최종보고서

식품폐기물 재활용에 의한 신상품 개발연구

Development of new products by reutilization of food waste

사 업 구 분 : 첨단농림수산기술개발 과제
연구(개발) 분야 : 첨단가공기술개발

주관 연구기관 : 세종대학교
협동 연구기관 : 서울대학교
아주대학교
경북대학교

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "식품 폐기물 재활용에 의한 신상품 개발 연구" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

(세부과제 " 1. 천연 향신 조미료 개발
2. 고추씨와 마늘뿌리 부위의 기능성 물질 확인 및 분리
3. 식품산업 폐기물 현황조사
4. 두부순물에서의 기능성 물질 분리 이용
5. 천연 칼슘소재 개발
6. 생분해성 포장재 개발 ")

1998. . .

주관연구기관명 : 세종대학교
총괄연구책임자 : 김 우 정
연구원 : 윤석권 (동덕여자대학교)
연구원 : 신명교 (환경기술개발원)
협동연구기관명 : 서울대학교
협동연구책임자 : 황 인 경
협동연구기관명 : 아주대학교
협동연구책임자 : 김 공 환
협동연구기관명 : 경북대학교
협동연구책임자 : 김 미 라

요 약 문

Ⅰ. 제 목

식품 폐기물 재활용에 의한 신상품 개발 연구

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

가. 연구개발의 목적

최근 우리나라에서는 환경오염을 최소화하고 자원의 효율적 재활용을 위한 노력이 진행 중에 있으며 그중 전체 폐기물의 약 30% 차지하는 식품류 펴기물의 재활용 문제는 중요한 과제라 할 수 있다. 식품 폐기물은 폐기물의 특성과 상태에 따라 비료와 사료, 식품으로의 재활용을 생각할 수 있으며 부패되지 않는 폐기물 중에는 영양소나 기능성 성분이 함유되어 있거나 향미특성이 우수한 것들이 있어 고부가가치의 새로운 식품으로 개발이 가능하다. 이를 위한 방법으로는 영양소 또는 기능성 물질의 분리, 식품의 물리적 성질은 향상시켜 주는 소재의 개발, 향미물질을 이용한 천연 조미료의 제조 등이 있겠다.

본 연구에서는 식품 산업체에서의 폐기물을 활용하여 천연 향신 조미료의 제조, 기능성 물질의 분리, 천연 칼슘소재의 제조, 생분해성 film의 제조방법을 연구하며, 겸하여 폐기물 재활용을 위한 기초적 자료가 되고져산업체에서의 발생되는 폐기물의 현황을 조사 하였다.

나. 연구개발의 중요성

1) 천연향신 조미료의 개발

고추가루 가공공장에서 제거되는 고추씨는 고추무게의 약 15%로 일부는 고추씨 기름으로 활용되고 있거나 고춧가루에 다시 첨가하고 있지만 대부분 폐기되고 있는 실정이다. 박피마늘의 경우 박피기술은 개발된 상태로 비식용부위인 뿌리부위 제거기술이 개발중이며 개발중이며 개발될 경우 제거되는 뿌리부위는 약 15%내외가 될것으로 예상하고 있다. 이들 고추씨와 마늘 뿌리 부위폐기물은 강한 자극성과 냄새로 인해 사료의 이용이 불가능하고 악취와 함께 토양의 심각한 오염원이 되고 있거나(고추씨) 오염이 예상되고 있다(마늘 뿌리부위). 고추씨는 고추와는 다른 자극성 매운 맛을 갖고 있으며, 마늘의 뿌리부위에는 마늘 과육이 일부 포함되어 있어 마늘 고유의 마늘 맛을 갖고 있다. 그리하여 이들 폐기물을 이용한 천연향신 조미료로 제조는 천연향신조미료 제조의 원가의 절감과 폐기물 재활용 그리고 환경오염의 방지라는 면에서 유익한 것으로 사료된다. 이를 위하여는 향미성분의 추출방법 개발 및 사용과 기호에 적합한 제품의 개발이 필요하다. 또한 박피 마늘의 경우 일부변색으로 인해 식용에 부적합한 등급의 박피마늘의 효율적 이용 방안이 필요하다.

2) 기능성 소재 분리이용

두부제조시 유출되는 순물은 고형분 농도가 10,000 - 20,000 ppm으로 방류되고 있어 하천 오염원이 되고 있으며 순물의 폐수처리시설 및 운영에 큰 부담을 주고 있다.

순물중에는 저분자 단백질, oligo당, isoflavon, phytate등 수용성 유

기물질이 함유되어 있다. 일부 저분자량 단백질과 isoflavon은 항암효과가 증명된 바 있으며 올리고당은 대장내 비피더스균 번식을 돕고 그 외의 물질은 중금속 제거, 혈중 cholesterol 저하의 효과가 밝혀진 바 있다. 그러나 현재까지 순물의 유효성분을 분리·이용하는 방법에 대하여는 연구된 바는 없어, 순물의 기능성 물질을 효율적으로 분리 이용한다면 순물의 정화와 더불어 일석이조의 효과가 기대된다 하겠다.

고추가루 가공시 폐기되는 고추씨에는 고추와 같이 여러 가지 기능성 물질이 함유되어 있다고 기대되나 이를 증명하는 연구는 이루어진바 없으며 더욱이 고추씨의 기능성물질을 분리 이용하고자 하는 연구는 발표된바 없다. 또한 마늘의 기계적 박피기술 개발과 함께 뿌리부위의 제거기술 개발이 기대되면서 뿌리부위와 함께 제거되는 과육에서의 기능성 물질활용 기술은 발표된 바 없다. 따라서 고추씨와 마늘뿌리에서의 기능성 물질의 존재 확인 및 분리방법 개발은 이들 폐기물 활용에 도움을 줄 것이라 기대한다.

3) 천연 칼슘소재 개발

달걀공장에서 폐기되는 난각은 주성분이 칼슘으로 난각을 활용한 칼슘소재의 개발은 인체내에서 흡수성이 높은 동물성 칼슘의 제조로 제조원가 절감과 함께 폐기물 활용의 효과가 기대된다. 난각에서의 난막의 제거와 함께 칼슘 분리 기술과 이온가 및 색의 향상등 칼슘제품의 특성 향상 연구는 칼슘의 섭취량을 보충해 주는데 기여할 것이다. 겸하여 난각칼슘의 주요식품에 첨가하는 방법연구는 칼슘섭취방법 향상에 도움이 되리라 생각된다.

4) 생분해성 포장재 개발

현재 사용중인 합성 수지 포장재는 자연적인 분해가 어려워 환경오염의 심각한 문제로 대두되고 있어 생분해성 비닐의 개발이 세계 여러나라에서 진행 중에 있다. 그러나 주원료인 전분의 가격이 높아 경제성이 낮은 것이 어려움으로 되어있다. 감자가공 공장에서 폐기되는 감자껍질은 전분물질이 많이 포함되어 있어 전분을 분리하여 생분해성 비닐제조에 사용한다면 생분해성 film제조의 걸림돌이 되고 있는 원료비용을 절감할 수 있을 것이다.

따라서 감자껍질에서의 전분분리와 함께 전분의 화학적 특성을 변형시켜 생분해성 포장재를 제조하고, 생분해성 film의 물리적 특성을 향상시키는 연구는 이 분야의 산업발전에 기여할 수 있을 것이다. 또한 생분해성 포장재의 분해도를 측정하는 표준화된 방법이 설정되어 있지않아 신속하고 재현성 있는 방법개발이 필요한 실정으로 이에 관한 연구의 필요성이 있다.

5) 식품산업 폐기물의 현황조사

우리나라의 식품에 관한 자료는 주요식품별 생산량과 소비량, 수출입량 등 통계적 자료가 매년 발표되고 있지만 환경오염과 관계있는 식품폐기물에 대한 자료는 미흡한 실정이다. 식품제조·가공분야에서의 환경오염발생은 주로 폐수 및 폐기물이 주된 것으로 폐기물의 경우 단순 폐기물(원료부산물)과 공정폐기물로 나누어 질 수 있으며 가공 공정중의 폐기물은 액상과 고상으로 분류된다. 현재 폐기물 발생과 관련한 정확한 조사가 이루어지고 있지 않으며 특히 식품 가공공장에서 발생되는 폐기물중 식품으로서의 재활용 가능한 폐기물 종류와 이들의 양 그리고 주요성분과 형태에

대하여는 조사된바가 거의 없다. 그리하여 이러한 자료의 조사는 폐기물의 재활용 방법 연구에 큰 도움을 주리라고 믿어진다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구과제인 식품폐기물의 재활용에 의한 신상품 개발 연구는 ① 고추씨와 마늘 폐기물을 이용한 천연 향신 조미료의 개발 ② 고추씨와 마늘뿌리 부위의 기능성 물질의 확인 및 분리조건 조사 ③ 두부 순물에서의 기능성 물질 분리이용 ④ 난각에서의 천연 칼슘 제조 및 이용 ⑤ 감자 껍질에서의 생분해성 포장재 개발 ⑥ 식품산업 폐기물 현황 조사(2년)등 6가지 세부 연구과제로 나누어 3년간의 연구를 수행하였다. 이 중 폐기물에서의 천연 향신료 개발, 기능성물질의 분리와 식품산업폐기물 현황조사는 주관 연구기관(세종대, 동덕여대, 환경기술개발원)에서, 두부순물과 난각, 감자 껍질의 이용 연구는 협동 연구기관(서울대, 아주대, 경북대)에서 연구를 분담하였다.

각 과제별 연구개발 내용과 범위는 각 과제의 결과보고에서 상세히 설명되어 있기에 참조하길 바라며, 본 연구의 주요변경 사항과 연구과제별 연구책임자는 다음과 같다.

※ 변경사항

마늘 뿌리부위 이용 향신조미료 연구내용에서 뿌리제거 기술의 개발을 기대하였으나 단시간내의 개발이 힘들것으로 예상되어(이분야 연구책임자 의견, 1997. 11.) 마늘뿌리 부위 이용 연구는 현구실성이 멀어졌음. 그리하여 박피 마늘공장에서 발생되는 비적합 박피마늘(2등급)을 이용한 향신

조미료 제품 제조연구로 변경하여 3차년도의 pilot plant 규모 연구를 대신하였음(마늘 paste 제조 조건 및 특성 향상, 2년간의 마늘 뿌리부위 연구결과를 활용함)

※ 연구과제별 연구 책임자

연 구 과 제	기 관 명	연구 책임자
o 천연 향신 조미료 개발	세종대학교	총괄 김우정
o 고추씨와 마늘뿌리 부위의 기능성 소재 확인 및 분리	동덕여대	공동 윤석권
o 식품산업 폐기물 현황 조사(2년)	환경기술개발원	공동 신명교
o 두부 순물에서의 기능성물질 분리 이용	서울대학교	협동 황인경
o 생분해성 포장재 개발	경북대학교	협동 김미라
o 천연 칼슘소재 개발	아주대학교	협동 김공환

Ⅳ. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1) 연구결과는 전국관련 기관과 산업계, 학계에 보내어 산업발전에 참고하도록 전문학술지에 논문으로 발표하여 연구와 기술개발에 널리 활용되도록 한다.

2) 제 1 세부과제에서의 천연향신조미료 개발 연구에서 고추씨의 효율적 추출방법과 고추씨-홍합의 천연 조미료 제조방법을 개발 하였고 그 내용중 마늘제품의 변색억제 방법, 홍합과 마늘 추출시 수율과 향미 향상 방법은 새론운 가공방법이었다. 또한 pilot 규모에서의 산업적 제조 방법 및 조건의 제시는 이러한 제품의 산업적 생산에 도움이 되리라 믿고 필요시 연구의 상세한 자료 제공과 함께 제조방법개선에 도움이되도록 할 것이다.

3) 제 2 세부과제에서의 기능성 소재확인 및 분리 연구에서는 고추씨와 마늘의 기능성물질을 분리 및 확인하여 분리조건의 최적조건을 확립하였고 또한 저장중의 기능성물질의 특성변화를 살펴보았다. 그 결과 마늘의 전자공여능은 thiosulfinates의 함량과 정비례 관계에 있는 것으로 사료되며, 전자공여능은 50% ethanol을 사용함이 가장 높았고 가열 시간이 길어 질수록 감소하였다. 마늘의 아질산소거능은 polyphenol이나 flavonoid의 영향을 받으며 이들은 열처리나 저장 기간에는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이러한 연구는 고추씨와 마늘뿌리의 식품 산업적 활용 가치를 더욱 높일 것으로 기대된다.

4) 제 3세부과제에서의 연구는 식품폐기물 발생현황에 대한 폐기물 발생량과 주요 발생단계 및 공정, 형태에 대한 기초조사로서 식품산업의 폐기물관리 대책 수립에 활용할 수 있다. 또한 이들 폐기물이 퇴비 및 사료로서의 재활용 가능성이 매우 높은 것으로 재활용 원료로서의 수급 및 정적처리 정책 마련에 활용할 수 있다. 아울러 유형물질의 회수 및 재활용 추진시 원료량 및 발생처를 비교적 용이하게 확인 할 수 있으며 이를 위하여는 폐기물 발생에 대한 조사가 계속적으로 추진되는 것이 바람직 할 것으로 보여진다.

5) 제 4세부과제에서는 두부공장에서 배출되는 물리화학적 특성과 유용성 성분의 함량을 측정한 후 가능성이 보이는 유용성 성분을 효과적으로

분리 농축하는 방법을 개발하기 위하여 한외여과 및 나노여과시 여러조건을 결정하였으며 분리 농축된 콩올리고당 및 두부순물단백질의 기능적 특성을 살펴 보았다. 실험결과 분리 종축된 콩올리고당은 중금속함유등 설정된 기준에 적합하였으며 미생물실험에서도 유익균의 성장을 촉진시키는 것으로 나타나 건강보조식품 제조에 사용할 수 있으며 두부순물단백질의 물리화학적특성 결과 용해성이 높아 단백질강화 음료제조등의 원료로 적합하여 ACE 저해활성도 있어 건강보조식품으로 사용가능성이 높다.

6) 제 5 세부과제에서의 천연칼슘소재 개발연구는 현재 시판되고 있는 칼슘첨가 식품에 들어 있는 칼슘이 불용성이기 때문에 섭취 후 체내에서 거의 흡수가 되지 않는 문제점을 보완하여 체내에서 칼슘의 흡수율을 수십에서 수백 배 이상 향상시킨 유기산 난각 칼슘을 개발하였다. 유기산 난각 칼슘을 몇 가지 식품에 적용하여 본 결과 칼슘이 부족한 다른 식품에도 식미를 크게 저해하지 않는 범위 내에서 첨가할 수 있을 것으로 사료된다. 이외에도 여러 가지 형태(캡슐, 타블렛, 그래뉼 등)로 가공하여 건강보조 의약품으로 활용될 수 있을 것이다. 현재 본 연구 결과의 일부가 전문학술지(한국농화학회지 제40권 6호 p531-535 (1997),한국식품과학회지 제 30권 5호 p1197-1202 (1998))에 발표된 후 식품 첨가용 칼슘을 생산하고 있는 식품 산업체로부터 문의가 수차래 있었고 본 연구 결과의 활용에 큰 관심을 보이고 있다. 또한 본 연구 결과 중 공장 설계에 관련된 내용은 중소기업 규모의 유기산 난각 칼슘 제조공장 설립에 크게 참고가 될 것으로 기대된다.

7) 제 6 세부과제에서 개발된 생분해성 필름 제조연구는 향상된 기계적 강도를 보임으로써 앞으로 이와 관련된 연구의 기초자료도 이용될 수 있을 뿐만 아니라 실제 산업체에서 이를 실용화하여 식품 폐기물을 이용한 고부

가치의 필름 제품을 생산하는데 활용될 수 있을 것이다. 또한 본 연구에서 개발한 생분해성 측정법은 신속하고 재현성 있는 방법으로 생분해도 측정법의 표준화 작업에 유용한 자료도 사용될 수 있을 것이다.

Summary

In oder to utilize the food waste from food industry, several food products were developed in this research works. In addition to food products development, food wastes produced from industry was statistically surveyed for possible waste utilization as food products. The results are obtained as follow.

Part 1. Development of natural spice seasoning.

In this work natural spice seasoning products were investigated for their preparation conditions and procedures for effective reutilization of red pepper seeds and garlic root portion, the wastes from spice food industry. For the red pepper seeds(RPS), the seeds were treated with steaming or roasting and then extracted in water with addition of phosphates, organic acid, salt and sugar at various pH and temperature. The results showed that RPS without heat treatment produced better hot taste than heat treated ones. In the temperature range of 70 100℃, the extracts prepared at 80℃ for 30

miutes resulted a relatevely high solid yield(27%) with mild color and the highest in hot taste. Among the natural materials added to RPS extracts to improve the harmonized hot taste, mussel was chosen because of its high palatability. The mussel extraction study showed that enzymatic hydrolysis with Protease Ⅱ(commercial) before extraction and addition of $K_4P_2O_7$ or Na_3PO_4(1.0%) followed by extraction at 90℃ for 40 minutes were optimal in terms of solid yields, color and sensory properties. The prefered mixing ratio of RPS and mussel was 10 : 90(w/w).

For extraction of root portion of garlic, several conditions were studied. It was found that hydrolysis of ground garlic with viscozyme.(a commercial polysaccharase) The ground garic was ground and followed by extraction at 30℃ and pH 5.5 for 30 minutes with addition of K_3PO_4 or $K_4P_2O_7$ were optimal condition in terms of high solid yields(34 36%) and retension of garlic flavor. The garlic oleoresin extracted with ethanol was stable under vacuum or nitrogen condition with addition of ascorbic acid and cysteine during storage. The discoloration such as greening and browning, which is the major problem in garlic products, was siginificantly reduced by addition of cysteine, ascorbic acid, Na_3PO_4 and $Na_4P_2O_7$, individually or in mixture.

The spray dried RPS-mussel extracts and garlic paste processed by pilot plant with using the selected conditions and procedures, were evaluated high in their gualities by industial personnel.

Part 2. Conformation and separation of phytochemical compounds in red pepper seeds and garic root portion

In order to extract the functional components of garlic effectively, solid yields, electron donating ability(EDA), nitrite-scavenging effects(NSE) and peroxide value of extracts from five kinds of organic solvents and four kinds of acids were determined. Methanol extracts were highest in the yield and functionality.

Concentration and pH of methanol and ethanol and the addition effects of citric acid and NaCl to alcohol were conducted to increase the functionality of extracts.

Considering the using to food 50% ethanol were evaluated to best solvent.

The extracts prepared from boiled garlic for 10-30min and at 40-120℃. The EDA, NSE and total thiosulfinates contents were investigated. The EDA and NSE was reduced extending the heating time and raising the heating temperature but reducing rate of EDA was large but that of NSE was little. The total thiosulfinates contents greatly reduced, especially they cannot즚be dectable when garlic was heated at 80℃ or more.

When the extracts from heated garlic were stored at 4℃, 25℃, 50℃ for 60 days, the EDA and total thiosulfinates contents were decreased more drastically at higher temperature storage, but there was a little change in NSE.

When garlic extracts(0.5-2%) were added to soy sause there were snot observed gas formation and growth of film yeast.

Part 3. Statistical survey of the waste from food industry

A current status of general solidwastes from food industry sector of which production is up to 7% of total domestic manufacturing production in 1995 was surveyed by based on the reported statistical natural food resources data.

The Amount of eatable foodstuff in 1995 was approxiually 34,446,000M/T. 24%(8,481,000M/T) of it were put into further food processing as a raw materials and remainder were used as a food, directly. 1,938,000M/T of general solid wastes were produced at the pretreatment(1st processing) grain sand livestocks and 3,668,000M/T were generated from the food processing(2nd processing), which was approxiuatly 56% of raw materials. Volume of generated waste was firstly depend on food source type and these kinds of general solidwaste produced from processing of crops, fishery, and meats were produced 311,900M/T, 395,300M/T, and 12,100M/T respectively.

The other type is process specific, such as extracting or conversion of a certain chief ingradient, and the ratio of waste verse raw material were 168%(fermentation), 84.7%(oil extraction), 55.1%(starch production), etc

Annual avenage of general solid waste generated from each food industry in 1995 was 371.8M/T, which was different from manufacturing size, and Type of raw materials and process.

Part 4. Separation of phytochemical components from soybean curd whey

Soybean curd wheys (SCW) left after producing tofu from 10 tofu-producing plants were collected and analyzed for the contamination level(COD, BOD), physicochemical properties(viscosity, color, etc.) and functional components (total protein, oligosaccharides, amino acids etc.). For separation and concentration of oligosaccharides and proteins in SCW, ultrafiltration(UF) and nanofiltration(NF) methods were applied. By UF, 90% of total protein and 50% of ash in SCW were removed. NF concentrated oligosaccharides efficiently. The effects of soybean oligosaccharide concentrated from SCW on *Bifidobacteria* and pathogenic microorganism were measured. The contents of heavy metals i.e., Pb, Cd in oligosaccharide were below the threshold level of them by Calpis CO., in Japan. Refined oligosaccharides by ionic filtration were dried to the fine powders with bright white color, and showed no significant differences in sensory quality compared with Japanese products.

The characteristics of soybean whey protein(SWP) concentrated by

UF and NF were compared with isolated soybean protein(ISP). The solubility of SWP was greater than ISP, the emulsifying activity of SWP was less than that of ISP. SWP were fractionated by gel filtration and each fraction was evaluated for ACE inhibiting activity. The fraction superior in ACE inhibition effect was analyzed further by prep-FPLC, TLC and MALDI.

Part 5. Preparation and utilization of calcium components from eggshell

Eggshell crushed by a ball mill was separated from its membrane under the optimum conditions (30rpm, 30min, volume fraction 0.08) based on the difference in specific gravity in water. In order to increase the calcium ionization rate, calcium-citric acid complex(CC) and calcium-malic acid complex(CM) were prepared.

The calcium ion concentration of fresh noodle fortified with 1.0%(w/v) of CC and CM were 98 and 105ppm and those of loaf bread were 240 and 220ppm, respectively. The sensory evaluation with fresh noodle showed that 0.6% of CC and 0.8% of CM had significant difference(p=0.05) as compare to control. As for the loaf bread,both CC and CM at the level of 0.8% had significant difference(p=0.01). Concentration of calcium ion eluted from the Ramen fortified with 1.0%(w/v) of CC and CM were 62.8 and 24.8 ppm, respectively. These concentrations were 198 and 78 times higher than control and 11.4 times higher compared to MEP(0.7%, w/v). Both sensory results and reology of Ramen fortified with up to 0.7%(w/v) CM were similar to control. Soy milk fortified with 0.2%(w/v) CC or 0.25%(w/v) CM represents the optimum quality.

In summary, a new method to efficiently separate calcium component and enhance *in vivo* calcium absorption rate was developed. The organic acid eggshell calcium(OAEC) was incorporated with various food including fresh noodle, loaf bread, Ramen, soy milk to determine the threshold concentrations of OAEC without sacrifying their original sensory attributes.

Plant design for producing OAEC on the medium scale was also carried out. Based on the annual production rate of 240 ton/year, mass and energy balances were made along with equipment selection, plant layout, and economic analysis in detail.

Part 6. Development of processing method for biodegradable film from potato starch

Potato starch extracted from potato wastes was modified by crosslinking(CL) or hydroxypropylation(HP) and polyethylene(PE) cast films were prepared that contained 5% or 10%(wt) of the modified potato starch. Physicochemical properties of the modified potato starches and mechanical properties of the films were examined and thermal and biodegradability of these films were determined using rapid and representative methods. Water binding capacity increased but blue value, iodine adsorption, solubility, and swelling power decreased with the increase of degree of substitution in CL and HP. CL increased the gelatinization temperature of the starch but HP lowered the gelatinization temperature. CL did not affect the crystal region of starch granule.

Relative crystallinity of the starch was decreased and starch granule was destroyed by HP. Mechanical properties of CL-starch/PE films and HP-starch/PE films except 10.0 HP-starch/PE film were stronger than those of native-starch/PE films. Thermal degradability of the films was evaluated by heat treatment at 70℃ for 12 weeks.

CL-starch/PE films and HP-starch/PE films were more sensitive on thermal degradability than native-starch/PE film. Biodegradability of the films was determined by the incubation with *Pseudomonas aeruginosa*. CL-starch/PE films and HP-starch/PE films were degraded easier than native-starch/PE film. Therefore, recycling of potato wastes was economically useful as well as mechanical properties of the films containing modified starches were improved and thermal and biodegradability of these films were fast.

요 약

본 연구에서는 식품 산업체에서의 폐기물을 이용한 고부가가치의 제품을 생산하기 위하여 수행되었으며 몇몇 제품들이 개발되었다. 또한 폐기물 재활용을 위한 식품 자원으로서의 가능성을 검토하기 위해 식품 산업으로부터 생산되는 폐기물들의 현황을 통계적으로 조사하였으며, 일부 폐기물들의 기능성 확인 및 분리조건을 검토하였다.

세부과제 1. 천연 향신료의 개발

본 과제에서는 식품 폐기물인 고추씨와 마늘 뿌리의 재활용 방안으로 이들을 이용한 천연 향신조미료의 제조 방법을 조사하였다. 고추씨의 경우 마쇄하기 전에 증자와 볶음 처리를 한 뒤 pH와 온도를 달리하면서 인산염, 유기산, 염과 당의 첨가하여 추출하였다. 그 결과 열처리를 하지 않은 고추씨가 매운맛에 있어서 더욱 좋은 결과를 주었으며 첨가물을 첨가하지 않고 80℃에서 30분간 추출한 것이 비교적 높은 수율(27%)과 함께 매운맛 강도가 높고 연한색을 보여주었다. 여러 가지 조미물질을 첨가하여 추출하였을 때 고추씨의 매운맛과 가장 잘 어울리는 것은 홍합이었다. 홍합의

추출 수율과 향미 특성을 향상시키기 위한 조건으로 protease(상업용)으로 단백질을 분해시킨 뒤 $K_4P_2O_7$이나 Na_3PO_4(1.0%)를 첨가하여 90℃ 40분간에서 추출하는 조건이 최적조건으로 선정되었다. 또한 고추씨와 홍합의 혼합은 10 : 90이 적절하였다.

마늘 뿌리의 추출은 몇가지 조건을 검토한 결과 마늘은 마쇄한 뒤 K_3PO_4나 $K_4P_2O_7$를 첨가한 다음 상업용 다당류 분해효소인 Viscozyme으로 분해하고 pH 5.5에서 30℃로 30분간 가수분해된 것이 높은 고형분 수율(34 36%)과 함께 마늘 특유의 향미가 높아 최적 조건으로 선정하였다. Ethanol로 추출한 마늘 뿌리의 oleoresin은 저장 중 ascorbic acid와 cysteine의 첨가와 함께 진공이나 질소 충전처리를 한 것이 가장 안정하였다. 마늘에서 가장 큰 문제인 녹변과 갈변의 변색은 cysteine, ascorbic acid, Na_3PO_4와 $Na_4P_2O_7$를 단독 혹은 혼합 첨가하였을 때 현저히 억제되었다.

선정된 조건으로 pilot plant에서 가공한 고추씨-홍합 추출물 분무 건조분말과 마늘 페이스트는 그 품질에 대하여 산업체에서 높게 평가되었다.

제 2 세부과제. 고추씨와 마늘뿌리 부위의 기능성 소재 분리 이용

마늘의 기능성 성분의 효율적 추출을 위해 다섯 가지 유기용매와 4종류의 산으로 마늘을 추출하여 수율, 전자공여능, 아질산소거효과와 과산화물가를 조사한 결과 methanol 이 가장 효과적이었다. Ethanol과 methanol 의 농도별, pH(3 8)조절, NaCl(1 5%), citric acid(1 5%),NaH_2PO_4(0.5 2%)와 Na_2HPO_4(0.5 2%)를 농도별로 alcohol에 첨가하여 추출하여 기능성을 조사하였으나 수율 및 기능성의 큰 변화를 보이지 않았다.기능성 성분의 추출시 편리성과 추출효율성 및 식품에 첨가할 것을 고려할 때 ethanol 50%를 추출용매로 선정하였다. 마늘을 40 120℃ 의 온도와 10 30분간 열처리하여 ethanol 50%로 추출하여 전자공여능(EDA)과 아질산 소거능(NSE), 총 thiosulfinates의 함량을 조사하였다. EDA와 NSE는 가열 온도가 증가할수록 가열 시간이 길수록 감소하였는데 EDA의 감소율은 큰 반면에 NSE의 감소율은 작았다. 총 thiosulfinates 함량은 가장 감소 폭이 커서 80℃이상 가열 시 검출되지 않았다.가열처리한 마늘추출물을 60일 동안 저장(4°, 25°, 50℃)하였을 때 전자공여능과 총 thiosulfinates 는 감소폭이 현저하게 컸으나 아질산소거능은 큰 영향을 받지 않았다. 마늘과 마늘 추출물은 분쇄돈육에 첨가하여 저장 시 지질의 항산화성은 마늘첨가 수준이 증가할수록 효과를 보였고 마늘추출물 10%처리구의 항산화성은 마늘 20% 처리구와 비슷하였다. 마늘 추출물(0.5 2%)을 첨가 시 간장의 산막 효모들이 30

일 동안 가스와 산막을 생성하지 않았다.

제 3 세부과제. 식품산업 폐기물의 현황조사

전체 제조업 생산 중 7%내외의 비중을 차지하는 식품산업부분에서의 폐기물통계자료는 일부업체를 대상으로 한 유해폐기물 자료만이 집계되고 있다. 그러나 식품산업에서 발생하는 대부분의 일반폐기물에 대한 자료가 없어 농수축산물통계자료와 제조단계에서의 폐기물 발생률을 근거로 우리나라 식품산업의 일반 폐기물발생 현황을 조사하였다.

국내에서 가용 농·수·축산식품자원은 총 34,446천M/T(미집계등 포함시 총 36,199천M/T으로 추정)으로 대부분 식용으로 직접 이용되고 24%인 8,481천M/T이 식품가공에 원료로 사용되는 것으로 나타났다. 일반폐기물은 곡물 및 축산 전처리가공(1차가공)단계에서 1,938천M/T이 발생하는 것으로 추정되었고 가공단계에서는 가공원료량의 56%인 3,668천M/T이 발생하고 있는 것으로 조사되었다. 폐기물 발생량은 일차적으로 원료의 종류에 의해 결정되는데 이는 식품가공이 가식부만을 활용하는 특성에 기인하여 폐기물 발생량은 농산물 311.9천M/T, 수산물 395.3천M/T, 축산물 12.1천M/T이었고 공장 폐기불은 2,949천M/T으로 조사되었다. 식품성분을 추출, 변환시키는 제조공정에서는 발효(168.0%), 유지류(84.7%), 전분제조(55.1%)등에서 높

은 발생율을 보이고 있다. 제조업체의 규모와 사용원료, 공정에 따라 매우 큰 차이를 보이기도 한다. 산술적으로는 업체당 연간 371M/T(음식요품 제조업을 대상으로 하였을 경우 업체당 평균 587M/T)의 폐기물 발생량을 보이고 있다.

제 4 세부과제. 두부 순물에서의 기능성물질 분리 이용

두부 공장 10곳에서 선정하여 수거한 순물의 오염도와 이화학적인 특성, 기능성 물질의 함량을 측정하였고 각 공장의 실태를 설문조사하였다. 순물의 BOD와 COD는 각각 17,177 ppm, 19,980 ppm이었으며 총고형분, 총단백질, 총당은 각각 2.7%, 0.434%, 1.214%이었다. 총올리고당 함량 0.682 1.139%이었으며 이소플라본 중 daidzein은 2.505mg/g, genistein은 1.224 mg/g이었고 아미노산함량은 94.3 147.0mg/g이었다. 순물의 한외여과시 재생섬유소막(RCM)과 polysulphone막(PSM) 모두 pH 3.5에서 효율이 가장 높게 나타났다. PSM은 용적농축비 10일때 COD값의 79.25%, 단백질의 98.42%가 제거되어 폐수정화효과가 컸으며, RCM은 당을 회수하고자 할 때 더 효율적인 것으로 나타났다. 한외여과시 단백질의 90%, 회분의 50%이상의 제거효과를 보였으며 최종여과농축액 중 sucrose, raffinose, stachyose가 3.58%, 0.69%, 3.26%로서 순물에 존재하는 양보다 10배 이상의 농축효과를 보였다. 농축한 콩올리고당의 *bifidobacterium* 활성과 유해균의 억제정도에 미치는 영향을 측정하여 안정성을 보았고 유해중금속인 Pb, Cd함량은 일본의 칼피스사의 콩올리고당 기준치보다 낮게 나타났으며 정제된 분말은 백색이었고, 관능검사 결과 일본의 콩올리고당 제품과 유의적인 차이가 없었다. 농축한 두부순물단백질(SWP)과 대조군으로 사용된 분리대두단백질(ISP)의 용해도는 SWP가 높게, 유화력은 SWP가 낮게 나타났다. ANS 형광측정법으로 측정한 결과 SWP는 S-S기 함량이 더 높았고 Lysine/arginine비율은 1.71이었으며 총소수성 아미노산의 mole분율은 35%이었다. 두부순물단백농축물을 gel chromatography로 분자량별로 분획한 후 각 획분들 중 ACE 저해작용이 우수한 분획을 결정하여 prep-FPLC, TLC 및 MALDI분석을 실시하였다.

제 5 세부과제. 생분해성 포장재 개발

난각을 ball mill로 분쇄해 물 속에서 비중의 차이를 이용하여 난막을 분리하여 최적 난막 제거 조건(회전 속도 30 rpm, 체류 시간 30분, volume fraction 0.08)을 찾았다. 회화시켜 얻은 난각 칼슘분을 유기산과

반응시켜 유기산 난각 칼슘(Calcium citrate(CC), Calcium malate(CM))을 제조하여 본 연구에서 식품 첨가용으로 사용하였다.

CC와 CM을 각각 1.0%(w/v) 첨가한 생면은 각각 최고 98, 105ppm의 칼슘이온 농도를 나타내었고, 식빵에서는 240, 220ppm을 나타냈다. 생면의 관능 검사에서는 CC, CM을 첨가하는 경우, 각각 0.6, 0.8%의 농도에서 5% 수준의 유의적인 차이가 있었으며 식빵에서는 CC, CM 모두 0.8% 농도에서 1.0% 수준의 유의적인 차이를 보였다.

CM과 CC를 각각 1.0%(w/v)첨가한 라면으로부터 용출되어 나온 칼슘이온양은 62.8, 24.8ppm으로 대조구에 비하여 198배, 78배, MEP(0.7%w/v)에 비하여 11, 4배 높았다. CM 0.7%(w/v) 첨가한 라면의 물성은 대조구와 유사하고 관능검사 결과도 동일한 경향을 보였다. CC 첨가시 첨가량이 0.2%(w/v)이하인 경우는 대조구와 비교하여 유의성이 없는 것으로 나타났다. CM를 첨가하는 경우 CM 첨가량 0.25% (w/v)까지는 대조구와 유의성이 없는 것으로 나타났다.

결론적으로 난각에 들어 있는 칼슘성분을 효율적으로 분리하고, 체내흡수율을 높이기 위한 방법을 개발하였고 개발된 유기산 난각칼슘을 실제식품(생면, 식빵, 라면, 두유)에 첨가하여 칼슘강화 식품의 실용화 타당성에 대한 연구를 수행하였고 유기산 난각칼슘을 연간 240톤 생산할 수 있는 공장의 상세한 설계를 하였다.

제 6 세부과제. 천연 칼슘소재 개발

본 연구에서는 감자 폐기물을 이용하여 전분을 추출하고, 전분 충진형 필름의 기계적 성질 및 분해성을 향상시키기 위해 전분을 가교결합 및 하이드록시프로필화로 변성시킨 후 이 전분들의 이화학적 성질을 측정하였으며, 변성 감자 전분을 5%와 10% 포함한 polyethylene 필름을 제조하여 필름의 기계적 성질을 측정하였고, 신속하고 재현성 있는 방법으로 필름의 열분해 및 생분해 특성을 조사하였다. 전분의 물결합력은 가교결합 및 하이드록시프로필화의 치환도가 증가할수록 증가하였고, 청가와 요오드 흡착 특성 및 용해도와 팽화력은 치환도가 증가할수록 감소하였다. 가교결합은 전분의 호화온도를 증가시켰으나 하이드록시프로필화는 전분의 호화온도를 낮추었다. 가교결합은 전분의 결정성 영역에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 하이드록시프로필화에 의해 전분의 상대 결정화도는 낮아지고 전분 입자가 파괴됨이 관찰되었다. 10% 하이드록시프로필화 전분을 함유한 필름을 제외하고는 가교결합 및 하이드록시프로필화 감자 전분으로 제조한 필름의 기계적 성질이 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 더 강하게 나타났다. 70℃에서 12주간 열처리한 필름의 열분해 특성에서는 가교결합 및 하이드록시프로필화시킨 감자 전분으로 제조한 필름이 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 더 빨리 열분해됨이 관찰되었다. *Pseudomonas* *aeruginosa*에 의한 필름의 생분해 특성에서도 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 가교결합 및 하이드록시프로필화 감자 전분으로 제조한 필름이 더 쉽게 분해됨이 관찰되었다. 따라서 감자 폐기물의 재활용은 경제적인 면에서 유용할 뿐만 아니라 변성 감자 전분을 이용하여 제조한 생분해성 필름은 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 기계적 성질들이 향상되고, 열분해 및 생분해 특성이 더 뛰어난 것으로 확인되었다.

Content

Part 1. Development of natural spice seasoning.

Part 2. Conformation and separation of phytochemical compounds in red pepper seeds and garic root portion

Part 3. Statistical survey of the waste from food industry

Part 4. Separation of phytochemical components from soybean curd whey

Part 5. Preparation and utilization of calcium components from eggshell

Part 6. Development of processing method for biodegradable film from potato starch

목 차

제 1 세부과제(주관) 천연 향신 조미료의 개발 (세종대)

제 2 세부과제(주관) 고추씨와 마늘뿌리 부위의 기능성 물질 확인 및 분리(동덕여대)

제 3 세부과제(주관) 식품산업 폐기물 현황조사(환경기술개발원)

제 5 세부과제(협동) 천연 칼슘소재 개발(아주대)

제 6 세부과제(협동) 생분해성 포장재 개발(경북대)

본 문

세부과제 1. 천연 향신조미료 개발

제 1 장 서 론

식품 폐기물의 재활용은 폐기물의 특성과 상태에 따라 비료, 사료, 식품으로서의 재활용으로 크게 나눌 수 있으며 그 중 고추와 마늘 등의 향신료의 폐기물은 특유의 향미를 갖고 있어 이들을 이용한 천연 향신 조미료로의 재활용이 가능하다고 생각된다.

현재 우리나라에서 재배되고 있는 고추는 품종이 다양할 뿐아니라 채소류 중에서 가장 많은 재배 면적을 가지고 있고(1989년 7만 ha)(1) 한국인의 고추 평균 소비량은 1일 1인당 8   9g(건물중)으로서 고추의 전국 수요량은 매년 증가하여 약 20만톤에 이르고 있다. 이 중 약 60%는 고추가루로 가공되고 있으며 그 중 약 40%는 대단위 공장에서 가공되고 있다(2).

고추는 Thresh(3)가 매운맛 성분을 처음 순수상태로 분리하여 capsaicin이라고 명명한 이래 매운맛 성분이 capsainoid계 화합물로서 지용성이고 무색이며(4-7) capsaicin(8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide)과 dihydro-capsaicin이 주종을 이루고 있다. 매운맛의 강도는 capsaicin이 가장 높아 이를 100으로 하였을 때 dihydrocapsaicin은 63, nordihydrocapsaicin은 11, homocapsaicin은 5, homodihydrocapsaicin은 3의 순서로 나타남이 밝혀져 있다(8-11). 매운맛 이외에 고추맛에 영향을 주는 것으로 알려져 있는 당, 유리아미노산, 유기산, Vit C 등에 관한 연구는 이 등(12)이 아미노산, 유리산과 당의 변화를 분석하였고, 배 등(13)이 7종의 고추에 대한 유리당 함량을, 이(14)는 신미종 고추의 추출 중 당성분의 변화와 GC에 의한 고추의 부위별 당의 변화를 연구하였다.

우리나라에서 생산되는 풋고추와 일부 홍고추는 생채, 무침, 물김치에 이용하고 절단, 조쇄하여 김치 담금과 다대기, 양념장에 사용되고 있으며 대부분의 홍고추는 건조시켜 고추가루로 제조되고 있다. 고춧가루 공장에서의 제조과정 중 분리, 제거되는 고추씨는 전체 중량의 15% 내외로 많은

양이 생산되고 있으며 현재 일부 고추씨 기름 착유에 이용(15)되거나 고춧가루에 다시 첨가하고 있지만 고추씨는 대부분의 고추씨가 폐기되고 있어 매립에 큰 어려움을 안고 있다. 또한 이는 자극적인 맛을 갖고 있어 사료로의 이용이 불가능할 뿐만 아니라 매립시 자극성 악취를 발생시키고 있다. 따라서 고추씨를 이용한 천연향신료의 개발은 고추씨 특유의 매운맛 조미료 제조와 천연 조미물질 첨가로 그 맛을 더욱 향상 시킬수 있을 것이다. 더불어 고추씨에서의 매운맛 제거를 통해 그 잔여물은 사료로의 활용이 가능하리라 기대된다.

한편, 수확 후 저장 유통기간 중 발아와 효소에 의한 갈변(16), 미생물에 의한 부패로 장기 저장이 어려운 마늘은 마늘의 갈변 억제 방법과 추출에 관한 연구가 집중적으로 이루어졌다. 변색억제 연구로는 전과 이(17-19)의 마늘 성분의 산화 방지 작용에 관한 연구를 비롯하여 갈변의 경우 김 등(20)은 polyphenol oxidase가 관여한다고 하였고 Singh 등(21)은 마늘 분말의 갈변억제를 위하여 수분 함량을 6%로 하여 갈색병에 저장하는 방법을 제안한 바 있다. 마늘의 갈변이 건조온도, 수분함량 및 환원당에 의해 크게 좌우된다고 한 김 등(22)은 65℃에서 0.1%, 75℃에서 0.5%, 85℃에서 1.0% 아황산용액에 침지시켰을 때 갈변을 억제할 수 있었다고 보고하였다. 녹변에 관하여는 Lukes(23)가 마늘의 녹변이 일어나게 되는 주요 원인물질이 S-(1-propenyl) cysteine sulfoxide라고 하였으며, 배 등(24)은 다진 마늘의 녹변을 방지하기 위해서 가공시 soybean oil에 침지하였을 때 녹변의 방지가 효과적이었다고 하였다.

또한 마늘의 추출에 관한 연구는 신(25)이 마늘 펄프에 다당류 분해효소를 처리하여 14% 정도의 수율 증가를 가져왔다는 보고와 휘발성 성분의 손실 등의 문제로 인해 비교적 끓는 점이 낮은 용매를 사용하여 추출함으로써 휘발성 성분 뿐만 아니라 비휘발성 성분도 포함하는 마늘의 맛과 향을

동시에 지닌 oleoresin에 관해서만 어느정도 연구되었다. 배 등(26)은 마늘의 용매추출시 마늘 특유의 향미 유지에 methyl alcohol사용에 의한 oleoresin 제조가 가장 효과적이었다고 발표한 바 있으며 조 등(27)은 ethanol로 추출하여 농축한 마늘 extract에 수증기 증류 정유물을 첨가하고 유화제, 산, antiforming agent를 첨가할 때 마늘 oleoresin의 저장 안정성을 조사한 바 있다.

이와 같은 다양한 연구에도 불구하고 식품의 중간소재로 마늘의 산절임, paste, 분말 또는 과립형으로 가공하거나 마늘의 기능성 효능을 강조한 무취 마늘 drink류를 개발시 여전히 가공처리시에 발생하는 갈변 억제와 추출 최적조건이 문제가 되고 있는 실정이다. 또한 이와 더불어 최근 마늘의 기계적 박피기술이 발달함과 동시에 비식용 부위인 박피마늘의 뿌리부위를 제거한 유통 판매가 전망되면서 뿌리부위의 재활용 문제가 제기되고 있다. 뿌리부위의 활용은 박피마늘 제조공장에서의 뿌리부위의 제거기술 개발이 예상되면서 가까운 장래에 뿌리부위 폐기물 문제가 대두되리라 사료되므로 이 문제는 고추씨와 같은 차원에서의 재활용문제가 제기되리라 전망된다. 즉 뿌리부위에는 마늘 과육부분이 상당량 포함되어 있어 그 제거율이 전체 중량의 10 15%가 되리라 예상하며, 수분의 함량이 많아 곧 부패되어 심한 악취의 유발로 환경훼손의 원인이 되리라 짐작된다. 또한 박피마늘 제조과정 중 식용으로 적합하지 않은 변색된 박피마늘은 향미의 신선도를 그대로 보유하고 있어 이의 활용방안도 과제로 되어있다. 따라서 이들 마늘의 폐기물들을 이용한 마늘 향신조미료 개발은 여러 면에서 유익한 면이 있다고 하겠다.

현재 고추와 마늘을 이용한 향신조미료 제품 개발은 국내외의 제품화된 바 있으나 ‘고추씨’와 ‘마늘뿌리’의 맛 특성과 품질 특성의 향상을 위한 추출 조건과 천연조미물질을 첨가한 종합조미료 제조방법에 대한 연구는

발표된 바 없다. 그리하여 이들 폐기물을 이용한 천연 향신 조미료로 제조 연구는 천연 향신 조미료 제조의 원가의 절감, 폐기물 재활용 그리고 환경 오염의 방지라는 면에서 유익하며 이를 위하여 향미 성분의 추출방법의 개발 및 기호에 적합한 제품의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 고추씨와 마늘 폐기물을 활용하여 천연 향신 조미료의 산업적 생산을 위하여 향신 조미료의 최적 제조조건을 확립하고, pilot plant에서 제조한 뒤 공장규모에서의 제조시 개선점을 제시하고자 하였다. 또한 pilot plant에서 제조된 제품의 특성과 저장 및 안정성을 검토하고 산업적 제조를 위한 설비 및 기계의 제조시설을 검토하였다.

제 2 장 연구 방법

제 1 절 고추씨

1. 재료 및 시약

본 실험에 사용한 고추씨(경북 영양산)는 서울시 소재 가락동 농수산시장에서 구입하여 냉장 저장하면서 쇠고기, 홍합, 북어, 멸치, 건새우, 건다시마, 건미역과 파, 마늘 양파등 양념류는 서울 화양동 시장에서 신선한 것으로 구입하여 사용한다. 고추씨와 홍합의 추출시 첨가한 Nacl, sucrose, citric acid, ethanol, 인산염(NaH_2PO_4, Na_2HPO_4, Na_3PO_4, sodium citrate 및 $Na_4P_2O_7$, $Na_5P_3O_{10}$, $(NaPO_3)_n$)은 일급시약을 사용하였다. 단백질 분해효소는 Novozyme 89, Alcalase, Protamex의 3종은 (주) Novo Nordisk (덴마크) 에서 공급받았고 Acid Protease A, Acid Protease Ⅱ, Protease M 은 (주) Amano Enzyme (U.S.A)에서 공급받아 사용하였다.

