

(뒷면) (옆면)

(앞면)

3cm

11-1543
000-001
712-01

4cm

발간등록번호

11-1543000-001712-01

과채류 기반 고향산화 활성을 지닌 드링크류 상품화 기술 개발

최종 보고서

2017

농림축산식품부

과부가가치식품기술개발사업

Report

과채류 기반 고향산화 활성을 지닌 드링크류 상품화 기술 개발 최종보고서

2017. 4. 5.

주관연구기관 / 동원 F&B
협동연구기관 / 한양대학교
강원대학교

농림축산식품부

5cm

3cm

2. 제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “과채류 기반 고품산화 활성을 지닌 드링크류 상품화 기술 개발”(개발기간 : 2013.11.20 ~ 2016.11.19)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017.4. 5.

주관연구기관명 : (주) 동원F&B (대표자) 김 재 옥
협동연구기관명 : 한양대학교 (대표자) 산학협력단장 안진호
협동연구기관명 : 강원대학교 (대표자) 산학협력단장 정성훈

주 관 연 구 책 임 자 : 남 희 섭
제 1 협동연구책임자 : 김 현 숙
제 2 협동연구책임자 : 하 석 진

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	313034-3	해당 단계 연구 기간	2013.11.20. ~2016.11.19	단계 구분	(3차년도)/ (3차년도)
연구사업명	중사업명	고부가가치식품기술개발사업			
	세부사업명				
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	과채류 기반 고향산화 활성을 지닌 드링크류 상품화 기술 개발			
연구책임자	남희섭	해당단계 참여 연구원 수	총: 24 명 내부: 24 명 외부: 2 명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000천원 민간: 200,000천원 계: 500,000천원
		총 연구기간 참여 연구원 수	총: 37 명 내부: 37 명 외부: 2 명	총 연구개발비	정부: 900,00천원 민간: 60,000천원 계: 1,500,000천원
연구기관명 및 소속부서명	동원 F&B 동원식품과학연구원			참여기업명(협동기관) 한양대학교, 강원대학교	
위탁연구	연구기관명: 단국대학교			연구책임자: 백형희	
<p>○ 다양한 베리류를 이용한 고향산화 드링크류의 상품화 기술을 개발하기 위하여, 항산화 효능 향상을 위한 최적 생물전환공정 개발과 나노캡슐화를 통해서 항산화활성과 항산화안정성을 향상시키며 이 효능 검증.</p> <p>○ 유산균이용 발효 수행 후 항산화능 증진 확인 결과 블랙베리, 크랜베리, 아사이베리, 라즈베리, 블루베리 등에서 항산화 증진이 확인, 특히 블랙베리와 두가지 유산균(ABY-3, LP-115)을 접종한 경우 각각 34, 35%의 항산화능 증진이 확인.</p>				보고서 면수	

- 초산균이용 발효 수행 후 항산화능 증진 확인 결과 아로니아, 블랙베리, 라즈베리, 양배추 농축액등을 이용한 발효물에서 항산화능 증진 확인, 특히 블랙베리와 KCCM32831 균주를 접종한 경우 49%의 항산화능 증진 확인.
- 혼합베리 A와 유산균(LP-115)의 발효조건 최적화 수행, 발효과정 중의 항산화능 증진 요인확인 결과 benzoic acid와 benzaldehyde, Genistein 5-O-glucuronide의 증가 확인.
- 항산화 상승작용 증진 시료로 trolox와 ascorbic acid 를 선정하여 혼합 비율을 최적화 함. 시너지 혼합물을 캡슐화 기술을 이용하여 입자크기별, 피복소재별로 입자 특성과 항산화 안정성을 측정한 결과 키토산/아라비아검 나노 캡슐일 때 가장 우수함. 시너지 활성이 우수한 혼합베리 A의 항산화 안정성을 증진시킬 수 있는 나노 캡슐화 조건 최적화. 최적 나노캡슐의 항산화 안정성은 캡슐화 이전보다 약 5 ~ 48% 향상되었음을 확인.
- 혼합베리 A에 생물전환공정과 나노캡슐기술을 적용하여 항산화능 증대 및 안정화 시켜 상품화 3건을 완료.
- 기존의 생리활성 성분의 기능성을 활용하고 이를 증진시킬 수 있는 미래의 핵심기술 개발.
- 침체된 음료시장에 기능성 및 안정성 면에서 차별화 포인트 확보.

4. 국문 요약문

		D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ 다양한 베리류를 이용한 고향산화 드링크류의 상품화 기술을 개발하기 위하여, 향산화 효능 향상을 위한 최적의 식물유산균 또는 초산균을 이용한 생물전환공정을 개발하는 것이다.</p> <p>○ 혼합 비율조절 및 미세/나노캡슐화를 통해서 향산화활성 과 향산화안정성을 향상시키며 이 효능을 <i>in vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 실험을 통하여 검증하는 것이다.</p> <p>○ 다양한 베리류의 향산화력 및 향산화 물질을 분석하여 향산화 효능 개선을 위하여 원재료 및 부재료를 선정 후 혼합비율 조절을 통한 시너지 효과를 확인한다. 또한, 안정성 확보를 위하여 최적 캡슐화 조건을 탐색 후 선정된 최적 캡슐을 <i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>로 향산화 효능을 검증한다.</p> <p>○ 향산화능이 증진된 베리류를 적용한 음료를 상품화한다</p>	
<p>연구개발성과</p>	<p>○ 10종의 과채류 농축액을 4종의 유산균을 이용하여 발효를 수행한 후 향산화능 증진을 확인한 결과 블랙베리, 크랜베리, 아사이베리, 라즈베리, 블루베리, 적포도 등에서 향산화 증진이 확인되었으며 특히 블랙베리와 두가지 유산균(ABY-3, LP-115)을 접종한 경우 각각 34, 35%의 향산화능 증진이 확인되었다.</p> <p>○ 10종의 과채류 농축액을 4종의 초산균을 이용하여 발효를 수행한 후 향산화능 증진을 확인한 결과 아로니아, 블랙베리, 라즈베리, 양배추 그리고 시금치 농축액을 이용한 발효물에서 향산화능 증진이 확인되었으며 특히 블랙베리와 KCCM32831 균주를 접종한 경우 49%의 향산화능 증진이 확인되었다.</p> <p>○ 발효기를 이용해 혼합베리 A와 유산균(LP-115)의 발효조건 최적화를 수행하였으며 발효과정 중의 향산화능 증진 원인을 파악한 결과 benzoic acid와 benzaldehyde의 증가가 확인되었으며 Genistein 5-O-glucuronide의 증가가 확인되었다.</p>	

		D-01			
연구개발성과	<p>○과채류를 각각 혼합한 총 45종의 혼합군 시료의 항산화 활성을 측정한 결과, 블루베리+양배추 혼합군이 ORAC 수치에서 가장 높은 상승작용을 나타냈다. 내는 혼합군으로 선정되었다. 또한, 아사이베리의 항산화 상승작용을 증진시킬 수 있는 시료로 trolox와 ascorbic acid를 선정하여 혼합 비율을 최적화 하였다. 시너지 혼합물을 캡슐화 기술을 이용하여 입자크기별, 피복소재별로 입자특성과 항산화 안정성을 측정한 결과 키토산/아라비아 검 나노 캡슐일 때 가장 우수하였다. 시너지 활성이 우수한 혼합베리 A의 항산화 안정성을 증진시킬 수 있는 나노캡슐화 조건(키토산/아라비아검 농도)를 최적화 하였다. <i>In vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 실험을 통해서 최적 나노캡슐의 항산화 안정성은 캡슐화 이전보다 약 5 ~ 48% 향상되었음을 확인하였다.</p> <p>○ 혼합베리 A에 발효와 나노캡슐기술을 적용하여 항산화능 증대 및 안정화 시켜 상품화 3건을 완료하였다</p>				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<p>○각종 과채류 농축액과 유산균 또는 초산균을 이용한 생물전환공정 개발을 통한 고향산화 드링크류의 상품화 기술 개발</p> <p>○항산화능의 증진을 위해 각종 과채류 농축액과 유산균 또는 초산균을 이용해 개발된 생물전환공정의 원천기술 획득</p> <p>○베리류의 안정성을 증진시키는 동시에 항산화 효능을 강화시킬 수 있는 나노캡슐화기술 개발</p> <p>○기존의 생리활성 성분의 기능성을 활용하고 이를 증진시킬 수 있는 미래의 핵심기술 개발</p> <p>○침체되어있는 음료시장에 기능성 및 안정성 면에서 차별화 포인트 확보</p>				
중심어 (5개 이내)	나노캡슐	유산균	초산균	항산화능	생물전환공정

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		D-02
Purpose& Contents	<p>○The purpose of this research is the development of bioconversion process for enhanced antioxidant activities of various berry juices by lactic acid bacteria or acetic acid bacteria, which resulted in commercialization of beverages with high antioxidant activities.</p> <p>○The purposes of this study were to improve the antioxidant activity and antioxidant stability of berries using synergistic effect and encapsulation and to identify the improved antioxidant stability.</p> <p>○The antioxidant activities and contents of various berries were evaluated. In order to increase the antioxidant activity, the synergistic antioxidant activity of berries was also investigated. The nanoencapsulation preparation conditions were optimized for maximal antioxidant stability and the optimized antioxidant stabilities were identified by in vitro and in vivo experiments.</p> <p>○ Sale of berry drink have high antioxidant activity</p>	
Results	<p>○As results of fermentations and antioxidant activity verifications using 10 berry juices and 4 lactic acid bacteria, 6 juices (black berry, cranberry, acai berry, raspberry, blue berry, grape) showed enhanced antioxidant activities. Especially, black berry showed 34% and 35% improved antioxidant activities by two lactic acid bacteria (ABY-3, LP-115).</p> <p>○As results of fermentations and antioxidant activity verifications using 10 berry juices and 4 acetic acid bacteria, 5 juices (aronia, black berry, raspberry, cabbage, spinach) showed enhanced antioxidant activities. Especially, black berry showed 49% improved antioxidant activities by two acetic acid bacteria (KCCM32831).</p> <p>○Fermentation conditions using the mixed berry juice A and lactic acid bacteria (LP-115) were optimized through bioreactor. Concentrations of benzoic acid, benzaldehyde, and genistein 5-O-glucuronide were increased which could improve antioxidant activities during fermentation</p>	

Results	<p>○The synergistic activity of combined blueberry and cabbage concentrates exhibited the most significant increase among the 45 combinations in ORAC values. The mixing ratio of ascorbic acid and trolox for synergistic activity in both ORAC and DPPH assays was optimized using response surface methodology. The optimized solution A-loaded nanoparticles showed higher antioxidant stability 5 ~ 48% than non-nanoencapsulated solution A both <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>.</p>				
Expected Contribution	<p>○Commercialization of beverages with high antioxidant activities through the development of bioconversion process for enhanced antioxidant activities of various berry juices by lactic acid bacteria or acetic acid bacteria.</p> <p>○Achievement of the original technology about bioconversion process for enhanced antioxidant activities of various berry juices</p> <p>○Developing nanoencapsulation technology for improving antioxidant activity and stability of berries</p> <p>○Developing the future core technology for improving the nutraceutical properties of established natural bioactive substance</p>				
Keywords	nano-capsulation	lactic acid bacteria	acetic acid bacteria	antioxidant activity	bioconversion process

6. Contents

Chapter1 Outline of research and development

Verse1 The main purpose of research and development

Verse2 Necessity of research and development

Verse3 Range of research and development

Chapter2 Present condition of technology trend to domestic and foreign affairs

Chapter3 Research achievement result

Verse1 Contents of research of primary year

Verse2 Contents of research of secondary year

Verse3 Contents of research of tertiary year

Verse4 Final conclusion

Verse5 Plan of sales figures and commercialization outcome

Chapter4 Level of contribution in target achievement and related fields

Verse1 Result to plan and research development

Chapter5 Application plan of research result

Chapter6 Foreign scientific and technical intelligence collected related research process

Chapter7 Security level of research and development

Chapter8 A scientific research establishment and equipment status equipped national science and technology information system

Chapter9 Performance result about safety action in laboratory

Chapter10 Main performance of a research

Chapter11 The others

Chapter12 Reference

7. 본문목차

< 목 차 >

제 1 장 연구개발과제의개요

제 1 절 연구개발 목적

제 2 절 연구개발 필요성

제 3 절 연구개발 범위

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 3 장 연구수행 내용 및 결과

제 1 절 1차년도 연구내용

제 2 절 2차년도 연구내용

제 3 절 3차년도 연구내용

제 4 절 최종 결론

제 5 절 사업화성과 및 매출실적 계획

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구개발 및 활용목표 대비 실적

제 5 장 연구결과의 활용계획 등

제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 연구개발성과의 보안등급

제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황

제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

제 11 장 기타사항

제 12 장 참고문헌

제 1장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발 목적

본 연구의 목표는 다양한 베리류를 이용한 고향산화 드링크류의 상품화 기술을 개발하기 위하여, 베리류의 항산화 물질의 특성을 분석하고 유용처리기법(혼합 비율조절, 발효/효소, 미세 및 나노캡슐화)을 통해서 항산화성을 향상시키며 음료 제품화에 따른 가공처리 조건 및 항산화성 안정성, 시너지 효능을 검증하는 것이다.

제 2절 연구개발 필요성

1. 항산화 활성의 중요성과 다소비 식품군으로의 항산화 식품개발의 필요성

- 최근 생로병사의 비밀로 프리라디컬의 중요성이 주목받고 있는데, 호흡을 하는 생명체에게서는 불가피한 프리라디컬은 스트레스나 환경오염, 흡연 등에 의해서도 증가됨. 프리라디칼에 의한 산화적 스트레스는 노화, 발암 및 기타 질환의 발병기전과 많은 관련이 있음이 밝혀지고 있다.
- 영국의 존스홉킨스 대학의학부는 1991년 “이 지구상의 인류가 앓고 있는 질병은 3만6천여가지가 있는데 이 질병의 모든 원인은 프리라디칼이다”라고 발표하였고 그 결과 현재의 모든 건강관련 제품의 개발은 프리라디칼을 중화시키는 항산화제에 초점이 맞춰져 있다(그림 1).
- 미국조지아대학 약학대학의 James Franklin 박사에 의하면, 항산화성분을 치매를 유전적으로 유발시킨 쥐에 투여한 결과 기억력 악화가 억제되는 긍정적인 결과가 확인되었다.









그림 1. 다양한 질병의 원인이 되는 산화적 스트레스

- 체내 항산화활성을 증가시키기 위해서는 산화적 스트레스를 제거하는 인체 내 방어체계인 체내 항산화시스템을 강화시킬 수 있는 항산화 성분의 섭취가 필요하다. 그러나 1회성 항산화 성분의 섭취는 섭취 후 수 시간 동안만 체내 항산화 활성화에 영향을 줄 수 있기 때문에 일정 시간 간격으로 항산화 성분을 하루에도 수회 항산화 성분을 주기적으로 섭취하는 것이 중요하다.
- 따라서 소비자들의 편의성과 꾸준히 복용 가능하도록 하기 위해서는 기존의 식이보충제의 형태보다 항산화 기능이 강화된 다소비 식품군의 형태로 개발이 요구된다

2. 국내의 항산화 음료 제품 현황

- 최근 건강에 대한 소비자들의 관심이 증가되면서 국내외에서 항산화 원료를 함유한 주스류 등이 출시되고는 있으나(표 1) 품목의 다양성이 부족하고, 무엇보다도 원료들의 단순한 혼합으로 제품의 기능성 및 품질 인증이 미흡하다는 문제가 지적되고 있다.

표 1. 국내 항산화 음료 제품 현황






제조사/제품명	특징	제품
코카콜라 미닛메이드 리치 블렌드	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 포도, 아사이베리 : Vit.E 다량 함유 ▪ 사과, 크렌베리 : Vit.C 다량 함유 	
샘표 더 건강해진 백년동안 흑초	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 산머루&복분자, 산수유&석류, 블랙베리&블루베리 ▪ 필수 아미노산, 유기산, 비타민, 미네랄 풍부 	
CJ 제일제당 쁘띠첼 미초	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 폴리페놀 함유 ▪ Vit.B1, B2, C, 카르니틴, 유기산 -> 피로회복에 도움 	
명지 아로니아 킹스베리	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 안토시아닌, 카테킨, 탄닌, 베타카로틴 함유 	
유니베라 AGX	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 크렌베리, 블루베리, 셀레늄, CoQ10 함유 	
파마넥스 g3	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 베타카로틴, 라이코펜 함유 ▪ 3종 과실 <ul style="list-style-type: none"> - 시베리안 파인애플 : Vit.C, E, 베타카로틴 - 구기자 열매 : 다당류함유 - 썬리 : Vit.C 	

- 해외 시장은 국내 보다 먼저 항산화 기능성에 대한 소비자 관심이 증가하여 다양한 제품군에서 항산화 기능성에 대하여 홍보하고 있다. 닐슨 조사기관의 자료에 따르면, 미국의 항산화 음료 시장 규모는 2005년 약 8.9억\$에서 2009년 약 20억\$로 증가하였으며,

판매량도 약 10% 신장하였고, 2009년에는 비타민 워터가 항산화 성분 함유를 내세워 약 5억\$의 판매를 기록하였다.

- 미국의학협회(American Medical Association)에서는 2007년 과일 또는 야채에 자연적으로 존재하는 항산화 성분이 기능식품이나 보충제 보다 체내에 더 쉽게 흡수된다고 발표하였다.
- 항산화 성분의 관심이 증가함에 따라 FDA에서는 2001년 6월 식품 포장과 영양성분 표시란에 항산화 성분 함량 표기에 관한 기준을 제시하였으며, 항산화 활성에 관한 영양소에 대하여 “섭취 후 위장관에서 흡수되어, 그 성분이 물리적, 생화학적 또는 세포 활동 과정에서 자유기들을 불활성화 시키는 것”을 항산화 활성으로 규정하고 있다.
- 현재, 항산화 기능이 강화되었거나 해당 성분을 함유한 것으로 홍보하고 있는 제품들은 다음과 같다.

표 2. 국외 항산화 음료 제품 현황

제품명/제조사	특징	제품
Minute Maid Enhanced Juice	<ul style="list-style-type: none"> ■ 오메가 3 지방산 50 mg, DHA, Vit.C 함유 	
Naked Juice Antioxidant Pomegranate	<ul style="list-style-type: none"> ■ 당류 무첨가 ■ 석류 6개 함유 	
Sunsteen LLC's Mangosteen Antioxidant Juice	<ul style="list-style-type: none"> ■ 당류 무첨가 	
Simply Nutritious Mega Antioxidant Juice	<ul style="list-style-type: none"> ■ 사과, 당근, 복숭아, 레몬 함유 ■ Vit.E, Vit.C, 베타카로틴 함유 	
Jamba Juice Daily Acai Antioxidant Superfruit Shot	<ul style="list-style-type: none"> ■ 320 mg 폴리페놀 함유(블루베리 112알 해당량) ■ 오메가 3, 6, 9 지방산 500 mg 함유 	

- 항산화 활성은 산화적 스트레스로부터 인체를 보호하기 위한 체내 방어시스템으로 항산화성분을 섭취함에 따라 체내의 효소적 및 비효소적 항산화 체계가 강화되어 프리라디칼에 의한 유해성으로부터 인체를 보호할 수 있다. 그러나 항산화 활성성분의 섭취 후 체내 항산화 활성은 급격히 증가되었다가 수시간 내에 다시 급격히 감소되는 패턴을 나타냄. 따라서 일정 시간 간격으로 항산화 성분을 반복적으로 꾸준히 섭취해야한다.

- 따라서 다소비 식품군 중 음료형태로의 항산화 식품의 개발은 소비자들의 섭취 편의성을 충족시키는 동시에 관능적 특성도 가미할 수 있어 ‘맛있는 기능성 식품’의 측면에서 제품의 성공가능성은 매우 크다고 판단됨. 특히 연령 별로 선호하는 관능특성에 차별성을 부여하면 연령 별 맞춤형 기능성 식품의 개발 또한 가능하다.

3. 천연 항산화 성분의 특성 및 문제점

- 다양한 베리류의 항산화 활성성분은 주로 anthocyanin, phenolic acids, flavanols, flavonols, tannins 등의 폴리페놀 성분과 비타민 C로 알려져 있다(표 3).

표 3. 베리류에 함유된 비타민 C, total phenolic 성분과 anthocyanin 함량 및 주요 anthocyanins (Plant Foods Hum Nutr (2008) 63:147-156)

Species	Vitamin C (mg/100 g fresh weight)	Phenolics (mg/100 g fresh weight)	Anthocyanins (mg/100 g fresh weight)	Anthocyanins dominant
Bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>)		525	299.6 214.7	Malvidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, delphinidin-3-galactoside, cyanidin-3-galactoside
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>)	15.5-16.3	361 417-555	134.6-152.2	Cyanidin-3-glucoside
Blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>)	125.2-151.1	318.15 498-1342	128-411	Delphinidin-3-rutinoside
Blueberry (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	12.4-13.1	181.1-473 261-585	62.6-235.4 89-331, 93-280	Malvidin-3-arabinoside, malvidin-3-glucoside, malvidin-3-galactoside
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i>)	13.1	662.5 690.2	311.02 428, 460.5	Cyanidin-3-galactoside
Cranberry (<i>Vaccinium oxycoccus</i>)		120.0-176.5 315	19.8-65.6 32	Peonidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>)	22.07-31.09 15.4-32.0	113.73-177.6 192-359, 517. 330	38.7, 65 19-51, 35.1-49.1	Cyanidin-3-sophoroside
Strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>)	29-48 23.8-51.0	317.2-443.4 102	39.08 20.07	Pelargonidin-3-glucoside

- 베리류 내의 주요 항산화 물질인 폴리페놀 성분, 특히 안토시아닌은 천연 색소로도

활용도가 매우 높았다. 하지만 일반적으로 안토시아닌을 포함한 대부분의 폴리페놀 성분들은 빛, 열, 효소, pH 등의 산화적 환경에서의 안정성이 낮기 때문에 색의 변화뿐만 아니라 항산화 활성 또한 저장 기간에 따라 급격히 저하되는 단점이 지적되어 왔다(그림 2). 실제 베리류 음료제품을 유효기간까지 저장했을 때의 안토시아닌을 측정 한 결과 온도에 따라 급격히 저하됨을 확인하였다(그림 3).

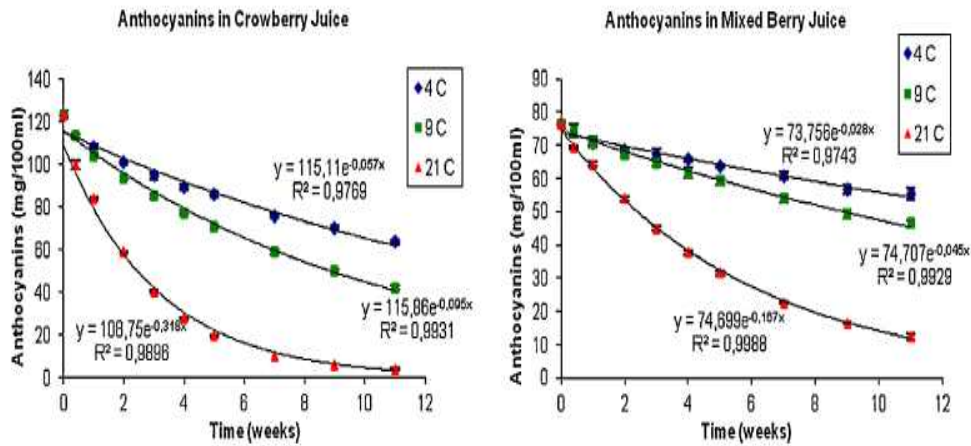


그림 2. 온도에 따른 베리류 안토시아닌의 불안정성
(J. Food Comp. Anal. 31 (2013) 12-19)

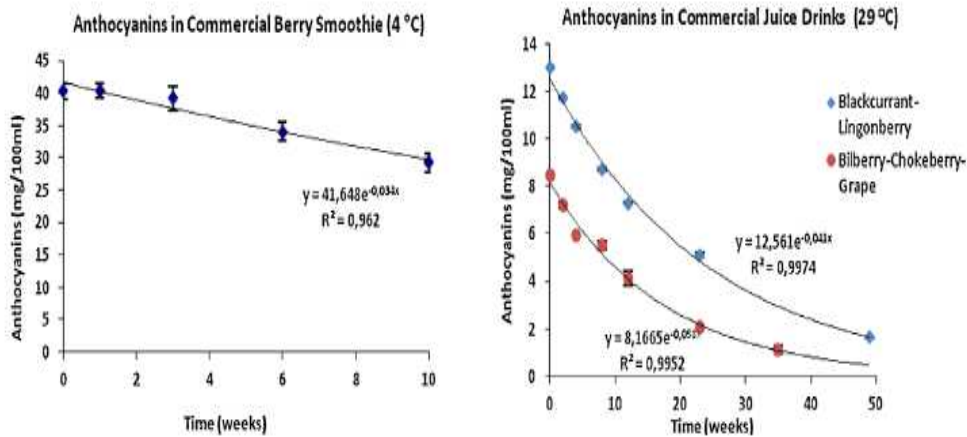


그림 3. 저장기간에 따른 베리류 음료제품의 안토시아닌 함량 저하
(J. Food Comp. Anal. 31 (2013) 12-19)

4. 항산화 활성 증진 및 안정화를 위한 캡슐화 연구의 필요성

항산화 물질들은 천연 식품에 다양하게 존재하고 있으나, 대부분의 항산화 물질들은 빛 산소, 수분, 온도 등의 외부 요인으로부터 불안정하여 제품화에 따른 효능이 크게 영향을 받을 수 있다. 따라서 천연 항산화 물질들을 캡슐화하면 외부의 산화적 요인으로부터 항산화물질들을 보호함으로써 안정성을 증진시켜 본연의 항산화 활성의 유지기간을 증진시킬 수 있다.

앞서 전술한 바와 같이 다양한 항산화 물질들 간에는 서로간의 항산화 상승작용을 나타냄. 상승작용을 나타내는 성분들을 캡슐의 내부에 복합적으로 포집시켰을 때 상승작용은 더욱 극대화 될 것으로 전망된다.

수용성과 지용성 항산화 성분들이 서로 간에 항산화 상승작용을 나타내는 경우, 수용성과 지용성 생리활성 성분은 특성 차이로 인하여 식품가공상의 적용에 문제점이 있음. 특히, 지용성 성분은 특유의 난용성 특성으로 수용성 환경에 적용하기 어려워 음료 등 액상제품에 적용하기 어렵다는 문제점이 있다. 이러한 문제점은 나노/캡슐화를 통해 개선될 수 있다.

Copigmentation은 안토시아닌 등의 폴리페놀 색소 성분의 안정성을 향상시키기 위해 적용되어온 방법이며, flavonoid, amino acid, organic acid 등이 안토시아닌에서 flavylum ion과 결합하여 색소가 저하되는 것을 억제시킨다고 보고되어 왔다. 이러한 copigmentation된 폴리페놀 성분을 내부물질로 캡슐화 한다면, copigmentation과 캡슐화의 두 단계로 안정화시킬 수 있으므로 안토시아닌의 안정화에 보다 효과적일 것으로 예측됨. 하지만 아직까지 이러한 측면에서의 연구는 거의 전무하다.

5. 연구의 필요성 및 중요성

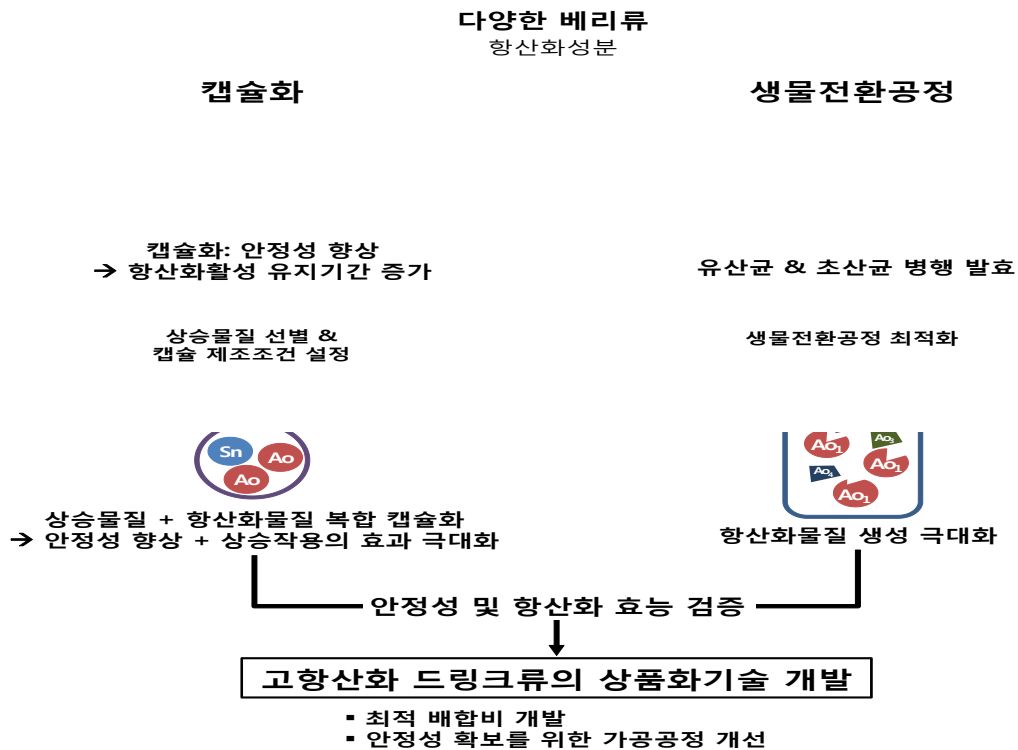


그림 4. 연구의 필요성

가. 기존연구와 본 연구과제와의 차별성

연구분야	기존연구 방향	본 계획서의 연구방향	차별성
항산화 제품 관련	<ul style="list-style-type: none"> 항산화 물질이 함유된 식품 원료 탐색 탐색된 식품원료의 단순 혼합 후 살균 	<ul style="list-style-type: none"> 원료의 최적 혼합비율에 의한 항산화 기능의 시너지 효과 발효를 통한 항산화 기능의 시너지 및 소재 캡슐 기술화 유통 환경에 따른 항산화 성분의 안정성 확보 및 활성 수준 검증 	<ul style="list-style-type: none"> 원료 유래 항산화 성분 외 발효에 의한 대사물질 활용 제품 내 항산화 성분의 손실을 최소화 하는 제조 기술 개발
발효관련	<ul style="list-style-type: none"> 유용효소활성 식물유산균 확보 식물유산균의 유용물질 증진을 위한 발효공정 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 식물발효균(유산균, 초산균)의 발효를 통한 베리의 기능성 증진기술 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 식물발효균(유산균, 초산균) 병행발효를 통한 베리의 유용성분 증진 발효공정 개발
시너지 및 안정화 관련	<ul style="list-style-type: none"> 항산화 성분들간의 시너지효과 확인 및 기전 파악 캡슐화를 통한 안정성 증진 	<ul style="list-style-type: none"> 시너지효과를 나타내는 항산화 성분들을 캡슐로 복합포집하여 시너지효과의 극대화 유도 Copigmentation과 캡슐화를 통하여 항산화 성분의 안정성을 이중으로 보강함 	<ul style="list-style-type: none"> 항산화활성 및 안정성 향상을 위한 기존 상승작용 유도 및 copigmentation 등 유용처리기법들과 캡슐화 방법을 복합 처리하여 각 유용기법의 효과가 극대화되도록 유도

제 3 절 연구개발 범위

1. 다양한 베리류(블루베리, 아사이베리, 진생베리 등)의 항산화력 및 항산화 물질 특성분석

다양한 항산화능 분류 및 구조분석을 통한 시너지효과/안정성 특성분류

2. 항산화물질 효능 개선

- 항산화 성분 함량 및 변화 관찰
- 원재료 및 부재료 선정 및 혼합비율 조절을 통한 시너지효과 관찰
- 유용처리기법(발효/효소, 캡슐 등)을 통한 항산화성 향상
- 과채류 기반 고향산화 함유 레시피 개발

3. 음료제품화에 따른 가공처리 조건에 따른 산화적 안정성

- 가공공정(여과/살균/고압처리 등)에 따른 항산화성분 및 산화적 안정성 조사
- 저장유통(저장기간/저장온도/용기 등)에 따른 항산화성분 및 산화적 안정성 조사
- 단기 및 장기 저장안정성 (항산화성분, 항산화활성, 미생물, 갈변, pH 변화 등)

4. 항산화 효능 개선을 위한 식물발효균을 이용한 생물전환공정 개발

- 식물유산균을 이용한 발효 및 발효 전후의 항산화능 분석
- 초산균을 이용한 발효 및 항산화능 비교
- 병행발효조건 설정 및 대량 발효조 배양조건 확립

5. 항산화 효능 검증

- 시제품에 대한 *in vitro* 통한 기능성 검증 (DPPH, ORAC, ABTS, FRAP 등)
- *in vivo*를 통한 기능성 검증 (항산화효소 활성, 혈액 항산화능, 지질과산화물 분석)
- 시제품에 대한 총 항산화성분 (총 폴리페놀/총 플라보노이드 성분 표시) 분석
- 시판 음료와의 항산화성 비교

6. 고향산화 함유 기능성 음료개발 및 상품화

- 소비자 기호도 조사, 관능평가
- 마케팅 자료 구축 (논문 2건 이상/년, 특허 1건 이상/년)
- 적정 용기 선정 및 브랜드 개발, 대량생산 공정개발 등

제 2장 국내외 기술개발 현황

1. 과채류(베리류)의 항산화 활성 동향

- 항산화 활성을 나타내는 과채류들에 대해서는 이미 널리 알려져 있으며, 과채류 중에서도 특히 다양한 베리류들이 강력한 항산화활성을 가지고 있음이 다양한 연구자들에 의해 보고되고 있다.
- 미국 농무부(USDA)에서는 ORAC(oxygen radical absorbance capacity) 측정을 통해서 항산화 성분을 가장 많이 함유한 12개 식품을 선정했는데, 이중 6개가 베리류였으며, 미국 Tufts university의 Human Nutrition Research Center에서 선정한 10대 항산화 과일 중 4개가 베리류였다(그림 5).



그림 5. 다양한 베리류들의 강력한 항산화 활성

- 항산화 활성이 보고되고 있는 베리류에는 복분자(blackberry), 라스베리(raspberry), 크랜베리(cranberry), 블루베리(blueberry), 아사이베리(acai berry), 인삼열매(ginseng berry) 등이 있다(그림 6).

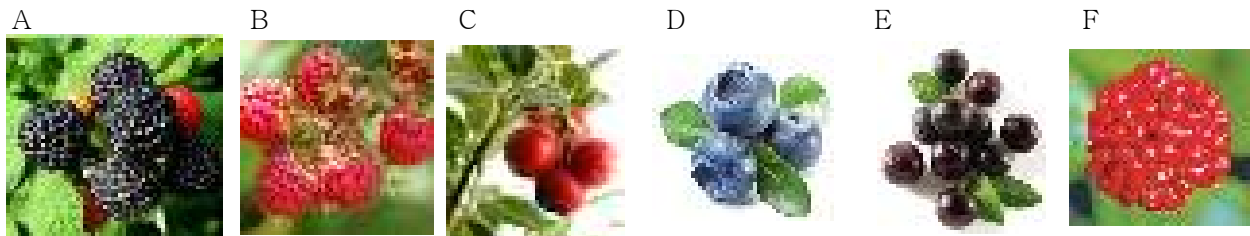


그림 6. 강한 항산화활성을 나타내는 다양한 베리류

(A: 복분자, B: 라스베리, C: 크랜베리, D: 블루베리, E: 아사이베리, F: Ginseng berry)

- 최근에는 브라질 아마존 열대지역에서 자생하는 아사이 야자나무 열매인 아사이베리에 대한 관심이 증가되고 있는데, 아사이베리는 우수한 항산화 활성에도 불구하고 수확 후

바로 상하는 특성으로 인해 대중화되지 못하다가 최근 가공기술의 발달로 해외 각지에서 소비가 급증하고 있다. 특히 아사이베리는 월등히 뛰어난 항산화 능력이 확인되어 암 등의 다양한 질병에 보조 치료제로도 사용이 급격히 증대되고 있으며 안토시아닌의 함량이 높아 시력보호에도 우수한 효능을 보인다고 알려져 있다(그림 7).

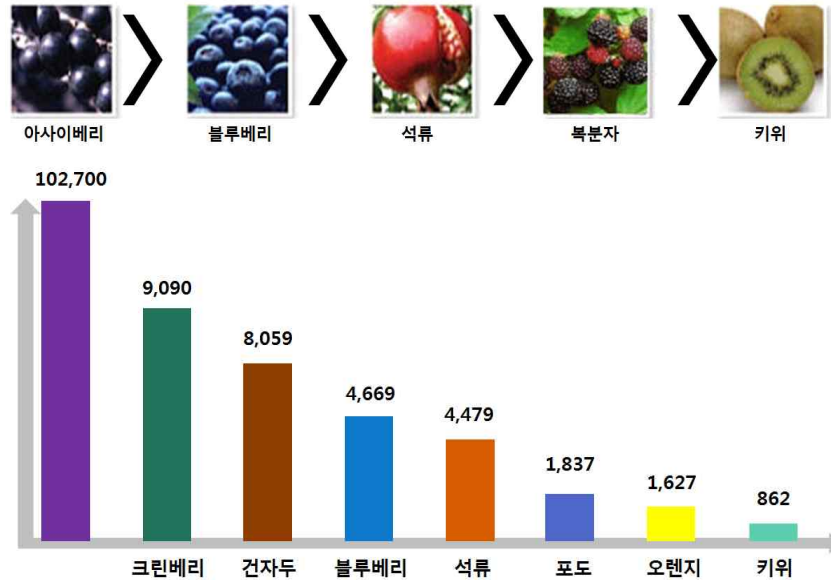


그림 7. 아사이 베리 및 각종 과일의 항산화 효능비교

출처 : 미국 농무부(United States Department of Agriculture), 2010

- 또한 4년생 이상의 인삼에서만 단 한번 열린다는 진생베리(인삼열매)의 경우, 시카고 의대교수인 Yuan 박사가 국제당뇨병학회지에서 인삼의 뿌리보다 열매인 ginseng berry에 5-15배가량 더 많은 사포닌이 함유되어 있으며 항당뇨 및 항비만 효과가 있음을 발표됨에 따라 ginseng berry에 대한 관심도 급증하고 있다(그림 8).

진생베리가 열리면 인삼의 영양분이 뿌리에서 열매로 이동 따라서 5월 중 꽃이 피기 전에 전부 제거함

인삼 일생 중 단 1회 4년근 이상 인삼에서 일 년 중 7월 1,2주에 유일하게 수확 가능함

채집은 수작업으로 이루어짐 채집 후 종자를 분리하고 과육과 과피, 과즙을 추출 농축하여 제품에 이용함

매우 극소량만이 열리고 채집 후 하루만에 시들음 보관이 까다로운 원료임

그림 8. 진생베리의 특징

- 다양한 베리류들은 강력한 항산화활성을 가졌음에도 불구하고 복분자 추출물만이 항산화 활성으로 가능성을 인정받았으며, 지금까지는 주로 일반 음료, 제과, 유제품, 잼류 등으로만 이용되어져 왔다. 따라서 베리류 본연의 항산화 활성을 극대화 시킨 항산화 제품으로의 개발 가능성은 매우 크다고 판단된다.

2. 과채음료 시장 현황

- 2012년 전체 음료 시장은 2011년 약 5조 1천억 원 규모를 이루고 있으며, 이는 2011년 대비 약 8% 성장한 수치이며 물량 기준으로도 전년 대비 약 2.5%의 성장을 보이고 있다(그림 9). 최근 건강에 대한 관심의 증가로 전체 음료 시장 중 기능성 음료 시장은 2012년 기준 약 1조 8000억 원에 이르며 전년 대비 13%의 성장세를 보인다.
- 주요 10개 품목으로 구성된 전체 음료 시장 중 과채주스 품목이 약 22%의 비중으로 가장 큰 비중을 차지하고 있다(그림 10).

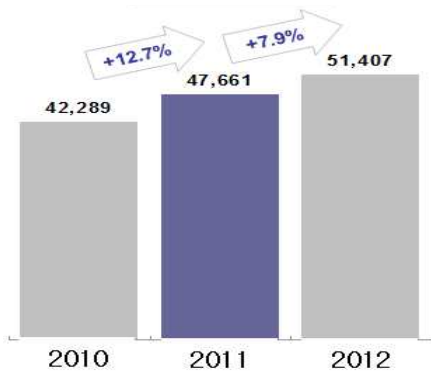


그림 9. 연도별 음료 시장의 판매액 현황 그림 10. 2012년 음료의 품목별 판매구성비

- 2012년 전체 주스 시장은 약 1조 1300억 원 규모로 전년 대비 소폭 상승하고는 있으나 전반적으로 과채류음료 시장의 정체기로 판단된다(그림 11). 이러한 정체를 극복하기 위해서는 주스 원료만을 달리한 기존 제품류가 아닌 품질적으로 기존 제품들과 차별화된 새로운 제품군이 요구된다.

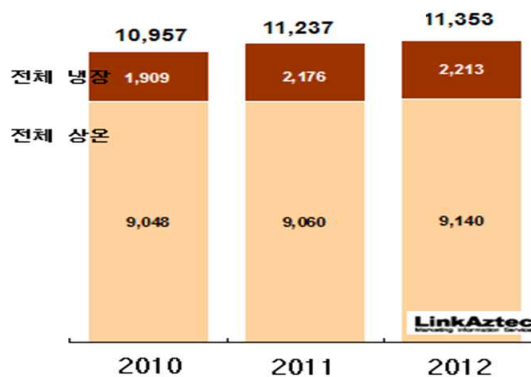


그림 11. 2012년 음료의 품목별 판매구성비

3. 항산화 활성 증진을 위한 기존 연구 현황 및 문제점

(가) 발효를 통한 항산화 활성 증진

- 최근 건강에 대한 관심의 증가로 기능성 음료시장은 확대되고 제품 또한 다양하게 출시되고 있다. 그 중 발효를 통한 기능성 음료(표 4) 또한 다양화되어 홍초를 근간으로 테아닌, 아르기닌, 타우린, 비타민 등 기능성 성분을 첨가한 '홍초밸런스워터 멘탈'과 '청정원석류 초베이스' 등이 제품화된다.
- 최근 발효 식품은 김치, 장류, 전통주와 같은 전통적 발효 식품을 넘어 다양한 과채류를 이용한 음료시장에서 웰빙의 핵심 키워드로 주목받고 있음은 물론 소비자들 역시 발효 식품에 대해 긍정적으로 인식하고 있다.
- 2000년대 후반부터 발효음료 관련 특허의 등록 건수가 매년 크게 증가되고 있으며, 2012년엔 17건의 관련 특허가 등록되었다(그림 11-1).

표 4. 발효를 이용한 기능성 음료 및 연간 판매현황

회사명	제품명	연 판매액
풀무원	식물성 유산균 마(130 ml)	-
한국야쿠르트	활력발효유 쿠퍼스(140 ml)	1,000억 원
광동제약	석류발효 맛초(280 ml)	40억 원
CJ	미초(900 ml)	900억 원
한국야쿠르트	흑마늘(100ml)	6,000만 원
남양유업	자연의 시작 불가리스 (150 ml)	1,000억 원
웅진식품	장쾌삼(120 ml)	250억 원
롯데칠성	참두 콩이 유산균을 만났을때	-

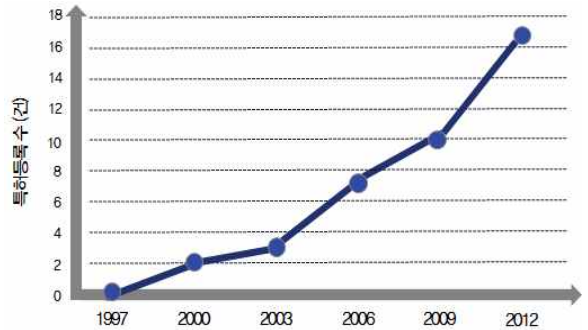
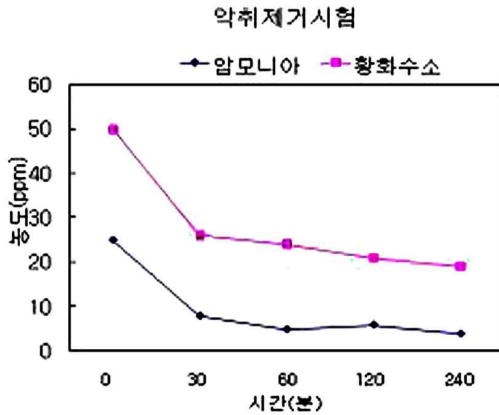


그림 11-1. 과채류 음료 관련 국내 특허등록건수
(출처 : KIPRIS 2013년)

- 최근 등록된 특허에 따르면, 과일, 채소 등의 혼합물을 다양한 유산균 또는 유산균과 효모를 이용하여 단계적으로 발효시켜 항균 및 소취 활성이 우수한 과채류 발효물을 생산할 수 있었다(2010년 '과채류 발효물 및 이를 함유하는 조성물', 2007년 '과채발효물의 제조방법, 그 방법으로 제조된 과채발효물 및 이를 포함하는 기능성 조성물'). 따라서 과채류의 발효를 통해서 항균제, 항균성 식품 및 항균성 사료 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 예측하였다(그림 12).
-

(A)



(B)

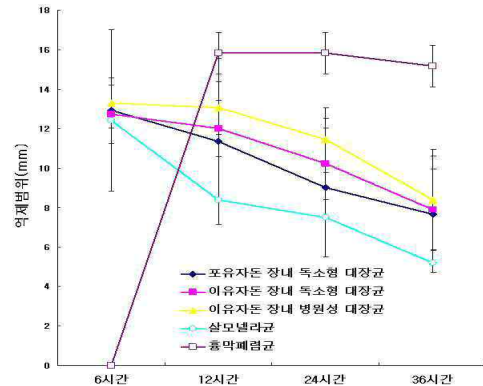


그림 12. 과채류를 이용한 발효 관련 특허

(출처: 과채발효물의 제조방법, 그 방법으로 제조된 과채발효물 및 이를 포함하는 기능성 조성물, 2007)

- 최근의 식품 가공은 고온, 고압, 고독성의 용매와 시약에서의 극렬한 반응 조건을 요구하는 화학공정에서 상온, 상압, 안전한 용매를 이용하는 온화한 조건의 생물반응 공정으로의 대체요구가 증가하고 있다. 생물전환기술을 이용한 기능성 식품의 개발은 화학적 방법보다 안전하며, 식용미생물을 이용하기 때문에 보다 다양한 개발이 가능하다.
- 생물전환기술은 생체 및 생촉매의 기능을 활용하는 것으로 발효공정이 상대적으로 간단한 원료물질에서 출발하여 균체내의 생명현상을 이용하여 생산물을 얻어내는 반면 생물전환 기술은 미생물 또는 효소의 기질에 대한 선택성을 이용하여 전구물질을 도입하고 산물을 생산하는 차이점을 가지고 있다.
- 본 연구는 베리류를 활용한 발효 음료 개발이며, 항산화 활성이 있는 베리류를 생물전환 기능이 우수한 식용 미생물인 유산균 및 초산균 발효를 통하여 항산화 효과를 증가시키고 효능을 검증하여 고품질 발효음료를 개발하고자 한다.
- 따라서 발효공정에 생물전환 기술을 융합하면 생리활성 성분의 함량 증가 뿐 아니라 새로운 성분의 생성도 기대할 수 있으며, 미생물간의 효소 활성을 활용한 단계적 발효공정은 발효과정에서 여러 가지 생화학 반응이 일어나기 때문에 그 시너지 효과가 크지만 최적 조건 설정에 어려움이 있다.
- 2010년에 등록된 ‘과채류 발효물 및 이를 함유하는 조성물’에 의하면 과채류의 혼합물에 효모와 유산균을 단계적으로 접종하여 발효시켜 단독으로 접종한 경우보다 pH가 낮고 젖산 함량이 높으며 함유된 유산균의 수도 10배 이상 높게 나타난다.
- 기존의 천연물을 이용한 발효시 사용되는 미생물들은 발효시간이 길어 생산단가가 높아지고 여러 가지 잡균의 오염으로 가공 후 완성된 식품 내에서의 변패 및 병원성 미생물의 성장으로 저장 안정성이 떨어지는 것은 물론, 과채류의 껍질에 존재하는 펙틴이나 탄닌 등이 충분히 분해되지 않아 향미나 생체 이용성이 떨어지는 문제점이 있다.
- 이러한 문제점을 해결하기 위해 2009년에 등록된 ‘식용식물 발효물의 제조방법, 이에 의해 제조된 식용식물 발효물 및 이를 포함하는 식품에 따르면 사상균과 효모의 혼합 배양액으로 1차 발효하여 발효시간을 단축시키고 병원성 미생물의 증식을 억제하며 껍질

성분을 분해하는 효소 활성의 증가로 발효물의 향미를 향상시키고 생체 이용율을 증가시켰다.

- 따라서 본 과제의 연구팀은 기존의 선행연구에서 기보유한 생물전환 고활성 식물유산균을 이용한 발효와 초산균을 이용한 단계적 발효과정을 거쳐 항산화 물질 생성을 극대화 시킬 수 있는 발효조건을 최적화 할 계획이다.

(나) 시너지 효과를 통한 항산화 활성 증진

- 항산화 활성은 라디컬소거능을 비롯하여 지질과산화 억제능, 환원능 등 다양한 기전을 통하여 산화적 스트레스에 의해 일어나는 노화 및 각종 질환의 유발을 억제한다고 알려져 있다(그림 13).

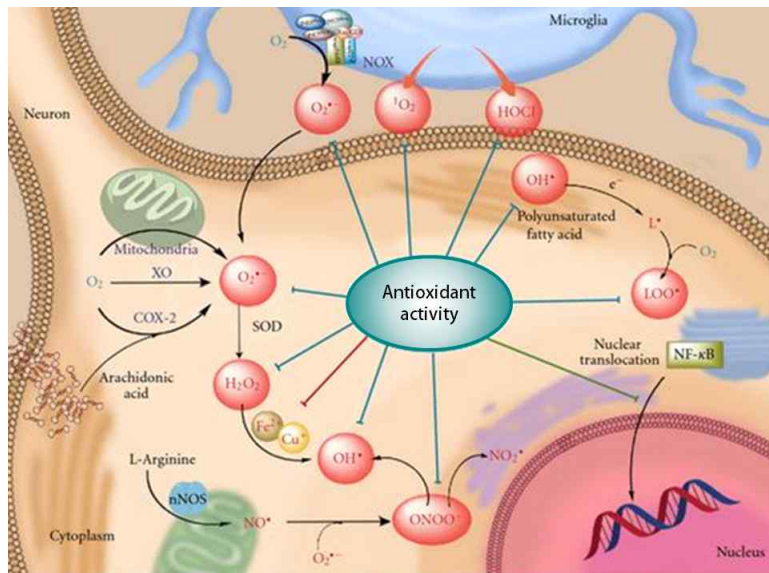


그림 13. 다양한 항산화활성 기전

- 따라서 체내 방어시스템으로써의 항산화 기전은 활성이 강한 단일 물질만을 이용하기 보다는 다양한 기전에 복합적으로 작용할 수 있도록 다양한 항산화 물질을 혼합 사용했을 때 서로간의 상승작용을 유발하여 더욱 효과적이라는 것은 이미 보고된 바 있다.
- 많은 연구자들에 의해서 다양한 급원으로부터 기존에 알려진 항산화물질들 간의 상승작용을 연구하여 왔다(표 5).

표 5. 항산화 성분들간의 상승작용

항산화 성분	상승작용
β-Carotene	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vit. E와 C는 β-carotene과 함께 NOx에 대한 세포 보호에 있어 상승효과. ▪ Lycopene, Vit. E & C는 DPPH free radical에서 β-carotene과 함께 상승효과. ▪ 지질 상에서 β-carotene은 astaxanthin과 함께 항산화 상승효과.
α-Tocopherol	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vit. C, 셀레늄 등과 함께 강력한 항산화작용을 하며, 셀레늄의 효력을 높여줌. ▪ Myricetin이나 Vit. C, E를 병용 처리한 경우 활성산소종 억제력이 더욱 효과적 ▪ 인삼 saponin은 α-tocopherol의 흡수를 촉진하여 항산화 상승효과 유발. ▪ 녹차 폴리페놀은 α-tocopherol과 함께 항산화 상승효과 나타냄.
Lycopene	<ul style="list-style-type: none"> ▪ lycopene과 β-carotene, vitamin E, lutein의 carotinoid 혼합물이 liposome의 보호에 개별적 항산화 능력보다 더 뛰어남 ▪ 지질 과산화에 있어서 lycopene과 lutein의 혼합이 단일 개별의 항산화보다 더 효과적
Zeaxanthin	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Zeaxanthin과 Vit. E, C의 상승작용은 감광성 반응에 대한 세포막의 산화적 손상을 줄이는데 유효한 보호 역할. ▪ 지질 산화억제능 측면에서 glutathione S-transferase가 zeaxanthin과 같이 상승효과를 보임.

- 그러나 기존의 상승작용에 대한 연구는 상승작용을 나타내는 항산화 물질을 탐색 혹은 기전 탐색을 위주로 연구되어 왔으며 상승작용을 나타내는 성분들을 함께 캡슐화 하여 상승작용을 극대화 할 수 있는 보다 적극적인 연구는 거의 시도된 바 없다.

(다) 캡슐화를 통한 항산화 활성 증진 및 안정화 효과

- 캡슐화(encapsulation)는 식품분야에서 불안정한 유효성분을 빛, 산소, 수분, 온도 등의 외부요인으로부터 보호(산화방지, 안정 및 보존성 향상 등)하는 기술로, 물성 및 제조공정 개선, 생리활성 물질의 체내 방출조절(영양성분 전달 시스템 등) 등의 목적으로 개발되고 있다.
- 방출제어 시스템(controlled release system)이란 내부에 포집한 유효성분을 원하는 흡수부위에서 원하는 속도로 방출될 수 있도록 하는 기술로, 체내에서 유효성분의 방출 제어를 통하여 유효성분의 안정성을 증진시켜 생체이용률(bioavailability)을 개선시킬 수 있으며 이를 통하여 생리활성의 발현을 증대시키는 기술이다(그림 14).

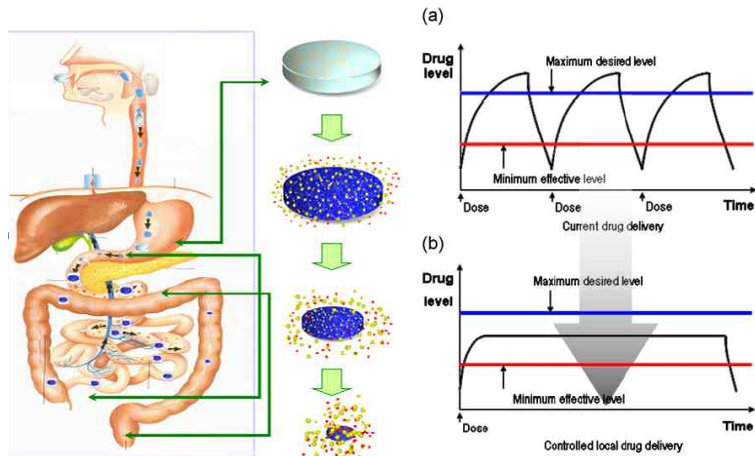


그림 14. 생체 내에서의 캡슐 이용 도식도.

- 캡슐형태의 건강기능식품들은 대부분 macro(bead, pellet 등) 및 micro(미세캡슐) 단위로 이용되고 있음. 최근 나노분야의 기술적 발달로 인해 나노캡슐(nanoencapsulation) 분야도 활발히 연구되고 있다.
- 현재까지 식품에 적용된 나노기술로는 식품소재의 나노분체화 기술과 캡슐화 기술을 들 수 있으나, 제품화된 경우는 주로 일반 식품소재의 입자를 나노크기로 분쇄하여 분산성을 향상시킨 음료제품 등이며, 나노캡슐을 이용한 제품은 요구르트 등에 불과한 실정으로 본격적인 나노캡슐화 기술을 이용한 기능성 식품의 거의 전무한 상황이다.
- 나노기술의 발달과 함께 2000년 이후부터 식품 분야의 나노기술에 대한 특허 및 문헌의 수가 급속한 증가를 보여 왔음(그림 15). 나노캡슐은 입자크기에 의해 미세캡슐과는 다른 기전에 의해 체내로 흡수되기 때문에(그림 16), 활성성분의 생체이용효율 증가를 비롯하여 표적방출, 방출조절 및 관능특성의 향상 등이 보고됨. 특히 나노입자의 생체이용효율은 나노입자의 크기에 의해 많은 영향을 받는데, 나노입자의 크기가 작을수록 활성성분의 생체이용효율을 증가되는 경향이다.

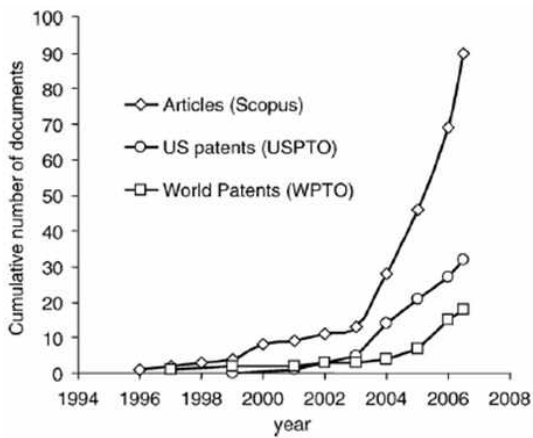


그림 15. 식품과 나노관련 특허 현황
 (출처: Current Opinion in Colloid & Interface Science 14 (2009) 3-15)

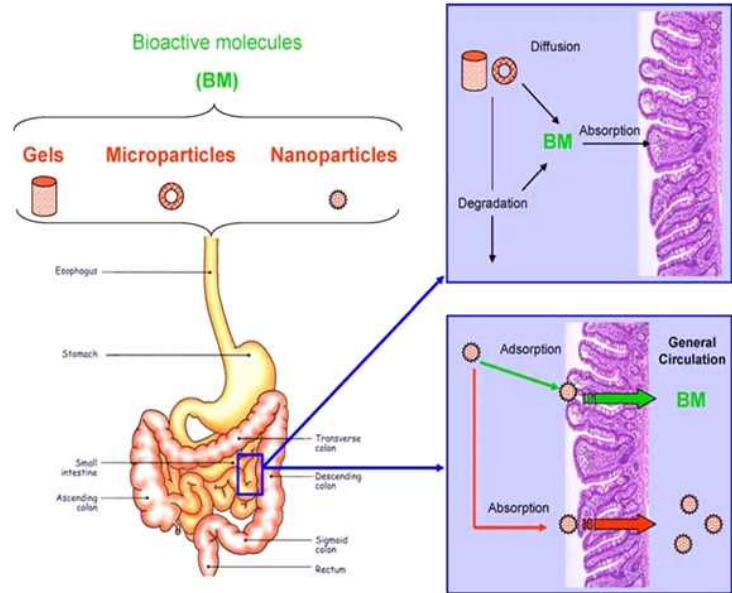


그림 16. 입자 크기 (macro~nano)에 따른 체내 흡수 양상
 (출처: Trends in food science & technology 17 (2006) 272-283)

4. 본 연구팀의 선행연구

- 제 1 협동기관인 한양대학교 이현규 교수팀에서는 미세 및 나노캡슐화 연구를 통해서 구조적 특성으로 인해 불안정한 대표적 생리활성성분인 oryzanol과 astaxanthin의 산화적 안정성이 향상을 통해 체내 항산화 활성이 향상됨을 각각 확인하였다(그림 17, 18 참조).

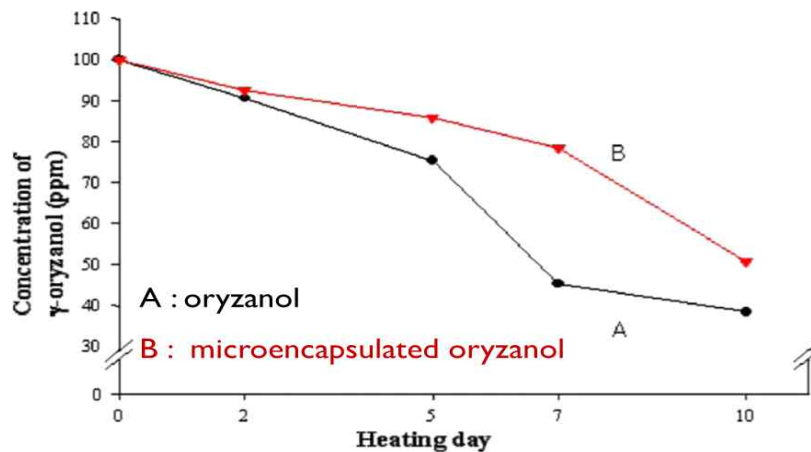


그림 17. 캡슐화에 의한 oryzanol의 안정성 향상
 (J. Agric. Food Chem. 2005, 53: 9747-9750)

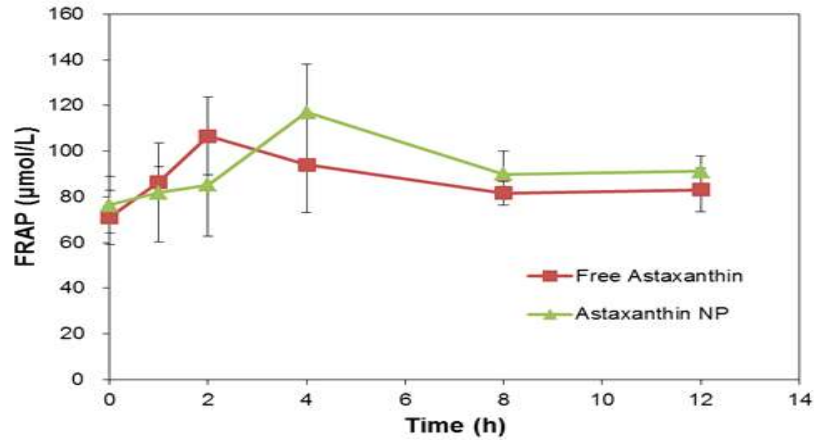


그림 18. 동물실험에 의한 나노캡슐화된 astaxanthin의 항산화 활성의 향상

- 아울러, 본 과제와 관련성이 높은 다양한 특성(소수성, 친수성)의 생리활성 성분(카테킨, 비타민 C, γ -oryzanol, astaxanthin, 토코페롤 등)들과 천연 식물추출물(꽃향유 등)을 macro에서 micro, nano 단위까지 다양한 입자크기로 캡슐화하여 체내외에서 안정성 및 항산화활성, 용해도 관련 연구를 10년간 수행한 경험(SCI 논문 20여편 및 특허 다수 확보)이 있다(그림 19, 20).

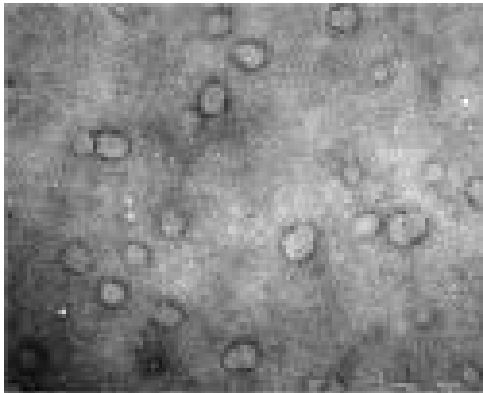


그림 19. Glutathione 함유 나노캡슐.

(J. Agric. Food Chem. 2011, 59: 11264-11269)

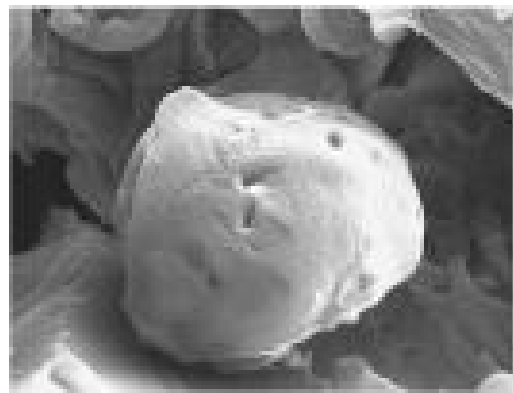


그림 20. γ -Oryzanol 함유 미세캡슐.

(New Biotechnol. 2010, 27: 368-373)

- 제 2 협동기관인 강원대학교 김명동 교수팀에서는 산마의 생물전환을 통한 알레르기 저감화에 관한 선행연구를 수행하였다. 산마(*Dioscoreae rhizoma*)를 한국생명공학연구원의 한국식물추출물은행에서 구입하여 사용하였음. 158개의 젓산균을 사용하여 α -arabinofuranosidase, α -arabinopyranosidase, β -arabinosidase, β -galactosidase, β -glucuronidase, β -xylosidase의 효소활성을 측정 하여 활성이 높은 젓산균을 선별하였다. (표 6 참조)

표 6. 보유중인 생물전환 후보 균주

측정효소	균주명	(분리원)
α -arabinofuranosidase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	(각뚜기김치)
α -arabinopyranosidase	<i>Lactobacillus</i> sp.	(통오징어 소박이)
β -arabinosidase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	(우영김치)
β -galactosidase	<i>Lactobacillus fermentum</i>	(김치)
β -glucuronidase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	(순무백김치)
β -xylosidase	<i>Leuconostoc lactis</i>	(김치)

- 산마를 함유하는 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 특허를 출원하였음. 6주령의 수컷 마우스를 대상으로 수동 피부 과민 반응에 미치는 영향을 측정하였다. 실험결과 생물전환 전 산마 추출물 처치군은 5.7 ± 1.7 mg/site로 강한 억제력을 나타냈으며, 억제율이 76.4%로 나타났음. 전신 과민성 반응에 대한 효과를 측정하기 위하여 'compound 48/80'을 이용하여 전신 과민성 반응을 유도하였음. 6주령의 수컷 마우스를 이용하여 생물전환 후 산마 추출물을 경구투여 한 결과, 음성대조군 대비 28.7%의 분비량 억제율로 높은 효과를 나타내었다. 피부의 IgE에 의한 국소 알레르기 반응을 보기 위해 수동 피부 과민성 반응 검사를 실시하였음. 꼬리정맥으로 Evans blue와 DNP를 투여한 다음 1시간 후 반응 조직을 잘라 Evans blue 산출량을 계산한 결과, 생물전환 전 산마시료 처치군에서 5.7 ± 1.7 mg/site로 강한 억제력을 나타냈다. 생물전환 전 산마 추출물에 의한 과민반응 억제율은 76.4%로 매우 높게 나타났으나, 생물전환 후 산마 추출물은 생물전환 전과 비교 시 억제율이 낮아졌다.



그림 21. Evans blue 실험을 통한 생물전환 전후 시료의 효능 비교

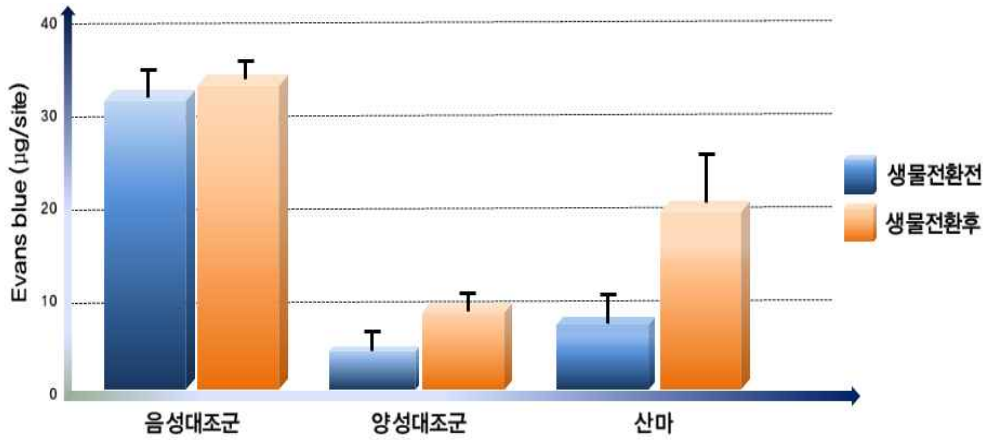


그림 22. 생물전환 전후 산마의 수동 피부 과민반응 조절 효과 비교

- 제 1 세부 기관인 동원F&B에서는 항산화 기능이 우수한 베리류 원료를 활용하여 2006년도에 음료 제품화를 하였으며, 이 제품은 탐색된 원료의 단순 혼합 후 살균 처리하여 최종 제품에서 항산화 효능을 기대하기는 어려운 제품이었다. (그림 23 참조)
- 이 제품은 블루베리와 라즈베리 2종으로 구성되어 있으며, 출시 당시 소비자가격은 1,000원/180ml 병 으로 고가의 프리미엄 제품으로서 베리류의 기능성에 관한 소비자 관심이 형성되는 초기 단계에서 시장은 선점하고자 출시하였다.
- 현재, 베리류 음료 시장은 지속 성장하고 있는 것으로 판단하고 있으며, 시장 형성 초기 단계에 이미 제품화한 경험이 있다.
- 또한, 본 연구에서 제품 제조시 적용해 보고자 하는 초고압 처리 공정은 국내 최초로 ‘즉석밥’ 제조 공정에 적용하여 제품을 생산하고 있다. (그림 24 참조)



그림 23. 동원 상쾌한 아침 블루베리, 라즈베리



그림 24. 동원 맛있는 초고압 센죽 발아현미밥

제 3 장 연구수행 내용 및 결과

제 1 절 1차년도 연구내용

1. 최적 배합비 개발 및 발효과정 중 품미 변화 연구

가. 다양한 베리류의 항산화성 및 항산화 물질 특성분석

(1) 다양한 항산화능 분석을 통한 베리류 9종의 항산화 활성

본 사업의 제 1세부 기관(동원F&B 식품과학연구소)에서는 베리류 9종을 대상으로 항산화력 및 항산화 물질 특성을 분석하기 위해서 유해산소 흡수능력(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)분석을 통한 free radical 소거능과 DPPH radical 소거능의 IC₅₀을 측정하였다.

(가) 유해산소 흡수능력(ORAC)

항산화능 측정방법 중의 하나인 유해산소 흡수능력 분석법(ORAC)은 radical chain reaction의 가장 핵심적인 단계인 수소 전자전달과 관련하여 항산화 물질의 free radical 소거능력을 측정하는 방법이다. 이 방법은 식품 내에 존재하는 친수성 성분과 친유성 성분 모두에 반응하기 때문에 응용 범위가 넓다는 장점을 가지고 있다. 또한 항산화 대조물질로 수용성 비타민E를 사용하여 형광 물질을 결합시킴으로써 반응 감도가 예민하여 정확도를 높일 수 있는 방법이기도 하다.

본 실험은 ORAC(oxygen radical absorbance capacity) assay kit를 사용하여 (Cell Biolabs, INC. STA-345) Black well plate에 시료 25 μ l, 4nM fluorescein 150 μ l를 첨가하고 측정 직전에 과산화 라디칼의 생성을 위해 80mg 2,2'-azobis- (2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH, Sigma-Aldrich Co.)를 첨가하였다.

Fluorescein microplate reader(Varioskan Flash, Thermo, CA USA)를 이용하여 485nm에서 전자여기 후 535nm에서 방출되는 조건으로 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 30초 마다 fluorescence의 감소율을 측정하였다. 결과값은 시료 첨가구와 무 첨가구의 area under curve(AUC)값을 나타낸 후 Trolox를 이용하여 작성한 검량선($y = 0.671x + 2.2757$, $R^2 = 0.9837$)에 대입하여 나타내었다.

$$\text{Area under curve(AUC)}=1+\text{RFU}_1/\text{RFU}_0+\text{RFU}_2/\text{RFU}_0+\dots+\text{RFU}_{59}/\text{RFU}_0+\text{RFU}_{60}/\text{RFU}_0$$

RFUx : Relative fluorescence value of time points

베리류 및 채소류 9종의 추출물의 유해산소 흡수 능력을 분석한 결과는 그림 25과 같다. 아사이베리가 1889.6 μ molTE/g으로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 그 다음 아로니아(228.5),

산머루(180.9), 시금치(121.3), 크랜베리(105.1), 블루베리(83.7), 양배추(76.2), 라즈베리(63.9), 적포도(59.8)순으로 유효산소 흡수능력이 높았다.

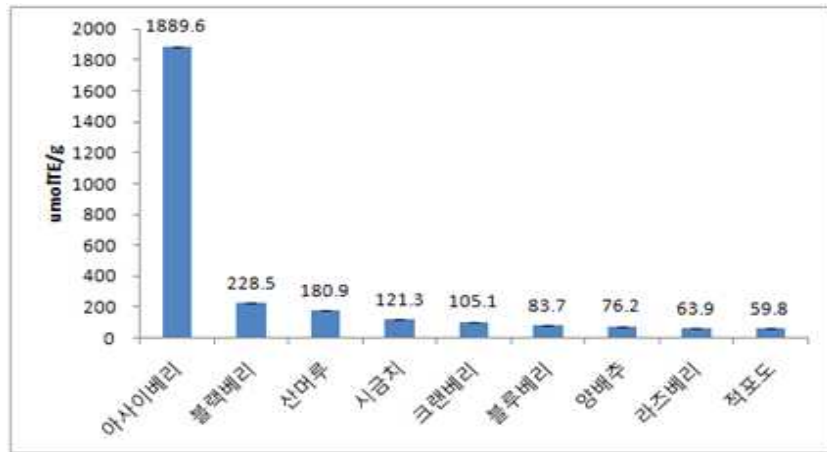


그림 25 . 베리·채소추출액 9종의 ORAC value.
ORAC value는 Trolox equivalents로 표현 (μmol TE/g)

ORAC value(고형분 기준) 크기순서는, 아사이베리>아로니아>산머루>시금치>크랜베리>블루베리>양배추>라즈베리>적포도 순이었다.

(나) DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀

DPPH의 의한 전자공여능은 아스코르빈산 및 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류로부터 수소나 전자를 받아 환원될 때 보라색이 탈색되어지는 원리를 이용한다. 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 탐색하기 위해 많이 이용되고 있으며, 비교적 짧은 시간 내에 항산화능을 측정할 수 있어 널리 사용되고 있는 방법이다.

DPPH는 free radical에 대한 시료의 항산화 활성을 평가하기 위하여 95% 메탄올에 용해시킨 0.2mM DPPH용액 0.18ml에 시료 0.02ml을 첨가하여 혼합 후 암소에서 45분 동안 방치하고 microplate reader(varioskan flash, Thermo, CA USA)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능으로 아래의 식으로 계산한 후 각 농도별 라디칼 소거능에 대한 검량선에서 라디칼 소거능이 50%되는 농도인 IC₅₀을 구하였다.

$$DPPH(\%) = [(DPPH의\ 흡광도 - 시료의\ 흡광도) / DPPH의\ 흡광도] \times 100$$

베리류 및 채소류 9종 추출물의 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀ (DPPH 라디칼을 50% 소거시키는데 필요한 농도)값은 그림 26와 같다. 아사이베리가 0.3mg/ml로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 그 다음으로는 아로니아(1.5), 크랜베리(5.3), 블루베리(7.7), 산머루(9.4), 라즈베리(10.6), 양배추(11.9), 시금치(22.7), 적포도(30.1)순 이었다.

DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀(고형분 기준) 크기 순서는, 아사이베리>아로니아>크랜베리>블

루베리>산머루>라즈베리>양배추>시금치>적포도 순이었다.

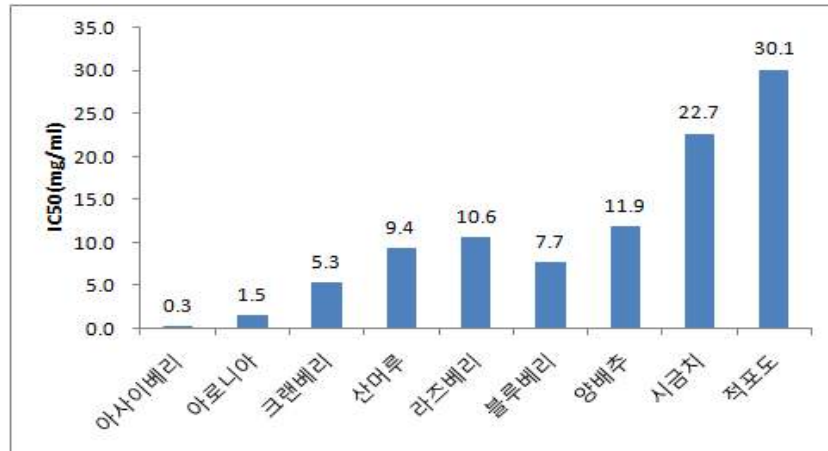


그림 26. 베리·채소 추출액 9종의 DPPH IC₅₀

DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀(고형분 기준) 크기 순서는, 아사이베리>아로니아>크랜베리>블루베리>산머루>라즈베리>양배추>시금치>적포도 순이었다.

나. 항산화 효능 개선을 위한 시너지 효과 적용

(1) DOE적용 배합비 최적화

(가) 시너지 물질 탐색 및 결정

① Pareto-Chart를 통한 원료 스크린

원료 스크린의 목적은 우수한 항산화능을 가진 원료들 3~5종을 선택하여 혼합물 설계를 통해 최적 배합비를 산출하기 위함이다. 총 9종의 과채농축액 중에서 항산화 활성이 우수한 과채농축액을 스크린을 하였는데, 과채농축액의 항산화 활성도 값을 기준으로 누적값을 산출하여 우선순위를 정하는 방식인 Pareto-Chart로 진행하였다. 항산화 활성 누적값의 80%수준을 차지하는 과채농축액이 항산화능이 우수한 것으로 간주하였다.

항산화능은 DPPH IC₅₀과 ORAC Assay로 평가하였고, 기초데이터는 한양대에서 예비 실험한 데이터를 이용하여 분석하였다. 항산화 활성 누적값의 결과는 그림 2와 같다. DPPH IC₅₀은 그 값이 낮을수록 항산화능이 높기 때문에 누적 수율 80%를 뺀 나머지 과채농축액을 선정하였다. 선정된 과채농축액은 표 7과 같이 DPPH IC₅₀은 아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루이고, ORAC Assay는 아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 시금치가 누적수율 80%이상 차지하였다.

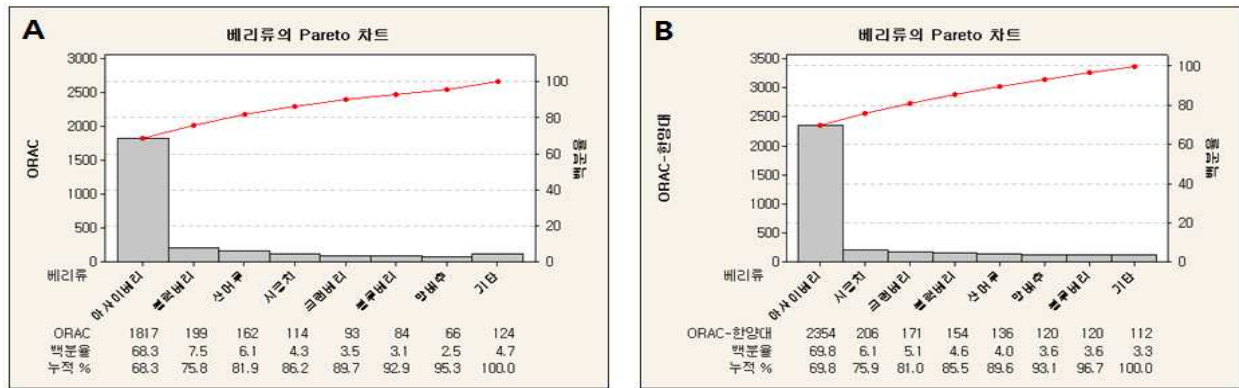


그림 27. DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀
Pareto chart(A), ORAC value의 Pareto chart(B)

표 7. 항산화 분석법에 따른 주 효과 과채 농축액
(누적수율 80%)기준

농축액	DPPH	ORAC
아사이	○	○
아로니아	○	○
크랜베리	○	○
시금치		○
산머루	○	

Pareto-chart에서 선정된 최종 시료는 아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 시금치, 산머루로 총 5종의 과채농축액이며, 이 원료는 혼합물 설계를 통한 최적 배합비 산출의 성분들이 된다.

(나) 항산화 시너지 효과를 위한 혼합물 설계

혼합물 실험설계의 목적은 항산화 활성 향상을 위한 베리류 및 과채류 원료의 최적의 혼합비를 설계하는 것이다. 또한, 성분비와 함께 혼합에 영향을 주는 변수의 조건을 파악하기 위해 사용된다.

① Mixture Design Expert를 이용한 과채농축액의 혼합물 설계

Pareto chart 분석을 통해 결정된 과채농축액 5종(아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루, 시금치)의 혼합비를 달리하여 혼합농축액을 제조하였다. 최적 배합비 조건을 결정하기 위한 실험 계획 및 최적화를 위해 Design expert 8.0(Stat-Easy Co., Minneapolis, MN, USA)을 이용하였다.

아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루, 시금치의 혼합제한 범위는 아래 표8와 같이 설정하였는데, 아사이베리는 30~80%, 아로니아 10~30%, 크랜베리 10~30%, 산머루 0~30%, 시금치 0~30%로 설정하였고, 다섯 가지 첨가물의 총 함량이 100%가 되도록 하였다.

총 21개의 실험점 중, 15개의 실험점과 lack of fit(적합성 결여)의 계산을 위한 3개의 실험점, 3개의 반복점이 설정되었다.(표 9) 실험디자인에 의해 배열되는 순서에 대한 구역의 오차를 없애기 위해 실험순서를 무작위로 실행하였다. 과채농축액의 constraint값은 DPPH 라디컬 소거능의 IC₅₀, ORAC value로 정하고 trace plot을 이용하여 각 조성에 따른 성분들의 반응을 분석하였다.

표 8. 혼합물 성분 실험범위

Design Constraints		
Mixture Codi Actual		
Low	≤ Constraint ≤	High
30.000	≤ A: 아사미	≤ 80.000
10.000	≤ B: 아로니아	≤ 30.000
10.000	≤ C: 크랜베리	≤ 30.000
0.000	≤ D: 산머루	≤ 30.000
0.000	≤ E: 시금치	≤ 10.000
A+B+C+D+E = 100.000		

표 9. 과채농축액 5종의 혼합물 설계에 의한 항산화 활성

RUN	Factor					Response	
	아사미	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	ORAC (μmolTE/g)
1	54.94	10.00	17.34	12.92	4.80	2.86	116.12
2	40.88	16.36	22.15	20.61	0.00	2.55	87.04
3	30.00	30.00	10.00	20.00	10.00	1.72	106.53
4	52.01	17.99	30.00	0.00	0.00	1.74	103.94
5	48.61	23.36	18.03	0.00	10.00	1.26	134.86
6	65.67	12.46	20.53	1.34	0.00	1.57	135.30
7	79.77	10.00	10.23	0.00	0.00	1.31	248.74
8	30.00	17.51	30.00	12.49	10.00	2.70	89.32
9	50.00	10.00	30.00	0.00	10.00	2.37	119.65
10	47.12	24.40	11.25	13.46	3.78	1.65	112.49
11	30.00	10.00	30.00	30.00	0.00	3.81	83.88
12	70.00	10.00	10.00	0.00	10.00	1.54	192.53
13	31.25	10.00	18.75	30.00	10.00	2.15	100.19
14	48.61	23.36	18.03	0.00	10.00	1.67	138.25
15	30.00	30.00	20.00	20.00	0.00	1.82	108.10
16	50.00	10.00	10.00	30.00	0.00	2.67	118.44
17	33.75	30.00	30.00	0.00	6.25	1.37	126.24
18	60.00	30.00	10.00	0.00	0.00	0.69	167.87
19	47.12	24.40	11.25	13.46	3.78	1.57	138.90
20	54.94	10.00	17.34	12.92	4.80	2.51	132.44
21	30.00	25.32	10.00	30.00	4.68	2.04	114.80

② 과채류 혼합농축액 배합을 위한 실험점 선정 및 각 반응의 모델화 분석

각 배합비에 따라 만들어진 과채류 혼합농축액의 DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀과 ORAC value 수치는 표 9에 나타내었다. DPPH IC₅₀의 경우 0.69~3.81mg/ml, ORAC value는 87.04~248.74 μmolTE/g의 범위를 보여주었다.

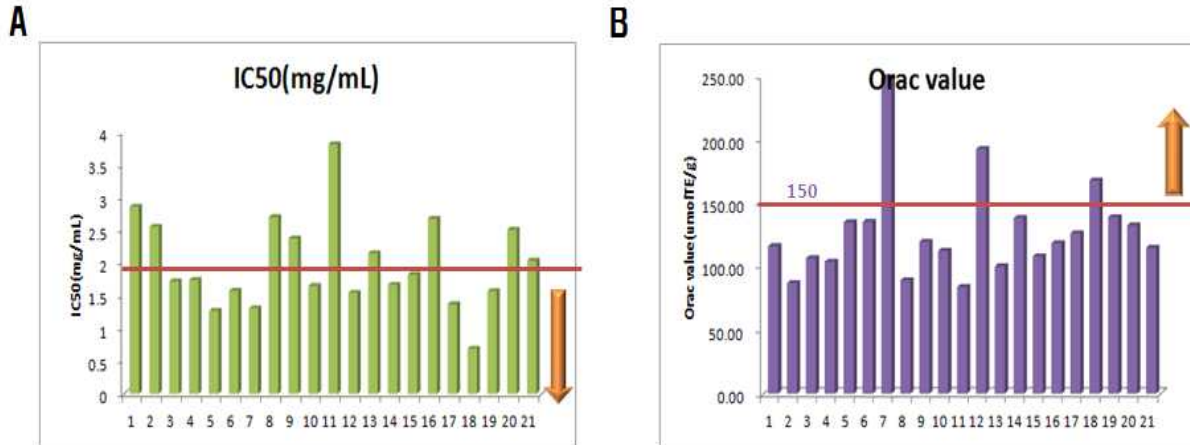


그림 28. 혼합물설계 DPPH IC₅₀(mg/ml)(A),
혼합물설계 ORAC value(μmolTE/g)(B).

혼합물 내의 각 성분이 미치는 영향을 알아보기 위해 설정도나 반응별로 모델링화하였고, 분석은 모델에 의한 *F*-test를 통하여 유의성 검사를 실시하였다(표 10).

표 10. Analysis of selected models and regression of polynomial equation for 2 responses

Response	Model	Prob>F	Prob>F (Lack of fit tests)	Equation in term of pseudo component ¹⁾
DPPH radical scavenging activity	Linear	<0.001	0.74	1.38*A-0.85*B+3.38*C +3.79*D+2.81*E
ORAC value	Linear	<0.001	0.78	182.22*A+133.41*B+46 .94*C+80.75*D+157.41* E

¹⁾A: 아사이베리, B: 아로니아, C: 크랜베리, D: 산머루, E: 시금치

배합비에 따른 DPPH IC₅₀, ORAC value는 통계적으로 분석하여, 모든 반응값에 대한 적합한 모델은 선형 상태인 linear model(p<0.05)로 확인되었다. 순수오차와 잉여오차의 비교에 의한 lack of fit는 DPPH IC₅₀, ORAC value는 각각 0.74, 0.78의 probability값을 가져 모델에 대한 적합성을 확인하였다. 특히 예측된 canonical식에서 결정된 계수들은 각 과채류 혼합농축액에 의한 효과가 반응에 미치는 영향을 수치로 보여주고 있는 것으로 혼합한 성분들 간의 상호작용

용 효과를 볼 수 있다.

③ Trace Plot을 통한 model 분석

선형 및 비선형 모델에서 적용된 각 성분들의 constraint 값에 미치는 영향을 trace plot으로 분석하였다.(그림 29) Trace plot에서 나타나는 기울기 및 곡선의 형태는 성분들이 각 종속변수에 어떠한 반응을 나타내는지 보여준다. 각 성분들이 첨가한 성분에 복합적으로 상호작용하는 경우에는 비선형의 모델이 적용되며, 독립적인 기여도를 나타내면 선형모델이 선정된다. 과채류 혼합농축액의 DPPH IC₅₀의 결과 아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루, 시금치의 성분들이 상호작용 없이 각각 독립적으로 작용했음을 알 수 있다.

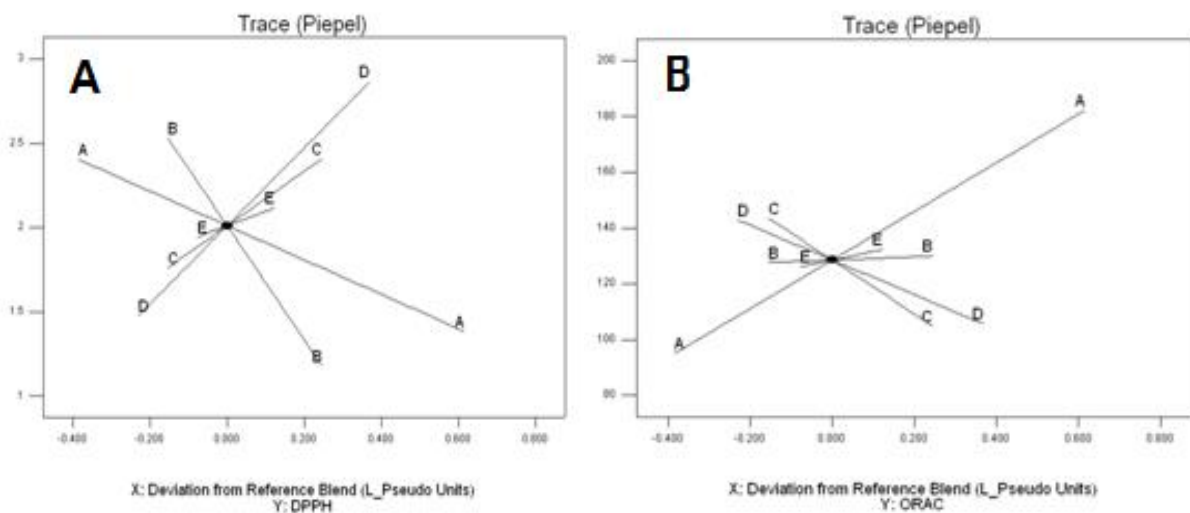


그림 29. 아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루, 크랜베리의 DPPH IC₅₀ Trace polt(A), ORAC assay Trace polt(B)

A: 아사이베리, B: 아로니아, C: 크랜베리, D: 산머루, E: 시금치

크랜베리(C-C), 산머루(D-D)의 함량이 증가할수록 DPPH IC₅₀ 값이 증가하였고, 아사이베리(A-A), 아로니아(B-B)의 함량이 증가할수록 DPPH IC₅₀이 감소하였다. 이는 아사이베리와 아로니아 외 나머지 성분은 DPPH IC₅₀값을 증가시키는 부정적인 요인임을 추측할 수 있다.

한편, ORAC value에 대한 trace plot을 분석한 결과 마찬가지로 linear한 모델이 선정되어 각 성분들이 독립적으로 작용했음을 볼 수 있다. 아사이베리(A-A)의 함량이 높아질수록 ORAC value값이 현저히 증가함을 알 수 있다. 위의 결과에서 보듯이, 아사이베리는 다른 성분들에 비해 DPPH IC₅₀과 ORAC value에 가장 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있다.

④ 과채류 혼합농축액 배합의 최적화

과채류 혼합농축액의 최적 배합비는 canonical 계수를 이용하여 목적 성분 아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루, 시금치로 하고, 반응값은 항산화능을 평가하는데 주요 종속변수로

DPPH IC₅₀, ORAC value로 결정하였다. 반응의 범위는 DPPH IC₅₀은 최소로, ORAC value는 최대로 하여 Numerical point로 예측하였다(표 10).

모든 변수들의 가중치는 동일하게 설정하였으며 변수들의 중요도는 유의차와 상관계수 등에 의하여 임의로 5-0으로 정하였다. 이와 같은 통계적 방법에 의한 아사이베리: 아로니아: 크랜베리: 산머루: 시금치의 혼합비율과 이것을 만족하는 최적 수치점을 예측한 결과는 표 11에 나타내었다.

표 10. 평가 지표 범위

Contraint name	Goal	Lower limit	Upper limit
DPPH radical scavenging activity IC ₅₀	minimize	-	2.0
ORAC value	maximize	180	-

표 11. 최적의 배합비 선정

No.	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	ORAC (μmolTE/g)	Desirability
1	73.41	16.59	10.00	0.00	0.00	1.12	210.0	0.84
2	80.00	10.00	10.00	0.00	0.00	1.36	242.1	0.74
3	65.71	25.29	10.00	0.00	0.00	0.87	184.0	0.30

반응범위를 만족하는 최적의 배합비는 총 3종이 산출되었다. 3종 배합비 모두 아사이베리 함량이 높는데 이는 아사이베리가 높을수록 DPPH IC₅₀ 는 낮게 나타났고, ORAC value는 높게 나타났던 Trace plot의 결과와 일치하였다.

최적화 정도의 척도로 desirability를 사용하는데 최대의 desirability는 반복 연산 도중 계산되어 여러 결과들 사이에 최적화 된 한 가지 값에 수렴하며, 값이 높을수록 목적요인과 원하는 결과가 최적화 시 목적하는 바에 잘 부합하는 것으로 해석할 수 있다.

본 실험에서는 과채 농축액의 최적배합비의 가장 높은 선호도(desirability)값을 보여준 수치 최적화는 No.1로 0.84로 나타났다. No.1 배합비는 No.2 보다 아로니아 함량이 6.59% 높는데, DPPH IC₅₀ 값에 더 영향력이 있는 아로니아가 첨가됨으로써 ORAC value는 낮아졌지만 DPPH IC₅₀을 높임으로써 전체적인 desirability를높아진 것으로 사료된다.

산머루와 시금치의 함량은 0%로 DPPH IC₅₀ 과 ORAC value의 반응값을 동시에 만족하는 범위 내에는 포함되지 않았다. 이는 산머루가 포함됨으로써 DPPH IC₅₀이 최소값에서 멀어지게 되고, ORAC value는 감소하기 때문이며, 시금치의 함량은 두 반응값에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 분석된다.

(2) 최적배합비의 품질 지표 평가

(가) 최적배합비의 재설정 및 제조

혼합물 설계를 토대로 도출된 배합비 3종과 국산원료(산머루), 야채(시금치)를 추가한 총 5종의 배합비율을 설정하였다. 향후 자사에서는 고향산화 함유 기능성 과채음료제품을 출시할 예정이므로 산머루와 시금치를 임의로 추가하였다. 혼합비율 5종에 대한 과채류 혼합 농축액 제조는 진성FM 업체에 의뢰하였다.

수치적 최적화로 설정된 최적조건의 검증과 산머루와 시금치가 추가된 배합비의 DPPH IC₅₀과 ORAC value를 측정하였다.(표 12) ORAC value의 실측값이 예측값에 비해 높게 측정되어 Lower limit을 180에서 240 μ molTE/g으로 상향 조정하였다(표 13).

표 12. 과채농축액 5종의 최적화 배합비의 DPPH IC₅₀, ORAC value

No.	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	ORAC (μ molTE/g)
1	73.41	16.59	10.00	0.00	0.00	1.40	277.39
2	80.00	10.00	10.00	0.00	0.00	1.38	306.03
3	65.71	25.29	10.00	0.00	0.00	1.45	245.07
4	74.00	10.00	10.00	3.00	3.00	1.64	264.31
5	72.41	10.00	10.00	4.59	3.00	1.74	258.22

표 13. 평가지표의 범위 변경

Constraint name	Goal	Lower limit	Upper limit
DPPH radical scavenging activity IC ₅₀ (mg/ml)	minimize	-	2.0
ORAC value(μ molTE/g)	maximize	240	-

(나) 최적배합비 5종 재현성 평가

최적의 배합비를 선택하기 위해서 동일한 생산 조건에서 제조된 제품들의 반응값에 만족하는지 품질을 평가하였다.

① 정규성 평가

과채음료의 대량생산 품질평가를 하기 전에 동일한 생산 조건에서 제조된 제품들은 신뢰도 95%에서 정규분포를 만족해야 제품 데이터의 문제가 없고 품질을 평가할 수 있는 기본을 마련하게 된다.

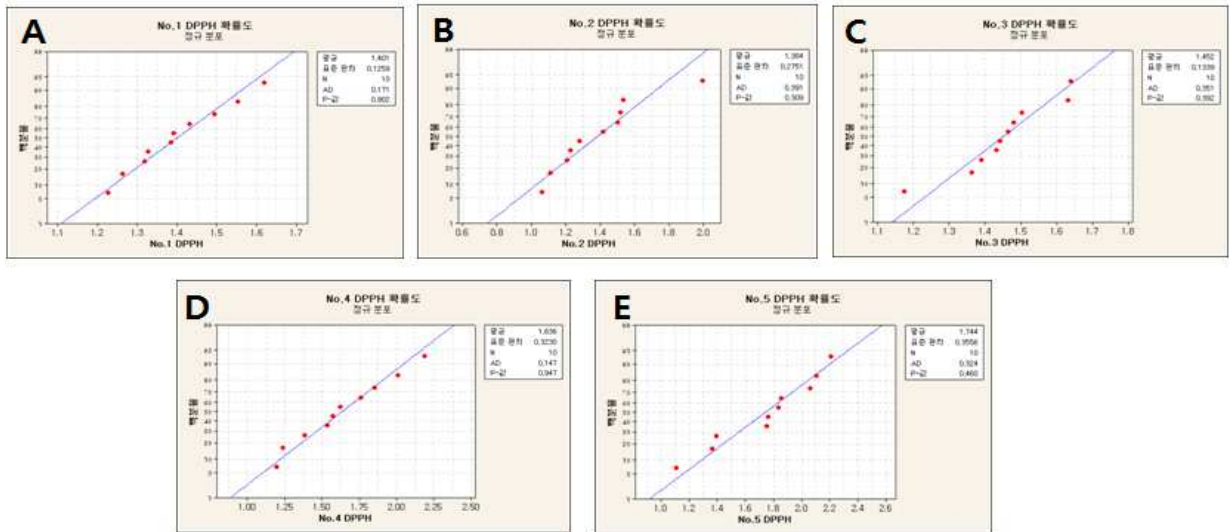


그림 30. 최적배합비 5종의 DPPH IC₅₀에 대한 평균값 및 정규성 분석
(A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

5종의 최적 배합비 DPPH 라디칼 소거능의 DPPH IC₅₀ 평균값은 1.40, 1.38, 1.45, 1.64, 1.74이었으며, 모두 p-value>0.5이상으로 정규성에 이상이 없으며 데이터가 정규함을 알 수 있다(그림 30).

최적배합비 5종의 ORAC value의 평균값은 280, 300.9, 246.7, 263.7, 258.3μmolTE/g이었으며, 정규성 검정 결과 모두 p-value>0.5이상으로 역시 데이터는 정규하였다(그림 31).

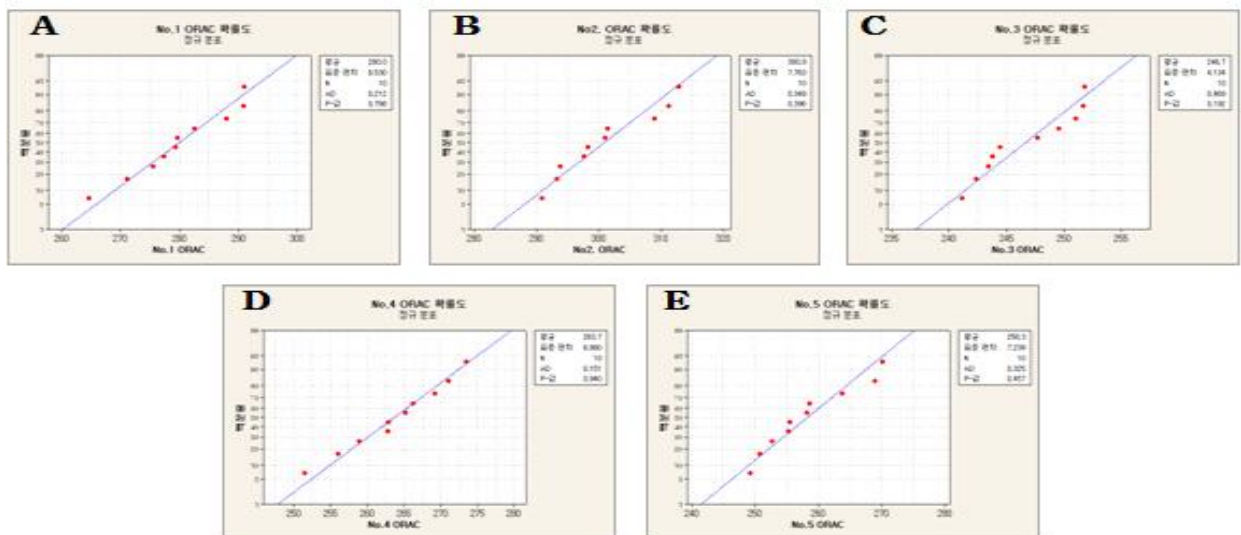


그림 31. 최적배합비 5종의 ORAC value에 대한 평균값 및 정규성 분석
(A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

② 잔차 및 산포도 분석

최적 배합비 5종을 포함한 모든 run chart를 보면 추세, 진동, 혼합물화, 군집화 등 데이터에 특별한 패턴이나 규칙성 없이 random(랜덤)하며 데이터에 이상이 없이 산출되었음을 알 수 있다. 모든 관측지표에서 p-value값이 0.05보다 크며 run chart모양에서도 특별한 패턴이나 유형을 찾아 보기 힘들다. 따라서 재현성 평가 데이터는 신뢰할 수 있으며 품질의 변화 없이 지속적으로 같은 품질의 과채음료 제품을 생산할 수 있다.

③ 최적배합비 5종의 품질 관리도

I-MR관리도 개체 관리도로써 샘플 데이터를 1개씩만 구할 수 있는 경우에 사용된다. 측정값을 얻는데 비용이나 시간이 많이 소요되어 현실적으로 1개의 측정값만을 얻는 경우에 적용된다. 최적배합비 5종의 DPPH IC₅₀과 ORAC value의 I-MR 관리도를 보면 평균값을 기준으로 관리범위를 3시그마 수준인 $\pm 3 \times$ 표준편차로 규정하여 관리를 하는 현재의 기준으로 작성된 것이며 한계치인 UCL, LCL을 벗어나는 데이터가 없어 산포가 매우 작게 관리가 되고 있음을 알 수 있다.

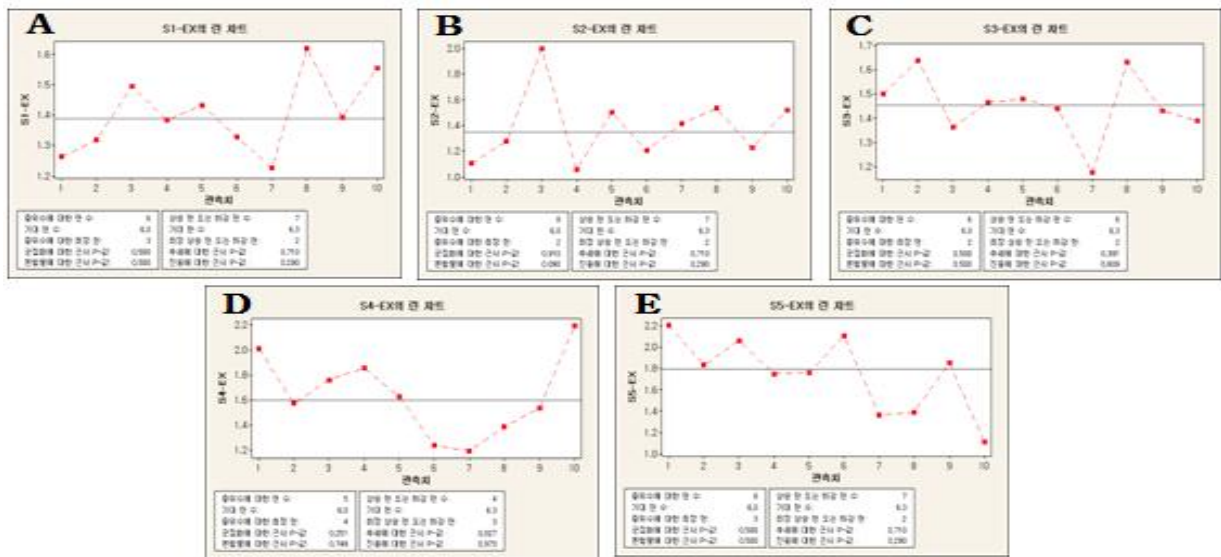


그림 32. 최적배합비 5종의 DPPH IC₅₀에 대한 run-chart 분석

(A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

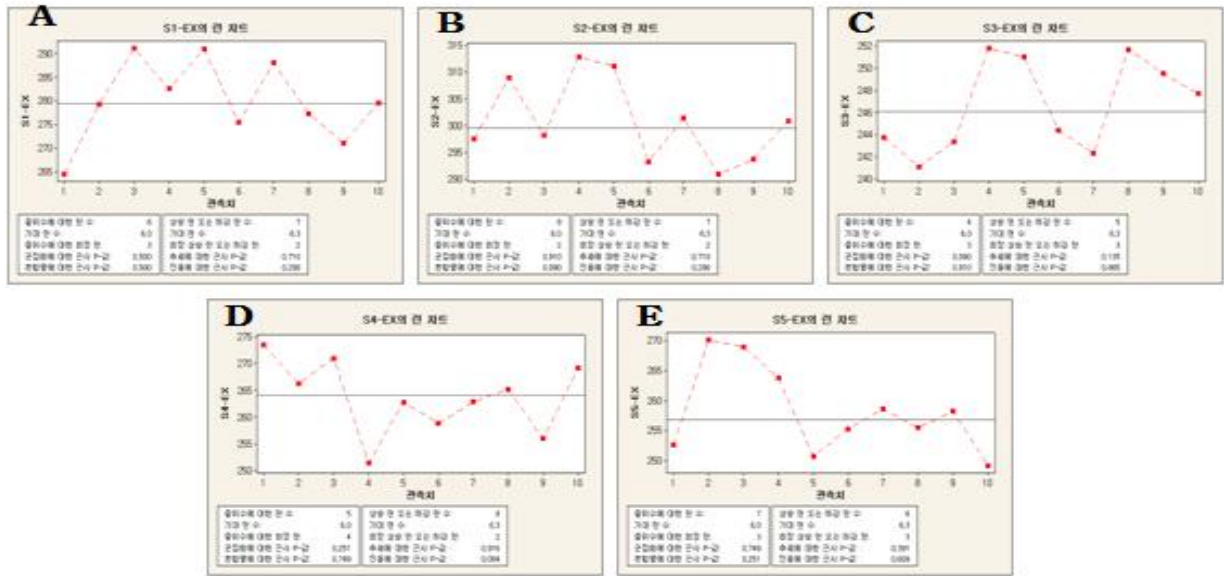


그림 33. 최적배합비 5종의 ORAC value에 대한 run-chart 분석
 (A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

결론적으로, 최적배합비 5종의 DPPH IC₅₀과 ORAC value에 있어서 산포가 없고 데이터가 안정하며 정규하여 위의 배합비가 최적화 되어 있음을 알 수 있다. 관리도가 안정한 만큼 불량 보다는 양품의 제품이 생산될 확률이 높아질 수 있다고 판단된다. 특히 관리도의 이상점이 보이지 않는 것으로 보아 눈에 띄는 불량 제품의 생산이 전혀 없어 설정한 지표를 이상의 품질이 가능하겠다.

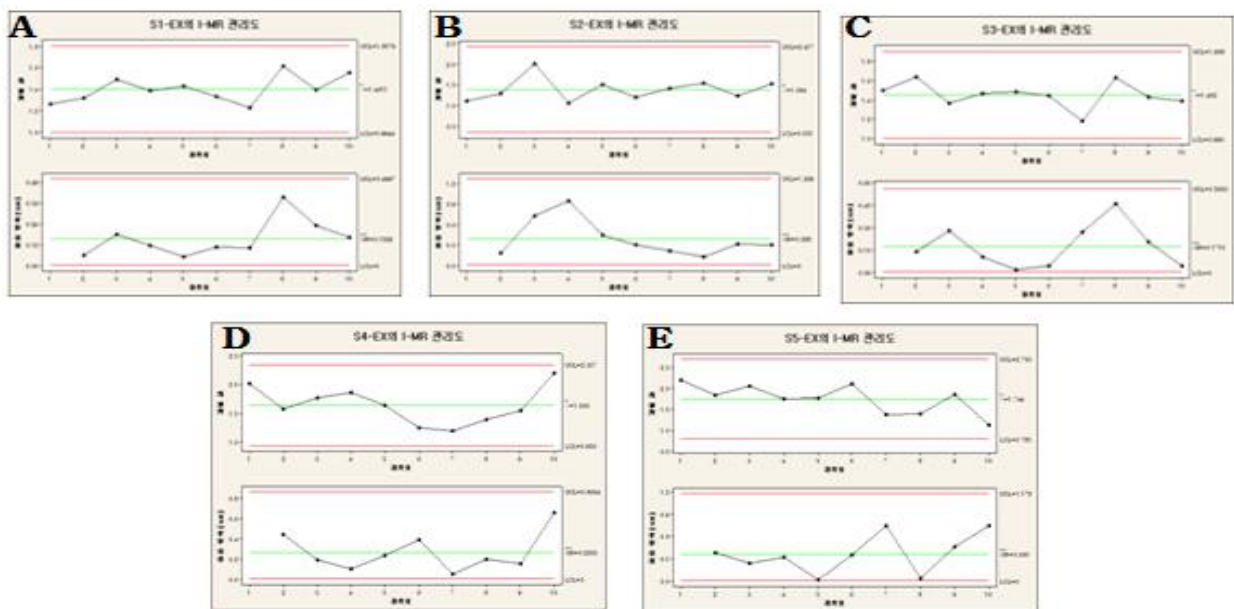


그림 34. 최적배합비 5종의 DPPH IC₅₀에 대한 I-MR관리도 분석
 (A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

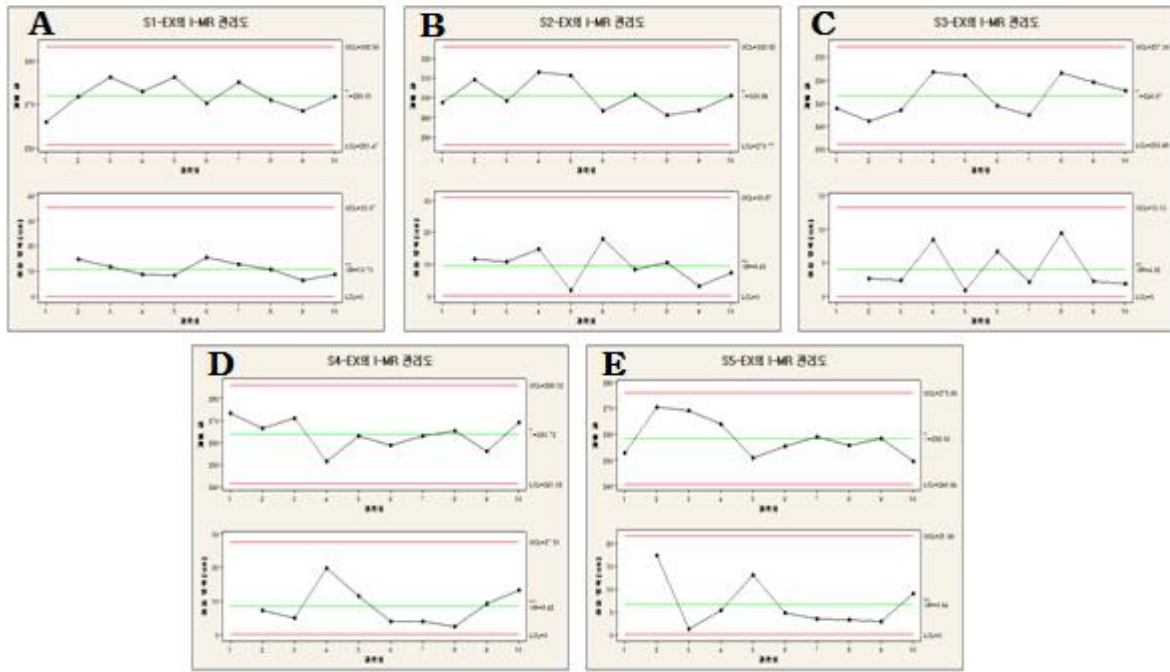


그림 35. 최적배합비 5종의 ORAC value에 대한 I-MR관리도 분석
 (A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

(다) 최적배합비 5종의 공정능력분석을 통한 불량률 관리

① DPPH IC₅₀에 대한 공정능력분석을 통한 시그마 수준 예측

DPPH IC₅₀의 관리규격은 USL 2.0mg/ml로서 최적배합비 5종의 시그마 수준은 6.3, 3.9, 5.6, 2.6, 2.2로 불량률은 0%, 1.3%, 0%, 13%, 24%로 나타났다. No.4와 No.5의 불량률이 상대적으로 높게 나타났는데, 이는 혼합물 설계를 통해 얻은 최적의 배합비가 아닌 산머루와 시금치를 임의로 첨가한 배합비이므로 DPPH IC₅₀이 규격에 미치지 못한 것으로 판단된다.

ORAC value의 관리규격은 LSL 240μmolTE/g으로서 기존규격보다 높게 설정되었음에도 불구하고 대부분의 샘플이 관리범위에 들어와 있는 것을 볼 수 있다. 5종의 최적배합비의 시그마 수준은 6.2, 9.3, 3.1, 5, 4.3으로 매우 양호하며, 불량률은 0%, 0%, 5.3%, 0%, 1%로 나타났다. ORAC value의 경우 수율이 우수하기 때문에 과채음료 제품을 생산할 때 품질 지표로 활용해도 유용할 것이라고 생각된다. 대량생산 시 후살균 처리로 인한 제품의 품질을 예측할 수 있는 계기가 될 수 있겠다.

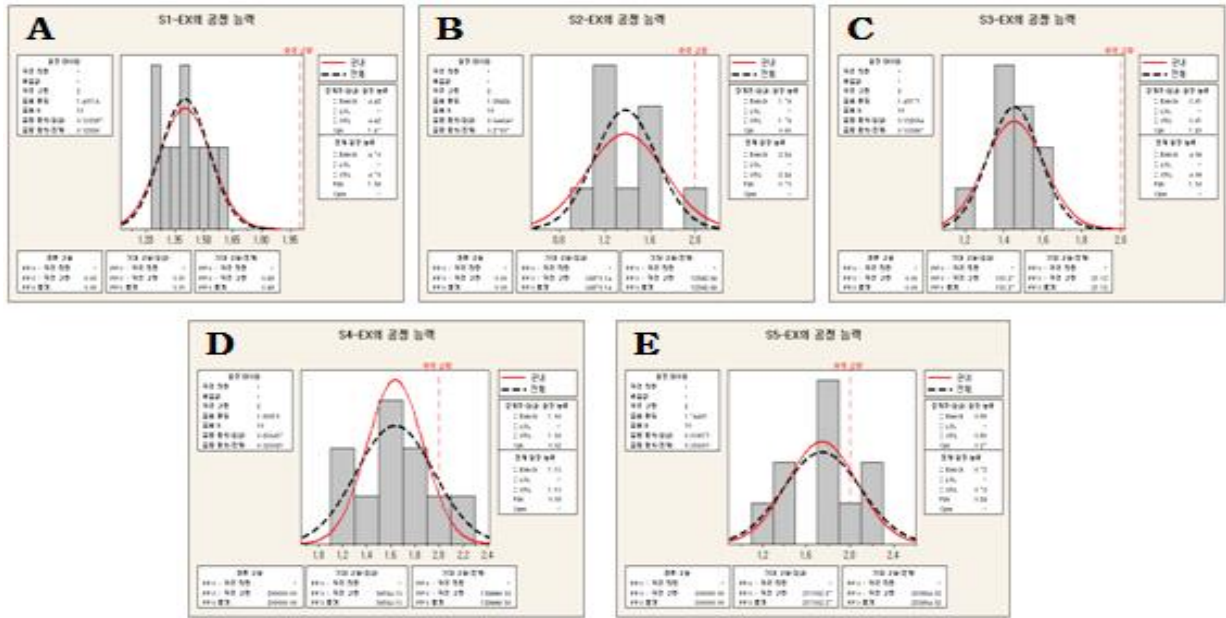


그림 36. 최적배합비의 DPPH IC₅₀에 대한 공정능력분석을 통한 불량률(ppm)분석
 (A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

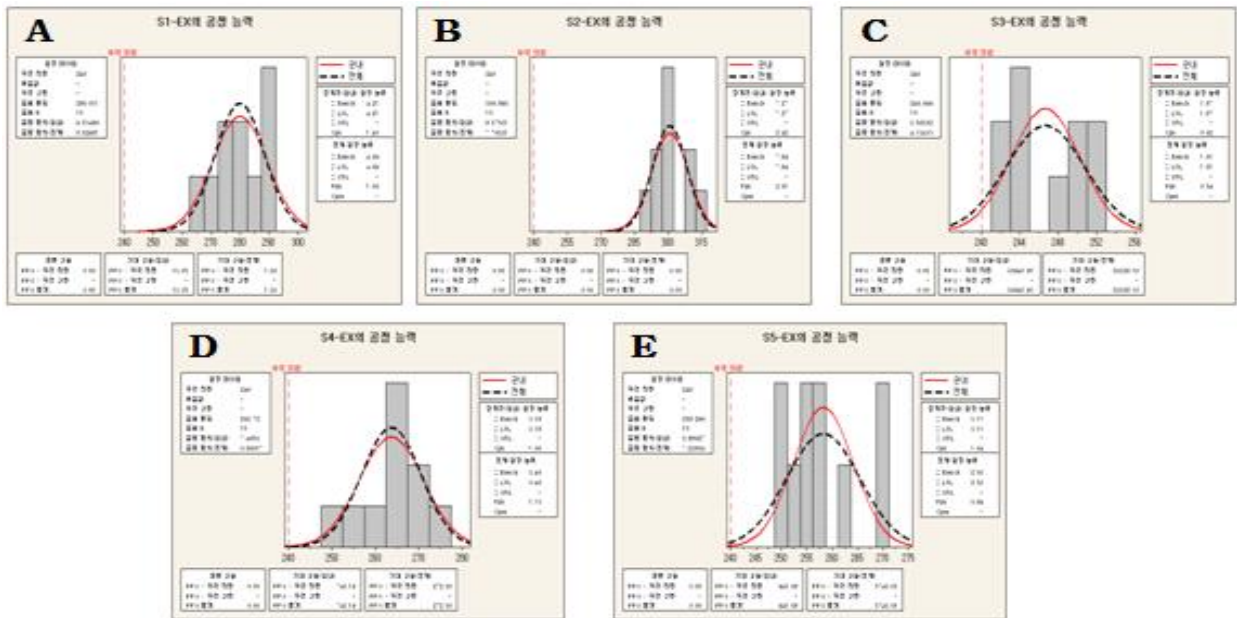


그림 37. 최적배합비의 ORAC value에 대한 공정능력분석을 통한 불량률(ppm)분석
 (A: 최적배합비 No.1, B: 최적배합비 No.2, C: 최적배합비 No.3, D:최적배합비 No.4, E:최적배합비 No.5)

② 최적 배합비 5종의 종합 수율과 시그마 수준

최적 배합비 5종의 DPPH IC₅₀와 ORAC value의 공정능력 분석 결과를 종합해 보면 아래 표 14과 같다. 최적배합비 No.1~3은 목표 수준에 94% 이상 만족하는 것으로 분석되었고 그 중

No.1이 수율 100%, 종합시그마 수준 6.1로 가장 재현성이 우수한 것으로 평가 받았다. 반면에, 산머루와 시금치가 첨가된 No.4, 5 배합비는 DPPH IC₅₀에서 불량률이 높게 나와 종합 수율이 저조하게 나타났다. 산머루와 시금치가 첨가되면 항산화 규격에 미달될 가능성이 높아지는 것을 알 수 있다. 만약 수월한 관리를 위해서 두 지표 중 ORAC value로만 관리한다면 그 값이 가장 높은 No.2 배합비가 최적배합비가 될 것으로 판단된다.



그림 38. 최적배합비의 5종의 종합 수율과 시그마 수준

표 14. 최적 배합비 5종의 재현성 평가(종합)
(DPPH IC₅₀<2mg/ml, ORAC value>240µmolTE/g)

	IC50 (mg/ml)	ORAC (µmolTE/g)	정규성 검정	관리도 (이상치)	불량률(PPM)		시그마수준		종합	
					DPPH	ORAC	DPPH	ORAC	수율(%)	종합시그마
No.1	1.4 ± 0.2	277.4±6.2	P>0.05	이상 無	0개	0개	6.3	6.2	100.0	6.1
No.2	1.5±0.3	306.0±124	P>0.05	이상 無	1.3개	0개	3.9	9.3	98.7	3.7
No.3	1.5±0.2	245.1±3.4	P>0.05	이상 無	0개	5.3개	5.6	3.1	94.7	3.1
No.4	1.7±0.3	264.3±5.6	P>0.05	이상 無	13개	0개	2.6	5	87.0	2.6
No.5	1.8±0.3	258.2±7.3	P>0.05	이상 無	23.5개	1개	2.2	4.3	76.0	2.2

다. 관능 검사 결과

(1) 재료

과채즙 원액 5종을 각각 100% 원액(A100, B100, C100, D100, E100)과 최종농도가 25%(A25, B25, C25, D25, E25)와 10%(A10, B10, C10, D10, E10)가 되도록 희석하여 관능검사 시료로 하였다. 척도 훈련에 사용된 표준물질로 단맛에는 설탕 (삼양사, 대한민국), 짠맛은 정제소금 (쥬한주, 대한민국), 신맛은 함수구연산 (대정화금, 대한민국), 쓴맛에는 무수카페인 (Acros Organics, USA), 뽕은맛에는 명반 (유니케미, 대한민국)을 사용하였다.

(2) 방법

(가) 묘사분석

혼합물 원액 5종과 이들의 희석액 10종 향과 맛의 관능적 특징을 훈련된 전문패널 12명을 활용하여 15점 강도 척도로 평가하였다. 묘사분석 활동은 관능특성 용어도출, 척도 훈련, 본 검사(15종)로 이루어진다.

① 예비평가

관능속성 도출이 용이한 농도범위를 확인하기 위해 예비평가를 실시하였다. 예비평가는 A, B, C, D, E 각 시료의 최종농도가 1%, 10%, 25%, 50%, 100%가 되도록 희석하여 총 25개 희석액을 평가하였으며, 그 결과 A와 C는 10%, B, D, E는 25% 희석액이 맛에 대한 거부감이 적고 여러 특성들이 고루 느껴져, 용어도출이 용이하다고 판단되어 용어도출 시료로 하였다.

② 용어도출

훈련된 전문패널을 대상으로 A10, B25, C10, D25, E25에서 느껴지는 관능 속성 용어를 수집, 각 속성의 강, 약을 평가하였다.

③ 척도훈련

용어도출 단계에서 도출한 속성을 대상으로 척도훈련을 하였다. 평가 시료 중 특정 속성에 대해 강, 약이 뚜렷한 시료들을 대상으로 맛 속성의 표준 강도에 대해 협의하고 반복훈련을 통해 협의된 속성 강도에 익숙해지도록 훈련하였다.

④ 본검사

용어도출과 척도훈련 단계에서 정의된 속성과 강도를 기반으로 각 시료의 10%, 25% 희석액과 원액의 속성 강도를 3반복 평가하였다.

(3) 묘사분석 결과

(가) 용어도출

각 시료의 용어도출 결과는 표 15에 나타내었다.

A에서는 단맛, 신맛, 짠맛, 쓴맛의 4가지 기본 맛 외에 떫은, 복분자, 블루베리, 텁텁한, 나무맛, 오미자, 포도즙, 복분자, 한약재맛, 아사이베리, 칼칼함, 풋내, 크랜베리 등 총 31가지의 속성이 도출되었다.

B에서는 기본맛과 짙은, 블루베리, 오미자, 텁텁한, 복분자, 침샘자극, 나무맛, 포도즙, 목이 마르는, 오디, 자몽, 아사이베리, 아로니아 등 총 32가지의 속성이 도출되었다.

C에서는 기본맛과 짙은, 블루베리, 텁텁한, 복분자, 오미자, 나무맛, 목이 마르는, 포도즙, 목이 따끔거림, 칼칼함, 크랜베리, 라임, 아사이베리, 아로니아 등 총 27가지의 속성이 도출되었다.

D에서는 기본맛과 짙은, 오미자, 텁텁한, 블루베리, 포도즙, 목이 마르는, 복분자, 침샘자극, 나무맛, 레몬, 풋내, 목이 따끔거림, 크랜베리, 아사이베리, 아로니아 등 총 36가지의 속성이 도출되었다.

E에서는 기본맛과 짙은, 블루베리, 텁텁한, 포도즙, 복분자, 토마토(퓨레), 크랜베리, 아사이베리 등 총 35가지의 속성이 도출되었다.

표 15. 시료별 도출 용어(인지 빈도)

속성	A10	B25	C10	D25	E25
단맛	12	12	12	12	12
신맛	12	12	12	12	12
짠맛	12	12	12	12	12
쓴맛	12	12	12	12	12
짙은	10	12	12	12	12
블루베리	7	11	8	8	10
텁텁한	5	8	8	9	9
오미자	4	9	6	10	3
복분자	8	6	7	5	6
포도즙	4	5	5	7	9
나무맛	5	5	6	4	3
목이 마르는	2	5	6	6	2
침샘자극	0	6	3	5	0
레몬	3	3	2	4	2
오디	3	4	2	2	2
한약재맛	4	2	3	3	1
목이 따끔거림	1	3	4	2	1
자몽	1	4	2	2	1
칼칼함	2	2	4	1	1
아사이베리	3	3	1	1	2
풋내	2	1	0	4	2
크랜베리	1	0	4	2	2
라임	1	0	4	2	1
와인맛	0	3	0	3	0
앵두	2	1	0	2	1
매실	1	1	1	2	1
토마토 퓨레	0	0	0	0	5
아로니아	1	1	1	1	0
유자	0	1	1	1	1
시금합	1	2	0	0	1

속성	A10	B25	C10	D25	E25
썩썩한 맛	0	4	0	0	0
목넘김이 거친	1	1	0	1	1
혀와 목젖이 오그라드는	0	0	0	3	0
건강한 맛	0	1	0	1	1
사과	0	0	2	1	0
맛이 가벼운	0	0	0	0	3
배	0	0	1	0	2
아세로나	0	0	0	1	1
종이맛	2	0	0	0	0
썩썩한맛	2	0	0	0	0
혀가 움츠러드는	0	2	0	0	0
토마토	0	0	0	1	0
숙성된 과실	0	0	0	1	0
청포도맛	0	0	0	1	0
떨떠름	1	0	0	0	0
금속맛	0	1	0	0	0
양파즙	0	0	0	0	1
쿵쿵한 맛	0	0	0	0	1

전체 시료에서 총 45가지의 속성이 도출되었으나, 몇몇 속성은 대표속성으로 통합하였으며, 속성에 대한 인지빈도가 적은 속성들은 평가 속성에서 제외하였다. 기본 맛(신맛, 짠맛, 단맛, 쓴맛)을 제외한 평가 속성들의 정의는 표 16에 나타내었다.

표 16. 속성 용어 정의

속성	정의
뽀은	마시고 난 뒤의 뽀은맛의 강한 정도
오미자	오미자 맛
블루베리	블루베리, 아사이베리, 크랜베리, 아로니아 등 베리류 맛을 통합
포도맛	포도, 포도주스 등 포도 과채즙 맛
복분자	복분자 맛
꽃내	꽃내, 꽃과일의 향미
나무맛	나무줄기에서 느껴지는 맛
한약재맛	감초 등 한약재에서 느껴지는 맛
토마토	생 토마토와 토마토 주스 등에서 느껴지는 맛 통합
텁텁함	마시고 난 뒤의 입안의 텁텁한 정도
목자극	목넘김 후 목에서 느껴지는 자극의 강한 정도, 목이 따끔거리는, 칼칼함, 목넘김이 거친 등 통합
입안이 마르는	마시고 난 뒤에 느껴지는 입안이 마르는 듯 한 자극, 혀나 입안이 오그라드는, 침샘자극(입안이 마르게 되어 침샘이 자극됨)의 통합

(나) 척도훈련

맛 속성 강도의 척도 훈련을 위해 신맛, 짠맛, 단맛, 쓴맛, 떫은맛은 외부 표준시료로 강도 훈련을 하였으며, 훈련에 사용한 척도와 농도는 표 17에 나타내었다.

표 17. 척도 훈련 기본 맛 표준 시료

맛 속성	표준물질	15점 척도 강도 훈련(g/L)		
		3점	8점	13점
신맛	Citric acid	0.4	0.8	2.0
짠맛	소금	2.5	4.5	6.5
단맛	백설탕	25.0	70.0	120.0
쓴맛	Caffeine	0.4	0.9	1.1
떫은맛	명반			1.0

신맛, 짠맛, 단맛, 쓴맛, 떫은 맛 외의 속성들은 용어도출 평가 시 각 시료 별 용어의 강, 약에 대해 평가하여 강, 약이 뚜렷한 시료를 척도훈련에서 표준 시료로 하였으며 표 18에 나타내었다.

표 18. 속성 별 약, 강 표준 시료

속성	강도	
	약	강
오미자	A10	D25
블루베리	C10	B30
포도맛	A10	D25
복분자	A10	B30
꽃내	C10	D25
나무맛	C10	A10
한약재맛	E25	A25
토마토	D25	E25
텃텃함	C10	D25
목자극	C10	B30
입안이 마르는	B10	B30

각 속성의 강, 약 시료를 동시에 제공하여 15점 척도로 강도 평가를 하였다. 평가 된 속성강도에 대해 협의를 거쳐 표준 강도를 결정하였으며, 표준 강도는 표 19에 나타내었다.

표 19. 속성 별 약, 강 표준 강도 척도

속성	약		강	
	시료	척도	시료	척도
오미자	A10	8	D25	13
블루베리	C10	8	B30	13
포도즙	A10	8	D25	13
복분자	A10	8	B30	13
꽃내	C10	6	D25	13
나무맛	C10	3	A10	8
한약재맛	E25	3	A25	8
토마토	D25	8	E25	3
텃텃함	C10	3	D25	13
목자극	C10	3	B30	13
입안이 마르는	B10	8	B30	13

표준 강도 결정 후 반복 평가를 통해 속성강도에 대해 기억할 수 있도록 하였으며, 그 결과를 토대로 패널 간 강도가 크게 차이나는 토마토 속성은 본 검사에서는 제외하기로 하였다.

(다) 본검사

묘사분석 본 검사 시료는 A10, B10, C10, D10, E10과 A25, B25, C25, D25, E25와 A100, B100, C100, D100, E100으로 하였으며, 각각 단독평가로 속성 강도 평가 후 평가 결과를 농도 별로 통합 분석 하였다.

혼합액 A의 경우 평가한 모든 농도에서 대부분의 속성이 상대적으로 강한 것으로 평가되는 반면에 E의 경우 상대적으로 약한 것으로 평가되었다. 묘사분석 속성 강도 중 짠맛과 쓴맛은 상대적으로 약하다고만 평가되어 소비자 평가의 맛 속성에선 제외 하였다.

① 10% 희석액

A10, B10, C10, D10, E10의 속성 강도 평가 그래프를 그림 39과 표 20에 나타내었다.

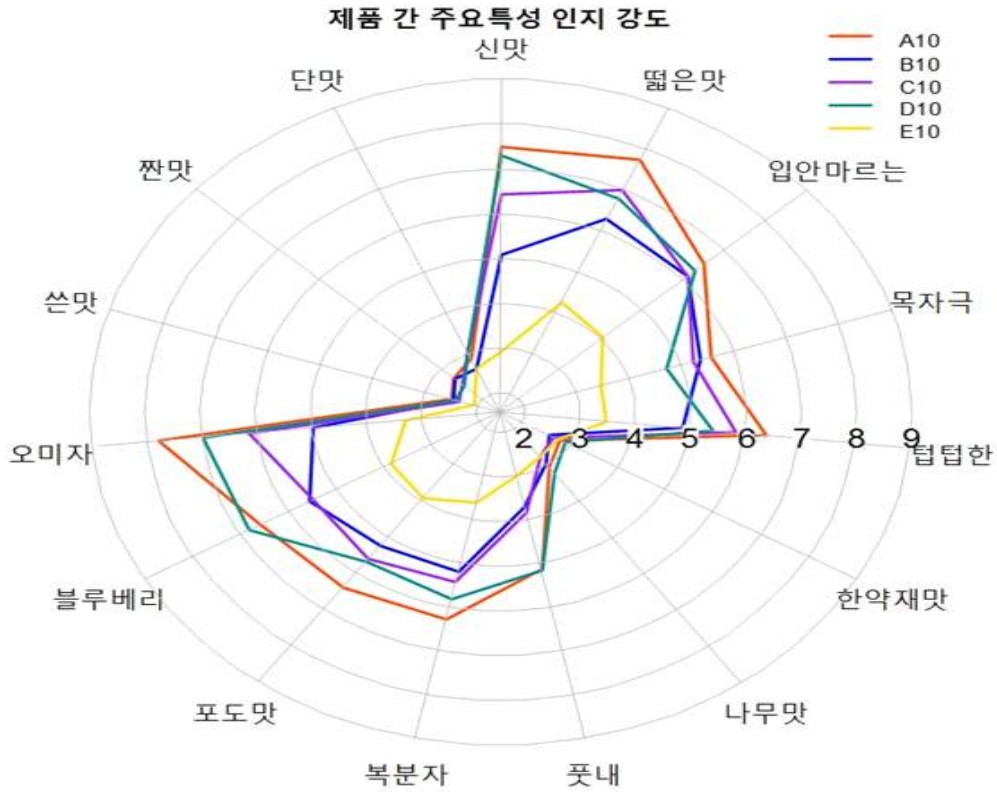


그림 39. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_10% 회석액

표 20. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석 10% 회석액

속성	A10	B10	C10	D10	E10
신맛	7.50 ^{a 1)}	5.06 ^c	6.42 ^b	7.31 ^{ab}	2.92 ^d
단맛	2.86 ^a	2.61 ^a	3.00 ^a	3.00 ^a	2.61 ^a
짠맛	2.69 ^a	2.67 ^a	2.47 ^{ab}	2.44 ^{ab}	2.19 ^b
쓴맛	2.50 ^a	2.47 ^a	2.36 ^a	2.42 ^a	2.06 ^a
오미자	7.78 ^a	4.97 ^c	6.14 ^b	6.97 ^{ab}	3.28 ^d
블루베리	6.58 ^a	5.56 ^b	5.47 ^b	6.81 ^{ab}	3.86 ^c
포도맛	6.42 ^a	5.25 ^b	5.61 ^{ab}	5.67 ^{ab}	3.92 ^c
복분자	6.28 ^a	5.19 ^b	5.42 ^{ab}	5.83 ^{ab}	3.61 ^c
풋내	5.14 ^a	3.72 ^b	3.86 ^b	5.17 ^a	3.00 ^b
나무맛	3.06 ^a	2.97 ^a	2.78 ^a	3.22 ^a	2.78 ^a
한약재맛	2.81 ^a	2.58 ^a	2.67 ^a	2.92 ^a	2.75 ^a
텁텁한	6.39 ^a	4.89 ^c	5.83 ^{ab}	5.42 ^{bc}	3.47 ^d
목자극	5.58 ^a	5.36 ^a	5.22 ^a	4.72 ^a	3.47 ^b
입안마르는	6.53 ^a	6.11 ^a	6.11 ^a	6.28 ^a	4.06 ^b
뽀은맛	7.72 ^a	6.28 ^b	7.00 ^{ab}	6.78 ^{ab}	4.25 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

A10은 상대적으로 오미자맛, 신맛, 뽀은맛, 텁텁한 정도, 포도맛, 복분자, 풋내, 블루베리맛,

짠맛, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 쓴맛이 강한 것으로 평가되었다.

B10은 상대적으로 짠맛과 목자극 정도는 강하나, 풋내, 신맛, 오미자맛은 약한 것으로 평가되었다. C10은 상대적으로 텁텁한 정도, 신맛, 뽕은맛은 강하나, 나무맛은 약한 것으로 평가되었다. D10은 상대적으로 신맛, 블루베리맛, 오미자맛, 풋내, 나무맛, 복분자맛이 강한 것으로 평가되었다. E10은 상대적으로 나무맛, 쓴맛, 짠맛, 풋내, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 포도맛, 블루베리맛, 복분자맛, 텁텁한 정도, 뽕은맛, 오미자맛, 신맛이 약한 것으로 평가되었다.

신맛은 A10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 짠맛은 A10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되나, 그 강도가 15점 척도의 2점대로 모든 시료에서 짠맛은 약한 것으로 평가되었다. 오미자맛과 블루베리 맛은 A10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

포도맛과 복분자 맛은 A10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 풋내는 A10과 D10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 텁텁한 정도는 A10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 목자극 정도와 입안이 마르는 정도는 E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 뽕은 맛은 A10이 뚜렷하게 강하고, E10이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

② 25% 희석액

A25, B25, C25, D25, E25의 속성 강도 평가 그래프를 그림 40과 표 21에 나타내었다.

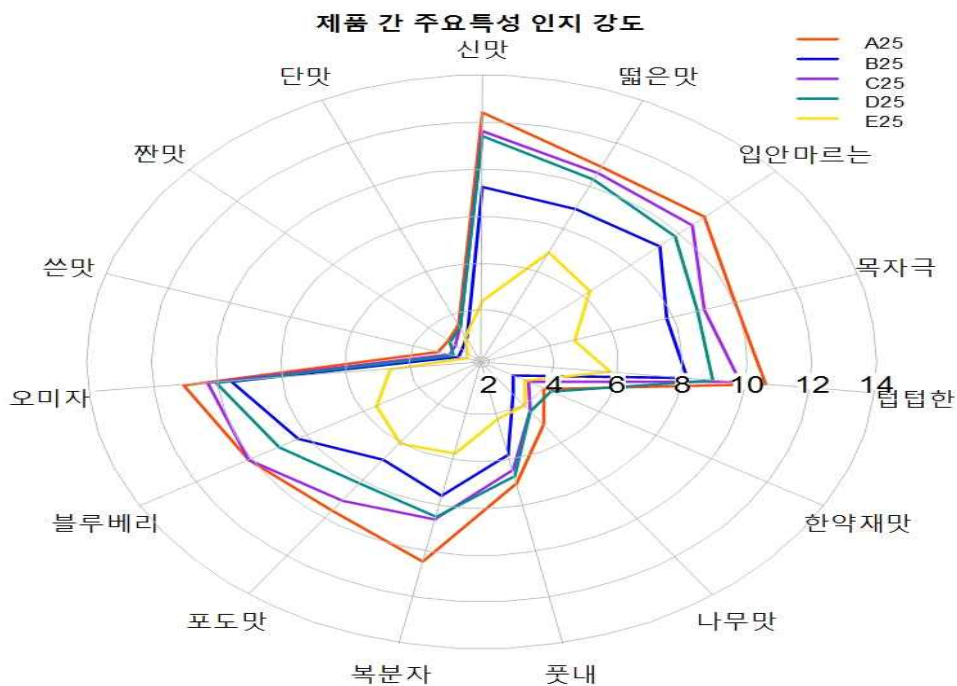


그림 40. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 조사분석_25% 희석액

표 21. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석 25% 회석액

속성	A25	B25	C25	D25	E25
신맛	12.42 ^{a 1)}	9.25 ^c	11.61 ^{ab}	11.39 ^b	4.39 ^d
단맛	3.53 ^a	2.94 ^a	3.47 ^a	3.39 ^a	2.97 ^a
짠맛	3.17 ^a	2.61 ^{bc}	2.86 ^{ab}	3.08 ^a	2.42 ^c
쓴맛	3.19 ^a	2.53 ^b	2.81 ^{ab}	2.72 ^{ab}	2.28 ^b
오미자	11.06 ^a	9.58 ^b	10.33 ^{ab}	10.06 ^{ab}	4.64 ^c
블루베리	10.11 ^a	8.33 ^b	10.08 ^a	9.00 ^b	5.56 ^c
포도맛	9.61 ^a	6.94 ^c	9.11 ^{ab}	8.19 ^b	6.08 ^c
복분자	10.44 ^a	7.61 ^b	8.64 ^b	8.50 ^b	5.75 ^c
꽃내	7.06 ^a	5.81 ^b	6.47 ^{ab}	6.75 ^{ab}	4.25 ^c
나무맛	5.03 ^a	3.42 ^b	4.31 ^{ab}	4.36 ^{ab}	4.03 ^b
한약재맛	4.03 ^{ab}	2.89 ^c	3.44 ^{abc}	4.25 ^a	3.33 ^{bc}
텃텃한	10.64 ^a	8.19 ^c	9.83 ^{ab}	9.00 ^{bc}	5.78 ^d
목자극	10.00 ^a	7.83 ^b	9.00 ^{ab}	8.78 ^{ab}	4.83 ^c
입안이 마르는	11.06 ^a	9.17 ^c	10.53 ^{ab}	9.81 ^{bc}	6.31 ^d
뽕은맛	10.89 ^a	8.94 ^b	10.61 ^a	10.28 ^a	6.89 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

A25는 모든 속성이 상대적으로 강한 것으로 평가되었다. B25는 상대적으로 오미자맛은 강하나, 복분자맛, 단맛, 신맛, 뽕은맛, 짠맛, 한약재맛, 나무맛, 포도맛은 약한 것으로 평가되었다. C25는 상대적으로 신맛, 블루베리맛, 오미자맛, 뽕은맛, 입안이 마르는 정도, 포도맛, 텃텃한 정도, 목자극 정도가 강한 것으로 평가되었다. D25는 상대적으로 신맛, 오미자맛, 뽕은맛, 한약재맛, 짠맛, 꽃내, 목자극 정도가 강한 것으로 평가되었다. E25는 상대적으로 단맛, 쓴맛, 짠맛, 포도맛, 꽃내, 복분자맛, 텃텃한 정도, 목자극 정도, 뽕은맛, 입안이 마르는 정도, 블루베리맛, 오미자맛, 신맛이 약한 것으로 평가되었다.

신맛은 A25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 짠맛과 쓴맛은 A25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되나, 그 강도가 15점 척도의 3점대 이하로 모든 시료에서 짠맛과 쓴맛은 약한 것으로 평가되었다. 오미자맛은 A25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 블루베리 맛은 A25와 C25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 포도맛과 복분자 맛은 A25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 꽃내는 A25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

나무맛은 A25가 뚜렷하게 강한 것으로 평가되었다. 한약재맛은 D25가 뚜렷하게 강한 것으로 평가되었다. 텃텃한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도는 A25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 뽕은맛은 A25, C25, D25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

③ 원액

A100, B100, C100, D100, E100의 속성 강도 평가 그래프를 그림 41과 표 22에 나타내었다.

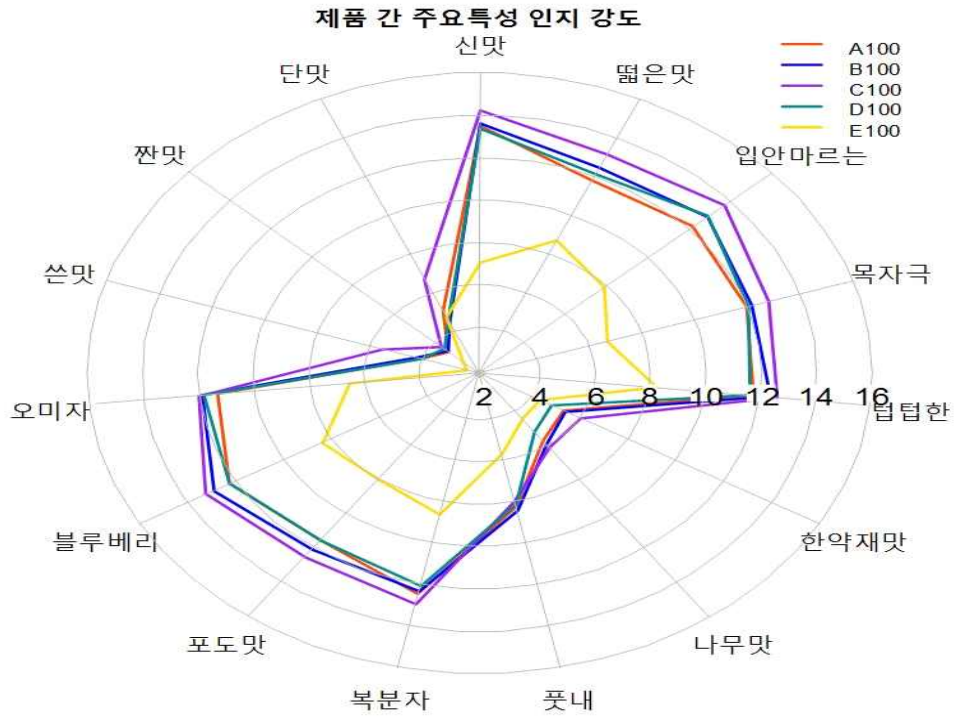


그림 41. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_원액

표 22. 제품간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석 원액

속성	A100	B100	C100	D100	E100
신맛	13.47 ^{b 1)}	13.64 ^{ab}	14.23 ^a	13.36 ^b	7.03 ^c
단맛	5.06 ^b	4.50 ^b	6.71 ^b	4.61 ^b	4.72 ^a
짠맛	3.36 ^a	3.39 ^a	3.66 ^a	3.56 ^a	2.58 ^b
쓴맛	4.03 ^b	4.19 ^b	5.51 ^a	3.97 ^b	2.33 ^c
오미자	11.36 ^a	11.89 ^a	12.00 ^a	11.83 ^a	6.56 ^b
블루베리	12.25 ^b	12.92 ^{ab}	13.26 ^a	12.28 ^b	8.39 ^c
포도맛	11.61 ^a	12.08 ^a	12.54 ^a	11.56 ^a	8.03 ^b
복분자	12.44 ^a	12.31 ^a	12.94 ^a	12.06 ^a	8.67 ^b
꽃내	8.28 ^a	8.44 ^a	8.00 ^a	8.14 ^a	5.69 ^b
나무맛	5.78 ^a	6.00 ^a	6.14 ^a	5.25 ^{ab}	4.44 ^b
한약재맛	5.33 ^{ab}	5.42 ^{ab}	6.03 ^a	4.83 ^{bc}	4.33 ^c
텃텃한	11.81 ^a	12.39 ^a	12.63 ^a	11.64 ^a	8.28 ^b
목자극	11.97 ^a	12.17 ^a	12.83 ^a	12.06 ^a	6.67 ^b
입안이 마르는	12.17 ^b	12.89 ^{ab}	13.71 ^a	12.92 ^{ab}	7.89 ^c
뽕은맛	11.81 ^b	12.44 ^{ab}	13.14 ^a	12.14 ^b	8.67 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

A100은 상대적으로 신맛, 목자극 정도, 복분자맛, 꽃내, 오미자맛, 블루베리맛, 텃텃한 정도가 강한 것으로 평가되었다. B100은 상대적으로 신맛, 블루베리맛, 목자극 정도, 오미자맛, 입안이 마르는 정도, 텃텃한 정도, 뽕은맛, 포도맛, 꽃내, 복분자맛, 나무맛은 강하나, 단맛은 약한 것으로 평가되었다. C100은 상대적으로 신맛, 단맛, 입안이 마르는 정도, 뽕은맛, 목자극 정도, 블루베리맛, 쓴맛, 복분자맛, 포도맛, 텃텃한 정도, 오미자맛, 한약재맛, 나무맛, 짠맛이 강한 것으로 평가되었다. D100은 상대적으로 신맛, 입안이 마르는 정도, 오미자맛, 목자극 정도, 뽕은맛, 블루베리맛, 꽃내, 짠맛은 강하나, 단맛은 약한 것으로 평가되었다. E100은 모든 속성이 상대적으로 약한 것으로 평가되었다.

신맛은 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 단맛은 E100이 뚜렷하게 강한 것으로 평가되었다. 짠맛은 E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되나, 그 강도가 15점 척도의 3점대 이하로 모든 시료에서 짠맛은 약한 것으로 평가되었다. 쓴맛은 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 오미자맛은 E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 블루베리 맛은 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 포도맛과 복분자 맛, 꽃내는 E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 나무맛은 A100, B100, C100이 뚜렷하게 강하고 E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 한약재맛은 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 텃텃한 정도, 목자극 정도는 E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 입안이 마르는 정도와 뽕은맛은 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

(라) 주요 결과

과채 혼합액의 농도가 10%, 25%, 원액으로 증가함에 따라 신맛, 블루베리맛, 포도맛, 복분자맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도의 강도가 뚜렷하게 강해지는 것으로 나타나며, 각 시료 10% 희석액의 모든 속성은 강도가 8점대 미만으로 전반적인 맛 강도가 약한 것으로 나타났다. A는 오미자맛, 풋내, 나무맛, 뽕은맛 속성 강도가 원액과 25% 희석액 간 유의적인 차이를 보이지 않고, 단맛의 경우 25% 희석액과 10% 희석액 간 유의적인 차이를 보이지 않았다.

B는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 나무맛, 한약재맛 속성 강도가 25% 희석액과 10% 희석액 간 유의적인 차이를 보이지 않았다. C는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 한약재맛 속성 강도가 25% 희석액과 10% 희석액 간 유의적인 차이를 보이지 않았다. D는 단맛과 쓴맛은 25% 희석액과 10% 희석액 사이에, 나무맛과 한약재 맛은 25% 희석액과 원액 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. E는 단맛, 짠맛, 한약재맛은 25% 희석액과 10% 희석액 사이에, 나무맛은 25% 희석액과 원액 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

소비자 패널의 경우 훈련되지 않은 패널들로 훈련된 패널들보다 속성의 구별력이 떨어질 것으로 예상되므로 평가 시료의 전반적인 속성이 약한 10% 희석액의 경우 소비자를 상대로한 평가에서 속성 구분에 어려움이 있을 것으로 판단되었다. 따라서, 대부분의 속성 강도가 원액 보다는 약하고, 대부분의 제품에서 부정 속성 들을 차이 구별할 수 있는 25% 희석액이 10% 희석액보다 소비자 기호도 조사에 적합한 시료일 것으로 판단되어 A25, B25, C25, D25, E25와 A100, B100, C100, D100, E100을 소비자 기호도 조사 시료로 하였다.

또한, 묘사분석 본평가 결과 각 시료의 10%, 25% 희석액과 원액에서 짠맛과 쓴맛은 그 강도가 모든 시료에서 약한 것으로만 평가되어 소비자 기호도 조사 속성에서는 제외하였다. 또한 블루베리맛과 한약재맛의 용어를 소비자들의 이해를 위해 베리맛과 약재맛으로 변경하여 소비자 평가에 적용하였다.

표 23. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_A

	A10	A25	A100
신맛	7.50 ^{c 1)}	12.42 ^b	13.47 ^a
단맛	2.86 ^b	3.53 ^b	5.06 ^a
짠맛	2.69 ^a	3.17 ^a	3.36 ^a
쓴맛	2.50 ^b	3.19 ^{ab}	4.03 ^a
오미자	7.78 ^b	11.06 ^a	11.36 ^a
블루베리	6.58 ^c	10.11 ^b	12.25 ^a
포도맛	6.42 ^c	9.61 ^b	11.61 ^a
복분자	6.28 ^c	10.44 ^b	12.44 ^a
꽃내	5.14 ^b	7.06 ^a	8.28 ^a
나무맛	3.06 ^b	5.03 ^a	5.78 ^a
한약재맛	2.81 ^c	4.03 ^b	5.33 ^a
텃텃한	6.39 ^c	10.64 ^b	11.81 ^a
목자극	5.58 ^c	10.00 ^b	11.97 ^a
입안마르는	6.53 ^c	11.06 ^b	12.17 ^a
뽀은맛	7.72 ^b	10.89 ^a	11.81 ^a

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05).
다중비교는 각 속성별로 3개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

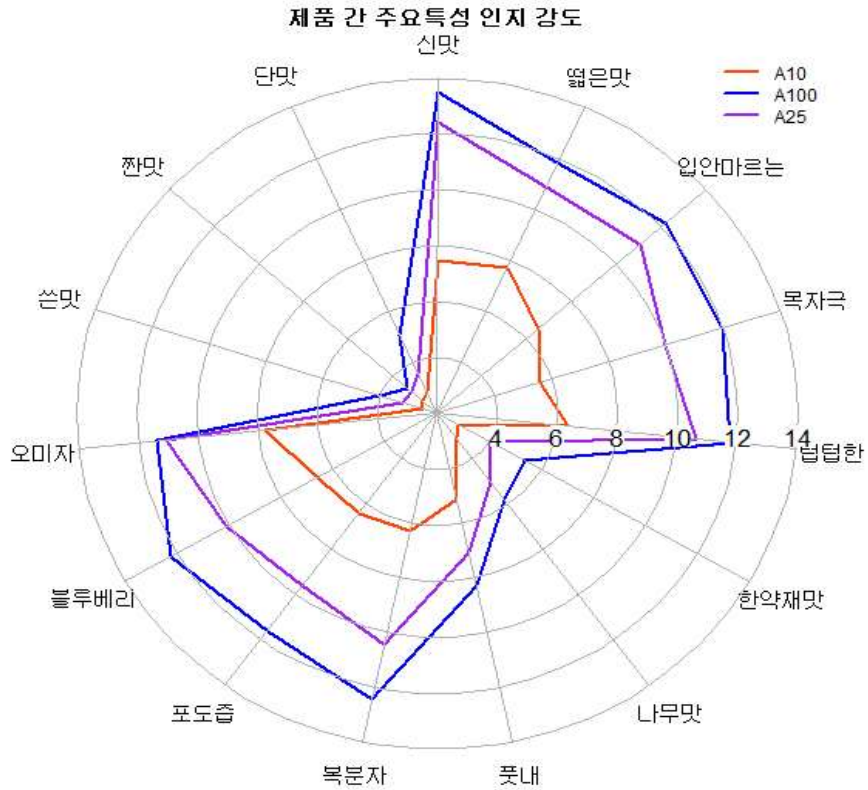


그림 42. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_A

표 24. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_B

속성	B10	B25	B100
신맛	5.06 ^{c 1)}	9.25 ^b	13.64 ^a
단맛	2.61 ^b	2.94 ^b	4.50 ^a
짠맛	2.67 ^b	2.61 ^b	3.39 ^a
쓴맛	2.47 ^b	2.53 ^b	4.19 ^a
오미자	4.97 ^c	9.58 ^b	11.89 ^a
블루베리	5.56 ^c	8.33 ^b	12.92 ^a
포도맛	5.25 ^c	6.94 ^b	12.08 ^a
복분자	5.19 ^c	7.61 ^b	12.31 ^a
풋내	3.72 ^c	5.81 ^b	8.44 ^a
나무맛	2.97 ^b	3.42 ^b	6.00 ^a
한약재맛	2.58 ^b	2.89 ^b	5.42 ^a
텁텁한	4.89 ^c	8.19 ^b	12.39 ^a
목자극	5.36 ^c	7.83 ^b	12.17 ^a
입안마르는	6.11 ^c	9.17 ^b	12.89 ^a
짙은맛	6.28 ^c	8.94 ^b	12.44 ^a

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 3개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

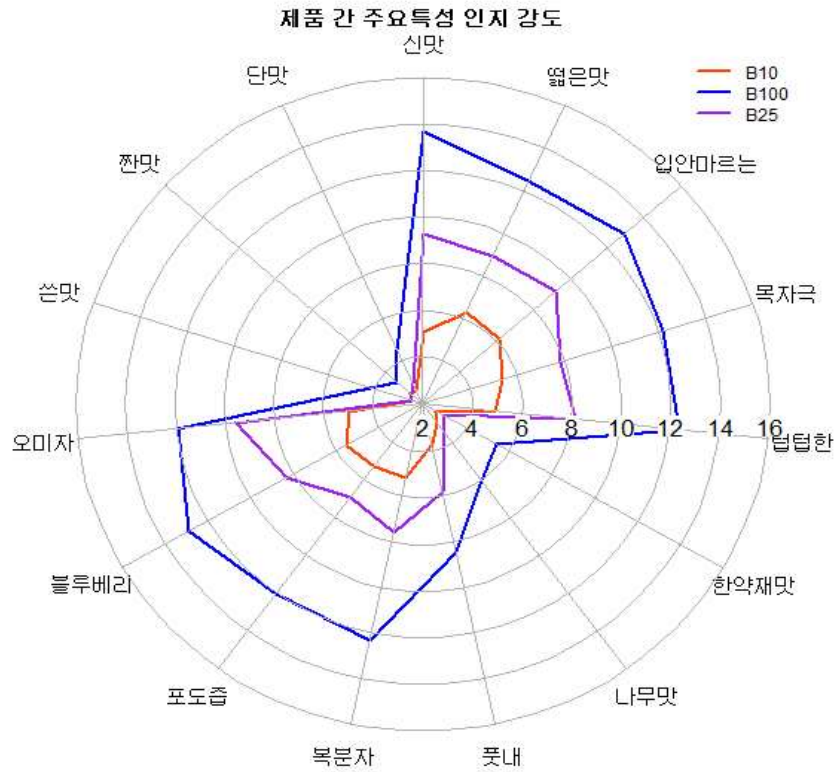


그림 43. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_B

표 25. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_C

속성	C10	C25	C100
신맛	6.42 ^{c 1)}	11.61 ^b	14.23 ^a
단맛	3.00 ^b	3.47 ^b	6.71 ^a
짠맛	2.47 ^b	2.86 ^b	3.66 ^a
쓴맛	2.36 ^b	2.81 ^b	5.51 ^a
오미자	6.14 ^c	10.33 ^b	12.00 ^a
블루베리	5.47 ^c	10.08 ^b	13.26 ^a
포도맛	5.61 ^c	9.11 ^b	12.54 ^a
복분자	5.42 ^c	8.64 ^b	12.94 ^a
풋내	3.86 ^c	6.47 ^b	8.00 ^a
나무맛	2.78 ^c	4.31 ^b	6.14 ^a
한약재맛	2.67 ^b	3.44 ^b	6.03 ^a
텁텁한	5.83 ^c	9.83 ^b	12.63 ^a
목자극	5.22 ^c	9.00 ^b	12.83 ^a
입안마르는	6.11 ^c	10.53 ^b	13.71 ^a
짙은맛	7.00 ^c	10.61 ^b	13.14 ^a

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 3개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

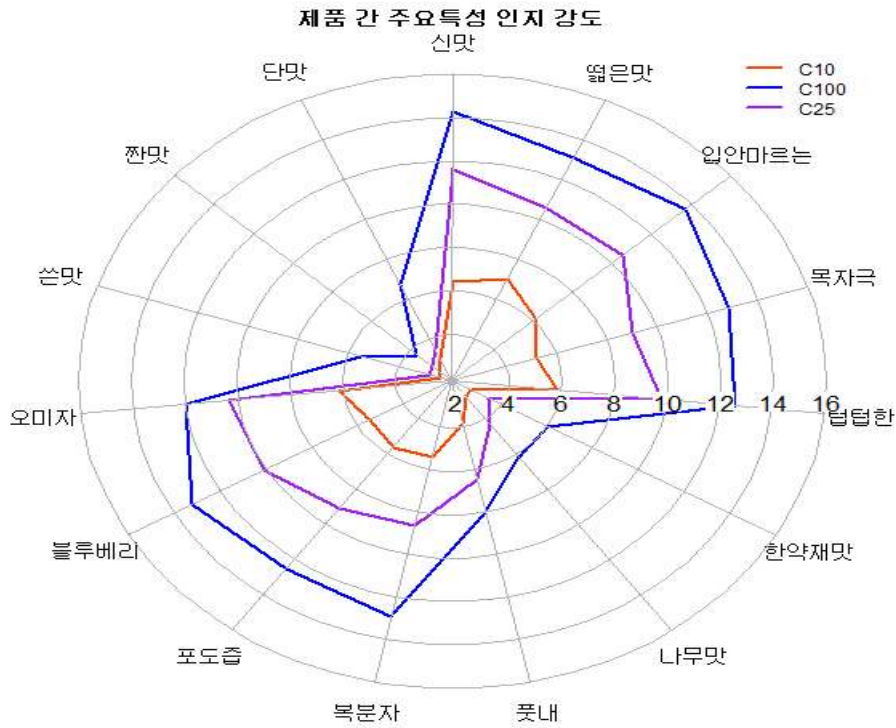


그림 44. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_C

표 26. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_D

속성	D10	D25	D100
신맛	7.31 ^{c 1)}	11.39 ^b	13.36 ^a
단맛	3.00 ^b	3.39 ^b	4.61 ^a
짠맛	2.44 ^c	3.08 ^b	3.56 ^a
쓴맛	2.42 ^b	2.72 ^b	3.97 ^a
오미자	6.97 ^c	10.06 ^b	11.83 ^a
블루베리	6.81 ^c	9.00 ^b	12.28 ^a
포도맛	5.67 ^c	8.19 ^b	11.56 ^a
복분자	5.83 ^c	8.50 ^b	12.06 ^a
꽃내	5.17 ^c	6.75 ^b	8.14 ^a
나무맛	3.22 ^b	4.36 ^a	5.25 ^a
한약재맛	2.92 ^b	4.25 ^a	4.83 ^a
텃텃한	5.42 ^c	9.00 ^b	11.64 ^a
목자극	4.72 ^c	8.78 ^b	12.06 ^a
입안마르는	6.28 ^c	9.81 ^b	12.92 ^a
뽀은맛	6.78 ^c	10.28 ^b	12.14 ^a

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 3개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

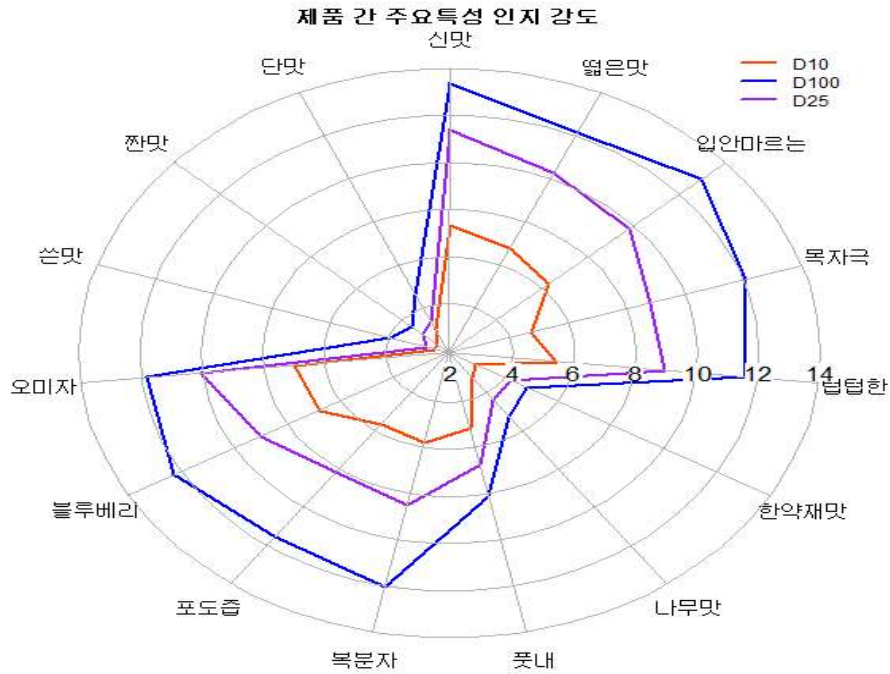


그림 45. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_D

표 27. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_E

속성	E10	E25	E100
신맛	2.92 ^{c 1)}	4.39 ^b	7.03 ^a
단맛	2.61 ^b	2.97 ^b	4.72 ^a
짠맛	2.19 ^b	2.42 ^{ab}	2.58 ^a
쓴맛	2.06 ^a	2.28 ^a	2.33 ^a
오미자	3.28 ^c	4.64 ^b	6.56 ^a
블루베리	3.86 ^c	5.56 ^b	8.39 ^a
포도맛	3.92 ^c	6.08 ^b	8.03 ^a
복분자	3.61 ^c	5.75 ^b	8.67 ^a
꽃내	3.00 ^c	4.25 ^b	5.69 ^a
나무맛	2.78 ^b	4.03 ^a	4.44 ^a
한약재맛	2.75 ^b	3.33 ^b	4.33 ^a
텃텃한	3.47 ^c	5.78 ^b	8.28 ^a
목자극	3.47 ^c	4.83 ^b	6.67 ^a
입안마르는	4.06 ^c	6.31 ^b	7.89 ^a
뽀은맛	4.25 ^c	6.89 ^b	8.67 ^a

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 3개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

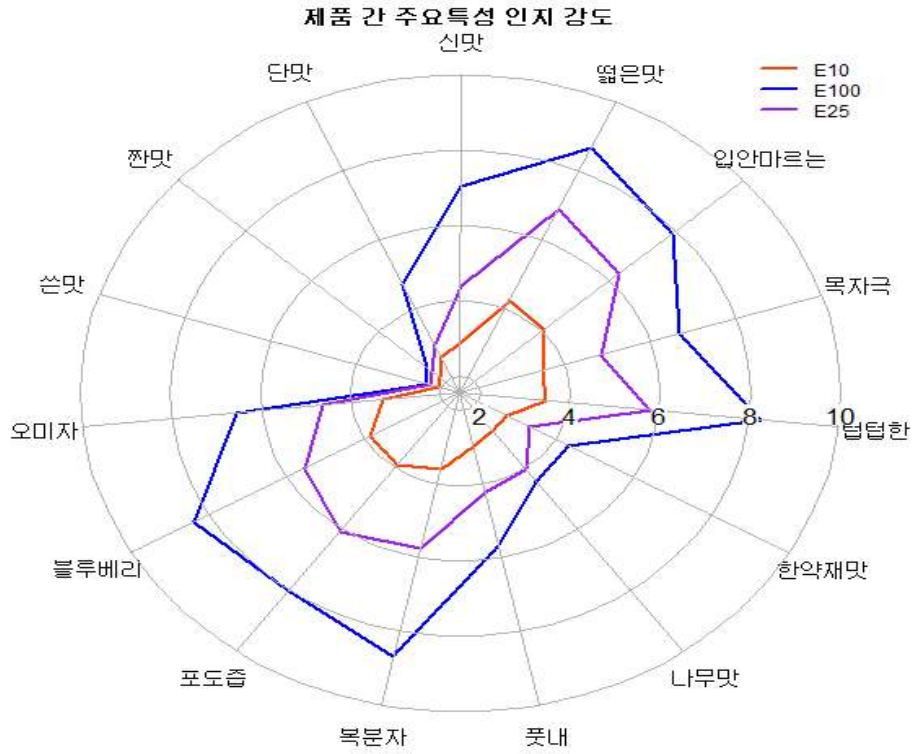


그림 46. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 묘사분석_E

(마) 소비자 기호도 조사 결과

① 25% 희석액

㉞ 종합기호 및 종합선호

A25, B25, C25, D25가 E25보다 종합기호가 뚜렷하게 높으며, 시료 간 기호도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다. 종합선호에서 A25와 C25가 B25와 E25보다 선호도가 뚜렷하게 높은 것으로 평가되었다.

표 28. 종합기호 및 종합선호 - 소비자 기호도_25% 희석액

	A25	B25	C25	D25	E25
종합기호 평균	4.56 ^{a 2)}	4.69 ^a	4.91 ^a	4.67 ^a	3.77 ^b
종합선호 순위합	252 ^b	292 ^a	252 ^b	256 ^{ab}	292 ^a

1) 순위합이 적을수록 선호도가 높은 시료임.
2) 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

㉟ 세부기호

외관기호는 상대적으로 A25, B25, C25가 E25보다 좋은 것으로 평가되었다. 향미기호는 상대적으로 E25가 좋지 않은 것으로 평가되었다. 뒷맛기호는 C25가 E25보다 좋은 것으로 평가되었다.

표 29. 세부기호 - 소비자 기호도_25% 희석액

	A25	B25	C25	D25	E25
외관기호	6.16 ^{a 1)}	5.94 ^a	6.14 ^a	5.89 ^{ab}	5.61 ^b
향미기호	4.77 ^a	4.66 ^a	4.97 ^a	4.70 ^a	3.75 ^b
입안느낌	4.77 ^a	4.94 ^a	4.89 ^a	4.78 ^a	4.38 ^a
뒷맛기호	4.77 ^{ab}	4.67 ^{ab}	5.06 ^a	4.78 ^{ab}	4.44 ^b

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

㊤ 속성강도

A25, B25, C25, D25, E25의 소비자 기호도 평가의 속성 강도를 그림 23과 표 30에 나타내었다.

A25는 상대적으로 신맛, 복분자맛, 오미자맛, 베리맛, 입안이 마르는 정도, 포도맛, 텁텁한 정도, 풋내가 강한 것으로 평가되었다. B25는 상대적으로 복분자맛이 약한 것으로 평가되었다.

C25는 상대적으로 신맛, 베리맛, 포도맛, 뽕은맛, 오미자맛, 복분자맛, 단맛, 목자극 정도, 텁텁한 정도, 입안이 마르는 정도, 풋내가 강한 것으로 평가되었다. D25는 상대적으로 목자극, 뽕은맛, 복분자맛, 오미자맛, 포도맛, 풋내, 텁텁한 정도, 베리맛, 단맛, 신맛이 강한 것으로 평가됨. E25는 상대적으로 약재맛, 나무맛, 입안이 마르는 정도, 풋내, 포도맛, 단맛, 텁텁한 정도, 뽕은맛, 복분자맛, 목자극 정도, 베리맛, 오미자맛, 신맛이 약한 것으로 평가되었다.

신맛은 A25와 C25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 단맛, 오미자맛, 복분자맛, 풋내, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도는 E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 베리맛, 포도맛은 A25와 C25가 뚜렷하게 강하고 E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 뽕은맛은 C25가 뚜렷하게 강하고, E25가 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

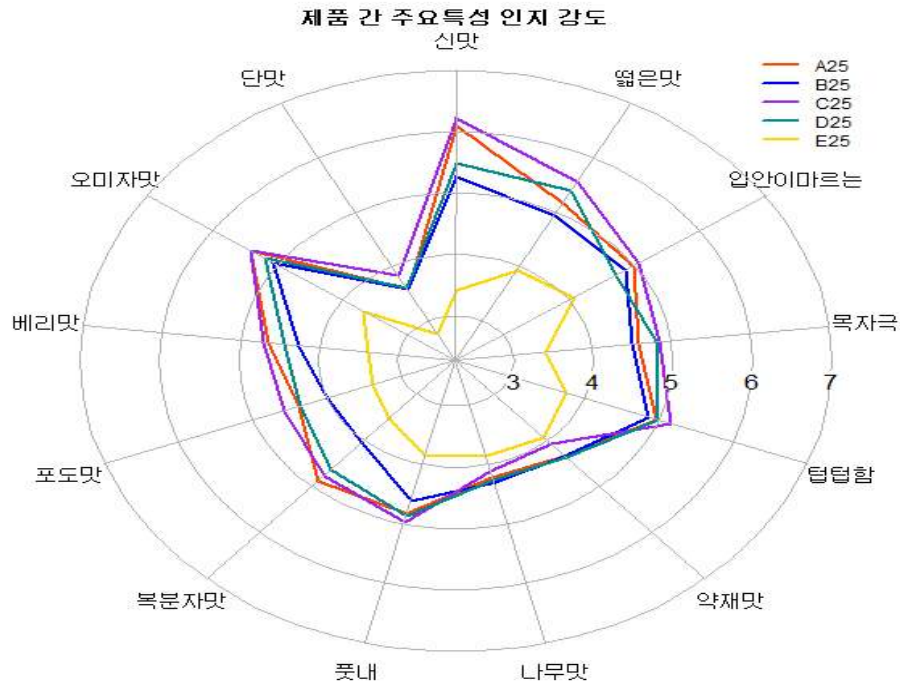


그림 46. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 소비자 기호도 25%
희석액

표 30. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 소비자 기호도_25%

	A25	B25	C25	D25	E25
신맛	6.09 ^{a 1)}	5.27 ^b	6.22 ^a	5.48 ^b	3.42 ^c
단맛	3.58 ^a	3.58 ^a	3.83 ^a	3.62 ^a	2.77 ^b
옅은맛	5.41 ^a	5.06 ^a	5.41 ^a	5.20 ^a	3.69 ^b
베리맛	4.64 ^a	4.27 ^b	4.72 ^a	4.45 ^{ab}	3.39 ^c
포도맛	4.38 ^a	4.00 ^b	4.58 ^a	4.36 ^{ab}	3.38 ^c
복분자맛	4.88 ^a	4.05 ^b	4.77 ^a	4.64 ^a	3.53 ^c
풋내	4.83 ^a	4.62 ^a	4.97 ^a	4.88 ^a	3.86 ^b
나무맛	4.22 ^a	4.31 ^a	4.12 ^a	4.27 ^a	3.86 ^a
약재맛	4.34 ^a	4.33 ^a	4.08 ^a	4.36 ^a	3.94 ^a
텁텁함	4.98 ^a	4.86 ^a	5.17 ^a	5.00 ^a	3.75 ^b
목자극	4.59 ^a	4.50 ^a	4.86 ^a	4.81 ^a	3.41 ^b
입안이마르는	4.98 ^a	4.86 ^a	5.06 ^a	4.73 ^a	4.09 ^b
단맛	5.17 ^{ab}	4.94 ^b	5.55 ^a	5.39 ^{ab}	3.94 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

㉔ 인지희망

표 30-1. 제품 별 인지 강도 - 소비자 기호도 25% 희석액

	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이마르는	뽀은맛
A25	6.09 ^{b1)}	3.58 ^b	5.41 ^a	4.64 ^b	4.38 ^b	4.88 ^b	4.83 ^a	4.22 ^a	4.34 ^a	4.98 ^a	4.59 ^a	4.98 ^a	5.17 ^a
희망강도 ²⁾	4.91 ^a	5.12 ^a	5.40 ^a	5.42 ^a	5.48 ^a	5.39 ^a	4.16 ^b	3.80 ^a	4.17 ^a	4.12 ^b	4.23 ^b	4.38 ^b	4.17 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이마르는	뽀은맛
B25	5.27 ^a	3.58 ^b	5.06 ^a	4.27 ^b	4.00 ^b	4.05 ^b	4.62 ^a	4.31 ^a	4.33 ^a	4.86 ^a	4.50 ^a	4.86 ^a	4.94 ^a
희망강도	4.91 ^a	4.97 ^a	5.40 ^a	5.42 ^a	5.06 ^a	5.39 ^a	4.16 ^b	3.80 ^b	4.36 ^a	4.17 ^b	4.33 ^a	4.12 ^b	4.16 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이마르는	뽀은맛
C25	6.22 ^a	3.83 ^b	5.41 ^a	4.72 ^b	4.58 ^b	4.77 ^b	4.97 ^a	4.12 ^a	4.08 ^a	5.17 ^a	4.86 ^a	5.06 ^a	5.55 ^a
희망강도	5.27 ^b	5.36 ^a	5.40 ^a	5.42 ^a	5.56 ^a	5.39 ^a	4.16 ^b	3.80 ^b	3.81 ^b	4.14 ^b	4.39 ^b	4.25 ^b	4.23 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이마르는	뽀은맛
D25	5.48 ^a	3.62 ^b	5.20 ^a	4.45 ^b	4.36 ^b	4.64 ^b	4.88 ^a	4.27 ^a	4.36 ^a	5.00 ^a	4.81 ^a	4.73 ^a	5.39 ^a
희망강도	5.03 ^b	5.08 ^a	5.40 ^a	5.42 ^a	5.31 ^a	5.39 ^a	4.16 ^b	3.80 ^b	4.03 ^a	4.19 ^b	4.39 ^b	4.16 ^b	4.25 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이마르는	뽀은맛
E25	3.42 ^b	2.77 ^b	3.69 ^b	3.39 ^b	3.38 ^b	3.53 ^b	3.86 ^a	3.86 ^a	3.94 ^a	3.75 ^a	3.41 ^b	4.09 ^a	3.94 ^a
희망강도	4.84 ^a	4.97 ^a	5.40 ^a	5.42 ^a	5.34 ^a	5.39 ^a	4.16 ^a	3.80 ^a	3.89 ^a	3.84 ^a	3.86 ^a	3.95 ^a	3.89 ^a

1) 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.
 2) 속성에 대해 희망하는 강도를 나타내는 것으로 인지강도 대비 개선요구를 볼 수 있는 지수입니다.

A25는 단맛, 베리맛, 포도맛, 복분자맛은 강하게, 신맛, 풋내, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽕은맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. B25는 단맛, 베리맛, 포도맛, 복분자맛은 강하게, 풋내, 나무맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽕은맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. C25는 단맛, 베리맛, 포도맛, 복분자맛은 강하게, 신맛, 풋내, 나무맛, 약재맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽕은맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. D25는 단맛, 베리맛, 포도맛, 복분자맛은 강하게, 풋내, 나무맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽕은맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. E25는 신맛, 단맛, 오미자맛, 베리맛, 포도맛, 복분자맛, 목자극 정도가 강하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

인지희망은 인지강도와 희망강도의 차이에서 소비자들의 관능품질 개선에 대한 요구 방향을 확인 할 수 있는 자료로써, 풋내, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽕은맛에 대해 현재 강도보다 약하게 변경되기를 바라는 것으로 볼 때, 음료에 있어 종합기호에 부정적 요인으로 판단된다.

② 원액

㉞ 종합기호

종합기호에선 시료 간 기호도 차이가 뚜렷하지 않으나, 종합선호에선 C100의 선호도가 뚜렷하게 높은 것으로 평가되었다.

표 31. 종합기호 및 종합선호 - 소비자 기호도_원액

	A100	B100	C100	D100	E100
종합기호 평균	5.00	5.14	5.23	4.84	5.27
종합선호 순위합	264 ^{abc 2)}	288 ^{ab}	232 ^c	300 ^a	260 ^{bc}

1) 순위합이 적을수록 선호도가 높은 시료임.

2) 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05).
다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

㉟ 세부기호

모든 세부기호에서 시료 간 기호 차이는 뚜렷하지 않음.

표 31. 세부기호 - 소비자 기호도 원액

	A100	B100	C100	D100	E100
외관기호	6.19	6.11	6.27	5.97	5.95
향미기호	5.22	5.25	5.28	4.88	5.08
입안느낌	4.77	5.06	5.20	4.83	5.19
뒷맛기호	5.00	4.95	4.86	4.86	5.09

㊤ 속성강도

A100, B100, C100, D100, E100의 소비자 기호도 평가의 속성 강도를 그림 24와 표 29에 나타내었다.

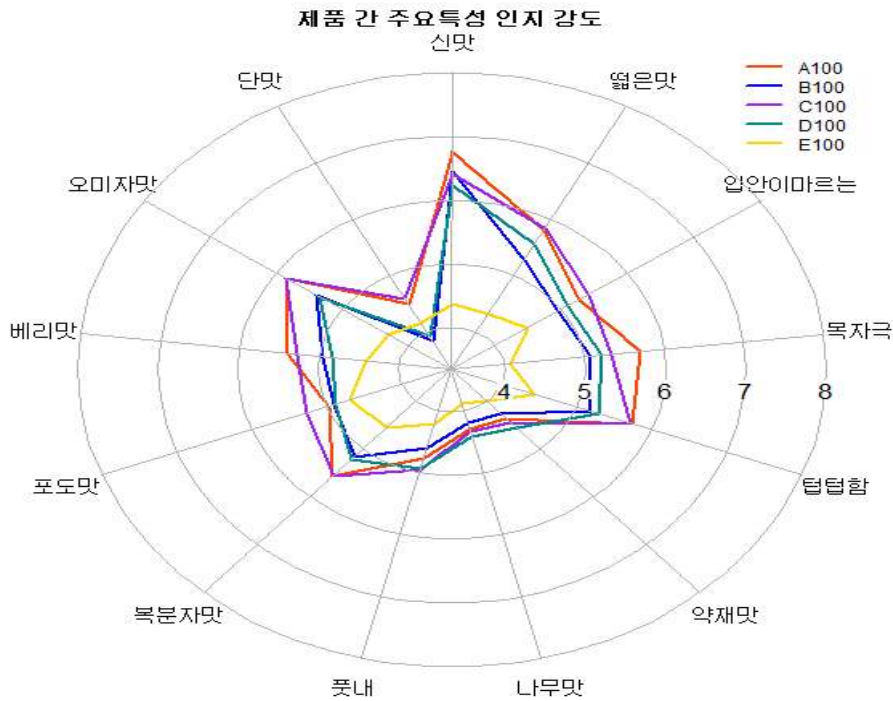


그림 47. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 소비자 기호도 원액

A100은 상대적으로 신맛, 목자극 정도, 오미자맛, 베리맛, 텁텁한 정도, 짠맛, 복분자 맛, 단맛, 입안이 마르는 정도가 강한 것으로 평가되었다. B100은 상대적으로 신맛은 강하나, 단맛은 약한 것으로 평가되었다. C100은 상대적으로 오미자맛, 단맛, 텁텁한 정도, 짠맛, 입안이 마르는 정도, 복분자맛, 신맛, 포도맛, 베리맛, 풋내, 목자극 정도가 강한 것으로 평가되었다. D100은 상대적으로 풋내, 신맛, 약재맛, 짠맛, 나무맛은 강하나, 베리맛과 단맛은 약한 것으로 평가되었다. E100은 상대적으로 약재맛, 포도맛, 나무맛, 풋내, 입안이 마르는 정도, 베리맛, 복분자맛, 텁텁한 정도, 짠맛, 목자극 정도, 오미자맛, 신맛이 약한 것으로 평가되었다.

신맛은 A100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 단맛은 A100과 C100이 뚜렷하게 강하고, B100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 오미자맛, 베리맛, 복분자맛, 텃텃함 정도, 짙은맛은 A100과 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 포도맛은 C100이 뚜렷하게 강한 것으로 평가되었다. 풋내는 E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 목자극 정도는 A100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다. 입안이 마르는 정도는 C100이 뚜렷하게 강하고, E100이 뚜렷하게 약한 것으로 평가되었다.

표 32. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 소비자 기호도 원액

	A100	B100	C100	D100	E100
신맛	6.75 ^{a 1)}	6.44 ^{ab}	6.41 ^{ab}	6.23 ^b	4.36 ^d
단맛	4.50 ^a	3.84 ^c	4.59 ^a	3.94 ^{bc}	4.16 ^b
오미자맛	5.84 ^a	5.38 ^b	5.86 ^a	5.34 ^b	4.30 ^c
베리맛	5.41 ^a	4.95 ^b	5.28 ^a	4.84 ^b	4.42 ^c
포도맛	4.98 ^{ab}	4.91 ^b	5.28 ^a	4.89 ^b	4.69 ^b
복분자맛	5.58 ^a	5.17 ^b	5.56 ^a	5.22 ^b	4.56 ^c
풋내	4.78 ^a	4.61 ^a	4.95 ^a	4.94 ^a	4.22 ^b
나무맛	4.30	4.20	4.34	4.41	3.89
약재맛	4.36	4.27	4.45	4.56	4.00
텃텃함	5.75 ^a	5.19 ^b	5.73 ^a	5.30 ^b	4.44 ^c
목자극	5.70 ^a	5.09 ^b	5.34 ^{ab}	5.23 ^b	4.08 ^c
입안이 마르는	5.27 ^{ab}	4.95 ^b	5.41 ^a	5.09 ^{ab}	4.48 ^c
짙은맛	5.81 ^a	5.28 ^b	5.83 ^a	5.56 ^{ab}	4.33 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

㉔ 인지희망

표 48. 제품 별 인지 강도 - 소비자 기호도 원액

	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이 마르는	뽀은맛
A100	6.75 ^a	4.50 ^b	5.84 ^a	5.41 ^a	4.98 ^b	5.58 ^a	4.78 ^a	4.30 ^a	4.36 ^a	5.75 ^a	5.70 ^a	5.27 ^a	5.81 ^a
희망강도	5.07 ^b	5.09 ^a	5.34 ^b	5.48 ^a	5.31 ^a	5.42 ^a	4.05 ^b	3.89 ^b	3.91 ^b	4.14 ^b	4.45 ^b	4.25 ^b	4.20 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이 마르는	뽀은맛
B100	6.44 ^a	3.84 ^b	5.38 ^a	4.95 ^b	4.91 ^b	5.17 ^a	4.61 ^a	4.20 ^a	4.27 ^a	5.19 ^a	5.09 ^a	4.95 ^a	5.28 ^a
희망강도	5.07 ^b	5.09 ^a	5.38 ^a	5.45 ^a	5.41 ^a	5.42 ^a	4.02 ^b	3.88 ^b	3.91 ^a	4.16 ^b	4.33 ^b	4.25 ^b	4.31 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이 마르는	뽀은맛
C100	6.41 ^a	4.59 ^b	5.86 ^a	5.28 ^a	5.28 ^a	5.56 ^a	4.95 ^a	4.34 ^a	4.45 ^a	5.73 ^a	5.34 ^a	5.41 ^a	5.83 ^a
희망강도	5.07 ^b	5.09 ^a	5.38 ^b	5.39 ^a	5.38 ^a	5.50 ^a	4.23 ^b	3.88 ^b	3.91 ^b	4.27 ^b	4.38 ^b	4.25 ^b	4.20 ^b
	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이 마르는	뽀은맛
D100	6.23 ^a	3.94 ^b	5.34 ^a	4.84 ^a	4.89 ^a	5.22 ^a	4.94 ^a	4.41 ^a	4.56 ^a	5.30 ^a	5.23 ^a	5.09 ^a	5.56 ^a
희망강도	5.07 ^b	5.09 ^a	5.16 ^a	5.22 ^a	5.19 ^a	5.34 ^a	4.30 ^b	4.03 ^b	3.91 ^b	4.23 ^b	4.33 ^b	4.25 ^b	4.27 ^b

	신맛	단맛	오미자맛	베리맛	포도맛	복분자맛	꽃내	나무맛	약재맛	텃텃함	목자극	입안이 마르는	뽀은맛
E100	4.36 ^b	4.16 ^b	4.30 ^b	4.42 ^b	4.69 ^b	4.56 ^b	4.22 ^a	3.89 ^a	4.00 ^a	4.44 ^a	4.08 ^a	4.48 ^a	4.33 ^a
희망강도	5.07 ^a	5.09 ^a	5.08 ^a	5.22 ^a	5.14 ^a	5.20 ^a	3.94 ^a	3.70 ^a	3.91 ^a	3.95 ^b	4.03 ^a	4.25 ^b	3.92 ^b

- 1) 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미($p < 0.05$). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.
2) 속성에 대해 희망하는 강도를 나타내는 것으로 인지강도 대비 개선요구를 볼 수 있는 지수입니다.

