

11-15430
00-00247
7-01

발간등록번호
11-1543000-002477-01

저포화지방 가공식품
개발 및 제품화
고체지방대체재 식물성
올레오젤 개발 및 제품화
최종보고서

2018

농림축산식품부

고부가가치식품기술개발 R&D Report

저포화지방 가공식품 제품개발을 위한 고체지방대체재 식물성 올레오젤 개발 및 제품화 최종보고서

2018. 12. 6.

주관연구기관 / (주)KTS푸드
협동연구기관 / 세종대학교 산학협력단
협동연구기관 / 성균관대학교 산학협력단

농림축산식품부

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “저포화지방 가공식품 제품개발을 위한 고체지방대체제 식물성 올레오젤 개발 및 제품화”(개발기간 : 2015. 10. 23 ~ 2018. 10. 22)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 12. 6.

주관연구기관명 : ㈜KTS푸드

(대표자) 이 종 길 (인)

협동연구기관명 : 세종대학교 산학협력단

(대표자) 백 성 욱 (인)

협동연구기관명 : 성균관대학교 산학협력단 (대표자) 유 지 범 (인)

주관연구책임자 : 이 종 길

협동연구책임자 : 박 성 권, 이 재 환 (위탁) 이 수 용

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	115003-3	해 당 단 계 연구 기 간	2015. 10. 23 ~ 2018. 10. 22 (36개월)	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구 사업 명	단 위 사 업	고부가가치식품기술개발			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	저포화지방 가공식품 제품개발을 위한 고체지방대체제 식물성 올레오젤 개발 및 제품화			
연구 책임자	이종길	해당단계 참여연구원 수	총: 14 명 내부: 0 명 외부: 14 명	해당단계 연구개발비	정부:180,000천원 민간: 60,000천원 계:240,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 20 명 내부: 0 명 외부: 20 명	총 연구개발비	정부:540,000천원 민간:180,000천원 계:720,000천원
연구기관명 및 소속부서명	세종대학교 산학협력단 성균관대학교 산학협력단			참여기업명 (주)KTS푸드	
국제공동연구	상대국명: 해당없음			상대국 연구기관명: 해당없음	
위탁연구	연구기관명: 세종대학교 산학협력단			연구책임자: 이수용	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	일반
-------------------------	----

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

식물성 액체 유지를 물리적으로 고체화한 올레오젤(oleogel)을 고체지방 대체제로서 활용하여 가공 식품의 포화지방을 저감화하고 그 건강 기능 특성을 규명함으로써 차별화된 새로운 식품 가공 기술 영역을 개척함. 특히, 다양한 올레오젤에 대한 다각적 특성을 분석하여 올레오젤과 우지와의 유사성을 확립하였고, 이를 토대로 포화지방이 저감화된 혼합가공육을 제조함. 아ული, 베이커리 제품에 고체 지방 대체소재로 올레오젤을 적용하여 포화/불포화 지방 비율을 현격히 감소시킴. 아ული, *in vitro* 및 *in vivo* 모델을 구축하여 올레오젤에 대한 생리활성도를 분석하고, 세포 독성 및 동물급여시험을 통해 올레오젤의 안전성을 확인하고, 올레오젤이 설치류의 지방 감소와 함께 심혈관계 질환의 예방에도 효과가 있는 것을 확인함. 또한, 왁스타입에 따른 올레오젤의 물리적 특성 변화 및 산화안정성을 확인하였는데 특히, 올레오젤 및 우지 매트릭스에서 천연 항산화제 중 세사몰(sesamol)과 녹차추출물의 높은 산화안정성을 밝혀냄. 이러한 연구 결과를 토대로 특허 3건 출원, 1건 등록, 기술이전 1건, 제품화 1건, 고용창출 2건, 논문 7편, 국내·외 학술발표 11건, 인력양성 8건의 성과를 이루어냄.

보고서 면수
149

<국문 요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><연구목적></p> <ul style="list-style-type: none"> - 본 연구는 기존의 화학적/효소적 방법과는 차별화된 유기젤화 공법을 통하여 액체 상태의 식물성 유지를 물리적으로 고체 조직화할 수 있는 공정을 확립하고, 불포화지방을 다량 함유한 식물성 올레오젤(oleogel)을 고체지방 대체제로서 접목하고자 함. 이를 통하여 저포화지방(low saturated fat), 고불포화지방(high unsaturated fat) 가공 식품을 제조하고 그 건강 기능 특성을 규명함으로써 차별화된 새로운 제품을 개발하고자 함. <p><연구내용></p> <p>[1년차]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 올레오젤의 가공 적성 평가를 통한 식품 응용성을 검증하고, 다양한 식물성 유지에 올레오젤을 적용하여 그 생리활성을 구명하기 위한 모델을 개발하며, 올레오젤의 열산화 안정성 측정법 확립 및 천연 산화방지제 cocktail 조성을 탐색함. <p>[2년차]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 올레오젤의 동물성 유지 대체를 통하여 포화지방이 저감화된 혼합가공육에서의 가공 응용성을 평가하고, <i>in vitro</i> 독성 평가 및 건강 기능성을 탐색하며, 올레오젤 광산화안정성 측정법 확립 및 천연 산화방지제 cocktail 조성을 확립함. <p>[3년차]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 올레오젤의 쇼트닝 대체를 통하여 포화지방이 저감화된 베이커리 제품에서의 가공 응용성을 평가하고, 저포화·고불포화 지방 올레오젤 가공식품의 <i>in vivo</i> 건강 기능성을 검증하며, 올레오젤 함유 식품의 산화안정성 평가 및 천연산화방지제 cocktail 활용 저장성 증대 기술을 개발함.
<p>연구개발성과</p>	<p>[제1세부]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 온도 따른 용해 특성을 물성학적, solid fat content 접근법을 통하여 분석한 결과 Beeswax 올레오젤이 동물성 유지와 비슷한 특성을 보이는 것을 확인하였고, 주입 시 질량속도 분석을 통하여 Bees, Candelilla, Carnauba wax 올레오젤 순으로 흐름 특성이 좋을 것을 확인함. - 올레오젤 및 조미액의 배합비를 결정하고, 올레오젤 주입을 통한 스테이크용 혼합가공육 시제품을 제조하여 이에 따른 원가 산정을 통한 경제성을 분석함. 제조된 올레오젤 혼합가공육의 조지방을 Soxhlet 방법을 사용하여 추출하였고, Gas chromatography를 통한 지방산 분석 및 동물성 유지 제품과의 비교 분석을 진행

함.

- 올레오젤을 적용하여 쿠키 제조 시 퍼짐성에 긍정적인 결과를 보였으며, 케이크에서는 올레오젤 반죽의 점도가 높을수록 높은 부품성을 보임. Soxhlet 방법을 사용하여 쿠키로부터 지방을 추출 후, Gas chromatography를 통한 지방산 분석시 포화지방이 저감된 것을 확인함.

[제1세부-위탁]

- 다양한 천연 gelator를 활용하여 올레오젤의 젤화 능력을 평가한 결과 Candelilla wax 사용 시 가장 firmness 값이 크게 관찰되었으며, Arrhenius 모델식에 적용 시 Beeswax 올레오젤이 온도에 따른 점도 민감도가 낮은 것을 확인함. 아울러, 온도에 따른 점탄성 및 DSC를 활용한 열적 특성을 분석하여 올레오젤의 가공적성을 분석함.

- 혼합가공육에 식물성 올레오젤의 가공 응용성을 평가하기 위해 냉동 저장동안의 혼합가공육의 냉동 패턴을 분석하였고, 냉동 저장 기간 및 3가지의 다른 해동방법에 따른 드립현상과 색 분석을 진행함. 또한 조리 시간 및 온도에 따른 혼합가공육의 텍스처 분석을 Texture profile analysis 및 Cutting test를 통하여 진행함.

- 베이커리 제품(머핀)에 올레오젤을 적용하여 기존 고체지방(쇼트닝) 대비 최대 85%의 포화지방을 저감화하였고, 품질 저하없이 25%의 고체지방 대체가능성을 확인함.

[제1협동]

- 올레오젤 적용을 위한 *in vitro* 검증모델을 구축하고 다양한 식물유지에 대한 생리활성도를 분석하고, 선발된 식물유지에 대한 건강기능성을 *in vitro*와 *in vivo* 모델에서 검증한 결과, 올레오젤은 세포와 랫드에 독성을 보이지 않았으며 올레오젤처리 세포 및 랫드에서 지방이 감소하는 효과와 함께 심혈관계질환예방에 효과가 있는 것으로 나타나, 올레오젤이 지방대체제로써의 역할 가능성과 더불어 성인병예방에 대한 건강기능적 특성을 구명하였음.

[제2협동]

- 왁스타입에 따른 올레오젤의 물리적 특성 변화 및 산화안정성을 확인함. 식품산업에서 주로 사용되는 천연 항산화제 중 세사몰이 40 ppm의 소량으로도 올레오젤에 가장 높은 항산화방지능을 보임. Metal chelator는 산화안정성이 낮음. 우지 매트릭스의 경우 고온과 저온, UV 조사에 의한 산화 스트레스에서 세사몰의 산화

	<p>안정성이 우수하였음. 세사물은 올레오젤의 산화안정성을 다양한 matrix 및 산화스트레스에서 우수한 산화안정력을 나타냄. 천연 추출물 중 녹차추출물도 올레오젤에서 산화안정성을 나타냄.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 본 연구개발을 통하여 특허출원 3건, 특허등록 1건, 기술이전 1건, 제품화 1건, 고용창출 2건, SCI논문 6건, 비SCI논문 1건, 국내·외 학술발표 11건, 연구인력양성 8건의 정량적 성과를 달성함. 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 동물성 지방 대체 원료로서 식물성 올레오젤 소재의 상품화 - 포화지방 함량이 감소하고 불포화 지방이 증가된 혼합가공육 및 베이커리 제품 개발 - 올레오젤을 다양한 육가공 제품 (소시지, 패티, 등)으로 확대하여 차별화된 틈새시장 개척 - 올레오젤을 함유한 식품 매트릭스 맞춤형 항산화제 개발로 제품의 저장 안정성 확대 - 올레오젤(oleogel) 기술 개발로 식품가공기술의 다각화 및 관련 분야의 학문적 발전에 기여 - 올레오젤(oleogel) 제조 공정연구를 통하여 전통적 스낵, 베이커리 기술의 과학적 접목을 통한 학문적 위치 선점 - 국내외 식품 시장의 개방에 따른 새로운 식품 기술 접목을 통한 국가 식품산업 경쟁력 확보 - 새로운 가공 식품 개발에 대한 기술 이전 및 상용화로 고용창출 효과 기대 - 포화지방 함량이 감소된 건강 기능성 제품 생산을 통한 국민 건강 증진에 기여와 의료비 절감 효과 - 고불포화지방 함유 올레오젤의 산화안정성 증대를 위해 세사물을 활용함으로써 올레오젤의 산업적 가치 증대 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>올레오젤</p>	<p>포화지방 저감화</p>	<p>가공적성</p>	<p>건강 기능성</p>	<p>산화방지제 각테일</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Oleogel</p>	<p>Saturated fat reduction</p>	<p>Processing performance</p>	<p>Health-functionality</p>	<p>Antioxidant cocktail</p>

<영문 요약문>

<p>Purpose& contents</p>	<p><Research purpose></p> <p>- The purposes of this study were to establish the process to physically solidify vegetable oils into oleogels with solid properties through organic gelation method and to utilize them as a solid fat replacer.</p> <p>Consequently, this study intended to develop novel processed foods with low saturated fat/high unsaturated fat by elucidating their health functional characteristics.</p> <p><Research contents></p> <p>[1st year]</p> <p>- Verification of food applications through processability evaluation of oleogels, establishment of model systems for elucidating health functionalities of the oleogels structured with diverse vegetable oils, and establishment of experimental methods for the thermal oxidative stability of oleogel and exploration of the cocktail composition with natural antioxidant</p> <p>[2nd year]</p> <p>- Evaluation of oleogel processability in processed meat through the replacement of animal fat (beef tallow), evaluation of <i>in vitro</i> toxicity and health functionalities, and establishment of experimental methods fore the photo oxidative stability of oleogels and exploration of the cocktail composition with natural antioxidant</p> <p>[3rd year]</p> <p>- Processability evaluation of oleogel in baked goods by shortening replacement, <i>n vivo</i> verification of health functionality of oleogel foods, and oxidative stability evaluation of foods with oleogels and development of storage stability by natural antioxidant cocktail</p>
<p>Result</p>	<p>[1st Principal Investigator]</p> <p>- Based on the melting properties of oleogels in terms of rheology and solid fat content beeswax oleogel showed the similar melting characteristics to beef tallow. Also, beeswax oleogel exhibited better flow behavior, followed by candelilla and carnauba wax oleogels.</p> <p>- The formulation of oleogel-based sauce was determined and</p>

the meat prototype for steak with oleogel was produced and its economic feasibility was estimated. The crude fat and fatty acid compositions of the meat products were evaluated by Soxhlet and Gas chromatographic methods, respectively..

- Oleogel-incorporated cookies exhibited desirable qualities such as improved spreadability. In the case of cakes, the thicker the viscosity of oleogel was, the higher volume was observed. In addition, the analysis of fatty acid composition showed reduced saturated fat contents of the oleogel cookies.

[Consignment]

- Gelling properties of various natural gelators were investigated. Candelilla wax oleogel showed the highest firmness and beeswax oleogel had less sensitive viscosity to the temperature change from the Arrhenius model. In addition, the processability of oleogels was evaluated in terms of viscoelasticity and thermal property (DSC).

- As a way to evaluate the processability of oleogel in meat products, their freezing patterns, drip loss, and color change were measured depending on 3 different thawing methods. In addition, the texture properties of the meat products were also investigated depending on cooking time and temperature by texture profile analysis and cutting test.

- Baked goods (muffin) with oleogel showed the reduced saturated fat up to 85%, compared to that with shortening, and the shortening replacement with oleogels at up to 25% did not negatively affect their quality attributes.

[1st Collaborator]

- To apply 'oleogel' in food, *in vitro* system was first established and various plant oils were analyzed for their toxicity and health functionalities. Selected plant oils then tested both *in vitro* and *in vivo* and results from these studies demonstrated that oleogel can be used as fat substitutes with health functionality showing that administration of oleogel decreased fat accumulation and was effective in preventing cardiovascular diseases as well as reducing fat contents both in cells and rats without toxicity.

[2nd Collaborator]

	<p>- Physical properties and oxidative stability were determined in oleogels based on the types of waxes. Sesamol, which is one of natural antioxidants used in food industry, showed strong antioxidant capacities in oleogels as small as 40 ppm concentration. Metal chelator showed low antioxidant capacities in oleogel. Sesamol provided high antioxidant power in beef tallow matrix at high or low temperature treatment and UV irradiation stresses. Overall, sesamol helped to enhance oxidative stability in oleogel irrespective of matrix and oxidative stress. In addition, green tee extracts had better antioxidant activity than other natural extracts to oxidative stressors in ologels.</p>				
<p>Expected contribution</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Industrial commercialization of oleogel as animal fat replacer - Development of baked and meat products with low saturated and high unsaturated fat - Application of oleogels to a variety of meat processed products (sausages, patties, etc.) to pioneer a niche market - Enhancement of storage ability of oleogel-products through development of customized antioxidants - Diversification of food processing technology and scientific contribution to related academia - Academic positioning of oleogel science by their applications into conventional snack and bakery technology - Enhancement of global competitiveness of food industry through new oleogel technology - Transfer and commercialization of new food processing technology - Contribution to national public health and reduction of medical expenses through production of health functional products with reduced saturated fat content - Increases of industrial values of oleogels with sesamol to increase their oxidation stability 				
<p>Keywords</p>	<p>Oleogel</p>	<p>Saturated fat reduction</p>	<p>Processing performance</p>	<p>Health-functionality</p>	<p>Antioxidant cocktail</p>

< **CONTENTS** >

Chapter 1. Research Overview	1
Section 1. Purpose of Research	1
Section 2. Necessity of Research	2
Section 3. Domestic and International Technology Status	7
Section 4. Research Scope	9
Chapter 2. Contents and Results	13
Section 1. Research Contents	13
Section 2. Research Strategy and Method	16
Section 3. Overall Research Structure	17
Section 4. Research Timeline	25
Section 5. Results	27
Section 6. Research Achievements	130
1. Industrial Index	130
2. Research Index	135
Section 7. Discussion	139
Chapter 3. Goal Achievements and Contributions	141
Section 1. Objectives	141
Section 2. Objectives Completeness	141
Section 3. Reasons and Follow-up Actions for Goal Incompleteness	143
Chapter 4. Research Utilization Plans	144
Section 1. Range and Plan of Utilization	144
Section 2. Industrial Plan and Technology Transfer	144
Section 3. Further Research and Application	145
Chapter 5. References	146

<본문목차>

< 목 차 >

제 1 장 연구개발과제의 개요	1
제1절 연구개발 목적	1
제2절 연구개발의 필요성	2
제3절 연구개발대상 기술의 국내·외 현황	7
제4절 연구개발 범위	9
제 2 장 연구수행 내용 및 결과	13
제1절 연구개발 내용	13
제2절 연구개발 추진전략 및 방법	16
제3절 연구개발 추진 체계	17
제4절 연구개발 추진 일정	25
제5절 연구개발 결과	27
제6절 연구개발 성과	130
1. 사업화 지표	130
2. 연구기반 지표	135
제7절 세부과제별 결과 고찰	139
제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	141
제1절 목표	141
제2절 목표 달성여부	141
제3절 목표 미달성 시 원인 및 차후대책	143
제 4 장 연구결과의 활용 계획 등	144
제1절 활용분야 및 활용 방안	144
제2절 기업화 추진방안 및 기술이전	144
제3절 추가 연구의 필요성 및 타 연구에의 응용	145
제 5 장 참고 문헌	146

<뒷면지>

주 의

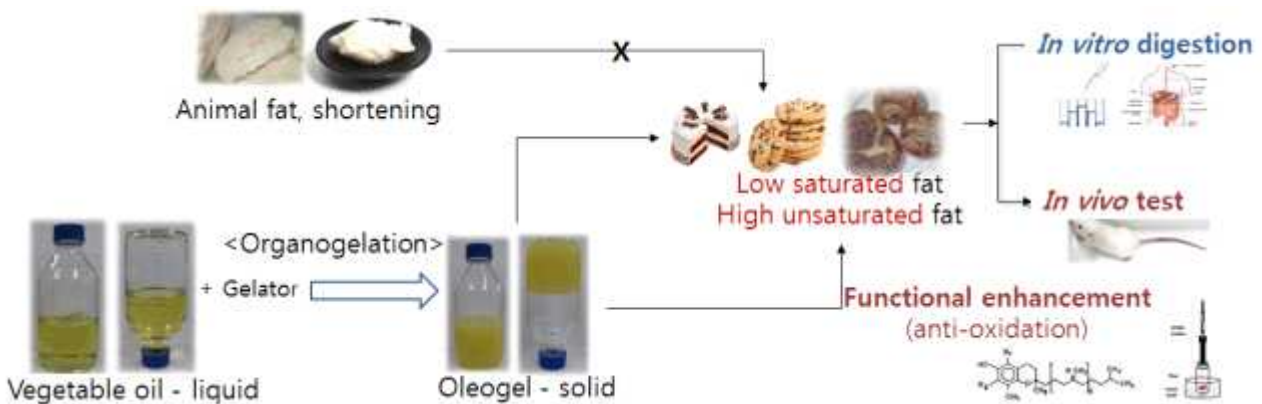
1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발 사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발 목적

◦ 연구개발 최종 목표

· 기존의 화학적/효소적 방법과는 차별화된 유기젤화 공법을 통하여 액체 상태의 식물성 유지를 물리적으로 고체 조직화할 수 있는 공정을 확립하고, 불포화지방을 다량 함유한 식물성 올레오젤(oleogel)을 고체지방 대체제로서 접목하고자 함. 이를 통하여 저포화지방(low saturated fat), 고불포화지방(high unsaturated fat) 가공 식품을 제조하고 그 건강 기능 특성을 규명함으로써 차별화된 새로운 제품을 개발하고자 함.



[세부목표]

[1년차]

- 고체지방 대체를 위한 올레오젤 주입 공정 확립 및 식물성 올레오젤의 가공 적성 평가
- 올레오젤 적용을 위한 다양한 식품성 유지 탐색 및 생리활성모델 개발
- 올레오젤 열산화안정성 측정법 확립 및 천연 산화방지제 cocktail 조성 탐색

[2년차]

- 올레오젤의 동물성 유지 대체를 통한 혼합가공육의 포화지방 저감화 및 가공 응용성 평가
- 올레오젤의 *in vitro* 독성 평가 및 건강 기능성 탐색
- 올레오젤 광산화안정성 측정법 확립 및 천연 산화방지제 cocktail 조성 확립

[3년차]

- 올레오젤의 쇼트닝 대체를 통한 베이커리제품의 포화지방 저감화 및 가공 응용성 평가
- 저포화·고불포화 지방 올레오젤 가공식품의 *in vivo* 건강 기능성 검증을 위한 혈중콜레스테롤 함량 분석 및 real-time PCR을 이용하여 심혈관질환관련 유전자인 paraoxonases와 receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B ligand (RANKL) 발현 분석
- 올레오젤 함유 식품의 산화안정성 평가 및 천연산화방지제 cocktail 활용 저장성 증대

제2절 연구개발의 필요성

◦ 급격한 지방섭취 증가로 인한 비만 인구의 증가

- 급속한 경제성장과 서구화된 식습관으로 인하여 육류 및 고지방 음식의 소비가 증가하면서 우리나라 국민의 지방섭취량이 급격히 증가함. 이러한 과도한 지방 섭취는 심혈관계 질환 및 만성 퇴행성 질환 등 각종 성인병질환의 주요 원인이 되고 있음. 최근 보건복지부의 통계에 따르면 우리나라 전체 인구의 29.7%가 비만 인구이고, 이 비만으로 인해 지출된 사회경제적 비용은 무려 연간 1조 8천억 원에 이르고 있음.

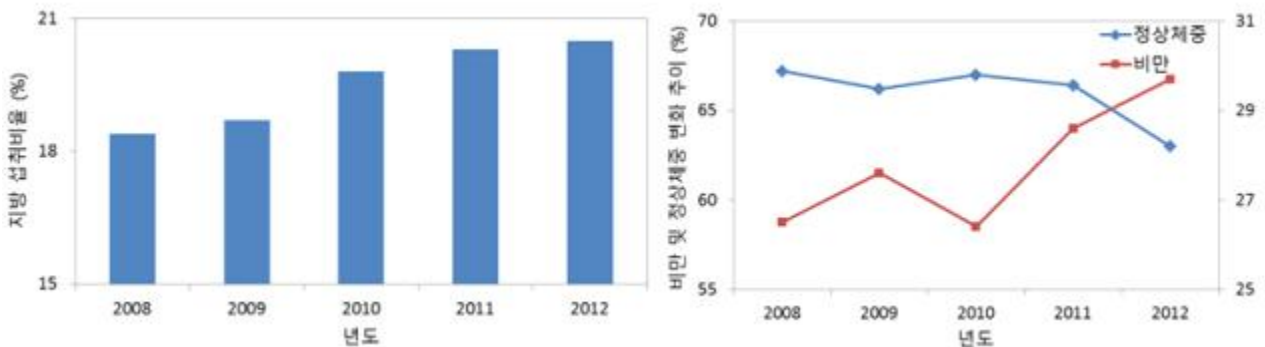


그림 1. 지방 섭취비율 증가추이 및 비만 변화추이 (국민건강통계 2012)

◦ 포화지방 저감화에 대한 국내의 정책 강화

- 불포화 지방에 비하여 포화지방의 경우 과도한 섭취시 LDL 콜레스테롤을 증가시켜 심혈관 질환의 위험성을 높인다고 알려져있어 포화지방의 섭취를 낮추기 위한 노력이 진행되고 있음.

	포화 지방 (Saturated fat)	불포화 지방 (Unsaturated fat)
화학적 구조	단일 결합으로 구성	이중 결합으로 구성
상온에서의 상태	고체	액체
건강에 미치는 영향	과도한 섭취 시 LDL 콜레스테롤을 증가시켜 심혈관 질환 위험성을 높임	HDL 콜레스테롤을 증가시킴
함유 식품	버터, 코코넛 오일, 고기, 마가린, 냉동 디저트 등	대두유, 카놀라유, 올리브유, 생선유 등
산패도	낮음	높음

표 1. 포화 지방 및 불포화 지방의 비교

- 이에 따라 포화지방의 과도한 섭취에 대한 국내외적 관심이 매우 높아지고 있는 가운데, 세계 보건 기구 (WHO)는 총 지방 섭취가 전체 칼로리에서 30%, 포화지방인 경우 10%를 넘지 않도록 권고하고 있음.

- 최근 2015년 2월 미국 최고 영양관련 자분기구 최고 영양관련 자분기구 DGAC (Dietary Guidelines Advisory Committee)에서는 새로운 영양규제 권고안을 발표했는데, 이 중 포화지방에 대해서는 하루 총 칼로리 섭취량의 약 8% 이하가 되어야 한다고 권고하여 10%인 현행 식사 지

침에 비하여 강화된 입장을 표명함.

- 국내에서도 2007년 12월부터 영양성분 표시가 강화되어 총지방, 트랜스지방 및 포화지방 함량을 의무적으로 표시해야 함.
- 아울러, 식품의약품안전처장이 정한 기준보다 열량이 높고 영양가가 낮은 식품으로서 비만이나 영양불균형을 초래할 우려가 있는 어린이 기호식품을 고열량·저영양 식품으로 판별하고 있는데, 포화지방에 대해서는 1회 제공량당 4g 이상이라는 기준을 가지고 있음.

	열량	포화지방	당류	단백질
기준	250kcal 이상	4g 이상	17g 이상	2g 미만

표 2. 식품의약품안전처 어린이 기호식품 고열량·저영양 판별 기준

◦ 불포화 지방 고함유 식물성 유지의 가공 적성 및 안정성 문제

- 포화지방의 함량을 줄이기 위하여 포화지방을 적게 함유하고 불포화 지방을 다량 함유한 식물성 유지가 식품 산업에서 많이 사용되기 시작하고 있음.
- 하지만, 식물성 유지는 몸에 좋은 다량의 불포화지방을 함유하고 있지만, 액체 상태의 좋지 않은 가공적성으로 인하여 반죽 형성 및 성형 등의 가공조작이 매우 어렵기 때문에 튀김유, 샐러드유 등에 제한적으로 이용 될 뿐 스낵 및 베이커리 등의 가공식품에는 적합하지 않음.
- 또한, 저장 중 산패 문제점을 내포하고 있어 긴 시간의 유통기간이 요구되는 가공 식품에서는 저장 안정성 문제가 대두되고 있어, 이를 억제하기 위한 산패 억제제 사용 및 특수 포장 비용 등의 추가적 노력이 필요함.

◦ 포화 지방 고함유 고체 지방의 대체 필요성

- 이에 반해, 쇼트닝, 버터 등의 고체 지방에 경우 고체 상태에서 기인한 가공 편이성, 저장 안정성, 바삭하고 부드러운 식감 부여 등 탁월한 가공 적성을 가지고 있음. 따라서, 포화지방 및 트랜스지방에서 기인한 건강상의 문제점을 내포하고 있음에도 불구하고 스낵 및 베이커리 제품에 폭넓게 사용되고 있음.
- 특히, 경화유 또는 포화지방 함량이 높은 팜유 등이 가공 식품 제조에 널리 사용되고 있어 대부분의 가공 식품은 다량의 포화지방을 함유하고 있음.
- 아래 표에서 보여주는 바와 같이 현재 시판되고 있는 많은 가공식품들의 경우 하루 포화지방 섭취 제한량 15g의 30 - 40%에 이르는 다량의 포화지방을 함유하고 있음. 심지어, 하루 포화지방 섭취 제한량을 초과하는 제품도 시판되고 있음.

	타르트 (T 사,90g)	파베기도 넛 (P 사,58g)	G 초콜릿 (L 사,30g)	크림빵 (S 사,75g)	크루아상 (T 사,50g)	초코파이 (O 사,35g)	A 크래커 (H 사,28g)
1회 제공량당 포화지방 함량(g)	16.7g	6.4g	5.9g	5.9g	5.8g	5g	4.6g

표3. 시판 가공 식품의 포화지방 함량

◦ Oleogel을 활용한 포화지방 고함유 고체 지방의 대체

- 포화지방 함량이 높을수록 고체 상태에서 기인한 우수한 가공 적성을 가지고 있지만, 건강에는 좋지 않은 영향을 미침. 이와는 반대로 불포화 지방 함량이 높을수록 액체 상태이기 때문에 가공 적성은 나쁘지만, 건강상 좋은 이점을 가짐. 따라서, 포화 지방함량을 줄이고, 불포화 지방 함량을 높이면서 가공적성이 우수한 지방 소재의 개발은 식품 산업에서 난제 중 하나임.
- 따라서, 가공 적성과 건강상 이점 (불포화 함량 등) 두 가지 기준에 대하여 적절한 타협점을 찾는 수준에서 수소화 반응, 에스테르 교환 반응 등의 식물성 유지 고체화 방법이 현재 이용되고 있음.
- Gel은 고정화되는 요소에 따라 크게 두 가지로 나뉘는데, 고정화되는 것이 물이면 hydrogel 이라고 하며 전분젤, 젤라틴젤 등 식품에서는 흔히 볼 수가 있음. 반면에, 고정화되는 물질이 유지와 같이 hydrophobic한 특성을 보유할 때 올레오젤(oleogel)이라고함.
- 본 연구에서 개발하고자 하는 올레오젤(oleogel)은 유지를 젤(gel)화 시킬 수 있는 gelator를 활용하여 화학적 조성의 변화 없이 solid particle 또는 self assembly 기작을 통하여 물리적으로 유지의 상태를 액체에서 고체로 전회시켜주는 기술임.

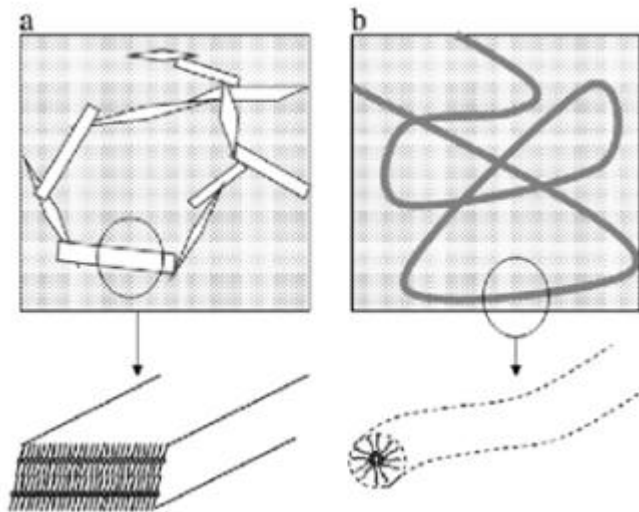


그림 2. (a) solid particle 및 (b) self assembly 기작을 통한 유지의 고체화



그림 3. Gelator를 활용한 식용유지의 고체 조직화

- 따라서, 식물성 유지의 화학적 조성 변화 없이 물리적으로 상변화를 시켜줌에 따라 불포화지방을 다량 함유함과 동시에 고체상태에서 기인한 우수한 가공적성을 부여 할 수 있음.
- Nactory는 Natural과 Factory의 합성어로 천연 공정을 뜻하는 말로, 최근에 웰빙 (well-being)

열풍과 함께 천연공정이 여러 산업의 키워드로 떠오름. 따라서 화학원료를 사용하거나 화학 생성물을 발생시키는 공정을 줄이거나 제거하여 친환경적이고, 친인간적인 Green processing의 개념에서 식품을 가공, 생산하는 시도가 많은 주목을 받고 있고 식품 산업에서도 예외가 아님. 따라서, 화학적반응이 아닌 물리적반응을 통하여 제조되는 올레오젤(oleogel)은 제품의 안전성을 확보하여 소비자 중심의 식품 생산을 가능하게 함으로써 다면적인 공익기능으로 장기적인 생산성과 수익성을 확보 할 수 있음.

→ 그러므로, 올레오젤(oleogel)을 활용하여 가공 식품의 품질 손실 없이 고체 지방을 100% 대체 함으로써 가공 식품의 포화지방을 저감화하여 국민의 건강을 증진시키고, 국가적 차원의 식품 섭취 정책 방안을 수립하는데 기여할 수 있을 것임.

◦ Oleogel 산화 안정성 개선

- 지방산화는 지방과 산소와의 결합으로 유지를 함유한 모든 바이오 소재의 유용성과 안전성에 관여하는 화학 반응임. 지방산화 속도를 조절하기 위해 고안된 많은 방법들 예를 들어 지용성 및 수용성 항산화제 첨가, 금속이온 제거, 산소 제거 및 저온저장 등 역시 위 사실에 기초하여 개발되고 활용되어 옴.

- 아직도 지방산화 및 산화방지제의 메카니즘에 대해 이해되지 못한 현상이 남아 있음. 특히 지질의 물리적 matrix에 따라 항산화제 효율이 상이하고 여러 항산화제가 동시에 존재하는 경우, synergistic, additive, antagonistic한 항산화능을 보이는 등 기존의 이론으로는 현상을 만족스럽게 설명 하지 못하고 있음.

- 산화방지제의 극성도에 따라 유지 산화를 억제하는 효능은 일반 상식과는 반대로 진행되는 경우가 관찰되면서 이를 설명하는 ‘antioxidant polar paradox’ 이론이 제시됨. ‘Antioxidant polar paradox’란 수분이 많은 조건에서는 지용성산화방지제가 유지산패를 억제하는 데 더 효율적이고 수분이 적은 조건에서는 수용성 산화방지제의 항산화효율이 높은 현상을 지칭함.

- 최근 수분이 지방산화의 직접적인 substrate로 작용 가능하며 지방산화의 속도가 유지 내 수분 함량 변화와 밀접한 관련이 있음을 보고되었음. 또한 항산화제의 효능이 최적화 되려면 bulk oil 계에서 적절한 수분함량이 존재해야 하고 유지의 산화안정성 역시 수분함량 조절과 다양한 산화방지제의 cocktail 조합이 필요하다고 보고됨.

- Water-oil interface 이론에 의하면 원래 유지에 존재하고 있던 수분과 amphiphilic compounds 인 유리지방산, mono-, diacylglycerol, 인지질 등이 결합하여 reverse micelle 등의 association colloid가 형성되고 지방산화가 이곳에서 발생한다는 것임. 유리지방산, mono-, diacylglycerol, 인지질의 HLB(hydrophile lipophile balance)는 각각 1.0, 1.8, 3.4~3.8, 8.0 정도로 보고되었으며 이는 이들 물질이 수분과 결합하여 reverse micelle을 형성할 수 있다. 금속이온은 유지상에서는 거의 분산되지 않으나 수분상에서는 활발히 활동하면서 hydroperoxide 분해를 유발하여 산화속도를 촉진할 수 있음

- 물리적 측면의 산화메커니즘 이론을 활용하면 일반유지의 경우 수용성 항산화제가 지용성 항산화제에 비해 더 효과적인 것인 현상인 antioxidant polar paradox를 설명 가능함. 일반유지속의 수분, amphiphilic compounds 등에 의해 reverse micelle 구조가 형성되면, 수용성 항산화제는 이들 association colloid의 내부와 표면에 집중적으로 분포하게 되면서 산화발생 장소에 가깝게 되어 유지라디칼 및 hydroperoxide와의 접촉 가능성이 증가하게 되어 항산화제로서의 활성을 나타낼 수 있게 됨. 반면에 유지 속에 골고루 분포해 있는 지용성항산화제는 association colloid표면에

서 발생하는 peroxy radical과의 접촉가능성이 작아 항산화 효율이 낮아짐.

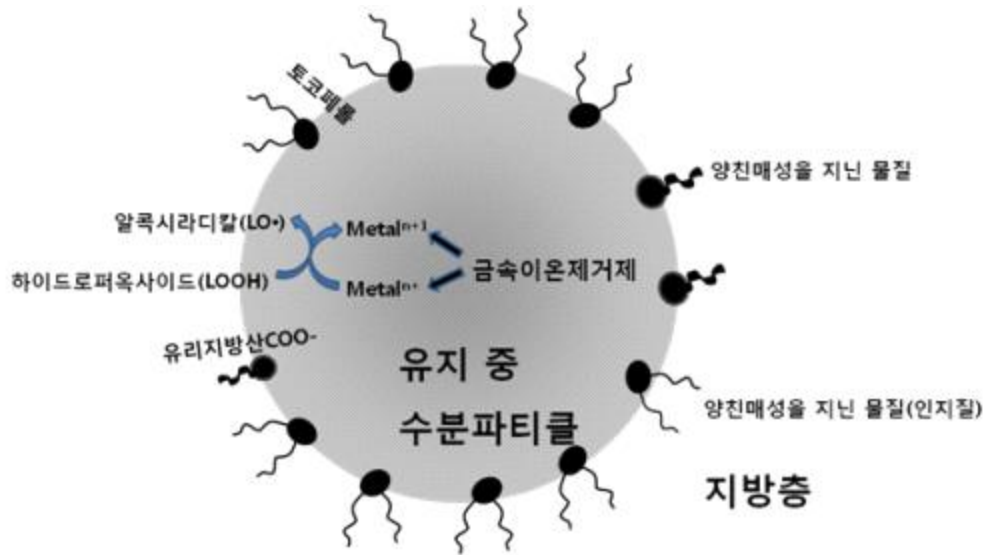


그림 4. Water-oil interface as location for the lipid oxidation in bulk oil systems

- 올레오젤은 불포화도를 높이고 포화도를 낮추면서 상온에서 고형을 이루는 물성적 특성을 기본적으로 보유해야 함. 높은 불포화도는 특히나 산화스트레스에 취약하게 되며 올레오젤을 이용하여 제조된 식품역시 산화안정성이 상대적으로 낮을 수 밖에 없음.
- 산화안정성이 낮으면 산패취(rancidity) 등의 이취가 발생하며 식품의 shelf-life가 낮아져 소비자 및 식품산업계에 모두 불이익이 돌아가게 됨.
- 단순히 산화방지제를 대량으로 첨가한다고 최적의 산화방지능을 얻을 수 있지 않음. 일반적으로 산화방지제이 함량이 높아지면 오히려 산화를 촉진하는 역할을 유발함.
- 따라서 올레오젤 및 올레오젤함유 식품의 산화안정성을 증대시키기 위해서는 적절한 농도와 다양한 산화방지 메커니즘을 보유하는 천연유래 산화방지제의 조합 개발이 필요함.

제3절 연구개발대상 기술의 국내·외 현황

- 지방 대체 소재 개발 연구는 대략 1990년도 부근에서부터 시작하여 현재까지 활발한 연구가 이루어져오고 있음.
- 특히, 귀리에 존재하는 베타글루칸이라는식이섬유 및 전분으로 구성된 Oatrim를 선두로 하여 지방대체물질 (fat replacer)에 대한 상업적 시도가 이루어졌으며 그 이후 탄수화물, 단백질을 기반으로 한 fat mimetics와 지방을 기반으로 한 fat substitute의 두 가지 형태로 개발이 이어져오고 있음.
- 하지만, fat mimetics의 경우 지방의 관능학적 특성과 비슷한 탄수화물, 단백질을 기반으로 했기 때문에 고체지방을 부분적으로 대체하고 있을 뿐 1:1로 100% 대체하는 것은 현재 기술로는 불가능함.
- Fat substitute의 경우 지방과 비슷한 화학적 구조를 가지고 있어 고체 지방을 1:1로 대체할 수 있지만, 이들을 제조하기 위해서는 부가적반응이 필요하며 이러한 반응에 따른 화학조성의 변화가 수반되어 포화지방함량을 어느 수준이하로 저감화 할 수 없음.

Food Category	Fat Replacers		
	Carbohydrate-Based	Protein-Based	Fat-Based
Milk/Dairy-Type Products (e.g., beverages, cheese, sour cream, yogurt)	cellulose, gums, inulin, maltodextrins, maltose, oatrim, polydextrose, Starches	Microparticulated protein, modified whey protein concentrate, other protein ingredients	emulsifiers, olestra*
Refrigerated/Frozen Desserts (e.g., ice cream, puddings, fillings, cheesecakes)	cellulose, gums, inulin, maltodextrins, oatrim, polydextrose, starches,	Microparticulated protein, modified whey protein concentrate, protein blends	emulsifiers, salatrim, olestra, other lipid (fat/oil) analogs
Meat/Poultry Products	gums, inulin, maltodextrins, oatrim, Starches		olestra, other lipid (fat/oil) analogs (fried foods)
Cereals/Grain Products (e.g., crackers, muffins, breads)	gums, fiber, inulin, maltodextrins, starches	microparticulated Protein	emulsifiers, olestra (crackers), other lipid (fat/oil) analogs
Savory Snacks (e.g., chips, pretzels, Popcorn, puffs)	cellulose, fiber, gums, maltodextrins, maltose, starches		olestra, other lipid (fat/oil) analogs
Baked Desserts (e.g., pizza, casseroles, microwaveable frozen meals)	cellulose, fiber, gums, inulin, maltodextrins, maltose, oatrim, polydextrose, polyols, starches	Microparticulated protein, protein blends, modified whey protein concentrate	emulsifiers, olestra, salatrim, other lipid (fat/oil) analogs

표 4. 지방 대체 소재 현황

- 전 세계적으로 마블링(marbling)에 따른 선호도가 매우 높으며 특히, 한국인의 관점에서는 부드러운 소고기에 대한 선호도가 매우 높음. 하지만 선호 부위에 대한 공급이 제한되어 있고 이에 따른 높은 가격으로 인하여 비선호 부위를 이용한 양념 혼합가공육 개발이 이루어짐. 양념 혼합가공육의 주요 고객은 대형 연회장 및 Steak 전문점으로서 그 수요가 증가함. 하지만, 양념 혼합가공육에 동물성 유래 지방이 사용되고 있어 이를 대체하여 건강 기능성을 높이고 가격 경쟁력을 갖춘 새로운 소재 개발이 필요함. 아울러, 최상의 품질을 지닌 혼합 가공육 제조를 위해 개발된 소재를 혼합 가공육에 주입하는 조건을 확립하는 것 또한 매우 중요한 요소임.

- 액체 상태인 식물성 식용유지를 고체화 하는 방법은 수소화 반응, 에스테로 교환반응과 같은 화학반응을 이용해야 함. 아울러, 효소적 반응을 통해서도 제조 가능하지만 수율 및 경제적 비용 등의 문제점이 산업적 활용을 위한 장애물이 되고 있음.
- Geletor를 이용하여 액체 유지를 고체화하는 기술은 제약 및 화장품 분야에서 최근 각광을 받고 있음. 하지만, 아직까지는 유지를 젤(gel)화 시키는 기작에 초점을 맞춘 이론적 연구가 진행 중이며 이를 적용한 식품 분야에서의 사례는 매우 드문 실정임.

Gelator	투입방법	적용 약	출처
Lecithin	Transdermal	Diclofenac	J. Rheumatol. 26 (1999) 2659 - 2663. Drugs Exp. Clin. Res. 29 (2003) 45 - 52.
Glyceryl fatty acid esters	Transdermal	Levonorgestrel and ethinyl estradiol	Pharm. Res. 12 (1995) 864 - 868.
N-lauroyl-L-glutamic acid di-n-butylamide	Transdermal	Haloperidol	J. Control. Release 106 (2005) 88 - 98. J. Pharm. 311 (2006) 157 - 164.
Poly(ethylene)	Transdermal	Spectrocin	Sch. Med. Univ. Md. 40 (1955) 86 - 89.
Sorbitan monostearate (SMS) or molaureate	Nasal Oral Subcutaneous and intramuscular	Propranolol Cyclosporin A	AAPS Pharm. Sci. Tech. 5 (2004) e63. Int. J. Pharm. 300 (2005) 113 - 124.

표 5. 제약 분야에서의 gelator 활용

→ 따라서, 이러한 gelator를 활용한 식물성 유지 고체화 기술에 대한 연구는 식품산업에서 선도적 기술로서 그 효용가치를 가질 뿐만 아니라 기존에 널리 사용되고 있는 동물성 지방, 쇼트닝, 버터 등을 대체하여 스낵 및 베이커리 제품에 적용할 수 있다면 그 과급효과는 매우 클 것으로 기대됨.

제4절 연구개발 범위

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2015년	[제1세부] 고체지방 대체를 위한 올레오젤 주입 공정 확립	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 동물성 유지 및 올레오젤의 용해 특성 분석을 통한 최적 주입 온도 확립 - 동물성 유지 및 올레오젤의 용해 특성 분석 - 다양한 온도 조건에서 solid fat content 분석 ◦ 올레오젤 종류별 주입 패턴 분석을 통한 주입 속도 결정 - Bosticwick consistometer를 통한 다양한 올레오젤의 흐름 특성 분석 - 다양한 올레오젤을 injector 주입 시 질량 속도 분석
		[제1세부-위탁] 올레오젤의 가공 적성 평가를 통한 응용성 검증	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 올레오젤의 젤화능 평가 - 다양한 식용유지에 따른 올레오젤 제조 - Gelator의 종류 및 농도에 따른 젤화 능력 평가 ◦ 온도에 따른 올레오젤의 물성학적 특성 분석 - 온도에 따른 올레오젤의 점도 특성 분석 - Arrhenius 모델식 적용 - 온도에 따른 점탄성 분석 ◦ 올레오젤의 열적 특성 비교 - DSC를 활용한 올레오젤의 thermodynamic 특성 분석 및 기존 유지와의 특성 비교
		[제1협동] 올레오젤 적용을 위한 다양한 식물성 유지 탐색 및 생리활성 모델개발	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 올레오젤 탐색 및 최적처리조건 구명 - <i>In vitro</i> 세포배양 기법 확립 - 세포 형태 및 성장관련 인자 분석을 통한 세포 증식 및 분화능 비교 분석 - 카놀라유, 올리브유, 생선기름, 해바라기씨유 등 다양한 식물성 유지의 생리활성도 분석 - 특정 유지의 최적 처리 기간 및 농도 구명 - 다양한 식물성 유지와 세포 조합 분석
		[제2협동] 열산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인	<ul style="list-style-type: none"> - 올레오젤에 상온 및 고온 스트레스로 유발된 산화생성물 분석 - SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 구명 - CDA, p-AV, 및 TPM 등 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 저장안정성 예측

		올레오젤에 적합한 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색	<ul style="list-style-type: none"> - 불포화도가 높은 유지에 적합한 천연유래 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색 - 각 산화방지제의 농도별 최적점 도출 및 상승 및 저해 작용 확인
--	--	---	--

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
2차년도	2016년	[제1세부] 올레오젤의 동물성 유지 대체를 통한 혼합가공육의 포화지방 저감화	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 올레오젤 주입을 통한 스테이크용 혼합가공육 시제품 제조 - 올레오젤 및 조미액의 배합비 결정 - Pilot plant 시설에서 올레오젤을 주입하여 혼합가공육 제조 및 원가 산정을 통한 경제성 분석 ◦ 다양한 올레오젤 활용에 따른 혼합가공육의 지방 조성 분석 - Soxhlet 추출법을 통한 올레오젤을 함유한 혼합가공육의 조지방 분석 - Gas chromatography를 통한 지방산 분석 및 동물성 유지 제품과의 비교
		[제1세부-위탁] 혼합가공육에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 냉동 저장 및 해동에 따른 특성 분석 혼합가공육의 냉동 패턴 분석 - 냉동 저장 및 해동에 따른 드립 현상 및 색 분석 ◦ 조리 후 품질 특성 분석 - 조리 조건 (시간, 온도 등)에 따른 Texture profile analysis를 통한 혼합가공육의 저작 텍스처 분석 - Cutting-shear test를 통한 텍스처 분석
		[제1협동] 올레오젤의 in vitro 독성평가 및 건강 기능성 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 올레오젤의 in vitro 효능평가 모델 개발 및 분석 - 탐색된 올레오젤 화합물의 소화적 안정성평가 - 다양한 세포의 독성 평가 - 올레오젤 화합물 처리에 따른 당·지방대사 관련 인자 발현정도 비교 분석 - 비만·당뇨·심혈관질환 관련 인자 발현 정도 분석 - 동물유래 유지와 식물유래 유지 처리가 세포내

			에너지대사 및 생리활성에 미치는 영향 비교분석
		[제2협동] 광산화 및 감광제 광산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인	- 자외선 조사 및 감광제 유발 산화스트레스를 받은 올레오젤의 산화생성물 분석 - SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 구명 - CDA, p-AV, 및 TPM 등 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 저장 안정성 예측
		혼합육가공품 매트릭스에 특화된 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 최적화	- 서로 다른 식품매트릭스인 불포화도가 높은 혼합육가공품에 적합한 천연유래 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색 - 각 산화방지제의 조합을 통해 최적점 도출 및 상승 및 저해 작용 확인

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
3차년도	2017년	[1세부] 올레오젤의 쇼트닝 대체를 통한 베이커리제품의 포화지방 저감화	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 올레오젤을 활용한 베이커리 제과 시제품 (쿠키, 케익 등) 제조 - 베이커리 제품의 배합비 확립 - 올레오젤을 활용한 베이커리 시제품 제조 ◦ 올레오젤 함유 베이커리 제품의 지방 조성 분석 - Soxhlet 추출법을 통한 올레오젤을 함유한 베이커리 제품의 조지방 분석 - Gas chromatography를 통한 지방산 분석 및 쇼트닝 제품과의 비교
		[제1세부-위탁] 베이커리 제품에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 쇼트닝 대체를 위한 베이커리 모델 구축 - 미국곡류협회 공인 방법을 통한 베이커리 모델 확립 - 다양한 올레오젤 적용을 통한 베이커리 시제품 제조 ◦ 쇼트닝 대체에 따른 품질 분석 - 올레오젤 적용에 따른 가공 적성 (반죽 점도, 점탄성) 분석 - 텍스처, 색 분석을 통한 식품학적 특성 분석 및 기호도 검사 등을 통한 관능 평가 ◦ 저장 중 품질 특성 분석 - 저장 중 올레오젤 제품의 산패도 분석 및

		<p>텍스처 분석을 통한 유통저장 중 품질 변화 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> - 부재료를 활용한 산패도 저감화
	<p>[제1협동] 저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 성분 분석 및 <i>in vivo</i> 건강 기능성 검증</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◦ <i>In vivo</i> 모델을 이용한 올레오젤 식품의 건강기능성 검증 - <i>In vivo</i> 환경에서 대사물질 및 건강기능성 분석기법 확립 - 올레오젤 사료제조 및 급여 후 실험동물의 성장특정, 혈액 대사물질 및 체조직 변화 분석 - 정상과 비만유도 마우스에 올레오젤 급여 후 대사기전 비교 - 올레오젤 식품의 비만·당뇨 등의 대사질환에 대한 기능성 평가(식이성 대사질환인 비만, 당뇨 및 심혈관 질환 예방을 중심으로 한 생리활성기능을 증진시키는 효과검증을 위해, 혈중 콜레스테롤 함량 분석 및 real-time PCR을 이용하여 심혈관 질환관련 유전자인 paraoxonases와 receptor activator of nuclear factor (NF)-κB ligand (RANKL) 발현 분석) - 항대사기능 최적화를 위한 적정 처리시기 및 농도 선발 - 지방산조성, 지질대사 호르몬 등의 건강기능성 효과에 대한 분자생물학적 기전 규명
	<p>[제2협동] 주관기관 개발 혼합가공육 제품의 열산화 및 광산화 조건에서의 산화안정성 확인</p> <p>개발 천연산화방지제 cocktail 첨가에 의한 올레오젤 함유 식품의 저장성 증대</p> <p>올레오젤레이터, 유지, 생고분자, 및 산화방지제 간의 상호 작용 분자적 구명</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 도출된 천연산화방지제 cocktail 조성 함유 혼합육가공품의 산화스트레스에 대한 산화안정성 확인 - SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 확인 - CDA, p-AV, 및 TPM 등 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 도출된 천연산화방지제 cocktail 조성 함유 혼합육가공품의 저장 안정성 예측 - FT-IR 및 Confocal image 등을 활용하여 올레오젤레이터, 유지, 생고분자, 및 산화방지제 간의 상호 작용 분자적 구명

제 2 장 연구수행 내용 및 결과

제1절 연구개발 내용

[1년차]

[제1세부]

- 고체지방 대체를 위한 올레오젤 주입 공정 확립
- 동물성 유지 및 올레오젤의 용해 특성 분석을 통한 최적 주입 온도 확립
- 올레오젤 종류별 주입 패턴 분석을 통한 주입 속도 결정

[제1세부-위탁]

- 식물성 올레오젤의 가공 적성 평가
- 젤화능 평가
- 물성학적 특성 분석
- 열적 특성 비교

[제1협동]

- 올레오젤 적용을 위한 다양한 식물성 유지 탐색 및 생리활성 모델개발
- *In vitro* 모델 구축을 위한 지방 및 근육세포 배양기법 확립
- 생리활성에 적합한 식물유지 탐색
- 올레오젤 화합물의 최적 처리기간 및 농도 구명

[제2협동]

- 올레오젤에 상온 및 고온 스트레스로 유발된 산화생성물 분석
- SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 구명
- CDA, p-AV, 및 TPM 등 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 shelf-life 예측
- 불포화도가 높은 유지에 적합한 천연유래 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색
- 각 산화방지제의 농도별 최적점 도출 및 상승 및 저해 작용 확인

[2년차]

[제1세부]

- 올레오젤의 동물성 유지 대체를 통한 혼합가공육의 포화지방 저감화
- 올레오젤 주입을 통한 혼합가공육 시제품 제조
- 다양한 올레오젤 활용에 따른 혼합가공육의 지방 조성 분석

[제1세부-위탁]

- 혼합가공육에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가

- 냉동 및 해동에 따른 특성 분석
- 조리 후 품질 특성 분석

[제1협동]

- 올레오젤의 *in vitro* 독성평가 및 건강 기능성 탐색
- 탐색된 올레오젤 화합물에 대한 *in vitro* 세포 독성 평가
- 올레오젤 화합물이 당·지방 대사관련 유전자 발현에 미치는 영향 분석
- 동·식물성 유지의 세포내 에너지대사 및 생리활성 비교 분석

[제2협동]

- 자외선 조사 및 감광제 유발 산화스트레스를 받은 올레오젤의 산화생성물 분석
- SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 구명
- CDA, p-AV, 및 TPM 등 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 shelf-life 예측
- 서로 다른 식품매트릭스인 불포화도가 높은 혼합육가공품에 각각 적합한 천연유래 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색
- 각 산화방지제의 조합을 통해 최적점 도출 및 상승 및 저해 작용 확인

[3년차]

[제1세부]

- 올레오젤의 쇼트닝 대체를 통한 베이커리제품의 포화지방 저감화
- 올레오젤을 활용한 베이커리 시제품 (쿠키, 케익 등) 제조
- 다양한 올레오젤 함유 베이커리 제품의 지방 조성 분석

[제1세부-위탁]

- 베이커리 제품에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가
- 쇼트닝 대체를 위한 베이커리 모델 구축
- 쇼트닝 대체에 따른 품질 분석
- 저장 중 산패도 분석

[제1협동]

- 저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 성분분석 및 *in vivo* 건강기능성 검증
- 저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 *in vivo* 건강기능성 검증
- 올레오젤 가공식품 급여 실험동물의 성장특성, 혈액 대사물질 및 체조직 변화 분석
- 비만유도 마우스 모델에서 올레오젤 가공식품의 식이성 대사질환인 비만, 당뇨 및 심혈관질환 예방을 중심으로 한 생리활성기능을 증진시키는 효과 검증을 위해 혈중콜레스테롤함량 분석 및 real-time PCR을 이용하여 심혈관질환관련 유전자인 paraoxonases와 receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B ligand (RANKL) 발현 분석

[제2협동]

- 도출된 천연산화방지제 cocktail 조성 함유 혼합육가공품 식품의 산화스트레스에 대한 산화안정성 확인
- SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 확인
- CDA, p-AV, 및 TPM 등 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 도출된 천연산화방지제 cocktail 조성 함유 혼합육가공품 식품의 저장안정성 증대
- Confocal image 등을 활용하여 올레오젤레이터, 유지, 생고분자, 및 산화방지제 간의 상호 작용 분자적 구명

제2절 연구개발 추진전략 및 방법

[기술정보수집]

- 국내외 올레오젤 관련 논문 및 특허 정보의 지속적 모니터링
- 다양한 식품 기업들과의 긴밀한 공조 및 시장조사를 통한 최신 경향 파악 및 신제품 정보 수집
- 국내외 학술대회에서 개발 연구결과 발표 및 관련 전시회 참석을 통한 기술 개발 동향 및 활용 가능성 모색
- 국내외 학회지의 관련 검색어 alert 기능을 통한 올레오젤에 관한 상시적 정보 파악

[전문가확보]

- 국내외 학회를 통한 관련 전문가 추천 및 논문, 특허 검색 시스템을 통한 올레오젤 관련 분야에서의 전문가 탐색
- 산업체로부터 혼합가공육, 베이커리 분야의 전문가 추천
- 과제 수행 기관 또는 관련 학회에서의 세미나, 심포지엄 개최를 통한 전문가 초청
- 다양한 관련 협회 (식품 기술사, 제과/제빵 기능장 협회 등)으로부터 개발 방향에 대한 의견 수렴

[다른 기관과의 협조방안]

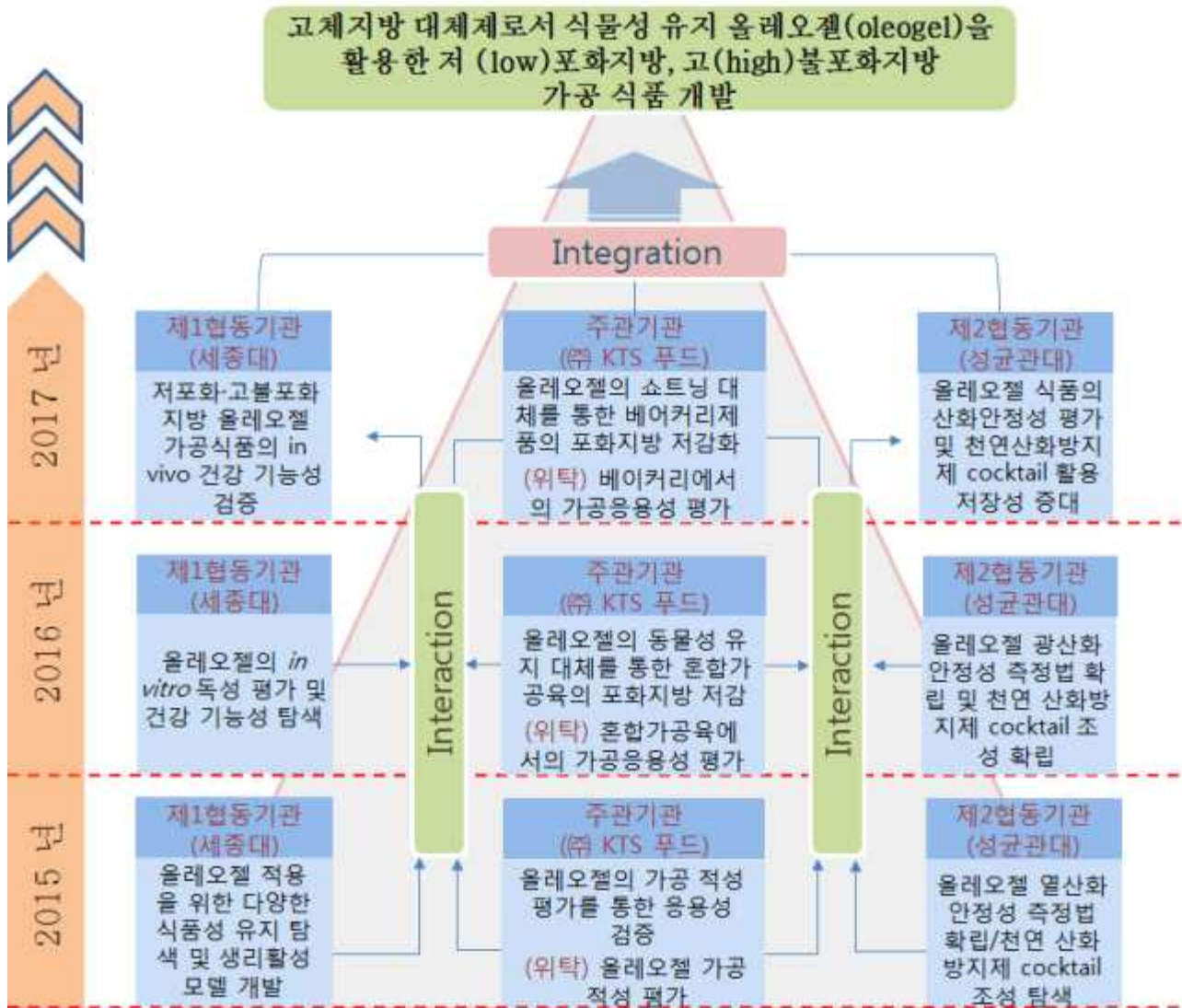
- 국내 유일의 탄수화물소재 연구소를 활용한 올레오젤 소재의 정밀한 정량 분석 시스템 구축 가능
- 식품 응용 전문 기관 (wheat marketing center)와의 협력체계 구축을 통한 개발 소재의 pilot plant 응용성 검사 수행 가능.
- 소재 물성 분석 방법과 관련하여 국외 대학 (Dr. Campanella - Purdue University (USA), Dr. Mert - Middle East Technical University (Turkey))과의 협력체계 유지.
- 지방 대체 소재를 하고 있는 미국 농무성 산하 연구소 (Dr. Inglett, National center for agricultural utilization research, USA, IL)와의 긴밀한 협조 시스템 구축.
- 센소매트릭스와의 협력을 통한 기존 유지 함유 제품과의 관능학적 차이점 분석

[연구개발방법론]

- 올레오젤을 활용한 새로운 식품 신소재를 개발하기 위한 최근 소비 경향 및 이론적, 실험적 접근을 위하여 국내외 저명 저널, 관련 식품 잡지, 인터넷, 보고서 또한 본 연구 실험실의 오랜 실험 노하우를 토대로 진행할 계획임.
- 특히, 육제품, 제과/제빵 가공 및 유지, 건강 기능성 분야의 지속적 연구를 통하여 풍부한 전문 연구 인력과 첨단 기기 등을 보유하고 있어 전문적 연구 역량을 토대로 연구를 수행할 계획임.