2. 추출액 제조

가 고추 추출액

1) 열수 추출액

고추씨의 열수 추출조건의 선정을 위한 방법은 Fig.1과 같다. 고추씨의 볶음 처리는 stirrer/hot plate(PC-320)를 이용하여 은박지를 hot plate표면에 덮고 주위를 5cm높이로 은박지 벽을 만든 다음 서서히 저어 주면서

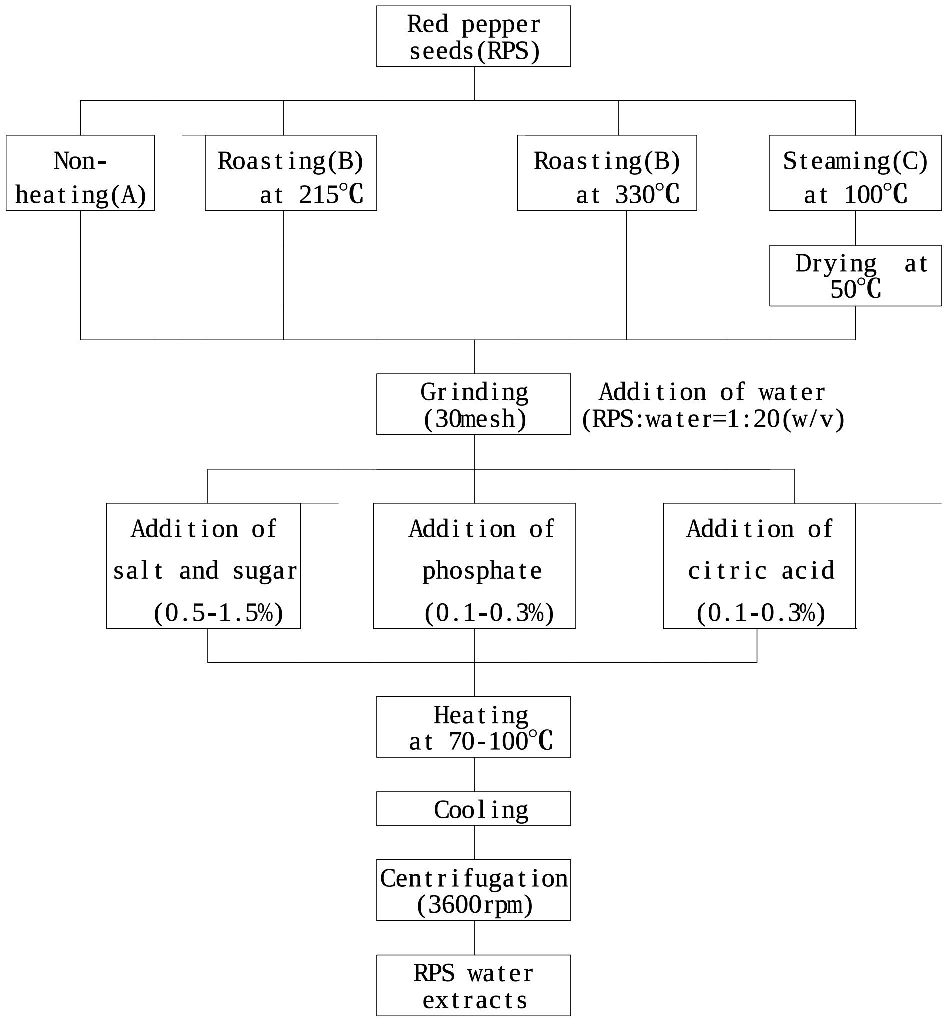


Fig. 1. Schematic diagram for preparation of several aqueous extraction of red pepper seeds.

표면온도 215℃와 330℃에서 10, 20, 30분간 볶았다. 그리고 증자시킨 고추씨는 고추씨를 100℃ 수증기에서 10, 20, 30분 증자한 뒤 50℃에서 4시간 건조시켰다. 가열처리와 비가열 고추씨는 분쇄기를 사용하여 30mesh로 마쇄한 다음 밀봉하여 -20℃에서 냉동 보관하면서 사용하였다.

고추씨와 물의 비율은 고추씨의 매운맛 특성을 적절히 느낄 수 있었던 1:20(w/v)으로 하였고, 염과 당은 0.5 0.3%로 하였으며 추출시의 온도 (70-100℃) 및 시간(10-60분)을 달리하여 추출한 다음 냉각시켜 3600rpm에서 20분간 원심분리(HMR-220IV, 한일 산업사)하였다.

2) 에탄올 추출액

고추씨의 ethanol 추출액은 조(28)등의 실험방법을 응용하여 0, 10, 20%의 ethanol에 1:20(w/v)되게 고추씨를 넣고 60℃항온 수조에서 1시간동안 교반하면서 추출한 다음 추출액을 3600rpm에서 20분간 원심분리시켜 상등액을 감압농축하였다. 냉동홍합을 3회 수세하고 해동시킨 다음 10분간 정지하여 물빼기를 하고 탈각하였다. 홍합육을 다시 세척하고 2배의 물을 넣고 waring blander로 1분간 마쇄하였다.

나. 홍합추출액

홍합추출액의 제조 과정은 Fig.2과 같이 2배의 물을 첨가하여 마쇄한 홍합을 80 100℃에서 20 120분간 추출하였으며, 소금은 0.3%, 0.6%, 0.9%, 인산염(NaH2PO4, Na2HPO4, Na3PO4 및 Na4P2O7, Na5P3O10, (NaPO3)n)과 sodium citrate는 0. 2.0%로 첨가하였다.

홍합추출시의 pH는 6N NaOH와 HCl을 가하여 2 10범위로 조절하였다. 단백질 분해효소로의 분해는 시료의 0.01 1.0% 농도가 되도록 효소를 첨가한 후 각 효소의 최적 반응온도와 pH에서 항온수조 교반기로 교반하면서 30 120분간 반응시켰다. 홍합의 추출은 90℃에서 40분간 하였으며 모든 추출액은 shaking하면서 30 120분으로 20℃로 냉각한 다음 3600rpm에서 15분간 원심분리하고 다시 여과지(Whatman No.41)로 여과하였다.

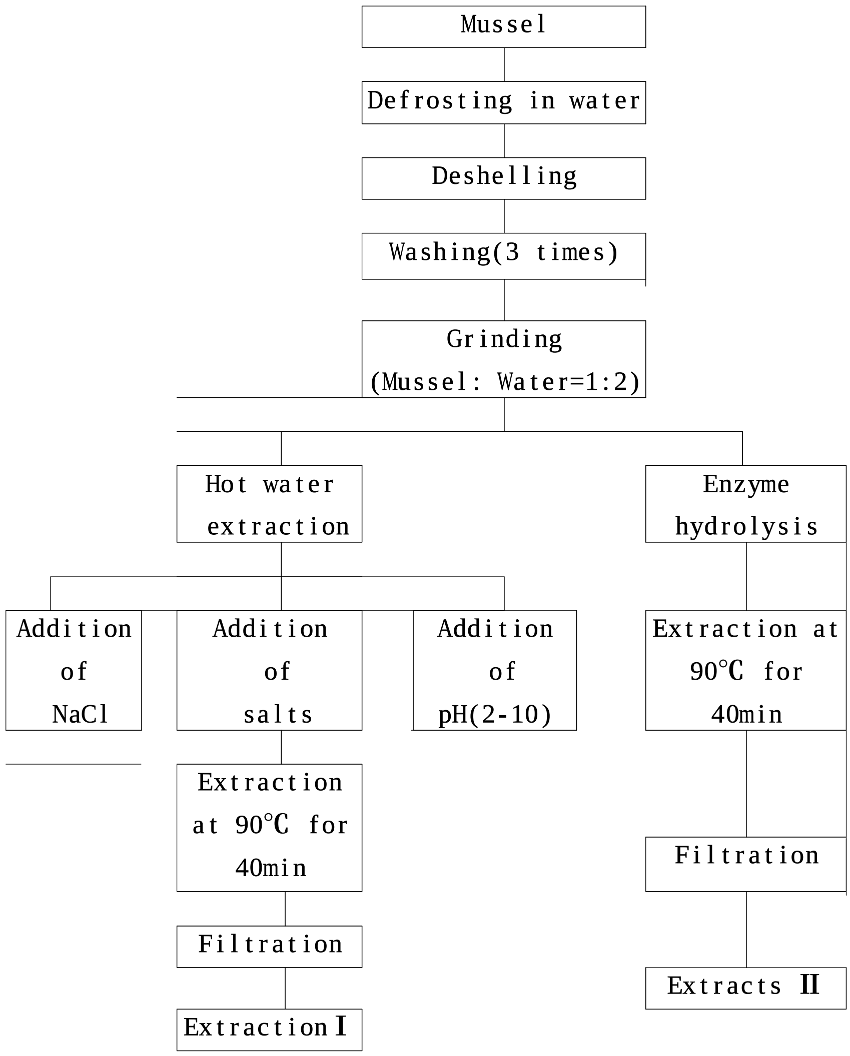


Fig 2. Schematic diagram for preparation of mussel extracts

다. 고추씨-홍합 혼합추출액

고추씨-홍합의 혼합 추출액의 제조는 홍합을 먼저 위의 방법으로 90℃

에서 40분간 추출한 후 고추씨를 첨가 비율별(5, 10, 15, 20%)로 넣고 80℃에서 30분간 다시 추출하였다. 그 추출액은 3겹의 cheese clothes로 여과한 뒤 3600rpm에서 15분간 원심분리한 다음 그 상등액을 다시 여과지(Whatman No.41)로 여과시켜 부유물질을 제거하여 추출액으로 하였다.

3. 특성분석

가. 고형분의 함량 및 수율측정

원심분리시킨 고추씨 추출액의 고형분 함량은 105℃에서 상압건조법(29)으로 고형분을 정량한 다음 원료중 고형분 함량으로 나누어 백분율로 계산하였다. 당이나 염을 첨가하여 추출하였을 경우 이들 첨가량을 추출된 고형분 함량에서 제하여 계산하였다.

나. 점도, 색, 탁도의 측정

고추씨 추출액의 점도는 Brookfild viscometer(Model DV Ⅱ. Brookfild Engineering, U.S.A)를 사용하여 추출액 8ml를 직경 2.0cm, 높이 6.5cm인 원형용기에 넣고 30℃ 항온을 유지하면서 spindle No.21로 100rpm의 속도로 회전시키면서 측정하였다.

색은 색차색도계(Chroma meter CR-200, Minolta)를 사용하여 Hunter L, a, b값을 측정하였다.

탁도는 추출액을 Watman filter paper(#4)로 거른 후 spectrophotometer(Beckman. DU. 650 made in USA)로 600nm에서 흡광도를 측정하였으며 모든 측정은 3회 반복하여 평균치로 하였다.

다. 관능검사

여러 가지 추출조건에서 선정된 고추씨 추출액의 관능적 특성은 대학원생 10명을 선정하여 매운내(hot oder), 고소한 내(roasted oder), 매운맛(hot taste), 고소한 맛(roasted taste)에 대하여 9점법으로 평가하게 하였다. 이때 사용한 검사 방법은 다시료 비교법이었으며 대조구는 고추씨를 80℃에서 30분간 추출한 것을 사용하였다. 시료의 제시온도는 매운맛을 가장 잘 느낄 수 있는 45-50℃로 하였으며 시료량은 약 20ml정도 이었다.

홍합추출액의 관능적 특성은 무처리한 홍합추출액을 대조구로한 다시료 비교법으로 평가하였다. 평가항목은 구수한 향(savory odor), 비린향(fish odor)과 감칠맛(umami taste), 비린맛(fish taste)으로 하였으며 척도는 9점법으로 하였다. 시료온도는 감칠맛을 가장 느낄 수 있는 온도인 45℃로 하였으며 시료량은 10㎖이였다.

고추씨-홍합 추출액의 관능검사는 홍합추출액의 것과 같은 방법으로 하였으며 평가항목은 구수한 향(savory odor), 비린향(fish odor), 매운향(hot odor) 이취(off odor)와 감칠맛(umami taste), 비린맛(fish taste), 매운맛(hot taste), 이미(off taste)로 하였고 기호도 검사를 하였다. 관능검사 결과는 분산분석과 Duncan의 다범위 검정으로 통계분석하였다.

제 2 절 마늘

1. 재료 및 시약

본 실험에 사용된 마늘(Allium sativum L.)은 1995년 수확한 경북의성산 육쪽마늘로 가락시장에서 구입하여 사용하였다. 구입한 마늘은 -20℃의

냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였고 마늘뿌리는 마늘을 15%정도 절단한 다음 시료로 사용하였다. 마늘 추출시 사용한 다당류 분해효소는 Celluclast 1.5L, Extrazym, Viscozym L 등 3종으로 (주) Novo Nordisk(덴마크)에서 공급받아 사용하였다. 또한 추출에 사용된 물은 증류수를, 그리고 7종(methanol, ethanol, acetone, isopropyl alcohol, n-hexane, methylene chloride, ethylene chloride)의 유기용매는 특급시약을 사용하였고, 특성측정에 사용된 시약도 특급시약을 사용하였다.

2. 마늘의 변색억제 조사

가. 마늘 마쇄액의 제조

변색억제 방법 조사를 위한 마늘마쇄액은 마늘을 박피한 후 녹즙기(엔젤 라이프 한국)에 넣고 입자의 크기가 20mesh정도 되게 마쇄하였고 마쇄과정 중 흘러나온 마늘액은 모아서 마쇄한 마늘에 첨가하였다.

나. 첨가물의 첨가 및 pH 조정

마쇄한 마늘에 각종 염류, 유기산 및 항산화제를 Table 1과 같이 일정한 농도로 용액을 만든 후 농도별로 마늘 : 용액의 비율을 1:1(w/w)되게 혼합하였으며, 마쇄 마늘액의 변색 정도는 25℃에서 24시간 저장한 다음 색을 측정하였다. pH 조정은 HCl을 사용하여 pH 4.0, 4.5, 5.5로 조절하였다.

Table 1. Chemicals and their concentrations used for the study of effects on color changes of gound garlic.

Additives	Concentration	Additives	Concentration
Salts		Antioxidants	
NaCl	0.5 2%	BHA	0.02%
NaH_2PO_4	0.1%	BHT	0.02%
Na_2HPO_4	0.1%	PG3)	0.02%
Na_3PO_4	0.1%	Glutathione	0.1%
SPP1)	0.1%	Others	
SMP2)	0.1%	Cysteine	1mM
$Na_2S_2O_5$	0.5%	L-ascorbic acid	10mM
Na_2SO_4	0.3%		
Organic acids			
Acetic acid	0.5 2%		
Citric acid	0.5 2%		
Lactic acid	0.5 2%		

1) Sodium polyphosphate, 2) Sodium metaphosphate, 3) Propyl gallate

다. 가열처리

마늘에 2배의 증류수를 넣고 마쇄한 마늘액을 50 100℃에서 60분간 시간별로 가열한 뒤 냉각시켜 25℃에 24시간 저장한 다음, 마늘 마쇄액의 색을 측정 비교하였다. 가열 중 pH의 영향은 0.05M citrate buffer를 사용하여 pH를 3.0 5.0으로 조절한 후 80℃에서 0 10분간 가열하였다.

라. 최종적으로 선정된 변색억제 물질의 영향

위의 실험을 통해 마늘의 변색억제에 뛰어난 효과가 보여지는 ascorbic acid(A), cysteine(C), sodium metabisulfite($Na_2S_2O_5$)(S), sodium triphosphate(Na_3PO_4)(P)를 선정하고, 이들을 단독으로 또는 혼합하여 마쇄한 마늘과 동량으로 혼합한 후 25℃에 7일간 저장하면서 색의 변화를 관찰하였다.

3. 마늘 추출액 및 oleoresin의 제조

가. 마늘 추출액의 제조

1) 제조 방법

물로 추출한 마늘 추출액은 박피한 마늘에 각종 첨가물을 첨가한 동량의 수용액을 가한 후 waring blendor를 사용하여 마늘 입자가 20mesh정도가 되도록 3분간 마쇄한 뒤 30℃로 조절한 항온수조에서 100rpm의 속도로 10분간 교반시켜 추출하였다. 또한 유기용매에 의한 추출액은 마쇄한 마늘 뿌리부위에 물과 7종의 유기용매를 2배 첨가하고 항온수조 교반기에서 100rpm의 속도로 30℃ 50℃, 1 4시간 추출하였다.

물과 유기용매 추출액들은 고속원심분리기(HMR-220IV, 한일산업사)로 15000rpm에서 15분간 원심분리시킨 후 상등액을 여과지(Whatman No. 4)로 여과하여 추출액으로 하였다.

2) pH 조절과 염 및 유기산 첨가

마늘추출시의 pH 조정은 마쇄한 마늘에 1N HCl을 첨가하여 pH를 2.5 5.5로 조절하였고, 염첨가는 마늘에 0.1M의 염용액(NaCl, KCl, $CaCl_2$, NaH_2PO_4, Na_2HPO_4, Na_3PO_4, $Na_4P_2O_7$, KH_2PO_4, K_2HPO_4, K_3PO_4, $K_4P_2O_7$)과 0.1M의 유기산 용액(0.1M acetic acid, citric acid, lactic acid, tartaric acid, phosphoric acid)을 마늘무게와 같은 양을 첨가하여 마쇄한 다음

30℃에서 10분간 추출하였다.

또한 변색억제 효과가 있다고 보고된(30) $K_4P_2O_7$과 phosphoric acid, tartaric acid, sodium oxalate, $CaCl_2$를 농도별로 동량 첨가하여 30℃에서 10분간 추출하였다.

3) 다당류 분해 효소에 의한 추출

박피 마늘을 2 3㎜의 두께로 세절한 후에 마늘:증류수=1:5(w/w)로 물을 가하여 waring blendor로 20mesh정도가 되도록 3분간 마쇄한 후 1N HCl을 가하여 pH 5.0으로 조절한 다음 증류수로 100배 희석시켰다. 여기에 효소를 각각 마늘 중량의 0.04 0.12%가 되도록 첨가하고 50℃에서 30 60분간 분해시켰다. 그 후 büchner funnel과 aspirator를 이용하여 마늘 추출액을 감압여과하였다. 이 때 사용된 다당류분해효소는 Celluclast, Extrazym, Viscozym이었으며 각각의 효소 특성은 Table 2와 같다.

Table 2. Properties of commercial enzymes used for extraction of garlic juice

Commercial name	Optimum conditions	
	pH	Temp(℃)
Celluclast	4.5 6.0	50 60
Extrazym	4.5	50
Viscozym	3.5 5.5	40 50

나. Oleoresin의 제조 및 저장

마늘 뿌리부위의 oleoresin 제조는 8가지 용매의 추출에서 적절한 용매로 선정된 ethanol에 넣고, 30℃에서 2시간 추출한 다음 3600rpm에서 15분

간 원심분리시켰다. 그 상등액을 다시 여과지(Whatman No. 4)로 여과시킨 다음 Rotary vaccum evaporator (Eyela N-N Series, Japan)로 30°Brix까지 진공농축시켜 그 농축액을 oleoresin으로 하였다. 농축된 oleoresin은 갈색 플라스틱병에 넣어 냉장저장하면서 그 특성을 측정하였고, 변색억제와 저장성 향상을 위해 0.1% $Na_2S_2O_5$ Na_3PO_4 그리고 0.1% ascorbic acid, cysteine을 1% 첨가하였다.

4. 특성분석

가. 추출수율

추출수율은 추출된 액을 3000rpm에서 15분간 원심분리한 다음 상등액을 여과지(Whatman No.4)로 여과하여 105℃ 상압가열 건조법에 의해 고형분양을 정량한 다음 원료 마늘의 고형분 무게로 나누어 백분율로 계산하였다. 또한 염 및 각종 유기산 등을 첨가하였을 때의 고형분 수율은 첨가된 양을 추출된 고형분 함량에서 제하여 계산하였다.

나. pH, 총산도, 색 및 탁도의 측정

pH는 pH meter(DP-215M, Dongwoo Co.)로 측정하였고, 총산도는 AOAC 방법에 의하여 시료 10ml를 중화시키는데 소요된 0.1N NaOH소비량을 젖산함량(%)으로 계산하였다.

색은 색차색도계(Chroma meter CR-200, Minolta Co., Japan)를 사용하여 Hunter L, a, b값을 측정하였고, 모든 측정은 3회 반복 측정하여 그 평균값을 취하였다.

탁도는 spectrophotometer(DU 650, Beckman, USA)를 사용하여 600nm에서 측정한 흡광도로 나타내었다.

다. 유리당과 유기산 및 thiosulfinate 함량 측정

유리당과 유기산의 함량 측정은 oleoresin을 0.45㎛ membrane filter로 여과하고 Sep-pak C18에 통과시켜 색소와 고분자 물질을 제거한 다음 여액을 HPLC 주입용 시료로 사용하였다. 시료는 HPLC(Waters Associate, USA)를 사용하여 RI(Waters 486)와 UV detector(Waters 410)를 사용하여 당과 유기산을 각각 측정하였다. 사용한 column은 Aminex HPX-87A stainless column(7.8×300nm, Bio Rad)을, 용매는 0.005M H_2SO_4, 유속은 1.5ml/min 이였고 주입량은 20㎕로 하였다.

분해산물인 thiosulfinate의 함량은 Freeman등과 조등의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 oleoresin 1ml에 0℃의 물 10ml를 가하여 희석시킨 용액 5ml에 10ml의 흡광분석용 hexane을 가하고 5분간 Thermolyne(37600 Mixer)로 혼합시킨 다음 hexane층을 취하여 262nm에서 흡광도를 측정하여 thiosulfinate의 상대적인 양으로 나타내었다.

5. 관능검사

저장중 마늘 oleoresin의 냄새(신선한 내, 매운내, 신내)와 맛(매운맛, 신맛)을 관능검사로 비교하였다. 냄새와 맛에 대한 각 특성의 강도 평가는 물 3배를 첨가하여 마쇄한 마늘과 육의 착즙액을 대조구로 하여 다시료 비교법으로 검사하였으며 향미의 강도는 1은 대한히 약함, 5는 보통, 9는 대단히 강함으로 한 9점법을 사용하였다. 시료의 온도는 상온으로 하

였고 검사원은 훈련받은 대학원생 9명이평가하였다. 관능검사 결과는 SAS를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다범위 검정으로 통계분석하였다.

제 3 장 연구 결과

제 1 절 고추씨

1. 고추씨 추출

가. 마쇄전 가열처리 영향

1) 수율 및 물리적 특성

고추씨추출전 증자, 볶음등 가열처리가 추출수율과 색, 관능적 특성에 어떤 영향을 주는지 조사하였다.

고추씨를 증자(100℃) 또는 볶음(215℃,330℃)하여 마쇄한 다음 80℃에서 30분간 추출하 여 추출시간 별로 고형분 수율, 점도 탁도, 색도등 특성에 미치는 영향을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

그 결과 추출액의 고형분 수율은 가열하지 않은 고추씨 가루를 추출한 것(27.03%)에 비하여 100℃에서 10, 30분 증자시킨 것이 33.20, 36.12%로 더 높은 값을 나타내고 있으며 215℃에서 볶음 처리한 것은 30분인 경우 37.37%, 330℃에서 20분 볶음처리한 것은 40.10%로 대체로 가열처리 온도가 높을수록, 볶음시간이 길수록 높은 수율을 보여 주었다. 또한 점도에서도 높은 온도와 장기간 추출에서 증가하는 경향을 보여 주었으나 600㎚에서 측정한 흡광도는 증자의 경우 감소 하였고 볶음한 것은 처음 10분간 증가하다가 그후 감소 하였다. 추출액의 색은 증자 하였을 경우 L과 b값이 증가한 반면 볶음은 L값이 대체적으로 감소 하였고 b값은 증가하는 경향을 보였다. a값은 모든 처리구가 감소하는 경향을 보였다.

2) 관능적 특성

고추씨를 100℃증기로 증자하거나 볶음하여 80℃에서 30분간 추출한 고추씨 추출액의 관능적 특성은 Table 4와 같다. 증자 시간이 길어 질수록 매운맛은 현저히 감소한 반면 고소한 맛은 약간 증가 하였지만 유의성은 없었다. 215℃에서의 고추씨의 볶음은 매운맛이, 330℃에서는 고소한 맛이 현저히 증가 하였다.

Table 3. Effects of roasting or steaming on characteristics of aqueous extracts of red pepper seeds extracted at 80℃

Temperature (℃)	Time (min)	Solid yield (%)	Viscosity (cps)	Absorbance (600nm)	Hunter		
					L	a	b
100[1)]	0	27.03	1.50	1.01	38.27	0.32	14.57
	10	33.20	1.50	0.64	44.74	-0.12	19.50
	20	28.72	1.50	0.77	47.55	0.03	21.86
	30	36.12	1.50	0.64	47.73	0.13	23.44
215[2)]	0	27.03	1.50	1.01	38.27	0.32	14.57
	10	31.23	1.75	1.92	27.66	0.27	14.38
	20	27.40	1.50	1.36	30.78	0.14	14.74
	30	37.37	2.00	1.11	31.26	0.03	15.75
330[2)]	0	27.03	1.50	1.01	38.27	0.32	14.57
	10	33.21	2.00	1.51	31.34	-0.22	14.60
	20	40.10	2.25	1.01	32.35	-0.06	18.89
	30	29.82	1.75	0.54	42.96	3.14	35.56

1) : Steamed red pepper seeds at 100℃
2) : Roasted red pepper seeds at 215℃ or 330℃

위의 결과에 의해 매운맛이 강했던 조건인 증자 10분, 215℃에서의 30분, 330℃에서의 20분을 가열 처리하지 않은 추출액과 비교 하였을 때 (Table 5) 매운 맛과 냄새는 비가열 처리구(A)가 가장 높았으며 그 다음은

215℃에서 30분, 330℃에서 20분, 증자 10분의 순이었다. 반면 고소한 내와 맛에서는 330℃에서 가장 높고 가열 처리량이 적을수록 낮게 나타났다.

Table 4. Comparison of odor and taste of aqueous extracts of red pepper seeds extracted at 80℃ for 30min after heating treatments

Heat treatment	Description	Heating time(min)			F-value
		10	20	30	
steaming	hot odor	4.80	4.20	3.80	0.40
(100℃)	roasted odor	4.60	3.80	4.80	0.32
	hot taste	6.40a	5.20a	3.20b	6.32**
	roasted taste	3.00	3.40	4.20	0.41
Roating	hot odor	4.40	6.00	6.60	2.13
(215℃)	roasted odor	3.00	3.40	3.80	0.14
	hot taste	4.00b	5.20ab	6.60a	3.01*
	roasted taste	2.20	2.60	3.80	1.07
Roating	hot odor	6.60	5.60	5.00	1.21
(330℃)	roasted odor	2.60b	4.60a	6.20a	10.17**
	hot taste	5.20	6.20	5.00	0.54
	roasted taste	3.00b	4.60b	6.60a	10.41**

** significant $p<0.01$

a, b Mean scores within row by the same letter are not significantly different at the 5% level

Table 5. Comparison of odor and taste of aqueous extracts of red pepper seeds extracted at 80℃ for 30min after roasting and steaming.

Description	A	B	C		F-value
			215℃/30min	330℃/20min	
hot odor	7.33a	4.67b	6.83a	5.50ab	3.38*
roasted odor	4.33	4.33	5.17	6.17	0.64
hot taste	7.50a	4.50b	7.17a	4.67b	8.21***
roasted taste	3.67b	4.67ab	5.17ab	6.67a	3.19*

* significant $p<0.05$

*** significant $p<0.001$

a, b, Mean scores within row by the same letter are not significantly different at the 5% level

A: Red pepper seeds without heat treatment

B: Steamed red pepper seeds at 100℃ for 10min

C: Roasted red pepper seeds

나. 추출온도 및 시간 영향

1) 수율 및 물리적 특성

고추씨의 가열처리 영향의 결과에서 처리하지 않은 고추씨(이하 고추씨라 함)의 추출이 매운 향미가 가장 높게 나타나, 비가열 고추씨를 추출하였을때의 추출온도와 시간의 영향을 조사한 결과는 Table 6,7과 같다. 수율 및 물리적 특성(Table 6)에서 고형분 수율은 전반적으로 가열온도의 차이에 따라 큰 변화의 폭은 없으나 70℃와 80℃에서 비교적 높은 값을 나타내고 있으며 대부분 30분까지 27-29%로 높아지다가 점차로 낮아지는 경향을 보여 주었다. 고추씨 추출물의 점도는 70℃와 80℃에서 1.50cps까지 증가 하였지만 90℃와 100℃에서는 1.50cps까지 증가하다가 1.25cps로 감소하였다.

탁도는 70-90℃범위에서 추출 시간이 오래 될 수록 감소하는 추세였지

만 100℃에서는 경향이 뚜렸하지 않았다. 추출액 색중 b값은 추출온도와 시간에 큰 영향을 받지 않았으나 a값은 가열을 오래 할수록 증가하여 적색이 짙어짐을 알수 있었으며 L값은 뚜렷한 경향을 보여주지 않았다.

Table 6. Effects of extraction temperatures and time on characteristics of aqueous extracts of red pepper seeds.

Temperature (℃)	Time (min)	Solid yield (%)	Viscosity (cps)	Absorbance (600nm)	Hunter		
					L	a	b
70	10	21.58	1.00	1.23	44.50	0.36	16.71
	20	27.32	1.50	1.23	44.58	0.23	16.19
	30	29.45	1.50	1.25	30.47	0.75	17.14
	40	27.35	1.50	1.10	30.93	1.11	18.30
	50	26.93	1.50	0.59	31.81	1.25	18.18
	60	25.11	1.50	0.61	37.27	1.17	17.50
80	10	23.68	1.25	1.11	39.18	0.63	15.60
	20	26.95	1.50	1.06	43.35	0.68	16.51
	30	27.03	1.50	1.01	38.27	0.32	14.57
	40	27.00	1.50	0.71	42.15	0.52	16.21
	50	26.32	1.50	1.01	43.93	0.68	17.40
	60	25.35	1.50	1.33	44.26	0.66	16.89
90	10	22.08	1.00	1.56	58.34	- 0.13	16.53
	20	24.68	1.00	1.23	45.49	0.83	17.03
	30	24.92	1.50	0.76	33.96	0.65	14.29
	40	22.52	1.50	0.71	34.05	0.86	15.02
	50	22.85	1.50	0.84	41.34	1.04	17.56
	60	23.32	1.25	0.84	45.05	1.09	18.09
100	10	25.99	1.00	0.64	44.70	0.29	16.92
	20	26.50	1.25	1.11	41.45	0.27	16.34
	30	28.12	1.50	1.25	41.33	0.24	15.51
	40	23.74	1.50	1.11	41.35	0.70	17.32
	50	22.03	1.25	0.87	44.55	0.69	18.03
	60	22.97	1.25	0.87	44.83	0.84	18.59

2) 관능적 특성

Table 7은 고추씨를 70-100℃의 온도범위에서 추출한 추출액의 관능검사 결과이다. 매운맛의 강도는 5%이내의 유의성을 보여 주었고 80℃에서 가장 강한 것으로 나타났다. 반면 고소한 맛과 냄새는 온도가 올라갈수록 높아졌고 매운 냄새는 80℃에서 가장 강했지만 모두 유의성은 없었다.

Table 8은 추출온도 영향에서 선정된 80℃에서의 추출시간 영향으로 매운내는 10분에서 매운맛은 30분에서 가장 높았으며 10 50분에는 유의성이 없었다. 고소한 향미의 변화는 유의성이 없었다.

이상의 결과에서 고추씨의 추출은 80℃에서 30분간의 조건을 선정하였다.

Table 7. Effects of temperature on odor and taste of aqueous extracts of red pepper seeds after extraction for 30 min.

Description	Heating temperature(℃)				F-value
	70	80	90	100	
hot odor	5.50	7.25	7.00	4.75	3.07
roasted odor	4.75	4.75	5.75	6.75	2.59
hot taste	6.25ab	7.75a	7.25ab	5.00b	4.35*
roasted taste	4.75	4.75	5.25	5.50	0.35

* significant $p<0.05$

a, b, Mean scores within row by the same letter are not significantly different at the 5% level

Table 8. Effects of extraction time at 80℃ on odor and taste of aqueous extracts of red pepper seeds.

Description	extraction time(min)						F-value
	10	20	30	40	50	60	
hot odor	6.25a	5.75ab	5.50ab	4.75ab	3.50ab	2.75b	3.68*
roasted odor	3.50	4.50	5.25	5.25	5.00	5.25	0.72
hot taste	6.00a	6.25a	6.50a	5.75ab	4.25ab	3.00b	4.08*
roasted taste	2.75	3.50	4.25	5.00	4.50	5.50	1.87

* significant $p<0.05$

a-c Mean scores within row by the same letter are not significantly different at the 5% level

다. 염, 당, 인산염과 산 첨가의 영향

1) 수율 및 물리적 특성

고추씨 추출시 소금, 당, 인산염, 산의 첨가가 추출액의 특성에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위하여 선정된 추출온도와 시간인 80℃, 30분에서 추출하였을 때 이들의 첨가영향을 비교한 결과는 Table 9와 같다.

추출액의 수율은 물로만 80℃에서 30분 추출한 대조구의 수율(27.03%)에 비하여 소금과 citric acid 첨가는 거의 같은 수율이었으나 당 첨가에서는 수율이 18-22%로 낮아진 반면 0.2% 인산염첨가는 29.21%로 향상되었다.

첨가농도에 따른 점도는 당의 첨가가 점도를 급격히 증가시켜 1.5%첨가시에는 3.50cps까지 되었으며 citric acid와 인산염(Na_2HPO_4)첨가는 0.2 0.3%부터, 소금은 0.5%부터 점도의 상승을 보였다.

탁도는 첨가물의 종류와 양에 따라 그 변화가 다양하였다. 농도가 증가

할 때 citric acid는 탁도가 감소 하였고 당은 급격한 증가를 보여주어 추출시 갈변이 영향을 주었으리라 생각된다.

고추씨 추출액의 색은 소금과 citric acid의 첨가시 L값이 증가되었고 인산염(Na_2HPO_4)과 당은 L값이 감소되었다. 또한 소금과 citric acid는 a값을 -0.25, -0.20까지 감소시겨 엷은 녹색을 띄게 하였고 당과 인산염(Na_2PO_4)은 a값을 증가시겨 엷은 붉은 색을 나타나게 하였다.

Table 9. Effects of concentration of NaCl, sucrose, Na_2HPO_4 and citric acid on characteristics of aqueous extracts of red pepper seeds extracted at 80℃ for 30min.

Concentration (%)		Solid yield (%)	Viscosity (cps)	Absorbance (600nm)	Hunter		
					L	a	b
NaCl	0	27.03	1.50	1.01	38.27	0.32	14.57
	0.5	27.21	2.00	1.44	44.59	- 0.35	13.11
	1.0	23.42	2.00	0.47	41.06	- 0.33	12.85
	1.5	24.61	2.50	0.40	42.58	- 0.25	12.93
Sucrose	0.5	17.59	2.00	0.55	39.64	0.36	13.70
	1.0	18.42	2.50	2.87	37.15	0.42	14.48
	1.5	22.23	3.00	4.31	30.86	1.03	15.95
Na_2HPO_4	0.1	24.38	1.50	0.50	26.59	0.52	15.45
	0.2	29.21	1.50	1.60	19.84	0.87	16.64
	0.3	28.22	2.00	0.75	21.72	0.98	16.53
Citric acid	0.1	26.00	1.75	0.68	35.44	- 0.32	12.96
	0.2	27.21	2.00	0.66	40.70	- 0.80	12.81
	0.3	25.60	2.00	0.56	48.55	- 1.20	12.36

2) 관능적 특성

Table 10과 11은 고추씨의 농도별로 소금, 당, 인산염, citric acid를 첨가하여 추출한 시료들의 관능적 성질을 80℃에서 30분 열수추출한 대조시료와 비교한 결과이다.

소금(NaCl)을 0.5 1.5%의 농도별로 첨가하였을 때(Table 10) 소금 0.5% 첨가는 매운향미를 향상시켜 주었으나 그 이상의 농도에서는 감소시킴을 보여주어 짠맛이 매운맛에 현저히 영향줌을 알수 있었으며 고소한 맛에서도 같은 경향으로 0.5% 소금농도가 맛 향상에 유익함을 보여주고 있다. 반면 설탕의 첨가는 매운맛이외에는 모두 감소시켜 설탕의 masking 효과를 보여주고 있다.

인산염(Na_2HPO_4)의 첨가는 추출액의 매운맛과 고소한 맛 모두 감소시킴을 보여 주었고 citric acid 첨가도 같은 경향이었다. 이러한 결과는 이들 첨가물의 첨가가 고추씨 매운 성분의 추출을 감소 시켰기 때문이라기 보다는 이들 물질이 매운맛을 느끼는데 masking 효과를 보여주었기 때문으로 생각된다.

2. 고추씨-홍합 혼합추출

가. 천연 조미물질의 선정

고추씨 추출액의 기호도를 높이기 위하여 여러 가지의 천연 조미물질을 첨가하고 추출을 한 추출액의 물리적, 관능적특성을 비교하였다. 첨가한 조미물질은 쇠고기, 건멸치, 북어, 건새우, 다시마등이었고 이들 물질에 5%고추씨를 첨가하여 10배의 물을 첨가한 다음 1시간 끓여 여과한 추출액의 특성은 Table 12, 13과 같다.

Table 10. Comparison of odor and taste of aqueous extracts of red pepper seeds extracted at 80℃ for 30min after addition of various concentration of NaCl.

Additives	Description	concentration(%)				F-value
		0	0.5	1.0	1.5	
NaCl	hot odor	5.75ab	6.75a	6.00ab	5.00b	4.55*
	roasted odor	5.00	5.50	4.50	4.50	1.57
	hot taste	6.00ab	7.00a	7.00a	5.00b	3.67*
	roasted taste	5.25	5.75	6.00	3.75	2.19
Sucrose	hot odor	6.75ab	4.25b	5.25ab	4.25b	5.15*
	roasted odor	5.75a	4.50ab	4.75ab	3.75b	2.15*
	hot taste	6.00ab	7.00a	7.00a	5.00b	5.43**
	roasted taste	5.75	4.00	5.25	3.25	1.95

* significant $p<0.05$
** significant $p<0.01$
a, b Mean scores within row by the same letter are not significantly different at the 5% level

Table 11. Comparison of odor and taste of aqueous extracts of red pepper seeds extracted at 80℃ for 30min after addition of various concentration of Na_2HPO_4 and citric acid.

Additives	Description	Na_2HPO_4 concentration(%)				F-value
		0	0.1	0.2	0.3	
Na_2HPO_4	hot odor	7.00	6.75	6.25	5.25	1.77
	roasted odor	5.75a	5.25ab	5.00ab	4.50b	2.89*
	hot taste	7.00a	6.75ab	6.75ab	5.00b	3.04*
	roasted taste	5.75a	4.75b	3.75c	3.25d	11.80***
Citric acid	hot odor	7.00	6.75	6.00	5.50	1.94
	roasted odor	5.75a	4.50b	3.50c	2.50d	24.73***
	hot taste	7.00	7.00	7.00	6.50	0.20
	roasted taste	5.75a	4.75b	3.50c	2.50d	27.71***

*** significant $p<0.001$
a-d Mean scores within row by the same letter are not significantly different at the 5% level

추출액의 고형분 수율은(Table12) 추출시간과 온도를 일정하게 하였으므로 각 조미물질의 특성에 대체로 영향을 크게 받았다. 북어의 수율이 26.81%로 가장 높았고 그 다음은 새우가 (24.11%), 멸치(23.43%)가 높았으며 쇠고기, 홍합, 다시마, 미역은 비교적 낮았다.

흡광도로 나타난 탁도는 북어가 가장 높았으며 멸치, 새우, 쇠고기도 비교적 높았다. 탁도의 결과는 고형분 수율과 비교적 비슷한 경향이어서 추출액중 용해된 고형분이 영향주고 있음을 알수 있었다. 밝기를 나타내는 L값은 홍합, 다시마, 미역이 높은 값을 보여 주었으며 a값은 홍합과 미역이 (-)값의 연한 녹색을, 쇠고기는 1.22로 상대적으로 연한 붉은색을 띄었다.

천연조미물질과 고추씨와의 향미의 조화가 가장 잘 되는 것을 선정하고자 관능검사를 한 결과는 Table 13과 같다.

매운 향미는 미역과 다시마에서 그 맛이 감소 되었을뿐 대체로 약간의 상승효과가 있었으며, 홍합-고추씨 추출액이 매운 냄새가 약간 높고 새우가 매운 맛이 약간 높을 뿐이었고 대부분 그 감도가 낮았으며 감칠맛과 냄새는 홍합이 가장 높았다. 비린 냄새와 맛에서도 홍합첨가구가 제일 낮았다.

이취는 전반적으로 거의 느낄수 없다고 나타났지만 이 가운데 멸치는 상대적으로 높은 이취를 보였다. 전체적 선호도의 순서는 홍합-새우-쇠고기-다시마-멸치-북어 순이었다. 홍합과 새우의 높은 감칠맛과 고추씨의 매운맛으로 비린 맛이 감소되면서 맛의 조화가 잘 이루어 졌던 것으로 사료된다. 반면 북어가 가장 낮은 기호도를 보인 것은 일상적 북어국 자체의 시원한 감칠맛에 익숙해져 있어 매운맛은 거부한 것으로 보인다.

Table 12. Characteristics of aqueous extracts of seasoning materials with addition of 5% red pepper seed

Natural seasoning materials	Solid yield(%)	Absorbance (600nm)	Hunter		
			L	a	b
Beef	23.02	1.64	41.03	1.22	13.51
Anchovy	23.43	1.70	44.38	0.05	15.65
Pollack	26.81	2.09	33.16	0.47	12.98
Mussel	22.59	1.38	55.20	- 0.76	13.83
Shrimps	24.11	1.73	38.40	0.08	11.58
Sea mustard	21.65	0.96	50.28	- 0.36	14.14
Sea tangle	22.47	1.21	52.75	0.39	16.87

Table 13. Sensory characteristics of natural seasoning extracts with addition of 5% red pepper seed

Descripsion	Natural seasoning meterials						
	beef	anchovy	pollack	mussel	shrimps	sea mustard	sea tangle
hot odor	5.33	5.00	5.00	5.67	5.00	4.67	4.33
savory odor	4.00	3.67	5.00	6.00	4.67	3.33	4.33
fish odor	1.67	3.00b	3.67ab	2.88b	4.67ab	4.33ab	6.53a
off odor	1.33	4.33	1.67	2.13	1.00	1.00	1.00
hot taste	4.33	4.33	4.67	4.25	5.67	4.33	4.00
savory taste	4.33abc	4.67abc	5.00abc	5.88a	5.01a	3.33bc	5.31a
fish taste	3.67b	3.00b	3.33b	2.63b	4.33ab	3.33ab	6.33a
off taste	1.33	2.67	1.33	1.88	1.00	1.33	1.33
total acceptability	68ab	79bc	86cd	51a	64ab	97d	74bc

Total acceptability was tested ranking test.
a-cMean scores whithin row followed by the same letter are not significantly different at 5% level.
$*P < 0.05$

나. 홍합추출액

고추씨의 매운맛에가장 조화를 이루었던 홍합을 첨가하여 고추씨-홍합 천연조미료 제조시 홍합의 추출수율을 높이고 홍합 추출액의 관능적 특성을 향상시키고저 추출온도, pH, sequastrants agents chark, 효소분해등 홍합의 추출조건을 조사하였다.

1) 추출온도와 시간의 영향

홍합을 탈각하고 세척한 다음 마쇄한 홍합을 추출할 때 추출온도와 시간이 추출수율 및 몇몇 특성에 미치는 영향은 Table 14와 같다.추출을 80-100℃에서 80분간 추출을 할 때 추출수율은 전반적으로 큰 영향을 주지

는 않았지만 90℃에서의 40분의 추출이 가장 높은 19.0%를 보여 주었고 탁도는 가장 높게 측정 되었다. 맛에서는 낮은 온도(80℃)에서 추출하였을 때 비린맛이 강하면 감칠맛이 적었던 반면 온도가 높아 지면서 감칠맛이 높고 비린 맛이 비교적 적은 것으로 나타났다. 이 조건에서 추출한 액은 색이 비교적 밝고(L값) 노란색이 높으나(b값)녹색이 약간 있음(a값)을 보여 주었다. 높은 온도에서 장시간 추출하였을 때의 고형분 수율 감소는 용해된 단백질의 열 변성이 주로 관여하였기 때문이라고 믿어지며 b값의 증가는 갈색화 반응이 관여되었기 때문이라 여겨진다.

김 등(31)은 홍합과 굴을 95℃에서 추출할 때 추출시간이 60분으로 증가하면서 단백질 농도가 약간 감소하였다고 하여 본 수율의 감소 결과와 유사 하였으며 그들로 향미를 고려하였을 때 95℃가 적절하였다고 하여 선정된 90℃에서의 40분과 유사하였다. 또한 김(32)은 100℃이상의 가압상태하에서의 가열은 향미성분의 변화와 유리 아미노산과 환원당간의 마이야르 반응으로 갈색화 되면서 유리 아미노산과 환원당의 잔존율이 감소한다고 하였다.

2) 인산염과 유기산염 첨가의 영향

홍합추출시 앞의 결과에서 선정된 90℃와 40분의 추출조건에 인산염과 유기산염의 첨가는 Table 15와 같이 추출액의 수율과 탁도, 색도, 맛에 영향을 주었다. 어육 단백질의 용출성 증대와 연육의 보수력에 효과가 있는 것으로 알려진(33)인산염의 경우 인산염의 종류와 농도에 따라 차이는 있었으나 sodium hexaphosphate와 Na_2HPO_4와 Na_3PO_4첨가는 수율 향상을 가져왔다. 특히 Na_3PO_4는 효과가 높아서 수율 향상효과가 30%정도 되었으며 sodium citrate의 첨가는 25%정도의 수율향상 결과가 있었다. 인산염 첨가로 pH의 변화가 있었으며 Na_3PO_4는 특히 pH가 상승하여 수율의 향상은 인

산염 자체의 추출효과뿐만 아니라 pH의 영향도 있었으리라 생각된다.

수율 향상에 효과가 가장 많았던 Na_3PO_4의 경우 탁도도 비교적 높은 반면 L과 a값은 현저히 감소하였고 a값은 높아져 총 탁도의 향상이 L값에 그리고 갈변이 a와 b값에 영향을 주었으리라 믿어진다. 맛에서는 1.0%첨가시 감칠맛이 가장 강하고 비린맛이 약하게 평가되어 Na_3PO_4 1.0%첨가는 추출수율뿐만 아니라 맛에서도 효과적임이 밝혀졌다. 이러한 결과는 sodium phosphate tribasic, sodium polyphosphate, sodium pyrophosphate가 크릴 단백질 추출수율을 향상시켰다는 이(34)등, 김 (35)등의 보고와 유사하였다. 한편 sodium citrate의 첨가는 수율이 향상되었으나 관능적면에서 품질의 저하를 초래하여 적절하지 않음을 보여주었다.

