

보안과제(), 일반과제(○) / 공개(○), 비공개()
고부가가치식품기술개발사업 최종보고서

11-1543000-001880-01

난소화성 전분을 활용한 식이섬유 강화 베리류 주 스의 상품화 기술 개발 최종보고서

2017 . 08. 31.

주관연구기관 / 베리팜(영)
협동연구기관 / 베리&바이오식품연구소
전남대학교

Development of manufacturing technique
for the dietary fiber-enriched berries
beverage with resistant starch R&D
Report

농림축산식품부

2. 제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “탄소화성 전분을 활용한 식이섬유 강화 베리류 주스의 상품화 기술 개발”(개발기간 : 2014. 08. ~ 2017. 07.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 08. 31.

주관연구기관명 : 베리팜 영농조합법인 (대표자) 박재숙 (인)

1협동연구기관명 : (제)베리&바이오식품연구소 (대표자) 문규환 (인)

2협동연구기관명 : 전남대학교 산학협력단 (대표자) 송진규 (인)

주관연구책임자 : 박 재 숙
1협동연구책임자 : 송 지 영
2협동연구책임자 : 신 말 식

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	114015-03	해당 단계 연구 기간	36개월	단계 구분	1/1
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구 과 제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	난소화성 전분을 활용한 식이섬유 강화 베리류 주스의 상품화 기술 개발			
연구 책임자	박재숙	해당단계 참여 연구원 수	총: 15 명 내부: 14 명 외부: 1 명	해당단계 연구 개발비	정부: 450,000천원 민간: 112,500천원 계: 562,500천원
		총 연구기간 참여 연구원 수	총: 15 명 내부: 14 명 외부: 1 명	총 연구개발비	정부: 450,000천원 민간: 112,500천원 계: 562,500천원
연구기관명 및 소속부서명	베리팜 영농조합법인			참여기업명	베리팜 영농조합법인
위탁연구	연구기관명: (해당 없음)			연구책임자:	
요약				보고서 면수:	
<ul style="list-style-type: none"> ○ 베리류와 과일·채소류(과채류)를 이용한 식이섬유 강화음료를 개발함 ○ 식이섬유 강화음료용 베리류, 과채류의 물리화학적 처리조건 확립 ○ 식이섬유 강화음료용 베리류, 과채류의 생물학적 처리조건 확립 ○ 식이섬유 강화음료용 난소화성 전분의 개발 및 기능성 확인 ○ 식이섬유 강화음료용 씨앗입자의 품질안정성 평가 ○ 난소화성 전분을 활용한 식이섬유 강화음료 개발 및 상품화 ○ 성과 : 특허출원 2건, 논문 7건, 학술발표 13건, 교육지도 8건, 인력양성 4건, 홍보전시 16건, 기술실시 2건, 사업화 3건 				252 페이지	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 난소화성 전분 및 청정지역 과·채류를 기반으로 향산화능력을 가지는 식이섬유 기능성 음료개발 및 산업화 ○ 연구내용 <ul style="list-style-type: none"> - 베리류와 과일·채소류(과·채류)를 이용한 식이섬유 강화음료 개발 - 식이섬유 강화음료용 베리류, 과·채류의 물리화학적 처리조건 확립 - 식이섬유 강화음료용 베리류, 과·채류의 생물학적 처리조건 확립 - 식이섬유 강화음료용 난소화성 전분의 개발 및 기능성 확인 - 식이섬유 강화음료용 씨앗입자의 개발 및 품질 안정성 평가 - 난소화성 전분을 활용한 식이섬유 강화음료 개발 및 상품화 		
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기술적 성과 <ul style="list-style-type: none"> - 베리류와 과일·채소류의 식이섬유 및 향산화활성을 분석한 결과 베리류 중 복분자와 아로니아는 식이섬유 함량이 각각 36.93%, 34.24%로 높았고, 양배추, 단호박, 토마토, 사과, 귤, 적포도는 각각 29.66%, 21.51%, 19.85%, 12.57%, 11.27%, 9.69%였으며 이중 베리류 2종(복분자, 아로니아), 과일·채소류 6종(양배추, 단호박, 토마토, 사과, 귤, 포도)를 사용하여 식이섬유 음료를 개발하였음 - 과일·채소류 6종을 원료로 초음파 처리, 구연산 처리, 효소(Viscozyme, Ultraclearn cellulase)처리 후 입자 크기가 감소되었음. 식이섬유 함량은 양배추와 단호박, 사과는 초음파와 Ultraclear나 Cellulase 같은 효소 처리에 의해 증가되었고, 팽윤력, 유지 결합력 등의 기능성이 증가되었음 - 유산균 3종(<i>Leu. mesenteroides</i> GBL19, GBL20, SRL6)을 선별하여 베리류, 과일·채소류 혼합액에서 발효양상을 확인한 결과 모두 발효 1일째 최대 유산균수를 나타낸 이후 서서히 감소하였음. 총식이섬유는 발효 1일후 높게 나타났으며 GBL20(7.81%)>SRL6(7.68%)>GBL19(7.45%)>대조구(7.31%) 순으로 총 식이섬유 함량이 측정되었음 - <i>Leu. mesenteroides</i> SRL6를 베리류 4종(복분자, 아로니아, 오디, 블루베리)에 접종하여 발효한 결과 복분자와 아로니아에서는 발효가 활발하게 일어났으며 총 페놀, 총 플라보노이드, 총 안토시아닌 함량을 증가시켰고 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼 소거능을 증가시켰음 - 베리류와 과일·채소류를 동결건조 하는 경우 당함량이 높아 수분흡습으로 인해 분쇄가 어려움, 난소화성 전분을 5% 첨가하므로써 분쇄가 용이해지고 수분흡습 억제와 식이섬유 함량의 증가 효과를 얻었고 제품의 기호도를 상승시켰음 - 국내산 쥐눈이콩은 수입 렌틸콩이나 병아리콩보다 비타민 E, B2 함량이 높고 아미노산 함량이 높음. 유행하는 수입 슈퍼곡물만큼 국내산 곡물의 영양성분 함량이 높았음 - 찹쌀 전분을 이용한 전분의 특성확인 결과 자포니카형의 신선찰과 동진찰 전분과 인디카형의 한강찰1호의 분자구조가 자포니카형의 경우 아밀로펙틴 사슬 DP 13-24가 높은 경향을 보였고, 호화특성에서도 차이를 보임을 알 수 있었음 - 아밀로즈 함량이 다른 3종의 쌀 품종 고아미, 호평, 화선찰을 산 가수분 		

	<p>해 하여 특성을 확인하였을 때 찹쌀 전분에서 가수분해율이 높게 나타났고, 산구수분해로 인해 전분의 호화온도가 높아지고 호화온도 범위가 넓어지는 특성을 보였으며 입자 사이즈가 작아져 나노크기의 입자 형성 가능성을 확인하였음. 특히 화선찰 전분은 산 가수분해로 작아진 입자간의 응집현상이 낮아 나노 입자를 제조하는데 좋은 소재임을 알 수 있었음</p> <ul style="list-style-type: none"> - 산처리 한 찹쌀 전분을 가교결합제인 trimetaphosphate(STMP)와 sodium tripolyphosphate(STPP)를 첨가하여 RS4 타입 저항전분을 제조하였을 때, 초음파 처리 후 동결건조 한 산 처리 가교결합 저항전분(SFD)이 분산 안정성이 가장 높은 것으로 확인되었음 - 산 처리 찹쌀 전분을 이용한 가교결합 저항전분 나노입자는 17-18%의 저항전분 함량을 가지며, A 형의 결정형을 가지는 것으로 나타났으며, 초음파처리와 동결건조 처리를 병행할 경우 가장 낮은 제타포텐셜 값을 가지며(-43.0) 가장 안정하였음 - 치아씨드는 복분자 착즙액 3%까지는 발아가 잘 일어났고 발아된 상태의 유지도 양호했음. 검류와 음료용 저항전분에 의해 씨앗입자가 침전되지 않고 음료내에 잘 분산되어 있음. - 기존의 난소화성 전분은 분말음료에서는 2.4%까지 함유시켜도 음료의 맛에 큰 영향을 주지 않았음. 음료용으로 개발된 나노입자 저항전분은 분산안정성이 높아 액상음료로 개발하였음. - 베리즙 단독 혹은 베리즙과 저항전분의 복합 급이를 마우스에 8주간 투여한 결과, 간독성에 이상이 없었고, 혈청 내 중성지방과 총콜레스테롤이 각 군간의 차이는 없었으나, 체내 담즙산의 배설을 증가시켰음. - 연구결과 베리류 과일채소류 복합액상음료는 기존제품에 비해 식이섬유 함량이 1.5~4.4배 높았고 항산화활성이 약 2배 높았음. 베리류 과일채소류 동결건조 분말음료는 난소화성 전분 첨가에 의해 입자 평균 크기가 약 30% 감소하였고 수분흡수지수가 약 30% 감소하였으며 식이섬유함량은 기존제품보다 1.4~1.8배 높았음. 나노전분을 함유한 씨드음료는 기존제품보다 식이섬유함량이 1.2~1.5배 높았음 <p>○ 정량적 성과 특허출원 2건, 논문 7건, 학술발표 13건, 교육지도 8건, 인력양성 4건, 홍보전시 16건, 기술실시 2건, 사업화 3건</p>
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 나노 사이즈 저항전분 제조를 통한 식이섬유의 기능 복합으로 저칼로리 기능성 음료로써 트렌드에 부합하는 제품개발이 가능함 - 기능성 과실인 베리류와 과일·채소류, 난소화성전분과 같은 식이섬유원을 복합원료로 사용하여 다양한 전처리 공법과 기능성을 토대로 한 브랜딩 기술로 기능성 음료제품을 다양화 함. - 국내 과일, 채소류 기반 기능성 음료 생산이 국내 생산이 없는 베리류인 크랜베리, 아사이베리 등 주종이 수입이므로, 국내 생산이 가능한 베리류를 활용함으로써 수입대체 효과 및 우리 정서에 맞는 제품으로 대중화 가능 - 유네스코 생물권 보전지역이라는 강력한 친환경적인 특색을 다방면으로 활용이 가능하므로 관광, 체험문화 접목인 6차 산업으로 확대하여 지역 경제 활성화 및 이를 토대로 농가 안정 및 소득창출에 기여

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ Development and industrialization of dietary fiber beverage with antioxidant activity from resistant starch and fruits-vegetables ○ Contents of research <ul style="list-style-type: none"> - Development of dietary fiber-enriched beverage with berries and fruits, vegetables - Establishment of physicochemical treatment condition for dietary fiber-enriched beverage - Establishment of biological treatment condition for dietary fiber-enriched beverage - Development of resistant starch and investigation of functionality for dietary fiber-enriched beverage - Development and stability of seed for dietary fiber-enriched beverage - Development and industrialization of dietary fiber beverage with resistant starch 		
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ Technical results <ul style="list-style-type: none"> - According to investigation of dietary fiber and antioxidant activity of berries, fruits and vegetables, black raspberry and black chokeberry had higher total dietary fiber(36.93%, 34.24%), and total dietary fiber of cabbage, sweet pumpkin, tomato, apple, mandarin and red grape was 29.66%, 21.51%, 19.85%, 12.57%, 11.27%, 9.69%. Dietary fiber beverage was developed with 2 berries (black raspberry and black chokeberry) and 6 fruits-vegetables (cabbage, sweet pumpkin, tomato, apple, mandarin and red grape). - Particle size of 6 fruits-vegetables puree was reduced by ultrasonication, citric acid, enzymes (Viscozyme, Ultraclear, cellulase) treatment. Dietary fiber of cabbage, sweet pumpkin and apple was increased by ultrasonication or enzymes treatment, functionality as swelling, water retention capacity, glucose adsorption and oil binding capacity was increased. - Lactic acid bacteria (<i>Leu. mesenteroides</i> GBL19, GBL20, SRL6) was selected, fermentation properties of berries-fruits-vegetables mix was investigated. The number of viable cells increased up until 24 hours, after which it gradually decreased. Total dietary fiber was the highest after 24 hours fermentation and measured in the order of GBL20(7.81%)> SRL6(7.68%)>GBL19(7.45%)>control(7.31%). - Berries (black raspberry, black chokeberry, mulberry and blueberry) were fermented for 24 hours using <i>Leu. mesenteroids</i> SRL6. Total phenols, 		

	<p>total flavonoids and total anthocyanins were increased, and DPPH radical and ABTS radical scavenging activities were increased by fermentation.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pulverization of freeze dried berries, fruits and vegetables with high sugar contents was difficult because of moisture absorption. Addition of resistant starch made easy to mill the dried products, inhibited moisture absorption and increased total dietary fiber contents. - Domestic small bean had higher Vit E, Vit B2 and amino acids than imported lentils and pois chiches. - Gelatinization properties and the molecular structure of Korean waxy rice starches isolated from two japonica types, Sinseonchal, and Dongjinchal, as well as an indica type, Hangangchal 1 were investigated. On the branch chain length distribution of amylopectin, the proportion of DP13-24 and DP25-36 showed reverse trends, with higher japonica type amylopectin in DP13-24. Onset and peak temperatures by differential scanning calorimeter were also the highest in Sinseonchal. - The granular size of acid hydrolyzed starches decreased to 122.4-479.9 nm, whereas granular aggregation increased with increasing hydrolysis duration. In particular, waxy rice starch of Hwaseonchal was composed of many tiny granules without aggregates. Gelatinization temperature and temperature range increased with increasing hydrolysis duration. It is suggested that nanoparticles could be prepared by acid hydrolysis of rice starches, and waxy rice starch is the most preferred source for application. - To produce cross-linked starch using acid hydrolyzed starch, acid hydrolyzed starch was treated with trimetaphosphate(STMP) and sodium tripolyphosphate(STPP). The sonicated and freeze dried(SFD) showed most stable solution and lowest sediment compared with other samples - The cross-linked RS nanoparticles were prepared from acid hydrolyzed waxy rice starch and showed A typed crystallinity with 17-18% RS level. The sonicated and freeze-dried treatment was the best drying method - Chia seed was well germinated and maintained the condition well until 3% black raspberry juice. The seed particles did not precipitate due to resistant starch yield in gum and drink, and was well distributed in the drink. - Up to 2.4% content of indigestible starch in powdered drink did not affect the taste of drink. Nano particle restraint starch yield developed
--	--

	<p>for drink has high dispersion safety and was developed as drink.</p> <ul style="list-style-type: none"> - As the result of injecting compound feeding of single berry juice or berry juice and resistant starch yield to mouse, it did not affect hepatotoxicity or neutral fat and entire cholesterol in serum, but increased the excretion of bile acid. - As a low calorie functional drink with compound function of dietary fiber through nano sized resistant starch yield, it enables development of product corresponding to the trend. - It is a branding technology based on various preconditioning technique and functionality using functional fruit like berry ,fruit, vegetable and dietary fiber like indigestible starch as compound ingredient, which diversified functional beverage. - As cranberry, acai berry and other famous beverage ingredients are imported, by utilizing berries that can be farmed in Korea, producing functional beverage based on domestic fruit and beverage could have import substitution effect and popularize as product that fits our lifestyle. - By utilizing the strong eco-friendly feature as UNESCO biosphere reserve Area, it can be extended to sixth industry by linking to tourism and experience culture industry which would lead to vitalization of local economy and contribute to stabilization of farm land and creation of income. 				
Keywords	Enhancement of dietary fiber	Resistant starch	Antioxidant activity	Sensory evaluation	Fruits-vegetables

< Index >

Chapter 1. Summary of the research and development project	10
Paragraph 1. Objectives of the research and development	10
Paragraph 2. Necessity of the research and development	10
Paragraph 3. Scope of the research and development	15
Chapter 2. Situation of the technology in domestic and foreign	16
Paragraph 1. Situation of the technology in domestic and foreign	16
Paragraph 2. Situation of the product in domestic and foreign	17
Chapter 3. Contents and results of the research and development	22
Paragraph 1. Promotion strategy · method and system of the research and development	22
Paragraph 2. Results of the research and development	26
Paragraph 3. Results of the research	28
Paragraph 4. Significance and level of the technical development	231
Paragraph 5. Economical results	232
Chapter 4. The attainment of the goal and contribution for related field	233
Chapter 5. The results of the research and development and the application plan	235
Chapter 6. Foreign technology information obtained during the project	236
Chapter 7. Security level	238
Chapter 8. Current state of research facilities and equipment registered on national science and technology information system	239
Chapter 9. Performance result of safety action in laboratory	240
Chapter 10. Representative result of of the research and development project	245
Chapter 11. Other detail	246
Chapter 12. Reference	247

<accompanying sheet> A statement of self evaluation

〈 목 차 〉

제1장 연구개발과제의개요	10
제1절 연구개발 목적	10
제2절 연구개발 필요성	10
제3절 연구개발 범위	15
제2장 국내외 기술개발 현황	16
제1절 국내외 기술개발 현황	16
제2절 국내외 시장(제품) 현황	17
제3장 연구수행 내용 및 결과	22
제1절 연구개발 추진전략·방법 및 추진체계	22
제2절 연구개발 성과	26
제3절 연구결과	28
제4절 기술개발 의의 및 기술수준	231
제5절 경제적 성과	232
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	233
제5장 연구결과의 활용계획 등	235
제6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	236
제7장 연구개발성과의 보안등급	238
제8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	239
제9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	240
제10장 연구개발과제의 대표적 연구실적	245
제11장 기타사항	246
제12장 참고문헌	247

<별첨> 자체평가의견서

제 1 장 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

제 1 절 연구개발 목적

- 소비자가 요구하는 건강 기능음료를 향산화활성이 높은 베리류와 과일·채소류를 이용하여 복합주스로 개발하고 식이섬유 함량을 강화시키면서 분말제품의 수분 흡수를 감소시키고 액상제품의 안정성을 증가시키기 위해 저항전분을 첨가하여 관능적 특성과 품질이 우수한 제품으로 개발하고자 함
- 연차적으로 주스의 형상(색, 리올로지, 향미)을 달리한 주스를 소비대상에 따라 개발하고 주스의 저장 유통 중에 품질 안정성을 갖도록 이화학적, 생물학적 방법을 적용한 기술로 개발 함

제 2 절 연구개발의 필요성

- 최근 들어 소비자들은 고품질의 제품을 요구하고 있으며 특히 건강기능성 물질을 함유한 식품, 슈퍼푸드, 힐링푸드, 디톡시 푸드 등 식품으로 안전하고 건강에 유익한 제품을 찾고 있음
- 주로 콜레스테롤 억제, 항암, 비만억제 등과 관련되면서 연령층, 지역적 특성을 고려하고 편의식품, 유통방법의 변화, 적절한 가격의 식품을 요구하고 있어 이에 부응하는 식품의 개발이 필요함
- 이 중 간편하게 마실 수 있는 음료로 위의 조건을 만족할 수 있는 건강기능 식이섬유 강화 과채주스의 개발이 필요함

1. 식이섬유와 기능성

- 경제수준의 향상과 서구화된 식생활로 어릴 때부터 동물성 식품의 소비가 증가함에 따라 각종 성인병과 비만이 증가하면서 이들 질병을 예방하기 위한 기능성 식품으로 지질과 같은 열량원으로서의 가치는 적은 반면 점질 다당류 식이섬유를 함유한 식품에 대한 관심이 증가됨
- 2001년 IOM(Institute of Medicine)은 총식이섬유(total dietary fiber)를 식물체에 함유된 난소화성, 즉 인체의 소장에서 소화나 흡수되지 않는 탄수화물과 리그린을 의미하는 식이섬유(dietary fiber)와 사람에게 유익한 생리적 효과를 주는 분리된 난소화성 탄수화물인 기능성 섬유(functional fiber)로 정의하고 있음
- 우리나라에서는 식이섬유 충분섭취량을 유아1-2세 10 g, 3-5세 15 g, 남자 6-11세 20 g, 12세 이상 25 g, 여자는 6-11세 15 g, 12세 이상 20 g, 임신부와 수유부는 5 g을 더 섭취하도록 하였음(한국인영양섭취기준 2010)
- 미국이나 유럽, 호주 등에서는 25-35 g/일을 권장하고 있으며 미국의 연령, 성별에 따른 필요량은 다음과 같음

Daily Recommendations of Dietary Fiber Needed* by Age/Gender

Daily Recommendations of Dietary Fiber Needed* by Age/Gender

Children		Males		Females	
Years	Grams	Years	Grams	Years	Grams
1-3	19	9-13	31	9-18	26
4-8	25	14-50	38	19-50	25
		51+	30	51+	21

*Recommendations, in grams, are based on Estimated Average Requirements (EARs).

- 총식이섬유에는 식이섬유, 저항전분, 저항올리고당이 포함되며 만성질환을 보호하는 효과가 있을 뿐만 아니라 다음과 같은 생리적 활성을 가짐
 - 변비 예방
 - 소장의 소화 흡수를 조절
 - 대장암을 억제(특히 저항전분이 효과적), 정상작용을 돕고 면역기능을 향상함
 - 체중조절
 - 혈액의 혈당을 조절하고 인슐린의 민감성을 개선
 - 혈액의 콜레스테롤을 낮추어 관상심장질환을 억제, 혈압 조절

2. 난소화성 전분의 기능성 및 가공성

- 난소화성전분(resistant starch, RS)은 오랜 역사를 통하여 인간에게 안전하게 소비되어 온 물질로 자연식품에서 얻을 수 있는 것과 CODEX에서 인정한 범위의 제품으로 개발되어 안전성이 검증되었음
- 난소화성전분은 정상인의 소장에서 소화와 흡수되지 않는 전분과 전분의 유도체를 말함(EURESTA, 2002).
- 난소화성전분은 RS1-RS4로 구분하며 주스에 첨가하기 위해서는 RS2-RS4를 고려하고 있음
- 주스의 배합비가 투명 또는 콜로이드 형태를 가지므로 이에 적합한 입자크기와 안정성을 유지할 수 있는 적당한 점도를 갖도록 해야 함
- 주스 처리과정에서 pH 4.6이상이면 살균처리를 해야하므로 열처리에 안정한 상태를 유지해야 하며 total dietary fiber함량이 높도록 조절을 해야 함
- 난소화성전분은 대장에서 프로바이오틱스의 먹이로 사용될 수 있는 프리바이오틱스로 특히 대장암 억제 효과가 있는 중요한 biomaker인 부티르산의 생성이 다른 식이섬유보다 높음이 알려져 있음

- 이런 난소화성전분을 첨가하였을 때 RS의 기능성은 일반적으로 식이섬유와 유사하나 RS 형태에 따라 그 효과에 차이가 있다고 알려지고 있음(Haub et al., 2010).
- RS4는 혈액의 글루코오스 수준을 낮추는 경향이 RS2보다 현저함이 밝혀져 있음
- RS의 기능성
 - 당뇨병을 관리할 수 있는 식후 글리세믹 인슐린 반응을 조절
 - 콜레스테롤과 트리글리세라이드의 수준을 감소함
 - 배변량을 증가하여 배변횟수를 증가하여 변비와 치질을 예방함
 - 대장에서 독성물질, 돌연변이 물질의 생성을 감소시킴
- RS는 형태에 따라 4가지로 나누고 있는데 RS2는 B형의 결정형을 가진 감자전분, 익지 않은 바나나전분, 고아밀로오스 전분 등 생전분과 생전분을 수분열처리한 전분도 포함시키고 있음
- RS3는 전분과 물을 혼합하여 가압가열-냉각과정을 반복하여 만들어진 노화전분으로 일반적으로 아밀로오스함량이 증가함에 따라 RS level이 증가하므로 고아밀로오스전분으로 제조하였을 때 또한 직선상의 사슬로 구성되게 분지사슬을 분해하여 제조하였을 때 RS level을 증가시킬 수 있음
- RS4는 전분을 CODEX가 안전성을 인정한 범위 내에서 화학적으로 변성시킨 전분으로 전분의 종류와 조건과 분석방법에 따라 RS level이 달라짐
- 난소화성 전분은 국외에서는 지방대체제, 안정제나 계면 활성제 등 식품에서 다양하게 이용되고 있으며 제품의 특성에 따라 가공적성에 적합하도록 제조가 가능함
- 전분의 물리적 특성상 빵이나 떡 등 밀가루 및 쌀가루 가공 제품에 혼합시 이물감 없이 첨가되어 식이섬유 함량을 증가시킬 수 있으나 음료나 드레싱과 같은 액상제품에 첨가시 침전되는 특성이 있음
- 전분의 입자가 음료의 분산도에 영향을 주므로 분산도를 증가시키기 위해 입자크기를 조절해야 함. 분산성 증진을 위해 검물질을 혼합하기도 하나 입자크기를 감소시키는 것이 분산성 증진에 더 효과적임. 입자크기는 전분의 종류에 따라 다르기 때문에 적당한 전분을 선택하는 것이 매우 중요함(RS의 리올로지 개선)
- 난소화성 전분 입자를 나노사이즈로 감소시키면서 식이섬유로서의 특성을 유지한다면 식이섬유 강화음료에 사용이 가능하므로 활용도가 매우 증가될 것으로 예상됨
- RS 수준을 증가시키고 입자크기를 작게 하기 위해서 전분을 물리화학적 방법으로 처리하기 전과 후에 이화학적 방법으로 병행처리할 수 있음.

- 하이드로콜로이드를 사용하여 난소화성전분의 안정성을 개선할 수 있고 encapsulation 을 통하여 제품의 품질을 향상할 수 있음.
- 복합주스의 영양적인 균형을 조절하고 기능성을 보완하기 위해 난소화성 전분과 영양소의 결합가능성이 있음

3. 베리류의 항산화 활성

- 과·채류에는 비타민과 무기질을 비롯한 천연 항산화 성분이 다량 함유되어 있어 인체 대사에 도움을 줄 수 있을 뿐만 아니라 풍부한 수분과 식이섬유를 가지고 있어 장을 자극하여 배변을 도와주는 생리적 작용을 함.
- 과·채류에는 페놀화합물, terpenoid 화합물, anthocyan, carotenoid 및 flavonoid 등의 파이토 케미칼을 함유하고 있어 인체에 다양한 생리활성을 나타내 건강을 증진시킴.
- 과·채류에 다량 함유되어 있는 페놀성 물질은 phenolic hydroxyl기로 인하여 단백질 또는 효소 단백질, 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화 효과 그리고 2가 금속이온과의 결합력을 가지며, 수산기를 통한 수소공여능과 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의한 항산화 능력을 나타내는 것으로 보고됨.
- 과·채류에 함유된 폴리페놀 및 항산화성 비타민은 항산화체계 유지, 생체제어(면역기능), 생리대사 기능 조절, 질병 예방, 노화 방지 등 기능성 식품으로서의 가치를 주목받고 있으므로 생리활성을 증진시킬 수 있는 발효, 효소, 물리화학적 기법의 도입이 필요함.
- 복분자(*Rubus occidentalis*)는 유리당, 무기질의 인, 철 및 칼륨을 많이 함유하고 있고, 특히 유기산과 비타민C가 많이 포함되어 있음.
- 베리류에는 항암활성 및 면역증진효과, 항산화 및 항균효과, hepatitis B virus 억제 등 다양한 생리활성에 대한 효능이 밝혀짐.
- 베리류 중 특히 복분자는 동물시험에서 LDL을 억제함으로써 고지혈증 및 지질대사에 효능이 있음을 확인하였고, 혈관질환의 원인이 되는 염증성 사이토카인인 tumor necrosis factor- α , interleukin-6, prostaglandin F₂, 일산화질소 등의 생성을 억제.
- 복분자의 polyphenol에 의한 superoxide 제거작용과 xanthine oxidase 억제, 항산화 및 항균효과 등이 보고되었고, 토종과 외래종과의 각종 이화학적 및 생리활성 비교연구 및 주요 산지별 복분자를 이용한 이화학적 특성 비교연구 등 다양한 연구가 이루어지고 있는 실정.

- 베리류에 함유된 폴리페놀 및 항산화성 비타민은 항산화체계 유지, 생체제어(면역기능), 생리대사 기능 조절, 질병 예방, 노화 방지 등 기능성 식품으로서의 가치를 주목받고 있음. 단순 착즙 등의 단순 가공만으로는 기존 천연 항산화제에 비해 우수한 항산화 활성을 기대하기 어려워 항산화 효과 증진을 위한 가공 기법 및 복합 기능 제품이 필요함.
- 블랙초크베리 즉, 아로니아는 만병의 근원인 활성산소(free oxygen radical)를 제거하여 항노화와 뇌심혈관계질환(고혈압, 당뇨, 고지혈증, 뇌졸중 등) 심혈관계 질환(뇌출혈, 뇌전색, 심근경색 등)에 대한 항산화능력(Antioxidant activity . ORAC)의 수치는 160.2로 가장 강력한 높은 활성을 지니고 있음.
- 폴란드에서 다량 재배되는 아로니아베리는 블루베리의 5~25배, 아사이베리의 10~30배, 크랜베리의 10배, 라즈베리의 20배, 포도의 80배에 해당하는 안토시아닌을 함유하고 있는 것으로 연구됨.
- 최근 아로니아의 국내 재배가 점차 증가되고 있는 추세이며 수입된 품종은 주로 바이킹으로 안토시아닌과 페놀류 함량이 타 품종에 비해 비교적 높은 편이며 국내산과 수입산의 직접적인 비교는 되어있지 않으므로 연구할 필요가 있음.

4. 발효에 의한 관능도 향상 및 기능성 확보

- 유산균에 의한 과·채류의 발효를 통해 독특한 향과 맛을 부여하여 관능적 특성이 향상되며 원재료에 따라 미생물의 종류, 발효조건 등이 젓산 발효에 큰 영향을 미침
- 미생물의 탄수화물을 에너지원으로 사용하여 식이섬유의 일종인 dextran과 신경전달물질인 acetylcholine 및 γ -aminobutyric acid가 생성됨
- 유산 발효를 통한 유기산 생성으로 vitamin C와 생리활성 물질이 잘 보존, 미생물 작용으로 엽산을 비롯한 vitamin B군이 양적으로 증가되어 재료에 존재하지 않는 vitamin B12와 vitamin K가 합성됨.
- 발효를 통한 항생물질과 유기산 생성으로 부패균과 병원성균의 성장과 증식을 저해하므로 식품의 안전성을 향상시킴.

5. 소비자 니즈를 반영한 고식이섬유 및 항산화성 함유 제품개발

- 비만은 많은 질병의 원인이 되며 다이어트는 특정 성별이나 세대에 국한되지 않은 관심사가 되고 있음.
- 기존 식이섬유 음료보다 식이섬유 함량을 증가시키면서 물성을 개선하고 베리류의 항산화 성분을 이용하여 기존 기능성 식이섬유 음료의 항산화력 비교우위를 선점하는 것이 필요함

- 한국영양학회지 보고에 따르면 우리나라 20세 이상 성인을 대상으로 식이섬유 섭취량 평가 결과 식이섬유 기여식품군은 **채소류(40.98%) > 곡류(19.86%) > 과일류 (14.8%)** 순으로 이 세가지 군이 전체의 75% 이상을 차지하는 것으로 보고됨
- 2010년 이후로 비타민 음료, 에너지 드링크와 같은 기능성 음료에 대한 국내시장은 고성장을 보이고 있음. 미국과 중국에서는 항산화 음료 및 과즙음료에 대한 수요가 증대되고 있기 때문에 과·채류 기반 항산화활성과 식이섬유의 복합기능 함유 음료제품 개발이 요구됨
- 고시형 건강기능식품 원료인 구아바잎 추출물의 일일 섭취량이 총페놀 기준 120mg으로 최종제품에 총페놀 96~144mg범위로 허용되어 있음. 복분자, 오디, 블루베리, 아로니아 착즙액의 총폴리페놀 함량은 3.7, 3.3, 1.2, 4.8 mg/mL이므로 각각의 착즙액은 26~39, 29~44, 80~120, 20~30mL만 사용해도 충분한 효과를 보일 것으로 추측됨
- 그러므로, 최근 well-being, LOHAS 등 건강에 대한 관심도 증가와 이에 편승하여 무분별하게 판매되는 기능성 음료의 홍수 속에서 소비자들에게 정확한 정보와 체계적이고 과학적인 접근을 통한 신뢰도 있는 자료를 기반으로 바람직한 먹거리 제공 및 건전한 식문화 정착이 필요

제 3 절 연구개발 범위

1. 베리류와 과·채류를 이용한 식이섬유 강화음료 개발
 - 베리류 과·채류 원료 성분 및 기능성 분석
 - 베리류와 과·채류 혼합음료 레시피 개발
 - 베리류와 과·채류 혼합음료의 분말화조건 확립
 - 베리류와 과·채류 혼합음료의 액상화조건 확립
2. 식이섬유 강화 음료용 베리류, 과·채류의 전처리 조건 확립
 - 과·채류 음료 적용 미생물 및 식이섬유 연화 효소 선발
 - 과·채류 음료 원료의 물리화학적 및 효소처리 공정 확립
 - 난소화성 전분 및 미생물을 활용한 복합음료의 식이섬유 증가 및 물성 개선
 - 음료 원료의 물리화학적, 미생물학적 처리에 의한 기능성 확인
3. 식이섬유강화 음료용 난소화성 전분 및 씨앗입자의 개발
 - 전분의 종류와 제조 방법에 따른 난소화성 전분의 개발 및 특성 조사
 - 친수성 콜로이드 입자크기와 성질을 갖는 음료용 난소화성 전분개발 및 특성 조사
 - 건강기능 씨앗음료용 입자 개발 및 품질 안정성 평가
4. 난소화성 전분 및 씨앗입자를 활용한 식이섬유 강화음료 개발
 - 난소화성 전분 및 씨앗입자를 활용한 식이섬유 강화음료 레시피 개발 및 제조공정 확립
 - 난소화성 전분 및 씨앗입자를 활용한 식이섬유 강화음료 레시피 개발 상품화

제 2 장 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

제 1 절 국내외 기술개발 현황

- 난소화성 전분은 소화효소에 의해 분해되지 않고 소장을 거쳐 대장에서 미생물에 의해 발효되는 일련의 전분 분획으로서 대장 내 미생물군의 유용한 탄수화물 급원을 조성하여 propionic acid, butyric acid 과 같은 단쇄 지방산 생성을 촉진시킴으로써 장내 pH 를 저하시켜 대장을 건강하게 유지하는데 기여하며 포도당 대사에도 이로운 영향을 갖는 것으로 보고됨.
- 난소화성 전분에 대한 연구 초기에는 옥수수전분을 주로 이용하여 RS 수율을 증가시키는 연구와 RS의 기능성에 대한 연구가 많았으며, 원료 전분의 종류를 다양화하고 물리적 화학적 처리방법을 이용하여 수율을 증가시키는 연구들이 진행되어 왔음.
- 최근에는 난소화성 전분의 형태가 전분과 유사하여 식품에 적용하였을 때 기존 식이섬유와 달리 맛, 향, 질감에서 이질감이 매우 적으므로 이를 식품에 적용하고자 하는 연구가 활발히 진행 되어왔음. 특히 전분질 식품에서 가공적성이 우수하여 떡류는 비롯하여 면류, 제빵제과류 제품으로 응용 연구가 진행되고 있음. 난소화성 전분을 첨가한 쌀가루와 가래떡의 특성, 기능성 소재인 효소저항전분을 이용한 국수의 품질특성, 저항전분과 비전분성 다당류를 첨가한 프렌치브레드의 품질 특성, 활성글루텐이 저항전분을 함유한 식빵의 품질 특성에 미치는 영향, RS4 형태의 옥수수 저항전분이 첨가된 쿠키의 품질 특성을 조사한 연구들이 보고됨.
- 난소화성 전분과 관련된 특허로는 저항전분의 수율과 관련된 유기산 첨가에 의한 효소저항전분의 함량을 증가시키는 방법, 산처리 과정에 의한 가교결합전분의 RS 함량 증가 방법과 압출성형공법을 이용한 효소저항전분의 생산방법이 있으며, 혈당과 관련된 저항성 전분 함량이 향상되고 혈당 반응이 완화된 감자 제품 및 그의 방법 등이 있음.
- 최근 천연 항산화제의 만성질환 예방과 관련된 많은 연구들이 이루어지고 있으며, 이러한 연구 결과로 항산화제가 많이 들어있는 과일, 채소, 허브 기타 제품 등의 식이 제품 소비가 활성산소의 손상으로부터 세포를 보호하고 많은 일반 질환과 관련된 위험 인자의 발생을 감소시키는 결과가 보고됨
- 기존 연구는 과·채류 원료 자체의 유효성분인 영양성분, 생리활성 물질, 기능성 성분인 항산화 활성, 항균활성, 항혈전 등에 관한 연구는 활발하게 이루어졌으나 항산화력 증진을 위한 가공기술을 접목한 연구 및 제품 개발은 매우 미진한 실정임
- 베리류 과실의 항산화 연구가 활발히 진행되어 이의 기능적인 측면은 알려져 있지만 단순 착즙 및 농축, 술의 형태로 주로 사용되고 있어 과실의 다양한 적용 연구가 이루어져야함.

- 과·채류를 기반으로 하는 항산화 음료 시장이 활성화 되고 있고, 최근 트렌드에 맞춰 관련 유사 제품들이 출시되고 있으나, 오해를 유발할 수 있는 과장광고와 과학적인 접근이 부족한 음료들의 출시로 인해 소비자들에게 효능에 대한 불신을 초래 할 수 있음.
- 과·채류에 미생물을 적용시켜 발효를 진행한 연구는 대부분 발효에 의한 품질변화, 관능적 기호도 증진에 관한 연구에 제한되어 있음. 발효를 통한 식이섬유의 증가된 과·채류 음료 개발과 관련된 논문 및 특허는 거의 보고되지 않았음.
- 본 연구를 통해 유산발효, 초음파 처리, 효소 처리 등 과·채류의 전처리 기술을 개발하고 이들 전처리에 의해 식이섬유 함량증가와 식이섬유의 기능성 증가 결과를 특허출원하고 국내 학회지에 보고하였음.
- 또한 본 연구를 통해 국내외 최초로 저항전분의 입자크기를 감소시키는 기술을 개발하여 음료용 저항전분에 대해 특허출원 및 학회지에 보고하였음.

제 2 절 국내외 시장(제품) 현황

- 폴리페놀 화합물과 같은 항산화 물질은 비타민 C, E와 함께 최근들어 가장 두각을 나타내고 있는 기능성 식품의 소재로 최적의 건강을 얻고 유지하기 위해 대규모로 소비되고 있음.
- 폴리페놀은 주로 과일과 채소에 들어 있으며 복잡한 경로로 체내에서 건강을 증진시키는 작용을 하며 결과적으로 폴리페놀은 식품과 음료가공에 중요성이 커지고 있음.
- 2014년 농림수산물식품부 통계 자료를 살펴보면, 복분자는 연간 생산량이 2008년 12,282톤, 2011년 17,169톤까지 증가되었다가 2012년 이후 2014년까지 만톤 정도로 유지되고 있어(2012년 11,398톤, 2014년 10,199톤) 생산에 활력을 불어넣어야할 필요가 있음.
- 과실류 가공현황(농림축산식품부)에 의하면 2012년 복분자 3,676톤, 오디 713톤이 가공되었으며 대부분이 전라북도에서 가공되고 있음. 복분자와 오디는 대부분 음료와 술로 일부는 주스 등으로 가공되고 있음
- 전라북도는 전국 복분자 생산량의 약 83%를 차지하며 복분자와 오디를 주로 가공하고 있고, 전남지방은 유자, 매실, 배, 복분자와 같은 각 지방의 특산물을 주로 가공하고 있는 실정임.

- 아로니아는 현재 수입산은 파우더, 원액 형태로 최근 국내에서 재배되면서 냉동생과나 건제품으로 일부 유통되고 있음. 수입제품 가격은 파우더 10,000원/100g, 원액 20,000~25,000원/500 mL원인 반면 국산 가격은 냉동생과 5,500~8,000원/kg, 건과 8,800~13,000원/100g 정도로 형성되어 있음.
- 국산 아로니아의 생산량이 많지 않고 가공기술이 개발되어있지 않아 제품이 다양하지 않으나 최근 연간 생산량이 큰 폭으로 상승하여 가격이 안정화되어 수입산과의 가격 폭이 감소됨에 따라 생산농가 및 여러 기업에서는 가공에 대한 관심이 크게 증가하였음.
- 농식품부 2012년 보고서에 따르면 우리나라 과실류 가공업체 수는 꾸준한 증가세를 이루고 있지만, 가공업체 근무 종업원 수는 오히려 감소하고 있는 실정임.
- 미국 오하이오 주립대학에서는 베리류의 항암효과에 주목하고, 동물실험을 통한 구강암, 식도암, 대장암, 피부암에 있어 베리류 중에서도 특히 복분자의 항암효과를 확인함.
- 세계적인 베리류 생산기업인 오션스프레이는 베리주스 제품으로 높은 인기를 얻고 있으며, 브랜드 인지도가 꾸준히 상승해왔고, 최근에는 베리주스가 방광염 및 요로감염 예방에 도움이 된다는 것이 알려지면서, 중년 여성들 사이에서 높은 인기를 얻고 있는 실정임
- 음료는 과실채소류음료, 탄산음료류, 기타음료 등으로 구분되며, 과실채소류음료는 과실 또는 채소를 주원료로 하여 가공한 것으로서 농축과실즙, 농축채소즙, 농축과채즙, 과실주스, 과채주스, 과실음료, 채소음료, 과채음료를 말하며 일반적으로 ‘주스’라고 불림. 탄산음료는 탄산가스를 함유하여 마시는 것을 목적으로 하는 탄산음료, 탄산수, 착향 탄산음료를 말하여 사이다, 콜라 등이 이에 해당됨
- 캔커피, 캔홍차 등의 다류와 먹는 샘물 등은 일반적으로 음료와 동일하게 인식을 하고 있으며 기타음료로 분리함. 음료업계에서는 점차 다양해지는 음료에 대해 분류가 더욱 어려워지고 있어 음료를 크게 3가지(탄산음료, 주스음료, 기타음료)로 나누어 관리하고 있는 것이 일반적임
- 2013년 기준 세계음료 시장 규모는 약 6155억 달러로 추정되며 탄산음료(33.8%)와 생수(23.3%)가 높은 비중을 차지하고 있고, 과채음료(17.8%), 커피·차음료(10.8%)가 그 뒤를 잇고 있음. 2009년부터 2013년 까지 연평균 성장률은 기능성 음료(7.7%)와 커피·차음료(6.9%), 스무디(5.4%)가 높아 음료시장에서도 건강에 대한 관심이 반영되는 것이 국제적인 추세임.

구 분	롯데칠성	해태음료	코카콜라	동아오츠카	웅진식품	
과실음료	델몬트, 콜드, 썹썹 등	썸키스트, 과일존	미닛메이드, 쿠우	-	자연은, 초록매실	
탄산음료	칠성사이다. 펍시콜라	써니텐, 콤비콜라	코카콜라, 암바사	데미소다 오란씨	-	
기 타 음 료	커피	레쓰비 칸타타	네스카페 카푸치노	조지아 일리커피	맥스웰 하우스	-
	기능성 음료	비타과워, 2%부족할 때, 식혜,고려홍삼	큰집식혜 녹차꿀물	-	멀티비타, 화이브미	아침햇살, 가을대추
	스포츠음료	게토레이	네버스탑	파워에이드	포카리스웨트	-
	다류	실론티.. 옥수수수염차.	순백차. 까만콩차.	네스티. 소켄비차	건강미인차.	하늘보리. 옥수수수염차.
	두유	참두	아침두유	-	진두유	-
	먹는샘물	아이시스, 에비앙	평창빼어날 수 봉평샘물	순수100	-	-

자료: 공정거래위원회

- '09년 국내 음료시장은 전년비 약 1% 성장한 3조 6000억원 규모로 추정됨. 경기불황으로 인해 상대적으로 가격이 저렴한 사이다와 콜라 등 탄산음료의 수요가 늘어 매출이 소폭 상승했으며, 커피음료와 생수 매출은 증가한 반면 주스와 차음료 시장은 위축되는 경향을 보였음
- 부류별로 보면 과실음료시장은 약 8,100억원(2.7% 감소)으로 23.4%를 차지하고 있으며, 탄산음료시장은 1조 2천억원(9.1% 증가) 33.3%, 기타 음료시장은 1조 5,900억원(2.1% 감소)으로 44.2%를 차지하고 있음
- 업체별로 보면('08) 롯데 36.7%, 해태 10.3%, 코카 17.6%, 동아 5.3%, 웅진 5.1% 정도임. 과실음료시장의 경우 롯데 45.1%, 해태 25.2%, 코카 7.8%, 웅진 14.7%, 탄산음료시장의 경우 롯데 45.7%, 해태 3.5%, 코카 44.5%, 동아 4.0%, 기타음료시장의 경우 롯데 26.3%, 해태 7.3%, 코카 4.5%, 동아 8.8%, 웅진 3.7% 정도임
- 국내 음료시장은 '05년 3조 4,150억원에서 '09년 3조 6천억원으로 최근 4년간 5.4% 증가하였음

- 베리류 제품에 대한 관심이 꾸준히 이어지고 있으며 높아져 외식업체에서 소스의 원료로 사용하거나 음료 제품에 많이 이용되고 있으며, 코카콜라와 같은 탄산음료 시장에도 아사이베리, 크랜베리와 같은 베리류가 소재로 사용되고 있음. 아로니아의 기능성이 알려지면서 아로니아 제품에 대한 관심과 구매가 증가하였고, 마키베리 등과 같은 새로운 베리류가 등장하였음.
- 국내 음료시장은 단순히 맛에 따라 시장을 구분하는 시대가 지나고 T(시간), P(장소), O(상황)에 맞춘 음료가 등장함. 국민 1인당 하루 평균 음료 소비량은 탄산음료, 기타음료(즙, 기능성) 과채음료 순서로 높았음. 국내 음료시장에도 ‘건강’에 대한 바람이 불면서 착즙주스가 두각을 나타내고 있으며 환원주스인 일반 냉장과일주스 시장이 2014년 상반기 대비 2015년 상반기에 8.8%가 감소한 반면 같은 기간 P사의 착즙주스 매출액이 15.3% 증가하여 눈에 띄는 성장을 보임.

[국민 1인당 하루 평균 음료 소비 (단위: mL)]

구분	탄산음료	과채음료	커피*음료	두유류	유산균/발효음료	인삼홍삼음료	기타음료(즙, 기능성 등)	전체
1일 섭취량	81.0	27.8	17.6	15.4	5.4	3.4	32.5	183.0

* 각 연도별 음료류 출하량 기준으로 작성하였으며, 탄산수는 탄산음료에 포함되어 측정함

※ 1리터 = 1,000mL 환산 기준, 1년 365일 기준 적용

*커피음료(엑스 커피)만을 한정하며, 일반 조제커피/볶은 커피 소비는 제외됨

자료 출처 : 식품음료신문

- 국내 식이섬유 음료는 1980년대 후반 출시되기 시작하여 여성들의 다이어트 및 장건강 관련 제품으로 꾸준히 관심받고 있다. 초기 출시된 식이섬유 음료는 주로 올리고당을 소재로 한 음료가 주류를 형성하였으나 최근 해독주스라는 과·채류 주스에 관심이 집중되고 있음.
- 해독주스는 과·채류의 식이섬유를 섭취하기 위해 가열추출물에 사과와 바나나를 분쇄하여 식이섬유를 부드럽게 만들어 섭취할 수 있는 형태로 제조 판매되고 있음.
- 한국야쿠르트에서는 체질개선 프로젝트로 하루야채라는 제품으로 하루 야채권장량과 비타민 권장량을 충족시키는 제품을 출시하였고 온라인 시장에서는 다수의 중소기업에서 해독주스를 표방하는 식이섬유 과·채류 주스를 판매하고 있음.

- 난소화성 전분(resistant starch, RS)은 건강한 사람의 소장에서 흡수되지 않는 전분과 분해된 전분의 산물을 총칭하는 것으로 정의. RS는 일반 전분에 비해 소화가 빠르게 일어나지 않고 대장으로 이동되어 고유한 생리적 기능을 나타내게 됨. 이러한 특징들로 인해 RS는 기능성분으로서의 새로운 가능성이 제시되고 있다.
- 난소화성 전분은 다른 식품에 첨가되었을 때 맛이나 텍스처 변화 없이 잘 어울려 식품 내 식이 섬유를 증가시키는 방법으로 사용될 수 있으며, 식이 섬유의 과다섭취로 나타날 수 있는 무기질 흡수 저하라는 부작용이 없으므로 저항전분의 사용에 대한 관심이 높아지고 있다.
- 대상의 건강사업본부 대상웰라이프는 프로바이오틱스 제품을 개발하여 피부건강 개선뿐만 아니라 장내 유해균을 억제하고 유익균을 생성해 장건강에 도움을 주는 제품을 개발함.
- 본 연구를 통해 액상음료 및 분말음료 제조기술과 원료 전처리 기술 및 국내 최초로 음료용 저항전분 제조기술을 확보하여 제품을 다양화 함

제 3 장 연구수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 추진전략 · 방법 및 추진체계

1. 추진 전략 및 방법

- 기술정보수집

- 문헌 : 국내·외 문헌을 중심으로 검색 및 수집
- 특허정보 : 주관 및 참여기관을 중심으로 상시 관련 특허 검색 가능
- 시장정보 : 주관 및 참여기관 협력기관으로부터 시장정보 수집

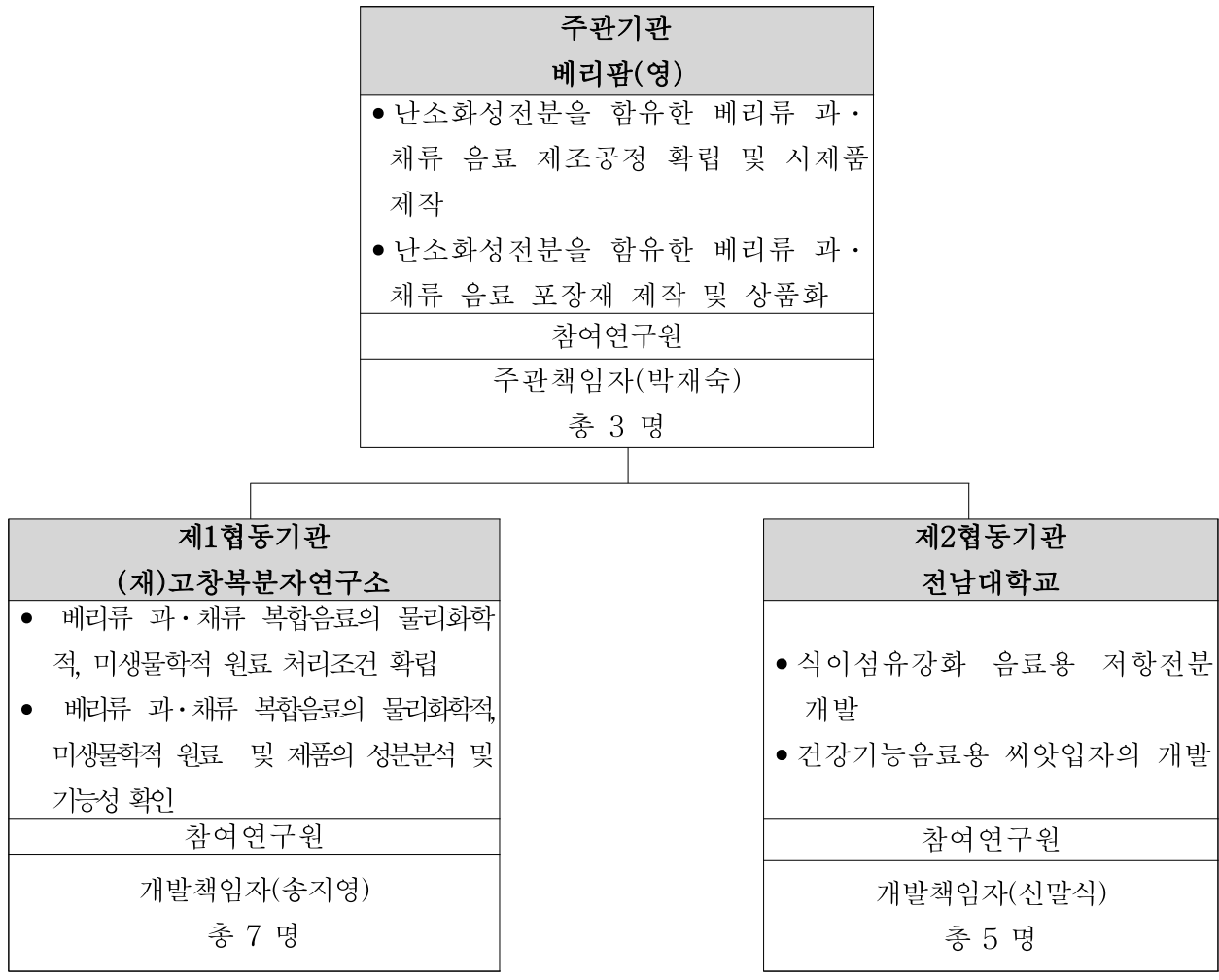
- 전문가 확보

- 주관, 세부 및 협동과제 연구책임자간의 간담회를 통하여 과제 진행 상황 점검
- 주관, 세부 및 위탁과제 연구책임자들의 인적 네트워크를 최대한 활용하여 과제 진행시 지문 및 의견 수렴

- 연구개발방법론(접근방법)

- 원료 및 제품의 성분 분석 및 향산활성 측정 - 공인된 방법으로 측정
- 식이섬유 강화 음료의 레시피 및 제조방법 확립 - 관능검사 통해 소비자 기호에 맞는 제품 개발
- 시판제품에 비교우위에 있는 품질의 제품개발

2. 추진 체계



3. 추진일정

(1)차년도															
일련 번호	연구내용	추진 일정											연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			12
1	RS3(노화전분)과 RS4(가교결합전분)의 개발													29,000	신말식 (전남대)
2	음료용에 적합한 저항전분의 선별														신말식 (전남대)
3	베리류 2종 과·채류 6종의 개별 성분분석													102,000	정지혜 (연구소)
4	원료에 따른 항산화 성분 및 활성 확인														정지혜 (연구소)
5	식이섬유 증가를 위한 과·채류 발효에 적합한 유산균 선별														정지혜 (연구소)
6	과·채류 물리화학적 처리조건에 따른 성분 및 기능성 확인														정지혜 (연구소)
7	개발 음료의 안정성 조사														정지혜 (연구소)
8	베리류와 과·채류 복합 식이섬유음료 레시피 및 제조공정 확립													56,500	박재숙 (베리팜)
9	베리류 과·채류 복합 음료 시제품제작														박재숙 (베리팜)

(2)차년도															
일련 번호	연구내용	추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1	선발된 RS3와 RS4 특성 검토													29,000	신말식 (전남대)
2	RS3의 산 가수분해 처리 초기 산처리 후 blocklet 를 이용한 RS4 개발 RS4의 가열처리와 효소 작 용 병행, 가열처리수분흡수 후 냉동건조 후 초미세분쇄												신말식 (전남대)		
3	AOAC 방법에 의한 총식이섬유함량 측정 RS와 하이드로콜로이 드 상호작용에 의한 안정화시스템 확립												신말식 (전남대)		
4	RS를 포함하여 수용액 중의 안정성을 개선한 RS 개발 RS 첨가에 따른 용 액의 점도 측정												신말식 (전남대)		
5	과·채류 발효를 통 한 발효양상 확인 및 최적 발효조건 확립												10,200	정지혜 (연구소)	
6	난소화성 전분 및 전처리 원료의 분말화 조건 확립													정지혜 (연구소)	
7	난소화성 전분 및 전처리 원료의 성분 및 기능성 확인													정지혜 (연구소)	
8	개발 음료의 안정성 조사													정지혜 (연구소)	
9	식이섬유강화 분말 음료의 레시피 및 제조공정 확립												56,500	박재숙 (베리팜)	
10	베리류 과·채류 복 합 식이섬유 강화 분 말 음료 시제품제작													박재숙 (베리팜)	

(3)차년도															
일련 번호	연구내용	추진 일정											연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			12
1	건강기능성을 갖는 씨앗음료용 소재 선별	■	■	■										2,000	신말식 (전남대)
2	천연 안정제 및 유 화제 활용성 검토	■	■	■										2,000	신말식 (전남대)
3	입자형 음료 개발			■	■	■	■	■	■	■				10,000	신말식 (전남대)
4	seed 함량 결정 및 음 료의 품질 특성 측정				■	■	■	■	■	■				10,000	신말식 (전남대)
5	액상 음료의 유통 안정성 평가								■	■	■	■	■	7,500	신말식 (전남대)
6	유통 과정 중의 음 료 특성 평가								■	■	■	■	■	7,500	신말식 (전남대)
7	유산균 발효를 통한 과·채류 물성 개선 연구	■	■	■	■	■	■	■	■	■				30,000	정지혜 (연구소)
8	씨앗입자 및 전처리 원 료의 액상화 조건 확립			■	■	■	■	■	■	■				37,000	정지혜 (연구소)
9	개발된 음료의 기능 성 및 안정성 조사								■	■	■	■	■	25,000	정지혜 (연구소)
10	씨앗입자를 활용한 음료 제조공정 확립	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	12,000	박재숙 (베리팜)
11	씨앗입자를 활용한 음료 대량생산 테스트						■	■	■	■	■	■	■	30,000	박재숙 (베리팜)
12	온라인 및 대중 매체 를 통한 제품 홍보				■	■	■	■	■	■	■	■	■	4,500	박재숙 (베리팜)
13	음료컨셉에 맞는 포장재 개발				■	■	■	■	■	■	■	■	■	10,000	박재숙 (베리팜)

제 2 절 연구개발 성과

1. 논문게재 성과

게재 연도	논문명	저자		학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI
		주저자	공동저자				
2015	Phsicochemical Properties and Molecular Structures of Korean Waxy Rice Starches	Song Min Oh	Malshik Shin	Food Sci. Biotechnol.	24(3)	국내	SCI
2015	Forming Rice Starch Gels by Adding Retrograded and Crss-linked Resstant Starch Prepared from Rice Starch	Jeongeun Kim	Chen Zhang, Malshik Shin	Food Sci. Biotechnol.	24(3)	국내	SCI
2016	무지방 드레싱의 점도와 안정성에 미치는 저항전분의 효과	송지영	노준희, 신말식, 박재숙	한국식품조리과학회지	32(3)	국내	비 SCI
2017	초음파처리가 주스용 과일과 채소의 물리적 기능적 특성에 미치는 영향	정소희	박희전, 신말식, 박철수, 송지영	한국식품조리과학회지	33(4)	국내	비 SCI
2017	아밀로스 함량이 다른 쌀 전분으로 산 가수분해 처리된 입자의 형태적 및 열적 특성	노준희	이채은, 신말식	한국식품조리과학회지	33(3)	국내	비 SCI
2017	젓산발효에 의한 복분자, 아로니아, 오디, 블루베리의 이화학적 특성 및 항산화활성 변화	채규서	류은혜, 박희란, 권지웅, 박희전, 송지영	한국식품조리과학회지	33(5)	국내	비 SCI
2017	수침기간에 따른 찹쌀가루와 찹쌀전분의 이화학적 및 구조적 특성	박사라	노준희, 신말식	동아시아식생활학회지	26(5)	국내	비 SCI

2. 특허 성과

No	출원등록명칭	국명	발명자	출원		
				출원인	출원일	출원번호
1	식이섬유의 체내 흡수율이 향상된 과채류의 제조방법	한국	송지영, 박희전, 정소희, 문규환, 박필재, 박재숙	베리&바이오 식품연구소, (영)베리팜	2016.05.31	10-2016-0067403
2	저항전분 나노입자의 제조 방법	한국	신말식, 정은빛, 노준희	전남대학교산학협력단	2017.07.31	10-2017-0096662

3. 기술요약 정보

연도	기술명	요약내용	기술완성도
2015	식이섬유의 체내 흡수율이 향상된 과채류의 제조방법	과일·채소류에 초음파, 효소처리 등의 방법으로 식이섬유함량과 기능성을 증가시켰음	특허출원
2015	과일·채소 분말음료 제조기술	당함량이 높은 분말음료의 저장성을 개선시키기 위한 기술	기술개발 진행중
2016	저항전분 나노입자의 제조 방법	산처리 등의 방법으로 음료용 나노입자 저항전분 개발	특허출원

- 기술요약정보(연도, 기술명, 요약내용, 기술완성도(아이디어 창안·특허만 신청·기술개발진행중·기술개발완료·실용화단계·시장개척단계·기타), 등록·기탁번호)

4. 보고서 원문

연도	구분	제출일
2014	1차년도 진도점검 결과보고서	2015.01.22
2015	2차년도 진도점검 결과보고서	2016.01.25
2016	3차년도 진도점검 결과보고서	2017.01.31
2014	1차년 연차실적 계획서	2015.05.31
2015	2차년 연차실적 계획서	2016.06.27
2016	최종실적보고서	2016.08.31

제 3 절 연구결과

1. 제1세부과제 : 기능성 음료 개발 및 상품화

가. 1차년도 : 베리류 과·채류 복합 음료 개발 및 상품화

(1) 베리류 과·채류 복합 음료 제조공정 및 레시피 확립

(가) 베리류와 과·채류의 원료 선정 및 레시피 개발

① 실험재료

㉠ 시판 음료

주스 원료를 선정하기 위해 시판되는 해독주스 7종을 구매하였다.

㉡ 음료 개발 원료

과일·채소 음료 개발을 위해 베리류는 복분자, 오디, 블루베리, 아로니아, 과일 및 채소류는 양배추, 당근, 브로콜리, 토마토, 사과, 딸기, 바나나, 밀싹, 보리순을 구입하여 원료로 사용하였다.

② 레시피 개발

㉠ 음료 제조

위의 과일·채소를 원료로 연구소에서 결정한 전처리 방법에 따라 다양한 배합비로 혼합하여 음료를 제조하였다.

㉡ 관능평가

위의 재료를 사용하여 제조한 음료는 레시피 확립을 위해 기호도 조사를 실시하였다. 기호도 조사는 베리팜영농조합법인 직원과 베리&바이오식품연구소 연구원들을 대상으로 외관, 향, 맛, 질감, 전반적인 기호도의 항목에 대해 9점 만점으로 평가하였다.

③ 관능평가 결과

㉠ 시판 해독주스의 관능평가

주스 레시피에 들어갈 원료를 선별하고자 시중에서 판매하고 있는 해독주스 7종을 구매하여 관능평가를 실시하였다(표 1-1). 외관 항목에서는 D 제품이 6.93으로 가장 높은 점수를 나타냈으며 향 항목에서는 3.79~6.21을 나타냈으며 E 제품이 6.21으로 가장 높은 점수를 나타냈다. 맛 항목에서는 F 제품이 6.57로 가장 높은 점수를 나타냈으며 질감 항목 중 입안에서의 느낌은 5.79와 5.71로 각각 F와 E 제품이 높게 나타났으며 목넘김 역시 5.79로 F와 E 제품이 가장 높은 점수를 보였다. 전반적인 기호도에서 Plan D가 가장 높았으며 F > D > B > A > C 순으로 나타났다.

표 1-1. 시판 해독주스의 관능검사 결과

	Appearance	Flavor	Taste	Texture		Overall preference
				Mouthfeel	Swallow	
A	3.57±1.16 ^b	4.36±1.15 ^{ab}	3.29±0.91 ^b	3.71±1.54	3.93±1.49	3.93±1.38 ^{ab}
B	3.43±1.34 ^b	5.21±0.89 ^a	3.79±1.25 ^b	4.14±1.35	4.21±1.31	4.36±1.08 ^{ab}
C	3.64±1.74 ^b	3.79±1.67 ^b	2.79±1.58 ^b	3.57±1.87	4.07±1.94	2.64±1.65 ^b
D	6.93±1.07 ^a	5.43±1.65 ^a	5.71±1.86 ^a	4.71±1.86	4.86±1.79	5.50±1.99 ^{ab}
E	6.00±1.30 ^a	6.21±0.80 ^a	6.29±1.49 ^a	5.71±1.38	5.79±1.31	6.64±0.93 ^a
F	3.93±2.06 ^b	5.29±1.59 ^a	6.57±1.74 ^a	5.79±1.53	5.79±1.58	6.43±1.65 ^a

㉞ 개발 음료의 관능 평가

시판 해독주스의 관능평가를 실시하고 높은 점수를 나타낸 제품을 참고하여 해독주스 타입의 과일채소류 식이섬유 주스를 제조하고 관능평가를 실시하였다. 양배추와 사과는 초음파 처리된 재료를 원료로 사용하였다. 표 1-2와 같이 A와 B는 양배추와 단호박 함량을 달리하였고 C에는 보리순, D는 밀싹을 첨가하여 해독주스 관능평가를 실시하였다. 외관 항목은 양배추와 단호박을 B에 비해 적게 넣은 A가 7.2로 가장 높은 점수를 나타냈으며 향과 맛 항목, 질감(입안에서의 느낌, 목넘김) 항목은 밀싹을 첨가한 D가 높은 점수를 나타냈다. 전반적인 기호도 역시 D가 7.1로 가장 높았으며 D는 물기가 좋다, 색이 좋다 등의 의견이 있었다. 그러나 유의적인 차이는 없었다.

표 1-2. 제조된 식이섬유 주스의 관능검사 결과

	Appearance	Flavor	Taste	Texture		Overall preference
				Mouthfeel	Swallow	
A	7.2±1.55	6.2±1.14	6±1.89	5.8±1.62	6.1±1.45	5.7±1.77
B	6.4±1.77	6.1±1.37	5.7±1.25	6.3±1.06	6.3±1.06	6.1±0.82
C	6.2±1.48	6.4±1.17	6.6±1.07	6.0±1.15	6.3±0.82	6.4±1.51
D	6.4±1.43	6.7±1.49	7.1±1.20	7.0±1.82	7.1±0.88	7.1±1.20

④ 최종 레시피 선정

관능평가를 통해 아래와 같은 최종 레시피를 선정하였다. 베리류는 항산화활성이 높은 복분자와 아로니아로 선정하였고, 과일 및 채소류는 경제적이면서도 식이섬유 함량이 높은 원료를 선택하여 맛, 기능성 그리고 경제적인 측면까지 고려하여 최종 레시피를 표 1-3과 같이 선정하였다.

표 1-3. Recipe of berries-fruits-vegetables juice

Ingredients		Weight (g)
Steamed	Cabbage	296.3
	Sweet pumpkin	
Raw	Tomatoe	503.8
	Apple	
	Red grape	
	Mandarine	
	Barley sprout flour	
Berry juice	Black raspberry	199.9
	Black chokeberry	
Total		1,000

(나) 베리류와 과일·채소 복합 식이섬유음료 제조공정 확립

① 음료의 제조공정

베리류와 과일·채소 음료의 제조공정을 아래 그림 1-1과 같았다. 베리류는 유압착즙기로 착즙한 후 6종의 과일·채소류를 세척한 후 껍질과 씨 등 비가식부를 제거하였다. 레시피대로 계량한 후 양배추와 단호박은 30분간 증자한 후 나머지 과일과 함께 혼합하여 분쇄하였다. 90℃에서 15분간 살균한 후 500 mL 플라스틱 병에 병입하였다.

베리투스 액상음료 제조 공정도

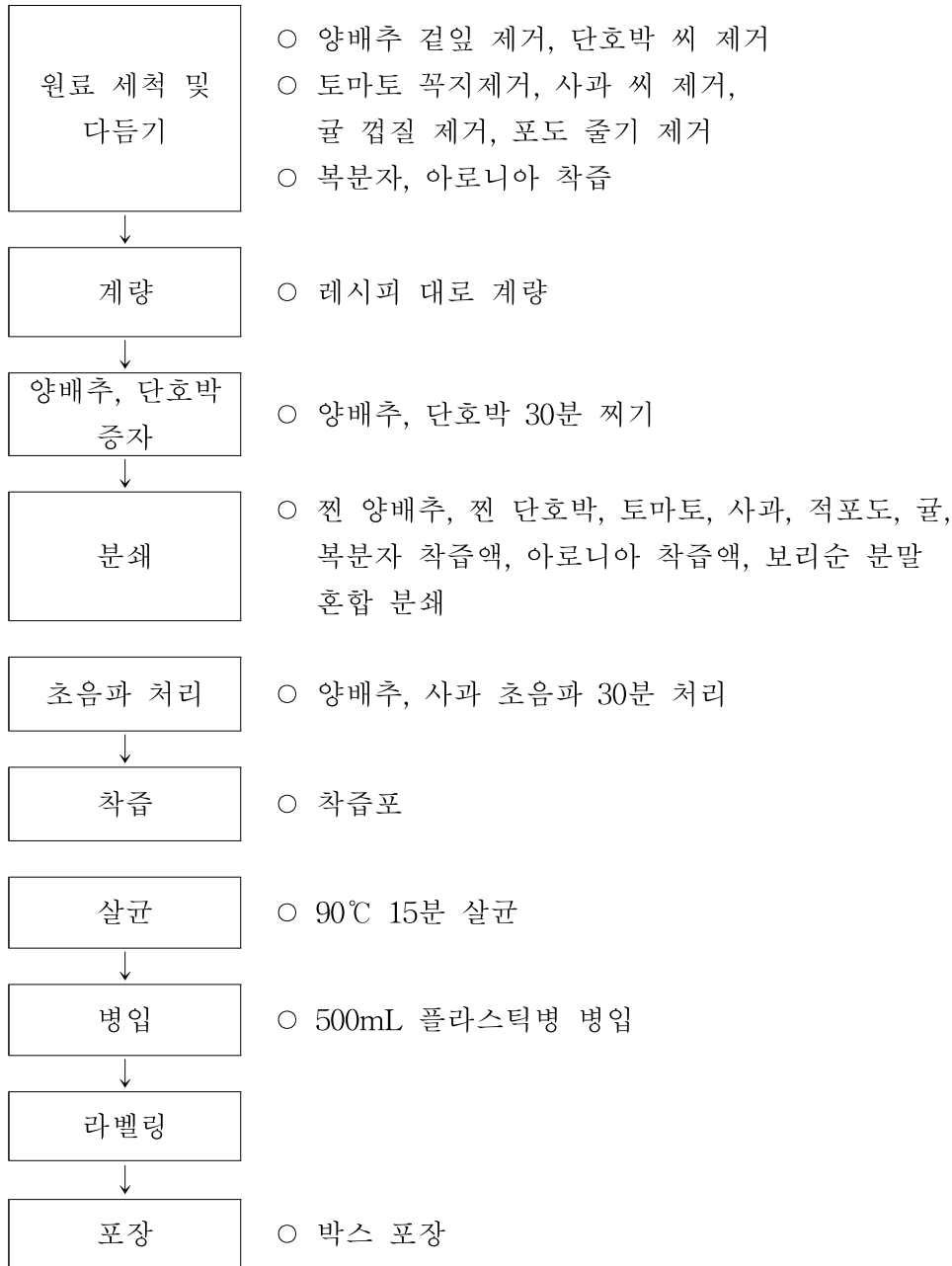


그림 1-1. 베리류 및 과일·채소 음료의 제조공정도

(2) 베리류 과·채류 복합음료 시제품제작

(가) 베리류와 과·채류 복합주스 시험생산 및 시제품 제작

위와 같이 최종 레시피를 확립하여 아래 그림 1-2와 같이 베리류, 과·채류의 식이섬유 복합음료에 대한 음료 대량 생산 테스트를 실시하였다. 생산 공정은 베리류 2종과 과일·채소류 6종을 위와 같이 처리 한 후 최종 레시피대로 혼합하여 파쇄기로 파쇄하여 착즙포를 통해 착즙하였다. 마지막으로 착즙한 재료를 잘 혼합하면서 병입하여 최종 제품을 완성하였다.

	→		→	
원료 세척 및 손질		계량		증자
	→		→	
혼합 분쇄 및 초음파		착즙		살균 및 병입

그림 1-2. 음료의 대량생산 테스트

(나) 개발제품에 대한 소비자 조사

아로니아 가공식품 평가 및 홍보회 참석하여 개발음료의 선호도를 조사하였다. 자사에서 기존에 생산하고 있는 아로니아 음료와 개발된 음료 중 더 맛이 좋은 음료를 선택하게 한 결과 개발 음료가 자사 생산하고 있는 기존 음료와 비슷한 선택을 받았다(표 1-4).

표 1-4. Consumer preference of developed and existing beverages

	existing beverages	developed beverages
Consumer preference (person)	83	77

(다) 복합음료 포장패키지 디자인 개발

위와 같이 최종제품을 시험 생산하였고, 음료의 포장은 운반성과 휴대 편의성을 고려하여 플라스틱 병으로 선정하였으며 용량은 500 mL 용량으로 선정하였다. 또한 보관이 용이하고 유통하기에 알맞은 용기를 선정하였다.

① 제품 특성

- 항산화활성이 높은 베리류와 과일, 채소류가 혼합된 복합 주스
- 원료 : 복분자, 아로니아, 양배추, 단호박, 사과, 토마토, 꿀, 적포도
- 식이섬유 특성 및 주스의 품질 개선을 위해 이화학적 생물학적 기술 적용
- 항산화활성 및 식이섬유 함량이 높은 과·채주스

② 디자인 컨셉

- 식이섬유 함량이 높은 디톡스 음료
- 디톡스 음료의 컨셉에 맞추어 배변이 이롭고 다이어트에 효과를 둔 이미지 사용
- 음료를 마시면서 자연스러운 배변 활동과 날씬한 몸매를 강조



최종 디자인

(라) 베리류 및 과일·채소 복합음료 시제품 생산



최종 제품

(3) 온라인 및 대중 매체를 통한 제품 홍보

(가) 아로니아 가공식품 평가 및 홍보회

아로니아 가공식품 평가 및 홍보회에서 아로니아 가공제품들과 함께 개발음료를 홍보하였다.



아로니아 가공식품 평가 및 홍보회
(2014.11)



음료 시음 및 평가

(4) 베리류 과일채소류 액상주스의 마케팅 전략

(가) 유통기한 확보

기존 해독 주스 제품은 냉동형태로 유통되고 있으며 3개월의 유통기한을 가진다. 냉동 및 냉장 유통시 물품의 배송 단가가 올라가고 소비자가 보관이 힘들 것으로 판단하여 본 사업을 통한 개발 제품은 살균 공정을 추가하여 유통기한을 1년으로 늘려 기존에 판매되고 있던 제품들의 문제를 해결하고자 하였다.

(나) 경제성 및 상품성 분석 및 기존 제품과 경쟁성

고창 현지의 재료를 최대한 활용하여 야채 및 채소를 활용하여 제품의 단가를 효과적으로 조절할 수 있으며 영양소 파괴를 최소화 할 수 있음. 계절과일은 대부분 연중 나오는 제품을 활용하여 홈메이드 방식으로 삶아서 갈았음. 추출물이 아닌 야채과일을 사용 하였으며, 첨가물이 전혀 들어가지 않은 무설탕 제품임.

경제성 분석 결과 아래 표와 같이 제품생산을 위해 각 공정을 거친 최종 수율은 약 65%로 원물가격과 위탁생산에 들어가는 비용은 500 mL 2병당 약 8,800백원이 소요되며 여기에 포장재 및 판매관리비, 유통비용을 고려하여 판매가격을 2병 기준 2만원으로 결정하였다. 기존 시판제품의 가격이 1 L 당 20,660~28,500원으로 형성되어 있으므로 가격 경쟁력이 높다고 판단되며, 고창은 베리류 최대의 생산지로 제품에 베리류를 활용하므로, 타 제품과 비교하여 건강한 이미지를 줄 뿐만 아니라 저렴한 가격으로 베리류를 활용할 수 있을 것이다.

표 1-5. 개발제품의 생산수율 및 제조비용

	원물	비가식부 제거 및 증자	분쇄, 초음파, 착즙, 여과	생산	원물가격 (원)	위탁가공 비 (원)	제조비 (원)
중량(g)	1533.9	1,404.3	1,084	1,000	8,741	50	8,791

(다) 차별성 및 컨셉의 구체화, 타겟

다른 식이섬유 주스와는 다르게 식이섬유가 풍부하고 항산화활성이 높은 베리류를 혼합함으로써 차별화를 하고 식이섬유가 강화된 음료를 만들어 몸속의 노폐물을 제거하고 식이섬유로 인하여 장운동을 활성화 하고자 하였다. 또한 항산화 활성이 높은 베리류를 첨가하여 맛과 기능성을 강조하고자 하였다. 제품의 소비자 타겟은 다이어트를 원하는 2~40대 여성을 주요 타겟으로 홍보를 하고 있다.

(라) 포장디자인

여러 가지 야채와 과일 그리고 복분자 등 베리류가 함유되어있음을 제품명에 강조하였으며, 디톡스가 연상되게끔 제품명을 결정하였다.

(마) B2B/B2C 판단 등 시장 진입전략 및 산업화 계획

베리팜(영)은 기존 온라인 고객(4만명)을 보유하고 있어서, 블로그 등 온라인 홍보 및 홈페이지 홍보 전략을 통한 B2C 거래가 주요 할 것으로 판단하였다.

또한 기존 체험고객과 농가형 레스토랑을 운영하고 있고 6차산업 우수업체로 선정되어 방문자가 많아 기존의 제품들과 본 제품을 홍보하고 상품화 하는데 많은 도움이 될것으로 판단된다. 또한 블로그와 SNS홍보도 많은 도움이 될 것이다.

베리팜(영)은 기존에 음료 및 원액을 전문적으로 생산하던 업체로 베리톡스 음료제품은 자체생산으로 진행하여 산업화 하고자 한다. 또한 기존의 판매망을 이용하여 홍보하여 판매할 계획이다.

(바) 수출방안

본 제품은 살균제품의 음료 타입으로 식이섬유 강화를 강조할 시 중국시장 진출에 용이하다. 중국시장은 우리나라와 사드 배치 문제로 인하여 통관에 문제가 많지만 중국내 온라인 쇼핑몰인 타오바오 등에 물건을 올려 판매하면 수출 관료 개척이 가능할 것으로 판단된다.

나. 2차년도 : 난소화성 전분 및 전처리 원료를 활용한 식이섬유 강화 분말 음료 개발 및 상품화

(1) 식이섬유강화 분말 음료의 레시피 및 제조공정 확립

(가) 베리류 과·채류 복합 분말 및 난소화성 전분의 혼합비율 조절 및 레시피 개발

① 실험재료

㉠ 시판 제품

분말타입 해독주스를 비교하기 위해 시중에서 판매되는 분말타입 해독주스 7종을 구매하였다.

㉔ 분말 원료

베리류는 복분자, 아로니아와 과일 및 채소류는 양배추, 단호박, 적포도, 토마토, 사과, 오렌지를 구입하여 재료로 사용하였다. 6종의 과일 및 채소류를 cellulase 처리를 하였으며 난소화성 전분은 전남대학교에서 제조한 전분을 시료로 사용하였다.

② 베리류와 과·채류 복합 분말 음료의 레시피 개발

㉔ 분말 제조

베리류와 과일·채소 음료는 연구소에서 선정하여 cellulase 처리한 원료를 동결건조하고 전남대에서 제조한 난소화성 전분을 동결건조 하여 다양한 배합비로 혼합하여 분말을 제조하였다.

㉔ 관능평가

혼합분말 섭취량과 레시피를 결정하기 위해 관능검사를 실시하였다. 과일·채소류 혼합분말의 섭취량은 예비 평가에 의해 혼합분말 30 g을 생수 200 mL에 혼합하도록 결정하였고 레시피 확립을 위해 기호도 조사를 실시하였다. 기호도 조사는 베리팜영농조합법인 직원과 베리&바이오식품연구소 연구원들을 대상으로 외관, 향, 맛, 질감의 항목에 대해 9점 만점으로 평가하였다.

③ 관능평가 결과

㉔ 시판 분말음료의 관능평가

분말 타입의 해독주스의 원료 선별 및 특성을 비교하기 위하여 시중에서 판매되고 있는 분말타입의 해독주스 7종을 구매하여 관능평가를 실시하였다. 표 1-6과 같이 외관 항목에서는 E 제품이 6.25로 가장 높은 점수를 나타냈고 G제품이 4.13로 가장 낮은 값을 보였다. 향 항목에서 향목에서는 6.69~4.5로 E 제품이 가장 높은 점수를 나타냈다. 맛과 질감(입안느낌과 목넘김) 항목에서는 D제품이 5.88로 가장 높은 점수를 나타냈고 A제품이 가장 낮은 점수를 나타냈다. 전반적인 기호도에서는 D > C > E > G > F > A > B순으로 나타났다.

표 1-6. 시판 해독분말주스의 관능평가 결과

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
A	4.81±1.22 ^b	4.5±1.67 ^b	3.88±1.45	3.44±1.46 ^b	3.50±1.21 ^b	4.13±1.37
B	4.63±1.63 ^b	5.00±1.21 ^b	4.25±1.98	4.25±1.81 ^b	4.38±1.78 ^b	3.81±1.64
C	4.44±0.89 ^b	4.69±1.20 ^b	4.50±2.03	4.69±1.66 ^{ab}	4.63±1.50 ^{ab}	5.13±1.71
D	6.50±1.63 ^a	5.75±1.24 ^{ab}	5.88±1.63	5.56±1.75 ^a	5.81±1.68 ^a	5.50±1.90
E	6.25±2.49 ^a	6.69±2.57 ^a	4.44±2.13	4.38±1.89 ^{ab}	4.13±2.03 ^b	5.00±2.25
F	5.38±1.50 ^{ab}	5.44±1.97 ^b	4.63±1.78	4.13±1.36 ^b	4.44±1.93 ^b	4.56±1.97
G	4.13±1.41 ^b	5.38±1.45 ^b	4.94±1.69	4.75±1.69 ^b	4.75±1.77 ^{ab}	4.63±1.75

㉔ 베리류 과일·채소 분말음료의 관능평가

1차년도 개발된 음료 과일·채소에 효소처리를 하여 동결건조하고 다양한 난소화성 전분을 첨가하여 분말음료를 제조하고 관능평가를 실시하였다. 결과는 아래 표와 같았다.