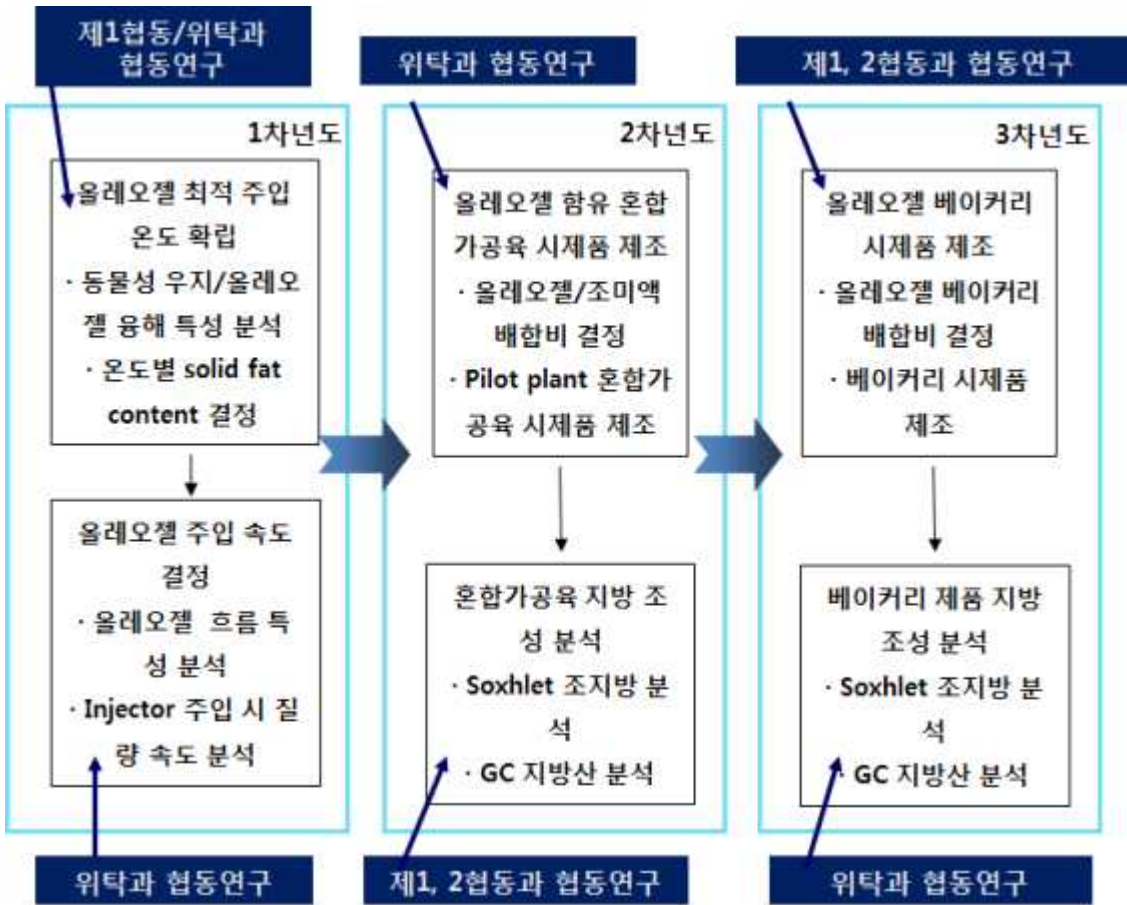
제3절 연구개발 추진 체계

[총괄추진체계]



[제1세부]

◦ 연구전략



◦ 연구방법

- 주입(injection)공정에서의 올레오젤 특성 연구

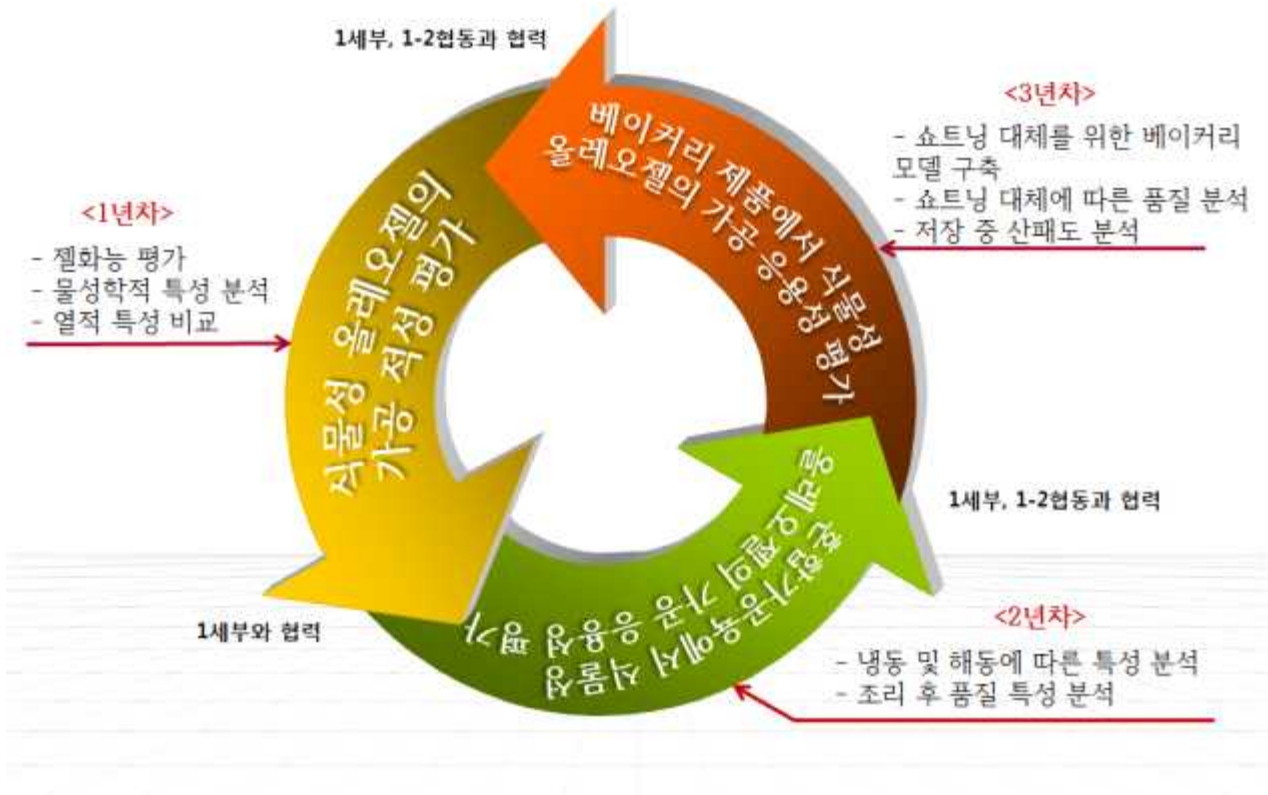
- 동물성 고체 지방 및 올레오젤을 differential scanning calorimeter에 넣고 가열하여 녹는 점 및 엔탈피 값을 구하고, Bostwick consistometer에 넣어 일정한 시간 동안 흐른 거리를 측정하여 흐름 특성을 파악함.
- 용해된 상태의 올레오젤을 육류 주입기 (injector)에 넣고 일정시간 동안 injection needle을 통하여 주입된 양을 측정하여 주입 패턴을 평가함.

- 올레오젤 함유 시제품 생산 및 지방 조성 분석

- HACCP 인정을 받은 작업 공간에 설치된 육류 injector를 사용하여 올레오젤을 육류에 주입한 뒤 성형, 냉동 과정을 거쳐 혼합가공육 시제품을 제조함.
- Soxhlet extractor에 실를 넣고 ethyl ether를 사용하여 시제품의 조지방을 분석하고, Gas chromatography를 사용하여 포화 및 불포화 함량을 분석함.

[제1세부-위탁]

◦ 연구 전략



◦ 연구 방법

- 올레오젤의 다각적 물성 분석

· 올레오젤 입자 자체의 특성 및 다른 입자와의 분자간 상호작용을 통한 거동 특성을 분석하는 Micro 소재 변형 기술과 이들 입자들로 이루어진 중간/최종 제품의 물성을 분석하는 Macro 소재 변형 기술을 통한 저작, 연하 작용에 대한 종합적 물성해석으로부터 실버식품의 물성 최적화가 가능할 것임.

· 이를 위하여 stress-controlled rheometer를 활용한 다른 온도 조건에서 steady shear viscosity, viscoelasticity 등을 분석함.

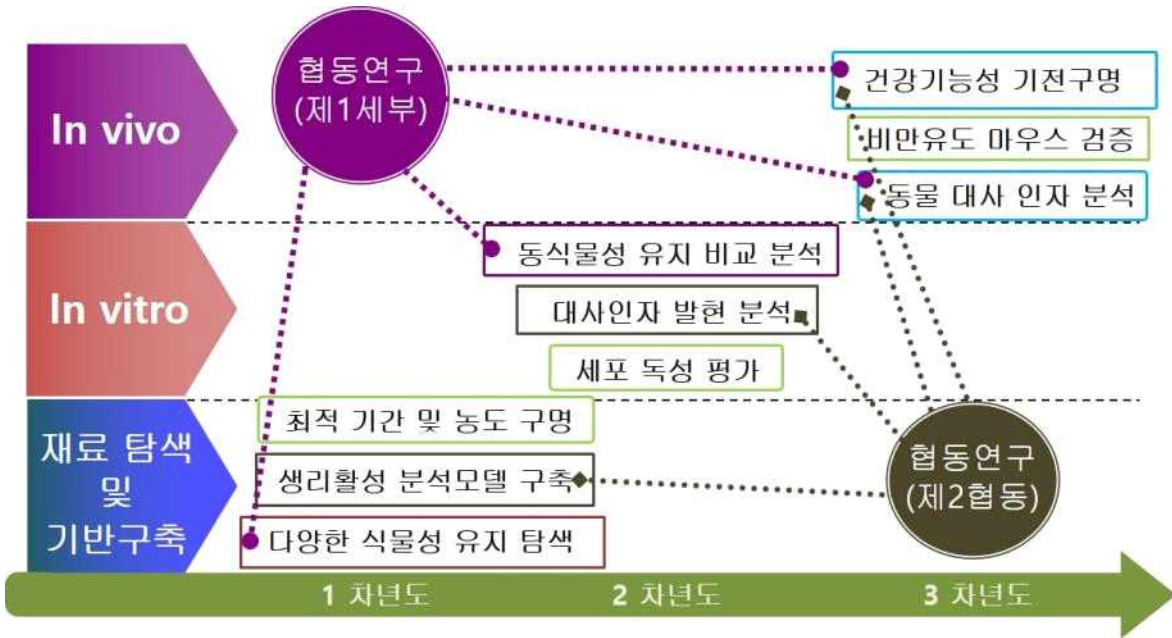
- 올레오젤 함유 가공 식품의 품질 특성 분석

· 가공 식품의 저작 특성 분석을 위하여 texture analysis, cutting-shear test, puncture test를 실시하며, 특히 미국곡류협회(AACC) 공인 식품 모델 시스템을 사용하여 보다 객관적인 식품 품질 분석을 실행함.

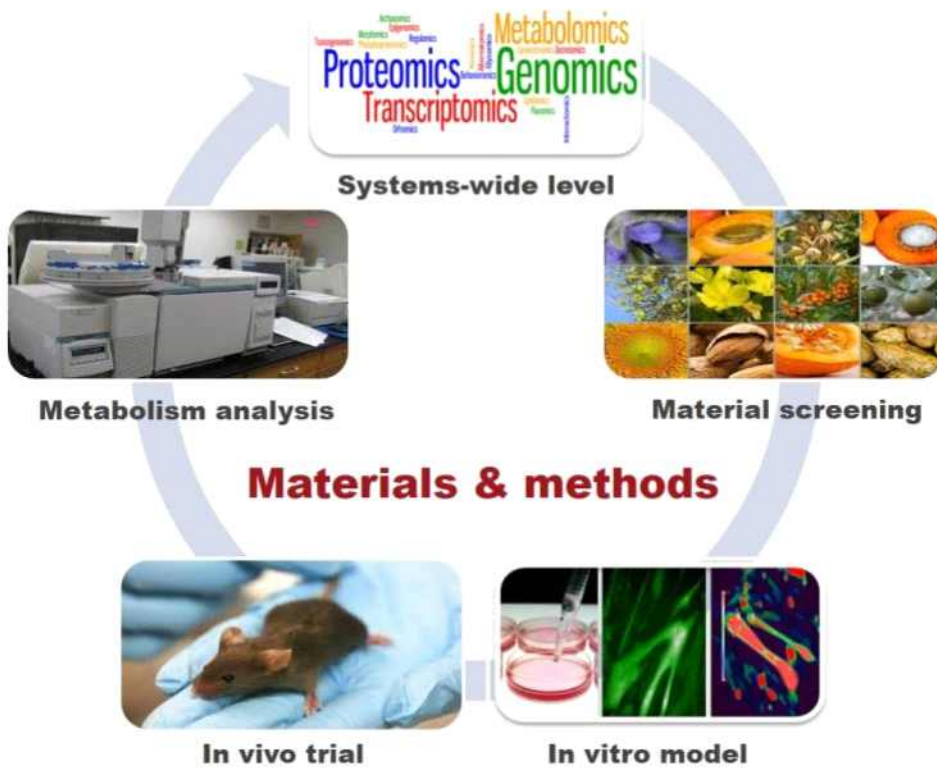
· 불포화 지방 함유에 따른 저장 중 산패도 분석을 위하여 가속 조건 (60도)에서 식품을 저장 시 과산화물가를 측정하여 산패도를 측정함.

[제1협동]

◦ 연구 전략



◦ 연구 방법



- 영양성분 정밀분석

- GC/MS, HPLC, 호르몬 분석법 등을 이용한 영양성분의 정밀 분석
- 여러 종류의 재료에 대한 포화·불포화 지방산을 포함한 일반성분 분석

- ***In vitro* cell culture assay**

- 세포배양 기법을 이용하여 다양한 종류의 세포에 대한 대사기질 및 기전 구명
- 처리유지에 대한 세포 독성, 항산화능 및 면역관련 인자 분석
- 세포별, 세포간 상호작용 분석

- ***In vivo* animal trial**

- 마우스 모델이용 올레오젤 화합물의 건강기능성 평가
- 비만유도 마우스에 올레오젤 화합물 적용, 생리활성도 및 대사질병저항성 분석

- **Metabolism evaluation using state-of-the art technologies**

- 유전자~단백질에 이르는 정밀영양분석기법을 이용하여 에너지대사관련 인자 분석

- **Systems-wide level analysis**

- 올레오젤 화합물과 대사인자간 상호작용 구명
- 유전자, 단백질, 단백질체, 대사체 등 - omics 기법을 이용한 생체대사의 총체적 해석

[제2협동]

◦ 연구전략



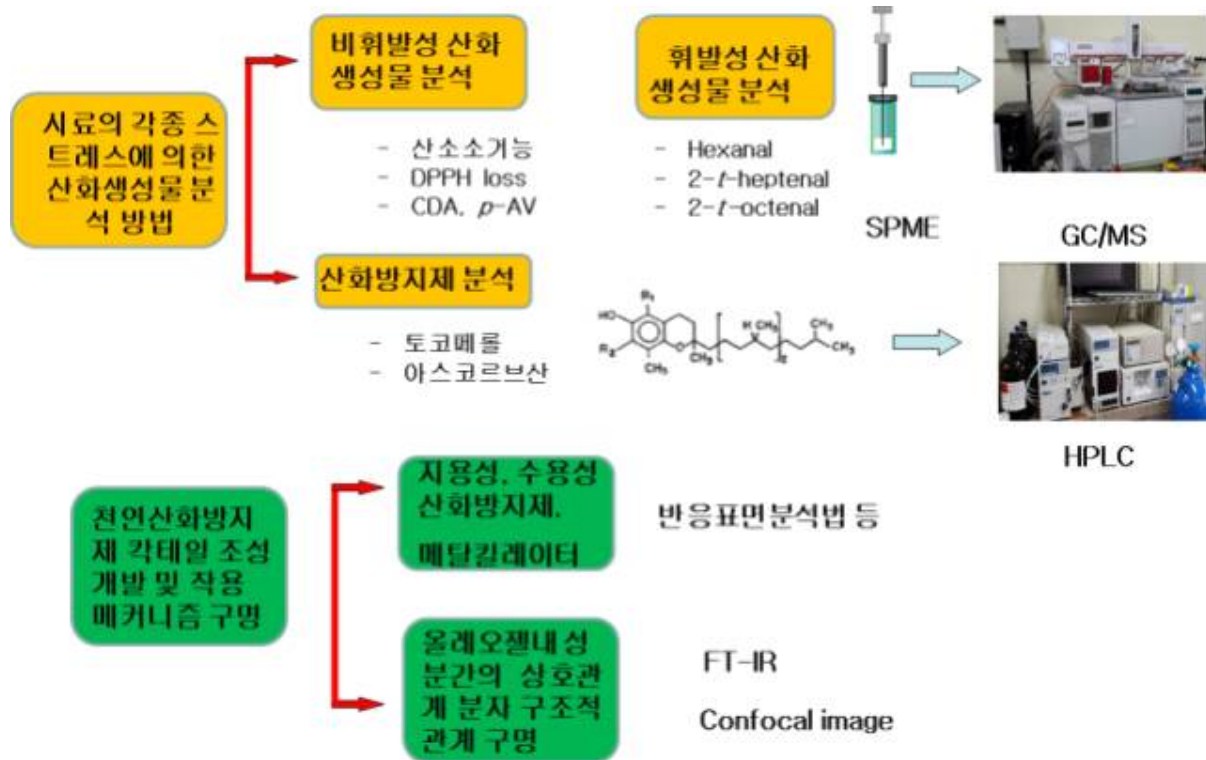
· 국내에서 유지관련연구그룹은 인하대학교의 최은옥교수팀, 우석대학교 정문웅교수팀, 고려대학교 김인환교수팀, 충남대학교 이기택교수팀, 중앙대학교 김병희교수팀 등이 있음. 국제적으로 지방산화 및 항산화메커니즘에 관심을 두고 있는 연구자는 University of Massachusetts의 Eric Decker와 McClements 교수팀, Memorial University of Newfoundland의 FereidoonShahidi 교수, 일본의 Matusita 교수 등임. 본 연구자는 이들 연구자들과 직,간접적으로 학문적인 토론을 진행해 왔음. 새로운 이론을 정립할 때 국외 연구자들의 경우 email 등을 활용하고 국내연구자들의 경우 직접적인 방문을 통해 이들 연구자들의 의견을 습득할 예정임.

◦ 연구방법

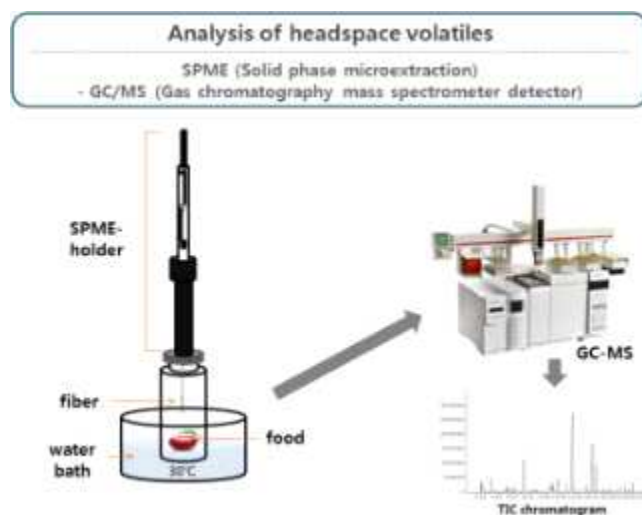
- 상온 및 고온 스트레스, 광산화 스트레스, 감광제 유발 산화 스트레스 적용
- 천연 유래 메탈킬레이터, 수소공여 지용성 및 수용성 산화방지제 활용 antioxidant cocktail 제법 개발 : 반응표면분석법(Response Surface Methodology) 등을 활용.
- SPME-GC/MS 활용 산화유래 휘발성분 측정
- 유지 회수 후 비휘발성 산화생성물 측정 및 지방산 프로파일 변화 분석
- 올레오셀레이터, 유지, 생고분자, 및 산화방지제간의 상호 작용 분자적 구명

- 휘발성 및 비휘발성 성분 대상 산화지표분석 분석법

- Headspace oxygen content측정 : Gas Chromatography-Thermal conductivity detector를 활용한 분석법으로 소모된 산소함량으로 산화정도를 측정하는 기법.



- DPPH법 분석법에 의한 항산화능과 산화생성물 측정 유지시료 56 μ L를 0.10 mM DPPH(95% isooctane) 5 mL에 첨가하여 암실에서 30분간 정치 시킨 후, UV/VIS-spectrophotometer로 509 nm에서 흡광도를 측정. 또한 DPPH를 methanol 용매를 활용하여 흡광도 510 nm 측정한다. 동시에 항산화제 함량과 산화생성물 측 RSOL(radical scavenging compounds from oxidized lipids) 함량을 확인하는 방법.
- Conjugated dienoic acid(CDA)분석법 : AOCS method Ti 1a-64법으로 지방산화 중 conjugated dienes 함량을 측정하는 1차산화생성물 측정법.
- *p*-Anisidine value(*p*-AV)분석법 : AOCS method Cd 18-90로 2-alkenal과 같은 2차 산화생성물을 측정하는 방법.



- 산화유래 휘발성분 분석

- 휘발성분 분석 SPME-GC/MS를 활용하여 휘발성분의 프로파일 분석, 중수소 참여 여부에 의한 수분 참여 여부 확인
- SPME-GC/MS, 지방 산화 유래 휘발성분의 분리, 농축을 위해 최적의 SPME fiber 를 선정, GC 분리조건 선정 및 peak의 동정(retention index, retention time, MS library matching 활용)

- 잔존항산화제 함량 분석

- 잔존 항산화제 분석 : 처리 후 시료의 잔존 항산화제는 liquid-liquid extraction을 통해 분리 후 HPLC-UV detector 활용하여 항산화제 함량을 측정함.

- 항산화제 시너지즘 측정

- 최적의 지용성 및 수용성 항산화제 조합, 일중항산소소거제, 금속킬레이터제 등의 조합은 다양한 통계 기법을 활용함.
- 항산화제 시너지즘은 Shi 등(22)의 방법을 활용하여 평가함. 구체적으로 $(\% IA1) = (A0 - A1) / A0 \times 100$ 을 계산함. A0와A1는 항산화제 종류에 의한 항산화능이며 두 종류간의 시너지즘 평가는 $\%EIA_{1,2} = (IA1 + IA2) - (IA1 \times IA2 / 100)$ 식에 의해 계산함.

제4절 연구개발 추진 일정

연차	연구개발 내용	추진일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1년차	[1세부]												
	동물성 우지 및 올레오젤의 용해 특성을 통한 최적 주입 온도 확립												
	올레오젤 종류별 주입 패턴 분석을 통한 주입 속도 결정												
	[제1세부-위탁]												
	올레오젤의 젤화능 평가												
	온도에 따른 올레오젤의 물성학적 특성 분석												
	올레오젤의 열적 특성 비교												
	[1협동]												
	<i>In vitro</i> 모델 구축을 위한 지방 및 근육세포 배양기법 확립												
	생리활성에 적합한 식물유지 탐색												
	올레오젤 화합물의 최적 처리기간 및 농도 구명												
	[2협동]												
열산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인													
올레오젤에 적합한 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색													
2년차	[1세부]												
	올레오젤 주입을 통한 혼합가공육 시제품 제조												
	다양한 올레오젤 활용에 따른 혼합가공육의 지방 조성 분석												
	[제1세부-위탁]												
	냉동 및 해동에 따른 특성 분석												
	조리 후 품질 특성 분석												
	[1협동]												
	탐색된 올레오젤 화합물에 대한 <i>in vitro</i> 세포 독성 평가												
올레오젤 화합물이 당·지방 대사관련 유전자													

	발현에 미치는 영향 분석																		
	동·식물성 유지의 세포내 에너지대사 및 생리활성 비교 분석																		
	[2협동]																		
	광산화 및 감광제 광산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인																		
	혼합육가공품 매트릭스에 특화된 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 최적화																		
3년차	[1세부]																		
	올레오젤을 활용한 베이커리 시제품 (쿠키, 케익 등) 제조																		
	다양한 올레오젤 함유 베이커리 제품의 지방 조성 분석																		
	[제1세부-위탁]																		
	쇼트닝 대체를 위한 베이커리 모델 구축																		
	쇼트닝 대체에 따른 품질 분석																		
	저장 중 산패도 분석																		
	[1협동]																		
	저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 <i>in vivo</i> 건강기능성 검증																		
	올레오젤 가공식품 급여 실험동물의 성장특성, 혈액 대사물질 및 체조직 변화 분석																		
	비만유도 마우스 모델에서 올레오젤 가공식품의 항비만·대사질환 예방 효과 구명: 혈중 콜레스테롤함량 분석 및 real-time PCR을 이용하여 심혈관질환관련 유전자인 paraoxonases와 receptor activator of nuclear factor (NF)-{kappa}B ligand (RANKL) 발현 분석																		
	[2협동]																		
	주관기관 개발 혼합가공육 제품의 열산화 및 광산화 조건에서의 산화안정성 확인																		
	개발 천연산화방지제 cocktail 첨가에 의한 올레오젤 함유 식품의 저장성 증대																		
올레오젤레이터, 유지, 생고분자, 및 산화방지제 간의 상호 작용 분자적 구명																			

제5절 연구개발 결과

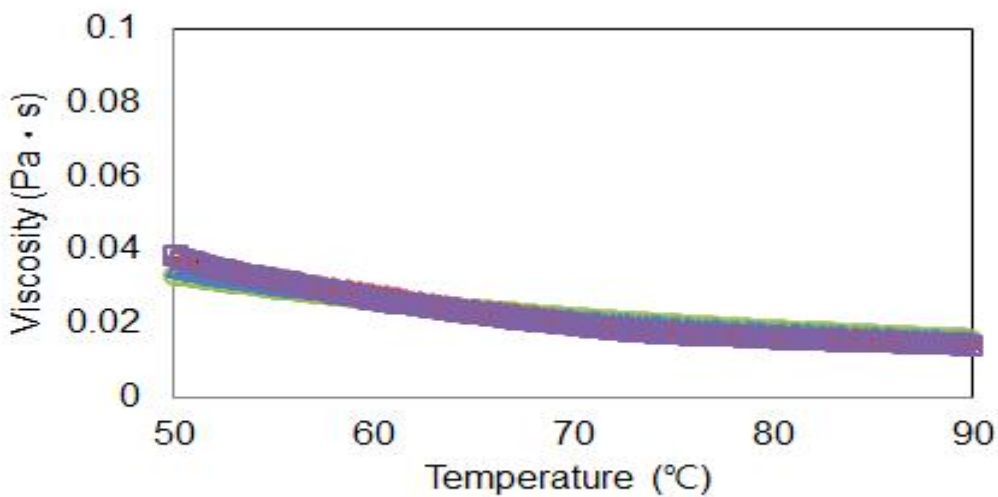
[1년차]

[제1세부] 올레오젤 가공 적성 개선 및 고부가 가공 식품 개발

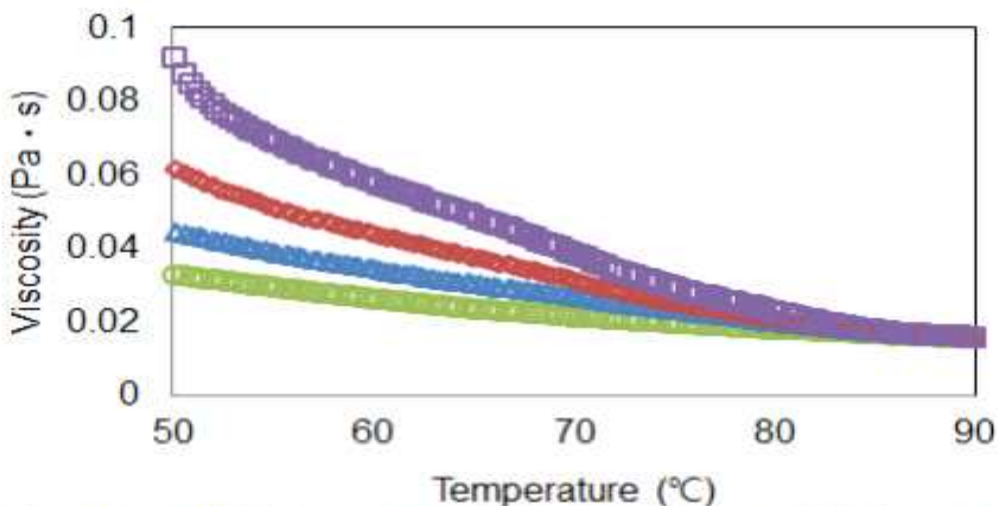
· 동물성 우지 및 올레오젤의 용해 특성 분석을 통한 최적 주입 온도 확립

- 동물성 우지 및 올레오젤의 용해 특성 분석

· 동물성 우지 및 동물성 우지를 올레오젤로 10, 20, 30%(w/w) 대체한 시료에 대하여 용해 특성을 분석함. 실제 주입에 쓰이는 우지를 사용하였고, 올레오젤의 경우 gelator 3종인 Candelilla wax, Carnauba wax, Bees wax를 Canola oil에 10% (w/w) 넣고 제조함. 용해 특성을 분석하기 위하여 Rheometer(AR1500ex, TA Instruments, USA)를 사용하여 온도범위 50°C - 90°C에서 점도를 측정함. 이를 위하여 shear rate는 100 s⁻¹ 에서 2°C/min 로 온도를 변화시켜 점도를 측정하여 용해 특성을 분석함.



○ Control ▲ 10% Candelilla ◆ 20% Candelilla □ 30% Candelilla



○ Control ▲ 10% Carnauba ◆ 20% Carnauba □ 30% Carnauba

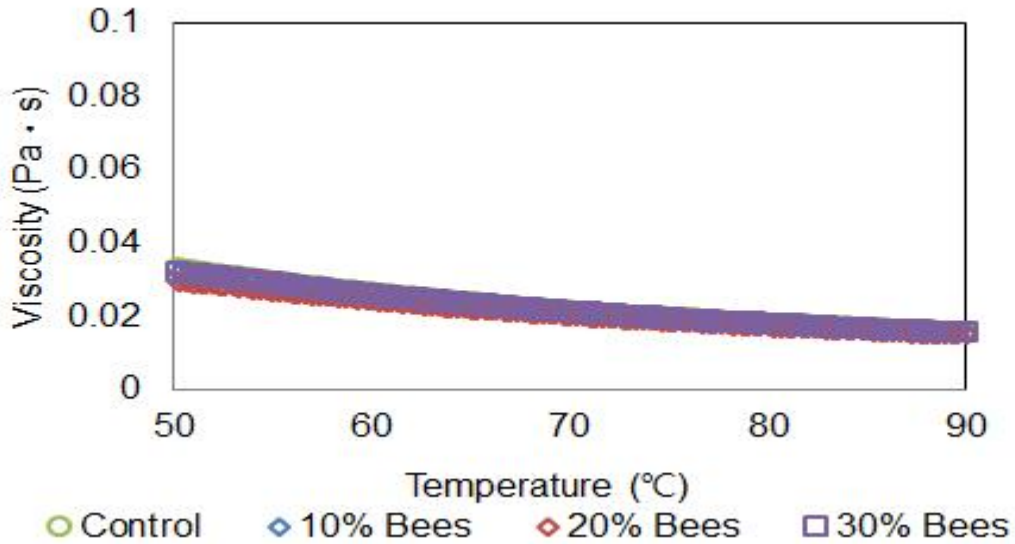


그림 5. 올레오젤의 함량에 따른 우지의 점도 변화를 통한 용해 특성 분석

· 측정결과 온도가 증가함에 따라 점도가 감소하는 경향을 보임. 하지만, 3가지 gelator 에 따라 용해 특성에 따른 서로 다른 점도 pattern 을 보임. 하지만, 특이적으로 Bees wax의 경우 함량에 따른 점도 변화가 관찰되지 않았고 무엇보다도 점도의 변화가 우지와 큰 차이를 보이지 않음. Candelilla wax 시료의 경우 Bees wax 시료에 비하여 그 함량이 증가할수록 점도가 서서히 증가하는 경향을 보였으나, 확연한 변화는 관찰되지 않음. 이와 다르게 Carnauba wax 시료의 경우 함량이 증가할수록 점도가 크게 변하는 것을 보임. 이를 통해서 Bees wax를 이용하여 만든 올레오젤이 가장 우지와 비슷한 점도를 갖는 것을 확인함.

- 다양한 온도 조건에서 solid fat content 분석

· mq20 NMR Analyzer 기기를 통하여 25°C에서 80°C까지의 solid fat content을 측정함. 우지 100%를 대조구로 사용하였고 시료의 경우 우지를 10, 20, 30% 올레오젤로 대체함.

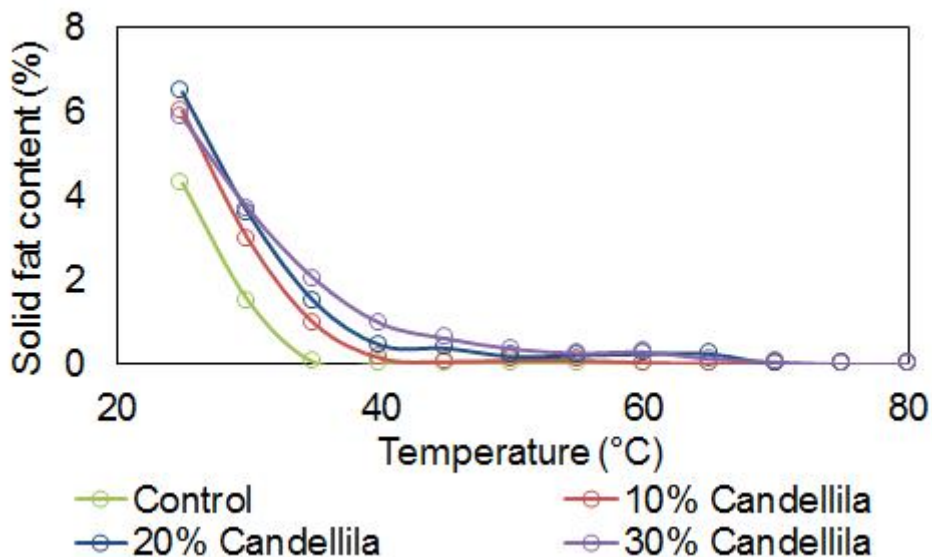
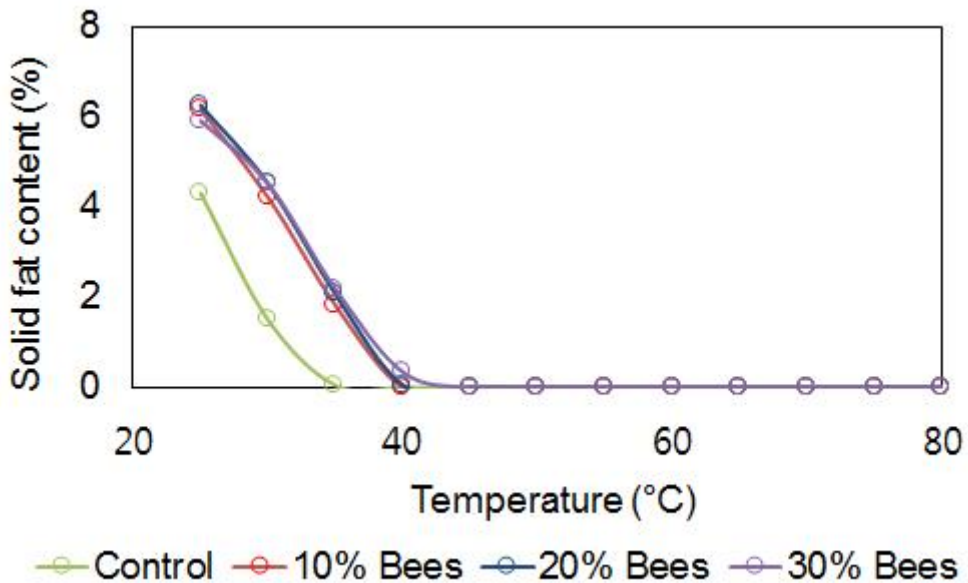
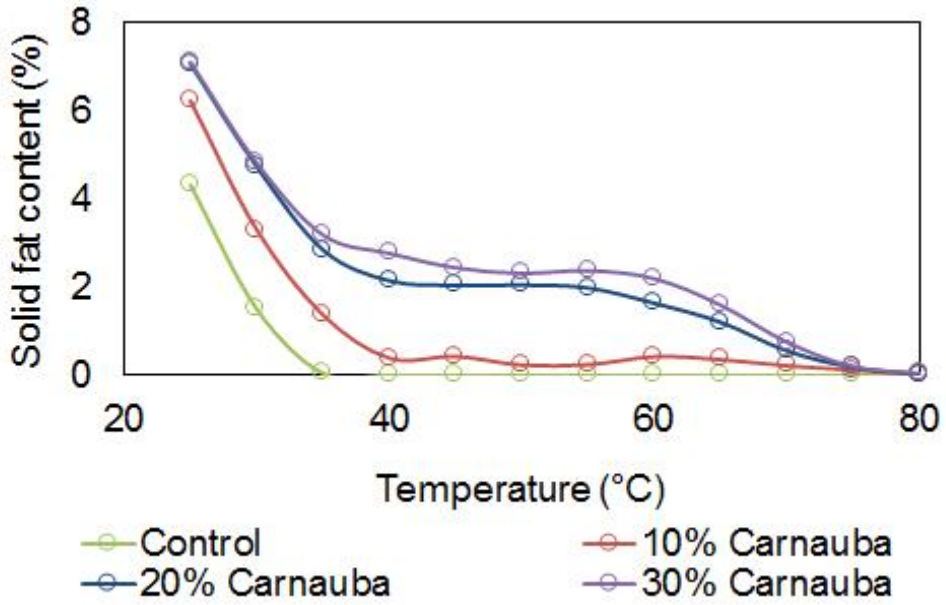


그림 6. 올레오젤의 함량에 따른 우지의 Solid fat content 변화



· Solid fat content 측정 결과를 보면 올레오젤 함량이 높아질수록 solid fat content 가 증가하는 경향을 보여 점도 결과와 유사한 경향을 보이는 것을 확인함. Carnauba wax를 이용한 경우 함량에 따른 solid fat content 변화가 현저히 일어났으나, Bees wax의 경우 그 함량에 따른 차이가 크게 보이지 않음. 또한 Carnauba wax의 경우 70°C까지 solid fat 이 관찰되었으나, Candelilla wax와 Bees wax 는 각각 50°C, 40°C 이상의 온도에서는 관찰되지 않음.

· 올레오젤 종류별 주입 패턴 분석을 통한 주입 속도 결정

- Bostwick consistometer를 통한 다양한 올레오젤의 흐름 특성 분석

· Bostwick consistometer를 이용하여 상온상태인 25°C와 주입온도인 55°C에서 우지와 올레오젤의 흐름 특성을 분석함. 흐름특성을 분석하기 위하여 상온상태에서 25°C에서 12시간 방치하여 평형 상태에서 측정하였고, 55°C의 경우 Water bath에 3시간 방치하여 평형을 맞춤. 측정하기 위하여 50g의 샘플을 넣고, Bostwick consistometer의 문을 개방한 후 5초 동안의 흐름을 관찰함.



그림 7. Bostwick consistometer 측정



그림 8. 25°C에서의 20% Candelilla, 20% Carnauba, 10% Bees의 상태

<25°C>	Bostwick reading (cm)	<55°C>	Bostwick reading (cm)
Control	12.10±0.14	Control	>24.00±0.00
10% Candelilla	8.30±0.28	10% Candelilla	>24.00±0.00
20% Candelilla	-	20% Candelilla	>24.00±0.00
30% Candelilla	-	30% Candelilla	>24.00±0.00
10% Carnauba	4.00±0.00	10% Carnauba	>24.00±0.00
20% Carnauba	-	20% Carnauba	23.50±0.00
30% Carnauba	-	30% Carnauba	21.00±0.70
10% Bees	-	10% Bees	>24.00±0.00
20% Bees	-	20% Bees	>24.00±0.00
30% Bees	-	30% Bees	>24.00±0.00

표 6. 올레오젤의 함량과 온도에 따른 Bostwick reading의 변화

· 측정 결과를 확인해보면 25°C에서는 Control인 우지, 10% Candelilla, 10% Carnauba를 제외하

고는 모두 고체 상태를 유지하여 Bostwick consistometer를 통한 흐름특성 측정이 불가능함. 25°C에서는 10% Carnauba wax 시료가 가장 높은 점도를 보였고, 우지가 가장 낮은 점도를 보임. 주입온도인 55°C에서는 20, 30% Carnauba wax 시료를 제외하고 모두 Bostwick consistometer reading 범위인 24 cm를 벗어남. 따라서 점도가 크게 낮은 것을 확인할 수가 있었고 Carnauba wax 올레오젤을 사용 시 가장 높은 점도를 나타낼 것으로 판단됨.

- 다양한 올레오젤을 injector 주입 시 질량 속도 분석

· Injector 주입 시 질량 속도를 구하기 위하여 펌프를 사용한 모델 시스템을 활용하여 올레오젤 사용에 따른 주입 질량 속도를 측정함. Water bath를 사용하여 상온 및 주입온도인 55°C에서 지름 0.5cm의 관을 통하여 5초 동안 이동하는 시료의 양을 측정하여 질량속도를 분석함.

<25°C>		<55°C>	
	Mass velocity (g/cm ² ·s)		Mass velocity (g/cm ² ·s)
Control	670.30±5.23	Control	2476.70±4.95
10% Candelilla	314.8±32.24	10% Candelilla	2322.30±4.38
20% Candelilla	-	20% Candelilla	2270.50±62.93
30% Candelilla	-	30% Candelilla	1763.30±42.00
10% Carnauba	175.40±1.41	10% Carnauba	1767.00±31.68
20% Carnauba	-	20% Carnauba	1399.40±67.60
30% Carnauba	-	30% Carnauba	731.90±66.04
10% Bees	-	10% Bees	2352.80±27.44
20% Bees	-	20% Bees	2236.90±21.35
30% Bees	-	30% Bees	2200.60±80.61

표 7. 올레오젤의 함량과 온도에 따른 Mass velocity의 변화

· 25°C에서는 Bostwick consistometer에서 측정했던 것과 같이 Control인 우지, 10% Candelilla, 10% Carnauba에서는 흐름 특성이 관찰되었지만, 다른 시료의 경우 고체 상태를 보여 측정을 하지 못함. 질량속도(mass velocity) 측정 결과 위의 점도와 유사한 경향을 보였는데 특히, 질량속도와 Bostwick consistometer reading 사이에 비례적인 관계를 보임. 55°C의 경우에는 우지가 가장 높은 값을 보인 것으로 보아 가장 낮은 점도에 기인한 빠른 흐름 특성을 확인하였고, Beeswax 시료의 경우 올레오젤의 함량이 증가하여도 값의 차이가 크지 않음. 다음으로 Candelilla wax 시료가 큰 변화를 보였으며, Candelilla wax 시료의 경우 55°C에서 상온 상태에 놓이게 되면 빠르게 굳어버리는 것을 확인함. 마지막으로 Carnauba wax 시료의 경우 올레오젤의 함량이 증가할수록 급격히 질량 속도가 감소하는 것을 보임. 이를 보아서 Carnauba, Candelilla, Bees wax 순으로 점도가 높을 것으로 확인됨. 특히, Beeswax 올레오젤의 경우 동물성 우지와 비슷한 질량속도를 보여 동물성 우지 대체 소재로 적합한 것으로 판단됨.

- 우지 주입 실험



스팀솥



인젝터

1. 전처리작업 : 가공실에 투입된 원료육을 개포한 후 작업에 용이하도록 지방을 제거한다.
2. 소스가열 및 여과작업 : 냉동보관 중인 소스를 스팀솥에 넣어 가열,해동한다. 해동후 여과기를 사용하여 소스를 여과시킨 후 인젝터로 이동한다.
3. 인젝션작업 : 인젝터를 통해 원료육에 해동한 소스를 주입한다.

[제1세부-위탁] 식물성 올레오젤 가공 적성 개선을 통한 응용성 확대

◦ 올레오젤의 젤화능 평가

- 다양한 식용유지에 따른 올레오젤 제조

· 유지 6종 Soybean oil, Corn oil, Canola oil, Sunflower oil, Grape seed oil, Olive oil의 식물성 유지와 식용 가능한 천연 gelator 3종 Candelilla wax, Carnauba wax, Bees wax를 선정해서 올레오젤을 제조함.

아래의 그림과 같이, 먼저 식물성 유지와 gelator인 왁스를 비커에 넣고 160°C에서 10분간 혼합함. 그 후 상온에서 1시간 동안 서서히 식혀주고, 4°C 이하인 냉장고에 2 시간동안 저장함.

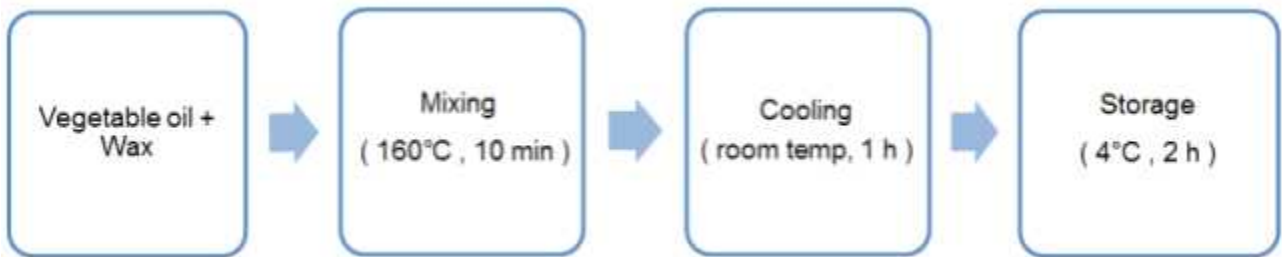


그림 9. 올레오젤 제조법

- Gelator의 종류 및 농도에 따른 젤화 능력 평가

· 천연 식품 첨가물인 Candelilla wax, Carnauba wax, Bees wax 3 종의 gelator와 식물성 유지 중 불포화도 함량이 가장 높은 Canola oil를 선정하여 농도에 따른 젤화 능력을 평가함. 먼저 3, 6%(w/w) 농도의 올레오젤을 만든 후 젤화 능력을 평가함.

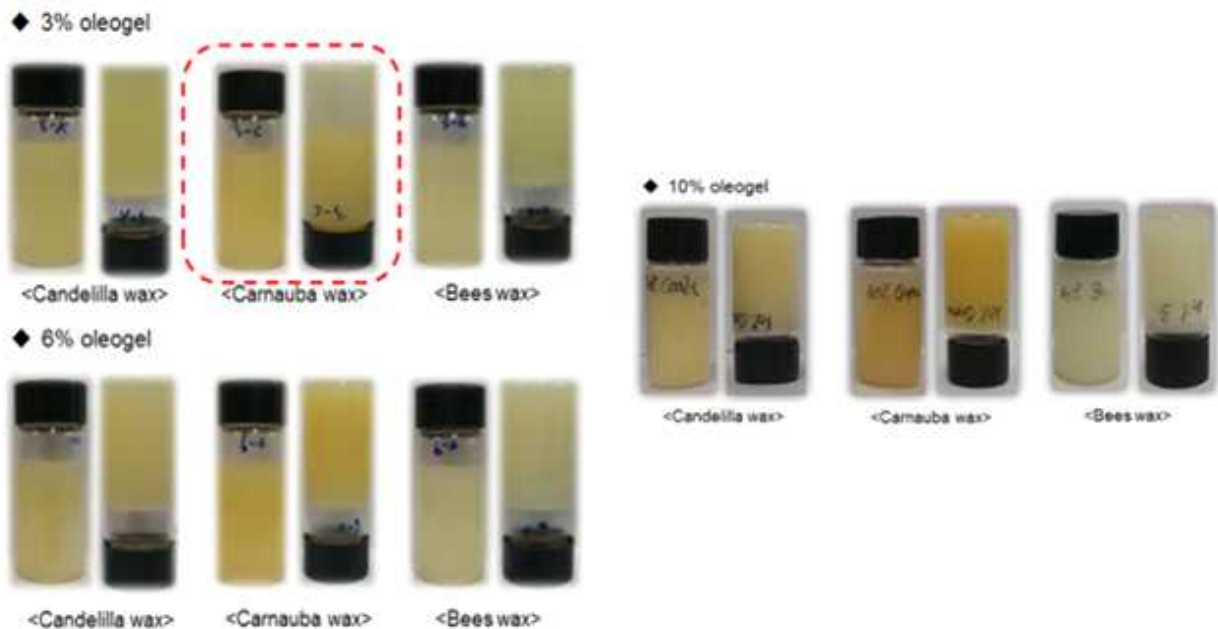


그림 10. 올레오젤 농도 3, 6, 10%의 젤화 평가

· 그림 2와 같이 3%의 Carnauba wax를 이용한 올레오젤의 경우 굳지 않고, 흐르는 점성의 성질을 보임. 또한 3, 6%에서의 다른 올레오젤의 경우에도 젤의 강도가 높지 않아 이후 실험에서는

올레오젤의 농도는 10%를 선택하여 진행함.

· 올레오젤의 젤화 능력을 평가하기 위하여 Texture analyzer (TMS-Pro, Food technology Co.)를 이용하여 Puncture test 방법을 토대로 Firmness를 측정함. Load cell은 25N cell을 사용하였고, 지름 5 mm bar의 probe를 60 mm/min의 속도로 내려 측정함.

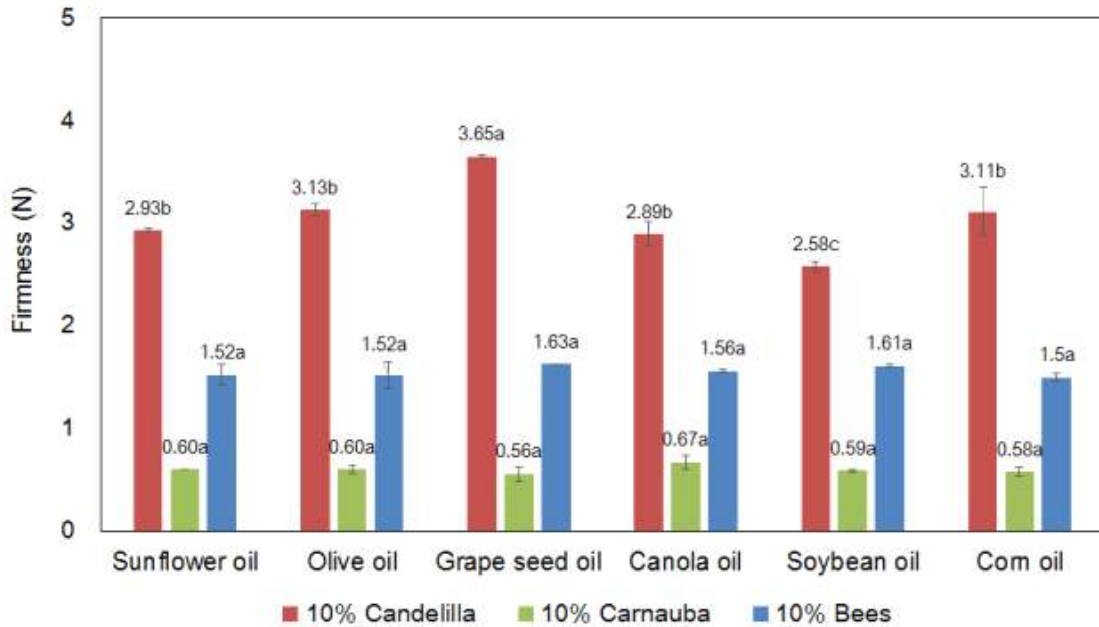


그림 11. Gelator에 따른 올레오젤(10%, w/w)의 Firmness 측정 결과

· Firmness 측정 결과를 보면, Gelator 중에서는 Candelilla wax를 이용한 올레오젤이 가장 강한 Firmness값을 보였으며, 그 중에서도 Grape seed oil로 제조된 올레오젤이 가장 큰 Firmness 값을 가져 가장 단단한 조직감을 보여줌. 또한, Bees wax를 사용하여 만든 올레오젤이 다음으로 높았으나 다른 종류의 유지 사용에 따른 유의적인 차이는 보이지 않음. 가장 낮은 강도는 Carnauba wax를 이용한 올레오젤에서 나타났으며, Carnauba를 이용하여 만든 올레오젤의 경우도 유지 간 큰 차이를 보이지 않음.

- 온도에 따른 올레오젤의 물성학적 특성 분석

- 온도에 따른 올레오젤의 점도 특성 분석

- 10% 올레오젤의 점도를 Controlled-stress rheometer(AR1500ex, TA Instruments, USA)를 이용하여 온도에 따라서 측정함. 측정 조건은 Probe의 경우 40 mm parallel plate를 사용하였고, shear rate는 100 s^{-1} , 50°C 에서 90°C 로 $2^\circ\text{C}/\text{min}$ 로 온도를 올려줌.

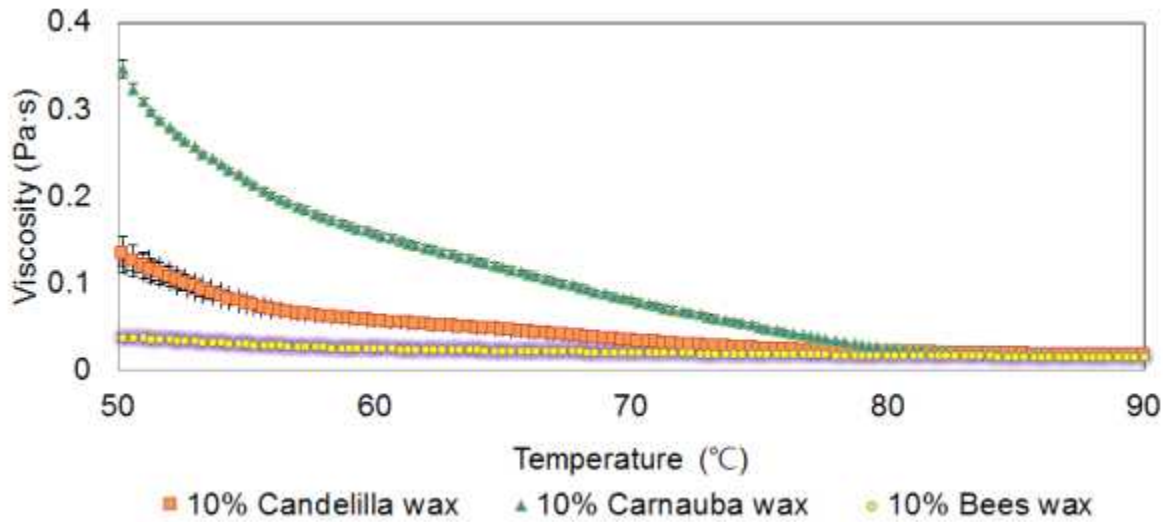


그림 12. 온도에 따른 올레오젤(10%, w/w)의 점도 측정 결과

- 온도에 따른 점도 측정 결과를 보면 10% Carnauba wax를 이용한 올레오젤의 점도가 가장 큰 것을 확인 할 수 있었고, Candelilla wax, Bees wax 순으로 낮은 것을 확인함. Carnauba wax의 경우 급격히 점도가 감소하였으며, Bees wax의 경우 온도에 따른 점도 차이가 크지 않음을 확인함.

- Arrhenius 모델식 적용

· 온도에 따른 점도 변화를 좀 더 수치적으로 나타내기 위하여 온도에 따른 점도 결과 곡선을 Arrhenius 모델식에 적용함.