A100은 단맛, 포도맛은 강하게, 신맛, 오미자맛, 풋내, 나무맛, 약재맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽀은 맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. B100은 단맛, 베리맛, 포도맛은 강하게, 신맛, 풋내, 나무맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽀은맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. C100은 단맛은 강하게, 신맛, 오미자맛, 풋내, 나무맛, 약재맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽀은맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. D100은 단맛은 강하게, 신맛, 풋내, 나무맛, 약재맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽀은맛은약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다. E100은 신맛, 단맛, 오미자맛, 베리맛, 포도맛, 복분자맛은 강하게, 텁텁한 정도, 입안이 마르는 정도, 뽀은 맛은 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

원액에 대해선 풋내, 나무맛, 약재맛, 텁텁한 정도, 목자극 정도, 입안이 마르는 정도, 뽀은맛에 대해 현재 강도보다 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타나 음료에 있어 종합기호에 부정적 요인으로 판단되며, 단맛은 강하게 변경되기를 바라는 것으로 볼 때 긍정적 요인으로 판단된다.

(4) 주요 결과

25% 희석액의 종합기호에서 E25는 상대적으로 기호도가 낮은 것으로 나타나며, 종합 선호에서도 상대적으로 선호도가 낮은 것으로 평가되었다. 반면에 A25와 C25의 종합선호도가 높은 것으로 평가되었다.

원액의 종합기호에선 시료 간 기호도 차이가 뚜렷하지 않으나, 종합선호에선 C100의 선호도가 높은 것으로 평가되며, D100의 선호도가 상대적으로 낮은 것으로 나타났다.

25% 희석액에선, 외관, 향미, 뒷맛 기호에서 A25와 C25의 기호도가 상대적으로 높고, E25의 기호도가 상대적으로 낮은 것으로 평가되나, 원액에선 모든 세부기호에서 시료 간 기호도 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다. A와 C의 경우 대부분의 속성에서 상대적으로 강한 것으로 평가되었고, E는 25% 희석액과 원액에서 대부분의 속성 강도가 상대적으로 약한 것으로 평가되었다.

종합적으로 볼 때, C의 선호 및 기호도가 높아 상대적으로 관능품질이 우수하다고 판단된다.

(5) 최종결론

각 과채즙 혼합액 및 희석 용액에 대한 소비자 선호도 및 기호도 조사를 통해서 확인된 종합적인 판단은 다음과 같다.

E의 경우, 다른 혼합액과 달리 동일 농도 평가 시 감각적 자극이 상대적으로 약한 특징을 나타내고 있으며, 텁텁함, 뽀은, 입안 마름 등과 같은 음료에서 부정적 속성이라고 할 수 있는 속성들이 약한 것으로 평가되었다. 반면에 소비자 기호도 조사에서 가장 낮은 종합기호를 나타

내는 것으로 볼 때, 소비자 기호도는 부정적 속성이 약한 것도 중요하나 선호하는 특성들이 강하게 인지되는 것이 보다 중요하다는 것을 보여주고 있다. 이런 이유에서 E는 음료원료로 사용에 가장 불리할 것으로 판단된다. 세부기호에서도 외관, 향미, 뒷맛에 대한 기호도가 상대적으로 낮아 음료 개발 시 소비자 기호도 충족으로 위해 상대적으로 많은 노력이 필요할 것으로 판단된다.

D의 경우, 원액에 대한 종합기호는 다른 원액들에 비해 상대적으로 낮게 평가되었으나, 희석액으로 만들었을 경우, 선호나 기호가 B, E의 희석액에 비해 높게 나타나, 희석과 함께 부정적인 속성들이 많이 상쇄되는 것으로 판단된다. 음료 개발시, 원액 및 희석액에서 높게 나타나는 풋내, 나뭇맛 속성이 원료에서 기인한 맛 특성이란 점을 소비자에게 이해시킬 수 있는 적절한 소통방법이 필요할 것으로 판단된다.

C는 텁텁함, 뽀얍, 입안 마름, 목자극과 같은 음료의 부정적 속성으로 예상되는 특성이 상대적으로 강하게 인지되고 있으나, 긍정적 속성 역시 강하게 인지하는 것으로 나타났고, 종합기호와 뒷맛 기호에서 다른 시료에 비해 긍정적 반응이 높게 나타나고 있어 레시피 개발 시 텁텁함 등 부정적 속성을 최소화 할 경우 기호도가 높은 음료 개발이 가능할 것으로 판단된다.

A의 경우 부정적 속성과 긍정적 속성 모두 강하게 인지되고 있으며, 종합 선호와 기호도 또한 높으나, 희석액에서 종합기호에 대한 긍정도가 C보다 다소 낮은 것으로 평가되어 음료 개발 시 C에 비해 노력이 필요할 것으로 판단된다.

B의 경우 C와 A보다 상대적으로 종합선호도가 낮은 것으로 나타나며, 종합기호 및 세부기호 또한 C와 A보다 상대적으로 낮은 것으로 나타나, 음료 개발 시 상대적으로 추가 노력이 필요할 것으로 판단된다.

종합적으로 볼 때, 맛 품질을 기준으로 음료 개발에 가장 적합한 것으로 보이는 혼합액은 C로 판단되며, 향산화력 및 원가 경쟁력 등을 같이 고려한 C에 대한 차선으로 A, 그 다음의 B의 선택도 무리가 없는 것으로 판단된다. 국산원료 및 야채농축액 사용 등을 고려하여 음료 개발에 적합한 원료를 선택한다면, D가 적합할 것으로 판단된다.

2. 다양한 베리류의 항산화 특성 분석 및 항산화성 개선을 위한 시너지 효과 적용

가. 항산화 특성 분석

(1) 다양한 베리류 포함 과채류 10종의 총 페놀함량 및 항산화 활성 분석

(가) 총 페놀 함량

높은 항산화 활성을 가지고 있다고 보고된 과일류 8종(라즈베리, 블랙베리, 블루베리, 아사이

베리, 크랜베리, 산머루, 적포도, 아로니아)과 채소류 2종(시금치, 양배추)의 항산화 특성을 검토하기 위하여 먼저 각 시료에 함유되어 있는 페놀 함량을 측정하였으며, 페놀함량은 고형분을 기준으로 산출하였으며 gallic acid를 표준물질로 선정하여 gallic acid equivalent($\mu\text{mole GAE/g}$)로 나타냈다(그림 49).

식물계에 널리 분포되어 있는 주요 항산화 활성 성분인 페놀성 화합물은 구조내에 함유되어 있는 phenolic hydroxyl기가 수소공여와 페놀 고리구조의 공명안정화를 통해서 항산화 활성을 발현시킨다고 보고되었다.

시료 내에 함유된 총 페놀함량은 다음의 순서로 측정되었다.

아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 크랜베리 > 시금치 > 산머루 > 라즈베리 > 블루베리 > 적포도 > 양배추

전체 시료 중 아사이베리의 페놀 함량이 $986 \mu\text{mole GAE/g}$ 으로 유의적으로 가장 높았다. 그 다음은 아로니아, 블랙베리, 크랜베리의 순으로 전반적으로 베리류의 페놀함량이 높은 것으로 관측되었다. 또한 실험에 사용된 모든 과채류는 모두 $40 \mu\text{mole GAE/g}$ 이상의 페놀 함량이 비교적 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다.

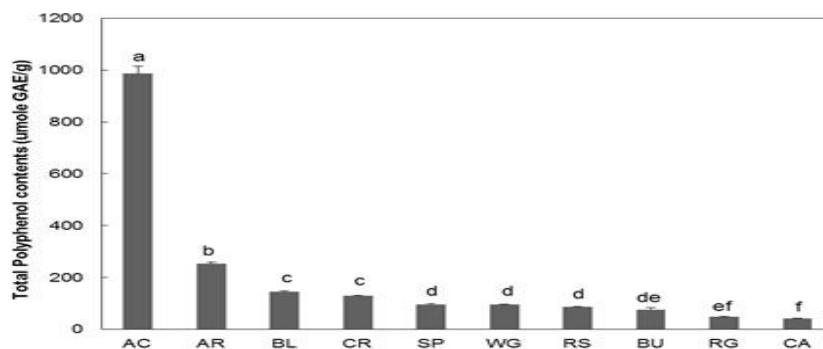


그림 49. 과일류와 채소류의 총 페놀 함량

AC, 아사이베리; AR, 아로니아; BL, 블랙베리; CR, 크랜베리; WG, 산머루; RS, 라즈베리; BU, 블루베리; CA, 양배추; SP, 시금치; RG, 적포도.

(나) 항산화 활성

각 시료의 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능, ORAC, ABTS 라디칼 소거능 측정을 통하여 분석하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 50%의 라디칼 소거활성을 나타내는 시료의 양(EC50)으로 나타내었다. FRAP 환원능과 ORAC 수치, ABTS 라디칼 소거능은 trolox로 표준곡선을 작성하여 농축액 1 g당 trolox equivalent($\mu\text{mole trolox/g}$)으로 표현했다 (그림 50).

DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 수치, ABTS 라디칼 소거능의 본 연구에서 측정된 모든 항산화 활성에서 아사이베리가 유의적으로 가장 높은 활성을 나타냈으며 그 다음

으로는 아로니아가 높은 활성을 나타냈다. 반면, 모든 항산화 분석에서 적포도가 가장 낮은 활성을 보였다. 그리고 전반적으로 그 외의 다른 시료들은 다소간의 차이는 있으나 유의적 차이 없는 비슷한 항산화 활성을 나타냈다. 따라서 본 연구에서 측정된 4 종류의 항산화 활성은 각기 다른 항산화 활성의 측면을 나타내고 있기는 하지만 시료 전반적으로 비슷한 경향을 가지고 있음을 알 수 있었다.

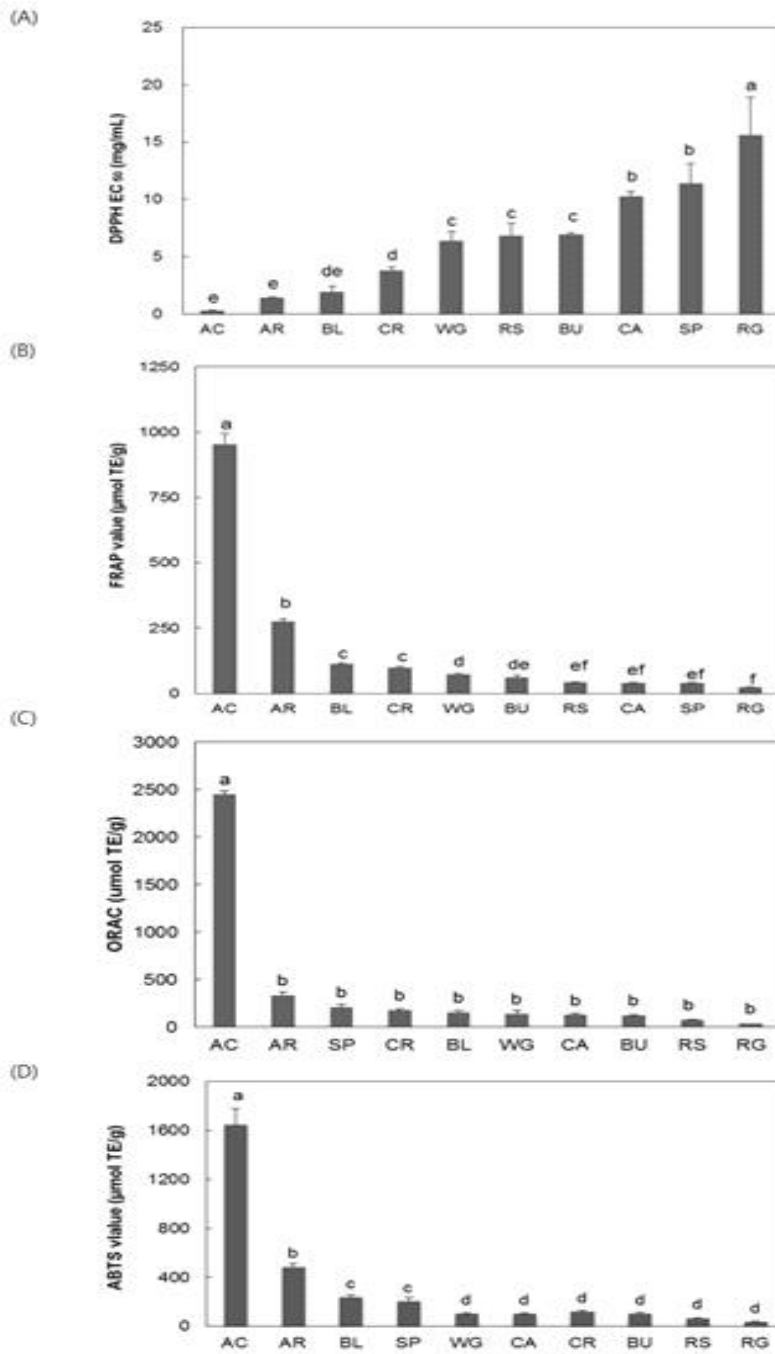


그림 50. 과일류와 채소류의 항산화활성

(DPPH 라디칼소거능 (A), FRAP 환원능 (B), ORAC 항산화능(C), ABTS 라디칼 소거능 (D)).

AC, 아사이베리; AR, 아로니아; BL, 블랙베리; CR, 크랜베리; WG, 산머루; RS, 라즈베리 ;

BU, 블루베리; CA, 양배추; SP, 시금치; RG, 적포도.

각 항산화 활성의 종류 별 시료의 활성순위는 다음과 같다.

DPPH 라디컬 소거능

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 크랜베리 > 산머루 > 라즈베리 > 블루베리 > 양배추 > 시금치 > 적포도

FRAP 환원능

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 크랜베리 > 산머루 > 블루베리 > 라즈베리 > 양배추 > 시금치 > 적포도

ORAC 수치

: 아사이베리 > 아로니아 > 시금치 > 크랜베리 > 블랙베리 > 산머루 > 양배추 > 블루베리 > 라즈베리 > 적포도

ABTS 라디컬 소거능

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 시금치 > 산머루 > 크랜베리 > 양배추 > 블루베리 > 라즈베리 > 적포도

아사이베리는 다른 시료들과 비교했을 때 DPPH와 ABTS 라디컬 소거능과 FRAP 환원능 뿐만 아니라 ORAC(oxygen radical absorbance capacity) 수치 또한 월등히 높은 것으로 확인되었다. 이는 안토시아닌, 폴리페놀, phytosterol 등과 같은 기능성분이 풍부하며 특히 1,420-14,800 $\mu\text{mol TE/g}$ 범위의 높은 ORAC 수치를 나타내는 orietin, homoorietin, vitexin, luteolin, chrysoeriol, quercetin, dihydrokaempferol 등의 주요 플라보노이드가 다량 함유되어 있기 때문으로 알려져 있다.

이러한 강력한 항산화 활성에 기인하여 아사이베리는 항염증 활성을 비롯하여 항고혈압 활성인 angiotensin converting enzyme(ACE)의 억제활성 및 심장질환 예방, 노화억제, 암예방, 소화기능개선, 체중감소, 대식세포와 혈관내피세포에서 nitric oxide를 생성하는 등 다양한 생리활성을 가지고 있다고 보고되고 있다. 따라서 음료 및 전통주를 비롯하여 다양한 식품군에 아사이베리를 활용한 제품개발이 활발히 진행되고 있다.

시료들 간에 다소의 차이가 있긴 하지만, 전반적으로 DPPH 라디컬 소거능과 FRAP 환원능은 매우 유사한 경향을 나타내는데, 시료를 활성 순으로 나열할 때 총 10개 시료 중 상위 5종이 아사이베리, 아로니아, 블랙베리, 크랜베리, 산머루의 동일한 순서로 측정되었다.

또한 페놀의 함량이 높았던 아사이베리와 아로니아, 블랙베리, 크랜베리는 DPPH 라디컬 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 수치, ABTS 라디컬 소거능 모두 높은 경향을 나타내므로 과채류의 항산화 활성은 페놀함량과 밀접한 관련이 있다고 추정된다.

나. 항산화성 개선을 위한 시너지 효과 적용

(1) 아사이베리의 항산화성 개선을 위한 시너지 효과 적용

(가) 항산화 시너지 물질 탐색

실험에 사용된 10종의 과채류 중 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능, FRAP 환원능과 ORAC 수치의 모든 측면에서 가장 높은 항산화 활성을 나타냈던 아사이베리를 베리류 중 주요 항산화 소재로 선정하였다. 따라서 아사이베리의 항산화 활성을 증진시킬 수 있는 항산화 상승물질을 선정하고자 하였다.

아사이베리와 항산화제 혼합비율을 통한 최대 상승작용을 알아보기 위하여 문헌 검색을 통해 ascorbic acid, catechin, trolox, chlorogenic acid로 1차 후보물질 4종을 결정하였으며 아사이베리와 위 네 가지 항산화 물질과의 혼합을 통해 항산화 시너지 효과를 관찰하였다. 실험은 각각의 시료가 활성이 동일하게 나오는 농도를 산출하여 아사이베리와 항산화제 혼합 비율은 활성 기준으로 1:1이 되도록 비율을 조정하여 실시하였다.

표 33. 아사이베리의 항산화 상승효과

	△ DPPH Radical scavenging effect (%) ¹⁾	△ ORAC value (umol/TE) ²⁾
Ascorbic acid	-3.18	1.23
Catechin	-2.77	-1.99
Trolox	2.45	-5.26
Chlorogenic acid	-3.82	-1.18

¹⁾ DPPH 상승효과: 계산상의 DPPH 활성 - 실측된 DPPH 활성

²⁾ ORAC 상승효과: 계산상의 ORAC 수치 - 실측된 ORAC 수치

아사이베리와 각 후보군과의 혼합에 의한 항산화실험 측정 결과(표 33), DPPH 라디칼 소거능의 측면에서는 trolox와 혼합했을 때 상승작용이 관측되었으며 ORAC 항산화 수치에서는 ascorbic acid와 혼합했을 때 상승작용이 관측되었다. 반면 catechin과 chlorogenic acid는 아사이베리와 DPPH와 ORAC 두 실험 모두에서 상승작용이 나타나지 않았다. 따라서 ascorbic acid와 trolox를 아사이베리와 상승작용을 나타낼 수 있는 혼합군으로 선정하였다.

(나) 항산화 시너지 물질의 혼합비율 최적화

아사이베리와 상승작용을 나타내는 ascorbic acid와 trolox의 혼합비율에 조절에 의해 최대 항산화 시너지 효과를 얻기 위하여, 반응표면분석(response surface methodology, RSM)을 이용하여 ascorbic acid와 trolox의 비율을 최적화하였다.

Ascorbic acid(X_1)와 trolox의 농도(X_2)를 반응표면분석의 독립변수(X_i)로 설정하였으며 이에 따른 ORAC 수치(Y_1)와 DPPH 라디칼 소거능의 시너지 효과(Y_2)를 종속변수로 설정하였다. 각 독립변수들은 표 34와 같이 -2, -1, 0, 1, 2의 다섯 단계로 부호화하여 실험값을 나타내었으

며 각각의 독립변수에 대한 실험영역 역시 예비실험에 의해 설정하였다.

실험모델은 중심합성계획(central composite design)에 의해 작성하였으며 총 10개의 실험구를 수행하였다. 각 실험구에 대한 결과는 Statistical Analysis System(SAS) program을 이용하여 2차 다항 회귀식을 구하고 각 영향인자에 대해 모델을 설명할 수 있는 1차 선형효과, 2차 곡선 효과 및 인자의 교호 작용을 살펴보며 회귀식을 이용하여 독립변수에 대한 종속값의 반응표면상태를 3차원 그래프와 등고선(contour plot)을 통해 관찰했다. Ascorbic acid 및 Trolox 항산화 상승작용에 대한 모델식은 다음과 같다.

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

이 때 b_0 는 절편을 나타내며, b_i , b_{ii} , b_{ij} 는 각각 1차 선형 및 2차 곡선, 인자 교호작용을 나타내는 회귀계수이다.

Ascorbic acid와 trolox의 농도를 조절한 총 10개의 실험조건에서 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능의 시너지 효과를 각각 측정하였다(표 35).

표 34. 중심합성계획을 이용한 독립변수 수준

Variables	Coded X_i	Coded level					ΔX
		-2	-1	0	1	2	
Ascorbic acid ($\mu\text{g/mL}$)	X_1	0	30	60	90	120	30
Trolox ($\mu\text{g/mL}$)	X_2	0	22.5	45	67.5	90	22.5

표 35. 중심합성계획에 의한 10개 실험조건에 따른 시너지 효과 수치

Run Number	Coded variables ¹⁾		Process variables		Δ ORAC ($\mu\text{mol/TE}$) ²⁾	Δ DPPH radical scavenging effect (%) ³⁾
	X_1	X_2	X_1	X_2		
1	-1	-1	30	22.5	8.2158	0.4659
2	1	-1	90	22.5	15.0624	3.2621
3	-1	1	30	67.5	6.8198	2.5741
4	1	1	90	67.5	8.7238	3.1774
5	0	0	60	45	15.6371	2.1433
6	0	0	60	45	15.4511	2.3785
7	-2	0	0	45	3.0483	-0.9439
8	2	0	120	45	4.0738	3.6390
9	0	-2	60	0	-1.4847	-0.6493
10	0	2	60	90	-6.6253	1.5555

¹⁾ X_1 = Ascorbic acid concentration ($\mu\text{g/mL}$), X_2 = Trolox concentration ($\mu\text{g/mL}$)

²⁾ ORAC 상승효과: 계산상의 ORAC 수치 - 실측된 ORAC 수치

³⁾ DPPH 상승효과: 계산상의 DPPH 활성 - 실측된 DPPH 활성

다양한 조건에서 혼합한 ascorbic acid와 trolox의 ORAC 수치 시너지효과는 -6.6253에서 15.6371 $\mu\text{mole/TE}$ 범위였으며 DPPH 라디컬 소거능의 경우 -0.9439에서 3.2621% 범위로 관측되었다. ORAC 수치의 최대 상승 효과와 최대 저해효과는 No.5과 10에서 각각 나타났으며 DPPH의 경우 최대 상승효과는 No.8, 최대 저해 효과는 No.7에서 나타났다. ORAC수치는 ascorbic acid와 trolox의 농도가 중간 지점(level 0)일 때 가장 시너지 효과가 우수한 것으로 확인되었으며, DPPH 라디컬 소거능의 경우 ascorbic acid가 높을수록 시너지가 크게 나타나는 경향이 나타났다.

종속변수인 ORAC 항산화 상승효과(Y_1 , $\mu\text{mol/TE}$)와 DPPH 라디컬 소거능 상승효과(Y_2 , Radical scavenging effect %)에 대한 독립변수들(X_1 = Ascorbic acid 농도($\mu\text{g/mL}$), X_2 = Trolox 농도 ($\mu\text{g/mL}$))의 영향을 다중 회귀분석을 수행한 결과 다음과 같은 다항 회귀식과 통계 결과(표 36 & 37)를 얻을 수 있었다.

표 36. ORAC 시너지 효과에 따른 다중 회귀분석

Independent variable	Coefficient	Standard Error	t-value	Significance Level (p)
Constant	-19.77828	5.656660	-3.50	0.0250
Linear		$R^2=0.0740$		
X_1	0.531406	0.108652	4.89	0.0081
X_2	0.940301	0.144869	6.49	0.0029
Quadratic		$R^2=0.8740$		
X_1^2	-0.003492	0.000621	-5.62	0.0049
X_2^2	-0.009969	0.001105	-9.02	0.0008
Interaction		$R^2=0.0123$		
X_1X_2	-0.001831	0.001687	-1.08	0.339
r^2				0.9583
F				18.36
Probability of F				0.0073

표 37. DPPH 시너지 효과에 따른 다중 회귀분석

Independent variable	Coefficient	Standard Error	t-value	Significance Level (p)
Constant	-5.819550	1.614319	-3.60	0.0227
Linear		R ² =0.6971		
X ₁	0.109414	0.031008	3.53	0.0243
X ₂	0.162926	0.041343	3.94	0.0169
Quadratic		R ² =0.1814		
X ₁ ²	-0.000316	0.000177	-1.78	0.1490
X ₂ ²	-0.001004	0.000315	-3.19	0.0334
Interaction		R ² =0.0505		
X ₁ X ₂	0.000812	0.000482	-1.69	0.1669
r ²				0.9290
F				10.47
Probability of F				0.0205

ORAC value (umol/TE, Y₁)

$$= -19.778283 + 0.531406X_1 + 0.940301X_2 - 0.001831X_1X_2 - 0.003492X_1^2 - 0.009969X_2^2$$

DPPH radical scavenging activity (% , Y₂)

$$= -5.819550 + 0.109414X_1 + 0.162926X_2 - 0.0008121X_1X_2 - 0.000316X_1^2 - 0.001004X_2^2$$

ORAC의 결정계수(coefficient of determination, R²)는 0.9583이고 유의성은 0.0073으로 5%로 이내 범위로 인정되었으며 DPPH의 경우도 결정계수 0.9290, 유의성이 0.0205로 이 역시 5%이 내의 범위에서 인정되었다. 따라서 본 연구에서 실시된 ascorbic acid와 trolox의 혼합에 의한 반응표면분석은 종속변수인 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능의 시너지효과를 예측할 수 있는 적합한 독립변수들과 그 수준이 결정되었으며 이를 예측할 수 있는 모델로 적합하다고 판단된다. 또한 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능의 시너지효과 모두 ascorbic acid 보다 trolox 농도변화에 의해 유의적으로 더 밀접하게 영향을 받는 것으로 관측되었다.

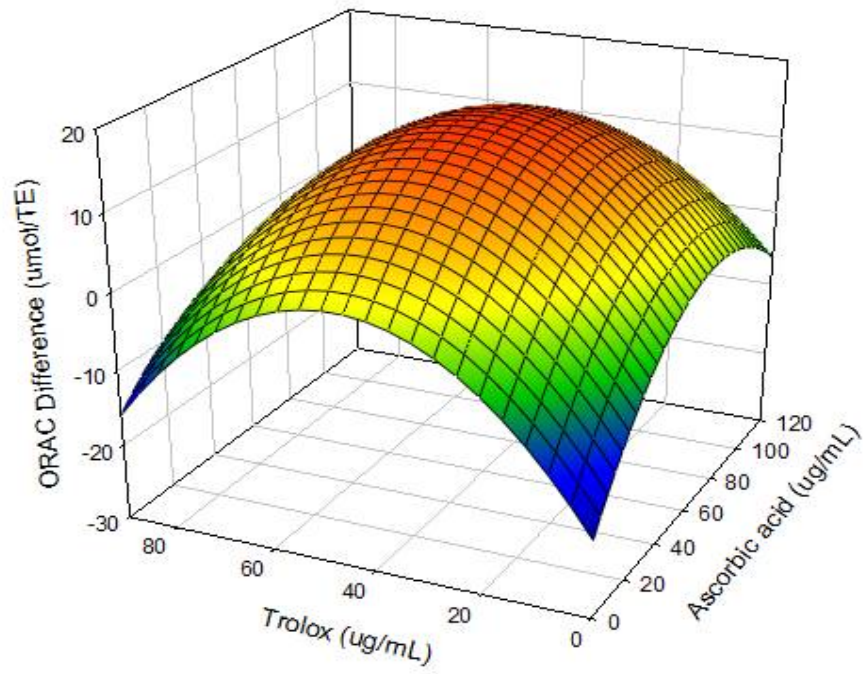
다중 회귀분석에 의해 설정된 모델식을 이용하여 독립변수(X₁=Ascorbic acid 농도(μg/mL), X₂=Trolox 농도(μg/mL))들 간의 상호간의 관계를 3차 그래프와 등고선 분석을 통하여 도식화 하였다(그림 51, 52). 두 실험에서 항산화 최대 상승작용을 나타낸 구간의 차이는 있었는데 이는 전자전달반응 실험방법의 DPPH와 수소원자전달반응에 의한 실험방법인 ORAC간의 실험 방법 기전 차이에 의한 것으로 판단된다.

ORAC 상승효과는 ascorbic acid는 약 50-90 μg/mL, trolox는 30-50 μg/mL의 농도범위에서 가장 높은 것으로 관측되었으며 적정범위 이상 ascorbic acid와 trolox의 농도가 낮거나 높았을 때에는 ORAC 수치가 오히려 감소되는 억제효과를 나타내기도 하였다. DPPH 라디칼 소거능 상승효과는 trolox 농도가 약 70 μg/mL 농도 이하일 때에는 ascorbic acid 농도가 증가됨에 따

라 증가되는 경향을 나타냈으나 trolox 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도 이상의 범위에서는 ascorbic acid 농도 변화에 따른 뚜렷한 경향이 관측되지 않았다.

ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능 모두에서 최대 상승작용을 나타낼 수 있는 ascorbic acid와 trolox의 혼합 비율을 결정하기 위하여 반응표면분석에 의한 등고선 그래프를 이용하였다. 즉, ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능에서의 상승효과에 대한 등고선 그래프를 중첩하여 두 항산화 반응에서 상승효과를 최대로 할 수 있는 trolox와 ascorbic acid의 공통 구간을 선정한 후 각 범위의 평균값으로 선정하여 ascorbic acid와 trolox의 최적 혼합 비율로 결정하였다 (그림 53).

(A)



(B)

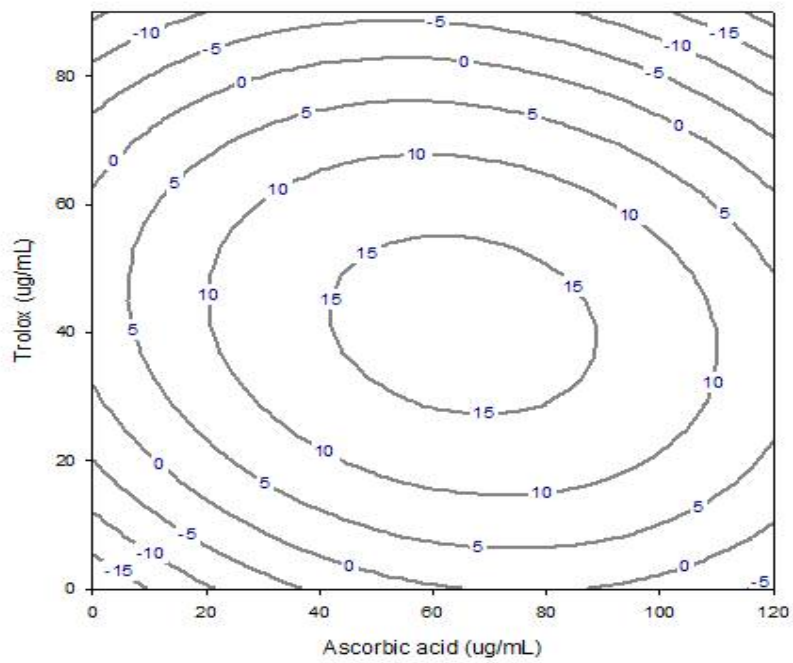
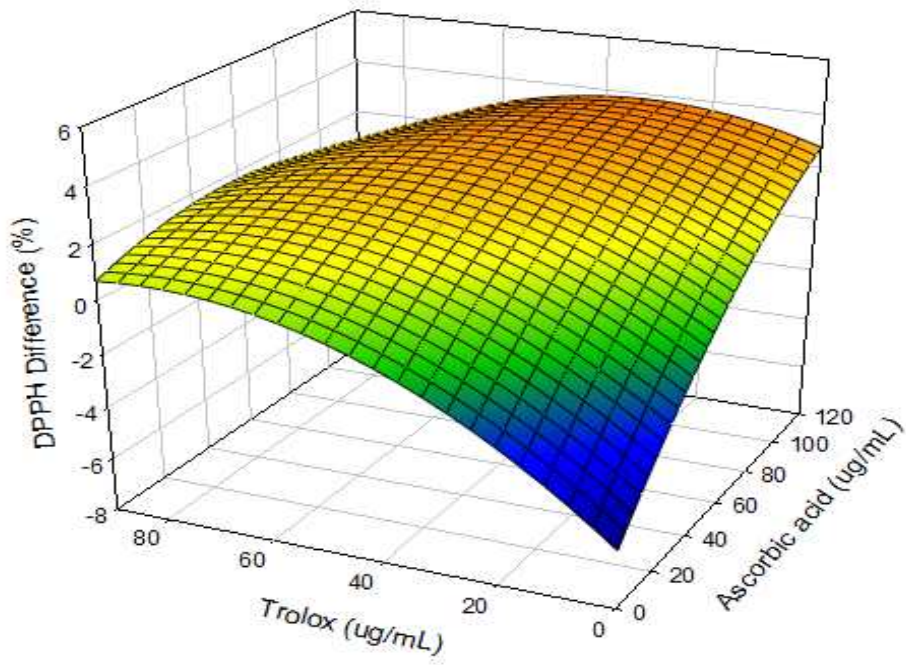


그림 51. Ascorbic acid 및 trolox 농도 조절에 따른 ORAC 상승효과의
(A) 3차 그래프 및 (B)등고선 그래프

(A)



(B)

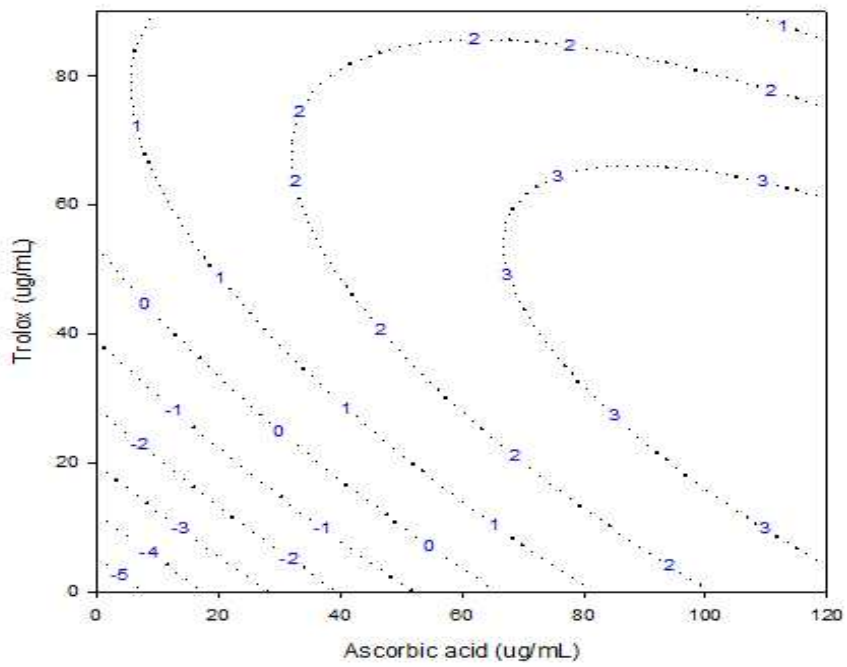


그림 52. Ascorbic acid 및 trolox 농도 조절에 따른 DPPH 상승효과의
(A) 3차 그래프 및 (B) 등고선 그래프

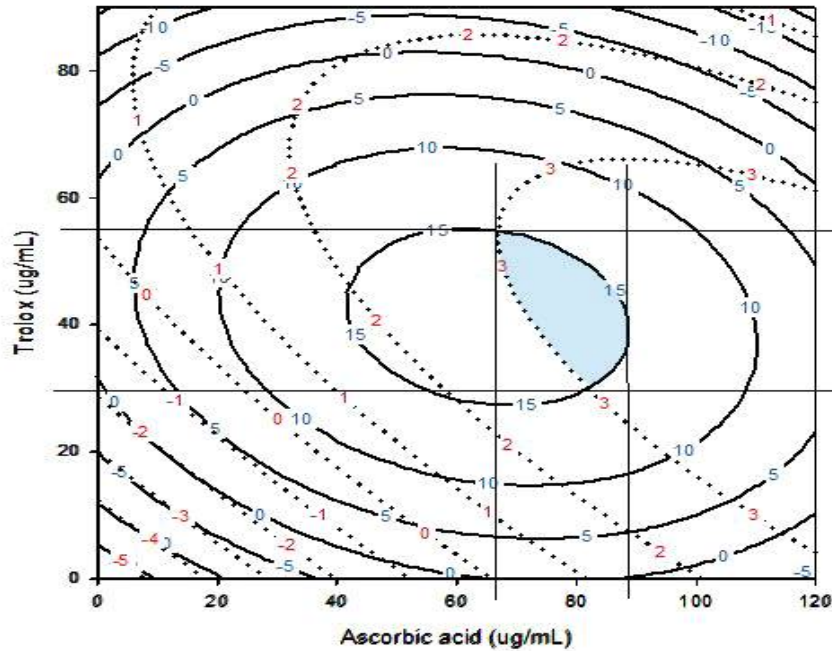


그림 53. ORAC 수치 및 DPPH 라디컬 소거능의 최대 상승작용을 나타내는 ascorbic acid와 trolox 농도 범위

통계적 방법에 의하여 산출된 항산화 최대 상승효과를 나타내는 ascorbic acid와 trolox의 최적 혼합 농도는 74.64 µg/mL와 47.88 µg/mL으로 각각 산출되었으며, 최적 농도에서의 trolox 대비 ascorbic acid의 비율이 1.00:1.56였다. 또한 상기 언급된 다항회귀식에 적용하여 산출한 이 조건에서의 ORAC 및 DPPH에서의 최대 상승효과는 16.06 µmol/TE, 3.17%로 각각 예측되었다.

최적조건에서 ascorbic acid와 trolox 혼합에 따른 항산화 상승 효과를 분석한 결과 ORAC에서는 약 17.21±5.10 µmole/TE의 상승효과가 관측되었으며 DPPH에서는 3.29±1.87%의 상승효과가 있음을 확인하였다(표 38). 예측값과 실측값은 매우 유사하며 모두 표준편차 범위내로 확인되었다. Ascorbic acid와 trolox의 최적 혼합비율에서의 상승효과는 각 항산화활성의 합계인 계산값과 비교했을 때 DPPH 라디컬 소거능은 5.3%, ORAC 항산화 수치는 13.6% 상승된 것이다.

표 38. 최적조건¹⁾에 따른 항산화 상승효과

	Expected values	Observed values
Synergistic ORAC value (µmole/TE)	16.06	17.21±5.10
Synergistic DPPH radical scavenging effect (%)	3.17	3.29±1.87

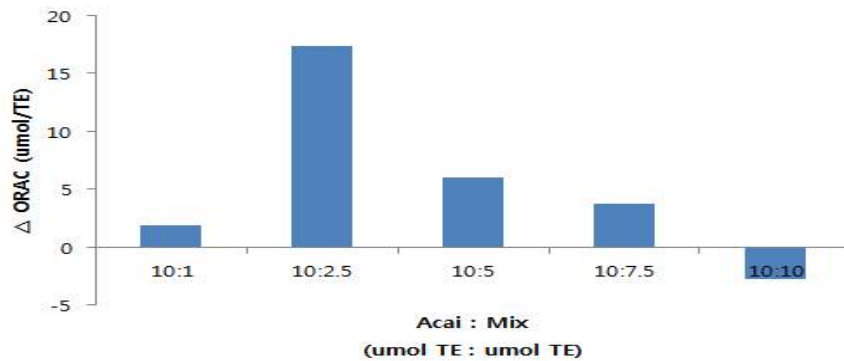
¹⁾ X₁: Ascorbic acid = 74.64 µg/mL, Trolox = 47.88 µg/mL

(다) 아사이베리-trolox-ascorbic acid 혼합비율에 의한 항산화 활성

반응표면분석에 의하여 ORAC과 DPPH 라디칼 소거능의 상승작용을 최대로 나타내는 trolox와 ascorbic acid의 비율은 1:1.56으로 산출되었다. 최적 비율로 혼합된 trolox와 ascorbic acid의 혼합액과 아사이베리의 혼합 비율에 따른 항산화 활성을 관측하기 위하여 아사이베리의 농도를 고정하고 trolox-ascorbic acid 혼합액의 농도를 달리하여 ORAC 수치 및 항산화 활성의 상승효과를 관측하였다(그림 30). 이때 아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합액의 항산화 활성을 기준으로 하여, 아사이베리 활성을 10으로 할 때 trolox-ascorbic acid 혼합액의 활성은 1에서 2.5, 5, 7.5, 10의 범위에서 혼합한 후 항산화 활성을 측정하였다.

ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능의 상승작용 모두 아사이베리에 대한 trolox-ascorbic acid 혼합액의 활성비율이 10:1에서 10:2.5로 증가됨에 따라 증가되다가 혼합액의 활성비율이 계속 증가됨에 따라서는 오히려 상승작용이 저하되었다. 특히 trolox-ascorbic acid의 항산화 활성이 아사이베리와 동일한 수준에서는 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능 모두 억제되는 현상이 관측되었다. 따라서 아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합액의 활성비율은 10:2.5일 때 가장 높은 상승작용을 나타내는 것으로 확인되었다.

(A)



(B)

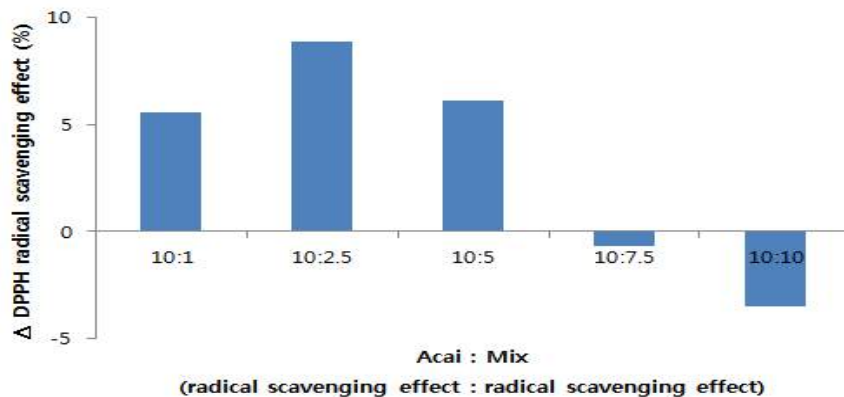


그림 54. 아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합비율에 따른 항산화 상승효과

(2) 과채류 혼합에 의한 항산화 상승효과

체내 조직의 산화적 손상은 당뇨병을 비롯하여 죽상동맥경화증, 류마티스 관절염과 같은 만성질환의 가장 근본적인 요인으로 알려져 있다. 따라서 산화적 스트레스로부터 인체를 보호하기 위하여 항산화 물질을 섭취함으로써 체내 항산화 균형을 유지하고자 노력하고 있다.

합성 항산화제는 항산화 활성과 경제적 측면에서 유리하여 널리 이용되어 왔으나, 생체효소나 지방에 대한 변이원성 및 독성, 발암성 등 안전성이 지적되면서 최근에는 합성 항산화제를 대체할 수 있는 효과적이고도 안전한 천연 항산화제에 대한 관심이 증가되고 있다.

가장 대표적인 항산화 식품은 널리 알려진 바와 같이 과일과 야채 등의 식물들이며 이들의 활성성분은 다양한 페놀산들을 비롯해서 flavanol, flavanones, flavones, flavonol, isoflavones, anthocyanin 등을 포함하는 플라보노이드류, 항산화성 비타민들(vitamin C & E)로 보고되었다.

천연 항산화 물질에 대한 여러 연구에 따르면 다양한 과일들 중에서도 아사이베리를 비롯하여 블루베리, 블랙베리, 크랜베리 등 각종 베리류들의 항산화 활성이 높았다. 전 세계 과일 생산량의 약 30% 차지하고 있는 포도는 resveratrol을 비롯한 각종 항산화 성분들이 함유되어 있어 라디칼 소거능 및 환원능 등 우수한 항산화 활성이 보고되었다.

채소류의 총 페놀 함량과 항산화 활성에 대한 연구결과, 양파, 시금치, 양배추, 케일의 항산화 활성이 높았으며, 특히 시금치는 다른 채소류와 비교했을 때 페놀 함량이 월등히 높은 것으로 확인되었다. 이 외에도 감자, 마늘, 브로콜리 등도 항산화 활성이 높다고 보고되었으며, 채소류의 항산화 활성 성분으로는 myricetin, quercetin 등의 플라보노이드류가 많은 영향을 미친다고 알려져 있다. 이상과 같이 항산화 활성이 높은 여러 과채류들의 활성성분들과 항산화 특성에 대한 연구가 매우 활발하게 수행되고 있다.

천연 항산화 물질들은 안전성이 확보되었다는 장점이 있는 반면 합성 항산화제와 비교했을 때 항산화 활성이 낮다는 문제점 또한 지적되어왔다. 따라서 천연 항산화물의 활성을 증진시키기 위한 연구가 지속되어 왔다.

항산화 활성을 증진시킬 수 있는 가장 대표적인 방법은 항산화 성분들 간의 상승작용을 이용하는 것이다. 항산화 상승작용에 대해 연구는 많이 진행되어 왔지만 대부분 단일 활성성분들 간의 혼합에 의한 활성의 변화에 대한 연구를 중심으로 수행되어 왔으나, 항산화 식품인 과채류간의 혼합에 의한 항산화 활성 변화에 대한 연구는 거의 진행된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 항산화 활성이 높은 과채류간의 혼합에 의해서 항산화 상승작용이 우수한 혼합군 및 최적 혼합 비율을 분석하고자 하였다.

(가) 과채류 혼합군의 항산화 시너지 효과

과채류 혼합에 따른 항산화 활성을 관측하기 위하여 과일류 8종과 채소류 2종의 총 10종의 시료를 각각 혼합한 총 45종의 혼합군 시료를 제조하였다. 각 시료의 혼합 비율은 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 수치 모두 개별적 항산화 활성의 비율이 1:1이 되도록 농도를 조정하여 결정하였다. 또한, 각 시료들이 혼합되지 않은 단독의 활성들을 합산하여 얻은 혼합군의 계산값과 실제 각 시료들을 혼합한 혼합군의 실측값을 비교하여 항산화 시너지효과를 결정하였다.

과채류 혼합군의 다양한 항산화 활성 및 각 상승효과를 관측하기 위하여 혼합군의 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 수치, ABTS 라디칼 소거능을 각각 측정하였다. 이중 ABTS 라디칼 소거능은 예비실험 결과 모든 과채류 혼합군에서 상승작용이 관측되지 않아서 분석에서 제외하였다.

과채류 혼합군의 항산화 활성 분석을 위하여 통계분석을 이용하였다. 즉, 실측활성과 산출활성을 분석하여 실측활성이 산출활성에 비해 유의적으로 증가되었을 때 상승작용(synergistic interaction, SY)으로 판단하였다. 또한 실측활성이 산출활성보다 유의적으로 감소했을 때는 길항효과(antagonistic interaction, AN), 실측활성과 산출활성간의 유의적 차이가 관측되지 않았을 때는 첨가효과(additive interaction, AD)으로 판단하였다.

① 과채류 복합군의 DPPH 라디칼 소거능 및 상승효과

과채류 혼합군의 DPPH 라디칼 소거능 측정 결과(표 39), 총 45개의 혼합군 중 적포도+아사이베리, 적포도+양배추, 양배추+아사이베리, 양배추+아로니아의 4개 혼합군에서 상승작용을 나타냈다. 상승작용을 나타내는 4종의 혼합군 중 적포도, 아사이베리, 양배추가 공통적으로 존재하여 이들 시료 내 활성성분들이 다른 과채류 항산화 성분들과 상승작용을 나타낼 가능성이 높을 것으로 예측된다.

표 39. 과채류 혼합군의 DPPH라디칼 소거능 및 상승효과

Sample	DPPH radical scavenging activity (%)			Synergistic interaction	Sample	DPPH radical scavenging activity (%)			Synergistic interaction		
BL+BU	O	46.0±3.1*	E	53.4	An	CR+AR	O	44.7±2.2*	E	51.6	An
BL+CR	O	41.5±2.1*	E	50.9	An	RS+WG	O	46.4±3.3*	E	51.6	An
BL+RS	O	41.5±2.7*	E	46.9	An	RS+RG	O	41.2±3.4*	E	46.1	An
BL+WG	O	36.6±5.1*	E	51.1	An	RS+AC	O	35.5±4.6*	E	43.6	An
BL+RG	O	30.1±4.1*	E	45.7	An	RS+CA	O	43.4±4.9	E	42.0	Ad
BL+AC	O	33.1±3.4*	E	43.2	An	RS+SP	O	34.8±4.6*	E	41.6	An
BL+CA	O	36.7±3.1*	E	41.6	An	RS+AR	O	44.5±1.8*	E	47.7	An
BL+SP	O	31.7±3.4*	E	41.2	An	WG+RG	O	48.5±3.6	E	50.4	Ad
BL+AR	O	43.8±2.7	E	47.2	Ad	WG+AC	O	46.6±3.9	E	47.9	Ad
BU+CR	O	51.4±4.6*	E	57.8	An	WG+CA	O	48.4±4.7	E	46.2	Ad
BU+RS	O	48.5±3.6*	E	53.8	An	WG+SP	O	39.8±4.6	E	45.9	Ad
BU+WG	O	47.5±1.1*	E	58.0	An	WG+AR	O	52.2±2.3	E	51.9	Ad
BU+RG	O	40.8±2.7*	E	52.6	An	RG+AC	O	49.9±1.7*	E	42.4	Sy
BU+AC	O	51.9±3.8	E	50.1	Ad	RG+CA	O	47.1±3.0*	E	40.8	Sy
BU+CA	O	45.6±3.5	E	48.5	Ad	RG+SP	O	42.9±2.9	E	40.4	Ad
BU+SP	O	52.2±3.6	E	48.1	Ad	RG+AR	O	46.6±1.5	E	46.5	Ad
BU+AR	O	46.7±2.3*	E	54.1	An	AC+CA	O	48.2±2.4*	E	38.3	Sy
CR+RS	O	38.9±4.2*	E	51.3	An	AC+SP	O	36.2±1.6	E	37.9	Ad
CR+WG	O	46.2±3.5*	E	55.5	An	AC+AR	O	45.1±1.3	E	44.0	Ad
CR+RG	O	46.5±3.4	E	50.1	Ad	CA+SP	O	39.1±2.7	E	36.3	Ad
CR+AC	O	45.0±2.8	E	47.6	Ad	CA+AR	O	48.0±1.0*	E	42.3	Sy
CR+CA	O	53.1±5.8	E	46.0	Ad	SP+AR	O	36.4±2.2*	E	41.9	An
CR+SP	O	46.0±3.4	E	45.6	Ad						

*표시는 유의적 차이를 나타낸다(P < 0.05). AC, 아사이베리; AR, 아로니아; BL, 블랙베리; CR, 크랜베리; WG, 산머루; RS, 라즈베리; BU, 블루베리; CA, 양배추; SP, 시금치; RG, 적포도; O, 관측값; E, 계산값; Sy, 상승작용; Ad, 첨가작용; An, 저해작용.

또한 과채류의 혼합에 의해 항산화 활성이 오히려 감소되는 길항작용을 나타내는 혼합군도 다량 존재하였다. 따라서 식품 제품 개발을 위해 과채류를 혼합할 때 활성 변화에도 유의하여 혼합군을 결정해야 할 것으로 판단된다.

DPPH 라디컬 소거능에 가장 높은 상승작용을 나타내는 혼합군은 아사이베리와 양배추 혼합군으로 48%의 DPPH 라디컬소거능을 나타냈다. 이는 38%의 산출값과 비교했을 때 약 10%의 DPPH 라디컬 소거능이 증가된 것으로 확인할 수 있었다. DPPH 라디컬 소거능 산출값의 약 26%에 해당하는 수치로 매우 높은 상승효과로 판단된다.

② 과채류 복합군의 FRAP 환원능 및 상승효과

과채류 혼합군의 FRAP 환원능 및 상승효과를 분석한 결과는 표 40에 나타났다. 과채류 혼합에 의한 FRAP 환원능의 상승작용은 DPPH 라디컬 소거능보다 많은 군에서 관측되었는데, 총 45개의 혼합군 중 15개의 복합군에서 상승작용을 나타냈다.

FRAP 환원능에서 상승효과를 나타낸 15개 복합군을 분석한 결과, 혼합 빈도가 가장 높은 시료는 블루베리와 양배추, 산머루였으며 각 혼합빈도는 7, 5, 4회였다. 따라서 블루베리와 양배추, 산머루가 다른 과채류 항산화 성분들과 혼합되었을 때 FRAP 환원능의 상승작용을 유도할 가능성이 높은 것으로 추정되었다.

FRAP 환원능에 가장 높은 상승작용을 나타내는 혼합군은 블루베리와 크랜베리 혼합군으로 107.2 $\mu\text{mol trolox/L}$ 의 FRAP 환원능을 나타냈다. 이는 95.5 $\mu\text{mol trolox/L}$ 의 산출값과 비교했을 때 약 11.7%의 FRAP 환원능이 상승효과로 증가된 것으로 확인할 수 있었다. 이는 FRAP 환원능 산출값의 약 12%에 해당하는 수치로 매우 높은 상승효과로 판단된다.

표 40. 복합군의 FRAP 환원능 및 상승효과

Sample	FRAP value (umol trolox/L)	Synergistic interaction	sample	FRAP value (umol trolox/L)	Synergistic interaction
BL+BU O	91.5±2.8* E 85.1	Sy	CR+AR O	94.3±1.7* E 89.1	Sy
BL+CR	O 94.8±1.2 E 90.0	Ad	RS+WG	O 94.1±0.5 E 94.6	Ad
BL+RS	O 88.9±1.9 E 88.5	Ad	RS+RG	O 95.4±2.5 E 94.1	Ad
BL+WG	O 86.0±1.3 E 85.7	Ad	RS+AC	O 99.4±2.8* E 103.9	An
BL+RG	O 82.5±1.1 E 85.2	Ad	RS+CA O	105.6±2.0* E 101.5	Sy
BL+AC	O 93.0±1.6* E 95.1	An	RS+SP	O 101.0±2.5* E 107.6	An
BL+CA O	98.8±4.1* E 92.6	Sy	RS+AR	O 89.9±1.1 E 87.6	Ad
BL+SP	O 81.4±5.0* E 98.8	An	WG+RG	O 88.2±1.9* E 91.3	An
BL+AR O	81.0±3.1* E 78.7	Sy	WG+AC	O 93.3±2.4* E 101.2	An
BU+CR O	107.2±2.3* E 95.5	Sy	WG+CA O	100.6±1.0* E 98.7	Sy
BU+RS O	100.0±2.2* E 94.0	Sy	WG+SP	O 98.1±2.4* E 104.9	An
BU+W G	O 97.2±1.8* E 91.2	Sy	WG+AR O	88.3±2.4* E 84.8	Sy
BU+RG O	97.3±5.5* E 90.7	Sy	RG+AC	O 86.0±8.3* E 100.7	An
BU+AC O	105.0±2.3* E 100.6	Sy	RG+CA O	102.5±1.7* E 98.2	Sy
BU+CA O	106.0±2.4* E 98.1	Sy	RG+SP	O 97.8±2.4* E 104.4	An
BU+SP	O 106.1±2.8 E 104.3	Ad	RG+AR	O 84.2±1.3 E 84.3	Ad
BU+AR	O 85.8±1.4 E 84.2	Ad	AC+CA	O 94.0±6.2* E 108.1	An
CR+RS	O 99.6±1.0 E 98.8	Ad	AC+SP	O 100.3±4.9* E 114.2	An
CR+WG O	100.1±3.0* E 96.0	Sy	AC+AR	O 92.2±3.0 E 94.2	Ad
CR+RG	O 95.2±1.1 E 95.6	Ad	CA+SP	O 97.8±4.2* E 111.8	An
CR+AC	O 101.0±6.5 E 100.7	Ad	CA+AR	O 93.4±2.3 E 91.8	Ad
CR+CA	O 101.8±1.1 E 103.0	Ad	SP+AR	O 88.2±2.1* E 97.9	An
CR+SP	O 103.1±1.4* E 109.1	An			

*표시는 유의적 차이를 나타낸다(P < 0.05). AC, 아사이베리; AR, 아로니아; BL, 블랙베리; CR, 크랜베리; WG, 산머루; RS, 라즈베리; BU, 블루베리; CA, 양배추; SP, 시금치; RG, 적포도; O, 관측값; E, 계산값; Sy, 상승작용; Ad, 첨가작용; An, 저해작용.

③ 과채류 복합군의 ORAC 수치 및 상승효과

과채류 혼합군의 ORAC 수치 및 상승효과를 분석한 결과는 표 41과 같다. 과채류 혼합에 의한 ORAC 분석에서 상승작용을 나타낸 혼합군은 블루베리+양배추 혼합군이었다. 총 45개 혼합군 중 4종과 15종에서 상승효과를 나타냈던 DPPH 라디컬 소거능과 FRAP 환원능과 비교해봤을 때 확연한 차이를 나타낸다.

ORAC 항산화능에서 가장 높은 상승작용을 나타낸 블루베리+양배추 혼합군은 18.8 $\mu\text{mol trolox/L}$ 의 ORAC 수치를 나타냈다. 이는 17.1 $\mu\text{mol trolox/L}$ 의 산출값과 비교했을 때 약 1.78 $\mu\text{mol trolox/L}$ 만큼 ORAC 항산화능이 상승효과로 증가된 것으로 확인할 수 있었다. 이는 ORAC 항산화능 산출값의 약 10%에 해당하는 수치로 매우 높은 상승효과로 판단된다.

이상과 같이 과채류 혼합에 의한 상승작용을 DPPH 라디컬 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 항산화능을 통해 분석한 결과, DPPH 라디컬 소거능에서는 아사이베리+양배추 혼합군, FRAP 환원능에서는 블루베리+크랜베리 혼합군, ORAC수치는 블루베리+양배추 혼합군이 가장 높은 상승작용을 나타내는 혼합군으로 선정되었다. 또한 모든 혼합군은 산출된 활성과 비교했을 때 10% 이상의 매우 높은 상승효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

표 41. 복합군의 ORAC 수치 및 상승효과

Sample	ORAC value ($\mu\text{mol trolox/L}$)			Synergistic interaction	Sample	ORAC value ($\mu\text{mol trolox/L}$)			Synergistic interaction		
BL+BU	O	18.3±2.8	E	17.2	Ad	CR+AR	O	17.0±2.5	E	18.1	Ad
BL+CR	O	18.2±2.5	E	18.4	Ad	RS+WG	O	16.5±2.3	E	18.8	Ad
BL+RS	O	17.9±2.9	E	17.3	Ad	RS+RG	O	14.4±1.8*	E	19.0	An
BL+WG	O	18.6±2.6	E	18.7	Ad	RS+AC	O	15.0±3.0	E	17.5	Ad
BL+RG	O	16.2±2.2*	E	18.9	An	RS+CA	O	15.2±2.9	E	17.2	Ad
BL+AC	O	16.4±1.8	E	17.4	Ad	RS+SP	O	15.3±2.0	E	17.6	Ad
BL+CA	O	16.0±1.9	E	17.1	Ad	RS+AR	O	15.5±2.6	E	17.0	Ad
BL+SP	O	15.9±1.9	E	17.4	Ad	WG+RG	O	19.6±2.3	E	20.4	Ad
BL+AR	O	16.5±3.6	E	16.9	Ad	WG+AC	O	15.6±2.0*	E	18.9	An
BU+CR	O	17.0±1.9	E	18.4	Ad	WG+CA	O	18.1±2.6	E	18.5	Ad
BU+RS	O	16.4±3.1	E	17.3	Ad	WG+SP	O	16.4±2.4	E	18.9	Ad
BU+WG	O	18.1±2.3	E	18.7	Ad	WG+AR	O	16.3±2.3	E	18.4	Ad
BU+RG	O	16.9±2.3	E	18.9	Ad	RG+AC	O	17.0±2.3	E	19.1	Ad
BU+AC	O	17.5±1.9	E	17.4	Ad	RG+CA	O	19.8±1.4	E	18.8	Ad
BU+CA	O	18.8±2.2*	E	17.1	Sy	RG+SP	O	17.7±1.8	E	19.1	Ad
BU+SP	O	18.0±3.1	E	17.4	Ad	RG+AR	O	15.0±2.4*	E	18.6	An
BU+AR	O	14.6±2.5	E	16.9	Ad	AC+CA	O	15.8±1.5	E	17.3	Ad
CR+RS	O	15.9±2.4*	E	18.5	An	AC+SP*	O	14.0±2.0	E	17.6	An
CR+WG	O	17.6±2.4	E	19.9	Ad	AC+AR	O	15.0±2.1	E	17.1	Ad
CR+RG	O	16.5±2.3*	E	20.1	An	CA+SP	O	15.7±1.2	E	17.3	Ad
CR+AC	O	16.6±1.9	E	18.6	Ad	CA+AR	O	13.1±1.8*	E	16.8	An
CR+CA	O	17.0±2.3	E	18.3	Ad	SP+AR	O	15.6±4.0	E	17.1	Ad
CR+SP	O	16.8±2.6	E	18.6	Ad						

*표시는 유의적 차이를 나타낸다(P < 0.05). AC, 아사이베리; AR, 아로니아; BL, 블랙베리; CR, 크랜베리; WG, 산머루; RS, 라즈베리; BU, 블루베리; CA, 양배추; SP, 시금치; RG, 적포도; O, 관측값; E, 계산값; Sy, 상승작용; Ad, 첨가작용; An, 지해작용.

(나) 혼합 비율에 따른 항산화 활성

각 복합군 별로 항산화 활성이 가장 우수한 혼합비율을 결정하기 위하여, DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 수치 각각 가장 높은 상승작용을 나타내는 복합군의 혼합비율에 따른 항산화 활성의 변화를 관측하고자 하였다.

따라서 과채류간의 혼합에 의한 항산화 상승작용 측정 결과 선정된 3종의 복합군인 아사이베리+양배추 혼합군(DPPH 라디칼 소거능), 블루베리+크랜베리 혼합군(FRAP 환원능), 블루베리+양배추 혼합군(ORAC 항산화능)의 각 혼합비율에 따른 각 항산화 활성을 변화를 관측하였다.

복합군의 혼합비율은 활성을 기준으로 결정되었으며, 각 항산화 활성의 비율이 10:90, 30:70, 50:50, 70:50, 90:10이 되도록 각 시료의 농도를 조절하여 시료를 제조한 후 각 활성성을 측정하였다. 또한 각 활성의 상승효과는 시료 혼합에 의해 산출된 값과 실측값과의 차이로 결정하였다.

① 양배추와 아사이베리 혼합군

DPPH 라디칼 소거능에 가장 높은 상승작용을 나타내는 양배추+아사이베리 혼합군의 혼합비율에 따른 활성을 측정하기 위하여, 양배추와 아사이베리의 개별 활성비율을 기준으로 산정된 21.3:78.7에서 0.3:99.7(w/w, %)의 시료 농도 범위에서 시료를 제조한 후 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다(그림 55).

전반적으로 아사이베리의 농도가 증가됨에 따라 DPPH 라디칼 소거능 상승효과는 유의적으로 증가되는 경향을 나타냈으며, 양배추와 아사이베리의 활성 비율이 50:50(%:%)가 되는 2.9:97.1(w:w)의 혼합 비율일 때 8.7%의 가장 높은 상승작용이 측정되었다. 이는 혼합에 의해 산출된 DPPH 라디칼 소거능(49.3%)의 18%에 해당하는 수치로 매우 높은 상승작용을 나타내는 것으로 판단된다.

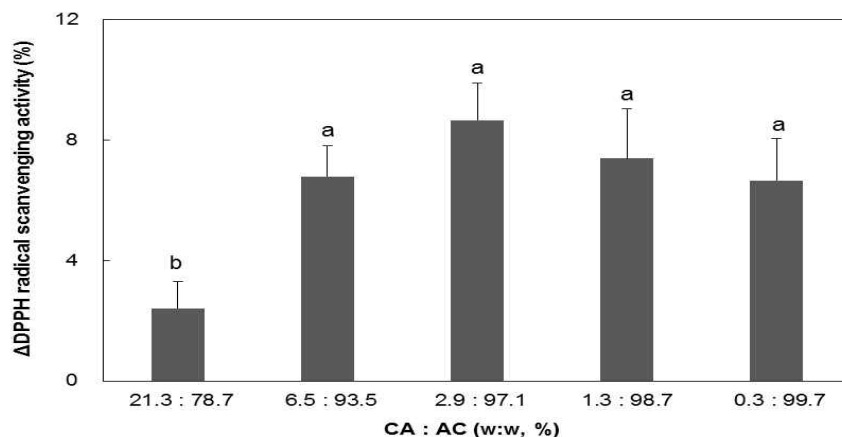


그림 55. 양배추(CA)와 아사이베리(AC) 혼합군의 DPPH 라디칼 소거능 상승작용

② 블루베리와 크랜베리 혼합군

FRAP 환원능의 측면에서 상승작용이 가장 높았던 블루베리와 크랜베리의 혼합군의 혼합 비율에 따른 활성 변화를 관측하기 위하여, 블루베리와 크랜베리의 개별 활성 비율을 기준으로 산정된 90:10에서 15.85(w/w, %)의 시료 농도 범위에서 블루베리+크랜베리 혼합액을 각각 제조한 후 FRAP 환원능을 측정하였다(그림 56). FRAP 환원능에서는 블루베리의 활성 비율이 10에서 70%까지 증가될 때 유의적으로 증가되는 경향을 나타냈으며 활성비율이 70% 이상 증가됨에 따라서는 유의적 차이가 나타나지 않았다.

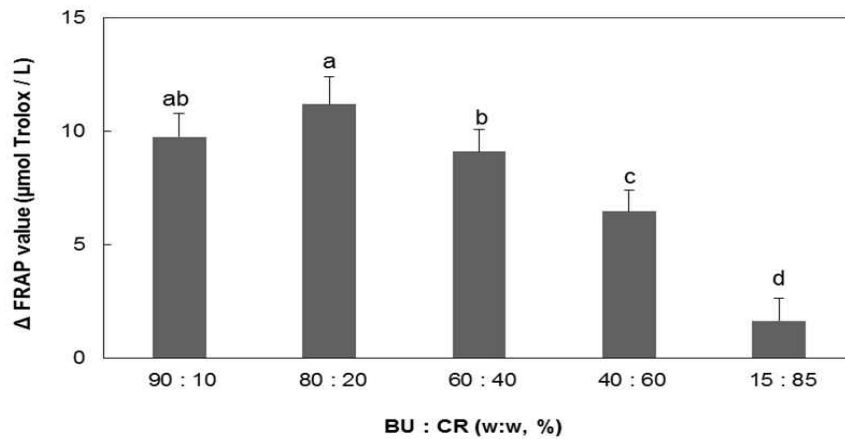


그림 56. 블루베리(BU)와 크랜베리(CR) 혼합군의 FRAP 환원능 상승작용

블루베리와 크랜베리의 활성 비율이 30:70(%:%)가 되는 80:20(w:w)의 혼합 비율일 때 11.2 μmol TE/L의 유의적으로 가장 높은 상승작용이 측정되었다. 이는 산출된 FRAP 환원능의 12%에 해당하는 수치이다.

블루베리와 크랜베리의 혼합비율에 따라서 상승효과는 1.5-12%까지 다양하게 관측되었다. 따라서 상승작용을 내는 복합군이라 할지라도 혼합비율에 따라 상승효과의 정도는 확연한 차이가 나타남을 확인할 수 있었다. 따라서 복합군의 선별뿐만 아니라 혼합비율도 활성에 많은 영향을 미치므로 유의하여 선정되어야 할 것이다.

③ 블루베리와 양배추 혼합군

과채류 복합군의 ORAC 활성 분석결과, 가장 높은 상승작용을 나타내는 블루베리와 양배추 혼합군의 혼합 비율에 따른 활성을 측정하였다(그림 57). 블루베리+양배추 혼합액 중 양배추의 활성비율이 10%에서 50%로 증가됨에 따라 ORAC 항산화 활성은 유의적으로 증가되다가 50% 이상으로 활성비율이 계속 증가되면 ORAC 항산화 상승효과는 오히려 감소되는 되는 것으로 관측되었다.

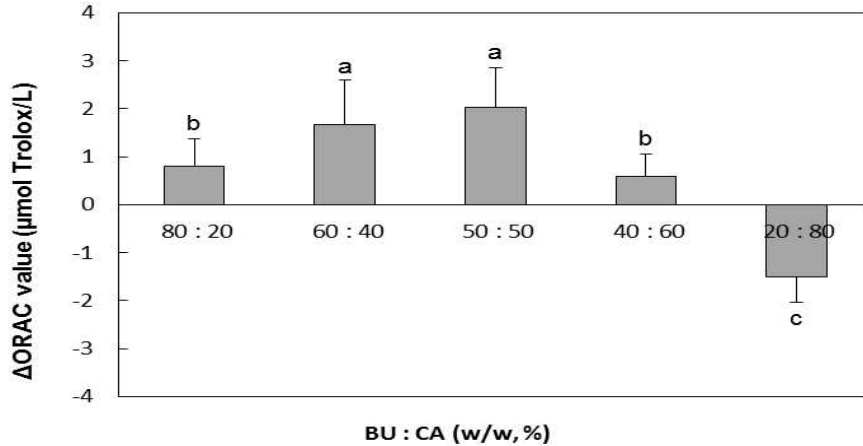


그림 57. 블루베리(BL)와 양배추(CA) 혼합군의 ORAC 상승작용

ORAC 항산화능의 상승효과는 블루베리와 양배추의 활성 비율이 50:50(%:%)가 되는 50:50(w:w)의 혼합 비율일 때 유의적으로 가장 높았으며 이때 관측된 ORAC 항산화 상승효과는 2.03 μmol trolox/L로 측정되었다. 이는 혼합에 의해 산출된 ORAC 항산화능의 11%에 해당 하는 수치이다.

(3) 구조분석을 통한 시너지효과 특성 분류

본 연구과제의 시료인 과채류 10종 내에 함유되어 있는 주요 항산화 활성성분들은 다음과 같다(표 42).

과채류에 주로 함유되어 있는 주요 항산화 활성 성분인 페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl 기가 수소공여와 페놀 고리구조의 공명안정화를 통해서 항산화 활성을 발현시킨다고 알려져 있다. 그 중에서도 특히 베리류 등의 주요 항산화 과채류들에는 anthocyanin류, flavonol류, flavanol류 등을 포함하는 flavonoid와 ligan, stilbens, tannins, phenolic acid 등이 주요 활성성 분으로 보고되었다.

과일류 및 채소류에 다량 함유된 flavonoid는 페놀화합물과 피란고리를 구성하고 있는 벤조 고리 형태의 구조를 이루고 있으며 수산기, 메톡실기, 배당체의 배열에 따라 그 성분들의 활성 차이는 달라진다.

즉, flavonoid는 OH기의 수에 따라 다른 활성을 나타내는데, flavonoid의 기본 구조 B ring 구조에서 3', 4' 2개의 OH기가 항산화 활성을 높이는 주요한 요소인데 반해서, 5'의 OH기는 오히려 항산화 활성을 낮춘다고 보고되었다. 따라서 베리류의 주요 활성성분인 anthocyanidin 을 항산화 활성 순으로 나타내면 Cyanidin > Pelargonidin > Malvidin > Peonidin의 순서이다. 이중, Cyanidin이 항산화 활성이 높은 것은 B ring 구조에서 3', 4' OH기를 모두 가지고 있기 때문이라고 할 수 있다. 또한 anthocyanidin에 glycosylation을 하게 될 경우 항산화 활성은

당 종류에 따라서도 항산화 활성이 영향을 받는다고 보고된 바 있다.

베리류를 포함한 과일류는 주로 flavonoid 중 anthocyanin과 그 전구체인 proanthocyanidin 및 procyanidin이 주요 항산화 활성성분으로 보고되고 있었다. 반면 양배추, 시금치의 채소류에는 flavonoid 중 kaempferol 등의 flavonol류가 주요 활성성분으로 알려져 있으며 양배추의 경우 다양한 phenolic acid 들이 함유되어 있었다.

과채류들을 혼합할 경우에는 함유되어 있는 활성성분에 따라 각각의 단일 활성보다 상승될 수도 혹은 저해될 수 있다. 플라보노이드 중 epicatechin과 quercetin-3-glucoside를 혼합하였을 때 가장 높은 항산화 상승작용이 나타난 반면 myceritin과 quercetin과 혼합 시에는 오히려 항산화 활성이 저해되는 현상이 나타났다는 보고가 있다.

전술한 바와 같이 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 환원능, ORAC 항산화 수치의 측면에서 상승작용을 나타낸 복합군은 각각 아사이베리+양배추 혼합군, 블루베리+크랜베리 혼합군, 블루베리+양배추 혼합군으로 확인되었다. 블루베리+크랜베리 혼합군을 제외한 두 개의 복합군 모두 과일류와 채소류의 혼합군으로 구성되어 있어서 주요 활성성분이 과일류에 함유되어 있는 anthocyanin류와 procyanidin류와 채소류에 함유되어 있는 다양한 flavonol 성분이 함께 함유될 때 서로간의 항산화 활성을 보강해주면서 상승작용을 나타낸 것으로 추정된다.

표 42. 베리류 포함 과채류들의 주요 항산화 활성성분

	Flavonoids			Tannin	Phenolic acid
	Anthocyanins	Flavonols	Flavanols		
Acaiberry	Cyanidin			Procyanidin	
Aronia	Cyanidin			Procyanidin	Chlorogenic acid
Blackberry	Cyanidin	Quercetin		Ellagitannin	
Raspberry	Cyanidin			Ellagitannin	
Blueberry	Delphinidin				Chlorogenic acid
	Malvidin				Ferulic acid
Cranberry	Peonidin	Quercetin			
	cyanidin				
	Malvidin				
Red grape	Cyanidin		Catechin		
	Delphinidin		Epicatechin		
Wild grape	Delphinidin petunidin			Proanthocyanidin	
Spinach		Kaempferol			
		Quercetin			
		Patuletin			
		Spinacetin			
Cabbage		Kaempferol			3-p-coumaroylquinic acid
					Sinapic acid derivatives

FRAP 환원능의 상승작용을 발현한, 블루베리와 크랜베리 혼합군의 경우는 크랜베리는 다른 과일류와 비교했을 때 flavonol 성분인 quercetin이 상대적으로 다량 함유되어 있기 때문에 Ellagitannin 성분을 주요 활성 성분으로 하는 블루베리와 혼합되었을 때 상승작용을 나타낸 것으로 추정된다.

다. 항산화 안정성 분석

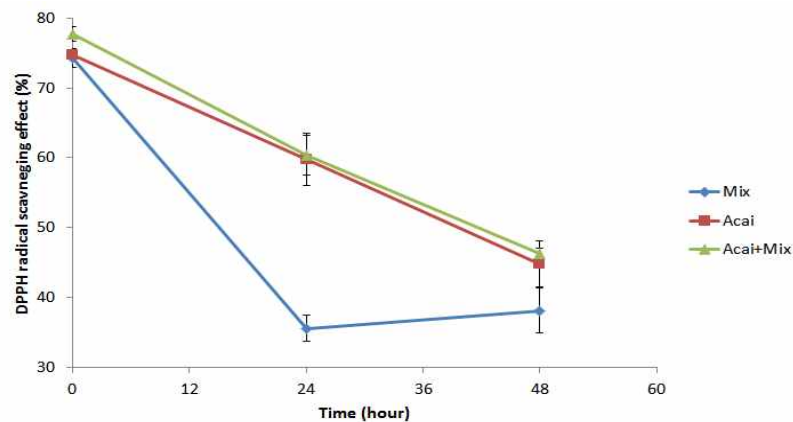
천연 항산화 성분 및 항산화 상승작용의 안정성을 파악하기 위하여 상기 연구에 의해 항산화 상승작용이 증가된 조건인 아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합액과 블루베리 양배추 혼합액, 그리고 아사이베리, trolox-ascorbic acid 혼합액, 블루베리, 양배추 농축액 각각을 50°C의 가속조건에서 저장하면서 저장기간에 따른 항산화 활성 및 항산화 상승작용이 안정성에 미치는 영향을 분석하였다(그림 34). 저장기간에 따른 항산화 상승작용의 변화를 관측하기 위하여 모든 시료는 산출치에 의해 동일한 항산화 활성을 나타내는 비율로 혼합하였다.

(1) 주요 과채류 및 상승성분의 항산화 안정성

천연의 단일 항산화 성분인 아사이베리와 블루베리, 양배추는 저장기간이 증가됨에 따라 항산화 활성이 급격히 감소되는 경향을 나타냈다. 이는 구조적으로 산화적 조건에 취약한 활성성분의 특성으로 인한 자연스러운 현상으로 여겨진다.

Trolox와 ascorbic acid 혼합액의 안정성은 천연 항산화 성분인 아사이베리, 블루베리, 양배추와 비교했을 때 월등히 낮은 것으로 관측되었다. 천연 항산화 성분들은 시료마다 다소의 차이는 있으나 전반적으로 저장 48시간까지 꾸준히 감소되어 저장 이전의 40-50%의 항산화 활성이 저하되는 경향을 나타냈다. 반면, trolox와 ascorbic acid 혼합액은 상대적으로 더욱 급격한 항산화 활성을 감소를 나타내어 저장 24시간에 52%의 항산화 활성이 감소되었다.

(A)



(B)

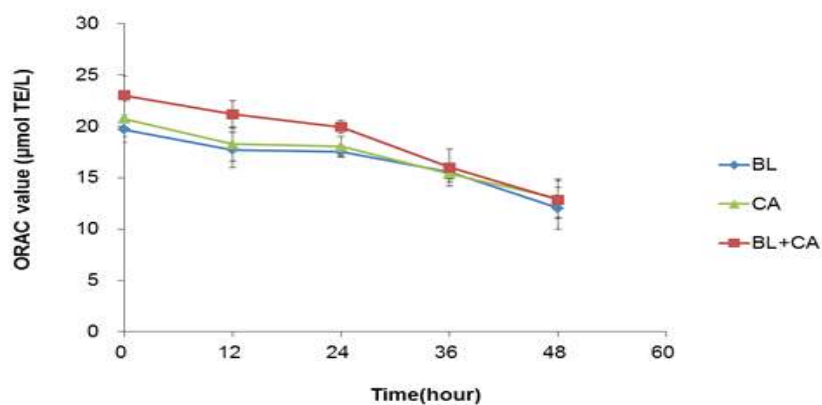


그림 58. 아사이베리-trolox-ascorbic acid 혼합액과 블루베리-양배추 혼합액의 항산화 안정성

(2) 과채류 혼합액의 항산화 안정성

아사이베리-trolox-ascorbic acid 혼합액의 경우, 저장기간이 증가됨에 따라 DPPH 라디칼 소거능을 통해서 관측된 모든 항산화 성분의 안정성은 급격한 감소를 나타냈다. 아사이베리만의 안정성과 비교해보면, 미미한 차이이긴 하지만 아사이베리보다 더 급격한 저하를 나타냈다. 이는 항산화 상승효과를 위해 첨가한 trolox-ascorbic acid 혼합액의 안정성이 특히 취약하기 때문인 것으로 판단된다.

또한 저장 초기에는 상기 전술한 바와 같이 아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합액에 따른 상승효과가 관측되었으나 저장기간이 증가되면서 상승작용이 감소되어, 저장 24와 48시간에는 아사이베리와 아사이베리-trolox-ascorbic acid 혼합액의 항산화활성을 동일하게 관측되었다.

이와 같은 현상은 블루베리-양배추 혼합액에서도 동일하게 관측되었다. ORAC 수치를 통해 항산화 안정성을 측정한 결과, 블루베리와 양배추 혼합액은 저장 초기에는 블루베리와 양배추 농축액의 혼합에 따른 상승효과가 측정되었다. 그러나 저장기간이 증가되면서 그 상승효과는 감소되어 저장 36시간이후에는 블루베리와 양배추, 블루베리-양배추 혼합액의 ORAC 수치가 유사하게 관측되었다.

이상과 같이 다양한 항산화 성분 및 상승효과를 나타내는 혼합액의 항산화 안정성을 측정한 결과, 모든 항산화 성분들은 저장안정성이 취약하여 50℃의 저장조건에서 초기 활성의 40-50%의 활성이 손실되는 것으로 확인되었다. 또한 상승작용을 나타내는 혼합액의 경우, 저장 초기에는 항산화 상승효과가 관측되지만 저장기간이 24-36시간 증가됨에 따라 상승효과 또한 감소되었으며, 항산화 성분의 감소율보다 상승효과의 감소율이 더욱 높은 것으로 확인되었다. 따라서 항산화 성분의 활성 및 안정성 증진을 위해서는 상승 효과뿐만 아니라 활성을 유지시킬 수 있는 안정화 방안이 함께 처리되어야 할 것으로 판단된다.

라. 주요 결과 및 결론

(1) 주요 결과

(가) 베리류를 포함한 과채류의 항산화 특성 분석

총 페놀 함량

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 크랜베리 > 시금치 > 산머루 > 라즈베리 > 블루베리 > 적포도 > 양배추

DPPH 라디칼 소거능

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 크랜베리 > 산머루 > 라즈베리 > 블루베리 > 양배추 > 시금치 > 적포도

FRAP 환원능

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 크랜베리 > 산머루 > 블루베리 > 라즈베리 >

양배추 > 시금치 > 적포도

ORAC 수치

: 아사이베리 > 아로니아 > 시금치 > 크랜베리 > 블랙베리 > 산머루 > 양배추 > 블루베리 > 라즈베리 > 적포도

ABTS 라디칼 소거능

: 아사이베리 > 아로니아 > 블랙베리 > 시금치 > 산머루 > 크랜베리 > 양배추 > 블루베리 > 라즈베리 > 적포도

고형분을 기준으로 한 항산화 활성성분 함량 및 4종류의 항산화 활성분석 결과, 전체 시료 중 아사이베리가 가장 우수한 항산화 특성을 나타냈으며 그 다음으로는 아로니아가 우수한 특성을 나타냈다.

(나) 항산화성 개선을 위한 시너지 효과 적용

① 아사이베리의 항산화 상승작용

아사이베리와의 항산화 상승작용 검토 결과, DPPH 라디칼 소거능의 측면에서는 trolox와 혼합했을 때 상승작용이 관측되었으며 ORAC 항산화 수치에서는 ascorbic acid와 혼합했을 때 상승작용이 관측되었다. 따라서 아사이베리의 항산화 상승작용을 증진시킬 수 있는 시료로 trolox와 ascorbic acid를 선정하였다.

반응표면분석에 의해 결정된 ORAC 항산화 상승효과(Y_1 , $\mu\text{mol}/\text{TE}$)와 DPPH 라디칼 소거능 상승효과(Y_2 , Radical scavenging effect %)에 대한 독립변수들(X_1 = Ascorbic acid 농도 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), X_2 = Trolox 농도 ($\mu\text{g}/\text{mL}$))의 영향을 다중 회귀분석은 다음과 같다.

ORAC value ($\mu\text{mol}/\text{TE}$, Y_1)

$$= -19.778283 + 0.531406X_1 + 0.940301X_2 - 0.001831X_1X_2 - 0.003492X_1^2 - 0.009969X_2^2$$

DPPH radical scavenging activity (%), Y_2)

$$= -5.819550 + 0.109414X_1 + 0.162926X_2 - 0.0008121X_1X_2 - 0.000316X_1^2 - 0.001004X_2^2$$

ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능 모두에서 최대 상승작용을 나타낼 수 있는 ascorbic acid와 trolox의 최적 혼합 농도는 $74.64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 와 $47.88 \mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 각각 산출되었으며, 최적 농도에서의 trolox 대비 ascorbic acid의 비율이 1.00:1.56였다. 결정된 최적조건의 trolox와 ascorbic acid 혼합액은 DPPH 라디칼 소거능은 5.3%, ORAC 항산화 수치는 13.6%의 항산화 상승효과를 나타냈다.

아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합액의 활성비율은 10:2.5일 때 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능 모두 가장 높은 상승작용을 나타냈다.

② 과채류 혼합액의 항산화 상승작용

과일류 8종과 채소류 2종의 총 10종의 시료를 각각 혼합한 총 45종의 혼합군 시료의 항산화 활성을 측정한 결과, DPPH 라디칼 소거능에서는 아사이베리+양배추 혼합군, FRAP 환원능에서는 블루베리+크랜베리 혼합군, ORAC수치는 블루베리+양배추 혼합군이 가장 높은 상승작용을 나타내는 혼합군으로 선정되었다. 또한 모든 혼합군은 산출된 활성과 비교했을 때 10% 이상의 매우 높은 상승효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

DPPH 라디칼 소거능에 가장 높은 상승작용을 나타내는 양배추+아사이베리 혼합군의 경우, 양배추와 아사이베리의 활성 비율이 50:50(%:%)가 되는 2.9:97.1(w:w)의 혼합 비율일 때 8.7%의 가장 높은 상승작용이 측정되었다. 이는 혼합에 의해 산출된 DPPH 라디칼 소거능(49.3%)의 18%에 해당한다.

FRAP 환원능의 측면에서 상승작용이 가장 높았던 블루베리와 크랜베리의 혼합군은 블루베리와 크랜베리의 활성 비율이 30:70(%:%)가 되는 80:20(w:w)의 혼합 비율일 때 11.2 $\mu\text{mol TE/L}$ 의 유의적으로 가장 높은 상승작용이 측정되었다. 이는 산출된 FRAP 환원능의 12%에 해당한다.

과채류 복합군의 ORAC 활성 분석결과, 가장 높은 상승작용을 나타내는 블루베리와 양배추 혼합군의 경우, 블루베리와 양배추의 활성 비율이 50:50(%:%)가 되는 50:50(w:w)의 혼합 비율일 때 유의적으로 가장 높았다. 이는 혼합에 의해 산출된 ORAC 항산화능의 11%에 해당하는 수치이다.

이상과 같이 항산화활성의 상승효과를 위해서는 혼합될 복합군 소재의 선정뿐만 아니라 혼합비율도 항산화 활성에 영향을 미칠 수 있는 주요한 인자로 판단된다.

(다) 구조분석을 통한 시너지 효과 특성분류

베리류를 포함한 과일류는 주로 flavonoid 중 anthocyanin과 그 전구체인 proanthocyanidin 및 procyanidin이 주요 항산화 활성성분이다. 반면 양배추, 시금치의 채소류에는 flavonoid 중 kaempferol 등의 flavonol류가 주요 활성성분으로 알려져 있으며 양배추의 경우 다양한 phenolic acid 들이 함유되어 있었다.

Flavonoid는 OH기의 수에 따라 다른 활성을 나타내는데, flavonoid의 기본 구조 B ring 구조에서 3', 4' 2개의 OH기가 항산화 활성을 높이는 주요한 요소인데 반해서, 5'의 OH기는 오히려 항산화 활성을 낮춘다. 베리류의 주요 활성성분인 anthocyanidin들의 항산화 활성의 순서는 다음과 같다. Cyanidin > Pelargonidin > Malvidin > Peonidin

DPPH 라디칼 소거능과 ORAC 항산화 수치의 측면에서 상승작용을 나타낸 아사이베리+양배

추 혼합군과 블루베리+양배추 혼합군은, 과일류와 채소류의 혼합군으로 주요 활성성분이 과일류에 함유되어 있는 anthocyanin류와 procyanidin류와 채소류에 함유되어 있는 다양한 flavonol 성분이 함께 함유될 때 서로간의 항산화 활성을 보강해주기 때문에 과일류 끼리 혹은 채소류끼리의 복합군보다 우수한 상승작용을 나타낸 것으로 추정된다.

FRAP 환원능의 상승작용을 발현한, 블루베리와 크랜베리 혼합군의 경우는 크랜베리는 다른 과일류와 비교했을 때 flavonol 성분인 quercetin이 상대적으로 다량 함유되어 있기 때문에 Ellagitannin 성분을 주요 활성 성분으로 하는 블루베리와 혼합되었을 때 상승작용을 나타낸 것으로 추정된다.

(라) 항산화 안정성 분석

항산화 안정성 실험에서 분석한 모든 항산화 성분들은 저장안정성이 취약하여 50℃의 저장 조건에서 초기 활성의 40-50%의 활성이 손실되는 것으로 확인되었다. 특히, trolox와 ascorbic acid 혼합액은 특히 안정성에 취약하여 천연 항산화 성분인 아사이베리, 블루베리, 양배추와 비교했을 때 월등히 급격한 저하현상을 나타냈다.

상승작용을 나타내는 혼합액의 경우, 저장 초기에는 항산화 상승효과가 관측되지만 저장기간이 24-36시간 증가됨에 따라 상승효과 또한 감소되었으며, 항산화 성분의 감소율보다 상승효과 감소율이 더욱 높은 것으로 확인되었다. 따라서 항산화 성분의 활성 및 안정성 증진을 위해서는 상승효과뿐만 아니라 활성을 유지시킬 수 있는 안정화 방안이 함께 처리되어야 할 것으로 판단된다.

(2) 결론

과일류 8종과 채소류 2종의 총 10종의 시료 중 주요 항산화 활성성분인 총 페놀 함량과 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능, FRAP 환원능, ORAC 항산화능 모두 아사이베리가 가장 우수한 항산화 특성을 나타냈으며 그 다음으로는 아로니아가 우수한 특성을 나타냈다.

아사이베리의 항산화 상승작용을 증진시킬 수 있는 시료로 trolox와 ascorbic acid를 선정되었으며 반응표면분석을 통한 최적 혼합 농도는 74.64 µg/mL와 47.88 µg/mL로 각각 산출되었으며, 이때의 trolox 대비 ascorbic acid의 비율은 1.00:1.56였다. 결정된 최적조건의 trolox와 ascorbic acid 혼합액은 DPPH 라디칼 소거능은 5.3%, ORAC 항산화 수치는 13.6%의 항산화 상승효과를 나타냈다

과채류를 각각 혼합한 총 45종의 혼합군 시료의 항산화 활성을 측정된 결과, DPPH 라디칼 소거능에서는 아사이베리+양배추 혼합군, FRAP 환원능에서는 블루베리+크랜베리 혼합군, ORAC수치는 블루베리+양배추 혼합군이 가장 높은 상승작용을 나타내는 혼합군으로 선정되었다. 또한 모든 혼합군은 산출된 활성과 비교했을 때 10% 이상의 매우 높은 상승효과를 나타냈다.

양배추+아사이베리 혼합군은 각 활성 비율이 50:50(%:%)가 될 때 18%의 DPPH 라디칼 소거능 상승작용을 나타냈으며, 블루베리와 크랜베리의 혼합군은 각 활성 비율이 30:70(%:%)일 때 12%의 FRAP 환원능 상승작용을 나타냈다. 또한 블루베리와 양배추 혼합군은 50:50(%:%)의 활성비율일 때 11%의 ORAC 항산화 상승작용을 나타냈다.

이상과 같이 항산화활성의 상승효과를 위해서는 혼합될 복합군 소재의 선정뿐만 아니라 혼합비율도 항산화 활성에 영향을 미칠 수 있는 주요한 인자로 영향을 미치므로 주의 깊은 결정이 요구된다.

주요 활성성분이 과일류에 함유되어 있는 anthocyanin류와 procyanidin류와 채소류나 일부 과일류에 함유되어 있는 quercetin과 같은 flavonol 성분이 함께 함유될 때 서로간의 항산화 활성을 보강해주기 때문에 항산화 상승작용이 발현되는 것으로 판단된다.

모든 항산화 성분들은 저장안정성이 취약하지만, 특히 항산화 성분들간의 혼합을 통해 나타난 항산화 상승작용은 특히 저장안정성이 취약하여 저장기간이 증가되면서 항산화 활성이 급격히 저하되었다. 따라서 항산화 성분의 활성 및 안정성 증진을 위해서는 상승효과뿐만 아니라 활성을 유지시킬 수 있는 안정화 방안이 함께 처리되어야 할 것으로 판단된다.










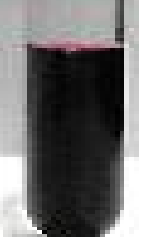
이러한 저장안정성 문제는 2차년도에 계획되어 있는 다양한 입자크기로의 캡슐화 기술을 통해서 극복될 수 있을 것으로 예측된다.

3. 항산화 효능 향상을 위한 최적의 식물발효균 생물전환공정 개발

가. 과채류 농축액 확보

8종의 베리 농축액(라즈베리 농축액, 적포도주스 농축액, 블랙베리 농축액, 크랜베리 농축액, 블루베리 농축액, 산머루 농축액, 아사이 주스, 아로니아 농축액)과 2종의 채소류 농축액(양배추 농축액, 시금치 농축액)을 (주)동원으로부터 제공받음(표 42). 제공받은 농축액은 적당량 분주하여 냉동 보관하였다.

표 42. 제공받은 과채류 농축액 목록

종류	라즈베리	적포도주스	블랙베리	크랜베리	블루베리
사진					
함량	100%	99.9%	100%	100%	100%
종류	양배추	산머루	시금치	아사이	아로니아
사진					
함량	100%	100%	100%	99.5%	100%

나. 항산화능이 높은 과채류 농축액 조사

(1) 과채류 농축액의 고형분 함량

(가) 실험방법

과채류 농축액의 항산화능을 비교하기 위하여, 각 농축액의 고형분을 측정하였음. 과채류 농축액을 1 mL 씩 분주하여 -80°C에서 동결 한 후, Iilsin biobase (Korea)를 이용하여 동결건조 하였음. 동결건조 전, 후의 무게를 측정하여 고형분 함량을 분석하였다.

(나) 실험결과

표 43. 과채류 농축액의 고형분 함량

번호	과채류 농축액	고형분 함량 (g/mL)
1	라즈베리	0.80 ± 0.02
2	적포도주스	0.86 ± 0.03
3	블랙베리	0.81 ± 0.03
4	크랜베리	0.71 ± 0.02
5	블루베리	0.76 ± 0.04
6	양배추	0.67 ± 0.04
7	산머루	0.86 ± 0.05
8	시금치	0.23 ± 0.01
9	아사이베리	0.02 ± 0.00
10	아로니아	0.68 ± 0.05

고형분의 경우 적포도주스 농축액, 산머루 농축액이 약 0.86 mg/mL 로 가장 높은 함량을 나타냈으며, 아사이베리 농축액은 약 0.02 mg/mL 로 가장 낮은 함량을 나타냈음(표 43). 대부분의 베리류 농축액은 고형분이 0.7 mg/mL 이상으로 나타났으며, 시금치 농축액이 0.23 mg/mL 로 비교적 적은 함량으로 나타났다.

(2) 과채류 농축액의 당함량 측정

과채류 농축액 발효물을 제작하기 위하여 glucose assay kit (Achem, Korea)를 이용하여 과채류 농축액의 포도당 함량을 분석하였다.

(가) 실험방법

본 실험에서는 glucose assay kit (Achem, Korea)를 제조자의 제시방법에 따라 분석하였음. 각 시료를 적정농도로 희석한 후 96 well plate에 10 μ L 씩 분주하였음. R1, R2 용액을 1:4의 비율로 혼합 한 후 100 μ L 씩 첨가하였다.

37 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시킨 후, micro plate reader (Molecular devices, USA)를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

자료 처리의 경우, 포도당을 이용하여 작성한 검량선에 대입하여 분석하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산 분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(나) 실험결과

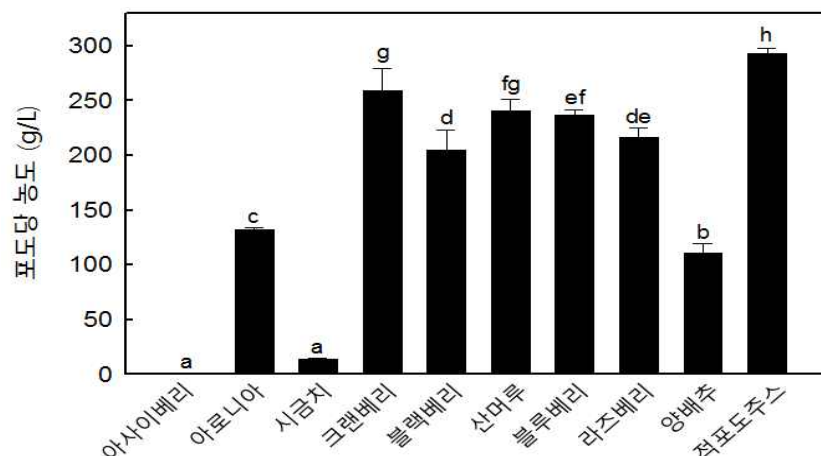


그림 59. 과채류 농축액의 포도당 함량

표 44. 과채류 농축액의 포도당 함량

번호	과채류 농축액	포도당 함량 (g/L)
1	아사이베리	0.39 ± 0.06
2	아로니아	132.21 ± 1.94
3	시금치	12.40 ± 2.32
4	크랜베리	259.48 ± 19.75
5	블랙베리	204.60 ± 18.38
6	산머루	240.34 ± 11.53
7	블루베리	237.14 ± 4.23
8	라즈베리	216.92 ± 8.33
9	양배추	110.44 ± 8.93
10	적포도주스	293.54 ± 4.54

포도당 함량은 적포도주스가 293.54 g/L로 가장 많이 함유한 것으로 나타났고, 크랜베리, 산머루, 블루베리, 라즈베리, 블랙베리, 아로니아, 양배추, 아사이베리, 시금치 순으로 분석되었음 (표 44). 아사이베리의 경우, 고형분 함량이 적었던 만큼 포도당 함유량도 0.39 g/L로 낮은 농도를 나타냈다.

적정 농도 이상의 포도당 농도에서는 미생물의 생육을 저해 하므로, 유산균 생육에 적합한 포도당 농도로 희석하여 이 후 실험을 수행하였다.

(3) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay

DPPH (그림 60)는 화학적으로 안정한 수용성 free radical로써, 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 보라색 화합물임. 유기용매에서 매우 안정하며, 항산화능이 있는 물질과 반응할 시 전자를 내어주면서 소멸되어 노란빛으로 변하였다.

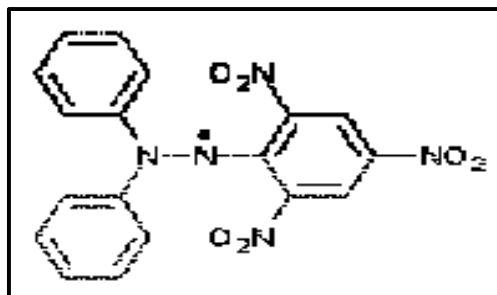


그림 60. DPPH의 구조

(가) 실험방법

Blois MS (1958)의 방법에 의한 DPPH free radical 소거법을 응용하여 분석하였음. 과채류 농축액은 증류수를 이용하여 적정농도로 희석하였으며, DPPH는 2.00×10^{-4} M의 농도로 에탄올

에 녹여 준비하였다.

희석액 20 μ L와 DPPH 용액 180 μ L를 혼합하여 실온에서 30분간 암반응하였다.

Microplate reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 517nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 분석하였으며, 대조군은 증류수를 사용하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능 (\%)} = [(\text{대조군의 흡광도} - \text{반응군}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100$$

IC₅₀ (inhibitory concentration 50)이란, 어떠한 반응 A의 크기를 100%로 가정하였을 때, B라는 약물을 이용하여 반응 A의 크기를 50%로 감소시킬 때 B의 농도를 반응 A에 대한 B의 IC₅₀ 농도라고 한다.

각 과채류 농축액을 다양한 농도로 희석하여 free radical 소거능을 측정하고, 검량선을 작성하여 계상하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(나) 실험결과

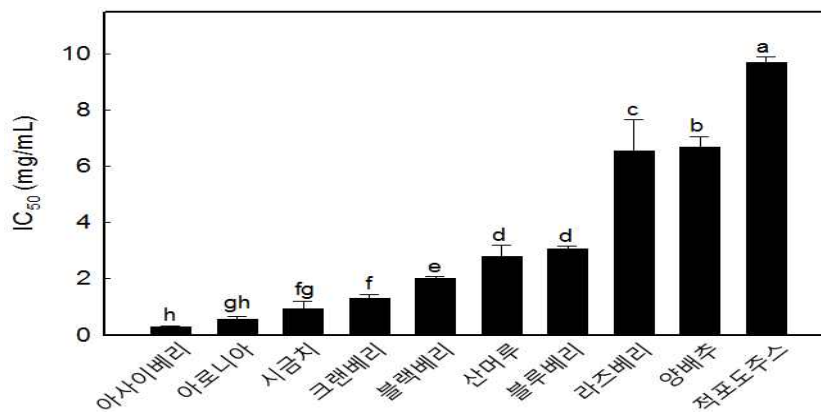


그림 61. 과채류 농축액의 IC₅₀ 농도

표 45. 과채류 농축액의 IC₅₀ 농도

번호	과채류 농축액	IC ₅₀ (mg/mL)
1	아사이베리	0.30 ± 0.03
2	아로니아	0.56 ± 0.12
3	시금치	0.93 ± 0.26
4	크랜베리	1.32 ± 0.13
5	블랙베리	2.02 ± 0.08
6	산머루	2.80 ± 0.41
7	블루베리	3.06 ± 0.09
8	라즈베리	6.54 ± 1.11
9	양배추	6.69 ± 0.38
10	적포도주스	9.70 ± 0.20

아사이베리는 0.30 ± 0.03 mg/mL로 가장 낮은 IC₅₀ 농도를 나타내었으며(표 45), 아로니아, 시금치, 크랜베리, 블랙베리, 산머루, 블루베리, 라즈베리, 양배추, 적포도 순으로 증가하였다(그림 61).

(4) ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay

ORAC assay는 형광물질인 fluorescein을 사용하여 항산화능을 측정하는 방법으로 fluorescence가 감소하는 속도를 측정하여 항산화능을 평가하는 방법이다.

(가) 실험방법

본 실험에서는 ORAC assay kit (Cell Biolabs, USA)를 제조자의 제시방법에 따라 사용하였음. 시료를 적정농도로 희석하여 Black 96well plate에 25 µL씩 분주하고 1X fluorescein solution을 150 µL씩 첨가하여 37°C에서 30분간 안정화 후, 80 mg/mL의 free radical initiator를 25 µL씩 추가하여 분석하였다.

Microplate fluorometer (Fluoroskan Ascen, USA)를 이용하여 485 nm에서 전자여기 후 535 nm에서 방출되는 조건으로 37°C에서 60분간 1분마다 fluorescence를 측정하여 감소율을 측정하였다.

자료 처리의 경우, 시료첨가구와 무첨가구의 area under curve (AUC)값을 나타낸 후 trolox standard를 이용하여 작성한 검량선에 대입하여 분석하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(나) 실험결과

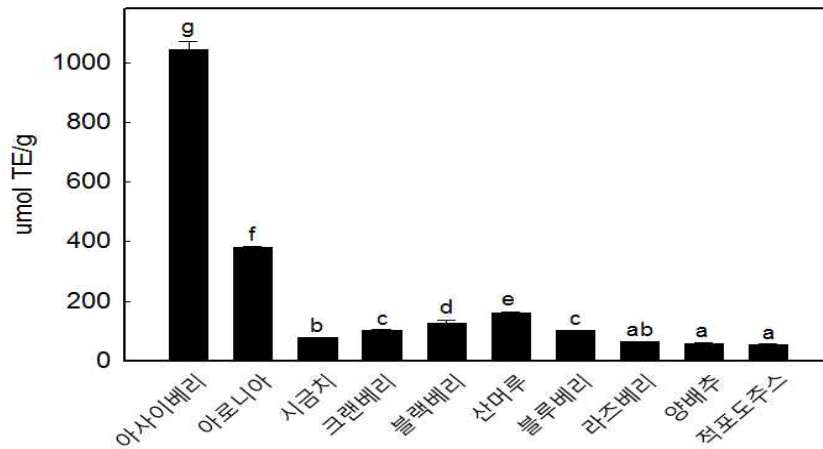


그림 62. 과채류 농축액의 ORAC 방법을 통한 항산화능 평가

표 46. 과채류 농축액의 ORAC 방법을 통한 항산화능 평가

번호	과채류 농축액	항산화능 (μmol TE/g)
1	아사이베리	1,043.38 ± 27.36
2	아로니아	380.78 ± 3.53
3	시금치	78.25 ± 1.00
4	크랜베리	103.27 ± 2.68
5	블랙베리	125.85 ± 10.23
6	산머루	159.40 ± 3.72
7	블루베리	101.40 ± 2.06
8	라즈베리	63.66 ± 1.49
9	양배추	57.32 ± 3.88
10	적포도주스	54.52 ± 1.79

ORAC assay 결과, 아사이베리가 1,043 ± 27.36 μmol TE/g 으로 가장 높은 항산화능을 나타냈으며(표 46), 아로니아, 산머루, 블랙베리, 크랜베리, 블루베리, 시금치, 라즈베리, 양배추, 적포도 순으로 나타났다(그림 62).

DPPH assay의 결과와 비교하여 아사이베리의 항산화능이 가장 우수한 경향은 일치하였으나 그 외의 과채류 농축액들의 항산화능은 다른 경향을 나타냈음.

(5) ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) assay

ABTS assay는 metmyoglobin 과 peroxy radical이 ferryl myoglobin을 형성하고, 생성된 ferryl myoglobin이 ABTS를 산화시켜 녹색 빛을 띄게 하는 원리를 이용하여 항산화능을 측정하는 방법이다.

(가) 실험방법

본 실험에서는 ABTS assay kit (Sigma aldrich, USA)를 제조자의 제시방법으로 사용하여 항산화능을 분석하였음. 먼저 각 시료를 적정농도로 희석한 후 96 well plate에 10 μ L 씩 분주하였음. Myoglobin working solution을 20 μ L 씩 첨가한 후 ABTS working solution을 150 μ L 씩 첨가하였다.

상온에서 5분간 반응시킨 후 micro plate reader (Molecular devices, USA)를 이용하여 405nm 에서 흡광도를 측정한다.

자료 처리의 경우, trolox를 이용하여 작성한 검량선에 대입하여 분석하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산 분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(나) 실험결과

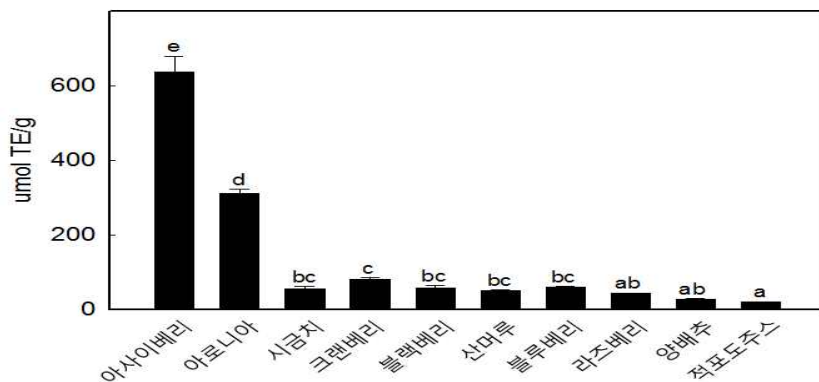


그림 63. 과채류 농축액의 ABTS 방법을 통한 항산화능 평가

표 47. 과채류 농축액의 ABTS 방법을 통한 항산화능 평가

번호	과채류 농축액	항산화능 ($\mu\text{mol TE/g}$)
1	아사이베리	637.11 \pm 41.130
2	아로니아	312.73 \pm 10.20
3	시금치	56.30 \pm 6.21
4	크랜베리	81.87 \pm 3.30
5	블랙베리	58.90 \pm 7.09
6	산머루	51.79 \pm 0.95
7	블루베리	59.14 \pm 2.90
8	라즈베리	43.19 \pm 2.13
9	양배추	27.14 \pm 1.84
10	적포도주스	20.11 \pm 0.95

ABTS assay 결과, 아사이베리가 637.11 \pm 41.13 $\mu\text{mol TE/g}$ 으로 가장 높은 항산화능을 나타냈고 (표 47), 아로니아가 두 번째로 높은 항산화능을 나타냈으며, 나머지는 큰 차이가 없었다(그림 63). 적포도농축액은 20.11 \pm 0.95 $\mu\text{mol TE/g}$ 로 가장 낮은 항산화능을 나타냈다.

(6) 과채류 농축액의 실험방법에 따른 항산화능 평가 비교

표 48. 과채류 농축액의 항산화능 평가

순위	DPPH	ORAC	ABTS
1	아사이베리	아사이베리	아사이베리
2	아로니아	아로니아	아로니아
3	시금치	산머루	크랜베리
4	크랜베리	블랙베리	블루베리
5	블랙베리	크랜베리	블랙베리
6	산머루	블루베리	시금치
7	블루베리	시금치	산머루
8	라즈베리	라즈베리	라즈베리
9	양배추	양배추	양배추
10	적포도	적포도	적포도

세 가지 항산화능 측정방법에 따른 과채류 농축액의 항산화능 차이는 있었지만 세 방법 모두 아사이베리가 가장 높은 항산화능을 나타냈으며, 그 다음으로는 아로니아가 높은 항산화능을 보였다(표 48).

블루베리, 적포도주스, 양배추, 라즈베리는 DPPH assay, ORAC assay, ABTS assay에서 모두 낮은 항산화능을 보였다.

항산화능이 높았던 아사이베리, 아로니아, 시금치농축액, 크랜베리, 블랙베리, 산머루를 사용하여 발효물을 제작하였다.

과채류의 항산화능 측정 방법에서 DPPH assay 와 ORAC assay 수치의 유의적 차이가 없다고 판단하여 이후 실험에서 이 두 가지 방법을 이용, 항산화능을 측정하기로 했다.

다. 식물유산균을 이용한 발효 조건 최적화

(1) 식물유산균 목록

동결건조 된 4종의 식물유산균 (ABT-5, ABY-3, LP115, YF-L811)을 (주)동원 F&B으로부터 제공받음. 제공받은 식물유산균은 냉동 보관하였다(표 48).
제공받은 식물유산균은 현재 상업적으로 쓰이는 식용 가능 균주이며, 제공받은 식물유산균을 적정농도로 배지에 넣어 발효물을 제작하였다.

표 49. 식물유산균 목록

제품명	균주	제조사
ABT-5	<i>Bifidobacterium</i> species	Danisco
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
ABY-3	<i>Bifidobacterium</i> species	Chr. Hansen
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
LP-115	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Chr. Hansen
YF-L811	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Chr. Hansen
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	

(2) 발효조건 설정

(가) 블랙베리를 이용하여 당농도와 균주 접종량에 따른 항산화능 증감 검토

블랙베리를 다양한 당농도로 희석하여 사용하였으며, 균주 접종량에 의한 항산화능 변화를 조사하기 위하여 시간별로 시료를 채취하여 분석하였다(표 50).

(나) 실험방법

블랙베리는 증류수를 사용하여 1, 2, 3, 4%의 당을 함유하도록 희석하여 준비하였으며, 발효 균주를 1, 5, 10 g/L의 농도로 접종하였다.

발효 균주는 ABY-3를 사용하였고, 37°C, 100 rpm에서 36시간 동안 배양하였음. 12시간마다 시료를 채취하였으며, DPPH assay를 이용하여 항산화능을 측정 한 후, IC₅₀ 값을 산출하여 비교하였다.

표 50. 실험에 쓰인 실험구

번호	포도당농도 (%)	블랙베리 (mL)	DW (ml)	균주 접종량 (g/L)
1	1	4.89	95.11	-
2	1	4.89	95.11	1
3	1	4.89	95.11	5
4	1	4.89	95.11	10
5	2	9.78	90.22	-
6	2	9.78	90.22	1
7	2	9.78	90.22	5
8	2	9.78	90.22	10
9	3	14.66	85.34	-
10	3	14.66	85.34	1
11	3	14.66	85.34	5
12	3	14.66	85.34	10
13	4	19.55	80.45	-
14	4	19.55	80.45	1
15	4	19.55	80.45	5
16	4	19.55	80.45	10

(다) 실험결과

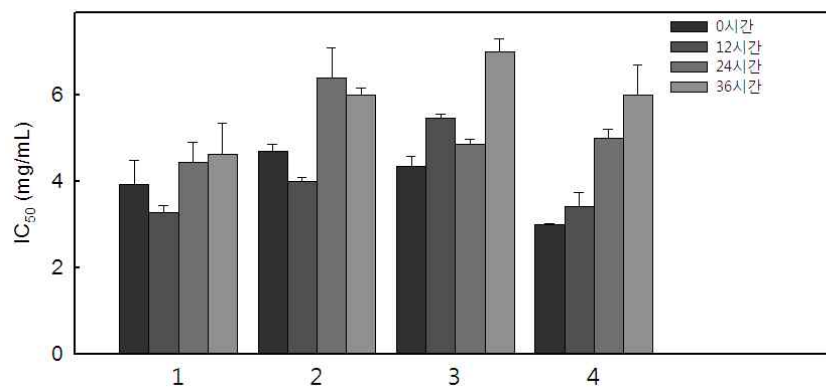


그림 64. 1%의 포도당을 함유한 블랙베리 희석액에서 ABY-3 균주 접종량 및 발효시간에 따른 항산화능 변화

1 %의 당을 함유한 블랙베리 희석액을 대조구(1)로 36시간 동안 항산화능의 변화를 측정하였음 (그림 64). IC₅₀ 농도는 초기와 비교하여 증진이 없었다.

1 g/L의 ABY-3 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 결과(2), 항산화능의 유의적인 증가 추세를 나타나지 않았음. 12 시간 발효 후 측정된 IC₅₀ 농도가 약간 낮아졌다.

5 g/L의 ABY-3 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 경우(3) 시간이 경과함에 따라 IC₅₀ 농도가 지속적으로 증가하였음. IC₅₀의 증가는 항산화능의 감소를 나타냈다.

ABY-3 균주를 10g/L 농도로 첨가하여 발효한 경우(4) 시간이 경과함에 따라 IC₅₀ 농도가 유의적으로 증가하였다.

1% 포도당을 함유한 블랙베리 희석액의 유산균 접종량과 발효시간에 따른 항산화능의 차이는 나타나지 않았다.

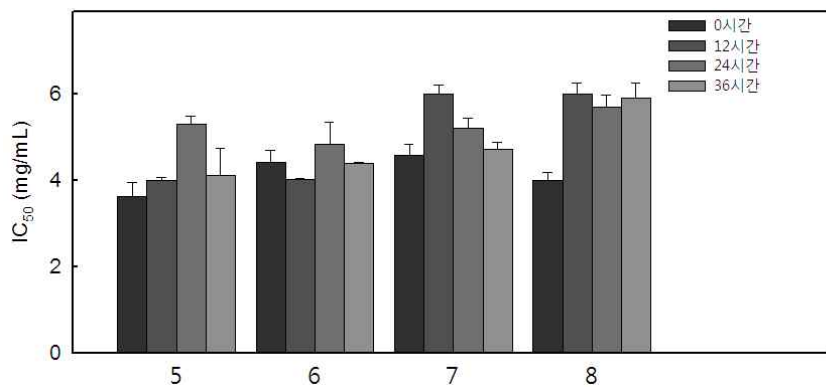


그림 65. 2%의 포도당을 함유한 블랙베리 희석액에서 ABY-3 균주 접종량 및 발효시간에 따른 항산화능 변화

2 %의 당을 함유한 블랙베리 희석액을 대조구(5)로 36시간 동안 항산화능의 변화를 측정하였음(그림 65). 36시간에서 IC₅₀ 농도가 낮아지나 실험적 오차라고 판단된다.

1 g/L의 ABY-5 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 결과(6), 항산화능의 유의적인 증가 추세를 나타나지 않았음. 초기 IC₅₀ 값과 비교하여 유의적 변화는 나타나지 않았다.

5 g/L의 ABY-3 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 경우(7) 12시간까지는 IC₅₀ 농도가 증가하나 24시간부터는 IC₅₀ 농도가 감소하는 경향을 나타냈음. 그러나 초기 IC₅₀ 농도와 비교하여 유의적인 변화는 나타나지 않았다.

ABY-3 균주를 10g/L 농도로 첨가하여 발효한 경우(8) 12시간까지는 IC₅₀ 농도가 증가하고 그 이후로는 별다른 변화가 없었다.

2%의 포도당을 함유한 블랙베리 희석액의 유산균 접종량과 발효시간에 따른 항산화능의 차이는 나타나지 않았다.

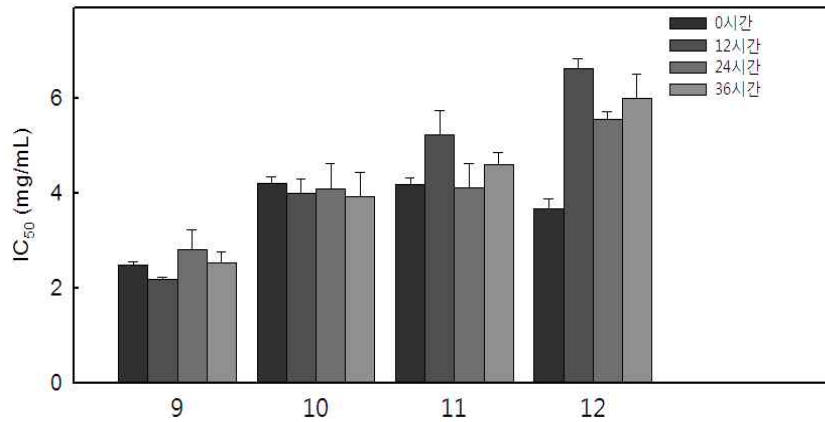


그림 66. 3%의 포도당을 함유한 블랙베리 희석액에서 ABY-3 균주 접종량 및 발효시간에 따른 항산화능 변화

3 %의 당을 함유한 블랙베리 희석액을 대조구(9)로 36시간 동안 항산화능의 변화를 측정하였음(그림 66). 다른 실험구에 비해 IC₅₀ 농도가 낮은 것을 볼 수 있었음. 그러나 시간이 경과함에 따라 항산화능의 유의적인 증가/감소 추세가 보이지 않았기 때문에 증진 효과는 없는 것으로 판단되었다.

1 g/L의 ABY-5 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 결과(10), 항산화능의 유의적인 증가/감소 추세는 나타나지 않았다.

5 g/L의 ABY-3 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 경우(11) 12시간까지는 IC₅₀ 농도가 증가하나 24시간부터는 IC₅₀ 농도가 감소하는 경향을 나타냈음. 그러나 초기 IC₅₀ 농도보다 낮은 농도를 나타내지는 않았다.

ABY-3 균주를 10g/L 농도로 첨가하여 36시간 동안 발효한 경우(12) 12시간까지 IC₅₀ 농도가 급증하였으나, 그 이후로는 일정하게 나타났다.

3%의 포도당을 함유한 블랙베리 희석액의 유산균 접종량과 발효시간에 따른 항산화능의 차이는 나타나지 않았다

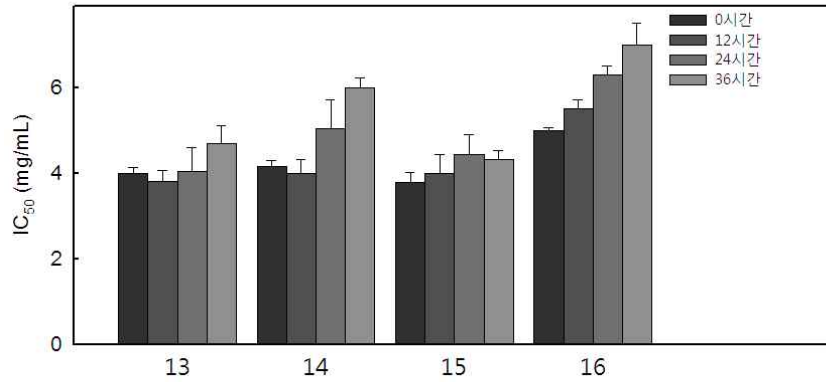


그림 67. 4%의 포도당을 함유한 블랙베리 희석액에서 ABY-3 균주 접종량 및 발효시간에 따른 항산화능 변화

4%의 당을 함유한 블랙베리 희석액을 대조구(13)로 36시간 동안 항산화능의 변화를 측정하였음(그림 67). IC₅₀ 값의 유의적인 변화는 없었다.

1 g/L의 ABY-5 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 결과(14), 시간이 경과함에 따라 IC₅₀ 농도가 증가하는 경향을 나타냈음. 따라서 항산화능이 감소하는 경향을 나타냈다.

5 g/L의 ABY-3 균주를 첨가하여 36시간 동안 발효한 경우(15) IC₅₀ 값의 유의적인 변화는 없었다.

ABY-3 균주를 10g/L 농도로 첨가하여 36시간 동안 발효한 경우(16) 지속적으로 IC₅₀ 농도가 증가하는 경향을 나타냈다.

(라) 결론

블랙베리를 다양한 포도당 농도로 희석하여 ABY-3 균주로 발효하였음. 균주 첨가량을 1, 5, 10 g/L로 다양한 농도로 첨가하였다.

대조구의 경우 모든 당 농도에서 발효시간에 따라 IC₅₀ 농도가 증가하는 경향을 보였음. 이 결과를 보았을 때 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소한다는 것을 알 수 있었다.

1%의 포도당 농도, 1 g/L의 농도로 ABY-3 균주를 넣은 발효물에서 6시간이 될 때 IC₅₀ 농도가 감소하는 경향을 보였음. 12시간이 경과하면서 IC₅₀ 농도는 다시 증가하였다.

1%의 포도당 농도, 5 g/L, 10 g/L의 농도로 ABY-3 균주를 접종하였을 때는 시간이 경과함에 따라 IC₅₀ 농도가 증가하는 경향을 보였다.

2%의 포도당 농도, 1 g/L, 10 g/L의 농도로 ABY-3 균주를 접종하였을 때는 시간이 경과함에 따라 IC₅₀ 농도가 높아지거나 유지하는 경향을 나타냈다.

2%의 포도당 농도, 5 g/L의 농도로 접종하였을 때는 12시간까지는 IC₅₀ 농도가 증가하나 24시간부터는 IC₅₀ 농도가 감소하는 경향을 나타냈음. 그러나 초기 IC₅₀ 농도와 비교하여 유의적인 변화가 나타나지 않았다.

3%의 포도당 농도, 1 g/L, 5 g/L의 농도로 ABY-3 균주를 접종하였을 때, IC₅₀ 농도는 시간에 관계없이 변화를 나타내지 않았다.

3%의 포도당 농도, 10 g/L의 농도로 ABY-3 균주를 접종하였을 때, 12시간까지는 IC₅₀ 농도가 증가하였으나, 그 이후로는 감소하였음. 그러나 초기 IC₅₀ 농도보다 낮은 농도를 나타내지는 않았다.

4%의 포도당 농도, 1 g/L, 5 g/L, 10 g/L의 농도로 ABY-3 균주를 접종하였을 때는 시간이 경과함에 따라 모든 실험구에서 IC₅₀ 농도가 증가하였다.

위의 결과로 보아 균주의 접종량, 포도당의 농도에 따른 항산화능의 변화는 매우 미비하였다.

유산균을 이용한 생물전환능을 통한 항산화 효능의 증진은 유산균이 내뿜는 유용효소로 인한 것이라고 생각되기 때문에 접종량을 적게 하고 발효시간을 늘려 항산화능의 변화를 자세히 확인하기 위해 균주 접종량을 1 g/L로 정하였다.

포도당 농도는 1, 2, 3, 4%의 농도에서 항산화능의 차이가 없었고, 포도당 농도가 너무 높을 시 유산균이 스트레스를 받아 제대로 성장하지 못할 수 있다고 판단하여 1%의 농도로 정하였다.

(3) 초음파 파쇄 처리에 따른 항산화능 변화 비교

젖산균을 사용하여 발효물 제작 시 균체 내부에 생합성된 물질에 의한 항산화능 증진이 있을 가능성을 고려하여, 균체의 파쇄 전 후의 항산화능 증진 차이를 평가하였음.

(가) 실험방법

블랙베리는 증류수를 이용하여 포도당 농도 1%로 희석한 후에 ABY-3 균주를 1 g/L로 접종하여 배양하였음. 37°C, 100 rpm에서 12시간 동안 배양하고 6시간마다 샘플을 채취하였으며, DPPH assay를 이용하여 항산화능을 분석하였음.

채취한 샘플은 Ultrasonic Processor (Sonics & Materials INC, USA)를 이용하여 2분 동안 20 kHz로 샘플에 존재하는 유산균을 파쇄한 후 원심분리하여 그 상등액을 분석하였음.

(나) 실험결과

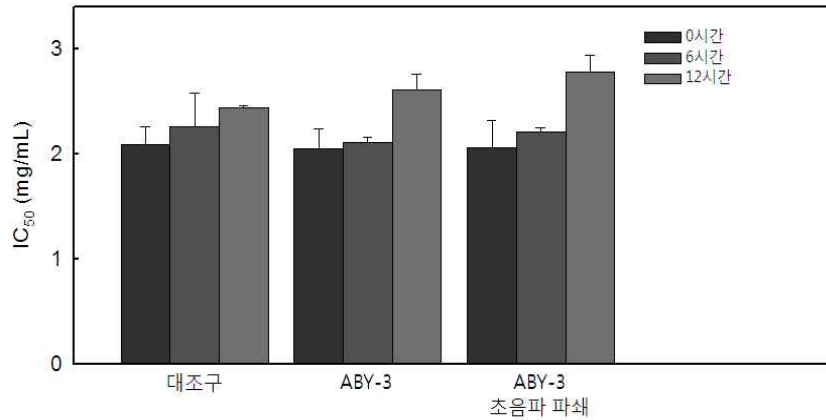


그림 68. 블랙베리 발효물의 초음파 파쇄 처리 여부에 따른 항산화능 변화

DPPH assay 측정 결과, 균주를 접종하지 않은 것과 균주를 접종한 것의 항산화능 차이가 없었음. 3가지 실험구 모두 시간이 경과함에 따라 IC₅₀ 농도가 증가하였다(그림 68).

두 실험구 모두 시간에 따른 유의적인 항산화능의 증진은 나타나지 않았으며, 실제 음료제조 공정은 살균 공정을 거치기 때문에 이를 고려하여 균체를 파쇄 하는 초음파 파쇄 처리를 추가하였다.

초음파 파쇄 처리 여부에 따라서 항산화능의 차이가 유발되지 않으므로 이 후의 실험들은 모두 균을 파쇄한 후에 항산화능을 측정하였다.

(4) 아사이베리, 아로니아, 산머루, 시금치 발효

과채류 농축액 중 항산화능이 높게 나타난 아사이베리, 아로니아, 산머루, 시금치 농축액을 이용하여 발효물을 제작하고 항산화능을 분석하였다.

(가) 실험방법

아로니아, 산머루 농축액은 증류수를 이용하여 포도당 농도 1%로 희석한 후에 4가지 균주 (ABT-5, ABY-3, LP-115, YF-L811)를 각각 1g/L의 농도로 접종하여 37°C, 100 rpm에서 12시간 동안 배양하였다.

균주 1 g/L의 접종량이 적지 않은 양이기 때문에 균주를 과채류 농축액에 접종하였을 때, 빠른 시간 내에 성장을 마칠 것이라고 예상하여 발효시간을 12시간으로 낮추었다.

아사이베리와 시금치 농축액의 경우 낮은 포도당농도 때문에 희석 없이 원액으로 사용하였다. 6시간 마다 시료를 채취하였으며, ORAC assay를 이용하여 항산화능을 측정하였다.

초기 실험에서 DPPH assay와 ORAC assay 측정법이 유의적 차이가 없다고 판단, ORAC

assay로만 항산화능 측정을 시행하였다.

채취한 샘플을 Ultrasonic Processor를 이용하여 샘플에 존재하는 유산균을 파쇄한 후 원심분리한 상등액을 사용하여 분석하였다.

(나) 실험결과

① 아사이베리

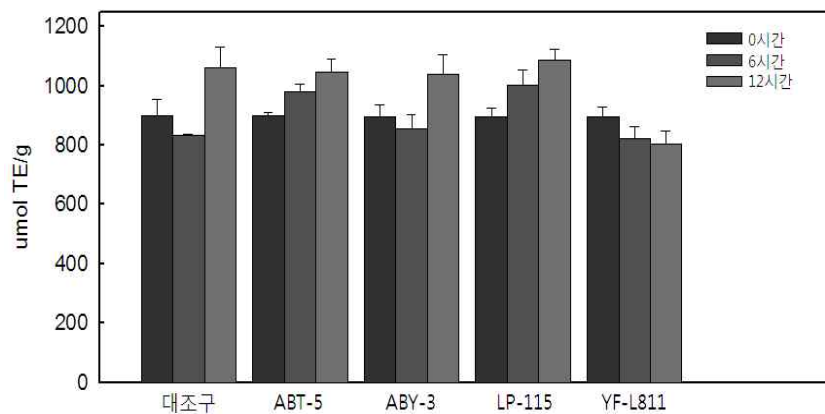


그림 69. 아사이베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 발효시간에 따라 항산화능이 낮아지다 높아졌음. 이 결과는 경향이 일정치 않았기 때문에 실험 오차라고 판단된다(그림 69).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 계속 증진되었음. 또한 LP-115 균주를 접종한 발효물도 지속적으로 항산화능이 증진되었다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 6시간 때는 항산화능이 감소하였지만 12시간 때에는 항산화능이 증진되었음. YF-811 균주를 접종한 발효물은 시간이 지남에 따라 항산화능이 감소되었다.

아사이베리를 이용한 발효물의 경우 YF-L811 균주를 접종한 발효물을 제외한 3가지 실험구에서 항산화능이 12시간까지 증가하였다.

② 아로니아

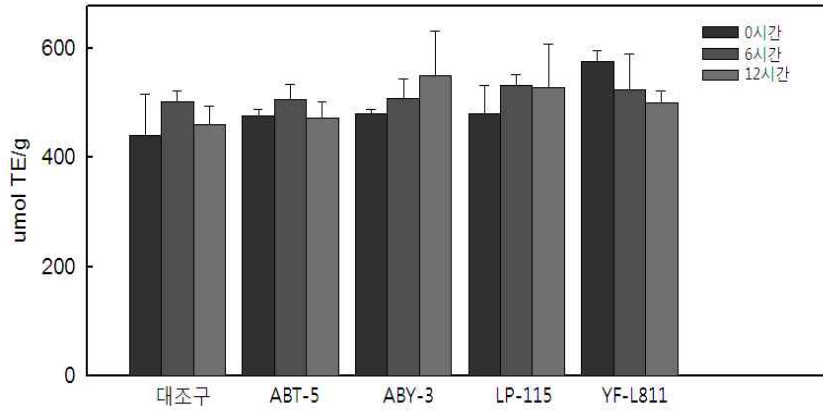


그림 70. 아로니아 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 발효시간에 따라 항산화능이 높아지다 낮아졌음. 그러나 그 변화량이 매우 미비하였기 때문에 항산화능의 증진/감소 경향은 없다고 판단하였다(그림 70).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 비슷한 경향을 보였으며, 유의적인 항산화능의 증진이 나타나지 않았다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 증진하였지만, 12시간 때의 항산화능은 오차범위가 커서 증진되었다고 판단할 수 없었다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 6시간까지는 항산화능이 증진되었다가 이후에는 변화가 없는 경향을 나타내었음. 그러나 오차범위가 커서 증진되었다고 판단할 수 없었다.

YF-811 균주를 접종한 발효물은 시간이 지남에 따라 항산화능이 지속적으로 감소되었다. 아로니아를 이용한 발효물의 경우 모든 실험구에서 항산화능의 증진을 볼 수 없었다.

③ 산머루

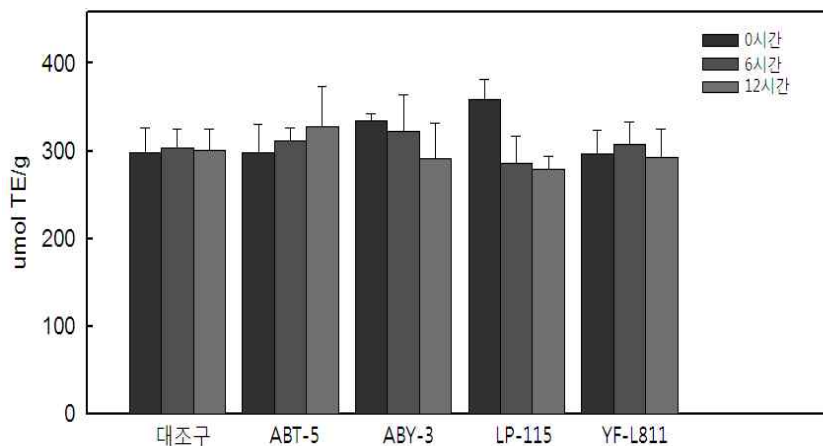


그림 71. 산머루 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 발효시간에 따른 항산화능의 변화가 없었다(그림 71).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 증진하였지만, 0시간, 12시간 모두 실험오차가 컸기 때문에 증진되었다고 판단할 수 없었다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 지속적으로 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과함에 따라 다른 실험구에 비해 더 빠른 속도로 항산화능이 감소하는 경향을 나타냈다.

YF-811 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과하여도 항산화능의 증진이 일어나지 않았다.

산머루를 이용한 발효물의 경우 모든 실험구에서 항산화능의 증진을 볼 수 없었다.

④ 시금치

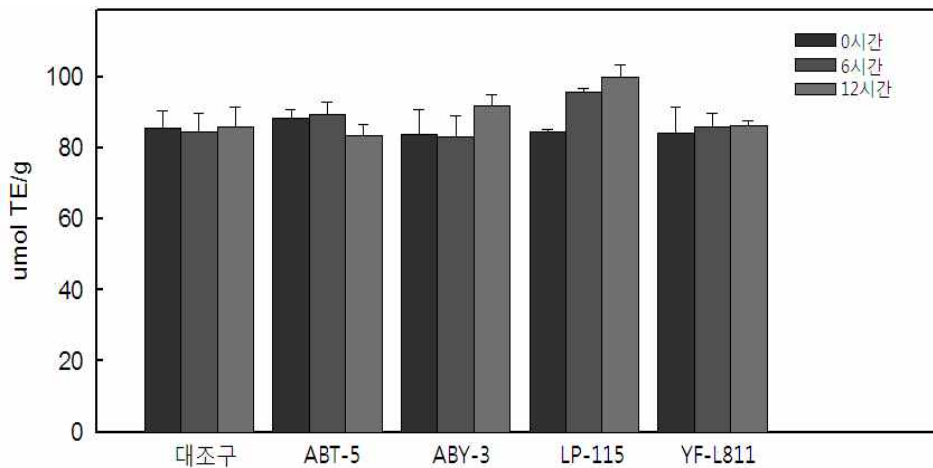


그림 72. 시금치 발효물의 항산화능 평가

대조구의 경우 발효시간에 따른 항산화능의 변화가 없었다(그림 72).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 6시간까지는 항산화능이 유지되었으나, 12시간에는 항산화능이 감소하는 경향을 나타냈다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 6시간에는 항산화능의 변화가 없었으나, 12시간에는 항산화능이 증진하는 경향을 나타냈다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과함에 따라 유의적으로 항산화능의 증진을 보였

으며, 12시간 이후에도 향산화능 증진이 기대되었다.

YF-811 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과하여도 향산화능의 증진이 일어나지 않았다.

시금치를 이용한 발효물 중 LP-115 균주를 접종한 발효물에서 향산화능이 증진되는 경향을 보였으며, ABY-3 균주를 접종한 발효물은 향산화능이 감소하거나 유지되는 경향을 보였다.

(다) 결론

아사이베리를 이용한 발효물의 경우, YF-L811 균주를 접종한 발효물을 제외한 모든 실험구에서 12시간까지 향산화능의 증진이 증진되는 경향을 나타냈다.

ABY-3, LP-115 균주를 접종한 아로니아 발효물은 발효시간이 경과함에 따라 향산화능이 증진되는 경향은 보이나, 오차범위가 커 증진되었다고 판단하기에는 힘들었음. 그 외의 실험구들은 향산화능이 감소하는 경향을 나타냈다.

산머루를 이용한 발효물은 대조구를 포함한 모든 실험구에서 향산화능의 변화가 없거나 감소하는 경향을 보였다.

시금치를 이용한 발효물의 경우, LP-115 균주를 접종한 발효물에서만 시간 경과에 따른 유의적인 향산화능의 증진을 나타냈고, 그 외의 실험구에서는 변화가 없었다.

아사이베리, 시금치를 이용한 발효물에서 향산화능이 증진하는 실험구들이 나타났음. 유산균은 pH 내성이 약하기 때문에 pH가 낮은 다른 과채류 농축액에서는 잘 자라지 못하였으나, 상대적으로 높은 pH를 가지고 있는 아사이베리와 시금치에서는 자라서 생물전환을 하여 향산화능 증진을 보였다고 판단하였다.

과채류 농축액 발효에 쓰인 4가지 균주 중, LP-115 균주가 아사이베리, 시금치를 접종한 발효물에서 향산화능의 증진을 나타낸 것으로 보아 4가지 균주 중 가장 pH에 내성이 강하고 농축액 내에서 잘 자라는 것으로 판단하였다.

과채류 농축액의 낮은 pH가 유산균의 생육을 저해하여 발효물 내 생물전환을 일으키지 못하는 것으로 생각되었으며, 그러므로 이 후의 발효물 제작시 NaOH를 이용하여 과채류 농축액의 초기 pH를 7.0으로 조정하여 유산균이 생육하기에 좋은 환경을 만들어주었다.

발효시간의 경우, 12시간까지 향산화능이 증진되는 경향이 나타났으므로 36시간 내지 48시간까지 발효시간을 늘려 향산화능의 증진을 측정하였다.

4. 초기 pH를 7.0으로 조정한 과채류 농축액을 이용한 발효액의 향산화능 변화 비교

유산균이 과채류 농축액의 낮은 pH로 인해 잘 생육하지 못한다고 판단하여 과채류 농축액의 낮은 pH를 NaOH를 사용하여 pH를 약 7.0으로 보정한 후 발효물을 제작하였다.

가. 실험방법

과채류 농축액을 증류수를 이용하여 포도당 농도 1%로 희석 한 후, 5M NaOH를 이용하여 pH 7.0로 조정하였음. 균주는 ABT-5, ABY-3, LP-115, YF-L811를 사용하였으며, 초기농도는 1 g/L 로 접종하여 배양하였다.

37°C, 200rpm에서 48시간 동안 배양하였으며, 12시간마다 샘플을 채취하여 ORAC assay를 이용하여 항산화능을 분석하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

유산균은 발효 시 젖산을 만들어내기 때문에 발효가 진행되면 발효물 내의 pH가 감소할 것이라고 생각하였음. 이를 이용하여 발효시간에 따른 pH를 측정하여 유산균의 생육여부를 판단하였다.

배양한 샘플의 pH를 pH meter (Mettler Toledo, USA)로 1회 측정하였다.

나. 실험결과

(1) 블랙베리

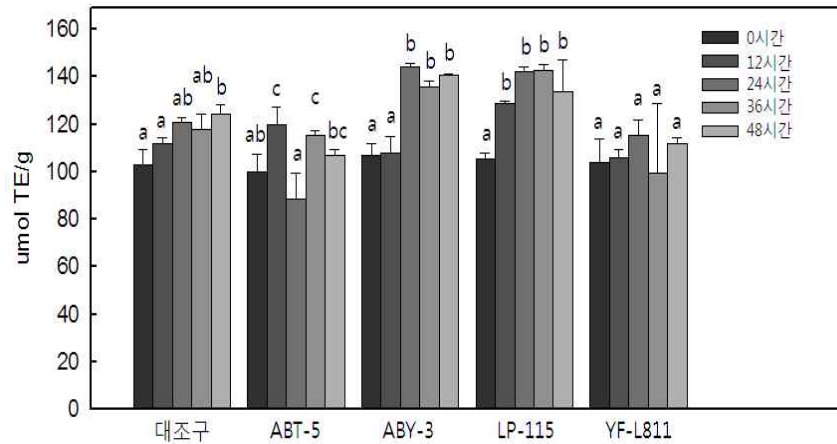


그림 73. 블랙베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 증가하였다(그림 73).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능이 증진되었다 24시간에는 감소하였으며, 36시간에는 다시 증가하였음. 24시간의 항산화능 측정값은 실험적 오차라고 판단하였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능의 변화가 없었으나, 24시간부터 항산화능이 증진되어 48시간 까지 유지되었다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 12시간부터 항산화능이 증진되어 36시간 까지 항산화능이 증진되었으며, 48시간에는 약간 감소하는 경향을 보였음. 그러나 통계처리 결과, 48시간의 오차 범위가 상당히 크기 때문에 항산화능이 감소했다고 할 수 없었다.

YF-811 균주를 접종한 발효물은 24시간까지 항산화능이 증가하는 것처럼 보이나 통계처리 결과로 보아 유의적인 항산화능의 증진이 없었다고 판단하였다.

블랙베리를 이용한 발효물 중, ABT-5, ABY-3, LP-115 균주를 접종한 발효물에서 24시간까지 유의적인 항산화능의 증진을 확인할 수 있었으며, 24시간 이후에는 항산화능의 일정한 수준으로 유지되었다.

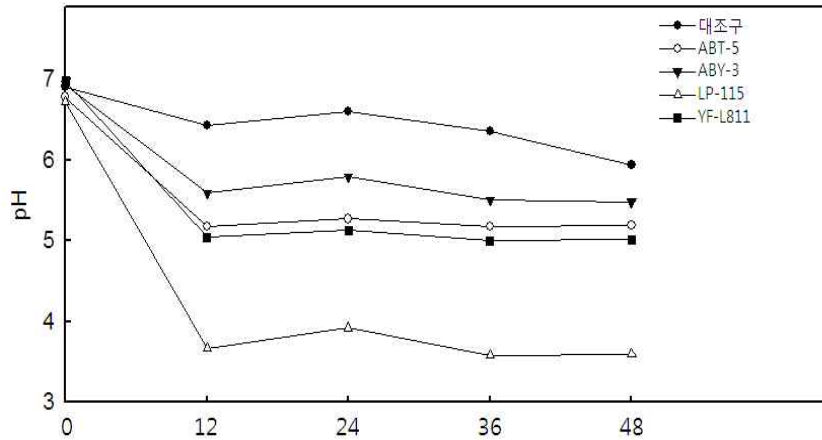


그림 74. 블랙베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.91에서 48시간 경과 후 5.94 까지 감소하였다(그림 74).

ABT-5 균주를 접종한 발효물은 ABT-5 균주를 접종한 발효물과 비슷한 양상을 보이며 최종 pH 5.19 까지 감소하였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.72에서 48시간 경과 후 5.48로 대조구에 비해 많이 떨어지는 경향을 보였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.72에서 최종 pH 3.59 로 다른 시험구에 비해 낮은 pH를 나타냈음. pH에 강한 내성을 지녀 타 균주보다 많이 자란 것을 알 수 있었다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 ABT-5를 접종한 발효물보다 낮은 수준으로 pH가 떨어지는 경향을 나타내었다.

항산화능이 증진되었던 ABY-3 균주를 접종한 발효물은 pH가 상당히 많이 떨어졌으나, YF-L811 균주를 접종한 발효물보다는 pH가 높았음. 이 결과로 보아 균주가 많이 성장하였다고 하더라도 항산화능이 증진된다는 것은 아니라는 결과를 얻을 수 있었다.

(2) 크랜베리

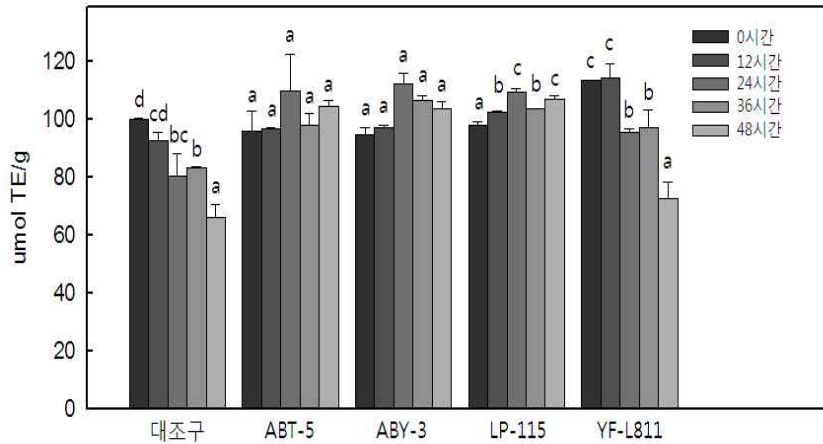


그림 75. 크랜베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하였다(그림 75).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 24시간에 항산화능이 증진되는 것처럼 보이나 오차가 매우 크기 때문에 증진되었다고 판단 할 수 없었고, 경향으로 보아 항산화능이 유지되는 결과를 나타내었다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 24시간에 항산화능이 증진되는 것처럼 보였으나, 통계 처리를 한 결과 항산화능의 증진은 나타나지 않았다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 24시간까지는 항산화능이 증진되다가, 그 이후로는 비슷한 수준을 유지하였다.

YF-811 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 경과하면서 항산화능이 유의적으로 감소하였다.

크랜베리를 이용한 발효물 중, LP-115 균주를 접종한 발효물을 제외하고는 시간의 경과에 따른 항산화능의 증진은 나타나지 않았음. 그러나 ABT-5, ABY-3 균주를 접종한 발효물의 항산화능은 대조구의 항산화능에 비해 안정적인 경향이 나타났다.

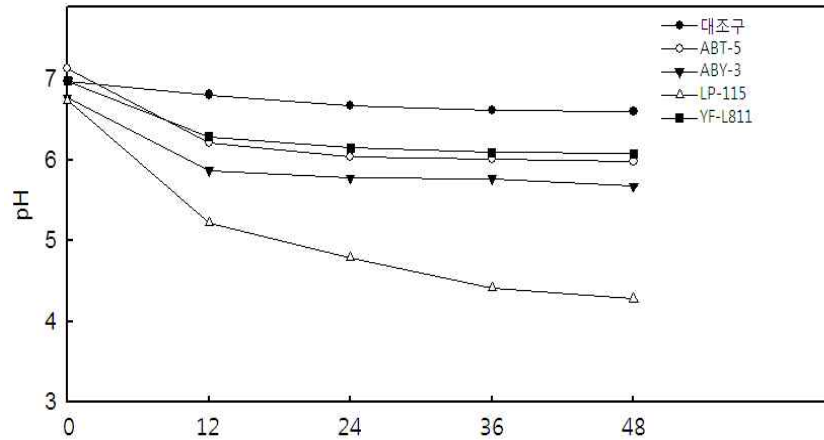


그림 76. 크랜베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.97에서 48시간 경과 후 6.60 까지 감소하였다(그림 76)..

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 7.13에서 48시간 경과 후 5.98로 대조구에 비해 많이 떨어지는 경향을 보였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 ABT-5 균주를 접종한 발효물과 비슷한 양상을 보이며 최종 pH 5.68 까지 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.74에서 최종 pH 4.28 로 다른 시험구에 비해 낮은 pH를 나타내 타 균주보다 많이 성장한 것을 알 수 있었다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 타 균주를 접종한 발효물보다 pH의 감소폭이 적은 경향을 나타내었다.

항산화능이 증진되었던 발효물과 pH가 많이 감소한 발효물을 비교하였을 때, pH의 감소와 항산화능의 증진은 유의적인 상관관계가 없다고 판단되었다.

48시간까지 발효한 결과, 36시간 이후로는 pH가 감소하지 않았고, 항산화능의 증진이 없었기 때문에 이 후 실험에서는 36시간까지 수행하였음. 그리고 경향을 확실히 확인하기 위해 6시간 때의 시료를 채취하여 항산화능을 분석하였다.

(3) 아사이베리

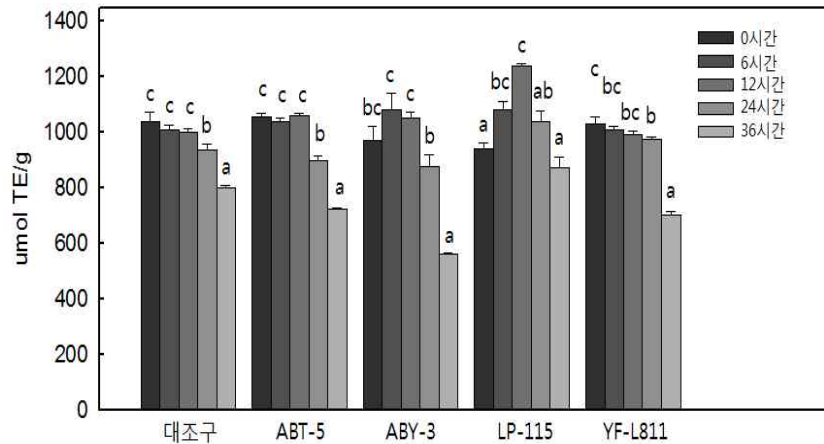


그림 77. 아사이베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하였다(그림 77).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능이 일정하다가, 12시간 이후부터 급격히 낮아지는 경향을 나타냈다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, ABT-5 균주를 접종한 발효물과 같은 양상으로, 12시간 이후부터 항산화능이 급격히 낮아졌다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 12시간까지는 항산화능이 약 20% 증가하였으나, 12시간 이후부터 항산화능이 낮아지는 경향을 나타냈다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 경과하면서 항산화능이 유의적으로 감소하였다.

아사이베리를 이용한 발효물은 모든 시험구에서 12시간까지는 항산화능이 증진되거나 일정 수준으로 유지되었으나, 12시간 이후부터는 급격히 감소하는 경향을 나타냈다.

12시간 이후부터 항산화능이 급격히 감소하는 이유로는 아사이베리 농축액의 포도당함량이 매우 낮아 미생물의 대사가 빨리 끝나기 때문인 것으로 사료된다.

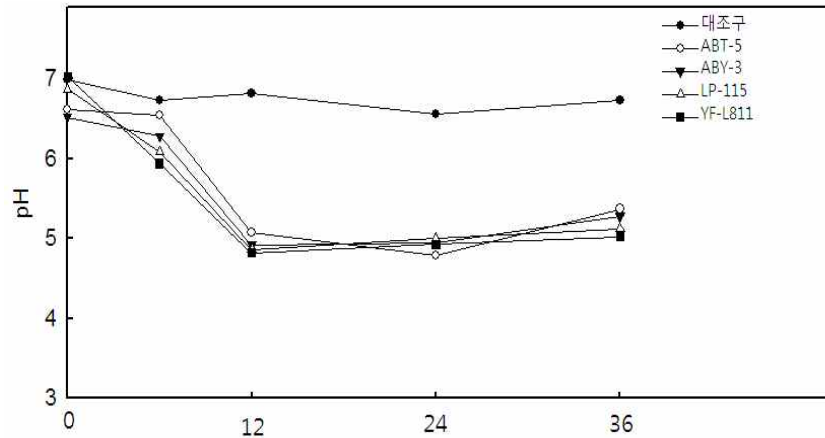


그림 78. 아사이베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.99에서 12시간에 6.52까지 떨어지다가 이 후 다시 증가하는 경향을 나타냈다(그림 78).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.61에서 36시간 경과 후 5.94로 대조구에 비해 많이 떨어지는 경향을 보였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.82에서 최종 pH 4.82로 약 2.00이 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.56에서 최종 pH 4.93로 블랙베리, 크랜베리 발효물에서와는 달리 pH의 감소폭이 작았음. YF-L811 균주를 접종한 발효물은 타 균주를 접종한 발효물과 비슷한 수준으로 pH가 감소하였다.

아사이베리의 경우 포도당 함량이 워낙 적어 유산균이 생육하기에 충분하지 않아 블랙베리, 크랜베리 발효물에 비해 pH의 감소폭이 적은 것으로 판단되었다.

항산화능이 증진되었던 LP-115균주를 이용한 발효물의 경우, pH의 감소폭이 ABY-3, YF-L811을 이용한 발효물의 감소폭과 차이가 거의 없었는데, 이 결과로 보아 유산균의 생육 정도와 항산화능의 증진은 유의적인 상관관계가 없는 것으로 판단되었다.

(4) 아로니아

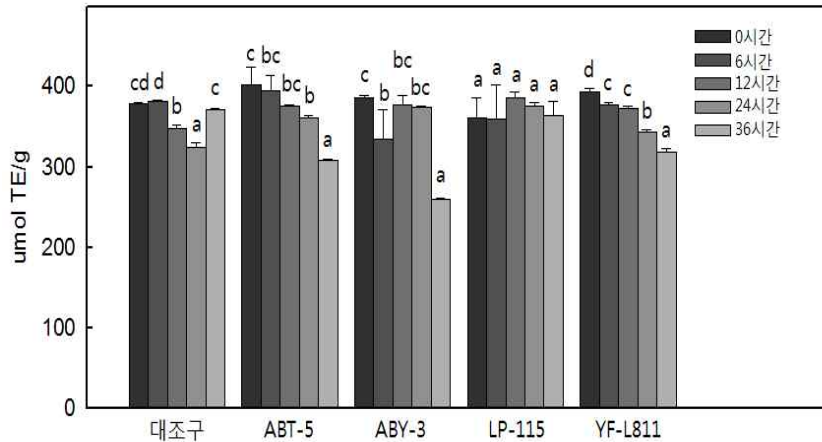


그림 79. 아로니아 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하였음(그림 79). 그러나 36시간 때에 증가하는데, 희석하는데 문제가 있었다고 판단됨. 전체적인 경향은 감소하는 경향을 보였다.

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하는 경향을 보였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 24시간까지는 항산화능이 유지되다가 36시간에 급격히 감소하였고, LP-115 균주를 접종한 발효물은 36시간 까지 일정 수준의 항산화능을 유지하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 경과하면서 항산화능이 유의적으로 감소하였다.

아로니아를 이용한 발효물은 모든 시험구에서 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소되는 경향을 보였다.

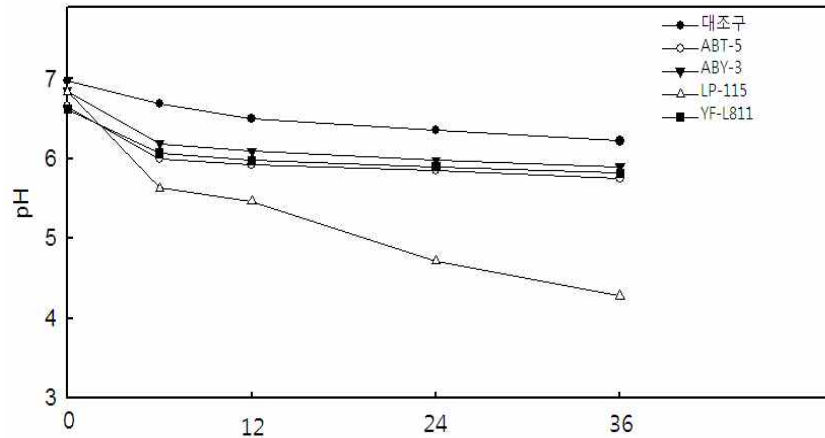


그림 80. 아로니아 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.98에서 36시간에 6.22까지 떨어지는 경향을 나타냈다(그림 80).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.65에서 36시간 경과 후 5.75로 대조구에 비해 많이 떨어지는 경향을 보였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.85에서 최종 pH 5.9로 감소폭이 매우 적었다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.84에서 최종 pH 4.28로 다른 균주를 이용한 발효물보다 pH의 감소폭이 훨씬 큰 경향을 나타냈음. YF-L811 균주를 접종한 발효물은 타 균주를 접종한 발효물과 비슷한 수준으로 pH가 감소하였다.

아로니아의 경우 다른 발효물에 비해 pH 감소폭이 적은 것으로 보아 유산균들이 아로니아의 당을 잘 대사하지 못하거나, 아로니아 내에 저해제가 많은 것으로 판단되었다.

pH의 감소폭이 컸던 LP-115균주를 이용한 발효물의 경우, 향산화능이 증진되지 않은 것으로 보아 균주의 성장과 향산화능의 증진은 상관관계가 없다고 판단되었다.

(5) 산머루

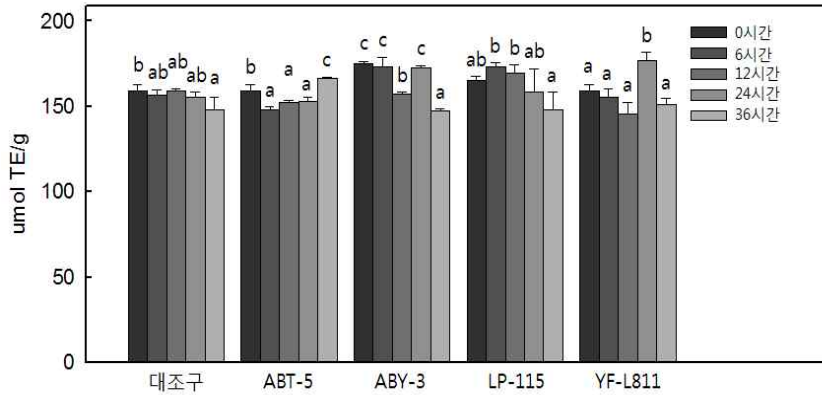


그림 81. 산머루 발효물의 향산화능 평가

대조구의 경우, 발효시간이 경과하여도 향산화능의 변화는 없었다(그림 81).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 36시간에 향산화능이 약간 증가하였으나, 전체적인 경향을 보았을 때 발효시간이 경과함에 따라 향산화능이 유지되었다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 24시간까지는 향산화능이 유지되다가 36시간에 급격히 감소하였음. LP-115 균주를 접종한 발효물은 12시간까지 향산화능을 유지하다가 24시간부터는 점차 향산화능이 감소하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 경과하면서 향산화능이 감소하다가 일정 수준으로 유지되었음. 24시간의 경우 갑자기 향산화능이 증진되는 것을 볼 수 있는데 발효시간에 따른 경향으로 보아 실험적 오차라고 판단하였다.

산머루를 이용한 발효물은 모든 시험구에서 시간이 경과함에 따라 향산화능이 감소 또는 유지되는 경향을 보였다.

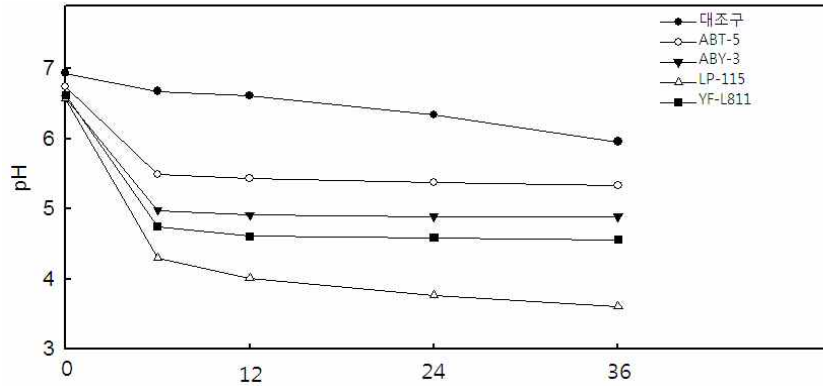


그림 82. 산머루 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.94에서 36시간에 5.96까지 떨어지는 경향을 나타냈다(그림 82).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.74에서 36시간 경과 후 5.33로 대조구에 비해 많이 떨어지는 경향을 보였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.58에서 최종 pH 4.89로 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.57에서 최종 pH 3.61로 다른 균주를 이용한 발효물보다 pH의 감소폭이 훨씬 큰 경향을 나타냈다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 타 균주를 접종한 발효물과 비슷한 수준으로 pH가 감소하였음. 최종 pH는 4.56 이었다.

pH의 감소폭이 컸던 LP-115균주를 이용한 발효물의 경우, 항산화능이 증진되지 않은 것으로 보아 균주의 성장과 항산화능의 증진은 상관관계가 없다고 판단되었다.

(6) 시금치

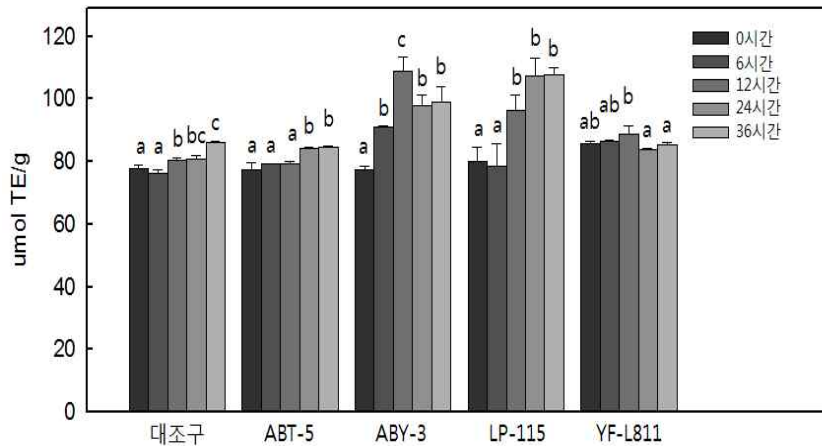


그림 83. 시금치 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 시간이 경과하면서 항산화능이 약간 증진하였으나, 매우 미비하여 증진여부를 판단하기엔 부족하였다(그림 83).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 조금씩 증진하였음. 그러나 그 증가량이 매우 미비하여 증진여부를 판단하기에는 무리가 있었다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능이 약 14% 증가하였으나, 그 이후에는 약간 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 항산화능이 24시간까지 약 14% 증가하였고, 그 이후에는 일정한 수준의 항산화능을 유지하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 경과함에 따라 일정한 수준을 유지하였음. 대조구와 비슷한 경향을 나타냈다.

시금치를 이용한 발효물은 ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물에서 항산화능이 최대 약 14%까지 증가하였으며, 그 이후에는 항산화능이 유지되는 경향을 보였음. 나머지 실험구는 항산화능이 유지되는 경향이 나타났다.

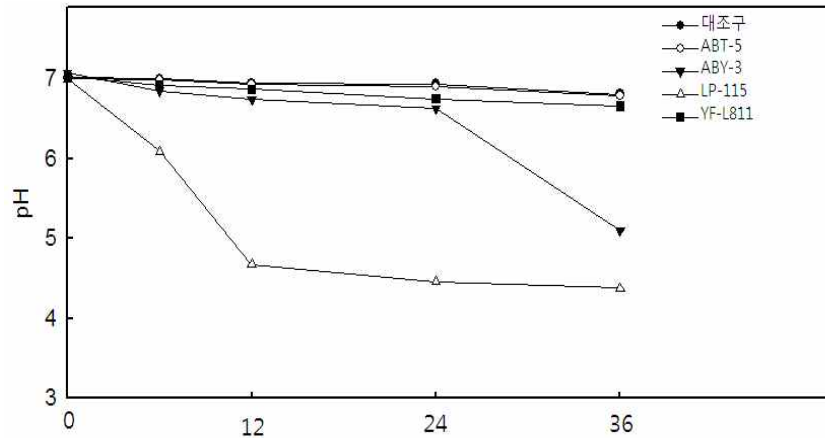


그림 84. 시금치 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 7.02에서 36시간에 6.81까지 떨어지는 경향을 나타냈다(그림 84).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 7.00에서 36시간 경과 후 6.79로 대조구와 비슷하게 감소하는 경향을 나타냈다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.85에서 최종 pH 5.1로 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 7.00에서 최종 pH 4.38로 다른 균주를 이용한 발효물보다 pH의 감소폭이 훨씬 큰 경향을 나타냈음. 균주가 잘 자랐을 것으로 판단하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 대조구와 비슷한 수준으로 pH가 감소하였음. 최종 pH는 6.6 이었다.

pH의 감소폭이 컸던 ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물이 향산화능의 증진 또한 있었음. 그러므로 시금치 발효물의 경우, 균주의 성장과 향산화능의 증진이 유의적인 상관관계가 있다고 판단하였다.

(7) 라즈베리

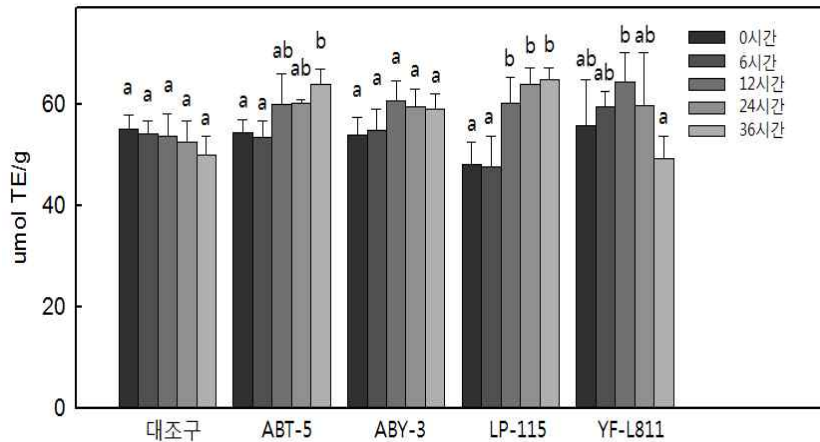


그림 85. 라즈베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 통계처리 결과 시간에 따른 항산화능의 유의적인 변화가 나타나지 않았다(그림 85).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 증가하는 경향을 보였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능이 증가하는 것처럼 보이나, 통계처리 결과를 보아 유의적인 변화가 없다고 판단하였음. LP-115 균주를 접종한 발효물은 항산화능이 12시간까지 증가하였고, 그 이후로는 비슷한 항산화능 수준을 유지하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 12시간이 될 때까지 항산화능이 증가하다가 그 이후로는 급격히 감소하는 경향을 나타냈다.

라즈베리를 이용하여 만든 발효물은 ABY-3 균주를 접종한 발효물을 제외한 세 가지 균주를 접종한 발효물에서 항산화능의 증진이 있었으며, YF-L811 균주의 경우 12시간 이후로 항산화능이 감소하는 경향을 보였다.

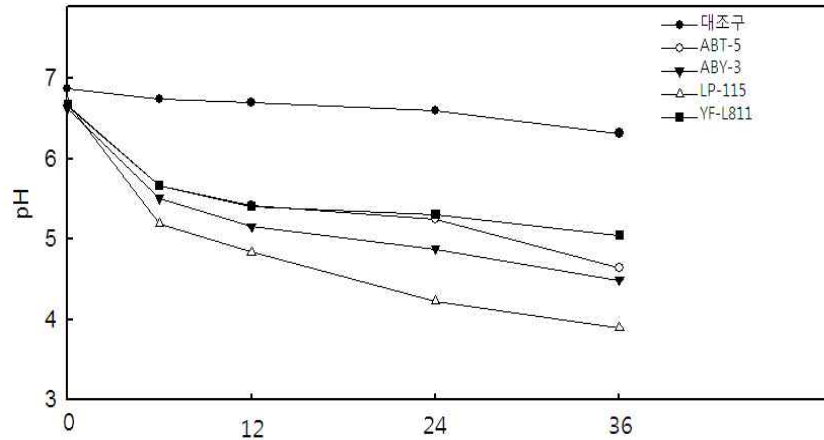


그림 86. 라즈베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.88에서 36시간에 6.32까지 떨어지는 경향을 나타냈다(그림 86).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.66에서 36시간 경과 후 4.64로 대조구와 비교하여 많이 감소하였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.63에서 최종 pH 4.49로 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.70에서 최종 pH 3.90으로 다른 균주를 이용한 발효물보다 pH의 감소폭이 훨씬 큰 경향을 나타냈음. 균주가 잘 자랐을 것으로 판단하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물의 최종 pH는 네 가지 시험구 중 가장 높은 5.05를 나타냈다.

모든 시험구의 pH 감소폭이 컸고, 그에 따른 향산화능의 증진 또한 나타났음. 라즈베리의 경우 유산균이 잘 생육할 수 있는 환경을 지니고 있으며, 균주의 생육과 향산화능의 증진이 유의적인 관계에 있다고 판단하였다.

(8) 블루베리

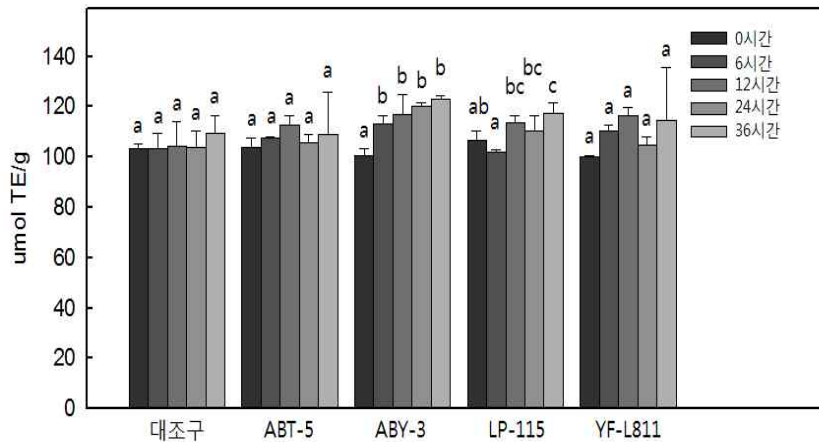


그림 87. 블루베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 일정한 수준을 유지하였다(그림 87).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 비슷한 경향으로 유의적인 항산화능의 증진이 나타나지 않았다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 항산화능이 36시간까지 지속적으로 증가하는 경향을 나타냈다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 36시간 까지 항산화능이 증가하였음. 그러나 그 증가폭이 매우 미비하여 증진여부를 제대로 판단하기에는 무리가 있었다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 경향으로 보았을 때는 항산화능이 증가하는 것처럼 보였으나 통계처리결과 비슷한 수준을 나타내었다.

블루베리를 이용하여 만든 발효물 중, ABY-3 균주를 접종한 발효물에서 항산화능의 증진이 확인되었다.

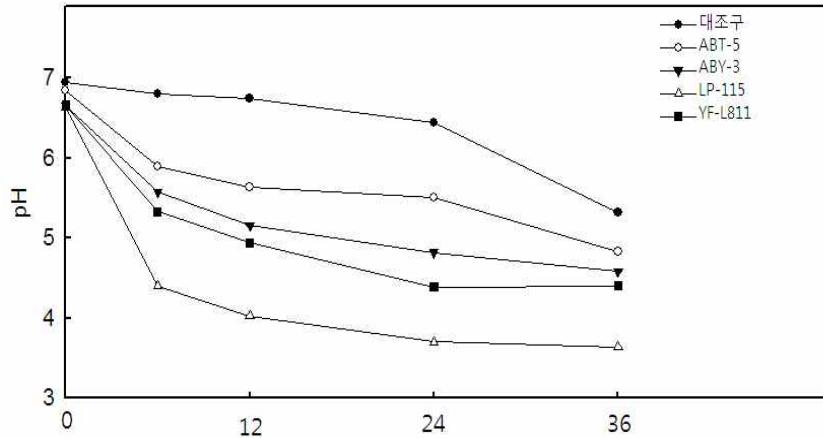


그림 88. 블루베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.95에서 36시간에 5.32까지 떨어지는 경향을 나타냈음. 24시간까지는 완만하게 감소하였으나, 36시간에서 급격히 감소하는 경향을 나타냈다(그림 88).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.85에서 36시간 경과 후 4.83로 대조구와 비교하였을 때 더 감소한 것으로 보아 균주의 성장이 있었다고 판단하였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.66에서 최종 pH 4.58로 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.64에서 최종 pH 3.64로 다른 균주를 이용한 발효물보다 pH의 감소폭이 훨씬 큰 경향을 나타냈음. 균주가 잘 자랐을 것으로 판단하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물의 최종 pH는 4.40을 나타냈음. 대부분의 과채류 농축액에서는 YF-L811이 잘 자라지 못했는데 블루베리에서는 잘 자라는 것으로 판단하였다.

모든 시험구의 pH 감소폭이 컸으나, ABY-3, YF-L811 균주를 접종한 발효물에서만 향산화능의 증진을 나타냈음. LP-115 균주를 접종한 발효물의 경우, 향산화능이 증진되는 경향은 보였으나, 그 정도가 너무 미비하였다.

(9) 양배추

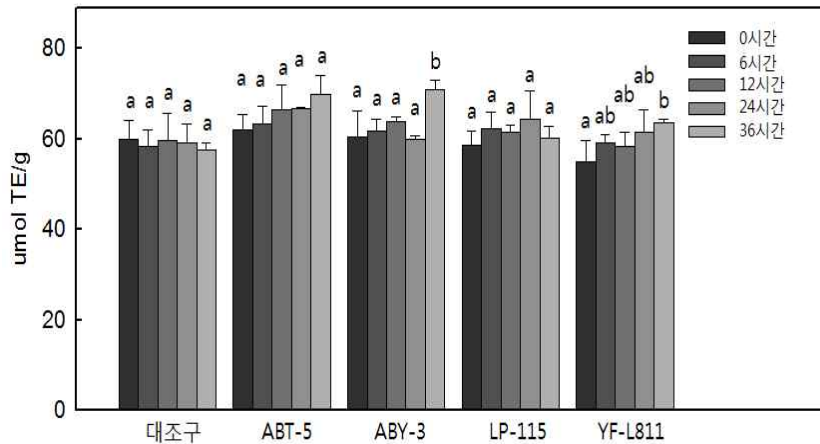


그림 89. 양배추 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 일정한 수준을 유지하였다(그림 69).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 증가하는 것처럼 보이나 통계처리 결과로 보아 시간의 경과에 따른 항산화능의 증진은 없었다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 일정한 항산화능을 나타내다 36시간에서 급격히 증가하였음. 실험적 오차라고 판단하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 36시간까지 항산화능의 변화가 없었으며, YF-L811 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과함에 따라 유의적으로 항산화능이 증가하였다.

양배추를 이용하여 만든 발효물은 YF-L811 균주를 접종한 발효물에서 항산화능이 시간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다.

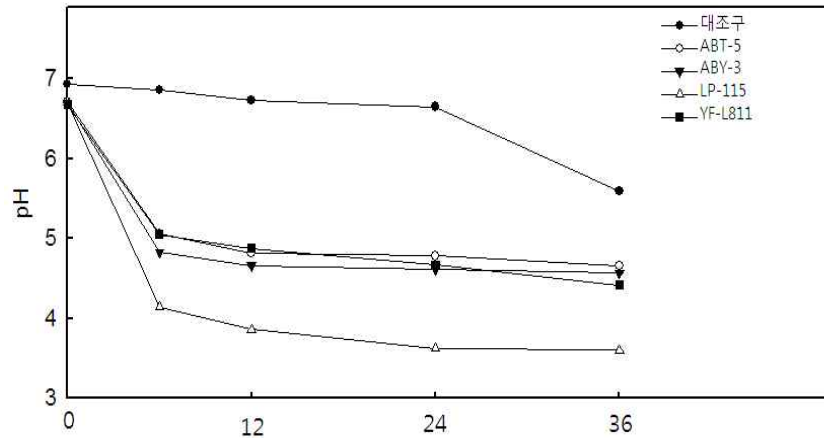


그림 90. 양배추 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.93에서 36시간에 5.59까지 떨어지는 경향을 나타냈음. 24시간까지는 완만하게 감소하였으나, 36시간에서 급격히 감소하는 경향을 나타냈다(그림 90).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.71에서 36시간 경과 후 4.66로 대조구와 비교하였을 때 더 감소한 것으로 보아 균주의 성장이 있었다고 판단하였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.70에서 최종 pH 4.57로 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.70에서 최종 pH 3.60로 다른 균주를 이용한 발효물보다 pH의 감소폭이 훨씬 큰 경향을 나타냈고, 균주가 잘 자랐을 것으로 판단하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물의 최종 pH는 4.42을 나타냈음. ABT-5, ABY-3를 접종한 발효물과 비슷한 수준의 pH 감소폭이 나타났다.

모든 시험구의 pH 감소폭이 컸으나, ABT-5, YF-L811 균주를 접종한 발효물에서만 향산화능의 증진을 나타냈음. 나머지 균주를 접종한 발효물들은 향산화능이 일정한 수준으로 유지되었고, 균주의 생육과 향산화능의 증진은 상관관계가 없는 것으로 판단하였다.

(10) 적포도주스

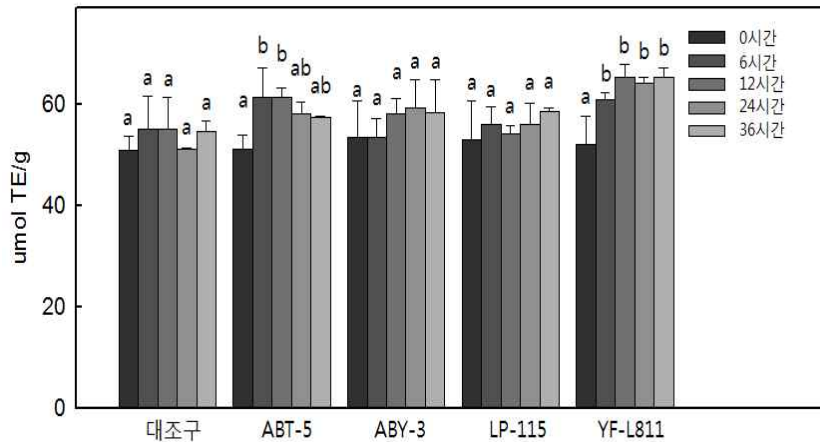


그림 91. 적포도 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 일정한 수준을 유지하였다(그림 91).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 6시간이었을 때 항산화능의 증진이 최대였으며, 그 이후로는 조금씩 감소하는 경향을 나타냈다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물의 경우, 통계처리 결과로 보아 항산화능의 증진이 일어나지 않았다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 시간의 경과에 따라 항산화능이 조금씩 증진되는 것처럼 보이나 통계처리 결과를 보아 일정한 수준을 유지하였다고 판단하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물은 12시간이었을 때 항산화능이 약 20% 증가하여 최대치를 나타내었고, 그 이후로는 항산화능이 유지되는 경향을 나타내었다.

적포도주스를 이용하여 만든 발효물은 ABT-5, YF-L811 균주를 접종한 발효물에서 항산화능이 시간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다.

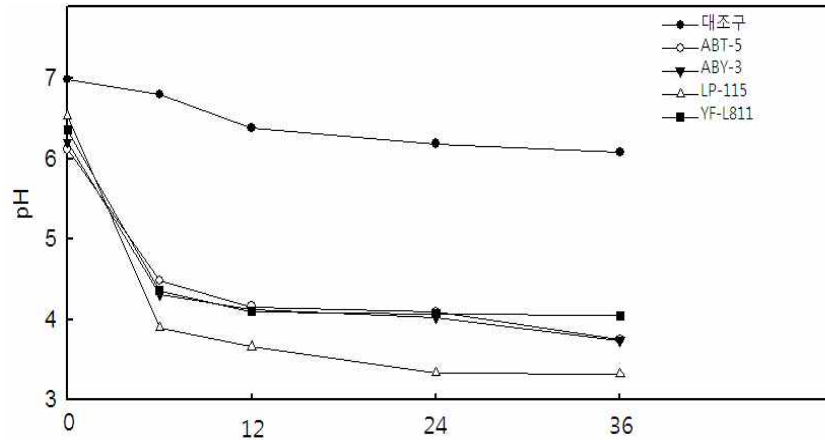


그림 92. 적포도 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.99에서 36시간에 5.80까지 떨어지는 경향을 나타냈다(그림 92).

ABT-5 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.12에서 36시간 경과 후 3.75로 대조구와 비교하였을 때 더 감소한 것으로 보아 균주의 성장이 있었다고 판단하였다.

ABY-3 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.21에서 최종 pH 3.74로 감소하였음. LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.54에서 최종 pH 3.32로 감소하였다.

YF-L811 균주를 접종한 발효물의 최종 pH는 4.05을 나타냈음. ABT-5, ABY-3를 접종한 발효물과 비슷한 수준의 pH 감소폭이 나타났고, 24시간 이후로 pH가 감소하지 않았으므로 유산균이 더 이상 자라지 못한 것으로 판단하였다.

모든 시험구의 pH 감소폭이 컸으나, ABT-5, ABY-3, YF-L811 균주를 접종한 발효물에서만 향산화능의 증진을 나타냈고, 그 중에서도 YF-L811 균주를 접종한 발효물이 향산화증진이 가장 우수하였다.

최종 pH가 가장 낮았던 LP-115 균주를 접종한 발효물의 향산화능 증진 여부를 보았을 때 균주의 생육과 향산화증진과의 유의적인 상관관계가 없다고 판단하였다.

다. 결론

모든 과채류 농축액 발효물의 대조구는 향산화능이 감소하거나 일정 수준을 유지하는 경향을 보였다.

블랙베리를 이용한 발효물 중, ABT-5, ABY-3, LP-115 균주를 접종한 발효물에서 24시간까지 유의적인 향산화능의 증진을 확인할 수 있었으며, 24시간 이후에는 향산화능이 일정한 수준

으로 유지되었다.

크랜베리를 이용한 발효물 중, LP-115 균주를 접종한 발효물의 제외하고는 시간의 경과에 따른 항산화능의 증진이 나타나지 않았다.

아사이베리를 이용한 발효물은 모든 시험구에서 12시간까지는 항산화능이 증진되거나 일정 수준으로 유지되었으나, 12시간 이후부터는 급격히 감소하는 경향을 나타냈다.

아로니아를 이용한 발효물은 모든 시험구에서 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소되는 경향을 보였다.

산머루를 이용한 발효물은 모든 시험구에서 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소 또는 유지되는 경향을 보였다.

시금치를 이용한 발효물은 ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물에서 항산화능이 최대 약 14%까지 증가하였으며, 그 이후에는 항산화능이 유지되는 경향을 보였음. 나머지 실험구는 항산화능이 유지되는 경향이 나타났다.

라즈베리를 이용하여 만든 발효물은 ABY-3 균주를 접종한 발효물을 제외한 세 가지 균주를 접종한 발효물에서 항산화능의 증진이 있었으며, YF-L811 균주의 경우 12시간 이후로 항산화능이 감소하는 경향을 보였다.

블루베리를 이용하여 만든 발효물 중, ABY-3 균주를 접종한 발효물에서만 항산화능의 증진이 확인되었음. YF-L811 균주를 접종한 발효물은 항산화능이 증진하는 것처럼 보이나 통계처리 결과 일정 수준을 유지하였다고 판단하였다.

양배추를 이용하여 만든 발효물은 YF-L811 균주를 접종한 발효물에서 항산화능이 시간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다.

적포도주스를 이용하여 만든 발효물은 ABT-5, YF-L811 균주를 접종한 발효물에서 항산화능이 시간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈음. 특히 YF-L811 균주를 접종하였을 때 12시간 경과 시 항산화능이 약 20% 증가하였다.

pH 조정 결과, pH 변화를 통해 균주의 생장여부를 판단할 수 있었음. 모든 균주를 접종한 발효물에서 대조구 대비 pH의 감소 속도가 빨랐으며, pH 감소 속도 및 감소폭으로 각 균주별 성장속도를 비교할 수 있었고, 항산화능 측정 결과, 균주의 생육정도와 항산화증진은 유의적인 상관관계가 없는 경향을 나타냈다.

5. 혼합베리액(5종) 발효

(주)동원 F&B에서 보내준 5종의 혼합베리액을 이용하여 발효를 진행(표 50).

가. 실험방법

5종의 혼합베리액을 각각 pH를 7.0으로 조정하여 37°C, 200 rpm 조건으로 발효를 진행, 균주는 LP-115를 1 g/L 로 접종 하였다.

0, 6, 12, 24 그리고 36 시간에 샘플링 진행. 항산화능 측정 방법으로는 ORAC assay를 이용하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

채취한 샘플을 Ultrasonic Processor (Sonics & Materials INC, USA)를 이용하여 샘플에 존재하는 유산균을 파쇄한 후 원심분리하여 그 상등액을 사용하였다.

유산균은 발효 시 젖산을 만들어내기 때문에 발효가 진행되면 발효물 내의 pH가 감소할 것이라고 생각하였음. 이를 이용하여 발효시간에 따른 pH를 측정하여 유산균의 생육여부를 판단하였다.

배양한 샘플의 pH를 pH meter (Mettler Toledo, USA)로 1회 측정하였다.