표 1-7. 베리류 해독 분말 주스 개발을 위한 관능평가 결과

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
Control	7.04±2.13	5.66±1.56 ^b	6.47±1.80 ^b	6.15±2.04 ^a	5.52±1.84	6.80±2.08
RS 1%	6.88±1.85	5.98±1.84 ^a	6.65±1.76 ^a	6.10±1.65 ^a	5.70±2.02	6.63±1.56
RS 3%	6.20±2.02	5.52±1.45 ^c	6.04±1.95 ^c	5.95±1.34 ^b	5.02±1.72	6.06±1.83
RS 5%	4.10±1.66	5.04±1.69 ^d	4.05±1.58 ^d	5.23±1.78 ^c	5.05±1.80	5.16±1.68

㉕ 최종 레시피 선정

관능평가를 통해 아래와 같은 최종 레시피를 선정하였다. 베리류와 과일 및 채소류는 1차년도에 선정한 원료로 결정하였으며 난소화성 전분을 첨가하여 최종 제품을 결정하였다.

표 1-8. 난소화성 전분과 과일채소 분말주스의 최종 레시피

Ingredients		Weight (g)
Steamed	Cabbage	238.3
	Sweet pumpkin	
Raw	Tomatoe	486.9
	Apple	
	Red grape	
	Mandarine	
Berry juice	Barley sprout flour	254.8
	Black raspberry	
	Black chokeberry	
Resistant starch	Rice-RS	20.0
Total		1,000

(나) 곡물 복합분말 및 난소화성 전분의 혼합비율 조절 및 레시피 개발

① 실험재료

㉠ 분말 원료

곡류는 찰보리, 귀리, 율무, 현미, 찰흑미로 선정하여 구입하였고 두류는 쥐눈이콩과 서리태를 구입하여 재료로 사용하였다. 난소화성 전분은 전남대에서 제조한 RS를 사용하였다.

② 곡물 복합 분말 음료의 레시피 개발

㉠ 분말 제조

곡류 5종과 두류 2종은 볶은 후 분쇄하여 난소화성 전분, 베리류 분말과 혼합 분말음료를 제조하였다.

㉠ 관능평가

혼합분말 섭취량과 레시피를 결정하기 위해 관능검사를 실시하였다. 곡물 혼합분말의 섭취량은 예비 평가에 의해 혼합분말 30 g을 생수나 우유 200 mL에 혼합하도록 결정하였고 레시피 확립을 위해 생수에 분산시킨 음료로 제조하여 기호도 조사를 실시하였다. 기호도 조사는 베리팜영농조합법인 직원과 베리&바이오식품연구소 연구원들을 대상으로 외관, 향, 맛, 질감의 항목에 대해 9점 만점으로 평가하였다.

③ 관능평가 결과

㉠ 곡류와 두류 비율을 달리한 분말의 관능평가

곡류 베이스의 시판 해독주스와 시판 선식제품을 참고하여 곡물 베이스의 해독주스 제품을 개발하고 레시피를 확립하고자 하였다. 표 1-9와 같이 A와 B는 곡류비율을 달리하였고 C와D는 두류 비율을 달리하여 생수에 분산시킨 후 관능평가를 실시하였다. 관능평가 결과 A와 B는 모든 항목에서 큰 차이를 보이지 않았지만 두류의 비율을 달리한 C(두류함량 20%)와 D(두류함량 40%)의 결과와 큰 차이를 보였다.

표 1-9. 곡물 혼합 분말 주스 개발을 위한 관능평가 결과

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
A	7.89±0.56 ^b	8.63±0.34 ^a	7.36±1.24	6.14±0.25 ^b	7.26±0.54 ^d	7.06±0.25 ^d
B	7.76±0.17 ^c	8.45±1.04 ^b	7.16±2.36	6.26±1.36 ^b	7.53±0.23 ^c	7.13±0.36 ^c
C	7.79±0.26 ^c	8.59±0.45 ^b	8.15±0.52	7.63±1.20 ^a	7.88±0.44 ^b	8.08±0.51 ^b
D	8.05±1.35 ^a	8.62±0.11 ^a	8.26±1.03	7.98±0.36 ^a	8.02±1.03 ^a	8.14±0.21 ^a

㉠ 복분자 비율을 달리한 관능평가

위의 관능평가 결과를 토대로 A는 복분자 함량 2, B는 5, C는 10%를 첨가하였다.

표 1-10과 같이 외관 항목에서는 복분자 분말을 2% 첨가한 A가 8.03으로 가장 높은 점수를 나타냈으며 복분자 분말이 10% 첨가된 C는 6.87로 가장 낮은 점수를 나타냈다. 향 평가에서는 외관 항목과 반대로 C가 가장 높은 점수를 나타냈다. 맛 항목은 외관 항목과 유사한 경향을 나타냈으며 질감(입안느낌과 목넘김)은 큰 차이를 주지 않았지만 전반적인 기호도에서 복분자 분말이 2%첨가된 A가 가장 높은 기호도를 나타낸 것을 확인 할 수 있었다. 복분자 분말의 양을 증가시키면 관능평가에 좋지 않은 영향을 줄 수 있다는 것을 알 수 있었다.

표 1-10. 곡물 혼합 분말 주스의 복분자 첨가비율 결정을 위한 관능평가 결과

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
A	8.03±1.03 ^a	8.16±1.32	8.78±0.36	8.44±0.36 ^a	8.74±0.15 ^a	8.02±1.02
B	7.95±1.05 ^b	8.36±0.34	8.01±2.14	8.27±0.51 ^c	8.12±0.16 ^c	7.51±1.77
C	6.87±1.05 ^c	8.78±3.61	7.86±0.47	8.32±1.25 ^b	8.15±0.13 ^b	7.12±2.10

㉔ 아로니아 비율을 달리한 관능평가

곡물 혼합분말의 관능평가 결과를 토대로 A는 아로니아 함량 2, B는 5, C는 10%를 첨가하였다(표 1-11). 외관 항목에서는 아로니아 분말을 2% 첨가한 A가 향, 맛, 질감 중 목넘김 항목에서 높은 점수를 나타냈다. 전반적인 기호도에서도 A가 7.89로 가장 높은 점수를 나타냈으며 아로니아 분말이 10%가 첨가된 C가 가장 점수를 나타냈으며 기타 의견으로 C는 아로니아 짙은 맛이 나서 별로 좋지 않다라는 의견을 보이기도 하였다.

표 1-11. 곡물 혼합 분말 주스의 아로니아 첨가 비율 결정을 위한 관능평가 결과

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
A	7.48±1.65	7.78±0.15	7.39±0.14	7.88±0.63	8.02±1.02 ^a	7.89±0.64 ^a
B	7.88±3.58	7.68±1.11	7.03±2.10	7.98±0.14	7.98±0.69 ^b	7.45±0.57 ^a
C	7.15±2.36	7.15±2.04	6.87±1.69	7.76±1.17	7.6±0.14 ^b	6.85±0.54 ^b

㉔ 복분자와 아로니아 혼합분말을 첨가한 곡물분말 음료의 관능평가

복분자와 아로니아의 혼합비율을 결정하고자 두 베리분말의 혼합비율을 달리하여 관능평가를 실시하였다(표 1-12). 복분자와 아로니아는 동량으로 혼합하였고, A의 베리함량은 0%, B는 2%, C는 5%와 D는 10%로 하여 관능평가를 실시하였다. 관능평가 결과 외관 항목에서는 베리 분말을 첨가하지 않은 A가 7.89로 가장 높은 점수를 보였으며 이를 제외한 향, 맛, 질감(입안느낌, 목넘김)과 전반적인 기호도는 복분자와 아로니아가 2% 첨가된 B가 가장 좋은 점수를 나타냈다.

표 1-12. 곡물 혼합 분말 주스의 복분자 및 아로니아 혼합비율 결정을 위한 관능평가

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
A	7.89±1.03	8.02±0.21 ^b	7.52±0.36	7.87±1.26	8.02±0.03	8.06±0.69 ^b
B	7.76±0.23	8.41±0.11 ^a	8.01±0.45	8.15±2.10	8.52±0.11	8.25±0.14 ^a
C	7.05±0.44	7.48±0.14 ^c	7.87±1.30	7.64±0.21	7.48±0.36	7.88±0.57 ^c
D	7.69±2.32	7.42±0.03 ^c	7.62±2.35	7.98±0.54	7.96±2.63	7.48±0.87 ^d

㉕ 난소화성 전분 비율 결정을 위한 관능평가

복분자와 아로니아의 혼합은 1차년도 개발제품과 2차년도 과일 채소 분말 제품에서도 혼합이 이루어지므로 곡류 베이스 분말음료에서는 복분자 한 종류만 사용하기로 하였다. 난소화성 전분의 비율을 결정하기 위해 위에서 결정된 레시피에 난소화성 전분을 1, 2, 4% 함유하도록 음료를 제조하여 관능평가를 실시하였다. 그 결과 아래 표 1-13과 같았다.

표 1-13. 곡물 혼합 분말 주스의 난소화성 전분 첨가 비율을 결정하기 위한 관능평가

	외관	향	맛	질감		전반적인 기호도
				입안느낌	목넘김	
A	7.51±0.98 ^b	8.11±0.75 ^a	7.64±1.52	8.32±2.46	8.04±0.68 ^b	7.69±1.38
B	7.96±1.24 ^a	7.56±0.72 ^b	8.34±2.31	7.87±0.88	8.22±1.20 ^a	7.54±2.01
C	7.02±1.44 ^c	7.23±1.53 ^c	6.47±0.97	6.45±1.34	6.83±1.52 ^c	6.68±1.71

④ 최종 레시피 선정

곡류가 베이스가 된 해독 주스 분말타입의 최종 레시피는 아래 표 1-14와 같았다. 분말 30g과 생수 또는 우유 200 mL 기준으로 섭취하도록 하였다.

표 1-14. 곡물 베이스의 분말주스 최종 레시피

Ingredients		Weight (g)
Roasted	취눈이콩 서리태	39.2
	현미	57
	찰흑미	
	보리	
	귀리	
	울무	
Berries	Black raspberry	1.8
	Black chokeberry	
Resistant starch	Rice RS	2
Total		100

(다) 분말 복합 식이섬유음료 제조공정 확립

① 베리류 및 과일·채소 분말의 제조공정

과일·채소 분말의 제조공정은 아래 그림 1-3과 같이 과일 및 채소의 비 가식부를 제거한 후 최종 레시피 대로 계량하여 양배추와 단호박은 30분 찌고 나머지 과일 및 베리류는 분쇄하여 cellulase 처리 후 동결건조 한다. 분쇄기로 분쇄하여 80 메쉬 체에 통과시킨 후 플라스틱 병에 포장한다.

베리투스 과·채 분말 제조 공정도

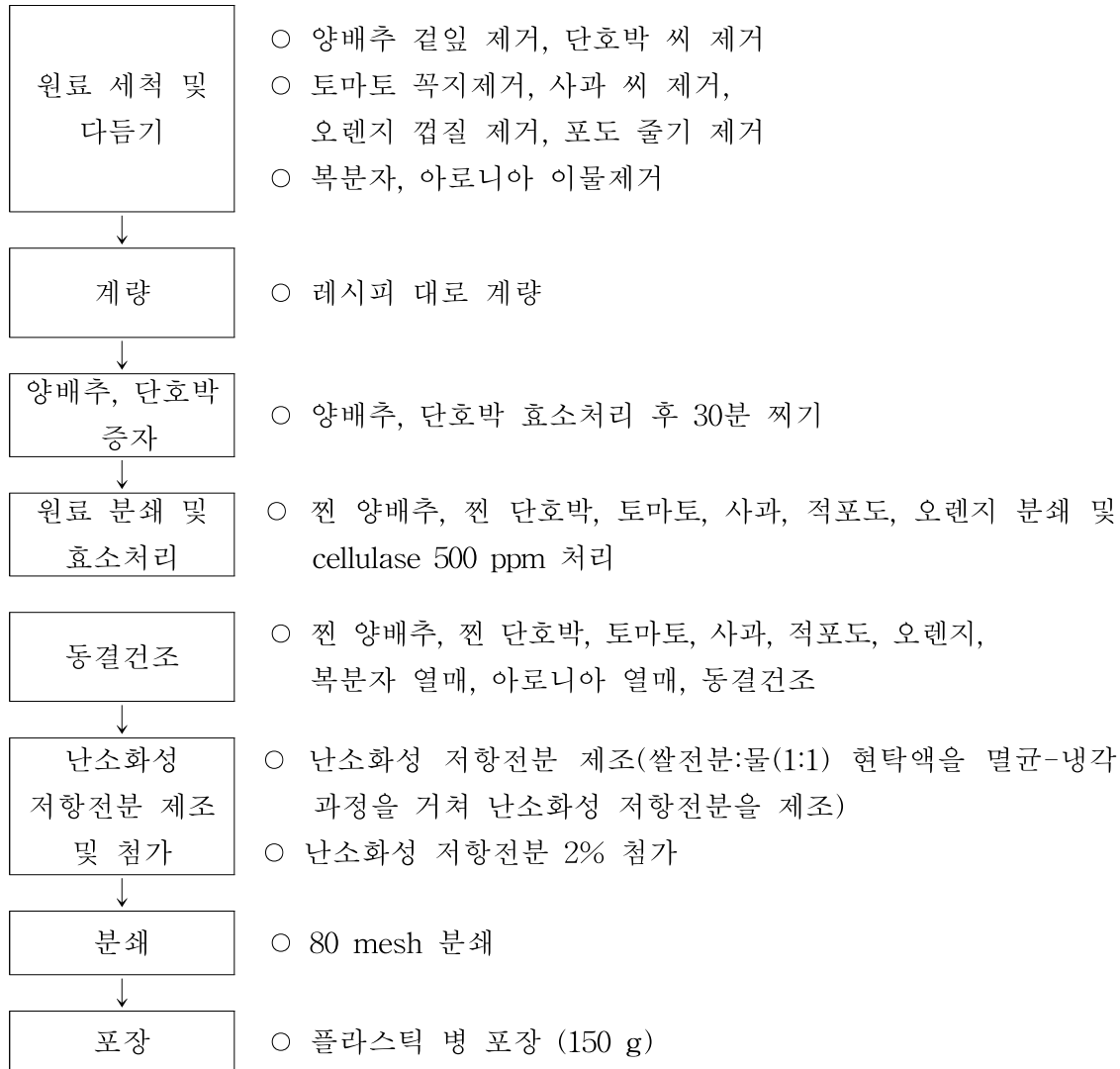


그림 1-3. 과일 채소 분말음료의 제조 공정도

② 곡물 분말 복합 식이섬유음료의 제조공정

곡물 분말 복합 음료의 제조공정은 아래 그림 1-4와 같이 곡물 원료를 세척하여 이물을 제거 한 후 최종 레시피로 계량하여 볶는다. 분쇄기에 분쇄하여 80 메쉬 체에 통과시킨 후 병입한다.

베리투스 곡물 분말 제조 공정도

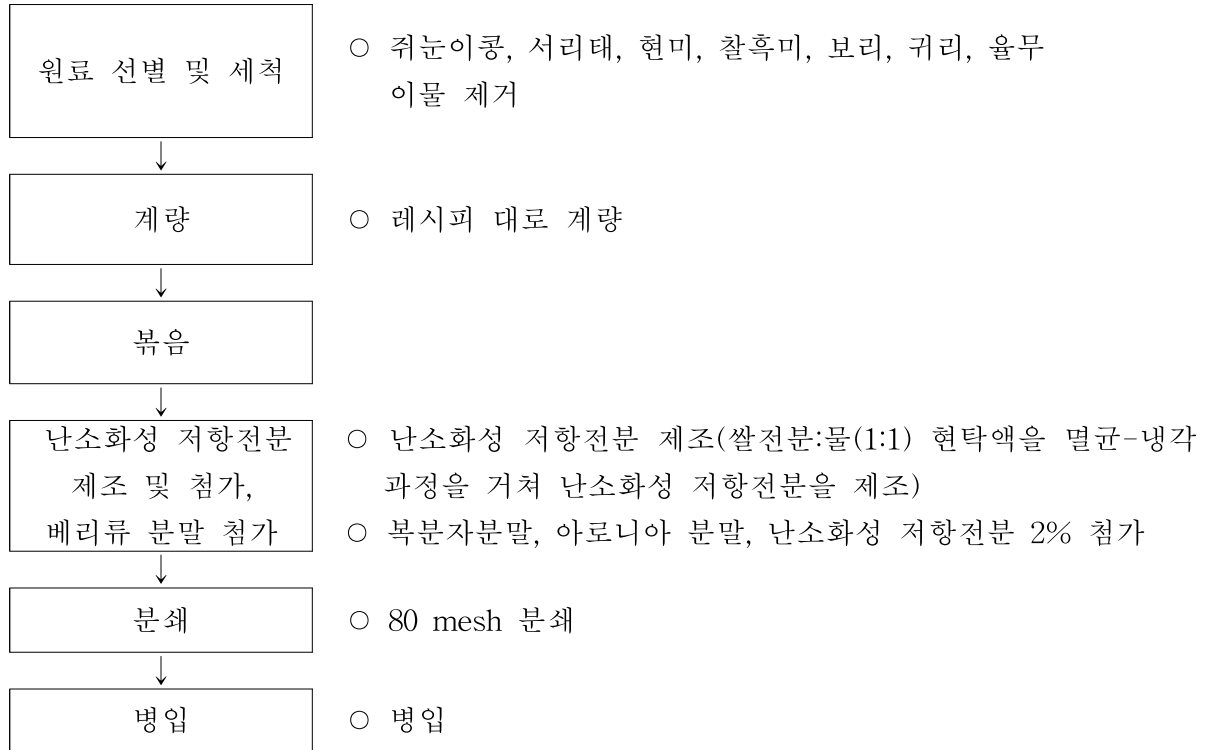


그림 1-4. 곡물 분말 복합 식이섬유 음료의 제조공정도

(2) 베리류 과·채류 복합 식이섬유 강화 분말 음료 시제품제작

(가) 베리류와 과일·채소 복합 분말음료의 시험생산 및 시제품 제작

① 베리류 및 과일·채소 복합 분말음료 시험생산

위와 같이 최종 레시피를 확립하여 아래 그림과 같이 베리류 및 과일·채소류 분말에 대한 대량생산 테스트를 실시하였다. 생산공정은 베리류 2종과 과일·채소류 6종을 동결건조하여 분쇄하여 최종 제품을 완성하였다.



(나) 시험생산제품에 대한 소비자 조사

2016 복분자 수박축제에 참가하여 개발 제품에 대한 소비자 기호도 조사를 실시하였다. 표 1-15와 같이 축제부스에 방문한 100명의 관광객들을 대상으로 과채분말과 곡물분말음료를 시음하도록 한 후 5점 만점으로 점수를 주도록 하였다. 소비자 기호도 조사 결과는 아래 표와 같이 두 제품 모두 3점 이상의 점수를 받았으며 과채분말 보다는 곡물분말이 좋은 점수를 받았다. 다이어트와 해독주스에 관심이 많은 여성들은 과채 분말 주스를 선호하였으나 대상자 중 젊은 여성의 비율이 많지 않아 곡물분말에 비해 낮은 점수를 받은 것으로 판단하였다.

표 1-15. 과일채소 혼합분말의 소비자 기호도 조사

	fruit-vegetable mix flour	cereal mix flour
Consumer Preference	3.72±0.85	4.41±0.69*

(다) 복합 분말 음료의 포장패키지 디자인 개발

위와 같이 최종제품을 시험생산하였고 분말의 포장은 그림 1-5와 같이 운반성 및 생산성 고려하여 베리류 및 과일·채소 분말은 피부미용(Beuty)을 강조하는 베리톡스 plan B로 곡물 복합 분말은 다이어트를 의미(Slim)하도록 베리톡스 plan S 로 네이밍을 하였고, 플라스틱 병으로 용량은 150 g으로 결정하여 상온 유통이 가능하도록 하였다.



최종 디자인

그림 1-5. 과일·채소분말 제품(B) 및 곡물분말 제품(S) 디자인 시안

(라) 베리류 및 과일·채소 분말음료 및 곡물분말 음료 시제품 생산



최종 제품

(3) 온라인 및 대중 매체를 통한 제품 홍보

(가) 2016 고창 복분자와 수박축제 참가를 통해 제품 홍보



2016 고창복분자와 수박축제(2016.06.17~06.19)

(나) 체험 관광객을 활용한 제품 홍보



2016 논산 농업대학 현장견학



오프라인 매장을 활용한 제품 판매 및 홍보

(4) 베리류 과일채소류 분말주스 및 곡물 분말주스의 마케팅 전략

(가) 유통기한 확보

기존 동결건조 제품과 제품의 형태와 포장방식이 유사하므로 기존 유사제품과 같이 유통기한은 1년에서 최대 2년까지 확보할 수 있다.

(나) 경제성 및 상품성 분석 및 기존 제품과 경쟁성

고창 현지의 재료를 최대한 활용하여 야채 및 채소를 활용하여 제품의 단가를 효과적으로 조절할 수 있으며, 영양소 파괴를 최소화 할 수 있다. 추출물이 아닌 야채과일을 사용하였으며, 첨가물이 전혀 들어가 있지 않은 무설탕 제품임. 또한 과일과 채소분말은 베리&바이오식품연구소의 공동가공센터 장비를 활용하여 최소 비용으로 위탁 생산이 가능하므로 원재료비와 위탁가공비를 절감할 수 있다.

또한 고창은 베리류 최대의 생산지로 제품에 베리류를 활용하여, 타 제품과 비교하여 건강한 이미지를 줄 뿐만 아니라 주관기관에서 직접 생산한 원료를 사용하므로써 원가절감이 가능하다.

개발제품의 생산 수율 및 제조비용은 아래 표와 같이 제조 공정에 따라 생산하였을 때 원물 대비 생산량 수율은 약 25% 정도이며, 동결건조 비용을 포함한 제조비는 1 kg 기준으로 50,178원이었다. 여기에 포장재, 판매관리비, 이윤 등을 포함하여 판매가격을 150 g 당 25,000원으로 결정하였으며 기존 판매되는 유사 제품들의 가격이 21,000~50,000원으로 형성되어 있어 가격경쟁력이 있을 것으로 판단하였다.

표 1-16. 개발제품의 생산수율 및 제조비용

	원물	비가식부 제거 및 증자	분쇄, 효소처리 동결건조	생산	원물가격 (원)	위탁가공비 (원)	제조비 (원)
중량(g)	4,062	3,737	1,050	1,000	32,536	17,642	50,178

(다) 차별성 및 컨셉의 구체화, 타겟

다른 식이섬유 제품과는 다르게 식이섬유가 풍부한 베리류를 혼합하였으며 난소화성 전분을 첨가하여 식이섬유 함량을 높이고 수분흡습으로 일어나는 분말의 케이킹 현상을 억제하여 저장성을 좋게 하였다.

식이섬유 강화를 통한 음료를 만들어 몸속의 노폐물을 제거하고 식이섬유로 인하여 장운동을 활성화 하고자 하였다. 또한 베리류와 난소화성 전분을 첨가하여 맛과 식이섬유 강화를 목적으로 한스 제품으로 과일채소류 분말은 뷰티컨셉으로, 곡물분말은 다이어트를 원하는 여성들의 식사대용으로 슬림을 컨셉으로 결정하였다. 제품의 소비자 타겟은 다이어트를 원하는 2~40대 여성을 주요 타겟으로 하였다.

(라) 포장디자인

베리류와 디톡스가 연상되게끔 제품명과 디자인을 제작하였다. 박스에 옆라인을 주어 다이어트에 효과가 있는 제품이라는 이미지를 주었다. 제품명은 과일채소 분말은 베리톡스 B로 뷰티의 이니셜을 사용하였고 곡물분말은 베리톡스S로 슬림의 이니셜을 사용함으로써 다이어트에 관심이 많은 여성들에게 관심을 끌도록 하였다.

(마) B2B/B2C 판단 등 시장 진입전략 및 산업화 계획

베리팜(영)은 기존 온라인 고객(4만명)을 보유하고 있어서, 블로그 등 온라인 홍보 및 홈페이지 홍보 전략을 통한 B2C 거래가 주요 할 것으로 판단되었다.

또한 기존 체험고객과 농가형 레스토랑 그리고 6차산업 성공사례로 방문자가 많아 기존의 제품들과 본 제품을 홍보하고 상품화 하는데 많은 도움이 될것으로 판단된다. 또한 블로그와 SNS홍보도 많은 도움이 될 것이다.

전북 고창군 베리&바이오식품연구소는 500Kg 용량의 동결건조기를 보유하고 있다. 기존의 동결건조 방식은 다름이 없지만 관내업체 대상으로 고창군 기업의 발전을 위해 저렴한 생산비를 받고 있다. 연구소에서 동결건조하여 가공비를 많이 아껴 다른 기존 제품들과 경쟁할 수 있게끔 하고자 한다. 또한 블로그와 SNS 홍보를 통하여 산업화에 박차를 가하고자 한다.

또한 연구소에 구축중인 신규 가공설비에는 스틱포장기가 계획되어 있어, 분말음료의 스틱제품형태로 생산할 계획이며, 베리류 및 과일 채소 혼합 분말이 아닌 원료를 선별한 후 베리류별 분말음료를 개발할 계획이다.

(바) 수출방안

중국시장은 우리나라와 사드 배치 문제로 인하여 통관에 문제가 많지만 중국내 직구 쇼핑몰인 타오바오 등에 1차년도 개발제품과 함께 올리면 수출 판로를 확대할 수 있을 것이다.

다. 3차년도 : 씨앗입자를 함유한 베리류 과·채류 복합 식이섬유 강화 액상음료 개발 및 상품화

(1) 씨앗입자입자를 함유한 액상음료의 레시피 및 제조공정 확립

(가) 씨앗입자 및 베리류 과·채류의 혼합비율 조절

① 실험재료

㉠ 시판 음료

주스 원료 및 씨드 종류를 선정하기 위해 시판되는 씨드 음료 3종을 구매하였다.

㉡ 음료 개발 원료

씨드 음료를 개발하기 위해 복분자, 치아씨드 및 안정제 등 첨가물을 구입하였다. 복분자는 착즙액의 상태로 사용하였고 난소화성 전분은 찹쌀을 이용하여 전담대에서 음료용으로 제조한 나노입자의 RS를 받아 사용하였다.

② 관능평가

레시피 확립을 위해 기호도 조사를 실시하였다. 기호도 조사는 그림 1-6의 검사표를 사용하여 베리팜영농조합법인 직원과 베리&바이오토탈연구소 연구원들을 대상으로 외관(색, 씨드 양), 향, 맛(단맛, 신맛), 질감(입안에서의 질감, 목넘김)과 전체적인 기호도 항목에 대해 9점 만점으로 평가하였다.

씨드 음료 관능평가								
성별:			성명:					
<p>『난소화성 전분을 활용한 식이섬유 강화 베리류 주스의 상품화 기술개발』 과제 관련 개발 중인 음료입니다. ▷ 먼저 물로 입을 가신 후 시료 각각의 특성을 구분하여 평가하여 주십시오. ▷ 각 항목별로 9점을 기준으로 기호도 평가하여 주십시오. (1점: 대단히 싫다, 5점: 보통이다, 9점: 대단히 좋다)</p>								
	외관		향	맛		질감		전체적인 기호도
	색	씨드 양		단맛	신맛	입안에서의 질감	목넘김	
115								
208								
397								
438								
기타의견:								
그림 1-6. 씨드음료 관능평가를 위한 관능검사표								

③ 관능평가 결과

㉠ 시판 씨드음료의 관능평가

음료에 사용할 씨드를 결정하고 음료 베이스 레시피를 결정하기 위하여 시판 음료 3종의 관능평가를 실시하였고 그 결과는 아래 표와 같았다. 시판되는 음료의 대부분은 과일농축액이나 착즙액의 희석액을 베이스로 씨드를 첨가하는 형태였다. 기호도 평가를

한 결과 B의 시료가 외관, 향에서 좋은 결과를 나타내었고, 맛 평가 항목에서는 A의 시료가 좋은 결과를 나타냈다. 입안에서의 질감과 목넘김의 항목에서는 비슷한 결과는 나타내었으며, 전체적인 기호도면에서는 A의 시료가 가장 좋은 결과를 나타냈다.

표 1-17. 시판 씨드 음료의 관능평가 결과

	Appearance	Flavor	Taste	Texture		Overall quality
				Mouth-feel	Swallow	
A	6.32±1.49 ^a	7.09±1.56 ^a	7.15±1.45 ^a	6.74±1.06	6.90±0.99 ^a	6.96±1.37 ^a
B	7.41±1.26 ^a	7.22±1.48 ^a	6.70±1.34 ^{ab}	6.64±1.07	6.85±1.03 ^a	6.76±1.16 ^a
C	4.52±1.35 ^b	5.36±1.16 ^b	4.10±1.20 ^b	5.06±1.56	4.87±1.62 ^b	4.22±1.32 ^b

㉔ 씨드 액상 음료의 관능평가

씨드음료 레시피 개발을 위해 적정한 씨드 함량 결정이 필요했다. 기존 시판되는 제품은 15%로 표기된 제품들이 있었으나 음료베이스에 15%의 씨드를 첨가할 경우 씨드가 발아되면서 겉과 같은 상태가 되어 씨드음료를 제조할 수 없는 농도가 되었다. 따라서 씨드함량은 1.0~1.5%가 되도록 음료를 제조한 후 관능검사를 실시하였다. 음료 A, B, C는 치아씨드를 각각 1.0, 1.3%, 1.5% 함유하도록 제조하였고 복분자 착즙액 시판음료와 유사하게 착즙액이 1%가 첨가되도록 하였다. 관능검사 결과는 아래와 같이 치아씨드를 1.3% 첨가했을 때 외관과 질감, 전반적인 기호도가 좋은 점수를 받았다.

표 1-18. 씨드 함량 결정을 위한 관능평가 결과

	Appearance		Flavor	Taste		Texture		Overall quality
	Color	Seed amount		Sweet	Sour	Mouth-feel	Swallow	
A	6.27±1.16	4.86±0.90 ^b	5.74±1.54	6.33±1.55	5.35±0.90	5.24±0.55 ^{ab}	6.42±1.36 ^a	5.64±1.15
B	6.75±1.16	6.26±1.32 ^a	5.30±0.76	6.00±0.88	6.01±1.21	6.42±1.23 ^a	6.22±1.08 ^a	6.50±0.74
C	6.56±0.83	5.16±0.91 ^{ab}	5.52±1.06	5.92±0.72	5.88±0.68	4.84±0.62 ^b	4.28±0.87 ^b	5.26±1.24

복분자-치아씨드 음료의 나노입자 난소화성 전분 첨가량을 결정하기 위해 위의 레시피를 기반으로 나노입자 난소화성전분 함량을 달리하여 관능검사를 실시하였다(표 1-19). 기호도 조사를 실시한 결과는 아래 표와 같았다. 착즙액 함량이 1%이고 저항전분이 1% 첨가된 시료가 외관과 향, 맛, 전체적인 기호도에서 높은 결과를 나타내었다. 음료의 당도가 높은

시료들이 전반적인 항목에서 기호도 점수가 높았고 저항전분을 첨가하지 않은 경우 보다 저항전분을 첨가한 경우 기호도가 높은 것을 알 수 있었다. 본 연구에서 사용한 저항전분은 본 사업을 통해 전남대에서 개발한 음료용 저항전분으로 입자가 작고 분산성이 우수하여 음료에 첨가시 기호도를 상승시키는 것으로 생각하였다.

표 1-19. 복분자 씨드 음료의 나노입자 저항전분 첨가량을 결정하기 위한 관능평가 결과

	Appearance		Flavor	Taste		Texture		Overall quality
	Color	Seed amount		Sweet	Sour	Mouth-feel	Swallow	
A	5.32± 1.16 ^b	5.12± 0.88	5.60± 1.17	5.87± 1.55 ^b	5.81± 1.40 ^b	6.25± 1.14	6.34± 1.16	5.54± 0.97 ^b
B	6.70± 1.16 ^{ab}	6.72± 0.95	5.95± 0.88	7.30± 0.95 ^a	7.06± 1.05 ^a	6.82± 1.03	6.81± 0.79	7.03± 1.05 ^a
C	6.64± 1.43 ^{ab}	6.94± 0.74	5.92± 0.74	6.88± 0.92 ^{ab}	7.04± 1.33 ^a	7.33± 1.16	7.44± 0.97	7.16± 1.10 ^a
D	7.56± 1.27 ^a	6.72± 1.16	6.20± 1.03	7.08± 1.05 ^a	7.06± 0.94 ^a	7.00± 1.25	7.22± 0.92	7.38± 1.06 ^a

㉔ 씨드 분말 음료의 관능평가

씨드 분말음료를 제조하기 위해 2차년도 개발한 곡물 분말을 베이스로 치아씨드 및 저항전분 함량을 결정하기 위한 관능평가를 실시하였고 음료용 난소화성 전분은 3%로 결정하였으며 A와 B는 바질씨드를 C와 D는 치아씨드를 사용하였고 A와 C는 1% B와 D는 1.5%를 첨가하였다(표 1-20). 분말 30g을 우유 200 mL에 분산시켜 관능검사를 실시하였고 결과는 아래 표와 같았다. 바질 씨드보다 치아씨드가 외관상 좋은 점수를 받았으며 전체적인 기호도도 좋은 점수를 받았다.

표 1-20. 곡물베이스 씨드 분말 주스의 씨드 종류와 씨드 함량 결정을 위한 관능평가 결과

	Appearance		Flavor	Taste		Texture		Overall quality
	Color	Seed amount		Sweet	Sour	Mouth-feel	Swallow	
A	5.08± 1.62 ^{ab}	5.60± 0.86	5.63± 0.74	5.85± 0.88	5.32± 0.90	6.20± 0.55	5.83± 1.36	5.71± 0.75
B	4.26± 0.81 ^b	5.92± 1.56	5.54± 0.76	6.11± 0.98	6.14± 1.21	5.84± 0.86	6.08± 1.62	5.53± 1.64
C	6.83± 0.76 ^a	6.22± 0.94	5.32± 1.16	6.16± 0.75	5.22± 0.68	6.43± 0.60	6.23± 0.74	6.30± 0.65
D	6.10± 1.32 ^a	5.67± 0.88	5.90± 0.94	5.60± 1.72	5.88± 0.68	4.82± 0.88	5.20± 0.02	6.08± 1.16

④ 최종 레시피 선정

관능평가를 통해 아래와 같이 최종 레시피를 결정하였다. 베리류는 연구소에서 비교평가한 복분자로 선정하였고 관능평가 결과에 따라 씨드 함량은 1.3 %, 저항전분 함량은 1%로 하였다. 복분자-치아씨드 액상음료의 최종 레시피는 아래 표 1-21과 같았다.

표 1-21 복분자-치아씨드 액상음료의 최종 레시피

Ingredients		Weight (g)
Berry	Black raspberry	1
Seed	Chia seed	1.3
Resistant starch	Rice nano RS	1
Additives	oligosaccharide	30.5
	glucose	
	citric acid	
	gellan gum	
Water	carageenan gum	66.2
	Water	
Total		100

곡물-치아씨드 분말음료의 최종 레시피는 아래 표 1-22와 같았다.

표 1-22. 곡물베이스 씨드 분말음료의 최종 레시피

Ingredients		Weight (g)
Cereals	쥐눈이콩	40
	서리태	
	현미	58
	찰흑미	
	찰보리	
	귀리	
Resistant starch	올무	1
	Rice nano RS	
Seed	Chia seed	1
Total		100

(나) 씨앗입자를 활용한 식이섬유 강화 액상 음료의 제조공정 확립

① 복분자-치아씨드 액상음료의 제조공정

복분자-치아씨드 음료는 그림 1-7과 같이 복분자 착즙액, 올리고당, 포도당, 구연산, 겔란검, 카라기난 검, 나노입자 난소화성 전분을 계량 후 혼합하여 90℃에서 15분간 살균 한 후 용기에 병입하였다.

복분자-치아씨드 액상음료 제조 공정도

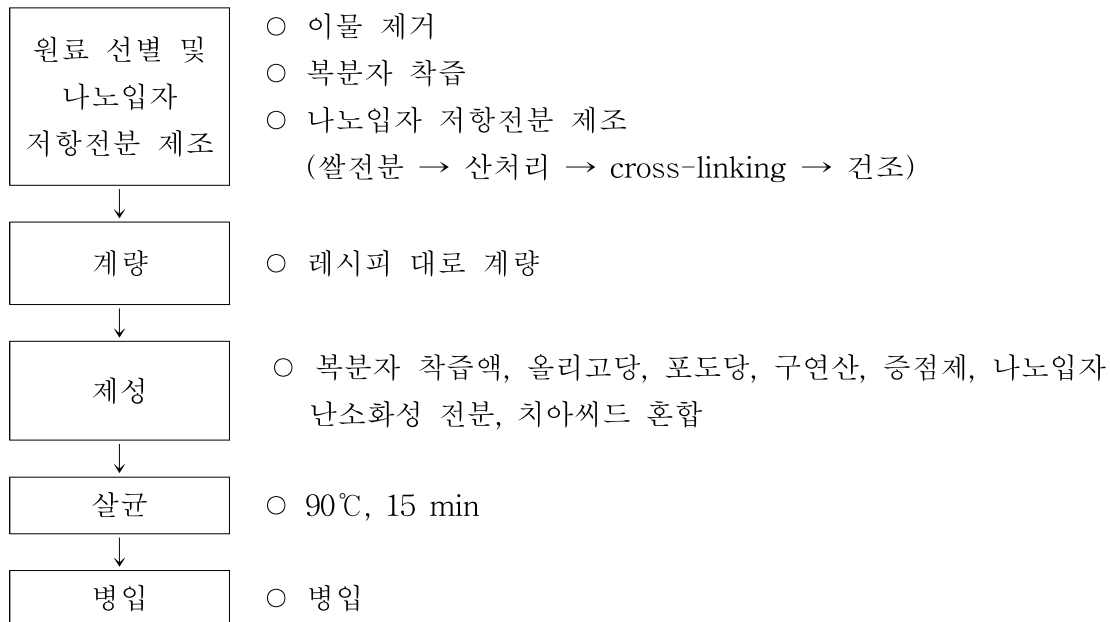


그림 1-7. 복분자-씨앗입자 액상음료 제조공정

② 곡물-치아씨드 분말음료의 제조공정

곡류와 두류는 그림 1-8과 같이 이물을 제거한 후 계량하여 볶음 처리 후 분쇄하여 80 메쉬 체에 통과시켰다. 치아씨드와 난소화성 전분을 첨가한 후 병입하여 제조하였다.

곡물-치아씨드 분말 제조 공정도

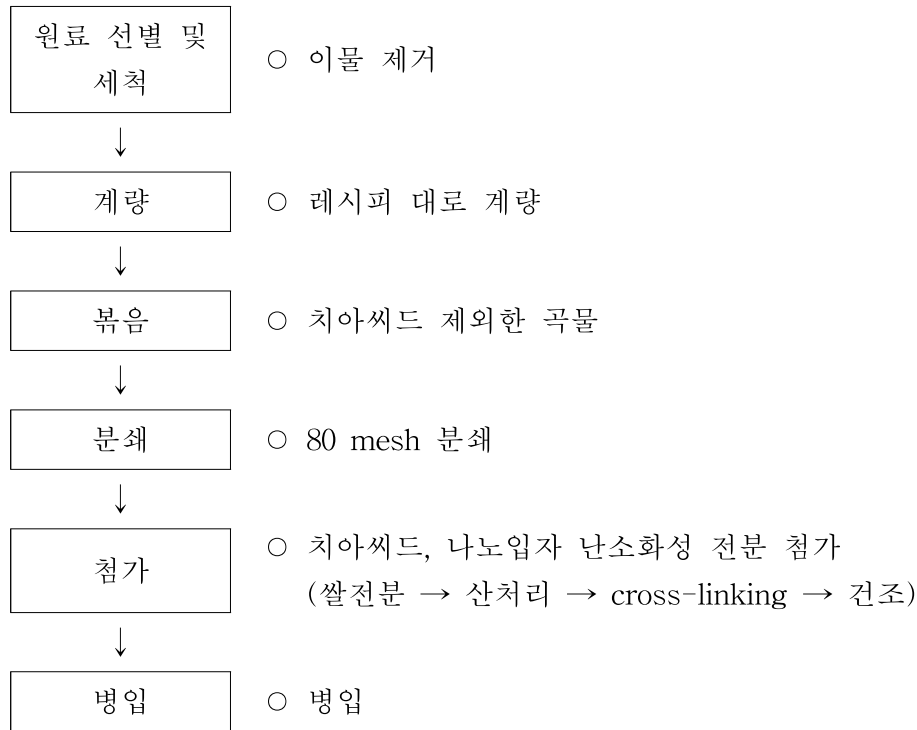


그림 1-8. 곡물-씨앗입자 분말음료 제조공정

(2) 씨앗입자입자를 함유한 복합 음료 시제품 제작

(가) 씨앗입자 및 베리류 혼합 액상 음료의 시험생산 및 시제품 제작

위와 같이 최종 레시피를 결정하여 아래 그림과 같이 복분자-씨앗입자 함유 음료 대량생산 테스트를 실시하였다. 아래 그림과 같이 음료를 착즙하여 음료용 첨가물을 레시피와 같이 첨가하였고 검류와 치아씨드를 첨가하여 시험생산을 실시하였다.

(나) 시험생산제품에 대한 소비자 조사

2017 고창복분자와 수박축제와 본사 판매자에 방문한 방문객을 대상으로 씨드 음료에 대한 소비자 기호도 조사를 실시하였다. 총 185명의 관광객들을 대상으로 복분자 씨드음료와 아로니아 씨드음료를 시음하도록 한 후 5점 만점으로 점수를 주도록 하였다. 소비자 기호도 조사 결과는 아래 표와 같이 두 제품 모두 3점 이상의 점수를 받았으며 아로니아 씨드음료보다 복분자 씨드음료가 더 좋은 점수를 받았다. 유의적인 차이는 없었다.

표 1-23. 복분자 씨드음료 및 아로니아 씨드음료의 소비자 기호도 조사

	black raspberry- seed beverages	black chokeberry- seed beverages
Consumer Preference	4.23±0.98	3.94±1.02

(다) 복합 액상 음료의 포장패키지 디자인 개발

복분자-치아씨드 액상음료의 최종 제품을 시험생산 하였고, 음료의 포장은 1차년도와 같이 플라스틱병으로 여성의 몸매를 형상화한 모양의 병을 선정하였고, 용량은 1,000 mL로 결정하였다.



복분자-치아씨드 음료 최종 디자인

(라) 복합 액상 음료의 시제품 생산



최종 제품(복분자 치아씨드 액상음료)

(3) 온라인 및 대중 매체를 통한 제품 홍보

(가) 오프라인 판매장을 활용한 제품 판매 및 홍보



오프라인 매장을 활용한 판매 및 홍보

(나) 체험 관광객을 활용한 제품 홍보



6차산업관련 견학 단체에 대한 제품 홍보



2016 귀농귀촌 교육과정



2016 삼락농정 비즈니스 모델개발 현장교육



2017 고창복분자와 수박축제(2017.06.16~18)

(다) 온라인을 활용한 제품 홍보



2016.10.16. 블로그 홍보

(4) 베리류 치아씨드 음료의 마케팅 전략

(가) 유통기한 확보

베리류 치아씨드 음료 또한 기존 액상음료와 제품의 형태와 포장방식이 유사한 살균제품으로 유통기한은 1년을 확보할 수 있다.

(나) 경제성 및 상품성 분석 및 기존 제품과 경쟁성

본 연구를 통해 개발한 씨드음료는 첨가물을 최소로 사용한 무설탕 제품임. 음료의 베이스가 되는 복분자 또는 아로니아 같은 베리류는 주관기관인 (영)베리팜에서 직접 생산하므로 원가절감이 가능하며 나노입자 저항전분을 사용하므로써 식이섬유를 함유하면서 투명한 액상음료 개발이 가능하게 되었다.

복분자 씨드음료는 복분자 착즙 수율이 약 70% 이나 제품에 1%만 사용되므로 제품 생산 수율이나 가격에 큰 영향을 주지 않으며 치아씨드와 나노입자 난소화성 전분 등 부원료를 혼합하여 제조하므로 원물대비 손실율이 매우 낮았다. 제품 1L 생산시 649.4원의 제조비가 들어가므로 포장재 및 판매관리비, 이윤 등을 고려하여 아래 표와 같이 판매가격을 결

정하였다. 기존 제품이 5,900~6,500원이 가격이 형성되어 있으므로 가격 경쟁력에도 적정하다고 판단하였다.

표 1-24. 개발제품과 시판제품의 가격

	가격 (원/L)
개발제품	6,000
시판제품 A	6,482
시판제품 B	6,482
시판제품 C	5,900

(다) 차별성 및 컨셉의 구체화, 타겟

기존 씨드음료와는 차별화하여 나노입자의 난소화성 전분을 첨가하여 식이섬유 함량을 높여 기능성을 증가시켰으며, 치아씨드와 함께 식이섬유의 기능을 강화하여 몸속의 노폐물을 제거하고 식이섬유로 인하여 장운동을 활성화 하고자 하였다. 제품의 소비자 타겟은 트렌드에 민감하고 다이어트를 원하는 2~40대 여성을 주요 타겟으로 하였다.

(라) 포장디자인

베리류와 다이어트가 연상되게끔 여성의 몸매라인을 닮은 병을 사용하였으며 제품명은 씨드음료를 강조하기 위해 단순 명료하게 결정하였고 향후 다양한 베리류 음료에 적용할 수 있도록 첨가하는 베리류에 따라 복분자 씨드음료, 아로니아 씨드음료 라고 결정하였다.

(마) B2B/B2C 판단 등 시장 진입전략 및 산업화 계획

베리팜(영)은 기존 온라인 고객(4만명)을 보유하고 있어서, 블로그 등 온라인 홍보 및 홈페이지 홍보 전략을 통한 B2C 거래가 주요 할 것으로 판단되었다.

또한 기존 체험고객과 농가형 레스토랑 그리고 6차산업 성공사례로 방문자가 많아 기존의 제품들과 본 제품을 홍보하고 상품화 하는데 많은 도움이 될것으로 판단된다. 또한 블로그와 SNS홍보도 많은 도움이 될 것이다.

전북 고창군 베리&바이오식품연구소는 발효제품 생산 설비를 구축하고 있으며, 구축이 완료되면 복분자, 아로니아 등의 발효액을 음료 베이스로 사용함으로써 항산화 활성을 증진시킬 수 있을 것이다. 씨드 음료의 인기가 증가하고 있으므로 베리류 종류에 따라 베리류 발효액과 씨드를 혼합한 액상음료와 편의성을 위해 씨드분말제품을 스틱형태로 생산할 계획이다.

(바) 수출방안

중국시장은 우리나라와 사드 배치 문제로 인하여 통관에 문제가 많지만 중국내 직구 쇼핑몰인 타오바오 등에 1, 2차년도 개발제품인 베리류 및 과일채소류 혼합주스, 분말주스와 함께 패키지 상품으로 올리고자 한다.

2. 제1협동과제 : 식이섬유 강화음료용 베리류 과·채류 전처리 기술 개발

가. 1차년도 : 베리류 및 과·채류의 성분분석 및 항산화활성 확인

물성개선 및 항산화활성 증진을 위한 물리화학적, 생물학적 처리 조건 확립

(1) 베리류 및 과·채류의 성분 분석 및 항산화활성 확인

(가) 실험 재료

원료 분석 및 주스 제조에 사용한 재료는 베리류(복분자, 오디, 블루베리, 아로니아)와 과일 및 채소류(양배추, 당근, 브로콜리, 토마토, 사과, 딸기, 바나나)를 사용하였다. 베리류와 과일·채소류는 고창군 농협에서 구입하였다. 일반성분을 제외한 나머지 분석은 동결건조 후 시료로 사용하였다.

(나) 일반성분 및 식이섬유 분석

① 실험방법

㉠ 일반성분 분석

베리류 및 과·채류 생열매의 수분, 단백질, 지질, 회분 함량을 측정하였다. 수분함량은 105±5℃건조기에서 상압가열건조법으로 측정하였고, 단백질을 Kjeldahl 방법으로 측정하였으며, 지질을 속실렛장치로 측정하였고 회분은 회화로에서 직접회화법으로 측정하였다.

㉡ 과일 및 채소류의 총식이섬유, 수용성 식이섬유, 불용성 식이섬유 함량

베리류 및 과·채류 동결건조 분말은 총 식이섬유, 수용성 식이섬유, 불용성 식이섬유는 AOAC방법으로 분석하였다. 총식이섬유는 건조된 시료 1 g(d.b.)에 α-amylase, protease, amyloglucosidase 순서로 처리한 후 ethanol에 탈수 시킨 후 glass filter에 여과 건조하고 무게를 측정하여 계산하였다. 불용성 식이섬유는 총식이섬유와 같은 순서로 효소처리한 후 glass filter에 여과 건조하고 무게를 측정하여 계산하였다. 수용성 식이섬유는 총식이섬유와 같이 효소처리 후 70℃의 증류수로 씻어낸 여액을 ethanol에 탈수 시킨 후 glass filter에 여과하고 무게를 측정하여 계산하였다.

② 베리류 및 과·채류의 일반성분

주스의 원료로 사용하는 베리류 및 과·채류의 일반성분을 분석하였다(표 2-1). 수분함량은 84.5~96.9%, 단백질은 0.6~1.6%, 지질은 0.1~0.7%, 회분은 0.1~0.7% 였다. 건조하지 않은 생과이므로 수분함량이 높았고, 나머지 성분은 약간의 차이를 보였다.

표 2-1. 과일 및 채소류의 일반성분

	Moisture (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)
Black raspberry	85.72±0.68 ^{de}	1.31±0.02 ^b	0.71±0.02	0.54±0.10
Blueberry	84.54±0.45 ^{def}	0.66±0.06 ^e	0.22±0.15	0.15±0.03
Mulberry	88.90±0.69 ^c	0.64±0.03 ^e	0.46±0.01	0.64±0.60
Black chokeberry	86.29±0.36 ^d	1.05±0.02 ^{bc}	0.19±0.10	0.66±0.06
Cabbage	91.66±0.24 ^b	0.65±0.03 ^e	0.12±0.02	0.54±0.03
Sweet pumpkin	85.84±0.47 ^{de}	1.64±0.02 ^a	0.54±0.01	0.72±0.05
Tomatooe	96.88±0.16 ^a	0.89±0.04 ^d	0.10±0.05	0.46±0.12
Apple	86.11±0.56 ^d	1.21±0.04 ^b	0.24±0.2	0.13±0.03
Mandarine	88.57±0.35 ^c	0.41±0.02 ^f	0.07±0.21	0.35±0.32
Red grape	86.73±0.53 ^d	0.62±0.02 ^e	0.12±0.01	0.50±0.21

③ 베리류 및 과·채류의 총 식이섬유 함량

주스 레시피 선정 시 기초 자료로 활용하기 위해 베리류 및 과·채류 동결건조분말의 총 식이섬유 함량을 AOAC 방법으로 분석하였다. 아래 표 2-2와 같이 총 식이섬유는 베리류중에서는 복분자에서 36.93%로 가장 높았으며 아로니아가 34.24%로 높았다. 다른 베리류나 과일, 채소류에 비해 복분자와 아로니아의 총 식이섬유 함량이 높은 것을 알 수 있었다. 채소류는 과일류에 비해 식이섬유 함량이 높아 최종제품의 원료로서 반드시 포함되어야 할 것이다. 브로콜리의 식이섬유 함량이 가장 높았으며 나머지 양배추, 당근도 높은 편이었다. 브로콜리나 양배추는 황 함량이 높아 가열시 불쾌치가 발생할 수 있으므로 관능검사 결과를 고려하고 가열조건을 조정하여 레시피 품목에 포함시켜야 할 것이다. 과일류에서는 딸기와 바나나, 사과와 식이섬유 함량이 비교적 높은 편이었다. 베리류는 복분자와 아로니아를 주스의 원료로 사용하는 것이 좋을 것이라고 생각되었고 식이섬유 함량이 비교적 낮은 과일도 관능평가를 통해 주스의 맛과 향을 개선시킬 수 있는 경우에는 원료에 포함시키는 것이 바람직할 것이라고 판단하였다.

표 2-2. 과일 및 채소류의 총식이섬유(TDF) 함량

	TDF (%)
Black raspberry	36.93±0.27 ^b
Blueberry	14.36±0.14 ^g
Mulberry	13.45±0.28 ^g
Black chokeberry	34.24±0.67 ^b
Cabbage	29.66±0.43 ^c
Sweet pumpkin	21.51±0.42 ^d
Peeled sweet pumpkin	18.79±0.66 ^e
Broccoli	43.95±1.43 ^a
Carrot	28.03±0.82 ^c
Tomato	19.85±1.55 ^e
Apple	12.57±0.69 ^{gh}
Peeled apple	10.40±0.30 ^h
Red grape	9.69±0.41 ⁱ
Mandarin	11.27±0.85 ^h
Strawberry	16.90±0.63 ^f
Banana	14.04±0.97 ^g
Pineapple	9.13±0.46 ⁱ

(다) 원료별 항산화 성분 및 항산화활성 측정 방법

① 실험방법

㉠ 총페놀함량

총 페놀 함량은 각각의 시료 100 µL에 Folin-Ciocalteu 시약 500 µL를 첨가하여 반응시키고 20% 탄산나트륨 용액 1.5 mL를 첨가한 후 증류수를 첨가하여 총 부피가 10 mL가 되게 하였다. 실온에서 2시간 반응 시킨 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀함량은 갈릭산을 표준물질로 작성한 표준곡선 식을 이용하여 계산하였다.

㉡ 총플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 시료 1 mL에 diethylene glycol 2 mL, 1N-NaOH 0.02 mL를 가한 다음 37°C 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 rutin(St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

㉔ DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 각각의 시료 1 mL에 200 μ M DPPH 1 mL를 넣고 실온에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. blank는 에탄올을 사용하였으며, 전자공여능은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

㉕ ABTs 라디칼 소거능

ABTS assay는 각각의 시료 0.05 mL에 ABTS radical 용액 0.195 mL를 첨가하여 7 분간 반응시킨 후 microplate reader(Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 측정하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

② 원료별 항산화 성분 및 항산화활성 결과

관능검사를 통해 베리류 2종 및 과일채소류 6종을 선정하여 베리류 및 과·채류 착즙액의 항산화성분 및 활성을 측정하였고 결과는 아래 표 2-3과 같았다. 항산화활성을 가지는 성분으로 알려진 폴리페놀은 복분자가 1189.19 μ g/mL으로 가장 높았고 아로니아가 739.64 μ g/mL로 두 번째로 높았다. 과일, 채소류에서는 껍질 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 가지고 있었다. 복분자와 아로니아는 검은색을 띠는 열매로 안토시아닌 함량이 높게 측정된 것으로 추측하였다.

DPPH는 아스코르빈산 및 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탁색되어지는 원리를 이용하여 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 탐색하기 위해 많이 이용되고 있다. 또한 DPPH radical scavenging은 비교적 짧은 시간내에 측정할 수 있어 항산화 측정실험에 넓게 사용되고 있다. 복분자와 아로니아를 비롯한 과일, 채소류에 DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 위에 표에 나타내었다. 측정한 결과 복분자와 아로니아의 DPPH 라디칼 소거능은 94.51%와 83.79%로 가장 높은 항산화활성을 나타냈고 나머지 과일, 채소류는 24.34~60.60%의 활성을 나타냈다. 총폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능의 관계가 비례적이지는 않았지만 총폴리페놀 함량이 가장 높았던 복분자와 아로니아는 항산화활성 또한 높았다. 폴리페놀 함량이 가장 낮은 토마토, 사과의 DPPH 라디칼 소거능보다 단호박의 활성이 더 낮게 나타났다.

과·채류의 항산화 효과 중 하나인 ABTs 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 아래 표와

그림 2-1에 나타냈다. 착즙액을 5 $\mu\text{l/ml}$ 농도로 실험한 결과 복분자와 아로니아는 22.58과 12.27%로 복분자가 더 높은 활성을 나타낸 것을 확인 할 수 있었다. 야채 및 과일 6종의 ABTs 라디칼 소거활성은 27.67 ~ 89.01 % 범위를 나타냈으며 사과가 27.67 %로 가장 낮은 값을 보였고 꿀이 토마토에 비해 약 2배 높은 89.01 %로 가장 높은 라디칼 소거활성을 보였다.

표 2-3. 베리류 2종 및 과일 채소류 6종의 항산화 활성 측정 결과

	Total phenol contents ($\mu\text{g/mL}$)	Total flavonoid contents ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH radical scavenging activity(%)	ABTs radical scavenging activity(%)
Black raspberry	1189.19	0.16	94.51	88.75
Black chokeberry	739.64	0.09	83.79	88.69
Cabbage	144.86	0.15	52.15	77.30
Sweet pumpkin	218.56	0.10	24.34	87.96
Tomato	90.91	0.07	45.79	45.15
Apple	78.65	0.16	43.77	27.67
Mandarine	653.15	0.02	60.60	89.01
Red grape	130.36	0.14	47.98	83.13

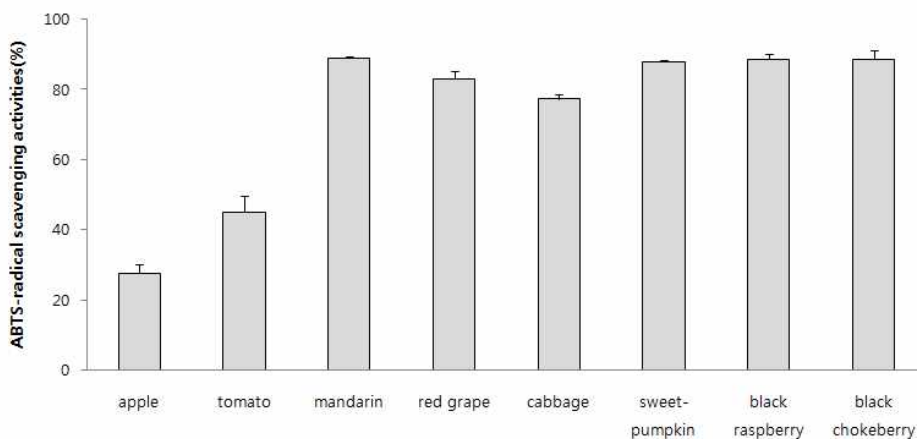


그림 2-1. ABTS radical scavenging activity of fruits and vegetables

(2) 식이섬유 증가를 위한 과·채류 발효에 적합한 유산균 선별

(가) Dextran(비소화성 식이섬유) 생성 유산균 선별

① sucrose 배지법에 의한 EPS 생성 확인

㉠ 재료 및 방법

아래의 표 2-4와 같이 발효식품으로부터 분리된 *Leuconostoc mesenteroides* 9종과 공시균주 1종을 sucrose 배지(1%, tryptone, 0.5% yeast extract, 0.5% dipotassium phosphate, 0.5% diammonium citrate, 5% sucrose, pH 7.0)에 도말하여 30℃에서 48시간 평판배양하였다. 또한 균주간의 점질물 생성 비교를 위하여 sucrose 배지위에 각각의 배양액을 10μl씩 점적하였다.

표 2-4. 분리된 *Leuconostoc mesenteroides* 균주 목록

	Species	Strain
공시 균주	<i>Leuconostocmesenteroides</i> subsp. <i>mesneteroides</i>	KCTC3718
분리균주	<i>Leuconostocmesenteroides</i>	GBL13
		GBL14
		GBL19
		GBL20
	<i>Leuconostocmesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	SRL1
		SRL6
		KCL2
		KJL1
		HSL8

㉡ 결과

공시균주 1종 및 분리균주 9종을 이용하여 sucrose 고체 배지에 상태에서 점질물을 생성하는 균주로는 GBL13, GBL19, GBL20, SRL6, HSL8이 선발되었다. 공시균주인 KCTC3718이 plate 상에서는 가장 점질물을 많이 생성하는 것으로 보였으며 분리 균주 중에서는 GBL18이 공시균주와 비슷한 모양으로 점질물을 많이 생성한 것으로 보였다(그림 2-2).

② 배양액의 점도 측정

㉠ 재료 및 방법

점도는 viscometer를 이용하여 점도를 측정하였으며, 측정방법은 점도계의 UL(Ultra-Low) adaptor에 배양액 15mL을 계량하여 rpm 80에서 1분간 회전시킨 후의 cp값을 구하였다.

㉔ 결과

점도를 측정된 결과, GBL19가 1.30 ± 0.01 으로 가장 높은 cp값을 보였으며 그 다음으로 KJL2와 GBL20이 높은 cp 값을 보였다. 공시균주인 KCTC3718은 plate 상에서는 많은 점질 물을 보였으나 점도는 GBL19 보다 낮은 경향을 보였다. 분리균주의 경우 plate 상에서 점질 물을 생성한 유산균들이 대체로 높은 점도를 나타내었다(표 2-5).

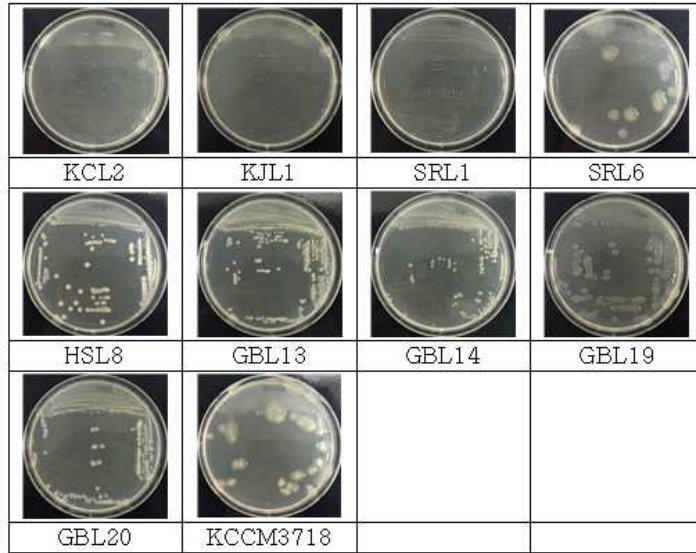


그림 2-2. sucrose 배지법에 의한 EPS 생성 확인

표 2-5. 배양액의 점도 측정

sample	점도(cp)	%
KCL2	1.09±0.01	14.6
KJL1	1.20±0.01	16.0
SRL1	1.12±0.01	15.0
SRL6	1.15±0.01	15.4
HSL8	1.12±0.01	14.9
GBL13	1.17±0.01	15.6
GBL14	1.12±0.01	15.0
GBL19	1.30±0.01	17.3
GBL20	1.18±0.01	15.7
KCTC3718	1.16±0.01	15.5

③ EPS 분리, 정제 및 정량

㉠ 재료 및 방법

분리균주로부터 생성된 EPS는 균체 배양액을 4℃에서 원심분리(9,950×g, 25 min)하여 균체를 제거하고, 회수한 상정액에 2배량의 냉각된 95% 에탄올을 서서히 가하여 4℃에서 15시간 침전시켜 분리하였다. 침전물은 원심분리하여 회수하고 남은 에탄올을 건조시킨 후 동결건조 하여 이를 crude EPS로 하였다. 생성된 EPS 정제를 위하여 배양액에 trichloroacetic acid를 최종 농도가 4%(w/v)가 되도록 첨가하고 4℃에서 2시간 처리한 후 원심분리하여 균체와 침전된 단백질을 제거하였다. 상정액은 회수한 후 0.2µm filter로 여과하여 남은 단백질을 제거하고 2배량의 냉각된 95% 에탄올을 가하여 4℃에서 15시간 침전시켰다. 침전물을 원심분리하여 회수하고 남은 에탄올을 건조시킨 후 동결건조 하였다. 배양액에 대한 정제 EPS의 생성량은 g/L로 나타내었다.

㉡ 결과

crude EPS를 분리하여 정량하였을 때 GBL19가 27.36g/L로 가장 높은 중량을 보였으며 GBL20, SRL6이 각각 17.6±0.45g/L, 13.1±0.22g/L 순으로 높게 나타났따. 회수된 crude EPS를 다시 정제하였을 때에 또한 위와 마찬가지로 GBL19가 19.0±2.83g/L를 나타내었으며 전체적으로 crude EPS 보다 1.5~2.0배 정도 감소량을 보였다(표 2-6).

표 2-6. EPS 분리, 정제 및 정량

sample	Crude EPS(g/L)	Purified EPS(g/L)
KCL2	8.3±0.24	6.9±0.42
KJL1	4.6±0.58	3.3±1.56
SRL1	1.7±0.69	1.3±0.64
SRL6	13.1±0.22	8.7±0.49
HSL8	8.9±1.02	6.3±0.71
GBL13	11.1±0.46	9.4±0.28
GBL14	5.1±0.81	3.2±0.64
GBL19	27.36±0.65	19.0±2.83
GBL20	17.6±0.45	11.0±0.00
KCTC3718	11.9±0.59	9.2±0.28

④ 구성 당 확인

㉠ 재료 및 방법

EPS의 구성 당을 확인하기 위하여 EPS 물질의 가수분해를 실시하였다. 2 N 황산으로 100℃에서 4시간 반응시킨 후 이 가수분해물을 1 N NaOH로 중화한 후 0.45 µm filter로 여과하여 시료로 사용하였다. TLC는 준비된 시료를 TLC plate에 4µl 점적한 후 전개용매 acetone : butanol : water (4:5:2)로 2번 전개시켰다. Spot 확인을 위해 0.5%(w/v) α-naphthol과 5%(v/v) H₂SO₄를 포함한 에탄올 용액에 담그고 건조시킨 후 105℃ 오븐에서 10분간 발색시켰다.

㉡ 결과

분리균주에 의해 생성된 EPS의 구성 당을 확인하기 위하여 TLC를 분석한 결과, 분리균주에서 생성된 EPS의 경우 모두 표준 당으로 사용한 glucose와 같은 전개율로 1개의 spot을 나타내어 glucose로만 이루어진 homo 형의 EPS로 추정할 수 있었다.

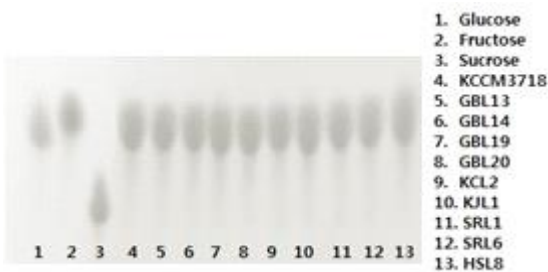


그림 2-3. 구성 당 확인

(나) 유산균의 생화학적 특성(당 이용능, catalase확인), 효소활성 확인

① 당 이용능

㉞ 재료 및 방법 : API 50 CHL을 이용하여 선별 유산균 3종(GBL19, GBL20, SRL6)의 당 이용능을 확인하였다.

㉟ 결과

표 2-7. 유산균의 생화학적 특성(당 이용능)

당 대사물질	GBL19	GBL20	SRL6	당 대사물질	GBL19	GBL20	SRL6
control	-	-	-	D Xylose D-Xylose	+	+	+
Glycerol	-	-	-	L Xylose L-Xylose	-	-	-
Erythritol	-	-	-	Adonitol D-Adonitol	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	Methyl-BD-Xylopyr anosicle	-	-	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Galactose	+	+	+
Ribose D-ribose	+	+	+	D-Glucose	+	+	+

표 2-8. 유산균의 생화학적 특성(당 이용능)

당 대사물질	GBL19	GBL20	SRL6	당 대사물질	GBL19	GBL20	SRL6
D-Fructose	+	+	+	Sucrose	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Trehalose	+	+	+
L-Sorbose	-	-	-	Inulin	-	-	-
Rhamnose	-	-	+	Melezitose	-	-	+
Dulcitol	-	-	-	Rafinose	-	+	+
Inositol	-	-	-	Starch	-	-	-
Mannitol	-	-	+	Glycogen	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	Xylitol	-	-	-
α-Methyl-D-Mannoside	-	-	+	Gentibioside	+	-	+
α-Methyl-D-Glucoside	+	-	+	D Turanose	+	+	+
N-Acethyl-Glucosamine	+	+	+	D Lyxose	-	-	---
Amygdalin	+	+	+	D Tagatose	-	-	-
Arbutin	+	+	+	D Fucose	-	-	-
Esculin	+	+	+	L Fucose	-	-	-
Salicin	+	+	+	D Arabitol	-	-	+
Celiobioside	+	-	+	L Arabitol	-	-	-
Maltose	+	+	+	Gluconate	-	-	+
Lactose	-	-	+	2-keto-Gluconate	-	-	-
Melibiose	+	+	+	5-keto-Gluconate	-	-	+

② catalase test

㉠ 재료 및 방법

균체에 catalase 시약을 떨어뜨린 후 기포 생성을 확인하였다.

㉡ 결과

catalase test 결과 선별 유산균은 모두 기포를 형성하지 않는 catalase 음성균으로 나와 혐기성 미생물임을 확인하였다(표 2-8).

표 2-8. 유산균의 생화학적 특성(catalase확인)

Sample	Catalase test 결과
GBL19	-
GBL20	-
SRL6	-

③ 효소 활성

㉠ 재료 및 방법

API ZYM kit을 사용하여 선별 유산균의 효소 활성을 측정하였다. API ZYM kit은 19가지의 효소활성을 검사 할 수 있도록 구성되어 있으며, 스트립에 균액이 접종되면 균액이 기질을 가용화하여 배양기간 동안 생성된 대사산물이 보조시약의 첨가로 인해 나타나는 색의 변화로 검출된다. 유산균 및 효모를 액체배지에 배양한 후 배양액을 원심분리(9,500×g, 3 min, 4℃) 하여 균체를 회수하여 멸균수 5mL에 현탁하였다. 현탁액 300μl을 suspension medium 5mL에 넣어 5~6McFarland Standard로 탁도를 맞춰 준비한 후, API ZYM의 각 cuple에 65μl 접종하였다. 접종된 스트립은 유산균은 30℃, 효모는 25℃ 암실에서 4시간 배양한 후 표면 활성 증가와 용해를 돕기 위한 ZYM-A, ZYM-B 시약을 각각의 cuple에 한 방울씩 떨어뜨린 후 밝은 곳에서 약 5분간 반응시켜 색깔의 변화를 관찰하여 효소활성을 측정하였다. 색의 변화 정도에 따라 0~5까지의 값으로 표시할 수 있으며, 0은 음성 반응, 5는 최대 강도의 반응이고 3이상이면 양성으로 판정하였다.

㉡ 결과

Benzopyrene 등의 물질이 체내 유입시 발암물질로 전환하는 효소인 β-glucuronidase 효소에 대한 활성을 모든 균주가 가지고 있지 않아서 발암 유발의 잠재적 위험성이 없음을 입증하여 안전성을 확인하였다(표 2-9).

표 2-9. 유산균의 효소활성 확인

Enzyme	GBL19	GBL20	SRL6	당 대사물질	GBL19	GBL20	SRL6
Control	-	-	-	Acid phosphatase	-	-	-
Alkaline phosphatase	-	-	-	Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase	-	-	-
Esterase(C4)	-	-	+	α -Galactosidase	-	-	-
Esterase lipase(C8)	-	-	-	β -Galactosidase	-	-	-
Lipase(C14)	-	-	-	β -Glucuronidase	-	-	-
Leucine arylamidase	-	-	-	α -Glucosidase	+	-	-
Valine arylamidase	-	-	-	β -Glucosidase	-	+	+
Crystine arylamidase	-	-	-	N - A c e t y l - β -glucosaminidase	-	-	-
Trypsin	-	-	-	α -Mannosidase	-	-	-
α -Chymotrypsin	-	-	-	α -Fucosidase	-	-	-

(다) 유산균의 생육도 확인

① 재료 및 방법

선별 유산균 3종(GBL19, GBL20, SRL6)을 MRS 액체배지에서 연속 2회 계대배양한 후 1%씩 접종하여 30℃에서 24시간 정지배양하면서 일정시간마다 600nm에서 배양액의 흡광도를 측정하여 생육을 조사하였다.

② 결과

3종의 유산균의 생육을 조사한 결과 GBL19와 GBL20은 배양 8시간부터 생육이 급격히 증가하였으며, SRL6은 배양 4시간부터 생육이 급격히 증가한 후 배양 12시간부터는 정지기에 이른 것으로 나타났다.

(3) 과·채류 물리화학적 처리조건에 따른 성분 및 기능성 확인

(가) 전처리 조건에 따른 물리적 특성 확인

① 전처리 방법

㉠ 시료 선정 및 처리

예비 실험을 통해 선정된 양배추, 단호박, 토마토, 사과, 귤, 적포도를 6종의 과일·채소류로 선정하였고 전처리를 실시하였다. 먼저 양배추, 단호박은 30분간 찜기에 찌 후 휴롬 압착기로 분쇄하였고 토마토, 사과, 귤, 적포도는 껍질과 씨앗을 제거한 후 휴롬 압착기로 분쇄하였다.

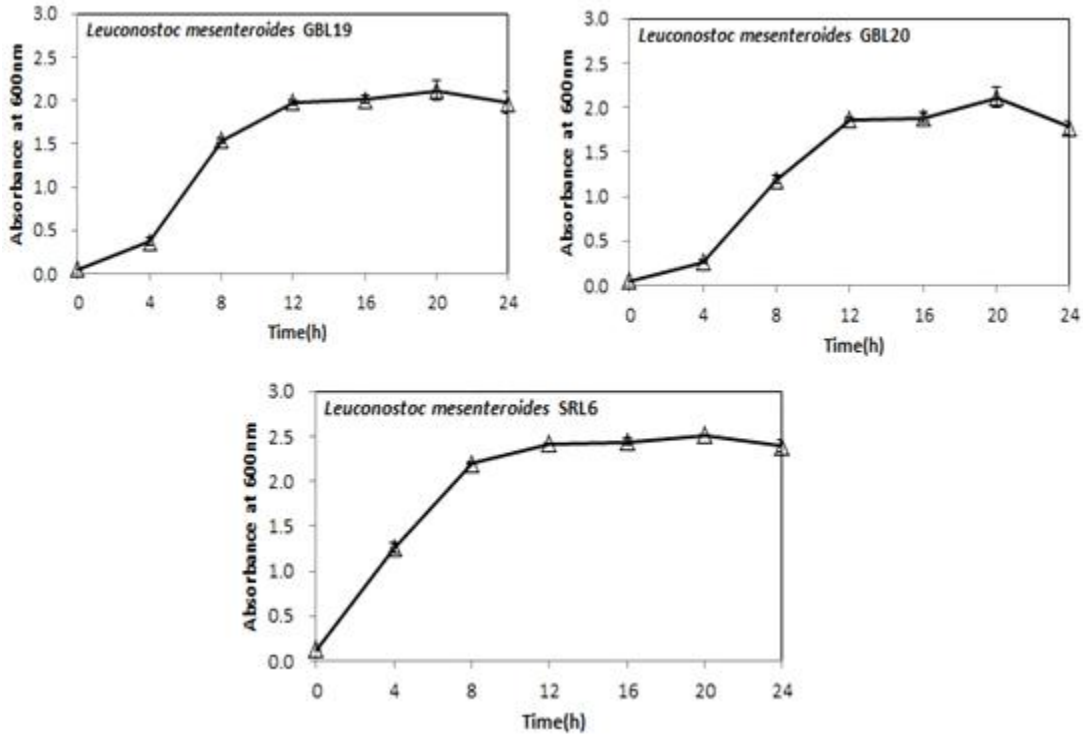


그림 2-4. MRS broth에서 젖산균의 성장곡선

㉠ 초음파 처리

6종의 과일·채소류 분쇄액을 증류수와 1:1로 혼합한 후 ultrasonicator (B8510E-DTH, Branson, USA)를 사용하여 30분과 1시간 동안 초음파처리를 한 후 시료로 사용하였다.

㉡ 구연산 처리

6종의 과일·채소류 분쇄액을 0.1 M 구연산 용액과 1.0 M 구연산 용액과 각각 1:1로 혼합한 후 NaOH 용액을 사용하여 pH 7.0으로 중화시킨 후 시료로 사용하였다.

㉢ 효소처리

6종의 과일·채소류 분쇄액을 증류수와 1:1로 혼합한 후 Viscozyme (Novozymes, Denmark)과 Ultraclear (Novozymes)를 사용하여 45°C에서 2시간동안 처리한 후 반응을 정지시켜 시료로 사용하였다.

② 입자 크기 분석

㉠ 실험 방법

입도 분석은 입도분석기(Helos/Rodos&Sucell, Sympatec GmbH, Germany)를 사용하여 0.5 ~ 3,500 μm 범위까지 입자크기를 측정하였다. 입도 측정값은 최소 입자($\times 10$, 10%), 중간 입자($\times 50$, 50%), 최대 입자($\times 90$, 90%)를 측정하였다.

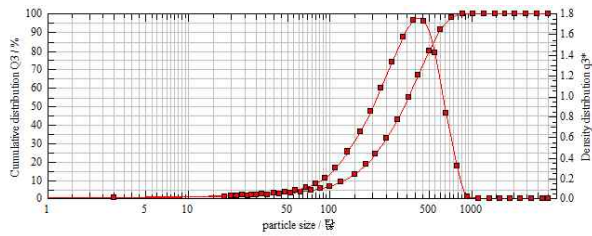
㉡ 결과

주스 레시피로 결정된 베리류 및 과·채류를 하나로씩으로 분쇄한 분쇄액의 입도, 색도, 점도를 측정하였다. 양배추의 입자 크기 분포는 아래 표 2-10과 그림 2-5와 같았다.

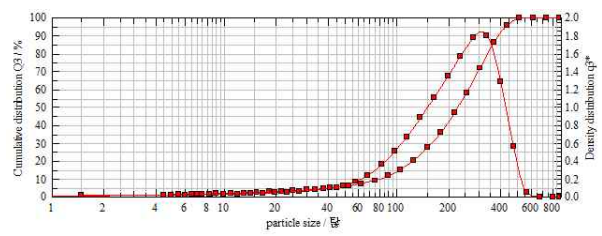
0.1M 구연산 처리에 의해서는 양배추의 입자 크기는 변화가 없었으며 초음파 처리와 다른 처리에 의해 입자 크기가 작아졌음을 확인하였다.

표 2-10. 양배추의 전처리 조건에 따른 입자 크기(μm)

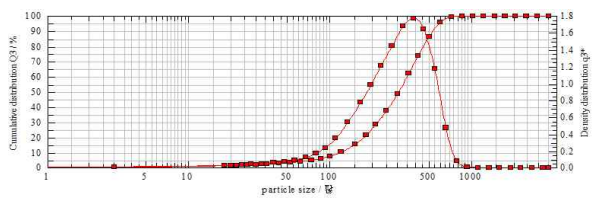
	x10	x50	x90
Control	127.91 \pm 3.02 ^a	335.45 \pm 0.47 ^a	592.02 \pm 1.33 ^a
Sonication	79.87 \pm 0.21 ^d	227.20 \pm 0.66 ^d	394.79 \pm 2.30 ^d
0.1 M CA	117.69 \pm 4.02 ^b	305.09 \pm 0.85 ^b	538.96 \pm 0.90 ^b
1 M CA	56.92 \pm 0.36 ^e	170.45 \pm 0.97 ^e	361.26 \pm 6.32 ^e
Enz - Viscozyme	47.79 \pm 0.78 ^f	156.46 \pm 1.03 ^f	345.14 \pm 4.36 ^f
Enz - Ultraclear	92.83 \pm 0.68 ^c	246.58 \pm 1.68 ^c	406.25 \pm 0.31 ^c



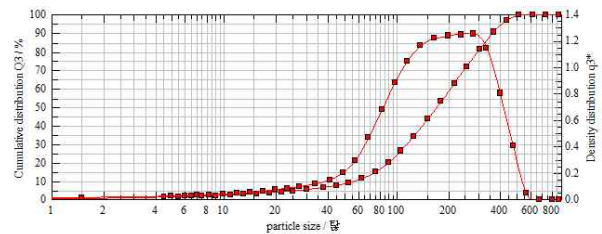
Control



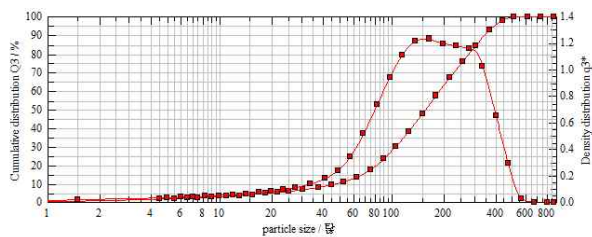
Sonication



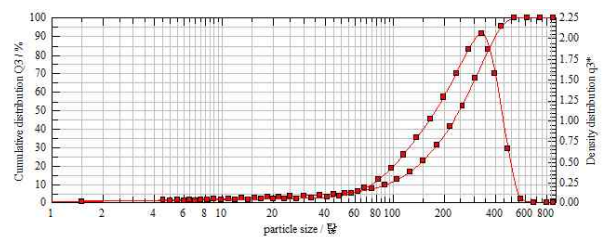
0.1M CA



1M CA



Enz - Viscozyme



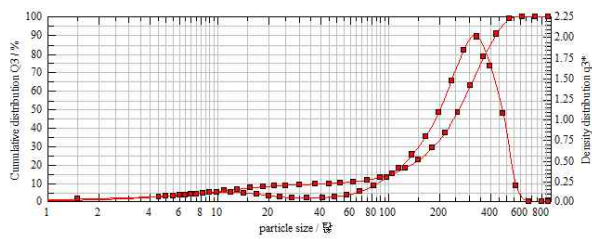
Enz - Ultraclear

그림 2-5. 양배추의 전처리 조건에 따른 입도 분포

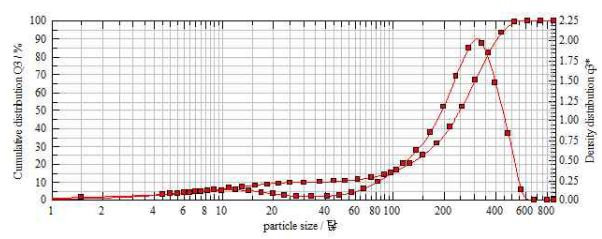
단호박의 입자 크기 분포는 아래 표와 그림과 같았다. 초음파 처리와 0.1M 구연산 처리에 의해서 단호박의 작은 입자들이 증가하였고 1M 구연산 처리와 효소처리에 의해서는 전체적으로 입자 크기가 감소하였다.