<Arrhenius model>

$$\eta = A \cdot \text{EXP}(E_a/RT)$$

η : Viscosity

A : Arrhenius constant

E_a : Activation energy

R : Universal gas constant

T : Absolute temperature

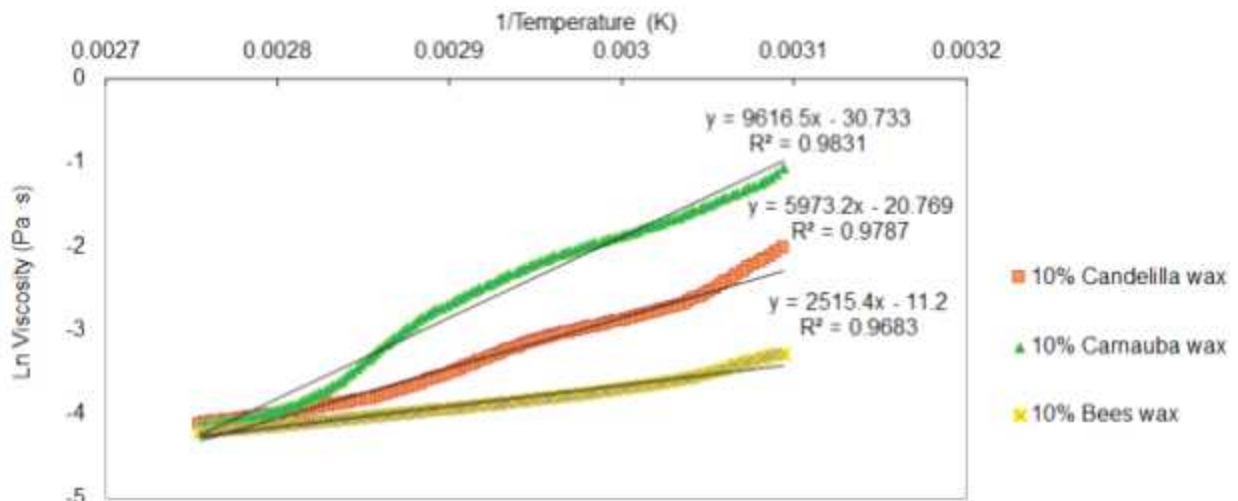


그림 13. 올레오젤의 Arrhenius 모델식

	E_a (J/Kg·mol)	A (Pa·s)	R2
10% Candelilla wax	4.97E+07±	1.02E-09±	0.9831
	1.20E+06b	4.19E-10b	
10% Carnauba wax	8.00E+07±	4.47E-14±	0.9787
	3.51E+05a	6.25E-15b	
10% Bees wax	2.10E+07±	1.42E-05±	0.9683
	5.87E+05b	2.83E-06a	

표 8. 10% 올레오젤의 Arrhenius 결과

· Arrhenius 모델 변수를 살펴보면 Carnauba wax를 사용한 올레오젤의 E_a 의 값이 가장 높은 것을 알 수 있음. E_a 의 값이 높을수록 온도에 따른 점도 변화가 심한 것을 알 수 있음. Arrhenius 모델식을 통해서 확인해본 결과 E_a 값이 10% Carnauba wax에서 가장 큰 것으로 보아 온도 변화에 따른 점도 변화가 가장 심하고, 10% Bees wax가 E_a 값이 가장 낮은 것으로 보아 온도 변화에 따른 점도 변화가 가장 낮은 것으로 확인됨.

- 온도에 따른 점탄성 분석

· 10% 올레오젤의 점탄성을 Rheometer(AR1500ex, TA Instruments, USA)를 이용하여 온도에 따라서 측정함. 측정 조건은 미끄러짐 (slippage)을 방지하기 위하여 probe는 40 mm parallel cross hatched plate를 사용하였고, strain은 0.01%, Frequency는 1.0Hz로에서 측정함. 온도는 25°C에서 80°C로 분당 2°C만큼 올려서 측정함.

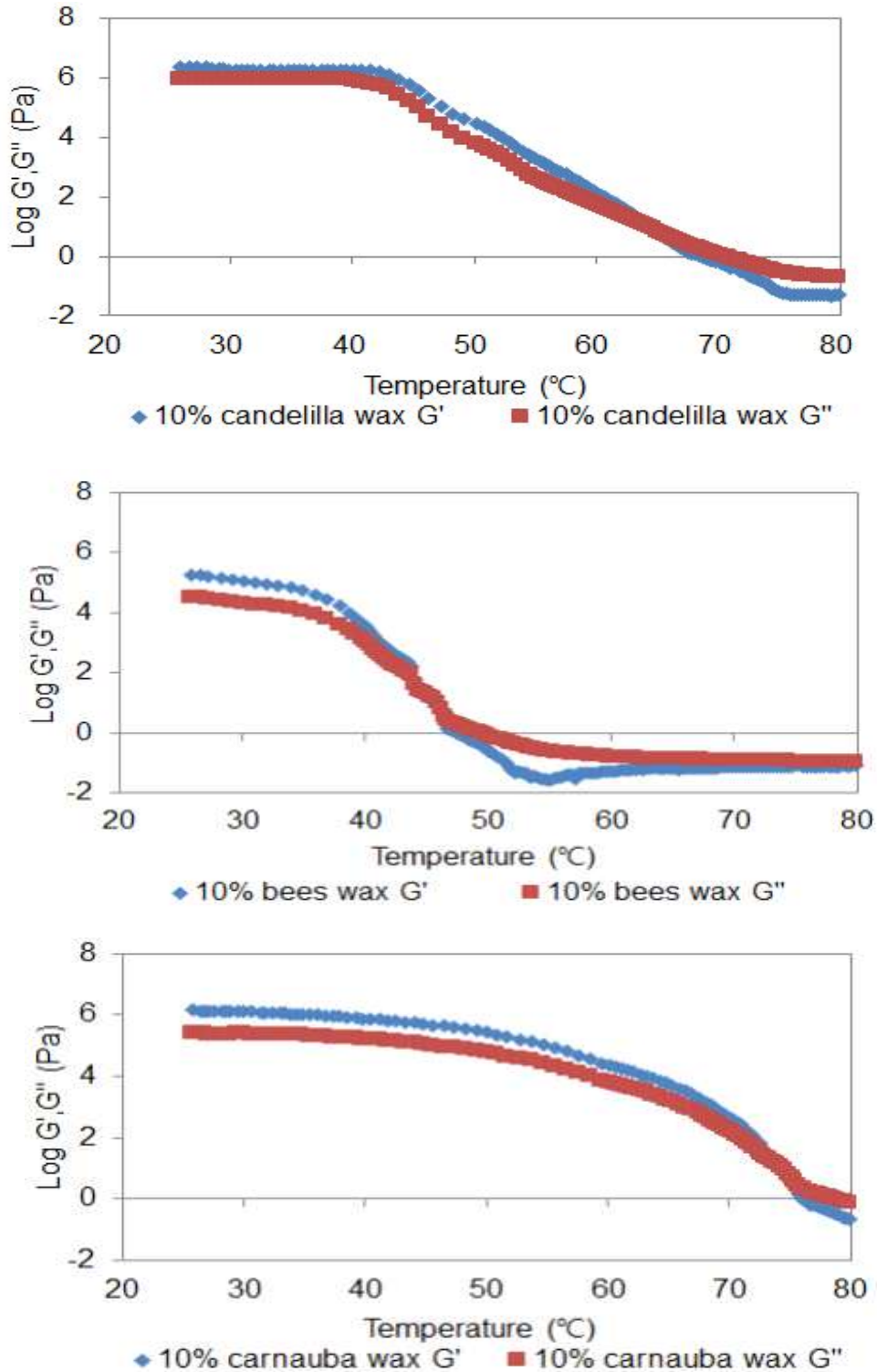


그림 14. 온도에 따른 올레오젤의 점탄성 분석

· 온도에 따른 올레오젤의 점탄성 분석을 위하여 G' (시료의 탄성 특성), G'' (시료의 점성 특성)을 측정함. 온도에 따른 올레오젤의 점탄성 측정결과를 보면 서로 다른 경향의 패턴을 보임. 먼저 Candelilla wax의 경우 45°C까지는 변화없이 일정하게 점탄성을 유지하였다가 45°C 이후부터 가파르게 감소하는 경향을 보임. 다음 Carnauba wax의 경우는 25°C부터 조금씩 서서히 감소하는 경향을 보이며 70°C 부근에서 급격히 감소함. 마지막으로 Bees wax의 경우 35°C에서부터 급격히 감소하는 패턴을 보여줌. 이를 통하여, 올레오젤 시료의 온도에 따른 점성과 탄성의 변화를 알 수 있었음.

◦ 올레오젤의 열적 특성 비교

- DSC를 활용한 올레오젤의 thermodynamic 특성 분석 및 기존 유지와의 특성 비교

· DSC(Differential Scanning Calorimetry) 기기를 통하여 올레오젤과 기존 유지로서 쇼트닝의 열적 특성을 분석함. 측정 조건은 시료(10-15mg)를 알루미늄 팬에 밀봉하고 온도를 25°C에서부터 90°C까지 올린 후 15 분간 온도를 유지한 후에 -20°C로 낮춘 후 20 분간 안정화시킴. 그 후, 온도를 100°C로 올리면서 empty pan과의 비교를 통하여 열적 특성을 분석함.

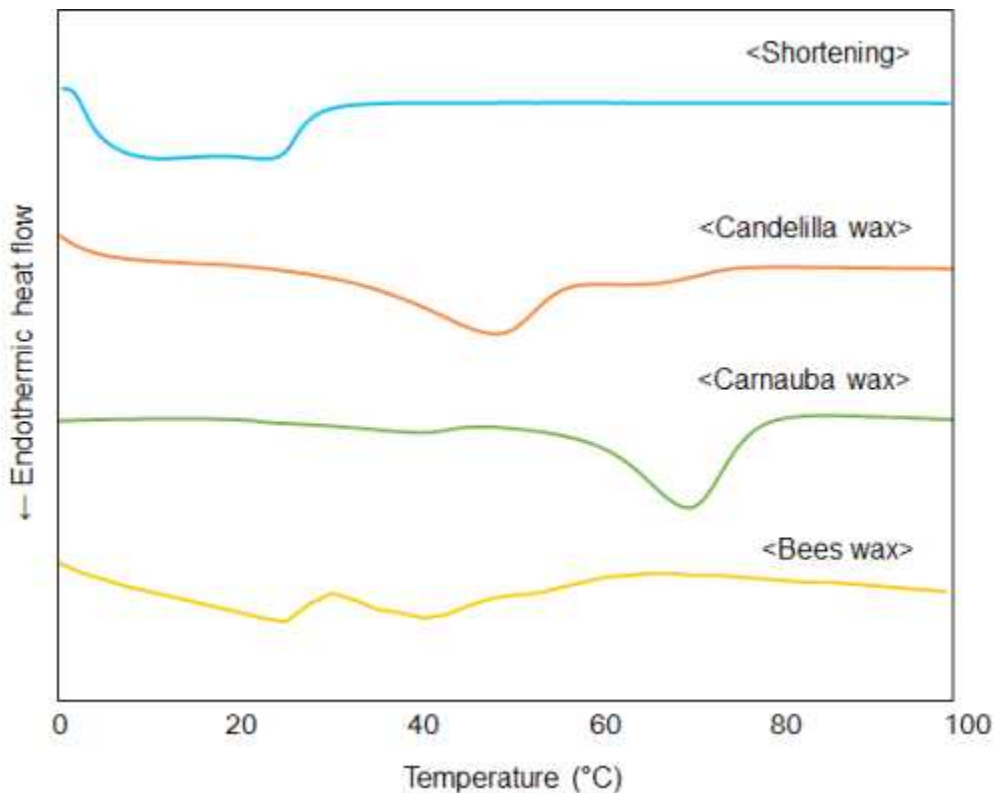


그림 15. 10% 올레오젤과 쇼트닝의 열특성 분석 비교

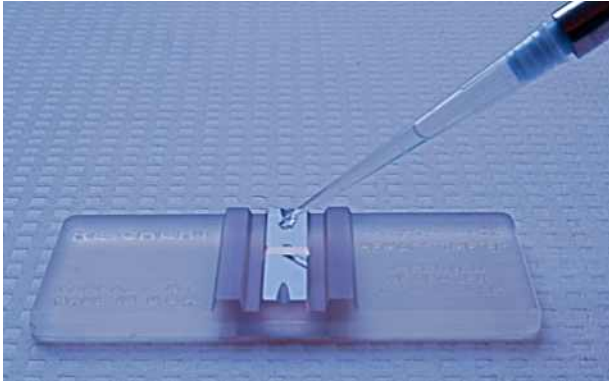
· 위의 그림을 보면 쇼트닝의 경우 10-20°C 부근에서 완만한 peak를 보여줌. 10% Candelilla wax의 경우 Peak 온도가 49°C가 측정되었고, 10% Carnauba wax의 경우 76°C가 측정됨. 이를 통하여 Carnauba wax의 상태변화 온도가 가장 높은 것을 확인 할 수 있고 온도에 따른 점탄성, 점도 결과와 유사한 경향을 보임.

[제1협동] 올레오젤 함유 식품의 건강기능성 구명

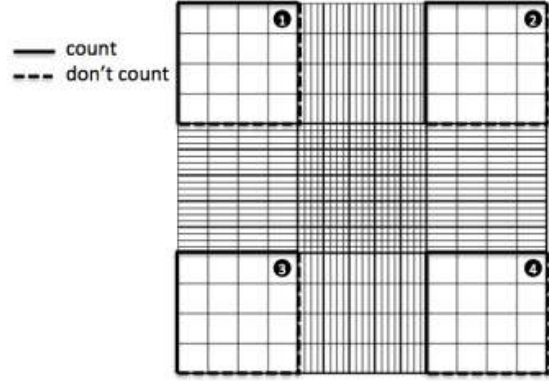
◦ 올레오젤 적용을 위한 다양한 식물성 유지 탐색 및 생리활성 모델개발

- *In vitro* 모델 구축을 위한 지방 및 근육세포 배양기법 확립

- 안정적인 세포배양을 위해 항상 멸균조건을 유지하고, Clean bench 사용 전 20분간 UV램프와 air flow를 켜놓아야 함. 세포가 proliferation 할 수 있는 환경제공을 위해 성장배지(Growth Media; GM) 제작. 성장배지는 DMEM 배지 89%, Fetal bovine serum(FBS) 10%, antibiotics 1% 함유됨 (200ml GM제조 시, DMEM 178ml+ FBS 20ml + AA 2ml). 로 하여 제조함. FBS는 58°C에서 30분간 heat inactivation 하는 것이 바람직함. 이 과정을 통해 혈청 속의 Complement protein이나 Mycoplasma이 제거 되는데, 이 과정에서 유용한 amino acid, vitamins, growth factor들도 파괴될 수도 있기 때문에 low endotoxin FBS일 경우 이 과정은 생략해도 됨. 제조된 GM 배지는 labeling 및 sealing 후 2주간 냉장보관 가능함.
- 액체질소나 Deep freezer에 보관된 세포를 37°C 항온수조에 60~70초간 해동 한 후 독성이 있는 DMSO(동결 보존제) 제거를 위해 GM10mL과 섞은 후 원심분리(3000rpm 3분)하고, 상등액은 폐수처리하고 세포펠렛을 새로운 GM배지로 잘 풀어준 다음 cell plate에 분주. 분주된 세포는 37°C CO₂ 5%인큐베이터에서 배양함.
- 세포가 일정수준 자라면(confluency 80%) 세포를 pre-warmed된 PBS로 washing 하고, Trypsin-EDTA를 처리하여 2~5분간 인큐베이터에서 배양함. Plate 바닥에서 세포가 떨어지면 GM과 섞은 후 원심분리(2500rpm 3분)하여 상등액을 제거하고 세포펠렛은 동결 또는 계대배양을 함. 세포동결을 위해서는 세포펠렛을 GM과 섞은 후 10% DMSO를 첨가하고 천천히 섞은 후 criovial에 분주하여 freezing container에 넣고 deep freezer에서 24시간 동결함. 계대배양을 하기 전, 세포의 개수를 counting 하여 plate에 분주되어질 세포의 수가 일정해야 함. 원심분리된 세포에 GM 10mL을 혼합하여 잘 풀어준 후 세포가 포함된 배지 10μl와 Trypan blue용액 10uL를 섞은 후 hemocytometer에서 세포를 관찰함. 현미경상에서 세포의 수를 계수기를 이용하여 Hematocytometer 눈금 가장자리 4개의 구획에서 count함(그림 16. Cell counting). Cell의 수를 셀 때 Trypan Blue에 의해서 활성이 없는 세포는 푸르게 염색되므로 개수에 포함하지 않음. 만약, 4칸 total 개수가 200일 경우, 1칸당 개수를 구하여 1ml, 10ml 일 때의 셀의 수를 구함. 200개/4칸은 1칸 당 50개이고, 1ml 당 개수는 (50개/10 μl)*(10⁵μl/1ml)이므로 1ml당 50*10⁴개임. 따라서 10ml 당 개수는 50*10⁵개임. 몇 well을 사용할 지정하고 거기에 맞는 cell seeding patterns에 따라 계산함. 만약 6well을 사용한다고 정했을 경우, 2*10⁵cells/well 공식 사용하여 6well당 내가 필요한 cell양 은 (2*10⁵cells/well)*6well/50*10⁵*10 = 2.4ml임. 12ml(6well의 최대용량) - 2*(6well당 내가 필요한 cell의 양) = 배지의 양을 구할 수 있음. Conical tube에 위에서 구한 총 배지의 부피와 세포의 양에 맞춰 well에 plating 후 배양.



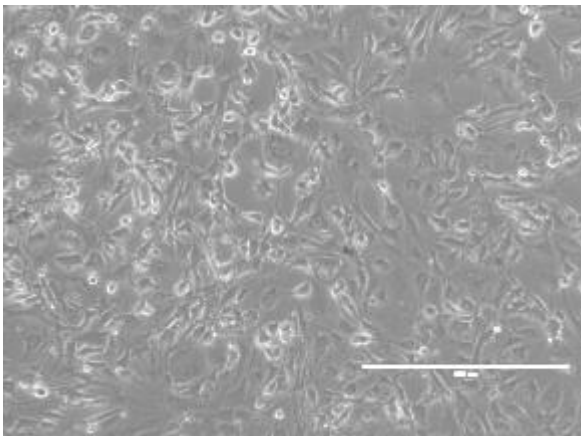
Hematocytometer



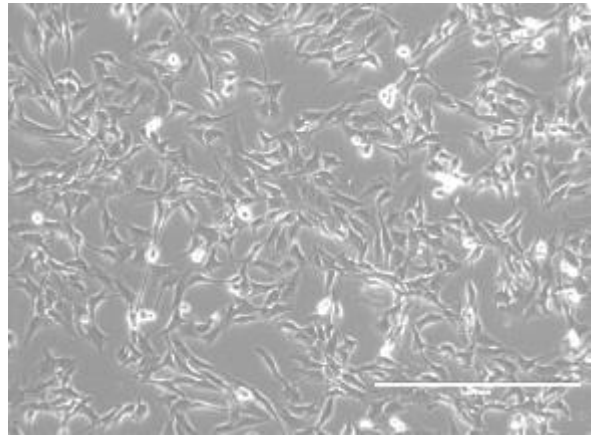
Hematocytometer 눈금

그림 16. Cell counting

· 인큐베이터에서 약 3일간 GM배지에서 배양된 근육과 지방세포의 성장패턴을 현미경으로 관찰하였을 때 지방전구세포(3T3-L1)는 방추사 모양으로 부착되어 세포 가운데는 세포 소기관들이 동그랗게 세포막 안에 모여 있는 것을 확인할 수 있음(그림 17). 분화배지에서 분화가 시작되면 동그란 지방구 형성을 관찰할 수 있음. 한편, 근육세포(C2C12)는 지방세포보다 plate에 부착 시 더 조밀하게 서로 엉키는 모습을 보이고, 지방세포와 마찬가지로 세포 안에 동그랗게 세포막 안에 소기관들이 자리 잡고 있으며, 이 세포를 분화시키면 세포가 길게 섬유상을 형성하고 세포내 여러 개의 핵이 융합하는 형태를 보임.



3T3-L1 cell



C2C12 cell

그림 17. 배양 3일차 3T3-L1과 C2C12 세포의 morphology

· 세포분화 및 분석 조건 확립

① 3T3-L1 세포: 지방전구 세포주인 3T3-L1 세포의 형태와 세포 내 지방적 형성 상태를 분석하기 위해 Oil-red-O 염색법을 이용하여 cell morphology 분석. Oil-red-O stock은 0.7g의 Oil-red-O 파우더를 200ml 100% isopropanol에 한 시간 가량 녹여서 filtering한 후 3차 증류수와 4 : 6 비율이 되도록 한 번 더 섞어주고 filtering하여 Oil-red-Oil working solution 제작. 세포 proliferation 3일째 약 90% 정도 confluence가 되면, GM을 분화배지로 교체해서 분화 유도. 분화배지는 GM에 0.5mM dexamethasone (Dex), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), 1μM dexamethazone, 1.7μM insulin을 첨가하여 5일간, GM에 1μM dexamethazone, 1.7μM insulin을 첨가하여 2일간, 그 다음 2일간 GM에 1.7μM insulin 만을 첨가하여 분화를 유도함. 지방세포 분화 후 PBS로 washing 하고, 10% formalin을 첨가하여 5분간 고정 후, 60% isopropanol로 washing 하고 plate를 상온에서 건조시킴. 건조후

Oil-red-O working solution을 넣어주고 1시간 이상 은박지를 씌어 염색한 후에 증류수를 이용하여 염색약이 사라질 때까지(약 4회) washing 한 후 현미경으로 관찰함. 지방전구세포에 분화배지를 처리하지 않고 GM으로 계속 배양했을 경우 그림과 같이 지방적 형성이 미비하나, 9일간 분화유도를 한 처리구에서는 많은 양의 지방적이 형성되어 붉게 Oil-red-O 염색이 된 것을 확인 할 수 있음 (그림 18). 이러한 염색기법을 이용하여 다양한 지방산 및 왁스류의 처리가 지방세포의 성장과 분화에 미치는 영향을 분석할 수 있음.

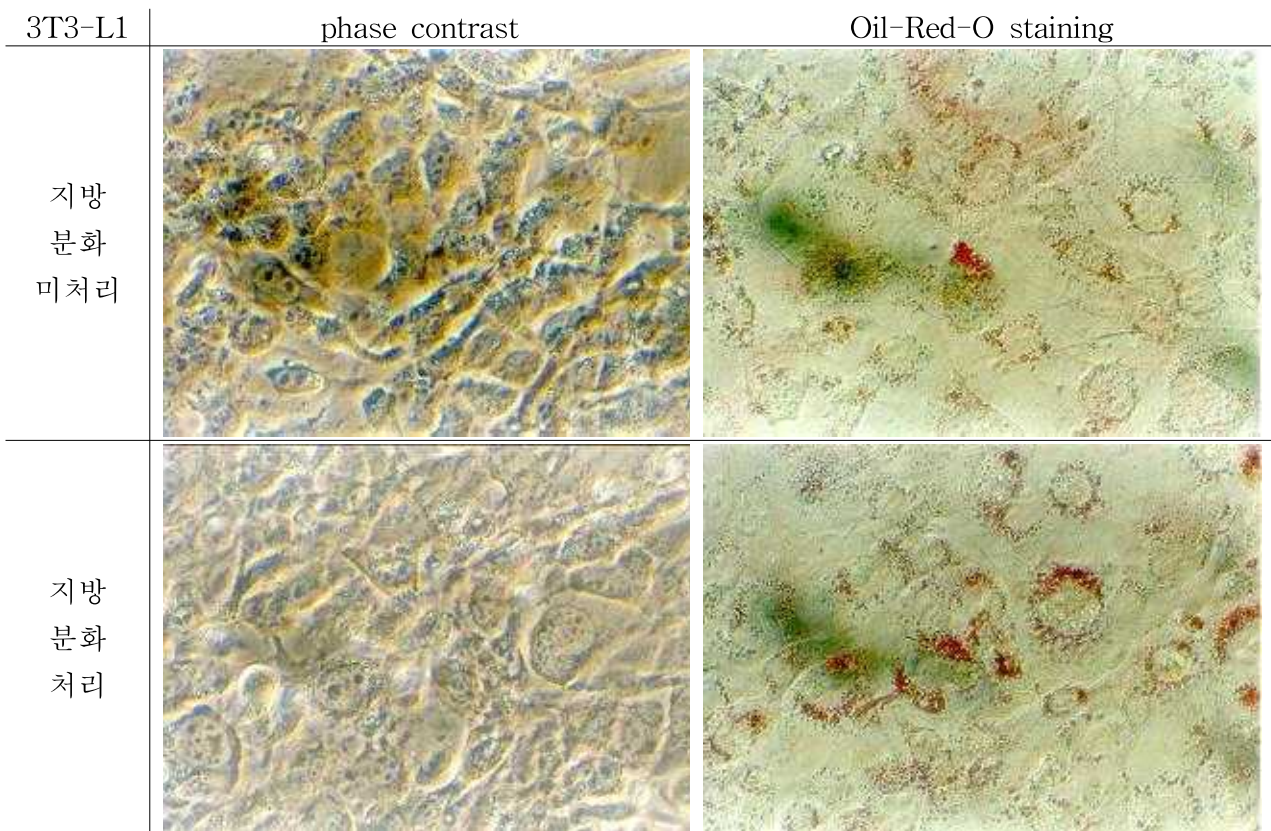


그림 18. Oil-red-O 염색된 3T3-L1 세포

② C2C12 세포: 근육세포주인 C2C12 세포는 GM 배지에서 약 90% confluent하게 자라게 되면 DMEM배지에 2% horse serum을 첨가한 분화배지를 이용하여 분화를 유도하여 약 5일간 분화가 이루어지면 섬유상의 myofiber가 형성되는데 이는 근육세포들이 성장 및 분화할 때 여러개의 세포가 하나의 근육세포로 융합하여 근섬유로 성장하는 것임. 배양된 근육세포의 morphology 관찰을 위해서 DNA의 phosphate를 염색시켜 핵을 보라색으로 보이게 함(그림 19). 근육세포를 PBS로 washing 한 후 100% MeOH를 처리하여 세포를 고정시켜 완전히 건조하고, 고정된 셀의 단분자층에 Giemsa Stain solution을 30분간 처리함. 증류수로 washing을 여러 번 해주고 현미경으로 관찰함. 그림에서와 같이 2% horse serum으로 분화유도된 처리구에서는 여러 개의 핵이 하나의 세포로 융합한 근섬유(myotube and myofiber)가 형성된 것을 확인할 수 있음.

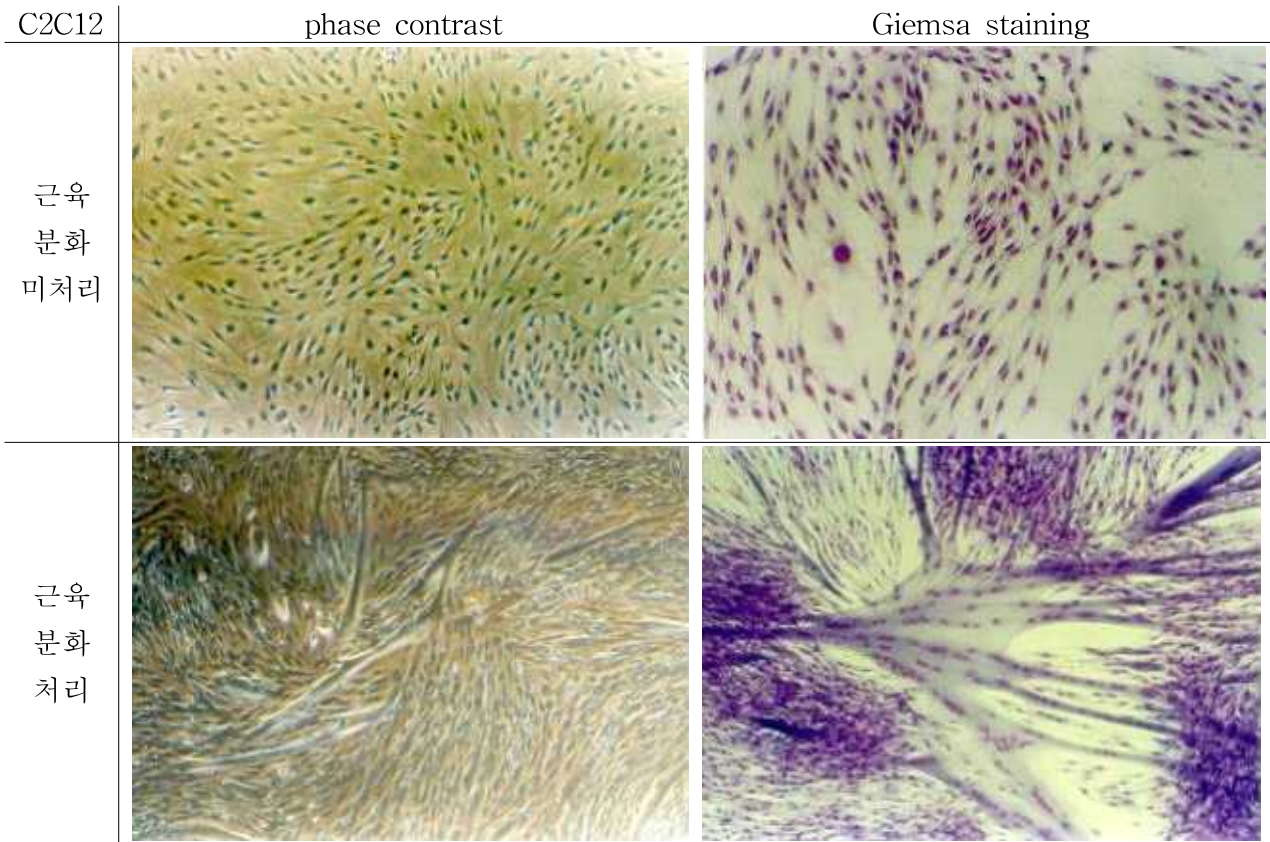


그림 19. Giemsa 염색된 C2C12 세포

- 생리활성에 적합한 식물유지 탐색

- 다양한 식물성 유지(카놀라유, 올리브유, 생선기름, 해바라기씨유 등)의 생리활성도 분석

Olive oil , Canola oil , Grape seed oil , Sunflower oil, Corn oil , Soybean Oil 6가지 식물성 유지를 이용하여 DPPH Radical Scavenging assay 실행함. 유지는 MeOH에 녹이지 않으므로 isooctane을 용매로 하여 사용함. 0.1mM DPPH in isooctane 950 μ l에 sample을 각 50 μ l을 첨가하여 30min간 암실에서 반응시킨 후, 517nm spectrophotometer를 이용하여 O.D를 측정함 (그림). sample의 농도는 0 / 10⁵ / 2.5*10⁵ / 5.0*10⁵ / 10⁶ ppm로 진행함(그림 20).

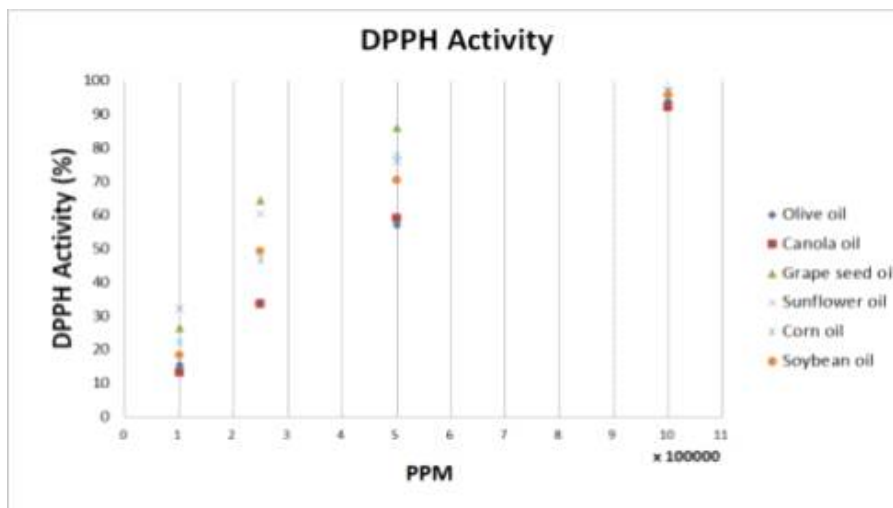


그림 20. 각종 오일의 DPPH activity

전자 공여 능을 측정하는 DPPH 라디칼 소거법을 통해 6가지 식물성 유지를 측정해 보았을 때 위와 같은 표의 결과를 얻음. Sunflower oil이 10⁶ppm에서 DPPH activity가 97.1% 로 가장 높은 항산화 능을 보이고, 나머지 식물성유지는 Corn oil 96.85% , Grape seed oil 96.84%, Soybean oil 95.84%, Olive oil 93.94%, Canola oil 92.02% 순으로 항산화 능을 나타냄(표 9). 또한, 10⁶ppm에서 대부분의 식물성유지는 우수한 항산화 능을 가지고 있음을 알 수 있고, 그 중에서 해바라기씨유(sunflower oil)의 항산화 효과가 가장 큰 것으로 나타남. 향후, coconut oil, flaxeed oil 등 다양한 유지에 대한 항산화능을 분석하여 최적화된 올레오젤 적용 제품개발에 활용할 계획임.

Ppm	DPPH Activity (%)					
	Olive oil	Canola oil	Grape seed oil	Sunflower oil	Corn oil	Soybean oil
0	0	0	0	0	0	0
100000	15.43	13.31	26.72	32.21	22.28	18.28
250000	34.02	33.61	64.47	60.49	46.77	49.42
500000	57.02	59.14	86.12	76.02	77.84	70.60
1000000	93.94	92.02	96.84	97.10	96.85	95.84

표 9. 식물성 오일의 DPPG activity

- 올레오젤 화합물의 최적 처리기간 및 농도 구명

· 특정유지의 처리기간 및 농도구명

지방세포인 3T3-L1 mouse embryo fibroblast를 89%DMEM, 10%FBS, 1%AA로 조성된 Growth Media(GM)를 처리하여 지방세포가 70%이상 confluent 상태가 되도록 37°C CO2 incubator에서 배양 후, 분화배지를 처리하여 세포의 분화를 유도하고 그 결과를 확인하기 위해 Oil Red O staining을 통해 각 유지별 농도처리에 따른 Lipid droplet의 형성정도를 비교함. 분화배지(MDI media)의 조성은 IBMX 0.5mM, dexametasone 1 μM, insulin 1.7 μM, 10% FBS , 1% antibiotic-antimycotic in DMEM medium로 함. 분화 배지 처리의 시작은 GM을 처리하고 나서 plate에 세포가 70%이상 차면 GM 대신 MDI media로 교체하여 처리해줌. 이때, 지방산의 처리는 분화가 시작된 시점부터 하여 Day2까지 48시간동안 MDI media를 교체시마다 농도에 따라 처리함. 세포의 분화 유도시, Day0~2까지는 MDI media를 처리, D3~5은 insulin만을 처리, D6~7은 fresh DMEM을 처리함. D8이상이 되면 완전히 분화된 세포를 볼 수 있음. 처리하는 지방산의 농도는 생리활성 능력 분석 결과, 포도씨유와 해바라기씨유가 각각 5000000ppm, 1000000ppm에서 가장 높은 활성도를 보였음. 대조구에는 포화지방산인 stearic acid를 사용하였음.

[제2협동] 천연 산화방지제 cocktail 활용 올레오젤 함유 식품의 물리화학적 안정성 특성 개선

◦ 열산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인

- 올레오젤에 상온 및 고온 스트레스로 유발된 산화생성물 분석
- SPME-GC/MS를 활용한 산화유래 휘발성분 분석을 통한 지방산화 메카니즘 구명
- CDA, *p*-AV 측정을 통한 비휘발성 산화생성물 분석을 통한 저장 안정성 증대

: 고체지방함량(SFC) 조사 결과 카나우바 왁스젤은 온도가 60도로 올라가도 SFC 변화가 없으나 비즈왁스젤은 SFC가 감소함. 180도에서 열처리 시 5-15% 카나우바 왁스 올레오젤의 산화안정성이 비즈왁스올레오젤 보다 높음. 60도에서 두 올레오젤 모두 산화안정성이 대조구보다 높았음

[◦ 올레오젤에 적합한 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색]

- 지용성 산화방지제인 토코페롤의 homologs 비율과 구연산의 함량에 대한 문헌 조사 및 예비실험 결과 수행

: 문헌 조사를 통해 토코페롤의 homologs 비율과 지방산 조성이 중요함을 파악함.

메탈킬레이터제인 EDTA를 유지와 수분phase에 첨가 시 유지에 첨가하는 경우가 더 산화안정성이 우수함을 확인

◦ 올레오젤의 물리화학적 성질 비교

- DSC를 활용한 올레오젤의 왁스 타입과 함량에 따른 thermodynamic 특성 분석

그림 21은 카나우바 왁스와 비즈 왁스 올레오젤의 DSC 패턴을 나타낸 그림임.

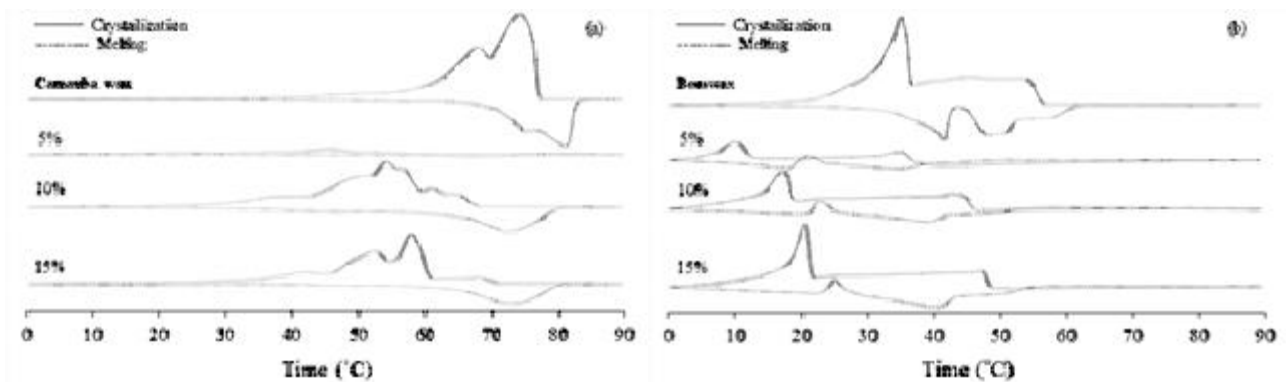


그림21. 카나우바 왁스와 비즈 왁스 올레오젤의 DSC 패턴

· 카나우바 왁스와 비즈 왁스를 비교했을 때 카나우바 왁스가 비즈왁스에 비해 crystallization과 melting 온도가 더 높은 것을 확인함. 올레오젤은 왁스 함량이 높아질수록 왁스의 패턴과 비슷해지는 것을 알 수 있음.

표 10은 카나우바 왁스와 비즈 왁스 올레오젤의 열적 특성을 나타낸 표임.

		Carnauba wax				Beeswax			
		Wax	5%	10%	15%	Wax	5%	10%	15%
Crystallization	Onset	77.13	54.31	60.34	62.93	37.30	15.08	19.78	21.73
	T _c (°C)	±0.12	±2.96	±0.45	±2.50	±0.03	±1.85	±0.29	±0.18
	T _c (°C)	74.44	51.53	56.74	59.92	35.61	12.43	18.22	20.45
	T _c (°C)	±0.29	±5.12	±2.30	±1.76	±0.29	±1.84	±0.49	±0.35
	ΔH (J/g)	-173.56	-7.72	-22.09	-33.05	-175.57	-3.48	-11.00	-15.52
Melting	Onset	69.75	61.84	63.88	64.21	38.15	20.58	22.46	24.11
	T _m (°C)	±0.09	±1.57	±1.13	±1.24	±0.07	±0.41	±0.24	±0.21
	T _m (°C)	81.30	69.60	73.22	74.30	42.25	36.30	39.59	40.52
	T _m (°C)	±0.18	±2.15	±0.70	±1.05	±0.22	±1.00	±0.05	±0.17
	ΔH (J/g)	172.04	4.48	20.25	30.26	179.06	2.90	7.41	16.78
		±3.76	±2.54	±2.81	±4.94	±4.24	±1.37	±1.49	±3.96

표 10. 카나우바 왁스와 비즈 왁스 올레오젤의 열적 특성

· Crystallization과 melting peak 온도는 카나우바 왁스의 경우 74.4°C와 81.3°C였으나 비즈 왁스는 35.6°C와 42.3°C로 비즈왁스의 crystallization과 melting 온도가 더 낮았음. 올레오젤의 경우 카나우바 왁스 올레오젤의 온도가 비즈 왁스 올레오젤의 온도보다 높았으며 왁스 함량이 증가할수록 peak 온도와 enthalpy가 증가하는 것을 확인함.

그림 22는 올레오젤의 solid fat content를 측정한 결과임.

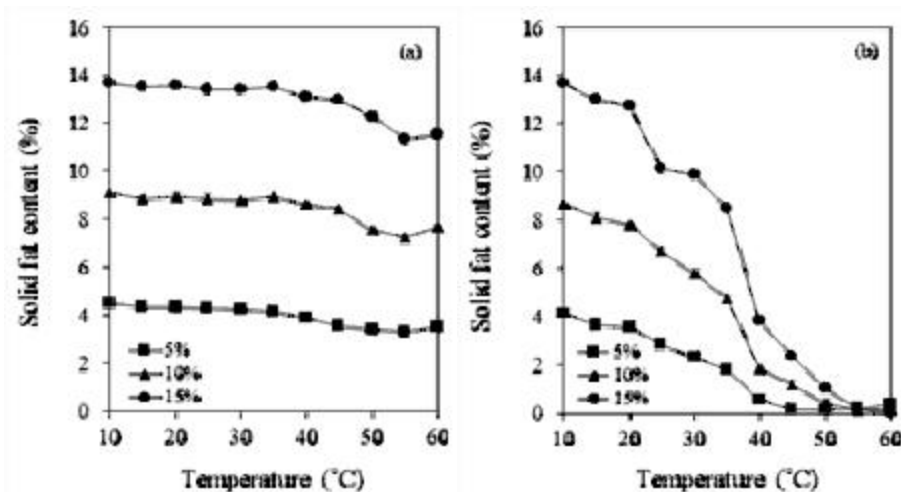


그림 22. 카나우바 왁스 올레오젤(a)과 비즈 왁스 올레오젤(b)의 solid fat content

· 10°C에서는 카나우바 왁스 올레오젤이나 비즈 왁스 올레오젤의 solid fat content가 비슷한 것을 확인함. 이를 통해 10°C와 같은 저온에서의 solid fat content는 왁스 함량에 의해 결정되는 것을 알 수 있음. 카나우바 왁스 올레오젤의 경우 10°C에서 40°C까지는 변화가 없지만 40°C 이상에서 약간 감소하는 경향

을 보임. 하지만 비즈 왁스 올레오젤의 경우 10°C에서 60°C까지 온도가 증가할수록 solid fat content가 감소하는 것을 확인함. 이를 통해 비즈 왁스 올레오젤이 카나우바 왁스 올레오젤보다 온도에 더 민감하다는 것을 알 수 있으며 카나우바 왁스 올레오젤이 60°C에서도 고체 형태를 유지하는 것은 표 #11에서 확인한 melting peak 온도가 60°C 이상이기 때문임.

· 표 11은 카나우바 왁스와 비즈 왁스 올레오젤의 색도와 oil binding capacity를 나타낸 결과임. 색도는 hunter's L*, a*, b* value로 나타냈으며 ΔE값은 control oil과 올레오젤의 색 차이를 비교한 수치임. Oil binding capacity(OBC)는 1 g의 올레오젤을 9,167 g에서 15분 동안 원심분리 했을 때 빠진 oil을 제거하고 남은 양의 무게로 구했음.

	Carnauba wax				Beeswax			
	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%
L*	58.79±1.49	41.64±0.53	48.10±0.41	51.07±1.23	54.45±0.88	34.66±0.27	46.56±1.48	51.67±1.17
a*	-3.05±0.49	-2.99±0.28	-3.54±0.17	-3.10±0.49	-7.13±0.37	-2.87±0.29	-4.38±0.20	-4.68±0.32
b*	10.62±1.74	5.85±0.16	10.12±0.47	13.81±0.57	19.75±0.87	4.93±0.15	4.52±0.19	4.35±0.22
ΔE	-	17.80±0.54	10.72±0.41	8.40±0.97	-	25.08±0.1	17.40±0.85	15.86±0.42
OBC (%)	-	85.08±4.16	99.00±0.20	99.37±0.15	-	99.54±0.0	99.67±0.46	99.47±0.15

표 11. 카나우바 왁스와 비즈 왁스 올레오젤의 색도와 oil binding capacity

· 카나우바 왁스 올레오젤과 비즈왁스 올레오젤 모두 왁스 함량 5%에서 15%로 늘어날수록 L*(luminosity)값이 증가하는 것을 알 수 있음. a*(redness)나 b*(yellowness)는 왁스 타입에 따라 다른 경향을 보였으며 control oil과의 차이를 나타낸 ΔE값은 왁스의 함량이 증가할수록 감소했음. Oil binding capacity는 5, 10, 15% 카나우바 왁스를 함유한 올레오젤의 경우 각각 85.1, 99.0, 99.4%로 카나우바 왁스 함량이 증가할수록 oil binding capacity가 증가하는 것을 확인함. 하지만 비즈 왁스 올레오젤의 경우 함량에 따른 차이가 없었으며 5%의 함량에서도 높은 oil binding capacity를 갖는 것을 통해 카나우바 왁스보다 비즈 왁스가 더 효율적인 올레오젤레이터임을 확인함.

- 열산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인
- 올레오젤의 고온(180°C)에서의 산화안정성

그림 23은 180°C에서 산화시킨 카나우바 왁스 올레오젤의 산화안정성을 확인한 결과임.

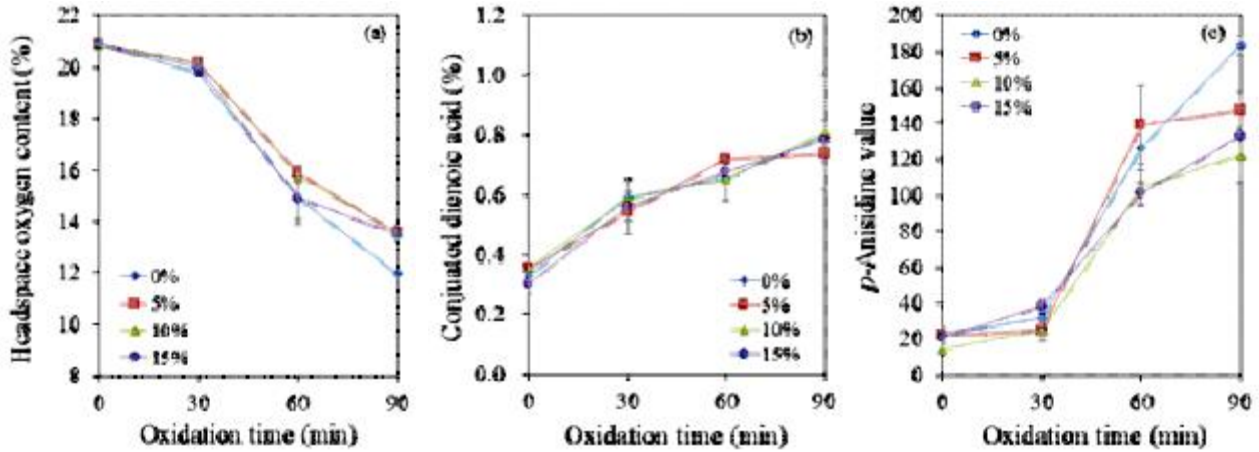


그림 23. 180°C에서 산화시킨 카나우바 왁스 올레오젤의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c)

· 카나우바 왁스 올레오젤은 고온에서 산화시켰을 때 headspace oxygen content 결과 왁스를 함유하지 않은 control oil에 비해 산소 소모량이 적었으나 왁스 함량에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았음. 1차 산화생성물을 확인하는 conjugated dienoic acid value의 결과 control군과 올레오젤의 산화안정성에는 유의적인 차이를 보이지 않았음. 이는 올레오젤을 만드는 과정 중 160°C의 고온에서 열처리를 가해 1차 산화가 이미 진행되어 왁스에 의한 산화안정성이 차이가 나타나지 않는 것으로 예상됨. 2차 산화생성물을 확인하는 *p*-anisidine value의 결과 control군에 비해 올레오젤의 산화안정성이 높은 것을 통해 카나우바 왁스 올레오젤은 고온에서 산화시켰을 때 control oil에 비해 산화안정성은 높아졌다는 것을 알 수 있음.

그림 24는 180°C에서 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 산화안정성을 확인한 결과임.

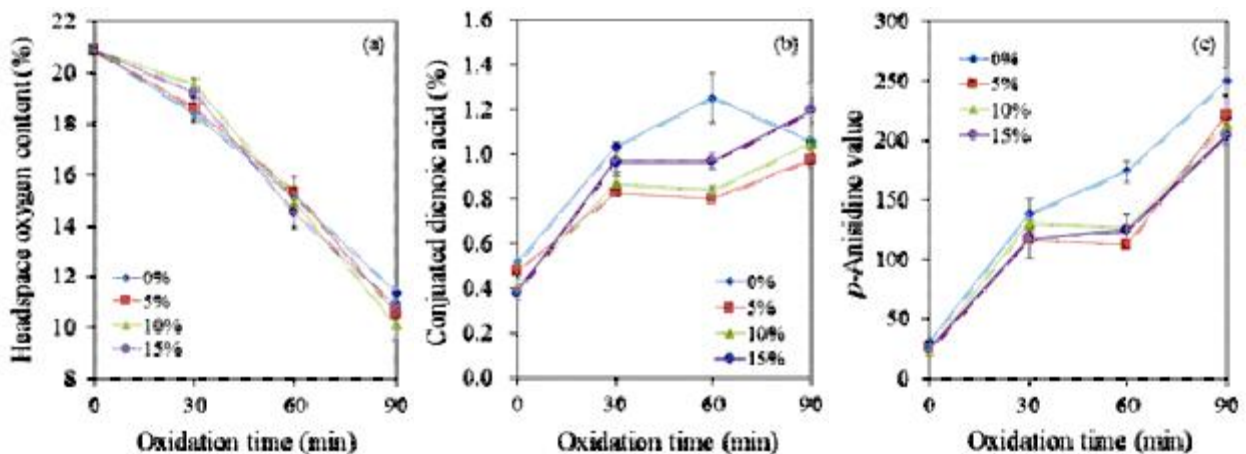


그림 24. 180°C에서 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c)

· 비즈 왁스 올레오젤은 고온에서 산화시켰을 때 headspace oxygen content와 conjugated dienoic acid

value의 결과 control oil과 산화안정성에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났음. *p*-Anisidine value에서는 control oil보다는 산화생성물이 적게 생성됨을 보임.

표 12는 카나우바 왁스 올레오젤을 고온에서 산화시켰을 때 생성되는 휘발성분 변화를 나타낸 결과임.

×10 ⁷ ion counts	30 min				60 min				90 min			
	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%
2-Butenal	2.28±	1.66±	1.26±	1.38±	12.11	9.03±	8.68±	6.62±	12.18	10.20	8.55±	6.13±
	0.15	0.10	0.36	0.20	±0.43	0.34	0.49	0.44	±0.37	±0.37	1.26	0.38
1-Penten-3-ol	1.03±	0.82±	0.70±	0.79±	10.02	7.77±	7.94±	7.17±	9.68±	8.85±	8.23±	6.80±
	0.19	0.09	0.19	0.13	±0.79	0.40	0.43	0.48	1.51	0.35	0.75	0.09
2-Pentenal	0.60±	0.42±	0.39±	0.52±	5.87±	4.27±	4.47±	3.40±	6.93±	5.69±	5.13±	3.04±
	0.26	0.03	0.10	0.01	1.24	0.37	0.32	0.22	0.29	0.34	0.78	0.12
Hexanal	0.78±	0.73±	0.77±	1.15±	14.23	10.62	12.64	10.27	21.62	18.48	14.26	12.24
	0.15	0.12	0.27	0.22	±6.29	±0.45	±0.92	±0.68	±0.27	±0.77	±1.54	±4.17
Heptanal	0.04±	0.03±	0.03±	0.04±	1.16±	0.82±	1.45±	0.98±	1.84±	1.55±	1.46±	0.93±
	0.01	0.01	0.01	0.01	0.59	0.03	0.73	0.05	0.10	0.15	0.24	0.06
<i>t</i> -2-Heptenal	0.11±	0.14±	0.16±	0.20±	4.30±	2.38±	3.25±	4.05±	7.31±	6.61±	6.02±	4.26±
	0.09	0.01	0.08	0.08	2.21	0.07	1.66	0.14	0.43	0.21	0.70	0.15
2,4-Heptadie nal	0.23±	0.20±	0.21±	0.25±	2.74±	3.31±	3.71±	4.12±	7.01±	6.19±	6.04±	4.68±
	0.05	0.01	0.06	0.05	0.69	0.08	0.36	0.12	0.31	0.27	0.65	0.12
Total peak (×10 ⁸ ion counts)	4.23±	3.05±	2.54±	2.84±	14.52	12.65	12.60	11.31	17.25	14.76	13.62	10.20
	0.39	0.23	0.56	0.39	±0.53	±0.48	±0.57	±0.53	±0.30	±0.46	±0.90	±0.21

표 12. 180°C에서 산화시킨 카나우바 왁스 올레오젤의 휘발성분 변화

· 산화생성물인 휘발성분은 산화시간이 증가할수록 증가했으나 카나우바 왁스의 함량이 높아질수록 휘발성분은 감소하였음. 이는 그림1에서 확인한 카나우바 왁스 올레오젤이 산화안정성을 높였다는 결과와 일치하는 것을 알 수 있음.

표 13는 비즈왁스 올레오젤을 고온에서 산화시켰을 때 생성되는 휘발성분 변화를 나타낸 결과임.

×10 ⁷ ion counts	30 min				60 min				90 min			
	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%	0%	5%	10%	15%
Hexanal	7.18±	6.44±	2.71±	3.15±	15.64	12.57	13.71	13.35	13.39	12.58	14.84	15.65
	1.23	0.99	0.35	0.57	±0.43	±5.43	±1.73	±0.37	±0.81	±0.36	±1.94	±1.26
2-Hexenal	0.50±	0.51±	0.17±	0.22±	2.52±	2.49±	2.04±	1.97±	4.73±	4.23±	3.84±	3.63±
	0.12	0.13	0.04	0.05	0.18	0.38	0.20	0.08	0.28	0.17	0.14	0.29
<i>t</i> -2-Heptenal	2.54±	2.62±	1.65±	1.71±	7.96±	9.13±	9.27±	8.72±	14.90	15.92	15.56	14.13
	0.63	0.41	0.12	0.20	0.75	0.61	0.74	0.29	±0.91	±0.63	±0.37	±0.26
2-Pentylfuran	0.31±	0.28±	0.20±	0.24±	0.98±	1.40±	2.15±	2.44±	3.47±	5.38±	8.27±	8.90±
	0.05	0.04	0.01	0.03	0.10	0.16	0.36	0.18	0.20	0.87	0.47	0.64
2,4-Heptadienal	N.D	0.13±	0.03±	0.02±	0.44±	0.45±	0.48±	0.46±	0.74±	0.81±	0.97±	0.77±
		0.02	0.02	0.01	0.05	0.03	0.04	0.01	0.04	0.03	0.16	0.02
Total peak (×10 ⁸ ion counts)	3.28±	2.94±	1.86±	2.09±	6.67±	6.81±	6.68±	6.39±	9.92±	10.40	10.46	9.96±
	0.48	0.42	0.07	0.18	0.22	0.32	0.43	0.19	0.35	±0.40	±0.27	0.29

표 13. 180°C에서 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 휘발성분 변화

· 카나우바 왁스 올레오젤과 동일하게 산화시간이 증가할수록 산화생성물인 휘발성분의 생성이 증가하는 것을 확인함. 하지만 비즈 왁스 올레오젤의 경우 왁스 함량이 증가할수록 hexanal과 2,4-heptadienal은 감소했다가 증가하는 경향을, 2-hexenal은 농도 의존적으로 감소하였으며, 2-heptenal과 total volatile의 경우 증가했다가 감소하는 경향을 보였음. 이를 통해 그림 22에서 보여진 비즈 왁스 올레오젤은 고온에서 산화시켰을 때 산화안정성에 영향을 주지 않는 것을 확인함.

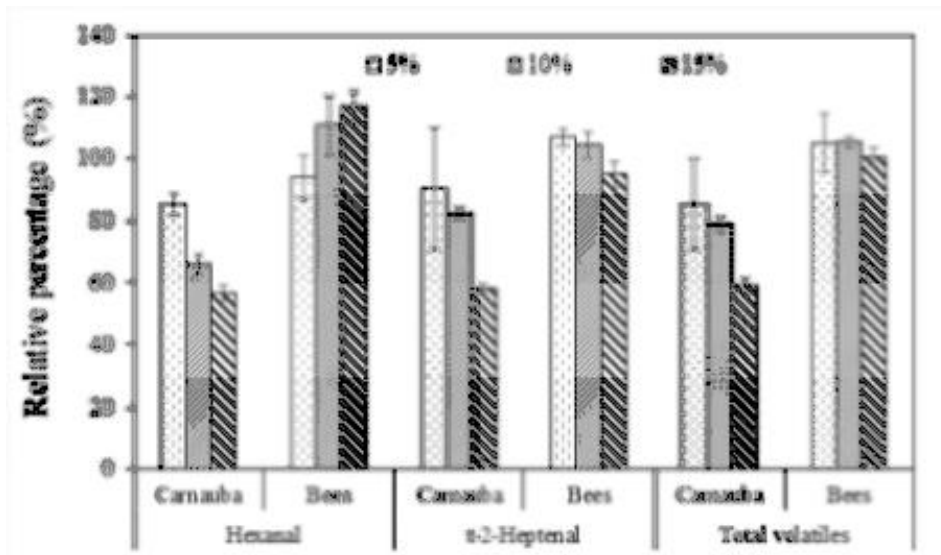


그림 25. 올레오젤 산화 시 생성되는 주요 휘발성분과 control oil 비교

· 카나우바 왁스 올레오젤의 경우 주요 휘발성분 모두 control oil과 비교했을 때 휘발성분의 휘발성분이 적게 생성됐을 뿐 아니라 왁스 함량에 따라 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인함. 하지만 비즈 왁스 올레오젤의 경우 주요 휘발성분마다 다른 패턴을 보이며 control군과 비교했을 때도 일정한 패턴을 보이

지 않는 것을 확인함. 이는 위 그림 23과 24에서 확인한 결과와 동일한 결과를 나타냄. 고온에서 산화시켰을 때 카나우바 왁스 올레오젤은 왁스를 함유하지 않은 control군에 비해 산화안정성이 증가시키며 비즈 왁스 올레오젤의 경우 산화안정성에 영향을 주지 않는 것을 알 수 있음.

