

최 종
연구보고서

GA0391-0237

누에고치 수요확대를 위한 식품소재
개발 및 응용연구

Food material development from cocoon
and application for demand enlargement

연구기관

한국식품개발연구원

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “누에고치 수요확대를 위한 식품소재 개발 및 응용 연구”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003. 8. 13.

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 임 성 일

연 구 원 : 최 신 양

연 구 원 : 김 성 수

연 구 원 : 전 향 숙

연 구 원 : 이 종 경

연 구 원 : 곽 은 정

연 구 원 : 이 효 민

연 구 원 : 이 장 은

요 약 문

I. 제목

누에고치 수요확대를 위한 식품소재 개발 및 응용연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

- 누에하면 흔히 실크, 즉 고급 견사를 떠올린다. 지난 6, 70년대만 하더라도 잠업 생산량은 줄잡아 113만 상자, 우리나라 수출총액 10%를 차지해 효자산업으로서의 역할을 톡톡히 했다. 그러나 의복문화가 실용적인 흐름을 타면서 누에의 쓰임은 점점 줄어들고 생산량은 3만 상자까지 떨어져 양잠농가들이 격심한 경제적 어려움에 직면하게 되었으며 잠업은 쇠퇴의 길을 넘어서 존폐위기에 처하게 되었다. 이와 같이 산견량이 급격히 감소함에 따라 누에고치의 이용성 확대방안이 절실히 요구되는 시점에 이르렀다.
- 소화성이 낮은 단백질이 식물섬유와 같은 작용을 나타내는 것이 이상한 것은 아니지만 그 가능성을 나타내는 증거가 발견된 것은 최근의 일이다.
- 예를 들면 메밀 단백질의 혈중 콜레스테롤 저하작용에 관한 기사를 조사한 결과, 단백질의 소화성이 낮은 점이 이에 관여하는 것으로 밝혀져 1997년에 레지스턴트 단백질(resistant protein)이라고 하는 개념이 제안된 바 있다. 또한 대장 내에서의 발효성이 섭취된 식이단백질의 소화성에 의존한다는 것이 밝혀짐으로서 레지스턴트 단백질이라는 용어가 도입되었다. 이러한 일련의 단백질의 소화성이 낮다는 점이 생리적으로 중요한 역할을 나타내고 있어 식물 섬유와 유사하다.
- 누에고치 역시 이러한 맥락에서 레지스턴트 단백질로서 중요한 생리 기능성 물질로서 대두되고 있다. 누에견사는 코아부분의 fibroin과 주변의

sericin이라는 수용성 단백질로 구성되어 있다. 누에고치를 견직물로서 이용할 경우는 sericin을 제거하고 fibroin만을 사용하고 있다.

- Sericin은 견사의 약 30%에 상당한 양으로서 예로부터 섬유업계에서는 그 이용성이 요망되어 왔고 레지스틴트 단백질로서의 기능성을 부각시킨 식품 및 의약품, 화장품으로의 이용성에 대해 기대되어 왔다.
- 이러한 현실에서 본 연구팀은 누에고치로부터 레지스틴트 단백질을 추출하고 이의 기능성을 체계적으로 밝혀 이를 이용한 2차 가공공정을 개발함으로써 국민의 건강 증진은 물론, 누에고치의 소비율을 높임으로서 누에 부산물인 고치의 부가가치를 향상시켜 양잠농가의 소득증진과 누에 종자 보존사업에 기여하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

가. 누에고치 수요확대를 위한 식품소재 개발 및 제품개발

1. 누에고치의 생리기능성 물질 탐색
 - 고치로부터 난분해성 단백질의 제조 및 성분분석
 - 생리기능성 활성의 탐색
2. 식품소재화를 위한 적정 전처리 기술과 활성물질 추출 최적화 공정 확립
 - 레지스틴트 단백질의 용매별 추출효율 측정
 - 추출물의 특성
 - 수율을 고려한 최적 대량 추출조건 설정
3. 누에고치로부터 레지스틴트 단백질의 분리 및 정제
 - 누에고치로부터 단백질의 분리·정제 및 동정

4. 레지스턴트 단백질의 대량추출 공정 확립

- 정제 단백질의 활성 검증 결과를 바탕으로 한 대량 추출공정 확립

5. 레지스턴트 단백질을 이용한 식품 및 가공원료 소재 개발

- 분말소재 개발
- 농축물 형태의 소재개발

6. 레지스턴트 단백질을 이용한 식품 개발

- 기능성 음료 개발 및 제조공정 확립

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

누에고치의 생리 기능성 물질 탐색 및 식품 소재화를 위한 적정 전처리 기술과 활성물질 추출 최적화 공정 확립을 위하여 누에고치의 성분을 분석하고 고치로부터 다양한 공법으로 sericin을 추출하여 sericin 함량을 평가함으로써 최적추출방법을 정립하였다. 그리고 spray dry 한 sericin을 대상으로 변비개선 효과와 tyrosinase 활성을 측정한 결과, sericin 투여군의 rat에서 변의 수분함량과 변의 건조중량이 증가하여 변비 개선효과가 우수한 것으로 나타났으며 tyrosinase 저해 활성에서도 sericin 무첨가군 보다 1.0% 첨가군에서 tyrosinase 저해활성이 약 2배정도 높은 것으로 나타나 sericin이 미백효과가 있는 결과를 얻었다. 누에고치(4 g/100 mL)을 100℃에서 30분간 가열하여 얻은 sericin 추출물은 상기와 같은 기능성이 우수하며 점성이 뛰어나고 수분흡수력이 있는 점을 이용하여 젤리제품, 졸 음료, 장류를 제조하였으며 동결건조분말을 이용하여 미용팩을 제조하고 제품의 제조공정을 확립하였다. 한편, sericin 추출물의 합성섬유에 대한 수분흡수력은 섬유산업에의 이용 가능성도 있을 것으로 보인다.

이상 본 연구로 얻어진 결과를 바탕으로 세리신을 유효성분으로

포함하는 젤리 또는 음료 조성물(출원번호 10-2003-0053874) 그리고 누에고치로부터 추출된 세리신 단백질을 함유하는 미용팩 조성물(출원번호 10-2003-0053873)로 특허를 출원한 바 있으며 추후 산업계와 연계하여 기술이전을 모색할 예정이다.

SUMMARY

I. Title

Food material development from cocoon and application for demand enlargement

II. Objectives and importance

- Silkworm produces silk or high quality silk-thread. In 1960s and 1970s, the sericulture produced approximately 1,130,000 boxes annually and accounted for 10% of the total export sum. However, as clothes trend changes for practical use, the usage of silkworm decreases and the production has gone down to 30,000 boxes. The silk-farmers are under economic difficulty and the sericultural industry meets the crisis of maintenance or abolition. Now, the decrease of silk production amount requires to plan for usage enlargement of cocoon.
- It has been recently shown that some proteins, which have low digestibility, have a possibility to have a function similar to plant fiber.
- As an example, the mechanism of cholesterol-lowering effect of buckwheat protein is related to the low digestibility of the protein and the concept of 'resistant protein' was proposed in 1997. In addition, it has been proved that fermentability in colon depends on the digestibility of ingested fiber protein and the concept of 'resistant protein' was introduced. The low digestibility of these proteins play an important role physiologically and is similar to plant fiber.
- Cocoon comes to the front as resistant protein and is a physiological

functional material. Silk-thread consists of fibroin in the core and water-soluble sericin. When cocoon is utilized for silk fabrics, sericin is removed and fibroin is used.

- Sericin accounts for 30% in silk-thread and the value in use has been expected in the textile industry from old times. Moreover, it has been anticipated the usage of sericin as resistant protein in food, medicine, cosmetics, which has a prominent functionality.
- The aim of this research is directed to extract resistant protein from cocoon, investigate systematically the function(s) and develop the second processing for promotion of public health, income increase of silk-farmer by consumption and value added increase of cocoon and contribution for the strain preservation project.

III. The scope and contents of research

A. Food material development and product development for demand enlargement

1. Screening of biofunctional material from cocoon

- Manufacturing indigestible protein from cocoon and component analysis
- Screening of biofunctional activity

2. Pre-treatment technology for food materialization and establishment of optimized extraction processing of active material

- Measurement of resistant protein extraction efficiency according to solvent

- Extract property
- Establishment of optimized mass yield extraction condition
- 3. Separation and purification of resistant protein from cocoon
 - Separation, purification and identification of resistant protein from cocoon
- 4. Establishment of mass extraction processing of resistant protein
 - Mass extraction processing based on the result from purified protein activity
- 5. Food and processing source material development using resistant protein
 - Powder material development
 - Material development of concentrated form
- 6. Food development using resistant protein
 - Development of functional drink and establishment of manufacturing process

IV. Results and recommendation

Cocoon components were analyzed for screening of biofunctional material and the establishment of pre-treatment and processing optimization of active material extraction for food materialization. Sericin was extracted from cocoon and the optimized extraction method was decided by measurement of sericin content. The effect of spray dried sericin on the improvement in constipation in rat sericin injected was

observed with an increase in fecal water content and dried fecal mass. Tyrosinase inhibition activity was two-folds in 1.0% sericin added in comparison to the untreated control, therefore, sericin has an effect on whitening. Sericin extract, which was acquired after boiling at 100°C for 30 min from cocoon (4 g/ 100 ml), has effects of improvement of constipation and whitening function as above. Jelly product, sol drink, and soybean paste product were manufactured using the property of high viscosity and high water absorption force. In addition, a beauty pack was manufactured using the freeze-dried powder and the manufacturing processing was established. Meanwhile, sericin extract with high water absorption force on synthetic fiber can be used in textile industry.

A couple of patents have been applied with the results above about jelly, sol drink and beauty pack using sericin protein powder and the technology transference to the industry is going to be fulfilled.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction -----	11
Section 1. Purpose of the research -----	11
Section 2. Scope and contents of the research -----	16
Chapter 2. Screening of biofunctional materials from silkworm and establishment of mass extraction process -----	17
Section 1. Materials and Methods -----	17
Section 2. Results and Discussion -----	22
Chapter 3. Product development using sericin -----	45
Section 1. Materials and Methods -----	45
Section 2. Results and Discussion -----	49
References -----	81

목 차

제 1장	서론	-----11
제 1절	연구개발의 목적	-----11
제 2절	연구개발의 내용 및 범위	-----16
제 2장	누에고치의 생리기능성 물질 탐색 및 대량 추출공정 확립	-----17
제 1절	실험재료 및 방법	-----17
제 2절	결과 및 고찰	-----22
제 3장	Sericin을 이용한 제품개발	-----45
제 1절	실험재료 및 방법	-----45
제 2절	결과 및 고찰	-----49
참고문헌		-----81

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 기술적 측면

- 예로부터 영양학에서는 영양결핍을 방지하는 것이 중요한 연구과제의 하나로서 영양소의 소화율(이용효율)이 하나의 영양평가의 대상이 되어 왔다.
- 그러나, 최근에는 영양과잉에 의한 비만이나 당뇨병 등의 문제가 발생하여, 영양저해물질이나 식물섬유, 소화성이 낮은 영양소재와 같은 resistant starch 등의 연구가 왕성하게 이루어지고 있다. 소화성이 낮은 것이 경우에 따라서는 건강에 유익하기 때문이다.
- 소화성이 낮은 단백질이 식물섬유와 같은 작용을 나타내는 것이 이상한 것은 아니지만 그 가능성을 나타내는 증거가 발견된 것은 최근의 일이다.
- 예를 들면 메밀 단백질의 혈중 콜레스테롤 저하작용에 관한 기작을 조사한 결과, 단백질의 소화성이 낮은 점이 이에 관여하는 것으로 밝혀져 1997년에 레지스턴트 단백질이라고 하는 개념이 제안된 바 있다.
- 또한 대장 내에서의 발효성이 섭취된 식이단백질의 소화성에 의존한다는 것이 밝혀짐으로서 레지스턴트 단백질이라는 용어가 도입되었다
- 이러한 일련의 단백질의 소화성이 낮다는 점이 생리적으로 중요한 역할을 나타내고 있어 식물 섬유와 유사하다.
- 누에고치 역시 이러한 맥락에서 레지스턴트로서 중요한 생리 기능성 물질로서 대두되고 있다.
- 누에견사는 코아부분의 fibroin과 주변의 sericin이라는 수용성 단백질로

구성되어 있다. 누에고치를 견직물로서 이용할 경우는 sericin을 제거하고 fibroin만을 사용하고 있다.

- Sericin은 견사의 약 30%에 상당한 양으로서 예로부터 섬유업계에서는 그 이용성이 요망되어 왔고 레지스턴트 단백질로서의 기능성을 부각시킨 식품 및 의약품, 화장품으로의 이용성에 대해 기대되어 왔다.
- 본 연구팀은 누에고치로부터 sericin 추출기술을 확립하고 sericin의 물리적, 기능적인 면을 고려한 식품 및 화장품으로의 이용가능성을 타진하여 최종적으로는 sericin을 이용한 제품을 개발하고자 한다.
- 누에고치로부터 새로운 생리활성 물질을 창출하고 독특한 기능성 식품으로 개발하려면, 먼저 단백질의 분리정제 기술과 생리활성의 측정에 대한 경험을 축적하고 있어야 한다.
- 본 연구팀은 이러한 기술과 경험을 축적하고 있어, 이를 바탕으로 누에고치로부터 생리 활성물질을 개발하고 이를 바로 가공식품으로 연계할 수 있는 시스템을 구축하고 있어 정확한 활성 물질을 근간으로 하는 기능성 식품을 개발할 수 있다.
- 이렇게 학문적 결과를 응용하여 상업적 제조를 위한 가공기술 연구에 적용하는 시스템을 이용하면 독자적인 기능을 가진 제품개발을 위한 노하우를 축적할 수 있으며, 개발된 기술을 다양한 식품가공에 적용하고 관련기관에 보급하면 양잠자원을 이용한 제품개발의 저변을 확대할 수 있을 것이다.

2. 경제 · 산업적 측면

- 누에하면 흔히 실크, 즉 고급 견사를 떠올린다. 지난 6, 70년대만 하더라도 잠업 생산량은 줄잡아 113만 상자, 우리나라 수출총액 10%를 차지해 효자산업으로서의 역할을 톡톡히 했다. 그러나 의복문화가 실용적인 호

름을 타면서 누에의 쓰임은 점점 줄어들고 생산량은 3만 상자까지 떨어
져 양잠농가들이 격심한 경제적 어려움에 직면하게 되었으며 잠업은 쇠
퇴의 길을 넘어서 존폐위기에 처하게 되었다.