표 2-11. 단호박의 전처리 조건에 따른 입자 크기(μm)

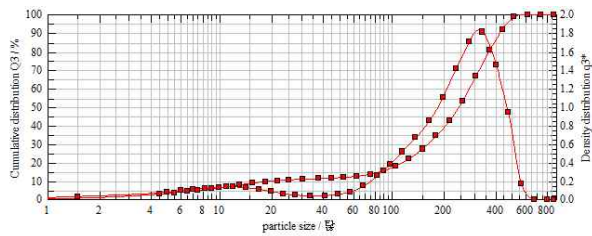
	x10	x50	x90
Control	51.94 \pm 2.36	261.72 \pm 2.36 ^a	431.40 \pm 8.36 ^a
Sonication	37.88 \pm 0.24	248.60 \pm 4.3 ^b	416.15 \pm 0.63 ^c
0.1 M CA	20.49 \pm 1.25	242.75 \pm 1.30 ^b	424.15 \pm 0.33 ^b
1 M CA	1.84 \pm 0.30	96.84 \pm 6.20 ^d	284.88 \pm 0.14 ^d
Enz - Viscozyme	8.68 \pm 1.30	89.65 \pm 0.34 ^e	163.47 \pm 7.30 ^e
Enz - Ultraclear	9.58 \pm 6.31	107.27 \pm 0.41 ^c	290.18 \pm 2.33 ^d



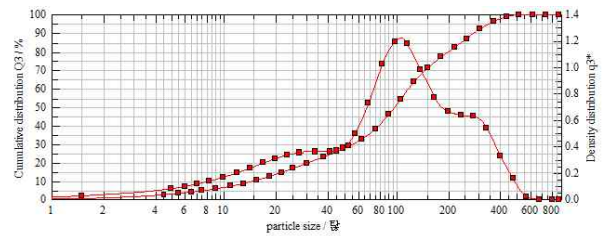
Control



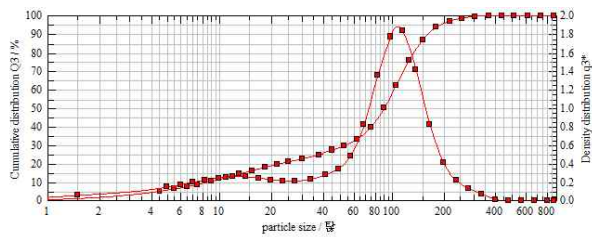
Sonication



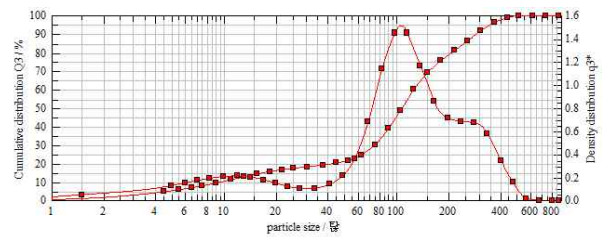
0.1M CA



1M CA



Enz - Viscozyme



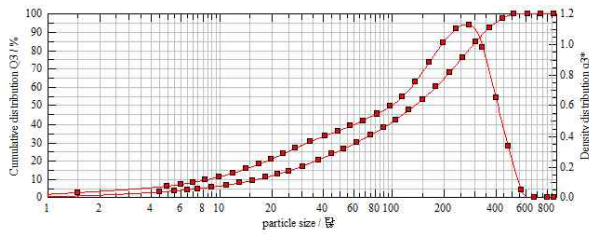
Enz - Ultraclear

그림 2-6. 단호박의 전처리 조건에 따른 입도 분포

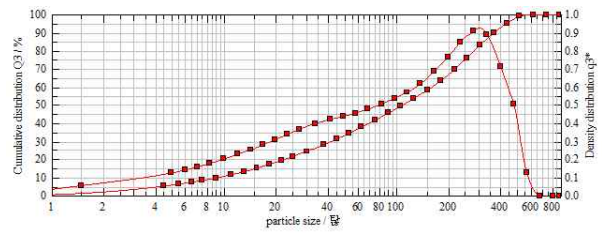
토마토의 입자 크기 분포는 아래 표 2-12와 그림 2-7과 같았다. 초음파 처리와 0.1M 구연산 처리, 효소 처리에 의해서 토마토의 작은 입자들이 증가하였고 1M 구연산 처리에 의해서는 전체적으로 입자 크기들이 증가하였으나 이는 작은 입자들이 분해된 것으로 추측되었다.

표 2-12. 토마토의 전처리 조건에 따른 입자 크기(μm)

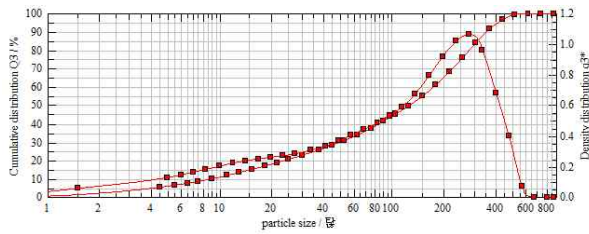
	x10	x50	x90
Control	17.11 \pm 0.32	137.39 \pm 2.30 ^d	347.14 \pm 1.22 ^f
Sonication	9.42 \pm 0.02	109.16 \pm 3.22 ^f	365.99 \pm 0.31 ^d
0.1 M CA	9.00 \pm 0.10	127.80 \pm 1.52 ^e	354.05 \pm 2.10 ^e
1 M CA	28.79 \pm 6.10	213.08 \pm 3.22 ^a	419.30 \pm 1.01 ^a
Enz - Viscozyme	5.75 \pm 2.00	142.04 \pm 3.12 ^c	390.65 \pm 2.03 ^c
Enz - Ultraclear	10.38 \pm 1.02	199.97 \pm 2.22 ^b	413.93 \pm 1.04 ^b



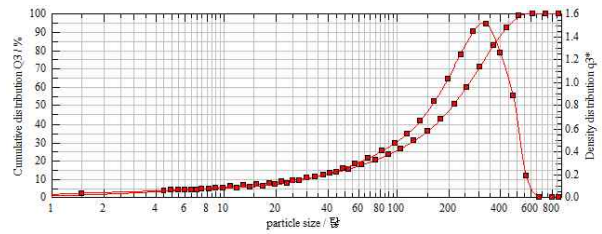
Control



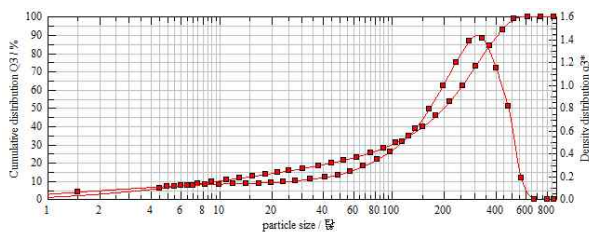
Sonicaiton



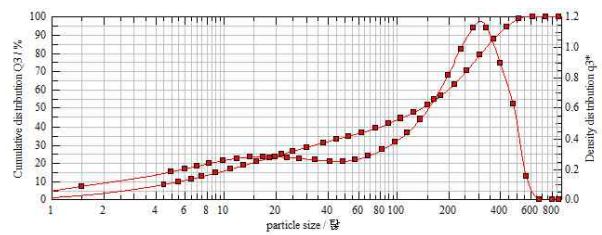
0.1M CA



1M CA



Enz - Viscozyme



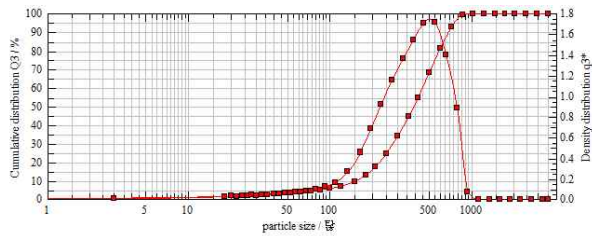
Enz - Ultraclear

그림 2-7. 토마토의 전처리 조건에 따른 입도 분포

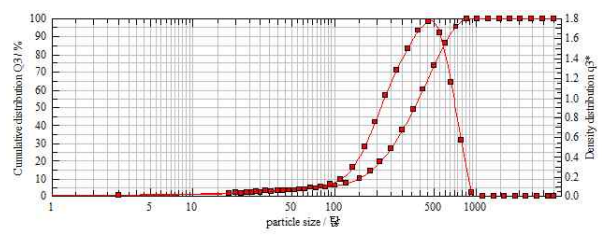
사과의 입자 크기 분포는 아래 표 2-13과 그림 2-8과 같았다. 사과는 초음파 처리와 구연산 처리에 의해서는 입자 크기의 변화는 거의 없었고 효소 처리에 의해서는 전체적으로 입자 크기가 감소하였다.

표 2-13. 사과의 전처리 조건에 따른 입자 크기(μm)

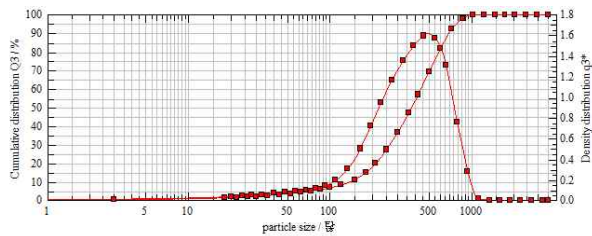
	x10	x50	x90
Control	152.96 \pm 0.36 ^b	390.90 \pm 0.31 ^b	691.75 \pm 1.02 ^b
Sonication	150.22 \pm 0.22 ^b	367.48 \pm 0.05 ^c	649.58 \pm 0.74 ^c
0.1 M CA	138.15 \pm 0.96 ^c	377.35 \pm 0.90 ^c	696.47 \pm 9.61 ^b
1 M CA	161.36 \pm 2.30 ^a	411.69 \pm 0.41 ^a	733.92 \pm 7.12 ^a
Enz - Viscozyme	55.00 \pm 0.22 ^d	214.50 \pm 0.36 ^d	339.09 \pm 6.32 ^d
Enz - Ultraclear	64.29 \pm 2.10 ^d	213.43 \pm 0.74 ^d	328.13 \pm 2.01 ^d



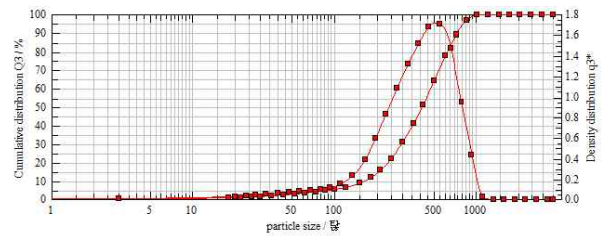
Control



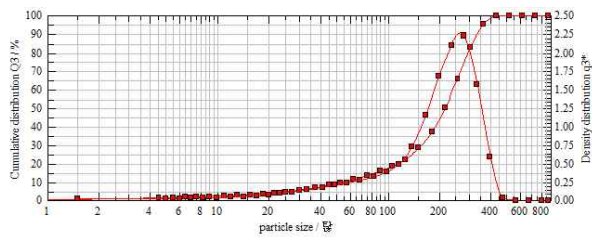
Sonicaiton



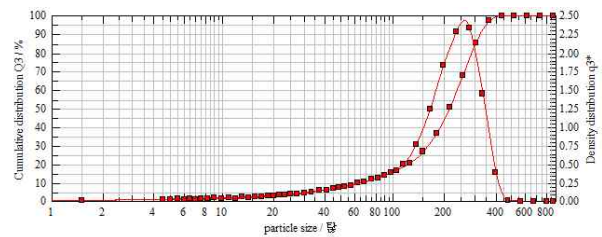
0.1M CA



1M CA



Enz - Viscozyme



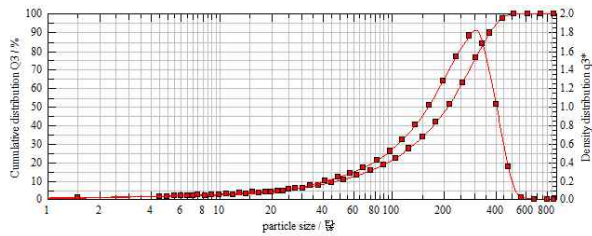
Enz - Ultraclear

그림 2-8. 사과의 전처리 조건에 따른 입도 분포

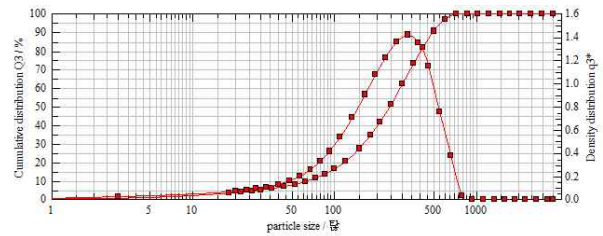
귤의 입자 크기 분포는 아래 표 2-14와 그림 2-9와 같았다. 귤은 초음파 처리에 의해 입자크기가 증가하였고 1M 구연산 처리에 의해서는 입자크기는 변하지 않았다. 0.1M 구연산 처리와 효소처리에 의해 입자크기가 감소하였다.

표 2-14. 꺾의 전처리 조건에 따른 입자 크기(μm)

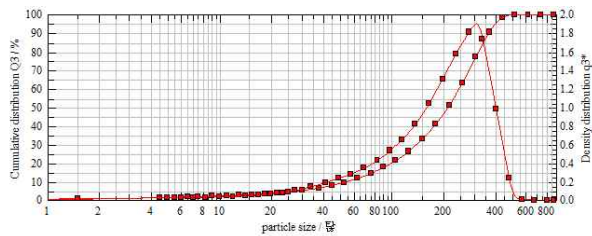
	x10	x50	x90
Control	49.33 \pm 0.23 ^b	210.21 \pm 0.36 ^b	369.84 \pm 0.63 ^c
Sonication	64.52 \pm 0.12 ^a	245.39 \pm 0.14 ^a	493.20 \pm 1.03 ^a
0.1 M CA	5.24 \pm 0.41 ^c	210.44 \pm 0.63 ^b	362.17 \pm 0.14 ^c
1 M CA	40.39 \pm 0.25 ^b	209.41 \pm 0.74 ^b	393.44 \pm 0.72 ^b
Enz - Viscozyme	7.46 \pm 0.03 ^c	76.69 \pm 0.36 ^c	261.54 \pm 0.32 ^d
Enz - Ultraclear	8.59 \pm 0.96 ^c	75.86 \pm 1.20 ^b	234.05 \pm 0.66 ^d



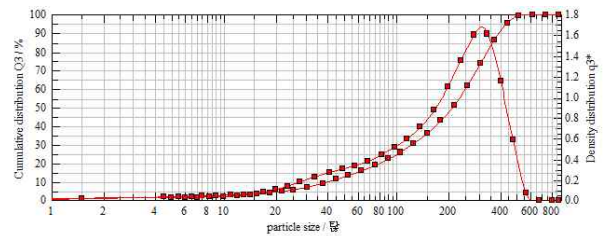
Control



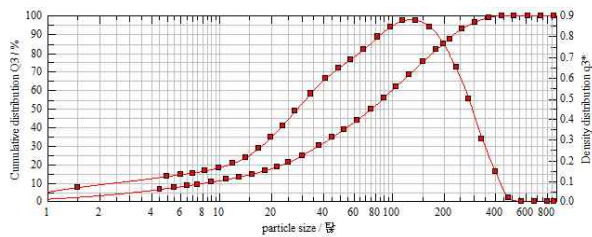
Sonication



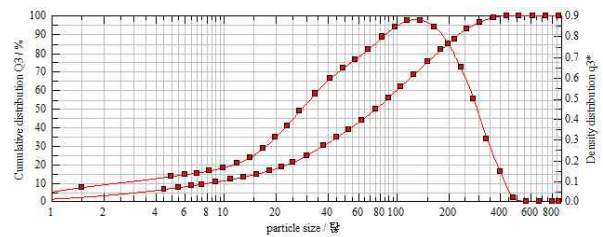
0.1M CA



1M CA



Enz - Viscozyme



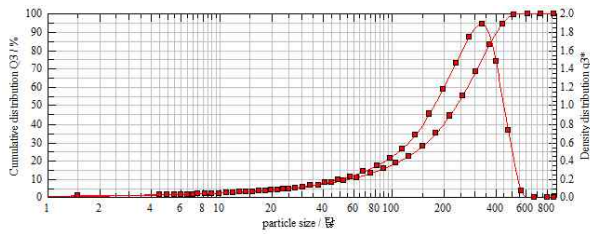
Enz - Ultraclear

그림 2-9. 꺾의 전처리 조건에 따른 입도 분포

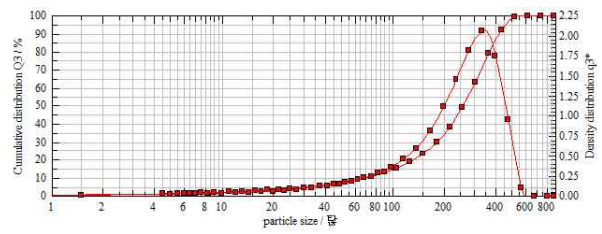
적포도의 입자 크기 분포는 아래 표 2-15와 그림 2-10과 같았다. 꺾은 초음파 처리와 구연산 처리에 의해서는 입자크기에 변화가 없었고 효소처리에 의해 전체적으로 입자크기가 감소하였다.

표 2-15. 적포도의 전처리 조건에 따른 입자 크기(μm)

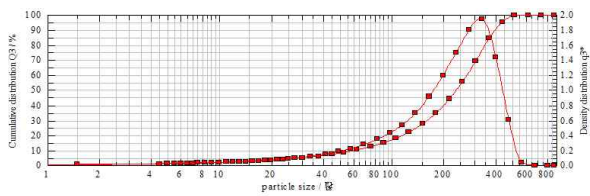
	x10	x50	x90
Control	58.70 \pm 1.25	237.56 \pm 0.31 ^c	409.45 \pm 0.63 ^c
Sonication	71.00 \pm 2.11	258.66 \pm 0.41 ^b	422.75 \pm 0.21 ^b
0.1 M CA	61.21 \pm 0.33	236.32 \pm 1.33 ^c	401.41 \pm 0.44 ^d
1 M CA	69.05 \pm 0.41	263.21 \pm 0.41 ^a	432.60 \pm 0.74 ^a
Enz - Viscozyme	16.83 \pm 0.26	112.75 \pm 0.03 ^d	288.08 \pm 0.63 ^f
Enz - Ultraclear	22.50 \pm 0.63	136.78 \pm 0.23 ^d	313.34 \pm 0.34 ^e



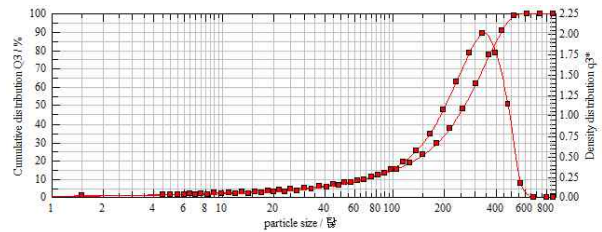
Control



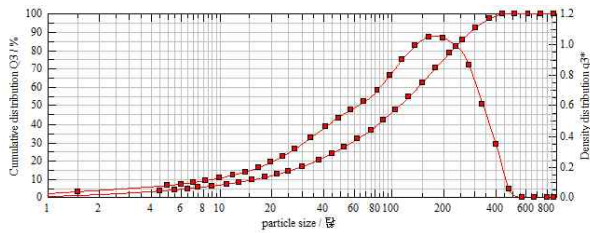
Sonication



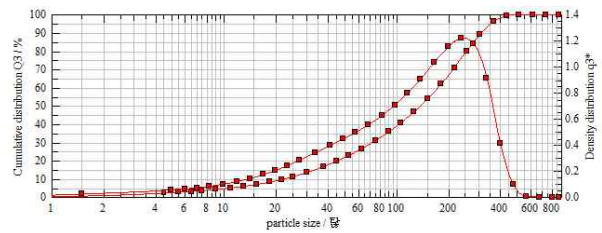
0.1M CA



1M CA



Enz - Viscozyme



Enz - Ultraclear

그림 2-10. 적포도의 전처리 조건에 따른 입도 분포

③ 색도 및 점도 분석

㉞ 실험 방법

색도는 Spectrocolorimeter(CM-5, Minolta, Japan)를 사용하여 측정하였다. 시료를 cell에 넣어 밝은 정도를 나타내는 L값(Lightness), 붉은색의 정도를 나타내는 a값(redness) 및 노란색의 정도를 나타내는 b값(yellowness)으로 나타내었고, 점도는 Viscometer (brookfield, LV DV II, USA) 이용하여 샘플의 특성에 따라 아래의 표 2-16과 같은 조건으로 측정하였

으며 spindle이 돌기 시작한 후 5분 정도 되는 순간의 점도를 cP(centi poise)단위로 읽었다.

표 2-16. 6종의 과일채소류의 점도 측정 조건

Sample	Conditions	
	Spindle	rpm
Apple	ULA	1
Tomato	LV63	150
Mandarin	LV63	50
Red grape	LV63	5
Cabbage	LV63	150
Sweet-pumpkin	LV63	200

⊕ 결과

양배추의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-17에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 45.14를 나타냈고 0.1 M CA처리군이 가장 높은 명도 값을 보였고 나머지 시료들은 무처리군보다 낮은 색도 값을 나타냈다. 적색도인 a값에서는 모두 -값을 보였는데 그 중 효소처리군(viscozyme과 ultra clear)들이 나머지 시료보다 조금 더 높은 값을 보였고 황색도인 b값은 sonication과 0.1 M CA처리군이 제외한 시료들은 높은 황색도 값을 나타냈다.

양배추의 점도는 무처리 군에서 1439.70 cP 값을 나타냈는데 처리를 한 시료들의 점도가 감소 됨을 알 수 있었는데 그 중 ultraclear가 30.99 cP로 가장 낮은 점도 값을 보인 것으로 보아 효소처리로 인해 양배추 내의 식이섬유가 많이 분해됨을 알 수 있었다

표 2-17. 양배추의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	45.14±1.16 ^a	-2.18±0.05 ^d	6.82±1.18	1439.70±33.93 ^a	6.00±0.14 ^b
Sonication	43.23±0.28 ^d	-2.48±0.03 ^e	3.49±0.15	143.97±67.87 ^c	0.60±0.28 ^c
0.1 M CA	46.60±3.40 ^c	-2.09±0.33 ^c	3.61±2.58	49.99±2.82 ^d	0.20±0.00 ^d
1 M CA	44.26±0.80 ^{cd}	-2.10±0.13 ^c	6.86±0.25	227.95±152.71 ^b	0.95±0.64 ^c
Enz - Viscozyme	44.84±0.35 ^b	-1.95±0.05 ^b	6.03±0.14	248.43±3.22 ^b	10.35±1.34 ^a
Enz - Ultraclear	44.33±0.92 ^{cd}	-0.99±0.11 ^a	6.28±0.57	30.99±9.90 ^d	0.15±0.07 ^d

단호박의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-18에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 47.76을 나타냈고 sonication과 1 M CA처리군이 무처리군보다 낮은 색도 값을 나타냈지만 0.1 M CA, 효소처리군(viscozyme과 ultraclear)이 높은 명도 값을 보였다. 적색도인 a값에서는 무처리군 보다 산처리군(0.1 M CA와 1 M CA)이 증가 됨을 알 수 있었다. 단호박의 점도는 무처리 군에서 148.77 cP 값을 나타냈는데 처리를 한 시료들의 점도가 감소 됨을 알 수 있었다.

표 2-18. 단호박의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	47.76±0.52 ^d	3.25±0.23 ^b	34.01±0.71 ^a	148.77±6.79 ^a	12.4±0.57
Sonication	46.34±0.22 ^d	1.18±0.06 ^d	32.01±0.71 ^b	62.99±4.24 ^c	5.25±0.35
0.1 M CA	49.97±1.75 ^a	4.38±0.44 ^a	35.06±1.54 ^a	82.78±1.70 ^b	6.90±0.14
1 M CA	46.93±0.22 ^d	4.80±0.13 ^a	32.97±0.53 ^b	73.79±5.93 ^{bc}	5.95±0.21
Enz - Viscozyme	47.89±0.06 ^c	3.41±0.33 ^b	32.05±0.98 ^b	55.58±7.34 ^c	7.55±4.74
Enz - Ultraclear	48.92±0.48 ^b	2.78±0.17 ^c	32.95±0.50 ^b	52.19±4.24 ^c	4.35±0.35

토마토의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-19에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 31.71을 나타냈고 sonication과 ultra clear 효소처리가 무처리 값에 비해 높은 명도 값을 보였고, 적색도인 a값에서는 무처리군보다 sonication과 0.1 M CA처리군이 증가 됨을 알 수 있었다. 토마토의 점도는 무처리 군에서 12.00 cP 값을 나타냈는데 처리를 한 시료들의 점도가 감소 됨을 알 수 있었다.

표 2-19. 토마토의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	31.71±0.45 ^b	4.80±0.23 ^b	5.70±0.17 ^b	12.00±0.00 ^a	2.00±0.00 ^a
Sonication	32.71±0.36 ^a	5.58±0.54 ^a	6.01±0.47 ^a	11.70±0.42 ^a	1.95±0.07 ^a
0.1 M CA	31.99±0.18 ^b	5.78±0.05 ^a	6.06±0.25 ^a	5.4±5.94 ^b	1.65±0.07 ^b
1 M CA	30.03±0.31 ^c	3.88±0.23 ^c	3.67±0.33 ^c	9.6±0.00 ^b	1.6±0.00 ^b
Enz - Viscozyme	30.41±0.10 ^c	3.96±0.04 ^c	3.04±0.01 ^c	6.0±1.70 ^b	1.0±0.28 ^b
Enz - Ultraclear	32.12±0.60 ^b	4.22±0.52 ^c	3.32±0.38 ^c	6.0±0.00 ^b	1.0±0.00 ^b

사과의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-20에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 31.37을 나타냈고 0.1 M CA와 1 M CA가 무처리 값에 비해 낮은 명도 값을 보였고, 적색도인 a값에서는 무처리군보다 처리군들이 모두 낮았지만 sonication과 1 M CA처리군이 각각 2.80과 2.36으로 높았다. 사과의 점도는 무처리 군에서 15.60 cP 값을 나타냈는데 처리를 한 시료들의 점도가 증가 됨을 알 수 있었다.

표 2-20. 사과의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	31.37±0.51 ^b	3.58±0.95 ^a	7.77±0.88 ^b	15.60±1.70 ^d	0.65±0.07 ^c
Sonication	31.46±0.05 ^a	2.80±0.07 ^b	7.94±0.09 ^a	21.60±6.78 ^b	0.90±0.28 ^b
0.1 M CA	30.99±0.14 ^c	1.97±0.10 ^d	7.03±0.23 ^c	20.36±0.21 ^b	0.84±0.14 ^b
1 M CA	29.99±0.23 ^d	2.36±0.16 ^c	6.86±0.25 ^c	19.2±0.00 ^c	0.80±0.00 ^b
Enz - Viscozyme	31.02±0.10 ^c	1.87±0.12 ^d	7.63±0.04 ^b	18.00±1.70 ^c	0.75±0.07 ^c
Enz - Ultraclear	31.06±0.20 ^c	1.87±0.17 ^d	7.05±0.32 ^c	22.80±1.69 ^a	0.95±0.07 ^a

귤의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-21에 나타냈다. 우선, 명도인 L값은 무처리에서 41.36을 나타냈고 1 M CA 처리군에서 37.87, 효소처리(viscozyme)에서 38.10로 낮아지는 것을 알 수 있었다. 적색도인 a값은 viscozyme의 효소 처리군에서 6.31로 높은 값을 나타냈고 황색도인 b값은 1 M CA 처리군이 19.77로 낮은 값을 보였고 L값과 유사한 경향을 보였다. 귤의 점도는 무처리 군에서 viscosity가 28.79 cP를 나타냈고, viscozyme 효소처리군이 점도가 무처리군과 같았고, sonication 처리군은 무처리군에 비해 증가됨을 알 수 있었다. 다른 처리군은 무처리 군보다 낮아지는 것을 알 수 있었다.

표 2-21. 귤의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	41.36±0.16 ^b	5.97±0.31 ^b	22.47±0.37 ^b	28.79±4.24 ^b	4.80±0.71 ^b
Sonication	40.81±0.60 ^c	4.64±0.26 ^d	21.01±0.76 ^{cd}	36.89±0.42 ^a	6.15±0.07 ^a
0.1 M CA	40.80±0.52 ^c	5.30±0.15 ^{cd}	21.59±0.41 ^c	15.3±1.27 ^c	2.55±0.21 ^d
1 M CA	37.87±0.73 ^d	5.77±0.67 ^{bc}	19.77±1.14 ^d	0.01±0.00 ^d	6.58±1.20 ^a
Enz - Viscozyme	38.10±0.87 ^d	6.31±0.74 ^a	20.12±0.87 ^{cd}	28.50±9.75 ^b	4.75±1.63 ^{bc}
Enz - Ultraclear	41.84±0.70 ^a	4.68±0.4 ^{d1}	23.24±1.22 ^a	15.61±1.71 ^c	2.6±0.28 ^d

적포도의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-22에 나타냈다. 우선, 명도인 L값은 무처리군이 29.73을 나타냈고 sonication과 ultra clear 효소처리 군에서 높은 명도 값을 보였고, 적색도인 a값의 무처리는 7.67을 나타냈고 꺾에서와 마찬가지로 1 M CA처리군에서 높은 값을 보였다. 황색도인 b값에서는 1 M CA가 0.94로 가장 높은 값을 보였고, sonication 처리군에서 -0.29로 가장 낮은 황색도 값을 나타냈다. 적포도의 점도는 무처리 군에서 12.80 cP 값을 나타냈는데 viscozyme 효소처리 군이 무처리와 같았지만 이를 제외한 다른 처리 군들은 무처리 군보다 점도가 높아 짐을 알 수 있었다.

표 2-22. 적포도의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	29.73±0.12 ^b	7.67±0.56 ^c	-0.69±0.09 ^d	12.80±1.13	1.6±0.14
Sonication	30.46±0.12 ^a	6.47±0.18 ^e	-0.29±0.07 ^d	14.4±1.13	1.80±0.14
0.1 M CA	29.25±0.04 ^c	8.39±0.14 ^b	0.35±0.07 ^{bc}	17.2±0.57	2.15±0.07
1 M CA	27.15±0.19 ^e	9.45±0.29 ^a	0.94±0.12 ^a	15.6±0.57	1.95±0.07
Enz - Viscozyme	28.01±0.20 ^d	7.23±0.07 ^d	0.53±0.84 ^b	12.4±1.70	1.55±0.21
Enz - Ultraclear	30.68±0.27 ^a	5.31±0.33 ^f	0.35±0.23 ^c	18.8±0.57	2.35±0.07

복분자와 아로니아의 색도와 점도를 아래 표 2-23에 나타냈다. 우선, 복분자와 아로니아의 명도인 L값의 각각 78.92와 68.92, 적색도인 a 값은 각각 47.13과 27.13을 황색도인 b값은 10.09와 9.06을 보였다. 점도는 복분자가 11.80 cP, 아로니아는 8.07 cP를 각각 나타냈다.

표 2-23. 복분자와 아로니아의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
black raspberry	78.92±0.89 [*]	47.13±1.87 [*]	10.09±0.56 [*]	11.80±0.83 [*]	1.4±0.12 [*]
black chokeberry	68.92±0.89	27.13±0.74	9.06±0.48	8.07±0.01	0.75±0.00

* $p < 0.05$

(나) 전처리 조건에 따른 식이섬유 및 기능성 확인

① 수용성 식이섬유(SDF) 및 불용성 식이섬유(IDF) 함량

㉠ 실험 방법

수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유는 AOAC 방법에 따라 다음과 같이 분석하였다. 시료에 α -amylase, protease, amyloglucosidase를 순서대로 처리한 후 에탄올에 탈수시킨 후 건조 무게를 측정하여 수용성 식이섬유를 계산하였고 효소 가수분해물을 glass filter에 바로 여과하여 무게를 측정한 것을 불용성식이섬유로 계산하였다. 총 식이섬유는 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유의 합으로 계산하여 나타냈다.

㉡ 결과

전처리 조건에 따른 식이섬유의 변화를 알아보기 위해 수용성 식이섬유 및 불용성 식이섬유를 측정하였고 그 결과는 아래 표와 같았다.

전처리된 양배추의 SDF와 IDF값을 아래 표 2-24에 나타내었다. 대체적으로 IDF가 SDF보다 높은 값을 나타내었다. 초음파 처리에 의해 수용성 식이섬유 함량과 불용성 식이섬유 함량이 증가하여 총 식이섬유 함량이 1.5배 증가하여 식이섬유 함량을 증가시킬 수 있음을 알 수 있었다. 나머지 처리에 의해서는 식이섬유의 분해가 일어남을 알 수 있었다. 특히 0.1 M 구연산 처리에 의해서는 총 식이섬유 함량이 거의 유지되었으나 불용성 식이섬유는 증가하고 수용성 식이섬유는 감소하였고, 1 M 구연산 처리에 의해 분해가 가장 심하게 일어났음을 알 수 있었다.

표 2-24. 양배추의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
Control	9.69±0.40 ^b	16.90±0.28 ^c	26.59±0.68 ^b
Sonication	11.25±0.33 ^a	29.56±0.74 ^a	40.81±1.07 ^a
0.1 M CA	5.53±0.74 ^c	20.20±1.06 ^b	25.73±1.80 ^b
1 M CA	3.63±0.54 ^d	2.40±0.42 ^e	6.03±0.97 ^d
Enz - Viscozyme	6.45±0.61 ^c	8.45±0.62 ^d	14.9±1.23 ^c
Enz - Ultraclear	5.76±0.91 ^c	7.58±0.69 ^d	13.34±1.61 ^c

전처리된 단호박의 SDF와 IDF값을 아래 표 2-25에 나타내었다. 단호박은 초음파 처리에 의해 총 식이섬유 함량이 약간 증가하였고 0.1M 구연산 처리시에도 총 식이섬유함량이 크게 달라지지 않았으며 효소처리에 의해 분해되는 정도도 양배추에 비해 매우 적었다. 1M 구연산 처리 결과는 양배추에서와 같이 가장 분해가 심하게 일어났음을 알 수 있었다.

표 2-25. 단호박의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
Control	5.29±0.70 ^a	11.58±0.57 ^a	16.87±1.27 ^a
Sonication	5.04±0.25 ^a	12.83±1.12 ^a	17.87±0.88 ^a
0.1 M CA	4.07±0.47 ^b	10.94±1.17 ^{ab}	15.01±0.70 ^{ab}
1 M CA	2.57±0.64 ^c	4.80±0.28 ^c	7.37±0.36 ^d
Enz - Viscozyme	3.63±0.44 ^{bc}	8.66±0.60 ^b	12.29±1.04 ^c
Enz - Ultraclear	3.88±0.86 ^{bc}	8.95±1.18 ^b	12.83±2.04 ^c

토마토의 처리 결과는 아래 표 2-26과 같았다. 다른 시료에서와 같이 초음파 처리에 의해 총 식이섬유가 증가하였고 주로 불용성 식이섬유의 증가에 의한 것이었다. 토마토는 viscozyme 처리시 식이섬유함량의 감소가 적었고, ultraclear 처리에 의해 총 식이섬유함량은 약간 감소하였으나 수용성식이섬유 함량은 거의 유지되었다. 0.1 M 구연산 처리에 의해 총 식이섬유 함량은 감소하였으나 수용성식이섬유 함량은 약간 증가하고 불용성 식이섬유 함량만 감소하였다. 1 M 구연산 처리시 다른 시료에서와 같이 식이섬유의 큰 감소가 일어났으나 0.1 M 구연산 처리는 시간 조절에 의해 IDF 감소를 유도할 수 있을 것으로 생각하였다.

표 2-26. 토마토의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
Control	6.18±0.37 ^a	23.37±1.98 ^a	29.55±1.61 ^a
Sonication	5.98±0.88 ^a	26.18±2.80 ^a	32.16±3.68 ^a
0.1 M CA	6.51±0.55 ^a	12.86±0.98 ^c	19.37±1.53 ^c
1 M CA	2.64±0.42 ^c	2.79±0.21 ^d	5.43±0.63 ^d
Enz - Viscozyme	5.61±0.71 ^b	19.76±0.84 ^b	25.37±1.55 ^b
Enz - Ultraclear	5.65±0.43 ^b	15.65±0.50 ^{bc}	21.29±0.07 ^b

사과는 표 2-27과 같이 다른 과·채류와 달리 초음파처리와 Ultraclear 처리에 의해 총식이섬유 함량이 증가하였고, 0.1M 구연산 처리시 총식이섬유함량이 거의 유지되었다. 특히 초음파 처리에 의해서는 수용성 식이섬유 함량이 증가하였가. 1 M 구연산 처리와 Viscozyme 처리에 의해서는 총 식이섬유 함량이 감소하였다.

표 2-27. 사과 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
Control	4.69±0.37 ^b	5.99±0.48 ^c	10.67±0.85 ^b
Sonication	5.59±0.69 ^a	9.92±0.96 ^b	15.51±1.65 ^a
0.1 M CA	4.74±0.83 ^b	6.21±0.85 ^c	10.95±0.01 ^b
1 M CA	2.95±0.57 ^c	2.18±0.90 ^d	5.13±1.47 ^c
Enz - Viscozyme	2.30±0.35 ^c	4.58±0.62 ^d	6.88±0.96 ^c
Enz - Ultraclear	2.09±0.34 ^c	11.20±0.28 ^a	13.29±0.06 ^a

귤의 SDF와 IDF, TDF 값을 아래 표 2-28에 나타내었다. 귤은 다른 과·채류와는 다르게 SDF와 IDF가 서로 비슷한 정도로 함유되어 있었고 초음파나 효소 처리에 의해 식이섬유 함량의 증가가 일어나지 않았다. 또한 초음파 처리와, 0.1 M 구연산 처리에 의해 수용성 식이섬유 함량은 유지되고 불용성 식이섬유 함량만 감소하였다. 1 M 구연산 처리시 식이섬유 함량은 가장 크게 감소하였다.

표 2-28. 귤 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
Control	5.57±0.63 ^a	5.70±1.07 ^a	11.27±1.70 ^a
Sonication	5.66±0.92 ^a	5.16±0.33 ^a	10.82±1.25 ^a
0.1 M CA	5.92±1.05 ^a	3.58±0.42 ^b	9.50±1.47 ^{ab}
1 M CA	3.38±0.42 ^b	0.62±0.28 ^c	4.00±0.71 ^c
Enz - Viscozyme	3.13±0.95 ^b	3.96±0.86 ^b	7.09±1.8 ^b
Enz - Ultraclear	3.47±0.49 ^b	3.24±0.16 ^b	6.71±0.65 ^b

적포도의 SDF, IDF, TDF 결과는 아래 표 2-29와 같았다. 적포도는 귤과 유사하게 SDF와 IDF 함량이 비슷한 편이며 초음파, 산처리, 효소처리에 의해 총 식이섬유 함량이 감소하였다. 0.1M 구연산 처리에 의해서는 수용성 식이섬유보다 불용성 식이섬유의 감소가 일어났다. 1M 구연산 처리를 제외하고는 모두 거의 비슷한 총식이섬유 함량을 유지하였다.

표 2-29. 적포도의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
Control	4.06±1.02 ^{ab}	5.63±0.92 ^a	9.69±0.10 ^a
Sonication	3.33±0.27 ^b	4.05±0.28 ^b	7.38±0.01 ^b
0.1 M CA	4.40±0.42 ^a	3.41±0.55 ^b	7.81±0.98 ^b
1 M CA	2.29±0.30 ^c	0.47±0.26 ^c	2.76±0.56 ^c
Enz - Viscozyme	2.40±0.54 ^c	4.61±0.43 ^b	7.01±0.97 ^b
Enz - Ultraclear	2.02±0.68 ^c	4.10±0.35 ^b	6.12±0.33 ^b

복분자와 아로니아는 모두 수용성 식이섬유보다 불용성 식이섬유 함량이 다 많이 함유되어 있었고 두 베리류의 총 식이섬유 함량에는 약간 차이가 있었으나 수용성 식이섬유 함량은 유사하였다(표 2-30).

표 2-30. 복분자 및 아로니아의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)
black raspberry	5.10±0.45	35.48±1.85*	40.58±1.40*
black chokeberry	5.84±0.26*	25.96±1.99	31.8±2.25

* $p < 0.05$

② 전처리된 과·채류의 기능성 확인

㉠ 실험 방법

팽윤력과 수분 보유력은 식이섬유가 장내에서 수분을 흡수하여 배변 양을 증가시키고 부드럽게 하는 효과를 예측하기 위해 측정하였고, 실험 방법은 Robertson 등(2000)의 방법으로 다음과 같았다. 팽윤력은 시료 200 mg을 증류수 10 mL에 분산시켜 실온에서 18시간 정치시킨 후 부피를 측정하여 아래 식으로 계산하였다.

$$\text{Swelling (mL/g)} = \text{Volume occupied by sample} / \text{Original sample dry weight}$$

수분보유력은 Robertson 등(2000)의 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 시료를 30 mL 증류수에 분산시켜 실온에서 18시간 동안 수화시킨 후 원심분리하여 침전물의 무게를 측정하여 아래 식으로 계산하였다.

$$\text{WRC (g/g)} = (\text{residue fresh weight} - \text{residue dry weight}) / \text{residue dry weight}$$

유지결합력과 당 흡수능은 식이섬유가 장내용물 중 유지와 당을 흡착하여 배설시키는 기능을 알아보기 위해 측정하였고 실험 방법은 다음과 같았다. 유지결합력은 Zhu 등(2014)의

방법으로 시료를 오일에 넣어 25°C에서 1시간 분산시킨 후 원심분리하여 침전물을 nylon mesh에 회수하여 무게를 측정하고 아래식으로 계산하였다.

$$\text{OBC (g/g)} = (\text{Pellet weight} - \text{Original dry weight}) / \text{Original dry weight}$$

당흡착능을 Peerajit 등(2012)의 방법으로 시료를 포도당 용액에 분산시킨 후 37°C에서 6시간 반응시켜 원심분리한 후 상등액의 포도당양을 측정하여 아래식으로 계산하였다.

$$\text{glucose adsorbed (mmol/g)} = \{(C_i - C_s) / W_s\} \times V_i$$

C_i = glucose concentration of original soln (mmol/L)

C_s = glucose concentration of when the adsorption reached equilibrium (mmol/L)

W_s = weight of DF (g)

V_i = volume fo glucose solution (mL)

㉔ 결과

전처리된 과·채류의 식이섬유 기능성을 확인하기 위해 팽윤력, 수분 보유력, 유지 결합력, 당 흡수능을 측정하였고 그 결과는 다음과 같았다.

양배추의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-31에 나타냈다. 적포도의 swelling은 무처리군이 17.04 mL/g을 나타냈지만 viscozyme 처리군(17.16 g/g)이 가장 크게 swelling 되었고, 1 M CA처리군은 4.37 mL/g로 가장 낮은 값을 보였다. 양배추의 수분유지력은 굴과 마찬가지로 1 M CA 처리군과 2개의 효소처리군이 나머지 시료들에 약 10배 높아 진다는 것을 알 수 있었고, 오일 결합력은 sonication 처리군이 5.20 g/g으로 무처리군보다 높은 오일결합력을 보임을 알 수 있었다.

표 2-31. 양배추의 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Control	17.04±0.14 ^b	0.03±0.02	2.63±0.01 ^b	1506.02±1.14 ^b
Sonication	24.06±0.85 ^a	0.12±0.01	5.20±0.00 ^a	1767.19±6.04 ^a
0.1 M CA	13.64±0.39 ^c	0.02±0.20	3.03±0.16 ^b	1405.47±8.36 ^b
1 M CA	4.37±0.26 ^d	0.22±0.36	0.71±0.05 ^c	1703.47±1.09 ^a
Enz - Viscozyme	17.16±0.15 ^b	0.27±0.04	2.11±0.09 ^b	1162.50±7.96 ^c
Enz - Ultraclear	14.82±0.63 ^c	0.29±0.65	1.63±0.07 ^{bc}	1068.10±8.27 ^c

단호박의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-32에 나타냈다. 단호박의 swelling은 무처리군이 5.59 mL/g으로 전처리한 시료들보다 크게 swelling 됨을 알 수 있었다. 단호박의 수분유지력은 무처리군과 sonication 처리군에 비해 크게 증가 됨을 알 수 있었다.

고, 오일 결합력은 sonication 처리군이 2.98 g/g으로 1 M CA처리군이 가장 적게 오일결합력을 보였고 sonication 처리군이 가장 크게 오일결합을 한다는 것을 알 수 있었다.

표 2-32. 단호박의 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Control	5.59±1.20 ^a	0.10±0.04	1.42±0.20 ^b	1617.58±5.82 ^a
Sonication	3.54±0.47 ^b	0.10±0.10	2.98±0.02 ^a	1451.78±5.95 ^b
0.1 M CA	4.55±1.01 ^a	0.33±0.25	1.23±3.02 ^b	1597.99±8.26 ^a
1 M CA	1.18±0.63 ^c	0.37±2.59	0.95±1.27 ^b	660.52±8.69 ^c
Enz - Viscozyme	3.54±0.95 ^b	0.34±0.68	1.14±0.36 ^b	1477.04±7.96 ^b
Enz - Ultraclear	3.49±1.64 ^b	0.46±0.24	1.26±1.07 ^b	1638.6±10.35 ^a

토마토의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-33에 나타냈다. 토마토의 swelling은 무처리군이 37.50 mL/g을 나타냈지만 전처리를 한 시료들은 모두 감소함을 알 수 있었는데 특히 1 M CA처리군이 9.60으로 가장 크게 감소하였다.

토마토의 오일결합력은 사과와 마찬가지로 무처리군과 sonication처리군보다 이를 제외한 나머지 시료들이 오일 결합력이 낮았는데 swelling과 마찬가지로 1 M CA가 가장 적게 감소하였다. 수분유지력은 viscozyme 처리군이 1.1 g/g 으로 가장 높다는 것을 알 수 있었다.

표 2-33. 토마토의 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Control	37.5±0.96 ^a	0.11±0.25 ^c	3.42±0.15 ^b	1422.95±9.23 ^b
Sonication	29.64±0.34 ^b	0.14±0.03 ^c	4.35±0.31 ^a	1312.22±2.21 ^b
0.1 M CA	17.76±1.09 ^c	0.31±0.16 ^c	1.75±0.54 ^d	1656.98±10.27 ^a
1 M CA	9.6±0.16 ^d	0.78±0.08 ^b	0.6±0.32 ^e	1759.53±9.88 ^a
Enz - Viscozyme	26.33±1.64 ^b	1.01±0.54 ^a	2.62±0.68 ^c	1188.74±9.45 ^c
Enz - Ultraclear	25.05±1.06 ^b	0.22±0.32 ^c	2.81±0.34 ^c	1420.47±8.57 ^b

사과의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-34에 나타냈다. 사과의 swelling은 무처리군이 4.24 mL/g을 나타냈지만 전처리를 한 시료들은 모두 증가함을 알 수 있었는데 특히 효소처리군(viscozyme과 ultra clear)이 가장 높게 증가됨을 알 수 있었다. 사과의 water retention capacity는 swelling과 마찬가지로 효소처리군(viscozyme과 ultraclear)

1.03과 1.06 g/g으로 높은 값을 보였다. 오일결합력은 무처리군과 sonication처리군보다 이를 제외한 나머지 시료들이 오일 결합력이 낮음을 알 수 있었다.

표 2-34. 사과 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Control	4.24±0.21 ^d	0.10±0.12 ^d	2.19±0.10 ^b	1777.49±5.45 ^a
Sonication	8.75±1.03 ^c	0.08±0.01 ^d	2.88±0.21 ^a	997.51±1.18 ^c
0.1 M CA	4.96±0.68 ^d	0.41±0.03 ^c	1.93±0.39 ^b	1757.24±5.62 ^a
1 M CA	4.26±1.29 ^d	0.85±0.06 ^b	0.65±0.34 ^c	1117.82±10.02 ^c
Enz - Viscozyme	15.98±0.87 ^b	1.03±0.07 ^a	1.00±0.36 ^c	1022.89±7.98 ^c
Enz - Ultraclear	18.53±1.65 ^a	1.06±0.05 ^a	0.67±0.04 ^c	1347±9.15 ^b

귤의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-35에 나타냈다. 귤의 swelling은 무처리군이 3.53 mL/g을 나타냈지만 사과와 마찬가지로 효소처리 시료가 다른 시료에 비해 높은 값을 나타냈다. 귤의 오일결합력은 0.1 M CA 처리군을 제외한 나머지 시료들이 크게 감소함을 알 수 있었고 수분유지력은 1 M CA 처리군이 나머지 시료들에 비해 가장 크게 높아 진다는 것을 알 수 있었다.

표 2-35. 귤 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Control	3.53±0.21 ^b	0.30±0.63 ^b	1.48±0.01 ^a	1762.40±6.44 ^a
Sonication	1.18±0.11 ^c	0.27±0.34 ^b	1.72±0.36 ^a	968.53±4.29 ^c
0.1 M CA	0.02±0.01 ^d	0.52±0.57 ^b	1.41±0.02 ^a	1153.85±10.30 ^b
1 M CA	0.00±0.00 ^d	1.45±0.78 ^a	0.98±0.07 ^b	1555.12±8.26 ^{ab}
Enz - Viscozyme	3.55±0.03 ^b	0.55±0.65 ^b	0.23±0.08 ^c	1214.98±5.89 ^b
Enz - Ultraclear	5.88±0.05 ^a	0.45±0.63 ^b	0.5±0.06 ^{bc}	1318.79±7.25 ^{ab}

적포도의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-36에 나타냈다. 적포도의 swelling은 무처리군이 5.65 mL/g을 나타냈지만 sonication 처리군(14.01 g/g)을 제외한 시료에서 모두 적은 값을 보였다. 적포도의 수분유지력은 귤과 마찬가지로 1 M CA 처리군이 나머지 시료들에 비해 가장 크게 높아 진다는 것을 알 수 있었다.

표 2-36. 적포도의 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Control	5.65±0.01 ^b	0.50±0.02	1.49±0.02 ^a	1784.53±9.36 ^a
Sonication	14.01±0.10 ^a	0.45±0.14	0.27±0.02 ^c	1128.64±20.20 ^b
0.1 M CA	4.17±0.02 ^b	0.37±0.06	0.02±0.02 ^c	1014.64±10.03 ^b
1 M CA	2.26±0.07 ^b	0.75±0.02	1.01±0.01 ^b	1203.18±12.02 ^b
Enz - Viscozyme	4.55±0.01 ^b	0.47±0.03	1.49±0.02 ^a	1321.57±11.01 ^b
Enz - Ultraclear	4.90±0.06 ^b	0.41±0.16	1.51±0.04 ^a	1095.52±8.06 ^b

복분자와 아로니아의 전처리 조건에 따른 기능성을 확인한 결과를 표 2-37에 나타냈다. 복분자의 swelling은 4.46 mL/g, 아로니아는 3.47 mL/g으로 복분자가 아로니아에 비해 swelling이 잘 될 것이라고 생각되었다. 수분유지력 역시 복분자가 아로니아 비해 약 9배 높은 값을 보였고, 오일결합력은 아로니아가 1.09 g/g으로 높은 오일결합력을 보임을 알 수 있었다.

표 2-37. 복분자 및 아로니아의 처리 조건에 따른 기능적 특성

	Swelling capacity (ml/g)	Water retention capacity (g/g)	Oil-binding capacity (g/g)	Glucose adsorption capacity (mg/g)
Black raspberry	4.46±1.06 [*]	1.01±0.68 [*]	0.68±2.36	1216.41±1.51
Black chokeberry	3.47±1.14	0.17±0.54	1.09±1.67	1270.68±1.64 [*]

* $p < 0.05$

(다) 전처리 조건에 따른 관능적 특성 확인

① 실험방법

관능검사를 통해 선정된 6종의 과일·채소류를 배합비대로 혼합한 후 초음파 처리, 효소처리를 실시하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사는 베리&바이오식품연구소 연구원들을 대상으로 외관, 향, 맛, 질감, 전반적인 기호도의 항목에 대해 9점 만점으로 기호도를 평가하였다

② 결과

6종의 과일-채소 혼합물을 다른 방법으로 처리 한 후 관능검사를 실시하였고 총식이섬유 함량을 측정하였다. 결과는 아래 표 2-38과 2-39와 같았다. 식이섬유 증가 효과가 있는 전처리 중 초음파 처리와 효소처리(Viscozyme)한 베리류 과일 채소류의 혼합주스를 전처리

하지 않은 주스와 비교하였다. 관능평가결과 전처리를 하지 않은 시료가 전반적인 기호도가 약간 높았으나 유의적인 차이는 없었으며 총식이섬유 함량은 초음파처리를 하는 경우 가장 높아 최종 제품은 초음파처리 처리를 최종제품의 전처리 방법으로 결정하였다.

표 2-38. 처리 방법이 다른 과일채소류 혼합 주스의 관능평가 결과

	Appear- ance	Flavor	Taste	Texture		Overall preference
				Mouth- feel	Swallow	
Contol	6.61±	6.20±	6.00±	5.45±	6.10±	6.08±
	1.46	1.21	0.97	1.98	1.67	1.23
Ultrasonicaton	6.36±	5.84±	5.25±	6.05±	5.49±	5.43±
	0.98	1.46	1.77	0.87	0.80	0.74
Enzyme	6.62±	6.01±	5.88±	5.87±	6.34±	5.93.±
	1.06	1.57	1.87	1.34	0.91	1.34

표 2-39. 처리 방법이 다른 과일채소류 혼합물의 식이섬유 함량

	TDF(%)
Contol	20.70±0.71 ^b
Ultrasonicaton	25.15±2.90 ^a
Enzyme	17.62±0.71 ^c

(4) 개발음료의 안정성 조사

(가) 음료의 성분 및 특성 분석

① 실험방법

최종 선정된 레시피에 따라 제조된 주스를 4℃와 20℃에 저장하면서 당도, 산도, pH, 색도를 측정하였다. 당도는 당도계(PAL-1, Atago, Japan)를, pH는 pH 메타를 사용하여 측정하였고, 산도는 pH 메타를 사용하여 값이 8.3이 되는데 소요되는 0.1N NaOH의 소비량을 구한 후 구연산으로 환산하여 총산 함량(%)으로 나타내었다. 색도는 분광측색계(CM-5, Konica Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였다. 표준 색판은 백색판(L=98.9, a=-0.12, b=-0.27)이었다.

② 결과

최종 레시피에 따른 과일채소류 주스의 4℃와 40℃에 저장하면서 물리적인 안정성과 관능평가 결과는 아래 표 2-40, 2-41, 2-42와 같았다. 주스의 당도, 산도, pH는 0일에 10.57°Bx, 0.21%, 4.17 이었고, 색도는 L(명도), a(적색도), b(황색도)가 57.77, 19.09, 53.90으로 복분자와 아로니아가 함유되어 붉고 어두운 색을 띤 제품이었다. 기존 과실음료에 비해 당도가 낮아 건강음료의 이미지에 잘 맞는 제품으로 판단하였다. 관능평가는 7일까지 저장한 시료만 실시하였고 4℃에 저장한 시료는 큰 차이가 없었으나 40℃ 저장한 시료는 맛과 질감, 전반적인 기호도가 모두 감소하였다.

표 2-40. 저장에 따른 개발된 주스의 이화학적 특성

		Sugar brix (°Bx)	Acidity (%)	pH	
juice	4℃	0 d	10.57±0.15 ^{cd}	0.21±0.11 ^d	4.17±0.01 ^c
		7 d	11.37±0.12 ^a	0.31±0.01 ^a	4.33±0.01 ^a
		14 d	10.90±0.01 ^c	0.29±0.01 ^c	4.18±0.01 ^c
		30 d	11.29±0.01 ^{ab}	0.30±0.01 ^b	4.27±0.01 ^b
		0 d	10.57±0.15 ^b	0.21±0.11 ^c	4.17±0.01 ^b
	40℃	7 d	10.00±0.06 ^c	0.15±0.01 ^d	4.12±0.01 ^c
		14 d	11.10±0.01 ^a	0.38±0.04 ^b	4.18±0.01 ^b
		30 d	11.20±0.01 ^a	0.44±0.04 ^a	4.34±0.12 ^a

표 2-41. 저장에 따른 개발된 주스의 색도 변화

		L	a	b	
juice	4℃	0 d	57.77±0.03 ^a	19.09±0.01 ^b	53.90±0.01 ^b
		7 d	57.40±0.13 ^a	20.24±0.08 ^a	58.14±0.09 ^a
		14 d	55.05±0.01 ^b	18.65±0.01 ^c	54.50±0.01 ^b
		30 d	55.44±0.01 ^b	17.90±0.01 ^d	51.90±0.02 ^c
		0 d	57.77±0.03 ^a	19.09±0.01 ^a	53.90±0.01 ^d
	40℃	7 d	57.42±0.15 ^a	18.23±0.19 ^b	60.90±0.11 ^a
		14 d	53.99±0.01 ^b	17.17±0.01 ^c	57.89±0.02 ^b
		30 d	53.77±0.01 ^b	16.62±0.02 ^d	54.89±0.04 ^c

표 2-42. 저장에 따른 개발된 주스의 관능적 특성 변화

		Appearance	Flavor	Taste	Texture	Overall quality	
juice	4°C	0 d	5.80±1.23	5.30±0.92	6.20±0.92*	5.60±0.84	5.70±0.95
		7 d	5.68±0.94	5.35±0.79	5.94±0.88	5.62±0.88	5.81±0.74
	40°C	0 d	5.80±1.23*	5.30±0.92	6.20±0.92*	5.60±0.84*	5.70±0.95*
		7 d	5.24±1.02	5.01±0.88	4.18±0.88	4.38±0.45	4.55±1.12

* $p < 0.05$

(나) 시판제품과 비교

① 실험 방법

최종 개발된 주스와 과·채 주스 시판제품을 비교하기 위해 식이섬유 함량(TDF), 당도, 산도, pH, 색도, 항산화활성을 측정하였다.

② 결과

음료 4종의 당도, 산도, pH는 아래 표 2-43과 같이 4.9~11.1 °bx, 1.60~3.90%, 3.61~4.15 로, 개발 제품은 시판 제품에 비해 당도와 산도는 높은 편이었고 관능검사 결과 가장 좋은 결과를 나타냈다. 개발 제품과 시판 제품의 색도는 아래 표 2-44와 같이 L, a, b 값이 67.94~88.41, 0.61~24.83, 11.15~24.03 으로 개발제품이 시판 제품보다 색이 붉고 어두웠으나 베리류의 색이 더 선명하여 소비자에게 좋은 반응을 얻을 수 있을 것으로 생각되었다.

표 2-43. 개발제품과 시판제품의 특성 비교

	TDF (%)	Sugar brix (°Bx)	Acidity (%)	pH
Juice	25.15	10.57	0.21	4.17
Commercial A	14.53	4.90	0.16	4.15
Commercial B	5.65	7.30	0.22	3.88
Commercial C	16.85	10.90	0.37	3.61

표 2-44. 개발제품과 시판제품의 색도

	L	a	b
Juice	67.94	24.83	24.03
Commercial A	88.41	5.90	16.18
Commercial B	88.08	3.34	11.15
Commercial C	87.02	0.61	20.11

개발 제품과 시판 제품의 항산화활성을 측정된 결과는 아래 표 2-45와 같았다. 총 페놀함량은 883.78 ~ 1360.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, DPPH 라디칼 소거능은 37.68~84.48%였다. 개발 제품의 총 페놀함량과 항산화활성이 기존 시판되는 음료 중 베리류가 함유된 과·채 주스보다도 훨씬 높아 기능성이 우수한 제품으로 판단되었다.

표 2-45. 개발제품과 시판제품의 항산화활성 비교

	Total phenol contents ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	DPPH radical scavenging activity (%)
Juice	1360.81	84.48
Commercial A	1232.43	45.42
Commercial B	883.78	47.12
Commercial C	1151.35	37.68

나. 2차년도 : 과·채류 식이섬유 증가를 위한 생물학적 전처리

식이섬유 강화 음료용 난소화성 전분 및 전처리 원료의 분말화 조건 확립

(1) 과·채류 발효를 통한 발효양상 확인

(가) 원료 6종의 유산균 발효양상 확인

① 원료

유산균 발효양상 확인을 위해 1차년도에 선정된 원료인 양배추, 단호박, 토마토, 사과, 적포도, 귤을 원료로 사용하였다.

② 발효 조건

과일 채소류의 발효는 0~2일간 30℃에서 시행하였고, 발효 양상 확인을 위해 pH, 산

도, 당도, 유산균수를 측정하였다.

③ 발효 양상 결과

㉔ 과일 및 채소류의 총식이섬유, 수용성 식이섬유, 불용성 식이섬유 함량

6종의 원료 모두 발효기간이 경과됨에 따라 pH는 감소하였으며, 토마토와 적포도를 제외 하고 산도는 발효기간이 경과함에 따라 증가하였음. 단호박은 발효 시 당도가 증가하였으나 나머지 원료는 거의 변화가 없는 것으로 나타남. 유산균수의 경우 양배추는 발효초기 유산균이 관찰되지 않았으나 발효가 진행됨에 따라 증가하여 발효 2일째 9.2×10^6 CFU/mL를 나타내었고, 단호박과 토마토는 발효 초기 $2.0 \sim 2.2 \times 10^2$ CFU/mL에서 발효 2일째 각각 6.4×10^7 CFU/mL와 6.0×10^5 CFU/mL를 나타냄. 사과와 감의 경우 발효 0, 1일째에는 유산균수가 관찰되지 않았으나 발효 2일째 3.5×10^2 CFU/mL를 나타냄. 한편, 적포도와 귤은 발효기간 동안 유산균 관찰되지 않았음(표 2-46)

표. 2-46. 과일 및 채소류의 발효 특성

Sample	Fermentation days	pH	Total acidity (%)	Sugar concentration (°Brix)	Lactic acid bacteria (CFU/mL)
Cabbage	0	5.69	0.11	8.2	-
	1	5.20	0.20	8.0	2.6×10^5
	2	4.11	0.40	8.0	9.2×10^6
Sweet pumpkin	0	5.89	0.12	14.4	2.2×10^2
	1	4.99	0.40	14.6	5.0×10^6
	2	4.68	0.59	14.9	6.4×10^7
Tomato	0	4.19	0.41	3.4	2.0×10^2
	1	4.15	0.42	3.4	3.4×10^4
	2	4.13	0.43	3.5	6.0×10^5
Apple	0	4.13	0.29	15.5	-
	1	4.02	0.31	15.5	-
	2	3.90	0.34	15.4	3.5×10^2
Red grape	0	3.53	0.42	15.7	-
	1	3.52	0.42	15.7	-
	2	3.52	0.42	15.7	-
Mandarin	0	3.53	0.71	11.0	-
	1	3.46	0.80	11.1	-
	2	3.34	0.91	11.2	-

(나) 과·채류 혼합액의 유산균 발효양상 확인

① 과·채류 혼합액의 제조

과·채류 혼합액은 다음과 같은 조성으로 제조하였다. 찢 양배추(20.2%), 찢 단호박(16.7%), 토마토 퓨레(18.6%), 사과 퓨레(20.4%), 적포도 퓨레(11.1%), 귤 퓨레(13.0%).

② 발효 조건

과일 채소류의 발효는 0~4일간 30℃에서 시행하였고, 발효 양상 확인을 위해 pH, 산도, 당도, 유산균수를 측정하였다.

③ 발효 양상 결과

표 2-47과 같이 발효기간이 경과함에 따라 과·채류 혼합액의 pH 및 당도는 감소하였으며, 산도는 증가하였다. 유산균수의 경우 발효초기에 5.0×10^1 CFU/mL에서 발효기간이 경과함에 따라 증가하여 발효 4일째에 9.8×10^7 CFU/mL를 나타냈다.

표 2-47. Fermentation properties of the fruit and vegetable juice

Fermentation days	pH	Total acidity(%)	Sugar concentration (°Brix)	Lactic acid bacteria (CFU/mL)
0	4.28	0.41	10.3	5.0×10^1
1	4.19	0.46	10.3	1.4×10^2
2	3.90	0.57	9.8	2.4×10^6
3	3.80	0.67	9.7	6.1×10^7
4	3.65	0.96	9.6	9.8×10^7

(다) 유산균 단독발효(1종) 및 혼합발효(2종 이상)의 발효양상 확인

① 단독발효

㉞ 단독발효 균주 : 총 4종(1차년도 발효 적합 선별 균주 3종, 공시균주 1종)

→ *Leuc. mesenteroides* SRL6, *Leuc. mesenteroides* GBL19,

Leuc. mesenteroides GBL20, *Leuc. mesenteroides* KCTC3718

㉟ 발효 조건

과일 채소류의 발효는 0~4일간 30℃에서 시행하였고, 균 접종량은 0.5% 였다. 발효 양상 확인을 위해 pH, 산도, 당도, 유산균수, 총 식이섬유(TDF)를 측정하였고, 관능검사를 실시하였다.

㊤ 발효 양상 결과

- 1차년도 발효 적합 선별 균주 3종(SRL6, GBL19, GBL20)과 공시균주(KCTC3718)를 과·채류 혼합액에 단독발효 시 발효양상을 확인한 결과(Table 2-48) 4종의 균주를 단독 발효한 것과 대조구로 균주를 접종하지 않은 구간 모두 발효 기간이 경과함에 따라 pH 및 당도는 감소하였고, 산도는 증가하였다.

- 유산균수는 4종의 유산균 모두 발효 1일째에 SRL6(2.6×10^{10} CFU/mL) > GBL20(2.1×10^{10} CFU/mL) > GBL19(1.8×10^{10} CFU/mL) > KCTC3718(1.5×10^{10} CFU/mL) 순으로 최대 유산균수 나타낸 이후 발효기간이 경과됨에 따라 감소하였다. 대조군의 경우 발효 4일째에 최대 유산균수 나타냈다(9.8×10^7 CFU/mL).

- 총 식이섬유는 그림 2-11과 같이 유산균 3종의 발효 1일 후 총 식이섬유(TDF)를 확인한 결과 유산균을 접종하지 않은 대조구보다 유산균을 접종한 구간의 총 식이섬유 함량이 더 높게 나타났으며, GBL20(7.81%) > SRL6(7.68%) > GBL19(7.45%) > 대조구(7.31%) 순으로 총 식이섬유 함량 나타났다.

- 관능검사: 과·채류 혼합액에 유산균 3종을 1일 발효한 후 관능검사를 실시한 결과 종합적 기호도가 SRL6(7.64점) > GBL20(6.02점) > GBL19(5.22점) 순으로 나타났다(Table 2-49). 이는 발효 시 산도의 영향으로 산도가 높을수록 기호도가 낮아지는 경향을 나타냈다. 한편, 발효 1일 이후 부터 산도 증가 및 과발효에 의한 이취로 인해 발효일수는 1일 이상 하는 것은 적절하지 않은 것으로 판단하였다.

☞ 발효 시 최대 유산균수 나타낸 균주: *Leuc. mesenteroides* SRL6

☞ 발효 시 최대 총 식이섬유 함량 균주: *Leuc. mesenteroides* GBL20

☞ 발효 시 관능적 우수 균주: *Leuc. mesenteroides* SRL6

☞ 결론: 발효 시 총 식이섬유 함량이 가장 높게 나타난 *Leuc. mesenteroides* GBL20 균주의 경우 관능적 특성이 좋지 않아 2번째로 총 식이섬유 함량이 높으며 발효 시 최대 유산균수와 관능적 특성을 종합적으로 고려하여 *Leuc. mesenteroides* SRL6 균주 선정

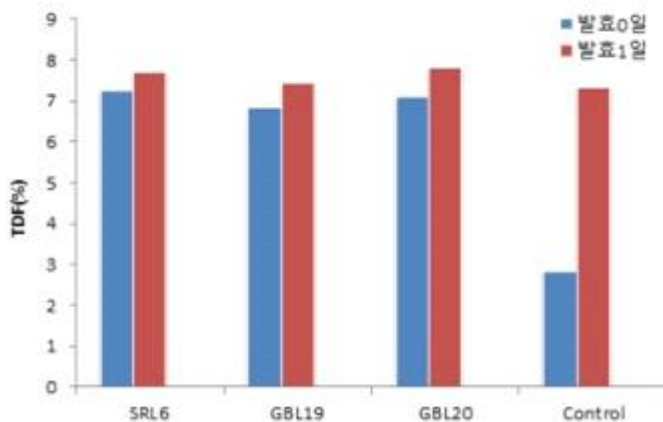


그림 2-11. 3종의 *Leuconostoc mesenteroides* 발효에 의한 과일채소류 주스의 TDF 함량

표 2-48. Fermentation aspects of fruit and vegetable juice by single culture

Strain	Fermen- tation days	pH	Total acidity (%)	Sugar concentration (°Brix)	Lactic acid bacteria (CFU/mL)
<i>Leuc. mesenteroides</i> SRL6	0	4.22	0.42	10.2	2.5×10^7
	1	3.82	0.64	10.2	2.6×10^{10}
	2	3.81	0.68	10.1	3.1×10^8
	3	3.76	0.78	10.0	2.3×10^8
	4	3.64	0.94	10.0	1.3×10^8
<i>Leuc. mesenteroides</i> GBL19	0	4.22	0.44	10.2	1.6×10^7
	1	3.79	0.93	9.8	1.8×10^{10}
	2	3.71	1.20	9.6	2.5×10^9
	3	3.71	1.33	9.5	7.0×10^8
	4	3.68	1.35	9.5	5.9×10^8
<i>Leuc. mesenteroides</i> GBL20	0	4.27	0.42	10.2	1.4×10^7
	1	3.95	0.77	9.6	2.1×10^{10}
	2	3.82	1.03	9.4	3.6×10^9
	3	3.80	1.22	9.4	5.0×10^8
	4	3.70	1.39	9.3	2.0×10^8
<i>Leuc. mesenteroides</i> KCTC3718	0	4.28	0.40	10.2	2.6×10^7
	1	3.84	0.88	9.9	1.5×10^{10}
	2	3.80	1.06	9.8	1.7×10^9
	3	3.72	1.23	9.0	1.3×10^9
	4	3.45	1.63	8.9	2.8×10^8
Control	0	4.28	0.41	10.3	5.0×10^1
	1	4.19	0.46	10.3	1.4×10^2
	2	3.90	0.57	9.8	2.4×10^6
	3	3.65	0.67	9.7	6.1×10^7
	4	3.80	0.96	9.6	9.8×10^7

표 2-49. 단인 균주 발효에 의한 과일채소류 주스의 관능평가 결과

Strain	Apperance	Flavor	Taste	Overall preference
<i>Leuc. mesenteroides</i> SRL6	7.54±1.16	7.02±1.54 ^a	6.51±0.91 ^a	7.64±0.94 ^a
<i>Leuc. mesenteroides</i> GBL19	7.44±1.34	4.14±1.08 ^b	4.36±1.08 ^b	5.22±0.23 ^c
<i>Leuc. mesenteroides</i> GBL20	7.50±1.34	4.71±1.39 ^b	4.86±1.79 ^b	6.02±0.93 ^b

② 혼합발효

㉠ 혼합발효 균주 : 총 3종

- *Leuc. mesenteroides* SRL6 +*Leuc. mesenteroides* GBL19
- *Leuc. mesenteroides* SRL6 +*Leuc. mesenteroides* GBL20
- *Leuc. mesenteroides* SRL6 +*Leuc. mesenteroides* GBL19 +*Leuc. mesenteroides* GBL20

㉡ 발효 조건

과일 채소류의 발효는 0~2일간 30℃에서 시행하였고, 균 접종량은 0.5% 였다 (1:1 또는 1:1:1비율). 발효 양상 확인을 위해 pH, 산도, 당도, 유산균수를 측정하였고 관능검사를 실시하였다.

㉢ 발효 양상 결과

- 단독발효 결과 최종 선정된 *Leuc. mesenteroides* SRL6에 *Leuc. mesenteroides* GBL19와 *Leuc. mesenteroides* GBL20을 1:1비율 또는 1:1:1비율로 과·채류 혼합액의 0.5%가 되도록 접종한 후 혼합발효 양상을 확인한 결과 pH와 당도는 감소하였으며, 산도는 증가하는 것으로 나타났다.

- 유산균수: 혼합발효 3구간 모두 발효 1일째 SRL6+GBL19(4.2×10^9 CFU/mL) > SRL6+GBL20(2.7×10^9 CFU/mL) > SRL6+GBL19+GBL20(2.3×10^9 CFU/mL) 순으로 최대 유산균수를 나타낸 이후 발효 2일째 유산균수가 감소하는 것으로 나타났으나 *Leuc. mesenteroides* SRL6 균주를 단독 발효한 것(2.6×10^{10} CFU/mL)보다 낮게 나타났다.

표 2-50. 혼합균주에 의한 과일채소류 주스의 발효 특성

Strain	Fermentation days	pH	Total acidity (%)	Sugar concentration (°Brix)	Lactic acid bacteria (CFU/mL)
SRL6 + GBL19	0	4.22	0.46	10.5	2.5×10 ⁷
	1	3.93	0.66	10.2	4.2×10 ⁹
	2	3.87	0.75	10.1	1.1×10 ⁹
SRL6 + GBL20	0	4.10	0.48	10.5	2.1×10 ⁷
	1	4.00	0.53	10.2	2.7×10 ⁹
	2	3.82	0.72	10.1	1.2×10 ⁹
SRL6 + GBL19 + GBL20	0	4.18	0.48	10.5	2.3×10 ⁷
	1	3.93	0.68	10.2	2.3×10 ⁹
	2	3.87	0.81	10.1	9.9×10 ⁸
Control	0	4.16	0.47	10.6	4.4×10 ¹
	1	4.12	0.49	10.6	1.8×10 ²
	2	4.07	0.54	10.4	1.3×10 ⁶

- 관능검사: 단독발효물과 혼합발효물의 관능검사 결과 단독 발효의 관능 점수가 높게 나타났다. 종합적 기호도는 SRL6단독발효(7.69점)>SRL6+GBL20(6.18점)>SRL6+GBL19(6.04)> SRL6+ GBL19+GBL20(5.01점)순으로 나타났다(표 2-51).

표 2-51. 혼합균주에 의한 과일채소류 주스의 관능적 특성

Strain	Apperance	Flavor	Taste	Overall preference
SRL6 + GBL19	7.24±1.12	6.23±1.94 ^b	5.62±1.12 ^b	6.04±0.38 ^b
SRL6 + GBL20	7.27±1.34	6.10±1.12 ^b	5.36±1.42 ^b	6.18±0.21 ^b
SRL6 + GBL19 + GBL20	7.17±1.38	6.24±1.02 ^b	4.64±1.37 ^c	5.01±0.32 ^c
SRL6	7.50±1.27	7.05±1.17 ^a	6.51±1.28 ^a	7.69±0.87 ^a

- ☞ 혼합발효 시 최대 유산균수 나타낸 구간: SRL6+GBL19
- ☞ 단독발효가 혼합발효에 비해 최대 유산균수 높게 나타남.
- ☞ 관능도 : 단독발효 > 혼합발효
- ☞ 최종적으로 *Leuc. mesenteroides* SRL6에 의한 단독 발효 조건으로 선정함.

(라) 발효 전·후의 성분 분석

① 발효 조건

발효균주는 *Leuc. mesenteroides* SRL6 이었고 발효는 1일간 30℃에서 시행하였으며 균 접종량은 0.5% 였다, 발효 전·후의 분석을 위해 당도, 산도, 환원당, 식이섬유, 유기산, 유리당, 항산화능을 측정하였다.

② 발효 전·후의 분석 결과

당도는 발효 후 0.27 °Brix 감소하였으며, 산도는 발효 후 0.12% 증가하였음. 환원당은 발효 후 0.04% 감소하였고, 총 식이섬유소는 발효 후 0.42% 증가한 것으로 나타남. 항산화능 측정을 위한 총폴리페놀을 확인한 결과 발효 후 6.96 mg GAE/mg가 증가하였고, DPPH radical 소거능의 경우 발효 후 7.41%가 증가한 것으로 확인됨. 유기산은 발효 전은 구연산, 사과산, 주석산(4.18, 4.52, 1.17mg/g)만 검출되었고, 발효 후에는 사과산은 불검출되었고 나머지 초산, 구연산, 젖산, 주석산은 검출되었는데 젖산이 16.37mg/g으로 가장 높게 검출되었다. 유리당은 발효전과 후 모두 포도당과 과당에서만 검출되었는데 발효 전의 포도당은 37.86mg/g에서 38.55mg/g으로 증가하였지만 과당은 발효 전에는 44.63mg/g에서 발효 후에는 35.80mg/g으로 감소하였다(표 2-52).

표 2-52. 발효 전후 분석 결과

Items	Fruit and vegetable juice		
	Non-fermented	Fermented	
Sugar concentration(°Brix)	10.47±0.15	10.20±0.21	
Total acidity(%)	0.47±0.01	0.59±0.08	
Reducing sugar(g/100 mL)	1.59±0.04	1.55±0.02	
TDF(%)	7.26	7.68	
Organic acid content(mg/g)	Lactic acid	-	16.37
	Citric acid	4.18	1.35
	Malic acid	4.52	-
	Acetic acid	-	4.02
	Tartaric acid	1.17	1.11
	Succinic acid	-	-
	Free sugar content(mg/g)	Fructose	44.63
Glucose		37.86	38.55
Sucrose		-	-
Maltose		-	-
Lactose		-	-
Total phenol contents (mg GAE/mg)	49.52±0.04	56.48±0.05	
DPPH radical scavenging activity (%)	6.12	13.53	

(2) 과·채류 식이섬유 증가를 위한 최적 발효 조건 확립

(가) 유산균 접종량, 발효온도, 발효기간에 따른 발효 양상확인

① 발효 조건

균주 접종량은 0, 0.01, 0.1, 0.5%이었고 발효는 1일간 25와 30℃에서 시행하였다, 발효 조건에 따라 pH, 산도, 당도, 유산균수를 측정하였다.

② 분석 결과

발효 전에 비해 발효 후 pH는 감소하였고, 산도는 증가하는 것으로 나타났다. 당도는 발효 후 감소하는 것으로 나타났다(표 2-53).

㉠ 접종량의 영향

접종량이 증가할수록 유산균수가 증가하였다(접종량 0.01%: 8.9×10^8 CFU/mL, 0.1%: 1.1×10^9 CFU/mL, 0.5%: 1.6×10^9 CFU/mL).

㉡ 발효온도의 영향

25℃에 비해 30℃ 발효 시에 유산균수가 높게 나타났다(접종량 0.5%, 25℃: 7.6×10^8 CFU/mL, 30℃: 1.6×10^9 CFU/mL).

㉢ 발효기간의 영향

발효 전에 비해 1일 발효 시 유산균수가 증가하였다(발효 0일, 0.5% 접종: 2.8×10^7 CFU/mL, 발효 1일, 0.5% 접종, 30℃: 1.6×10^9 CFU/mL).

Table 2-53. 유산균 접종량, 발효온도, 발효기간에 따른 발효 양상

Fermentation time(h)	Temperature	Seed volume (%)	pH	Total acidity (%)	Sugar concentration (°Brix)	Lactic acid bacteria (CFU/mL)
0		0	4.26	0.42	10.5	1.4×10^3
		0.01	4.26	0.42	10.5	3.7×10^5
		0.1	4.23	0.43	10.5	3.6×10^6
		0.5	4.20	0.44	10.3	2.8×10^7
24	25℃	0	4.24	0.44	10.4	8.3×10^7
		0.01	4.21	0.45	10.4	1.8×10^8
		0.1	4.05	0.46	10.3	8.5×10^8
		0.5	4.10	0.48	10.3	7.6×10^8
	30℃	0	4.12	0.49	10.4	2.6×10^8
		0.01	4.09	0.53	10.3	8.9×10^8
		0.1	4.05	0.58	10.3	1.1×10^9
		0.5	4.01	0.64	10.3	1.6×10^9

(나) 발효기간별 식이섬유 함량 확인

① 발효 조건

발효기간에 따라 유산균 접종량(0.01~0.5%)과 발효온도(25℃, 30℃)에 따른 총 식이섬유 함량을 측정하였다.

② 식이섬유 함량

발효 전에 비해 발효 1일 후 총 식이섬유 함량이 증가하였다.

㉠ 발효온도별 확인

25℃보다 30℃에서 TDF 함량 더 높게 나타남(25℃, 0.5%접종: 6.96%, 30℃, 0.5%접종: 7.86%)

㉡ 접종량별 확인

0.5% 접종 시 TDF 가장 높게 나타남(30℃, 0.01%: TDF 6.37%, 30℃, 0.1%: TDF 6.93%, 30℃, 0.5%: TDF 7.86%)

㉢ 최적 발효 조건

유산균 접종량 0.5%, 발효온도 30℃, 발효 1일



그림 2-12. 발효 온도별 TDF 함량

(3) 난소화성 전분 및 과일·채소류의 분말화 조건 확립

(가) 원료의 전처리에 따른 색도 및 점도

① 원료의 전처리

㉠ 원료

과일·채소 분말 제조를 위한 원료는 6종의 과일·채소류(양배추, 단호박, 토마토, 사과, 포도, 오렌지)를 원료로 사용하였다.

㉡ 전처리

과일·채소 6종의 전처리는 양배추와 단호박은 30분간 찢후 분쇄하였고 나머지 과일·채소는 생으로 분쇄하였다. 분쇄한 시료들을 각각 초음파 처리(25℃, 40℃) 및 효소처리(pectinex(ultra clear), cellulase)를 실시하였다.

② 색도 및 점도 측정

㉠ 측정 방법

분쇄하여 전처리한 시료의 색도를 분광측색계 (CR-5, Minolta, Japan)를 사용하여 L, a, b 값을 측정하였다.

점도는 Brookfield 점도계를 사용하여 겔보기 점도를 측정하였다.

㉡ 결과

- 양배추의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-54에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 39.29를 나타냈고 sonication 25°C 처리군이 가장 높은 명도 값을 보였다. 적색도인 a값에서는 모두 - 값을 보였고, 황색도인 b값은 sonication 25°C 처리군이 가장 높은 황색도 값을 나타냈다. 양배추의 점도는 무처리 군에서 2799.40 cP 값을 나타냈는데 전처리를 한 시료들의 점도가 증가 됨을 알 수 있었고 그 중 cellulase 처리에서 가장 높은 점도 값을 보였는데 이는 cellulase가 섬유질 분자를 유연하게 만들어주기 때문이라고 추측하였다.