- 올레오젤의 저온(60°C)에서의 산화안정성

그림 #26은 60°C에서 산화시킨 카나우바 왁스 올레오젤의 산화안정성을 확인한 결과임.

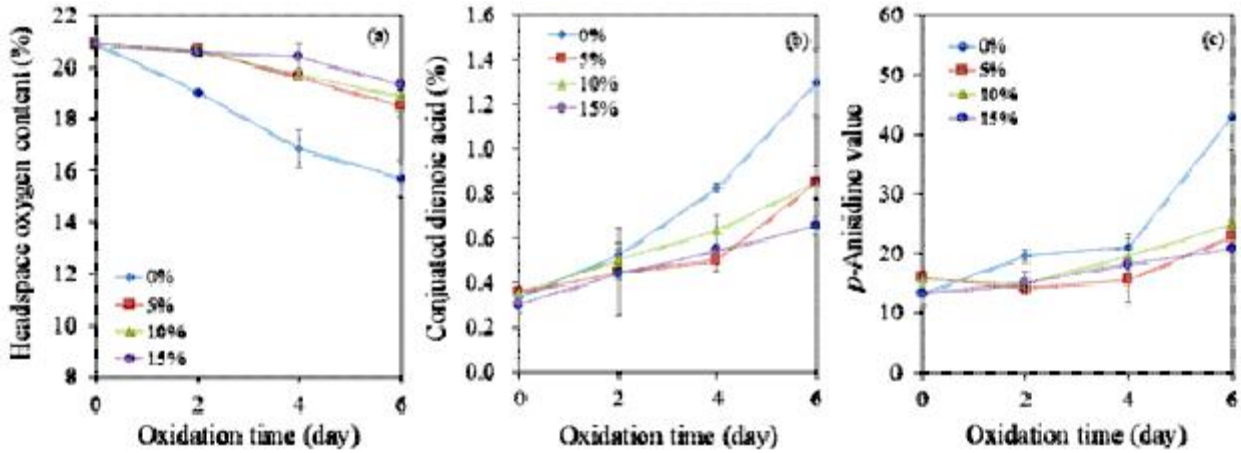


그림 26. 60°C에서 산화시킨 카나우바 왁스 올레오젤의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c)

· 카나우바 왁스 올레오젤을 저온(60°C)에서 산화시켰을 때 headspace oxygen content, conjugated dienoic acid, *p*-anisidine value에서 모두 올레오젤이 control oil보다 산화안정성이 높은 것을 확인하였음. 이는 고온인 180°C에서 산화시킨 결과와도 동일함.

그림 27은 60°C에서 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 산화안정성을 확인한 결과임.

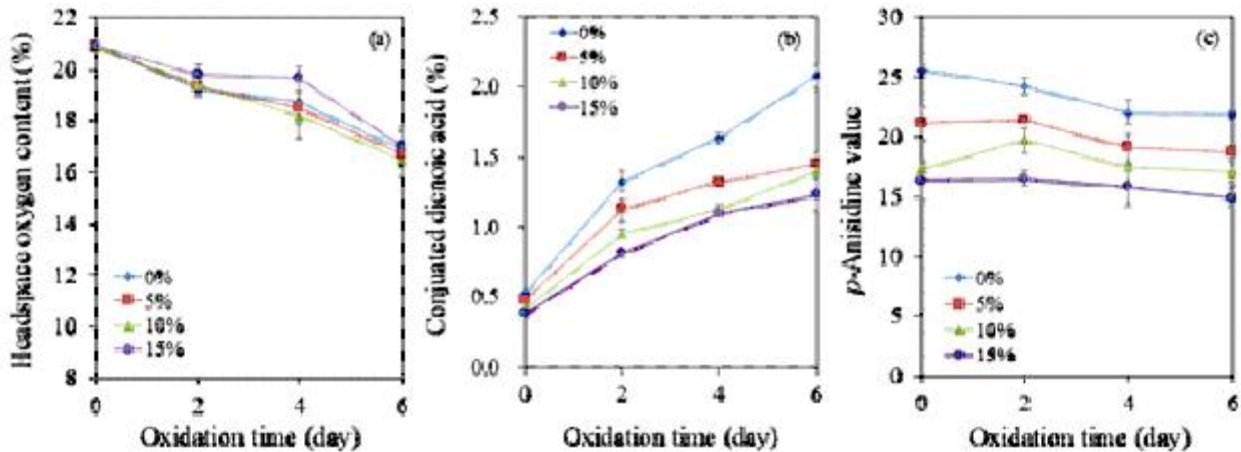


그림 27. 60°C에서 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c)

· Headspace oxygen content 결과 control oil과 올레오젤의 산화안정성에는 유의적인 차이가 없었음. Conjugated dienoic acid와 *p*-anisidine value에서 비즈 왁스 함량에 따라 농도 의존적으로 산화가 억제됨. 비즈 왁스 올레오젤은 고온에서 산화시켰을 때 산화안정성에 차이가 없었으나 저온에서 산화 시에는 산화안정성을 높이는 것을 확인함.

그림 28은 60°C에서 6일 동안 산화시킨 올레오젤의 휘발성분을 나타낸 결과임.

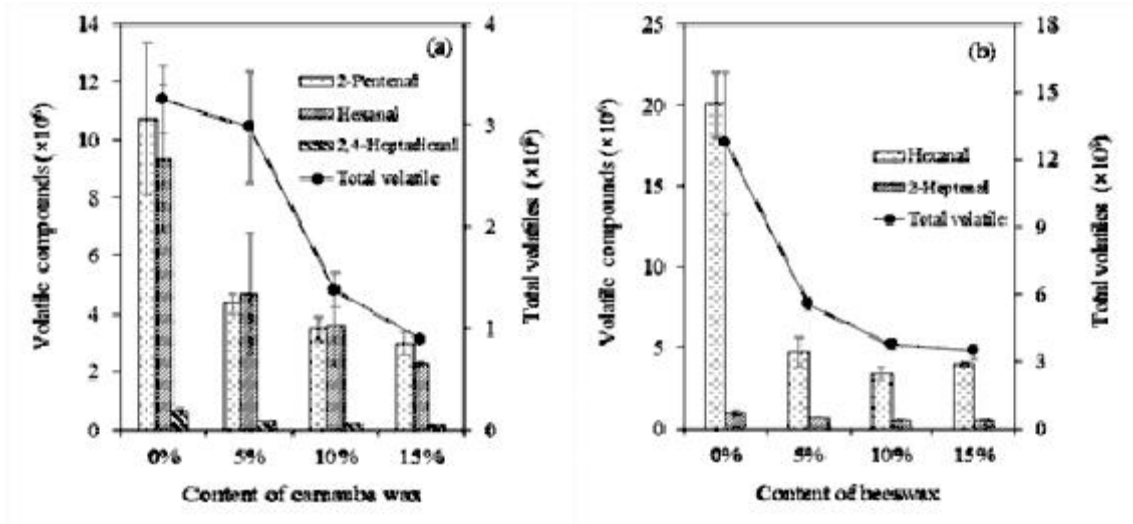
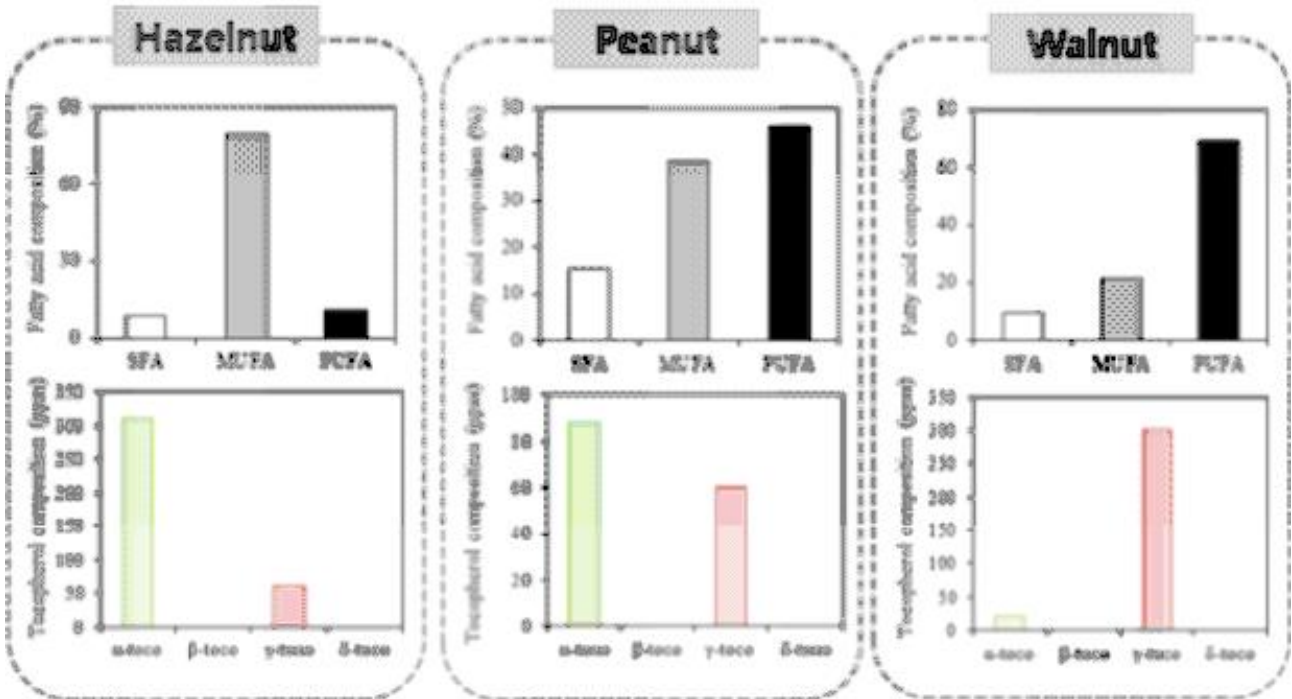


그림 28. 60°C에서 6일 산화시킨 카나우바 왁스 올레오젤(a)과 비즈 왁스 올레오젤(b)의 휘발성분

· 카나우바 왁스 올레오젤의 경우 control oil과 5% 카나우바 왁스가 함유된 올레오젤은 hexanal과 total volatiles에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 10%와 15%가 함유된 올레오젤에서는 모든 휘발성분이 유의적으로 적게 생성됨을 확인함. 하지만 10%와 15% 함량에 따른 유의적인 차이는 없었음. 비즈 왁스 올레오젤의 경우 모든 휘발성분이 control oil보다 올레오젤에서 적게 생성되어 올레오젤이 산화안정성을 높이는 것을 확인함. 하지만 함량에 따른 유의적인 차이는 확인되지 않음.

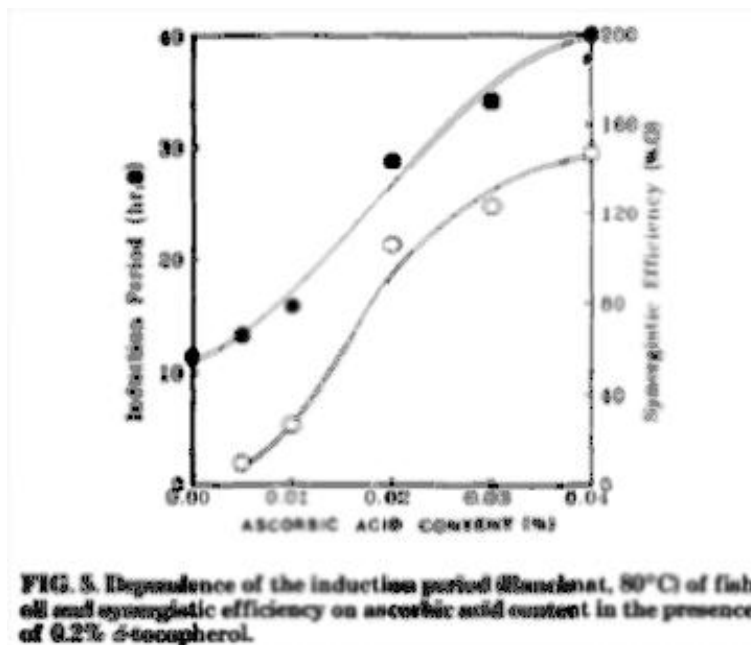
· 즉, 카나우바 왁스의 경우 고온(180°C)와 저온(60°C) 모두 카나우바 왁스로 만든 올레오젤이 산화안정성을 높였다는 것을 확인하였지만 왁스 함량에 따른 유의차는 보이지 않았음. 비즈 왁스 올레오젤은 고온에서는 control oil과 산화안정성에 차이를 보이지 않았으나 저온에서는 산화를 억제함.

- 올레오젤에 적합한 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색
- 지방산 조성에 따른 α -, γ -tocopherol mixture과의 상관성에 대한 문헌검색



· 불포화지방산 중 단일불포화지방산과 다가불포화지방산의 비율이 α -, γ -tocopherol의 비율과 일정한 상관관계가 있는 것을 확인함 (Rabrenovic et al. 2011, Maguire et al. 2004). 이를 통해 올레오젤을 만드는 oil의 지방산 조성에 따라 α -, γ -tocopherol의 비율을 조정하여 산화안정성을 확인할 예정이다.

- 지용성, 수용성 산화방지제 비율 조정



· 지용성 산화방지제인 tocopherol과 수용성 산화방지제인 ascorbic acid를 함께 사용했을 때 synergistic

effect가 있는 것으로 알려짐. Yi et al.(1991)에 의하면 ascorbic acid 함량을 0에서 0.04%로 증가시켰을 때 148%까지 synergistic effect가 나타남. 지방산 조성에 따라 tocopherol의 비율을 조정한 후 수용성 산화방지제의 함량을 조정하여 synergistic effect를 확인할 예정이다.

- 메탈킬레이터 조성 탐색

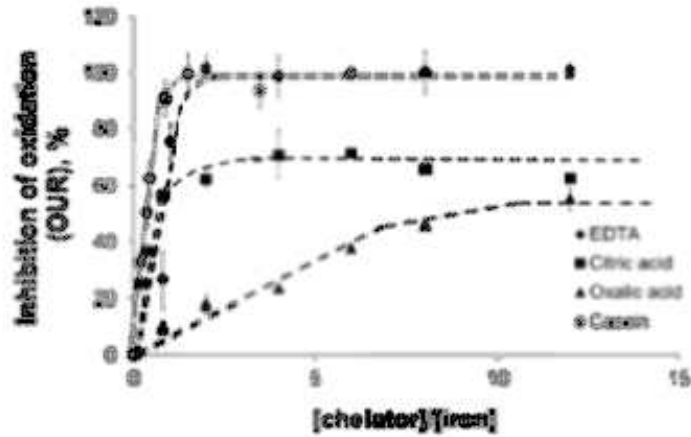


Figure 7. Inhibitory effects of chelators: oxalic acid, citric acids, casein and EDTA at (4–160 μM) on the net oxygen uptake rate (OUR) induced by Fe²⁺ (10 μM) in 0.5% liposomes (pH 5.3–5.5). Each data point is an average ± standard deviation of three parallels.

· Mozuraityte et al.(2016)에 의하면 liposome 조건 하에서 casein이 EDTA 만큼의 효과가 있다는 것이 밝혀짐. 이에 따라 산업체에서 많이 사용되고 있는 EDTA와 citric acid 뿐 아니라 casein의 메탈킬레이터 효능을 확인한 후 위의 연구결과를 통해 얻어진 지용성, 수용성 산화방지제의 조성과 메탈킬레이터의 함량을 조절하여 최적의 산화방지제 조합을 찾을 것임.

- 메탈킬레이터인 EDTA 활성 비교

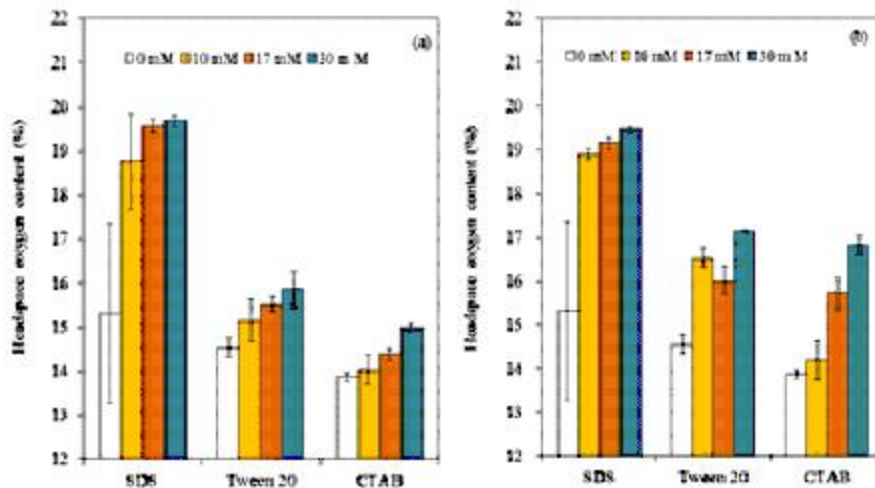


그림 29. Oil-in-water의 continuous phase에 EDTA가 위치할 때(a)와 dispersed phase에 위치할 때(b)의 riboflavin photosensitization 조건 하에서 40시간동안 광산화 후 headspace oxygen content

· EDTA의 농도에 의한 영향은 negative charge를 띠는 유화제인 sodium dodecyl sulfate(SDS)와 positive charge를 띠는 유화제인 cetyltrimethylammonium bromide(CTAB)로

만든 oil-in-water(O/W) emulsion에서 농도 의존적으로 산화를 억제하는 것을 발견함. 하지만 중성 유화제는 Tween 20으로 만든 emulsion에서는 EDTA가 continuous phase에 존재할 때는 농도 의존적으로 산화안정성이 높아지는 것을 확인하였으나 dispersed phase에 존재할 때는 산화가 0>17>10>30 mM 순으로 나타남. SDS emulsion에서는 EDTA의 위치에 의해 유의적인 차이를 보이지 않음. 하지만 Tween 20과 CTAB로 만든 emulsion에서 EDTA가 continuous phase에 존재할 때보다 dispersed phase에 존재할 때 산화를 억제하는 것을 확인함. 이로써 메탈킬레이터인 EDTA는 농도 뿐 아니라 유화제의 charge나 EDTA가 존재하는 위치 등 다양한 조건에 의해서 영향 받는 것을 확인함. 최적의 항산화능을 나타내는 항산화 각테일을 제조할 때 농도와 지용성, 수용성 산화방지제와의 조합 뿐 아니라 EDTA가 존재하는 조건도 고려해야 함.

[2년차]

[제1세부] 올레오젤의 동물성 유지 대체를 통한 혼합가공육의 포화지방 저감화

◦ 올레오젤 주입을 통한 스테이크용 혼합가공육 시제품 제조

- 올레오젤 및 조미액의 배합비 결정

· 1차년도 결과에서 비즈(beeswax) 올레오젤이 칸테릴라(candelilla wax), 카나우바(canauaba wax) 올레오젤과 비교 시 우지와 가장 유사한 점도를 지닌 것을 확인함. 이에 따라 10% 비즈 올레오젤로 우지를 대체 적용하여 가장 적합한 대체량을 찾기로 함. 우지에 올레오젤을 10, 20, 30, 50, 100%(w/w) 부분 대체하여 시료를 제조하여 Rheometer(AR2000ex, TA Instruments, USA)를 사용하여 온도범위 25°C - 60°C에서 점탄성을 측정함. 이를 위하여 strain 0.1%에 frequency는 1.0 Hz로 고정하였고, 2°C/min 로 온도를 변화시켜 점탄성을 측정하여 용해 특성을 분석함.

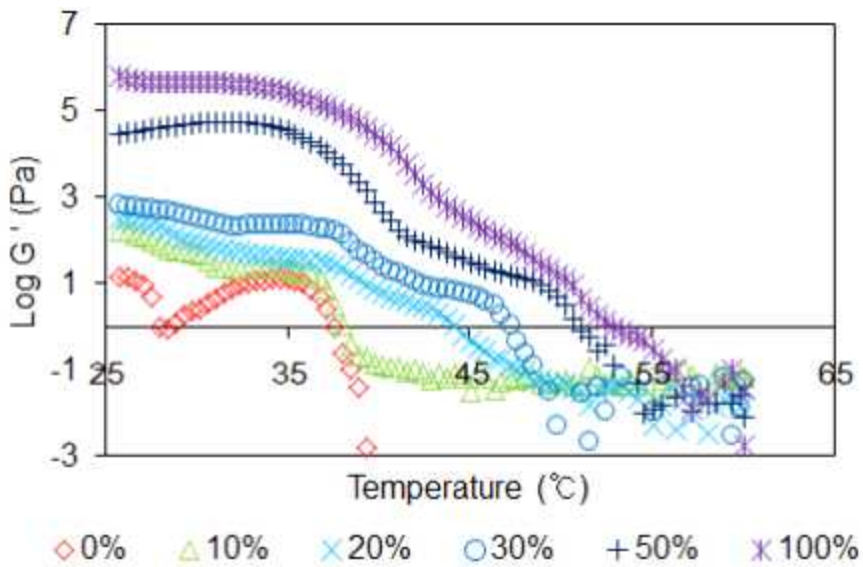


그림 30. 올레오젤의 우지 대체 함량에 따른 점탄성(G')의 변화

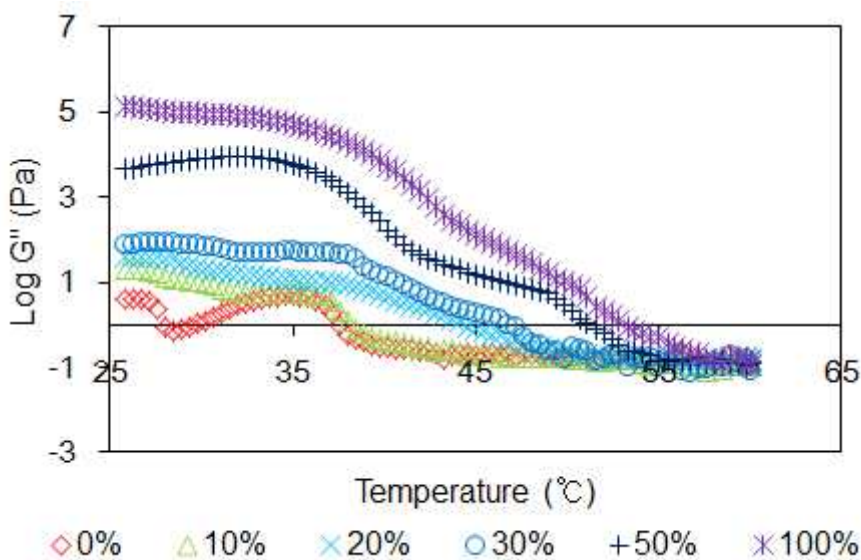


그림 31. 올레오젤의 우지 대체 함량에 따른 점탄성(G'')의 변화

· 우지 주입 시 흐름 특성을 분석하기 위해 점탄성을 분석함. 물질은 점성과 탄성을 동시에 가지고 있는데 점탄성은 이를 나타내는 대표적 지표로서 G''은 점성을 의미하고, G'은 탄성을 의미함. 측정결과 온도가 증가함에 따라 G', G''이 모두 감소하는 경향을 보임. 또한 올레오젤의 대체 함량이 증가할수록 G'과 G''이 증가하는 패턴을 보임. 이 때 30% 대체까지 온도에 따른 물성 특성 차이가 크게 나지 않았지만, 50%를 넘으면 큰 차이를 보임.

· 혼합가공육의 cooking loss를 줄이기 위하여 hydrocolloid 종류를 달리하여 혼합가공육을 제조한 후 cooking loss를 측정함. Hydrocolloid 6종 (guar gum, carboxymethyl cellulose(CMC), carrageenan, xanthan, gellan gum, alginate)을 이용하여 주입액 점도를 측정하고 이후 패티를 제조함. 제조된 패티를 140℃에서 6분간 구운 후 30분 방랭시켜 cooking loss를 측정함.

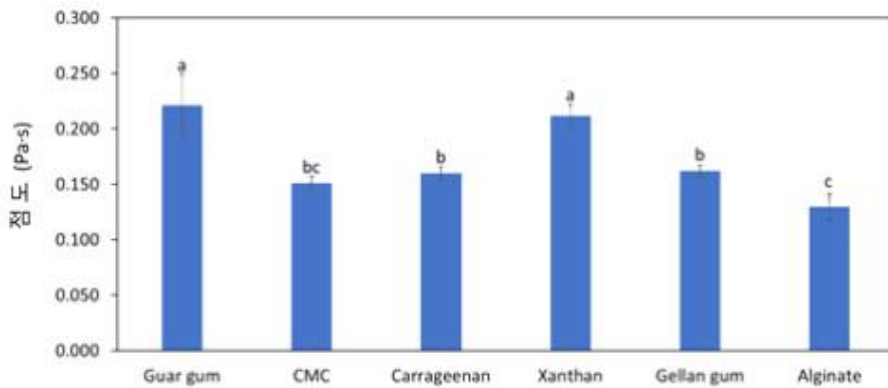


그림 32. Hydrocolloid 종류에 따른 주입액 점도

우지	올레오젤	올레오젤-하이드로콜로이드 복합체						
		Guar	CMC	Carrageenan	Xanthan	Gellan	Alginate	
Cooking loss (%)	42.97±0.75a	42.13±0.93a	34.30±0.93d	37.20±2.90c	35.51±0.74cd	28.50±0.64e	38.62±0.53b	38.76±1.74b

표 14. Hydrocolloid 종류에 따른 패티의 Cooking loss

· 패티 주입액의 점도는 잔탄, 구아검 > 카라기난, 젤란 > CMC, 알지네이트 순서로 하이드로콜로이드 종류에 따라 다양하게 나타남. 하이드로콜로이드 시료간 점도차이를 보이는 0.5% 농도를 선정하여 패티 유화액을 제조한 후, 이를 패티에 적용 후 조리용출도를 분석함.

· 조리용출도는 잔탄검 < 구아검 < 카라기난 < CMC < 젤란검 < 알지네이트 순서로 점도의 경향과 밀접한 관계를 보여줌. 특히, 조리 용출도에서 가장 효과가 좋은 잔탄 또는 구아검 활용 시 유화액의 점도를 증가시켜 높은 수분 및 지방 보유력을 통해 패티의 조리용출도를 유의적으로 감소시켜 품질을 향상시키는 결과를 얻음.

- Pilot plant 시설에서 올레오젤을 주입하여 혼합가공육 제조 및 원가 산정을 통한 경제성 분석

· 올레오젤 주입된 혼합가공육의 경우 우지를 10% 비즈 올레오젤로 무게 대비 25%, 50% 부분대체 되고, 다른 원료의 경우 아래 표와 같이 동일 조건으로 사용됨. 따라서 우지와 10% 비즈 올레오젤의 원가 산정을 통하여 경제성을 분석 비교함.

(kg)	Control	25% oleogel	50% oleogel
소고기	100	100	100
우지	18	13.5	9
10% bees oleogel	0	4.5	9
물	30	30	30
혼합 mixture	4	4	4

표 15. 올레오젤 주입한 혼합가공육의 제조 배합비

· 우지의 경우 18 kg에 45,000원에 유통되고 있으며, 올레오젤의 경우 카놀라유 18L 구매가가 28,370원이고, KOSTER KEUNEN 제조회사에서 유통되는 Beeswax 구매가는 25kg에 49,000원임. 사용된 비즈 올레오젤의 농도에 맞춰 계산한 결과는 아래표와 같음.

	Control	25% oleogel	50% oleogel
18 kg 원가	45,000원	40,490원	35,970원

표 16. 우지와 올레오젤의 원가

· 우지는 1 kg당 2,500원이고, 올레오젤의 가격 책정 결과 1 kg당 가격이 1,500원이 측정됨. 따라서 주입되는 18 kg일 때의 가격을 비교해보면 우지의 경우 45,000원, 25% 대체 시 40,490원, 50% 대체 시 35,970원으로 계산됨. 즉 우지 대비 50% 올레오젤로 대체한 경우 기존 대비 20%의 원가 절감의 효과를 얻을 수 있음. 따라서 올레오젤 혼합가공육의 경우 기존보다 경제적으로도 효과적이라고 판단됨.

○ 다양한 올레오젤 활용에 따른 혼합가공육의 지방 조성 분석

- Soxhlet 추출법을 통한 올레오젤을 함유한 혼합가공육의 조지방 분석

· 올레오젤을 활용한 혼합가공육 제조를 위해 (주)KTS (광진구, 서울) 공장에서 시제품 생산을 진행함. 우선, 10% 비즈 올레오젤을 사용하여 우지를 무게 대비 25%, 50%대체하여 주입액을 제조함. 그 후 생산설비에서 주입장치를 사용하여 혼합가공육을 제조함. 아래 그림과 같이 우지와

올레오젤을 섞은 후, injector에 채우고 고기에 주입을 하는 과정을 거침. 주입된 고기는 빠르게 냉동시킨 후 성형 및 절단하여 제조됨.



그림 33. 혼합가공육 제조 공정 과정

· 이렇게 제조된 혼합가공육을 Soxhlet 추출법을 통하여 조지방 분석을 진행함. 냉동된 샘플을 2시간 상온에서 보관 후 믹서기를 통해 혼합가공육을 분쇄시킴. 분쇄된 혼합가공육(10 g)을 timple 필터에 넣고, Soxhelt 관을 이용하여 에테르로 12시간 동안 조지방을 추출함. 그 후 에테르를 제거한 후 남아있는 조지방의 함량을 측정함.

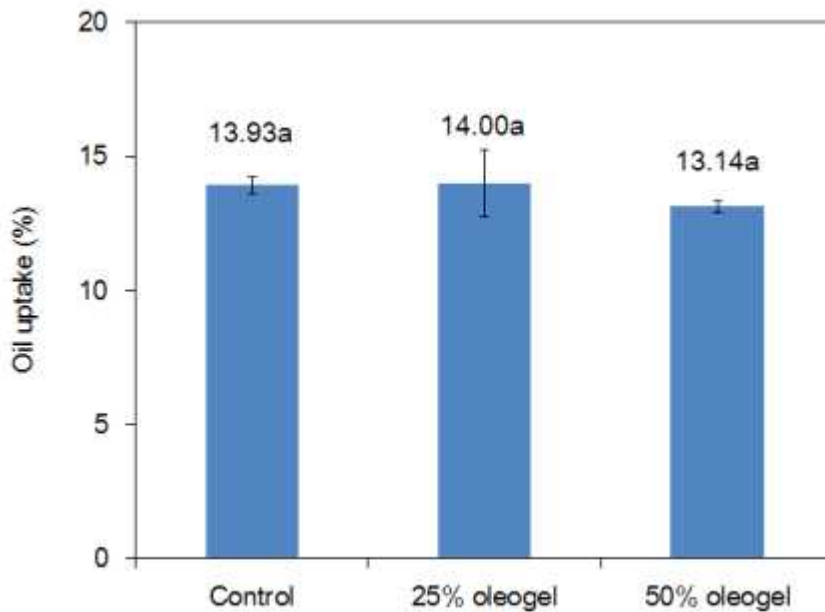


그림 34. 올레오젤을 함유한 혼합가공육의 조지방 분석 결과

· 조지방 분석 결과, 올레오젤이 주입된 혼합가공육과 Control의 조지방의 값이 유의적으로 차이가 없음을 확인하여 혼합가공육 제조 시 올레오젤이 잘 주입된 것으로 판단됨.

- Gas chromatography를 통한 지방산 분석 및 동물성 우지 제품과의 비교

· 생산설비에서 제조된 올레오젤을 함유한 혼합가공육을 gas chromatography (Hewlett-Packard 6890, Agilent Technologies, CA, USA)를 이용하여 지방산 분석을 진행함. AOAC 방법에 따라

SP-2560 column (100m x 0.25mm ID x 0.2 μ m thickness, SUPELCO, PA, USA)을 이용하여 측정함.

(g/100 g)	Control	25% oleogel	50% oleogel
C12:0	0.07±0.06	0.14±0.01	-
C14:0	3.63±0.03	4.32±0.05	2.69±0.02
C14:1	0.75±0.02	1.89±0.01	0.65±0.01
C15:0	0.65±0.00	0.53±0.01	0.28±0.00
C15:1	0.17±0.15	0.23±0.00	-
C16:0	27.54±0.12	27.80±0.37	19.76±0.01
C16:1	4.86±0.06	8.31±0.05	4.23±0.04
C17:0	1.80±0.04	0.93±0.80	0.59±0.51
C17:1	0.79±0.04	1.09±0.01	0.82±0.26
C18:0	19.71±0.14	13.57±0.23	12.96±0.04
C18:1	34.18±0.22	37.38±0.22	41.92±0.44
C18:2	2.77±0.08	2.00±0.01	7.30±0.25
C18:3	-	0.15±0.00	0.73±0.02
C20:0	0.25±0.00	0.11±0.00	0.63±0.21
C20:2	0.45±0.03	0.92±0.00	-
C20:3	0.06±0.06	0.13±0.00	1.06±0.19
C21:0	1.71±0.02	0.45±0.02	4.68±0.04
C22:3	0.13±0.12	0.08±0.07	1.12±0.19
Saturated	55.34±0.20	47.84±0.37	41.59±0.25
Unsaturated	44.66±0.17	52.16±0.29	58.41±0.49
Saturated / Unsaturated	1.24	0.92	0.71

표 17. 올레오젤을 함유한 혼합가공육의 지방산 분석 결과

· 측정 결과, 올레오젤의 대체함량이 증가할수록 포화지방은 감소하고, 불포화지방은 증가하는 경향을 보임. 특히, 포화 및 불포화 지방산 비율이 1.24에서 0.71로 현격히 감소함. 이를 통해 주입이 대체함량 50%까지 주입이 잘 되어진 것으로 확인됨. 기존 Control보다 25% 대체된 혼합가공육의 경우 13.5% 포화지방이 감소하였고, 50% 대체된 혼합가공육의 경우 약 25%가량 감소된 것을 확인함. 포화지방의 경우 과도한 섭취시 LDL 콜레스테롤을 증가시켜 심혈관 질환의 위험성이 높다고 알려져 있기 때문에 올레오젤을 사용한 우지 대체량이 증가할수록 영양학적으로 우수한 혼합가공육 제조가 가능하다고 판단됨.

[1세부-위탁] 혼합가공육에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가

· 냉동 저장 및 해동에 따른 특성 분석

- 혼합가공육의 냉동 패턴 분석

· 돼지 뒷다리살의 비계를 제거하고 살코기를 곱게 갈고, 55℃의 물과 우지 그리고 밀가루를 섞어주어 혼합가공육을 제조함. 여기에 우지를 10% 비즈 올레오젤로 우지 무게 대비 0, 50, 100%로 우지를 대체하여 제조하였고 배합비는 아래 표와 같음.

(%)	Control	50% oleogel	100% oleogel
Meat	100	100	100
Beef tallow	18	9	0
10% bees oleogel	0	9	18
Water	30	30	30
Wheat flour	1	1	1

표 18. 올레오젤 혼합가공육 제조 배합비

· 혼합가공육의 제조과정은 키친에이드를 이용하여 배합비의 원료를 3분간 speed 1로 해서 섞어준 후, 지름 3 cm와 높이 3.5 cm의 틀에 성형을 함. 성형된 혼합가공육들을 -40℃로 맞춰진 온도 챔버에 넣고 데이터로거를 이용하여 혼합가공육들의 중심부의 온도 변화를 모니터링으로써 냉동 패턴 변화를 분석함.

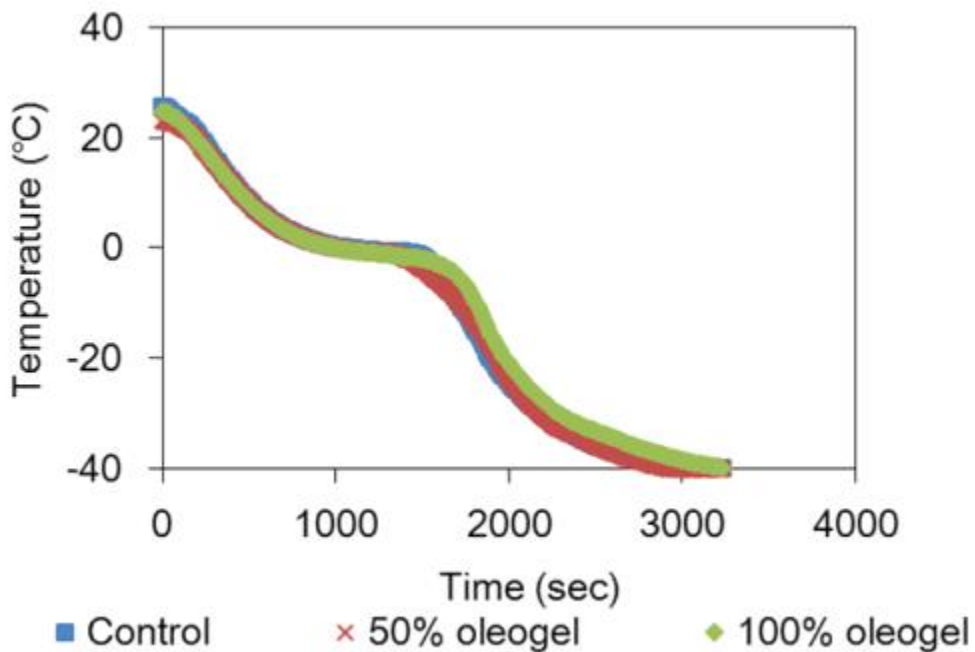


그림 35. 혼합가공육의 냉동 패턴 분석

· 혼합가공육의 냉동 과정을 분석한 결과를 보면, 우지 혼합가공육과 올레오젤 혼합가공육과의 냉동 패턴은 매우 유사한 경향을 보임. 전체적으로 25℃ 부근에서 시작되어 0℃까지는 3개 시료

모두 급격히 감소하였다가 0℃에서 상변화에 의한 온도 유지가 10분간 지속되었다가 -40℃까지 다시 떨어지는 패턴을 보임.

- 냉동 저장 및 해동에 따른 드립 현상 및 색 분석

- 냉동 저장된 고기는 해동과정을 거쳐 이용되는데, 해동과정 중에 육류 품질에 많은 변화가 일어남. 예를 들어 육즙 손실(드립), 육색의 변화, 보수력 감소, 산패도 증가, 조직감 변화 등 육류의 이화학적 품질 특성 변화가 일어남. 이중 육즙 손실과 육색의 변화를 다음과 같은 방법에 따라 측정함.
- 제조된 혼합가공육을 가로 2 cm, 세로 2 cm, 높이 1 cm 크기로 제조 후 1주, 3주간 동안 냉동 저장 후 3가지 다른 해동 방법에 따른 드립 현상 및 색의 변화를 측정함. 해동 방법으로는 산업체에서 흔히 사용되는 해동방법을 선택하였고, 냉장 온도에서 18 시간, 실온에서 2 시간, Microwave(500W)에서 1분간 진행하여 특성 변화를 분석함.

	Control	50% oleogel	100% oleogel
실온 해동 (2 h)	2.84±0.46b	4.17±1.02b	6.63±1.06a
냉장 해동 (18 h)	1.61±0.51B	2.09±0.19B	2.90±0.54A
Microwave 해동 (1 min, 500 W)	8.15±1.94a	7.72±1.55a	9.43±2.52a

표 19. 냉동 저장(1주)된 혼합가공육의 해동 방법에 따른 드립 현상

- 드립은 냉동으로 인하여 단백질이 변성되어 보수력이 감소됨으로써 나타나는 현상으로 냉동이 나 저장 과정에서 발생하는 세포 손상의 정도에 따라 나타나고, 일반적으로 세포가 손상을 많이 받은 경우 증가하는 하는 것으로 알려짐. 1주차 드립 측정 결과 올레오젤 대체 함량이 증가할수록 해동방법에 상관없이 증가하는 경향을 보임. 하지만, 우지를 50%까지 대체한 혼합가공육까지는 Control과 통계적인 유의적 차이는 보이지 않음. 또한 해동방법에 따른 결과로부터 냉장 해동 시 드립손실을 줄일 수 있는 것을 확인함. 이는 해동온도가 가장 낮은 곳에서 진행되었기 때문에 가장 적은 드립손실률을 보인 것으로 확인되며 Microwave에서 가장 높은 드립 손실률을 확인함.

- 색 분석의 경우 냉동 저장과 각각의 해동 방법에 따라서 측정되었고, colorimeter 기기를 이용하여 측정함. 색도의 경우 L^* 은 밝기를 나타내는데 값이 클수록 밝은 것을 나타내고, a^* 의 경우 초록-빨강색의 정도를 나타내는데 이 경우 값이 클수록 빨강색에 더 가까운 것임. 마지막으로 b^* 의 경우 파랑-노란색의 정도를 나타내어 이 경우도 값이 클수록 노란색에 가까움을 의미함.

	Control	50% oleogel	100% oleogel
L^*	+72.42±1.60a	+70.73±2.54ab	+68.35±1.81b
a^*	+0.76±0.87A	+0.42±0.33A	+0.07±0.82A
b^*	+10.80±1.64a	+8.62±0.33b	+8.86±1.48ab

표 20. 냉동 저장(1주)된 혼합가공육의 색도

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	+65.36±2.59a	+65.53±2.40a	+66.42±1.42a
<i>a*</i>	+1.91±0.75A	+0.34±0.53B	+0.44±0.56B
<i>b*</i>	+13.17±0.71a	+11.70±0.97b	+11.33±0.42b

표 21. 저온 해동에 따른 냉동 저장(1주)된 혼합가공육의 색도

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	+58.39±1.08b	+61.11±1.19b	+63.15±0.70a
<i>a*</i>	+5.12±0.75A	+2.81±1.10B	+1.66±0.43B
<i>b*</i>	+14.19±0.98a	+12.10±0.84b	+10.89±0.52b

표 22. 상온 해동에 따른 냉동 저장(1주)된 혼합가공육의 색도

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	+64.00±1.69b	+66.44±0.66a	+65.73±0.44ab
<i>a*</i>	+2.06±0.40A	+1.13±0.03B	+0.18±0.16C
<i>b*</i>	+12.04±1.42a	+11.56±0.17a	+11.53±0.38a

표 23. Microwave 해동에 따른 냉동 저장(1주)된 혼합가공육의 색도

- 색도 측정 결과, 1주간 냉동된 혼합가공육에서 올레오젤의 함량이 증가함에 따라 *L**, *a**, *b**값 모두 감소하는 패턴을 보임. 하지만 3가지의 해동 후의 색도 측정 결과는 *a**와 *b**값의 패턴을 같았지만, *L**값이 반대로 올레오젤의 함량이 증가한 혼합가공육이 증가하는 패턴을 보임. 3가지의 해동 결과를 비교해보면 저온에서의 색도가 냉동과 가장 유사하였고, 상온에서 해동 시 가장 낮은 *L**값을 보였고, 가장 높은 *a**값을 보임.
- 3주차의 경우도 위와 같은 방법으로 드립과 색도를 측정을 진행함.

	Control	50% oleogel	100% oleogel
실온 해동 (2 h)	6.57±0.98a	6.07±1.44a	6.20±0.99a
냉장 해동 (18 h)	1.93±0.17A	3.70±1.52A	2.75±0.49A
Microwave 해동 (1 min, 500 W)	6.58±0.42a	6.82±0.66a	7.53±1.33a

표 24. 냉동 저장(3주)된 혼합가공육의 해동 방법에 따른 드립 현상

· 3주차 결과를 보면 저온에서 가장 낮은 드립을 보였으며, Microwave에서 높은 드립손실을 보임. 1주차는 올레오젤의 함량이 증가함에 따라 드립이 증가하는 경향을 보였으나, 3주차에서는 뚜렷한 경향을 보이지 않음. 모든 샘플들에서 유의적 차이를 보이지 않음.

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	71.78±1.02a	71.64±0.90a	69.78±1.76a
<i>a*</i>	1.22±1.09A	0.15±0.11AB	-0.83±0.55B
<i>b*</i>	12.21±1.58a	9.21±0.09b	9.29±0.55b

표 25. 냉동 저장(3주)된 혼합가공육의 색도

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	68.11±1.21a	67.25±4.02a	64.03±3.99a
<i>a*</i>	1.22±1.21A	1.39±1.26A	0.50±0.34A
<i>b*</i>	12.13±0.86a	12.49±1.60a	12.35±0.44a

표 26. 저온 해동에 따른 냉동 저장(3주)된 혼합가공육의 색도

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	61.27±0.90b	64.48±1.66a	62.26±1.29ab
<i>a*</i>	1.73±0.57A	0.31±0.85A	1.02±1.29A
<i>b*</i>	12.61±0.39a	11.70±0.75a	12.58±2.00a

표 27. 상온 해동에 따른 냉동 저장(3주)된 혼합가공육의 색도

	Control	50% oleogel	100% oleogel
<i>L*</i>	62.20±0.94b	64.97±1.89a	62.37±0.25b
<i>a*</i>	2.70±1.39A	1.32±0.34A	1.14±0.15A
<i>b*</i>	12.55±1.12a	11.82±0.44a	a12.54±0.78a

표 28. Microwave 해동에 따른 냉동 저장(3주)된 혼합가공육의 색도

· 3주차 색도 측정 결과 1주차와 같은 경향성을 보임. 냉동에서 가장 높은 L값을 보였고, 저온에서 냉동과 유사한 색도를 지님. 우지와 올레오젤 혼합가공육의 색도의 차이가 유사함을 확인함.

◦ 조리 후 품질 특성 분석

- 조리 조건 (시간, 온도 등)에 따른 Texture profile analysis를 통한 혼합가공육의 저작 텍스처 분석

· 제조된 혼합가공육을 지름 6cm 높이 1cm의 크기로 성형 후 냉동고에 24시간 보관함. 온도 제어가 가능한 그릴 장치를 사용하여 조리 시간과 온도를 달리하여 시료를 제조함. 이를 Texture analyzer (TA.XT.Plus, stable micro systems)를 이용하여 Texture profile analysis 방법을 토대로 측정함. Load cell은 5kg을 사용하였고, 지름 2 cm 높이 1cm의 Cylinder probe를 100 mm/min의 속도로 내려 측정함.

· 먼저 그릴에 온도를 140℃에 맞추고, 시간의 조건을 3, 6, 9 min으로 달리하여 조리함. 제조된 혼합가공육을 상온에 1시간 방랭 후 텍스처를 측정함.

	3 min			6 min			9 min		
	Control	50% oleogel	100% oleogel	Control	50% oleogel	100% oleogel	Control	50% oleogel	100% oleogel
Hardness (N)	12.71± 1.28a	11.54± 1.85a	11.28± 1.63a	17.32± 1.52A	16.62± 0.86A	15.70± 1.29A	19.93± 0.37a	19.72± 2.70a	18.97± 1.56a
Adhesiveness (J)	0.24± 0.05a	0.35± 0.20a	0.26± 0.15a	0.02± 0.02A	0.04± 0.05A	0.07± 0.09A	0.01± 0.01a	0.01± 0.00a	0.01± 0.02a
Cohesiveness	0.50± 0.06a	0.48± 0.05a	0.50± 0.06a	0.58± 0.05A	0.52± 0.02A	0.50± 0.07A	0.60± 0.05a	0.55± 0.07ab	0.50± 0.07b
Gumminess (N)	6.42± 1.35a	5.55± 1.33a	5.65± 1.14a	10.03± 1.01A	8.65± 0.67B	7.92± 1.22B	11.86± 1.00a	10.73± 1.77ab	9.46± 1.20b
Springiness	0.81± 0.03a	0.80± 0.07a	0.80± 0.07a	0.74± 0.07A	0.68± 0.04A	0.71± 0.07A	0.75± 0.07a	0.70± 0.08a	0.70± 0.07a
Chewiness (J)	5.24± 1.34a	4.46± 1.20a	4.46± 0.76a	7.49± 1.40A	5.90± 0.58AB	5.71± 1.43B	8.93± 1.54a	7.57± 1.83a	6.67± 1.38a

표 29. 조리 시간에 따른 혼합가공육의 TPA 측정 결과

· 텍스처 측정 결과를 보면, 조리 시간이 증가함에 따라 혼합가공육의 Hardness, Gumminess, Chewiness가 증가하는 패턴을 보였고, Adhesiveness와 Springiness는 감소하는 패턴을 보임. 따라서 조리 시간이 증가함에 따라 더 단단한 조직감을 보여줌. 또한 올레오젤을 사용한 우지의 대체 비율에 따른 결과를 보면, 대체량이 증가할수록 Hardness의 경우 감소하는 경향은 보이지만 전체적으로 시료들간에 유의적인 차이가 보이지 않음. 3 min 조리 시에는 혼합가공육이 완전하게 조리 되지 않아 Adhesiveness값과 Springiness값이 6 min과 9 min보다 높게 측정된 것으로 확인 됨.

· 조리 온도에 따른 영향을 분석하기 위하여 그릴 온도를 100, 140, 180℃로 맞춰 동일 시간 (6 분) 동안 혼합가공육을 조리함. 그 후 1시간 방랭 후 Texture profile analysis의 방법을 이용하여 텍스처를 측정함.

	100℃			140℃			180℃		
	Control	50% oleogel	100% oleogel	Control	50% oleogel	100% oleogel	Control	50% oleogel	100% oleogel
Hardness (N)	16.60± 1.73a	15.85± 1.13a	16.53± 2.15a	17.23± 1.92A	16.45± 1.43A	17.10± 1.46A	21.42± 0.81a	22.58± 1.39a	22.94± 1.89a
Adhesiveness (J)	0.04± 0.03b	0.09± 0.07ab	0.14± 0.06a	0.02± 0.01A	0.02± 0.03A	0.10± 0.14A	0.01± 0.01a	0.01± 0.01a	0.02± 0.04a
Cohesiveness	0.58± 0.01a	0.50± 0.02c	0.54± 0.02b	0.60± 0.02A	0.53± 0.02B	0.54± 0.03B	0.61± 0.02a	0.56± 0.01b	0.54± 0.02c
Gumminess (N)	9.56± 1.02a	7.90± 0.38b	8.90± 1.38ab	10.38± 1.27A	8.72± 1.00B	9.22± 0.55B	12.98± 0.35a	12.68± 0.86a	12.26± 0.90a
Springiness	0.70± 0.04a	0.71± 0.02a	0.72± 0.06a	0.72± 0.03A	0.66± 0.04B	0.71± 0.06AB	0.73± 0.03a	0.69± 0.03b	0.69± 0.04b
Chewiness (J)	6.75± 0.93a	5.58± 0.19b	6.38± 0.81ab	7.48± 0.98A	5.74± 1.02B	6.51± 0.68B	9.53± 0.37a	8.78± 0.86ab	8.47± 0.90b

표 30. 조리 온도에 따른 혼합가공육의 TPA 측정 결과

· 결과를 보면, 조리 시간에 따른 측정 결과값과 유사한 패턴을 보임. 온도가 증가할수록 혼합가공육에서 높은 Hardness와 Gumminess를 나타내었음. 올레오젤 대체량에 따른 결과를 보면 Hardness의 경우 전체적으로 시료들 간에 유의적인 차이가 없음을 확인함. 따라서 조리 조건에 따른 혼합가공육의 저장 테스트에서는 올레오젤을 넣은 혼합가공육과 우지를 넣은 혼합가공육에서 큰 차이가 없음을 확인함.

- Cutting-shear test를 통한 텍스처 분석

· 위의 조리 조건에 따른 텍스처 측정과 동일하게 시료를 준비 후, 100, 140, 180°C으로 조리 온도를 달리하여 시료를 제조함. 상온에서 1시간 방랭시킨 후 이를 Texture analyzer (TA.XT.Plus, stable micro systems)를 이용하여 Cutting-shear test 방법을 토대로 측정함. Load cell은 5kg을 사용하였고, 지름 5 cm 높이 6cm 두께 1mm의 blade probe를 100 mm/min의 속도로 내려 측정함.

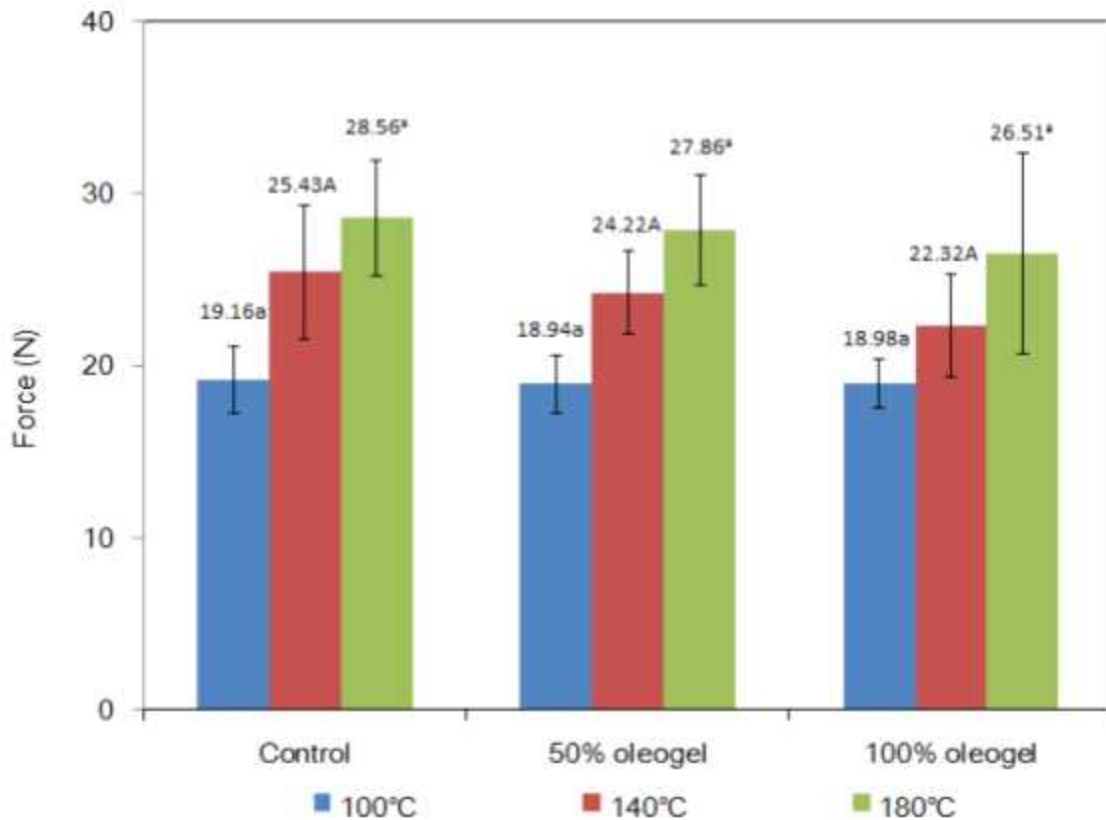


그림 36. 조리 온도에 따른 혼합가공육의 cutting-shear test 결과

· 위의 그래프에서 보여주는 바와 같이 Cutting-shear test의 결과를 보면 온도가 증가함에 따라 혼합가공육의 Force 값이 증가하는 것으로 보아 조직감이 더 단단한 것을 알 수 있음. 우지 대체로 올레오젤의 비율이 증가함에 따라 Force값의 경우 감소하는 경향은 보이지만 전체적으로 시료들간에 유의적인 차이를 보이지 않음.

[제1협동] 올레오젤 함유 식품의 건강기능성 구명

◦ 탐색된 올레오젤 화합물에 대한 *in vitro* 세포 독성 평가

- 서로 다른 구조를 가지고 있는 5가지 지방산(Stearic acid, Palmitic acid, Oleic acid, Linolenic acid, Linoleic acid)들이 지방세포의 성장에 미치는 영향을 분석하였음. 이들은 식물성 유지를 구성하고 있는 주요 지방산들로 저농도(50 μ M)와 고농도(200 μ M) 처리구로 나뉘어 3T3-L1 지방전구 세포에 3일간 처리한 후 Tryphan blue 시약을 이용하여 cell counting을 실시함.

그 결과, stearic acid를 200 μ M처리하였을 경우에는 control과 비교했을 때 현저하게(그림 37; $P < 0.05$) 낮게 counting이 되었고, Linolenic 50 μ M은 control과 유의적으로 낮게($P < 0.05$) 나타남.. Linoleic acid, Oleic acid, Palmitic acid 처리구는 저농도 고농도 모두 대조구와 유의적인 차이가 없었음. 이 결과는 고농도 linolenic acid와 저농도 stearic acid가 지방세포의 성장을 저해 한다는 것을 나타냄.

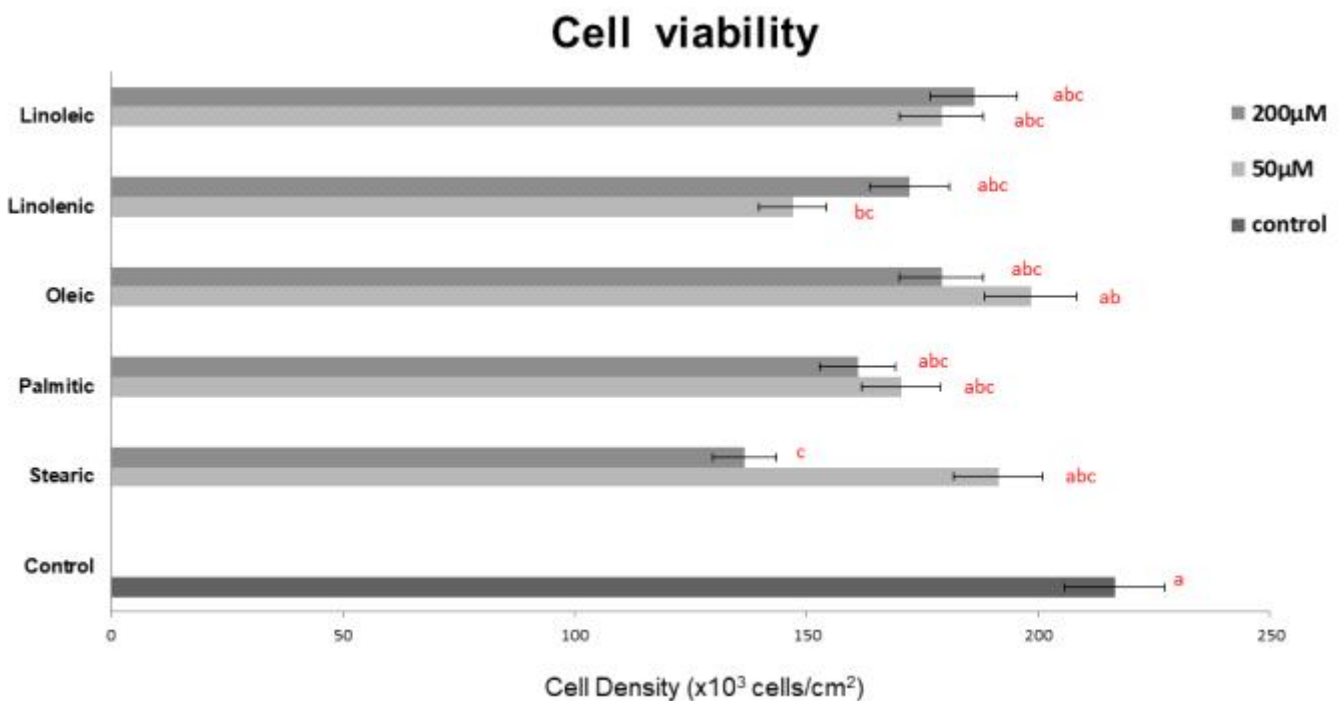


그림 37. 지방산(5가지) 처리 시 세포 생존능력 평가

- Bees wax(BW)와 Carnauba wax(CW)에 대한 세포 독성 평가

· 올레오젤은 유지를 젤화 시킬수 있는 gelator로써, 비극성 액체인 기름에 왁스를 이용하여 액상의 oil을 gel화 시켜 올레오젤을 만들 수 있음. 올레오젤을 구성하는 두 종류의 왁스인 비즈왁스(Bees wax; BW)를 1, 2, 3, 6ppm의 농도로 세포에 처리한 후 MTT assay를 통하여 평가함. MTT assay는 미토콘드리아의 활성을 확인하기 위한 방법으로, yellow tetrazolium salt MTT을 살아있는 세포에 처리하면 미토콘드리아 내 reductase에 의해 환원되어 formazan이란 크리스탈을 형성하여 이를 DMSO로 녹여내 흡광도를 측정하는 방법임. 천연왁스인 beeswax를 농도별(0, 1.0, 2.0, 3.0, 6.0 ppm)로 지방세포에 처리한 결과 처리하지 않은 대조구와 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았음(그림 38). Beeswax는 식품의약품안전처의 식품공전(CAS no. 8012-89-3)에 등록된, 사람이 섭취할 수 있는 식품첨가물로 식품의 층 분리를 방지하거나 결합제, 흡습방지제, 제약에서 약물이 위에서 녹지 않고 장에서 녹도록 하는데 쓰이는 코팅제로 많이 쓰이는 것으로, 또한 광택성과 균일한 피막형성이 우수하여 사탕, 젤리, 과자, 등 당의식품에 코팅제

로 많이 쓰이고, 추잉껌 베이스의 가소제로써 유연성 있는 texture를 제공하기도 함. 또한 beeswax에는 항미생물 활성이 밝혀져 천연항생제 등으로 사용될 가능성도 제기되고 있음. 따라서, 천연왁스를 미생물, 특히 병원성 미생물에 처리하여 antibacterial, antifungal 활성을 측정하는 연구가 필요할 것이라 판단됨.