- 통계청 자료에 의하면 우리나라의 소잠량은 1993년 70,640 상자에서
1998년 54,228 상자로 매년 생산량이 서서히 감소하고 있는 추세이고 산
견량은 1993년 1,723 톤에서 1998년 5.2 톤으로 급격히 감소하였다.
- 이와 같이 산견량이 급격히 감소함에 따라 누에고치의 이용성 확대방안
이 절실히 요구되는 시점에 이르렀다.
- 우리나라의 누에 사용량은 지난 95년 35,000 상자에서 97년 54,362상자로
72%나 증가하였다. 누에가 혈당 강하용 기능성소재로 이용됨에 따라 새
로운 수요가 창출되어 양잠농가에게 높은 소득증대 효과를 가져왔기 때
문이다. 또한 누에 번데기를 이용한 동충하초의 생산체제가 확립됨에 따
라 고기능성, 고부가가치의 재료로서 기대되고 있다.
- 그러나 누에 부산물로서 생성되는 고치는 레지스틴트 단백질로서의 기능
성을 부각시킨 식품 및 의약품, 화장품으로의 이용성에 대해 기대되어
왔으나 아직까지 그 이용성에 대한 연구가 전무한 상태이다.
- 이러한 현실에서 본 연구팀은 누에고치로부터 레지스틴트 단백질을 추출
하고 이의 기능성을 체계적으로 밝혀 이를 이용한 2차 가공공정을 개발
함으로써 국민의 건강 증진은 물론, 누에고치의 소비율을 높임으로서 누
에 부산물인 고치의 부가가치를 향상시켜 양잠농가의 소득증진과 누 에
종자 보존사업에 기여하고자 한다.

표 1. 뽕밭면적 및 고치 생산량

년 도	양잠호수	뽕밭면적(ha)	소잠량(상자)	산견량(t)	수매량(t)
1993	10,830	4,211	70,640	1,723	1,664
1994	6,543	2,926	36,842	911	872
1995	4,548	2,059	31,627	210	210
1996	4,173	1,435	49,492	11.8	11.8
1997	4,225	1,163	54,410	8.8	8.8
1998	3,618	1,037	54,228	5.2	5.2

자료 : 농산물유통국

3. 사회·문화적 측면

- 현대 의학의 발전으로 평균수명이 계속적으로 증가하고 있는 반면 노화의 주범으로 음식을 산화시킬 때 필연적으로 발생하는 부산물인 활성산소라디칼을 항산화제를 섭취하므로써 활성산소라디칼의 작용을 차단하는 항산화제 관련 식품을 노인들은 충분히 섭취해야 한다고 노인 전문요양기관에서는 권고하고 있다.
- 또한 식생활 패턴이 서구화되고 스트레스로 인한 성인병, 노인성 질환 등이 계속적으로 증가하는 추세에서 이러한 질환의 예방과 치료차원에서 생리활성 물질을 다량 함유한 기능성식품에 대한 관심과 수요의 잠재력이 매우 높다고 할 수 있다. 그러나 건강 지향적 기능성 식품의 수요증가에 따라 과학적 근거가 없이 건강보조 식품 및 특수영양 식품이 범람하고 있어 오히려 국민의 건강을 해칠 우려가 있으므로 정확한 생리활성

- 을 기반으로 하는 기능성 식품의 개발이 절실히 요구된다고 할 수 있다.
- 연구 대상을 선정할 때 희귀하거나 생산이 어려운 자원을 선정하기보다는 과잉 생산되는 원료를 손쉽게 수집할 수 있고, 생산물 자체의 부가가치를 높일 수 있는 자원을 선택하는 것이 중요하며, 농가에 재배할 동기를 부여함으로써 농민의 소득원으로 이용할 수 있게 하는 연계 의식이 필요하다.
 - 이러한 맥락에서 누에 부산물인 고치는 상기와 같은 조건을 충족시킬 수 있는 우수한 농산자원이라 할 수 있다. 난소화성 레지스틴트 단백질은 변비 개선이나 대장의 활성산소를 억제(대장암 발현 억제) 할 수 있을 것으로 기대되며 이러한 기능성을 과학적이고 체계적으로 밝혀 관련 제품을 개발함으로써 국민 건강에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

제 2절 연구개발 내용 및 범위

연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
<p>o 누에고치의 생리기능성 물질 탐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 고치로부터 난분해성 단백질의 제조 및 성분 분석 - 생리기능성 활성의 탐색 <ul style="list-style-type: none"> · 변비개선능 · 항산화 활성 측정
<p>o 식품소재화를 위한 적정 전처리 기술과 활성물질 추출 최적화 공정 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 레지스턴트 단백질의 용매별 추출효율 측정 - 추출물의 특성 - 수율을 고려한 최적 대량 추출조건 설정
<p>o 누에고치로부터 레지스턴트 단백질의 분리 및 정제</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 누에고치로부터 단백질의 분리·정제 및 동정
<p>o 레지스턴트 단백질의 대량 추출공정 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 정제 단백질의 활성 검증 결과를 바탕으로 한 대량 추출공정 확립
<p>o 레지스턴트 단백질을 이용한 식품 및 가공원료 소재 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 분말소재 개발 - 농축물 형태의 소재개발
<p>o 레지스턴트 단백질을 이용한 식품 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 기능성 음료 개발 및 제조공정 확립 - 레지스턴트 단백질을 이용한 장류의 개발

제 2 장 누에고치의 생리기능성 물질 탐색 및 대량 생산

제 1 절 실험재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 누에고치는 농촌진흥청 잠사곤충부(수원)로부터 누에를 제거한 고치(출각현)을 구매하여 사용하였다.

2. 일반성분 분석

수분, 회분, 조단백질, 조지방은 일반 상법에 준하여 측정하였다.

3. 누에고치로부터 sericin의 추출

Sericin의 추출은 고치 중량 대비 증류수를 50배 가하여 80℃, 100℃, 120℃에서 30분간 가열하여 가용화시키고 fibroin을 glass filter를 이용하여 제거한 후 단백질 함량을 측정하였다.

4. 단백질 함량 측정

시료용액 1mL에 5배 희석한 Bredford 시약(Sigma사) 5 mL를 가한 후, 잘 혼합하여 5분간 방치한 다음, 1시간 이내에 증류수를 대조로 595 nm의 흡광도를 측정하여 bovain serum albumin(Sigma사)로 작성한 standard curve로부터 단백질 함량을 정량하였다.

5. Sericin의 in vitro 소화율

Sericin의 장내 효소에 의한 in vitro 소화율을 hamastein casein과 비교평가하기 위하여 먼저 0.6%의 H. casein과 sericin을 pH 7.5가 되게 조절하고 장내효소인 trypsin, chymotrypsin, pancreatin 이상 세 효소를 sigma 사로부터 구매하여 이용하여 가수분해정도를 측정하였다. 단백질의 가수분해는 Hagihara의 방법에 준하여 효소액 0.5 mL에 0.1M phosphate buffer(pH 7.5) 1 mL 가한 다음, 기질용액(H. casein 또는 sericin)을 넣고 37°C에서 10, 20, 30 분간 반응시켰다. 반응 후 0.44 M trichloroacetic acid 2.5 mL를 넣어 반응을 중지시키고 실온에서 10분간 방치 한 다음, 원심분리시켜 상등액(가수분해 산물, 펩타이드) 1 mL에 0.55M Na₂CO₃ 용액 10 mL와 1 mL의 1 N Folin-ciocalteu 용액을 넣어 37°C에서 30분간 발색시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. OD 660 nm의 흡광도를 비교하여 sericin의 장내효소에 의한 가수분해 정도를 측정함으로써 소화율을 평가하였다.

6. Sericin 단백질의 회수

Sericin의 회수는 3가지의 방법으로 실험하였다. 먼저, 고치추출물을 40°C까지 실온에서 냉각한 후 메탄올을 10~70%가 되게 조절하고 10°C에서 저온 저장한 후 고형물을 원심분리(10,000 rpm, 10분간)하여 분리하여 단백질 함량을 측정하였으며 pH 변화에 의한 sericin의 분리는 pH 범위를 3.5~5.0로 조절하여 sericin을 침전시키고 원심분리를 이용하여 단백질을 회수·정량하였다. 그리고 spray dry에 의한 sericin의 추출은 130°C에서 sericin 추출용액을 분사시

키고 회수되는 건조물의 무게로 단백질 함량을 측정하였다.

7. 점도 측정

고치를 50 배량의 증류수에 넣고 100℃에서 30분간 sericin을 추출한 후 냉각시킨 다음, Haake Viscometer를 이용하여 20℃, 30℃, 40℃, 50℃로 내부온도를 상승시키면서 300초간 sericin 용액의 점도를 측정하였다.

8. 전기영동(SDS-PAGE)

고치 추출물의 분자량 pattern을 알아보기 위하여 Laemmli의 방법에 준하여 sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 수행하였다. Coomassie brilliant blue R-250[Coomassie brilliant blue R-250 2.5 g/L의 methanol:acetic acid:water=5:1:5(v/v/v) 용액]을 사용하여 염색하고, 탈색은 용액 I [methanol:acetic acid:water=5:1:5(v/v/v)]로 15분간 세척후, 용액 II [methanol:acetic acid:water=2:1:7 (v/v/v)]로 30분, 10% acetic acid로 하루 밤 동안 탈색하였다. 이때 gel은 Sigma사로부터 구입하였으며 stacking gel과 separating gel(Sigma사)의 농도는 각각 4.5%, 10%였다. 분자량 marker는 Sigma사로부터 구입한 prestaining marker로서 phosphorylase B(102 kDa), bovine serum albumin(81 kDa), ovalbumin(46.9 kDa), carbonic anhydrase(32.7 kDa), soybean trypsin inhibitor(30.2 kDa), egg lysozyme(24 kDa)이 혼합된 것을 사용하였다.

9. 변비억제 효능

약 100g의 쥐에 일반 사료를 12일 간 섭취시킨 다음 7일 동안 casein을 24% 혼합한 사료와 casein 20%+sericin 단백질 4%를 혼합한 사료를 섭취시켰다. Atropin의 복강주사는 쥐의 사료 섭취량을 줄이므로 실험 마지막 시점에 0.5mg/kg의 양을 주사하고 대조군은 생리식염수를 주사하였다. 배설물의 채취는 atropin을 복강 주사한 후 12시간 동안 채취하였다. 이때, 배설물은 마르지 않게 재빨리 취하여 수분함량을 측정하고 다음 60℃에서 24시간 동안 건조하여 건조량을 측정함으로써 변비억제 효능을 측정하였다.

10. Tyrosinase 저해활성

Ascorbic acid나 kojic acid 등의 항산화제의 대부분은 멜라닌 색소의 생합성도 억제한다. 원래 멜라닌 색소 자신이 피부의 활성산소의 증가를 억제하는 항산화제로서 기능을 하고 멜라닌 색소의 축적은 태양의 자외선에 의한 활성산소의 증가를 억제하는 일종의 방어기작이다. 항산화제가 존재하면 멜라닌 색소의 생합성계의 증가는 필요없게 되고 결과적으로 미백과 연계된다고 할 수 있다. 멜라닌 색소의 생합성에 관여하는 효소가 tyrosinase이다. 이 효소의 활성에 대해서 sericin이 저해작용을 나타내는지의 여부를 검증하기 위해 Nagatu의 방법에 준하여 0.5% 또는 1.0%의 sericin을 사용하였다. 즉 0.5% 또는 1.0%의 sericin 첨가구와 무첨가구로 나누어 버섯 tyrosinase(EC 1.14.18.1, Sigma, USA) 50 µg을 함유한 0.06 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.5 mL에서 30℃, 10분간 반응시켜 L-3,4-dihydro-phenylalanine의 산화정도를 spectrophotometer를 이

용하여 475 nm의 흡광도를 측정하였다.

11. Lipid peroxidation 저해활성

Lipid peroxidation은 thiobarbituric acid 반응물질(TBARS)을 측정함으로써 결정하였다. Sericin의 in vitro 항산화력을 측정하기 위하여 rat brain homogenate 한 것을 사용하였다. 먼저 얼음상의 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)에 10%의 rat brain을 균질화시키고 이 균질물 0.5 mL에 sericin 또는 bovine serum albumin이 혼합된 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)를 3.5 mL를 혼합하고 37°C에서 120분간 인큐베이션 시킨다. 인큐베이션 후 2.5 mL의 8% TCA와 2 mL의 0.67% thiobarbituric acid를 인큐베이션 샘플 0.5 mL과 혼합하고 95°C에서 15분간 가열한다. 이것을 1,000 g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 TBARS를 분석하기 위해 532 nm의 흡광도를 측정한다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. 누에고치의 구조 및 성분

가. 누에고치의 구조 및 일반성분

누에고치는 그림 1에서와 같이 두 가닥의 fibroin과 주변의 sericin으로 이루어져 있으며 일반성분을 분석한 결과 표 2에서와 같이 85% 이상이 단백질로 이루어져 있었다.

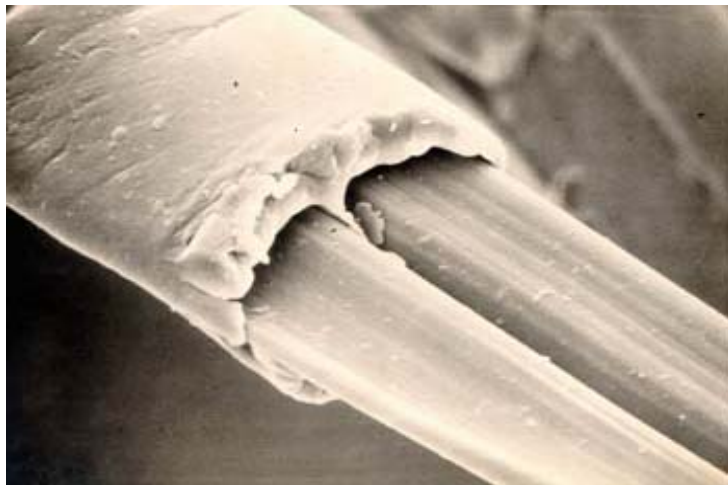


그림 1. 누에고치 견사의 단면도

표 2. 누에고치의 일반성분

(단위 : %)

수분	회분	단백질	조지방
8.52	1.84	85.4	0.12

나. 누에고치 단백질의 아미노산 분석

누에고치를 100℃에서 30분간 열수 추출하게 되면 가용성의 sericin과 불용성의 fibroin을 분리할 수 있다. 분리된 두 단백질의 아미노산을 분석한 결과 표 3에서와 같이 sericin의 경우, serine이 약 30%로 많은 양이 검출되었으며, threonine과 합하면 수산기를 가진 아미노산 함량은 약 40%에 달한다. 이와 같이 수산기(OH기)를 다량 함유하기 때문에 sericin은 보습성이 뛰어나 화장품 소재로서 유용하다는 것을 예측할 수 있었다.

