

콩분말의 단백질 가수분해 조건에 따른 특성 모니터링

정규호 · 서지형¹ · 김정훈² · 김광수³ · 정용진[†]

계명대학교 자연과학부 식품가공학과, ¹영남이공대학 식음료조리계열, ²(주) 웅진식품,
³영남대학교 식품영양학과

Monitoring on Characteristics of Soybean Flour Hydrolyzed by Various Proteolytic Conditions

Kyo-Ho Jeong, Ji-Hyung Seo¹, Jeong-Hoon Kim², Kwang-Soo Kim³ and Yong-Jin Jeong[†]

Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

¹Division of Food Beverage and Culinary Arts, Yeungnam College of Science and Technology, Daegu 705-703, Korea

²Woongjin Foods Co., Ltd, Seoul 110-785, Korea

³Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract

We monitored the characteristics of soybean hydrolysate prepared under various hydrolysis condition using response surface methodology. The yield was affected by protease content but the effect of hydrolysis time to yield gradually increased at over 0.4% of protease, while the R^2 of polynomial equation was 0.978 ($p < 0.01$). The soluble solid enlarged by increase of both variables and the R^2 of polynomial equation was 0.954 ($p < 0.01$). The degree of hydrolysis was affected by protease content at low (under 0.4%) protease and maximized at 0.57% protease and 5.49 hrs. The R^2 of polynomial equation for the degree of hydrolysis was 0.916 ($p < 0.05$). The calcium intolerance capacity showed similar pattern like yield but the effect of hydrolysis time was rapidly increased at over 0.4% protease. The R^2 of polynomial equation for calcium intolerance capacity was 0.932 ($p < 0.05$). The total phenolic compounds increased in proportion to protease content and hydrolysis time, while the R^2 of polynomial equation was 0.920 ($p < 0.05$). According to the results of this study, the optimal conditions for soybean hydrolysis were predicted to be 0.51~0.66% of protease and 6.5~9.0 hrs, and the predicted values and actual values of each response variable were similar to each other when the hydrolysis was performed at a random point within the optimal range.

Key words : soy hydrolysate, response surface methodology (RSM), protease

서 론

콩 단백질은 lysine이 풍부하고 동물성 단백질과 달리 콜레스테롤이 존재하지 않으며 질적으로 우유단백질과 대등한 것으로 평가된다. 또한 콩은 각종 비타민과 철분, 인, 칼륨 등의 무기질 및 생리적 유효성분을 함유하여, 현대인의 식생활에서 효용가치가 높은 식품소재로 평가되고 있다. 또한, 웰빙 열풍과 건강에 대한 관심 고조로 청국장이나 두유 등의 수요가 급격히 증가하고 있으며 소비계층도 유아

기에서 노년층에 이르기까지 광범위해지는 추세이다(1). 이에 따라 콩제품의 형태도 단순한 가공에서 벗어나 기능성을 부가시키거나, 분리된 유효성분을 이용한 고부가가치의 신제품 생산이 시도되고 있다. 최근에 여러 연구에서 보고(2,3)되고 있는 콩 가수분해물은 콩단백질이 peptide로 전환되어 소화율이 높아지는 한편 peptide의 기능성(4,5)과 유효성분을 함께 이용할 수 있어 제품의 부가가치를 높일 것으로 기대된다.

칼슘은 골격과 치아에 존재하며 1% 가량은 세포와 세포 내외의 체액에 분포되어 신체의 생리조절 기능을 수행한다. 2001년 국민영양 조사보고서(6)에 의하면 우리나라 국민 1인의 1일 평균 칼슘 섭취량은 496.6mg으로 영양권장량

[†]Corresponding author. E-mail : yjjeong@kmu.ac.kr,
Phone : 82-53-580-5557, Fax : 82-53-53-580-6477

의 71% 수준에 불과하여 일상 식생활에서 가장 결핍되기 쉬운 영양소로 지적되고 있다. 장기간의 칼슘 결핍은 뼈의 성장을 둔화시키고 골다공증과 같은 뼈질환 및 순환기계 질환의 발병 위험을 높인다(7). 최근 식품업계에서는 고칼슘 두유 제품 생산을 시도하고 있으나 칼슘의 낮은 용해도 및 단백질과의 결합에 따른 응고현상 등의 문제 해결이 요구되고 있으며, 기능성 차별화에 대한 관심이 집중되고 있다. Jeong 등(8)은 콩분말 및 분리대두단백의 단백질 분해 효소 종류에 따른 특성을 보고하였으나 많은 보완이 요구되고 있다.