표 2-54. 양배추의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	39.29±0.40 ^c	-3.14±0.01 ^c	4.56±0.34 ^b	2799.40±144.92	35.00±18.04
Sonication at 25°C	52.71±0.24 ^a	-2.18±0.04 ^b	7.02±0.61 ^a	3996.48±191.49	49.97±23.97
Sonication at 40°C	47.49±7.57 ^b	-1.32±2.58 ^a	4.44±1.63 ^b	5979.32±151.07	74.68±18.86
Enz - Ultraclear	46.38±1.39 ^b	-2.65±0.09 ^b	2.46±0.75 ^d	5876.65±120.25	73.54±20.41
Enz - Cellulase	48.52±0.67 ^b	-2.60±0.16 ^b	3.51±0.55 ^c	6045.65±100.6	78.65±15.2

- 단호박의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-55에 나타냈다. 우선, 명도인 L값과 적색도인 a값, 황색도인 b값 또한 무처리군과 비슷한 경향을 보였고 효소처리된 시료는 명도값이 증가된 것을 알 수 있었다. 단호박의 점도는 무처리 군에서 178.51 cP 값을 나타냈는데 Sonication 25°C 처리군은 무처리군과 비슷한 값을 보였고, Sonication 40°C, 효소처리 시료들은 점도가 감소하는 것을 알 수 있었다.

표 2-55. 단호박의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	32.23±0.03 ^c	6.87±0.05 ^a	46.48±0.52 ^a	178.51±10.28 ^a	70.23±3.72 ^a
Sonication at 25°C	31.85±0.03 ^{cd}	6.68±0.02 ^a	46.18±0.11 ^a	170.04±49.44 ^a	68.07±19.82 ^b
Sonication at 40°C	30.31±1.39 ^d	6.12±0.49 ^b	43.42±2.73 ^b	144.35±42.60 ^c	57.73±17.01 ^c
Enz - Ultraclear	39.05±0.34 ^a	5.35±0.28 ^c	24.47±0.57 ^c	135.02±32.80 ^d	51.65±5.01 ^d
Enz - Cellulase	38.34±0.52 ^b	4.53±0.26 ^d	23.68±0.85 ^c	150.78±47.98 ^b	53.25±15.01 ^d

- 토마토의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-56에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 21.38을 나타냈고 Sonication 25°C, 40°C 처리는 무처리 값에 비해 높은 명도 값을 보였다. 적색도인 a값에서는 무처리군과 sonication 25°C 처리는 비슷한 값을 나타냈고, sonication 40°C와 효소처리 시료들은 적색도의 값이 감소되었다. 토마토의 점도는 무처리 군에서 70.02 cP 값을 나타냈는데 Sonication 25°C처리를 한 시료의 점도는 218.54 cP로 증가됨을 알 수 있었다.

표 2-56. 토마토의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	21.38±0.13 ^d	12.74±0.51 ^a	10.21±0.51 ^a	70.02±36.69 ^e	27.09±11.85
Sonication at 25°C	35.52±0.22 ^a	12.76±0.18 ^a	8.13±0.41 ^b	218.54±93.95 ^a	27.30±11.68
Sonication at 40°C	33.44±0.90 ^b	9.70±2.31 ^b	7.44±0.08 ^b	75.30±30.35 ^b	27.77±11.42
Enz - Ultraclear	30.27±1.01 ^c	4.40±1.43 ^c	3.37±1.04 ^c	74.65±10.61 ^c	27.82±15.54
Enz - Cellulase	30.16±0.44 ^c	4.90±0.19 ^c	3.19±0.06 ^c	72.87±8.65 ^d	27.69±1.02

- 사과와 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-57에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군은 19.41을 나타냈고, 나머지 전처리된 시료들은 무처리 값에 비해 높은 명도 값을 보였다. 적색도인 a값에서 무처리군과 sonication 25°C 처리는 비슷한 값을 나타냈지만 무처리를 제외한 나머지 시료들에서는 a값이 감소됨을 알 수 있었다. 사과의 점도는 무처리 군에서 835.49 cP 값을 나타냈는데 전처리를 한 시료들의 점도가 증가 됨을 알 수 있었다.

표 2-57. 사과의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	19.41±0.01 ^d	5.09±0.19 ^a	10.21±0.27 ^a	835.49±22.55 ^c	41.78±11.43
Sonication at 25°C	33.90±0.05 ^b	5.39±0.02 ^a	8.13±0.12 ^b	11630.85±871.55 ^a	29.08±21.80
Sonication at 40°C	35.27±7.60 ^a	2.90±2.42 ^b	7.44±1.04 ^c	10644.40±425.83 ^b	26.62±10.65
Enz - Ultraclear	30.23±0.95 ^c	2.06±0.51 ^b	6.74±1.31 ^d	10153.54±789.51 ^b	25.54±11.65
Enz - Cellulase	30.16±0.80 ^c	2.32±0.83 ^b	6.62±1.09 ^d	11268.84±12.57 ^a	26.2±10.68

- 오렌지의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-58에 나타냈다. 우선, 명도인 L값의 무처리군과 Sonication 25°C, 40°C 처리군은 비슷한 값을 보였지만 효소처리 시료들은 낮은 값을 나타냈다. 적색도인 a값, 황색도인 b값 또한 무처리군과 비슷한 값을 나타냈지만 효소처리 시료들은 적색도는 - 값을, 황색도값은 낮은 값을 나타냈다. 오렌지의 점도는 무처리 군에서 2184.87 cP 값을 나타냈는데 Sonication 25°C 처리군은 점도가 높아짐을 보였고, Sonication 40°C 처리군은 무처리군 보다 점도가 감소 됨을 알 수 있었다. 효소처리된 시료들은 점도가 모두 증가되었는데 이는 섬유질의 분해로 점도가 증가된 것으로 추측하였다.

표 2-58. 오렌지의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	50.01±0.70 ^b	1.03±0.15 ^b	35.84±1.47	2184.87±111.21 ^d	27.32±13.88
Sonication at 25°C	53.53±0.47 ^a	1.66±0.29 ^b	30.11±0.49	3115.34±216.86 ^c	38.95±27.08
Sonication at 40°C	50.96±9.41 ^b	2.31±1.80 ^a	33.61±4.74	2006.24±76.02 ^e	25.08±9.54
Enz - Ultraclear	43.53±2.65 ^d	-2.30±0.62 ^d	16.11±3.09	3387.35±63.2 ^b	28.65±6.74
Enz - Cellulase	46.98±6.26 ^c	-1.57±0.82 ^c	20.16±8.05	3795.5±51.65 ^a	29.54±5.65

- 적포도의 처리 조건에 따른 색도와 점도를 표 2-59에 나타냈다. 우선, 명도인 L값은 무처리군이 23.85를 나타냈고 나머지 시료들은 무처리 값에 비해 높은 명도 값을 보였다. 적색도인 a값의 무처리는 6.80을 나타냈고, 나머지 시료들은 무처리군보다 낮은 값을 나타냈다. 황색도 값은 무처리군과 sonication 40°C에서 5.64로 가장 높은 값을 나타냈고 효소처리된 시료들은 낮아지는 것을 확인 하였다. 적포도의 점도는 무처리 군에서 2736.75 cP 값을 나타냈는데 Sonication 25°C 시료를 제외한 나머지 시료들에서 값이 모두 증가됨

을 알 수 있었다.

표 2-59. 적포도의 처리 조건에 따른 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity	
				Viscosity(cP)	%Torque
Control	23.85±0.71 ^e	6.80±0.33 ^a	2.95±0.05 ^b	2736.75±63.84 ^c	34.22±7.90
Sonication at 25℃	35.75±1.60 ^a	4.86±0.30 ^b	2.83±1.52 ^b	1836.94±176.48 ^d	22.97±22.10
Sonication at 40℃	34.98±6.90 ^b	3.87±0.79 ^c	5.64±9.38 ^a	3637.89±176.56 ^a	45.48±22.04
Enz - Ultraclear	32.33±1.92 ^c	3.15±0.78 ^c	1.36±1.80 ^c	3348.51±186.32 ^b	47.26±21.02
Enz - Cellulase	30.80±0.68 ^d	2.26±0.98 ^d	0.11±0.97 ^c	3515.27±162.02 ^a	49.54±11.71

(나) 원료의 건조 및 분쇄 방법에 따른 분산성, 물성 변화 확인 : 색도, 점도 등

① 원료의 건조 및 분쇄 조건

㉞ 원료

과일·분말음료 제조를 위한 원료는 1차년도에 선정된 6종의 과일·채소류(양배추, 단호박, 토마토, 사과, 포도, 귤)을 원료로 사용하였다.

㉟ 동결건조

6종의 과일·채소류 중 양배추와 단호박을 찢 후 동결건조 하고 나머지 4종은 생으로 동결건조하여 비율대로 혼합한 후 분쇄하였다 이 때 일부 시료는 텍스트린 또는 난소화성 텍스트린, 난소화성 전분을 각각 5%씩 혼합하여 분쇄하였다.

㊱ 분무건조

- SP-A flour : 6종의 과일·채소류 중 양배추와 단호박은 5배수의 물에 100℃에서 가열추출한 후 농축하였고 나머지 4종의 착즙액과 혼합하여 텍스트린 또는 난소화성 텍스트린 난소화성 전분을 혼합하여 분무건조하였다.

- SP-B flour 6종의 과일·채소류를 배합비대로 혼합하여 5배수의 물에 100℃에서 가열추출한 후 농축하였고 텍스트린 또는 난소화성 텍스트린, 난소화성 전분을 혼합하여 분무건조하였다.

② 입도 분석

㉞ 분석 방법

동결건조 분말의 입자 크기를 Beckman Coulter LS 13 320 laser diffraction particle size analyzer (Beckman Coulter, Inc. Fullerton, CA) 사용하여 측정하였다. Dry Powder module을 사용하였고 0.04~2,000 μm 까지 측정하였다.

㉟ 건조 분말의 입자크기

동결건조 분말의 입도 분석 결과는 아래 표 2-60와 같았다. 수분흡습 억제를 위해 텍스트린 종류를 사용하는 경우 더 미세하게 분쇄가 이루어 졌으며 난소화성 전분을 첨가하여 분쇄한 경우 입자가 가장 작았다.

표 2-60. 과일채소류 동결건조 분말주스의 입자 크기

	d ₁₀ (×10, μm)	d ₉₀ (×90, μm)	Mean (μm)	Median (μm)
Control	30.23	369.0	171.8	131.8
Maltodextrin	27.68	322.9	154.3	122.3
Nondigestible dextrin	23.44	255.1	125.8	107.9
Resistant starch	20.10	248.9	119.2	100.3

③ 수분 활성 및 수분흡수지수

㉠ 분석 방법

텍스트린 및 난소화성 전분을 첨가한 동결건조 분말의 수분 활성을 측정하기 위해 수분 활성측정기(Awtherm, Rotronic)를 사용하였으며, 분쇄한 후 플라스틱 용기에 담아 상온에 보관하면서 수분활성 변화를 측정하였다.

수분흡수지수는 시료 0.5g을 증류수 20 mL에 분산시킨 후 원심분리하여 침전된 무게를 측정하였다.

㉡ 수분 활성

보조제를 첨가하지 않은 동결건조 시료의 수분활성은 0.18이었고 난소화성 텍스트린과 난소화성 전분을 첨가한 경우 0.16으로 감소하였다(표 2-61). 수분흡수지수도 무첨가군보다 텍스트린과 난소화성전분을 첨가한 경우 크게 감소하였다(표 2-62). 난소화성 전분은 분말의 수분 흡수를 감소시켜 저장성을 개선시킬 수 있을 것이다.

표 2-61. 과일채소류 동결건조 분말주스의 수분활성

	0 day	5 day
Control	0.1821±0.0*	0.1738±0.01
Maltodextrin	0.1838±0.01*	0.1678±0.00
Nondigestible dextrin	0.1634±0.02	0.1559±0.01
Resistant starch	0.1656±0.01	0.1531±0.02

표 2-62. 과일채소류 동결건조 분말주스의 수분흡수지수

	WAI
Control	6.18±0.32 ^a
Resistant starch	4.63±0.11 ^b
Nondigestible dextrin	4.90±0.25 ^b
Maltodextrin	4.51±0.62 ^b

③ 색도

건조방법에 따른 과일채소류 분말의 색도를 측정하였고 결과는 표 2-63과 표 2-64와 같았다.

표 2-63. 과일채소류 동결건조 분말주스의 색도

	L	a	b
Control	27.13±0.01 ^c	42.33±0.02 ^a	37.44±0.03 ^b
Maltodextrin	31.91±0.00 ^a	41.98±0.00 ^b	39.18±0.03 ^a
Nondigestible dextrin	29.92±0.01 ^b	41.89±0.02 ^b	39.49±0.00 ^a
Resistant starch	29.03±0.02 ^b	41.01±0.02 ^c	39.75±0.02 ^a

표 2-64. 과일채소류 분무건조 분말주스의 색도

	L	a	b	
SP-B	Maltodextrin	74.04±0.26 ^a	20.59±0.27 ^b	13.04±0.03 ^b
	Nondigestible dextrin	66.24±0.43 ^b	29.05±0.36 ^a	15.46±0.01 ^a
	Nondigestible starch	72.07±0.57 ^a	20.44±0.18 ^b	16.34±0.16 ^a
SP-A	Maltodextrin	85.82±0.01 ^b	5.35±0.01 ^b	11.36±0.01 ^b
	Nondigestible dextrin	87.48±0.01 ^a	5.27±0.02 ^b	11.14±0.01 ^b
	Nondigestible starch	82.69±1.31 ^c	9.16±0.24 ^a	13.94±0.43 ^a

(나) 원료의 건조 및 분쇄 방법에 따른 관능적 특성 조사

① 관능평가

건조 분말의 관능적 특성을 조사하기 위해 분말 30 g을 생수 200 mL 에 분산시켜 9점 만점으로 기호도 조사를 실시하였다.

② 결과

표 2-65와 같이 과일·채소 분말은 동결건조 분말이 분무건조 분말보다 높은 점수를 받았다. 동결건조 분말의 경우 덱스트린 보다 난소화성 전분을 첨가하여 분쇄하는 것이 맛에는 영향을 주지 않으면서 식이섬유의 기능성을 기대할 수 있을 것이다.

분무건조 분말은 함께 농축하는 것보다 양배추와 단호박을 별도로 추출 농축하여 분무건조 한 경우 색상 등 품질에 영향을 덜 주었으며 관능 평가에서도 좋은 점수를 받았다. 분무건조시 난소화성 전분을 사용하는 경우 용액에 녹지 않으므로 분무건조에 활용하는데 문제점이 있었다.

표 2-65. 건조방법에 따른 과일채소류 분말주스의 관능평가 결과

Drying	additives	Appearance	Flavor	Taste	Texture	Overall quality
Freeze drying	Control	7.30± 1.32 ^a	6.20± 0.67	6.20± 1.22	6.40± 0.68	6.70± 1.52
	Nondigestible starch	6.80± 0.94 ^{ab}	6.00± 0.85	5.80± 1.67	6.00± 1.83	6.30± 0.69
SP-A	Control	6.90± 1.25 ^{ab}	5.60± 1.02	5.70± 0.78	6.20± 0.84	6.10± 1.43
	Nondigestible starch	6.60± 1.86 ^b	5.60± 0.67	5.10± 0.97	5.20 ±1.05	5.50± 1.20
SP-B	Control	5.80± 0.78 ^c	5.30± 1.41	5.30± 1.45	5.60± 1.22	5.80± 0.82
	Nondigestible starch	5.40 ±0.88 ^c	5.40± 1.76	5.10± 1.37	5.20± 0.94	5.20± 1.18

(다) 건조 방법에 따른 분말화 조건 결정

과일 채소류의 분말화는 과일·채소류의 동결건조 후 난소화성 전분 5%를 첨가하여 분쇄한 후 80 mesh 체를 통과시키는 조건으로 결정하였다.

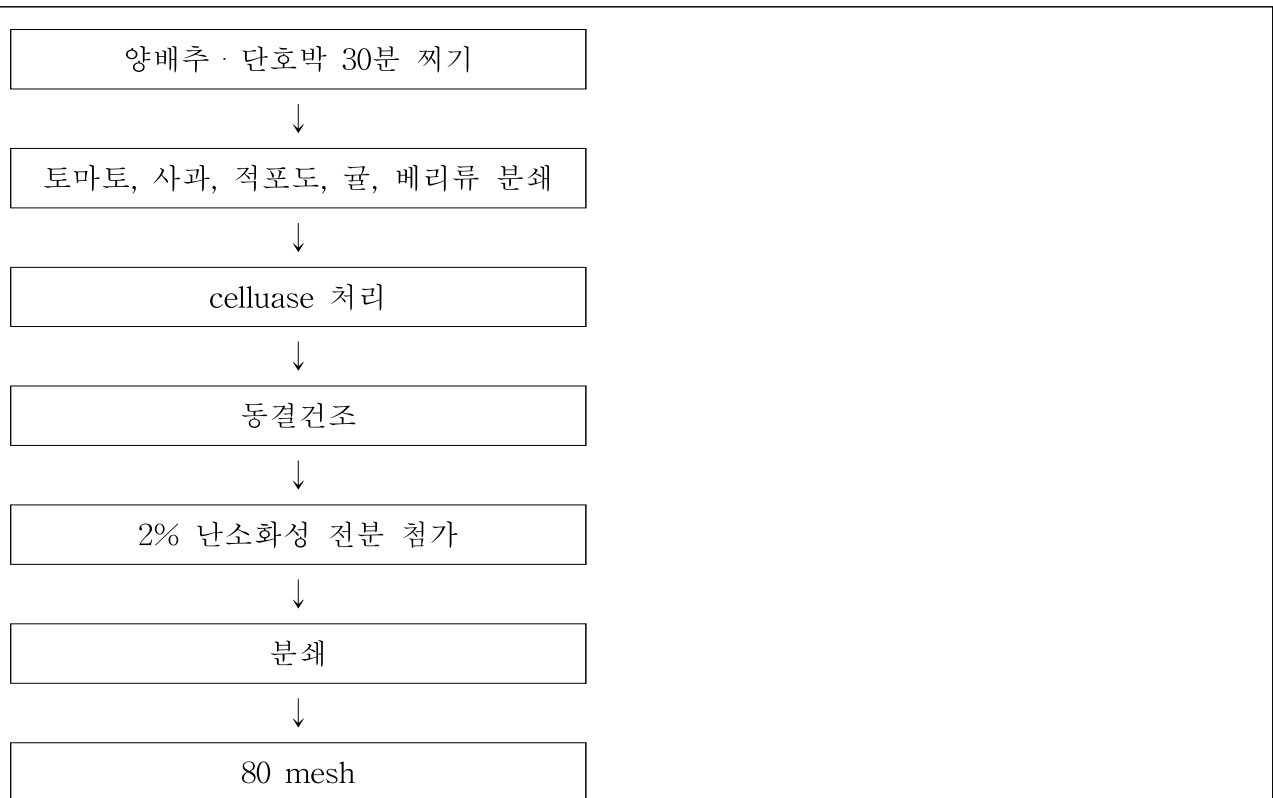


그림 2-13. 과일채소 분말주스의 분말공정

(4) 곡물 베이스 분말화 조건 확립

(가) 원료 선정

① 곡류 및 두류의 성분분석

최근 다양한 외국 곡류들이 ‘슈퍼곡물’ 이라 불리며 수입되고 있어 지역내에서 생산되는 곡류와 수입산 원료의 성분분석을 하여 곡물 베이스 분말음료의 레시피를 확립하는 데에 사용하고자 한다.

㉠ 일반성분 분석

- 실험 방법

일반성분은 수분, 단백질, 지질, 회분 함량을 측정하였다. 수분함량은 105±5℃ 건조기에서 상압가열건조법으로 측정하였고, 단백질을 Kjeldahl 방법으로 측정하였으며, 지질을 속실렛장치로 측정하였고 회분은 회화로에서 직접회화법으로 측정하였다.

- 일반성분 결과

곡물 및 두류의 일반성분은 아래 표 2-66과 같았다. 국산 곡류 및 두류의 수분함량은 10.22~15.71% 였고, 조회분 함량은 0.74~4.79%의 범위를 나타냈고, 두류인 쥐눈이콩과 서리태가 각각 4.79와 4.39%로 가장 높은 값을 나타냈다. 조지방은 0.78~6.92%의 범위를 나타냈는데 두류인 쥐눈이콩과 서리태가 각각 6.92와 6.33%로 가장 높은 조지방 함량을 나타냈으며 가장 낮은 값을 보인 찰보리쌀과 약 17배 차이가 났다. 단백질 함량은 7.01~44.33%의 범위를 나타냈으며 현미가 가장 낮은 단백질 값인 7.01%를 보였고 쥐눈이콩이 44.33%을 나타냈다.

수입산 곡류 및 두류의 수분함량은 9.13~11.50%의 범위를 나타냈다. 조회분은 0.95~4.77%의 범위를 나타냈는데 병아리콩이 4.77%로 가장 높은 회분함량을 나타냈고 귀리가 0.95%로 가장 낮은 회분함량을 나타냈다. 고창산 원료들의 조지방은 0.61~7.11%의 범위를 나타냈는데 귀리가 가장 높은 조지방 함량을 보였으며 오트밀 > 병아리콩 > 카무트 > 와일드라이스 > 렌틸콩 순으로 나타났다. 단백질 함량은 11.89~23.76%의 범위를 나타냈는데 오트밀 > 귀리 > 와일드라이스 > 카무트 > 병아리콩 > 렌틸콩 순을 나타냈다.

국내산 곡물과 수입곡물의 중요 영양원인 단백질과 지질은 국내산 두류에서 매우 높은 함량을 나타냈다.

표 2-66. 국내산 및 수입산 곡류, 두류의 일반성분(%)^a

	Moisture	Ash	Protein	Crud lipid	
국산	찰보리쌀	13.29±0.04 ^b	0.73±0.13 ^d	13.90±0.10 ^d	0.78±0.01 ^f
	귀리	12.47±0.01 ^{bc}	1.64±0.09 ^{bc}	12.32±0.37 ^d	5.78±0.04 ^b
	울무	11.24±0.08 ^c	1.57±0.27 ^{bc}	18.21±1.85 ^c	4.69±0.03 ^c
	현미	13.90±0.01 ^b	1.30±0.12 ^c	7.01±0.84 ^e	2.15±0.00 ^d
	찰흑미	15.71±0.01 ^a	1.16±0.18 ^c	8.24±0.20 ^e	2.32±0.04 ^d
	쥐눈이콩	10.22±0.06 ^d	4.79±0.07 ^a	44.33±1.52 ^a	6.92±0.37 ^a
	서리태	11.40±0.06 ^c	4.40±0.01 ^a	40.94±1.43 ^a	6.33±0.47 ^{ab}
수입	카무트	11.50±0.11 ^c	1.51±0.00 ^{bc}	18.21±0.08 ^c	1.38±0.02 ^e
	와일드라이스	11.16±0.08 ^c	1.23±0.10 ^c	14.81±0.16 ^{cd}	0.69±0.06 ^f
	렌틸콩	10.46±0.05 ^d	2.05±0.15 ^b	23.76±0.47 ^b	0.61±0.04 ^f
	오트밀	10.08±0.04 ^d	1.05±0.09 ^c	11.89±0.46 ^d	3.57±0.16 ^{cd}
	귀리	10.58±0.03 ^d	0.95±0.14 ^{cd}	12.27±0.11 ^d	7.11±0.13 ^a
	병아리콩	9.13±0.02 ^e	4.77±3.21 ^a	23.01±0.07 ^b	1.76±0.05 ^e

㉞ 결정구조 분석

- 실험 방법

X-선 회절기를 사용하여 13종의 곡류의 결정구조를 측정하였다. 회절각도(2θ)는 5~45° 까지 측정하였다.

- 결정구조

전분은 부분적 결정성 고분자로 결정성 부분으로 인하여 X-선 회절도에서 피크를 보인다. 전분의 결정형은 A, B, C형으로 구분하며, 곡류 전분은 대부분 A형의 결정형, 바

나나, 감자와 고 아밀로오스 옥수수전분은 B형의 결정형을 가진다고 알려져 있다. 전분이 충분한 물이 있을 때 호화되면 무정형으로 바뀌나 아밀로오스와 지질 복합체가 형성되면 $2\theta = 20^\circ$ 에서 피크를 나타내는 V형이 된다. 생전분의 결정형과 관계없이 호화된 전분이 노화되면 B형으로 회절각도 $2\theta=16.7^\circ$ 에 피크가 형성된다.

회절 각도 (2θ) 15.2° $17\sim 18^\circ$, 23.15° 에서 강한 피크를 보여 귀리, 현미, 보리, 울무, 카무트(수입), 오토밀(수입), 귀리(수입)는 전형적인 A형을 나타냈다.

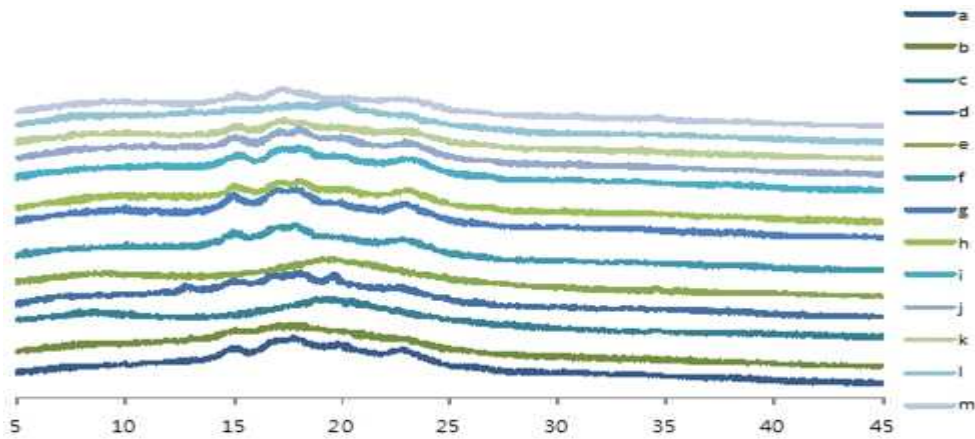


그림 2-14. 국내산 및 수입산 곡류, 두류의 X-선 회절도 양상

a:귀리 b:찰흑미 c:쥐눈이콩 d:현미 e:서리태 f:보리 g:울무 h:카무트(수입)
i:오토밀(수입) j:귀리(수입) k:병아리콩(수입) l:와일드라이스(수입) m: 렌틸콩(수입)

㉔ 무기성분

- 무기성분 함량

곡류 및 두류의 무기성분은 아래 표 2-67, 68과 같이 나타났다. 모든 시료에서 중금속인 주석은 검출되지 않았다. 국내산 원료에서 구리는 서리태가 7.28mg/kg 으로 가장 높은 값을 나타냈으며 찰흑미가 1.26mg/kg 으로 가장 낮은 구리함량을 나타냈다. 아연은 두류인 쥐눈이콩과 서리태가 각각 30.05 와 32.60mg/kg 으로 가장 높았으며 귀리가 10.97mg/kg 으로 가장 낮은 아연값을 보였다. 총 인 함량 역시 쥐눈이콩과 서리태 함량이 508.65 와 419.80mg/kg 으로 가장 높은 값을 보였으며 찰보리쌀이 116.20mg/kg 으로 가장 낮은 값을 나타냈다. 알루미늄은 찰보리쌀이 14.33mg/kg 으로 가장 높게 분석되었고 칼슘은 쥐눈이콩이 1293.41mg/kg 으로 나머지 시료들에 비해 압도적으로 높은 값을 보였고 서리태가 865.23mg/kg 으로 높은 값을 보였다. 철은 울무가 32.49mg/kg 로 높은 값을 보였고 칼륨은 두류인 쥐눈이콩과 서리태가 7649.15 와 7515.92mg/kg 로 높은 값을 보였고 마그네슘 역시 쥐눈이콩과 서리태가 각각 1419.23 과 132.28mg/kg 로 가장 높은 값을 보였다. 망간은 찰흑미가 24.89mg/kg 로 높은 값을 보였고 나트륨은 찰흑미가 29.28mg/kg 로 가장 높은 값을 보였다.

수입산 원료에서 구리는 렌틸콩과 병아리콩이 5.09 와 5.92mg/kg 로 가장 높은 함량을 나타냈으며 아연은 와일드 라이스가 45.61mg/kg 으로 가장 높았으며 구리함량이 가장 낮은 귀리와 약 9배 정도 함량차이를 보였다. 총 인은 전반적으로 낮은 함량을 보였지

만 그 중 병아리콩이 289.83mg/kg으로 가장 높은 값을 보였다. 알루미늄은 렌틸콩이 33.03mg/kg으로 가장 높게 측정되었는데 국내산 찰보리쌀보다 약 2배 이상 높은 값을 보였다. 칼슘은 귀리가 290.43mg/kg으로 가장 높은 값을 나타냈는데 가장 낮은 와일드 라이스보다 약 4배 높았지만 국내산 귀리는 368.70mg/kg로 78mg/kg정도 칼슘 함량을 차이를 보였다. 철은オート밀이 47.68mg/kg로 가장 높았으며 칼륨은 병아리콩이 5875.24mg/kg로 가장 높았으며 가장 낮은オート밀보다 약 5배높은 값을 보였다. 마그네슘은 카무트가 805.70mg/kg로 가장 높았으며 망간은 병아리콩이 25.59mg/kg로 가장 높았으며 와일드라이스가 7.24mg/kg로 가장 낮은 값을 나타냈다. 나트륨은 귀리가 32.07mg/kg을 나타냈는데 국내산 귀리보다 높은 함량을 보였다.

표 2-67. 국내산 및 수입산 곡류, 두류의 무기성분(1)

		Cu	Zn	T-P	Al	Ca	Fe
		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
국산	찰보리쌀	2.75	20.91	116.20	14.33	306.34	22.86
	귀리	2.00	10.97	258.46	0.13	368.70	29.14
	율무	1.64	25.49	278.86	1.25	74.84	32.49
	현미	1.69	14.27	187.69	0.11	73.96	6.61
	찰흑미	1.26	15.58	221.13	0.62	173.52	9.63
	쥐눈이콩	6.21	30.05	508.65	0.44	1293.41	28.91
	서리태	7.28	32.60	419.80	4.63	865.23	28.94
수입	카무트	3.38	35.14	211.51	0.68	169.85	26.14
	와일드라이스	3.62	45.61	229.04	0.55	69.55	11.18
	렌틸콩	5.09	39.03	174.65	33.03	519.66	34.40
	オート밀	3.00	9.38	148.50	0.76	185.58	47.68
	귀리	1.97	5.30	162.85	2.05	290.43	19.29
	병아리콩	5.92	28.75	289.83	1.17	426.27	21.23

표 2-68. 국내산 및 수입산 곡류, 두류의 무기성분(2)

	K	Mg	Mn	Na	Sn	
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	
국산	찰보리쌀	1315.69	407.95	12.99	29.28	ND
	귀리	1772.99	748.38	32.29	24.78	ND
	율무	1668.57	1232.09	15.92	5.15	ND
	현미	1195.64	660.18	18.74	14.73	ND
	찰흑미	1652.87	880.03	24.89	18.89	ND
	쥐눈이콩	7649.18	1419.23	14.71	7.48	ND
	서리태	7512.92	1320.28	17.46	9.76	ND
수입	카무트	1814.31	805.70	19.01	12.75	ND
	와일드 라이스	1438.70	679.81	7.24	25.51	ND
	렌틸콩	3800.88	557.62	8.20	17.11	ND
	오트밀	1108.87	397.45	20.97	22.27	ND
	귀리	1272.51	482.15	21.29	32.07	ND
	병아리콩	5875.24	869.30	25.59	12.62	ND

㉠ 비타민E 및 B군

- 분석 방법

비타민 E의 분석을 위해 각각의 시료 200 mg에 5 mL의 0.2% ammonia solution을 넣고 40~50℃에서 30분 동안 초음파 추출하였다. 그 후 35 mL의 에탄올을 넣고 냉장고에서 1시간 방치 후 40 mL까지 정용한 액을 3,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 분리된 상층액 5 mL을 취하여 N₂ gas 및 speed vacuum concentrator로 농축하였다. 그 후 메탄올 0.1 mL에 녹여서 표 2-69와 같은 조건으로 분석하였다.

표 2-69. vitamin E 분석조건

Column	Kinetex C18 (4.6 X 250 mm, 5 um, Phenomenex)
Guard column	UHPLC C18(AJO-8768, Phenomenex)
Column temperature	35°C
Mobile phase	98% MeOH
Run time	20 min
Flow rate	1.0 mL/min
Wavelength	UV 230 nm
Injection vol.	10 uL

- 비타민 B군의 분석을 위해 HPLC(1286, Agilent)를 이용하여 분석하였다. 각각의 시료 200 mg을 칭량하여 2 mL의 10% acetic acid:4.3% trichloroacetic acid (v/v)을 넣고 1시간 동안 shaking 후, 원심 분리하여 상층액을 0.45 um의 syringe filter로 여과하여 표 2-70과 같은 조건으로 분석하였다.

표 2-70. vitamin B₁ 과 B₂ 분석조건

Column	Kinetex C18 (4.6 X 250 mm, 5 um, Phenomenex)		
Guard column	UHPLC C18(AJO-8768, Phenomenex)		
Column temperature	35°C		
Mobile phase	A: 25mM NaH ₂ PO ₄ , pH 2.5 by HCl B: ACN		
Gradient	Time(min)	A	B
	0.0	100	0
	5.0	100	0
	10.0	85	15
	20.0	0	100
	23.0	0	100
	24.0	100	0
	30.0	100	0
Run time	30 min		
Flow rate	1.0 mL/min		
Wavelength	UV 254 nm (vitamin B ₁) FLD 450(Ex), 530(Em)		
Injection vol.	10 uL		

- 결과

곡류 및 두류의 비타민 분석은 아래 표 2-71과 같이 나타났다. 지용성 비타민인 Vit E는 두류인 쥐눈이콩, 서리태, 렌틸콩과 병아리콩에서만 분석되었고 쥐눈이콩이 16.570ug/mg으로 가장 높았고, 0.849ug/mg로 렌틸콩이 가장 낮게 분석되었는데 쥐눈이콩과 약 20배 정도 함량 차이를 보였다. Vit B1은 리태와 렌틸콩, 병아리콩을 제외한 모든 시료에서 분석되었는데 그 중 찰보리쌀과 �트밀이 각각 6.313과 5.741ng/mg로 높게 분석되었다. Vit B2는 모든 시료에서 분석되었는데 와일드라이스가 0.900ng/mg으로 가장 높게 분석되었고 전반적으로 수입산보다 고창산 곡물의 Vit B2의 함량이 더 높은 것을 알 수 있었다.

표 2-71. 곡류 및 두류의 vitamin E와 B군 함량

	E	B1	B2	
	(ug/mg)	(ng/mg)	(ng/mg)	
국산	찰보리쌀	-	6.313	0.191
	귀리	-	2.384	0.205
	울무	-	0.470	0.241
	현미	-	0.904	0.041
	찰흑미	-	0.789	0.352
	쥐눈이콩	16.570	1.360	0.418
	서리태	4.900	-	0.241
수입	카무트	-	0.711	0.085
	와일드라이스	-	1.956	0.900
	렌틸콩	0.849	-	0.036
	오토밀	-	5.741	0.064
	귀리	-	3.884	0.091
	병아리콩	8.893	-	0.059

㉞ 아미노산

- 분석방법 : 아미노산 분석을 위해 HPLC(1100, Hewlett packard)를 이용하여 분석하였다. 시료의 전처리는 각각의 시료를 완전히 건조시키고 PITC로 유도체화 하고 완전히 말린 후 200 uL의 A 용매로 녹였다. microcentrifuge로 원심분리하여 얻은 상층액을 0.45 um syringe filter로 여과하여 표 2-72와 같은 조건으로 분석하였다.

표 2-72. 아미노산 분석조건

Column	Waters Nova-Pak C18 (3.96 X 300 mm, 4 μ m)			
Column temperature	46°C			
Mobile phase	A: 25mM NaH ₂ PO ₄ , pH 2.5 by HCl B: ACN			
Gradient	Time(min)	A	B	Flow (mL/min)
	0.0	100	0	1.0
	12.	92	8	1.0
	13.0	88	12	1.0
	15.2	80	20	1.0
	22.5	54	46	1.0
	22.7	0	100	1.5
	23.2	0	100	1.5
	25.0	0	100	1.5
	25.7	0	100	1.5
	26.0	100	0	1.5
	29.0	100	0	1.5
	30.0	100	0	1.0
Run time	30 min			
Flow rate	1.0 mL/min			
Wavelength	UV 254 nm			
Injection vol.	10 μ L			

- 결과

곡류 및 두류의 아미노산 분석결과는 표 2-73과 같았다.

표 2-73. 곡류 및 두류의 아미노산 분석 결과

	국산							수입					
	찰보리쌀	귀리	울무	현미	찰흑미	귀눈이콩	서리태	카무트	와일드라이스	렌틸콩	옌트밀	귀리	병아리콩
Cys	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Asp	0.01	0.04	0.01	0.03	0.08	0.39	0.29	0.04	0.01	0.48	0.04	0.03	0.02
Glu	0.00	0.01	0.01	0.02	0.07	0.26	0.33	0.05	0.04	1.07	0.05	0.04	0.17
Asn	0.01	0.03	0.02	0.02	0.06	0.70	0.84	0.07	0.02	0.80	0.08	0.05	0.03
Ser	0.00	0.01	0.00	0.01	0.02	0.19	0.13	0.00	0.01	0.04	0.02	0.01	0.01
Gln	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.01	0.01
Gly	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.07	0.07	0.01	0.01	0.09	0.01	0.01	0.02
His	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.23	0.17	0.00	0.00	0.17	0.01	0.01	0.02
Arg	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	4.35	3.80	0.03	0.04	0.87	0.03	0.01	0.81
Thr	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.04	0.00	0.01	0.11	0.01	0.01	0.01
Ala	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.60	0.47	0.01	0.01	0.18	0.02	0.01	0.01
Pro	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06	0.03	0.02	0.01	0.07	0.02	0.01	0.05
Tyr	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.10	0.08	0.00	0.01	0.04	0.01	0.00	0.01
Val	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04	0.01	0.01	0.13	0.02	0.01	0.02
Met	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
Cys2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ile	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	0.01	0.03	0.01	0.00	0.00
Leu	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	0.01	0.06	0.01	0.00	0.01
Phe	0.19	0.21	0.20	0.22	0.19	0.08	0.07	0.05	0.09	0.08	0.09	0.06	0.05
Trp	0.00	0.03	0.00	0.02	0.02	0.60	0.36	0.01	0.01	0.10	0.02	0.01	0.05
Lys	0.09	0.09	0.07	0.08	0.07	0.08	0.05	0.01	0.03	0.13	0.03	0.02	0.05

② 곡류 및 두류 분말의 관능적 특성

㉞ 관능평가

곡류 및 두류 분말 함량을 결정하기 위해 기호도 조사를 실시하였다(표 2-74). 분말 30

g을 우유에 혼합하여 맛을 본 후 9점 만점으로 기호도를 평가하였다.

㉔ 곡류 및 두류 분말 함량

곡류와 두류의 비율을 다르게 하여 기호도 조사를 실시한 결과 곡류와 두류는 1:0.7의 비율일 때 가장 맛이 좋았다.

표 2-74. 곡류 및 두류 분말주스의 관능평가 결과

	Appear- ance	Flavor	Taste	Texture	Overall quality
cereals:beans = 1:1	6.87± 0.65 ^b	6.12± 1.64	6.15± 0.74 ^b	6.57± 2.20	6.28± 0.88 ^b
cereals:beans = 1:0.7	7.22± 1.24 ^a	6.55± 1.43	7.46± 0.56 ^a	6.12± 0.96	6.98± 1.32 ^a
cereals:beans = 1:1.3	6.60± 1.42 ^b	6.08± 0.83	6.43± 0.80 ^b	6.74± 1.42	6.10± 0.87 ^c
cereals:beans = 1:1.6	6.00± 0.44 ^c	6.21± 0.96	5.87± 1.21 ^c	6.22± 0.46	6.04± 0.81 ^c

(4) 난소화성 전분 및 전처리 원료의 성분 및 기능성 확인

(가) 전처리에 따른 원료별 불용성 및 수용성 식이섬유, 총 식이섬유 분석

① 분석 방법

베리류 및 과·채류 동결건조 분말은 총 식이섬유, 수용성 식이섬유, 불용성 식이섬유는 AOAC방법으로 분석하였다. 불용성 식이섬유는 건조된 시료 1 g(d.b.)에 α-amylase, protease, amyloglucosidase 순서로 처리한 후 glass filter에 여과 건조하고 무게를 측정하여 계산하였다. 수용성 식이섬유는 총식이섬유와 같이 효소처리 후 70℃의 증류수로 씻어낸 여액을 ethanol에 탈수 시킨 후 glass filter에 여과하고 무게를 측정하여 계산하였다. 총식이섬유는 불용성 식이섬유와 수용성 식이섬유의 합으로 계산하였다.

② 불용성 및 수용성 식이섬유, 총 식이섬유 함량

- 전처리에 따른 양배추의 수용성 식이섬유와 총 식이섬유의 결과는 아래 표 2-75와 같이 나타났다. 양배추는 sonication의 온도와 상관없이 수용성 식이섬유와 총 식이섬유 함량이 증가하였는데 그 중 총 식이섬유 함량이 약 0.5배 증가한다는 것을 알 수 있었다. 또 cellulase처리한 시료의 역시 수용성 식이섬유와 총 식이섬유 함량이 증가된 것을 알 수 있었다.

표 2-75. 양배추의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Control	15.9±0.11 ^c	9.53±0.17 ^c	25.43±0.08 ^c
Sonication 25℃	28.2±0.10 ^b	10.05±0.51 ^b	38.25±0.44 ^b
Sonication 40℃	29.18±0.08 ^a	10.13±0.42 ^b	39.31±0.26 ^{ab}
Enz - Ultraclear	7.58±0.07 ^d	5.76±0.30 ^d	13.34±0.34 ^d
Enz - Cellulase	29.38±0.15 ^a	11.57±0.25 ^a	40.95±0.41 ^a

- 단호박의 전처리에 따른 수용성 식이섬유와 총 식이섬유의 결과는 아래 표 2-76과 같이 나타났다. 단호박은 cellulase처리를 제외한 모든 전처리 군에서 수용성 식이섬유가 감소되는 것을 알 수 있었다. 하지만 총 식이섬유는 ultra clear를 제외하고 모든 시료에서 컨트롤에 비해 증가되었는데 그 중 특히 cellulase에 의해 많이 증가함을 나타냈다.

표 2-76. 단호박의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Control	10.78±0.12 ^b	5.15±0.13 ^{ab}	15.93±0.57 ^c
Sonication 25℃	12.55±0.24 ^a	5.08±2.06 ^{ab}	17.63±3.20 ^b
Sonication 40℃	12.74±0.04 ^a	5.12±3.29 ^{ab}	17.86±2.10 ^b
Enz - Ultraclear	8.95±0.20 ^c	3.88±1.03 ^b	12.83±0.16 ^d
Enz - Cellulase	12.00±0.12 ^a	8.36±1.36 ^a	20.36±1.03 ^a

- 토마토의 전처리에 따른 수용성 식이섬유와 총 식이섬유의 결과는 아래 표 2-77과 같이 나타났다. 컨트롤과 cellulase처리한 시료를 제외한 모든 수용성 식이섬유 함량은 감소됨을 나타냈다. 하지만 총 식이섬유는 ultra clear 처리한 시료를 제외하고 증가가 되었는데 이는 불용성 식이섬유 함량이 증가되었을 것이라 추측된다.

표 2-77. 토마토의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Control	22.72±0.26 ^c	6.02±1.03	28.74±0.75 ^c
Sonication 25℃	26.09±1.03 ^b	5.75±1.05	31.84±0.28 ^b
Sonication 40℃	27.07±0.85 ^a	5.88±0.29	32.95±0.86 ^a
Enz - Ultraclear	15.65±0.76 ^d	5.65±0.78	21.3±0.12 ^d
Enz - Cellulase	27.03±0.97 ^a	6.06±3.03	33.09±0.63 ^a

- 사과의 전처리에 따른 수용성 식이섬유와 총 식이섬유의 결과는 아래 표 2-78과 같이 나타났다. 위의 결과들과 유사한 경향을 나타냈는데 ultra clear처리한 시료가 컨트롤 시료에 비해 절반 정도 수용성 식이섬유가 감소하였다. 하지만 총 식이섬유는 전반적으로 증가하였고, 특히 cellulase처리한 시료는 컨트롤에 비해 약 2배 정도 높은 식이섬유 함량을 나타냈다.

표 2-78. 사과의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Control	6.09±0.12 ^d	4.87±0.06 ^c	10.96±0.08 ^d
Sonication 25°C	10.39±0.15 ^c	5.62±0.16 ^b	16.01±0.11 ^b
Sonication 40°C	10.51±0.06 ^c	5.87±0.26 ^b	16.38±0.26 ^b
Enz - Ultraclear	11.20±0.07 ^b	2.09±0.08 ^d	13.29±0.08 ^c
Enz - Cellulase	12.02±0.18 ^a	8.63±0.06 ^a	20.65±0.18 ^a

- 오렌지의 전처리에 따른 수용성 식이섬유와 총 식이섬유의 결과는 아래 표 2-79와 같이 나타났다. 오렌지 역시 위의 결과 값과 유사한 경향으로 ultra clear처리한 시료가 컨트롤 시료보다 수용성 식이섬유가 감소한 것을 알 수 있었다. 하지만 총 식이섬유는 컨트롤 시료보다 증가되었지만 다른 전처리 시료에 비해 가장 낮은 값을 보였고, cellulase는 컨트롤 시료보다 약 2배 높은 값으로 가장 높은 값을 보였다.

표 2-79. 오렌지의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Control	5.96±2.06	5.02±0.36 ^b	10.98±0.02 ^b
Sonication 25°C	5.00±0.56	5.27±0.21 ^b	10.27±0.08 ^b
Sonication 40°C	5.22±1.98	5.36±0.27 ^b	10.58±0.16 ^b
Enz - Ultraclear	3.24±2.36	3.47±0.34 ^c	6.71±1.00 ^c
Enz - Cellulase	5.11±0.26	8.54±0.14 ^a	13.65±0.12 ^a

- 적포도의 전처리에 따른 수용성 식이섬유와 총 식이섬유의 결과는 아래 표 2-80과 같이 나타났다. 역시 위의 결과 값과 유사한 경향으로 ultra clear처리한 시료가 컨트롤 시료보다 수용성 식이섬유가 감소한 것을 알 수 있었다. 이는 전처리 과정을 통해 수용성 식이섬유가 불용성 식이섬유로 변하였을 것으로 추측한다. 적포도의 총 식이섬유는 컨트롤에 비해 cellulase는 약 4% 많았지만 전반적으로 다른 전처리 군은 컨트롤에 비해 낮은 값을 보였다.

표 2-80. 적포도의 처리 조건에 따른 식이섬유 함량

	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Control	5.60±0.26 ^b	4.12±0.08 ^b	9.72±0.24 ^b
Sonication 25°C	4.12±0.16 ^c	3.45±0.10 ^c	7.57±0.06 ^d
Sonication 40°C	4.17±0.19 ^c	3.85±0.06 ^c	8.02±0.12 ^c
Enz - Ultraclear	4.21±0.55 ^{ac}	2.15±0.12 ^d	6.36±0.05 ^e
Enz - Cellulase	7.74±0.38 ^a	5.78±0.87 ^a	13.52±0.06 ^a

(나) 난소화성 전분 및 분말시료의 식이섬유 및 항산화 활성

① 총 식이섬유 분석

㉠ 분석 방법

총식이섬유는 건조된 시료 1 g(d.b.)에 α-amylase, protease, amyloglucosidase 순서로 처리한 후 ethanol에 탈수 시킨 후 glass filter에 여과 건조하고 무게를 측정하여 계산하였다.

㉡ 총 식이섬유 함량

동결건조와 분무건조한 분말의 총 식이섬유 함량 차이는 아래 표 2-81과 같았다. 동결건조의 경우 채소 및 과일의 과육부분이 그대로 건조되어 분쇄되므로 첨가물의 종류와 관계없이 비슷한 식이섬유 함량을 나타냈다. 분무 건조의 경우 착즙액 및 추출물을 사용하므로 첨가물의 식이섬유 함량의 영향을 많이 받았다.

표 2-81. 과일 채소류 분말주스 제조방법에 따른 식이섬유 함량

Drying	additives	TDF (%)
Freeze drying	Control	24.57±2.21 ^a
	Maltodextrin	20.42±2.71 ^b
	Nondigestible dextrin	26.64±0.76 ^a
	Nondigestible starch	23.70±1.83 ^a
Spray drying SP-A	Maltodextrin	2.3±0.42 ^c
	Nondigestible dextrin	25.26±1.63 ^a
	Nondigestible starch	9.47±0.90 ^b
Spray drying SP-B	Maltodextrin	5.77±0.75 ^c
	Nondigestible dextrin	29.58±0.88 ^a
	Nondigestible starch	10.20±0.98 ^b

② 항산화 성분 및 항산화 활성

㉠ 분석 방법

항산화성분은 1차년도와 같이 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량을 측정하였고, 항산화활성은 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능을 측정하였다.

즉 총 폴리페놀 함량은 각각의 시료 50 mg에 증류수 10 mL로 1시간 동안 초음파 추출한 시료액 1 mL에 증류수 7.5 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL, 35% Na₂CO₃ 1 mL를 순서대로 가한 다음 암소에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 tannic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량은 각각의 시료 50 mg에 증류수 10 mL로 1시간 동안 초음파 추출한 시료 0.5 mL에 에탄올 1.5 mL, 10% 질산알루미늄 0.1 mL, 1 M 초산칼륨 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 순서대로 가하고 vortex mixer로 혼합하여 실온에서 40분간 반응시키고 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 quercetin(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

DPPH 라디칼 소거활성은 100 µg/mL 농도로 조제한 각각의 시료 0.1 mL 에 에탄올 0.2 mL를 가하고 0.2 mM DPPH용액 0.3 mL를 가한 후 vortex mixer로 교반하였고, 실온에서 30분간 반응시키고 microplate reader(Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 측정하였다.

ABTS assay는 100 µg/mL 농도로 조제한 각각의 시료 0.05 mL에 ABTS radical 용액 0.195 mL를 첨가하여 7 분간 반응시킨 후 microplate reader(Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 측정하였다.

㉡ 항산화 성분 및 항산화 활성

과·채류 8종 동결건조 분말시료에 말토덱스트린, 난소화성 덱스트린 및 난소화성전분을 첨가하여 항산화 활성을 비교한 결과는 아래 표 2-82와 같다. 말토덱스트린을 첨가한 분말의 총 폴리페놀 함량은 16.96±0.68 mg/mL로 가장 높은 함량을 보였고, 난소화성 전분 첨가 분말은 16.09±0.81 mg/mL, 난소화성 덱스트린 첨가 분말이 15.70±0.66 mg/mL의 함량을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 총 플라보노이드 함량은 난소화성 덱스트린과 난소화성 전분을 첨가한 시료에서 각각 4.53±0.98, 4.55±0.56 mg/mL로 나타났고, 말토덱스트린 첨가 분말은 3.75±0.29 mg/mL로 가장 낮은 함량을 보였다. 항산화활성 측정을 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 100 µg/mL 농도에서 측정한 결과 DPPH 라디칼 소거활성은 31.77±0.58~32.74±0.84% 범위로 나타났고 첨가제에 따른 활성에 차이는 보이지 않았다. ABTS 라디칼 소거활성의 경우는 같은 농도에서 난소화성 전분을 첨가한 분말시료가 81.92±1.57%로 가장 높은 활성을 보였고, 말토덱스트린과 난소화성 말토덱스트린 첨가 분말은 차이가 거의 없는 것으로 나타났다.

표 2-82. 과·채류 혼합 동결건조 분말의 항산화 활성

Drying	additives	Total phenol (mg/g)	Total flavonoid (mg/g)	DPPH radical scavenging activity(%)	ABTs radical scavenging activity(%)
	Maltodextrin	16.96±0.68	3.75±0.29	32.74±0.84	69.74±1.67 ^b
Freeze drying	Nondigestible dextrin	15.70±0.66	4.53±0.98	31.77±0.58	64.79±2.26 ^b
	Nondigestible starch	16.09±0.81	4.55±0.56	32.64±1.19	81.92±1.57 ^a

- 과·채류 8종의 착즙액을 분무건조한 분말시료에 말토덱스트린, 난소화성 덱스트린 및 난소화성전분을 첨가하여 항산화 활성을 비교한 결과에서도 말토덱스트린을 첨가한 분말시료에서 5.56±0.57 mg/mL로 가장 높았으나 난소화성 덱스트린 및 난소화성 전분을 첨가한 시료와의 차이는 크지 않았다. 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과에서는 난소화성 덱스트린을 첨가한 시료가 3.47±1.05 mg/mL로 가장 높은 함량을 보였고, 총 플라보노이드 또한 큰 차이를 보이지는 않았다. 항산화활성 측정을 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성을 100 µg/mL 농도에서 측정한 결과 DPPH 라디칼 소거활성은 7.23±3.59~9.36±0.29% 범위로 큰 차이를 보이지는 않았으며, ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과에서는 말토덱스트린 첨가 분말이 40.66±0.78%로 가장 높은 활성을 보였다(표 2-83).

표 2-83. 과·채류 분무건조 분말의 항산화 활성

Drying	additives	Total phenol (mg/g)	Total flavonoid (mg/g)	DPPH radical scavenging activity(%)	ABTs radical scavenging activity(%)
	Maltodextrin	5.56±0.57	2.66±0.12	9.07±0.25 ^a	40.66±0.78 ^a
Spray drying -A	Nondigestible dextrin	5.39±0.74	3.47±1.05	7.23±3.59 ^b	33.44±2.63 ^b
	Nondigestible starch	5.45±0.42	2.61±0.24	9.36±0.29 ^a	22.76±1.53 ^c

- 과·채류 8종의 추출물을 분무건조한 분말시료에 말토덱스트린, 난소화성 덱스트린 및 난소화성전분을 첨가하여 항산화 활성을 비교한 결과에서도 난소화성 덱스트린을 첨가한 시료에서 총 폴리페놀 함량이 높았으며, 생과 동결건조 분말과 착즙액 분무건조 분말보

다 함량의 차이는 더욱 크게 나타났다. 또한 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과에서도 난소화성 텍스트린을 첨가한 시료가 가장 높은 함량을 보였다. 항산화활성 측정을 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 100 µg/mL 농도에서 측정한 결과 DPPH 라디칼 소거활성은 10.77±0.17~19.79±1.17%로 난소화성 텍스트린을 첨가한 분말이 가장 높은 활성을 보였고, 난소화성 전분을 첨가한 분말이 가장 낮은 활성을 보였다. ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과에서는 말토덱스트린을 첨가한 분말은 61.79±7.08%, 난소화성 텍스트린을 첨가 분말이 60.44±8.13%로 표준편차 범위내에서 유사한 활성을 보였으며, 난소화성 전분을 첨가한 분말은 44.87±5.05%의 ABTS 라디칼 소거활성을 보였다(표 2-84).

표 2-84. 과·채류 분무건조 분말의 항산화 활성

Drying	additives	Total phenol (mg/g)	Total flavonoid (mg/g)	DPPH radical scavenging activity(%)	ABTs radical scavenging activity(%)
	Maltodextrin	11.54±0.49 ^b	2.94±0.29	15.08±0.67 ^b	61.79±7.08 ^a
Spray drying -B	Nondigestible dextrin	14.71±0.91 ^a	4.71±1.26	19.79±1.17 ^a	60.44±8.13 ^a
	Nondigestible starch	10.19±0.79 ^b	3.81±0.98	10.77±0.17 ^c	44.87±5.05 ^b

(5) 분말 제품의 안정성 조사

(가) 저장기간에 따른 분말 음료의 특성분석

① 저장 조건 및 실험 방법

개발제품인 분말타입을 물에 분산시켜 냉장(4℃)과 상온(20℃)에서 0, 5, 10, 20일간 보관하면서 분석 하였다.

② 저장에 따른 분말 음료의 특성

상온에 둔 시료는 저장기간에 늘어 남에 따라 당도는 증가하고, 산도와 pH는 감소하는 것을 볼 수 있다. 반면 냉장고에 둔 시료는 상온에 비해 큰 변화는 없었고 산도와 pH가 약간 감소하였다(표 2-85).

표 2-85. 과일 채소류 분말주스의 저장안정성

		20℃	4℃
0 day	Brix (°Bx)	8.10	8.10
	Acidity (g/L)	4.11	4.11
	pH	3.98	3.98
5 days	Brix (°Bx)	8.20	8.00
	Acidity (g/L)	4.05	4.10
	pH	3.64	3.91
10 days	Brix (°Bx)	8.40	7.90
	Acidity (g/L)	3.84	3.97
	pH	3.20	3.88
20 days	Brix (°Bx)	8.58	7.80
	Acidity (g/L)	3.61	3.93
	pH	2.84	3.75

(나) 저장기간에 따른 분말 음료의 관능검사

① 저장 조건 및 실험 방법

개발제품인 분말타입을 물에 분산시켜 냉장(4℃)과 상온(20℃)에서 0, 5, 10일간 보관하면서 관능평가를 실시하였다.

② 저장기간에 따른 분말 음료의 관능검사

관능평가 결과는 아래 표 2-86과 같이 나타났다. 전반적으로 상온에 둔 시료가 냉장에 둔 시료보다 낮은 값을 보였고, 특히 저장기간에 따라 상온과 냉장의 시료의 관능평가 결과는 확연한 차이를 보였다. 5일째 상온에 보관한 시료부터는 특유의 향이 나기 시작했으며 상온보관 10일째에는 부패하여 관능평가는 외관, 향과 전반적인 기호도만 평가하였다.

Table 2-86. 과일채소류 분말주스의 저장에 따른 관능평가 결과

		Appear- ance	Flavor	Taste	Texture	Overall quality
Control		7.58± 0.36 ^a	7.96± 1.54	7.06± 0.84	7.58± 0.65	7.88± 1.24 ^a
	5 days	20℃	6.79± 1.25 ^a	6.87± 0.65	6.15± 0.98	6.87± 3.20
4℃		7.15± 0.84 ^a	7.28± 1.35	7.06± 0.44	7.12± 0.36	6.87± 1.58 ^a
10 days	20℃	5.31± 2.36 ^b	3.28± 2.24			3.87± 2.35 ^c
		6.59± 2.03 ^a	6.21± 0.15			6.06± 0.45 ^b

(6) 시판제품과 비교

(가) 실험 방법

최종 개발된 주스와 과·채 주스 시판제품을 비교하기 위해 시판제품의 관능평가를 통해 기호도가 가장 높았던 3가지(C, D, E)를 선택하여 총 식이섬유 함량(TDF) 및 항산화활성을 측정하였고 총 폴리페놀 및 DPPH 라디칼 소거활성을 분석하였다.

(나) 총식이섬유 함량

개발 분말제품의 총 식이섬유 함량은 23.91%로 시판되는 제품보다 1.5 ~ 1.8 배 높았으며 효소처리를 하지 않은 시료보다 약 3% 높았다.

표 2-87. 개발제품과 시판제품의 식이섬유 함량 비교

	TDF (%)
대조군	19.20±0.21 ^b
개발제품	23.91±0.27 ^a
Commercial C	11.47±0.98 ^c
Commercial D	10.55±0.28 ^c
Commercial E	9.31±0.22 ^d

(다) 항산화 활성

분말제품의 총 폴리페놀 함량 측정결과 21.57~1150.52 µg/mL의 범위를 나타냈다. 개발제품이 시판제품 보다 1.2 ~53.3 배 높은 값을 나타냈다.

DPPH 라디칼 소거활성은 1, 5, 10, 25, 50, 100ul/ml의 농도에서 관찰한 결과 농도 의존적으로 증가한다는 것을 알 수 있었다. 개발 제품의 활성이 시판제품에 비해 탁월하게 높았다. 본 사업을 통해 개발한 제품은 시판 제품에 비해 식이섬유 함량이 높으면서 항산화활성 또한 높음을 알 수 있었다.

표 2-88. 개발제품과 시판제품의 총폴리페놀 함량 비교

	Total phenol contents (µg/mL)
개발제품	1150.52±9.80 ^a
Commercial C	985.36±9.11 ^b
Commercial D	743.15±14.10 ^c
Commercial E	21.57±2.48 ^d

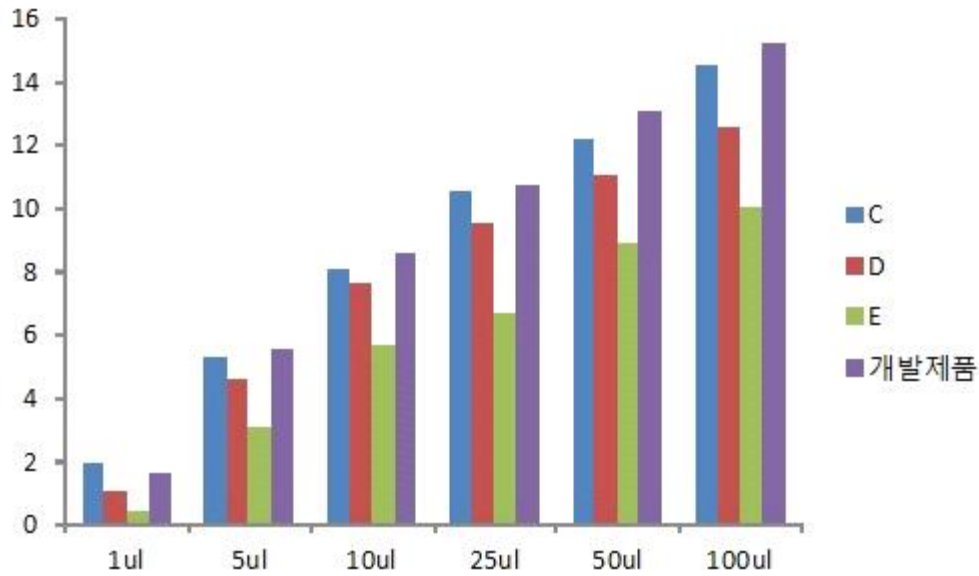


그림 2-15 개발제품 및 시판제품의 항산화활성 비교

나. 3차년도 : 과·채류 식이섬유의 물성 개선을 위한 생물학적 전처리

식이섬유 강화 음료용 씨앗입자 및 과·채류 전처리 원료의 액상조건 확립

(1) 유산균 발효를 통한 과·채류 물성개선 연구

(가) 발효 전·후 물성 확인

① 재료 및 방법

본 실험에 사용된 베리류 4종(복분자, 아로니아, 오디, 블루베리)는 전라북도 고창군에서 2016년에 수확한 것을 구입하여 -40°C 에서 냉동 보관 후 4°C 에서 해동하여 실험에 사용하였다. 발효에 이용한 유산균은 재단법인 베리앤바이오식품연구소에서 분리 동정한 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* SRL6(이하 *Leu. mesenteroides* SRL6)을 사용하였다.

② 추출물 발효조건

유산발효 starter로 사용된 유산균은 MRS(Difco, Detroit, MI, USA) 배지에서 2회 이상 계대 배양하여, 4종의 베리류(복분자, 아로니아, 오디, 블루베리) 생과 무게의 0.5%가 되도록 배양된 유산균을 접종하였으며, 30°C 에서 24시간 배양 후 착즙하여 원심분리한 후 상등액을 취하여 발효에 따른 특성을 비교하였다.

③ 발효특성 및 물성확인

㉠ 측정방법

유산균 발효액의 pH는 pH meter(Mettler Toledo)로 측정하였으며, 총산도는 시료 용액 10 mL를 pH 8.3까지 도달하는데 필요한 0.1 N NaOH 용액의 소비량(mL)으로 정의하였으며 lactic acid(% w/w)함량으로 환산하여 나타내었다. 당도는 상온에서 당도계(PAL-1 Pocket Refractometer, ATAGO, WA, USA)를 이용하여 측정하였고,

색도는 분광색차계(CM-5, Minolta, Osaka, Japan)를 사용하여 Hunter's value L (lightness, 명도), a (redness, 적색도) 및 b (yellowness, 황색도) 값을 3회 측정하였다. 발효액의 물성은 Brookfield 점도계를 이용하여 점도를 측정하였다.

유산 발효 기간의 생균수 측정은 배양액 1 mL에 멸균 식염수 9 mL를 혼합하여 10배 희석법으로 희석하였고, 희석액 100 μ L를 MRS 평판배지에 도말한 후 30°C에서 48시간 배양하여 형성된 집락수를 계수하여 colony forming unit(CFU)으로 나타내었다.

㉡ 유산발효 전후의 특성 및 물성 변화

복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 생과에 *Leu. mesenteroides* SRL6을 이용한 유산 발효 전 후의 pH, 산도, 당도 및 유산균 변화를 표 2-89 나타내었다. 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 모두 발효 후 큰 차이는 아니었으나 pH는 유의적으로 감소하였으며, 산도는 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 당도는 모든 베리류가 감소하여 유산 발효가 진행되었음을 확인할 수 있었다. 발효 전 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 모두 유산균이 검출되지 않았으나 유산 발효 후 각각 7.98 ± 0.02 , 6.83 ± 0.11 , 6.84 ± 0.02 , 6.57 ± 0.05 log CFU/mL로 증가하였다. 일반적으로 유산발효 중 pH의 급격한 감소는 유산균에 의한 발효 과정에서 생성되는 젖산 및 유기산에 기인하는 것으로 알려져 있으며, 이는 *L. plantarum* KLAB21를 이용한 복숭아 주스의 발효에서 pH는 감소하고 산도는 증가하였다는 보고와 *L. plantarum* GBL17 균주를 이용한 복분자 착즙액의 유산발효 특성 연구에서 발효가 진행됨에 따라 pH는 감소하고 산도는 증가하였으며, 유산균수는 급격히 증가하였다는 보고와 일치하였다. 따라서 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 생과에서 *Leu. mesenteroides* SRL6에 의한 유산발효가 일어난 것으로 판단하였다.

또한 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 생과에 *Leu. mesenteroides* SRL6을 이용한 유산발효 전 후의 점도 및 색도를 측정한 결과(표 2-90) 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 모두 유산발효 후 점도에 변화가 없었으며, 명도를 나타내는 L값, 적색도인 a값 및 황색도인 b값에서 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 표 1에서와 같이 유산발효가 일어나 산도가 약간 증가하였으나 색도에 영향을 줄 수 있는 정도는 아닌 것으로 생각하였다.

표 2-89 . 베리류의 *Leu. mesenteroides* SRL6 발효에 의한 발효특성

Samples	Treatment	pH	Total acidity(%)	Sugar concentration (°Brix)	Lactic acid bacteria (log CFU/mL)
Black raspberry	CTL	3.26±0.02	1.73±0.03	11.20±0.00	ND
	fermented	3.02±0.01*	2.16±0.02*	10.42±0.52	7.98±0.02*
Black chokeberry	CTL	3.51±0.03	0.77±0.02	17.30±0.00	ND
	fermented	3.43±0.01*	0.90±0.02*	16.93±0.06	6.83±0.11*
Mulberry	CTL	3.37±0.01	0.36±0.01	11.47±0.06	ND
	fermented	3.20±0.01*	0.58±0.13*	11.27±0.06	6.84±0.02*
Blueberry	CTL	4.40±0.01	0.40±0.01	13.63±0.06	ND
	fermented	4.24±0.01*	0.48±0.01	11.73±0.12	6.57±0.05*

* $p < 0.05$

표 2-90. 베리류의 *Leu. mesenteroides* SRL6 발효에 의한 점도 및 색도 변화

Samples	Treatment	Apparent viscosity	Color		
			L	a	b
Black raspberry	CTL	1.52±0.02	19.79±0.01	52.19±0.01	34.14±0.02
	fermented	1.48±0.01	18.64±0.01	51.07±0.02	33.02±0.02
Black chokeberry	CTL	1.65±0.03	33.39±0.02	62.40±0.03	42.25±0.06
	fermented	1.60±0.01	32.31±0.06	61.38±0.03	40.16±0.02
Mulberry	CTL	1.67±0.01	18.06±0.01	44.67±0.02	22.48±0.04
	fermented	1.69±0.01	18.57±0.02	44.98±0.04	22.57±0.02
Blueberry	CTL	1.43±0.02	50.74±0.01	47.06±0.05	29.06±0.03
	fermented	1.47±0.01	50.84±0.01	47.11±0.02	29.10±0.02

* $p < 0.05$

(나) 발효 전·후 항산화활성 변화

① 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량

㉠ 분석 방법

총 폴리페놀 함량은 각각의 시료 1 mL에 증류수 7.5 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL, 35% Na₂CO₃ 1 mL를 순서대로 가한 다음 암소에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 tannic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량은 각각의 시료 0.5 mL에 에탄올 1.5 mL, 10% 질산알루미늄 0.1 mL, 1 M 초산칼륨 0.1 mL, 증류수 2.8 mL을 순서대로 가하고 vortex mixer로 혼합하여 실온에서 40분간 반응시키고 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 quercetin(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo, USA)을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

총 안토시아닌 함량은 각각의 시료 10 mL에 0.1% HCl을 함유하는 80% 메탄올 용액 40 mL로 24시간 동안 shaking incubator에서 추출한 후 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 528 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 이때 표준물질은 cyanidin을 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 안토시아닌 함량을 구하였다.

㉡ 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량 변화

복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 생과에 *Leu. mesenteroides* SRL6을 이용한 유산 발효 전 후의 항산화 활성 변화를 측정하기 위하여 항산화 활성의 간접적인 지표가 되는 것으로 알려진 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량을 표 2-91에 나타내었다. 대부분 베리류 생과에서 유산발효에 의해 총 폴리페놀 함량이 증가하는 경향이였다. 그 중 아로니아가 유산발효에 의한 총 폴리페놀 함량 증가가 4.31±0.02 TAE mg/mL에서 6.11±0.07 TAE mg/mL로 가장 컸고 다음으로 복분자, 블루베리 순서로 증가되었다. 이는 *L. plantarum* GBL17을 이용한 유산발효 복분자 착즙액의 총 폴리페놀 함량이 증가한다는 연구와 같은 경향을 나타내어 복분자의 생과에 SRL6을 접종하여 발효시킬 경우 총 폴리페놀 성분이 증가되어 항산화 활성도 증가할 것으로 판단하였다.

오디의 경우는 유산발효 전과 후 총 폴리페놀 함량에 유의적인 변화가 없었다. 이러한 결과는 오디 유산균 발효물의 이화학적 특성 및 항산화 활성 연구에서 유산발효 이후 총

폴리페놀 함량이 약 2배 이상 증가하였다는 연구와 다른 결과를 보였는데, 이는 유산발효에 사용한 균주와 발효 조건 및 실험에 사용한 오디의 재배지역 및 품종 차이에 따른 것으로 판단된다. 지질과산화에 대한 항산화제로 알려진 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과에서는 4종의 베리류 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다.

총 안토시아닌 함량을 측정한 결과에서는 총 폴리페놀 함량과 마찬가지로 복분자 및 아로니아는 유산발효 후 유의적으로 함량이 증가하였고, 오디와 블루베리는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 복분자의 경우 안토시아닌 함량이 발효 전 1.42 ± 0.01 mg CYE/g에서 발효 후 2.05 ± 0.01 mg CYE/g으로 유의적으로 함량이 증가하였고, 아로니아의 경우도 발효 전 0.49 ± 0.02 mg CYE/g에서 발효 후 0.74 ± 0.01 mg CYE/g으로 유의적으로 총 안토시아닌 함량이 증가하였다.

결과적으로 복분자 및 아로니아는 SRL6 균주에 의한 유산발효 후 총 폴리페놀 및 총 안토시아닌의 함량이 증가하여 항산화 활성 증가에 영향을 줄 것으로 판단되었고, 오디는 *Leu. mesenteroides* SRL6에 의한 유산발효가 기능성분의 증가에 영향을 미치지 않거나 미비한 것으로 생각하였다.

표 2-91. *Leu. mesenteroides* SRL6 발효에 의한 베리류의 항산화 물질 변화

Samples	Treatment	Total polyphenol (TAE mg/mL)	Total flavonoid (QUE mg/mL)	Total anthocyanin (CYE mg/mL)
Black raspberry	CTL	3.53 ± 0.02	0.61 ± 0.04	1.42 ± 0.01
	fermented	$4.64 \pm 0.05^*$	0.79 ± 0.15	$2.05 \pm 0.01^*$
Black chokeberry	CTL	4.31 ± 0.02	0.39 ± 0.05	0.49 ± 0.02
	fermented	$6.11 \pm 0.07^*$	0.56 ± 0.03	$0.74 \pm 0.01^*$
Mulberry	CTL	3.02 ± 0.11	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.02
	fermented	3.07 ± 0.19	0.29 ± 0.04	0.35 ± 0.01
Blueberry	CTL	1.80 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.02 ± 0.01
	fermented	$1.95 \pm 0.07^*$	0.19 ± 0.02	0.06 ± 0.03

* $p < 0.05$

② DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거활성

㉠ 실험방법

유산발효에 의한 베리류 4종의 항산화 활성 변화를 측정하기 위하여 자유라디칼인 DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)를 사용한 항산화활성을 측정하였다. 즉 농도별로 조제한 각각의 시료 0.1 mL 에 에탄올 0.2 mL를 가하고 0.2 mM DPPH용액 0.3 mL를 가한 후 vortex mixer로 교반하였고, 실온에서 30분간 반응시키고 microplate reader(Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 측정하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

ABTS assay는 농도별로 조제한 각각의 시료 0.05 mL에 ABTS radical 용액 0.195 mL를 첨가하여 7 분간 반응시킨 후 microplate reader(Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 측정하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

㉡ DPPH 및 ABTS radical 소거활성

인체 내 산화과정에서 생성되는 free radical들은 세포의 노화를 촉진시키고 생체세포의 방어기전을 저하시키는 것을 비롯하여 세포활성을 저해하므로 이들 free radical들의 안정화를 통해 생체 세포를 보호할 필요가 있으며, 전자공여 작용은 이러한 생물활성 free radical에 전자를 공여하여 세포 성분의 산화를 억제 한다고 알려져 있다. 이러한 항산화 활성을 측정하는 방법 중 하나인 DPPH radical 소거활성은 항산화 물질에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원됨에 따라 짙은 자색이 탈색되는 원리로 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 탐색하기 위해 많이 이용되고 있으며, ABTS

assay는 항산화제 존재 시 ABTS가 항산화제에 의해 흡광도가 억제되는 것에 기초하여 항산화제 존재 시 파랑/녹색의 ABTS 라디칼이 소거되는 정도를 흡광도로 분석하는 방법이다.

복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 생과에 *Leu. mesenteroides* SRL6을 이용한 유산 발효 전 후의 항산화 활성 변화를 측정하기 위하여 DPPH 및 ABTS radical 소거활성의 IC₅₀ 값을 측정한 결과는 표 2-92와 같다. 복분자의 경우 DPPH 및 ABTS radical 소거활성의 IC₅₀ 값은 발효 전 각각 13.35±0.46, 16.29±0.50 uL/mL에서 유산발효 후 각각 8.24±0.27, 10.43±0.25 uL/mL로 DPPH radical 소거활성이 크게 증가하였다. 이러한 결과는 복분자 착즙액의 유산 발효 후 DPPH 및 ABTS radical 소거활성이 증가하였다는 연구 결과와 일치하였다. 아로니아의 DPPH 및 ABTS radical 소거활성의 IC₅₀ 값도 복분자와 마찬가지로 유산발효 전 각각 8.15±0.35, 13.73±0.27 uL/mL에서 유산 발효 후 각각 5.25±0.20, 8.94±0.52 uL/mL로 증가하였으며, 블루베리의 경우도 같은 경향이였다.

복분자, 아로니아 및 블루베리의 유산 발효 후 DPPH 및 ABTS radical 소거활성의 증가는 총 폴리페놀 및 총 안토시아닌 함량 증가가 영향을 미친 것으로 추측하였다. 베리류의 주요 항산화 활성 성분인 polyphenol 및 vitamin C 등은 대부분 배당체(glycoside) 형태로 존재 하고 있으며, 이러한 배당체 형태의 활성성분은 발효에 의해 당이 제거될 경우 보다 높은 항산화 활성을 보인다는 보고로 볼 때 복분자와 아로니아, 블루베리는 다른 베리류에 비해 SRL6에 의한 유산발효가 활발하게 일어나 항산화 활성 증가에 높은 영향을 주는 것으로 판단하였다.

오디의 DPPH 및 ABTS radical 소거활성의 IC₅₀ 값을 측정한 결과 유산발효 전 각각 23.36±1.39, 30.72±0.79 uL/mL에서 발효 후 28.62±0.80, 48.52±0.50 uL/mL로 radical 소거활성이 유의적으로 감소하는 경향을 보였는데, 이는 오디 착즙액을 이용한 와인발효 특성 연구에서 발효 후 DPPH radical 소거활성이 감소하였다는 결과와 같은 경향을 보였다. 그러나 오디 발효 추출물의 항산화 효과 연구에서 추출물보다 발효물에서 활성이 증가하였다는 연구결과도 존재하여 오디 발효 시 발효 균주 및 발효조건이 항산화 활성에 큰 영향을 미치는 것으로 판단하였다.

결과적으로 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리를 *Leu. mesenteroides* SRL6을 이용한 유산발효가 DPPH 및 ABTS radical 소거활성 변화에 미치는 영향을 확인한 결과 총 폴리페놀 및 총 안토시아닌 함량이 증가한 복분자, 아로니아 및 블루베리는 radical 소거활성도 증가하는 경향을 보였으며, 오디의 경우는 활성이 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 DPPH 및 ABTS radical 소거활성은 상관관계가 높으며 그 활성에 폴리페놀 등의 항산화

성 물질이 관여한다는 보고(Na KS 등 1997)와 같이 유산발효 후 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 안토시아닌 함량 변화와 비례하여 증가하였다.

표 2-92. *Leu. mesenteroides* SRL6 발효에 의한 베리류의 항산화 활성 변화

Samples	Treatment	DPPH radical	ABTS radical
		scavenging activity	scavenging activity
		(IC ₅₀ µL/mL)	
Black raspberry	CTL	13.35±0.46	16.29±0.50
	fermented	8.24±0.27*	10.43±0.25*
Black chokeberry	CTL	8.15±0.35	13.73±0.27
	fermented	5.25±0.20*	8.94±0.52*
Mulberry	CTL	23.36±1.39	30.72±0.79
	fermented	28.62±0.80*	48.52±0.50*
Blueberry	CTL	58.35±1.15	44.48±0.57
	fermented	39.62±0.85*	38.67±0.73*

* $p < 0.05$

③ 환원력

㉠ 실험방법

환원력은 각각의 시료 10 µL/mL 농도로 조제한 각각의 시료 1 mL에 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6, 2.5 mL)와 1% K₂Fe(CN)₆ 2.5 mL를 첨가하고 water bath (50°C, 20 min)에서 반응시켰다. 반응액에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 원심분리(3,000 ×g, 5 min)한 후 상등액 2.5 mL에 증류수 2.5 mL와 0.1% FeCl₃ 0.5 mL를 첨가하여 700 nm(Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)에서 측정하였다.

㉡ 환원력

환원력은 free radical에 전자를 공여하는 능력으로, 700 nm에서 ferric ferricyanide(Fe³⁺) 혼합물이 수소를 공여하여 free radical을 안정화시켜 ferrous(Fe²⁺)로 전

환하는 환원력을 흡광도 값으로 나타낸 것으로 높은 환원력을 보일수록 흡광도의 수치가 높게 나타난다. 복분자, 아로니아, 오디 및 블루베리 생과에 *Leu. mesenteroides* SRL6를 이용한 유산 발효 전후의 환원력을 측정한 결과는 그림 2-16과 같다.

복분자 및 아로니아의 경우는 유산 발효 후 환원력이 유의적으로 증가하였는데, 복분자는 유산 발효 전 0.543 ± 0.021 에서 유산 발효 후 0.689 ± 0.033 로 증가하였으며, 아로니아도 유산 발효 전(0.656 ± 0.029)보다 유산 발효 후(0.974 ± 0.014)에 환원력이 높아지는 경향을 보였다. 오디와 블루베리는 유산 발효 후에도 환원력이 증가되지 않았다. 이러한 결과는 총 폴리페놀 함량이 높을수록 환원력도 증가한다는 Park 등(2008)의 연구결과와 같은 경향이 있었다.

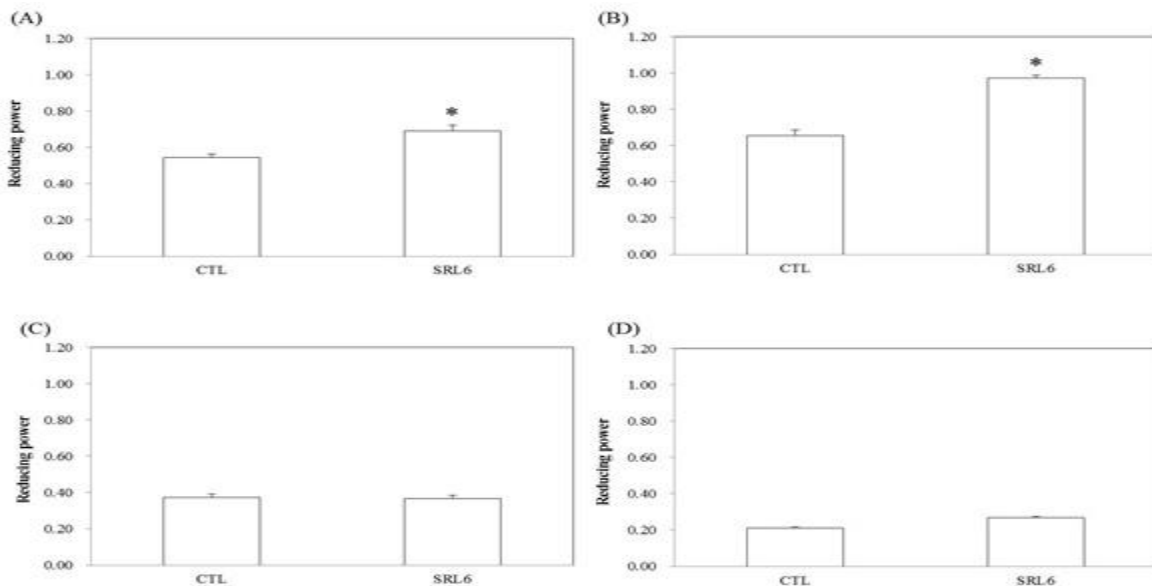


그림 2-16. *Leu. mesenteroides* SRL6 발효에 의한 베리류의 환원력

(2) 씨앗입자 및 과·채류 전처리에 따른 원료의 액상화 조건 확립

(가) 원료의 액화방법 및 배합에 따른 분산성, 물성 변화 확인

① 원료

전년도 연구 결과에 따라 6종의 과채류 중 식이섬유 함량이 높고 식이섬유의 기능성이 우수한 양배추와 단호박의 액상화 조건 확립을 위하여 산 및 효소를 이용하여 시간별로 처리하여 조건을 확립하였다.