표 50. 혼합베리액 조성 및 포도당 농도

이름	베리 조성비 (%)					Glucose (g/L)
A	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	39.32
	73.40	16.59	10.00	0.00	0.00	
B	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	32.71
	80.00	10.00	10.00	0.00	0.00	
C	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	51.26
	65.70	24.29	10.00	0.00	0.00	
D	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	32.54
	74.00	10.00	10.00	3.00	3.00	
E	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치	17.56
	72.40	10.00	10.00	4.95	3.00	

나. 실험결과

(1) 혼합베리액 A

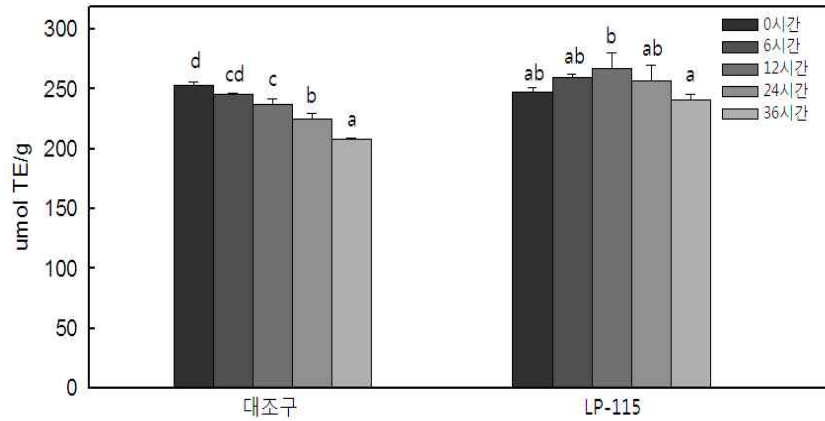


그림 93. 혼합베리액(A) 발효물의 항산화능 변화

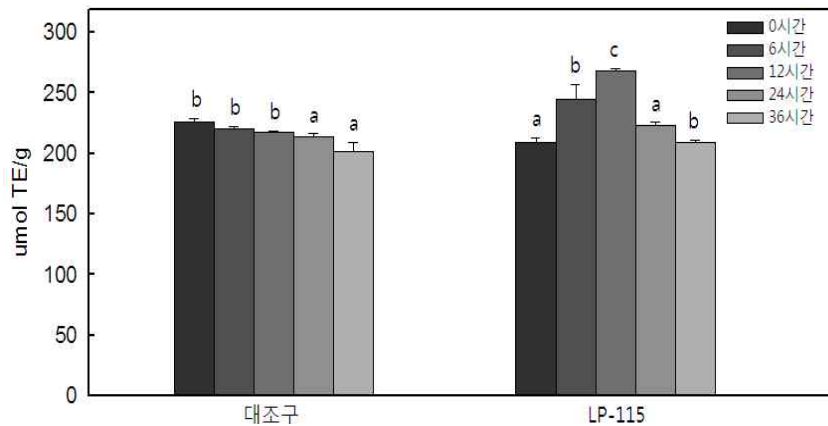


그림 94. 초음파 파쇄 처리된 혼합베리액(A) 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하여(그림 93) 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 6% 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능이 약 8% 증가하였으나, 12시간 이후부터 항산화능이 낮아지는 경향이 나타났다.

초음파 파쇄 처리된 대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하였고(그림 94). 대조구의 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 3% 감소하였다.

초음파 파쇄 처리된 LP-115 균주 접종구 발효물의 경우, 12시간까지는 항산화능이 약 28% 증가하였으나, 12시간 이후부터 항산화능이 급격하게 낮아지는 경향이 나타났다.

혼합베리액(A)에 LP-115 균주를 접종한 발효물을 초음파 파쇄 처리할 경우 12시간까지 유의

적인 항산화능의 증진을 확인할 수 있었으며, 12시간 이후에는 항산화능이 급격히 감소하는 경향이 나타났다.

LP-115 균주를 접종한 발효물의 경우 초음파 파쇄 처리가 항산화능 증감 경향에 영향을 미치지 않았으며, 초음파 파쇄 처리된 대조구의 경우, 초음파 파쇄처리 유무에 따른 항산화능 증감 경향의 차이가 나타나지 않았다.

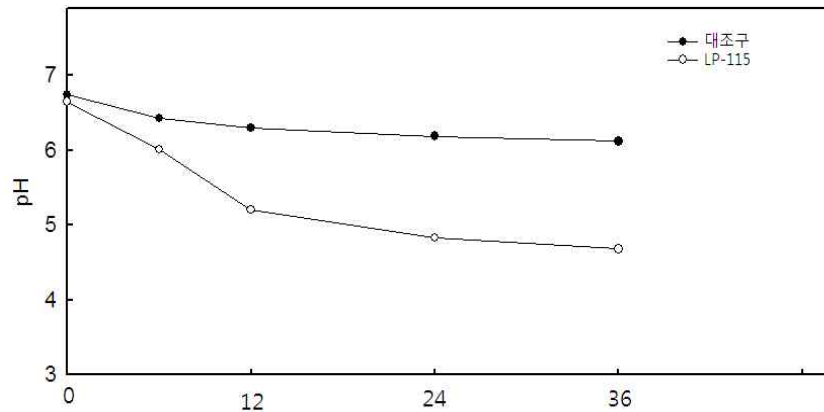


그림 95. 혼합베리액(A) 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타냈으며, 초기 pH 6.75 에서 36시간 경과 후 6.12 까지 감소하였다(그림 95).

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.65 에서 최종 pH 4.68 로 대조구에 비해 낮은 pH를 나타내 균주가 성장한 것을 알 수 있었다.

LP-115 균주를 접종하였을 때 pH의 감소폭이 큰 것으로 보아 혼합베리액(A) 내에서 균주가 성장을 했다는 것을 알 수 있었으며, 항산화능의 증진이 있던 것으로 보아 pH의 감소와 항산화능의 증진이 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

(2) 혼합베리액 B

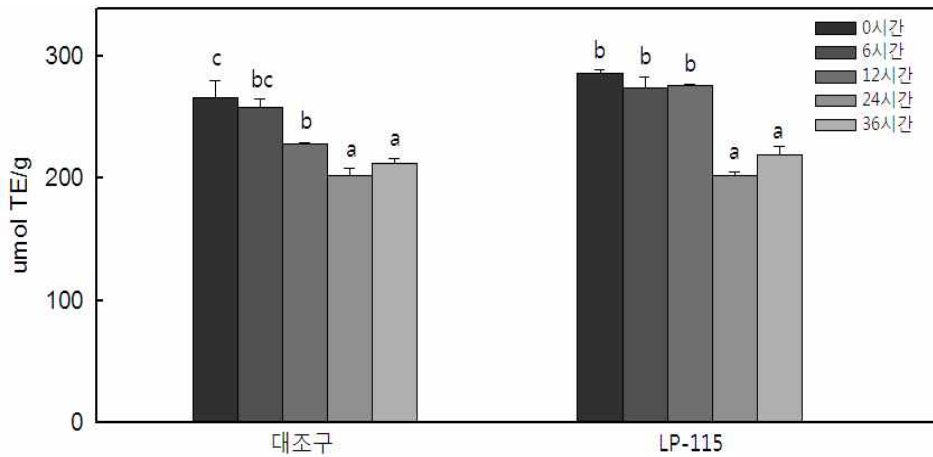


그림 96. 혼합베리액(B)의 항산화능 변화

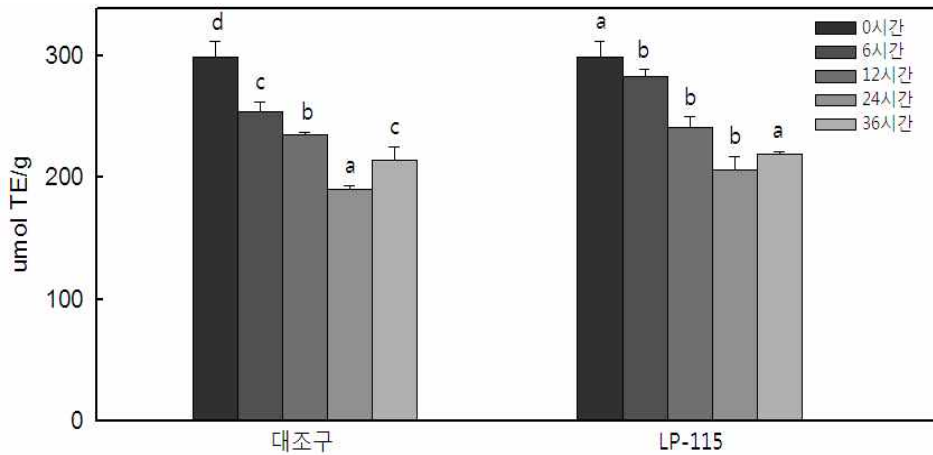


그림 97. 초음파 파쇄 처리된 혼합베리액(B)의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하여(그림 96) 대조구의 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 20% 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물은 12시간까지는 항산화능의 변화가 없었으나, 12시간 이후부터 항산화능이 급격히 낮아지는 경향이 나타났음. LP-115 균주를 접종한 발효물의 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 23% 감소하였다.

초음파 파쇄 처리된 대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하여(그림 97) 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 28% 감소하였다.

초음파 파쇄 처리된 LP-115 균주 접종구 발효물의 경우, 비 처리구에 비해 항산화능이 초기부터 급격히 감소하였다.

혼합베리액(B)에 LP-115 균주를 접종한 발효물을 초음파 파쇄 처리할 경우 최종 항산화능은

초기 항산화능에 비해 약 26% 감소하였음. 초음파 파쇄를 처리 여부에 상관없이 항산화능은 급격히 감소하였다.

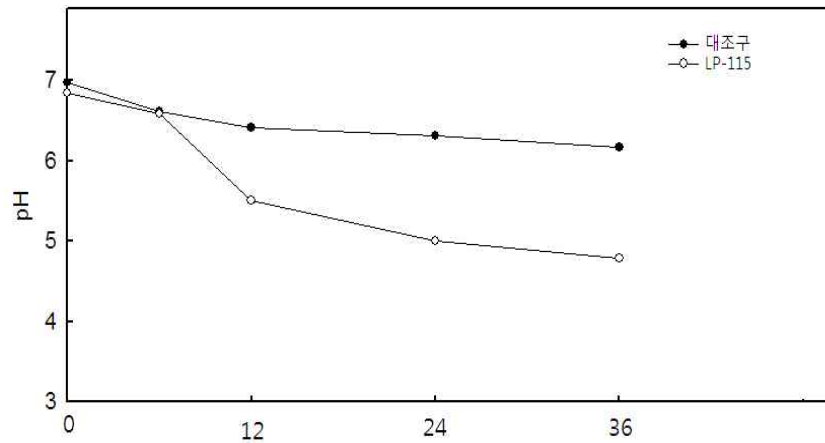


그림 98. 혼합베리액(B)의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향이 나타났으며, 초기 pH 6.97 에서 36시간 경과 후 6.17 까지 감소하였다(그림 98).

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.84 에서 최종 pH 4.79 로 대조구에 비해 낮은 pH를 나타내 균주가 성장한 것을 알 수 있었다.

발효물의 항산화능과 pH를 비교하였을 때, pH의 감소함에 따라 항산화능이 감소한 것을 확인 할 수 있었다.

LP-115 균주를 접종하였을 때 pH의 감소폭이 큰 것으로 보아 혼합베리액(B) 내에서 균주가 성장을 했다는 것을 알 수 있었음. 그러나 항산화능의 증진은 나타나지 않았다.

(3) 혼합베리액 C

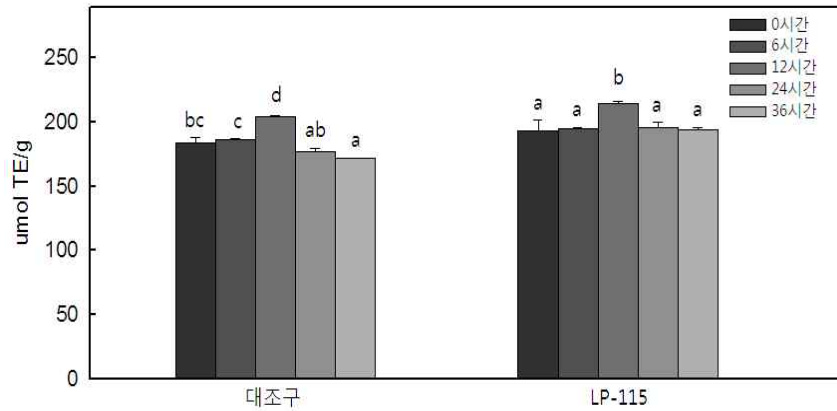


그림 99. 혼합베리액(C)의 항산화능 변화

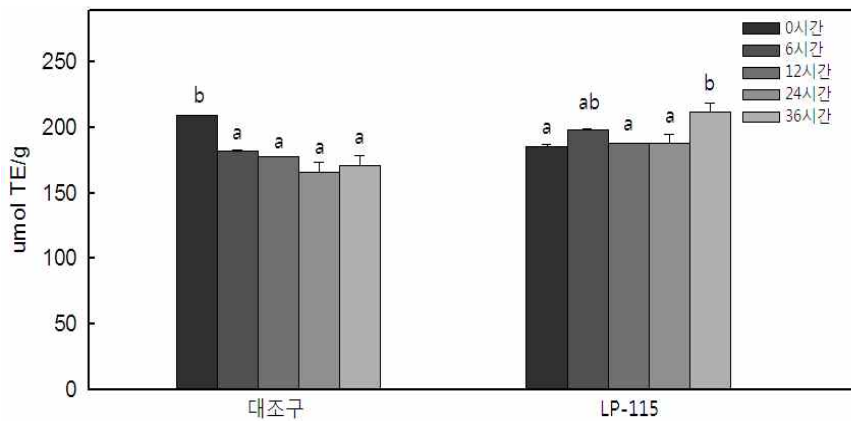


그림 100. 초음파 파쇄 처리된 혼합베리액(C)의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능 변화가 나타나지 않았다(그림 99).

LP-115 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간에 항산화능이 약 11% 증가하였으나, 대조구의 경우도 12시간에 항산화능 약 11% 증가하여 유의적인 증진이 나타나지 않았다고 판단다.

초음파 파쇄 처리된 대조구의 경우, 발효시간이 경과하면서 유의적으로 항산화능이 감소하였음(그림 100). 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 18% 감소하였다.

초음파 파쇄 처리된 LP-115 균주 접종구 발효물의 경우 항산화능의 증진이 나타났으며 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 14% 증가하였다.

혼합베리액(C)에 LP-115 균주를 접종한 발효물을 초음파 파쇄 처리할 경우 유의적인 항산화능의 증진을 확인할 수 있었다.

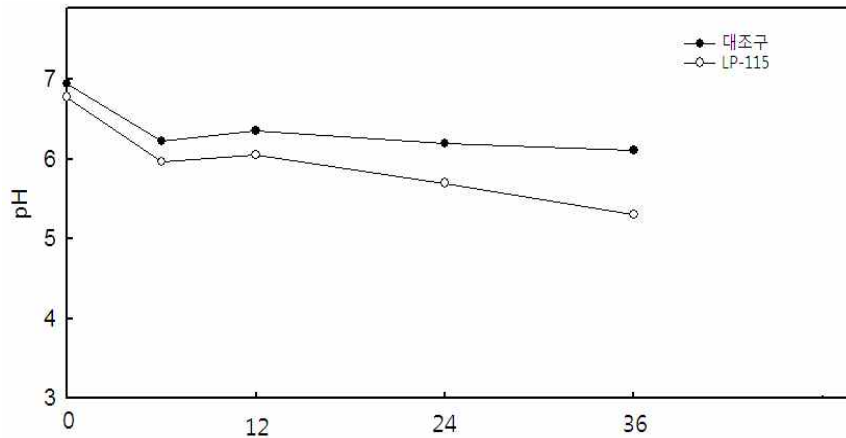


그림 101. 혼합베리액(C)의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향이 나타났으며, 초기 pH 6.95 에서 36시간 경과 후 6.11 까지 감소하였다(그림 101).

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.78 에서 최종 pH 5.30 로 대조구에 비해 낮은 pH를 나타내 균주가 성장한 것을 알 수 있었다.

발효물의 항산화능과 pH를 비교하였을 때, pH의 감소와 항산화능의 증진은 유의적인 상관관계가 없다고 판단되었다.

(4) 혼합베리액 D

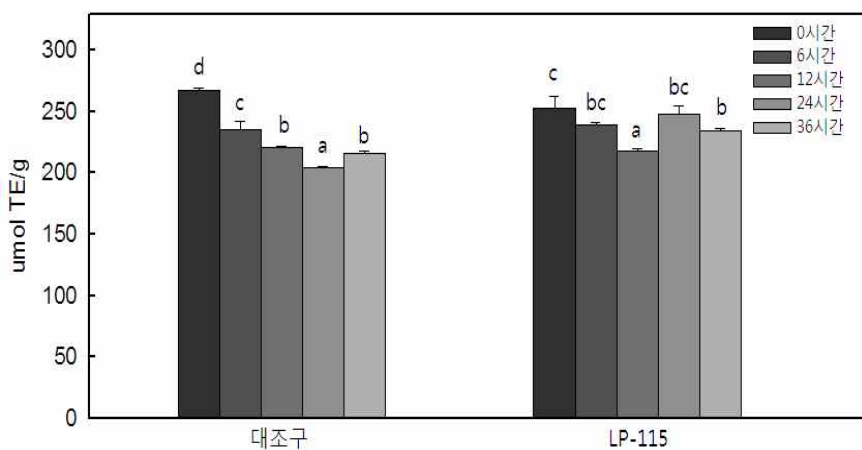


그림 102. 혼합베리액(D)의 항산화능 변화

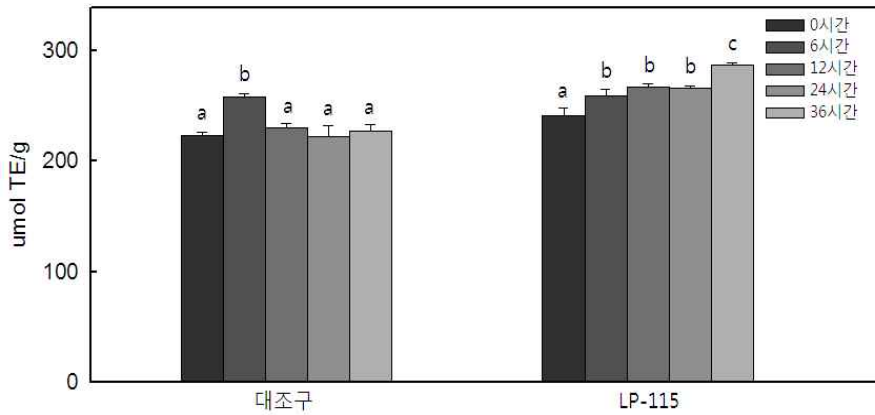


그림 103. 초음파 파쇄 처리 된 혼합베리액(D)의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능의 감소가 나타나(그림 102) 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 19% 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효 시간이 경과함에 따라 항산화능의 감소가 나타났음. 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 7% 감소하였다.

혼합베리액(D)에 LP-115 균주를 접종한 발효물에서 유의적인 항산화능의 증진을 확인할 수 없었으며, 항산화능의 감소가 나타났다.

초음파 파쇄 처리된 대조구의 경우, 발효시간의 경과에 따른 항산화능 변화가 나타나지 않았고(그림 103). 6시간 때에 약간 증가하는 것처럼 보이나 실험적 오차라고 판단된다.

초음파 파쇄 처리된 LP-115 균주 접종구 발효물의 경우 항산화능의 증진이 나타나 초기 항산화능에 비해 최종 항산화능이 약 19% 증가하였다.

LP-115로 발효한 혼합베리액(D) 발효물의 경우, 초음파 파쇄 처리 시 발효 시간이 경과함에 따라 항산화능의 증진이 나타났다.

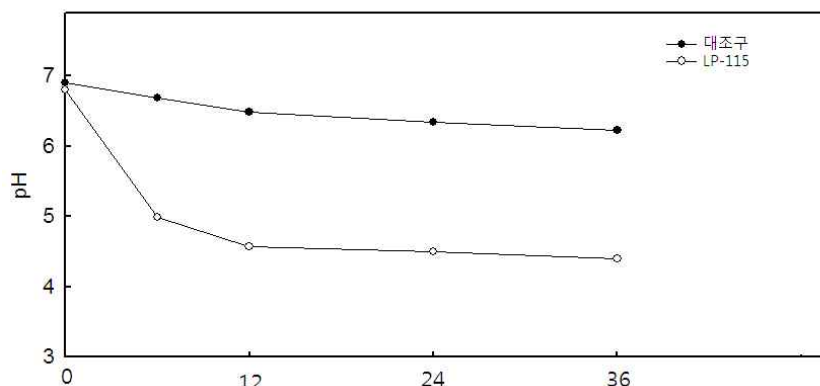


그림 104. 혼합베리액(D)의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.90 에서 48시간 경과 후 6.23 까지 감소하였다(그림 104).

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.80 에서 최종 pH 4.40 로 대조구에 비해 낮은 pH를 나타내 균주가 성장한 것을 알 수 있었다.

발효물의 향산화능과 pH를 비교하였을 때, pH의 감소와 향산화능의 증진 사이에 유의적인 상관관계가 없다고 판단되었다. 그러나 초음파 파쇄한 발효물의 경우, pH의 감소와 향산화능의 증진 사이에 유의적인 상관관계가 나타났다.

(5) 혼합베리액 E

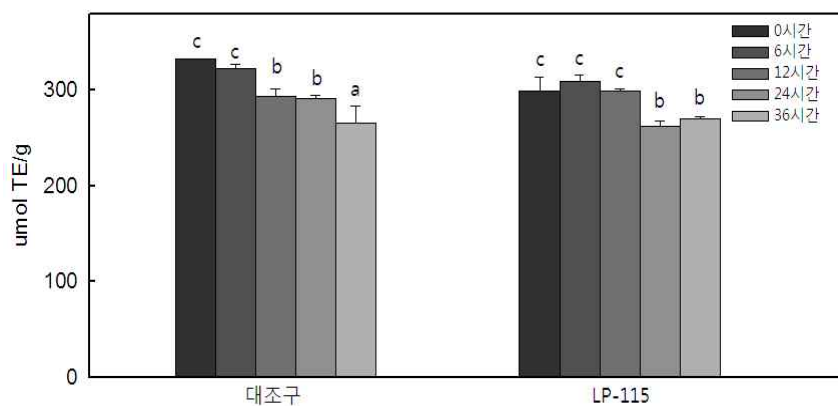


그림 105. 혼합베리액(E)의 향산화능 변화

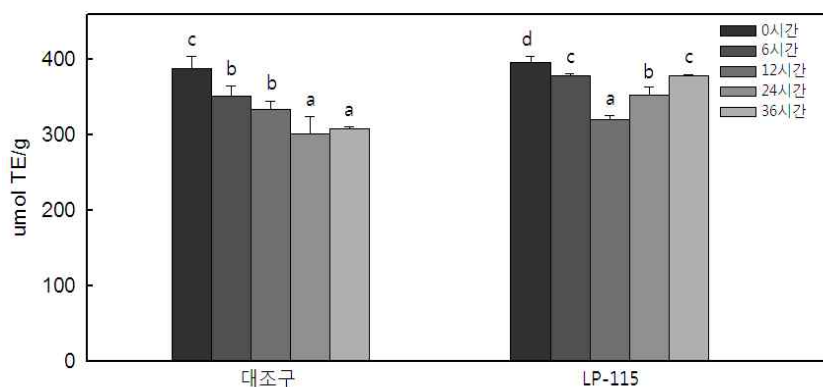


그림 106. 초음파 파쇄 처리 된 혼합베리액(E)의 향산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 향산화능의 감소가 나타나(그림 105) 최종 향산화능은 초기 향산화능에 비해 약 20% 감소하였다.

LP-115 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효 시간이 경과함에 따라 향산화능의 감소가 나타났음. LP-115 균주를 접종한 발효물의 최종 향산화능은 초기 향산화능에 비해 약 9% 감소하였

다.

초음파 파쇄 처리된 대조구의 경우, 발효시간의 경과에 따른 항산화능 감소가 나타남(그림 106). 대조구의 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 20% 감소하였다.

초음파 파쇄 처리된 LP-115 균주 접종구 발효물의 경우 항산화능 감소가 나타나 최종 항산화능은 초기 항산화능에 비해 약 4% 감소하였다.

LP-115로 발효한 혼합베리액(E) 발효물의 경우, 초음파 파쇄 처리 시 발효 시간에 따라 약간의 항산화능 감소가 나타났다.

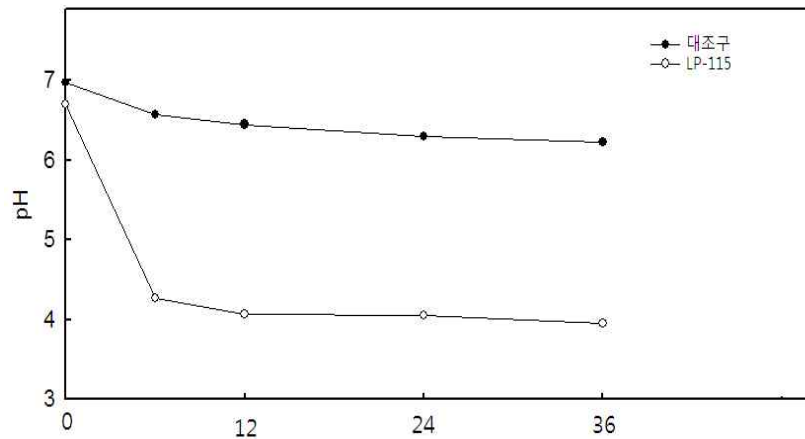


그림 107. 혼합베리액(E)의 pH 변화

대조구의 경우 pH가 시간이 경과함에 따라 완만하게 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 pH 6.97 에서 48시간 경과 후 6.23 까지 감소하였다(그림 107).

LP-115 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.70 에서 최종 pH 3.95 로 대조구에 비해 낮은 pH를 나타내 균주가 성장한 것을 알 수 있었다.

발효물의 항산화능과 pH를 비교하였을 때, pH의 감소와 항산화능의 증진 사이에 유의적인 상관관계가 없다고 판단되었다.

다. 결론

모든 혼합베리액에서 대조구의 항산화능은 발효시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타냈다.

LP-115 균주를 접종한 혼합베리액(A) 발효물의 경우, 초음파 파쇄 처리 유무에 관계없이 항산화능이 증가하는 경향을 나타냈고, 12시간까지는 항산화능이 증가하였으나, 12시간 이후부터 항산화능이 낮아지는 경향이 나타났다.

혼합배리액(A) 발효물의 경우 pH 와 향산화능 사이에 유의성이 나타나지 않았고, 균주의 생육 정도와 향산화능의 증진은 상관관계가 없다고 판단다.

LP-115 균주를 접종한 혼합배리액(B) 발효물의 경우, 초음파 파쇄 처리 유무에 관계없이 향산화능이 감소하는 경향을 나타냈다.

혼합배리액(B) 발효물의 경우 시간이 경과함에 따라 pH는 지속적으로 감소하였고 향산화능도 감소하였다.

혼합배리액(C) 발효물의 경우, 초음파 파쇄 비 처리구에서는 12시간에 향산화능이 증진되나, 대조군의 향산화능 증진 폭과 유사하여 유의적인 증진이라고 판단하지 않았음. 초음파 파쇄 처리된 혼합배리액(C) 균주 접종구의 경우, 36시간 까지 14%의 향산화능 증진이 있었다.

혼합배리액(C) 발효물의 경우 초음파 파쇄 처리 시 pH 와 향산화능 증진 사이에 유의성이 나타났다. 균주의 생육이 향산화능의 증진을 불러왔다고 판단된다.

LP-115 균주를 접종한 혼합배리액(D) 발효물의 경우, 향산화능이 감소하는 경향을 나타냈으며, 초음파 파쇄 처리된 혼합배리액(D) 균주 접종구의 경우, 36시간에 향산화능이 19% 증진되었다.

혼합액(D) 발효물의 경우 초음파 파쇄 처리 시 pH 와 향산화능 증진 사이에 유의성이 나타났음. 균주의 생육이 향산화능의 증진을 불러왔다고 판단된다.

LP-115 균주를 접종한 혼합배리액(E) 발효물의 경우, 초음파 파쇄 처리 유무에 관계없이 향산화능이 감소하는 경향이 나타났으며, pH 와 향산화능 사이에 유의성은 나타나지 않았다.

6. 보유균주를 이용한 발효물 제작

가. 발효균주

본 연구진이 보유하고 있는 유산균 중 5종(표 51)을 선별하여 과채류 농축액 발효물을 제작하였다.

158개의 유산균을 사용하여 α -arabinofuranosidase, α -arabinopyranosidase, β -arabinosidase, β -galactosidase, β -glucuronidase, β -xylosidase 의 효소활성을 측정 하여 활성이 높은 유산균을 선별하였다(표 51).

표 51. 선별균주 목록

균주번호	측정효소	균주명
MBE1564	α -arabinofuranosidase	<i>Lactobacillus sp.</i>
MBE1573	α -arabinopyranosidase	<i>Leuconostoc lactis</i>
MBE1583	β -arabinosidase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
MBE1588	β -galactosidase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
MBE1612	β -glucuronidase	<i>Leuconostoc fermentum</i>

나. 실험실내 보유균주를 이용한 아사이베리, 블랙베리, 시금치 농축액 발효물 제작

과채류 농축액 중 항산화능이 높게 나타난 아사이베리, 블랙베리, 시금치 농축액 발효를 진행하였다.

(1) 실험방법

아사이베리, 시금치의 경우 원액을, 블랙베리 농축액의 경우 증류수를 이용하여 포도당 농도 1%로 희석한 후에 MRS 배지에서 전배양한 실험실내 보유균주 5종을 OD₆₀₀이 1이 되게 하여 접종하였다.

37°C, 100 rpm에서 36시간 동안 배양하고 12시간마다 샘플을 채취하였으며, ORAC assay를 이용하여 항산화능을 측정하였다.

채취한 샘플을 Ultrasonic Processor를 이용하여 샘플에 존재하는 유산균을 파쇄한 후 원심분리하여 그 상등액을 사용하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(2) 실험결과

(가) 아사이베리

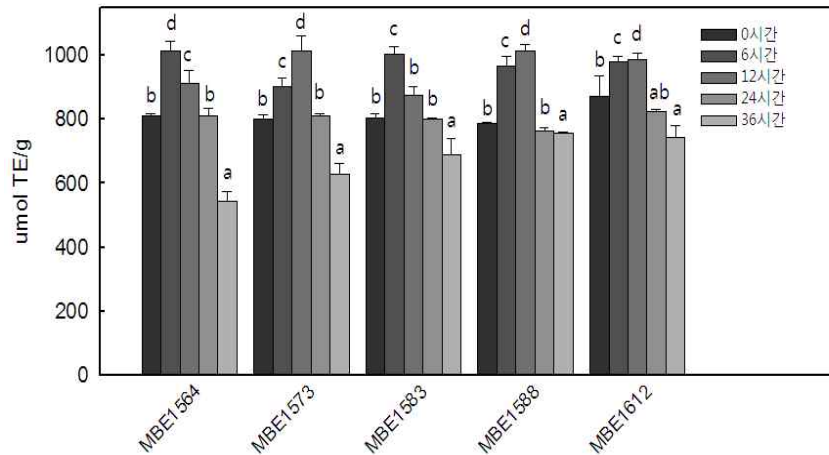


그림 108. 실험실내 보유균주를 이용한 아사이베리 발효물의 항산화능 변화

MBE1564 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, 6시간에 항산화능이 약 24% 증진되었으며, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1573 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, 12시간까지 항산화능이 약 26% 증진되었으며, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1583 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, 6시간에 항산화능이 약 24% 증진되었으며, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1588 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, 12시간까지 항산화능이 약 28% 증진되었으며, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1612 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, 12시간까지 항산화능이 약 13% 증진되었으며, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

모든 아사이베리 발효물에서 항산화능의 증진이 확인되었으나, 안정성이 미약하여 항산화능이 급격하게 감소하였다고 판단된다.

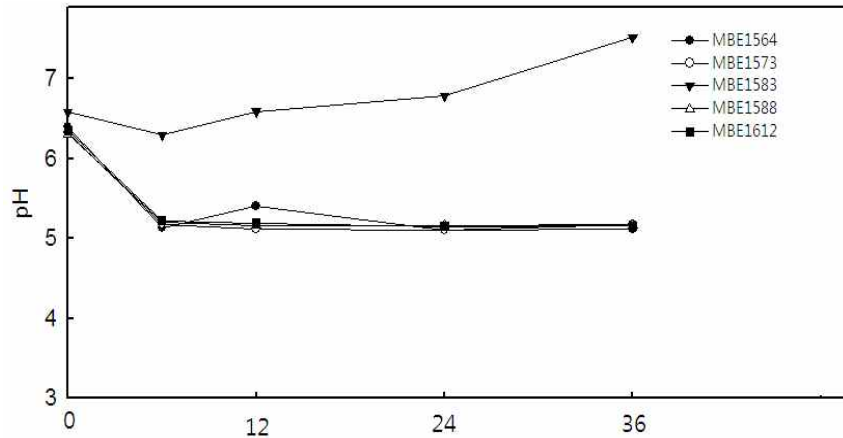


그림 109. 실험실내 보유균주를 이용한 아사이베리 발효물의 pH 변화

MBE1583 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, pH 6.58에서 6시간때 6.3 까지 pH 감소가 나타났으나, 그 이후에 pH의 증가가 나타났다.

MBE1564, 1573, 1588, 1612 균주를 접종한 아사이베리 발효물의 경우, pH가 감소하는 경향이 나타났으며, 초기 6시간까지 pH의 급격한 감소가 나타났다.

(나) 블랙베리

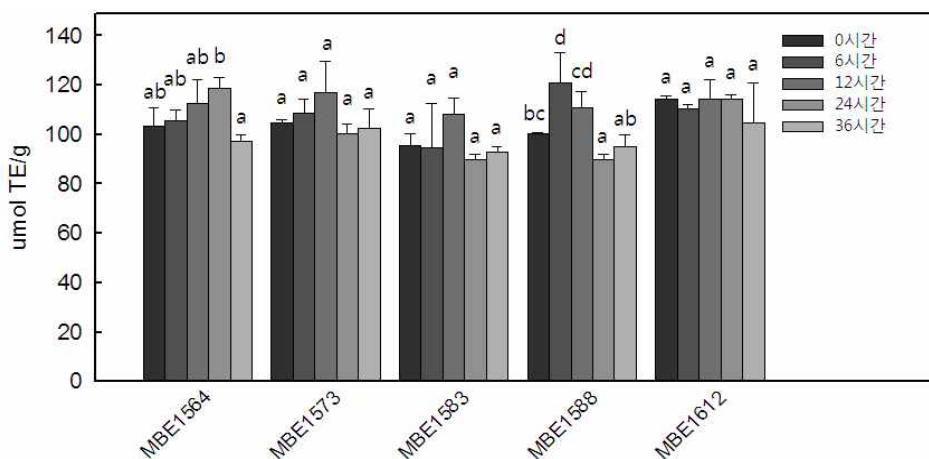


그림 110. 실험실내 보유균주를 이용한 블랙베리 발효물의 항산화 변화

MBE1564 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, 24시간에 항산화능이 약 9% 증진되었으며, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1573 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, 12시간에 항산화능이 증진되는 것처럼 보이나 통계처리 결과 일정 수준을 나타내었다.

MBE1583 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, 12시간에 항산화능이 증진되는 것처럼 보이나 통계처리 결과 일정 수준을 나타내었다.

MBE1588 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, 6시간에 항산화능이 최대로 증진하였고, 그 후에는 항산화능이 감소하는 경향을 보였다.

MBE1612 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, 시간의 경과에 따른 유의적인 항산화능의 증진은 없었다.

블랙베리 발효물의 경우, 접종한 균주에 따른 항산화능 변화 양상의 차이가 나타났다.

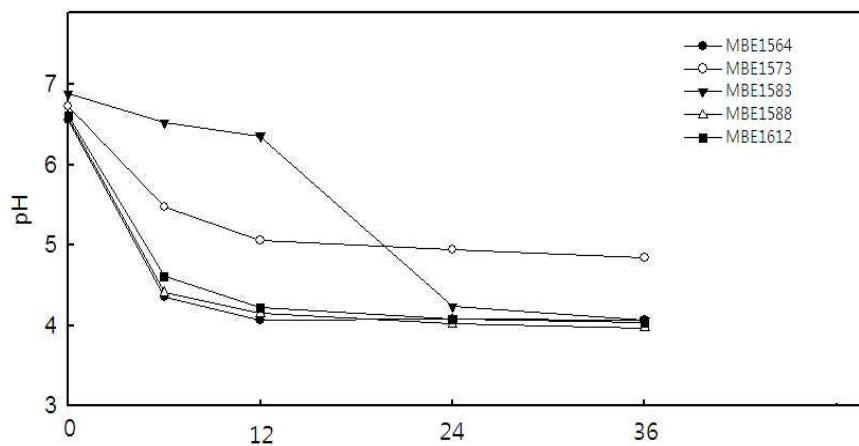


그림 111. 실험실내 보유균주를 이용한 블랙베리 발효물의 pH 변화

MBE1583 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, 12시간까지 pH의 감소가 거의 나타나지 않다가 그 후 급격한 pH 감소가 나타났다.

MBE1564, 1573, 1588, 1612 균주를 접종한 블랙베리 발효물의 경우, pH가 감소하는 경향이 나타났으며, 특히 MBE1564, 1588, 1612 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기부터 6시간까지 pH의 급격한 감소가 나타났다.

pH감소 경향을 고려해봤을 때, MBE1583 균주를 제외한 나머지 균주의 경우, 블랙베리 희석액에서 급격한 성장이 나타났다고 판단되었다.

(다) 시금치

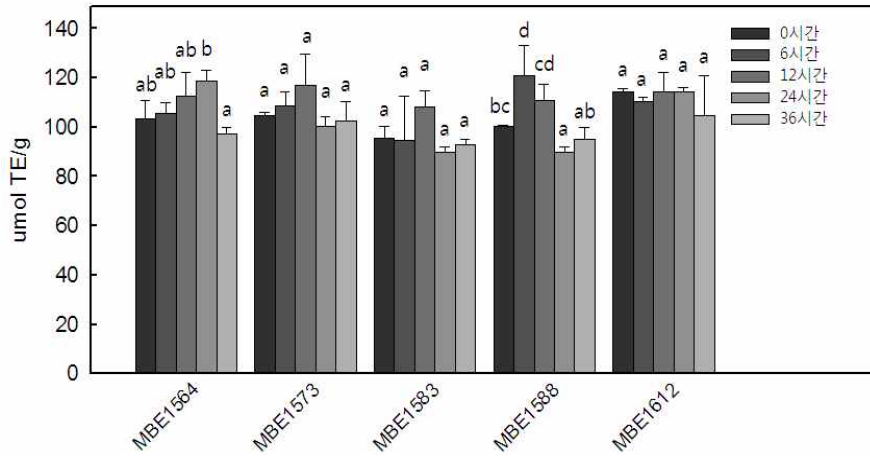


그림 112. 실험실내 보유균주를 이용한 시금치 발효물의
항산화능 변화

MBE1564 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, 발효시간에 따라 항산화능의 증진이 나타났으며 24시간에 약 15% 증진되었으나, 이후 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1573 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, 12시간까지 항산화능이 증진되는 것처럼 보이나 오차 범위가 매우 컸음. 통계처리 결과로 보아 시간의 경과와 관계없이 항산화능은 일정한 수준을 유지하였다.

MBE1583 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, 12시간까지 항산화능이 증진되는 것처럼 보이나 통계처리 결과 시간의 경과에 따른 유의적인 항산화능의 차이는 없다고 판단다.

MBE1588 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, 6 시간까지 항산화능이 약 21% 증진되었으나, 이후 발효 시간에 따라 항산화능이 급격하게 감소하였다.

MBE1612 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, 항산화능의 유의적 차이가 나타나지 않았다.

시금치 발효물의 경우, 접종한 균주에 따른 항산화능 변화 양상의 차이가 나타났다.

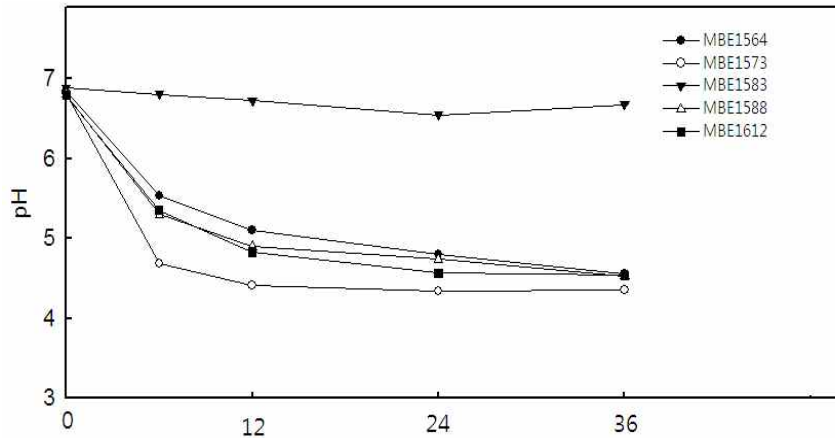


그림 113. 실험실내 보유균주를 이용한 시금치 발효물의 pH 변화

MBE1583 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, pH의 감소가 거의 나타나지 않았다.

MBE1564, 1573, 1588, 1612 균주를 접종한 시금치 발효물의 경우, pH가 감소하는 경향이 나타났으며, 초기부터 6시간까지 pH의 급격한 감소가 나타났다.

pH감소 경향을 고려해봤을 때, MBE1583 균주를 제외한 나머지 균주의 경우, 시금치에서 급격한 성장이 나타났다고 판단되었다.

7. 최종 결론

가. 식물 유산균을 이용한 과채류 농축액 발효

항산화능이 있다고 알려진 10종의 과채류를 4종의 유산균(ABT-5, ABY-3, LP-115, YF-L811)을 이용하여 발효 후 항산화능 증진을 판별하였다.

블랙베리 발효물의 경우, ABT-5, ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물에서 항산화능이 증진되었으며, 특히 ABY-3, LP-115 균주를 접종한 발효물은 각각 34, 35%의 항산화능 증진이 나타났다. YF-L811 균주를 접종한 발효물에서는 항산화능 증진이 나타나지 않았다.

크랜베리 발효물의 경우, LP-115 균주를 이용한 발효물에서 12%의 항산화능 증진이 나타났으며, ABT-5, ABY-3, YF-L811 균주를 이용한 발효물에서는 항산화능 증진이 나타나지 않았다.

아사이베리 발효물의 경우 ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물에서 항산화능이 증진되었으며 특히 LP-115 균주 접종 시 약 20%의 항산화능 증진이 나타났다. 그 외 균주를 이용한 발효물에서는 항산화능 증진이 나타나지 않았다.

시금치 발효물의 경우 ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물에서 각각 14%의 항산화능 증진이

나타났으며, 그 외 균주를 이용한 발효물에서는 향산화능 증진이 나타나지 않았다.

라즈베리 발효물의 경우 ABT-5, LP-115, YF-L811 균주를 이용한 발효물에서 향산화능이 증진되었으며, 특히 ABY-5와 LP-115 균주 접종 시 각각 17, 34%의 향산화능 증진이 나타났다.

블루베리 발효물의 경우 ABY-3 균주를 이용한 발효물에서 23%의 향산화능 증진이 나타났으며, 나머지 세 균주를 이용한 발효물에서는 향산화능 증진이 나타나지 않았다.

양배추 발효물의 경우 ABT-5, LP-115, YF-L811 균주를 이용한 발효물에서 각각 13, 10, 16%의 향산화능 증진이 나타났으며, ABY-3 균주를 이용한 발효물에서는 향산화능 증진이 나타나지 않았다.

적포도주스 발효물의 경우 ABT-5, YF-L811 균주를 이용한 발효물에서 각각 20%의 향산화능 증진이 나타났으며, ABY-3, LP-115 균주를 이용한 발효물에서는 향산화능 증진이 나타나지 않았다.

4종의 균주를 이용한 아로니아, 산머루 발효물의 경우, 4가지 균주를 이용한 발효물 모두에서 유의적인 향산화능의 증진이 나타나지 않았다.

나. 식물 유산균을 이용한 혼합베리액 발효

향산화능이 우수한 5종의 과채류(아사이베리, 아로니아, 크랜베리, 산머루, 시금치 농축액) 혼합액을 LP-115 균주를 이용하여 발효한 후 향산화능 증진을 판별하였다.

채취한 시료를 초음파 파쇄 처리하여 향산화능을 측정하였을 때와 초음파 파쇄처리를 하지 않고 측정하였을 때 큰 차이가 나지 않았음. 오히려 향산화능이 증진되는 결과도 나왔음. 또한 실제 기업에서 식품을 가공하는 과정에서 열처리 및 살균 처리가 필요하기 때문에 초음파 파쇄처리가 필요하다고 판단하여 초음파 파쇄 처리군 결과만을 넣었다.

LP 115 균주를 접종한 혼합베리액 발효물(초음파 파쇄 처리군)					
혼합베리액	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)
향산화능 증진	28%	-28%	14%	19%	-4%
최대 증진까지 소요된 시간	12시간	-	36시간	36시간	-

혼합베리액(A)와 (C), (D)를 이용한 발효물에서 향산화능 증진이 나타났다.

혼합베리액(A) 발효물의 경우, 향산화능이 약 28% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 12시간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

혼합베리액(A) 발효물의 경우, 빠른 시간에 높은 수치의 증진을 기대 할 수 있었으며, 추가적으

로 증진된 향산화능의 안정화 작업이 더해질 경우 우수한 향산화 식품으로서 가능성이 보였다.

혼합베리액(C) 발효물의 경우, 향산화능이 약 14% 증진되었으며, 증진되는데 소요된 시간은 36시간이었음. 증진에 필요한 시간이 많이 소모됐으나 안정적인 향산화능 증진이 나타났다.

혼합베리액(D) 발효물의 경우, 향산화능이 약 19% 증진되었으며, 증진되는데 소요된 시간은 36시간이었음. 36시간까지 향산화능이 꾸준히 증가하는 경향을 보였다.

혼합베리액(A)와 (C), (D)를 이용한 과채류 농축액 발효물 제작 시 향산화능의 증진을 확인하였다.

다. 식물 유산균과 실험실내 보유균주를 이용한 과채류 농축액 발효

농축액 원액 자체의 향산화능이 좋고, 유산균을 이용한 발효물 제작 시 향산화능의 증진이 높았던 아사이베리, 블랙베리, 시금치 농축액을 실험실내 보유 균주를 이용하여 발효한 후 향산화능 증진을 판별하였다.

(1) 아사이베리 농축액

아사이베리 발효물(LP-115, 실험실내 보유 균주 발효물)						
혼합베리액	LP-115	MBE1564	MBE1573	MBE1583	MBE1588	MBE1612
향산화능 증진	20%	24%	26%	24%	28%	13%
최대 증진까지 소요된 시간	12시간	6시간	12시간	6시간	12시간	12시간

LP-115와 실험실내 보유 균주들을 이용한 아사이베리 발효물에서 향산화능 증진이 나타났다.

MBE1564 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 24% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 6시간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1573 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 26% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 12시간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1583 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 6% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 6시간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1588 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 28% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 12시간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1612 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 13% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 12시

간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1612 균주를 제외한 나머지 실험실내 보유균주를 이용한 발효물들의 경우, 기존에 상업적으로 이용되고 있는 LP-115 균주보다 향산화능 증진이 높았으며, MBE1564와 MBE1583 균주를 이용한 발효물의 경우, 향산화능의 최대 증진 까지 소요된 시간도 짧았다.

아사이베리 발효물 제작 시 실험실내 보유균주 중 MBE1612를 제외한 4종의 균주를 이용할 경우, 기존에 사용되고 있던 젓산균보다 더 높은 향산화능 증진이 확인되었으며, 그중 MBE1564와 MBE1583균주 발효물의 경우 발효에 소비되는 시간 또한 기존 젓산균보다 짧음을 확인하였다.

(2) 블랙베리 농축액

블랙베리 발효물(LP-115, 실험실내 보유 균주 발효물)						
혼합베리액	LP-115	MBE1564	MBE1573	MBE1583	MBE1588	MBE1612
향산화능 증진	35%	9%	-	-6%	5%	-
최대 증진까지 소요된 시간	24시간	24시간	-	-	6시간	-

LP-115와 실험실내 보유 균주들을 이용한 블랙베리 발효물에서 향산화능 증진이 나타났다.

MBE1564 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 9% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 24시간으로 나타났음. 최대 증진 이후에 향산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1573 균주 발효물의 경우, 향산화능이 증진되는 것처럼 보이나 통계처리 결과로 보아 유의적인 향산화능의 증진은 나타나지 않았음. 일정 수준을 유지하였다.

MBE1583 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 6% 감소하였고, MBE1588 균주 발효물의 경우, 향산화능이 약 5% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 6시간이었다.

MBE1612 균주 발효물의 경우, 향산화능의 유의적인 변화는 없었다.

실험실내 보유균주를 이용한 발효물들의 경우, 기존에 상업적으로 이용되고 있는 LP-115 균주를 이용한 시금치 발효물보다 향산화능 증진이 낮게 나타났다.

(3) 시금치 농축액

시금치 발효물(LP-115, 실험실내 보유 균주 발효물)						
혼합베리액	LP-115	MBE1564	MBE1573	MBE1583	MBE1588	MBE1612
항산화능 증진	14%	15%	-	-	21%	-
최대 증진까지 소요된 시간	24시간	24시간	-	-	6시간	-

LP-115와 실험실내 보유 균주들을 이용한 시금치 발효물에서 항산화능 증진이 나타났다.

MBE1564 균주 발효물의 경우, 항산화능이 약 15% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 24시간으로 나타났으나, 최대 증진 이후에 항산화능이 급격하게 감소하는 경향이 나타났다.

MBE1573, 1583 균주의 경우, 항산화능이 증가하는 것처럼 보이지만 통계처리를 한 결과 유의적인 항산화능의 변화는 없었음. 일정 수준을 계속 유지하였다.

MBE1588 균주 발효물의 경우, 항산화능이 약 21% 증진되었고, 증진되는데 소요된 시간은 6시간이었다.

MBE1612 균주 발효물의 경우, 항산화능 변화가 나타나지 않았다.

MBE1588 균주를 이용한 시금치 발효물의 경우, 기존에 상업적으로 이용되고 있는 LP-115 균주를 이용한 시금치 발효물보다 좀 더 높은 항산화능 증진이 확인되었으며, 발효에 소비되는 시간 또한 기존 젓산균보다 짧음을 확인하였다.

제 2 절 2차년도 연구내용

1. 가공 공정에 따른 항산화 성분의 안정성 확보 및 기능성 음료 개발/상품화

가. 다항산화 기능 증진을 위한 발효 과정 중 풍미변화 연구

각 과채별 혼합농축액 및 유산균 발효과정 중 생성되는 휘발성 향기성분과 지표물질 동정하였다.

(1) 재료

과채농축액 (아사이베리, 아로니아, 크렌베리, 산머루, 시금치), 혼합농축액 및 유산균 발효 혼합농축액을 사용하였다. 모든 시료는 분석 전 까지 -20℃ 냉동고에서 보관하였으며, 실험에 사용 된 증류수는 2차 증류수를 사용하였다.

(2) 방법

과채농축액 (아사이베리, 아로니아, 크렌베리, 산머루, 시금치), 혼합농축액 및 유산균 발효 혼합농축액을 이용하여 향기분석 추출 및 분석하였다

(가) Solvent assisted flavor evaporation (SAFE)

과채농축액 (아사이베리, 아로니아, 크렌베리, 산머루, 시금치), 혼합농축액 및 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 SAFE법을 이용하였다. 시료 150 mL을 SAFE additional funnel에 넣고 40°C, 8.6×10^{-6} torr에서 1시간 동안 증류하여 추출하였다. 이 때 내부 표준물질로서 3-heptanol 19.5 µg을 사용하였다. SAFE에 의해 추출된 추출액은 재증류한 dichloromethane 50 mL을 이용하여 15, 15, 20 mL로 나누어 1시간씩 shaker에서 250 rpm으로 shaking 시키면서 용매 추출하였다. 추출액은 -20°C에서 12시간 냉동시켜 수분을 제거한 후 용매 층을 3 g anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 100 µL까지 농축하여 분석시료로 사용하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(나) Liquid-liquid continuous extraction (LLCE)

아사이베리, 아로니아, 크렌베리, 산머루, 시금치, 혼합농축액 및 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분 추출은 가열에 의한 artifact의 생성을 최소화하기 위하여 liquid-liquid continuous extraction을 이용하였다. 각 시료 400 mL을 내부표준물질로서 3-heptanol 97.4 µg을 사용하여 liquid-liquid continuous extraction apparatus에 넣고 250 mL의 dichloromethane을 추출용매로 사용하여 상온에서 8시간 추출하였다. 추출액은 -20°C에서 12시간 냉동시켜 수분을 제거한 후 용매 층을 3 g anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 500 µL까지 농축하여 분석시료로 사용하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(다) Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

시료의 휘발성 향기성분은 Agilent 6890N GC/Agilent 5973 mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)와 Agilent 7890B GC/Agilent 5977A mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 µm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 µm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C였으며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. Ionization voltage는 70 eV, 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다. 추출액 1 µL를

splitless mode로 GC에 injection 하였다.

(라) Gas chromatography-olfactometry (GC-O)

GC-O는 YL6100 (Young Lin Instrument Co. Ltd. Anyang, Korea)와 Varian3800(Varian Instrument Group, Walnut Creek, CA, USA)을 사용하였다. Detector는 FID(Flame ionization detector)를 사용하였고, column으로부터 분지시켜 nose cone을 이용하여 sniffing을 실시하였다. Column은 DB-wax (30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 5℃/min 속도로 승온시켜 10분간 유지하였다. Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃였으며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.4 mL/min으로 하였다.

아사이베리 농축액의 향의 상대적인 강도를 확인하기 위해 aroma extract dilution analysis (AEDA)를 실시하였다. 추출한 농축액에 dichloromethane을 첨가하여 2배수로 단계적으로 희석한 후 1 μL를 splitless mode로 GC에 injection 한 후 sniffing port에서 감지되는 향기성분의 retention time을 기록하고, 위의 과정을 냄새가 나지 않을 때까지 행하고 flavor dilution chromatogram을 그려서 아사이베리 농축액의 중요한 향 활성 화합물 (aroma-active compound)을 분석하였다. 아로니아 농축액, 크렌베리 농축액, 혼합농축액, 유산균 발효 혼합농축액의 경우는 OSME를 실시하였다. GC-O를 통하여 분리된 향기성분을 sniffing을 하여 향의 강도를 10점 scale로 나타내었다.

(마) 휘발성 향기성분 동정

아사이베리, 아로니아, 크렌베리, 산머루, 시금치, 혼합농축액 및 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분 동정은 retention indices (RI)와 Wiley/7n mass spectral database (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 또한 문헌상의 retention index와 spectrum을 비교하여 휘발성 향기성분을 확인하였다.

(바) 휘발성 향기성분 정량

아사이베리, 아로니아, 크렌베리, 산머루, 시금치, 혼합농축액 및 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분 농도는 추출 시 내부표준물질로 사용한 3-heptanol의 peak area와 동정된 휘발성 향기성분의 peak area의 peak area ratio로 다음 식에 의해 정량하였다. 이때 peak area ratio와 amount ratio의 상관계수는 1이라고 가정하였다.

$$\text{농도(ppb)} = \frac{\text{peak area ratio} \times \mu\text{g of 3-heptanol}}{\text{kg of sample}}$$

(3) 결과 및 고찰

(가) 아사이베리의 향미 profile

① 아사이베리의 휘발성 향기성분

아사이베리의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SAFE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 1에 나타내었다. SAFE로 추출한 아사이베리의 휘발성 향기성분은 모두 70종이 검출되었으며 이 중 64종이 동정되었다. 2-Phenylethanol (no. 110), (Z)-3-hexanol (no. 31) 및 benzyl alcohol (no. 109)의 함량이 가장 높았으며, 그 다음으로 *trans*-linalool oxide (no. 37), *cis*-linalool oxide (no. 43) 순으로 함량이 높았다.

아사이베리의 휘발성 향기성분을 LLCE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 2에 나타내었으며, LLCE로 추출한 아사이베리의 휘발성 향기성분은 모두 61종이 검출되었고 이 중 57종이 동정되었다. 함량이 높은 화합물로는 8-hydroxy linalool (no. 115), 2-phenylethanol (no. 78), maltol (no. 86), (Z)-3-hexanol 및 2-cyclohexanol 순으로 함량이 높았다.

아사이베리에서 benzoic acid (안식향산)는 SAFE로 추출 시에는 검출되지 않았으나 LLCE로 추출 시에는 15.47 ppb의 농도로 존재하였다. 반면 아로니아와 크렌베리에서는 benzoic acid가 높은 함량으로 존재하였다. Benzoic acid (안식향산)는 식품에서 보존료로 사용되는 식품첨가물이다.

아사이베리의 휘발성 향기성분 지표물질을 탐색하기 위하여 아사이베리, 아로니아 및 크렌베리의 휘발성 향기성분을 비교하였다. 아로니아와 크렌베리에서는 동정되지 않았지만 아사이베리에서만 동정된 화합물 또는 아로니아와 크렌베리에서는 미량 존재하지만 아사이베리에는 다량 존재하는 휘발성 향기성분을 지표물질로 선정하였다. SAFE로 추출한 경우 (Z)-3-hexanol (no. 31), *cis*-linalool oxide (no. 43), 2-chlorocyclohexanol (no. 77), 8-hydroxy linalool (no. 151), *cis*-2-pentanol (no. 24), dimethyl phthalate (no. 152), 3-methyl-3-butenol (no. 20), ethyl benzene (no. 3), (E)-3-hexanol (no. 28) 등이 아사이베리에서만 동정되었다. LLCE로 추출한 경우에는 (Z)-3-hexanol (no. 20), *trans*-linalool oxide (no. 24), 7,7-dichlorobicyclo[4.1.0]heptane (no. 27), isopropyl myristate (no. 89), 3-methyl-3-butenol (no. 10), 3,7-dimethyl-1,5-octadiene-3,7-diol (no. 80), *cis*-2-pentenol (no. 13), 1-octanol (no. 39) 및 linalool (no. 38) 등이 아사이베리에서만 동정되었다. 두 추출법을 통해 아사이베리에서만 동정된 공통적인 화합물은 (Z)-3-hexanol, 3-methyl-3-butenol 및 *cis*-2-pentenol이었지만 그 중에서 (Z)-3-hexanol이 높은 함량을 나타내었다. 결론적으로 아사이베리, 아로니아, 크렌베리의 휘발성 향기성분을 비교하였을 때, 아사이베리의 지표물질로 (Z)-3-hexanol을 선정하였다.

표 52. SAFE를 이용한 아사이베리, 아로니아, 크랜베리의 휘발성 향기성분 동정 결과

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
1	1092	654	2-methyl-1-propanol	ND ^c	ND	ND
2	1116	ND	2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl-2H-pyran	ND	ND	2.23±0.07
3	1135	864	ethyl benzene	6.39±0.47	ND	ND
4	1139	<800	3-penten-2-one	ND	2282.59±136.18	4.77±0.41
5	1143	883	<i>p</i> -xylene	6.08±0.08	1.81±0.03	TR ^d
6	1149	866	<i>m</i> -xylene	12.24±0.33	1.98±0.22	3.43±0.32
7	1162	<800	1-penten-3-ol	7.06±0.64	ND	ND
8	1167	861	cyclohexene oxide	8.72±0.57	12.59±1.47	14.06±0.58
9	1180	<800	3-penten-2-ol	ND	5.59±0.77	ND
10	1183	1016	isocineole	ND	ND	5.32±0.08
11	1193	915	<i>o</i> -xylene	2.93±0.08	2.87±0.1	3.43±0.32
12	1209	<800	3-methyl-1-butanol	3.51±0.02	ND	2.83±0.11
13	1213	1033	1,8-cineole	ND	ND	7.18±0.05
14	1223	866	chlorobenzene	6.21±1.93	ND	ND
15	1226	ND	unknown	ND	2.57±0.02	ND
16	1238	ND	3-chlorocyclohexene	4.40±0.01	1.15±0.00	ND
17	1246	ND	4-ethoxy-2-pentanone	ND	46.83±1.85	ND
18	1249	ND	tetrahydro-2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl) furan	ND	ND	9.05±0.12
19	1250	ND	unknown	0.71±0.14	ND	ND
20	1253	<800	3-methyl-3-butenol	11.80±0.33	ND	ND
21	1268	895	styrene	1.69±0.35	TR	1.39±0.22
22	1279	ND	ethyl-2- <i>o</i> -propanoate	ND	0.91±0.02	4.41±0.69
23	1314	<800	1-hydroxy-2-propanone	TR	3.51±1.15	15.78±1.22
24	1324	<800	<i>cis</i> -2-pentenol	20.66±0.41	ND	ND
25	1325	<800	3-methyl-2-butenol	ND	9.43±1.2	ND
26	1350	815	ethyl-2-hydroxy propanoate	0.56±0.17	2.00±0.14	9.90±1.69
27	1355	867	1-hexanol	7.42±0.25	ND	3.37±0.02
28	1367	855	(E)-3-hexenol	3.76±0.11	ND	ND
29	1374	809	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	1.06±0.01	ND	6.69±0.04
30	1388	874	(E)-2-hexenol	ND	ND	3.69±0.09

표 52. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
31	1390	858	(Z)-3-hexenol	201.95±2.81	ND	ND
32	1398	1091	2-nonanone	ND	1.39±0.15	6.89±0.01
33	1400	1400	tetradecane	1.49±0.23	ND	ND
34	1402	1089	nonanal	1.74±0.47	1.8±0.12	2.41±0.02
35	1409	909	2-butoxy ethanol	ND	ND	2.71±0.26
36	1409	885	(Z)-2-hexenol	8.19±0.02	2.17±0.14	ND
37	1458	1091	<i>trans</i> -linalool oxide	81.25±0.28	4.71±0.35	30.27±0.88
38	1464	885	2-cyclohexenone	26.14±0.01	30.3±1.99	ND
39	1468	<800	acetic acid	2.58±0.28	18.32±2.64	211.57±25.19
40	1473	ND	7,7-dichloro-bicyclo[4.1.0] heptane	ND	19.05±1.3	ND
41	1478	849	4-hydroxy-2-pentanone	ND	814.61±15.21	3.07±0.35
42	1483	ND	<i>trans</i> -1,2-dichloro cyclohexane	2.66±0.19	ND	ND
43	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	79.79±0.14	ND	ND
44	1489	836	furfural	ND	ND	4479.03±38.73
45	1492	1029	2-ethyl-1-hexanol	4.08±1.04	2.1±0.01	17.41±1.01
46	1523	904	2-acetylfuran	2.46±0.03	7.71±0.29	34.93±0.12
47	1534	1184	dill ether	ND	ND	ND
48	1534	ND	unknown	ND	ND	33.25±7.45
49	1541	ND	unknown	4.16±0.17	3.55±0.22	ND
50	1542	969	3-methyl-2-cyclopentenone	ND	ND	2.76±0.29
51	1545	961	benzaldehyde	5.60±0.86	99.49±5.05	33.67±0.34
52	1548	1279	vitispirane	ND	ND	ND
53	1550	1101	linalool	7.30±0.09	4.42±0.52	1.92±0.43
54	1556	1148	lilac aldehyde (isomer I)	0.94±0.06	ND	2.13±0.14
55	1560	1070	1-octanol	5.86±0.01	1.20±0.07	4.34±0.25
56	1571	1159	lilac aldehyde (isomer II)	TR	ND	1.54±0.20
57	1575	803	2-methyl propanoic acid	ND	2.24±1.10	9.52±0.12
58	1579	1172	lilac aldehyde (isomer III)	TR	ND	1.69±0.05
59	1584	1147	1-terpineol	ND	ND	27.66±0.7
60	1594	954	5-methyl furfural	ND	1.73±0.29	62.33±2.76

표 52. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
61	1594	983	methyl-2-furoate	ND	ND	385.40±6.15
62	1600	1600	hexadecane	ND	2.38±0.33	3.35±0.35
63	1605	1169	lilac aldehyde (isomer IV)	ND	ND	ND
64	1609	1088	6-methyl-3,5-heptadien-2-one	1.46±0.10	1.73±0.17	ND
65	1617	1124	3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	ND	4.47±0.05	19.64±0.07
66	1631	1007	2-(2-ethoxyethoxy) ethanol	1.45±0.27	2.00±0.21	14.78±0.41
67	1636	<800	butanoic acid	ND	ND	11.64±0.69
68	1638	965	γ-valerolactone	ND	13.89±2.45	TR
69	1641	1188	β-terpineol	ND	3.54±0.27	19.02±0.25
70	1644	914	dihydro-4-methyl-2(3H)-furanone	6.10±1.51	7.72±0.29	ND
71	1644	ND	unknown	ND	2.38±0.10	TR
72	1664	915	butyrolactone	17.77±1.06	230.81±16.01	85.91±2.72
73	1666	1049	benzeneacetaldehyde	ND	ND	12.67±0.53
74	1668	1173	2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadiene-1-carboxal	ND	1.41±0.23	ND
75	1671	852	2-furanmethanol	2.79±0.40	6.06±0.18	25.79±0.8
76	1677	894	2-methyl butanoic acid	ND	15.03±5.04	1590.27±28.8
77	1677	1032	2-chlorocyclohexanol	33.60±0.28	ND	ND
78	1687	1171	ethyl benzoate	ND	ND	ND
79	1690	1322	cyclohexyl benzene	5.29±1.41	ND	ND
80	1697	1041	5-ethenyldihydro-5-methyl-2(3H)-furanone	2.02±0.73	ND	4.26±2.39
81	1700	ND	1,8-methadien-4-ol	ND	ND	ND
82	1704	ND	unknown	ND	ND	22.33±0.77
83	1711	1194	α-terpineol	3.19±0.34	12.45±0.99	251.19±20.18
84	1713	1203	γ-terpienol	ND	2.44±0.36	37.63±2.47
85	1716	1147	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	3.85±0.54	5.57±0.14	9.03±0.28
86	1732	1047	5-ethyldihydro-2(3H)-furanone	2.14±0.14	4.92±0.19	6.81±0.19
87	1746	908	pentanoic acid	ND	ND	6.97±0.88
88	1748	1170	benzyl acetate	ND	ND	ND
89	1750	ND	unknown	6.09±1.22	ND	ND
90	1759	1246	2-methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexeno	ND	ND	3.08±0.07

표 52. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
91	1763	1010	3-methyl-2-cyclohexenone	ND	ND	5.28±0.18
92	1771	1179	naphthalene	6.93±1.75	3.58±0.3	5.09±0.95
93	1771	ND	unknown	ND	ND	ND
94	1786	913	2(5H)-furanone	ND	ND	22.34±0.37
95	1797	1394	vanillin	34.04±1.33	15.53±7.89	ND
96	1801	ND	unknown	ND	ND	9.12±0.82
97	1803	1234	methyl-2-hydroxybenzoate	ND	ND	ND
98	1808	953	3-methyl-2-butenoic acid	ND	ND	16.4±0.01
99	1824	1042	tetrahydro-6-methyl-2H-pyran-2-one	ND	5.76±0.62	ND
100	1829	1061	α-methyl benzenemethanol	ND	ND	6.52±0.02
101	1836	1166	1-phenyl-1,2-propanedione	ND	3.53±0.05	TR
102	1845	1384	β-damascenone	2.04±0.05	TR	ND
103	1854	1267	geraniol	6.20±0.05	ND	ND
104	1854	1026	hexanoic acid	ND	9.50±2.18	13.37±1.59
105	1858	921	2-methyl-2-butenoic acid	ND	3.83±1.57	85.85±0.93
106	1863	1184	p-cymene-8-ol	3.22±0.02	ND	23.49±0.91
107	1878	ND	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	ND	1614.04±191.88	172.07±4.07
108	1881	1089	guaiacol	5.01±0.63	ND	6.15±0.02
109	1898	1023	benzyl alcohol	151.45±4.07	161.37±13.35	653.5±17.55
110	1934	1116	2-phenylethanol	228.71±12.34	25.06±0.95	20.99±3.23
111	1944	1542	α-calacorene	ND	1.07±0.03	ND
112	1956	1123	2-ethyl hexanoic acid	1.72±0.61	8.97±0.19	17.92±1.46
113	1960	1071	heptanoic acid	ND	ND	8.46±0.53
114	1965	1021	3-hexenoic acid	ND	ND	ND
115	1973	ND	unknown	ND	ND	ND
116	1977	1614	(E)-2-hexenoic acid	ND	ND	ND
117	1992	1088	maltol	ND	ND	20.51±2.19
118	2009	ND	unknown	ND	ND	ND
119	2016	ND	unknown	ND	55.52±0.49	33.75±1.28
120	2023	979	phenol	6.42±1.92	4.00±1.49	38.68±6.04

표 52. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
151	>2200	1366	8-hydroxy linalool	24.75±0.04	ND	ND
152	>2200	1466	dimethyl phthalate	12.65±3.06	ND	ND
153	>2200	1063	4-oxo-pentanoic acid	ND	ND	18.04±8.67
154	>2200	1355	geranic acid	ND	ND	ND
155	>2200	1565	9H-fluorene	10.90±3.51	ND	8.13±1.48
156	>2200	ND	unknown	65.68±15.07	ND	ND
157	>2200	1346	3,4,5-trimethyl phenol	ND	19.51±5.17	27.29±0.6
158	>2200	1603	diethyl phthalate	3.32±1.76	ND	ND
159	>2200	1162	benzoic acid	ND	543.94±46.37	19668.24±544.69
160	>2200	1241	5-hydroxymethylfurfural	ND	ND	168.29±3.5

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

^dTR : trace.

표 53. LLCE를 이용한 아사이베리, 아로니아, 크랜베리의 휘발성 물질 동정

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
1	1139	<800	3-penten-2-one	ND ^c	5255.64±137.7 7	TR ^d
2	1143	883	<i>p</i> -xylene	ND	ND	ND
3	1149	866	<i>m</i> -xylene	TR	TR	1.34±0.21
4	1167	861	cyclohexene oxide	24.14±1.00	155.92±16.42	8.32±0.67
5	1193	915	<i>o</i> -xylene	TR	1.73±0.52	2.66±1.19
6	1209	<800	3-methyl-1-butanol	2.45±0.03	ND	ND
7	1213	1033	1,8-cineole	ND	ND	2.64±0.92
8	1238	ND	3-chlorocyclohexene	3.09±1.19	ND	TR
9	1245	ND	4-ethoxy-2-pentanone	ND	25.08±9.51	ND
10	1253	<800	3-methyl-3-butenol	8.73±0.12	ND	ND
11	1268	895	styrene	TR	TR	2.59±0.14
12	1314	<800	1-hydroxy-2-propanone	ND	48.73±14.63	37.34±3.24
13	1324	<800	<i>cis</i> -2-pentenol	7.55±0.30	ND	ND
14	1325	<800	3-methyl-2-butenol	8.28±0.71	23.93±11.13	ND
15	1335	960	2-heptenal	2.96±0.17	ND	ND
16	1350	815	ethyl-2-hydroxypropanoate	ND	ND	4.08±1.4
17	1355	867	1-hexanol	4.23±0.28	ND	1.48±0.20
18	1358	ND	1,2,3-trichloro-1-propene	ND	ND	3.82±0
19	1374	809	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	ND	ND	3.09±1.24
20	1390	858	(Z)-3-hexenol	131.22±4.07	ND	ND
21	1938	1091	2-nonanone	ND	ND	3.09±1.24
22	1409	885	(Z)-2-hexenol	7.19±0.71	ND	5.67±1.87
23	1446	1005	2-octenal	2.34±0.30	ND	ND
24	1458	1091	<i>trans</i> -linalool oxide	47.23±2.25	ND	ND
25	1464	885	2-cyclohexenone	47.19±1.43	220.88±13.43	ND
26	1468	<800	acetic acid	10.30±2.80	669.69±16.05	665.35±19.28
27	1473	ND	7,7-dichlorobicyclo[4.1.0]heptane	31.60±8.58	ND	ND
28	1478	849	4-hydroxy-2-pentanone	ND	5809.41±155.4 8	8.01±3.41
29	1487	892	2-cyclohexenol	115.33±22.88	464.46±15.46	ND
30	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	ND	ND	ND

표 53. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
31	1489	836	furfural	ND	ND	2710.12±64.23
32	1492	1029	2-ethyl-1-hexanol	4.32±0.72	ND	6.43±1.84
33	1523	904	2-acetylfuran	2.62±0.32	29.74±10.84	14.7±2.93
34	1534	ND	unknown	ND	3.57±1.39	174.33±14.64
35	1540	908	1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-ene	2.89±0.15	ND	ND
36	1544	ND	unknown	ND	ND	47.15±3.66
37	1545	961	benzaldehyde	6.20±0.19	2670.51±68.8	ND
38	1550	1101	linalool	4.76±0.33	ND	ND
39	1560	1070	1-octanol	5.21±0.17	ND	ND
40	1575	803	2-methyl propanoic acid	ND	54.43±1.13	11.32±0.36
41	1582	<800	2,3-butanediol	ND	784.92±84.59	11.97±0.28
42	1584	1147	1-terpineol	ND	ND	17.46±0.28
43	1594	954	5-methyl furfural	ND	48.07±4.05	ND
44	1594	983	methyl-2-furoate	ND	ND	187.21±5.93
45	1600	1600	hexadecane	6.06±0.21	TR	ND
46	1615	1179	4-terpineol	ND	ND	5.27±1.80
47	1617	1124	3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	ND	4.51±0.51	2.90±0.99
48	1631	1007	2-(2-ethoxyethoxy) ethanol	ND	22.04±2.25	27.64±2.87
49	1636	<800	butanoic acid	3.50±1.11	106.13±1.79	8.93±0.62
50	1638	965	γ-valerolactone	ND	TR	ND
51	1641	1188	β-terpinol	ND	ND	10.66±7.76
52	1644	914	dihydro-4-methyl-2(3H)-furanone	4.08±0.49	ND	ND
53	1664	915	butyrolactone	31.27±2.51	873.97±43.09	70.23±2.69
54	1671	852	2-furanmethanol	12.00±1.56	44.93±1.36	22.64±0.53
55	1677	894	2-methyl butanoic acid	TR	80.00±18	1228.61±37.31
56	1695	860	2,4-pentanediol	ND	290.55±8.61	ND
57	1703	1232	α-4-dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde	ND	ND	7.69±2.51
58	1711	1194	α-terpineol	TR	ND	94.3±30.62
59	1713	1203	γ-terpineol	ND	ND	19.74±7.97
60	1716	1147	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	6.28±0.23	20.65±5.7	ND

표 53. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
31	1489	836	furfural	ND	ND	2710.12±64.23
32	1492	1029	2-ethyl-1-hexanol	4.32±0.72	ND	6.43±1.84
33	1523	904	2-acetylfuran	2.62±0.32	29.74±10.84	14.7±2.93
34	1534	ND	unknown	ND	3.57±1.39	174.33±14.64
35	1540	908	1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-ene	2.89±0.15	ND	ND
36	1544	ND	unknown	ND	ND	47.15±3.66
37	1545	961	benzaldehyde	6.20±0.19	2670.51±68.8	ND
38	1550	1101	linalool	4.76±0.33	ND	ND
39	1560	1070	1-octanol	5.21±0.17	ND	ND
40	1575	803	2-methyl propanoic acid	ND	54.43±1.13	11.32±0.36
41	1582	<800	2,3-butanediol	ND	784.92±84.59	11.97±0.28
42	1584	1147	1-terpineol	ND	ND	17.46±0.28
43	1594	954	5-methyl furfural	ND	48.07±4.05	ND
44	1594	983	methyl-2-furoate	ND	ND	187.21±5.93
45	1600	1600	hexadecane	6.06±0.21	TR	ND
46	1615	1179	4-terpineol	ND	ND	5.27±1.80
47	1617	1124	3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	ND	4.51±0.51	2.90±0.99
48	1631	1007	2-(2-ethoxyethoxy) ethanol	ND	22.04±2.25	27.64±2.87
49	1636	<800	butanoic acid	3.50±1.11	106.13±1.79	8.93±0.62
50	1638	965	γ-valerolactone	ND	TR	ND
51	1641	1188	β-terpinol	ND	ND	10.66±7.76
52	1644	914	dihydro-4-methyl-2(3H)-furanone	4.08±0.49	ND	ND
53	1664	915	butyrolactone	31.27±2.51	873.97±43.09	70.23±2.69
54	1671	852	2-furanmethanol	12.00±1.56	44.93±1.36	22.64±0.53
55	1677	894	2-methyl butanoic acid	TR	80.00±18	1228.61±37.31
56	1695	860	2,4-pentanediol	ND	290.55±8.61	ND
57	1703	1232	α-4-dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde	ND	ND	7.69±2.51
58	1711	1194	α-terpineol	TR	ND	94.3±30.62
59	1713	1203	γ-terpineol	ND	ND	19.74±7.97
60	1716	1147	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	6.28±0.23	20.65±5.7	ND

표 53. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
61	1746	908	pentanoic acid	TR	ND	4.67±1.67
62	1750	ND	unknown	ND	ND	ND
63	1771	1179	naphthalene	ND	ND	4.93±1.71
64	1775	764	acetamide	ND	108.08±3.34	ND
65	1786	913	2(5H)-furanone	ND	ND	36.6±12.16
66	1797	1394	vanillin	TR	TR	13.83±8.75
67	1800	1800	octadecane	3.79±0.35	31.05±10.24	ND
68	1808	953	3-methyl-2-butenoic acid	ND	ND	27.95±12.07
69	1824	1042	tetrahydro-6-methyl-2H-pyran-2-one	TR	574.27±14.84	ND
70	1843	ND	unknown	1.99±0.49	8.59±3.23	2.33±0.68
71	1854	1026	hexanoic acid	6.22±1.02	63.06±1.18	5.25±1.91
72	1858	921	2-methyl-2-butenoic acid	ND	77.99±8.96	67.77±2.44
73	1863	1184	<i>p</i> -cymene-8-ol	4.62±0.23	ND	12.67±1.81
74	1878	ND	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	ND	8828.44±82.79	196.55±18.77
75	1881	1090	guaiacol	4.62±0.46	84.62±27.01	16.2±1.18
76	1887	ND	unknown	ND	71.86±29.27	ND
77	1898	1023	benzyl alcohol	104.49±7.77	498.48±15.94	435.78±12.75
78	1934	1116	2-phenylethanol	189.10±14.10	83.38±12.36	ND
79	1935	926	dimethyl sulfone	ND	ND	32.62±10.19
80	1947	1176	3,7-dimethyl-1,5-octadiene-3,7-diol	7.62±1.38	ND	ND
81	1956	1123	2-ethyl hexanoic acid	3.86±0.20	52.65±1.98	18.61±8.79
82	1960	1071	heptanoic acid	ND	11.35±3.38	13.96±3.92
83	1965	1021	3-hexenoic acid	10.69±0.28	TR	ND
84	1978	ND	unknown	ND	219.78±13.23	204.89±20.08
85	1983	ND	2,6-dimethyl-7-octene-2,6-diol	ND	ND	ND
86	1992	1088	maltol	179.42±19.50	311.05±12.96	196.49±14.51
87	2016	ND	unknown	14.03±2.82	1742.12±22.68	178.41±10.65
88	2023	979	phenol	4.00±0.37	21.40±1.52	70.21±1.72
89	2038	1831	isopropyl myristate	11.55±4.00	ND	ND
90	2040	ND	unknown	ND	352.15±12.31	2037.02±51.18

표 53. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
91	2050	1282	4-ethyl-2-methoxy phenol	ND	ND	ND
92	2052	1030	1H-pyrrole-2-carboxaldehyde	ND	53.77±4.94	70.07±8.04
93	2058	ND	pantolactone	TR	318.35±11.5	481.32±17.22
94	2064	1182	octanoic acid	5.91±1.84	ND	22.52±1.83
95	2065	ND	unknown	ND	137.24±18.88	ND
96	2100	1085	4-methyl phenol	ND	ND	5.22±2.69
97	2116	ND	4-hydroxy- $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl cyclohexane methanol	ND	308.6±76.6	275.85±5.68
98	2133	1270	3,7-dimethylocta-1,7-dien-3,6-diol	ND	ND	ND
99	2158	ND	unknown	TR	117.51±7.39	55.13±21.24
100	2192	1172	3-ethyl phenol	ND	ND	4.04±1.58
101	2196	1316	2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol	ND	ND	21.59±7.11
102	>2200	ND	unknown	ND	ND	108.45±3.55
103	>2200	ND	unknown	ND	142.86±14.86	ND
104	>2200	1949	isophytol	13.39±3.05	4.05±0.66	ND
105	>2200	1315	2-methoxy-4-vinylphenol	27.33±15.66	4668.68±112.1 8	145.68±3.87
106	>2200	1323	4-hydroxy-3-methylacetophenone	ND	127.49±19.15	ND
107	>2200	1296	2,3,5-trimethyl phenol	ND	TR	26.97±3.28
108	>2200	ND	unknown	508.79±62.55	ND	ND
109	>2200	ND	unknown	ND	289.71±24.36	ND
110	>2200	ND	unknown	267.97±24.96	35.10±0.93	40.91±2.14
111	>2200	1280	3-ethyl-4-methyl-1H-pyrrole-2,5-dione	18.33±3.34	TR	ND
112	>2200	1115	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	ND	1042.78±105.1 2	61.88±1.53
113	>2200	ND	unknown	ND	174.09±21.96	ND
114	>2200	1187	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	ND	192.47±17.79	246.04±10.04
115	>2200	1366	8-hydroxy linalool	262.47±18.42	355.69±11.71	ND
116	>2200	1970	dibutyl phthalate	TR	28.61±0.75	TR
117	>2200	1355	geranic acid	ND	ND	ND
118	>2200	1346	3,4,5-trimethyl phenol	ND	352.16±15.39	26.85±4.06
119	>2200	1393	benzene acetamide	ND	ND	ND
120	>2200	1229	4-vinyl phenol	ND	1255.17±119.5 4	147.31±3.94

표 53. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b		
	DB-wax	DB-5ms		Acaiberry	Aronia	Cranberry
121	>2200	1087	2-furancarboxylic acid	ND	1865.39±19.89	2186.37±92.91
122	>2200	1162	benzoic acid	15.47±2.81	39952.1±9529.4	50477.54±3835.52
123	>2200	1241	5-hydroxymethylfurfural	ND	1121.01±422.37	12526.95±492.65

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

^dTR : trace.

② 아사이베리의 향 활성 화합물

아사이베리의 향미 특성에 중요한 역할을 하는 향 활성 화합물을 분석하기 위해 GC-O로 AEDA를 행하였다. 표 3에서 보듯이 SAFE로 추출했을 때 아사이베리의 향 활성 화합물로 8종이 감지되었고, *trans*-linalool oxide (no. 37, wood, log₂FD=5), nonanal (no. 34, citrus, log₂FD=4), 2-phenylethanol (no. 79, rose, log₂FD=4) 및 8-hydroxy linalool (no. 115, sweet fruit, log₂FD=4)이 높은 log₂FD 값을 나타내어 아사이베리의 중요한 특징적인 향기성분으로 확인되었다. 이 외에도 (*Z*)-3-hexenol (no. 31, grass, log₂FD=3), benzaldehyde (no. 51, almond, log₂FD=3), vanillin (no. 66, vanilla, log₂FD=0)이 아사이베리의 향 활성 화합물로 동정되었다.

LLCE로 추출했을 때 아사이베리의 향 활성 화합물로 6종이 감지되었다 (표 55). *Trans*-linalool oxide (no. 24, wood, log₂FD=5), 2-phenylethanol (no. 78, rose, log₂FD=4) 및 8-hydroxy linalool (no. 115, sweet fruit, log₂FD=3)이 높은 log₂FD 값을 나타내어 아사이베리의 중요한 특징적인 향기성분으로 생각되었다. 특히 *trans*-linalool oxide (no. 24, wood, log₂FD=5)는 SAFE 추출액에서와 마찬가지로 가장 높은 log₂FD 값을 나타내었다. LLCE에서만 감지된 화합물인 maltol (no. 86, caramel, log₂FD=3)은 아사이베리의 특징적인 향에 기여할 것으로 생각되었다.

표 54. SAFE방법을 이용한 아사이베리의 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	FD ^b
	DB-wax	DB-5ms			SAFE
31	1390	858	(<i>Z</i>)-3-hexenol	grass	3
34	1402	1089	nonanal	citrus, orange	4
37	1458	1091	<i>trans</i> -linalool oxide	wood	5
43	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	flower	1
51	1545	961	benzaldehyde	almond, powdery	3
66	1797	1394	vanillin	vanilla	0
79	1934	1116	2-phenylethanol	rose, honey	4
$\frac{11}{5}$	2200	1366	8-hydroxy linalool	sweet fruit, lemon	4

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bFlavor dilution (FD) factor (=log₂ FD).

표 55. LLCE방법을 이용한 아로니아 향활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	FD ^b
	DB-wax	DB-5ms			LLCE
20	1390	858	(Z)-3-hexenol	grass	0
24	1458	1091	<i>trans</i> -linalool oxide	wood	5
37	1545	961	benzaldehyde	almond, powdery	2
78	1934	1116	2-phenylethanol	rose, honey	4
86	1992	1088	maltol	caramel, sweet	3
11 5	2200	1366	8-hydroxy linalool	sweet fruit, lemon	3

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^b Flavor dilution (FD) factor (=log₂ FD).

(나) 아로니아의 향미 profile

① 아로니아의 휘발성 향기성분

아로니아의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SAFE와 LLCE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 1과 2에 나타내었다. SAFE로 추출한 아로니아의 휘발성 향기성분은 모두 74종이 검출되었고, 그 중 69종이 동정되었다. Benzoic acid (no. 159), 3-penten-2-one (no. 4)과 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 107)이 높은 함량을 나타내었으며 그 다음으로 4-hydroxy-2-pentanone (no. 41), butyrolactone (no. 72), benzyl alcohol (no. 109) 및 benzaldehyde 순으로 함량이 높았다.

LLCE로 추출한 아로니아의 휘발성 향기성분은 71종이 검출되었으며, 그 중 59종이 동정되었다. Benzoic acid (no. 122), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 74) 및 4-hydroxy-2-pentanone (no.28)이 가장 높은 함량을 나타내었다. 그 다음으로 3-penten-2-one (no. 1)이 높은 함량을 나타내었다. 그 외에도 2-methoxy-4-vinylphenol (no. 105), benzaldehyde (no. 37), butyrolactone (no. 53), 2-furancarboxylic acid (no. 121), 4-vinylphenol (no. 120)과 5-hydroxymethylfurfural (no. 123) 순으로 함량이 높았다. SAFE와 LLCE에서 높은 함량으로 동정된 benzoic acid는 아로니아에 천연으로 존재하고 있는 휘발성 향기성분임을 알 수 있었다.

아로니아의 휘발성 향기성분 지표물질을 탐색하기 위하여 SAFE로 추출한 아로니아의 휘발성 향기성분을 아사이베리와 크렌베리의 휘발성 향기성분과 비교하였다. 아사이베리와 크렌베리에서는 동정되지 않고 아로니아에서만 동정되었거나 아

로니아에서 높은 함량으로 존재하고 있는 화합물로 3-penten-2-one (no. 4), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 107) 및 4-hydroxy-2-pentanone (no. 41), 4-hydroxy-3-methyl acetophenone (no. 142), 7,7,-dichloro-bicyclo[4.1.0] heptane (no. 40), acetyl benzyl alcohol (no. 132) 및 tetrahydro-6-methyl-2H-pyran-2-one (no. 99) 등이 동정되었다. LLCE로 추출한 아로니아의 휘발성 향기성분을 아사이베리 및 크렌베리의 휘발성 향기성분과 비교했을 때 아사이베리와 크렌베리에서 동정되지 않았거나 아로니아에서 높은 함량으로 존재하고 있는 화합물로 3-penten-2-one (no. 1), 4-hydroxy-2-pentanone (no. 28), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 74), 2,4-pentanediol (no. 56), 4-hydroxy-3-methyl acetophenone (no. 106), acetamide (no. 64), 5-methyl furfural (no. 43), 4-ethoxy-2-pentanone (no. 9) 등이 동정되었다. 두 추출법을 통해 아로니아에서만 동정되었거나 함량의 차이가 큰 공통적인 화합물로 3-penten-2-one, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one 및 4-hydroxy-2-pentanone이 동정되었고, 결론적으로 아로니아의 지표물질로 3-penten-2-one, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one 및 4-hydroxy-2-pentanone을 선정하였다.

② 아로니아의 향 활성 화합물

아로니아의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O를 통한 OSME법으로 향의 강도를 측정하였다. 표 5에서 보듯이 SAFE로 추출한 아로니아의 향 활성 화합물로 2종이 감지되었다. 3-penten-2-one은 sweet한 향 특성을 갖으며, 약간의 풀냄새가 나는 특성을 갖는 것으로 감지되었고, 강도는 1로 약했다. almond한 향 특성을 갖는 butyrolactone이 감지되었다. 향의 강도는 2로 나타내었으며 달콤하면서 고소한 향 특성을 나타내었다.

LLCE로 추출한 아로니아를 GC-O한 결과 향 활성 화합물로 총 3종이 감지되었다 (표 57). 감지된 화합물 중에서 2종은 SAFE에서도 감지되었던 3-penten-2-one과 butyrolactone이 감지되었다. 3-penten-2-one의 강도는 1이었으며, butyrolactone의 향의 강도는 2로 감지되었다. SAFE에서는 감지되지 않았던 향 특성 중에 포도향과 비슷한 향이 감지되었으나 동정하지 못하였다. 향의 강도는 1로 감지되었다.

표 56. SAFE방법을 이용한 아로니아 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
4	1139	<800	3-penten-2-one	sweet, green	1
72	1664	915	butyrolactone	almond	2

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

표 57. LLCE방법을 이용한 아로니아 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
1	1139	<800	3-penten-2-one	sweet, green	1
53	1664	915	butyrolactone	almond	2
A	1810	-	unknown	grape like	1

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

(다) 크렌베리의 향미 profile

① 크렌베리의 휘발성 향기성분

크렌베리의 향미 profile을 알아보기 위하여 SAFE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과 크렌베리의 휘발성 향기성분으로 92종이 동정되었다 (표 1). Benzoic acid (no. 159)가 높은 함량으로 동정되었고 (19,668 ppb), 아사이베리와 아로니아에서는 동정되지 않았던 furfural (no. 44)이 높은 함량으로 존재하였다 (4,479 ppb). 그 다음으로 함량이 높은 화합물로 2-methyl butanoic acid (no. 76), benzyl alcohol (no. 109), methyl-2-furoate (no. 61)순으로 동정되었다. Methyl-2-furoate는 아사이베리, 아로니아에서는 동정되지 않았으나 크렌베리에서 높은 함량을 나타내었다 (385 ppb). 그 외에도 α -terpineol (no. 83) 및 acetic acid (no. 39)가 크렌베리에서 높은 함량으로 존재하였다.

LLCE로 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과 66종이 동정되었다 (표 2). 높은 함량을 갖는 화합물은 benzoic acid (no. 122, 50,477 ppb)와 5-hydroxymethylfurfural (no. 123, 12,527 ppb)이었으며, 그 다음으로 furfural (no. 31), 2-furancarboxylic acid (no. 121), 2-methyl butanoic acid (no. 55), acetic acid (no. 26), pantolactone (no. 93), benzyl alcohol (no. 77)과 4-hydroxy- α , α ,4-trimethyl cyclohexane methanol (no. 97) 순으로 높은 함량을 나타내었다. 아로니아와 마찬가지로 benzoic acid는 크렌베리에 천연으로 존재하는 휘발성 향기성분이다.

SAFE로 추출한 크렌베리의 휘발성 향기성분을 아사이베리와 아로니아의 휘발성 향기성분과 비교했을 때 아사이베리와 아로니아에서는 동정되지 않고 크렌베리에서만 동정되었거나 크렌베리에 높은 함량으로 존재하는 화합물은 furfural (no. 44), methyl-2-furoate (no. 61), 5-hydroxymethylfurfural (no. 160), 2-methyl butanoic acid (no. 76), thymol (no. 139), 1-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (no.

150), 2,3,5-trimethyl phenyl (no. 143)이었다. LLCE로 추출시 아사이베리와 아로니아에서는 동정되지 않고 크렌베리에서만 동정되었거나 크렌베리에 높은 함량으로 존재하는 화합물은 furfural (no. 31), methyl-2-furoate (no. 44), 2-methyl butanoic acid (no. 55), 3-methyl-2-butenoic acid (no. 68), dimethyl sulfone (no. 79), 2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol (no. 101) 등 이었다. 두 추출법을 통해 크렌베리에서만 동정되었거나 아사이베리나 아로니아와 함량차가 큰 화합물은 furfural, methyl-2-furaote 및 2-methyl butanoic acid 였으므로 크렌베리의 휘발성 향기성분 지표물질로 furfural, methyl-2-furaote 및 2-methyl butanoic acid를 선정하였다.

② 크렌베리의 향 활성 화합물

크렌베리의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O로 OSME를 실시하여 향의 강도를 나타내었다 (표 58). 크렌베리의 향 활성 화합물로 총 3종이 감지되었다. SAFE로 추출한 크렌베리의 향 활성 화합물로 3종이 감지되었다. 시큼한 향의 특성을 나타내는 acetic acid가 SAFE에서 강도가 3으로 감지되었고, 다음으로 과일 향의 특성을 나타내는 화합물이 동정되었는데 단내가 포함된 과일의 향 특성을 가지고 있는 furfural이 SAFE에서 강도가 3으로 감지되었다. 단 냄새와 burnt한 향이 살짝 섞인 특성을 갖는 화합물이 SAFE에서 각각 강도가 3으로 감지되었지만 동정하지 못하였다.

LLCE로 추출한 크렌베리를 GC-O한 결과 향 활성 화합물이 3종이 감지되었으며 표 8에 나타내었다. SAFE와 마찬가지로 시큼한 향의 특성을 나타내는 acetic acid는 향의 상대적인 강도가 2로 감지되었으며, 단내가 포함된 과일의 향 특성을 갖는 furfural의 강도가 3으로 감지되었다. 그 다음으로 SAFE와 마찬가지로 단 냄새와 설탕 탄 냄새가 복합적으로 느껴지는 화합물이 감지되었으나 동정하지 못하였다. 향의 강도는 1이었다.

표 58. SAFE방법을 이용한 크렌베리 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
39	1468	<800	acetic acid	acid like	3
44	1489	836	furfural	sweet fruit	3
C	1540	-	unknown	burnt sugar	3

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

표 59. LLCE방법을 이용한 크렌베리 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
26	1468	<800	acetic acid	acid like	2
31	1489	836	furfural	sweet fruit	3
C	1540	-	unknown	burnt sugar	1

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

(라) 혼합농축액의 향미 profile

① 혼합농축액의 휘발성 향기성분

혼합농축액의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SAFE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과 표 9에서 보듯이 101종이 동정되었다. 함량이 가장 높은 화합물은 benzoic acid (no. 140, 6,314 ppb), *trans*-linalool oxide (no. 32, 1,488 ppb), 3-penten-2-one (no. 3, 1,116 ppb), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 93, 973 ppb), *cis*-linalool oxide (no. 36, 927 ppb), benzyl alcohol (no. 95, 800 ppb), α -terpineol (no. 74, 410 ppb), 2-phenylethanol (no. 96, 344 ppb), 4-hydroxy-2-pentanone (no. 35, 294 ppb), 2-methyl butanoic acid (no. 68, 210 ppb) 및 butyrolactone (no. 64, 179 ppb) 등 이었다.

혼합농축액의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 LLCE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 10에서 보듯이 79종이 동정되었다. 함량이 높은 화합물은 benzoic acid (no. 114, 31,020 ppb), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 65, 1,730 ppb), 3-penten-2-one (no. 1, 1,061 ppb), 2-methoxy-4-vinylphenol (no. 94, 973 ppb), 8-hydroxy linalool (no. 106, 972 ppb), *trans*-linalool oxide (no. 22, 945 ppb), benzyl alcohol (no. 67, 879 ppb), 4-hydroxy-2-pentanone (no. 25, 841 ppb) 및 maltol (no. 75, 375 ppb)이었다.

Cis-linalool oxide (no. 30)는 아사이베리, 아로니아 및 크렌베리에서는 동정되지 않았으나 혼합농축액에서 높은 함량으로 존재하였다. 크렌베리의 지표물질이라 할 수 있는 furfural은 혼합농축액에서 동정되지 않았다. 동정되지 않은 이유는 furfural이 크렌베리의 지표물질이지만, 혼합시 크렌베리는 아사이베리와 아로니아의 비율보다 적게 혼합되면서 혼합농축액에서는 검출되지 않은 것으로 생각된다. 5,6-Dihydro-2H-pyran-2-one, 3-penten-2-one, 4-hydroxy-2-pentanone 과 2-methoxy-4-vinylphenol은 혼합농축액에서 적은 함량으로 검출되었다.

이 휘발성 향기성분은 아로니아에서는 높은 함량으로 검출되었지만 혼합농축액에서는 낮은 함량으로 존재하였다. 크렌베리에서 높은 함량을 갖는 2-methyl butanoic acid, butyrolactone, 4-vinyl phenol 및 2-furancarboxylic acid의 함량도 낮게 존재하였다.

표 60. SAFE를 이용한 혼합농축액과 발효혼합물 농축액의 휘발성 향기성분 동정 결과

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermented Mix
1	1092	654	2-methyl-1-propanol	8.86±0.54	ND ^c
2	1116	ND	2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl-2H-pyran	3.37±0.47	1.63±0.02
3	1139	<800	3-penten-2-one	1116.39±48.83	890.97±24.06
4	1143	883	<i>p</i> -xylene	ND	11.05±1.55
5	1149	866	<i>m</i> -xylene	1.10±0.23	18.21±2.8
6	1162	<800	1-penten-3-ol	11.03±0.14	1.92±0.31
7	1167	861	cyclohexene oxide	6.30±0.19	10.68±1.68
8	1180	<800	3-penten-2-ol	1.37±0.07	2.04±0.19
9	1183	1016	isocineole	2.06±0.28	1.48±0.13
10	1193	915	<i>o</i> -xylene	ND	4.15±0.73
11	1209	<800	3-methyl-1-butanol	51.8±2.91	6.59±0.24
12	1213	1033	1,8-cineole	4.01±0.40	3.02±0.78
13	1223	866	chlorobenzene	ND	TR ^d
14	1226	ND	unknown	17.48±1.44	1.32±0.17
15	1238	ND	3-chloro cyclohexene	ND	5.85±1.29
16	1246	ND	4-ethoxy-2-pentanone	22.07±2.16	3.27±0.13
17	1250	ND	unknown	22.65±2.94	3.02±0.07
18	1253	<800	3-methyl-3-butenol	26.46±5.59	4.25±0.52
19	1268	895	styrene	1.01±0.07	2.3±0.48
20	1314	<800	1-hydroxy-2-propanone	0.87±0.03	4.88±0.68
21	1324	<800	<i>cis</i> -2-pentenol	41.87±3.23	ND
22	1325	<800	3-methyl-2-butenol	ND	16.28±1.33
23	1350	815	ethyl-2-hydroxy propanoate	8.91±0.90	4.38±0.59
24	1355	867	1-hexanol	56.31±6.51	3.94±0.23
25	1367	855	(E)-3-hexenol	19.54±1.99	1.76±0.12
26	1374	809	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	1.56±0.16	0.64±0.03
27	1390	858	(Z)-3-hexenol	343.89±28.54	83.76±4.82
28	1398	1091	2-nonanone	3.91±0.67	ND
29	1400	1400	tetradecane	ND	2.44±0.34
30	1402	1089	nonanal	2.45±0.66	1.79±0.36

표 60. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermented Mix
31	1409	885	(Z)-2-hexenol	16.24±2.70	8.31±1.23
32	1458	1091	<i>trans</i> -linalool oxide	1488.58±173.86	220.06±3.72
33	1464	885	2-cyclohexenone	ND	39.02±3.06
34	1468	<800	acetic acid	TR	63.41±12.27
35	1478	849	4-hydroxy-2-pentanone	294.52±21.29	268.82±21.35
36	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	927.22±37.46	ND
37	1489	836	furfural	ND	329.83±15.54
38	1492	1029	2-ethyl-1-hexanol	22.19±4.46	11.36±1.37
39	1523	904	2-acetylfuran	15.37±1.50	10.43±0.88
40	1534	1184	dill ether	15.6±1.23	3.26±0.41
41	1541	ND	unknown	44.9±8.22	4.82±0.20
42	1545	961	benzaldehyde	19.16±1.54	31.04±2.12
43	1548	1279	vitispirane	7.36±0.38	ND
44	1550	1101	linalool	53.94±0.11	7.4±0.27
45	1556	1148	lilac aldehyde (isomer I)	4.92±0.94	1.70±0.40
46	1560	1070	1-octanol	10.52±1.79	2.56±0.47
47	1571	1159	lilac aldehyde (isomer II)	5.84±0.87	ND
48	1575	803	2-methyl propanoic acid	6.34±1.25	5.9±1.37
49	1579	1172	lilac aldehyde (isomer III)	6.52±1.22	ND
50	1584	1147	1-terpineol	4.69±0.74	5.42±0.53
51	1594	954	5-methyl furfural	3.45±0.67	4.63±0.94
52	1594	983	methyl-2-furoate	9.92±0.44	15.61±0.93
53	1600	1600	hexadecane	3.89±1.04	5.81±0.28
54	1605	1169	lilac aldehyde (isomer IV)	2.89±0.31	ND
55	1609	1088	6-methyl-3,5-heptadien-2-one	5.51±0.86	1.82±0.10
56	1617	1124	3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	36.05±8.48	10.45±0.86
57	1631	1007	2-(2-ethoxyethoxy) ethanol	9.55±4.28	11.07±1.68
58	1636	<800	butanoic acid	5.96±1.22	11.07±1.68
59	1638	965	γ-valerolactone	TR	TR
60	1641	1188	β-terpineol	25.8±5.05	10.83±0.24

표 60. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermented Mix
61	1644	914	dihydro-4-methyl-2(3H)-furanone	22.64±2.27	7.29±0.26
62	1644	ND	unknown	22.13±2.24	ND
63	1648	1169	menthol	ND	3.21±0.09
64	1664	915	butyrolactone	178.98±16.76	102.84±7.21
65	1666	1049	benzeneacetaldehyde	ND	3.83±0.12
66	1668	1173	2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde	1.48±0.08	ND
67	1671	852	2-furanmethanol	3.85±0.39	5.18±0.11
68	1677	894	2-methyl butanoic acid	210.21±13.53	242.93±13.66
69	1687	1171	ethyl benzoate	7.00±1.11	ND
70	1690	1322	cyclohexyl benzene	ND	5.58±0.29
71	1697	1041	5-ethenyldihydro-5-methyl-2(3H)-furanone	4.69±0.91	5.33±1.28
72	1700	ND	1,8-methadien-4-ol	8.97±1.46	3.53±0.10
73	1704	ND	unknown	94.14±14.3	32.61±0.11
74	1711	1194	α-terpineol	410.35±30.83	130.63±10.19
75	1713	1203	γ-terpienol	ND	21.28±0.1
76	1716	1147	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	10.05±1.27	7.74±0.32
77	1732	1047	5-ethyl-dihydro-2(3H)-furanone	8.14±1.19	5.09±0.03
78	1746	908	pentanoic acid	4.04±0.39	4.2±0.04
79	1748	1170	benzyl acetate	10.51±1.23	ND
80	1750	ND	unknown	27.08±2.57	8.86±0.39
81	1759	1246	2-methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexenone	ND	3.47±0.56
82	1771	1179	naphthalene	ND	18.5±1.35
83	1771	ND	unknown	27.62±2.31	ND
84	1797	1394	vanillin	15.32±3.77	131.9±15.42
85	1801	ND	unknown	21.56±3.30	8.63±0.56
86	1803	1234	methyl-2-hydroxy benzoate	15.00±3.13	ND
87	1805	1192	2-(2-butoxyethoxy)ethanol	ND	11.38±0.12
88	1824	1042	tetrahydro-6-methyl-2H-pyran-2-one	7.87±1.08	ND
89	1845	1384	β-damascenone	13.53±3.26	7.09±0.23
90	1854	1026	hexanoic acid	45.40±4.54	21.53±1.82

표 60. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermented Mix
91	1858	921	2-methyl-2-butenic acid	13.50±2.87	9.03±0.56
92	1863	1184	p-cymene-8-ol	20.35±3.4	20.42±1.31
93	1878	ND	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	973.24±62.67	883.33±39.83
94	1888	ND	unknown	ND	20.76±5.17
95	1898	1023	benzyl alcohol	800.96±69.76	130.79±3.44
96	1934	1116	2-phenyl ethanol	344.33±36.58	170.94±2.67
97	1956	1123	2-ethyl hexanoic acid	17.32±6.37	10.93±0.75
98	1960	1071	heptanoic acid	8.08±3.35	6.80±0.15
99	1965	1021	3-hexenoic acid	28.78±5.74	26±0.57
100	1973	ND	unknown	20.06±8.19	ND
101	1977	1614	(E)-2-hexenoic acid	27.54±3.74	34.59±4.94
102	1992	1088	maltol	54.88±11.51	99.00±9.41
103	2009	ND	unknown	32.04±6.30	ND
104	2016	ND	unknown	145.04±23.91	138.7±2.66
105	2023	979	phenol	23.92±2.37	13.23±5.13
106	2040	ND	unknown	29.13±2.75	57.32±5.68
107	2045	1389	diphenylmethane	ND	5.28±1.95
108	2050	1282	4-ethyl-2-methoxy phenol	27.87±2.46	ND
109	2052	1030	1H-pyrrole-2-carboxaldehyde	ND	5.47±0.84
110	2058	ND	pantolactone	8.41±2.17	15.06±0.6
111	2064	ND	unknown	ND	22.8±0.63
112	2064	1182	octanoic acid	18.19±1.73	ND
113	2071		p-metha-1,4-dien-7-ol	6.11±0.78	ND
114	2100	1085	4-methyl phenol	5.84±0.99	ND
115	2116	1278	3-phenyl-2-propenal	ND	16.97±4.66
116	2116	ND	4-hydroxy-α,α,4-trimethyl cyclohexanemethanol	21.44±1.25	41.4±1.63
117	2122	ND	unknown	57.42±2.19	ND
118	2137	1480	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) ethanone	ND	72.48±2.51
119	2143	ND	acetyl benzyl alcohol	13.56±0.45	TR
120	2163	1221	2-phenoxy ethanol	10.36±0.52	3.04±0.65

표 60. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermented Mix
121	2171	1278	nonanoic acid	11.09±0.15	15.35±0.02
122	2174	ND	unknown	TR	20.16±7.52
123	2188	1358	eugenol	15.20±2.49	8.49±2.29
124	2192	1172	3-ethyl phenol	58.91±5.19	TR
125	>2200	1315	2-methoxy-4-vinylphenol	8.04±0.63	ND
126	>2200	ND	unknown	ND	28.01±9.24
127	>2200	1323	4-hydroxy-3-methyl acetophenone	33.64±0.92	9.66±1.55
128	>2200	1296	2,3,5-trimethyl phenol	52.63±1.54	20.07±0.77
129	>2200	1387	n-decanoic acid	9.32±1.87	ND
130	>2200	ND	unknown	20.48±2.37	ND
131	>2200	1280	3-ethyl-4-methyl-1H-pyrrole-2,5-dione	6.78±0.58	5.06±1.07
132	>2200	1512	dibenzofuran	7.30±0.21	5.6±2.01
133	>2200	1312	3-phenyl-2-propenol	ND	22.55±0.94
134	>2200	1366	8-hydroxy linalool	61.44±6.99	42.34±3.18
135	>2200	1063	4-oxo-pentanoic acid	7.53±1.60	ND
136	>2200	1355	geranic acid	62.07±6.36	16.81±2.3
137	>2200	1565	9H-fluorene	16.4±0.74	10.67±5.7
138	>2200	1346	3,4,5-trimethyl phenol	24.42±2.70	40.98±3.59
139	>2200	1690	3-hydroxy-5,6-epoxy-β-ionone	ND	44.98±0.98
140	>2200	1162	benzoic acid	6314.84±667.28	11724.12±1989.18

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

^dTR : trace.

표 61. LLCE를 이용한 혼합농축액과 발효혼합농축액 휘발성 물질 동정

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermented Mix
1	1139	<800	3-penten-2-one	1061.65±37.38	920.40±8.12
2	1143	883	<i>p</i> -xylene	1.46±0.28	18.87±0.77
3	1149	866	<i>m</i> -xylene	2.26±0.01	34.26±1.70
4	1167	861	cyclohexene oxide	4.94±0.33	16.76±0.48
5	1193	915	<i>o</i> -xylene	3.37±0.01	7.79±0.22
6	1209	<800	3-methyl-1-butanol	36.83±3.41	2.81±0.46
7	1213	1033	1,8-cineole	2.56±0.00	1.03±0.36
8	1238	ND	3-chlorocyclohexene	ND ^c	16.31±0.46
9	1245	ND	4-ethoxy-2-pentanone	12.40±0.57	0.79±0.02
10	1253	<800	3-methyl-3-butenol	21.89±3.30	1.32±0.70
11	1268	895	styrene	3.61±0.62	4.15±0.30
12	1314	<800	1-hydroxy-2-propanone	12.11±0.64	8.39±0.08
13	1324	<800	<i>cis</i> -2-pentenol	11.54±0.45	ND
14	1325	<800	3-methyl-2-butenol	22.45±2.54	11.39±0.16
15	1350	815	ethyl-2-hydroxypropanoate	8.46±1.36	2.57±0.00
16	1355	867	1-hexanol	31.70±2.03	2.10±0.20
17	1358	ND	1,2,3-trichloro-1-propene	ND	1.31±0.15
18	1374	809	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	1.53±0.16	ND
19	1390	858	(<i>Z</i>)-3-hexenol	226.9±14.50	41.57±0.49
20	1398	1091	2-nonanone	2.80±0.07	ND
21	1409	885	(<i>Z</i>)-2-hexenol	12.47±1.10	5.03±0.10
22	1458	1091	<i>trans</i> -linalool oxide	945.18±56.07	99.17±0.25
23	1464	885	2-cyclohexenone	ND	73.48±2.07
24	1468	<800	acetic acid	TR	92.70±1.23
25	1478	849	4-hydroxy-2-pentanone	841.07±20.89	375.67±0.09
26	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	630.6±39.86	ND
27	1489	836	furfural	ND	289.50±6.52
28	1492	1029	2-ethyl-1-hexanol	9.75±0.78	8.34±2.61
29	1523	904	2-acetylfuran	9.43±0.48	6.29±0.53
30	1534	ND	unknown	16.85±0.76	6.98±0.07

표 61. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermentation Mix
31	1540	908	1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-ene	13.52±0.32	ND
32	1544	ND	unknown	53.45±3.92	ND
33	1545	961	benzaldehyde	ND	26.76±0.58
34	1550	1101	linalool	22.10±0.71	4.41±0.04
35	1575	803	2-methyl propanoic acid	12.05±0.46	6.04±0.39
36	1582	<800	2,3-butanediol	38.99±3.24	6.64±0.16
37	1594	954	5-methyl furfural	ND	3.95±0.15
38	1594	983	methyl-2-furoate	12.87±0.89	10.56±0.14
39	1600	1600	hexadecane	8.42±1.07	3.81±0.53
40	1617	1124	3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	17.65±1.31	5.31±0.70
41	1631	1007	2-(2-ethoxyethoxy) ethanol	9.65±0.43	19.62±0.88
42	1636	<800	butanoic acid	7.44±0.15	11.43±0.26
43	1638	965	γ-valerolactone	16.6±2.34	2.73±0.46
44	1641	1188	β-terpinol	9.99±0.08	8.08±1.01
45	1644	914	dihydro-4-methyl-2(3H)-furanone	18.53±1.08	9.79±0.06
46	1664	915	butyrolactone	228.93±14.26	89.96±0.02
47	1671	852	2-furanmethanol	TR ^d	8.89±4.36
48	1677	894	2-methyl butanoic acid	244.33±16.53	271.82±6.46
49	1690	1322	cyclohexyl benzene	ND	18.20±1.31
50	1703	1232	α-4-dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde	43.44±2.85	14.77±0.93
51	1711	1194	α-terpineol	202.55±17.37	54.63±0.57
52	1713	1203	γ-terpineol	6.53±0.99	9.71±0.14
53	1716	1147	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	7.33±0.71	4.26±0.31
54	1741	ND	unknown	ND	127.31±4.66
55	1746	908	pentanoic acid	7.76±1.01	19.71±0.52
56	1750	ND	unknown	40.35±0.75	19.17±3.42
57	1771	1179	naphthalene	ND	9.08±1.09
58	1786	913	2(5H)-furanone	ND	10.39±1.19
59	1797	1394	vanillin	3.25±0.47	20.82±4.31
60	1824	1042	tetrahydro-6-methyl-2H-pyran-2-one	10.54±1.35	3.27±1.37

표 61. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermentation Mix
61	1843	ND	unknown	9.16±1.76	30.64±1.28
62	1854	1026	hexanoic acid	30.14±0.94	11.53±2.35
63	1858	921	2-methyl-2-butenic acid	17.83±1.11	12.58±0.98
64	1863	1184	p-cymene-8-ol	17.24±0.39	TR
65	1878	ND	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	1730.11±113.31	1489.68±139.82
66	1881	1090	guaiacol	21.08±1.49	TR
67	1898	1023	benzyl alcohol	879.17±85.69	90.45±2.99
68	1934	1116	2-phenylethanol	380.74±36.87	128.92±4.01
69	1947	1176	3,7-dimethyl-1,5-octadiene-3,7-diol	16.31±0.54	TR
70	1956	1123	2-ethyl hexanoic acid	6.77±1.09	15.01±0.02
71	1960	1071	heptanoic acid	ND	15.35±1.41
72	1965	1021	3-hexenoic acid	27.65±2.14	32.68±0.57
73	1978	ND	unknown	74.72±7.67	277.40±7.01
74	1983	ND	2,6-dimethyl-7-octene-2,6-diol	37.4±3.74	ND
75	1992	1088	maltol	375.31±6.73	450.87±50.16
76	2016	ND	unknown	693.62±20.88	350.30±11.73
77	2023	979	phenol	25.43±0.14	26.61±13.64
78	2040	ND	unknown	87.66±3.55	115.49±19.71
79	2050	1282	4-ethyl-2-methoxy phenol	13.74±1.26	ND
80	2052	1030	1H-pyrrole-2-carboxaldehyde	ND	17.39±1.00
81	2058	ND	pantolactone	80.28±2.62	53.38±2.82
82	2064	1233	3-phenylpropanol	ND	26.25±3.42
83	2064	1182	octanoic acid	34.12±1.27	ND
84	2071	1278	3-phenyl-2-propenal	ND	10.67±4.83
85	2078	ND	unknown	ND	21.04±8.42
86	2100	1085	4-methyl phenol	15.93±0.49	ND
87	2116	ND	4-hydroxy-α,α,4-trimethylcyclohexanemethanol	286.18±27.0	203.67±2.08
88	2129	ND	unknown	ND	1298.13±182.56
89	2133	1270	3,7-dimethylocta-1,7-dien-3,6-diol	61.41±6.96	ND
90	2158	ND	unknown	24.91±2.74	31.41±1.87

표 61. 계속

No	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	DB-wax	DB-5ms		Mix	fermentation Mix
91	2170	ND	unknown	ND	40.44±3.53
92	2192	1172	3-ethyl phenol	36.66±3.79	ND
93	>2200	ND	unknown	42.74±0.36	41.51±9.46
94	>2200	1315	2-methoxy-4-vinylphenol	973.04±83.89	554.83±44.63
95	>2200	ND	unknown	ND	152.70±11.15
96	>2200	1296	2,3,5-trimethyl phenol	30.51±13.60	164.91±3.02
97	>2200	ND	unknown	ND	345.67±35.17
98	>2200	ND	unknown	ND	386.65±11.57
99	>2200	ND	unknown	ND	48.41±2.02
100	>2200	ND	unknown	ND	43.83±5.14
101	>2200	ND	unknown	361.93±16.45	ND
102	>2200	1280	3-ethyl-4-methyl-1H-pyrrole-2,5-dione	ND	11.00±0.04
103	>2200	1115	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	52.49±1.39	23.83±0.40
104	>2200	1312	3-phenyl-2-propen-1-ol	ND	31.53±1.33
105	>2200	1187	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	117.07±13.06	152.54±27.95
106	>2200	1366	8-hydroxy linalool	972.87±38.55	210.98±20.13
107	>2200	ND	unknown	ND	115.41±15.58
108	>2200	1355	geranic acid	61.44±3.53	ND
109	>2200	1713	3-oxo-7,8-dihydro- α -ionol	ND	249.70±51.64
110	>2200	1346	3,4,5-trimethyl phenol	73.45±3.21	67.99±2.94
111	>2200	1393	benzene acetamide	TR	73.86±2.77
112	>2200	1229	4-vinyl phenol	474.59±20.54	196.45±13.73
113	>2200	1087	2-furancarboxylic acid	310.82±5.66	74.29±9.81
114	>2200	1162	benzoic acid	31020.57±352.68	22287.19±132.98
115	>2200	1241	5-hydroxy methyl furfural	368.85±30.43	694.53±44.42

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

^dTR : trace.

② 혼합농축액의 향 활성 화합물

혼합농축액의 향 활성 화합물을 알아보기 위한 GC-O로 상대적인 강도를 나타내는 OSME법을 이용하였다. 표 11에서 보듯이 SAFE로 추출한 혼합농축액의 향 활성 화합물로는 4종이 감지되었다. 과일 풋내와 같은 특성을 갖는 화합물로 1-hexanol이 강도가 1로 감지되었고, 풀 냄새를 갖는 화합물로 (Z)-3-hexenol이 강도가 1로 감지되었다. 그 다음으로 혼합농축액의 냄새와 가장 비슷한 냄새 특성을 갖는 물질은 *cis*-linalool oxide로 flower와 같은 특성을 갖는 물질로 동정되었다. 강도는 2로 감지되었다. 2-methyl butanoic acid가 동정되었고 향 특성은 fruity한 향을 나타내었으며 강도는 SAFE에서 향의 강도가 2로 감지되었다.

LLCE로 추출한 혼합농축액을 GC-O한 결과 향 활성 화합물로 4종이 감지되었다 (표 12). 감지된 화합물은 SAFE와 같은 화합물이 감지되었으며, 강도가 1-hexanol과 (Z)-3-hexenol의 향의 강도는 1이었고, flower의 향을 나타내는 *cis*-linalool oxide의 강도는 2로 감지되었다. 2-Methyl butanoic acid와 *cis*-linalool oxide가 혼합농축액의 특징적인 향이라고 생각된다.

표 62. SAFE방법을 이용한 혼합농축액 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
27	1355	867	1-hexanol	green, fruit	1
31	1390	858	(Z)-3-hexenol	grass	1
43	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	flower	2
76	1677	894	2-methyl butanoic acid	fruity	2

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

표 63. LLCE 방법을 이용한 혼합농축액 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
17	1355	867	1-hexanol	green, fruit	1
20	1390	858	(Z)-3-hexenol	grass	1
30	1485	1076	<i>cis</i> -linalool oxide	flower	2
55	1677	894	2-methyl butanoic acid	fruity	1

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

(마) 유산균 발효 혼합농축액의 향미 profile

① 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분

유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SAFE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 9에서 보듯이 99종이 동정되었다. 함량이 높은 화합물은 3-penten-2-one (no. 3), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 93) 및 furfural (no. 37) 순이었다.

Furfural (no. 37)은 발효 전에는 검출되지 않았으나 발효 후에 329 ppb의 높은 함량을 나타냈다. 그 외에도 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) ethanone (no 116), γ -terpineol (no. 75)과 2-cyclohexenone (no. 33) 등이 발효 후에 생성 되었다. *cis*-linalool oxide (no. 36)와 4-ethyl-2-methoxy phenol (no. 108)은 발효 전에는 동정되었으나 발효 후에 동정되지 않았다. 발효 전과 비교했을 때 발효 후에 감소한 화합물이 많았으며, 3-penten-2-one (no. 3), *trans*-linalool oxide (no. 32), (Z)-3-hexenol (no. 27), α -terpineol (no. 74), butyrolactone (no. 64), benzyl alcohol (no. 95), 2-phenyl ethanol (no. 96), 8-hydroxy linalool (no. 134) 및 geranic acid (no. 136)가 감소하였다. 전체적으로 발효 전 혼합농축액 보다 유산균 발효 후 혼합농축액의 휘발성 향기성분의 함량이 감소하였다.

유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 LLCE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 10에 나타내었다. LLCE로 추출한 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분은 91종이 동정되었다. 함량이 높은 화합물은 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 65)이 높게 나타났으며 그 다음으로 3-penten-2-one (no. 1), 2-methoxy-4-vinylphenol (no. 94) 및 maltol (no. 75) 등이었다.

Furfural (no. 27)은 발효 전에는 동정되지 않았으나 발효 후에 높은 함량을 나타냈으며, 발효 후에 생성된 화합물로 2-cyclohexenone (no. 23), benzaldehyde (no. 33)가 있었다. 발효 전과 비교했을 때 감소한 화합물은 3-penten-2-one (no. 1), *trans*-linalool oxide (no. 22), (Z)-3-hexenol (no. 19), 4-hydroxy-2-pentanone (no. 25), butyrolactone (no. 46), α -terpineol (no. 51) 및 geranic acid (no. 108) 등 이었다.

② 유산균 발효 혼합농축액의 향 활성 화합물

유산균 발효 혼합농축액의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O를 통한 OSME법으로 향의 강도를 측정하였다. SAFE와 LLCE로 추출하여 유산균 발효 혼

합농축액을 GC-O한 결과는 표 13과 14에 나타내었다. 향의 강도는 OSME법으로 측정하였다. SAFE로 추출한 유산균 발효 혼합농축액의 향 활성 화합물은 총 2종이 감지되었으며 표 13에 나타내었다. 과일 향의 특성을 나타내는 화합물이 동정되었는데 단내가 포함된 과일의 향 특성을 가지고 있는 furfural이 감지되었으며 강도가 1로 감지되었다. 다음으로 과일향의 특성을 나타내는 2-methyl butanoic acid가 감지되었는데, 이 화합물은 딸기의 향 활성 화합물 중 하나로 보고 되고있다. 2-Methyl butanoic acid의 강도는 1로 감지되었다.

LLCE로 추출한 유산균 발효 혼합농축액의 향 활성 화합물이 총 2종이 감지되었으며, 표 14에 나타내었다. LLCE로 추출하여 GC-O로 sniffing한 결과 SAFE에서 감지되었던 단내가 포함된 과일향인 furfural이 강도 1로 감지되었으며 딸기향에 관여한다고 알려져 있는 2-methyl butanoic acid도 강도가 1로 감지되었다.

표 64. SAFE 방법을 이용한 유산균발효 혼합농축액 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
37	1489	836	furfural	sweet fruit	1
68	1677	894	2-methyl butanoic acid	fruity	1

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

표 165 LLCE 방법을 이용한 유산균발효 혼합농축액 향 활성 화합물

No	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity
	DB-wax	DB-5ms			
27	1489	836	furfural	sweet fruit	1
48	1677	894	2-methyl butanoic acid	fruity	1

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

(4) 결론

아사이베리의 특징적인 향기성분을 동정하기 위하여 휘발성 향기성분을 SAFE와 LLCE를 이용하여 추출하고 GC-MS와 GC-O로 분석하였다.

아사이베리에서 가장 함량이 높은 휘발성 성분은 2-phenyl ethanol, (Z)-3-hexanol, benzyl alcohol, 8-hydroxy linalool, maltol 등이었다. 아사이베리를 아로니아와 크렌베리의 휘발성 향기성분과 비교했을 때 아로니아와

크렌베리에는 동정되지 않았거나 적은 함량을 갖고 아사이베리에만 존재하는 휘발성 향기성분으로 (Z)-3-hexenol, 3-methyl-3-butenol 및 cis-2-pentenol이 있다. 그 중에서 높은 함량을 가지고 있는 (Z)-3-hexenol이 아사이베리의 지표물질이라 할 수 있다. 아사이베리의 향 활성 화합물로 trans-linalool oxide가 높은 log₂FD값을 갖는다. 아사이베리의 향 활성 화합물은 보통 fruity한 특징이 나타나는 것을 알 수 있다.

아로니아의 특징적인 향기성분을 동정하기 위하여 향기성분을 SAFE와 LLCE를 이용하여 추출하고 GC-MS와 GC-O로 분석하였다.

아로니아에서 함량이 높은 휘발성 성분은 benzoic acid, 3-penten-2-one, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one, butyrolactone, 4-hydroxy-2-pentanone 등이었다. Benzoic acid가 높은 함량을 나타내었는데 이는 보존료로 사용되는 식품첨가물로 천연에서 유래된 것이다. 아로니아를 아사이베리와 크렌베리의 휘발성 향기성분을 두 추출법을 모두 비교했을 때 아사이베리와 크렌베리에서 동정되지 않았거나 상대적으로 함량의 차이가 큰 화합물로 3-penten-2-one, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one 및 4-hydroxy-2-pentanone이 아로니아의 지표물질이라고 할 수 있다. 아로니아의 향 활성 화합물로 3-penten-2-one과 butyrolactone이 동정되었으며 sweet한 특성과 almond와 같은 특성이 감지되었다.

크렌베리의 특징적인 향기성분을 동정하기 위하여 향기성분을 SAFE와 LLCE를 이용하여 추출하고 GC-MS와 GC-O로 분석하였다.

크렌베리에서 함량이 높은 휘발성 성분으로 아사이베리와 아로니아에서 동정되지 않았던 furfural과 2-methyl butanoic acid, benzyl alcohol, methyl-2-furoate 및 5-hydroxymethylfurfural등이 높은 함량으로 동정되었고, 크렌베리에서의 천연 유래 benzoic acid가 높은 함량으로 존재하였다. 두 추출법을 통해 크렌베리에서만 동정되거나 함량이 큰 공통적인 화합물로 furfural, methyl-2-furoate 및 2-methyl butanoic acid가 동정되었고, 이 화합물들이 크렌베리의 지표물질이라고 할 수 있다. 크렌베리의 향 활성 화합물에서는 acetic acid와 furfural이 동정되었고 동정된 화합물의 향 특징은 높은 함량을 가지고 있는 furfural의 경우에 sweet fruit한 향 특성이 감지되었다. 동정되지 않았지만 단 냄새가 섞인 burnt한 향이 감지되었다.

혼합농축액의 특징적인 향기성분을 동정하기 위하여 향기성분을 SAFE와 LLCE를 이용하여 추출하고 GC-MS와 GC-O로 분석하였다.

혼합농축액에서 함량이 높은 휘발성 성분은 cis-linalool oxide, benzyl alcohol, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one, 8-hydroxy linalool 등이었다. 아사이베리, 아로니아 및 크렌베리를 일정 비율로 혼합하였기 때문에 아사이베리의 혼합 비율이 가장 높

고 그 다음으로 아로니아 크렌베리 순이므로 아사이베리에 많이 들어 있던 물질이 혼합 시 많이 존재하였고, 크렌베리의 경우 혼합 비율이 적기 때문에 감소하는 경향을 보였다. 혼합농축액의 향 활성 화합물은 4종이 동정되었으며 동정된 화합물에서 flower와 같은 향 특성을 갖는 cis-linalool oxide와 fruity한 특성을 갖는 2-methyl butanoic acid가 동정되었으며 green한 향이 감지되었다.

유산균 발효 혼합농축액의 특징적인 향기성분을 동정하기 위하여 향기성분을 SAFE와 LLCE를 이용하여 추출하고 GC-MS와 GC-O로 분석하였다. 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분은 발효 전과 비교 했을 때 감소한 화합물이 많았으며 전체적으로 발효 전 혼합 농축액보다 유산균 발효 후 혼합농축액의 휘발성 향기성분의 함량이 감소하였다. 발효 전과 비교했을 때 감소한 화합물로는 cis-linalool oxide, trans-linalool oxide, (Z)-3-hexenol, butyrolactone, α -terpineol, benzyl alcohol 등이 있었으며 증가한 화합물로는 furfural, 2-methyl butanoic acid, vanillin 등이 있었다. 유산균 발효 혼합농축액의 향 활성 화합물로 발효 후 증가하였던 furfural과 2-methyl butanoic acid가 감지되었다.

나. 발효 시간에 따른 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분 비교

(1) 재료

실험에 사용한 유산균 발효 혼합농축액으로 각각 0, 6, 12, 24 및 36시간 발효시킨 유산균 발효 혼합농축액을 사용하였다. 모든 시료는 분석 전 까지 -20°C 냉동고에서 보관하였으며, 실험에 사용 된 증류수는 2차 증류수를 사용하였다.

(2) 방법

발효 시간에 따른 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분 추출 및 분석

(가) Solid phase microextraction (SPME)

발효 시간에 따른 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 solid phase microextraction (SPME)법을 이용하였다. SPME fiber는 50/30 μm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane을 사용하였다. 시료 10 mL을 headspace vial에 넣고 Teflon cap으로 밀봉하였다. 40°C 에서 30분간 방치하여 평형 상태에 도달시킨 후, SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30분 동안 시료의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. Fiber를 GC (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)의 injection port (200°C)에 1분간 탈착시켰다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(나) Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

발효 시간에 따른 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분은 Agilent 6890N GC/Agilent 5973 mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 5℃/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃이며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. Ionization voltage는 70 eV 그리고 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다.

(다) Gas chromatography-olfactometry (GC-O)

GC-O는 YL6100(Young Lin Instrument Co. Ltd. Anyang, Korea)와 Varian3800(Varian Instrument Group, Walnut Creek, CA, USA)을 사용하였다. Detector는 FID(Flame ionization detector)를 사용하였고, column으로부터 분지시켜 nose cone을 이용하여 sniffing을 실시하였다. Column은 DB-wax (30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 5℃/min 속도로 승온시켜 10분간 유지하였다. Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃이며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.4 mL/min으로 하였다.

(라) 휘발성 향기성분 동정

발효 시간에 따른 유산균 발효 혼합농축액의 휘발성 향기성분 동정은 retention indices (RI)와 Wiley/7n mass spectral database (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 또한 문헌상의 retention index와 spectrum을 비교하여 휘발성 향기성분을 확인하였다.

(3) 결과 및 고찰

혼합농축액을 발효 0, 6, 12, 24 및 36시간 과 발효를 통해 발효시간에 따른 혼합농축액의 변화를 알아보기 위하여 SPME로 추출하고 GC-MS로 동정하여 크로마토그램으로 나타냈다. (그림. 114) 크로마토그램 확인 결과 발효에 따른 휘발성 향기성분의 변화가 있는 화합물로 vitispirane을 확인하였다. vitispirane은 발효 0시간에

서 피크의 크기가 가장 컸고, 발효시간에 따라 점차 감소하는 경향을 보였다. vitispirane은 살구, 복숭아 주스에서 검출 되는 화합물로 보고된 바 있는 화합물이다. 그 외 다른 화합물들은 발효시간에 따른 변화가 없는 것을 알 수 있다.

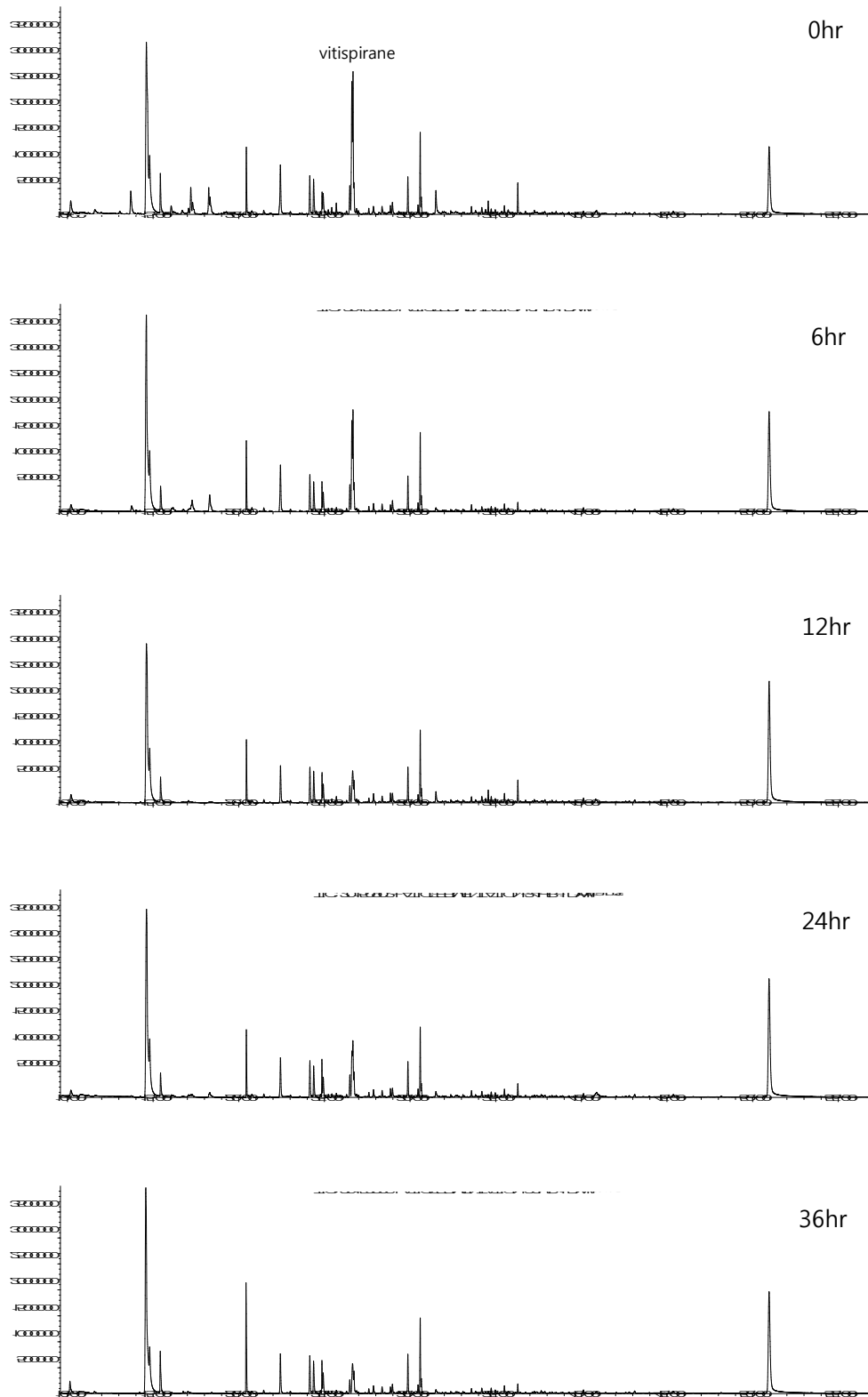


그림 114. SPME통한 발효과정 중 크로마토그램의 변화

다. 음료 가공 공정에 따른 산화적 안정성

(1) 살균 조건에 따른 색차 및 항산화 활성 변화

제 1차년도 연구 결과를 토대로 항산화 활성이 가장 높았던 혼합베리액A와 부원료를 혼합하여 음료를 제조한 후, 살균 조건에 따른 색차와 유해산소 흡수능력(Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC)분석을 통한 free radical 소거능을 평가하였다.

(가) 음료 제조 및 조건별 살균

① 재료

혼합베리액A, LP-115 균주 발효 혼합베리액A와 정제수, 액상과당, 아로니아농축액, 적포도농축액, 블루베리농축액, 이소말토올리고당, 홍삼농축액, 구연산, 비타민C, 착향료를 사용하였으며, 제조한 음료는 180ml 투명 유리병에 포장하였다.

② 방법

혼합베리발효액A 적용 유무에 따라 ‘베리 혼합음료, 베리발효 혼합음료’로 나누어 시료를 제작하였으며, 표 1과 표 2에 제시된 각각의 비율에 따라 계량하여 배합탱크에 투입하였다. 이후 상온에서 20~30분간 교반하여 충분히 용해시키고, 판형열교환기에서 UHT(Ultra High Temperature)공정으로 98℃ 60초, 120℃ 60초 간 살균하였다. 살균이 완료된 배합액은 180ml 투명 유리병에 충전, 냉각하여 상온 보관하였다. 음료 제조는 동원F&B 광주공장에서 수행하였다.

표 64. 베리 혼합음료 배합비율

원재료명	비율(%)
정제수	60.72
혼합베리액A	10.00
액상과당	7.00
아로니아농축액	6.00
적포도농축액	6.00
블루베리농축	6.00
이소말토올리고당	4.00
홍삼농축액	0.20
착향료	0.05
구연산	0.02
비타민C	0.01

표 65. 베리발효 혼합음료 배합비율

원재료명	비율(%)
정제수	59.72
혼합베리액A	10.00
혼합베리발효액A	1.00
액상과당	7.00
아로니아농축액	6.00
적포도농축액	6.00
블루베리농축	6.00
이소말토올리고당	4.00
홍삼농축액	0.20
착향료	0.05
구연산	0.02
비타민C	0.01

(나) 외관(색차, L*a*b* 값) 변화 평가

물체의 색을 측정하는 방법 중 하나인 L*a*b 색차 분석법은 CIE(Commission Internationale de l'Eclairage, 국제조명위원회)에서 규정한 방법으로, 사람이 감지할 수 있는 지각색 공간에서 명도지수 L, 지각색도지수 a, b 간의 차이를 수치화하여 색상 값의 차이를 측정하는 방법이다. 이 방법은 색상 차이가 나는 색 물체 두 물체의 값을 각각의 색 좌표에 표시하고, 이 두 가지 점 사이의 입체적인 거리를 계산해냄으로써 색차를 수학적 수치로 나타낼 수 있어 세계적으로 널리 사용되고 있다.

① 재료 및 방법

L*a*b*값 측정 및 색차를 분석하기 전에 색차계(Data processor DP-400 & CR-400 CHROMA METER, Konica Minolta) 교정을 위하여 보정판(White calibration plate CR-A50, Konica Minolta)으로 보정하였다. 이후 시료를 투명 플레이트에 담아 차광하여 색차계로 표준광원 D65에서 L*a*b*값을 측정하였다.

② 베리 혼합음료 색가 측정 결과

가열 살균 조건에 따른 L*a*b* 값은 98℃의 경우 0.97, 6.83, 1.66, 120℃는 0.55, 3.91, 0.94로 측정되었으며(표 66), 98℃를 기준으로 두 시료 간의 값 차이는 dL* 0.42, da* 2.92, db* 0.72로 나타났다. 이는 120℃에서 살균하였을 때, 98℃보다 명도가 높고, 더 붉고, 노랑다는 것을 의미하며, 실제 두 가열 조건에 의한 색차는 ΔE^* 4.6106으로, 일반인의 지각할 수 있는 색분별능력치인 ΔE^* 3을 초과하여, 실제 색 차이가 있음을 확인하였다(그림 1).

표 66. 베리 혼합음료 살균 조건별 L*a*b* 값

	98℃ 살균	120℃ 살균
L*	0.97	0.55
a*	6.83	3.91
b*	1.66	0.94

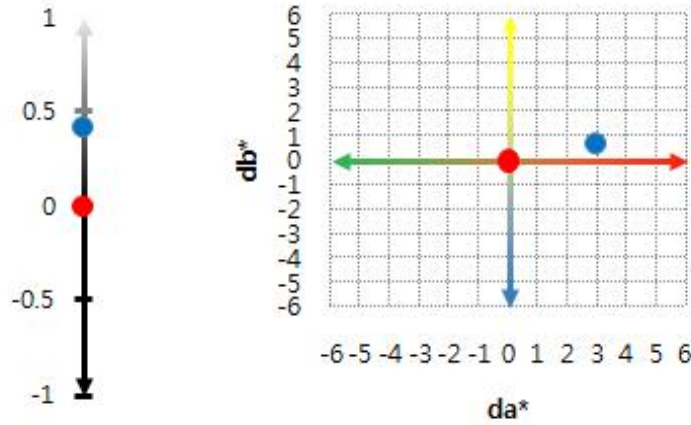


그림 115. 베리 혼합음료 살균 조건 별 색차
 (●: 98℃ 기준 값, ●: 98℃와 120℃ 간의 색차)

(2) 광산화 측정기를 통한 개발음료제품 장기 저장 안정성평가

고산화 음료 비발효/유산균 발효 2type으로 제조하였다. 이를 용기에 주입하여 98℃에서 1분간 살균한 다음 급속히 냉각시켜 실온이 되게 한 후 분석 실험에 사용하였다. 유통조건에 따른 품질변화를 측정하기 위하여 일반 형광등 조명으로 3,000~4,000 lux를 유지하고 항상 35±5℃로 유지된 광산화 측정기에서 4개월 간 보관하였다.

검사는 Q10 value 2.5, 상온 20℃를 기준으로 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24개월 마다 측정하였으며, 항산화능(ORAC Assay), 항산화성분(폴리페놀, 플라보노이드, 안토시아닌), 갈변도, 이취 분석을 실시하였다.

(가) 베리발효 혼합음료 색차 측정 결과

가열 살균 조건에 따른 L*a*b* 값은 98℃의 경우 0.88, 6.21, 1.51, 120℃는 0.60, 4.24, 1.02로 측정되었으며(표 67), 98℃를 기준으로 두 시료 간의 값 차이는 dL* 0.28, da* 1.97, db* 0.49으로 나타났다. 베리발효혼합음료와 동일하게 수치적으로는 120℃ 살균 제품이 명도가 높고, 더 붉고, 노랑다는 것을 의미한다. 하지만 두 가열 조건에 의한 색차는 ΔE* 2.0997로, ΔE*값이 3미만이므로 실제적인 시각차는 미비하다고 할 수 있다(그림 2).

표 67. 베리발효 혼합음료 살균 조건별 L*a*b* 값

	98℃ 살균	120℃ 살균
L*	0.88	0.60
a*	6.21	4.24
b*	1.51	1.02

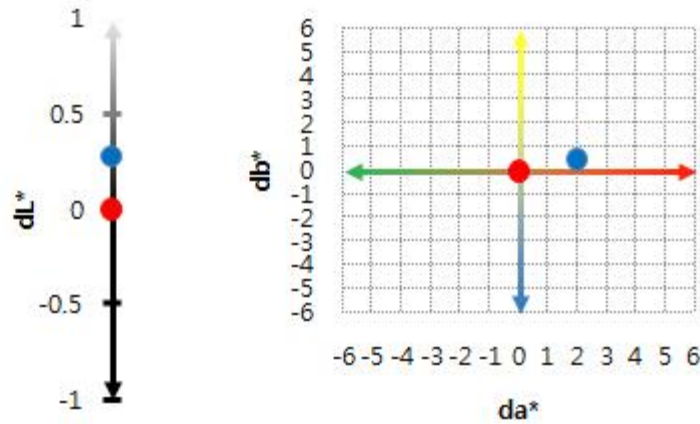


그림 116. 베리발효 혼합음료살균 조건 별 색차
 (●: 98℃ 기준 값, ●: 98℃와 120℃ 간의 색차)

(나) 유해산소 흡수능력(ORAC)

항산화능 측정방법 중의 하나인 유해산소 흡수능력 분석법(ORAC)은 radical chain reaction의 가장 핵심적인 단계인 수소 전자전달과 관련하여 항산화 물질의 free radical 소거 능력을 측정하는 방법이다. 이 방법은 식품 내에 존재하는 친수성 성분과 친유성 성분 모두에 반응하기 때문에 응용 범위가 넓다는 장점을 가지고 있다. 또한 항산화 대조물질로 수용성 비타민E를 사용하여 형광 물질을 결합시킴으로써 반응 감도가 예민하여 정확도를 높일 수 있는 방법이기도 하다.

① 재료 및 방법

본 실험은 ORAC(oxygen radical absorbance capacity) assay kit를 사용하여 (Cell Biolabs, INC. STA-345) Black well plate에 시료 25 μ l, 4nM fluorescein 150 μ l를 첨가하고 측정 직전에 과산화 라디칼의 생성을 위해 80mg 2,2'-azobis- (2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH, Sigma-Aldrich Co.)를 첨가하였다.

Fluorescein microplate reader(Varioskan Flash, Thermo, CA USA)를 이용하여 485nm에서 전자여기 후 535nm에서 방출되는 조건으로 37℃에서 60분간 30초 마다 fluorescence의 감소율을 측정하였다. 결과값은 시료 첨가구와 무 첨가구의 area under curve(AUC)값을 나타낸 후 Trolox를 이용하여 작성한 검량선($y = 0.671x + 2.2757, R^2 = 0.9837$)에 대입하여 나타내었다.

$$\text{Area under curve(AUC)}=1+\text{RFU}_1/\text{RFU}_0+\text{RFU}_2/\text{RFU}_0+\dots+\text{RFU}_{59}/\text{RFU}_0+\text{RFU}_{60}/\text{RFU}_0$$

RFUx : Relative fluorescence value of time points

혼합베리음료, 베리발효 혼합음료의 가열살균조건에 따른 유해산소 흡수 능력을 분석한 결과는 그림 4 과 같다. 혼합베리음료의 경우 살균 전에는 20.10 μ molTE/L에서 살균 98℃에는

18.99umolTE/L와 120℃에서 18.81umolTE/L로 소폭 감소하는 경향이 있었다. 베리발효혼합음료는 살균 전에는 19.89umolTE/L에서 살균 98℃에는 18.40umolTE/L와 120℃에서 18.99umolTE/L로 살균 전보다 살균 후가 소폭 감소하는 경향이 보였다.

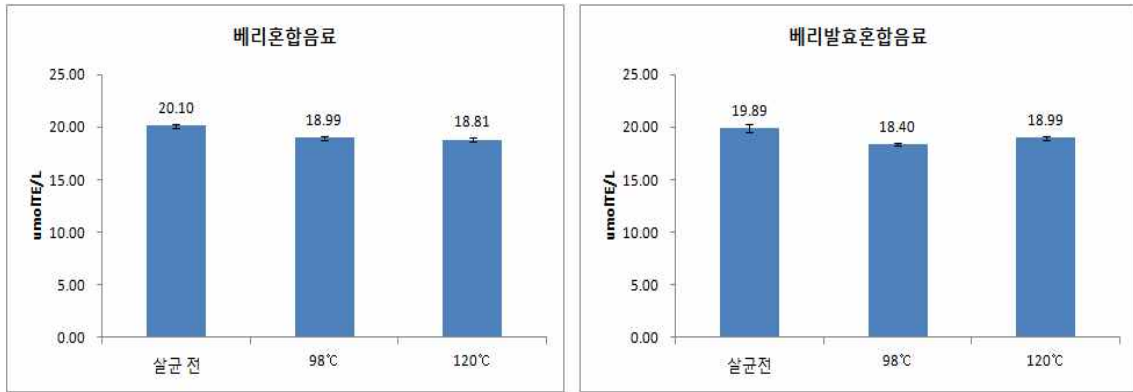


그림 117. 혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 살균 조건 별 항산화능 변화

(다) 결론 및 고찰

혼합베리액A를 LP-115 균주 발효하여 개발한 혼합베리발효액A는 증가된 항산화 활성을 보유한 고향산화 소재이다(1차년도 연구결과 참고). 본 과제를 통해 개발한 혼합베리발효액A를 적용하였을 때, UHT 120℃ 60초 살균에 의한 색 변화가 예방되었으며 이는 증가된 항산화 활성으로 인한 효과일 것으로 추측한다. 따라서 고향산화 기능성 음료 개발 시에 혼합베리발효액A를 적용하여 상품화하기로 결정하였다. 또한 살균 공정조건에 따른 기능 변화가 크지 않을 뿐만 아니라, 산업적 비용 측면, 열처리에 의한 영양성분 손실을 고려하여 98℃ 60초에서 UHT 살균하는 것으로 하였다.

라. 음료 제품의 장기 저장 조건에 따른 유통 안정성

(1) ALT(Accelerated Lifecycle Test, 가속수명검사)를 통한 유통기한 산출

(가) ALT 방법

오늘날 대다수의 기업은 생산성, 제품의 사용현장 신뢰도, 그리고 총체적인 품질을 개선하면서 단기간 내에 새롭고, 고도의 기술을 지닌 제품을 개발해야 되는 강한 압박에 직면하고 있다. 고 신뢰성에 대한 요구는 재료, 부품 그리고 시스템에 적용되는 새로운 시험방법의 필요성을 증대시키고 있다.

고 신뢰도 제품의 고장시간 분포 또는 장기 성능의 추정은 어렵다. 특히 리얼시스템에서 판매되는 음료 또는 드링크류 처럼 유통환경에 영향을 받는 제품의 고장시간 추정은 더욱 어렵다. 가속시험(Accelerated Test ; ALT)은 특히 단순 부품과 재료의 신뢰도 정보를 신속하게 얻고자 제조기업에서 널리 활용되고 있다.

가속수명시험은 시험기간을 단축하기 위한 목적으로 기준조건(음료의 경우 상온 2년)보다 가혹한 조건에서 실시하는 시험이다. 고 스트레스 수준에서 스트레스를 인가하는 스트레스 가속과 간헐동작시 반복되는 횟수를 증가시키거나 연속동작 시 지속시간을 늘이는 시간가속을 적용하여 제품의 고장 메커니즘을 촉진하여 수명을 측정하는 시험방법이다. 따라서 가속한 조건의 시험결과로부터 기준조건의 수명 또는 고장률을 추정하기 위해 두 조건 사이에 존재하는 규칙성을 활용하여 가속계수를 구하며, 일반적으로 두 조건에서의 고장 메커니즘이 동일해야 한다.

하여튼 고 신뢰도를 갖는 제품에 대한 적절한 신뢰성 평가 시 직면하게 되는 시간과 시험단위수의 제약을 극복하여 짧은 시간에 제품의 신뢰도와 성능을 파악하기 위해서는 가속수명시험이 절실히 필요하다.

이번 고향산화 활성을 지니는 드링크의 ALT는 일정 스트레스 시험법(constant-stress accelerated test)를 적용하였으며 스트레스 부과방법의 가장 대표적인 유형으로 시험단위에 일정한 수준의 스트레스를 시험종결까지 유지하는 방법이다. 이 방법은 시험에 적용하기가 편리하고, 시험을 지소 시 스트레스의 유지가 쉬우며, 일정 스트레스 수준 하에서의 가속모형이 널리 개발되어 있고 경험적인 검증도 많이 이루어져 있는 장점이 있다.

가속모형은 스트레스 가속시험에 적용할 수 있으며 시험제품의 수명과 스트레스의 관계를 나타낸다. 이번 연구에서는 아레니우스 모형과 더불어 가장 널리 쓰이는 역누승 모형을 활용하였다.

(나) 재료 및 방법

가속 수명 검사 조건은 반응이 비 관측 중단/우측 관측 중단 데이터였고, 면수는 시간, 가속 변수는 온도, 관계는 자연로그를 적용하였다. 가정된 분포는 로그 정규 분포를 사용하였으며, 추정치중 시간에 대한 확률 추정은 24개월(2년)인 720일을 입력하였고, 온도조건 40°C, 샘플은 고향산화 비발효 과채음료 30개를 가지고 ALT를 진행하였다. 30개의 샘플은 매일 전수검사를 하여 색도, 맛, 침전, 분리 등 베리 과채음료 대조군과 비교하여 이상이 있을 경우 비품으로 숫자를 카운트 하였다.

(다) 결과

가속 수명 검사 결과 시간에 대한 확률도 그림 5과 그림 6 에서 직선 도시와 모수 추정값, A-D값, 고장 및 관측중단 개수를 보여주고 있다.

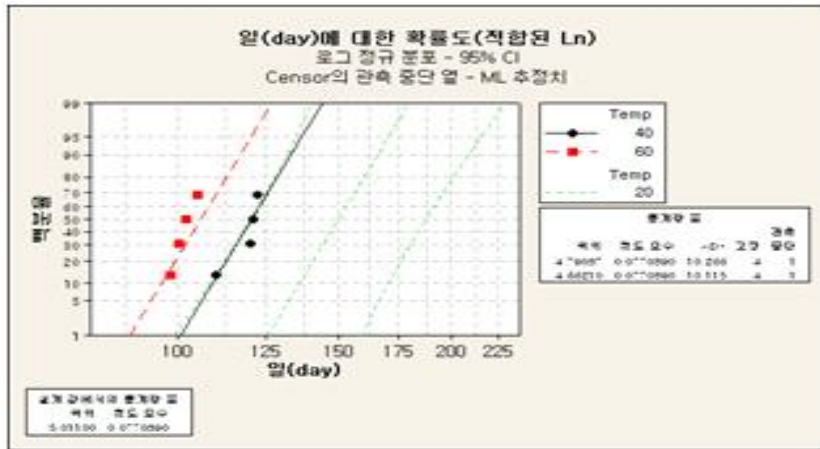


그림118. 시간(day)에 대한 고향산화 과채음료의 확률도



그림119. 시간(day)에 대한 고향산화 과채음료의 관계 그림으로 스트레스 변수와 제 10, 50, 90 백분위수 관계를 도시

가속 수명 검사: 일(day) 대 Temp
반응 변수: 일(day)
검정통계량: 카르테
관측 중단일: Censor = 0
추정 방법: 최대우도법
분포: 로그 정규 분포
가속 변수와의 관계: Ln
회귀 분석 표

예측 변수	계수	표준 오차	Z	P	95.0% 정규 CI	상한	하한
일(day)	5.96239	0.429595	12.43	0.000	5.05240	6.90238	
Temp	-0.317562	0.125929	-2.50	0.010	-0.56818	-0.0769458	
로그 우도	0.0770890	0.0203227			0.0459825	0.129236	

로그 우도 = -30.603

일(day)에 대한 확률도(적합된 Ln)
Anderson-Darling(수정) 적합도
각 가속 수준에서
수준 적합 모형
40 10.266
60 10.115

상한 확률 표

시간	Temp	확률	95.0% 정규 CI	상한	하한
720	20	0	0	0	0

그림120. 가속수명 검사에 대한 통계처리 결과

상기의 결과를 바탕으로 가속 수명 검사를 통해 2년(720시간)에 과채 음료의 맛이 변질될 확률을 구한 결과 확률 0 였고, 이때의 p-value = 0.010 으로 99% 이상 유의적으로 고향산화 베리 과채음료의 유통기한은 상온에서 2년 이상이 될 것으로 판단된다. 이에 대한 근거는 그림 5에서 확인 할 수 있다.

상기에서 실험한 비발효 과채음료외에 유산균 발효음료에 대한 가속수명 검사를 진행한 결과도 동일하게 상온에서 유통기한 2년동안 맛이 변질될 문제는 나타나지 않았으며 이는 유산균 발효 과채음료의 항산화활성이 비발효 음료보다 높게 나타난 것과 일맥상통한다고 볼 수 있다.

(2) 광산화 측정기를 통한 개발음료제품 장기 저장 안정성 평가

(가) 재료 및 방법

혼합베리액A, LP-115 균주 발효 혼합베리액A와 정제수, 액상과당, 아로니아농축액, 적포도농축액, 블루베리농축액, 이소말토올리고당, 홍삼농축액, 구연산, 비타민C, 착향료를 사용하였으며, 제조한 음료는 180ml 투명 유리병에 포장하였다. 혼합베리발효액A 적용 유무에 따라 ‘베리 혼합음료, 베리발효 혼합음료’로 나누어 시료를 제작하였으며, 표 15과 표 16에 제시된 각각의 비율에 따라 계량하여 배합탱크에 투입하였다. 이후 상온에서 20~30분간 교반하여 충분히 용해시키고, 판형열교환기에서 UHT(Ultra High Temperature)공정으로 98℃ 60초 간 살균하였다. 살균이 완료된 배합액은 180ml 투명 유리병에 충전, 냉각하여 상온 보관하였다. 음료 제조는 동원 F&B 광주공장에서 수행하였다. 안정성 검사를 위하여 40℃, 3,000~4,000Lx에서 123일간 저장하면서 안정성 검사를 실시하였다.

(나) 유해산소흡수능력(ORAC) 결과

혼합베리음료의 경우 저장기간이 길수록 ORAC 수치는 낮아지는데, 0일차에는 26.27umolTE/L에서 9개월 후에는 14.54umolTE/L 로 급격히 감소하는 경향을 보였다. 베리발효혼합음료의 경우 0개월 26.78umolTE/L에서 9개월 후 19.59umolTE/L으로 저장기간이 길수록 ORAC수치는 낮았지만 감소 폭이 비발효 음료에 비해 낮은 경향이 있었다.

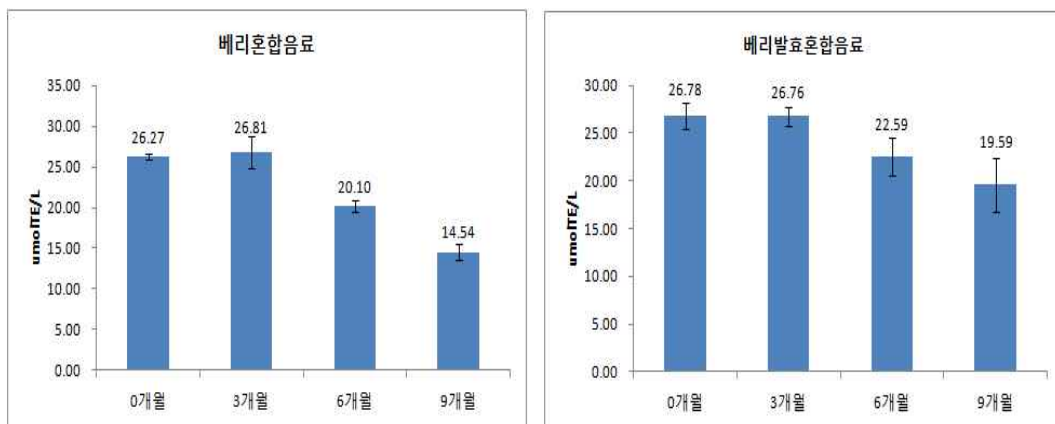


그림 121. 저장 중 혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 항산화능 변화

(다) 항산화 성분(총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 안토시아닌)

① 측정 방법

㉠ 총 폴리페놀 함량

시료의 총 폴리페놀 함량은 Singleton과 Rossi(14)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 25 μL 에 증류수 1 mL, Na_2CO_3 용액 300 μL , Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 75 μL 를 혼합하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도(DU-650, Beckman Coulter, Anaheim, CA, USA)를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀 함량은 mg gallic acid equivalent(GAE)/serving size로 나타내었다.

㉡ 총 플라보노이드 함량

시료 속에 함유된 총 플라보노이드 함량은 Jia 등(15)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 1 mL에 5% NaNO_2 를 20 μL 첨가하여 5분간 실온에서 반응시킨 후, 10% AlCl_3 20 μL 와 1M NaOH 150 μL 를 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 catechin (Sigma-Aldrich)를 이용하여 검량선을 작성하였고 총 플라보노이드 함량은 mg catechin equivalent(CE)/serving size로 나타내었다.

㉢ 총 안토시아닌 함량

Morris et al(1986)의 방법에 따라 시료 10mL에 증류수를 가하여 100mL로 정용한 후 0.22 μm membrane filter(Sigma, Co., USA) 및 C_{18} Sep-pak catridges(Sigma.Co., USA)에 통과시킨 후 pH를 측정(Model 720, Thermo Orion USA)하여 완충액으로 동액 pH가 되도록 조절하고, 증류수로 10배 희석하여 분광광도계(UV/VIS spectrometer, JASCO, Japan)로 520nm와 420nm에서 흡광도(A)를 측정, A520을 총 안토시아닌으로 표시하였다.

② 결과

혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 저장 중 유효산소 흡수 능력을 분석한 결과는 그림 8과 같다.

0개월에 혼합베리음료의 총 폴리페놀의 함량의 경우 214.1mg/100g이며 3개월에 176.67mg/100g으로 감소하다가 6개월에 225.68mg/100g으로 증가하였다. 플라보노이드 역시 0개월에는 16.22mg/100g에서 3개월에는 14.78mg/100g으로 감소하다가 6개월에 34.31mg/100g 증가하는 경향을 보였다. 총 안토시아닌 함량은 0개월 57.23mg/100g에서 3개월에 35.82mg/100g으로 감소하다가 6개월에 21.09mg/100g으로 저장기간 동안 감소하는 경향이 있다.

베리발효혼합음료의 총 폴리페놀의 함량의 경우 0개월 223.11mg/100g이며 3개월에 191.28mg/100g으로 감소하다가 6개월에 246.6mg/100g으로 증가하였다. 플라보노이드 역시 0개

월에는 19.06mg/100g에서 3개월에는 22.36mg/100g으로 감소하다가 6개월에 38.29mg/100g 증가하는 경향을 보였다. 총 안토시아닌 함량은 0개월 55.76mg/100g에서 3개월에 36.84mg/100g으로 감소하다가 6개월에 22.71mg/100g으로 저장기간 동안 감소하는 경향이 있다.

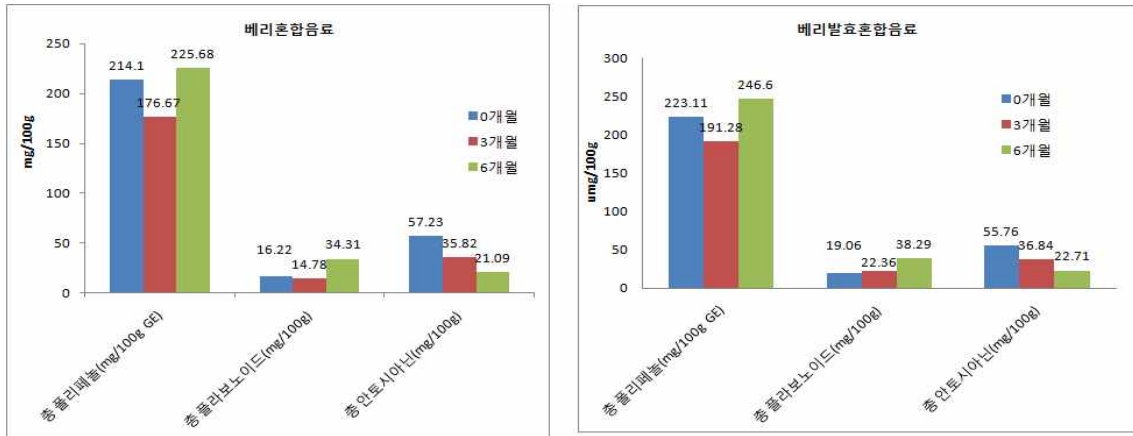


그림 122. 혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 저장 중 항산화 성분변화

(라) 갈변도 측정

식품의 갈변 현상은 효소적(polyphenoloxidase, tyrosinase), 비효소적(가열, 산화 등) 반응에 의하여 발생하는 현상으로, 제품의 품질 및 외관에 영향을 미치는 주된 요인 중 하나이다. 갈변도를 측정하는 방법으로는 갈색의 흡수파장인 420nm에서 흡광도를 측정하여 그 변화를 간편하게 확인할 수 있다.

① 재료 및 방법

시료를 10배 희석 한 후 1ml을 취하여 큐벳(UV-cuvette semi-micro 1.5ml)에 넣고 분광광도계(spectrophotometer Libro S60, biochrom)를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정한다.

② 실험 결과

저장기간 따른 혼합베리음료의 갈변도 변화는 표 19에서 보는 바와 같이 저장기간이 길어질수록 점차 증가하였다. 이는 광산화에 의한 안토시아닌의 구조적 변화로 인해 기인된 영향일 수 있으며, 혼합베리액A의 유무에 따른 갈변억제 차이는 없는 것으로 나타내었다.

표 67. 저장 기간에 따른 갈변도 변화

	혼합베리액A 단독	혼합베리액A+발효액A 혼합
0개월	0.102	0.121
3개월	0.119	0.134
6개월	0.149	0.144
9개월	0.143	0.159

(마) 휘발성 향기성분 비교

① 재료

0, 3, 6, 9 및 12개월 저장 기간을 달리한 혼합베리음료와 베리발효혼합음료를 시료로 사용하였다. 모든 시료는 분석 전 까지 -20℃ 냉동고에서 보관하였으며, 실험에 사용 된 증류수는 2 차 증류수를 사용하였다.

② 방법

혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 저장 기간에 따른 휘발성 향기성분 추출 및 분석

㉞ Solid phase microextraction (SPME)

혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 저장 기간에 따른 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 solid phase microextraction (SPME)법을 이용하였다. SPME fiber는 50/30 μm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane을 사용하였다. 시료 10 mL을 headspace vial에 넣고 Teflon cap으로 밀봉하였다. 40℃에서 30분간 방치하여 평형상태에 도달시킨 후, SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30분 동안 시료의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. Fiber를 GC (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)의 injection port (200℃)에 1분간 탈착시켰다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

㉟ Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 휘발성 향기성분은 Agilent 6890N GC/Agilent 5973 mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 5℃/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃이며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. Ionization voltage는 70 eV 그리고 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다.

㉔ 휘발성 향기성분 동정

저장 기간에 따른 혼합베리음료와 베리발효혼합음료의 휘발성 향기성분 동정은 retention indices (RI)와 Wiley/7n mass spectral database (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 또한 문헌상의 retention index와 spectrum을 비교하여 휘발성 향기성분을 확인하였다.

㉕ 결과 및 고찰

㉔ 혼합베리음료의 저장기간에 따른 휘발성 향기성분 비교

저장기간을 달리한 혼합베리음료의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SPME로 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과를 표 20에 나타내었다. 표 68에서 보면 저장기간에 따른 변화가 있는 화합물에서 ester류 화합물의 함량이 변하는 것을 확인하였으며 그 외 특징적으로 변화가 큰 화합물로 furfural (no. 17), linalool (no. 25) 및 benzoic acid (no. 48) 이었다. Ester 화합물의 변화를 확인하였다 (그림 123). 그림 10를 보면 ethyl butyrate, ethyl-2-methyl butyrate, ethyl-3-methyl butyrate, isoamyl acetate, 3-methylbutyl-2-methyl propanoate 및 phenylmethyl acetate가 저장기간이 지남에 따라 전체적으로 감소하였다. 다음으로 linalool의 변화를 확인하였다 (그림 124). 그림 11을 보면 저장 3개월에서 큰 폭으로 감소하였고 그 이후로 점차 감소하였고 전체적으로 감소하였다. 다음으로 Furfural의 변화를 확인하였다 (그림 12). 그림 12를 보면 furfural이 저장기간에 따라 증가하였음을 확인하였다. 변화가 있었던 화합물로 benzoic acid를 확인하였다 (그림 125). benzoic acid의 변화가 9개월까지 증가하다가 12개월에서 급격히 증가함을 확인하였다.

표 68. 저장 중 혼합베리음료의 휘발성 향기분석 변화

No	RI ^a	Compound name	Peak area (x 10 ⁶) ^b				
			0 month	3 month	6 month	9 month	12 month
1	1010	1-cyclopropyl ethanone	ND ^c	5.12±0.17	5.58±0.32	4.16±0.17	4.43±0.59
2	1044	ethyl butyrate	125.59±3.32	94.34±1.39	81.77±1.60	46.95±0.28	62.01±1.41
3	1053	ethyl-2-methyl butyrate	72.02±1.08	53.81±0.54	54.35±1.61	43.11±0.24	39.89±2.09
4	1067	ethyl-3-methyl butyrate	286.14±7.86	214.79±2.58	210.28±6.25	151.63±0.92	150.98±8.30
5	1112	2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl-2H-pyran	6.37±0.41	21.28±0.44	31.28±1.04	28.27±0.28	31.88±2.29
6	1135	isoamyl acetate	52.30±3.32	31.03±0.25	24.28±0.91	17.50±0.10	12.06±0.34
7	1139	3-penten-2-one	198.61±3.34	374.54±8.24	410.84±1.84	417.01±0.78	428.88±15.64
8	1190	3-methylbutyl-2-methylpropanoate	16.89±0.37	5.15±0.63	3.59±0.23	ND	ND
9	1209	3-methyl-1-butanol	ND	ND	ND	ND	3.79±1.08
10	1213	1,8-cineole	14.26±0.53	13.96±0.07	15.86±0.68	14.40±0.06	5.01±1.21
11	1245	unknown	2.45±0.91	3.83±0.03	6.35±0.38	5.75±0.06	6.44±0.32
12	1268	styrene	ND	ND	ND	2.34±0.10	ND
13	1390	(Z)-3-hexenol	54.87±0.96	57.98±0.61	57.66±0.55	58.21±0.28	56.39±1.93
14	1458	<i>trans</i> -linalool oxide	5.59±0.03	7.00±0.16	7.80±0.29	7.65±0.11	7.75±0.20
15	1468	acetic acid	6.42±0.03	7.22±0.57	7.45±0.12	7.74±0.12	7.20±0.65
16	1478	4-hydroxy-2-pentanone	0.55±0.02	1.76±0.05	2.93±0.01	3.63±0.07	4.20±0.02
17	1489	furfural	29.94±0.62	59.50±1.21	69.61±0.79	68.36±0.08	71.12±0.43
18	1492	2-ethyl-1-hexanol	5.35±0.03	12.25±0.22	14.61±0.44	13.52±0.11	12.87±0.23
19	1509	unknown	4.89±0.77	6.98±0.70	6.15±0.47	5.45±0.02	5.04±1.92
20	1523	2-acetyl furan	0.96±0.03	3.39±0.00	3.91±0.12	3.85±0.02	2.84±0.57
21	1533	camphor	5.29±0.04	6.25±0.87	5.60±0.14	4.81±0.23	5.47±1.25
22	1540	1,7,7-trimethyl bicyclo[2.2.1]hept-2-ene	2.02±0.14	2.23±0.02	1.89±0.08	1.35±0.19	2.37±0.06
23	1545	benzaldehyde	34.03±4.21	27.68±0.19	24.99±0.34	21.48±0.34	34.18±0.32
24	1548	vitispirane	TR	32.07±0.01	42.98±2.81	34.86±0.67	30.73±1.15
25	1550	linalool	172.44±1.23	64.25±2.79	29.29±0.19	23.70±0.31	14.41±0.23
26	1560	1-octanol	31.65±3.18	35.97±0.81	37.43±1.10	35.22±0.11	28.74±0.57
27	1594	5-methyl-2-furfural	2.67±0.22	2.96±0.15	3.43±0.09	3.37±0.08	3.56±0.15
28	1617	unknown	7.23±0.27	15.95±0.23	16.94±0.53	11.02±0.16	11.60±0.12

29	1631	unknown	9.03±0.67	23.34±0.54	25.01±0.71	15.95±0.17	18.49±1.13
30	1666	1-nonanol	1.14±0.00	2.52±0.07	3.11±0.21	2.37±0.05	2.23±0.11

표 68. 계속

No	RI ^a	Compound name	Peak area (x 10 ⁶) ^b				
			0 month	3 month	6 month	9 month	12 month
31	1671	2-furanmethanol	2.09±0.50	2.48±0.09	2.73±0.01	2.66±0.01	2.34±0.08
32	1677	2-methyl butanoic acid	2.87±0.08	4.43±0.18	5.00±0.07	5.25±0.04	5.10±0.04
33	1711	α-terpineol	26.01±0.12	35.02±1.43	33.07±0.52	29.61±0.11	26.06±0.43
34	1717	unknown	8.74±0.68	7.62±0.32	6.57±0.08	5.83±0.10	5.17±0.67
35	1748	phenylmethyl acetate	23.02±4.75	31.36±2.49	28.95±0.73	24.69±0.04	20.92±6.37
36	1751	1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl naphthalene	2.23±0.15	3.93±0.30	6.41±0.51	5.25±0.01	6.59±0.17
37	1808	3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol	2.40±0.16	1.10±0.19	ND	TR ^d	ND
38	1845	β-damascenone	3.84±0.03	3.28±0.26	3.40±0.12	2.94±0.07	3.78±0.11
39	1854	geraniol	4.91±0.48	3.45±0.94	3.54±1.69	2.10±0.29	TR
40	1878	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	2.43±0.08	4.30±1.22	5.85±0.27	7.99±0.46	8.80±0.46
41	1863	α-ionone	10.73±0.36	3.46±1.76	4.52±0.42	2.27±0.01	2.05±0.20
42	1956	2-ethyl hexanoic acid	2.80±0.57	6.47±0.15	8.73±0.08	8.47±0.00	8.93±0.15
43	1967	β-ionone	1.80±0.00	1.43±0.24	0.78±0.00	ND	ND
44	1970	1-dodecanol	1.48±0.25	7.25±0.30	10.34±1.28	15.18±1.38	15.79±0.99
45	1992	maltol	1.26±0.26	2.73±0.16	2.64±0.20	3.09±0.04	ND
46	2171	γ-decalactone	1.76±0.20	2.59±0.04	2.96±0.24	8.18±4.93	4.21±0.72
47	>2200	4-isopropyl-1,6-dimethyl naphthalene	ND	TR	0.74±0.00	0.94±0.06	2.18±0.41
48	>2200	benzoic acid	8.82±1.95	16.32±0.07	21.33±1.82	25.85±1.11	49.06±0.46

^aRetention indices were determined on DB-wax using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

^dTR : trace.

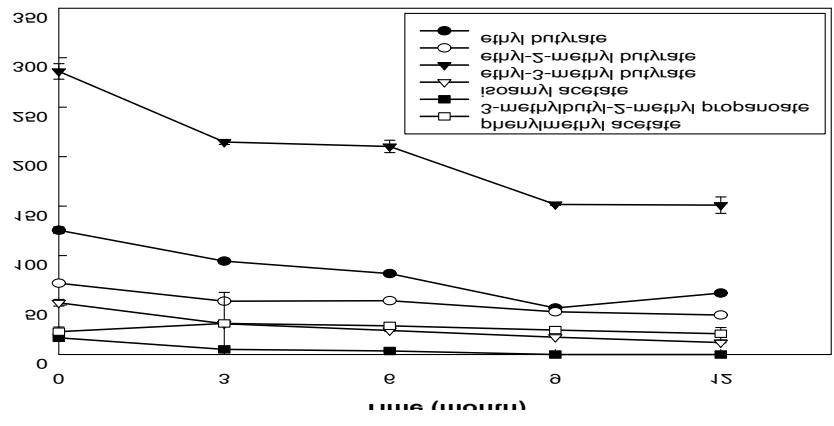


그림 123. 저장 중 ester compounds의 변화

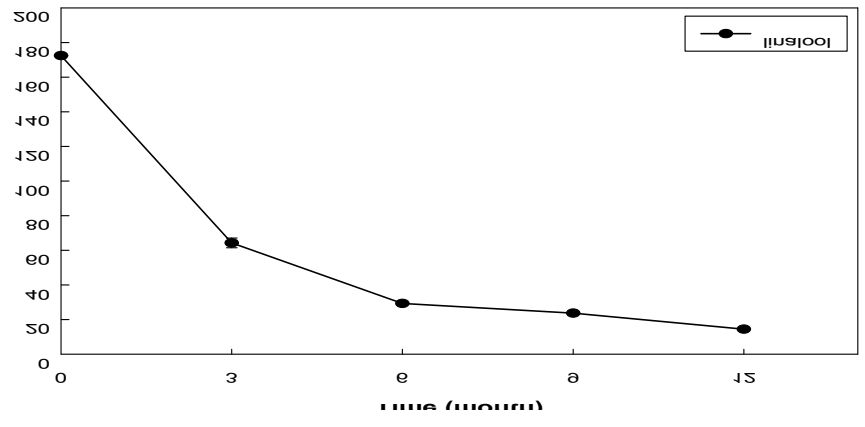


그림 124. 저장 중 linalool 함량 변화

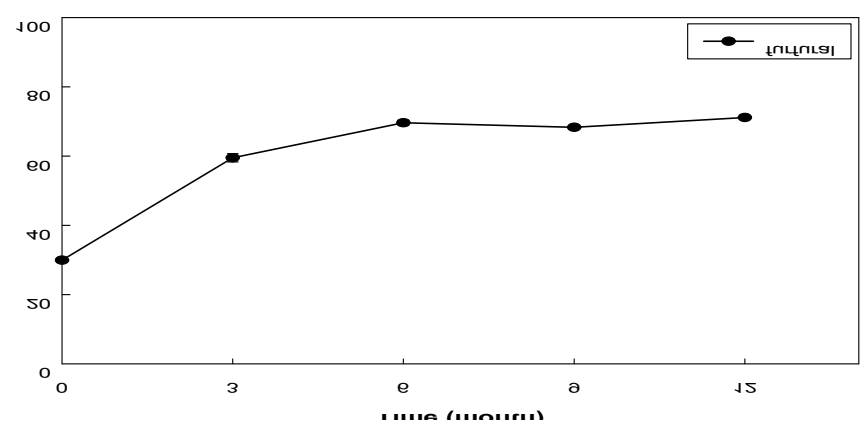


그림 125. 저장 중 furfural 변화

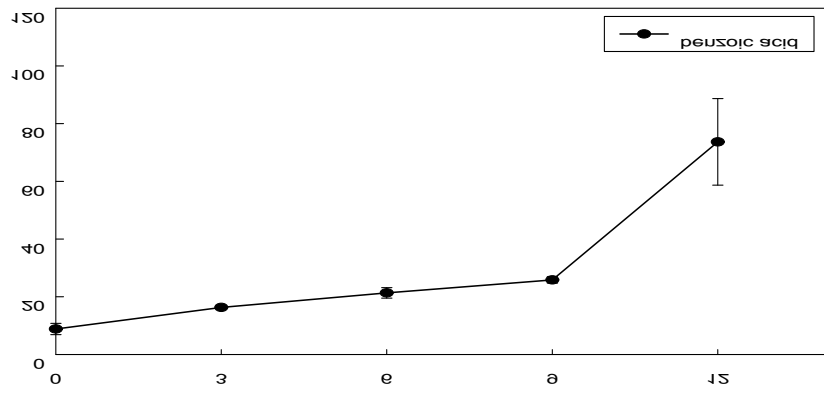


그림 126. 저장 중 benzoic acid 변화

㉔ 베리발효혼합음료의 저장기간에 따른 휘발성 향기성분 비교

저장기간을 달리한 베리발효혼합음료의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SPME를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과 표 69에 나타내었다. 표 21에서 보면 저장기간에 따른 변화가 있는 화합물에서 ester류 화합물의 함량이 변하는 것을 확인하였으며 그 외 특징적으로 변화가 큰 화합물로 furfural (no. 15), linalool (no. 23) 및 benzoic acid (no. 48)이었다. Ester 화합물의 변화를 확인하였다 (그림 127). 그림 14를 보면 ester화합물인 ethyl butyrate, ethyl-2-methyl butyrate, ethyl-3-methyl butyrate, isoamyl acetate, 3-methylbutyl-2-methyl propanoate 및 phenylmethyl acetate가 저장기간이 지남에 따라 전체적으로 감소하였다. 다음으로 linalool의 변화를 확인하였다 (그림 128). 그림 15을 보면 linalool이 저장 3개월에서 큰 폭으로 감소하였고 그 이후로 점차 감소하였으며 전체적으로 감소하였다. 다음으로 변화가 있는 화합물 중에서 furfural의 변화를 확인하였다 (그림 129). 그림 16을 보면 furfural이 점차적으로 저장기간에 따라 증가함을 확인하였다. 다음으로 확인된 화합물로 benzoic acid가 변화한 것을 확인하였다. (그림 130). benzoic acid는 저장기간 9개월까지 서서히 증가하다가 저장기간 12개월에서 급격히 증가한 것을 확인하였다.

표 69. 베리발효 혼합음료의 휘발성 향기성분 변화

No	RI ^a	Compound name	Peak area (x 10 ⁶) ^b				
			0 month	3 month	6 month	9 month	12 month
1	1044	ethyl butyrate	86.93±4.59	62.77±0.49	49.19±0.06	27.42±0.15	41.62±4.94
2	1053	ethyl-2-methyl butyrate	46.85±2.06	31.98±0.41	25.74±0.11	30.27±0.34	22.30±0.18
3	1067	ethyl-3-methyl butyrate	194.77±11.67	143.14±0.83	117.07±1.45	100.02±2.22	109.41±16.40
4	1112	2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl-2H-pyran	5.98±0.49	19.43±0.13	23.67±2.17	25.09±0.08	36.02±1.27
5	1135	isoamyl acetate	45.66±2.80	24.47±0.39	17.92±1.16	12.34±0.50	8.94±0.48
6	1139	3-penten-2-one	219.30±10.00	380.38±2.26	401.71±3.16	442.51±2.11	500.64±0.03
7	1190	3-methylbutyl-2-methylpropanoate	14.80±1.01	5.81±0.26	3.59±0.97	2.23±0.05	TR ^c
8	1213	1,8-cineole	7.32±1.86	8.79±0.67	5.98±2.23	5.41±0.88	8.55±0.10
9	1203	unknown	2.67±0.31	5.09±2.13	9.05±0.77	8.42±0.78	8.22±0.08
10	1268	styrene	TR	TR	TR	4.91±0.09	TR
11	1390	(Z)-3-hexenol	58.09±3.96	55.25±0.11	55.80±0.36	57.72±0.26	57.91±0.03
12	1458	trans-linalool oxide	5.84±0.83	6.27±0.32	6.97±0.24	7.58±0.04	8.76±0.15
13	1468	acetic acid	6.45±0.11	6.74±0.01	7.12±0.07	6.92±0.09	7.16±0.21
14	1478	4-hydroxy-2-pentanone	0.71±0.08	2.36±0.06	3.29±0.14	4.00±0.01	5.60±0.35
15	1489	furfural	29.25±2.55	51.91±0.70	55.48±0.76	64.40±0.50	82.65±0.96
16	1492	2-ethyl-1-hexanol	13.03±1.20	20.95±0.35	23.74±0.28	24.48±0.47	33.88±0.58
17	1507	unknown	4.47±0.63	4.41±0.04	3.98±0.40	3.93±0.11	2.71±0.11
18	1523	2-acetyl furan	1.18±0.18	1.76±0.02	1.92±0.05	2.75±0.31	3.37±0.03
19	1533	camphor	4.30±0.42	3.68±0.08	3.74±0.00	3.68±0.03	3.56±0.02
20	1540	1,7,7-trimethyl bicyclo[2.2.1]hept-2-ene	2.54±0.20	2.57±0.03	2.67±0.06	2.72±0.05	3.16±0.09
21	1541	unknown	11.32±0.43	31.40±0.58	29.54±0.72	31.81±1.76	34.33±0.80
22	1545	benzaldehyde	28.15±1.73	33.90±0.37	29.11±0.92	32.55±1.00	34.92±0.86
23	1548	vitispirane	TR	31.60±0.58	29.78±0.89	32.05±1.67	34.53±0.86
24	1550	linalool	138.04±11.49	46.63±0.09	30.90±0.07	17.44±0.01	8.19±0.10
25	1560	1-octanol	4.12±0.06	3.81±0.01	3.79±0.11	3.82±0.00	4.72±0.21
26	1594	5-methyl-2-furfural	2.97±0.33	3.20±0.36	3.08±0.09	3.89±0.43	5.10±0.11
27	1608	unknown	4.84±0.43	7.95±0.14	9.23±0.02	9.56±0.16	11.98±0.24
28	1616	unknown	10.28±0.94	14.91±0.18	17.87±0.25	18.73±0.33	23.04±0.53

29	1630	unknown	11.21±1.09	17.29±0.17	21.17±0.37	22.17±0.17	27.19±0.36
30	1664	butyrolactone	0.95±0.08	1.21±0.02	1.24±0.00	1.24±0.00	2.06±0.03

표 69. 계속

No	RI ^a	Compound name	Peak area (x 10 ⁶) ^b				
			0 month	3 month	6 month	9 month	12 month
31	1666	1-nonanol	1.51±0.17	2.40±0.05	2.97±0.11	3.24±0.00	3.96±0.17
32	1671	2-furanmethanol	1.68±0.05	2.16±0.01	2.33±0.01	2.33±0.05	2.51±0.08
33	1677	2-methyl butanoic acid	3.24±0.50	3.48±0.03	3.76±0.09	4.24±0.04	4.79±0.09
34	1711	α-terpineol	21.88±1.41	25.82±0.29	25.72±0.44	24.10±0.20	20.59±0.41
35	1712	unknown	6.36±0.48	4.85±0.05	4.13±0.15	2.88±0.09	2.35±0.03
36	1748	phenylmethyl acetate	35.00±1.63	29.04±0.11	23.88±1.85	19.80±0.80	12.58±0.46
37	1751	1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl naphthalene	1.91±0.70	3.49±0.66	4.39±0.01	5.41±0.31	8.74±0.32
38	1808	3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol	1.97±0.02	0.77±0.02	0.29±0.05	TR	ND ^d
39	1845	β-damascenone	3.48±0.35	2.86±0.08	2.65±0.02	3.12±0.07	3.75±0.12
40	1854	geraniol	5.15±0.44	2.33±0.18	1.66±0.07	6.47±4.68	ND
41	1878	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	2.15±0.11	4.34±0.08	6.46±0.34	7.04±0.41	10.85±1.50
42	1863	α-ionone	11.91±1.14	5.79±0.07	3.85±0.22	3.72±0.14	7.13±4.65
43	1956	2-ethyl hexanoic acid	2.40±0.31	5.65±0.54	6.47±0.17	8.26±0.23	9.73±0.12
44	1967	β-ionone	1.93±0.21	8.16±7.47	9.13±8.26	0.64±0.03	0.35±0.05
45	1970	1-dodecanol	9.62±0.53	8.85±5.72	11.94±8.25	20.74±0.34	23.60±2.84
46	1992	maltol	1.79±0.48	2.36±0.55	2.72±1.12	2.43±0.14	2.02±0.29
47	2113	γ-decalactone	3.36±0.29	2.94±0.12	3.55±0.15	3.31±0.55	3.50±0.17
48	>2200	benzoic acid	23.33±3.13	31.61±0.26	32.78±1.37	30.73±1.06	48.64±0.27

^aRetention indices were determined on DB-wax using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cTR : trace.

^dND : not detected.