이에 본 연구는 단백질분해효소를 이용하여 생산 효율과 칼슘내인성이 증가된 콩가수분해물의 제조 조건에 따른 특성을 모니터링하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험은 2004년 경북 상주시에서 재배한 메주콩을 100 mesh 이상 분쇄시킨 분말을 증류수에 현탁하여 10%(w/v) 용액으로 만들어 기질로 이용하였으며, protease는 Daiwa kasei(Protin-1, 70,000 PU/g, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

실험계획

콩분말의 가수분해 조건을 설정하기 위해, 독립변수로 protease 첨가량(X_1)과 가수분해 시간(X_2)을 설정하고 이들 변수의 반응조건은 -2, -1, 0, 1, 2로 다섯 수준으로 부호화하여 10가지의 중심합성계획(9)에 의해 실험을 실시하였다(Table 1). 또한 가수분해물의 품질에 영향을 미치는 종속변수(Y_n)는 수율(Y_1), 가용성 고형분(Y_2), 가수분해도(Y_3), 칼슘내인성(Y_4), 총 페놀성 물질(Y_5)로 하였으며, 3회 반복 실험하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 회귀분석에 의한 모델식의 예측에는 SAS(statistical analysis system) program(10)을 사용하였으며, 각 조건별 가수분해물의 제조는 500 mL의 콩분말 기질용액에 일정량의 protease를 첨가하여 50°C에서 가수분해하였다. 반응액은 80°C에서 10분간 처리하여 잔존효소를 실효시킨 후 원심분리(8,000 rpm, 20 min)하여 상정액을 가수분해물로 하였다.

수율 및 가용성 고형분 측정

수율은 원료 양에 대하여 가수분해 후 남은 잔사량의 건조 중량을 뺀 값을 백분율로 나타내었다. 가수분해물의 고형분 함량은 가수분해한 후 원심분리한 상정액을 infrared moisture determination balance(Kett, FD-240, Japan)로 수분함량을 측정한 후 수분함량을 뺀 나머지 값을 가용성 고형분 함량으로 하였다.

가수분해도 측정

가수분해도는 Edward와 Shipe의 방법(11)에 따라 가수분해물 30 mL에 10%(w/v) trichloroacetic acid (TCA)용액을 동량으로 혼합한 후 원심분리(3,000 rpm, 10min)하여 불용성 물질을 침전시켜 제거한 다음, 분리된 상정액의 가용성 단백질을 정량하여 총 단백질에 대한 가용성 단백질의 백분율로 표시하였다. 이때 가용성 단백질은 10% TCA용액에 침전하지 않는 단백질을 가용성 단백질로 정의하였다.

총 페놀성 물질 및 칼슘내인성 측정

총 페놀성 물질은 Folin-Denis법(12)으로 정량하였으며 tannic acid를 표준물질로 이용하였다. 칼슘내인성은 Pyun과 Hwang의 방법(13)에 따라 각각의 가수분해물 30 mL에 30 mM $CaCl_2$ 용액 30 mL을 혼합하여 25°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액은 8000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 침전물을 제거한 후, 280 nm에서 흡광도를 측정하여 칼슘내인성으로 나타내었다.