Table 14. Changes in the characteristics of mussel extracts during aqueous extraction at 80 100℃

Temp (℃)	Time (min)	Solid yield (%)	Absorbance (600nm)	Color			Sensory properties	
				L	a	b	umami taste	fish taste
80	20	15.71	0.19	72.21	- 0.97	+18.37	+	++++
	40	18.17	0.27	75.81	- 0.75	+20.83	+	++++
	80	17.02	0.29	79.91	- 1.53	+21.08	+	+++
90	20	17.41	0.23	79.86	- 1.65	+19.22	+	++++
	40	18.97	0.37	83.96	- 1.04	+21.52	+++	++
	80	16.45	0.18	79.11	- 1.48	+22.51	++	+++
100	20	17.90	0.14	83.06	- 1.55	+22.18	+	+++
	40	18.48	0.12	83.65	- 1.47	+22.55	++	+++
	80	16.65	0.17	85.83	- 2.08	+25.33	++	+++

3) pH에 의한 영향

홍합을 추출하기전의 pH는 6.25로서, NaOH와 HCl을 첨가하여 pH 2-10범위로 조절한 다음 추출하였을 때 그 특성을 비교한 결과는 Table 16과 같다.

pH를 조절하지 않은 대조구의 수율은 18.97%인데 비해 pH 2에서는 28.04%로 높은 수율을 얻었으며 중성부근으로 pH가 높아지면소 감소하다가 pH 8부터 다시 고형분 함량은 증가해 pH 10일때는 27.07%로 나타났다.탁도를 나타내는 흡광도 수치에서도 같은 경향을 나타냈지만 pH 10일 때 가장 높은 혼탁도를 나타냈다. 밝기를 나타내는 L값은 대조구(79.9)에 비하여 pH 2와 pH 10에서 L값이 크게 떨어졌으며 a값과 b값은 비교적 낮은 값을 보여 색이 연함을 알수 있었다. 추출액의 pH를 7로 조절한 뒤 맛을 평가하

Table 15. Effct of phosphates addition on the characteristics of aqueous extracts of mussel extracted at 90℃ for 40 min

Phosphates	Concentration (%)	pH	Solid yield (%)	Absorbance (600nm)	Color			Sensory properties	
					L	a	b	umami taste	fish taste
Control	0	6.25	18.97	0.37	83.96	- 1.04	+21.52	+++	++
NaH2PO4	0.5	6.05	17.51	0.42	73.17	- 1.00	+20.19	++	+++
	1.0	5.90	16.80	0.52	68.26	- 0.84	+17.83	+++	++
	1.5	5.80	16.05	0.59	69.53	- 1.29	+17.36	+	++
Na2HPO4	0.5	7.66	20.67	1.33	13.52	+1.88	+ 8.04	++	+++
	1.0	7.96	20.99	2.29	16.36	+2.20	+ 9.28	+++	+
	1.5	8.11	22.54	3.68	25.30	+4.15	+13.48	+++	+
Na3PO4	0.5	8.44	22.18	0.60	14.61	+2.51	+8.74	++	++
	1.0	9.53	24.53	1.64	22.11	+2.42	+11.74	++++	+
	1.5	10.23	25.52	4.49	29.37	+3.42	+15.39	+++	+
Na4P2O7	0.5	7.50	19.85	0.76	15.45	+2.04	+8.95	+++	++
	1.0	8.32	22.32	2.04	17.20	+2.21	+ 9.85	++++	+
	1.5	8.64	23.45	3.61	25.34	+3.10	+13.20	+++	+
sodium hexameta phosphate	0.5	6.35	19.00	0.78	57.68	+2.14	+22.72	++	+++
	1.0	6.28	18.57	0.82	51.41	+3.24	+21.80	++	++
	1.5	6.24	17.81	0.94	51.91	+3.05	+21.53	++	++++
sodium citrate	0.5	6.96	19.37	0.84	24.33	+3.44	+12.32	++	+++
	1.0	7.14	21.65	0.98	31.41	+4.46	+15.76	+	++
	1.5	7.25	24.00	1.41	41.89	+4.50	+19.45	+	++

였을 때 pH 2와 10에서 추출액의 감칠맛이 가장 강했고 비린맛이 감소 하였고 비린맛은 pH 10에서 더 적게 평가되었다.

추출수율의 결과는 크릴 단백질 추출시 pH 12에서의 추출이 가장 높았고 (34)가자미 뼈에 붙어 있는 단백질 추출은 pH 12에서 추출이 가장 효과적이었다는 보고(36)와 유사하였다.

Table 16. Effect of pH on the characteristics of aqueous extracts of mussel extracted at 90℃ for 40min

pH	Solid yield (%)	Absorbance (600nm)	Color			Sensory properties	
			L	a	b	umami taste	fish taste
2.00	25.07	5.81	10.57	+1.91	+6.19	++++	++
4.00	18.53	0.40	80.52	- 1.13	+21.50	+++	+
6.00	17.26	1.77	27.51	+4.02	+12.84	++	+++
8.00	23.68	5.99	11.93	+2.41	+7.07	++	+
10.00	28.04	9.06	8.63	+3.07	+5.74	++++	+

4) 단백질 분해효소의 영향

홍합은 단백질이 전체 고형분의 56%를 차지하여 단백질 분해효소로의 분해가 추출수율을 향상시키리라고 믿어져 그 영향을 조사하였다. 알칼리성 분해효소인 Novowyme 89, Alcalase, Protamex, Papain과 산성 분해효소인 Acid Protease A, Acid Protease Ⅱ, Protease M을 홍합 마쇄액의 0.01-1%되게 첨가하여 추출한 결과(Table 17)대체적으로 수율이 증가하였다. 첨가효소의 양을 증가 시켰을 때 Protease A, Protease Ⅱ, Papain은 수율을 증가시켰지만 그외의 효소는 0.05%첨가 농도와 비슷하였다. 가장 높은 수율을 보인 것은 Protamex 0.05%와 Acid Protease 0.1%였다. 탁도에서는 모두 10이하로 비교적 맑은 액을 보여 주었으며 L값은 40-90범위로 pH별 추출액보다 높았다. 추출수율이 높았던 Protamex는 a값이 0.26인 반면 Protease A는 -2.8로 청색을 보였으며 b값은 Protease A가 23으로 높은 값을 보였다. 관능적 특성은 두 효소 모두 감칠맛이 좋았으나 Protease A의 비린맛이 약간더 강하였고 0.1%이상의 효소의 첨가는 효소 자체의 쓴맛을 가지고 있어 쓴맛을 느낄 수 있었다.그리하여 산성 분해효소로서는

Protease A대신 수율이 높지는 않았으나 감칠맛이 좋았던 Acid Protease AⅡ 0.01%를 택하였고 알칼리성 분해효소로는 Protamex 0.05%를 선정하여 분해시간 영향을 더 검토 하였다.

Table 18은 선정된 2가지 효소의 분해시간 영향을 조사한 것으로 Protamex 0.05%는 90분, Protease Ⅱ 0.01%는 90분 분해가 높은 추출 수율을 보여 주었다. 이 조건하에서의 효소분해는 분해시간별 탁도와 색에 큰 차이를 보여주지는 않았다.

5) 종합적 조건의 영향

효소, 인산염, pH조절 중 각각 선정된 조건을 모두 함께 반응시켜 추출한 액의 각 특성을 비교한 결과는 Table 19와 같다. 맛과 수율을 기준으로 선정한 효소는 알칼리 효소로 Protamex(0.05%,60분)가, 산성 분해효소로 Protease Ⅱ(0.01%,90분)가 선정되었으며 인산염 첨가는 Na_3PO_4 1.0%, $Na_4P_2O_7$ 1.0%, 추출온도와 시간은 90℃에서 40분, pH는 2와 10이었다.

홍합추출액을 먼저 효소로 분해시킨다음 인산염을 첨가하고 pH를 2와 10으로 조정하여 90℃에서 40분간 추출한 추출액들의 특성을 비교하였을 때 100℃에서 30분간 추출하였던 대조구의 수율(18.97%)보다는 높은 수율을 보여 주었다. 특히 Protamex로 분해시킨 후 인산염 Na_3PO_4를 첨가하고 pH를 10으로 조절한 것은 수율이 30.53%로 대조구에 비해 60%이상의 추출 수율 향상이 있었다. 각 조건별로 인산염 첨가의 효과(Table 19)는 Na_3PO_4가 $Na_4P_2O_7$에 비해 효과가 더 있으며 pH는 10으로 조절하였을 때 효소의 종류와 관계없이 높은 수율을 보였다. 탁도도 수율과 동일한 경향이었다. 색은 인산염은 종류에 따라 큰 차이가 없었으나 pH 차이는 큰 차이를 보였다. pH 2로 조절한 것은 대체로 밝게 나타났지만 pH 10으로 조정한 것은 상대적으로 어두운 색을 보였다. 또한 a값에서도 pH 10에서 높은 값을 보여 적색을 띄었다. pH 10에서의 높은 a값은 추출중 maillard 반응이 진전

Table 17. Effect of enzyme addition on characteristics of aqueous extract of mussel extracted at 90℃ for 40min after enzymatic hydrolysis for 30 min

Enzyme	Enzyme conc(%)	Solid yield (%)	Absorbance (600nm)	Color			Sensory properties	
				L	a	b	umami taste	fish taste
Novozyme 89	0.01	20.52	0.11	57.41	+0.80	+21.00	+++	++
	0.05	21.03	0.18	68.00	+0.60	+21.19	+++	+
	0.1	20.68	0.22	73.72	+0.06	+21.00	+++	+
Protamex	0.01	23.73	0.45	47.17	+0.26	+14.84	++	+
	0.05	24.06	0.53	54.08	+0.46	+17.91	+++	+
	0.1	25.58	0.61	51.17	+0.65	+17.25	+	+
Alcalase	0.01	22.34	0.42	50.82	+0.27	+14.91	++	++
	0.05	23.42	0.47	37.65	+1.14	+12.57	++	+
	0.1	24.04	0.52	49.56	+0.77	+15.48	++	+
Protease A	0.01	22.21	0.17	87.59	+1.31	+20.47	+++	++
	0.05	24.29	0.07	84.57	- 2.84	+23.02	+++	++
	0.1	25.52	0.03	83.33	- 2.80	+25.41	+++	+
Protease II	0.01	20.22	0.43	85.35	- 2.03	+18.43	++++	++
	0.05	21.99	0.39	88.80	- 2.91	+19.33	+++	++
	0.1	23.40	0.41	82.92	- 2.17	+21.67	++	+
Protease M	0.01	20.34	0.29	88.54	- 2.58	+18.29	+++	++
	0.05	21.45	0.34	89.32	- 3.06	+20.85	++	+
	0.1	22.68	0.29	84.11	- 2.43	+23.05	+	+
Papain	0.01	20.70	0.45	88.95	- 3.42	+23.56	++	++
	0.05	20.18	0.43	84.66	+3.26	+27.65	++	++
	0.1	24.34	0.52	87.10	+3.43	+26.16	+	+

되었기 때문으로 보여진다. 그리하여 먼저 Protamex(0.05%)로 홍합 단백질을 분해 시킨후 Na_3PO_4(1.0%)를 첨가하고 pH 10으로 조정한 다음 90℃에서 추출함이 추출수율과 특성 향상에 우수한 조건으로 선정하였다.

Table 18. Changes in the charateristics of mussel extracts as affected by time of enzyme hydrolysis time extracted at 90℃ for 40 min

Enzyme	Hydrolysis Time (min)	Solid yield (%)	Absorbance (600nm)	Color			Sensory properties	
				L	a	b	umami taste	fish taste
Protamex 0.05%	30	20.77	0.24	52.35	+1.04	+19.94	+++	+++
	60	24.06	0.33	49.62	+0.99	+19.66	++	++
	90	24.28	0.35	49.03	+0.76	+19.81	++	++
Protease II 0.01%	30	19.87	0.38	88.04	- 2.81	+19.49	+++	++
	60	21.11	0.45	87.95	- 2.05	+19.12	++++	+
	90	22.87	0.49	89.51	- 2.47	+19.81	+++	+

Table 19. Changes in the characteristics of enzyme-treated mussel extracts as affected by phosphates and pH adjusted extracted at 90℃ for 40 min

Enzyme	Phosphates	pH	Solid yield (%)	Absorbance (600nm)	Color		
					L	a	b
Protamex (0.05%, 60min)	Na_3PO_4 (0.5%)	2	27.20	0.41	83.28	- 2.01	+26.35
		9.53	27.86	0.57	59.55	+2.25	+26.17
		10	30.53	0.99	25.70	+12.14	+17.34
	$Na_4P_2O_7$ (1.0%)	2	23.92	0.20	86.64	- 2.29	+21.64
		8.32	25.74	0.32	70.36	+0.48	+28.16
		10	27.98	2.24	23.10	+3.04	+12.77
Protease II (0.01%, 90min)	Na_3PO_4 (0.5%)	2	25.20	0.05	92.26	- 3.16	+17.17
		9.53	24.86	0.03	77.79	- 1.96	+28.02
		10	29.62	0.43	37.04	+10.03	+23.97
	$Na_4P_2O_7$ (1.0%)	2	24.17	0.03	93.75	- 3.26	+16.51
		8.32	21.99	0.28	93.92	- 3.87	+19.48
		10	29.92	1.17	24.37	+8.05	+16.11

홍합추출시 선정된 몇가지 조건에 따른 추출액의 관능적 특성은 Table 20과 같다. 무처리한 홍합추출액을 대조구로하여 비교한 결과 효소는 ProteaseII로의 분해시 낮은 pH 2에서는 비린 냄새와 맛이 적고 감칠맛이 약간 높았으나 pH 10에서는 비린냄새가 높았다. 반면 Protamex는 pH10에서의 추출이 비린 냄새가 적고 감칠맛이 높은 것으로 나타났다. 이러한 경향은 Na_3PO_4나 $Na_4P_2O_7$ 첨가 모두 같은 경향이었다. 첨가된 인산염 종류별로는 대체적으로 Na_3PO_4가 $Na_4P_2O_7$보다 비린맛이 강하고 감칠맛이 약간 적게 평가되었지만 그 차이는 뚜렷하지 않았다. 따라서 추출수율이 높았던 pH 10 (Table 19결과)에서는 Protamex로 분해하고 Na_3PO_4, $Na_4P_2O_7$ 1%를 첨가함이 적절한 추출조건으로 판명되었다. 이러한 결과는 두효소에서 각각 맛과 향에서 높게 평가된 것을 한가지씩 선정하여 기호도 검사를 한 결과는 30명 중 21명이 선호한다고 선택한 것은 Protamex 0.05% 분해 후 Na_3PO_4 1.0%첨가하고 후 pH를 10으로 조정한 것이었다. 이는 무처리 홍합에 비해 감칠맛에서는 월등히 높게 평가되었으며 비린맛과 향이 감소되었다고 하였다.

다. 고추씨-홍합추출액

고추씨-홍합의 향신 조미료 제조를 위하여 이들의 혼합 비율을 정하고져 홍합을 먼저 최적 추출조건(protamex 0.05%, Na_3PO_4 1.0%, pH10)으로 추출하고 고추씨를 첨가하여 80℃에서 추출하였다. 그 결과(Table 21) 고형분 수율은 5%의 고추씨를 첨가한 것이 홍합추출액만의 수율 18.97%과 비교해 31.57%로 현저한 증가가 있었으나 고추씨의 첨가량 증가는 추출 수율을 크게 높여주지 못 하였다. 반면 고추씨 첨가량증가로 그값이 높아졌으며 L값과 b값이 낮아졌다. 또한 b값이 높아져 고추씨와 홍합의 혼합추출은

Table 20. Sensory scores of mussel extracts extracted at 90℃ for 40 min as affected by phosphates and pH.

Enzyme	Sensory attribute		Na_3PO_4(1.0%)			$Na_4P_2O_7$(1.0%)			F-value
			pH 2	pH 9.53	pH 10	pH 2	pH 8.32	pH 10	
Protamax 0.05%	Odor	Savory	3.00c	5.00ab	4.88ab	3.88bc	3.63c	5.75a	7.16*
		Fish	5.38a	3.25c	3.88bc	4.63ab	2.63c	3.63bc	5.60*
	Taste	Umami	5.88a	3.88b	6.88a	6.25a	6.00a	6.50a	4.43*
		Fish	5.38	3.38	3.75	3.63	3.25	3.38	2.79
Protease Ⅱ 0.01%	Odor	Savory	4.75ab	3.63b	5.00a	5.13a	3.63b	5.88a	4.67*
		Fish	3.25b	6.50a	6.13a	3.00b	2.63b	5.13a	11.32**
	Taste	Umami	5.38a	3.50c	6.38a	5.13ab	4.00bc	6.38a	6.58*
		Fish	3.75	6.25	4.88	4.38	4.13	3.63	3.64

a-c Mean scores follow by the same letter are not significantly
* $P < 0.05$
** $P < 0.01$

추출액의 색은 탁해지고 어두어지면서 붉은색을 뛰고 있음을 알 수 있었다.

고추씨 첨가 농도에 따른 향미특성과 기호도는 Table 22와 같이 매운냄새와 맛은 고추씨 첨가량이 많을수록 현저히 높아졌으며 구수한 맛과 냄새는 고추씨의 최하 첨가농도인 5%일 때 가장 강하게 평가되었다. 비린내와 맛은 전반적으로 고추씨의 첨가양과 비례해 감소되었으나 10%의 고추씨를 넣었을 때 비린내를 더 느낄수 있었다고 평가한 것은 특이하였다. 고추씨를 첨가하였을 때의 낮은 비린맛은 맛의 강도가 너무 높아 비린맛을 느끼지 못하는 것으로 여겨진다. 홍합추출액과 고추씨의 첨가비율을 선정하기 위한 기호도 검사에서는 지나치게 맵지도 않으면서 감칠맛을 느낄수 있는 5%와 10%의 고추씨가 가장 좋게 평가되었다. 그리하여 고추씨-홍합 향신조미료 제조를 위하여 5 10%의 고추씨를 첨가함이 홍합의 감칠맛과 가장 잘 조화를 이루는 것으로 밝혀졌다.

Table 21. Effect of red pepper seeds addtion ratio on properties of mussel extracts prepared by combined method[a)] at 90℃ for 40 minutes

Addition of pepper seed(%)	Solid yield(%)	Absorbance 600nm	Color		
			L	a	b
control	27.97	2.24	23.10	+3.04	+12.77
5	31.57	5.32	14.07	+3.50	+9.01
10	32.09	5.13	9.43	+3.63	+6.25
15	33.31	5.88	8.98	+4.45	+6.02
20	33.56	10.91	7.03	+4.24	+4.76

a) Mussel extract was prepared by addition of $Na_4P_2O_7$(0.5%), hydrolysis with Protamex(0.05%, 60min) and at pH 10 and 90℃ for 40 min

Table 22. Sensory properties of RPS-mussel extracts as affected by addition ratio of red pepper seeds

Descripsion	Seed concentration(%)				F-value
	5	10	15	20	
Hot odor	3.25c	6.13b	7.25ab	8.13a	29.04**
Savory odor	6.00a	4.50a	2.75b	2.25b	10.12*
Fish odor	2.88b	4.50a	2.00bc	1.25c	12.72**
Hot taste	4.25c	5.63b	6.75b	8.63a	22.06**
Savory taste	5.88a	4.38b	2.89c	1.75d	26.61**
Fish taste	2.63b	3.88a	2.50b	1.63b	6.71*
Total acceptability	56a	57a	82bd	92cd	

Total acceptability was tested ranking test.
a-d Mean scores whithin row followed by the same letter are not significantly different at 5% level.
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3. Pilot 규모에서의 시제품 제조

가. 제조조건

Pilot 규모에서의 고추씨-홍합 조미료 시제품 제조를 위하여 사용한 제조조건은 다음과 같다. 고추씨 추출은 고추시를 가열처리하지 않고 그대로 마쇄한 다음 80℃에서 30분간 물로 추출하는 조건과 천연 조미물질의 첨가는 홍합을 첨가하였으며, 홍합첨가시의 홍합의 최적 추출조건(마쇄한 홍합을 Protamax로 먼저 분해 시킨 다음 Na_3PO_4 1%를 첨가하고 pH를 10으로 조정하여 90℃에서 40분간 추출)을 사용하였다.

즉 홍합을 선정된 조건으로 추출한 뒤 고추씨를 5-10% 첨가하고 2차 추출하는 과정을 택하였다.

나. pilot 공장규모에서의 제조 과정

1) 앞에 설정된 고추씨와 홍합조미료 제조 조건에 의하여 Fig. 3의 공정으로 Pilot공장 규모의고추씨·홍합조미료를 제조하였다.

2) 제조과정 중 단백질 분해효소는 Protamex와 ProteaseII 중 비린맛이 적었던 Protamex를 사용하였으며 고추씨의 첨가량은 공장(참여기업)에서 5%와 10%를 비교하였을 때 5%가 매운맛에 적절하다고 하여 5%로 첨가 하였다. 추출과정 중 pH조정을 위하여 사용한 NaOH와 HCl은 첨가 부피를 줄이고져 5N과 5N을 사용 하였다.

3) 전체적 제조 공정의 특성은 제조공정을 추출, 여과, 농축, 분말화 공정으로 하였고 추출공정은 홍합추출(1차, 생홍합의 효소분해법 추출)과 고추씨 혼합 추출(2차, 맛성분 추출)로 나누어 실시 하였다.

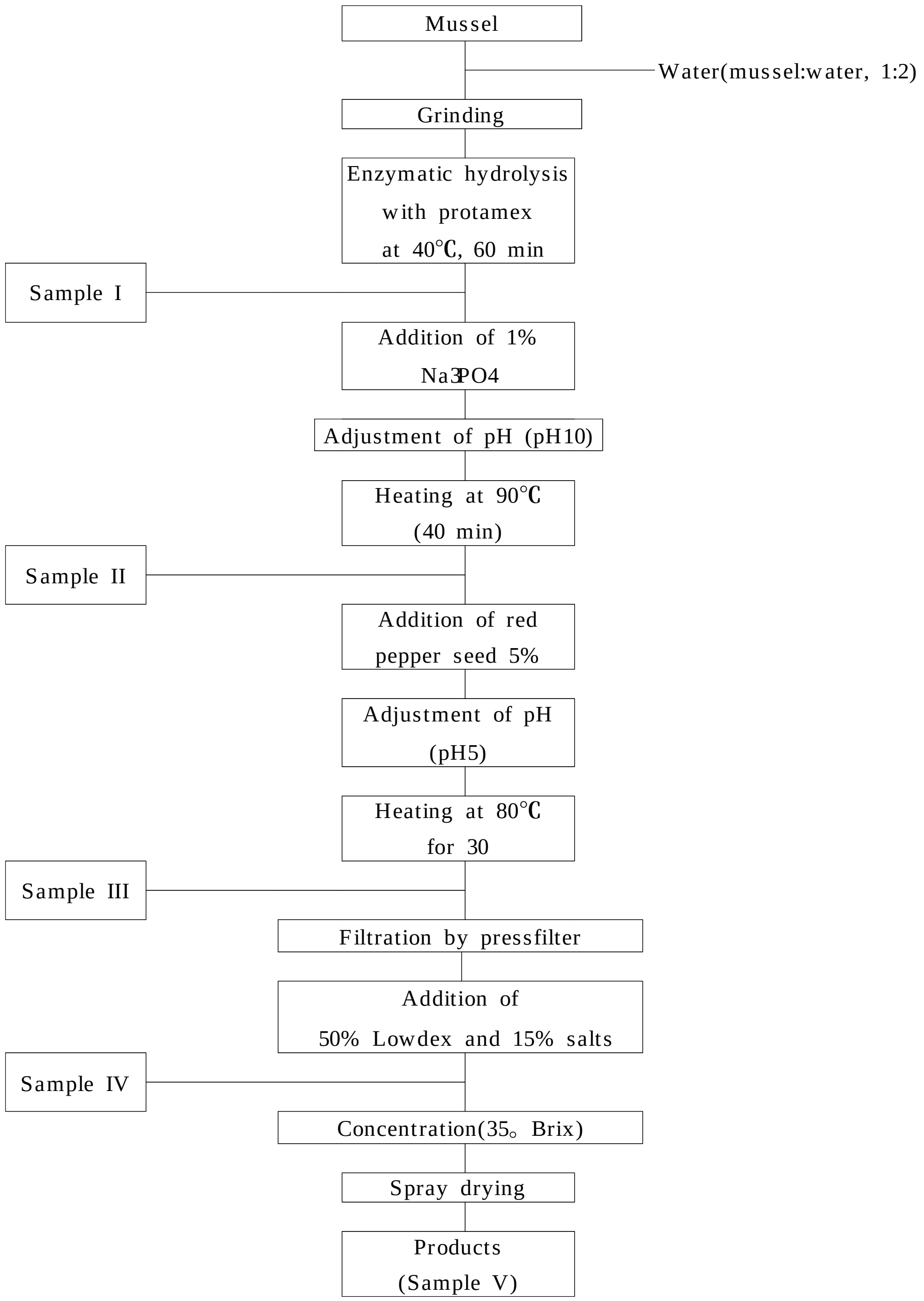


Fig. 3. Schematic diagram for pilot plant scale preparation of red pepperseed-mussel spice.

4) Pilot 공장규모의 추출기(working volum 100kg)를 사용하여 홍합과 고추씨를 추출한 다음 여과(150 200mesh의 Filter Press)하여 추출액의 총고형분 햐량의 50% Lowdex(부형제)와 15% 소금을 첨가하였다. 이 용액을 35°brix가 되게 농축한뒤 분무건조기로 건조하여 최종제품으로 하였다. Pilot 공장규모에서 제조된 시제품과 제조공정 중 각 단계별(sample Ⅰ, Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ,Ⅴ)로 시료를 취하여 시료의 일반성분검사, 점도측정, 색측정(Hunter Lab), 탁도측정 및 갈색도측정을 하였고, 관능평가를 실시하였다.

다. pilot 규모에서의 시제품 제조 결과 (참여기업 의견)

1) 제조공정상의 결과

가) 추출공정

추출수율(원료 무게비율, 부형제 첨가전)은 75%였으며 제조과정 중 문제점은 없었으나 생홍합의 효소분해시 효소분해 효과를 높이고, 미생물의 번식 가능성을 배제하기 위해서는 효소분해 후 가열처리가 필요하다고 판단된다.

나) 추출액의 분리공정

추출액의 분리는 Filter press(180mesh)를 사용했던바, 여과중 기름성분과 미세물질 여과포의 pore를 막아 분리적성이 좋지 않았다. 따라서 Decanter를 사용하여 침전물질을 제거시켜 추출액을 분리시킨다면 이러한 문제점은 충분히 해결될 수 있다고 판단된다. 현재 대량생산 시스템에서는 연속작업을 할 수 있는 Decanter의 사용이 되고 있어 이러한 장치의 사용이 바람직하다.

다) 농축공정

농축조(100Kg)를 사용하여 농축시켰을 때 농축적성이 매우 좋아 소포제를 첨가하지 않아도 진공도를 낮출 수 있었다. 그러므로 현장생산시 문제점이 없을 것이라 판단된다.

라) 분말화 공정

고형분 농도를 약 30%로 조절한 후, Pilot scale 분무건조기(증발량 1000㎖/hr)를 이용하여 분말화하였다. S/D(spray drying) 적성은 좋아 벽면의 부착이 없었으며, 분말 물성도 좋았다. 이상의 결과로부터 현장에서의 S/D 적성은 매우 좋을 것이라 판단 된다.

마) 전체적으로 Pilot scale test 결과, 고액분리공정만 Decanter로 전환시킨다면 현 장 생산(Plan scale Production)이 가능하다고 판단된다.

2) 제품 특성

본 제조공정 특성은 혼합 추출 방법에 의해 홍합과 고추씨로부터 맛 성분을 동시에 추출하는데 있다. 현재 산업적으로 사용되고 있는 홍합 맛 type 조미료들은 단순 추출법에 의해 제조되고 있어 맛의 폭이 좁은 단점이 있어 홍합 엑기스에 여러 가지 조미료를 첨가하여 제조되고 있다.

본 실험의 혼합 추출하는 방법은 두가지 이상의 원료에서 가각의 맛 성분을 추출함과 동시에 추출과정중 상호 반응하여 제 3의 맛을 창출해내는 장점이 있다.

제조된 고추씨 종합씨즈닝분말은 고추씨 특유의 매운맛이 가미되어 있고 홍합엑기스의 감칠맛 향상과 비린맛을 감소시킨 조건에서 시행하였기에 그 기호도가 높을 뿐만 아니라 홍합의 추출율을 크게 향상시켰기에 우수한 제품이라고 판단된다.

본 제품의 용도로는 해물 맛 조미료 또는 해물 맛 제품등에 사용되어질 수 있다고 기대된다.

라. 물리 화학적 특성

각 과정별로 채취한 시료(Ⅰ-Ⅴ)의 일반성분 색, 점도, 탁도의 측정값을 비교한 결과(Table 23,24) 최종 건조 제품인 시료Ⅴ는 중간 과정의 시료들(Ⅰ-Ⅳ)보다 탁도(600nm)와 갈색도(420nm)가 현저히 낮고 색에서는 밝기(L값)와 노란색(b값)이 다른 시료들보다 높아 제품색이 밝은 노란색임을 보여주었다. 일반성분은 건물량 기준으로 비교할 때 탄수화물만이 현저히 높아 분무건조시 첨가한 부형제인 Lowdex의 영향이 많음을 알 수 있다.

Table 23. Physicochamical data of red repper seed - mussel spice produced from pilot plant scale preparation

		Samples				
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
Moisture(%)		94.72	94.33	91.62	71.45	4.36
Protein(%)		2.03	2.63	2.87	9.8	23.62
Lipids(%)		1.05	0.58	1.26	0.57	2.11
Carbohydrate(%)		1.91	1.01	2.02	6.60	36.39
Reducing sugar(%)		0.4	-	-	2.30	9.45
Ash(%)		0.29	2.63	2.87	9.8	23.62
Viscosity(cps)		10.0	10.0	10.0	20.0	10.0
Absorbance(420nm)		23.93	28.46	26.84	18.13	14.48
Turbidity(600nm)		16.03	12.80	16.80	9.09	6.48
Color	L	4.89	5.61	2.73	12.94	17.60
(1/2dilution)	a	3.57	4.17	3.58	6.48	3.69
	b	3.37	3.90	1.89	8.78	25.03

마. 관능적 특성

관능적 특성은 최종건조제품(Ⅴ)이 비린냄새와 맛 그리고 매운냄새가 다른 시료보다 현저히 적으면서 맛과 냄새에는 영향이 적어 전체적 관능적

특성이 크게 향상됨을 보여준다.

Table 24. Sensory properties of red pepper seed - mussel spice produced from pilot plant scale preparation

		Samples					F-value
		I	II	III	IV	V	
Odor	Hot	3.60a	3.20a	6.80b	3.40a	2.10a	9.94
	Savory	3.10	5.20	4.40	4.10	3.80	1.20
	Fish	8.60a	7.50ab	6.30b	7.40ab	6.50b	4.04
	Sweet	1.80	3.00	2.00	2.04	2.70	1.05
Taste	Hot	2.00ab	1.20b	6.90c	2.70a	2.10ab	33.91
	Fish	8.30a	5.90b	5.50b	5.50b	4.30b	7.45
	Umami	2.00a	2.20a	4.50b	4.90b	3.70b	5.03
	Salty	2.60a	1.60a	5.10b	6.70b	4.30cb	12.46
	Sweet	1.60	1.70	2.20	2.40	1.90	0.67

a-c Mean scores follow by the same letter are not significantly at 5% level

제 2 절 마늘

1. 마쇄 마늘의 변색억제

가. NaCl 및 유기산 첨가 영향

마늘을 마쇄하여 가공 또는 저장하고자 할 때 가장 먼저 대두되는 문제 중 하나는 갈변과 녹변의 변색문제이다. 그리하여 마늘 뿌리를 이용한 추출액 제조 시험전에 마늘의 변색억제 방법을 검토하였다. 변색억제 효과를 검토한 조건들은 NaCl과 유기산, 각종 염류, 항산화 물질, 기타 화합물의 첨가, pH 조정, 가열 처리였으며 이중 효과가 있는 조건을 종합적으로 변색억제 조건으로 선정하였다.

유기산과 NaCl을 농도별로 마쇄마늘에 첨가하여 혼합한 뒤 25℃에서 24시간 저장한 후 색의 변화를 비교한 결과는 Table 25와 같다. 그 결과 소금이나 유기산을 첨가하지 않은 대조구(0%)의 L값은 38.12, a값은 -3.25로 소금을 첨가하였을 경우 L값은 38.42 39.66, a값은 -3.16 -3.40으로 큰 차이가 없었으나, b값은 소금 첨가량이 증가할수록 약간씩 증가하였다.

한편 유기산을 첨가하였을 때 acetic acid는 0.5% 첨가의 경우 L값이 감소하여 38.12에서 31.71이 되었고 녹색을 나타내는 (-)a값은 -3.25에서 -10.49로 크게 증가한 반면 청색을 나타내는 (-)b값은 3.12에서 -0.64로 약간 청변되었다. Acetic acid의 농도는 0.5%이상으로 증가하면서 L값은 약간씩 증가하였고 a값과 청색의 (-)b값은 변화가 거의 없어 0.5% 첨가 수

준에서 녹변이 오히려 촉진됨을 보여주었다. 또한 citric acid와 lactic acid의 경우도 acetic acid와 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 25. Effects of NaCl and organic acids on color changes of ground garlic after storage at 25℃ for 24 hours.

	Hunter values	Concentration				
		0%	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
NaCl	L	38.12	38.42	38.47	39.56	39.66
	a	- 3.25	- 3.16	- 3.25	- 3.32	- 3.40
	b	3.12	3.66	3.87	3.98	4.01
Acetic acid	L	38.12	31.71	34.84	36.33	38.45
	a	- 3.25	- 10.49	- 10.85	- 10.17	- 10.76
	b	3.12	- 0.64	- 1.81	- 1.81	- 1.08
Citric acid	L	38.12	27.68	35.54	39.60	44.38
	a	- 3.25	- 8.22	- 10.72	- 9.99	- 10.47
	b	3.12	- 0.68	- 1.54	- 0.71	- 0.88
Lactic acid	L	38.25	29.00	34.54	38.69	42.11
	a	- 3.25	- 9.22	- 10.45	- 10.22	- 10.36
	b	3.12	- 0.96	- 1.60	- 0.48	0.16

나. pH, 염류, 항산화제 및 기타물질 첨가 영향

일반적으로 식품에 첨가되어 식품의 갈변을 억제한다는 이유로 많이 사용되는 인산염 및 각종 항산화제와 마늘의 polyphenol oxidase의 최적 pH보다 낮은 pH로 조절하여 색의 변화를 조사한 결과는 Table 26과 같다. 본 실험에 사용한 마늘의 pH는 6.4 6.6으로 마늘의 pH를 4.0으로 감소시킨

경우 녹변 억제의 효과가 뚜렷하였다. 이에 반해서 pH 5.5 에서는 a값이 -5.95로 되어 녹색이 더 진해짐을 볼 수 있었다. 따라서 녹변억제를 위하여는 산성 pH인 pH 4.0으로 감소시켜야 함을 알 수 있었다.

식품에서 pH 조절능력과 미생물의 성장억제능, 수분결합능력이 있다고 보고된(27) 인산염을 첨가할 경우, 인산나트륨(NaH_2PO_4, Na_2HPO_4, Na_3PO_4) 첨

Table 26. Effects of pH, salts, antioxidants and others on color changes of ground garlic after storage at 25℃ for 24 hours.

	Hunter values		
	L	a	b
Control	39.28	- 3.55	3.82
pH 4.0	41.86	- 0.29	- 0.53
pH 4.5	39.10	- 4.52	- 0.70
pH 5.5	38.18	- 5.95	- 0.60
NaH_2PO_4	39.01	- 3.51	2.56
Na_2HPO_4	38.94	- 2.87	2.36
Na_3PO_4	38.33	- 2.62	2.31
SPP	40.19	- 3.01	4.19
SMP	39.51	- 3.38	3.84
$Na_2S_2O_5$	40.00	- 2.07	3.81
Na_2SO_4	36.28	- 2.23	1.94
BHA	43.30	- 4.86	2.01
BHT	45.82	- 5.47	2.04
PG	45.12	- 5.41	1.98
glutathione	41.24	- 3.72	4.37
Cysteine	40.17	- 2.87	4.59
Ascorbic acid	41.70	- 3.35	4.10

가구는 대조구에 비하여 (-)a값과 b값이 약간 감소하여 녹변이 지연됨을 보여주었으며 Na_3PO_4가 더욱 효과적이었다. 또한, 일부 천식환자에게 있어서 allergy-like 반응을 일으킬 수 있다는 사실과 연관되어 FDA에 의해 일부 식품에서 사용을 제한받고 있지만, 갈변억제에 가장 효과적이라고 알려져 있는(37) sodium metabisulfite의 경우 녹변이 거의 더 진전되지 않아 녹변억제에 매우 효과적임을 알 수 있었다. 마늘의 변색과 관련하여 김 등(22)은 sodium metabisulfite가 세절된 건조마늘의 비효소적 갈변을 줄일수 있다고 보고한 바 있다.

항산화제의 경우 산화억제를 하여 변색되는 것을 방지한다고 보고된 결과(38)와는 달리 본 연구에서 변색억제효과는 나타나지 않았다. 그 외에 cysteine과 ascorbic acid의 경우에는 저장 중 녹변억제에 약간의 효과가 있는 것으로 보여졌다.

다. 가열온도 및 시간 영향

마늘 마쇄액의 가열온도 및 시간이 마늘의 변색억제에 효과가 있는지의 여부를 조사하고자 마늘 마쇄액을 온도(50-100℃) 및 시간(0-60분)별로 가열한 다음 냉각하여 25℃에 저장한 후 마늘의 색도를 조사하였다(Fig. 4)

그 결과, L 값은 전반적으로 가열온도와 가열시간이 증가할수록 그 값이 증가하였으나 a값은 10분간 가열시 (-)a값이 약간 증가하여 녹변이 증가되다가 10분 이상 가열에서는 녹변이 감소됨을 볼 수 있었다. 특히 100℃에서는 20분후부터, 90℃에서는 30분후부터 녹변의 억제가 시작되어 녹변과 관련된 물질이 높은 온도에서의 가열로 불활성화됨을 보여주고 있

다. 또한 70℃이상에서의 가열로 b값이 대조구보다 증가하여 비효소적 갈변반응이 관여하였음을 보여주고 있다. 이러한 경향은 높은 온도일수록 가열초기에 더욱 뚜렷하였다.

이러한 결과는 김 등(39)이 저장마늘의 녹변현상에 관한 연구에서 마늘의 녹변은 50℃에서 30분간 가열시 최대로 나타났고 80℃이상의 온도로 갈수록 녹변이 발생하지 않았다는 결과와 같은 경향이었다. 즉 가열온도와 시간이 증가함에 따라 녹변이 억제됨을 알 수 있었다.

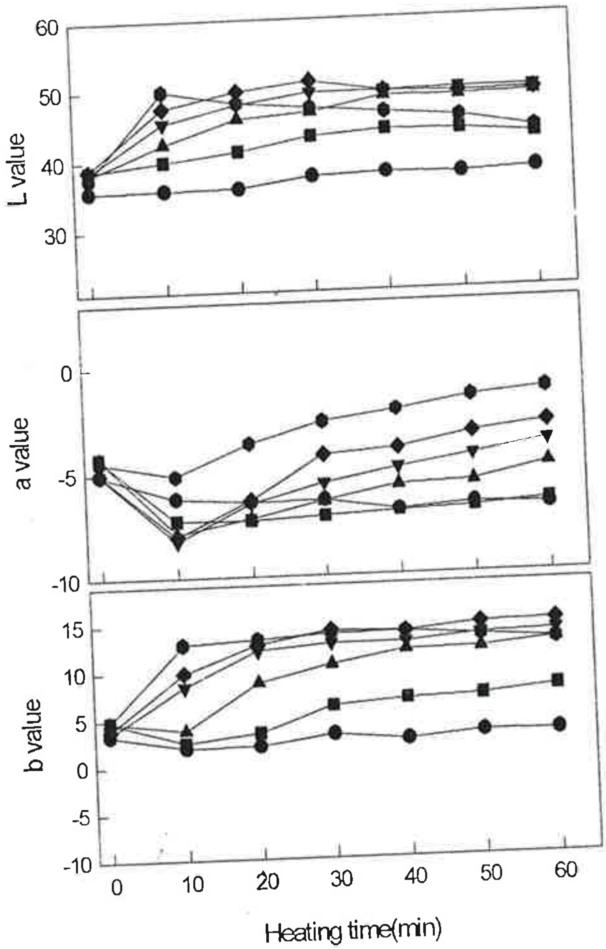


Fig. 4. Effects of heating temperature and time on color values of ground garlic after 24 hours of storage at 25°C

(—●— 50°C, —■— 60°C, —▲— 70°C, —▼— 80°C, —◆— 90°C, —●— 100°C)

Table 27은 가열초기에 녹변이 발생되고 가열후기에 갈변이 많이 발생한 80℃에서 pH를 변화시켜 색의 변화를 비교하였다. 그 결과 pH 3에서는 가열시간이 증가할수록 녹색도를 나타내는 (-)a값이 증가하여 10분 가열시 -9.94가 되었으며 b값은 차츰 감소하여 (-)값을 나타내었다. 즉 10분이내의 단시간 가열에서는 녹변과 청변이 오히려 증가함을 보여주었다. 또한 pH를 4.0과 5.0으로 조절한 경우에도 같은 경향이었다. 이 결과는 Fig. 2의 10분 후의 가열결과와 비교할 때 a값은 유사하나 b값에 큰 차이를 보였는데 그 이유는 pH의 영향 때문이라고 보여진다.

이상의 결과 NaCl첨가는 마늘 마쇄액의 변색에 큰 영향을 주지 않았지만 acetic, citric, lactic 산들은 녹변을 촉진시키는 영향이 있었고 산성 pH와 인산염들은 녹변을 현저히 감소시켰음을 알 수 있었다. 가열은 80℃에서 30분이상, 90℃이상의 온도에서 20분 이상 가열시 녹변이 억제되었고 80-90℃에서의 10분이하 가열은 오히려 녹변을 촉진시켜 주었다.

Table 27. Effect of pH and heating at 80℃ on color changes of ground garlic after storage at 25℃ for 24 hours.

pH	Heating time (min)	Hunter values L	a	b
3.0	0	44.85	- 4.71	2.41
	2	44.06	- 7.73	- 3.81
	6	43.96	- 9.80	- 3.65
	10	45.22	- 9.94	- 2.12
4.0	0	40.67	- 4.13	2.26
	2	39.12	- 7.58	- 3.35
	6	42.86	- 8.48	- 2.85
	10	46.11	- 10.20	- 2.27
5.0	0	38.40	- 3.37	2.47
	2	39.42	- 6.65	- 1.80
	6	41.22	- 7.34	- 0.85
	10	45.75	- 8.87	6.59

라. 선정된 변색억제 물질의 영향

이상의 실험결과에서 변색억제 효과가 뛰어난 것으로 보여지는 ascorbic acid(A), cysteine(C), sodium metabisulfite(S), trisodium phosphate(P)를 각각 단독으로, 혹은 혼합한 용액에 동량의 마쇄한 마늘을 혼합하여 25℃에 저장하면서 저장기간에 따른 색도의 변화를 관찰하였다. 녹변 억제 효과가 있었던 80℃와 90℃에서의 가열은 마늘 향미의 변화로 향신 조미료로서는 적합하지 않아 가열 조건은 제외시켰다.

1) 단일 물질이 변색에 미치는 영향

마쇄한 마늘을 0.1M의 A, C, S, P 각각 또는 혼합하여 25℃에 7일간 저장하면서 색의 변화를 측정하였다. 대조구의 L, a, b값은 44.28, -1.93, 11.27이었으며, Fig. 5에서 보는 바와 같이 L값은 초기에는 감소하다가 증

가한 후 변색이 짙어지면서 다시 감소하는 것으로 나타났다. 모든 처리구에서 L값은 대조구에 비해 높은 것으로 나타나 변색을 조절하는데 있어서 효과적임을 보여주고 있다. a값의 경우 S 처리구 경우에는 저장 중 거의 일정한 것으로 나타났으나 그 외 처리구는 대조구와 비슷한 경향이었다. 저장 7일 경과후의 a값은 A 처리구가 가장 높은 것으로 나타나 4가지 시료 중에서 갈변이 가장 많이 발생했음을 보여준다. 본 실험 결과는 A가 생강 페이스트의 저장 초기에는 항갈색화제로 작용하나, 저장 후반기에는 갈색화를 가속화한다는 조 등(27)의 결과와 일치하였다. b값의 경우 S를 제외한 모든 처리구에서 차츰 증가하는 것으로 나타나 마늘의 변색억제에 가장 효과적인 물질은 S로 조사되었다. 위의 결과로 볼 때, 마늘 마쇄액의 저장초기에 나타났던 녹변은 저장기간이 증가함에 따라 차츰 갈변으로 이행되어지는 것으로 보인다.

2) 혼합 첨가가 변색에 미치는 영향

0.1M의 A, C, S, P를 두가지씩 혼합한 6가지 종류의 binary mixture를 마쇄한 마늘과 혼합하여 변색억제 효과를 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. CP(C와 P 혼합 처리구)처리구가 가장 높은 L값을 보였으며 대조구의 L값이 가장 낮았다. 그러나, a, b값에서 보여지듯이 AP처리구를 제외한 모든 처리구의 변색억제 효과가 뛰어남을 알 수 있었다. Binary mixtures의 처리에서 A, C, P보다는 S를 함유한 처리구의 변색억제 효과가 가장 뚜렷하다는 것을 확실히 알 수 있었는데 이러한 결과는 이미 sulfites가 효소적 갈변을 억제하는데 있어 가장 효과적이라는 Soto 등(40)에 의해서도 언급된 바 있다. 이상의 결과에서, 대부분 저장기간 중에도 저장0일의 a, b값과 거의 비슷한 값을 유지하는 것으로 보아 단일물질만을 처리한 것 보다 두가지 물질을 혼합처리한 경우 변색을 억제하는데 있어 훨씬 효과적임을 알

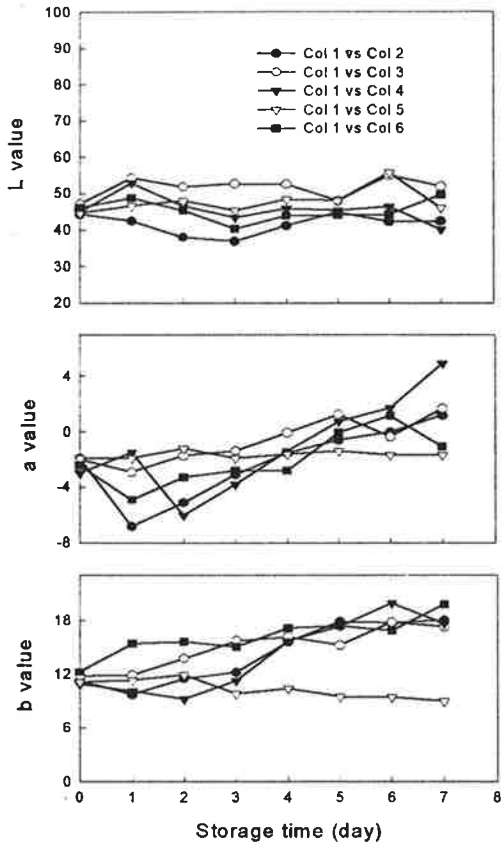


Fig . 5. Effect of 0.1M cysteine, ascorbic acid, $Na_2S_2O_5$ and Na_3PO_4 on Hunter values of ground garlic during storage at 25°C

수 있었다.