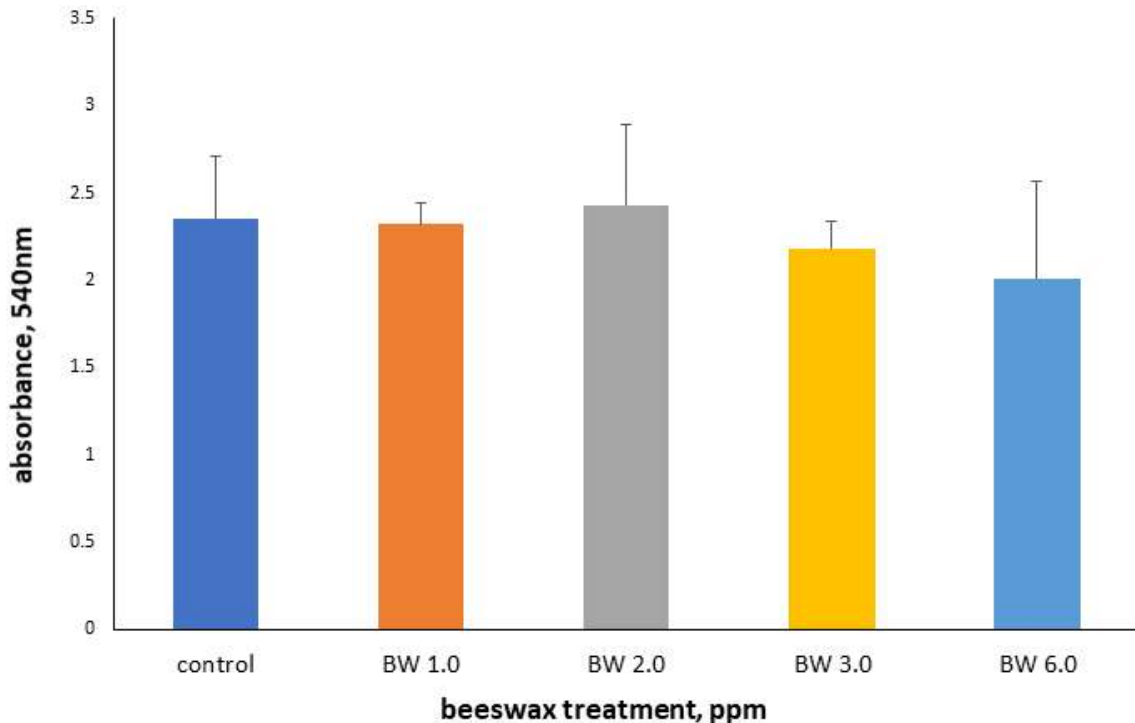


그림 38. MTT 분석을 통한 3T3-L1 세포의 beeswax에 의한 세포독성 평가 (beeswax 농도: 0, 1.0, 2.0, 3.0, and 6.0 ppm).

◦ 올레오젤 화합물이 당·지방 대사관련 유전자 발현에 미치는 영향 분석

- Real time PCR과 Western blotting을 통한 당·지방 대사관련 유전자인 PPAR gamma, C/EBP alpha, SREBP-1c, FAS, CPT-1 발현성 비교

· 천연왁스를 처리한 세포에서 RNA를 분리하여 reverse transcription PCR을 이용해 cDNA를 합성, 유전자 탐지를 위한 각각의 primer를 사용해 quantitative real time PCR 측정함. Beeswax 처리에 의해 CPT1 발현에는 유의한 변화가 없는 것으로 나타났음(그림 39A). 지방산을 미토콘드리아로 운반하는데 관여하는 CPT1 유전자는 transferase 효소의 일종으로 지방의 이용에 중요한 역할을 하며 lipolysis가 높을수록 발현이 증가하는 것으로 알려져 있음 (Wakil 등, 2009). 따라서, Beeswax 처리는 지방세포내 지방산의 이동과 산화에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 판단됨. Fatty acid synthase (FASN)는 최근 비만, 당뇨 등의 대사증후군에 대한 중요성과 암에 대한 관심이 고조됨에 따라 활발히 연구되고 있는 효소중의 하나로, 지방산 합성에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있음 (Li 등, 2016). 지방합성과 더불어 FASN의 항암 효과도 알려져 최근 많은 관심을 받고 있음 (Kridel 등, 2004). 몸을 이루고 있는 여러 조직들 중에 지방과 근육에서 주로 발현되는 FASN은 그 발현이 증가함에 따라 지방산의 저장을 증가 시킴. 본 연구에서 Beeswax 처리로 인해 지방세포의 FASN 발현이 대조구에 비해 거의 20% 수준으로 낮아졌음 (그림 39B; P<0.05). Beeswax의 처리가 지방세포 내 지방축적 저감효과를 보임에 따라 동물모델을 통한 *in vivo* 상에서의 효과도 분석할 필요성이 있을 것임. Kim 등(2014)에 따르면 FASN이 *in vitro*에서와는 달리 설치류 *in vivo* 실험에서는 지방산의 산화

를 촉진시키는 역할도 보고된바 있어 향후 FASN에 대한 다각적인 분석연구가 필요할 것으로 사료됨. 지질합성관련 유전자의 promotor에 결합하여 지방대사에 중요한 역할을 하는 인자인 SREBP의 발현은 Beeswax의 처리에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타남(그림 39C). SREBP에는 SREBP 1과 2가 있는데, SREBP 1a와 SREBP 1c isoform으로 나뉘는 SREBP1은 *de novo* lipogenesis 과정에서 중요한 역할을 하고, SREBP2는 콜레스테롤 대사에 관여하는 것으로 알려져 있음(Madsen 등, 2005; Li 등, 2016). SREBP는 지방세포 분화 초기에 발현이 증가되고, 그 신호는 PPAR γ 발현을 유도하여 지방의 분화를 촉진시킴. 그 후 adipocyte determination and differentiation-dependent factor (ADD), lipoprotein lipase (LPL), FASN 등 지방대사를 촉진하는 인자들의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있음(Zuo 등, 2006). 또한 stearoyl-CoA desaturase, HMG-CoA synthase 등과 함께 지질 생성에 관련된 유전자의 promotor region에 결합하여 간세포와 지방세포내 지질 생성 및 콜레스테롤과 지방산 합성에도 관여함. Beeswax로부터 분리된 very long chain aliphatic alcohols인 폴리코사놀의 hypolipidemic 효과가 밝혀졌는데, 이는 AMP-activated protein kinase (AMPK)활성에 의한 fatty acid synthesis 저해를 통해 일어남이 확인되었음 (Lorente-Cebrian 등, 2009). 따라서, 본 연구에서 지방세포내 beeswax의 처리가 SREBP의 발현을 낮출 것으로 예상되었지만 대조군 대비 유의적 차이가 없는 것으로 나타났음. 향후 Beeswax의 처리가 AMPK 활성화와 지방산 생합성 및 산화에 미치는 영향 연구가 필요할 것으로 사료됨. 지방세포의 분화조절 인자들(CCAAT/enhancer binding protein; C/EBP, SREBP, peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR) 중 분화촉진 호르몬에 의해 초기에 C/EBP β 가 활성화되고, 후기로 접어들면 C/EBP α 및 PPAR γ 의 발현 및 상호작용이 증가함. PPAR의 멤버(PPAR α , PPAR γ , PPAR δ) 중 PPAR α 는 간과 근육조직에 많이 분포되어 있어 지방산의 β -oxidation과 ketogenesis의 활성화를 통해 지방을 에너지화하는데 관여함 (Rabkin and Lodha, 2009). PPAR δ 는 다양한 조직에 분포하고 콜레스테롤의 흡수 및 대사에 관여함. 한편 PPAR γ 는 지방세포에 주로 분포하고 지방의 축적에 관여하는 인자로 알려져 있음 (Tishinsky 등, 2011). 본 연구에서는 Beeswax의 처리로 인해 PPAR γ 의 발현이 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났음(그림 39D; P<0.05). 이는 Beeswax가 지방합성에 역할을 하는 유전자인 PPAR γ 발현을 억제하고 *in vivo* 상에서 비만 조절 가능성이 있음을 시사하는 결과라 할수 있음. 지방세포 분화초기에 C/EBP β 의 활성화와 함께 세포질에서 핵으로 이동이 되면 PPAR γ 와 C/EBP α 가 활성화 되고, FASN, stearoyl-CoA desaturase (SCD), lipoprotein lipase 등의 adipogenic gene의 발현이 증가한다. 지방전구 세포(preadipocyte)는 mitotic clonal expansion이라 불리는 mitosis를 한 두차례 더 거치고 분화를 진행(Figaroia and Rahba. 2013). PPAR γ 와 상호작용을 하고 지방의 에너지 항상성을 조절하는 C/EBP α 의 발현이 Beeswax의 처리에 의해 저해되는 것으로 나타남(그림 39E; P<0.05). 이에 따라 지방특이 조절인자와 마커들의 발현도 낮아지고 지방세포내 지방 축적률도 감소되었을 가능성도 배제할 수 없을 것이라 사료됨. 지방세포의 분화와 에너지대사는 여러 인자들이 복합적으로 상호작용을 하고 있어 향후 지방세포, 특히 비만과 대사질환에 관련된 Beeswax의 역할에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료됨.

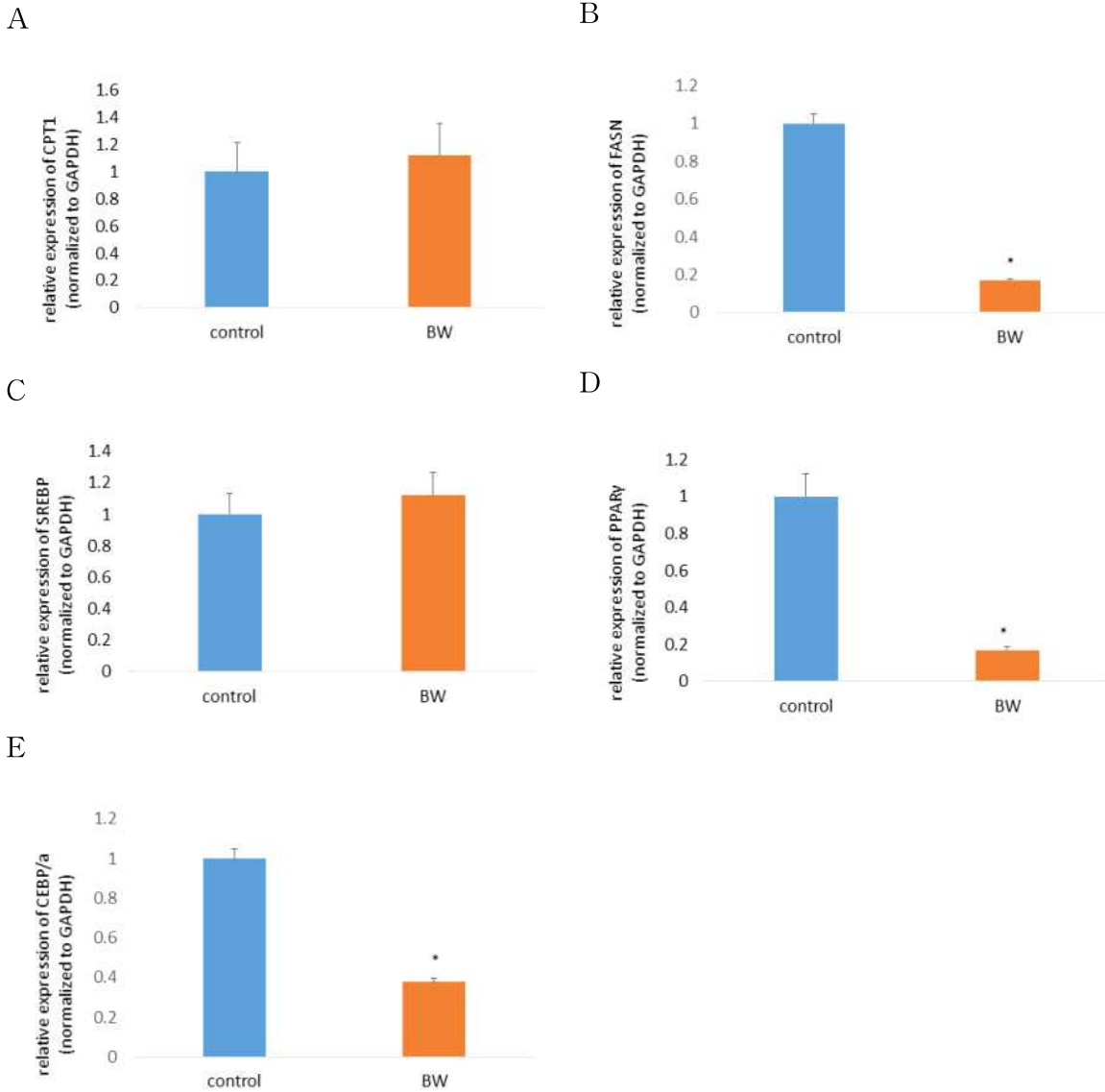


그림 39. Beeswax 처리에 의한 지방생합성 관련 유전자 발현 분석결과 {carnitine palmitoyltransferase 1; CPT1(A); fatty acid synthase; FASN (B); sterol regulatory element-binding protein 1; SREBP1 (C); peroxisome proliferator-activated receptor γ ; PPAR γ (D); CCAAT/enhancer binding proteins; C/EBP (E)}.

◦ 동·식물성 유지의 세포내 에너지대사 및 생리활성 비교 분석

- Oil Red O staining을 통해 5가지 지방산의 lipid droplet 형성 능력 비교

· 지방세포인 3T3-L1을 분화 촉진시키므로 지방구의 형성이 빠르게 일어나도록 함. 지방구의 형성은 세포내 에너지 대사와 생리활성과 연관이 있음. 지방세포 내 과도한 지방 축적은 미토콘드리아의 에너지 생산 과정을 방해하여 대사 장애와 연결 지을 수 있음. 5가지 지방산을 처리 후, staining(그림 40)을 통하여 그 값을 흡광도를 찍어 나타냄. 50 μ M stearic acid 의 경우 가장 흡광도 수치가 높게 나왔으므로, 지방구를 가장 형성을 많이 했음을 의미함(그림 41). 그 다음으로 linoleic 200 μ M, oleic 200 μ M, stearic 200 μ M, palmitic 50 μ M, palmitic 200 μ M,

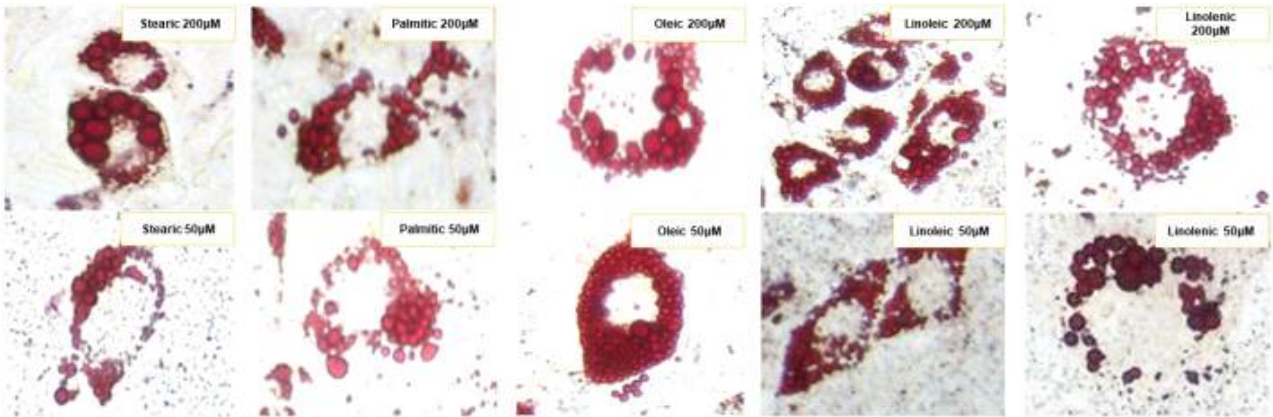


그림 40. 지방산(5가지)처리 시 Oil red O staining 사진

linoleic 50µM, oleic 50µM, linolenic 200µM, linolenic 50µM 순으로 지방구 형성을 보임. stearic 200µM이 50µM보다 낮게 흡광도 수치가 나온 것은 앞서 실험한 cell viability와 연관시켜 세포의 성장에 영향을 미쳤기 때문에 지방구 형성이 낮은 농도의 수치보다 낮게 나왔다고 볼 수 있음. 결론적으로, 오메가-3 지방산으로 알려진 linolenic 50µM는 control가 가장 비슷한 수치로 나온 것으로 보아, 이는 지방구의 형성을 억제한다고 말할 수 있음. 우지는 대부분 포화지방산으로 이루어진 식품이기 때문에 이러한 결과를 반영하여 오메가-3가 높은 불포화지방산을 함유한 우지의 사용을 고려할 시, 올레오젤로 대체된 완제품은 기존 제품보다 건강에 더 기여할 수 있다고 봄.

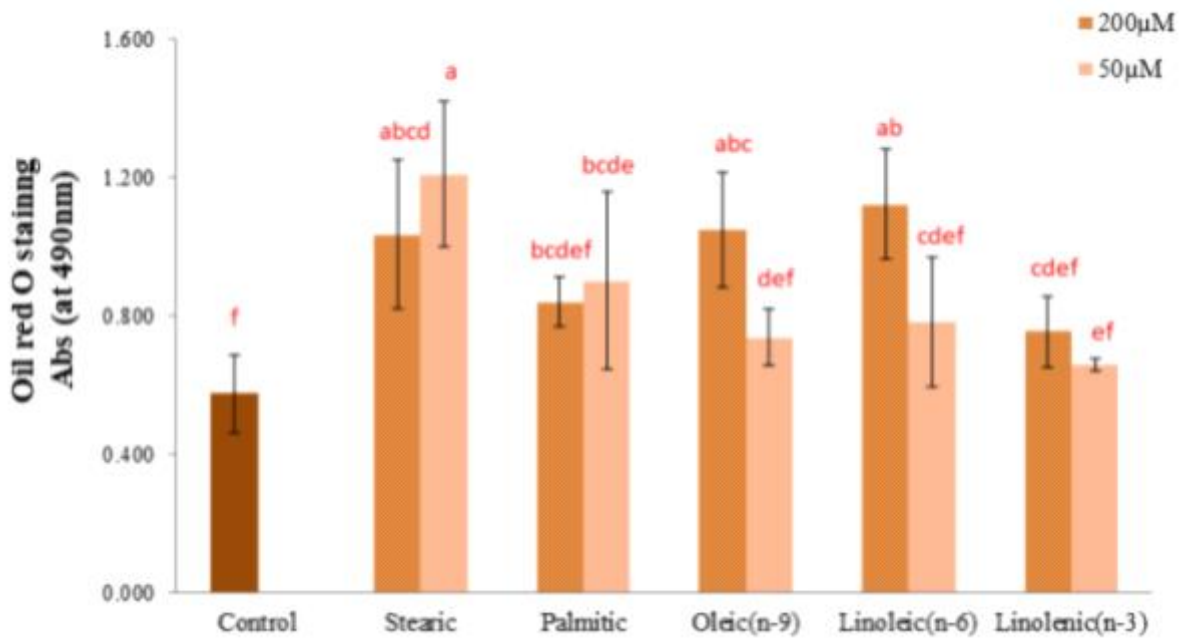


그림 41. 지방산(5가지)처리 시 Oil red O staining 흡광도 수치

- Oil Red O staining을 통해 Beeswax의 lipid droplet 형성 능력 비교
- 지방 세포내 지방의 축적정도를 알아보기 위해 Oil-red-O로 지방적을 염색하여 농도별 천연

왁스의 처리에 의한 지방적 축적 결과, 농도별로 beeswax를 지방세포에 처리하였을 경우 1.0, 2.0, 6.0ppm 수준에서는 지방적 축적율에 변화가 없었으나 3.0ppm 수준에서 대조구 대비 78.5% 수준으로 낮아졌음 (그림 42; $p < 0.05$). Beeswax는 long chain alkanes, alkenes, monoesters, diesters, hydroxymonoesters, fatty acids 등이 포함되어 있는데, 이 중 12~36개의 탄소로 이루어진 ester fraction은 palmitic, oleic, tetracosanoic acid esters를 포함하고 있음 (Aichholz 등, 2000). 이 ester들을 검화하면 long-chain alcohols이 발생되는데 몇몇 연구에서 이들은 총콜레스테롤과 함께 나쁜 low density lipoprotein (LDL)의 수치를 낮추고 동시에, 콜레스테롤 합성과 LDL 대사를 막는 역할을 하는 high density lipoprotein을 증가시키는 결과가 보고된바 있음 (Moon 등 2001). 지방적은 세포내 중성지방을 저장하는 역할을 하고, 간에 축적될 경우 지방간을 유발하는 것으로 알려져 있음 (Fujimoto 등 2006). Long chain fatty acids 특히 unsaturated fatty acids는 지방적을 형성하여 독성이 있는 palmitic acid 등의 saturated fatty acids를 지방적 안에 축적함으로써 lipotoxicity를 감소하는 효과가 있음(Plotz 등 2016). 본 연구결과에서 beeswax가 3ppm 농도에서 지방적 축적율을 낮추는 것으로 분석되었는데 이는 unsaturated fatty acids가 지방적 형성을 증가시키는 결과와는 반대되는 것임. 또한, 6ppm 농도에서는 유의적 차이가 없었던바, 지방적의 축적율 계산시 지방적 크기, 분포 및 숫자도 포함하고, 지방적내에 축적된 지방의 종류도 분석할 필요가 있을 것으로 사료됨. 이번 연구를 통해 gelator로서 beeswax가 세포, 특히 지방세포에는 독성을 띄지 않고, 오히려 지방적 축적을 감소시키는 역할을 하는 결과를 얻었음.

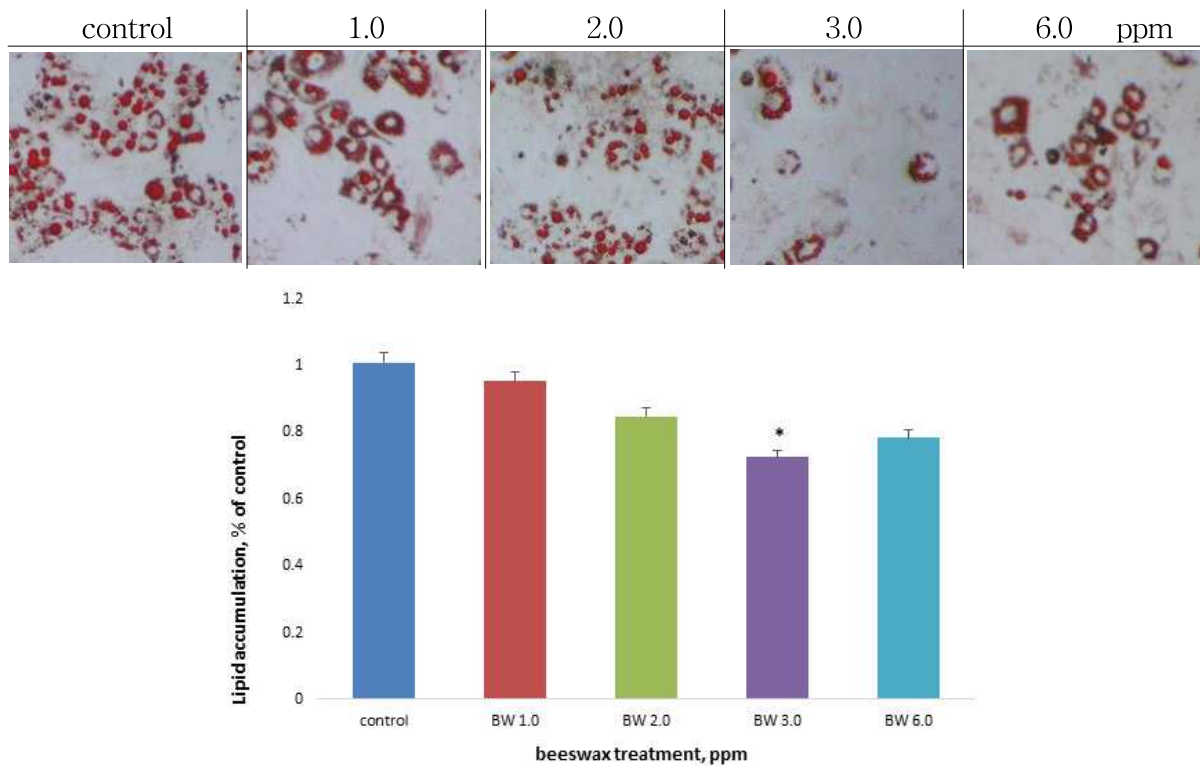


그림 42. Beeswax 처리가 3T3-KL1세포의 지방적 형성에 미치는 영향.

- 저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 *in vivo* 건강기능성 검증 (Pilot experiment)

- 기존에 식품에 사용되고 있는 우지와 쇼트닝과 대체를 위한 올레오젤에 사용될 식물성 유지, 왁스를 가지고 건강에 어떠한 영향을 미치는지 규명

· *In vivo* 실험을 진행하기 위해 앞서, 대두박, 을 넣어 직접 사료를 제작함. 대조군은 아무것도 첨가되지 않은 기본 사료를 급여, 처리구는 기본사료에 bees wax 4%, Beef tallow 15%, Shortening 15%, Flaxseed 15%+ bees wax 4%, Beef tallow 7.5% + flaxseed 7.5% + bees wax 4% 로 총 5가지 처리구로 구성됨. 사료조성을 살펴보면, bees wax 4%가 첨가된 사료에서는 대조군보다 조지방이 4%정도 높게 나옴. 그 외 4가지 처리구에서는 조지방이 대조군보다 약 15배 높게 함유함을 알 수 있음. 또한 칼로리 부분에서 같은 중량의 사료라도 처리구들은 모두 대조군보다 높은 열량을 가지고 있음(표 31).

sample	%					kcal/kg
	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	Crude ash	
Control	6.5	15.85	1.38	1.36	2.85	4047
Bees wax 4%	4.33	16	5.18	2.2	2.61	4447
Beef tallow 15%	1.65	14.35	15.07	1.33	2.92	5000
Shortening 15%	3.82	14.12	14.82	1.19	2.25	4845
Flaxseed 15%+ bees wax 4%	2.26	13.69	16.08	1.29	2.46	5119
Beef tallow 7.5% + flaxseed 7.5% + bees wax 4%	3.95	14.13	16.56	2.5	2.52	5149

표 31. 제조된 사료 성분 분석표

· 이렇게 제조된 사료를 이용하여 각 처리구당 5마리의 rat을 사용해 29일간 실험을 진행함. 사료급여는 자유급여로 이루어지고 아침7시부터 저녁7시까지는 빛이 있는 환경에 저녁7시부터 아침7시까지는 빛이 없는 환경에 처하도록 함. 체중은 매일 일정한 시간에 측정하고 사료급여는 30g씩 급여함. 그 결과, 다른 처리구들은 대조군과 비슷한 경향을 보인 반면, Flaxseed 15%+ bees wax 4% 는 그룹들 중에서 가장 낮은 증체량을 보였고 그 다음으로, beef tallow 15%가 낮은 증체량을 보임 (그림 43).



그림 43. 각 처리구에 대한 한 마리당 증체량 평균값

각 그룹별 사료효율을 분석해보면, 위의 증체량 결과와 마찬가지로 beef tallow 15%는 다른 그룹들보다 사료 효율이 낮음을 보임. 특히나 Flaxseed 15%+ bees wax 4%는 가장 낮은 수치인 0.1을 보임. 따라서 사료 효율이 좋지 않았기 때문에 증체량도 낮았음을 알 수 있음(그림 44).



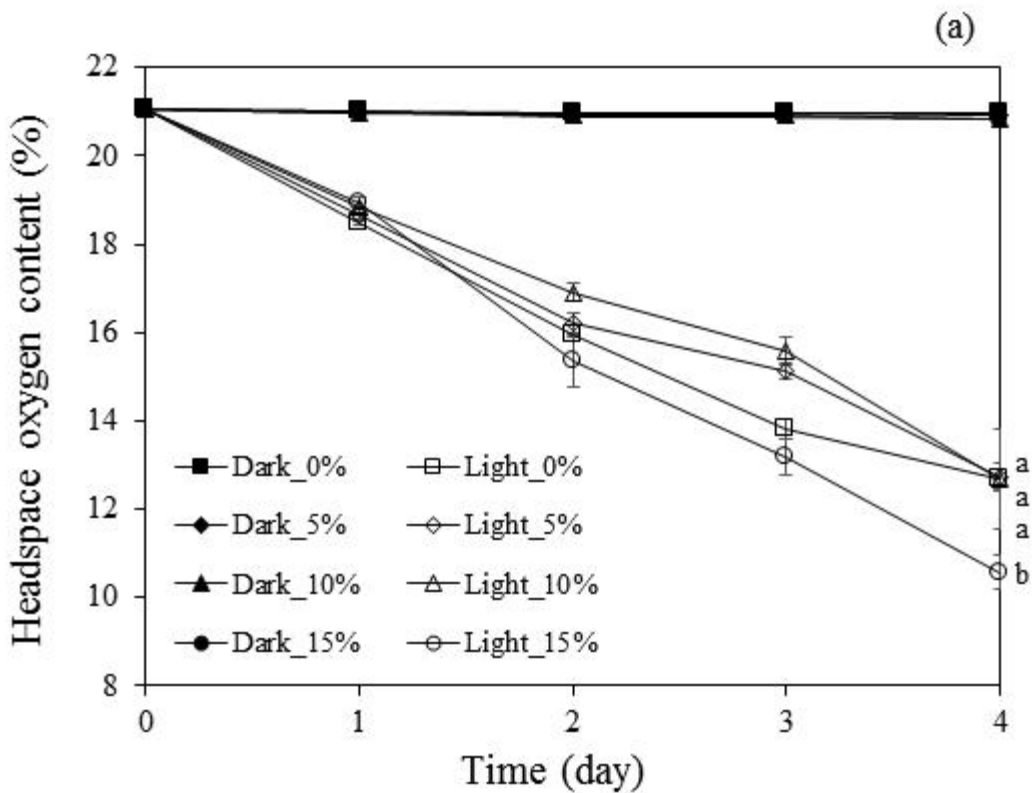
그림 44. 각 처리구에 대한 사료 효율 평균

[제2협동] 천연 산화방지제 cocktail 활용 올레오젤 함유 식품의 물리화학적 안정성 특성 개선

◦ 광산화 및 감광제에 의한 올레오젤 산화안정성 확인

- 올레오젤에 광산화 스트레스로 유발된 산화생성물 분석

· 그림 45은 25°C의 온도에서 Light와 Dark 조건 하에 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 왁스 농도에 따른 headspace oxygen content (a), conjugated dieonic acid (b) 산화안정성 실험 결과임. Dark 조건 하에 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤이 Light 조건 하에서 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤 보다 headspace oxygen content (a)의 함량은 높게 유지되었음. 농도에 따른 유의적인 차이는 없었음.



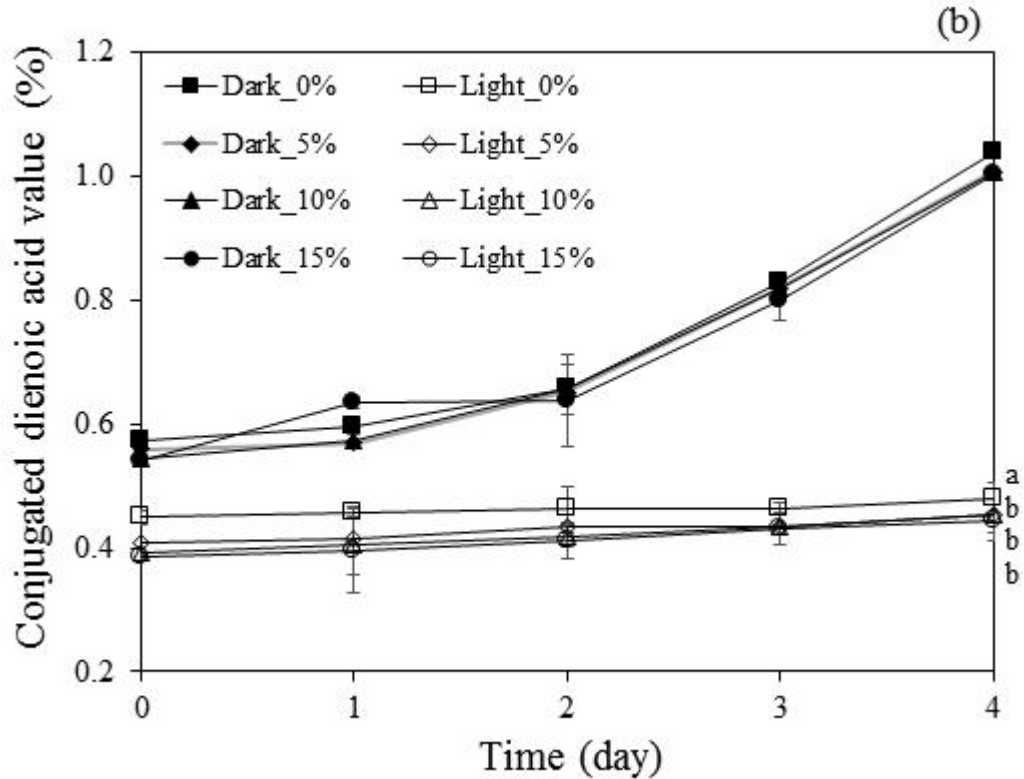


그림 45. 광산화 조건에서 산화시킨 비즈왁스 올레오젤의 농도별 headspace oxygen content (a)과 conjugated dienoic acid (b) 변화.

· 광산화는 유지내 photosensitizer인 클로로필 혹은 라이보플라빈에 의한 일중항산소 산화로 본 연구 결과 사용된 유지에는 다량의 클로로필이 함유되어 있음을 알 수 있음. 사용된 올레오젤 왁스의 함량에 따른 유의적인 차이가 없다는 것은 일중항산소 발생의 차이가 없으며 첨가된 올레오젤레이터인 비즈왁스가 일중항산소 제거 능력을 지니지 않음을 의미함.

· 그림 46는 TBHQ, 세사몰, 토코페롤, 베타카로틴 각각의 항산화제를 농도별로 첨가한 비즈 왁스 올레오젤의 산화 4일 후 headspace oxygen content 측정 결과임. 대조군과 비교하였을 때, 상대적으로 저농도인 10, 20 ppm에서 토코페롤과 베타카로틴은 대조군보다 산화가 많이 되어 headspace oxygen content 함량이 낮아지면서 pro-oxidant로 작용하였음. 이들의 농도가 100 ppm 넘는 경우 항산화제로 작용하였음. 반면에 TBHQ, 세사몰은 모든 농도인 10-200 ppm 모두 headspace oxygen content 함량이 대조군 보다 높았음. 이는 10 ppm의 저농도에서 산소의 흡수를 억제함을 의미하며 효율적인 산화방지제로서 작용하였음을 증명함.

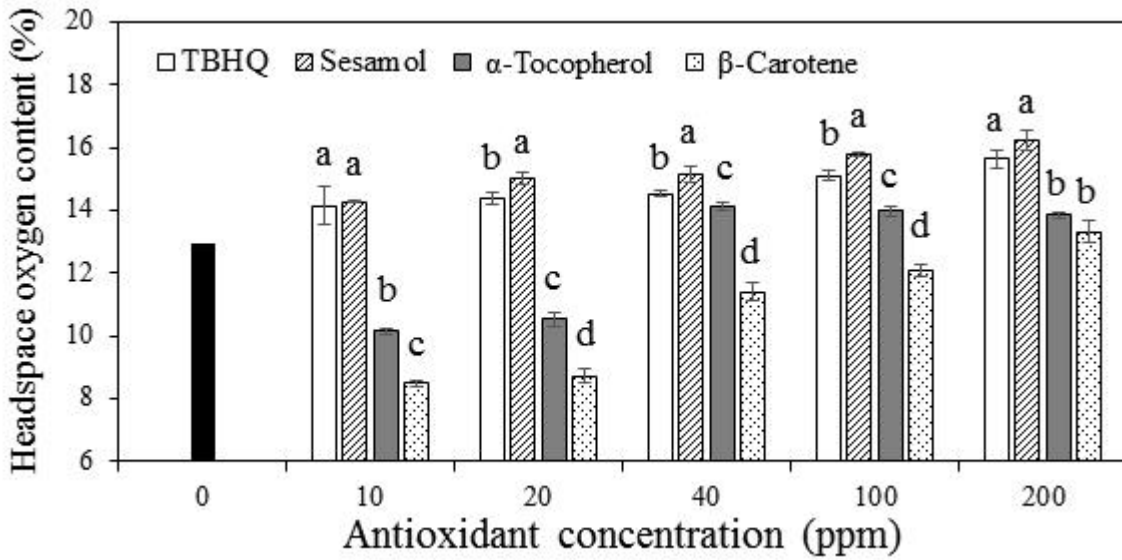


그림 46. 각각의 항산화제를 첨가하여 광산화 조건에서 4일동안 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 headspace oxygen content.

· 그림 47은 TBHQ, 세사몰, 토코페롤, 베타카로틴 각각의 항산화제를 첨가한 비즈 왁스 올레오젤의 conjugated dienoic acid 측정 결과임.

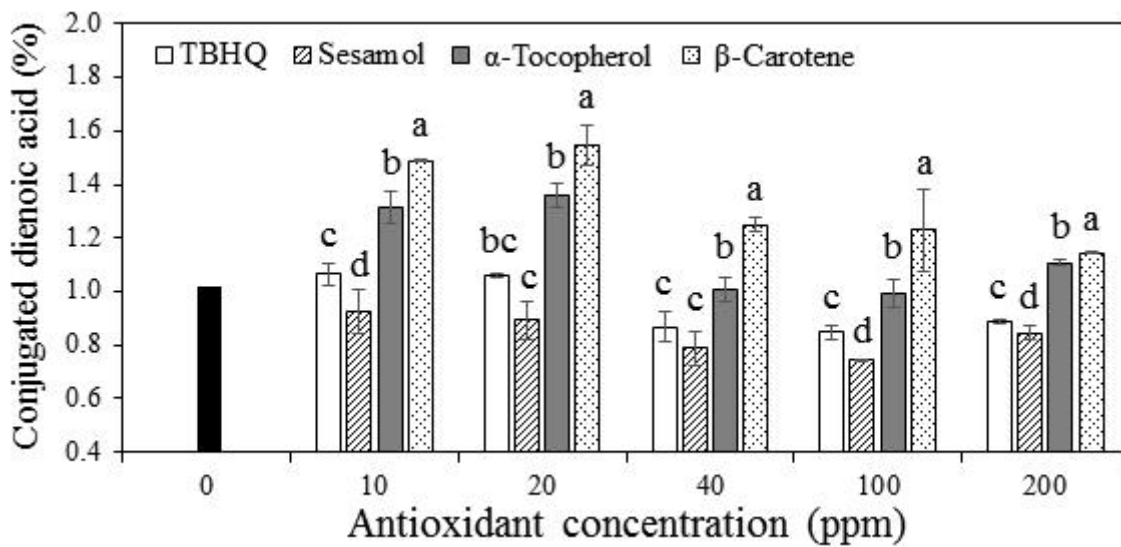
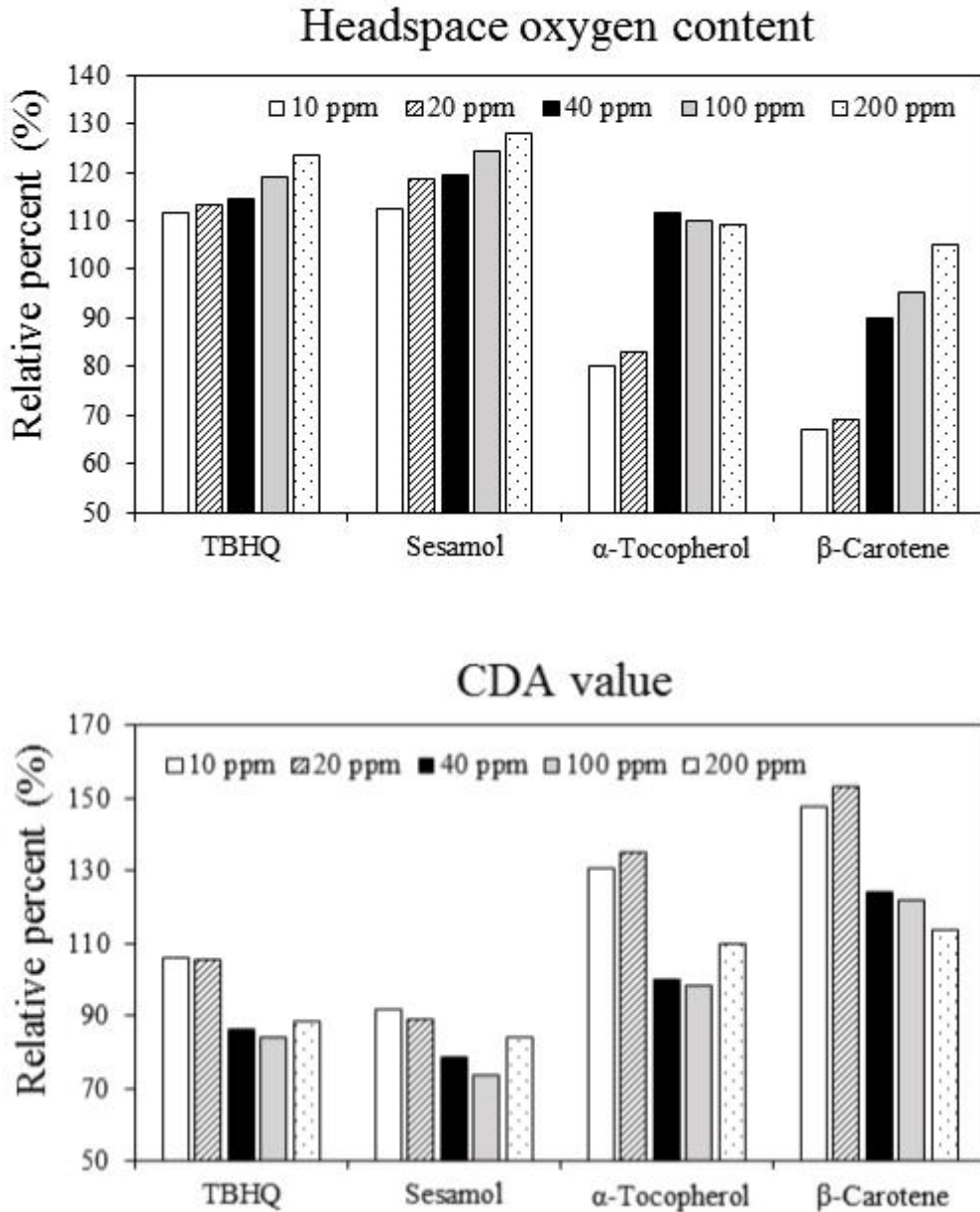


그림 47. 각각의 항산화제를 첨가하여 광산화 조건에서 4일동안 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 conjugated dienoic acid.

· Conjugated dienoic acid value의 결과, 대조군에 비해 세사몰만이 모든 농도에서 높은 항산화능을 보였고, 200 ppm의 농도에서 TBHQ와 세사몰이 높은 항산화능을 보였음. 토코페롤과 베타카로틴은 모든 농도에서 대조군에 비해 산화안정성이 떨어짐. Headspace oxygen content 결과와 상이한 결과가 나타남. 이는 사용되는 방법의 원리에 따라 측정 목표가 달라지기 때문임. Headspace oxygen content는 불포화지방과 산소의 결합에 의한 산소 소모량을 측정하나 conjugated dienoic acid는 회수된 유지에서 다가 불포화 지방인 리놀레산, 리놀렌산의 non-conjugated 형태가 conjugated 형태로 전환되는 1차

산화생성물임.

· 그림 48는 TBHQ, 세사몰, 토코페롤, 베타카로틴 각각의 항산화제를 첨가한 비즈 왁스 올레오젤의 산화안정성을 비교하기 위하여 headspace oxygen과 CDA의 relative percent로 나타낸 그림임.



· 그림 48. TBHQ, 세사몰, 토코페롤, 베타카로틴 네 가지 항산화제의 headspace oxygen과 CDA의 relative percent.

· Headspace oxygen content 결과에서는, control인 10% beeswax oleogel을 100%로 하여 비교하였을 때, TBHQ와 세사몰은 20ppm의 낮은 농도에서도 100%를 넘는 값을 보였으며, beta-carotene을 제외한 나머지는 모두 40 ppm 이상에서 항산화능을 보였음.

· Conjugated dienoic acid 결과에서는, control인 10% beeswax oleogel을 100%로 하여 비교하였을 때,

세사몰 만이 낮은 농도에서 고농도까지 모든 농도에서 항산화능을 나타내었음. 따라서 천연산화방지제인 세사몰은 왁스 사용 올레오젤에서 40 ppm의 저농도에서도 우수한 산화방지능을 나타냄.

· 그림 49는 TBHQ, 세사몰, 토코페롤, 베타카로틴 각각의 항산화제를 첨가한 비즈 왁스 올레오젤의 *p*-anisidine value 측정 결과임.

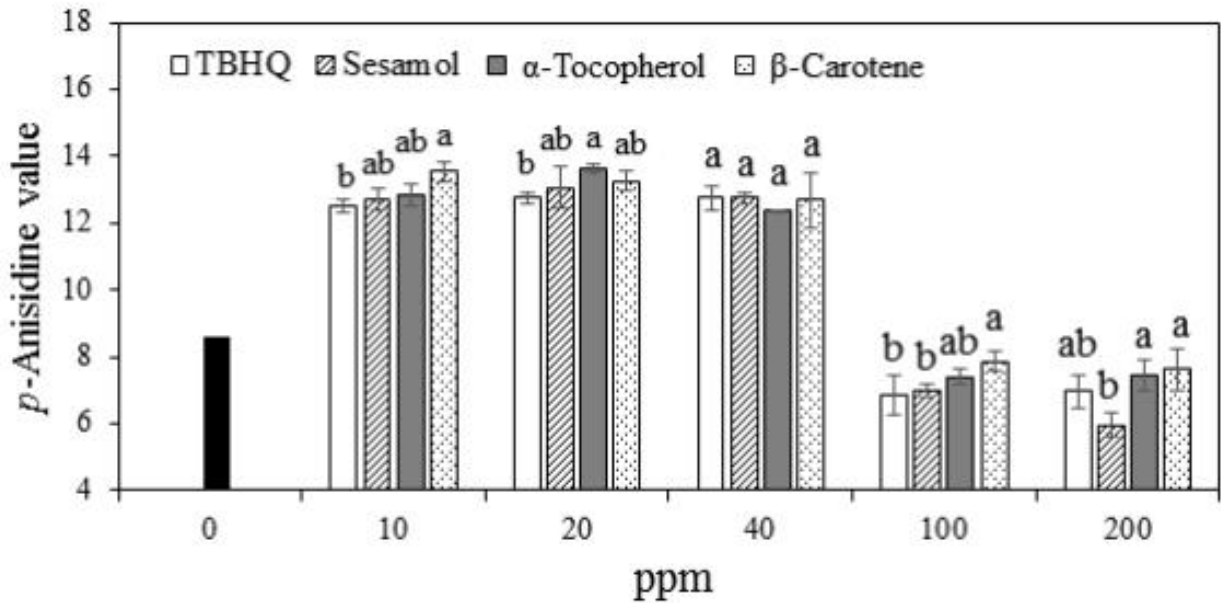


그림 49. 각각의 항산화제를 첨가하여 광산화 조건에서 4일동안 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 *p*-anisidine value.

· 10-40 ppm의 낮은 농도에서 모든 항산화제는 대조군에 비하여 높은 *p*-anisidine value을 나타냈고, 100 ppm 이상의 농도에서는 모든 항산화제의 *p*-anisidine value가 대조군 보다 유의적으로 낮았음. *p*-Anisidine value은 2차산화생성물을 측정하는 방법으로 1차산화 생성물과는 다르게 100ppm 이상의 농도에서 유의적으로 낮은 산화안정성을 보였음.

· 올레오젤에 첨가된 항산화제의 항산화능을 객관적인 정량화 하기 위하여 올레오젤에 첨가된 항산화제의 양을 몰 질량으로 환산하였음. 각각의 항산화제의 몰 질량은 TBHQ 166.221 g/mol, 세사몰 138.12 g/mol, 토코페롤 430.71 g/mol, 베타카로틴 536.89 g/mol인데, 이를 올레오젤의 첨가한 농도로 환산하면 비교적 몰 질량이 작은 세사몰이 가장 많은 양 첨가되었음. 그러나 저농도의 세사몰과 고농도의 베타카로틴을 몰 질량으로 비교해도 세사몰이 더 높은 항산화능을 보인 것으로 나타남.

이와 같은 결과를 종합하여 실험에 사용된 항산화제 중에서 세사몰의 항산화능이 가장 좋다는 것을 확인하였음.

· 그림 50은 세사몰과 메탈킬레이터제인 EDTA, 구연산, 세사몰과 구연산의 조합을 첨가하여 제조한 올레오젤의 산화안정성 실험 결과임.

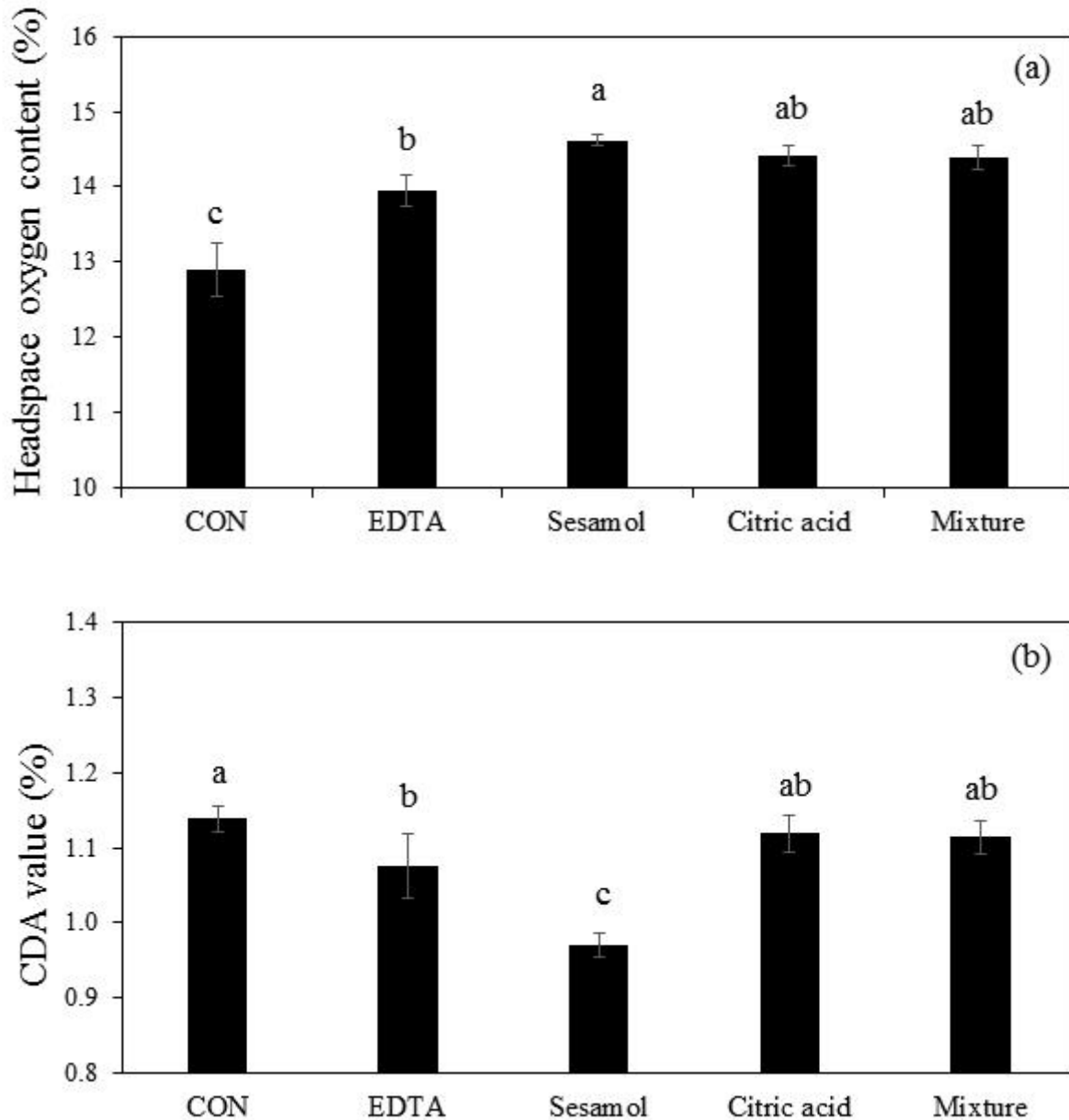


그림 50. 메탈킬레이터제와 세사몰 혼합물을 첨가하여 광산화 조건에서 4일동안 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 headspace oxygen content (a) and conjugated dienoic acid (b)

· 대조군과 비교하였을 때, 항산화제와 메탈킬레이터제를 첨가한 올레오젤이 높은 산화안정성을 보였음. 메탈킬레이터제인 EDTA와 비교하였을 때, headspace oxygen content, conjugated dienoic acid value, *p*-anisidine 모든 결과에서 항산화제인 세사몰이 더 높은 산화안정성을 나타내었음. 또한 항산화제 cocktail 조합인 세사몰과 구연산의 혼합물보다 세사몰의 단독 첨가가 더 높은 항산화제를 나타내었음. 이를 통해 비즈 왁스 올레오젤 매트릭스에 적합한 항산화제는 세사몰이라는 것을 확인함. EDTA는 강력

한 메탈킬레이터의 대명사로 사용되는 물질이나 본 연구를 통해 올레오젤의 산화에서는 금속의 산화촉진 역할이 액체 매트릭스의 경우에 비해 적게 작용함을 확인함. 이는 올레오젤 매트릭스에서는 금속에 의한 산화촉진효과인 hydroperoxide가 휘발성분으로 분해되는 beta-scission 현상이 상대적으로 낮게 발생한다는 것을 의미함.

· 그림 51은 세사몰과 메탈킬레이터제인 EDTA, 구연산, 세사몰과 구연산을 이용해 antioxidant cocktail을 만들어 첨가한 올레오젤을 4일동안 광산화 시킨 후 휘발성분을 측정된 결과임.

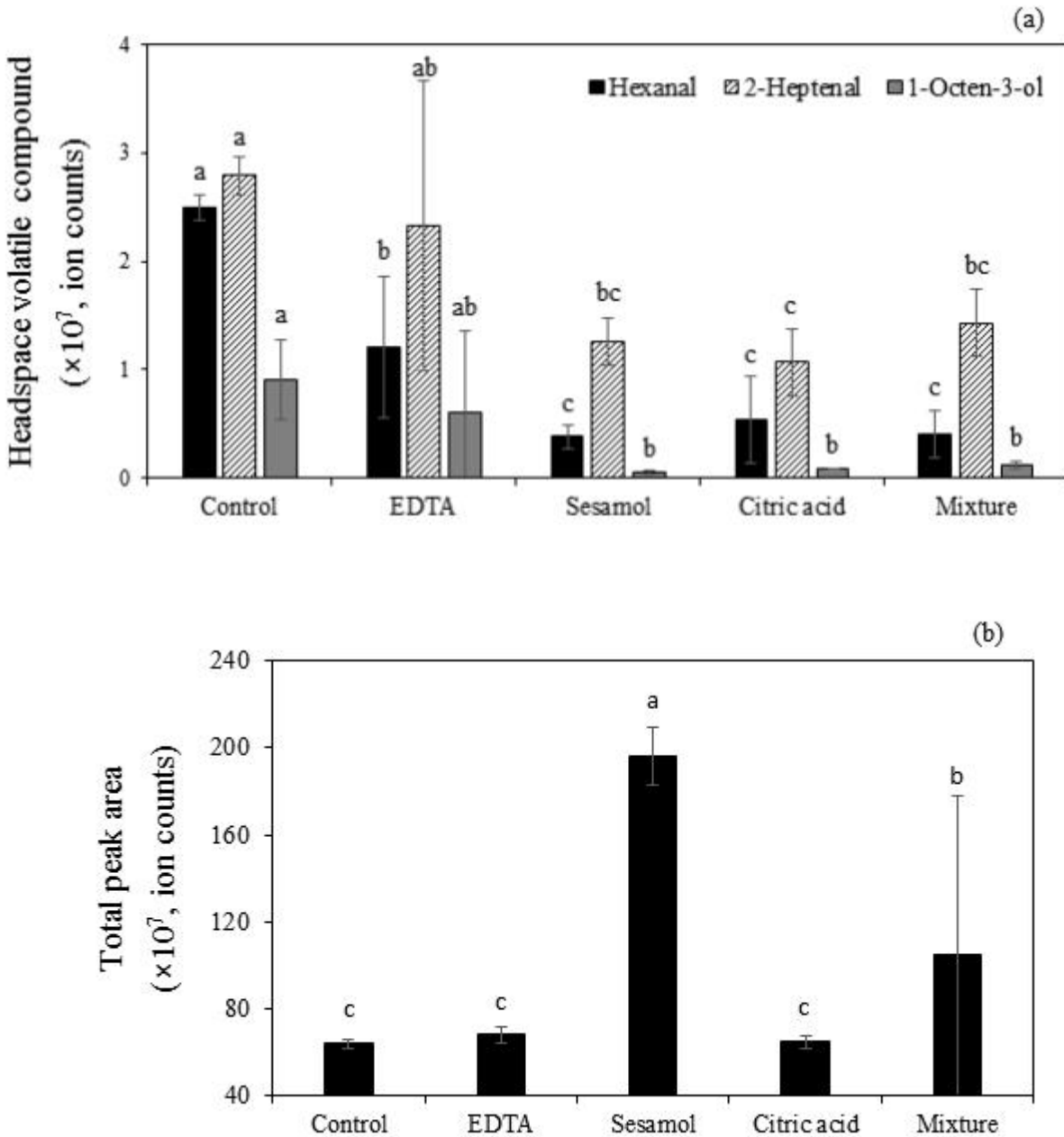


그림 51. 메탈킬레이터제와 세사몰 혼합물을 첨가하여 광산화 조건에서 4일동안 산화시킨 비즈 왁스 올레오젤의 (a) headspace volatile compounds (1×10^7 , ion counts) and (b) total peak area (1×10^7 , ion counts).