결과 및 고찰

수율, 가용성 고형분 및 가수분해도의 변화

콩분말을 가수분해하여 고부가가치 제품으로 활용하기 위하여 가수분해 조건에 따른 주요 성분 변화를 모니터링 하였다. 중심합성계획에 따라 제조한 콩 가수분해물의 수율, 가용성 고형분 및 가수분해도는 Table 1과 같으며, 각 종속변수에 대한 회귀식은 Table 2에 나타내었다. 콩 가수분해물의 수율은 33.90 ~ 53.25%의 범위였으며 protease 첨가량이 높을수록 증가하였다가 일정시점 이후 감소하는 경향이었다. 수율에 대한 protease의 영향은 저농도의 protease 첨가 범위에서 현저하였으며, 0.4% 이상의 protease 첨가조건에서는 가수분해 시간의 영향이 점차 증가하였다. 수율에 대한 반응표면은 안장점의 형태를 나타내었으며, 회귀식의 R^2 는 0.978로서 1% 이내에서 유의성이 인정되었다. 능선분석 결과 최대 수율은 0.58%의 protease로 9시간의 가수분해 조건에서 53.37%로 예측되었다(Fig. 1). Kim과 Kim(14)에 따르면 콩을 수침하여 마쇄·추출·여과·가열 등의 공정으로 제조한 두유의 수율은 83.41 ~ 89.17%로, 본 연구에서 얻은 콩 가수분해물의 수율보다 높았다. 하지만 두유박에 5%의 koji로 12시간동안 가수분해하였을 때 56%의 수율을 얻었다는 Chae 등(15)의 연구와 유사하였다.

가용성 고형분은 4.87 ~ 6.60%의 범위로 큰 차이를 나타내지 않았으며 protease 첨가량과 가수분해 시간의 영향을 모두 받는 것으로 나타났다. 본 연구에서 가용성 고형분의 반응표면은 안장점 형태였으며 회귀식의 R^2 는 0.954로서 1% 이내에서 유의성이 인정되었다. 능선분석을 실시한 결과(Fig.1), 가용성 고형분의 최대값은 protease 농도 0.71%,

Table 1. Experimental data on yield, soluble solids, degree of hydrolysis, calcium intolerance capacity and total phenolic compounds of soy flour hydrolysate by different hydrolysis conditions

Experiment number ¹⁾	Protease content (%)	Hydrolysis time (hrs)	Yield (%)	Soluble solids (%)	Degree of hydrolysis (%)	Calcium intolerance capacity ²⁾	Total phenolic compounds (mg%)
1	0.2 (-1)	3 (-1)	43.60±0.56 ³⁾	5.17±0.50	20.62±1.71	0.18±0.01	53.90±3.96
2	0.2 (-1)	7 (1)	46.10±0.75	5.75±0.49	22.08±0.48	0.19±0.01	71.50±1.98
3	0.6 (1)	3 (-1)	51.10±0.85	6.07±0.76	25.42±0.16	0.20±0.01	90.05±2.76
4	0.6 (1)	7 (1)	52.93±1.10	6.40±0.14	25.14±0.40	0.22±0.01	123.35±3.18
5	0.4 (0)	5 (0)	49.57±0.60	5.83±0.25	24.81±1.45	0.21±0.01	100.00±6.22
6	0.4 (0)	5 (0)	48.40±1.35	5.73±0.64	23.60±0.38	0.21±0.01	104.75±2.33
7	0.4 (0)	1 (-2)	47.00±1.10	4.87±0.40	21.79±2.07	0.17±0.01	57.05±0.21
8	0.4 (0)	9 (2)	51.07±0.70	6.60±0.10	24.50±0.81	0.22±0.02	115.04±5.90
9	0 (-2)	5 (0)	33.90±0.96	5.20±0.14	7.19±0.86	0.10±0.01	67.43±8.90
10	0.8 (2)	5 (0)	53.25±0.21	6.45±1.20	25.28±0.72	0.23±0.01	123.00±3.50

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design.
²⁾ Turbidity at 280 nm of diluted(×100) supernatant of soymilk added 30 mM CaCl₂.
³⁾ Values are mean ±S.D. (n=3).

7.52시간의 가수분해조건에서 6.67%로 예측되었다. 가용성 고형분의 증가는 콩에 함유된 단백질 및 각종 영양성분의 활용 증가를 의미하며(16), 최근에는 비지를 효소 처리하여 콩 전체로 생산된 두유제품이 출시되기도 하였다.