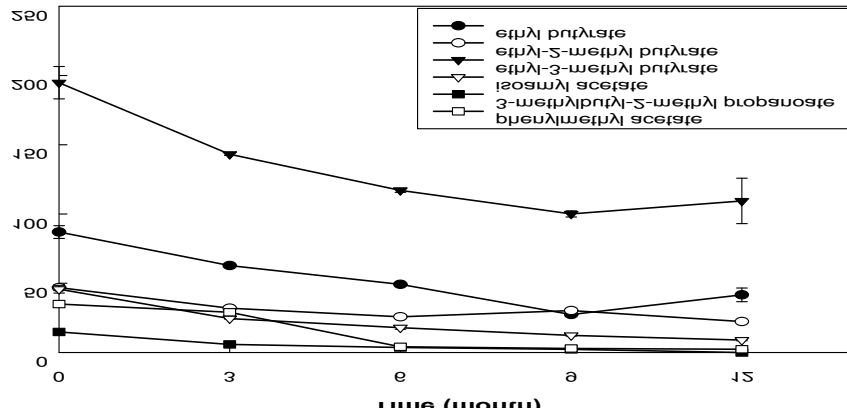


그림 127. 저장 중 ester compounds 변화

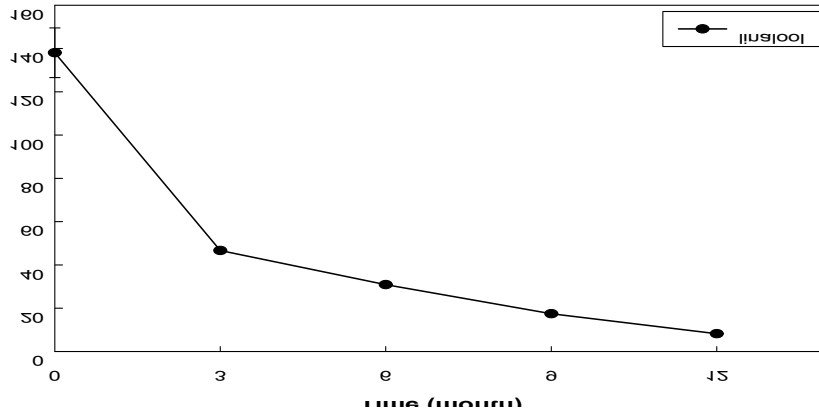


그림 128. 저장 중 linalool 변화

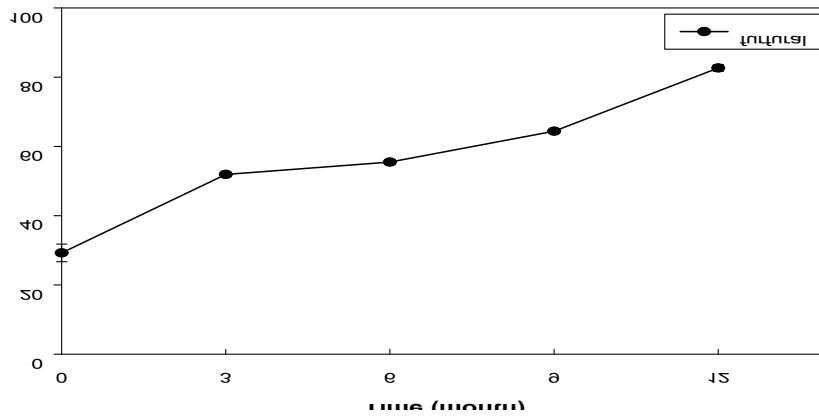


그림 129. 저장 중 furfural 변화

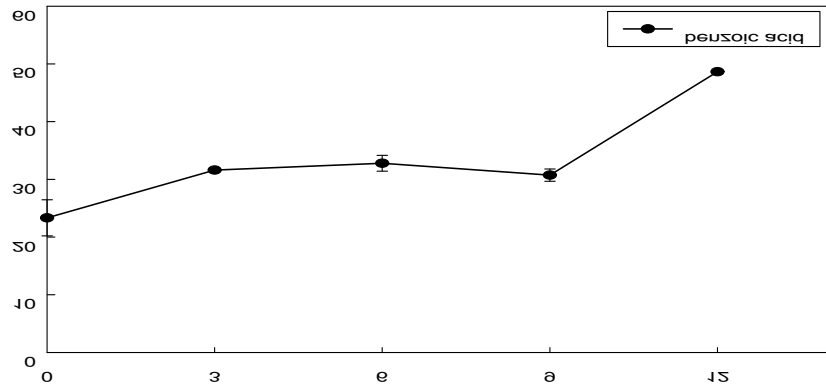


그림 130. 저장 중 benzoic acid 변화

라. 고향산화 기능성 음료 개발

(1) 향미 묘사분석을 통한 음료 속성 검사

(가) 재료

과즙 혼합액이 3%, 5%, 10%, 15%, 20% 함유된 음료를 각각 S03, S05, S10, S15, S20으로 하여 향미 묘사분석의 시료로 사용하였다. 척도훈련에 사용된 표준물질로 단맛은 설탕 (삼양사, 대한민국), 짠맛은 정제소금 (주한주, 대한민국), 신맛은 함수구연산 (대정화금, 대한민국), 쓴맛에는 무수카페인 (Acros Organics, USA)을 사용하였다.

(나) 방법

과즙 혼합액 5종의 향과 맛의 관능적 특징을 훈련된 전문패널 10명을 활용하여 15점 강도 척도(1점: 약하다 ~ 8점: 보통이다 ~ 15점: 강하다)로 평가하였다. 묘사분석 활동은 관능특성 용어도출, 척도 훈련, 본 검사(5종, 3반복) 순으로 진행되었다.

① 용어도출

훈련된 전문패널을 대상으로 S03, S05, S10, S15, S20에서 느껴지는 관능 속성 용어를 수집하였다.

② 척도훈련

기본맛인 단맛, 신맛, 짠맛, 쓴맛은 표준시료를 활용하여 척도 훈련을 하였으며, 용어도출 단계에서 도출된 속성은 평가 시료를 활용하여 척도훈련 및 강도 적응 훈련을 진행하였다.

③ 본 검사

용어도출과 척도훈련 단계에서 정의된 속성과 강도를 기반으로 각 시료의 속성 강도를 3번 반복 평가하였으며, 그 제시 순서는 농도에 따른 영향을 줄이기 위해 무작위 순서로 제시하였다.

(다) 결과

① 용어도출

각 시료의 용어도출 결과는 표 3에 나타내었다.

S03에서는 기본맛과 짙은, 포도, 텃텃함, 블루베리, 목자극, 복분자, 오디, 목이 마르는, 아사이베리 등 총 30가지의 속성이 도출되었다.

S05에서는 기본맛과 짙은, 포도, 블루베리, 목자극, 배, 텃텃함, 복분자, 오디, 목이 마르는, 아사이베리 등 총 26가지의 속성이 도출되었다.

S10에서는 단맛, 신맛, 짠맛, 쓴맛의 4가지 기본 맛 외에 짙은, 포도, 텃텃함, 블루베리, 복분자, 아사이베리, 칼칼함, 목이 마르는 등 총 29가지의 속성이 도출되었다.

S15에서는 기본맛과 포도, 베리류, 짙은, 목자극, 텃텃함, 새콤함, 목이 마르는, 나무맛 등 총 20가지의 속성이 도출되었다.

S20에서는 기본맛과 짙은, 목자극, 베리류, 텃텃함, 새콤함, 포도, 목이 마르는, 풋내, 블루베리 등 총 24가지의 속성이 도출되었다.

표 70. 시료별 도출 용어(인지 빈도)

	S03	S05	S10	S15	S20
단맛	10	10	10	10	10
신맛	10	10	10	10	10
짠맛	10	10	10	10	10
쓴맛	10	10	10	10	10
감칠맛	0	0	0	0	1
과즙의 진한맛	0	0	1	0	0
꿀	0	0	1	0	0
나무맛 (과일씨앗느낌)	1	0	1	4	1
나물의 쓴맛	0	0	1	0	0
농도가 진한	0	0	0	1	0

뒷맛깔끔함	0	0	0	1	0
뚱은	7	8	9	7	8
레몬	0	1	0	0	0
매실	2	0	1	0	0
매운	0	1	0	0	0
목넘김이 부드러운	0	1	0	0	0
목이 따끔거림	0	0	2	0	0
목이 마르는	3	2	3	4	2
목이 매운	1	0	0	0	0
목자극	6	6	0	7	8
발효주	0	0	1	0	0
배	3	5	3	2	1
베리류	0	3	1	9	7
복분자	5	4	6	2	1
블루베리	6	6	8	0	2
새콤달콤	1	0	0	0	0
새콤하면서 매콤함	0	0	0	0	2
새콤함	0	0	1	6	6
시원한맛	1	0	0	0	0
식초음료	0	1	1	1	0
쓴맛이 오래감	1	0	0	0	0
아로니아	2	0	1	0	0
아린맛	1	2	1	0	0
아사이베리	2	1	5	0	0
약의 쓴맛	0	0	0	0	1
오디	4	3	2	0	0
오미자	1	2	3	0	2
이가 뼈득거리는	0	1	0	0	0
인공적인 맛	0	0	0	0	1
자몽의 쓴맛	0	0	0	0	1
진한맛	0	0	0	0	1
채소맛	0	0	1	0	0
청량감	2	2	0	0	0
청사과맛	0	1	0	0	0
침샘자극	1	0	0	0	0
칼칼함	1	0	4	1	2
키위	1	0	0	0	0
탄산음료	1	0	0	0	0
텃텃함	7	4	8	6	6
포도	8	8	9	9	5

꽃내	2	2	1	2	2
혼합과일	1	0	0	0	0
화끈함	0	1	0	0	0
회석된 듯한	0	0	0	1	0

전체 시료에서 총 54가지의 속성이 도출되었다. 도출 속성들 중 그 성격이 비슷한 몇몇 속성은 대표속성으로 통합하였으나, 속성에 대한 인지빈도가 적은 속성들은 평가 속성에서 제외하였다. 기본맛과 통합 도출용어를 포함한 총 14가지 속성을 본 검사 시 평가 속성으로 하였다. 기본 맛(신맛, 짠맛, 단맛, 쓴맛)을 제외한 10가지 평가 속성들의 정의는 표 22에 나타내었다.

② 척도훈련

기본 맛의 강도 훈련을 위해 신맛, 짠맛, 단맛, 쓴맛은 외부 표준시료로 훈련하였으며, 훈련에 사용한 표준 시료의 농도와 기준 척도는 표 23에 나타내었다.

표 71. 기본 맛 표준 시료 농도 및 기준 척도

맛 속성	표준물질	15점 척도 강도 훈련(g/L)		
		3점	8점	13점
신맛	Citric acid	0.4	0.8	2.0
짠맛	소금	2.5	4.5	6.5
단맛	백설탕	25.0	70.0	120.0
쓴맛	Caffeine	0.4	0.9	1.1

용어 도출 과정에서 정의된 속성들은 각 시료를 맛보고, 시료에서 느껴지는 강도에 대해 협의하였으며, 협의된 강도에 대해 재차 훈련하여 익숙해 질 수 있도록 하였다.

③ 본 검사

S03, S05, S10, S15, S20 시료의 속성강도 평가는 각각 단독 평가로 랜덤한 순서로 최종 결정된 14가지 속성에 대해서 3번 반복 평가하였다. 묘사분석 본 검사는 15점 척도(1점: 약하다 ~ 8점: 보통이다 ~ 15점: 강하다)로 평가하였다. 제품 간 주요 특성 인지강도는 표 72와 그림 131에 나타내었다.

표 72. 제품 간 주요 특성 인지 강도

	S03	S05	S10	S15	S20
단맛	8.07 ^{a1)}	7.93 ^a	6.80 ^{bc}	7.07 ^b	6.50 ^c
신맛	5.23 ^c	5.07 ^c	6.07 ^b	6.10 ^b	6.87 ^a
짠맛	2.17 ^a	2.23 ^a	2.30 ^a	2.33 ^a	2.37 ^a
쓴맛	2.20 ^c	2.20 ^c	2.70 ^b	2.53 ^b	3.17 ^a
아사이베리	7.03 ^b	6.93 ^b	7.40 ^b	7.40 ^b	7.90 ^a
블루베리	7.73 ^a	7.63 ^a	7.77 ^a	7.80 ^a	7.93 ^a

베리맛	8.30 ^a	8.40 ^a	8.23 ^a	7.97 ^a	8.23 ^a
포도맛	8.27 ^a	8.23 ^a	8.10 ^a	7.80 ^{ab}	7.43 ^b
꽃내	2.77 ^b	2.73 ^b	2.93 ^b	3.37 ^a	3.63 ^a
새콤함	5.80 ^b	5.57 ^b	6.50 ^a	6.43 ^a	6.97 ^a
과일씨앗느낌	2.43 ^{cd}	2.30 ^d	2.83 ^{ab}	2.67 ^{bc}	2.97 ^a
뽀은맛	5.27 ^c	5.40 ^c	6.07 ^b	6.10 ^b	6.90 ^a
텁텁함	5.37 ^b	5.43 ^b	5.63 ^{ab}	5.93 ^a	6.03 ^a
목자극	4.43 ^b	4.33 ^b	4.73 ^b	5.27 ^a	5.67 ^a

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05).
다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

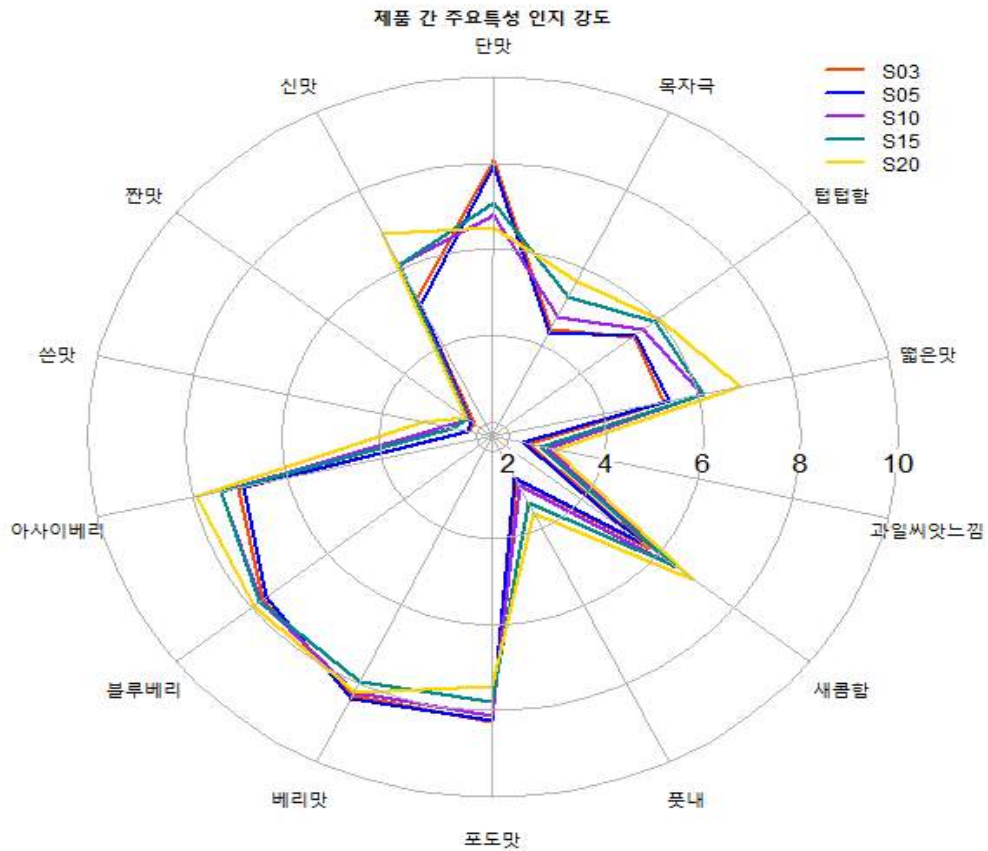


그림 131. 제품 간 주요특성 인지 강도

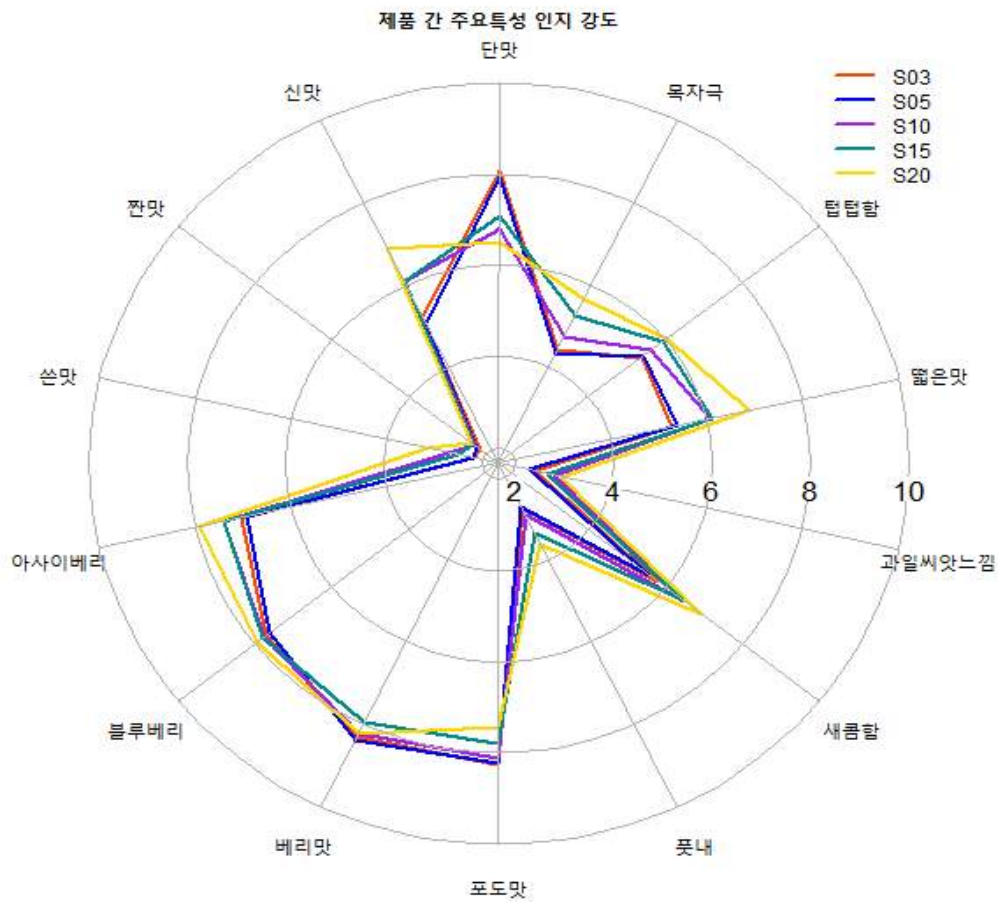


그림 132. 제품 간 주요특성 인지 강도

S03은 상대적으로 단맛은 강하나, 텁텁함, 과일씨앗느낌, 풋내, 새콤함, 목자극, 신맛, 쓴맛, 짙은맛은 약한 것으로 평가되었다.

S05는 상대적으로 단맛은 강하나, 아사이베리맛, 풋내, 짙은맛, 목자극, 쓴맛, 과일씨앗느낌, 새콤함, 신맛은 약한 것으로 평가되었다.

S10은 상대적으로 과일씨앗느낌은 강하나, 단맛은 약한 것으로 평가되었다.

S15는 상대적으로 목자극과 풋내가 강한 것으로 평가되었다.

S20은 상대적으로 쓴맛, 신맛, 짙은맛, 목자극, 풋내, 새콤함, 과일씨앗느낌, 아사이베리맛, 텁텁함은 강하나, 포도맛과 단맛은 약한 것으로 평가되었다.

단맛은 S03, S05, S15, S10, S20 순으로 강한 것으로 평가되며, S03과 S05 간, S15와 S10 간, S10과 S20 간 단맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

신맛은 S20, S15, S10, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S15와 S10 간, S03과 S05 간 신맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

짠맛 강도는 제품 간 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

쓴맛은 S20, S10, S15, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S10과 S15 간, S03과 S05 간 쓴맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

아사이베리맛은 S20, S10, S15, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S10과 S15 간, S03과 S05 간 아사이베리맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

블루베리맛 강도는 제품 간 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

베리맛 강도는 제품 간 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

포도맛은 S03, S05, S10, S15, S20 순으로 강한 것으로 평가되며, S03과 S05, S10, S15 간 강도차이와 S15와 S20 간 포도맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

꽃내는 S20, S15, S10, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S10과 S03, S05 간 꽃내 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

새콤함은 S20, S10, S15, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S10, S15 간, S03과 S05 간 새콤함 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

과일씨앗느낌은 S20, S10, S15, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S10 간, S10과 S15 간, S15와 S03 간, S03과 S05 간 과일씨앗느낌 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

뽀은맛은 S20, S15, S10, S05, S03 순으로 강한 것으로 평가되며, S15와 S10 간, S05와 S03 간 뽀은맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

텃텃함은 S20, S15, S10, S05, S03 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15, S10 간, S10과 S05, S03 간 텃텃함 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

목자극은 S20, S15, S10, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S10와 S03, S05 간 목자극 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

(라) 결론

묘사 분석 결과 다섯 가지 농도의 평가 시료에 대해 총 54개의 관능속성 용어가 도출되었다.

도출된 용어들 중 성격이 유사한 속성들은 대표 용어로 통합하였고, 인지 빈도가 적은 속성들은 평가 속성에서 제외하여, 단맛, 신맛, 짠맛, 쓴맛, 아사이베리맛, 블루베리맛, 베리맛, 포도맛, 풋내, 새콤함, 과일씨앗느낌, 뽕은맛, 텃텃함, 목자극의 14가지 속성으로 본 검사 평가 속성으로 하였다.

10% 혼합액을 기준으로 3% 혼합액과 5% 혼합액을 저농도 그룹으로, 15% 혼합액과 20% 혼합액을 고농도 그룹으로 나누었을 때, 저농도 그룹에서는 단맛과 포도맛이 상대적으로 강한 것으로 나타나며, 고농도 그룹에서는 신맛, 쓴맛, 새콤함, 뽕은맛, 텃텃함, 목자극이 상대적으로 강한 것으로 나타났다. 전체적으로 과즙 혼합액의 농도가 증가함에 따라 신맛, 쓴맛, 풋내, 새콤함, 뽕은맛, 텃텃함, 목자극의 강도가 강해지는 것으로 나타나며, 단맛과 포도맛은 약해지는 것으로 나타났다.

짠맛과 풋내, 과일씨앗느낌의 경우 시료 간 강도 차이가 뚜렷하지 않고, 그 강도 수준이 매우 약한 수준으로만 평가되어 소비자 기호도 조사 속성에서 제외하였다. 아사이베리맛의 경우 20% 혼합액과 나머지 시료 간 강도 차이가 뚜렷한 것으로 평가되나, 블루베리와 기타 베리맛 강도의 경우 시료 간 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가되어, 소비자 패널의 경우 아사이베리와 블루베리, 기타 베리맛에 대한 구별이 어려울 것으로 판단되어, 세 가지 속성을 베리맛으로 통합하여 소비자 기호도 조사 시 평가 속성으로 결정하였다.

(2) 혼합베리물A 비율에 따른 소비자 기호도 조사

(가) 재료 및 방법

① 재료

과즙 혼합액이 3%, 5%, 10%, 15%, 20% 함유된 음료를 각각 S03, S05, S10, S15, S20으로 하여 소비자 기호도 조사의 분석의 시료로 사용하였다. 척도훈련에 사용된 표준물질로 단맛은 설탕 (삼양사, 대한민국), 짠맛은 정제소금 ((주)한주, 대한민국), 신맛은 합수구연산 (대정화금, 대한민국), 쓴맛에는 무수카페인 (Acros Organics, USA)을 사용하였다.

② 방법

소비자 기호도 조사는 종합기호 및 외관기호, 향미기호, 입안느낌, 뒷맛기호의 기호평가와 신맛, 단맛, 쓴맛, 베리맛, 포도맛, 새콤함, 뽕은맛, 텃텃함, 목자극의 인지/희망 강도평가를 9점 척도로평가하였다(표25).

표 73. 소비자 관능속성 평가(9점 척도)

	9점 척도								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
종합/세부 기호평가	대단히 싫다	~	싫다	~	좋지도/ 싫지도 않다	~	좋다	~	대단히 좋다
관능속성 인지강도	매우 약하다	~	약하다	~	보통이 다	~	강하다	~	매우 강하다
관능속성 희망강도	매우 약한	~	약한	~	보통	~	강한	~	매우 강한

평가 대상은 20~40대 여성 중 과채주 음료를 1주일에 1회 이상 섭취한다고 응답한 61명으로 하였다. 소비자 기호도 조사는 S03, S05, S10, S15, S20 시료를 각각 단독으로 기호 및 속성 강도 평가한 후 5종의 음료 중 가장 선호되는 시료 한 가지와 가장 싫었던 시료 한 가지를 선택하였다. 시료 제시 순서는 평가 시간에 따라 각기 다른 무작위 순서로 제시하였다.

(나) 결과

소비자 기호도 조사는 종합 및 세부기호도와 세부속성강도를 9점 척도로 평가하였다.

① 종합기호

각 시료의 종합기호 평균은 S03(6.66), S05(6.48), S10(6.33), S15(6.13), S20(5.49) 순으로 뚜렷하게 높은 것으로 평가되며, S03과 S05, S10 시료 간 기호도 차이와 S10과 S15 시료 간 기호도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다. S20은 상대적으로 종합기호가 다른 시료들에 비해 낮은 것으로 평가되었다.

표 74. 종합기호 평균 - 소비자 기호도 조사

	S03	S05	S10	S15	S20
종합기호 (9점 척도)	6.66 ^{a 1)}	6.48 ^{ab}	6.33 ^{ab}	6.13 ^b	5.49 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

② 세부기호

소비자 기호도 조사의 세부기호도 평가 결과는 표 75에 나타내었다.

표 75. 세부 기호 평균 - 소비자 기호도 조사

	S03	S05	S10	S15	S20
외관기호	6.90 ^{ab 1)}	7.05 ^a	6.84 ^{abc}	6.74 ^{bc}	6.59 ^c
향미기호	6.52 ^a	6.39 ^a	6.34 ^a	6.10 ^a	5.43 ^b
입안느낌	6.05 ^{abc}	5.90 ^{bc}	5.75 ^c	6.36 ^a	6.26 ^{ab}
뒷맛기호	6.08 ^a	5.72 ^{ab}	5.59 ^b	5.46 ^{bc}	5.02 ^c

¹⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

S03은 상대적으로 뒷맛과 향미기호가 좋은 것으로 평가되었다.

S05는 상대적으로 외관기호가 좋은 것으로 평가되었다.

S10은 상대적으로 입안느낌이 좋지 않은 것으로 평가되었다.

S15는 상대적으로 입안느낌이 좋은 것으로 평가되었다.

S20은 상대적으로 외관, 뒷맛, 향미 기호가 좋지 않은 것으로 평가되었다.

외관기호는 상대적으로 S05, S03, S10, S15, S20 순으로 기호도가 높은 것으로 평가되며, S05와 S03, S10 간, S03과 S10, S15 간, S10과 S15, S20 간 외관 기호도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

향미기호는 상대적으로 S03, S05, S10, S15가 S20보다 기호도가 높은 것으로 평가되며, S03, S05, S10, S15 시료 간 향미 기호도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

입안느낌 기호는 상대적으로 S15, S20, S03, S05, S10 순으로 기호도가 높은 것으로 평가되며, S15와 S20, S03 간, S20과 S03, S05 간, S03과 S05, S10 시료 간 입안느낌 기호도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

뒷맛기호는 상대적으로 S03, S05, S10, S15, S20 순으로 기호도가 높은 것으로 평가되며, S03과 S05 시료 간, S05와 S10, S15 간, S15와 S20 시료 간 뒷맛 기호도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

③ 세부 속성강도

S03, S05, S10, S15, S20의 소비자 기호도 평가의 속성 강도를 표 28과 그림 20에 나타내었다.

표 76. 제품 간 주요 특성 인지 강도 - 소비자 기호도 조사

	S03	S05	S10	S15	S20
단맛	6.38 ^{a 1)}	6.39 ^a	6.03 ^a	5.41 ^b	4.85 ^c
신맛	4.93 ^{cd}	4.77 ^d	5.34 ^c	5.80 ^b	6.49 ^a
쓴맛	3.84 ^c	3.95 ^c	4.64 ^b	4.98 ^{ab}	5.20 ^a
베리맛	6.00 ^a	6.18 ^a	6.03 ^a	6.44 ^a	6.21 ^a
포도맛	6.10 ^a	6.13 ^a	5.77 ^a	5.72 ^a	6.05 ^a
새콤함	5.38 ^b	5.31 ^b	5.51 ^b	6.23 ^a	6.33 ^a
뽀은맛	4.77 ^b	4.95 ^b	5.20 ^b	5.79 ^a	5.89 ^a
텃텃함	4.75 ^b	4.79 ^b	5.13 ^b	5.64 ^a	5.74 ^a
목자극	4.80 ^c	5.30 ^b	5.36 ^b	5.70 ^{ab}	5.97 ^a

1) 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05). 다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

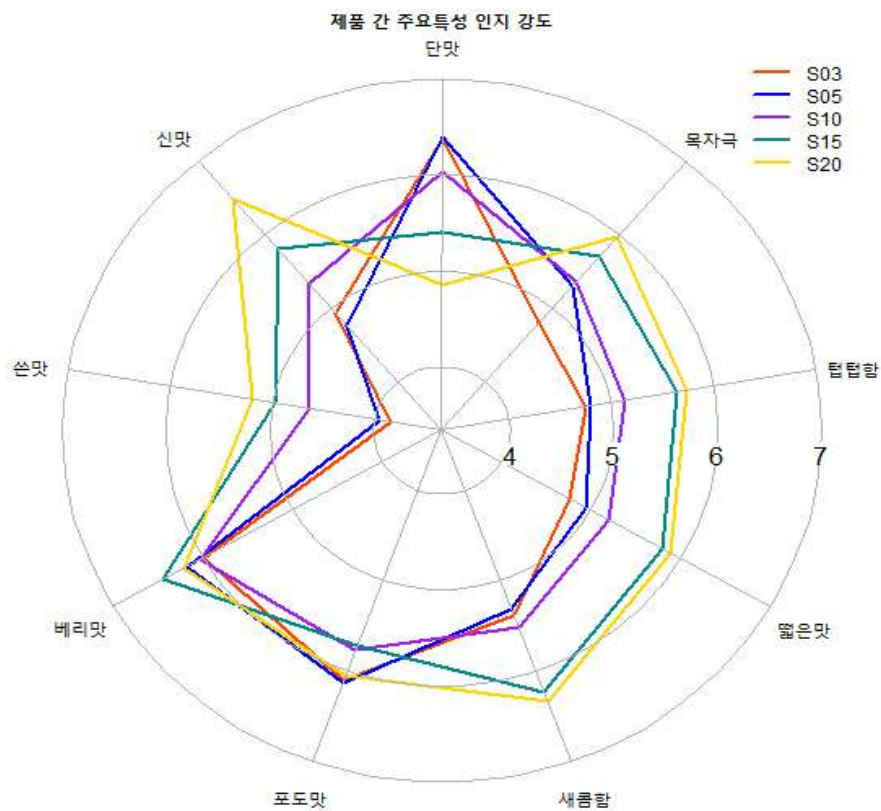


그림 132. 제품 간 주요특성 인지 강도 - 소비자 기호도 조사

S03은 상대적으로 단맛은 강하나, 새콤함, 텃텃함, 뽀은맛, 신맛, 쓴맛, 목자극은 약한 것으로 평가되었다.

S05는 상대적으로 단맛은 강하나, 뽀은맛, 텃텃함, 새콤함, 쓴맛, 신맛은 약한 것으로 평가되었다.

S10은 뚜렷하게 강하거나 약한 속성이 없는 것으로 평가되었다.

S15는 상대적으로 새콤함, 뽀은맛, 쓴맛, 텃텃함, 신맛, 베리맛, 목자극은 강하나, 단맛은 약한 것으로 평가되었다.

S20은 상대적으로 신맛, 쓴맛, 새콤함, 목자극, 뽀은맛, 텃텃함은 강하나, 단맛은 약한 것으로 평가되었다.

단맛은 S05, S03, S10, S15, S20 순으로 강한 것으로 평가되며, S05와 S03, S10 시료 간 단맛 강도 차이는 뚜렷하지 않으나, S15, S20보다 뚜렷하게 강한 것으로 평가되었다.

신맛은 S20, S15, S10, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S10과 S03 간, S03과 S05 간 신맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

쓴맛은 S20, S15, S10, S05, S03 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S15와 S10 간, S05와 S03 간 쓴맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

베리맛과 포도맛은 시료 간 강도 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

새콤함은 S20, S15, S10, S03, S05 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S10과 S03, S05 간 새콤함 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

뽀은맛은 S20, S15, S10, S05, S03 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S10과 S05, S03 간 뽀은맛 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

텃텃함은 S20, S15, S10, S05, S03 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S10과 S05, S03 간 텃텃함 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

목자극은 S20, S15, S10, S05, S03 순으로 강한 것으로 평가되며, S20과 S15 간, S15와 S10, S05 간 목자극 강도 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되었다.

④ 인지 희망

각 시료 별 평가 속성의 인지, 희망 강도는 표 29와 그림 21~25에 나타내었다.

표 77. 주요 특성 인지 및 희망 강도 - 소비자 기호도 조사

S03	단맛	신맛	쓴맛	베리맛	포도맛	새콤함	뽕은맛	텃텃함	목자극
인지강도	6.38a 1)	4.93a	3.84a	6.00b	6.10a	5.38a	4.77a	4.75a	4.80a
희망강도2)	5.75b	5.03a	3.69a	6.38a	6.21a	5.61a	4.31b	4.30b	4.31b
S05	단맛	신맛	쓴맛	베리맛	포도맛	새콤함	뽕은맛	텃텃함	목자극
인지강도	6.39a	4.77a	3.95a	6.18a	6.13a	5.31a	4.95a	4.79a	5.30a
희망강도	5.75b	4.92a	3.82a	6.38a	6.08a	5.61a	4.44b	4.10b	4.74b
S10	단맛	신맛	쓴맛	베리맛	포도맛	새콤함	뽕은맛	텃텃함	목자극
인지강도	6.03a	5.34a	4.64a	6.03a	5.77a	5.51a	5.20a	5.13a	5.36a
희망강도	5.64b	5.21a	4.03b	6.38a	5.82a	5.61a	4.46b	4.16b	4.66b
S15	단맛	신맛	쓴맛	베리맛	포도맛	새콤함	뽕은맛	텃텃함	목자극
인지강도	5.41a	5.80a	4.98a	6.44a	5.72a	6.23a	5.79a	5.64a	5.70a
희망강도	5.44a	5.26b	4.10b	6.38a	5.87a	5.61b	4.52b	4.38b	4.49b
S20	단맛	신맛	쓴맛	베리맛	포도맛	새콤함	뽕은맛	텃텃함	목자극
인지강도	4.85b	6.49a	5.20a	6.21a	6.05a	6.33a	5.89a	5.74a	5.97a
희망강도	5.33a	5.41b	4.18b	6.38a	6.03a	5.61b	4.67b	4.41b	4.66b

1) 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05).

다중비교는 각 속성별로 5개 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

2) 속성에 대해 희망하는 강도를 나타내는 것으로 인지강도 대비 개선요구를 볼 수 있는 지수입니다.

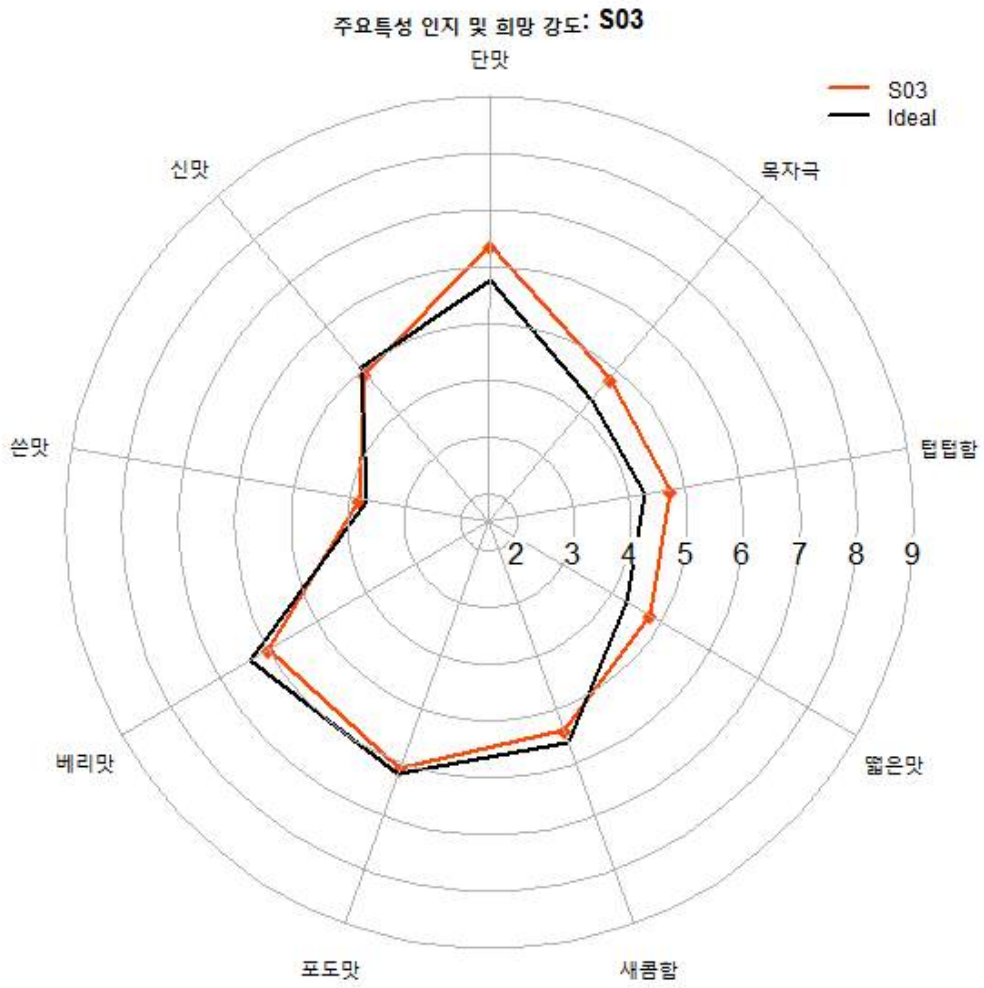


그림 133. 주요특성 인지 및 희망 강도: S03

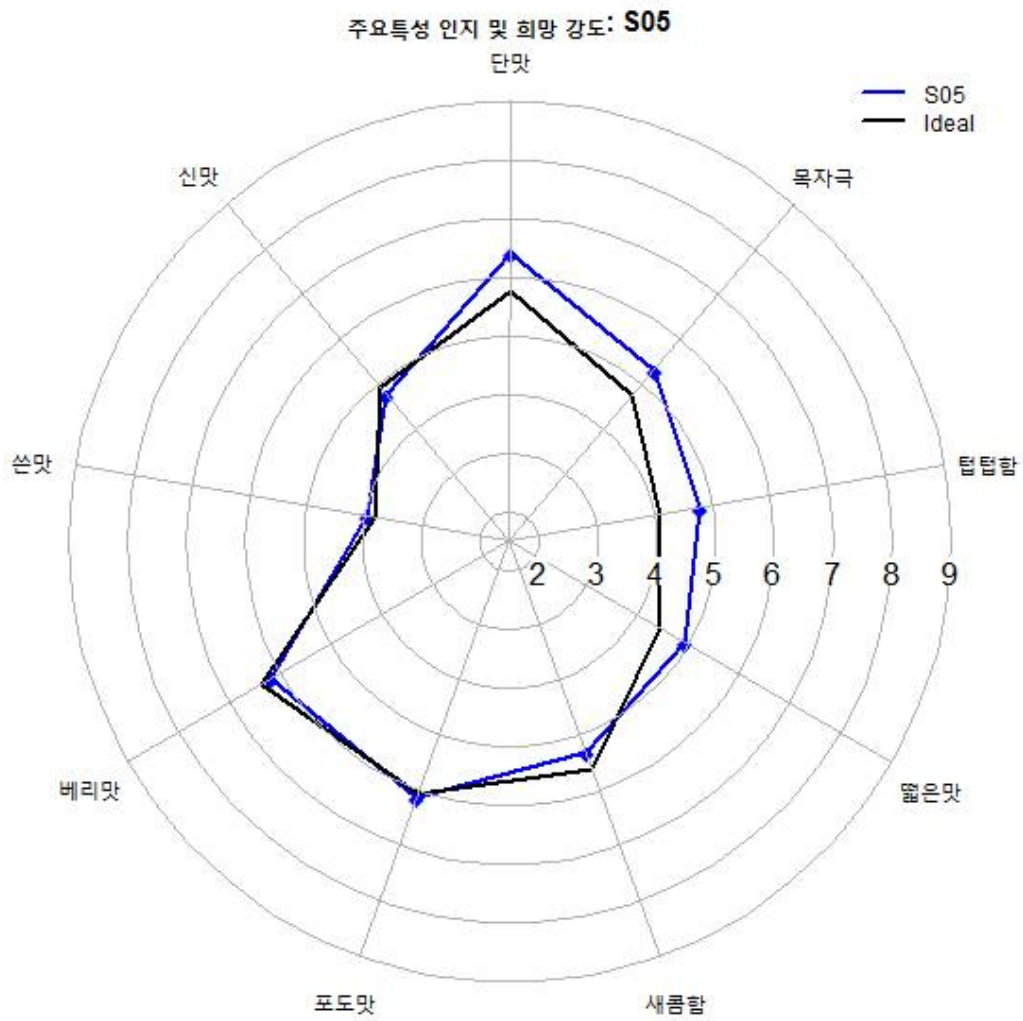


그림 134. 주요특성 인지 및 희망 강도: S05

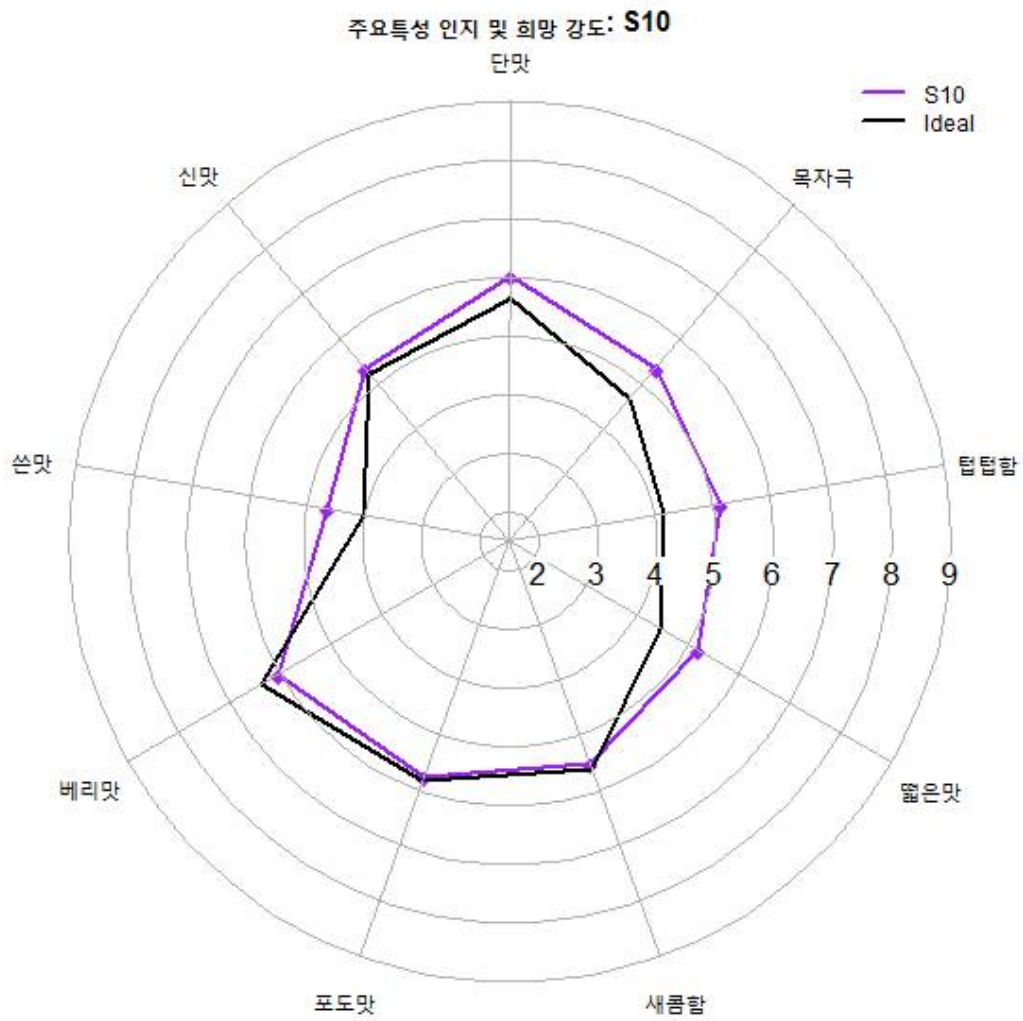


그림 135. 주요특성 인지 및 희망 강도: S10

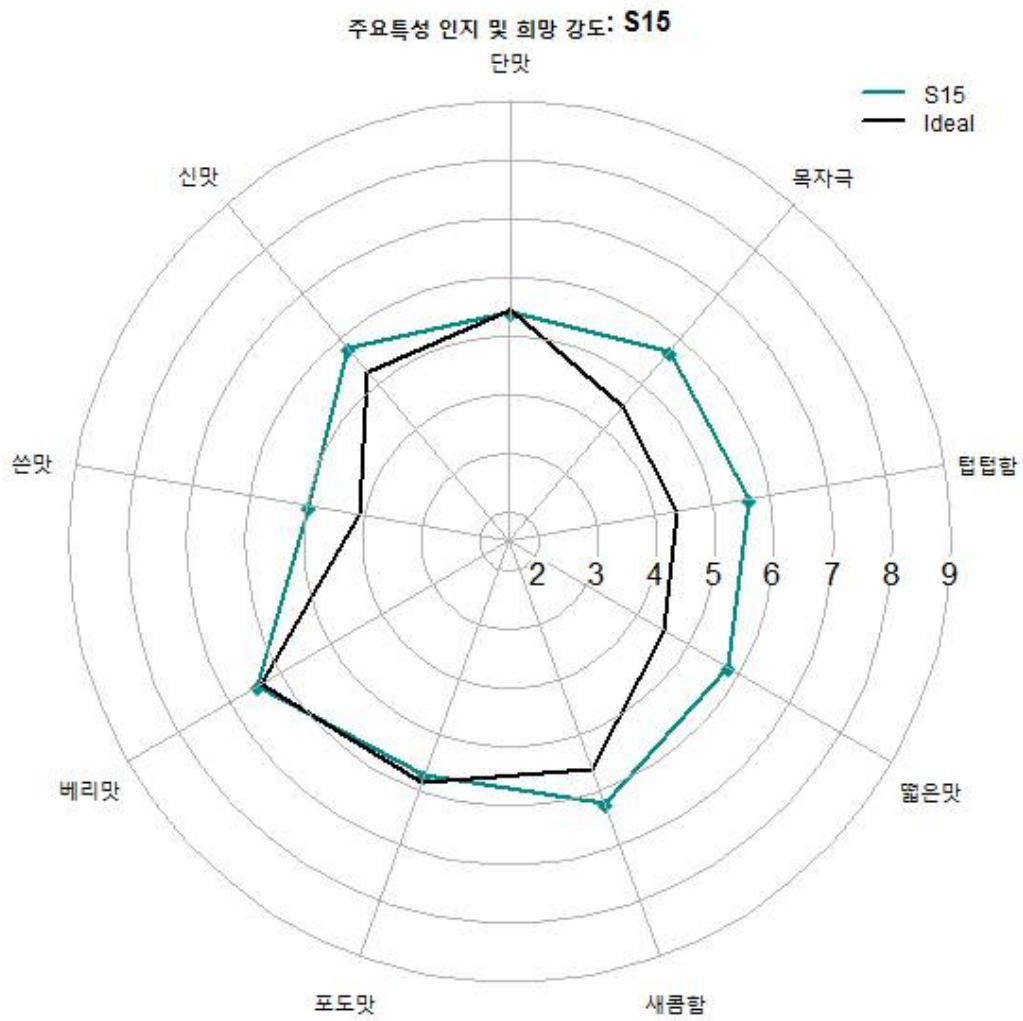


그림 136. 주요특성 인지 및 희망 강도: S15

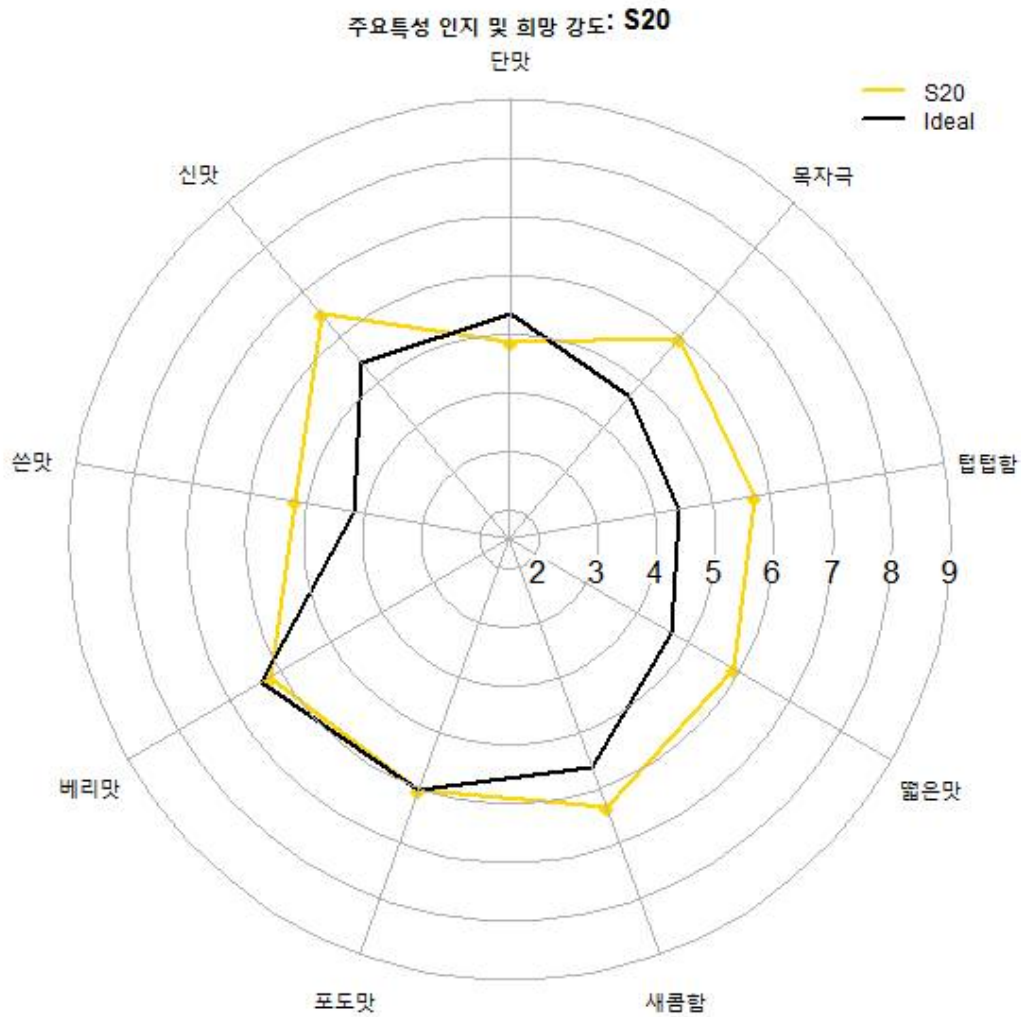


그림 137. 주요특성 인지 및 희망 강도: S20

S03은 베리맛은 강하게, 단맛과 짙은맛, 텁텁함, 목자극의 정도가 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

S05는 단맛과 짙은맛, 텁텁함, 목자극의 정도가 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

S10은 단맛과 쓴맛, 짙은맛, 텁텁함, 목자극의 정도가 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

S15는 신맛, 쓴맛, 새콤함, 짙은맛, 텁텁함, 목자극의 정도가 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

S20은 단맛은 강하게, 신맛, 쓴맛, 새콤함, 짙은맛, 텁텁함, 목자극의 정도가 약하게 변경되기를 바라는 것으로 나타났다.

인지희망은 인지강도와 희망강도의 차이에서 소비자들의 관능품질 개선에 대한 요구 방향을 확인 할 수 있는 자료로써, 각 시료에서 뽕은맛, 텃텃함, 목자극 정도에 대해 현재 강도보다 약하게 변경되기를 바라는 것으로 볼 때, 해당 속성은 종합기호에 부정적 요인으로 판단된다.

(다) 결론

소비자 평가 결과, 과즙 혼합액의 농도 3%~10%에서는 기호 차이가 뚜렷하지 않으나, 그 이상의 농도에서는 기호도가 감소하는 경향을 보이며, 20% 이상에서는 확실한 기호 차이를 보여 20% 이상의 과즙혼합액에 대한 만족도는 부정적일 것으로 판단된다.

세부 기호로 살펴보았을 때, 저농도 그룹에서는, 뒷맛 기호가 고농도 그룹보다 좋은 것으로 나타나며, 고농도 그룹에서는 저농도 그룹보다 입안느낌이 좋은 것으로 나타났다. 향미기호의 경우 3%~15% 과즙 농도에 비해 20%에서 급격히 떨어지는 것으로 평가되어, 과즙 혼합액 농도가 20% 이상일 때 혼합음료의 향미에 대한 반응은 부정적일 것으로 판단된다.

세부 강도로 살펴보았을 때, 저농도 그룹과 10% 혼합액에서는 단맛이 상대적으로 강한 것으로 나타나며, 고농도 그룹에서는 신맛, 쓴맛, 새콤함, 뽕은맛, 텃텃함, 목자극이 상대적으로 강한 것으로 나타났으며, 베리맛과 포도맛은 시료간 강도 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 나타났다. 전체적으로 과즙 혼합액의 농도가 증가함에 따라 신맛, 쓴맛, 새콤함, 뽕은맛, 텃텃함, 목자극의 강도가 강해지는 것으로 나타나며, 단맛은 약해지는 것으로 나타났다. 제품의 규격을 과즙 10%의 당도, 산도, pH 기준 상태로 조정하여 시료를 제조하였기 때문에, 농도 별로 단맛과 신맛의 강도를 다르게 느끼는 것은 과즙함량 증감에 영향을 받아 다르게 인지하는 것으로 판단된다.

평가자들은 가장 비선호하는 시료로 20% 혼합액의 선택비율이 뚜렷하게 높아 소비자들의 수용도 범위는 15% 미만인 것으로 판단된다. 3% 혼합액과 5% 혼합액의 비선호 시료 선택비율은 상대적으로 낮은 것으로 관찰되었다. 가장 선호하는 제품으로 단맛이 강한 3% 혼합액과 5% 혼합액, 상대적으로 신맛과 새콤함이 강한 15%의 선택이 높아, 개인 취향에 따른 다른 선호 선택이 관찰되었다(표 78).

표 78. 가장 선호하는/가장 비선호하는 제품 선택 비율

	S03	S05	S10	S15	S20
가장 선호하는 시료 (선택 비율)	29.5%	26.2%	8.2%	21.3%	14.8%
가장 비선호하는 시료 (선택 비율)	9.8%	9.8%	14.8%	16.4%	49.2%

(3) 최종 결론 및 혼합비율 선정

S03, S05, S10, S15 4개 가운데 시장에서의 경쟁우위가 예상되는 제품의 선택은 구매 타깃

그룹을 어떻게 설정할 것인가에 따라 다를 수 있다. 맛 측면을 중시하는 일반 음료 소비자를 타깃으로 하는 경우, 단맛에 대한 만족도가 중요하므로 3% 와 5% 제품을 선택하는 것이 적절하다고 판단된다. 그러나 기능성 측면이 중시될 경우에는 맛에 대한 수용도와 더불어 일정 농도 이상의 과즙혼합액 함유와 이에 따른 원가 영향을 함께 고려해야 한다. 예를 들어 10% 이상의 과즙혼합액 함유가 요구된다면 15% 제품보다는 향미(뒷맛포함) 기호 측면에서 유리한 10% 제품을 선택하는 것이 적절하다고 판단된다. 표 29에서 가장 선호하는 시료 선택비율이 10% 제품은 8.2%로 가장 낮는데 이는 단맛 만족도가 높은 3%, 5% 제품이 있기 때문으로, 15% 제품과 단독 비교 상황에서는 적절한 신맛과 상대적으로 약한 떫은맛, 텁텁함, 목 자극의 10% 제품의 선호가 높을 것으로 판단된다.

2. 캡슐화에 따른 향산화 효능 개선 기전 구명 및 향산화 효능 개선을 위한 캡슐화 조건 최적화

가. 캡슐화에 따른 향산화 효능 개선 구명

(1) Macro 비드

(가) 제조방법

아사이베리 함유 macro 비드는 카라기난과 아사이베리 혼합액을 size extrusion 방법을 통해 KCl 용액으로 떨어뜨려 제조하였다. 아사이베리 함유 비드에 사용한 천연 다당류 카라기난은 안전성(safety), 생체적합성(biocompatibility), 생분해성(biodegradability)이 뛰어나 식품 산업에서 널리 사용되고 있다. 음전하를 띠는 카라기난은 양전하를 띠는 K^+ 이온에 넣어주면 코일 구조인 카라기난의 sulphate 그룹과 K^+ 이 결합하여 ionic gelation을 형성한다. 결합된 sulphate 그룹은 나선형 구조에서 외부에 노출되어 위치하게 되며 두 개의 다른 나선형 구조는 수소결합을 이루어 3차원의 이중 나선형 구조를 이루게 된다.

농도가 90 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 인 아사이베리 추출물 4 mL를 1.50, 1.75, 2.00%(w/v)의 카라기난 36 mL과 overhead stirrer에서 540 rpm으로 각각 교반하여 혼합액을 제조하였다. 균일하게 섞인 혼합액 5 g은 peristaltic pump를 이용하여 팁이 부착된 튜브를 통해 1 mL/min의 속도로 KCl 수용액 40 mL에 떨어뜨려 주었다. KCl 농도 5.00, 7.50, 10.00%(w/v)에서 각각 제조된 macro 비드는 실온에서 30분간 경화시킨 뒤 수거하였다(그림 138).

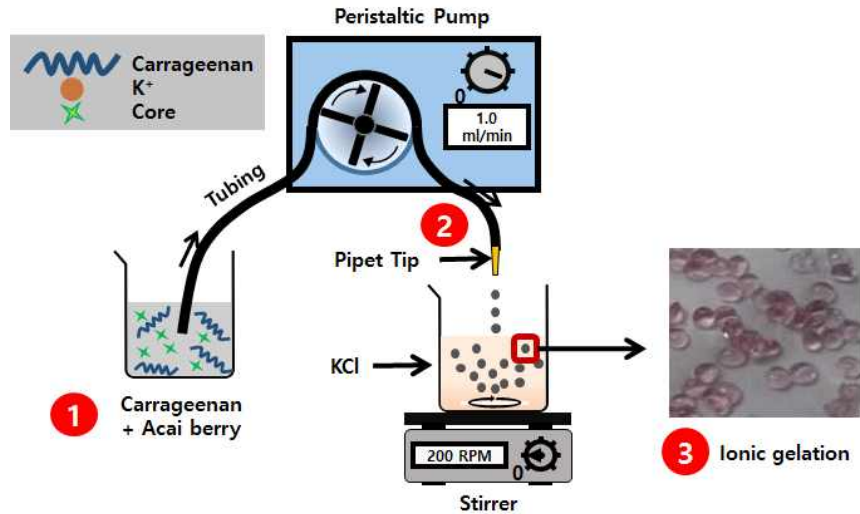


그림 138. 아사이베리 함유 macro 비드 제조 모식도

(나) 포집효율

아사이베리 함유 macro 비드를 pH 7.4의 phosphate buffer에 넣고 1,200 rpm으로 30분간 교반하여 완전히 분해시켰다. Macro 비드 분해 후 분산액 내 유리된 아사이베리 추출물을 총 페놀 함량 측정을 통해 정량하여 아래의 식으로 포집효율(entrapment efficiency, EE)을 측정하였다(그림 27).

$$EE (\%) = \frac{\text{Actual total phenolic content}}{\text{Theoretical total phenolic content}} \times 100$$

포집효율 분석결과, KCl 농도가 5%에서 10%로 증가함에 따라 포집효율이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 반면, 카라기난 농도변화에 따라서는 포집효율에 유의적인 변화가 보이지는 않았다. Macro 비드의 경우 카라기난과 KCl의 결합에 따른 ionic gelation에 의해 형성된다. 이 때 KCl의 농도가 증가함에 따라 이온결합의 강도가 증가하여 더욱 견고한 macro 비드를 형성하였고, 이에 아사이베리를 macro 비드 내부에 효과적으로 포집한 것으로 판단된다. 모든 실험군에서 포집효율을 비교했을 때는 카라기난 1.75%, KCl 10.00% 조건에서 제조한 macro 비드의 포집효율이 23.54%로 유의적으로 가장 높은 결과를 보였다.

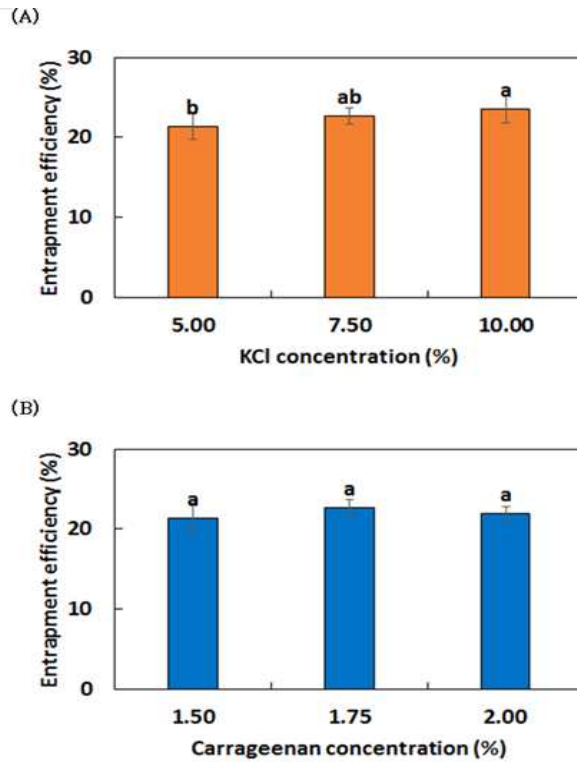


그림 139. Macro 비드의 카라기난 농도(A)와 KCl 농도(B)에 따른 포집효율

(다) 항산화 안정성

1차년도 실험에 사용된 10종의 과채류 중 항산화활성을 나타내는 지표인 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, FRAP 환원능, 그리고 ORAC assay에서 가장 높은 항산화 활성을 나타냈던 아사이베리 추출물을 타겟소재로 선정하여 macro 비드를 제조하였다.

아사이베리를 함유한 비드는 아사이베리 추출물의 원래 pH 인 pH 4.2와 실제 음료제품의 pH 범위인 pH 3.5와 pH 5.5 구간에서 항산화 안정성을 확인하였다(그림 28-30).

유리 아사이베리는 항산화 측정방법에 따라 차이를 보였으나, 전반적으로 20일 경과 시점에서 항산화 활성이 pH 3.5에서 55%, pH 4.2에서 60%, pH 5.5에서 약 65-70% 감소하였다. 항산화 안정성 환경에 따른 결과에서는 pH가 낮아질수록 유리 아사이베리의 안정성이 감소됨을 확인하였다. 이는 아사이베리에 함유된 안토시아닌이 pH 2.0 정도의 산성용액에서 안정한 flavylium 이온으로 존재하나 pH 5.0 이상의 중성 또는 알칼리 용액에서는 quinoidal base 구조로 전환되면서 불안정해지기 때문으로 판단된다.

반면, 카라기난 비드 내부에 포집된 아사이베리 추출물의 경우 20일 경과시점에서 약 25-30% 감소되어 유리 아사이베리에 비해 유의적으로 최대 50%의 항산화 활성 증가를 보였다. 제조조건에 따른 결과 비교에서는 카라기난 또는 KCl 농도의 증가가 항산화 안정성에 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

반면, 항산화 측정 실험 중 FRAP 환원능에서는 pH 5.5의 환경에서 카라기난 1.75%, KCl 7.5% 비드가 항산화 안정성이 유의적으로 증가하였다. 이는 비드 내에 아사이베리 추출물이 포집되어 외부의 환경으로부터 항산화 유효성분이 보호되었기 때문으로 판단된다.

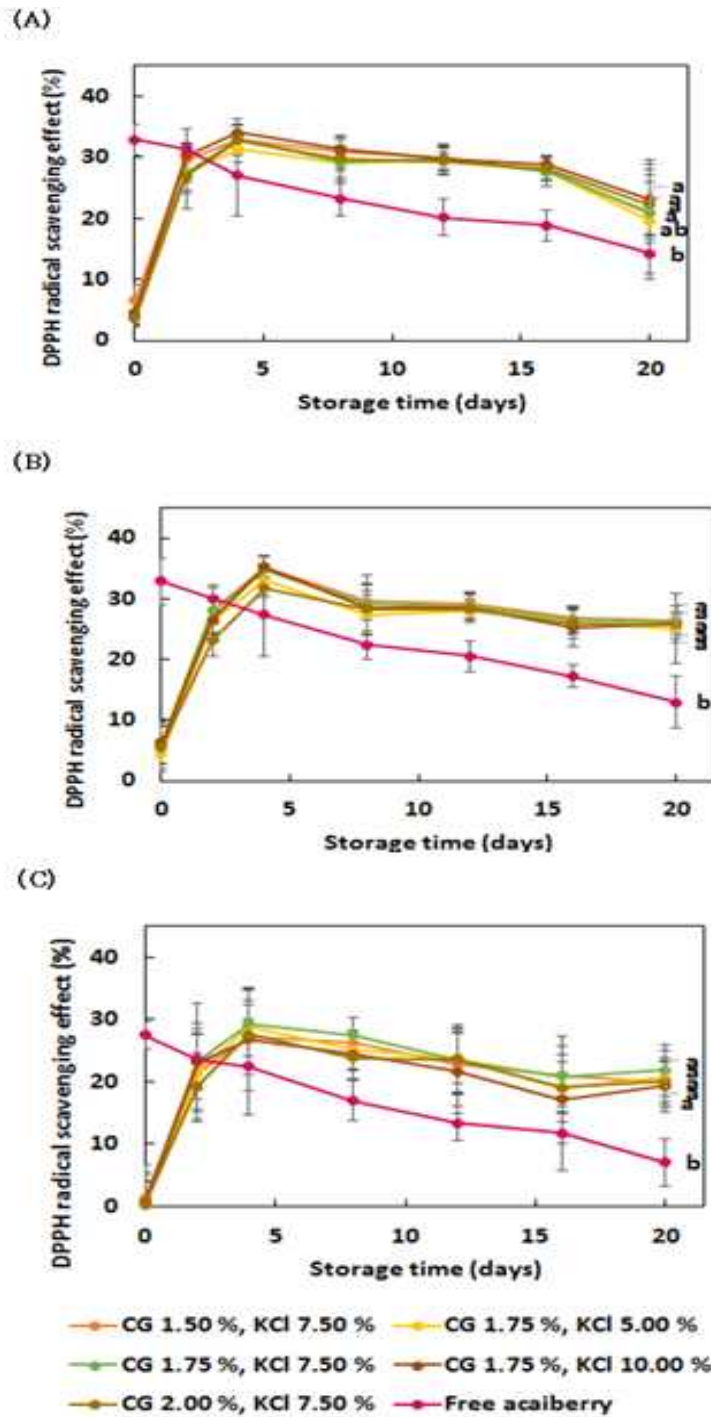
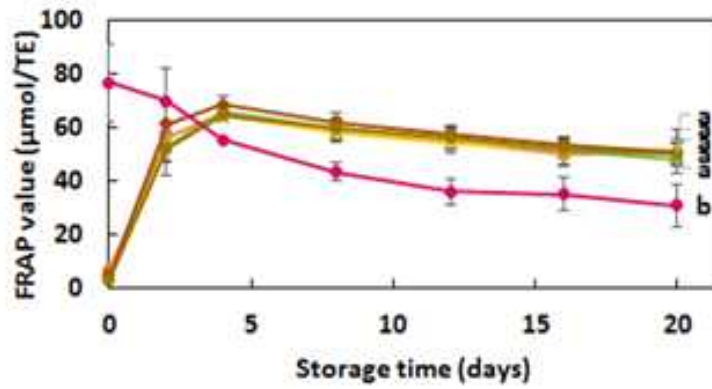
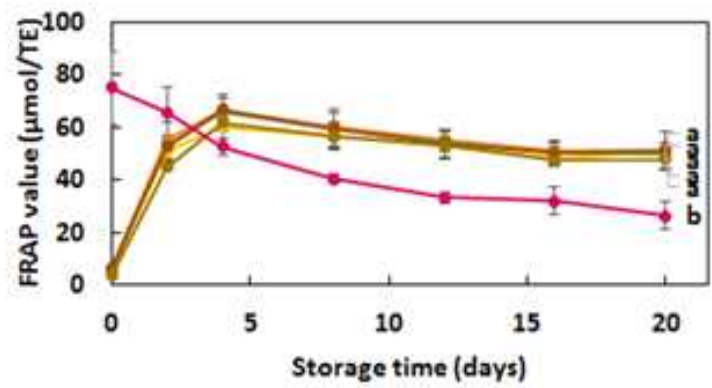


그림 140. pH 조건에 따른 macro 비드의 DPPH 항산화 안정성 (pH 3.5 (A), pH 4.2 (B), pH 5.5 (C)). CG, 카라기난

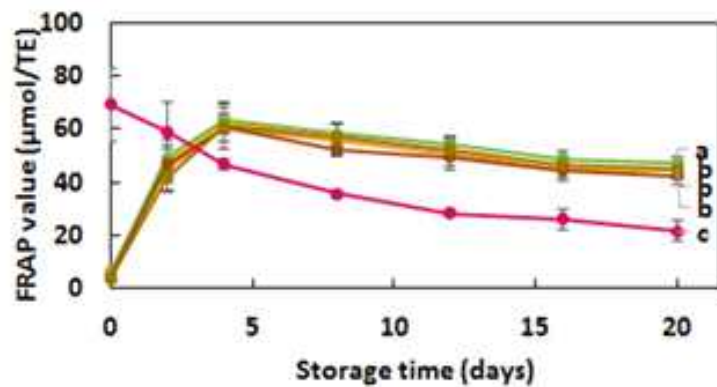
(A)



(B)



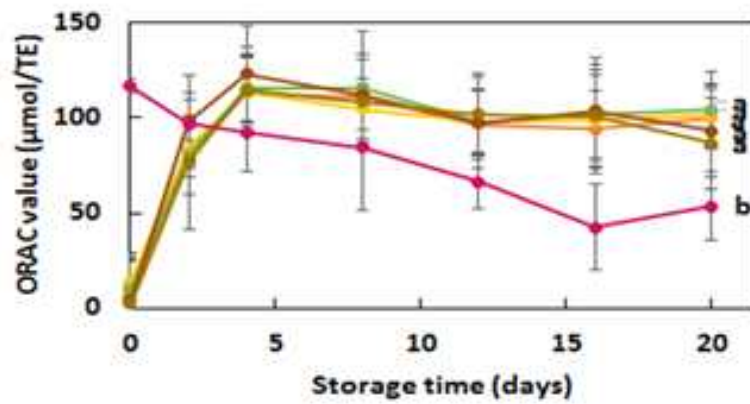
(C)



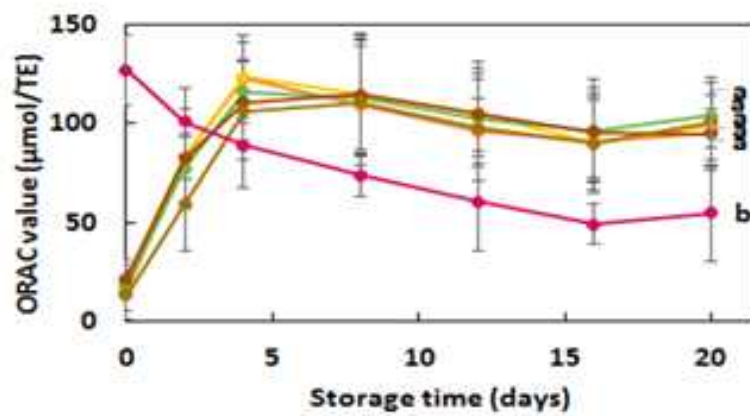
—●— CG 1.50 %, KCl 7.50 % —●— CG 1.75 %, KCl 5.00 %
—●— CG 1.75 %, KCl 7.50 % —●— CG 1.75 %, KCl 10.00 %
—●— CG 2.00 %, KCl 7.50 % —●— Free acai berry

그림 141. pH 조건에 따른 macro 비드의 FRAP 환원능 안정성 (pH 3.5 (A), pH 4.2 (B), pH 5.5 (C)). CG, 카라기난

(A)



(B)



(C)

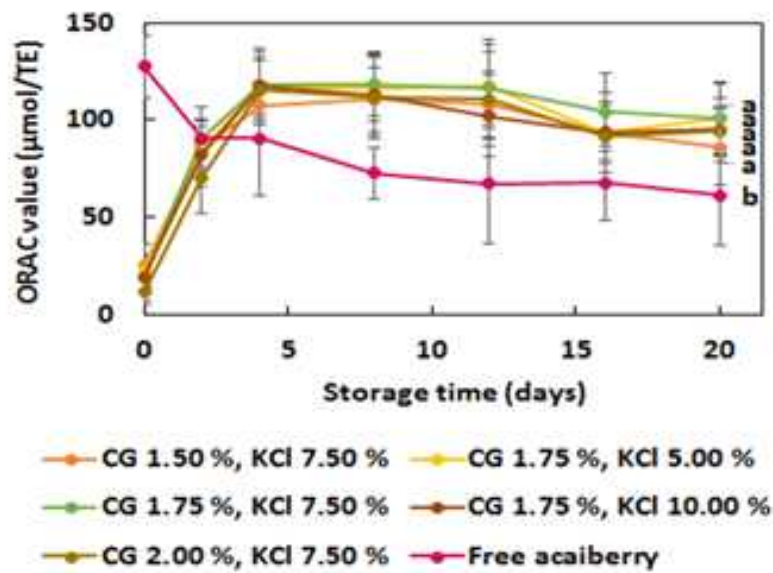


그림 142. pH에 따른 macro 비드의 ORAC 항산화 안정성 (pH 3.5 (A), pH 4.2 (B), pH 5.5 (C)). CG, 카라기난

(2) Micro 입자

(가) 제조방법

아사이베리 함유 micro 캡슐은 macro 비드와 동일한 원리로 음전하를 띠는 카라기난과 양전하를 띠는 K⁺사이의 ionic gelation 원리를 이용하여 제조되었다. 아사이베리 함유 micro 캡슐은 카라지난과 아사이베리 추출물 혼합 용액을 size extrusion 방법을 통해 KCl 용액으로 분사하여 ionic gelation 방법에 의해 제조하였다. 증류수에 완전히 용해시킨 카라기난 수용액과 아사이베리 추출물을 1:10(v/v) 비율로 혼합하여 overhead stirrer를 통해 10분간 800 rpm으로 균일하게 혼합하였다. 균질화 된 혼합액 200 g은 compressor가 결합된 air atomizing system을 통해 tank pressure 0.2 Mpa, spray pressure 0.1 Mpa 조건에서 macro 비드결과에서 효과적으로 입자가 형성된 5.00, 7.50, 10.00%(w/v) KCl 용액 1000 mL으로 각각 분사하였다(그림 31). micro 캡슐은 실온에서 5분간 경화시킨 뒤 60 mesh에서 수거한 뒤, 동결건조 시켜 파우더화 하였다.

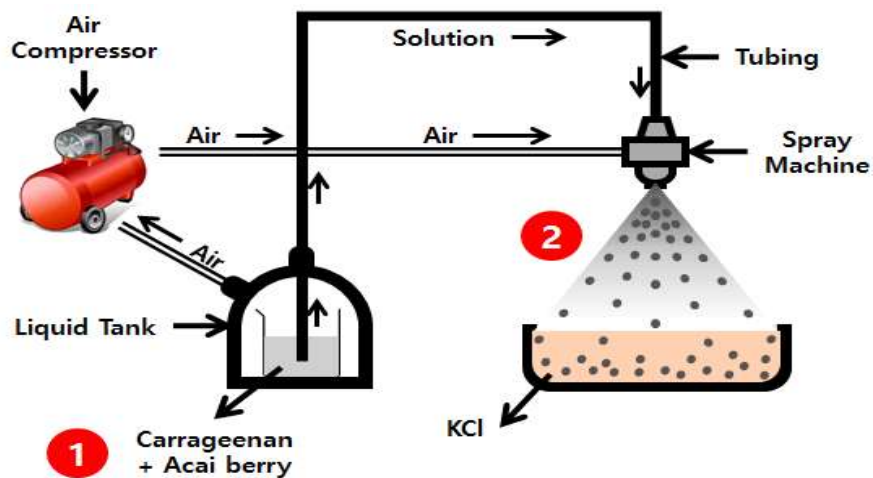


그림 143. 아사이베리 추출물 함유 micro 캡슐 제조 모식도

(나) 포집효율

동결건조하여 분말화 한 아사이베리 함유 micro 캡슐을 pH 7.4의 phosphate buffer에 넣고 1,200 rpm으로 30분간 교반하여 완전히 분해시켰다. micro 캡슐을 분해한 후 분산액 내 유리된 아사이베리 추출물을 총 페놀 함량 측정을 통해 정량하여 아래의 식으로 포집효율(entrapment efficiency, EE)을 측정하였다(그림 32).

$$EE (\%) = \frac{\text{Actual total phenolic content}}{\text{Theoretical total phenolic content}} \times 100$$

micro 캡슐의 포집효율은 10% 미만으로 나타나 동일 농도의 제조조건에서 제조한 macro 비드의 포집효율이 20% 이상을 나타낸 것에 비해 전반적으로 낮은 결과를 나타내었다. 이는 입자크기가 감소함에 따라 내부에 포집할 수 있는 아사이베리 추출물의 양이 감소하였기 때문으로 판단된다. 제조조건에 따른 micro 캡슐의 포집효율을 비교에서는 KCl 농도가 5%에서 10%로 증가함에 따라 유의적으로 포집효율은 유의적으로 감소하였다. 포집효율은 KCl 5% 농도에서 8.46%로 유의적으로 가장 높게 나타났다.

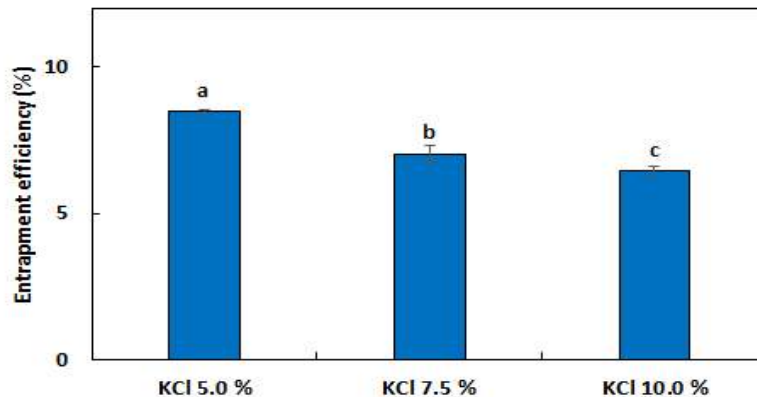


그림 144. KCl 농도에 따른 micro 캡슐의 포집효율

(다) 항산화 안정성

Micro 캡슐의 항산화 안정성은 macro bead와 마찬가지로 음료의 일반적인 pH로 알려진 pH 3.5에서 항산화 안정성을 확인하였다(그림 8). FRAP 환원능과 ORAC assay를 통한 항산화 안정성 측정 결과, 저장 2일 경과 시점에서 micro 캡슐에 포집된 아사이베리와 유리 아사이베리 추출물 사이에 유의적인 항산화 활성 차는 나타나지 않았다. 반면, 4일 경과시점에서는 유리 아사이베리 추출물의 항산화 활성이 저장 0일차에 대비 30% 감소한 것에 비해 micro 캡슐에서는 약 27% 감소되어 항산화 활성이 역전되는 현상을 나타내었다.

Micro 캡슐화는 피복소재에 의해 내부의 물질을 외부환경으로부터 보호하여 활성성분의 저해(degradation)를 막고, 내부물질의 방출을 지연하여 활성을 지속시켜 주는 것으로 보고되어 있다. 이러한 연구경향에 따라 micro 캡슐화 내 포집된 아사이베리 추출물의 항산화 활성은 유리 아사이베리 추출물에 비해 안정적으로 활성을 발현할 것으로 보이며 4일 경과시점의 결과를 통해 다양한 pH 환경에서 저장기간이 장기화 될수록 항산화 안정성 증진 유지의 격차가 더욱 벌어질 것으로 예상된다.

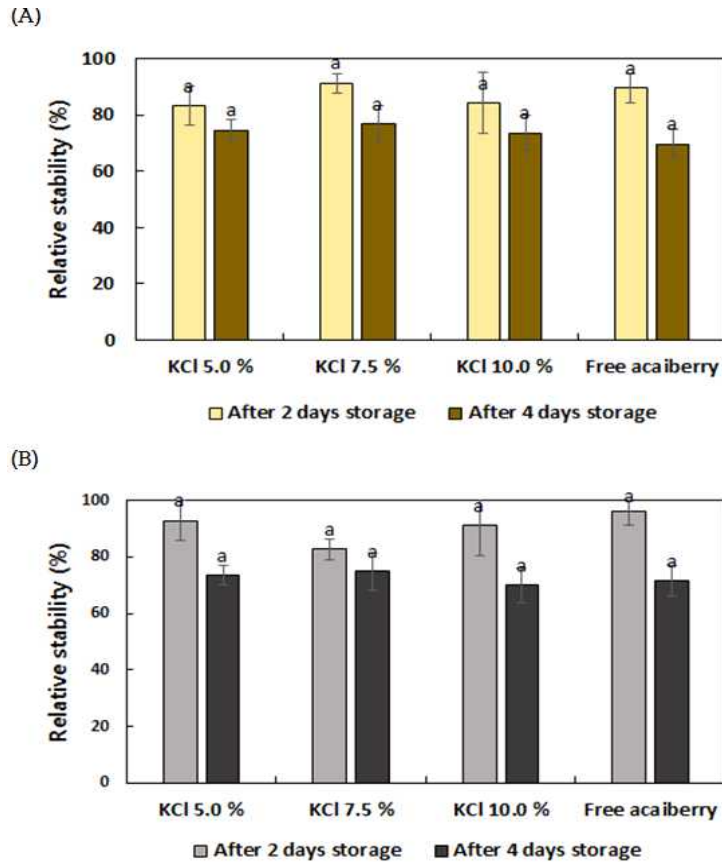


그림 145. pH에 따른 아사이베리 함유 micro 캡슐의 항산화 안정성
(A) FRAP 환원능, (B) ORAC 항산화 활성

(3) Nano 입자

(가) 제조방법

① 블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/아라비아 검 나노캡슐

1차년도 연구수행을 통해 도출한 최적 항산화 소재 조성물인 블루베리/양배추를 나노캡슐에 포집하여 제조하였다. 나노 캡슐화는 수용성 키토산(Chitosan)과 아라비아 검(Arabic gum)의 이온결합을 이용하여 제조하였다. 키토산은 사슬구조에 아미노기를 가지고 있는 천연 다당류로 안전성(safety), 생체적합성(biocompatibility), 생분해성(biodegradability)이 뛰어나 식품적용에 적합한 소재이며 양이온과의 이온결합을 통해 망상구조의 나노입자를 형성하는 특성을 가지고 있다. 캡슐화에 사용된 양이온은 아라비아 검을 이용하였다. 0.8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도로 희석한 블루베리 추출물 2.5 mL과 1.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도로 희석한 양배추 추출물 2.5 mL과 0.5, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL 농도의 키토산용액 10 mL을 1,000 rpm 교반하여 혼합액을 만든 뒤, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 5.5 mg/mL 농도의 아라비아 검 용액 2.5 mL을 peristaltic pump를 이용하여 1.0 mL/min으로 떨어뜨려 블루베리와 양배추를 함유 나노 캡슐을 제조하였다(그림 34).

② 블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/카라기난 캡슐

항산화 안정성에 피복소재가 미치는 영향을 파악하기 위해 염으로 가수화 정도를 증진한 수용성 키토산(chitosan)과 카라기난(carrageenan)을 이용하여 키토산/카라기난 나노 입자를 제조하였다. 0.8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도로 희석한 블루베리 추출물 2.5 mL과 1.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 농도로 희석한 양배추 추출물 2.5 mL과 0.5, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL 농도의 키토산용액 10 mL을 1,000 rpm 교반하여 혼합액을 만든 뒤, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mg/mL 농도의 카라기난 용액 2.5 mL을 peristaltic pump를 이용하여 1.0 mL/min으로 떨어뜨려 블루베리/양배추를 함유 나노 캡슐을 제조하였다

③ 아사이베리 및 아사이베리 혼합 조성물 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자

아사이베리 추출물과 1차년도 연구에서 소재 혼합에 따른 항산화 활성 상승효과가 극대화되었던 최적 항산화 소재 조성물인 아사이베리-아스코르브산-트로록스를 나노캡슐에 포집하여 제조하였다. 0.5 mg/mL 농도로 증류수에 용해한 키토산 수용액 9 mL에 아사이베리 추출물 2.25 mL 또는 아사이베리-아스코르브산-트로록스 혼합 조성물 0.75 mL를 각각 키토산 9 mL에 넣고 1,000 rpm에서 균일하게 혼합하여 주었다. 그리고 항산화 물질과 키토산 혼합액에 0.5, 1.0 mg/mL 농도의 아라비아 검 3.75 mL 을 각각 떨어뜨린 뒤 1,000 rpm으로 10분 동안 교반하여 나노캡슐을 제조하였다.

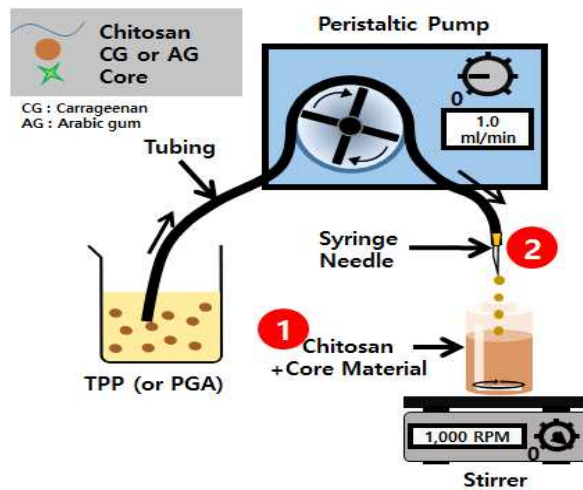


그림 146. 나노입자 제조 모식도

(나) 물리화학적 특성

나노 캡슐의 입자크기(particle size)를 비롯하여 입자의 분산도(polydispersity index, PDI), 산란강도(derived count rate, DCR) 및 제타전위(zeta potential) 등의 물리화학적 특성은 분산액 상태 나노입자를 Malvern Zetasizer Nano ZS 를 이용한 광산란(dynamic light scattering) 분석을 통해 측정하였다.

① 블루베리/양배추 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자

블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자는 키토산 1.0 mg/mL, 아라비아 검 4.0-5.5 mg/mL 농도에서 291.0-327.2 nm의 입자크기 범위에서 형성되었으며, 입자의 균일한 정도를 나타내는 지표인 분산도(PDI) 수치는 유효범위 0.3 이하에서 균일하게 제조되었다(표 79). 입도분석으로 도출한 입자특성 결과를 통해 효과적으로 입자가 형성되었던 키토산 1.0 mg/mL, 아라비아 검 4.0-5.5 mg/mL 농도에서 키토산/아라비아 검 나노 입자를 제조하여 항산화 안정성 실험에 적용하였다.

표 79. 키토산, 아라비아 검 농도별 입자특성

CS (mg/mL)	Arabic gum (mg/mL)	Particle size (nm)	PDI	Derived count rate (kcps)
0.5	3.0	275.1±5.2	0.16±0.05	289,958±24,741
0.6	3.0	275.9±4.2	0.25±0.03	223,934±42,102
	3.5	281.2±16.6	0.19±0.04	379,248±40,650
0.8	3.0	266.5±21.1	0.32±0.01	88,323±2,023
	3.5	296.1±21.5	0.27±0.02	178,457±1,622
	4.0	316.3±27.3	0.23±0.04	445,150±11,419
1.0	3.0	276.7±14.7	0.49±0.03	42,636±1,727
	3.5	281.8±14.3	0.37±0.06	91,897±1,210
	4.0	291.0±17.6	0.28±0.01	145,062±28,755
	5.0	302.9±12.2	0.22±0.04	487,000±60,615
	5.5	327.2±23.8	0.22±0.04	684,776±25,975

② 블루베리/양배추 함유 키토산/카라기난 나노 입자

피복소재가 항산화 안정성에 미치는 영향을 파악하기 위해 피복소재를 아라비아 검에서 카라기난으로 교체하여 블루베리와 양배추 혼합물 함유 키토산/카라기난 나노 입자를 제조하여 물리학적 특성을 분석하였다(표 80). 입자특성 분석 결과, 키토산 0.15 mg/mL 농도와 카라기난 0.1-0.2 mg/mL 농도에 228.0-262.4 nm 범위에서 입자크기가 형성되었으며, 입자의 균일한 형성을 나타내주는 PDI 수치도 0.3 이하에서 형성되어 균일한 입자형성이 되었음을 확인할 수 있었다. 입자특성 결과에서 효과적으로 입자가 형성되었던 키토산 0.15 mg/mL과 카라기난 0.1-0.2 mg/mL 조건에서 블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/카라기난 나노 입자를 제조하여 항산화 안정성 실험에 적용하였다.

표 80. 키토산, 카라기난 농도별 입자특성(Particle size, PDI, Derived count rate)

CS (mg/mL)	Carrageenan (mg/mL)	Particle size (nm)	PDI	Derived count rate (kcps)
0.10	0.10	194.8±14.9	0.28±0.04	5,611±756
	0.15	212.5±23.0	0.24±0.04	13,740±813
	0.20	468.9±42.0	0.32±0.04	26,884±538
	0.25	483.2±23.5	0.28±0.05	28,550±2,317
0.15	0.10	228.0±28.3	0.31±0.03	5,815±843
	0.15	235.6±29.5	0.26±0.02	11,782±1,196
	0.20	249.4±19.8	0.23±0.01	20,844±1,147
	0.25	262.4±24.4	0.21±0.03	26,988±1,909
0.20	0.10	255.4±34.5	0.28±0.03	6,212±262
	0.15	258.1±17.4	0.26±0.01	12,542±918
	0.20	277.8±10.9	0.25±0.02	19,331±407
	0.25	294.3±23.7	0.26±0.03	28,756±1,564
0.25	0.10	291.4±20.6	0.28±0.03	6,637±670
	0.15	288.1±27.7	0.27±0.03	12,975±580
	0.20	304.5±24.7	0.26±0.03	19,744±379
	0.25	332.7±24.9	0.26±0.03	27,628±704

③ 아사이베리 및 아사이베리 혼합 조성물 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자

아사이베리 추출물 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자와 아사이베리-아스코르브산-트로록스 혼합 조성물 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자의 물리학적 특성을 분석하였다(표 3). 아사이베리 추출물 함유 나노 입자는 210-244 nm 범위에서 입자크기를 형성하여, 227-257 nm 범위에서 입자를 형성한 항산화 혼합 조성물 나노 입자보다 유의적으로 작은 입자를 형성하였다. 피복소재 농도에 따른 입자특성은 아라비아 검 농도가 증가할수록 항산화 혼합 조성물 함유 나노 입자와 아사이베리 나노 입자의 입자크기가 유의적으로 감소하였다. 입자분산도는 키토산과 아라비아 검 농도와 관계없이 모든 나노 입자에서 유효수치 0.3 이하를 나타내어 균일한 나노 입자가 형성되었음을 확인하였다. 결과를 통해 효과적으로 입자를 형성한 아래의 제조 조건을 항산화물질 함유 나노캡슐의 pH 에 따른 항산화 안정성 실험에 적용하여 평가하였다.

표 81. Nano 입자의 물리화학적 특성

Core material	Wall material		Particle properties		
	Chitosan (mg/mL)	Arabic gum (mg/mL)	Particle size (nm)	Polydispersity index	Derived count rate
Mix ¹⁾	0.5	0.5	263.4±15.5a	0.28±0.01a	25438±3873c
		1	249.6±16.8b	0.21±0.02c	71914±4826a
Acai	0.5	0.5	242.9±11.4c	0.29±0.01a	16129±2189d
		1	234.1±12.0d	0.23±0.02b	67320±3676b

¹⁾ 아사이베리-아스코르브산-트로록스 혼합 조성물

(다) 소화 환경에서 물리화학적 안정성

① 나노입자 안정성

블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/아라비아 검 나노 입자 및 키토산/카라기난 나노 입자의 소화 환경에서 물리화학적 안정성을 비교하였다. 소화환경은 가상의 위장환경(SGF, simulated gastric fluid)과 소장환경(SIF, simulated intestinal fluid)을 각각 나노 분산액을 5 M HCl를 이용하여 pH 1.7로, 1 M NaHCO₃ 용액을 cellulose dialysis tubing을 이용하여 pH 7로 보정하였다. 나노 입자는 위장조건과 소장조건에서 연속적으로 2시간 씩 적용하면서 나노 입자의 물리화학적 특성을 모니터링하였다.

㉞ 블루베리/양배추 함유 키토산/아라비아 검 나노캡슐

블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/아라비아 검 나노입자를 소화 환경에서 물리화학적 안정성을 평가하기 위하여 입자특성을 분석하였다(그림 147, 148). 소화환경에 적용하기 전 입자 크기는 약 300-400 nm 범위의 균일한 입자분산도를 보였으나 가상 위장 환경 조건에서 평균 입자크기는 크게 감소(45-50 nm)하였고, 입자 분산도 역시 유효수치 이상으로 증가하여 불균일한 크기범위(45-720 nm)로 입자가 유리되었다. 키토산/아라비아 검 나노캡슐의 경우 위장환경에서 입자특성이 저해되어 경구투여 나노소재로 적합하지 않은 것으로 판단하였다.

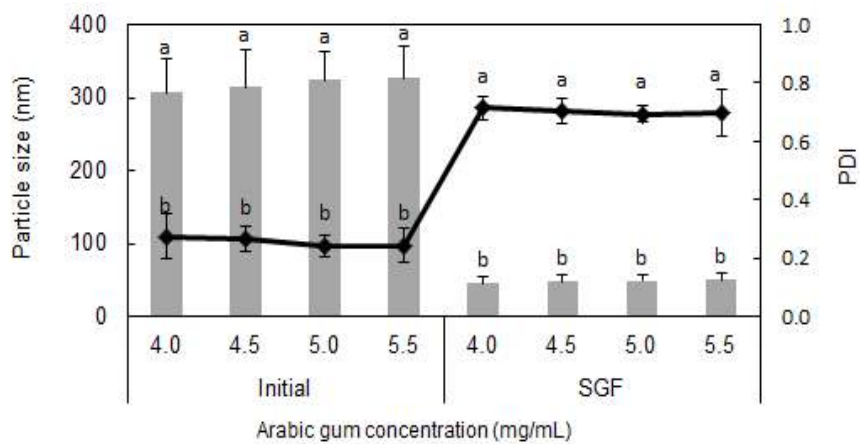


그림 147. SGF 노출에 따른 키토산/아라비아 검 나노입자의 물리화학적 특성

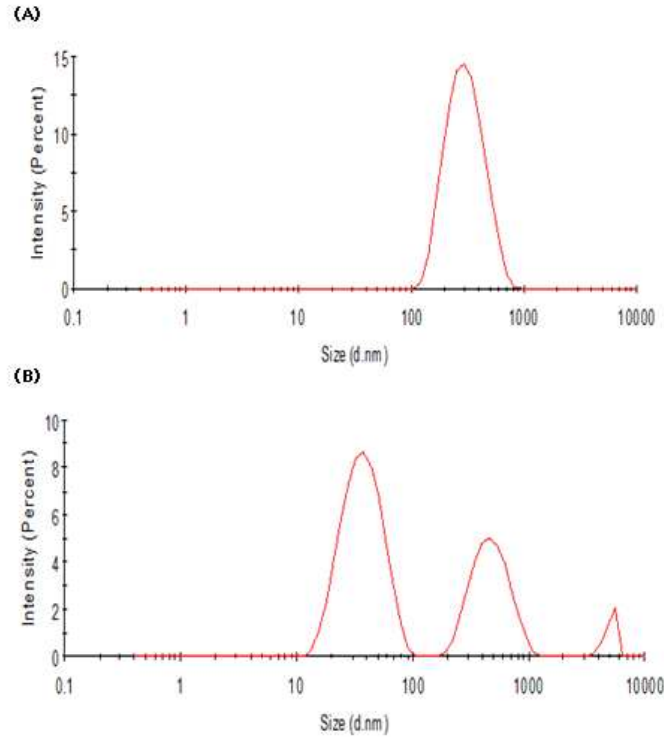


그림 148. 소화환경에서의 키토산/아라비아 검 나노입자의 입자분포
 ((A) initial, (B) SGF, 나노입자: 키토산 1 mg/mL, 아라비아 검 5.5 mg/mL)

㉔ 블루베리/양배추 함유 키토산/카라기난 나노입자

블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/카라기난 나노입자의 소화 환경에서 물리화학적 안정성을 평가하기 위하여 입자특성을 분석하였다(그림 149, 150). 소화환경에 적용하기 전 입자크기는 약 220-300 nm 범위에서 균일한 입자를 형성하였으며, 가상위장환경 조건에서도 유의적으로 균일한 입자특성을 유지하였다. 반면, 소장환경을 연속적으로 적용한 결과 입자크기와 분산도가 모두 유의적으로 증가하여 입자크기는 450-540 nm으로 상승하였으며, 분산도 역시 0.6-0.7로 증가하였다.

키토산/아라비아 검과 키토산/카라기난 나노 입자의 소화환경에서의 안정성 결과를 비교하였을 때, 키토산/아라비아 검 입자가 위장환경에서 입자특성이 저해되었던 것에 비해 키토산/카라기난 캡슐의 경우 항산화 소재의 활성이 감소한다고 보고된 높은 pH의 위장환경에서 입자특성으로 유지하고 활성성분이 대사되는 소장환경에서 입자가 분해되어 체내 전달체로서의 적합한 제형인 것으로 판단되었다. 이에 따라 블루베리와 양배추 추출물 함유 키토산/카라기난 나노 입자를 선정하여 이후 실험에 적용하였다.

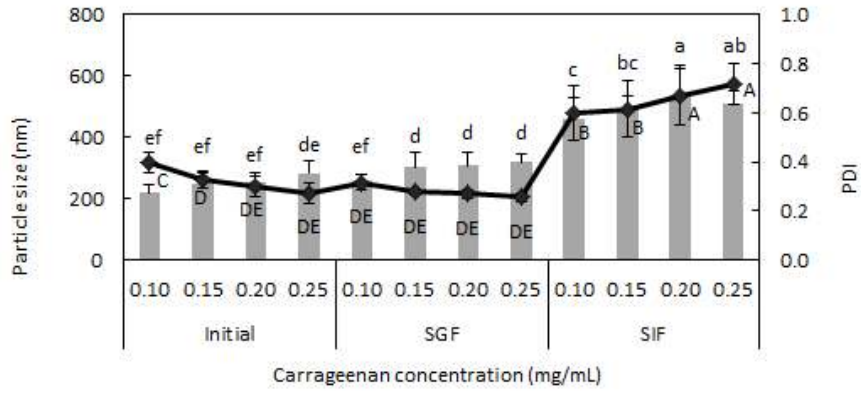


그림 149. SGF와 SIF 노출에 따른 키토산/아라비아 검 나노캡슐의 물리화학적 특성

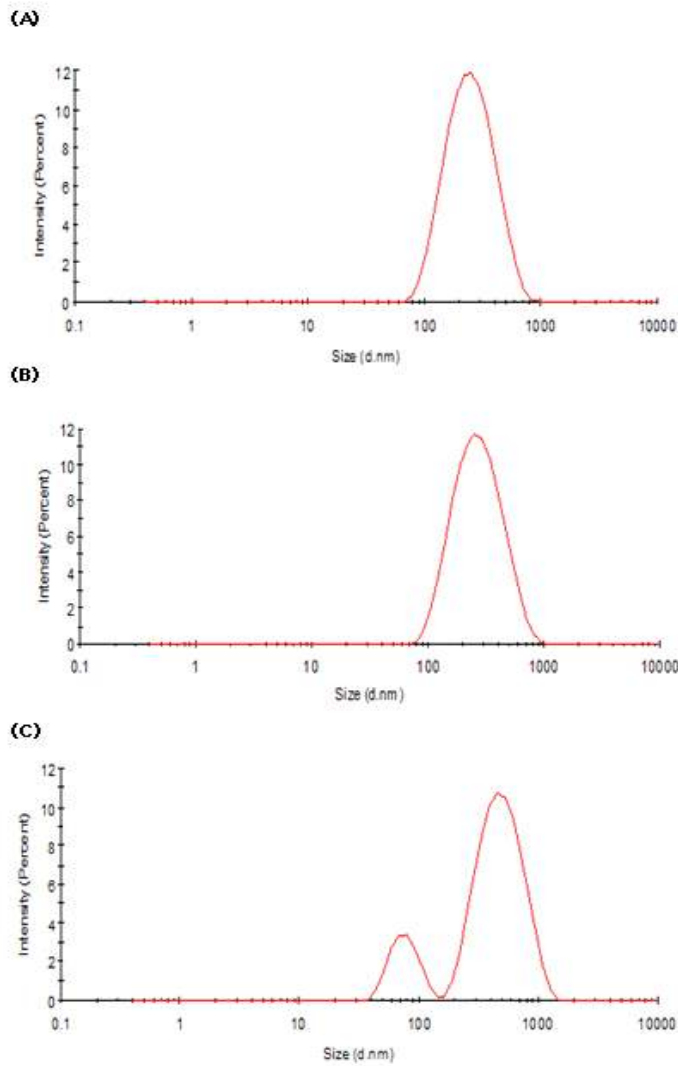


그림 150. 소화환경에서의 키토산/카라기난 나노캡슐의 입자 분포
 ((A) initial, (B) SGF, (C) SIF, 나노입자: 키토산 0.15 mg/mL, 카라기나 0.25 mg/mL)

② 포집 효율

나노 캡슐의 포집효율은 Amicon ultra-4 centrifugal filter 기기를 사용하여 3,000 nominal molecular weight limit보다 큰 유효하지 않은 나노 캡슐을 제외한 뒤 측정하였다. 나노 분산액 2 mL을 35분간 7,000×g 속도로 원심분리하여 나노 캡슐을 침전시킨 뒤 분리된 상층액 내 항산화 물질을 총 페놀 함량을 측정하여 아래의 식을 이용하여 도출하였다.

$$EE (\%) = \frac{\text{Actual total phenolic content}}{\text{Theoretical total phenolic content}} \times 100$$

블루베리/양배추 혼합물 함유 키토산/카라기난 나노 캡슐의 포집효율 측정결과 모든 제조조건에서 40% 이상의 포집효율을 나타내었다(그림 151). 피복소재 농도에 따른 포집효율 결과에서는 카라기난 농도가 증가함에 따라 포집효율은 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 실험결과 카라기난 농도 0.1 mg/mL에서 45.3%로 가장 높은 포집효율을 보였다.

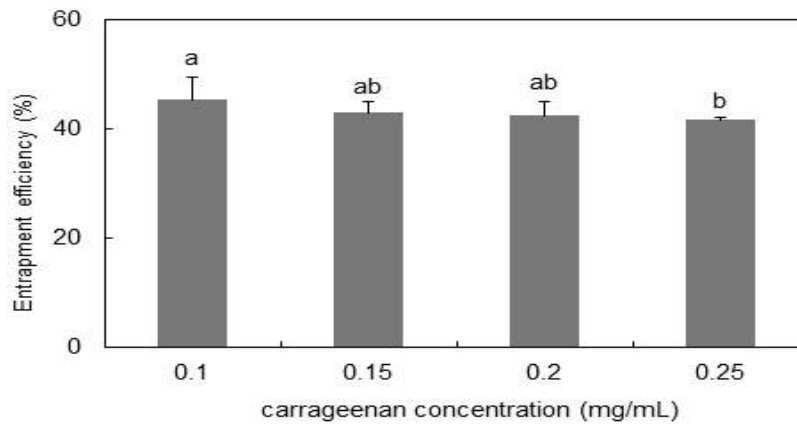


그림 151. 카라기난 농도에 따른 나노캡슐의 포집효율

③ TEM 관찰

나노 캡슐의 형태학적 관찰을 위해 TEM(transmission electron microscopy)을 이용하여 분석하였다(그림 152). 형태학적으로 나노 캡슐은 구 형태를 나타내었으며, TEM 이미지를 통한 입자크기 분석 결과, 450-600 nm 범위로 나타났다. 입도분석을 통해 측정된 나노 캡슐 크기와는 다소 차이가 있었으며 이는 3차원 형태의 입자 표면의 전하를 측정하는 DLS 방식과는 달리 입자를 건조하여 2차원적 형태로 분석하였기 때문에 발생한 차이로 판단된다.

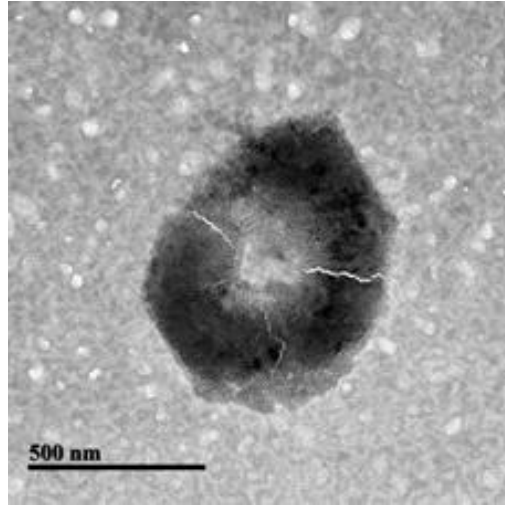


그림 152. 블루베리/양배추 함유 나노 캡슐의 TEM 측정.

(라) 항산화 안정성 측정

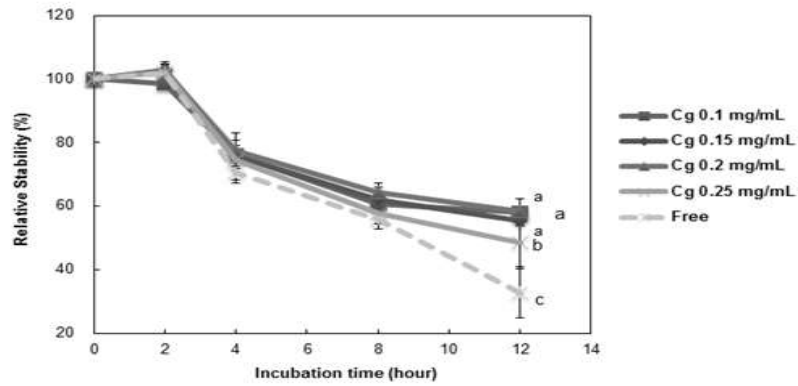
① 체내 환경에서의 항산화 안정성 측정

소화 환경조건에서의 ORAC 수치와 총 페놀 함량을 측정하여 나노캡슐화에 의한 항산화 안정성 증진여부를 평가하였다(그림 153). 가상위장조건에서 유리 블루베리/양배추 혼합물과 나노캡슐화 블루베리와 양배추 혼합물 ORAC 수치와 총 페놀 함량 측정한 결과 0-8 시간 경과 시점까지 항산화물 함량과 항산화 활성은 유의적으로 차이를 보이지 않았다. 반면 12시간 경과 후 유리 블루베리/양배추 혼합물의 잔류 함량이 최초 함량의 30% 이하로 감소한 반면 나노캡슐화한 혼합물의 잔류 함량은 60%를 유지하여 유의적으로 안정한 결과를 나타내었다. ORAC 항산화 활성 측정 결과에서도 유리 블루베리/양배추 혼합물이 최초 활성 대비 7% 수준까지 감소한 것에 비해 나노캡슐화 한 혼합물의 활성은 최초 활성 대비 25-50% 수준의 유의적으로 높은 수치를 나타내었으며, 제조조건 별 입자 중에서 카라기난 농도 0.2 mg/mL로 제조한 나노캡슐이 ORAC 수치 48%, 총 페놀 함량 58%로 가장 높은 항산화 안정성을 나타내었다.

② 음료 환경에서의 항산화 안정성 측정

음료적용 조건에서의 나노 캡슐에 의한 항산화 안정성을 측정하기 위해 나노분산액을 제조 상태의 pH와 음료제품의 최대 pH 조건인 pH 3.7과 pH 5.5 에서 각각 항산화 안정성을 측정하였다(그림 42-43). 안정성 실험은 아사이베리-아스코르브산-트로록스 혼합 조성물 함유 나노캡슐과 아사이베리 추출물 함유 나노 캡슐을 저장성 가속조건인 60°C에서 저장하면서 4일 간격으로 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능으로 확인하였다(그림 153).

(A)



(B)

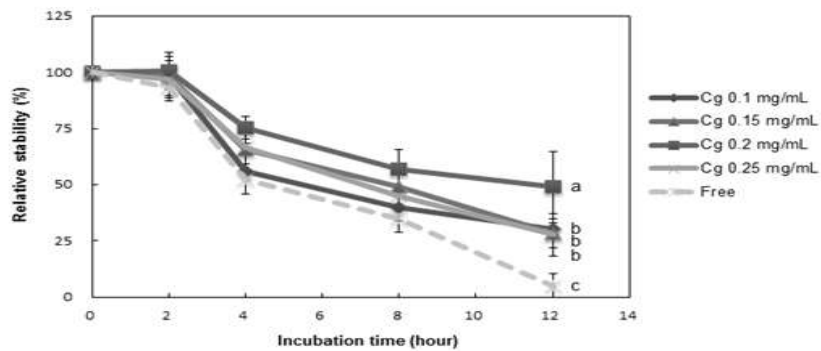


그림 153. 소화환경에서의 키토산/카라기난 나노캡슐의 항산화 안정성
(블루베리/양배추 혼합물의 (A) 총 페놀 함량, (B) ORAC 항산화)

피복물질의 농도와 관계없이 혼합조성물과 아사이베리 추출물 함유 나노 캡슐의 항산화 활성 안정성은 비슷한 경향의 ORAC 수치과 DPPH 라디칼 소거능의 항산화 결과를 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능 안정성 실험에서 캡슐화하지 않은 유리 항산화 물질의 경우 pH 조건에 적용한 시점부터 활성이 감소한 반면 나노 캡슐에 포집된 항산화 물질의 경우 최초 적용시점부터 유의적으로 안정한 항산화 활성을 나타내었고 이후 측정구간 마다 유리 항산화물에 비해 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. ORAC 항산화 안정성 결과에서도 최초 pH 적용시점에서 유리 항산화 물질의 활성에 비해 나노캡슐화 한 항산화물질의 활성이 유의적으로 안정한 결과를 나타내었다. 또한 ORAC 수치의 경우 나노캡슐화 한 항산화물은 2일 경과 시점까지 최초 활성과 유사한 항산화 활성을 유지하다가 유의적으로 감소하기 시작하여 pH 조건에서 항산화 물질의 활성이 유지되는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 캡슐화를 통해 내부에 포집된 항산화 물질이 외부 pH 산화 환경으로부터 안정적으로 유지되어 항산화 안정성이 증진된 것으로 판단된다.

나. 캡슐화 제형에 따른 비교

항산화 물질을 피복소재 간 이온결합을 이용하여 macro, micro, nano의 입자크기에 따라 포집한 결과, 모든 캡슐제형에서 항산화물질의 항산화 안정성이 증진되는 결과를 나타내었다. 입

자 제형에 따른 비교를 하였을 때, size extrusion 방법을 기반으로 gel particle 형태로 제조한 macro 비드와 micro 캡슐의 경우 각각 20%대와 10%대의 포집효율을 나타내었다.

반면, 나노캡슐의 경우 40%이상의 포집효율을 나타내었으며 항산화 활성도 안정적으로 유지하여 효율적인 측면에서 macro, micro 캡슐보다 적합한 것으로 판단되었다. 또한, 제조방법 및 적용형태에 있어 혼합 분산액 형태의 나노캡슐은 음료적용 및 제품화에 있어서도 적용이 용이한 제형으로 판단되었다.

나노캡슐의 피복소재에 따른 결과 비교에서는 키토산/카리기난 나노캡슐의 경우, 체내 소화환경에서 위장환경에서 입자가 분해되어 낮은 안정성을 보인 반면, 키토산/아라비아 검으로 제조한 나노캡슐은 낮은 pH에서 안정적인 입자특성을 유지하였으며 음료적용 조건에서도 내부 포집한 항산화 물질의 활성을 안정적으로 유지하여 적합한 피복소재로 판단되었다. 이러한 결과들을 통해 키토산/아라비아 검을 항산화물질 나노캡슐화 피복소재로 선정하여 캡슐제조조건을 최적화하였다.

다. 캡슐화 조건 최적화

나노캡슐 최적화에서는 기존 항산화 활성을 극대화하던 아사이베리-아스코르브산-트로록스의 혼합 조성물에서 추후 식품적용을 위해 트로록스를 식용의 수용성 비타민 E로 대체하여 사용하였다. 항산화 혼합 조성물을 함유한 키토산/아라비아 검 나노캡슐의 최적 제조조건은 반응 표면분석(response surface methodology, RSM)을 통해 도출하였다.

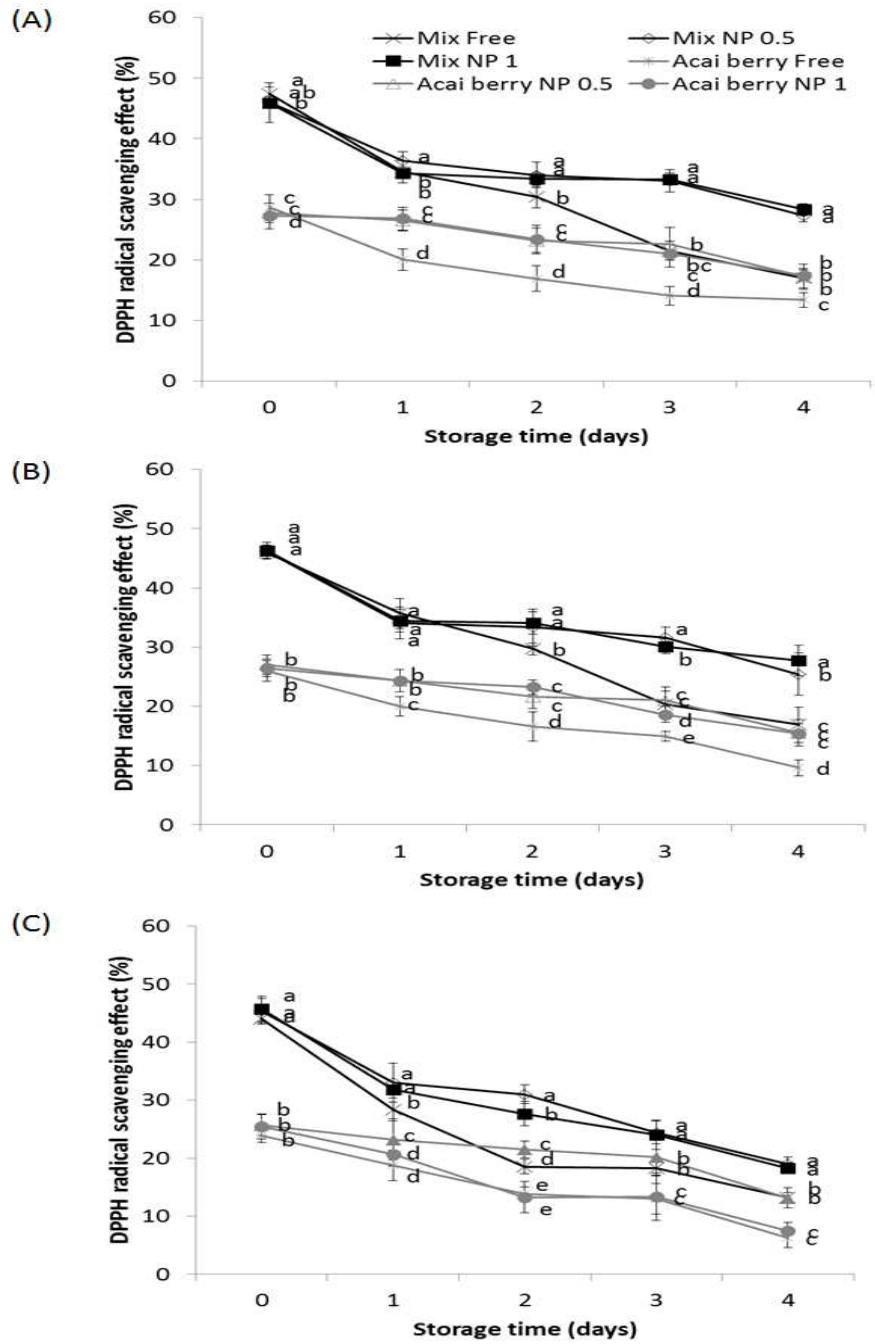


그림 154. pH 조건에 따른 나노캡슐 DPPH 항산화 안정성
 (A) pH 3.7 (B) pH 4.0, (C) pH 5.5

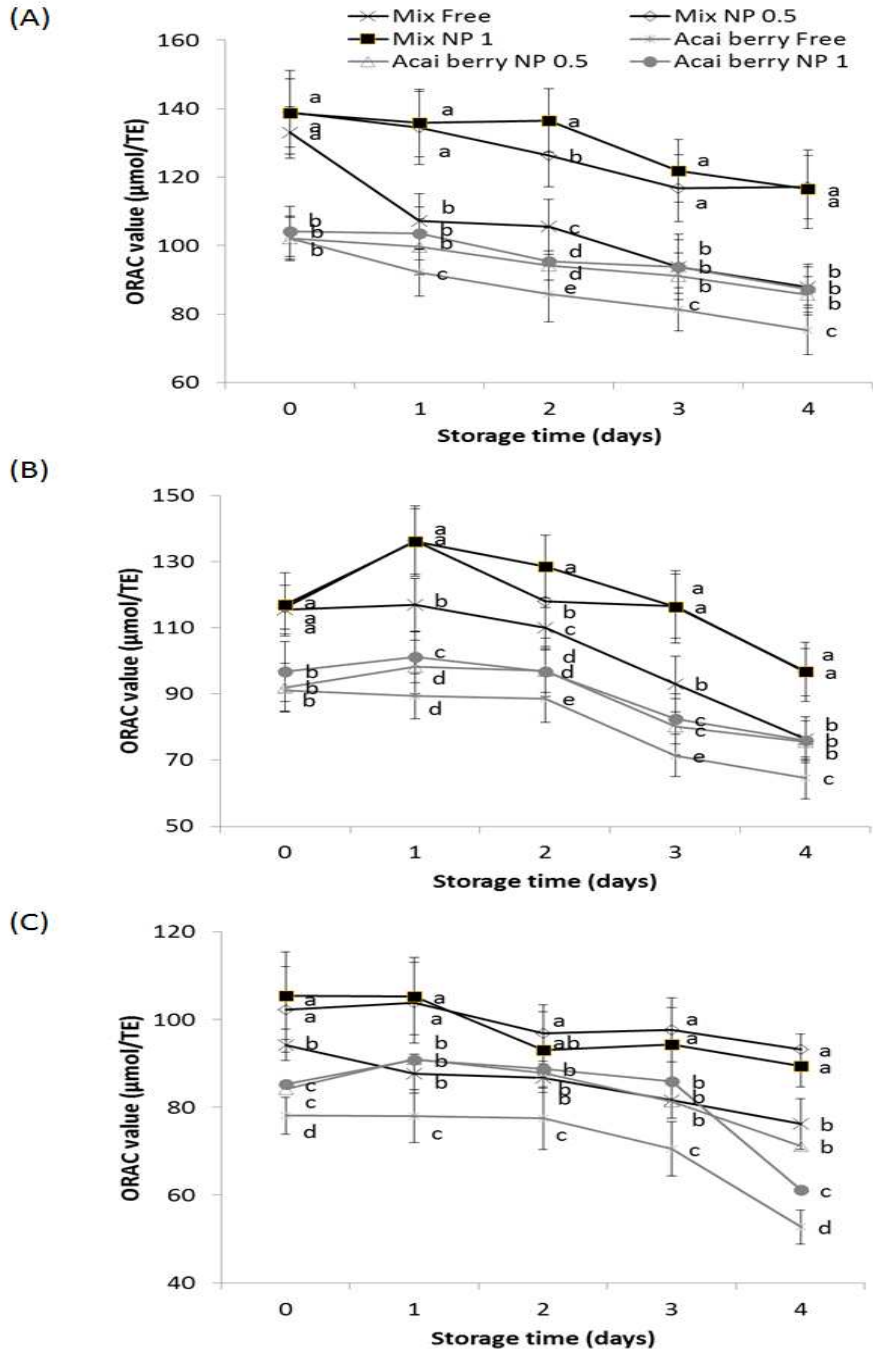


그림 156. pH 조건에 따른 나노캡슐 ORAC 항산화 안정성
 (A) pH 3.7 (B) pH 4.0, (C) pH 5.5

반응표면분석을 위해 나노캡슐 제조조건에서 키토산 농도(X_1)와 아라비아 검 농도(X_2)를 독립변수(X_i)로 설정하였고 이에 따른 입자크기(Y_1)와 분산도(Y_2)의 입자특성을 종속변수로 설정하였다. 독립변수의 유효한 농도범위를 도출하기 위해 키토산과 아라비아 검의 농도를 각각 조절하여 나노입자를 제조한 뒤 입자크기(particle size), 분산도, 산란강도(derived count rate, DCR) 등의 입자특성을 측정하였다 (그림 157). 입자특성 측정결과를 통해 입자가 효과적으로 제조되면서 농도에 따라 입자 특성이 유의적으로 변화하는 키토산과 아라비아 검 농도구간을

0.15-0.35 mg/mL과 0.45-0.85 mg/mL로 각각 설정하였다. 독립변수들은 유효 농도범위 안에서 표 1과 같이 -2, -1, 0, 1, 2의 다섯 단계로 부호화하여 실험값을 나타내어 이후 통계적 분석에 적용하였다.

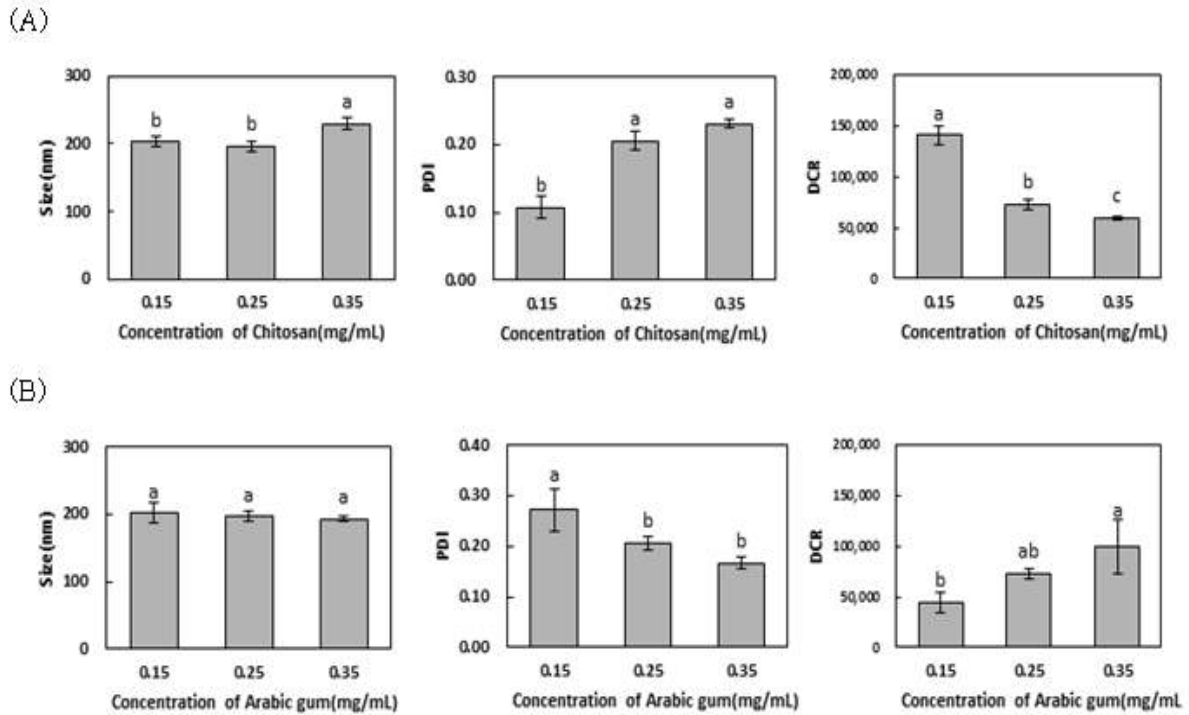


그림 157. 키토산 농도(0.15, 0.25, 0.35 mg/mL)

(A), 아라비아 검 농도(0.45, 0.65, 0.85 mg/mL) (B)에 따른 입자크기, 분산도, 산란강도 측정

설정된 독립변수 구간을 이용한 실험모델은 중심합성계획(central composite design)에 의해 설정한 뒤 총 10개의 실험군을 도출하였다(표 82). 각 실험군에 대한 결과는 Statistical Analysis System(SAS) program을 이용하여 각 영향인자에 대해 모델을 설명할 수 있는 1차 선형효과, 2차 곡선 효과 및 인자 간 관계 2차 다항 회귀식을 구한 뒤, 독립변수에 대한 종속값의 반응표면상태를 3차원 그래프와 등고선(contour plot) 형태로 도출하여 관찰하였다. 키토산/아라비아 검 농도에 따른 고 향산화 나노 캡슐 제조조건에 대한 모델식은 다음과 같다.

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

이 때 b_0 는 절편을 나타내며, b_i , b_{ii} , b_{ij} 는 각각 1차 선형 및 2차 곡선, 인자 교호작용을 나타내는 회귀계수이다.

표 81. 중심합성계획을 이용한 독립변수 수준

Variables	Coded X_i	Coded levels					ΔX
		-2	-1	0	1	2	
Chitosan (mg/mL)	X_1	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.05
Arabic gum (mg/mL)	X_2	0.45	0.55	0.65	0.75	0.85	0.10

표 82. 중심합성계획에 의한 10개 실험조건에 따른 수치

Run Number	Coded variables ¹⁾		Process variables		Size (nm)	PDI	ORAC ($\mu\text{mol}/\text{TE}$)
	X_1	X_2	X_1	X_2			
1	-1	-1	0.20	0.55	191.26	0.19	445.65
2	1	-1	0.30	0.55	226.64	0.23	424.15
3	-1	1	0.20	0.75	184.84	0.14	445.56
4	1	1	0.30	0.75	206.72	0.21	402.32
5	0	0	0.25	0.65	200.08	0.19	369.61
6	0	0	0.25	0.65	196.24	0.21	454.39
7	-2	0	0.15	0.65	202.47	0.11	486.60
8	2	0	0.35	0.65	229.20	0.23	492.67
9	0	-2	0.25	0.45	201.37	0.27	503.27
10	0	2	0.25	0.85	192.98	0.17	434.48

¹⁾ X_1 = Chitosan concentration (mg/mL), X_2 = Arabic gum concentration (mg/mL)

모든 실험군 내 나노입자의 분산도는 0.11에서 0.27 범위로 안정적인 나노캡슐을 형성하였다. 실험구간에 대한 종속변수의 결과값을 다항 회귀분석에 의해 설정된 모델식을 이용하여 독립변수(X_1 = Chitosan 농도 (mg/mL), X_2 = Arabic gum 농도 (mg/mL)들 간의 상호간의 관계를 3차 그래프와 등고선으로 도식화하였다.

입자 크기에 대한 키토산과 아라비아 검의 영향을 3차원 그래프와 등고선 그래프로 나타낸 결과, 키토산과 아라비아 검의 농도가 증가함에 따라 입자크기가 증가되는 경향을 나타냈다. 키토산과 아라비아 검 농도변화에 따른 입자 크기 변화에 대한 정준분석을 한 결과 임계점은 안장점에 있는 것으로 확인되어 능산분석을 실시하였다. 반응표면분석 결과 나노캡슐의 입자크기 최소값은 키토산과 아라비아 검이 각각 0.2 mg/mL, 0.642 mg/mL 일 때 185 nm로 산출되었으며, 나노캡슐 입자크기 최대값은 키토산과 아라비아 검이 각각 0.05 mg/mL, 0.09 mg/mL 일 때 213.71 nm 로 산출되었다(그림 158).

입자 분산도 최적화 분석 결과, 키토산 농도가 증가함에 따라 분산도는 증가하는 경향이 나타났고 아라비아 검 농도가 증가함에 따라 분산도는 감소하는 경향이 나타났다. 키토산과 아라비아 검 농도변화에 따른 입자 분산도 변화에 대한 정준분석을 한 결과 임계점은 안장점에 있는 것으로 확인되었으며 모든 결과에서 유효한 분산수치인 0.3이하를 나타내었다(그림 159).

ORAC 수치 최적화 분석에서는 키토산 농도가 증가함에 따라 ORAC 수치는 감소하는 경향이 나타났고 아라비아 검 농도가 증가함에 따라 ORAC 수치는 증가하는 경향이 나타났다. 키

토산과 아라비아 검 농도변화에 따른 입자 분산도 변화에 대한 정준분석을 한 결과 임계점은 안장점에 있는 것으로 확인되었다(그림 160).

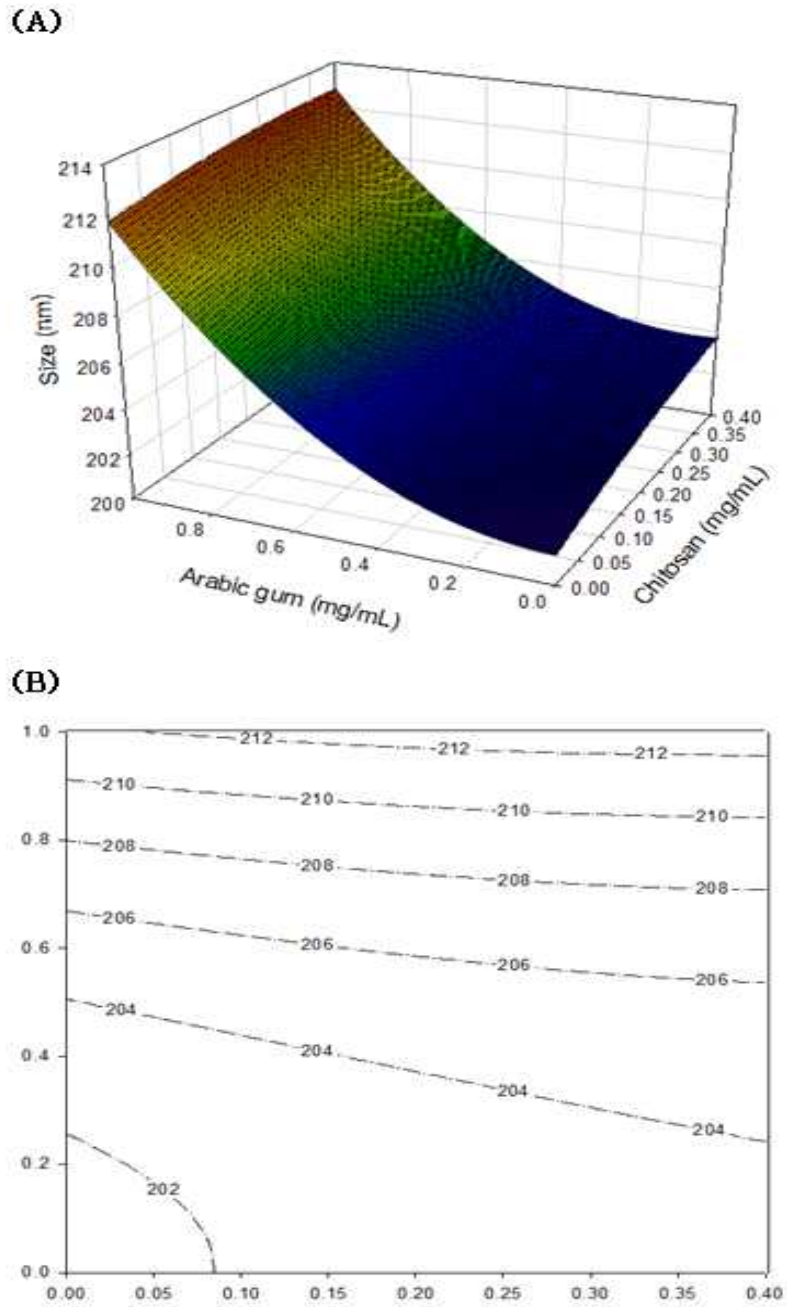
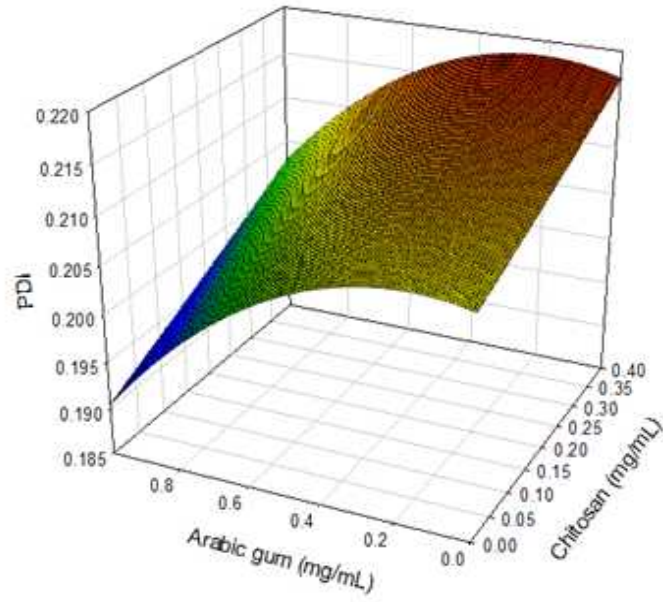


그림 158. 키토산과 아라비아 검 농도에 따른 입자크기의 반응표면분석 결과
(A) 3차원 그래프, (B) 등고선 그래프

(A)



(B)

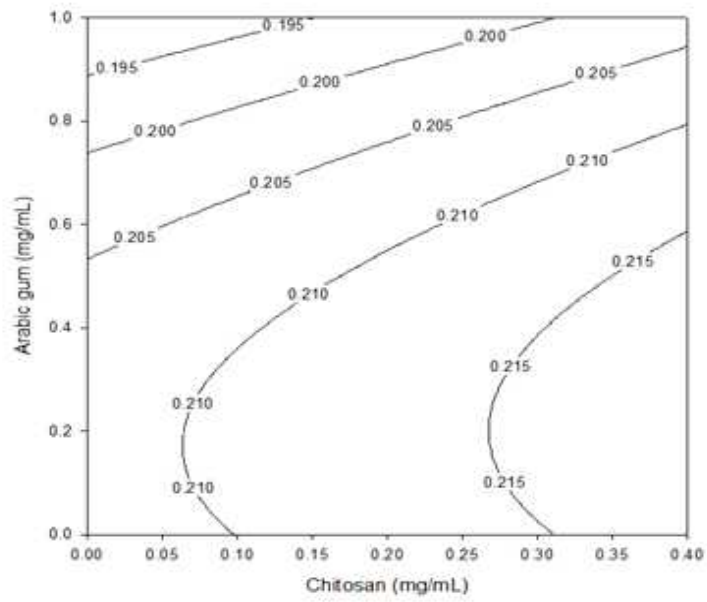
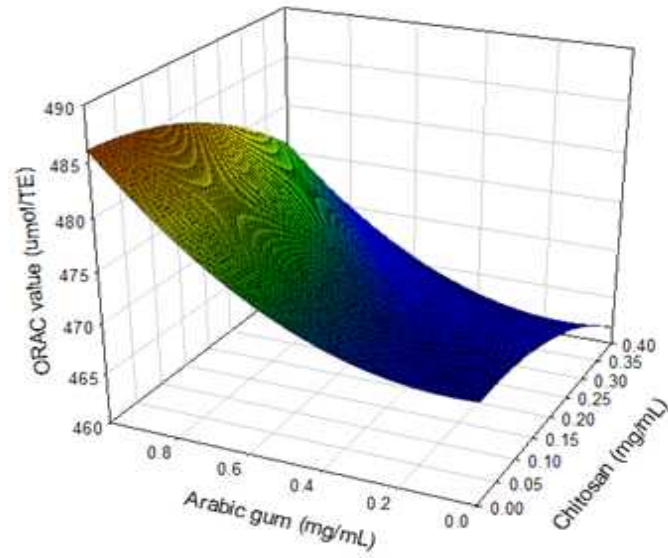


그림 159. 키토산과 아라비아 검 농도에 따른 PDI의 반응표면분석 결과
(A) 3차원 그래프, (B) 등고선 그래프

(A)



(B)

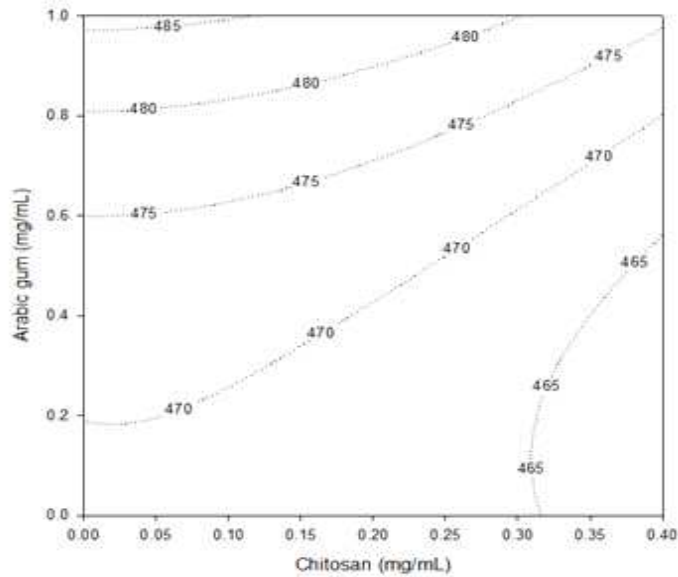


그림 160. 키토산과 아라비아 검 농도에 따른 ORAC 항산화 반응표면분석 결과
(A) 3차원 그래프, (B) 등고선 그래프

라. 주요결과 및 결론

본 연구에서는 캡슐화 기술(encapsulation technique)을 통해 항산화조성물을 피복소재 내부에 포집하여 항산화 안정성을 증진하였다. 항산화물질 함유 캡슐은 피복소재간의 혼합을 통한 이온결합을 기반으로 하여 입자크기에 따라 macro, micro, nano 크기로 제조하였다. 제조한 캡슐은 포집효율, 물리화학적 특성, 그리고 항산화 안정성 측정을 통해 캡슐에 의한 항산화 활성의 증진여부를 평가하였다.

입자크기에 따른 항산화물 함유 캡슐들의 포집효율은 총 페놀 함량 측정을 통해 산출하였으며 그 결과 nano, macro, micro순서로 높은 포집효율을 나타내었다. 나노입자의 포집효율은 모든 제조조건에서 약 40-45%로 나타내어 macro 비드의 약 20-24%에 비해 2배, micro 캡슐의 약 6-8%에 비해 8배 정도 높은 결과를 보여 입자크기에 따른 비교에서 가장 우수한 효율을 나타내었다. 나노 캡슐 제조조건에 따른 분석에서는 피복소재 중 카라기난 농도가 감소할수록 포집효율이 유의적으로 증가하였다.

항산화 안정성 측정 실험에서 캡슐화 하지 않은 유리 항산화 물질들은 저장기간이 경과함에 따라 저해되었다. 반면, 캡슐화에 의해서는 내부에 포집된 항산화 물질이 외부환경으로부터 보호되어 활성의 저해가 감소하였고, 캡슐화에 의한 방출조절로 활성을 나타내는 기간이 연장되었다. 입자크기에 따른 결과로는 pH 4.2, 25°C 환경에서 20일 경과하였을 때, 카라기난 비드에 의해 아사이베리의 활성이 50% 증가하였으며, micro 캡슐에서는 2일 경과시점부터 내부에 포집된 아사이베리의 FRAP 환원능이 캡슐화하지 않은 아사이베리의 활성보다 높게 나타났다. 또한 아사이베리-아스코르브산-트로록스 항산화 조성물을 pH 3.7, 60°C 조건에서 유리상태로 저장하였을 때 4일 경과 후 약 46% 활성 감소율을 보인 반면, 나노캡슐화 하였을 때 약 15%의 활성 감소율을 나타내었다. 이를 통해 나노캡슐화에 따른 항산화 안정성 증진이 가장 우수한 결과를 나타내었다.

포집효율, 항산화 안정성 및 입자 안정성 결과를 종합하여 나노캡슐 제형이 가장 효과적인 제형으로 결정하였으며 이때 제조조건인 키토산과 아라비아 검을 독립변수로 하여 반응표면분석을 통해 최적 제조조건을 산출하였다. 내부물질로는 기존 1차년도에서 도출한 최적 항산화 조성물인 아사이베리-아스코르브산-트로록스 혼합물을 사용하였으며 이후 음료적용을 위해 톨록스를 수용성 비타민 E로 교체하였다. 반응표면 분석을 통해 키토산과 아라비아 검이 각각 0.2 mg/mL, 0.642 mg/mL 일 때 185 nm로 산출되었으며, 나노캡슐 입자크기 최대값은 키토산과 아라비아 검이 각각 0.05 mg/mL, 0.09 mg/mL 일 때 213.71 nm 로 산출되었다. 본 연구를 통해 도출한 최적 항산화 활성을 나타내는 나노캡슐은 추후 3차년도 연구에서 판매 중에 있는 항산화 관련 음료제품과의 비교를 통해 제품화 및 음료적용 가능성을 타진할 예정이다.

3. 항산화 효능 향상을 위한 최적의 식물발효균 생물전환공정 개발

가. 과채류 농축액 확보

8종의 베리 농축액(블랙베리, 아사이베리, 크랜베리, 아로니아, 산머루, 라즈베리, 블루베리, 적포도주스)과 2종의 채소류 농축액(양배추, 시금치)을 (주)동원으로부터 제공받음(표 83). 제공받은 농축액은 냉동 보관하였다.

나. 과채류 농축액 조사

(1) 과채류 농축액의 고형분 함량

표 83. ㈜동원으로부터 제공받은 과채류 농축액 목록

종류	블랙베리	아사이베리	크랜베리	아로니아	산머루
사진					
함량	100%	99.9%	100%	100%	100%
종류	시금치	라즈베리	블루베리	양배추	적포도주스
사진					
함량	100%	100%	100%	100%	100%

(가) 실험개요

과채류 농축액의 경우, 원재료의 재배지, 기후 등의 조건에 의해 맛, 향, 당도 등의 여러 요인들이 불규칙하다는 특성을 지니고 있음. 특히, 농축액을 건조하여 측정하는 고형분 함량의 경우 g당 항산화능을 비교할 수 있는 중요한 지표로 이용됨. 따라서 추후 진행할 과채류 농축액의 g당 항산화능 비교를 위해 각각의 과채류 농축액들의 고형분 무게를 측정하고자한다.

(나) 실험방법

과채류 농축액의 고형분 함량 측정은 동결건조법을 이용하여 수행하였음. 각각의 과채류 농축액을 50 mL tube에 1 mL씩 분주하여 -80℃의 초저온 냉동고(ilSHinBioBase, Korea)에서 48시간 동안 시료를 냉동 한 후 동결건조기(ilSHinBioBase, Korea)를 이용하여 72시간 동안 동결건조 하였음. 동결건조 전·후의 무게를 측정하여 그 차이를 계산하여 고형분 함량을 분석하였다.

(다) 실험결과

고형분 함량 측정 결과 적포도주스, 산머루, 라즈베리, 블랙베리 농축액의 경우 0.8 g/mL이 상의 높은 고형분 함량을 나타냈으며, 아사이베리 농축액은 약 0.0011 g/mL로 가장 낮은 고

형분 함량을 나타냈다(그림 161.).

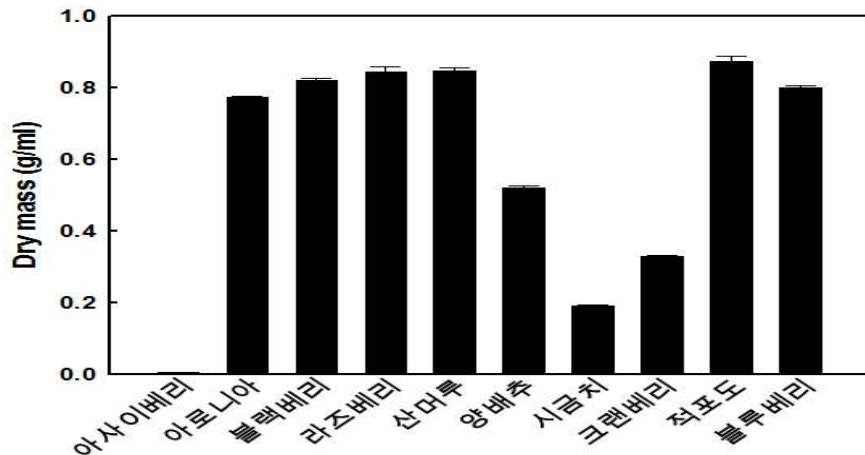


그림161. 과채류 농축액의 고형분 함량

대부분의 과채류 농축액의 고형분 함량은 1차년도와 큰 차이를 보이지 않았으나, 크랜베리의 경우 고형분 함량이 1년차 시료의 약 절반 수준으로 나타났음. 이와 같은 차이는 원재료의 차이로 인해 발생한 것으로 사료된다(표 84.).

표 84. 과채류 농축액의 고형분 함량

번호	과채류 농축액	1차년도 과채류 농축액 고형분 함량(g/mL)	2차년도 과채류 농축액 고형분 함량(g/mL)
1	아사이베리	0.02 ± 0.00	0.0011 ± 0.000
2	아로니아	0.68 ± 0.05	0.7747 ± 0.0016
3	블랙베리	0.81 ± 0.03	0.8193 ± 0.069
4	라즈베리	0.80 ± 0.02	0.8442 ± 0.0142
5	산머루	0.86 ± 0.05	0.8476 ± 0.0078
6	양배추	0.67 ± 0.04	0.5195 ± 0.0076
7	시금치	0.23 ± 0.01	0.1926 ± 0.0029
8	크랜베리	0.71 ± 0.02	0.3296 ± 0.0017
9	적포도주스	0.86 ± 0.03	0.8723 ± 0.0168
10	블루베리	0.76 ± 0.04	0.8009 ± 0.0041

(2) 과채류 농축액의 당 함량 측정

(가) 실험개요

과채류 농축액과 초산균을 이용한 발효물을 제작하기 위해 과채류 농축액의 포도당 및 자일로스 함량을 측정하였다.

일정 이상의 당농도에서는 미생물의 생육이 저해 받을 수 있기 때문에, 배지의 당농도를 초산균이 생육하기에 적합한 농도로 만드는 것이 중요하다.

(나) 실험방법

포도당 농도와 자일로스 농도 측정은 각 시료를 적정농도로 희석한 후 High Performance Liquid Chromatography (HPLC 1200 Series, Agilent Technologies, USA)를 이용하여 측정하였음. brix 당도 측정은 과채류 농축액 원액을 당도계(PAL-a Brix 0~85%, Atago, Japan)를 이용하여 측정하였다.

실험에서 얻어진 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(다) 실험결과

과채류 농축액의 포도당 함량의 경우, 블랙베리가 294.28 ± 0.89 g/L로 가장 많은 포도당을 함유한 것으로 나타났으며 가장 낮은 포도당 함량을 보인 과채류 농축액은 아사이베리로 0.20 ± 0.00 g/L의 포도당을 함유한 것으로 나타났다(그림 162).

과채류 농축액의 자일로스 함량의 경우, 적포도주스가 452.10 ± 2.21 g/L로 가장 많은 자일로스를 함유한 것으로 나타났으며, 가장 낮은 자일로스 함량을 보인 과채류 농축액은 아사이베리로 자일로스가 검출되지 않았다.

채소류인 시금치와 양배추 농축액은 베리류 농축액에 비하여 포도당 및 자일로스 함량이 낮게 나타났음. 특히 시금치의 경우 포도당은 16.88 ± 0.05 g/L, 자일로스는 13.04 ± 0.03 g/L로 아사이베리를 제외하고는 가장 낮았다.

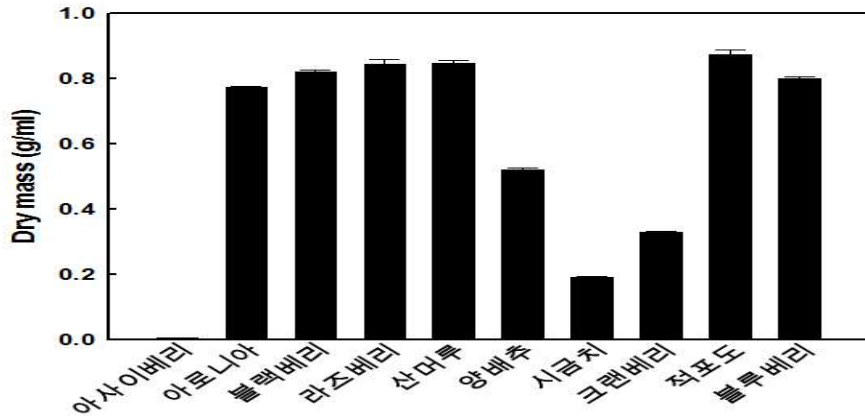


그림161. 과채류 농축액의 고형분 함량

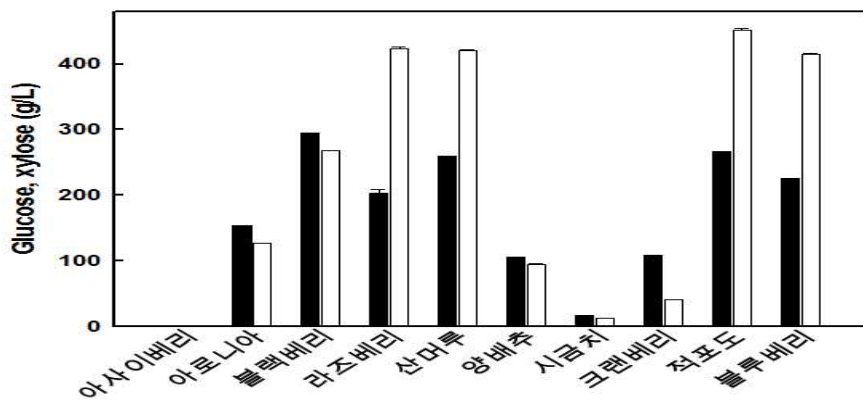


그림 162. 과채류 농축액의 포도당 및 자일로스 함량

Brix 당도는 당 함량이 낮은 과채류 농축액이 대체적으로 낮게 나타났음(표 85). 당이 거의 함유되어있지 않던 아사이베리는 Brix 당도가 0.10 ± 00 로 가장 낮게 나타났으며, 포도당과 자일로스를 합쳐 약 680 g/L의 당을 포함한 산머루 농축액의 경우 brix 당도가 66.23 ± 0.12 로 가장 높게 나타났다.

아로니아의 경우 당 함량이 블랙베리, 라즈베리, 산머루, 적포도주스, 블루베리 농축액 보다 낮았으나 brix 당도는 거의 비슷한 수준을 보였음. 아로니아에는 단당류 뿐 만 아니라 다당류도 상당량 포함되어 있을 것이라고 사료된다.

표 85. 과채류 농축액의 당 함량

번호	과채류농축액	포도당 함량(g/L)	자일로스 함량(g/L)	Brix
1	아사이베리	0.20 ± 0.00	N/D	0.10 ± 0.00
2	아로니아	153.95 ± 0.31	127.14 ± 0.62	62.37 ± 0.06
3	블랙베리	294.28 ± 0.89	268.52 ± 0.22	66.00 ± 0.00
4	라즈베리	203.52 ± 4.99	423.62 ± 2.66	64.40 ± 0.20
5	산머루	259.82 ± 0.17	420.34 ± 1.85	66.23 ± 0.12
6	양배추	105.55 ± 0.83	95.33 ± 0.54	32.33 ± 0.06
7	시금치	16.88 ± 0.05	13.04 ± 0.03	17.07 ± 0.06
8	크랜베리	109.28 ± 0.04	40.75 ± 0.02	28.10 ± 0.00
9	적포도주스	266.73 ± 0.52	452.10 ± 2.21	63.60 ± 0.17
10	블루베리	255.65 ± 0.31	414.35 ± 1.84	63.00 ± 0.10

(3) 과채류 농축액의 pH 측정

(가) 실험개요

초산균의 경우 pH에 대한 내성이 우수하지 않기 때문에 산성조건에서는 생육이 억제됨. 그러므로 발효물 제작 시 초산균의 생육 조건에 알맞게 pH를 조절해 주기 위해 각각의 과채류 농축액의 pH를 측정하였다.

(나) 실험방법

본 실험에서는 pH meter (Mettler Toledo, USA)를 이용하여 pH를 측정하였음. 시료를 적정량 취하여 50 mL tube에 분주 한 후 총 3회에 걸쳐 측정을 실행하였다. 실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였다.

(다) 실험결과

과채류 농축액의 pH를 측정한 결과, 모든 과채류 농축액은 pH 4.0 이하의 낮은 pH를 나타냈음. 양배추 농축액의 경우, 4.79로 상대적으로 높은 pH를 나타냈으며, 시금치 농축액의 경우 과채류 농축액 중 가장 높은 6.14의 pH를 나타냈다(표 86).

표 86. 과채류 농축액의 pH

번호	과채류 농축액	pH
1	아사이베리	3.16 ± 0.01
2	아로니아	3.62 ± 0.01
3	블랙베리	3.19 ± 0.01
4	라즈베리	2.76 ± 0.01
5	산머루	3.67 ± 0.01
6	양배추	4.79 ± 0.00
7	시금치	6.14 ± 0.01
8	크랜베리	2.49 ± 0.01
9	적포도주스	3.28 ± 0.01
10	블루베리	2.72 ± 0.00

(4) 과채류 농축액의 항산화능 측정

(가) 실험개요

ORAC assay는 형광물질인 fluorescein을 사용하여 항산화능을 측정하는 방법으로 fluorescence가 감소하는 속도를 측정하여 항산화능을 평가하는 방법이다(그림 163).

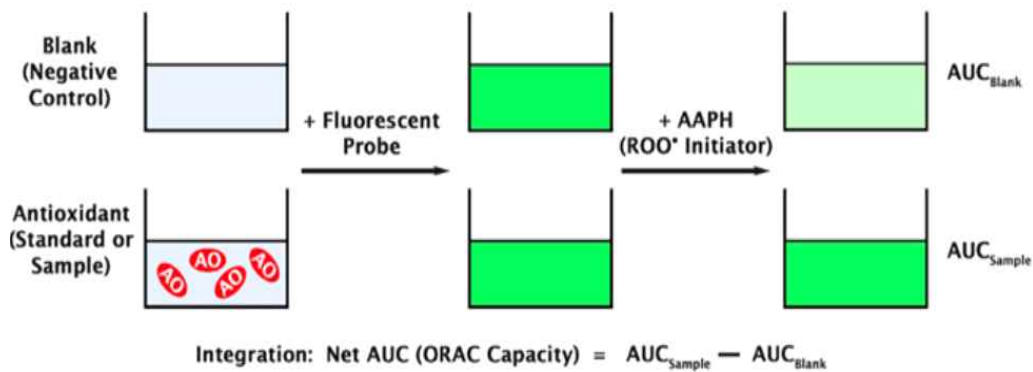


그림 163. ORAC assay의 원리

과채류 농축액의 항산화능을 평가하기 위하여 ORAC assay kit (Cell Biolabs, USA)를 이용하여 각각의 과채류 농축액의 발효 전 항산화능을 측정하였다.

(나) 실험방법

본 실험에서는 ORAC assay kit (Cell Biolabs, USA)를 제조자의 제시방법에 따라 사용하였다. 시료를 적정농도로 희석하여 black 96well plate에 25 μL 씩 분주하고 1X fluorescein solution을 150 μL 씩 첨가하여 37°C에서 30분간 안정화 후, 80 mg/mL의 free radical initiator를 25 μL 씩 추가하여 반응을 시작하였다.

Microplate fluorometer (Fluoroskan Ascen, USA)를 이용하여 485 nm에서 전자여기 후 535 nm에서 방출되는 조건으로 37°C에서 60분간 1분마다 fluorescence를 측정하여 감소율을 평가하였다.

자료 처리의 경우, 시료첨가구와 무 첨가구의 area under curve (AUC)값을 나타낸 후 표준 물질인 trolox를 사용하여 작성한 검량선에 대입하여 분석하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(다) 실험결과

ORAC assay 결과, 아사이베리가 $2628.44 \pm 40.13 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 가장 높은 항산화능을 나타냈으며, 아로니아, 블랙베리, 시금치, 크랜베리 순으로 높은 항산화능이 측정되었다(그림 164).

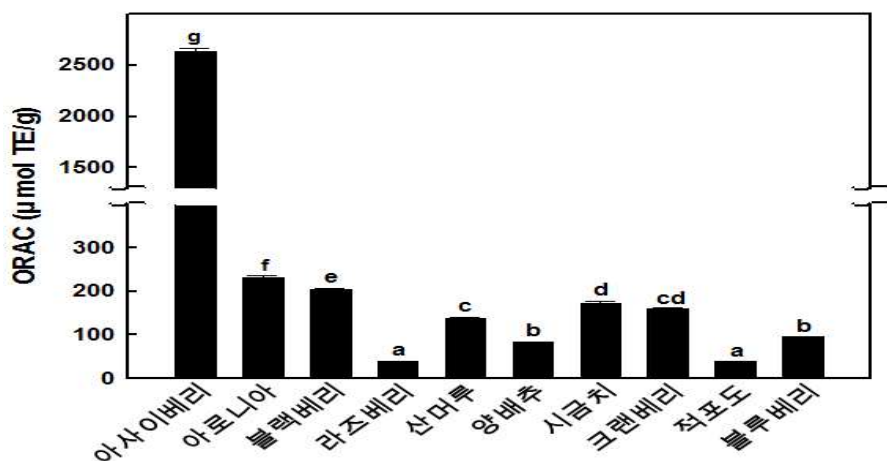


그림 164. ORAC assay를 이용하여 측정된 과채류 농축액의 항산화능

베리류의 경우 항산화능이 높다고 알려져 있으나 본 실험에서는 라즈베리와 블루베리의 경우, 각각 $39.37 \pm 0.37 \mu\text{mol TE/g}$, $94.56 \pm 0.80 \mu\text{mol TE/g}$ 로 시금치의 항산화능 $173.18 \pm 3.17 \mu\text{mol TE/g}$ 보다 낮은 항산화능을 나타내었다(표 87).

표 87. ORAC assay를 이용하여 측정된 과채류 농축액의 항산화능

번호	과채류 농축액	항산화능 ($\mu\text{mol TE/g}$)
1	아사이베리	2628.44 \pm 40.13
2	아로니아	231.32 \pm 4.67
3	블랙베리	203.04 \pm 4.03
4	라즈베리	39.37 \pm 0.37
5	산머루	137.74 \pm 2.88
6	양배추	83.49 \pm 0.25
7	시금치	173.18 \pm 3.17
8	크랜베리	160.91 \pm 0.82
9	적포도주스	39.03 \pm 0.81
10	블루베리	94.56 \pm 0.80

(5) 과채류 농축액의 총 페놀 함량 측정

(가) 실험개요

폴리페놀은 자연계에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물로서 광합성에 의해 생성된 식물의 색소와 쓴맛을 내는 성분이며 식물세포의 생성 및 활성화에 영향을 주는 것으로 알려져 있음. 대표적인 생리활성기능은 항산화, 항암 및 발암의 과정에 관여하는 변이원성 억제작용, 항염증작용, 항균작용 등을 들 수 있다.

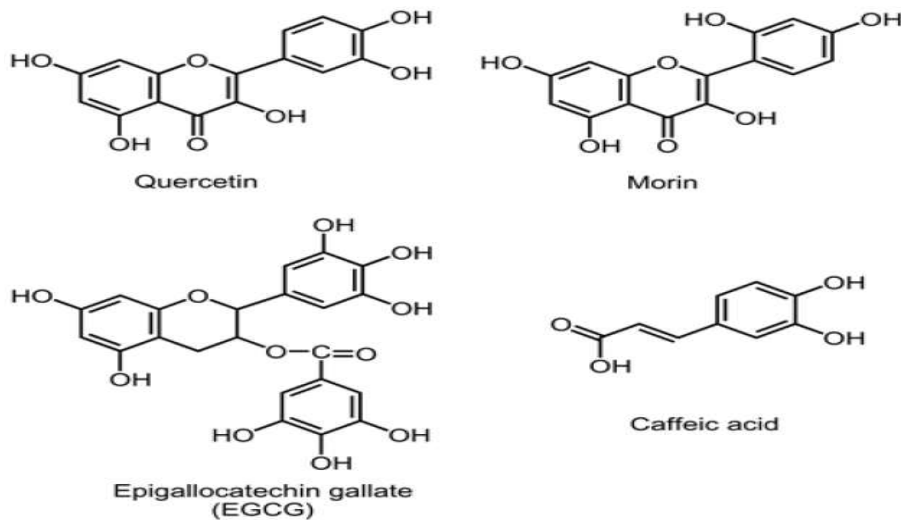


그림165. 폴리페놀 화합물의 화학적 구조

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu의 방법을 변형하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 각 시료의 페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. Folin-Ciocalteu's reagent (페놀시약 : 텅스텐산나트륨, 몰리브덴산나트륨, 인산, 황산으로 조

제)를 사용함. 황산 산성 하에서는 폴리브덴산이나 텅스텐산 모두 헤테로폴린산이 되어 인산을 둘러싸며 거대분자를 형성(인폴리브덴산, 이텅스텐산)하며 이들이 페놀기에 의해 환원되면 폴리브덴블루, 텅스텐블루가 됨. 이를 흡광광도계를 이용하여 측정하였다.

과채류 농축액의 총 페놀 함량을 측정하여 항산화능과 총 페놀 함량이 관련이 있는지 확인하고자 실험을 진행하였다.

(나) 실험방법

증류수를 이용하여 적정농도로 희석한 과채류 농축액 80 μL에 10% Folin-Ciocalteus's phenol reagent 80 μL 및 2% Na₂CO₃ 용액 80 μL를 혼합하였다.

혼합액을 상온에서 1시간 동안 암반응 한 후, microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

표준물질로는 galic acid를 사용하였으며, 이를 이용하여 작성한 검량선에 측정값을 대입하여 결과값을 도출하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(다) 실험결과

총 페놀 함량 측정 결과, 아사이베리가 2708.64 ± 20.12 mg GAE/g으로 가장 높은 총 페놀 함량을 나타냈으며(표 6.), 아로니아, 블랙베리, 크랜베리, 시금치, 산머루, 양배추 순으로 높은 총 페놀 함량이 측정되었다(그림 166).

아사이베리의 경우, 높은 항산화능을 나타낸 만큼 다른 과채류에 비해 약 77배 이상의 페놀 함량을 나타냈다.

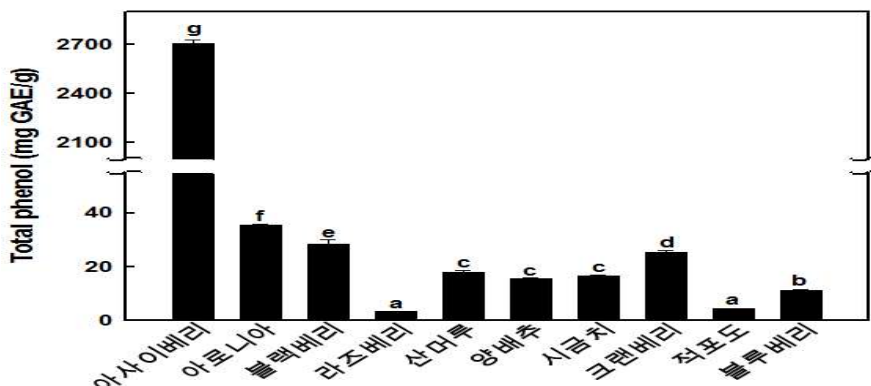


그림166. 과채류 농축액의 총 페놀 함량

가장 항산화능이 낮았던 적포도주스와 라즈베리의 경우 총 페놀 함량이 4.38 ± 0.15 mg GAE/g와 3.38 ± 0.05 mg GAE/g로 가장 낮게 나타났다.

표 88. 과채류 농축액의 총 페놀 함량

번호	과채류 농축액	총 페놀 함량(mg GAE/g)
1	아사이베리	2708.64 ± 20.12
2	아로니아	35.50 ± 0.47
3	블랙베리	28.39 ± 1.66
4	라즈베리	3.38 ± 0.05
5	산머루	18.05 ± 0.65
6	양배추	15.73 ± 0.09
7	시금치	16.65 ± 0.37
8	크랜베리	25.35 ± 0.74
9	적포도주스	4.38 ± 0.15
10	블루베리	11.28 ± 0.24

대부분의 과채류 농축액에서 항산화능이 높은 순서대로 총 페놀 함량이 높은 것으로 나타났음. 이 실험 결과를 통해 항산화능과 총 페놀 함량 간의 상관관계가 있다고 판단하였다.

(6) 과채류 농축액의 총 플라보노이드 함량 측정

(가) 실험개요

플라보노이드는 식품에 널리 분포하는 노란색 계통의 색소로, 페닐기 2개가 C3 사슬을 매개하여 결합한 탄소골격구조로 되어있음. 약 4,000종 이상이 밝혀져 있으며, 항산화능이 우수하다고 알려져 있다.

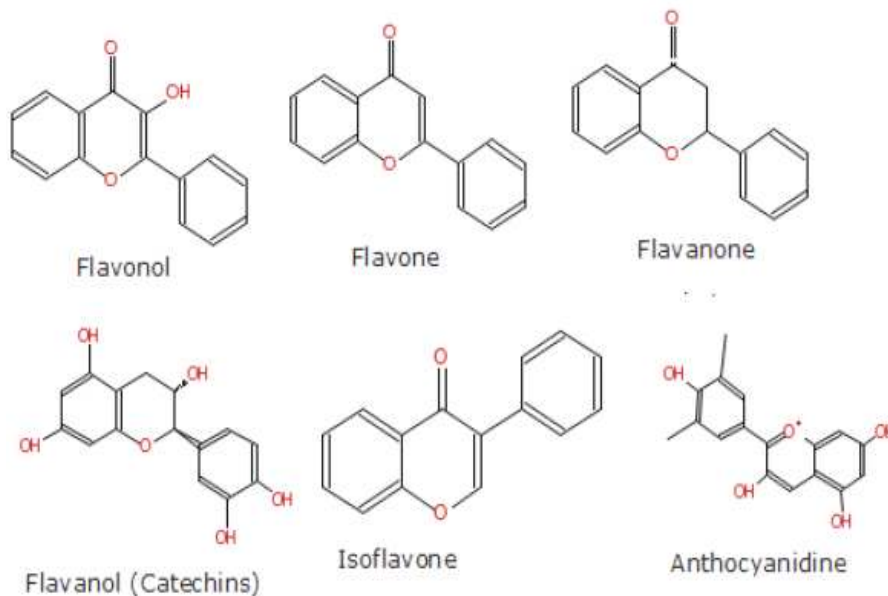


그림167. 플라보노이드 화합물의 화학적 구조

총 플라보노이드 함량은 플라보노이드에 알칼리를 작용시키면 hesperidin과 naringin 등의 flavan, 또는 수용성 flavonol 배당체가 황색을 나타내는 것을 이용하여 측정함. 이때의 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 시료 내의 총 flavonoid 함량을 산출한다.

과채류 농축액의 총 플라보노이드 함량을 측정하여, 발효 전·후 항산화능과 총 플라보노이드 함량이 관련이 있는지 확인하고자 실험을 진행하였다.

(나) 실험방법

총 플라보노이드 함량은 논문을 참고하여 측정하였음. 50% methanol을 이용하여 적정농도로 희석한 시료 50 μ L에 deiehtylene glycol 500 μ L를 가하여 혼합한다.

그 후 1 N NaOH 50 μ L를 첨가하여 37°C로 설정된 heat block (FinePCR, Korea)에서 1시간 동안 반응하고, 반응 후 반응액 200 μ L를 덜어 96 well plate에 분주함. 96 well plate에 분주된 시료를 microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정한다.

표준물질로는 naringin을 사용하였으며, 이를 이용하여 작성한 표준검량곡선으로부터 결과 값을 도출하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

(다) 실험결과

총 플라보노이드 함량 측정 결과, 아사이베리가 762.457 ± 40.22 mg NAE/g으로 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 나타냈으며(표 41.), 아로니아, 시금치 순으로 높은 총 플라보노이드 함량이 측정되었다(그림 168).

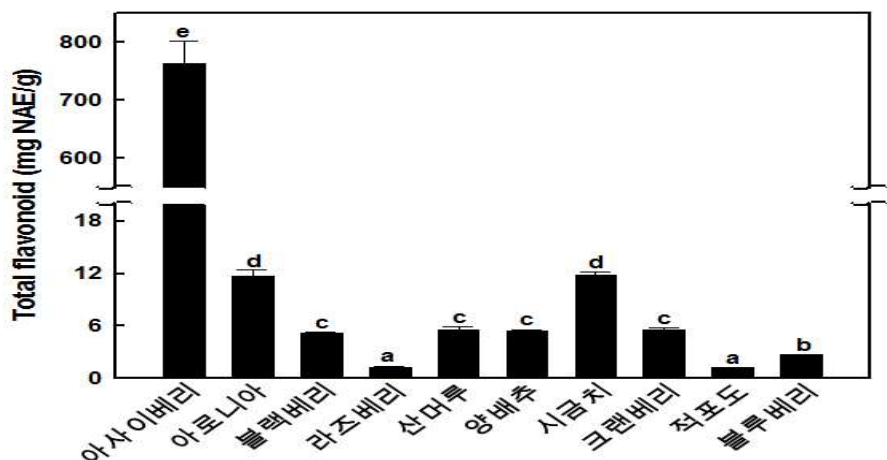


그림168. 과채류 농축액의 총 플라보노이드 함량

아사이베리의 경우, 총 페놀 함량에 이어 총 플라보노이드 함량도 가장 높은 것으로 나타났으며, 이는 다른 과채류에 비해 약 63배 이상 높은 수치임. 이러한 결과로 보아 아사이베리의 낮은 고형분량 대비 높은 항산화능은 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량에 기초한 것으로 사료된다.

시금치의 경우 높은 항산화능에 비해 낮은 총 페놀 함량을 나타냈지만, 높은 총 플라보노이드 함량을 나타냈음. 따라서 시금치의 높은 항산화능은 높은 총 플라보노이드 함량에 기초한 것으로 사료된다.

표 89. 과채류 농축액의 총 플라보노이드 함량

번호	과채류 농축액	총 플라보노이드 함량(mg NAE/g)
1	아사이베리	762.457 ± 40.22
2	아로니아	11.66 ± 0.71
3	블랙베리	5.23 ± 0.11
4	라즈베리	1.29 ± 0.03
5	산머루	5.58 ± 0.30
6	양배추	5.44 ± 0.14
7	시금치	11.82 ± 0.35
8	크랜베리	5.55 ± 0.22
9	적포도주스	1.21 ± 0.05
10	블루베리	2.66 ± 0.06

가장 항산화능이 낮았던 적포도와 라즈베리는 총 페놀 함량과 마찬가지로 총 플라보노이드 함량이 각각 1.21 ± 0.05 mg NAE/g 와 1.29 ± 0.03 mg NAE/g 로 가장 낮은 결과를 나타내었다.

다. 초산균을 이용한 발효 조건 최적화

(1) 초산균 목록

발효에 이용한 4종의 초산균(KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011)은 각각 미생물자원센터(KCTC)와 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받았음(표 90).

분양받은 초산균은 각 분양기관에서 첨부하는 방법에 따라 활성화 시켰으며, 30% 글리세롤과 1:1로 섞어 -80℃에서 냉동보관 하였다.

표 90. 식물유산균 목록

균주 번호	균주	분양기관
KCTC22319	<i>Acetobacter pomorum</i>	미생물자원센터
KCTC22322	<i>Acetobacter pasteurianus</i> subsp. <i>pasteurianus</i>	미생물자원센터
KCCM32831	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	한국미생물보존센터
KCCM40011	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	한국미생물보존센터

(2) 발효조건 설정

(가) 실험개요

과채류를 이용한 발효를 진행하기 위해 초산균의 배양 특성을 파악하고자 아래와 같은 실험을 진행하였다.

사용되는 탄소원 및 조건에 따른 초산균의 생육 및 대사산물을 각 시간별로 시료를 채취하여 분석하였다.

(나) 실험방법

보편적으로 초산균 배양에 이용되는 GYPE (yeast extract 2g/L, peptone 3g/L, acetate 10%, glucose 20 g/L, ethanol 3%(v/v))와 효모균주 배양에 보편적으로 이용되는 YPD (yeast extract 10 g/L, peptone 20 g/L, glucose 20g/L)를 이용하여 각각 초산균을 배양하였다.

발효 균주로는 분양 받은 4종의 초산균(KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011)을 모두 이용하였으며, 30℃와 200 rpm 조건에서 총 부피 100 mL로 120시간 동안 배양하였다. 그 후 교반속도에 따른 초산균의 생육 정도를 조사하기 위해 100 rpm, 200 rpm 조건에서 각각 non-baffled flask 와 baffled flask를 이용하여 총 부피 100 mL로 72시간동안 초산균의 성장도 차이를 측정하였음. 시료는 24시간 마다 채취하여 UV-visible spectrophotometer (Biomate 5, Thermo, NY)로 균주 성장을 측정하였음. 배양온도는 30℃로 통일하였으며, 배양용 배지는 이전 실험에서 보다 효과적인 것으로 확인된 YPD를 이용하였다.

채취한 시료는 HPLC를 이용하여 포도당, 에탄올, 초산 등을 분석하였다.

(다) 실험결과

GYPE를 배지로 이용한 초산균 배양 결과, 4종류의 균주 모두 기질로 포도당을 이용하지 않고 에탄올을 사용하여 초산을 생합성하는 것을 확인 할 수 있었다(그림 169).

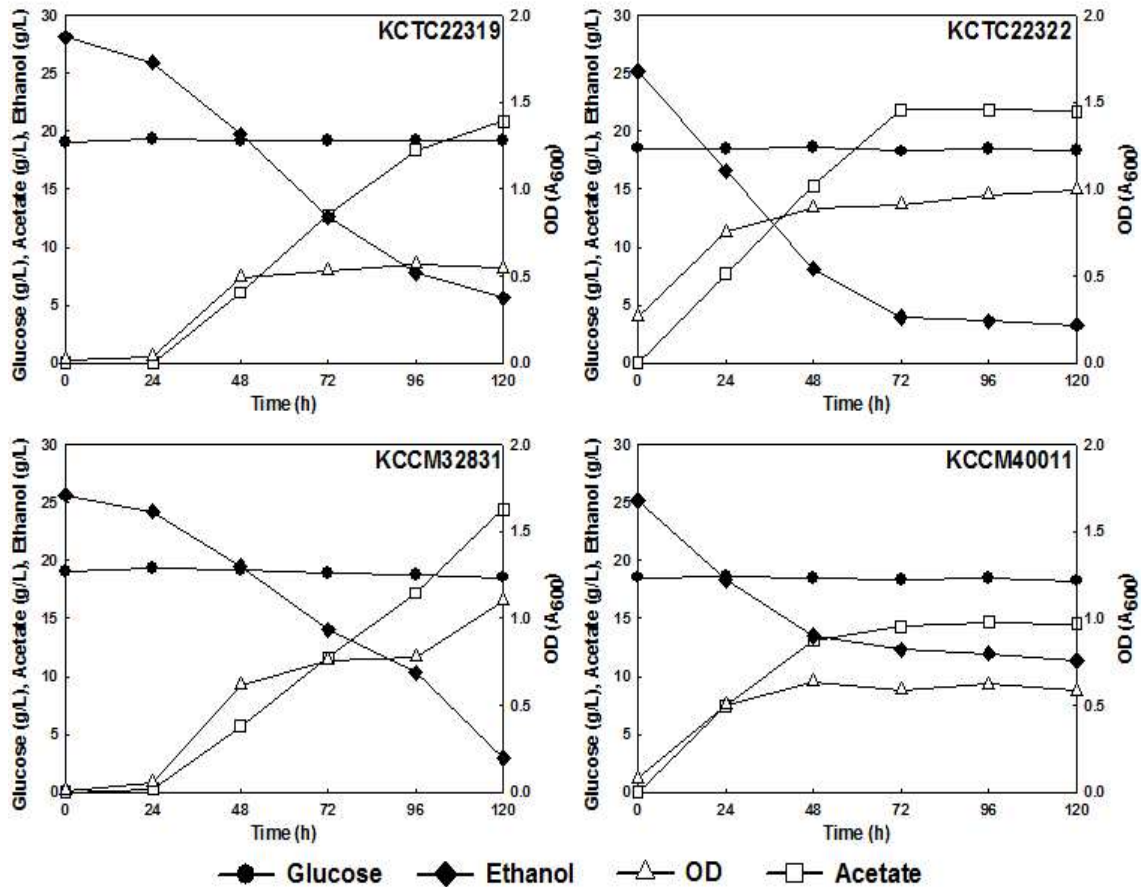


그림 169. GYPE를 이용한 초산균 배양

균주 성장의 경우, KCCM40011 균주를 제외한 3개의 균주가 약 OD 1.5까지 성장하는 것을 확인 할 수 있었으며, 가장 빠른 성장 속도를 보인 균주는 KCTC22322였다.

KCTC22322 균주의 경우 약 72시간만에 균체량이 OD 1.5까지 성장한 반면, KCTC22319와 KCCM32831 균주의 경우 120시간까지 배양을 진행해야 균체량이 OD 1.5 까지 성장할 수 있는 것으로 나타났다.

초산생성의 경우, 균주 성장과 동일한 양상을 나타냈음. KCCM40011 균주를 제외한 3개의 균주가 약 20 g/L의 초산을 생성하는 것을 확인 할 수 있었으며 가장 빠른 초산 생성속도를 보인 균주는 균주 성장과 동일하게 KCTC22322였음. KCTC22322 균주의 이러한 초산 생성속도의 차이는 성장속도 차이로 인한 것으로 사료된다.

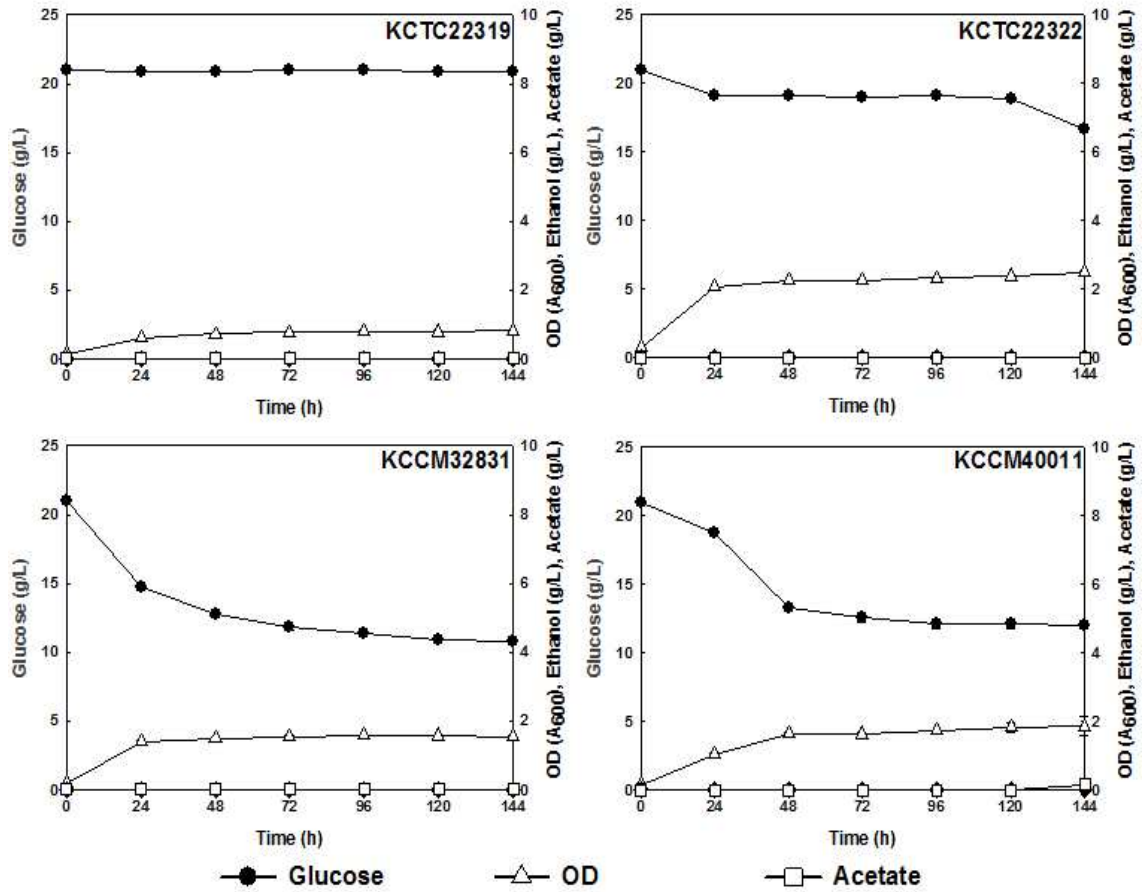


그림 170. YPD를 이용한 초산균 배양

추가적으로, 에탄올을 첨가하지 않은 배지인 YPD 배지에서 초산균을 배양한 결과, KCTC22319 균주를 제외한 3개의 균주는 포도당을 대사하였음(그림 170). 또한 KCTC22319 균주를 제외한 3개 균주는 GYPE 배지에서 초산균을 배양했을 경우 보다 약 OD 2.0 정도의 더 높은 균체량을 확보 할 수 있었음. 하지만 초산의 생합성은 확인 할 수 없었다.

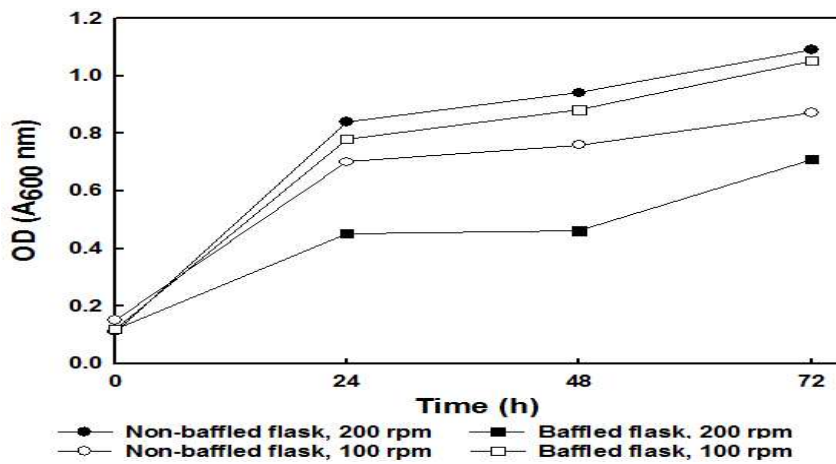


그림 171. 교반속도 및 플라스크 조건별 초산균 배양

초산균의 경우, 산소가 풍부한 조건에서 더 잘 생육한다고 알려져 있기 때문에 이러한 산소 전달을 증진시키기 위해 교반속도별, 플라스크별 초산균의 성장을 조사하였음. 그 결과, 초산균의 성장 속도가 각각의 조건별로 차이가 나는 것을 확인하였다(그림 171).

가장 빠르고 많은 균체성장을 보인 조건은 non-baffled flask를 이용하여 200 rpm 조건으로 배양을 진행한 결과였으며, 가장 낮은 조건인 baffled flask, 200 rpm 조건에 비해 약 1.54배 이상의 균체 성장량을 보였다.

가장 산소전달이 높을 것으로 예상되었던 baffled flask, 200 rpm 조건의 경우, 시간이 경과함에 따라 많은 양의 거품이 발생하였고, 이로 인해 산소전달이 저해 받아 생육이 더딘 것으로 사료되었다.

또한 비슷한 맥락으로, non-baffled flask, 100 rpm조건에 비해 baffled flask, 100 rpm조건에서의 초산균 배양 시 약 1.21배 이상의 균체성장을 보였다.

또한, baffled flask, 100 rpm의 경우엔 non-baffled flask를 이용한 200 rpm조건에서의 초산균 배양 결과와 유사한 균체성장을 보였다.

(라) 결론

초산균 배양 시 보편적으로 사용되는 배지인 GYPE 배지와 일반적인 효모균주 배양에 사용되는 배지인 YPD 배지를 이용하여 초산균 배양을 비교하였다.

그 결과, KCTC22319를 제외한 3개 균주의 경우, GYPE 배지에서 초산균을 배양했을 시 보다 YPD 배지에서 배양 했을 경우 더 높은 균체량(약 OD 2.0)을 빠른 시간내에(48 시간) 확보할 수 있었다.

이는 배지 제작 시 첨가하는 질소원(yeast extract, peptone)의 함량 차이로 인한 결과라고 사료되며 추후 실험 시 전배양 과정은 YPD 배지를 이용하여 진행하기로 하였다.