0.1M의 A, C, S, P를 셋 혹은 네가지씩 혼합하여 처리한 경우(CAS, CAP, ASP, CSP, CASP)의 변색억제 효과는 Fig. 7과 같다. 3가지 이상의 물질로 처리한 경우 대조구에 비해 높은 L값을 계속 유지하는 것으로 나타났으며 CAP처리구를 제외한 모든 처리구의 a, b값은 거의 일정하게 유지되었다. 3가지 이상의 혼합물질 처리구의 a값은 저장 0일의 수치와 비교시 거의 일정하게 유지되어 2가지 물질을 혼합한 것보다도 갈변 및 녹변억제에 매우 효

과적임을 알 수 있었다. 그러나 b값의 경우에는 두가지 물질을 혼합하였을 경우와 그 경향이 매우 유사하였다.

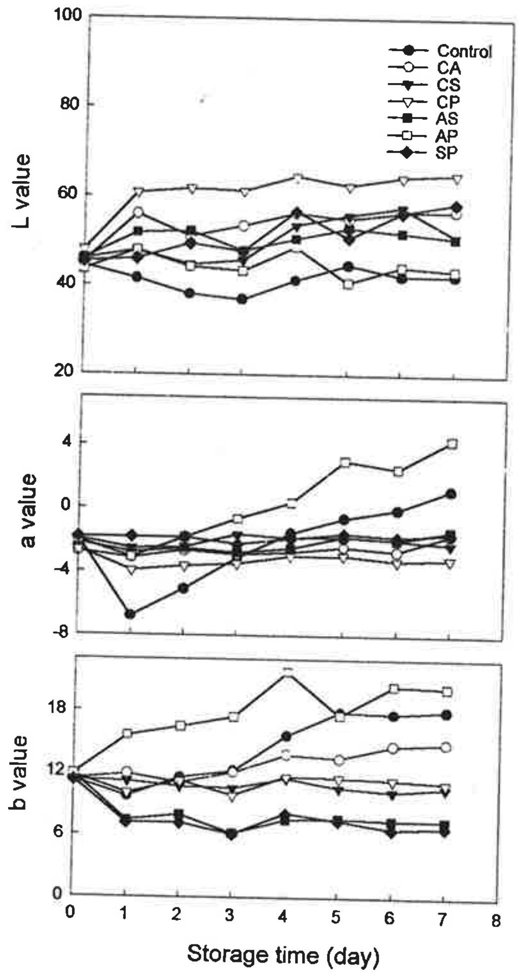


Fig . 6. Effect of binary mixtures of cysteine, ascorbic acid and $Na_2S_2O_5$ at 0.1M each on Hunter values of ground garlic during storage at 25°C

3) 혼합물질의 농도가 변색억제에 미치는 영향

위의 실험에서 사용한 binary/ternary/quaternary 혼합물질의 농도가 변색억제에 미치는 영향을 알아보기 위하여 이들 물질의 농도를 0.03M 및 0.01M로 낮추어 저장중 변색억제 효과를 조사하였다. 0.03M의 단일용액을 각각 혼합하여 처리한 경우 L, a, b값을 대조구와 비교하였을 경우 변색억제 효과를 관찰할 수 있었다(Fig. 8). 그러나 0.01M로 농도를 낮추었을 경우(Fig. 9)의 변색억제 효과는 감소하였다. 즉, 이들 물질의 처리농도를 0.01M로 감소시켰을 경우 저장초기의 a값이 감소하여 녹변의 발생이 심해졌다. 또한 저장기간이 증가할수록 혼합물질의 L값이 낮아져 마늘 마쇄액의 색이 어두워졌으며, b값이 높아져 갈변이 증가됨을 보여주고 있는데, 이들 혼합물질 중에서 0.03M의 CS, CAS, CSP, CASP는 갈변억제에 가장 적합하였다. 이는 마쇄마늘의 저장초기의 색을 유지하기 위해서는 실험을 통해 변색억제의 최적 농도를 선정할 필요가 있음을 나타내준다. 이상의 결과에서 알 수 있듯이, 일정 농도의 A, C, S, P의 binary, ternary, quaternary혼합물은 일정 저장기간중의 마늘의 변색억제에 효과적이었다.

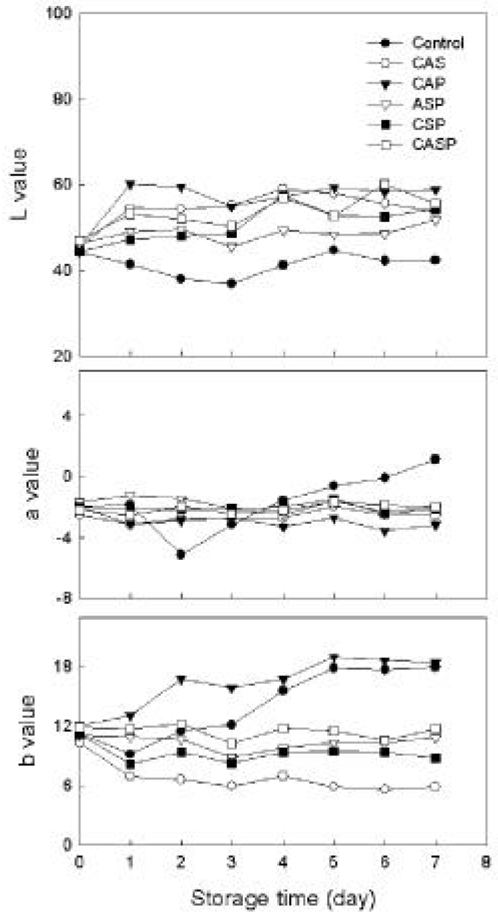


Fig. 7. Effect of ternary mixtures of cysteine, ascorbic acid, $Na_2S_2O_5$ and Na_3PO_4 at 0.1M each on Hunter values of ground garlic during storage at 25°C

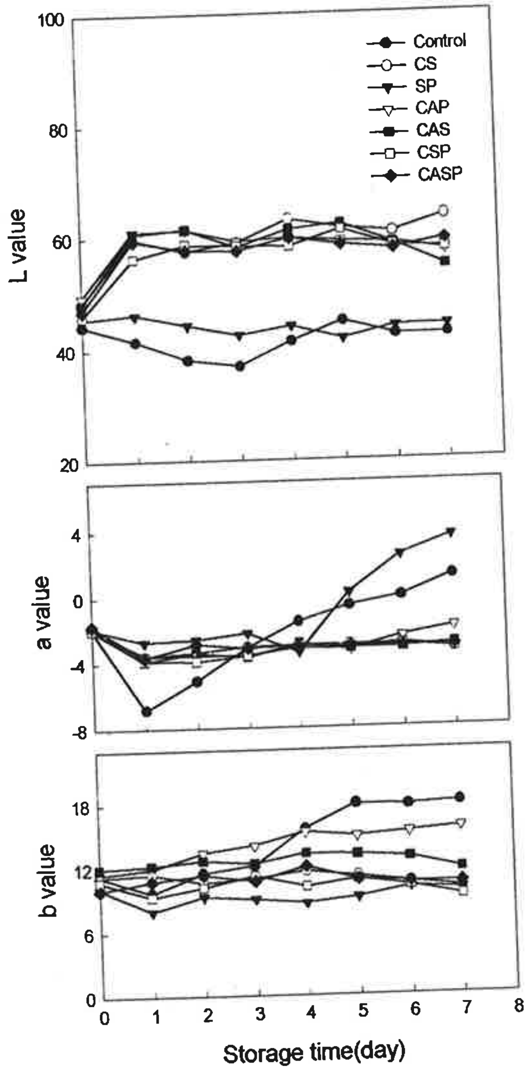


Fig. 8. Effect of binary and ternary mixtures of cysteine, ascorbic acid, $Na_2S_2O_5$ and Na_2PO_5 at 0.03M each on Hunter values of ground garlic during storage at 25°C

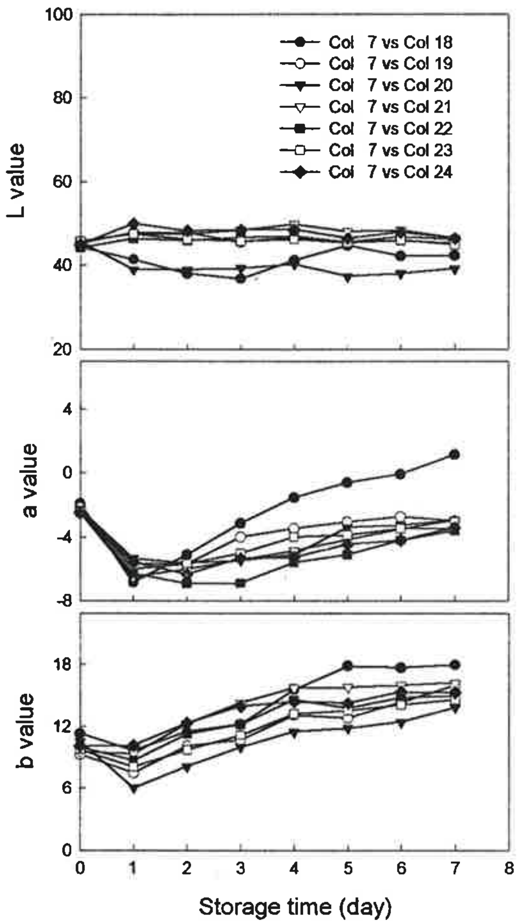


Fig. 9. Effect of binary and ternary mixtures of cysteine, ascorbic acid, $Na_2S_2O_5$ and Na_3PO_4 at 0.01M each on Hunter values of ground garlic during storage at 25°C

2. 마늘 추출액 제조조건

마늘 뿌리부위는 절단시 과육부분을 포함하여 전체 마늘의 약 12%정도 였고 뿌리는 약 5%였다. 뿌리부위를 이용한 마늘 향신조미료의 제조조건을 찾기위하여 추출시 pH, 염류와 유기산 첨가, 효소분해의 영향을 조사하였다.

가. pH 조절의 영향

마늘 뿌리부분의 추출시 pH가 고형분 수율이나 탁도에 어떠한 영향을 미치는지 조사한 결과는 Table 28과 같다. 그 결과, 고형분 수율의 경우 pH 2.5 5.5범위에서 pH가 높아지면서 약간씩 증가하여 pH 5.5에서는 대조구보다 약간 더 높은 29.32%를 보여주었다. 그러나 색도의 경우는 pH가 낮아질수록 높은 L값을 나타냈고 녹색을 나타내는 (-)a값은 pH 4.5와 5.5에서는 대조구보다 더 높은 값을, pH 3.5이하에서는 약간 낮은 값을 보여 pH 4.5 이상에서의 추출은 녹변이 심하게 발생하여 추출에 적당하지 않음을 알 수 있었다.

이러한 색도의 결과는 조(41)의 pH가 감소됨에 따라 마늘 추출액의 L값은 증가되고 b값은 감소하였다는 결과와 동일하였다. 즉, 마늘의 수용성 고형분 추출시 산처리는 색에는 좋은 영향이 있으나 수율에는 큰 효과가 없음을 알 수 있었다.

Table 28. Effects of pH on solid yields and color of garlic extract prepared at 30℃ for 30minitues.

pH	Solid yield (%)	Hunter values		
		L	a	b
control	27.30	86.96	- 3.15	18.85
2.5	26.59	94.87	- 1.16	5.31
3.5	26.87	94.65	- 3.20	6.32
4.5	27.30	94.48	- 4.40	9.22
5.5	29.32	93.77	- 5.68	16.48

나. 염 및 acidulants 첨가의 영향

소금 및 각종 염류의 첨가가 마늘 수용성 고형분 수율 및 색도에 미치는 영향을 조사하였다(Table 29). 그 결과, 대조구의 고형분 수율인 27.30%에서 염류를 첨가하여 추출한 경우 전반적으로 추출수율이 증가하였다. 각종 염추출 중에서 $K_4P_2O_7$을 첨가하여 추출한 경우 수율이 36.06%로 염류 중에서 가장 좋았으며, 그 다음은 NaCl 처리구, KCl, $CaCl_2$의 순이었다. 그 외의 처리구도 대조구보다 높은 31 33%의 수율을 나타내었다. 또한 유기산염인 sodium oxalate 첨가구는 36.22%로 매우 높게 나타났으며, 유기산들도 33% 정도로 향상되었다.

위의 결과에서 마늘추출액의 변색억제 및 추출수율이 높았던 $K_4P_2O_7$, $CaCl_2$, tartaric acid, sodium oxalate의 농도별 처리에 따른 마늘 추출액의 수율 변화를 조사한 결과는 Table 30과 같다. 마늘추출시 가용성 고형분 수율의 경우 $K_4P_2O_7$ 처리구가 35.82 38.28%의 범위로 대조구보다 높은 추출수율을 보였으며, CaCl2 처리구와 sodium oxalate처리구도 높은 수율

을 보였다. 이들 처리구는 처리농도 함량이 증가됨에 따라 수용성 고형분 수율이 증가하는 경향을 나타내었다. 이와는 달리 tartaric acid와 phosphoric acid 처리구는 대조구에 비해 수용성 고형분 추출수율이 증가하였으나 첨가농도가 증가하면서 수율은 오히려 감소하였다.

이들 추출액의 색을 측정한 결과 대조구와 비교할 때 tartaric acid처리구는 L값이 93.31, a값이 -3.04, b값이 19.23으로 변색이 가장 적게 일어났다. $CaCl_2$, phosphoric acid를 첨가의 경우는 L값이 89.11 96.21로 대조구에 비해 높게 나타났으나 $K_4P_2O_7$, sodium oxalate의 경우에는 L값이 각각 48.51 62.36, 72.27 81.01로 낮게 나타났다.

이상의 결과에서 $K_4P_2O_7$, sodium oxalate를 첨가하여 추출한 경우 수율의 향상과 함께 녹변의 발생이 가장 적은 것으로 나타났고, tartaric acid는 녹변에는 효과가 없으나 갈변 억제에는 효과가 있었다.

Table 29. Effects of salts and acidulants on solid yields of garlic extract prepared at 30℃ for 30minitues.

Salts	Solid yield (%)	Acidulants	Solid yield (%)
Control	27.30	Acetic acid	33.86
NaCl	35.26	Citric acid	33.46
KCl	34.40	Lactic acid	33.48
$CaCl_2$	34.17	Phosphoric acid	33.99
NaH_2PO_4	32.03	Tartaric acid	32.79
Na_2HPO_4	33.84	Oxalic acid	33.09
Na_3PO_4	33.30	Sodium oxalate	36.22
$Na_4P_2O_7$	31.79		
KH_2PO_4	31.48		
K_2HPO_4	33.87		
K_3PO_4	33.72		
$K_4P_2O_7$	36.06		

Table 30. Effects of some additives on solid yields and color of garlic extract prepared at 30℃ for 30minitues.

	Conc. (M)	Solid yield(%)	Hunter values L	a	b
Control		27.30	80.77	- 1.32	24.74
$K_4P_2O_7$	0.03	35.82	62.36	2.26	24.15
	0.06	36.24	52.60	3.36	21.74
	0.09	38.28	48.51	3.46	19.93
$CaCl_2$	0.03	33.98	89.11	- 3.57	21.00
	0.06	34.20	93.27	- 3.22	19.36
	0.09	35.94	94.30	- 3.37	19.91
Tartaric acid	0.03	35.30	93.31	- 3.04	19.23
	0.06	34.02	91.58	- 2.23	14.48
	0.09	32.66	94.08	- 2.23	11.01
Phosphoric acid	0.03	33.02	90.83	- 3.02	22.73
	0.06	32.44	96.21	- 2.67	21.43
	0.09	32.41	94.95	- 3.43	20.24
Sodium oxalate	0.03	34.40	81.01	- 2.78	21.56
	0.06	34.72	75.19	- 0.59	23.45
	0.09	35.40	72.27	- 0.05	23.71

다. 다당류 분해효소의 영향

마늘 마쇄액에 다당류 분해효소인 Celluclast, Extrazym, Viscozym을 마쇄 마늘뿌리부위 무게의 0.04 0.08% 농도로 첨가하여 추출한 마늘의 수용성 고형분 수율 및 색도를 비교한 결과는 Table 31과 같다. 효소처리구의 경우 앞의 처리구(pH조절, 염 및 acidulants첨가)에 비해 대조구의 수용성 고형분 수율이 낮게 나타났으나 이는 시료간의 차이에 의한 결과라

보고 비교하였다. 실험 결과, 모든 효소 처리구에서 대체적으로 반응시간과 효소농도가 증가함에 따라 고형분 수율이 증가하였다. Celluclast 및 Extrazym을 사용하여 90분간 반응시킨 다음 추출하였을 때 각각 0.04%첨가시에는 32.48%, 32.56%로 증가하였지만 0.08%첨가구는 0.04%와 큰 차이가 없었다. 각 효소별로 가장 높은 수율을 나타낸 효소 첨가량 및 추출시간을 살펴보면 Celluclast 0.04%-90분, Extrazym 0.08%-90분, Viscozym 0.08%-60분이었으며, 이들 중 가장 효과가 좋은 것은 Extrazym으로 동일시간의 대조구에 비해 26.7% 고형분수율이 증가되는 것으로 나타났다. 본 연구결과와 관련하여 신(25)은 각종 다당류 분해효소를 사용하여 착즙잔사를 분해한 경우 효소를 0.08%와 0.12%씩 가하여 60 90분간 반응시키면 최대수율에 도달하며 이때의 수율 증가율은 14%정도라고 보고한 바 있다. 한편, 색의 경우 반응시간이 증가함에 따라 대조구와 효소처리구에 상관없이 L값은 매우 낮고, 녹색도를 나타내는 (-)a값이 매우 높게 나타날 뿐만 아니라 외관상으로도 녹변이 매우 심하게 나타나 추출액의 수율은 증가하였으나 녹변에 의한 외관상의 품질저하로 효소를 이용한 마늘 추출을 위하여는 부적당하다고 보여진다.

3. 마늘 oleoresin 제조조건

가. 추출용매 및 추출온도의 영향

본 실험에 사용한 뿌리부위는 전체 마늘의 약 12% 되는 부위로 마늘뿌리부위의 마쇄물에 물과 8종의 유기용매를 가하여 30 50℃에서 1시간 추출한 뒤 여과한 추출액의 고형분 수율과 탁도를 비교한 결과는 Table 32와 같다. 고형분 수율은 30℃에서 물(43.4%)과 methanol(35.9%)이 높았으

며 그 다음으로 ethanol(27.1%), isopropanol(14.2%), acetone(14.2%)순이었다. 그리고 diethyl ether와 ethylene chloride, methylene chloride, n-hexane은 고형분 수율이 1-2% 이내로 대단히 낮아 비극성 용매일수록

Table 31. Effects of enzyme concentration and reaction time on solid yields and color of garlic extracts at 30℃.

Enzyme	Enzyme conc.(%)	Reaction time(min)	Solid yield (%)	Hunter values		
				L	a	b
Control	0	30	24.60	85.15	- 5.96	12.68
		60	26.75	83.13	- 7.17	13.04
		90	26.25	80.28	- 8.89	14.31
Celluclast	0.04	30	31.06	78.43	- 8.30	4.93
		60	31.82	69.37	- 10.26	- 1.60
		90	32.48	66.56	- 11.87	4.80
	0.08	30	31.21	77.81	- 9.11	4.07
		60	31.06	74.40	- 9.03	0.76
		90	31.88	68.69	- 10.22	1.05
Extrazym	0.04	30	31.26	74.86	- 8.06	4.38
		60	31.43	74.30	- 9.12	1.31
		90	32.56	69.74	- 10.22	2.67
	0.08	30	31.55	79.87	- 8.18	3.61
		60	31.51	72.46	- 9.24	0.19
		90	33.25	69.04	- 9.86	2.42
Viscozym	0.04	30	30.92	82.54	- 8.11	7.80
		60	31.32	70.48	- 9.27	- 0.80
		90	31.16	65.43	- 10.14	- 0.28
	0.08	30	30.97	80.41	- 8.29	6.25
		60	31.46	71.25	- 9.06	- 0.24
		90	31.09	68.00	- 9.74	0.12

수율이 낮음을 알 수 있었다. 추출액의 색은 육안으로 관찰했을 때 전반적으로 연녹색을 띠었으며, 탁도는 물로 추출한 대조구가 0.177로 가장 높은

수치를 나타내었다. 추출온도가 30℃에서 50℃로 높아지면서 약간 증가하였다. 물로 추출한 마늘액의 수율은 43.4%에서 53.8%까지 약 10% 증가가 있었으나 methanol, ethanol, isopropanol, acetone등의 비교적 극성이 강한 용매의 경우는 수율의 증가폭이 5% 이내로 적었으며, 비극성 용매인 diethyl ether, n-hexane, ethylene chloride, methylene chloride등은 수율증가가 거의 변화가 없었다.

고형분 수율은 추출온도가 높을수록 증가하였지만 열에 의한 향미변화를 최소화하기 위해서는 30℃에서 추출하는 것이 적합하다고 사료되었다.

나. 추출시간의 영향

고형분 수율이 높았던 물과 methanol, ethanol, isopropanol, acetone을 선정하여 30℃에서 4시간까지 추출하면서 추출시간의 영향을 조사한 결과는 Table 33과 같다. 고형분 수율은 추출시간이 증가하면서 약간 증가하는 경향이었고, 탁도도 3시간후 약간 증가하였다. 색의 경우 L값은 methanol과 ethanol, acetone, isopropanol의 경우 별 차이가 없었지만 물 추출액은 약간 증가하였다. a값은 -값의 증가가 현저하여 추출액의 색이 점차 연녹색쪽으로 진해짐을 알 수 있었다. 따라서 추출수율과 색을 고려할 때 2시간의 추출이 경제적이라고 판단되었다.

이상의 결과에서 물을 제외한 유기용매에서 고형분 수율에 차이가 있었던 것은 용매의 극성차이가 주로 영향을 준 것으로 사료되며 마늘의 수분함량이 65%이상이고 그외 대부분이 탄수화물인 점을 고려한다면 극성이 높은 알콜류로 추출하는 것이 바람직하다고 판단되었다. 그러나 methanol추출액의 농축후 미량이나마 잔류하게 될 methanol의 독성이 문제되어 ethanol을 마늘뿌리를 이용한 oleoresin제조의 추출용매로 선정하였다.

Table 32. Effects of various solvents on solid yield and turbidity after extration of garlic root portion at 30℃-50℃ for 1hr

	Solid yield(%)			Absorbance(600nm)		
	30℃	40℃	50℃	30℃	40℃	50℃
Water	43.4	49.7	53.8	0.177	0.146	0.135
Methanol	35.9	38.6	39.7	0.020	0.051	0.040
Ethanol	27.1	28.3	29.0	0.019	0.030	0.039
Acetone	11.1	11.2	11.6	0.009	0.054	0.024
Isopropanol	14.2	14.7	15.2	0.008	0.017	0.022
Diethyl ether	2.1	2.2	3.0	0.006	0.007	0.018
n-hexane	0.5	0.6	0.4	0.004	0.011	0.009
Ethylene chloride	0.6	0.7	0.8	0.032	0.007	0.001
Methylene chloride	0.9	1.1	1.1	0.055	0.011	0.006

Table 33. Effects of extraction time on solid yield, turbidity and color of extracts of garlic root portion extracted at 30℃ for 2-4hrs

Extraction time		Solid yield(%)	Absorbance (600nm)	Hunter		
				L	a	b
2hrs	Water	54.1	0.185	83.00	-2.84	22.75
	Methanol	41.1	0.026	96.08	-6.42	21.78
	Ethylanol	28.2	0.021	96.70	-5.78	19.62
	Isopropanol	14.9	0.014	97.19	-4.64	16.66
	Acetone	10.9	0.015	97.00	-4.16	15.12
3hrs	Water	56.1	0.184	83.70	-2.88	23.17
	Methanol	41.3	0.024	96.01	-6.63	22.01
	Ethylanol	28.7	0.017	96.55	-6.03	20.62
	Isopropanol	15.7	0.008	97.47	-4.95	17.38
	Acetone	11.1	0.013	96.93	-4.35	15.96
4hrs	Water	58.5	0.148	85.62	-3.17	23.17
	Methanol	41.6	0.035	95.85	-6.34	20.10
	Ethylanol	29.1	0.027	96.21	-6.58	20.99
	Isopropanol	16.0	0.017	97.37	-5.47	17.87
	Acetone	11.2	0.018	97.34	-5.33	17.50

4. Oleoresin의 저장중의 변화

가. 진공, 질소충전과 염의 첨가영향

Ethanol로 추출한 마늘의 oleoresin은 25℃에서 저장시 3가지의 다른 조건(산소, 질소, 진공)에서 저장하면서 oleoresin의 특성변화는 Table 34와 같다. pH의 변화는 산소가 존재하였을 때는 저장 2주후 pH 5.86으로 다른 조건보다 약간 더 감소하였고 총산도도 높게 나타났다. 이러한 경향을 탁도에서도 산소존재하의 저장이 가장 높았으며 a값도 가장 높았다. 그러나 thiosulfate의 감소는 질소 충전이 가장 많았으며 진공하에서는 그 감소폭이 가장 적었다.

Table 34. Changes in some characteristics of garlic oleoresin during storage in N2, O2 and vaccum conditions at 25℃

Storage time (weeks)	Storage conditions	pH	TA (%)	Absorbance		Hunter color		
				thiosulfinate	turbidity	L	a	b
0		5.96	0.52	2.29	0.22	56.38	- 5.82	19.54
1	N2	5.88	0.54	1.53	1.04	34.00	2.55	19.33
	Vaccum	5.89	0.53	1.47	1.32	30.86	4.99	17.47
	O2	5.82	0.62	1.39	1.60	29.74	6.43	15.94
2	N2	5.90	0.56	1.32	1.53	29.60	7.32	18.24
	Vaccum	5.88	0.56	1.31	1.41	30.95	10.97	15.76
	O2	5.86	0.65	1.25	1.58	29.04	14.34	15.86

저장성 향상을 위해 진공, 질소충전 그리고 0.1% $Na_2S_2O_5$와 Na_3PO_4를 1% 첨가하고 25℃에서 14일간 저장하면서 이의 영향을 살펴본 결과(Table 35) pH의 변화는 공기중이나 질소충전, 진공조건하에서 14일간 저장후 큰 변화가 없었으나 Na_3PO_4 첨가구는 초기의 pH 5.44에서 pH 6부근까지 증가하였다. pH와 관계있는 총산도는 전반적으로 14일이후 감소함을 보여주었

Table 35. Effects of N_2, vacuum, $Na_2S_2O_5$ and Na_3PO_4 on some characteristics of garlic oleoresin during storage at 25℃

	day	pH	TA(%)	Absorbance		Hunter		
				turbidity	thiosulfinate	L	a	b
Control	0	5.44	0.58	1.09	2.68	46.28	0.80	27.75
(Air)	14	5.46	0.55	0.40	0.25	60.72	21.17	40.92
N2	0	5.44	0.58	1.09	2.68	46.28	0.80	27.75
	14	5.45	0.54	0.43	0.26	64.67	16.51	42.21
Vacuum	0	5.44	0.58	1.09	2.68	46.28	0.80	27.75
	14	5.44	0.56	0.50	0.28	62.80	15.57	41.25
$Na_2S_2O_5$	0		0.58	1.09	2.68	46.28	0.80	27.75
	14	5.41	0.49	0.33	0.22	66.63	15.14	43.88
Na_3PO_4	0		0.58	1.09	2.68	46.28	0.80	27.75
	14	5.92	0.40	0.39	0.19	49.99	25.42	34.15

고 특히 인산염 첨가의 경우 현저히 감소하였다. 추출액의 색변화는 L값이 대부분 현저히 증가하였지만 인산염 첨가구는 큰 변화가 없었으며, a값은 모든 처리구에서 큰 폭으로 상승하여 갈변현상이 일어났음을 알 수 있었

다. 그러나 진공이나 질소충전, $Na_2S_2O_5$첨가구는 대조구보다 낮은 a값을 나타내어 갈변억제 효과가 뚜렸하였으나 Na_3PO_4첨가구는 오히려 대조구보다 높은 값을 나타내어 인산염의 첨가는 갈변억제에 부적절한 것으로 나타났다. 이는 Na_3PO_4첨가에 의한 pH의 상승으로 pH 6.5에서 최적 활성을 나타내는 PPO의 활성을 증가시켜 높은 a값을 나타낸 것으로 보인다. 그리고 마늘의 유효성분의 전구체 alliine의 분해산물인 thiosulfinate의 함량은 저장중 급격하게 감소하여 저장 14일 이후 모든 처리구에서 10배정도 함량이 감소하였다. 그러나 대조구의 감소폭과 비교할 때 $Na_2S_2O_5$, Na_3PO_4는 약간 더 빠른 감소하여 이에 반해 진공과 질소충전구는 감소폭이 대조구보다 적었다.

나. 저장중 ascorbic acid와 cysteine의 첨가영향

저장조건 검토에서 oleoresin의 색변화가 비교적 적고 pH나 총산도의 영향이 적었던 질소충전 조건에서 갈변억제에 효과가 있는 ascorbic acid(0.1%)와 cysteine(1.0%)을 첨가하여 4℃에서 28일간 저장하면서 특성의 변화를 측정하였다(Table 36). L값은 전반적으로 모든 처리구에서 저장 28일후 감소하였으며 ascorbic acid와 cysteine첨가구가 대조구보다 더 높은 L값을 나타내었다. 갈변과 관련이 있는 a값은 대조구가 28일후 5.72 그리고 ascorbic acid와 cysteine첨가구가 각각 4.12, 5.44를 나타내어 이들 물질의 첨가가 밝기의 증가와 갈변억제에 효과가 있는 것으로 나타났다. 이는 질소충전으로 산소의 양을 줄이고 이에 갈변억제물질을 첨가함으로써 갈변속도를 줄일 수 있었던 것으로 보인다. 한편 b값은 a값이 증가함에 따라 감소하였으며 L값과 같은 경향을 보였다.

저장 중 유리당의 변화를 조사한 결과 전반적으로 모든 처리구에서

Table 36. Changes in free sugar, organic acids color and turbidity of oleoresin as affected by addition of ascorbic acid and cysteine during storage at 4℃ under nitrogen stuffing

		Control		Ascorbic acid		Cysteine	
		0 day	28 day	0 day	28 day	0 day	28 day
Sugars (ppm)	Sucrose	325.68	328.23	325.68	340.09	325.68	342.91
	Glucose	29.59	47.01	29.59	47.23	29.59	49.96
	Fructose	124.49	119.19	124.49	130.06	124.49	124.73
Acids (ppm)	Citric acid	78.13	63.58	78.13	45.88	78.13	53.54
	Malic acid	131.18	82.64	131.18	87.49	131.18	85.66
	Lactic acid	103.40	75.43	103.40	56.21	103.40	67.36
	Acetic acid	9.86	10.21	9.86	9.64	9.86	9.66
	Succinic acid	25.94	21.26	25.94	16.76	25.94	17.92
Color	L	63.28	43.77	63.28	53.43	63.28	50.36
	a	- 0.65	5.72	- 0.65	4.12	- 0.65	5.44
	b	37.91	27.73	37.91	33.27	37.91	31.62
Turbidity		0.6213	0.9864	0.6213	0.7190	0.6213	0.8066

sucrose함량이 가장 높았고, 그 다음으로 fructose, glucose의 순서였다. Sucrose, glucose, fructose의 함량은 모든 처리구에서 저장 28일후 대체적으로 조금 증가한 것으로 나타났고 sucrose의 함량은 대조구보다는 ascorbic acid와 cysteine 첨가구에서 조금 더 많은 함량을 보였다. Fructose의 함량은 저장 28일후 대조구는 처음보다 약간 감소하였고, glucose는 가장 함량이 적었지만 저장 28일후 다른 유리당과는 달리 그 함량이 약 2배가까이 증가하였다. 마늘뿌리의 oleoresin의 경우 유리당중 sucrose가 전체의 65%이상을 차지해 유리당의 주성분임을 알 수 있었다.

또한 대조구, ascorbic acid, cysteine첨가구의 유기산 분석결과

malic acid>lactic acid>citric acid>succinic acid>acetic acid의 순서로 함량이 높았으며 malic acid와 김치발효에서 중요한 lactic acid의 함량이 전체 60%이상을 차지해 주된 유기산임을 알 수 있었다. 저장 28일 경과후 citric acid는 약20%, malic acid는 약40% 그리고 lactic acid는 약 25%정도 함량이 감소하였다. 그리고 malic acid를 제외한 유기산은 모든 처리구에서 대조구보다 낮은 함량을 보였다. Succinic acid는 대조구보다 ascorbic acid와 cysteine 첨가구에서 낮은 함량을 보였다. Cysteine 첨가구에서는 malic acid와 citric acid 함량이 가장 높게 나타났고, lactic acid는 ascorbic acid 첨가구에서 많이 나타났다.

저장기간 중 관능적 특성의 변화는 Table 37과 같다. 대조구에 비해 ascorbic acid와 cysteine 첨가가 관능적 특성의 변화가 적어 이들 물질과 아울러 질소충전이 비교적 효과가 있는 것으로 나타났다. 신선한 냄새의 경우 저장기간이 경과함에 따라 약간씩 감소하였지만 ascorbic acid와 cysteine 첨가구가 대조구에 비해 높은 수치를 나타내어 저장 안정성을 나타내었고 대조구와 ascorbic acid 첨가구는 5%에서 유의적인 차이를 나타내어 신선한 냄새는 저장기간에 경과함에 따라 감소함을 알 수 있었다. 마늘의 독특한 매운 냄새와 맛은 질소충전한 ascorbic acid와 cysteine 첨가구가 유의적인 차이를 보이지 않았고, 대조구에 비해 높은 값을 나타내어 매운 냄새와 맛을 비교적 오래 유지시킴을 알 수 있었다. 그 외 신냄새와 맛은 저장기간에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았고, 생성된 유리당과 유기산이 관능적 특성에 큰 영향을 미치지 못한 것으로 보인다. 이를 종합해 볼 때 마늘 뿌리부위의 oleoresin은 ascorbic acid와 cysteine 첨가와 낮은 온도에서의 저장, 질소충전을 통해 그 품질을 비교적 오래 유지시킬 수 있는 것으로 나타났다.

Table 37. Sensory properties of garlic oleoresin as affected by addition of ascorbic acid and cysteine during storage at 4℃ under nitrogen stuffing

Treatment	Sensory attribute		Storage time(days) 0	7	14	21	28	F-value
Control	Odor	Fresh	5.3a	4.6b	4.6b	4.6b	4.1b	4.79*
		Hot	5.9a	5.0b	5.0b	4.4b	4.7b	6.00*
		Acidic	3.9	3.9	4.1	3.9	3.7	0.47
	Taste	Hot	6.3a	5.7b	5.4b	5.4b	4.6c	10.07**
		Acidic	1.9ab	2.1a	1.7ab	1.3b	1.4b	2.38
Ascorbic acid	Odor	Fresh	7.4a	7.3a	7.3a	6.6b	6.5b	5.62*
		Hot	6.3a	6.3a	6.3a	5.7ab	5.6b	2.82
		Acidic	4.4ab	3.9b	4.6a	4.1ab	4.0ab	2.02
	Taste	Hot	8.4	8.3	8.3	8.0	7.9	1.23
		Acidic	2.4	2.4	2.3	2.6	2.7	0.70
Cysteine	Odor	Fresh	7.9a	7.6ab	7.5abc	7.0bc	6.9c	3.89
		Hot	6.7	6.4	6.4	6.4	6.4	0.41
		Acidic	3.1a	2.7ab	2.7ab	3.0a	2.3b	2.48
	Taste	Hot	8.7a	8.3a	8.3a	8.3a	7.6b	4.79*
		Acidic	2.6a	2.0ab	1.9b	1.9b	2.1ab	2.22

a-c Means in a column with same letters are not significantly different at 1.0%(**) or 5.0%(*) level

5. Pilot 규모에서의 시제품 제조

가. 마늘 paste의 제조

1) 마늘 뿌리부위의 재활용은 뿌리부위의 절단기술 개발이 지연되고 있어(기계제작 등) 식용으로 적합하지않은 2등급의 박피 마늘로 paste제조를

시도 하였다. 이의 제조를 위하여는 그간의 연구 결과를 활용 하였다.

2) 마늘 paste의 제조는 Fig. 10과 같은 공정으로 박피한 마늘을 공업용 Super mill(mascoroid mill)을 사용하여 300mesh 이하로 마쇄한 후 수율을 높이기 위해 Viscozym L(Novo co.)을 전체 중량의 0.2%되게 첨가하고 pH를 5로 조정하여 50℃에서 60분간 분해하였다. Paste의 물리적 특성을 부여하기 위하여 xanthan gum 0.5%첨가하고 변색억제를 위하여 Na_3PO_4, $K_2S_2O_5$와 Cystein을 각각 0.05%, 0.3%, 0.02%되게 첨가하여 리본형 혼합기로 혼합하였다.

3) 그 결과 paste의 전체 수율은 95%이었지만 대량 생산시에는 손실율이 거의 없을 것으로 기대되었다.

나. 제조업체 의견

1) 마늘 Paste의 제조공정은 비교적 단순하므로 제조 공정상의 큰 문제점은 없었다.

2) 마늘의 마쇄공정시 마쇄기에서 발생되는 열에 의해서 어느 정도의 갈변현상이 일어났으나 제품품질에 큰 영향은 미치지 않을 것으로 사료된다.

3) 제품의 물리적 특성을 위해 첨가되는 xanthan gum보다 물에 잘용해되고 사용량이 적은(0.5%에서 0.2%로 조정가능) 수아검(xanthan gum + guar gum)을 사용하는 것이 더 나을 것이라고 사료된다.

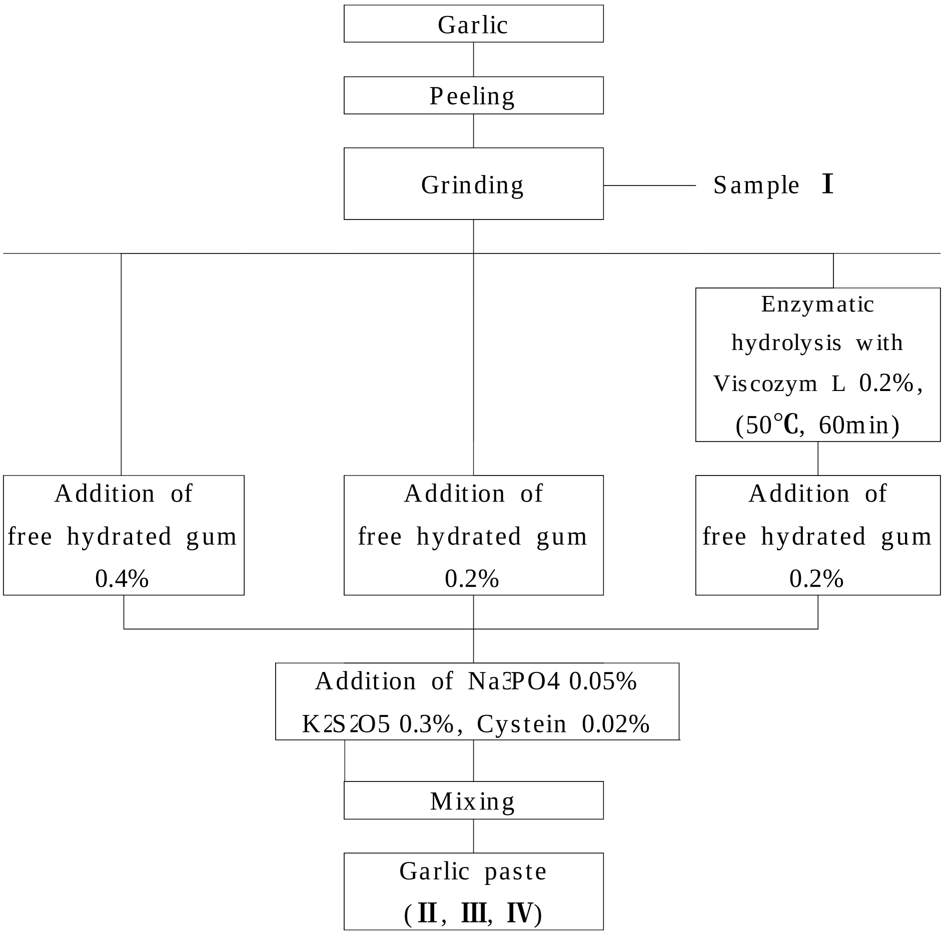


Fig. 10. Schematic diagram for pilot plant scale preparation of garlic paste.

다. 일반성분 및 특성

마늘 paste 제조 과정 중 마쇄마늘(Ⅰ)과 최종제품 3가지(Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ)의 일반성분, 환원당, 점도 및 색을 측정하여 비교한 결과는 41과 같다. 수분함량은 75.3-76.2% 범위로 거의 비슷하였지만 단백질은 다당류 분해 효소로 분해시켜 제조한 시료(Ⅳ)가 3.06%로 다른 paste 제품들(Ⅱ, Ⅲ) 보다 높았으며 환원당

함량 역시 비교적 높았다. 제조과정 중 free hydrated gum을 0.4%첨가한 것은 탄수화물이 높고(19.5%) 환원당이 낮게 나타났지만 시료 II와 III간의 차이는 거의 없었다. 무기물의 함량은 제품들이 모두 1.2% 이상인 반면 마쇄 마늘은 1.05%로 낮아 제조과정중 무기물이 일부 들어갔음을 짐작 할 수 있었다. 점도는 시료 III가 특히 높고 시료 IV 낮음을 보여준 것은 첨가한 free hydrated gum의 양과 탄수화물의 분해가 영향을 준 결과라고 생각된다. 시료들간의 색은 시료 IV가 L, a, b값 모두 효소에 의한 가수분해에 의해 색의 차이를 준 것이라 여겨지나 육안으로는 뚜렷한 색의 차이를 보여주지 않았다.

Table 41. Proximate composition and some properties of samples obtained from pilot plant scale preparation of garlic paste

	Samples			
	I	II	III	IV
Moisture(%)	76.2	75.3	75.6	76.1
Protein(%)	2.63	2.63	2.39	3.06
Lipids(%)	1.23	1.04	1.25	1.26
Carbohydrate(%)	18.89	19.74	19.54	18.26
Reducingsugar(%)	4.67	3.92	4.12	5.03
Ash(%)	1.05	1.29	1.22	1.32
Viscosity(cps)	2.00×102	2.32×103	4.34×103	1.43×102
color L	41.36	43.29	40.10	40.06
a	+2.31	+1.01	+1.65	+0.81
b	+14.00	+13.05	+0.81	10.95

I. ground garlic
II. garlic paste added with 0.2% free hydrated gum
III. garlic paste added with 0.4% free hydrated gum
IV. sample II hydrolyzed by 0.2% Viscozym L

라. 고정자본 투자액과 각 제품의 제조원가 산출

고추씨를 활용한 고추씨-홍합의 향신조미료 제조와 2등품 마늘원료를 사용한 마늘 paste의 제조를 위한 고정자본 투자액과 각 제품의 제조원가 산출 비용은 Table 37, 38과 같다.

※ 고정 자본 투자액 분석(참여업체

· 슈퍼밀(1.5 3ton/H) : 3,000만원
· 농축기(1.5ton) : 5,500만원
· 필터프레스(2ton/batch) : 2,000만원

Table 38. 고추씨- 홍합 조미료 마늘 paste 제조를 위한 고정 투자액의 산출비용

(단위 : 천원)

항목	비 율	금 액	누진합계
기계구입비		105,000	
설치비	43% 1)	45,150	
배 관	14% 1)	14,700	
전 기	15% 1)	15,750	
건 물	35% 1)	36,750	
대지조성	13% 1)	13,650	
서비스 시설	20% 1)	21,000	252,000
엔지니어링 시설	30% 1)	31,500	283,500(직접비)
계약자 보수	7% 2)	19,845	
예비비	15% 2)	42,525	
총 고정자본 투자			345,870

1) : 기계구입비에 대한 %, 2) : 직접비에 대한 %

Table 39. 고추씨-홍합조미료와 마늘 paste 제조를 위한 고정투자액의 산출 비용

(단위 :천원)

항목	고추씨-홍합 조미료	마늘 paste
원재료 원가	4,936.22	4,391.75
포장비(kg단위)	32.80	80.80
노무비	117.67	72.09
전력비(시간당)	38.96	6.54
연료비(시간당)	294.21	6.30
용수비	5.74	3.49
폐수비	4.80	0.37
인차로	331.00	
제조경비	470.00	470.00
소계	6,231.39	5,031.34
일반관리비 및 이익	810.08	654.07
총계	7,041.47	5,685.41

Table 40. 홍합-고추씨 조미료 및 마늘 paste의 제조원가 (단위 : 천원)

	고추씨-홍합조미료	마늘 paste
수율 (%)	90.60	84.20
시간당 생산량(kg/hr)	500.00	459.00

.