· 세사몰과 메탈킬레이터제의 조합인 antioxidant cocktail이 광산화 과정 중에서 어떤 작용을 하는지 알

아보기 위하여 gas chromatography mass spectrometry를 이용하여 휘발성분을 측정하였음. 그림 51 (a)의 hexanal, 2-heptenal, 그리고 1-octen-3-ol은 지방산화생성물로, 특히 1-octen-3-ol은 일중항산소 광산화 과정 중 발생함.

Headspace volatile compounds 측정 결과, 앞서 실험한 headspace oxygen content, conjugated dienoic acid, 그리고 *p*-anisidine value 실험 결과와 마찬가지로 세사물에서 hexanal의 생성이 유의적으로 가장 적게 생성되었음($p < 0.05$). 또한 2-heptenal 및 1-octen-3-ol의 경우, 세사물, citric acid, 그리고 mixture가 가장 적은 휘발성분을 나타내어 산화생성물을 적게 생산한 것을 알 수 있지만 세 가지 샘플에서 유의적인 차이는 크게 나타나지 않은 것으로 나타남($p > 0.05$)(그림 51a). 이와 같은 결과를 통해 세사물이 자동산화를 가장 잘 억제하며 1-octen-3-ol의 결과로 보아 일중항산소 소거능도 어느 정도 있는 것으로 판단됨. 다만 그림 51에서 베타카로틴의 활성이 높지 않았는데 이는 일중항산소 자체가 발생하지 않은 것이 아니라 고형의 매트릭스기에 베타카로틴이 일중항산소와 결합하는 데 한계가 있는 것으로 판단됨.

- 올레오젤 샘플들의 total peak area를 측정한 결과, 세사물이 포함된 올레오젤 샘플에서 다른 샘플들에 비해 휘발성분이 많이 검출된 것을 확인함(그림 51). 이는 세사물 자체가 휘발성분을 많이 포함하고 있어 세사물이 포함된 올레오젤 샘플에서 많은 휘발성분이 나타난 것으로 사료됨. 세사물과 mixture를 제외하고 control과 EDTA, 그리고 citric acid는 총 휘발성분의 양에서 유의적인 차이 없이 비슷한 양을 나타내는 것을 확인함.

- 휘발성분 측정 결과 세사물 자체가 특유의 휘발성분을 가지고 있기 때문에 세사물 뿐만 아니라 세사물을 포함하고 있는 mixture에서도 total peak area가 높은 값을 나타내었음. 세사물이 첨가된 혼합 mixture에서 총 휘발성분 함량이 높은 것을 보아 확실히 알 수 있음. 이와 같은 결과는 세사물 첨가 시 휘발성분 유래 향기에 대한 관능적 변화가 유발될 수 있음을 의미하기에 첨가량 결정 시 참고 할 만한 사항이라고 사료됨. 그러나 산화생성물의 지표인 hexanal, 2-heptenal, 그리고 1-octen-3-ol이 세사물, citric acid와 mixture에서 가장 낮게 나타난 것으로 보아, 앞선 실험결과와 마찬가지로 산화안정성이 높다는 것을 알 수 있음.

- 따라서, 앞선 실험 결과와 gas chromatography mass spectrometry를 통한 휘발성분 측정 결과를 고려하면 결론적으로 세사물이 beeswax 올레오젤 매트릭스에서 가장 좋은 산화안정성을 나타낼 수 있는 항산화제라고 사료됨.

[3년차]

[제1세부] 올레오젤의 쇼트닝 대체를 통한 베이커리제품의 포화지방 저감화

· 올레오젤을 활용한 베이커리 제과 시제품 (쿠키, 케이크 등) 제조

- 베이커리 제품의 배합비 확립

· 베이커리 제품의 경우 포화지방이 높은 버터, 쇼트닝과 같은 고체지방을 다량 사용하고 있기에 이를 대체하기 위한 실험을 진행함. 이를 위한 불포화도가 가장 높은 카놀라유를 화학적 처리 없이 물리적으로 고체화시켜 올레오젤을 제조한 후 쇼트닝을 대체함.

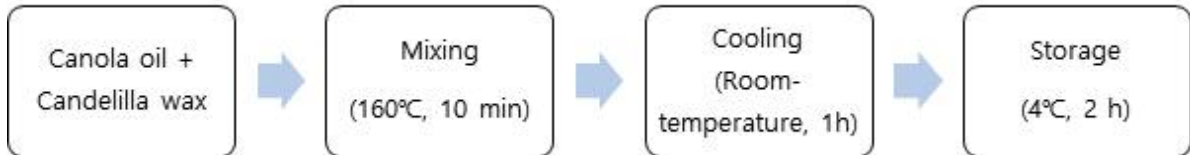


그림 52. 올레오젤 제조 과정

· 불포화도가 가장 높은 카놀라유와 Gelator 중에서 강도가 가장 높은 Candelilla wax를 이용하여 160°C에서 10분간 완전히 녹인 후 실온에서 1시간 방치하고, 4°C에도 2시간 저장하여 올레오젤을 제조함. 3, 6% Candelilla wax를 사용 시 카놀라유가 고체화되어 성공적으로 올레오젤을 제조함. 이를 활용하여 베이커리 제품 중 쿠키에 3, 6% 칸데릴라 올레오젤을 쇼트닝 대체제로 사용하여 실험을 진행함.

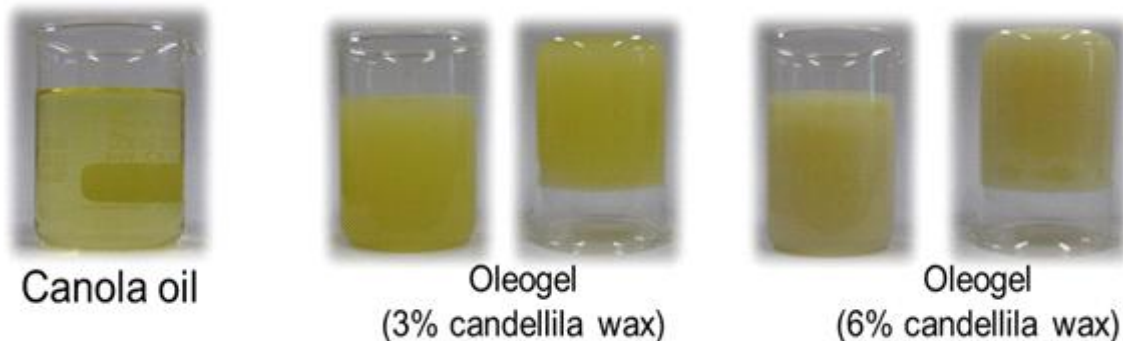


그림 53. 칸데릴라 올레오젤 제조

· 아래 표에서 보여주는 배합비를 토대로 Kitchen-Aid mixer(St Joseph, MI, USA)를 사용하여 speed 1에서 혼합하고 스크래핑한 후 speed 2에서 1분간 혼합하고 재스크래핑 한 후 마지막으로 speed 4에서 1분간 혼합을 더 진행하여 크림을 제조함.

(%)	Control	3% oleogel	6% oleogel
White sugar		252	
Baking powder		4.2	
Non-fat dry milk		12.6	
Shortening	126		
3% Candelilla wax oleogel		126	
6% Candelilla wax oleogel			126

표 32. 쿠키 크림 제조 배합비

· 아래 표에서 보여주는 바와 같이 완성된 크림을 이용하여 쿠키를 제조함. 먼저 크림과 2종의 solution을 혼합용기에 넣고 speed 3에서 3분간 섞어준 후, soft wheat flour를 넣고 speed 2에서 2분간 섞어주어 쿠키 반죽을 형성시킴. 이후 평평하게 반죽을 두께 1 cm가 되도록 편 후 쿠키커터를 사용하여 지름 6 cm로 성형을 시킴. 그 후, 205℃ 오븐에 10분간 구워줌.

(%)	Control
Soft wheat flour	120g
Cream	112.8g
0.95 M sodium bicarbonate solution	12g
1.52 M sodium chloride solution	6g
Water	11g

표 33. 쿠키 제조 배합비

· 쿠키 이 외에도 고체지방 사용함량이 높은 케이크의 경우에도 쇼트닝을 대체하여 올레오젤을 적용함. 케이크의 배합비는 아래 표에서 보여주고 있으며, 케이크 반죽 제조에는 Kitchen-Aid mixer(St Joseph, MI, USA)를 이용함. 먼저, 쇼트닝과 설탕을 speed 2에서 2분간 혼합하고, 물 250g 중 60g을 먼저 넣어준 후 speed 2에서 2분간 혼합하여 크림을 형성시킴. 이후 박력분, 탈지분유, 베이킹파우더, 난백가루와 물 190g을 넣어준 후 speed 1에서 1분간 혼합함. 이후, speed 6에서 2분간 혼합한 후 고르게 섞기 위해 4분간 더 혼합과정을 진행함. 그 후 완성된 반죽을 케이크틀에 250g씩 넣은 후 170℃ 오븐에 30분간 조리함. 이 후 제조된 케이크는 상온에서 1시간 방치하여 식혀 준 후 이 후 측정을 진행함.

· 이 때 고체지방 함량이 높은 쇼트닝 대체제로 불포화도가 높은 카놀라유를 베이스로 한 10% candelilla wax oleogel, 10% carnauba wax oleogel, 10% beeswax oleogel을 사용하여 제조함. 이후 반죽의 비중과 케이크에 부피를 측정하여 올레오젤의 적용가능성을 평가함.

(%)	Control
Soft wheat flour	200g
Sugar	220g
Shortening	100g
Water	250g
Non-fat dry milk	24g
Salt	6g
Baking powder	12g
Egg white powder	18g

표 34. 케이크 제조 배합비

- 올레오젤을 활용한 베이커리 시제품 제조

· 제조된 Control, 3% oleogel, 6% oleogel 쿠키는 아래 그림에서 보여주는 바와 같이 올레오젤을 활용한 쇼트닝 대체 함량이 증가할수록 쿠키의 퍼짐성이 높고 높이가 낮아지는 것을 확인함. 이러한 특성을 분석하고자 AACC(10-52) 방법을 사용하여 높이와 직경을 측정함.

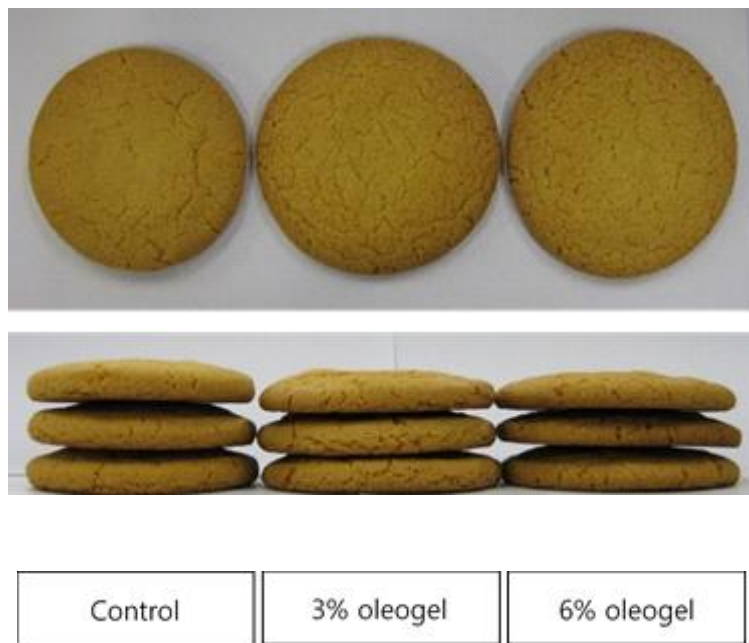


그림 54. 올레오젤 쿠키 윗면과 옆면

· 쿠키의 직경과 높이를 측정한 결과, 대조구에 비해 직경은 증가하고 높이는 감소하는 경향을 확연히 보여줌. 따라서 oleogel은 쇼트닝과 비교하여 쿠키의 퍼짐성에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단됨. 또한, candelilla wax의 함량이 높아질수록 제조된 쿠키의 직경은 증가하고 높이는

감소하는 경향이 관찰되어 candelilla wax 의 농도에 따른 영향도 관찰됨.

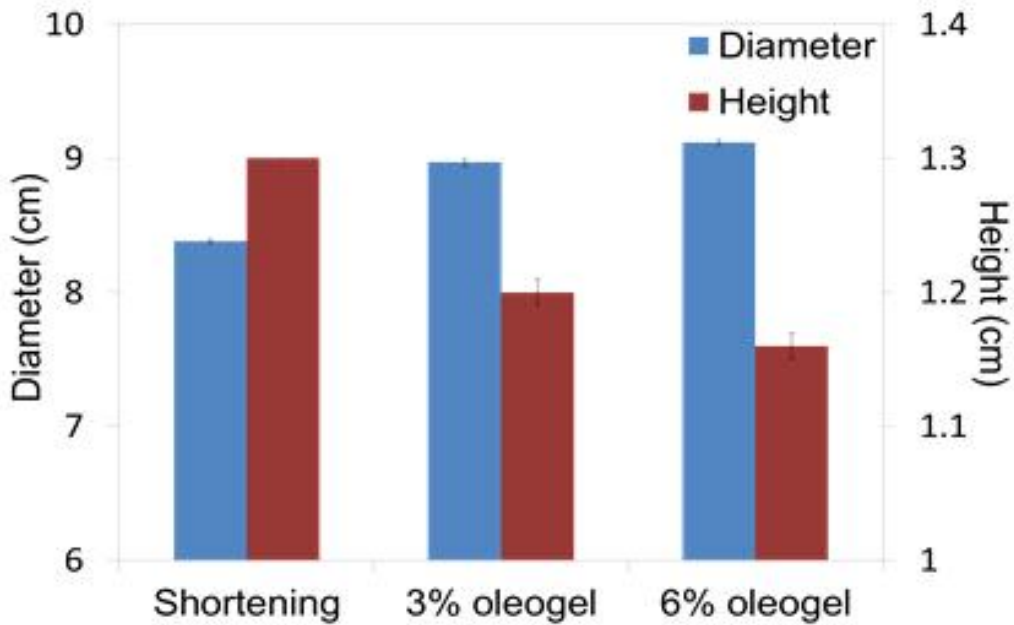


그림 55. 올레오젤 쿠키의 직경과 높이

· 올레오젤을 활용하여 제조된 control, candelilla wax oleogel, carnauba wax oleogel, beeswax oleogel 케이크는 아래 그림에서 보여주고 있음. Control의 crust 부분의 색이 다른 올레오젤을 활용한 케이크보다 어두웠으며, 굴곡진 부분이 없이 매끄러운 외형이 관찰됨. 또한 내부 단면사진을 보면 control은 큰 공극이 보이지 않았지만, 올레오젤을 활용한 케이크에서는 큰 공극이 발견되었고, 특히 carnauba wax oleogel을 활용한 케이크에서 가장 많이 발견됨. 그리고 beeswax oleogel을 활용한 케이크에서는 중간 부분이 완전히 부풀지 못하고 약간 꺼진 현상이 관찰됨.



그림 56. 올레오젤 케이크의 외형

	Control	Candelilla wax oleogel	Carnauba wax oleogel	Beeswax oleogel
Specific volume (ml/g)	2.08	1.61	1.57	1.45

표 35. 올레오젤 케이크의 부피

· Volscan Profiler(VSP600, Stable Micro System Ltd, Godalming, UK)을 사용하여 케이크의 비체적을 측정함. Control이 경우 2.08 ml/g으로 가장 높게 측정되었으며, Beeswax oleogel을 활용한 케이크에서 가장 낮은 값을 보임. 올레오젤을 이용하여 제조한 케이크에서는 Candelilla wax oleogel을 적용한 케이크에서 가장 높은 부피를 가진 것을 확인함.

· 제품 이외에 케이크 반죽의 물성을 측정하여 이를 비교함. 먼저 Specific gravity(비중)인 경우 일정 부피를 가진 비중컵을 이용하여 같은 부피에서의 반죽 무게와 물의 무게를 나누어 측정함. 다음으로 반죽의 점도를 측정하기 위하여 Bostwick 점도계를 이용하였으며, 측정 방법으로는 100g 반죽을 30초 동안 흘러내려주어 그 이동거리를 측정함.

	Control	Candelilla wax oleogel	Carnauba wax oleogel	Beeswax oleogel
Specific gravity	0.75	1.16	1.17	1.15
Bostwick reading (cm)	2.9	10.4	11.0	10.8

표 36. 올레오젤 케익 반죽의 비중과 점도

· 케이크 반죽의 비중과 점도 측정 결과, 비중은 Control이 가장 낮은 값을 보였고, 올레오젤을 활용한 케이크 반죽은 높은 값을 보여줌. 올레오젤 케이크 반죽 사이에서는 서로 큰 차이가 없었으며 이 결과는 점도의 결과와 유사함을 확인함. 점도의 경우도 마찬가지로 Control이 2.9로 가장 낮았으며 올레오젤 케이크 반죽에서는 10이 넘는 것을 확인함. 이는 올레오젤을 이용한 반죽이 점도가 낮아 묽은 것을 확인할 수 있었으며, 이 때문에 케이크 시제품이 크게 부풀지 못하고 부피가 낮아진 것으로 판단됨.

◦ 올레오젤 함유 베이커리 제품의 지방 조성 분석

- Soxhlet 추출법을 통한 올레오젤을 함유한 베이커리 제품의 조지방 분석

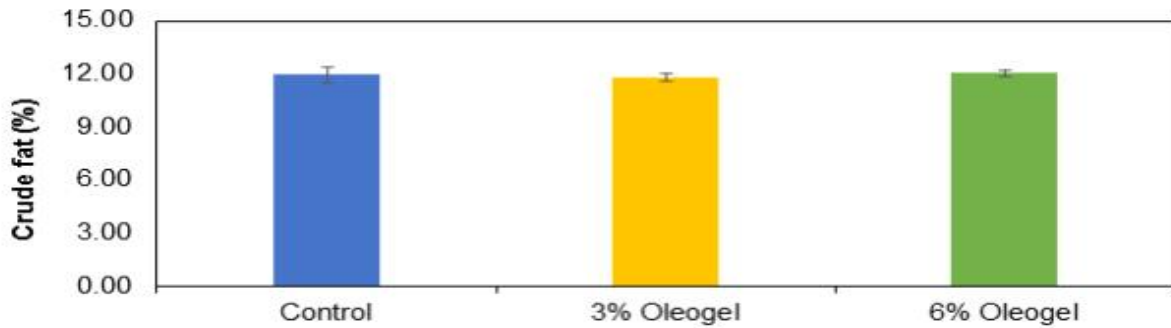


그림 57. 올레오젤 쿠키의 조지방

· Soxhlet 추출법을 통하여 올레오젤 쿠키의 조지방을 분석한 결과도 Control 시료와 올레오젤 쿠키 간의 유의적인 차이가 관찰되지 않음. 따라서, 쇼트닝을 사용한 베이커리 제품과 이를 올레오젤로 대체한 베이커리 쿠키 제품은 모두 조지방 함량에서는 차이가 없는 것으로 확인함.

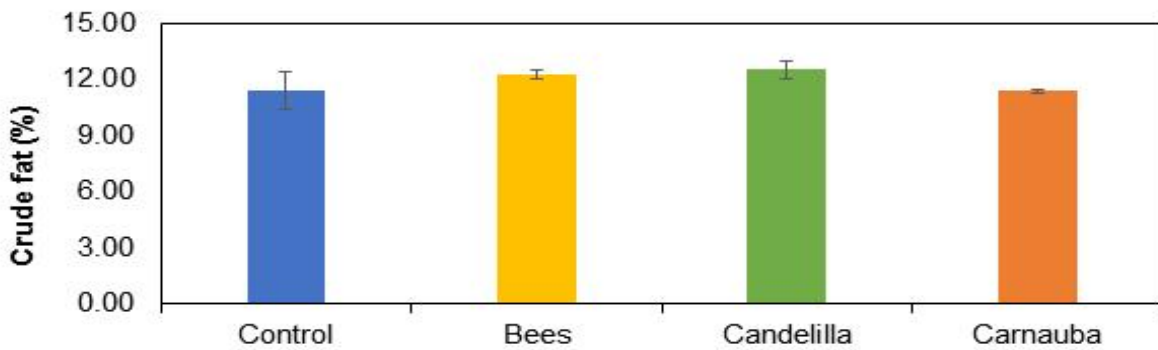


그림 58. 올레오젤 케이크의 조지방

· Soxhlet 추출법을 통해 올레오젤 케이크의 조지방을 분석한 결과, 쿠키에서의 결과와 같이 Control과 올레오젤 케이크 시료 간의 유의적인 차이가 관찰되지 않음.

- Gas chromatography를 통한 지방산 분석 및 쇼트닝 제품과의 비교

· 쇼트닝을 3, 6% candelilla wax 올레오젤로 대체하여 만든 쿠키의 지방산 분석을 위해 Soxhlet 추출법을 통하여 유지를 추출함. 이를 Gas chromatograph (Hewlett-Packard 6890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)로 분석하여 지방산 분석을 진행함.

(%)	Canola oil	Cookies		
		Shortening	3% oleogel	6% oleogel
C12:0	-	3.3	-	-
C14:0	0.1	2.2	0.1	0.1
C16:0	4.5	41.9	4.4	4.5
C18:1	64.0	32.7	61.9	62.6
C18:2	20.0	13.3	20.0	19.3
C18:3	6.9	0.8	7.7	6.0
C20:0	0.6	0.4	0.6	0.6
C20:1	1.7	0.2	1.8	1.6
C22:0	0.3	0.1	0.3	0.4
C23:0	-	-	1.0	2.3
C24:0	0.2	0.1	0.2	0.2
Saturated fat	7.2	52.8	8.5	10.2
Unsaturated fat	92.8	47.2	91.5	89.8
Saturated/Unsaturated fat	0.08	1.12	0.09	0.11

표 37. 올레오젤 쿠키의 지방산 조성

· 지방산 측정 결과, 쇼트닝으로 제조한 쿠키에서는 포화지방산이 52.8%로 가장 높게 측정되었으며, 포화지방산/불포화지방산의 값이 1이 넘는 것을 확인함. 하지만, 쇼트닝을 올레오젤로 대체하여 제조한 쿠키에서는 포화지방/불포화지방산의 값이 0.1에 가까운 값을 보여 포화지방 함량이 급격히 감소한 것을 확인함. 포화지방은 다량 섭취 시 혈액 내 콜레스테롤 수치를 높여 동맥경화나 협심증, 뇌졸중 등의 심혈관질환이 발생할 확률이 높아지고 비만의 원인이 된다고 알려져 있고, 불포화지방산은 콜레스테롤의 수치를 낮추어주며 혈관의 외벽을 튼튼히 만들어주어 혈관을 개선하는데 도움을 줌. 따라서, 올레오젤을 활용한 쿠키는 쇼트닝을 이용한 쿠키에 비해 포화지방이 현격히 낮고, 불포화 지방을 다량 함유하고 있어 건강 기능적 측면에서 우수하다고 판단됨.

◦ 올레오젤을 활용한 제품 및 산업화

- 올레오젤 양념가공육 개발

- 올레오젤과 하이드로콜로이드가 혼합되어 제조된 식물성 지방 조성물을 바탕으로 하여 동물성 우지를 올레오젤로 대체함으로써 새로운 육류 가공 제품을 개발함.
- 특히, 기존 제품 대비 동물성 우지 60%를 비즈왁스 올레오젤로 대체하여 포화지방을 낮추고 불포화지방을 높일뿐만 아니라, xanthan gum를 복합처리하여 조리 중 조리용출도를 현저히 저감화시킬 수 있는 제품을 개발하여 품목제조 보고를 완료함.



그림 59. 올레오젤과 xanthan gum을 복합처리한 양념가공육의 조리용출도

[1세부-위탁] 베이커리 제품에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가

· 쇼트닝 대체를 위한 베이커리 모델 구축

- 미국곡류협회 공인 방법을 통한 베이커리 모델 확립

· 미국곡류협회 공인 방법(AACC)를 토대로 베이커리 모델 시료를 제조함. 제조방법은 쇼트닝을 설탕과 먼저 Kitchen-Aid mixer(St Joseph, MI, USA)에서 speed 6으로 1분간 1단으로 돌려줌. 그 다음 계란을 speed 6에서 서서히 넣어주어면서 3분간 돌려줌. 이 후 나머지 가루 원료를 모두 넣어준 후 speed 2에서 30초 간 혼합하고, 물을 넣어준 후 speed 2에서 30초 간 혼합한 후 마지막으로 speed 6에서 1분간 혼합함. 이 후 70g 반죽을 머핀 틀에 넣어 준 후 185℃ oven에 28분간 가열하여 조리함. 완성된 머핀은 1시간 동안 상온에서 방랭시켜 최종 제품을 완성함.

(%)	Control
Wheat flour	200
Shortening	100
Sugar	130
Non-fat dry milk	16
Baking powder	4
Salt	1
Water	100
Whole egg	100

표 38. 머핀 제조 배합비

- 다양한 올레오젤 적용을 통한 베이커리 시제품 제조

· 위에서 언급된 미국곡류협회 공인 방법을 토대로 쇼트닝을 올레오젤로 대체하여 머핀을 제조함. 올레오젤을 제조하기 위해 Gelator의 경우 Candelilla wax, Carnauba wax, Beeswax 3개를 선정하였고, 불포화지방산이 높은 유지 중 하나인 포도씨유를 선택함. 올레오젤의 경우 1차년도에서 얻어진 결과를 토대로 쇼트닝의 물성과 가까운 10% 농도를 선택하여 진행함. 1차년도에서 확립된 올레오젤의 제조 방법을 토대로 포도씨유 무게 대비 Gelator를 10% 첨가함. 먼저, 포도씨유를 160℃에서 가열하고 이 후 Gelator를 넣고 10분간 혼합한 후 상온에서 1시간동안 방랭하고 4℃ 이하에서 2시간동안 저장함. 이렇게 제조된 올레오젤들을 활용하여 쇼트닝을 100% 대체하여 아래 표에서 보여주는 바와 같이 배합한 후 머핀을 제조하였고 이에 따른 식품학적 특성을 서로 비교 분석함.

(%)	Control	Candelilla muffin	Carnauba muffin	Bees muffin
Wheat flour		200		
Shortening	100			
Graple seed oil		90	90	90
Candelilla		10		
Carnauba wax			10	
Beeswax				10
Sugar		130		
Non-fat dry milk		16		
Baking powder		4		
Salt		1		
Water		100		
Whole egg		100		

표 39. 올레오젤 머핀의 제조 배합비

· 미국곡류협회 공인 방법(AACC)를 토대로 확립된 베이커리 모델 시료를 활용하여 쇼트닝을 올레오젤로 대체한 머핀을 제조함. 아래 그림에서 보여주는 바와 같이, Control의 경우 표면의 색이 비교적 진한 반면, 올레오젤 머핀의 경우 색이 밝게 관찰됨.

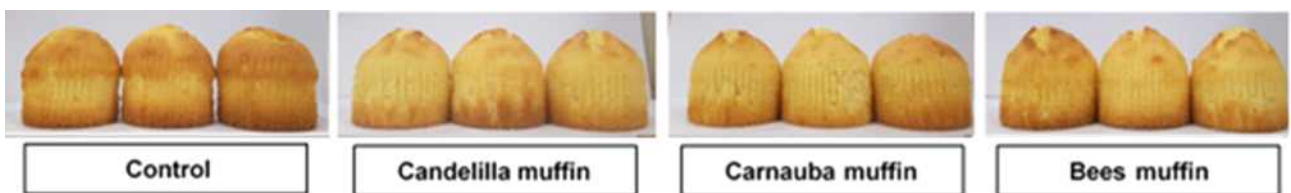


그림 60. 올레오젤 머핀

	Control	Candelilla wax muffin	Carnauba was muffin	Beeswax muffin
Specific volume (ml/g)	1.87±0.04a	1.55±0.03b	1.53±0.02b	1.53±0.03b

표 40. 올레오젤 머핀의 부피

· Volsacn Profiler(VSP600, Stable Micro System Ltd, Godalm-ing, UK) 기기를 이용하여 머핀의 비체적을 측정된 결과 Control이 1.87 ml/g으로 가장 높은 값을 보였으며, 올레오젤 머핀의 경우 1.53-1.55 ml/g의 값을 보여줌. Candelilla wax oleogel을 활용한 머핀이 올레오젤 머핀 중에서는 가장 높은 비체적을 보여주었지만, 3종의 올레오젤을 활용한 머핀의 경우 통계적으로 유의적인 차이가 없게 관찰됨.

	Control	Candelilla wax muffin	Carnauba wax muffin	Beeswax muffin
Specific gravity	0.77±0.01b	1.05±0.00a	1.04±0.01a	1.00±0.01a

표 41. 올레오젤 머핀 반죽의 비중

· 제조된 머핀 반죽의 비중은 일정부피를 지닌 비중컵에 반죽의 무게와 증류수의 무게를 잰 후 이를 나누어서 측정함. 측정결과 부피의 결과와 반대로 Control이 가장 낮은 비중 값을 보였고 올레오젤을 이용한 반죽은 높은 값을 나타냄. 즉, 반죽의 비중이 높아질수록 머핀의 부피가 감소하는 경향을 지닌 것을 확인함. 전체적으로 Control 대비 Oleogel을 활용한 머핀의 경우 혼합에 의한 공기 포집이 덜하여 부피 차이를 초래한 것으로 판단됨. 제1세부 연구와의 연관성을 위해 candelilla wax oleogel을 선정하여, 쇼트닝과의 대체 비율에 따른 품질 특성 평가를 진행함..

◦ 쇼트닝 대체에 따른 품질 분석

- 올레오젤 적용에 따른 가공 적성 (반죽 점도, 점탄성) 분석

· 쇼트닝을 10% candelilla wax oleogel로 0, 25, 50, 75, 100% (w/w) 대체하여 만든 머핀 반죽의 점도를 Rheometer(AR1500ex, TA Instruments, USA)를 이용하여 측정함. 특히, shear rate 변화에 따른 steady shear viscosity를 측정함. 측정 조건으로 probe는 40 mm parallel plate를 사용하였고, shear rate는 0.1~100(1/s) 범위로 설정하며 25°C에서 측정함.

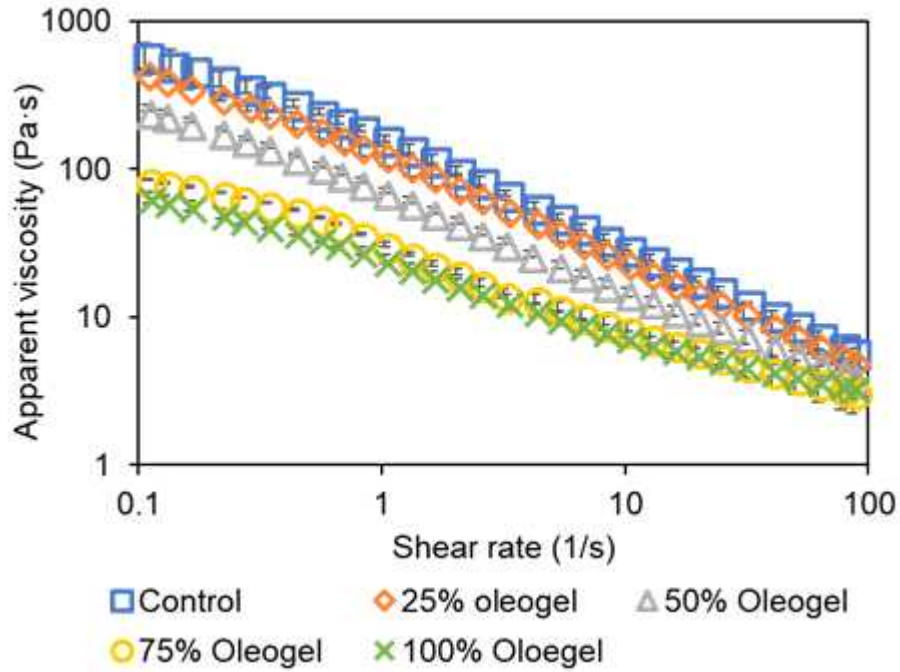


그림 61. Shear rate 변화에 따른 올레오젤 머핀 반죽의 점도

	K	n	R2
Control	148.81±10.83a	0.30±0.02d	0.9817
25% Oleogel	114.81±1v2.67b	0.31±0.01d	0.9868
50% Oleogel	67.10±4.73c	0.36±0.01c	0.9935
75% Oleogel	30.39±1.06d	0.48±0.02b	0.9812
100% Oleogel	23.90±1.73d	0.53±0.01a	0.9945

표 42. Shear rate 변화에 따른 올레오젤 머핀 반죽의 점도

· 그림 60과 같이 Shear rate(전단속도)가 증가함에 따라 모든 머핀 반죽 샘플에서 점도가 감소하는 경향을 보임. 또한 올레오젤의 함량이 많아질수록 점도 값이 감소함. 표에서 보여주는 바와 같이 Power law model식에 적용하여 점도도지수(flow consistency index)를 나타내는 K, 유동도지수(flow behavior index)를 나타내는 n를 산출함. K값의 경우 올레오젤의 함량이 증가할수록 감소하였고, n값의 경우는 반대로 증가하는 경향을 보임. K와 n값의 경우 Control과 25% oleogel을 첨가한 머핀 반죽에서는 유의적 차이가 나오지 않음. 또한 관계식과 실제 측정값과의 상관지수를 확인해보면 모두 0.98이상으로 상관관계가 매우 높은 것을 확인함.

· 머핀 반죽의 가공적성 특성으로서 점탄성을 측정함. 이를 위해 쇼트닝을 10% candelilla wax oleogel로 0, 25, 50, 75, 100% (w/w) 대체하여 제조한 후 Rheometer(AR1500ex, TA Instruments, USA)를 이용하여 frequency 변화에 따라서 측정함. 측정 조건으로 probe는 40 mm cross hatched parallel plate를 사용하였고, frequency 0.1~10(Hz) 범위에서 온도는 25°C에서 측정함.

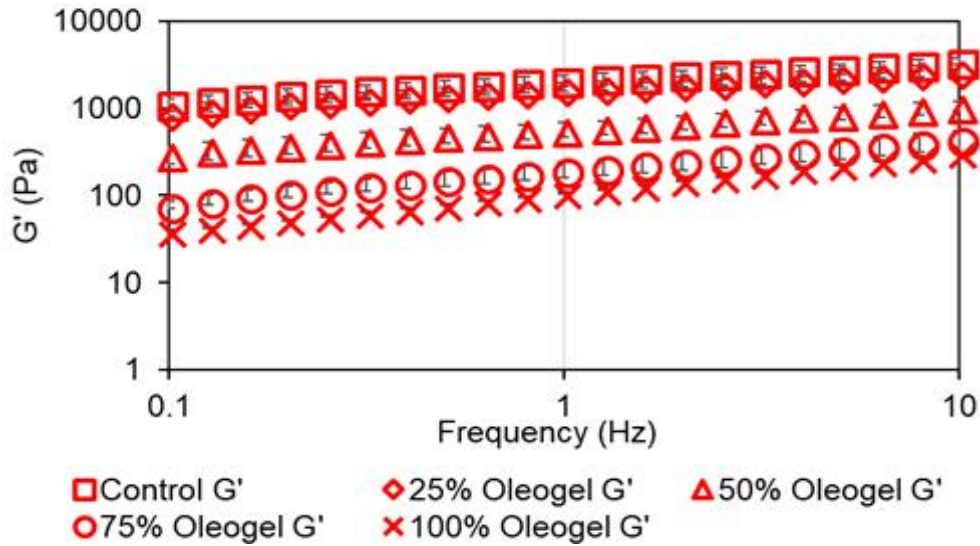


그림 62. Frequency 변화에 따른 올레오젤 머핀 반죽의 G'

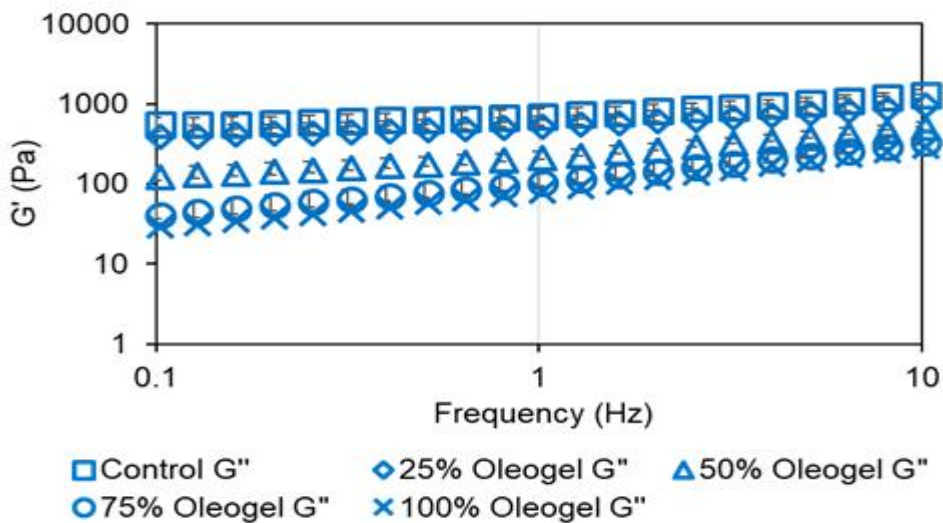


그림 63. Frequency 변화에 따른 올레오젤 머핀 반죽의 G''

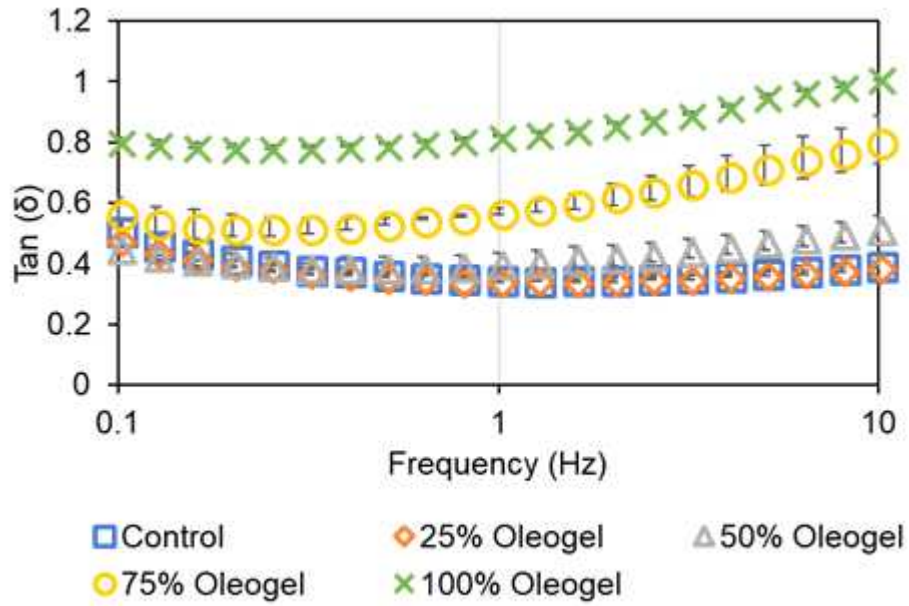


그림 64. Frequency 변화에 따른 올레오젤 머핀 반죽의 Tan(δ)

· 그림에서 보여주는 바와 같이 점탄성에서 탄성을 나타내는 G' , 점성을 나타내는 G'' , 그리고 G''/G' 을 나타내는 Tan(δ)를 측정함. 결과적으로, 머핀의 반죽의 경우 Frequency가 증가할수록 G' 과 G'' 이 증가하는 경향을 보였는데, G' 과 G'' 모두 올레오젤의 함량이 증가할수록 감소하는 경향을 보임. Tan(δ)의 경우 전체적으로 Frequency가 0.5때까지는 감소하는 경향을 보인 후 그 이후부터는 증가하는 경향을 보였으며 Control과 25% 올레오젤을 대체한 머핀 반죽의 경우 차이를 보이지 않음.

- 텍스처, 색 분석을 통한 식품학적 특성 분석 및 기호도 검사 등을 통한 관능 평가

· 쇼트닝을 10% candelilla wax oleogel로 0, 25, 50, 75, 100% (w/w) 대체하여 머핀을 만든 후 지름 4 cm와 높이 2.3 cm로 자른 후 texture analyzer를 활용하여 texture profile analysis (TPA)와 Stress relaxation 방법으로 텍스처를 측정함. 먼저 TPA의 경우 지름 5cm와 높이 1cm의 Probe를 이용하여 300 mm/min 속도로 50% strain을 주어 측정함.

	Control	25% Oleogel	50% Oleogel	75% Oleogel	100% Oleogel
Hardness (N)	5.30±0.54c	5.46±0.76c	5.57±0.17c	10.41±0.24b	14.49±0.36a
Adhesiveness (N·sec)	0.05±0.01a	0.04±0.02a	0.07±0.01a	0.07±0.01a	0.05±0.01a
Cohesiveness	0.60±0.01ab	0.60±0.02ab	0.61±0.01ab	0.58±0.02b	0.58±0.02ab
Gumminess (N)	3.46±0.20c	3.24±0.35c	3.39±0.08c	5.94±0.21b	8.38±0.14a
Springiness	0.72±0.00d	0.73±0.01d	0.77±0.01c	0.80±0.00b	0.82±0.00a

표 43. TPA 측정방법에 따른 올레오젤 머핀의 텍스처

· TPA 방법으로 측정 결과 올레오젤의 함량이 높은 머핀일수록 Hardness(경도)가 높게 측정되는 결과가 관찰되었지만, Control과 25%, 50% Oleogel을 대체한 머핀에서는 유의적인 차이를 보이지 않음. 이와 같은 결과는 Gumminess(겉성)과 Springiness(탄력성)에서도 같은 경향을 보임. 따라서, Control과 25% 올레오젤을 대체한 머핀은 텍스처 모든 결과에서 유의적 차이가 없음을 확인함.

· Stress relaxation 방법의 경우 머핀 시료(지름 4cm, 높이 2.3cm)를 5cm Cylinder Probe(300 mm/min)로 10% strain가 되도록 누른 후 90초 동안 유지하면서 힘 값을 측정함. 힘-시간 그래프로부터 Force max, Force time, Stress relaxation, Relaxation time 값을 측정함.

	Force max (N)	Force-time (N)	Stress relaxation (%)	Relaxation time (sec)
Control	6.56±0.26d	2.67±0.12d	40.72±0.26c	72.49±2.45d
25% Oleogel	6.13±0.31e	2.52±0.12d	41.15±0.41c	78.26±4.01d
50% Oleogel	9.47±0.16c	4.03±0.06c	42.49±0.31b	95.98±4.00c
75% Oleogel	14.26±0.20b	6.27±0.06b	43.97±0.19a	117.47±2.45b
100% Oleogel	14.97±0.17a	6.66±0.07a	44.48±0.31a	127.43±6.82a

표 44. Stress relaxation 측정방법에 따른 올레오젤 머핀의 텍스처

· Stress relaxation 방법 측정 결과, 올레오젤의 함량이 많은 머핀일수록 Force max와 time값이 증가하였고, Stress relaxation과 Relaxation time 값 또한 증가하는 경향을 보여줌. 이는 위에서 언급된 TPA 경도값 결과와 유사한 경향을 보여줌. 하지만, 대부분의 측정 값에 대해서 Control과 25% oleogel을 대체한 머핀간에 유의적인 차이가 나타나지 않음을 보여, 올레오젤을 사용하여 25% 쇼트닝 대체 시 텍스처에 미치는 영향을 매우 미미하다고 판단됨.

· 쇼트닝을 10% candelilla wax oleogel로 0, 25, 50, 75, 100% (w/w) 대체하여 머핀을 제조 후 Colorimeter를 이용하여 색도 값을 측정함. L^* 값은 명도를 말하여 +로 값이 높아질수록 밝고 -가 높아질수록 어두워짐을 나타냄. a^* 값의 경우 적색과 녹색 값을 의미하며 +로 값이 높아질수록 적색에 가깝고, -로 값이 높아질수록 녹색에 가까움. 마지막으로 b^* 값은 노란색과 파란색을 의미하며 +로 값이 높아질수록 노란색 -로 값이 가까워질수록 파란색에 가까움을 의미함. 머핀의 경우 Crust와 Crumb 부분이 상이하여 2 부분을 나눠서 각각 색도를 측정함.

	Control	25% Oleogel	50% Oleogel	100% Oleogel
<i>L*</i>	54.27±1.29b	53.01±1.55b	58.23±2.27a	57.94±1.66a
<i>a*</i>	12.77±0.52A	12.36±0.79A	8.27±1.82B	-1.06±0.75C
<i>b*</i>	36.50±1.75a	33.41±1.55b	34.65±1.92ab	29.70±1.93c

표 45. 머핀 Crust 부분의 색도값

· 머핀 Crust 부분의 색도 측정 결과 명도 *L**값의 경우 올레오젤의 함량이 높은 머핀일수록 증가하는 경향을 보임. 즉 갈변이 덜 되어 색이 밝아지는 것을 의미하여 Control과 25% 올레오젤로 대체한 머핀에서는 유의적인 차이를 나타내지 않음. 반대로 *a**값과 *b**값은 올레오젤의 함량이 증가한 머핀일수록 감소하는 패턴을 보임. 이는 적색과 노란색부분이 더 약해진다는 것을 의미함.

	Control	25% Oleogel	50% Oleogel	100% Oleogel
<i>L*</i>	80.46±0.63a	81.33±0.31a	79.80±0.80b	73.15±0.71c
<i>a*</i>	-7.88±0.16a	-8.14±0.05b	-8.10±0.05b	-7.83±0.06a
<i>b*</i>	25.31±0.54c	26.51±0.35b	27.56±0.44a	27.29±0.56a

표 46. 올레오젤 머핀 Crumb 부분의 색도값

· 머핀 내부인 Crumb 부분의 색도 측정결과 명도 *L**값의 경우 Crust와 반대로 값이 낮아지는 경향을 보임. 그리고 *a**값의 경우는 올레오젤의 함량 변화에 따른 명확한 변화 추이는 관찰되지 않았지만, *b**값은 올레오젤의 함량이 증가할수록 증가한 것으로 보아 crumb부분이 더 노랗게 되는 것을 확인함. 색도 측정결과 전체적으로 Control과 25% 올레오젤을 함유한 머핀에서 유의적인 차이를 보이지 않은 것을 확인함.

· 쇼트닝을 10% candelilla wax oleogel로 0, 25, 50, 75, 100% (w/w) 대체하여 머핀을 제조 후 패널 30명(세종대학교 학부 및 대학원생: 남16, 여14)을 대상으로 9점 척도법을 이용하여 관능평가를 진행함. 평가 항목으로는 색도, 냄새, 맛, 텍스처, 전체적인 선호도를 선정하여 진행하였으며 1점이 '가장 좋지 않다', 9점은 '가장 좋다'를 의미함.

	Control	25% oleogel	50% oleogel	100% oleogel
Crust color	6.89±0.32a	6.78±0.55a	6.22±0.81b	5.72±0.96c
Odor	5.83±1.04b	6.67±0.69a	5.39±1.14bc	5.06±0.64c
Taste	6.28±0.96a	6.28±0.89a	4.83±0.79b	4.11±1.13c
Texture	6.39±0.78a	6.06±0.94a	6.00±0.91a	4.33±1.08b
Overall appearance	6.17±0.92a	6.11±0.83a	5.33±0.97b	4.22±0.81c

표 47. 올레오젤 머핀의 관능평가

· 관능검사 결과 전체적으로 올레오젤의 함량이 증가한 머핀일수록 대부분의 평가항목에 대해서 점수가 낮아지는 경향을 확인함. 하지만, 텍스처 특성의 경우 50% 대체에도 유의적인 차이가 관찰되지 않음. Control과 25% 올레오젤을 대체한 머핀의 경우 odor를 제외한 모든 평가 항목에서 유의적인 차이가 없음을 관능평가를 통해서 확인함. 따라서 Control과 25% 올레오젤을 대체한 머핀은 식품학적 품질 관점에서 차이가 없음을 확인함.

◦ 저장 중 품질 특성 분석

- 저장 중 올레오젤 제품의 산패도 분석 및 텍스처 분석을 통한 유통저장 중 품질 변화 평가

- 유지의 자동산화는 과산화물의 생성으로부터 시작되므로 생성된 과산화물의 양을 나타내는 과산화물가는 자동산화의 정도를 나타내는 지표로서 유지 제품의 산패도를 측정하는 대표적인 방법 중 하나로 사용되고 있음. 쇼트닝을 올레오젤로 0, 25, 50, 100%로 대체하여 제조한 머핀을 제조한 후 60°C의 가속 조건에서 저장하면서 0, 3, 7일 동안 과산화물가를 측정하여 저장 중 산패도 저감 효과를 평가함. 과산화물가를 측정하기 위해 Soxhlet 지방 추출법으로 제조된 머핀에서 유지를 추출하였고 식품공전상의 과산화물가 측정법으로 이를 측정함.

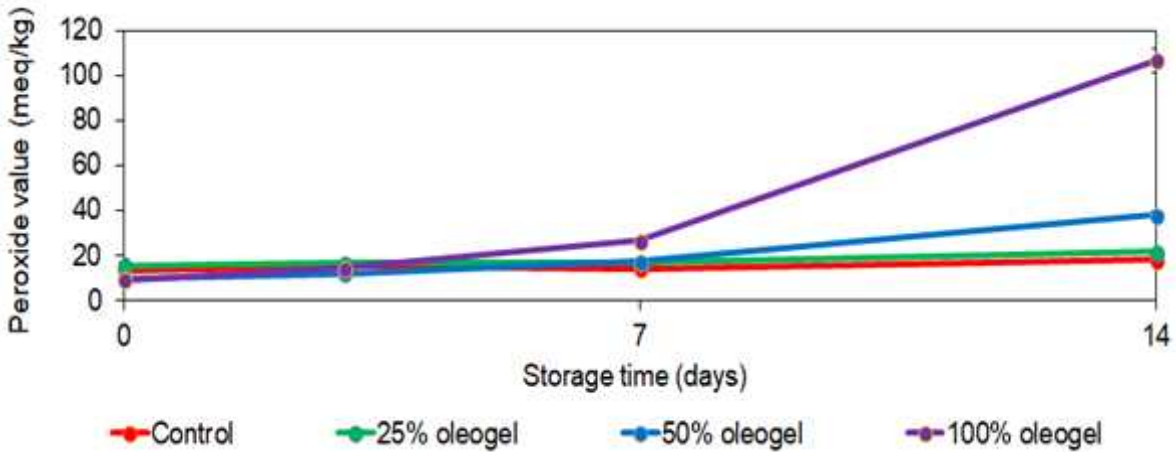


그림 65. 저장기간에 따른 올레오젤 머핀의 산패도

Storage time (days)	Control	25% oleogel	50% oleogel	100% oleogel
0	13.50±1.41ab	15.57±2.93a	9.63±1.94b	9.11±0.98b
3	15.33±0.25ab	16.67±0.47a	11.94±0.62c	14.34±1.00b
7	14.18±0.25c	17.00±0.47b	17.17±1.17b	26.72±0.35a

표 48. 저장기간에 따른 올레오젤 머핀의 산패도 변화

· 산패도 측정 결과 저장기간이 늘어날수록 산패도가 모두 증가하는 경향을 보여줌. 0일에서 3일 차까지 쇼트닝으로 제조된 Control과 올레오젤로 제조된 머핀의 산패도에는 큰 차이가 없게 관찰됨. 하지만, 7일차에서는 control이 확연히 낮은 산패도를 보여주었고, 액체 유지를 함유한 올레오젤 머핀 시료의 경우 산패도가 크게 증가함. 쇼트닝의 대체량이 증가할수록 산패도 증가가 크게 나타났지만, 25%와 50% 정도 대체 시까지는 쇼트닝 시료 대비 산패도가 조금 증가하는 결과를

보여줌.

· 산패도 측정과 더불어 올레오젤을 대체한 머핀의 저장 중 텍스처 변화를 분석함. 제조된 머핀 시료를 냉장온도인 4°C에 7일간 저장하면서 0, 3, 7일 세 구간을 선정하여 텍스처를 측정함. 냉장 저장 후 상온에 1시간 방치한 후 texture analyzer (TA.XT.Plus, stable micro systems)를 이용하여 texture profile analysis 방법을 토대로 측정함. Load cell은 5 kg을 사용하였고, cylinder probe(지름 5 cm, 높이 1cm)를 60 mm/min의 속도로 50% strain으로 내려 측정함.

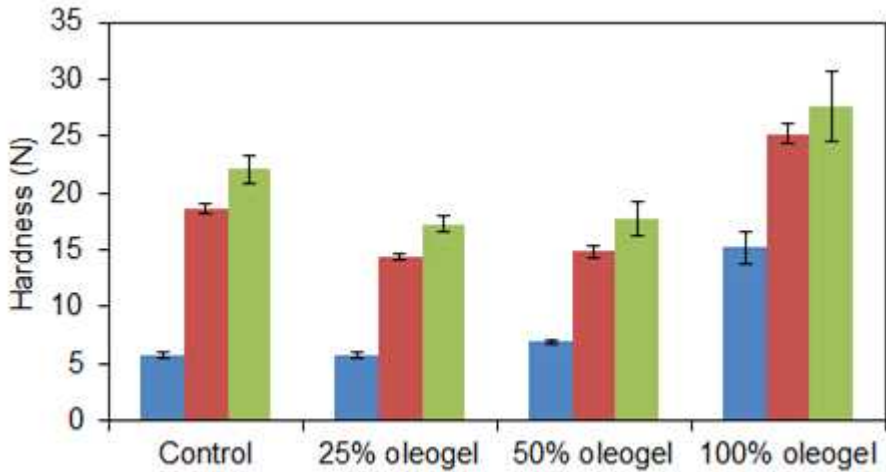


그림 66. 냉장 저장에 따른 올레오젤 머핀의 경도 변화

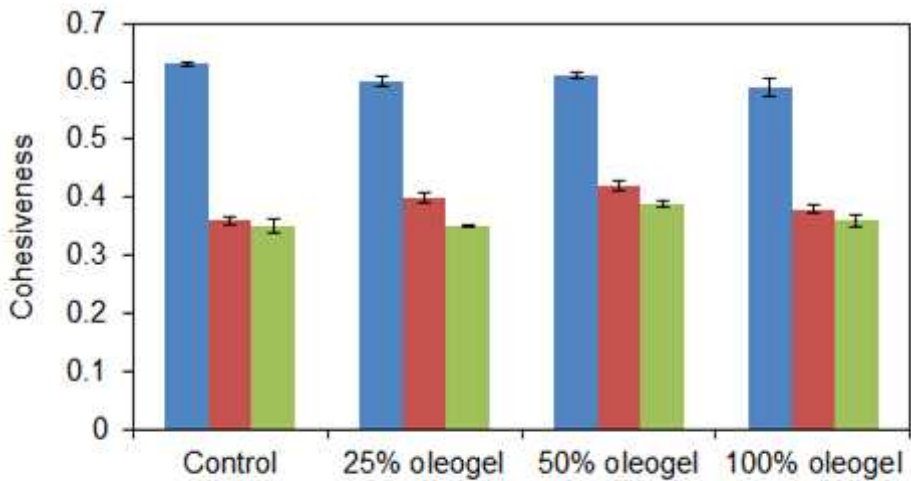


그림 67. 냉장 저장기간에 따른 올레오젤 머핀의 응집성 변화

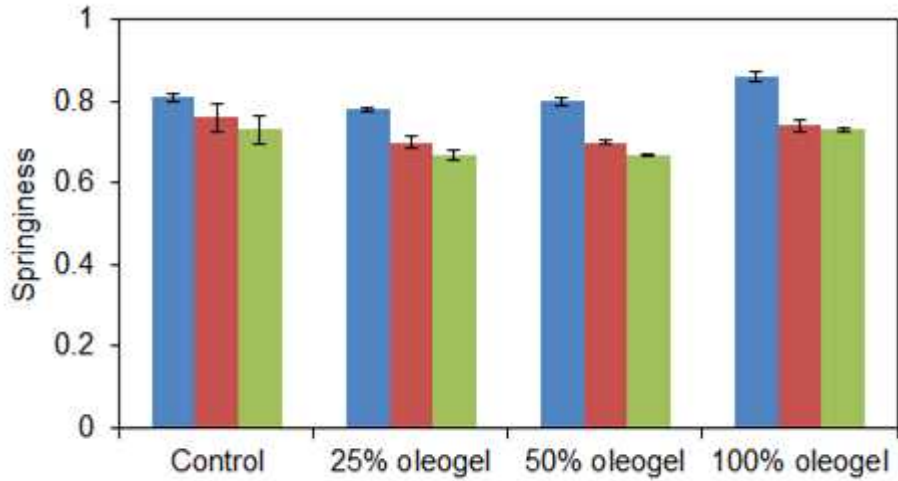


그림 68. 냉장 저장기간에 따른 올레오젤 머핀의 탄력성 변화

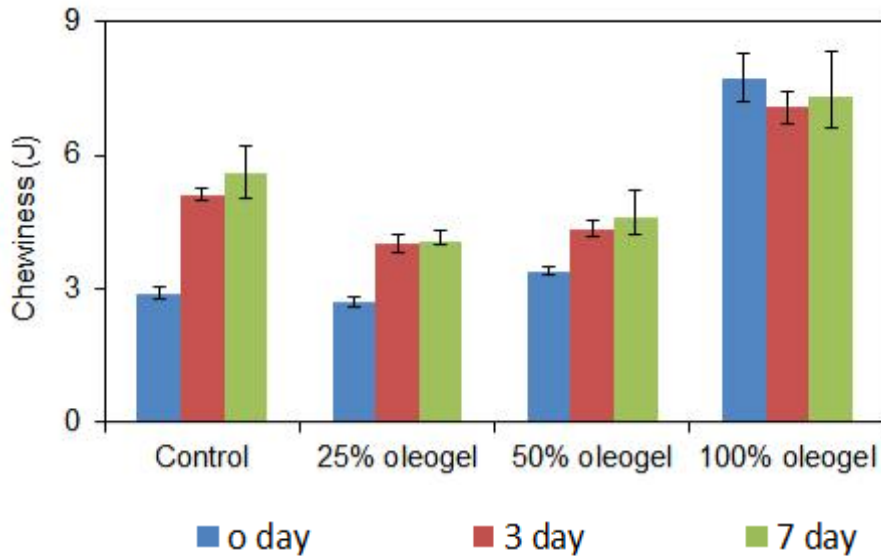


그림 69. 냉장 저장기간에 따른 올레오젤 머핀의 씹힘성 변화

· Hardness(경도), Cohesiveness(응집성), Springness(탄력성), Chewiness(씹힘성)을 측정된 결과, 단단한 정도를 나타내는 경도에서는 저장기간에 따라 증가하는 패턴을 보여줌. 하지만, 올레오젤의 함량이 50% 정도까지는 쇼트닝 시료에 비해 부드러운 텍스처를 유지함. 하지만, 100% 대체 시 낮은 비체적으로 인하여 높은 경도 값이 관찰됨. 응집성, 탄력성의 경우 저장기간에 따라 그 값이 감소하는 패턴을 보여주었지만, 시료간 현격한 차이는 관찰되지 않음. 씹힘성의 경우 저장기간에 따라 모든 샘플에서 증가하였지만, 50% 함량까지는 쇼트닝 시료에 비해 낮은 값을 보여줌. 하지만, 100% 올레오젤 시료의 경우 현격하게 높은 값을 보여주어 경도 결과와 매우 비슷한 패턴을 보여줌.