② 전처리

산 처리의 경우 단호박과 양배추 각각 150 g에 1M citric acid와 1N HCl을 각각 150

mL을 넣고 30분, 1시간, 2시간동안 40°C shaking incubator에서 처리한 샘플을 취하여 실험에 사용하였다. 효소처리는 viscozyme의 경우 각각의 시료 150 g에 증류수 150 mL을 혼합하고 총 볼륨에 0.5% 함량으로 처리하여 1시간, 2시간, 4시간 50°C에서 효소처리한 후 80°C에서 1분간 살균하였고, cellulase의 경우는 각각의 시료 150 g에 증류수 150 mL을 혼합하고 총 볼륨에 1% 함량으로 처리하여 1시간, 2시간, 4시간 50°C에서 효소처리한 후 80°C에서 1분간 살균하였으며, lignin의 경우도 cellulase와 같은 방법으로 처리하였다.

③ 이화학적 특성 조사

㉠ 실험 방법

양배추와 단호박의 액상화 조건별 시료의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 당도, 산도, pH, 색도 및 점도를 측정하였다. 당도는 상온에서 당도계(PAL-1 Pocket Refractometer, ATAGO, WA, USA)를 이용하여 측정하였고, 총산도는 시료 용액 10 mL를 pH 8.3까지 도달하는데 필요한 0.1 N NaOH 용액의 소비량(mL)으로 정의하였으며, pH는 pH meter(Mettler Toledo)로 측정하였다. 또한 색도는 분광색차계(CM-5, Minolta, Osaka, Japan)를 사용하여 Hunter's value L (lightness, 명도), a (redness, 적색도) 및 b (yellowness, 황색도) 값으로 나타내었으며, 점도는 Brookfield 점도계를 사용하여 겔보기 점도를 측정하였다.

㉡ 이화학적 특성 결과

1M Citric acid 및 1N HCl로 처리한 단호박과 양배추의 시간별로 이화학적 특성을 확인하기 위하여 pH, 산도, 당도, 점도 및 색도를 측정한 결과는 표 2-93과 같다. pH의 경우 모든 처리군이 시간이 증가함에 따라 낮아지는 경향을 보였고, 총 산도는 증가하는 것을 확인하였다. 또한 당도의 경우는 시간에 상관없이 큰 차이를 보이지 않았으며, 점도는 시간이 증가함에 따라 높아짐을 확인하였다. 색도를 측정한 결과에서 명도를 나타내는 L값과 적색도를 나타내는 a값, 황색도를 나타내는 b값 모두 변화를 확인하지 못하였다.

Viscozyme, cellulase 및 lignin을 처리한 단호박과 양배추의 시간별(1, 2, 4시간) 이화학적 특성을 확인하기 위하여 pH, 산도, 당도, 점도 및 색도를 측정한 결과는 표 와 같다. pH의 경우 산을 처리한 샘플에서는 시간이 증가함에 따라 낮아지는 경향을 보였으나, 효소 처리군에서는 차이를 보이지 않았다.

표 2-93. 단호박과 양배추의 산처리에 의한 이화학적 특성

Samples	Treatment	time (h)	pH	Total acidity(%)	Sugar concentration (°Brix)	Viscosity (cP)	Color values		
							L	a	b
sweet pumpkin	1M Citric acid	0.5	7.04±0.01	0.25±0.01 ^b	8.40±0.17	64.18±13.31 ^b	29.45±0.35	9.09±0.06	47.11±0.30 ^a
		1	6.99±0.01	0.28±0.01 ^b	8.40±0.35	72.95±9.91 ^{ab}	30.01±0.19	8.79±0.10	44.48±1.97 ^b
		2	6.90±0.06	0.51±0.01 ^a	8.20±0.10	79.61±8.59 ^a	30.04±0.19	8.96±0.16	47.30±0.30 ^a
cabbage	1M Citric acid	0.5	7.18±0.01	0.26±0.01 ^b	7.30±0.01	238.22±14.52 ^b	41.92±0.23	-4.00±0.06	4.81±0.16 ^b
		1	7.09±0.06	0.26±0.01 ^b	7.73±0.06	253.89±15.41 ^{ab}	43.52±0.52	-3.74±0.11	6.60±0.06 ^a
		2	7.02±0.06	0.34±0.02 ^a	7.47±0.06	274.75±12.42 ^a	43.88±3.24	-3.66±0.35	6.51±2.28 ^a
sweet pumpkin	1N HCl	0.5	6.88±0.02	0.09±0.01 ^b	3.87±0.06	73.89±15.41 ^b	30.40±0.08	9.48±0.15	44.05±0.57
		1	6.81±0.01	0.09±0.10 ^b	4.07±0.06	86.48±12.04 ^a	30.73±0.35	9.44±0.04	44.52±0.65
		2	6.47±0.04	0.20±0.10 ^a	4.10±0.10	86.97±11.32 ^a	31.85±0.46	9.77±0.01	45.98±0.13
cabbage	1N HCl	0.5	7.19±0.06	0.13±0.01 ^b	3.97±0.06	130.36±19.25 ^b	40.37±1.56	-3.15±0.04	7.47±0.60 ^a
		1	6.76±0.06	0.14±0.04 ^b	3.27±0.06	175.38±13.58 ^a	40.72±0.30	-3.34±0.04	4.94±0.71 ^b
		2	6.94±0.06	0.25±0.01 ^a	3.37±0.06	178.88±12.57 ^a	39.04±1.33	-3.64±0.04	4.73±0.88 ^b

표 2-94. 단호박과 양배추의 효소처리에 의한 이화학적 특성 변화

Samples	Treatment	time (h)	pH	Total acidity(%)	Sugar concentration (°Brix)	Viscosity (cP)	Color values		
							L	a	b
sweet pumpkin	Viscozyme	1	4.16±0.01	0.33±0.03	7.97±0.10 ^b	177.56	35.82±0.33	8.51±0.03	52.59±0.13
		2	4.11±0.01	0.42±0.01	11.43±0.06 ^a	223.15	33.25±0.81	8.10±0.50	49.92±1.74
		4	4.13±0.01	0.40±0.02	11.53±0.12 ^a	194.75	33.52±0.19	8.34±0.13	50.45±0.14
cabbage	Viscozyme	1	3.91±0.01	0.20±0.03	3.53±0.06	209.96	54.01±0.20	-0.84±0.07	17.86±0.06
		2	3.93±0.01	0.24±0.01	4.00±0.01	213.96	53.69±1.25	-0.52±0.23	18.81±0.88
		4	3.91±0.01	0.10±0.02	3.57±0.12	210.95	53.06±0.95	-0.76±0.13	18.33±0.57
sweet pumpkin	Cellulase	1	4.36±0.01	0.29±0.02	6.80±0.26 ^b	794.32	33.05±0.35	8.97±0.06	51.76±0.33
		2	4.30±0.01	0.29±0.01	9.10±0.12 ^a	1069.58	33.34±0.30	8.95±0.09	51.73±0.25
		4	4.39±0.01	0.27±0.02	8.20±0.06 ^a	1145.28	33.05±0.22	8.99±0.04	52.04±0.28
cabbage	Cellulase	1	4.26±0.01	0.10±0.04	3.97±0.06	64.98	52.80±0.04	-1.85±0.32	15.58±0.52
		2	4.24±0.01	0.07±0.01	4.50±0.01	59.48	52.42±0.04	-1.68±0.18	15.67±0.02
		4	4.22±0.01	0.12±0.01	4.00±0.01	66.99	51.14±0.11	-1.80±0.12	14.76±0.14
sweet pumpkin	Lignin	1	4.34±0.01	0.29±0.02	4.83±0.06	351.53	28.31±0.33	8.76±0.08	46.39±0.16
		2	4.41±0.01	0.32±0.01	5.10±0.01	443.92	28.92±0.12	9.03±0.02	47.61±0.16
		4	4.35±0.01	0.28±0.01	4.30±0.01	524.86	27.49±1.26	8.48±0.17	45.53±2.04
cabbage	Lignin	1	4.24±0.01	0.14±0.03	2.83±0.06	1312.69	56.48±0.37	-1.59±0.37	16.58±0.81
		2	4.26±0.10	0.10±0.01	2.77±0.17	2150.56	57.16±1.27	-0.71±0.83	18.74±1.59
		4	4.22±0.01	0.10±0.01	2.33±0.12	2161.67	57.78±1.01	-0.61±0.62	18.45±1.82

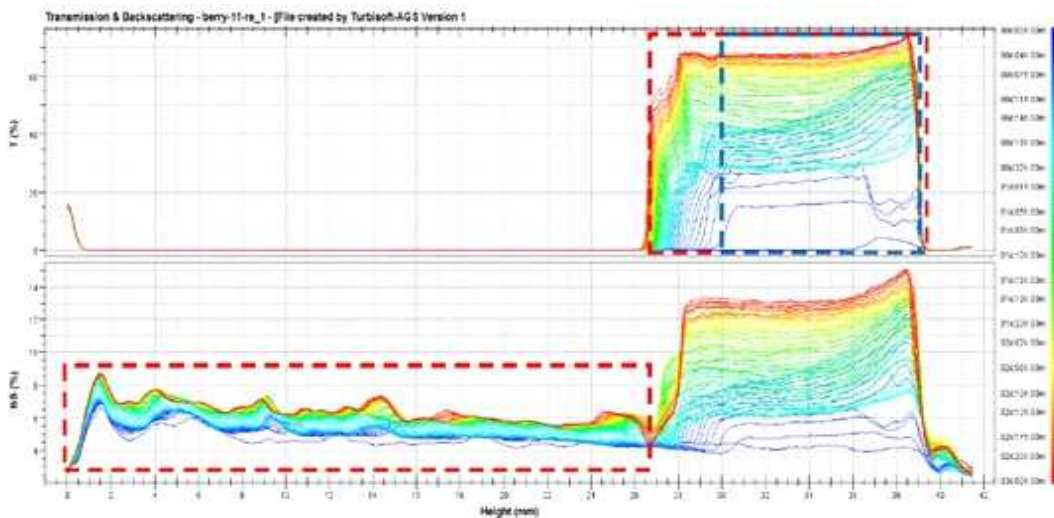
④ 분산성

㉠ 실험 방법

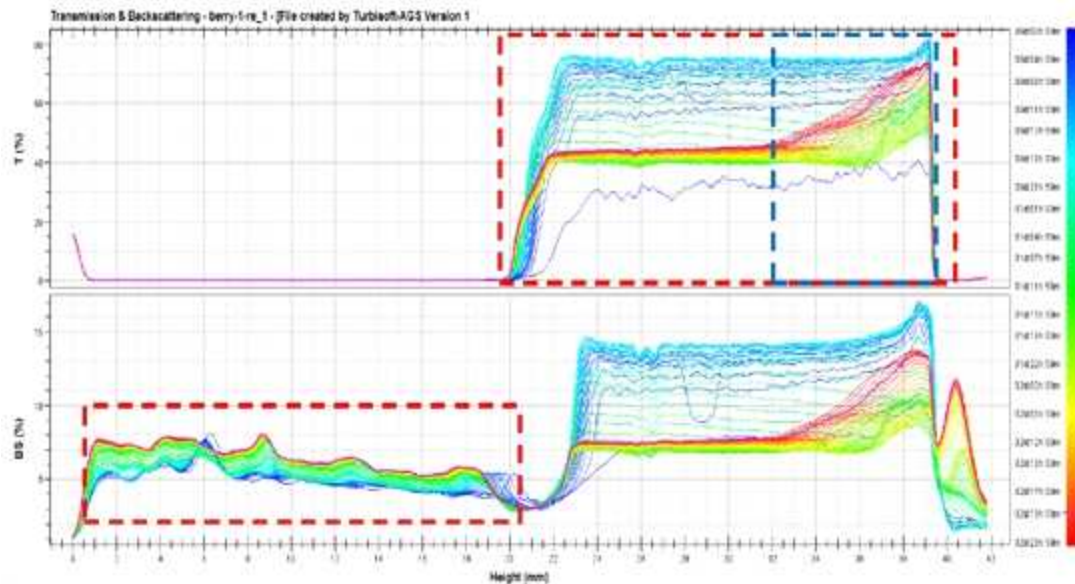
각각의 시료 0.3 g을 30 mL 증류수에 넣고 2분간 sonication 후 30 mL vial에 옮겨 담은 후 분산안정성 테스트(모델명 : Turbiscan AGS)를 실시했다.

㉡ 분산성 결과

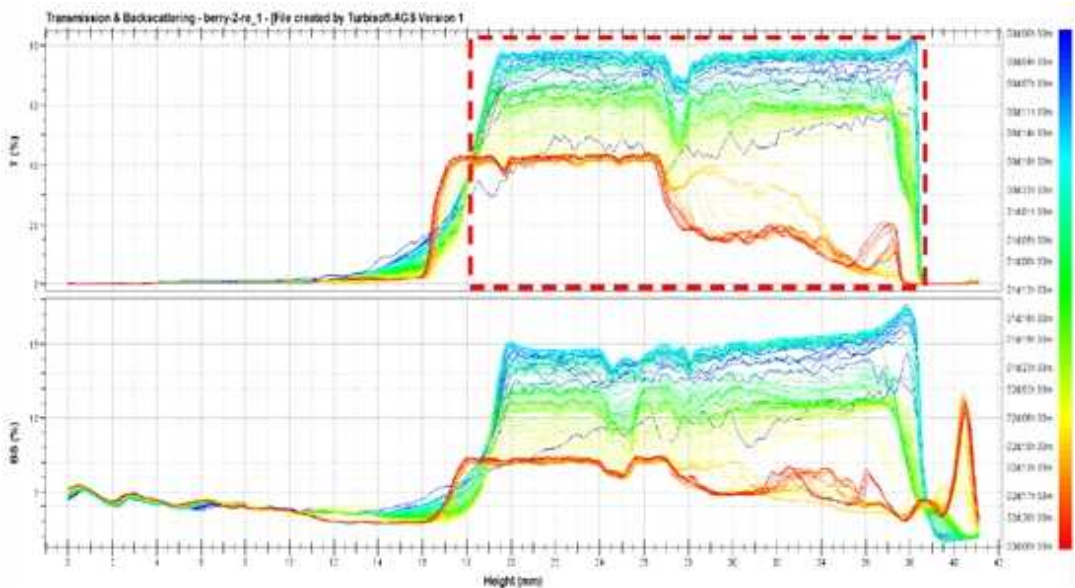
양배추 분쇄액은 측정 초기부터 침전이 일어났으며 cellulase 처리군에서는 침전서서히 일어났다. 단호박 분쇄액의 무처리군은 처음부터 침전이 되었고 산처리와 효소처리 시료에서는 일부 침전이 되기는 했으나 분산된 입자가 수분을 흡수하면서 떠있는 것을 볼수 있었다.



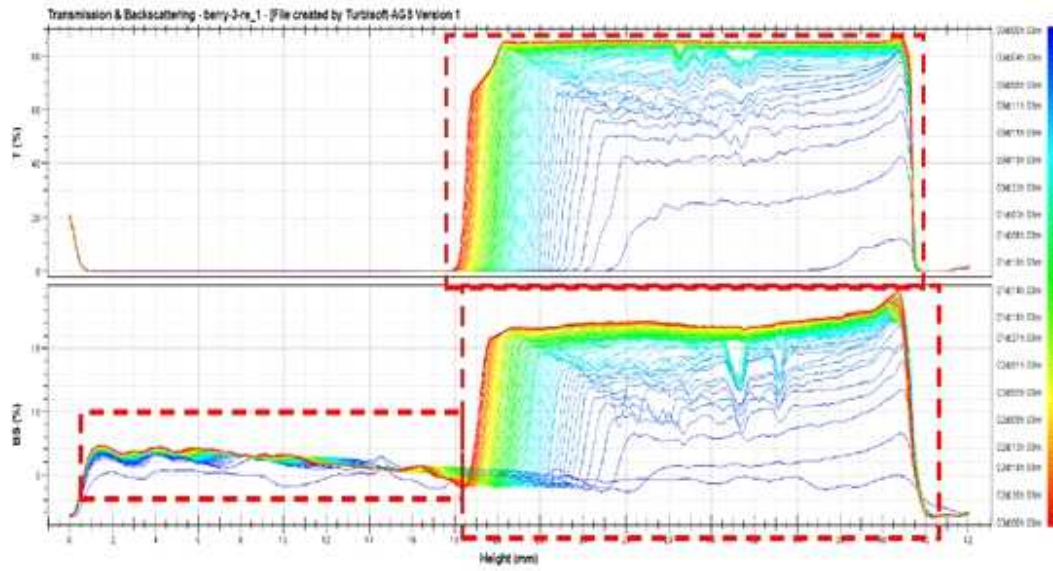
<양배추 무처리군>



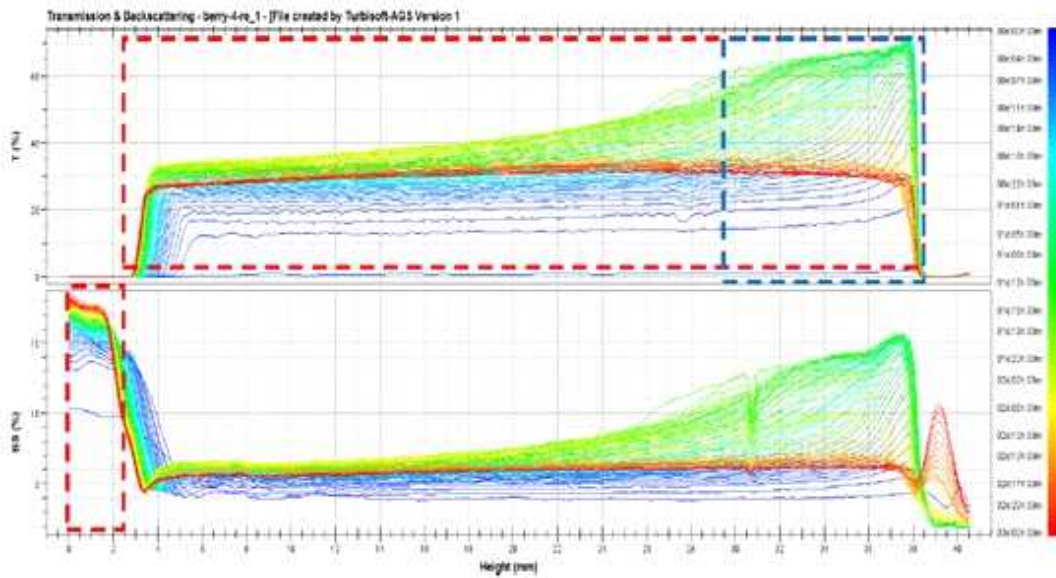
<양배추 HCl 처리군>



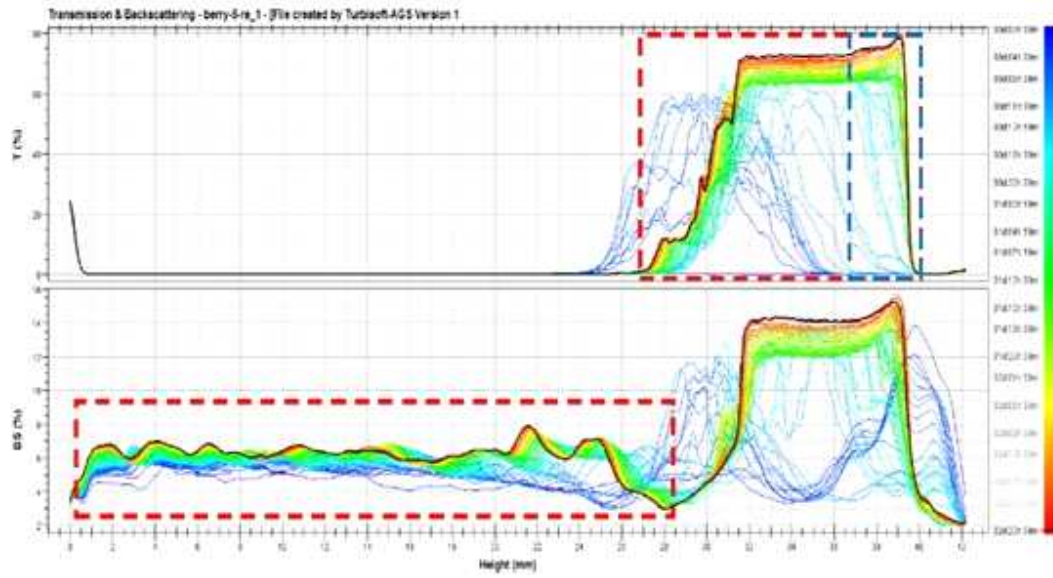
<양배추 citric acid 처리군>



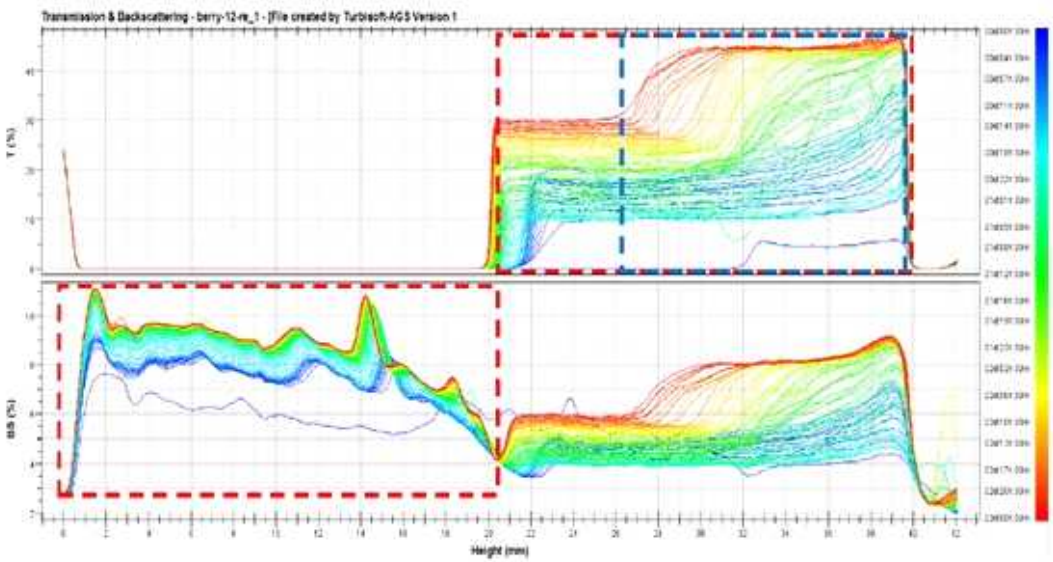
<양배추 viscozyme 처리군>



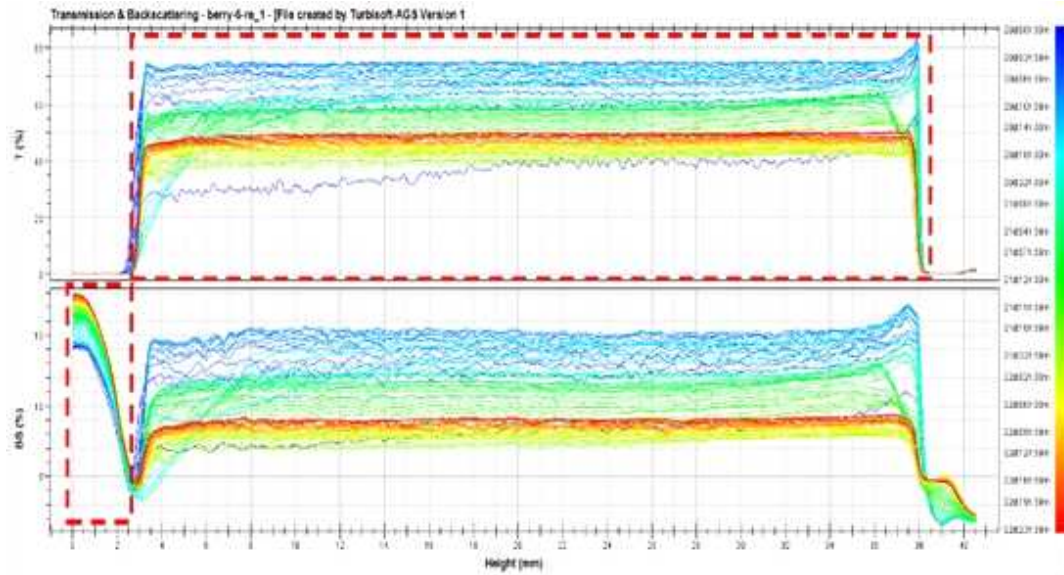
<양배추 cellulase 처리군>



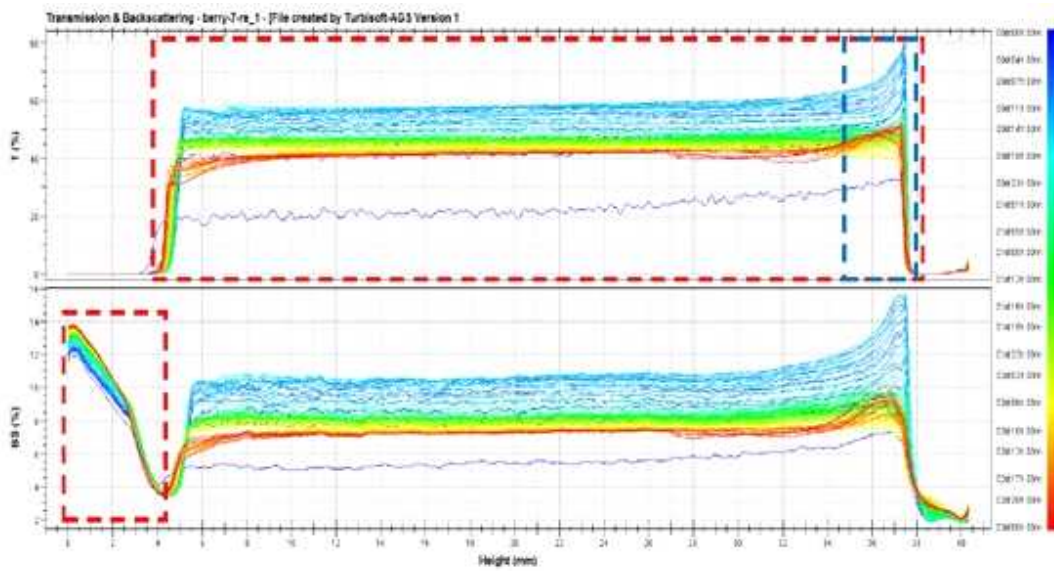
<양배추 ligninase 처리군>



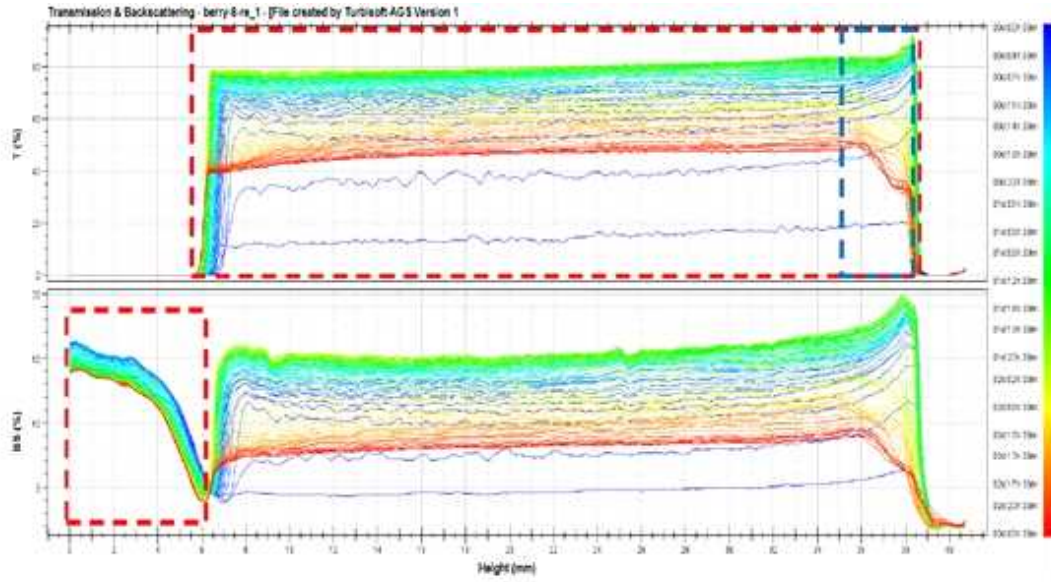
<단호박 무처리군>



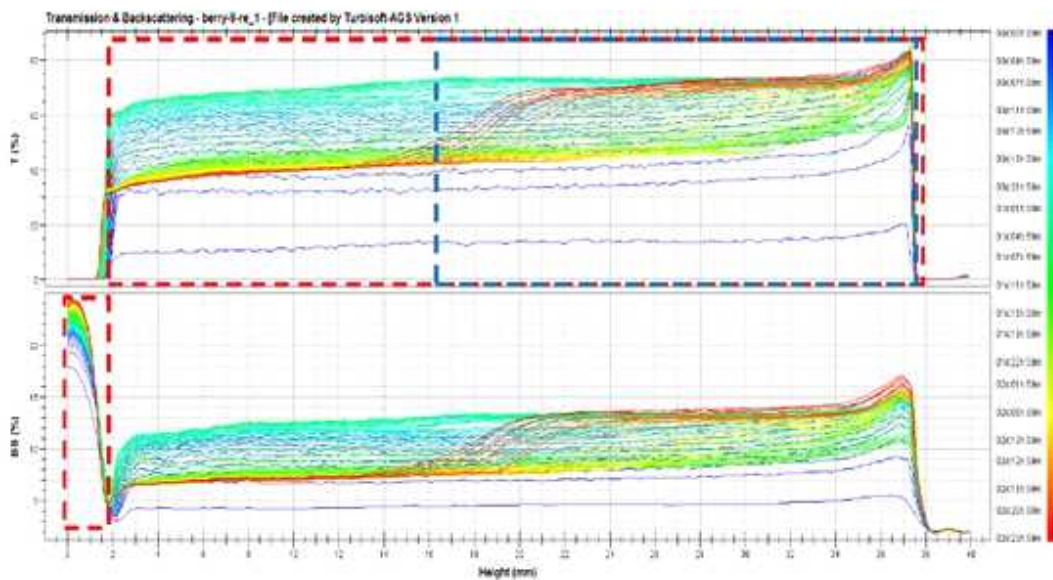
<단호박 HCl 처리군>



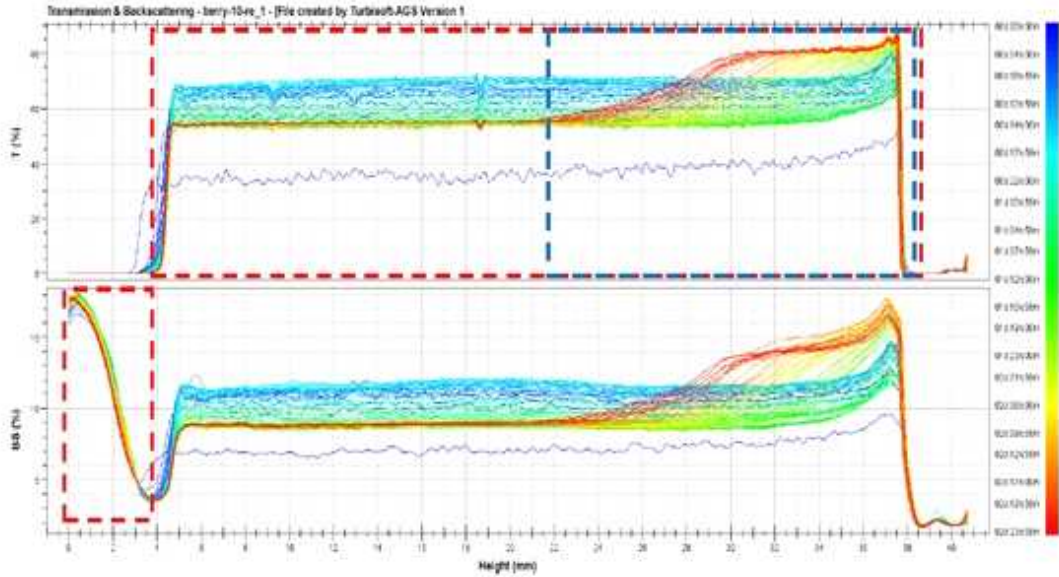
<단호박 citric acid 처리군>



<단호박 viscozyme 처리군>



<단호박 cellulase 처리군>



<단호박 ligninase 처리군>

(나) 씨앗음료를 함유한 복합음료의 안정성 검토

① 착즙액 농도별 치아씨드 발아 안정성 검토

㉠ 실험 방법

착즙액 농도와 살균에 따른 치아씨드 안정성을 검토하기 위해 착즙액 농도 0~3% 농도에서 발아 정도를 관찰하였다. 실험 조건은 아래 표와 같았다.

표 2-95. 치아씨드-복분자 혼합액의 비율(%)

	A	B	C	D
Chia seed	3	3	3	3
Black raspberry juice	0	0.7	1	3
DW	100	99.3	99	97

㉡ 치아씨드 발아 안정성 검토

각 농도별 착즙액에서 치아씨드의 발아 상태를 24시간 동안 관찰한 결과 아래 그림 2-17과 같았다. 치아씨드는 첨가된지 수분 내에 발아가 시작되었으며 30분 이후의 발아상태가 지속되었다. 복분자 착즙액의 농도는 3%까지는 발아에 큰 영향을 주지 않았으며 역시 24시간까지 관찰하였을 때 그 상태가 유지되었다.

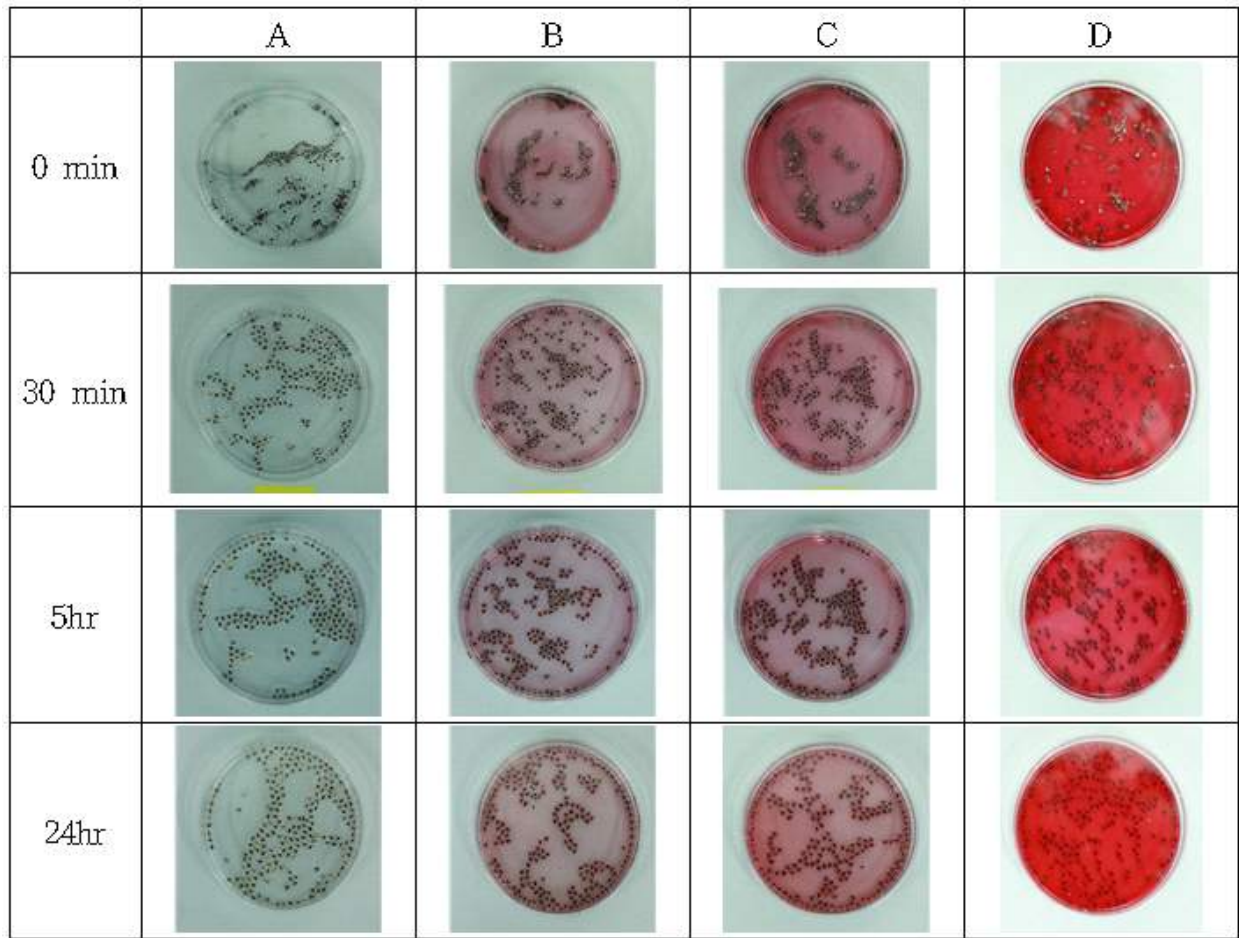


Fig. Germination of chia seed with different content of black raspberry juice

② 살균 조건별 치아씨드 발아 안정성 검토

㉞ 실험 방법

치아씨드를 발아 및 살균 조건을 확립하기 위하여 복분자 착즙액 1% 용액에 치아씨드를 넣어 발아시킨 후 살균하여 발아상태를 관찰하였다. 발아 1, 5hr 후 살균처리를 하였고 살균 조건은 60°C에서 30분, 90°C에서 15min이었다. 산도는 pH 메타를 사용하여 값이 8.3이 되는데 소요되는 0.1N NaOH의 소비량을 구한 후 구연산으로 환산하여 총산 함량(%)으로 나타내었다. 또한 당도는 당도계(PAL-1, Atago, Japan)를 이용하여 측정하였다. 색도는 분광측색계(CM-5, Konica Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였다. 표준 색판은 백색판(L=98.9, a=-0.12, b=-0.27)이었다.

㉞ 살균 조건별 발아 안정성 검토

살균 조건 별 치아씨드의 모양은 아래 그림 2-18과 같았다. 표 2-96과 같이 당도는 0.1~0.3% 범위로 나타났고, pH는 4.3~4.69범위로 나타났으며, 산도는 0.06~0.09범위로 나타났다. 음료를 살균 후 당도, pH, 산도를 측정된 결과 비슷한 결과를 나타냈다. 본 실험에서와 같은 정도의 살균조건은 음료의 이화학적 특성에 큰 영향을 주지 않는 것을 알 수 있었다.
















Storage time (hr)	No pasteurized	1 hr after germinated		5 hr after germinated	
		60°C, 30 min	90°C, 15 min	60°C, 30 min	90°C, 15 min
0					
24					
48					

Fig. Condition of chia seed with different pasteurization

표 2-96. 복분자 씨드 음료의 살균조건에 따른 이화학적 특성

	Storage time (hr)	No pasteurized	1 hr after germinated		5 hr after germinated	
			60°C, 30 min	90°C, 15 min	60°C, 30 min	90°C, 15 min
Sugar brix	0	0.1	0.3	0.1	0.2	0.2
	24	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3
	48	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3
pH	0	4.30	4.66	4.66	4.67	4.68
	24	4.31	4.68	4.67	4.67	4.69
	48	4.36	4.69	4.68	4.69	4.69
Acidity	0	0.07	0.08	0.08	0.09	0.06
	24	0.07	0.09	0.09	0.09	0.07
	48	0.08	0.09	0.09	0.1	0.08

(다) 원료의 액화 방법 및 배합에 따른 특성 조사

① 원료

원료분석에 사용한 재료는 치아씨드와 바질씨드를 사용하였다. 치아씨드 음료 제조에 사용한 재료는 복분자 착즙액, 치아씨드, 올리고당, 포도당, 구연산, 겔란검, 카라기난검, 저항전분(Resistant starch, RS)을 사용하였다. 복분자는 전라북도 고창군에서 수확한 것을 구입하여 -40℃에서 냉동 보관 후 10℃에서 저온 해동하여 사용하였다. 10℃에서 해동 즉시 유압 착즙기(Stainless 70L, Tomotech Ltd, Seoul, Korea)를 이용하여 착즙한 후 사용하였다. 저항전분(Resistant starch, RS)은 전남대학교에서 제조한 것으로 사용하였다.



그림 2-19. 치아씨드, 바질씨드 사진

② 복분자-치아씨드 음료의 이화학적 특성 및 관능적 특성

㉞ 복분자-치아씨드 음료의 제조

복분자-치아씨드 음료 레시피는 (영)베리팜과 함께 선정된 것 중 4개를 선택하여 음료를 제조하고 특성을 조사하였다. 음료의 레시피는 아래 표 2-97과 같았고 제조된 음료는 그림 2-20과 같았다.

표 2-97. 복분자-치아씨드 음료의 조성

	A	B	C	D
착즙액	2	1	2	1
올리고당				
포도당	25.3	30.3	30.3	30.3
구연산				
치아씨드	1.3	1.3	1.3	1.3
젤란검				
카라기난검	0.2	0.2	0.2	0.2
나노입자				
난소화성 전분			1	2
정제수	71.2	67.2	65.2	65.2
합계	100	100	100	100



그림 2-20. 치아씨드음료 개발제품의 형태

㊤ 복분자-치아씨드 음료의 이화학적 특성 조사

배합표에 따라 제조된 씨드음료의 씨드 모양을 관찰하고, 당도, 산도, pH, 색도, 점도를 측정하였다. 위의 실험과 같은 방법으로 당도는 당도계를 사용하여 측정하였고, 산도와 pH는 pH 메타를 사용하였으며 색도는 분광측색계(CM-5, Konica Minolta, Japan)를 이용하

여 측정하였다. 점도는 Brookfield viscometer를 이용하여 점도를 측정하였다. 점도는 Spindle HA2, Speed 30 rpm으로 측정하였다.

복분자-치아씨드 음료의 색과 씨드 모양은 아래 그림 2-21과 같았다. 음료의 색은 복분자 함량이 높을수록 진했으며 발아된 씨드의 형태는 음료의 배합비에 영향을 받지 않았다.

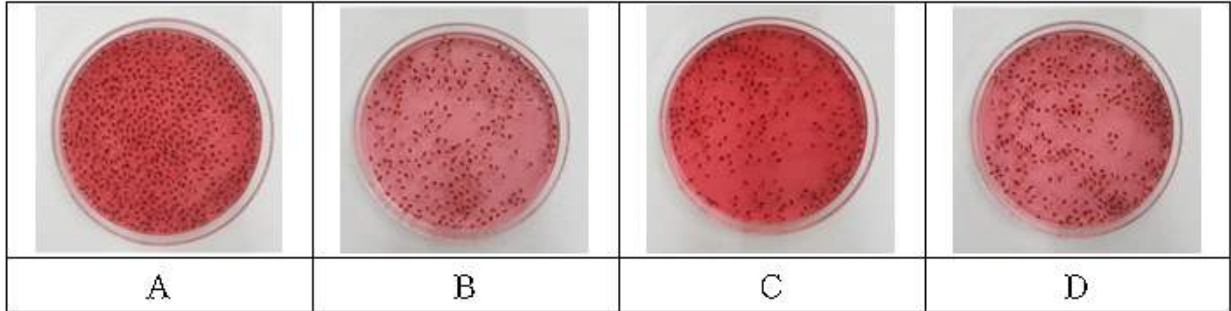


그림 2-21. 복분자-치아씨드 음료의 씨드 형태 관찰

표 2-97의 조성으로 제조된 복분자 치아씨드 음료의 당도, 산도, pH는 아래 표 2-98와 같았다. 당도는 23.5 ~ 29.5 °Bx 범위로 나타났으며, 당 첨가량이 낮은 A의 당도가 가장 낮고 나머지는 비슷한 값을 나타냈다. 산도는 0.05 ~ 0.12%의 범위로 나타났으며, pH는 2.74 ~ 3.01의 범위로 A의 음료에서 높은 값을 나타냈다.

표 2-98. 복분자 치아씨드 음료의 이화학적 특성

	Sugar brix (°Bx)	Acidity (%)	pH
A	23.47±0.12 ^c	0.11±0.02 ^a	3.01±0.01 ^a
B	28.17±0.06 ^a	0.05±0.00 ^c	2.74±0.11 ^b
C	27.77±0.12 ^b	0.08±0.03 ^b	2.76±0.02 ^b
D	29.50±0.10 ^a	0.12±0.05 ^a	2.75±0.01 ^b

복분자-치아씨드 음료의 색도는 위의 실험과 같이 분광측색계를 사용하여 측정하였고 점도는 Brookfield 점도계를 사용하여 측정하였다. 아래 표 2-99와 같이 음료의 색도는 복분자 함량의 영향을 받아 복분자 함량이 높은 A와 C음료의 명도인 L값이 낮고 적색도를 나타내는 a 값은 더 높은 것을 알 수 있었다. 음료의 점도는 모두 22 cP이하 값을 나타냈다.

표 2-99. 복분자 치아씨드 음료의 색도 및 점도

	L	a	b	Viscosity(cP)
A	44.24±0.02 ^c	44.78±0.01 ^b	17.16±0.01 ^b	22.25±1.41 ^a
B	63.22±0.03 ^a	38.40±0.01 ^c	7.48±0.00 ^c	16.00±0.43 ^b
C	52.62±0.05 ^b	54.98±0.03 ^a	20.76±0.01 ^a	9.75±0.87 ^c
D	57.69±0.02 ^b	41.33±0.01 ^b	9.90±0.01 ^c	8.29±0.19 ^c

㊤ 복분자-치아씨드 음료의 관능적 특성

음료용 RS를 첨가한 복분자-치아씨드 음료의 관능적 특성은 기호도 조사를 실시하였고 그 결과는 아래 표와 같았다.

음료용 RS는 기존 저항전분과 달리 입자가 작고 분산성이 우수하여 씨드 음료에 첨가시 침전되지 않고 음료 내에서 분산이 잘 되며 씨드가 가라앉지 않도록 안정제 역할을 해주는 것으로 판단된다. 또한 음료와 섭취시 이물감이 없으며 맛을 부드럽게 해주어 기호도를 상승시키는 것으로 생각하였다.

표 2-100. 나노입자 난소화성 전분 첨가에 따른 복분자-치아씨드 음료의 관능평가

	Appearance	Flavor	Taste		Texture		Overall Quality
			Sweet	Sour	Mouth-feel	Swallow	
Non-RS	5.30±1.16	5.60±1.17	5.80±1.55	5.80±1.40	6.20±1.14	6.30±1.16	5.50±0.97
nano RS 1%	7.50±1.27*	6.20±1.03	7.00±1.05*	7.00±0.94*	7.00±1.25	7.20±0.92	7.30±1.06*

* $p < 0.05$

(3) 씨앗입자 및 전처리 원료의 배합에 따른 성분 및 기능성 확인

(가) 씨드의 일반성분 및 총식이섬유

① 실험 방법

씨드의 일반성분은 AOAC(2005)방법으로 분석하였다. 수분함량은 105°C 오븐을 이용한 상압가열법을 이용하여 측정하였고, 조단백질함량은 미량 켈달법, 조지질은 에테르를 용매로 사용한 속시렛법으로 측정하였다. 회분은 550°C 전기로를 이용한 직접 회화법으로 측정하였다. 총식이섬유 함량(TDF)은 AOAC 방법에 따라 α -amylase, protease, amyloglucosidase 순서로 처리하여 측정하였다.

② 일반성분 결과

씨드의 일반성분 결과는 아래 표 2-101에 나타났다. 치아씨드의 수분함량은 7.88% , 회분의 함량은 3.95%로 나타났다. 단백질의 함량은 20.10%, 지질의 함량은 17.07% 였다. 바질씨드의 수분, 회분, 단백질, 지질 함량은 각각 6.91%, 5.14%, 15.71%, 10.35% 로 나타났다. 치아씨드가 바질씨드보다 단백질 및 지질 함량과 같은 영양성분이 더 높았다. 총식이섬유 함량은 아래 표와 같이 치아씨드와 바질씨드의 식이섬유 함량은 크게 차이하지 않았다.

표 2-101. 치아씨드 및 바질씨드의 성분

	Moisture (%)	Ash (%)	Protein (%)	Lipid (%)	TDF (%)
Chia seed	7.88±0.12*	3.95±0.08	20.10±0.17*	17.07±0.42*	55.09±2.81
Basil seed	6.91±0.10	5.14±0.10*	15.71±0.13	10.35±0.47	57.06±2.20

* $p < 0.05$

(나) 복분자-치아씨드 배합음료의 총식이섬유 함량

표 2-97의 조성으로 제조된 복분자 치아씨드 음료의 총식이섬유 함량을 측정하였고 그 결과는 표 2-102와 같았다. 나노입자 저항전분을 첨가하지 않은 A와 B의 총식이섬유함량의에 비해 난소화성전분을 첨가한 경우(C와 D) 총식이섬유 함량이 증가하였다.

표 2-102. 복분자-치아씨드 음료의 총 식이섬유 함량

	TDF (%)
A	1.01±0.05 ^c
B	0.97±1.02 ^c
C	1.35±0.34 ^b
D	1.52±0.87 ^a

(다) 음료용 나노입자 난소화성 전분의 동물실험

① 재료 및 방법

㉞ 실험동물의 사육과 관리

생후 6주령의 specific pathogen free (SPF) BALB/c 마우스 수컷(코사 바이오, 한국)을 구입하여 온도가 22±2℃이며 습도가 50±5%이면서 12시간 간격으로 점등이 조절되는 마우스 방에서 멸균 물과 함께 사료를 자유 급이 하며 7일간 순화시켰다. 실험사료는식이섬유를 제외한 흰쥐용 기본사료(AIN-76)를 급이하였고, cage 당 5마리의 마우스를 사육하였다. 모든 마우스 시험은 생후 7주부터 시작하여 8주간dml 경구 투여로 진행하였다.

동일 시간에 베리류 착즙액을 포함한 시판용 GUM, nano RS를 100ul씩 경구 투여하였다. nano RS는 전남대에서 음료용으로 개발한 나노입자의 난소화성 전분(이하 RS)으로 산처리한 나노입자의 쌀전분으로 가교결합전분을 제조하여 경구투여하는 용액에 잘 분산되는 상태로 경구투여하였다. 실험기간동안 주 1회씩 체중, 음수 및 식이를 측정하였고, 실험 종료 이후 부검 시 혈액과 변을 채취하여 혈중 콜레스테롤과 지질의 농도 및 콜레스테롤 배설 영향을 확인하였다. 모든 동물실험과 관리는 (재)베리&바이오식품연구소 효능평가센터 실험동물실 윤리위원회의 윤리적 기준에 의거하여 시행하였다.(동물실험 허가번호 : BBRI-IACUC-17001)

표 2-103. 식이섬유 특성 파악을 위한 정상군과 실험군의 구성

그룹		용량	n=10
정상대조군	대조군	무처리	10
베리즙투여군	베리즙군	복분자즙 300mg/kg	10
베리즙투여군+RS	베리+RS	복분자즙+nano RS 417mg/kg	10
베리즙투여군+1/2RS	베리+1/2RS	복분자즙+1/2 nano RS 209mg/kg	10
베리즙투여군+Gum	베리+Gum	복분자즙+Gum 417mg/kg	10

㉟ 체중과 식이 그리고 음수량의 측정

체중은 주 1회 간격으로 일정한 시간(AM 10시)에 디지털 계량기를 사용하여 측정하였으며, 식이와 음수량 또한 동일하게 주 1회 간격으로 일정한 시간(AM 10시)에 측정하였다. 식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

㉔ 공복 시 혈당측정

혈당은 6주와 8주차의 시험기간 중 측정하였으며, 약 15시간의 절식 이후 마우스의 꼬리정맥 전혈에서 blood glucose meter 및 strip (accu-chek performa)을 이용하여 측정하였다. 측정값은 mg/dl로 나타내었다.

㉕ 혈청학적 분석

실험동물의 희생 전 약 12시간을 절식시키고, avertin 2.5%를 복강 투여하여 마취한 후 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 헤파린 튜브에서 3,000 rpm으로 약 15분간 원심 분리하여 상층액을 취하는 방법으로 혈청(serum)을 획득하였다. 혈청 내 GOT, GPT, TG 및 TC는 아산제약 키트를 이용하여 분석하였다. 각 군별 48시간 동안 배설되는 분변을 수집하여 무게를 측정한 다음 Folch 등(11)의 방법으로 지방을 분리하고 mouse total Bile acid kit(Crystal chem, USA)을 사용하여 분변 내 담즙산 농도를 측정하였다.

㉖ 장내 미생물 측정

장내 일반세균 및 유산균 확인을 위해 실험 최종일에 모든 실험동물의 소장 이후 부분부터 대장에 이르는 부위의 양쪽을 결찰 한 다음 적출하였다. 이후 10배수의 PBS로 희석하고 AC배지에 1 mL씩 분주한 다음 37°C에서 24시간 배양하며 일반세균과 유산균 수를 확인하였다.

㉗ 통계처리

실험결과는 평균±표준편차의 형태로 나타내었으며 두 그룹간의 통계적 분석은 student's t-test 방법을 이용하였다. $P < 0.05$ 인 경우 통계적인 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

② 동물실험을 통한 나노입자 난소화성 전분의 기능성 규명

㉘ 체중과 음수 그리고 식이섭취량에 따른 식이효율

7주령 수컷 BALB/c 마우스에 저항전분을 포함한 베리즙을 약 8주간 경구 투여하며 측정된 실험동물의 체중증가량, 음수섭취량, 식이섭취량과 식이효율은 표 2-104와 같다. 체중증가량은 정상대조군과 유사하였으며 음수섭취량과 식이섭취량 그리고 식이효율 또한 정상군과 동일하였다($P > 0.05$).

표 2-104. 체중, 음수 그리고 식이섭취량에 따른 식이효율의 변화

	대조군	베리즙군	베리+RS	베리+1/2RS	베리+Gum
개시체중(g)	25.9±0.7	25.5±0.7	24.8±0.9	25.8±0.8	25.9±0.7
종료체중(g)	28.0±1.3	26.9±1.8	27.4±0.7	27.0±0.4	27.1±1.4
증체량(g/day)	0.3±0.1	0.2±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
음수섭취(g/day)	2.31±0.3	2.05±0.2	2.04±0.2	2.16±0.3	2.13±0.2
식이섭취(g/day)	2.42±0.3	2.41±0.4	2.39±0.2	2.38±0.3	2.42±0.3
식이효율 ¹⁾	0.11±0.04	0.07±0.08	0.13±0.06	0.07±0.07	0.06±0.06

베리즙군 : 복분자즙 300mg/kg; 베리+RS : 복분자즙+nano Resistant Starch 417mg/kg; 베리+1/2RS, 복분자즙+nano Resistant Starch 209mg/kg; 베리+Gum : 복분자즙+gum 417mg/kg

¹⁾식이효율 : 증체량/식이섭취량

⊕ 혈당변화

실험기간 중 6주와 8주차에 혈액을 채취한 다음 혈당을 측정된 결과는 그림 2-22와 같다. 약 2주 간격으로 혈당을 확인한 결과, 모든 군에서 혈당 변화는 보이지 않았다. 당뇨병 환자에게 gum과 pectin을 섭취하게 하였을 때 혈당과 인슐린 분비가 감소하였다고 발표(12)된 이래 수용성 식이섬유를 음식물과 함께 섭취할 경우 당뇨병 환자의 혈당이 강하되는 효과를 관찰한 연구 결과들이 보고되고 있다(13, 14). 따라서, 본 연구는 나노입자 저항전분과 베리즙이 당 흡수에 미치는 영향을 조사하기 위해 약 2주 간격으로 혈당을 측정된 결과 각 군간 통계적 차이는 나타나지 않았다. 이는 gum과 pectin과 같은 정제된 식이섬유를 첨가하여 혈당 강하 효과를 관찰한 실험에 비해 저항전분과 베리즙 내 식이섬유의 함량이 적었을 뿐만 아니라 혈당이 정상인 실험쥐들을 사용한 이유일 뿐만 아니라 베리즙 내 당 함량이 높아 저항전분이 베리즙 내 당의 흡수 억제 효과를 통해 정상적 혈당 수치 유지를 돕지 않거나 판단하고 있다.

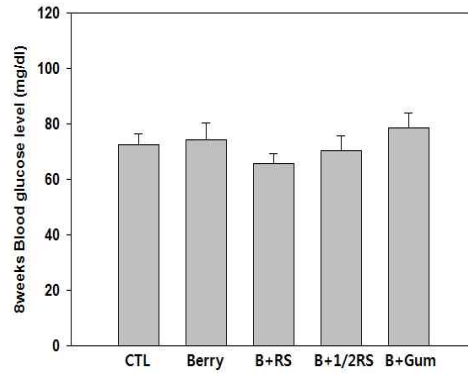
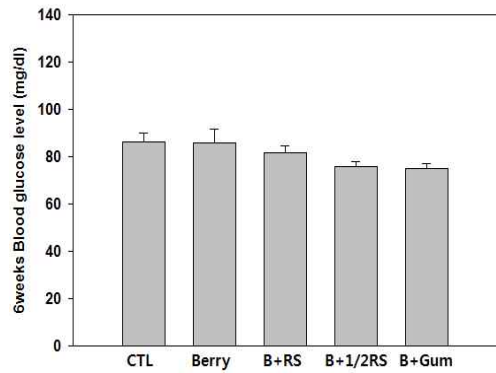


그림 2-22. 베리즙 단독 혹은 베리즙과 저항전분의 복합 급이가 식이 급이 6주와 8주 실험쥐의 혈액 내 혈당에 미치는 영향

㊤ 혈청 내 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)와 glutamine pyruvate transaminase (GPT)

제조된 수용성 식이첨유소와 베리즙의 생체 유해성 검정을 위하여 간조직의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정된 결과는 그림 2-23과 같다. GOT 및 GPT는 어느 군에서도 유의적인 변화를 보이지 않았다. 따라서 제조된 수용성 식이첨유 및 베리즙의 독성은 없음이 본 결과를 통해 검증되었다.

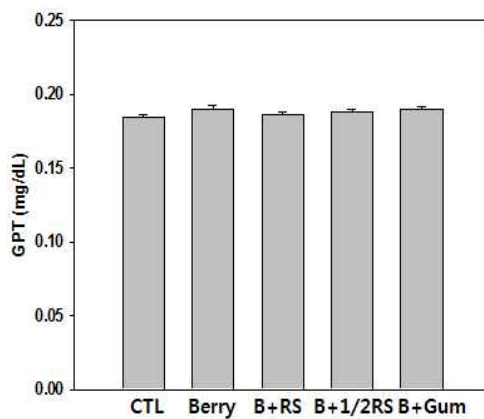
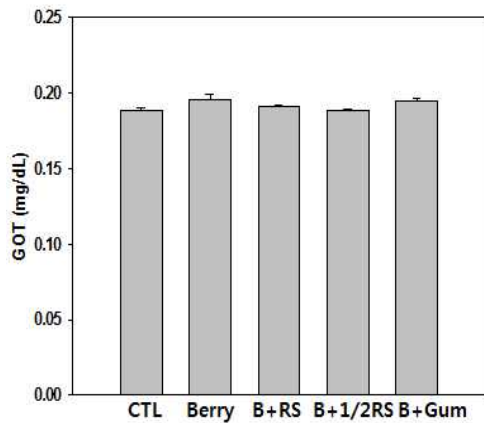


그림 2-23. 베리즙 단독 혹은 베리즙과 저항전분의 복합 급이가 실험쥐 간 건강에 미치는 영향

㉔ 혈청 내 중성지질(TG)과 총콜레스테롤(TC) 함량

혈청 내 지질분석 결과는 그림 2-24와 같다. 혈청 내 중성지방 농도는 정상대조군보다 수치적으로는 낮았으나 군간 유의적인 차이는 없었다. 총콜레스테롤 농도는 모든 그룹에서 정상대조군과 유사하였으며, 복분자즙+나노입자 RS군에서 가장 수치적으로 낮았으나, 유의적인 차이 또한 나타나지 않았다. 수용성 식이 섬유 함량이 높은 oat bran이나 보리로 만든 제품 등을 고콜레스테롤 환자에게 공급하며 혈청 내 콜레스테롤 함량을 낮출 수 있었던 결과로부터 β -glucan의 hypochlesterolemic 효과가 증명(15, 16)되었고, 하루에 pectin 4 g과 gum 3.5 g을 포함한 식이섬유 10 g을 섭취하지 않은 hypochlesterolemia 환자에게 15주 동안 보충해 주었을 때 total cholesterol과 LDL-cholesterol을 낮추는 결과 또한 발표되었다(17). 그러나 Nishina 등(18)은 불용성 식이섬유를 식이 중 5% 첨가한다면 혈중 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않거나 오히려 콜레스테롤 농도를 높인다고 보고하여, 본 결과와 상이함을 확인하였다. 수용성 식이섬유의 체내 콜레스테롤 감소 효과는 식이섬유의 점성과 밀접한 관계가 있음이 많은 연구자들에 의해 확인되었다(19). 이는 식이 중 콜레스테롤의 흡수저해에 의한 효과보다는 담즙산의 재흡수 방지 효과에 그 기전이 있는 것으로 보고되고 있다(20)

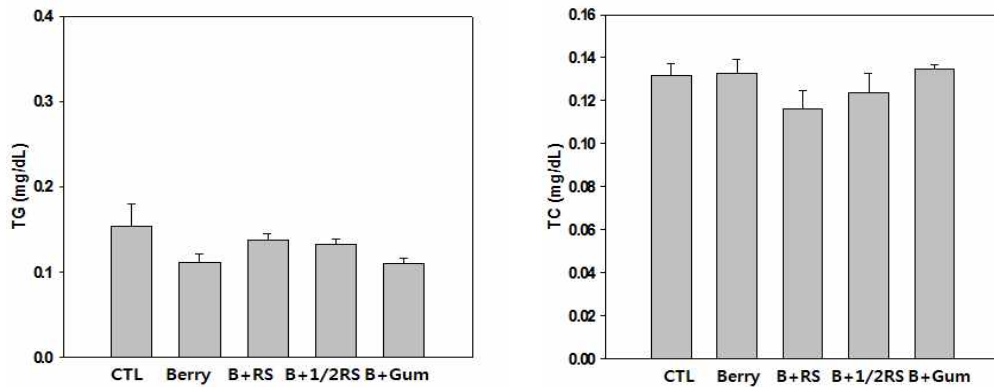


그림 2-24. 베리즙 단독 혹은 베리즙과 저항전분의 복합 급이가 혈액 내 TG와 TC에 미치는 영향

㉕ 분변 내 담즙산 함량

분변 내 담즙산 배출량은 그림 2-25와 같다. 베리즙군은 정상군(0.15±0.02)과 유사하였으나 나노입자 난소화성전분 급여군인 베리즙+nano RS(0.19±0.04), 베리즙+1/2nano RS(0.21±0.03)와 베리즙+gum (0.2±0.04)군에서는 각각 담즙산 배출량이 유의하게 증가됨을 확인 하였다. 저항전분은 helical structure를 가지고 있어 담즙산과 결합하기 쉽고 따라서 배변으로 담즙산의 배출을 가능하게 함으로 결과적으로는 혈중 콜레스테롤을 간으로 이동시켜

새로운 담즙산을 생성하게 함으로써 혈중 콜레스테롤의 함량을 감소시키는 것으로 보고 있다(21). 따라서 본 연구 결과를 바탕으로 나노입자 난소화성 전분과 베리즙의 동시 섭취는 체내 담즙산의 배출을 증가시킨다는 결과를 통해 지질대사 개선에 유익한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 판단된다.

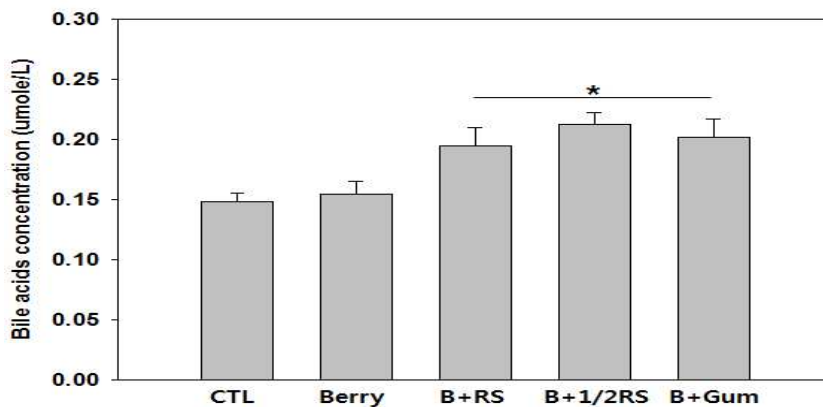


그림 2-25. 베리즙 단독 혹은 베리즙과 저항전분의 복합 급이가 실험 쥐의 분변을 통해 배출되는 담즙산 양 변화 조사

*Statistically significant from the CTL ($P < 0.05$)

㉞ 장내 미생물 변화

나노입자 난소화성 전분과 베리즙의 급이가 장내 미생물 증식에 미치는 영향은 표 2-105와 같다. 장내 유산균은 베리+ nano RS군과 베리+Gum군에서 수치적으로 증가하는 경향만을 보였으며 장내 총균은 모든 군에서 감소하는 경향을 나타내었다($P < 0.05$). 특히, 베리즙(2.62 ± 0.79)과 베리+1/2 nano RS(2.93 ± 1.06)군에서 유의적으로 장내 총균이 억제됨을 확인하였다. Wong 등(22)은 밀겨 30 g과 사탕수수섬유 10.5 g을 각각 12주간 실험쥐에게 급이하였으나 장내 균총의 변화는 보이지 않았다고 했으며, Vince 등(23) 역시도 락툴로오스, 펙틴, 아라비노갈락탄 혹은 셀룰로오스 등을 14주간 급이 하였음에도 장내 균총에는 어떠한 변화도 가져오지 못하였다고 하였다. 그러나, 본 실험에서는 나노입자 난소화성 전분과 같은 식이섬유가 장내 유산균수에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단은 되나 장내 총균수를 억제하는 것으로 보아 저항전분과 베리류 투여가 장내 환경개선에 유용하게 작용할 것으로 판단할 수 있겠다.

표 2-105. 베리즙 단독 혹은 베리즙과 저항전분의 복합 급이가 실험쥐 장 내 총균과 유산균 수 변화에 미치는 영향

	유산균	총균
대조군	2.11±0.72	4.6±1.69
베리즙군	2.13±0.60	2.62±0.79*
베리+RS	2.58±0.93	3.32±0.85
베리+1/2RS	2.00±0.85	2.93±1.06*
베리+Gum	2.84±1.18	3.17±1.18

베리즙군 : 복분자즙 300mg/kg; 베리+RS : 복분자즙+nano Resistant Starch 417mg/kg; 베리+1/2RS, 복분자즙+nano Resistant Starch 209mg/kg; 베리+Gum : 복분자즙+gum 417mg/kg

*Statistically significant from the CTL (P<0.05)

③ 동물실험을 통한 나노입자 난소화성 전분의 기능적 효과 결론

복분자즙 단독 혹은 복분자즙과 나노입자 난소화성 전분의 복합 급이를 마우스에 8주간 투여하였을 때, 혈중 콜레스테롤과 지질 농도 및 체내 콜레스테롤 배설에 미치는 영향을 알아보았고 그 결과는 다음과 같다. 일반 사양성적(체중, 사료섭취량, 사료효율)은 모두 유의적인 차이는 없었고, 6주차, 8주차에 진행한 혈당 또한 차이를 보이지 않았다. 복분자즙 단독 혹은 복분자즙과 나노입자 난소화성 전분의 복합 급이의 투여가 간에 이상을 주는지 확인한 결과 GOT, GPT는 모두 정상대조군과 비슷한 결과를 가져와 간독성에 이상이 없음을 확인하였다. 혈청 내 중성지방과 총콜레스테롤이 각 군 간의 차이는 없었으나, 체내 담즙산의 배설을 증가시킨다는 결과를 통해, 지질대사 개선에 유익한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다. 장내 미생물 증식에 따른 영향은, 유산균수는 큰 영향을 미치지 않았으나, 장내 총균수를 억제하는 것으로 보아 장내 환경개선에 유용하게 작용할 것으로 사료되었다.

(4) 개발음료의 안정성 조사

(가) 저장기간에 따른 씨앗입자 음료의 특성분석

① 저장 조건 및 실험 방법

일반적으로 유통기한 판단을 위한 저장실험 방법에는 첫째, 예상되는 유통환경 조건과 유사한 상태로 방치하면서 품질의 변화를 판정하는 방법이 가혹조건에서 대상제품을 보존하면서 짧은 시간에 품질이 떨어지는 정조를 파악하며 보존기간을 정하는 방법이 있다. 본 실험에서는 인위적으로 가혹한 환경조건에서의 보존실험을 실시하였다. 저장 안정성 조사를 위해 각 저장온도(25, 35, 45℃)에 저장하면서 1주일 간격으로 화학적 성분(당도, pH, 산도, 점도)의 변화를 측정하였다.

② 저장에 따른 씨앗입자 음료의 특성

개발된 나노입자 난소화성 전분이 첨가된 복분자-치아씨드 음료 최종 제품의 안정성 조사를 실시하였다. 안정성 조사를 실시한 결과 아래 표와 같다. 25℃, 35℃, 45℃에서 저장한 결과 당도는 0일차 23.33Bx°에서 5주차까지 큰변화를 나타내지 않았고, 산도는 0.14%에서 25℃저장에서는 0.19까지 증가하였고, 35℃에서는 0.22%, 45℃에서는 0.20%까지증가하는 경향을 나타냈다. pH는 0일차 2.85에서 저장 5주차까지 증가는하였으나 큰 변화를 나타내지 않다. 점도는 0일차 12.90(cP)에서저장 5주차까지 치아씨드의 막이 점점 풀어지면서 묽어지는 경향을 보였으나 저장 온도가 높을수록 묽어지는 속도는 빠르게 나타났다. 저장중 씨드음료의 색도를 측정한 결과 L값은 증가하였고, a값, b값은 감소하는 경향을 보였다.

표 2-106. 복분자-치아씨드 음료의 25℃ 저장에 따른 이화학적 특성 변화

Storage (week)	Sugar brix (°Bx)	Acidity (%)	pH	Viscosity (cP)
0	23.33±0.02	0.14±0.01	2.85±0.02	12.90±0.79
1	22.27±0.03	0.13±0.01	2.72±0.01	12.81±0.13
2	22.53±0.02	0.15±0.01	2.88±0.01	12.42±0.18
3	22.60±0.02	0.18±0.02	2.87±0.02	12.21±0.12
4	22.67±0.01	0.18±0.02	2.89±0.01	11.76±0.23
5	22.68±0.01	0.19±0.03	2.90±0.02	11.04±0.18

표 2-107. 복분자-치아씨드 음료의 35℃ 저장에 따른 이화학적 특성 변화

Storage (week)	Sugar brix (°Bx)	Acidity (%)	pH	Viscosity (cP)
0	23.33±0.03	0.14±0.01	2.85±0.02	12.90±0.79
1	22.43±0.03	0.15±0.01	2.86±0.02	12.61±0.13
2	22.57±0.01	0.16±0.02	2.83±0.02	11.96±0.90
3	22.53±0.02	0.12±0.03	2.85±0.01	11.47±0.27
4	22.61±0.04	0.23±0.02	3.01±0.01	11.01±0.25
5	22.64±0.03	0.22±0.01	3.02±0.02	10.87±0.27

표 2-108. 복분자-치아씨드 음료의 45°C 저장에 따른 이화학적 특성 변화

Storage (week)	Sugar brix (°Bx)	Acidity (%)	pH	Viscosity (cP)
0	23.33±0.06	0.14±0.01	2.85±0.02	12.90±0.79 ^a
1	22.53±0.04	0.14±0.02	2.91±0.02	12.70±0.21 ^a
2	22.58±0.04	0.16±0.02	2.90±0.01	11.60±0.18 ^b
3	22.59±0.06	0.18±0.02	2.92±0.01	11.01±0.13 ^b
4	22.62±0.04	0.19±0.02	2.92±0.01	10.94±0.14 ^b
5	22.67±0.03	0.20±0.03	2.93±0.02	10.31±0.23 ^c

표 2-109. 복분자-치아씨드 음료의 25°C 저장에 따른 색도 변화

Storage (week)	L	a	b
0	52.66±0.01 ^b	53.83±0.01	20.36±0.01 ^a
1	56.26±1.77 ^{ab}	52.58±1.21	18.44±0.23 ^b
2	57.01±0.02 ^{ab}	52.43±0.07	17.92±0.04 ^b
3	58.60±0.03 ^{ab}	52.13±0.06	17.02±0.05 ^b
4	59.93±0.08 ^a	51.64±0.23	16.52±0.12 ^b
5	60.66±0.05 ^a	51.19±1.21	16.05±0.02 ^b

표 2-110. 복분자-치아씨드 음료의 35°C 저장에 따른 색도 변화

Storage (week)	L	a	b
0	52.66±0.01 ^c	53.83±0.01 ^a	20.36±0.01 ^a
1	58.58±3.15 ^c	53.50±1.78 ^a	19.90±0.24 ^a
2	60.13±1.78 ^b	52.94±0.46 ^a	18.94±0.04 ^{ab}
3	62.85±1.46 ^b	51.45±1.78 ^b	18.28±0.07 ^b
4	63.84±0.23 ^b	50.13±0.10 ^b	17.97±0.03 ^b
5	68.44±1.21 ^a	49.91±0.04 ^b	16.60±0.04 ^c

표 2-111. 복분자-치아씨드 음료의 45℃ 저장에 따른 색도 변화

Storage (week)	L	a	b
0	52.66±0.01 ^c	53.83±0.01 ^a	20.36±0.01 ^a
1	62.71±1.21 ^b	50.39±0.56 ^b	19.42±0.06 ^{ab}
2	62.85±0.56 ^b	50.01±0.06 ^b	18.42±0.04 ^b
3	63.84±0.46 ^b	49.93±0.05 ^b	17.71±0.06 ^c
4	69.62±1.30 ^a	47.94±0.12 ^c	16.98±0.08 ^c
5	73.11±0.46 ^a	47.91±0.04 ^c	16.25±0.02 ^c

(나) 저장기간에 따른 씨앗입자 음료의 관능검사

① 저장 조건 및 실험 방법

개발제품인 나노입자 난소화성 전분이 첨가된 씨앗입자 음료를 4℃에서 1주간 보관하면서 관능평가를 실시하였다. 관능검사는 베리팜영농조합법인 직원과 베리&바이오식품연구소 연구원들을 대상으로 외관, 향, 맛, 질감(입안에서의 질감, 목넘김)과 전체적인 기호도 항목에 대해 9점 만점으로 평가하였다.

② 저장기간에 따른 씨앗입자 음료의 관능검사

저장기간동안 관능검사를 실시한 결과 표 2-112와 같이 향과 질감, 전반적인 품질이 다소 품질이 떨어지는 것을 확인하였다.

표 2-112. 복분자-치아씨드 음료의 저장에 따른 관능검사 결과

Storage (week)	Appearance	Flavor	Taste	Texture		Overall quality
				Mouthfeel	Swallow	
0	6.50±1.17	6.20±0.74	5.80±0.88	6.20±1.03	6.80±1.16	6.50±0.97*
1	6.20±1.10	5.80±1.40	5.80±1.05	5.90±1.16	6.30±0.97	5.60±0.92

* $p < 0.05$

(5) 시판제품과 비교

(가) 실험 방법

나노입자 난소화성 전분을 함유하도록 최종 개발된 씨앗음료와 씨앗음료 시판제품을 비교하기 위해 총 식이섬유 함량(TDF) 및 항산화활성을 측정하였고 총 폴리페놀 및 DPPH 라디칼 소거활성을 분석하였다.

(나) 총식이섬유 함량

표 2-113. 개발제품과 시판제품의 총 식이섬유 함량 비교

	TDF (%)
개발제품	1.52±0.87 ^a
Commercial A	1.17±1.15 ^b
Commercial B	1.26±1.52 ^b
Commercial C	1.03±0.79 ^b

(다) 항산화 활성

최종 개발된 씨앗음료와 씨앗음료 시판제품의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 아래와 같다. 최종 개발된 씨앗음료의 총 폴리페놀 함량은 1.48±0.04 mg/mL로 시판제품 보다 많게는 2배 이상 높은 함량을 보였는데, 시판제품 C의 경우는 첨가된 원료에 비타민 C가 포함되어 있어 높은 수준의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 보이는 것으로 판단된다. 총 플라보노이드 함량의 경우도 개발된 씨앗음료는 0.62±0.16 mg/mL의 함량을 보여 시판제품 A와 B보다 약간 높은 함량을 보였으며, 비타민 C가 포함된 시판제품 C 보다는 낮은 함량을 보였다.

표 2-114. 개발제품과 시판제품의 항산화활성 비교

	Total phenol contents (mg/mL)	Total flavonoid contents (mg/mL)
개발 제품	1.48±0.04 ^b	0.62±0.16 ^b
Commercial A	1.24±0.02 ^b	0.55±0.13 ^b
Commercial B	0.61±0.03 ^c	ND ^c
Commercial C	3.70±0.23 ^a	1.67±0.71 ^a

- 최종 개발된 씨앗음료와 씨앗음료 시판제품의 100 uL/mL 농도에서 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 그림 2-26과 같다. 최종 개발된 씨앗음료의 DPPH 라디칼 소거활성은 33.49±0.33%의 활성을 보여 시판제품 A(22.12±0.37%)와 B(21.79±0.44%) 보다

높은 활성을 나타내었고, 가장 활성이 높은 시판제품 C의 경우는 첨가된 원료에 강력한 항산화제로 알려진 비타민 C가 포함되어 있어 높은 활성을 보인 것으로 생각된다.

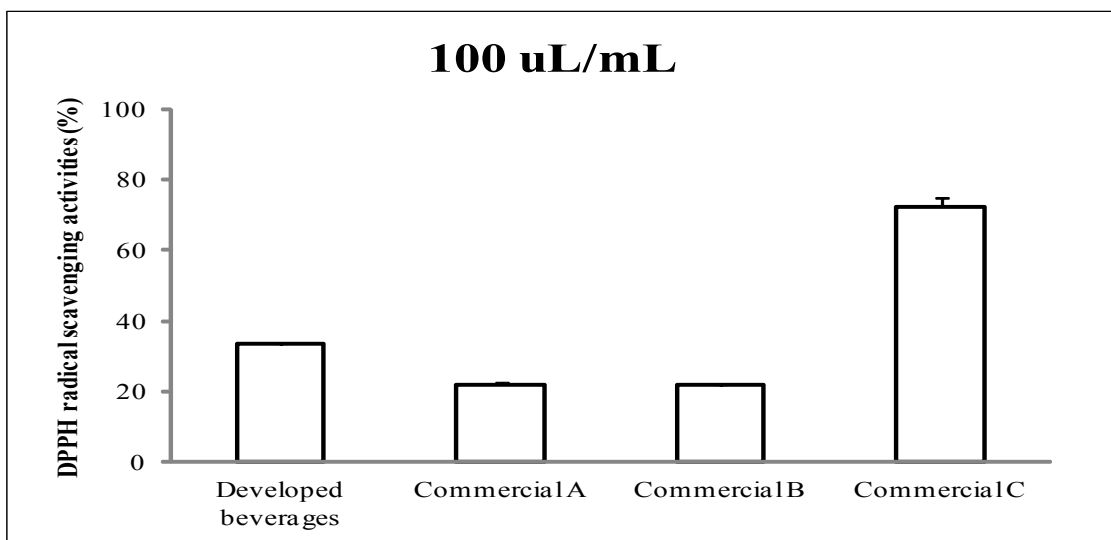


그림 2-26. 개발된 나노입자가 첨가된 씨드음료와 시판 씨드음료의 DPPH 라디칼 소거능(%) 비교

- 최종 개발된 씨앗음료와 씨앗음료 시판제품의 100 uL/mL 농도에서 ABTS 라디칼 소거활성을 측정된 결과는 그림 2-27과 같다. 최종 개발된 씨앗음료의 ABTS 라디칼 소거활성은 $79.12 \pm 0.99\%$ 의 활성을 보여 시판제품 A($14.77 \pm 0.95\%$)와 B($21.48 \pm 4.08\%$) 보다 약 3배에서 5배 이상 같은 농도에서 높은 활성을 보였다. 가장 활성이 높은 시판제품 C의 경우는 첨가된 원료에 강력한 항산화제로 알려진 비타민 C가 포함되어 있어 높은 활성을 보인 것으로 생각된다.