제 4 장　참고 문헌

1. 농산부 : 농림통계연보(1990)
2. 정병선, 강근옥 : 생고추와 고추가공시의 capsaicin 함량 변화. 한국영양식량학회지, 14, 409(1985)
3. Thresh : *Pharm. J. Trans.*, 3, 473(1876)
4. Nelsn, E. K. : *J. Ind. Eng. Chem.*, 2, 419(1910)
5. Nelsn, E. K. : *J. Chem. Soci.*, 41, 1115(1919)
6. Huffman, V. L., Schalde, E. R., Villalon, B. and Burns, E. E. : Volatile components and pungency in fresh and processed Jalapens peppers. *J. Food Sci.*, 43, 1809(1978)
7. Rahway, N, J. , U.S.A : The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 11th ed, Merck & CO., Ins. 1767, 266(1989)
8. 김지순, 이규희, 배정설, 오만진 : 고추 oleoresin의 품질안정성. 한국영양식량학회지, 16(3), 85(1987)
9. Bennet, D. J. and Kirby, G. W. : Constitution biosynthesis of capsaisin. *J. Chem. Soc.*, 442(1968)
10. Crombie, L., Dandegaonker, S. H. and Simpson, K.B. : Amide of vegetable origin. Part Ⅳ. Synthesis of capsaicin. *J. Chem. Soc.*, 1025(1955)
11. Lee, K., Suzuki, T., Kobash, M., Hasegawa, K. and Iwai, K. : Quantitative microanalysis of capsaicin, dihydrocapsaicin using mass fragmentography. *J. Chromatogr.*, 123, 119(1976)
12. 이현덕, 김미희, 이철호 : 한국산 고추의 맛성분함량과 관능적 선호도와의 관계. 한국식품과학회지, 24, 3, 266(1992)

13. 배국웅 : 한국산 고추의 품질에 관한 연구. 한양대학교 박사학위논문(1984)
14. 이성우 : Cas liquid chromatography에 의한 고추의 조성에 관한 연구. 한국식품과학회지, 11, 278(1979)
15. 한미영 : 고추씨를 이용한 천연조미료의 개발연구. 세종대학교 식품공학과 석사학위논문 (1996)
16. Cruess, W. V. : Experiments on garlic and onion extracts. *Fruit products J.*, 23, 305-313 (1944)
17. 전희정, 이성우 : 마늘 성분의 산화방지작용에 관한 연구(제 1 보). 대한가정학회지, 24(1), 43(1986)
18. 전희정, 이성우 : 마늘 성분의 산화방지작용에 관한 연구(제 2 보). 대한가정학회지, 24(1), 54(1986)
19. 전희정, 이성우 : 마늘 성분의 산화방지작용에 관한 연구(제 3 보). 대한가정학회지, 24(1), 87(1986)
20. Kim, D. Y., Rhee, C. O. and Kim, Y. B. : Characteristics of polyphenol oxidase from garlic(*Allium sativum* L.) (in Korean). *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 24, 167-173 (1981)
21. Singh. L. J., Pruthi. J. S., Sankaran. A. N., Indiramma, K. and Girdhari L. : Effect of type of packaging and storage temperature on flavour and colour of garlic powder. *Food Science*. 8, 457-460 (1959)
22. Kim, H. K., Jo, K. S., Shin, D. H. and Kim, I. H. : Effects of phosphate complex treatment on the quality of dried garlic flakes (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19, 75-80 (1987)
23. Lukes, T. M. : Factors governing in greening of garlic puree. *J. Food Sci*, 51, 1577-1578 (1986)

24. Bae, R. N., Lee, S. K. : Factors affecting browning and its control ethods in chopped garlic. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.*, 31, 213-218 (1990)

25. Shin, D. B. : Effect of extraction and dehydration methods on flavor compounds of garlic powder (in Korean). Ph. D. Thesis, Chung-Ang Univ., Korea (1995)

26. Bae, T. J., Kang, H. I., Kim, H. J., Choi, O. S. and Ha, B. S.: Studies on oleoresin product from spices 3. Rapid processing of garlic oleoresin (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22, 73-77 (1993)

27. Jo K. S., Kim, H. K., Kwon, D. J., Park, M. H. and Shin, H. S. : Preparation and keeping quality of garlic oleoresin (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 22, 846-851 (1990)

28. **조길석, 김현구, 박무현, 남은숙, 강국희 : 고추의** Oleoresin**의 추출에 영향을 미치는 몇가지 인자. 한국식품과학회지**, 24(2), 137(1992)

29. A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C., p. 912(1990)

30. Hartwig, P. and McDaniel M. R. : Flavor characteristics of lactic, malic, citric, and acetic acids at various pH levels. *J. Food Sci.*, 60, 384-388 (1995)

31. **김동수 : 천연수산식품 추출물의 가공과 이용. 식품공업**, 64, 47(1982)

32. **김동훈 : 식품화학. 탐구당**, p.306(1978)

33. Sofos, J.N. : Use of phosphates in low-sodium meat products, *Food. Technol.*, 40(9), 52(1986)

34. **이성기, 김영명, 민병용 : 남빙양산 크릴 단백질의 추출조건. 한국식품과학회지**, 17(2), 65(1985)

35. **김동수, 김영명, 김일환, 이병준 : 혼합인산염의 첨가가 어류연육의 기능적 성질에 미치는 영향. 한국식품과학회지**, 17(4), 257(1985)

36. Momtecalvo, J.Jr., Constantinides, S.M. and Yang, C.S.T : Optimization of processing parameters of the preparation of flounder frame protein product. J. Food Sci, 49, 172(1984)

37. Browing of foods : Control by sulfites, antioxidants and other means, *Food Technol.*, 40, 52(1986)

38. Dziezak, J. D. : Preservatives : Antioxidants. *Food Technol.*, 40, 94-102(1986)

39. Kim, D. M. and Kim, K. H. : On the development of flesh greening of the stored garlic. (in Korean) *Korean J. Food Sci. Technol.*, 22, 50-55(1990)

40. Sayavedra-Soto, L. A. and Montgomery, M. W. : Inhibition of polyphenol -oxidase by sulfite. *J. Food Sci*. 51, 1531-1536(1986)

41. Cho, J. S. : Control of color changes and improvement of extraction yield of groung garlic. M. S. Thesis, Sejong Univ., Korea(1996)

제 2 세부과제. 고추씨와 마늘뿌리 부위의 기능성 물질 확인 및 분리

제 1 장 서 론

마늘은 특유의 향과 맛 성분이 있고 여러 가지 생리적 활성을 지니고 있어 가정에서 밥 이외의 거의 모든 반찬류에 사용되고 최근에는 천연 조미료, 어육류 가공품, 통조림, 라면스프 등 가공식품의 향신료 및 기능성 식품으로 이용되어 1997년에는 1인당 연간소비량은 6.6kg으로 조사되었다(1,2). 마늘의 독특한 향기성분은 alliin의 분해산물들이 주류를 이룬다고 알려져 있다. alliin은 그 자체는 향기가 거의 없으나 조직이 파괴될 때 자체효소인 alliinase에 의하여 분해되어 thiosulfinate인 주로 allicin과 pyruvic acid가 되고 이외에도 여러 가지의 thiosulfinate가 생성되며 thiosulfinate는 다시diallyl-disulfide외 많은 sulfide와 mercaptan류들이 생성되어 이들이 주된 마늘의 맛과 향기성분이라고 알려졌다(3 5). 이러한 마늘성분은 그람음성 및 양성균 모두에 대해 항균성을 가지며(6,7)이러한 항균작용은 allicin 등의 thiosulfinate기와 미생물단백질의 -SH기가 강하게 반응하여 미생물의 대사를 저해하는데 기인하는 것이라고 하였다.(8,9) 또한 마늘은 항산화 효과가 있으며 과산화지질의 생성을 억제할 수 있는 마늘의 유효성분은 allicin 등의thiosulfinate, garlic oil, scordinin등이 작용하며ethanol 마늘 추출물은 peroxidase의 활성을 저해하고 dimutase의 활성증가 효과가 컸다고 한다.(10 12) 마늘을 식품에 첨가시는 직접 생마늘을 다져서 첨가하는 것이 대부분이지만 마늘의 저장성과 이용편리성을 고려하여 마늘가루나 과립형으로 열풍건조, 동결건조 등으로

제조하고 마늘정유와 resin의 혼합물인 oleoresin, allicin 등의 함량을 줄이거나 alliinase를 불활성화한 무취마늘 등의 제품 등 소득수준의 향상과 더불어 마늘제품이 고급화, 다양화되고 있다(13 15). 최근 마늘의 기계적 박피 기술의 발달과 함께 비식용 부분인 뿌리부위를 제거한 유통판매가 일반화되면서 마늘 과육 이 상당부분 붙어있는 뿌리부위의 활용문제가 제기될 뿐만 아니라 토마토 케찹이나 salad dressing등에는 마늘의 과육이 있으면 품질이 저하될 수 있어 마늘 추출물의 수요가 증가되고 있다.

그러므로 본 연구에서는 폐기되는 마늘 뿌리 부위의 재활용측면과 액상의 마늘 추출물을 만들기 위하여 마늘로부터 유기용매 및 산, 염 등을 첨가하여 마늘의 최적 추출조건을 선정하고 이러한 추출물의 기능성을 조사하며 마늘 추출물의 저장조건을 변화시켰을 때 기능성의 변화를 조사하여 저장성 향상을 검토하였다.

제 2 장 실험재료 및 방법

제 1 절 실험재료

마늘은 경북 의성 지역에서 수확된 마늘을 가락동 농수산물 시장에서 구입하여 사용하였다. Cysteine, 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), HEPES(N-[2- Hydroxy ethyl]pipera-zine-N'-[2-ethanesulfonic acid]) 와 2-thiobarbituric acid(4,6-Di hydroxy-2-thio pyrimidine)는 Sigma Chem. Co.(St. Louis, MO, U.S.A.) 로부터 구입하였으며 기타 시약은 일급 및 특급 시약을 사용하였다.

제 2 절 실험방법

1. 추출방법

구입한 마늘은 껍질을 벗겨 4℃로 냉장된 homogenizer(Nissei, MA -10, Ace homogenizer, Japan)으로 주어진 용매를 가하여 14.000rpm에서 5분간 마쇄시켜 상온에서 30분 동안 교반하여 균질화 시킨 다음 4℃에서 30분 동안 5,000rpm(Beckman, Model J2-21 centrifuge)으로 원심분리하고 상징액을 여과시켜 제조한 마늘 추출물을 -64℃의 냉동고에 저장하면서 사용하였다.

가. 유기용매와 산에 의한 추출

마늘의 기능성 물질의 분리를 위하여 극성이 다른 다섯 가지 용매, 즉, petroleum ether, benzene, chloroform, ethyl acetate , methanol을 용매로 추출하고 산으로써는 유기산인 acetic, citric, tartaric acid와 인산을 용매로 마늘 중량의 5배를 첨가하고 마늘 추출물을 제조하여 고형분 수율 및 기능성을 조사하였다.

나. Methanol과 ethanol의 농도에 의한 추출

Methanol과 ethanol의 농도 비율을 달리하여 마늘을 추출하고 마늘의 고형분 수율 및 기능성을 조사하였다

다. 50% Ethanol 의 pH조절및 citric acid, NaCl등을 첨가한 추출

Methanol 50%와 ethanol 50%에 1N, 0.1N HCl과 NaOH를 첨가하여 pH3 8까지 조절하여 추출하고, citric acid를 1 5%, NaCl를 1 5%, NaH_2PO_4를 0.5 2.0%, Na_2HPO_4를 0.5 2.0%의 비율로 첨가하여 조절한 용매를 마늘 중량의 5배를 사용하여 추출하고 고형분 추출 수율 및 마늘의 기능성을 조사하였다.

2. 가열처리 추출

마늘 10g을 polyetylene film과 알미늄 호일로 이중 포장하여 silicon oil을 넣은 가열기에 40 120℃로 조절하고 10 30분 동안 가열한 다음

ethanol 50%를 마늘 중량의 5배를 넣고 4℃로 냉장된 homogenizer으로 주어진 용매를 가하여 5분간 14.000rpm에서 마쇄하고 상온에서 30분 동안 교반하여 균질화 시킨 다음 4℃에서 30분 동안 5,000rpm으로 원심분리하고 상징액을 여과시켜 마늘추출물을 제조하여 시료로 사용하였다.

3. 저장온도별 기능성의 변화

마늘추출물의 기능성물질의 저장 중 변화를 조사하기 위하여 온도별(40℃ 120℃), 시간별(10 30min)로 가열한 후, ethanol 50%을 가열중량의 마늘의 5배를 가하여 추출한 마늘추출물을 항온기(4。, 25°, 50℃)에 30일 동안 저장하면서 5일 간격으로 마늘의 저장 중 기능성 변화를 조사하였다.

4. 마늘의 산막효모의 가스발생 및 산막형성에 미치는 영향

가. 효모

본 실험에 사용된 산막 효모는 신흥대학 환경위생과에 보관 중인 가스가 발생된 간장에서 순수 분리된 효모로써 SS-1, SS-2, SP-1, SP-2, SP-3로 명명된 산막 효모이다.(16)

나. 미생물배지

효모 활성화 및 효모 배양용 배지로는 yeast extract 0.3%, malt extract 0.3%, peptone 0.5%, glucose 1%, salt 18%(YMPGSB)를 간장의

pH(5.0)와 동일하게 조정하였다.

다. YMPGSB에서의 마늘과 마늘 추출물 첨가 시 가스 발생 실험

분리된 균을 PDA 평판배지(potato dextrose agar, NaCl 5%)에 도말하여 30℃에서 96시간 배양 후 가스발생 실험 균주로 사용하였다. Screw cap tube에 Durham관을 넣고 YMPGSB(NaCl 18%)를 20㎖씩 분주하여 121℃에서 15분간 멸균 후 colony 1개를 접종하여 30℃에서 배양하면서 가스발생 여부를 관찰하여, 가스 발생이 확인된 균주를 PDA(NaCl 5%)에 도말하여 30℃에서 96시간 배양 후 colony 1개를 YMPGSB(NaCl 18%)에 접종하여 30℃에서 48시간 활성화시킨 후 종균으로 사용하였다. Screw cap tube에 Durham관을 넣고 121℃에서 15분간 멸균 후 마늘추출액(0.5 2%)과 동결건조기 (Christ Alpha 1-4, B, Braun Biotech. International)에서 냉동 건조시킨 동결마늘(0.5 1.5%)을 넣고 활성화시킨 효모를 1% 접종 후 30일 동안 가스발생 유무를 관찰하였다.

라. YMPGSB에서의 마늘과 마늘 추출액 첨가 시 산막형성 확인실험

YMPGSB(NaCl 18%)를 screw cap tube에 20㎖씩 넣고 121℃에서 15분간 멸균하고, 멸균된 screw cap tube에 동결마늘(0.5 1.5%)과 마늘추출액(0.5 2%)을 넣고 활성화시킨 효모를 1% 접종 후 30일 동안 산막 형성 유무를 관찰하였다

5. 마늘이 돈육의 지질에 미치는 역할

마늘이 돈육의 지질에 미치는 역할을 조사하기 위하여 100㎏내외의 도살후 1-2시간 이내 암퇘지를 가락동 시장에서 구입하고 지방과 결체 조직을 제거하여 2회 분쇄(7㎜ plate) 한 후, 등지방을 동일한 방법으로 분쇄하여 원료육 중량의 10% 수준으로 첨가하였다. 분쇄돈육 중량의 5%, 10%, 20% 및 마늘 10%에 해당하는 ethanol 50% 추출물을 냉장온도에서 분쇄돈육에 첨가하였으며, 대조구 및 각 처리구를 혐기적인 조건이 유지되도록 polyethylene film으로 1차 포장한 후 2차로 알미늄 호일로 진공 포장하여 임의로 각각 비가열 및 가열 (100℃에서 autoclave로 10분 가열)의 두 개의 군으로 나누어 0, 2, 4, 6, 8 및 10일 동안 냉장(4±1℃) 저장하면서 실험의 공시재료로 사용하여 항산화성을 조사하였다.

6. 물리 화학적 측정

가. 마늘의 추출 수율

가용성 고형분의 함량은 추출물(10㎖)을 105℃에서 건조 후, 증발 잔사의 양으로 하였다.

나. 전자공여 작용

전자공여작용의 측정은 최등(17)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, DPPH 8㎎을 ethanol 300㎖에 용해한 후 여과하였다. 각 추출시료 0.5㎖에 준비된 DPPH용액 5㎖를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하여 즉시

7.000rpm 으로 3분동안 원심 분리시켜 정확히 DPPH에 시료를 첨가 10분 후 상징액을 분광광도계 (UV-1201, Shimadzu. JAPAN) 로 525nm 에서 흡광도를 측정 하였다. 전자공여 효과는 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 사용하여 백분율로 나타내었다.

다. 아질산염 소거작용

마늘 추출물의 아질산염 소거작용은 Kato등(18)과 김등(19)의 방법으로 측정하였다. 즉, 1mM $NaNO_2$용액 1㎖에 추출물 1㎖를 첨가하고 여기에 0.1N HCl(pH 1.2), 0.1M 구연산 완충 용액(pH 3.0, 4.2, 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2, 6.0으로 조정한 후, 반응용액의 부피를 10㎖로 하였다. 그리고 37℃에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응액을 1㎖씩 취하여 여기에 2% 초산 용액 5㎖를 첨가한 다음, Griss시약 0.4㎖를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후, 분광광도계를 사용하여 520㎜에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염 백분율(%)로 나타내었다. 공시험은 Griss시약 대신 증류수를 0.4㎖ 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하였다.

라. 총 Thiosulfinates 함량

총 Thiosulfinate 함량의 측정은 Han등의 방법(20)을 변형하여 측정하였다. 즉, 50mM Hepes pH7.5 용액에 녹여 조제한 2mM cysteine 용액 0.5㎖에 추출물 0.1㎖를 첨가하고, 여기에 50mM Hepes용액 4.4㎖를 넣어 반응용액의 부피를 5㎖로 하였다. 이 반응 용액을 27℃에서 10분간 반응시킨 후, 반응액을 1㎖취하여 50mM Hepes buffer(pH 7.5)로 조제한 0.4mM DTNB

〔5,5'-dithio -bis(2-nitrobenzoic acid)〕 1㎖를 가하여 잘 혼합한 다음 27℃에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 412nm에서 흡광도를 측정하고 standard curve를 이용하여 계산하였다.

마. 과산화물가(peroxide value)

과산화물가는 AOAC Cd 8-53 방법(21)으로 측정하였다. 즉, 마늘 추출물의 항산화 효과를 조사하기 위하여 들기름 5g에 petroleum ether 10㎖와 celite 545 10g을 혼합한 다음 여기에 각각의 용매에 의한 마늘 추출물과 BHA, tocopherol 0.05%를 첨가한 것을 항온기에서 저장하면서 보존기간(0 8일)에 따른 과산화물가의 변화를 조사하였다.

분쇄돈육의 과산화물가는 분쇄돈육 1g을 250㎖ 삼각 flask에 취하여 용매(acetic acid와 chloroform을 3:2로 혼합) 30㎖를 가하고 흔들어 섞어 지방이 녹을 때까지 교반한 다음 포화 KI용액 0.5㎖을 넣고 교반 후 1분간 정치시킨 후 30㎖의 증류수를 가해 0.01N 또는 0.1N sodium thiosulfinate 용액으로 적정하였다. 이때 지시약으로는 1% 가용성전분 용액을 사용하였다.

바. Thiobarbituric acid value(TBA가)

Witte등(22)의 방법에 의하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 각각 조제한 실험육 10g를 20% trichloroacetic acid을 포함한 2M의 phosphoric acid 용액 25㎖을 가하여 냉장된 homogenizer로 10,000rpm에서 1.5분 동안 균질화한 다음 혼합물 전부를 50㎖ volumetric flask에 옮긴 후 증류수 20㎖를 가하여 희석시킨 후 shaking하여 균질화 시킨다. 이 반응 용액 50㎖를 여

과시켜 여과액 5㎖를 test tube(15×200㎜)에 옮긴 다음 0.005M의 2-thiobarbituric acid용액 5㎖를 첨가한 후 잘 흔들어서, 실온의 어두운 곳에, 15시간 동안 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 530㎚에서 측정하여 10g당 OD로 나타내었다.

제 3 장 연구 결과

제 1 절 기능성물질의 추출

1. 유기용매에 의한 추출율 및 기능성

극성이 다른 다섯 가지 용매로 마늘을 추출한 결과 추출 수율은 Table 1 과 같이 methanol, chloroform, petroleum ether, benzene, ethyl acetate 순으로 고형분의 수율은 극성이 가장 높은 methanol이 8.1%로서 가장 높았고 그 외의 유기용매들은 수율이 1%미만으로 나타났으나 전반적으로 극성이 높아질수록 수율이 높아졌다.

마늘 추출물이 DPPH에 대한 전자공여 효과를 살펴본 결과 (Table 1) 용매에 의한 추출물들의 전자공여능을 살펴보면 methanol >benzene > petroleum ether> chloroform> ethyl acetate 순으로 전자공여 작용이 강한 것으로 나타났고 methanol의 전자공여능은 36.8%로 다른 유기용매 추출물의 전자공여능보다 1.8 2.7배 정도 높은 것으로 나타났다.

마늘 추출물을 pH별로 아질산염 소거작용을 조사한 결과 (Table 1) methanol에 의한 마늘추출물이 각 pH 영역에서 다른 용매 추출물보다 아질산염 소거작용이 뛰어나 pH1.2에서 64%, pH3.0에서 38%의 아질산염 소거작용을 나타내었으나 pH4.2에서 점차 감소하여 pH6.0에서는 아질산염 소거작용이 전혀 나타나지 않아서, 인체의 위장의 pH와 유사한 pH 1.2 및 pH 3.0에서 아질산염 소거작용이 높았으나 pH 4.2와 pH6.0에서는 매우 낮았다. Chloroform, petroleum ether, benzene에 의한 마늘 추출물의 경우 전반적으로 모든 pH영역에서 낮은 아질산염 소거작용을 보였다.

Table 1. Solid yields, electron donating abilities (EDA) and nitrite-scavenging effects of garlic extracts as affected by various solvents

Solvents (polarityindex)	Yields (%)	EDA (%)	Nitrite scavenging (%)			
			pH1.2	pH3.0	pH4.2	pH6.0
Petroleum ether (0.1)	0.58±0.04	19.63±3.85	1.06±0.09	1.64±0.32	0.10∓0.03	0
Benzene (2.7)	0.50±0.00	20.22±0.10	0.43±0.07	0	0	0
Chloroform (4.1)	0.78±0.04	13.14±2.26	0.54±0.06	0.02±0.02	0	0
Ethyl acetate (4.4)	0.50±0.00	19.22±2.51	23.35±1.85	2.70±0.37	0.56∓0.13	0
Methanol (5.1)	8.13±0.81	36.33±2.50	63.19±1.39	38.81±1.73	22.53∓1.55	0

Fox와 Ackerman(23)은 ascorbic acid, cysteine, nicotinamide adenine dinucleotide와 같은 환원성 물질을 산성 조건하에서 반응시키면 아질산염은 이들 환원성 물질에 의해 nitricoxide로 전환된다고 보고하였다.

아질산염은 낮은 pH에서 protonate form인 nitrous acid(pKa=3.4)로 되어 있고, 2급, 3급 아민과 반응하여 니트로사민이 용이하게 생성되므로 본 실험에서와 같이 강산성 조건하에서 아질산염 소거작용이 효과를 나타내는 것으로 미루어 마늘이 생체내 특히 위내에서 발암성 니트로사민의 생성 억제에 크게 기여할 것으로 생각된다.

유기용매에 의해 추출된 마늘추출물의 항산화 효과를 조사하기 위하여 들기름 5g에 마늘 추출물을 첨가하여 이를 BHA 및 tocopherol을 0.05% 첨가한 것과 함께 30℃ 항온기에서 저장하면서 보존기간에 따른 과산화물가의 변화를 조사한 결과는 Fig.1과 같다. 저장기간이 경과함에 따라 모든 실험구의 과산화물가는 증가하는 경향이었다. 저장기간 동안 BHA 및

tocopherol을 첨가한 실험구가 다른 유기용매에 의한 마늘추출물을 첨가한 것에 비해 유지의 산패 억제 효과는 BHA 및 tocopherol에 비해서는 과산화물가가 높았으나 대조구에 비해서는 모든 마늘추출물의 첨가구들의 과산화물가가 낮은 값을 나타내었다. 저장은 6~7일째 과산화물가가 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 지방의 산화로 인하여 생성된 과산화물이 2차 산화물로 분해되었기 때문으로 생각되었다.(24)

전체적으로 볼 때 과산화물가는 BHA < tocopherol < petroleum ethermethanol< benzene< ethyl acetate< chloroform < control 순으로 높았다.

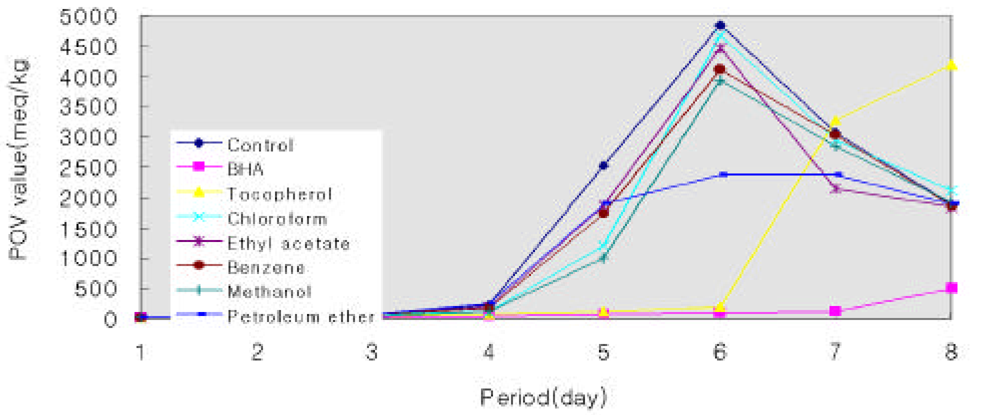


Fig.1. Changes in peroxide value of garlic extracts as affected by various solvents.

2. 산에 의한 추출율 및 기능성

마늘을 유기산인 acetic, citric, tartaric acid와 인산으로 추출한 결과, 고형분 추출 수율은 Table 2와 같이 citric, acetic, tartaric, phosphoric acid 순으로 고형분 수율은 citric acid 추출물이 28.7%으로

다른 산 추출물에 비해 높았고, phosphoric acid 는 23.5%로 큰 차이가 아니지만 제일 낮았다.

이들 여러 가지 산들에 의한 마늘 추출물의 전자공여 효과는(Table 2) 수율과는 달리 citric < tartaric < phosphoric < acetic acid 순으로 나타났으나 acetic acid는 citric acid보다 약 5%정도 높았으며 citric, tartaric, phosphoric acid 간의 차이는 크지 않았다. 마늘 추출물을 pH 별로 아질산염 소거작용을 pH별로 조사한 결과, 인체의 위장내의 pH와 유사한 pH 1.2 및 pH 3.0에서 아질산염 소거작용이 높았으나 pH 4.2와 pH 6.0에서는 매우 낮은 것으로 나타났다. 따라서 아질산염 소거작용은 pH 1.2 및 pH 3.0에서만 조사하였다. pH변화가 동일할 때 각 추출물의 아질산염 소거작용은 거의 비슷한 경향을 나타내었다(Table2). Tartaric acid에 의한 마늘추출물의 아질산염 소거작용이 제일 높아 pH1.2에서 50%, pH3.0에서 14%의 아질산염 소거작용을 나타내었고 다음은 acetic acid 〉 인산 〉 citric acid순이고 citric acid의 아질산염 소거작용이 pH1.2에서는 tartaric acid의 60%, pH3.0%에서는 50%수준이었다.

여러 가지 산에 의한 마늘추출물을 들기름에 첨가하고 과산화물가를 조사한 결과 Fig.2와 같다. BHA와 tocopherol에 비해서는 과산화물가가 높았으나 대조구에 비해서는 모든 산에 의한 마늘추출물의 첨가구들의 과산화물가가 낮은 값을 나타내었다. 저장기간 동안 대조구가 가장 높은 과산화물가를 나타내었으며 대조구가 6∽7일째 과산화물가가 감소하는 경향을 나타내었다. 전체적으로 볼 때 과산화물가는 BHA < tocopherol < tartaric < acetic < phosporic < citric acid < control 순으로 높았다.

여러가지 산으로 추출한 마늘 추출물들의 경우 , 유기용매인 methanol에 의한 마늘 추출물보다는 전자공여능이 약 1/2, 아질산 소거능이 1/2-1/3정도 낮아서 마늘에서의 기능성 성분의 추출은 methanol에 의한 추

출이 보다 효과적임을 알 수 있었다.

3. Methanol 농도에 의한 추출율 및 기능성

기능성 성분의 추출이 가장 뛰어난 methanol 에 의한 마늘 추출물의 수율 및 기능성 성질을 높히기 위하여 methanol의 농도 비율을 달리하여

Table 2. Solid yields, electron donating abilities (EDA) and nitrite-scavenging effects of garlic extracts as affected by various acids

Acids	Yields(%)	EDA(%)	Nitrite scavenging effects(%)	
			pH1.2	pH3.0
Acetic acid	26.90±0.18	19.18 ± 0.51	38.76 ± 8.85	15.83 ± 5.56
Citric acid	28.72±1.06	12.78 ± 1.44	29.87 ± 3.00	7.14 ± 3.15
Phosphoric acid	23.47±1.77	14.52 ± 2.23	34.33 ± 0.95	14.41 ± 3.10
Tartaric acid	25.97±2.39	13.37 ± 0.60	50.08 ± 10.50	14.29 ± 4.18

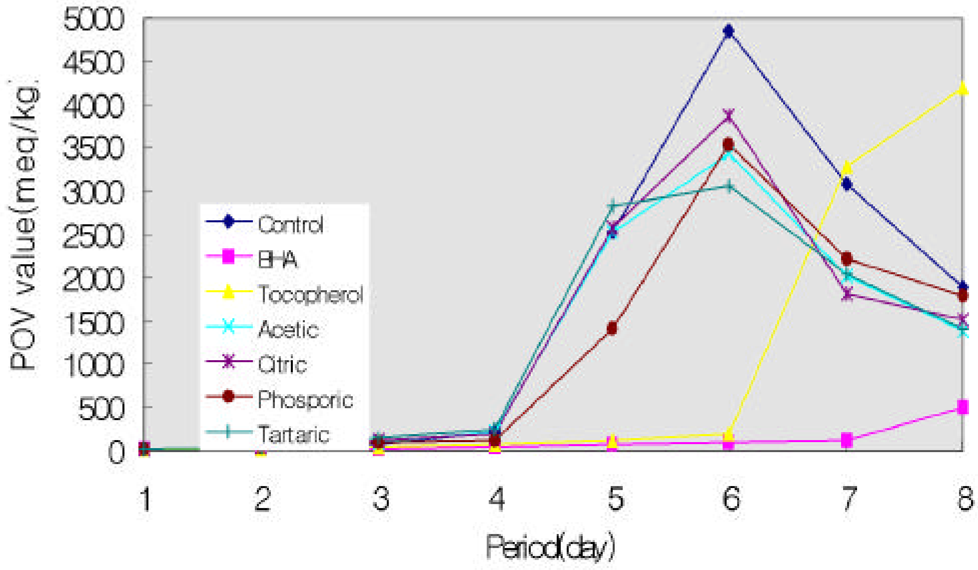


Fig. 2. Changes in peroxide value of garlic extracts as affected by various acids.

추출하고 마늘의 기능성을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 고형분 수율은 methanol이 50%일 때 가장 높은 수율을 보여 순수 methanol로 추출한 마늘 추출물보다 3.5배 이상의 효과를 나타내었고 그외의 농도에서는 26.43 28.17%범위로 비슷한 값을 보였다.

Methanol 농도별 마늘 추출물의 DPPH에 대한 전자공여 효과는 (Table 3) methanol 농도가 50%일 때 38.58%로 가장 높은 값을 나타내었으며 methanol 100가 26.06%로 제일 낮았고 methanol 0, 25, 75% 추출 처리는 30.9 32.0% 범위로 큰 차이가 없었다.

Methanol 농도별 아질산염 소거작용(Table 3)은 유기산과 유기용매에 의한 마늘추출물들의 아질산염 소거작용의 결과와 거의 비슷한 경향으로 pH 1.2 에서 pH 3.0보다 아질산염 소거작용이 높게 나타나 methanol 농도

에 의한 마늘 추출물의 아질산염 소거작용도 pH 의존성이 매우 큰 것으로 나타났다. Methanol 농도에 따른 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 methanol 100%보다 methanol 25%, 75%가 약간 효과가 높은 것으로 나타났으나 큰 차이는 아니었다. 그러나 pH 3.0에서는 methanol 100%에서 가장 높았고 methanol농도가 낮을수록 아질산염 소거 효과가 낮아지는 경향이었다.

마늘에서 생성되는 thiosulfinate화합물의 주요 성분인 allicin (diallyl thiosulfinate)은 마늘이 갖는 항균작용, 항돌연변이성 등의 많은 중요한 생화학적 활성을 하는 화합물로서 가장 잘 알려진 유기 황화합물이다. 그러나, allicin은 매우 불안정한 화합물로서, 마늘에 직접 존재하지 않으나 마늘을 절단하거나 으깰 때 allinase라는 효소에 의해 전구체인 alliin에서 생성되고 다른 저급 sulfides화합물들인 diallyl mono-, di-, 그리고 oligosulfides; vinyldithiins; ajoenes등으로 분해된다(5). 또한 소량의 다른 thiosulfinates화합물들, 즉 methyl allyl, 1-propenyl allyl, allyl 1-propenyl, 1-propenyl methyl, dimeyhyl thiosulfinate들도 생성된다.(24) Han등(20)은 thiosulfinate 한 분자와 cysteine 두 분자가 결합하여 S-allyl mercaptocysteine을 합성하는 것에 의거하여 thio-sulfinate 표품을 이용하지 않으면서 분광광도계 방법을 사용하여 마늘에서 만들어지는 allicin을 포함하는 alliin의 효소적 분해산물인 총 allyl thiosulfinates 함량을 측정하는 방법을 보고하였다. Lawson등(26)은 allicin은 총thiosulfinates함량의 60-80%를 구성한다 하였고, Yu등(27)은 수증기 증류한 마늘의 향기성분중 30여종을 동정하여 allicin의 분해산물인 diallyl disulfide와 diallyl trisulfide의 함량이 75%이상임을 보고하였고, Han등(20)은 총thiosulfinates함량에 0.7을 곱하여 allicin함량을 계산, 추정할 수 있다고 하였다. 따라서 Han등의 방법에 의해 측정한

Table 3. Solid yields, electron donating abilities (EDA), nitrite-scavenging effects (NSE) and contents of total thiosulfinates of garlic extracts as affected by various methanol concentrations

Concentrations (%)	Yields (%)	EDA (%)	NSE (%)		Thiosulfinates (mM)
			pH 1.2	pH 3.0	
MeOH 0	27.44∓0.77	30.90∓1.15	60.94±3.19	27.13±3.18	4.31±0.16
MeOH 25	28.17∓1.64	68.13±1.78	36.92±4.77	32.00∓1.46	4.16∓0.07
MeOH 50	27.20∓0.55	38.58∓2.49	66.70±2.53	37.98±1.37	4.26∓0.23
MeOH 75	26.43∓2.16	30.96∓2.10	67.47±4.26	37.98±3.44	2.32∓0.21
MeOH 100	8.35∓1.08	26.06∓0.21	63.19±1.20	39.15±1.39	1.00∓0.4

methanol 농도에 의한 마늘 추출물의 총thiosulfinates함량은(Table 3) 물로 추출하였을 경우 제일 높은 값을 나타내었고, methanol 50%까지는 4.16 4.31mM 범위로 큰 차이가 없었으나 이보다 methanol 함량이 높아질수록 총 thiosulfinates함량이 감소하였는데 이는 HPLC를 이용하여 allicin이 포함된 dialk(en)yl thiosulfinates 함량을 측정한 Larry등(28,29)의 allicin이 유기용매에 불안정하다는 보고와 일치하고 있다.

4. Ethanol 농도에 의한 추출율 및 기능성

식품에 첨가 할 것을 고려하여 앞의 결과에서 기능성 성분의 추출이 가

장 뛰어난 methanol 대신 ethanol 의 농도를 달리하면서(0 100 %) 추출하여 마늘의 기능성성질을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 고형분 수율은 methanol의 경우와 마찬가지로 50%일 때 가장 높은 수율을 나타내었고 추출율도 유사하였다. Ethanol 0%, 25%와는 0.5 1.7%차이밖에 없었으나 50%보다 높으면 급격히 수율이 낮아져 순수ethanol로 추출할 때 보다 3.5배 이상으로 감소하여 마늘 성분은 ethanol보다 극성이 강한 수분이 함유될 때 추출율이 더 높아짐을 알 수 있다.

Ethanol 농도별 마늘 추출물의 DPPH에 대한 전자공여 효과(Table 4)는 methaol의 경우와 유사하여 ethanol의 농도가 50%일 때 가장 높은 값을 나타내었으며, 100% ethanol로 추출한 마늘 추출물보다 1.5배 이상의 효과를 나타내어 정확히 일치하지는 않지만 고형물 추출과 거의 비슷한 경향을 보였고, 아질산염 소거작용은 (Table 4) ethanol 100%에서 다른 농도보다 적은 것을 제외하고는 methanol 농도에 의한 마늘추출물의 아질산염 소거작용의 결과와 거의 비슷한 경향으로 pH1.2에서는 pH3.0보다 약 2배 정도로 소거능이 컸고 pH 1.2에서는 0 75%까지는 거의 큰 차이를 보이지 않고 그중 ethanol 50%에서 제일 높았다. pH 3.0에서는 75%까지 ethanol 농도가 증가할수록 소거능이 증가하였다.

Ethanol 농도별 마늘 추출물의 총thiosulfinates함량은(Table 4) 50% ethanol에서 제일 높았으나 0%, 25%, 50%에서는 4.3 4.4mM 범위로 거의 차이가 없었고 ethanol농도가 높아질수록 총 thiosulfinates함량은 급격히 감소하는데 이러한 경향은 methanol농도별 추출과 유사하였으며 ethanol고형물 추출량과 전자공여 효과와 거의 비슷한 경향이었다. Allicin은 유기

Table 4. Solid yields, electron donating abilities (EDA), nitrite-scavenging effects (NSE) and contents of total thiosulfinates of garlic extracts as affected by various ethanol concentrations

Concentrations (%)	Yields (%)	EDA (%)	NSE(%)		Thiosulfinates (mM)
			pH 1.2	pH 3.0	
EtOH 0	27.44±0.77	30.90∓1.15	60.94±3.19	27.13±3.18	4.31∓0.16
EtOH 25	26.39∓0.70	38.62∓0.42	62.47±0.65	28.70±1.39	4.30∓0.17
EtOH 50	28.11∓1.00	40.81∓1.93	64.24±0.27	34.06±2.11	4.40∓0.62
EtOH 75	18.13∓1.59	31.78∓1.79	61.30±3.26	34.62±1.39	2.20∓0.56
EtOH 100	8.01∓0.30	26.58∓0.11	37.94±5.38	26.22±1.53	0.60∓0.21

용매에 불안정하다고 보고(28,29)되었는데 본 실험에서는 ethanol 농도가 높아질수록 감소하여 이들의 보고와 일치하고 있다.

추출수율과 전자공여능, 아질산 소거작용에서도 methanol, ethanol 모두 50% 농도에서 다른 농도에 비해 비교적 높은 값을 나타내어 마늘의 기능성 추출은 고형분, 기능성성질, 추출의 편의성을 고려할 때 ethanol 50%가 가장 적당한 것으로 판단되었다.

5. pH 조절시 추출율 및 기능성

Ethanol보다 더욱 효과적인 용매 조건을 찾기 위해 용매 ethanol 50%와 methanol 50% pH3 8로 조절하여 고형분 추출 수율 및 기능성을 조사한 결

과는 Table 5와 같다. pH가 높을수록 ethanol 50%와 methanol 50%에서의 추출물 모두 수율이 아주 적은 양이지만 점차적으로 높아졌다.

DPPH에 대한 전자공여효과를 살펴본 결과 (Table 5) pH가 높을수록 ethanol 50%와 methanol 50%에서의 추출물 모두 전자공여능이 점차적으로 증가하였지만 그 증가폭은 매우 적었다.

pH 조절 시 마늘 추출물의 총 thiosulfinates 함량은 (Table 5) ethanol과 methanol간에 거의 차이를 보이지 않았으며 ethanol 50%와 methanol 50%에서의 추출물 모두 pH6과 pH 7에서 높은값을 보였데 이는 allicin의 형성에 대한 적정 pH가 6.5부근이라고 Yu등(27)은 보고하였으며, Stoll과 Seebeck(30)은 마늘의 allinase는 pH 4∼8에서 높은 활성을 나타내고, Mazelis와 Crews(4) 는 allinase의 최적 pH가 6.5이라는 보고와 일치하고 있다.

Ethanol과 methanol의 pH 조절시 마늘 추출물의 아질산염 소거작용은 Table 6과 같고, pH변화에 따른 각 추출물의 아질산염 소거작용은 전 실험들의 결과와 비슷한 경향을 나타내어 완충용액pH 1.2 에서 아질산염 소거작용이 높게 나타났고, pH조절에 의한 추출물들간의 아질산염 소거작용은 차이가 없었지만 완충용액pH 1.2 및 pH3.0 모두에서 pH가 증자할수록 소거작용은 증가하는 경향을 보였다.

Table 5. Solid yields, electron donating abilities (EDA) and contents of total thiosulfinates of garlic extracted as affected by 50% methanol and 50% ethanol at different pH

pH	MeOH 50%			EtOH 50%		
	Yields (%)	EDA (%)	Thiosulfinates (mM)	Yields (%)	EDA (%)	Thiosulfinates (mM)
3	21.69±0.69	33.37±2.84	4.41±0.02	22.39±0.66	33.87±3.30	4.24±0.07
4	23.21±2.31	33.11±1.76	4.44±0.01	23.60±0.58	34.78±2.26	4.17±0.16
5	24.90±1.58	35.84±2.13	4.51±0.04	23.97±0.68	35.62±2.85	4.33±0.14
6	27.55±0.52	37.48±0.59	4.69±0.00	24.78±0.05	36.10±1.87	4.65±0.09
7	27.39±1.76	38.31±0.61	4.68±0.03	26.33±1.20	38.02±2.44	4.64±0.11
8	28.40±4.08	38.17±1.25	4.66±0.01	25.51±1.07	38.44±3.49	4.48±0.02

6. Citric acid 첨가시 추출율 및 기능성

마늘의 기능성 성분의 추출율을 높이기 위하여 용매 ethanol 50%와 methanol 50%에 citric acid를 1 5%의 비율로 첨가하여 추출한 결과 고형분 추출 수율은 Table 7과 같다. Citric acid를 1% 첨가시 무첨가보다는 methanol에서는 약 1/2, ethanol에서는 1/3정도로 수율이 적었으나 citric acid의 농도가 높을수록 점차적으로 높아졌고, alchohol종류별로는 methanol이 ethanol보다 약간 많이 추출되었다.

Table 6. Nitrite-scavenging effects of garlic extracts as affected by 50% methanol and 50% ethanol at different pH

unit : %

pH of alcohol	PH of buffer	MeOH 50%	EtOH 50%
3	1.2	65.95±0.76	65.14±1.58
	3.0	32.28±2.97	32.00±2.57
4	1.2	65.32±2.73	65.79±1.64
	3.0	33.56±3.70	33.04±3.51
5	1.2	65.47±0.69	67.01±1.42
	3.0	32.28±1.04	35.24±2.38
6	1.2	66.54±2.17	67.18±2.75
	3.0	33.31±0.03	34.37±2.41
7	1.2	66.75±3.56	66.19±1.07
	3.0	33.69±2.62	36.98±2.62
8	1.2	67.10±1.78	68.27±1.51
	3.0	34.05±0.66	37.04±2.47

전자공여효과(Table 7)는 citric acid의 첨가 농도가 높아질수록 ethanol 50%와 methanol 50%에서의 추출물 모두 전자공여효과의 값이 점차적으로 감소하는 경향을 보였으며, 첨가하지 않고 추출한 경우에는 citric acid를 5% 첨가하였을때보다 전자공여효과가 1.5배 정도 높았고, alchohol 종류별로는 고형분 수율과 같이 methanol 추출시 ethanol보다 약간 많았다.

총 thiosulfinates 함량은 (Table 7) ethanol 50%와 methanol 50%에서의 추출물 모두 citric acid함량이 증가할수록 감소하였으며 첨가하지 않고 추출한 경우에는 citric acid를 5% 첨가하였을 때보다 총

thiosulfinates 함량이 약 3배 정도 높았다.

Table 7. Solid yields, electron donating abilities (EDA) and contents of total thiosulfinates of garlic extracted as affected by different concentration of citric acid in 50% methanol and 50% ethanol

Conc. of ctric acid(%)	MeOH 50%			EtOH 50%		
	Yield (%)	EDA (%)	Thiosulfinates (mM)	Yield (%)	EDA (%)	Thiosulfinates (mM)
0	27.20∓0.55	40.81±1.93	4.26±0.15	28.11±1.00	38.58±2.49	4.40±0.64
1	23.03±0.94	36.05±2.74	3.21±0.06	20.53±0.64	32.59±2.86	3.33±0.09
2	17.51±1.30	35.02±0.25	3.12±0.13	19.52±1.67	30.64±0.50	3.03±0.07
3	18.87±4.36	34.27±1.38	2.97±0.10	14.43±3.94	29.76±2.44	2.43±0.16
4	15.68±3.94	33.63±2.15	2.30±0.21	11.03±1.50	27.85±3.62	2.30±0.05
5	13.95±0.65	29.24±1.54	1.49±0.30	8.86±4.06	25.18±2.36	1.41±0.01

이는 allicin의 형성에 대한 적정 pH가 6.5부근이라는 Stoll과 Seebeck(30), Mazelis와 Crews(4)보고와 상관관계가 있는 것으로 생각된다. 아질산염 소거작용은 Table 8과 같이 낮은 pH 1.2 에서 아질산염 소거작용이 높게 나타났으며, citric acid의 농도가 높아질수록 약간 감소하는 경향이 있었으나 감소하는 정도는 아주 적었다.

Table 8. Nitrite-scavenging effects of garlic extracts as affected by different concentrations of the citric acid in 50% methanol and 50% ethanol

unit : %

Conc of citric acid(%)	pH	MeOH 50%	EtOH 50%
0	1.2	66.70±0.76	64.24±0.27
	3.0	37.98±2.97	34.06±2.11
1	1.2	64.24±1.22	62.63±3.56
	3.0	32.21±1.83	32.19±1.72
2	1.2	64.18±2.61	63.52±3.98
	3.0	32.35±2.58	34.84±2.00
3	1.2	63.24±2.36	63.07±2.45
	3.0	33.07±1.42	32.04±0.66
4	1.2	64.17±2.48	63.34±2.17
	3.0	32.70±1.82	32.12±1.28
5	1.2	62.04±2.13	60.10±1.64
	3.0	32.54±1.06	30.33±2.49

7. NaCl 첨가 시 추출율 및 기능성

용매 ethanol 50%에 NaCl를 1 5%의 비율로 첨가하여 조절한 용매를 사용하여 마늘을 추출한 결과 고형분 추출 수율 및 기능성은 Table 9과 같다. Citric acid의 경우와 같이 NaCl의 첨가량이 많으면 많을수록 ethanol 50%에서의 추출물 수율의 값이 점차적으로 감소하였다.

전자공여효과(Table 9)는 수율에서와 같이 NaCl의 첨가량이 많으면 많을수록 전자공여능이 점차적으로 감소되어 citric acid의 경우와 같은 경향을 보였다.

아질산염 소거작용(Table 9)은 앞 실험들의 결과와 비슷한 경향으로 pH 1.2 에서 아질산염 소거작용이 높게 나타났고, NaCl의 농도변화에 따라서는 거의 차이가 없이 비슷하였다.

마늘 추출물의 총 thiosulfinates 함량은(Table 9) 전자공여능과 비슷한 경향을 보여 NaCl 1% 첨가시는 무첨가보다 낮았으나, 1% 이상 첨가시는 NaCl의 첨가 농도가 높아질수록 citric acid의 경우와는 달리 NaCl의 첨가 농도가 높을수록 총 thiosulfinates 함량이 증가하는 경향이었으며 4 5% 첨가시는 무첨가보다 2%정도 증가하여 큰 차이를 보이지 않아 총 thiosulfinates함량은 NaCl의 첨가로 영향을 거의 미치지 않았다.

위와 같이 ethanol보다 더욱 효과적인 용매 조건을 찾기 위해 용매 ethanol 50%와 methanol 50%에 pH 의 조절(3 8), 그리고 NaCl, citric acid는 1 5%하고 이외에 NaH_2PO_4와 Na_2HPO_4는 0.5 2%(자료미제시)까지 첨가하여 추출수율, 전자공여능, 아질산염 소거작용, 총 thiosulfinates의 함량 등의 기능성을 조사한 결과, 마늘의 기능성 추출은 고형분, 기능성 성질, 추출의 편의성을 고려할 때 ethanol 50%가 가장 적당한 것으로 판단되었다.

Table 9. Solid yields, electron donating abilities (EDA), nitrite-scavenging effects(NSE) and contents of total thiosulfinates of garlic extracted as affected by different concentration of NaCl in 50% ethanol

Conc. of NaCl(%)	Yields (%)	EDA (%)	NSE(%)		Thiosulfinates (mM)
			pH 1.2	pH 3.0	
0	28.11±1.00	40.81±1.93	64.24±0.27	34.06±2.11	4.40±0.64
1	27.48±2.05	37.76∓1.16	66.90±4.19	31.40±0.84	4.21±0.01
2	24.83±1.44	37.49∓1.16	67.68±3.46	30.09±0.67	4.45±0.02
3	23.15±0.63	33.94∓0.51	67.68±0.18	34.13±0.33	4.35±0.11
4	24.29±4.20	31.76∓0.26	67.94±4.91	35.20±0.50	4.52±0.03
5	20.55±2.61	32.12∓0.25	66.91±2.37	36.51±1.01	4.52±0.02

제 2 절 가열처리 마늘추출물의 기능성

우리들이 일상식에서 마늘을 가열, 조리하여 섭취하는 경우가 더 많다. 따라서 40 120℃에서 10 30분 동안 가열한 후 용매 ethanol 50%를 사용하여 마늘추출물을 제조하여 기능성을 조사하였다.