- 부재료를 활용한 산패도 저감

· 올레오젤 사용 시 액체 유지 함유에서 기인한 저장 중 산패 문제를 저감화시키기 위해 2협동에서 개발된 천연 산화방지인 세사몰을 활용하여 올레오젤을 만들고, 머핀 제조 적용함. 올레오젤은 이전과 같이 포도씨유와 칸테렐라 왁스를 이용해 10% 농도로 만들었으며, 올레오젤 총 유지량의 40ppm 농도로 세사몰을 녹여 사용함. 머핀 제조 시 쇼트닝을 50% 대체하여 제조하였으며 비교 실험을 위해 쇼트닝으로 만든 대조구와 유지로 만든 시료를 함께 제조하여 비교함. 제조된 머핀 시료를 60°C에서 14일간 저장하여 산패를 가속화시켰으며, 0일, 7일, 14일 총 세 구간을 선정하여 과산화물가 측정을 진행함. Soxhlet 지방 추출법으로 머핀에서 유지를 추출하였고 식품공전상 과산화물가 측정법을 사용함.

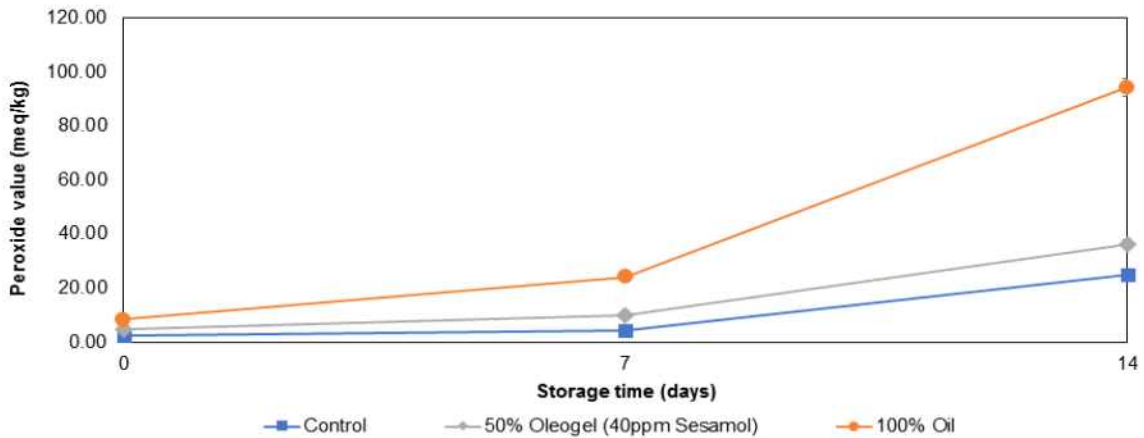


그림 70. 저장기간에 따른 세사몰 첨가 올레오젤 머핀의 산패도

Storage time (days)	Control	50% Oleogel (40ppm Sesamol)	100% Oil
0	2.65±1.44c	4.91±0.96b	8.39±0.41a
7	4.56±0.47c	10.07±0.31b	24.09±0.14a
14	25.00±0.95d	36.25±1.52b	94.25±3.13a

표 49. 저장기간에 따른 세사몰 첨가 올레오젤 머핀의 산패도 변화

산패도 측정 결과, 유지만으로 제조된 머핀 시료가 가장 높은 과산화물값을 보여 산패가 상당히 진행된 것을 확인하였고, 쇼트닝으로 제조된 대조구가 가장 낮은 과산화물값을 보여줌. 세사몰을 첨가한 올레오젤 머핀 시료의 경우 유지만 넣은 머핀 시료에 비해 상당히 낮은 산패도를 보여주어, 세사몰을 함유한 올레오젤을 활용 시 저장 중 산패도를 지연시켜 산화안정성을 높일 수 있다고 판단됨.

[제1협동] 올레오젤 함유 식품의 건강기능성 구명

- 저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 *in vivo* 건강기능성 검증
- 올레오젤 급여가 체중, 조직 무게 및 사료 섭취량에 미치는 영향

· 수컷 Sprague-Dawley-Rats (4 주령 / 100-110g 체중계)를 DBL Co., Ltd. Company (충청북도 음성군)을 이용하여 실험 절차는 실험 동물 관리의 평가 및 인정 협회 (Association of Assessment and Accreditation)에 의해 진행되었음. 실험 전에 동물을 12 시간 동안 실온 (25 ± 1 °C)에서 환경에 적응케 한 다음, 무작위로 나누어 3 군 (n = 8)으로 구성. 2년차 세포 배양 독성 실험 결과에 의거 안전한 wax 농도를 고려함. RaonBio (경기 용인시 기흥구)에서 대조구, 고지방식(High fat diet; HFD, 12.25% 쇼트닝 함유), 올레오젤 대체(oleogel; OG, 6.15% 쇼트닝 + 6.12% 카놀라유 + 1.16% beeswax 함유) 사료를 제작하여 2개월간 급여함. 하루에 약 30g의 사료를 섭취하고 실험 시간 동안 물을 자유롭게 제공하며, 체중과 사료섭취량을 매일 측정하였음. 실험 개시 체중은 그룹간 차이가 없었으나, 급여 4주부터 대조군에 비해 고지방식 rat의 체중이 유의적으로 높아져 8주 후에는 유의적인(P<0.01) 차이를 나타냄 (그림 70).

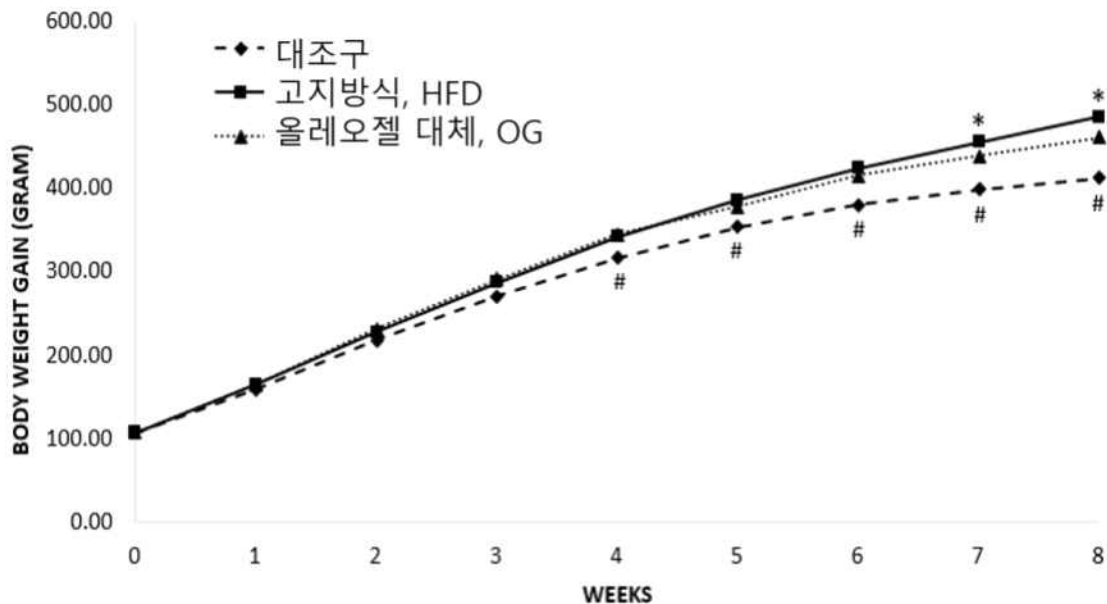


그림 71. 올레오젤급여가 랫드의 체중에 미치는 영향

· 사료섭취량은 고지방식이 대조군과 OG 그룹에 비해 유의적으로 낮았음(P<0.05; 표3). 시험 종료 후 고지방식 그룹에서 내장지방이 22.45g으로 대조군(12.05g)과 OG(20.7g)에 비해 유의하게 높게 나타났음(P<0.05). HFD 처리는 OG (20.71 ± 2.33) 및 대조군 (12.05 ± 1.02)과 비교했을 때 내장 지방 조성 (22.45 ± 3.40)이 가장 높았음(P<0.05; 표 50). 간 중량은 처리구간 차이를 보이지 않았음. 설치류 사료내 지방 급여한 다른 연구 결과에서는 간, 신장 및 심장 조직의 중량이 유의하게 증가한바 있다(Alihaud 등, 2008). 이러한 결과는 고지방식이 체중 및 내장지방 축적을 증가하여 비만 발생을 촉진시킬수 있다는 증거임. Rosenquist et al. (2013)은 내장 지방 조직 (VAT) 과 피하 지방 조직 (SAT) 연구 결과, 지방 축적은 여러 대사 장애와 관련된 체중 증가 및 비만으로 이어진다고 밝힘. 한편 hunger hormone인 ghrelin 관련 연구에서는 고지방식이 쥐에서 지방 증대에 기여하지만 근육증가와와는 무관함을 밝힘. 2012 년 Imafidon과 Okunrobo는 HFD 급여 쥐가 유의적인 체중증가를 보였다고 발표함. 이러한 성장률의 변화는 비만 유발 효과의 결과라고 볼수 있음. 쥐를 대상으로 한 HFD의 다른 연구에서도 고지방식이 저지방식 대조군보다 유의적으

로 높은 체중을 나타냄(Woods et al.; 2003). 또한 HFD 그룹의 쥐들은 비만과 더불어 인슐린 저항성 등의 장애도 나타내었음. 따라서 본 연구에서 포화지방을 식물성 불포화지방을 함유한 oleogel로 대체하여 비만예방효과를 얻어 향후 oleogel의 건강기능성에 대한 효과를 구체적으로 연구할 필요가 있을 것으로 사료됨.

Treatments	Dietary intake (g/day)	Visceral fat (g)	Liver tissue (g)
대조구	23.91±0.90a	12.05±1.02c	12.36±2.16a
고지방식, HFD	22.13±1.69b	22.45±3.40a	14.02±2.31a
올레오젤 대체, OG	23.18±1.63a	20.71±2.33b	13.69±1.34a

표 50. 사료섭취량(Dietary intake), 복강지방(visceral fat) 및 간 조직 무게

• **올레오젤 가공식품 급여 실험동물의 성장특성, 혈액 대사물질 및 체조직 변화 분석**
 - **올레오젤 급여가 혈액 대사 물질 및 간조직 내 지질 축적에 미치는 영향**

· Rat의 혈당, 혈청(총 콜레스테롤 : TC, 트리글리세리드 : TG, 고밀도 지단백질 : HDL, 저밀도 지단백 콜레스테롤 : LDL, 매우 저밀도 지단백 : VLDL)을 분석하고, 간 조직을 10 % 포르말린 용액에서 고정 후 단면을 H & E 시약으로 염색하여 슬라이드 처리 하였음. 디지털 현미경(Motic® Model : BA210 현미경, 미국)으로 형태 및 지방 축적정도를 관찰하고 이미지는 ImageJ(NIH, US) 프로그램을 이용하여 분석하였음. 총콜레스테롤은 대조군에 비해 HFD, OG 그룹에서 유의적으로 높게 나타남(표 51). OG 그룹은 HDL 콜레스테롤 중에서 HDL은 대조군에 비해 높게 나타났음(P<0.05). LDL과 Triglyceride(TG)은 대조군에서 가장 낮았고(64.8mg/dL), OG 그룹에서 76.6, 고지방식에서 가장 높은 112.6mg/dL로 나타났음(P<0.05). Triglyceride는 포유류의 간 및 지방 세포에서 합성되며, TG 레벨이 높으면 지방합성이 활성화되고, 이는 대사 장애 및 대사 질환으로 이어질수 있음(Madsen et al., 2005). 실험 전기간 혈당 수치는 114.00 ± 5.39 ~ 188.00 ± 20.14 mg / dL 범위 였고, 쥐에게 사료를 급여 한 지 4 주 후에 그룹간 혈당 수준은 유의한 차이를 나타내었음(p <0.05). OG 군은 시험 마지막 날에 대조군과 비슷한 포도당 수준을 보였으나 HFD 군은 유의적으로 높게 나타남(p <0.05). 이는 고지방식이 인슐린 감수성 경로뿐만 아니라 포도당 대사도 방해 할수 있다는 것을 나타냄. Munkong et al. (2016) 및 Cui et al. (2015)의 설치류 HFD 급여 실험에서도 본 연구와 유사한 경향을 보였는데, 물 추출 싹겨를 급여 한 쥐들에서 TC, TG 및 LDL가 감소하였고, 이는 싹겨에 포함된 생리 활성 화합물의 효과였음 (Munkong et al., 2016). Issara and Rawdkuen (2016)에 따르면, 싹겨에서 추출된 오일은 불포화지방산이 풍부하여 고콜레스테롤을 낮추는 작용을 하는 것으로 알려짐(Friedman, 2013). OG그룹에 포함된 카놀라유에는 오메가 3와 6 (다가 불포화 지방산)뿐만 아니라 다른 생물학적 활성 화합물 (Roiani et al., 2015)에 풍부하게 존재함. 따라서 본 연구 결과는 OG식이에서 이들 식물 화학 물질이 쥐의 혈액 특성을 효과적으로 변화시킬 수 있음을 시사함. OG 식이에 대한 생체활성 화합물과 대사질환 예방 효과에 대한 추가 연구가 더 필요할것으로 사료됨.

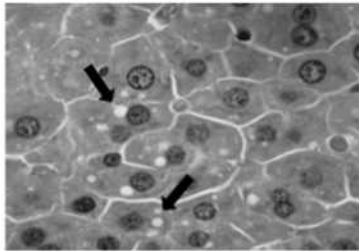
	Control	고지방식, HFD	올레오젤 대체, OG
TC (mg/dL)	46.00±8.69b	75.40±13.18a	73.80±5.85a
HDL (mg/dL)	36.60±6.27c	57.60±5.61b	63.40±8.76a
LDL (mg/dL)	7.00±1.58b	11.80±3.27a	13.20±4.55a
TG (mg/dL)	64.80±5.43c	112.60±10.42a	76.60±12.46b
VLDL (mg/dL)	18.40±8.62a	12.80±2.17b	15.20±2.68ab
Hepatic enzymes			
AST	23.00±9.49c	118.00±8.39a	87.00±13.93b
ALT	33.00±2.32b	178.20±0.89a	144.80±2.93ab
ALP	23.40±16.87b	137.40±14.86a	100.80±22.01ab
Glucose level			
Initial day	114.20±11.03aC	116.80±6.53aB	114.00±5.39aB
Week 1	159.00±24.30aB	163.40±13.89aAB	161.00±22.89aA
Week 4	171.00±10.02bA	188.00±20.14aA	183.00±13.08aA
Week 8	159.40±8.44bB	178.80±13.20aA	159.00±7.58bAB

표 51. 혈액성분 분석결과

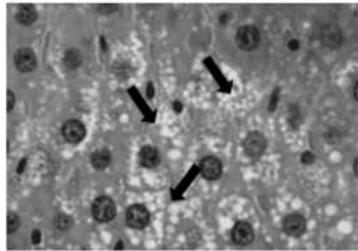
· 간의 regular index (AST, ALT 및 ALP는 각각 0-35, 0-48 및 30-120 U / L의 범위에 있어야 함)가 높으면 간기능이상 또는 간에 염증 또는 간질환이 생겼다는 것을 의미함(Nyblom et al., 2006). 본 연구에서 대조군의 간 수치는 regular index 기준에 맞게 나타남. HFD 그룹의 AST, ALT 및 ALP(각각 118.00 ± 8.39, 178.20 ± 0.89 및 137.40 ± 14.86)에 비해 OG 그룹은 유의적으로 낮은 간수치를 나타냄(각각 87.00 ± 13.93, 144.80 ± 2.93 및 100.80 ± 22.01) (p < 0.05). Edem and Akpanabiatu, (2006) 연구에서 팜유 급여와 간수치(ALP, ALT)는 양의 상관관계를 보임. 한편, 코코넛 오일 위주의 삼척은 ALT 수치만 증가하였음(Imafidon과 Okunrobo, 2012). 일반적으로 AST와 ALT 수치는 간독성이없는 상태에서는 정상화되지만 간 손상 또는 간독성 발생시 급격히 증가함. 본 연구에서는 OG 급여로 인해 이러한 수치들이 고지방식에 비해 현저히 낮게 나타남.

· 일반적으로 포유류의 몸은 간에 있는 내인성 및 외인성 경로를 통해 지단백질을 합성 할 수 있으며 이는 에너지 항상성뿐만 아니라 신진 대사 과정에서도 중요한 역할을 함(Palmquist , 2009). 간조직 분석 결과, 고지방식에서 지방적의 크기와 분포가 가장 높게 나타남(그림 71; P<0.05). 올레오젤 그룹은 대조구보다는 높지만 고지방식의 지방적 크기와 분포정도와는 현저히 낮게 나타남. 지방생성 과정은 주로 혈액 순환 시스템 (Sanders and Griffin, 2016)을 통해 체내에서 필요한 다른 생물학적 경로에 지방 합성 및 전달의 주요 원천 인 간 및 지방 조직에서 시작되는데, 쥐의 간에서 지방 조직 수치와 함께 지질 합성의 조절이 잘 이루어지지 않으면 간장에 염증을 유발하여 신진대사에 방해다 됨. 본 결과는 OG 급여는 간수치 뿐만 아니라 간의 지방적 생성 감소에도 효과가 있음을 나타냄. Kim and Jang (2014)과 Camp et al. (2002)은 지방내 TG의 축적은 지방 생성 유전자(PPAR γ , 지방산 합성 효소 : FASN, 지방 단백질 리파아제 : LPL , Carnitine palmitoyltransferase I : CPT-1)의 발현과 상관성이 있음을 밝힘. Oleogel(카놀라유 함유)을 이용한 다른 선행 연구에서는 지질생성 및 저장을 억제할 수 있음을 보고하였음. 향후 올레오젤과 지방대사와 관련된 다양한 분자생물학적 메커니즘과 유전자 발현 및 마커에 대한 연구수행이 필요할 것으로 사료됨.

A 대조구



B 고지방식, HFD



C 올레오젤 대체, OG

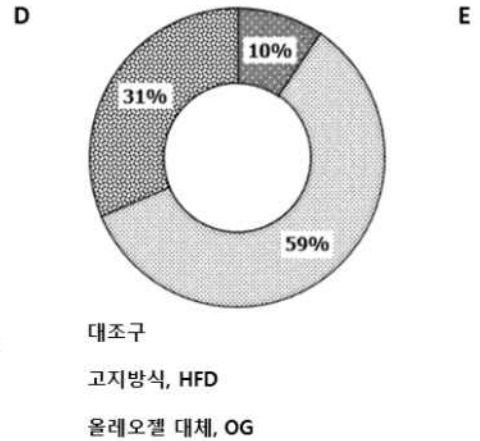
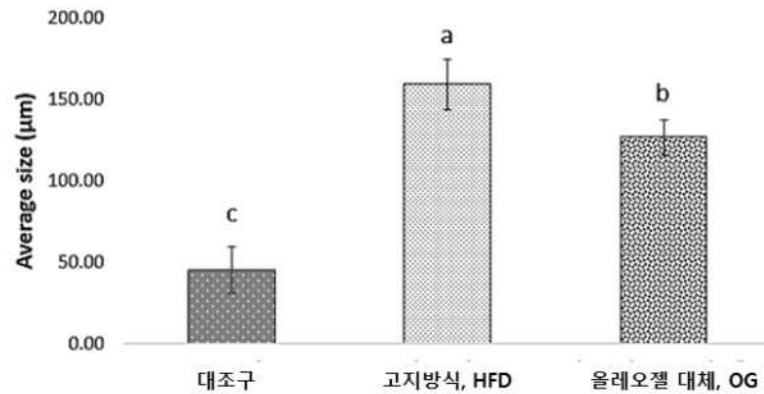
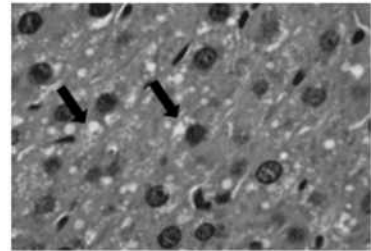


그림 72. 올레오젤이 간조직성장, 지방적축적(A, B, C), 지방적크기(D) 및 분포도(E)에 미치는 영향

· 비만유도 마우스 모델에서 올레오젤 가공식품의 항비만·대사질환 예방 효과 구명
 - 지방산조성, 지질대사 호르몬 등의 건강기능성 효과에 대한 분자생물학적 기전 규명: 혈중콜레스테롤함량 분석 및 real-time PCR을 이용하여 심혈관질환관련 유전자인 paraoxonases와 receptor activator of nuclear factor (NF)-{kappa}B ligand (RANKL) 발현 분석

· 수컷 Sprague-Dawley-Rats (SD rats, 4 주령 / 100-110g 체중 범위)와 Obese Zucker rat (6 주령 / 150-160g BW)을 이용하여 실험 동물 관리의 평가 및 인정 협회 (Association of Assessment and Accreditation)의 지침을 따라 실험을 실시함. Rat는 물을 12 시간 동안 각각 12 시간 동안 실온 (25 ± 1 °C)에서 사육하고, 무작위로 4 군으로 나누어 (Sprague Dawley rats n = 8; Zucker rats n = 3)으로 나누어 진행함. 세포 독성 결과에 따라 사료내 올레오젤 첨가 수준을 고려하였음. 처리군은 관행(대조군), Beeswax 12.2%(Beeswax), 고지방식 (12.2% beef tallow; BT), 올레오젤(beef tallow 6.12 %, 케놀라 유 6.12 %, beeswax 1.16 %; OG)로 나뉨. 사료는 하루 30g씩 공급되었고 물은 자유급이. 체중과 사료섭취량을 매일 측정함. Zucker rats은 2 그룹으로 나누어 각각 고지방식(BT)과 올레오젤(OG)사료를 급여함. 종료시 체중을 측정하고 혈액과 지방, 대동맥, 간, 심장 조직을 절개. 지방과 대동맥에서 RNA를 추출하여 대사 및 심혈관 질환 관련 유전자 발현 분석, 간과 심장 조직은 10 % 포르말린 용액으로 고정하여 조직 병리학 적 분석을 실시함. 체중증가는 BT 그룹에서 가장 높았음 (그림 72; P<0.05). BT (435.63 ± 28.92)와 OG (422.38 ± 44.50) 군간에 유의한 차이를 보임(P<0.01).

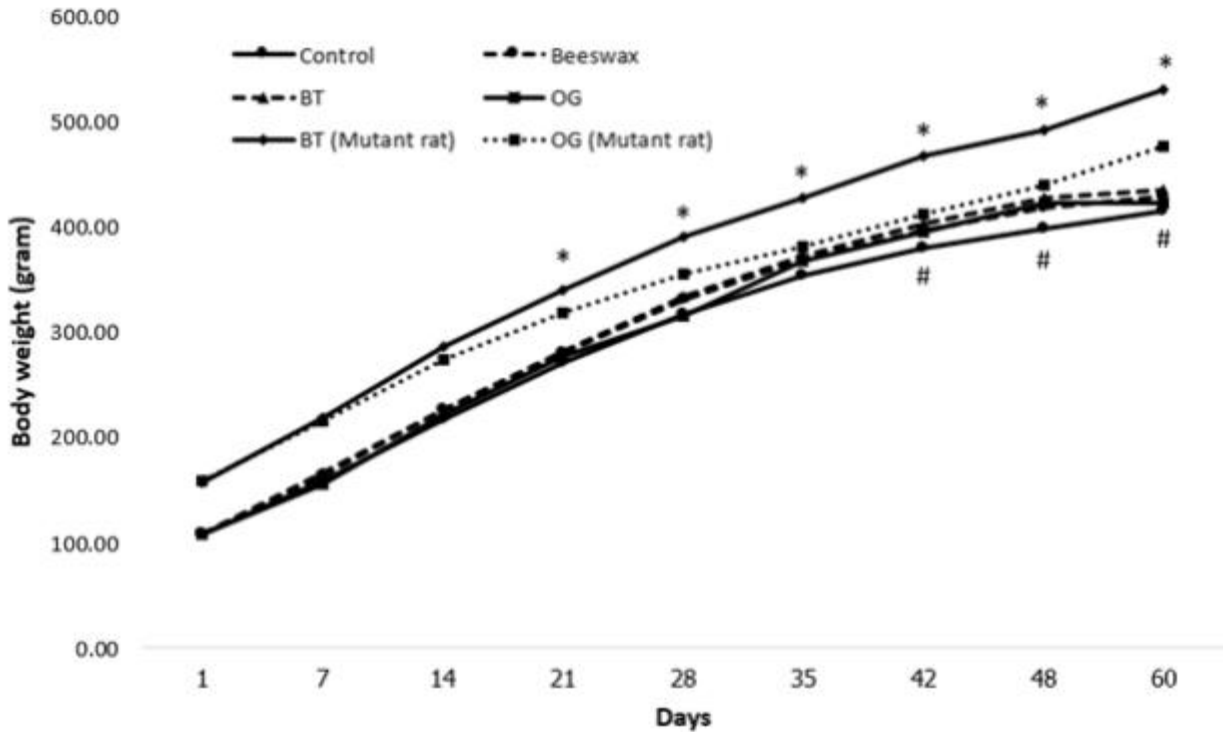


그림 73. 올레오젤급여가 랫드의 체중에 미치는 영향

· 그룹간 간과 심장 무게는 차이가 나타나지 않음(표 52). BT와 OG 군(21.44 ± 1.18 와 22.38 ± 0.85)은 BW와 대조군 (각각 24.63 ± 2.27 와 23.91 ± 0.90)과 비교했을 때 사료 섭취량이 유의하게 낮았음($P < 0.05$). Zucker 그룹의 경우, BT는 OG 보다 유의하게 높은 체중을 보였으나($p < 0.01$), 사료 섭취량에는 차이가 없었음.

· 내장지방의 무게는 SD rat 그룹의 경우 대조구(7.29g)에서 가장 낮게 나타났고, Beeswax(9.86g), OG(11.35g), BT(12.02g) 순으로 무거웠으며, Zucker rat 그룹에서는 BT(24.81g)에 비해 OG 그룹(21.41g)에서 유의적으로 낮았음($P < 0.050$). 일반적으로 체중 증가의 주요인은 지방세포 내 지방 흡수 및 축적의 증가의 결과임. Rosenquist 등 (2013)은 내장 지방 조직 (VAT)과 피하 지방 조직 (SAT)에 대해 지방 축적이 대사 장애와 관련되어 체중 증가 및 비만 상태와 관련있음을 지적한 바 있는데, VAT가 SAT보다 건강에 더 위험한 것으로 알려져 있음. 체질량 지수 (BMI)와 지방 조직의 대사 프로그래밍 (metabolic reprogramming) 사이의 상관 관계 연구에서도 VAT와 SAT의 증가는 BMI 값과 양의 상관 관계를 보였음 (Alves et al., 2017). 쥐에 고지방식 사료 급여시 더 많은 지방조직을 생산했고, 인슐린 저항성과 고지혈증 등 대사장애를 동반하였음. 본 연구에서도 SD rat에 oleogel를 BT와 대체하였을 경우 체지방을 효과적으로 감소시키는 결과를 얻었고, 향후 여러 대사질환에 영향이 있는지도 연구가 필요할 것으로 사료됨.

category	SD rat*				Zucker rat [#]	
	Control	Beeswax	BT	OG	BT	OG
Dietary intake,g	23.91±0.90a	24.63±2.27a	21.44±1.18b	22.38±0.85b	19.42±0.69a	20.37±0.90a
Liver,g	12.36±2.16a	12.69±2.33a	12.82±1.78a	12.24±1.03a	12.35±2.16a	12.32±2.33a
Heart,g	1.50±0.15a	1.47±0.06a	1.48±0.11a	1.48±0.27a	1.29±0.15a	1.32±0.06a
Visceral fat,g	7.29±1.02b	8.96±2.97ab	12.02±3.82a	11.35±4.48ab	24.81±3.31a	21.41±2.37b

표 52. 올레오젤 사료섭취량 및 조직무게

· SD rat 그룹에서 총콜레스테롤(TC)과 총글리세라이드(TG), VLDL 농도는 대조구에 비해 BT 그룹에서 가장 높게 나타났음(표 53; $P<0.05$). Beeswax 급여구의 TC, HDL, LDL 농도는 대조구와 유의적 차이가 없었지만 TG와 VLDL은 높게 나타났음($P<0.05$). OG 사료 급여시 BT 그룹에 비해 HDL이 증가하였고, TG와 VLDL 농도도 유의적으로 낮아졌다($P<0.05$). Zucker rat 그룹에서도 BT 급여에 의해 증가한 TC, TG, VLDL 농도가 OG 급여시 감소하였다($P<0.05$). Hepatic enzyme(ALP, ALT, AST) 활성은 대조군에서 낮게 나타났음. 높은 AST, ALT, ALP 농도는 간 기능의 장애를 반영하는 것으로 이는 주로 염증반응에서 기인함(Nyblom et al., 2006; Edem and Akpanabiatu, 2006). BT그룹에서 가장 높게 나타난 AST 농도는 OG 그룹에서는 유의적으로 낮게 나타났음. 혈당 수치는 Zucker rat의 BT 처리구에서 가장 높게 나타났으며, 이 수치는 OG 급여구에서는 유의적으로 낮게 나타났음($P<0.05$).

Item	SD rat				Zucker rat	
	Control	Beeswax	BT	OG	BT	OG
Serum lipid profiles						
TC	46.00±8.69c	52.00±4.85b	66.60±5.03a	63.40±9.50a	122.83±8.69a	113.00±4.85b
HDL	36.60±6.27c	38.40±2.61c	47.60±6.99b	49.00±6.28a	101.33±8.48b	104.00±0.41a
LDL	7.00±1.58b	8.60±1.52b	10.00±2.83a	12.20±3.07a	9.33±0.33b	10.50±0.29a
TG	64.80±10.43c	91.60±13.86b	113.60±22.28 a	62.80±13.22c	214.33±40.41 a	165.33±22.75 b
VLDL	18.40±8.62b	22.60±4.83a	22.80±4.09a	12.60±2.70c	43.00±7.97a	33.00±4.58b
Hepatic enzymes activity						
ALP	118.00±33.23 b	185.00±39.92 a	122.20±26.72 b	117.20±18.34 b	104.67±10.09 a	90.00±2.78b
ALT	23.00±2.00b	60.80±31.22a	29.20±4.15b	25.40±4.39b	238.67±10.60 a	86.50±5.62b
AST	87.00±18.76b	95.25±19.35a b	122.20±30.79 a	99.40±22.63a b	176.75±9.19a	145.83±1.67b
Serum glucose level						
Week 0	114.20±11.03 aC	104.80±8.41a C	107.00±8.43a B	110.60±5.32a B	128.00±3.00b	138.33±8.96a
Week 1	159.00±24.30 bB	163.20±15.61 abAB	176.20±20.08 aA	165.80±22.15 abA	191.33±21.18 a	159.67±5.81b
Week 4	190.00±10.02 aA	181.40±16.38 abA	172.40±10.16 bA	175.80±11.34 bA	178.67±24.45 a	142.33±3.52b
Week 8	159.40±8.44a B	152.00±6.89b B	151.60±11.15 bAB	151.20±7.46b AB	177.00±20.05 a	147.00±4.35b

표 53. 올레오젤 급여 랫드의 혈액 및 간수치 분석결과

· 간조직 슬라이드의 대조군에 비해 BT 군에서 급격한 증가를 보였으나 이러한 증가는 OG 급여로 크게 감소하였음(그림 73A). Zucker mutant rat에서도 동일한 패턴으로 BT그룹에서 증가한 지방은 OG 급여로 유의적인 감소추세를 보였음. BT 그룹은 OG (107.31 ± 1.44 μm), BW (95.70 ± 6.76 μm)와 비교했을 때 높은 지방적 크기 (130.13 ± 35.14 μm)를 보였고, 지방간병증 부위도 45 %로 대조군(10 %), BW(20%), OG(25%) 보다 높게 나타났음(p < 0.05). Wongchitrat 등 (2017)과 Batista 등 (2018)의 연구에서도 장기적인 고지방 급여 쥐에서 지방간병증과 지방적의

면적 및 비율이 높게 나타났음. 대조구와 OG 그룹의 심장조직(B)에 비해 BT그룹에서는 심근에 지방이 증가하고 형태변형이 발견됨.

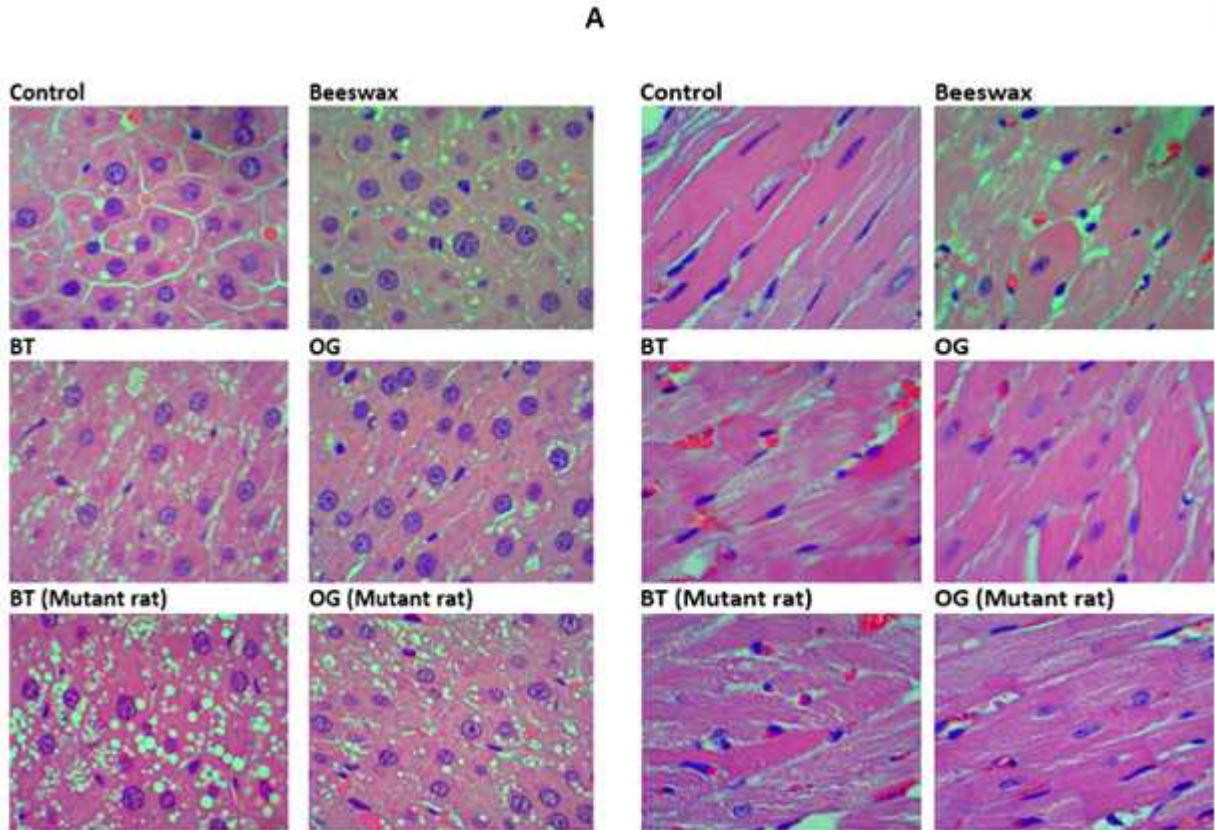


그림 74. 간(A)과 심장(B) 조직의 H&E image.

· 지방생합성 관련 유전자 발현 비교 분석

SD rat에서 대조군에 비해 BT 처리군에서 PPAR, FASN의 발현이 유의적으로 높게 나타났음 (그림 74). 한편 SREBP-1c는 OG와 beeswax에 비해 BT처리군에서 유의하게 감소하였음. LPL 유전자는 BT 그룹에서 가장 낮게 나타남. CPT-1은 beeswax 군에서 가장 높게 나타났음 ($P < 0.05$). Zucker rat의 경우 BT 그룹과 비교하여 OG 그룹에서 PPAR, SREBP, FASN 유전자의 발현이 낮게 나타났고, CPT-1은 높게 나타남($P < 0.05$).

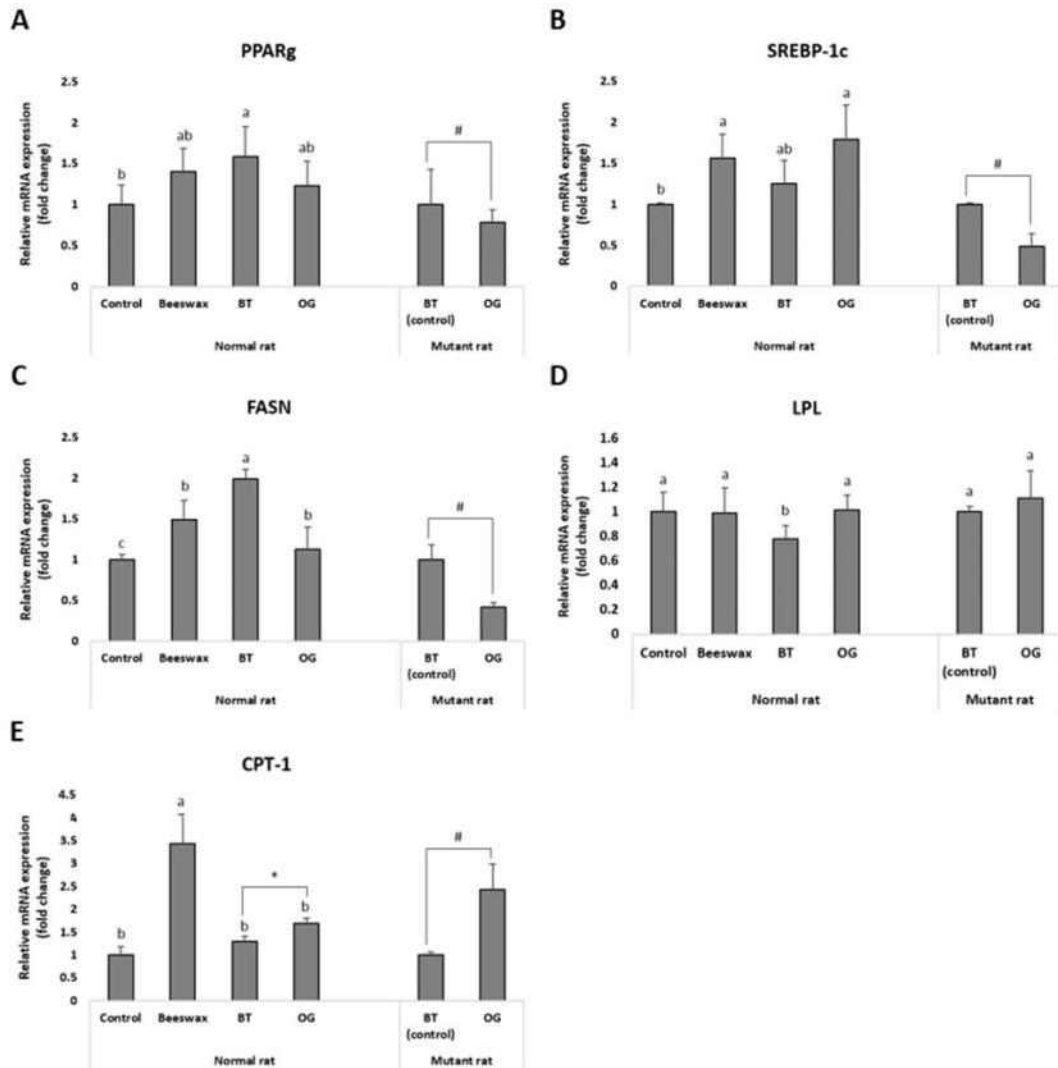


그림 75. 지방내 지방생합성관련 유전자 발현 분석 결과

· 심혈관질환관련 유전자 발현 분석

· Munkong 등(2016)은 고지방식이 쥐의 혈관에서 대조군에 비해 eNOS의 발현이 감소하고 NF-κB와 CD36의 발현이 증가한다고 보고하였음. VEGFA는 vascular smooth muscle cell의 증식을 활성화 하고, eNOS는 apoptosis를 저해하여 심근세포를 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있음. SD rat 그룹의 경우 Beeswax 처리구에서 대조군, BT 군 및 OG 군보다 vasogenic 유전자 발현이 높았음(p < 0.05; 그림 75). Zucker rat 그룹에서는 OG 급여에 의해 eNOS와 VEGFA 유전자 발현이 유의적으로 증가하였음(P < 0.05).

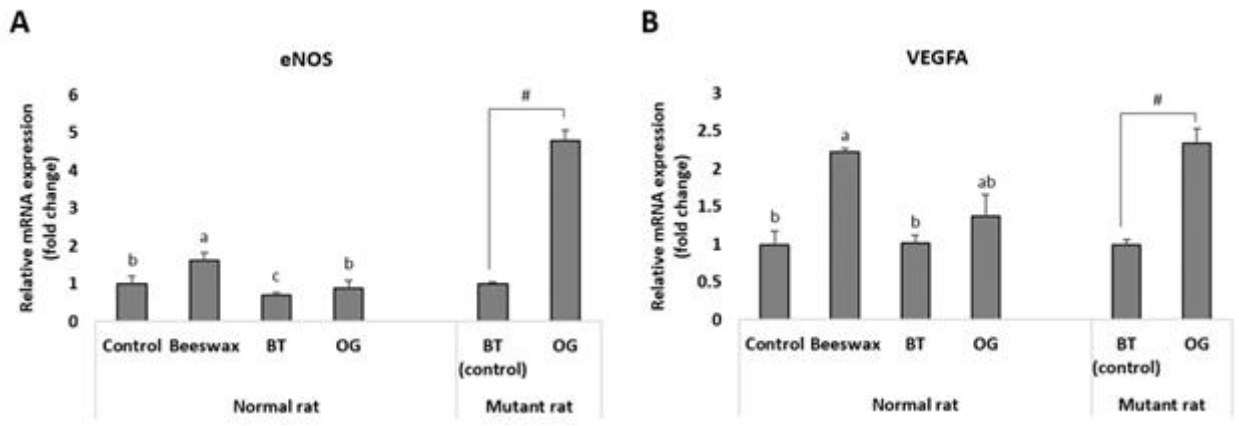
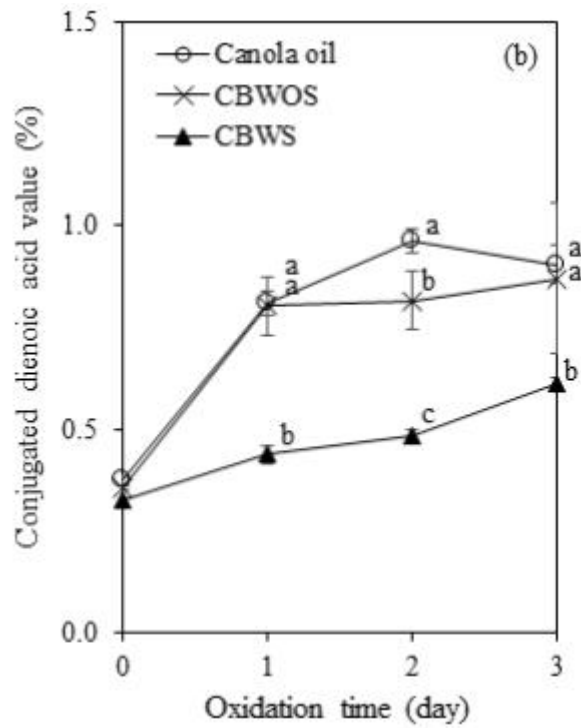
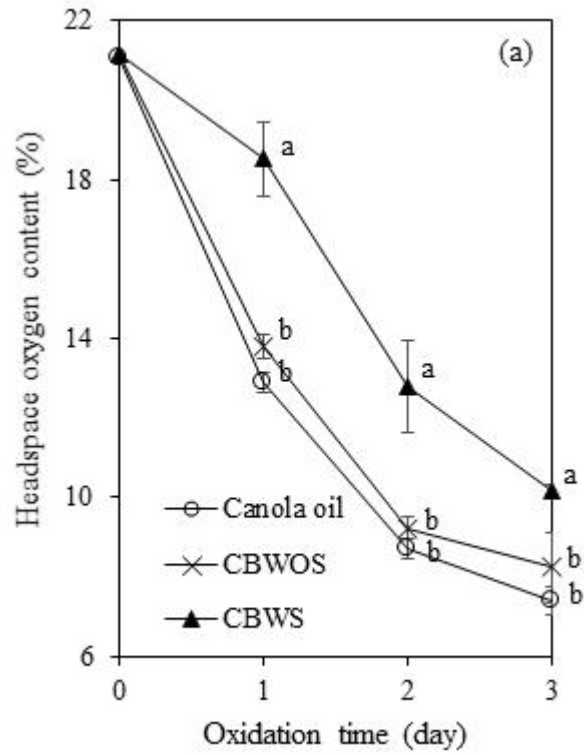


그림 76. 심혈관 내 심혈관질환 관련 유전자 발현분석 결과.

[제2협동] 천연 산화방지제 cocktail 활용 올레오젤 함유 식품의 물리화학적 안정성 특성 개선
 ◦ 열산화 및 광산화 스트레스에서의 세사물첨가 올레오젤 자체의 산화안정성 확인



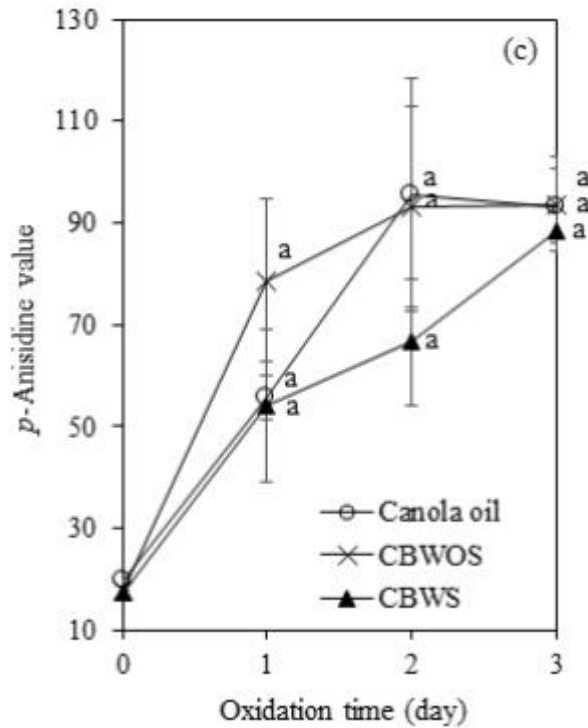


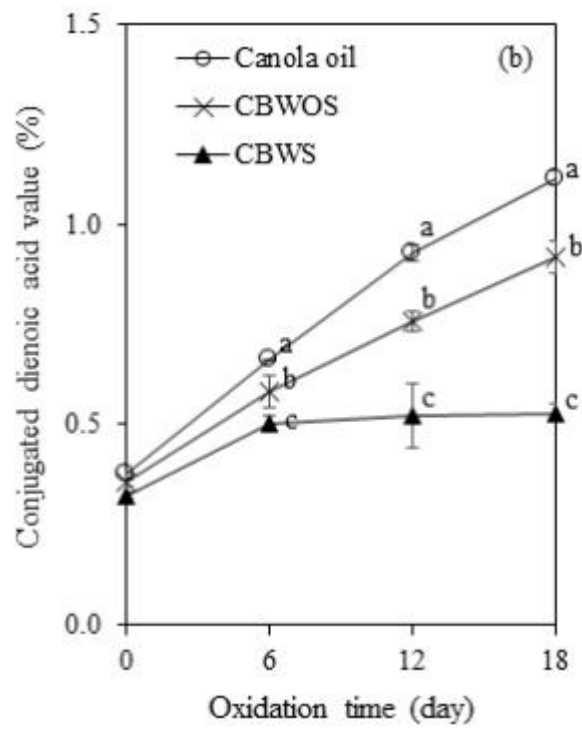
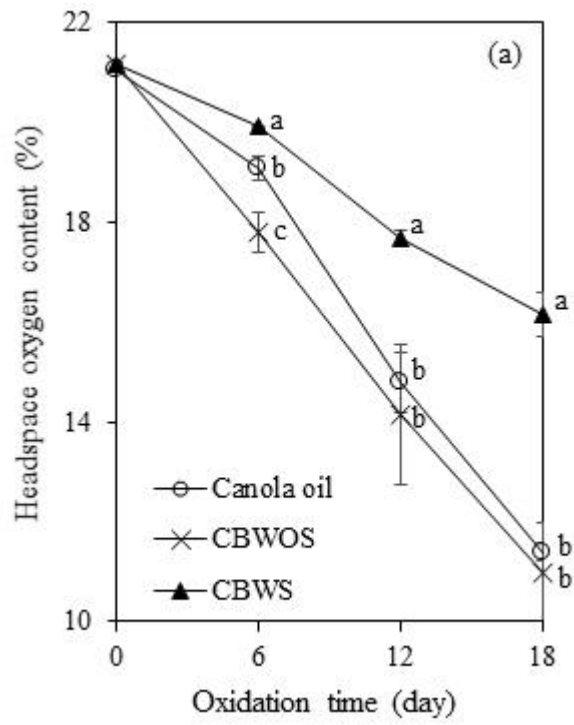
그림 77. 100℃의 열산화 조건에서 3일동안 산화시킨 카놀라유(Canola oil), 세사물을 첨가하지 않은 카놀라유 비즈 왁스 올레오젤(CBWOS; canola based oleogel without sesamol), 40 ppm의 세사물을 첨가한 올레오젤(CBWS; canola based oleogel with sesamol)의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c).

- 산화 시간이 3 일로 증가함에 따라 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤의 headspace oxygen content가 세사물을 첨가한 경우보다 낮아졌음. 그러나 대조군인 카놀라유와 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤 사이의 headspace oxygen content에는 유의적인 차이가 없었으며, 이는 올레오젤 제조과정 중의 100 ℃ 열처리 후에 고체 상태가 된 올레오젤에서 산화안정성이 향상되지 않았음을 의미함. 마찬가지로, 1차 산화생성물인 conjugated dienoic acid 결과에서도 세사물을 첨가한 올레오젤은 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤보다 conjugated dienoic acid 값이
- 유의적으로 낮은 값을 보였으며, 세사물의 첨가가 1차 산화 생성물의 형성을 억제했음. 2차 산화생성물인 *p*-anisidine value의 경우 각 시점에서 모든 샘플 간에 유의적인 차이가 없었음. 즉, 세사물 첨가가 2-alkenals and 2,4-alkadienals과 같은 휘발성 물질의 형성에 큰 변화를 유도하지 못했다는 것을 확인할 수 있음.

		Canola oil ¹	CBWOS	CBWS
Headspace oxygen content	0 day	21.14±0.05 ² a ³	21.05±0.05b	21.17±0.01a
	3 day	20.40±0.05a	19.31±1.10a	20.49±0.10a
	6 day	17.92±0.23b	17.49±0.54b	20.26±0.06a
	9 day	14.18±0.48b	14.65±1.44b	19.99±0.23a
CDA	0 day	0.28±0.01a	0.24±0.01b	N.D. ⁴
	3 day	0.34±0.02a	0.17±0.03b	N.D.
	6 day	0.49±0.02a	0.46±0.03a	N.D.
	9 day	0.73±0.02a	0.61±0.07b	N.D.
<i>p</i> -AV	0 day	8.80±0.46a	8.90±0.17a	10.40±1.48a
	3 day	10.00±0.35a	8.10±0.52b	8.20±1.14b
	6 day	14.10±0.60a	13.20±1.04a	9.30±0.52b
	9 day	23.30±1.14a	21.80±5.11a	11.30±1.21b

표 54. 60℃의 열산화 조건에서 9일동안 산화시킨 카놀라유(Canola oil), 세사물을 첨가하지 않은 카놀라유 비즈 왁스 올레오젤(CBWOS; canola based oleogel without sesamol), 40 ppm의 세사물을 첨가한 올레오젤(CBWS; canola based oleogel with sesamol)의 headspace oxygen content, conjugated dienoic acid, *p*-anisidine value.

• 산화 시간이 9 일로 증가함에 따라, 카놀라유 자체 (Canola oil)와 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤 (CBWOS)의 headspace oxygen content가 급격히 감소한 반면, 세사물을 첨가한 올레오젤 (CBWS)에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않음. 이러한 경향은 *p*-anisidine value에서도 나타났음. 카놀라유와 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤의 *p*-anisidine value는 빠르게 증가하였으나 세사물을 첨가한 올레오젤에서는 거의 증가하지 않았음. 이를 통해, 40ppm의 세사물 첨가가 60℃ 환경의 올레오젤에서도 높은 항산화 효과를 나타냄을 확인함.



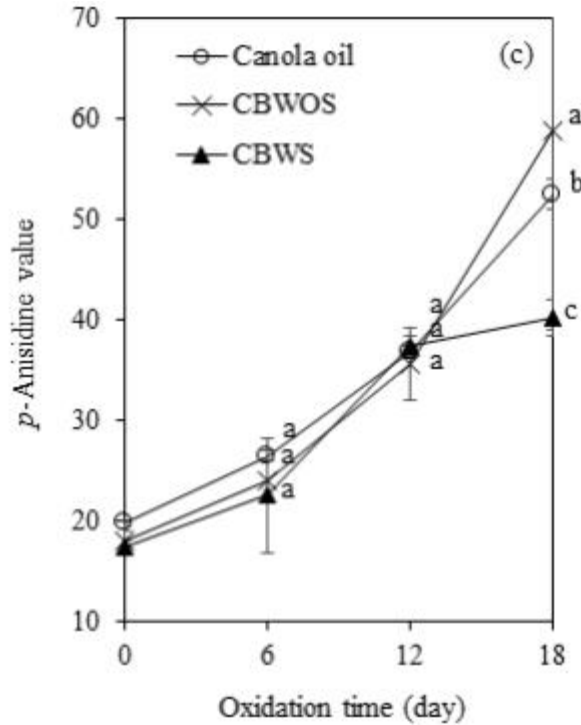
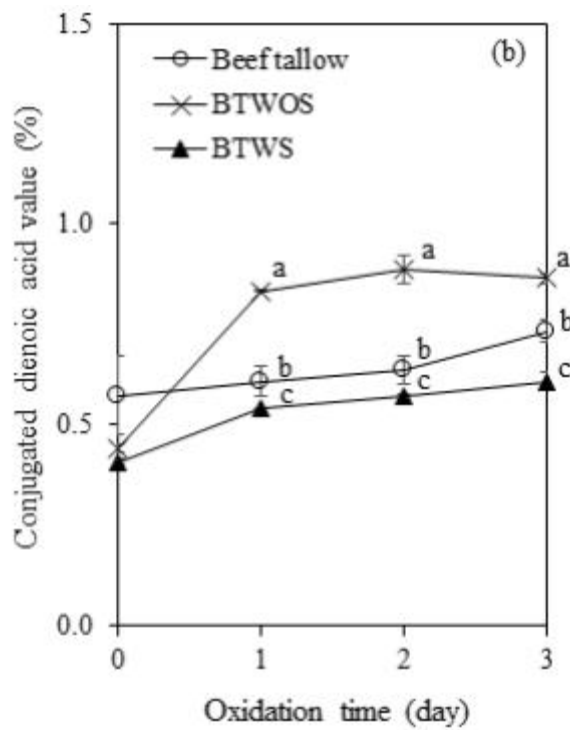
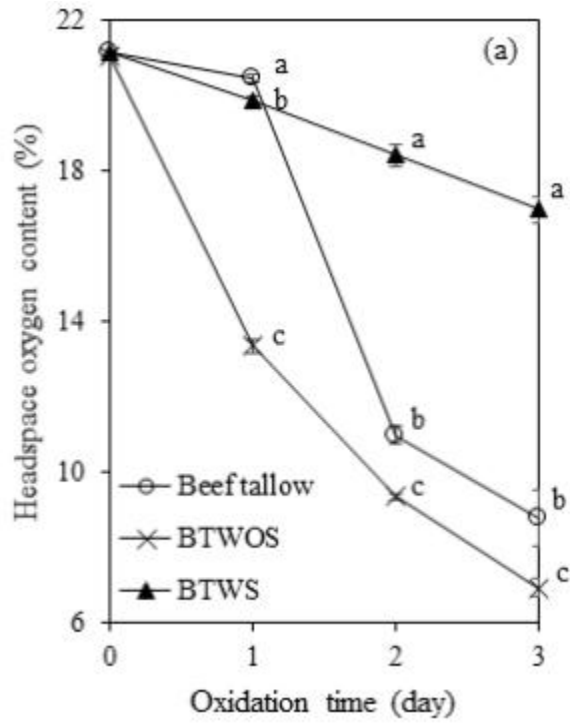


그림 78. 자외선 조사 조건에서 18일동안 산화시킨 카놀라유(Canola oil), 세사물을 첨가하지 않은 카놀라유 비즈 왁스 올레오젤(CBWOS; canola based oleogel without sesamol), 40 ppm의 세사물을 첨가한 올레오젤(CBWS; canola based oleogel with sesamol)의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c).