표 3. 누에고치 구성단백질의 아미노산 조성

아미노산	(mol%)	
	Sericin	Fibroin
Asp	18.0	1.5
Thr	8.1	0.8
Ser	31.0	7.8
Glu	4.4	1.2
Pro	0.4	0.4
Gly	19.2	50.7
Ala	3.8	31.7
Cys	-	-
Val	3.1	2.1
Met	-	-
Ile	0.4	0.4
Leu	0.8	0.2
Tyr	3.3	2.2
Phe	0.2	0.3
His	1.0	0.2
Lys	2.7	0.3
Arg	3.9	0.2

2. Sericin 단백질의 정제

가. SDS-PAGE

10% gel 농도에서 spray dry한 시료, 100℃ 추출물을 동결건조한 시료, 120℃ 추출물을 동결건조한 시료, pH 4.0으로 회수한 시료를 대상으로 전기영동 한 결과(data not shown), 100℃에서 추출한 후 동결건조한 시료는 분자량 100,000에서 47,000을 중심으로 단백질이 검출되었으며, 120℃에서 추출한 후 동결건조한 시료에서는 분자량 중심이 100℃에서 추출한 것보다 분자량이 높은 것으로 나타났으며 spray dry한 시료에서는 100℃에서 추출한 후 동결건조한 pattern과 유사하였으며 pH 4.0에서 단백질을 회수한 것은 전체적으로 가장 높은 분자량 대를 형성하였다. 이러한 결과로부터 sericin은 어떤 특정한 하나의 단백질로 구성된 것이 아니라 다양한 단백질 군으로 형성된 것을 알 수 있었다.

나. 수용성 단백질의 추출 및 농축

60 g의 누에고치를 3 L의 증류수에 넣고 100℃에서 30분간 끓인 후, 실온으로 냉각하고 ammonium sulfate를 70% 포화가 되게 가하여 녹인 후 4℃에서 일야 방치하여 단백질을 응고시켰다. 이를 원심분리하여 회수하고 48시간 투석한 다음, 원심분리하여 상등액을 모우고 동결건조시켜 수용성 단백질을 분획하였다. 60 g의 누에고치로부터 약 100 mg의 수용성 단백질을 회수하였다.

회수한 수용성 단백질과 spray dry 단백질을 전기영동 한 결과 그림 2에서와 같이 스프레이 드라이한 단백질은 대부분 분자량 35,000 이상이었으나 수용성 단백질은 분자량 3,500~7,500 사이의

단백질이 가장 많았으며 전체적으로 약 20,000 이하의 단백질로 이루어진 것으로 나타났다.

다. 수용성 단백질의 open column을 이용한 1차 정제 pattern 및 전기영동

가) Sephadex G-50에 의한 chromatography pattern

Sephadex G-50을 충전시킨 open column (650×25 mm)에 수용성 단백질(50 mg/3 mL)을 loading 하여 0.75 mL/min의 유속으로 크로마토그래피를 수행하였다. 그 결과 그림 3와 같이 fraction number 15, 25, 36, 48, 74에서 peak가 검출되었다. 각 peak 부분의 단백질 분포를 조사하기 위하여 13, 15, 27, 31, 36, 40, 48, 74번 fraction을 전기영동한 결과, 13번 fraction에서는 분자량 35,000과 20,000이 15번 fraction에서는 분자량 35,000이, 27번과 31번 fraction에서는 분자량 20,000이, 36번과 48번 fraction에서는 분자량 3,500~7,000의 단백질이 검출되었으며 각 band의 굵기로부터 단백질량이 가장 많고 단일 밴드에 가까운 것이 36번과 48번 fraction인 것으로 나타났다. 단백질의 아미노산 분석이나 아미노산 배열 분석을 위해서는 단일의 정제단백질이 필수적이므로 2차 chromatography가 수행되어야 할 것이다.

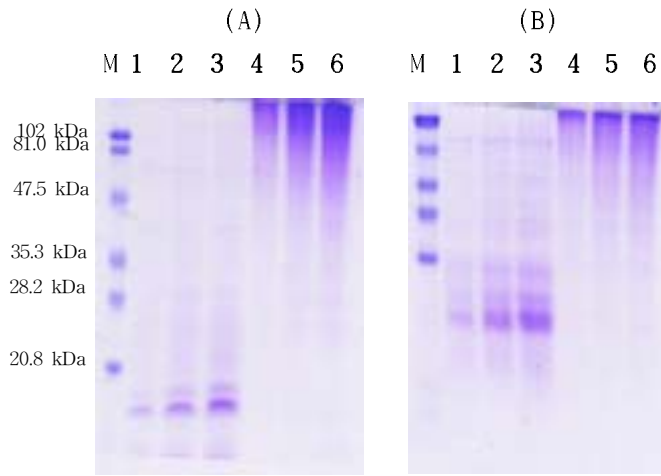


그림 2. 수용성 단백질과 스프레이 드라이 단백질의 전기영동
 (A) 10% acrylamide gel (B) 15% acrylamide gel
 M, Low range standard marker; 1~3,
 수용성 단백질; 4~6, spray dry 단백질

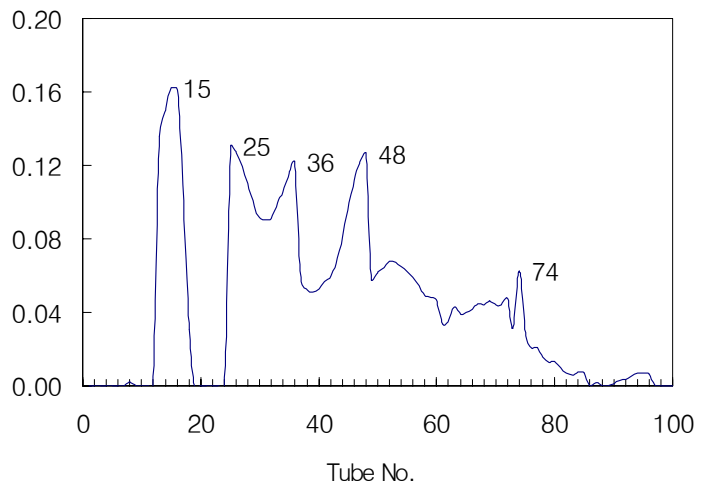
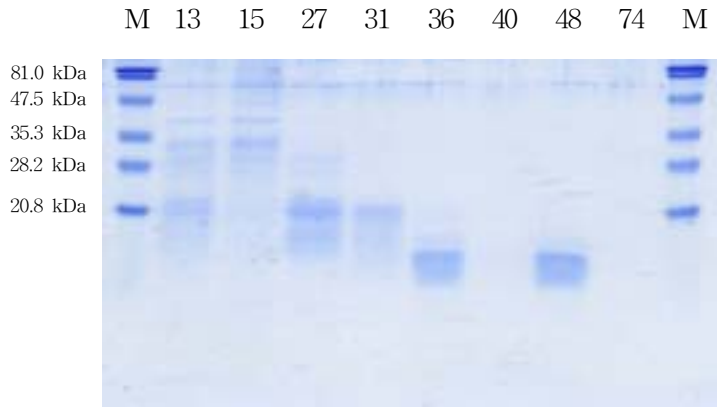


그림 3. 수용성 단백질의 Sephadex G-50 chromatography pattern

나) DEAE-sepharose에 의한 chromatography pattern

Sephadex G-50에 의한 chromatography와 전기영동한 결과 단일밴드로 확인된 단백질이 fraction 되지 않아 순수 정제 단백질을 분획하기 위하여 DEAE-sepharose ion exchange chromatography를 수행하였다(그림 4). 이 때 분석조건으로 column size는 15×250 mm, 유속은 0.75 mL/min, 완충액은 0.02 M Tris-HCl, pH 9.0이었으며 gradient는 0.5 M NaCl/0.02M Tris-HCl, pH 9.0를 사용하였다. 그 결과, 94번 fraction의 전기영동 밴드가 단일밴드인 것으로 나타났다으며 이때의 분자량은 3,500~7,000인 것이므로 나타났다.

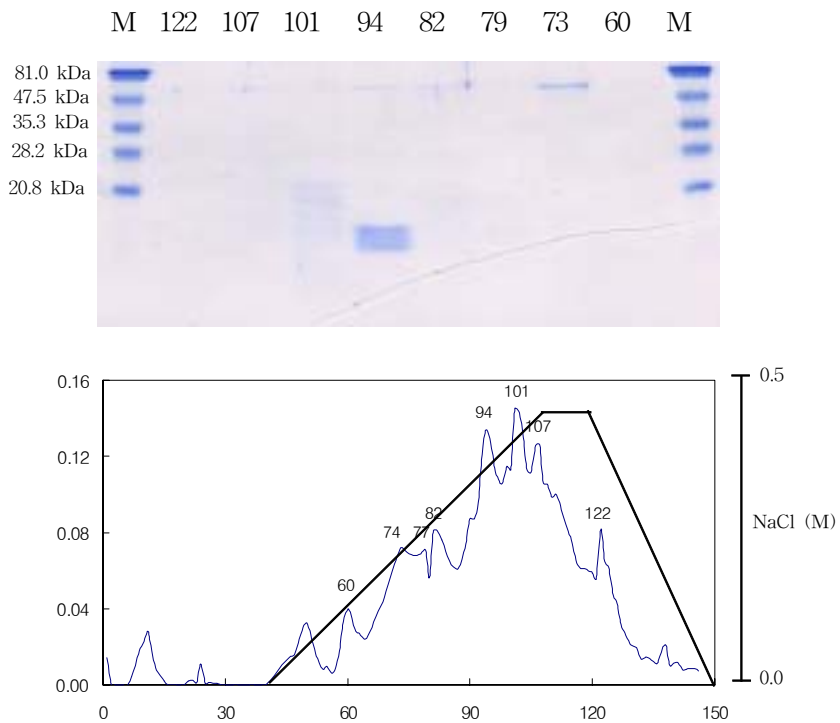
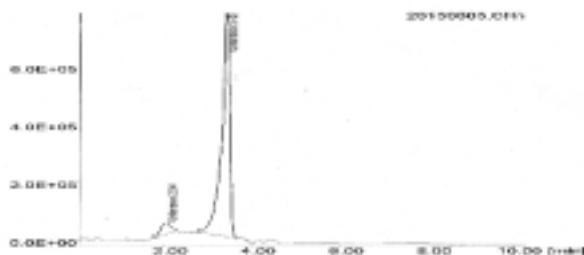


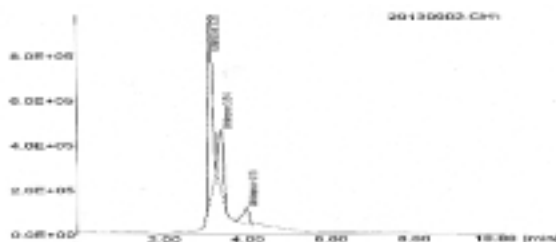
그림 4. 수용성 단백질의 DEAE sepharose ion exchange chromatography pattern

다) HPLC를 이용한 정제 pattern

먼저 gel filtration 결과로부터 주 밴드로 검출된 그림 3의 36번과 48번의 fraction을 순수정제하고자 C18 column을 이용하여 HPLC를 수행하였다. 분석조건은 acetonitrile 용액을 60분간 100%이 되게 하고, 유속은 1 mL/min이었으며 215 nm에서 측정하였다. 그 결과, 그림 5와 같이 chromatography 초기인 3, 4분대에서 peak가 검출되었는데 그림 2의 36번 fraction에서는 3개의 peak가 검출되었고 48번 fraction에서는 주 밴드에서 단백질이 혼합된 형태로 peak가 검출되었다.



(A)



(B)

그림 5. HPLC를 이용한 정제 pattern

A, fraction No. 36; B, fraction No. 48

그러나 그림 4의 각각의 peak를 아미노산 분석한 결과 아미노산이 검출되지 않아 불순물임이 판정되어 sericin의 아미노산 sequence 분석이 불가능한 것으로 판정되었다.

Sericin의 N-terminal amino sequence 분석을 위하여 다시 open column을 이용하여 chromatography를 실시하였으나 sericin의 점성 때문에 수지에 강하게 흡착하여 정제를 더 이상 진행하지 못하였다.

3. Sericin의 기능성

가. Sericin의 변비억제능

Spray dry 한 sericin의 변비억제 효과에 미치는 영향을 변의 수분함량을 측정함으로서 조사하였다. 그 결과, 그림 6에서와 같이 생리식염수 또는 atropin을 가한 구에서 모두 sericin을 섭취 시, 변의 수분함량이 많은 것으로 나타났다. 특히, atropin 투여 rat에서는 sericin 섭취 시 약 2배의 수분함량이 높은 것으로 나타났다. 한편 그림 7의 변의 건조중량에 있어서는 atropin을 투여하지 않은 rat에서는 건조중량에서 큰 차이는 없었으나 atropin 투여 rat에서는 sericin의 섭취에 의해 약 1.6배의 변량이 증가한 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터 sericin은 변비 억제 효과가 매우 뛰어난 것으로 판단된다.

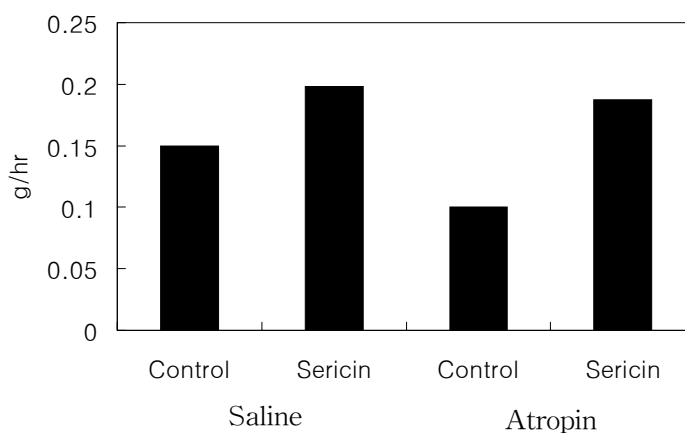


그림 6. Sericin의 변비 억제 효과(변의 수분함량)

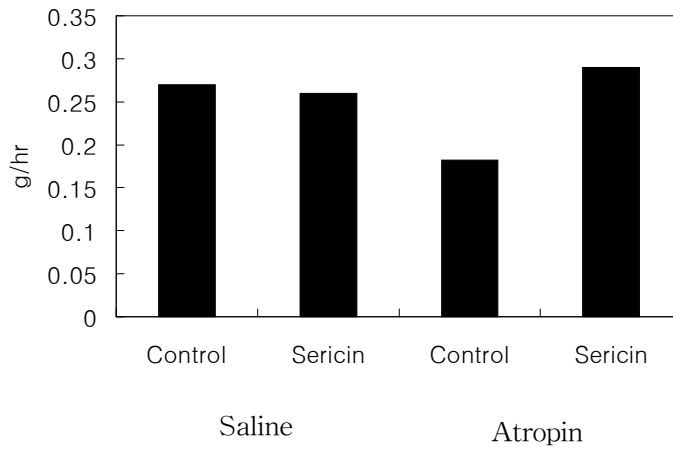


그림 7. Sericin의 변비 억제 효과(변의 건조중량)

나. Tyrosinase 저해활성

Spray dry 한 sericin의 tyrosinase 저해활성을 조사한 결과, 표 4에서와 같이 sericin 무첨가구에 비해 첨가구에서 약 2배의 tyrosinase 활성이 저해되는 것으로 나타났다. 이러한 결과로서 sericin은 멜라닌 색소 형성을 억제하는 미백효과가 상당히 뛰어난 것으로 판단되며 미백화장품으로의 사용도 가능할 것으로 판단된다.