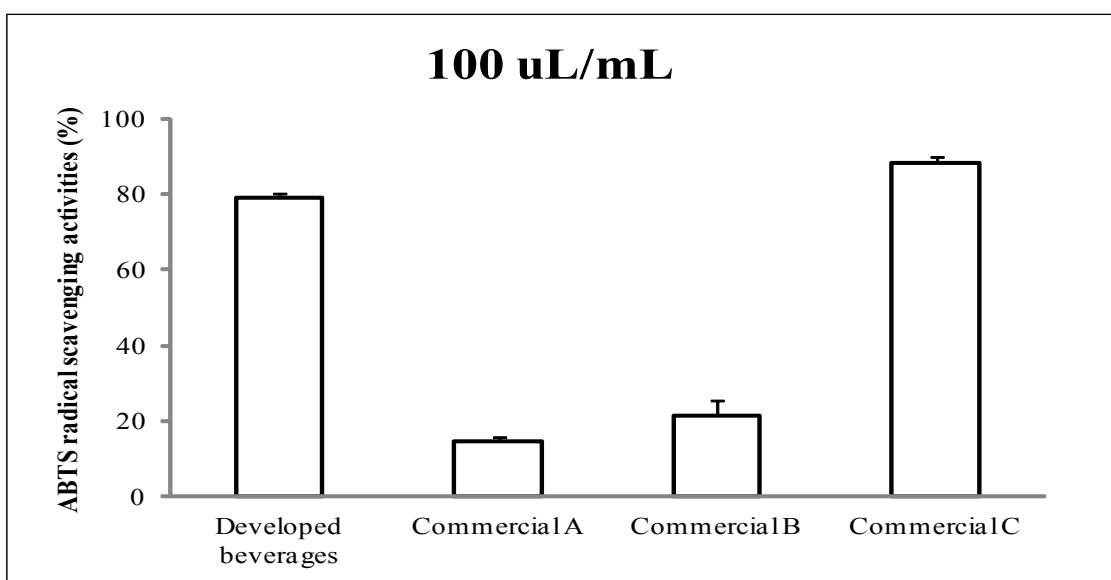


그림 2-27. 개발제품과 시판제품의 ABTS 라디칼 소거능(%) 비교

3. 제2협동과제 : 식이섬유 강화음료용 난소화성 전분 및 씨앗입자 개발

가. 전분의 종류와 제조 방법에 따른 저항전분의 개발 및 특성

(1) RS3(노화전분)과 RS4(가교결합전분)의 개발을 위한 전분의 특성 확인

(가) 재료 및 방법

① 재료

국내산 찹쌀은 농촌진흥청 국립식량과학원 벼백류부(익산, 전북)에서 수확된 국내의 찹쌀 품종인 동진찰, 신선찰, 한강찰 1호, 화선찰을 백미로 도정하여 사용하였다. 아밀로펙틴 함량은 amylose/amylopectin kit, 손상 전분 함량은 starch damage kit를 Megazyme International Ireland limited (Wicklow, Ireland)에서 구입하여 사용하였다.

② 찹쌀 전분의 분리

4품종의 찹쌀을 수침하여 알칼리 침지법으로 분리하였다. 물에 불려 물기를 제거한 찹쌀을 믹서에 넣고 0.2% NaOH 용액을 가하여 마쇄한 다음 100, 270 mesh 체에 차례로 통과시켰다. 통과된 현탁액을 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Supra 22K, Seoul, Korea)를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액은 따라 버리고 0.2% NaOH 용액을 넣어 반복하였다. 단백질을 제거하기 위해 0.2% NaOH로 반복적으로 씻어 상등액의 노란색이 사라지면 증류수로 씻고 1 N HCl 용액을 사용하여 pH 7.0으로 중화시켜 증류수로 3회 씻은 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 분리된 전분은 실온에서 풍건하였으며 건조된 전분은 분쇄기를 이용하여 분쇄 후 100 mesh 체에 통과시켜 시료로 사용하였다.

③ 찹쌀 전분의 일반성분 분석

제조한 찹쌀전분의 수분함량은 105℃ 상압 가열 건조법, 조회분 함량은 550℃에서 직접 회화법, 조단백질 함량은 Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법으로 분석하였다(AACCI 2012).

④ 아밀로펙틴 함량

시료 찹쌀전분의 아밀로펙틴 함량은 amylose/amylopectin kit (Megazyme International Ireland limited (Wicklow, Ireland)를 이용하여 실시하였다. 시료 0.02 mg에 1 mL DMSO를 넣고 boiling water bath에서 완전히 녹였다. 실온에서 95% 에탄올 6 mL을 넣고 30분간 방치시켰다. 2000 g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고 1 mL DMSO를 넣고 침전물이 없어질 때까지 boiling water bath에서 녹였다. Con A solvent로 25 mL로 정용한 용액을 solution 1이라 하였다. solution 1 1 mL을 e-tube에 옮기고 0.5 mL Con A solution을 넣고 1시간 방치하였다. 20,000 g, 20℃에서 10분간 원심분리하여 상등액 1 mL에 sodium acetate buffer 3 mL을 넣고 boiling water bath에서 5분간 방치시켜 Con A를 변성시켰다. amyloglucosidase/ α -amylase enzyme mixture 0.1 mL을 넣고 40℃ water bath에서 30분간

incubation 시킨 후 2,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액 1 mL과 GOPOD reagent 4 mL을 40°C water bath에서 20분간 반응시켜 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. Total starch는 solution 1 0.5 mL에 sodium acetate buffer 4 mL을 넣고 amyloglucosidase/ α -amylase enzyme mixture 0.1 mL을 넣은 후 40°C에서 10분간 incubation 하였다. 이 용액 1 mL에 GOPOD 4 mL을 넣고 20분간 incubation 한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 식에 의해 계산하였다.

$$\text{아밀로펙틴 (\%)} = 100 - \frac{\text{Con A 흡광도}}{\text{Total starch 흡광도}} \times 66.8$$

⑤ 물결합능력

참쌀전분의 물결합능력은 Medcalf와 Gilles의 방법(1965)을 이용하였다. 50 mL의 원심분리관에 참쌀전분 0.5 g(건량기준)과 증류수 20 mL를 넣은 후, 마그네틱 바($\phi 3.2 \times 13$ mm)를 이용하여 교반기로 실온에서 1시간 동안 분산시켰다. 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Supra 22K, Seoul, Korea)로 5,000 rpm에서 30분 동안 원심분리 하였다. 원심분리관을 1분간 거꾸로 세워 상등액을 제거하고 침전된 무게를 측정하여 처음 시료와의 중량비로부터 물결합능력을 계산하였다.

$$\text{물결합능력(\%)} = \frac{\text{침전된 시료의 무게}(g) - \text{시료의 무게}(g)}{\text{시료의 무게}(g)} \times 100$$

⑥ 팽윤력과 용해도

참쌀전분의 팽윤력과 용해도는 Schoch(1964)의 방법을 사용하여 80°C에서 측정하였다. 50 mL 원심분리관에 시료 0.25 g(건량기준)과 증류수 20 mL를 넣고 마그네틱 바($\phi 3.2 \times 13$ mm)를 이용하여 분산 시킨 후, 일정 온도를 유지하여 30분 동안 교반기로 저어주면서 가온하였다. 그 후 바로 꺼내어 얼음물에 담가 냉각시킨 후, 마그네틱 바를 제거하고 원심분리(10,000 rpm, 30 min)하였다. 원심분리 후 미리 칭량하여 건조 시킨 은박접시에 상등액을 부어 105°C dry oven에서 건조한 후 무게를 측정하였고, 침전된 전분은 그 무게를 재어 다음의 계산식을 이용하여 팽윤력과 용해도를 계산하였다.

$$\text{용해도 (\%)} = \frac{\text{상등액의 건조 무게}(g)}{\text{시료의 무게}(g)} \times 100$$

$$\text{팽윤력 (g/g)} = \frac{\text{침전된 전분의 무게}(g)}{\text{시료의 무게}(g) \times (100 - \% \text{용해도})} \times 100$$

⑦ 손상전분 함량

시료 찹쌀전분의 손상전분 함량은 starch damage kit (Megazyme International Ireland, Ireland)를 이용하여 측정하였다. 시료 100 mg을 원심분리관에 담아 40℃의 항온수조에서 2~5분간 예열하였고, fungal α -amylase solution(50 U/mL)은 40℃에서 5~10분간 예열하였다. 시료에 fungal α -amylase solution(50 U/mL) 1.0 mL을 시료 100 mg을 담은 용기에 넣어 40℃에서 10분간 반응시켰다. 0.2% 황산 용액 8 mL을 넣어 반응을 정지시켰고, 3000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 원심분리한 상등액과 glucose standard, blank의 0.1 mL을 취해 amyloglucosidase solution(0.1 mL/ 2 U) 0.1 mL을 가하여 40℃ 항온수조에서 10분간 반응시키고, GOPOD reagent 4 mL을 각 용기에 넣어 40℃에서 20분간 반응시켜 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정한 흡광도를 이용하여 다음의 식에 의해 손상전분의 함량을 계산하였다.

$$\text{손상전분 (\%)} = \frac{150}{\text{glucose 흡광도}} \times \frac{8.1}{\text{시료의 무게 (mg)}}$$

⑧ X-선 회절도

X-선 회절도 분석은 고분해능 X-선 회절분석기(x-ray diffractometer, D/Max-1200, Rigaku Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 찹쌀 전분 시료의 결정형과 결정강도를 측정하였다. 기기 조건은 target, Cu-K α : filter, Ni: full scale range, 3000 cps: scanning speed, 8°/min: voltage, 40 kV: current, 20 mA로 회절각도(2 θ)= 40-5°까지 회절 시켜 분석하였다.

⑨ 신속점도 측정기에 의한 호화 특성 측정

전분의 호화특성은 신속점도측정기(RVA TecMaster, Newport Scientific Pty, Ltd, Warriwood, Australia)를 이용하여 측정하였다. 시료 3 g(수분함량 12% 기준)에 증류수 25 mL을 가하여 측정하였다. 50℃에서 1분, 4.7분 동안 95℃까지 상승시키고 95℃로 2.5분 유지한 후, 3.7분 동안 50℃까지 냉각시키면서 점도를 측정하였다. 초기호화온도(initial pasting temperature), 최고점도(peak viscosity, P), 최저점도(trough viscosity, T), 최종점도(final viscosity, F)와 breakdown(P-T), setback(F-T) viscosity를 계산하였다.

⑩ 시차 주사 열량계에 의한 노화 특성 측정

전분의 열적특성은 시차 주사 열량계 DSC823e (Mettler TOLEDO, Nord Urdorf, Surrey, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. Indium을 사용하여 온도를 보정하여 사용하였다. 시료 3.0 mg을 취하여 aluminum pan에 넣고 증류수 6.0 mg을 가하여 밀봉하였다. 실온에서

overnight 한 후 가열 온도 범위는 30~130°C, 가열 속도는 10°C/min로 측정하였다. 가열에 따른 thermogram으로부터 호화개시온도(T_o), 호화피크온도(T_p), 호화종료온도(T_c), 호화엔탈피(ΔH)를 구하였다.

⑪ 주사전자현미경을 이용한 찹쌀 전분의 형태 관찰

찹쌀 전분의 입자 표면형태를 관찰하기 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM, JEOL JAM-540, Japan)을 이용하였다. stub에 양면테이프를 붙인 후 시료를 골고루 도포하고, 금/백금으로 도금하여 전도성을 갖게 하였다. 주사전자 현미경을 이용하여 가속 전압 15 kV, Phototimes 85 sec로 3,000배의 배율로 관찰하였다.

⑫ HPSEC에 의한 찹쌀 전분의 분자량 측정

찹쌀 전분의 분자구조는 High performance size exclusion chromatography (HPSEC)를 이용하여 분석하였다. 전분 50 mg을 5 mL의 90% dimethyl sulfoxide(DMSO)에 혼합하여 1 시간 동안 boiling water bath에서 교반 가열 하였고 상온에서 24시간 동안 stirring 하였다. 전분을 침전시키기 위해 전분 분산액(1%, w/v) 1 mL에 99% 에탄올 6 mL과 혼합하였다. 25°C에서 4,500 g로 15분간 원심분리한 다음 상등액은 모두 버리고 전분 pellet은 boiling water 1 mL에 용해시켰고 30분간 vortex하였다. 뜨거운 시료 용액은 5.0 μ m membrane filter를 사용하여 여과한 후 HPSEC system에 주입하였다. Column, Shodex OHpak SB-806 HQ와 OHpak SB-804 HQ; column temperature, 50°C; flow rate, 0.6 mL/min; detectors, RI detector; eluent deionized water(18.2 M Ω cm); injection volume, 100 μ L 이었다.

⑬ HPAEC에 의한 찹쌀 전분의 분지 사슬 분포 측정

찹쌀 전분의 측쇄 사슬길이 분포는 High performance anion exchange chromatography(HPAEC)를 사용하여 측정하였다. 유리 vial에 전분 100 mg와 1 mL 증류수를 넣고 혼합한 다음 dimethyl sulfoxide(DMSO) 9 mL에 분산시켰다. 녹인 시료는 테플론 용기에 넣어 전자레인지에서 35초간 가열하였다. 50 mL 원심분리관에 무수에탄올 30 mL을 넣고 vortexing 하면서 전분용액 5 mL을 가했다. 이 액을 25°C에서 3,000 g로 20분간 원심분리 한 후에 상등액을 제거하고 전분을 건조하였다. 50 mg의 전분을 10 mM sodium acetate 완충용액 (pH 3.5) 10 mL에 넣고 교반하면서 중탕과 가열로 용해시켰다. 각각의 시료에 isoamylase(0.5 U/mL)을 가한 다음 37°C incubator에서 24시간 반응시켰고 끓는 수조에서 10분간 담가 isoamylase를 불활성화시켰다. 이 액을 0.45 μ m filter로 여과하였다. 아밀로펙틴의 분지사슬분포는 pulsed amperometric detector(HPAEC-PAD)가 장착된 Dionex ICS-5000에 HPAEC(high performance anion exchange chromatography, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)로 분석하였다. 여과한 시료는 guard column(50 \times 3 mm)이 있는 250 \times 3 mm Dionex CarboPac PA-200 column에 주입하였다. 시료는 eluent A (150 mM sodium hydroxide)와 eluent B(500 mM sodium acetate를 함유한 150 mM sodium

hydroxide)사이의 gradient로 0.5 mL/min의 속도로 용출하였다. eluent B의 비율은 0분 0%, 10분 20%, 20분 40%, 30분에 50%, 60분에 70%로 변화되었다.

⑭ 전분의 산처리

전분의 산처리는 Biliaderis 등의 방법(1981)에 따라 200 mL 삼각플라스크에 시료 1 g과 2.2N HCl 40 mL을 가하고 35°C water bath에서 100 rpm으로 교반하면서 가수분해 시켰다. 산처리 시일은 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20일 후에 플라스크를 꺼내 다음과 같이 처리하였다. 전분 현탁액을 Whatman 여과지를 사용하여 흡인여과하고 증류수로 반복하여 씻었다. 얻어진 여과액은 250 mL로 정용하였다.

⑮ 산가수분해율 측정

여과액 중의 산가수분해에 의하여 생성된 총당량은 Dubois 등의 페놀-황산법(1956)으로 측정하였다. 즉, 여과액 1 mL을 시험관에 취하여 5% phenol 용액 1 mL와 진한 황산 5 mL을 가하고 잘 혼합한 다음 20분간 발색시켜 490 nm에서 흡광도를 측정하고 Fig. 1.과 같은 표준곡선을 이용하여 총당량을 구하였다. 산가수분해율은 Robin 등의 방법(1974)에 따라 여과액의 총당량을 가수분해 당량으로 하여 시료전분에 대한 백분율로 계산하였으며, 이로부터 Lintnerization(가수분해) kinetics는 Biliaderis 등의 방법에 따라 겔보기 1차 반응속도상수(κ)를 다음 식으로 계산하였다.

$$\kappa = \frac{2.303}{t} \times \log \frac{100}{100 - X}$$

t=가수분해시간 (day)

X=산 가수분해율 (%)

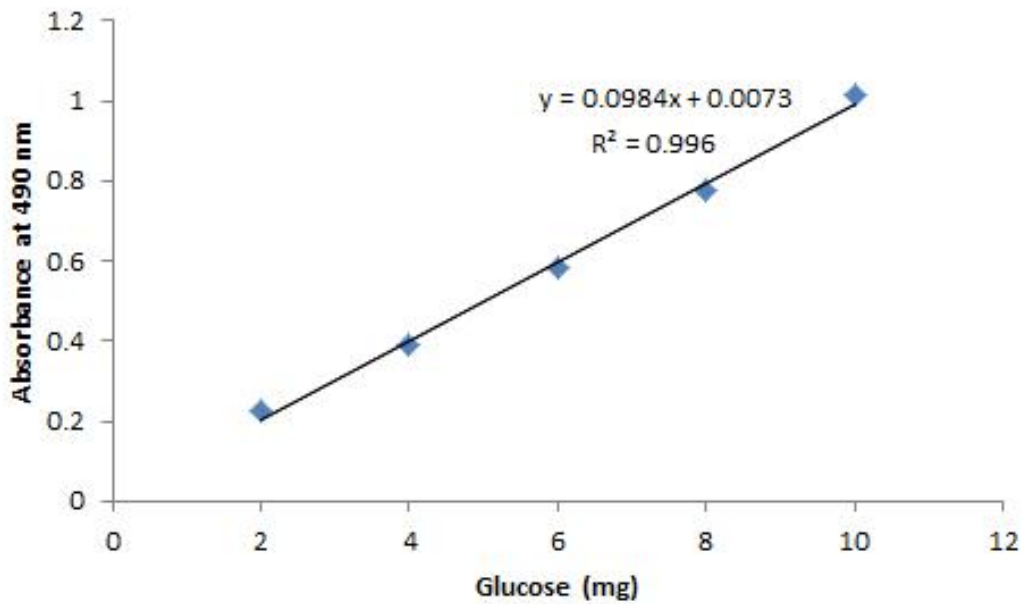


Fig. 1. Standard curve for total sugar contents using glucose as standard.

⑩ 통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준편차로 나타냈고, SPSS 12.0K (SPSS Inc., USA) 통계모델을 이용하여 ANOVA에 의해 분산분석을 실시하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

(나) 결과

① 찹쌀 전분의 특성

㉠ 찹쌀 전분의 일반성분 분석

찹쌀 전분의 일반성분은 Table 1과 같았다. 수분함량은 한강찰1호가 9.77%로 가장 높았고 화선찰벼가 6.28%로 가장 낮아 유의적인 차이가 있었다. 회분함량은 0.10-0.14%로 품종별로 유의적인 차이가 없었다. 조단백질 함량은 신선찰벼가 0.51%로 가장 높았고, 조지방 함량은 한강1호가 0.06%로 가장 낮았다. 본 결과는 Kim SK 등(1992)이 보고한 신선찰 찹쌀전분의 수분함량 11.70% 과는 차이가 있었으나 단백질 0.94% 회분 0.14%, 조지방 0.09% 이었다는 결과와는 유사하였다. 찹쌀에서 전분을 분리하는 과정에서 단백질, 무기질, 지방 등이 대부분 제거되었음을 알 수 있었다. 본 연구에서 사용된 시료와 선행연구 된 시료의 약간의 차이는 시료의 재배지역, 수확시기, 보관 방법 등의 차이로 생각된다.

Table 1. General composition analysis of waxy rice starches

Sample	Moisture (%)	Ash (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)
Dongjinchal	6.79±0.40 ^b	0.11±0.03	0.17±0.03 ^c	0.08±0.01 ^a
Sinsunchal	7.15±0.19 ^b	0.14±0.04	0.51±0.02 ^a	0.09±0.00 ^a
Hangangchal 1	9.77±0.09 ^a	0.11±0.01	0.33±0.03 ^b	0.06±0.00 ^b
Hwasunchal	6.28±0.35 ^c	0.10±0.00	0.20±0.02 ^c	0.08±0.00 ^a

Data represents mean±SD.

Mean values in the same column with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

㉞ 이화학적 특성

참쌀 전분의 아밀로펙틴 함량, 물결합능력, 팽윤력과 용해도, 손상전분 함량은 Table 2와 같이 나타났다. 아밀로펙틴 함량은 동진찰 98.20%, 신선찰 98.67%, 한강찰 1호 98.29%, 화선찰 97.91%로 품종간 유의적인 차이가 없었다.

전분의 물결합능력은 가공적성을 결정하는 매우 중요한 지표로서 전분입자의 표면에 흡착되거나 내부로 침투되는 물의 양을 측정하는 것으로 생전분의 수분결합능력을 의미하는 값이며 전분의 손상도가 높을수록 높아지는 것으로 알려져 있다(Lee 등 2004). 일반적으로 아밀로펙틴은 아밀로오스보다 수분 흡수력이 커서 메전분에 비해 찰전분의 물결합능력이 크나 아밀로오스를 거의 함유하지 않는 참쌀 전분에서의 차이는 아밀로펙틴의 구성상의 특징이라고 한다(Choi 등 2003). 물결합능력은 품종별 유의적인 차이가 있었으며 신선찰이 141.62%로 가장 높았고 동진찰(133.22%), 화선찰(117.78%), 한강찰 1호(114.32%) 순이었다. 본 결과는 Kim 등(1992)이 보고한 신선찰 전분의 물결합능력 108.8% 과는 차이가 있었으며, Choi 등(2003)은 신선찰벼가 103.5%라고 하였다. 하지만 Song 등(1998)은 신선찰 전분과 화선찰 전분의 물결합능력은 각각 138.3, 137.3%로 멥쌀전분보다 비결정 부분이 많고 내부 치밀도가 낮아서 높은 값을 보인다고 보고하였다.

전분입자의 팽윤은 무정형부분에 물이 흡수되고 가열에 의해 결정형부분 파괴되어 많은 수분을 함유하여 최대의 팽윤이 일어난다. 선행연구(Song 등 1998)에서 아밀로펙틴으로만 구성된 찰전분은 낮은 온도에서 팽윤이 시작되고 완료되며 호화온도 범위가 지나면 팽윤이 더 이상 진행되지 않다고 보고되어 80℃로 실험하였고 그 결과 팽윤력은 29.17~31.59% 범위로 나타났으며 유의적인 차이가 없었다. 참쌀전분의 팽윤은 아밀로펙틴 분자내의 분자량과 전체 아밀로펙틴 분자의 형태에 따라 좌우된다고 하였다(Kim 등 1992). 따라서 품종별 전분의 80℃에서의 팽윤력이 큰 차이를 보이지 않는 것은 전분의 아밀로펙틴의 분자량과 형태가 비슷할 것으로 생각된다. 또한 전분입자의 팽윤되는 정도는 아밀로펙틴의 분자량, 구조뿐만 아니라 전분에 함유된 지방질 함량과도 관계가 있다고 하였다(Song 등 1998). 용해도에서는 화선찰이 5.62%로 가장 높았고, 동진찰 3.79%, 신선찰 2.55%, 한강찰 1호가 1.42%로 가장 낮아 조지방 함량과 비교하여 전분에 결합된 지방질이 전분의 용해도에 영향을 준 것으로 생

각된다.

일반적으로 손상전분 함량이 높을수록 물결합능력이 높다고 보고되었다(Han 등 2012) 손상전분은 3.34-4.02% 범위로 나타났으며 신선찰(4.02%)이 가장 높았고 물결합능력이 또한 가장 높은 경향을 보였다. Choi 등 (2001)은 전분의 입자 크기가 작아지면 손상전분의 함량이 높아질 뿐만 아니라 물결합능력도 증가하는 양상을 보였다고 보고하였다.

Table 2. Physicochemical characteristics of waxy rice starches

Sample	Amylopectin content (%)	Water binding capacity (%)	Swelling power at 80°C (g/g)	Solubility at 80°C (%)	Damaged starch content (%)
Dongjinchal	98.20±0.40	133.22±2.86 ^b	29.17±1.07	3.79±0.28 ^c	3.34±0.03 ^c
Sinsunchal	98.67±0.07	141.62±2.28 ^a	30.23±1.43	2.55±0.11 ^b	4.02±0.01 ^a
Hangangchal 1	98.29±0.14	114.32±1.80 ^c	31.59±1.63	1.42±0.09 ^d	3.72±0.17 ^b
Hwasunchal	97.91±0.10	117.78±0.55 ^c	30.15±0.24	5.62±0.51 ^a	3.51±0.03 ^{bc}

Data represents mean±SD.

Mean values in the same column with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

㉔ X-선 회절도

참쌀 전분입자의 결정형태와 결정화도를 비교하기 위해 X선 회절도를 이용하였고 Fig. 2에 나타냈다. X선 회절도 peak 형태에 따라 A, B, C, V type 등으로 분류한다(Hizukuri, 1971). 일반적으로 옥수수전분과 같은 곡류전분은 15, 17, 18, 23°의 회절각도에서 peak를 나타내는 A type의 X선 회절양상을 갖고, B type은 17°에서 강한 peak를 나타내고 5.6, 20, 22, 24°에서도 peak를 갖는 것으로 감자전분이 이에 해당된다. C type은 A type과 B type을 혼합되어 나타나는 것으로 구분한다(Li 등, 2010). 4품종의 참쌀 전분 모두 15, 17, 18, 23°에서 peak를 보였으므로 전형적인 A type임을 알 수 있었다.

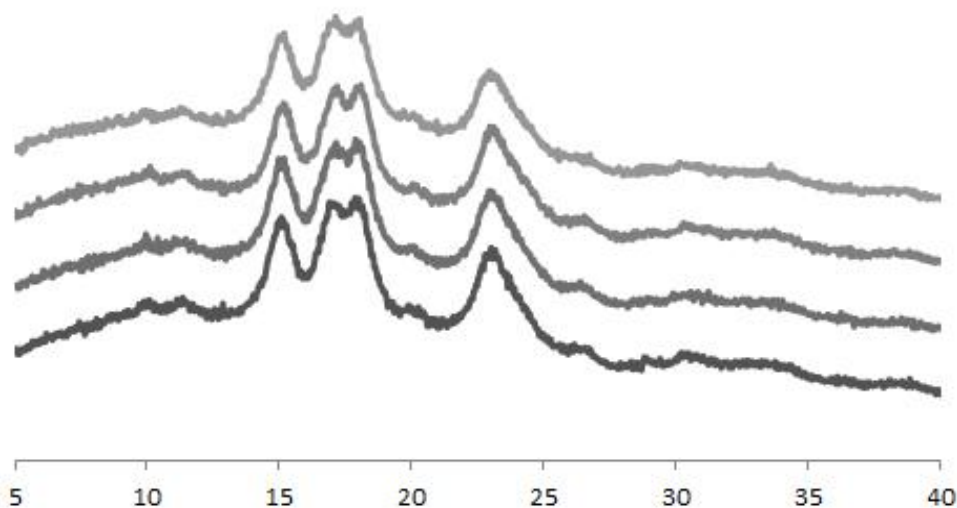


Fig. 2. X-ray diffraction patterns of waxy rice starches:
 (A) Dongjinchal, (B) Shinsunchal, (C) Hangangchal 1,
 (D) Hwasunchal.

㉔ 신속점도 측정기에 의한 호화 특성

신속점도 측정기에 의한 찹쌀 전분의 호화개시온도, 최고점도(peak), 최저점도(trough), 최종점도(final), breakdown 그리고 setback 점도 값을 Table 3에 제시하였다. 호화개시온도란 RVA pasting curve에서 온도가 증가함에 따라 처음으로 10 RVU의 점도가 증가하기 시작하는 점에서의 온도로 신선찰이 72.75°C로 가장 높았고 화선찰이 71.08°C로 가장 낮았다. 호화개시온도는 아밀로펙틴의 분지정도와 상관관계가 있는 것으로 분지도가 높을수록 호화개시온도가 낮게 나타난다는 보고가 있다(Park 등 2007). 또한 입자 크기가 감소하면 호화개시온도가 감소하고, 입자 크기가 커지면 호화개시온도가 증가한다고 보고되었다(Choi 등 2001). 최고점도는 동진찰, 신선찰, 한강찰 1호, 화선찰 각각 322.83, 360.54, 337.50, 309.92 RVU로 신선찰이 가장 높고 화선찰이 가장 낮은 값을 나타냈다. 호화 중 전분의 열이나 전단력에 대한 저항을 나타내는 breakdown 점도(P-T)에서도 신선찰이 가장 높은 값(162.21 RVU), 화선찰은 가장 낮은 값(102.46 RVU)을 나타냈다. Breakdown 점도는 가공중의 안정도를 확인하는 지표로 사용되는데 품종에 따라 차이를 보였으며 입자크기가 작아짐에 따라 값이 증가하는 경향을 보이고(Lee 2012), 아밀로스 함량과 음의 상관관계를 가진다(Choi 등 2012)고 보고되었다. Setback 점도는 냉각 후에 점도가 상승하는 정도로 일반적으로 전분의 구성 성분 중 아밀로스의 노화 특성을 나타내는 것으로 수치가 클수록 아밀로오스의 재결합도가 증가한다고 볼 수 있어(Kim 등 2008), 본 실험에 사용한 시료인 찹쌀의 경우 대부분 아밀로펙틴으로 구성되어 있어 상대적으로 setback 점도(F-T)값이 12.52~30.83 RVU 범위로 낮게 나타났고, 그 중 신선찰이 30.83 RVU로 가장 높아 가열된 전분이 냉각되면서 구조 형성을 가장 잘 할 수 있을 것으로 생각되었다.

Table 3. Pasting characteristics of waxy rice starches

sample	Initial pasting temperature (°C)	Viscosity (RVU)				
		Peak (P)	Trough (T)	Final (F)	Breakdown (P-T)	Setback (F-T)
Dongjinchal	71.88±0.04 ^b	322.83±3.89 ^c	196.50±1.89 ^c	212.88±0.41 ^b	126.33±2.00 ^b	16.38±1.47 ^b
Sinsunchal	72.75±0.00 ^a	360.54±0.18 ^a	198.33±5.66 ^c	229.17±4.48 ^a	162.21±5.83 ^a	30.83±1.18 ^a
Hangangchal 1	71.88±0.11 ^b	337.50±0.35 ^b	219.42±0.24 ^a	231.96±1.83 ^a	118.08±0.12 ^b	12.54±1.59 ^c
Hwasunchal	71.08±0.04 ^c	309.92±1.18 ^d	207.46±1.12 ^b	225.67±1.65 ^a	102.46±0.06 ^c	18.21±0.53 ^b

Data represents mean±SD.

Mean values in the same column with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

㉔ 시차 주사 열량계에 의한 열적 특성

시차주사열량기로 측정된 열적 특성을 Table 4에 나타냈다. 전분의 호화온도는 부분적 결정성 고분자가 물과 함께 가열되면서 무정형으로 변할 때 흡수되는 에너지를 비교하여 결정성 정도를 비교한다. 전분의 호화양상은 측정하는 방법에 따라 호화시 변화되는 물리적 변화 중에서 한 성질만 측정하므로 측정 방법에 따라 다른 값을 가질 수 있다고 알려져 있다 (Song 등 1998). 신속점도 측정기로 측정된 호화개시온도와 비교하여 시차 주사 열량계에 의한 호화개시온도(T_0)는 동진찰 63.13°C, 신선찰 64.50°C, 한강찰 1호 62.49°C, 화선찰 58.99°C로 더 낮은 값을 보였지만 경향은 유사한 것을 알 수 있었다. 최대호화온도(T_p)의 경우 신선찰이 70.09°C로 가장 높고, 화선찰이 65.83°C로 가장 낮았다. 호화종결온도(T_c)는 동진찰 76.39°C, 신선찰 77.31°C, 한강찰 1호 75.24°C, 화선찰 75.44°C로 나타났으며 시료간의 유의적인 차이가 없었다. 시차 주사 열량계에 의해 나타난 흡열곡선은 전분의 결정성 부분이 붕괴될 때 에너지를 필요로 하기 때문이며 엔탈피가 큰 것은 결정성 부분을 용융시키는데 더 많은 에너지가 요구되므로 결정성이 큼 것으로 알려져 있다 (Song 등 1998). 호화엔탈피 차이는(ΔH)는 전분을 구성하는 분자 구조 간 결합력과 결정성을 나타내는 것으로 아밀로스가 높은 품종이 낮은 품종보다 분자 구조 간 결합력과 결정성이 약한 것으로 알려져 있다 (Choi 등 2012). 호화엔탈피(ΔH)는 8.84-9.90 (J/g) 범위로 나타났으며 시료간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 신선찰 전분이 화선찰 전분에 비해 높은 값을 보여 신선찰 전분의 결정성 부분이 더 많을 것으로 생각되고, 아밀로스 함량이 약간 높은 화선찰 전분의 호화엔탈피 값이 8.84 (J/g)으로 가장 낮았다.

Table 4. Thermal properties of waxy rice starches

sample	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔT (T _c -T _o)	ΔH (J/g)
Dongjinchal	63.13±0.22 ^b	68.67±0.23 ^b	76.39±0.28	13.27±0.50 ^b	9.64±1.17
Sinsunchal	64.50±0.10 ^a	70.09±0.12 ^a	77.31±0.60	12.81±0.70 ^b	9.79±2.06
Hangangchal 1	62.49±0.25 ^c	68.50±0.00 ^b	75.24±0.19	12.75±0.45 ^b	9.90±0.07
Hwasunchal	58.99±0.03 ^d	65.83±0.00 ^c	75.44±1.00	16.45±0.98 ^a	8.84±0.44

Data represents mean±SD.

Mean values in the same column with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

㉠ 주사전자현미경을 이용한 찹쌀 전분의 형태

주사전자현미경(SEM)을 이용하여 찹쌀 전분입자의 형태와 크기를 3,000 배율로 관찰한 결과는 Fig. 3와 같았다. 일반적으로 쌀 전분은 배유세포 안의 아밀로플라스트 내에 복합전분립으로 존재하며, 분리된 전분입자는 다면체로 입자의 장경은 2~9 μm의 범위에 있는 것으로 알려져 있다, 모양은 복합전분립이 분리되면서 다각형을 가진다고 알려져 있다(Choi 등 2003). 찹쌀전분 4품종 모두 다각형 형태를 보였으며 입자의 표면은 매끄러우면 각 면이 들어간 형태를 보였으며 전분의 분리 정제 과정에서 전분이외의 구성성분들이 대부분 제거되었음을 알 수 있었다.

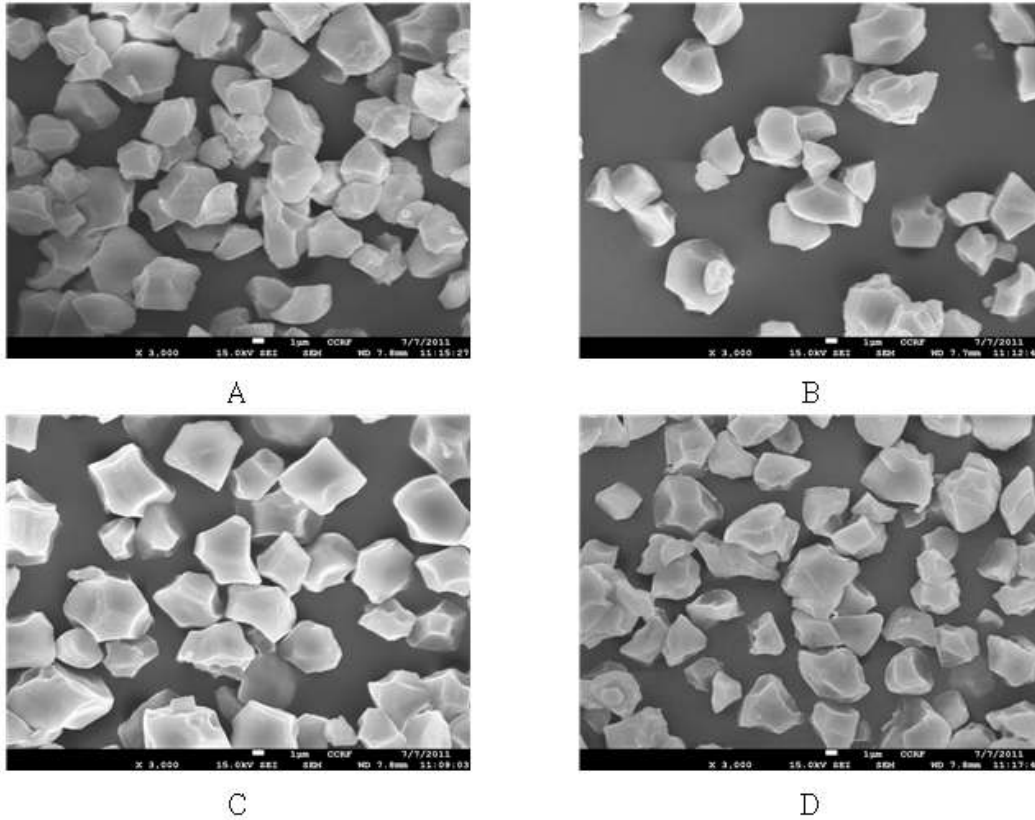


Fig. 3. Scanning electron microphotographs of waxy rice starches:
 (A) Dongjinchal, (B) Sinsunchal, (C) Hangangchal 1,
 (D) Hwasunchal.

㉔ HPSEC에 의한 찹쌀 전분의 분자량

동진찰, 신선찰, 한강찰 1호, 화선찰의 High-performance size exclusion chromatography(HPSEC)를 통한 전분의 분자량 분포 분석 결과는 Fig. 4와 같다. 아밀로스는 대부분 직선상의 사슬로 α -1,4결합을 하고 있고 분자량은 약 105-106 Da 범위로 나타나고 아밀로펙틴은 α -1,4 결합에 α -1,6 결합이 가지형태로 구조를 형성하고 분자량은 106-108 Da 범위로 분포하고 있다고 보고되었다(Simsek 등 2013). 모든 품종의 찹쌀 전분에서 하나의 peak를 보였고 분자량은 신선찰이 5.46×10^7 , 한강찰 1호 4.60×10^7 , 화선찰 4.60×10^7 , 동진 4.44×10^7 순이었다. 아밀로스와 아밀로펙틴이 분자량의 증가와 long-branched chain 길이 양의 감소, 아밀로펙틴의 branching 정도의 감소는 최고점도(peak viscosity)와 breakdown 점도를 증가시키고 setback과 final 점도를 감소시키는 호화 결과를 보인다고 보고된 바가 있다(Koroteeva 등 2007).

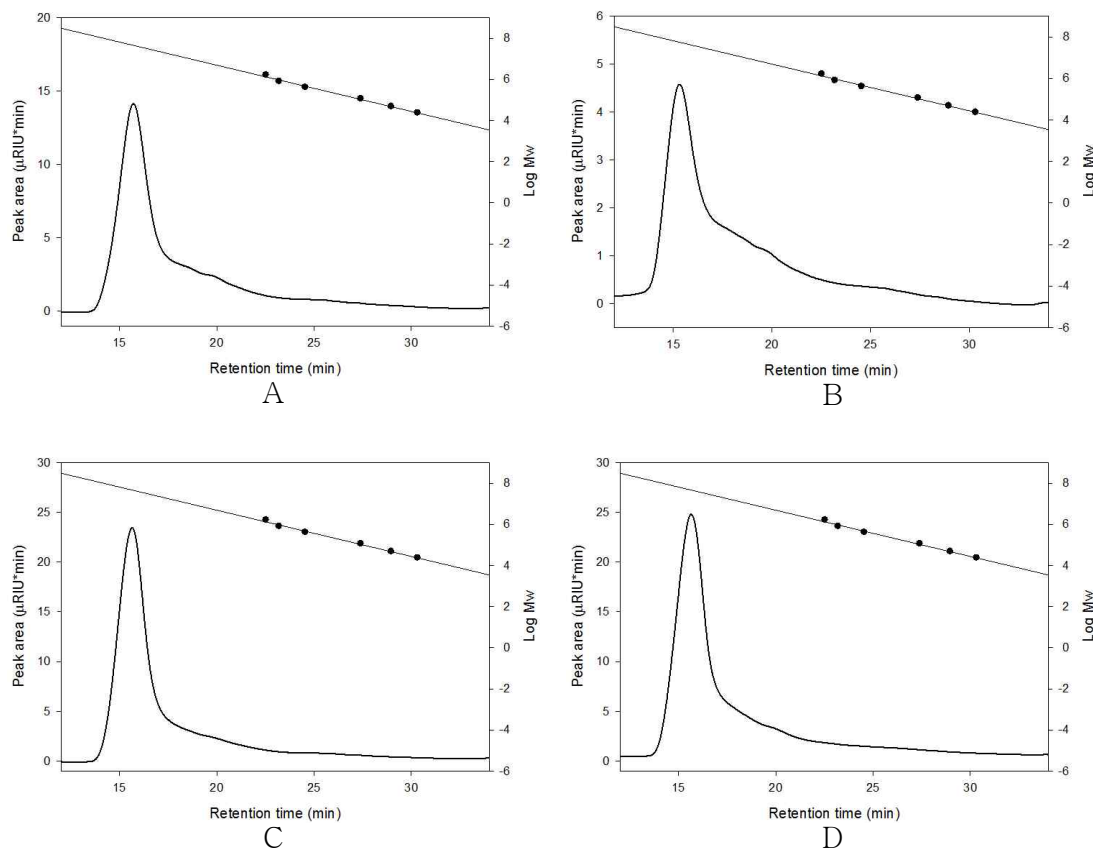


Fig. 4. Amylopectin molecular weight distribution of waxy rice starches determined by HPSEC-RI system. The standard used for the calibration curve are P1600, P800, P400, P100, P50 and P20.

(A) Dongjinchal, (B) Sinsunchal, (C) Hangangchal 1,
(D) Hwasunchal.

㉞ HPAEC에 의한 찹쌀 전분의 분지 사슬 분포

High performance anion exchange chromatography(HPAEC)를 이용한 찹쌀 전분의 분지 사슬 분포를 Table 5와 Fig. 5에 제시하였다. 전분의 기본 골격은 아밀로펙틴에 의해 이루어져있고 아밀로펙틴의 기본 구조는 cluster model로 긴 사슬이 배열되어 있는 결정성 부분과 분지된 부분인 무정형으로 되어 있으며 사슬길이의 크기나 분지정도는 품종에 따라 다른 것으로 알려져 있다(Woo 등 1985). 고분자를 이루는 단당류 단위의 수를 중합도(degree of polymerization)라고 하는데, DP에 따라 아밀로펙틴의 branch chain을 A chain(DP 6-12), B1 chain(DP 13-24), B2 chain(DP 25-36), B3+ chain (DP ≥ 37)으로 분류할 수 있다(Sasaki 등 2009). 실험에 사용된 품종 모두 DP 12에서 가장 높은 면적 %를 나타냈다. 찹쌀 전분과 같은 A type 및 C type은 DP 11~12에서 최고 분포를 보이고 B type의 전분은 DP 13에서 가장 큰 분포를 나타냈다고 보고되었다(Song 등 2008). 모든 품종의 DP(degree of

polymerization) 13-24에서 가장 큰 분지 사슬 분포 비율을 차지하였고 이러한 결과는 밀, 보리 그 외 A 형 전분에서도 나타났다(Chaisiricharoenkul 등 2011). 전분의 노화는 호화된 전분 입자가 결정화 되면서 발생하는데 아밀로펙틴의 사슬 길이의 분포는 노화속도에 영향을 준다. 전분은 아밀로펙틴의 짧은 사슬 비율이 높을수록, 외부 사슬 길이가 짧을수록 노화속도가 지연되는 음의 상관관계가 있다고 알려져 있다(Singh 등 2012). DP 6-12 값은 화선찰이 30.00%로 가장 높았고, 신선찰이 28.92%로 가장 낮았으며 이 결과는 신속점도 측정기로 측정한 setback 점도 값 또한 신선찰이 가장 높았으므로 노화속도가 상대적으로 빠를 것으로 예상된다.

Table 5. Branch chain length distributions of waxy rice starch amylopectin

sample	peak DP	% distribution					DPn ¹⁾	DPw ²⁾
		DP 6-9	DP 6-12	DP 13-24	DP 25-36	DP ≥37		
Dongjinchal	12	9.88±0.03	29.67±0.27	50.00±0.12	11.73±0.05	8.60±0.10	15.13±0.04	18.84±0.07
Sinsunchal	12	9.43±0.16	28.92±0.45	49.89±0.06	11.88±0.15	9.28±0.34	15.30±0.11	19.15±0.18
Hangangchal 1	12	9.79±0.20	29.28±0.18	49.20±0.03	12.19±0.04	9.30±0.21	15.27±0.04	19.19±0.07
Hwasunchal	12	9.88±0.27	30.00±0.28	49.88±0.13	11.65±0.11	8.46±0.52	15.07±0.07	18.78±0.19

Data represents mean±SD.

Mean values in the same column with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

1)Number-average degrees of polymerization

2)Weight-average degree of polymerization

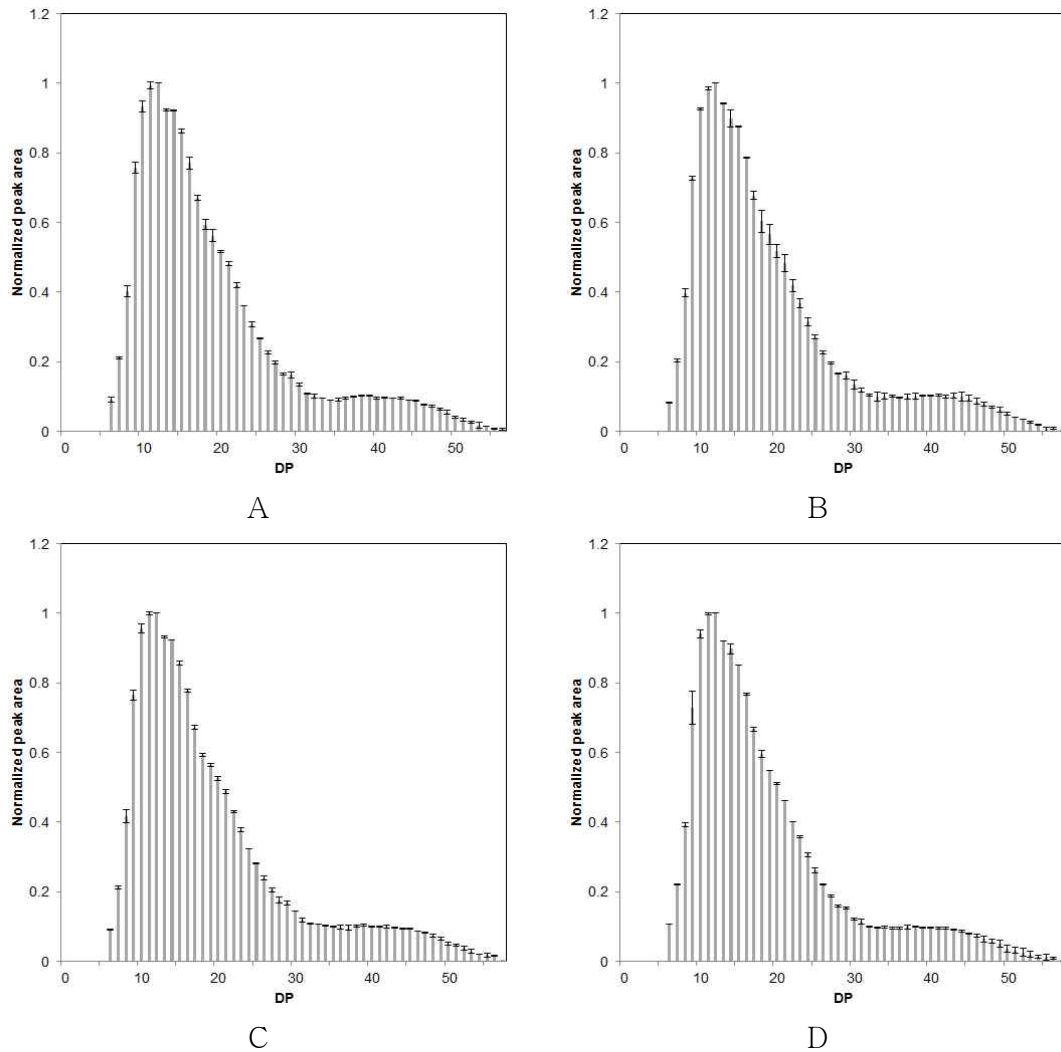


Fig. 5. Branch chain-length distributions of amylopectins by HPAEC-PAD:
 (A) Dongjinchal, (B) Sinsunchal, (C) Hangangchal 1,
 (D) Hwasunchal.

② 산가수분해 처리에 의한 찹쌀 전분의 특성

2.2 N HCl 용액으로 35°C 항온수조에서 20일 동안 산처리한 결과 전분의 가수분해율을 Table 6과 Fig. 6에 나타내었다. 산 가수분해율은 1일에서 7.62%로 화선찰이 가장 높았고 동진찰 5.95%, 신선찰 5.82%, 한강찰 1호 5.50% 순이었다. 2일 동안 가수분해시킨 결과에서도 같은 경향으로 산 가수분해율이 증가한 것을 알 수 있고 4일 때 가수분해율은 29.25~32.19% 범위로 나타났다. Fig. 5와 같이 4일을 경계로 가수분해율이 큰 폭으로 증가하고 그 이후부터는 완만하게 분해되었다. 대체로 8~10일부터는 가수분해율의 정도가 큰 차이가 없어 산가수분해의 한계에 도달하였다 생각되고 20일 동안 가수분해한 전분의 가수분해율은 동진찰 35.67%, 신선찰 37.31%, 한강찰 1호 36.36%, 화선찰 36.84% 였다. 산가수분해율은 품종간에 차이가 있었고 화선찰 전분이 산에 의해 가수분해되는 속도가 빨랐고 한강찰1 전분이 대체

적으로 느낌을 확인할 수 있었다. 전분의 산가수분해는 초기단계는 전분 입자내의 무정형 부분이 급속하게 가수분해되고 후기단계는 결정형 부분이 완만하게 분해된다. 즉, 화선찰이 무정형 부분의 비율이 많거나 아밀로펙틴을 구성하고 있는 cluster구조가 다른 품종들에 비해서 어느 정도 무질서할 것으로 예상할 수 있었다. 찹쌀을 산가수분해하면 4~7일 경계로 가수분해 속도가 달라지고, 멥쌀의 경우 7~9일을 경계로 속도가 달라진다고 보고되었다(Kim 등 1992). 찹쌀전분을 산처리 하게 되면 아밀로펙틴의 DP ≥ 37 인 긴 사슬이나 DP 6-12의 짧은 사슬이 가수분해 됨으로써 입자크기를 줄일 수 있을 것으로 생각된다. 찰옥수수 전분을 산가수분해한 선행연구(Miao 2011)에서 전분을 가수분해 함으로써 아밀로펙틴의 DP 13-33의 비율은 증가하고 DP ≤ 13 , DP > 33 의 비율은 감소하였다고 보고하였다.

Table 6. Time courses of hydrolysis of waxy rice starches in 2.2N HCl at 35°C

sample	Hydrolysis percentage (%)							
	1 day	2 day	4 day	6 day	8 day	10 day	15 day	20 day
Dongjinchal	5.95±0.05 ^b	9.77±0.11 ^b	28.31±0.33 ^b	31.86±0.40 ^a	33.82±0.10 ^a	35.06±0.17 ^b	35.77±0.03	35.67±0.03 ^c
Sinsunchal	5.82±0.05 ^b	9.09±0.18 ^c	26.91±0.04 ^c	29.25±0.05 ^b	31.92±0.32 ^c	35.49±0.23 ^b	36.05±0.23	37.31±0.07 ^a
Hangangchal 1	5.50±0.11 ^c	8.84±0.35 ^c	27.67±0.50 ^b	30.12±0.72 ^b	33.66±0.67 ^b	33.98±0.68 ^b	34.73±1.09	36.36±0.47 ^b
Hwasunchal	7.62±0.16 ^a	11.74±0.01 ^a	30.45±0.22 ^a	32.19±0.26 ^a	34.82±0.04 ^a	35.94±0.06 ^a	35.82±0.17	36.84±0.01 ^a

Data represents mean±SD.

Mean values in the same column with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

일반적으로 전분의 산가수분해 반응은 두 단계로 일어난다는 선행연구(Park 1990, Kang 등 2000, Li 등 2013)가 보고되어 있는데, 본 연구에서는 Fig. 7과 같이 세 단계로 속도가 변하는 결과가 나타났다. 이 결과로부터 구한 초기 산 가수분해 반응속도상수 값은 동진찰 $8.32 \times 10^{-2} \text{day}^{-1}$, 신선찰 $7.84 \times 10^{-2} \text{day}^{-1}$, 한강찰 1호 $8.10 \times 10^{-2} \text{day}^{-1}$, 화선찰 $9.08 \times 10^{-2} \text{day}^{-1}$ 로 화선찰이 가장 높고 신선찰이 가장 낮았다. Biliaderis 등 (1981)에 의하면 산가수분해 반응속도상수는 주로 전분 입자의 구성과 결정성에 영향을 받고, 호화온도나 아밀로펙틴의 짧은 사슬과 긴 사슬의 비가 κ 값과 중요한 상관관계가 있다고 하였다. DP ≥ 25 이상인 긴 사슬의 비율에 따라 동진찰 20.33%, 화선찰 20.11%와 신선찰 21.16%, 한강찰 1호 21.49%로 나눌 수 있고, 산가수분해 속도상수와 비교하여 긴 사슬의 비율이 적은 동진찰과 화선찰이 긴 사슬이 많은 신선찰과 한강찰 1호에 비해 κ 값이 큰 것을 알 수 있다.

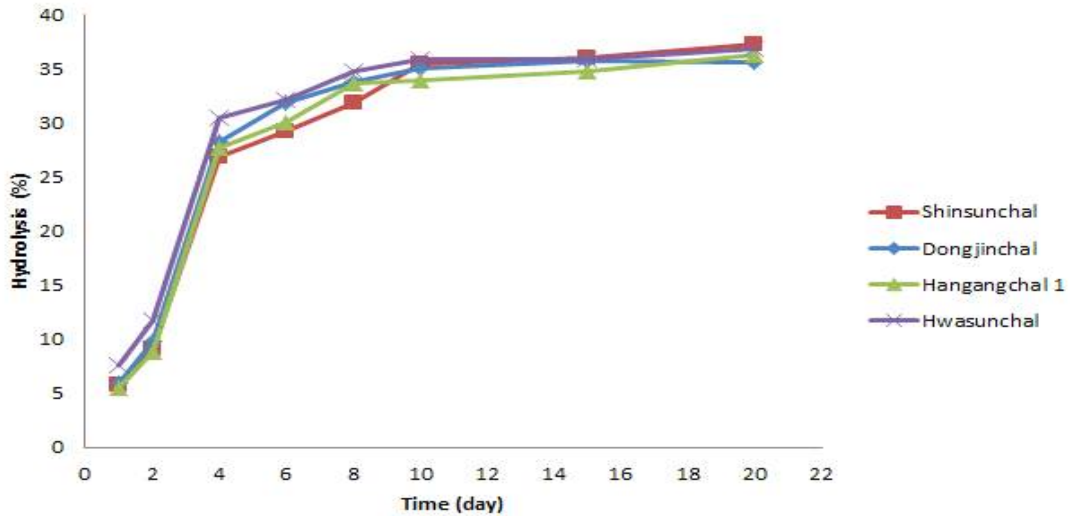


Fig. 6. Degree of hydrolysis of waxy rice starches in 2.2N HCl at 35°C.

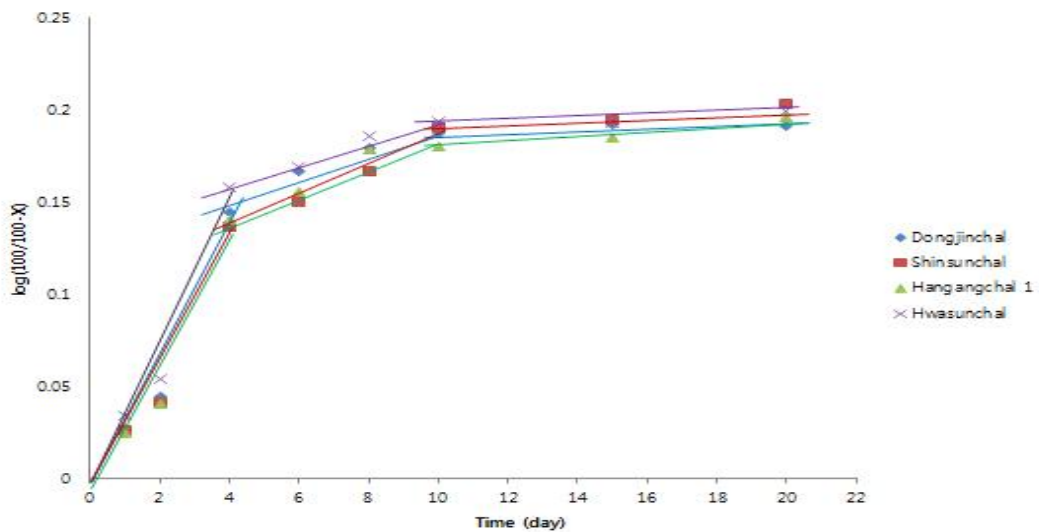


Fig. 7. Waxy starches hydrolysis data plotted as $\log(100/100-X)$ vs time.

(3) 최적 조건의 RS3와 RS4 선발 및 특성 측정 및 총 식이섬유 함량 분석

(가) 재료 및 방법

① RS3의 제조

RS3의 제조는 Mun & Shin(2006)의 방법을 변형하여 이용하였다. 분리한 전분과 물을 1:1의 비율로 멸균병에 넣어 혼합한 다음 부분적으로 끓는 수조에서 호화를 시킨 후 121°C에서 1시간 autoclave를 이용하여 가압멸균하였다. 가열 호화된 멸균병을 실온에서 식힌 후 4°C에서 16시간 보관하여 노화시키는 과정을 3회 반복하였다. 만들어진 저항전분을 실온에서 풍건

시킨 후 분쇄기를 이용하여 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시켜 RS3 시료로 이용하였다.

② RS4의 제조

가교결합에 의한 RS4형 저항전분의 제조는 1L의 비이커에 쌀 전분 50 g(건량기준)과 증류수 50 mL을 1:1 (w/v)의 비율로 넣고, Na₂SO₄(5.00 g, 10%, starch basis, 전분기준)를 stirring하면서 첨가하였다. 저항전분 함량을 증가시키기 위해 50°C의 물에서 12시간 어닐링시킨 다음 이 전분에 무수 황산나트륨을 전분 기준으로 10% 첨가하여 저어준 다음 가교결합제인 STMP(5.994 g, 전분기준)와 STPP(0.006 g, 전분기준)를 99:1의 비율로 총 6 g을 첨가하였다. 이 혼합물에 1.0 N NaOH용액 22.5 mL를 첨가하면서 반응액의 pH를 pH 11.5로 맞춘 후, 45°C의 수조에서 3시간 동안 stirring과 함께 가교결합 반응을 시켰다. 반응이 끝나면 1 M HCl 용액을 사용하여 pH 7.0으로 중화시킨 후, 전분과 반응이 되지 않은 가교결합제와 염을 제거하기 위하여 증류수로 원심분리기를 이용하여(5000 rpm, 10 min) 4번 이상 씻은 후 상온에서 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기를 이용하여 분쇄한 후 100 mesh 체를 통과시켜 사용하였다.

③ 총 저항전분 함량

저항전분 함량은 총 식이섬유 함량 측정방법(AOAC, 2000)을 이용하여 측정하였다. 건량 1.0 g의 시료에 pH 6.0의 인산완충용액 50 mL를 600 mL의 비커에 넣고 heat stable α -amylase 0.1 mL를 첨가한 후 마그네틱바(Φ 7 × 50 mm)를 이용해 100°C의 끓는 물이 담긴 1000 mL의 비커에 넣고 20분간 교반시켰다. 교반시킨 용액을 실온에서 냉각시킨 후 0.275 N NaOH 11 mL를 넣고 pH 7.5±0.2로 맞추었다. pH를 조절된 용액에 인산완충용액에 용해한 protease(Cat No. P-3910, Sigma) 0.1 mL를 넣고 60°C의 항온 수조에서 100 rpm으로 35분 동안 반응시켰다. 반응시킨 용액을 다시 상온에서 냉각시킨 후 0.325 N HCl 11 mL를 첨가하여 pH를 4.0~4.6으로 조정하였다. pH를 조절된 용액에 amyloglucosidase(Cat No. A-9913, Sigma) 0.1 mL를 넣어 60°C의 항온수조에서 100 rpm으로 35분간 반응시켰다. 반응 후 용액이 80% 에탄올 농도가 되도록 289.2 mL의 95% 에탄올을 첨가하여 상온에서 1시간 두었다. 이후 0.7 g의 acid washed celite를 넣고 105°C의 dry oven에서 3시간 건조 후 항량한 유리도가니를 이용하여 감압여과 하였다. 유리 도가니에 상온에서 냉각시킨 비커에 있는 용액을 여과시키고 78%, 95% 에탄올과 아세톤을 이용하여 비커 내부를 씻어 나머지 잔여물을 여과시켰다. 여과한 유리도가니를 105°C의 dry oven에서 건조시킨 후 잔여물이 있는 유리도가니의 무게를 측정하여 여과 전의 무게와의 차를 구하여 저항전분 함량을 계산하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$RS \text{ 함량}(\%) = \frac{\text{잔여물의 무게}}{\text{시료의 무게}} \times 100$$

④ 저항전분의 물결합능력 측정

RS3와 RS4 저항전분의 물결합 능력은 Medcalf와 Giles의 방법(1965)에 의해서 측정하였다. 50 mL의 원심분리관에 건량 시료 0.5 g과 증류수 20 mL을 넣고 실온에서 1시간 동안 교반한 후 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Supra 22K, Seoul, Korea)로 8,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 상등액을 제거하고 침전된 무게를 측정하여 처음 시료와의 중량비를 이용하여 계산하였다.

$$\text{물결합능력(\%)} = \frac{\text{침전된 시료 무게}(g) - \text{처음 시료 무게}(g)}{\text{처음 시료 무게}(g)} \times 100$$

(나) 결과

① RS3와 RS4의 총 저항전분 함량

찰옥수수과 멥쌀(호평), 찹쌀(신선찰)을 이용하여 RS3을 제조하였을 때 인체에서 소화가 일어나지 않는 총 저항전분 함량은 Table 7과 같았다. RS3의 경우 찰옥수수에서 1.09%, 호평전분에서 2.53%, 신선찰에서 0.48%로 멥쌀인 호평전분에서 가장 높게 나타났다. 이들 RS3 전분은 100 g 기준으로 하였을 때 수율은 100%이지만 RS 함량이 2% 전후로 낮은 특성을 보이며 저항전분의 크기가 크기 때문에 음료용으로 사용하기 어려울 것으로 사료된다.

Table 7. Resistant starch contents of RS3

	Total resistant starch contents (%)
Maize starch-RS3	1.09±0.13 ^b
Hopyeong-RS3	2.53±0.22 ^a
Shinseonchal-RS3	0.48±0.07 ^c

Data represents mean±SD

^{a-c} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

찰옥수수, 밀전분, 찹쌀 전분인 신선찰, 동진, 한강찰을 이용하여 가교결합 전분인 RS4를 제조한 결과는 Table 8과 같았다. 찰옥수수전분에서 59.87%로 저항전분 함량이 가장 높게 나타났고, 밀 전분도 39.03%로 높은 함량을 보였다. 찹쌀전분을 이용한 RS4는 2.92-5.19% 정도로 상대적으로 낮은 저항전분을 보였다.

Table 8. Resistant starch contents of RS4

	Total resistant starch contents (%)
Maize starch-RS4	59.87±9.08 ^a
Wheat starch-RS4	39.03±2.75 ^b
Shinseonchal-RS4	2.92±0.64 ^c
Donginchal-RS4	5.19±0.26 ^c
Hangangchal-RS4	3.85±0.84 ^c

Data represents mean±SD

^{a-c} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

② RS3와 RS4의 물결합능력

RS3와 RS4의 물결합능력을 측정한 결과는 Table 9와 10에 나타내었다. RS3는 전분을 물이 있는 조건에서 가열-냉각 시키는 사이클을 반복하여 호화 및 노화과정을 거쳐 형성된 노화 아밀로스에 의해 저항성이 생기므로 찹쌀전분은 아밀로펙틴으로 되어 거의 대부분이 노화가 억제되어 RS3의 저항전분 함량이 낮을 것으로 예측되었고 대부분이 호화된 상태로 존재하기 때문에 물흡수력이 커서 높은 물결합능력인 365.76-427.24%를 나타내었다. 곡류의 종류나 품종에 따라서도 달라 호평 품종의 멥쌀전분을 이용하였을 때 찰옥수수 전분보다 물결합능력이 더 높게 나타났다.

Table 9. Water binding capacity of autoclaved resistant starch3 (RS3) prepared from waxy maize and nonwaxy rice starches

	Water binding capacity (%)
Maize starch-RS3	365.76±31.38
Hopyeong-RS3	427.24±4.41*

Data represents mean±SD

^{a-c} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

RS4의 물결합능력은 Table 10과 같았고, 제조한 원료에 따라서 유의적인 차이를 나타내었다. 찰옥수수 전분으로 제조한 RS4에서 물결합능력은 92.19%로 가장 낮았고, 동진찰로 제조한 RS4에서 191.77%로 가장 높은 물결합능력을 보였다.

Table 10. Water binding capacity of resistant starch 4 (RS4)

	Water binding capacity (%)
Maize starch-RS4	92.19±14.54 ^c
Wheat starch-RS4	148.99±9.17 ^b
Sinseonchal-RS4	175.26±6.79 ^{ab}
Donginchal-RS4	191.77±8.59 ^a
Hangangchal-RS4	169.36±13.07 ^{ab}

Data represents mean±SD

^{a~c} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

(4) 산 가수분해 전분의 특성

(가) 재료 및 방법

① 찹쌀 전분의 분리

신선찰 찹쌀은 씻은 후 수침하여 알칼리 침지법(Kim 등 2013)로 분리하였다. 물에 불려서 물기를 제거한 찹쌀에 0.2 % NaOH 용액을 넣은 후 1시간 침지시켰고 이를 믹서(Daesung Artron Co., 하나로씩, Seoul, Korea)에 넣어 마쇄한 후 100 mesh, 270 mesh 체를 차례로 통과시켰다. 통과시킨 현탁액은 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Supra 22K, Seoul, Korea)를 이용하여 3,000 rpm(1,630×g)에서 10분 간 원심분리하여 상정액은 버리고 0.2% NaOH 용액을 넣어 반복하여 씻어내었다. 이후 침전물은 1 N HCl 용액을 사용하여 pH 7.0으로 중화시켜 5,000 rpm(2,730×g)에서 10분 간 원심분리 하였으며 이온을 제거하기 위해 증류수로 3회 반복하여 씻어주었다. 분리가 완료된 전분은 저온건조기를 이용하여 풍건하였으며 건조한 전분은 분쇄기를 이용하여 분쇄한 후 100 mesh 체를 통과시켜 시료로 이용하였다.

② 전분의 산 가수분해

찹쌀전분의 산 가수분해는 신선찰 전분 1 g(건량기준)에 2.2 N HCl 10 mL을 넣은 후 35°C의 항온수조기에서 100 rpm으로 교반하며 1, 3, 5, 7, 10, 15, 19일 간 반응시켰다. 반응시킨 가수분해물은 1 N NaOH를 이용하여 pH를 7로 맞춘 후 원심분리기를 이용하여 8,000 rpm에서 15분 간 원심분리 시켰으며, 증류수를 이용하여 2회 반복하여 씻어내었다. 원심분리 후 상등액은 100 mL 메스플라스크를 이용하여 정용하였다. 침전물은 페트리디시에 건조시킨 후 무게를 계산하였다.

④ 전분의 산 가수분해율

산 가수분해에 의하여 생성된 총 당량을 이용하여 전분의 산 가수분해율을 측정하였다. 총 당량의 측정법은 Dubois 등(1956)의 페놀-총당법에 의해 측정하였다. 정용한 용액 1 mL를 시험관에 담고 5% phenol 용액 1 mL과 진한 황산 5 mL을 강하게 반응시켜 vortex를 이용하여 잘 혼합한 후 실온에서 20분 간 발색시켰다. 발색시킨 용액은 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, Fig. 8과 같은 표준곡선을 이용하여 총당량을 계산하였다. 산 가수분해율은 Robin 등(1974)의 방법에 따라 여과액의 총 당량을 가수분해 당량으로 하여 시료 전분에 대해 백분율로 계산하였다.

(나) 결과

① 전분의 산 가수분해율

전분의 산 가수분해율은 Table. 11 및 Fig. 8과 같이 나타내었다. 전분의 산 가수분해는 1일차에는 19.94%, 3일차에는 45.90%, 5일차에는 59.62%, 7일차에는 67.11%, 10일차에는 78.05%로 나타났으며, 7일차까지는 급격한 감소를 보이다가 이후로는 보다 완만하게 분해되는 것을 확인 할 수 있었다. 일반적으로 전분의 산 가수분해는 두 단계로 진행된다고 보고되었는데, 무정형부분이 가수분해되는 1단계와, 결정형 부분의 가수분해가 일어나는 2단계로 구분된다. 찰 옥수수 전분의 산처리를 통한 나노파티클의 제조와 관련된 논문(Kim 등 2013)에서 제시한 산가수분해율 그래프도 마찬가지로 이와 같이 처음에 급격하게 증가하다가 완만해지는 로그형 그래프의 양상을 나타내었다. 또한 가수분해 후 남은 침전물의 무게 또한 마찬가지로 7일차까지 급격하게 양이 감소하는 것을 보여주다 이후로는 무게 변화가 다소 완만해지는 것을 확인할 수 있었는데 이는 가수분해율과도 일치하는 결과였다.

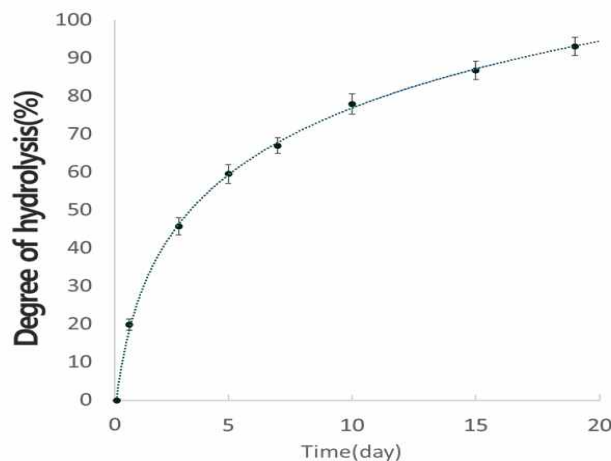


Fig. 8. Degree of hydrolysis of Sinseonchal waxy rice starches in 2.2N, 1N HCl at 35°C

Table. 11. The hydrolysis percentage and residue weight of Sinseonchal waxy rice starches in 2.2 N HCl at 35°C for 10 days

Days	Hydrolysis percentage (%)	Residue weight (g)
1	19.94±1.49	0.83±0.03
3	45.90±2.29	0.56±0.04
5	59.62±2.47	0.40±0.02
7	67.11±2.12	0.32±0.01
10	78.05±2.70	0.29±0.01

② 전분의 산 가수분해 속도

시간에 따른 전분의 가수분해율(X)을 $\log 100/(100-X)$ 값으로 표시한 결과는 **Fig. 9와 같았는데**, 지속적으로 증가하는 양상을 나타냈으며 7일을 기점으로 하여 다소 변화가 일어난 것을 확인할 수 있었다. 이는 Robin (1974)의 연구결과에서 2.2 N HCl을 이용하여 산처리한 감자전분의 산 가수분해율을 $\log 100/(100-X)$ 값으로 표기한 결과에서 7일을 기점으로 한 일직선의 증가추세 그래프가 나타난 결과와 유사한 결과였다.

(5) 친수성 콜로이드 입자크기와 성질을 갖는 주스용 저항전분개발

(가) 재료 및 방법

① 산 가수분해 전분을 이용한 RS4 제조

아밀로펙틴으로 구성된 찰전분은 클러스터 형태의 포도당 분자가 결합된 blocklet가 모여서 이루어져 있기 때문에 산 가수분해를 하게 되면 각각의 blocklet로 분해되어 200 nm 이하의 입자를 생성하게 됩니다(Kim 2013). 산 가수분해 전분을 이용한 RS4의 제조방법은 Mun SH & Shin MS(2006)의 방법을 변형하여 이용하였으며 Fig. 10와 같다. 먼저 건량 기준 100g 신선찰 전분에 2.2 N HCl 120ml을 첨가한 후, 35°C의 water bath에서 120 rpm으로 교반하며 반응시켰다. 이후 반응물을 원심분리기를 이용하여 8,000 rpm에서 15분 간 원심분리 하였다. 원심분리 한 반응물에 건량 기준 10% Sodium Sulfate를 첨가한 후, 건량기준 11.98%의 Sodium trimetaphosphate와 0.02%의 Sodium tripolyphosphate를 첨가하여 섞어주었다. 이후 1 N NaOH를 이용하여 pH를 11.5로 맞추었다. 이후 반응물을 45°C의 water bath에서 3시간동안 반응시키며 교반하였다. 반응을 마친 후 1 N HCl을 이용하여 pH를 7.0으로 맞추고, 8,000 rpm에서 15분 간 원심분리하였고 증류수로 3회 반복하여 씻어주었다. 침전물은 동결건조기를 이용하여 건조시킨 후 270 mesh 체를 통과시켜 시료로 이용하였고, 나머지

는 약 5배의 증류수, 80% 에탄올을 각각 첨가하여 분산시킨 후 초음파 처리기기를 이용하여 200 W, 40 kHz 조건에서 15분 간 초음파처리하여 저온건조기를 이용하여 건조시킨 후 270 mesh 체를 통과시켜 시료로 이용하였다.

② X선 회절도

X선 회절도를 이용한 양상은 3D 고분해능 X선 회절분석기(3D High Resolution X-Ray Diffractometer, EMPYREAN, PANalytical Co., Netherlands)를 사용하여 전분, 산가수분해 전분, 산가수분해전분을 이용한 RS4 시료의 결정형과 결정 강도를 측정하였다. 기기조건은 target, Cu-K α : filter, Ni, voltage, 40 kV: current, 30 mA로 회절각도(2θ)=40-5°까지 회절시켜 분석하였다.

③ 시차주사열량기에 의한 열적특성

시료의 열적 특성은 시차 주사 열량기(DSC-Q1000, Universal V.3.6C TA Instruments, Olivia Gibson, UK)를 이용하여 측정하였다. 온도 보정은 Indium을 이용하였고, 시료 3.0 mg에 증류수 6.0 mg를 가한 후 밀봉하여 overnight 시켜 시료로 이용하였다. 가열온도 범위는 30~130°C, 가열속도는 10°C/min으로 측정하였다. thermogram으로부터 호화개시온도(T₀), 호화피크온도(T_p), 호화종료온도(T_c), 호화엔탈피(ΔH)를 구하였다.

④ 주사전자현미경을 이용한 산처리 RS4의 형태 관찰

산 가수분해 전분을 이용한 RS4의 형태는 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM, JEOL, JSM-7500F, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다. stub에 이중 테이프를 잘라 붙이고 전분 시료를 얇게 놓았고, 전분 겔의 경우 이중 테이프 위에 놓았다. 여기에 금/백금으로 도금하여 전도성을 갖게 한 후 주사전자 현미경을 이용하여 가속 전압 15 kV, Phototimes 85 sec의 조건에서 500, 2000배의 배율로 관찰하였다.

⑤ 산 가수분해 전분을 이용하여 제조 한 RS4 첨가 수용액의 외관 관찰

유리 vial에 시료 50mg과 증류수를 첨가하여 1%(w/v), 0.5%(w/v) 수용액을 제조한 후, 수용액의 색상과 투과 정도를 관찰하였다. 유리 vial은 카메라(Kento, Canon, Tokyo, Japan)를 고정시킨 후 20 cm 거리에서 촬영한 후 외형적 특성을 비교하였다.

⑥ 산 가수분해 전분을 이용하여 제조 한 RS4 첨가 수용액의 투과도 조사

유리 vial에 시료 50mg과 증류수를 첨가하여 1%(w/v), 0.5%(w/v) 수용액을 제조한 후, cuvet에 담은 후, 600 nm에서 투과도를 측정하였다.

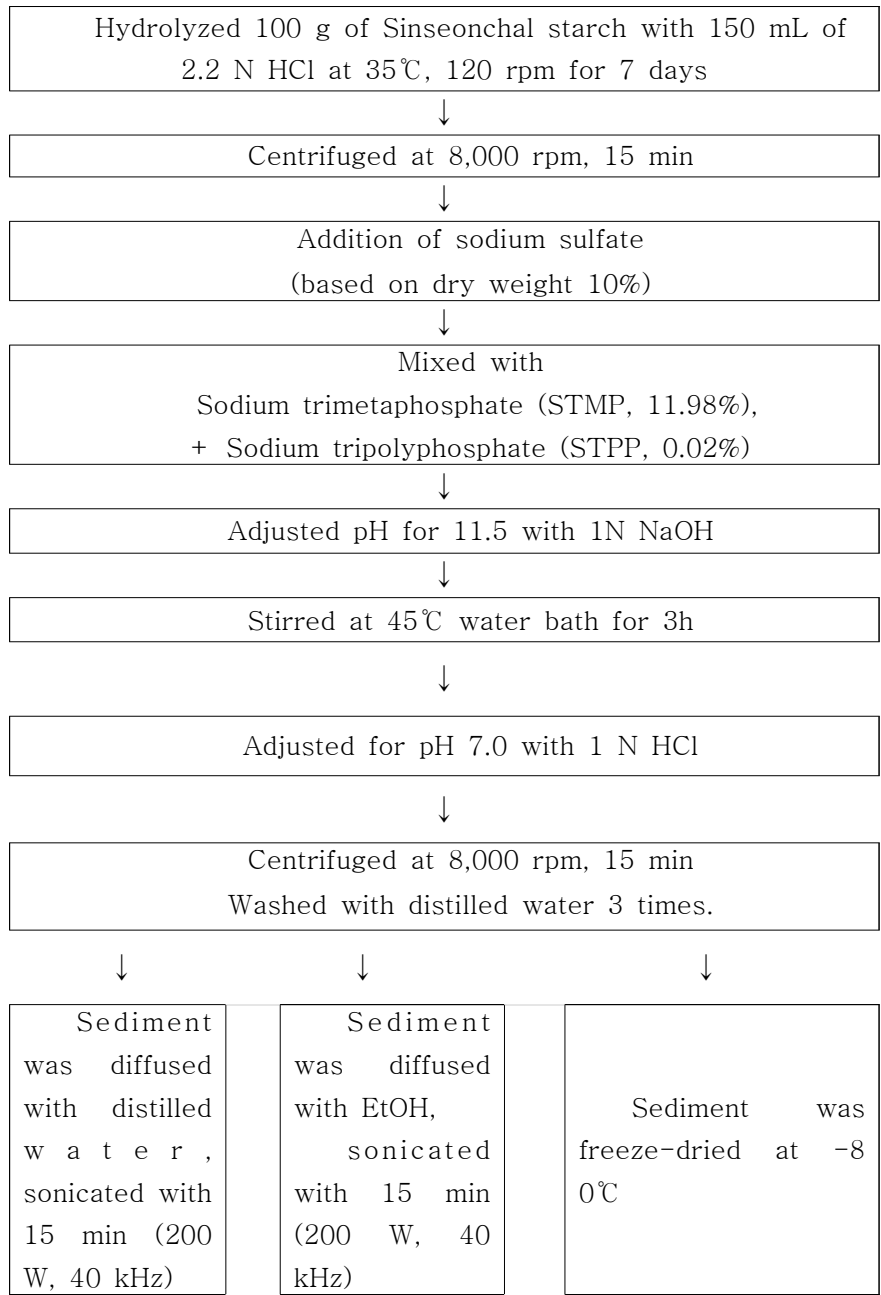


Fig. 10. Flow diagram for preparing Cross-linked Resistant Starch using Acid Hydrolyzed Waxy Rice Starch

(나) 결과

① X선 회절도

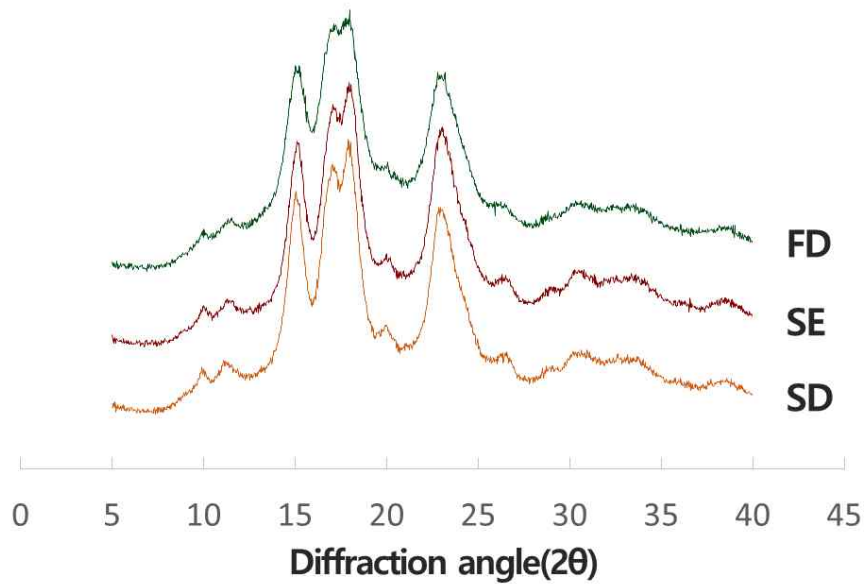


Fig. 11. X-ray diffractograms of cross-linked starch using acid hydrolyzed starch

SD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with distilled water

SE : Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with EtOH

FD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and freeze-dried at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$

산처리 전분을 이용한 RS4 전분의 X선 회절도는 Fig. 11에 제시하였다. 일반적으로 곡류 전분인 쌀 전분은 회절각도 2θ 에서 15, 17, 18, 23° 에서 강한 피크를 나타내며 A형으로 분류한다. X선을 이용하여 회절양상과 강도를 측정된 결과 회절 양상은 모두 A형으로 나타나 크게 차이가 없었으나, 회절 강도에서 다소 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 동결건조 처리한 샘플의 경우 15, 17, 18, 23° 에서 회절강도가 다른 샘플에 비해 약해지는 것을 확인할 수 있었으며, 10° 부근의 피크 및 25° 부근의 피크도 다른 샘플에 비해 약해진 것을 확인할 수 있었다. 또한 20° 이후의 피크에서도 강도가 약해진 것을 확인할 수 있었는데, 이를 통해 동결건조한 샘플의 경우 전분 내부의 결정성에 변화가 있는 것으로 생각되었다.