- 18 일 동안 자외선 조사 처리를 한 결과, headspace oxygen content가 현저히 감소하고 모든 샘플에서 conjugated dienoic acid와 *p*-anisidine value가 증가함. 세사물을 첨가한 올레오젤은 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤과 비교하여 18 일 후에 유의적으로 높은 headspace oxygen content와 conjugated dienoic acid 값을 보였음. 하지만 *p*-anisidine value의 결과는 열산화의 결과와는 다르게 18 일 후에 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤 보다 첨가한 올레오젤의 결과가 유의적으로 높은 값을 보였음.

• 열산화 및 자외선 조사 스트레스에서의 올레오젤 첨가 beef tallow의 산화안정성 확인



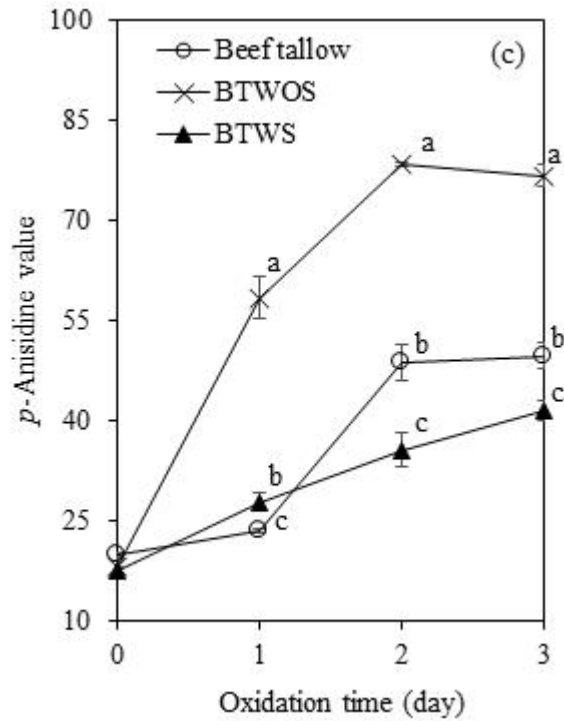
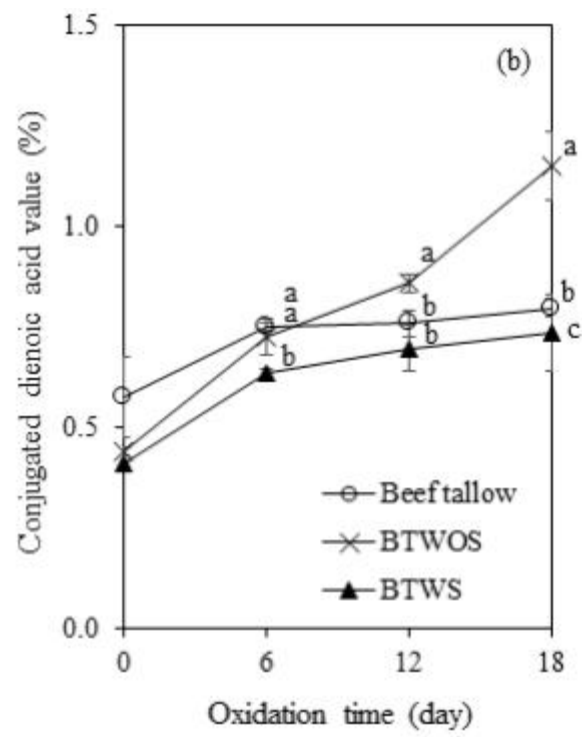
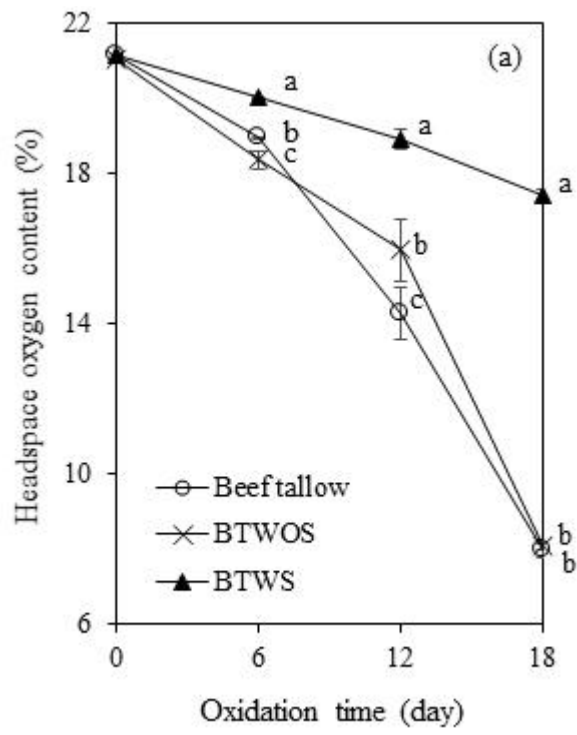


그림 79. 100°C의 열산화 조건에서 3일동안 산화시킨 우지(Beef tallow), 세사몰을 첨가하지 않은 올레오젤 혼합 우지(BTWOS; beef tallow containing oleogel without sesamol), 40 ppm의 세사몰을 첨가한 올레오젤 혼합 우지(BTWS; beef tallow containing oleogel with sesamol)의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c).

• Headspace oxygen content는 2일 후부터 세사몰을 첨가한 올레오젤 혼합 우지 (BTWS), 대조군인 우지 (Beef tallow), 세사몰을 첨가하지 않은 올레오젤 혼합 우지 (BTWOS) 순으로 높았음. 이러한 경향은 conjugated dienoic acid와 *p*-anisidine value의 결과에서도 관찰됨. 흥미로운 것은 대조군인 우지 자체가 세사몰을 첨가하지 않은 올레오젤 혼합 우지보다 산화 안정성이 높았다는 것인데, 올레오젤을 제조할 당시 우지를 녹이기 위한 열처리가 지질 산화 속도를 가속화 한 것으로 판단됨. 하지만, 40ppm의 세사몰을 첨가하면 headspace oxygen content와 1차 및 2차 산화 생성물의 생성을 효과적으로 감소시킬 수 있다는 것을 확인함.



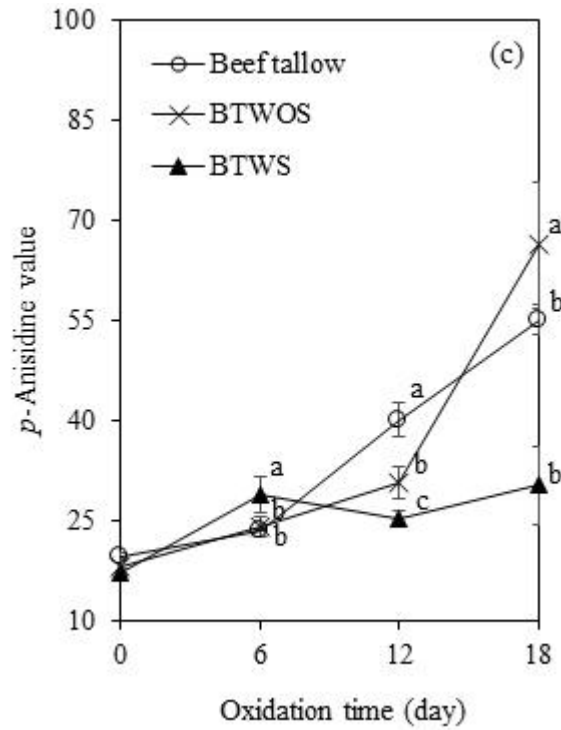
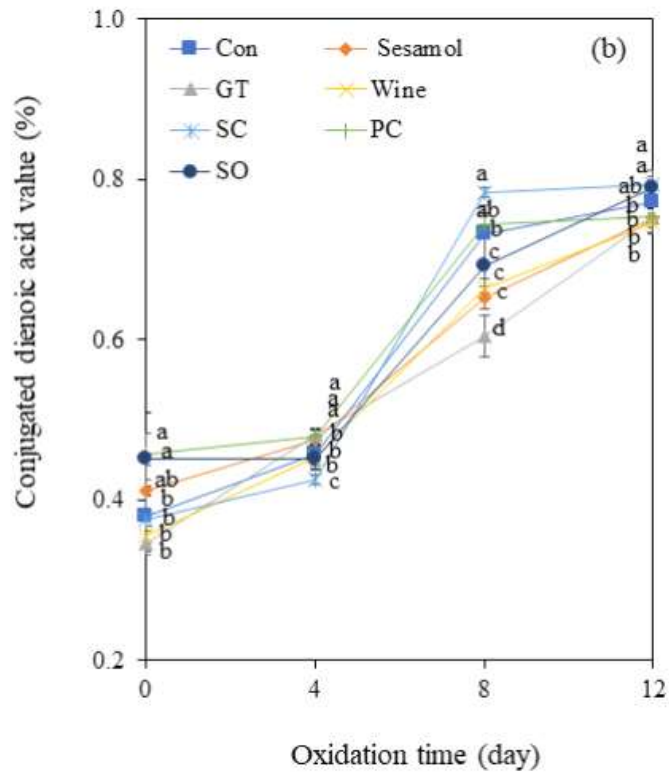
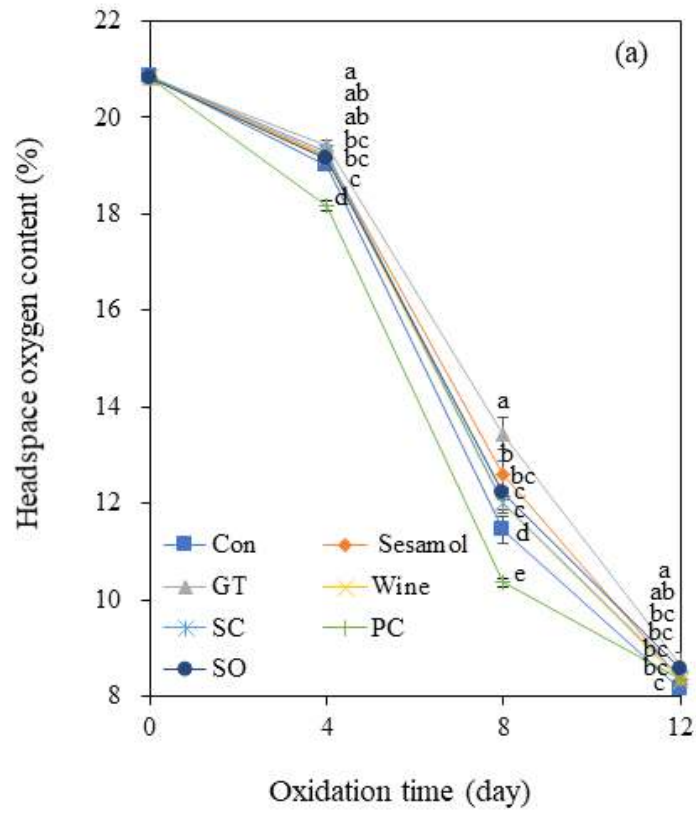


그림 80. 자외선 조사 조건에서 18일동안 산화시킨 우지(Beef tallow), 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤 혼합 우지(BTWOS; beef tallow containing oleogel without sesamol), 40 ppm의 세사물을 첨가한 올레오젤 혼합 우지(BTWS; beef tallow containing oleogel with sesamol)의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c).

- 세사물을 첨가한 올레오젤 혼합 우지 (BTWS)는 자외선 조사 후 12 일과 18 일 후에 가장 headspace oxygen content, 가장 낮은 conjugated dienoic acid 값과 가장 낮은 *p*-anisidine value를 나타냄. 세사물을 첨가하지 않은 올레오젤 혼합 우지 (BTWOS)의 산화 안정성은 열산화 및 자외선 조사 조건에 따라 대조군인 우지 자체와 비교했을 때 상이한 결과를 나타냄.

• 다양한 천연 산화방지제를 첨가한 올레오젤의 산화안정성 확인



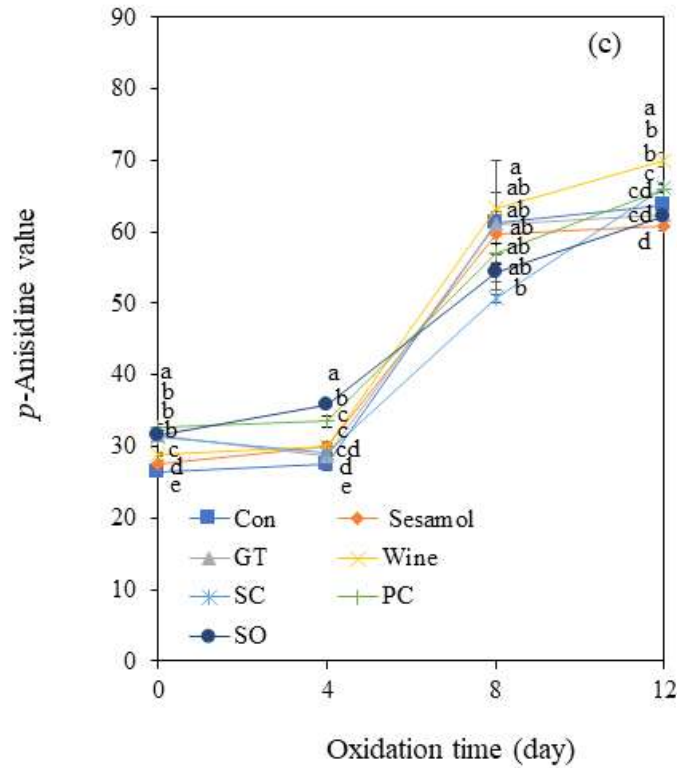
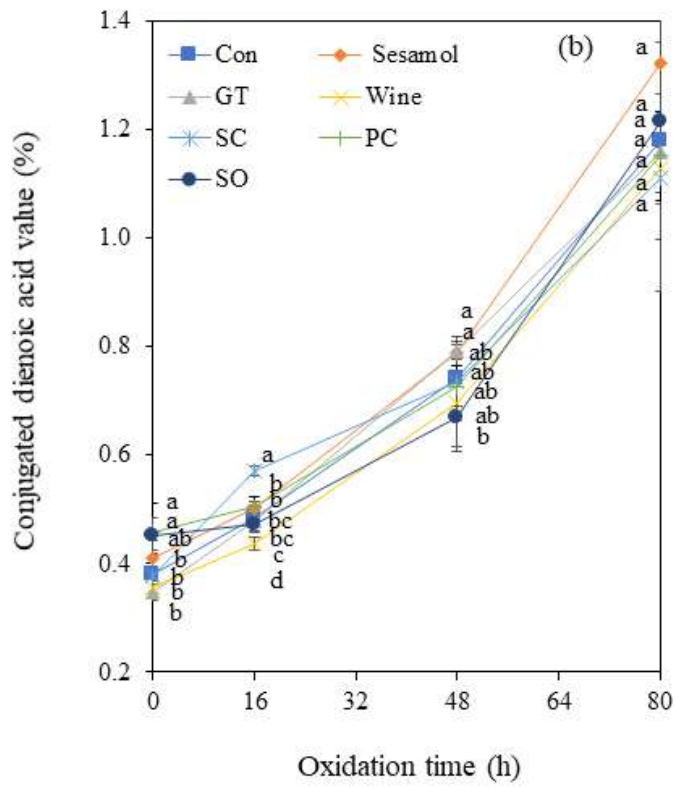
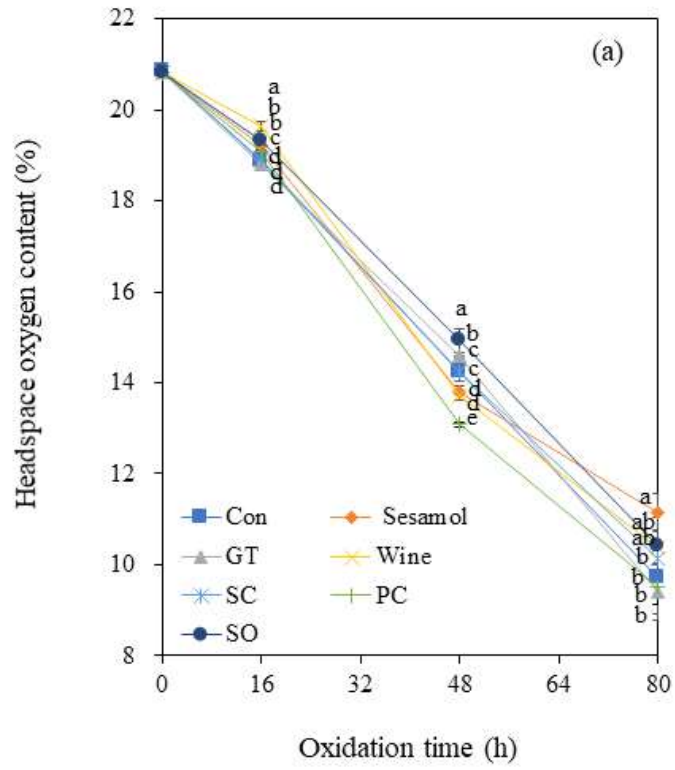


그림 81. 60℃의 열산화 조건에서 12일동안 산화시킨 대조군의 아마씨유(Con; flaxseed oil)와 40 ppm의 sesamol, 1000 ppm의 녹차 추출물(GT; green tea extract), 와인 동결 건조물(Wine; freeze-dried wine), 참깨박 수용 추출물(SC; aqueous extract of sesame cake), 들깨박 수용 추출물(PC; aqueous extract of perilla seed cake), 참기름(SO; sesame seed oil)의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c).

• Headspace oxygen content의 경우, 1000 ppm의 녹차 추출물이 가장 좋은 항산화능을 보였음. 반면, conjugated dienoic acid는 1000 ppm의 와인 동결 건조물의 항산화능이 가장 좋았으며, *p*-anisidine value는 40 ppm의 세사몰의 항산화능이 가장 좋았음. 세사몰의 경우 40 ppm의 대조군으로서 사용하였지만, 낮은 농도에서도 2차 산화생성물의 형성을 효과적으로 억제했다는 점에서 의의가 있음.



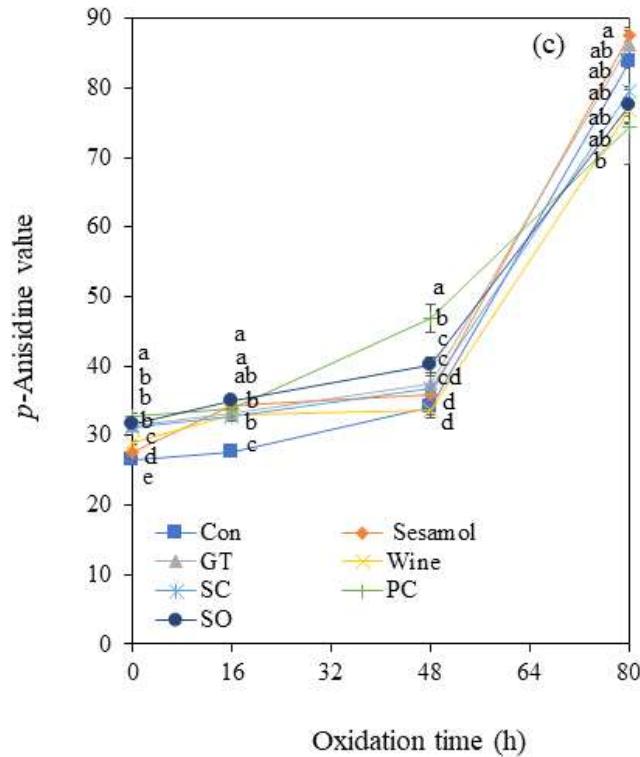


그림 82. 자외선 조사 조건에서 80시간동안 산화시킨 대조군의 아마씨유(Con; flaxseed oil)와 40 ppm의 sesamol, 1000 ppm의 녹차 추출물(GT; green tea extract), 와인 동결 건조물(Wine; freeze-dried wine), 참깨박 수용 추출물(SC; aqueous extract of sesame cake), 들깨박 수용 추출물(PC; aqueous extract of perilla seed cake), 참기름(SO; sesame seed oil)의 headspace oxygen content (a), conjugated dienoic acid (b), *p*-anisidine value (c).

· Headspace oxygen content의 경우, 1000 ppm의 참깨박 수용 추출물과 녹차 추출물의 항산화능이 가장 좋았음. *p*-Anisidine는 1000 ppm의 참깨박 수용 추출물의 항산화능이 가장 좋았음. 60°C의 열산화와 비교했을 때, 아마씨유와 15% (w/w) 비즈왁스로 만든 올레오젤에선 자외선 조사 스트레스가 훨씬 빠르게 산화되었고, 산화방지제 각각의 항산화능도 크게 변화하는 것을 볼 수 있었음. 이는 자외선 조사로 인해 지방산화의 개시 단계가 짧아지고 과산화물이 빠르게 형성되었기 때문으로 보이며, 이를 통해 자외선 조사와 열산화 간에 산화 메커니즘이 다르며, 산화방지제의 항산화능도 큰 영향을 받는 것으로 판단됨.

◦ Visualization을 통한 소고기 내부의 beeswax 분포 확인



그림 83. 형광현미경을 통해 촬영한 올레오젤 주입 소고기의 내부 단면

• 그림 82은 소고기의 우둔살 부위에 카놀라유와 10% (w/w) 비즈왁스로 제조한 올레오젤을 혼입한 후 형광현미경으로 촬영한 사진임. 밝게 빛나는 적색의 부분이 염색된 lipid로, 표면에 불균일하게 밝게 염색된 군집들이 분포한 것이 보임. 고온에서 용해된 액상의 올레오젤이 저온의 고기 내부로 주입되면서 넓게 퍼지지 않고 굳은 것으로 판단됨.



그림 84. Confocal laser scanning microscopy로 촬영한 올레오젤 주입 소고기의 내부 단면

• 그림 83은 소고기의 우둔살 부위에 카놀라유와 10% (w/w) 비즈왁스로 제조한 올레오젤을 혼입한 후 Confocal laser scanning microscopy로 촬영한 사진임. 아주 짙은 적색으로 염색된 부분이 lipid인데, 가장자리와 단면을 가로지르며 세로로 염색된 것을 확인할 수 있음. 그림 82의 사진처럼 올레오젤이 넓게 분포하지 않고 빠르게 굳으면서 이러한 분포 양상을 보인 것으로 판단됨.

제6절 연구개발 성과

(1) 사업화지표

[특허출원 - 3건]

1. 포도씨유 젤을 사용함으로써 포화지방산의 함량이 저감된 에어레이션 베이커리 제품 및 그 제조방법 (2016. 08. 특허번호 10-2016-0100896)

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2016.08.08
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2016-0100896 (접수번호 1-1-2016-0769063-91)
출원인명칭 세종대학교산학협력단(2-2005-011470-2)
대리인성명 특허법인태동(9-2008-100001-5)
발명자성명 이수용 임정택 김주영
발명의명칭 포도씨유 젤을 사용함으로써 포화지방산의 함량이 저감된
에어레이션 베이커리 제품 및 그 제조방법

특 허 청 장

2. 식물성 천연 왁스와 식물성 유지를 혼합하여 제조된 올레오젤 및 이를 이용한 유당면의 제조방법 (2017. 07. 특허번호 10-2017-0093282)

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2017.07.24
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2017-0093282 (접수번호 1-1-2017-0706445-53)
출원인명칭 세종대학교산학협력단(2-2005-011470-2)
대리인성명 특허법인태동(9-2008-100001-5)
발명자성명 이수용 임정택 정성민 김용기
발명의명칭 식물성 천연 왁스와 식물성 유지를 혼합하여 제조된 올레오
젤 및 이를 이용한 유당면의 제조방법

특 허 청 장

3. 올레오젤과 하이드로콜로이드가 혼합하여 제조된 식물성 지방 조성물 (2018.11.01. 특허번호 10-2018-0132830)

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2018.11.01
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2018-0132830 (접수번호 1-1-2018-1083220-65)
출원인명칭 세종대학교산학협력단(2-2005-011470-2)
대리인성명 특허법인태동(9-2008-100001-5)
발명자성명 이수용 박성권 오임경 정다운
발명의명칭 올레오젤과 하이드로콜로이드가 혼합하여 제조된 식물성 지방 조성물

특 허 청 장

[특허등록 - 1건]

1. 포도씨유 젤을 사용함으로써 포화지방산의 함량이 저감된 에어레이션 베이커리 제품 및 그 제조방법 (2018. 08, 특허번호 10-1894067-0000)



[기술이전 1건]

1. '올레오젤과 하이드로콜로이드가 혼합하여 제조된 식물성 지방 조성물'에 대한 통상실시 기술이전 1건 (8 백만원)

기술이전계약서

■ 세종 기술이전계약 관리번호: TL-2018-033

■ 계약명: “고체지방 대체 식물성 지방 조성물” 기술에 대한 통상실시 계약

■ 관련 연구과제

정부과제번호	115003-3
부처명	농림수산식품부
연구관리기관	농림식품기술기획평가원
연구사업명	고부가가치식품기술개발사업
연구과제명	저포화지방 가공식품 제품개발을 위한 고체지방대체제 식물성 올레오젤 개발 및 제품화
주관기관	(주)케이티에스푸드
총연구기간	2015-10-23 ~ 2018-10-22
총 연구비	720,000,000 원

■ 기술료: 선급금 8백만원 (부가세 별도)

■ 계약일: 2018년 11월 16일

■ 계약당사자

‘갑’

‘을’

주소 : 서울시 광진구 군자동 98
세종대학교 집현관 216호

주소 : 서울시 광진구 천호대로 706 (구의동)

기관 : 세종대학교 산학협력단
단장 : 백 성 욱

상호 : (주)KTS 푸드
대표 : 이 종 길

연구자: 세종대학교 식품공학과
이수용 교수

계약담당자: 기술이전센터 이지운
연락처 : patent@sejong.ac.kr/02-3408-4057


계약담당자: 김 희 선 차장
연락처: hskim@kts.co.kr/ 010-8729-1026

[제품화]

1. 올레오젤을 활용한 저포화지방 스테이크 시제품 제조

- 올레오젤을 활용하여 고체 지방인 우지를 대체하여 포화지방뿐만 아니라 조리 용출도가 저감화된 채끝스테이크 상품 개발 (2018)

농림축산식품연구개발과제 사업화실적 확인서

과제명	저포화지방 가공식품 제품개발을 위한 고체지방대체제 식물성 올레오젤 개발 및 제품화							
주관연구기관	㈜KTS 푸드	참여기관	세종대학교, 성균관대학교					
책임자	이종길	연구기간	2015년 10월 ~ 2018년 10월(총 36년)					
정부출연금	540,000,000원	기업부담금	180,000,000 원	총계 720,000,000 원				
기술이전명	"고체지방 대체 식물성 지방 조성물" 기술에 대한 통상실시 계약	기술실시대상기관	㈜KTS 푸드					
기술료	8,000,000 원	기술실시일	2018년 11월 16일					
구분	기술실시업체 결산액 (단위: 백만원) * 최근연도 결산보고서에 의해 작성		해당기술을 통한 사업화 실적					
실적	자산 총계	725	제품건수	2018년 1건				
	자본 총계	-39						
	부채 총계	764	기술개발성과활용 총 매출액 (국내매출액 + 해외수출액)	현재 시제품 단계로 마발생				
	매출액 총계	2,397						
제품별 실적								
구분	제품명	제품사진	제품출시일	매출액 (백만원)	해당기술의 매출액 기여율 (%)	원산지	품질 인증 여부	
1	KTS 올레오젤 양념가공육 채끝스테이크		2018.11.14	국내	-	-	호주산	HACCP 인증
				해외	-			
2				국내				
				해외				

* 첨부 : 매출액 확인이 가능한 자료(세금계산서, 매출원장 등)

2018년 11월 23일
연구책임자 : 이종길 (서명 또는 인)



<개발 제품>



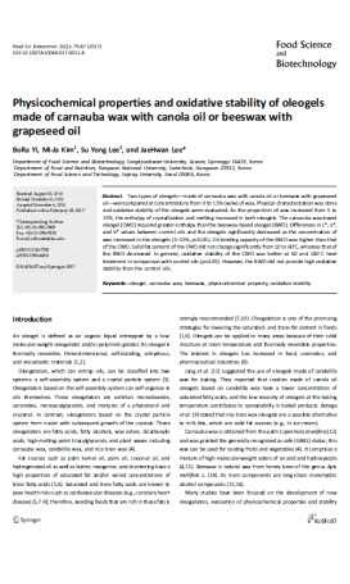





[고용창출]

1. KTS푸드-정규직 채용 1명 (이름: 민성기, 입사일: 2018. 01)
2. KTS푸드-정규직 채용 1명 (이름: 이후정, 입사일: 2017. 02)

(2) 연구기반지표


[SCI 논문]

	논문 정보	비고	첫 페이지
1	<p>2018. Effects of Hydrogen Donating or Metal Chelating Antioxidants on the Oxidative Stability of Organogels Made of Beeswax and Grapeseed Oil Exposed to Light Irradiation. Hong, S., Kim, M. J., Park, S., Lee, S., Lee, J., and Lee, J. <i>J. Food Sci.</i>, 83(4): 885–891.</p>	<p>국외 SCI IF = 2.018</p>	
2	<p>2017. Assessing the effectiveness of wax-based sunflower oil oleogels in cakes as a shortening replacer. Oh, I., Amoah, C., Lim, J., Jeong, S., and Lee, S. <i>LWT-Food Sci. Technol.</i>, 86:430–437.</p>	<p>국외 SCI IF = 2.329</p>	
3	<p>2017. Physicochemical properties and oxidative stability of oleogels made of carnauba wax with canola oil or beeswax with grapeseed oil. Yi, B., Kim, M. J., Lee, S. Y., and Lee, J. <i>Food Sci. Biotechnol.</i>, 26(1):79–87. 국외. SCI. (IF = 0.786)</p>	<p>국외 SCI. IF = 0.786</p>	

<p>4</p>	<p>2017. Effect of shortening replacement with oleogels on the rheological and tomographic characteristics of aerated baked goods. Lim, J., Jeong, S., Lee, J., Park, S., Lee, J., and Lee, S. J. Sci. Food Agric., 97(11):3727–3732.</p>	<p>국외 SCI IF = 2.460</p>	
<p>5</p>	<p>2017. Carcass and Meat Characteristics and Gene Expression in Intramuscular Adipose Tissue of Korean Native Cattle Fed Finishing Diets Supplemented with 5% Palm Oil. Park, S., Yan, Z., Choi, C., Kim, K., Lee, H., Oh, Y., and Choi, S. Korean J. Food Sci. Anim. Resour, 37(2):168–174.</p>	<p>국내 SCI IF = 1.033</p>	
<p>6</p>	<p>2016. Effects of full-fat soybean diet on performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of Hanwoo steers. Kim, S., Lee, J., and Park, S. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 40(4):451–458.</p>	<p>국외 SCI IF = 0.352</p>	

7	2018. Addition of sesamol increases the oxidative stability of beeswax organogels and beef tallow matrix under UV light irradiation and thermal oxidation. Hong, S., Jo, S., Kim, M. J., Park, S., Lee, S., Lee, J., and Lee, J. J. Food Sci.	국외 SCI	(심사 후 수정 중)
---	---	-----------	-------------

[비SCI 논문]

	논문 정보	비고	첫 페이지
1	2018. 텍스처 분석기를 활용한 즉석밥 물성 측정 방법의 상호 비교. 산업식품공학 22(4):381-385	국내 학술등재지	
2	2018. 천연 올레오겔레이터인 비즈왁스가 지방세포의 성장과 분화 및 관련 유전자 발현에 미치는 영향 연구. 식품과학회지	국내 학술등재지	(심사 중)

[학술발표]

1. Effect of wax-fatty acid complex on adipogenesis of 3T3-L1 cells. 2018. European Federation of Animal Science. Dubrovnik. Croatia.
2. Effect of oleogel incorporated with high fat diet on growth performance and serum lipids profile: *in vivo* model. 2018. Korean Society of Food Science and Technology. Busan. South Korea.
3. Effects of sesamol on the oxidative stability of organogels made of beeswax with canola oil. 2018. Korean Society of Food Science and Technology. Busan. South Korea.
4. Effects of natural antioxidants on the oxidative stability of oleogels made of beeswax with grapeseed oil. 2017. Korean Society of Food Science and Technology. Jeju. South Korea.
5. Early weaned calves fed high energy diet improve meat quality with reduced back fat thickness in Hanwoo. 2017. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. Cheonan. South Korea.
6. Structuring of vegetable oil into oleogel: an alternative to high saturated solid fat in baked goods. 2017. Korean Society of Food Science and Technology. Jeju. South Korea.
7. Evaluation of grapeseed oil-candelilla wax oleogels as a shortening replacer for baked foods. 2017. 한국산업식품공학회. 서울. 대한민국.

8. Physicochemical properties and oxidative stability of oleogels made of carnauba wax and of bees wax. 2016. Korean Society of Food Science and Technology. Daegu. South Korea.
9. Administration of high energy diet modulates the profiles of global gene expression of loin muscle. 2016. Korean Society for Molecular and Cellular Biology. Seoul. South Korea.
10. Rheological characterization of candelilla wax oleogels in baked goods for saturated fat reduction. 2016. International Union of Food Science and Technology. Dublin. Ireland.
11. Evaluation of Natural Waxes as Oil-structuring Agents in Oleogel: Rheological, Thermal, and Oxidative properties. 2016. Korean Society of Food Science and Technology. Daegu. South Korea.

[인력양성]

1. 임정택. 2018. 석사.
2. 홍승미. 2018. 석사.
3. 타오. 2018. 석사.
4. 박수현. 2017. 석사.
5. 김주영. 2017. 석사.
6. 김서영. 2017. 석사.
7. 최형석. 2016. 학사
8. 류재형. 2016. 학사.

제7절 세부과제별 결과 고찰

[제1세부]

- 현재 제조 판매되고 있는 혼합가공육에 사용되는 동물성 우지를 대체하고자 올레오젤을 적용함. 특히, 온도 따른 용해 특성을 물성학적, solid fat content 접근법을 통하여 분석한 결과 동물성 우지 대체 소재로서 beeswax 올레오젤 적용 기술을 확립함.
- 1차년도에 개발된 beeswax 올레오젤을 활용한 조미액의 배합비를 결정하고, 올레오젤 주입을 통한 스테이크용 혼합가공육 시제품을 제조함. 특히, 올레오젤 함유 혼합가공육 지방산을 분석하여 현재 시판 제품과 비교 시 포화지방조성이 현저히 낮은 제품을 개발함.
- 올레오젤을 베이커리 제품에 적용하여 고체지방인 쇼트닝 대체 소재로 활용할 수 있는 기술을 개발함. 특히, 쇼트닝을 올레오젤로 대체하여 포화지방이 저감화된 쿠키, 케이크 시제품을 제조함.

[제1세부-위탁]

- 다양한 천연 gelator를 활용하여 올레오젤의 젤화 능력을 평가하여 gelator 사용에 따른 올레오젤 강도 결과를 제시하였고, Arrhenius 모델식에 적용하여 Beeswax 올레오젤의 온도 의존도가 낮음을 증명한. 아울러, 온도에 따른 점탄성 및 DSC를 활용한 열적 특성을 분석하여 올레오젤의 가공적성을 분석함.
- 혼합가공육에 식물성 올레오젤의 가공 응용성을 평가하기 위해 냉동 저장동안의 혼합가공육의 냉동 패턴을 분석하여, 냉해동에 따른 드립 현상을 억제하기 위한 올레오젤 대체 함량 (50%) 및 저온 해동 방법을 제시함.
- 고체지방 대체 소재로서 올레오젤의 활용성을 넓히기 위해 미국곡류협회 공인 방법을 토대로한 베이커리 제품(머핀)에 쇼트닝 대체 소재로 올레오젤을 적용하여 기존 고체지방(쇼트닝) 대비 최대 85%의 포화지방을 저감화하였고, 품질 저하없이 25%의 고체지방 대체가능성을 확인함.

[제1협동]

- 올레오젤 적용을 위한 다양한 식물성 유지 탐색 및 생리활성 모델개발을 위해 *in vitro* 세포배양 기법을 확립하고 카놀라유, 올리브유, 해바라기씨유 등 다양한 식물성 유지의 생리활성도를 분석하여 최적 처리기간 및 농도를 구명함.
- 탐색된 올레오젤의 *in vitro* 독성 평가 및 건강 기능성을 분석하고 올레오젤 화합물 처리에 따른 당지방 대사 관련 인자 발현 정도를 비교분석하여 다양한 유지 처리가 세포내 에너지 대사 및 생리활성에 미치는 영향을 구명함.
- 올레오젤 가공식품은 *in vivo* 동물실험을 통해 비만, 당뇨, 심혈관 질환 등의 대사질환에 대한 기능성 평가를 실시하여 지방과 콜레스테롤축적을 감소하고 심혈관질환이 예방가능하다는 결과를 제시함.

[제2협동]

- 180℃의 열산화 결과 카나우바 왁스의 산화안정성이 상대적으로 더 높다는 것을 확인하였고, 60℃ 조건의 경우 카나우바와 비즈왁스 올레오젤 모두 대조구에 비해 높은 산화안정성을 보였음.
- 항산화제를 첨가하여 산화를 진행한 결과, 세사몰을 첨가한 올레오젤이 가장 높은 산화안정성을 보였으며 세사몰은 40 ppm의 농도에서도 높은 산화 방지 효과를 보이는 것을 확인함.

- 혼합가공육의 matrix인 beef tallow를 올레오젤과 혼합 시, 100℃와 60℃의 열산화 조건과 자외선 조사 조건에서, 세사몰 첨가 시 대조구에 비해 훨씬 높은 산화안정성을 보였음.
- 열산화 조건에서는 녹차 추출물, 와인 동결건조물, 세사몰의 항산화능이 좋았으며, 자외선 조사 조건에서는 녹차 추출물과 참깨박 수용 추출물의 효과가 우수함을 확인함.

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제1절 목표

- 기존의 화학적/효소적 방법과는 차별화된 유기젤화 공법을 통하여 액체 상태의 식물성 유지를 물리적으로 고체 조직화할 수 있는 공정을 확립하고, 불포화지방을 다량 함유한 식물성 올레오젤(oleogel)을 고체지방 대체제로서 접목하고자 함. 이를 통하여 저포화지방(low saturated fat), 고불포화지방(high unsaturated fat) 가공 식품을 제조하고 그 건강 기능 특성을 규명함으로써 차별화된 새로운 제품을 개발하고자 함.

제2절 목표 달성여부

[1년차]

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	달성 내용
[제1세부] 고체지방 대체를 위한 올레오젤 주입 공정 확립	30	100	- 온도 따른 용해 특성을 물성학적, solid fat content 관점에서 하여 Beeswax 올레오젤과 우지와 유사성을 확립하였고, Beeswax, Candelilla wax, Carnuba wax 올레오젤에 대한 주입 유동 특성을 분석 제시함.
[제1세부-위탁] 올레오젤의 가공 적성 평가를 통한 응용성 검증	10	100	- 다양한 천연 올레오젤레이터를 활용하여 올레오젤의 젤화 능력을 평가하였고, Arrhenius 모델식에 적용에 따른 온도 민감 특성을 제시함. 아울러, 온도에 따른 점탄성 및 DSC를 활용한 열적 특성을 분석하여 올레오젤의 가공적성을 분석함.
[제1협동] 올레오젤 적용을 위한 다양한 식물성 유지 탐색 및 생리활성 모델개발	30	100	- <i>In vitro</i> 모델 구축을 위한 지방 및 근육세포 배양기법을 확립하고, 생리활성에 적합한 식물유지 탐색 및 올레오젤 화합물의 최적 처리기간 및 농도를 구명함.
[제2협동] 열산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인 올레오젤에 적합한 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 탐색	30	100	- 180°C의 열산화 결과 카나우바 왁스의 산화안정성이 상대적으로 더 높다는 것을 확인하였고, 60°C 조건의 경우 카나우바와 비즈왁스 올레오젤 모두 대조구에 비해 높은 산화안정성을 확인함. - 문헌 조사를 통해 토코페롤의 homologues 비율과 지방산 조성의 중요성을 확인했고, 메탈킬레이터제인 EDTA가 산화방지 효과를 나타냄을 확인함.
합계	100	100	

[2년차]

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	달성 내용
[제1세부] 올레오젤의 동물성 유지 대체를 통한 혼합가공육의 포화지방 저감화	30	100	- 올레오젤 및 조미액의 배합비를 결정하고, 올레오젤 주입을 통한 스테이크용 혼합가공육 시제품을 제조하여 포화지방 저감화 결과를 제시함.
[제1세부-위탁] 혼합가공육에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가	10	100	- 올레오젤을 혼합가공육에 적용하여 냉동, 해동에 따른 드립 및 색 특성을 분석함. 아울러, 조리 시간 및 온도에 따른 혼합가공육의 텍스처 분석을 실시하여 혼합가공육에서의 식물성 올레오젤의 가공 응용성을 평가함.
[제1협동] 올레오젤의 in vitro 독성평가 및 건강 기능성 탐색	30	100	- 탐색된 올레오젤 화합물에 대한 <i>in vitro</i> 세포 독성 평가를 실시하고, 올레오젤 화합물이 당·지방 대사 및 생리활성에 미치는 영향을 분석하고 관련 유전자 발현 분석을 통해 올레오젤의 건강기능성 메커니즘을 구명함.
[제2협동] 광산화 및 감광제 광산화에 의한 올레오젤 산화안정성 확인 혼합육가공품 매트릭스에 특화된 지용성, 수용성 산화방지제 및 메탈킬레이터 조성 최적화	30	100	- 항산화제를 첨가하여 산화를 진행한 결과, 세사몰을 첨가한 올레오젤이 가장 높은 산화안정성을 보였으며 세사몰은 40 ppm의 농도에서도 높은 산화 방지 효과를 보이는 것을 확인함. - 선정 혼합육 가공품의 산화방지제 첨가 실험을 계획한 결과, 카놀라유와 10% (w/w) 비즈왁스 올레오젤 제조 방법을 확립함.
합계	100	100	

[3년차]

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	달성 내용
[1세부] 올레오젤의 쇼트닝 대체를 통한 베이커리제품의 포화지방 저감화	30	100	- 올레오젤을 활용하여 고체지방인 쇼트닝을 대체함으로써 베이커리 시제품 2종(쿠키, 케익 등)을 제조하여 그 품질특성을 분석하였고, 아울러 올레오젤 제품의 포화지방 저감화 결과를 제시함.
[제1세부-위탁] 베이커리 제품에서 식물성 올레오젤의 가공 응용성 평가	10	100	- 미국곡류협회 공인 방법을 토대로 베이커리 모델을 구축하고, 이를 통하여 제조된 반죽 및 최종제품의 품질 특성, 관능평가를 진행하였고, 저장 중 노화 및 산패 특성을 분석하여 제시함.

<p>[제1협동] 저포화·고불포화 올레오젤 가공식품의 성분분석 및 <i>in vivo</i> 건강기능성 검증</p>	30	100	<p>- 올레오젤 가공식품 급여 실험동물의 성장 특성, 혈액 대사물질 및 체조직 변화 분석을 통해 <i>in vivo</i> 건강 기능성을 검증하고, 비만 유도 랫드 모델을 이용하여 올레오젤 가공식품의 항비만·대사 및 심혈관질환 예방 효과를 제시함.</p>
<p>[제2협동] 주관기관 개발 혼합가공육의 열산화 및 광산화 조건에서의 산화안정성 확인</p> <p>개발 천연산화방지제 cocktail 첨가에 의한 올레오젤 함유 식품의 저장성 증대</p> <p>올레오젤레이터, 유지, 생고분자, 및 산화방지제 간의 상호 작용 분자적 구명</p>	30	100	<p>- 혼합가공육의 matrix인 beef tallow를 올레오젤과 혼합 시, 100℃와 60℃의 열산화 조건과 자외선 조사 조건에서, 세사물 첨가 시 대조구에 비해 훨씬 높은 산화안정성을 확인함.</p> <p>- 열산화 조건에서는 녹차 추출물, 와인 동결건조물, 세사물의 항산화능이 좋았으며, 자외선 조사 조건에서는 녹차 추출물과 참깨박 수용 추출물의 효과가 우수함.</p> <p>- 소고기의 우둔살에 올레오젤을 주입하여 형광현미경과 confocal laser scanning microscopy로 촬영한 결과, 올레오젤의 주입시 온도가 낮은 고기 조직 내부에서 급격히 응고되며 넓게 퍼지지 않고 불균일한 군집을 형성하는 결과를 보임. 주입 온도 설정과 촬영 방법에 대한 연구가 좀 더 필요할 것으로 판단됨.</p>
합계	100	100	

제3절 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

[목표 미달성 시 원인]

- 계획된 연구개발 목표는 일정에 맞추어 성실하게 수행됨. 연구개발 성과의 경우 비SCI 논문 1건을 제외한 모든 성과를 만족시켰으며 특히, 특허 등록, 고용창출 등은 조기 달성함. 비SCI 논문의 경우 논문 심사의 지연으로 인한 문제로, 큰 문제없이 곧 달성할 수 있다고 판단됨. 계획서 상의 설정된 목표 이외에도 추가 SCI급 논문 2편이 심사 중으로 차년도에는 목표 초과달성이 예상된다.

[후속 연구의 필요]

- 전 세계적으로 올레오젤의 기본 특성 분석 위주로 연구가 진행되고 있지만 본 연구를 통하여 응용 개발에 보다 초점을 맞추으로써 올레오젤 응용 연구에서의 선도적 역할을 하고 있다고 판단되어 이러한 국제적 연구 역량을 유지 및 증가시키기 위한 후속 연구가 필요하다고 판단됨.

○ 특히, 올레오젤을 활용한 유가공 제품 개발, 산패도 저감화, 건강 기능성 규명 연구는 본 연구를 통해서 전 세계적으로 처음 적용된 사례로서 이 후 학문적 관점에서 뿐만 아니라 산업적 응용을 위한 추가 후속 연구가 절대적으로 필요하다고 판단됨.

제 4 장 연구결과의 활용 계획 등

제1절 활용분야 및 활용 방안

- 기존 포화지방을 다량 함유한 제품과 차별화 될 수 있는 불포화지방 고함유 제품 개발로 틈새 시장 개척 가능
- 혼합가공육을 취급하는 육류 가공 산업체에서 우지 대체 소재로 활용하여 원가 상승에 대한 부담없이 건강지향적 제품 생산
- 혼합가공육이외에 올레오젤을 활용한 다양한 육가공 제품 (소시지, 패티, 등) 개발
- 제빵/제과 분야에서 사용되는 쇼트닝, 버터 대신 올레오젤을 활용하여 다양한 베이커리 제품 (빵, 쿠키, 케이크 등)에 적용되어 관련 제품의 포화지방 저감화
- 세포배양기법을 이용한 다양한 물질의 생리활성 분석 및 검증
- 불포화 지방산 함유량 증가로 대사증후군 위험이 낮은 고기 개발
- 올레오젤을 이용한 육류 마블링 및 향미 증진
- 소고기 내부에 포화지방이 높은 동물성 지방 대체 원료로서 식물성 기름으로 제조한 올레오젤 주입 시, 건강에 대한 관심 고조로 식물성 지방을 선호하는 소비자의 니즈 충족
- 올레오젤을 활용하여 제품에서 세사몰 및 녹차추출물 첨가를 통해 산화안정성 증대, 및 유통기한 연장 가능

제2절 기업화 추진방안 및 기술이전

- 이전된 기술을 바탕으로 한 제품 생산으로 새로운 건강 컨셉의 제품군 확보로 관련 매출 기대 및 기업 이미지 증대 기여
- 기존의 우지를 사용한 혼합가공육에서 벗어나, 식물성 우지를 사용한 새로운 건강 컨셉의 제품 출시로 제품 품목의 다각화 및 새로운 매출 창출
- 저포화지방, 고불포화지방 스낵 및 베이커리 제품의 개발로 인한 새로운 시장 창출 및 틈새시장 개척
- 국내외 식품 시장의 개방에 따른 새로운 식품 기술 접목을 통한 국가 식품산업의 기술 경쟁력 확보
- 올레오젤 소재를 활용한 새로운 가공 식품 개발로 우지 제조 업체 및 우지 활용 산업체로의 추가 기술이전 가능
- 새로운 시장 창출 또는 기업 성장에 따른 고용창출 효과 기대
- 지방세포 및 동물실험결과를 바탕으로 건강기능성 함유 올레오젤 식품 홍보
- 지방대사 및 심혈관 질환 관련 유전자 발현 분석 기법의 기술이전

제3절 추가 연구의 필요성 및 타 연구에의 응용

- 국내 농산 자원(rice bran 등)을 활용한 천연 올레오젤레이터개발
- 천연 유래 올레오젤레이터로서 wax를 토대로 한 올레오젤 이외에 polymer를 활용한 새로운 올레오젤 개발로 제품 품질 개선 및 신기능 부여
- 고체 지방이 사용되는 베이커리 및 육류 가공 식품이외에도 포화 지방을 다량 함유한 튀김유(팜유) 대체 소재로서 올레오젤 적용 연구를 확대함으로써 올레오젤 관련 기술의 확대 및 관련 식품 산업의 발전에 기여
- 본 연구에서 적용된 혼합가공육 이외에 현재 품질 상의 문제로 저가로 유통되고 있는 육류(양고기 부위, 등)로의 올레오젤 기술 적용을 통한 부가가치 증대
- Lamb, mutton, silver steak 등의 용도로 소비와 수입이 증가하고 있는 양고기의 경우 특유의 향이 있어, 다양한 풍미를 가미한 올레오젤의 적용으로 flavor, texture 등의 품질 특성 개선
- 미래 식량안보와 동물복지에 대한 우려가 고조되어 식물성 고기 연구가 활발한 가운데 풍미, 결착, 유화제로서 올레오젤의 접목
- 올레오젤에 대한 세사물의 우수한 항산화 효과 결과를 토대로, 불포화지방을 함유한 다양한 식품으로의 세사물 적용성 연구 확대 가능
- 올레오젤을 고기에 주입 시 보다 균일하게 분포시킬 수 있는 효과적인 주입 방식으로의 연구 확대 필요

제 5 장 참고문헌

- AACC International. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 10-52.02. Baking Quality of Cookie Flour -- Micro Method. Approved December 3, 2008. AACC International, St. Paul, MN, U.S.A. <http://dx.doi.org/10.1094/AACCIntMethod-10-52.02>
- Ailhaud, G., Guesnet, P., & Cunnane, S. C. (2008). An emerging risk factor for obesity: does disequilibrium of polyunsaturated fatty acid metabolism contribute to excessive adipose tissue development. *British Journal of Nutrition*. 100(3): 461-470.
- Alves, M. G., Moreira, Â., Guimarães, M., Nora, M., Sousa, M., Oliveira, P. F., & Monteiro, M. P. (2017). Body mass index is associated with region-dependent metabolic reprogramming of adipose tissue. *BBA clinical*. 8: 1-6.
- AOCS (2006). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (4th ed.). Champaign. IL: AOCS Press.
- Barbut, S., Wood, J., & Marangoni, A. (2016). Potential use of organogels to replace animal fat in comminuted meat products. *Meat science*. 122: 155-162.
- Batista, Â. G., da Silva-Maia, J. K., Mendonça, M. C. P., Soares, E. S., Lima, G. C., Junior, S. B., ... & Júnior, M. R. M. (2018). Jaboticaba berry peel intake increases short chain fatty acids production and prevent hepatic steatosis in mice fed high-fat diet. *Journal of Functional Foods*. 48: 266-274.
- Camp, H. S., Ren, D., & Leff, T. (2002). Adipogenesis and fat-cell function in obesity and diabetes. *Trends in molecular medicine*. 8(9): 442-447.
- Cui, M., Kim, H. Y., Lee, K. H., Jeong, J. K., Hwang, J. H., Yeo, K. Y., ... & Park, K. Y. (2015). Antiobesity effects of kimchi in diet-induced obese mice. *Journal of Ethnic Foods*. 2(3): 137-144.
- Edem, D. O., & Akpanabiatu, M. I. (2006). Effects of palm oil - containing diets on enzyme activities of rats. *Pakistan Journal of Nutrition*. 5(4): 301-305.
- Friedman, M. (2013). Rice brans, rice bran oils, and rice hulls: composition, food and industrial uses, and bioactivities in humans, animals, and cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 61(45): 10626-10641.

- Gao, Z. H., Crowley, W. R., Shukla, A. J., Johnson, J. R., & Reger, J. F. (1995). Controlled release of contraceptive steroids from biodegradable and injectable gel formulations: *in vivo* evaluation. *Pharmaceutical research*. 12(6): 864-868.
- Ghorab, M. M., Abdel-Salam, H. M., El-Sayad, M. A., & Mekhel, M. M. (2004). Tablet formulation containing meloxicam and β -cyclodextrin: mechanical characterization and bioavailability evaluation. *Aaps Pharmscitech*. 5(4): 63-68.
- Grace, D. A. V. I. D., Rogers, J. A. M. E. S., Skeith, K. E. N. N. E. T. H., & Anderson, K. E. I. T. H. (1999). Topical diclofenac versus placebo: a double blind, randomized clinical trial in patients with osteoarthritis of the knee. *The Journal of rheumatology*. 26(12): 2659-2663.
- Imafidon, K. E., & Okunrobo, L. O. (2012). Study on biochemical indices of liver function tests of albino rats supplemented with three sources of vegetable oils. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*. 20(2): 105-110.
- Issara, U., & Rawdkuen, S. (2016). Rice bran: a potential of main ingredient in healthy beverage. *International Food Research Journal*. 23(6).
- Kang, L., Liu, X. Y., Sawant, P. D., Ho, P. C., Chan, Y. W., & Chan, S. Y. (2005). SMGA gels for the skin permeation of haloperidol. *Journal of controlled release*. 106(1-2): 88-98.
- Kim, K. B. (2014). Anti-obesity effect of EGCG and glucosamine-6-phosphate through decreased expression of genes related to adipogenesis and cell cycle arrest in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Nutrition and Health*. 47(1): 1-11.
- Li, K. K., Liu, C. L., Shiu, H. T., Wong, H. L., Siu, W. S., Zhang, C., ... & Ko, C. H. (2016). Cocoa tea (*Camellia ptilophylla*) water extract inhibits adipocyte differentiation in mouse 3T3-L1 preadipocytes. *Scientific reports*. 6: 20172.
- Lim, P. F. C., Liu, X. Y., Kang, L., Ho, P. C. L., Chan, Y. W., & Chan, S. Y. (2006). Limonene GPI/PG organogel as a vehicle in transdermal delivery of haloperidol. *International journal of pharmaceutics*. 311(1-2): 157-164.
- Lorente-Cebrián, S., Bustos, M., Marti, A., Martinez, J. A., & Moreno-Aliaga, M. J. (2009). Eicosapentaenoic acid stimulates AMP-activated protein kinase and increases visfatin secretion in cultured murine adipocytes. *Clinical Science*. 117(6): 243-249.
- Madsen, L., Petersen, R. K., & Kristiansen, K. (2005). Regulation of adipocyte differentiation

and function by polyunsaturated fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Molecular Basis of Disease*. 1740(2): 266–286.

Mahler, P., Mahler, F., Duruz, H., Ramazzina, M., Liguori, V., & Mautone, G. (2003). Double-blind, randomized, controlled study on the efficacy and safety of a novel diclofenac epolamine gel formulated with lecithin for the treatment of sprains, strains and contusions. *Drugs under experimental and clinical research*. 29(1): 45–52.

Moon, Y. A., Shah, N. A., Mohapatra, S., Warrington, J. A., & Horton, J. D. (2001). Identification of a mammalian long chain fatty acyl elongase regulated by sterol regulatory element-binding proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 276(48): 45358–45366.

Munkong, N., Hansakul, P., Yoysungnoen, B., Wongnoppavich, A., Sireeratawong, S., Kaendee, N., & Lerdvuthisopon, N. (2016). Vasoprotective effects of rice bran water extract on rats fed with high-fat diet. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(9): 778–784.

Murdan, S., Andrýsek, T., & Son, D. (2005). Novel gels and their dispersions—oral drug delivery systems for ciclosporin. *International journal of pharmaceutics*. 300(1–2): 113–124.

Nyblom, H., Björnsson, E., Simrén, M., Aldenborg, F., Almer, S., & Olsson, R. (2006). The AST/ALT ratio as an indicator of cirrhosis in patients with PBC. *Liver International*. 26(7): 840–845.

Palmquist, D. L. (2009). Omega-3 fatty acids in metabolism, health, and nutrition and for modified animal product foods. *The Professional Animal Scientist*, 25(3): 207–249.

Panagiotopoulou, E., Moschakis, T., & Katsanidis, E. (2016). Sunflower oil organogels and organogel-in-water emulsions (part II): Implementation in frankfurter sausages. *LWT–Food Science and Technology*. 73: 351–356.

Rabkin, S. W., & Lodha, P. (2009). Stearic acid induced cardiac lipotoxicity is independent of cellular lipid and is mitigated by the fatty acids oleic and capric acid but not by the PPAR agonist troglitazone. *Experimental physiology*. 94(8): 877–887.

Robinson, R. C. (1955). Plastibase, a hydrocarbon gel ointment base. *Bulletin of the School of Medicine (Baltimore, Md.)*. 40(3): 86.

Roiaini, M., Ardiannie, T., & Norhayati, H. (2015). Physicochemical properties of canola oil, olive oil and palm olein blends. *International Food Research Journal*. 22(3): 1227.

- Rosenquist, K. J., Pedley, A., Massaro, J. M., Therkelsen, K. E., Murabito, J. M., Hoffmann, U., & Fox, C. S. (2013). Visceral and subcutaneous fat quality and cardiometabolic risk. *JACC: Cardiovascular Imaging*. 6(7): 762-771.
- Sanders, F. W., & Griffin, J. L. (2016). De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biological Reviews*. 91(2): 452-468.
- Shi, R., Zhang, Q., Vriesekoop, F., Yuan, Q., & Liang, H. (2014). Preparation of organogel with tea polyphenols complex for enhancing the antioxidation properties of edible oil. *Journal of agricultural and food chemistry*. 62(33): 8379-8384.
- Tishinsky, J. M., Ma, D. W., & Robinson, L. E. (2011). Eicosapentaenoic acid and rosiglitazone increase adiponectin in an additive and PPAR γ dependent manner in human adipocytes. *Obesity*. 19(2): 262-268.
- Vintiloiu, A., & Leroux, J. C. (2008). Organogels and their use in drug delivery—a review. *Journal of controlled release*. 125(3): 179-192.
- Wakil, S. J., & Abu-Elheiga, L. A. (2009). Fatty acid metabolism: target for metabolic syndrome. *Journal of lipid research*. 50(Supplement): S138-S143.
- Wongchitrat, P., Klosen, P., Pannengetch, S., Kitidee, K., Govitrapong, P., & Isarankura-Na-Ayudhya, C. (2017). High-fat diet - induced plasma protein and liver changes in obese rats can be attenuated by melatonin supplementation. *Nutrition Research*. 42: 51-63.
- Woods, S. C., Seeley, R. J., Rushing, P. A., D'Alessio, D., & Tso, P. (2003). A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *The Journal of nutrition*. 133(4): 1081-1087.
- Zuo, Y., Qiang, L., & Farmer, S. R. (2006). Activation of CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) α expression by C/EBP β during adipogenesis requires a peroxisome proliferator-activated receptor- γ -associated repression of HDAC1 at the C/ebpa gene promoter. *Journal of biological chemistry*. 281(12): 7960-7967.