교반속도 및 플라스크 조건별 초산균 배양 시 non-baffled flask를 이용한 200 rpm 조건이 72시간에 OD 1.09로 가장 우수한 균체 성장량을 보였으며, 이는 산소전달이 원활하게 진행되었기 때문이라고 사료된다.

따라서 추후 초산균의 배양조건은 YPD배지를 이용하여 non-baffled flask에서 200 rpm조건으로 배양을 진행하기로 하였다.

라. 과채류 농축액과 초산균을 이용한 발효액의 항산화능 변화 비교

(1) 실험개요

초산균을 이용한 발효조건 최적화와 과채류의 당농도를 고려하여 과채류 농축액과 초산균을 이용한 발효물을 제작하고 항산화능 증진 여부를 분석하였다.

초산균의 원활한 생육을 위해 과채류 농축액의 낮은 pH를 NaOH를 사용하여 약 7.0으로 보정한 후 발효물을 제작하였다.

(2) 실험방법

증류수를 이용하여 과채류 농축액을 포도당 농도 1%로 희석 한 후, 5 M NaOH를 이용하여 pH 7.0 으로 조정하였음. 그 후 에탄올을 3%(v/v) 첨가 한 후 실험에 사용할 초산균 4종 (KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011)을 각각 종하였다.

초산균은 30℃, 200 rpm에서 72시간 배양한 후 접종시 OD를 1로 맞춰 접종하였으며, 접종 후 총 48시간 동안 배양을 진행하였음. 그 후 12시간마다 샘플을 채취하여 ORAC assay, 총 페놀 함량 분석, 총 플라보노이드함량 분석, HPLC를 통한 대사산물 분석, 그리고 pH meter (Mettler Toledo, USA)를 이용하여 pH를 측정하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산 분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

초산균은 발효 시 초산을 생성하기 때문에 발효시간이 경과함에 따라 발효물의 pH가 감소할 것이라고 예측하였으며. 이를 이용하여 발효시간에 따른 pH를 측정하여 초산균의 생육 여부를 판단하였다.

(3) 실험결과

(가) 블랙베리

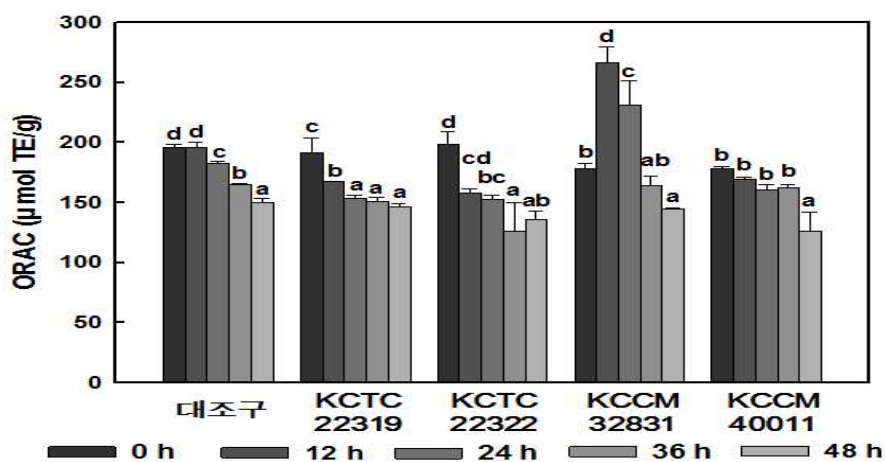


그림 172. 블랙베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다 (그림 172).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 항산화능이 감소하였으며. 따라서 블랙베리를 KCTC22319로 발효한 경우 항산화능 증진이 없다는 것을 확인 할 수 있었다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 항산화능이 감소하였으며, KCTC22319 균주와 마찬가지로 항산화능의 증진이 없음을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 12시간에 항산화능이 약 $266.14 \pm 13.69 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 0시간에 비해 49.64% 증가한 것으로 나타남. 이후 시간이 경과함에 따라 항산화능의 지속적 감소가 나타났다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 시간의 경과에 따라 항산화능이 감소하였으며, 블랙베리를 KCCM40011균주로 발효한 경우 항산화능의 증진이 없다는 것을 확인 할 수 있었다.

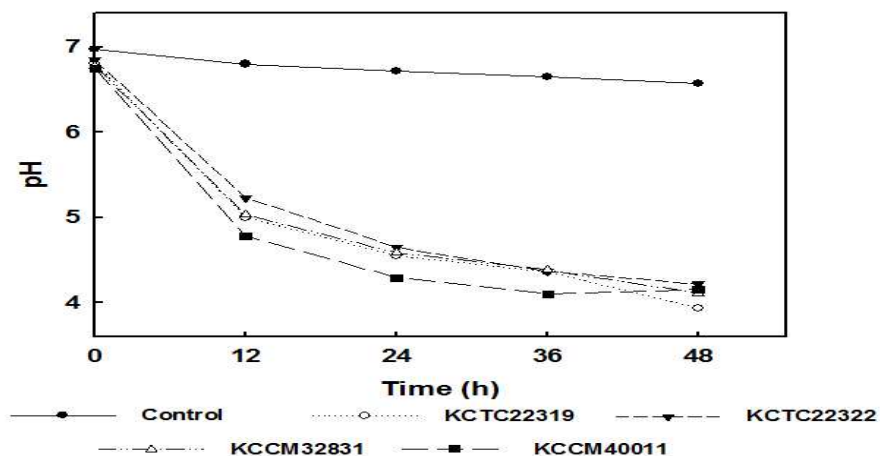


그림 173. 블랙베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우, 시간이 경과함에 따라 pH가 완만하게 감소하는 경향을 나타냈음. pH값은 초기 6.97에서 48시간 후 6.57로 감소하여 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다(그림 173).

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 에탄올 소비와 초산 생성이 관찰되었으며, 모든 발효물에서 pH 감소가 유사하게 나타났다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.81에서 48시간 후 pH 3.94까지 가장 높은 감소폭을 보인 것으로 나타났음. 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.81 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 8.87 g/L의 에탄올을 소비

하여 8.00 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.84에서 48시간 후 pH 4.22까지 감소하였음, 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.62 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 5.21 g/L의 에탄올을 소비하여 5.39 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.78에서 48시간 후 pH 4.11까지 감소한 것으로 나타났음. 특히 12시간 경과시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.75 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 8.67 g/L의 에탄올을 소비하여 6.59 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.75에서 48시간 후 pH 4.16까지 감소한 것으로 나타났음. 특히 12시간 경과 시 0시간 대비 pH가 약 1.97 감소하여 가장 높은 감소치를 나타냈음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 15.13 g/L의 에탄올을 소비하여 11.56 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

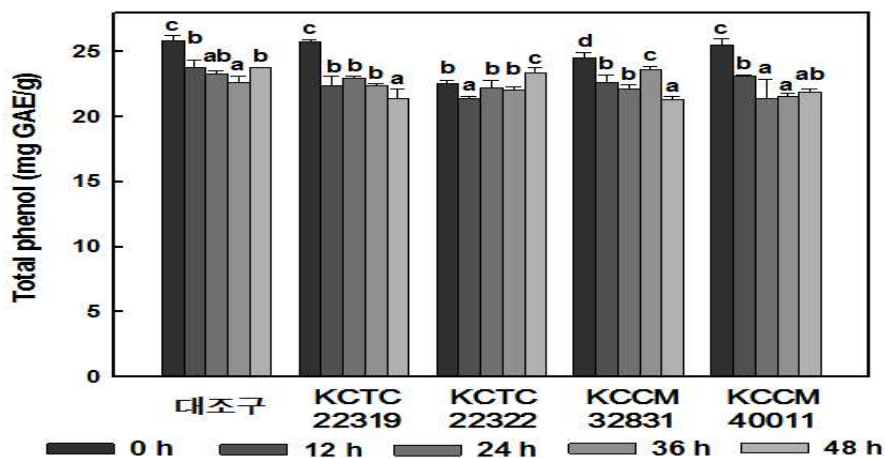


그림 174. 블랙베리 발효물의 총 페놀 함량 변화

KCTC22322 접종구를 제외한 대조구와 발효물 3종 모두 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 감소하는 추세로 나타났다(그림 174).

대조구의 경우 초기 25.88 ± 0.404 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 23.76 ± 0.04 mg GAE/g으로 감소하였으며, 8.40%의 감소율을 보였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 25.73 ± 0.19 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 21.44 ± 0.69 mg GAE/g으로 감소하였으며, 가장높은 19.63%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 22.58 ± 0.22 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 23.39 ± 0.37 mg GAE/g으로 소폭 증가하여 3.45%의 낮은 증가율을 보였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 24.52 ± 0.45 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 21.30 ± 0.27 mg GAE/g으로 감소하였으며, 16.04%의 감소율을 보였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 25.54 ± 0.46 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 21.91 ± 0.25 mg GAE/g으로 감소하였으며, 16.36%의 감소율을 보였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 발효 12시간 후 유의적인 항산화능 증진이 관찰되었으나 총 페놀 함량의 경우 유의적으로 감소하였음을 확인함. 따라서 항산화능의 증진이 총 페놀 함량과는 무관한 것으로 사료된다.

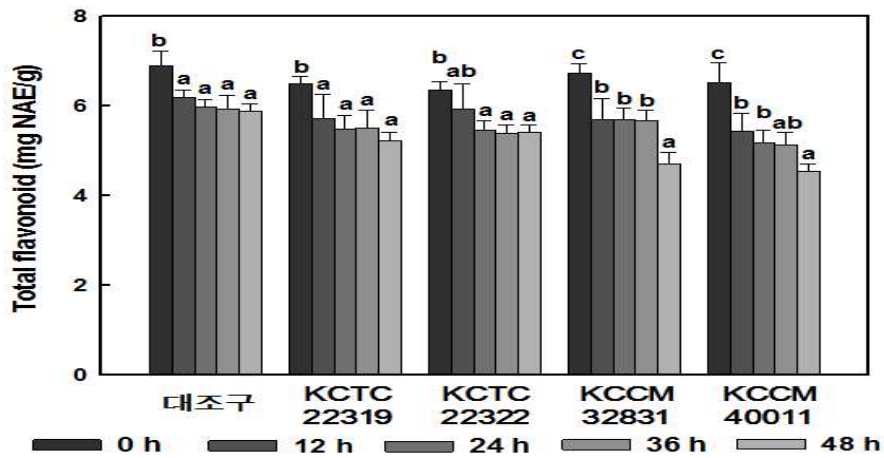


그림 175. 블랙베리 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

총 플라보노이드 함량 역시 총 페놀 함량과 마찬가지로 대조구와 발효물 모두 시간경과에 따라 감소하는 것으로 나타났다(그림 175).

대조구의 경우 초기 6.89 ± 0.33 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 5.88 ± 0.16 mg NAE/g으로 감소하였으며, 17.24%의 감소율을 보였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 6.49 ± 0.17 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 5.23 ± 0.18 mg NAE/g으로 감소하였으며, 18.75%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 6.35 ± 0.18 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 5.41 ± 0.15 mg NAE/g으로 감소하였으며, 15.62%의 감소율을 보였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 6.72 ± 0.22 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 4.72 ± 0.24 mg NAE/g으로 감소하였으며, 29.41%의 감소율을 보였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 6.53 ± 0.43 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 4.53 ± 0.17 mg NAE/g으로 감소하였으며, 가장 높은 30.3%의 감소율을 보였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 총 페놀 함량과 유사하게 총 플라보노이드 함량의 유의적 증진이 없는 것으로 확인되었으며, 발효 12시간 후 항산화능이 유의적으로 증진된 것은 총 플라보노이드 함량과 무관한 것으로 사료된다.

(나) 라즈베리

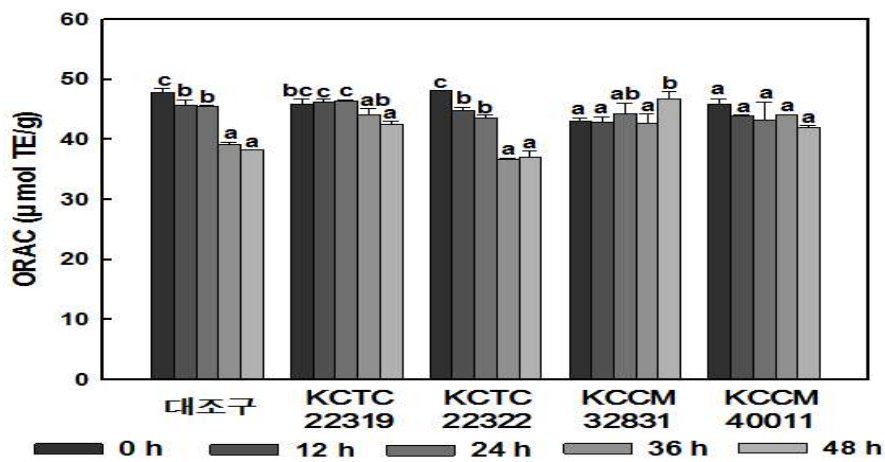


그림 176. 라즈베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다 (그림 176).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하였으며. 따라서 블랙베리를 KCTC22319로 발효한 경우 항산화능 증진이 없다는 것을 확인 할 수 있었다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 항산화능이 감소하였으며, KCTC22319 균주와 마찬가지로 항산화능의 증진이 없음을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 48시간에 항산화능이 약 46.81 ± 1.09 μmol TE/g으로 0시간에 비해 약 8.84% 증가한 것으로 나타났다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효시간 경과에 따른 유의적인 항산화능 변화가 관찰되지 않았다.

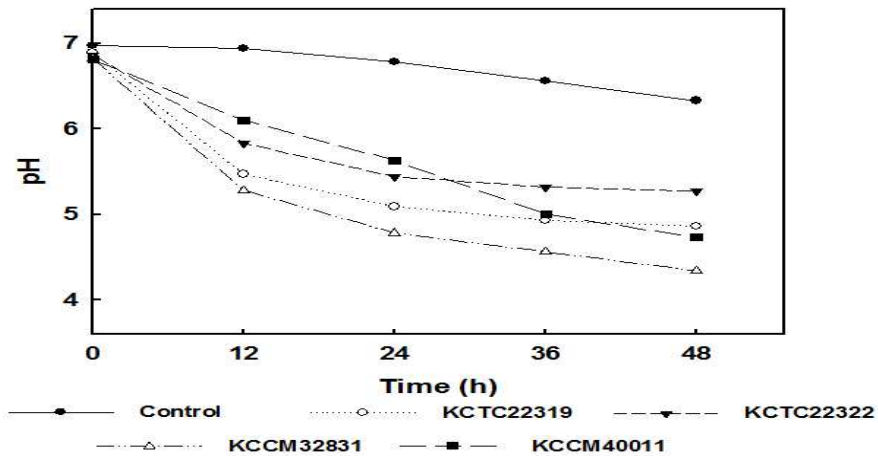


그림 178. 라즈베리 발효물의 pH 변화

대조구의 경우, 시간이 경과함에 따라 pH가 완만하게 감소하는 경향을 나타냈음. pH값은 초기 6.97에서 48시간 후 6.81로 감소하여 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다(그림 178).

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 에탄올 소비와 초산 생성이 관찰되었으며, 모든 발효물에서 pH 감소가 관찰되었다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.94에서 48시간 후 pH 4.86까지 감소하였음. 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.42 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 4.24 g/L의 에탄올을 소비하여 3.06 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.86에서 48시간 후 pH 5.27까지 감소하였음, 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.03 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 0.69 g/L의 에탄올을 소비하여 0.88 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.82에서 48시간 후 pH 4.34까지 감소하여 가장 높은 감소폭을 나타냈음. 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.54 감소하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간 경과에 따라 pH가 완만하게 감소하였으며, 초기 pH 6.81에서 48시간 후 pH 4.73까지 감소한 것으로 나타났다. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 2.93 g/L의 에탄올을 소비하여 3.01 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

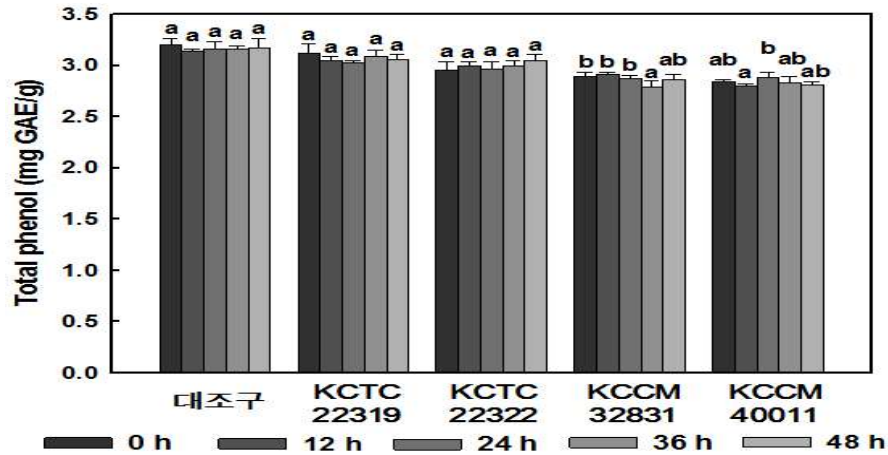


그림 179. 라즈베리 발효물의 총 페놀 함량 변화

대조구의 경우 발효 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량의 유의적인 변화가 없는 것으로 나타났다(그림 179).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 대조구와 유사하게 시간경과에 따른 총 페놀 함량 변화가 없는 것으로 나타났다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우도 마찬가지로 시간경과에 따른 총 페놀 함량 변화가 관찰되지 않았다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 미미한 정도의 감소폭이 관찰되었으며, 초기 2.89 ± 0.03 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 2.86 ± 0.05 mg GAE/g 으로 감소하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 2.84 ± 0.03 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 24시간 후 2.88 ± 0.05 mg GAE/g 으로 증가하였다가, 48시간 후 2.81 ± 0.03 mg GAE/g 으로 다시 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 발효 48시간 후 항산화능의 유의적 증진이 확인되었으나, 총 페놀 함량의 경우 증진되지 않음을 확인함. 따라서 항산화능의 증진과 총 페놀 함량의 변화간의 상관관계가 없다고 사료된다.

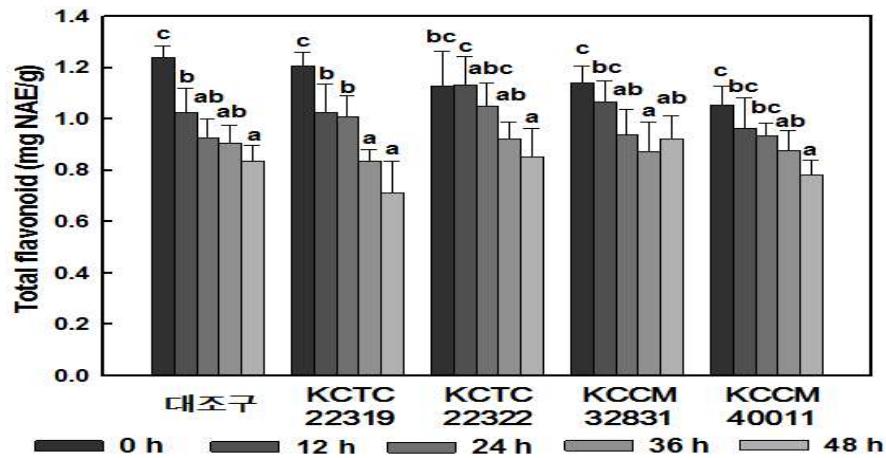


그림 180. 라즈베리 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

총 플라보노이드 함량의 경우 대조구와 발효물 모두 시간경과에 따라 감소하는 것으로 나타났다(그림 180).

대조구의 경우 초기 1.24 ± 0.05 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 0.84 ± 0.06 mg NAE/g으로 감소하였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 1.21 ± 0.05 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 0.71 ± 0.13 mg NAE/g으로 감소하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 1.13 ± 0.14 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 0.85 ± 0.12 mg NAE/g으로 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 1.14 ± 0.06 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 0.92 ± 0.09 mg NAE/g으로 감소하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 1.05 ± 0.08 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 0.78 ± 0.06 mg NAE/g으로 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 발효 48시간 후 항산화능의 유의적 증진이 확인되었으나, 총 플라보노이드 함량의 경우 증진되지 않음을 확인함. 따라서 항산화능의 증진과 총 플라보노이드 함량의 변화간의 상관관계가 없다고 사료된다.

(다) 양배추

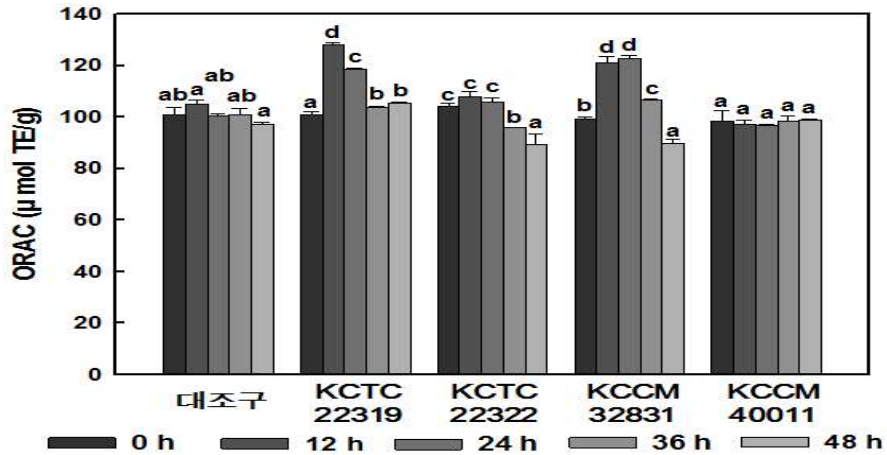


그림 181. 양배추 발효물의 항산화능 변화

균주를 접종하지 않은 대조구는 시간이 경과함에 따라 항산화능이 미량 감소하였다(그림 181).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 배양 12시간에 항산화능이 $127.91 \pm 0.84 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 초기에 비해 약 20% 증가하였음. 12시간 후에는 서서히 감소하여 48시간 후에는 초기와 비슷한 수준으로 나타났다.

KCTC22322 균주를 접종하였을 때에는 24시간까지는 항산화능이 유지되었으나 그 뒤로 급격하게 감소하여 대조구보다도 낮은 항산화능을 보였다.

KCCM32831 균주 발효물은 배양 24시간 후에 발효 전 $99.2165 \pm 0.97 \mu\text{mol TE/g}$ 보다 항산화능이 약 21% 증가하여 $122.53 \pm 1.27 \mu\text{mol TE/g}$ 이 되었음. 24시간 이후에는 지속적으로 감소하였다.

KCCM4001 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과하여도 항산화능의 증감은 나타나지 않았다.

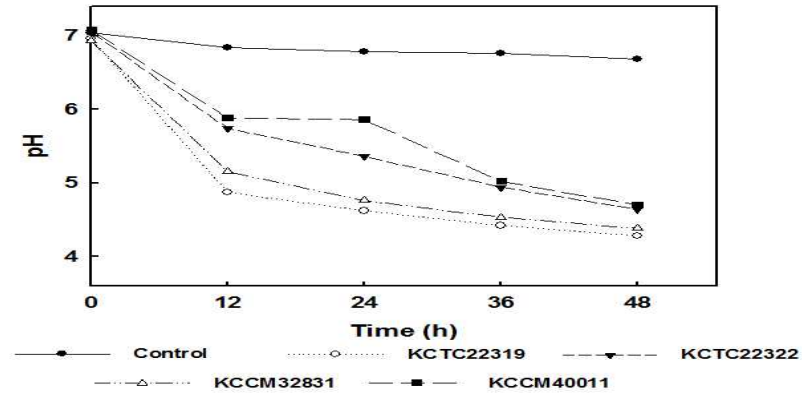


그림 182. 양배추 발효물의 pH 변화

균주를 접종하지 않은 대조구는 초기 pH가 7.04였으며 매우 느린 속도로 감소하여 48시간 배양 후에는 6.68이 되었다(그림 182).

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 에탄올 소비와 초산 생성이 관찰되었으며, 모든 발효물에서 pH 감소가 관찰되었다.

KCTC22319, KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 배양 12시간에 pH가 급격하게 감소하였으며, 그 이후로는 완만하게 감소하여 최종 pH가 각각 4.28, 4.38이었음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 KCTC22319 균주와 KCCM32831 균주를 접종한 발효물 모두 에탄올을 소비하여 초산을 생성하는 것을 확인하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 pH는 KCTC22319, KCCM32831와 비교하였을 때 비교적 완만하게 감소하였으며 48시간 배양 후에 4.64로 측정되었다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 pH는 12시간까지 감소하다가 24시간에는 정체되었음. 그 이후에는 다시 감소하였다.

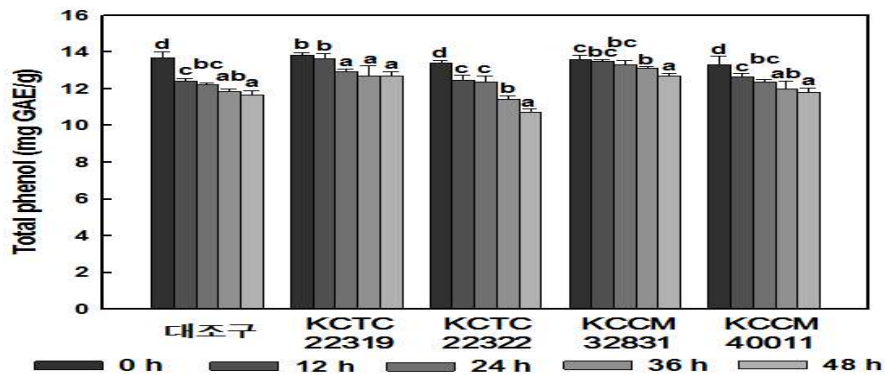


그림 183. 양배추 발효물의 총 페놀 함량 변화

모든 실험구의 총 페놀 함량은 발효시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타냈음. 특히 KCTC22322 균주를 접종한 발효물은 48시간 배양 시 10.70 ± 0.21 mg GAE/g으로 대조구보다도 낮게 나타났다(그림 183).

KCTC22319, KCCM32831, KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 총 페놀 함량의 감소폭이 대조구에 비해 적게 나타났다.

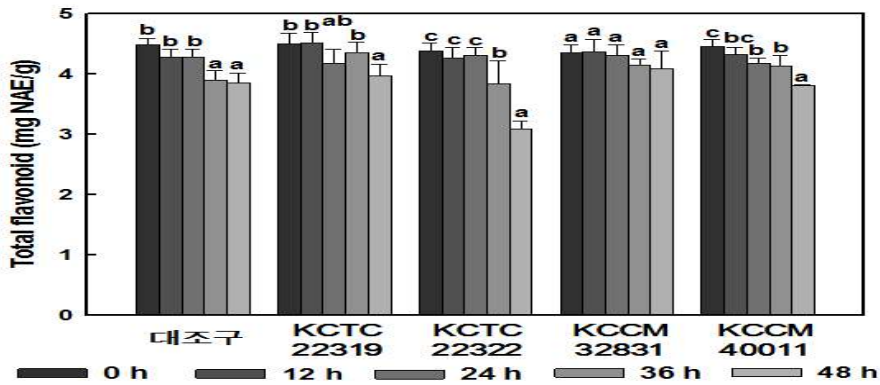


그림 184. 양배추 발효물의 총 플라보노이드 변화

대조구의 총 플라보노이드 함량은 24시간까지 유지되다 그 이후로는 감소하였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물 또한 대조구와 유사하게 12시간까지는 총 플라보노이드 함량의 차이가 없었으나 그 이후로는 감소하는 경향을 나타냈다(그림 184).

KCTC22322 균주를 접종한 발효물은 초기에는 4.39 ± 0.12 mg NAE/g의 플라보노이드 함량을 나타내었으나 48시간 배양 후에는 3.01 ± 0.13 mg NAE/g으로 약 30%가 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 배양 시간과 관계없이 일정 수준의 플라보노이드 함량을 유지하였으며, KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과할수록 플라보노이드의 함량이 감소하였다.

양배추 농축액을 4종의 균주로 발효한 결과, KCTC22319 균주와 KCCM32831 균주를 이용하여 발효물을 제작 할 시 항산화능이 증진되는 것을 확인하였음. 두 발효물 모두 초기 항산화능과 비교하여 약 20%가 증가하였으며 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 증가는 나타나지 않았음. 양배추 발효물의 항산화능은 총 페놀 함량 및 플라보노이드 함량과는 연관성이 없다고 판단하였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 배양 후 12시간까지 항산화능이 증가하다 그 이후로는 감소하였으며 KCCM32831 균주는 24시간까지 항산화능이 유지되었음. 이 결과로 보아 발효시

간 또한 중요하다는 것을 알 수 있었다.

(라) 블루베리

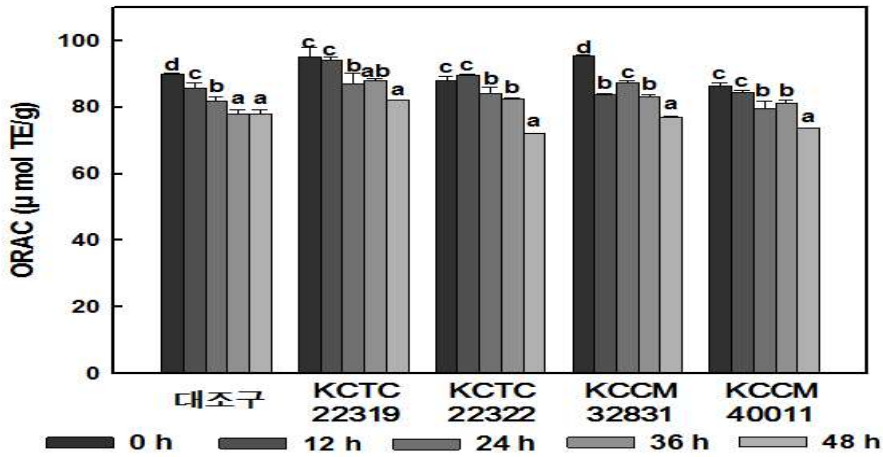


그림 185. 블루베리 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다 (그림 185).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하였으며, 따라서 블랙베리를 KCTC22319로 발효한 경우 항산화능 증진이 없다는 것을 확인 할 수 있었다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 항산화능이 감소하였으며, KCTC22319 균주와 마찬가지로 항산화능의 증진이 없음을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하였으며, 따라서 블랙베리를 KCCM32831로 발효한 경우 항산화능 증진이 없다는 것을 확인 할 수 있었다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효시간 경과에 따른 유의적인 항산화능 변화가 관찰되지 않았다.

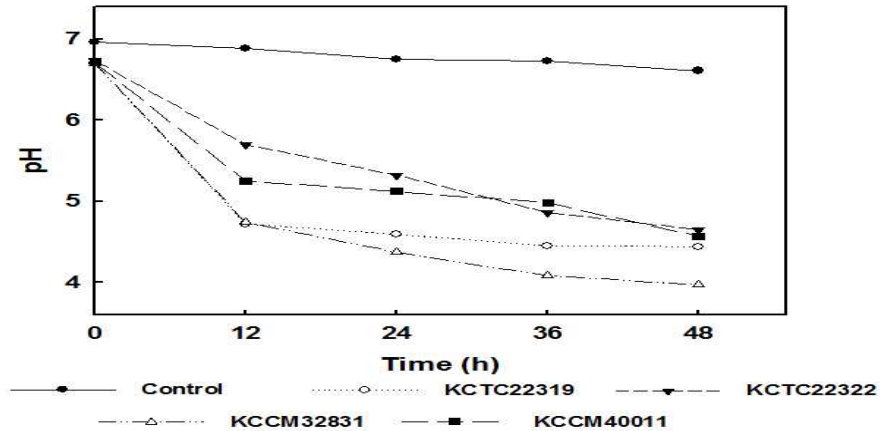


그림 186. 블루베리 발효물의 pH 변화

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 제외한 대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 에탄올 소비와 초산 생성이 관찰되었으며, 모든 발효물에서 pH 감소가 관찰되었다(그림 186).

대조구의 경우, 시간이 경과함에 따라 pH가 완만하게 감소하는 경향을 나타냈음. pH값은 초기 6.96에서 48시간 후 6.61로 감소하여 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.7에서 48시간 후 pH 4.44까지 감소하였음. 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.98 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 3.47 g/L의 에탄올을 소비하여 3.03 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.73에서 48시간 후 pH 4.65까지 감소하였음, 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.03 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.70에서 48시간 후 pH 3.97까지 감소하여 가장 높은 감소폭을 나타냈음. 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.96 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 6.39 g/L의 에탄올을 소비하여 6.89 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.71에서 48시간 후 pH 4.57까지 감소하였음, 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.46 감소하였다.

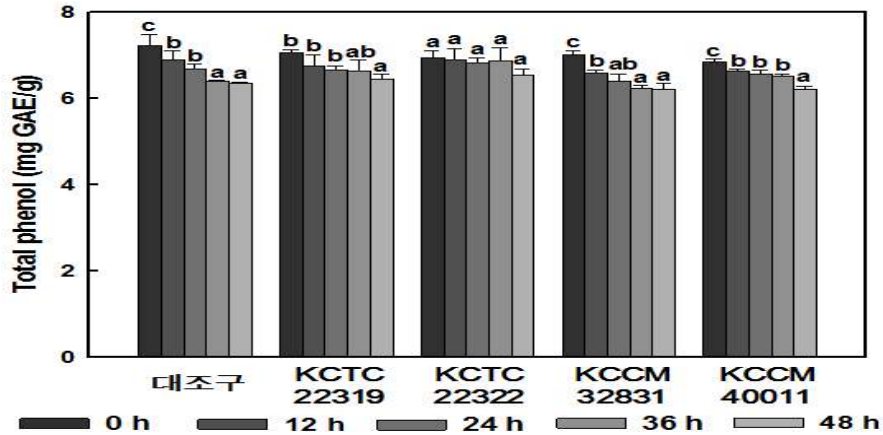


그림 187. 블루베리 발효물의 총 페놀 함량 변화

대조구의 경우 발효 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다(그림 187).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 미미한 정도의 감소폭이 관찰되었으며, 초기 7.23 ± 0.25 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 6.35 ± 0.03 mg GAE/g으로 감소하여 약 12.17%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 시간경과에 따른 총 페놀 함량 변화가 관찰되지 않았다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 시간 경과에 따른 총 페놀 함량 감소가 관찰되었으며, 초기 7.02 ± 0.09 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 6.20 ± 0.15 mg GAE/g으로 감소하여 약 11.68%의 감소율을 보였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 KCCM32831 균주를 접종한 발효물과 유사하게 시간 경과에 따른 총 페놀 함량 감소가 관찰되었으며, 초기 6.85 ± 0.05 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 6.20 ± 0.09 mg GAE/g으로 감소하여 약 9.49%의 감소율을 보였다.

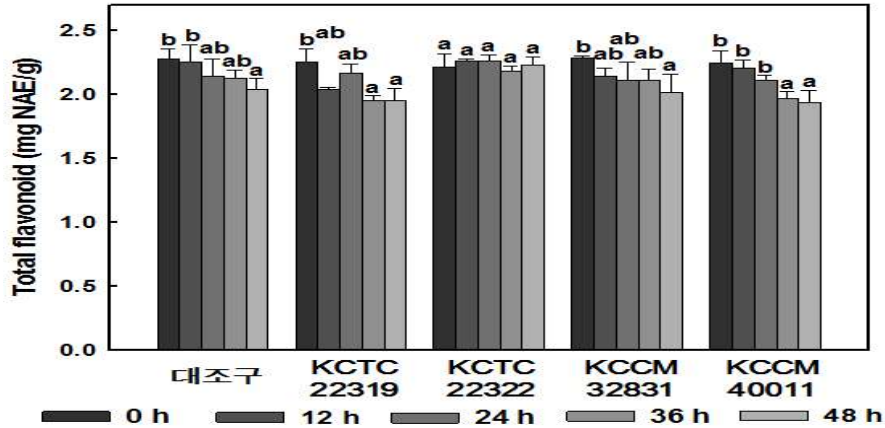


그림 188. 블루베리 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

KCTC22322 균주를 접종한 발효물을 제외한 4개의 발효물의 총 플라보노이드 함량의 경우, 시간경과에 따라 감소하는 것으로 나타났다(그림 188).

대조구의 경우 초기 2.28 ± 0.08 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 2.04 ± 0.09 mg NAE/g으로 감소하였으며, 10.53%의 감소율을 보였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 2.25 ± 0.10 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 1.95 ± 0.09 mg NAE/g으로 감소하였으며, 13.33%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 발효시간이 경과함에 따라 총 플라보노이드 함량의 유의적 변화가 관찰되지 않았다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 2.28 ± 0.02 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 2.02 ± 0.15 mg NAE/g으로 감소하였으며, 11.40%의 감소율을 보였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 2.25 ± 0.10 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 1.94 ± 0.10 mg NAE/g으로 감소하였으며, 가장 높은 13.78%의 감소율을 보였다.

(마) 아로니아

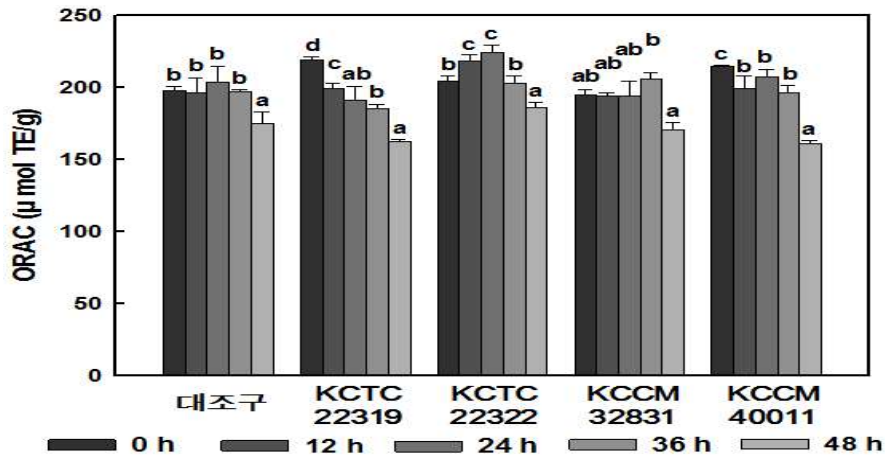


그림 189. 아로니아 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 36시간까지 항산화능이 유사하게 유지되는 경향을 보였으나, 초기 $197.40 \pm 31.4 \mu\text{mol TE/g}$ 의 항산화능이 발효 48시간 경과 후 $175.27 \pm 7.76 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소하여 11.21%의 감소율을 보였다(그림 189).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 시간이 경과함에 따라 유의적으로 항산화능이 감소하는 경향을 나타냈다. 초기 $219.32 \pm 2.17 \mu\text{mol TE/g}$ 의 항산화능이 발효 48시간 후 $162.36 \pm 1.58 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소하였으며, 가장 높은 25.97%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 발효 24시간까지 항산화능이 증가했다가 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 초기 $204.25 \pm 3.98 \mu\text{mol TE/g}$ 의 항산화능이 발효 24시간 후 $223.89 \pm 5.52 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 증가하여 8.77%의 증가율을 보였음. 그 후 시간 경과에 따라 항산화능이 $186.03 \pm 3.61 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 시간 경과에 따라 항산화능이 증가하였다 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 초기 $194.90 \pm 2.39 \mu\text{mol TE/g}$ 의 항산화능이 발효 36시간 후 $206.03 \pm 3.93 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 증가하여 5.71%의 증가율을 보였음. 그 후 발효 48시간 후 항산화능이 $170.75 \pm 4.55 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 KCTC22319 균주를 접종한 발효물과 유사하게 시간이 경과함에 따라 유의적으로 항산화능이 감소하는 경향을 나타냈음. 초기 $214.72 \pm 0.53 \mu\text{mol TE/g}$ 의 항산화능이 발효 48시간 후 $160.79 \pm 2.67 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소하여 25.12%의 감소율을 보였다.

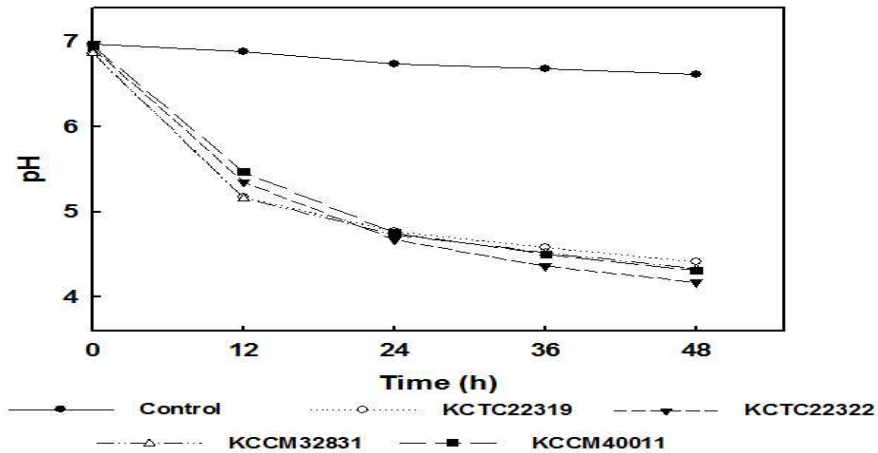


그림 190. 아로니아 발효물의 pH 변화

대조구의 경우, 시간이 경과함에 따라 pH가 완만하게 감소하는 경향을 나타냈음. pH값은 초기 6.97에서 48시간 후 6.62로 감소하여 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다(그림 190).

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 에탄올 소비와 초산 생성이 관찰되었으며, 모든 발효물에서 pH 감소가 관찰되었다.

대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 pH 감소가 유사하게 나타났다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 pH 6.86에서 48시간 후 pH 4.41까지 감소하였음. 특히 12시간 경과 시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.69 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 6.89 g/L의 에탄올을 소비하여 6.44 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.93에서 48시간 후 pH 4.17까지 감소하여 가장 낮은 감소폭을 보인 것으로 나타났다. 특히 12시간 경과시 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.58 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 5.67 g/L의 에탄올을 소비하여 6.25 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.87에서 48시간 후 pH 4.33까지 감소한 것으로 나타났음. 특히 12시간 경과 시 0시간 대비 pH가 약 1.71 감소하여 가장 높은 감소치를 나타냈음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 6.58 g/L의 에탄올을 소비하여 6.28 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.95에서 48시간 후 pH 4.31까지 감소한 것으로 나타났음. 특히 12시간 경과 시 가장 높은 감소치를 나타냈으며, 0시간 대비 pH가 약 1.48 감소하였음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 7.11 g/L의 에탄올을 소비하여 6.34

g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

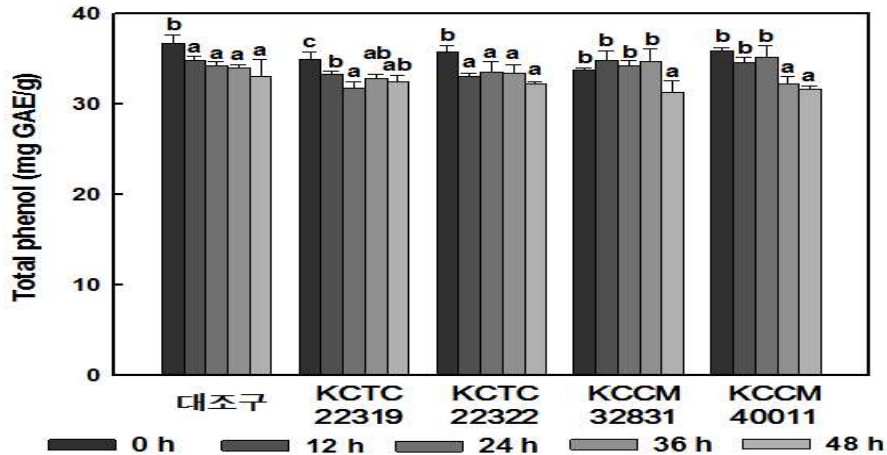


그림 191. 아로니아 발효물의 총 페놀 함량 변화

대조구와 발효물 4종 모두 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 감소하는 추세가 나타났다(그림 191.).

대조구의 경우 초기 36.73 ± 1.00 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 33.04 ± 1.88 mg GAE/g으로 감소하였으며, 10.08%의 감소율을 보였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 34.91 ± 0.85 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 32.48 ± 0.72 mg GAE/g으로 감소하였으며, 7.16%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 35.71 ± 0.75 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 32.19 ± 0.02 mg GAE/g으로 감소하였으며, 9.80%의 감소율을 보였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 33.77 ± 0.27 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 31.31 ± 1.32 mg GAE/g으로 감소하여 7.40%의 감소율을 보였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 35.90 ± 0.37 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 31.58 ± 0.36 mg GAE/g으로 감소하여 가장 높은 11.98%의 감소율을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 발효 24시간 경과 후 유의적인 항산화능 증진이 있었으나, 총 페놀 함량에는 변화가 없는 것으로 나타났다. 따라서 항산화능 증진이 총 페놀 함량의 변화에 따른 것이 아닌 다른 요인에 의한 것이라고 사료다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우 발효 36시간 경과 후 유의적인 항산화능의 증진이 있었으나, KCTC22322 균주를 접종한 발효물과 유사하게 총 페놀 함량의 변화는 관찰되지

않았음. 따라서 KCCM32831 균주를 접종한 발효물 역시 항산화능 증진과 총 페놀 함량 변화 간의 상관관계가 없는 것으로 사료다.

현재 4종의 초산균을 이용한 아로니아 발효물의 총 플라보노이드 함량에 대한 분석을 수행 중에 있다.

(바) 시금치

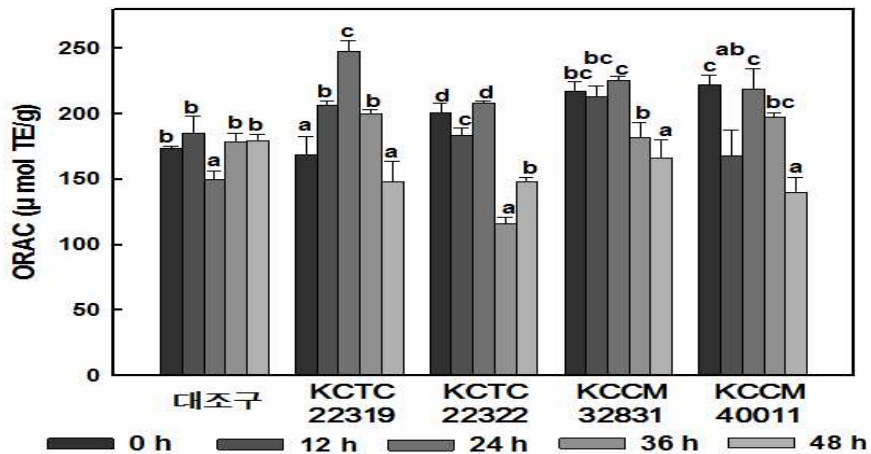


그림 192. 시금치 발효물의 항산화능 변화

균주를 접종하지 않은 대조구는 발효시간과 관계없이 항산화능이 일정하게 유지되었다(그림 192).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 24시간까지 항산화능이 빠르게 증가하다가 36시간부터 감소하는 경향을 나타냈다. 발효전에는 $168.90 \pm 14.21 \mu\text{mol TE/g}$ 이었던 항산화능이 24시간 발효 후에는 $248.08 \pm 8.06 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 48% 증가하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물은 36시간 배양 후부터 항산화능이 급격하게 감소하기 시작하여 0시간 때와 비교하였을 때 약 27% 감소하였다.

KCCM32831 균주 발효물은 발효 전에 항산화능이 $217.74 \pm 6.93 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 KCTC22319, 22322 균주 발효물과 비교하여 높게 나타났음. 24시간 배양 후까지는 항산화능의 별다른 변화는 없었으며 그 이후로는 감소하기 시작하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 항산화능 증진 경향이 일정치 않았음. 측정에 문제가 있었던 것으로 사료된다. 현재 항산화능에 대한 재분석을 계획 중이다.

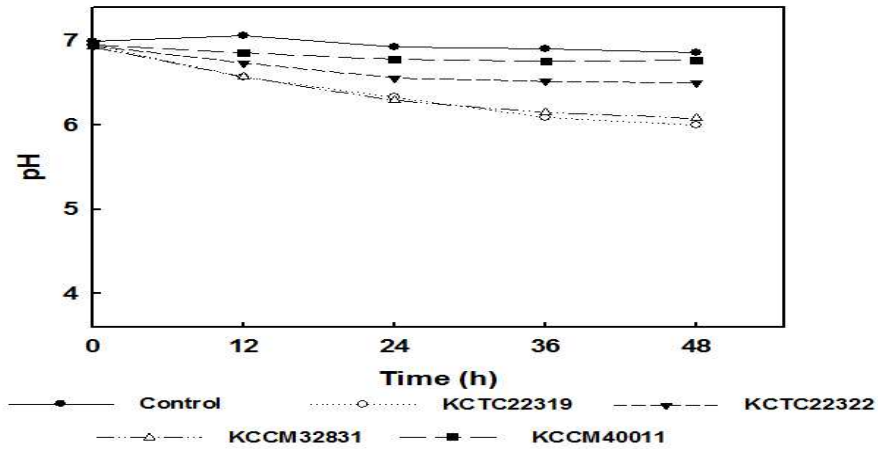


그림 193. 시금치 발효물의 pH 변화

초산균의 생육여부를 판단하기 위하여 대조구를 포함한 5개의 실험구의 pH를 측정하였다. 대조구의 경우 초기 pH 7.00에서 발효 48시간 후 pH 6.86으로 거의 감소하지 않았다(그림 193).

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 제외한 대조구를 제외한 4개의 발효물의 경우 에탄올 소비와 초산 생성이 관찰되었으며, 모든 발효물에서 pH 감소가 관찰되었다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.95에서 48시간 배양 후 6.0으로 약 0.95가 감소하였다. 이는 4가지 균주를 접종한 발효물 중 감소폭이 가장 큰 것임. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 2.38 g/L의 에탄올을 소비하여 1.98 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물 또한 KCTC22319 균주 발효물과 유사하게 약 0.85 감소하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물과 KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 대조구보다는 pH가 낮았지만 KCTC22319, KCCM32831과 비교하였을 때 그 감소폭이 적었음. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 1.53 g/L의 에탄올을 소비하여 1.34 g/L의 초산을 생성함을 확인하였다.

시금치 농축액 발효물은 다른 과채류 농축액 발효물과 비교하였을 때 pH의 감소폭이 매우 적었음. 이러한 결과는 균주들이 시금치 농축액 내에서 잘 성장하지 못하였다는 것을 의미다.

시금치 농축액 내에는 균주의 성장을 저해는 물질이 다량 함유되어 있을 것으로 사료된다.

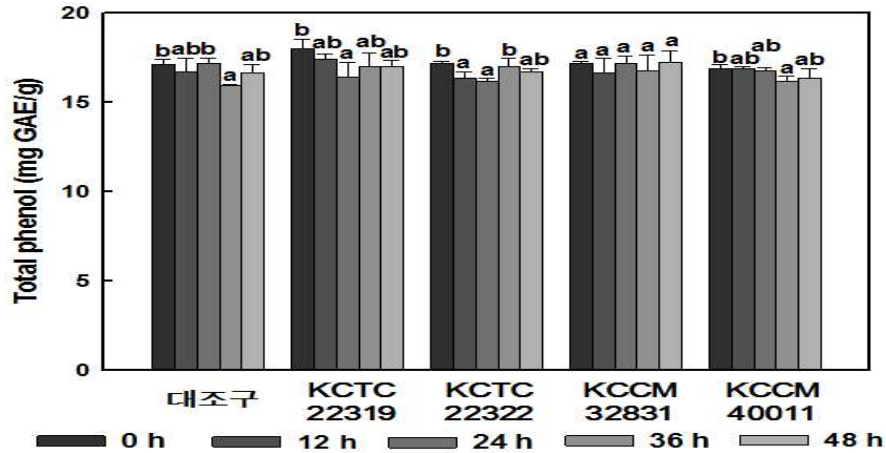


그림 194. 시금치 발효물의 총 페놀 함량 변화

균주를 접종하지 않은 대조구는 발효시간이 경과하여도 총 페놀 함량의 변화는 거의 나타나지 않았다(그림 194).

그 외에 4가지 균주를 접종한 발효물 모두 발효시간과 관계없이 유사한 수준의 총 페놀 함량을 나타내었다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 항산화능의 증진이 나타났으나 총 페놀 함량의 차이는 없었던 것으로 보아 시금치 발효물의 항산화능과 총 페놀 함량은 상관관계가 적다고 판단하였다.

현재 4종의 초산균을 이용한 시금치 발효물의 총 플라보노이드 함량에 대한 분석을 수행 중에 있다.

(4) 결론

단일 과채류 농축액의 항산화능 증진을 위해 4종의 초산균(KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011)을 이용하여 발효를 진행하였다.

초산균의 생육을 위해 초기 pH와 당농도를 각각 pH 7.0, 포도당 농도 1%로 조정하였으며, 추가적으로 3% (v/v)의 에탄올을 첨가하였다.

발효 결과 블루베리를 제외한 아로니아, 블랙베리, 라즈베리, 양배추 그리고 시금치 농축액을 이용한 발효물에서 항산화능 증진이 관찰되었다.

아로니아를 이용한 발효물의 경우, KCTC22322, KCCM32831균주를 이용하여 발효를 진행하였을 시 항산화능의 유의적 증진이 관찰되었음. KCTC22322 균주를 이용한 발효의 경우 12시

간, 24시간 발효 후 시료에서 초기보다 높은 향산화능이 관찰되었으며, 24시간 발효 후 초기대비 약 8% 가량 향산화능이 증진됨을 확인함. 하지만 그 후 시간 경과에 따라 향산화능이 다시 감소하는 추세를 보임. KCCM32831 균주를 이용한 발효의 경우 36시간에서 향산화능의 유의적 증진이 확인되었으며, 초기대비 약 5%의 향산화능이 증진됨을 확인하였다. 하지만 KCTC22322 접종구와 마찬가지로 시간의 경과에 따라 다시 향산화능이 감소하는 것으로 나타났다. 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량의 경우, 향산화능의 증진여부와 관계없이 발효시간에 따라 유의적으로 유지 또는 감소하는 경향을 나타냈으며, 이러한 결과를 토대로 향산화능 증진이 이러한 페놀 및 플라보노이드 함량의 변화와 무관하다고 사료된다. pH의 경우, 초산균을 접종한 모든 발효물이 시간 경과에 따라 pH 감소를 나타내는 것을 확인하였으며, 이를 토대로 초산균의 배양은 원활히 진행되었다고 사료된다.

블랙베리를 이용한 발효물의 경우, KCCM32831 균주를 이용한 발효에서만 향산화능의 유의적 증진이 관찰되었다. KCCM32831 균주를 이용한 발효의 경우 12시간, 24시간 발효 후 시료에서 초기보다 높은 향산화능이 관찰되었으며, 24시간 후 초기대비 약 49%의 향산화능이 증진됨을 확인하였다. 이러한 향산화능은 발효 시간 경과에 따라 지속적으로 감소하는 추세를 보임. 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량의 경우, 아로니아와 마찬가지로 시간의 경과에 따라 지속적으로 감소하였으며, 이러한 결과를 토대로 향산화능의 증진이 이러한 페놀 및 플라보노이드 함량의 변화와는 무관하다고 사료된다. pH의 경우 초산균을 접종한 모든 발효물이 시간경과에 따라 pH 감소를 나타내는 것을 확인하였으며, 이를 토대로 초산균의 배양은 원활히 진행되었다고 사료된다.

라즈베리를 이용한 발효물의 경우, KCCM32831 균주를 이용한 발효에서만 향산화능의 유의적 증진이 관찰되었으며, 발효 48시간이 경과한 후 약 8% 높은 향산화능이 확인되었다. 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 경우 이전과 마찬가지로 유지 또는 감소하였으며, 이러한 결과를 토대로 향산화능의 증진이 페놀 함량과 플라보노이드 함량이 아닌 다른 요인에 의한 것이라고 사료된다. pH의 경우, 시간의 경과에 따라 유의적으로 감소함을 확인하였으며, 이를 토대로 초산균의 원활한 생육이 이뤄졌다고 사료된다.

양배추를 이용한 발효물의 경우, KCTC22319, KCCM32831을 이용한 발효물에서 향산화능의 유의적 증진이 관찰되었음. KCTC22319 균주를 이용한 발효의 경우 12시간, 24시간에서 향산화능의 유의적 증진이 관찰되었으며, 특히 발효 12시간 후 최대 약 20%정도 향산화능이 증진됨을 확인하였다. 그 후 시간의 경과에 따라 향산화능의 지속적인 감소가 관찰되었다. KCCM32831 균주를 이용한 배양의 경우 역시 마찬가지로 12시간, 24시간 발효 후 향산화능이 유의적으로 증진됨을 확인하였으며, 특히 발효 24시간 후 최대 약 21%의 향산화능이 증진됨을 확인하였다. 그 후 시간의 경과에 따라 향산화능의 지속적 감소가 관찰되었다. 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 유의적으로 유지 또는 감소함을 확인할 수 있었으며, 이러한 결과를 토대로 향산화능의 증진이 이러한 페놀 및 플라보노이드 함량의 변화와는 무관하다고 사료된다. pH의 경우 초산균을 접종한 모든 발효물이 시간경과에 따라 pH 감소를 나타내는 것을 확인하였으며, 이를 토대로 초산균의 배양은 원활히 진행되었다고 사료된다.

시금치를 이용한 발효물의 경우, KCTC22319를 이용한 발효물에서 항산화능의 유의적 증진이 관찰되었다. 12시간, 24시간 그리고 36시간에서 항산화능의 유의적 증진이 관찰되었으며, 특히 발효 36시간 후 최대 약 48%의 항산화능이 증진되었음을 확인하였다. 그 후 시간의 경과에 따라 항산화능의 지속적인 감소가 관찰되었다. 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 유의적으로 유지 또는 감소함을 확인 할 수 있었으며, 이러한 결과를 토대로 항산화능의 증진이 이러한 페놀 및 플라보노이드 함량의 변화와는 무관하다고 사료된다. pH의 경우 초산균을 접종한 모든 발효물이 시간경과에 따라 pH 감소를 나타내는 것을 확인하였으며, 이를 토대로 초산균의 배양은 원활히 진행되었다고 사료된다.

블루베리를 이용한 발효물의 경우, 모든 접종구에서 항산화능의 유의적 증진이 관찰되지 않았으며 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드의 함량에서도 유의적인 증진은 확인되지 않았다.

단일 과채류 농축액과 초산균을 이용한 발효의 경우, KCCM32831 균주가 가장 많은 과채류 농축액에서 항산화능을 증진시킴을 확인하였음. 또한 가장 많은 증진 폭을 보인 경우도 KCCM32831균주를 이용하여 블랙베리 농축액을 발효하였을 경우였으며, 이때의 증진 폭은 약 49%정도였다. 따라서 이러한 결과를 토대로, 과채류 농축액을 발효할 초산균으로는 KCCM32831 균주가 적합하다고 사료된다.

마. 혼합베리액(5종) 발효

(1) 혼합베리액 확보 및 성분 조사

(가) 실험개요

(주)동원으로부터 과채류 농축액의 조성을 달리하여 혼합한 5종의 혼합베리액을 제공받았음(표 91).

표 91. 혼합베리액 조성

이름	베리 조성비(%)				
	아사이베리	아로니아	크랜베리	산머루	시금치
A	73.41	16.59	10.00	-	-
B	80.00	10.00	10.00	-	-
C	65.70	24.29	10.00	-	-
D	74.00	10.00	10.00	3.00	3.00
E	72.40	10.00	10.00	4.95	3.00

혼합베리액 A, B, C는 아사이베리, 아로니아, 크랜베리 농축액 등을 혼합하여 제작하였으며, 혼합베리액 D와 E는 아사이베리, 아로니아, 크랜베리뿐만 아니라 산머루, 시금치 농축액 등도 함께 혼합하였다.

혼합베리액 제작 시 사용되었던 과채류들은 모두 항산화능이 우수한 것들이며 항산화능이 가장 우수하였던 아사이베리 농축액이 60% 이상의 높은 비율을 차지하였다.

혼합베리액을 이용하여 발효물을 제작하기 위하여 5종의 혼합베리액의 일반성분, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 항산화능 등을 측정하고자 하였다.

(나) 실험방법

혼합베리액의 일반성분 및 항산화능 측정방법은 위의 과채류 농축액의 분석방법과 동일한 방법을 사용하였다.

당 함량은 HPLC, Brix는 당도계, pH는 pH meter 등의 분석기기를 이용하여 측정하였으며, 항산화능은 ORAC assay kit의 사용법에 따라 측정하였음. 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 문헌을 참고하여 측정하였다.

(다) 실험결과

혼합베리액의 일반성분을 위와 같은 방법으로 분석하였음. 분석결과 5종의 혼합베리액 모두 pH가 약 4이하로 초산균이 생육하기에 적합하지 않았다(표 92).

표 92. 혼합베리액 일반성분 분석

이름	고형분 함량(g/mL)	pH	Brix	당 함량(g/L)	
				포도당	자일로스
A	0.100 ± 0.000	3.22 ± 0.01	8.67 ± 0.06	11.20 ± 0.01	6.68 ± 0.01
B	0.082 ± 0.000	3.08 ± 0.01	6.30 ± 0.00	6.72 ± 0.03	2.26 ± 0.03
C	0.162 ± 0.000	3.29 ± 0.01	14.10 ± 0.06	30.04 ± 0.03	23.37 ± 0.02
D	0.053 ± 0.001	3.85 ± 0.01	4.00 ± 0.06	6.55 ± 0.03	5.08 ± 0.02
E	0.072 ± 0.001	3.19 ± 0.00	5.70 ± 0.06	10.47 ± 0.04	5.25 ± 0.03

Brix의 경우, 아로니아 농축액의 비율이 24.29%로 가장 높았던 혼합베리액C가 14.10 ± 0.06으로 가장 높았으며, 5가지 과채류가 혼합된 혼합베리액 E가 5.70 ± 0.06으로 가장 낮게 나타났다.

모든 혼합베리액은 포도당 함량이 자일로스의 함량보다 높게 측정되었다.

당 함량은 아로니아 농축액의 비율이 가장 높았던 혼합베리액C가 포도당과 자일로스를 각각 30.04 ± 0.03, 23.37 ± 0.02 g/mL로 가장 많이 함유하고 있었다.

5종의 혼합베리액의 고형분 함량, brix 그리고 당 함량을 측정한 결과, 고형분 함량이 높은

혼합베리액이 brix가 높으며 당을 많이 함유한 것을 알 수 있었다.

고형분 함량은 가장 높은 것이 0.162 ± 0.000 g/mL로 대부분의 과채류 농축액보다 낮게 나타났다. 당 함량 또한 아사이베리와 시금치 농축액을 제외하고 가장 낮았는데 이는 5종의 혼합베리액 모두 고형분 함량과 당 함량이 매우 적은 아사이베리 농축액의 비율이 높기 때문으로 사료된다.

표 93. 혼합베리액 항산화능, 총 페놀, 총 플라보노이드 함량 측정

이름	ORAC($\mu\text{mol TE/g}$)	총 페놀 함량(mg GAE/g)	총 플라보노이드 함량(mg NAE/g)
A	251.43 ± 0.53	34.52 ± 1.19	12.01 ± 0.53
B	273.09 ± 5.24	32.25 ± 0.27	10.82 ± 0.65
C	204.63 ± 0.26	32.86 ± 0.79	10.52 ± 0.44
D	336.21 ± 6.58	41.44 ± 0.56	13.20 ± 0.91
E	255.85 ± 5.47	33.84 ± 0.23	10.58 ± 0.14

5종의 혼합베리액의 항산화능, 총 페놀, 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 항산화능은 혼합베리액D가 336.21 ± 6.58 $\mu\text{mol TE/g}$ 로 가장 높게 나타났으며, 혼합베리액C가 204.63 ± 0.26 $\mu\text{mol TE/g}$ 로 가장 낮게 나타났다. 과채류 농축액과 비교하였을 때, 아사이베리 농축액을 제외한 모든 과채류 농축액보다 항산화능이 우수하였다(표 93).

총 페놀 함량의 경우, 모든 혼합베리액이 약 30~40 mg GAE/g의 페놀을 함유하고 있었다. 과채류 농축액 중에는 아로니아 농축액이 35.50 ± 0.47 mg GAE/g로 비슷한 수준을 나타냈다.

총 플라보노이드 함량은 약 10 mg NAE/g으로 모든 혼합베리액에서 비슷하게 나타났다. 이는 아로니아, 시금치 농축액과 비슷한 수준이었음. 시금치 농축액은 총 플라보노이드 함량은 비슷하나 총 페놀 함량이 11.82 ± 0.35 mg GAE/g로 혼합베리액에 비해 낮아 항산화능의 차이를 보였다.

5종의 혼합베리액의 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 거의 유사하였다. 그러나 혼합베리액D의 항산화능이 다른 혼합베리액들보다 약 100 $\mu\text{mol TE/g}$ 정도 높게 나타났다.

혼합베리액D는 다른 혼합베리액과 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 고형분 함량 등이 큰 차이는 없었으나, 산머루 농축액과 시금치 농축액이 혼합되었으며 고형분 함량이 가장 낮았다.

위에서 언급한바와 같이 혼합베리액의 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 아로니아 농축액과 큰 차이가 없었으며 항산화능 또한 유사하거나 약간 높게 나타났다.

(2) 혼합베리액 발효물 제작

(가) 실험개요

혼합베리액의 당농도를 고려하여 적정 농도로 희석한 뒤 초산균을 접종하여 베리발효물을 제작하고, 발효 전·후의 항산화능 및 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량의 증진 여부를 측정하였다.

5종의 혼합베리액 모두 pH가 약 4이하로 초산균이 생육하기에 적합하지 않으므로 NaOH를 사용하여 pH를 약 7.0으로 보정한 후 발효물 제작에 사용하였다.

(나) 실험방법

원액 또는 증류수로 1/2배로 희석한 혼합베리액을 5 M NaOH를 이용하여 pH 7.0 으로 조정하였다. 그 후 기질로 에탄올을 3%(v/v)의 농도로 첨가 한 후 실험에 사용할 초산균 (KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011)을 접종하였다.

초산균을 30°C, 200 rpm에서 72시간 동안 전배양한 후 OD₆₀₀을 1로 맞추어 혼합베리액에 접종하였다. 본 배양은 30°C와 200 rpm 조건으로 48시간 동안 진행하였으며 12시간마다 시료를 채취하였다.

채취한 시료는 ultrasonic Processor (Sonics & Materials INC, USA)를 이용하여 2분 동안 20 kHz로 초음파 처리하여 시료 내 초산균을 파쇄 하였다. 파쇄 한 시료를 원심분리하여 그 상등액을 ORAC assay, 대사산물 함량 분석, pH 측정, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정에 사용하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였다. 통계처리는 windows 용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유의성 검정 결과는 알파벳으로 표기하였으며, a에서 멀어질수록 수치가 높아진다는 것을 의미한다.

혼합베리액 발효물의 생균수를 측정하기가 어려우므로 초산균이 성장하면서 초산을 생성하는 것을 이용하여 초산균의 생육여부를 판단하였다. 발효시간 경과함에 따라 초산균이 생성하는 초산에 의해 발효물의 pH는 낮아질 것이므로 이를 이용하여 발효시간에 따른 pH의 변화를 측정하여 초산균의 생육 여부를 판단하였다.

(다) 실험결과

① 혼합베리 A

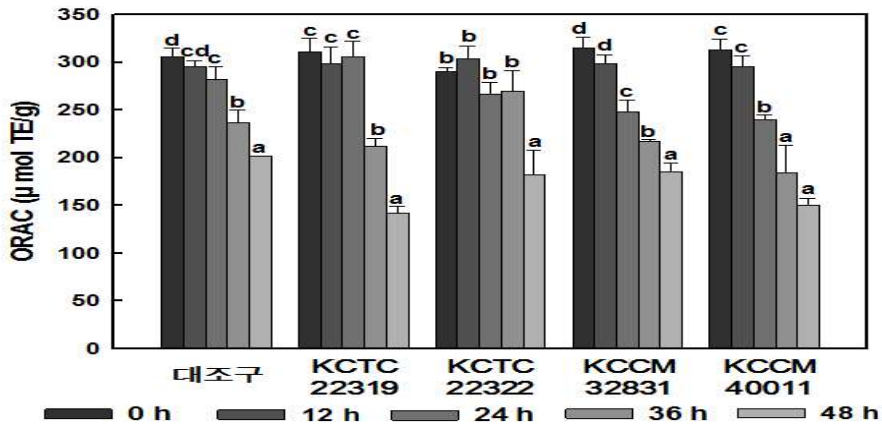


그림 195. 혼합베리A 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 감소하였다(그림 195).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 24시간 배양까지는 항산화능이 일정 수준을 유지하다 36시간부터 급격하게 감소하여 48시간에 $142.10 \pm 7.04 \mu\text{mol TE/g}$ 로 약 $170 \mu\text{mol TE/g}$ 이 감소하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물 또한 36시간까지는 항산화능의 유의적인 변화가 없었으나, 48시간 이후에 항산화능이 급격하게 감소하였다.

KCCM32831 균주와 KCCM40011 균주를 이용하여 제작한 발효물 또한 시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 감소하였다.

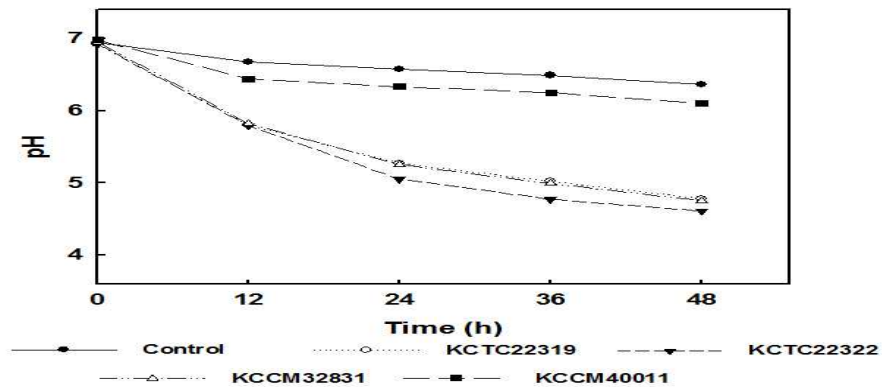


그림 196. 혼합베리A 발효물의 pH 변화

대조구의 경우, 시간이 경과함에 따라 균주를 접종한 실험구에 비해 pH가 완만하게 감소하는 경향을 나타냈다. 초기 pH값은 6.94였으며 최종 pH값은 6.36이었음(그림 196). pH의 변화가 크지 않은 것으로 보아 잡균의 오염은 없는 것으로 판단하였다.

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.92에서 48시간 후 pH 4.78까지 감소하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물은 초기 pH 6.92에서 48시간 후 pH 4.61로 2.31이 감소하였다. 모든 균주를 이용한 발효물 중 pH의 감소폭이 가장 크게 나타났다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 KCTC22319 균주를 접종하여 발효하였을 때와 유사하게 pH 6.95에서 pH 4.75까지 감소하였다. KCCM32831 균주는 KCTC22319 균주와 비슷한 성장속도를 보였다고 판단하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 pH가 6.98에서 6.1로 약 0.8밖에 감소하지 않았다. 대조구보다는 많이 감소하였으나 다른 균주를 접종한 발효물과 비교하였을 때에는 감소폭이 매우 작았음. 균주가 제대로 성장하지 못한 것으로 판단된다.

HPLC 분석 결과, 대조구는 에탄올 함량의 변화는 나타나지 않았으며 초산 또한 생성되지 않았다. pH가 가장 낮았던 KCTC22322 균주를 접종한 발효물에서는 초산이 10.56 g/L로 가장 많이 생성되었다.

KCTC22319, KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 초산을 각각 7.77 g/L, 7.19 g/L 생성하였다. 이러한 결과는 두 균주 발효물의 최종 pH가 유사하다는 결과와 일치하였다.

pH 감소폭이 적었던 KCCM40011 균주를 이용한 발효물의 초산 생성량은 2.11 g/L로 다른 균주들에 비해 가장 적게 나타났다.

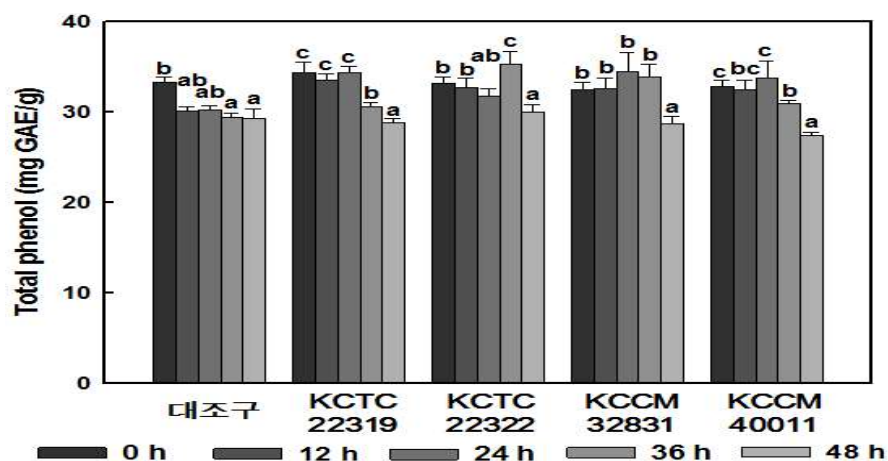


그림 197. 혼합베리A 발효물의 총 페놀 함량 변화

아무런 균주도 접종하지 않은 대조구의 경우, 총 페놀 함량의 증가는 나타나지 않았음(그림 197). 12시간까지는 총 페놀 함량이 감소하였으며 그 이후로는 일정한 수준을 나타냈다.

KCTC22319와 KCTC22322 균주를 접종한 발효물도 대조구와 마찬가지로 유의적인 페놀 함량의 증가는 나타나지 않았으며 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타냈다.

KCCM32831 균주 발효물은 발효시간에 따라 페놀 함량이 증가하는 것처럼 보이나 편차를 고려하였을 때, 유의적인 차이는 없다고 판단하였다.

KCCM40011 균주는 혼합베리액 내에서 제대로 성장하지 못하였기 때문에 대조구와 유사한 경향을 나타냈다.

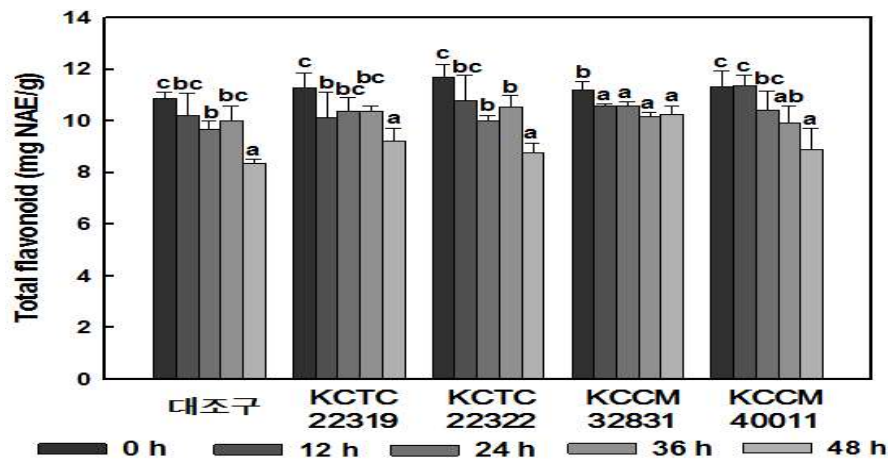


그림 198. 혼합베리A 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

균주를 접종하지 않은 대조구와 균주가 제대로 성장하지 못한 KCCM40011 접종 발효물의 총 플라보노이드 함량은 시간이 경과함에 따라 감소하였다. 또한 KCTC22322 균주를 접종한 실험구도 대조구와 비슷한 경향을 보였다(그림 198).

KCTC22319 균주와 KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 길어질수록 플라보노이드의 함량이 감소하였으나 그 감소폭이 대조구에 비해 적었다. 특히 KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 감소폭이 약 30 mg NAE/g으로 대조구의 감소폭(45 mg NAE/g)보다 15 mg NAE/g이 덜 감소되었다.

발효물 내의 pH 변화를 보았을 때, KCCM40011 균주는 혼합베리액A내에서는 잘 성장하지 못하였으며 그 외의 균주들을 이용한 발효물들은 발효시간이 경과함에 따라 대조구 대비 pH가 상당량 감소하였으므로 균주들이 잘 성장했다고 판단 할 수 있었다.

4가지 균주를 이용하여 혼합베리액A를 발효한 결과, 항산화능, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량의 증가는 나타나지 않았으며 오히려 감소하였음. 그러나 총 플라보노이드 함량의 경우 KCCM32831 균주를 접종하였을 때, 아무런 균주도 접종하지 않은 대조구에 비해 감소폭이 적게 나타났다.

② 혼합베리 B

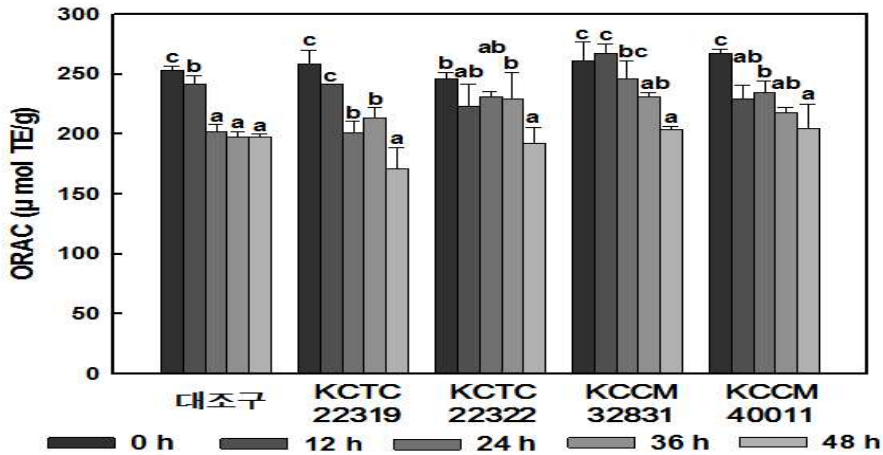


그림 199. 혼합베리B 발효물의 항산화능 변화

균주를 접종하지 않은 대조구는 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 지속적으로 감소하였다. 발효 시작 시에는 $253.39 \pm 2.97 \mu\text{mol TE/g}$ 이었던 항산화능이 48시간 발효 후 $198.04 \pm 2.24 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소하였다(그림 199).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우 초기 항산화능이 $258.06 \pm 12.17 \mu\text{mol TE/g}$ 이었으나 48시간 배양 시 $171.28 \pm 17.26 \mu\text{mol TE/g}$ 로 초기의 약 66% 수준까지 낮아졌다.

KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 발효시간이 길어지수록 항산화능이 떨어지는 비슷한 경향을 보였다.

4가지 균주를 이용한 발효물 모두 항산화능의 증진효과는 나타나지 않았으며 감소폭 또한 대조구와 큰 차이를 보이지 않았다.

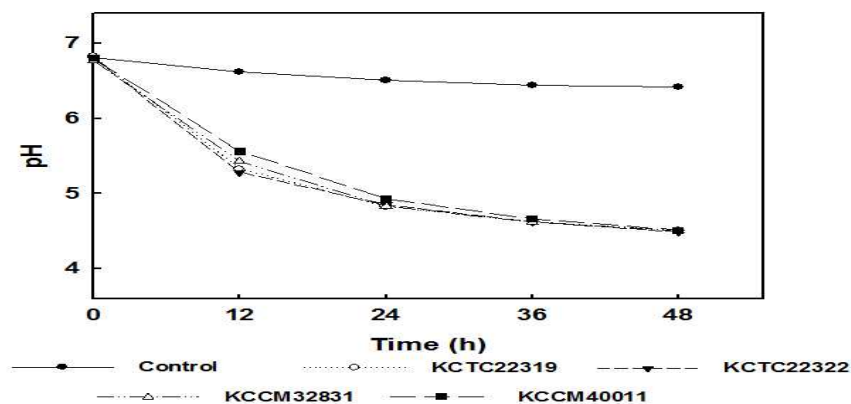


그림 200. 혼합베리B 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 pH의 감소폭이 매우 적었음. 초기 pH는 6.81이었으며, 48시간 배양 후에는 6.42까지 낮아졌다(그림 200).

KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831 그리고 KCCM40011 균주를 접종한 발효물들은 각각 초기 pH가 6.83, 6.80, 6.77, 6.80으로 유사하였으며 배양 후에도 4.51, 4.49, 4.50, 4.51로 비슷한 수준으로 떨어지는 것을 확인하였다.

4종의 균주를 이용한 발효물 모두 pH가 대조구에 비해 상당량 감소하는 것으로 보아 혼합베리B 내에서 잘 성장한다는 것을 확인 할 수 있었다.

HPLC 분석 결과, 대조구는 배양시간이 경과하여도 초기 에탄올 함량(23.54 g/L)에서 크게 변화하지 않았으며 초산은 생성되지 않았다.

4가지 균주를 접종한 발효물 중 KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 pH가 가장 빠르게 감소하였는데 이러한 결과는 KCTC22322 균주가 발효액 내에서 초산을 가장 빠르게 생성했기 때문으로 사료된다.

4가지 균주를 접종한 발효물의 최종 초산 생성량은 각각 9.77 g/L, 9.87 g/L, 9.28 g/L, 8.80 g/L였다. 생성된 초산의 양이 비슷하기 때문에 최종 pH 또한 유사하게 측정된 것으로 사료된다.

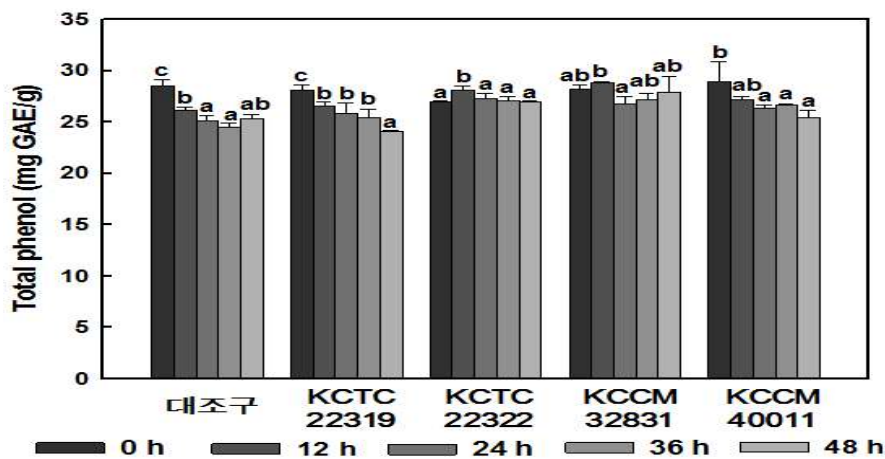


그림 201. 혼합베리B 발효물의 총 페놀 함량 변화

KCTC22319 균주를 이용하여 제작한 발효물은 48시간 배양 후 균주를 접종하지 않은 대조구보다도 낮은 총 페놀 함량을 나타냈다(24.06 ± 0.13 mg GAE/g).

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 12시간 배양까지는 총 페놀 함량이 약 1.2 mg GAE/g 증가하였으나 24시간 후 부터는 약간 감소하여 초기 페놀 함량과 비슷한 수준을 나타

냈다(그림 201).

KCCM32831 균주를 접종한 발효물 또한 KCTC22322 균주를 접종한 발효물과 유사하게 발효시간에 따른 총 페놀 함량의 변화는 미미하였다.

4가지 균주를 접종한 발효물의 발효시간에 따른 총 페놀 함량 변화를 측정한 결과, 대조구, KCTC22319, KCCM4001 균주를 사용한 발효물에서는 총 페놀 함량이 감소하였으나, KCTC22322 균주와 KCCM32831 균주를 이용한 발효물은 시간이 경과하여도 총 페놀 함량의 변화가 거의 없었다.

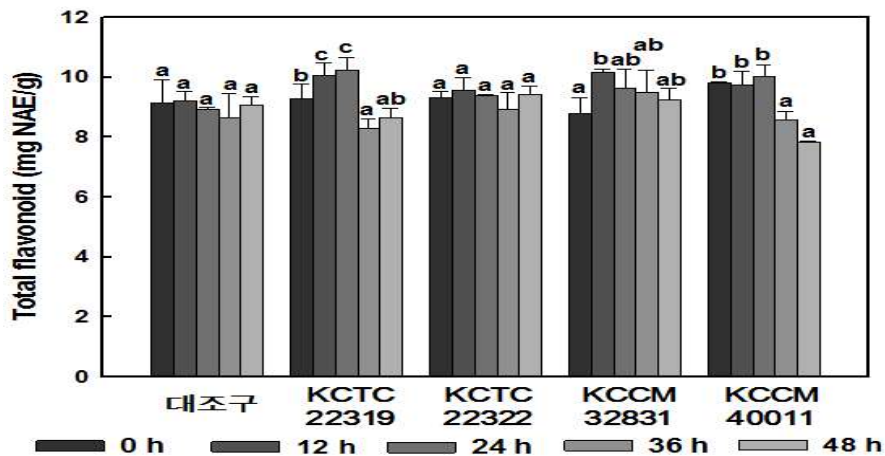


그림 202. 혼합베리B 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

균주를 접종하지 않은 대조구와 KCTC22322 균주를 접종한 발효물은 48시간 발효 후에도 총 플라보노이드 함량의 변화가 나타나지 않았다(그림 202).

KCTC22319 균주를 접종하여 발효한 결과, 배양 24시간 후까지는 총 플라보노이드 함량이 10.23 ± 0.44 mg NAE/g으로 증가하였으나, 24시간 후부터는 감소하였다.

KCCM32831 균주를 이용하여 제작한 발효물은 배양 12시간까지는 약 1.3 mg NAE/g 증가하였으며 그 이후로는 지속적으로 감소하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 24시간까지는 비슷한 함량을 나타내었으나 36시간부터 급격하게 감소하여 48시간에는 $7.83 \pm .03$ mg NAE/g으로 나타났다.

4종의 균주를 이용하여 혼합베리액B를 발효한 결과, 항산화능과 총 페놀 함량에는 차이가 없었으나 총 플라보노이드 함량은 KCTC22319, KCCM32831 균주를 이용하였을 때에 소량 증가하였다. 총 플라보노이드 함량은 배양 24시간 후에는 감소하였다.

③ 혼합베리 C

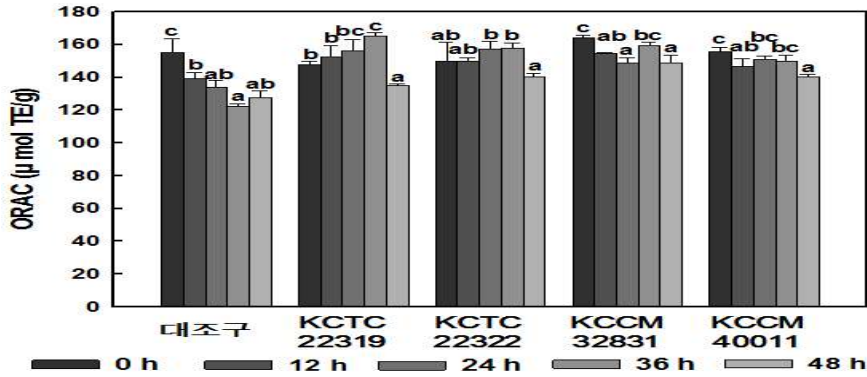


그림 203. 혼합베리C 발효물의 항산화능 변화

아무런 균주도 접종하지 않은 대조구의 항산화능은 발효시간이 경과함에 따라 지속적으로 감소하여 48시간 배양 후에는 $127.38 \pm 4.55 \mu\text{mol/g}$ 를 나타냈음. 이는 발효 전보다 약 20% 감소한 수치이다(그림 203).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 발효 36시간까지 항산화능이 계속 증가하다 48시간에 상당량 감소하였다. 초기 항산화능은 $147.65 \pm 2.09 \mu\text{mol/g}$ 이었으며 36시간 후에는 $164.89 \pm 2.42 \mu\text{mol/g}$ 으로 약 11% 증가하였다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물 또한 12시간 이후부터는 항산화능이 증가하였으나 그 증가량이 약 $7 \mu\text{mol/g}$ 으로 매우 미미하였다.

KCCM32831, KCCM4001 균주 발효물은 발효시간이 길어질수록 항산화능이 감소하였으나 대조구에 비해 감소폭이 적게 나타났다.

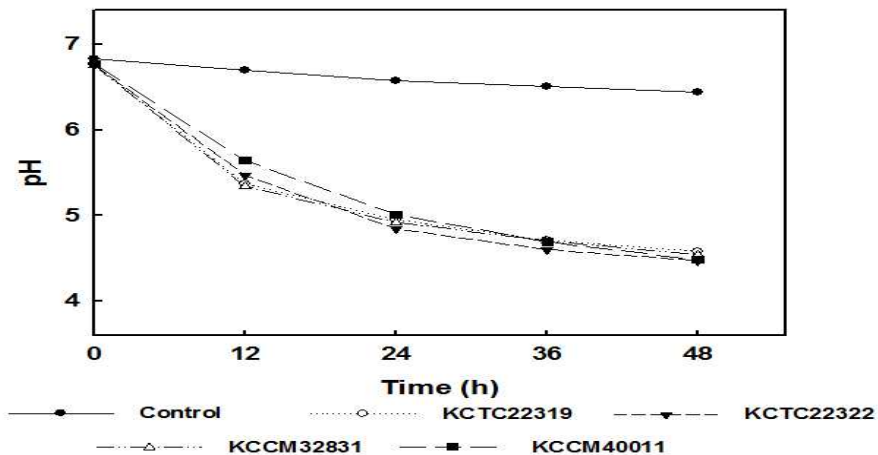


그림 204. 혼합베리C 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 시간이 경과함에 따라 pH는 감소하였으나 그 감소폭이 매우 적었음. 48시간 배양시 배양 초기보다 약 0.4가 낮아졌다(그림 204).

KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831 그리고 KCCM40011 균주를 접종한 발효물들은 각각 초기 pH가 6.76, 6.76, 6.76, 6.77로 거의 일치하였으며 배양 후에도 4.58, 4.47, 4.54, 4.48로 비슷한 수준으로 떨어지는 것을 확인하였다.

4종의 균주를 이용한 발효물 모두 pH가 대조구에 비해 상당량 감소하는 것으로 보아 혼합배리C 내에서 잘 성장한다는 것을 확인 할 수 있었다.

대조구의 HPLC 결과를 보면 에탄올 함량은 변화하지 않았으며 초산도 생성되지 않았음. 그럼에도 불구하고 시간이 지날수록 pH가 감소하는 것은 공기와의 접촉으로 인한 산화 때문이라고 사료된다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 다른 균주들을 접종한 발효물에 비해 pH가 천천히 떨어졌는데 이는 다른 균주들에 비해 KCCM40011 균주의 초산 생성속도가 느리기 때문으로 사료된다.

KCTC22322 균주는 초산을 가장 빠르게 생성하여 48시간 배양 후에는 8.16 g/L로 측정되었음. KCTC22319, KCCM32831 균주의 초산 생성량은 거의 비슷하였다.

4종의 균주를 이용한 발효물의 pH를 보면 최종 pH가 약 4.5로 유사하였다. 이 결과는 48시간 배양 후 4종의 균주가 만들어낸 초산의 생성량이 7~8 g/L로 큰 차이가 없었기 때문으로 판단된다.

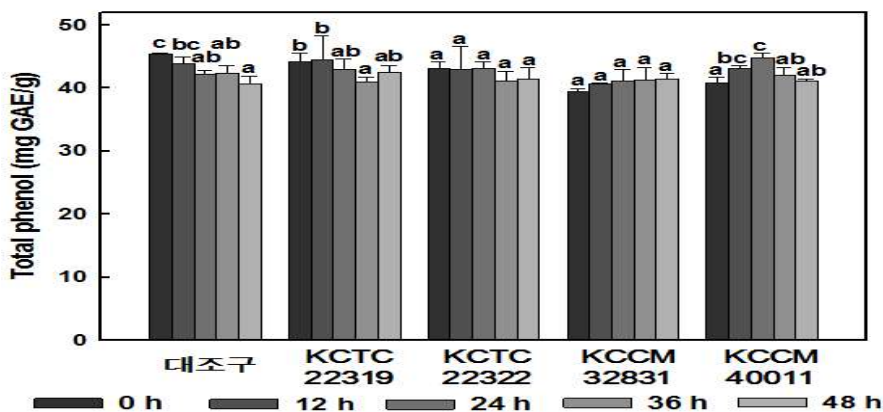


그림 205. 혼합배리C 발효물의 총 페놀 함량 변화

발효시간에 따른 혼합배리C 발효물의 총 페놀 함량 변화를 측정하였음. 측정결과, 4가지 균주를 접종한 발효물 모두 총 페놀 함량의 변화가 없거나 감소하였다(그림 205).

대조구와 KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 시간이 경과함에 따라 지속적으로 총 페놀 함량이 감소되었다.

KCTC22322, KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 시간의 경과와 관계없이 총 페놀 함량의 유의적인 차이가 없었다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 24시간까지 총 페놀 함량이 약 10%증가하였으며 그 이후로는 다시 감소하여 발효전과 비슷한 수준을 유지하였다.

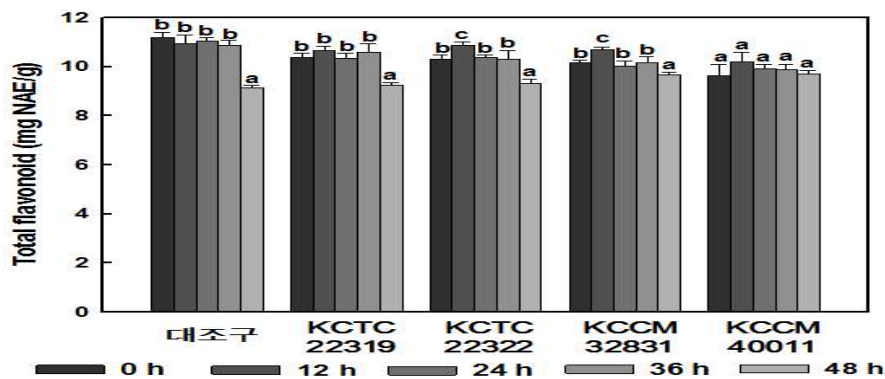


그림 206. 혼합베리C 발효물의 총 플라보노이드 변화

균주를 접종하지 않은 대조구와 4가지 균주를 접종한 발효물의 총 플라보노이드 함량의 변화를 측정하였다(그림 206.).

측정결과, 대조구와 KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 배양 36시간까지는 총 플라보노이드의 함량이 일정하였으나 48시간에는 급격하게 감소하였다.

KCTC22322, KCCM32831 균주 접종 발효물은 12시간 배양까지는 총 플라보노이드 함량이 약 0.5 mg NAE/g 증가하였으나 그 이후로는 계속 감소하여 대조구와 비슷한 수준의 총 플라보노이드 함량을 보였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물은 총 플라보노이드 함량이 증가하지는 않았지만 배양시간이 경과하여도 감소하지 않았다.

4가지 균주 모두 혼합베리C에서 잘 성장하는 것을 확인하였으며, 4가지 균주 발효물의 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 변화가 없었음. KCTC22319 균주를 이용한 발효물의 항산화능은 약 11% 증가하였는데 이 결과로 보아 페놀이나 플라보노이드가 아닌 물질에 의해 항산화능이 증진된 것으로 사료된다.

④ 혼합베리 D

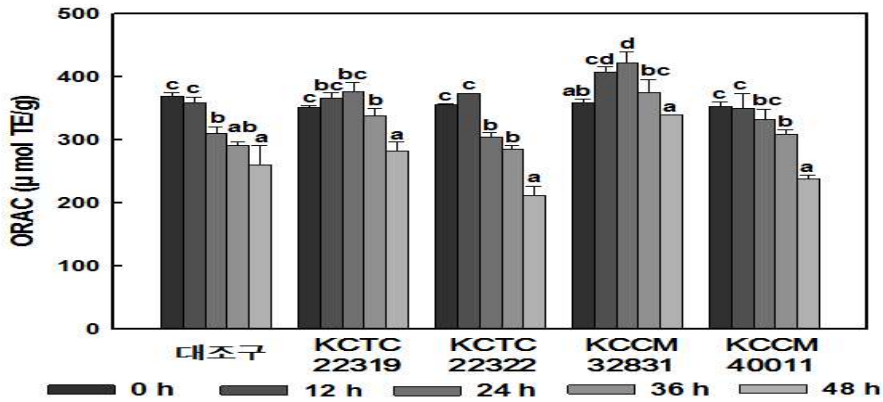


그림 207. 혼합베리D 발효물의 항산화능 변화

대조구의 경우, 초기에는 항산화능이 $368.68 \pm 6.12 \mu\text{mol TE/g}$ 였으나 48시간 배양 후에는 $260.47 \pm 31.17 \mu\text{mol TE/g}$ 로 약 $100 \mu\text{mol TE/g}$ 감소하였다(그림 207).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 24시간까지 항산화능이 약 $25 \mu\text{mol TE/g}$ 증가하였으며 24시간 후에는 항산화능이 감소하였다.

KCTC22322 균주 발효물의 경우 12시간 배양 후부터 항산화능이 급격하게 감소하여 48시간 배양 후에는 초기 항산화능보다 약 40% 감소하였음. KCCM40011 균주 또한 이와 비슷한 경향을 보였다.

KCTC32831 균주를 이용한 발효물은 24시간까지 항산화능이 증가하였으며, 그 이후로는 항산화능이 감소하였다. 그러나 48시간 배양 후에도 초기와 비교하였을 때 큰 차이가 없었음. 항산화능은 초기에는 $358.10 \pm 6.50 \mu\text{mol TE/g}$ 이었으며 24시간 배양 후에는 $421.43 \pm 18.02 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 17% 증진되었다.

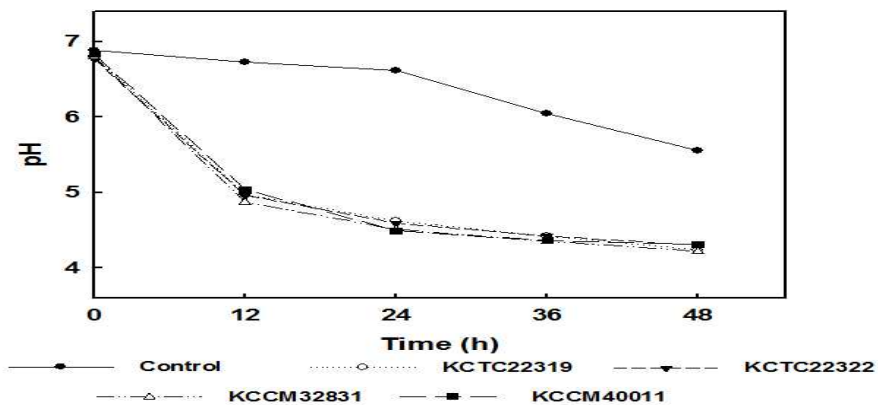


그림 208. 혼합베리D 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 배양 24시간까지는 pH의 감소폭이 크지 않았으나 24시간 경과 후 빠르게 감소하여 48시간 배양 후에는 5.55로 나타났음. 오염이 의심스러웠다(그림 208).

KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831 그리고 KCCM40011 균주를 접종한 발효물들은 각각 초기 pH가 6.81, 6.77, 6.80, 6.83로 비슷하게 나타났으며 48시간 발효 후에는 pH가 4.24, 4.30, 4.22, 4.31로 떨어졌다.

위에서 언급한 바와 같이 4가지 균주 발효물의 pH 감소폭은 유사하였으나 그 중에서도 KCCM32831 균주를 접종 할 시 2.58로 감소폭이 가장 컸다.

4종의 균주를 이용한 발효물 모두 pH가 빠르게 감소하는 것으로 보아 혼합배리D 내에서 균주가 잘 생육한다는 것을 알 수 있었으며 대조구의 경우에는 오염이 의심스러웠다.

오염이 의심스러웠던 대조구를 HPLC를 이용하여 분석한 결과, pH가 갑자기 감소하였던 36시간 부터 에탄올 함량이 감소하였으며 48시간 배양 후에는 1.83 g/L의 초산이 생성되었다.

KCTC22319, KCCM32831 균주를 접종한 발효물이 최종 pH가 4.24, 4.22로 나머지 두 균주를 접종한 발효물보다 약간 낮게 나타났다. 이 결과는 두 균주의 최종 초산 생성량이 각각 9.01 g/L, 9.54 g/L로 나머지 두 균주보다 높게 나타났기 때문으로 판단된다.

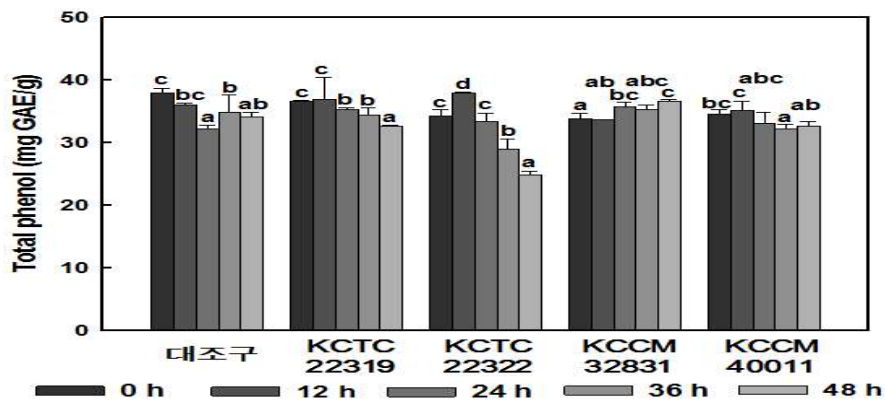


그림 209. 혼합배리D 발효물의 총 페놀 함량 변화

균주를 접종하지 않은 대조구는 총 페놀 함량이 지속적으로 감소하였음. 그러나 그 감소폭은 크지 않았다(그림 209).

항산화능이 증진되었던 KCTC22319 균주 발효물의 총 페놀 함량은 증가하지 않았으나 12시간 배양 후에는 약간씩 감소하는 경향을 보였다.

KCTC22322 균주를 접종한 경우에는 초기에는 34.21 ± 1.02 mg GAE/g이었던 총 페놀 함량이 12시간 발효 후 37.94 ± 0.10 mg GAE/g으로 증가하였음. 12시간 이후에는 빠르게 감소하

여 48시간에는 다른 실험구들에 비해 매우 낮은 총 페놀 함량을 보였다.

KCCM32831 균주 발효물의 경우 향산화능이 24시간 배양까지는 증가하였으나 총 페놀 함량은 24시간 배양 후에도 조금씩 증가하여 약 8% 증가하였다.

KCCM40011 균주 발효물의 총 페놀 함량은 시간이 경과하여도 변화가 미미하였다.

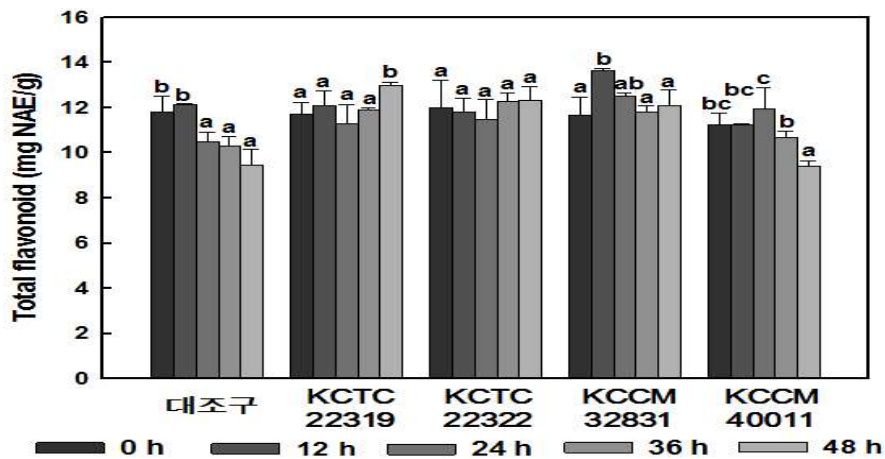


그림 210. 혼합베리D 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

균주를 접종하지 않은 대조구와 4가지 균주를 접종한 발효물의 총 플라보노이드 함량의 변화를 측정하였다(그림 210).

측정결과, 대조구는 12시간 배양까지는 총 플라보노이드 함량의 차이가 없었으며, 그 이후로는 약 2.3 mg NAE/g 감소하였다.

향산화능이 약간 증가하였던 KCTC22319 균주 발효물은 36시간까지는 플라보노이드 함량의 변화가 없었으나 48시간 배양 후에는 미량 증가하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 총 플라보노이드 함량이 12시간 발효 후까지 약 12% 증가하였으며, 그 이후로는 초기와 비슷한 수준으로 감소하였다.

4가지 균주는 혼합베리D에서 잘 성장하여 초산을 생성하였으며, KCTC22319 균주와 KCCM32831 균주를 접종한 발효물이 향산화능, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 등이 증가한 것을 확인 할 수 있었다. 그러나 배양시간이 길어질수록 향산화능은 다시 감소하는 경향을 보였다.

⑤ 혼합배리 E

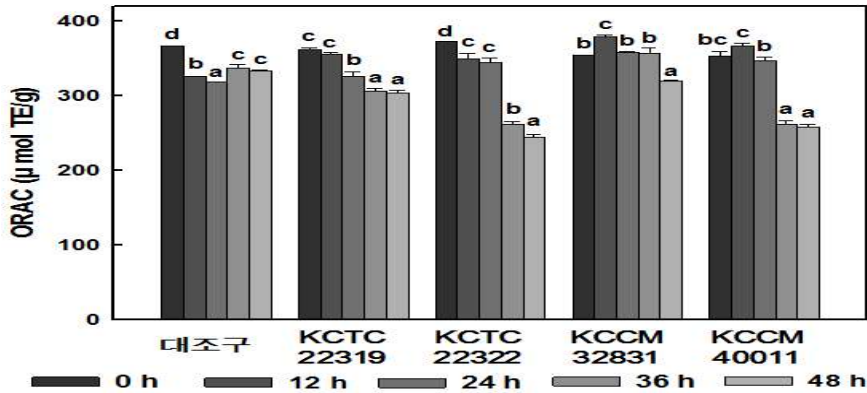


그림 211. 혼합배리E 발효물의 항산화능 변화

초산균을 접종하지 않은 대조구의 항산화능은 배양 24시간 후까지는 감소하였으나 그 이후로는 약간 증가하였음. 그러나 초기 값과 비교하였을 때 약 30 $\mu\text{mol TE/g}$ 낮은 수치였다(그림 211).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물은 지속적으로 항산화능이 감소하였음. KCTC22322 균주를 접종한 발효물은 24시간까지는 약간 감소하였으나 36시간부터 급격히 감소하여 발효 전보다 약 35% 감소하였다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물은 배양 후 12시간까지는 항산화능이 증가하였다($379.23 \pm 2.12 \mu\text{mol TE/g}$).

KCCM40011 균주를 접종한 경우 12시간까지는 항산화능이 약간 증가하다 그 이후로는 감소하였다. 특히 24시간에서 36시간으로 넘어갈 시 급격히 감소하였음. 발효 전과 비교 하였을 때 약 73% 수준의 항산화능을 나타낸다.

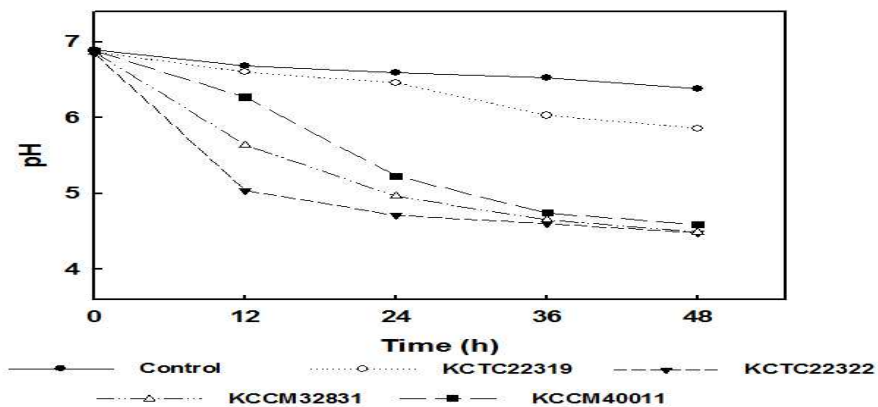


그림 211. 혼합배리E 발효물의 pH 변화

대조구의 경우 시간이 경과함에 따라 pH가 완만하게 감소하는 경향을 나타냈다. pH값은 초기 6.90에서 48시간 후 6.38로 감소하였으며, 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다(그림 211).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.87에서 48시간 후 pH 5.86 까지 감소하였으나, 다른 균주를 접종한 발효물에 비해 pH 감소폭이 매우 적었다. 이러한 결과는 균주가 잘 생육하지 못했기 때문이라고 사료된다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, KCTC22322 균주를 접종한 발효물과 유사하게 초기 pH 6.87에서 48시간 후 pH 4.49까지 pH가 감소하였다. 하지만, KCTC22322 균주를 접종한 발효물보다 초기 12시간 경과시 pH 감소폭은 더 적은 것으로 나타났다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 초기 pH 6.88에서 48시간 후 4.59까지 pH가 감소하였음. 특히 12시간에서 24시간 구간 사이 pH 감소율이 가장 높게 나타났다.

HPLC 분석 결과, 대조구는 에탄올 함량의 변화가 나타나지 않았다. 반면 나머지 균주들을 접종한 발효물에서는 초산이 생성되었으며 pH의 감소속도가 느릴수록 초산생성 속도가 느린 것을 확인하였다.

KCTC22319 균주를 이용한 발효액은 다른 균주들에 비해 pH 감소속도가 매우 느렸다. 배양 24시간 이후에는 pH의 감소폭이 커졌는데 이는 36시간부터 균주가 초산을 생성했기 때문으로 판단된다.

KCTC22322 균주의 경우 pH 감소속도가 가장 빨랐으며 초산 생성량 또한 11.42 g/L로 가장 높게 나타났다.

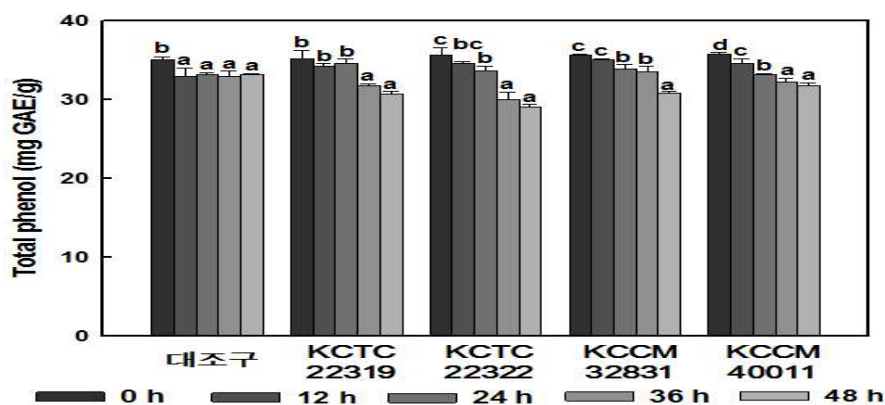


그림 212. 혼합베리E 발효물의 총 페놀 함량 변화

대조구와 발효물 4종 모두 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하는 경향을 나타냈다. 대조구의 경우, 초기 35.00 ± 0.45 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 시간이 경과함에 따라 33.16 ± 0.18 mg GAE/g로 약 2.26% 감소하였다(그림 212).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 감소하였다. 초기 35.12 ± 1.15 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 48시간 후 30.71 ± 0.30 mg GAE/g로 감소하여 약 12.57%의 감소율을 나타냈다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물 역시 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 감소하였으며, 초기 35.70 ± 0.81 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 발효 48시간 후 29.04 ± 0.35 mg GAE/g로 감소하여 가장 높은 약 18.65%의 감소율을 나타냈다.

KCTC32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 감소하는 경향을 나타냈으며, 초기 35.65 ± 0.15 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 48시간 후 30.77 ± 0.22 mg GAE/g로 감소하여 약 13.70%의 감소율을 나타냈다.

KCTC40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 시간이 경과함에 따라 총 페놀 함량이 감소하였으며, 초기 35.73 ± 0.29 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 48시간 후 31.76 ± 0.39 mg GAE/g로 약 11.12% 감소한 것으로 나타났다.

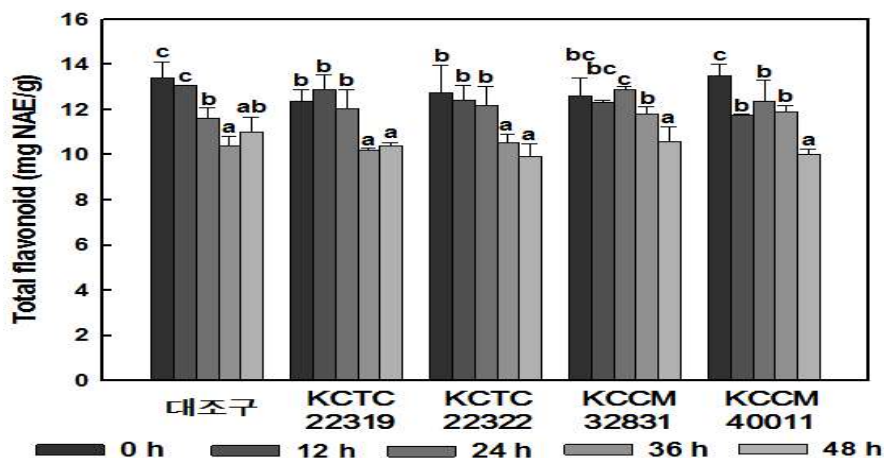


그림 213. 혼합베리E 발효물의 총 플라보노이드 함량 변화

대조구의 경우, 초기 13.39 ± 0.70 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 11.00 ± 0.70 mg NAE/g까지 감소하였으며, 약 17.89%의 감소율을 나타냈다(그림 213).

KCTC22319 균주를 접종한 발효물의 경우, 발효 24시간 후까지는 총 플라보노이드 함량이 유사하게 유지되었으나 그 후 감소하는 경향을 보였음. 최종적으로 초기 12.35 ± 0.54 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 10.38 ± 0.17 mg NAE/g까지 감소하여 약 15.94%의 감소율을 나타냈다.

KCTC22322 균주를 접종한 발효물의 경우 대조구와 유사하게 시간의 경과에 따라 총 플라보노이드 함량이 감소하였으며, 초기 12.77 ± 1.23 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효

48시간 후 9.91 ± 0.58 mg NAE/g까지 감소하여 22.36%의 감소율을 나타냈다.

KCCM32831 균주를 접종한 발효물의 경우, 총 플라보노이드 함량이 발효 24시간까지 미세하게 증가하였다 그 후 발효 48시간 까지 감소하는 경향을 나타냈음. 초기 12.60 ± 0.83 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 24시간 후 12.91 ± 0.12 mg NAE/g로 약 2.47%가량 증진되었다가 발효 48시간 후 10.56 ± 0.69 mg NAE/g까지 감소하였다.

KCCM40011 균주를 접종한 발효물의 경우, 대조구와 유사하게 시간의 경과에 따라 총 플라보노이드 함량이 감소하였다. 초기 13.48 ± 0.52 mg NAE/g의 총 플라보노이드 함량이 발효 48시간 후 10.03 ± 0.25 mg NAE/g로 감소하여 가장 높은 약 25.57%의 감소율을 나타냈다.

(라) 결론

단일 과채류 농축액의 항산화능 증진을 위해 4종의 초산균(KCTC22319, KCTC22322, KCCM32831, KCCM40011)을 이용하여 발효를 진행하였다.

초산균의 생육을 위해 초기 pH를 pH 7.0으로 조정하였으며, 원액 혹은 적정농도로 희석한 혼합베리액에 3%(v/v)의 에탄올을 첨가하였다.

혼합베리A의 경우, 4종의 다른 균주를 접종하여 발효하였을 때 항산화능, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량의 증가는 나타나지 않았다. 그러나 총 플라보노이드 함량의 경우, KCCM32831 균주를 제외한 나머지 실험구에서는 함량이 상당량 감소하였으나 KCCM32831 균주를 이용하여 만든 발효물은 시간이 경과하여도 일정 수준을 유지하였다.

혼합베리B는 발효물 제작 시 항산화능과 총 페놀 함량의 변화는 나타나지 않았다. 그러나 총 플라보노이드 함량의 경우, KCTC22319 균주를 사용하여 발효할 시 24시간까지 약 10.23 ± 0.44 mg NAE/g로 약 10% 증가하였음. 또한 KCCM32831 균주를 이용하여 발효 시 배양 12시간까지 약 1.3 mg NAE/g의 증진이 나타났다.

혼합베리C에서는 KCTC22319 균주 사용 시 항산화능이 약 11% 증가하였으며, KCTC22322 균주를 사용하였을 때에는 12시간 배양 후부터 약 $7 \mu\text{mol TE/g}$ 이 증가하였음. 총 페놀 함량의 경우 KCCM40081 균주를 사용하여 발효하였을 때 24시간까지 페놀 함량이 약 10% 증가하였으며 그 이후로는 다시 감소하는 경향을 나타냈음. 총 플라보노이드 함량은 KCTC22322, KCCM32831 균주 모두 증가하였으나 증가량은 매우 미미하였다.

혼합베리D를 사용하여 발효 시, KCTC22319 균주와 KCCM32831 균주를 사용하였을 때 항산화능이 증진되었음. KCTC22319 균주를 사용한 발효물은 24시간 배양 시 항산화능이 약 7% 증가하였으며, KCCM32831 균주를 사용한 발효물은 24시간 배양 시 약 17%가 증진되었다. 총 페놀 함량은 KCTC22322 균주를 사용하였을 때 12시간 배양까지는 약 11%의 증진이 나타났으며 그 이후로는 감소하는 경향을 나타냈음. 총 플라보노이드 함량은 KCTC22319 균주 발효물이 발효 초기에는 변화가 없었으나 36시간 이후부터 증가하였음. 또한 KCCM32831 균주 발효물은 12

시간 배양까지 약 12%의 플라보노이드 함량이 증가하였고 12시간 배양 후부터는 발효 전과 비슷한 수준으로 떨어졌다.

혼합베리E의 경우 KCCM32831, KCCM40011 균주를 접종한 발효물에서 약간의 항산화능 증진은 있었으나 매우 미미하였으며, 모든 발효물에서 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량의 변화가 나타나지 않았음.

혼합베리액과 초산균을 이용한 발효의 경우, 단일 과채류 농축액을 사용하였을 시와 유사하게 KCCM32831 균주가 항산화능, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 등의 증진이 우수하였음. 따라서 혼합베리액 발효를 위해서는 KCCM32831 균주가 가장 적합하다고 판단됨.

제 3 절 3차년도 연구내용

1. 원료 및 제품 표준화

가. 원료 표준화

(1) 혼합베리 A

혼합베리 A의 원료 표준화를 위해서 6개월간 10개의 각각 다른 Lot 원료를 시료로 하여 표준화를 진행하였으며 시료는 -20℃에 보관하면서 분석을 하기와 같이 진행하였다.

표 94. 혼합베리 A 일반성분 분석 결과

이름	고형분 함량(g/mL)	pH	Brix	당 함량(g/L)	
				포도당	자일로스
1	0.0995	3.22	8.75	11.19	6.66
2	0.1004	3.21	8.70	11.19	6.69
3	0.1000	3.23	8.64	11.20	6.68
4	0.0993	3.21	8.72	11.19	6.68
5	0.1003	3.24	8.70	11.19	6.67
6	0.1012	3.22	8.69	11.21	6.67
7	0.0995	3.23	8.67	11.19	6.69
8	0.1001	3.19	8.67	11.20	6.68
9	0.1005	3.21	8.73	11.20	6.66
10	0.1003	3.24	8.64	11.21	6.67
평균	0.1001	3.22	8.69	11.20	6.67
표준편차	0.0006	0.015	0.037	0.008	0.011

표 95. 혼합베리 A 항산화능, 총 페놀, 총 플라보노이드 함량

이름	ORAC(μ mol TE/g)	총 페놀 함량(mg GAE/g)	총 플라보노이드 함량(mg NAE/g)
1	250.67	34.42	11.94
2	250.96	36.21	12.26
3	252.97	34.95	12.25
4	252.15	35.11	12.53
5	251.83	35.08	11.38
6	251.11	37.18	11.34
7	251.26	32.70	11.36
8	251.56	33.75	10.85
9	251.06	34.16	11.74
10	251.57	35.14	11.69
평균	251.51	24.87	11.73
표준편차	0.670	1.245	0.519

(가) 정규성 검정

혼합베리A의 pH, 고형분, Brix, 당함량(포도당, 자일로스), ORAC, 총페놀, 총플라보노이드 데이터의 정규성을 확인하고 이를 통해 표준화 데이터로 분석이 가능한지 확인이 가능하다.

① pH

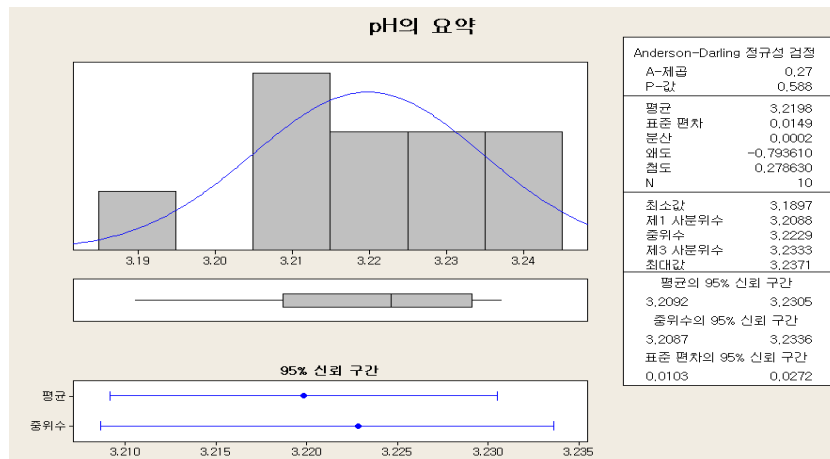


그림 214. pH 정규성 검정

혼합베리A 10종의 pH를 측정한 결과 평균이 pH 3.22이고, 표준편차 0.015로 확인 되었다. 이의 정규성 검정 결과 *p*-value값이 0.588로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

② 고행분

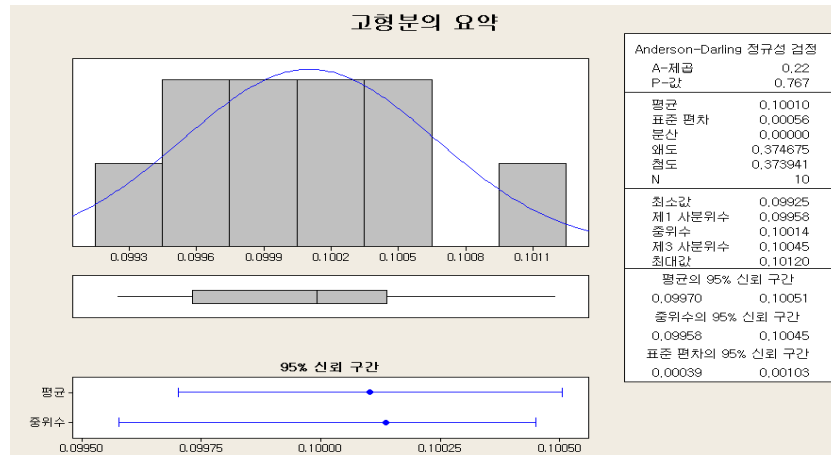


그림 215. 고행분 정규성 검정

혼합베리A 10종의 고행분을 측정된 결과 평균이 0.1001이고, 표준편차 0.00056으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.767로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

③ Brix

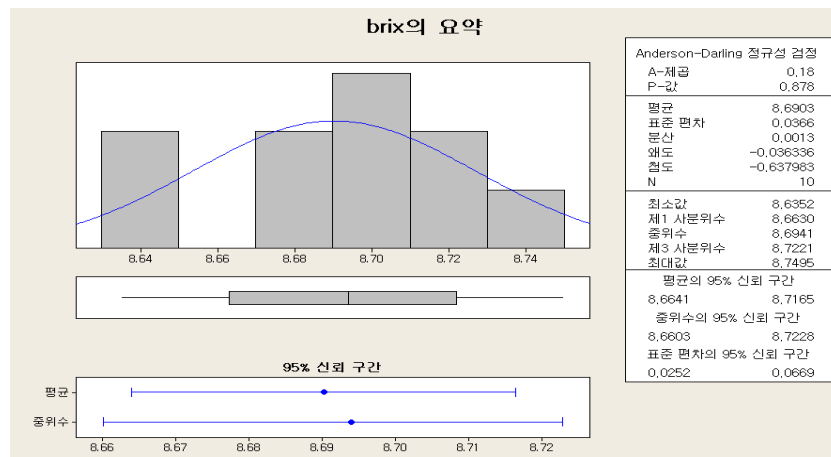


그림 216. Brix 정규성 검정

혼합베리 A 10종의 고행분을 측정된 결과 평균이 8.69이고, 표준편차 0.037으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.878로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

④ 포도당 함량

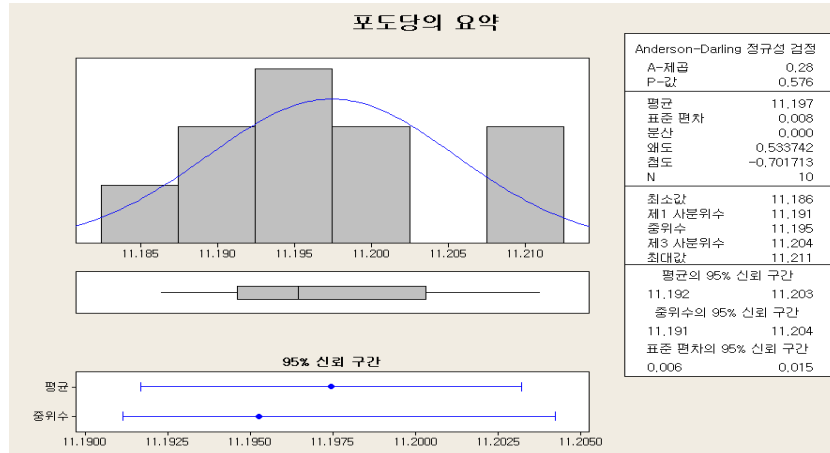


그림 217. 포도당 정규성 검정

혼합베리 A 10종의 고형분을 측정 한 결과 평균이 11.20 g/L이고, 표준편차 0.008으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.878로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

⑤ 자일로스

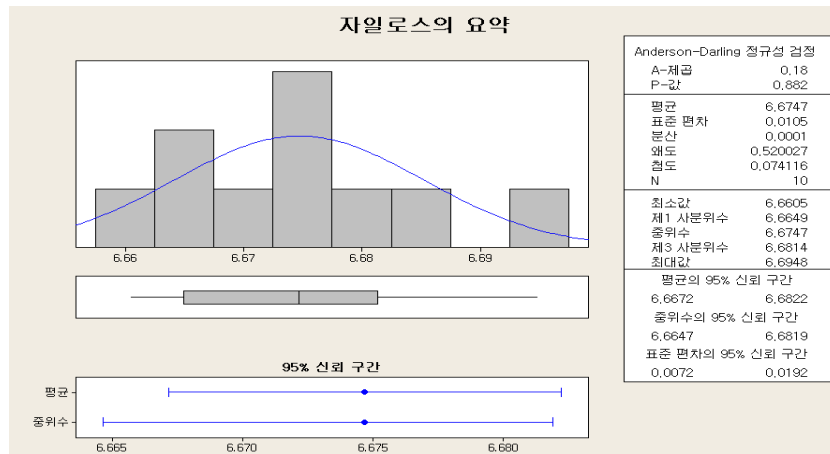


그림 218. 자일로스 정규성 검정

혼합베리 A 10종의 고형분을 측정 한 결과 평균이 6.67 g/L이고, 표준편차 0.011으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.882로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

⑥ ORAC

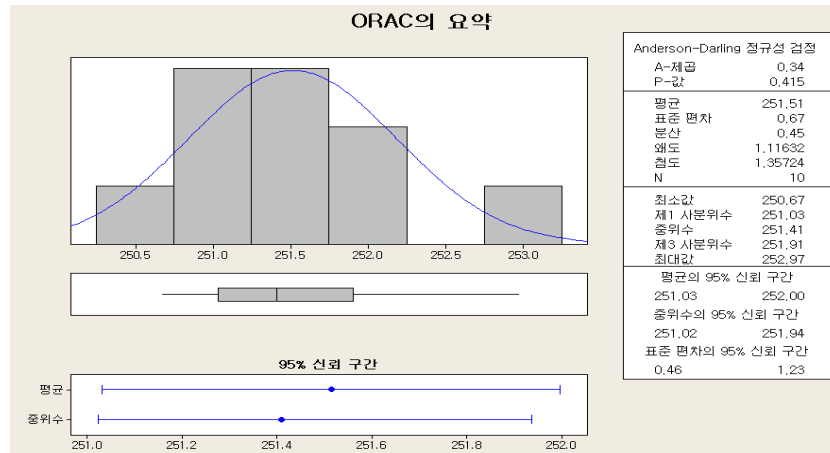


그림 219. ORAC 정규성 검정

혼합베리 A 10종의 ORAC을 측정한 결과 평균이 251.51 $\mu\text{mol TE/g}$ 이고, 표준편차 0.670으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.415로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

⑦ 총 폴리페놀

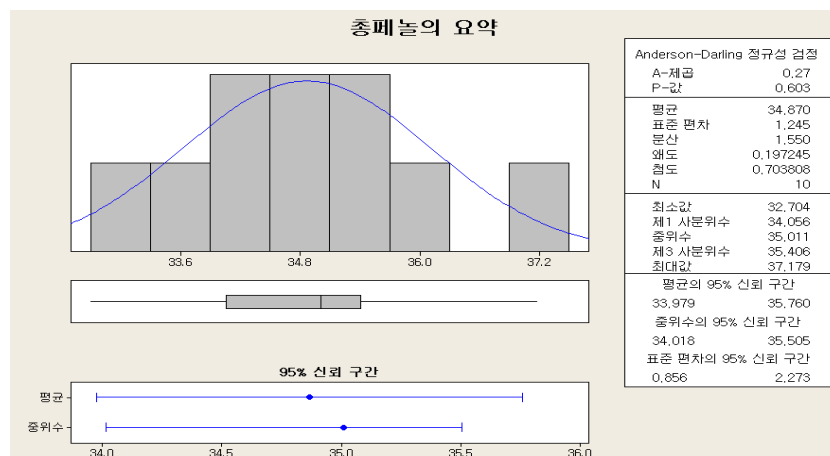


그림 220. 총페놀 정규성 검정

혼합베리 A 10종의 총페놀을 측정한 결과 평균이 34.87 mg GAE/g이고, 표준편차 1.245으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.603로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

⑧ 총 플라보노이드

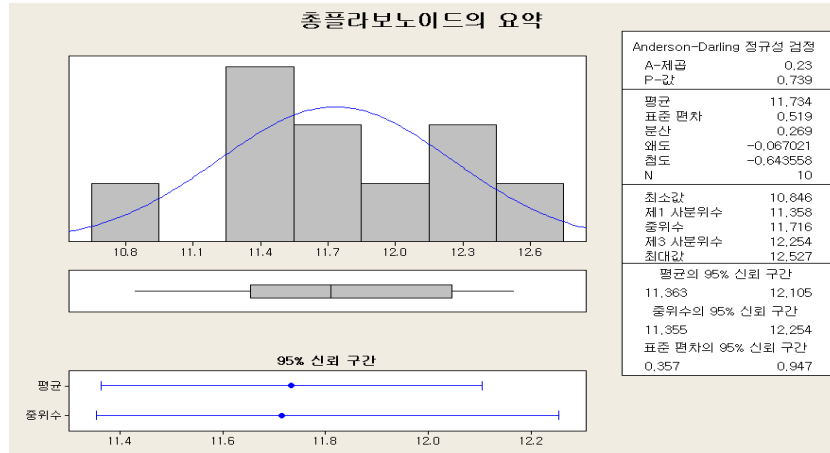


그림 221. 총플라보노이드 정규성 검정

혼합베리 A 10종의 총플라보노이드를 측정한 결과 평균이 11.73 mg NAE/g이고, 표준편차 0.519으로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.739로 데이터의 정규함을 확인하였다. 데이터가 정규하다는 것은 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었다는 것을 의미한다.

(나) IMR-관리도

혼합베리 A의 pH, 고형분, Brix, 당함량(포도당, 자일로스), ORAC, 총페놀, 총플라보노이드 데이터의 산포 및 이상 데이터 확인이 가능하다.

① pH

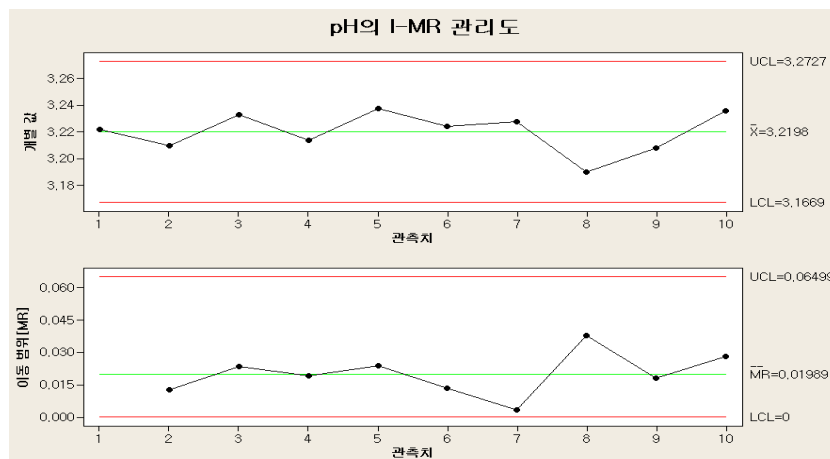


그림 222. pH I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 pH를 측정하여 개별데이터 분석에 활용되는 I-MR 관리도로 데이터 산

포 및 이상치에 대한 분석결과 관리한계선(표준편차 $\pm 3\sigma$) 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있다. 또한 이상치가 존재하거나 9개의 데이터가 같은 경향을 나타내는 특성을 보이지 않아 pH는 관리범위안에 있다고 할 수 있다.

② 고흡분

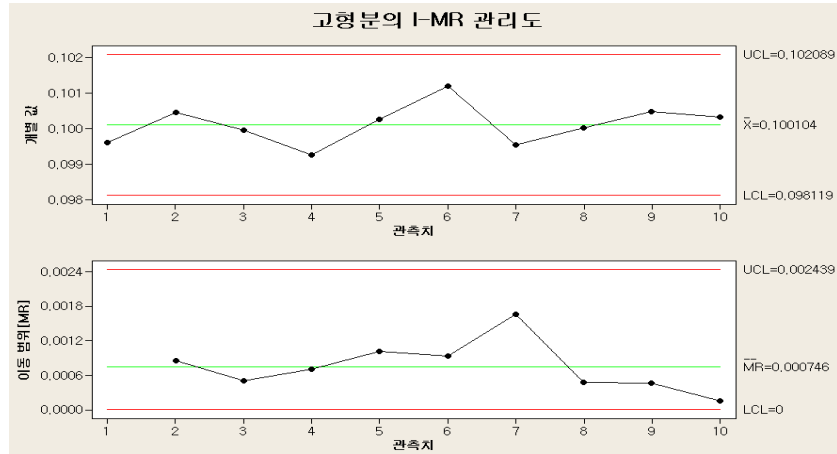


그림 223. 고흡분 I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 고흡분을 측정된 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있다.

③ Brix

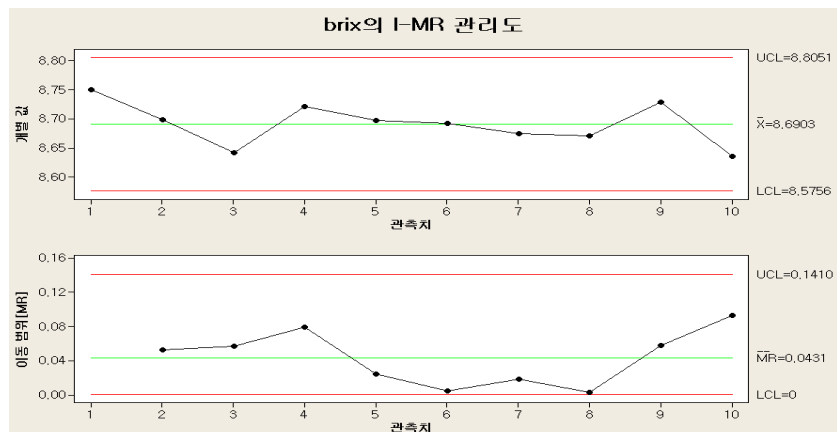


그림 224. Brix I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 Brix를 측정된 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있다. 그러나 Brix는 베리, 과채류 특성상 재배시기, 강수량, 일조량, 계절에 따라 과즙의 고흡분 함량 변화가 많을 것으로 예측되며 이에 따라 항산화활성 변화의 우려가 있으므로 품질문서를 강화하여 관리한계선 안에서 안정적으로 관리될 수 있도록 해야한다.

④ 포도당 함량

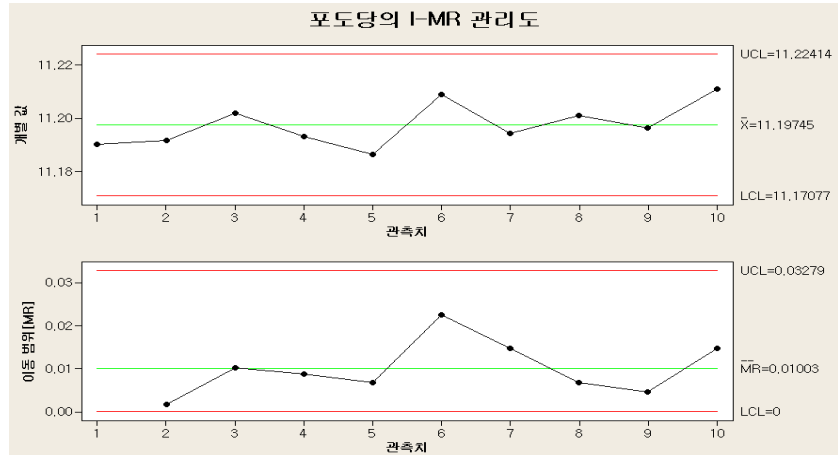


그림 225. 포도당 I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 포도당을 측정된 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있다.

⑤ 자일로스

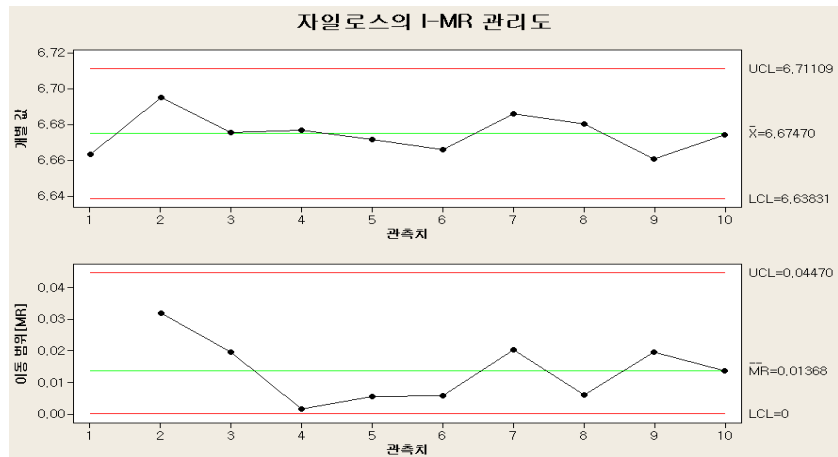


그림 226. 자일로스 I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 자일로스를 측정된 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있다. 그러나 이동 범위 한계선을 보면 혼합베리 Lot 당 편차가 큰 경우가 발생할 가능성이 있으며 역시 원물관리에 있어서 주요 체크 품목으로 관리를 해야 한다.

⑥ ORAC

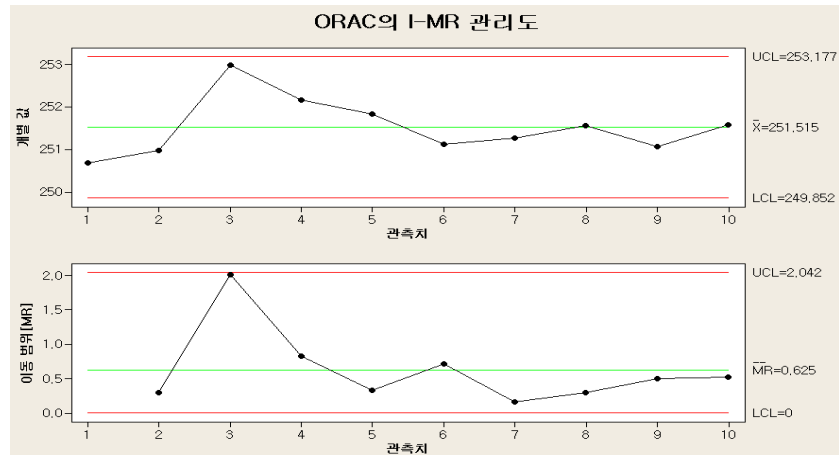


그림 227. ORAC I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 ORAC을 측정한 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있다. ORAC 관리도의 경우 이상치에 근접하는 데이터가 있으나 평균값에 대한 상대편차를 계산해보면 가장 큰 상대편차의 값이 0.4%로 기준인 5% 보다 낮게 나타나 혼합베리 A의 ORAC 향산화에 대한 산포 범위가 크지 않을 것으로 판단된다.

⑦ 총 폴리페놀

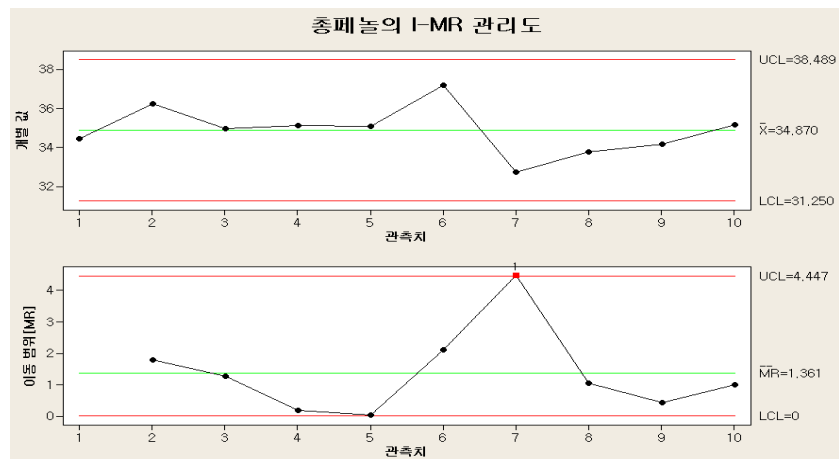


그림 228. 총 폴리페놀 I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 총페놀을 측정한 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있는 것으로 나타나지만 이동 범위(moving range)를 보면 데이터 차이 즉 산포가 규격관리 범위를 넘어서는 값이 나타남을 알 수 있다. 따라서 혼합베리 A의 경우 총폴리페놀 함량 관리에 있어서 산포가 크게 발생하는 데이터가 나타날 수 있기 때문에 Lot 별 분석 샘플 수 및 주기를 정해 별도로 관리를 하여 총폴리페놀 함량의 계절별, Lot 별 데이터를 축적해 보다 정밀한 함량 관리를 해야 고향산화 드링크 제품의 향산화 수치의 관리가 가능하다.

⑧ 총플라보노이드

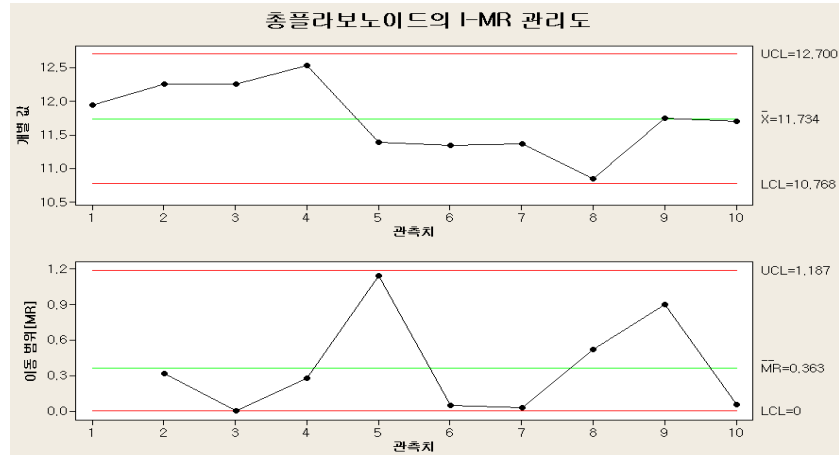


그림 229. 총플라보노이드 I-MR관리도

혼합베리 A 10종의 총플라보노이드를 측정된 결과 관리한계선 안에서 이상 없이 분포되어 있으므로 관리상태에 있다고 볼 수 있으나 플라보노이드 함량 역시 이동범위를 보면 최대 1.2 mg NAE/g 의 차이가 발생할 수 있으며 개별값과 비교해서 높은 수준에 속한다. 데이터 간의 값의 차이는 플라보노이드 특성상 빛, 물리적 스트레스, 가열처리 등의 외부요인에 의해 분해되는 특성이 강해 특히 차이가 심한 것으로 생각된다. 플라노이드 함량 관리를 위해서는 최대한 공정시간을 단축하여 생산할 수 있도록 현장 개선부분도 점검하여 플라보노이드 함량관리에 만전을 기하도록 하겠다.

(다) 결과 및 결론

혼합베리 A 의 영양성분, 항산화활성, 항산화물질에 대한 표준화를 진행한 결과 모든 영양성분의 데이터는 정규하여 표본자료가 모집단에서 랜덤하게 샘플링 되었고, 개별값에 대한 I-MR 관리도를 보면 영양성분은 대부분 관리 규격범위에서 산포가 안정적으로 나타났으나 항산화 관련된 ORAC 수치 및 총 폴리페놀, 총 플라보노이드의 경우는 혼합베리의 원료가 대부분 베리류이기 때문에 계절에 따른 베리의 색소, 폴리페놀 성분의 변화에 의해 산포가 크게 나타나는 것으로 파악되었다. 특히 총 폴리페놀 함량의 경우 데이터 간의 차이에서 발생하는 이동 범위의 한계선을 넘어가는 경우가 발생하였다. 따라서 과재농축액 A의 원료 표준화를 위해 고향산화 드링크를 제조 및 판매함에 있어 1년 정도는 계속적으로 모니터링을 실시하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

나. 발효공정 표준화

(1) 유산균발효 혼합베리A

(가) 동질성 검증(등분산 검정)

① ORAC

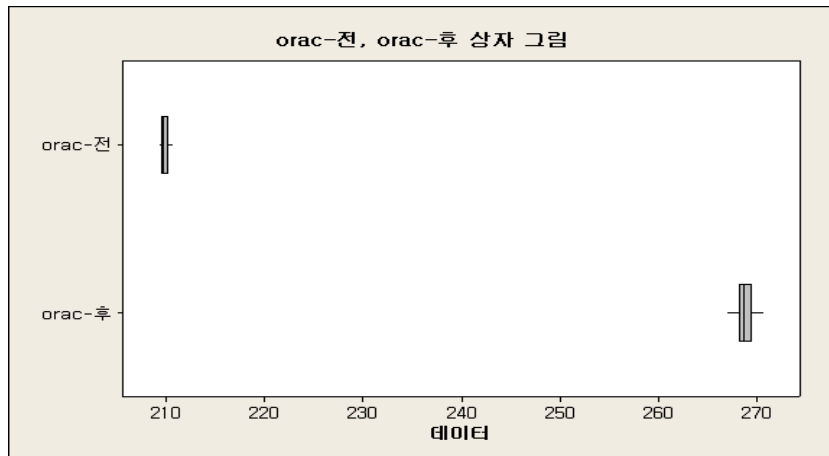


그림 230. ORAC 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 ORAC 항산화활성 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.000 로서 산포의 차이가 있는 것으로 나타났다.

② 총 폴리페놀

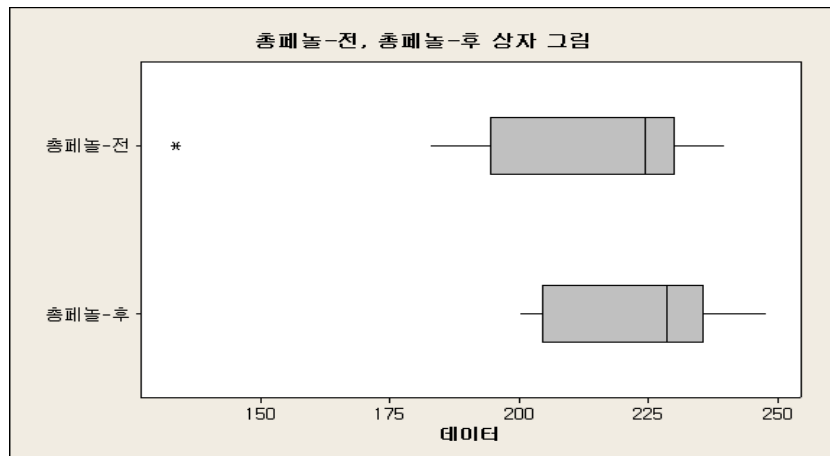


그림 231. 총 폴리페놀 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 총 폴리페놀 화합물의 함량 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.253 로서 산포의 차이가 없는 것으로 나타났다.

③ 총 플라보노이드

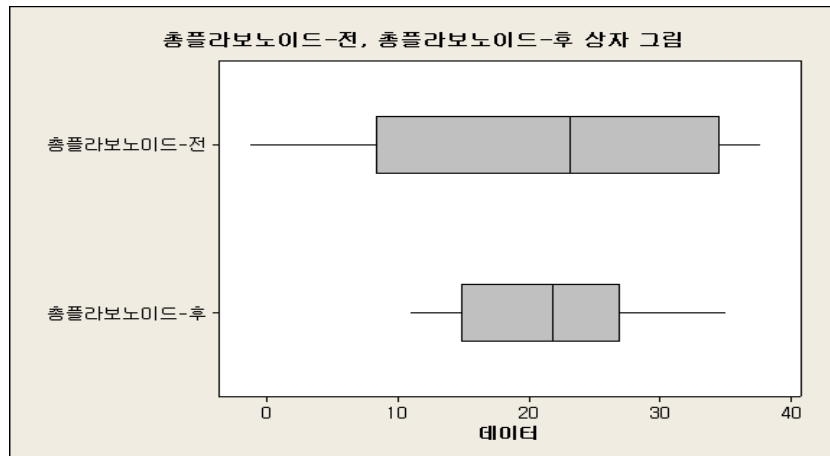


그림 232. 총 플라보노이드 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 총폴리페놀 화합물의 함량 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.995 로서 산포의 차이가 없는 것으로 나타났다.

④ 총 안토시아닌

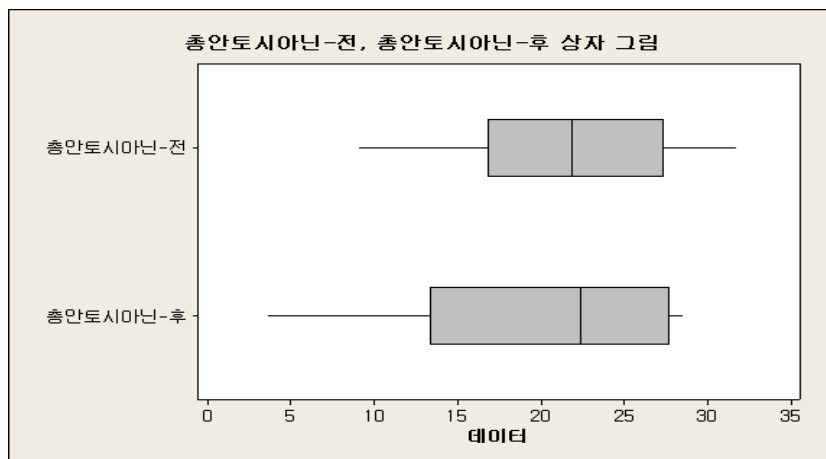


그림 233. 안토시아닌 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 안토시아닌 화합물의 함량 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.682 로서 산포의 차이가 없는 것으로 나타났다.

(나) 표준성 확인(2-sample t test)

① ORAC

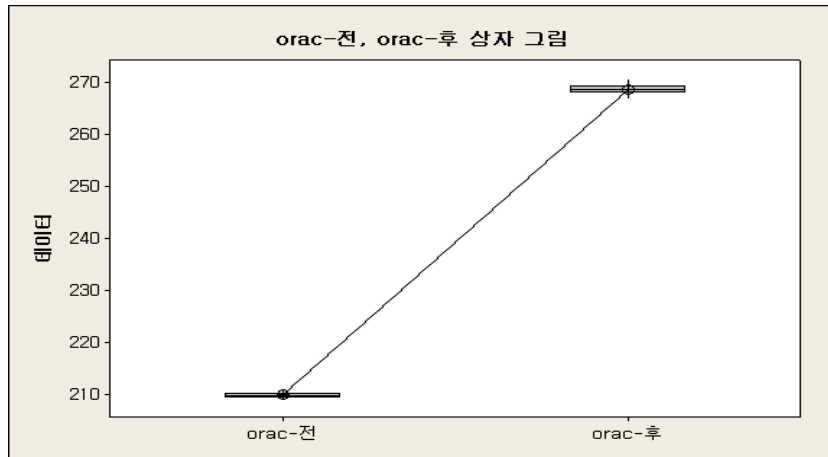


그림 234. ORAC 2-sample t test

과채 농축액 A의 발효전후 ORAC 항산화활성 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.014로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 이는 유산균 발효 후에 항산화성분의 배당체에서 당이 분해되어 항산화성분이 유리됨으로서 ORAC 수치의 증가가 나타난 것으로 판단된다.

② 총 폴리페놀

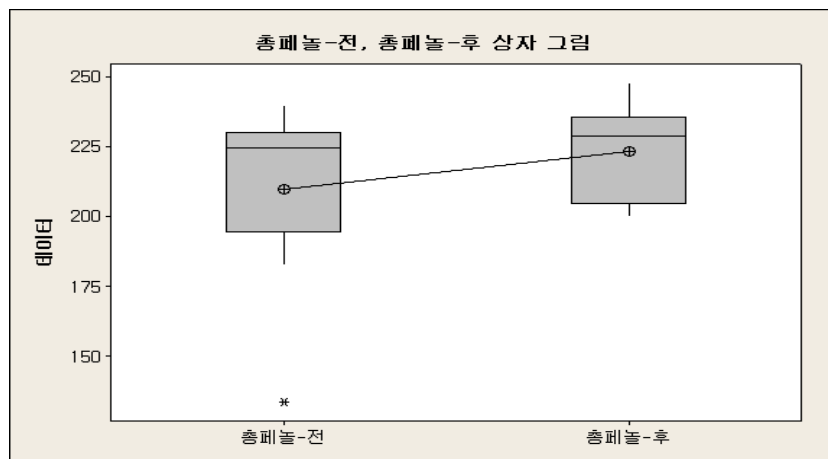


그림 235. 총 폴리페놀 2-sample t test

과채 농축액 A의 발효전후 총 폴리페놀 화합물의 함량 변화에 대한 평균값 차이 분석 결과 p -value값이 0.061로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 6.1% 신뢰수준에서 발효 후에 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며 이는 ORAC 수치의 증가 원인과 같은 것으로 판단된다.

③ 총 플라보노이드

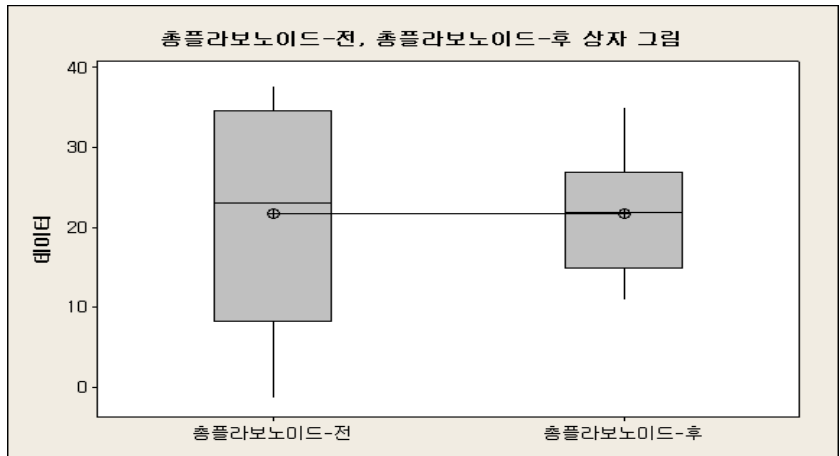


그림 236. 총 플라보노이드 2-sample t test

과채 농축액 A 의 발효전후 총폴리페놀 화합물의 함량 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.099 로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다.

④ 총 안토시아닌

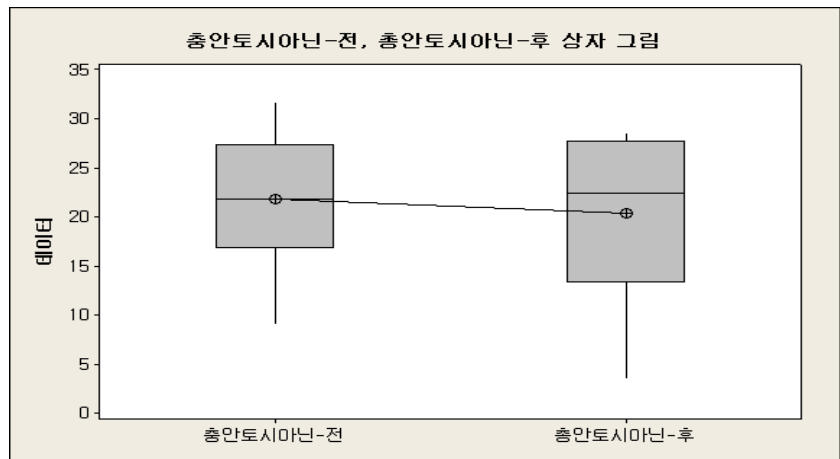


그림 237. 안토시아닌 2-sample t test

과채 농축액 A 의 발효전후 안토시아닌 화합물의 함량 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.566 로서 평균값의 차이가 없는 것으로 나타났다. 혼합베리 A에 안토시아닌 색소의 함량이 적어 발효후에 유의적인 차이를 보지 못한 것으로 판단된다.

다. 나노캡슐 표준화

(1) 입자크기 표준화

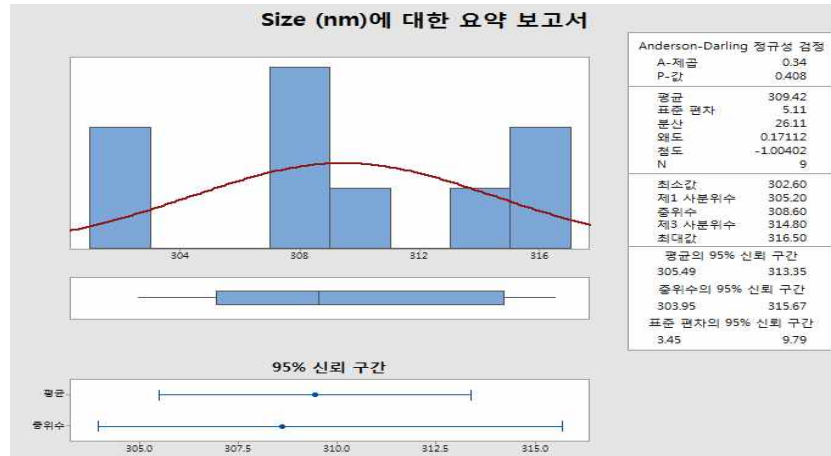


그림 238. 캡슐 입자크기에 대한 정규성 검정

나노캡슐을 9회 제조하여 크기를 측정한 결과 평균이 309.42nm이고, 표준편차 5.11로 확인되었다. 이의 정규성 검정 결과 p -value값이 0.408로 데이터의 정규함을 확인하였다.

(2) 나노캡슐에 따른 항산화능 표준화 및 저장 안정성

(가) ORAC

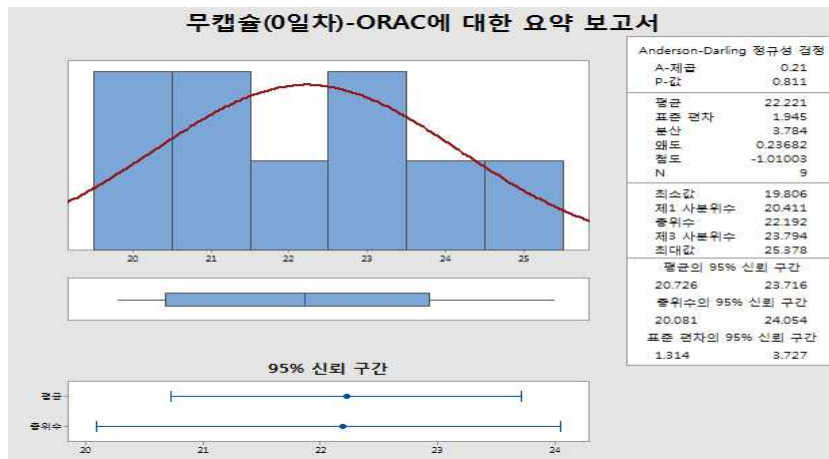


그림 239. 캡슐하지 않은 샘플에 대한 ORAC 결과

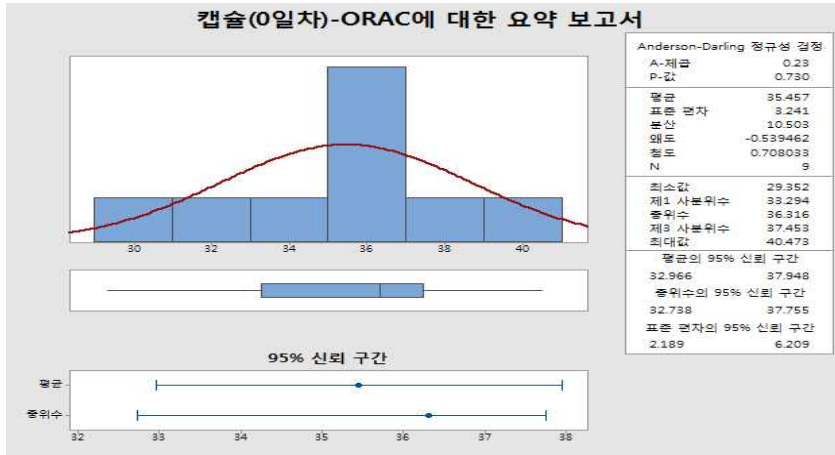


그림 240. 캡슐한 샘플에 대한 ORAC 결과

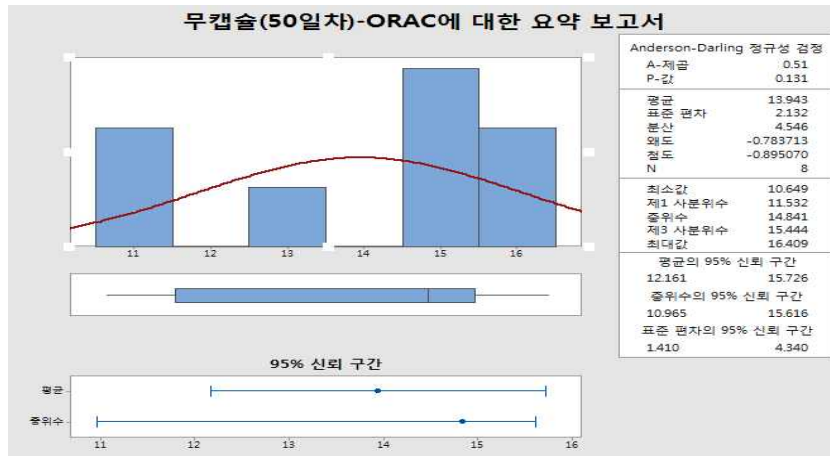


그림 241. 50일 저장 캡슐하지 않은 샘플에 대한 ORAC 결과

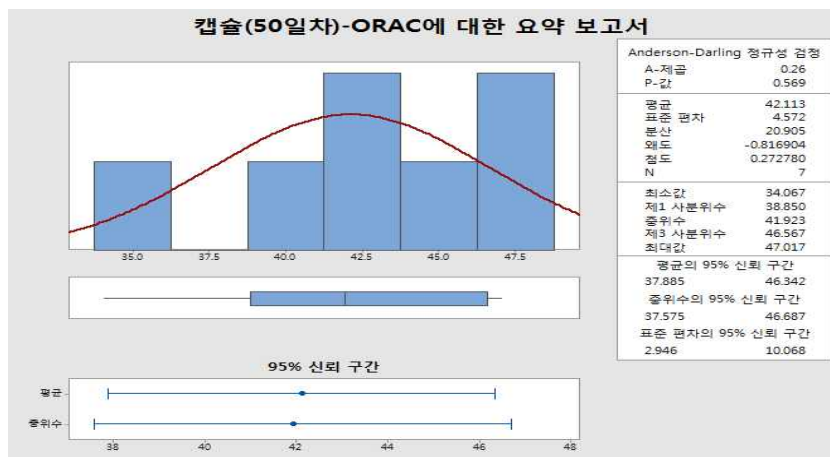


그림 242. 50일 저장 캡슐 샘플에 대한 ORAC 결과

나노 캡슐을 적용한 혼합베리 A와 적용하지 않은 혼합베리 A를 50일간 저장한 후 ORAC을 측정된 결과 각각의 결과 값의 p -value가 0.811, 0.730, 0.131, 0.569로 정규하였다.

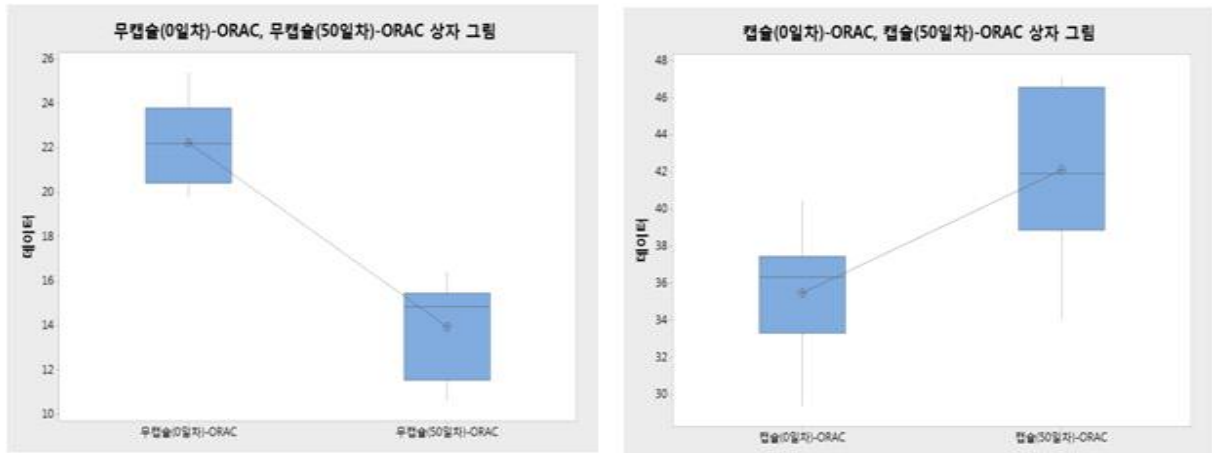


그림 243. 캡슐 유무에 따른 50일 저장 시 ORAC 비교

캡슐 적용 전 혼합베리 A의 ORAC 평균은 22.22umolTE/L이고 캡슐 적용 후 혼합베리 A는 35.46umolTE/L이었다. 캡슐 적용 전 혼합베리 A의 50일 저장 후 ORAC 측정결과 13.94umolTE/L이며, 캡슐 적용 후 혼합베리 A의 50일 저장 후 ORAC 측정 결과 42.11umolTE/L이었다. 캡슐을 적용하지 않은 혼합베리 A는 50일 저장 전후 ORAC을 비교한 결과 유의적 차이 있게 감소하였으며, 캡슐을 적용한 혼합베리 A를 50일 저장 전후 ORAC을 비교한 결과 유의적 차이 있게 증가하였다

(나) 총플라보노이드

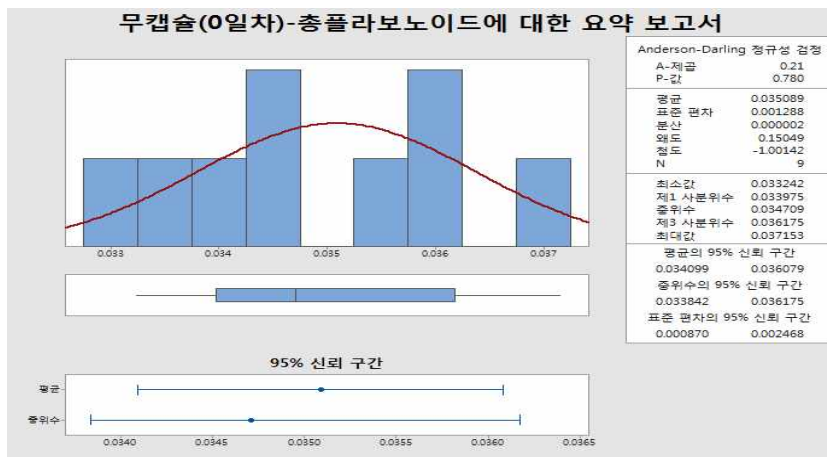


그림 244. 캡슐하지 않은 샘플에 대한 총플라보노이드 결과

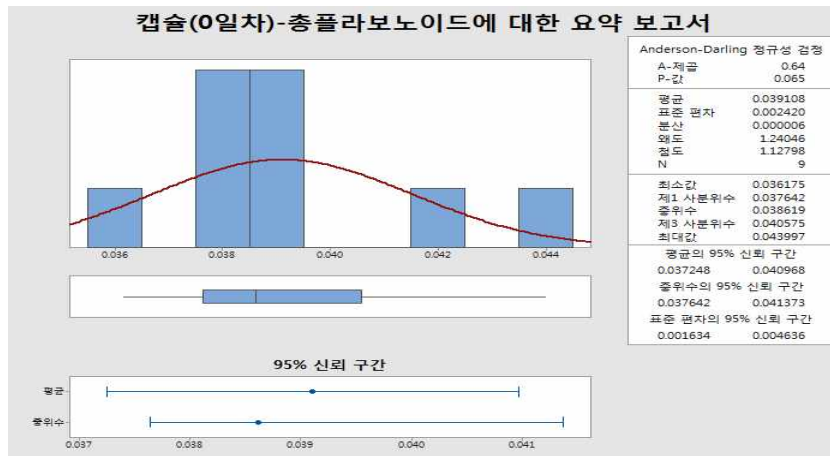


그림 245. 캡슐 샘플에 대한 총플라보노이드 결과

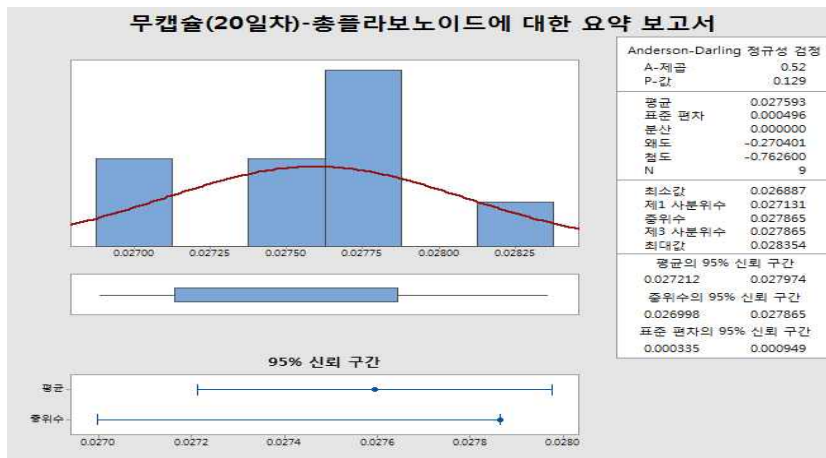


그림 246. 20일 저장 캡슐하지 않은 샘플에 대한 총플라보노이드 결과

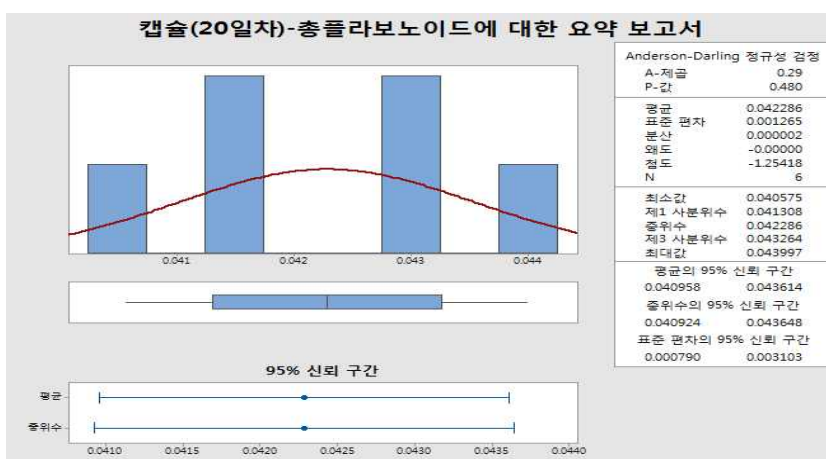


그림 247. 20일 저장 캡슐 샘플에 대한 총플라보노이드 결과

나노 캡슐을 적용한 혼합베리 A와 적용하지 않은 혼합베리 A를 20일간 저장한 후 DPPH를 측정된 결과 각각의 결과 값의 p-value가 0.780, 0.065, 0.129, 0.480로 정규하였다,

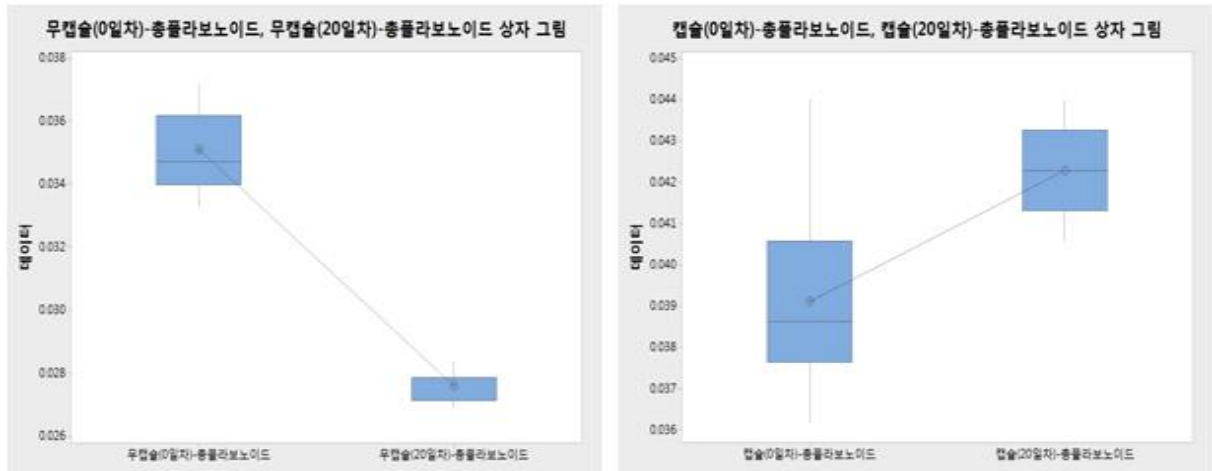


그림 248. 캡슐 유무에 따른 20일 저장 시 총플라보노이드 비교

캡슐을 적용하지 않은 혼합베리 A는 20일 저장 전후 총플라보노이드를 비교한 결과 유의적 차이 있게 감소하였으며, 캡슐을 적용한 혼합베리 A를 50일 저장 전후 총플라보노이드를 비교한 결과 유의적 차이 있게 증가하였다

라. 제품표준화

(1) Pilot scale 발효 제품 표준화

(가) 발효 캡슐형 퓨레 드링크 제품 표준화

제품의 표준화는 100kg pilot scale 5개 Lot 제품 2개씩을 대상으로 공정능력 분석을 통해 고향산화 캡슐형 퓨레음료에 대한 불량률 및 시그마 수준을 분석하여 제품에서 ORAC 향산화 활성, 폴리페놀 화합물, 플라보노이드 화합물 함량의 최소 수준값(망대특성)을 분석하였다. 망대특성이란 결과값이 높거나 클수록 좋은 특성 발현을 보이는 항목에 적용하는 특성값으로 향산화 활성 수준이 높을수록 좋고 그 상한선이 필요없어 망대특성으로 규정하였다.

최소 수준값을 구함으로써 앞으로 생산될 제품의 향산화 수치에 대한 최저 기준의 규격 표준화가 가능하며 제품 표기사항에도 향산화 활성에 대한 객관적인 제시가 가능하다.

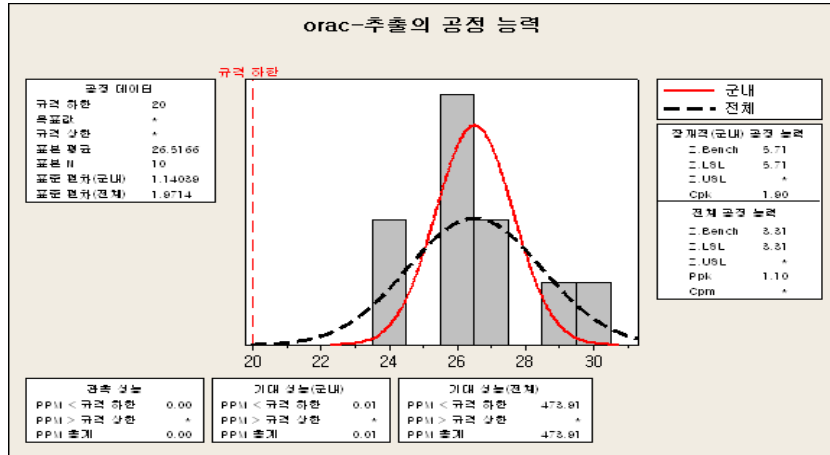


그림 249. 발효 캡슐형 푸레 드링크 ORAC 항산화활성 시그마 분석

상기 공정능력평가에서 볼 수 있듯이 발효된 캡슐형 푸레 드링크는 최소 20μmlo/L의 ORAC 활성을 가지며 100만개 생산 시 479개(0.0479%)의 불량률을 나타내는 것을 알 수 있으며 시그마는 장기 수준에서 4.81σ 품질 수준을 보였다. 이때 5개 lot 10개 제품의 표본 평균은 26.52μmlo/L 였으며 표준편차(전체) 1.97 이었다. 공정능력평가를 통해 발효 캡슐형 푸레 드링크의 항산화활성이 plant scale로 공장이전 되어도 생산되는 드링크의 항산화활성 품질 변화에는 크게 이상이 없을 것으로 판단 된다. (p -value < 0.05)

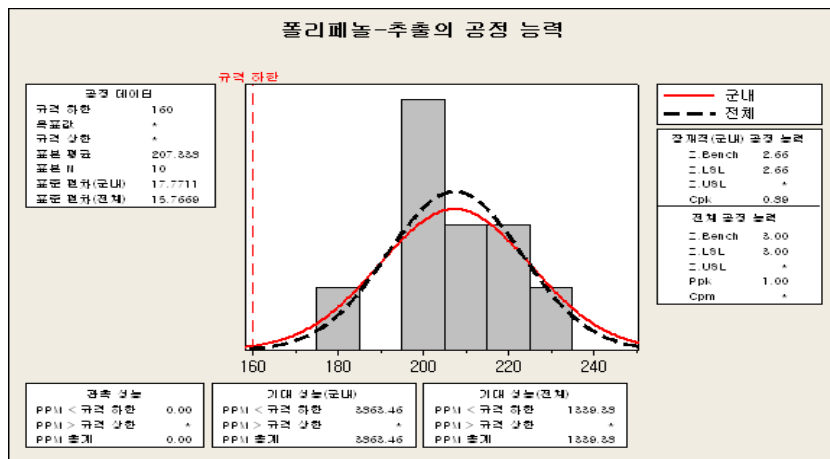


그림 250. 발효 캡슐형 푸레 드링크 총 폴리페놀 화합물 시그마 분석

상기 총 폴리페놀 화합물 함량에 대한 공정능력평가에서 볼 수 있듯이 발효된 캡슐형 푸레 드링크는 최소 160mg/100g GE 의 폴리페놀 화합물 함유하고 있으며 100만개 생산시 1,339개 (0.1339%)의 불량률을 나타내는 것을 알 수 있으며 시그마는 장기 수준에서 4.50σ 품질 수준을 보였다. 이때 5개 lot 10개 제품의 표본 평균은 207.34mg/100g GE 였으며 표준편차(전체) 15.77mg/100g 이었다. (p -value < 0.05)

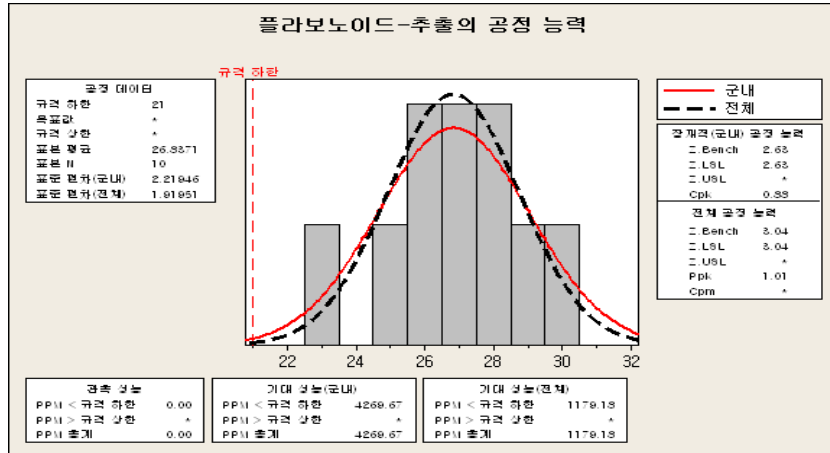


그림 251. 발효 캡슐형 푸레 드링크 총 플라보노이드 화합물 시그마 분석

상기 총 플라보노이드 화합물 함량에 대한 공정능력평가에서 볼 수 있듯이 발효된 캡슐형 푸레 드링크는 최소 21mg/100g 의 총 플라보노이드 화합물 함유하고 있으며 100만개 생산시 1,179개(0.1179%)의 불량률을 나타내는 것을 알 수 있으며 시그마는 장기 수준에서 4.504σ 품질 수준을 보였다. 이때 5개 lot 10개 제품의 표본 평균은 26.33mg/100g 였으며 표준편차(전체) 1.92mg/100g 이었다. (p -value < 0.05) 그러나 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물은 원물의 함유량, 계절적인 변화가 심하고 공정 중 빛이나 열스트레스에 의해 분해, 소실되는 경우가 많아 현상이전 될 경우 공정상의 작은 변화에도 크게 신경을 기울여야 한다.

(나) 발효 스파클링 드링크 제품 표준화

제품의 표준화는 상기의 방법과 동일하게 100kg pilot scale 5개 Lot 제품 2개씩을 대상으로 공정능력 분석을 통해 발효 스파클링 드링크에 대한 불량률 및 시그마 수준을 분석하여 제품에서 ORAC 항산화활성, 폴리페놀 화합물, 플라보노이드 화합물 함량의 최소 수준값(망대특성)을 분석하였다.