② 시차주사열량기에 의한 열적특성

Table. 12 Thermal properties of cross-linked starch using acid hydrolysis starch

Sample	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔT (Tc-To)	ΔH (J/g)
SD	59.84±0.07 ^a	76.68±0.03	103.33±0.16 _a	43.49±0.23 ^a	3.42±0.14 ^a
SE	60.76±1.08 ^a	75.44±1.77	98.79±2.39 ^b	38.04±1.31 ^b	3.07±0.00 ^b
FD	57.72±0.14 ^b	74.28±0.08	90.74±0.21 ^c	33.02±0.07 ^c	2.34±0.00 ^c

Data represents mean±SD

^{a-c} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

SD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with distilled water

SE : Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with EtOH

FD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and freeze-dried at -80 °C

시차주사열량기에 의한 열적특성은 Table. 12에 제시하였다. 대부분의 구간에서 샘플 간 유의한 차이가 나타났는데, 호화개시온도는 초음파 처리한 샘플에서 가장 높게 나타났으며 동결건조처리한 샘플에서 가장 낮게 나타났다. 호화 피크온도에는 유의한 차이가 없었으며, 호화 종결온도에서는 증류수를 이용하여 초음파 처리한 경우 가장 높게 나타났고 동결건조한 샘플에서 가장 낮게 나타났다. 호화온도 범위를 나타내는 ΔT값과 호화엔탈피를 나타내는 ΔH값 모두 증류수를 이용하여 초음파처리한 경우에서 높게 나타났는데, 증류수를 이용하여 초음파 처리하는 경우 동결건조한 샘플과 비교했을 때 열분해에 많은 열량이 필요한 것으로 생각되었고 이를 통해 방법에 따라 전분의 내부 구조에 다소 변화가 일어난 것으로 생각되었다.

③ 주사전자현미경을 이용한 산처리 RS4의 형태 관찰

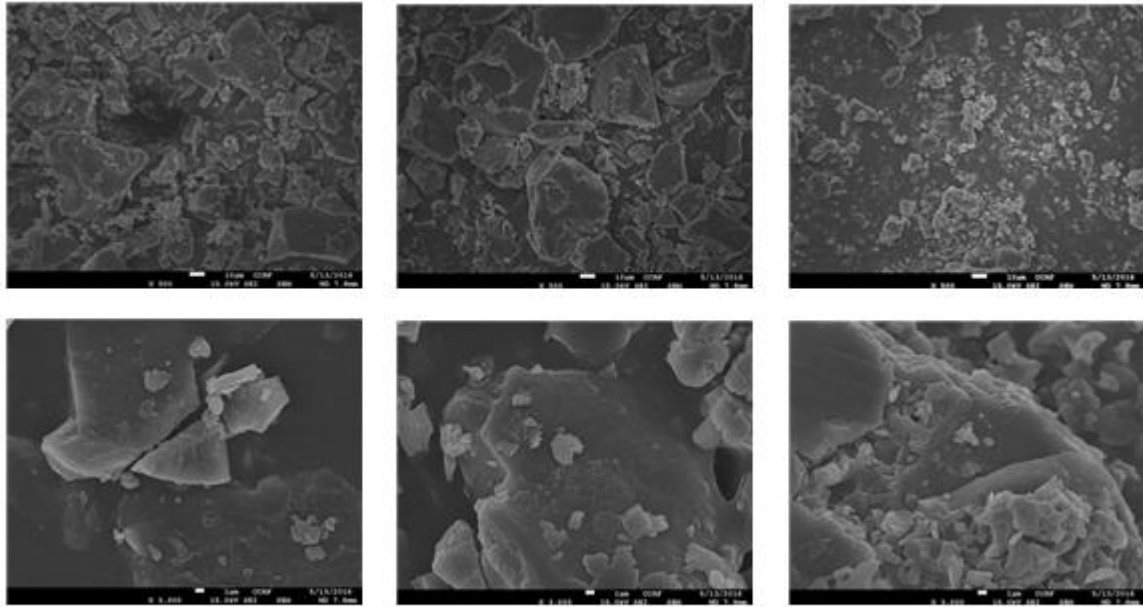
Fig. 12. Scanning electron microphotographs of cross-linked starch using acid hydrolyzed starch at x 500, x 3,000

SD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with distilled water

SE : Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with EtOH

FD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and freeze-dried at -80 °C

주사전자현미경을 이용한 산처리 RS4의 형태는 Fig. 13에 제시하였다. SD와 SE의 경우 균일하지 못한 크기분포가 나타났으며, 작은 크기의 입자보다는 큰 입자가 대다수를 차지하는 것을 확인할 수 있었다. FD의 경우 SD와 SE에 비교할 때 보다 균일한 크기의 입자가 나타나는 것을 확인할 수 있었고, 확대한 사진도 마찬가지로 SD와 SE보다 비교적 균일하고 작은 크기의 입자분포를 보이는 것을 확인할 수 있었다.

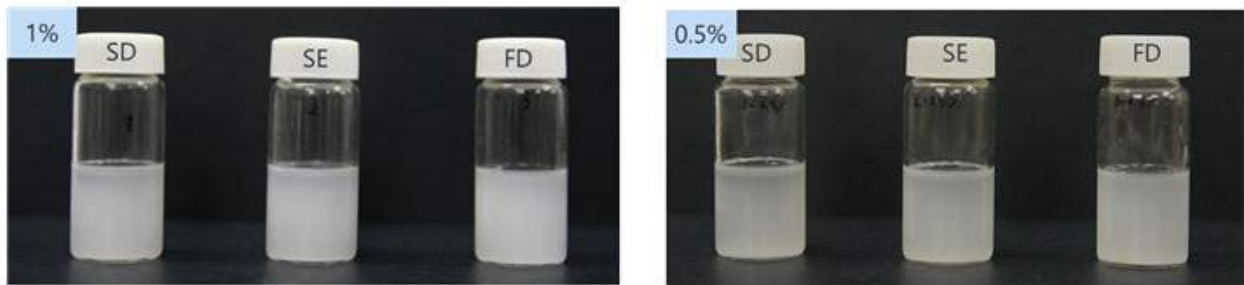


SD

SE

FD

④ 산 가수분해 전분을 이용하여 제조 한 RS4 첨가 수용액의 외관 관찰



산 가수분해 전분을 이용하여 제조 한 RS4 첨가 수용액의 외관 관찰 결과는 Fig. 13에, 투과도는 Table. 13에 나타내었다. 1% 전분을 첨가한 수용액과 0.5% 전분을 첨가한 수용액 모두 SD에서 가장 투명하고, FD에서 가장 투명도가 낮은 것을 확인할 수 있었다. 이는 투과도에서도 같은 결과를 나타냈는데, SD, SE, FD 순으로 투명도가 낮아졌고 이는 유의한 차이를 나타내었다.

(6) 고아밀로오스 품종을 이용한 RS3의 제조

(가) 재료 및 방법

① RS3의 제조

재료인 고아미와 새고아미 전분은 알칼리 침지법에 의해 전분을 분리하여 시료로 이용하였다. RS3의 제조는 Mun & Shin(2006)의 방법을 변형하여 이용하였다. 분리한 전분과 물을 1:1의 비율로 멸균병에 넣어 혼합한 다음 부분적으로 끓는 수조에서 호화를 시킨 후 121℃에서 1시간 autoclave를 이용하여 가열하였다. 가열 호화된 멸균병을 실온에서 식힌 후 4℃에

서 16시간 보관하여 노화시키는 과정을 3회 반복하였다. 만들어진 저항전분을 실온에서 풍건시킨 후 분쇄기를 이용하여 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시켜 시료로 이용하였다.

② RS3의 물결합능력 측정

물결합 능력은 Medcalf F와 Giles KA의 방법(1965)에 의해서 측정하였다. 50 ml의 원심분리관에 건량 시료 0.5 g과 증류수 20 ml를 넣고 실온에서 1시간 동안 교반한 후 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Supra 22K, Seoul, Korea)로 8,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 상등액을 제거하고 침전된 무게를 측정하여 처음 시료와의 중량비를 이용하여 계산하였다.

$$\text{물결합능력(\%)} = \frac{\text{침전된 시료 무게}(g) - \text{처음 시료 무게}(g)}{\text{처음 시료 무게}(g)} \times 100$$

③ 저항전분 함량

저항전분 함량은 총 식이섬유 함량 측정방법(AOAC, 2000)을 이용하여 측정하였다. 건량 1.0 g의 시료에 pH 6.0의 인산완충용액 50 mL를 600 mL의 비커에 넣고 heat stable α -amylase 0.1 mL를 첨가한 후 마그네틱바(Φ 7×50 mm)를 이용해 100°C 의 끓는 물이 담긴 1000 mL의 비커에 넣고 20분간 교반시켰다. 교반시킨 용액을 실온에서 냉각시킨 후 0.275 N NaOH 11 mL를 넣고 pH 7.5±0.2로 맞추었다. pH를 조절한 용액에 인산완충용액에 용해한 protease(Cat No. P-3910, Sigma) 0.1 mL를 넣고 60°C의 항온 수조에서 100 rpm으로 35분 동안 반응시켰다. 반응시킨 용액을 다시 상온에서 냉각시킨 후 0.325 N HCl 11 mL를 첨가하여 pH를 4.0~4.6으로 조정하였다. pH를 조절한 용액에 amyloglucosidase(Cat No. A-9913, Sigma) 0.1 mL를 넣어 60°C의 항온수조에서 100 rpm으로 35분간 반응시켰다. 반응 후 용액이 80% 에탄올 농도가 되도록 289.2 mL의 95% 에탄올을 첨가하여 상온에서 1시간 두었다. 이후 0.7 g의 acid washed celite를 넣고 105°C의 dry oven에서 3시간 건조 후 항량한 유리도가니를 이용하여 감압여과 하였다. 유리 도가니에 상온에서 냉각시킨 비커에 있는 용액을 여과시키고 78%, 95% 에탄올과 아세톤을 이용하여 비커 내부를 씻어 나머지 잔여물을 여과시켰다. 여과한 유리도가니를 105°C의 dry oven에서 건조시킨 후 잔여물이 있는 유리도가니의 무게를 측정하여 여과 전의 무게와의 차를 구하여 저항전분 함량을 계산하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$RS \text{ 함량(\%)} = \frac{\text{잔여물의 무게}}{\text{시료의 무게}} \times 100$$

④ 신속점도 측정기에 의한 호화 특성 측정

호화양상은 신속점도측정기(Rapid Visco Analyzer, 3D, Newport Scientific Pty, Ltd.,

Narrabeen, Australia)를 이용하여 AACCC 방법(2000)으로 측정하였다. RVA용 알루미늄 용기에 시료 3 g(수분함량 12% 기준)과 증류수 25ml를 넣어 분산시켜 측정하였다. 0~1분간은 50℃, 1~4.7분간은 95℃로 상승, 4.7~7.2분간은 95℃로 유지, 7.2~11분간은 50℃까지 냉각, 11~13분간은 50℃로 유지하면서 점도를 측정하였다. 이로부터 호화온도, 피크시간, 피크점도(P), 냉각점도(T)와 Breakdown 점도(P-T), Total setback 점도(F-T)를 계산하여 비교하였다.

(나) 결과

① RS3의 물결합능력 측정

Table. 14. Water binding capacity of rice starch and retrograded rice resistant starches

Sample	Water binding capacity(%)
GNS	202.44±5.16 ^c
SGNS	194.16±1.36 ^c
GRS	440.13±1.93 ^b
SGRS	578.27±5.66 ^a

Data represents mean±SD

^{a~c} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by

Duncan's multiple range test

GNS: Goamy, SGNS: Saegoamy,

GRS: Goamy retrograded rice resistant starch

SGRS : Saegoamy retrograded rice resistatnt starch

RS3의 물결합능력 결과는 Table. 14에 제시하였다. 물결합 능력은 새고아미를 이용한 샘플의 경우에서 가장 높게 나타났으며, 고아미와 새고아미 생전분의 경우 가장 낮게 나타났고 샘플 간 유의한 차이가 없었다. 일반적으로 노화 저항전분의 경우 물결합능력이 증가되는 것으로 보고되었는데, 이는 본 연구에서 진행한 결과와 일치하였다. 일반적으로 노화 저항전분의 경우 물결합능력이 증가되는 것으로 보고되었는데, 이는 본 연구에서 진행한 결과와 일치하였다.

② 저항전분 함량

Table. 15. Total resistant starch contents of resistant starch type 3 and type 4

Sample	Total resistant starch contents(%)
AS	0.18±0.09 ^d
SD	3.02±0.81 ^c
SE	2.34±0.25 ^c
FD	2.53±0.14 ^c
GRS	5.36±0.49 ^b
SGRS	6.85±0.86 ^a

Data represents mean±SD

^{a~d} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

RS3 및 RS4 샘플의 저항전분 함량은 Table. 15에 나타내었다. 저항전분 함량은 새고아미에서 가장 높게 나타났으며, 고아미가 그 다음으로 나타났다. 산처리 전분의 경우에도 저항전분 함량이 나타났는데, 이는 무정형 부분이 파괴되어 결정형 부분이 남아 저항전분이 일부 나타난 것으로 생각되었다. RS4의 경우 처리방법에 따른 차이가 유의하게 나타나지 않았으며, 기존 연구에 비교하였을 때 낮은 결과치를 나타내었다. 이는 입자크기의 감소로 입자크기가 작은 RS4가 유리섬유를 통과하여 빠져나갔기 때문이라고 생각되었다. 따라서 산처리한 RS4의 저항전분 함량을 확인하기 위해서는 보다 조밀한 유리섬유 필터를 사용하거나 다른 방법을 이용하는 것이 적합할 것이라고 생각되었다.

③ X선 회절도

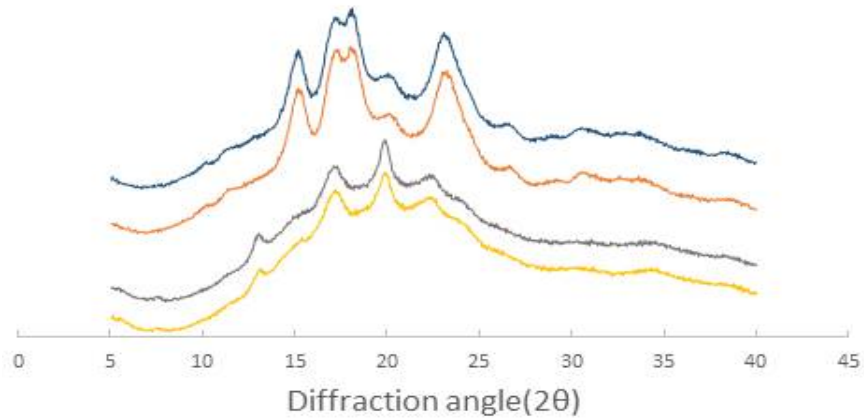


Fig. 14. X-ray diffractograms of rice starch and retrograded rice resistant starches

A: Goamy, B: Saegoamy, C: Goamy retrograded rice resistant starch, D: Saegoamy retrograded rice resistant starch

고아밀로오스 품종 생전분 및 이를 이용한 RS3의 X선 회절도는 Fig. 14에 나타내었다. 고아미와 새고아미 생전분은 2θ에서 15, 17, 18, 23°에서 강한 피크를 나타내며 A형의 회절양상을 나타내었다. 또한 저항전분의 경우 17, 20, 23°에서 강한 피크를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이는 Mun & Shin(2006)의 연구결과에서 RS3의 경우 17, 20, 23°에서 피크를 나타낸 것과 같은 결과였으며, 20°에서 나타나는 피크는 호화로 인해 나타나는 V형의 피크라고 생각되었다.

④ 신속점도 측정기에 의한 호화 특성 측정

신속점도 측정기에 의한 호화 특성 측정 결과는 table 16과 같았다. RS3의 경우 호화 특성이 측정되지 않아 data에 제시하지 않았다. 고아미와 새고아미 전분의 호화 개시 온도는 87.90, 81.24로 각각 나타났고, 고아미에서 peak, trough, final viscosity가 모두 높게 나타나는 경향을 보였다.

Table 16. Pasting characteristics of rice flours using by Rapid Visco-Analyzer

	Initial pasting temperature(°C)	Viscosity(RVU)				
		Peak	Trough	Final	Breakdown	Setback
Goamy	87.90±0.14	164.04±2.06	131.25±5.30	275.50±10.72	32.79±3.24	6.40±0.09
Saegoamy	81.24±0.62	150.21±2.42	115.08±0.35	232.83±6.13	35.13±2.06	6.10±0.05

(7) 수용액에 분산이 가능한 RS 제조 및 안정화 시스템 확립

(가) 재료 및 방법

① 수용액에 분산이 가능한 RS4의 제조

수용액에 분산이 가능한 RS4의 제조방법은 다음과 같다. 먼저 건량 기준 100g 신선찰 전분에 2.2 N HCl 120ml을 첨가한 후, 35°C의 water bath에서 120 rpm으로 교반하며 반응시켰다. 이후 반응물을 원심분리기를 이용하여 8,000 rpm에서 15분 간 원심분리 하였다. 원심분리 한 반응물에 건량 기준 10% Sodium Sulfate를 첨가한 후, 건량기준 11.98%의 Sodium trimetaphosphate와 0.02%의 Sodium tripolyphosphate를 첨가하여 섞어주었다. 이후 1 N NaOH를 이용하여 pH를 11.5로 맞추었다. 이후 반응물을 45°C의 water bath에서 3시간동안 반응시키며 교반하였다. 반응을 마친 후 1 N HCl을 이용하여 pH를 7.0으로 맞추고, 8,000 rpm에서 15분 간 원심분리하였고 증류수로 3회 반복하여 씻어주었다. 원심분리 마지막 단계에서 침전되지 않은 분산액을 따로 분리한 후, -80°C의 급속냉동고를 이용하여 급속냉동시켰다. 냉동시킨 분산액은 동결건조기를 이용하여 동결건조한 후 270 mesh 체를 통과시켜 시료로 이용하였다. 나머지 분산액은 약 5배의 증류수, 80% 에탄올을 각각 첨가하여 분산시킨 후 초음파 처리기기를 이용하여 200 W, 40 kHz 조건에서 6분 간 초음파처리하여 저온건조기를 이용하여 건조시킨 후 270 mesh 체를 통과시켜 시료로 이용하였다.

② RS3 및 RS4를 첨가한 수용액의 외관관찰

유리시험관에 시료 50mg과 증류수를 첨가하여 1%(w/v) 수용액을 제조한 후, 시험관을 lack을 이용하여 고정시켜 수용액의 색상과 투과 정도를 관찰하였다. 유리시험관은 카메라 (Kento, Canon, Tokyo, Japan)를 고정시킨 후 20 cm 거리에서 촬영한 후 외형적 특성을 비교하였다.

③ RS3 및 RS4를 첨가한 수용액의 투과도 조사

유리시험관에 시료 50mg과 증류수를 첨가하여 1%(w/v) 수용액을 제조한 후, 0, 1, 3시간, 1일, 3일 별로 기간을 두고 상온에 보관하였다. 보관한 수용액은 cuvet에 윗부분을 마이크로 피펫으로 2ml 취하여 담은 후, 600 nm에서 투과도를 측정하였다.

(나) 결과

① X선 회절도

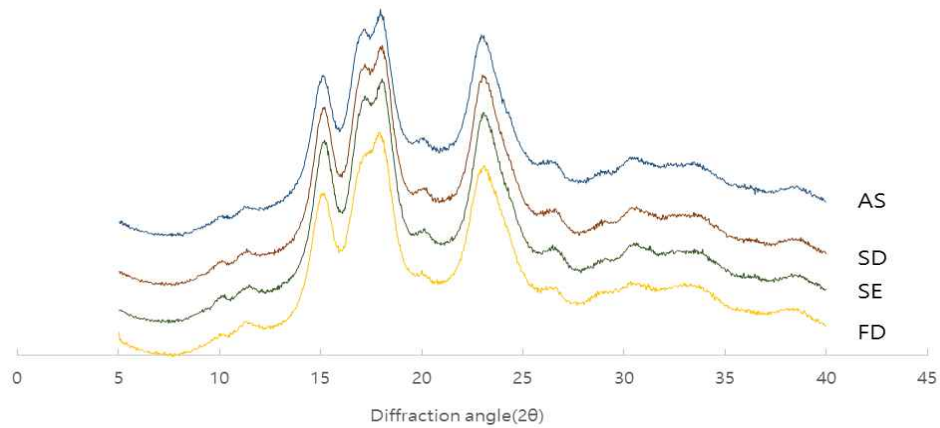


Fig. 15. X-ray diffractograms of cross-linked starch using acid hydrolyzed starch

AS : Acid hydrolyzed starch

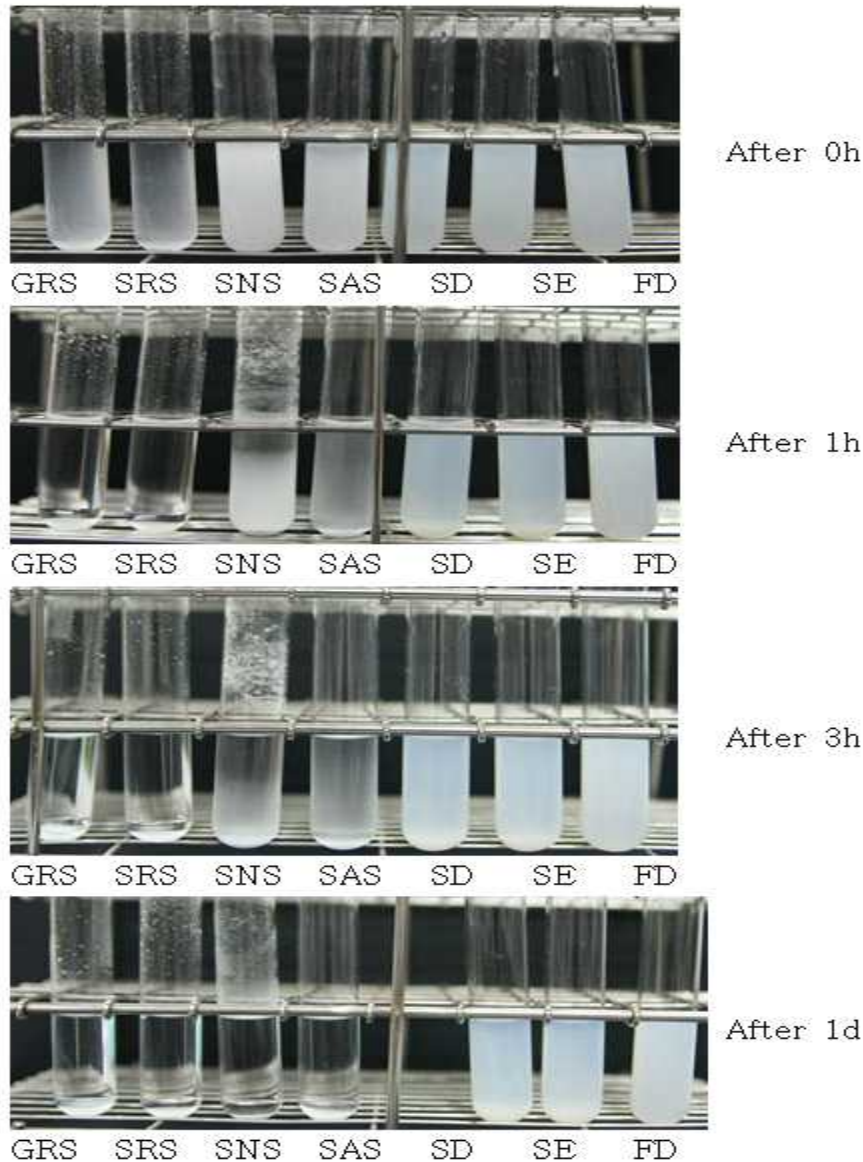
SD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with distilled water

SE : Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with EtOH

FD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and freeze-dried at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$

산처리 전분 및 수용액에 분산시킨 RS4의 X선 회절도는 Fig. 15에 나타내었다. 모든 샘플이 2θ 에서 15, 17, 18, 23° 에서 강한 피크를 나타내며 A형으로 나타났다. 산처리 전분과 RS4의 회절양상에는 크게 차이가 없었으나, 10° , 13° 에서 피크 강도가 다소 강해지는 경향을 나타내었고, 동결건조한 샘플의 경우 17° 에서 피크가 약해지는 양상을 보여주었다. 또한 초음파 처리한 샘플의 경우 20° 에서 피크가 다소 강해지는 경향을 보였으나 동결건조한 샘플의 경우에는 약해지는 경향을 나타내었다. 또한 30° 이후의 피크의 경우에도 동결건조한 샘플의 경우 산처리 한 전분에 비해 회절강도가 다소 약해진 것을 확인할 수 있었는데 이를 통해서 RS4 처리한 샘플에서 결정형에도 다소 변화가 나타난 것을 확인할 수 있었다.

② RS3 및 RS4를 첨가한 수용액의 외관관찰



RS3 및 RS4를 첨가한 수용액의 외관관찰결과는 Fig. 16에 제시하였다. 수용액을 제조한 직후의 외관을 살펴보면 RS3를 분산시킨 샘플의 경우 가장 투명하게 나타났으며 입자들이 육안으로 확인되었다. 또한 입자들이 바닥으로 가라앉아있는 양상을 확인할 수 있었다. 신선찰 생전분의 경우 가장 불투명한 색을 나타냈으며, 산처리한 신선찰 전분의 경우도 불투명하게 분산되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 산처리하여 제조한 RS4 샘플의 경우 모두 불투명하게 분산되어 있는 것을 확인할 수 있었으나, 초음파 처리한 샘플의 경우 모두 윗부분에서 다소 투명한 것을 확인할 수 있었는데, 이를 통해 동결건조한 샘플보다 다소 침전이 진행되는 것을 추정할 수 있었다.

1시간 이후 수용액을 관찰 한 결과 RS3를 첨가한 샘플의 경우 모두 하단으로 전분입자들이 가라앉은 것을 확인할 수 있었고, 신선찰 생전분의 경우도 상단의 30% 정도가 투명한 것으로 보아 침전이 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 산처리한 전분과 산처리하여 제조한

RS4 전분의 경우 비교적 불투명한 수용액 양상을 보여주었는데 이는 산처리로 인해 입자크기가 감소하여 다른 전분 보다 안정한 분산을 형성하고 있는 것이라고 생각되었다. 산처리하여 제조한 RS4 전분 샘플 간 비교 결과 동결건조 한 샘플의 경우 침전이 없고 불투명하게 분산이 되어있는 것에 반해 초음파 처리 한 샘플의 경우 침전이 일어난 것을 확인할 수 있었다.

3시간 이후 수용액을 관찰 한 결과 RS3를 첨가한 샘플의 경우 1시간 방치한 결과와 마찬가지로 전분 입자가 가라앉은 것을 확인할 수 있었고, 신선찰 생전분의 경우에 50% 정도에서 침전이 보다 진행된 것을 확인할 수 있었다. 산처리 한 신선찰 전분의 경우 앞에서 제시한 샘플들에 비해 입자들이 분산되어 있는 경향을 확인할 수 있었으며, 산처리하여 제조한 RS4 샘플들의 경우 불투명하게 분산되어 있는 것을 확인할 수 있었으나 1시간 방치한 샘플들과 비교해 보았을 때 다소 투명도가 상승한 것을 확인할 수 있었다.

1일 방치한 수용액을 관찰 한 결과, RS3를 첨가한 샘플, 생전분과 산처리 전분을 첨가한 경우 입자들이 시험관 바닥으로 모두 가라앉은 것을 확인할 수 있었다. 반면 산처리하여 RS4를 제조한 경우 단 시간 방치한 샘플들에 비해 다소 투명한 외관을 보여주었지만 비교적 분산되어 있는 형태를 보여주었고 이는 동결건조하여 처리한 샘플에서 가장 안정한 상태를 나타내었다.

3일 간 방치한 수용액을 관찰한 결과, RS3를 첨가한 수용액의 경우 다소 불투명한 것을 확인할 수 있었고, 신선찰 전분과 산처리한 신선찰 전분의 경우 보다 투명한 외관을 나타내었다. 산처리 RS4 전분 샘플의 외관을 살펴본 결과, 초음파한 샘플들의 경우 밑부분에 고형물이 보다 많이 가라앉은 것을 확인할 수 있었으며 동결건조한 샘플의 경우 비교적 균일한 외관을 나타내는 것을 확인하였다.

③ RS3 및 RS4를 첨가한 수용액의 투과도 조사

Table. 17. Transmittance of suspension with 1% concentration of various resistant starch

Sample	0 hr	1 hr	3 hr	1 Day	3 Day
GRS	28.54±4.31 ^a	95.49±0.13 ^a	95.65±0.07 ^b	94.76±0.11 ^c	86.83±0.05 ^c
SRS	22.88±1.63 ^b	95.51±0.13 ^a	96.65±0.20 ^a	94.82±0.01 ^c	83.60±0.00 ^d
SNS	0.22±0.00 ^e	3.62±0.02 ^f	46.48±0.01 ^d	96.32±0.05 ^a	98.14±0.04 ^b
SAS	1.91±0.08 ^{de}	31.74±0.01 ^b	47.40±0.08 ^c	95.14±0.17 ^b	99.03±0.03 ^a
SD	6.75±0.24 ^c	28.19±0.01 ^c	29.33±0.01 ^e	29.92±0.06 ^d	34.16±0.96 ^e
SE	5.56±0.05 ^{cd}	24.40±0.05 ^d	21.80±0.02 ^f	22.98±0.01 ^e	26.06±0.01 ^f
FD	3.20±0.08 ^{cd} _e	4.32±0.01 ^e	6.89±0.00 ^g	10.54±0.01 ^f	15.70±0.01 ^g

Data represents mean±SD

^{a~g} Means in the same column with different letters are significantly different value (p<0.05) by Duncan's multiple range test

GRS: Goamy retrograded rice resistant starch

SRS: Saegoamy retrograded rice resistant starch

SNS: Shinseonchal native starch

SAS: Shinseonchal acid hydrolyzed starch

SD: Cross-linked starch using acid hydrolyzed and sonicated with distilled water

SE: Cross-linked starch using acid hydrolysis and sonicated with EtOH

FD: Cross-linked starch using acid hydrolysis and freeze-dried at -80°C

전분을 첨가하여 제조한 수용액의 투과도를 측정된 결과는 Table. 17에 제시하였다. 수용액의 투과도는 수용액의 외관관찰결과와 유사한 경향을 나타내었는데, 수용액을 제조한 직후의 투과도는 RS3를 첨가한 경우 가장 높았고 이는 입자크기가 커서 수용액의 투과도가 높은 것이라고 생각되었다. 신선찰 생전분과 산처리 전분의 투과도가 가장 낮은 것을 확인할 수 있었으며, 반면 산처리하여 RS4를 제조한 샘플 중 동결건조 샘플은 산처리전분과 큰 차이는 없는 것으로 나타났다.

1시간 방치 이후의 투과도를 살펴보면, RS3를 첨가한 경우 투과도가 급격하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 산처리전분에서도 크게 투과도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 산처리 후 RS4를 제조한 샘플의 경우에 초음파 처리 샘플군에서 투과도가 급격하게 증가한 것을 확인할 수 있었고, 반면 동결건조 처리한 샘플의 경우 완만한 상승을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 3시간 방치 이후에는 신선찰 생전분과 산처리 전분에서 입자들이 바닥으로 가라앉으면서 투과도가 급격히 상승하는 것을 확인할 수 있었으며 대부분의 샘플에서 투과도가 상승하는 것이 확인되었다. 1일 방치 이후의 투과도는 RS3의 경우 유사한 경향을 보였으며 생전분 및 산처리 전분에서는 투과도가 크게 증가하는 것을 보여주었는데 이는 전분입자가 바닥으로 가라앉아서 상등액이 투명하게 나타난 외관관찰결과와 일치하는 경향이었다. 산처리 후 RS4를 제조한 샘플의 경우에는 3시간 이후 투과도와 유사한 경향을 나타내었으나 동결건조한 샘플의 경우에는 다소 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 전분의 산처리를 통해 입자크기가 감소하여 수용액에 분산이 가능한 것을 확인하였고 RS4 제조 시 동결건조한 샘플의 경우 가장 안정한 분산정도를 나타내었다. 3일 방치 이후의 투과도는 RS3를 첨가한 경우 다소 감소하는 것을 보였으며, 신선찰 생전분과 신선찰 산처리 전분의 경우는 증가하는 것으로 나타났다. 이는 입자크기의 차이로 인해 신선찰 전분과 산처리 전분은 침전이 보다 잘 일어났기 때문이라고 생각되었다. 한편 산처리전분을 이용한 RS4의 경우 투과도가 다소 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 증류수에 분산시켜 초음파 처리시킨 샘플의 경우 가장 투과도가 높았으며 동결건조시킨 샘플의 경우 투과도가 가장 낮고 균일한 분산이 일어난 것을 확인할 수 있었다.

다. 건강기능 씨앗음료용 입자 개발 및 품질 안정성 평가

(1) 음료 안정화를 위한 아밀로스 함량이 다른 쌀 전분으로 산 가수분해 처리된 입자의 이화학적 특성

(가) 재료 및 방법

① 재료

아밀로스 함량이 다른 쌀 전분의 산 가수분해 특성을 확인하기 위하여 찹쌀 품종인 화선찰, 저아밀로스인 호평과 고아밀로스인 고아미 품종의 백미를 구하여 전분을 분리하여 사용하였고 농촌진흥청 국립식량과학원 벼맥류부(NICS, Rural Development Administration, Iksan, Korea)에서 구매하였다.

② 쌀 전분의 분리

쌀 전분은 알칼리 침지법으로 분리하였다.

③ 쌀 전분의 산 처리

쌀 전분(75 g, dry basis)을 225 mL의 2.2 N HCl 용액과 혼합하여 35°C의 shaking water bath에서 100 rpm 속도로 7, 10, 15일간 전분을 가수분해시켰다. 가수분해된 전분은 원심분리기(Supra 22K, Hanil Science Industrial Co., Seoul, Korea)를 이용하여 8000 rpm에서 15분간 원심분리 하였고, 침전물은 1 N NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 중화한 후 증류수를 이용하여 8000 rpm에서 10분간 반복하여 여러 차례 씻어주었다. 증류수를 이용하여 씻어낸 전분은 동결건조기(IIShinBioBase, Dongducheon, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 건조시킨 후 270 mesh 체에 내려 실험에 사용하였다.

④ 산 가수분해율 측정

산 가수분해율은 일정기간 산 분해된 전분액의 상층액을 따로 모아 1000 mL의 용량플라스크에 정용하여 페놀 황산법(Lee SK 등 1997)으로 총 당량을 계산하였다.

⑤ 산 가수분해 전분의 물결합능력

산 가수분해 전분의 물결합능력은 Medcalf F & Gilles K(1965)의 방법으로 측정되었다.

⑥ 입자 형태적 특성 관찰

산 가수분해된 전분입자의 형태적 특성은 주사전자현미경(SEM, JEOL, JSM-7500F, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

⑦ 입자 크기 측정

산 가수분해 전분입자 크기는 Malvern Zetasizer Nano ZS(Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)에 의하여 측정되었다.

⑧ X-ray 회절도 측정

산 가수분해 전분의 x-ray 회절도는 3D high resolution X-Ray diffractometer(Empyrean, PANalytical Co., Almeo, Netherlands)를 이용하여 측정되었다.

⑨ 열적 특성 측정

산 가수분해한 전분의 열적 특성은 differential scanning calorimeter(DSC-Q1000, Universal V.3.6C TA Instruments, Olivia Gibson, UK)에 의해 측정되었다.

⑩ 통계처리

모든 실험은 3번 이상 반복하여 측정하였고, 측정된 결과값은 평균과 표준편차로 제시하였다. 통계처리는 SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 처리하였으며, ANOVA (Analysis of variance)에 의한 분산분석을 실시하였고, Duncan's multiple range tests로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

(나) 결과

① 산 가수분해율과 물결합능력

아밀로스 함량이 다른 쌀로부터 분리한 전분으로 산 가수분해율과 물 결합능력을 측정한 결과는 Table 15과 같았다. 일반적으로 산 처리는 두 단계로 진행되며 산 처리 초기인 7일 이내의 가수분해는 무정형 영역의 분해가 진행되며 8일 이후 아밀로펙틴에서 분해가 일어난다고 알려져 있다. 본 실험에서는 결정성 영역인 아밀로펙틴 분자의 산처리 전분입자를 생성하기 위하여 7, 10과 15일 사이의 산 가수분해를 처리하였다. 생 전분은 전분 표면에 channel 또는 pore가 있어 이것이 전분입자 내부의 hilum까지 연결되어 있어 이 곳을 통하여 수소이온의 침투가 가능하고, 이들 수소이온은 전분의 무정형 영역으로 주로 들어와서 전분의 α -1,6 결합과 α -1,4결합도 분해한다고 한다(Shujun W 등 2007). 고 아밀로스 쌀전분인 고아미 전분의 산 가수분해율은 28.74%에서 38.50%로 가수분해 기간이 길어질수록 가수분해율이 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다($p < 0.05$). 일반 멥쌀 품종인 호평전분의 산 가수분해율은 38.96~49.53%였고, 찰쌀 품종인 화선찰은 40.24~48.88%였다. 동일한 기간 산 가수분해 처리하였을 때, 호평과 화선찰 품종이 고아미에 비하여 더 높은 가수분해율을 보여 아밀로펙틴이 많은 전분의 가수분해가 잘 일어남을 알 수 있었다.

생 전분의 물 결합능력은 고 아밀로스 함량을 가진 고아미전분이 105.88%, 호평전분이 111.30%, 찰쌀인 화선찰전분이 119.79%로 아밀로펙틴 함량이 클수록 유의적으로 높았다. 산 가수분해한 전분의 물결합능력은 고아미전분의 경우 가수분해 7일에서 15일 사이에 144.55~304.45%로 생 전분에 비하여 유의적으로 증가하는 경향을 보였고, 호평 전분도 160.32~337.29%로 유의적으로 증가하는 경향을 보였다($p < 0.05$). 특히 가수분해 15일차에서 물 결합능력이 생 전분에 비하여 2.5배 이상 높게 나타났다. 반면 화선찰 전분은 가수분해 7일에는 물결합능력이 93.01%로 생 전분에 비하여 감소하였으나, 가수분해 10일, 15일에는 133.97%와 172.38%로 생 전분에 비하여 증가하여 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$).

특히 본 실험에서 고 아밀로스 함량인 고아미전분은 산가수분해율이 28.74%에서 38.5%로 일반적인 무정형 부분의 분해가 완전히 진행되지 않았기 때문으로 생각되었다. 산처리 전분 입자는 입자 크기가 작아 표면적 증가에 따라 흡수력이 증가될 수 있고, 전분 입자들의 분해로 인하여 내부 결정성이 상대적으로 달라져 물결합능력이 달라졌을 것으로 사료되었다.

Table 15. Acid hydrolysis rate and water binding capacity of acid hydrolyzed rice starches with different amylose contents

	Acid hydrolysis rate (%)	Water binding capacity (%)
Goami	-	105.88±0.11 ^{dC}
7-Goami	28.74±0.36 ^{cA}	177.80±0.03 ^{bA}
10-Goami	31.74±0.14 ^{bB}	144.55±0.72 ^{cB}
15- Goami	38.50±0.22 ^{aB}	304.45±0.92 ^{aA}
Hopyeong	-	111.30±4.70 ^{cB}
7-Hopyeong	38.96±0.07 ^{aA}	160.32±5.91 ^{bB}
10-Hopyeong	44.57±4.99 ^{aA}	196.23±3.63 ^{bA}
15-Hopyeong	49.53±1.80 ^{aA}	337.29±26.15 ^{aA}
Hwaseonchal	-	119.79±1.68 ^{bA}
7-Hwaseonchal	40.24±1.38 ^{aA}	93.01±3.18 ^{cC}
10-Hwaseonchal	42.25±0.99 ^{aA}	133.97±0.83 ^{bC}
15-Hwaseonchal	48.88±3.79 ^{aA}	172.38±10.24 ^{aB}

Data represents mean±SD

^{a-d}Values in the same column of different acid hydrolysis periods have statistically different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

^{A-C}Values in the same column of different rice starch varieties which was same acid hydrolysis periods have statistically different values ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Acid hydrolyzed for 7-15 days (7-rice starch varieties, 10-rice starch varieties, and 15-rice starch varieties).

② 산 가수분해 전분 입자의 형태적 특성

아밀로스 함량이 다른 품종의 쌀 전분으로 7일, 10일, 15일 동안 산 처리한 전분 입자의 형태적 특성은 Fig. 18에 나타내었다. 생 쌀 전분의 입자는 아밀로스 함량과 관계 없이 모두 다각형의 형태로 5-6 μm 정도의 크기였다. 이들 전분들은 모두 산에 의해 7일간 가수분해되면 입자가 매우 작아졌다. 고아미 전분의 7일간 산처리된 전분 입자는 일부만 입자 표면에 흠이 파이고 거친 표면을 가진 전분 입자들이 관찰되었으며 가수분해 기간이 길어질수록 작은 크기의 입자의 수가 증가하였고, 더불어 작은 전분 입자들간에 물 층으로 인한 케이킹 현

상이 나타나 서로 덩어리져 커다란 집합체를 형성하였다. 본 연구결과는 Shujun W 등(2007)의 산 처리한 전분에서 강한 산에 의해 손상되어 파괴된 입자들이 서로 중합되는 현상을 보인다는 연구와 유사한 결과로 나타났다. 이는 분해된 전분이 물에 노출되면서 쉽게 뭉칠 수 있게 되었기 때문으로 사료되었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 호평 전분은 산 가수분해 7일에 고아미 전분보다 작은 입자들이 더 많이 생성되었음을 알 수 있었고, 고아미 전분과 마찬가지로 작은 입자들의 집합체가 관찰되었다. 화선찰 전분도 고아미와 호평 전분과 유사한 형태를 보였으나 산 가수분해 15일에는 작은 입자간의 집합체 생성이 상대적으로 적어 작은 전분입자의 결합이나 전분 내부 구조의 차이가 나타났다. 산 가수분해 결과 아밀로펙틴으로만 구성된 화선찰 전분은 아밀로스를 함유한 전분과는 달리 더 작은 크기의 나노 전분입자를 얻을 수 있을 것으로 사료되었다. 아밀로스 함량이 높은 옥수수 전분은 산에 의해 저항성을 보여 산처리 기간이 증가하여도 전분의 손상을 이 적다는 보고(Lee SK와 Shin MS 1997)가 있었으며 본 연구에서 고아미 전분도 상대적으로 낮은 가수분해율을 보이는 결과와 유사하였다. 산처리를 하여 전분입자를 나노 크기 입자로 제조하기 위해서는 산처리 후 전분을 모으기 전에 초음파처리(sonication)로 입자를 분산시키는 처리가 필요할 것으로 사료되었다.

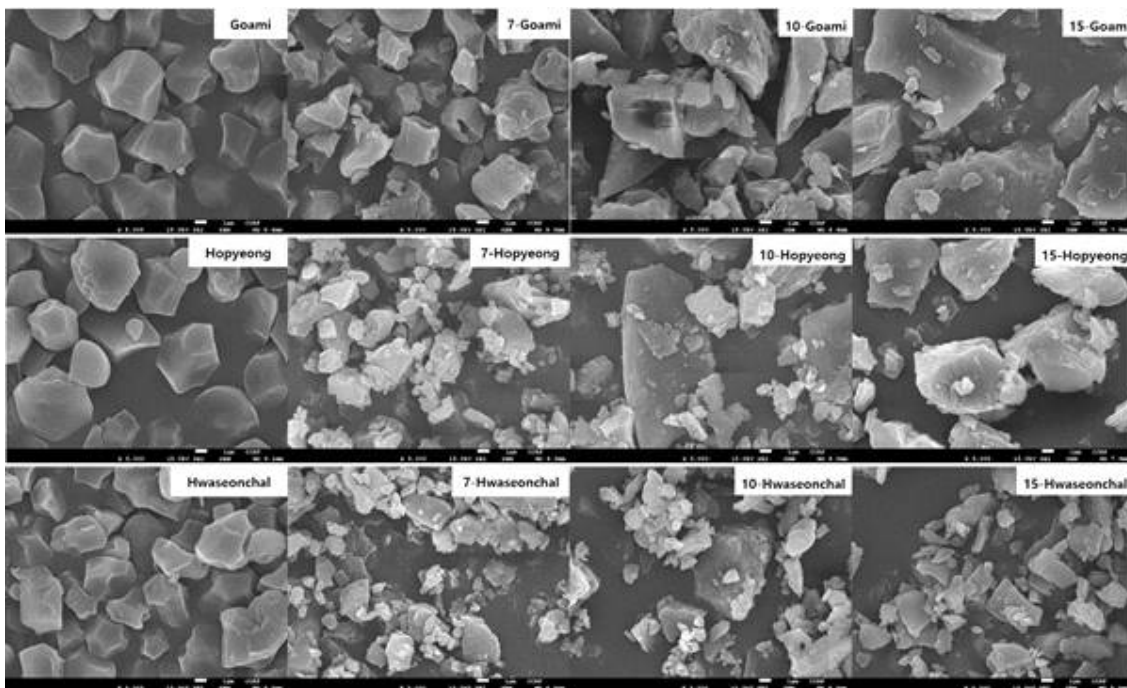


Fig. 18. Scanning electron microphotographs of acid hydrolyzed rice starch magnified at 5,000 ×.

Acid hydrolyzed for 7-15 days (7-rice starch varieties, 10-rice starch varieties, and 15-rice starch).

③ 산 가수분해 전분의 입자크기 분포

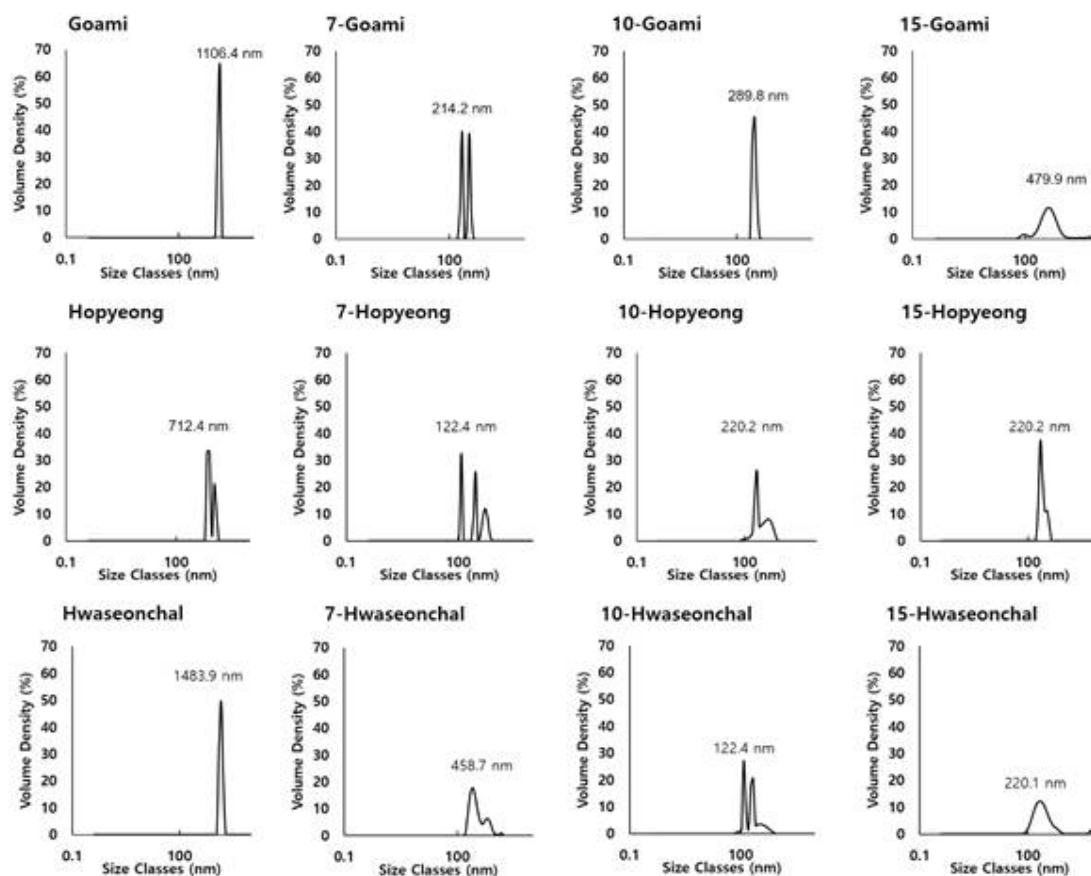


Fig. 19. Particle size distribution pattern of acid hydrolyzed rice starches.

Acid hydrolyzed for 7-15 days (7-rice starch varieties, 10-rice starch varieties, and 15-rice starch varieties).

아밀로스 함량이 다른 쌀 전분을 산 가수분해 하였을 때의 전분 입자 크기분포의 변화 결과는 Fig. 19와 같다. 고아미 생 전분의 경우 하나의 피크를 나타내었고 평균적으로 1106.4 nm 크기를 나타낸 반면, 산 가수분해를 시켰을 때 214.2-479.9 nm로 입자 크기가 감소하는 것을 확인하였고, 가수분해 처리로 인한 입자들이 서로 뭉쳐 정규분포 곡선을 보였다. 산 가수분해 15일차에는 50-200 nm의 크기의 입자가 약 10% 정도 구성되는 것으로 나타난 반면, 479.9 nm의 입자 크기를 가진 입자가 가장 많이 관찰되었는데, 이는 SEM 측정 결과에서 볼 수 있듯이 가수분해 된 전분 입자들이 서로 뭉친 상태에서 건조되어 나타나는 현상으로 판단된다. 호평 생 전분은 평균 입자 크기는 712.4 nm로 고아미와 화선찰 전분과 달리 두 개의 피크를 나타냈고, 가수분해 처리 과정에서 122.4-220.2 nm의 입자 크기를 가진 전분이 가장 많은 비율을 차지하는 것을 확인할 수 있었다. 화선찰 생 전분의 입자 크기가 1483.9 nm로 나타났으며 가수분해과정에서 그 크기가 줄어 122.4-458.7 nm의 평균 크기를 보였다. Kim HY 등(2012)이 보고한 결정성 구조 연구에서 cluster 구조의 아밀로펙틴은 각각 cluster 구조의 결정형 아밀로펙틴 사슬분자와 같은 blocklet에 의해 모여 하나의 구조를 이

루고 있는데 blocklet이 산 가수분해에 의해 분리되어 20-500 nm의 나노전분입자 형태로 나타남을 확인하였다. 이런 각각의 blocklet은 결정구조를 이루는 하나의 입자로 되어 있기 때문에 산 가수분해된 화선찰 전분의 나노 크기의 입자는 SEM 관찰에 의해 보여진 작은 입자가 뭉치지 않고 각각 입자 상태로 분포함을 확인하였다.

④ 산 가수분해 전분의 X-선 회절도

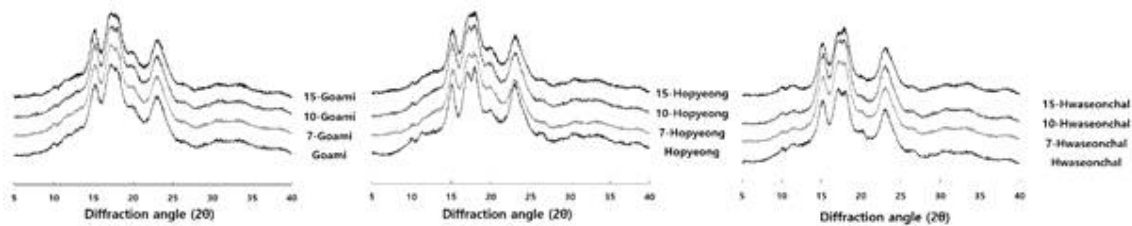


Fig. 20. X-ray diffractograms of acid hydrolyzed rice starch.

Acid hydrolyzed for 7-15 days (7-rice starch varieties, 10-rice starch varieties, and 15-rice starch varieties)

아밀로스 함량이 서로 다른 품종의 쌀 전분을 7일, 10일, 15일 동안 산 가수분해 처리한 전분의 X-선 회절도 결과는 Fig. 20에 나타내었다. X-선 회절도는 전분의 결정 구조를 확인하는데 사용되는 방법으로, 회절양상과 피크의 위치에 따라 전분을 A타입, B타입, C타입, V타입으로 구별하고 있다(Buleón A 등 1998). 쌀 전분은 아밀로스 함량과 관계 없이 회절각도 $(2\theta) = 15, 17, 18, 23^\circ$ 에서 피크를 나타내는 A타입 결정형을 보였다. 일반적으로 곡류 전분은 A타입 결정형으로 이루어져 있으며 산 가수분해에 의해 결정구조가 변화되지 않고 그대로 나타났다. 산 가수분해 전분의 결정형 패턴은 A형 전분이 옥수수전분과 같은 B형 결정 배열에 비하여 산에 의한 가수분해에 저항성이 커 쌀 전분의 경우는 결정 구조를 유지한다는 보고가 있다(Park YK 등 1991, Kim HY 등 2012). 이로 인해 산 가수분해된 전분도 생 전분의 아밀로펙틴의 결정구조와 유사한 결정구조를 가짐을 알 수 있었다.

⑤ 산 가수분해 전분의 열적 특성

생 전분과 산 가수분해 전분의 열적 특성을 알아보기 위해 호화개시온도(T_o), 호화피크온도(T_p), 호화종료온도(T_c), 호화엔탈피(ΔH)를 측정하였고 그 결과는 Table 18에 제시하였다. 고아미의 생 전분과 산 가수분해 전분의 호화개시온도는 $59.80 \sim 64.84^\circ\text{C}$ 에서 나타났으며, 화선찰은 $59.92 \sim 63.55^\circ\text{C}$ 로 나타났다. 호평은 $58.09 \sim 63.95^\circ\text{C}$ 로 15일 동안 산 가수분해한 전분에서 호화개시온도가 높게 나타나 유의적이었다($p < 0.05$). 호화피크온도는 산 가수분해 처리한 기간이 길어질수록 높아지는 경향을 보여 아밀로스 함량과 관계없이 15일 가수분해한 전분에서 가장 높은 값을 보였고, 호화종료온도도 높게 나타나는 경향을 보였다($p < 0.05$). 아밀로스 함량에 따라서는 가수분해 7일차와 10일차에 찹쌀 품종인 화선찰에서 높은 호화피크온도를 보였다($p < 0.05$). 생 전분에 비하여 산 가수분해 기간이 15일까지 길어질수록 호화온도 범위는

고아미 전분에서 60.41~72.83°C에서 64.84~103.38°C, 호평전분은 60.39~74.30°C에서 63.95~103.63°C, 화선찰전분은 59.92~75.68°C에서 63.55~97.56°C로 범위가 넓어지는 경향을 보였다. 이는 산 가수분해 처리한 전분입자의 열적 특성 측정에 의한 호화 온도 범위가 광범위해진다는 연구와도 일치하는 결과로, 산 가수분해 처리한 전분의 입자는 전분의 입자 구조가 파괴되어 호화 온도와 호화 온도 범위가 증가하는 특성을 보인다(Wang L와 Wang YJ 2001, Wang S와 Copeland L 2015).

Table 18. Thermal properties of acid hydrolyzed rice starches with different amylose contents

	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔT ($T_c - T_0$)(°C)	ΔH (J/g)	a - d Val ues i n the s a m e c o l u m n o f d i f f e r e n t a c i d
Goami	60.41±0.13 ^{aA}	65.99±0.35 ^{cB}	72.83±0.22 ^{dB}	12.42±0.08 ^{cC}	8.79±0.13 ^{aA}	
7-Goami	59.80±0.04 ^{aA}	73.67±0.95 ^{bB}	86.52±0.56 ^{cB}	26.72±0.52 ^{bB}	2.09±0.11 ^{cB}	
10-Goami	61.69±3.80 ^{aA}	81.42±2.24 ^{aAB}	100.96±0.66 ^{bA}	39.27±3.14 ^{aA}	2.55±0.59 ^{cB}	
15-Goami	64.84±0.25 ^{aA}	80.33±0.94 ^{aA}	103.38±0.78 ^{aA}	38.54±0.54 ^{aA}	5.45±0.02 ^{bA}	
Hopyeong	60.39±0.62 ^{bA}	67.59±0.39 ^{cA}	74.30±0.87 ^{dAB}	13.91±0.25 ^{cB}	9.87±0.68 ^{aA}	
7-Hopyeong	58.09±1.24 ^{bA}	73.84±0.00 ^{bB}	97.00±0.83 ^{bA}	38.92±2.07 ^{aA}	6.33±0.93 ^{cA}	
10-Hopyeong	60.03±0.86 ^{bA}	75.24±1.29 ^{bB}	81.34±3.66 ^{cB}	21.31±2.80 ^{bB}	7.47±0.00 ^{bcA}	
15-Hopyeong	63.95±1.39 ^{aA}	84.67±1.41 ^{aA}	103.63±0.21 ^{aA}	39.69±1.18 ^{aA}	9.12±0.30 ^{abA}	
Hwaseonchal	59.92±0.13 ^{aA}	66.50±0.01 ^{cB}	75.68±0.13 ^{bA}	15.77±0.01 ^{bA}	9.26±0.11 ^{aA}	
7-Hwaseonchal	61.35±2.24 ^{aA}	81.09±0.36 ^{bA}	98.46±0.57 ^{aA}	37.11±1.67 ^{aA}	5.10±0.08 ^{aA}	
10-Hwaseonchal	63.10±0.02 ^{aA}	85.93±2.45 ^{aA}	100.13±0.50 ^{aA}	37.03±0.52 ^{aA}	7.55±0.87 ^{aA}	
15-Hwaseonchal	63.55±0.84 ^{aA}	83.52±0.73 ^{abA}	97.56±4.84 ^{aA}	34.01±5.69 ^{aA}	8.70±3.35 ^{aA}	

hydrolysis periods have statistically different values ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

^{A-C} Values in the same column of different rice starch varieties which was same acid hydrolysis periods have statistically different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Acid hydrolyzed for 7-15 days (7-rice starch varieties, 10-rice starch varieties, and 15-rice starch varieties)

(2) 나노입자 저항전분의 제조 및 그 안정성 확인

(가) 재료 및 방법

① 쌀 전분의 분리

참쌀전분은 참쌀을 알칼리 침지법으로 분리한 후, 분리된 전분은 실온에서 풍건하여 분쇄 후 100 mesh 체를 통과시켜 시료로 사용하였다.

② 쌀전분의 산처리

쌀 전분(75 g, dry basis)을 2.2 N HCl 용액(225 mL)과 섞어 35°C 항온수조(shaking water bath)에서 100 rpm의 속도로 7- 10일간 가수분해하였다. 8000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 분해된 전분 침전물을 모았다. 상층액을 모아 증류수로 정용하여 산가수분해율을 페놀황산법으로 측정하였고, 침전물은 1 N NaOH 용액을 이용하여 pH 7로 중화한 후 증류수를 이용하여 8000 rpm으로 반복하여 씻었다. 씻어낸 전분은 동결건조기(IIShinBioBase, Dongducheonsi, Gyeonggi, Korea)를 이용하여 건조시킨 후 270 nm 체에 내려 실험에 사용하였다.

③ 쌀전분을 이용한 가교결합 저항전분의 제조

참쌀전분을 이용한 가교결합 저항전분은 Mun & Shin (2006)의 방법을 변형하여 제조하였다. 가수분해된 참쌀전분의 침전물을 모아 anhydrous sodium sulfate(10%, starch basis, sb)와 11.98% sodium trimetaphosphate(STMP, sb), 0.02% sodium tripolyphosphate (STPP, sb)를 첨가하여 섞어주었다. 전분 혼합액의 pH가 11.50이 될 때까지 1 N NaOH 용액을 첨가하여 저어주었고, 45°C water bath에서 3시간 동안 저어주면서 반응시켰다. 반응시킨 혼합물은 1 N HCl을 사용하여 pH 7로 중화한 다음 3일간 냉장고에 보관하면서 침전이 되도록 방치하였다. 제조된 저항전분은 증류수로 반복 씻어 5000 rpm에서 15분간 원심분리하였고, 상층액은 1 L 비커에 정용하여 일정량씩 동결 건조하여 실험에 사용하였다. 시료는 3가지 조건으로 제조하였는데 freeze drying(FD)은 일정량의 상층액을 동결건조 시켰으며, sonicated ethanol drying(SE) 하였으며 상층액에 에탄올을 넣어 80% 에탄올 용액을 만든 후 sonicator(Power sonic 520, 700 W, 40 kHz, Hwashin Technology Co., Seoul, Korea)를 이용하여 30분간 처리한 후, 원심분리하여 상온에서 건조시켰다. sonicated freeze drying(SFD)은 상층액을 30분 동안 sonicator로 처리한 다음, 동결건조시켜 제조하였다. 모든 샘플은 건조 후 270 mesh 체에 내려 실험에 사용하였다.

④ 나노크기 산처리 전분과 저항전분의 특성

㉠ 물결합능력

나노크기 산처리 전분의 물결합능력은 Medcalf & Gilles (1965)의 방법으로 측정되었다. 산처리 전분 0.5 g (dry basis)에 증류수 20 mL을 1시간 동안 교반한 후, 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Supra 22K, Seoul, Korea)를 이용하여 12,000 rpm에서 30 min간 원

심분리하였다. 상층액은 제거하고 물과 결합된 전분의 무게를 측정하여 물결합능력을 계산하였다.

㉞ 총 저항전분 함량

총 저항전분 함량은 AOAC (2000) 방법에 의해 수행되었다. 전분 1 g(dry basis)을 phosphate buffer (pH 6.0, 50 mL) 용액과 함께 섞어, α -amylase(Cat no A-3306, 0.1 mL)을 첨가한 후 끓는 물에서 20분간 반응시켰다. 효소처리된 혼합물은 0.275 N NaOH를 이용하여 pH 7.5로 보정한 후, 0.1 mL protease(Cat no P-3910)를 첨가하여 60°C의 water bath를 이용하여 35분간 처리하였다. 반응시킨 혼합물은 0.325 N HCl을 이용하여 pH 4-4.6 범위로 맞추고 0.1 mL amyloglucosidase(Cat no A-9913)을 첨가한 후 60°C의 water bath에서 35분간 반응시켰다. 상온에서 식힌 후, 95% ethanol(v/v)를 500 mL까지 정용한 후 12시간 동안 실온에 보관하였다. D-glucose 함량은 D-glucose(GOPOD format) assay kit를 이용하여 측정되었다. 1 mL의 상층액과 GOPOD reagent(3 mL)를 40°C의 water bath에서 20 분간 반응시킨 후, 분광광도계를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 RS 함량은 다음 식에 의해 계산되었다.

총 RS 함량(%) = [샘플 무게 (g) - 글루코스 무게 (g)] / 시료 무게 (g) × 100

글루코스 무게 ($\mu\text{g}/0.1 \text{ mL}$) = 샘플 흡광도/D-glucose 표준물질 흡광도 (100 μg) × 100

㉟ 입자 형태적 특성 관찰

입자의 형태적 특성은 주사전자현미경(SEM, JEOL, JSM-7500F, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 건조된 입자를 시료용 스테르브에 올리고, 백금과 금으로 20 kV로 100 sec 코팅한 후, × 5,000에서 관찰하였다.

㊱ X-ray 회절도 측정

X-ray 회절도는 3D high resolution X-Ray diffractometer(Empyrean, PANalytical Co., Almeo, Netherlands)에 의해 분석되었다. 기기조건은 target, Cu-K α ; filter, Ni; voltage, 40 kV; current, 30 mA였고, 회절각도 (2θ) = 40-5°로 회절시켜 비교하였다.

㊲ 열적 특성 측정

열적특성은 differential scanning calorimeter(DSC-Q1000, Universal V.3.6C TA Instruments, Olivia Gibson, UK)에 의해 측정되었다. 시료(3.0 mg, db)와 증류수(6.0 mg)를 팬에 함께 넣어 완전하게 실링하여 실온에서 12시간 동안 평형에 도달하도록 하였다. 30-130°C 온도 범위에서 열적 특성을 측정하였으며, 가열 속도는 10°C/min로 처리하였다.

㊳ 입자 사이즈 측정

입자크기와 분포는 Malvern Zetasizer Nano ZS(Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)에 의하여 측정되었다. 시료는 증류수에 0.01%(w/v)로 띄워 측정에 사용하였으며 측정 전에 sonicator로 500 W에서 2분간 처리하여 측정에 사용하였다.

⑤ 저항전분의 수용액상에서의 안정성

㉑ Zeta 전위 측정

나노크기 저항전분 입자의 zeta 전위는 Malvern Zetasizer Nano ZS(Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)에 의하여 측정하였다. 측정을 위해 저항전분입자를 증류수에 섞어 0.01%(w/v) 수용액을 제조하였으며, 500 W에서 2분간 sonicator로 처리하여 측정에 사용하였다.

㉒ 분산 안정성

저항전분 나노입자의 분산 안정성은 Turbiscan AGS(Formulaction, L'Union, Toulouse, France)를 이용하여 측정하였다. 시료 0.3 g을 30 mL의 증류수에 섞어 1% 수용액을 제조한 후, sonicator로 500 W에서 2분간 처리하였다. 처리된 수용액은 7일 동안 6시간 단위로 분산 정도를 측정하여 분산 안정성을 확인하였다.

⑥ 통계처리

모든 실험은 적어도 3번 이상 반복하여 측정하였고, 측정된 결과 값은 평균과 표준편차로 제시하였다. 통계적 처리는 SPSS 12.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 처리하였으며, ANOVA(Analysis of variance)에 의해 분산분석을 실시하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하여 분석하였다.

(나) 결과

① 산가수분해율

찰쌀전분의 산처리 가수분해 기간에 따른 산가수분해율은 표 1에 제시하였다. 산가수분해율은 7일에 44.62%, 10일에 49.43%로 나타나 가수분해 기간에 따라 계속해서 가수분해가 진행되었으나 그 정도는 완만하였다. 산처리에 의한 전분 입자의 가수분해는 무정형부분에 우선적으로 작용하고 점차 결정성 영역으로 작용하며 아밀로펙틴의 blocklet로 분해되어 일정한 크기의 산처리 전분 형태를 나타냈다.

Table 19. Hydrolysis rate of waxy rice starch and water binding capacity of AHW

Samples	Hydrolysis rate (%)	Water binding capacity	
		(%)	Data
0(NS) ¹⁾	-	120.79±2.35	represents mean±SD
AHW-7 ²⁾	44.62±0.03	117.27±2.52	¹⁾ NS: Native waxy rice starch
AHW-8	47.04±0.00	115.61±4.36	
AHW-9	48.71±0.00	111.06±4.05	
AHW-10	49.43±0.00	110.99±6.19	

²⁾AHW indicates acid hydrolyzed waxy rice starch treated for 7 (AHW-7), 8 (AHW-8), 9 (AHW-9), and 10 (AHW-10) days.

② 물결합능력

산가수분해한 전분의 물결합능력은 Table 19에 제시하였다. 생 전분은 120.79%로 산가수분해 처리한 전분의 110.99-117.27%에 비해서 높은 물결합능력을 나타냈지만, 가수분해 기간에 따른 차이는 나타나지 않았다.

③ 형태적 특성

산가수분해한 전분과 저항전분입자의 형태적 특성은 그림 1에 나타났다. 생 전분은 다각형의 모양을 나타내고 그 크기는 대략 2.47-6.91 μm 였다. 반면에 산가수분해 처리한 전분은 둥근 모양을 나타내었고, 7일간 산가수분해한 20-420 nm의 크기였고, 10일간 산가수분해 처리한 전분은 30-300 nm 크기로 나타났다. 입자크기는 산처리 시간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다.

나노 크기의 저항전분은 건조 방법을 달리하여 제조 후 실험에 사용하였다. FD는 저항전분을 제조한 후 동결건조 처리하여 제조한 것이고, SFD는 소니케이션 후 동결건조하여 제조하였고, SE는 RS4를 제조한 후 소니케이션 처리 후 알코올로 탈수하여 제조하여 실험에 사용하였다. FD 입자는 대부분 퍼져있었으나 일부 입자들은 서로 뭉쳐서 존재하는 모습을 볼 수 있었다. SE 입자 역시 뭉쳐서 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 반면에 SFD 입자는 FD와 SE에 비하여 작은 입자 크기를 보였다. FD와 SFD의 입자는 작고 원형을 나타냈으나, SE 입자는 불규칙한 사이즈를 보였고, SFD에 비하여 덩어리지는 특성을 보였다.

산처리 전분 입자를 가교결합하여 제조한 저항전분의 형태는 제조방법에 따라 큰 차이를 보이지 않았으나, 산가수분해 전분과 비교하였을 때, 저항전분 입자가 더 부드럽고 둥근 입자 형태를 나타냈다. 또한 저항전분의 처리에서 소니케이션 방법은 입자 모양에 영향을 주지 않았지만 입자가 뭉치지 않고 분리되도록 하였다.

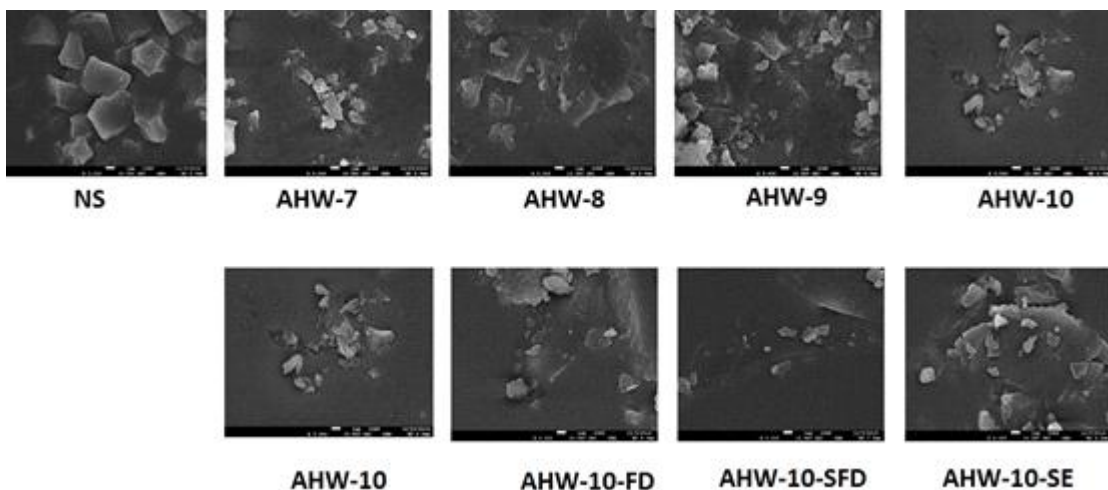


Figure 21. Scanning electron microphotographs of native waxy rice starch (NS), starch that has been acid hydrolyzed for 7-10 days (AHW-7, AHW-8, AHW-9, and AHW-10), and cross-linked RS4 created with different drying methods, FD (freeze-drying), SFD (sonicated freeze-drying), and SE (sonicated ethanol dehydration) from AHW-10 particles. Magnification is $\times 5,000$.

④ 입자 크기

산 가수분해처리 전분과 나노크기의 저항전분 입자는 Fig 21에 나타내었다. 생 전분의 입자 크기는 하나의 피크를 나타내고 있었고, 그 크기는 평균적으로 3579.6 nm 정도였다. 산가수분해 처리 전분은 입자 크기가 가수분해 처리 시간에 따라 감소하는 경향을 보였고, 두 개의 피크를 나타냈으며, 평균 입자 크기는 가수분해 7일차는 279.4 nm, 8일차는 264.4 nm, 9일은 240.6 nm, 10일은 220.1 nm로 나타났다. 이것은 가수분해를 통한 잔기의 생성과 가수분해된 입자끼리의 중합에 의한 특성으로 생각된다.

저항전분의 입자 크기 분포에서 FD, SFD, SE로 건조한 저항전분 입자의 평균입자크기는 각각 300.0, 211.9, 459.7 nm이며 피크점의 입자크기는 FD는 342.0 nm, SFD는 255.0 nm, SE는 396.1 nm로 유의적인 차이를 보였다. FD와 SFD는 하나의 피크를 보였으나 SE는 작은 입자와 큰 입자가 동시에 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 이들 패턴은 주사전자현미경(SEM)을 통한 입자 관찰의 결과와도 유사한 특성으로 SE가 입자가 서로 잘 뭉치기 때문으로 생각해 볼 수 있었다. 또한 저항전분 입자는 산가수분해 처리 전분과 비교하여 분리된 다른 종류 입자크기가 아니라 하나의 정규분포를 보이며 피크의 폭, 즉 크기가 유사한 입자분포가 넓게 나타나는 입자 크기 패턴을 보였고, 이는 가교결합에 의해 수분흡수력이 낮아 입자간 뭉쳐지지 않고 또 가교결합이 강하게 내부에 결합을 형성하기 때문으로 생각된다. 소니케이션에 의해 하나의 bolcklet인 나노크기 입자가 분리된 채로 존재하는 것을 알 수 있었고, 이로 인해 소니케이션으로 가교결합 후 저항전분크기를 줄이는데 기여하는 것을 알 수 있었다. 또한 급속동결에 의해 입자간의 달라붙는 현상이 줄어 입자 크기가 증가하는 현상을 막을 수 있는 것으로 생각되었다.

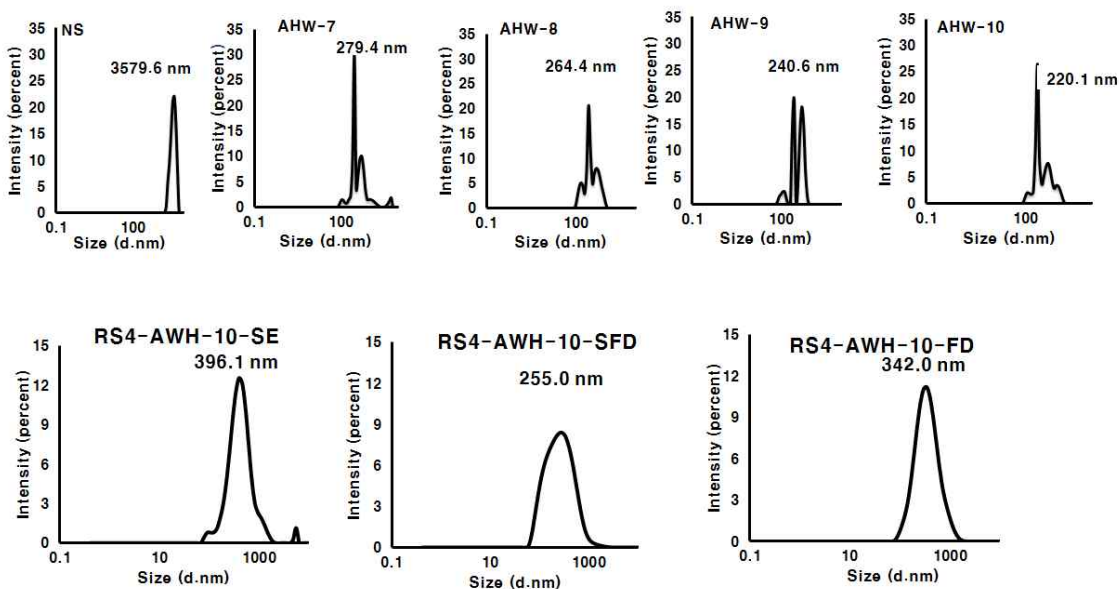


Figure 22. Particle size distribution patterns of native waxy rice starch (NS), starch that has been acid hydrolyzed for 7-10 days (AHW-7, AHW-8, AHW-9, and AHW-10), and cross-linked RS4 created with different drying methods, FD (freeze-drying), SFD (sonicated freeze-drying), and SE (sonicated ethanol dehydration) from AHW-10 particles.

⑤ X-선 회절도

X-선 회절도는 전분의 결정 구조를 확인하는데 사용되는 방법으로, 회절도 패턴에 따라 전분의 결정형을 A, B 및 C타입, 아밀로스과 지방질간의 결합에 의한 V타입으로 구별하고 있다(Buleón, Colonna, Planchot, & Ball, 1998). 생전분은 물론 산처리 전분과 저항전분 모두 회절각도(2θ) = 15, 17, 18, 23°에서 피크를 나타내는 A타입 결정형 패턴을 보이고 있었다(Fig 22). 이는 산가수분해된 전분도 아밀로펙틴의 결정구조와 유사한 결정구조를 가짐을 알 수 있었고 이로 인해 산처리에 의해 생성된 작은 입자는 blocklet로 분해된 아밀로펙틴 결정구조와 유사한 결정구조의 산가수분해전분으로 생각되었다. 산처리 전분은 생전분과같은 결정형을 나타냈으나 생전분에 비해 회절각도 (2θ) = 15, 23°에서 강한 피크 나타내었으나, 소니케이션하여 동결건조한 저항전분인 SFD는 $2\theta=10-15^\circ$ 의 피크는 사라졌다. 즉 x-선 회절도로부터 가교결합에 의해 결정구조가 변하지 않음도 알 수 있었다.

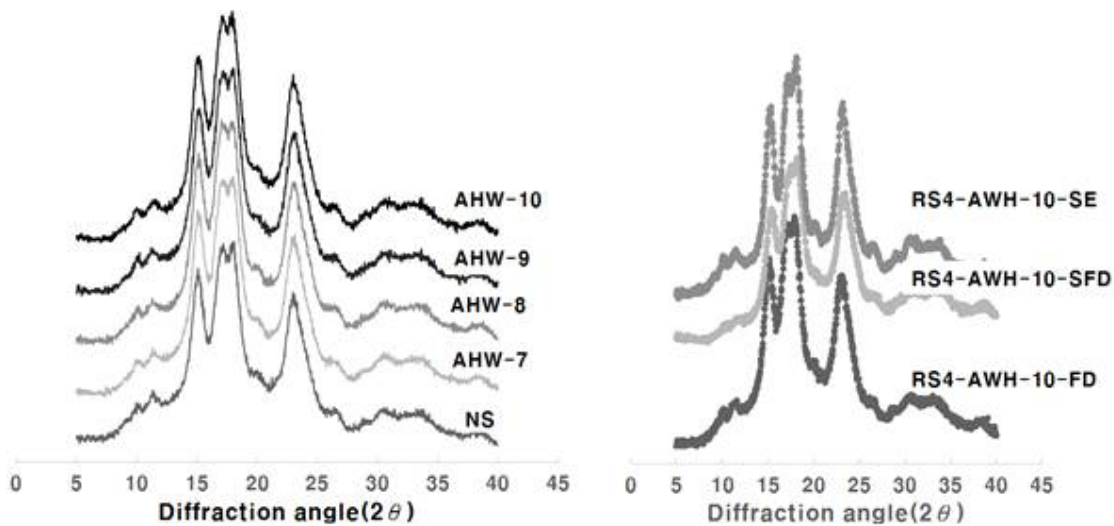


Figure 23. X-ray diffractograms of native waxy rice starch (NS), starch that has been acid hydrolyzed for 7-10 days (AHW-7, AHW-8, AHW-9, and AHW-10), and cross-linked RS4 created with different drying methods, FD (freeze-drying), SFD (sonicated freeze-drying), and SE (sonicated ethanol dehydration) from AHW-10 particles.

⑥ 열적 특성

산처리 전분과 저항전분의 열적 특성을 측정한 결과는 Table 20에 나타내었다. 열적특성을 측정한 결과 생전분의 호화개시온도(T_0), 호화피크온도(T_p), 호화종료온도(T_c)는 62.68, 68.62, 77.95 °C로 각각 나타났고, 호화피크온도와 호화종료온도의 차이(ΔT)와 호화엔탈피(ΔH)는 각각 15.27°C와 9.51 J/g이었다. 산가수분해 전분은 생전분에 비하여 ΔT 가 두배 이상 높은 경향을 보였고, ΔH 값은 3.30-1.44 J/g 범위로 산가수분해 시 감소하는 경향을 보였다. 이는 산가수분해 처리한 전분입자의 열적 특성 측정 시 호화 온도 범위가 광범위해지고, 엔탈피가 감소하는 경향을 보인다는 일반 연구와도 일치하는 결과였다(Wang, & Copeland, 2015). 나노 크기의 저항전분의 호화피크온도(T_p) 값은 SFD에서 가장 높은 크기를 보였고 건조 방법에 따라서 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

Table 20. Thermal properties of native starch, AHW, and cross-linked resistant starch (RS4)

Sample	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔT (T _c -T _o)	ΔH (J/g)	Data
NS ¹⁾	62.68±0.21 ^a	68.62±0.13 ^d	77.95±0.03 ^b	15.27±0.18 ^b	9.51±0.45 ^a	represent means mean ± SD
AHW-7 ²⁾	55.24±1.98 ^c	71.10±0.59 ^c	90.67±6.21 ^a	35.43±8.19 ^a	3.30±0.11 ^b	
AHW-8	56.27±3.80 ^{bc}	72.27±0.08 ^c	99.10±0.85 ^a	42.84±2.95 ^a	3.09±0.08 ^{bc}	
AHW-9	61.37±0.42 ^{ab}	74.38±0.00 ^b	92.99±7.04 ^a	31.62±7.45 ^a	1.44±0.26 ^d	
AHW-10	59.91±0.59 ^{abc}	77.71±0.96 ^a	99.15±1.58 ^a	39.24±0.99 ^a	2.47±0.09 ^c	
FD ³⁾	62.56±0.28	80.21±0.73 ^{ab}	98.46±2.42	35.91±2.69	2.26±0.30	Means in the
SFD	62.79±0.96	83.39±1.47 ^a	102.18±0.11	39.39±1.07	2.98±0.03	
SE	61.07±0.13	79.34±1.39 ^b	98.77±3.83	37.70±3.96	3.41±0.81	

same column of acid hydrolyzed starches and drying methods with different letters have significantly different values (p<0.05) in Duncan's multiple range test

¹⁾NS: Native waxy rice starch

²⁾AHW indicates acid hydrolyzed waxy rice starch treated for 7 (AHW-7), 8 (AHW-8), 9 (AHW-9), and 10 (AHW-10) days.