가열 처리 마늘추출물의 DPPH 에 대한 전자공여효과를 살펴본 결과 Table 10과 같다. 가열 마늘 추출물의 전자공여 효과는 10분 가열 시는 가열온도가 높을수록 점차적으로 감소하였고, 20분 가열 시는 60℃까지는 완만히 감소하였으나 80℃에서는 급격히 감소하여 생마늘의 1/3정도로 나타났으며 그 이후는 큰 변화가 없었다. 30분 가열 시는 40℃가열 때 약 20% 감소하고 80℃에서는 20분 가열 시와 비슷한 수준으로 약 1/3으로 감소한 후 8

0℃이상 온도에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 가열 처리 마늘 추출물의 pH변화에 따른 각 추출물의 아질산염 소거작용(Table 10)은 낮은 pH인 pH1.2에서 아질산염 소거작용이 높게 나타났고 가열온도가 높을수록, 가열시간이 길어질수록 완만하게 감소하는 경향이 나타났으나 큰 차이는 나타나지 않았다.

가열 처리 마늘추출물의 총 thiosulfinates 함량(Table 10)은 가열온도가 높을수록, 가열시간이 길어질수록 감소 차이가 크게 나타나서 80℃이상에서 가열 시에는 thiosulfinates 함량이 거의 존재하지 않는 것으로 나타났다. 이는 HPLC를 이용하여 allicin이 포함된 dialk(en)yl thiosulfinates 함량을 측정한 Larry등(28,29)의 allicin, diallyl disulfide 등이 열에 약하다는 보고와 일치하고 있다.

제 3 절 마늘추출물의 저장 중 기능성의 변화

1. 생마늘 추출물의 저장 온도별 기능성 변화

생마늘을 ethanol 50% 으로 추출하여 저장 온도 조건을 4°, 25°, 50℃로 조절하여 30일 동안 저장하면서 5일 간격으로 기능성의 변화를 조사하였다.

저장시 마늘추출물의 전자공여작용은 Table 11과 같이 4℃에서는 전자공여능이 저장 기간이 길어짐에 따라 서서히 감소하기 시작하여 저장 30일째에는 저장 초기에 비해 72%를 유지하였으나 저장온도 25℃에서는 저장 15일 까지 급격히 감소하고 15일부터는 저장초기의 약 42% 정도를 유지하였다. 50℃에서는 5일째에 저장 초기의 50%가 감소하고 15일까지 저장초

Table 10. Changes in electron donating abilities (EDA), nitrite -scavenging effects(NSE) and contents of total thiosulfinates of garlic extracts as affected by 50% ethanol with different heating temperature and heating times

Heating	time (min)		Heating temp.(℃) fresh	40	60	80	100	120
EDA (%)	10		40.81±1.93	39.19±0.10	35.34±2.81	25.00±1.46	19.34±2.39	18.43±0.73
	20		40.81±1.93	38.06±1.94	37.10±2.41	13.10±0.11	13.86±0.52	12.49±0.19
	30		40.81±1.93	32.77±3.86	31.37±3.44	13.94±0.33	14.58±0.32	16.28±1.94
NSE(%)	10	pH1.2	72.28±2.36	72.14±8.99	71.74±0.32	65.38±1.41	65.28±0.63	68.60±0.58
		pH3.0	39.68±1.98	32.00±1.70	28.67±1.98	27.86±2.41	27.04±1.57	28.57±1.56
	20	pH1.2	72.28±2.36	71.29±2.38	70.59±0.17	64.03±1.57	72.64±1.74	73.62±1.17
		pH3.0	39.68±1.98	33.68±1.63	28.75±1.83	28.63±0.26	29.25±1.85	26.82±0.53
	30	pH1.2	72.28±2.36	70.82±1.93	68.25±0.15	64.98±0.60	66.87±1.14	69.80±1.10
		pH3.0	39.68±1.98	32.19±1.89	29.80±2.01	29.23±1.18	28.81±0.59	30.11±1.53
Thiosulfinates (mM)	10		4.52∓0.11	4.55∓0.00	4.16∓0.31	0.06∓0.01	0	0
	20		4.52±0.11	3.52∓0.05	3.42∓0.13	0.01∓0.00	0	0
	30		4.52±0.11	3.38∓0.07	2.84∓0.14	0	0	0

기에 비하여 33%가 남았고 그 후에는 큰 변화가 없어 전자공여효과는 특히 저장온도가 높을수록 저장기간이 지남에 따라 감소의 폭이 컸다.아질산염 소거작용은 (Table 11) 4℃ 저장 시 완충용액 pH1.2에서 저장 기간이 지남에 따라 점차적으로 감소하여 저장 30일 후는 초기의 85%정도의 값을 나타내었고, pH3.0 에서는 5일까지는 급격히 감소하였으며 그후부터는 감소의 폭이 적어져 30일 후의 값은 초기의 65% 수준이었다. 25℃저장시의 아질산염 소거능은 pH 1.2의 경우 4℃저장과는 다르게 25일까지 서서히 감소하고 25일 이후 크게 감소하여 30일 후는 약 80%수준이 되었다. pH3.0의 값은 5

Table 11. Changes in electron donating abilities (EDA) and nitrite-scavenging effects and of garlic extracts prepared by ethanol 50% extraction as affected by during storage time at different temperature

Storage temp.			Storage (days)						
			0	5	10	15	20	25	30
EDA (%)	4℃		40.81±1.93	37.76∓0.91	34.25∓5.94	32.56∓1.32	32.89∓1.86	32.54∓1.82	29.23∓2.90
	25℃		40.81±1.93	34.43∓1.68	24.62±0.42	16.49∓2.49	16.08∓0.91	16.96∓3.75	17.87∓1.22
	50℃		40.81±1.93	20.74∓3.67	17.22∓1.80	13.73∓2.19	13.01∓3.35	13.90∓0.75	13.36∓0.41
NSE (%)	4℃	pH1.2	72.28±2.36	70.24±2.43	67.14±0.49	67.81±1.20	67.02±0.99	65.26±1.49	63.05±1.52
		pH3.0	39.68±1.98	32.64±0.00	29.74±3.38	28.63±2.67	27.97±2.59	27.29±1.73	26.12±1.15
	25℃	pH1.2	72.28±2.36	68.76±0.76	66.59±1.03	65.41±0.99	65.41±1.15	65.41±1.97	63.10±1.34
		pH3.0	39.68±1.98	30.67±2.23	27.71±0.81	27.11±1.12	27.04±0.40	26.07±1.29	21.41±2.07
	50℃	pH1.2	72.28±2.36	65.58±0.71	67.39±1.42	65.80±1.51	64.24±1.33	64.84±0.19	62.98±0.20
		pH3.0	39.68±1.98	29.14±0.40	26.25±1.14	27.79±0.92	27.28±2.60	27.02±0.55	22.60±1.38

일까지 급격히 감소하다가 25일까지는 점차적으로 25일이후는 큰차이로 감소하여 30일후의 값은 초기의 55%수준을 나타내었다. 50℃ 저장에서는 pH1.2에서 5일까지 급격히 감소한 후 그 이후에는 점차적으로 감소하였고 pH 3.0에서는 25℃저장과 비슷한 경향을 보였다. 아질산 소거능도 전자공여능과 마찬가지로 저장온도가 높고 저장기간이 길수록 값이 점차적으로 감소하였다.

총 thiosulfinates함량 변화는 Table 12와 같고, 저장온도에 따라 심한 차이를 나타내었는데 저장시간에 따라 총 thiosulfinates가 급격히 감소하여 25℃ 저장 시 11일후, 50℃ 저장 시에는 1일 후에 thiosulfinates가 검출되지 않았다. 그러나 4℃ 저장의 경우 총 thiosulfinates함량이 서서히 감소하여 저장 30일째에는 약 1/2수준으로 감소되었다. Larry등(28,29)의

allicin등이 열에 약하다는 보고와 일치하고 있다.

Table 12. Changes in contents of thiosulfinates of garlic extracts as affected by 50% ethanol extraction as affected by during storage time at different temperature

(unit : mM)

Storage temp. (℃)	Storage (day)								
	0	1	2	5	10	15	20	25	30
4	4.52±0.11	4.15±0.09	4.13∓0.13	3.76∓0.32	3.47∓0.00	3.39∓0.13	2.58∓0.13	2.17∓0.14	2.03±0.0
25	4.52±0.11	3.29±0.10	3.42∓0.31	1.35∓0.11	0.09∓0.14	ND	ND	ND	ND
50	4.52±0.11	0.49±0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

※ ND : Not Detected

2. 열처리마늘 추출물의 저장온도별 기능성의변화

열처리 마늘 추출물의 기능성의 저장 중 변화를 조사하기 위하여 온도별(40℃ 120℃), 시간별(10 30min)로 가열한 후 추출한 마늘추출물을 4°, 25°, 50℃에 30일 동안 저장하면서 5일 간격으로 마늘의 저장 중 기능성의 변화를 조사하였다.

열 처리 마늘추출물을 저장하였을 때 전자공여능은 Fig. 3 5와 같다. 추출물을 10분동안 각 온도별로 가열하여 추출하여 저장하였을 때의 전자공여능은 모든 추출물들의 전자공여능이 정도의 차이는 있지만 저장 기간에 따라 감소하였고 저장온도가 높을수록 전자공여효과의 감소의 폭이 컸다. 추출 직후의 전자공여능이 40.81%에서 40℃ 열처리 시는 감소의 폭이 아주 작았지만 60℃에서는 12%가 감소되었고 80℃에서는 32% 100℃이상에서는 50%이상이 감소되었다. 또 저장온도별로는 4℃에 저장한 경우에는 4

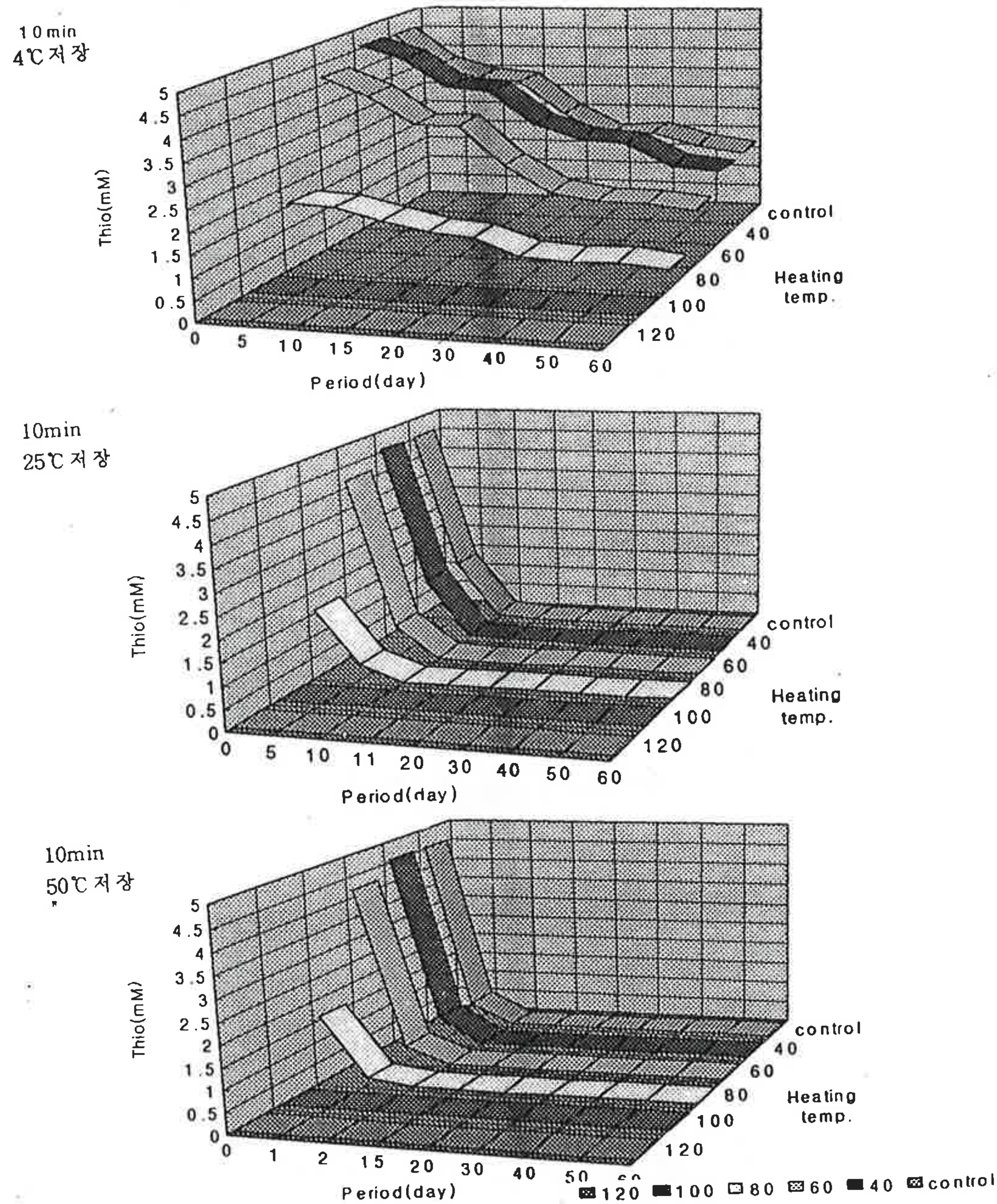


Fig. 5. Changes in contents of thiosulfinates of garlic extracts as affected by 50% ethanol during storage time at different temperature after different heating time for 10 min.

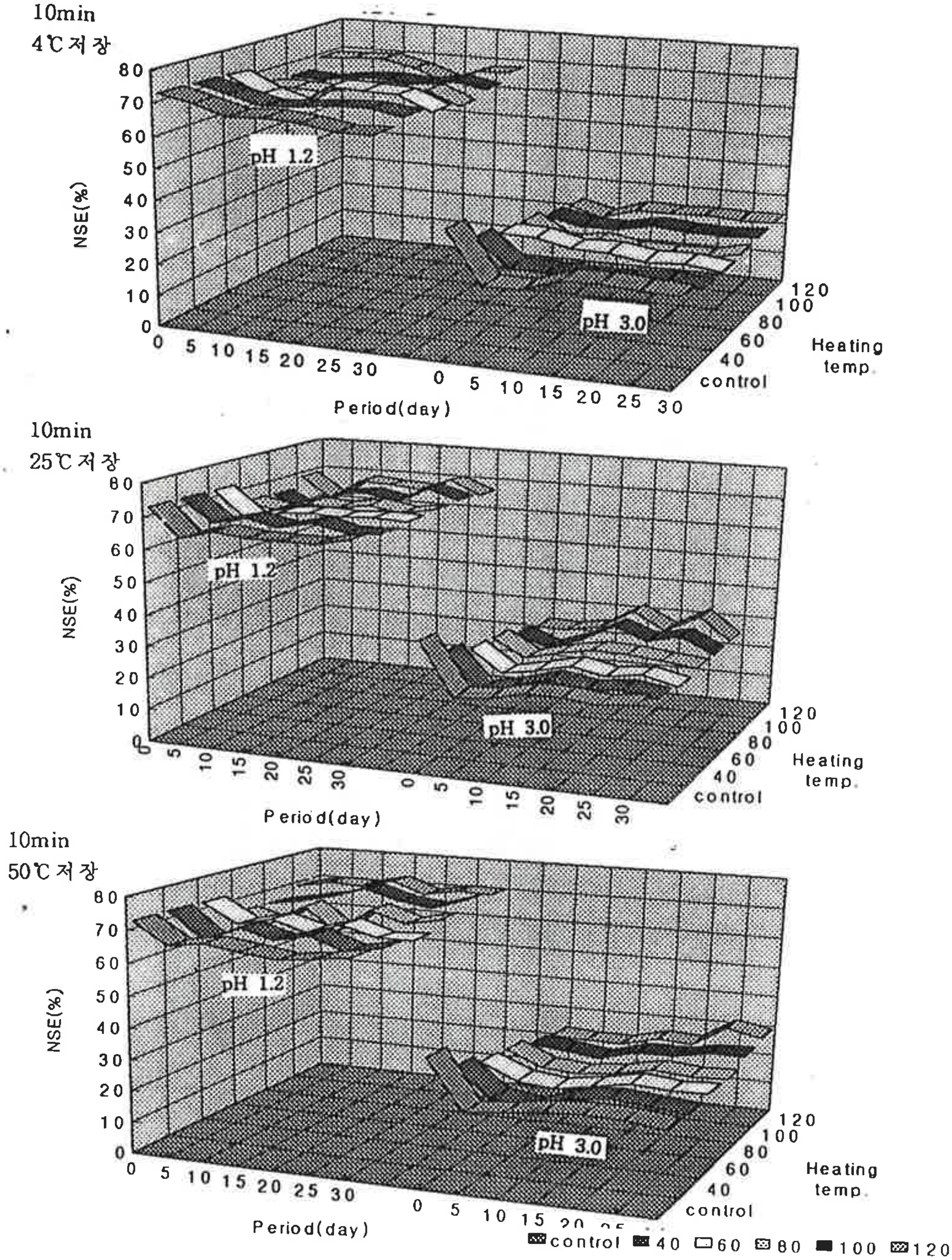


Fig. 4. Changes in nitrite-scavenging effects(NSE) of garlic extracts as affected by 50% ethanol during storage time at different temperature after different heating time for 10min.

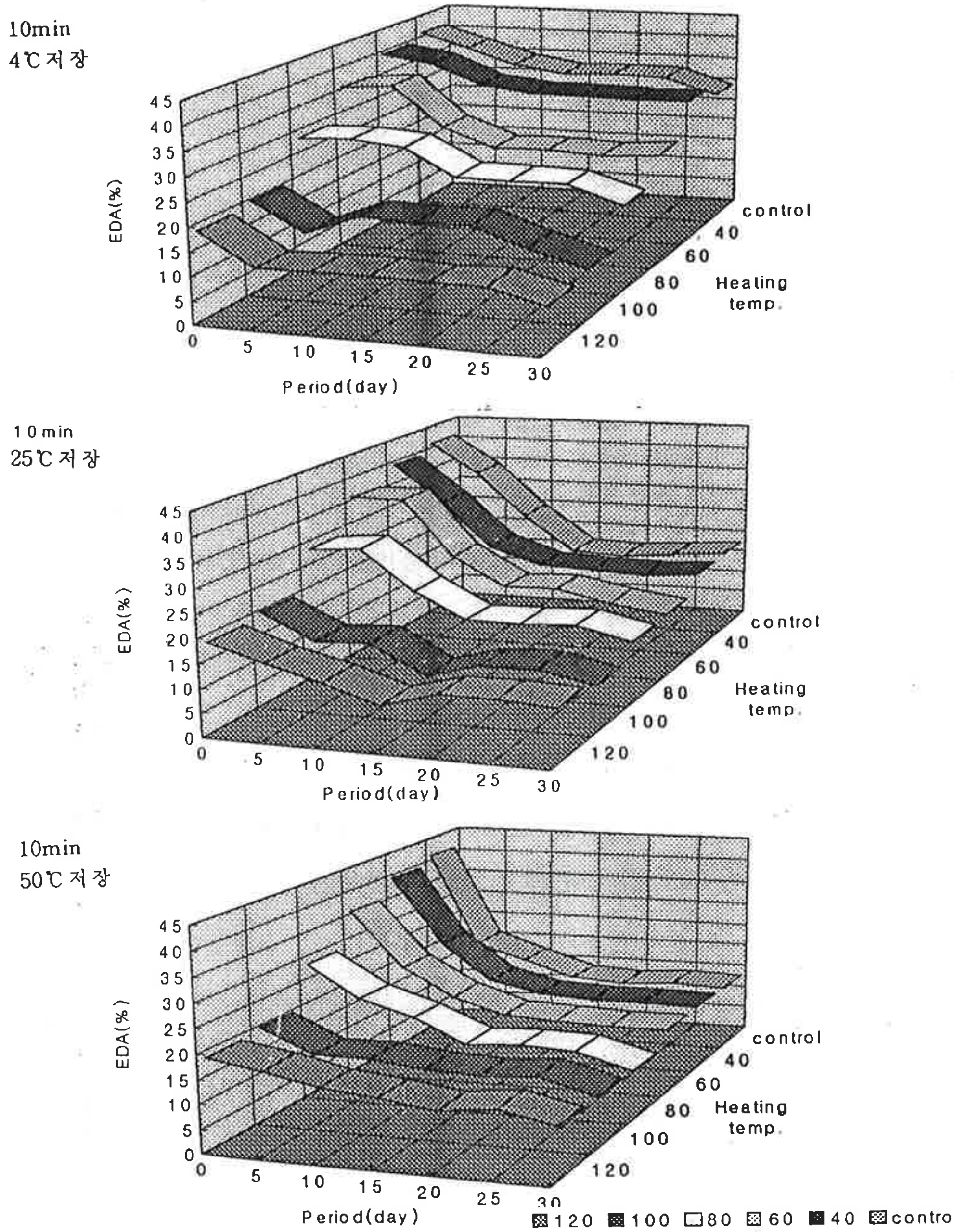


Fig. 3. Changes in electron donating abilities (EDA) of garlic extracts as affected by 50% ethanol during storage time at different temperature after different heating time for 10 min.

0 60℃의 열처리의 경우 30일 동안 저장하였을 때 추출 직후의 전자공여효과의 50%이상이 존재하였다. 80℃ 열처리 시는 전자공여능이 50%이상 존재하는 기간은 4℃ 저장 시는 25일 이후, 25℃에서는 10일 이후, 50℃저장에서는 5일이었다. 특히 100℃이상 가열한 추출물은 5일 동안에 초기 전자공여능이 2/3정도로 감소하고 그 후 큰 변화를 보이지 않았다. 20분간 열처리 시는 10분간 열처리 한 것보다 전자공여효과의 감소의 폭이 더 컸다. 가열온도가 낮은 40 60℃에서가열한 추출물들은 4℃저장 시에는 10분 가열 때와 비슷하게 초기 전자공여능의 2/3가 유지되었으나 80℃이사의 가열처리 추출물들은 5일 동안에 2/3 정도로 감소한 다음 큰 변화가 없었다. 30분간 열처리 시는 20분간 열처리 시와 거의 비슷한 경향을 보였지만 100℃와120℃가열 처리 추출물들은 10분 및 20분간 열처리 하였을 때보다 약간 높은 수준이었다. 이는 아마 높은 온도에서 30분간 열 처 리시 탄수화물이나 질소화합물이 분해되어 여기에서 생성된 분해산물이 Mailard반응이 일어나고 이 반응 중간 생성물이 전자공여효과를 보인 것으로 판단된다.

가열 처리 마늘추출물을 저장하였을 때 아질산염 소거작용은 Fig. 6 8과 같다. 저장시간과 가열온도에 따른 아질산염의 소거효과는 시간이 경과되거나, 가열온도 변화에 의한 약간의 감소는 보였으나 큰 영향은 받지 않는 것으로 나타났다. 저장시의 아질산염 소거능은 pH1.2에서 측정 시 50℃에서 30일 후 73.3% 에서 65%수준으로 감소하는 경향을 보였고 그 외의 4℃와 25℃에서는 감소가 현저하지 않았다.

마늘추출물을 저장하였을 때 총 thiosulfinates의 함량은 Fig. 9 11와 같다. 저장시간과 가열온도에 따른 총 thiosulfinates의 함량은 저장온도와 가열온도에 따라 현저한 차이가 나타났으며 가열시간에 대해서도 차이를 보였다.10분 가열 시에는 100℃이상, 30분 가열 시는 80℃이상에서 총 thiosulfinates의 함량은 검출되지 않았고, 저장기간에 대해서는 가열시간

별로 약간의 차이는 있지만 대체적으로 4℃ 저장 시에는 60일까지도 thiosulfinates가 검출되었으나, 25℃저장 시에는 11일 이후, 50℃저장 시에는 1일 이후에는 thiosulfinates는 검출되지 않아서 저장온도에 따라 아주 심한 차이를 보였다.

제 4 절 분쇄돈육의 지질에 미치는 마늘의 효과

마늘과 마늘추출물이 분쇄돈육을 4℃에서 저장 시 지질에 미치는 영향을 알아보기 위하여 돈육에 분쇄한 생마늘을 돈육의 5, 10, 20%와 생마늘 10%에 해당하는 마늘을 ethanol 50% 마늘추출물을 첨가하여 가열, 비가열 처리한 후 10일 동안 저장하면서 일정한 시간 간격으로 돈육의 과산화물가, TBA가를 측정하였다.

1. 분쇄돈육 저장중 과산화물가(POV)의 변화

각각의 마늘과 마늘추출물을 첨가한 분쇄돈육의 냉장 중 과산화물가의 변화를 비교한 결과는 Table 13과 같다. 경시적으로 보았을 때 생육 및 가열육의 모든 처리구에서 저장 2일 후 과산화물가는 급격히 증가하여 저장 8일째에 과산화물가가 최고 값을 나타냈고 10일째에는 감소하였다. 생육에서 마늘 처리별 과산화물가는 마늘의 함량을 증가시킬수록 과산화물가가 낮아 저장 6일째는 마늘 20% 처리구는 대조구의 1/2의 값만을 나타내었다. 생마늘 10%에 해당되는 50% ethanol 추출물을 첨가 시 20% 마늘 첨가구보다 저장 6일까지 과산화물가가 증가되지 않았다. 가열 처리한 돈육에서는 생육보다 전반적으로 과산화물가가 높았으나 저장 8일째까지 증가하고 그 이후 감소하는 경향은 일치하였다. 이는 지방의 산화로 인하여 생성

된 과산화물이 2차 산화물로 분해되었기 때문이라는 Gustone과 Norris(25)의 보고와 같은 이유로 해석될 수 있을 것으로 보인다. 가열 분쇄돈육의 POV는 비가열 분쇄돈육의 POV보다 각 처리구 모두 높은 수준을 유
지하였는데, 이러한 결과는 가열육 또는 육추출물에서 비 heme철분 함유량이 증가하며, heme철분 함유량은 감소하고(31), 조리중의 수분 손실과 수분의 농축, 다즙성의 감소가 조리 후 산패도의 증가(32)에 기인한다고 추정된다.

마늘첨가량에 따른 과산화물가는 5%에서 20%로 증가할수록 대조구에 비해 낮았고 생육에서와 마찬가지로 50% ethanol 의 마늘추출물은 마늘 20% 처리구와 비슷한 과산화물가의 변화를 보였다. 이렇게 마늘 추출물이 생마늘에 비하여 산화 억제 효과를 보이는 것은 마늘 성분 중에 ethanol에 추출되지 않는 성분에는 지질의 산화를 촉진하는 성분이 있을 것으로 판단된다.

Table 13. Changes in peroxide value of ground pork treated with garlics and garlic extracts during 10 days storage at 4℃

unit:meq/kg

Treatment 1)		Storage days					
		0	2	4	6	8	10
uncooked	Control	31±4	42±7	287±63	390±13	725±25	605±32
	G-5	30±1	40±14	255±20	323±15	600±20	550±21
	G-10	26±1	30±0	215±7	318±35	600±20	425±33
	G-20	24±1	30±14	150±28	195±26	575±10	450±50
	G-ex.	27±3	25±7	113±9	172±37	550±12	480±10
cooked	Control	49±2	118±40	340±42	483±39	1048±28	827±30
	G-5	43±6	78±4	260±12	361±26	941±53	768±42
	G-10	35±6	55±0	150±10	295±37	924±66	712±45
	G-20	25±5	39±3	140±18	258±26	848±41	736±15
	G-ex.	19±5	30±7	148±24	276±40	856±49	727±38

1)Control: no garlic ; G-5: 5% garlic added on ground pork weight basis; G-10: 10% garlic added on ground pork weight basis; G-20: 20% garlic added on ground pork weight basis; G-ex.: 10% garlic extracts added on ground pork weight basis.

2. 분쇄돈육의 저장 중 Thiobarbituric acid value (TBA가)의 변화

각각의 마늘과 마늘추출물을 첨가한 분쇄돈육의 냉장 중 TBA값의 변화를 비교한 결과는 Table 14와 같다. 모든 처리구의 TBA값은 과산화물가와는 달리 저장 10일까지 계속 증가하였다. 이는 마늘과 마늘추출물의 첨가에 관계없이 지방의 산화가 일어났음을 의미하며 마늘과 마늘추출물을 첨가한 처리구들의 TBA값이 대조구에 비해 낮은 값을 나타내는 것은 첨가구들이 대조구에 비해서는 지방의 산화가 지연되었다고 추정된다. 각각의 마늘과 마늘추출물을 첨가한 가열 돈육의 냉장 중 TBA가의 변화는 저장 8일부터 급격한 증가를 나타내었다.

대조구의 TBA가의 변화는 10일까지 계속 증가하는 것과 생마늘 20%처리구와 마늘추출물 첨가구의 값이 저장 6일까지 낮게 유지된 것을 제외하고는 마늘의 첨가량이 많을수록 TBA값이 낮고 마늘추출물 10%처리구가 생마늘20%와 같은 경향 등은 과산화물가와 거의 유사하였다 또한 저장 8일경부터 TBA값의 급격한 증가는 peroxide 생성 후 2차 지방 산화 생성물인 malonaldehydes로 다시 분해되어 나타난 현상으로 생각된다. 이상의 결과로 보아 분쇄돈육을 저장 시 마늘을 첨가하면 저장기간을 다소 연장시킬 수 있다고 판단된다. 특히 마늘을 대량으로 탈피하고 식품에 첨가 할 때는 마늘 뿌리 부분을 제거하고 폐기하는데 이 폐기 부위인 뿌리 부분에는 많은 마늘 성분을 함유하고 있다. 이러한 폐기부위에서 50%ethanol으로 추출하여 이 추출물을 여러 가지 식품의 맛뿐만 아니라 항산화작용을 증가시킬 수 있을 것으로 판단된다.

제 5 절 마늘의 산막효모의 가스발생 및 산막형성에 미치는 영향

분리된 산막효모의 가스발생과 산막형성에 마늘 성분이 미치는 영향을 조사 한 결과는 Table 15와 같다. 마늘추출액을 첨가 시(0.5 2%)에는 배양 30일까지 SP-1을 제외한 다른 산막 효모들은 가스와 산막을 생성하지 않았다. SP-1은 마늘즙 0.5% 첨가 시에는 8일 후에는 가스, 19일 후에는 산막이 형성되었고, 1% 이상 첨가 시에는 모든 효모들이 가스와 산막을 생성하지 않았다. 동결마늘의 경우(0.5 1.5%)는 모든 효모들이 가스와 산막을 생성하지 않았다. 이 결과는 마늘즙액은 1%의 농도에서도 효모의 번식을 대단히 강력하게 저해하였다고 보고(16)와 일치하고 있다.

Table 14. Changes in thiobarbituric acid value(TBAvalue) of ground pork treated with garlics and garlic extracts during 10days storage at 4℃

unit : OD/10g

Treatment 1)		Storage days 0	2	4	6	8	10
uncooked	Control	0.08±0.00	0.18±0.00	0.30±0.00	0.39±0.00	0.66±0.00	0.81±0.00
	G-5	0.09±0.00	0.20±0.00	0.28±0.00	0.35±0.00	0.56±0.00	0.77±0.00
	G-10	0.09±0.00	0.18±0.00	0.25±0.00	0.30±0.00	0.42±0.00	0.702±0.00
	G-20	0.09±0.00	0.11±0.00	0.14±0.00	0.13±0.00	0.31±0.00	0.51±0.00
	G-ex.	0.05±0.00	0.07±0.00	0.08±0.00	0.08±0.00	0.40±0.00	0.63±0.00
cooked	Control	0.07±0.00	0.20±0.01	0.34±0.00	0.45±0.02	0.75±0.01	0.92±0.00
	G-5	0.08±0.00	0.12±0.00	0.38±0.00	0.43±0.00	0.69±0.01	0.86±0.00
	G-10	0.08±0.00	0.09±0.00	0.34±0.01	0.39±0.00	0.44±0.00	0.73±0.00
	G-20	0.10±0.00	0.10±0.00	0.16±0.00	0.16±0.01	0.34±0.00	0.61±0.00
	G-ex.	0.05±0.00	0.08±0.00	0.09±0.00	0.15±0.00	0.41±0.00	0.75±0.00

1)Control: no garlic ; G-5: 5% garlic added on ground pork weight basis; G-10: 10% garlic added on ground pork weight basis; G-20: 20% garlic added on ground pork weight basis; G-ex.: 10% garlic extracts added on ground pork weight basis.

간장 및 된장은 제조, 저장 및 유통과정 중에 효모가 혼입되면 간장의 표면에 산이 형성되기도 하고 용기 내에 가스가 생성되어 제품의 품질이 저하되어(52) 상품가치가 떨어지는 결과가 초래되는 경우가 있기 때문에 제품간장 및 된장에는 p-hydroxy benzoic acid ester류, benzoic acid, sodium benzonate, sorbic acid등의 합성보존료를 첨가하여 간장의 방부제에 이용하고 있다(54). 최근 소비자들의 식품에 대한 지식과 관심이 높아져서 합성보존료가 첨가된 제품의 사용을 기피하려는 경향이 있기 때문에 인체에 해가 없는 천연물을 소재로한 새로운 천연보존료의 개발을 서두르고

Table 15. The first day when gas formation and film was observed on YMPGSB incubated at 30℃ during 30 days

(unit:day)

	Conc.	Strains	SS-1	SS-2	SP-1	SP-2	SP-3
Control		Gas	1	1	1	1	1
		Film	3	2	2	-	3
Garlic extract	0.5%	Gas	-	-	7	-	-
		Film	-	-	19	-	-
	1%	Gas	-	-	-	-	-
		Film	-	-	-	-	-
	2%	Gas	-	-	-	-	-
		Film	-	-	-	-	
Freeze-dry garlic	0.5%	Gas	-	-	-	-	-
		Film	-	-	-	-	-
	1%	Gas	-	-	-	-	-
		Film	-	-	-	-	-
	1.5%	Gas	-	-	-	-	-
		Film	-	-	-	-	-

- : Gas and Film was not observed during 30 days of storage

있다. 만약 이러한 간장 및 된장에 값이 싼 마늘이나 혹은 마늘 폐기부위인 마늘 뿌리 부분을 추출하거나 혹은 직접 마늘을 분쇄하여 첨가한다면 간장 및 된장의 맛을 향상 시킬수 있을 뿐만 아니라 산막효모의 발생을 억제할 수 있는 좋은 방법이 될 수 있을 것으로 판단된다.

제 4 장 참고 문헌

1. **농림수산부 : 농림수산 주요통계**. p296(1998)
2. **농림수산부 :** '97 **과실 및 채소류 가공현황**. p46(1997)
3. Carson J. F. : Chemistry and biological properties of onions and garlic, *Food review Interactions*, 13(1&2), 71(1987)
4. Mazelis, M and Crews, L. : Purification of the alliin lyase of garlic, *alliium sativum L. Biochem. J.*, 108, 725(1968)
5. Bronitz, M.H. and Pascale, J.V. : Flavor components of garlic extract. *J. Agr. Food Chem.*, 19(2), 273(1971)
6. Cavallito, C. J. and Bailey, J. H. : Alliin, the antibacterial principle of Allium sativum. I. Isolation, physical properties, and antibacterialaction. *J. Am. Chem. Sco.*, 66, 1950(1944)
7. Cavallito, C. J. and Bailey, J. H. : Alliin, the antibacterial principle of Allium sativum. Ⅱ. Isolation, physical properities, and antibacterialaction. *J. Am. Chem. Sco.*, 66, 1952(1944)
8. Small, L.D., Bailey, J.H. and Cavallito, C.J. : Alkyl thiosulfinates, *J.Am. Chem.*, 69, 1710(1947)
9. Bogin, E. and Abrams, M. : The effect of garlic extract on the activity of some enzymes, *Fd. Cosment. Toxicol.*, 417(1976)
10. **전희정, 이성우 : 마늘성분의 산화방지작용에 관한 연구, 대한가정학회지**,24(1), 43(1986)
11. **内藤茂三, 山口直彦, 横尾良夫: ネギ類植物からの 抗酸化物の 検索,日本食品工業學會誌**, 28, 6(1981)

12. 강진훈 : 마늘 및 생강추출물의 DNA 손상 억제 작용.한국식품과학회지,20(3), 287(1988)

13. 조길석, 김현구, 권동진, 박무현, 신효선 : 마늘 oreoresin 의 제조 및 저장안정성에 대한 연구. 한국식품과학회지, 22, 846(1990)

14. Sakai, I : Efficiency of garlic ingredients and methods for deodorized effect. *Shokuhim to Kaihatsu*, 27, 19(1992)

15. 손경현, 임재각, 공영훈, 박지용, 野口明德 : 고압 처리에 의한 allinase의 불활성화가 마늘의 풍미에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 28(3), 593(1976)

16. 경규항, 김영성 : 발포 시판 간장에 존재하는 효모의 분리 및 동정. 한국식품영양학회지, 10(1), 97(1997)

17. 최진호, 오성기 : 고려인삼의 노화억제 작용에 관한 연구. 한국식품과학회지, 17, 506(1985)

18. Kato, H., Lee, I.E., Cheyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. : Inhibitory of nitrosamine of formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, 51(5), 1333(1987)

19. 김동수, 안방원, 염동민, 이동호, 김선봉, 박영호 : 천연 식품 성분에 의한 발암성 니트로사민 생성인자 분해 작용. 1. 야채추출물의 아질산염 분해 작용. 한국수산학회지, 20(5), 463(1987)

20. Joan Han, J., Lawson, L., Grace Han, G. and Peter Han, P. : A spectrophoto-metric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinates. *Analytical Biochemistry*, 225, 157(1995)

21. AOCS 3rd. ed. Am. Oil Chem. Soc. Cd 8-53 (1978)

22. Witte, V.C., Krause, G.F., and Bailey, M.E. : A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. of Food Sci.*, 35, 582(1970)

23. Fox, J.B. and Ackerman, S.A. : Formation of nitric oxide myoglobin: mechanism of the reaction with various reductants. *J. of Food Sci.*, 33, 364(1987)

24. Tung-Hsi Yu, Chung-May Wu, and Yoh-Cherng Liou : Volatile compounds from Garlic. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 725(1989)

25. Gunston, F.D. and Norris, F.A. : Lipids in foods chemistry, biochemistry, technology. *Pergamon Press Inc.*, p58(1983)

26. Lawson, L.D., Wood, S.G. and Hughes, B.G. : *Planta Med.*, 57, 263(1991)

27. Yu, T.H., Wu, C.M., and Liou, Y.C. : Effects of pH adjustment and subsequent heat treatment on the formation of volatile compounds of garlic, *J. of Food Sci.*, 54(3), 632(1989)

28. Larry D.L., Zhen-Yu J.W. and Bronwyn, G.H. : Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thio sulfinates in commercial garlic products, *Planta Med.*, 58, 263(1992)

29. Larry I.D., and Bronwyn G.H. : Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Med.*, 58, 263(1992)

30. Stoll, A., and Seeback, E. : Chemical investigation on alliin, the specific principle of garlic. *Advan. Enzymol.*, 11, 377(1951)

31. Pikul, J., Leszcczynski, D.E., Bechtel, P.Z. and Kummerow F.A. : Effect of frozen storage and cooking on lipid oxidation in chicken meat. *J.of Food Sci.*, 49, 838(1984)

32. Igene, J.O., King, J.A., Pearson, A.M. and Fray, J. I. : Influence of heme pigments, nitrite and non-heme iron in development of warmed-over flavor (WOF) in cooked meat. *J. Agric. Food Chem.*,27, 838(1979)

33. **大西 博** : **醤油醸造と微生物(Ⅲ)**. J. Jpn. Soy Sauce Res. Inst., 5(3), 129(1979)

34. **竹內弘明** : Studies on decrease of p-oxybuthyl benzoate in laminated can with vinylchloride. **日本醬油技術會 秋季 硏究 發表會**, 16(1966)

제 3 세부과제. 식품산업 폐기물 현황조사

제 1 장 서론

산업사회의 발달에 따라 소득이 증가되면서 식품도 양의 문화에서 질로 변화되어 식품에 대한 기호가 다양해졌고 이에 따라 다양한 식품가공업이 등장하게 되었다. 광의의 의미로 식품산업은 농·수·축산물의 생산·가공 유통단계에서 행하여지는 제반 경제행위를 수행하는 산업활동을 의미하며, 여기에는 협의의 식품산업 즉 식품가공업(음·식료품)제조 외에 원료 농·수·축산물의 수집, 중계, 운송, 보관과 식품제조기계 또는 설비제작, 용기 및 포장제조업 등을 포함한다.

’95년말 우리 나라의 식품가공업(음·식료품제조)은 전체 산업(광공업 및 제조업)중 6.77%의 부가가치를 창출(음·식료품 제조가 제조업에서 차지하는 비중은 6.83%)하고 있으며, 고용측면에서는 전체 산업의 6.92%, 제조업부문에서는 약 7%를 담당하고있다.[광공업조사 통계보고서, 통계청, 1997(1995년 현황)]

식품산업의 원료로서 국내 농·수·축산물의 생산량은 총 23,620,070M/T으로 농산물은 이중 약 70%를 차지하는 16,433,980M/T으로 곡류, 서류, 두류, 채소류, 과실류, 설탕류, 견과류, 종실류로 크게 나누어지며 채소류 6,871,206M/T(41.8%), 곡류 5,392,082M/T(32.8%), 과실류 1,929,610M/T(11.7%)의 순으로 생산량이 되고있다. 수산물의 경우에는 총 3,412,357M/T이 생산되어 어류가 50.8%로 과반수를 차지하고 있고, 축산물의 경우 3,773,733M/T으로 유제품이 51.4%를 육류가 36.6%를 계란류가 11.7%를 차지하고 있는 것으로 나타났다. 전체적으로는 채소류, 곡류, 유제품류, 과실류, 어류, 육류 등의 생산비가 높은 것으로 나타났다.(Table. 1.1) 우리 나라에서 생산된 식품원료 중 1,536,781M/T(국내 농·수·축산물 생산량의 6.5%)이 수출된 반면 국내 생산량의 60%에 해당하는 14,116,656M/T이 수입되고 있다. 주요 수입대상은 농산물로 수입량의 93.6%를 차지하고 있다.(Table. 1.2) 따라서 국내에서 식품원료로서 유통되는 총 규모는 39,273,507M/T으로 이중 76.7%인 30,112,088M/T이 농산물이

다. 축·수산물의 경우 1차 가공단계에서 대부분의 폐기물이 발생된다는 점을 감안하면 식품가공에서의 폐기물은 주로 농산물에서 기인하는 것으로 볼수있다.

식품산업에 관한 자료는 주요 식품별 생산량과 소비량, 수출입량 등 통계 자료가 매년 발표되고 있으나 원료로부터 최종 제품생산까지의 전 단계에서 폐기물발생에 대한 연구는 거의 되어있지 않고 있으며 식품제조·가공분야에서 발생하는 폐기물도 특정폐기물(액상과 고상)에 대하여 환경부의 폐기물 발생자료가 있을 뿐 일반폐기물 발생에 대한 자료는 정리되지 않고 있다.

이에 따라서, 본 연구는 식품가공공정에서 발생하는 폐기물의 발생현황과 폐기물중 재활용 가능성이 있는 종류와 양을 추정하여 종류와 형태에 따른 재활용의 가능성을 검토하기 위한 폐기물 발생현황 조사를 시도하였다.

Table. 1.1 **국내 농·수·축산물 생산량**

품 목		생산량(M/T)	비 율(%)
농산물	곡류	5,392,082(32.8%)	22.8
	서류	736,471(4.5%)	3.1
	두류	194,671(1.2%)	0.8
	채소류	6,871,206(41.8%)	29.1
	과실류	1,929,610(11.7%)	8.2
	설탕류	1,148,992(7.0%)	4.9
	견과류	106,102(0.7%)	0.4
	종실류	54,846(0.3%)	0.2
소계		16,433,980(100%)	69.5
수산물	어류	1,721,042(50.4%)	7.3
	패류	914,213(26.8%)	3.9
	기타 수산물	777,102(22.8%)	3.3
소계		3,412,357(100%)	14.5
축산물	유제품	1,955,939(51.8%)	8.3
	육류	1,377,481(36.6%)	5.8
	계란류	440,313(11.7%)	1.9
소계		3,773,733(100%)	16.0
계		23,620,070	100

자료 : 1994식품수급표, 한국농촌경제연구원, 1995

Table. 1.2 **농·수·축산물 국내 생산·소비량 및 수출·입 현황**('94)

(단위 : M/T)

품목	국내생산량	수입량	수출량	국내소비량	수입량/소비량(%)
농산물	16,433,980	13,214,023	464,085(30.2%)	29,183,918	45.3
수산물	3,412,357	747,427	1,061,424(69.1%)	3,098,360	24.1
축산물	3,773,733	155,206	11,272(0.7%)	3,917,667	4.0
계	23,620,070	14,116,656	1,536,781(100%)	36,199,945	39.0

제 2 장 조사방법 및 내용

제 1 절 조사방법

1. 대상 업종

대상업종은 표준산업분류에 따라 11개 분야로 나누어 조사하였다. 대분류인 제조업 중 광의의 식품산업분류를 적용하였을 경우 축산, 수산, 곡류(표 2.1의 1,2,3번 항목) 가공은 농·축산물만을 1차 가공측면에서 대상으로 하였으며 그 외에는 주로 음·식료품제조업을 중심으로 한 협의의 식품가공분야로 공정별 발생의 경우 대부분이 여기에 포함된다. 대상업종의 세분류는 Table. 2.1과 같다.