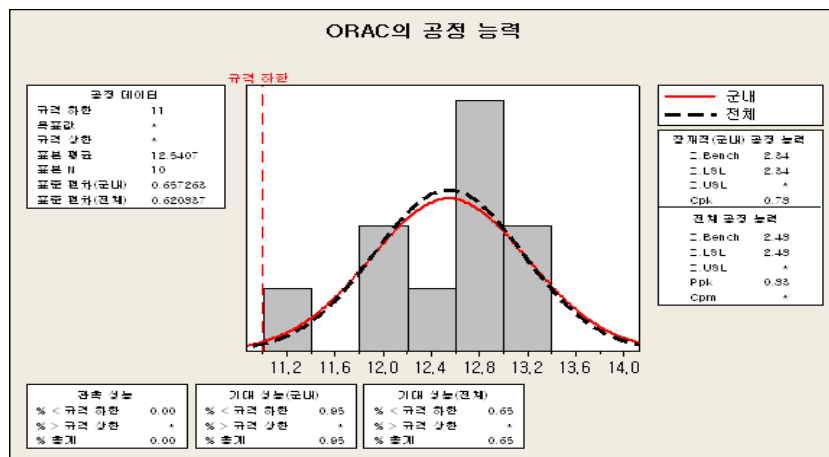


그림 252. 발효 스파클링 드링크 ORAC 항산화활성 시그마 분석

상기 공정능력평가에서 볼 수 있듯이 발효된 스파클링 드링크는 최소 11 μ ml/L의 ORAC활성을 가지는 것으로 분석되었는데 이는 발효 캡슐형 드링크보다 적게 함유되는 것으로 나타났으며 이는 배합비에 고향산화 원료의 함유량이 적은 것과 캡슐에 의한 공정 중 분해 및 소실이 적은것에 기인하는 것으로 판단된다. 100만개 생산시 0.65개(0.000065%)의 불량률을 나타내는 것을 알 수 있으며 시그마는 장기 수준에서 3.93 σ 품질 수준을 보였다. 이때 5개 lot 10개 제품의 표본 평균은 12.54 μ ml/L 였으며 표준편차(전체) 0.42 이었다. 공정능력평가를 통해 발효 스파클링 드링크 역시 ORAC 항산화활성이 plant scale로 공장이전 되어도 생산되는 드링크의 항산화활성 품질 변화에는 크게 이상이 없을 것으로 판단된다 (p -value < 0.05)

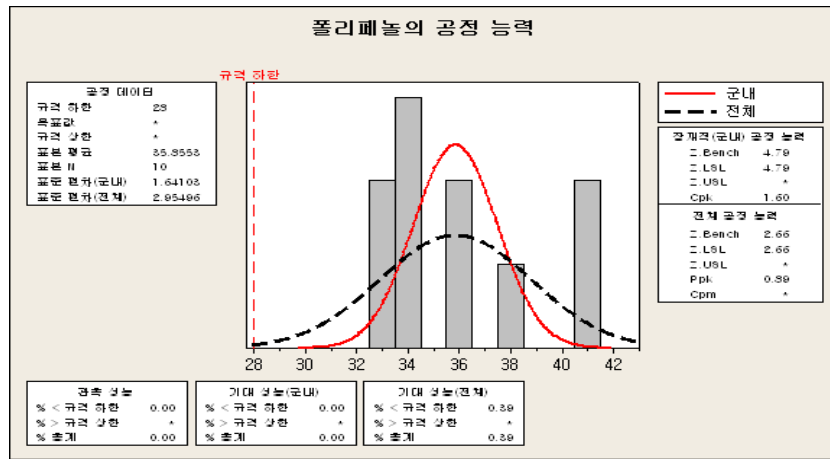


그림 253. 발효 스파클링 드링크 총 폴리페놀 화합물 시그마 분석

상기 총 폴리페놀 화합물 함량에 대한 공정능력평가에서 볼 수 있듯이 발효된 스파클링 드링크는 최소 23mg/100g GE 의 폴리페놀 화합물 함유하고 있으며 이는 캡슐형 푸레 드링크에 비해서 매우 낮은 수준이며 이는 푸레 드링크와 다른 배합비에 기인하는 것으로 사료된다. 100만개 생산시 0.39개(0.000039%)의 불량률을 나타내는 것을 알 수 있으며 시그마는 장기 수준에서 4.16 σ 품질 수준을 보였다. 이때 5개 lot 10개 제품의 표본 평균은 35.35mg/100g GE 였으며 표준편차(전체) 2.95mg/100g 이었다. (p -value < 0.05)

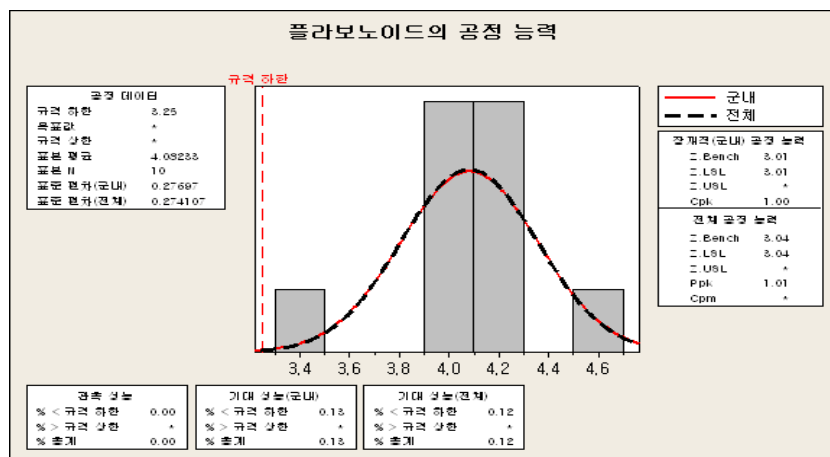


그림 254. 발효 스파클링 드링크 총 플라보노이드 화합물 시그마 분석

상기 총 플라보노이드 화합물 함량에 대한 불량률은 공정능력평가에서 볼 수 있듯이 발효된 스파클링 드링크는 최소 3.25mg/100g 의 총 플라보노이드 화합물을 함유하고 있으며 100만개 생산시 0.12개(0.000012%)의 불량률을 나타내는 것을 알 수 있고 시그마는 장기 수준에서 4.54 σ 품질 수준을 보였다. 이때 5개 lot 10개 제품의 표본 평균은 4.1mg/100g 였으며 표준편차(전체) 0.27mg/100g 이었다. (p -value < 0.05)

발효 스파클링 드링크는 다른 시제품보다 향산화 활성을 지니는 과채 농축액의 함량이 적어 향산화활성 및 폴리페놀, 플라보노이드 등의 향산화 성분의 함유량이 낮게 나타났다. 스파클링 드링크 특성상 과채 농축액의 함유량이 높을 경우 맛과 품질에 영향을 미치기 때문이다.

마. 발효 공정 전후의 휘발성 향 표준화

발효 공정 전후 혼합베리 A의 SAFE 법 기반 향 표준화

(1) 동질성 검증 (등분산 검정)

(가) Hexanol

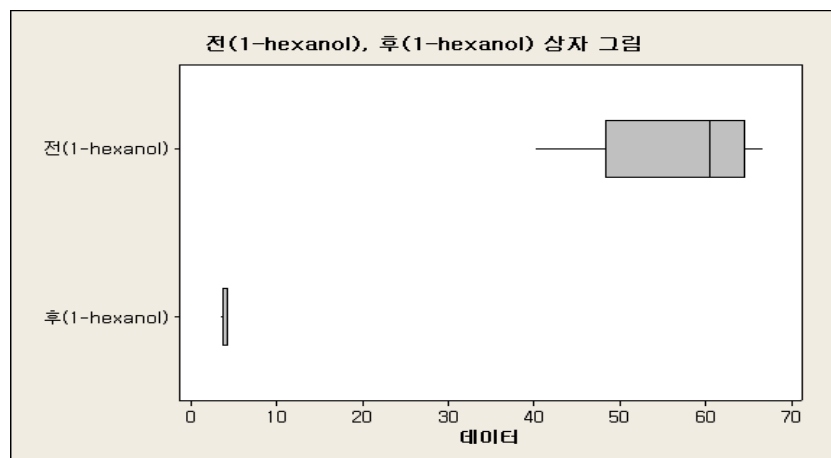


그림 255. Hexanol 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 휘발성 hexanol 향 성분의 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.0001 로서 산포의 차이가 있는 것으로 나타났다. 산포의 차이가 발생했다고 하는 것은 휘발성 향 특성상 각 표본군에서 발생하는 산포의 크기가 제품군마다 다르다는 것으로 이는 제품의 휘발성 향 성분의 관리가 어려움을 뜻한다.

(나) cis-linalool oxide

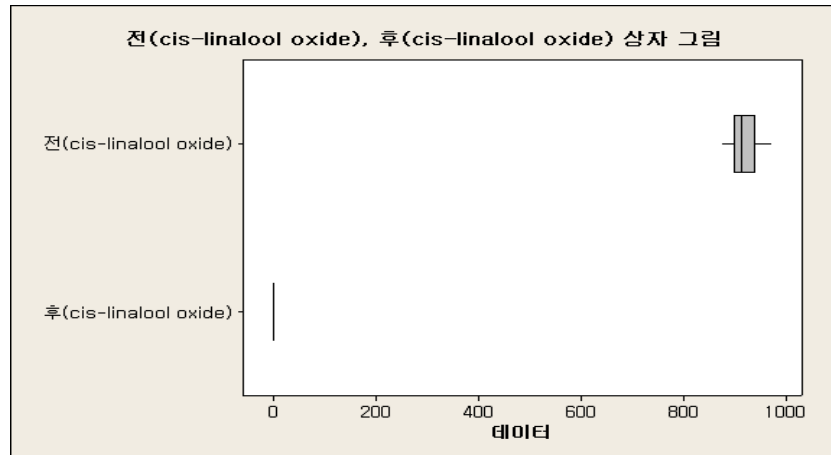


그림 256. Cis-linalool oxide 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 휘발성 cis-linalool oxide 향 성분의 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value 값이 0.0001 로서 산포의 차이가 있는 것으로 나타났다.

(다) 2-methyl butanoic acid

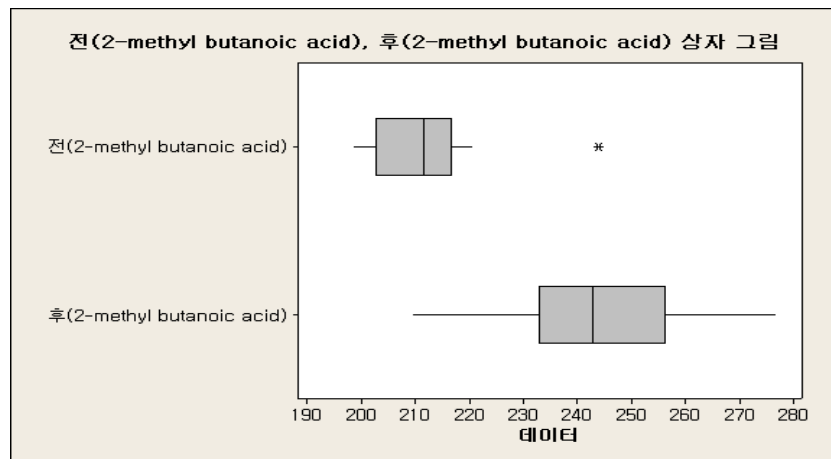


그림 257. 2-methyl butanoic acid 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 휘발성 2-methyl butanoic acid 향 성분의 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value 값이 0.371 로서 산포의 차이가 없는 것으로 나타났다. 2-methyl butanoic acid 는 hexanol과 cis-linalool oxide 에 비해 안정성이 높은 것으로 판단되며 분해되거나 스스로 중합되는 특성이 낮은 것에 기인해 등분산 검정결과에서 산포차이가 없는 것으로 나타난 것으로 사료된다.

(2) 표준성 확인 (2-표본 T-test)

(가) Hexanol

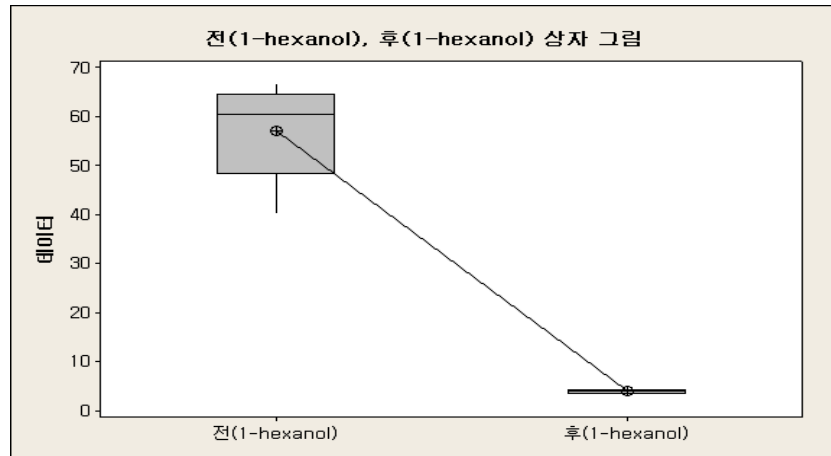


그림 258. Hexanol 2-sample t test

과채 농축액 A의 발효전후에 대한 휘발성 hexanol 향기 성분 변화에 대한 2-sample t test 검정 결과 p -value값이 0.0001로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 평균값이 차이라고 하는 것은 유의수준 95%에서 두 샘플간에 향 특성발현에 있어서 차이 구분이 가능하다는 것이며 이는 발효된 드링크에서 풀취가 저감되었다는 것을 뜻한다. 풀취가 저감된 것은 유산균 발효를 통해 풀취를 나타내는 hexanol 성분간의 중합 또는 기타 향성분과의 결합, 분해가 발생한 것에 기인하는 것으로 판단된다. Hexanol 향 성분은 약간 풀취에 가까운 향으로 발효가 되면서 풀취가 감소하고 발효 고유의 풍미가 강해지는 것을 유추할 수 있다.

(나) cis-linalool oxide

과채 농축액 A의 발효전후 휘발성 cis-linalool oxide 향성분 변화에 대한 2-sample t test 검정 결과 p -value값이 0.0001로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 즉 발효가 진행되면서 flower 향을 나타내는 cis-linalool oxide의 함량이 감소하였다. 이는 풀취를 나타내는 hexanol 과 같이 cis-linalool oxide 역시 발효 공정에서 감소하면서 긍정적인 효과를 보일 것으로 판단된다.

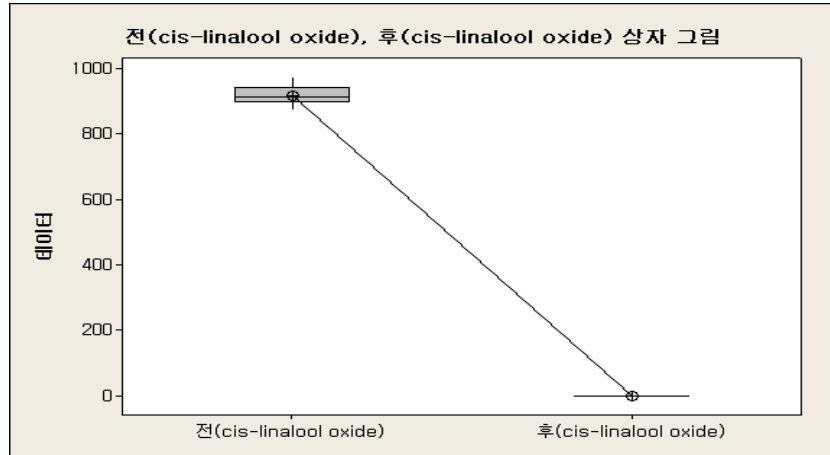


그림 259. Cis-linalool oxide 2-sample t test

(다) 2-methyl butanoic acid

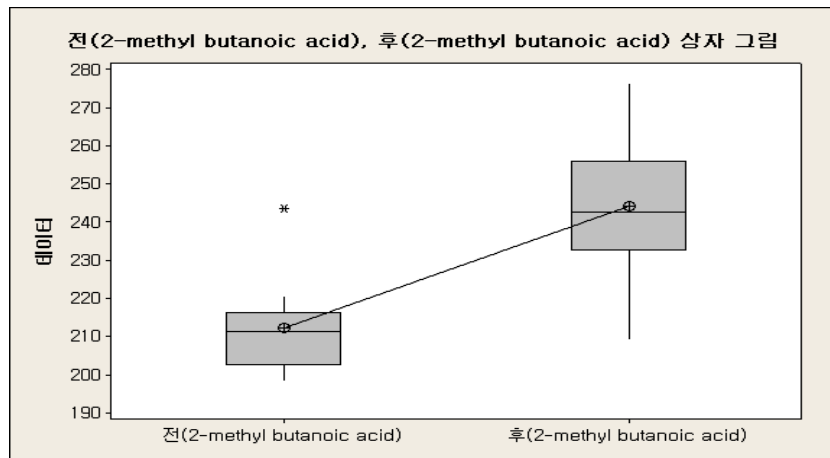


그림 260. 2-methyl butanoic acid 2-sample t test

과채 농축액 A의 발효전후 휘발성 2-methyl butanoic acid 향기 성분 변화에 대한 2-sample t test 검정 결과 p -value 값이 0.0001 로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 즉 발효가 진행되면서 fruity 한 향을 나타내는 2-methyl butanoic acid의 함량이 증가하였다. 향 성분 패턴을 보면 휘발성이 강하면서도 불안정한 풀취는 발효 공정 중 저감이 되고 반대로 향기 성분간의 중합, 타 성분의 분해 등의 과정이 생성되면서 베리과채 드링크의 맛에 시너지를 줄 수 있는 fruit 향 성분인 2-methyl butanoic acid는 증가하는 것으로 판단된다. 따라서 발효공정은 드링크의 기능성 및 맛을 향상시킬 수 있다고 판단된다.

(3) 발효 공정 전후 혼합베리 A의 LLCE 범 기반 향 표준화

(가) 동질성 검증(등분산 검정)

① Furfural

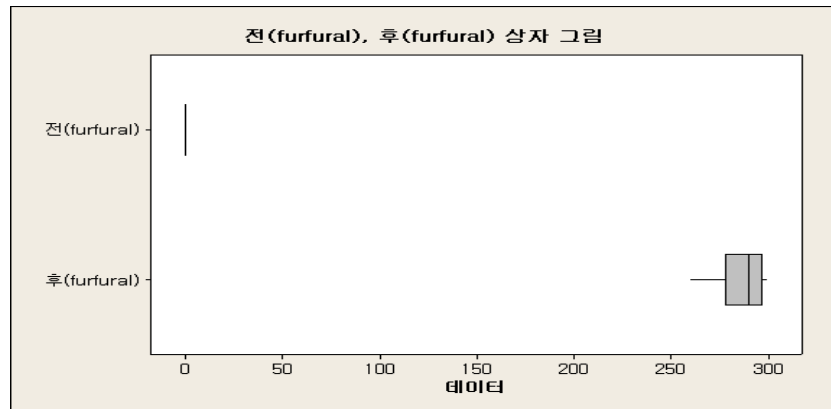


그림 261. Furfural 등분산 검정

과채 농축액 A 의 발효전후 휘발성 furfural 향 성분의 변화를 LLCE 향 추출방법에 의해 검증하였으며 이에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.0001 로서 산포의 차이가 있는 것으로 나타났다. Furfural 성분은 maillard reaction products (MRPs) 의 주요 중간산물로서 방향제 성분으로 사용할만큼 특유의 향을 가지며 발효 공정 중 변화의 차이가 크게 나타나서 표준편차의 산포가 큰 것으로 판단된다.

② 2-methyl butanoic acid

과채 농축액 A 의 발효전후 휘발성 2-methyl butanoic acid 향 성분 변화에 대한 등분산 검정 결과 p -value값이 0.054 로서 산포의 차이가 없는 것으로 나타났다. 2-methyl butanoic acid 는 SAFE 방법에서도 표준편차의 산포차이가 없는 것으로 분석되었듯이 역시 다른 향기 성분보다 안정성이 높고 분자량이 큰 것에 기인 하는 것으로 사료된다.

따라서 향기 성분의 표준화를 진행 한 후에 plant scale에서 향기 성분을 관리하거나 표준화 할 경우 2-methyl butanoic acid 성분을 주된 지표로 선정하는 것이 좋을 것으로 판단되며 이를 위해서 실험에 활용된 2-methyl butanoic acid 분석방법에 대해 validation을 진행하는 것을 좋다고 판단된다.

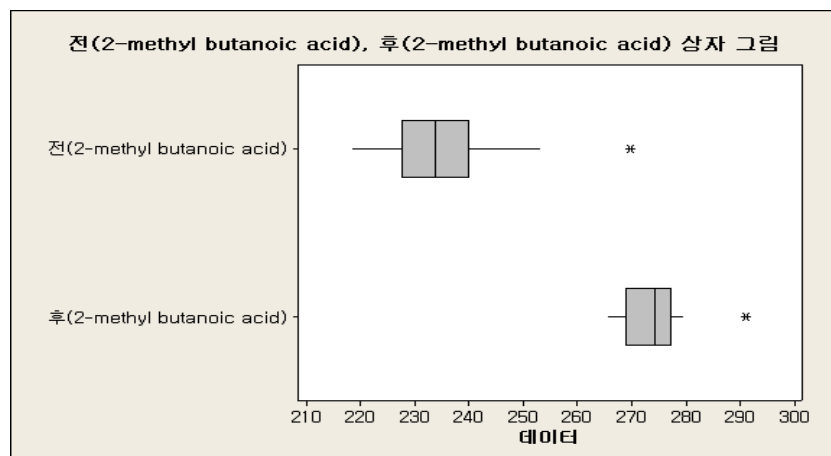


그림 262. 2-methyl butanoic acid 등분산 검정

(나) 표준성 확인(2-표본 T-test)

① Furfural

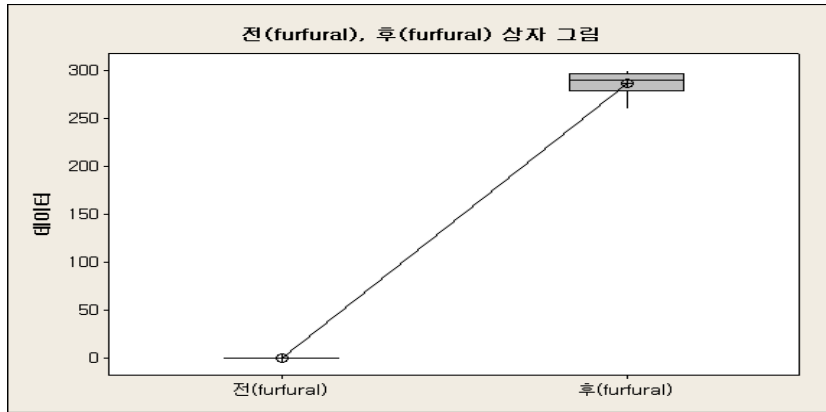


그림 263. Furfural 2-sample t test

과채 농축액 A의 발효전후 휘발성 furfural 향성분 변화에 대한 2-sample t test 검정 결과 p -value 값이 0.0001로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 이는 유산균 발효를 통해 sweet한 향이 증가하여 발효한 제품에서 풍미가 더욱 증가했다고 할 수 있다. 그러나 furfural 성분은 안정성이 약해 쉽게 다른 성분과 반응하거나 합성되어 향이 변할 수 있기 때문에 드링크 제품에 대한 객관적인 지표로 활용하기는 어려울 것으로 사료된다.

② 2-methyl butanoic acid

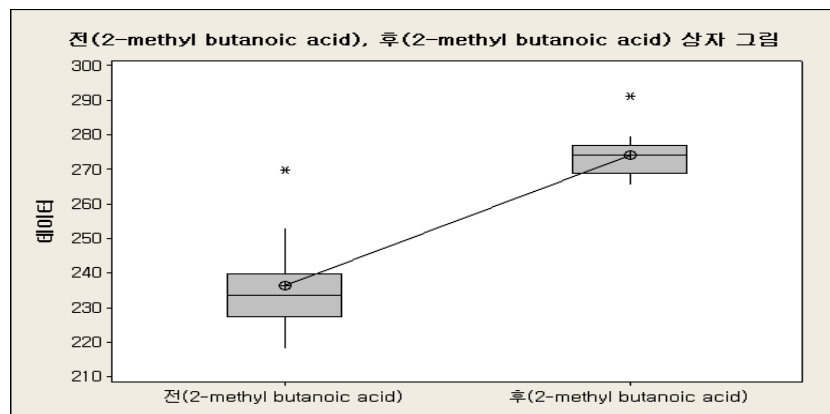


그림 264. 2-methyl butanoic acid 2-sample t test

과채 농축액 A의 발효전후 휘발성 cis-linalool oxide 향성분 변화에 대한 2-sample t test 검정 결과 p -value 값이 0.0001로서 평균값의 차이가 있는 것으로 나타났다. 역시 발효가 진행되면서 flower 향을 나타내는 2-methyl butanoic acid의 함량이 증가하였다. SAFE와 LLCE 모두 flower 향인 2-methyl butanoic acid의 함량이 증가하였고 발효된 과채 농축액 A에 대한 관능적인 특성도 약간 flower 향이 고농도로 함유된 것을 느낄 수 있었으며 경향이 일정하게

나타나고 있기 때문에 베리과채 농축액의 발효 산물 중 제1의 향기 성분 지표는 2-methyl butanoic acid로 정하기로 하였다.

바. 유통 표준화

(1) 광산화 측정기를 통한 개발음료 제품 장기 저장 안정성 평가

(가) 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리 드링크

① 재료 및 방법

혼합베리액A, LP-115 균주 발효 혼합베리액A와 정제수, 액상과당, 아로니아농축액, 적포도농축액, 블루베리농축액, 이소말토올리고당, 홍삼농축액, 구연산, 비타민C, 착향료를 사용하였으며, 제조한 음료는 180ml 투명 유리병에 포장하였다. 혼합베리발효액A 적용 유무에 따라 ‘베리 혼합음료, 베리발효 혼합음료’로 나누어 시료를 제작하였으며, 각각의 비율에 따라 계량하여 배합 탱크에 투입하였다. 이후 상온에서 20~30분간 교반하여 충분히 용해시키고, 판형열교환기에서 UHT(Ultra High Temperature)공정으로 98℃ 60초 간 살균하였다. 살균이 완료된 배합액은 180ml 투명 유리병에 충전, 냉각하여 상온 보관하였다. 음료 제조는 동원F&B 광주공장에서 수행하였다. 안정성 검사를 위하여 40℃, 3,000 ~ 3,500 Lx에서 123일간 저장하면서 안정성 검사를 실시하였다.

② 유해산소흡수능력(ORAC) 결과

베리 혼합 음료의 경우 유통 중 저장기간이 길수록 ORAC 수치는 낮아지는데, 0일차에는 26.27 μmolTE/L에서 24개월 후에는 10.32 μmolTE/L로 급격히 감소하는 경향을 보였다. 베리 발효혼합 드링크의 경우 0개월 26.78 μmolTE/L에서 10개월 후 10.8 μmolTE/L으로 저장기간이 길수록 ORAC 수치는 낮았지만 감소 폭이 비발효 음료에 비해 낮은 경향이 있었다.

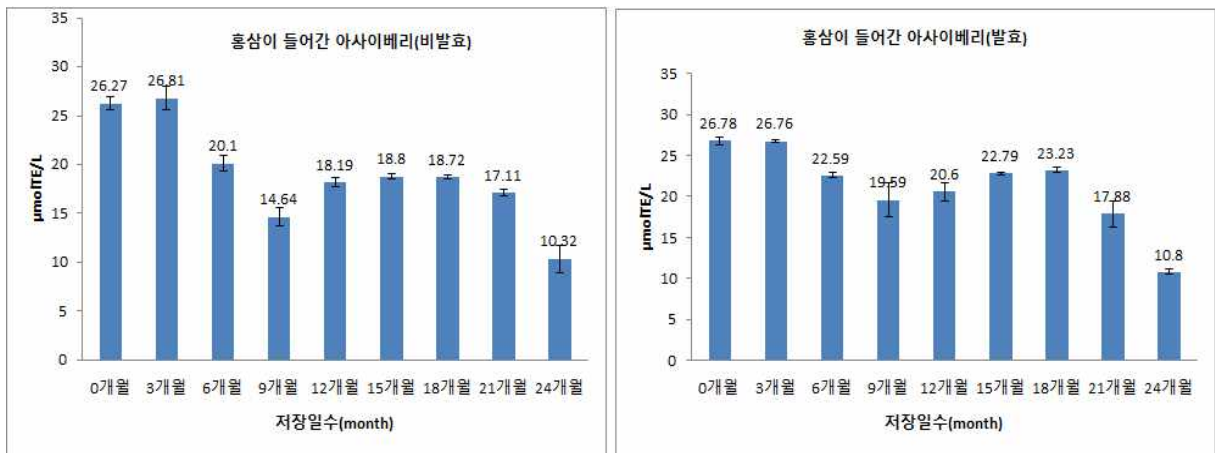


그림 265. 유통 중 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리 드링크 항산화능 변화

③ 항산화 성분(총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 안토시아닌)

㉠ 측정 방법

- 총 폴리페놀 함량

시료의 총 폴리페놀 함량은 Singleton과 Rossi(14)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 25 μ L에 증류수 1 mL, Na₂CO₃ 용액 300 μ L, Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO,USA) 75 μ L를 혼합하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도(DU-650, Beckman Coulter, Anaheim, CA, USA)를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀 함량은 mg gallic acid equivalent(GAE)/serving size로 나타내었다.

- 총 플라보노이드 함량

시료 속에 함유된 총 플라보노이드 함량은 Jia 등(15)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 1 mL에 5% NaNO₂를 20 μ L첨가하여 5분간 실온에서 반응시킨 후, 10% AlCl₃ 20 μ L와 1M NaOH 150 μ L를 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 catechin (Sigma-Aldrich)를 이용하여 검량선을 작성하였고 총 플라보노이드 함량은 mg catechin equivalent(CE)/serving size로 나타내었다.

㉡ 결과

- 총 폴리페놀 함량

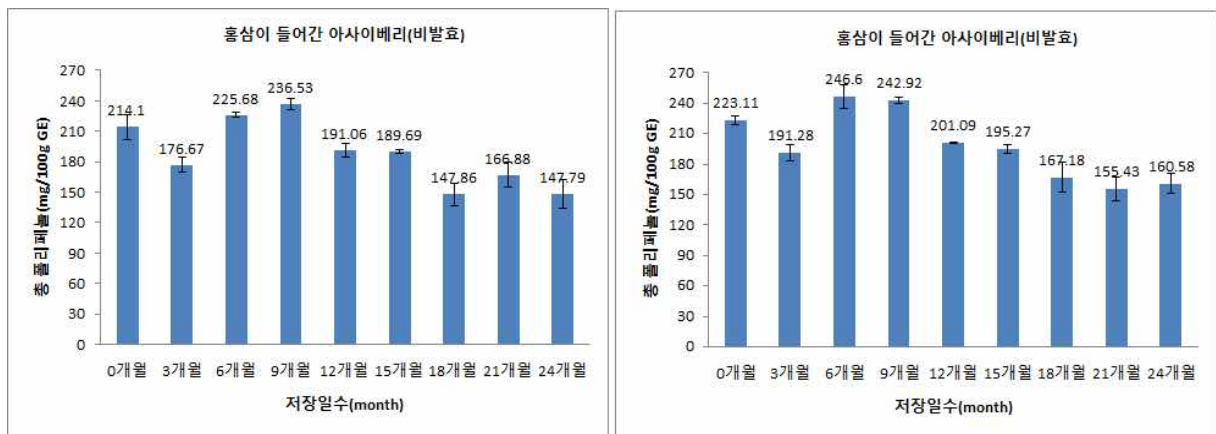


그림 266. 유통 중 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리 드링크 총 폴리페놀 함량 변화

베리 혼합드링크와 베리 발효혼합드링크의 저장 중 유해산소 흡수 능력을 분석한 결과는 그림과 같다. 비발효 제품의 경우 0개월에 총 폴리페놀 성분의 함량의 경우 214.1mg/100g GE 이며 3개월에 176.67mg/100g GE 으로 감소하다가 6개월에 225.68mg/100g GE 으로 증가하였고 24개월에 147.79 mg/100 GE 로 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 발효 제품의 경우

도 비슷한 양상을 나타냈으며 초기 함량이 비슷했음에도 24개월 후에 160.58mg/100g GE로 비발효 제품보다 높게 유지되는 것을 알 수 있었다. 총 폴리페놀 함량 변화에서 보면 광산화 초반에는 감소하다 9 ~ 12개월 시점에 폴리페놀성분의 함량이 증가하다 계속되는 저장 중 감소하는 패턴을 보였는데 이는 폴리페놀 화합물이 빛과 열에 의해 소실되다가 배당체로 존재하는 폴리페놀 물질에서 당이 제거되면서 폴리페놀 화합물이 일시적으로 증가한 것으로 사료된다. 따라서 폴리페놀 함량 관리에 있어서 생산 후 일정시간 숙성 후 출하하는 것이 좋을 수도 있다고 판단된다.

- 총 플라보노이드 함량

플라보노이드 성분의 변화 역시 폴리페놀 함량변화와 비슷하였는데 비발효 제품의 경우 0개월에는 16.22mg/100g에서 3개월에는 14.78mg/100g으로 감소하다가 6개월에 34.31mg/100g 증가하는 경향을 보였고 24개월까지 감소하는 경향을 유지하였다. 발효 드링크의 총 플라보노이드 함량의 경우는 0개월 19.06mg/100g이며 3개월에 22.36mg/100g 이었고 6개월 시점에 38.29mg/100g으로 증가하다 이후 24개월 시점까지 감소하는 경향을 보였다. 총 폴리페놀 화합물의 경우도 데이터의 크고 작음에 있어서 차이가 심했는데 플라보노이드는 폴리페놀보다 빛과 열에 약한 색소 성분이다 보니 분석오차, 시료오차, 생산오차가 복합적으로 작용한 것으로 판단된다. 그러나 전체적으로 경향을 볼 때 홍삼이 들어간 아사이베리 제품의 경우 발효한 샘플군에서 비발효 제품보다 플라보노이드 함량이 약간 높게 잔존하는 것으로 분석되었다.

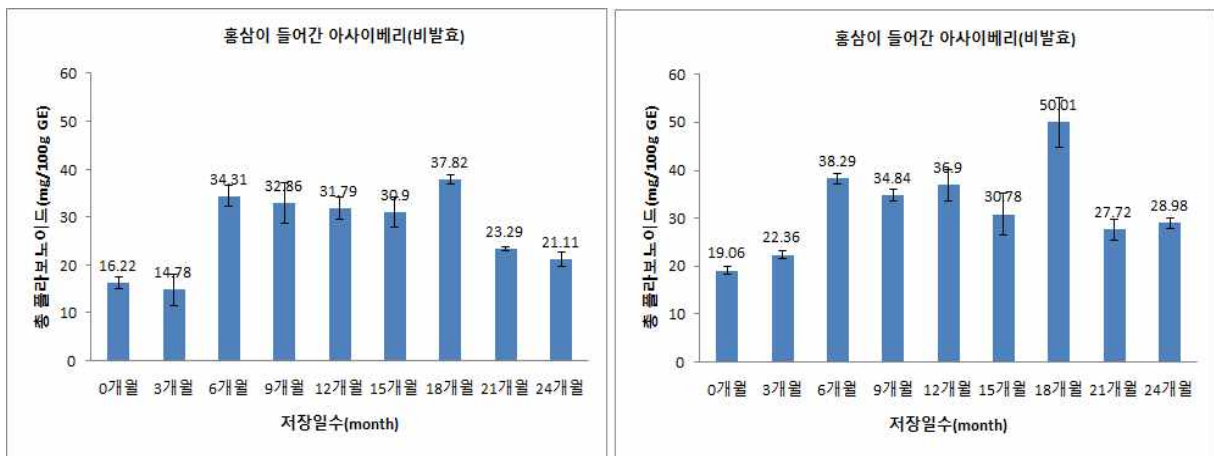


그림 267. 유통 중 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리 드링크 총 플라보노이드 함량 변화

④ 갈변도 측정

식품의 갈변 현상은 효소적(polyphenoloxidase, tyrosinase), 비효소적(가열, 산화 등) 반응에 의하여 발생하는 현상으로, 제품의 품질 및 외관에 영향을 미치는 주된 요인 중 하나이다. 갈변도를 측정하는 방법으로는 갈색의 흡수파장인 420nm에서 흡광도를 측정하여 그 변화를 간편하게 확인할 수 있다.

㉓ 재료 및 방법

시료를 10배 희석 한 후 1ml을 취하여 큐벳(UV-cuvette semi-micro 1.5 ml)에 넣고 분광광도계(spectrophotometer Libro S60, biochrom)를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정한다.

㉔ 실험 결과

저장기간 따른 혼합베리음료의 갈변도 변화는 표 19에서 보는 바와 같이 저장기간이 길어질수록 점차 증가하였다. 이는 광산화에 의한 안토시아닌의 구조적 변화로 인해 기인된 영향일 수 있으며, 베리 혼합액A의 유무에 따른 갈변억제 차이는 없는 것으로 나타내었다.

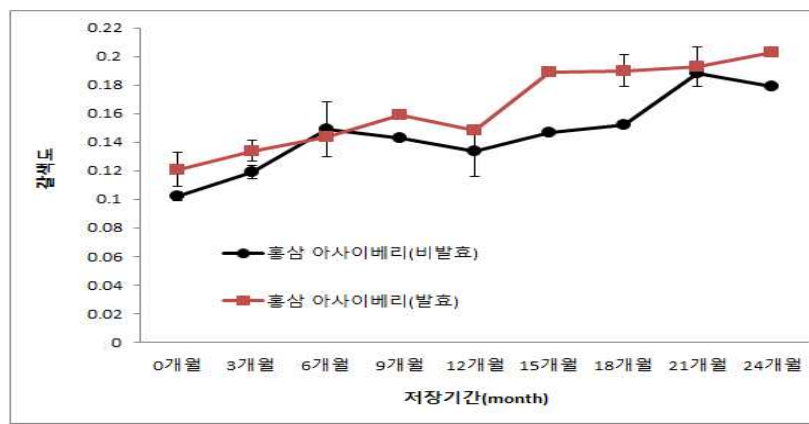


그림 268. 유통 중 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리 드링크 갈색도(460nm) 함량 변화

(나) BerryMix HAO 스파클링 드링크 유통안정성 평가

① 재료 및 방법

혼합베리액A, LP-115 균주 발효 혼합베리액A와 정제수, 액상과당, 아로니아농축액, 적포도농축액, 블루베리농축액, 이소말토올리고당, 홍삼농축액, 구연산, 비타민C, 착향료를 사용하였으며, 제조한 음료는 180ml 투명 유리병에 포장하였다. 혼합베리발효액A 적용 유무에 따라 ‘베리 혼합음료, 베리발효 혼합음료’로 나누어 시료를 제작하였으며, 각각의 비율에 따라 계량하여 배합 탱크에 투입하였다. 이후 상온에서 20~30분간 교반하여 충분히 용해시키고, 판형열교환기에서 UHT(Ultra High Temperature)공정으로 98℃ 60초 간 살균하였다. 살균이 완료된 배합액은 180ml 투명 유리병에 충전, 냉각하여 상온 보관하였다. 음료 제조는 동원F&B 광주공장에서 수행하였다. 안정성 검사를 위하여 40℃, 3,000 ~ 3,500Lx에서 123일간 저장하면서 안정성 검사를 실시하였다.

② 유해산소흡수능력(ORAC) 결과

베리 혼합 음료의 경우 유통 중 저장기간이 길수록 ORAC 수치는 감소하는 경향을 나타내

었는데, 비발효 제품의 경우 0일차에는 11.67 $\mu\text{molTE/L}$ 에서 24개월 후에는 5.61 $\mu\text{molTE/L}$ 로 급격히 감소하는 경향을 보였다. 발효 드링크의 경우 0개월 12.47 $\mu\text{molTE/L}$ 에서 24개월 후 7.37 $\mu\text{molTE/L}$ 으로 저장기간이 길수록 ORAC 수치는 낮았지만 감소 폭이 비발효 음료에 비해 낮은 경향이 있었다. 또한 비발효 제품의 경우 유통 12개월부터 함량이 급격히 감소하는데 반해 유통 18개월까지도 크게 변화가 없었으며 21개월부터 크게 감소하는 특성이 나타나 발효 스파클링 제품의 경우 탄산에 의한 변화나 빛, 열에 대한 분해가 없는 것으로 판단된다.

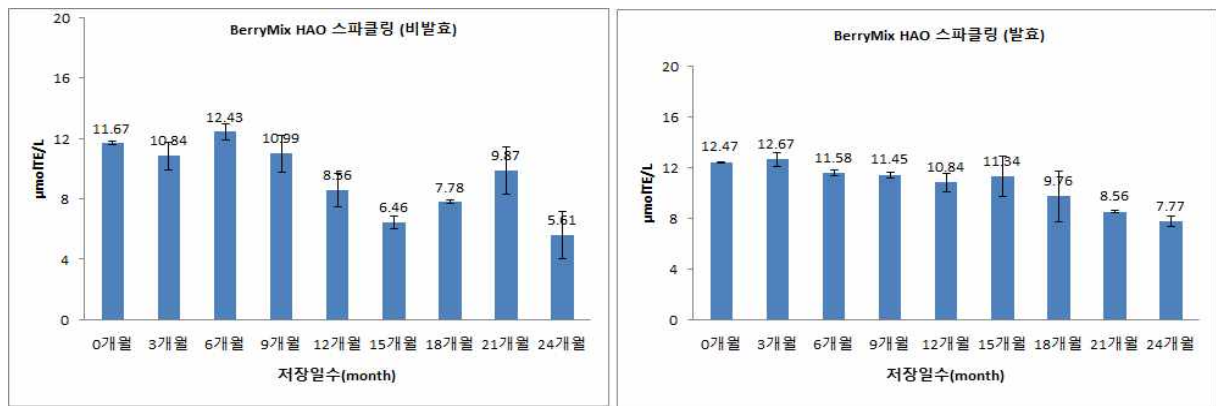


그림 269. 유통 중 BerryMix HAO 스파클링 드링크 항산화능 변화

③ 항산화 성분(총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 안토시아닌)

㉞ 측정 방법

- 총 폴리페놀 함량

시료의 총 폴리페놀 함량은 Singleton과 Rossi(14)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 25 μL 에 증류수 1 mL, Na_2CO_3 용액 300 μL , Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 75 μL 를 혼합하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도 (DU-650, Beckman Coulter, Anaheim, CA, USA)를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀 함량은 mg gallic acid equivalent(GAE)/serving size로 나타내었다.

- 총 플라보노이드 함량

시료 속에 함유된 총 플라보노이드 함량은 Jia 등(15)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 1 mL에 5% NaNO_2 를 20 μL 첨가하여 5분간 실온에서 반응시킨 후, 10% AlCl_3 20 μL 와 1M NaOH 150 μL 를 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 catechin (Sigma-Aldrich)를 이용하여 검량선을 작성하였고 총 플라보노이드 함량은 mg catechin equivalent(CE)/serving size 로 나타내었다.

㉔ 결과

- 총 폴리페놀 함량

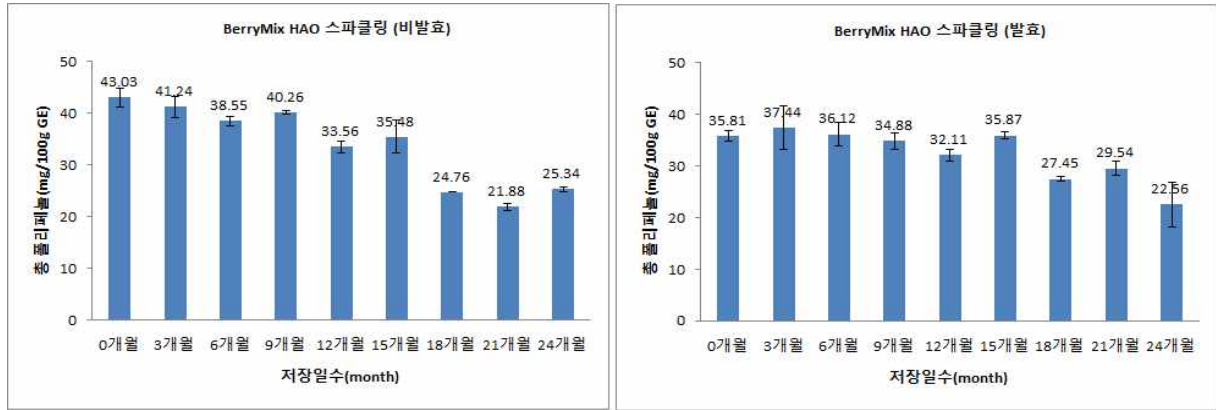


그림 270. 유통 중 BerryMix HAO 스파클링 드링크 폴리페놀 함량 변화

스파클링 드링크의 저장 중 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과는 그림 과 같다. 비발효 제품의 경우 0개월에 총 폴리페놀 성분의 함량의 경우 43.03mg/100g GE 이며 15개월에 35.48mg/100g GE 으로 감소하였고 18개월부터 급격히 감소하다가 24개월에 24.34mg/100g GE 잔존하였다.

발효 제품의 경우도 비슷한 양상을 나타냈으나 유통 15개월까지 총 폴리페놀 함량 변화가 크게 없었으며 18개월부터 감소하기 시작하여 24개월 22.56mg/100g GE 만큼 잔존하였다. 전체 적으로 볼 때 발효 스파클링 제품의 경우 유통안정성이 우수하며 생산된 제품의 관리 및 숙성에 공정을 추가하여 관리할 경우 2년 유통기한 동안 고향산화 활성을 유지하는 드링크류의 판매가 가능할 것으로 판단된다.

- 총 플라보노이드 함량

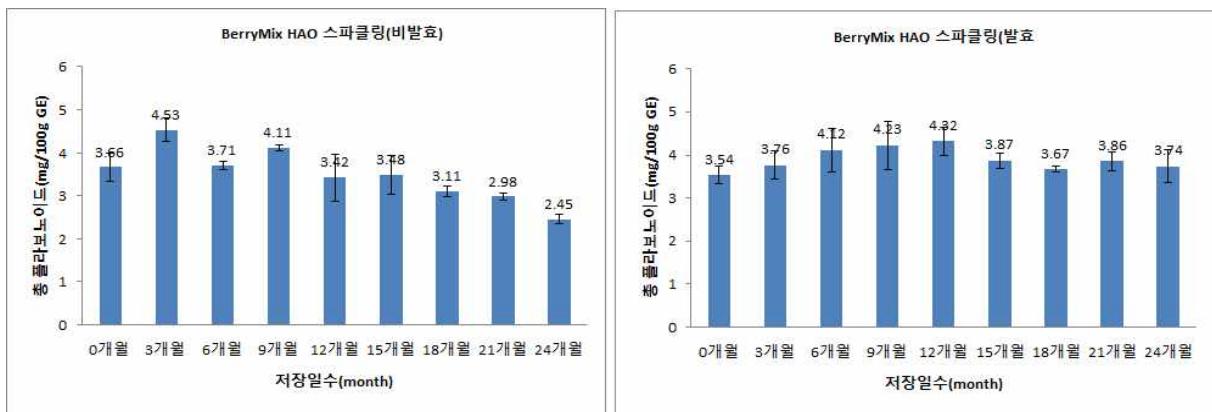


그림 271. 유통 중 BerryMix HAO 스파클링 드링크 총 플라보노이드 함량 변화

총 플라보노이드 성분의 변화를 보면 비발효 제품의 경우 0개월에는 3.66mg/100g에서 3개월에는 4.53mg/100g으로 증가하다가 6개월 후부터 서서히 경향을 보였고 24개월에 2.45mg/100g

을 함유하였다. 발효 드링크의 총 플라보노이드 함량의 경우는 0개월 3.54mg/100g이며 12개월 시점까지 4.32mg/100g으로 증가하는 경향을 보이다 18개월 후부터 감소하다 24개월 3.74mg/100g을 함유하는 것으로 나타났다.

스파클링 제품 특성 상 발효 과채류의 함량이 낮아 총 플라보노이드의 잔존량이 낮지만 발효제품에서 비발효제품군보다 유통 중 감소되는 특성이 낮고 잔존량 또한 높은 것으로 나타났다.

④ 갈변도 측정

식품의 갈변 현상은 효소적(polyphenoloxidase, tyrosinase), 비효소적(가열, 산화 등) 반응에 의하여 발생하는 현상으로, 제품의 품질 및 외관에 영향을 미치는 주된 요인 중 하나이다. 갈변도를 측정하는 방법으로는 갈색의 흡수파장인 420nm에서 흡광도를 측정하여 그 변화를 간편하게 확인할 수 있다.

㉞ 재료 및 방법

시료를 10배 희석 한 후 1ml을 취하여 큐벳(UV-cuvette semi-micro 1.5ml)에 넣고 분광광도계(spectrophotometer Libro S60, biochrom)를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정한다.

㉞ 실험 결과

저장기간 따른 혼합베리음료의 갈변도 변화는 표 19에서 보는 바와 같이 저장기간이 길어질수록 점차 증가하였다. 이는 광산화에 의한 안토시아닌의 구조적 변화로 인해 기인된 영향일 수 있으며, 발효군에서 갈색도의 변화가 적은 것으로 나타났다

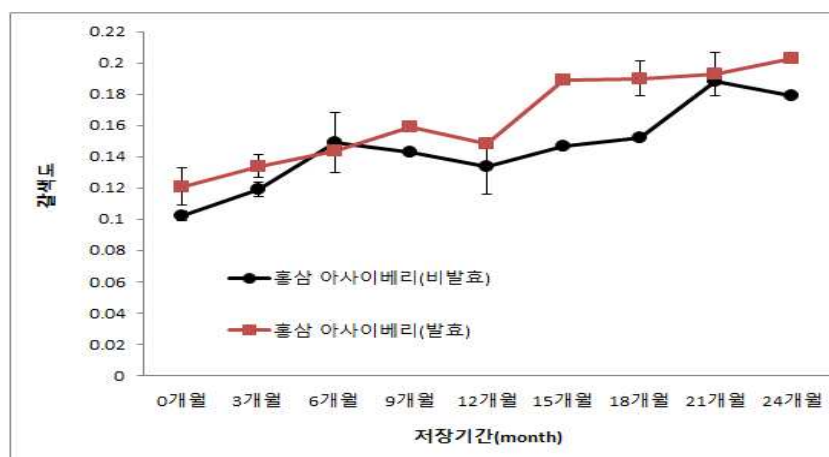


그림 272. 유통 중 BerryMix HAO 스파클링 드링크 갈색도(460nm) 함량 변화

(다) 아침이 상쾌한 캡슐 푸레형 드링크 유통안정성 평가

① 재료 및 방법

혼합베리액A, LP-115 균주 발효 혼합베리액A와 정제수, 액상과당, 아로니아농축액, 적포도농축액, 블루베리농축액, 이소말토올리고당, 홍삼농축액, 구연산, 비타민C, 착향료를 사용하였으며, 제조한 음료는 180ml 투명 유리병에 포장하였다. 혼합베리발효액A 적용 유무에 따라 ‘베리 혼합음료, 베리발효 혼합음료’로 나누어 시료를 제작하였으며, 각각의 비율에 따라 계량하여 배합 탱크에 투입하였다. 이후 상온에서 20~30분간 교반하여 충분히 용해시키고, 판형열교환기에서 UHT(Ultra High Temperature)공정으로 98℃ 60초 간 살균하였다. 살균이 완료된 배합액은 180ml 투명 유리병에 충전, 냉각하여 상온 보관하였다. 음료 제조는 동원F&B 광주공장에서 수행하였다. 안정성 검사를 위하여 40℃, 3,000 ~ 3,500Lx에서 123일간 저장하면서 안정성 검사를 실시하였다.

② 유해산소흡수능력(ORAC) 결과

베리 혼합 음료의 경우 유통 중 저장기간이 길수록 ORAC 수치는 감소하는 경향을 나타내었는데, 비발효 제품의 경우 0일차에는 28.44 μ molTE/L에서 24개월 후에는 15.89 μ molTE/L 로 급격히 감소하는 경향을 보였다. 발효 드링크의 경우 0개월 26.78 μ molTE/L에서 24개월 후 10.8 μ molTE/L 로 저장기간이 길수록 ORAC 수치가 감소하는 경향이었고 유통 기간 별 함량 차이가 비발효 음료에 비해 낮았다. 캡슐 공정에 함유된 매트릭스 물질에 의해 항산화성분의 희석효과로 ORAC 항산화활성이 낮게 나타난 것으로 파악되며 캡슐 물질인 키토산과 아라비아검이 항산화제가 유해산소 흡수하는 능력에 대해 방해효과가 발생했을 가능성도 있다고 사료된다.

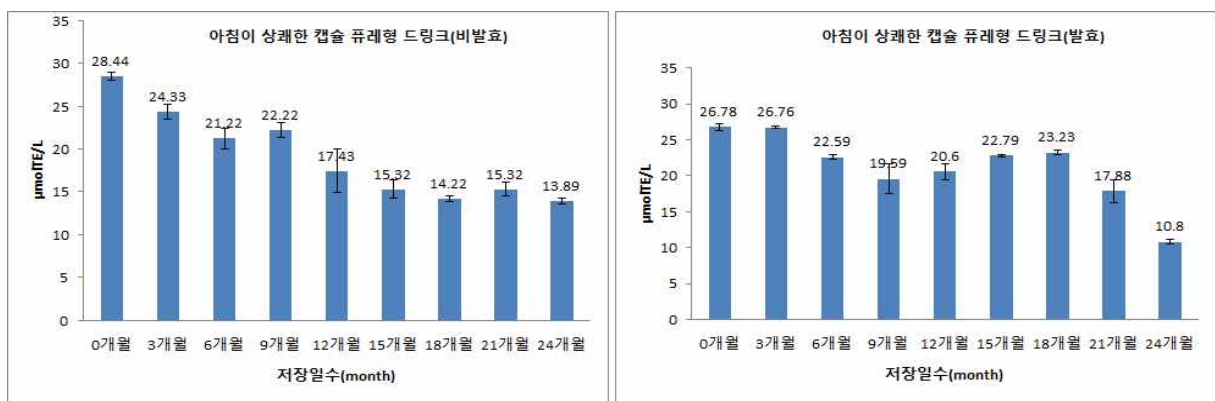


그림 273. 유통 중 아침이 상쾌한 캡슐 푸레형 드링크 항산화능 변화

③ 항산화 성분(총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 안토시아닌)

㉠ 측정 방법

- 총 폴리페놀 함량

시료의 총 폴리페놀 함량은 Singleton과 Rossi(14)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 25 μ L에 증류수 1 mL, Na₂CO₃ 용액 300 μ L, Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO,USA) 75 μ L를 혼합하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도 (DU-650, Beckman Coulter, Anaheim, CA, USA)를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀 함량은 mg gallic acid equivalent(GAE)/serving size로 나타내었다.

- 총 플라보노이드 함량

시료 속에 함유된 총 플라보노이드 함량은 Jia 등(15)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 시료 1 mL에 5% NaNO₂를 20 μ L첨가하여 5분간 실온에서 반응시킨 후, 10% AlCl₃ 20 μ L와 1M NaOH 150 μ L를 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 catechin (Sigma-Aldrich)를 이용하여 검량선을 작성하였고 총 플라보노이드 함량은 mg catechin equivalent(CE)/serving size로 나타내었다.

㉠ 결과

- 총 폴리페놀 함량

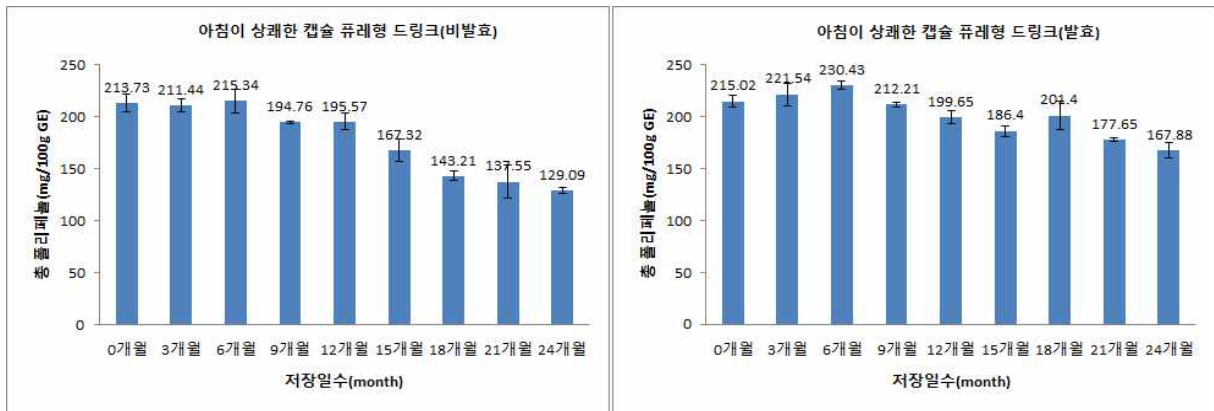


그림 274. 유통 중 아침이 상쾌한 캡슐 푸레형 드링크 폴리페놀 함량 변화

스파클링 드링크의 저장 중 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과는 그림 과 같다. 비발효 제품의 경우 0개월에 총 폴리페놀 성분의 함량의 경우 213.73mg/100g GE 이며 6개월까지 함량이 지속되다가 15개월에 162.32mg/100g GE 로 감소하였고 24개월에 129.09mg/100g GE 잔존하였다.

발효 제품의 경우는 감소하는 경향은 나타냈으며 감소하는 기울기가 완만하였고 유통 18개월까지 총 폴리페놀 함량 변화가 크게 없었으며 18개월부터 감소하기 시작하여 24개월 167.88mg/100g GE 잔존하여 비발효 제품의 것과는 차이가 컸다. 전체적으로 볼 때 발효 캡슐 푸레형 제품의 경우 유통안정성이 매우 양호하였고 캡슐형 드링크의 시장 제품이 없는 것을 볼 때 향후 시장 차별적인 베리 과채 드링크 제품으로 손색이 없을 것으로 판단된다.

- 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 성분의 함량 변화를 보면 비발효 제품의 경우 0개월에는 22.32mg/100g에서 12개월에는 18.67mg/100g로 감소하였으며 24개월에 11.23mg/100g을 함유하였다. 발효 드링크의 총 플라보노이드 함량의 경우는 0개월 25.92mg/100g이며 15개월 시점까지 약간 증가하는 경향을 보이다 18개월 후부터 감소하였고 24개월 20.43mg/100g을 함유하는 것으로 나타났다.

캡슐 튜레형 제품의 경우 발효 공정 중 외부 스트레스에 대한 영향도가 적어 분해가 거의 일어나지 않아 캡슐의 효능이 매우 우수함을 알 수 있었다.

따라서 캡슐 제품 특성 상 발효 과채류의 유통기간 중 함량이 미발효 제품에 비해 전반적으로 높게 나타났으며 유통 기간 중에도 거의 소실이 없는 것으로 나타나 캡슐이 효율적으로 고항산화 특성을 유지시켜 주는 것으로 나타났다.

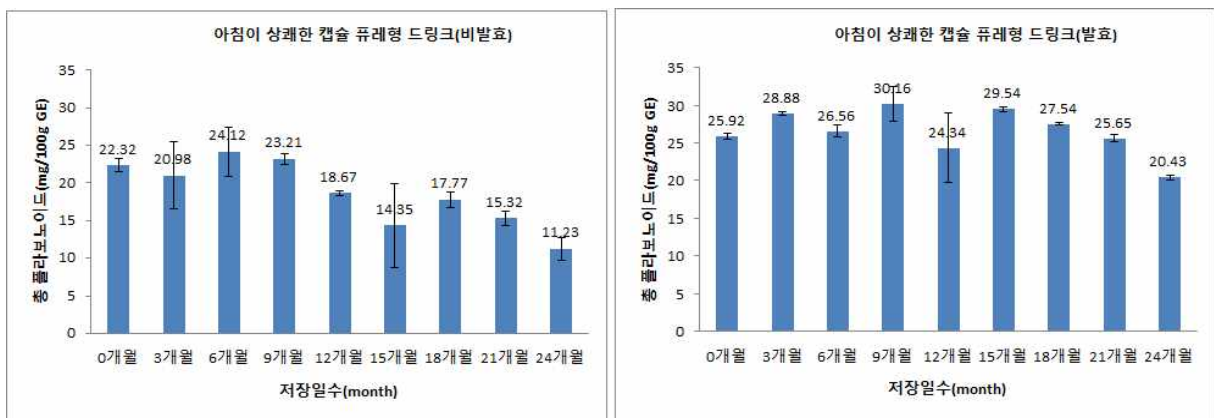


그림 275. 유통 중 아침이 상쾌한 캡슐 튜레형 드링크 총 플라보노이드 함량 변화

④ 갈변도 측정

식품의 갈변 현상은 효소적(polyphenoloxidase, tyrosinase), 비효소적(가열, 산화 등) 반응에 의하여 발생하는 현상으로, 제품의 품질 및 외관에 영향을 미치는 주된 요인 중 하나이다. 갈변도를 측정하는 방법으로는 갈색의 흡수과장인 420nm에서 흡광도를 측정하여 그 변화를 간편하게 확인할 수 있다.

㉞ 재료 및 방법

시료를 10배 희석 한 후 1ml을 취하여 큐벳(UV-cuvette semi-micro 1.5 ml)에 넣고 분광광도계(spectrophotometer Libro S60, biochrom)를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정한다.

㉞ 실험 결과

저장기간 따른 혼합베리음료의 갈변도 변화는 그림 276에서 보는 바와 같이 저장기간이 길

어질수록 점차 증가하였다. 이는 광산화에 의한 안토시아닌의 구조적 변화로 인해 기인된 영향일 수 있으며, 발효에 따른 갈변억제 차이는 없는 것으로 나타내었다.

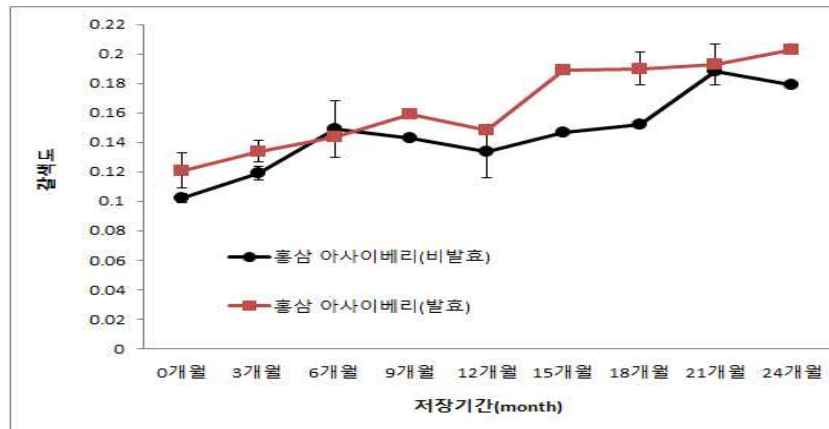


그림 276. 유통 중 아침이 상패한 캡슐 푸레형 드링크 갈색도(460nm) 함량 변화

(2) 휘발성 향기성분 비교

(가) ALT(Accelerated Lifecycle Test, 가속수명검사)를 통한 유통기한 산출

가속수명시험은 시험기간을 단축하기 위한 목적으로 기준조건(음료의 경우 상온 2년)보다 가혹한 조건에서 실시하는 시험이다. 고 스트레스 수준에서 스크레스를 가하는 스크레스 가속과 간헐동작시 반복되는 헛수를 증가시키거나 연속동작 시 지속시산을 늘이는 시간가속을 적용하여 제품의 고장 메커니즘을 촉진하여 수명을 측정하는 시험방법이다. 따라서 가소한 조건의 시험결과시부터 기준조건의 수명 또는 고장률을 추정하기 위해 두 조건 사이에 존재하는 규칙성을 활용하여 가속계수를 구하며, 일반적으로 두 조건에서의 고장메커니즘이 동일해야 한다.

이번 고향산할 활성을 지니는 드링크의 ALT는 일정 스트레스 시험법(constant-stress accelerated test)를 적용하였으며 스크레스 부과방법의 가장 대표적인 유형으로 시험단위에 일정한 수준이 스크레스를 시험종결까지 유지하는 방법이다. 이 방법은 시험에 적용하기가 편리하고, 시험을 지속 시 스트레스의 유지가 쉬우며, 일정 스트레스 수준 하에서의 가속모형이 널리 개발되어 있고 경험적인 검증도 많이 이루어져 있는 장점이 있다.

가속모형은 스트레스 가속시험에 적용할 수 있으며 시험제품의 수명과 스트레스의 관계를 나타낸다. 이번 연구에서는 아레니우스 모형과 더불어 가장 널리 쓰이는 역수승 모형을 활용하였다.

① 고향산화 푸레음료(캡슐적용/캡슐미적용)

고향산화 푸레음료의 가속 수명 검사 조건은 반응이 비 관측 중단/우측 관측 중단 데이터였고, 변수는 시간, 가속변수는 온도, 관계는 자연로그를 적용하였다. 가정된 분포는 로그 정규 분포를 사용하였으며, 추정 시간에 대한 확률 추정은 24개월(2년)인 720일을 입력하였고, 온도

조건 40℃, 샘플은 고탄산화 푸레형 음료 30개를 가지고 ALT를 진행하였다. 30개의 샘플은 매일 전수검사하여 색도, 맛, 침전, 분리 등에 대하여 신선 대조군과 비교하여 이상이 있을 경우 비품으로 숫자를 카운트 하였다.

가정된 분포는 weibull 분포로 추정을 하였고, Q10 value는 2.0으로 가정하였다. 결과처리에는 95% 신뢰구간 CI, PI, 불량될 확률을 10℃, 15℃, 20℃, 25℃에서 유통기한의 2년이 될 확률을 계산하였다.

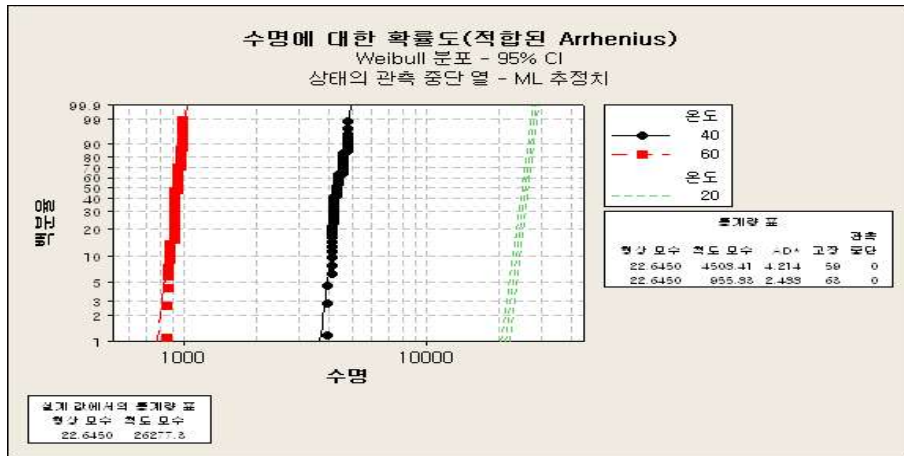


그림 277. 시간(day)에 대한 고탄산화 푸레 음료의 유통기한 확률도

생존 확률도는 유통기한이 2년(17,520시간)일 경우 10℃, 15℃, 20℃, 25℃에서 유통기한에 문제가 없을 확률은 순서대로 100%, 100%, 99.9%, 22.0% 였다. 즉, 20℃상온(냉장포함) 유통기한 2년 이상 유통 가능한 것으로 나타났으며 캡슐 원료의 특성상 온도가 20℃ 이상 상승하면 유통안정성의 불량률이 88%로 증가한다. 따라서 20℃ 이하에서 24개월 유통시 불량률이 0.0002%이고 p-value 0.01이며 99% 유의수준에서 안정한 것으로 나타났다.

② Sparking 드링킹 음료(발효/비발효)

고탄산화 드링크 음료의 가속 수명 검사 역시 조건은 반응이 비 관측 중단/우측 관측 중단 데이터였고, 변수는 시간, 가속변수는 온도, 관계는 자연로그를 적용하였다. 가정된 분포는 로그 정규 분포를 사용하였으며, 추정 시간에 대한 확률 추정은 24개월(2년)인 720일을 입력하였고, 온도조건 40℃, 샘플은 고탄산화 푸레형 음료 30개를 가지고 ALT를 진행하였다. 30개의 샘플은 매일 전수검사하여 색도, 맛, 침전, 분리 등에 대하여 신선 대조군과 비교하여 이상이 있을 경우 비품으로 숫자를 카운트 하였다.

가정된 분포는 weibull 분포로 추정을 하였고, Q10 value는 2.0으로 가정하였다. 결과처리에는 95% 신뢰구간 CI, PI, 불량될 확률을 10℃, 15℃, 20℃, 25℃에서 유통기한의 2년이 될 확률을 계산하였다.

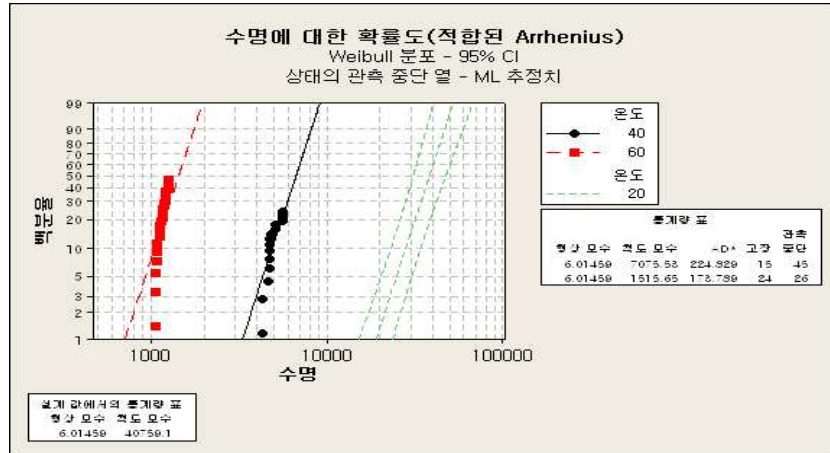


그림 278. 시간(day)에 대한 고향산화 스파클링 음료의 유통기한 확률도

생존 확률도를 보면 유통기한이 2년(17,520시간)일 경우 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C에서 유통 기한에 문제가 없을 확률은 순서대로 99.9 %, 99.9 %, 99.4 %, 90.6 % 였다. 즉, 고향산화 스파클링 음료는 20 °C상온(냉장포함) 유통기한 2년 이상 유통 가능한 것으로 나타났으며 20 °C 이하에서 24개월 유통시 불량률이 0.0006 %이고 p -value 0.01이며 99 % 유의수준에서 안정한 것으로 나타났다.

2. 상품화 및 공정개발


가. 고향산화 음료 시제품 제조를 위한 컨셉보드 및 상품화 전략

(1) 컨셉보드

(가) BerryMix HAO Sparking 드링킹 음료

제품명	“ BerryMix 好 (HAO :HighAntiOxidant) Sparking ”	
제안 배경	<p>1. 과즙 탄산음료의 성장세</p> <ul style="list-style-type: none"> - 탄산음료가 차(tea), 주스를 제치고 10~20%의 높은 성장세 - 특히, 탄산음료 중 과즙 탄산음료의 성장세가 두드러짐 <p>2. 탄산음료 시장의 Wellbeing Boom</p> <ul style="list-style-type: none"> - 인공색소를 사용하지 않는 에이드타입 탄산음료 증가 - 천연과즙 함량을 높여 건강함을 내세운 탄산음료 인기 <p>3. 탄산음료의 Flavor 다양화 필요</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내 Berry맛 탄산음료 중 포도, 딸기, 체리 (헬치스, 슈웬스, 써니텐, 트로피카나) 외 flavor 미비 - 아사이베리&크렌베리가 혼합된 믹스베리 Flavor 제안 	<p>TPO</p> <ul style="list-style-type: none"> • 건강하게 갈증을 해소하고 싶을 때 (운동 후, 식후, 나른한 오후 등) • 피부의 생기가 떨어졌을 때 <p>목표 고객</p> <ul style="list-style-type: none"> • Main 고객 : 20~30대 여성 • Sub 고객 : 10대 여성
제품 컨셉 및 특성	<ul style="list-style-type: none"> • 익숙하지만 새로운 맛의 기능성 과즙탄산음료 - BerryMix HAO의 고향산화 기능성으로 피로회복과 피부건강에 도움 	 <p>[Blossom water, USA] [Glaceau Fruitwater (Black Raspberry), USA]</p>
제품 종류	탄산음료	
차별화 Point	<p>1. 건강한 탄산음료</p> <ul style="list-style-type: none"> - 항산화 효과가 뛰어난 BerryMixHAO 함유 (BerryMix HAO : 고향산화 과일혼합물/아사이베리 74%, 아로니아, 크렌베리) - 피부건강에 좋은 콜라겐트리펩타이드 함유 	<p>2. Berry Blossom Flavor</p> <ul style="list-style-type: none"> - 아사이베리&크렌베리향(98%) + 꽃향(2%, 제라늄/동백) → 익숙하면서도 새로운 HAO만의 특징적인 향 - 제라늄/동백 오일 : 피부건강에 도움을 주는 대표 레드플라워 아로마
제품 성분	정제수, BerrymixHAO, 정백당, 액상과당, 구연산, 콜라겐, 비타민C, 합성착향료, 탄산가스	
형태 및 예상 판매가	<ul style="list-style-type: none"> • 340ml PET / 1,300원 (경쟁제품 가격: 헬치스 950원, 슈웬스 : 1,200원 등) 	

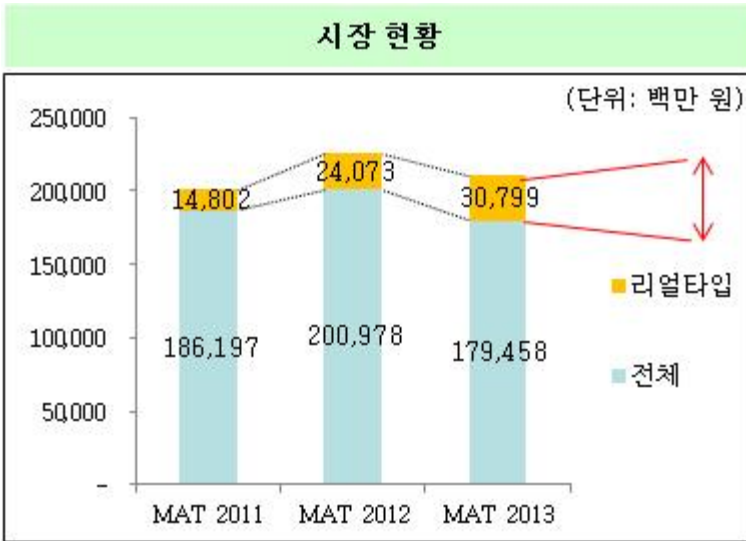
(나) 고향산화 퓨레음료

제품명	“ 상쾌한 아침 아사이베리(펄 프함유, 스무디타입) ”	
제안 배경	<p>1. 주스시장의 트렌드 변화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 새로움에 대한 소비자 니즈를 반영한 제품 강세 - 원료 : 사과/오렌지/포도/알로에/토마토 → 망고/자몽 <p>2. '상쾌한 아침' 브랜드 활성화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 신규 원료 및 기술력을 활용하여 차별성 및 브랜드 경쟁력 확보 필요 - 상쾌한 아침 제품군(오렌지/포도/토마토/알로에/당근/매실)의 Flavor 확장을 통한 제품 구색 강화 - 특색 있는 소재(고향산화 아사이베리혼합농축액)와 차별화된 기술력(캡슐화)이 융합된 '아사이베리주스' 개발 제안 	<p>TPO</p> <ul style="list-style-type: none"> • 영양소를 보충하고 싶을 때 • 간식 또는 아침 식사 대용 <p>목표 고객</p> <ul style="list-style-type: none"> • Main 고객 : 20~30대 • Sub 고객 : 10대
제품 컨셉 및 특성	<ul style="list-style-type: none"> • 아사이베리보다 더 좋은 캡슐 속 아사이베리 항산화 주스 - BerryMix HAO의 고향산화 기능성으로 피로회복에 도움 (시판 제품 대비 가장 우수) - 항산화 효과의 보존성 우수 	 <p>[Sambazon, Acai Juice]</p>
제품 종류	과채주스	
차별화 Point	<p>1. 고향산화 신규 소재를 활용한 아로니아주스</p> <ul style="list-style-type: none"> - 신규 고향산화 소재인 BerrymixHAO 함유 - 펄프 함유 : ① 환원주스와 차별화된 농후한 물성(스무디 타입), ② 과즙유래 비타민, 무기질 + 섬유소 (영양적 균형) 	<p>2. 항산화 효과 안정화 기술 적용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 캡슐화 기술을 통한 항산화력 보존 (가열살균, 광산화에 의한 손실 최소화)
제품 성분	정제수, BerrymixHAO, 아가베시럽, 아사이베리퓨레, 포도퓨레, 사과농축액, 키토올리고당, 카라기난, 비타민C, 착향료	
형태 및 예상 판매가	<ul style="list-style-type: none"> • 180mL 병 / 1,500원 	

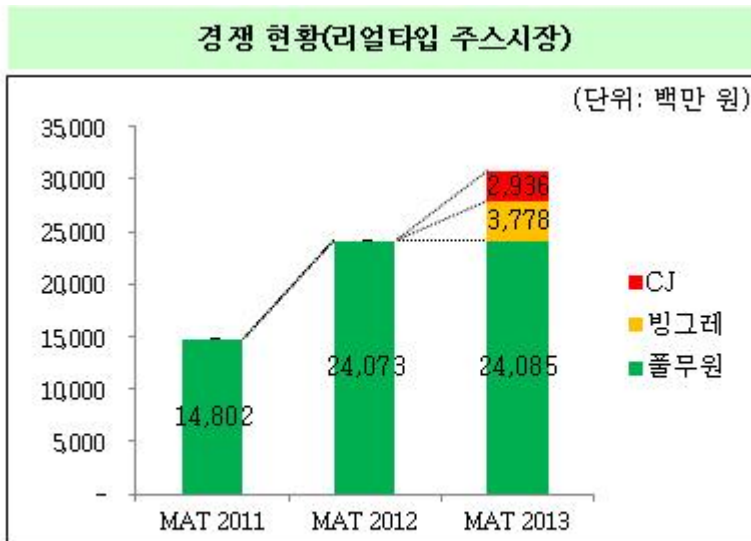
(2) 상품화 전략

(가) 환경분석

① 시장 동향(기준 시장을 주스기준으로 정의함)



[278-1. 주스 시장 현황]



※ 출처: 링크아즈텍 / 단위: 백만 원 / 기준: 5월로 끝나는 1년

[그림 278-2. 경쟁현황]

리얼타입 주스 시장규모는 300억 이상이며, 냉증 주스 전체 3개년도냉장 주스 전체 3개년도 CAGR은 △1.8%로 규모가 축소되는 추세 이다. 그리고 리얼타입 주스 3개년도 CAGR은 44.2%, 편의점 CU 기준 리얼타입 주스매출 매년 20% 상승하였다.

경쟁 현황은 풀무원 독점 시장에서 경쟁 제품이 지속적으로 등장하여 시장 확대 중이며, 풀무원이 아임리얼의 지속적인 성장 추세이고, SKU 및 경로 확대 및 광고 집행 중이다. 그리고 빙그레는 프리미엄 주스 ‘따옴’ 12년 만에 출시하여 반년만에 월 60만병 매출을 올렸다. 또 서울우유는 아침에주스 프리미엄, CJ는 뿌띠첼스퀴즈, 매일유업은 플로리다 내추럴 등 다양한 브랜드의 주스 제품 출시하고 있다.

② 3C 분석

구분	동원	풀무원	남양	CJ	빙그레	기타(아사이베리코리아)
브랜드	베리믹스HAO 주스	아인리얼	플로리다내추럴	베리젤 스쿼즈	따옴	보뚜
이미지						
단량	175ml / 1L	190ml / 920ml	200ml / 750ml	200ml	220ml / 730ml	50ml / 730ml
종류	Original BluePom(석류) Energy(파라나+마테)	딸기 / 오렌지 / 망고 / 키위 / 토마토 등	오렌지 / 자몽	오렌지 / 크랜베리	사과 / 오렌지 / 자몽	사과 / 오렌지 / 자몽
주요 경로	할인점 / 백화점	할인점 / 백화점 / CVS	할인점 / 백화점 / CVS	현재 일시 단종	할인점 / 백화점 / CVS	온라인
가격	3,600원 / 12,800원	2,900원 / 9,700원	3,400원 / 7,500원	3,500원	1,200원 / 3,500원	4,933원 / 74,000원
원/ml	20.6	15.3	17.0	17.5	5.5	98.7
가격지수	100	74	83	85	27	480

소비자 동향	· 건강/웰빙은 여전히 유효한 Mega trend로 소비자들에게 인식 · '항산화' 및 '미용'에 대한 키워드에 익숙함 → 블루베리 판매 증가 원인	자사 현황	· 음료 카테고리 매출 감소 및 빅 브랜드 부재 · 유제품 및 CF카테고리에 대한 노하우 및 영업력 보유(냉장 음료)
--------	---	-------	--



KSF	합리적인 가격 + 고품질 제품 + 강한 영업력을 바탕으로 하는 브랜드 운영
전략방향	<ul style="list-style-type: none"> · 원활하고 타이밍에 맞는 재고 수급 (SCM 관리 철저) · '베리류 혼합된' 항산화 효능에 대한 소비자 교육 강화 및 브랜드 경험을 증대 · 영업력을 통한 행사 적극 유치 및 매대 노출 강화

(나) STP 전략

구분	정의					
Segmentation	연령	성별	소득	지역	학력	라이프스타일
	30~50대	여성	중산층 이상	도시지역	고학력자 (대졸이상)	건강을 중시하는 가족을 걱정하는 미용에 신경을 쓰는
Target Profile	Main Target	미용 및 가족 건강을 중시하는 40~50대 주부				
	Sub Target	안티에이징에 관심이 많은 30~50대 중장년층				

(다) Marketing Plan

① 제품계획

기타 아사이음료	
	

정통성 高

□ Positioning

- 향상된 물질이 높아 안티에이징에 효과적인 아사이의 효능을 전부 담은 아사이베리 전문 브랜드
- 아사이베리 전문 글로벌 브랜드 '살바존'

□ 포지셔닝 기준추천경요소

- 편익: 아사이베리의 고유한 기능성 강조
- 속성: 아사이베리의 함량이 높은 (농축액 사용하여 믹스한 제품이 아닌 아사이베리퓨레를 직접 넣은 제품)
- 정통성: 경쟁사 대비 우위 요소 → 글로벌 브랜드

구분	내용												
브랜드명	BerryMix HAO juice												
컨셉	베리류 최적배합으로 항산화 효능이 강화된 건강한 주스, 스무디로서 항산화 건강 기능으로서 확실히 차별화된 제품												
USP	최적의 배합비율로 구현된 우수만 맛 높은 항산화 기능성 (시판 제품 대비 150% 이상) 합리적인 가격과 유행하는 아사이베리, 석류, 과라나 등을 혼합하여 소비자 구매력 향상												
디자인	1. 베리류 혼합에 대한 Brand identity 위주의 표현 + 제품 씨즐 2. 베리류 고유의 붉은 색 베이스의 Tone & Manner 적용을 통해 고유의 색 표현												
SKU	판매여부	판매 예정						판매 미정					
	단량	175ml Juice			1L Tetra Juice		100g*4 Smoothie	90g 과우더	1L Tetra*3 Juice		100g*4 Smoothie	354ml drink	
	구분	Original	BluePom	Energy	Original	BluePom	Original	Original	Purifying Cleanse		Unsweetend	에너지음료	
	이미지												
	패키지	PET			Tetra Pak		PE	PET	Tetra Pak		PE	Can	
	유통기한	9개월			9개월		18개월	12개월	9개월		18개월	12개월	
	주요성분	Original: 아사이주스, 아가베, 라임주스 등						아사이퓨레, 과라나 추출물 등	유기농 아사이분말, 구연산	1. 아세로라주스, 레몬주스 등		아사이 퓨레	탄산수, 아사이 주스 등
		BluePom: 아사이주스, 블루베리주스, 석류주스 등								2. 사과주스, 야채주스 등			
Energy: 아사이주스, 과라나추출물, 마데 등						3. 두유, 견과 블렌드 등							

② 가격계획

자사 가격구조에서의 가격 설계는 거래처 바이어 및 시장 내 판매 가능한 현실적인 가격 수준으로 세팅하였으며, 행사 진행 계획은 없다.

코스트코 전용 제품 및 가격 운영 안은 아래 표와 같다.

③ ALT 계획

* Advertorial : 고급잡지, 여성잡지 진행

[단위: 원, %]

구분	단량	입수	인도가 (USD)	판매세	제비용	환율	원가단가 (원)	가격 구조				
								경로구분	공급가		소비자가	
									GP	출고가	점마진	점마진
주스	6 oz	12	15.00	7.2%	9.8%	1,100	1,644	할인점	37.2%	2,618	3,600	20.0%
								광고형	30.5%	2,365	3,060	15.0%
								백화점	35.1%	2,533	3,980	30.0%
1L Tetra	8	34.88	7.2%	5.8%	1,100	5,473	할인점	41.2%	9,309	12,800	20.0%	
							광고형	28.5%	7,650	9,900	15.0%	
							백화점	41.9%	9,418	14,800	30.0%	
냉동 스무디	100g*4	15	26.00	45.0%	4.3%	1,100	2,933	할인점	54.7%	6,473	8,900	20.0%
								광고형	46.9%	5,525	7,150	15.0%
								백화점	53.4%	6,300	9,900	30.0%
과우더	90g	6	59.34	45.0%	12.0%	1,100	17,633	할소평	43.5%	31,200	39,000	12.0%

※ 기본적으로 행사 미진행이 원칙이나 경우에 따라서 행사 진행 → 시음행사 수위 조절 → 전체 손익 구조 유지

※ 상기 원가에는 스티커 디자인 및 작업 비용은 반영되어 있지 않음

[단위: 원, %]

경로	구분	입수	원가	출고가		소비자가		GP	비고
				소분/포장비	개당	개당	개당		
코스트코	6oz	8	15,501	626	19,584	2,448	24,480	3,060	20.8%
	1L Tetra	2	10,946	0	15,840	7,920	19,800	9,900	28.5%
	스무디	2	5,867	0	11,440	5,720	14,300	7,150	46.9%

※ 6oz 8입의 원가에는 국내 소분 작업 추정 원가 포함

※ 1L Tetra 제품의 가격은 추가 협의 필요함

- 목적: 타깃 소비자에게 직접적인 제품 정보 노출 + 아사이베리 효능에 대한 자세한 전달을 통한 학습효과 구축

- 타깃: 주부 및 실구매자

- 매체: 신문 / 고급 매거진 / 여성 잡지 → 매체와의 협의에 따라 우호적인 곳에 선 집행

- 내용: 아사이베리 효능 소개 / 삼바존 제품 이미지 노출 / 브랜드 스토리 게재

- 집행 계획: 기본 2P 제작 추진 → 1p 이미지 삽입, 2p 내용 삽입

* TV Program: 생활 정보 프로그램에 아사이베리 노출

- 목적: 타깃 연령 소비자에게 아사이베리 효능에 대한 자세한 전달 → 제품에 대한 이슈화

- 타깃: 주부 및 실구매자

- 매체: 공중파 (생활 정보 프로그램 또는 아침 주부 프로그램)

- 내용: 항산화 및 건강 기능 관련 이슈 노출 + 아사이베리 소개 → 제품 간접 노출을 통한 홍보 기대

- 집행 계획: 공중파 3사 최소 1회씩 진행 목표

④ BTL 계획

* 이벤트: 브라질 축구 경기 무료 초청권 제공

- 목적: 브라질 -아마존 -삼바존 연상관계를 이용한 제품 홍보 (제품 원료 중 소비자 인지도 높은 원료를 최대한 활용함)

- 타깃: 실 구매자

- 방법: 제품 구매시 붙어있는 스티커로 응모 (난수 이벤트)

* 온라인 PR: 브랜드 SNS 운영

- 목적: low cost -direct/mutual communication을 통해 소비자들과 직접적으로 소통 → 긍정적 브랜드 이미지 형성

- 타겟: 잠재 소비자
- 수단: 트위터 및 페이스북

* Recipe Note 제작

- 목적: 베리류 과일에 낫선 소비자들을 위한 판촉물 제작 → 제품 정보 제공 및 사용법 전달
- 타겟: 실 구매자 + 잠재 소비자
- 내용: 관련 제품 소개자료 → 전 제품 이미지 및 영양 관련 자료
- 사이즈: 6p 올 컬러 제작
- 수량: 1만 개
- 배포처: 제품 샘플링 장소 / 잡지 advertorial 간지로 삽입

⑤ 예상 손익 PL표 - 전체비용반영

* 3개년도 예상 PL표(단위:백만원, %)

제품	1차년도		2차년도		3차년도	
		%		%		%
매출액	2,062	100.0	3,399	100.0	4,891	100.0
매출원가	1,315	63.8	2,145	63.1	3,095	63.3
매출이익	747	36.2	1,254	36.9	1,796	36.7
관관비(관촉비 제외)	545	26.5	942	27.7	1,335	27.3
영업이익	201	9.8	312	9.2	461	9.4
관촉비	410	19.9	395	11.6	218	4.4
- 샘플링/기타	64	3.1	34	1.0	12	0.2
- 쇼케이스	20	1.0	0	0.0	0	0.0
- ISF(시음)	372	18.1	372	11.0	186	3.8
- FR(잡지/TV)	54	2.6	39	1.1	20	0.4
- 기타(추가비용)	-100	-4.9	-50	-1.5	0	0.0
관촉비 반영 영업이익	-209	-10.2	-84	-2.5	244	5.0
광고비	1,900	92.2	0	0.0	0	0.0
광고비 반영 영업이익	-2,109	-102.3	-84	-2.5	244	5.0

* 매출액: 1차년도 20억, 2차년도 34억 이상 달성, 3차년도 49억 이상 달성 목표

* 매출이익율 : 36%이상 확보 목표

* 관관비: 광고선전비 및 판촉/홍보비에 따라 변동적

- 기본 관관비: 자사 냉동제품 경로별 관관비 적용
- 판촉비: 샘플링, 이벤트, 쇼케이스, ISP 비용 포함

* 영업이익

- 1차, 2차년도 판촉 비용 집행으로 인해 (-) 영업이익
- 3차년도 (+) 영업이익으로 구조 개선

나. 상품화 공정 개발

(1) 고향산화 퓨레음료

(가) 배합비율

No	원재료명	배합비(%)
1	아사이혼합베리발효액	10.0
2	키토산	0.073
3	아라비아검	0.141
4	아로니아농축액	6.0
5	블루베리농축액	1.0
6	포도농축액	3.0
7	사과농축액	6.0
8	프락토올리고당	4.0
9	정백당	2.7
10	베리믹스향	0.05
11	정제수	67.036
합계	합계	100

(나) 제품규격

① 이화학적 기준

No	항 목	규 격
1	당도 (brix)	17.9±0.3
2	산도	0.62±0.03
3	pH	3.4±0.3
4	납 (mg/kg)	0.3 이하
5	카드뮴 (mg/kg)	0.1 이하
6	보존료 (mg/kg)	불검출

② 미생물학적 기준

No	항 목	규 격
1	일반세균 (CFU/mL)	100 이하
2	대장균군	음성

③ 제조공정



프로세스		설비	공정조건
1	원료계량	저울	• 교정 저울
2	배합	배합탱크	• 배합비율 참고
3	예열	관형열교환기	• 65 ± 5 °C
4	균질	고압균질기	• 175 ± 25 bar
5	살균	관형열교환기	• 110 ± 2 °C, 30초
6	냉각	관형열교환기	• 20 °C 이하
7	여과	Strainer(스트레너)	• 40mesh
8	탄산주입	Mojonnier system	• 3.5Vol 이상
9	충전	충전기	• 359.6 ± 7.2 g
10	Capping	Capper	• Torque 16 ± 9 kgf/cm ²
11	Warming	Warmer	• 품온 30 °C 이하
12	일부인	Video jet printer	• 유통기한 년 월일
13	외포장	자동포장기	• 340 X 24입
14	적재	적재기	• 규정적재

(2) BerryMix HAO 스파클링 음료(발효/비발효)

(가) 배합비율

No	원재료명	배합비(%)
1	정백당	10.5
2	액상과당	3.30
3	아사이혼합베리발효액	3.00
4	아로니아농축액	0.50
5	구연산	0.24
6	비타민C	0.03
7	콜라겐트리펩타이드	0.147
8	베리믹스향	0.100
9	탄산가스	0.741
10	정제수	81.442
합계	합계	100

(나) 제품규격

① 이화학적 기준

No	항 목	규 격
1	당도 (brix)	14.3±0.3
2	산도	0.40±0.03
3	pH	3.5±0.3
4	납 (mg/kg)	0.3 이하
5	카드뮴 (mg/kg)	0.1 이하
6	보존료 (mg/kg)	불검출
7	탄산가스 (kg/cm ²)	0.5 이상

② 미생물학적 기준

No	항 목	규 격
1	일반세균 (CFU/mL)	100 이하
2	대장균군	음성

③ 제조공정



프로세스		설비	공정조건
1	원료계량	저울	• 교정 저울
2	배합	배합탱크	• 배합비율 참고
3	예열	판형열교환기	• 65 ± 5 °C
4	균질	고압균질기	• 175 ± 25 bar
5	살균	판형열교환기	• 110 ± 2 °C, 30초
6	냉각	판형열교환기	• 20 °C 이하
7	여과	Strainer(스트레너)	• 40mesh
8	탄산주입	Mojonnier system	• 3.5Vol 이상
9	충전	충전기	• 359.6 ± 7.2 g
10	Capping	Capper	• Torque 16 ± 9 kgf/cm ²
11	Warming	Warmer	• 품온 30 °C 이하
12	일부인	Video jet printer	• 유통기한 년 월일
13	외포장	자동포장기	• 340 X 24입
14	적재	적재기	• 규정적재

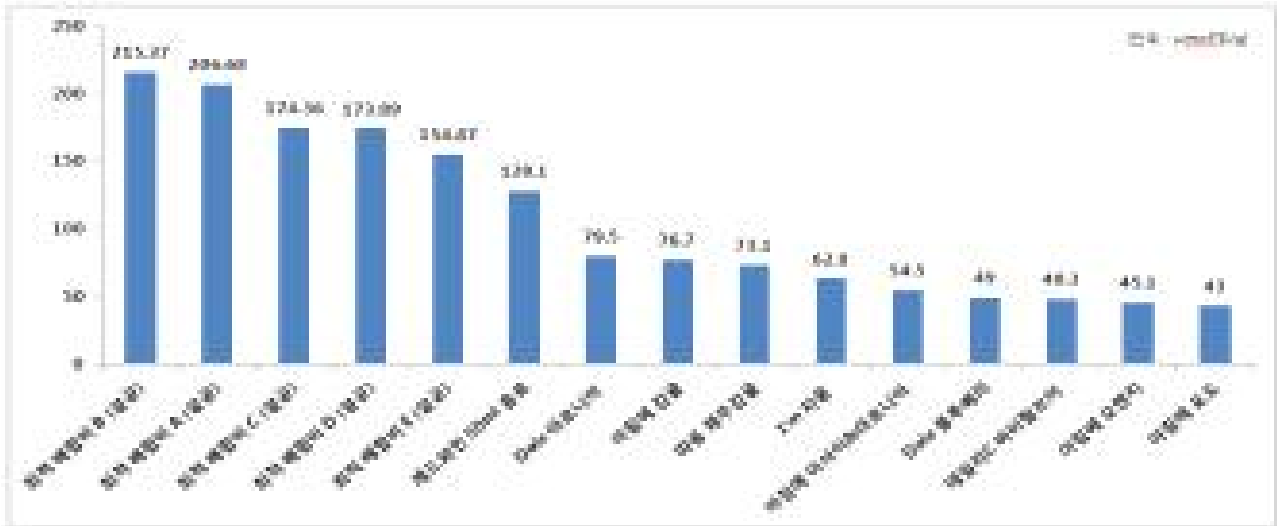
3. 유통 중인 경쟁사 제품 항산화활성 비교

가. 유통 중인 경쟁사 제품과 혼합베리음료 5종 비교

[표. 96 유통 중인 경쟁사 제품 항산화 측정 결과(단위:μmolTE/mL)]

제품명	부피기준	고형분기준	제품명	부피기준	고형분기준
Dole 블루베리	6.1	49.0	글라스 오렌지	0.3	5.7
Dole 아로니아	11.1	79.5	글라스시트리스	0.2	3.4
Tipco체리베리	2.6	22.1	글라스 드레곤후르츠	0.5	10.8
Tipco shogun	2.6	23.2	글라스 레몬에이드	0.2	3.1
Tipco구아바	0.5	5.1	데일리C 스킨글로우	0.4	9.7
Tipco퍼플케럿	2.9	22.1	데일리C 마인드요가	0.3	7.9
아침에 포도	6.4	43.0	데일리C 베이비페이스	0.8	20.7
아침에 사과	4.1	32.2	데일리C 바이탈브이	2.2	48.3
아침에 오렌지	5.4	45.1	에이플러스딸기요구르트	0.2	1.8
아침에 감귤	9.5	76.7	에이플러스 사과요구르트	0.3	2.0
오 감귤	5.5	39.6	비타 500	3.7	30.3
오블루베리	2.4	18.2	비디랩레몬디톡	0.0	0.7
오키위망고	2.1	15.7	비디랩 리치맛	0.1	4.9
I'm자몽	5.9	62.8	글라스 코코워터	0.1	1.1
I'm오렌지	3.9	32.2	스킨벨런스 엘라	1.5	19.3
과일야채 녹황	3.5	29.7	스킨벨런스 오이	1.6	23.3
과일야채 퍼플	3.6	30.7	스킨벨런스 클레	1.3	19.1
떠옹자몽	4.2	37.8	글라스 트리플엑스	1.8	37.7
텔몬트 야채과일	1.7	17.8	선키스트 오렌지야채	0.7	6.0
텔몬트 야채	2.5	23.5	선키스트 블루베리+야채	1.1	9.9
자연은포도	3.1	18.5	미닛메이드 사과+크렌베리	1.9	16.6
자연은 오렌지	5.6	40.6	카프리션 사과+블랙베리	0.5	5.2
따옴 제주감귤	8.9	73.1	미닛메이드 포도+아사이	2.6	21.3
텔몬트 오렌지	4.2	35.3	적포도	82.2	270.4
텔몬트 포도	3.6	26.0	레드와인	32.0	128.1
아침에 아사이&아로니아	5.1	54.5	립톤그린아이스티	2.5	19.2
오란씨	1.5	14.3	웅진헛개	0.3	2.0
Red Bull	0.4	3.7	정관장헛개	0.8	6.4
솔+	1.0	9.6	CJ 헛개	0.7	6.7
V	0.1	0.7	광동 헛개	0.3	1.1
광동뷰렛	0.0	0.4	롯데그린마테	2.3	14.4

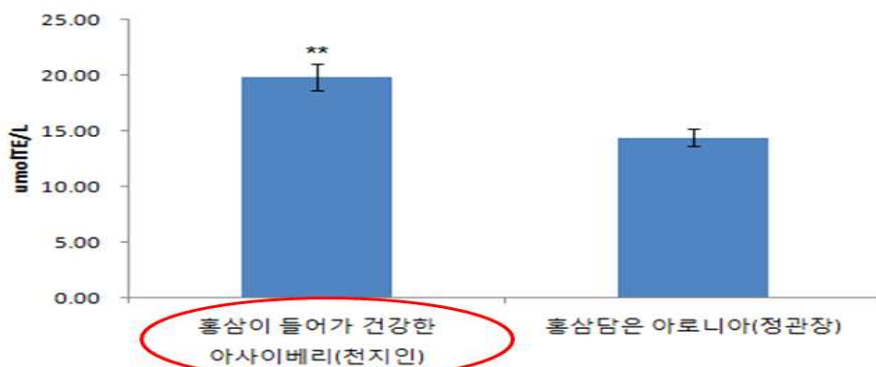
시중제품 총 61종(과채주스 26종, 혼합음료 19종, 과채음료 5종, 탄산음료 5종, 액상차 6종)을 수거하여 항산화능을 측정하여 혼합베리 음료 5종(최적배합비 5종)과 비교하였다.(표. 96) 그 결과 시중제품 61종의 항산화능 고형분 기준 평균은 24.09 μmolTE/mL이고, 표준편차 23.86이었다. 그리고 최소값이 0.4 μmolTE/mL, 최대값이 128.1 μmolTE/mL이었다.



[그림 279. 유통 중인 경쟁사 제품 Top 10 항산화능(ORAC) 비교]

최적배합비 B 샘플이 215.37 $\mu\text{molTE}/\text{mL}$ 으로 가장 높은 항산화능을 보였으며, 최적배합비 5종 모두 시판 제품보다 높은 수치를 나타내었다. 레드와인 50mL 음료가 시판 제품 중 ORAC 수치가 가장 높았으며, Dole 아로니아, 아침에 감귤, 따옴 제주감귤이 70 $\mu\text{molTE}/\text{mL}$ 이상의 수치를 나타냈다.

나. 유통 중인 경쟁사 제품과 ‘홍삼이 들어가 건강한 아사이베리’ 비교



[그림 280. 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리와 홍삼 담은 아로니아 항산화능 비교]

혼합 베리음료A를 적용한 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리(동원 F&B社 제조)음료와 홍삼 담은 아로니아(정관장社 제조) 항산화능을 비교한 결과 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리(동원 F&B社 제조)는 약 20 $\mu\text{molTE}/\text{mL}$ 으로 확인 되었으며, 홍삼담은 아로니아(정관장社 제조)는 약 15 $\mu\text{molTE}/\text{mL}$ 으로 확인되었다. 이는 25% 항산화능이 높은 수준이다.

4. 다항산화 기능 증진을 위한 발효 및 캡슐화 음료의 풍미변화 연구

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의

휘발성 향기성분 동정과 저장안정성 확인하였다.

가. 재료

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료를 동원 F&B에서 제공받아 사용하였으며, 실험에 사용된 증류수는 2차증류수를 사용하였다.

저장안정성 분석에 사용된 시료는 광산화 조건에서 0, 14, 36, 43, 57, 72, 86, 101 및 115일 보관된 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료를 사용하였다. 또한, 열 안정성(45 °C) 조건에서 0, 14, 36, 43, 57, 72, 86, 101 및 115일 보관된 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료 등이었으며, 모든 시료는 분석 전까지 -20°C 냉동고에서 보관하였다.

나. 향미 성분 분석

(1) Solvent assisted flavor evaporation (SAFE)

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 SAFE법을 이용하였다. 시료 150 mL을 SAFE additional funnel에 넣고 40°C, 8.6×10^{-6} torr에서 1시간 동안 증류하여 추출하였다. 이 때 내부표준물질로서 3-heptanol 19.25 µg을 사용하였다. SAFE에 의해 추출된 추출액은 재증류한 dichloromethane 50 mL을 이용하여 15, 15, 20 mL로 나누어 1시간씩 shaker에서 250 rpm으로 shaking 시키면서 용매 추출하였다. 추출액은 -20°C에서 12시간 냉동시켜 수분을 제거한 후 용매 층을 3 g anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 100 µL까지 농축하여 분석시료로 사용하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(2) Liquid-liquid continuous extraction (LLCE)

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 추출은 가열에 의한 artifact의 생성을 최소화하기 위하여 liquid-liquid continuous extraction을 이용하였다. 각 시료 400 mL을 내부표준물질로서 3-heptanol 96.23 µg을 사용하여 liquid-liquid continuous extraction apparatus에 넣고 250 mL의 dichloromethane을 추출용매로 사용하여 상온에서 8시간 추출하였다. 추출액은 -20°C에서 12시간 냉동시켜 수분을 제거한 후 용매층을 3 g anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 500 µL까지 농축하여 분석시료로 사용하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(3) Solid phase microextraction (SPME)

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 저

장안정성을 확인하기 위한 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 SPME법을 이용하였다. SPME fiber는 50/30 μm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane을 사용하였다. 시료 10 mL을 headspace vial에 넣고 Teflon cap으로 밀봉하였다. 40°C에서 30분간 방치하여 평형상태에 도달시킨 후, SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30분 동안 시료의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. Fiber를 GC (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)의 injection port (200°C)에 1분간 탈착시켰다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(4) Gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS)

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 Agilent 6890N GC/Agilent 5973N mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)와 Agilent 7890B GC/Agilent 5977A mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였으며 추출액 1 μL 를 splitless mode로 GC에 injection 하였다.

저장안정성 분석을 위한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 Agilent 7890B GC/Agilent 5977A mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C였으며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. Ionization voltage는 70 eV, 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다.

(5) Gas chromatography-olfactometry (GC-O)

GC-O는 YL6100 (Young Lin Instrument Co. Ltd. Anyang, Korea)와 Varian3800(Varian Instrument Group, Walnut Creek, CA, USA)을 사용하였다. Detector는 FID(Flame ionization detector)를 사용하였고, column으로부터 분지시켜 nose cone을 이용하여 sniffing을 실시하였다. Column은 DB-wax (30 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(30 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μm film thickness : J & W scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min 속도로 승온시켜 10분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C였으며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.4 mL/min으로 하였다.

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 성분을 확인하기 위하여 GC-O를 이용한 방법론 중 time-intensity를 측정하여 한번의 sniffing으로 크로마토그램을 얻을 수 있는 OSME법을 이용하였다.

(6) 휘발성 향기성분 동정

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 동정은 retention indices (RI)와 Wiley/7n mass spectral database (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 또한 문헌상의 retention index와 spectrum을 비교하여 휘발성 향기성분을 확인하였다.

(7) 휘발성 향기성분 정량

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스와 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 농도는 추출 시 내부표준물질로 사용한 3-heptanol의 peak area와 동정된 휘발성 향기성분의 peak area의 peak area ratio로 다음 식에 의해 정량하였다. 이때 peak area ratio와 amount ratio의 상관계수는 1이라고 가정하였다.

$$\text{농도(ppb)} = \frac{\text{peak area ratio} \times \mu\text{g of 3-heptanol}}{\text{kg of sample}}$$

다. 결과 및 고찰

(1) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향미 profile

(가) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향기성분

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분을 LLCE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 1에 나타내었다. LLCE로 추출한 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 97종이 검출되었으며, 그 중 95종이 동정되었다. 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 25종, ketone류는 18종, acid류는 10종, ester류는 9종, phenol류는 7종, aldehyde류는 6종, terpene류는 5종, hydrocarbon류 및 furan류는 각각 2종, 기타화합물 11종 및 unknown 화합물 2종이 동정되었다.

캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 99)의 함량이 가장 높았으며, 5-hydroxymethylfurfural (no. 101), furfural (no. 36) 및 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no.68)의 순으로 함량이 높았다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 96종이 검출되었으며, 이 중 94종이 동정되었다. 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 24종, ketone류는 18종, acid류는 9종, aldehyde류는 8종, ester류 및 phenol류는 각각 7종, terpene류는 5종, hydrocarbon류 및 furan류는 각각 2종, 기타화합물, 12종 및 unknown 화합물 2종이 동정되었다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 99)의 함량이 가장 높았으며, 5-hydroxymethylfurfural (no. 101), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no 68) 및 (E)-3-penten-2-one (no. 9)의 순으로 함량이 높았다.

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SAFE를 사용하여

추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 2에 나타내었다. SAFE로 추출한 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 98종이 검출되었으며, 이 중 98종이 동정되었다. 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 24종, ketone류는 14종, ester류 및 acid류는 각각 13종, aldehyde류는 9종, phenol류는 6종, terpene류는 4종, hydrocarbon류 및 furan류는 각각 1종 및 기타화합물 13종이 동정되었다.

캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 107)의 함량이 가장 높았으며, furfural (no. 36), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 68) 및 (*E*)-3-penten-2-one (no. 8)의 순으로 함량이 높았다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 100종이 검출되었으며, 이 중 100종이 동정되었다. 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 26종, ketone류는 14종, acid류는 13종, ester류는 10종, aldehyde류는 9종, phenol류는 3종, terpene류는 3종, hydrocarbon류는 2종, furan류는 1종 및 기타화합물 15종이 동정되었다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 107)의 함량이 가장 높았으며, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 68), (*E*)-3-penten-2-one (no. 8) 및 furfural (no. 36)의 순으로 함량이 높았다.

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 LLCE와 SAFE 두가지 추출법 모두 benzoic acid (no. 107 및 99)의 함량이 가장 높은 함량으로 존재하였다. Benzoic acid (안식향산)는 저분자의 carboxylic acid로 대사과정 중 쉽게 생성될 수 있는 물질로 세계 각국의 식품에 널리 사용하는 보존료 성분으로 식품의 저장성을 높이는 것으로 알려져 있으며, pH 2.5-4.0의 산성식품에서 향미생물 효과가 알려져 있다.

또한 비캡슐 푸레주스에 비해 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 furfural (no. 36), 5-hydroxymethylfurfural (no. 101), (*E*)-penten-2-one (no. 9) 및 5,6-dihydroxy-2H-pyran-2-one (no. 68)의 함량이 특징적으로 높은 함량으로 존재하였다.

Furfural (no. 36) 및 5-hydroxymethylfurfural (no. 101 및 107)은 당의 열분해에 의해 생성되는 향기성분으로 캡슐화 공정에서 사용된 피복물질에 함유한 소량의 당 성분이 열에 의해 분해되면서 생성된 것으로 생각된다. 이 화합물들은 melanoidin과 같은 갈변물질을 생성하는 것으로 알려져 있다.

LLCE 및 SAFE를 이용하여 추출한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 전체적 휘발성 향기성분을 비교해 보았을 때 캡슐화 공정을 통하여 특징적으로 관찰되는 휘발성 향기성분은 없었다. 또한, 동정된 휘발성 향기성분의 pattern을 보았을 때 furfural과 5-hydroxymethylfurfural 외에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 따라서 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분의 차이는 없는 것으로 결론지었다. 하지만 캡슐 푸레주스의 색이 비캡슐 푸레주스에 비해서 더 갈변화 될 것으로 생각된다.

Table 96. Volatile compounds identified from capsulated and non-capsulated puree juices by LLCE.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
1	1020	nd ^c	chloroform	48.11±6.45	52.60±17.00
2	1042	803	ethyl butyrate	21.03±0.67	21.66±6.74
3	1046	<800	toluene	33.72±0.21	88.07±32.97
4	1059	851	ethyl-2-methylbutyrate	9.11±0.10	10.13±3.31
5	1074	856	ethyl isovalerate	32.95±0.55	35.30±11.61
6	1089	nd	hexanal	3.90±0.46	4.22±1.26
7	1120	nd	2-pentanol	1.79±0.03	2.14±0.75
8	1129	877	isoamyl acetate	1.90±0.58	nd
9	1136	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	780.37±48.84	672.94±223.54
10	1149	nd	<i>m</i> -xylene	2.02±0.46	1.51±0.40
11	1167	860	cyclohexene oxide	12.10±1.49	14.35±5.93
12	1179	nd	(<i>E</i>)-3-penten-2-ol	0.97±0.36	0.41±0.11
13	1192	nd	pyridine	4.97±0.16	5.18±1.43
14	1200	1200	dodecane	1.09±0.02	0.75±0.20
15	1203	1033	limonene	1.98±0.20	1.33±0.31
16	1208	nd	3-methyl-1-butanol	8.83±0.41	15.89±5.40
17	1213	nd	1,8-cineol	2.73±0.17	5.10±1.55
18	1229	nd	(<i>E</i>)-2-hexanal	nd	2.08±0.54
19	1237	nd	2-pentylfuran	1.16±0.10	0.96±0.32
20	1245	822	4-ethoxy-2-pentanone	0.71±0.01	0.77±0.23
21	1268	nd	styrene	2.68±0.03	2.46±0.38
22	1276	954	dihydro-2-methyl-3-(2H)-furanone	0.60±0.15	0.49±0.17
23	1306	nd	cyclohexanone	2.00±0.27	1.88±0.69
24	1314	nd	1-hydroxy-2-propanone	11.99±1.89	11.91±3.15
25	1319	nd	2-heptanol	nd	0.84±0.35

Table 96. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
26	1350	815	ethyl lactate	49.09±1.06	6.01±2.28
27	1354	870	1-hexanol	1.73±0.00	16.54±6.08
28	1366	nd ^c	(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	0.66±0.02	0.83±0.27
29	1388	858	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	52.51±0.32	29.50±10.64
30	1397	1400	tetradecane	0.89±0.27	1.05±0.62
31	1401	1105	nonanal	3.70±0.23	3.30±1.86
32	1408	906	2-butoxyethanol	11.38±2.35	nd
33	1451	1092	linalool oxide	36.01±0.11	35.22±14.06
34	1457	nd	acetic acid	110.22±6.39	71.38±18.73
35	1475	823	4-hydroxy-2-pentanone	276.69±4.17	190.95±63.08
36	1482	839	furfural	931.10±57.90	391.15±124.69
37	1490	1029	2-ethyl-1-hexanol	8.65±3.25	9.27±1.29
38	1507	nd	decanal	nd	2.24±0.26
39	1522	nd	2-acetylfuran	9.34±1.39	7.13±2.56
40	1533	982	2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	57.58±1.03	22.22±7.09
41	1545	967	benzaldehyde	55.54±1.21	71.03±24.24
42	1548	1101	β-linalool	28.26±0.45	34.19±11.92
43	1573	nd	isobutyric acid	7.05±0.47	6.81±1.31
44	1580	<800	1,3-butanediol	4.58±0.13	5.64±1.04
45	1592	964	5-methyl-2-furfural	23.91±0.40	13.76±3.70
46	1629	1000	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	119.81±22.91	105.68±50.84
47	1634	nd	butanoic acid	3.08±0.35	2.77±0.82
48	1639	1156	β-terpineol	3.92±0.01	4.57±1.61
49	1643	955	γ-valerolactone	3.67±0.14	4.10±1.19
50	1648	nd	menthol	1.33±0.03	1.47±0.46

Table 96. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
51	1660	915	dihydro-2(3H)-furanone	79.30±1.64	82.89±28.61
52	1669	nd ^c	2-furanmethanol	12.10±0.74	15.17±5.43
53	1675	870	2-methylbutanoic acid	85.14±2.75	84.94±29.03
54	1701	nd	<i>p</i> -menth-1-en-9-al (isomer 3)	6.46±0.31	5.29±1.61
55	1706	1202	α -terpineol	67.66±0.53	56.19±18.26
56	1709	nd	γ -terpineol	4.57±0.48	3.84±1.16
57	1715	nd	α -Methylbenzyl acetate	8.44±0.02	10.34±3.88
58	1729	nd	methionol	3.66±0.05	3.56±1.69
59	1743	nd	pentanoic acid	1.51±0.48	1.22±0.33
60	1746	1165	benzyl acetate	20.68±0.36	17.02±6.18
61	1770	nd	naphthalene	17.62±11.55	21.23±10.37
62	1786	nd	γ -crotonolactone	12.60±3.13	9.62±3.38
63	1805	nd	(<i>Z</i>)-geraniol	6.56±0.34	7.99±2.36
64	1841	1388	β -damascenone	15.35±8.83	10.16±3.00
65	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	18.09±1.25	18.85±6.28
66	1855	927	(<i>E</i>)-2-methylbutenoic acid	11.40±0.85	9.83±3.13
67	1860	nd	<i>p</i> -cymen-8-ol	5.36±0.22	6.07±1.92
68	1874	1083	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	878.50±26.48	686.88±226.99
69	1877	nd	guaiacol	11.30±0.26	6.11±1.40
70	1893	1039	benzyl alcohol	60.37±20.42	42.77±15.84
71	1922	1507	butylated hydroxy toluene	10.50±0.58	15.57±4.32
72	1930	1119	benzeneethanol	57.68±1.25	52.78±11.34
73	1967	nd	1-dodecanol	76.63±8.48	97.48±32.12
74	1976	nd	3-hydroxy-4-pyrone	89.82±2.64	86.20±30.26
75	1990	1116	maltol	459.39±3.60	356.40±124.27

Table 96. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
76	2013	nd ^c	unknown	144.42±1.73	143.73±45.35
77	2020	nd	phenol	31.69±0.94	36.71±11.30
78	2038	nd	unknown	304.16±1.39	240.47±83.54
79	2049	nd	2-formylpyrrole	17.65±0.31	18.33±5.61
80	2055	1052	pantolactone	34.97±1.62	34.59±10.67
81	2079	1334	triacetin	16.56±0.87	23.78±10.53
82	2108	nd	terpin hydrate	51.05±2.39	69.22±24.13
83	2136	1290	1,3-octanediol	276.55±20.86	387.80±140.23
84	2166	1270	nonanoic acid	11.61±0.21	11.10±3.81
85	2170	1434	γ-decalactone	101.75±11.61	140.89±58.50
86	2185	1359	eugenol	49.50±1.77	42.06±16.45
87	>2200	1318	2-methoxy-4-vinylphenol	297.40±40.09	349.69±133.56
88	>2200	nd	caprolactam	19.63±3.73	31.87±5.30
89	>2200	1351	2,6-dimethoxyphenol	52.13±40.97	18.79±6.82
90	>2200	1152	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	90.95±26.47	106.84±33.12
91	>2200	nd	5-hydroxymaltol	47.55±18.13	126.91±79.55
92	>2200	1374	8-hydroxylinalool	26.64±8.94	50.35±17.71
93	>2200	nd	dibutyl phthalate	nd	48.06±5.60
94	>2200	1307	4-methyl-5-thiazoleethanol	11.69±0.55	nd
95	>2200	nd	geranic acid	12.69±5.49	nd
96	>2200	1323	3,4,5-trimethylphenol	13.39±1.15	30.59±17.48
97	>2200	nd	4-vinylphenol	76.74±10.30	98.28±36.57
98	>2200	nd	2-furancarboxylic acid	114.95±2.40	126.35±62.56
99	>2200	1171	benzoic acid	6135.47±289.94	6844.90±2202.94
100	>2200	1649	ethyl citrate	248.74±2.34	nd
101	>2200	1271	5-hydroxymethylfurfural	3183.70±0.47	1522.83±440.26

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

Table 97. Volatile compounds identified from capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
1	1042	803	ethyl butyrate	27.23±8.75	35.10±11.92
2	1046	<800	toluene	19.55±6.25	74.88±10.31
3	1058	851	ethyl 2-methylbutyrate	10.56±3.44	14.50±4.15
4	1075	856	ethyl isovalerate	36.96±12.22	48.76±12.95
5	1090	nd ^c	hexanal	2.40±0.71	3.95±2.46
6	1121	nd	2-pentanol	2.47±1.00	3.33±0.47
7	1130	878	isoamyl acetate	1.67±0.59	nd
8	1136	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	892.23±251.35	897.21±82.38
9	1149	nd	m-xylene	1.09±0.67	1.07±0.44
10	1167	860	cyclohexene oxide	34.94±5.93	28.75±0.99
11	1179	nd	(<i>E</i>)-3-penten-2-ol	1.32±0.80	1.78±0.30
12	1193	nd	pyridine	2.25±0.70	3.47±0.13
13	1200	1200	dodecane	nd	1.02±0.17
14	1203	1033	limonene	0.90±0.27	1.56±0.23
15	1208	nd	3-methyl-1-butanol	10.76±4.10	24.66±3.31
16	1213	nd	1,8-cineol	3.54±1.45	8.77±0.62
17	1245	822	4-ethoxy-2-pentanone	3.83±3.54	1.69±0.28
18	1254	nd	3-methyl-3-buten-1-ol	nd	2.65±0.39
19	1268	nd	styrene	1.62±0.32	1.95±0.25
20	1276	nd	dihydro-2-methyl-3-(2H)-furanone	0.62±0.43	1.39±0.19
21	1292	nd	1,3,5-trimethylbenzene	nd	0.59±0.41
22	1306	nd	cyclohexenone	3.54±0.67	3.36±0.25
23	1314	nd	1-hydroxy-2-propanone	7.42±3.10	7.19±0.20
24	1319	nd	2-heptanol	nd	1.75±0.07
25	1325	nd	3-methyl-2-buten-1-ol	6.87±2.63	10.87±1.01
26	1346	nd	6-methyl-5-hepten-2-one	0.94±0.31	1.14±0.14
27	1350	815	ethyl lactate	48.58±20.58	7.43±0.14
28	1354	870	1-hexanol	2.75±1.15	29.97±1.39
29	1388	858	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	1.06±0.46	48.45±3.00
30	1400	1400	tetradecane	0.62±0.15	0.88±0.20

Table 97. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
31	1401	1105	nonanal	2.32±0.57	2.34±0.23
32	1409	892	cyclohexanol	11.88±2.19	23.07±0.54
33	1451	1091	linalol oxide	54.65±21.52	57.89±4.43
34	1457	937	2-cyclohexen-1-one	192.33±33.52	174.79±25.97
35	1475	822	4-hydroxy-2-pentanone	103.10±30.29	97.24±2.05
36	1482	840	furfural	1075.15±234.11	641.07±15.67
37	1490	1028	2-ethyl-1-hexanol	9.33±1.31	11.40±3.93
38	1522	nd ^c	2-acetylfuran	11.12±3.73	11.42±0.01
39	1546	967	benzaldehyde	59.30±19.90	96.78±5.54
40	1548	1101	β-linalool	40.63±15.58	61.86±2.81
41	1574	nd	isobutyric acid	2.46±1.10	3.44±0.08
42	1583	nd	1-terpineol	4.20±1.86	5.91±0.25
43	1592	964	5-methyl-2-furaldehyde	35.33±9.08	25.72±2.69
44	1602	1341	bi-2-cyclohexen-1-yl	8.95±1.40	8.20±1.50
45	1629	1000	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	61.54±23.04	91.83±0.07
46	1634	nd	butanoic acid	2.22±0.83	3.08±0.19
47	1639	1156	β-terpineol	5.50±1.95	7.78±0.24
48	1643	955	γ-valerolactone	2.97±0.78	4.90±0.02
49	1648	nd	menthol	3.81±0.71	3.66±0.52
50	1659	915	dihydro-2(3H)-furanone	66.34±20.21	84.74±2.84
51	1666	1049	benzeneacetaldehyde	6.39±2.16	11.09±2.17
52	1669	nd	2-furanmethanol	9.12±4.20	12.54±1.55
53	1675	871	2-methylbutanoic acid	63.11±25.30	84.64±4.75
54	1706	1202	α-terpineol	107.99±43.48	121.99±11.88
55	1709	nd	γ-terpineol	2.57±1.21	9.23±0.38
56	1716	nd	α-methyl benzyl acetate	13.27±4.68	22.07±0.79
57	1743	nd	pentanoic acid	1.13±0.03	2.24±0.19
58	1746	1165	benzyl acetate	31.25±13.71	26.97±2.94
59	1757	nd	D-(+)-Carvone	3.15±0.99	6.44±0.42
60	1770	nd	naphthalene	14.61±4.13	32.53±14.63

Table 97. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
61	1785	nd ^c	γ -crotonolactone	9.31±0.47	nd
62	1805	nd	(<i>Z</i>)-geraniol	10.89±2.23	18.01±1.23
63	1831	1406	vanillin	49.93±16.21	76.33±20.57
64	1841	1386	β -damascenone	16.02±0.79	22.65±2.21
65	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	25.16±6.56	42.09±0.56
66	1855	927	(<i>E</i>)-2-methylbutenoic acid	12.87±1.42	16.30±1.73
67	1860	nd	p-cymen-8-ol	9.44±1.84	16.27±3.36
68	1873	1083	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	830.92±215.33	817.15±110.32
69	1879	nd	guaiacol	3.08±1.84	10.43±7.39
70	1893	1040	benzyl alcohol	49.18±4.39	55.55±4.78
71	1914	1507	butylated hydroxy toluene	26.04±8.24	24.81±3.35
72	1930	1119	benzeneethanol	49.92±15.75	75.98±6.20
73	1952	nd	2-ethylhexanoic acid	6.22±0.42	8.41±0.97
74	1956	nd	heptanoic acid	7.69±1.71	nd
75	1967	nd	1-dodecanol	24.26±2.05	95.13±1.12
76	1974	nd	(<i>E</i>)-2-hexenoic acid	19.82±4.35	41.28±2.60
77	1989	1115	maltol	143.45±31.71	171.82±2.24
78	2034	1777	isopropyl myristate	nd	14.91±0.88
79	2049	1018	2-formylpyrrole	17.34±4.35	23.16±0.84
80	2059	nd	octanoic acid	nd	21.54±1.23
81	2069	1283	(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	5.13±1.67	10.02±1.27
82	2079	1334	triacetin	13.07±2.60	20.11±0.07
83	2101	1777	benzyl benzoate	15.56±3.35	nd
84	2105	1417	methyl n methyl anthranilate	24.23±7.35	35.88±0.36
85	2134	1269	1,3-octanediol	94.20±45.32	141.89±5.25
86	2160	nd	2-pheoxyethanol	8.47±1.16	10.76±2.78
87	2165	1270	nonanoic acid	14.27±4.32	15.83±1.21
88	2169	1434	γ -decalactone	72.06±9.03	100.71±9.66
89	2185	1357	eugenol	17.36±3.87	22.55±0.63
90	>2200	1316	2-methoxy-4-vinylphenol	17.48±2.65	31.62±15.44

Table 97. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
91	>2200	1434	(<i>E</i>)-cinnamic acid	207.14±1.56	261.14±38.25
92	>2200	1351	2,6-dimethoxyphenol	16.79±1.33	20.03±1.81
94	>2200	nd ^c	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	nd	17.62±1.56
95	>2200	1367	8-hydroxylinalool	10.72±4.93	24.16±0.22
96	>2200	1434	dimethyl phthalate	14.77±0.55	26.63±12.02
97	>2200	1855	dibutyl phthalate	17.89±9.31	45.08±3.83
98	>2200	nd	geranic acid	21.19±2.12	nd
99	>2200	1561	4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone	79.93±76.44	77.06±50.31
100	>2200	1321	3,4,5-trimethylphenol	13.15±3.94	28.44±0.19
101	>2200	nd	diethyl phthalate	6.91±0.89	14.99±5.48
102	>2200	nd	4-vinylphenol	7.95±0.46	13.34±3.81
103	>2200	981	2-furancarboxylic acid	nd	11.29±2.95
104	>2200	1167	benzoic acid	2926.73±652.75	4975.17±1.85
105	>2200	1646	ethyl citrate	71.54±30.36	nd
106	>2200	1556	dodecanoic acid	25.40±16.44	45.81±3.48
107	>2200	1232	5-hydroxymethylfurfural	169.32±53.67	130.29±13.62

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

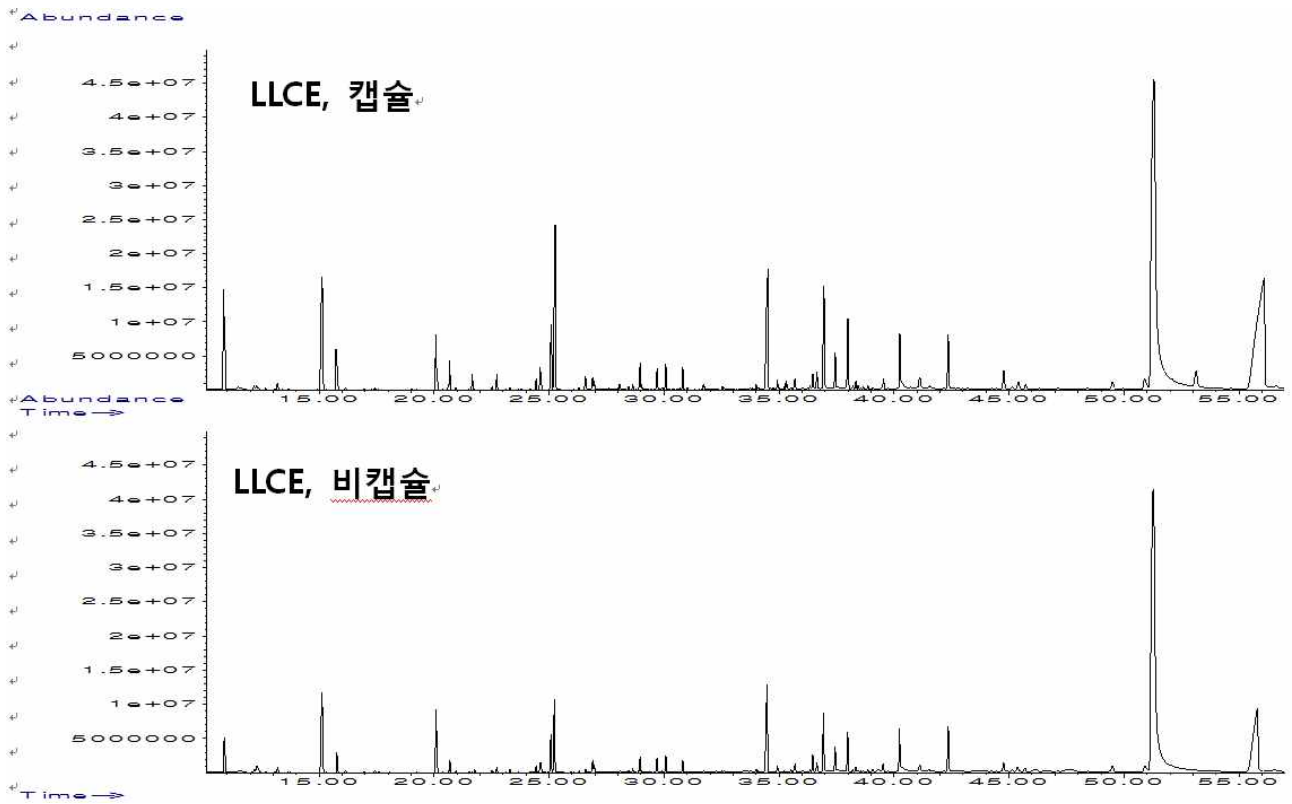


Figure 279. Total ion chromatogram of capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE methods.

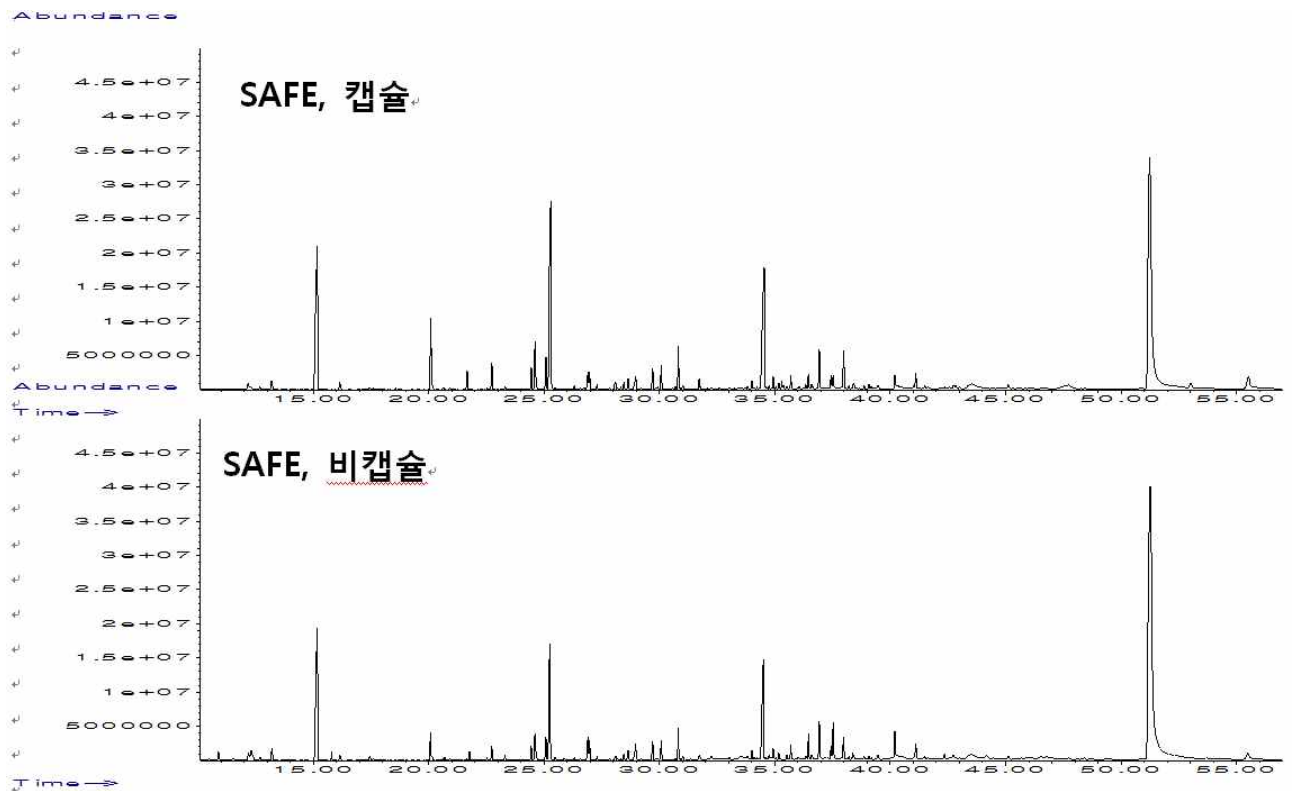


Figure 280. Total ion chromatogram of capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE methods.

나. 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O방법 중 OSME를 행하였다. 표 3에 나타낸 바와 같이 LLCE로 추출한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물로는 5종이 감지되었다. 캡슐 푸레주스에서 과일 꽃내와 같은 향 특성을 나타내는 1-hexanol이 강도 1로 감지되었고, 정향과 같은 향 특성을 나타내는 eugenol이 강도 1로 감지되었다. 그 다음으로 꽃 냄새와 같은 향 특성을 나타내는 (*E*)-geraniol 및 rose 또는 berry한 향 특성을 나타내는 β -damascenone이 강도 2로 감지되었다. 2-Methylbutanoic acid가 동정되었으며 향 특성은 furry한 향 특성을 나타내었으며 강도는 3으로 감지되었다

비캡슐 푸레주스에서는 캡슐 푸레주스에서의와 같은 향 특성을 나타내는 향 활성 화합물이 감지되었으나 각 화합물의 강도는 1-hexanol, 2-methylbutanoic acid, (*E*)-geraniol 및 eugenol이 각각 강도 2로 감지되었으며, β -damascenone이 강도 3으로 감지되었다.

SAFE로 추출한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물은 표 4에 나타내었으며 총 5종이 감지되었다. 캡슐 푸레주스에서 시원한(green) 향 특성을 나타내는 6-methyl-5-hepten-2-one이 강도 1로 감지되었으며, 과일 꽃내와 같은 향 특성을 나타내는 화합물인 1-hexanol이 강도 1로 감지되었다. 그 다음으로 꽃 냄새와 같은 향 특성을 나타내는 화합물로 β -linalool 과 (*E*)-geraniol이 강도 2로 감지되었으며, rose 또는 berry한 향 특성을 나타내는 β -damascenone이 강도 2로 감지되었다.

공통적으로 동정된 화합물 중에서 β -damascenone은 carotenoid의 분해에 의해 생성되는 화합물로 사과, 포도, 토마토 및 와인 등에서 특징적인 향에 기여하는 화합물로 알려져 있으며 0.00075 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 낮은 threshold를 나타내는 것으로 알려져 있다.

그 외 공통적으로 감지된 화합물 중에서 1-hexanol 및 (*E*)-geraniol은 floral한 향 특성을 나타내었다.

캡슐 푸레주스와 비캡슐 푸레주스를 GC-O로 분석한 결과 향 활성 화합물의 차이가 없는 것으로보아 캡슐화에 의한 푸레주스의 향 특성은 변화가 없을 것으로 생각되었다.

Table 98. Aroma-active compounds in capsulated and non-capsulated puree juices by LLCE

No.	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			캡슐	비캡슐
1	1354	870	1-hexanol	woody, floral	1	2
2	1675	870	2-methylbutanoic acid	fruity, cheesy nuance	3	2
3	1841	1388	β -damascenone	rose, berry	2	3
4	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	Floral	2	2
5	2185	1359	eugenol	spicy, clove	1	2

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference

^b Not detected.

Table 99. Aroma-active compounds in capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE

No.	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			캡슐	비캡슐
1	1346	ND ^b	6-methyl-5-hepten-2-one	green, herbaceous	1	1
2	1354	870	1-hexanol	woody, floral	1	1
3	1548	1101	β -linalool	flower	2	3
4	1841	1388	β -damascenone	rose, berry	2	3
5	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	floral	2	3

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference

^b Not detected.

다. 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향미 profile

(1) 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향기성분

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 LLCE(liquid-liquid continuous extraction)를 이용하여 추출하고 GC-MS를 이용하여 동정한 결과는 표 5에 나타내었다.

LLCE로 추출한 발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 100종이 검출되었으며, 그 중 95종이 동정되었다. 발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 ester류는 39종, alcohol류는 19종, acid류는 11종, ketone류는 10종, aldehyde류는 6종, terpen류는 4종, phenol류 및 furan류가 각각 1종, 기타 화합물 4종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 ethyl lactate (no. 31)의 함량이 가장 높았으며, benzoic acid (no. 101), 5-hydroxymethylfurfural (no. 103) 및 (*Z*)-3-hexen-1-ol (no. 34)의 순으로 함량이 높았다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 94종이 검출되었으며, 그 중 94종이 동정되었다(표 5). 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 ester류는 36종, alcohol류는 17종, ketone류는 10종, acid류는 9종, aldehyde류는 6종, terpene류는 4종, phenol류 및 furan류가 각각 1종, 기타화합물 5종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 ethyl lactate (no. 31)의 함량이 가장 높았으며, benzoic acid (no. 101), 5-hydroxymethylfurfural (no. 103) 및 (*Z*)-3-hexen-1-ol (no. 31)의 순으로 함량이 높았다.

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 동정하기 위해 SAFE를 이용하여 추출하고 GC-MS를 이용하여 동정한 결과는 표 6에 나타내었다.

SAFE를 이용하여 추출한 발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 115종이 검출되었으며, 그 중 110종이 동정되었다. 발효 스파클링의 향기성분은 ester류는 40종, alcohol류는 21종, acid류는 13종, ketone류는 11종, aldehyde류는 7종, terpene류, phenol류 및 hydrocarbon는 각각 3종, furan류는 2종, 기타화합물 7종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (no. 112)의 함량이 가장 높았으며, ethyl lactate (no. 33), (*Z*)-hexen-1-ol (no. 37) 및 (*E*)-2-hexen-1-ol (no.)의 순으로 함량이 높았다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 109종이 검출되었으며, 그 중 104종이 동정되었다. 비발효 스파클링 음료의 향기성분은 ester류는 38종, alcohol류는 21종, acid류는 12종, ketone류는 10종, aldehyde류는 7종, terpene류 및 hydrocarbon류는 각각 3종, furan류 및 phenol류는 각각 2종의 기타화합물 6종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 ethyl lactate (no. 33)의 함량이 가장 높았으며, (*Z*)-3-hexen-1-ol (no. 37), (*E*)-2-hexen-1-ol (no. 41) 및 benzoic acid (no. 113)의 순으로 함량이 높았다.

SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료를 제외하고 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료에서 공통적으로 ethyl lactate (no. 31)의 함량이 가장 높게 검출되었다.

Ethyl lactate (no. 31)는 lactic acid와 ethanol의 에스터 화합물로서 과일 또는 와인 등에서 많이 발견되는 것으로 알려져 있다.

특징적으로 SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료에서는 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (no. 112)이 동정되었는데 이 화합물은 raspberry ketone으로 알려져 있으며, coumaroyl-CoA로부터 생합성 되는 화합물로 라즈베리, 크렌베리 및 블랙베리와 같은 다양한 종류의 berry류에서 발견되는 것으로 알려져 있다.

그러나, LLCE 및 SAFE법으로 추출하고 GC-MS를 통하여 동정된 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 경우 발효 스파클링 음료에서 동정된 휘발성 향기성분의 함량이 높게 동정되었으나, 발효에 의해 특징적으로 생산된 발효산물은 검출되지 않았다.

Fig. 3과 4는 LLCE 및 SAFE법으로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 total ion chromatogram을 나타낸 것이다. 휘발성 향기성분의 pattern이 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 미뤄보아 발효에 의한 휘발성 향기성분의 차이는 없는 것으로 결론지었다.

Table 100. Volatile compounds identified from fermented and non-fermented sparkling beverages by LLCE.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
1	<1000	<800	ethyl isobutyrate	3.94±0.21	ND
2	<1000	ND ^c	n-propyl acetate	40.78±1.02	41.23±12.37
3	<1000	ND	methyl butyrate	3.12±0.03	ND
4	1020	<800	isobutyl acetate	44.14±22.12	19.71±1.37
5	1044	804	ethyl butyrate	538.46±5.57	548.46±150.01
6	1051	ND	propyl propionate	9.06±0.14	8.68±2.22
7	1059	852	ethyl 2-methylbutyrate	150.27±2.54	146.50±37.87
8	1080	ND	n-butyl acetate	478.88±1.98	481.13±128.18
9	1092	ND	hexanal	648.09±26.12	621.34±164.10
10	1130	880	isoamyl acetate	411.63±20.82	395.63±103.53
11	1135	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	167.79±7.75	222.14±55.86
12	1141	ND	ethyl n-valerate	7.64±0.44	9.21±1.90
13	1147	ND	1-butanol	147.56±1.27	153.57±42.80
14	1158	ND	2-methyl-2-pentenal	4.09±0.02	4.40±0.52
15	1168	ND	cyclohexene epoxide	75.54±63.22	106.41±3.65
16	1171	ND	ethyl <i>trans</i> -2-butenolate	416.78±50.18	360.28±90.40
17	1179	ND	n-amyl acetate	2.62±0.48	2.52±0.19
18	1195	969	isoamyl propionate	6.07±0.34	5.70±1.04
19	1204	1033	limonene	3.30±0.12	3.47±0.73
20	1209	ND	isoamyl alcohol	403.07±31.43	373.04±98.66
21	1224	994	n-butyl butyrate	47.34±1.03	44.62±10.69
22	1229	ND	(<i>E</i>)-2-hexenal	226.92±21.32	183.70±45.88
23	1240	ND	ethyl hexanoate	293.66±10.10	281.48±70.23
24	1253	ND	1-hexen-3-ol	9.56±0.26	8.38±2.07
25	1268	ND	styrene	5.08±2.07	6.16±0.14
26	1280	1011	n-hexyl acetate	617.10±77.62	532.88±136.86
27	1284	ND ^c	isopentyl 2-methylbutanoate	10.14±2.50	8.06±1.97
28	1306	ND	cyclohexenone	6.94±5.09	9.37±0.13

Table 100. continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
29	1327	1004	(<i>Z</i>)-3-hexenyl acetate	552.80±39.69	503.35±121.76
30	1348	1014	(<i>E</i>)-2-hexenyl acetate	771.95±152.18	606.11±146.11
31	1360	ND	ethyl lactate	4565.36±1105.94	3831.53±674.50
32	1361	877	1-hexanol	843.45±65.18	893.20±379.62
33	1369	ND	(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	35.76±9.34	23.89±4.32
34	1393	862	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	2151.86±575.25	1597.18±434.48
35	1395	1096	(<i>Z</i>)-3-hexenyl propionate	310.19±71.55	231.05±54.57
36	1405	1104	(<i>E</i>)-2-hexenyl propionate	17.80±2.04	989.67±259.37
37	1412	873	(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol	1359.74±357.40	18.14±4.05
38	1420	997	butyl caproate	28.32±9.82	24.33±5.37
39	1422	ND	hexyl butanoate	36.81±12.59	1.68±0.09
40	1451	1090	linalool oxide	25.17±6.54	18.50±3.88
41	1458	937	2-cyclohexen-1-one	336.89±269.33	479.21±25.20
42	1466	ND	(<i>Z</i>)-3-hexenyl butyrate	4.37±2.48	ND
43	1475	826	4-hydroxy-2-pentanone	65.30±11.61	131.39±34.59
44	1480	837	furfural	410.46±254.96	557.15±26.00
45	1490	1029	2-ethyl-1-hexanol	10.49±3.53	5.45±0.82
46	1507	ND	decanal	2.42±0.40	1.95±0.08
47	1522	ND	2-acetylfuran	4.30±0.75	3.94±0.59
48	1530	938	ethyl-3-hydroxybutyrate	789.11±133.39	652.91±168.56
49	1533	981	2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	ND	4.09±1.47
50	1544	ND	propanoic acid	47.87±10.33	44.82±11.25
51	1548	1101	β-linalool	23.99±2.92	19.33±5.42
52	1577	1069	isoamyl lactate	22.65±2.14	19.90±5.61
53	1584	ND ^c	ethyl 3-acetoxybutyrate	6.16±0.86	5.50±1.80
54	1600	1341	bi-2-cyclohexen-1-yl	39.78±34.54	56.75±3.19
55	1629	ND	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	168.66±66.28	46.32±2.31
56	1633	ND	butanoic acid	37.89±9.57	29.73±7.36

Table 100. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비 발효
57	1642	1098	methyl benzoate	32.31±9.34	25.50±5.77
58	1647	ND	menthol	8.12±5.80	ND
59	1659	914	dihydro-2(3H)-furanone	24.34±6.00	24.89±5.46
60	1669	ND	2-furanmethanol	47.22±6.76	39.17±8.43
61	1675	ND	2-methylbutanoic acid	43.56±1.38	47.54±10.12
62	1685	ND	ethyl benzoate	23.60±4.44	18.25±3.94
63	1688	1127	ethyl 3-hydroxyhexanoate	17.41±1.98	13.68±2.32
64	1706	ND	α-terpineol	30.82±4.92	26.67±5.76
65	1709	ND	γ-terpineol	2.54±0.36	2.61±0.39
66	1715	ND	α-methylbenzyl acetate	32.22±4.25	22.93±4.99
67	1730	1204	3-methyl-2-heptanol	138.37±44.41	88.30±20.18
68	1742	ND	pentanoic acid	1.83±0.37	2.05±1.42
69	1746	1165	benzyl acetate	24.94±3.88	15.33±2.90
70	1762	1375	geranyl acetate	19.10±1.34	14.56±3.35
71	1765	ND	(Z)-3-hexenylactate	8.79±1.49	10.93±6.90
72	1770	ND	naphthalene	13.80±5.03	11.48±1.77
73	1786	ND	unknown	576.37±78.50	489.90±124.29
74	1802	1245	ethyl phenylacetate	26.54±2.19	15.49±3.28
75	1809	1396	α-damascenone	7.20±0.40	4.21±1.15
76	1829	ND	unknown	ND	436.28±254.74
77	1836	1416	β-damascenone	991.08±379.44	512.34±214.73
78	1849	986	hexanoic acid	132.48±0.62	79.40±25.05
79	1860	ND ^c	p-cymen-8-ol	20.98±14.82	ND
80	1870	ND	unknown	201.90±63.95	226.12±56.82
81	1893	1040	benzyl alcohol	45.19±6.63	29.90±5.50
82	1913	ND	unknown	1494.70±437.74	1070.19±277.52
83	1930	1119	benzeneethanol	88.75±1.26	85.24±16.04
84	1960	1486	β-ionone	364.58±126.63	230.94±50.78

Table 100. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
85	1973	1043	(<i>E</i>)-2-hexenoic acid	22.12±42.21	37.41±5.04
86	1982	1444	2-phenylethylbutanoate	12.93±2.41	7.86±0.63
87	1990	ND	maltol	61.75±22.49	40.99±7.59
88	2014	ND	unknown	1719.63±497.12	1218.89±334.12
89	2059	ND	octanoic acid	10.05±3.71	ND
90	2105	ND	methyl n methyl anthranilate	145.92±51.08	89.69±20.44
91	2160	1226	2-phenoxy ethanol	12.56±6.54	5.94±3.51
92	2165	ND	nonanoic acid	10.70±2.83	32.82±29.59
93	>2200	1316	2-methoxy-4-vinylphenol	77.91±52.46	51.41±0.34
94	>2200	1351	methyl anthranilate	104.79±8.11	109.18±32.73
95	>2200	ND ^c	cinnamyl alcohol	31.87±14.60	22.75±8.51
96	>2200	ND	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	33.80±30.08	ND
97	>2200	ND	8-hydroxylinalool	44.54±21.75	25.67±6.64
98	>2200	ND	dibutyl phthalate	ND	36.95±30.56
99	>2200	ND	unknown	461.83±154.42	ND
100	>2200	ND	2-furancarboxylic acid	11.85±3.48	ND
101	>2200	1186	benzoic acid	4298.19±1526.55	3773.22±964.98
102	>2200	ND	dodecanoic acid	22.65±15.31	43.58±37.65
103	>2200	1237	5-hydroxymethylfurfural	1783.14±482.61	1748.26±654.96

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

Table 101. Volatile compounds identified from fermented and non-fermented sparkling beverages by SAFE.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
1	<1000	<800	ethyl isobutyrate	3.75±0.00	ND ^c
2	<1000	ND	n-propyl acetate	42.30±0.40	31.81±5.96
3	<1000	ND	methyl butyrate	3.02±0.05	ND
4	1019	<800	isobutyl acetate	15.96±2.30	13.32±3.20
5	1042	805	ethyl butyrate	549.40±4.57	455.07±52.87
6	1050	ND	propyl propionate	9.10±0.02	7.27±0.97
7	1058	852	ethyl 2-methylbutyrate	155.59±2.58	131.59±13.18
8	1080	ND	n-butyl acetate	490.82±10.77	421.06±34.91
9	1091	ND	hexanal	667.91±49.41	586.58±50.18
10	1130	881	isoamyl acetate	420.61±14.19	401.91±6.58
11	1135	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	180.91±13.08	210.70±9.14
12	1141	ND	ethyl n-valerate	10.29±0.40	9.04±0.18
13	1146	ND	1-butanol	121.02±10.02	112.55±4.01
14	1158	ND	2-methyl-2-pentenal	5.84±0.86	5.80±0.43
15	1167	ND	cyclohexen oxide	45.38±4.58	31.10±10.84
16	1171	ND	ethyl <i>trans</i> -2-butenate	413.63±21.30	362.35±12.42
17	1179	ND	n-amyl acetate	2.75±0.72	2.53±0.54
18	1195	ND	isoamyl propionate	6.81±0.15	6.84±0.48
19	1200	1200	dodecane	1.00±0.79	1.49±0.96
20	1204	1034	limonene	2.22±0.50	1.59±0.42
21	1210	ND	isoamyl alcohol	382.67±32.18	336.64±8.48

Table 101. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
22	1224	994	n-butyl butyrate	56.43±2.76	51.03±2.26
23	1229	ND ^c	(<i>E</i>)-2-hexenal	224.60±12.81	145.53±44.49
24	1236	ND	1,1-diethoxyhexane	2.14±1.89	38.43±37.96
25	1241	ND	ethyl hexanoate	335.13±18.39	303.01±9.91
26	1253	ND	1-hexen-3-ol	11.06±0.72	9.44±0.48
27	1268	ND	styrene	4.17±0.14	3.34±0.66
28	1281	1012	n-hexyl acetate	613.49±39.16	567.67±15.06
29	1285	ND	isopentyl 2-methylbutanoate	8.15±0.24	8.25±0.65
30	1307	ND	cyclohexanone	8.52±3.61	4.17±0.10
31	1328	1005	(<i>Z</i>)-3-hexenyl acetate	614.17±46.87	548.41±27.68
32	1349	1015	(<i>E</i>)-2-hexenyl acetate	785.80±77.27	692.15±26.91
33	1360	ND	ethyl lactate	2789.10±255.07	2658.59±129.77
34	1363	879	1-hexanol	884.30±55.48	982.11±42.56
35	1370	ND	(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	34.11±4.93	31.32±3.15
36	1384	1096	(<i>Z</i>)-3-hexenyl propionate	1.68±0.35	5.40±1.60
37	1395	864	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	1854.37±278.13	1727.78±173.44
38	1397	ND	unknown	91.54±22.76	293.91±20.96
39	1400	1400	tetradecane	4.64±0.02	4.20±1.04
40	1407	1104	(<i>E</i>)-2-hexenyl propionate	17.22±2.29	17.32±1.95
41	1414	876	(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol	1073.76±82.07	1089.63±106.64
42	1421	998	butyl caproate	12.96±7.30	38.66±12.38

Table 101. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
43	1423	ND	hexyl butanoate	39.51±13.69	44.54±9.00
44	1432	922	(<i>Z</i>)-4-hexen-1-ol	2.67±0.21	3.00±0.32
45	1440	ND	ethyl octanoate	1.02±0.53	1.59±2.39
46	1453	1090	linalool oxide	23.83±3.18	22.88±0.61
47	1459	937	2-cyclohexen-1-one	222.13±20.66	152.79±51.14
48	1468	ND	(<i>Z</i>)-3-hexenyl butyrate	4.36±1.02	3.54±0.58
49	1476	827	4-hydroxy-2-pentanone	26.80±1.40	45.35±1.84
50	1481	838	furfural	308.95±25.41	234.68±39.57
51	1491	1029	2-ethyl-1-hexanol	18.72±1.93	11.60±0.94
52	1500	1500	pentadecane	1.43±0.10	1.50±0.09
53	1508	ND	decanal	1.13±0.79	2.86±0.28
54	1523	ND	2-acetylfuran	3.82±0.36	3.84±0.36
55	1531	939	ethyl 3-hydroxybutyrate	553.43±49.10	513.66±14.10
56	1546	968	benzaldehyde	30.11±1.65	22.10±2.17
57	1549	ND	β-linalool	28.48±5.26	25.31±1.97
58	1559	ND	1-octanol	0.75±0.39	1.05±0.10
59	1585	ND	ethyl 3-acetoxybutyrate	8.88±0.49	7.46±1.89
60	1595	1341	bi-2-cyclohexen-1-yl	36.33±3.93	26.04±10.76
61	1630	ND	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	15.42±1.91	15.41±0.59
62	1635	ND	butanoic acid	16.49±1.25	12.53±0.70
63	1640	1155	β-terpineol	1.54±0.36	3.31±1.20

Table 101. Continued,

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
64	1643	1098	methyl benzoate	25.47±2.57	22.94±2.06
65	1659	914	dihydro-2(3H)-furanone	16.92±1.20	17.39±1.73
66	1670	ND	2-furanmethanol	20.75±4.59	23.57±2.27
67	1676	ND	2-methyl butanoic acid	28.94±2.48	28.37±1.10
68	1686	ND	ethyl benzoate	23.02±2.41	19.73±2.88
69	1690	1127	ethyl 3-hydroxyhexanoate	16.90±3.33	13.01±0.98
70	1708	ND	α-terpineol	36.10±6.06	33.37±1.29
71	1711	ND	γ-terpineol	1.31±0.40	3.72±0.02
72	1716	ND	α-methylbenzyl acetate	35.02±3.38	27.04±2.46
73	1731	1205	3-methyl-2-heptanol	119.00±14.46	99.27±4.59
74	1744	ND	pentanoic acid	2.26±0.11	1.47±0.17
75	1747	1165	benzyl acetate	24.88±1.03	21.75±4.52
76	1758	ND	D-(+)-Carvone	2.24±0.48	15.66±14.02
77	1764	1375	geranyl acetate	27.24±7.40	20.54±5.54
78	1771	ND	naphthalene	12.74±2.04	10.64±1.22
79	1788	ND	unknown	547.50±69.27	509.20±18.58
80	1803	1245	ethyl phenylacetate	32.45±3.45	28.52±1.85
81	1810	1396	α-damascenone	6.94±0.07	5.60±0.22
82	1827	ND	unknown	210.90±86.53	101.31±95.62
83	1838	1416	β-damascenone	471.53±33.84	413.51±31.76
84	1851	987	hexanoic acid	88.70±6.96	70.80±0.57
85	1871	1000	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	31.95±12.43	188.79±13.60
86	1894	ND	benzyl alcohol	27.02±1.35	27.42±6.02
87	1915	ND	unknown	791.98±82.11	723.64±12.00
88	1931	1119	benzeneethanol	81.56±46.11	60.35±29.26
89	1953	1114	2-ethylhexanoic acid	3.95±0.05	2.16±0.02

Table 101. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
90	1957	ND	heptanoic acid	1.61±0.33	3.44±1.30
91	1962	1486	β-ionone	318.87±37.09	253.43±20.07
92	1968	ND	1-dodecanol	3.22±0.62	4.99±0.19
93	1975	1043	(<i>E</i>)-2-hexenoic acid	17.54±0.08	9.29±1.94
94	1983	1257	2-phenylethylbutanoate	9.85±1.70	4.85±1.19
95	1991	ND	maltol	17.67±0.41	7.06±1.60
96	2015	ND	unknown	420.08±47.91	382.75±51.74
97	2061	ND	octanoic acid	7.75±0.83	6.56±1.54
98	2080	1333	triacetin	7.64±1.44	3.26±1.82
99	2107	ND	methyl N methyl anthranilate	100.76±11.54	81.19±10.80
100	2161	1227	2-phenoxyethanol	3.06±0.88	1.70±0.63
101	2167	1264	nonanoic acid	10.00±0.23	8.01±1.91
102	2171	ND	cinnamyl acetate	11.45±0.76	8.93±0.34
103	2186	ND	eugenol	2.43±0.59	5.75±2.03
104	>2200	1316	2-methoxy-4-vinylphenol	3.69±0.07	ND
105	>2200	ND	2,3,5-trimethylphenol	2.94±0.78	7.09±0.55
106	>2200	1432	(<i>E</i>)-cinnamic acid	18.51±6.82	ND
107	>2200	1351	methyl anthranilate	84.14±11.05	58.19±6.01
108	>2200	ND	decanoic acid	21.46±2.75	12.09±3.34
109	>2200	1538	dibenzofuran	7.41±0.21	3.11±0.32
110	>2200	ND	cinnamyl alcohol	13.82±2.03	10.35±0.44
111	>2200	1948	dibutyl phthalate	20.38±11.25	ND
112	>2200	1560	4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone	2903.15±852.33	ND
113	>2200	1175	benzoic acid	979.30±86.16	996.30±39.92
114	>2200	ND	dodecanoic acid	29.46±16.70	14.75±0.29
115	>2200	1230	5-hydroxymethylfurfural	66.37±4.62	69.70±36.43

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

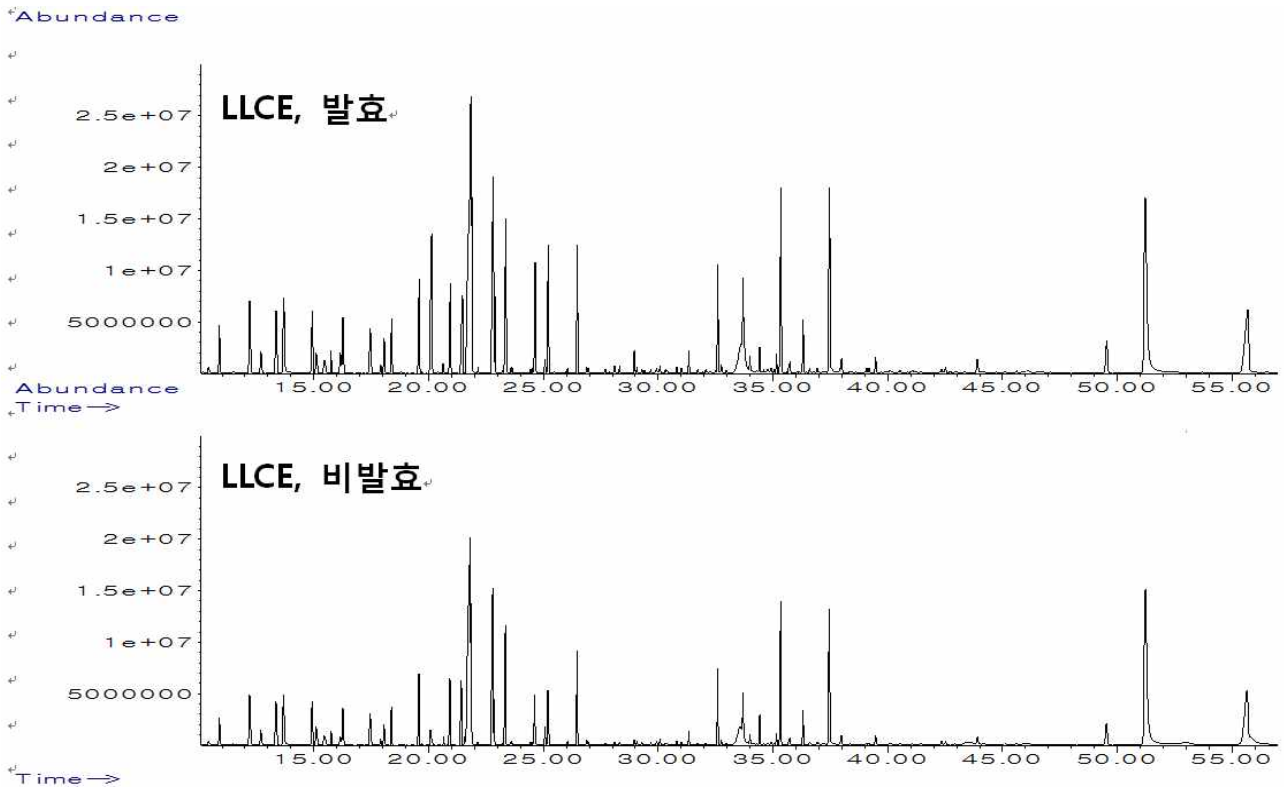


Figure 281. Total ion chromatogram of fermented and non-fermented sparkling beverages by LLCE methods.

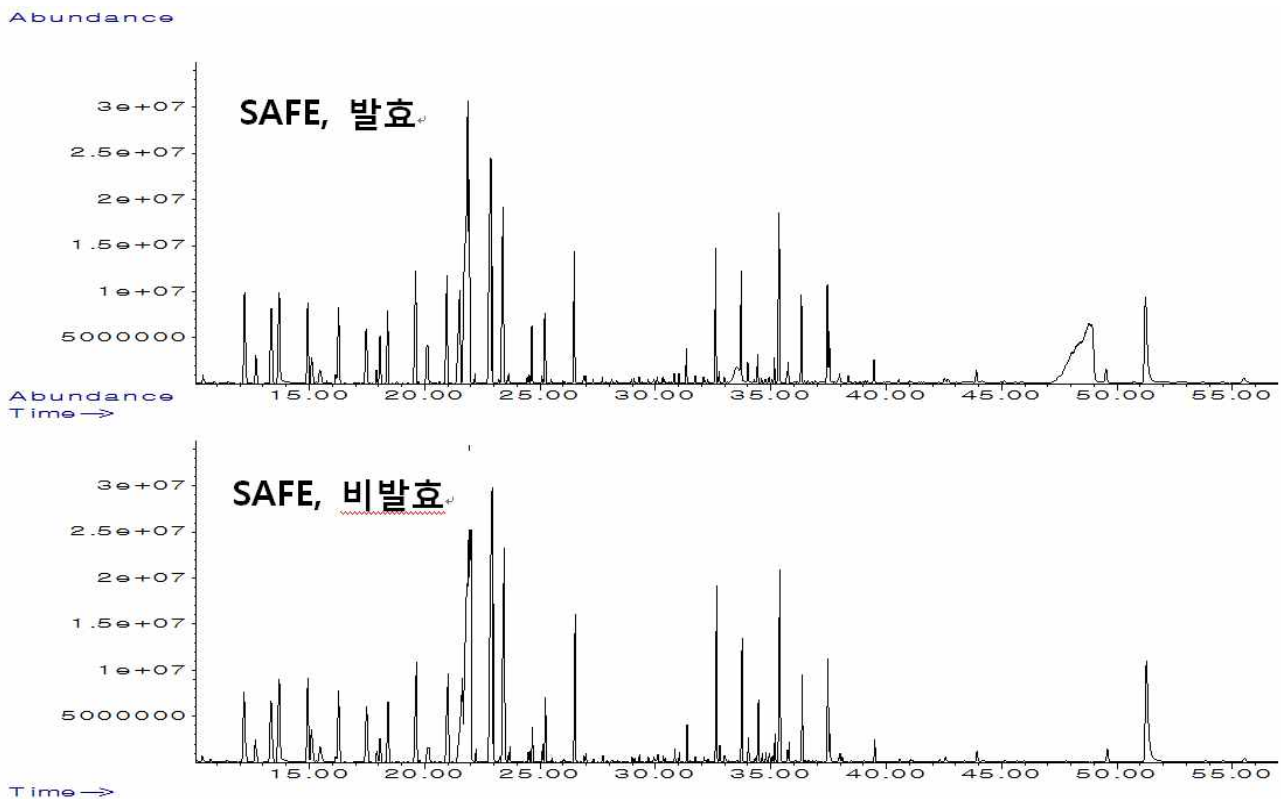


Figure 282. Total ion chromatogram of fermented and non-fermented sparkling beverages by SAFE methods.

(2) 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O법 OSME법을 수행하였다. LLCE로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물은 표 7에 나타내었으며 발효 스파클링 음료는 5종, 비발효 스파클링 음료는 4종이 감지되었다.

발효 스파클링 음료에서 sweet한 향 특성을 나타내는 butanoic acid가 강도 3으로 감지되었고, 달콤하면서도 꽃향기와 같은 향 특성을 나타내는 2-phenoxy ethanol 및 시원한(green)향 특성을 나타내는 (*Z*)-3-hexenyl butyrate가 강도 2로 감지되었다. 또한, 달콤한 향 특성을 나타내는 ethyl lactate 및 maltol이 각각 강도 1로 감지되었다.

비발효 스파클링 음료에서는 발효 스파클링 음료와 같은 향 특성을 나타내는 화합물이 감지되었으나, 각 화합물의 강도가 butanoic acid는 강도 2로 감지되었으며, ethyl lactate, maltol, 2-phenoxy ethanol이 각각 강도 1로 감지되었으며, (*Z*)-3-hexenyl butyrate가 나타내는 시원한(green)향 특성은 감지되지 않았다.

SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물은 표 8에 나타내었으며 총 7종이 감지되었다. 발효 스파클링 음료에서 시원한(green) 향 특성을 나타내는 화합물로 (*Z*)-3-hexenyl butyrate가 강도 2로 감지되었으며, 과일 풋내와 같은 특징을 내는 α -damascenone 및 달콤한 향 특성을 나타내는 butanoic acid가 각각 강도 2로 감지되었다.

또한, sweet한 향 특성을 나타내는 ethyl lactate, maltol이 각각 강도 1로 감지되었으며, 꽃향기와 같은 향 특성을 나타내는 decanal 및 2-phenoxy ethanol이 각각 강도 1로 감지되었다.

비발효 스파클링 음료에서는 발효 스파클링 음료와 같은 향 특성을 나타내는 화합물들이 감지되었으나 각 화합물의 강도는 α -damascenone은 3으로 감지되었으며, decanal 및 butanoic acid가 각각 강도 2로 감지되었다. 또한 ethyl lactate, (*Z*)-3-hexenyl butyrate, maltol 및 2-phenoxy ethanol이 각각 강도 1로 감지되었다.

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료에서 공통적으로 동정된 화합물 중 GC-MS에서 가장 많은 양으로 동정된 ethyl lactate는 lactic acid와 ethanol의 에스터 화합물로서 과일 또는 와인에서 많이 동정되는 것으로 알려져 있으며 0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 threshold를 나타내는 것으로 알려져 있다.

그러나, GC-O를 이용하여 향 활성 화합물을 분석하였을 때 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물에서 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 보아 발효에 의한 향 활성 화합물의 차이는 크지 않은 것으로 결론지었다.

Table 102. Aroma-active compounds in fermented and non-fermented sparkling beverages by LLCE

No.	RI ^a		Compound name	aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			발효	비발효
1	1360	ND	ethyl lactate	sweet	1	1
2	1466	ND	(Z)-3-hexenyl butyrate	green	2	-
3	1633	ND	butanoic acid	sweet, rancid	3	2
4	1990	ND	maltol	sweet, caramel	1	1
5	2160	1226	2-phenoxy ethanol	sweet, floral	2	1

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^b Not detected.

Table 103. Aroma-active compounds in fermented and non-fermented sparkling beverages by SAFE

No.	RI ^a		Compound name	aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			발효	비발효
1	1360	ND	ethyl lactate	sweet	1	1
2	1466	ND	(Z)-3-hexenyl butyrate	green	2	1
3	1507	ND	decanal	floral, sweat	1	2
4	1633	ND	butanoic acid	sweet, rancid	2	2
5	1809	1396	α -damasconone	fruity	2	3
6	1990	ND	maltol	sweet, caramel	1	1
7	2160	1226	2-phenoxy ethanol	sweet, floral	1	1

^b Not detected.

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

4. 반응표면분석을 통한 향산화 안정성을 위한 캡슐 제조조건 최적화

가. 캡슐 제조조건이 입자특성에 미치는 영향

1-2차년도 걸쳐서 설정한 나노캡슐 제조조건을 제 1세부기관에서 선정된 향산화물인 혼합베리 A (아사이베리-아로니아-크랜베리 혼합 조성물)에 적용하여 입자크기를 최소화하고 저장안정성을 최대로 할 수 있는 나노캡슐의 제조조건을 반응표면분석(response surface methodology, RSM)을 통하여 최적화하였다. 또한 독립변수로 설정한 키토산(X₁)과 아라비아검의 농도(X₂)가 입자크기와 저장안정성에 미치는 영향을 분석하였다.

독립변수는 유효 농도 범위 안에서 -2, -1, 0, 1, 2의 다섯 단계로 부호화하여 실험값을 나타내어 이후 통계적 분석에 적용하였다. 설정한 독립변수 구간을 이용한 실험모델은 중심합성

계획(central composite design)에 의해 설정한 뒤 총 10개의 실험군을 도출하였다(표 1).

표 104. 중심합성계획을 이용한 독립변수 수준

Variables	Coded Xi	Coded levels					ΔX
		-2	-1	0	1	2	
Chitosan (mg/mL)	X ₁	0.25	0.40	0.55	0.70	0.85	0.15
Arabic gum (mg/mL)	X ₂	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	0.25

각 실험군에 대한 결과는 Statistical Analysis System (SAS) program을 이용하여 각 영향인자에 대해 모델을 설명할 수 있는 1차 선형효과, 2차 곡선 효과 및 인자 간 관계 2차 다항 회귀식을 구한 뒤, 독립변수에 대한 종속값의 반응표면상태를 3차원 그래프와 등고선(contour plot) 형태로 도출하여 관찰하였다. 키토산/아라비아 검 농도에 따른 고 항산화 나노 캡슐 제조 조건에 대한 모델식은 다음과 같다.

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

이 때 b_0 는 절편을 나타내며, b_i , b_{ii} , b_{ij} 는 각각 1차 선형 및 2차 곡선, 인자 교호작용을 나타내는 회귀계수이다.

키토산과 아라비아 검의 농도를 조절한 총 10개의 실험조건에서 입자크기와 항산화 안정성을 측정하였으며, 이때 항산화 안정성 측정을 위해서는 60°C, UVC (254 nm) 환경에서 15일 동안 저장하면서 ORAC 분석을 통하여 항산화 활성의 유지능을 각각 측정하였다(표 2). 다양한 제조조건하에서 입자크기는 207.32에서 305.49 nm 범위였으며 최소 입자크기는 NO. 3에서 관측되었다. 또한, 15일 저장 이후의 ORAC 수치는 25.28에서 45.89 μmol/TE 범위였으며 최대 ORAC 수치는 NO. 10에서 관측되었다.

표 105. 중심합성계획에 의한 10개 실험조건에 따른 수치

Run Number	Coded variable ¹⁾		Process variable		Particle size (nm)	ORAC ($\mu\text{mol}/\text{TE}$)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂		
1	-1	-1	0.20	0.55	217.19 ± 16.25	37.99 ± 2.82
2	1	-1	0.30	0.55	277.92 ± 16.97	39.69 ± 3.98
3	-1	1	0.20	0.75	207.32 ± 6.59	34.07 ± 3.99
4	1	1	0.30	0.75	262.14 ± 10.18	44.63 ± 2.72
5	0	0	0.25	0.65	231.80 ± 10.40	40.76 ± 3.44
6	0	0	0.25	0.65	230.09 ± 10.20	40.80 ± 3.00
7	-2	0	0.15	0.65	230.79 ± 18.04	25.28 ± 2.78
8	2	0	0.35	0.65	305.49 ± 16.82	40.20 ± 6.88
9	0	-2	0.25	0.45	253.69 ± 11.25	33.40 ± 4.38
10	0	2	0.25	0.85	224.72 ± 6.64	45.89 ± 7.33

¹⁾ X₁ = Chitosan concentration (mg/mL), X₂ = Arabic gum concentration (mg/mL)

입자크기와 항산화 안정성의 결정계수(coefficient of determination, R²)는 각각 0.9447와 0.9158이며 유의성은 0.0126과 0.0284로 모두 5%로 이내 범위로 인정되었다(표 3와 4). 따라서 본 연구에서 실시된 키토산과 아라비아 검의 농도에 의한 반응표면분석은 종속변수인 입자크기와 항산화 안정성을 설명할 수 있는 적합한 독립변수들과 그 수준이 결정되었으며 각 종속변수들을 예측할 수 있는 모델로 적합하다고 판단된다.

표 106. 입자크기에 따른 다중 회귀분석

Independent variable	Coefficient	Standard Error	t-value	Significance Level (p)
Constant	317.847108	102.388869	3.10	0.0361
Linear		R ² =0.7557		
X ₁	-275.492552	195.724138	-1.41	0.2320
X ₂	-77.182210	117.251420	-0.66	0.5463
Quadratic		R ² =0.1880		
X ₁ ²	420.088532	118.361330	3.55	0.0238
X ₂ ²	35.498471	42.610079	0.83	0.4516
Interaction		R ² =0.0010		
X ₁ X ₂	-39.407333	144.639934	-0.27	0.7988
r ²				0.9447
F				13.67
Probability of F				0.0126

* Particle size (nm, Y₁)

$$= 317.847108 - 275.492552X_1 - 77.182210X_2 - 39.407333X_1X_2 + 420.088532X_1^2 + 35.498471X_2^2$$

표 107. ORAC 수치에 따른 다중 회귀분석

Independent variable	Coefficient	Standard Error	t-value	Significance Level (p)
Constant	21.367946	25.281018	0.85	0.4456
Linear		R ² =0.6148		
X ₁	61.741332	48.326595	1.28	0.2705
X ₂	-15.851063	28.950757	-0.55	0.6131
Quadratic		R ² =0.2346		
X ₁ ²	-91.745079	29.224806	-3.14	0.0349
X ₂ ²	-5.403189	10.520930	-0.51	0.6346
Interaction		R ² =0.0664		
X ₁ X ₂	63.432133	35.7133603	1.78	0.1504
r ²				0.9158
F				8.71
Probability of F				0.0284

* ORAC value (umol/TE, Y₁)

$$= 21.367946 + 61.741332X_1 - 15.851063X_2 + 63.432133X_1X_2 - 91.745079X_1^2 - 5.403189X_2^2$$

나. 최적 캡슐제조 조건 결정

(1) 입자크기

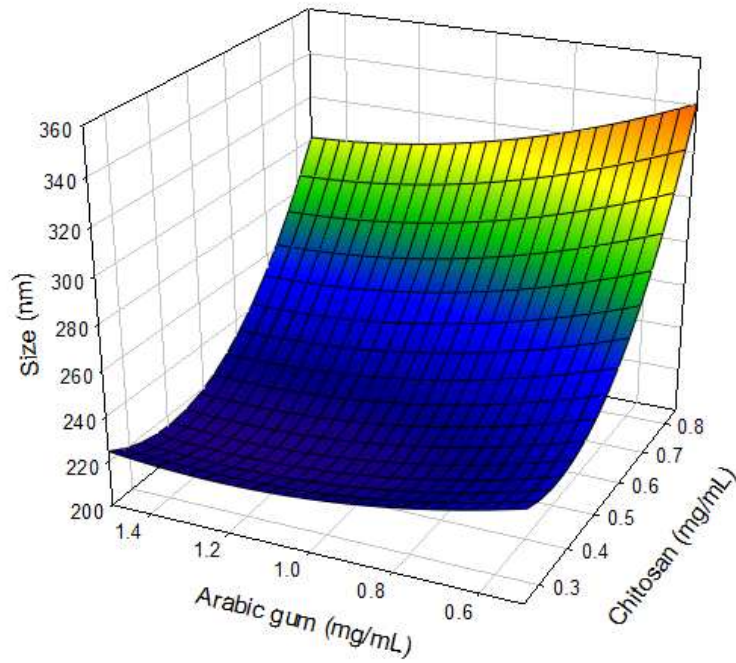
다중 회귀분석에 의해 설정된 모델식을 이용하여 독립변수(X_1 =Chitosan 농도(mg/mL), X_2 =Arabic gum 농도(mg/mL))들 간의 상호간의 관계를 3차 그래프와 등고선 분석을 통하여 도식화하였다(그림 283).

전반적으로 키토산 농도가 증가됨에 따라 입자크기는 증가되는 경향을 나타냈는데 특히 키토산 0.5 mg/mL 이상의 고농도에서는 뚜렷하게 관측되었다. 이러한 현상은 피복물질인 키토산의 농도로 피복물질내에 포함되는 키토산의 양 또한 증가되어 나타나는 일반적인 키토산 나노입자의 특성으로 판단된다. 그러나, 이러한 경향은 0.5 mg/mL 이하 저농도의 키토산에서는 상대적으로 뚜렷하게 나타나지 않았다.

아라비아 검 농도가 증가됨에 따라 입자크기가 다소 감소되는 경향을 나타냈다. 이는 키토산과 아라비아 검의 이온결합에 의해 나노 캡슐이 형성되므로 아라비아 검의 농도가 증가되면서 키토산과의 결합력이 강해져서 보다 조밀한 구조의 입자가 형성되기 때문인 것으로 판단된다.

키토산과 아라비아 검 농도변화에 따른 입자크기에 대한 정준분석을 한 결과 임계점은 최소점에 있는 것으로 확인되었다. 통계적 방법에 의하여 산출된 입자크기의 최소값을 나타내는 키토산과 아라비아 검의 농도는 0.39 mg/mL과 1.30 mg/mL로 각각 산출되었으며, 최적 농도에서의 입자크기는 다항회귀식에 적용하여 산출하여 213.98 nm로 예측되었다.

(A)



(B)

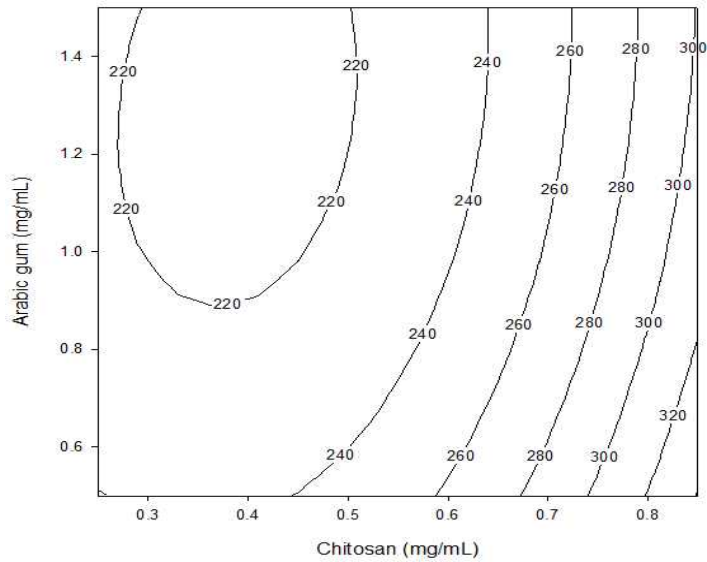


그림 283. 키토산과 아라비아 검 농도에 따른 particle size 결과

(A) 3차원 그래프, (B) 등고선 그래프

최적 조건에서 실제 입자크기를 분석한 결과 212.69 ± 14.85 nm로 확인되었으며(표 108), 이러한 실측 입자크기 수준은 예측값이 표준편차 범위에 존재하여 예측값과 매우 유사한 수준으로 확인되었다.

표 108. 반응표면분석에 의해 결정된 최적조건¹⁾에서 제조된 나노캡슐의 입자크기

	Expected value	Observed value
입자크기 (nm)	213.98	212.69±14.85

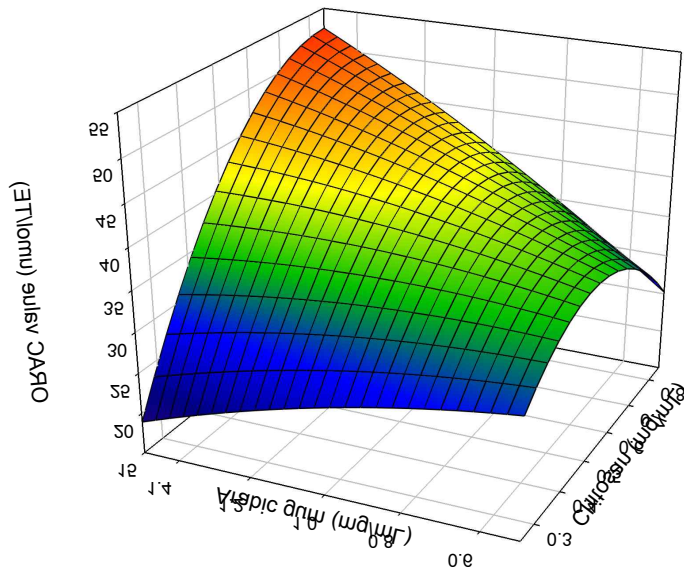
¹⁾ X₁: Chitosan = 0.39 mg/mL, X₂: Arabic gum = 1.30 mg/mL

(2) 항산화 안정성

다중 회귀분석에 의해 설정된 모델식을 이용하여 독립변수(X₁=Chitosan 농도(mg/mL), X₂=Arabic gum 농도(mg/mL))들 간의 상호간의 관계를 3차 그래프와 등고선 분석을 통하여 도식화하였다(그림 284).

전반적으로 키토산 농도가 증가함에 따라 항산화 안정성을 증가하는 경향을 보였다. 특히 키토산 저농도인 0.5 mg/mL일 때와 아라비아 검 농도가 증가될수록 이러한 경향은 더 뚜렷하게 나타났다. 또한 아라비아 검 농도가 증가함에 따라서도 항산화 안정성은 전반적으로 증가하는 경향을 보였다. 특히 키토산 고농도인 0.5 mg/mL 이상일 때 이러한 경향이 뚜렷하였으며, 키토산 저농도인 0.5 mg/mL 이하일 때는 뚜렷한 경향이 나타나지 않았다. 이는 나노 캡슐의 피복물질 농도가 증가할수록 키토산과 아라비아 검 결합이 견고화되어 항산화 안정성이 증가되는 것으로 판단된다.

(A)



(B)

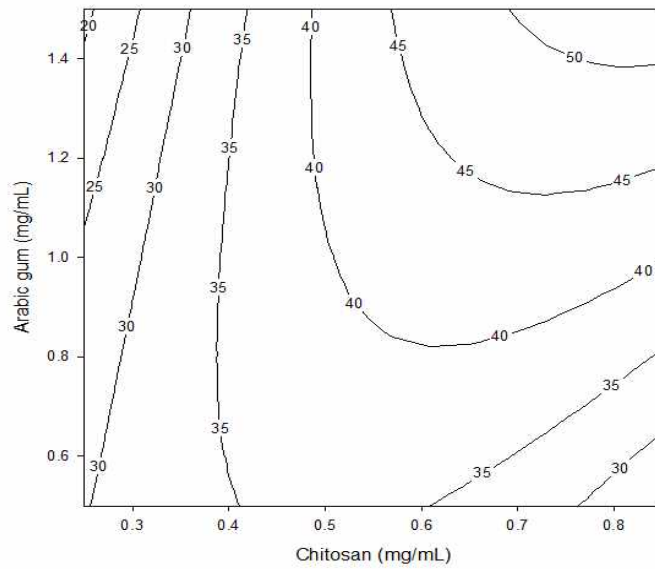


그림 284. 키토산과 아라비아 검 농도에 따른 ORAC 수치 결과

(A) 3차원 그래프, (B) 등고선 그래프

키토산과 아라비아 검 농도변화에 따른 항산화 안정성에 대한 정준분석을 한 결과 임계점은 안장점에 있는 것으로 확인되어 능산분석을 실시하였다. 통계적 방법에 의하여 산출된 ORAC 항산화 최대 안정성을 나타내는 키토산과 아라비아 검의 농도는 0.73 mg/mL과 1.41 mg/mL로 각각 산출되었으며, 최적 농도에서의 항산화 안정성 ORAC 수치는 다항회귀식에 적용하여 산출하여 49.60 $\mu\text{mol/TE}$ 로 예측되었다.

최적 조건에서 실제 항산화 안정성 (ORAC 수치)을 분석한 결과 $49.28 \pm 3.06 \mu\text{mol/TE}$ 로 확인되었다(표 109). 항산화 안정성의 실측값 수준은 표준편차 범위 내에 예측값이 존재하여 예측값과 매우 유사한 수준으로 확인되었다.

표 109. 반응표면분석에 의해 결정된 최적조건¹⁾에서 제조된 나노캡슐의 항산화 안정성

	Expected value	Observed value
ORAC value ($\mu\text{mol/TE}$)	49.60	49.28 ± 3.06

¹⁾ X₁: Chitosan = 0.73 mg/mL, X₂: Arabic gum = 1.41 mg/mL

다. 최적 나노캡슐의 *in vitro* 항산화 안정성 검증

반응표면 분석을 통하여 산출한 최적 항산화 안정성 나노캡슐의 *in vitro* 항산화 안정성 검증을 위하여 유리 항산화물과 캡슐화한 항산화물 각각을 가혹 산화 조건(60°C, UVC)에서 저장하면서 항산화 안정성을 분석 하였다. 항산화 활성은 ORAC, DPPH 라디칼 소거능, FRAP 환원능, ABTS 라디칼 소거능을 통하여 분석하였다.

총 4 종류의 항산화 활성 측정을 통해 분석한 결과, 모든 항산화 측정방법에서 제조 직후 0일차에 캡슐화하지 않은 유리 항산화물과 나노 캡슐의 활성간에는 유의적 차이가 관측되지 않았다. 이를 통해서 나노캡슐 제조 과정에서 항산화물의 활성이 감소되지 않았으며 나노캡슐내에 포집된 상태에서도 항산화 활성을 충분히 발현하고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 전반적으로 캡슐화하지 않은 유리 항산화물은 ORAC은 저장 50일째, 그 외 다른 측정방법은 저장 20일째에 항산화 활성이 0일차와 비교했을 때 유의적으로 감소되는 경향을 나타내었다. ORAC, DPPH, FRAP, ABTS은 각각 40%, 10%, 43%, 18% 감소되었다(그림 285, 286, 287, 288). 이에 반해서, 나노 캡슐은 ORAC, FRAP, ABTS 측정결과, 0일차와 유의적 차이를 나타내지 않았으며, 다만 DPPH,에서만 약 4% 감소되어 0일차와 비교했을 때 유의적 차이를 나타내긴 하였으나 유리 항산화물보다는 유의적으로 높은 항산화 안정성을 나타낸 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 캡슐 내부에 포집된 항산화물이 산화 환경 조건으로부터 캡슐화를 통해 안정적으로 항산화 활성을 유지된 것으로 판단된다.