가수분해도는 7.19 ~ 25.42% 범위였으며, protease 첨가량이 높을수록 증가하다가 일정시점(protease첨가량 0.57%) 이후에는 감소하는 경향이였다(Fig. 2). 가수분해도는 콩 가수분해물의 가용성 단백질 비율을 측정된 것으로, protease 처리로 생성된 peptide의 용해도와 분자크기 등을 간접적으로 나타낸다(17). 또한 단백질의 가용화에 따른 용해도 증가는 콩제품의 활용도를 높일 수 있어 콩 단백질에 관한 여러 연구(18,19)에서 주요 관심 항목이기도 하다. Choung 등(20)에 의하면 분리 대두단백에 *Bacillus*속 균주 및 *Aspergillus*속 균주를 처리하였을 때 2.65 ~ 9.52%의 가

수분해도를 나타내었다. 본 연구에서 가수분해도에 대한 회귀식의 R²는 0.916으로 5% 이내에서 유의성이 인정되었으며 최대값은 0.57%의 protease 첨가수준에서 5.49시간동안 가수분해 시킬 경우 26.62%로 예측되었다.

Table 2. Polynomial equations calculated by RSM program for soy flour hydrolysate

Response	Second order polynomial equations	R ²	Pro> F
Yield	$Y = 29.9015 + 66.7971X_1 + 0.7922X_2 - 59.5901X_1^2 - 0.4183X_1X_2 - 0.0021X_2^2$	0.978	0.0022
Soluble solids	$Y = 3.8459 + 2.3402X_1 + 0.2847X_2 + 0.1606X_1^2 - 0.1568X_1X_2 - 0.0040X_2^2$	0.954	0.0087
Degree of hydrolysis	$Y = 3.4689 + 65.5910X_1 + 1.6166X_2 - 52.2501X_1^2 - 1.0872X_1X_2 - 0.0906X_2^2$	0.916	0.0286
Calcium intolerance capacity	$Y = 0.0850 + 0.3271X_1 + 0.0091X_2 - 0.3001X_1^2 + 0.0101X_1X_2 - 0.0007X_2^2$	0.932	0.0191
Total phenolic compounds	$Y = 23.2645 + 52.8516X_1 + 11.1269X_2 - 23.6705X_1^2 + 9.8121X_1X_2 - 0.8098X_2^2$	0.920	0.0261

X₁ : protease content(%), X₂ : hydrolysis time (hr)

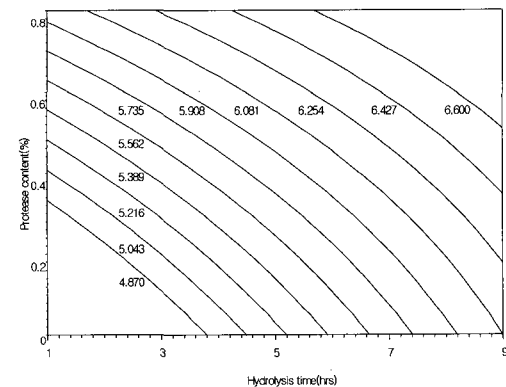
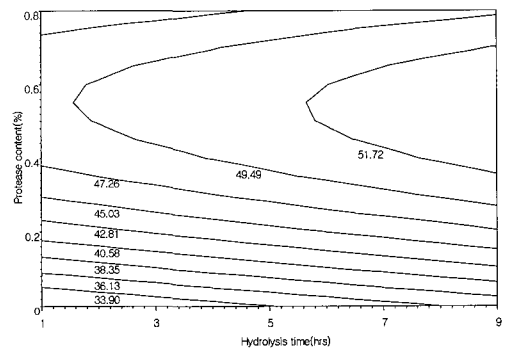


Fig. 1. Contour maps for the effects of hydrolysis condition on yield(top) and soluble solids(bottom) of soy flour hydrolysate.