표 4. Sericin의 tyrosinase 저해 효과

Sericin(%)	Tyrosinase 활성(흡광도/분)
0.0	0.085 ¹⁾
0.5	0.065
1.0	0.042

¹⁾ Mean values(3 replication)

다. Lipid peroxidation 저해 활성

표 5는 rat brain homogenate system에서 bovine serum albumin을 첨가한 구에서는 0.5% 첨가 시 TBARS 농도가 약 20% 정도 약간 감소하는 경향이었으나 sericin을 첨가한 구에서는 0.5% 첨가했을 때 TBARS 농도가 거의 100%까지 감소하는 것으로 나타나 sericin은 지질과산화물의 생성을 억제시키는 항산화효과가 있는 것으로 나타났다.

표 5. Sericin의 Lipid peroxidation 저해 활성

BSA 또는 Sericin 첨가량	TBARS (nmol/g tissue)	
	BSA 첨가 시	Sericin 첨가 시
0.00	195	193
0.05	198	145
0.10	190	113
0.30	165	25
0.50	155	5

라. Sericin의 Rat에서의 체중 감량 효과

사료는 흰쥐용 사료에 spray dry한 단백질 5%(w/w)수준으로 첨가하여 제조하였다. 생후 4주령된 흰쥐(S.D rat)를 구입하여 체중이 125.2±1.6 g 되었을 때 난괴법(randomized complete block design)에 따라 8마리 배치하여 7주간 수행하였다. 그 결과 표 6에서와 같이 4주간 일반사료를 섭취시킨 대조군의 체중이 321.7 g인데 비해 누에고치 단백질을 섭취시킨 경우의 체중은 282.1 g으로서 대조군에 비해 약 12%의 체중이 감량된 결과를 얻었다.

표 6. 누에고치 단백질을 섭취시킨 흰쥐의 체중 변화

처리군	체 중 변 화 (g)				
	0주	1주	2주	3주	4주
대조군	126.0	177.0	237.9	267.2	321.7
Sericin 첨가군	110.8	143.2	196.8	241.3	282.1

마. 레지스턴트 단백질의 섬유에서의 수분흡수력

인공섬유는 피부를 자극하여 가려움증을 유발시키거나 아토피성 피부염 증상이 있는 사람에게 피부염을 유발시키는 원인 중에 하나이다. 이러한 것을 해결하기 위한 한 방법으로 인공섬유의 수분흡수력을 높이는 것을 들 수 있다. 수분흡수력을 높이면 인공섬유의 피부에 대한 자극을 최소화할 수 있고 촉촉함을 줄 수 있다. 따라서 본 연구에서는 누에고치 추출물의 섬유의 수분흡수율에 미치는 영향을 조사하여 섬유산업에 응용하고자 한다.

누에고치의 50배 분량의 물에 고치를 넣고 100℃에서 30분간 가열하여 sericin을 추출한 용액 (약 70℃)에 각종 섬유를 침지시킨 다음 50℃의 송풍건조기를 이용하여 48시간 완전히 건조시킨 후, low temperature humidity chamber KHC-OC(500×600 mm)를 이용하여 송풍량 85 W, 상대습도 80, 온도 30℃에서 3시간, 6시간 경과 후의 각종 섬유의 무게를 측정하여 보습정도를 측정하였다. 그 결과 표 7에서와 같이 수부흡수력이 높은 순서는 A > E > B > C =

D 인 것으로 나타나, 폴리에스테르와 스판이 혼합된 속옷의 수분흡수율이 가장 높았으며 그 다음이 삼베인 것으로 나타났다. 따라서 sericin 추출물은 섬유의 수분흡수율을 증가시키는데 중요한 역할을 한다는 것으로 나타나, 건성피부에서 일어나는 아토피성 피부염 환자에 적합한 섬유가공 원료로서 사용 가능할 것으로 판단된다.

표 7. 각종 섬유의 수분흡수력

섬유	섬유무게 (g)	끓인 물		Sericin 추출물	
		3시간 (증가율%) ¹⁾	6시간 (증가율%)	3시간 (증가율%)	6시간 (증가율%)
A, 폴리에스테르 + 스판	2.0155	2.0567 (102.0)	2.0979 (104.1)	2.1052 (104.5)	2.1305 (105.7)
B, 아세테이트50% + 레이온50%	2.2289	2.2451 (100.7)	2.2613 (101.5)	2.2787 (102.2)	2.3051 (103.4)
C, 면 + 스판	2.3425	2.3515 (100.4)	2.3603 (100.8)	2.4055 (102.7)	2.4158 (103.1)
D, 면 + 폴리우레탄	2.4164	2.4242 (100.3)	2.4322 (100.7)	2.4474 (101.3)	2.4905 (103.1)
E, 삼베	3.2914	3.3156 (100.7)	3.3399 (101.5)	3.3165 (100.8)	3.4186 (103.9)

¹⁾증가율% : 섬유무게를 100으로 하였을 때의 환산치

4. Sericin 단백질의 대량 추출공정

가. Sericin의 추출온도별 함량변화

누에고치로부터 기능성 소재로서의 sericin을 대량 추출하기 위해 온도별에 따른 최적 추출조건을 조사하였다. 그 결과, 그림 8와 같이 121℃에서 가열 추출한 경우, 추출 단백질의 함량이 높은 것으로 나타났다. 그러나 80℃와 100℃ 조건에서는 고치의 성상이 그대로 남아 있어 여과 시 고형분과 추출단백질의 분리가 용이하였으며 121℃에서는 고치전체가 용해되어 sericin과 fibroin의 선별이 어려울 것으로 판단된다. 고치와 추출용매인 물과의 비율은 250배의 물로 추출할 경우 가장 높은 회수율을 나타내었으나 회석 배수가 지나치게 못한 점과 회수단백질의 함량을 고려할 경우, 고치 대비 50배량의 물로서 추출할 경우가 최적조건인 것으로 판단된다.

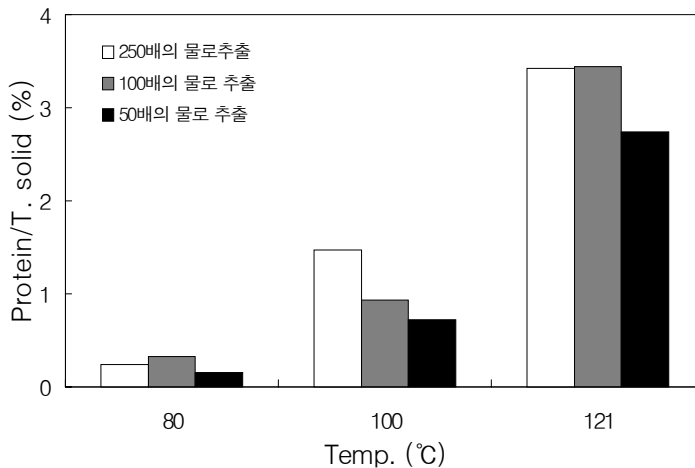


그림 8. 추출온도 및 용매량별 단백질 수율

나. 누에고치 열수 추출물의 점도

고치로부터 sericin을 추출하게 되면 약하게 젤화 현상이 일어나는 것을 알 수 있었으며 젤화정도를 알아보기 위하여 누에고치를 50배량의 끓는 증류수에 넣고 100℃에서 30분간 sericin 단백질을 추출한 후 냉각시킨 다음, Haake Viscometer를 이용하여 20℃, 30℃, 40℃, 50℃로 내부온도를 상승시키면서 sericin 용액의 점도를 측정하였다. 그 결과, 그림 9에서 보는 바와 같이, 온도가 상승함에 따라 점도가 낮아지는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 누에고치 무게에 대해 50배량의 물로서 100℃에서 30분간 sericin을 추출한 용액은 온도에 따른 물성의 변화가 매우 심한 것으로 나타났다. 그러나, 만약 sericin 추출물을 섬유산업에 이용할 수 있다면 견사의 사이징 처리시 폴과 함께 sericin 추출물을 혼합하여 사용하면 견사의 성질에도 영향을 미칠 것으로 사료된다. 한편, 식품소재로 사용시에는 젤상의 제품개발이 가능할 것으로 판단된다.

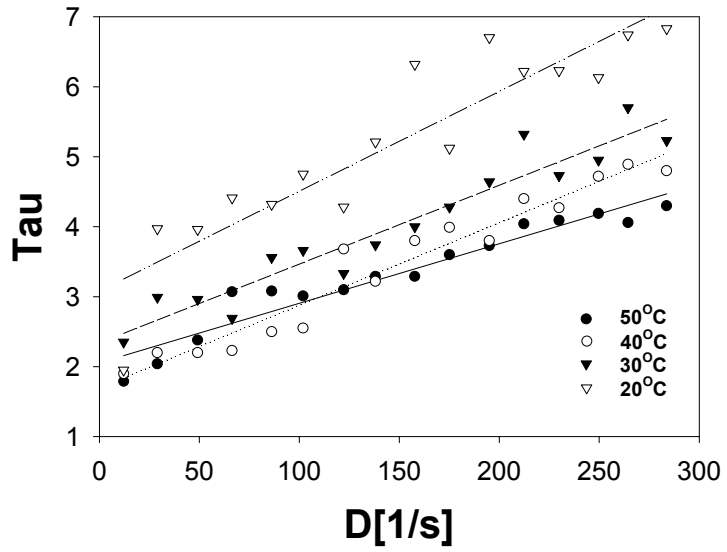


그림 9. Sericin 추출물의 온도 변화에 따른 점도의 변화

다. Sericin의 회수조건

다항의 연구결과를 바탕으로 최적추출조건을 물 50배량, 온도 100℃로 설정하여 이 조건에서 누에고치로부터 추출된 단백질을 회수하기 위하여 메탄올과 pH에 따른 회수율을 조사하여 단백질의 대량 추출조건을 확립하고자 하였다.

가) 메탄올 농도별 회수율

메탄올 농도를 추출물 대비 10~70%가 되게 조절한 후 4℃에서 일야 방치한 후 원심분리하여 단백질의 회수율을 조사하였다. 그 결과 그림 10과 같이 메탄올 농도별에 따라 일률적으로 증가하였으며 농도 70%에서 약 40%의 단백질이 회수되는 것으로 나타났다.

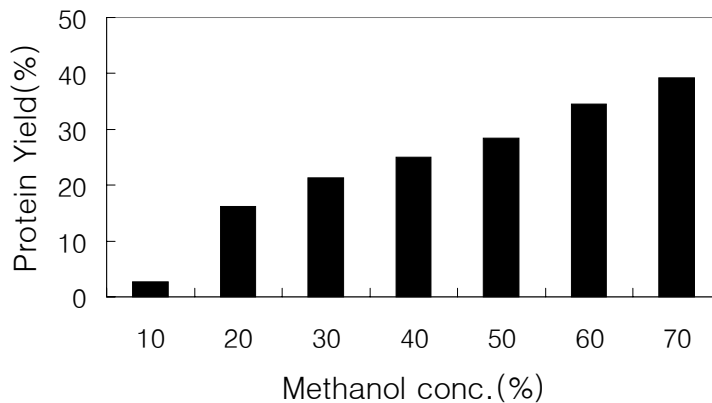


그림 10. 메탄올 농도별 단백질의 회수율

2) pH별 회수율

Sericin 단백질의 등전점이 pH 4.5~5.0인 점을 착안하여 열수추출한 단백질 용액을 40℃로 냉각한 후 pH의 범위를 3.5~5.0로 조절하여 단백질을 회수한 다음 회수단백질의 함량을 측정하여 sericin의 회수율을 조사하였다. 그 결과, 그림 11에서와 같이 pH 4.0에서 가장 회수율이 높았다. 따라서 이와 같은 pH를 이용한 단백질의 회수방법은 메탄올을 이용한 시험과 비교해 볼 때 상당히 효율적인 방법인 것으로 판단된다.

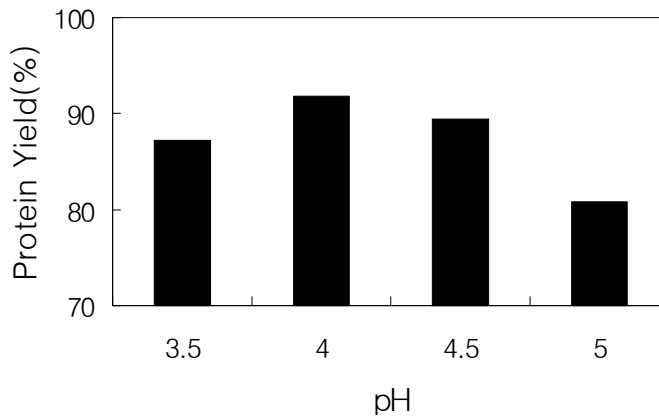


그림 11. pH 별 단백질 회수율

3) Spray dry에 의한 sericin의 회수

Sericin을 회수하기 위하여 증류수 8 L에 누에고치를 160 g 넣어 100℃에서 30분간 추출하여 spray dry하였다. 그 결과 약 7.8 g의 분말을 회수할 수 있었으며 누에고치의 sericin 함량이 약 25%이라면 회수율은 약 20%인 것으로 나타났다. 총 120L를 spray dry하여 총 120 g의 건조분말화된 sericin을 회수하여 동물실험에 사용하였다.

따라서 sericin 단백질의 최적추출조건을 물 50배량, 온도 100℃로 설정하여 이 유기용매인 메탄올을 이용한 회수율과 등전점을 이용한 회수율 그리고 스프레이 드라이에 의한 회수율을 비교평가한 결과, 메탄올은 70% 농도에서 단백질을 응고시켜 원심분리하여 회수한 경우 회수율이 40%이었으며, pH 4.0에서에서 일야 방치한 후 응고 단백질을 원심분리하여 회수한 경우 회수율은 약 93%였다. 분무건조기(1.5 KW)로 스프레이 드라이한 경우의 회수율은 증류수 8 L에 누에고치를 160 g 넣어 100℃에서 30분간 추출하여 spray dry 하였을 때 약 7.8 g의 분말을 회수하여 누에고치 중 sericin 함량이 약 25%이라면 회수율은 약 20%인 것으로 나타났다. 이러한 결과를 종합해 보면 누에고치로부터 레지스틴트 단백질을 회수하기 위해서는 원심분리기 또는 분무건조기가 필요한 것으로 나타났다. 이러한 기계적인 부담을 해소하기 위한 방안으로는 단백질 추출물을 액상인 그대로 산업적으로 이용하는 방안과 추출액을 농축하여 농축액 기스를 제조하는 방안을 들 수 있다.