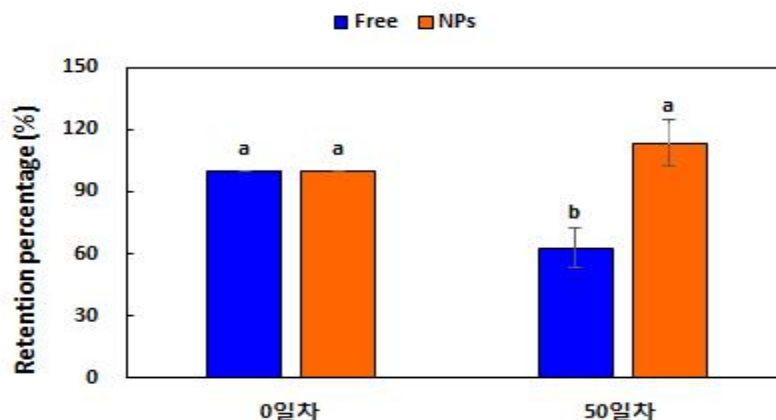


그림 285. UVC, 60°C 환경에서 나노캡슐 ORAC 항산화 안정성

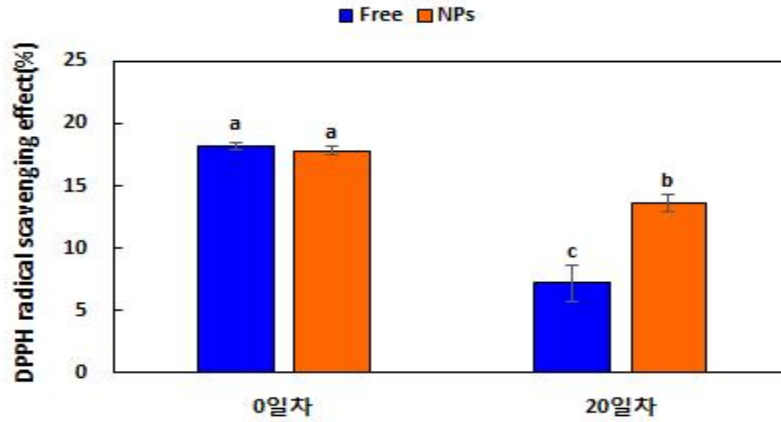


그림 286. UVC, 60°C 환경에서 나노캡슐 DPPH 라디칼 소거능 항산화 안정성

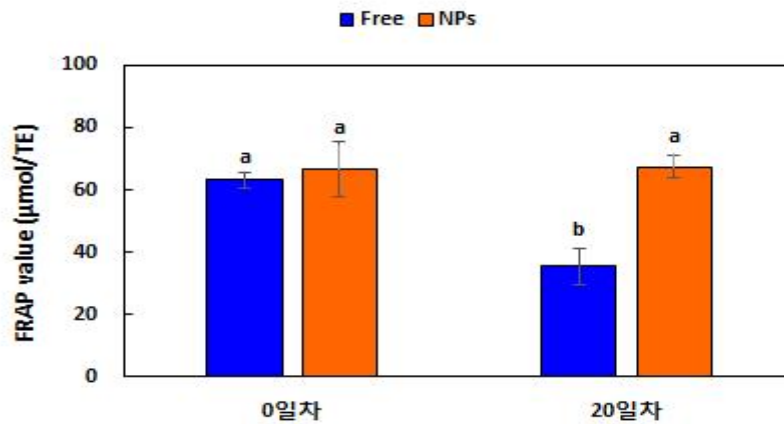


그림 287. UVC, 60°C 환경에서 나노캡슐 FRAP 환원능 항산화 안정성

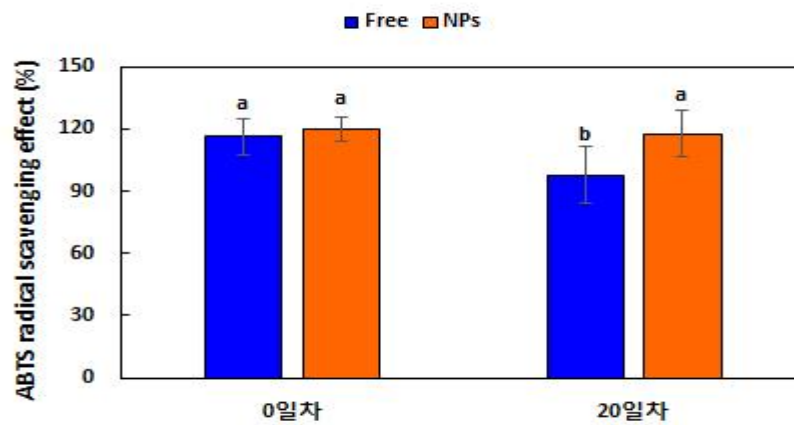


그림 288. UVC, 60°C 환경에서 나노캡슐 ABTS 라디칼 소거능 항산화 안정성

라. 최적 나노캡슐의 항산화 성분 분석

최적 나노캡슐의 항산화 성분 분석은 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 실험을 통하여 확

인하였다. 또한, 유리 항산화물과의 항산화 성분을 비교 분석하기 위하여 산화 환경 조건(60℃, UVC)에서 20일간 안정성 실험을 하였다.

항산화 안정성 결과와 마찬가지로, 전반적으로 캡슐화하지 않은 유리 항산화물은 총 페놀 및 플라보노이드 모두 항산화 성분이 20일간의 가혹조건에서 각각 21%, 20% 감소되어 0일차와 비교했을 때 유의적 차이를 나타냈다. 반면, 나노캡슐의 경우는 유의적 차이 없이 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 유지되는 경향을 나타내었다(그림 289, 290). 이러한 결과는 캡슐화를 통해 내부에 포집된 항산화 성분이 산화 환경 조건으로부터 안정적으로 항산화 성분을 보호하고 있다고 판단된다.

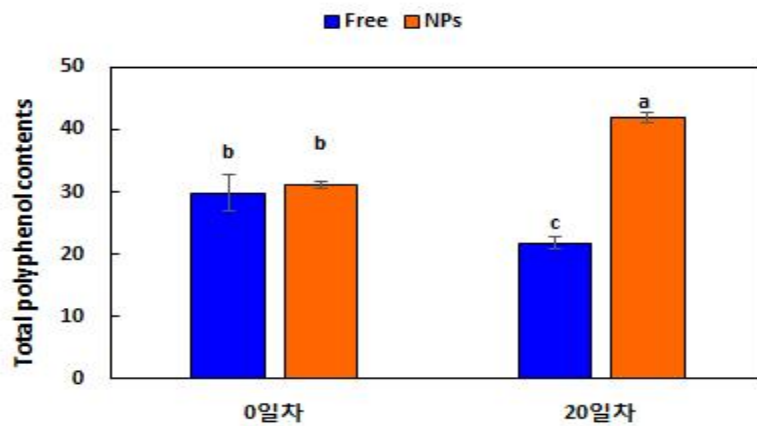


그림 289. UVC, 60℃ 환경에서 나노캡슐 총 페놀 함량 안정성

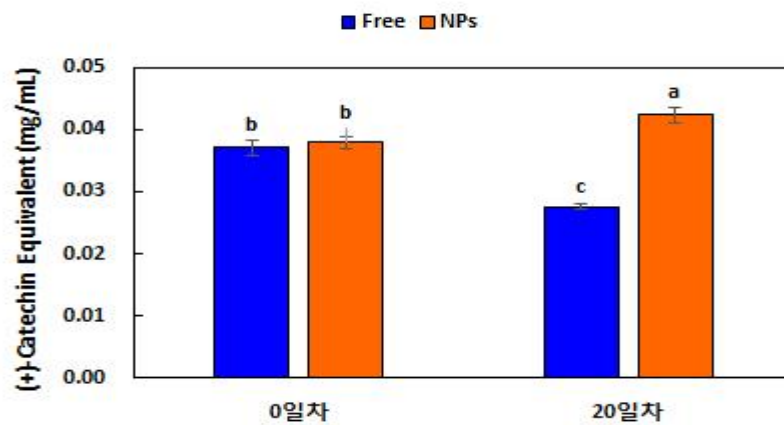


그림 290. UVC, 60℃ 환경에서 나노캡슐 총 플라보노이드 함량 안정성

마. *In vivo* 항산화 활성 검증

(1) 혈중 항산화활성

반응표면분석을 통하여 결정된 최적 나노캡슐의 섭취 후 체내 항산화활성을 관측하기 위하여 고농도와 저농도의 캡슐화 하지 않은 유리 항산화물과 캡슐 항산화물을 각각 수컷 SD rat

에 1회 경구투여 후 혈중 항산화 활성의 변화를 분석하였다.

실험을 위하여 수컷 SD-rat 24마리를 케이지 당 3마리 이하로 분배한 후 7일간의 순화과정을 거친 후 사용하였다. 순화기간 동안 먹이와 물을 자유롭게 취할 수 있도록 공급하였으며 12시간 간격의 명암, 온도 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, 습도 $50\pm 10\%$ 를 유지하였다.

나노 캡슐의 특성 및 항산화물 농도에 따른 혈중 항산화 활성의 변화를 보기 위하여 유리항산화제와 나노캡슐 군 모두 투여 용량은 저농도와 고농도 2가지로 설정하였으며 혼합배리 A 기준으로 저농도는 $278\text{ mg/kg body weight}$, 고농도는 $416\text{ mg/kg body weight}$ 을 1회 경구섭취하도록 하였다. 즉, 실험군은 총 4개 군(유리항산화-저농도, 유리항산화-고농도, 나노캡슐-저농도, 나노캡슐-고농도)이며 각 실험군 당 6마리가 되도록 구성하였다. 실험 시작 12시간 전 식이를 제한하여 공복상태를 유지하였다. 경구 투여한 뒤 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12시간에서 채혈하였으며, 각 채혈시간에 안와정맥을 통하여 채혈하였다. 혈중 항산화 활성 분석은 FRAP 방법을 이용하였다.

모든 실험군에서 섭취 후 FRAP value는 1시간 안에 빠르게 감소되었다. 나노 캡슐과 유리 항산화물 모두 고농도가 저농도 섭취군보다 높은 항산화활성을 나타내어 농도 의존적으로 항산화 활성을 유지한 것을 확인 하였다. 그러나 경구 섭취 1시간 후부터 캡슐화하지 않은 유리 항산화물보다 나노 캡슐에 포집된 항산화물이 유의하게 항산화 활성이 높은 것을 확인하였다. 이러한 경향은 매우 뚜렷하여, 경구섭취 2시간 이후부터는 고농도의 유리 항산화물과 저농도의 나노캡슐 섭취군의 체내 항산화활성이 거의 유사한 수치로 유지되고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 혈장에서 나노에 포집된 혼합배리 A가 천천히 방출되었을 뿐 아니라 항산화물의 안정성이 유지되었기 때문이라고 판단된다(그림 291).

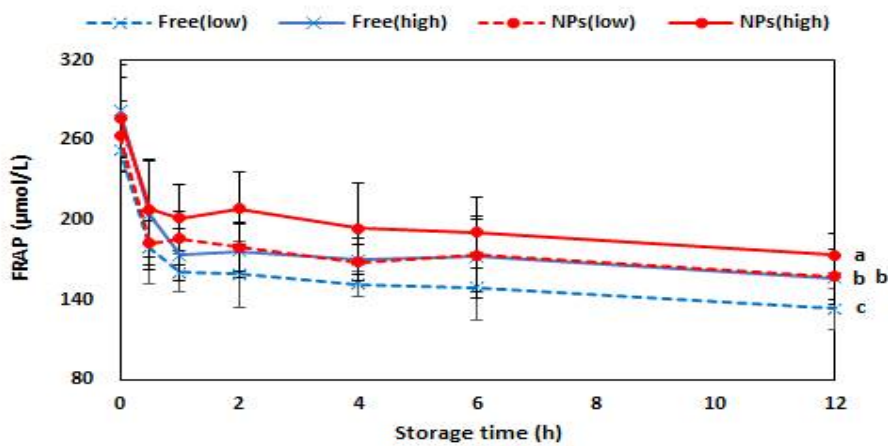


그림 291. 쥐에 경구 투여 후 나노 캡슐의 FRAP 항산화 활성

(2) 체내 항산화 효소 및 혈중 지질 분석

반응표면분석을 통하여 결정된 최적 나노캡슐의 항산화 안정성을 동물실험을 통해서 관측하였다. 이를 위하여 1%의 cholesterol과 10%의 lard가 포함된 고콜레스테롤 식이를 제조했는데, 이때 lard를 인위적으로 산패(60°C , UVC, 2일)시켰는데, lard의 산패에 항산화물의 존재 및

캡슐화된 항산화물의 효과를 관측하기 위하여 유리 항산화물과 캡슐 항산화물을 lard와 함께 산패시킨 후 고콜레스테롤 식이를 제조하였다.

동물실험을 위해서 수컷 C57bl/6 35마리를 7일간의 순화과정을 거친 후 사용하였다. 순화기간 동안 먹이와 물을 자유롭게 취할 수 있도록 공급하였으며 12시간 간격의 명암, 온도 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 10\%$ 를 유지하였다. 이 후 실험 식이는 6주 동안 공급하였다.

실험동물은 각 군당 5마리로 총 7개 군으로 나누어 진행하였다. 총 7개 군 중 표준식은 대조군(Con) 1군에만 공급되었으며 나머지 6개군에는 고콜레스테롤 식이를 제공하였다. 고콜레스테롤 군은 산패시키지 않은 신선한 lard가 함유된 고콜레스테롤 식이 섭취군(FL-C), 산패 lard를 함유한 고콜레스테롤 식이 섭취군(OL-C), 산패 lard와 유리 항산화물을 함유한 고콜레스테롤 식이 섭취군(OLF-C), 산패 lard와 나노 캡슐을 함유한 고콜레스테롤 식이 섭취군(OLN-C)으로 구성되었다.

부검은 하루 전부터 16시간 동안 절식 시킨 후 CO_2 gas로 심마취 시킨 후 실시하였다. 마취된 실험동물을 개복하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하였으며, 실온에서 1시간 동안 방치한 후 3,000 rpm, 4°C 에서 10분간(2236HR high-speed centrifuge, GYROZEN Co., Ltd, Korea) 원심 분리하여 혈청을 얻었다. 혈청은 분석 전까지 -70°C 에서 보관하였으며 자동생화학분석기(HITACHI7020, HITACHI Co., Ltd., Japan)를 사용하여 Total cholesterol (T-CHO), triglyceride (TG), HDL-cholesterol(HDL-C)를 분석하였다. LDL-cholesterol (LDL-C)은 $\text{TC} - (\text{TG}/5 + \text{HDL-C})$ 계산식을 통하여 산출하였다. VLDL-cholesterol(VLDL-C)은 $\text{TC} - (\text{HDL-C} + \text{LDL-C})$ 계산식을 통하여 산출하였다.

혈액을 채취한 후 간을 분리하여 무게를 측정하고 액체질소에 급속 동결하였으며 분석 전까지 -70°C 에서 보관하였다. 동결된 조직은 균질화 한 후 commercial assay kit을 사용하여 각 제조사의 분석방법에 따라 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS, Cell Biolabs INC. CA, USA), catalase (Cayman Chemical Co. Ltd. MI, USA), superoxide Dismutase (SOD, Cayman Chemical Co. Ltd. MI, USA), Glutathione Peroxidase (GPx, Cayman Chemical Co. Ltd. MI, USA)분석에 사용하였다. 단백질 정량은 BCA protein assay kit (Thermo Fisher Scientific Inc., IL, USA)을 사용하였다. 또한 간 균질액은 자동생화학분석기(HITACHI7020, HITACHI Co., Ltd., Japan)를 사용하여 Total cholesterol (T-CHO), Triglyceride (TG), HDL-cholesterol(HDL-C)를 분석하였다.

5개 군의 섭취가 식이섭취량과 체중에 미친 영향은 표 7과 같다. 대조군과 비교 시 식이섭취량은 실험군간에 다소간의 차이가 있었으나 체중에는 유의적인 영향을 주지 않았다. 식이섭취량이 성장률에는 영향을 미치지 않는다는 것을 확인하였다. 그러나 식이효율은 고콜레스테롤 섭취군 모두 정상군에 비해서 유의적으로 낮아진 것을 확인할 수 있었다. 또한 간 중량에 차이가 있었으나 체중에 대한 간 중량에는 유의적인 영향을 주지 않았다.

표110. 6주간 식이공급한 쥐의 body weight gain과 food intake

	Con ¹⁾	FL-C ²⁾	OL-C ³⁾	OLF-C ⁴⁾	OLN-C ⁵⁾
Food intake(g/day)	28.70±1.41 ^a	24.97±1.19 ^{bc}	26.50±2.28 ^{ab}	26.62±1.93 ^{ab}	22.86±5.54 ^c
Body weight gain (g/6weeks)	190.12±13.90 ^a	204.55±20.16 ^a	207.87±19.68 ^a	210.21±19.80 ^a	198.18±17.57 ^a
Food efficiency ratio	0.15±0.01 ^a	0.12±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b	0.12±0.01 ^b
Liver weight(g)	1.28±0.14 ^b	1.78±0.40 ^a	1.79±0.37 ^a	1.80±0.45 ^a	1.52±0.25 ^b
Liver index(%)	4.33±0.36 ^a	5.29±1.22 ^a	5.19±0.74 ^a	5.08±0.82 ^a	4.69±0.56 ^a

¹⁾ Con: 정상식이, ²⁾ FL-C: 고콜레스테롤 + 신선한 lard, ³⁾ OL-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard, ⁴⁾ OLF-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 유리 항산화물(Free), ⁵⁾ OLN-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 항산화물 함유 나노 캡슐(NPs)

6주간 식이공급을 한 쥐의 혈중 지질성분은 표8과 같다. 식이 6주 후에 HDL-C/LDL-C ratio를 제외한 총 지질, 총 콜레스테롤, 중성지방, 혈청 지단백 콜레스테롤(HDL-C, LDL-C, VLDL-C)의 함량 모두 정상식이군에 비해 고콜레스테롤 식이에서 높은 수준으로 나타났고, 신선한 lard를 첨가한 식이군에 비하여 산패한 lard를 첨가한 식이군에서 역시 더 높은 수준으로 나타났다. 이는 고콜레스테롤과 산패한 lard가 혈중 지질 수준을 증가시키는 영향을 준 것으로 판단된다. 산패한 lard에 항산화물을 첨가한 OLF-C와 OLN-C은 산패한 lard에 비하여 HDL-C/LDL-C ratio를 제외한 총지질, 총 콜레스테롤, 중성지방, 혈청 지단백 콜레스테롤(HDL-C, LDL-C, VLDL-C)의 함량이 OLF-C, OLN-C 순으로 낮은 수준을 보였다. 이는 항산화물이 산패한 lard의 산패 속도를 감소시키고, 나노 캡슐이 항산화물을 보호하여 캡슐에 보호되지 않은 유리 항산화물에 비하여 lard의 산패를 지속적으로 지연시켜 항산화 효과를 보여줬다고 판단된다. 또한, HDL-C의 수준이 예상과는 다르게 정상군보다 고콜레스테롤 군에도 증가된 경향을 나타내긴 했으나, 이는 총 콜레스테롤 함량이 증가되기 때문인 것으로 판단되며 이를 반영한 수치인 HDL/LDL-C ratio는 감소된 경향을 나타냈다. 또한 산패한 lard에 항산화물을 첨가한 OLF-C와 OLN-C은 산패한 lard에 비해 HDL/LDL-C ratio 수준이 증가했으며, 특히 OLN의 HDL/LDL-C ratio는 정상군과 같은 수준을 나타냈다. 이를 통해서 항산화물의 캡슐화를 통해서 산패로부터 lard를 보호하여 혈중 지질대사 개선에도 도움이 되었다고 판단된다.

표111. 6주간 식이공급한 쥐의 혈중에서 cholesterol, lipoprotein, TG

	Con ¹⁾	FL-C ²⁾	OL-C ³⁾	OLF-C ⁴⁾	OLN-C ⁵⁾
Total cholesterol	75.00±12.15 ^b	127.58±28.07 ^a	146.30±16.25 ^a	123.55±11.26 ^a	117.75±23.55 ^a
Triglyceride	61.67±1.80 ^b	120.90±11.79 ^a	155.22±42.21 ^a	138.58±20.06 ^a	134.73±12.25 ^a
HDL-cholesterol	20.63±1.04 ^b	27.13±3.59 ^a	33.90±4.41 ^a	28.05±3.28 ^a	31.65±5.90 ^a
LDL-cholesterol	34.99±3.46 ^c	58.49±10.33 ^{bc}	81.36±10.11 ^a	67.79±15.88 ^{ab}	59.16±22.56 ^{abc}
VLDL-cholesterol	12.16±0.28 ^b	24.64±2.35 ^a	31.04±8.44 ^a	27.72±4.01 ^a	26.95±2.45 ^a
HDL-C/LDL-C ratio	0.60±0.03 ^a	0.45±0.07 ^a	0.42±0.07 ^a	0.43±0.12 ^a	0.60±0.29 ^a

¹⁾ Con: 정상식이, ²⁾ FL-C: 고콜레스테롤 + 신선한 lard, ³⁾ OL-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard, ⁴⁾ OLF-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 유리 항산화물(Free), ⁵⁾ OLN-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 항산화물 함유 나노 캡슐(NPs)

6주간 식이공급을 한 쥐의 간 조직에서의 지질성분은 표9와 같다. 간 조직에서 결과는 혈중에서의 결과와 거의 유사한 경향을 나타냈다. 식이 6주 후에 HDL-C/LDL-C ratio를 제외한 총 지질, 총 콜레스테롤, 중성지방, 혈청 지단백 콜레스테롤(HDL-C, LDL-C, VLDL-C)의 함량 모두 정상식이군에 비해 고콜레스테롤 식이에서 높은 수준으로 나타났고, 신선한 lard를 첨가한 식이군에 비하여 산패한 lard를 첨가한 식이군에서 역시 더 높은 수준으로 나타냈다. 이는 고콜레스테롤과 산패한 lard가 혈중 지질 수준을 증가시키는 영향을 준 것으로 판단된다. 총 콜레스테롤과 LDL-C 은 산패한 lard에 항산화물을 첨가한 OLF-C와 OLN-C이 산패한 lard에 비하여 OLF-C, OLN-C 순으로 낮은 수준을 보였으며, OLN-C는 FL-C보다도 낮은 수준을 보였다. 이는 항산화물이 산패한 lard의 산패 속도를 감소시키고, 나노 캡슐이 항산화물을 보호하여 캡슐에 보호되지 않은 유리 항산화물에 비하여 lard의 산패를 지속적으로 지연시켜 항산화 효과를 보여줬다고 판단된다. 그러나 TBARS, 중성지방, VLDL-C은 OL-C보다 OLF-C에서 더 높은 수준을 나타냈다. 또한, HDL-C의 수준이 예상과는 다르게 정상군보다 고콜레스테롤 군에도 증가된 경향을 나타내긴 했으나, 이는 총 콜레스테롤 함량이 증가되기 때문인 것으로 판단되며 이를 반영한 수치인 HDL/LDL-C ratio는 증가된 경향을 나타냈다.

표112. 6주간 식이공급한 쥐의 간조직에서 TBARS, cholesterol, lipoprotein, TG

	Con ¹⁾	FL-C ²⁾	OL-C ³⁾	OLF-C ⁴⁾	OLN-C ⁵⁾
TBARS	0.97±0.02 ^c	1.07±0.12 ^c	1.30±0.14 ^{ab}	1.34±0.12 ^a	1.24±0.17 ^{ab}
Total cholesterol	4.87±0.95 ^c	10.18±2.99 ^{ab}	14.50±4.18 ^a	11.66±2.66 ^{ab}	9.58±2.84 ^b
Triglyceride	3.73±0.47 ^b	9.28±2.23 ^a	11.33±2.34 ^a	11.56±1.66 ^a	9.30±1.64 ^a
HDL-cholesterol	1.07±0.23 ^b	2.28±0.67 ^{ab}	3.13±0.81 ^a	2.34±0.52 ^{ab}	2.12±0.43 ^b
LDL-cholesterol	3.05±1.13 ^b	6.05±2.18 ^{ab}	9.11±3.71 ^b	7.01±2.12 ^{ab}	5.60±2.30 ^{ab}
VLDL-cholesterol	0.75±0.09 ^b	1.86±0.45 ^a	2.27±0.47 ^a	2.31±0.33 ^a	1.86±0.33 ^a
HDL-C/LDL-C ratio	0.40±0.22 ^a	0.40±0.14 ^a	0.37±0.12 ^a	0.35±0.08 ^a	0.41±0.09 ^a

¹⁾ Con: 정상식이, ²⁾ FL-C: 고콜레스테롤 + 신선한 lard, ³⁾ OL-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard, ⁴⁾ OLF-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 유리 항산화물(Free), ⁵⁾ OLN-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 항산화물 함유 나노 캡슐(NPs)

항산화 방어막은 항산화 효소와 비효소적 항산화제로 이루어져 있다. 비교적 반응성이 작은 O₂^{•-}와 H₂O₂는 항산화 효소에 의해 처리되며 반응성이 큰 •OH과 1O₂는 비효소적 항산화제에 의해 처리된다. 이렇게 항산화 효소와 비효소적 항산화제는 상호 의존적으로 항산화 방어막을 구축한다.

6주간 식이공급을 한 쥐의 혈중에서의 항산화 효소 활성은 표10과 같다. Catalase, SOD, GPx 활성도 모두에서 산패한 lard에 항산화물을 첨가한 OLN-C, OLF-C 순으로 높은 활성도를 나타냈다. 특히, catalase와 GPx 활성도에서는 FL-C에 비하여 OLN-C, OLF-C이 높은 활성을 나타냈으며, GPx활성에서는 OLN-C가 정상식이군보다도 높은 활성도를 나타냈다. 이러한 결과는 항산화물이 쥐의 혈중에서 발현되어 항산화 효과가 있었기 때문이다. 또한, OLN-C는 항산화물이 나노 캡슐에 안정적으로 보호되어 유리 항산화물에 비하여 더 효과적인 항산화 활성을 나타냈고, 항산화제와 항산화 효소는 상호 의존적으로 방어막 역할을 하기 때문에 신선한 lard, 정상식이군과 유사하거나 더 높은 수준의 항산화 효소 활성도를 나타났다고 판단된다.

표113. 6주간 식이공급한 쥐의 혈중에서 항산화 효소 활성

	Con ¹⁾	FL-C ²⁾	OL-C ³⁾	OLF-C ⁴⁾	OLN-C ⁵⁾
Catalase activity	28.78±1.72 ^a	14.46±1.12 ^c	7.85±1.01 ^d	15.45±2.30 ^c	21.78±1.24 ^b
SOD activity	25.23±3.32 ^a	22.80±2.86 ^{ab}	16.93±2.06 ^c	19.19±3.44 ^{bc}	20.78±2.18 ^{abc}
GPx activity	16.37±1.87 ^{ab}	13.08±1.53 ^b	9.11±1.28 ^c	13.16±3.67 ^b	17.82±1.16 ^a

¹⁾ Con: 정상식이, ²⁾ FL-C: 고콜레스테롤 + 신선한 lard, ³⁾ OL-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard, ⁴⁾ OLF-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 유리 항산화물(Free), ⁵⁾ OLN-C: 고콜레스테롤 + 산패 lard + 항산화물 함유 나노 캡슐(NPs)

동물실험을 종합하면, 산패시킨 lard에 항산화물을 첨가했을 때 항산화물이 산패를 지연시켜 줌으로서 혈중, 간 조직에서의 산패시킨 lard을 식이한 군에 비하여 지질과산화물이 감소하고 항산화 효소 활성도를 증가시킨 것을 확인하였다. 또한, 나노 캡슐이 첨가군이 유리 항산화물

첨가군 보다 지질과산화물 농도가 혈중과 간 조직 모두에서 낮았고, 항산화 효소 활성도는 높은 것으로 보아 나노 캡슐이 산패된 lard의 산패를 유리 항산화물보다 안정하게 지연시켜준 것을 확인하였다.

바. 주요 결과 및 결론

1-2차년도 걸쳐서 설정한 나노캡슐 제조조건을 제 1세부기관에서 선정된 항산화물인 혼합베리 A (아사이베리-아로니아-크랜베리 혼합 조성물)에 적용하여 반응표면분석을 통해 최적 항산화안정성을 나타내는 나노 캡슐 제조조건을 산출하였다. 독립변수는 나노 캡슐의 피복 물질인 키토산과 아라비아 검 농도로 선정하여 입자크기와 항산화 안정성 증진을 위한 최적 나노 캡슐을 도출하였다. 입자크기에 대한 최적 나노 캡슐 조건은 키토산 0.39 mg/mL, 아라비아 검 1.30 mg/mL로 확인하였다. 이 최적 나노 캡슐은 추후 *in vivo* 항산화 안정성 검증 중 혈중 항산화능 실험에 이용하였다. 항산화 안정성에 대한 최적 나노 캡슐 조건은 키토산 0.73 mg/mL, 아라비아 검 1.41 mg/mL로 확인하였다. 이 최적 나노 캡슐은 추후 *in vitro*, *in vivo* 항산화 안정성 검증을 하였다.

In vitro 항산화 안정성 검증은 산화 환경 조건(60°C, UVC)에서 ORAC, DPPH, FRAP, ABTS 등의 항산화 활성 분석 방법을 통하여 확인하였다. 동일한 조건으로 항산화 성분 안정성 검증을 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정 방법을 통하여 확인하였다. 그 결과 캡슐화 하지 않은 유리 항산화물은 저장 기간에 따라 항산화 활성이 감소하였고 나노 캡슐은 항산화 활성이 유지되는 것을 확인하였다. 이는 캡슐 내부에 포집된 항산화물이 산화 환경 조건으로부터 항산화 활성과 항산화 성분을 안정적으로 유지한 것으로 판단된다.

In vivo 항산화 안정성 검증은 크게 두 가지 실험 방법을 통해 검증하였다. 첫 번째로 설치류에 항산화물을 포집한 나노 캡슐과 유리 항산화물을 경구 투여한 후 12시간 동안 혈중 항산화 활성 변화를 분석하였다. 그 결과 나노 캡슐의 항산화 활성이 유리 항산화물 보다 높은 항산화 활성을 유지하였다. 이는 *in vitro* 결과와 마찬가지로 나노 캡슐이 항산화물을 보호하여 유리 항산화물에 비해 혈중에서 높은 항산화 활성을 유지한 것으로 판단된다.

두 번째로 설치류에 정상식이, 고콜레스테롤 식이에 신선한 lard, 산패 lard, 산패 lard에 유리 항산화물 첨가, 산패 lard에 항산화물 포집 나노 캡슐 첨가군을 6주 간 식이 공급하여 혈중, 간 조직에서의 지질과산화물과 혈중 항산화 효소 활성을 확인하였다. 그 결과 산패 lard에 비해 항산화물을 첨가한 군에서 낮은 지질과산화물 농도와 높은 항산화 효소 활성을 나타냈다. 또한, 나노 캡슐 첨가군이 유리 항산화물 첨가군에 비해 낮은 지질과산화물 농도와 높은 항산화 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 항산화물이 lard의 산패를 지연시키는데, 특히 나노 캡슐에 포집된 항산화물이 캡슐화되지 않은 유리 항산화물에 비해 lard의 산패를 지속적으로 지연시킨 것 때문이라고 판단된다.

본 연구를 통하여 혼합베리 A(아사이베리-아로니아-크랜베리 혼합 조성물)의 항산화 안정성을 증진시키기 위한 최적 나노 캡슐 제조 조건을 확립하는데 성공하였으며, 최적조건에서 제조된 나노캡슐이 캡슐화되지 않은 유리 항산화물에 비하여 항산화 안정성을 증진시킨 것을 다양한 *in vitro*와 *in vivo* 방법을 통하여 검증하였다.

5. 향산화 효능 향상을 위한 최적의 식물발효균 생물전환공정 개발

가. 혼합베리A와 유산균을 이용한 대형 발효 조건 최적화

(1) 실험개요

1차년도 실험결과, flask 수준의 조건에서 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 사용하여 혼합베리A를 발효하였을 때, ORAC assay를 통해 향산화능이 증진되는 것을 확인하였음. 이러한 유산균 발효 베리주스의 산업화를 위하여 발효기를 이용한 발효조건 최적화 연구를 수행하고 이를 통해 최적 공정을 개발하고 scale-up을 위한 연구를 아래와 같은 방법으로 수행하였다.

(2) 실험방법

발효에 이용한 동결건조된 *Lactobacillus plantarum* LP-115와 혼합베리A 농축액은 (주)동원으로부터 제공받아 사용하였다.

유산균의 원활한 생육을 위해 5 M NaOH를 사용하여 pH를 조절한 혼합베리A 농축액을 발효기(BIOSTAT b plus, Satorius, working volume 1L)를 사용하여 발효를 진행하였다.

동결건조된 *Lactobacillus plantarum* LP-115는 1 g/L로 접종하였으며, 1.0 vvm의 통기조건으로 배양을 수행하였다.

발효는 48시간 진행하였으며, 12시간 간격으로 시료를 채취하여 향산화능 분석(ORAC assay)을 진행하였으며, 소모되는 glucose와 xylose, 생성되는 lactate를 HPLC를 사용하여 분석하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 실험으로 시행하였음. 통계처리는 windows용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

유산균은 발효 시 젖산을 생성하므로 채취한 시료의 pH 측정 후, pH가 감소하는 것으로 유산균의 생육여부를 판단하였다.

최적 발효조건을 선정하기 위해, 먼저 다양한 온도조건(25, 30, 35℃)에서 발효하여 확보한 시료를 사용하여 ORAC 및 HPLC 분석한 후, 그 결과를 바탕으로 혼합베리A 발효의 최적 온도조건을 설정하였다.

이 후, 발효기의 rpm을 200, 300, 400 그리고 500으로 조절하여 최적 rpm 조건을 선정하였음.

마지막으로, 선정한 최적 온도, rpm 조건에서 유산균 LP-115의 최적 생육을 위해 혼합베리A의 초기 pH를 5, 6, 7, 8로 조절한 뒤 발효하여 최적 pH 조건을 선정하였다.

최적 선정 조건에서 최적 pH를 유지하여 주는 것이 향산화능과 관련있는지의 여부를 판단하기 위하여 발효하는 동안의 pH를 6과 7로 유지하여 발효를 진행한 뒤, pH를 유지하지 않은 베리 발효주스와 ORAC assay를 통한 향산화능의 결과를 비교하였다.

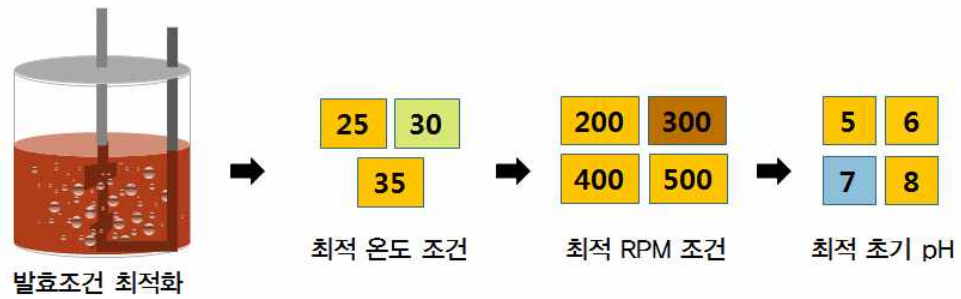


그림 292. 혼합베리A의 발효조건 최적화

(3) 실험결과

① 온도 조건 최적화

㉠ 25℃

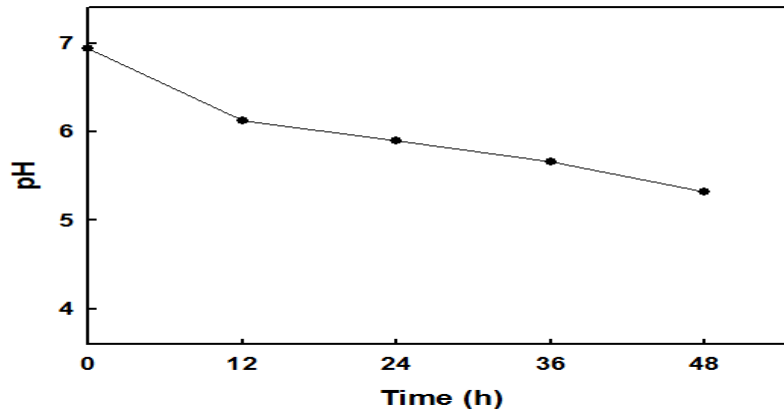


그림 293. 25℃에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

그림 293.는 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 25℃에서 발효를 진행 했을 때 시간별 pH 변화를 나타낸 결과이며 시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 나타내었다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과, glucose와 xylose 소비와 lactate 생성을 관찰하였으며 약 23.51 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였다.

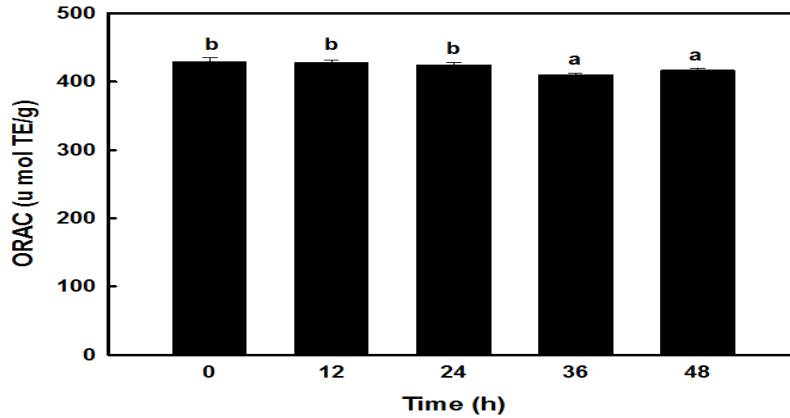


그림 294. 25°C에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 혼합베리A 농축액에 접종하여 25°C의 조건으로 48시간동안 발효를 진행하고 12시간 간격으로 ORAC assay를 통해 측정된 항산화능의 변화를 나타내었다(그림 294).

Lactobacillus plantarum LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액의 발효 결과, 시간이 경과함에 따라 항산화능이 48시간 까지 유지되는 경향을 보이며 초기 약 $429.29 \pm 5.96 \mu\text{mol TE/g}$ 의 항산화능이 발효 48시간 후 약 $416.68 \pm 3.04 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소하였음. 따라서, 25°C의 조건에서 대형 발효를 진행하였을 경우 항산화능의 증진이 없음을 확인하였다.

Ⓢ 30°C

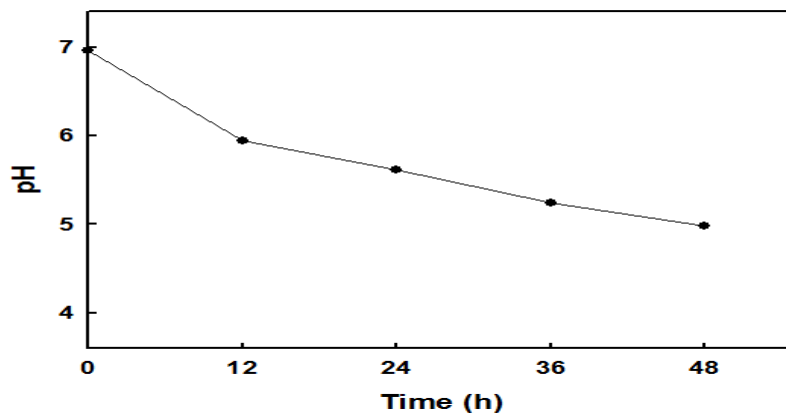


그림 295. 30°C에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

그림 295.는 혼합베리A 농축액에 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 30°C 조건에서 대형발효를 진행하였을 때 12시간 간격으로 pH를 측정된 결과이며, 시간이 경과함에 따라 pH가 크게 감소하는 것을 확인하였다.

25°C의 조건에서 대량발효를 진행하였을 때보다 pH 변화량이 크게 감소하였으며 48시간 때의 pH는 4.98까지 감소하였다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과, 당의 소비와 lactate의 생성을 확인하였으며 48시간 때

lactate를 약 29.48 g/L만큼 생성함을 확인하였음. 이는 25°C 조건에서 대량발효의 lactate 생산량보다 약 5.97 g/L 많이 생성함을 확인하였다.

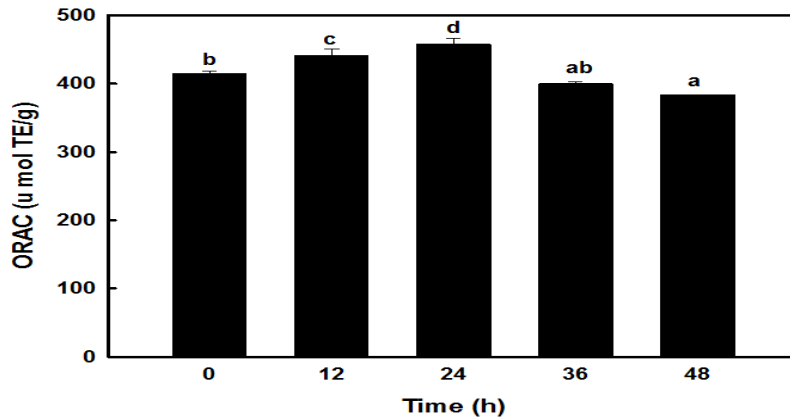


그림 296. 30°C에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 296.는 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 30°C에서 대량발효를 진행하여 12시간 간격으로 ORAC assay를 통한 항산화능의 변화를 나타냈다.

30°C에서 대량발효를 진행한 결과, 24시간까지 유의적인 항산화능의 증진을 보였으나 이후 시간이 경과함에 따라 항산화능의 지속적 감소가 나타났다.

24시간에 항산화능이 약 $457.79 \pm 8.11 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 0시간에 비해 약 10.21% 증가한 것으로 나타났다.

㊦ 35°C

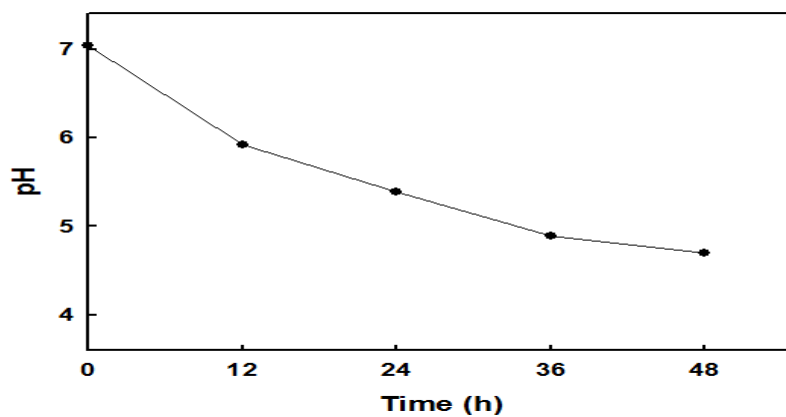


그림 297. 35°C에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 35°C 조건에서 대량발효를 진행하였을 때의 pH 변화량을 나타내었으며 48시간 동안 지속적으로 pH가 감소하는 것을 확인하였다(그림 297).

48시간 때 pH가 4.70으로 온도 조건별 대량발효를 진행한 3가지 조건 중 pH 감소량이 가장 큰 것으로 나타났다.

HPLC로 대사산물 분석을 실시한 결과, 다른 온도 조건들에 비교하여 lactate가 31.71 g/L로 가장 높게 나타났다.

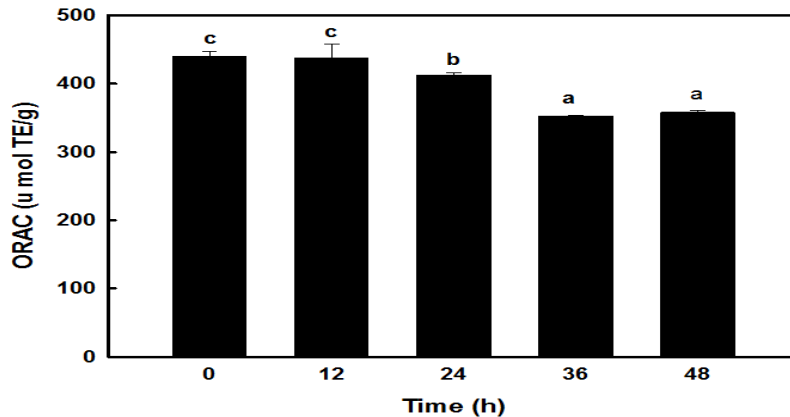


그림 298. 35°C에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 35°C 조건에서 대량발효를 진행한 결과를 12시간 간격으로 48시간 동안 항산화능의 변화를 나타내었다(그림 298).

시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하는 경향을 보였으며 특히 12시간 이후부터 급격히 감소하다가 36시간부터 유지되는 경향을 나타내었다.

항산화능이 초기 439.80 ± 7.77 μmol TE/g에서 발효 48시간 후 357.87 ± 2.90 μmol TE/g으로 감소하여 약 18.62%의 감소율을 보였다.

Lactate의 생성량이 가장 높았지만 항산화능 증진이 없는 것으로 보아 lactate 생성량과 항산화능에 연관성은 없는 것으로 사료되어졌다.

따라서, *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 대량발효의 최적 온도조건은 항산화능 증진이 가장 높은 30°C의 조건이 적합하다고 사료되어졌다.

② rpm 조건 최적화

㉞ 200 rpm

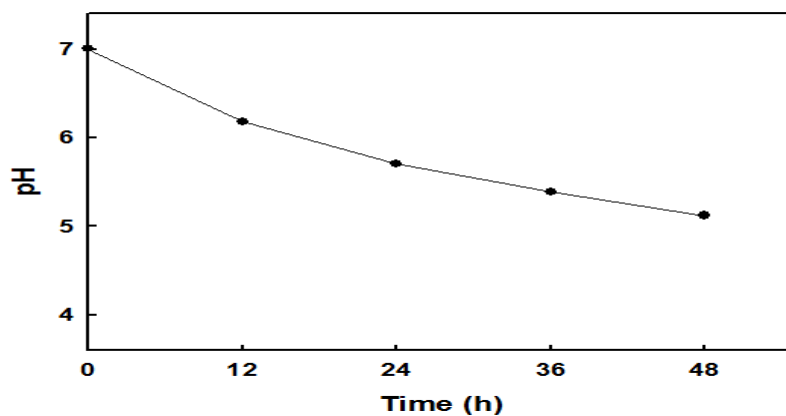


그림 299. 200 rpm에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

200 rpm의 조건에서 대량발효를 진행하였으며 48시간 동안 12시간 간격으로 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액의 pH 변화를 나타내었다(그림 299). 48시간까지 지속적으로 pH가 감소하는 것을 확인하였으며 발효 48시간 후 pH 5.12로 감소하였다.

대사산물 분석을 위해 HPLC를 이용하였으며 당을 소비하여 34.32 g/L의 lactate를 생성하였다. 이는 rpm 조건별 대량발효에서 가장 높은 lactate 생성량이다.

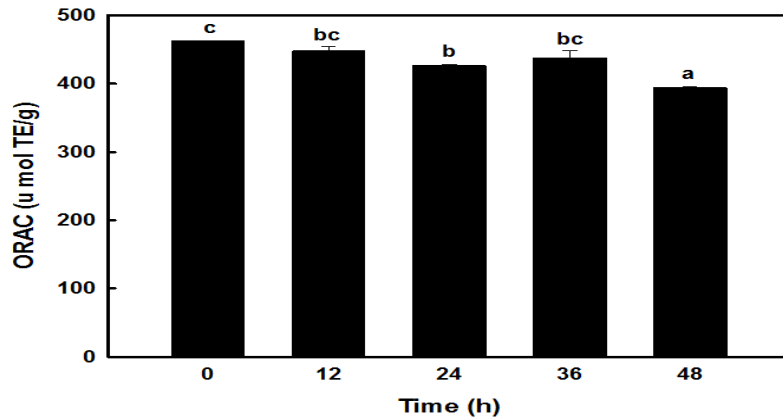


그림 300. 200 rpm에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 300.는 200 rpm 조건에서 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 대량 발효한 결과이며 48시간 동안 12시간 간격으로 항산화능을 측정하여 나타내었다.

시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하였으며 초기 $462.72 \pm 0.37 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 48시간 후 $394.34 \pm 1.94 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소하여 약 14.78%의 감소율을 확인하였다.

따라서, 200 rpm 조건의 대량발효에서 혼합베리A 농축액을 *Lactobacillus plantarum* LP-115로 발효 하였을 경우 항산화능의 증진은 없다는 것을 확인할 수 있었다.

㉞ 300 rpm

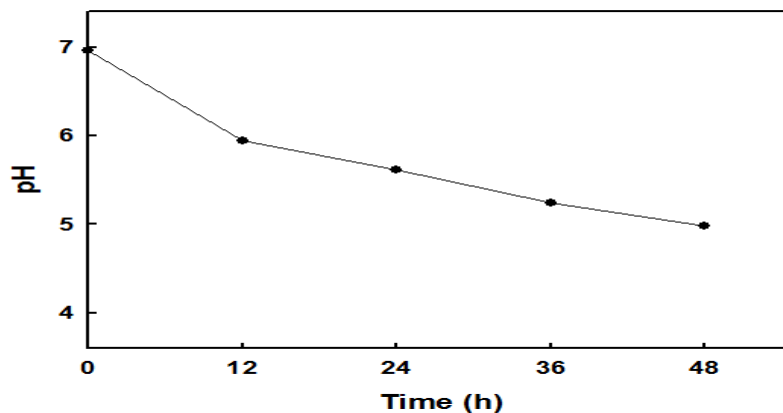


그림 301. 300 rpm에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

그림 301.은 300 rpm 조건의 대량발효에서 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합 베리A 농축액의 48시간 동안 pH 변화량을 나타낸 결과임.

시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 보였으며 초기 pH 6.96에서 발효 48시간 후 pH 4.93으로 약 2.03 감소하였다.

HPLC를 이용한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose 소비를 확인하였으며, 30.18 g/L의 lactate 생성을 확인하였다.

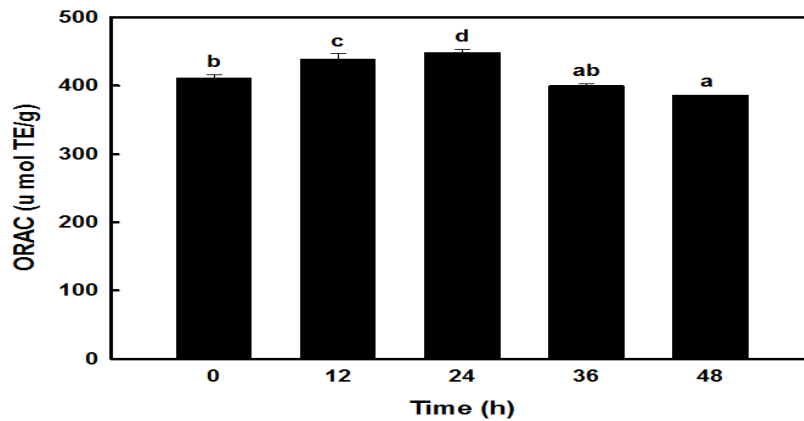


그림 302. 300 rpm에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 302.은 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 이용하여 혼합베리A 농축액을 300 rpm 조건에서 대량발효하여 12시간 간격으로 ORAC assay를 통한 항산화능을 측정하여 48시간 동안의 변화를 나타내었다.

300 rpm에서 대량발효를 진행한 경우 발효 24시간까지 항산화능이 증가했다가 이후 감소하는 경향을 나타내었고 이 후 시간이 경과함에 따라 항산화능이 감소하였다.

항산화능이 초기 $411.79 \pm 4.11 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 24시간 후 $457.38 \pm 4.27 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 증가하여 약 11.08%의 증가율을 보였으며 발효 48시간 후 $386.41 \pm 0.18 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소하였다.

㉔ 400 rpm

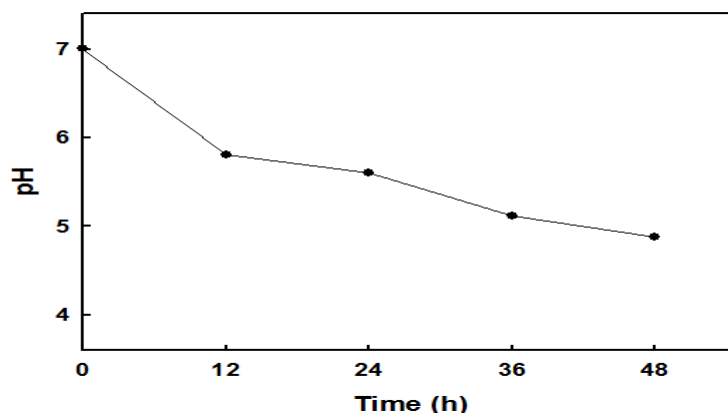


그림 303. 400 rpm에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

혼합베리A 농축액에 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 400 rpm 조건의 대량발효를 수행하였을 때 48시간 동안 pH의 변화를 나타내었다(그림 303).

시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 나타냈으며 초기 pH 7.00에서 발효 48시간 후 pH 4.88으로 약 2.12 감소함을 확인하였다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose를 소비하고 32.96 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였다.

높은 rpm 조건에서도 *Lactobacillus plantarum* LP-115의 생육이 억제되지 않음을 확인하였고 대사산물 또한 낮은 rpm에서와 유사하게 생성함을 확인하였다.

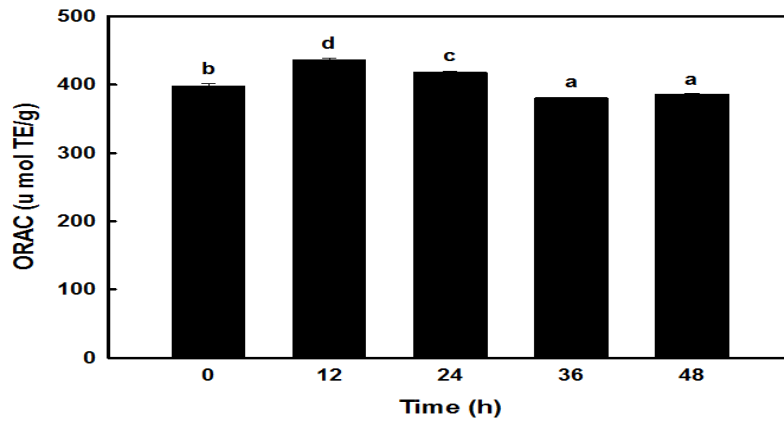


그림 304. 400 rpm에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

400 rpm 조건에서 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액의 대량발효를 진행하였으며 그에 따라 48시간 동안 12시간 간격으로 항산화능의 변화를 나타내었다(그림 304).

시간이 경과함에 따라 12시간 까지 항산화능이 증가하는 경향을 확인 하였으나 이 후, 발효 48시간 까지 항산화능이 감소하는 경향을 확인하였다.

초기 항산화능이 $397.78 \pm 3.54 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 12시간 후 $436.60 \pm 2.64 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 9.76%의 증가율을 보였다.

이후 48시간 까지 항산화능이 점차 감소하였으며 발효 48시간 후 $386.35 \pm 0.59 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소함을 확인하였다.

400 rpm에서 항산화능 증진이 관찰되었지만 300 rpm과 비교하여 낮은 증진률을 보였음. 따라서, 400 rpm보다 300 rpm이 혼합베리A 대량발효 조건에 적합한 것으로 사료되어졌다.

라 500 rpm

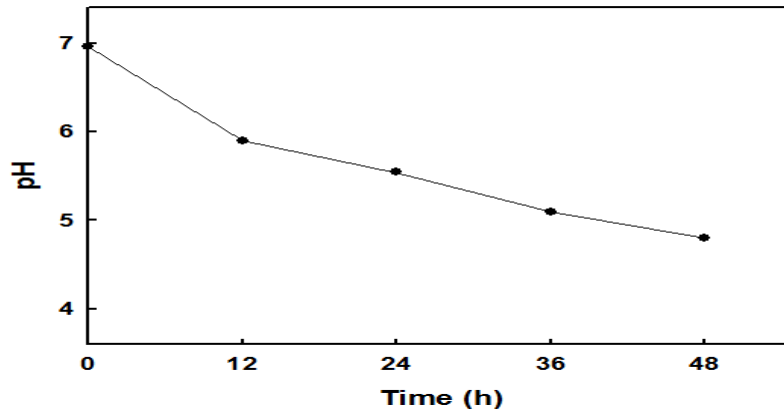


그림 305. 500 rpm에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

그림 305.는 혼합베리A 농축액에 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 500 rpm의 조건에서 대량발효를 진행하였을 때 48시간 동안 12시간 간격의 pH 변화를 나타내었다. 시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 나타내고 있으며 초기 pH 6.96에서 발효 48시간 후 pH 4.80으로 약 2.16 감소함을 나타내었다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 당(glucose, xylose)를 소비하여 28.37 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였다.

500 rpm에서도 낮은 rpm에서와 마찬가지로 유산균의 생육, 대사산물의 생성이 유사하게 나타나는 것을 확인하였음. 따라서, 높은 rpm에서도 유산균의 생육에는 문제가 없다고 사료되어졌다.

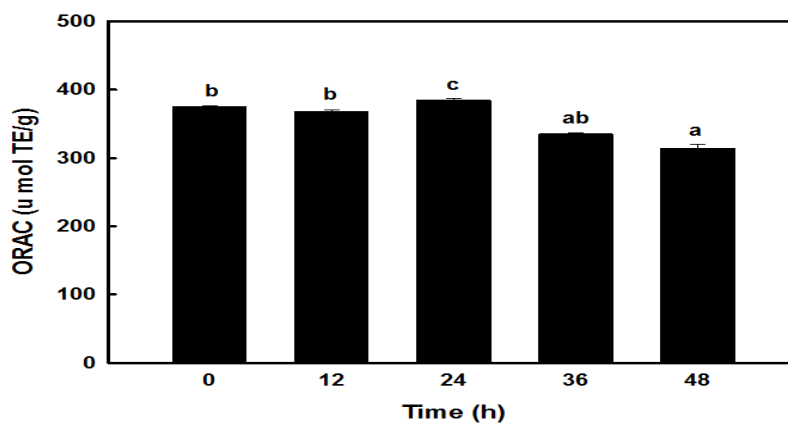


그림 306. 500 rpm에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 306.는 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 500 rpm에서 대량발효를 진행 하였을 때 ORAC assay를 통한 항산화능의 변화를 나타내었음.

48시간 동안 12시간 간격으로 항산화능을 측정 한 결과, 발효 12시간까지 항산화능이 유사하게 유지되는 경향을 보였으나 발효 24시간 경과 후 항산화능이 증가하였다가 이 후 감소하는 경향을 나타내었음.

초기 항산화능이 $375.25 \pm 1.16 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 24시간 후 $384.42 \pm 3.13 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 2.39% 증가함을 나타내었음. 그 후 발효 48시간 후 항산화능이 $314.44 \pm 5.65 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소함을 확인하였음.

500 rpm에서 항산화능의 증진을 보였지만 300 rpm의 항산화능 증진률에 비하여 약 8.69% 낮은 증진률을 보임. 따라서, 혼합베리A의 대량발효는 300 rpm 조건이 적합한 것으로 사료되어 짐.

③ 초기 pH 조건 최적화

㉞ 초기 pH 5.00

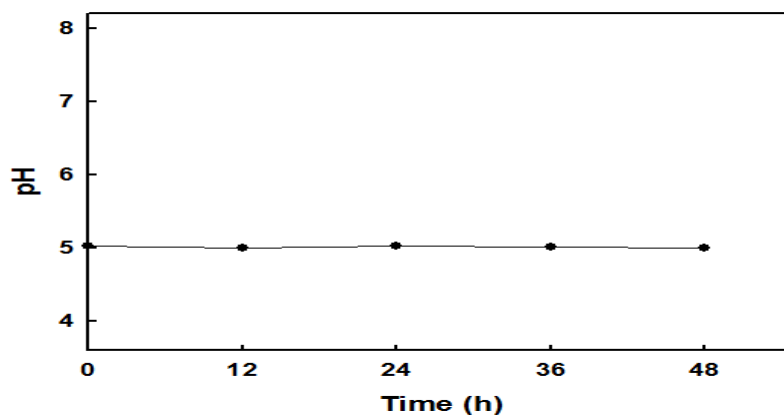


그림 307. 초기 pH 5.00에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 혼합베리A 농축액에 접종하여 초기 pH 5.00으로 조절하여 48시간 동안 대형발효를 진행하였으며 12시간 간격으로 pH의 변화를 나타내었음(그림 307).

시간이 경과해도 pH의 변화가 거의 없는 것으로 나타나며, HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose의 소비가 거의 없었으며 lactate 또한 생성되지 않았음.

따라서 낮은 pH로 인해 *Lactobacillus plantarum* LP-115가 혼합베리A 농축액에서 생육하지 못한 것으로 사료됨.

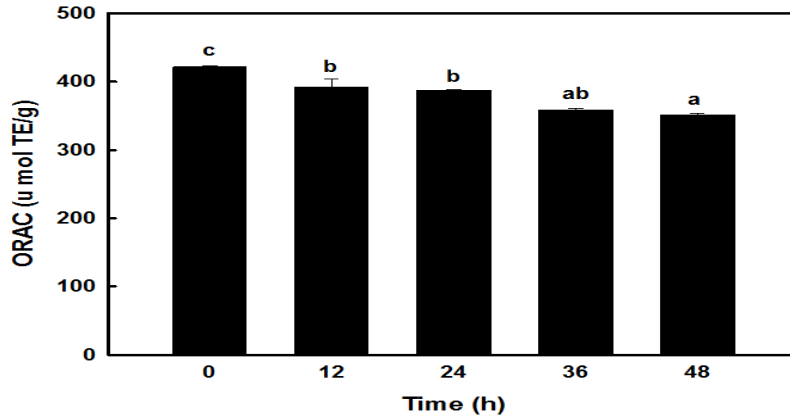


그림 308. 초기 pH 5.00에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 308.은 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 초기 pH 5.00으로 조절하여 대량발효를 진행하였을 때 시간별 항산화능의 변화를 나타낸 결과이다.

시간이 경과함에 따라 유의적으로 항산화능이 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 항산화능이 $421.57 \pm 1.86 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 48시간 후 $351.32 \pm 2.76 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 16.66% 감소율을 나타내었다.

낮은 pH로 인해 *Lactobacillus plantarum* LP-115의 생육이 저해됨에 따라 항산화능 또한 증진 없이 감소하는 것으로 사료됨. 즉, pH 5.00은 혼합베리A 발효에 적합하지 않은 것으로 사료된다.

Ⓢ 초기 pH 6.00

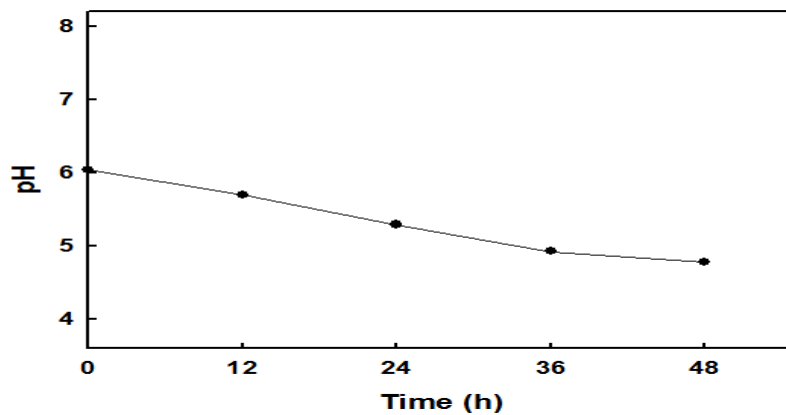


그림 309. 초기 pH 6.00에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

혼합베리A 농축액에 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 초기 pH를 6.00으로 조절하고 대량발효를 48시간동안 진행하였음. 이에 따른 12시간 간격의 pH 변화를 나타내었다(그림 309.).

시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 보였으며 pH 5.00 이하로 낮아지면서 감소량이

줄어 들었음. 초기 pH 6.04에서 발효 48시간 후 pH 4.78으로 약 1.26 감소함을 나타내었다. HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose를 소비하여 33.23 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였다.

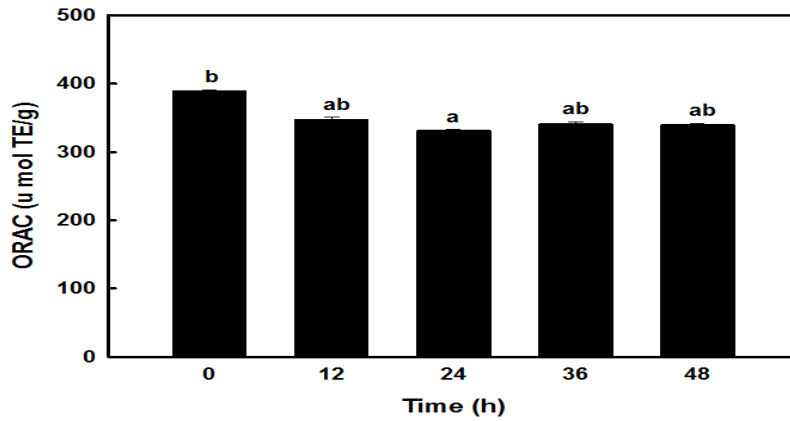


그림 310. 초기 pH 6.00에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

초기 pH 6.00으로 조절한 혼합베리A 농축액에 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 대량발효를 48시간 동안 진행하였으며 12시간 간격으로 ORAC assay를 이용하여 항산화능 변화를 나타내었다(그림 310).

발효 12시간 후 항산화능이 급격히 감소하는 것을 확인하였고, 이 후 발효 48시간 까지 항산화능이 유사하게 유지하는 것을 확인하였다.

초기 항산화능이 $390.12 \pm 1.15 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 48시간 후 $340.16 \pm 0.95 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소하여 약 12.81% 감소율을 나타내었으며 초기 pH 6.00 조절 조건에서 혼합베리A의 대량발효는 적합하지 않은 것으로 사료되어진다.

㊤ pH 7.00

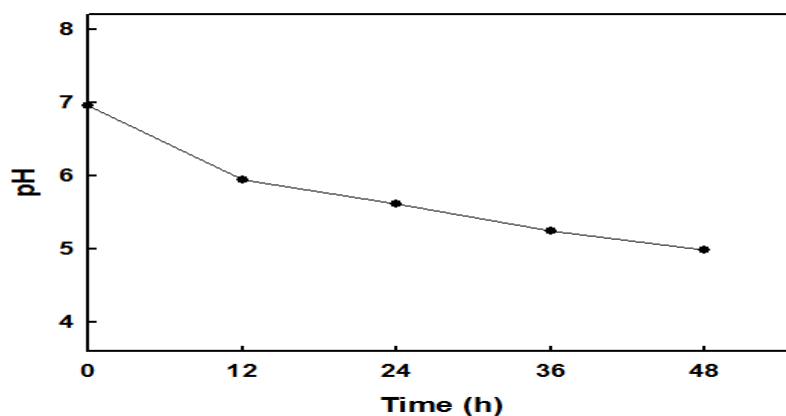


그림 311. 초기 pH 7.00에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

그림 311.은 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 초기 pH 7.00로

조절한 후 대량발효를 진행하여 48시간동안 12시간 간격으로 pH 변화량을 나타낸 결과이다. 시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 보였으며 초기 pH 6.96에서 발효 48시간 후 pH 4.93으로 약 2.03 감소하였다.

초기 pH를 7로 조절하였을 경우가 다른 pH 조절 조건에 비해 유산균의 생육과 대사산물 생성이 활발하게 일어난 것으로 확인되어진다.

위의 자료는 300 rpm의 발효조건에서 pH의 변화를 나타낸 자료와 동일한 자료이다.

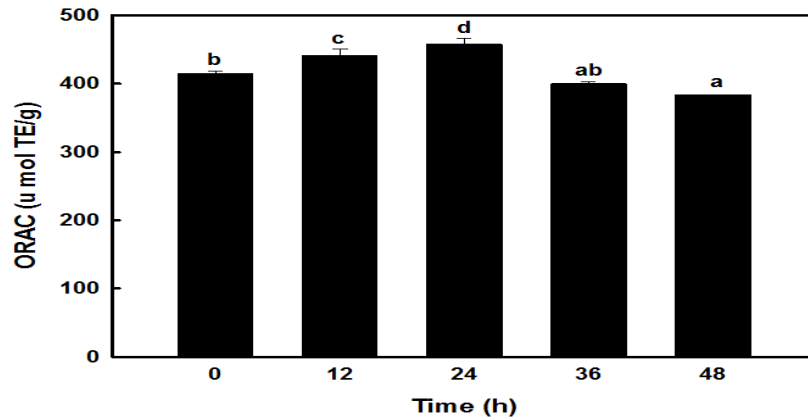


그림 312. 초기 pH 7에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 접종한 혼합베리A를 초기 pH 7로 조절하여 발효를 진행하였고 시간별로 항산화능을 측정하여 결과를 나타내었음(그림 312).

시간이 경과함에 따라 유의적인 항산화능 증진을 보였다가 이후 감소하는 경향을 나타내었음.

위의 자료는 300 rpm의 발효조건에서 항산화능의 변화를 나타낸 자료와 동일한 자료이다.

다른 초기 pH 조절 조건에 비교하여 초기 pH 7.00 조건의 혼합베리A 대량발효가 항산화능 증진이 나타났으며 그 증진률 또한 11.08%로 가장 높은 것으로 확인되어진다.

따라서, 초기 pH 7.00 조절 조건에서의 혼합베리 발효가 적합할 것으로 사료되어진다.

㉔ pH 8.00

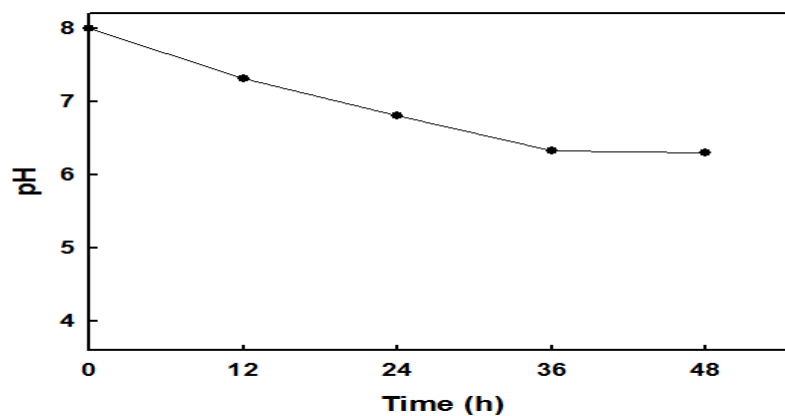


그림 313. 초기 pH 8.00에서 혼합베리 발효물의 pH 변화

그림 313.는 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 초기 pH 8.00에서 대량발효를 진행 했을 때 12시간 간격으로 pH 변화를 나타낸 결과이며, 시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 나타내었다.

초기 pH 8.00에서 발효 48시간 후 pH 6.30으로 약 1.70 감소함을 나타내었음. 다른 초기 pH 조건의 pH 결과에 비하여 높은 pH 상태를 나타내었다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose를 소비하여 22.64 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였으며 pH 6, 7의 조건에 비해 lactate의 생성량이 적었다.

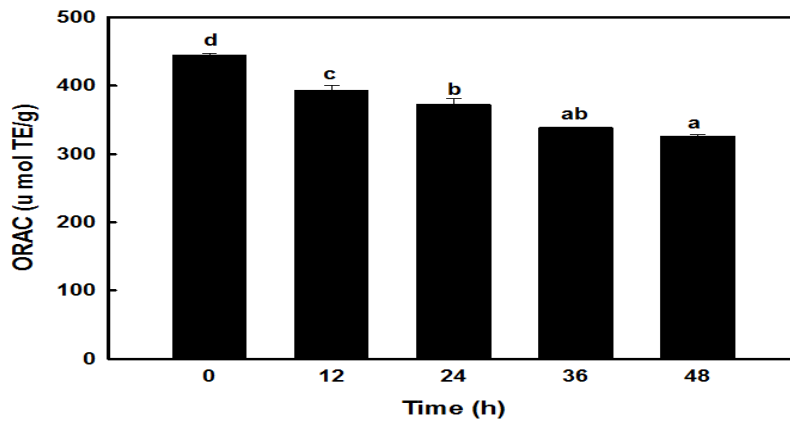


그림 314. 초기 pH 8.00에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액을 초기 pH 8.00으로 조절해준 조건에서 대량발효를 진행한 결과를 12시간 간격으로 48시간 동안 항산화능의 변화를 나타내었다(그림 314).

시간이 경과함에 따라 항산화능이 유의적으로 감소하는 경향을 나타냈으며, 발효 초기 항산화능이 $445.17 \pm 1.70 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 48시간 후 $326.46 \pm 2.22 \mu\text{mol TE/g}$ 로 감소하였으며 약 26.67% 감소율을 나타내었다.

초기 pH가 8.00으로 조절됨으로써 *Lactobacillus plantarum* LP-115의 생육이 어려웠기 때문에 항산화능의 증진 또한 나타나지 않은 것으로 사료되어진다.

④ pH 유지 조건 최적화

㉞ pH 6.00 유지

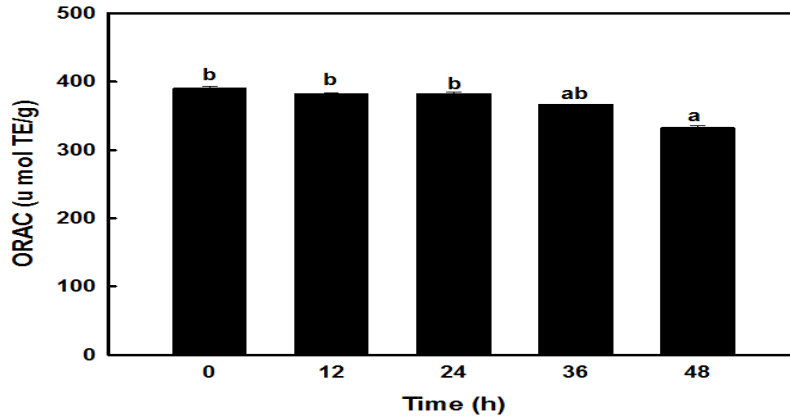


그림 315. pH 6.00 유지 조건에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 315.는 *Lactobacillus plantarum* LP-115가 접종된 혼합베리A를 48시간동안 pH 6.00으로 조절하여 발효를 진행하여 항산화능의 변화를 나타내었음. 5 M NaOH를 이용하여 발효물의 pH를 유지하였다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose를 소비하여 28.74 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였다.

시간이 경과함에 따라 항산화능이 어느 정도 유지되다가 감소하는 경향을 보였으며 초기 항산화능이 $390.43 \pm 2.97 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 48시간 후 $332.99 \pm 2.83 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 14.7%의 감소율을 나타내었다.

발효 초기 pH 6.00으로 조절하고 유지하지 않았던 결과에 비하여 항산화능이 유지되는 것으로 나타났지만 이 후 항산화능이 감소하는 경향을 나타냄으로 발효조건에는 적합하지 않는 것으로 사료된다.

㉞ pH 7.00 유지

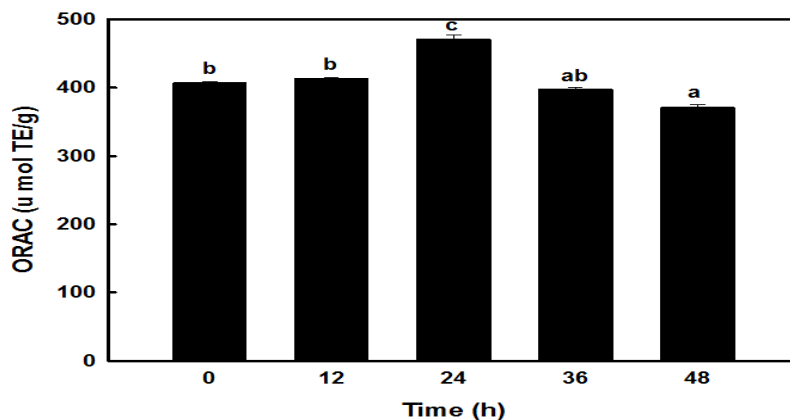


그림 316. pH 7.00 유지 조건에서 혼합베리 발효물의 항산화능 변화

그림 316.는 48시간동안 pH 7.00으로 조절하여 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 발효를 진행한 혼합베리A의 항산화능 변화를 나타내었음. 5 M NaOH를 이용하여 발효물의 pH를 유지하였다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose를 소비하여 29.07 g/L의 lactate를 생성함을 확인하였다.

발효 24시간 후 높은 항산화능 증진을 보였으며 이 후 항산화능이 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 항산화능 $407.27 \pm 1.59 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 $471.18 \pm 0.64 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 15.69% 증진률을 보였으며 이 후 $371.13 \pm 4.12 \mu\text{mol TE/g}$ 까지 감소하였다.

pH 7.00으로 유지하지 않은 상태의 발효결과에 비하여 더 높은 항산화능 증진률을 보였음. 따라서, *Lactobacillus plantarum* LP-115가 접종된 혼합베리A의 대형발효는 pH 7.00으로 유지해 준 상태가 높은 항산화능 증진을 나타낸다.

5. 유산균과 초산균을 이용한 발효액의 항산화능 증진 원인 분석

가. 10종 과채류 농축액의 free form 또는 conjugated form phenol 분석

(1) 실험개요

1~2차년도 연구결과 유산균 또는 초산균을 사용하여 다양한 베리류 및 과채류 농축액의 발효를 진행한 결과, 발효시간이 경과함에 따라 항산화능이 증가하는 경향을 보인 실험구에서도 항산화능과 연관이 있다고 알려진 총 phenol이나 총 flavonoid 함량의 상관성을 확인하지 못하였다.

베리류의 항산화능에 관한 문헌을 조사한 결과, phenol은 free form과 conjugated form의 형태로 나뉘어 있는데, free form의 항산화능이 conjugated form보다 높다고 알려져 있다.

따라서, 총 phenol 함량의 변화가 없어도 총 phenol 내의 free phenol 함량이 증가할 경우 항산화능의 증진이 있을 것이라고 판단하여 10종의 과채류의 free form 그리고conjugated form phenol의 함량을 측정하였다.

(2) 실험방법

실험에 사용한 10종의 과채류 및 혼합베리A 농축액은 (주)동원 F&B로부터 제공받았다.

10종의 과채류와 혼합베리A 농축액의 free form phenol과 conjugated form phenol을 추출하기 위해 유기용매를 이용한 추출방법을 사용하였다.

10종의 과채류와 혼합베리A 농축액은 나중에 동결건조 과정을 진행 시 높은 당농도로 인한 시료의 넘침 현상을 방지하고자 당농도를 10 g/L로 희석하여 진행하였다.

준비된 10종의 과채류와 혼합베리A 농축액 5 mL에 10 mM의 HCl 1 mL을 첨가하여 vortexing 과정을 진행하였고 이 후 1:1 비율로 혼합된 유기용매 diethyl ether - ethyl acetate 5 mL을 첨가하여 vortexing 과정을 진행하였다.

4000 rpm에서 10분간 원심분리를 진행하고 유기용매에 의해 분리된 상등액을 분획하였고 다시 유기용매 diethyl ether - ethyl acetate 5 mL를 첨가하여 위와 같은 과정을 3

회 반복하여 free form phenol을 추출하였음. 이 후 분획한 유기용매층은 vaccum evaporator(EYELA, Korea)를 이용한 건조 과정을 통하여 유기용매를 제거하고 free form phenol 시료를 준비하였다.

위의 과정을 진행하면서 유기용매층이 제거되고 남은 물층을 이용하여 conjugated form phenol 시료를 준비하였음. 분획 과정을 마치고 남은 물층은 동결건조법을 이용하여 시료를 준비하였다.

동결건조 과정은 -80℃의 초저온 냉동고(DAIHAN Scientific, Korea)에서 48시간 동안 시료를 냉동한 후 동결건조기(ilSHinBioBase, Korea)를 이용하여 72시간 동안 동결건조 하였음.

동결건조가 완료된 11종의 과채류 시료를 증류수를 사용하여 적정 농도로 희석한 후 실험에 사용하였다.

과채류 농축액 80 μL에 10% Folin-Ciocalteus's phenol reagent 80 μL 및 2% Na₂CO₃ 용액 80 μL를 첨가하였다.

혼합액을 상온에서 1시간 동안 암반응 한 후, microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

표준물질로는 galic acid를 사용하였으며, 이를 이용하여 작성한 검량선에 측정값을 대입하여 결과 값을 도출하였다.



그림 317. Phenol 함량 측정 과정

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

(3) 실험결과

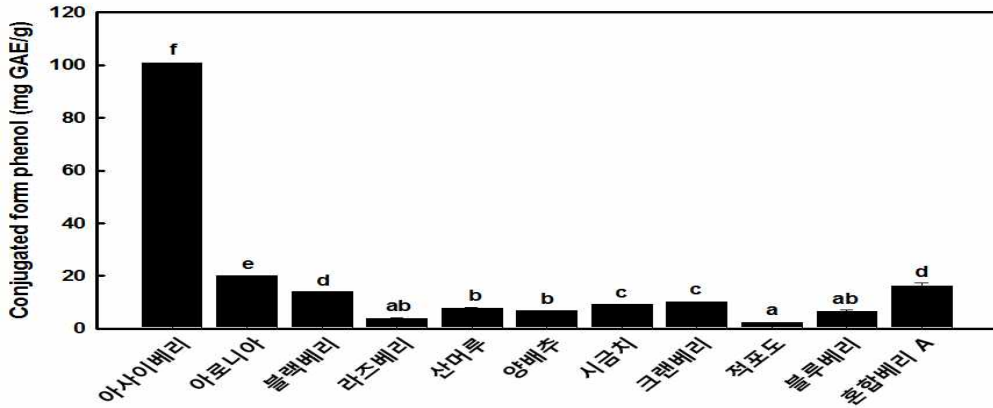


그림 318. 과채류 농축액의 Conjugated form phenol 함량

표 114. 과채류 농축액의 conjugated form phenol 함량

번호	과채류 농축액	Conjugated form phenol (mg GAE/g)
1	아사이베리	100.91 ± 0.01
2	아로니아	20.12 ± 0.11
3	블랙베리	13.89 ± 0.10
4	라즈베리	3.90 ± 0.09
5	산머루	7.74 ± 0.14
6	양배추	6.69 ± 0.11
7	시금치	9.10 ± 0.01
8	크랜베리	10.16 ± 0.09
9	적포도	2.21 ± 0.08
10	블루베리	6.60 ± 0.40
11	혼합베리A	16.04 ± 1.24

10종의 과채류와 혼합베리A 농축액의 conjugated form phenol 측정 결과를 그림 318. 표 114.에 나타내었다.

아사이베리가 100.91 ± 0.01 mg GAE/g의 값으로 가장 높은 conjugated phenol 함량을 나타내었으며, 이는 2차년도 실험결과 중, 아사이베리의 총 phenol 함량이 가장 높았던 것과 유사한 경향이다.

아로니아가 20.12 ± 0.11 mg GAE/g 으로 아사이베리의 뒤를 이어 높은 phenol 함량을 나타내었으며, 혼합베리A(16.04 ± 1.24 mg GAE/g)와 블랙베리 (13.89 ± 0.10 mg GAE/g) 순서로 높은 함량을 나타내었다.

이에 비해, 라즈베리(3.90 ± 0.09 mg GAE/g)나 적포도 (2.21 ± 0.08 mg GAE/g)은 상대적으로 낮은 conjugated phenol 함량을 보였다.

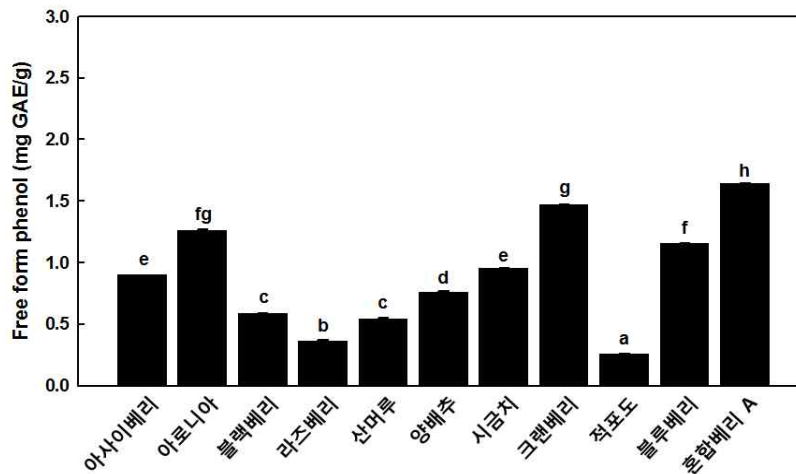


그림 319. 과채류 농축액의 Free form phenol 함량

표 115. 과채류 농축액의 free form phenol 함량

번호	과채류 농축액	Free form phenol (mg GAE/g)
1	아사이베리	0.90 ± 0.01
2	아로니아	1.26 ± 0.01
3	블랙베리	0.59 ± 0.03
4	라즈베리	0.37 ± 0.02
5	산머루	0.54 ± 0.01
6	양배추	0.76 ± 0.04
7	시금치	0.95 ± 0.08
8	크랜베리	1.47 ± 0.01
9	적포도	0.26 ± 0.02
10	블루베리	1.16 ± 0.06
11	혼합베리A	1.65 ± 0.02

그림 319, 표 115.는 10종의 과채류 및 혼합베리A 농축액의 free form phenol 함량을 측정된 결과이며, conjugated form phenol의 경향과는 다르게 나타났다.

Conjugated form phenol 함량에 비하여 free form phenol의 함량은 매우 적었으며, 이는 기존의 연구결과들과 유사한 경향이다.

아사이베리의 경우 conjugated form phenol 함량은 가장 높았으나, free form phenol 함량의 경우 0.90 ± 0.01 mg GAE/g으로 시금치(0.95 ± 0.01 mg GAE/g)와 유사한 함량을 나타내었다.

혼합베리A 농축액의 free form phenol 함량은 1.65 ± 0.02 mg GAE/g 으로 11종의 농축액 중 가장 높은 함량을 나타냈으며, 이는 conjugated form phenol의 함량도 높았던 것과 유사한 경향이다.

크랜베리 농축액은 conjugated form phenol 함량이 다른 과채류에 비해 낮았으나, 1.47 ± 0.01 mg GAE/g의 free form phenol 함량을 나타내며 혼합베리A 다음으로 높은 함량을 나타내었다.

다.

11종의 과채류의 conjugated form 및 free form phenol 함량을 측정한 결과, 두 형태의 phenol의 상관관계는 유의적으로 나타나지 않았다.

나. 유산균을 이용한 혼합베리A 발효액의 phenol 분석

(1) 실험개요

1차년도 실험결과, *Lactobacillus plantarum* LP-115를 사용하여 혼합베리A를 발효하였을 때, 항산화능이 증진되었다.

따라서, *Lactobacillus plantarum* LP-115를 사용하여 발효를 진행한 혼합베리A 시료의 conjugated form과 free form을 분석하여, 항산화능 변화에 따른 각각 phenol 함량의 변화를 확인하였다.

(2) 실험방법

발효에 이용한 동결건조된 *Lactobacillus plantarum* LP-115와 혼합베리A 농축액은 (주)동원 F&B로부터 제공받았다.

혼합베리A 농축액의 pH는 *Lactobacillus plantarum* LP-115이 생육하기 적합한 pH인 7.0으로 5 M NaOH를 이용하여 조절한 뒤, *Lactobacillus plantarum* LP-115를 1 g/L로 접종하여 48시간 동안 발효하였다.

발효시작 후 12시간마다 시료를 채취하여 free form 과 conjugated form phenol 함량을 분석하였다.

free form phenol과 conjugated form phenol의 추출 및 동결건조 과정에서 시료의 건조중량이 매우 작은 양으로 측정되어 phenol 분석 이후 결과 값 도출 시 오류가 발생하였다.

따라서 phenol 함량의 단위는 실험에 사용된 혼합베리A의 양을 이용하여 phenol 분석 이후 결과 값을 도출함으로써 mg GAE/mL의 단위를 사용하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

(3) 실험결과

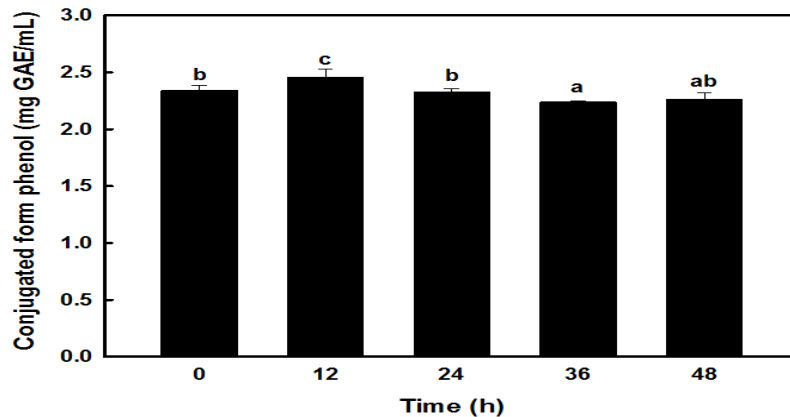


그림 320. 혼합베리A 발효액의 Conjugated form phenol 변화

Lactobacillus plantarum LP-115를 이용하여 발효한 혼합베리A 발효액의 시간별 conjugated form phenol 함량 변화를 나타내었다(그림 320).

발효 후 12시간 동안은 conjugated form phenol 함량이 증가하였으나, 그 이후로는 점차 감소하였다.

이는 1, 2차년도 실험결과에서 시간이 경과함에 따라 항산화능 및 phenol, flavonoid의 함량이 감소하였던 것과 비슷한 경향이다.

2시간이 경과하였을 때, 0시간(2.357 ± 0.02 mg GAE/mL)의 conjugated phenol 함량에 비하여 약 0.1 mg GAE/mL 만큼 증가한 것을 확인하였으며, 이는 1차년도 실험 결과 중 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액에서 12시간에 항산화능이 증가하였던 결과와 일치하는 경향을 보였다.

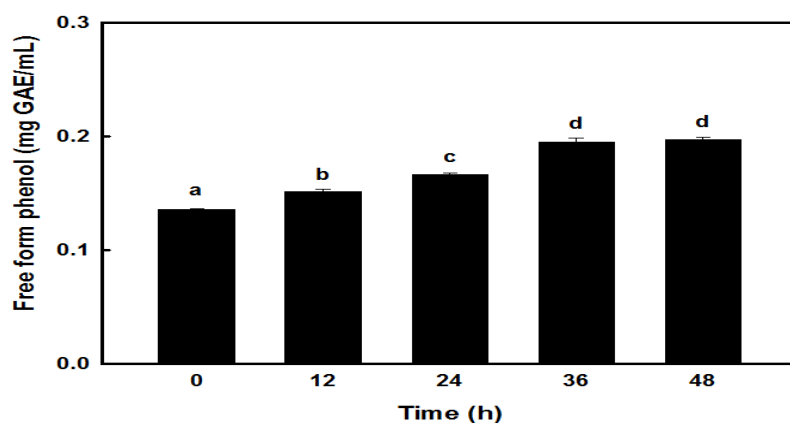


그림 321. 혼합베리A 발효액의 Free form phenol 변화

발효 시간이 경과함에 따른 혼합베리A 발효액의 free form phenol의 변화량을 그래프로 나타내었다(그림 321).

Free form phenol 함량은 발효 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 이는

conjugated form phenol이 시간이 경과하며 감소한 것과는 상이한 결과이다.

발효 초기와 발효가 완료되었을 때의 phenol 함량을 비교하여 보면, 발효 초기에 비하여 발효가 끝나는 48시간까지 약 1.7배 증가하였으며, 0.197 ± 0.01 mg GAE/mL 의 값을 나타낸다.

1차년도의 결과를 살펴보면, 항산화능은 발효 초기에는 증가하였으나, 시간이 지날수록 감소하였는데, free form phenol의 함량이 상대적으로 너무 낮아 항산화능의 감소에는 영향을 주지 못한 것으로 생각된다.

다. 초산균을 이용한 블랙베리 발효액의 phenol 분석

(1) 실험개요

2차년도에 블랙베리 농축액을 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322를 이용하여 발효한 결과, 항산화능의 증진을 확인하였다.

항산화능의 증진되었으므로, *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322를 접종하여 발효한 블랙베리 농축액의 free form 및 conjugated form phenol의 함량에도 변화가 있을 것이라고 생각하였다.

(2) 실험방법

발효에 이용한 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322는 한국미생물보존센터(KCTC)에서 분양받았으며, 블랙베리 농축액은 (주)동원으로부터 제공받았다.

증류수를 이용하여 블랙베리 농축액을 포도당 농도 1%로 희석 한 후, 5 M NaOH를 이용하여 pH 7.0 으로 조정하였다. 그 후 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322의 성장을 위해 에탄올을 3%(v/v) 첨가 한 후, 실험에 사용할 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322를 접종하였다.

Acetobacter pasteurianus KCTC22322는 30°C, 200 rpm에서 72시간 전배양 후 OD를 1로 맞추어 접종하였으며, 접종 후 총 48시간 동안 배양하였다.

시료는 12시간 간격으로 채취하였으며, free form 및 conjugated form phenol 함량을 분석하였다.

Acetobacter pasteurianus KCTC22322를 이용하여 발효를 진행한 블랙베리의 경우에도 phenol 추출 및 동결건조 과정 후 건조중량이 매우 소량이기 때문에 phenol 함량 측정 시 오류가 발생하기 때문에 mL 단위로 결과값을 도출하여 mg GAE/mL의 단위를 사용하였다.

실험에서 얻어진 결과는 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군당 3개의 시료를 사용하여 실험은 3회 반복 시행하였음. 통계처리는 windows용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산 분석을 실시하였으며, Duncan의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

(3) 실험결과

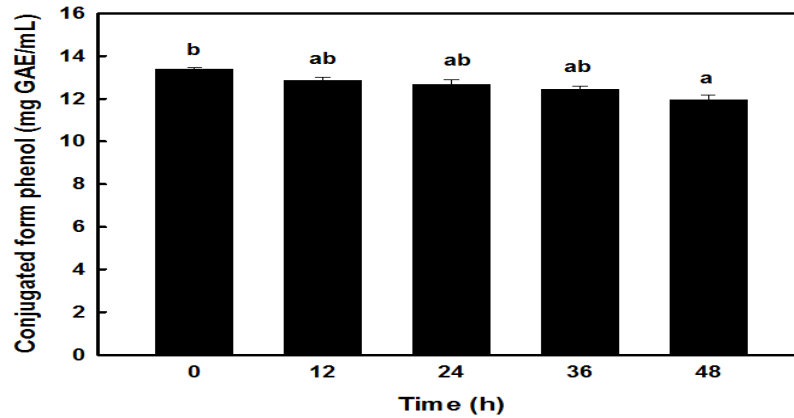


그림 322. 블랙베리 발효액의 Conjugated form phenol 변화

Acetobacter pasteurianus KCTC22322를 접종한 블랙베리 발효액의 conjugated form phenol은 시간이 경과함에 따라 그 함량이 감소하였다(그림 322).

발효 초기에는 13.38 ± 0.06 mg GAE/mL의 conjugated form phenol 함량을 나타내었으나, 발효가 끝나는 48시간의 phenol 값은 11.96 ± 0.19 mg GAE/mL으로 발효 초기에 비하여 11% 감소하였다.

이는 2차년도에서 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322를 접종한 블랙베리 발효물이 발효 초기에 비하여 12시간이 경과하였을 때, 약 49.64% 증진한 것과는 상이한 결과이다.

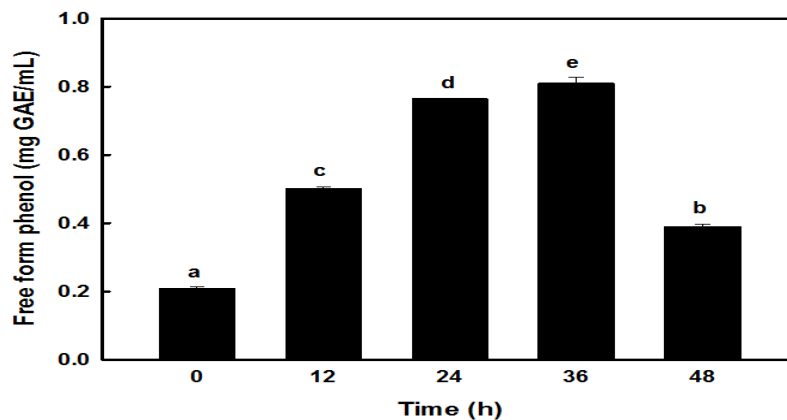


그림 323. 블랙베리 발효액의 Free form phenol 변화

그림 323.는 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322를 이용하여 발효를 진행한 블랙베리 발효액의 free form phenol 함량 변화를 발효시간별로 나타내었다.

Conjugated form phenol은 발효 시간이 경과함에 따라 서서히 감소하였지만, free form phenol은 발효 경과 후 36시간(0.810 ± 0.02 mg GAE/mL)까지 증가하여서 발효초기(0.209 ± 0.01 mg GAE/mL)에 비하여 약 4배 가까이 증가하였다.

그러나, *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 발효액 free form phenol결과와

마찬가지로, 값이 증가하여도 그 함량이 상대적으로 너무 낮아 ORAC value에는 영향을 끼치지 못할 것으로 판단된다.

Lactobacillus plantarum LP-115와 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322을 접종한 과채류 발효액의 conjugated form과 free form phenol 함량을 분석한 결과, 두 형태의 phenol과 항산화능 증진의 큰 연관성을 발견 못하였으므로, 다른 방법을 사용하여 *Lactobacillus plantarum* LP-115, *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322와 항산화능의 상관관계를 분석할 필요가 있는 것으로 사료된다.

(4) 결론

베리류는 천연 산화방지제인 anthocyanin, flavonol, phenolic acid 와 같은 polyphenol 과 vitamin C 성분이 배당체의 형태로 존재하며 높은 함량으로 구성되어 있는 것으로 알려져 있습니다. 흥미롭게도 이러한 배당체 형태로 구성되어 항산화 활성을 나타내는 성분들은 당쇄 분해효소에 의해 당이 제거될 때 항산화 활성이 증가하거나 감소하는 변화를 나타내는 것으로 보고되고 있습니다. (Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. Biochem. J. 248: 953-956 ,1987)

- 저희의 실험 결과에 따르면 유산균이나 초산균에 의한 발효를 통해 베리농축액의 항산화능이 증진되었음을 확인하였습니다. 이에 대한 원인을 알아보기 위해 다양한 가능성을 확인해 보았으며 특히 배양액의 휘발성 향기성분 분석 또는 메타볼롬 분석 등을 수행하였습니다.
- 휘발성 향기성분 분석 결과 benzoic acid 와 benzaldehyde 가 크게 증가하였음을 확인하였으며 이들은 각각 높은 항산화능을 가지는 것으로 알려져 있습니다. (Antioxidant properties of benzoic acid derivatives against superoxide radical. Free Radical. Antioxid.Free Radicals and Antioxidants 2: 62-67, 2012., Benzaldehyde as an insecticidal, antimicrobial, and antioxidant compound produced by *Photobacterium temperata* M1021. J. Microbiol. 53: 127-133, 2015) 이와 관련된 본 사업의 연구 결과 내용은 2017년 4월 Food Sci. Biotechnol. 논문에 게재될 예정입니다.
- 메타볼롬 분석 결과 quercetin 또는 genistein 계열의 물질들이 다량 확인되었습니다. 특히 quercetin은 rutin에서 당이 두 개가 제거된 형태이며 rutin에 비해 항산화 활성이 크게 높다고 알려져 있습니다(Attachment of rhamnosyl

glucoside on quercetin confers potent iron-chelating ability on its antioxidant properties. *Experimental and toxicologic pathology* 63.3 (2011): 249-255). 이는 발효 미생물의 당쇄 분해 효소에 의해 rutin의 화학구조에서 당이 제거됨으로써 항산화 활성이 증가 되었다고 사료됩니다. 현재 이부분은 추가 확인 실험이 진행중이며 결과가 정리되는 대로 추가 논문을 준비할 예정입니다.

- 이제까지의 연구 결과를 정리해보면 당쇄 분해 효소에 의해 베리류의 천연 항산화제인 polyphenol 성분들이 변화가 되어 항산화 활성이 증가 되었다고 예상됩니다. 하지만 아직까지 명확한 실험 결과는 얻지 못하여 향후 계속해서 실험을 진행할 예정이며 관련하여 결과가 도출되면 정리하여 논문으로 발표할 예정입니다.

라. 유산균을 이용한 혼합베리A 발효액의 휘발성 향기성분 분석

(1) 실험개요

1차년도에 혼합베리A를 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 사용하여 발효한 결과, ORAC assay의 값을 통한 항산화능의 증진이 확인되었다. 이러한 항산화능 증진이 발효액의 휘발성 향기성분 변화에 의한 결과일 것이라 생각하고 아래와 같은 실험을 진행하였다.

(2) 실험방법

발효에 사용한 *Lactobacillus plantarum* LP-115와 혼합베리A 농축액은 (주)동원으로부터 제공받아 사용하였다.

동결건조 되어 있는 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 1 g/L로 접종하였으며 혼합베리A 농축액은 *Lactobacillus plantarum* LP-115의 원활한 생육을 위해 5 M NaOH를 이용하여 pH를 조절하여 30°C, 200 rpm 조건에서 발효를 진행하였음. 36시간 동안 발효를 진행하였으며 0, 6, 12, 24, 36시간에 시료를 채취하여 ORAC assay를 진행하였다.

발효 시간에 따른 시간별 *Lactobacillus plantarum* LP-115에 의해 발효된 혼합베리A 농축액의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 solid phase microextraction (SPME)법을 이용하였다. 시료를 head space vial에 넣고 Teflon cap으로 밀봉하고 SPME fiber (50/30 μ m divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane)를 사용하여 40°C에서 휘발성 향기성분을 추출하였다. 그리고 gas chromatography의 주입구(200°C)에서 탈착시켰음. 추출은 두 번 반복으로 실시하였다.

휘발성 향기성분 분석은 gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)를 사용하였다. Agilent 6890N GC/Agilent 5973 mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였고, 컬럼은 DB-wax (60 m length \times 0.25 mm i.d \times 0.25 μ m film thickness

: J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다.

표 116. 휘발성 향기성분 분석을 위한 GC-MS 분석 조건

Injection port temperature	200°C
Detector temperature	250°C
Capillary direct interface temperature	280°C
Ionization voltage	70 eV
Mass range	33-350 amu
Flow rate of helium	1.0 mL/min

Oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min 속도로 승온 시켜 주었고 20분간 유지하였다.

휘발성 향기성분 동정은 문헌상의 머무름지수(RI)와 mass spectrum을 비교하여 진행하였으며 Wiley/7n mass spectral database (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다.

모든 실험은 3회 반복 시행하였으며 통계처리는 windows용 SPSS 21.0 version을 이용하여 분산분석을 실시하였고 Scheffe's의 다중범위검정법으로 유의성을 검정하였다.

(3) 실험결과

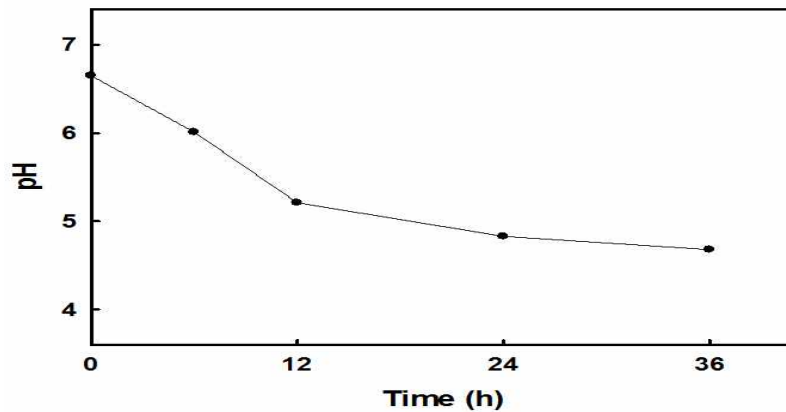


그림 324. 혼합배리A 발효물의 pH 변화

그림 324.은 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 혼합배리A 농축액에 접종하여 36시간 동안 발효를 진행하였을 때 pH의 변화를 나타내었다.

시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 경향을 보이며 초기 pH 6.65에서 발효 36시간 후 pH 4.68으로 감소함을 확인하였다.

HPLC를 통한 대사산물 분석 결과 glucose와 xylose를 소비하여 lactate를 생성하였으며 36시간의 발효를 진행하는 동안 *Lactobacillus plantarum* LP-115의 생육에 문제가 없음을 확인하였다.

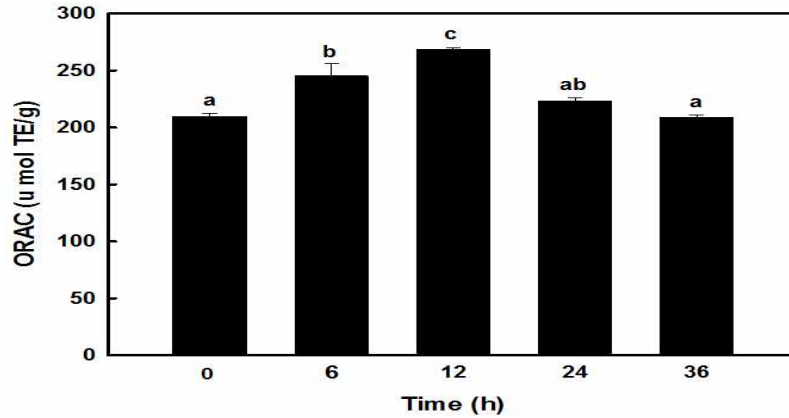


그림 325. 혼합베리A 발효물의 항산화능 변화

그림 325.는 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 발효액의 시간별 항산화능 변화를 나타내었음. 시간이 경과함에 따라 유의적인 항산화능의 증가를 관찰하였으나 발효 12시간 후 항산화능이 급격히 감소하는 것을 확인하였다.

발효 초기 $209.58 \pm 2.94 \mu\text{mol TE/g}$ 에서 발효 12시간 후 $268.30 \pm 1.75 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 약 28.02% 증가함을 확인하였고, 발효 48시간 후 항산화능이 $208.70 \pm 1.95 \mu\text{mol TE/g}$ 으로 감소함을 확인하였다.

Lactobacillus plantarum LP-115를 접종한 혼합베리A 발효액에서 항산화능의 증진이 일어나는 것이 *Lactobacillus plantarum* LP-115의 대사산물에 의한 결과일 것이라 사료되어 SPME 방법과 GC-MS를 통한 휘발성 향기성분 분석을 실시하였다(표 117. 118. 119.).

분석 결과 alcohol성분 3종, terpene성분 7종, ketone성분 3종, acid성분 4종, aldehyde성분 3종, ester성분 2종과 lactone 성분, phenol성분, miscellaneous성분 각각 1종씩 총 34종의 휘발성 향기성분과 3가지 알 수 없는 성분을 확인하였으며, 이 중 acid 그룹과 aldehyde 그룹의 peak areas 변화가 각각 약47%, 122%로 가장 크게 나타났음. 반면에 terpene 그룹의 peak area 변화는 약 64% 감소된 것으로 나타났다.

표 117. 혼합베리A 발효물의 휘발성 향기성분 변화

No	Compound name	Peak area (x10 ⁶)				
		0 h	6 h	12 h	24 h	36 h
Alcohol						
1	1-hexanol	2.77±0.04	2.60±0.06	1.89±0.01	2.04±0.05	1.95±0.02
2	(Z)-3-hexenol	36.22±1.00	34.56±0.62	24.20±0.02	26.50±0.61	24.82±0.08
3	2-ethyl-1-hexanol	2.42±0.31	1.85±0.00	1.71±0.01	1.86±0.04	1.64±0.08
4	1-octanol	2.14±0.26	1.43±0.11	1.49±0.08	1.49±0.10	1.29±0.03
5	benzyl alcohol	2.68±0.09	2.75±0.05	3.05±0.06	2.72±0.01	2.90±0.07
6	2-phenyl ethanol	3.81±0.23	3.69±0.06	4.57±0.38	3.64±0.13	3.90±0.10
7	1-dodecanol	11.99±1.49	3.57±0.31	8.59±1.33	5.61±0.23	4.03±0.07
Total	62.03±1.86	50.45±0.71	45.50±1.39	43.86±0.68	40.53±0.18	tr
Total		79.40±1.17	51.83±1.56	9.05±0.07	26.30±0.61	8.16±0.48
Terpene						
8	isocineole	7.77±0.78	5.62±0.46	tr	3.25±0.25	tr
9	1,8-cineole	3.39±0.41	4.40±0.31	1.36±0.16	3.66±0.24	tr
10	<i>trans</i> -linalool oxide	21.73±1.17	21.74±0.57	20.31±0.08	20.60±0.10	22.11±0.42
11	<i>cis</i> -linalool oxide	7.69±0.26	7.87±0.44	8.18±0.04	7.56±0.08	9.43±0.30
12	2,6,6-trimethyl-10-methylidene-1-oxaspiro[4.5]dec-8-ene	143.87±2.20	106.17±7.63	2.86±0.42	12.30±0.75	1.73±0.13
13	linalool	13.48±1.48	12.88±0.24	11.02±0.22	12.22±0.21	11.60±0.10
14	1-terpineol	2.49±0.10	2.46±0.06	2.23±0.24	2.23±0.00	2.16±0.03
15	4-terpineol	4.66±0.37	4.08±0.08	3.69±0.18	3.96±0.09	3.87±0.16
16	β-terpinol	6.70±0.29	5.71±0.09	4.53±0.04	4.50±0.11	4.77±0.15
17	α-terpineol	36.46±1.33	36.91±0.91	32.85±0.43	32.67±0.30	35.34±0.65
18	γ-terpineol	7.02±0.26	7.09±0.19	6.12±0.02	5.89±0.05	6.49±0.07
Total		255.26±5.13	214.93±7.74	93.15±0.74	108.84±0.92	97.50±0.88

⌘ 117. Continued

No	Compound name	Peak area (x10 ⁶)				
		0 h	6 h	12 h	24 h	36 h
Ketone						
19	3-penten-2-one	321.23±7.71	323.65±3.69	292.24±5.14	332.41±4.90	321.88±0.43
20	4-hydroxy-2-pentanone	1.24±0.17	1.16±0.09	1.43±0.05	1.38±0.07	1.43±0.09
21	β-damascenone	4.01±0.33	3.51±0.15	3.16±0.15	3.54±0.14	2.52±0.28
22	γ-decalactone	1.82±0.09	2.64±0.32	1.50±0.01	nd	nd
Total		329.82±7.72	332.26±3.71	299.76±5.14	338.67±4.90	327.13±0.52
Aldehyde						
23	furfural	4.77±0.23	4.16±0.15	3.47±0.02	4.26±0.14	3.83±0.06
24	benzaldehyde	17.89±0.41	17.93±0.15	25.03±2.64	52.06±0.14	28.09±1.31
25	α-4-dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde	4.55±0.11	4.63±0.04	4.04±0.06	4.22±0.00	4.34±0.08
Total		27.21±0.48	26.72±0.21	32.54±2.64	60.54±0.19	36.26±1.31

⌘ 117. Continued

No	Compound name	Peak area (x10 ⁶)				
		0 h	6 h	12 h	24 h	36 h
Acid						
26	acetic acid	21.43±2.07	19.49±1.14	20.80±1.14	19.30±0.23	20.05±0.07
27	2-methylbutanoic acid	17.76±0.51	18.73±1.12	18.58±0.36	18.26±0.48	20.41±0.55
28	nonanoic acid	1.40±0.55	0.50±0.02	1.97±0.30	tr	tr
29	benzoic acid	102.65±8.60	135.32±9.40	168.84±0.28	158.18±11.31	154.69±11.53
Total		143.24±8.87	174.04±9.53	210.19±1.26	195.74±11.32	195.15±11.54
Ester						
30	methyl-2-furoate	6.06±0.26	5.60±0.17	6.01±0.51	5.57±0.14	5.66±0.10
31	benzyl acetate	11.14±3.34	4.07±0.50	6.19±0.53	5.35±0.31	3.59±0.13
Total		17.2±3.35	3.67±0.52	12.20±0.73	10.92±0.34	9.25±0.16
Furan						
32	3,9-epoxy-1- <i>p</i> -menthene	1.83±0.06	1.77±0.07	1.36±0.07	1.71±0.02	1.56±0.03
Total		1.83±0.06	1.77±0.07	1.36±0.07	1.71±0.02	1.56±0.03
Phenol						
33	guaiacol	0.69±0.01	0.46±0.00	0.43±0.01	0.65±0.00	0.40±0.02
Total		0.69±0.01	0.46±0.00	0.43±0.01	0.65±0.00	0.40±0.02
Miscellaneous						
34	2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl-2H-pyran	22.01±0.61	6.84±0.58	nd	nd	nd
Total		22.01±0.61	6.84±0.58	nd	nd	nd
Unknown						
35	unknown	29.16±0.15	16.44±1.33	nd	7.54±0.57	tr
36	unknown	33.30±0.81	19.25±0.76	tr	5.98±0.18	tr
37	unknown	16.94±0.83	16.14±0.33	9.05±0.07	12.78±0.12	8.16±0.23
Total		79.40±1.17	51.83±1.56	9.05±0.07	26.30±0.61	8.16±0.48

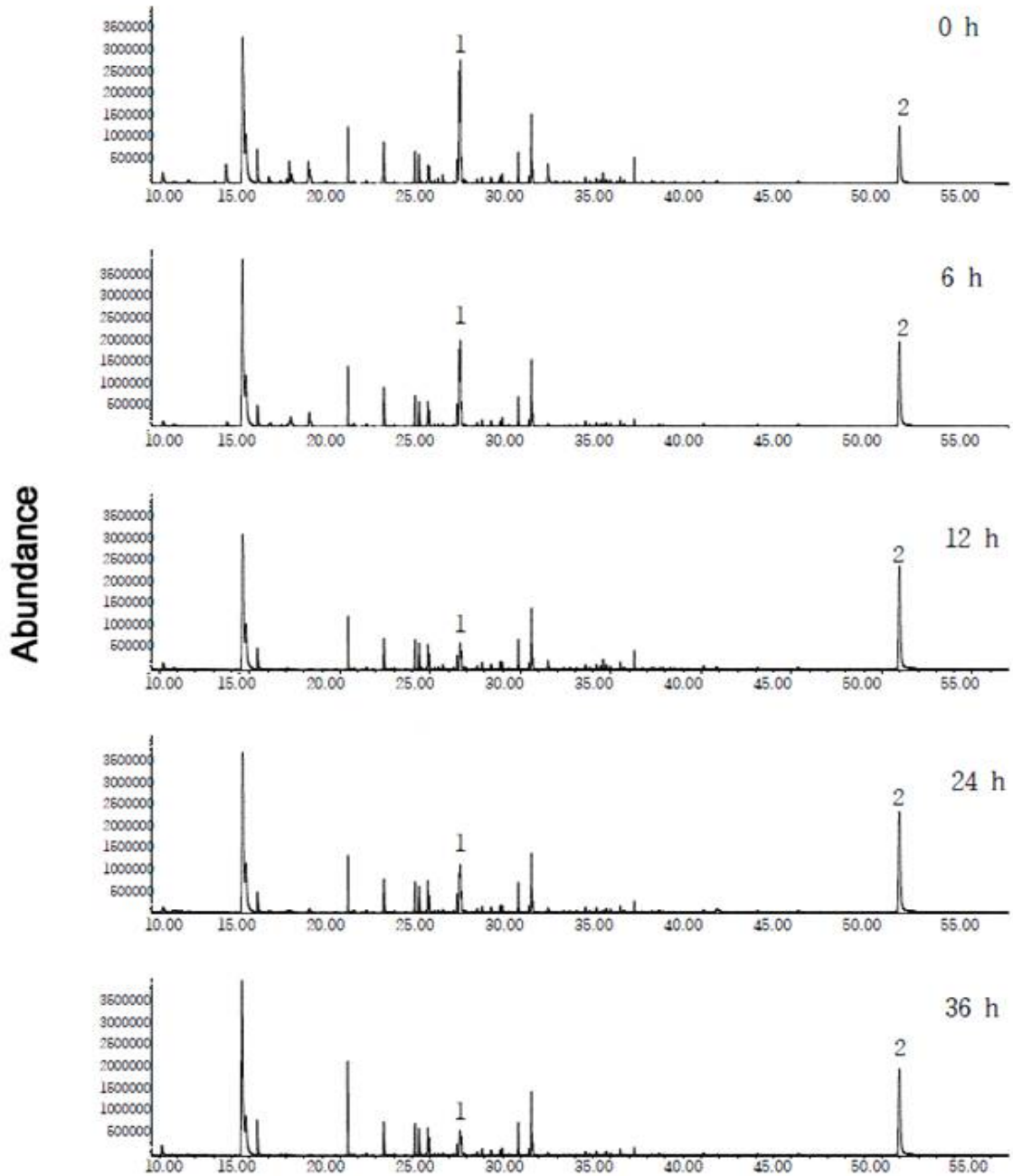


그림 325. 혼합베리A 발효물의 total ion chromatograms 변화

SPME 방법과 GC-MS를 통한 휘발성 향기성분 분석을 실시하여 total ion chromatograms으로 나타내었다. (그림 325.).

그림 325.에서 1번과 2번의 peak가 시간이 경과함에 따라 크게 변하는 것을 확인하였음. 1번의 peak는 vitispirane, 2번의 peak는 benzoic acid이며 benzaldehyde 경우에는 낮은 농도로 인해 육안으로 식별하기 어렵다.

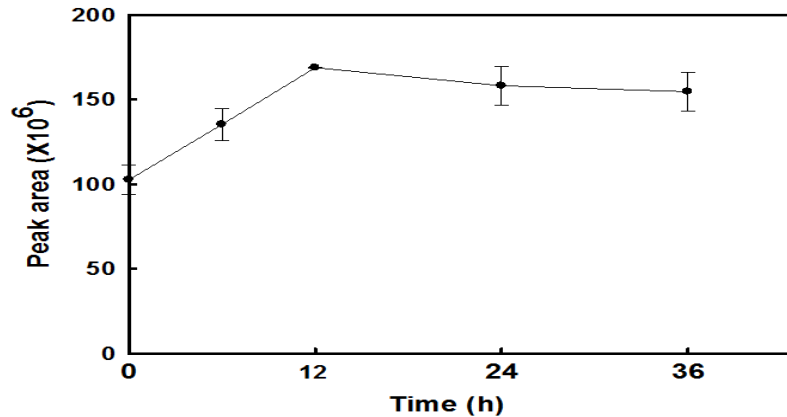


그림 326. 혼합베리A 발효물에서 Benzoic acid의 변화

그림 326.은 *Lactobacillus plantarum* LP-115에 의해 발효된 혼합베리A의 시간별 시료를 준비하여 GC-MS를 이용한 휘발성 향기성분 분석을 통해 benzoic acid의 변화를 나타낸 결과이다.

시간이 경과함에 따라 benzoic acid의 peak area가 증가하는 경향을 보이다가 발효 12시간 이후부터 감소하는 경향을 나타내었음. 초기 peak area 102.65×10^6 에서 발효 12시간 후 peak area 168.84×10^6 으로 약 64.48% 증가함을 나타내었다.

문헌들을 살펴본 결과 benzoic acid는 향균 활성으로 인해 식품 산업에서 보존제로 주로 사용되며, 다양한 종류의 free radical에 대해 항산화 활성을 갖는 것으로 알려져 있다.

이를 통해 휘발성 향기성분인 benzoic acid가 혼합베리A 발효물의 항산화능 증진에 큰 영향을 미친 것으로 사료된다.

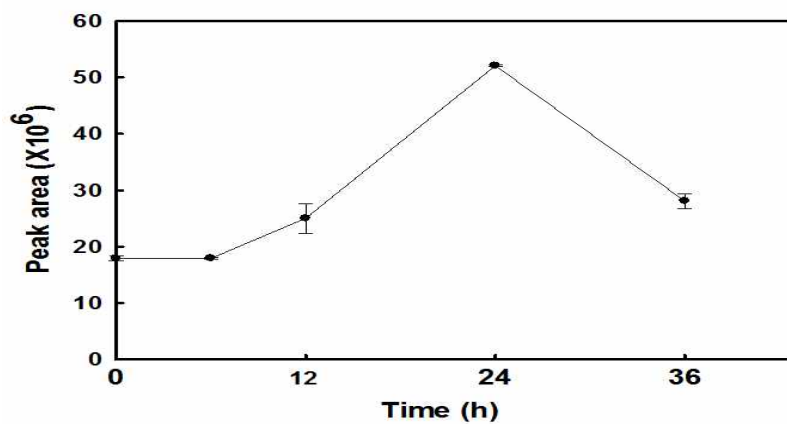


그림 327. 혼합베리A 발효물에서 Benzaldehyde의 변화

그림 327.은 혼합베리A 발효물을 GC-MS를 통해 휘발성 향기성분 분석을 진행하였을 때 나타는 benzaldehyde의 변화를 나타내었다.

Benzaldehyde는 발효 후 24시간까지 증가하는 경향을 보이다가 그 이후 크게 감소하는 경향을 나타내었다. 발효 초기 benzaldehyde의 peak area는 17.89×10^6 에서 발효 24시간 후 52.06×10^6 으로 약 191% 증가함을 나타냈으며, 이 후 28.09×10^6 까지 감소하는 것을 확인하였다.

휘발성 향기성분인 benzaldehyde는 문헌상에서 DPPH를 통한 분석 결과 강한 항산화 활성을 가지고 있다고 알려져 있으며 향균력과 살충력 또한 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 이를 통하여 benzaldehyde 또한 유산균 LP-115를 접종한 혼합베리A 농축액의 발효에서 항산화능 증진에 영향을 끼친 것으로 사료되어진다.

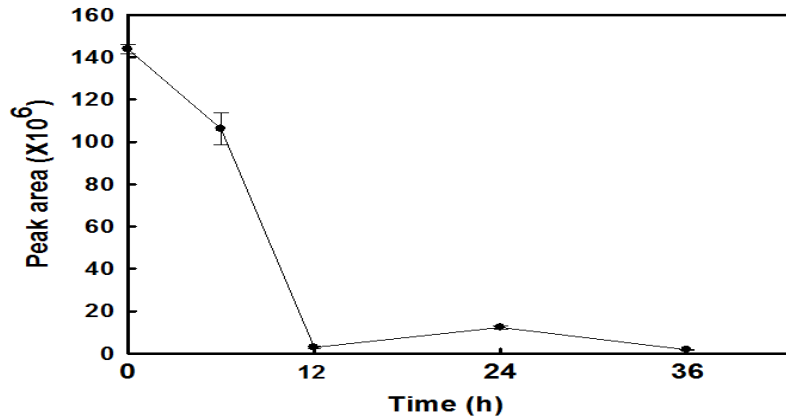


그림 328. 혼합베리A 발효물에서 Vitispirane의 변화

혼합베리A 농축액에 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종하여 36시간 동안 발효를 진행하였고 이 후 GC-MS를 통해 휘발성 향기성분 중 vitispirane의 시간별 변화를 확인하였다(그림 328.).

Vitispirane은 시간이 경과함에 따라 급격히 감소하는 경향을 나타내고 있으며 발효 12시간 후 많은 양의 vitispirane이 감소함을 확인하였음. 발효 초기 peak area 2.20×10^6 에서 발효 12시간 후 0.42×10^6 로 감소하였으며 발효 36시간 후 0.13×10^6 로 약 94.09% 감소함을 확인하였다.

이러한 vitispirane은 nor-isoprenoids 중 하나의 물질로 와인 향에 중요한 영향을 미치는 향기 성분이며 와인 숙성과정에서 농도가 증가하는 것으로 알려져 있다.

마. 유산균과 초산균을 이용한 발효액의 metabolome 분석

(1) 실험개요

1차년도와 2차년도 실험결과 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 사용하여 혼합베리A를 발효하였을 때와 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322을 사용하여 블랙베리를 발효하였을 때, 항산화능이 증진되었다.

따라서, 항산화능이 증진된 각 발효액을 metabolome 분석함으로써 항산화능 증진과의 연관성을 파악하고자 아래와 같은 실험을 진행하였다.

(2) 실험방법

발효에 사용한 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322와 *Lactobacillus plantarum* LP-115, 블랙베리 농축액과 혼합베리A 농축액은 (주)동원으로부터 제공받아 사용하였고 이전 연구의 향

산화능 증진이 확인된 조건에서 발효를 진행하였다.

블랙베리 농축액과 혼합베리A 농축액은 48시간 동안 발효를 진행하였으며 12시간 간격으로 시료를 채취하여 sonication 후에 ORAC assay를 진행하였음. 이 후, 0시간의 시료와 항산화능이 가장 높았던 시간의 시료를 이용하여 metabolome 분석을 진행하였다.

metabolome 분석 전에 발효액의 phenol 추출을 위해 발효액 5 mL에 10 mL의 ethyl acetate를 첨가하고 상온에서 30분간 교반시켜 준 후에 4000 rpm에서 원심분리 하여 상등액만 분획하는 과정을 2회 반복 진행하였다.

원심분리 후 남은 침전물에 acidic methanol (1 mL의 2 M HCl과 10 mL의 methanol) 을 첨가하고 30분간 상온에서 교반 후 원심분리하여 상등액을 분획하였음. 이 분획 과정을 통해 추출된 상등액을 동결건조하여 metabolome 분석을 진행하였다.

Metabolome 분석 전 methanol을 첨가하여 sonication을 10분간 진행하였고 13200 rpm에서 5분간 원심분리 후 상등액 100 µL에 70% acetonitrile 100 µL를 첨가하여 filtering을 진행하였다.

시료 분석은 Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS)를 이용하여 진행하였다. LC-MS 분석을 위해 Agilent 1290 Infinity Binary LC system을 사용하였고 컬럼은 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 column을 사용하였음. 컬럼의 온도는 35°C, injection volume은 10 µL로 진행 하였고, 용매로는 A(0.1% formic acid in water)과 B(0.1% formic acid in acetonitrile)를 0.3 mL/min의 유속으로 흘리면서 진행하였음. 이동상의 용매 조건을 gradient로 하여 분석을 진행하였으며, 각 시간별로 아래와 같은 gradient를 가하였다.

표 118. Liquid chromatography 분석 시 mobile phase gradient 조건

Time(min)	혼합베리 A(%)	혼합베리 B(%)
0	95	5
2	95	5
4	85	15
11	73	27
17	10	90
20	95	5

MS는 Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS를 사용하였고 ion polarity는 negative, mass range는 75~1000 m/z를 사용하여 진행하였다.

(3) 실험결과

㉞ 블랙베리

표 119. 블랙베리 발효액의 metabolome 분석 결과

Retention time	Putative ID	p-value	Fold change	0 hr	12 hr
7.67	Quercetin 7 -(rhamnosylglucoside)	0.02	N/A	0	894
19.30	Nicotinic acid adenine dinucleotide	0.02	44.70	17768	794282
10.17	Quercetin 3-O -(6"-acetyl-glucoside)	0.04	4.43	370	1639
9.35		0.02	3.37	192	648
6.50		0.04	1.70	915362	1559653
7.55		0.00	1.69	75375	127335
11.48		0.00	1.59	541711	858872

Acetobacter pasteurianus KCTC22322를 접종한 블랙베리 농축액을 48시간 동안 발효를 진행하였고 발효 초기의 시료와 항산화능이 가장 높았던 12시간의 시료를 이용하여 metabolome 분석을 진행하였다.

분석 결과 총 7가지의 물질이 증가됨을 확인하였고, 그 중 가장 크게 증가한 Quercetin 7-(rhamnosylglucoside), Nicotinic acid adenine dinucleotide, Quercetin 3-O-(6"-acetyl-glucoside)의 3가지 물질을 확인하였다.

Quercetin에 관한 문헌을 조사한 결과, Quercetin의 화학구조를 포함한 물질들이 높은 항산화능을 나타낸다고 알려져 있으며 Rutin과 비교하여 DPPH 방법으로 분석을 진행하였을 때 Quercetin의 항산화 활성이 더 높은 것으로 나타나 있다.

또한, Rutin의 화학구조는 Quercetin의 화학구조에 당이 두 개가 붙어있는 형태이며 이는 당쇄 분해 효소에 의해 Rutin의 화학구조에서 당이 제거됨으로써 항산화 활성이 증가 되었다고 사료되어진다.

결과적으로 이 3가지 물질 중 Quercetin 7-(rhamnosylglucoside)와 Quercetin3-O-(6"-acetyl-glucoside)이 *Acetobacter pasteurianus* KCTC22322를 접종한 블랙베리 농축액의 발효에서 항산화능의 증진에 원인이 되었다고 사료된다.

⊕ 혼합베리A

표 120. 혼합베리A 발효액의 metabolome 분석 결과

Retention time(RI)	Putative ID	p-value	Fold change	0 hr	24 hr
14.02	Sulfolithocholyl glycine	0.00	21.20	2255	47795
14.86	N1,N10-Diferuloylspermidine	0.00	19.56	2460	48107
6.05		0.00	7.88	933863	7358446
9.21	Genistein 5-O-glucuronide	0.04	7.34	41056	301461
2.15	Se-Adenosylselenohomocystein	0.00	6.35	2514526	15964035
3.20		0.00	6.34	641945	4071139
9.79		0.00	5.21	803894	4189651
3.43		0.00	4.74	880519	4175668
17.67		0.01	4.20	50762	213128
17.62		0.03	3.88	35056	135851
6.50		0.05	3.62	21673	78533
17.46		0.04	3.35	113411	379957
8.81		0.05	3.27	10010569	32685247
3.91		0.00	2.69	5612698	15087615
1.47		0.00	2.68	1885988	5047136
9.31		0.04	2.67	3497829	9326167
6.30		0.03	2.24	679398	1521178
6.79		0.03	2.20	103077	226239
6.07		0.00	2.18	670792	1464290

표 120.은 *Lactobacillus plantarum* LP-115를 접종한 혼합베리A 발효액을 이용하여 초기의 시료와 항산화능이 가장 높았던 발효 24시간 후의 시료로 metabolome 분석을 통한 물질의 변화량을 나타내었다.

분석결과 총 19가지의 물질이 증가되었음을 확인하였고, 그 중 변화량이 가장 큰 4가지 물질 Sulfolithocholyl glycine와 N1,N10-Diferuloylspermidine, Genistein 5-O-glucuronide, Se-Adenosylselenohomocystein 을 확인하였다.

Genistein에 관한 문헌들을 살펴본 결과, Genistein의 화학구조를 가지고 있는 물질이 항산화능을 나타내며 많은 연구에서 ROS (reactive oxygen species)를 효과적으로 제거할 수 있는 항산화제로 알려져 있음. 또한, 산화된 DNA damage에 반대하여 셀을 보호하고 암세포에서 glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다.

결과적으로, Genistein의 화학구조를 지닌 Genistein 5-O-glucuronide의 증가가 혼합베리A 발효물의 항산화능 증진에 영향을 미친 것으로 사료된다.

6. 다항산화 기능 증진을 위한 발효 및 캡슐화 음료의 풍미변화 연구

가. 재료

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료를 동원 F&B에서 제공받아 사용하였으며, 실험에 사용된 증류수는 2차증류수를 사용하였다.

저장안정성 분석에 사용된 시료는 광산화 조건에서 0, 14, 36, 43, 57, 72, 86, 101 및 115일 저장한 캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료를 사용하였다. 또한, 45 °C 0, 14, 36, 43, 57, 72, 86, 101 및 115일 저장한 캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료를 분석하였다. 모든 시료는 분석 전까지 -20°C 냉동고에서 보관하였다.

나. 향미 성분 분석

(1) Solvent assisted flavor evaporation (SAFE)

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 SAFE법을 이용하였다. 시료 150 mL을 SAFE additional funnel에 넣고 40°C, 8.6×10^{-6} torr에서 1시간 동안 증류하여 추출하였다. 이 때 내부표준물질로서 3-heptanol 19.25 µg을 사용하였다. SAFE에 의해 추출된 추출액은 재증류한 dichloromethane 50 mL을 이용하여 15, 15, 20 mL로 나누어 1시간씩 shaker에서 250 rpm으로 shaking 시키면서 용매 추출하였다. 추출액은 -20°C에서 12시간 냉동시켜 수분을 제거한 후 용매 층을 3 g anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 100 µL까지 농축하여 분석시료로 사용하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(2) Liquid-liquid continuous extraction (LLCE)

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 추출은 가열에 의한 artifact의 생성을 최소화하기 위하여 liquid-liquid continuous extraction을 이용하였다. 각 시료 400 mL을 내부표준물질로서 3-heptanol 96.23 µg을 사용하여 liquid-liquid continuous extraction apparatus에 넣고 250 mL의 dichloromethane을 추출용매로 사용하여 상온에서 8시간 추출하였다. 추출액은 -20°C에서 12시간 냉동시켜 수분을 제거한 후 용매층을 3 g anhydrous sodium sulfate를 통과시켜 여분의 수분을 제거하고

수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 500 μ L까지 농축하여 분석시료로 사용하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(3) Solid phase microextraction (SPME)

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 저장안정성을 알아보기 위해 SPME법을 이용하여 휘발성 향기성분을 추출하였다. SPME fiber는 50/30 μ m divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane을 사용하였다. 시료 10 mL을 headspace vial에 넣고 Teflon cap으로 밀봉하였다. 40°C에서 30분간 방치하여 평형상태에 도달시킨 후, SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30분 동안 시료의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. Fiber를 GC (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)의 injection port (200°C)에 1분간 탈착시켰다. 추출은 duplicate로 실시하였다.

(4) Gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS)

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 Agilent 6890N GC/Agilent 5973N mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)와 Agilent 7890B GC/Agilent 5977A mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였으며 추출액 1 μ L를 splitless mode로 GC에 injection 하였다.

저장안정성 분석을 위한 캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 Agilent 7890B GC/Agilent 5977A mass selective detector (MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 동정하였다. Column은 DB-wax (60 m length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C였으며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. Ionization voltage는 70 eV, 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다.

(5) Gas chromatography-olfactometry (GC-O)

GC-O는 YL6100 (Young Lin Instrument Co. Ltd. Anyang, Korea)와 Varian3800(Varian

Instrument Group, Walnut Creek, CA, USA)을 사용하였다. Detector는 FID(Flame ionization detector)를 사용하였고, column으로부터 분지시켜 nose cone을 이용하여 sniffing을 실시하였다. Column은 DB-wax (30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-5ms(30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness : J & W scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40℃에서 5분간 유지한 후 200℃까지 5℃/min 속도로 승온시켜 10분간 유지하였다. Injector 온도는 200℃, detector 온도는 250℃였으며 carrier gas로는 helium을 사용하고 유속은 1.4 mL/min으로 하였다.

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 성분을 확인하기 위하여 GC-O를 이용한 방법론 중 time-intensity를 측정하여 한번의 sniffing으로 크로마토그램을 얻을 수 있는 OSME법을 이용하였다.

(6) 휘발성 향기성분 동정

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 동정은 retention indices (RI)와 Wiley/7n mass spectral database (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 또한 문헌상의 retention index와 spectrum을 비교하여 휘발성 향기성분을 확인하였다.

(7) 휘발성 향기성분 정량

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 농도는 추출 시 내부표준물질로 사용한 3-heptanol의 peak area와 동정된 휘발성 향기성분의 peak area의 peak area ratio로 다음 식에 의해 정량하였다. 이때 peak area ratio와 amount ratio의 상관계수는 1이라고 가정하였다.

$$\text{농도(ppb)} = \frac{\text{peak area ratio} \times \mu\text{g of 3-heptanol}}{\text{vol of sample}}$$

다. 결과 및 고찰

(1) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향미 profile

(가) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향기성분

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분을 LLCE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 1에 나타내었다. LLCE로 추출한 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 97종이 검출되었으며, 그 중 95종이 동정되었다. 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 25종, ketone류는 18종, acid류는 10종, ester류는 9종, phenol류는 7종, aldehyde류는 6종, terpene류는 5종, hydrocarbon류 및 furan류는 각각 2종, 기타화합물 11종 및 unknown 화합물 2종이 동정되었다.

캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 99)의 함량이 가장 높았으며, 5-hydroxymethylfurfural (no. 101), furfural (no. 36) 및 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no.68)의 순으로 함량이 높았다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 96종이 검출되었으며, 이 중 94종이 동정되었다. 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 24종, ketone류는 18종, acid류는 9종, aldehyde류는 8종, ester류 및 phenol류는 각각 7종, terpene류는 5종, hydrocarbon류 및 furan류는 각각 2종, 기타화합물, 12종 및 unknown 화합물 2종이 동정되었다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 99)의 함량이 가장 높았으며, 5-hydroxymethylfurfural (no. 101), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no 68) 및 (*E*)-3-penten-2-one (no. 9)의 순으로 함량이 높았다.

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SAFE를 사용하여 추출하고 GC-MS로 동정한 결과는 표 2에 나타내었다. SAFE로 추출한 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 98종이 검출되었으며, 이 중 98종이 동정되었다. 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 24종, ketone류는 14종, ester류 및 acid류는 각각 13종, aldehyde류는 9종, phenol류는 6종, terpene류는 4종, hydrocarbon류 및 furan류는 각각 1종 및 기타화합물 13종이 동정되었다.

캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 107)의 함량이 가장 높았으며, furfural (no. 36), 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 68) 및 (*E*)-3-penten-2-one (no. 8)의 순으로 함량이 높았다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 모두 100종이 검출되었으며, 이 중 100종이 동정되었다. 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분은 alcohol류는 26종, ketone류는 14종, acid류는 13종, ester류는 10종, aldehyde류는 9종, phenol류는 3종, terpene류는 3종, hydrocarbon류는 2종, furan류는 1종 및 기타화합물 15종이 동정되었다.

비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 benzoic acid (no. 107)의 함량이 가장 높았으며, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (no. 68), (*E*)-3-penten-2-one (no. 8) 및 furfural (no. 36)의

순으로 함량이 높았다.

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 LLCE와 SAFE 두가지 추출법 모두 benzoic acid (no. 107 및 99)의 함량이 가장 높은 함량으로 존재하였다. Benzoic acid (안식향산)는 저분자의 carboxylic acid로 대사과정 중 쉽게 생성될 수 있는 물질로 세계 각국의 식품에 널리 사용하는 보존료 성분으로 식품의 저장성을 높이는 것으로 알려져 있으며, pH 2.5-4.0의 산성식품에서 향미생물 효과가 알려져 있다.

또한 비캡슐 푸레주스에 비해 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 furfural (no. 36), 5-hydroxymethylfurfural (no. 101), (*E*)-penten-2-one (no. 9) 및 5,6-dihydroxy-2H-pyran-2-one (no. 68)의 함량이 특징적으로 높은 함량으로 존재하였다.

Furfural (no. 36) 및 5-hydroxymethylfurfural (no. 101 및 107)은 당의 열분해에 의해 생성되는 향기성분으로 캡슐화 공정에서 사용된 피복물질에 함유한 소량의 당 성분이 열에 의해 분해되면서 생성된 것으로 생각된다. 이 화합물들은 melanoidin과 같은 갈변물질을 생성하는 것으로 알려져 있다.

LLCE 및 SAFE를 이용하여 추출한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 전체적 휘발성 향기성분을 비교해 보았을 때 캡슐화 공정을 통하여 특징적으로 관찰되는 휘발성 향기성분은 없었다. 또한, 동정된 휘발성 향기성분의 pattern을 보았을 때 furfural과 5-hydroxymethylfurfural 외에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 따라서 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분의 차이는 없는 것으로 결론지었다. 하지만 캡슐 푸레주스의 색이 비캡슐 푸레주스에 비해서 더 갈변화 될 것으로 생각된다.

☒ 121. Volatile compounds identified from capsulated and non-capsulated puree juices by LLCE.

NO.			Compound name		
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
1	1020	nd ^c	chloroform	48.11±6.45	52.60±17.00
2	1042	803	ethyl butyrate	21.03±0.67	21.66±6.74
3	1046	<800	toluene	33.72±0.21	88.07±32.97
4	1059	851	ethyl-2-methylbutyrate	9.11±0.10	10.13±3.31
5	1074	856	ethyl isovalerate	32.95±0.55	35.30±11.61
6	1089	nd	hexanal	3.90±0.46	4.22±1.26
7	1120	nd	2-pentanol	1.79±0.03	2.14±0.75
8	1129	877	isoamyl acetate	1.90±0.58	nd
9	1136	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	780.37±48.84	672.94±223.54
10	1149	nd	<i>m</i> -xylene	2.02±0.46	1.51±0.40
11	1167	860	cyclohexene oxide	12.10±1.49	14.35±5.93
12	1179	nd	(<i>E</i>)-3-penten-2-ol	0.97±0.36	0.41±0.11
13	1192	nd	pyridine	4.97±0.16	5.18±1.43
14	1200	1200	dodecane	1.09±0.02	0.75±0.20
15	1203	1033	limonene	1.98±0.20	1.33±0.31
16	1208	nd	3-methyl-1-butanol	8.83±0.41	15.89±5.40
17	1213	nd	1,8-cineol	2.73±0.17	5.10±1.55
18	1229	nd	(<i>E</i>)-2-hexanal	nd	2.08±0.54
19	1237	nd	2-pentylfuran	1.16±0.10	0.96±0.32
20	1245	822	4-ethoxy-2-pentanone	0.71±0.01	0.77±0.23
21	1268	nd	styrene	2.68±0.03	2.46±0.38
22	1276	954	dihydro-2-methyl-3-(2H)-furanone	0.60±0.15	0.49±0.17
23	1306	nd	cyclohexanone	2.00±0.27	1.88±0.69
24	1314	nd	1-hydroxy-2-propanone	11.99±1.89	11.91±3.15
25	1319	nd	2-heptanol	nd	0.84±0.35

표 121. Continued.

NO.			Compound name		
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
26	1350	815	ethyl lactate	49.09±1.06	6.01±2.28
27	1354	870	1-hexanol	1.73±0.00	16.54±6.08
28	1366	nd ^c	(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	0.66±0.02	0.83±0.27
29	1388	858	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	52.51±0.32	29.50±10.64
30	1397	1400	tetradecane	0.89±0.27	1.05±0.62
31	1401	1105	nonanal	3.70±0.23	3.30±1.86
32	1408	906	2-buthoxyethanol	11.38±2.35	nd
33	1451	1092	linalool oxide	36.01±0.11	35.22±14.06
34	1457	nd	acetic acid	110.22±6.39	71.38±18.73
35	1475	823	4-hydroxy-2-pentanone	276.69±4.17	190.95±63.08
36	1482	839	furfural	931.10±57.90	391.15±124.69
37	1490	1029	2-ethyl-1-hexanol	8.65±3.25	9.27±1.29
38	1507	nd	decanal	nd	2.24±0.26
39	1522	nd	2-acetylfuran	9.34±1.39	7.13±2.56
40	1533	982	2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	57.58±1.03	22.22±7.09
41	1545	967	benzaldehyde	55.54±1.21	71.03±24.24
42	1548	1101	β-linalool	28.26±0.45	34.19±11.92
43	1573	nd	isobutyric acid	7.05±0.47	6.81±1.31
44	1580	<800	1,3-butanediol	4.58±0.13	5.64±1.04
45	1592	964	5-methyl-2-furfural	23.91±0.40	13.76±3.70
46	1629	1000	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	119.81±22.91	105.68±50.84
47	1634	nd	butanoic acid	3.08±0.35	2.77±0.82
48	1639	1156	β-terpineol	3.92±0.01	4.57±1.61
49	1643	955	γ-valerolactone	3.67±0.14	4.10±1.19
50	1648	nd	menthol	1.33±0.03	1.47±0.46

☞ 121. Continued.

NO.			Compound name		
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
51	1660	915	dihydro-2(3H)-furanone	79.30±1.64	82.89±28.61
52	1669	nd ^c	2-furanmethanol	12.10±0.74	15.17±5.43
53	1675	870	2-methylbutanoic acid	85.14±2.75	84.94±29.03
54	1701	nd	<i>p</i> -menth-1-en-9-al (isomer 3)	6.46±0.31	5.29±1.61
55	1706	1202	α -terpineol	67.66±0.53	56.19±18.26
56	1709	nd	γ -terpineol	4.57±0.48	3.84±1.16
57	1715	nd	α -Methylbenzyl acetate	8.44±0.02	10.34±3.88
58	1729	nd	methionol	3.66±0.05	3.56±1.69
59	1743	nd	pentanoic acid	1.51±0.48	1.22±0.33
60	1746	1165	benzyl acetate	20.68±0.36	17.02±6.18
61	1770	nd	naphthalene	17.62±11.55	21.23±10.37
62	1786	nd	γ -crotonolactone	12.60±3.13	9.62±3.38
63	1805	nd	(<i>Z</i>)-geraniol	6.56±0.34	7.99±2.36
64	1841	1388	β -damascenone	15.35±8.83	10.16±3.00
65	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	18.09±1.25	18.85±6.28
66	1855	927	(<i>E</i>)-2-methylbutenoic acid	11.40±0.85	9.83±3.13
67	1860	nd	<i>p</i> -cymen-8-ol	5.36±0.22	6.07±1.92
68	1874	1083	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	878.50±26.48	686.88±226.99
69	1877	nd	guaiacol	11.30±0.26	6.11±1.40
70	1893	1039	benzyl alcohol	60.37±20.42	42.77±15.84
71	1922	1507	butylated hydroxy toluene	10.50±0.58	15.57±4.32
72	1930	1119	benzeneethanol	57.68±1.25	52.78±11.34
73	1967	nd	1-dodecanol	76.63±8.48	97.48±32.12
74	1976	nd	3-hydroxy-4-pyrone	89.82±2.64	86.20±30.26
75	1990	1116	maltol	459.39±3.60	356.40±124.27

㉞ 121. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
76	2013	nd ^c	unknown	144.42±1.73	143.73±45.35
77	2020	nd	phenol	31.69±0.94	36.71±11.30
78	2038	nd	unknown	304.16±1.39	240.47±83.54
79	2049	nd	2-formylpyrrole	17.65±0.31	18.33±5.61
80	2055	1052	pantolactone	34.97±1.62	34.59±10.67
81	2079	1334	triacetin	16.56±0.87	23.78±10.53
82	2108	nd	terpin hydrate	51.05±2.39	69.22±24.13
83	2136	1290	1,3-octanediol	276.55±20.86	387.80±140.23
84	2166	1270	nonanoic acid	11.61±0.21	11.10±3.81
85	2170	1434	γ-decalactone	101.75±11.61	140.89±58.50
86	2185	1359	eugenol	49.50±1.77	42.06±16.45
87	>2200	1318	2-methoxy-4-vinylphenol	297.40±40.09	349.69±133.56
88	>2200	nd	caprolactam	19.63±3.73	31.87±5.30
89	>2200	1351	2,6-dimethoxyphenol	52.13±40.97	18.79±6.82
90	>2200	1152	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	90.95±26.47	106.84±33.12
91	>2200	nd	5-hydroxymaltol	47.55±18.13	126.91±79.55
92	>2200	1374	8-hydroxylinalool	26.64±8.94	50.35±17.71
93	>2200	nd	dibutyl phthalate	nd	48.06±5.60
94	>2200	1307	4-methyl-5-thiazoleethanol	11.69±0.55	nd
95	>2200	nd	geranic acid	12.69±5.49	nd
96	>2200	1323	3,4,5-trimethylphenol	13.39±1.15	30.59±17.48
97	>2200	nd	4-vinylphenol	76.74±10.30	98.28±36.57
98	>2200	nd	2-furancarboxylic acid	114.95±2.40	126.35±62.56
99	>2200	1171	benzoic acid	6135.47±289.94	6844.90±2202.94
100	>2200	1649	ethyl citrate	248.74±2.34	nd
101	>2200	1271	5-hydroxymethylfurfural	3183.70±0.47	1522.83±440.26

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

☒ 122. Volatile compounds identified from capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE.

	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
1	1042	803	ethyl butyrate	27.23±8.75	35.10±11.92
2	1046	<800	toluene	19.55±6.25	74.88±10.31
3	1058	851	ethyl 2-methylbutyrate	10.56±3.44	14.50±4.15
4	1075	856	ethyl isovalerate	36.96±12.22	48.76±12.95
5	1090	nd ^c	hexanal	2.40±0.71	3.95±2.46
6	1121	nd	2-pentanol	2.47±1.00	3.33±0.47
7	1130	878	isoamyl acetate	1.67±0.59	nd
8	1136	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	892.23±251.35	897.21±82.38
9	1149	nd	m-xylene	1.09±0.67	1.07±0.44
10	1167	860	cyclohexene oxide	34.94±5.93	28.75±0.99
11	1179	nd	(<i>E</i>)-3-penten-2-ol	1.32±0.80	1.78±0.30
12	1193	nd	pyridine	2.25±0.70	3.47±0.13
13	1200	1200	dodecane	nd	1.02±0.17
14	1203	1033	limonene	0.90±0.27	1.56±0.23
15	1208	nd	3-methyl-1-butanol	10.76±4.10	24.66±3.31
16	1213	nd	1,8-cineol	3.54±1.45	8.77±0.62
17	1245	822	4-ethoxy-2-pentanone	3.83±3.54	1.69±0.28
18	1254	nd	3-methyl-3-buten-1-ol	nd	2.65±0.39
19	1268	nd	styrene	1.62±0.32	1.95±0.25
20	1276	nd	dihydro-2-methyl-3-(2H)-furanone	0.62±0.43	1.39±0.19
21	1292	nd	1,3,5-trimethylbenzene	nd	0.59±0.41
22	1306	nd	cyclohexenone	3.54±0.67	3.36±0.25
23	1314	nd	1-hydroxy-2-propanone	7.42±3.10	7.19±0.20
24	1319	nd	2-heptanol	nd	1.75±0.07
25	1325	nd	3-methyl-2-buten-1-ol	6.87±2.63	10.87±1.01
26	1346	nd	6-methyl-5-hepten-2-one	0.94±0.31	1.14±0.14
27	1350	815	ethyl lactate	48.58±20.58	7.43±0.14
28	1354	870	1-hexanol	2.75±1.15	29.97±1.39
29	1388	858	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	1.06±0.46	48.45±3.00
30	1400	1400	tetradecane	0.62±0.15	0.88±0.20

표 122. Continued.

	wax	5-ms	Compound name	캡슐	비캡슐
31	1401	1105	nonanal	2.32±0.57	2.34±0.23
32	1409	892	cyclohexanol	11.88±2.19	23.07±0.54
33	1451	1091	linalol oxide	54.65±21.52	57.89±4.43
34	1457	937	2-cyclohexen-1-one	192.33±33.52	174.79±25.97
35	1475	822	4-hydroxy-2-pentanone	103.10±30.29	97.24±2.05
36	1482	840	furfural	1075.15±234.11	641.07±15.67
37	1490	1028	2-ethyl-1-hexanol	9.33±1.31	11.40±3.93
38	1522	nd ^c	2-acetylfuran	11.12±3.73	11.42±0.01
39	1546	967	benzaldehyde	59.30±19.90	96.78±5.54
40	1548	1101	β-linalool	40.63±15.58	61.86±2.81
41	1574	nd	isobutyric acid	2.46±1.10	3.44±0.08
42	1583	nd	1-terpineol	4.20±1.86	5.91±0.25
43	1592	964	5-methyl-2-furaldehyde	35.33±9.08	25.72±2.69
44	1602	1341	bi-2-cyclohexen-1-yl	8.95±1.40	8.20±1.50
45	1629	1000	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	61.54±23.04	91.83±0.07
46	1634	nd	butanoic acid	2.22±0.83	3.08±0.19
47	1639	1156	β-terpineol	5.50±1.95	7.78±0.24
48	1643	955	γ-valerolactone	2.97±0.78	4.90±0.02
49	1648	nd	menthol	3.81±0.71	3.66±0.52
50	1659	915	dihydro-2(3H)-furanone	66.34±20.21	84.74±2.84
51	1666	1049	benzeneacetaldehyde	6.39±2.16	11.09±2.17
52	1669	nd	2-furanmethanol	9.12±4.20	12.54±1.55
53	1675	871	2-methylbutanoic acid	63.11±25.30	84.64±4.75
54	1706	1202	α-terpineol	107.99±43.48	121.99±11.88
55	1709	nd	γ-terpineol	2.57±1.21	9.23±0.38
56	1716	nd	α-methyl benzyl acetate	13.27±4.68	22.07±0.79
57	1743	nd	pentanoic acid	1.13±0.03	2.24±0.19
58	1746	1165	benzyl acetate	31.25±13.71	26.97±2.94
59	1757	nd	D-(+)-Carvone	3.15±0.99	6.44±0.42
60	1770	nd	naphthalene	14.61±4.13	32.53±14.63

표 122. Continued.

	wax	5-ms	Compound name	캡슐	비캡슐
61	1785	nd ^c	γ -crotonolactone	9.31±0.47	nd
62	1805	nd	(<i>Z</i>)-geraniol	10.89±2.23	18.01±1.23
63	1831	1406	vanillin	49.93±16.21	76.33±20.57
64	1841	1386	β -damascenone	16.02±0.79	22.65±2.21
65	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	25.16±6.56	42.09±0.56
66	1855	927	(<i>E</i>)-2-methylbutenoic acid	12.87±1.42	16.30±1.73
67	1860	nd	p-cymen-8-ol	9.44±1.84	16.27±3.36
68	1873	1083	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	830.92±215.33	817.15±110.32
69	1879	nd	guaiacol	3.08±1.84	10.43±7.39
70	1893	1040	benzyl alcohol	49.18±4.39	55.55±4.78
71	1914	1507	butylated hydroxy toluene	26.04±8.24	24.81±3.35
72	1930	1119	benzeneethanol	49.92±15.75	75.98±6.20
73	1952	nd	2-ethylhexanoic acid	6.22±0.42	8.41±0.97
74	1956	nd	heptanoic acid	7.69±1.71	nd
75	1967	nd	1-dodecanol	24.26±2.05	95.13±1.12
76	1974	nd	(<i>E</i>)-2-hexenoic acid	19.82±4.35	41.28±2.60
77	1989	1115	maltol	143.45±31.71	171.82±2.24
78	2034	1777	isopropyl myristate	nd	14.91±0.88
79	2049	1018	2-formylpyrrole	17.34±4.35	23.16±0.84
80	2059	nd	octanoic acid	nd	21.54±1.23
81	2069	1283	(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	5.13±1.67	10.02±1.27
82	2079	1334	triacetin	13.07±2.60	20.11±0.07
83	2101	1777	benzyl benzoate	15.56±3.35	nd
84	2105	1417	methyl n methyl anthranilate	24.23±7.35	35.88±0.36
85	2134	1269	1,3-octanediol	94.20±45.32	141.89±5.25
86	2160	nd	2-pheoxyethanol	8.47±1.16	10.76±2.78
87	2165	1270	nonanoic acid	14.27±4.32	15.83±1.21
88	2169	1434	γ -decalactone	72.06±9.03	100.71±9.66
89	2185	1357	eugenol	17.36±3.87	22.55±0.63
90	>2200	1316	2-methoxy-4-vinylphenol	17.48±2.65	31.62±15.44

표 122. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		캡슐	비캡슐
91	>2200	1434	(<i>E</i>)-cinnamic acid	207.14±1.56	261.14±38.25
92	>2200	1351	2,6-dimethoxyphenol	16.79±1.33	20.03±1.81
94	>2200	nd ^c	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	nd	17.62±1.56
95	>2200	1367	8-hydroxylinalool	10.72±4.93	24.16±0.22
96	>2200	1434	dimethyl phthalate	14.77±0.55	26.63±12.02
97	>2200	1855	dibutyl phthalate	17.89±9.31	45.08±3.83
98	>2200	nd	geranic acid	21.19±2.12	nd
99	>2200	1561	4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone	79.93±76.44	77.06±50.31
100	>2200	1321	3,4,5-trimethylphenol	13.15±3.94	28.44±0.19
101	>2200	nd	diethyl phthalate	6.91±0.89	14.99±5.48
102	>2200	nd	4-vinylphenol	7.95±0.46	13.34±3.81
103	>2200	981	2-furancarboxylic acid	nd	11.29±2.95
104	>2200	1167	benzoic acid	2926.73±652.75	4975.17±1.85
105	>2200	1646	ethyl citrate	71.54±30.36	nd
106	>2200	1556	dodecanoic acid	25.40±16.44	45.81±3.48
107	>2200	1232	5-hydroxymethylfurfural	169.32±53.67	130.29±13.62

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

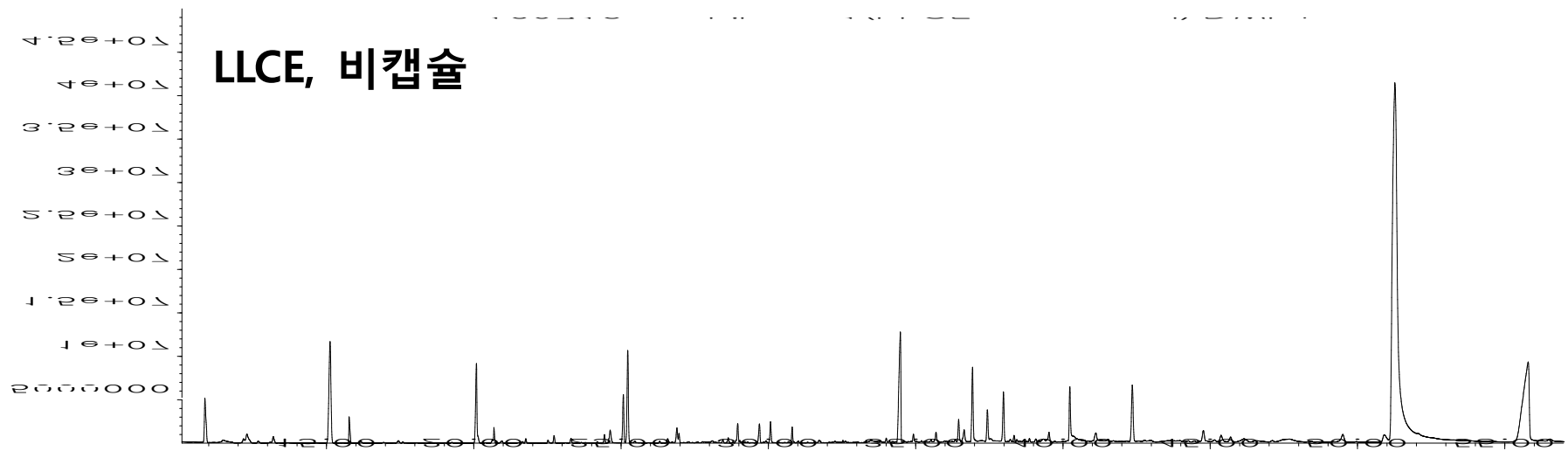
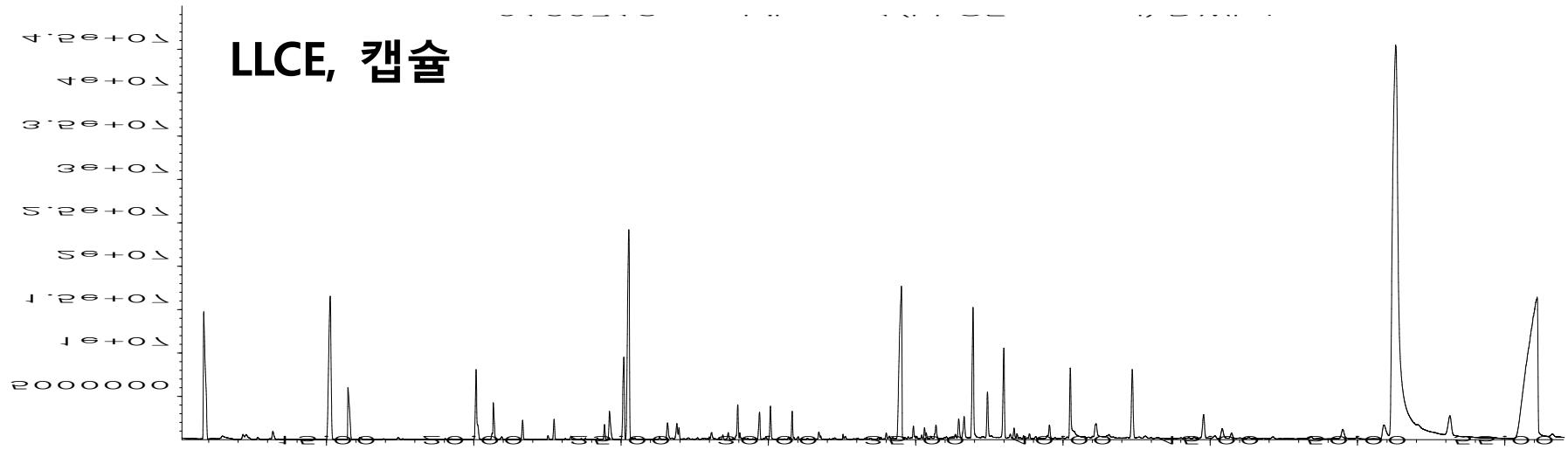


그림 329. Total ion chromatogram of capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE methods.

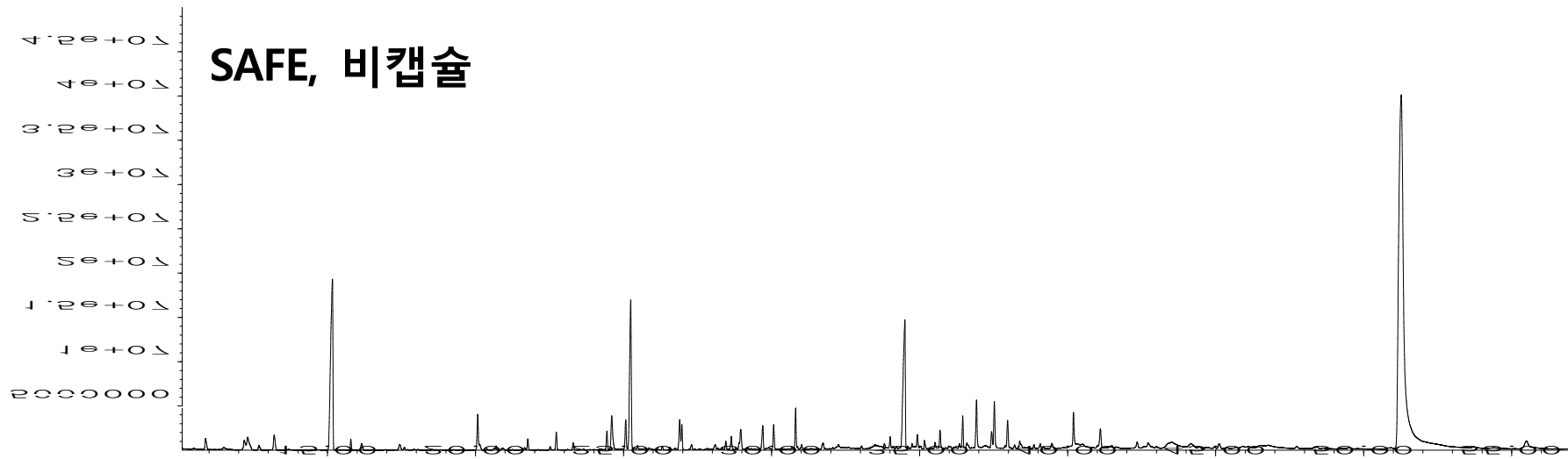
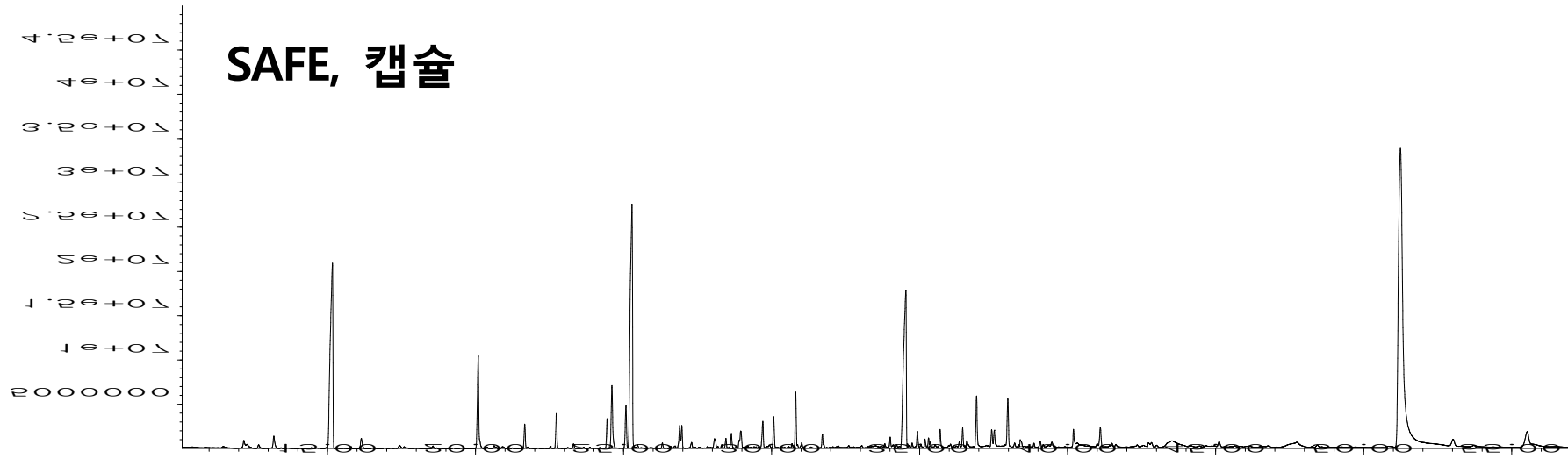


Figure 330. Total ion chromatogram of capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE methods.

(나) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O방법 중 OSME를 행하였다. 표 3에 나타낸 바와 같이 LLCE로 추출한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물로는 5종이 감지되었다. 캡슐 푸레주스에서 과일 풋내와 같은 향 특성을 나타내는 1-hexanol이 강도 1로 감지되었고, 정향과 같은 향 특성을 나타내는 eugenol이 강도 1로 감지되었다. 그 다음으로 꽃 냄새와 같은 향 특성을 나타내는 (*E*)-geraniol 및 rose 또는 berry한 향 특성을 나타내는 β -damascenone이 강도 2로 감지되었다. 2-Methylbutanoic acid가 동정되었으며 향 특성은 furry한 향 특성을 나타내었으며 강도는 3으로 감지되었다

비캡슐 푸레주스에서는 캡슐 푸레주스에서의와 같은 향 특성을 나타내는 향 활성 화합물이 감지되었으나 각 화합물의 강도는 1-hexanol, 2-methylbutanoic acid, (*E*)-geraniol 및 eugenol이 각각 강도 2로 감지되었으며, β -damascenone이 강도 3으로 감지되었다.

SAFE로 추출한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 활성 화합물은 표 4에 나타내었으며 총 5종이 감지되었다. 캡슐 푸레주스에서 시원한(green) 향 특성을 나타내는 6-methyl-5-hepten-2-one이 강도 1로 감지되었으며, 과일 풋내와 같은 향 특성을 나타내는 화합물인 1-hexanol이 강도 1로 감지되었다. 그 다음으로 꽃 냄새와 같은 향 특성을 나타내는 화합물로 β -linalool 과 (*E*)-geraniol이 강도 2로 감지되었으며, rose 또는 berry한 향 특성을 나타내는 β -damascenone이 강도 2로 감지되었다.

공통적으로 동정된 화합물 중에서 β -damascenone은 carotenoid의 분해에 의해 생성되는 화합물로 사과, 포도, 토마토 및 와인 등에서 특징적인 향에 기여하는 화합물로 알려져 있으며 0.00075 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 낮은 threshold를 나타내는 것으로 알려져 있다.

그 외 공통적으로 감지된 화합물 중에서 1-hexanol 및 (*E*)-geraniol은 floral한 향 특성을 나타내었다.

캡슐 푸레주스와 비캡슐 푸레주스를 GC-O로 분석한 결과 향 활성 화합물의 차이가 없는 것으로보아 캡슐화에 의한 푸레주스의 향 특성은 차이가 없을 것으로 생각되었다.

㉞. 123. Aroma-active compounds in capsulated and non-capsulated puree juices by LLCE

No.	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			캡슐	비캡슐
1	1354	870	1-hexanol	woody, floral	1	2
2	1675	870	2-methylbutanoic acid	fruity, cheesy nuance	3	2
3	1841	1388	β -damascenone	rose, berry	2	3
4	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	Floral	2	2
5	2185	1359	eugenol	spicy, clove	1	2

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference

^b Not detected.

㉞. 124. Aroma-active compounds in capsulated and non-capsulated puree juices by SAFE

No.	RI ^a		Compound name	Aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			캡슐	비캡슐
1	1346	ND ^b	6-methyl-5-hepten-2-one	green, herbaceous	1	1
2	1354	870	1-hexanol	woody, floral	1	1
3	1548	1101	β -linalool	flower	2	3
4	1841	1388	β -damascenone	rose, berry	2	3
5	1850	1252	(<i>E</i>)-geraniol	floral	2	3

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference

^b Not detected.

(2) 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향미 profile

(가) 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향기성분

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 LLCE(liquid-liquid continuous extraction)를 이용하여 추출하고 GC-MS를 이용하여 동정한 결과는 표 5에 나타내었다.

LLCE로 추출한 발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 100종이 검출되었으며, 그 중 95종이 동정되었다. 발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 ester류는 39종, alcohol류는 19종, acid류는 11종, ketone류는 10종, aldehyde류는 6종, terpen류는 4종, phenol류 및 furan류가 각각 1종, 기타 화합물 4종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 ethyl lactate (no. 31)의 함량이 가장 높았으며, benzoic acid (no. 101), 5-hydroxymethylfurfural (no. 103) 및 (*Z*)-3-hexen-1-ol (no. 34)의 순으로 함량이 높았다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 94종이 검출되었으며, 그 중 94종이 동정되었다(표 5). 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 ester류는 36종, alcohol류는 17종, ketone류는 10종, acid류는 9종, aldehyde류는 6종, terpene류는 4종, phenol류 및 furan류가 각각 1종, 기타화합물 5종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 ethyl lactate (no. 31)의 함량이 가장 높았으며, benzoic acid (no. 101), 5-hydroxymethylfurfural (no. 103) 및 (*Z*)-3-hexen-1-ol (no. 31)의 순으로 함량이 높았다.

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 동정하기 위해 SAFE를 이용하여 추출하고 GC-MS를 이용하여 동정한 결과는 표 6에 나타내었다.

SAFE를 이용하여 추출한 발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 115종이 검출되었으며, 그 중 110종이 동정되었다. 발효 스파클링의 향기성분은 ester류는 40종, alcohol류는 21종, acid류는 13종, ketone류는 11종, aldehyde류는 7종, terpene류, phenol류 및 hydrocarbon는 각각 3종, furan류는 2종, 기타화합물 7종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (no. 112)의 함량이 가장 높았으며, ethyl lactate (no. 33), (*Z*)-hexen-1-ol (no. 37) 및 (*E*)-2-hexen-1-ol (no.)의 순으로 함량이 높았다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분은 총 109종이 검출되었으며, 그 중 104종이

동정되었다. 비발효 스파클링 음료의 향기성분은 ester류는 38종, alcohol류는 21종, acid류는 12종, ketone류는 10종, aldehyde류는 7종, terpene류 및 hydrocarbon류는 각각 3종, furan류 및 phenol류는 각각 2종, 기타 화합물 6종 및 unknown 화합물 5종이 동정되었다.

비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 ethyl lactate (no. 33)의 함량이 가장 높았으며, (*Z*)-3-hexen-1-ol (no. 37), (*E*)-2-hexen-1-ol (no. 41) 및 benzoic acid (no. 113)의 순으로 함량이 높았다.

SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료를 제외하고 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료에서 공통적으로 ethyl lactate (no. 31)의 함량이 가장 높게 검출되었다.

Ethyl lactate (no. 31)는 lactic acid와 ethanol의 에스터 화합물로서 과일 또는 와인 등에서 많이 발견되는 것으로 알려져 있다.

특징적으로 SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료에서는 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (no. 112)이 동정되었는데 이 화합물은 raspberry ketone으로 알려져 있으며, coumaroyl-CoA로부터 생합성 되는 화합물로 라즈베리, 크렌베리 및 블랙베리와 같은 다양한 종류의 berry류에서 발견되는 것으로 알려져 있다.

그러나, LLCE 및 SAFE법으로 추출하고 GC-MS를 통하여 동정된 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 경우 발효 스파클링 음료에서 동정된 휘발성 향기성분의 함량이 높게 동정되었으나, 발효에 의해 특징적으로 생산된 발효산물은 검출되지 않았다.

Fig. 3과 4는 LLCE 및 SAFE법으로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 total ion chromatogram을 나타낸 것이다. 휘발성 향기성분의 pattern이 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 미뤄보아 발효에 의한 휘발성 향기성분의 차이는 없는 것으로 결론지었다.

㉔. 125. Volatile compounds identified from fermented and non-fermented sparkling beverages by LLCE.

NO.	wax	5-ms	Compound name	발효	비발효
1	<1000	<800	ethyl isobutyrate	3.94±0.21	ND
2	<1000	ND ^c	n-propyl acetate	40.78±1.02	41.23±12.37
3	<1000	ND	methyl butyrate	3.12±0.03	ND
4	1020	<800	isobutyl acetate	44.14±22.12	19.71±1.37
5	1044	804	ethyl butyrate	538.46±5.57	548.46±150.01
6	1051	ND	propyl propionate	9.06±0.14	8.68±2.22
7	1059	852	ethyl 2-methylbutyrate	150.27±2.54	146.50±37.87
8	1080	ND	n-butyl acetate	478.88±1.98	481.13±128.18
9	1092	ND	hexanal	648.09±26.12	621.34±164.10
10	1130	880	isoamyl acetate	411.63±20.82	395.63±103.53
11	1135	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	167.79±7.75	222.14±55.86
12	1141	ND	ethyl n-valerate	7.64±0.44	9.21±1.90
13	1147	ND	1-butanol	147.56±1.27	153.57±42.80
14	1158	ND	2-methyl-2-pentenal	4.09±0.02	4.40±0.52
15	1168	ND	cyclohexene epoxide	75.54±63.22	106.41±3.65
16	1171	ND	ethyl <i>trans</i> -2-butenolate	416.78±50.18	360.28±90.40
17	1179	ND	n-amyl acetate	2.62±0.48	2.52±0.19
18	1195	969	isoamyl propionate	6.07±0.34	5.70±1.04
19	1204	1033	limonene	3.30±0.12	3.47±0.73
20	1209	ND	isoamyl alcohol	403.07±31.43	373.04±98.66
21	1224	994	n-butyl butyrate	47.34±1.03	44.62±10.69
22	1229	ND	(<i>E</i>)-2-hexenal	226.92±21.32	183.70±45.88
23	1240	ND	ethyl hexanoate	293.66±10.10	281.48±70.23
24	1253	ND	1-hexen-3-ol	9.56±0.26	8.38±2.07
25	1268	ND	styrene	5.08±2.07	6.16±0.14

표. 125. continued.

No.	...		Compound name	... (ppm)	
	wax	5-ms		발효	비발효
26	1280	1011	n-hexyl acetate	617.10±77.62	532.88±136.86
27	1284	ND ^c	isopentyl 2-methylbutanoate	10.14±2.50	8.06±1.97
28	1306	ND	cyclohexenone	6.94±5.09	9.37±0.13
29	1327	1004	(<i>Z</i>)-3-hexenyl acetate	552.80±39.69	503.35±121.76
30	1348	1014	(<i>E</i>)-2-hexenyl acetate	771.95±152.18	606.11±146.11
31	1360	ND	ethyl lactate	4565.36±1105.94	3831.53±674.50
32	1361	877	1-hexanol	843.45±65.18	893.20±379.62
33	1369	ND	(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	35.76±9.34	23.89±4.32
34	1393	862	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	2151.86±575.25	1597.18±434.48
35	1395	1096	(<i>Z</i>)-3-hexenyl propionate	310.19±71.55	231.05±54.57
36	1405	1104	(<i>E</i>)-2-hexenyl propionate	17.80±2.04	989.67±259.37
37	1412	873	(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol	1359.74±357.40	18.14±4.05
38	1420	997	butyl caproate	28.32±9.82	24.33±5.37
39	1422	ND	hexyl butanoate	36.81±12.59	1.68±0.09
40	1451	1090	linalool oxide	25.17±6.54	18.50±3.88
41	1458	937	2-cyclohexen-1-one	336.89±269.33	479.21±25.20
42	1466	ND	(<i>Z</i>)-3-hexenyl butyrate	4.37±2.48	ND
43	1475	826	4-hydroxy-2-pentanone	65.30±11.61	131.39±34.59
44	1480	837	furfural	410.46±254.96	557.15±26.00
45	1490	1029	2-ethyl-1-hexanol	10.49±3.53	5.45±0.82
46	1507	ND	decanal	2.42±0.40	1.95±0.08
47	1522	ND	2-acetylfuran	4.30±0.75	3.94±0.59
48	1530	938	ethyl-3-hydroxybutyrate	789.11±133.39	652.91±168.56
49	1533	981	2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	ND	4.09±1.47
50	1544	ND	propanoic acid	47.87±10.33	44.82±11.25

표. 125. Continued.

no.			Compound name		
	wax	5-ms		발효	비발효
51	1548	1101	β -linalool	23.99 \pm 2.92	19.33 \pm 5.42
52	1577	1069	isoamyl lactate	22.65 \pm 2.14	19.90 \pm 5.61
53	1584	ND ^c	ethyl 3-acetoxybutyrate	6.16 \pm 0.86	5.50 \pm 1.80
54	1600	1341	bi-2-cyclohexen-1-yl	39.78 \pm 34.54	56.75 \pm 3.19
55	1629	ND	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	168.66 \pm 66.28	46.32 \pm 2.31
56	1633	ND	butanoic acid	37.89 \pm 9.57	29.73 \pm 7.36
57	1642	1098	methyl benzoate	32.31 \pm 9.34	25.50 \pm 5.77
58	1647	ND	menthol	8.12 \pm 5.80	ND
59	1659	914	dihydro-2(3H)-furanone	24.34 \pm 6.00	24.89 \pm 5.46
60	1669	ND	2-furanmethanol	47.22 \pm 6.76	39.17 \pm 8.43
61	1675	ND	2-methylbutanoic acid	43.56 \pm 1.38	47.54 \pm 10.12
62	1685	ND	ethyl benzoate	23.60 \pm 4.44	18.25 \pm 3.94
63	1688	1127	ethyl 3-hydroxyhexanoate	17.41 \pm 1.98	13.68 \pm 2.32
64	1706	ND	α -terpineol	30.82 \pm 4.92	26.67 \pm 5.76
65	1709	ND	γ -terpineol	2.54 \pm 0.36	2.61 \pm 0.39
66	1715	ND	α -methylbenzyl acetate	32.22 \pm 4.25	22.93 \pm 4.99
67	1730	1204	3-methyl-2-heptanol	138.37 \pm 44.41	88.30 \pm 20.18
68	1742	ND	pentanoic acid	1.83 \pm 0.37	2.05 \pm 1.42
69	1746	1165	benzyl acetate	24.94 \pm 3.88	15.33 \pm 2.90
70	1762	1375	geranyl acetate	19.10 \pm 1.34	14.56 \pm 3.35
71	1765	ND	(<i>Z</i>)-3-hexenylactate	8.79 \pm 1.49	10.93 \pm 6.90
72	1770	ND	naphthalene	13.80 \pm 5.03	11.48 \pm 1.77
73	1786	ND	unknown	576.37 \pm 78.50	489.90 \pm 124.29
74	1802	1245	ethyl phenylacetate	26.54 \pm 2.19	15.49 \pm 3.28
75	1809	1396	α -damascenone	7.20 \pm 0.40	4.21 \pm 1.15
76	1829	ND	unknown	ND	436.28 \pm 254.74

㉞. 125. Continued.

No.			Compound name		
	wax	5-ms		발효	비발효
77	1836	1416	β -damascenone	991.08 \pm 379.44	512.34 \pm 214.73
78	1849	986	hexanoic acid	132.48 \pm 0.62	79.40 \pm 25.05
79	1860	ND ^c	p-cymen-8-ol	20.98 \pm 14.82	ND
80	1870	ND	unknown	201.90 \pm 63.95	226.12 \pm 56.82
81	1893	1040	benzyl alcohol	45.19 \pm 6.63	29.90 \pm 5.50
82	1913	ND	unknown	1494.70 \pm 437.74	1070.19 \pm 277.52
83	1930	1119	benzeneethanol	88.75 \pm 1.26	85.24 \pm 16.04
84	1960	1486	β -ionone	364.58 \pm 126.63	230.94 \pm 50.78
85	1973	1043	(<i>E</i>)-2-hexenoic acid	22.12 \pm 42.21	37.41 \pm 5.04
86	1982	1444	2-phenylethylbutanoate	12.93 \pm 2.41	7.86 \pm 0.63
87	1990	ND	maltol	61.75 \pm 22.49	40.99 \pm 7.59
88	2014	ND	unknown	1719.63 \pm 497.12	1218.89 \pm 334.12
89	2059	ND	octanoic acid	10.05 \pm 3.71	ND
90	2105	ND	methyl n methyl anthranilate	145.92 \pm 51.08	89.69 \pm 20.44
91	2160	1226	2-phenoxy ethanol	12.56 \pm 6.54	5.94 \pm 3.51
92	2165	ND	nonanoic acid	10.70 \pm 2.83	32.82 \pm 29.59
93	>2200	1316	2-methoxy-4-vinylphenol	77.91 \pm 52.46	51.41 \pm 0.34

표. 125 Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
94	>2200	1351	methyl anthranilate	104.79±8.11	109.18±32.73
95	>2200	ND ^c	cinnamyl alcohol	31.87±14.60	22.75±8.51
96	>2200	ND	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	33.80±30.08	ND
97	>2200	ND	8-hydroxylinool	44.54±21.75	25.67±6.64
98	>2200	ND	dibutyl phthalate	ND	36.95±30.56
99	>2200	ND	unknown	461.83±154.42	ND
100	>2200	ND	2-furancarboxylic acid	11.85±3.48	ND
101	>2200	1186	benzoic acid	4298.19±1526.55	3773.22±964.98
102	>2200	ND	dodecanoic acid	22.65±15.31	43.58±37.65
103	>2200	1237	5-hydroxymethylfurfural	1783.14±482.61	1748.26±654.96

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

☞ 126. Volatile compounds identified from fermented and non-fermented sparkling beverages by SAFE.

No.			Compound name		
	wax	5-ms		발효	비발효
1	<1000	<800	ethyl isobutyrate	3.75±0.00	ND ^c
2	<1000	ND	n-propyl acetate	42.30±0.40	31.81±5.96
3	<1000	ND	methyl butyrate	3.02±0.05	ND
4	1019	<800	isobutyl acetate	15.96±2.30	13.32±3.20
5	1042	805	ethyl butyrate	549.40±4.57	455.07±52.87
6	1050	ND	propyl propionate	9.10±0.02	7.27±0.97
7	1058	852	ethyl 2-methylbutyrate	155.59±2.58	131.59±13.18
8	1080	ND	n-butyl acetate	490.82±10.77	421.06±34.91
9	1091	ND	hexanal	667.91±49.41	586.58±50.18
10	1130	881	isoamyl acetate	420.61±14.19	401.91±6.58
11	1135	<800	(<i>E</i>)-3-penten-2-one	180.91±13.08	210.70±9.14
12	1141	ND	ethyl n-valerate	10.29±0.40	9.04±0.18
13	1146	ND	1-butanol	121.02±10.02	112.55±4.01
14	1158	ND	2-methyl-2-pentenal	5.84±0.86	5.80±0.43
15	1167	ND	cyclohexen oxide	45.38±4.58	31.10±10.84
16	1171	ND	ethyl <i>trans</i> -2-butenate	413.63±21.30	362.35±12.42
17	1179	ND	n-amyl acetate	2.75±0.72	2.53±0.54
18	1195	ND	isoamyl propionate	6.81±0.15	6.84±0.48
19	1200	1200	dodecane	1.00±0.79	1.49±0.96
20	1204	1034	limonene	2.22±0.50	1.59±0.42
21	1210	ND	isoamyl alcohol	382.67±32.18	336.64±8.48

표 126. Continued.

No.			Compound name		
	wax	5-ms		발효	비발효
22	1224	994	n-butyl butyrate	56.43±2.76	51.03±2.26
23	1229	ND ^c	(<i>E</i>)-2-hexenal	224.60±12.81	145.53±44.49
24	1236	ND	1,1-diethoxyhexane	2.14±1.89	38.43±37.96
25	1241	ND	ethyl hexanoate	335.13±18.39	303.01±9.91
26	1253	ND	1-hexen-3-ol	11.06±0.72	9.44±0.48
27	1268	ND	styrene	4.17±0.14	3.34±0.66
28	1281	1012	n-hexyl acetate	613.49±39.16	567.67±15.06
29	1285	ND	isopentyl 2-methylbutanoate	8.15±0.24	8.25±0.65
30	1307	ND	cyclohexanone	8.52±3.61	4.17±0.10
31	1328	1005	(<i>Z</i>)-3-hexenyl acetate	614.17±46.87	548.41±27.68
32	1349	1015	(<i>E</i>)-2-hexenyl acetate	785.80±77.27	692.15±26.91
33	1360	ND	ethyl lactate	2789.10±255.07	2658.59±129.77
34	1363	879	1-hexanol	884.30±55.48	982.11±42.56
35	1370	ND	(<i>E</i>)-3-hexen-1-ol	34.11±4.93	31.32±3.15
36	1384	1096	(<i>Z</i>)-3-hexenyl propionate	1.68±0.35	5.40±1.60
37	1395	864	(<i>Z</i>)-3-hexen-1-ol	1854.37±278.13	1727.78±173.44
38	1397	ND	unknown	91.54±22.76	293.91±20.96
39	1400	1400	tetradecane	4.64±0.02	4.20±1.04
40	1407	1104	(<i>E</i>)-2-hexenyl propionate	17.22±2.29	17.32±1.95
41	1414	876	(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol	1073.76±82.07	1089.63±106.64
42	1421	998	butyl caproate	12.96±7.30	38.66±12.38

표 126. Continued.