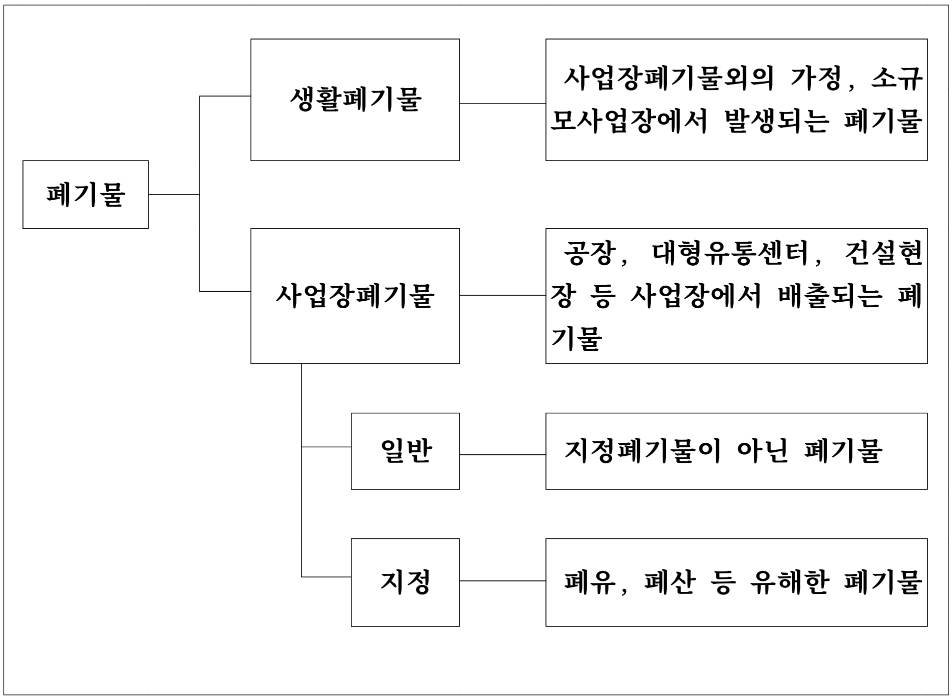
Table. 2.1 표준산업분류에 따른 식품산업분류

1. 육지동물고기 가공 및 저장처리업
2. 수생동물 가공 및 저장처리업
3. 곡실, 과실, 채소 가공 및 저장처리업
4. 동식물성 유지제조업
5. 낙농품 제조업
6. 전분 및 제빵, 제과
7. 국수 및 유사식품
8. 당류 및 설탕
9. 조미료 및 식품 첨가물
10.음료
11.기타(사료,동식물성 혼합,커피,두부,차류,건강식품,식용부적합제품등)

2. 대상 폐기물

기존에 수집된 조사연구 보고서의 대부분이 1994년에 시행된 분류체계를 중심으로 조사되어 있어 이를 이용하되 가급적 최근 자료를 이용하려고 하였다. 최근 자료는 지난 '96년 1월에 변경된 환경부의 폐기물 분류체계(Fig.2.1)는 생활폐기물과 사업장 폐기물로 나누어지며 사업장폐기물의 경우 다시 일반폐기물과 지정폐기물로 분류되어 있다. 지정폐기물의 경우는 유해성이 있는 사업장폐기물로 환경부 폐기물 통계조사의 주요 대상이다. 취합된 자료는 120여개 식품제조업에서 발생하는 것만을 대상으로 하여 전체 식품제조업의 통계자료로 사용하기에는 대표성이 부족하였다. 본 연구에서는 지정폐기물의 경우 전체적인 경향만을 살펴보았고 주로 제조공정중 발생되는 일반폐기물에 대해 조사하고자 하였다. 특히 사업장 폐기물중 일반폐기물의 경우 공정별 세분이 안되어 있어 재활용이 가능한 식품 부산물에 대해 발생공정의 원단위에 입각하여 전체 발생량을 원료사용에 따른 비율로 추정하였다.

Fig.2.1 폐기물 분류표(1996.1.)



3. 문헌자료 활용

식품산업에서의 폐기물발생에 대한 자료가 없어 원료·생산 등에 입각하여 투입물·배출물의 접근방법을 사용하였다. 주로 정부기관에서 발행된 행정 통계자료 및 각종 조사연구 보고서를 중심으로 원료사용량, 가공부산물 발생비율, 생산량 중 폐기물 발생비율 등을 조사·분석하였다.

식품산업 및 공정현황 : 1994년도 식품수급표, 광고업조사통계, 식품기술 및 식품 가공학 등의 서적을 중심으로 인용하였고, 인터넷을 이용하여 농림부를 비롯한 조사통계를 이용함.

폐기물 발생처리현황 : 환경백서, 전국폐기물조사통계조사, 지정폐기물조사통계보고서 등과 인터넷을 이용하였음.

제 2 절 현장조사

실제 대표성을 띌 수 있는 원료사용 또는 제조공정에 대해 조사 가능한 식품업체를 선정하여 방문하였고 다음과 같은 양식으로 설문조사를 통해 업체현황 및 폐기물발생 현황을 조사하였다.

- 설문 내용 -

1. 폐기물의 발생현황

가. 제품명 및 일일제품 생산량(kg, ton, kl)

나. 발생폐기물의 종류 및 발생량(kg, ton, kl)

종류 ㉠ : / 하루 발생량, 연간 발생량

㉡ : 〃

다. 연간 제품 생산량(kg, ton, kl)

라. 폐기물의 종류 및 연간 발생량(kg, ton, kl)

마. 주요 생산품의 가공공정도 및 단위 원료당 폐기물의 발생비율 및 발생공정

2. 폐기물의 처리방법과 그 비율(%)

가. 다른 가공원료로 이용 _______(%)

나. 동물사료로 이용 _______(%)

다. 퇴비로 이용 _______(%)

라. 음식물 쓰레기와 같은 방법으로 폐기 _______(%)

마. 자체 소각 _______(%)

바. 기타 방법(위탁처리) _______(%)

3. **기타 업체에서 해결하고 싶은 문제점**

제 3 장 조사결과

제 1 절 식품산업 현황

1. 제조현황

광공업조사통계보고서의 세분류에 따른 11개 분야의 업종별 업체수와 생산실적, 업체수에 따른 생산량을 살펴보았다.(Table. 3.1) 생산량에서는 낙농품이 전체의 28.6%인 19,470,346M/T을 1996년에 생산하였으며, 기타업종, 수생동물 가공 및 저장처리업, 음료업 등의 순으로 생산하였다. 그러나 기타업종의 경우 제조업체수가 상대적으로 많아 업체별 생산실적은 저조하였으며 생산실적을 업체수로 나눈 값은 연간 3,306M/T에 불과하였다. 업체당 평균생산량이 높은 업종으로는 낙농품제조, 음료제조, 당류 및 설탕, 수생동물 가공 및 저장 처리 업이었고 전분 및 제과, 제빵, 국수류 제조 등은 낮은 생산량을 보이고 있다.

전체 제조업과 협의의 식품산업인 음·식료품 제조업을 비교한 결과 음·식료품제조업의 경우 제조업과 마찬가지로 상시종업원 50인 이하의 중·소기업의 형태가 87.4%를 차지하고 있는 것으로 조사되었다. Table. 3.1의 사업체수의 합계가 다른 이유는 한 업체에서 세가지의 제품을 생산할 경우 그에 해당하는 분류로 각각 포함하여 Table. 3.1의 사업체수가 Table. 3.2의 사업체 수보다 두 배 이상 크게 나타나는 것으로 보여진다. 생산액의 경우 전체의 7.2%에 머물고 있으며 특히 중소기업에서의 생산액비율은 제조업 전체 중소기업 평균보다 낮아 매우 영세한 것으로 나타났다.

Table. 3.1 식품산업 현황('96)

업 종	업체수 (개소)	(%)	생산실적 (M/T)	(%)	생산량/업체수 (MT/개소)
육지동물고기 가공 및 저장처리업	901	7.3	2,775,258	4.1	3,080.2
수생동물 가공 및 저장처리업	573	4.6	7,814,883	11.5	13,638.5
곡실,과실,채소가공 및 저장처리업	1,539	12.4	5,050,736	7.4	3,281.8
동식물성 유지제조업	498	4.0	997,873	1.5	2,003.8
낙농품 제조업	156	1.3	19,470,346	28.6	124,809.9
전분 및 제빵, 제과	1,830	14.7	2,607,726	3.8	1,425.0
국수 및 유사식품	789	6.4	1,624,614	2.4	2,059.1
당류 및 설탕	96	0.8	1,937,433	2.8	20,181.6
조미료 및 식품 첨가물	1,062	8.6	3,543,263	5.2	3,336.4
음료	297	2.4	6,817,282	10.0	22,953.8
기타(사료,동식물성 혼합,커피,두부,차류, 건강식품,식용부적합 제품등)	4,671	37.6	15,445,742	22.7	3,306.7
계	12,412	100.0	68,085,156	100.0	5,485.4

※품목군 : 1개 업소에서 다수의 품목을 생산하는 경우, 이를 합산한 식품군의 수임 (예: 과자류 제조업에서 건과류, 껌류, 캔디류를 생산할 경우 식품군의 수는 과자류 3개업소임)

자료 : 한국식품위생연구원(http://www.foodnet.co.kr)

Table. 3.2 **전체 제조업과 음·식료품 제조업의 비교**

		사업 체수		종업원 수		생산액		출하액		부가가 치	
		(개)	비중	(명)	비중	(억원)	비중	(억원)	비중	(억원)	비중
제조업	합계	96,202	100	2,951,885	100	364,821	100	358,887	100	159,448	100
	중소기업	87,931	91.4	1,173,461	39.8	74,772	20.5	73,914	20.6	33,681	21.1
	대기업	9,353	8.6	1,778,424	60.2	290,049	79.5	284,937	79.4	125,767	78.9
음식료품 제조업	합계	6,248	100	206,451	100	26,430	100	26,234	100	10,885	100
	중소기업	5,460	87.4	75,425	36.5	5,239	19.8	5,177	19.7	1,891	17.4
	대기업	788	12.6	131,026	63.5	21,191	80.2	21,058	80.3	8,994	82.6

주 : 중소기업구분은 중소기업기본법 시행령 제 2조에 위한 산업분류중(2Digits)상시근로자 기준이며, 특례업종은 적용하지 않음. 단, 농림어업은 중소기업에 대한 여신운용세칙(한은)의 상시종업원 500인 이하 제조업(5-49인)

자료 : 1995광공업통계조사보고서, 통계청, 1997

2. 가공공정에서의 원료사용 현황

1차 산업의 산물인 농·축산물 등은 1차(전처리)가공(곡류의 경우 도정)후에 식품원료로 사용되며 도정후 쌀 채소류 등은 생산품 자체로 식품에 이용된다. 대부분의 경우 별도 가공없이 가정이나 음식점등에서 식품으로 직접 이용되나 일부 2차 가공공정을 거쳐 가공품의 형태로 소비되어 진다. 다소의 차이는 있으나 원료에 따라 곡류류(서류, 두류, 견과류, 종실류 포함)의 경우 약 34.4%, 채소류의 경우 3.9%, 과일류 16.7%, 축산물의 경우 23.7%정도가 가공원료로 활용되어지고 있다.

전체적으로 국내 총 유통소비량 34,446천M/T(기타 미집계분을 포함시 총소비량은 36,200천M/T. Table. 1.1)의 약 24%에 해당하는 8,481천M/T이 순수 식품가공 원료(직접순식용 가공, 수출가공, 사료 등은 제외)로 사용되는 것으로 나타났다.(Table. 3.3)

Table. 3.3 농·수·축산 원료의 식품가공비율

(단위 : 천M/T)

품목			국내소비량 (A)	가공량 (B)	B/A (%)	가공품유형
농산물	곡류	쌀	5,059.8	174.0	3.4	쌀과자,떡,α미,전투식량,백미분
		보리	312.5	307.0	98.2	미숫가루,과자류
		밀	6,052.2	44.0	0.7	국수류,전분,과자류
		옥수수	5,410.6	2,423.2	44.8	전분,튀김,팝콘,유지
	서류	감자	489.4	12.8	2.6	전분,튀김제품
		고구마	247.1	123.3	49.9	전분,튀김제품,곤약
	두류	대두	1,453.4	1,509.0	72.9	장류,두부류,콩나물,앙금류,유지
	견과류	밤	66.1	9.5	14.3	통조림
	종실류	참깨	63.1	35.7	56.6	유지
		기타	26.9	23.9	88.8	
	소 계		19,181.1	4,662.4	24.3	
	채소류	배추	2,673.7	153.7	5.7	배추김치,건조식품,건배추김치
		무	1,602.6	88.2	5.5	단무지,김치,무말랭이,깍두기,무장아찌,건무청,동치미,모듬장아찌,선박지
		양배추	172.6	3.6	2.1	김치,건양배추,샐러드
		파	493.8	0.3	0.1	건파,파김치
		양파	599.4	1.2	0.2	건양파,양파분말,야채스프
		마늘	408.5	1.1	0.3	마늘짱아찌,마늘절임,깐마늘,건마늘
		오이	307.3	3.1	1.0	오이지,오이피클,장아찌,오이지,오이김치
		토마토	169.2	0.2	0.1	쥬스,케찹
		고추	175.5	4.6	2.6	고춧가루,고추장,죽염고추장,고추절임
		당근	149.5	6.3	4.2	건당근,당근칩,당근정과
		딸기	150.7	3.9	2.6	냉동딸기,딸기쨈,딸기캔
	소계		6,902.8	266.2	3.9	

※ 밀과 옥수수,감자 등의 가공비율이 예상보다 낮은 이유는 국내소비량[(국내생산량+수입량)-수출량]의 계산시 수입되는 것은 모두 전분형태로 가공되어 온 것으로 가정하여 산정함.

Table. 3.3 계속

(단위 : 천 M/T)

품목			국내소비량 (A)	가공량 (A)	A/B (%)	가공제품
농산물	과일류	사과	614.2	160.0	26.0	쥬스,잼,술,통조림,식초
		배	161.0	0.2	0.1	쥬스,잼,통조림,식초
		복숭아	114.8	36.0	17.0	쥬스,통조림
		감귤	547.9	25.0	21.8	쥬스,잼,통조림,술,식초
		포도	211.9	63.0	11.5	쥬스,잼,통조림,건포도,술,식초, 포도씨유
		기타	136.7	15.0	11.0	
	소계		1,786.5	299.2	16.7	
합 계			27,870.4	5,227.8	18.8	
수산물			3,098.4	2,486.0	80.2	통조림,자건품,염건품,어육제품, 염신품,소건품,젓갈류,훈연품, 조미가공품,어분,어유
축산물	쇠고기		266.9	4.1	1.5	육포,통조림,소고기퍼터
	돼지고기		635.1	60.2	9.5	햄,소시지,냉동패티류,돈까스, 통조림,베이컨
	기타육류		609.4	122.4	20.0	
	유제품		1,966.4	580.9	29.5	치즈,버터,발효유,분유류,산양유,아이스크림,연유,저지방유
소계			3,477.4	767.6	22.1	
총계			34,446.2	8,481.4	24.6	

제 2 절 식품폐기물 발생현황

1. 폐기물 발생현황

가. 일반폐기물

식품산업에서 발생하는 폐기물 중 사업장 생활계 폐기물과 지정폐기물을 제외한 일반폐기물의 경우는 아직 정확한 통계조사가 이루어지지 않고 있는 실정이어서 1994년 식품수급표(한국농촌경제연구원, 1995)를 기초로 가공공정 원료투입량과 원료가공시의 폐기물 발생비율을 활용하여 전체적인 발생량을 추정하였다. 식품폐기물의 주요 특성은 원료중 비가식 부위가 폐기물의 주성분으로 생산규모에 따른 특성보다는 원료사용량에 따라 결정되며 발생량이 원료사용량에 정비례하는 특성을 갖는다. 1차 산업산물 중에 벼, 가축등과 같이 직접식품으로 이용이 불가능한 원료의 경우 전처리(1차 가공) 단계에서 발생하는 폐기물은 개략적으로 농산물 1,795.3천M/T, 축산물 142.9천M/T등 총 1,938.2천M/T이며 농산물이 전체의 92.6% 이상을 차지하는 것으로 조사되었다. Table. 3.4는 식품산업에 사용되는 각각의 원료들의 제조시 폐기물 발생비율을 사용하여 일반폐기물의 발생량을 산출한 것으로 1994년도 식품관련 물질의 유입 총량은 국내에서 생산되는 23,620천M/T/년을 포함하여 34,446천M/T으로, 이중 약 24%에 해당하는 8,481천M/T이 식품가공산업의 원료(순식용 직접가공, 수출가공, 사료 등은 제외)로 사용되고, 가공원료로 사용된 양 중 약 8.5%에 해당하는 719.3천M/T이 원료의 비가식부 폐기물로 발생하는 것으로 조사되었다. 중소기업에서의 청정생산구축을 위한 프로그램개발(환경부,1996)의 자료를 살펴보면 폐기물 발생비율은 품목에 따라 매우 큰 차이를 보이고 있는데 채소류 33.3%, 과실류 25.1%, 견과류 25.0%, 수산물 15.9%, 서류 14.6% 등의 순으로 원료대비 폐기물 발생률이 높았으며 수산물 395.3천M/T, 곡류 106.1천M/T, 채소류 88.7천M/T, 과실류

75.1천M/T이 발생하는 것으로 추정되었다. 실제조사에 의한 가공단계에서의 폐기물 발생량은 채소류의 경우 유통 생산대비 3.9%인 266.3천M/T으로 총 206.9천M/T의 제품으로 생산되었고(약 77.7%의 가공 수율), 따라서 나머지 22.3%에 해당하는 59.3천M/T의 양이 폐기물로 배출되는 것으로 추정되어지며 앞에서 살펴본 자료(중소기업에서의 청정생산구축을 위한 프로그램개발)과는 다소차이를 보였다.

폐기물 발생량이 많은 품목으로는 배추, 무, 당근, 호박, 양배추 등의 순서로 추정되며 과일류 가공의 원료투입량은 연간 299.2천M/T으로 폐기물 발생량은 연간 75.1천M/T이 발생하는 것으로 나타났다. 축산물가공의 경우 국내에서 총 3,234.8천M/T의 축산물이 공급되어 이중 767.6천M/T(23.7%)이 육가공 산업의 원료로 활용되어 제품이 생산되었고, 이 과정에서 약 12.1천M/T의 폐기물이 발생하는 것으로 조사가 되었다. 수산물의 경우 집계가 다소 어려워 정밀한 수치의 조사가 이루어지지 않았으나, 약 3,098.4천M/T의 수산물이 가공에 원료로 사용되어 2,486.0천M/T이 가공되었고, 이중 395.3천M/T의 폐기물이 발생된 것으로 추정된다.

나. 지정폐기물

식품산업에서 발생하는 폐기물중 공정폐기물의 경우 '93년 1,203개 업소에서 653,923M/T이 발생하던 것이 '94년에 폐기물의 분류체계가 바뀌면서 특정폐기물 사업장 일반폐기물과 유해성이 있는 지정폐기물로 분류되었으며 지정폐기물의 경우 업체수 및 발생량이 Table. 3.5에서 처럼 감소된 것으로 나타났다. 그러나 조사대상 업체수가 121개로 우리 나라 전체 음식료품 제조업체수의 2.0%(전체 식품산업체 12,412개소의 1%)에 불과하여 통계자료로의 활용은 매우 제한적이나 이들 지정폐기물의 발생공정이 대기업형 제조시설에서 유래되는 것으로 보여진다. 직접비교는 다소 무리가 있으나 지정폐기물 발생량은 연간7,420M/T으

로 일반폐기물 발생량의 0.13%수준이다. 배출량이 가장 많은 것은 폐알칼리로 식품 가공공정의 세척시 발생하는 것으로 연간 4,261M/T(전체의 57%)으로 나타났으며 발생업체수가 많은 대상폐기물은 폐유로 94개 업소에서 배출하는 것으로 조사되었다.(Table. 3.6) 폐알칼리의 경우 음료제조분야에서 대부분 발생하였고 폐유의 경우 모든 음식료품 제조업에서 발생하고 있으며 이는 설비가동중에 사용하는 윤활유 등이 주요 원인인 것으로 보인다. 공정오니도 음료제조업에서 발생하고 있어 용수사용량이 많고 공정 세정이 필수적인 공정특성의 영향으로 보인다.(Table. 3.7)

Table. 3.4 식품산업에 발생되는 원료별 폐기물 발생량(비율)

(단위 : 천M/T/년)

종류	가공원료량	폐기물 발생량	폐기물 발생비율(%)
곡 류	2,948.2	106.1	3.6
서 류	136.1	20.0	14.7
설탕류	0.1	1	0.7
두 류	1,509.0	18.1	1.2
견과류	9.5	2.4	25.0
종실류	59.6	0.5	0.9
채소류	266.3	88.7	33.3
과실류	299.2	75.1	25.1
육 류	186.7	8.0	4.3
우유류	580.9	4.1	0.7
수산물	2,486.0	395.3	15.9
합 계	8481.0	719.3	8.5

Table. 3.5 **공정폐기물 발생추이**

	1993년도(특정폐기물)				1994년도(지정폐기물)			
	배출량	발생비	업소수	배출량/업소수	배출량	발생비	업소수	배출량/업소수
	(M/T/년)	(%)	(개소)	(M/T/년·업소)	(M/T/년)	(%)	(개소)	(M/T/년·업소)
발생량	653,923	8.0	1,203	543.6	7,420	0.5	128	58.0

참고자료 : 중소기업에서의 청정생산구축을 위한 프로그램의 개발, 환경부, 1997

Table. 3.6 **식품산업에서 지정폐기물 발생현황**('94)

(단위 : M/T/년)

		배출량 (M/T/년)	폐기물별 발생비*(%)	업종별 발생비(%)	업소수 (개소)	배출량/업소수 (M/T/년·업소)
폐 산		136.69	0.03	1.84	5	27.34
폐알칼리		4,261.86	1.26	57.44	7	608.84
폐 유		916.50	0.50	12.35	94	9.75
폐유기용제		13.90	0.01	0.19	4	3.48
폐합성 고분자화합물		17.70	0.03	0.24	2	8.85
용출시험 대상폐기물	폐석면	1.68	0.04	0.02	2	0.84
	분진	15.87	0.01	0.21	4	3.97
	소각 잔재물	8.00	0.22	0.11	1	8.00
	계	25.55	0.27	0.34	7	12.81
지정오니		39.43	0.04	0.53	1	60.00
공정오니		2,008.13	11.50	27.06	1	2,008.13
계		7,419.76		99.99	128	2,739.2

Table. 3.7 **식품산업에서 지정폐기물 발생현황**('94)

(단위 : 톤/년)

폐기물종류 / 업종	폐산	폐알칼리	폐유	폐유기용제	폐합성고분자화합물	용출시험대상폐기물	지정오니	공정오니	계
낙농품 제조업			93						93
전분 및 제빵, 제과		10	99			8			117
국수 및 유사식품			16			14			29
당류 및 설탕			92						92
코코아제품 및 설탕과자			1						1
조미료 및 식품첨가물	7		59	2		1			68
음료	40	4,252	334		0.16	1		2,008	6,635.16
계	47	4,262	694	2	0.16	24		2,008	7,035.16

자료 : 특정폐기물 배출원단위조사 및 활용연구, 환경관리공단, 1996

제 3 절 식품폐기물 발생공정

1. 가공 단계별 폐기물 발생현황

가. 1차 가공

식품폐기물 발생은 발생공정 및 원료특성에 따라 1차 가공과 2차 가공으로 나눌 수 있다. 1차 가공이라 함은 자연식품을 가공하여 식품원료를 만드는 것으로 도정 등과 같은 곡물가공, 도축 등의 축산가공을 들 수 있다. 2차 가공은 식품 원재료로부터 통조림제조, 절임식품제조 및 유지제조 및 음료제조등 일련의 가공공정을 포함하는 것을 의미한다. Table. 3.8은 농·축산물 중 1차 가공단계에서의 폐기물 발생공정 현황을 나타낸 것이다. 1차 가공공정에서 발생하는 폐기물 평균 발생비는 23.5%이며 곡물가공의 경우에는 25.3%가 생성되며 보리도정이 전체의 55.0%를 벼도정이 20.3%를 차지하고 있는 것으로 나타났다. 보리도정의 경우 원료투입량 대비 폐기물 발생률이 가장 높게 나타났이며 이는 주류제조에 많이 사용되는 이유에 기인하는 것으로 보여진다. 축산가공의 경우 투입원료대비 약 2.4%의 폐기물 발생비율을 보이고 있으며 수산가공의 경우는 1차 및 2차 가공의 분류가 불가능하여 1차 가공에서는 고려하지 않았다.

Fig. 3.1 **가공 단계별 가공공정 개요**

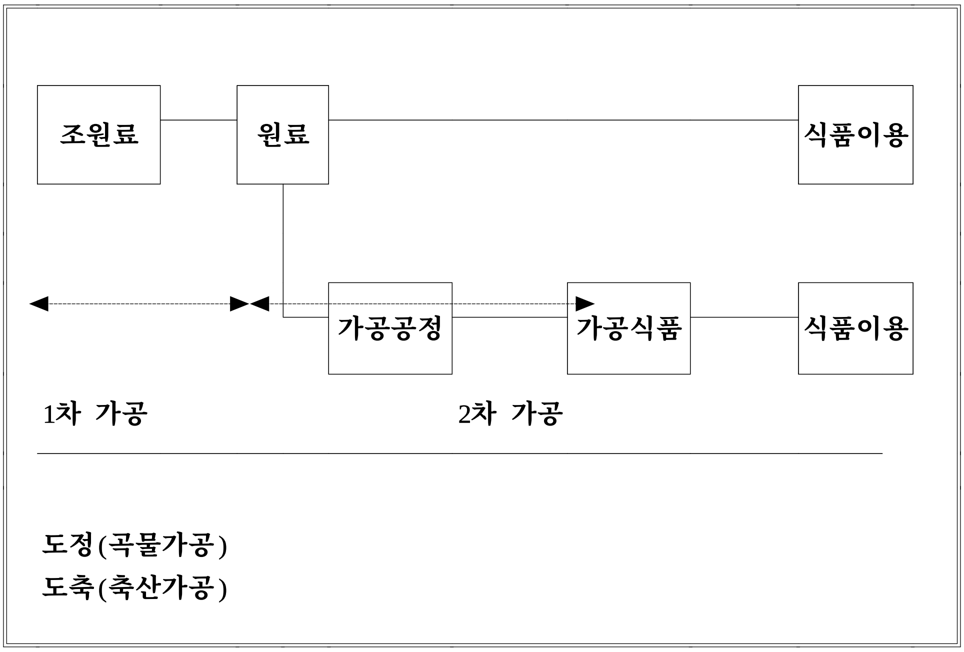


Table. 3.8 1차 가공단계의 식품폐기물의 발생현황

공정분류	주요 발생단계	원료투입량 (M/T)	폐기물 발생량 (M/T)	폐기물 발생비율(%)
곡물가공	정선*→제현*→현미분리→점미*→색체선별*→계량	총 7,088,751 벼 6,571,122 보리 514,540 밀 3,080	총 1,795,284 쌀부산물 1,511,358 보리부산물 283,002 밀 부산물 924	25.3
축산가공	도축*	총 1,153,992 쇠고기 169,280 돼지고기 705,886 닭고기 278,826	총 142,941 쇠고기 부산물 22,006 돼지고기 부산물 84,706 닭고기 부산물 36,229	12.4
계		8,242,743	1,938,225	23.5

※ (*) 부산물발생단계

참고자료 : '95 한국식품연감, 농 · 수 · 축산신문, 1995

1994식품수급표, 한국농촌경제연구원, 1995

나. 2차 가공

2차 가공은 식품으로 직접 소비 가능한 원료를 사용하여 추가 가공을 통한 제품생산으로 대부분의 식품가공(음식료품제조)이 여기에 속한다. 우리 나라의 경우 2차 가공품은 종류별로 290여종이고 총 제품생산량은 68,348,103(M/T)에 이른다(1996년 한국식품위생연구원 자료). 비록 제품은 다양하나 원료의 특성, 제조공정 특성별로 정리하면 과일가공, 전분제조, 연식품제조, 장류제조, 주류제조, 유지제조, 절임식품 등으로 나눌 수 있다. 그 밖에 제과, 제빵, 국수류제조, 햄류제조, 어육식품제조 등이 있으나 이들 제조공정에서는 부산물을 대부분 원료로 재이용하여 공정 부산물의 발생은 매우 적은 것으로 알려지고 있다. 식품의 경우 제조후 제조기일 경과, 부패 등의 이유로 반품되는 제품이 폐기물로 발생하나 이는 엄격한 의미에서 공정부산물이 아니어서 본 조사연구에서는 대상으로 하지 않았다. Table. 3.9는 실제 20여개 가공공장의 현장조사를 근거로 2차 가공단계에서 다량의 폐기물이 발생하는 주요 공정의 발생단계 및 발생비율을 정리하였다. 원료 투입량은 5,291천M/T(전체 식품가공 투입량은 8,481천M/T으로 추정되나 폐기물 발생이 적거나 미확인된 경우는 제외됨)이며 폐기물 발생량은 2,950천M/T으로 원료 투입량 대비 55.8%였다. 폐기물 발생량이 높은 이유로는 공정을 거치면서 다량의 수분이 원료에 포함된 상태로 배출되거나 공정 특성상 식품원료이외에 투입되는 조원료, 첨가물 등에 기인하는 것으로 보여진다. 부산물 발생량이 가장 많은 것으로는 전분제조의 경우 875,211(M/T)이며 주류제조 620,898(M/T)이며 발효(조미료)가공의 경우 322,751(M/T)으로 많이 발생하였다. 원료대비 폐기물 발생률을 보면 조미료 가공이 168%로 원료투입량보다 큰 것으로 나타났으나 이는 공정상 원료 이외에 소다회등 조원료 및 수분함유량의 증가로 보여진다. 유지제조의 경우 84.7%, 전분제조의 경우 원료투입 대비 55.1%, 연식품제조의 경우 40.0%가 발생하는 것으로 조사되었다. 2차 식품가공의 경우 1차 전처리가공에 비해 폐기물 발생률이 높음을 알 수 있었다.

Table. 3.9 2차 가공단계의 식품폐기물의 발생현황

공정 분류	주요발생단계	원료투입량 (M/T)	폐기물 발생량 (M/T)	폐기물 발생비율(%)
과일 가공	씻기→박피,제핵*→절단→착즙→여과*→살균	총 299,153 사과 160,000 감귤 63,000 포도 36,000 기타 40,153	총 75,211 사과 40,000 감귤 13,860 포도 8,280 기타 13,071	25.1
전분 제조	파쇄→체질*→전분유	총 1,583,129 고구마 78,128 옥수수1,492,160 감자 12,841	총 875,211 고구마 14,720 옥수수 559,560 감자 11,525	55.1
연식품 제조	세척→침지*→마쇄 여과*→두유	콩 125,005	비지류 50,002	40.0
장류 제조	발효→압착*→배합	총 211,873 대두박 67,110 밀쌀 67,110 글루텐 2,523 대두 75,130	총 22,579 간장 22,514 된장 65	10.7
주류 제조	당화→맥즙여과(담금박*) 보리→정선(정선박*)	747,518	총 620,896 담금박 617,170 정선박 3,726	83.1
유지 제조	건조→압착* 원유→탈검*→알칼리정제*→수세→건조→탈색*→탈취	총 225,146 채종유 4,183 미강 189,161 참깨 13,638 들깨 18,164	총 190,774 채종유 2,510 미강유 172,137 참기름 6,137 들기름 9,990	84.7
절임 식품	선별→다듬기*→씻기	총 266,295 배추 153,736 무 88,162 기타 24,397	총 88,676 배추 55,146 무 23,372 기타 10,158	33.3

※(*) 부산물발생단계

Table. 3.9 계속

공정 분류	주요발생단계	원료투입량 (M/T)	폐기물 발생량 (M/T)	폐기물 발생비율(%)
발효 (조미료) 가공	발효액→사입 정석*→분리	총 192,113.4 원당 86,451.0 당밀 105,662.4	총 322,750.5	168.0
수산물가공	세척→채육*→수세	1,637,800	총 703,500 통조림 255,596 연제품 326,151 기타 121,753	43.0
계		5,290,818	2,949,600	55.8

※(*) 부산물발생단계

2. 가공 공정별 폐기물 배출현황

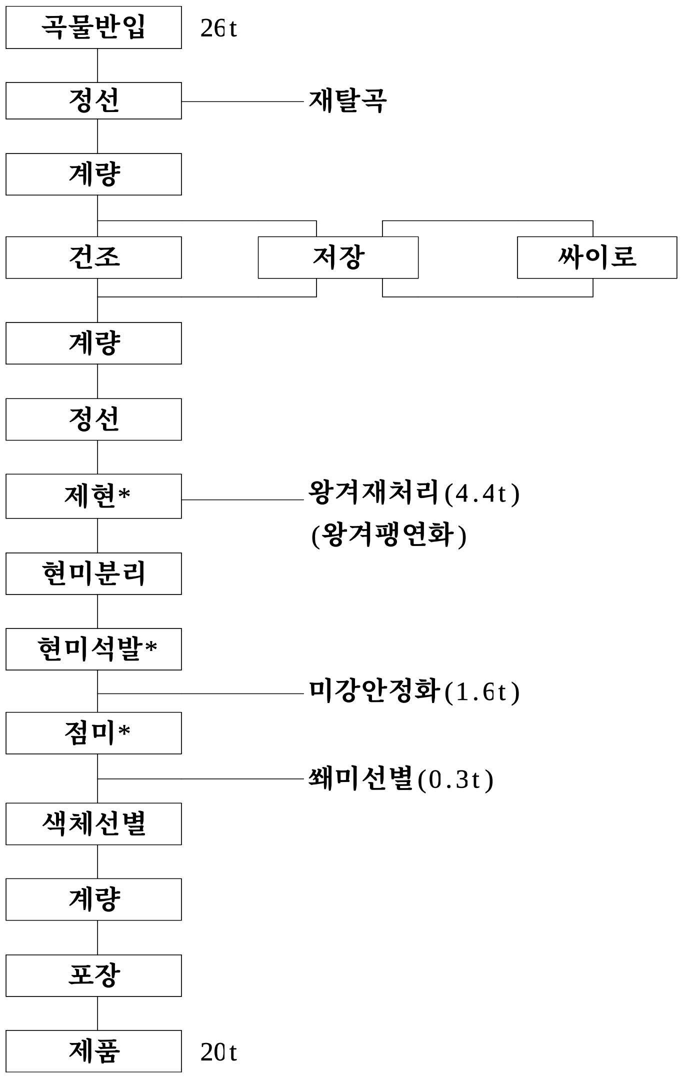
가. 곡류 1차 전처리공정

곡류를 식용으로 하기 위해서나 가공하기 위해서는 먼저 겨를 제거하는데는 도정과정을 거치며 미 과정을 통하여 소화흡수율이 높아지게 된다. 벼는왕겨층으로 둘러싸여 있는데 이 왕겨 층을 벗겨낸 것이 현미로 현미와 왕겨의 비율이 각각 80%, 20%정도이다. 현미는 전체가 겨층으로 싸여있고 이를 도정한 것이 백미(92%)이며, 도정도에 따라 백미, 7분도미, 5분도미 등으로 나누어진다. 현미를 도정하는 과정에서 떨어져 나온 것이 우리가 흔히 말하는 쌀겨(현미의 8%)이고, 밀과 보리와 같은 곡류의 경우에도 벼와 비슷한 구조를 가지고 있다.

도정업체의 현황조사 결과로는 연간 제품생산량은 4,560(M/T)이며(하루 생산량을 기준으로 개략적으로 산출한 내용임) 주요 폐기물은 왕겨, 미강, 쇄미로 일부는 동물사료로 판매되고 나머지는 퇴비로 이용되고 있다. 곡류도정의 경우 곡류의 수분함량이 적기 때문에(벼의 경우 13%내외) 폐기물의 수분함량 역시 적게 나타났고, 도정시 발생하는 먼지는 집진기를 통하여 집진실로 모아 따로 처리를 하고 있다.

일반적인 도정과정에서 왕겨는 17 20%가량 발생되며 미강이 약 6 8%가량 쇄미가 1%가량 발생되어 진다.

Fig. 3.2 곡류의 폐기물 발생공정

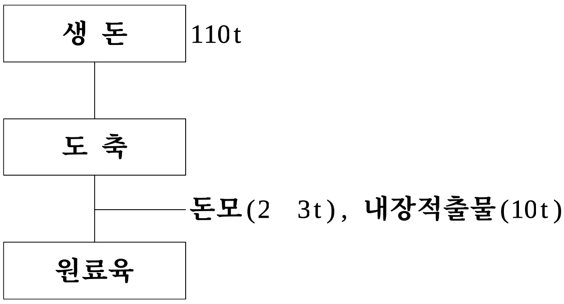


(*) 폐기물 발생단계

나. 도축 1차 전처리가공

축산물 가공공정에서의 폐기물발생은 도축을 행하여지는 과정에서 발생되며, 폐기물로는 돈모, 내장적출물 등과 폐수로 돈혈등이 빌생되고 있다. 일반적인 도축과정에서 10% 내외의 폐기물이 발생되고 있는 것으로 조사되었고 내장적출물의 경우동물사료로 이용되고, 나머지는 지렁이 양식장으로 보내져 처리되고 있다.

Fig. 3.3 돼지도축 공정

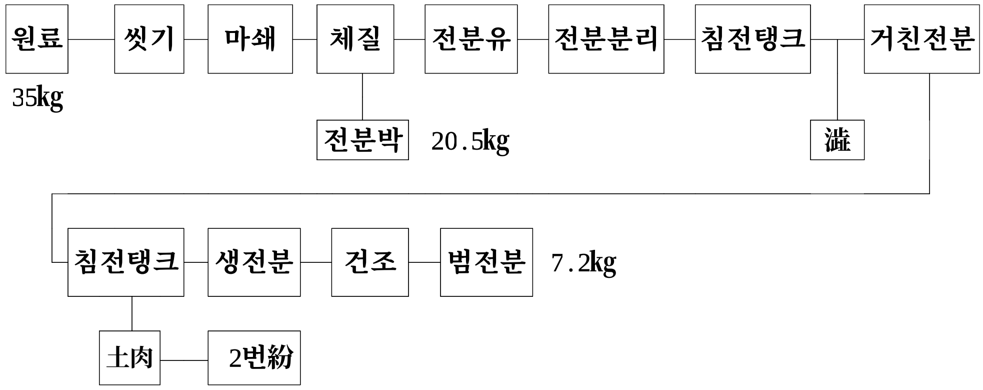


다. 농산물 2차 가공

1) 전분류 가공

전분은 포도당($C_6H_{12}O_6$)분자가 여러 개로 결합된 다당류로서 식물의 종자, 감자, 고구마 및 연뿌리 등에 많이 들어 있으며 식품 세포내에 입자모양으로 존재하므로 적당한 방법에 의해 세포를 파괴시키고 물과 같이 젖모양(전분유)으로 빼낸 다음 비중차이에 의하여 세포의 파편, 단백질, 모래 등의 혼잡물을 분리하고 다음 정제한 후 건조시켜 만들어진다.

Fig. 3.4 전분 제조공정(고구마 전분)

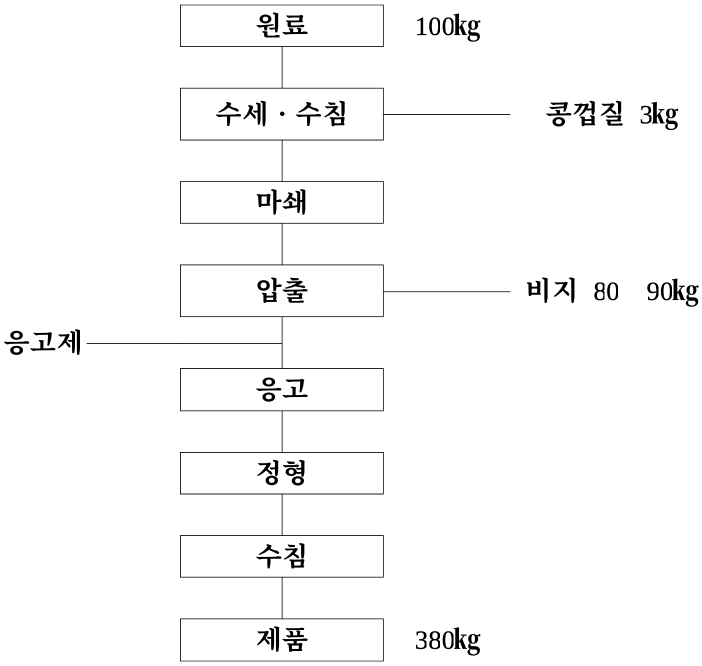


고구마전분은 고구마를 파쇄하여 녹말알갱이를 물 속에서 비중차이를 이용하여 단백질, 섬유질, 무기질 등과 분리하게 되는데 전분은 물에 녹지 않으므로 전분이외의 수용성 성분을 제거할 수 있다. 생전분에는 수분이 약 40%가량 포함되어 있으며 포도당, 물엿 제조에 이용되기도 하나 대부분 저장성을 높이기 위해 수분함량을 18%가량으로 건조시켜 제품화되어 진다. 폐기물로 발생되는 전분박의 경우 대부분이 동물사료 또는 퇴비로 재활용되어지고 있었다.

2) 연식품제조

연식품으로는 크게 두부류와 묵류로 나누어지며 두부의 경우에는 콩의 단백질을 응고제로를 넣어 응고시킨 것이고, 묵류는 곡물의 전분을 호화시켰다가 식혀서 응고시킨 것을 말한다. Fig. 3.5는 연식품제조 업체의 제조공정도 및 폐기물 발생량을 나타낸 것이다.

Fig. 3.5 두부 제조공정도



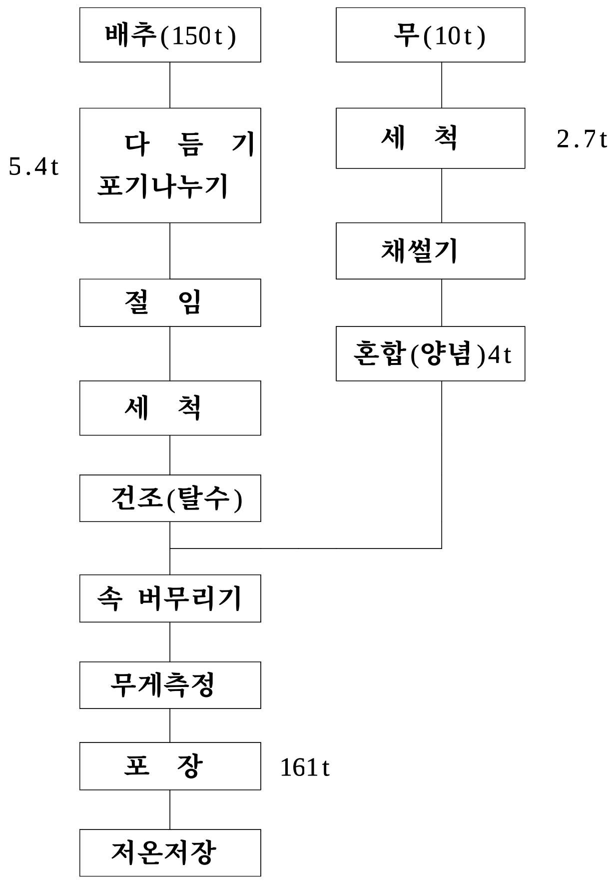
두부제조는 하루 콩 100kg을 사용하여 380kg의 두부를 생산하게 되는데 원료 투입량 대비 생산수율이 매우 높으며 폐기물 또한 다량 발생하고 있다. 폐기물로는 콩껍질과 비지가 발생되는데 비지는 예전에는 식용으로 사용되기도 하였으나 근래에 들어서는 대부분 폐기(동물사료 또는 퇴비로 이용)되거나 건조후 자체소각을 하고 있었다. 두부 제조업체의 경우 다른 제조업체에 비해 물의 사용량이 많으므로 과량의 폐수가 발생되고, 이에따라 고수분 폐기물이 발생되는 것으로 조사되었다.

3) 채소류 가공

채소류는 부식용으로 수분함량이 많고(70 90%), 연한 섬유질과 팩틴질을 그리고 무기질을 비롯한 비타민류가 많이 포함되어 있다. 채소류는 공기와 접하게 되면 산화효소의 작용으로 성분이나 성상이 변화되기 쉬워 가공시 취급이 용

이하지 못한 단점이 있다. 대표적인 채소류 가공으로는 절임류(김치류, 단무지 등)와 건조 채소류 등이 있고, 김치 제조공정도를 Fig 3.5에 나타내었다.

Fig. 3.6 김치 제조공정도



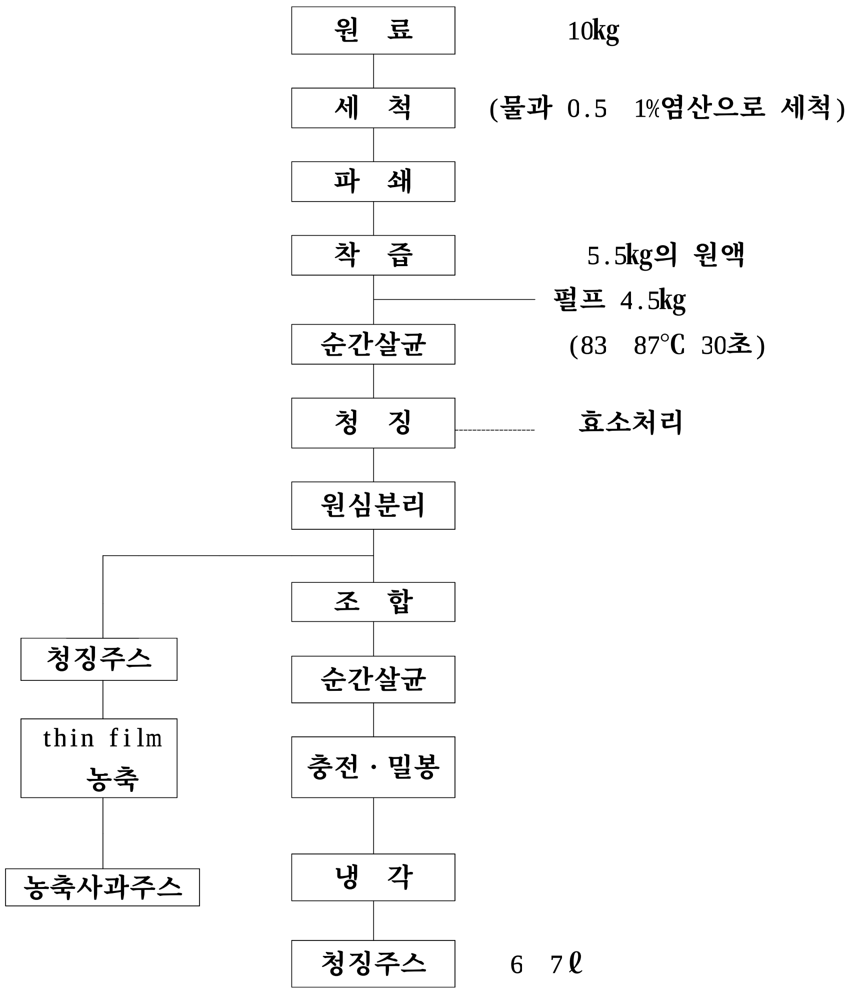
제조업체(김치제조)의 경우 원료의 공급, 제품의 출하 등이 일정치 않고 수용에 따라 가공을 하고 있는 실정이며 수집후 폐기물 처리업체에서 위탁처리를 하고 있다. 폐기물 발생이 가장 많은 공정은 다듬기 공정으로 그 이후 공정에서는 거의 발생되지 않으며, 운반과정 중에 소량의 폐기물이 발생되고 있었다. 특히 채소류 가공업체의 경우에는 계절별 원료공급, 수요가 변하므로 2 3가지

이상의 품목을 단일 업체에서 생산하고 있다.

4) 쥬스류 가공

과실류의 경우 80 90% 내외의 수분을 함유하고 있고 이를 가공한 과실쥬스의 다양한 종류의 제품이 현재 시판중이다. 제품의 정류별로 종류가 대단히 많으며 제품의 종류별로 나누어보면 과실을 짠 그대로의 천연과실쥬스, 과실함유음료, 과즙음료, 희석과즙음료, 저온에서 농축한 농축과실쥬스, 가루쥬스 등으로 분류되어 진다.