칼슘내인성 및 총 페놀성 물질의 변화

칼슘내인성은 콩 단백질의 칼슘에 대한 결합 억제능을 나타낸 값으로, 고칼슘 음료제품(칼슘함량 105 mg/100 mL 이상)에서 잠재적 품질결정 요인으로 인식된다(13). 본 가수분해물의 칼슘내인성은 0.10~0.23 이었으며, protease 첨가량의 영향이 크게 작용하였으나 0.4% 이상의 protease에서는 가수분해 시간에 의한 영향이 급격히 증가하였다. 칼슘내인성에 대한 회귀식의 R²는 0.932로서 5% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 최대값은 0.71%의 protease와

11.15시간의 가수분해조건에서 0.260으로 예측되었다. 한편 총 페놀성 물질은 protease 첨가량과 가수분해 시간에 비례적으로 증가하였으며, 실험 결과치는 53.90 ~ 123.35 mg%로 범위가 넓게 나타났다. 총 페놀성 물질에 대한 반응 표면은 안장점의 형태로 회귀식의 R²는 0.920이며 5% 이내에서 유의성이 인정되었다. Pratt 등(21)과 Honig 등(22)에 따르면 콩 가수분해물의 주요 페놀성 물질로 genistein과 daidzein이 보고되고 있으며, 이외에 다른 isoflavone의 존재에 대한 이견(23)도 있다.

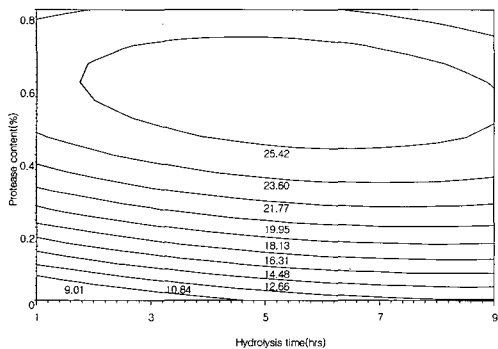


Fig. 2. Contour maps for the effects of hydrolysis condition on degree of hydrolysis of soy flour hydrolysate.

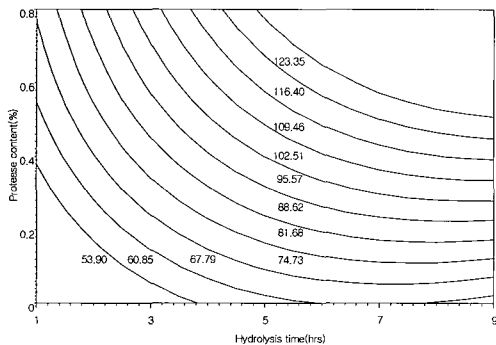
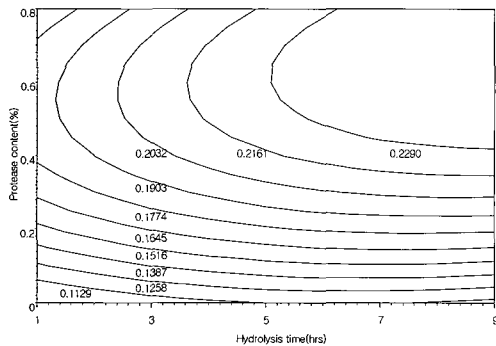


Fig. 3. Contour maps for the effects of hydrolysis condition on calcium intolerance capacity(top) total phenolic compounds(bottom) of soy flour hydrolysate.

최적 가수분해조건의 예측 및 실증시험

Fig. 4는 콩분말의 최적 가수분해 조건을 설정하기 위해, 중심합성계획에 의해 protease 첨가량과 가수분해 시간에 대한 각 종속변수에 대한 contour map을 superimposing하여 가수분해물의 특성을 모두 만족시켜 주는 가수분해조건 범위를 나타내었다. 예측된 조건 범위는 Fig. 4에 표시된 부분으로, protease 첨가량 0.51~0.66%, 가수분해 시간 6.5~9.0 hrs의 조건으로 나타났다(Table 3).

