시간 이상의 추출에서 함량이 높게 나타났지만, 총폴리페놀 성분과 항산화능[1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능 및 환원력]의 경우 100°C에서 1시간 추출 시 가장 높은 값을 나타내었다. 엽산의 경우 BSG는 100°C에서, BSM은 60°C에서 추출된 시료가 높은 함량을 나타내었다. 전체적으로 영양성과 기능성을 모두 고려해볼 때 60°C에서 3시간의 열수 추출조건이 바람직한 조건으로 보인다. 이 조건하에서 BSG 추출액의 경우 GABA 186.1 µg/100 mL, 나이아신 67.9 µg/100 mL, 엽산 80.9 µg/100 mL, 총폴리페놀 198.8 µg gallic acid equivalent(GAE)/100 mL, DPPH 라디칼 소거능 90.0 µg GAE/100 mL, 환원력 8.4 µg GAE/100 mL, BSM 추출액의 경우 사포닌 300.2 µg diosgenin equivalents/100 mL, 나이아신 1,209.7 µg/100 mL, 엽산 18.0 µg/100 mL, 총폴리페놀 270.4 µg GAE/100 mL, DPPH 라디칼 소거능 1,049.9 µg GAE/100 mL, 환원력 505.5 µg GAE/100 mL를 보이는 것으로 나타났다. BSM의 열수 추출액은 BSG 추출액에 비하여 수용성 비타민인의 경우 약 4~18배, 총폴리페놀 함량은 1.4배, 항산화능은 약 11~60배 높게 나타나 영양성 및 기능성 모두 우수한 것으로 나타났다. 본 연구 결과를 볼 때 ARP 맥주박은 영양성 및 기능성 면에서 우수한 자원으로 60°C에서 3시간 열수 추출물을 향후 제품 개발에 활용 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 중소기업청의 첫걸음개발사업 연구비 지원(C0275483)으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- National Tax Service. 2015. Statistics yearbook of national tax. National Tax Service, Sejong, Korea. <http://stats.nis.go.kr/national/major.asp> (accessed Nov 2016).
- Lee WJ, Cho MK, Chung KM. 1995. Quality characteristics of Korean rice as brewing adjunct. *Korean J Food Sci Technol* 27: 516-519.
- Hyeun SK, Kwon YA, Lee SJ. 2012. Quality characteristics of brewed beer with rice adjunct. *Food Eng Prog* 16: 139-144.
- Ceppi ELM, Brenna OV. 2010. Brewing with rice malt a gluten-free alternative. *J Inst Brew* 116: 275-279.
- Yom HC. 2008. The effect of green tea extracts on the fermentation properties of polyphenol-enriched beers. *J Kor Home Econ Assoc* 46: 49-55.
- Dreese PC, Hosney RC. 1982. Baking properties of the bran fraction from brewer's spent grains. *Cereal Chem* 59: 89-91.
- Mussatto SI, Dragone G, Roberto IC. 2006. Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications. *J Cereal Sci* 43: 1-14.
- Choi SH, Hwangbo S, Kim SW, Cho YM, Yoo YH, Kim TI, Kim MJ, Lee SM, Choi CW, Seo BB, Jo IH, Hong SG. 2012. Effects of fermented feed with agricultural by-products on the growth performance and nutrients utilization in fattening Korean black goats. *J Kor Grassl Forage Sci* 32: 49-58.
- Chu GM, Kim HY, Ha JH, Yang JM, Yang BS, Park CJ, Song YM. 2012. Agricultural and marine by-products fermented diet and its economic value in pig. *J Agric Life Sci* 46: 59-68.
- Huige NJ. 1994. Brewery byproducts and effluents. In *Handbook of Brewing*. Hardwick WA, ed. Marcel Dekker, New York, NY, USA. p 501-550.
- Waters DM, Jacob F, Titze J, Arendt EK, Zannini E. 2012. Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. *Eur Food Res Technol* 235: 767-778.
- Reis SF, Abu-Ghannam N. 2014. Antioxidant capacity, arabinoxylans content and *in vitro* glycaemic index of cereal-based snacks incorporated with brewer's spent grain. *LWT - Food Sci Technol* 55: 269-277.
- Jo SJ, Hong CO, Yang SY, Choi KK, Kim HK, Yang H, Lee KW. 2011. Changes in contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and isoflavones in traditional Korean *Doenjang* by ripening periods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 557-564.
- Hiari S, Oura H, Nakajima T. 1976. Color reaction of some saponin and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Med* 29: 116-122.
- Korean Food and Drug Administration (KFDA). 2011. *Korean Food Standards Codex*. KFDA, Seoul, Korea.
- Chun JY, Martin JA, Chen L, Lee J, Ye L, Eitenmiller RR. 2006. 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 Comp Anal* 19: 182-187.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
- Chung HJ, Jang SH, Cho HY, Lim ST. 2009. Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA (γ -aminobutyric acid) content in germinated waxy hull-less barley. *LWT - Food Sci Technol* 42: 1712-1716.
- Moon SH, Lee KB, Han MK. 2010. Comparison of GABA and vitamin contents of germinated brown rice soaked in different soaking solution. *Korean J Food Nutr* 23: 511-515.