4) Sericin을 이용한 식품 및 가공원료 소재 개발을 위한 분말화

조건 및 건조방법 설정

누에고치 추출물의 분말화 및 건조방법 설정은 다양한 건강식품 및 소재로서 활용을 원활히 하기 위한 목적으로 행하고자 하였다. 누에고치 추출물인 sericin 단백질의 함량은 누에고치 전체 단백질 중 약 20%에 해당하는 것으로서 추출조건인 물 : 누에고치 = 50 : 1의 조건 하에서는 sericin 단백질의 함량이 극히 낮아 분말화 또는 건조가 단백질의 낮은 함량으로 적합하지 않는 것으로 나타났다. 누에고치의 중량에 비해 부피가 상당히 커, 물의 첨가량을 누에고치 함량대비 50 이하로 낮추는 것이 곤란하여 현재의 추출조건을 조절하는 것이 매우 어려운 것으로 판단된다. 그러나, 새로운 사실은 100℃에서 30분간의 추출조건에서 불용성 고치를 제거한 후, 실온에서 냉각처리 시, 추출물의 젤화가 급격히 일어났으며 비등시간을 연장할 경우, 젤화가 상승하는 것으로 나타나, 새로운 제품 개발에 대해 예측할 수 있었다. 가능성이 있는 제품으로서는 반고체의 젤상 식품 또는 음료를 수 있으며 추출물의 수분흡수력을 고려한다면 미용팩과 같은 제품을 들 수 있다. 따라서 제 3장에서는 상기와 같은 제품을 제조하고자 한다.

제 3 장 Sericin을 이용한 제품 개발

제 1 절 실험재료 및 방법

1. TPA 특성

누에고치 추출물을 이용한 졸 음료와 젤 제품의 texture 특성은 texture analyser(TA-XT2, stable micro systems, UK)를 이용하여 측정하였다. TPA는 20% strain, 0.5 mm/sec으로 압착하였고, probe는 $\Phi 1''$ 를 사용하였으며 측정조건은 표 8과 같다.

TPA 특성은 탄력성(springiness), 검성(gumminess), 응집성(cohesiveness), 부착성(cohesiveness), 경도(hardness)의 5가지 항목에 대해 계산하였으며, 모든 샘플은 6~8°C에서 측정되었다.

표 8. Sericin 젤의 텍스처 측정 조건

Parameter	Condition
Pre test speed	5.0 mm/s
Test speed	0.5 mm/s
Sample rate	200.0 pps
Force threshold	20.0 g
Sample area	1.00 mm ²
Contact force	5.0

2. 누에고치 젤리 제조

누에고치 추출물에 젤라틴을 분산시키고, 설탕을 첨가한 후 hot plate & stirrer에서 90℃ 까지 가열하여 졸을 제조하였다. 그 후 커피 농축액과 커피향을 넣은 후 물을 첨가하여 100 g으로 정량 한 후 일정용기에 부어 4℃에서 냉장하면서 성형·저장 하였다.

TPA 측정용 시료는 같은 방법으로 제조한 졸을 직경 6.5 cm, 높이 6.0 cm 크기의 플라스틱 원형용기에 부어 냉장보관하여 1일 후 사용하였다.

3. 누에고치 졸 음료제조

누에고치 추출물과 물에 agar를 분산시키고 hot plate & stirrer에서 90℃ 까지 가열하여 졸을 제조하였다. 이때, 사과통축액, 사과향, 유산칼슘, 염화칼륨을 넣은 후 물을 첨가하여 100 g으로 정량 한 후 레토르트 팩에 담아 밀봉 한 후 100℃에서 20분간 가열살균하여 냉장·저장하였다.

TPA 측정용 시료는 같은 방법을 제조한 졸을 직경 5.5 cm, 높이 10.0 cm 크기의 플라스틱 원형용기에 부어 냉장보관하여 1일 후 사용하였다.

4. 미용팩의 제조

정제수에 sericin 분말과 agar를 녹여 80℃에서 10분간 가열하여 식힌 후, 녹차분말, 밤껍질분말, 살구씨분말, 울무분말, 송이버섯, 레몬즙, Vit. C, 레몬향을 첨가하여 잘 혼합하였다.

5. 된장 및 고추장의 제조

가. 된장의 제조

누에고치 추출물을 이용한 된장을 제조하였다. 개량식 메주제조 공정에서 *Aspergillus oryzae*는 Potato dextrose broth(Difco사)에, *Bacillus subtilis*는 nutrient broth(Difco사)에 접종하여 30℃에서 48시간 배양하였다. 이 배양액을 각각 오토크레이브한 대두에 5%가 되도록 접종하여 30℃에서 30시간 배양한 후, 실온에서 송풍 건조시키고 각각을 체분 한 후, 이들을 동량 혼합하여 메주로 사용하였다. 그 후 천일염 13%와 sericin 추출물 54%를 혼합한 다음 메주 33%를 혼합하여 된장을 제조하여 30℃에서 30일간 숙성시켰다. 이때 sericin 추출물은 누에고치 첨가량에 따라 끓는 물 2L에 누에고치를 80 g(1/25), 40 g(1/50), 27 g(1/75)에 넣어 30분간 가열·여과하여 제조하였다.

나. 고추장의 제조

메주와 sericin 추출물은 된장제조 시 사용한 것을 사용하였으며 물엿기름물은 누에고치 추출액을 이용하여 실온에서 추출하여 제조하고 여기에 소금과 수침·분말·건조한 찹쌀과 혼합한 다음 100℃에서 5~10분간 호화시킨 후 50~60℃에서 1시간 동안 당화시키고 실온으로 냉각하였다. 그리고 실온의 당화액에 메주, 고춧가루, 물엿을 첨가하여 반죽기를 이용하여 혼합한 다음 항아리에 넣어 30℃에서 30일간 숙성시켜 고추장을 제조하였다. 이때 원료의 배합비율은 메주 50 g, 찹쌀 188 g, 고춧가루 222 g, 물엿 50 g, 소금 110 g, sericin 추출물 500 g, 물 500 mL이었다.

6. 미생물 수 측정

원료 5 g을 생리식염수 45 mL에 넣고 균질화시키고 이를 단계별로 희석한 후, pouring 법으로 효모는 PDA(Difco사), 젖산균은 MRS(Difco사), 총균수는 PCA(Difco사) 배지를 이용하여 평판배양하였다. 효모와 총균수는 30℃에서 40시간, 젖산균은 30℃에서 64시간 배양한 후 colony를 계측하였다.

7. pH, 산도 및 아미노태 질소 측정

된장 2 g에 100 mL의 증류수를 가해 1시간 교반하여 추출한 후 여과하여(Whatman No.2) 100 mL로 정용한 후, 이의 여과액중 20 mL을 취해 0.5% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH를 가해 적정한 소비량을 lactic acid로 환산하였다. pH는 동일 여과액을 pH meter(Orion, U.S.A.)로 측정하였다. 아미노태 질소는 동일 여과액을 포르몰법에 의해 측정하였다.

8. 색도 측정

된장표면과 내부의 색상을 색차계(Minolta CR-300, Japan)로 측정하여, L, a, b값으로 표시하였다. 표준 L, a, b값은 각각 96.86, -0.07, 2.02였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. Sericin의 온도별 점성 변화

Sericin이 점성을 가지는 성질이 어느 정도인지를 조사하기 위하여 누에고치 4%와 2%를 각각 100℃에서 30분간 가열하여 sericin을 추출한 후, 4℃에서 50℃의 범위에서 점도를 측정하였다. 그 결과, 그림 12에서와 같이 누에고치 4% 추출물의 경우 2% 추출물 보다 약 2배 정도의 점도가 있었으며 또한 온도가 낮아질수록 점성이 비례적으로 점성이 높아지는 경향이였다. 이러한 성질은 sericin의 젤화 제품 또는 줄 음료로서의 가능성을 나타내는 결과라고 할 수 있다.

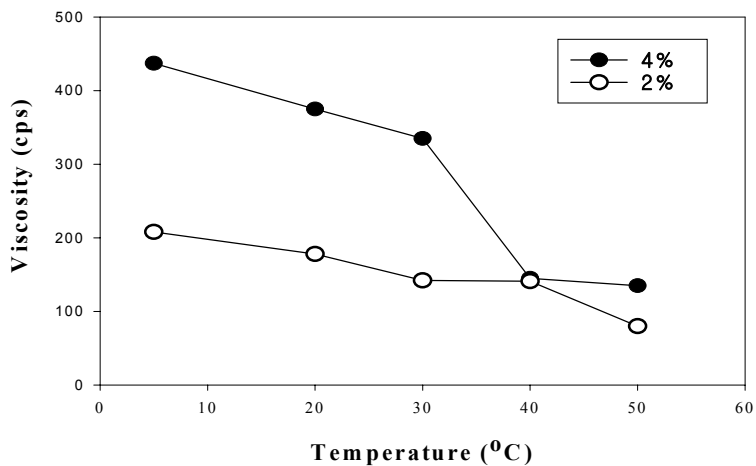


그림 12. 누에고치 2%와 4% 추출물의 온도별 점도의 변화

2. 제품 제조를 위한 sericin의 대량 추출

젤리, 졸 음료, 미용팩 및 장류제조를 위하여 sericin을 대량 추출하였다. 그림 13에서와 같이 먼저 누에고치 출각현 선별작업에서는 출각현 내에 일부 존재하는 번데기 또는 번데기 변와 같은 불순물을 제거한 다음 수돗물로 실온에서 약 10분간 호발트 믹시기를 이용하여 회전세척을 2회 반복하여 출각현을 세척 한 다음 물 빼기한 다음, 이중술에 이동시키고 누에고치 건물량의 약 25배량의 수돗물을 넣어 100℃에서 약 40분간 끓인다. 이때 누에고치가 잘 혼합될 수 있도록 저어준다. 가열이 끝나면 거즈를 이용하여 여과하여 추출물을 회수하고 고형물은 탈수기를 이용하여 제거하고 잔존하고 있는 추출물을 회수한다.

추출물인 액상의 sericin 일부는 젤리, 졸음료, 장류제조를 위한 원료로 사용하였으며 일부는 동결건조하여 미용팩의 원료로 사용하였다. 동결건조시 sericin 분말의 회수율은 누에고치 건물량의 1/10이었다.

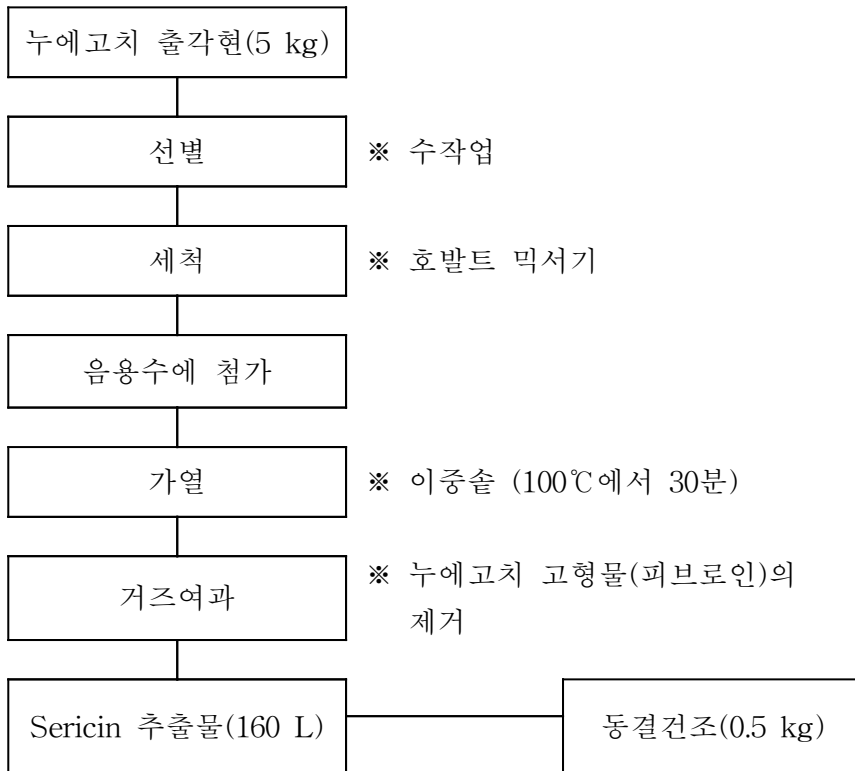


그림 13. Sericin의 제조 공정

3. 졸 음료제조

가. 졸 음료 제조를 위한 agar의 적정 첨가량 조사

졸 음료제조를 위해서는 먼저 agar의 적정 첨가량을 조사할 필요가 있다. 이때 누에고치의 첨가량은 4% 첨가 시 sericin의 점성이 강하여 누에고치를 4% 첨가하여 sericin을 추출하였으며 졸 형성 시 sericin을 15%로 고정한 것은 그 이상의 농도에서는 졸에서 누에고치 고유의 견사와 같은 응고물이 형성되는 것으로 나타나 이것이 시각적인 측면에서 기호성을 떨어뜨리는 결과를 초래하므로 15%로 고정하였다. 이러한 조건에서 agar의 첨가량을 0.42%에서 0.55%의 범위로 조절하여 6℃~8℃의 온도대에서 TPA를 분석하여 적정 agar의 첨가량을 조사하였다.

그 결과 그림 14-18과 같이 agar 0.45% 첨가시점에서 부착성과 경도가 증가하는 것으로 나타났으며 0.55%의 agar 첨가시는 젤리 제품과 유사한 경도 즉 581 g으로 나타나 흐름성이 지나치게 낮아 졸 음료로서의 가능성이 매우 낮은 것으로 판단되었다. 한편, agar를 0.42% 첨가시는 경도가 78.5 g 정도로 매우 낮아 졸 음료로서 부적합한 것으로 나타났다. 그러나 agar 첨가량이 0.45 또는 0.5% 일 경우는 경도가 300 g 대였으며 탄력성은 0.89~0.91, 점성은 59.51~71.26, 부착성은 279.6~349.2인 것으로 나타났다.