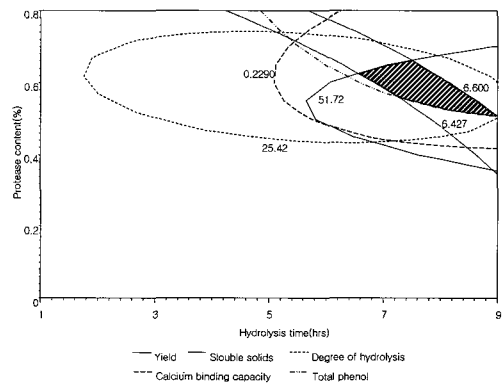


Fig. 4. Superimposed contour map for optimization of yield, soluble solids, degree of hydrolysis, calcium intolerance capacity and total phenolic compounds of soy flour hydrolysate.

Table 3. The predicted ranges of soy flour hydrolysis for response variables¹⁾ by superimposing of contour maps

Hydrolysis condition	Optimum ranges
Protease content (%)	0.51 ~ 0.66
Hydrolysis time (hrs)	6.50 ~ 9.00

¹⁾Yield, soluble solids, degree hydrolysis, calcium intolerance capacity, total phenolic compounds.

한편 Table 4는 각 변수에 대한 예측 모델식을 검증하기 위하여 최적 조건 범위내의 임의의 최적점(protease 농도 0.6%, 가수분해시간 7.7 hr)에서 실제 가수분해 실험을 반복

실시하여 얻은 결과이다. 임의의 최적점에 대한 실측치는 수율 53.03%, 고형분 함량 6.62%, 가수분해도 27.32%, 칼슘 내인성 0.239 및 총 페놀성 물질 130.09mg%였으며 예측된 값과 유사한 수준이었다.

Table 4. Comparison of predicted value and observed value of response variables for soy flour at a given condition within the range of optimum hydrolysis conditions

Responses variables	Predicted value	Observed value
Yield (%)	52.57	53.03±0.54 ²⁾
Soluble solids (%)	6.54	6.62±0.19
Degree of hydrolysis (%)	26.06	27.32±0.46
Calcium intolerance capacity ¹⁾	0.248	0.239±0.02
Total phenol (mg%)	129.45	130.09±2.84

¹⁾Turbidity at 280 nm of diluted(×100) supernatant of soymilk added 30 mM CaCl₂.

²⁾Values are mean ± S.D. (n=3).

요 약

반응표면분석법을 이용하여 가수분해 조건에 콩 가수분해물의 품질 특성을 모니터링 하였다. 수율은 protease 농도에 크게 영향을 받았으며, 0.4% 이상의 농도에서는 가수분해 시간의 영향이 점차 증가하였다. 수율에 대한 회귀식의 R²는 0.978로서 1% 이내에서 유의성이 인정되었다. 가용성 고형분은 protease 첨가량과 가수분해시간의 영향이 모두 나타났으며, 회귀식의 R²는 0.954로서 1% 이내에서 유의성이 인정되었다. 가수분해도는 protease 첨가량이 높을수록 증가하다가 최대점(protease 첨가량 0.57%, 가수분해시간 5.49 hrs) 이후에는 감소하는 경향이었으며, 회귀식의 R²는 0.916으로 5% 이내에서 유의성이 인정되었다. 칼슘내인성은 protease 첨가량의 영향이 크게 작용하였으나 0.4% 이상의 protease에서는 가수분해 시간의 영향이 급격히 증가하였으며, 회귀식의 R²는 0.932로서 5% 이내에서 유의성이 인정되었다. 총 페놀성 물질은 protease 첨가량과 가수분해 시간에 비례적으로 증가하였으며, 회귀식의 R²는 0.920으로 5% 이내에서 유의성이 인정되었다. 이상의 결과 콩분말의 최적 가수분해조건은 protease 첨가량 0.51~0.66%, 가수분해 시간 6.5~9.0 hrs의 조건으로 예측되었으며, 최적 조건으로 제조한 가수분해물의 실측치는 예측치와 유사하였다.