⑦ 총 RS 함량

가교결합 저항전분의 총 RS 함량은 건조방법에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 가수분해 전분을 이용하여 전분을 제조하였기 때문에 이들 전분의 수율은 49%로, 이들 나노 크기의 저항전분을 건조방법을 달리하였을 때 FD, SFD, SE의 총 RS 함량은 각각 17.33, 17.26, 17.72%로 나타났다. 이들 RS 함량은 가교결합제를 첨가하여 제조되는 과정에서 생성된 RS는 건조방법 중에 사용한 소니케이션과 에탄올 탈수처리가 RS 함량에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

⑧ 저항전분 입자의 분산 안정성

① 제타 전위

제타 전위는 분산된 입자에 부착된 정지된 용액과 분산 매체 사이의 잠재적 전위차이다. 제타 전위는 입자 간의 전기적인 끌어당김과 밀어내는 힘을 측정하는 것으로, 안정성에 영향을 준다고 알려진 기본 파라미터 중의 하나이다. 제타전위 값이 ±0 - 10 mV일 때는 높은 불안정함을, ±10 - 20 mV일 때는 거의 안정함을, ±20 - 30 mV일 때는 중간정도의 안정함을, > ±30 mV일 때는 높은 안정성을 나타낸다(Bhattacharjee, 2016). 나노 크기의 가교결합 저항전분 입자의 제타 전위는 그림 4에 나타내었다. FD, SFD, SE로 건조한 나노 크기 저항전분 입자의 제타 전위는 각각 -37.1, -43.0, -35.4 mV로 유의적인 차이를 나타내었고, 소니케이션과 동결건조를 병행한 방법(SFD)에서 분산액의 안정성이 가장 높음을 확인할 수 있었다. 다음 결과를 통하여 SFD 건조 처리방법이 나노 크기의 저항전분의 제조 시 분산액의 안정성을 가장 높임을 알 수 있었다.

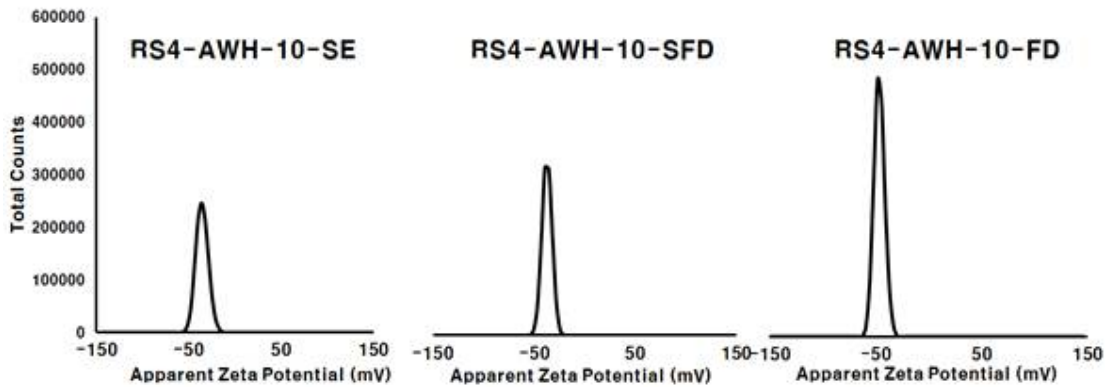


Figure 24. Zeta potential of cross-linked RS4 nanoparticles created with different drying methods, FD (freeze-drying), SFD (sonicated freeze-drying), and SE (sonicated ethanol dehydration) from AHW-10 particles.

㉞ 분산액의 안정성

나노 크기 저항전분 입자의 친수성 콜로이드 분산액 안정성은 그림 5에 나타내었다. 찹쌀 전분 blocklet의 STMP와 STPP로 가교결합을 형성하면 입자의 음이온이 더 강해지고, 증류수에서 높은 분산 안정성을 보이게 된다(Wongsagonsup, Shobsngob, Oonkhanond, & Varavinit, 2005). FD로 건조한 저항전분 입자가 첨가된 분산액의 투과율은 시간이 흐를수록 증가하는 경향을 보였는데 이는 불안정해져 입자가 가라앉기 때문에 위쪽의 투명도가 증가하는 것을 알 수 있었다. Fig 25에서와 같이 SFD로 건조시킨 저항전분 입자로 제조된 분산액은 다른 시료들에 비하여 더 안정한 상태를 나타냈다. SE로 건조시킨 저항전분 입자로 제조된 분산액은 FD로 건조시킨 저항전분 입자 분산액과 유사하게 분산액의 윗층이 빠르게 분리되는 것을 볼 수 있었다. FD로 건조한 저항전분 입자로 제조한 분산액에 비하여 SFD와 SE 나노 크기 입자는 아래층과 중간층이 더 안정된 상태를 유지함을 알 수 있었다. 이는 소니케이션 처리로 인한 결과로 형성되기 때문으로 생각된다.

시료 입자가 가라앉는 것(퇴적)과 관련된 값인 후방산란 정도(그림 5)로 부터 분산액의 하층부의 값이 증가함을 알 수 있었다. FD로 건조한 경우 0-2 mm로 후방산란이 증가되는 것을 보였고, 2 mm의 퇴적층을 가졌다. 분산액에서 입자의 집합이 나타나 FD로 건조한 입자의 후방산란은 증가하는 경향을 보였다. FD 입자의 퇴적 속도는 0.18 mm/day로 방치 첫날의 퇴적물의 최고 두께는 0 mm이고, 7일차에는 최고 두께가 1.1 mm이었다. SFD로 건조한 저항전분입자는 낮은 후방산란 정도를 보여 FD로 건조한 분산액에 비해서 낮은 값을 보였다. SFD로 건조한 입자의 퇴적 속도는 0.11 mm/day로 최고 두께는 7일차에 0.9 mm로 나타났고, 이는 SFD로 건조한 입자가 분산정도가 더 안정해서 적게 퇴적한다는 것을 보여주는 수치이다. SE로 건조한 입자는 높은 후방산란 값을 보였고, 퇴적 속도는 0.10 mm/day로 분산 첫 번째 날 퇴적물의 최고 두께가 1.9 mm였고, 7일차에 2.2 mm로 가장 높은 퇴적물 두께를 보였다. 이 연구 결과 SFD로 건조한 입자크기의 평균이 211.9 nm였고, 제타 전위값이 -43 mV 이하로, 가장 안정적인 분산형태를 가지고 있음을 확인할 수 있어, 음료와 기타 액상식

폼에 첨가하는 식이섬유 소재로 가장 안정한 상태를 유지함으로써 고 식이섬유 액상식품 제조에 사용할 때 가장 적합할 것으로 생각되었다.

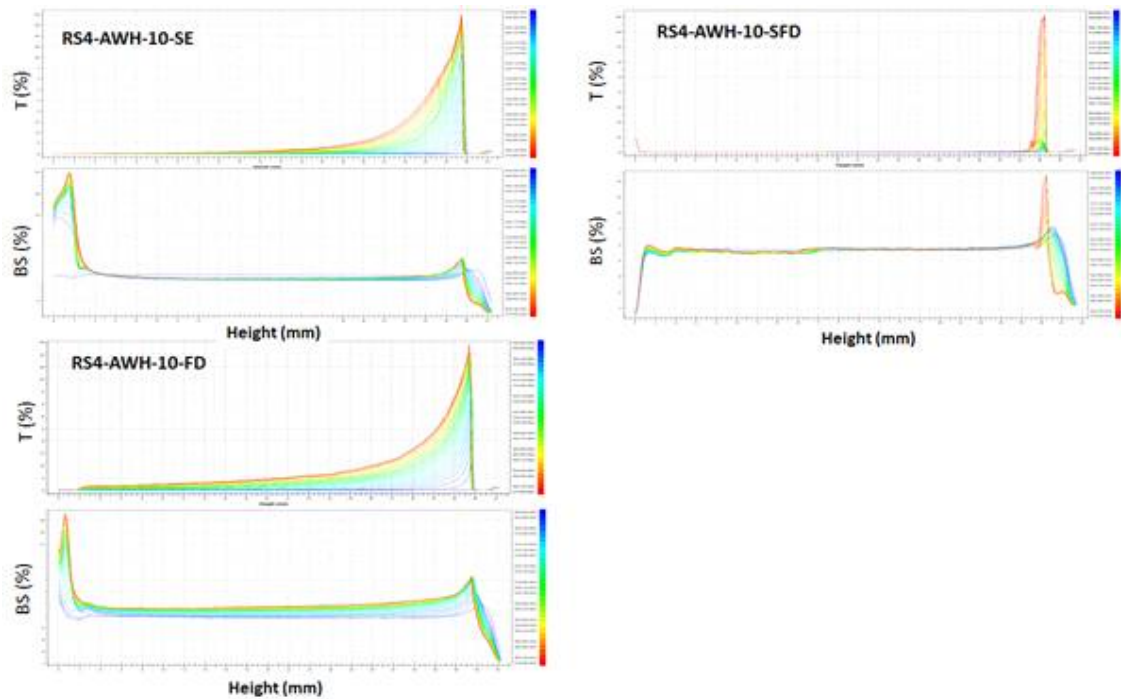


Figure 25. Delta transmission (top) and delta backscattering (bottom) of cross-linked RS nanoparticles created with different drying methods, FD (freeze-drying), SFD (sonicated freeze-drying), and SE (sonicated ethanol dehydration) from AHW-10 particles.

(3) 치아씨드의 물 결합능력 및 저장 기간 동안의 변화

(가) 재료 및 방법

① 저장 기간에 따른 치아씨드의 물 결합 능력

1g의 치아씨드에 충분한 양의 증류수를 넣은 뒤 증류수와 치아씨드가 잘 섞이도록 가볍게 흔들어 주었다. 30분, 1시간, 2시간, 5시간, 24시간 동안 각각 저장한 치아씨드를 물기를 잘 제거한 뒤 무게를 측정하여 치아씨드의 물 결합 능력을 측정하였다.

② 치아씨드의 저장 기간 동안의 변화

저장 기간 동안의 치아씨드의 변화 양상을 확인하기 위해 1 g의 치아씨드에 충분한 양의 증류수를 첨가한 뒤, 0시간, 1시간, 2시간, 5시간, 24시간, 2일, 4일, 5일, 6일, 8일, 18일 저장하여 치아씨드의 상태를 관찰하였다. 물의 양에 따른 치아씨드의 변화 양상을 확인하기 위해 1 g의 치아씨드에 20 g의 증류수를 첨가한 뒤 0시간, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 2일, 5일, 12일 동안의 상태를 확인하였다.

(나) 결과

① 저장 기간에 따른 치아씨드의 물 결합 능력

저장 기간에 따른 치아씨드의 물 결합 능력은 fig. 26과 같았다. 1 g의 치아씨드에 충분한 양의 증류수를 넣고 흔들어준 뒤 상태 변화를 측정된 결과 30분 정도에는 치아씨드가 흡수한 물이 15.74 g이었고 이후 1시간이 되었을 때 16.41 g로 나타났다. 5시간 동안 두었을 때는 18.93 g, 24시간 두었을 때는 18.53 g으로 물 결합 정도에 거의 차이가 없음을 확인할 수 있었다. 치아씨드를 물에 담갔을 때 최대로 결합할 수 있는 물의 양은 약 18-19 g임을 본 실험을 통해 확인할 수 있었으며 5시간 이내에 결합이 최대로 완료됨을 확인할 수 있었다.

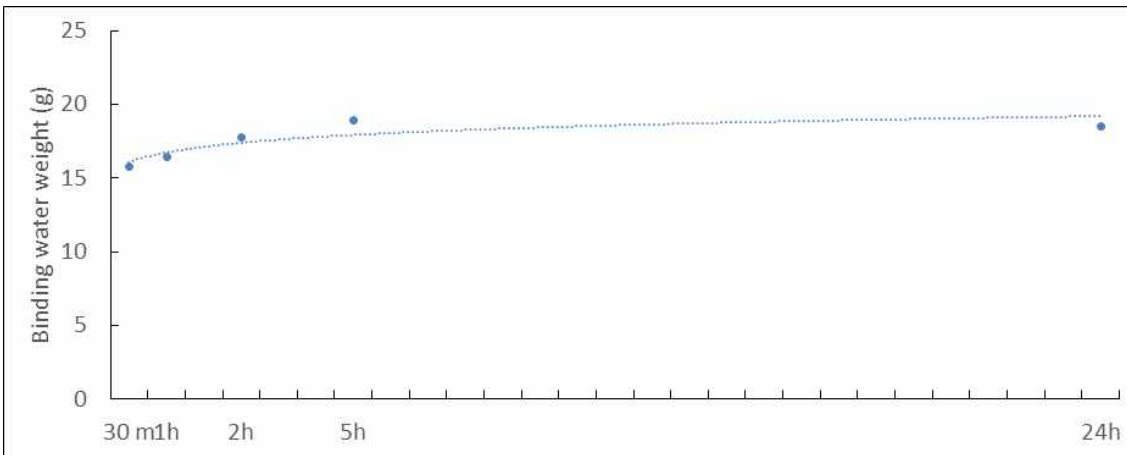


Fig. 26. Binding water weight of 1g chia seeds for storage periods.

② 치아씨드의 저장 기간 동안의 변화

치아씨드에 충분한 증류수를 첨가한 뒤 실온에서 저장하여 시간에 따른 변화를 확인한 결과는 Fig. 27과 같았다. 증류수를 첨가한 뒤 30분부터 5시간까지는 외관상의 변화가 나타나지 않았다. 24시간이 지났을 때도 치아씨드에 물이 결합된 양상은 똑같이 나타났으나 이후 5일째가 되었을 때 치아씨드는 전체적으로 가라앉아 있었고, 증류수의 윗 층의 물색이 뿌옇게 변한 것을 확인할 수 있었다. 또한 일부 치아씨드는 싹이 트는 현상을 보이기도 하여 (Fig. 28) 충분한 물을 넣고 실온에서 보관하였을 때 치아씨드가 장기간 저장 시에 품질의 저하가 나타날 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 18일까지 저장하였을 때 치아씨드의 겉의 하얀 막 층은 전부 분리되는 것을 확인할 수 있었다.

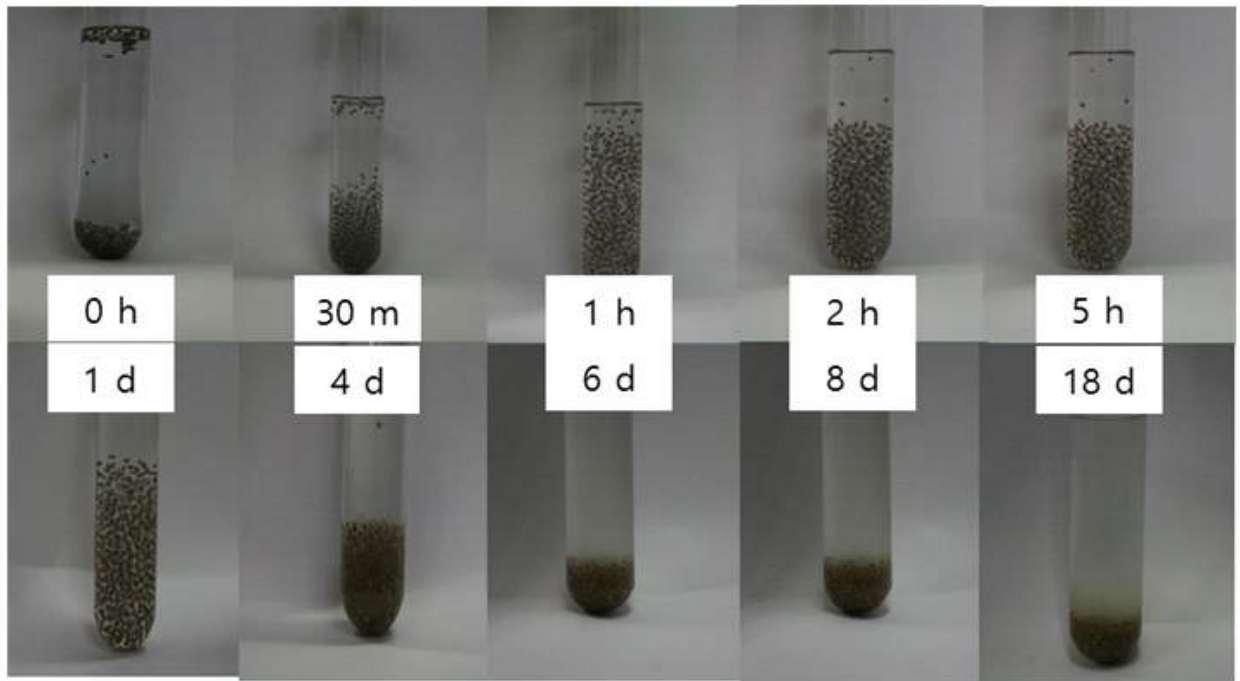


Fig. 27. Hydrated chia seeds during storage.



Fig. 28. Hydrated chia seeds storage for 5 days.

치아씨드 1 g이 흡수하는 충분한 물 양이 약 18-19 g이기 때문에, 치아씨드 1 g에 20 g의 증류수를 첨가하여 잘 섞어둔 뒤 실온에서 저장하여 치아씨드의 상태 변화를 확인한 실험의 결과는 fig. 29와 같았다. 치아씨드를 증류수와 잘 섞은 뒤 관찰한 결과 1일까지는 큰 변화가 없었으나 2일차 되었을 때 치아씨드를 섞어둔 증류수의 색이 탁해지는 현상을 관찰할 수 있었고, 5일 동안 저장하였을 때는 치아씨드를 감싸고 있는 층이 분리되어 더욱 뿌옇게 변화였고, 분리된 층이 일부 덩어리져서 움직이는 것을 확인할 수 있었다. 이후 12일 동안 저장하였을 때 치아씨드는 물 위로 떠오르는 현상을 나타냈다. 이 결과를 통해서 수분의 첨가량은 치아씨드가 물과 결합할 수 있는 최대양보다 더 많은 양을 첨가하였을 때, 더 안정함을 확인

할 수 있었다. 또한 chia씨드를 첨가한 주스 제조 시에 장기간의 실온 보관은 chia씨드의 품질 저하를 유발해 주스의 품질을 떨어뜨릴 수 있을 것으로 사료되었고, 보관 시의 품질을 높이기 위해서 산처리나, 냉장 보관, 적절한 수분의 조절 등이 추가적으로 필요할 것으로 사료되었다.

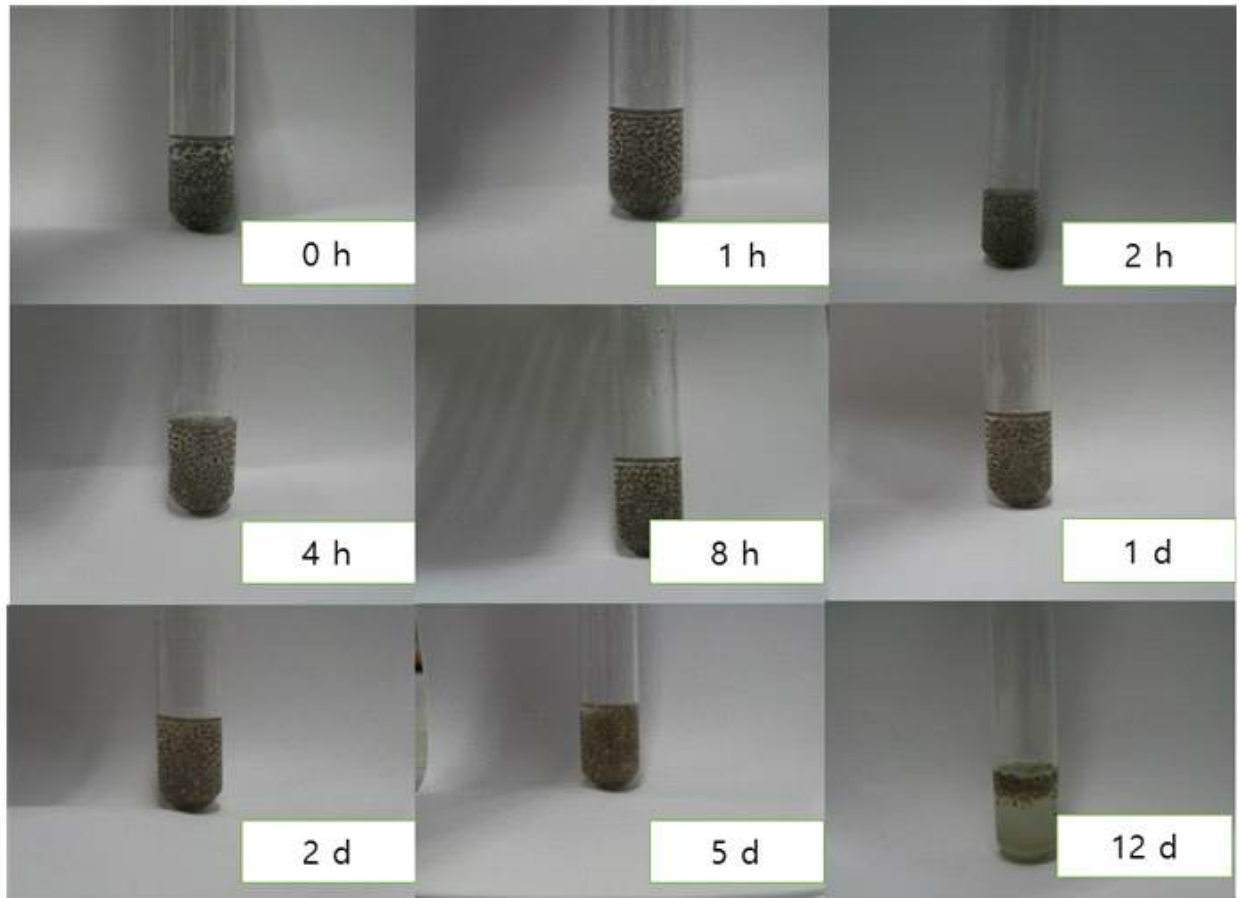


Fig. 29. Hydrated chia seeds during storage.

(11) 1인 1회용 음료량에 적합한 chia씨드를 첨가한 및 음료의 품질 특성 및 저장 안정성 측정

(가) 재료 및 방법

① 바질씨드를 첨가한 복분자 음료의 제조

복분자 1%, 2%, 3%, 4%, 5%를 증류수에 희석시켜 복분자 음료의 색을 비교하여 외관 특성을 관찰하였다. 바질씨드는 1 g을 증류수 25 mL에 1시간 동안 침지시킨 후, 물을 걸러낸 후 음료 희석액에 넣어 저장하며 외관 특성 변화를 관찰하였다.

② 검종류에 따른 chia씨드를 첨가한 복분자 음료의 제조

검종류에 따른 음료의 특성을 알아보기 위해서 구아검, 카라기난, 잔탄검, 아라비아검, 젤란검, 로커스트빈검을 첨가하여 복분자 음료를 제조하였다. 음료는 (사) 베리&바이오 연구소의

레시피를 기준으로 제조되었으며, 총 음료 100 g에서 검 0.2g을 종류별로 첨가하여 저장 중의 복분자 음료의 특성을 확인하였다.

③ 혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 제조

카라기난과 젤란검 1:1, 아라비아와 잔탄검을 각각 1:1, 3:1로 혼합한 검을 첨가하여 복분자 음료의 저장 중의 특성을 확인하였다.

④ 음료의 점도 측정

음료의 점도 측정은 레오메타(Brookfield DV III Ultra programmable rheometer, Brookfield, Middleboro, MA, USA)을 이용하여 측정하였다. Spindle은 no.2를 사용하였으며, 250 rpm으로 측정하였고 22℃에서 일정하게 안정화 되었을 때의 점도를 측정하였다.

⑤ 음료의 pH 측정

음료는 제조 직후와 저장 기간 동안 음료의 pH를 pH meter를 이용하여 측정하였다.

⑥ 음료의 색도 측정

색도는 색도계(Spectra magicTMNX, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였고, Hunter의 L(lightness) 값, a(+redness/-greenness) 값 및 b(+yellowness/-blueness) 값을 3회 반복 측정해서 그 평균값으로 나타내었다. 색도 측정은 L = 96.96, a = -0.09, b = -0.22인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다.

⑦ 통계분석

모든 실험은 3번 이상 반복하여 측정하였고, 측정된 결과값은 평균과 표준편차로 제시하였다. 통계처리는 SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 처리하였으며, ANOVA (Analysis of variance)에 의한 분산분석을 실시하였고, Duncan's multiple range tests로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

(나) 결과

① 바질씨드를 첨가한 복분자 음료 제조 및 외관 특성

복분자 음료 제조를 위해 복분자 원액 농도를 달리하여 물에 희석시켜 관찰하였다. 복분자 원액은 1%, 2%, 3%, 4%, 5%로 각각 희석하여 관찰하였다. 희석시킨 혼합물에 바질씨드를 첨가하였을 때의 상태는 Fig. 30-32와 같았다. 바질씨드는 물에 불렸을 때, 하얀색의 불투명

한 막을 형성하는 특성을 가지고 있고, 복분자 희석액 속에 첨가시켰을 때는 이 색이 두드러지게 나타남을 알 수 있었다. 바질씨드가 들어있는 혼합물은 저장 기간이 5일 이상이 되어서 유사한 형태를 나타냈고, 일부 바질씨드의 불투명한 막이 깨지는 성질을 보였다.

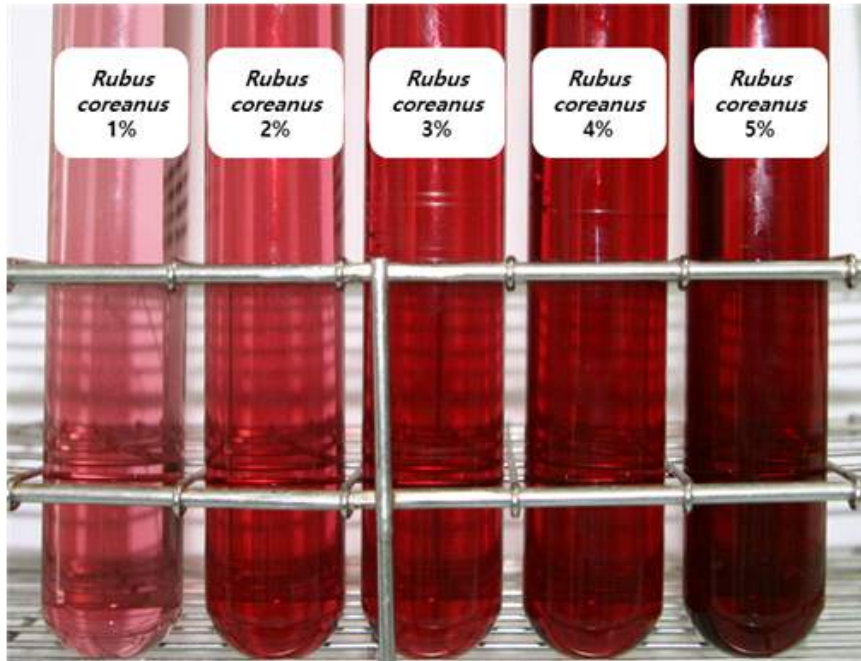


Fig. 30. Rubus coreanus solution.



Fig. 31. Rubus coreanus solution with basil seed.

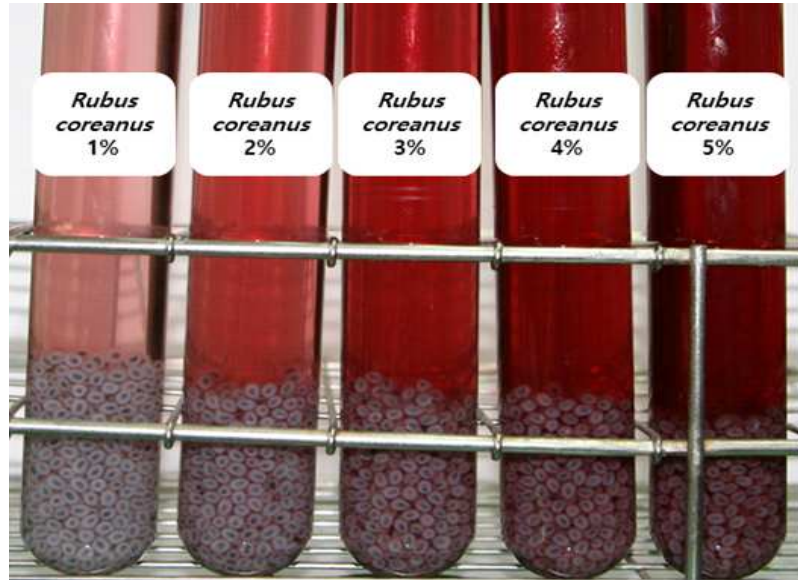


Fig. 32. *Rubus coreanus* solution with basil seed stored at 5 days.

② 바질씨드와 검류를 첨가한 복분자 음료의 외관 특성

잔탄검과 젤란검을 0.05%, 0.15%를 증류수에 희석시켰을 때의 상태는 Fig. 33과 같았다. 잔탄검은 첨가량이 증가할수록 용액 자체에 겔이 형성되며 뿌옇게 색이 변하였고, 젤란검은 첨가량이 증가하였을 때 용액의 점성이 증가하였으나 외관상으로는 변화가 나타나지 않음을 알 수 있었다. 잔탄검과 젤란검은 음료의 점성을 증가시켜 치아씨드와 바질씨드와 같은 씨드가 용액 중에 안정하게 부유할 수 있게 도와주는 역할을 하며, 음료의 식감을 제공하는데 도움이 될 것으로 사료된다. 잔탄검은 0.15%를 첨가하였을 경우 물에 충분히 녹지 않은 특성을 보이며 점성을 현저히 높게 증가시키므로 적은양을 첨가하여 점성을 제공하는 것이 적절할 것으로 생각되며 다른 특성을 지닌 검류와 함께 분산시켜 적절한 특성을 주는 것이 더 용이할 것으로 생각된다.

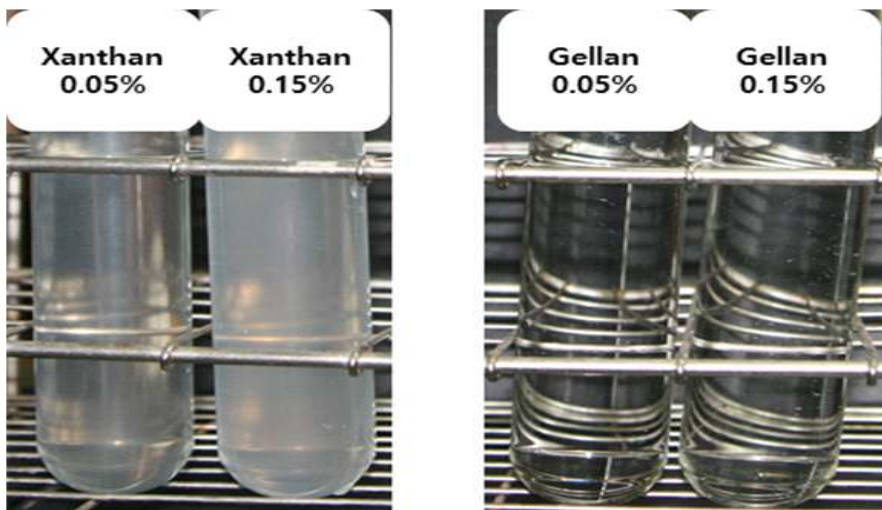


Fig. 33. Different ratios of xanthan and gellan gum in distilled water.

복분자 음료 1% 용액에 젤란검과 잔탄검을 0.05%, 0.15% 첨가한 결과는 Fig. 34와 같았다. 0.05% 젤란검과 잔탄검을 첨가한 경우 바질씨드가 용액에 가라앉는 특성을 보여 용액 내부에서 씨드가 고르게 분산되어 있기 위해서는 용액의 점도가 조금 더 높아야함을 알 수 있었다. 0.15%의 젤란검과 잔탄검을 첨가하였을 때 바질 씨드는 용액 중에 분산되기 시작하였고, 일정 시간동안 이런 특성을 유지함을 알 수 있었다. 음료에 일정량 이상의 당류가 첨가되면 점성이 증가하는 경향을 보이기 때문에 음료의 적정량의 검류는 총 음료의 0.1-0.2% 내외가 적절할 것으로 사료된다.

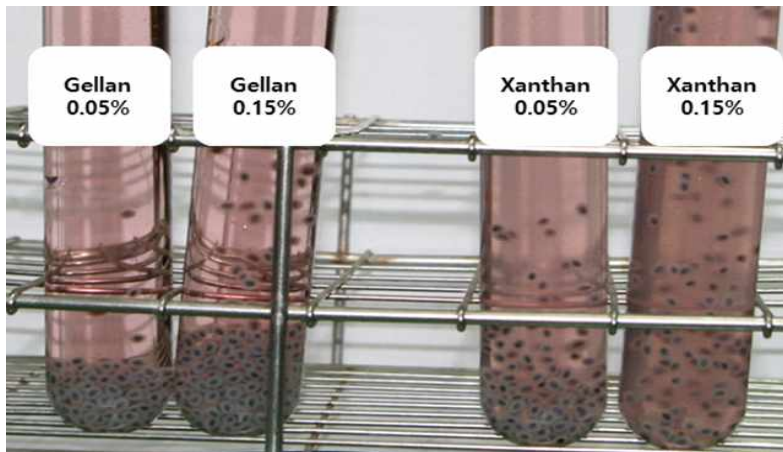


Fig. 34. Different ratios of xanthan and gellan gum in *Rubus coreanus* beverage.

③ 검 종류에 따른 차아씨드를 첨가한 복분자 음료의 저장 중의 색도 및 외관 특성

6종류의 검과 차아씨드를 첨가한 복분자 음료의 저장 중의 외관 특성을 관찰한 결과는 Fig 35와 같았다. 복분자 음료를 제조하였을 때 잔탄검에서 차아씨드의 분산 안정성을 확인할 수 있었으며, 다른 검을 사용하여 제조하였을 때는 음료의 상층부에 차아씨드가 밀집하는 현상을 확인할 수 있었다. 차아씨드가 음료 전체에 안정적으로 분산되기 위해서는 잔탄검과 같이 용액의 점도를 높이는 특성을 가진 검류가 적합할 것으로 생각되었다. 저장 시간이 길어질수록 용액 중에 첨가한 저항전분이 다소 가라앉는 특성을 보였으며, 잔탄과 젤란검에서는 그러한 현상이 상대적으로 적게 나타났다. 이는 두 개의 검이 용액의 점도를 가장 증진시키기 때문으로 사료되며, 두 가지 검을 이용하여 음료를 제조하는 것이 가장 안정화된 음료를 만드는데 좋을 것으로 사료된다.



Fig. 35. *Rubus coreanus* beverage added with different gum.

A: Guar, B: Locust Bean, C: Gum arabic, D: Xanthan, E: Gellan and F: Carrageenan.

저장 중의 음료의 색도 변화는 다음 Table 21과 같았다. 음료의 명도 값은 초기보다 저장 중에 다소 증가하는 경향을 보였고, 이는 음료에 첨가된 저항전분이 가라앉으면서 나타나는 현상으로 생각된다. 저항전분이 잘 분산되어 있는 잔탄검을 첨가한 음료에서는 비교적 일정한 L, a, b 값을 보여 가장 안정성이 좋음을 확인할 수 있었다.

Table 21. L, a and b values of Rubus coreanus beverage added with different gum during storage

	No stored				Stored for 1 days				Stored for 10 days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Control	3.6±0.5 ^d	0.9±0.5 ^d	-1.0±0.5 ^a	93.3±0.5 ^a	10.1±0.3 ^c	1.6±0.3 ^f	-1.1±0.3 ^a	86.7±3.3 ^a	4.5±0.3 ^f	0.7±0.2 ^d	-1.3±0.5 ^a	92.4±0.3 ^a
Guar	14.2±0.5 ^b	4.1±0.1 ^{ab}	-1.7±0.4 ^b	82.7±0.5 ^c	17.5±0.1 ^b	5.0±0.1 ^a	-3.3±0.1 ^b	79.6±0.1 ^b	20.4±0.4 ^d	4.6±0.2 ^a	-3.8±0.5 ^c	76.6±0.4 ^a
Locust Bean	13.1±1.1 ^b	3.6±0.8 ^{bc}	-1.4±0.1 ^{ab}	83.8±1.0 ^{bc}	18.3±0.6 ^b	3.8±0.0 ^d	-4.6±0.3 ^c	78.7±0.6 ^b	21.6±0.1 ^c	3.4±0.0 ^{bc}	-5.4±0.1 ^d	75.4±0.1 ^c
Gum arabic	12.2±0.2 ^c	3.0±0.3 ^c	-1.4±0.1 ^{ab}	84.7±0.2 ^b	23.2±0.2 ^a	3.4±0.0 ^e	-7.4±0.3 ^e	74.0±1.1 ^c	24.4±0.7 ^b	3.4±0.1 ^{bc}	-5.7±0.4 ^d	72.8±0.7 ^d
Xanthan	16.1±0.4 ^a	4.5±0.2 ^a	-2.3±0.4 ^c	81.0±0.4 ^d	16.5±0.1 ^b	4.7±0.1 ^b	-2.9±0.1 ^b	80.5±0.1 ^b	17.5±0.1 ^e	3.8±0.1 ^a	-2.8±0.1 ^b	79.4±0.1 ^b
Gellan	13.7±0.5 ^b	3.8±0.1 ^b	-1.5±0.2 ^{ab}	83.2±0.5 ^c	23.3±0.6 ^a	4.4±0.1 ^c	-7.1±0.3 ^e	74.0±1.5 ^c	27.3±0.7 ^a	3.5±0.1 ^b	-6.2±0.5 ^e	69.9±0.7 ^e
Carrageenans	15.7±0.2 ^a	3.8±0.1 ^b	-2.5±0.2 ^c	81.3±0.2 ^d	19.2±0.3 ^b	3.8±0.1 ^d	-5.5±0.2 ^d	77.9±0.3 ^b	21.5±0.1 ^c	3.2±0.1 ^c	-4.3±0.5 ^c	75.5±0.1 ^c

Data represents mean±SD

^{a-d}Values in the same column have statistically different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

저장기간 중의 음료의 pH 결과는 Table 22와 같았다. 음료의 pH는 2.37-2.55 범위로 나타났고, 저장 중에 pH는 거의 일정하게 유지되어 장기 저장 중에 품질 변화가 거의 나타나지 않는 것을 확인할 수 있었다. 로커스트빈검과 구아검은 음료의 맛 자체를 크게 변화시키는 특성을 가지고 있기 때문에 음료가 가진 고유 성질을 변화시키는 특성을 가지고 있어 음료 제조용 검으로는 적합하지 않았고, 점성을 높여주는 젤란과 잔탄검이 가장 음료 제조용 검으로 적합할 것으로 생각되었다. 카라기난과 아라비아 검은 음료에 상큼한 맛을 부여하기 때문에 이들 젤란과 잔탄검과 혼합하여 사용하면 긍정적인 효과를 볼 수 있을 것으로 생각된다.

Table 22. pH values of Rubus coreanus beverage added with different gum during storage

	No stored	Stored for 1 days	Stored for 10 days
Control	2.37±0.01 ^c	2.42±0.01 ^d	2.42±0.01 ^e
Guar	2.43±0.01 ^b	2.52±0.02 ^b	2.54±0.05 ^{bcd}
Locust Bean	2.43±0.01 ^b	2.46±0.00 ^c	2.48±0.01 ^{de}
Gum arabic	2.55±0.01 ^a	2.54±0.01 ^b	2.57±0.01 ^{abc}
Xanthan	2.53±0.00 ^a	2.60±0.01 ^a	2.62±0.01 ^a
Gellan	2.55±0.00 ^a	2.62±0.01 ^a	2.60±0.00 ^{ab}
Carrageenans	2.55±0.01 ^a	2.49±0.01 ^c	2.52±0.05 ^{cd}

Data represents mean±SD

^{a-d}Values in the same column have statistically different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

④ 혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 특성

① 혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 저장 중의 외관 특성

젤란과 카라기난을 혼합하고, 잔탄검과 아라비아를 혼합하여 복분자 음료를 제조하였을 때 음료의 외관상의 특성은 Fig. 36과 같았다. 젤란과 잔탄검을 기본으로 하여 제조한 음료의 점도는 다른 검류를 사용하였을 때보다 높게 나타났기 때문에 상대적으로 안정적으로 치아씨드가 분산됨을 알 수 있었다. 저장 기간이 15일 이상으로 증가하였을 때도 음료 안에서의 치아씨드와 저항전분의 분산 정도는 안정하게 유지되는 특성을 보였다. 잔탄검과 아라비아를 1:1로 첨가하였을 때 가장 안정적으로 치아씨드가 분산되었으나, 잔탄검이 음료 용액 중에 충분히 분산되기 위해서 오랜 시간이 필요하기 때문에 잔탄검의 양을 상대적으로 줄여서 첨가하는 것이 적합할 것으로 사료된다. 잔탄검과 아라비아검의 비율을 1:3으로 첨가하였을 때도, 1:1 비율로 첨가하였을 때와 유사하게 안정적으로 치아씨드가 분포되고 저항전분이 분산되어있는 것을 보았을 때, 잔탄검의 비율을 전체 검의 25% 비율로 첨가하여도 적절할 것으로 보였다.

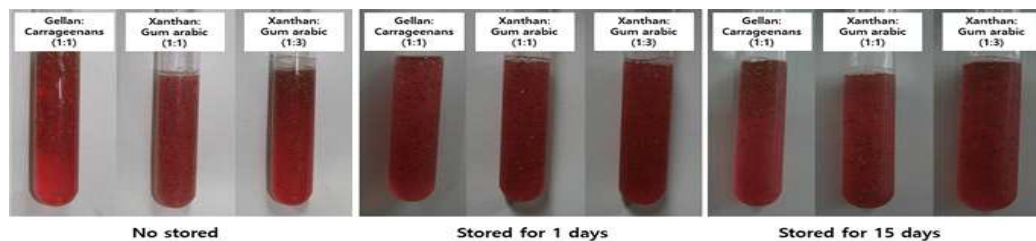


Fig. 36. Rubus coreanus beverage added with different ratio of gum during storage

㉞ 혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 저장 중의 색도 변화

혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 저장 중의 색도 변화는 Table 23과 같았다. 저장하지 않았을 때의 음료의 명도 값은 17.4-20.4 범위에서 나타났으며, 저장 동안 복분자 음료의 명도 값은 10.0-11.8로 감소하는 경향을 보였다. a값도 제조하였을 때의 복분자 음료에 비해서 감소하는 경향을 보였다. 제조직후의 a값은 5.3-5.8이었고, 15일 저장 후의 a 값은 3.3-4.7 범위로 나타났다. 특히 잔탄검의 비율이 감소한 잔탄검:아라비아검=1:3에서 a 값의 감소가 크게 나타나는 경향을 보였다.

Table 23. L, a and b values of Rubus coreanus beverage added with different ratio of gum during storage

	No stored				Stored for 1 days				Stored for 15 days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Gellan:												
Carrageenans (1:1)	17.4±0.1 ^a	5.3±0.1 ^c	-1.6±0.1 ^b	79.6±0.1 ^a	19.7±0.4	8.0±0.2 ^a	-0.2±0.1	77.6±0.4	10.0±0.1 ^a	4.7±0.2 ^a	-1.3±0.1 ^a	89.0±0.2 ^a
Xanthan:												
Gum arabic (1:1)	20.4±0.1 ^c	5.5±0.1 ^b	-1.4±0.0 ^a	76.7±0.1 ^c	19.6±0.3	6.5±0.4 ^b	-0.5±0.3	77.5±0.3	11.6±0.3 ^a	4.6±0.3 ^a	-1.5±0.1 ^b	85.3±0.3 ^b
Xanthan:												
Gum arabic (1:3)	19.4±0.2 ^b	5.8±0.1 ^a	-1.4±0.1 ^a	77.6±0.1 ^b	19.5±0.4	6.3±0.4 ^b	-0.6±0.3	77.6±0.4	11.8±0.3 ^b	3.3±0.2 ^b	-1.7±0.1 ^b	85.1±0.3 ^b

Data represents mean±SD

^{a-d}Values in the same column have statistically different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

㉟ 혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 저장 중의 pH와 점도 변화

혼합 검류를 첨가한 복분자 음료의 pH 변화를 측정한 결과는 Table 24와 같았다. 저장 기간 동안 음료의 pH는 일정하게 나타났고, 저장에 따른 변화는 없었다. 이를 통해 15일 저장 중의 복분자 음료는 안정하게 유지됨을 알 수 있었다.

Table 24. pH values of Rubus coreanus beverage added with different ratio of gum during storage

	No stored	Stored for 1days	Stored for 15days
Gellan:			
Carrageenans (1:1)	2.51±0.03	2.54±0.07	2.54±0.00
Xanthan:	2.51±0.01	2.55±0.00	2.55±0.00

Gum arabic (1:1) Xanthan:			
Gum arabic (1:3)	2.52±0.01	2.56±0.01	2.55±0.00

Data represents mean±SD

^{a-d}Values in the same column have statistically different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

혼합 검류를 첨가한 음료의 저장 중의 점도 변화는 Table 25와 같았다. 음료의 점도는 젤란:카라기난=1:1에서 32.65 cP로 가장 낮은 점도를 보였고, 잔탄:아라비아=1:1, 잔탄:아라비아=1:3이 각각 74.85 cP, 50.55 cP로 잔탄검의 첨가량이 높을수록 점도 값이 증가하는 경향을 보였다. 저장 중의 점도 값은 거의 변화 없이 일정하게 나타나 음료의 저장 중의 안정성을 확인할 수 있었다.

Table 25. Viscosity values of Rubus coreanus beverage added with different ratio of gum during storage

	No stored (cP)	Stored for 1day (cP)	Stored for 15days (cP)
Gellan: Carrageenans (1:1) Xanthan:	32.65±0.92 ^c	32.65±0.92 ^c	32.65±0.92 ^c
Gum arabic (1:1) Xanthan:	74.85±0.92 ^a	74.85±0.92 ^a	76.15±0.92 ^a
Gum arabic (1:3)	50.55±0.92 ^b	51.85±0.92 ^b	53.15±0.92 ^b

Data represents mean±SD

^{a-d}Values in the same column have statistically different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

라. 향후 연구계획

(1) 산가수분해 기간을 감소시킨 경우의 효과

RS4의 전분 생산원가를 절감하기 위해서는 전분의 가수분해 기간이 7일 차에도 10일차와 비교하였을 때 가수분해 정도나 입자 사이즈가 나노단위로 쪼개지는 특성을 가지고 있기 때문에, 산가수분해 기간을 감소시켜서 제조하였을 때도 동일한 효과를 나타낼 수 있을 것인지 추가 확인

(2) amylose, isoamylose 등의 효소처리에 의한 nano 전분 제조

가수분해 기간을 줄이기 위하여 amylose, isoamylose 등의 효소를 이용하여 전분의 가수분해를 병행하거나 단독으로 처리하였을 때 nano 전분의 제조가 가능할 것인지 확인

(3) 제조 기간을 단축시키는 공정 연구

가교 결합 전분을 제조 후에 냉장고 보관 기간을 최소화하였을 때의 특성 비교를 통해 제조 가능성을 확인하여 제조 기간을 단축시키는 공정 연구를 진행

제 4 절 기술개발 의의 및 기술수준

- 기능성 음료의 유행에 따라 우후죽순으로 판매되는 해독주스의 기본 개념을 정립함
- 과일·채소를 원료로 생물학적·물리화학적 전처리 기술개발을 통해 식이섬유를 증가시키고 식이섬유의 기능성을 증가시키며, 입자크기를 감소시켜 제품의 안정성을 증가시키는 기술을 개발하고 국내특허를 출원하였음
- 다양한 과일·채소에 전처리 기술을 적용하고 특성을 파악하므로써 이번 연구를 통해 개발된 과일·채소 혼합제품 뿐만 아니라 각각의 과일과 채소를 사용하는 제품에도 전처리 기술을 활용 가능함
- 베리류 및 과일·채소류 발효에 적합한 균주와 균주 조합을 찾아내므로써 새로운 발효제품 개발을 가능하게 함
- 과일·채소를 활용하여 액상 제품 뿐만 아니라 분말 제품을 개발하고 곡물을 베이스로 하는 분말 제품을 패키지 상품화 하여 음료시장 트렌드에 맞게 음료 제품을 단순한 기호식품이 아닌 TPO에 맞는 제품으로 개발하였음
- 난소화성 전분은 식이섬유와 유사한 기능성을 가지면서 식품에 혼합하였을 때 색과 질감이 우수하여 다양한 제품개발에 활용되고 있음. 다만 기존의 난소화성 전분은 전분을 원료로 제조되므로 입자크기가 커서 침전되므로 액상제품에 사용하는데 어려움이 있었음
- 이번 연구를 통해 개발된 나노입자 저항전분은 입자가 작아 분산성이 매우 우수하므로 액상제품에 사용시 안정성이 뛰어나
- 나노입자 저항전분 제조기술은 국내 최초 개발된 기술로써 국내 특허를 출원하였음
- 베리류를 활용하여 항산화활성을 증가시키고 과일·채소 전처리 기술과 난소화성 저항전분을 활용하여 주스의 식이섬유 함량을 증가시킨 제품은 국내 최초로 개발된 제품임
- 나노입자 저항전분은 기존의 식이섬유 분석방법으로 식이섬유 함량이 유지됨을 확인하였고 동물실험을 통해 기능성이 유지되는 것을 확인하였음
- 나노입자 전분을 개발하므로써 다양한 액상음료에서 식이섬유 함량을 증가시킨 제품 개발을 가능하게 함. 또한 액상타입의 향장 및 의약품 소재로 활용이 가능함

제 5 절 경제적 성과

1. 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.5억원
			향후 3년간 매출	3억원
		관련제품	개발후 현재까지	0.7억원
			향후 3년간 매출	3.5억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0.0005%
			향후 3년간 매출	국내 : 0.003%
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0.0006%
			향후 3년간 매출	국내 : 0.003%

2. 사업화 계획 및 매출실적

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		0.6		
	소요예산(백만원)		100		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0.5	3	4
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0.0005	0.003	0.003
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		복분자 씨드 분말음료, 아로니아 씨드 분말음료			

제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06	
제 1 절 목표달성도				
연구개발 목표		가중치 (%)	달성율 (%)	
		수행내용		
1 차 년 도	○ 전분의 종류와 제조 방법에 따른 저항전분의 개발 및 특성	30	100	- 품종별 전분을 활용한 RS3 3종과 RS4 5종 개발 및 특성 확인
	○ 물리화학적 처리에 의한 베리류, 과·채류 식이섬유음료 개발	20	100	- 초음파, 산처리, 효소처리에 의한 과일·채소류의 식이섬유 함량 및 기능성 개선 확인 및 음료 1종 개발
	○ 식이섬유 증가를 위한 신규 유산균 개발	30	100	- 발효적합 균주 선별 3종
	○ 제품 마케팅, 홍보를 위한 관련자료 확보	10	100	- 영양성분 분석, 품목제조보고 - 아로니아 가공식품 평가 및 홍보회 등 참석
	○ 제품에 부합되는 최적의 포장디자인 및 용기 선정	10	100	- 500 mL 플라스틱병 선정 - 용기라벨, 박스 디자인 완료
합 계		100	100	
2 차 년 도	○ 친수성 콜로이드 입자크기와 성질을 갖는 음료용 저항전분 개발	25	100	- 산가수분해 전분을 이용한 음료용 RS4 제조 및 특성 확인
	○ 식이섬유와 항산화활성을 증가시키는 물리화학적 처리방법 개발	20	100	- 초음파처리 효소처리한 과일·채소류의 식이섬유, 항산화활성 확인 - 분말화 조건 확립
	○ 식이섬유 증가를 위한 유산발효 기술 확립	20	100	- 유산발효 전후 과일·채소 혼합액의 식이섬유 함량 확인
	○ 난소화성 전분 첨가 식이섬유 강화 음료 개발	15	100	- 난소화성 첨가 과일·채소 분말음료 및 곡물베이스 분말음료 개발
	○ 제품 마케팅, 홍보를 위한 관련자료 확보	10	100	- 오프라인 매장 판매 및 홍보 - 2016 고창북분자와수박축제 등 참가
	○ 제품에 부합되는 최적의 포장디자인 및 용기 선정	10	100	- 200 g 플라스틱 용기 선정 - 용기라벨, 박스 디자인 완료
합 계		100		

연구개발 목표		가중치 (%)	달성도 (%)	수행내용
3 차 년 도	○ 건강기능 씨앗음료용 입자 개발 및 품질 안정성 평가	35	100	- 나노입자 저항전분 개발 및 치아씨드 안정성 평가
	○ 씨앗입자를 함유한 식이섬유 강화 음료 개발	35	100	- 복분자-치아씨드-나노입자 저항전분 음료개발 - 동물실험을 통한 나노입자 저항전분 기능성 확인
	○ 제품 마케팅, 홍보를 위한 관련자료 확보	15	100	- 오프라인 매장 판매 및 홍보 - 2016 귀농귀촌 교육과정 및 2016 삼락농정 비즈니스 모델개발 현장 교육 - 2017 복분자 축제 등 참가
	○ 제품에 부합되는 최적의 포장디자인 및 용기 선정	15	100	- 1,000 mL 플라스틱 병 선정 - 용기라벨, 박스 디자인 완료
합 계		0		

제 2 절 관련분야 기여도

- 다양한 과일·채소를 활용하여 초음파, 산처리, 효소처리와 같은 물리화학적 처리에 따른 특성결과를 제공함으로써 베리류 혼합음료 뿐만 아니라 각각의 과일 및 채소류 제품 개발에 응용 가능함
- 수입 베리류의 유입으로 근심하는 국내 베리류 농가에 다양한 제품개발을 가능하게 함으로써 농가 수익 증대를 기대할 수 있음
- 과일 및 채소류 발효에 적합한 균주를 선발하므로써 주스뿐만 아니라 다양한 과일·채소류 발효제품 개발을 가능하게 함
- 다양한 원료 전분을 이용하여 저항 전분의 개발 가능성을 확인하였고, 이들 전분 소재에 따른 저항전분의 특성 확인을 통해 다른 산업의 기초자료를 확보함
- 수용액상에 분산 안정성을 보이는 저항전분의 제조를 통해 저칼로리 기능성 음료로써 트렌드에 부합하는 제품 개발이 가능함
- 나노사이즈의 저항전분의 제조 기술을 확보하였을 뿐 아니라, 일정 수준 이상의 저항전분을 함유하고 있기 때문에 다양한 식품 소재와 의료용 소재 등으로 활용 가능할 것으로 사료됨

제 5 장 연구결과와 활용계획

코드번호	D-07
<p>제 1 절 추가연구의 필요성</p> <p>1. 베리류 종류별 적정 유산균주 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 베리류 종류별 발효특성 조사결과 베리류 종류에 따라 젖산발효양상이 다르고 나타나는 항산화활성에 차이가 발생함에 따라 베리류 종류에 따라 적정 균주가 다르다고 사료됨 ○ 베리류를 활용한 제품을 다양화하고 기능성을 극대화시키기 위해 적정 균주 탐색이 필요함 <p>2. 난소화성 전분의 혈당조절 관련 전임상 및 임상실험</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 음료용으로 개발된 난소화성전분이 동물실험 결과 다른 식이섬유 및 난소화성전분과 유사하게 담즙산 배설을 증가시켜 지질대사 개선에 유익하다는 결과를 얻었음 ○ 같은 실험에서 음료용 난소화성전분 섭취시 정상 혈당수치 범위를 유지하기는 하였으나 대조군에 비해 혈당이 약간 감소하는 경향을 보이므로 당뇨모델에서 실험을 할 경우 혈당조절 기능의 가능성이 있다고 판단됨. <p>제 2 절 타 연구에의 응용</p> <p>1. 난소화성 전분을 활용한 기능성 음료 제품 다양화</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 이 연구를 통해 난소화성의 입자크기를 감소시키므로써 음료에 분산가능하면서 기능성은 그대로 유지되는 난소화성 전분을 개발하였음. 난소화성 전분을 활용한 다양한 기능성 음료 개발이 가능함 ○ 개발한 나노사이즈의 저항 전분을 음료뿐 아니라 다이어트 식품, 운동 보조제 등의 다양한 제품화 연구가 필요함 <p>2. 난소화성 전분을 활용한 의약소재 등 산업기반 확장</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 이 연구를 통해 개발된 액상화가 가능한 난소화성 전분을 활용하므로써 다양한 제형의 향장 및 의약소재로써의 활용이 가능해짐 ○ 개발한 나노사이즈 저항전분의 제조 공정은 기존의 저항 전분 제조 공정에 비해 단순화되어 있지만 여전히 고가의 장비 활용의 필요성이 있기 때문에 산업화 과정에서 비용에 대한 부담이 있을 수 있으므로 이들 공정을 공장화 시키는 과정에서 공정을 최소화하여 경제성을 높이는 연구가 지속적으로 이루어져야함 ○ 저항전분은 수용액의 조건에 따라서 일부 용액에서는 콜로이드상으로 안정하게 분산되어 있지 못하고 가라앉는 특성을 보이고 있기 때문에 저항전분과 검류의 수용액 상에서의 상호작용 등에 대한 연구를 통해 저항전분의 분산 안정성을 높이는 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료됨 	

제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
제 1 절 물리화학적 처리 관련 정보		
<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="167 347 1445 582">○ Ma M과 Mu T(2016)에 의하면 탈지 cumin의 식이섬유에 고압과 효소처리를 한 결과 식이섬유의 입자크기를 감소시켰고, 수용성 식이섬유가 증가하였으며, 포도당을 제외한 단당류, uronic acid, 총 페놀 함량이 증가하였다고 보고하였다. 또한 고압과 효소처리에 의해 변화된 식이섬유는 수분 보유력과 팽윤력, 지방과 포도당 흡수능, α-아밀라아제 억제활성, 담즙산 억제지수가 개선되었다고 하였다. <li data-bbox="167 627 1445 772">○ Haaj SB 등(2013)은 고강도 초음파 처리방법을 사용하여 나노 전분입자를 제조하였다. 저온에서 75분간 초음파 처리를 한 결과 나노전분입자의 크기는 30~100 nm가 되었고 α-1,6 결합 부분이 분해된 것으로 제안하였다. <li data-bbox="167 817 1445 996">○ Tang ESK 등(2003)은 키토산과 나노 키토산에 초음파 처리를 하였다. 초음파의 강도와 처리 시간에 따라 키토산의 분자량이 감소하였고 나노 키토산의 평균 직경이 감소하였으며 초음파 처리를 한 나노 키토산은 저장을 하는 동안 불규칙적인 모양의 구조로 변화되었다고 보고하였다. <li data-bbox="167 1041 1445 1187">○ Lee SK와 Min HY(2006)는 포도에서 레스베라트롤을 추출하기 위해 초음파처리를 실시한 결과 기존 방식에 의한 추출보다 더 효과적으로 추출되었으며 추출 수율이 24~30% 증가하였으며 더 저온에서 추출하기 때문에 더 안전하다고 보고하였다. 		
제 2 절 생물학적 처리 관련 정보		
<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="167 1270 1445 1422">○ Nancy J 등(2001)은 혼합 유산균(<i>Lactobacillus plantarum</i>, <i>Pediococcus acidilactici</i>, <i>Leuconostoc mesenteriodes</i>)을 당근/양배추 혼합물에 접종하여 발효시킨 결과 pH는 감소되지만 초산 생성과 에탄올 생성을 억제하였다고 보고하였다. <li data-bbox="167 1467 1445 1657">○ Mausavi 등(2011)은 유산균을 석류 주스에 발효시킨 결과 <i>L. plantarum</i> 과 <i>L. delbruekii</i> 는 발효초기 pH를 급격히 증가시켰고 당소모량이 증가 하였으며 미생물의 성장이 촉진되었다고 보고하였다. 또한 석류의 주요 유기산인 구연산이 probiotic 유산균에 의해 소비되었다. <i>L. plantarum</i> 과 <i>L. delbruekii</i>는 저장 기간동안 활성이 더욱 증가되었다. <li data-bbox="167 1702 1445 1848">○ Panagou 등(2008)은 black olive에 유산균(<i>Lactobacillus pentosus</i>, <i>Lactobacillus plantarum</i>)을 배양한 결과 젖산, 초산, 프로피온산이 증가하였고, 구연산, 사과산은 발효중 분해되어 에탄올, 메탄올, 아세트 알데히드 등 휘발성 화합물을 생성하였다. 		

제 3 절 난소화성 전분 관련 정보

- 전분을 산처리하면 나노 크기 수준의 예비 전분 나노입자나 블록릿 (blocklet) 나노입자로 쪼개질 수 있으며 이들 나노사이즈 입자는 넓은 표면적과 우수한 분산 안정성을 가질 수 있음
- 아밀로스와 아밀로펙틴의 매우 긴 사슬 체인은 F1 (long-length chains, DP > 130), 아밀로펙틴에 의한 긴 체인은 F2 (medium-length chains, DP 30 - 130), 아밀로펙틴의 짧은 체인은 F3 와 F4 (short and very short length chains, DP 13 - 30)로 구분되며 (Wu et al., 2016) 이들을 분해하는 방식을 이용하여 나노 사이즈의 전분 입자 제조가 가능함.
- 산 가수분해시킨 찹옥수수 전분을 이용하여 초음파처리를 통해 나노 사이즈의 입자를 제조하는 연구와 결정화된 전분을 산 가수분해와 초음파 처리를 이용하여 나노 사이즈 입자를 제조한 연구가 진행되었음 (Kim HY et al, 2013, Kim HY et al, 2014)
- 노화시킨 옥수수 전분에 pullulanase를 처리하면 저항전분 함량이 증가하고 이는 pullulanase에 의한 탈가지화효과 때문으로 사료되며, pullulanase (40 U/g)으로 가수분해한 고구마 전분에서도 RS 함량이 증가하는 경향을 보였음 (Zhao & Lin, 2009, Reddy et al 2016).
- 가교 결합시키거나 인산화 시킨 전분은 소화 특성과 zeta potential등에 영향을 주기 때문에 수용액상에서 분산이 잘 되며 이들 전분을 균질화시키면 더욱 작은 사이즈의 전분이 제조가 능하다는 연구 보고가 있음 (Wongsagonsup R, 2005, Nikfarjam N et al., 2015, Ding Y et al., 2016)

제 7 장 연구개발결과의 보안등급

코드번호	D-09
○ 일반등급	

제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

- 해당사항 없음

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	코드번호		비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
					구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)		

제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

코드번호 D-11

제 1 절 안전조치 이행 실적

1. 베리&바이오식품연구소 안전관리 항목

항 목	적 용 범 위	시행기관	비고
연구실 정기 안전점검 (년 2회 이상)	- 연구동 및 공동가공센터	베리&바이오 식품연구소	
연구실 종사자에 대한 안전교육(매년 6시간이상)	- 모든 연구활동종사자	베리&바이오 식품연구소	
연구종사자 건강검진 (매년 실시)	- 모든 연구활동종사자	베리&바이오 식품연구소	
마약류 시약 별도 관리	- 연구실	베리&바이오 식품연구소	
클린벤치 내 실험	- 모든 실험실	베리&바이오 식품연구소	
안전장비 착용	- 실험시 마스크, 실험복, 장갑 등의 보호 장구를 반드시 착용	베리&바이오 식품연구소	

2. 전남대학교

가. 전남대학교 연구실 안전관리 추진계획도

<p>안전관리추진계획 ⇒ 1. 연구활동종사자 안전교육 2. 연구실 정기안전점검 실시 3. 연구실 정밀안전진단 실시 4. 연구실 정기안전점검 및 정밀안전진단 결과에 대한 개선 5. 연구실 안전장비 조사 및 공급(교육부 사업) 6. 연구실 안전문화 확산을 위한 사업 등</p>

나. 전남대학교 연구실 안전관리 항목

항 목	적 용 범 위	시행기관	비고
연구실 정기 안전점검 (년 1회 이상)	- 과학기술분야 모든 연구실	전남대학교	
연구실 정밀 안전진단 (2년 1회 이상)	- 유해물질 및 유해인자 취급 연구실 - 정기점검 결과 추가점검이 필요한 연구실	전남대학교	
연구실 실내 공기질 관리 (매년 실시)	- 측정 및 분석 - 유해화학물질 사용, 유해인자 보유, 정밀진단결과 4등급 연구실	전남대학교	
연구실 종사자에 대한 안전교육(매학기별 6시간이상)	- 과학기술분야 모든 연구활동종사자	전남대학교	
연구종사자 건강검진 (매년 실시)	- 과학기술분야 연구활동종사자	전남대학교	
연구활동종사자 안전공제 (매년 실시)	- 과학기술분야 연구활동종사자	전남대학교	

다. 전남대학교 연구실 안전환경관리자 현황

구 분	성 명	비 고
용봉캠퍼스	윤 찬, 이안승	
학동(화순)캠퍼스	송주현, 엄기용	
여수캠퍼스	김홍식, 염세원	

라. 연구실 정기 안전점검, 정밀안전진단

(1) 대상 연구실

- 과학기술분야 모든 연구실
- 연구개발활동에 「화학물질관리법」 제2조제7호에 따른 유해화학물질을 취급하는 연구실
- 연구개발활동에 「산업안전보건법」 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실
- 연구개발활동에 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실

※ 위험등급별로 환경안전점검을 단계별로 체계화하여 관리

※ 관리위험등급의 지정

- A등급 : 가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물, 방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실
- B 등급 : 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생실험실
- C 등급 : 이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

(2) 2017년도 안점점검 및 진단 시행 일정

구 분	안전점검 시행시기	대상 연구실	비 고
정기점검	2017. 6 ~ 8월	광주·여수·화순·학동·캠퍼스 해당 연구실	
정밀진단	2017. 9 ~ 10월	광주·여수·화순·학동·캠퍼스 해당 연구실	

마. 연구실 공기질 측정

(1) 실시 일정 및 내용

: 연구실 정기점검 및 정밀진단 실시와 함께 유해물질농도 측정관리, 환기대책수립

바. 연구실 안전교육

(1) 교육대상

- 과학기술분야 연구실에 종사하는 연구활동종사자 전원
(대학생, 대학원생, 연구원, 연구보조원, 교수, 조교 등)
- 연구실(실험·실습실)을 출입하는 자
(대학생, 대학원생, 연구원, 연구보조원, 교수, 조교 등)
(대학원을 수료한 자라도 연구실을 출입하는 경우하는 교육을 이수하여야 함)
- 희망하는 창업보육센터 업체의 직원

(2) 교육 횟수

- 매학기별 1회 6시간(6차시) 이수를 기본으로 함(총 년 2회-12시간이상)
※ 신규자는 8시간 이수

(3) 전공특성별 안전교육 실시

- 연구활동종사자의 출입 실험실 위험등급에 따라 교육과정을 A,B,C로 편성
- 전공특성별 안전교육을 실시
- 연구활동종사자의 교육만족도 향상 및 실질적 안전교육이 될 수 있도록 함

교육 과정	분류 기준	비 고
공통과정	A,B,C공통 과정 - 연구실 안전 및 안전일반과정 : 연구실안전 및 일반적 위험성, 연구실 사고예방, 연구실 사고대처, 연구실 안전보건 - 화재 및 폭발 : 화재 및 폭발, 화재로 인한 신체피해, 소방안전설비 사용요령, 화재 시 행동요령 - 유해화학물질 취급과 관리 : 물질안전보건자료	
A과정	가스, 인화성시약, 유해화학물질, 생물 및 동물의 취급, 방사성동위원소	
B과정	일반시약, 소규모 인화성시약, 불연성 가스	
C과정	화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터	

※ 집합교육으로 순회안전교육 및 실험전 안전교육 실시하며, 전남대학교 연구환경안전망 홈페이지(<http://safety.jnu.ac.kr>)를 통해 사이버 교육 상시 실시

사. 연구활동종사자 건강검진

1) 검진대상자 및 검진대상 물질

- 과학기술분야 연구실의 연구활동종사자로서 위 물질을 취급하지 않더라도 건강검진을 원하는 연구활동종사자
- 산업안전보건법에 따른 유해인자 보유 연구실(메탄올외 178종)
- 상기 물질을 취급하여 연구에 종사하는 자

- 2) 건강검진 종류
 - 일반검진
 - 유해인자별 건강검진 : 특수검진
- 3) 추진일정
 - 기관별 유해인자 취급기준 설정(2017.07)
 - **건강검진대상자 선정을 위한 조사표 작성 요청(2017.07-08)**
 - 건강검진대상자 선정을 위한 유해인자 노출정도 분석 및 평가(2017.08)
 - 건강검진대상자 선정 및 통지(2017.08)
 - 건강검진 실시기관 선정(2017.09)
 - **건강검진 실시(2017.09-10)**

아. 연구활동종사자 안전공제

- 1) 가입 대상자
 - 과학기술분야 연구실에 종사하는 연구활동종사자 전원(4대보험가입자 제외)
 - 실험·실습실을 출입하여 교육 또는 연구를 수행하는 자
(대학생, 대학원생, 연구원, 연구보조원)
- 2) 안전공제 재가입
 - 가입회사명 : 교육시설재난공제회
 - **재가입 년월일 : 2017. 11. 18.**
- 3) 보상기준 및 내용

구 분		내 용	비 고
보상기준		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 연구실에서 발생한 사고로 연구활동종사자가 부상·질병·신체장해·사망 등 생명 및 신체상의 손해발생시 보상 	
보상내용	사망	▪ 1인당 1억원 보상	
	후유장해	▪ 1억원을 한도로 후유장해등급별 정액 보상	
	부상	▪ 1천만원을 한도로 1인당 상해등급별 정액 및 실손 보상	

자. 추가 이행 계획

구 분	내 용	비 고
▪ 실험실 안전장비 구입	실험실 사고 예방을 위한 안전보호장비와 안전수칙 등 설치	
▪ 연구실험실 통합관리시스템 유지관리	실험실 점검 이력관리, 화학물질관리, 지정폐기물관리 등 통합관리	

차. 2016년 안전관리 이행실적

구 분	내 용	비 고
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 연구실 개인안전보호장비 보급 	화학물질 취급시 사용되는 개인안전보호장비 설치	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 연구실 통합관리시스템 유지관리 	실험실 점검 이력관리, 화학물질관리, 지정폐기물관리등 통합관리	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 연구실 연구활동종사자 보험가입 	과학기술분야 대학생·대학원생의 연구실 안전사고시 보험 가입	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 연구실 정밀안전진단 실시 	연구실의 화공, 가스, 전기 등 분야별로 정밀안전진단 실시	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 안전관리현황판·자료보관함 보급 	연구실 위험표시에 대한 현황자료 및 MSDS자료 보관할 수 있는 현황판(자료보관함) 보급	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 연구실 건강검진 실시 	연구실의 특수건강검진 대상인 연구활동종사자에게 건강검진 실시	

제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

구분 번호 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명 /기타	소속 기관명	역할	논문게재지 / 특허등록국 가	Impact Factor	코드번호		사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
						논문게재일 /특허등록일	D-12		
1	논문	Phsicochemical Properties and Molecular Structures of Korean Waxy Rice Starches	전남대학교	교신저자	Food Sci. Biotechnol.	2015.06.30		단독사사	SCI (1회 인용)
2	논문	Foming Rice Starch Gels by Adding Retrograded and Crss-linked Resstant Starch Prepared from Rice Starch	전남대학교	교신저자	Food Sci. Biotechnol.	2015.06.30		단독사사	SCI (5회 인용)
3	논문	초음파처리가 주스용 과일과 채소의 물리적 기능적 특성에 미치는 영향	베리&바이오식품연구소	교신저자	한국식품조리과학회지	2017.08.30		단독사사	
4	특허	식이섬유의 체내 흡수율이 향상된 과채류의 제조방법	베리&바이오식품연구소, (영베리팜)		대한민국	2016.05.31		단독사사	
5	특허	액상식품의 식이섬유 보충용 나노입자 저항전분의 제조 및 그 안정성	전남대학교		대한민국	2017.07.31		단독사사	

제 11 장 기타사항

- 해당사항 없음

제 12 장 참고문헌

코드번호	D-14
권태완, 강수기. 식품공업의 발달과 우리의 식생활. 한국 식품화학회 추계학술대회 (1993)	
농림축산식품부. 2012 과실류 가공현황 (2013)	
농림축산식품부. 2014 특용작물 생산실적 (2015)	
식품음료신문. 분석-음료시장. 2015.12	
AACCI. In Approved AACC Method. (2000) 10th ed. American Association of Cereal Chemists, Inc. St Paul, MN USA. Method 76-21.	
AOAC Official Methods of Analysis. (2000) 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, USA. Method 991. 42.	
Anderson JW, Jones AE, Riddle-Mason S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. <i>J Nutr</i> 124:78-83 (1994)	
Asp NG, van Amelsvoort JMM, Hautvast JGA. Nutritional implications of resistant starch. <i>Nutr. Res. Rev.</i> 9: 1-31 (1996)	
Chen J, Gao D, Yang L, Gao Y. Effect of microfluidization process on the functional properties of insoluble dietary fiber. <i>Food Research Intern</i> 54: 1821-1827 (2013)	
Cho YJ, Hong JY, Chun HS, Lee SK, Min HY. Ultrasonication-assisted extraction of resveratrol from grapes. <i>J Food Engineer</i> 77: 725-730 (2006)	
Chung C, Degner B & Mc Clements DJ. Rheology and microstructure of bimodal particulate dispersions: model for foods containing fat droplets and starch granules. <i>Food Research International</i> , 48: 641-649. (2012)	
Ding Y, Zheng J, Xia X, Ren T & Kan J. Preparation and characterization of resistant starch type IV nanoparticles through ultrasonication and miniemulsion cross-linking. <i>Carbohydrate polymers</i> , 141: 151-159 (2016)	
Dubois C, Armand M, Senft M, Portugal H, Parli A, Bernard P, Lafont H, Lairon D. Chronic oat bran intake alters postprandial lipemia and lipoproteins in healthy adults. <i>Am J Clin Nutr</i> 61:325-333 (1995)	
Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. <i>Anal. Chem.</i> 28: 350-356 (1956)	
Fernandez ML, Roy S, Jimenez MV. Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. <i>Nutr Res</i> 20: 837-849 (2000)	

- Folch JM, Lee M and Stanely GH. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509 (1957)
- Garcia Diez F, Garcia Mediavilla V, Bayon JE, Gonzalez Gallego J. Pectin feeding influences fecal bile acids excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. *J Nutr* 126: 1766-1771 (1996)
- Gonçalves PM, Noreña CPZ, da Silveira, NP & Brandelli A. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1): 21-27 (2014)
- Gordon DT. The importance of total dietary fiber in human nutrition and health. *Korean J Nutr* 25: 75-82 (1992)
- Granfeldt Y, Lilgeberg H, Drews A, Newman R, Bjorck I. Glucose and insulin responses to barley products: influence of food structure and amylose-amylopectin ratio. *Am J Clin Nutr* 59: 1075-1082 (1994)
- Haaj SB, Magnin A, Petrier C, Boufi S. Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. *Carbohydr polym* 92: 1625-1632 (2013)
- Haaj SB, Mabrouk AB, Thielemans W, Boufi S. A one-step miniemulsion polymerization route towards the synthesis of nanocrystal reinforced acrylic nanocomposites. *Soft Matter*, 9: 1975 - 1984 (2013)
- Hunninfhake D, Miller VT, Larosa JC, Kinosian B, Crown V, Howard WJ, Diserio FJ, O'Connor R. Hypocholesterolemic effects of a dietary fiber supplement. *Am J Clin Nutr* 59: 1050-1054 (1994)
- Jayakody L & Hoover R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. *Food Research International*, 35(7): 665-680 (2002)
- Jenkins P. X-ray and neutron scattering studies of starch granule structure. PhD thesis, University of Cambridge, UK (1994)
- Jenkins DJA, Leeds AR, Gassull MA, Wolever TMS, Goff DV, Albeit KGMM, Hockaday TDR. Unabsorbable carbohydrates and diabetes: Decreased post-prandial hyperglycemia. *Lancet* 2:172-174 (1976)

- Jenkins DJA, Wolever TMA, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Browling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff D. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr* 34: 362-366 (1981)
- Jongaroontrapangsee S, Tritrong W, Chokanaporn W, Methacanon P, Devahastin S, Chiewchan N. Effects of drying temperature and particle size on hydration properties of dietary fiber powder from lime and cabbage by-products. *Int J Food Properties* 10: 887-897 (2007)
- Kay RM, Truswell AS. Effects of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am J Clin Nutr* 30: 171-177 (1977)
- Kim HY, Han JA, Kweon DK, Park JD, Lim ST. Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. *Carbohydrate polymers*, 93(2): 582-588 (2013)
- Kim HY, Park SS & Lim ST. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 126: 607 - 620 (2015)
- Kim J, Zhang C & Shin M. Forming rice starch gels by adding retrograded and cross-linked resistant starch prepared from rice starch. *Food Science and Biotechnology*, 24(3): 835-841 (2015)
- LeCorre D, Bras J & Dufresne A. Starch nanoparticles: A review. *Biomacromolecules*, 11: 1139 - 1153 (2010)
- LeCorre D, Bras J & Dufresne A. Influence of botanic origin and amylose content on the morphology of starch nanocrystals. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(12): 7193-7208 (2011)
- LeCorre D, Bras J & Dufresne A. Influence of native starch's properties on starch nanocrystals thermal properties. *Carbohydrate Polymers*, 87: 658 - 666 (2012)
- Ma M, Mu T. Modification of deoiled cumin dietary fiber with laccase and cellulase under high hydrostatic pressure. *Carbohydr polym* 136: 87-94 (2016)
- Majzoobi M, Beparva P, Farahnaky A & Badii F. Effects of malic acid and citric acid on the functional properties of native and cross linked wheat starches. *Starch Stärke*, 66(5-6): 491-495 (2014)

- Mcintosh GH, Whyte J, Mearthur R, Nestel PJ. Barley and wheat foods: influence on plasma cholesterol concentrations in hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 53:1205-1209 (1991)
- Medcalf F, Gilles KA. Wheat starches. I. Comparison of physicochemical properties. *Cereal Chemistry*. 42(6): 558-568 (1965)
- Mrabet A, Rodriguez-Gutierrez F, Rubio-Senent F, Hamza H, Rodriguez-Arcos R, Guillen-Bejarano R, Sindic M, Jimenez-Araujo A. Enzymatic conversion of date fruit fiber concentrates into a new product enriched in antioxidant soluble fiber. *LWT-Food Sci Technol* 75: 727-734 (2017)
- Mutungi C, Rost F, Onyango C, Jaros D & Rohm H. Crystallinity, thermal and morphological characteristics of resistant starch type III produced by hydrothermal treatment of debranched cassava starch. *Starch Stärke*, 61(11), 634-645 (2009)
- Mun SH, Shin MS. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chem*. 96(1): 115-121. (2006).
- National Vital Statistics Reports. Deaths: Final Data for 2007. *Nat. Vital Stat. Rep.* 58: 1-136 (2010)
- Nishina PM, Schneeman BO, Freedland RA. 1991. Effects of dietary fibers on nonfasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats. *J Nutr* 121: 431-437 (1991)
- Park YS, Chung MS. Cholesterol-lowering effect of pine nut in plasma of rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37: 702-708 (2005)
- Peerajit P, Chiewchan N, Devahastin S, Effects of pretreatment methods on health-related functional properties of high dietary fibre powder from lime residues. *Food Chemistry*, 132: 1891-1898 (2012)
- Puchongkavarin H, Bergthaller W, Shobsngob S & Varavinit, S. Characterization and utilization of acid modified rice starches for use in pharmaceutical tablet compression. *Starch Stärke*, 55(10): 464-475 (2003)
- Ren L, Jiang M, Wang L, Zhou J & Tong J. A method for improving dispersion of starch nanocrystals in water through crosslinking modification with sodium hexametaphosphate. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1874-1876 (2012)
- Robertson JA, Monredon FD, Dysseler P, Guillon F, Amado R, Thibault J-F, Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT*, 33: 72-79 (2000)

- Robin T, Macia P, Charbonniere R, Guilbot A. Lintnerized starches gel filtration and enzymatic studies of insoluble residue from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chemistry*. 51: 389-406 (1974)
- Sandhu KS, Singh N & Lim ST. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. *LWT-Food Science and Technology*, 40(9): 1527-1536 (2007)
- Shujun W, Jinglin Y, Wenyuan G, Jiping P, Hongyan L & Jiugao Y. Granule structural changes in native Chinese Yam (*Dioscorea opposita Thunb var. Anguo*) starch during acid hydrolysis. *Carbohydrate polymers*, 69(2): 286-292 (2007)
- Singh J, Dartois A & Kaur L. Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 168-180 (2010)
- Song JY, Park JH & Shin M. The effects of annealing and acid hydrolysis on resistant starch level and the properties of cross linked RS4 rice starch. *Starch Stärke*, 63(3): 147-153 (2011)
- Stroy JA. Dietary fiber and lipid metabolism. Medical aspects of dietary fiber. *Plenum Press New York* 137 (1980)
- Tang ESK, Huang M, Lim LY. Ultrasonication of chitosan and chitosan nanoparticles. *Int J Pharm* 265: 103-114 (2003)
- Thirathumthavorn D & Charoenrein S. Thermal and pasting properties of acid treated rice Starches. *Starch Stärke*, 57(5): 217-222 (2005)
- Torsdittir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg AS, Tolli J. A small dose of soluble alginate fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr* 121: 795-781 (1991)
- Trowell HC. Definition of dietary fiber and hypothesis that it is a protective factor in certain diseases. *Am J Clin Nutr* 29: 417-427 (1986)

- Vince AJ, McNeil NI, Wager JD, Wrong OM. The effect of lactulose, pectin, arabinogalactan and cellulose on the production of organic acids and metabolism of ammonia by intestinal bacteria in a faecal incubation system. *Br J Nutr* 63: 17-26 (1990)
- Wang S & Copeland L. Effect of acid hydrolysis on starch structure and functionality: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(8): 1081-1097 (2015)
- Wang L & Wang YJ. Structures and physicochemical properties of acid thinned corn, potato and rice starches. *Starch Stärke*, 53(11): 570-576 (2001)
- Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clinical Gastroenterology* 40: 235-243 (2006)
- Wongsagonsup R, Shobsngob S, Oonkhanond B & Varavinit S. Zeta potential (ζ) and pasting properties of phosphorylated or crosslinked rice starches. *Starch Stärke*, 57(1): 32-37 (2005)
- Zheng GH, Han HL, & Bhatti RS. Functional properties of cross-linked and hydroxypropylated waxy hull-less barley starches. *Cereal Chemistry*, 76: 182-188 (1999)
- Zhu F-M, Du B, Li J. Effect of ultrafine grinding on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from wine grape pomace. *Food Sci Technol Int* 20(1): 55-62 (2012)
- Zhu F, Du B, Li R, Li J, Effects of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from buckwheat hulls, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(3): 30-34 (2014)