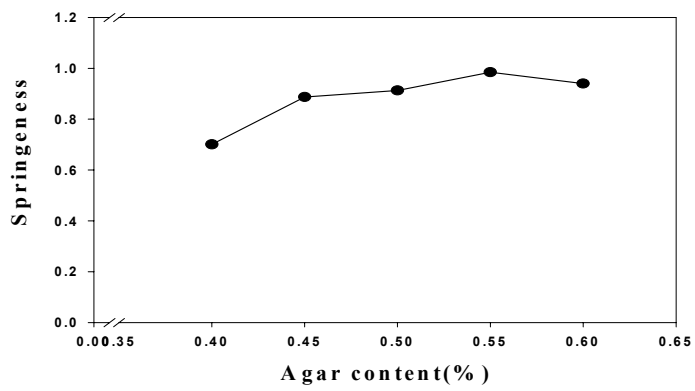


그림 14. Sericin 15%에 agar 첨가량별 탄력성의 변화

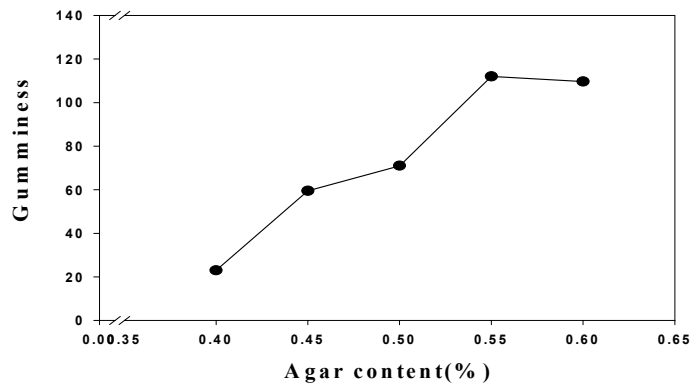


그림 15. Sericin 15%에 agar 첨가량별 검성의 변화

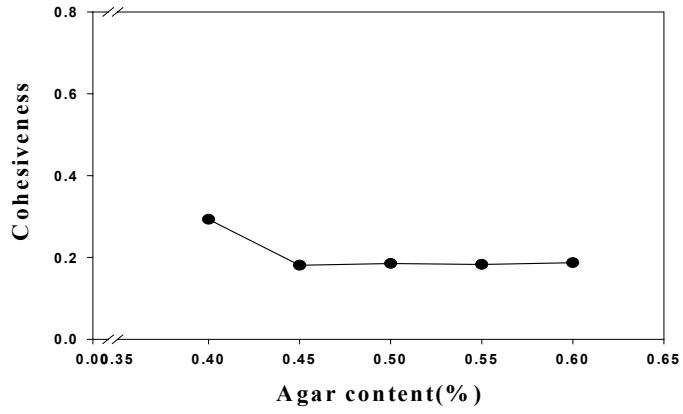


그림 16. Sericin 15%에 agar 첨가량별 응집성의 변화

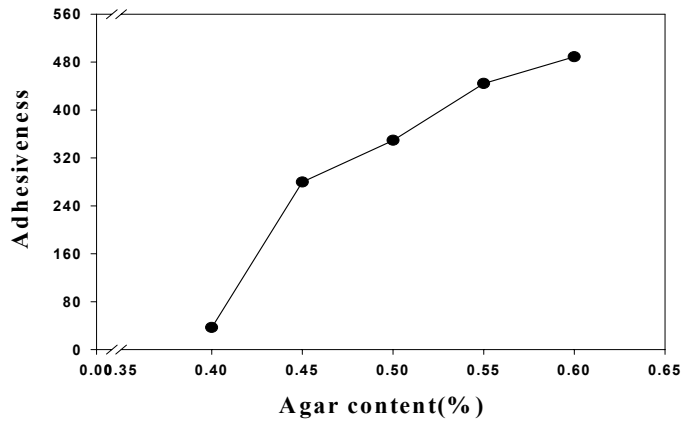


그림 17. Sericin 15%에 agar 첨가량별 부착성의 변화

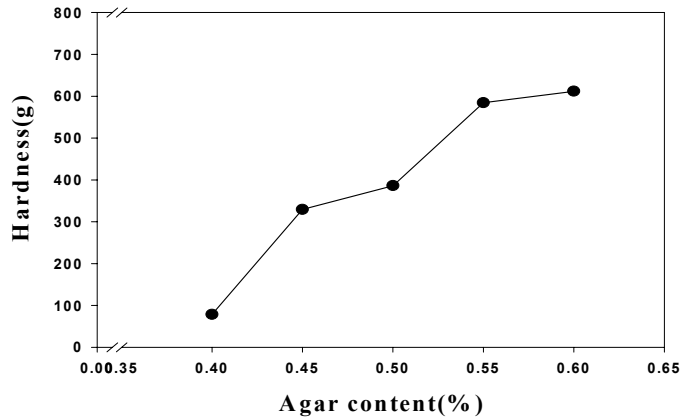


그림 18. Sericin 15%에 agar 첨가량별 경도의 변화

나. 졸 음료의 제조

졸 음료를 제조하기 위하여 표 9와 같이 음료를 제조하였다. 상기 가의 sericin 첨가량인 15%에 agar의 첨가량을 0.42%~0.55%의 범위로 조절하여 분산시키고, 고과당을 8% 첨가한 후, 90도까지 가열하여 졸을 제조한 다음, 첨가물(사과농축액 62Bx를 9%, 사과향 0.1%)와 미네랄성분(유산칼슘 0.01%, 염화칼슘 0.01%)를 첨가한 후, 물을 67.4%~67.33% 첨가한 다음, 레코르트 팩에 담아 밀봉 후, 100℃에서 20분간 가열살균하여 제품을 제조하였다.

표 9. 졸 음료 조성비

제품명	성분	조성(%)
A	세리신 추출물	15.00
	한천	0.42
	음용수	67.40
	고과당	8.00
	첨가물	9.1
	미네랄성분	0.02
B	세리신 추출물	15.00
	한천	0.45
	음용수	67.43
	고과당	8.00
	첨가물	9.1
	미네랄성분	0.02
C	세리신 추출물	15.00
	한천	0.50
	음용수	67.38
	고과당	8.00
	첨가물	9.1
	미네랄성분	0.02
D	세리신 추출물	15.00
	한천	0.55
	음용수	67.33
	고과당	8.00
	첨가물	9.1
	미네랄성분	0.02

다. 줄 음료의 관능평가

표 9와 같은 조성비로 4종의 줄 음료를 제조하여 색감, 풍미, 맛, 경도, 경도 기호도, 매끄러움성, 종합적인 기호도를 평가하였다. 그 결과 표 10에서와 같이 agar를 0.5% 첨가한 구에서 색감, 풍미, 경도의 기호성, 매끄러움성 맛에서 비교적 높게 평가되어 종합적인 기호도가 7.25로서 가장 기호도가 높은 것으로 나타났다.

표 10. 줄 음료의 관능평가

평가항목 \ 제품	Agar 0.42% 첨가한 제품	Agar 0.45% 첨가한 제품	Agar 0.50% 첨가한 제품	Agar 0.55% 첨가한 제품
색감	7.00±1.31	6.25±1.90	6.75±1.16	6.25±1.03
풍미***	7.63±1.06 ^a	4.87±1.45 ^b	7.38±1.18 ^a	5.00±1.19 ^b
경도** (Hardness)	4.50±1.77 ^b	4.63±1.30 ^b	5.63±1.19 ^b	7.25±1.58 ^a
경도 기호도 (Hardness)	5.75±1.75	5.76±1.66	6.13±2.03	4.87±1.89
매끄러움성* (Smoothness)	6.63±1.06 ^a	5.75±1.39 ^{ab}	5.88±1.50 ^{ab}	4.50±2.50 ^b
맛**	7.00±1.51 ^a	4.50±1.51 ^b	6.50±1.60 ^a	4.37±1.60 ^b
종합적 기호도**	6.75±1.16 ^{ab}	5.38±1.92 ^{bc}	7.25±1.48 ^a	4.12±1.64 ^c

Mean±S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)

4. 젤리 제품의 제조

가. 젤리 형성을 위한 젤라틴의 적정 첨가량

젤리제품을 제조하기 전에 먼저 젤화제로서 사용하고자 하는 젤라틴의 젤화능을 측정하고자 하였다. 음용수에 젤라틴을 0.5%에서 5.0%의 범위로 각각 첨가하여 젤리를 제조하였으며 대조군으로는 음용수, 시제품1, 시제품2, sericin 추출물 이상 4종을 사용하여 젤리를 제조하여 6°C~8°C의 온도에서 TPA 특성을 조사하였다.

그 결과, 그림 19-23, 표 11에서와 같이 시중에 판매되고 있는 젤리제품의 경도는 581.9 g, 872.4 g이었으나 sericin 추출물은 14.3 g으로 매우 낮았으며 탄력성과 검성은 약 1/2이었고 응집성은 오히려 시판품 보다 높은 것으로 나타나, sericin 추출물은 탄력성과 검성, 응집성이 비교적 높은 것으로 나타났다. 한편, 시판품과 비슷한 경도를 나타내기 위한 젤라틴의 첨가량은 2.5% 전후인 것으로 나타났다.

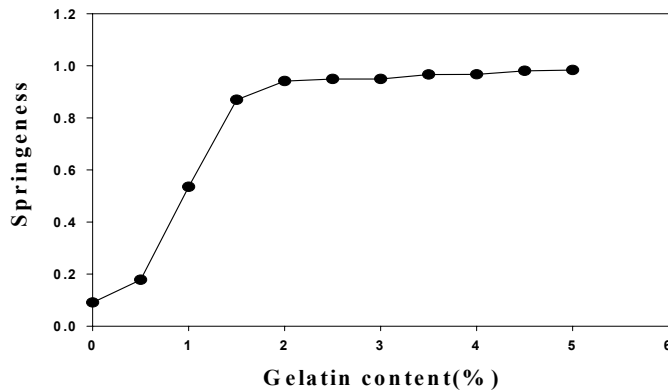


그림 19. 젤라틴 첨가 농도별 탄력성의 변화

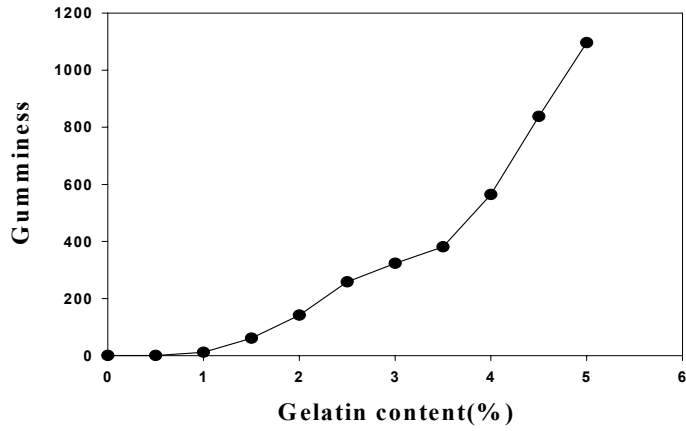


그림 20. 젤라틴 첨가 농도별 검성의 변화

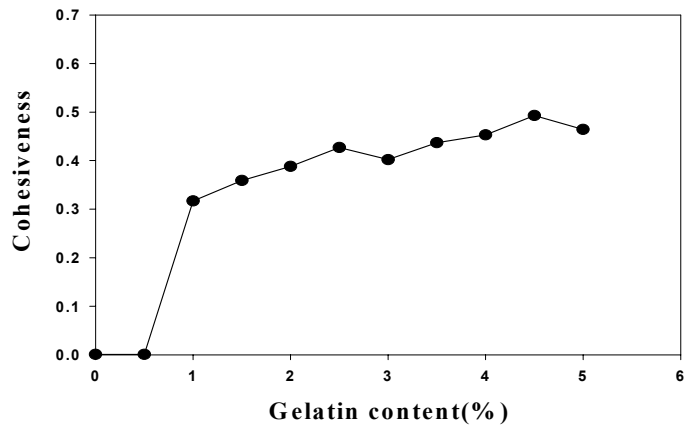


그림 21. 젤라틴 첨가 농도별 응집성의 변화

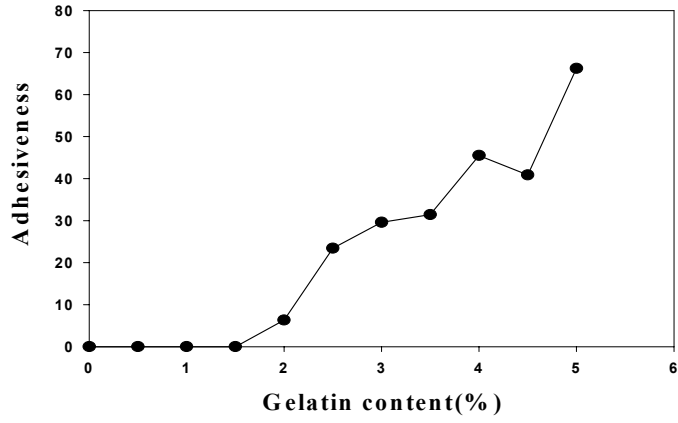


그림 22. 젤라틴 첨가 농도별 부착성의 변화

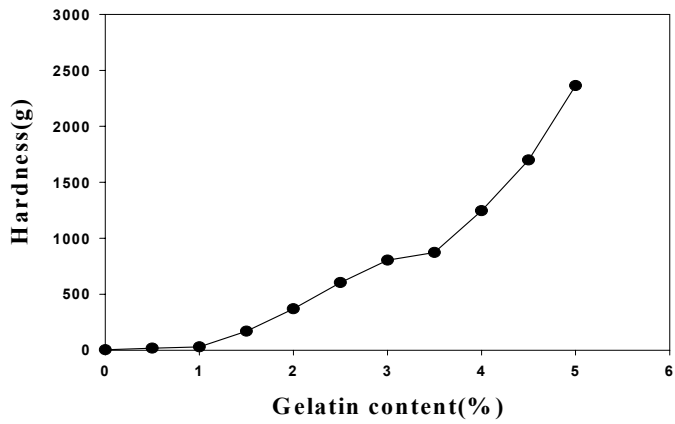


그림 23. 젤라틴 첨가 농도별 경도의 변화

표 11. 시판품 및 sericin 추출물의 TPA 특성

TPA 특성 젤리	탄력성	검성	응집성	부착성	경도 (g)
젤라틴 0%	0.091	0.004	0.001	N/A	3.1
시판품 A	0.806	50.701	0.379	N/A	581.9
시판품 B	0.904	89.632	0.350	11.212	875.4
Sericin 추출물	0.381	31.082	2.178	N/A ¹⁾	14.3

¹⁾N/A : not available

나. 젤라틴 2.2%에 첨가되는 sericin 추출물의 적정 첨가량

가.에서 젤화제로서 사용한 젤라틴의 적정 첨가량이 2.5%인 결과와 sericin 추출물 자체의 경도를 고려하여 sericin 추출물의 적정 첨가량을 조사하고자 하였다. 먼저 젤라틴의 첨가량을 2.2%로 고정하고 여기에 sericin 추출물을 0%~97.8%의 범위로 10%의 단위로 첨가하여 TPA 특성을 조사하여 적정 sericin 추출물의 첨가량을 조사하였다.

그 결과, 그림 24-28과 같이 탄력성은 표 11의 시판품과 비교했을 때, 시판품이 0.8~0.9이었으나 sericin 첨가한 경우 첨가량에 관계없이 0.95~0.97의 범위로 약간 높은 것으로 나타났으며 검성은 sericin 추출물의 첨가량이 높을수록 높게 나타나 최고 396.9였으며 이 값은 시판품과 비교했을 때 상당히 높은 것으로 나타났다. 응집성은 전구간에서 모두 시판품과 비슷하였고, 부착성은 비교적 높게 나타났다. 젤리에서 가장 중요한 경도의 경우, sericin 추출물을 1

0%~50% 첨가한 구가 658.6 g~861.4 g의 범위로 시판품의 571.9 g~875.4 g의 범위와 일치하는 것으로 나타났다.