- Lin SD, Mau JL, Hsu CA. 2012. Bioactive components and antioxidant properties of γ -aminobutyric acid (GABA) tea leaves. *LWT - Food Sci Technol* 46: 64-70.
- Hahn DR, Lee MW. 1991. Studies on the constituents of *Achyranthis radix* (I): Oleanolic acid bisdesmoside from the root. *Yakhak Heoji* 35: 457-460.
- Kim DH, Kim SH, Jang YS, Shin MC, Chu VM, Lee YK, Woo MH, Kang JS. 2012. Establishment of content criteria of marker compounds through the monitoring of *Achyranthis Radix* collected from Korea and China. *Anal Sci Technol* 25: 250-256.
- Kim JH, Kim JM, Kang DH. 2008. A study on discriminative criteria of 6 kinds of *Achyranthis Radix* using HPLC/DAD. *Kor J Herbol* 23: 109-116.
- Lee YS, Kim MS, Kwon HY, Sohn HY. 2014. A comparison of components and biological activities between the hot water extracts of *Achyranthes japonica* Nakai and *Achyranthes*

- bidentata* Blume. *J Life Sci* 24: 595-706.
27. Choi KH, Kwak YS, Rhee MH, Hwang MS, Kim SC, Park CK, Han GH, Song KB. 2008. Effects of pH and high temperature treatment on the changes of major ginsenosides composition in Korean red ginseng water extract. *J Ginseng Res* 32: 127-134.
 28. Sung HS, Yang JW. 1986. Effect of the heating treatment on the stability of saponin in white ginseng. *J Korean Soc Food Nutr* 15: 22-26.
 29. Canner PL, Berge KG, Wenger NK, Stamler J, Friedman L, Prineas RJ, Friedewald W. 1986. Fifteen year mortality in Coronary Drug Project patients: long-term benefit with niacin. *J Am Coll Cardiol* 8: 1245-1255.
 30. Ahn MS. 1999. A study on the changes in physico-chemical properties of vegetables by Korean traditional cooking methods. *Korean J Diet Cult* 14: 177-188.
 31. Kim SY, Kwon SH, Kim SN, Kim JB, Park HJ, Kim HR, Jo YS. 2013. Analysis of nutritional composition in boiled broth using anchovy, fish paste, sea tangle and radish. *Korean J Community Living Sci* 24: 277-287.
 32. Han HK, Kang MS, Na JM, Yoon HN, Kim SY, Kim SN, Kim JB, Park HJ, Jo YS, Kim SY. 2011. Quantitative changes of nutritional composition of spaghetti squash by boiling. *Korean J Food Cook Sci* 27: 815-823.
 33. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. 2005. *Advanced nutrition and human metabolism*. 4th ed. Thomson Wadsworth, Belmont, CA, USA. p 301-315.
 34. Day BPF, Gregory JF. 1983. Thermal stability of folic acid and 5-methyltetrahydrofolic acid in liquid model food systems. *J Food Sci* 48: 581-587.
 35. Hawkes JG, Villota R. 1986. Kinetics of folate degradation during food processing. In *Food Engineering and Process Applications: Transport Phenomena*. Le Maguer M, Jelen P, eds. Elsevier Applied Science, Amsterdam, Netherlands. p 323.
 36. Chang SO. 2007. The evaluation of nutrients and health functional elements presented at nutrition labels of various beverages in the market. *Korean J Nutr* 40: 558-565.
 37. USDA. 2015. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> (accessed Nov 2016).
 38. Lee JH, Oh SK, Kim DJ, Yoon MR, Chun A, Choi IS, Lee JS, Kim YG. 2013. Comparison of antioxidant activities by different extraction temperatures of some commercially available cultivars of rice bran in Korea. *Korean J Food Nutr* 26: 1-7.
 39. Ruenroengklin N, Zhong J, Duan X, Yang B, Li J, Jiang Y. 2008. Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of phenolics from litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant activity of the extracted anthocyanins. *Int J Mol Sci* 9: 1333-1341.
 40. Koh YJ, Cha DS, Choi HD, Park YK, Choi IW. 2008. Hot water extraction optimization of dandelion leaves to increase antioxidant activity. *Korean J Food Sci Technol* 40: 283-289.
 41. Choi MA, Park NY, Jeong YJ. 2004. Optimization of hot water extraction conditions from *Hericium erinaceus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1068-1073.
 42. Wong YS, Sia CM, Khoo HE, Ang YK, Chang SK, Chang SK, Yim HS. 2014. Influence of extraction conditions on antioxidant properties of passion fruit (*Passiflora edulis*) peel. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 13: 257-265.
 43. Kim SI, Sim KH, Ju SY, Han YS. 2009. A study of antioxidative and hypoglycemic activities of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extract under variable extract conditions. *Korean J Food Nutr* 22: 41-47.
 44. Lee SW, Moon HK, Moon JN, Yoon WJ, Kim GY. 2010. Quality characteristics of Chun ma (*Gastrodiae rhizoma*) beverage prepared using concentrated extracts. *Korean J Food Preserv* 17: 58-65.