참고문헌

1. Shin, H.C., Seong, H.S. and Sohn, H.S. (2004) The

- industrial development and health benefits of the soy milk. Korea Soybean Digest, 21, 15-27
2. Penas, E., Prestamo, G. and Gomez, R. (2004) High pressure and the enzymic hydrolysis of soybean whey proteins. Food Chem., 85, 641-648
3. Kang, J.H. (1999) Functional characterization of soy protein hydrolysate. Food Industry and Nutrition, 4, 66-72
4. Jianping, W.U. and Xiaolin, D. (2002) Characterization of inhibition and stability of soy protein derived angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides. Food Research International, 35, 367-375
5. Tovar-Palacio, C., Potter, S.M., Hafermann, J.C. and Sahy, N.F. (1998) Intake of soy protein and soy protein extracts influences lipid metabolism and hepatic gene expression in gerbils. J Nutr., 128, 839-842
6. Health Industry Development Division (2002) Report on 2001 national health and nutrition survey - Nutrition survey(I). Ministry Health & Welfare, p.155-222
7. Choi, M.J. (2001) Effects of exercise and calcium intake on blood pressure and blood lipids in premenopausal women. Korean J Nutrition, 34, 62-68
8. Jeong, K.H., Seo, J.H. and Jeong, Y.J. (2005) Characteristics of soybean hydrolysates prepared with various protease. Korean J Food Preserv., 12, 460-464
9. Kang, K.C., Park, J.H., Back, S.B., Jhin, H.S. and Rhee, K.S. (1992) Optimization beverage preparation from Schizandra chinensis bailon by response surface methodology. Korean J Food Sci. Technol., 24, 74-81
10. SAS Institute Inc. (1995) SAS/STAT User's guide version 6. 4th ed., Cary NC, USA, Vol.2, p.1457
11. Edward, J.H. and Shipe, W.F. (1978) Characterization of plastein reaction products formed by pepsin, α-chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysates. J Food Sci., 43, 1215-1219
12. A.O.A.C. (1980) Official methods of analysis. 13th ed., Association of Official Analytical Chemist. Washington, p.176-180
13. Pyun, J.W. and Hwang, I.K. (1996) Preparation of calcium-fortified soymilk and in vitro digestion properties of its protein and calcium. Korean J Food Sci. Technol., 28, 995-1000
14. Kim, Y.S. and Kim, C.J. (1999) Effects of extraction methods and heating times on physicochemical properties of soymilk. Korea Soybean Digest, 16, 40-55
15. Chae, H.J., In, M.J. and Lee, J.D. (1998) Production of a protein supplement from soymilk residues by combined

- use of enzymes and microorganisms. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 41, 73-77
16. Kim, S.R., Park, Y.K., Seog, H.M. and Oh, S.H. (2002) Whole soybean milk produced by enzymatic solubilization of soy milk residue, and its nutritional properties. *Korea Soybean Digest*, 19, 8-18
 17. Lee, S.H., Cho, Y.J., Chun, S.S., Kim, Y.H. and Choi, C. (1995) Functional properties of proteolytic enzyme-modified isolated sesame meal protein. *Korean J Food Sci. Technol.*, 27, 708-715
 18. Lee, S.Y. and Oh, K.N. (1999) Effects of sweeteners and enzyme treatments on the quality attributes of soy yogurt containing soy protein isolate. *Korean J Soc. Food Sci.*, 15, 73-80
 19. Yoon, H.H. and Jeon, E.J. (2004) Functional properties of soy protein isolate from heat treated soybean. *Korean J Sci. Technol.*, 36, 38-43
 20. Choung, N.H., Shin, Y.S., Kim, S.H., and Yim, M.H. (2003) Characteristics of soy protein hydrolysates with enzymes produced by microorganisms isolated from traditional *meju*. *Korean J Food Preserv.*, 10, 80-88
 21. Pratt, R., Dan, E., Pietro, W.L. and Giffie, J.W. (1981) Phenolic antioxidants of soy protein hydrolysate. *J Food Sci.*, 47, 24-31
 22. Honig, D.H., Swssa, D.J., Hofmann, R.L. and Rackis, J.J. (1969) Soybean flakes : extraction and characterization. *Food Technol.*, 23, 9-16
 23. Naim, M., Gestetner, B., Zilkah, S., Birk, Y. and Bondi, A. (1974) Soybean isoflavone characterization, determination, and antifungal activity. *J Agric. Food Chem.*, 22, 806-811

(접수 2005년 11월 1일, 채택 2006년 1월 20일)