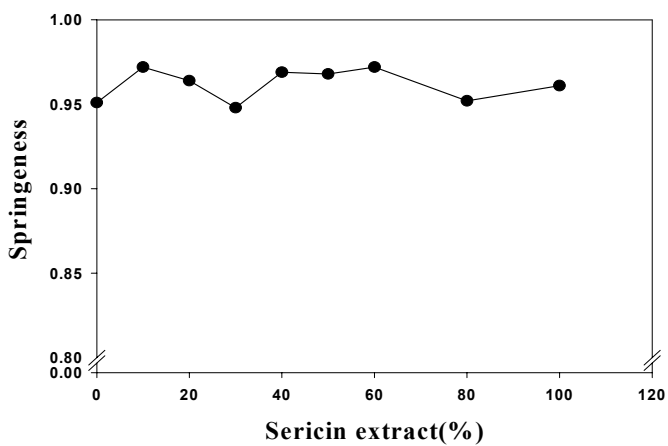


그림 24. 젤라틴 2.2%에 sericin의 첨가농도별 탄력성의 변화

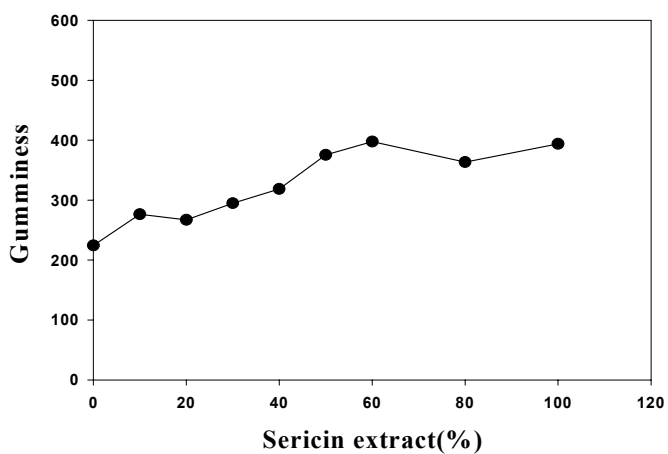


그림 25. 젤라틴 2.2%에 sericin의 첨가농도별 검성의 변화

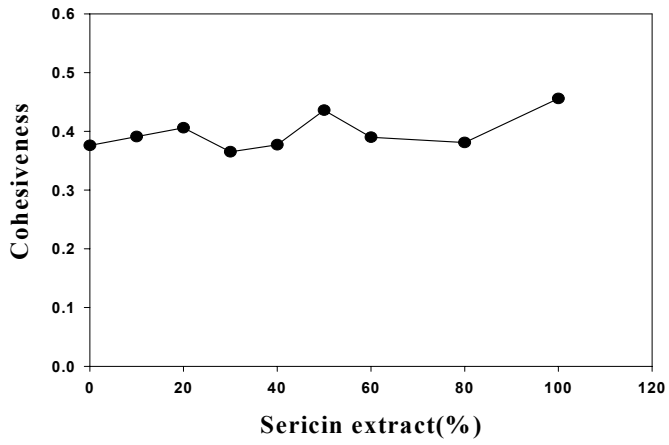


그림 26. 젤라틴 2.2%에 sericin의 첨가농도별 응집성의 변화

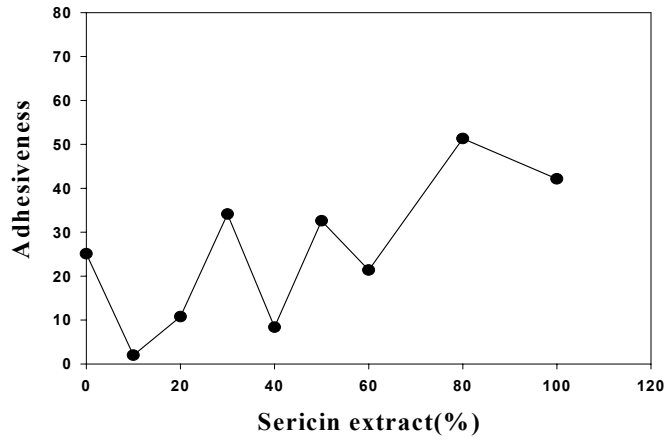


그림 27. 젤라틴 2.2%에 sericin의 첨가농도별 부착성의 변화

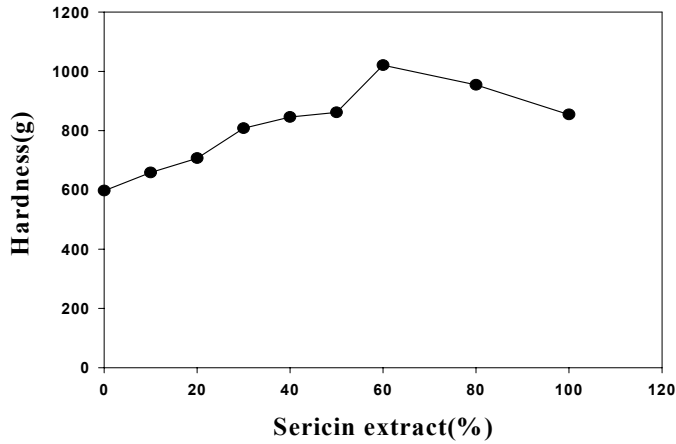


그림 28. 젤라틴 2.2%에 sericin의 첨가농도별 경도의 변화

다. 젤리 제품의 제조 및 관능평가

나.에서 젤라틴의 첨가량을 2.2%로 고정하였을 때 sericin 추출물의 적정 첨가량이 10%~50%의 범위로 상당히 넓은 범위에서 경도가 시판품과 유사한 점을 고려하여 먼저 sericin 추출물의 첨가량을 10%, 30%, 50%로 구분하고 여기에 젤라틴을 2.2% 분산시킨 다음 설탕 8%를 첨가한 후 90℃까지 가열하여 졸을 제조한 후, 28Bx의 커피농축액 1.3%, 커피향 0.3%를 첨가하고 나머지를 증류수로 채워 일정용기에 부어 냉각시켜 젤리를 제조한 다음, 관능평가를 실시하였다.

그 결과, 표 12에서와 같이 색깔의 경우는 sericin 10% 첨가한 젤리의 기호도가 7.10으로 가장 높았으나 sericin 30% 첨가구는 풍

미, 경도의 기호성, 매끄러움성, 맛의 기호도가 가장 높은 것으로 나타나 종합적인 기호도가 6.9이었다.

표 12. sericin 단백질 첨가량을 달리한 젤리의 관능평가

제품 평가항목	Sericin 10% 첨가제품	Sericin 30% 첨가제품	Sericin 50% 첨가제품
색감*	7.10±1.10	6.20±1.75	6.30±1.26
풍미	6.90±1.59	7.30±1.41	6.20±2.04
경도 (hardness)	5.00±1.56	5.10±1.66	6.30±1.82
경도 기호도 (Hardness)	6.50±1.43	6.80±1.31	6.70±1.70
매끄러움성 (Smoothness)	5.80±1.13	7.10±1.02	6.20±0.87
맛*	6.20±1.04 ^b	7.00±1.15 ^a	6.60±1.04 ^{ab}
종합적 기호도	6.10±0.84	6.90±0.99	6.30±1.19

Mean±S.D

Means in the same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test(*: $p < 0.05$)

5. Sericin 동결분말을 이용한 미용팩 제품의 제조

가. 미용팩의 제조

제 2 장에서 sericin 단백질 추출물이 점성이 강하고 tyrosinase 저해활성이 강한 결과로부터 미용팩으로의 가능성이 확인되어 미용팩을 제조하고자 한다. 표 13의 조성비에 준하여 정제수 56.75%에 sericin 동결분말 2.0%와 agar 0.15%를 녹여 80℃에서 10분간 가열하여 식힌 후, 녹차분말 0.7%, 밤껍질분말 6.0%, 살구씨분말 5.0%, 울무분말 10.0%, 송이버섯 1.0%, 레몬즙 15.0%, Vit. C 1.0%, 레몬향 2.5%를 첨가하여 잘 혼합하여 제조하였다.

표 13. Sericin 분말을 이용한 미용팩제품의 배합비

원료명	첨가량(%)
Sericin 분말	2.0
Agar	0.15
녹차분말	0.7
밤껍질분말	6.0
살구씨분말	5.0
울무분말	10.0
송이버섯	1.0
Lemon 즙	15.0
Vit. C	1.0
레몬향	2.5
정제수	56.75

나. 미용팩의 관능적 임상시험

20-40대의 여성을 대상으로 미용팩으로서의 효과를 임상시험하기 위해 다음과 같은 설문조사를 실시하였다. 조사항목은 팩제품의 향, 발라짐성, 느낌, 피부상태, 구입의사이었다.

본 시제품은 누에고치 단백질을 이용한 천연미용팩입니다.
세안 후 얼굴에 팩을 골고루 바른 후 10-15분 후에 세안하십시오.
세안 후 다음사항에 답해주시면 대단히 감사하겠습니다.

- ◆ 날짜 :
- ◆ 이름 : _____
- ◆ 성별 : 남 , 여
- ◆ 나이 : ___세

1. 본 팩제품의 향은 어떻습니까?

- ① 매우 나쁘다
- ② 나쁘다
- ③ 그저그렇다
- ④ 좋다
- ⑤ 매우 좋다

2. 본 팩제품을 얼굴에 발랐을때의 발라짐성은 어떻습니까?

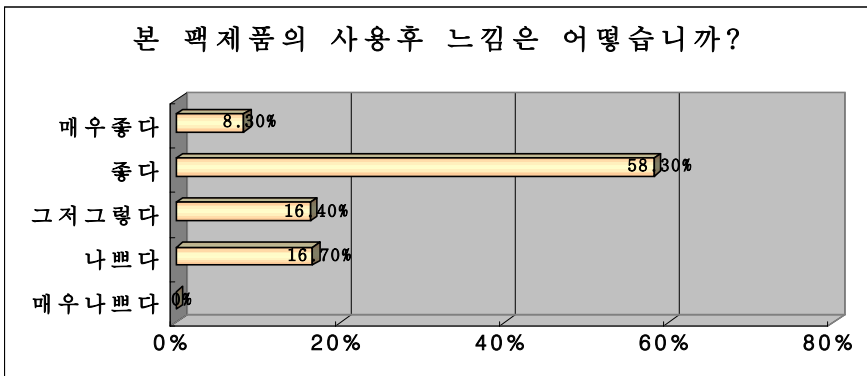
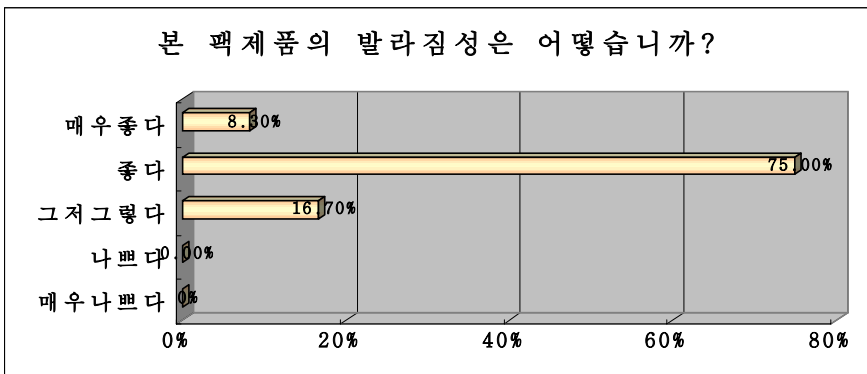
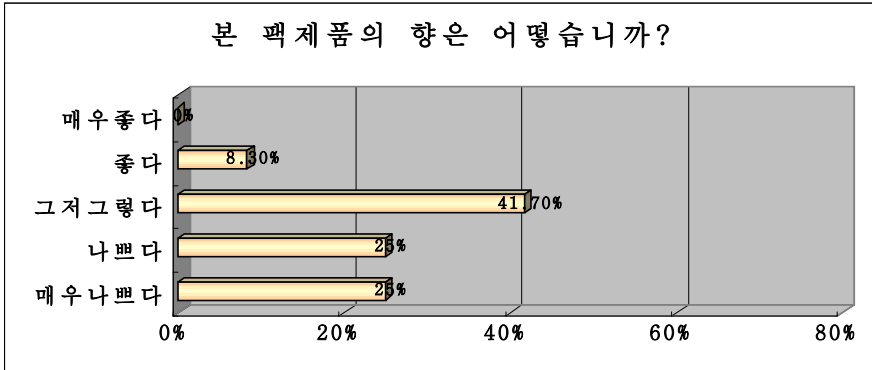
- ① 매우 나쁘다
- ② 나쁘다
- ③ 그저그렇다
- ④ 잘 발라진다
- ⑤ 매우 잘 발라진다

3. 본 팩제품을 사용하고 난 후의 느낌은 어떻습니까?
- ① 매우 나쁘다
 - ② 나쁘다
 - ③ 그저그렇다
 - ④ 좋다
 - ⑤ 매우 좋다
4. 본 팩제품을 사용하고 난 후 피부상태는 어떻습니까?
- ① 매우 나빠졌다
 - ② 나빠졌다
 - ③ 그저그렇다
 - ④ 좋아졌다
 - ⑤ 매우 좋아졌다
5. 앞으로 본 제품과 같은 천연팩의 구입의사는 어떻습니까?
- ① 전혀 사지않겠다.
 - ② 사지않겠다
 - ③ 잘 모르겠다
 - ④ 구입의사가 있다
 - ⑤ 꼭 구입하겠다
6. 그 밖의 개선사항이 있으면 기입하여 주십시오.

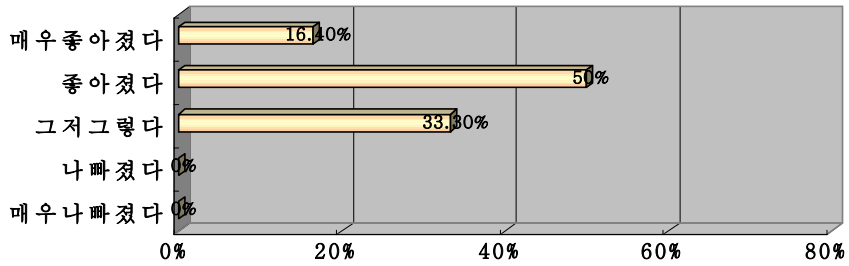
◆◆◆◆ 설문에 응하여 주셔서 대단히 감사합니다.◆◆◆◆

임상시험 결과 그림 29에서와 같이 향의 경우 보통 이상이라고 평가한 여성이 약 50%였으며 팩의 발라짐성은 평가 여성의 75%가 좋고, 8.3%가 매우 좋다고 평가하였으며 팩 사용후의 느낌에 대해서는 58.3%가 좋았고, 8.3%가 매우 좋은 것으로 평가하였다. 사용 후 피부상태에 대한 답변에서는 50%가 좋아졌고, 16%가 매우 좋아졌다고 평가하여 본 제품의 미용팩으로서의 효용성이 상당히 높은 것으로 평가되었다. 구입의사에 대해서는 잘 모르겠다가 약 58%, 구입의사가 있다가 16.7%, 꼭 구입하겠다가 8.5%인 것으로 나타났다. 개선사항에 대한 의견으로서는 향의 개선을 요구하는 경우가 일부 있었다. 이러한 결과로부터 세리신 단백질 분말 2%의 첨가는 그 밖의 다른 첨가물인 녹차분말, 밤껍질분말, 살구씨분말, 울무분말, 송이버섯분말과의 결집성을 향상시키고 피부미용효과에 비교적 적합한 것임을 알 수 있었다.