No.			Compound name		
	wax	5-ms		발효	비발효
43	1423	ND	hexyl butanoate	39.51±13.69	44.54±9.00
44	1432	922	(Z)-4-hexen-1-ol	2.67±0.21	3.00±0.32
45	1440	ND	ethyl octanoate	1.02±0.53	1.59±2.39
46	1453	1090	linalool oxide	23.83±3.18	22.88±0.61
47	1459	937	2-cyclohexen-1-one	222.13±20.66	152.79±51.14
48	1468	ND	(Z)-3-hexenyl butyrate	4.36±1.02	3.54±0.58
49	1476	827	4-hydroxy-2-pentanone	26.80±1.40	45.35±1.84
50	1481	838	furfural	308.95±25.41	234.68±39.57
51	1491	1029	2-ethyl-1-hexanol	18.72±1.93	11.60±0.94
52	1500	1500	pentadecane	1.43±0.10	1.50±0.09
53	1508	ND	decanal	1.13±0.79	2.86±0.28
54	1523	ND	2-acetylfuran	3.82±0.36	3.84±0.36
55	1531	939	ethyl 3-hydroxybutyrate	553.43±49.10	513.66±14.10
56	1546	968	benzaldehyde	30.11±1.65	22.10±2.17
57	1549	ND	β-linalool	28.48±5.26	25.31±1.97
58	1559	ND	1-octanol	0.75±0.39	1.05±0.10
59	1585	ND	ethyl 3-acetoxybutyrate	8.88±0.49	7.46±1.89
60	1595	1341	bi-2-cyclohexen-1-yl	36.33±3.93	26.04±10.76
61	1630	ND	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	15.42±1.91	15.41±0.59
62	1635	ND	butanoic acid	16.49±1.25	12.53±0.70
63	1640	1155	β-terpineol	1.54±0.36	3.31±1.20

표 126. Continued,

No.			Compound name		
	wax	5-ms		발효	비발효
64	1643	1098	methyl benzoate	25.47±2.57	22.94±2.06
65	1659	914	dihydro-2(3H)-furanone	16.92±1.20	17.39±1.73
66	1670	ND	2-furanmethanol	20.75±4.59	23.57±2.27
67	1676	ND	2-methyl butanoic acid	28.94±2.48	28.37±1.10
68	1686	ND	ethyl benzoate	23.02±2.41	19.73±2.88
69	1690	1127	ethyl 3-hydroxyhexanoate	16.90±3.33	13.01±0.98
70	1708	ND	α-terpineol	36.10±6.06	33.37±1.29
71	1711	ND	γ-terpineol	1.31±0.40	3.72±0.02
72	1716	ND	α-methylbenzyl acetate	35.02±3.38	27.04±2.46
73	1731	1205	3-methyl-2-heptanol	119.00±14.46	99.27±4.59
74	1744	ND	pentanoic acid	2.26±0.11	1.47±0.17
75	1747	1165	benzyl acetate	24.88±1.03	21.75±4.52
76	1758	ND	D-(+)-Carvone	2.24±0.48	15.66±14.02
77	1764	1375	geranyl acetate	27.24±7.40	20.54±5.54
78	1771	ND	naphthalene	12.74±2.04	10.64±1.22
79	1788	ND	unknown	547.50±69.27	509.20±18.58
80	1803	1245	ethyl phenylacetate	32.45±3.45	28.52±1.85
81	1810	1396	α-damascenone	6.94±0.07	5.60±0.22
82	1827	ND	unknown	210.90±86.53	101.31±95.62
83	1838	1416	β-damascenone	471.53±33.84	413.51±31.76
84	1851	987	hexanoic acid	88.70±6.96	70.80±0.57
85	1871	1000	5,6-dihydro-2H-pyran-2-one	31.95±12.43	188.79±13.60
86	1894	ND	benzyl alcohol	27.02±1.35	27.42±6.02
87	1915	ND	unknown	791.98±82.11	723.64±12.00
88	1931	1119	benzeneethanol	81.56±46.11	60.35±29.26
89	1953	1114	2-ethylhexanoic acid	3.95±0.05	2.16±0.02

표 126. Continued.

No.	RI ^a		Compound name	Concentration (ppb) ^b	
	wax	5-ms		발효	비발효
90	1957	ND	heptanoic acid	1.61±0.33	3.44±1.30
91	1962	1486	β-ionone	318.87±37.09	253.43±20.07
92	1968	ND	1-dodecanol	3.22±0.62	4.99±0.19
93	1975	1043	(<i>E</i>)-2-hexenoic acid	17.54±0.08	9.29±1.94
94	1983	1257	2-phenylethylbutanoate	9.85±1.70	4.85±1.19
95	1991	ND	maltol	17.67±0.41	7.06±1.60
96	2015	ND	unknown	420.08±47.91	382.75±51.74
97	2061	ND	octanoic acid	7.75±0.83	6.56±1.54
98	2080	1333	triacetin	7.64±1.44	3.26±1.82
99	2107	ND	methyl N methyl anthranilate	100.76±11.54	81.19±10.80
100	2161	1227	2-phenoxyethanol	3.06±0.88	1.70±0.63
101	2167	1264	nonanoic acid	10.00±0.23	8.01±1.91
102	2171	ND	cinnamyl acetate	11.45±0.76	8.93±0.34
103	2186	ND	eugenol	2.43±0.59	5.75±2.03
104	>2200	1316	2-methoxy-4-vinylphenol	3.69±0.07	ND
105	>2200	ND	2,3,5-trimethylphenol	2.94±0.78	7.09±0.55
106	>2200	1432	(<i>E</i>)-cinnamic acid	18.51±6.82	ND
107	>2200	1351	methyl anthranilate	84.14±11.05	58.19±6.01
108	>2200	ND	decanoic acid	21.46±2.75	12.09±3.34
109	>2200	1538	dibenzofuran	7.41±0.21	3.11±0.32
110	>2200	ND	cinnamyl alcohol	13.82±2.03	10.35±0.44
111	>2200	1948	dibutyl phthalate	20.38±11.25	ND
112	>2200	1560	4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone	2903.15±852.33	ND
113	>2200	1175	benzoic acid	979.30±86.16	996.30±39.92
114	>2200	ND	dodecanoic acid	29.46±16.70	14.75±0.29
115	>2200	1230	5-hydroxymethylfurfural	66.37±4.62	69.70±36.43

^aRetention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^bMean ± standard deviation (column : DB-wax).

^cND : not detected.

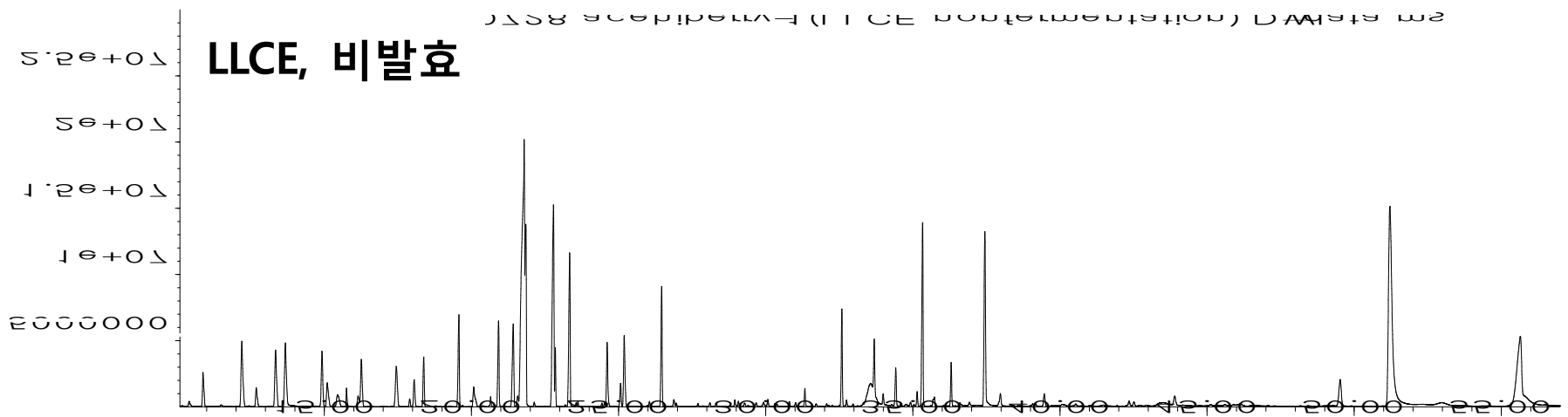
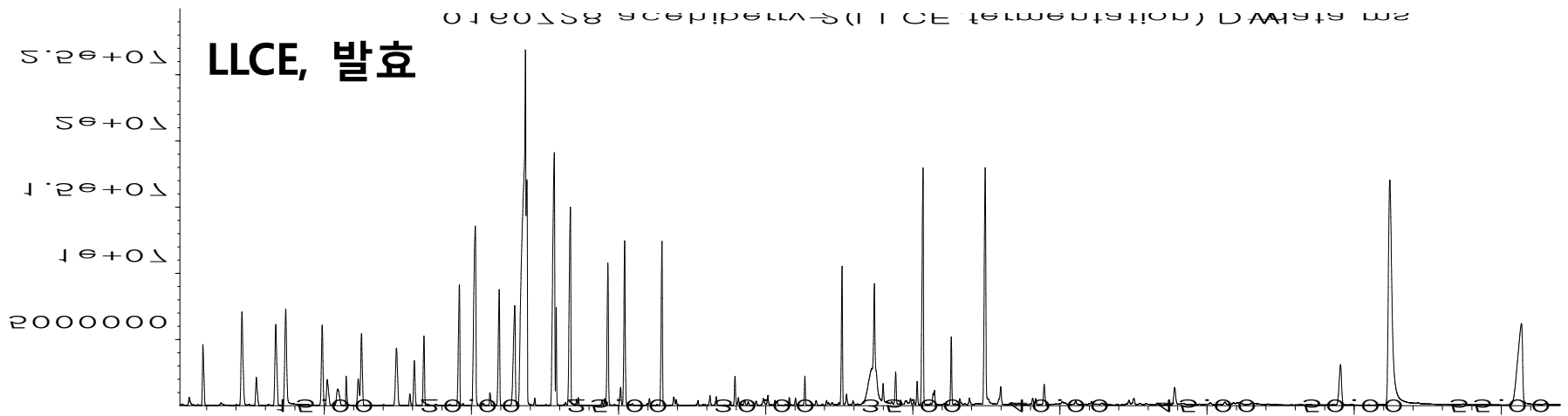


그림 331. Total ion chromatogram of fermented and non-fermented sparkling beverages by LLCE methods.

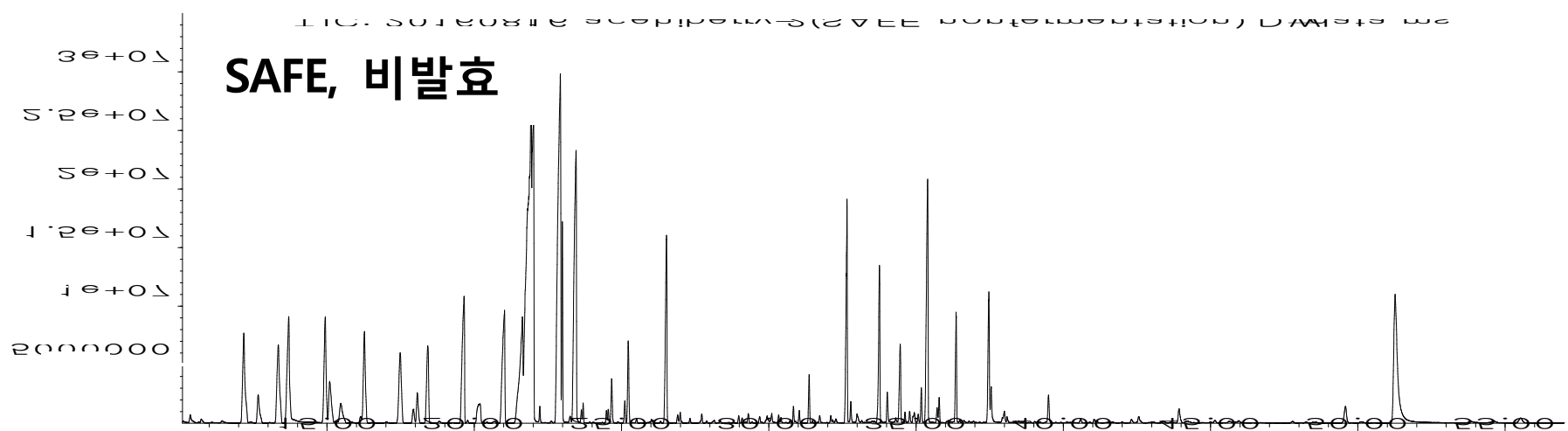
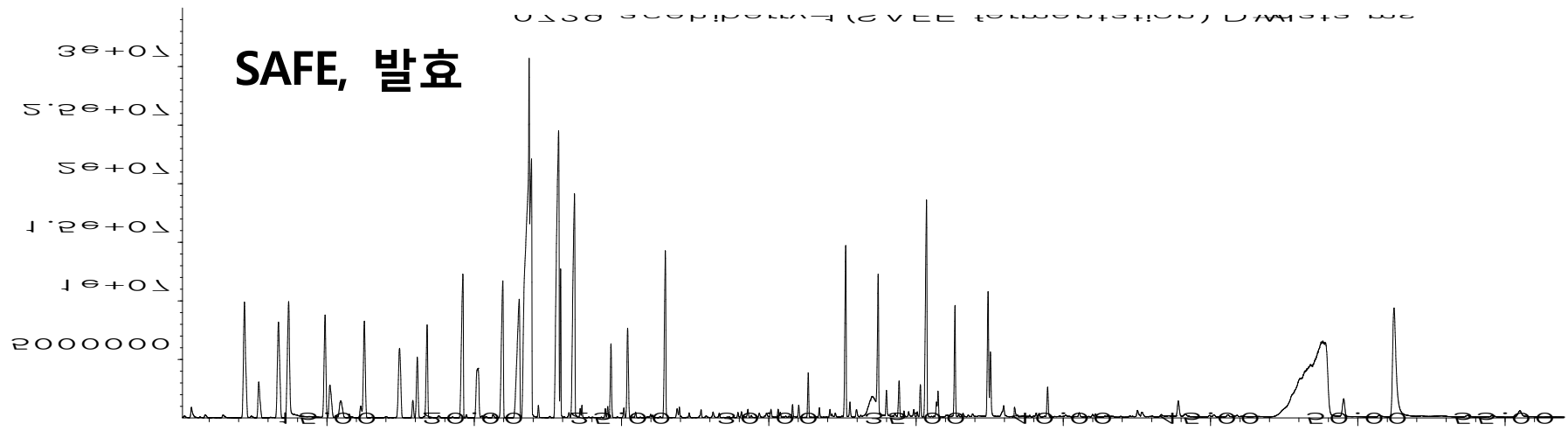


그림 332. Total ion chromatogram of fermented and non-fermented sparkling beverages by SAFE methods.

(나) 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물을 알아보기 위해 GC-O법 OSME법을 수행하였다. LLCE로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물은 표 7에 나타내었으며 발효 스파클링 음료는 5종, 비발효 스파클링 음료는 4종이 감지되었다.

발효 스파클링 음료에서 sweet한 향 특성을 나타내는 butanoic acid가 강도 3으로 감지되었고, 달콤하면서도 꽃향기와 같은 향 특성을 나타내는 2-phenoxy ethanol 및 시원한(green)향 특성을 나타내는 (*Z*)-3-hexenyl butyrate가 강도 2로 감지되었다. 또한, 달콤한 향 특성을 나타내는 ethyl lactate 및 maltol이 각각 강도 1로 감지되었다.

비발효 스파클링 음료에서는 발효 스파클링 음료와 같은 향 특성을 나타내는 화합물이 감지되었으나, 각 화합물의 강도가 butanoic acid는 강도 2로 감지되었으며, ethyl lactate, maltol, 2-phenoxy ethanol이 각각 강도 1로 감지되었으며, (*Z*)-3-hexenyl butyrate가 나타내는 시원한(green)향 특성은 감지되지 않았다.

SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물은 표 8에 나타내었으며 총 7종이 감지되었다. 발효 스파클링 음료에서 시원한(green) 향 특성을 나타내는 화합물로 (*Z*)-3-hexenyl butyrate가 강도 2로 감지되었으며, 과일 풋내와 같은 특징을 내는 α -damascenone 및 달콤한 향 특성을 나타내는 butanoic acid가 각각 강도 2로 감지되었다.

또한, sweet한 향 특성을 나타내는 ethyl lactate, maltol이 각각 강도 1로 감지되었으며, 꽃 향기와 같은 향 특성을 나타내는 decanal 및 2-phenoxy ethanol이 각각 강도 1로 감지되었다.

비발효 스파클링 음료에서는 발효 스파클링 음료와 같은 향 특성을 나타내는 화합물들이 감지되었으나 각 화합물의 강도는 α -damascenone은 3으로 감지되었으며, decanal 및 butanoic acid가 각각 강도 2로 감지되었다. 또한 ethyl lactate, (*Z*)-3-hexenyl butyrate, maltol 및 2-phenoxy ethanol이 각각 강도 1로 감지되었다.

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료에서 공통적으로 동정된 화합물 중 GC-MS에서 가장 많은 양으로 동정된 ethyl lactate는 lactic acid와 ethanol의 에스터 화합물로서 과일 또는 와인에서 많이 동정되는 것으로 알려져 있으며 0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 threshold를 나타내는 것으로 알려져 있다.

그러나, GC-O를 이용하여 향 활성 화합물을 분석하였을 때 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 활성 화합물에서 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 보아 발효에

의한 향 활성 화합물의 차이는 크지 않은 것으로 결론지었다.

☒ 127. Aroma-active compounds in fermented and non-fermented sparkling beverages by LLCE

No.	RI ^a		Compound name	aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			발효	비발효
1	1360	ND	ethyl lactate	sweet	1	1
2	1466	ND	(Z)-3-hexenyl butyrate	green	2	-
3	1633	ND	butanoic acid	sweet, rancid	3	2
4	1990	ND	maltol	sweet, caramel	1	1
5	2160	1226	2-phenoxy ethanol	sweet, floral	2	1

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^b Not detected.

☒ 128. Aroma-active compounds in fermented and non-fermented sparkling beverages by SAFE

No.	RI ^a		Compound name	aroma description	Intensity	
	wax	5-ms			발효	비발효
1	1360	ND	ethyl lactate	sweet	1	1
2	1466	ND	(Z)-3-hexenyl butyrate	green	2	1
3	1507	ND	decanal	floral, sweat	1	2
4	1633	ND	butanoic acid	sweet, rancid	2	2
5	1809	1396	α -damasencone	fruity	2	3
6	1990	ND	maltol	sweet, caramel	1	1
7	2160	1226	2-phenoxy ethanol	sweet, floral	1	1

^a Retention indices were determined on DB-wax and DB-5ms using C8-C22 as external reference.

^b Not detected.

(3) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 저장안정성

(가). 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 45°C 조건에서의 휘발성 향기성분 분석

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 열 안정성을 확인하기 위해서 45°C에서 저장기간을 달리한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분을 SPME를 사용하여 추출하고 GC-MS로 분석하였다(Figure 5 및 6).

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 저장기간에 따라 변화가 큰 화합물은 (*E*)-3-penten-2-one (Figure 7), furfural (Figure 8), benzoic acid (Figure 9), 1-dodecanol (Figure 10), ethyl isovalerate (Figure 11) 및 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one (Figure 12) 이었다.

또한 저장기간에 따른 향미의 변화를 확인하기 위하여 SAFE 및 LLCE를 통하여 동정된 aroma-active compounds(그림 332)의 함량변화를 확인하였다.

(*E*)-3-penten-2-one (그림 336) 및 furfural (그림 337)은 지속적으로 함량이 증가하였으며, 특히 furfural (그림 337)의 경우 비캡슐 푸레주스에 비해 캡슐 푸레주스에서 아주 큰 폭으로 증가하는 경향을 보여주었다.

이는 캡슐 푸레주스의 캡슐화 공정에서 사용된 피복물질의 당 성분이 열에 의해 생성된 것으로 생각되며, 비캡슐 푸레주스보다 캡슐 푸레주스의 갈변화가 더욱 진행될 것으로 생각된다.

5,6-Dihydro-2H-pyran-2-one (그림 341) 및 benzoic acid (그림 338)의 경우 0 일에서 101 일까지 지속적으로 함량이 증가하다가 115 일에서 큰 폭으로 감소하였다.

Ester 화합물인 ethyl isovalerate (그림 340)의 경우 저장기간이 지남에 따라 그 함량이 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 또한, 1-dodecanol (그림 339)의 경우 저장기간 43일까지 함량이 증가하다가 이후 점차 감소하는 경향을 보이며 저장 115일에는 초기 함량보다 감소하는 경향을 보여주었다.

Aroma-active compounds (그림 342)의 경우 저장기간이 지남에 따라 초기 함량보다 더욱 증가하는 경향을 보여주었으며, 2-methylbutanoic acid의 함량 변화가 가장 크게 관찰되었다.

그림 334 및 6은 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 total ion chromatogram을 나타낸 것으로 저장 0일에 비해 저장 14일에 전체적 휘발성 성분의 함량이 증가하는 경향을 보여주었으나, 이후 (*E*)-3-penten-2-one (그림 336), furfural (그림 337) 및 1-dodecanol (그림 338)과 같은 일부 화합물을 제외하고 전체적 휘발성 성분의 큰 차이는 관찰되지 않았으며 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 각 화합물의 증가 pattern 또한 유사한 것으로 관찰되었다.

따라서, 저장 14일 이후의 45°C에서 전체적 chromatogram의 pattern은 큰 차이를 나타내지 않았으며, 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스간의 차이도 크지 않았다. 또한 저장기간에 따른 aroma-active compounds의 함량 감소가 관찰되지 않는 것으로 미뤄보아 관능적으로 감지되는 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향 차이는 미비한 것으로 결론지었다.

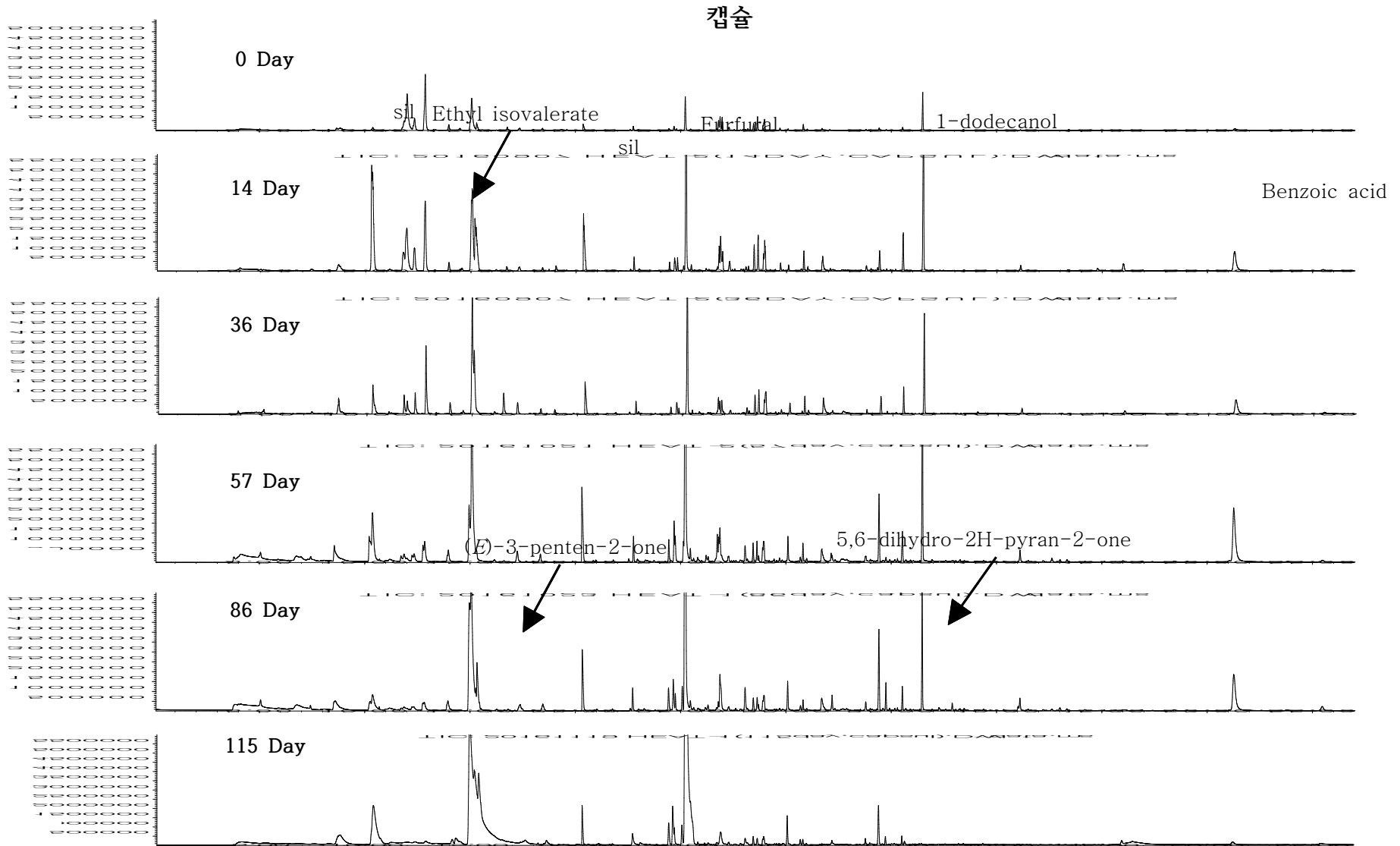


그림 333. Total ion chromatogram of 45°C condition from capsulated puree juice by SPME methods. (sil = siloxane)

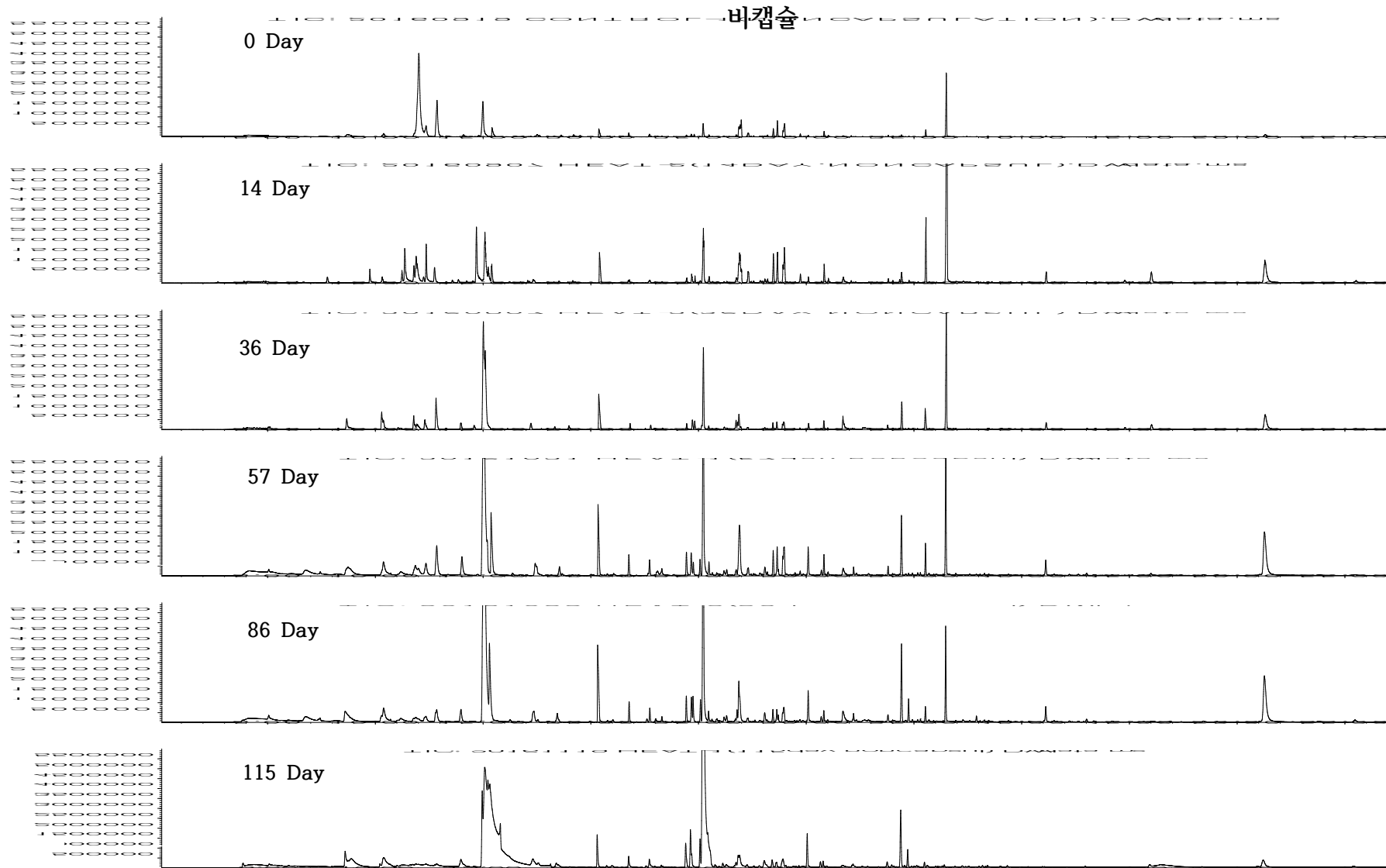


그림 334. Total ion chromatogram of 45°C condition from non-capsulated puree juice by SPME methods.

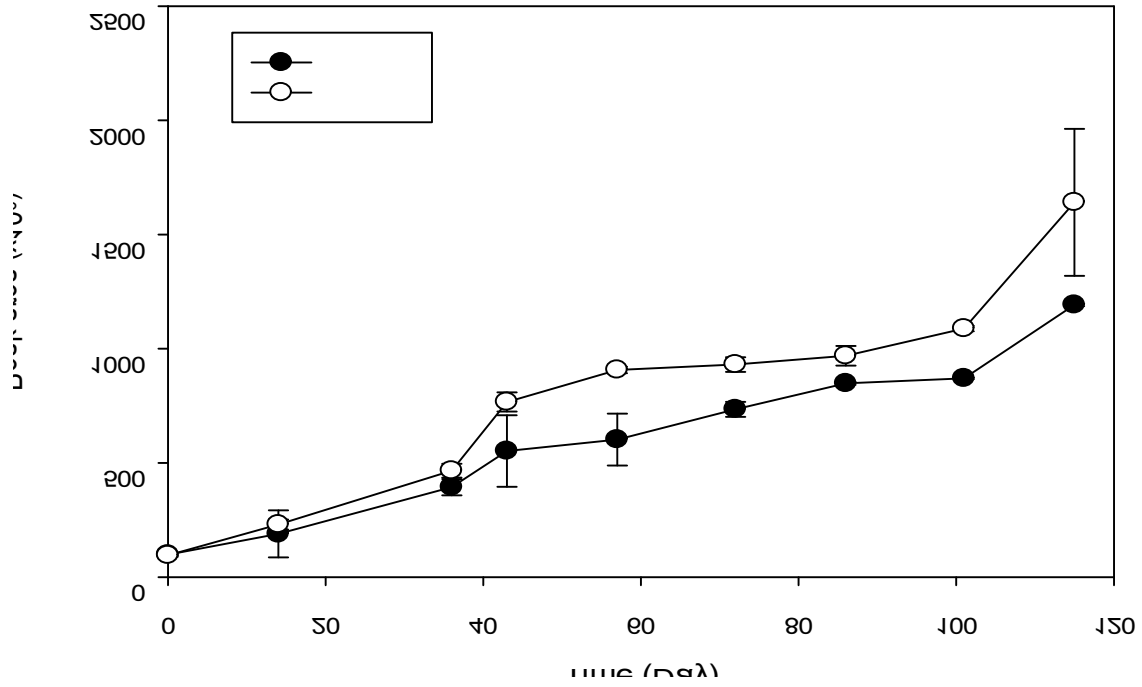


그림 345. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 (E)-3-penten-2-one의 변화

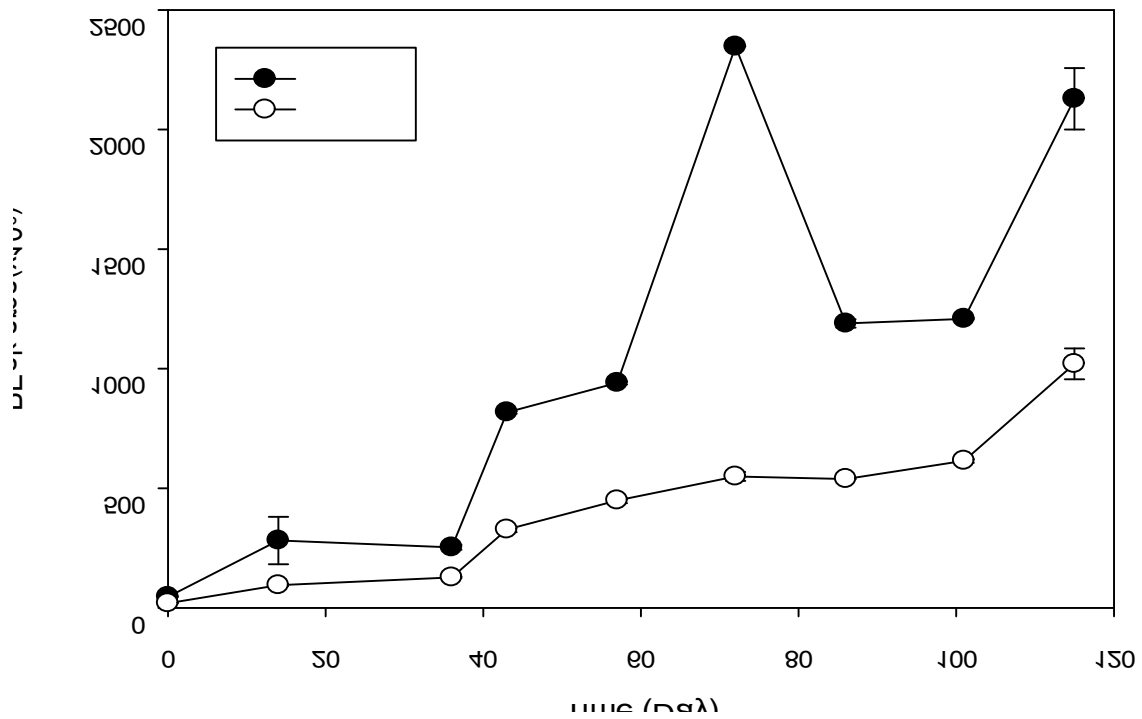


그림 336. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 furfural의 변화

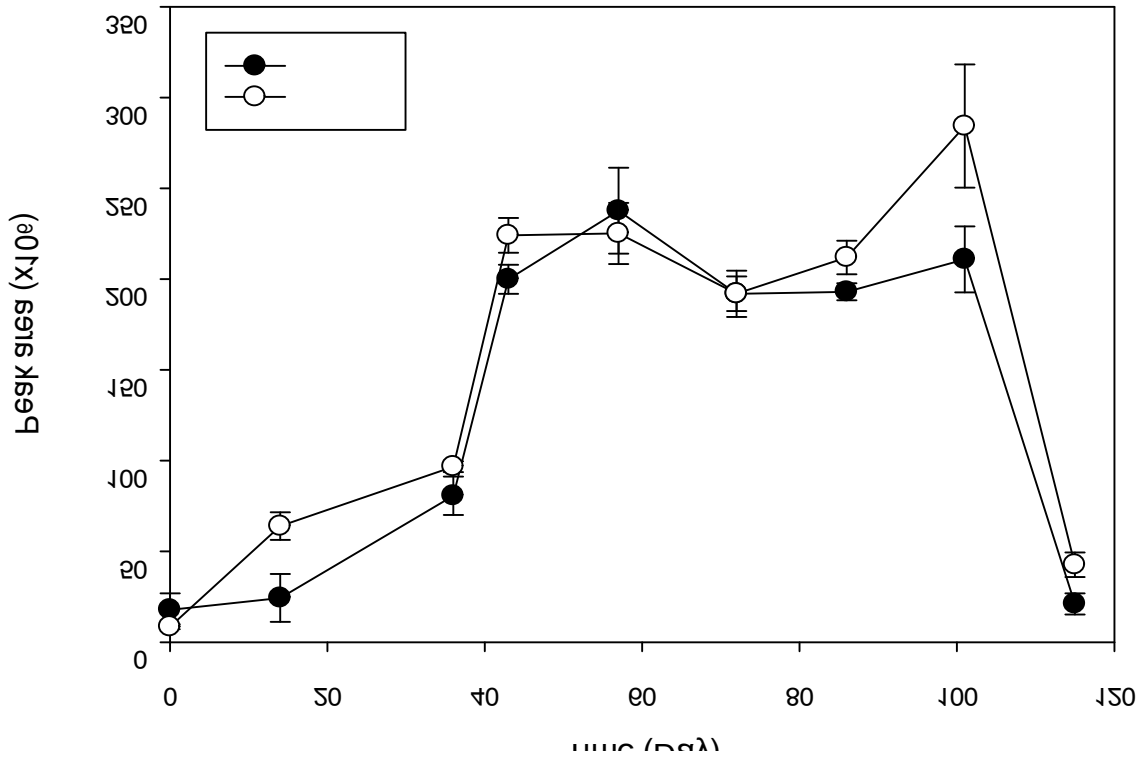


그림 338. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 benzoic acid의 변화.

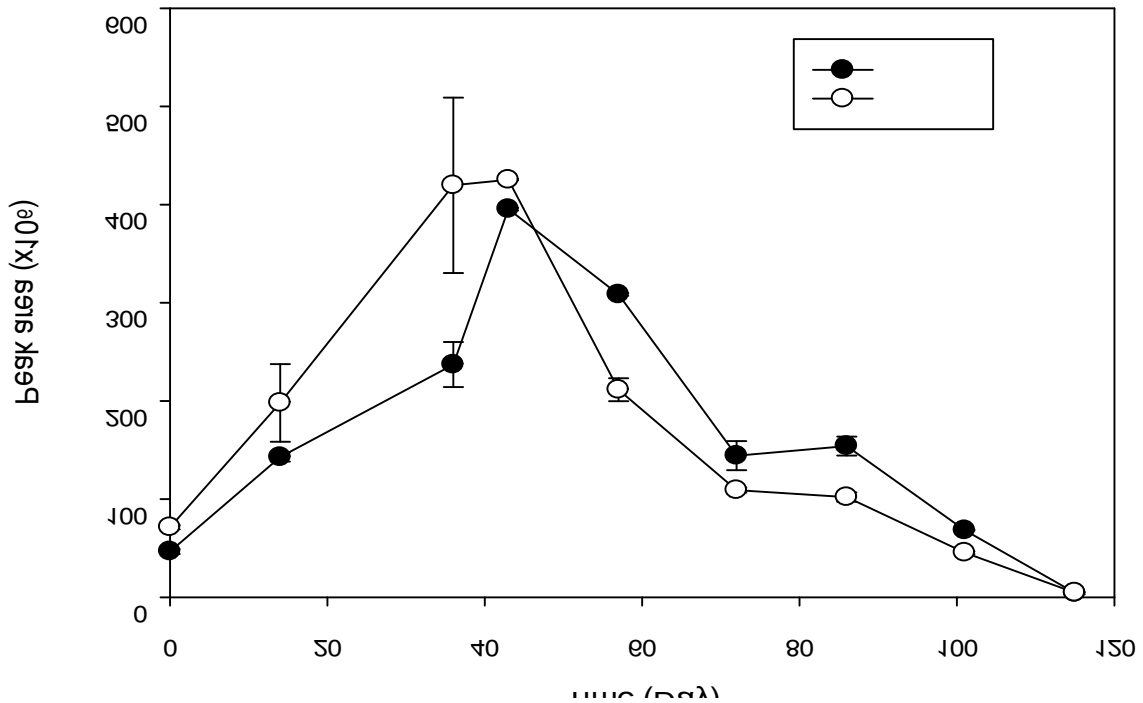


그림 339. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 1-dodecanol의 변화.

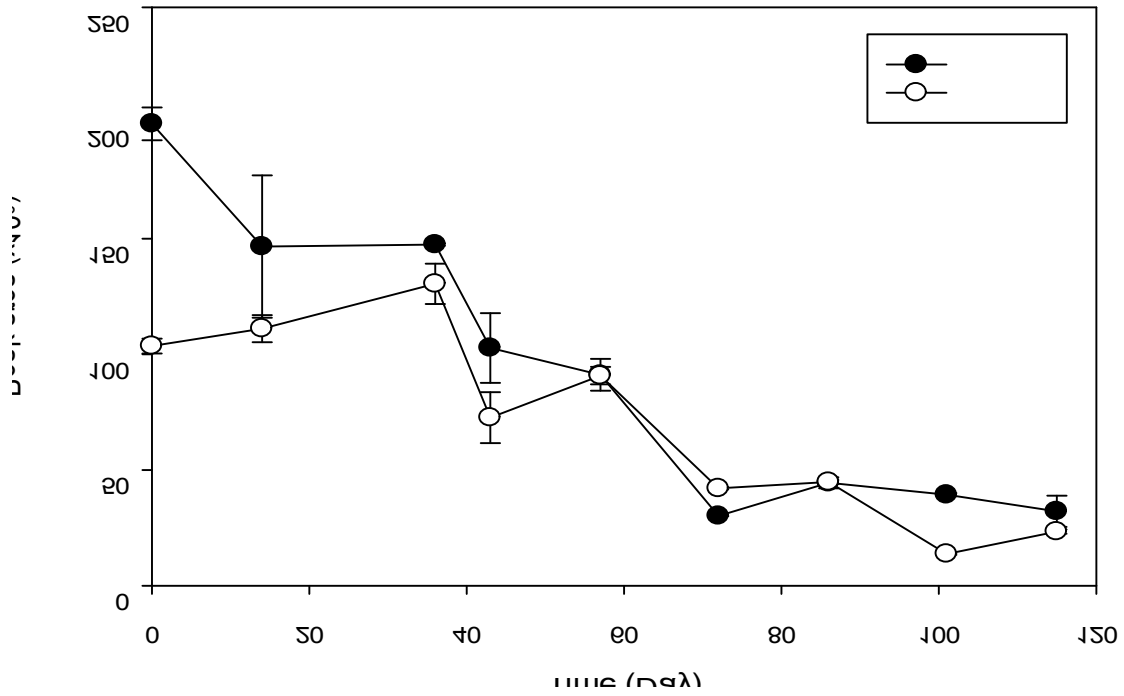


그림 340. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 ethyl isovalerate의 변화.

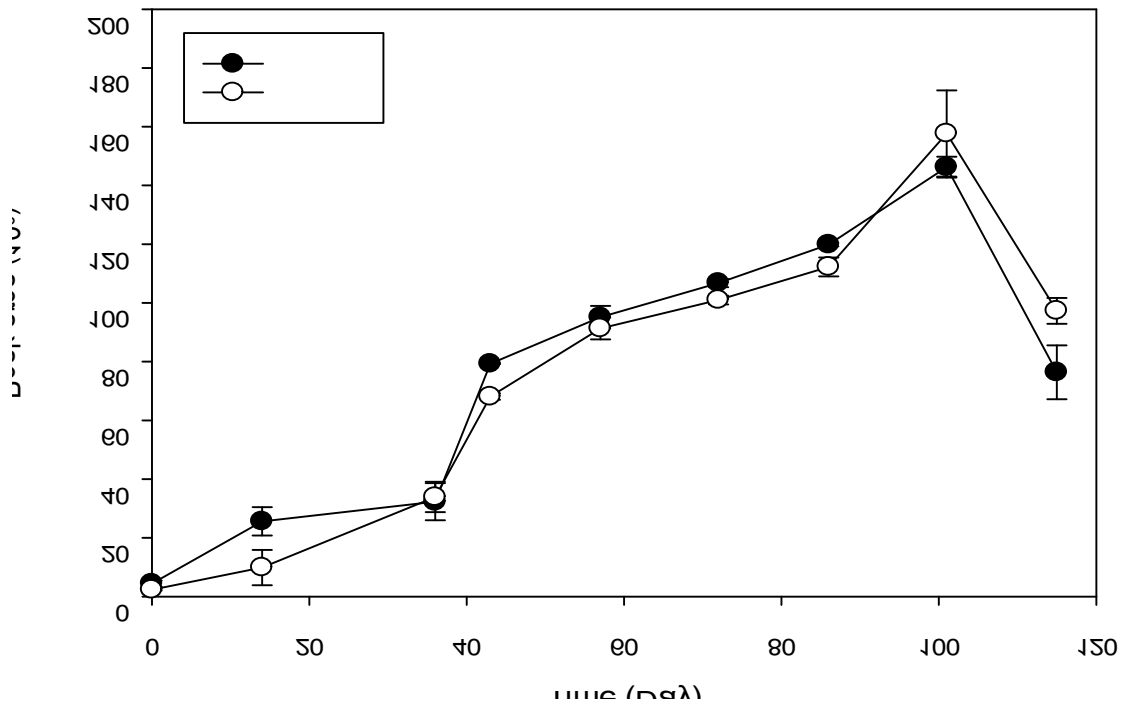


그림 341. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one의 변화.

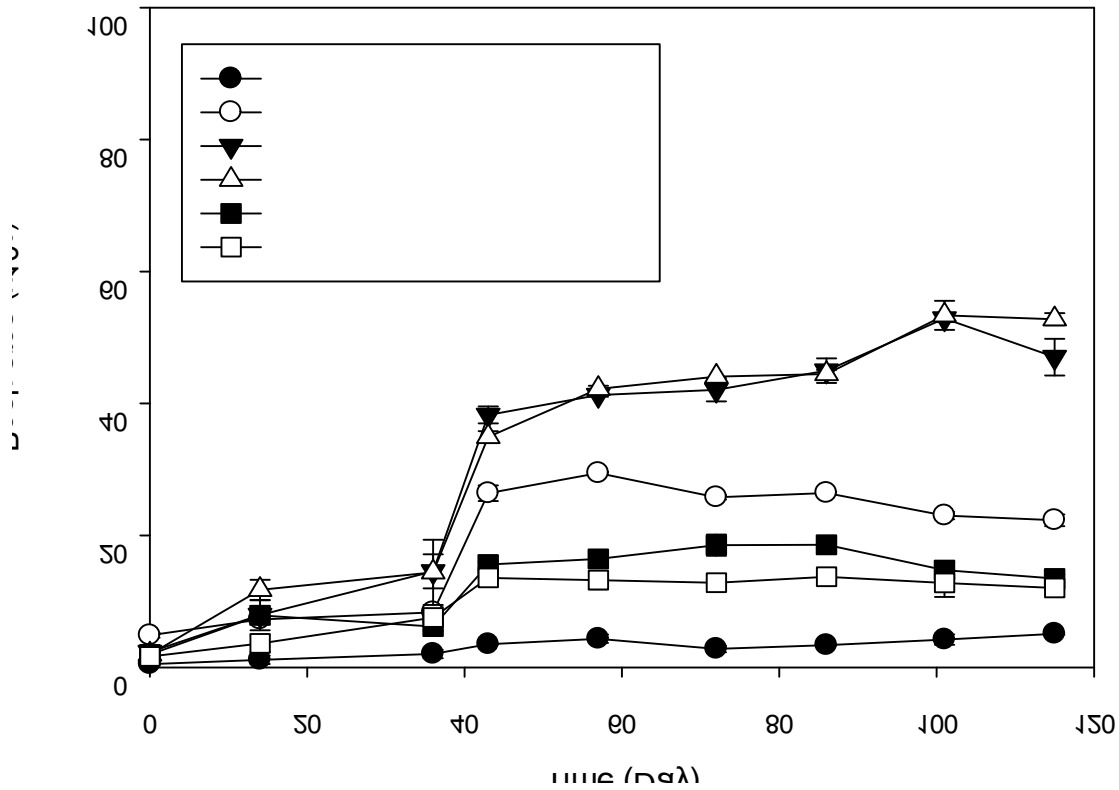


그림 342. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 aroma-active compounds의 변화.

(나) 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 광산화 조건에서의 휘발성 향기성분 분석

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 광산화 조건에서 저장기간을 달리한 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해 SPME를 사용하여 추출하고 GC-MS로 분석하였다(그림 343 및 344).

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 광산화 조건에서 저장기간에 따라 변화가 큰 화합물은 열 안정성 조건에서 변화를 보였던 화합물과 동일하였다 (그림 345, 346, 347, 348, 349, 350).

또한, 저장기간에 따른 향미의 변화를 확인하기 위하여 SAFE 및 LLCE를 통하여 동정된 aroma-active compounds (그림 351)의 함량변화를 확인하였다.

가장 큰 변화를 보였던 화합물은 (*E*)-3-penten-2-one (그림 345) 및 furfural (그림 346)이었다. (*E*)-3-penten-2-one (그림 345) 및 furfural (그림 346)은 저장기간에 따라 함량이 지속적으로 증가하였으며, (*E*)-3-penten-2-one (그림 345)의 경우 저장 101일까지 소량 증가하다가 115일 큰 폭으로 증가하였다. 또한 이는 비캡슐 푸레주스에 비해 캡슐 푸레주스에서 더 큰 폭으로 증가하는 경향을 나타내었다.

1-dodecanol (그림 348)의 경우 저장기간 43일째 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스에서 가장 큰 폭으로 함량이 증가하였으며, 이후 소량 감소하여 저장 115일째의 함량은 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스에서 유사한 수준으로 감소하였다.

Aroma-active compounds (Figure 22)의 경우 저장 초기에 비해 저장기간이 진행될 수록 향 활성 화합물의 함량이 증가하는 경향을 보여주었으나, 열 안정성조건에 비해 함량변화는 크지 않았다.

광산화 조건에서도 45°C 조건과 비슷한 pattern으로 저장 14일 이후에 일부 화합물을 제외한 전체적인 휘발성 성분의 chromatogram의 변화는 크지 않았으며, 향 활성 화합물의 감소는 없었다.

결론적으로, 45°C 및 광산화 조건에서 저장0일부터 14일까지 휘발성 성분의 변화가 있었으나 이후 일부 휘발성 성분을 제외하고 전체적 휘발성 성분의 변화 pattern은 크지 않았다. 또한, 45°C 및 광산화 조건에서의 캡슐 푸레주스와 비캡슐 푸레주스간의 변화 pattern은 큰 차이점을 보이지 않았으며 저장기간에 따른 aroma-active compounds 함량감소가 없는 것으로 미뤄보아 관능적으로 감지되는 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 향의 변화는 크지 않는 것으로 결론지었다. 그러나, 광산화 조건보다 45°C에서 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분의 변화 pattern이 더 크게 관찰되어 빛보다 열에 취약할 것으로 생각된다.

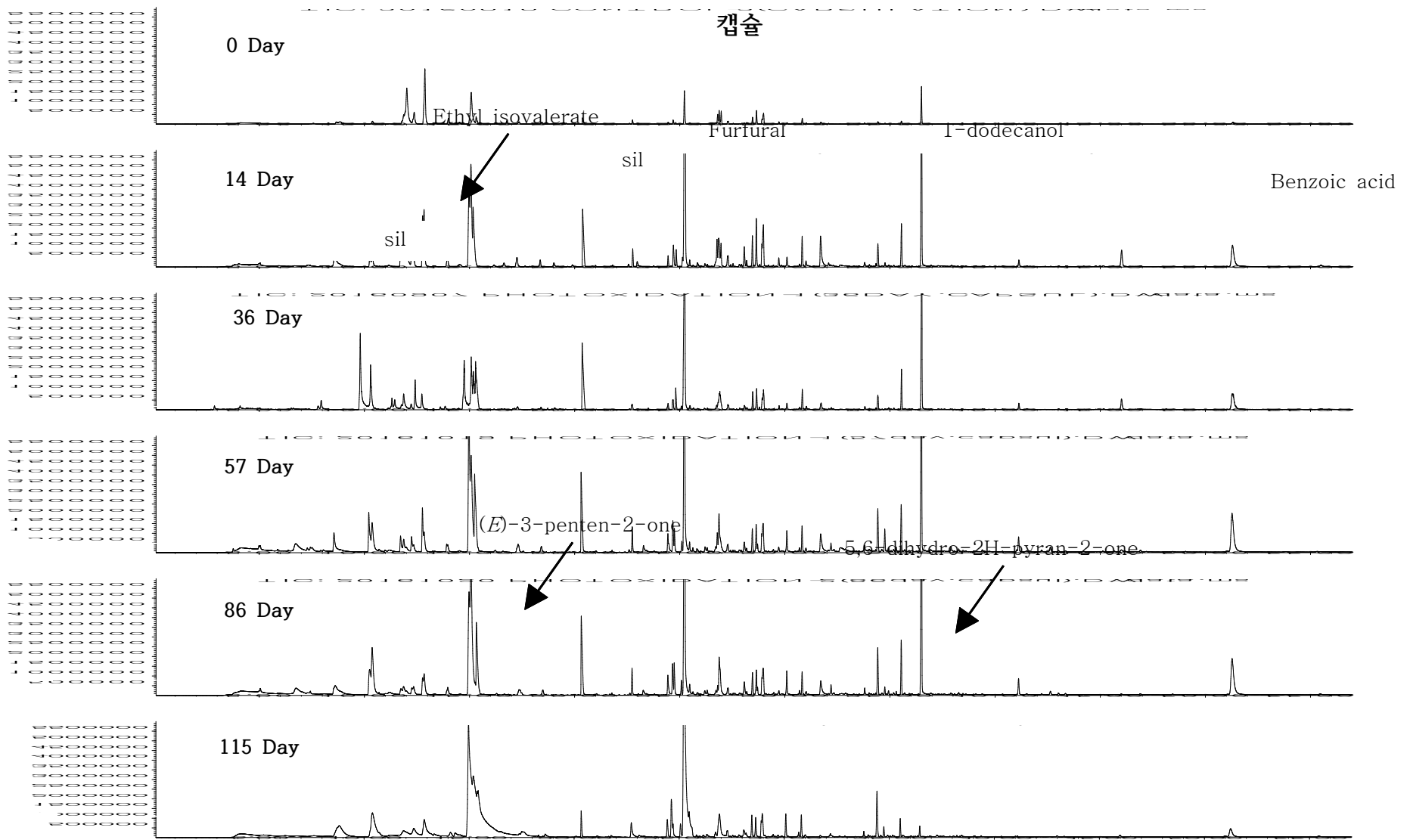


그림 343. Total ion chromatogram of photooxidation condition from capsulated puree juice by SPME methods. (sil = siloxane)

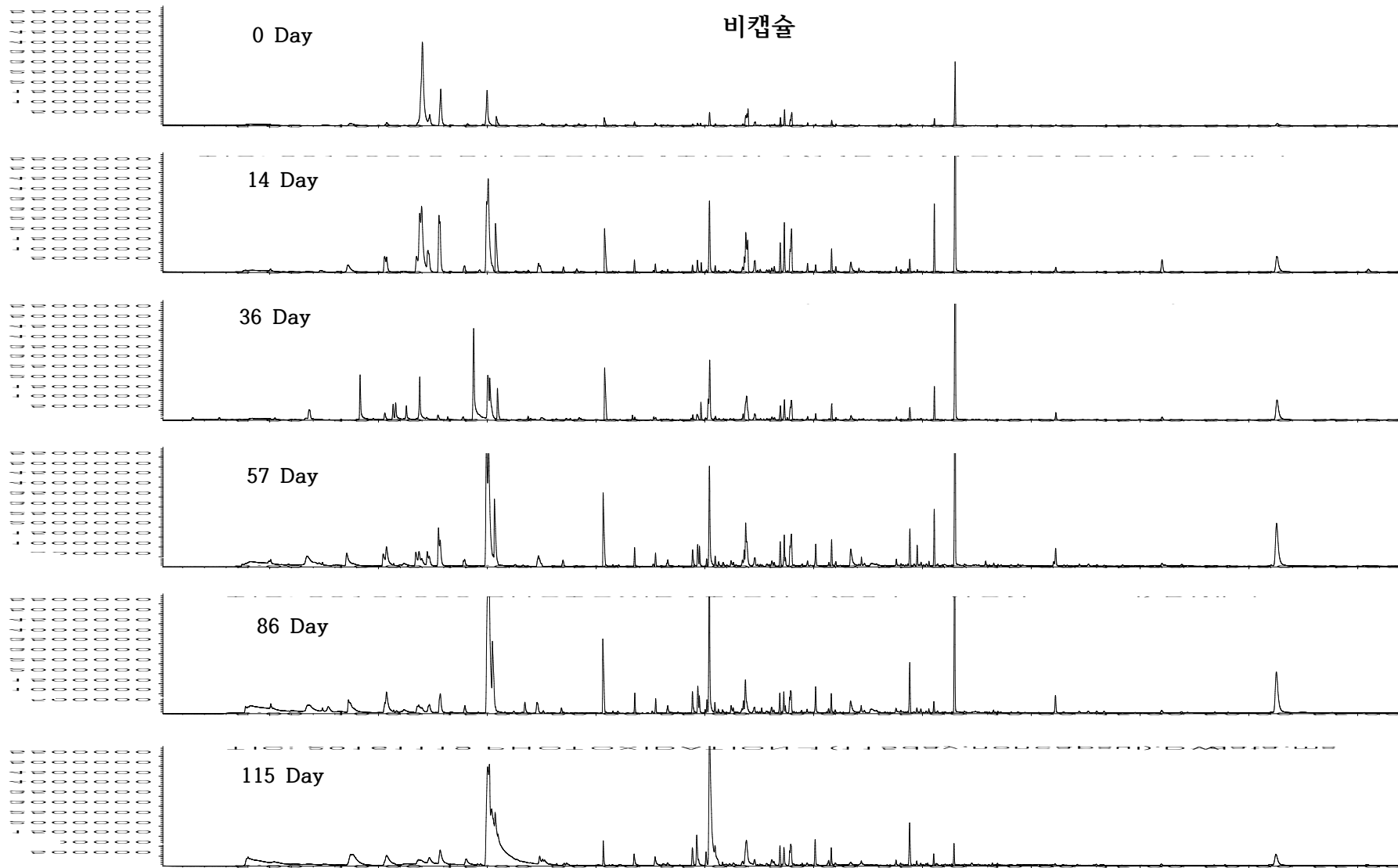


그림 344. Total ion chromatogram of photooxidation condition from non-capsulated puree juice by SPME methods.

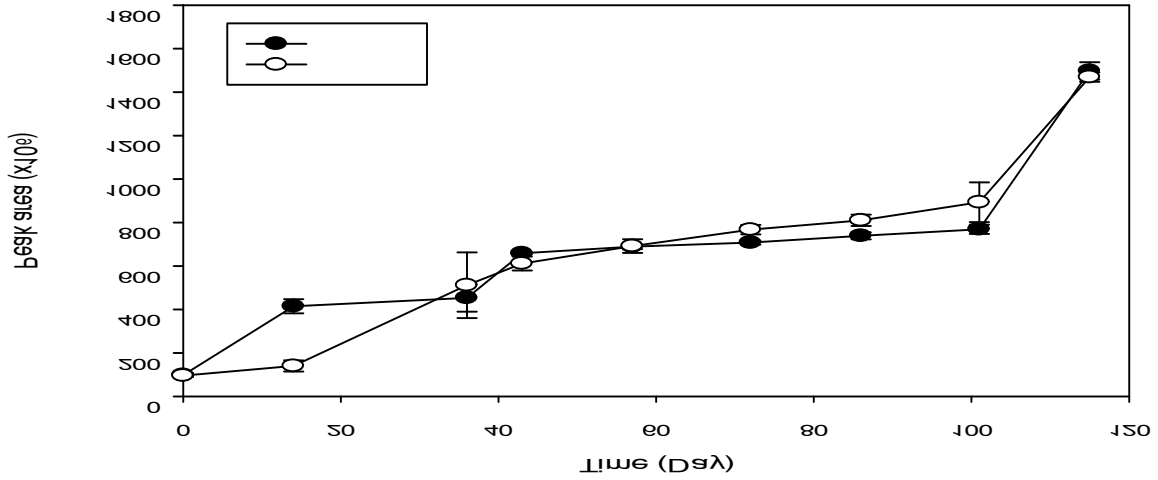


그림 345. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 (E)-3-penten-2-one의 변화.

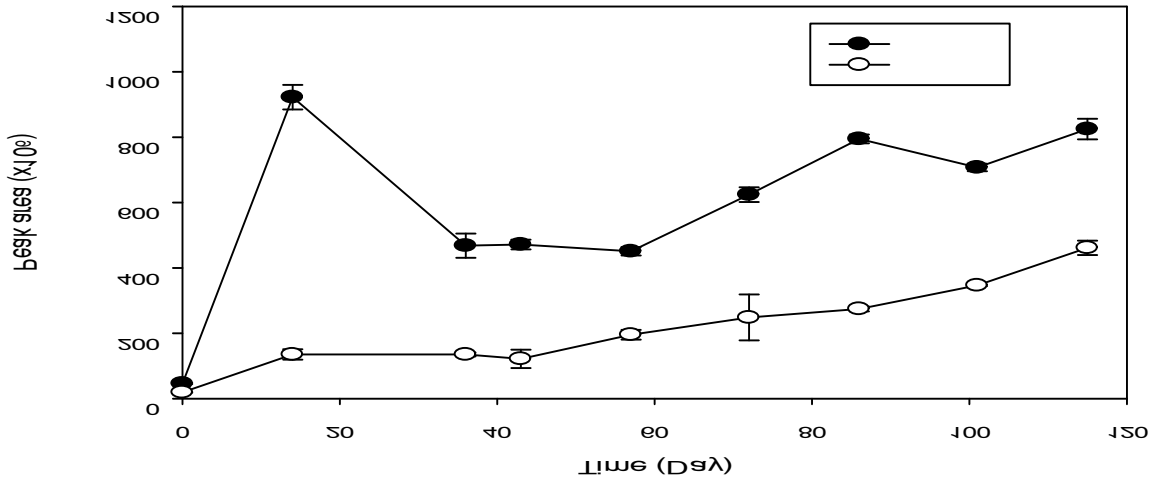


그림 346. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 furfural의 변화.

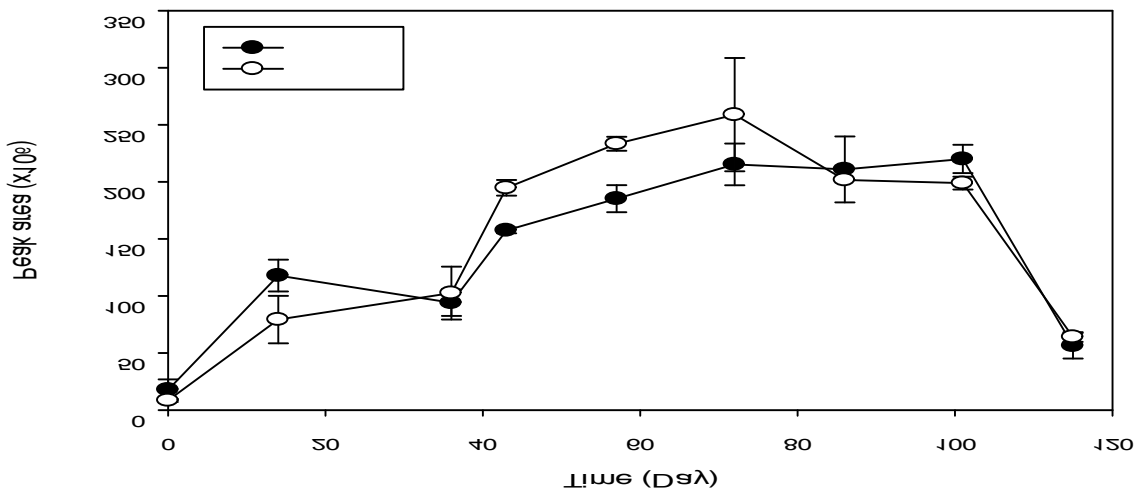


그림 347. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 benzoic acid의 변화.

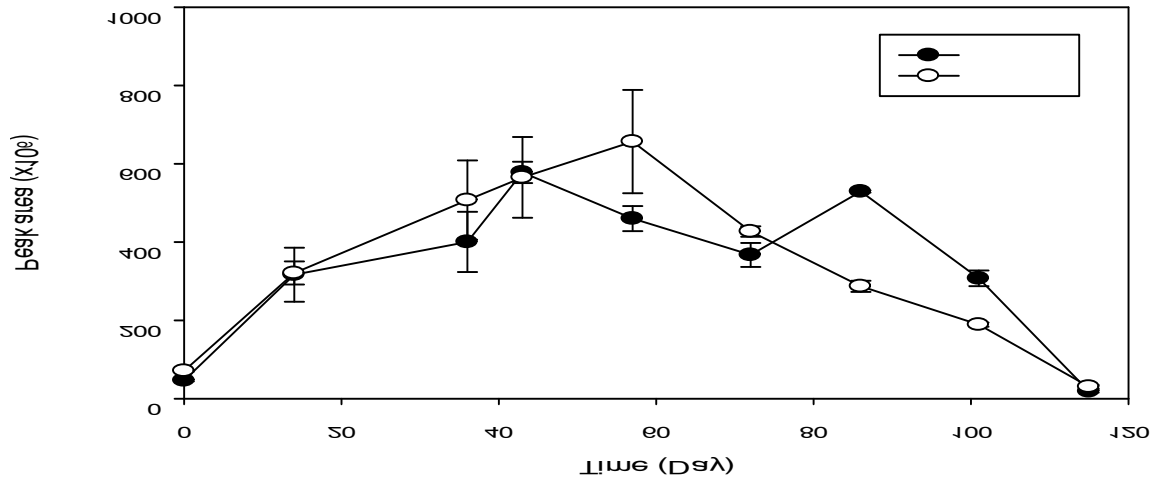


그림 348. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 1-dodecanol의 변화.

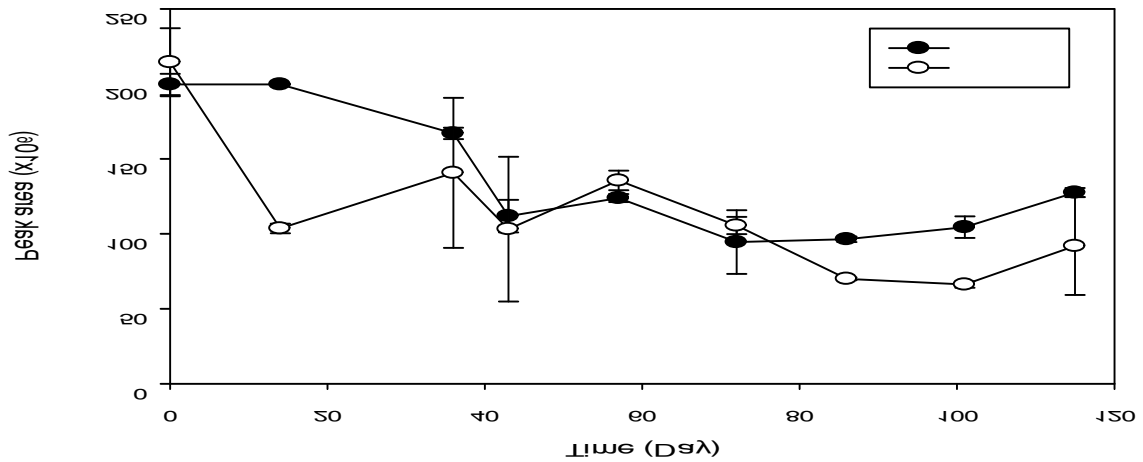


그림 349. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 ethyl isovalerate의 변화.

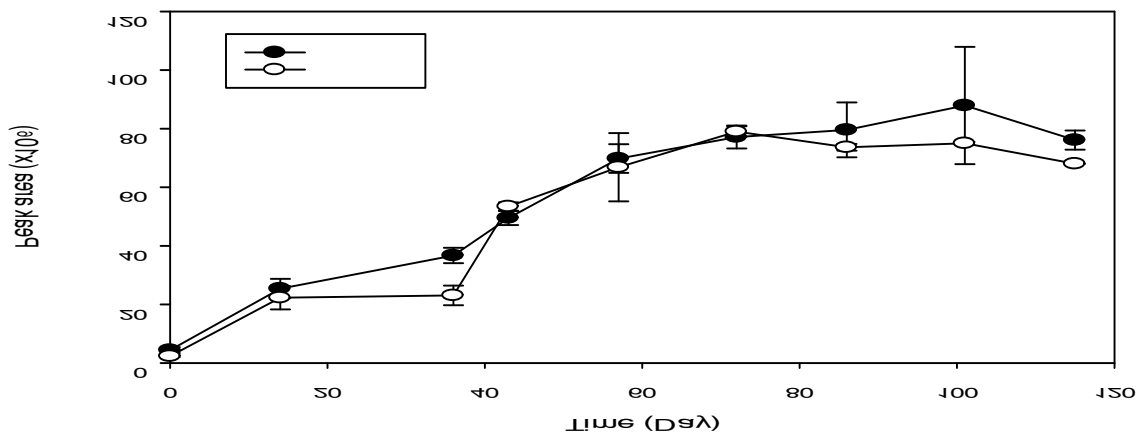


그림 350. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 퓨레주스 및 비캡슐 퓨레주스의 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one의 변화.

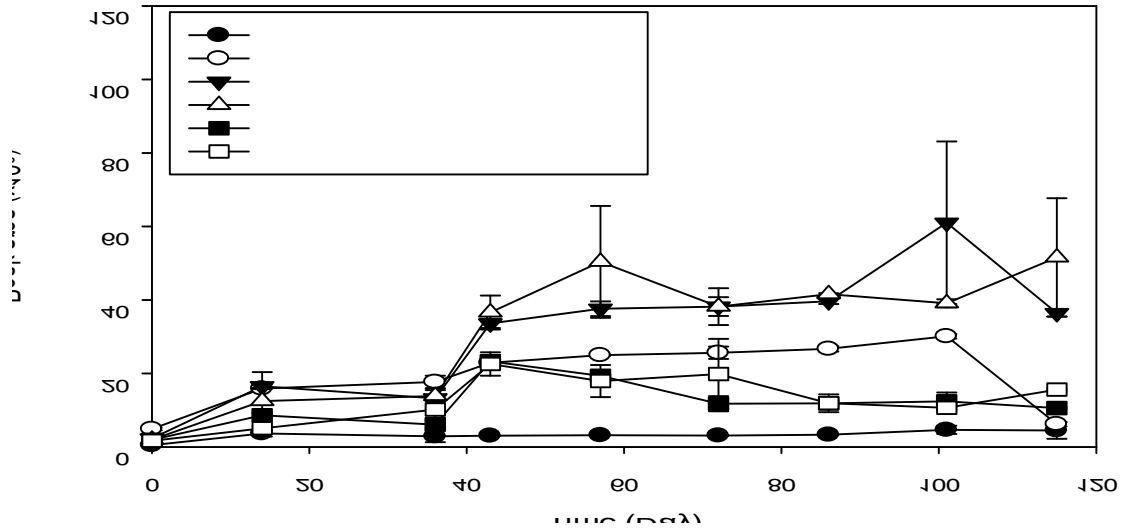


그림 351. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 aroma-active compounds의 변화

(다). 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 45°C 조건에서의 휘발성 향기성분 분석

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 열 안정성을 확인하기 위해 45°C에서 저장기간을 달리한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 SPME를 사용하여 추출하고 GC-MS로 분석하였다(그림 352, 353).

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 저장기간에 따라 변화가 큰 화합물은 ester compounds (그림 354), 1-hexanol (그림 355), furfural (그림 356), (*E*)-2-hexen-1-ol (그림 357), benzaldehyde (그림 358) 등 이었다.

발효 스파클링 음료에서 ester 화합물 중 ethyl 2-methylbutyrate 및 ethyl crotonate를 제외하고 모든 ester 화합물은 저장 0일에 비해 저장기간에 따라 함량이 일부 증가하거나 또는 감소하는 경향을 보여주었으나, 결과적으로 저장 115일에는 저장초기보다 낮은 함량으로 동정되었다. (그림 354).

또한, 1-hexanal (그림 355), furfural (그림 356), (*E*)-2-hexen-1-ol (그림 357) 및 benzaldehyde (그림 358)는 저장기간이 지남에 따라 함량이 지속적으로 증가하는 특징을 나타내었다.

그림에 나타난 휘발성 성분의 증가 또는 감소 pattern은 발효 스파클링 음료와 비발효 스파클링 음료에서 큰 차이점을 나타내지 않았다.

저장기간에 따른 aroma-active compounds의 변화를 확인하기 위해 LLCE 및 SAFE를 통해 동정된 휘발성 향기성분의 함량 변화를 확인하였으며 (그림 359), 저장기간이 지남에 따라 전체 향 활성 화합물의 함량이 증가하는 경향을 나타내는 것을 확인하였다.

결론적으로, 45°C에서 저장 초기 휘발성 향기성분들이 크게 변화하였으나 36일 이후로의 전체적 chromatogram의 pattern은 유사하게 관찰되었으며, 발효 스파클링 음료

및 비발효 스파클링 음료의 변화 pattern의 차이점은 아주 미비하였다. 또한 저장기간에 따라서 aroma-active compounds의 함량이 감소하지 않는 것으로 미뤄보아 45℃에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 관능적으로 감지되는 향의 변화는 크지 않는 것으로 결론지었다.

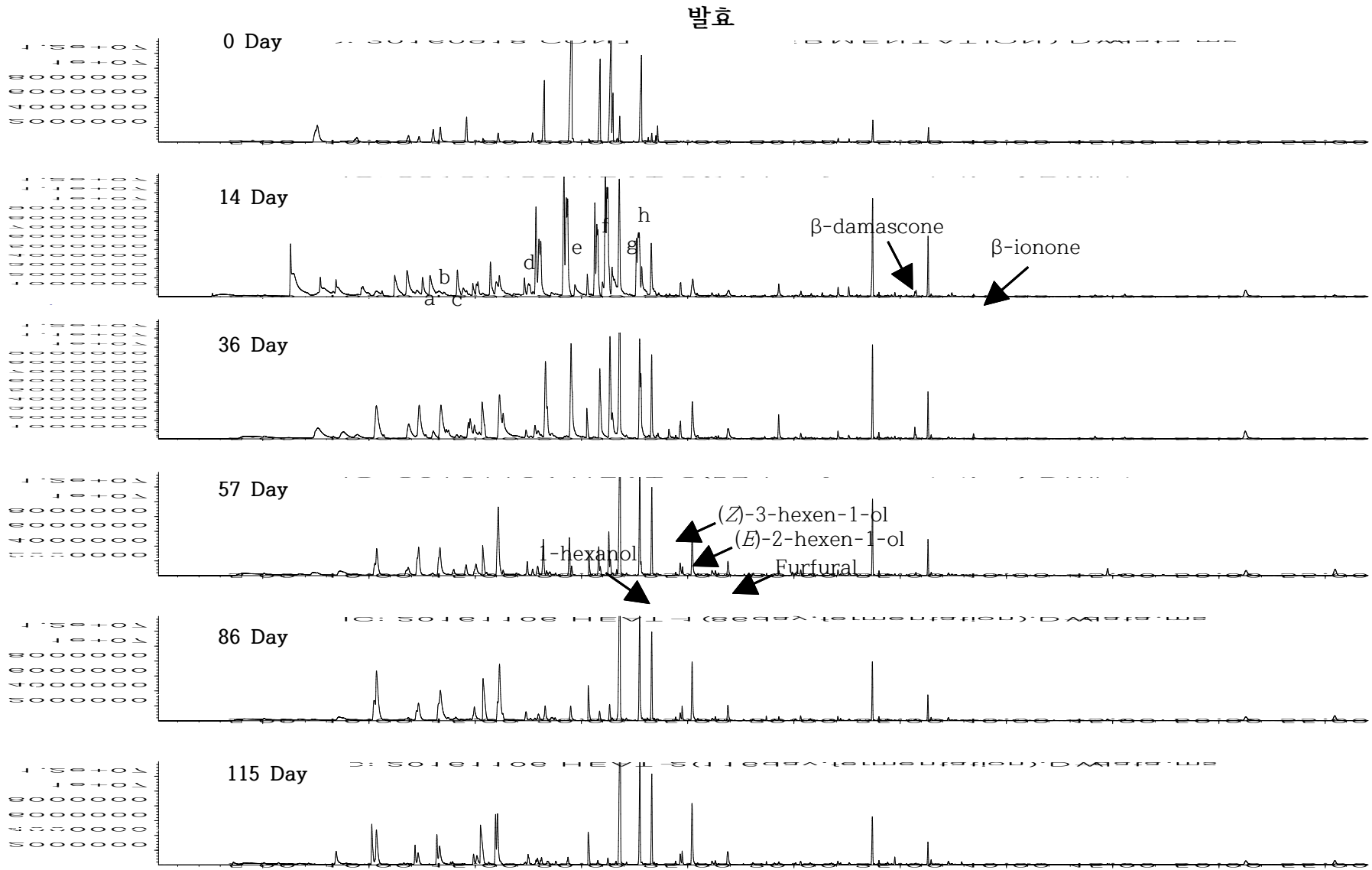


그림 352. Total ion chromatogram of 45°C condition from fermented sparkling beverage by SPME methods.
(a = Ethyl butyrate, b = Ethyl 2-methylbutyrate, c = Butyl acetate, d = Ethyl crotonate, e = Ethyl caproate, f = Hexyl acetate, g = (*Z*)-3-hexenyl acetate, h = (*E*)-2-hexenyl acetate)

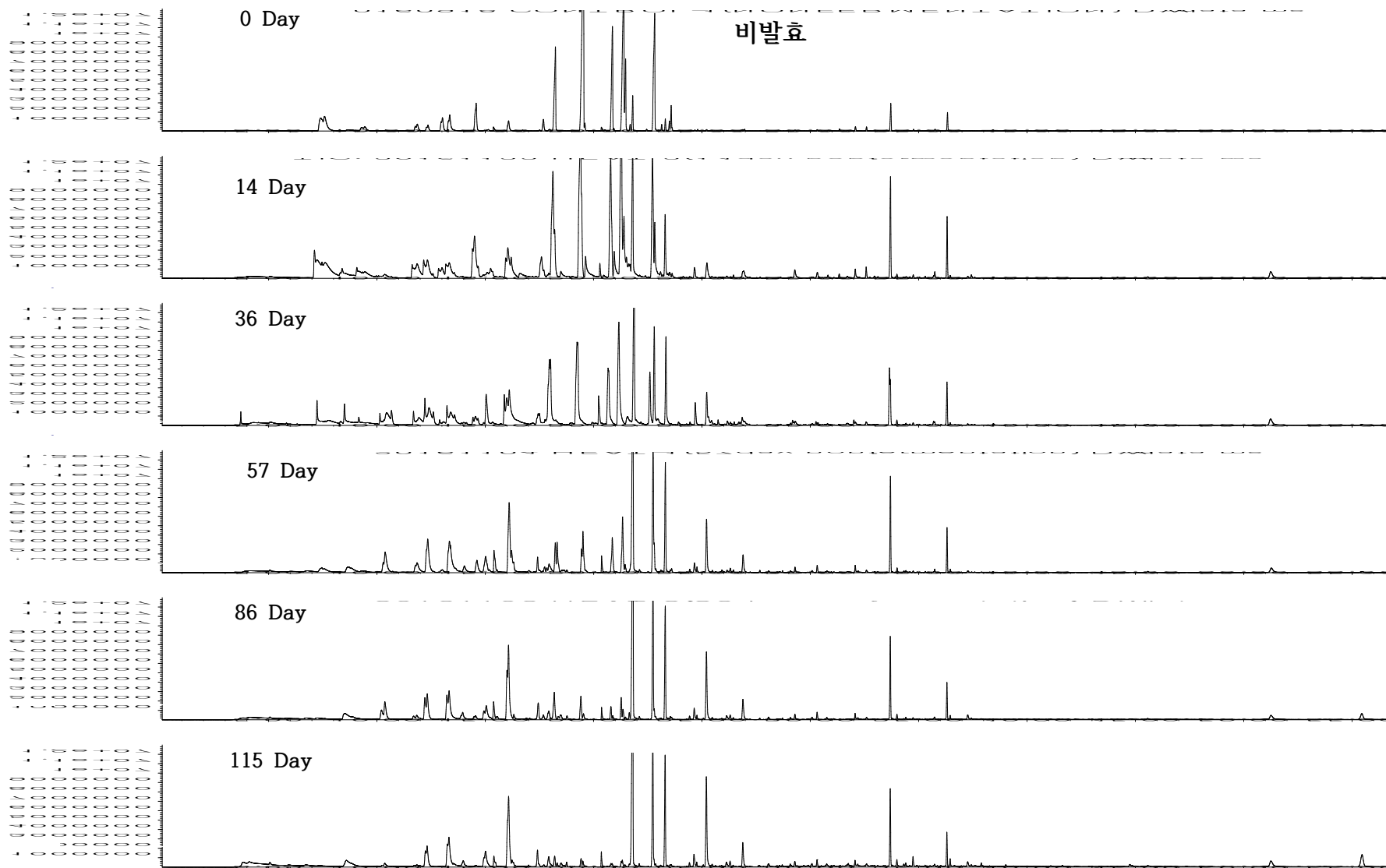


그림 353. Total ion chromatogram of 45°C condition from non-fermented sparkling beverage by SPME methods.

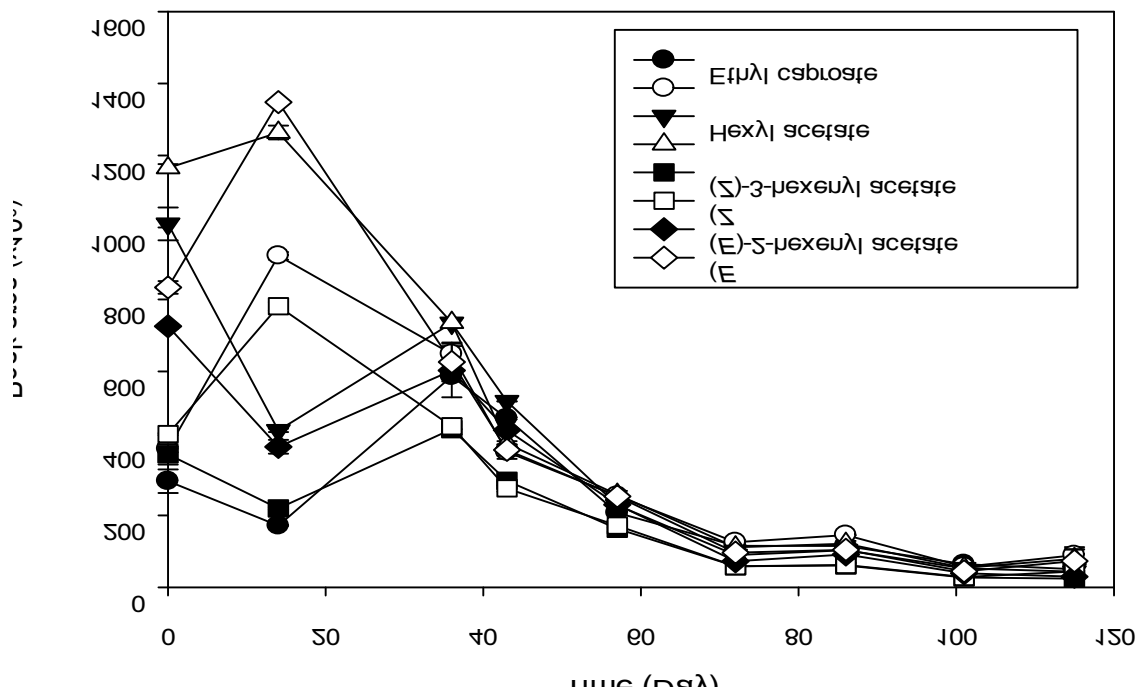
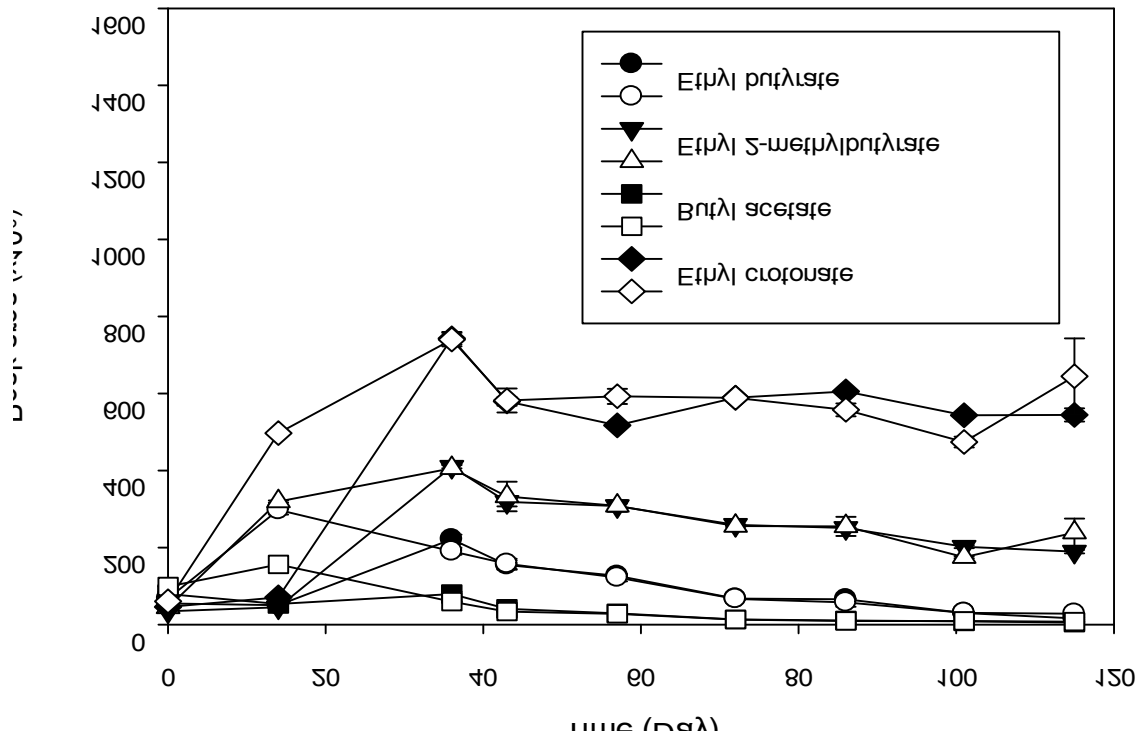


그림 354. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 ester compounds의 변화.

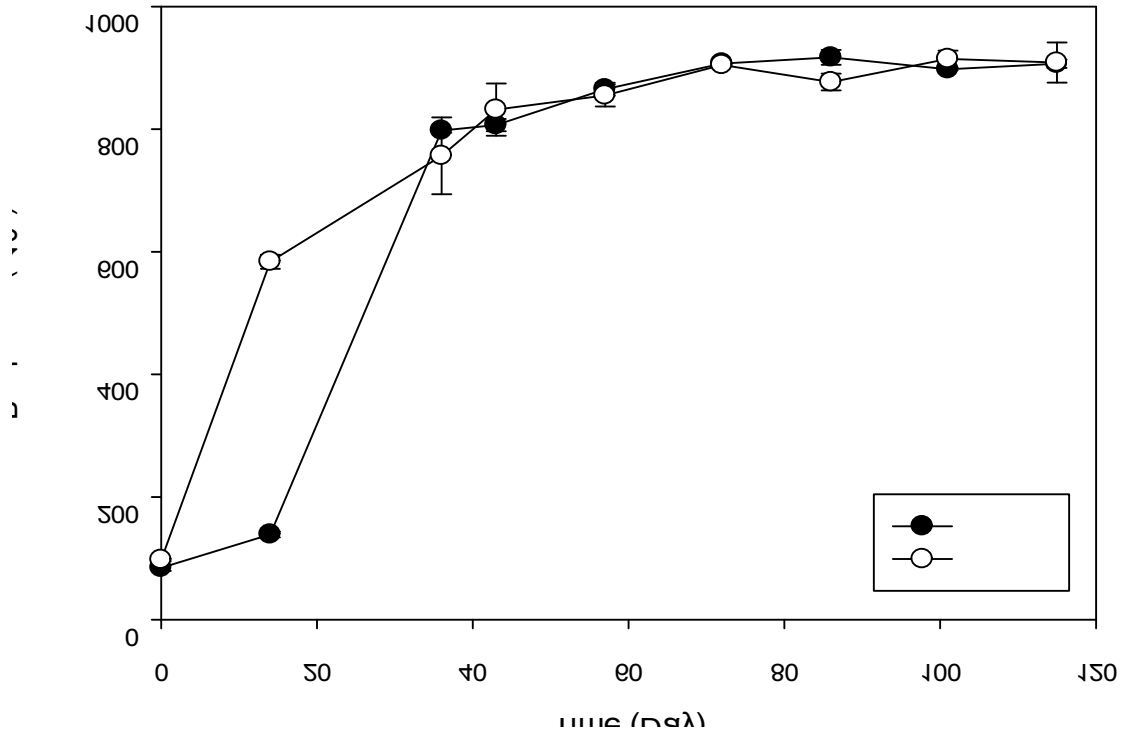


그림 355. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 1-hexanol의 변화.

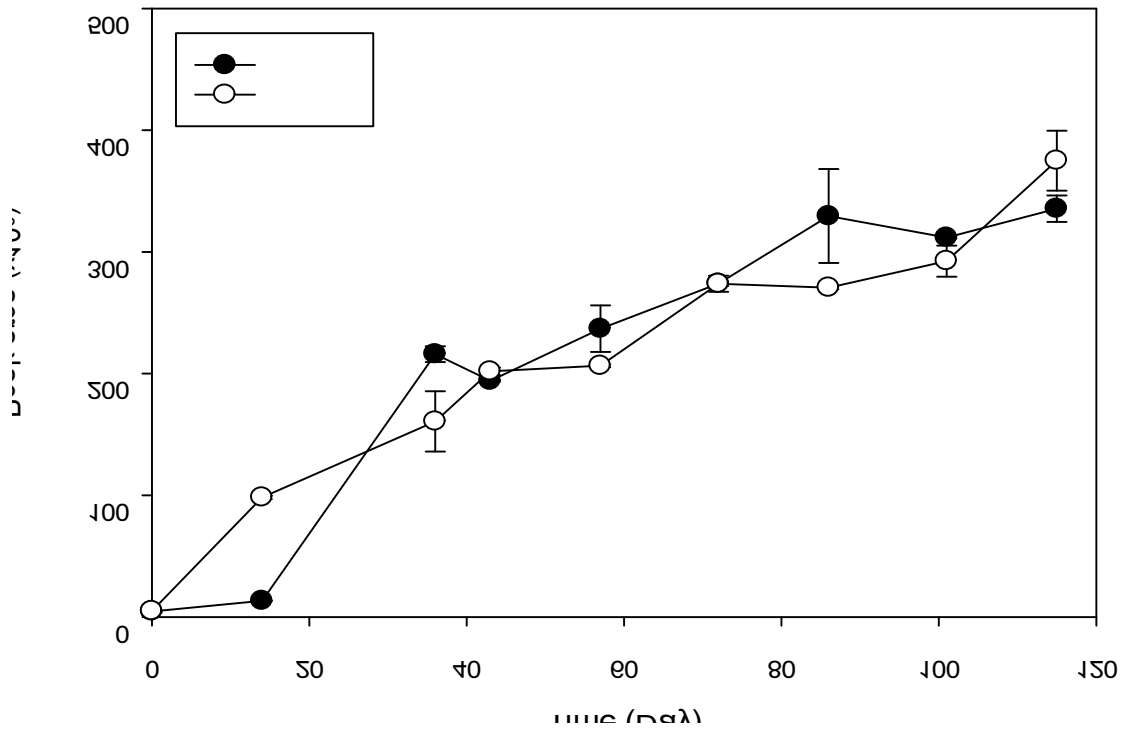


그림 356. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 furfural의 변화.

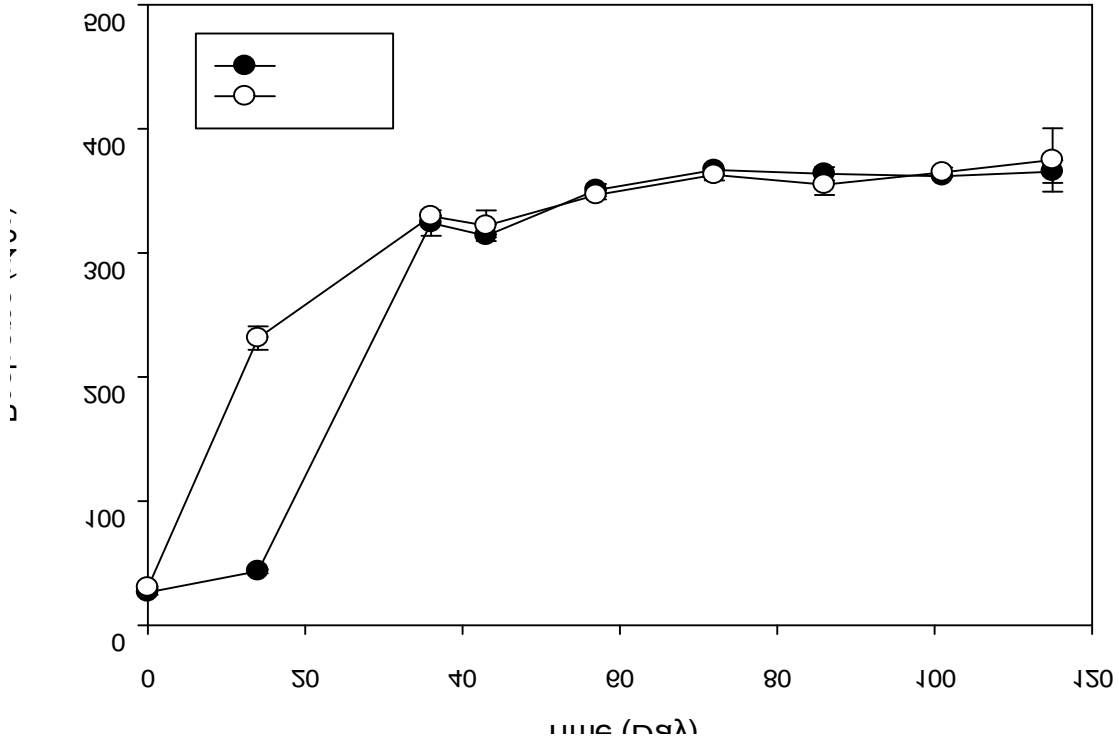


그림 357. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 (E)-2-hexen-1-ol의 변화.

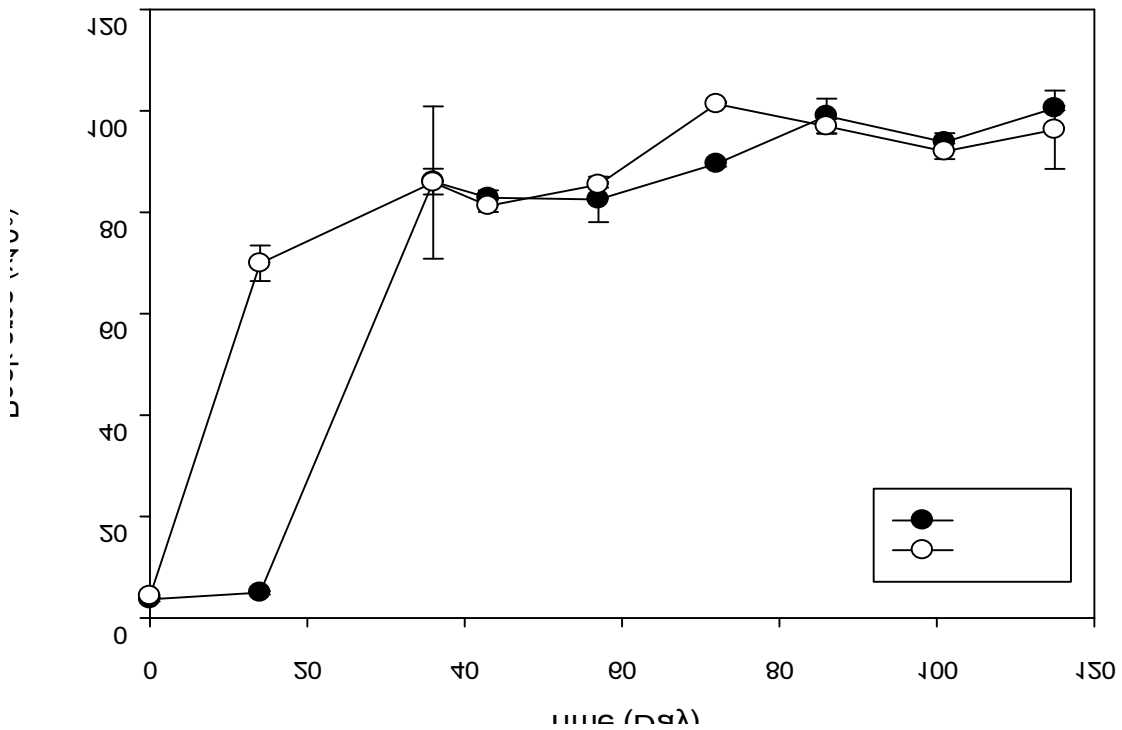


그림 358. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 benzaldehyde의 변화.

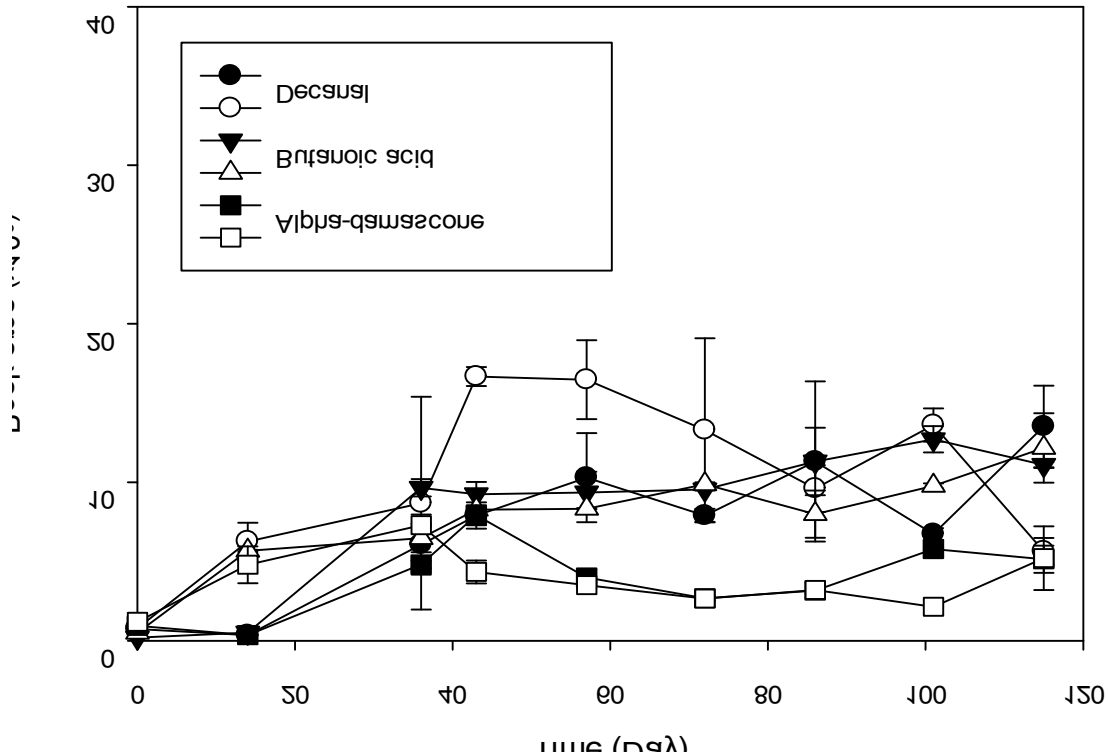


그림 359. 45°C 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 aroma-active compounds의 변화.

(라) 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 광산화 조건에서의 휘발성 향기성분 분석

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 광산화 조건에서 휘발성 향기성분 확인하기 위해 저장기간을 달리한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분을 SPME를 사용하여 추출하고 GC-MS의 결과를 확인하였다 (그림 360, 361).

발효 스파클링 음료와 비발효 스파클링 음료의 광산화 조건에서 저장기간에 따라 변화가 큰 화합물은 열 안정성 조건에서 변화를 보였던 화합물과 동일하였다 (그림 362, 363, 364, 365, 366).

또한, 저장기간에 따른 향미의 변화를 확인하기 위하여 SAFE 및 LLCE를 통하여 동정된 aroma-active compounds (그림 367)의 함량변화를 확인하였다.

Ester 화합물 중 ethyl butyrate, ethyl 2-methyl butyrate 및 ethyl crotonate를 제외한 전체 에스터 화합물의 함량은 증가하거나 감소하는 추이를 보이다가 저장 115일째 저장 초기에 비해 함량이 더 낮은 경향을 나타내었다 (그림 362).

특징적으로 45°C 조건에서 초반에 비해 저장 115일째 저장 0일보다 더 낮은 함량을 나타내었던 ethyl butyrate가 광산화 조건에서는 함량이 증가하는 경향을 나타내었다.

Ethyl butyrate는 자연계에서 많은 과일에 포함된 에스터 화합물로 널리 낙산에틸로

서 많이 알려져 있으며 식품 첨가물로 pineapple 또는 strawberry like 한 향 특징을 주는 향미소재로서 많이 이용되고 있다.

1-hexanol (그림 363), furfural (그림 364), (*E*)-2-hexen-1-ol (그림 365) 및 benzaldehyde (그림 366) 등의 휘발성 성분들은 저장기간에 지남에 따라 소량 감소하기도 하였으나, 저장 0일에 비해 저장 115일째 함량이 크게 증가하는 경향을 나타내었으며 이는 열 안정성 조건에서 증가하는 휘발성 성분과 일치하였다.

결론적으로, 저장 초기 큰 변화를 보였던 휘발성 성분은 저장기간이 지남에 따라 일부 ester 화합물들이 감소하고 1-hexanol, (*E*)-2-hexen-1-ol, furfural 및 benzaldehyde 등과 같은 일부 화합물이 증가하였으나 전체적 휘발성 성분 chromatogram의 pattern변화는 크지 않았다. 또한 저장기간에 따른 향 활성 화합물의 함량 감소가 관찰되지 않아 관능적으로 감지되는 발효 및 비발효 스파클링 음료의 향 특성은 큰 차이점을 보이지 않는 것으로 결론지었다. 그러나, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 45°C 조건과 광산화 조건을 비교해 볼 시 열에 의한 에스터 화합물 등의 감소가 더 많은 것으로 보아 열보다 빛에 훨씬 안정적인 것으로 결론지었다.

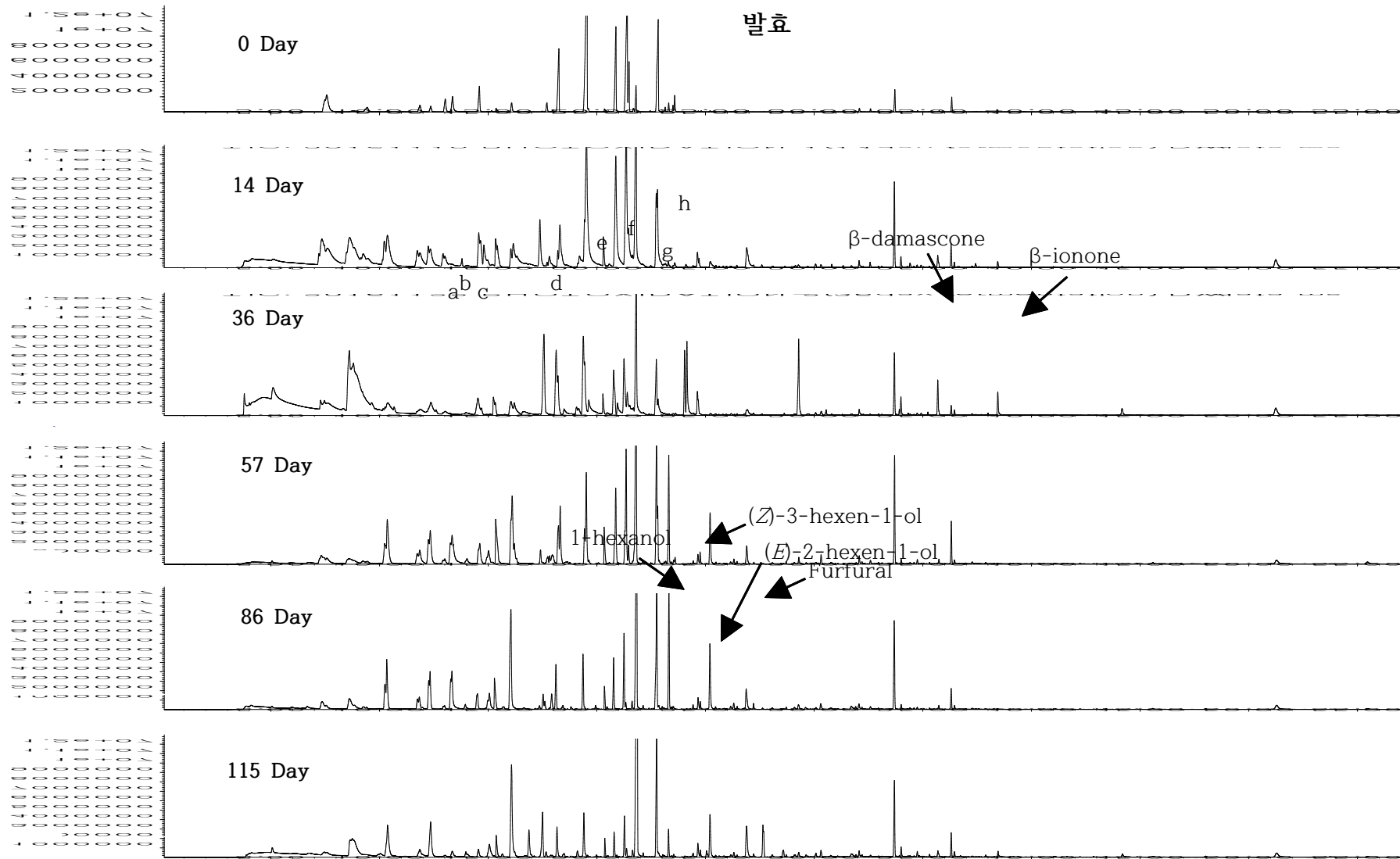


그림 360. Total ion chromatogram of photooxidation condition from fermented sparkling beverage by SPME methods. (a = Ethyl butyrate, b = Ethyl 2-methylbutyrate, c = Butyl acetate, d = Ethyl crotonate, e = Ethyl caproate, f = Hexyl acetate, g = (*Z*)-3-hexenyl acetate, h = (*E*)-2-hexenyl acetate)

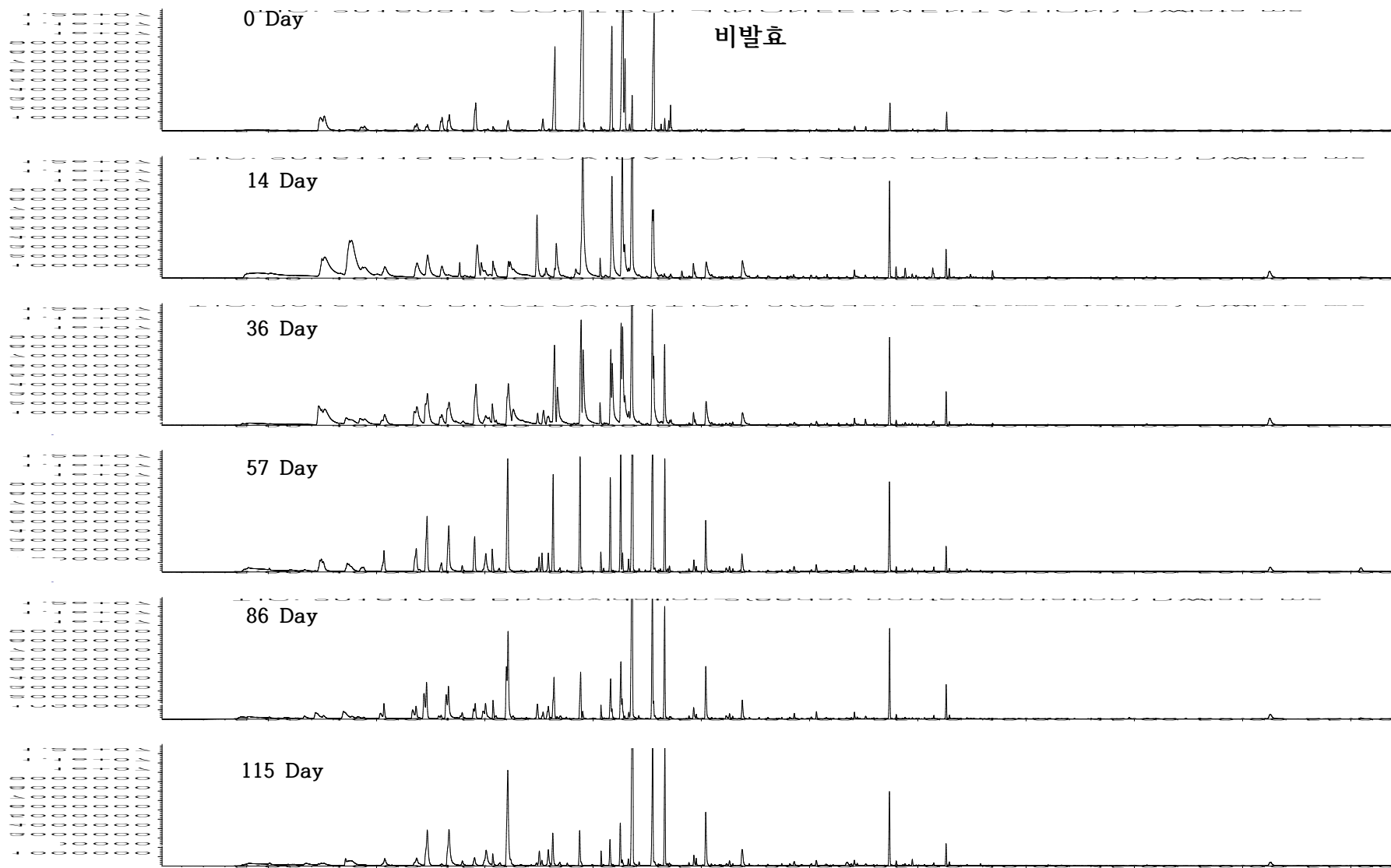


그림 361. Total ion chromatogram of photooxidation condition from non-fermented sparkling beverage by SPME methods.

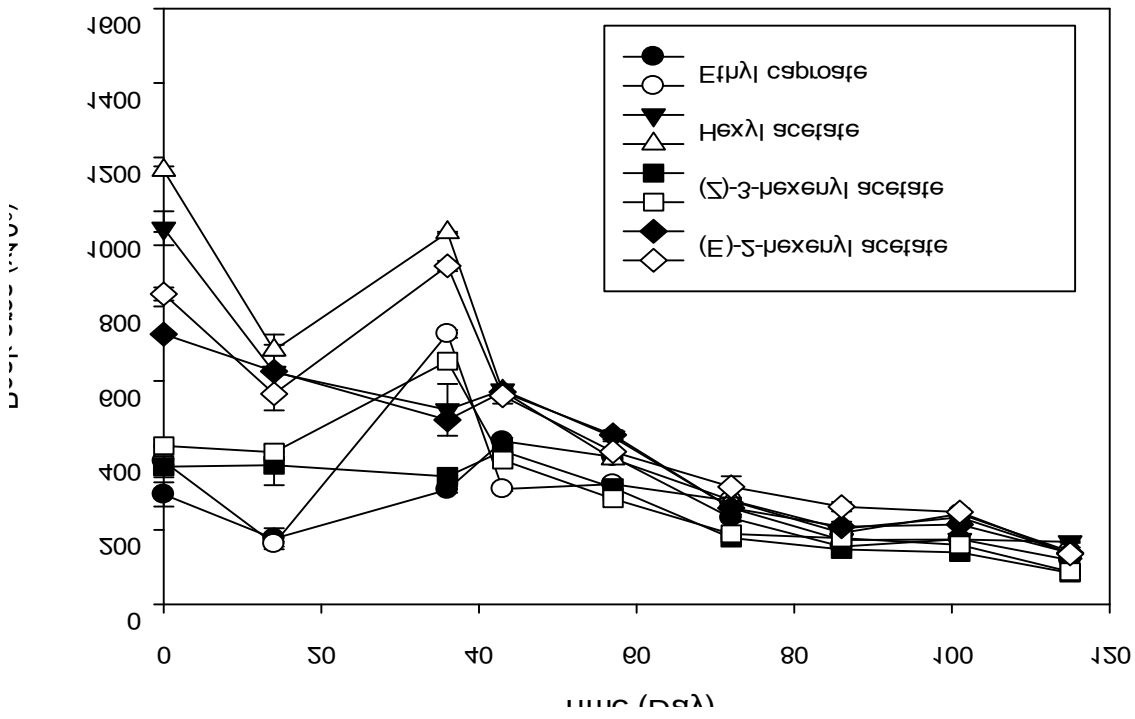
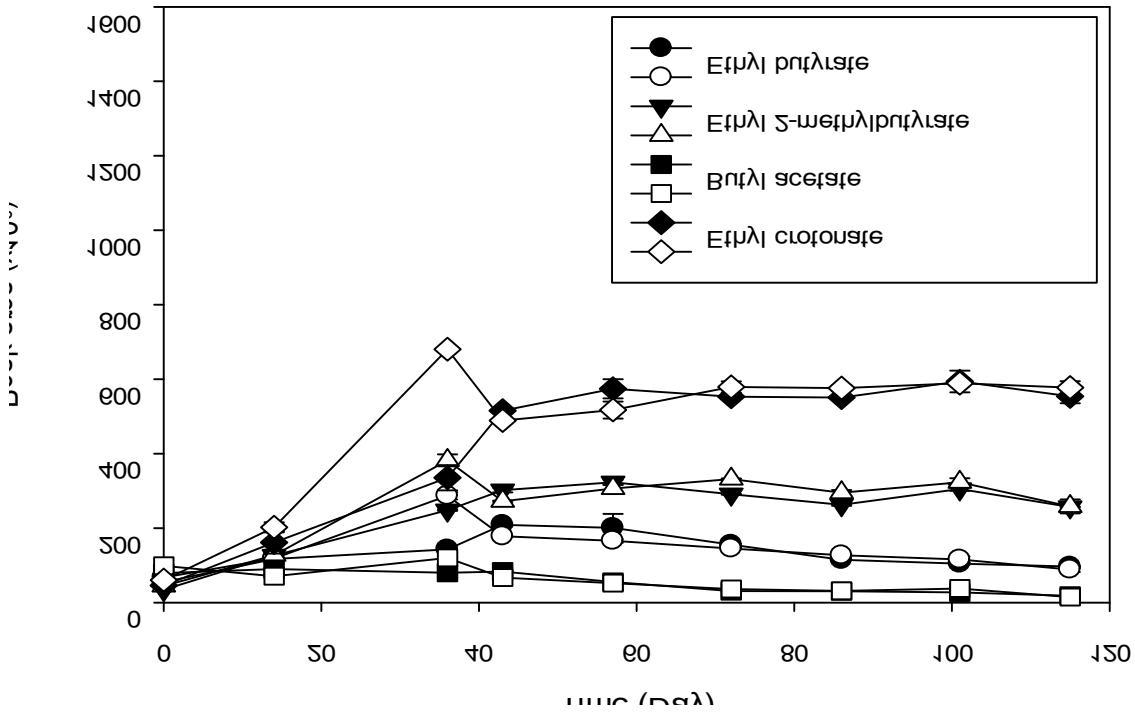


그림 362. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 ester compounds의 변화.

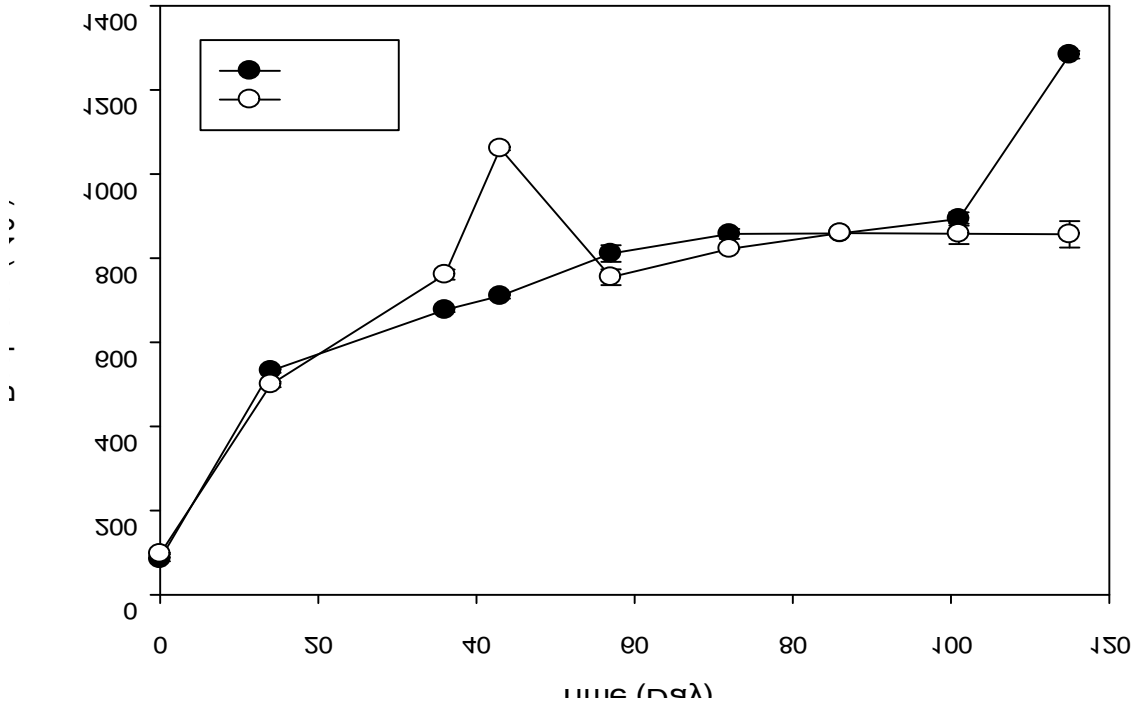


그림 363. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 1-hexanol의 변화.

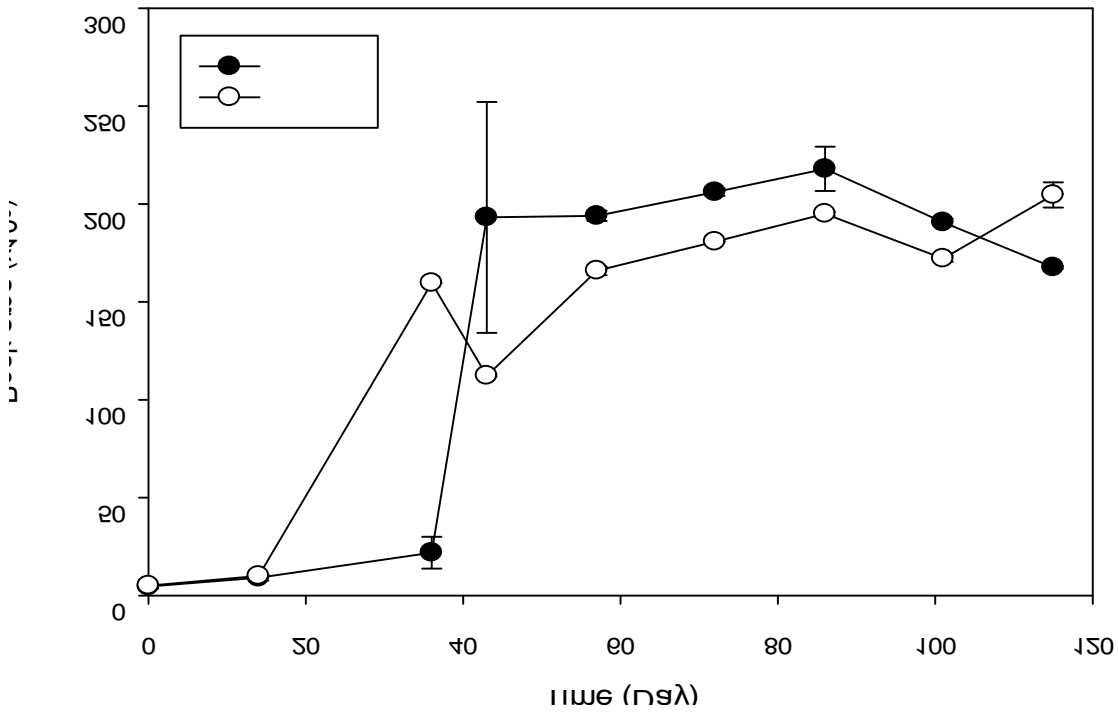


그림 363. 광산화 안정성 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 furfural의 변화.

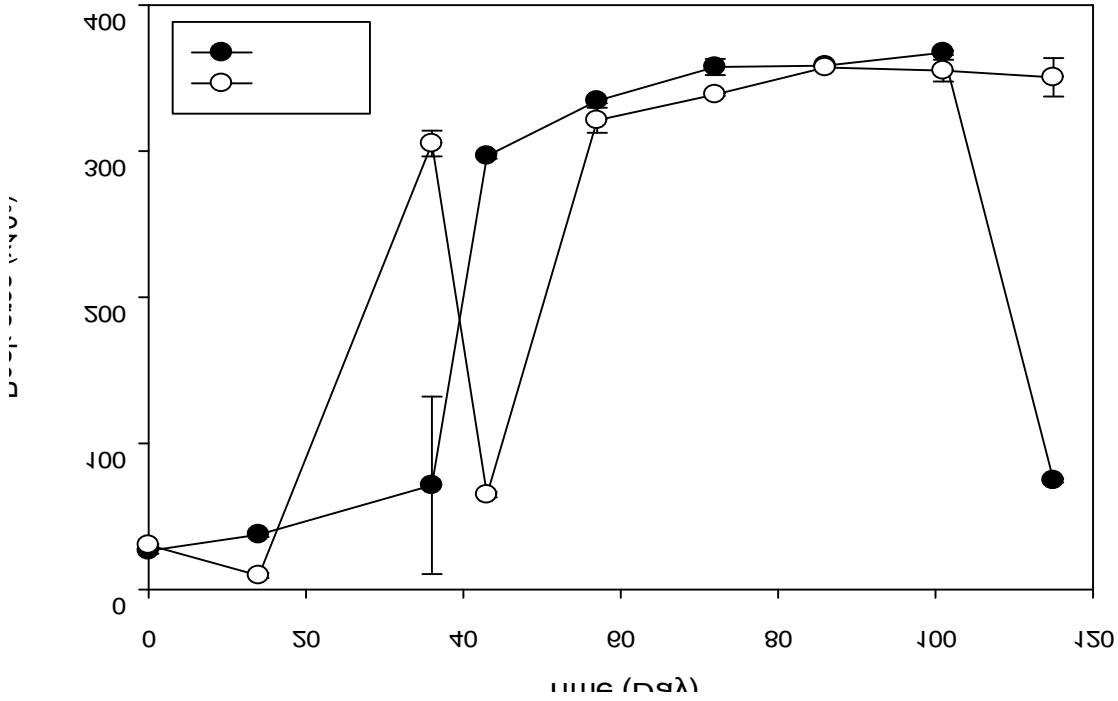


그림 364. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 (E)-2-hexen-1-ol의 변화.

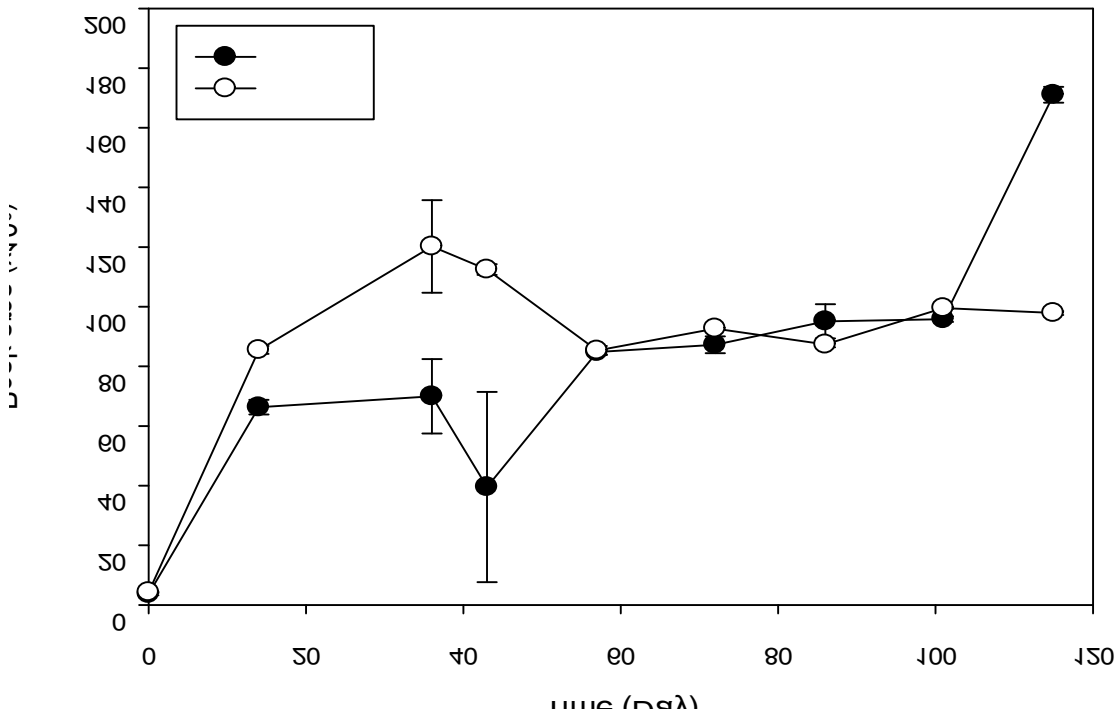


그림 365. 광산화 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 benzaldehyde의 변화.

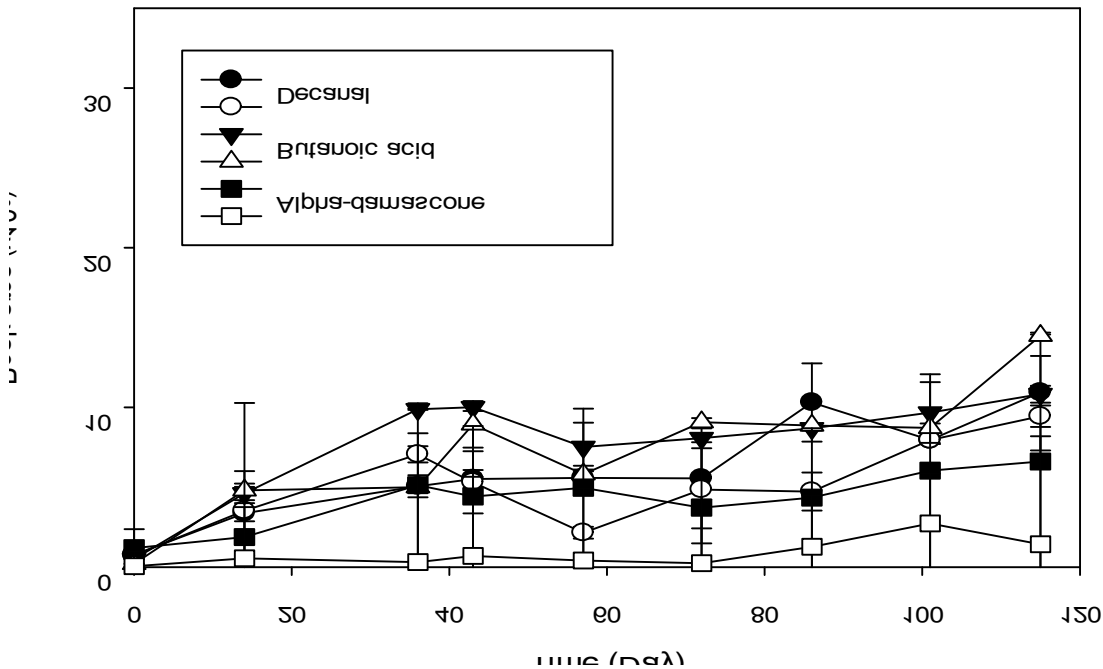


그림 366. Photoxidation 안정성 조건에서 저장기간에 따른 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 aroma-active compounds의 변화.

4. 결론

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향미 profile을 확인하기 위하여 LLCE 및 SAFE를 이용하여 휘발성 성분을 추출하고 GC-MS 및 GC-O를 이용하여 휘발성 향기성분 및 향 활성 화합물을 동정하였다.

캡슐 푸레주스 및 비캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 LLCE와 SAFE 두 가지 추출법 모두 benzoic acid의 함량이 가장 높은 함량으로 존재하였다. 또한 캡슐 푸레주스의 휘발성 향기성분 중 furfural 및 5-hydroxymethylfurfural의 함량이 비캡슐 푸레주스에 비해 특징적으로 높게 나타났다.

그러나, LLCE 및 SAFE를 이용하여 전체적 휘발성 향기성분을 비교해 보았을 때 캡슐화 공정을 통해 특징적으로 관찰되는 휘발성 향기성분은 없었으며, 동정된 휘발성 향기성분의 pattern을 보았을 때 일부 화합물을 제외하고는 큰 차이를 나타내지 않았다.

또한, LLCE 및 SAFE로 추출한 캡슐 푸레주스와 비캡슐 푸레주스를 GC-O로 분석한 결과 향 활성 화합물의 차이가 없는 것으로 보아 캡슐화에 의한 푸레주스의 향 특성은 변화가 없을 것으로 생각되었다.

발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분 중 SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료를 제외하고 LLCE 및 SAFE 두 가지 추출법 모두 ethyl lactate의 함량이 가장 높게 존재하였다. 또한 특징적으로 SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료에서는 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone이 동정되었다.

그러나, LLCE 및 SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 전체적

휘발성 향기성분의 경우 발효 스파클링 음료에서 동정된 휘발성 향기성분의 함량이 소량 높게 동정되었으나, 발효에 의해 특징적으로 생산된 발효산물은 검출되지 않았으며, 동정된 휘발성 향기성분의 pattern이 큰 차이를 나타내지 않았다.

또한, LLCE 및 SAFE로 추출한 발효 스파클링 음료와 비발효 스파클링 음료를 GC-O로 분석한 결과 향 활성 화합물에서 큰 차이가 없는 것으로 보아 발효에 의한 스파클링 음료의 향 특성은 변화가 없을 것으로 생각되었다.

결론적으로, 캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 휘발성 향기성분의 차이는 없는 것으로 결론지었으나 캡슐 푸레주스의 경우 색이 비캡슐 푸레주스에 비해서 더 갈변화 될 것으로 생각된다.

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 저장안정성을 확인하기 위하여 45°C 및 광산화 조건에서 저장기간을 달리한 시료의 휘발성 향기성분을 SPME로 추출한 후 GC-MS로 동정하였다.

캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 경우 열안정성 및 photooxidation 안정성 조건에서 저장기간에 따라 일부 화합물들의 증가 또는 감소를 확인하였으나, LLCE 및 SAFE를 통해 동정된 향 활성 화합물의 저장기간에 따른 함량 감소는 관찰되지 않았으며 관능적으로 감지되는 캡슐 푸레주스, 비캡슐 푸레주스, 발효 스파클링 음료 및 비발효 스파클링 음료의 향 특성은 큰 차이를 보이지 않았다.

또한, 저장 14일 이후의 전체 chromatogram의 pattern이 유사한 것으로 보아 저장 초기 큰 변화를 제외하고 저장기간에 따른 변화는 크지 않으며, 45°C보다는 광산화 조건에서 훨씬 안정적인 것으로 결론지었다.

제 4 절 최종 결과 및 결론

1. 최종 결과

- 베리류 9종을 대상으로 항산화력 및 항산화 물질의 특성을 Pareto-chart로 분석한 결과 아사이베리, 크랜베리, 시금치, 산머루 총 5종이 선정되었으며, 혼합물 설계를 이용하여 최적 배합비인 혼합베리 A를 선정하고 이를 표준화 하였다.
- 10종의 과채류 농축액을 4종의 유산균을 이용하여 발효를 수행한 후 항산화능 증진을 확인하였으며 그 결과 블랙베리, 크랜베리, 아사이베리, 라즈베리, 블루베리, 적포도 등에서 항산화 증진이 확인되었으며 특히 블랙베리와 두가지 유산균(ABY-3, LP-115)을 접종한 경우 각각 34, 35%의 항산화능 증진이 확인되었다.
- 5종의 혼합베리액을 이용하여 유산균 LP-115 균주를 이용하여 발효를 수행한 결과 혼합베리 A, C, D를 사용한 경우 14~28% 가량의 항산화 증진이 확인되었으며 특히 혼합베리 A의 경우 발효를 통해 항산화능이 28%까지 향상되었다.
- 10종의 과채류 농축액을 4종의 초산균을 이용하여 발효를 수행한 후 항산화능 증진을 확인한 결과 아로니아, 블랙베리, 라즈베리, 양배추 그리고 시금치 농축액을 이용한 발효물에서 항산화능 증진이 확인되었으며 특히 블랙베리와 KCCM32831 균주를 접종한 경우 49%의 항산화능

증진이 확인되었다.

- 5종의 혼합베리액을 이용하여 초산균을 이용하여 발효를 수행한 결과 혼합베리 D와 C에서 항산화능의 증진이 확인 되었으며 특히 혼합베리 D를 KCCM32831 균주를 사용하여 발효한 결과 항산화능이 약 17%가 증진되었다.
- 발효기를 이용해 혼합베리 A와 유산균(LP-115)의 발효조건 최적화를 수행한 결과 최적 발효조건은 30℃, 300 rpm 그리고 pH 7로 유지하였을 때 가장 높은 항산화능의 증진이 나타나는 것을 확인하였다.
- 혼합베리A와 유산균(LP-115)을 이용한 발효액의 향기성분분석을 실시한 결과 항산화 활성을 지니고 있는 것으로 알려진 benzoic acid와 benzaldehyde가 각각 64%, 191%로 크게 증가함을 확인하였음을 확인하였다.
- Metabolome 분석을 통해 항산화능 증진 원인을 파악한 결과 Quercetin 7-(rhamnosylglucoside), Quercetin3-O- (6"- acetyl-glucoside), Genistein 5-O-glucuronide의 증가가 확인되었다.
- 고형분을 기준으로 한 항산화 활성성분 함량 및 4종류의 항산화 활성분석 결과, 전체 시료 중 아사이베리가 가장 우수한 항산화 특성을 나타냈으며 그 다음으로는 아로니아가 우수한 특성을 나타냄.
- 과일류 8종과 채소류 2종의 총 10종의 시료를 각각 혼합한 총 45종의 혼합균 시료의 항산화 활성을 측정된 결과, DPPH 라디칼 소거능에서는 아사이베리+양배추 혼합균, FRAP 환원능에서는 블루베리+크랜베리 혼합균, ORAC수치는 블루베리+양배추 혼합균이 가장 높은 상승작용을 나타내는 혼합균으로 선정됨. 모든 혼합균은 산출된 활성과 비교했을 때 10% 이상의 매우 높은 상승효과를 나타냄을 확인.
- 아사이베리와 항산화 상승작용을 반응표면분석에 의해 검토 결과, DPPH 라디칼 소거능의 측면에서는 trolox와 ascorbic acid를 혼합했을 때 최적 혼합 농도는 74.64 µg/mL와 47.88 µg/mL으로 각각 산출되었으며, DPPH 라디칼 소거능은 5.3%, ORAC 항산화 수치는 13.6%의 항산화 상승효과를 나타냄. 아사이베리와 trolox-ascorbic acid 혼합액의 활성비율은 10:2.5일 때 ORAC 수치와 DPPH 라디칼 소거능 모두 가장 높은 상승작용을 나타냄.
- 항산화 안정성 실험에서 분석한 모든 항산화 성분들은 저장안정성이 취약하여 50℃의 저장 조건에서 초기 활성의 40-50%의 활성이 손실되는 것으로 확인함. 따라서 캡슐화 기술을 통하여 항산화조성물을 피복소재 내부에 포집하여 항산화 안정성을 증진시키고자 하였음.
- 입자크기 (macro, micro, nano)에 따른 항산화물 함유 캡슐들의 포집효율은 총 페놀 함량 측정을 통해 산출하였으며 그 결과 nano, macro, micro순서로 높은 포집효율을 나타냄. 또한, 항산화 안정성 측정 실험에서 나노캡슐화에 따른 항산화 안정성 증진이 가장 우수한 결과를 나타냄. 모든 캡슐화는 유리 항산화물에 비하여 저장 기간에 따라 높은 항산화 활성을 나타냄.
- 포집효율, 항산화 안정성 및 입자 안정성 결과를 종합하여 나노캡슐 제형이 가장 효과적인 제형으로 결정하였으며 이때 제조조건인 키토산과 아라비아 검을 독립변수로 하여 반응표면 분석을 통해 최적 제조조건을 산출. 입자크기에 대한 최적 나노 캡슐 조건은 키토산 0.39 mg/mL, 아라비아 검 1.30 mg/mL로 확인되었다. *in vivo* 항산화 안정성 검증을 위해 경구 투여 후 12시간 동안 혈중 항산화를 FRAP을 통해 실험한 결과, 나노 캡슐의 항산화 활성이

유리 항산화물 보다 높은 항산화 활성을 유지하였다. 또한, 항산화 안정성에 대한 최적 나노캡슐 조건은 키토산 0.73 mg/mL, 아라비아 검 1.41 mg/mL로 확인하여 *in vitro*, *in vivo* 항산화 안정성 검증을 확인하였다. *In vitro* 항산화 안정성 검증은 산화 환경 조건(60°C, UVC)에서 분석한 결과, 유리 항산화물은 저장 기간 동안 각각 38%, 6.3%, 43%, 19%로 각각 ORAC, DPPH, FRAP, ABTS 분석에서 감소한 반면, 나노 캡슐은 활성을 유지함. 동일한 조건으로 유리 항산화물은 저장 기간 동안 각각 53%, 21%로 각각 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량이 감소한 반면, 나노 캡슐을 항산화 성분을 유지하였다. *In vivo* 실험은 설치류에 정상식이, 고콜레스테롤 식이에 신선한 lard, 산패 lard, 산패 lard에 유리 항산화물 첨가, 산패 lard에 항산화물 포집 나노 캡슐 첨가군을 6주 간 식이 공급하여 혈중, 간 조직에서의 지질과산화물과 혈중 항산화 효소 활성을 확인함. 그 결과 산패 lard에 비해 항산화물을 첨가한 군에서 낮은 지질과산화물 농도와 높은 항산화 효소 활성을 나타냈다. 또한, 나노 캡슐 첨가군이 유리 항산화물 첨가군에 비해 낮은 지질과산화물 농도와 높은 항산화 활성을 나타냄. 결론적으로 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통해서 최적 나노캡슐의 항산화 안정성은 캡슐화 이전보다 약 5 ~ 48% 향상되었음을 확인하였다.

- 이렇게 혼합베리A를 이용하여 총 상품화 3건을 실시하였으며, 발효 혼합베리 A를 적용 음료 2종이다 그 중 1종은 스파클링 제품이다, 그리고 캡슐 혼합베리A 적용 음료 1종있다. 이 3종에 대한 유통표준화를 위한 광산화기 장치 저장 안정성 평가도 완료하였다

2. 최종 결론

- 본 연구에서는 베리류 9종을 대상으로 항산화력 및 항산화 물질의 특성을 Pareto-chart로 분석한 결과 아사이베리, 크랜베리, 시금치, 산머루 총 5종이 선정되었으며, 혼합물 설계를 이용하여 최적 배합비인 혼합베리 A를 선정하고 이를 표준화 하였다.
- 10종의 과채류 농축액과 5종의 베리 혼합액을 4종의 유산균 또는 4종의 초산균을 이용하여 다양한 조합의 발효를 수행하였으며 그 결과 유산균 또는 초산균 발효에 의해 과채류 농축액의 항산화능이 증진되었음을 확인하였다.
- 따라서 유산균 또는 초산균을 이용한 발효를 통해 과채류 농축액 또는 혼합액의 항산화능이 증진될 수 있음이 확인되었다.
- 본 연구 결과의 산업화를 위해 발효기를 이용해 혼합베리 A와 유산균의 발효조건 최적화를 수행하였으며 발효기 조건에서도 항산화능의 증진이 나타나는 것을 확인함으로 인해 연구 결과가 산업화에 적용될 수 있음을 확인하였다.
- 유산균 또는 초산균의 발효과정에서 과채류 농축액 또는 베리 혼합액의 항산화능 증진에 대한 원인 분석을 실시하였으며 그 결과 benzoic acid, benzaldehyde, Quercetin 7-(rhamnosylglucoside), Quercetin3-O- (6"- acetyl-glucoside), Genistein 5-O-glucuronide 등의 증가가 확인되어 추가 연구를 통해 이들의 증가와 항산화능 증진의 상관관계를 학문적으로 이해 할 수 있을 것으로 예상된다.
- 아사이베리의 항산화 상승작용을 증진시킬 수 있는 시료와 혼합비율 최적화를 성공적으로 성립함으로써 항산화 상승효과를 확인함. 과채류 혼합군 역시 활성 상승작용을 나타내는 혼합군을 선정하여 높은 상승효과를 확인함. 이러한 결과에서 항산화활성의 상승효과를 위해서

는 혼합될 복합군 소재의 선정뿐만 아니라 혼합비율도 항산화 활성에 영향을 미칠 수 있는 주요한 인자로 판단. 또한, 항산화 안정성 실험을 통하여 저장 안정성에 취약함을 확인.

- 저장 안정성 증진을 위해 항산화 물질을 입자 크기별로 포집효율과 저장 안정성을 확인한 결과, 나노 캡슐이 가장 우수한 특성을 나타냄. 또한, 저장 안정성 기간 동안 캡슐이 포집된 항산화 물질을 보호하여 유리 항산화 물질에 비하여 높은 항산화 활성을 유지함.
- 혼합베리 A의 항산화 안정성을 증진시키기 위한 최적 나노 캡슐 제조 조건을 확립하는데 성공하였으며, 최적조건에서 제조된 나노캡슐이 캡슐화되지 않은 유리 항산화물에 비하여 항산화 안정성을 증진시킨 것을 다양한 *in vitro*와 *in vivo* 방법을 통하여 검증함.
- 이렇게 혼합베리A를 이용하여 총 상품화 3건을 실시하였으며, 발효 혼합베리 A를 적용 음료 2종이다 그 중 1종은 스파클링 제품이다, 그리고 캡슐 혼합베리A 적용 음료 1종있다. 이 3종에 대한 유통표준화를 위한 광산화기 장치 저장 안정성 평가도 완료하였다

제 5 절 사업화성과 및 매출실적 계획

1. 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발 후 현재까지	0 억원	
			향후 3년간 매출	10 억원	
		관련제품	개발 후 현재까지	0 억원	
			향후 3년간 매출	10 억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 5 % 국외 : 0 %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %	
			향후 3년간 매출	국내 : 5 % 국외 : 0 %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			등외
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			10위 이내

2. 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	2년			
	소요예산(백만원)	-			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		0	10	15	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	5	7
국외					
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	고항산화 key-base인 HAO(High AntiOxidant) 음료를 소재화하여 과일 또는 채소 베이스 소스류에 적용시켜 냉동, 연제품, HMR 등의 제품의 풍미 및 유통안정성 향상에 적용하여 제품을 개발하고자 함			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	-	-	-	
	수 출	-	-	-	

제 4 장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

제1절 연구개발 및 활용목표 대비 실적

1. 제 1차년도 (2014) 연구 목표 및 기여도

구분 (연도)	세부과제명	세부 연구 목표	달성도 (%)	관련분야 기여도
1차 년도 (2014)	제1세부: 최적 배합비 개발 및 발효과정 중 풍미 변화 연구	<p>■베리과채류 원료 기반의 고향산화 함유 제품 최적 배합비 개발</p> <p>-.시너지 물질 혼합 비율 최적화 및 고향산화 key-base 음료 개발</p> <p>-.제품화를 위한 부원료 혼합비율 설계 (관능점검 포함) 최적화</p>	100	<p>■ 고향산화 key-base 반제품 음료를 소재화 함으로써 향산화 관련된 제품의 개발에 다양하게 응용할 수 있어 음료외의 젤리, 디제트 등의 일반 제품에 확대 적용이 가능함</p> <p>■ 고향산화 음료 개발에 함유되는 부원료와의 시너지 연구 결과는 음료에 대한 적용뿐만 아니라 육가공, 연제품, 소스 등의 유통기한 연장등에도 적용을 확대할 수 있음</p>
		<p>■ 고향산화 기능 증진을 위한 발효 과정 중 풍미 변화 연구</p> <p>-.소비자 기호성 평가</p> <p>-.저온 추출, 진공추출에 의한 향미 분석법 셋업</p> <p>-.향미 성분 프로파일 분석</p>	100	<p>■ 향미 분석의 신규 기술인 저온 추출법과 진공 추출법은 향미 고유의 향을 분석하는 최신 기술로 음료 개발함에 있어서 향 성분 프로파일 하는 분야에 확대 적용이 가능함</p> <p>■ 다양한 향미 성분들의 특성에 대한 문헌들이 많지만 베리 및 과채류의 특징적인 향 성분을 분석하여 동정한 경우가 드물어 소비자 기호도가 높은 향 성분의 농축 및 강화에 대한 연구에 기초자료로 제공이 가능할듯함.</p>
	제1협동: 다양한 베리류의	<p>■ 타겟 베리류와 향산화 시너지 효과 나타내는 복합균 2종 이상 확보</p>	100	<p>타겟 베리류: 아사이베리 시너지 효과 나타내는 복합균: Trolox, ascorbic acid</p>

	항산화 특성 분석 및 항산화성 개선을 위한 시너지 효과 적용	■대조군(단순 베리류 추출)대비 120% 이상의 항산화 효능 확보	100	아사이베리 대비 trolox와 ascorbic acid를 혼합했을 때 165% 항산화 효능이 확보되었음
	제2협동: 식물 유산균을 이용한 생물전환기술 개발 및 베리류의 항산화능 분석	■과채류 농축액의 항산화능 조사 및 유산균 발효 조건 최적화	100	다양한 과채류 농축액의 항산화능 비교
		■과채류 농축액과 유산균을 이용한 발효액의 항산화능 변화 비교	100	과채류 농축액과 유산균을 이용한 발효액의 항산화능 증진 효과 확인
		■혼합베리액(5종)과 유산균을 이용한 발효액의 항산화능 변화 비교	100	혼합베리액(5종)과 유산균을 이용한 발효액의 항산화능 증진 효과 확인

2. 제 2차년도 (2015) 연구 목표 및 기여도

구분 (연도)	세부과제명	세부 연구 목표	달성도 (%)	관련분야 기여도
2차년도 (2015)	제1세부: 가공 공정에 따른 항산화 성분의 안정성 확보 및 기능성 음료 개발/상품화	■음료 가공 공정에 따른 산화적 안정성 -가열/비가열 살균(초고압처리), 여과공정에 따른 항산화 성분 함량의 변화 및 산화적 안정성 연구 -캡슐제의 음료 적용 공정 개발 및 항산화 활성 연구 (품질 변화 점검)	100	■고항산화 음료의 특성상 살균조건에 따라 잔존 활성물질의 함량차이가 발생하게 되는데 저온 살균 공정을 개발함으로써 기능성 및 활성이 필요한 드링크 제품의 개발에 확대 적용이 가능할 것으로 판단됨
		■고항산화 함유 기능성 음료 개발 및 상품화 -소비자 기호도 조사 (관능 및 디자인/용기) -고항산화 음료 브랜드 개발	100	■소비자 기호도 조사에 대한 결과의 신뢰성을 높이기 위해 원료의 희석 농도별 맛에 대한 묘사분석, 음료의 농도별 기호도 분석, 패널 교육 등 다양한 방법을 통해 소비자 기호도 조사의 신뢰성을 높이기 위해 전

				문기관의 프로세스를 도입하였고 이 프로세스를 기반으로 하여 본 연구의 시제품 뿐만 아니라 일반 차류, 드링크류에 확대 적용이 가능하다고 판단됨
		<p>■음료 제품의 장기 저장 조건에 따른 유통 안정성 향상</p> <p>- .ALT (Accelerated Lifecycle Test, 가속수명검사)를 통한 유통기한 산출</p> <p>- .광산화 측정기기를 통한 개발 음료제품 장기 저장 안정성 평가(갈변도, 향산화활성)</p>	100	<p>■국내에서 음료 제품의 장기 유통에 따른 안정성 분석 및 유통기한 산출방법이 모호했는데 6-시그마 분석틀인 가속수명검사법을 도입하여 통계적으로 유통기한을 산출하고 100만개 기준 불량률을 파악함으로써 유통 중 문제가 되는 부분을 먼저 파악하여 유통 클레임을 획기적으로 개선이 가능해 음료외에 다른 제품의 유통안정성 평가를 단시간에 문제 여부를 파악할 수 있겠다.</p>
<p>제1협동: 캡슐화에 따른 향산화 효능 개선 기전 구명 및 향산화 효능 개선을 위한 캡슐화 조건 최적화</p>	<p>■향산화 최적화를 위한 입자크기 별 3종의 베리류 캡슐 제조</p>	100	<p>■베리류 함유 캡슐을 macro, micro, nano 단위에서 각각 제조하여 물리화학적 특성 확인.</p>	
	<p>■향산화 최적을 위한 10종 이상의 캡슐 제조조건별 캡슐 제조</p>	100	<p>■향산화 안정성 최적을 위하여 키토산, 아라비아 검 농도별로 10종의 캡슐 제조조건별로 캡슐 제조를 함</p>	
	<p>■반응표면분석을 통한 최적 향산화 캡슐 제조조건 1건 확보</p>	100	<p>■반응표면분석을 통하여 향산화 안정성이 우수한 최적 향산화 캡슐 제조조건을 확보함 (최적 조건 → 키토산: 0.73 mg/mL, 아라비아검: 1.41 mg/mL)</p>	
<p>제2협동: 초산균을 이용한 생물전환기술 개발 및 향산화능 비교</p>	<p>■과채류 농축액과 초산균을 이용한 발효 조건 최적화</p>	100	<p>■최적의 과채류 농축액과 초산균을 이용한 발효 조건 확립</p>	
	<p>■과채류 농축액과 유산균을 이용한 발효액의 향산화능 변화 비교</p>	100	<p>■과채류 농축액과 유산균을 이용한 발효액의 향산화능 증진 효과 확인</p>	

		<p>■혼합베리액(5종)과 유산균을 이용한 발효액의 항산화능 변화 비교</p>	100	<p>■혼합베리액(5종)과 유산균을 이용한 발효액의 항산화능 증진 효과 확인</p>
--	--	---	-----	--

3. 제 3차년도 (2016) 연구 목표 및 기여도

구분 (연도)	세부과제명	세부 연구 목표	달성도 (%)	관련분야 기여도
3차 년도 (2016)	<p>제1세부: 상품 생산화를 위한 원물, 공정, 향미 표준화, 유통 중 저장안정성 확보 및 시제품 제조, 상품화 전략 수립</p>	<p>■유통 환경(저장기간/온도/포장)에 따른 항산화 성분의 함량 변화 및 산화적 안정성 연구 -.항산화성분의 저장 중 안정성 변화 수준 탐색(항산화성분, 항산화활성 유지, 미생물 및 기타 이화학적 변화)</p>	100	<p>■일반 과채음료의 경우 유통기한이 24개월이지만 보통 갈변되거나 음료의 색이 변하는 경우가 종종있으나 본 연구의 발효된 고허산화 음료를 캡슐화 했을 경우 40℃, 3,000lux의 광이 존재하는 환경에서도 유통기한 24개월 동안 갈변이나 항산화의 저하가 크지 않아 다른 제품의 품질과는 현저히 차이를 알 수 있다.</p>
		<p>■음료 생산을 위한 통계적 표준화 연구 및 관리규격 설정 -.원료, 발효, 나노캡슐, 향미표준화 및 지표물질 설정 -.생산공정 프로세스 및 유통안정성 표준화 및 관리규격설정</p>	100	<p>■음료 생산을 위해 원물, 발효공정, 나노캡슐 공정 등 중요 공정에 대한 통계적 표준화를 통해 음료의 규격화가 가능하며 음료의 표준화를 위해 중점관리요소의 도출이 가능한 프로세스를 구축하였으며 이를 활용할 경우 음료에 대한 체계적이고 표준화 된 상품의 제조 및 판매가 가능하게 된다.</p>
		<p>■시제품 제작 및 상품화를 위한 판매전략 수립 -.발효, 캡슐, 드링크 제품에 대한 원부재료 기준서, 제조공정도, 제품규격서, 배합비규격서 제정</p>	90	<p>■시제품 및 상품화에 대한 공장이관을 위해 원료, 공정, 제품, 배합에 대한 규격서를 제정함으로써 표준화가 완료되며 현장에서는 규격화 된 문서를 기반으로 효율적이고 표준적인</p>

		-.상품화 계획, 상품개발, 상품화 전략 수립		방법으로 제품 생산이 가능하게 됨. 표준 문서양식은 해당 제품 뿐만 아니라 새로운 카테고리 제품 규격에도 적용이 가능함.
제1협동: 최적 항산화 캡슐의 항산화 활성 검증		■3종 이상의 <i>in vitro</i> 항산화활성 평가	100	■최적 베리류 함유 나노캡슐의 항산화활성을 ORAC, DPPH, ABTS, FRAP 4종의 <i>in vitro</i> 항산화 활성을 통해 측정하여 5~48% 향상되었음을 확인함.
		■대조군(시판 음료 50종 이상) 대비 120% 이상의 효능 제시(ORAC)	100	■시중제품 61종을 수거하여 ORAC을 혼합베리 5종(최적배합비 5종)과 비교한 결과 최대 약 2배가장 높은 수치를 확인함 ■동원F&B에서 제조한 홍삼이 들어가 건강한 아사이베리 음료의 항산화능을 경쟁사인 정관장 홍삼담은 아로니아와 비교한 결과 125%수준의 항산화능을 확인함
제2협동: 대량 발효조 배양조건 확립 및 항산화성분 분석		■발효기를 이용한 혼합베리A와 유산균의 발효 조건 최적화	100	■혼합베리A와 유산균 발효액의 산업적 적용을 위한 발효 조건 확립
		■발효액의 항산화능 증진 원인 분석을 위한 휘발성분 분석	100	■휘발성분 분석을 통해 benzoic acid와 benzaldehyde의 증가를 확인함
		■발효액의 항산화능 증진 원인 분석을 위한 metabolome 분석	100	■metabolome 분석을 통해 Quercetin 7-(rhamnosylglucoside), Quercetin3-O-(6'-acetyl-glucoside), Genistein 5-O-glucuronide의 증진을 확인함

제 5 장. 연구결과의 활용계획

1. 추가 연구의 필요성

- 본 연구는 고향산화 드링크를 제조함에 있어 3가지의 연구가 큰 축이었다. 첫 번째는 고향산화 드링크를 제조하는 있어 단순한 배합이 아닌 혼합물설계를 통해 베리, 채소류의 최적 배합비를 도출하고 도출된 배합비는 HAO (High AntiOxidant) 라는 소재로 key-base화 하여 소재로 활용하고, 두 번째는 HAO 기반의 고향산화 드링크를 캡슐화하여 유통안정성 및 항산화활성을 극대화하며 세 번째는 발효를 통해 베리 및 채소기반의 음료의 기능성을 향상시키고 배당체로 존재하는 항산화물질을 유리시키거나 단일 (monomer) 결합의 형태를 conjugation form 으로 구조를 변경하여 항산화 기능이 향상되게 하는 연구였다.

- 현재 베리 기반의 key-base를 소재화하여 기타 다른 제형의 식품에 적용하려면 범용성이 높아야 하기 때문에 액상 보다는 분말 타입으로 소재의 제형을 변경시키는 것이 좋기 때문에 향후 추가로 HAO 고향산화 소재의 제형 변화 및 마이크로 encapsulation 연구 (유동층 or 분말화 기술개발) 가 수반되어야 하겠다. 또한 항산화물질의 캡슐을 통해 항산화 증진 및 유통안정성 향상을 연구에서는 최적의 캡슐 조합 및 공정 개발을 완료하였으나 음료 제품에 적용시 용해되는데 약간의 시간이 소요되어 대량 자동화 시스템에 불편함을 초래할 수 있다. 따라서 캡슐 소재의 용해성 증진에 대한 추가 연구가 필요하다.

- 발효관련 연구에서는 유산균 및 초산 발효의 최적 균주 및 발효공정 최적화, 표준화 연구를 모두 완료하였으나 유산균 발효 음료의 경우는 풍미 및 향 발현이 양호해서 음료화 하기 좋으나 초산 발효 제품의 경우는 자체로는 음료화 할 경우 기호성이 떨어져 상품성이 저하되므로 초산 발효 제품을 음료보다는 희석식 다이어트 기능성 초 음료로 개발하는 방법도 고안해야 할 것으로 판단된다. 요즘 홍초, 과일식초 (바나나, 자몽, 오렌지 등) 등의 희석식 건강 초음료가 젊은층에게 인기가 있기 때문에 고향산화 드링크 초산 제품도 희석식 초 음료로 개발하는 연구도 향후에 진행되면 좋을 것으로 판단된다.

2. 타 연구에의 응용

- 실험설계법 중 혼합물 설계를 통한 배합원료의 최적화 연구법은 기존의 실험 변수를 최적화하는 실험설계와는 다르게 제품개발을 함에 있어 원료간의 최적 배합비를 산출하는 것으로 음료외의 모든 제품의 처방을 최적화 하는데 응용할 수 있으며 특히 신규제품을 개발할 경우 배합비에 대한 정보가 전혀 없을 경우 혼합물 설계 틀은 짧은시간을 투자해서 적은 인원 투입으로 최적의 배합비를 산출하여 신제품 개발 시기를 앞당길 수 있다.

- 음료에 함유된 폴리페놀 성분을 캡슐화하는 연구는 별도의 복잡한 캡슐화 공정을 적용하지 않더라도 원물에 캡슐소재를 혼합하여 손쉽게 캡슐화를 진행할 수 있어 액상 원료내의 열, 빛,

가공스트레스에 약한 성분이 있을 경우는 바로 적용하여 캡슐화가 가능하고 분말 원료의 경우는 용해시킨 후 용해된 원액에 캡슐소재를 적용하여 캡슐화가 가능하여 다양한 제품의 안정성을 향상시키는 데 응용이 가능할 것으로 판단된다. 특히 제형의 크기가 macro, micro, nano size 모두 구현이 가능하기 때문에 크기의 제한이 없어 더욱 활용도가 높을 것으로 판단된다.

3. 고향산화 드링크의 기업화 추진방안

- 고향산화 드링크의 기업화를 위해 원료의 타당성을 분석하기 위해 베리류, 채소류의 해외수입가격과 국내 수입가격을 비교하기 위해 원물로 수입을 해서 착즙을 국내에서 할 것인지, 착즙된 액을 농축해서 원액(70brix 수준) 형태로 수입 할 건지에 대해 원료가격, 물류비, 관세를 비교하여 판단 후 원료 수급에 대한 기준을 세울 예정이다. 원료가 정해지면 당도, pH, 색도, 미생물 규격을 정하여 표준화 할 계획이다

- 원료가 수입되면 광주공장에 이송되어 냉동창고(-40℃)에 보관하면서 필요시 원료로 사용할 계획이며 초도 물량은 200mL 병포장을 기본으로 하여 상품화 할 것이며 물량은 20,000병/月生산을 계획으로 하고 있다. 생산된 제품은 이천물류 센터로 옮겨 보관하고 주된 판매경로는 이마트, 롯데마트 그리고 편의점 판매를 기본으로 하고 있다.

- 판매가는 일반 과채류 음료의 경우 단량에 따라 다르지만 대략 1,000원 ~ 2,500원/ea 수준으로 판매가 되고 있어 고향산화 드링크는 3,000원/ea 수준으로 프리미엄 제품의 가격대를 구성해서 판매를 추진할 예정이다.

- 생산의 효율성을 위해 대량생산 체제를 구축하면서 자동화 라인을 염두에 두어야 하기 때문에 캡슐 공정과 발효 공정에 대한 설비 투자를 통해 batch 식이 아닌 연속식으로 캡슐과 발효공정이 이루어 질 수 있도록 구축할 예정이다.

- 제품에 대한 품질평가는 광주공장에 품질관리실을 이용하고 3개월에 한번씩은 중앙연구소에서 영양성분 및 ORAC 항산화활성, 미생물 (대장균, 세균수) 검사, 침전 및 갈변등의 물리적 현상을 객관적 분석을 통해 품질을 지속적으로 관리할 계획이다.

4. 교육, 지도, 홍보 등 기술 확산 계획

- 고향산화 드링크의 개발로 인하여 고부가가치 음료 시장의 확장을 목표로 제품을 extention 할 계획이며 이를 위해서 시식행사 및 로드쇼를 진행해 제품을 홍보할 계획이며 IPET 기관과 공동으로 개발한 사실에 대한 부분을 언급하여 기술적으로 차별화 된 제품임을 강조할 계획이다.

- 고향산화 드링크 제품의 주 생산처인 광주공장에 Pilot scale 공정에 대한 기술을 이전하고 베리 및 채소 원물, 발효 공정, 캡슐화 공정 프로세스에 대한 표준화 작업을 공동으로 진행하고

살균 공정에 대한 프로세스 기술 전수, 향미 프로파일에 대한 지표성분 관리에 대한 기술을 전달하고 관리할 계획이다.

제 6 장 연구과정에서 수집한 해외 과학기술 정보

: 해당없음

제 7 장 연구개발결과의 보안등급

: 해당없음

제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설,장비 현황

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	D-10	
							비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호

: 해당없음

제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

: 해당없음

제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록 국가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록 일	D-12	
								사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
1	특허	고항산화 활성을 가지는 발효베리 음료의 제조방법	(주)동 원F&B		대한민국		2015.06.30		
2	특허	고항산화 활성을 가지는 초산발효 베리과채 음료의 제조방법	(주)동 원F&B		대한민국		2015.09.15		
3	특허	아사이베리 착즙액을 함유하는 나노입자 및 이를 함유하는 음료	한양대 학교	협동	대한민국		2016.07.08		
4	논문	STABILIZATION OF BLACK SOYBEAN ANTHOCYANIN BY CHITOSAN NANOENCAPSULA TION AND COPIGMENTATION	한양대 학교	협동	Journal of Food Biochemist ry	0.832	2016.12.30	단독사사	SCI
5	논문	Nanoencapsulation of synergistic combinations of acai berry concentrate to improve antioxidant stability	한양대 학교	협동	Food Science and Biotechnol ogy	0.699	in press	단독사사	SCI
6	논문	Changes in antioxidant activities and volatile compounds for the mixed berry juice through fermentation by lactic acid bacteria	강원대 학교	교신 저자	Food Science and Biotechnol ogy	0.699	under revision	단독사사	SCIE

번 호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	D-12			
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록 일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
7	논문	Enhancement of antioxidative activities of berry or vegetable juices through fermentation by lactic acid bacteria, 2015. 43(3) 1-5 Microbiology and Biotechnology Letters	강원대학교	교신저자	Microbiology and Biotechnology Letters/대한민국		2015/09	단독사사	SCOPUS
8	논문	과채류 농축액의 항산화 및 상승효과	한양대학교		한국식품과학회지	1.246	2015.04	단독사사	비SCI/390
9	기타	Antioxidant and Synergistic Activity of Acai Berry and Other Antioxidants Using Response Surface Methodology	한양대학교	협동	IFT (Institute of Food Technologists) Annual Meeting		2015.07.13		
10	기타	Nanoencapsulation of Combined Fruit and Vegetable Concentrates for Improving Antioxidant Activity	한양대학교	협동	IFT (Institute of Food Technologists) Annual Meeting		2015.07.13		
11	기타	항산화 안정성 증진을 위한 혼합 베리 농축액을 포집한 키토산/아라비아 검 나노입자의 최적화	한양대학교	협동	한국식품과학회		2016.08.18		

제 12 장 참고문헌

1. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J. Nutr. Biochem.* 18: 567-579 (2007)
2. Castro L, Freeman BA. Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition.* 17: 161-165 (2001)
3. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 408: 239-247 (2000)
4. Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart). *Food Chem.* 122: 610-617 (2010)
5. Kim K-H, Yun Y-S, Chun S-Y, Yook H-S. Antioxidant and antibacterial activities of grape pomace fermented by various microorganisms. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 1049-1056 (2012)
6. Ismail A, Marjan ZM, Foong CW. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.* 87: 581-586 (2004)
7. Al Saikhan M, Howard L, Miller J. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*, L.). *J. Food Sci.* 60: 341-343 (1995)
8. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igetic R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chem.* 111: 925-929 (2008)
9. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3426-3431 (1996)
10. Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agr.* 80: 561-566 (2000)
11. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13: 572-584 (2002)
12. Wang S, Meckling KA, Marcone MF, Kakuda Y, Tsao R. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. *J. Agr. Food Chem.* 59: 960-968 (2011)
13. Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, de Pascual-Teresa S. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* 121: 691-696 (2010)
14. Katsube T, Tabata H, Ohta Y, Yamasaki Y, Anuurad E, Shiwaku K, Yamane Y. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay.

- J. Agric. Food Chem. 52: 2391–2396 (2004)
15. Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70–76 (1996)
 16. Kim DB, Shin GH, Cho JH, Baik SO, Lee O-K. Antioxidant activities of beverage concentrates and purees. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 997–1002 (2013)
 17. Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) *Food Chem.* 122: 610–617 (2010)
 18. Wang S, Meckling KA, Marcone MF, Kakuda Y, Tsao R. Synergistic, Additive, and Antagonistic Effects of Food Mixture on Total Antioxidants Capacities. *J. Agric. Food Chem.* 59: 960–968 (2011)
 19. Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, de Pascual-Teresa S, Flavonoid - flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* 121: 691–696 (2010)
 20. Heo JS, Kim YJ, Chung D, Kim DO. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chem.* 104: 87–92 (2007)
 21. Reber JD, Eggett DL, Parker TL. Antioxidant capacity interactions and a chemical/structural model of phenolic compounds found in strawberries. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 62: 448–452 (2011)
 22. Graversen HB, Becker EM, Skibsted LH, Andersen ML. Antioxidant synergism between fruit juice and α -tocopherol. A comparison between high phenolic black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and high ascorbic blackcurrant (*Ribes nigrum*). *Eur. Food Res. Technol.* 226: 737–743 (2008)
 23. Balogh E, Hegedus A, and Stefanovits-Banyai E. 2010. Application of and correlation among antioxidant and antiradical assays for characterizing antioxidant capacity of berries. *Sci Hortic-Amsrerdam.* 125: 332–336.
 24. Bokkenheuser V, Shackleton CHL, and Winter J. 1987. Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal bacteroides from humans. *Biochem. J.* 248: 953–956.
 25. Calvo-Castro L, Syed DN, Chamcheu JC, Vilela FM, Pérez AM, Vaillant F, et al. 2013. Protective effect of tropical highland blackberry Juice (*Rubus adnotrichos* schltld.) against UVB-mediated damage in human epidermal keratinocytes and in a reconstituted skin equivalent model. *Phorochem. Photobiol.* 89: 1199–1207.
 26. Cho MJ, Howard LR, Prior RL, and Clark JR. 2004. Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Food Agric.* 84: 1771–1782.

27. Flis S, Jastrzebski Z, Namiesnik J, Arancibia-Avilla P, Toledo F, Leontowicz H, et al. 2012. Evaluation of inhibition of cancer cell proliferation in vitro with different berries and correlation with their antioxidant levels by advanced analytical methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 62: 68–78.
28. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, and Aruoma OI. 1995. The characterization of antioxidants. *Fd. Chem. Toxic.* 33: 601–617.
29. Hitomi O, Michiko O, and Kenji S. 2006. Xylooligosaccharide fermentation with *Leuconostoc lactis*. *J. Biosci. Bioeng.* 101: 415–420.
30. Hogan S, Chung H, Zhang L, Li J, Lee YW, Dai Y, and Zhou K. 2010. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chem.* 118: 208–214.
31. Hong YM. 2009. Metabolic syndrome in children and adolescent. *Korean, J. Pediatr.* 52: 737–744.
32. Hwang SY and Park GS. 2013. Physiochemical and physical characteristics of juak with acaiberry (*euterpe oleracea mart*). *Korean J. Food Cookery Sci.* 29: 653–660.
33. Jang MH and Kim MD. 2011. β -1,4-Xylosidase activity of leuconostoc lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Korea J. Food Sci. Technol.* 43: 169–175.
34. Kim DB, Shin GH, Cho JH, Baik SO, and Lee OH. 2013. Antioxidant activities of beverage concentrates and purees. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 997–1002.353. Kim HS and Ham JS. 2003. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Korea J. Food Sci. Ani. Resour.* 23: 186–192.
35. Kim HY, Hwang IK, Lee YR, and Jeong HS. 2008. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Korea J. Food Sci.* 40: 166–170.
36. Kim SH, Jung H, Shin YC, and Ko SG. 2008. Research of traditional herbal medicines for anti-aging, inhibition effect of wrinkle and whitening effect in the skin. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.* 22: 691–698.
37. Laroze L, Soto C, and Zuniga ME. 2010. Phenolic antioxidants extraction from raspberry wastes assisted by-enzymes. *Electron. J. Biotech.* 13: 2–11.
38. Lee BH, Kim SY, Cho CH, Chung DG, Chun OK, and Kim DO. 2011. Estimation of daily per capita intake of total phenolics, total flavonoids, and antioxidant capacities from fruit and vegetable juices in the korean diet based on the Korea national health and nutrition examination survey 2008. *Korea J. Food Sci.* 43: 475–482.
39. Lindroth RL. 1988. Hydrolysis of phenolic glycosides by midgut β -glucosidases in *Papilio glaucus* subspecies. *Insect Biochem.* 18: 789–792.

40. Park SJ, Kim ES, Choi YS, and Kim JD. 2008. Effects of sophorae fructus on antioxidative activities and lipid levels in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1120–1125.
41. Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, and Heber D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 54: 9329–9339.
42. Su MS and Silva JL. 2006. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. *Food Chem.* 97: 447–451.
43. Suh JH, Paek OJ, Kang YW, Ahn JE, Yun JS, Oh KS, et al. 2013. Study on the antioxidant activity in the various vegetables. *J. Fd Hyg. Safety.* 28: 337–341.
44. Susan JD, Alison MJ, Alan C, William M, Lynn P, Janet K, et al. 2006. The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. *Eur. J. Nutr.* 45: 113–122.
45. Tonon RV, Brabet C, and Hubinger MD. 2010. Anthocyanin stability antioxidant activity of spray-dried acai(*Euterpe oloracea* Mart.) juice produced with different carrier agent. *Food Res. Int.:* 907–914.
46. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, and Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. & Cell Biology.* 39: 44–84.
47. Velioglu YS, Mazza G, Gao L, and Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113–4117.
48. Yang HS, Choi YJ, Oh MMM, J. S., Jung HK, Kim KJ, Choi BS, et al. 2014. Antioxidative Activity of Mushroom Water Extracts Fermented by Lactic Acid Bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 80–85.
49. Zhu N, Sheng S, Li D, Lavoie EJ, Karwe MV, Rosen RT, and Ho CT. 2001. Antioxidative flavonoid glycosides from quinoa seeds (*chenopodium quinoa* willd). *J. Food Lipidis.* 8: 37–44.
50. Rubén Pérez Pulido, Nabil Ben Omar, Hikmate Abriouel, Rosario Lucas López, Magdalena Martínez Cañamero and Antonio Gálvez*. 2005. Microbiological Study of Lactic Acid Fermentation of Caper Berries by Molecular and Culture-Dependent Methods. *J. Microbiol.* vol. 71 no. 12 7872–7879.
51. Marja P. Kähkönen ,* Anu I. Hopia , and Marina Heinonen. 2001. Berry Phenolics and

Their Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* 49 (8), pp 4076 - 4082.

52. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology.* 39: 44-84 (2007)
53. Devasagayam T, Tilak J, Boloor K, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele R. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the association of physicians of india.* 52: 794-804 (2004)
54. MatÉs JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry.* 32: 595-603 (1999)
55. Sies H, Strategies of antioxidant defense, *European journal of biochemistry.* 215: 213-219 (1993)
56. Lorenzo JM, González-Rodríguez RM, Sánchez M, Amado IR, Franco D. Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylatedhydroxytoluene, BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage "chorizo". *Food research international.* 54: 611-620 (2013)
57. Embuscado ME. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - a mini review. *Journal of functional foods.* In press (2015)
58. Liang YC, May CY, Foon CS, Ngan MA, Hock CC, Basiron Y. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. *Fuel.* 85: 867-870 (2006)
59. Haumann F. Antioxidants: Firms seeking products they can label as 'natural'. *International news on fats, oils and related materials.* 1: 1002-1013 (1990)
60. Ferreyra RM, Viña SZ, Mugridge A, Chaves AR. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar selva. *Scientia horticulturae.* 112: 27-32 (2007)
61. Jeong J-A, Kwon S-H, Lee C-H. Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. *Korean journal of plant resources.* 20: 185-192 (2007)
62. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine.* 20: 933-956 (1996)
63. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J-P, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry.* 47: 3954-3962 (1999)

64. Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53: 2928–2935 (2005)
65. Tonon RV, Brabet C, Hubinger MD. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*euterpe oleracea mart.*) juice produced with different carrier agents. *Food research international*. 43: 907–914 (2010)
66. Heinrich M, Dhanji T, Casselman I. Açai (*euterpe oleracea mart.*)—a phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. *Phytochemistry letters*. 4: 10–21 (2011)
67. Tiwari AK. Imbalance in antioxidant defence and human diseases: multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*. 81: 1179–1187 (2001)
68. Schauss AG, Wu X, Prior RL, Ou B, Huang D, Owens J, Agarwal A, Jensen GS, Hart AN, Shanbrom E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried amazonian palm berry, *euterpe oleraceae mart.*(acai). *Journal of agricultural and food chemistry*. 54: 8604–8610 (2006)
69. Robert P, Fredes C. The encapsulation of anthocyanins from berry-type fruits. *trends in foods*. *Molecules*. 20: 5875–5888 (2015)
70. Pavan MA, Schmidt SJ, Feng H. Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, refractance window-dried and hot-air dried açai (*euterpe oleracea martius*) juice. *LWT- food science and technology*. 48: 75–81 (2012)
71. Mahdavi SA, Jafari SM, Ghorbani M, Assadpoor E. Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a review. *Drying technology*. 32: 509–518 (2014)
72. Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *euterpe oleracea* and *euterpe precatoria*. *Food chemistry*. 115: 1199–1205 (2009)
73. Rossetto M, Vanzani P, Mattivi F, Lunelli M, Scarpa M, Rigo A. Synergistic antioxidant effect of catechin and malvidin 3-glucoside on free radical-initiated peroxidation of linoleic acid in micelles. *Archives of biochemistry and biophysics*. 408: 239–245 (2002)
74. Borges GDSC, Vieira FGK, Copetti C, Gonzaga LV, Fett R. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *euterpe edulis* using the response surface methodology. *Food research international*. 44: 708–715 (2011)
75. Kirca A, Özkan M, Cemeroğlu B. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food chemistry*. 101: 212–218 (2007)
76. Bhandari BR, D'Arc BR, Padukka I. Encapsulation of lemon oil by paste method using β -cyclodextrin: encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. *Journal of agricultural*

and food chemistry. 47: 5194–5197 (1999)

77. Saxena A, Sachin K, Bohidar H, Verma AK. Effect of molecular weight heterogeneity on drug encapsulation efficiency of gelatin nano-particles. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*. 45: 42–48 (2005)
78. Das RK, Kasoju N, Bora U. Encapsulation of curcumin in alginate–chitosan–pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *nanomedicine: nanotechnology, Biology and medicine*. 6: 153–160 (2010)
79. Flores FP, Singh RK, Kerr WL, Pegg RB, Kong F. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food chemistry*. 153: 272–278 (2014)
80. Oidtmann J, Schantz M, Mader K, Baum M, Berg S, Betz M, Kulozik U, Leick S, Rehage H, Schwarz K. Preparation and comparative release characteristics of three anthocyanin encapsulation systems. *Journal of agricultural and food chemistry*. 60: 844–851 (2012)
81. Bakowska-Barczak AM, Kolodziejczyk PP. Black currant polyphenols: their storage stability and microencapsulation. *Industrial crops and products*. 34: 1301–1309 (2011)
82. Discher DE, Eisenberg A. Polymer vesicles. *Science*. 297: 967–973 (2002)
83. Aebischer P, Wahlberg L, Tresco PA, Winn SR. Macroencapsulation of dopamine-secreting cells by coextrusion with an organic polymer-solution. *Biomaterials*. 12: 50–56 (1991)
84. Chan E-S, Yim Z-H, Phan S-H, Mansa RF, Ravindra P. Encapsulation of herbal aqueous extract through absorption with ca-alginate hydrogel beads. *Food and bioproducts processing*. 88: 195–201 (2010)
85. Oehme A, Valotis A, Krammer G, Zimmermann I, Schreier P. Preparation and characterization of shellac coated anthocyanin pectin beads as dietary colonic delivery system. *Molecular nutrition & food research*. 55: S75–S85 (2011)
86. Coviello T, Matricardi P, Marianecchi C, Alhaique F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *Journal of controlled release*. 119: 5–24 (2007)
87. Li L, Ni R, Shao Y, Mao S. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydrate polymers*. 103: 1–11 (2014)
88. Guo S-j, Ye W-b, Yang Y-l, Pan X-h, Wang J-x, Wu H-q. Preservation of myrica rubra using compound coating agent of grateloupia filicina polysaccharide and carrageenan at room temperature. *Food science*. 18: 95 (2010)
89. Campo VL, Kawano DF, da Silva DB, Carvalho I. Carrageenans: biological properties,

- chemical modifications and structural analysis – a review. *Carbohydrate polymers*. 77: 167–180 (2009)
90. Yuan H, Song J, Zhang W, Li X, Li N, Gao X. Antioxidant activity and cytoprotective effect of κ -carrageenan oligosaccharides and their different derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 16: 1329–1334 (2006)
 91. Betigeri SS, Neau SH. Immobilization of lipase using hydrophilic polymers in the form of hydrogel beads. *Biomaterials*. 23: 3627–3636 (2002)
 92. Santo VE, Frias AM, Carida M, Cancedda R, Gomes ME, Mano JF, Reis R. Carrageenan-based hydrogels for the controlled delivery of PDGF-BB in bone tissue engineering applications. *Biomaterials*. 10: 1392–1401 (2009)
 93. Bhattacharya SS, Banerjee S, Chowdhury P, Ghosh A, Hegde RR, Mondal R. Tranexamic acid loaded gellan gum-based polymeric microbeads for controlled release: in vitro and in vivo assessment. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*. 112: 483–491 (2013)
 94. Piyakulawat P, Praphairaksit N, Chantarasiri N, Muangsin N. Preparation and evaluation of chitosan/carrageenan beads for controlled release of sodium diclofenac. *American association of pharmaceutical scientists*. 8: 120–130 (2007)
 95. Sipahigil O, Dortunc B. Preparation and in vitro evaluation of verapamil HCl and ibuprofen containing carrageenan beads. *International journal of pharmaceutics*. 228: 119–128 (2001)
 96. Lee JS, Kim EJ, Chung D, Lee HG. Characteristics and antioxidant activity of catechin-loaded calcium pectinate gel beads prepared by internal gelation. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*. 74: 17–22 (2009)
 97. Drusch S, Kopka S, Kaeding J. Stability of patulin in a juice-like aqueous model system in the presence of ascorbic acid. *Food chemistry*. 100: 192–197 (2007)
 98. Champagne CP, Gardner NJ. Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food research International*. 41: 539–543 (2008)
 99. Arica MY, Altıntas B, Bayramoğlu G. Immobilization of laccase onto spacer-arm attached non-porous poly (GMA/EGDMA) beads: application for textile dye degradation. *Bioresource technology*. 100: 665–669 (2009)
 100. Munjal N, Sawhney S. Stability and properties of mushroom tyrosinase entrapped in alginate, polyacrylamide and gelatin gels. *Enzyme and microbial technology*. 30: 613–619 (2002)
 101. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate

- antioxidant activity. *LWT-food science and technology*. 28: 25-30 (1995)
102. Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 239: 70-76 (1996)
 103. Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50: 4437-4444 (2002)
 104. Harbourne N, Jacquier JC, Morgan DJ, Lyng JG. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food chemistry*. 111: 204-208 (2008)
 105. Hubbermann EM, Heins A, Stöckmann H, Schwarz K. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. *European food research and technology*. 223: 83-90 (2006)
 106. Sandoval-Castilla O, Lobato-Calleros C, García-Galindo H, Alvarez-Ramírez J, Vernon-Carter E. Textural properties of alginate-pectin beads and survivability of entrapped *Lb. casei* in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Food research international*. 43: 111-117 (2010)
 107. Belščak-Cvitanović A, Komes D, Karlović S, Djaković S, Špoljarić I, Mršić G, Ježek D. Improving the controlled delivery formulations of caffeine in alginate hydrogel beads combined with pectin, carrageenan, chitosan and psyllium. *Food chemistry*. 167: 378-386 (2015)
 108. Liu J, Zhan X, Wan J, Wang Y, Wang C. Review for carrageenan-based pharmaceutical biomaterials: favourable physical features versus adverse biological effects. *Carbohydrate polymers*. 121: 27-36 (2015)
 109. Das S, Ng KY. Resveratrol loaded calcium pectinate beads: effects of formulation parameters on drug release and bead characteristics. *Journal of pharmaceutical sciences*. 99: 840-860 (2010)
 110. Schauss AG, Wu XL, Prior RL, Ou BX, Patel D, Huang DJ, Kababick JP. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *euterpe oleracea* mart. (acai). *Journal of agricultural and food chemistry*. 54: 8598-8603 (2006)
 111. Zheng L, Ding Z, Zhang M, Sun J. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: preparation and characterization. *Journal of food engineering*. 104: 89-95 (2011)
 112. Markakis P, Jurd L. Anthocyanins and their stability in foods. *critical reviews in Food science & nutrition*. 4: 437-456 (1974)

113. Sankalia MG, Mashru RC, Sankalia JM, Sutariya VB. Physicochemical characterization of papain entrapped in ionotropically cross linked kappa carrageenan gel beads for stability improvement using doehlert shell design. *Journal of pharmaceutical sciences*. 95: 1994–2013 (2006)
114. Sankalia MG, Mashru RC, Sankalia JM, Sutariya VB. Papain entrapment in alginate beads for stability improvement and site-specific delivery: physicochemical characterization and factorial optimization using neural network modeling. *American association of pharmaceutical scientists*. 6: E209–E222 (2005)
115. Sankalia MG, Mashru RC, Sankalia JM, Sutariya VB. Physicochemical characterization of papain entrapped in ionotropically cross-linked kappa-carrageenan gel beads for stability improvement using doehlert shell design. *Journal of pharmaceutical sciences*. 95: 1994–2013 (2006)
116. Kumar SP, Birundha K, Kaveri K, Devi KR. Antioxidant studies of chitosan nanoparticles containing naringenin and their cytotoxicity effects in lung cancer cells. *International journal of biological macromolecules*. 78: 87–95 (2015)
117. Mallery SR, Stoner GD, Larsen PE, Fields HW, Rodrigo KA, Schwartz SJ, Tian Q, Dai J, Mumper RJ. Formulation and in-vitro and in-vivo evaluation of a mucoadhesive gel containing freeze dried black raspberries: implications for oral cancer chemoprevention. *Pharmaceutical research*. 24: 728–737 (2007)
118. Xiong S, Melton LD, Easteal AJ, Siew D. Stability and antioxidant activity of black currant anthocyanins in solution and encapsulated in glucan gel. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54: 6201–6208 (2006)
119. Sánchez CS, González AT, García-Parrilla M, Granados JQ, De La Serrana HLG, Martínez ML. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica chimica acta*. 593: 103–107 (2007)
120. Sarma AD, Sreelakshmi Y, Sharma R. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation. *Phytochemistry*. 45: 671–674 (1997)
121. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*. 2: 152–159 (1997)
122. Choi M, Kim G, Lee H. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food research international*. 35: 753–759 (2002)
123. Avadi, M, R., Sadeghi, A.M.M., Mohammadpour, N., Abedin, S., Atyabi, F., Dinarvand, R., Rafiee-Tehrani, M. Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. *Nanomedicine: Nanomedicine:*

Nanotechnology, Biology and Medicine 6(1): 58–63 (2010)

124. Laurena, A. C., Garcia, V. V., & Mendoza, E. M. T. Effects of soaking in aqueous acidic and alkali solutions on removal of polyphenols and in vitro digestibility of cowpea. *Plant Foods for Human Nutrition* 36: 107–118 (1986)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.