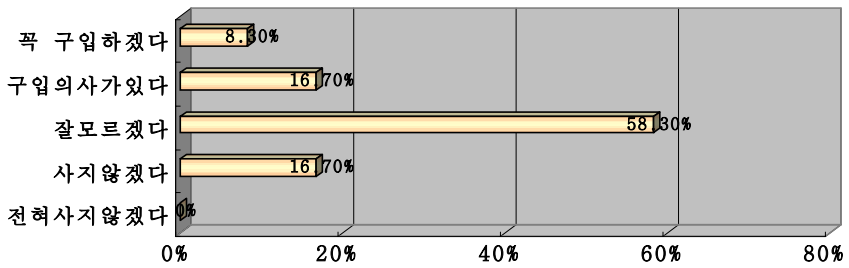
그림 29. 임상시험 결과



본 팩제품의 사용후 피부상태는 어떻습니까?



본 제품과같은 팩의 구입의사는 어떻습니까?



6. Sericin 추출물을 이용한 장류의 제조

Sericin의 각종 기능성을 적용할 수 있는 식품으로서 한국인이 가장 일상적으로 많이 섭취하는 장류를 선택하여 제조적성을 제사하였다.

가. 된장의 제조

된장제조시 사용된 원료의 첨가량은 표 14와 같이 sericin 단백질 추출물을 3종으로 나누어 제조하였다.

표 14. 된장제조시 사용된 원료의 배합비

원료 된장	메주(g)	소금(g)	추출물(ml)	물(ml)
Control	330	130	-	540
1/25*	330	130	540	-
1/50**	330	130	540	-
1/75***	330	130	540	-

* 누에고치 80 g에 음용수 2 L를 첨가하여 100℃에서 30분간 끓여 추출

** 누에고치 40 g에 음용수 2 L를 첨가하여 100℃에서 30분간 끓여 추출

*** 누에고치 27 g에 음용수 2 L를 첨가하여 100℃에서 30분간 끓여 추출

된장의 원료 배합 후 30℃에서 30일간 숙성중의 수분, pH, 산도, 포르몰태질소, 색도를 측정한 결과, 표 15에서와 같이 sericin 첨가구와 무첨가구간 그리고 첨가농도에 따른 수분, pH, 산도, 포르몰태질소 함량간에는 큰 차이가 없는 것으로 나타나, sericin의 된장제조시 첨가는 된장의 숙성에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

표 15. Sericin이 첨가된 된장의 숙성 기간별 성분변화

실험항목 된장		수분 (%)	pH	산도 (%)	포르몰태질소 (mg%)	색도 (L + a + b 값)
0일	Control	58.00	6.90	0.54	266.0	55.84+8.95+23.91
	1/25	57.57	6.91	0.56	269.5	55.74+9.29+24.39
	1/50	57.67	6.88	0.54	273.0	56.03+9.21+24.37
	1/75	57.69	6.91	0.52	266.0	56.08+9.24+24.27
15일	Control	58.19	6.67	1.01	441.0	50.32+10.19+23.57
	1/25	57.81	6.66	1.06	441.0	50.49+9.98+24.18
	1/50	59.47	6.66	1.06	441.0	51.26+10.25+24.45
	1/75	58.29	6.67	1.04	441.0	49.53+9.96+23.48
30일	Control	58.24	6.62	1.08	532.0	50.51+9.75+21.50
	1/25	57.47	6.63	1.13	528.5	50.81+9.75+21.69
	1/50	57.78	6.61	1.10	535.5	49.97+9.10+20.35
	1/75	58.63	6.59	1.13	528.5	50.06+9.38+20.63

숙성 30간의 PCA, PDA, MRS 배지를 이용한 미생물 수를 측정
한 결과, 표 16에서와 같이 초기 균수는 모든 배지에서 90×10^6 전
후의 균수가 측정되었으며 숙성 15일에는 sericin 추출물의 첨가구
의 균수가 무첨가구에 비해 약 1.5배의 균수가 증가하는 경향이었으
나 숙성 30일 경에는 무첨가구의 균수가 15일에 비해 약 3배 증가
증가한 반면 sericin 첨가구는 무첨가구의 약 1/3배로 낮은 경향으로
나타났다.

된장에 대한 관능평가를 실시한 결과 표 17에서와 같이 1/50의
sericin 첨가구를 제외하고는 전 항목에서 유사하게 평가되었으나,
sericin 무첨가구의 종합적인 기호도가 6점으로서 비교적 우수하게
평가되어, sericin의 첨가에 따라 기호도가 하락하는 것으로 나타났
다.

제조한 4종의 된장을 대상으로 관능검사를 실시한 결과 표 17에
서와 같이 sericin 무첨가구의 색감과 풍미가 sericin 첨가구보다 비
교적 우위로 평가되어 종합적인 기호도 측면에서 보면 무첨가구인
control이 6.0으로서 우수한 것으로 나타났으며 유사하게 평가된 것
으로는 1/25의 된장이 비교적 높게 평가되어 sericin의 된장에서의
사용가능성이 있는 것으로 평가되어 번비를 억제할 수 있는 된장제
품의 제조 가능성이 있다고 판단된다.

표 16. Sericin이 첨가된 된장의 숙성기간별 균수변화

된장 실험항목		미생물(×CFU/g)		
		PCA	PDA	MRS
0일	Control	86×10 ⁶	92×10 ⁶	55×10 ⁶
	1/25	104×10 ⁶	106×10 ⁶	74×10 ⁶
	1/50	90×10 ⁶	171×10 ⁶	78×10 ⁶
	1/75	88×10 ⁶	95×10 ⁶	77×10 ⁶
15일	Control	96×10 ⁶	79×10 ⁶	94×10 ⁶
	1/25	140×10 ⁶	106×10 ⁶	121×10 ⁶
	1/50	139×10 ⁶	118×10 ⁶	133×10 ⁶
	1/75	120×10 ⁶	104×10 ⁶	123×10 ⁶
30일	Control	334×10 ⁶	227×10 ⁶	269×10 ⁶
	1/25	78×10 ⁶	69×10 ⁶	75×10 ⁶
	1/50	79×10 ⁶	63×10 ⁶	63×10 ⁶
	1/75	65×10 ⁶	62×10 ⁶	67×10 ⁶

표 17. Sericin이 첨가된 된장의 숙성 30일째의 관능검사

(9점 평점법)

된장 항목	Control	1/25	1/50	1/75
색	6.25±1.71 ^a	6.00±1.41 ^a	5.75±2.06 ^a	5.75±0.96 ^a
풍미	5.25±2.63 ^a	5.00±1.83 ^a	5.75±1.71 ^a	4.75±1.50 ^a
점도	5.75±1.50 ^a	6.00±1.83 ^a	5.25±1.26 ^a	4.50±1.73 ^a
고소한 맛	6.00±1.41 ^a	6.50±1.73 ^a	5.00±1.41 ^a	5.75±1.50 ^a
짠맛	4.50±0.58 ^a	4.75±1.26 ^a	3.75±2.22 ^a	5.75±1.50 ^a
종합적 기호도	6.00±2.31 ^a	5.75±1.89 ^a	4.50±2.38 ^a	5.00±1.41 ^a

나. 고추장의 제조

표 18의 원료 배합비에 준하여 sericin 첨가구와 무첨가구 (control)의 고추장 4종을 제조하고 30일간 30℃에서 숙성시키면서 수분, pH 산도, 포르몰태질소, 색도, 미생물 균수를 측정하였고, 관능평가를 실시하였다.

숙성기간별에 따른 성분을 분석한 결과 표 19에서와 같이 sericin 추출물의 첨가구와 control 간에는 모든 항목에서 큰 차이가 없는 것으로 나타나, 고추장의 제조시 sericin이 고추장의 숙성에는 거의 영향을 미치는 않는 결과를 얻었다.

표 18. Sericin이 첨가된 고추장의 원료 배합비

원료 고추장	메주 (g)	참쌀 (g)	고춧가루 (g)	물엿 (g)	소금 (g)	엿기름 (g)	추출물 (mL)	물 (mL)
Control	50	188	222	50	110	70	-	500
1/25*	50	188	222	50	110	70	500	-
1/50**	50	188	222	50	110	70	500	-
1/75***	50	188	222	50	110	70	500	-

* 누에고치 80 g에 음용수 2 L를 첨가하여 100℃에서 30분간 끓여 추출

** 누에고치 40 g에 음용수 2 L를 첨가하여 100℃에서 30분간 끓여 추출

*** 누에고치 27 g에 음용수 2 L를 첨가하여 100℃에서 30분간 끓여 추출

Sericin을 첨가한 고추장의 미생물 수를 30일간 3 단계에 걸쳐 측정된 결과 표 20에서와 같이 sericin 첨가구와 무첨가구 간에 균수의 차이는 없는 것으로 나타나, sericin은 고추장에서의 미생물 증식에는 거의 영향을 미치는 않는 것으로 나타났다.

Sericin이 첨가된 고추장의 관능검사를 실시한 결과, 표 21에서와 같이 1/25의 고추장의 경우 sericin 무첨가구에 비해 색감, 풍미, 점도 면에서 기호성이 좋은 것으로 나타나, 종합적인 기호도가 6.0으로서 높게 평가되어 sericin이 고추장에 충분히 활용가능 할 것으로 나타났다.

표 19. Sericin이 첨가된 고추장의 숙성기간별 성분변화

실험항목 고추장	수 분 (%)	pH	산 도 (%)	포르몰태질소 (mg%)	색도 (L + a + b 값)	
0일	Control	48.52	5.41	1.01	150.5	36.02+18.98+15.68
	1/25	46.13	5.40	1.06	154.0	35.07+20.33+17.44
	1/50	47.21	5.40	0.99	140.0	36.56+19.25+15.78
	1/75	46.34	5.41	1.01	147.0	34.61+20.64+17.18
15일	Control	48.89	5.36	1.01	157.5	33.87+20.70+17.58
	1/25	46.18	5.34	1.08	164.5	32.72+19.32+15.82
	1/50	47.67	5.35	1.06	157.5	33.61+20.38+17.19
	1/75	46.72	5.35	1.01	157.5	33.56+19.70+16.52
30일	Control	48.76	5.36	1.01	157.5	37.45+18.22+14.12
	1/25	45.88	5.33	1.10	168.0	36.03+16.54+12.11
	1/50	47.29	5.35	1.04	161.0	36.34+16.98+12.58
	1/75	46.14	5.34	1.06	161.0	37.01+18.10+13.64

표 20. Sericin이 첨가된 고추장의 숙성기간별 균수변화

실험항목 고추장		미생물(×CFU/g)		
		PCA	PDA	MRS
0일	Control	194×10 ⁵	146×10 ⁵	212×10 ⁶
	1/25	201×10 ⁵	163×10 ⁵	166×10 ⁶
	1/50	223×10 ⁵	196×10 ⁵	227×10 ⁶
	1/75	283×10 ⁵	228×10 ⁵	311×10 ⁶
15일	Control	42×10 ⁶	198×10 ⁵	38×10 ⁶
	1/25	46×10 ⁶	236×10 ⁵	51×10 ⁶
	1/50	65×10 ⁶	328×10 ⁵	55×10 ⁶
	1/75	53×10 ⁶	282×10 ⁵	54×10 ⁶
30일	Control	35×10 ⁶	198×10 ⁵	34×10 ⁶
	1/25	45×10 ⁶	312×10 ⁵	36×10 ⁶
	1/50	32×10 ⁶	211×10 ⁵	28×10 ⁶
	1/75	46×10 ⁶	195×10 ⁵	37×10 ⁶

표 21. Sericin이 첨가된 고추장의 관능검사 (9점 평점법)

	Control	1/25	1/50	1/75
색	5.25±1.71 ^a	7.50±1.00 ^a	7.00±0.82 ^a	6.00±1.83 ^a
풍미	5.25±1.26 ^a	6.50±1.73 ^a	6.25±1.50 ^a	5.50±2.08 ^a
점도	4.75±2.99 ^a	5.50±1.91 ^a	4.25±2.36 ^a	5.50±1.73 ^a
단맛	5.25±1.71 ^a	5.25±0.50 ^a	4.75±0.50 ^a	4.75±0.96 ^a
매운맛	5.75±1.71 ^a	6.00±1.41 ^a	5.25±0.50 ^a	5.50±0.58 ^a
짠맛	4.75±1.71 ^a	5.50±2.38 ^a	4.75±1.26 ^a	4.75±1.89 ^a
종합적 기호도	5.75±2.22 ^a	6.00±1.83 ^a	5.25±1.26 ^a	5.75±0.50 ^a

참고문헌

1. Kayashita, J., Shimaoka, I., Nakajoh, M., Yamazaki, M. and Kato, N. Consumption of buckwheat protein lowers plasma cholesterol and raises fecal neutral sterols in cholesterol-fed rats because of its low digestibility, *Y. Nutr.*, 127, 1395-1400(1997)
2. Morita, T., *化學と生物*, 34, 564-566(1996)
3. Morita, T., Kasaoka, S., Oh-hashii, A., Ikai, M., Numasaki, Y. and Kiriyaama, S. *J. Nutr.*, 128, 1156-1164(1998)
4. Ikeda, K. and Kishida, M. Digestibility of proteins in buckwheat seed, *Fagopyrum*, 13: 21-24 (1993)
5. Kayashita, J., Shimaoka, I., Nakajoh, M., and Kato, N. Feeding of buckwheat protein extract reduces hepatic triglyceride concentration, adipose tissue weight, and hepatic lipogenesis in rats, *Nutr. Biochem.* 7:555-559 (1996)
6. Kayashira, J., Shimaoka, I., Yamazaki, M. and Kato, N. Buckwheat protein extract ameliorates atropine-induced constipation in rats. *Current Advance in Buckwheat Res.* (T. Matano and A. Ujihara, ed.) Vol.2, p. 941-946, Shinshu University Press, Nagano, Japan
7. Akiyama, D., Okazaki, M., and Hirabayashi, K. *J. Seric. Sci. Jpn.* 62: 392-396 (1993)
8. Engel, W., Hoppe, U., Pape, W., Sauermann, G. *Arztl Kosmetol.* 17: 91-110 (1987)
9. Kato, N., Sato, S., Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N., and Nomura, M. Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity, *Biosci, Biotechnol. Biochem.*, 62(1): 145-147 (1998)
10. Yasuda, K. Tests on the new utilization technique of silk protein, *Bulletin of the Gifu Prefectural Institute of Sericultural Science(Japan)* 6: 46-56 (1996)
11. Korea Food Research Institute. Operation Guideline for

- Faculty of Korean Fermented sauce products, p. 18. KFRI, Korea (2000)
12. AOAC. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Maryland. USA (2000).
 13. 한국식품공업협회. 식품공전. p 549-551 (2001)