Fig. 3.7 과일(사과) 주스류 폐기물 발생공정



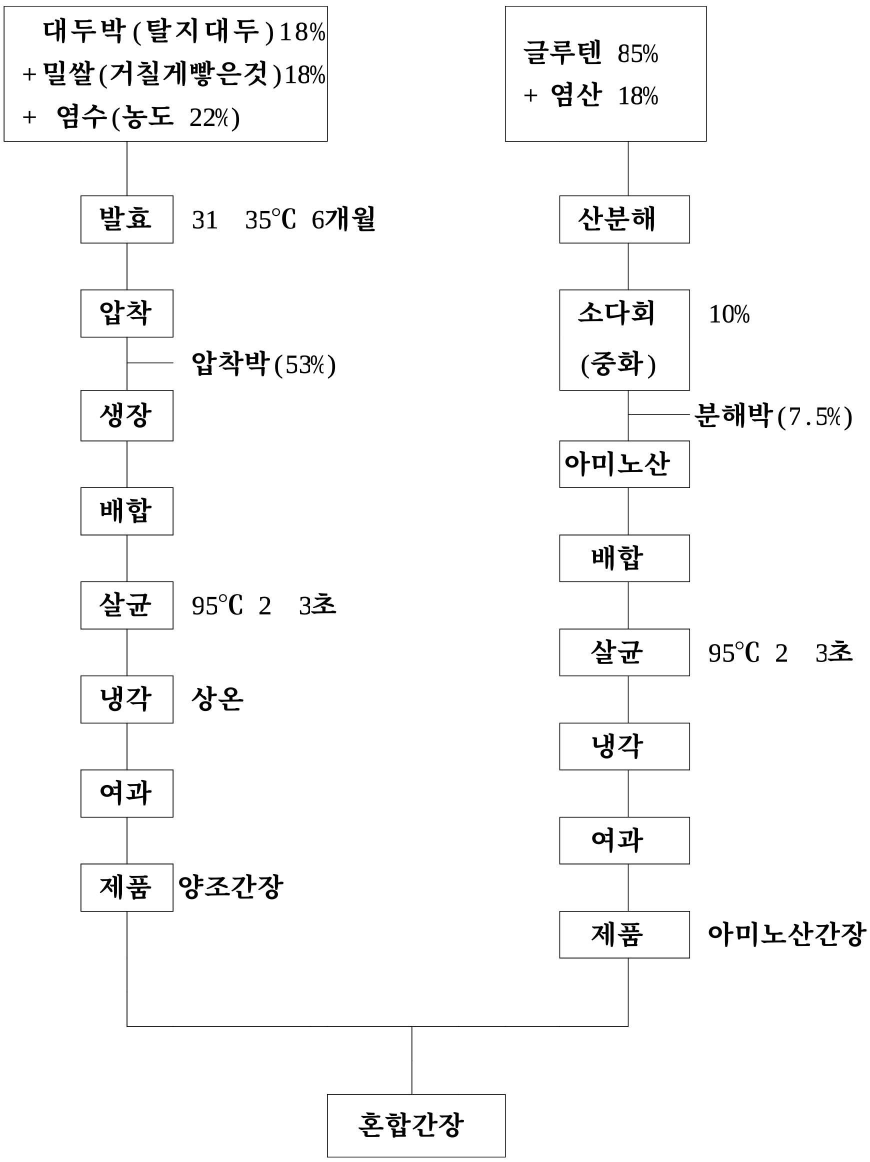
쥬스류 제조의 경우 계절별 원료공급이 각기 다르기 때문에 원료를 세척, 파쇄, 착즙하여 농축을 시킨 후 저장하였다가 수요에 따라 희석하여 제품을 생산하는 경우가 많고 폐기물인 펄프의 경우 음료제조에 소량이 재이용되어지기도 하나 대부분 폐기 또는 퇴비화 되고 있는 실정이다.

5) 장류 가공

장류는 크게 재래식장류와 개량식장류로 나눌수 있으며 간장의 경우에 개량식, 재래식장류(양조간장) 이외에 아미노산간장(화학식 간장)이 제조되어 시중에 유통되고 있다.

간장제조업체의 경우 발생되는 폐기물은 양조간장의 경우 압착시 얻어지는 압착박과 아미노산간장에서의 분해박으로 나누어진다. 실제 조사된 업체의 경우에는 아미노산간장은 구매를 하여 사용하고, 탈지대두박을 이용하여 양조간장만을 생산하여 혼합간장을 생산하고 있었다. 혼합간장의 경우 산도, 당도, 질소함유량 등의 비를 맞추어 생산하는데 생성되는 폐기물중 간장박은 주변농가에서 수거해 가고 있고, 지정폐기물의 경우에는 지정처리업체에서 수거·처리하고 있다.

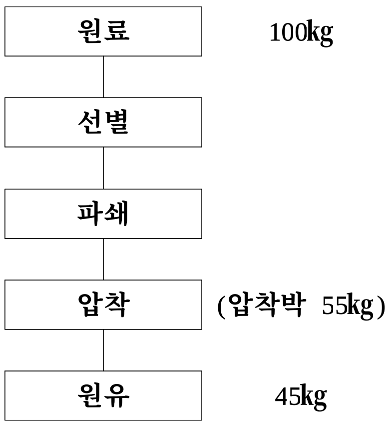
Fig. 3.8 간장 제조공정



6) 유지류 가공

식용유지는 크게 식물성유지와 동물성유지로 나누어지며 식물성유지는 식물의 종자에서 동물성유지는 동물의 지방, 껍질, 내장, 뼈 등에서 채취한다. 유지는 원료에서 채취, 정제하여 그대로 사용하는 경우(튀김기름, salad oil, 돼지기름 등)와 이것을 가공하여 사용하는 경우(butter, margrin, shortening 등)가 있다. 발생되는 폐기물로는 압착박 등이 있고 대부분 폐기, 퇴비로 이용되고 있다.

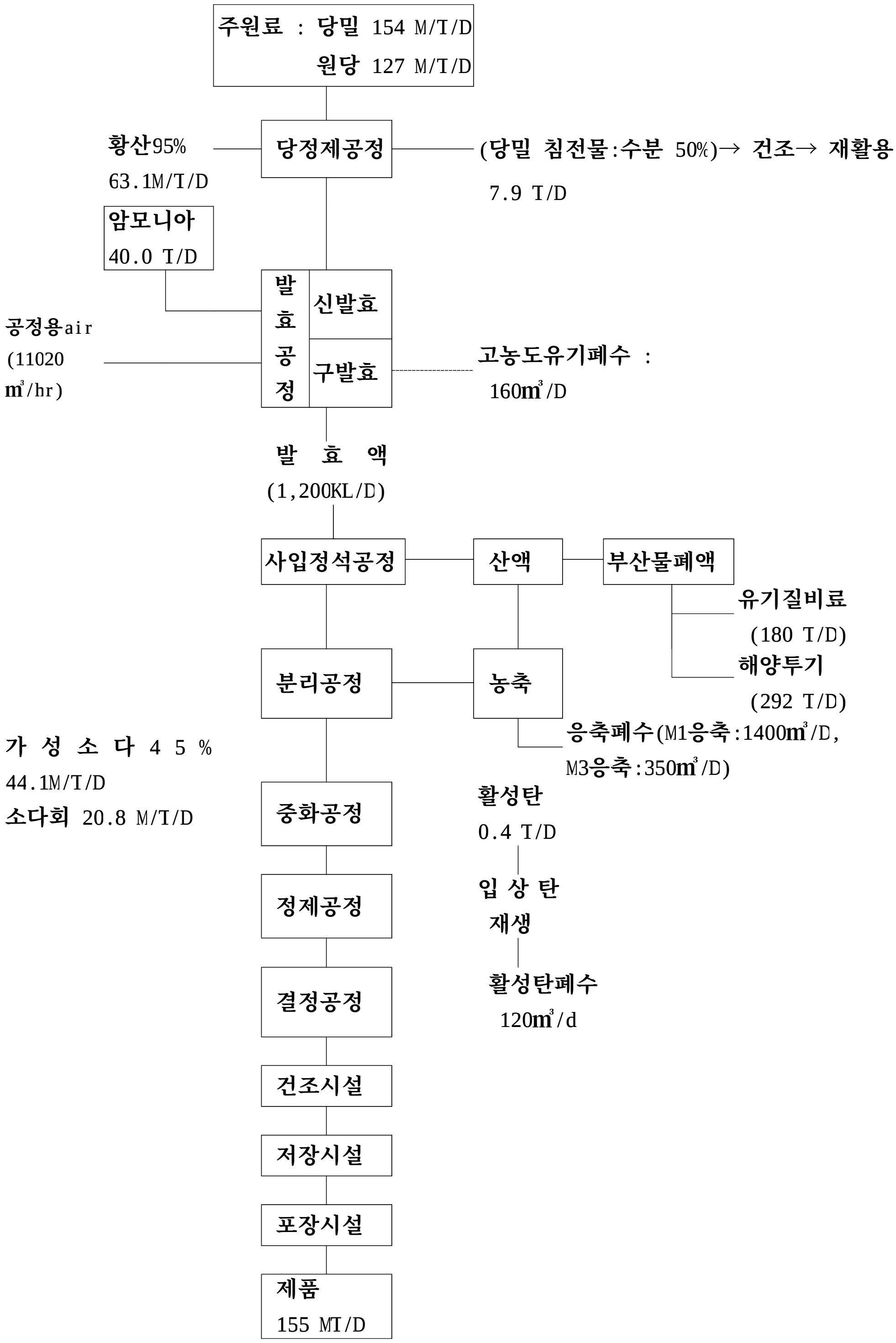
Fig. 3.9 유지정제공정(들기름)



7) 발효(조미료)가공

조미료란 식품의 조리, 가공, 섭취시 맛을 돋구어 주거나 강화시킬 목적으로 사용되는 물질로 장류, 식초, 식염, 글루타민산나트륨(MSG), 핵산 및 기타 종합조미료 등이 있고 일반적으로는 조미료를 흔히 글루타민산나트륨, 핵산과 종합조미료만을 국한하여 총칭하고 있다. 글루타민산나트륨은 단백질의 글루텐을 분해하여 만들거나 포도당을 미생물을 이용한 발효법으로 얻는 방법이 있는데 국내에서는 주로 발효에 의한 제조방법을 사용하고 있으며 Fig. 3.10에 제조공정도를 도시하였다.

Fig. 3.10 **모노글루타민산나트륨 제조공정도**



라. 수산물 2차 가공

수산물 가공의 경우에는 크게 어류가공, 패류가공, 해조류가공으로 나누어지며 가공방법에 따라 건제품(소건품, 자건품, 염건품, 동건품), 훈연품, 염장품, 냉동품, 젓갈류, 연제품, 조미가공품, 통조림 등으로 다시 분류되어진다. 가공방법에 따라 공정이 조금씩 달라지기는 하나 폐기물 발생공정은 대부분 유사하여 Fig. 3.9에 일반적인 폐기물발생 공정을 나타내었다. 수산물의 경우 폐기물 발생에 대한 조사가 어려워 대략 30 50%의 발생량을 나타낸 것으로 추정된다.

Fig. 3.11 수산물 가공에서의 폐기물 발생단계

제 4 절 폐기물 특성 및 재활용 방안

1. 원료별 폐기물 발생특성

원료에 따른 폐기물의 특성을 살펴보면 1차 가공에서 곡류의 경우에는 도정과정에서 나오는 왕겨류, 미강 등이 대부분이며 수분을 거의 함유하고 있지 않다.(15 20%내외) 그리고 축산가공의 경우에는 도축과정에서 나오는 돈모, 혈액, 내장적출물이 대표적인데 농산물과는 다르게 수분함유율이 70 95%정도 로 높고 수산가공의 경우에도 발생되는 폐기물들은 머리, 뼈, 내장, 비늘 등으로 수분함유량이 수분함유량을 보이고 있다. 축·수산가공의 경우 1차 전처리가공 후 제조되는 식품들은 거의 폐기물이 발생되지 않고 있는데 특히, 유제품가공에서 대부분이 분유 등으로 가공되고 있어 폐기물발생은 높지 않은 것으로 조사되었다.

2차 가공에서는 채소류의 경우 다듬기 공정에서 발생하는 부산물과 공정중간산물인 것들로 나누어 볼 수 있는데 다듬기 공정에서 발생하는 것들은 수분을 60 90%가량 함유하고 있고 수분 이외의 성분으로는 섬유질과 약간의 회분등이 있다. 과실류의 경우에도 마찬가지로 껍질부분, 씨부분에는 수분함량이 높은 편이며 음료제조의 경우 가공중간산물인 여과박(펄프) 역시 70 85%의 수분을 함유하고 있다. 전분제조시 발생되는 폐기물은 전분박의 형태로 역시 수분을 다량 함유하고 있고, 수분이외의 성분은 섬유질을 가장 많이 포함하고 있다. 유지제조에 이용되는 대두의 경우 압착방법으로 제조시 유지를 추출하고 나오는 대두박이 생성되는데 이는 대부분 약간의 가공공정을 거쳐 탈지대두박으로 유통되고 있다. 유지제조의 경우에는 발생부산물이 수분함유량이 낮은 편에 속하며 유지 이외의 성분(섬유질, 회분, 질소 등)을 포함하고 있고, 대부분 사료로 이용되고 있다(압착에 의한 유지제조는 제외). Table. 3.11에 원료별 가공공정

에 따라 생성되는 폐기물의 성상을 나타내었다.

Table. 3.11 가공공정별에 따라 생성되는 폐기물 성상

공정분류		발생형태	수분 함유량(%)	폐기물성분	공정원료조성(100g당)
1차가공	곡물가공	왕겨, 미강, 쌔미	15 20	섬유질,회분,유지	수분 11.7g,당질79.6g,단백질 6.8g 비타민,무기질 110.4㎎(쌀)
	수산가공	비늘,머리뼈, 내장, 혈액	70 90	질소,회분	수분80.3g,단백질 17.5g,회분 1.5g 비타민,무기질 110.4㎎(명태)
	축산가공	돈모, 내장적출물, 혈액	70 95	질소,회분,무기질	수분72.4g,단백질 20.7g,지방 4.6g,비타민,무기질 231.1㎎(돼지고기)
2차가공	과일가공	껍질, 씨, 여과박	70 85	섬유질,무기질	수분 86.4g,당질 10.3g,섬유 1.4g,비타민,무기질 19.0㎎(사과)
	전분제조	전분박	85 90	섬유질,칼슘,무기질,당질	수분 73.6g,당질 23.0g,회분 1.1g,비타민,무기질 595.2㎎(고구마)
	연식품제조	콩껍질, 비지	80 90	섬유질	수분 9.2g,단백질 41.3g,당질 22.6g,비타민,무기질 638.6㎎(콩)
	장류제조	압착박	80 85	섬유질	수분 9.2g,단백질 41.3g,당질 22.6g,비타민,무기질 638.6㎎(콩)
	주류제조	담금박, 정선박	60 70	섬유질	수분 14.8g,당질 68.4g,단백질 10.3g,비타민,무기질 411.5㎎(보리)
	유지제조	압착박	15 20	섬유질,칼슘,회분,단백질	수분 3.9g,지방 39.5g,당질 20.2g,비타민,무기질 817.2㎎(들깨)
	절임식품	껍질, 겉잎 등	60 90	섬유질,무기질	수분 90.3g,당질 6.1g,단백질 2.0g 비타민,무기질 139.8㎎(무)

2. 재활용방안

일반적으로 식품산업에서 발생하는 폐기물은 재가공하여 원료로 사용되지 못하고 사료 또는 퇴비로서 재활용되어 지고 있으나, 최근 식품원료로서의 재활용 방안이 활발히 연구되고 있는 실정이다. 현재 재사용되고 있는 부산물로는 곡물가공에서 도정후 발생되는 미강(미강유), 두부제조시 발생되는 비지(식품증량제), 유지제조후 발생되는 탈지대두박(간장, 인조육)등이 있고 소규모 재가공공정을 거쳐 식품으로 활용되고 있다. 그러나 그 양적인 면에서나 활용면에서나 높은 잠재력을 가지고 있음에도 불구하고 식품으로서의 재활용에 대한 인식의 부족이나 지원의 부족(각종 제도, 기술지원)으로 많은 양의 식품부산물(폐기물)이 폐기되고 있는 실정이다.

Table. 3.11은 식품가공업에서 발생되는 폐기물에 따른 재활용 방안으로 폐기물의 형태와 그에 따른 재이용 기술과 재활용되었을 때의 가능한 제품류를 서술하였다.

1차 전처리가공시 곡류 부산물(폐기물)인 경우 별도의 처리를 하지 않고 충진재, 왕겨탄, 사료 등으로 활용이 가능하고 축산 부산물인 내장, 혈액, 제각 등의 분리, 농축, 건조를 통해 의약제재, 햄류, 비료 등으로 재이용가능 하다. 2차 가공에서 수산가공시 발생되는 부산물들과 유지, 두류 제조시 발생되는 유박, 유제, 백토, 두부박, 즙류, 비지 등은 분리, 농축, 건조등을 통하여 조미료, 간장 등이 식품첨가물과 사료 및 비료 비누의 원료등 많은 새로운 제품들의 원료로 활용이 가능하다. 전분과 과채류, 주류가공시 발생되는 부산물은 다량의 수분을 함유하고 있어 건조와 발효공정을 단독 또는 조합하여 퇴비재료, 사료, 미생물배지 등으로 재이용 가능하며 정당과정에서 발생되는 폐당밀류 등은 발효공정으로 알코올, 미생물 배지, 토양개량제 등으로 활용이 가능할 것으로 예상된다.

Table. 3.11 식품가공업에서 발생되는 폐기물에 따른 재활용 방안

공정분류		폐기물형태	재이용기술	재활용 가능한 제품
1차가공	곡물가공	왕겨류 쌀겨류	무처리이용	충진재, 왕겨탄, (마쇄): 축사방료, 퇴비재료 담물재료,제유원료,양식용사료,미생물배지
	축산가공	수골,제각 수육잔재 폐혈액 육증자폐액 계우모	분리,농축, 건조	bone meal, 골유, 골분(비료), 젤라틴 사료, 아미노산제제원료, 호르몬제(내장) 농원사료, 햄, 소시지재료, 비료 조미료, 사료, 아미노산원료 feather meal
2차가공	수산가공	어분류자즙 어육표백폐액 어장골 구류 게, 새우 분 다시마 자즙	분리,농축, 건조	조미료,사료(농축) 단백질(식사료: pH시프트법) fish meal, 어유 양계사료용(Ca원), 융설재(소성재),탈인재 Chitin질,Chito산: 의료용섬유, 인조피혁, 융막, 화장품, 의약품 우동용 조미액, 조미료, 알긴산원료, 아미노산원료
	유지제조	(콩):유박 면실외피 면실곡 폐유·유니 소다유제 폐백토	분리,농축, 건조	비료,(대두유박):된장, 간장, 인조육 lint(섬유, 폭약 지등의 원료) furfural 등 유지의 추출회수, 비누원료, 연료 등 다크유, 지방산원료, 연료 등 소성재생, 클렌저, 시멘트원료
	전분제조	구근마쇄착즙 옥수수폐액 전분박	건조,발효	단백질(사료), 미생물배지, 메틴발효재료 gluteen, 기타단백질(식사료) 낙농용사료, 퇴비재료, 보도건재원료등
	두류가공	대두자즙 두부박 소두자즙 콩비지	분리,농축, 건조	조미료, 아미노산(역삼투압법), 유산사료 식료, (건조):식품중량재 제국제료,사료 사포닌,(세정제, 계면활성제),타닌 콩고물증량제(효소처리, 냉매용 고물),양식용사료, 퇴비재료
	정당	폐당밀 활성탄박 탄산칼슘박	발효	미생물배지, 알코올, 점착제 등 재생부활이용, 금속환원제, 연료등 소성재생(생석회,탄산가스), 토양개량제, 산중화제
	과채류	과즙펄프 야채부스러기 귤마박 귤마즙 과즙펄프	건조,발효	조사료, 퇴비재료, 연료 등 퇴비재료, 사료, 사일리지 조사료, 퇴비재료, pectine 등 당밀원료, 감람유원유(의약품), 향료원료 조사료,퇴비재료,연료 등
	주류가공	소주박 맥주박	건조,발효	퇴비재료, (밀짚 등과 병용) 사료, 퇴비재료, 사일리지

자료 : 음식물 쓰레기 퇴비화 시설 타당성 연구, 1993

제 4 장 참고 문헌

1. 1994년 식품수급표, 한국농촌경제연구원, 1995
2. '94 과실 및 채소류 가공현황, 농림수산부, 1995.7
3. 김성수, 식품기술 '과실음료의 국내외 소비동향 및 새로운 제조기술 개발현황', 1995.9
4. 한국식품과학교수협의회, 식품제조기술, 지구문화사, 1997
5. 중소기업에서의 청정생산체제 구축을 위한 프로그램개발, 환경부, 1997
6. 류태종, 이상운, 김두상 공저, 식품가공학, 문운당, 1996
7. 1995 한국식품연감, 농수축산신문, 1996
8. 1995 광공업통계조사보고서, 통계청, 1997.4
9. 음식물쓰레기 퇴비화시설 타당성 연구, 서울시정개발연구원, 1993.12
10. http://www.nfrda.re.kr, 국립수산진흥원, 「농축산식품 성분분석」
11. http://www.suhyup.co.kr, 수협중앙회, 「수산물 생산 및 유통」
12. http://www.nori.go.kr, 국립해양조사원
13. http://www.afmc.co.kr, 농수산물 유통공사 「농수산물 수출입동향」
14. http://www.agr.or.kr, 농림한마당「국내 농산물 생산통계」
15. http://www.nlcf.co.kr, 축협중앙회, 「육류 생산 및 소비동향「
16. http://www.kfri.re.kr, 한국식품과학연구소
17. http://www.foodnet.re.kr, 한국식품위생연구소, 「식품업 업체수, 생산실적 및 종업원수」
18. http://www.rda.go.kr, 농촌진흥청, 「과실류 가공실적」
19. http://www.maf.go.kr, 농림부「농산물 생산통계」
20. http://www.affis.or.kr, 한국농림수산정보센터
21. http://www.rdc.or.kr, 농어촌진흥공사, 식량작물생산량
22. http://provin.kyonggi.kr, 경기넷, 산업정보
23. http://www.aginfo.snu.ac.kr, 서울대,「식품 가공산업의 부분별 가공업체수」

제 4 세부과제. 두부 순물에서의 기능성 물질 분리 이용

제 1 장 서 론

국민들의 환경에 관한 인식이 높아지면서, 산업폐수처리에 관한 관심 또한 고조되고 있다. 그동안 식품산업은 원료특성상 폐수처리가 큰 문제가 아니었으나, 최근 폐수 유출에 대한 강력한 규제들이 생김으로써 폐수처리와 이의 배출에 따른 업계의 부담은 점점 증가하고 있다. 우리나라 사람들이 전통적으로 애용하고 있는 식품인 두부는 현재 전국의 약 550여개 중, 소규모의 공장에서 생산되고 있으며 이들 업체가 두부생산을 위해 사용하는 원료 콩만 하더라고 연간 약 10만톤으로 추정되고 있다(김동만 등, 1992). 그러나 규모별로 연간 1,500톤에서 4,000톤에 이르기까지 두부를 생산하는 여러 두부공장에서 두부 제조시 부산물로 유출되는 순물은 처리과정에서의 업계의 높은 부담 비용 때문에 규모가 작은 공장일수록 별 처리없이 폐수로 방류되고 있다. 하지만 두부공장에서 배출되는 두부순물은 그 함유성분에 관한 연구, 콩올리고당을 생산하기 위한 한외여과 연구 등이 매우 단편적으로 행해졌을 뿐이다.

두부순물에 함유된 유용성 물질 중 콩올리고당은 “probiotic material”로 각광받고 있는 물질로서 다른 균총보다도 특히 *bifidobacterium*을 선택적으로 증식시키는 것으로 널리 알려져 있다 (Hoover, 1993a : Hoover, 1993b). 콩올리고당은 sucrose, raffinose, stachyose 등으로 이루어져 있으며, 이 중 raffinose와 stachyose는 인체의 효소에 의해 분해가 되지 않는 난소화성이므로 저칼로리당으로 사용될 수 있고 장내 유익세균을 활성화시키고 변비 및 설사를 예방할 수 있고 충

치예방의 효과를 나타내며, 설탕의 약 70%에 해당하는 감미도와 청량감, 열이나 산 등에의 안정성 등이 있어 식품소재로서 가능성을 인정받고 있다(최연배, 1995). 또한 설탕의 약 70%에 해당하는 감미도와 청량감 있는 감미질, 열이나 산 등에의 안정성 때문에 식품소재로서의 가능성을 인정받고 있다.

콩에 들어있는 유용성 성분의 하나인 Isoflavone은 예전에는 단순한 색소로만 여겨왔으나 최근 항암 효과(Barnes, 1995), 골다공증 예방(Shino et al., 1988), 만성질환 예방(Fotsis et al., 1995), 항산화 효과(Naim et al., 1976), aldehyde dehydrogenase 억제 작용(Keung et al., 1993) 등의 역할을 함이 밝혀져 주목받고 있다. 콩에 주로 존재하는 isoflavone은 daidzein 과 genistein 이다. 콩의 isoflavone함량은 품종별, 지역별로 분석되어 왔으나, isoflavone의 조리 가공 중의 특성, 또는 콩 부산물인 순물과 침지액에서의 isoflavone의 함량 연구는 되어 있지 않은 실정이다.

두부순물중에 함유되어 있는 수용성 단백질에 대한 연구보고는 아직까지 미비한 편이지만, 두부순물 단백질의 특징을 연구한 논문을 살펴보면 다음과 같다. 초원심분리하여 그 침강속도에 따라 2S, 7S, 11S, 15S fraction으로 나뉘며, 이 중 glycinin(11S)과 β-conglycinin(7S)이 대부분을 차지하고 있다. 두부 제조 시에는 이런 단백질이 수화되어 3차원적 망상구조를 형성하는데 대부분의 단백질은 두부로 이동되지만 저분자 단백질과 펩타이드, 아미노산은 두부순물에 남아있게 된다(이선미 1996). 순물에 존재하는 단백질을 가지고 실험한 이선미(1996), 김동만(1992)과 Wang 등(1989)의 보고에 따르면, 두부순물에 존재하는 단백질은 원료 콩에 들어있는 단백질과 아미노산 조성이나, 전기영동패턴에서 다른 양상을 보였는데, 이는 단백질의 기능성에서도 다른 특성을 보일 가능성을 제시하였

다.

특히 생리활성 peptide는 구조 및 활성이 다양하고, protease류에 의해 분해되며, 유전공학기술에 의한 생산 및 개조가 가능하고, 높은 안전성을 기대할 수 있다는 특성으로 인하여 주목되고 있다(신재익, 1995). 최근 들어 된장, 간장등의 전통 콩발효식품에서 peptides에 대한 생리적 활성이 많이 보고되고 있는데, 그 작용으로는 고혈압 방지효과(신재익등, 1995), 항돌연변이성(정건섭, 1996), 항암성(김송이, 1995), 혈전용해(정건섭, 1996)등이 있다. 발효 대두제품에서는 식품중 미생물이 분비하는 단백질 가수분해효소에 의하여 생성된 펩타이드 성분이 이런 생리적 작용에 관여한다. 또한 최근에는 인체내에서의 소화과정을 통하여 생리활성을 지닌 형태로 변환되어 흡수된 후 생리작용을 나타내는 물질이 알려지면서 이른바 식품의 3차기능으로서 생체조절기능에 대한 관심이 증대되고 있다(성장훈, 1994). 이에 따라 두부순물에 본래 존재하리라 기대되는 수용성 peptide와 또한 두부순물단백질이 체내 장관에서 효소작용을 받아 생성될 잠재적 peptides에 의한 생리적 활성을 기대할 수 있다.

이러한 식품 폐수 중 유용성 물질을 회수할 수 있는 여러 방안들이 제시되고 있는데, 이 중에서도 막분리 기술을 분리, 농축, 정제 공정에 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 순물이나 침지액의 유용성 물질을 회수할 수 있는 방안의 일환으로 연구되고 있는 방법으로는 한외여과막을 이용하는 방법과 역삼투법을 이용한 방법이 있으며 그 외에 산화칼슘을 이용한 방법, 이온교환수지 및 활성탄으로 정제를 하는 방법, 활성탄에 올리고당을 흡착시킨 후 에탄올로 이를 탈착시키는 방법, 사탕무의 당밀 중에 함유되어 있는 라피노즈를 크로마토그래피법으로 분리, 정제하는 방법 등이 연구되고 있다.

이 중 한외여과법과 역삼투법은 상의 변화없이 용액 중의 물질을 분

리, 농축시킬 수 있는 막분리기술의 일종으로 기존의 방법에 비하여 공정이 간편하고, 열에 민감한 제품의 처리시 우수한 효과가 있어 다양한 분야에서 각광을 받고 있다.

한외여과막(ultrafiltration)은 유기성 분자나 다당류, 단백질 등의 제거에 이용되며 허용가능한 압력은 10 100psi로서 저압력상태에서 이용할 수 있다는 장점이 있는 반면 올리고당이나 펩타이드 등의 회수는 어렵다. 반면 역삼투막은 NaCl의 제거율이 95-99%에 달하여 염이나 단당류 등도 회수할 수 있는 장점이 있는 반면 만족할 만한 유속을 유지하기 위해 200-100psi의 압력을 유지하여야 하는 경제적인 손실이 있다.

이러한 장단점을 보완하기 위해 새롭게 등장한 것이 나노여과법이다. 나노여과법(Nanofiltration, NF)은 분리특성이 한외여과막과 역삼투막의 중간 정도의 특성을 지니는 여과 과정으로 분자량이 작아 한외여과막으로는 분리하지 못하고 역삼투막의 경우 높은 삼투압으로 물질을 분리하기 위한 비용이 지나치게 드는 단점을 적절하게 보완한 막으로서 일반적으로 역삼막의 범주에 포함시켜 지칭한다.

위와 같은 차이점을 이용하여 1차적으로 한외여과법을 이용하여 단백질으로부터 올리고당과 저분자량의 peptide를 회수하고 나노여과법을 이용하여 두부 제조시 사용되는 응고제 등에 의해 잔류하는 염을 제거하고 농축하는 것이 적절한 공정이라 사료된다.

본 연구에서는 두부순물의 전반적인 특성을 알아보고 한외여과막과 나노 여과법을 이용하여 환경오염을 어느 정도 감소시키면서 방안과 동시에 유용성 성분인 올리고당, Isoflavone, 저분자 peptide를 회수할 수 있는 방안을 모색하고자 하였다.

제 2 장 연구방법

제 1 절 침지액과 두부순물의 특성 분석

1. 실험재료

가. 두부공장의 설문조사

두부제조 공장을 대, 중, 소의 규모로 나누어 서울, 경기도, 강원도 일대의 공장 10곳을 선정하여 대두 침지액과 두부 순물을 각각 2ℓ씩 수거하여 실험 재료로 사용하였다. 수거시 설문지 조사를 실시하여 공장의 규모, 생산하는 두부의 종류, 침지액과 순물이 얻어지는 과정, 침지액과 순물의 처리방법, 두부의 제법, 응고제의 종류, 수득률 등에 관하여 알아보았다. 두부제조 공장의 소재와 규모는 Table 1과 같다.

Table 1. Area and scales of soybean-curd processing companies

Companies	Area	Scale(output per year)
JA	Kyungi-do, Guri	18,750 ton
KD	Seoul, Kangdong	2,592 ton
PC	Kyungi-do, Pucheon	365 ton
DY	Kyungi-do, Shiheung	4,562 ton
WI	Kyungi-do, Shiheung	1,800 ton
DS	Seoul, Sungdong	2,203 ton
HY	Seoul, Sungdong	1,478 ton
YH	Seoul, Youngdeungpo	3,500 ton
KA	Seoul, Kwanak	4,000 ton
PM	Kangwon-do, Chuncheon	19,000 ton

2. 오염도 측정

가. 생물화학적 산소요구량

침지액과 순물의 생물화학적 산소요구량 (Biochemical Oxygen Demand : BOD)을 5-Day BOD test 방법을 사용하여 측정하였다(양병수, 1988; 김동만 등, 1992a). 용존산소가 포화되도록 증류수를 충분한 시간동안 aerator로 폭기시킨 후, phosphate 완충용액 (pH 7.2, KH_2PO_4 48.5g, K_2HPO_4 21.75g, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 33.04g, NH_4Cl 1.7g을 1ℓ의 증류수에 용해시킨 용액), 2.25% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 용액, 2.75% $CaCl_2$ 용액, 그리고 0.025% $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 용액을 증류수 1ℓ당 1mℓ씩 첨가하여 희석수를 제조하였다. 이 희석수로 침지액과 순물을 희석하여 BOD병(300mℓ 용량)에 완전히 채우고 15분 후의 용존산소량과 20℃ 항온기에서 5일간 저장한 후의 용존산소량을 용존 산소 측정기 (Dissolved Oxygen Meter:YSI model 58)로 각각 측정하여 그 차이로 생물화학적 산소요구량을 계산하였다.

나. 화학적 산소요구량

침지액과 순물의 화학적 산소요구량(Chemical Oxygen Demand : COD)은 다음과 같은 방법으로 측정하였다(양병수, 1988; 김동만 등, 1992a).

7.5mℓ digestion vessel에 희석한 시료 2.5mℓ, digestion 용액(103℃에서 2시간 이상 건조시킨 $K_2Cr_2O_7$ 10.216g과 황산 167mℓ, $HgSO_4$ 33.3g을 약 500mℓ의 증루수에 녹여 식힌 후 1ℓ로 정용한 용액) 1.5mℓ, 황산-황산은 용액(황산 1kg에 황산은 5.5g을 넣고 1 2일 동안 방치하여 녹인 용액) 3.5mℓ을 넣고 잘 섞은 후, 예열한 150℃의 block digester에서 2시간동안

분해하고 방냉하여, 침전을 가라앉힌 후 COD meter(DR/2000, HACH)를 이용하여 600nm에서 흡광도를 측정하여 COD를 계산하였다.

다. pH 측정, 점도측정, 전기전도도, 굴절률, Brix 측정

pH meter(동우 메디칼, model DP-215M, digital pH/ion meter)를 사용하여 침지액과 순물의 pH를 측정하였다.

회전점도계(Physica, standard measuring drive system SM-LM, Z4 Din)를 사용하여 침지액과 순물의 점도를 측정하였다. 시료의 온도를 20.5±0.5℃로 하고, 전단속도(shear rate)를 40.3 4030 1/s의 범위에서 단계적으로 변화시키면서 전단응력(shear stress)의 변화를 측정하여 침지액과 순물의 유동 특성을 분석하였다.

전기전도도 측정기 (Conductivity meter:YSI model 35)를 사용하여 침지액과 순물의 전기전도도를 측정하였다.

아베굴절계(Abbe, Ermacat A-302)를 사용하여 굴절률과 brix를 측정하였다.

라. 색도 측정

색도계(Minolta Spectrophotometer CM-3500d)를 사용하여 침지액과 순물의 색도를 Hunter scale에 의한 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)값으로 나타내었다.

3. 일반성분분석

순물과 침지액의 총고형분 함량을 동결건조법에 의하여 다음과 같이 측정하였다. 순물과 침지액을 dry-ice와 acetone을 이용하여 급속냉동시킨

후 -80℃의 냉동기(deep-freezer)에서 24시간 더 냉동시켜 동결건조기(freeze-dryer:일신 엔지니어링, FD 5508)에서 24시간 이상 건조시켰다. 건조시키기 전 무게에 대한 건조시킨 후의 무게의 퍼센트를 고형분 함량으로 하였다. 총단백질 함량은 microkjeldahl법, 총당함량은 phenol-sulfuric acid 방법에 의해 분석하였다.

4. 기능성물질의 함량 분석

가. 올리고당분석

침지액과 순물의 올리고당 함량을 고속액체크로마토그래프(HPLC)로 분석하였다. 전처리 과정으로, 시료 10㎖에 10% lead acetate 용액을 2㎖ 가하여 단백질을 제거하고 12,000×g에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 취하였다. 이 상층액을 Sep-Pak C18 cartridge(Waters)로 여과시킨 후 10㎕를 고속액체크로마토그래프(HPLC, Waters model 200 series)에 주입하였다. 표준물질로는 fructose, sucrose, raffinose, stachyose를 Sigma (Luis, MO)에서 구입하여 사용하였고, HPLC분석조건은 Table 2 와 같다.

Table 2. Conditions of HPLC for oligosaccharides analysis of soybean soaking water and soybean-curd whey

Instrument	Waters model 200 series
Column	Waters carbohydrate analysis column (3.9×300㎜, Waters)
Guard column	μ-bondapak insert C18
Mobile phase	75% acetonitrile in water
Flow rate	1.0㎖/min
Temperature	40.0℃
Detector	RI detector (Differential refractometer R401)
Injection volume	10㎕

나. 이소플라본 분석

순물의 isoflavone 함량을 Table 3의 조건에서 고속액체크로마토그래프(HPLC, Hewlett Packard 1090 series II)분석하였다. 동결건조한 순물 0.35g 취하여 1N HCl 3㎖을 가한 후 100℃의 진탕항온수조(HY-1000, Dae han sci. co.)에서 1시간 가열하며 가수분해고MeOH 3㎖을 가하여 흔들어 12시간 방치하여 isoflavone을 추출하고 상층액을 0.5μm syringe filter(Millipore Co.)로 여과하고 20㎕를 주입하였다. 표준물질은 Sigma 사(Sigma chemical co., USA)에서 구입하여 사용하였다.

Table 3 . Conditions of HPLC for isoflavones analysis of soybean soaking water and soybean-curd whey

Instrument	HP 1090 series II Hewlett Packard Co.
Column	YMC-PACK ODS-OM 303 S-5 (120Å, 250×4.6 mm I.D., YMC Inc. Wilmington, NC)
Guard column	YMC C18 guard column
Mobile phase	0.1% Acetic acid in Acetonitrile : H_2O = 35 : 65 (v/v)
Flow rate	1.0㎖/min
Detector	UV detector (254nm)
Injection volume	20㎕

다. 아미노산 분석

아미노산은 Waters Pico-Tag 아미노산 분석방법에 의해 Table 4의 조건으로 분석하였다. 순물의 동결건조물 20mg을 반응시험관에 넣고 6N HCl 15㎖을 가한 후 150℃에서 1시간 동안 가열하여 가수분해한 후 실온에서 냉각하였다. 이를 3차 증류수로 총 50㎖가 되도록 희석하여 0.45㎛ micro filter로 거른 다음 50㎕를 시료관에 취해 Pico-Tag Workstation을 사용하여 건조하였다. 건조된 시료에 재건조 시약(H_2O:MeOH:triethylamine (TEA=2:2:1, v/v))을 10㎕ 넣고, vortex mixer로 잘 섞은 후 다시 Pico-Tag Workstation에 장착하여 건조하였다. Phenylisothiocyanate (PITC)유도체를 만들기 위해 건조된 시료에 유도체 시약(H_2O : MeOH : TEA : PITC = 1 : 7 : 1 : 1)을 20㎕ 넣어 vortex mixer로 잘 섞어 20분 동안

실온에 방치시킨 후 Pico-Tag Workstation에서 완전히 건조시켰다. PITC(protein sequencing grade)는 Sigma(Luis, MO)에서 구입하여 이동상 A를 50㎕를 넣어 시료를 완전히 용해시킨 후 20㎕를 주입하여 아미노산을 분석하였다. 표준물질은 2.5μmol/㎖인 아미노산 분석용 아미노산 혼합액을 Waters(Millipore Co., USA)에서 구입하여 사용하였다.

Table 4. Conditions of HPLC for amino acids analysis of soybean-curd whey

Instruments	Waters RheoDyne injector, Waters 626 pump, Waters 600S controller, Waters 486 tunable absorbance detector Hewlett Packard HP3395 integrator
Column	Waters Pico-tag column(3.9×150mm,4㎛)
Detector	UV 254nm
Mobile phase	A : buffer : acetonitrile = 94 : 6(v/v) * buffer (0.14M sodium acetate trihydrate and 0.05% triethylamine in 1ℓ Mili-Q Water, Adjust pH 6.4 with phosphoric acid) B : 60% acetonitrile
Temperature	58.0℃
Injection volume	20㎕

라. 이온칼슘 및 총 칼슘 측정

이온 칼슘은 순물의 이온 칼슘양을 이온 농도 측정기(Orion model 920A)를 사용하여 측정하였다. Calcium ionic strength adjustor (ISA, Orion) 2㎖을 첨가한 증류수 100㎖에 calcium electrode (Orion model 93-20)를 담궈둔 후, 1000 ppm의 calcium standard 용액(Orion)으로 calibration하고, 희석한 순물의 칼슘농도를 측정하였다. 이때 calcium standard 용액과 순물의 온도는 25±0.5℃로 조절하여 사용하였다. 총 칼슘 측정은 습식 방법으로 원자 흡광계를 이용하여 총칼슘을 측정하였다. 순물 10ml을 취하여 105℃에서 건조시킨 후 촉매제 K_2SO_4 1.5g과 Se 7.5mg

을 넣고 진한 황산 5ml을 첨가한 후 420℃에서 분해하였다. 분해한 시료를 증류수로 10ml로 조정한 후 다시 적당한 농도로 희석하여 원자 흡광계(Atomic Absorption Spectrophotometer, GBS model 904)로 흡광도를 측정하여 총칼슘 함량을 구하였다. calibration을 위해서 1, 2, 3, 4 ppm으로 맞춘 표준물질(Junsei Chemical Co., 원자흡광분석용 Calcium Standard Solution)을 사용하였다.

제 2 절 기능성 물질의 분리, 농축

1. 실험재료

서울 시내의 한 두부공장을 선정하고 지속적으로 두부순물을 제공받아 실험 재료로 사용하였다.

2. 한외여과막을 이용한 기능성 물질의 농축 및 회수

두부순물을 45㎛의 체로 거른 다음, 한외여과의 주입용액으로 사용하였다. 한외여과는 한외여과시스템(Bus-200, SK Industry, Korea)에서 여과한계분자량(MWCO : molecular weight cut off)이 10,000이고 spiral- wound 형태의 막인 재생섬유소(regenerated cellulose)막과 polysulphone막(Millipore Co.)을 사용하여 25℃, $2kgf/cm^2$의 압력하에서 행하였다. 막투과속도가 최적인 조건을 찾기 위해 두부순물의 pH를 변화시킨 시료와 calcium sequestering 시약인 EDTA를 0.01M 첨가한 시료를 한외여과하여 막투과속도가 최적인 조건을 설정하고, 한외여과하여 각각 용적농축비(VCR:Volume Concentration Ratio) 2 10로 조절하여 여과액(permeate)과 농축액(retentate)을 얻었다.

3. Nanofiltration을 이용한 기능성 물질의 농축 및 회수

Nanofiltration은 Helicon RO 4 Catridges가 장착된 Nanomax-50 (Milipore, CDRN 50004)을 사용하였다. 농축하기 전에 증류수 5ℓ를 유속 5ℓ/min, 130psi의 조건에서 5분간 작동시킨 다음 한외여과를 이용하여 농축한 시료 30ℓ를 유속 3ℓ/min, 200psi의 조건에서 처리하였다. 시료의 양은 역삼투막장치의 여액의 유속을 측정하여 주입 압력이 500psi이상

임에도 유속이 100ml/min이하가 되기 시작하는 점을 종말점으로 하였다.

제 3 절 UF/NF를 이용하여 농축한 두부순물의 콩올리고당의 분리, 농축 및 정제

1. 콩올리고당의 함량 분석

위에서 언급한 방법과 동일한 조건에서 실험하였다.

2. 기타 성분 분석

이온칼슘분석, 일반성분분석, 이화학적특성(COD, pH, 점도, 전기전도도, 굴절률, Brix)는 위에서 언급한 방법과 동일하게 측정하였다.

3. 콩올리고당의 *Bifidobacterium* 활성에 미치는 효과 측정

가. 사용균주 및 시료 준비

생명공학연구소 유전자은행(Korean Collection for Type Culture, KCTC)fdm로부터 분양받은 4종류의 균주(*Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*)를 사용하였다.

UF/NF로 농축한 시료를 이온교환수지(DOWEX 50W)로 농축한 시료를 0.5% 당용액으로 희석한 후 0.45㎛ filter를 통과시켜 10㎖를 준비하였다. 대조군으로는 균주의 glucose이용성이 뛰어나다는 점을 고려하여 위

의 시료에 0.5% glucose를 첨가한 시료와 BHI broth 에 바로 접종하여 (단, Bifidobacterium longum, bifidobacteirum infantis의 경우 0.05%의 cysteine을 첨가) 그 이상의 당을 첨가하지 않은 시료를 이용하였다.

나. 콩올리고당의 Bifidobacterium 활성에 미치는 영향

분양 받은 균주를 0.05%의 cysteine이 함유된 BHI broth에 넣고 anaerobic jar(DIFCO)에서 37℃, 48시간동안 배양하여 1차 활성화시킨 후 같은 조건하에서 2차 활성화 시켰다. 충분히 활성화 시킨 다음 0.5㎖를 취하여 원심분리(10,000×g) 하여 균을 침전시킨 후 상등액을 제거하고 준비된 시료 중에서 0.5㎖를 취하여 vortex를 이용하여 suspension으로 만든 다음 10㎖에 시료를 넣어 충분히 섞어 준 후 미리 준비된 0.1% peptone용액에 넣어 일정한 비율로 희석한 다음 각각의 희석액에서 0.1㎖씩을 취하여 BL agar에 접종하여 37℃에서 48시간 동안 배양한 후 균수를 확인하였다. 사용하고 남은 균주는 0.9㎖를 취하여 cryogenic vial에 넣은 후 10%(v/v)glycerol을 0.1 ㎖첨가하여 -20℃에서 냉동 보관하였고 이를 사용할 때에는 위와 같은 활성화 단계를 거쳐 사용하였다.

다. 콩올리고당의 *Salmonella typhimurium*과 *Staphylococcus aureus*의 활성에 미치는 영향

분양 받은 균주를 10㎖의 BHI broth에 넣고 37℃에서 24시간 동안 배양하여 1차 활성화 시킨 후 다시 BHI 10㎖에 1㎖를 취하여 같은 조건하에서 2차 활성화시켰다. 충분히 활성화 시킨 균주는 미리 만들어 두었던 slope agar에 접종하여 37℃에서 24시간 동안 배양한 후 broth에 1 loop를 취하여 넣어 0.1% peptone용액을 9.9㎖ 씩 취하여 둔 tube에 균주를 일정

한 비율로 희석하였다. 각각의 희석된 균주는 0.1㎖씩 petri dishes에 접종하여 도말한 다음 다시 37℃에서 24시간 동안 배양하여 균수를 확인하였다.

4. 정제된 대두올리고당의 특성 측정

가. ICP를 이용한 중금속 함량 측정

유도결합플라즈마 방출분광기(ICP-AES:ICPS-1000IV)를 이용하여 정제된 칼피스사의 60% 시럽상과의 특성을 비교하기 위해 콩올리고당분말을 60%시럽으로 조제하여 panel을 선정한 후 단맛, 뒷맛, 이취등을 검사하여 Duncan's multiple range test 실시하였다.

제 4 절 여러 가지 방법으로 콩올리고당의 회수

1. 이온교환수지를 이용한 당의 정제

가. 이온 교환 수지 선정

이온교환수지는 양이온교환수지 1종 (Sigma Co., DOWEX 50W), 음이온교환수지 1종 (Sigma Co., DOWEX 1X2-200)을 사용하였다.

나. 이온 교환 수지의 활성화

양이온교환수지의 경우 일정량의 수지에 1N NaOH를 1:5(w/v)로 첨가하여 교반, 침지시키는 과정을 20분 간격으로 1시간 동안 반복시킨 후 중성이 될 때까지 증류수로 세척하고, 다시 1N HCl을 1:5(w/v)로 첨가하여 교

반, 침지하는 과정을 20분 간격으로 1시간 동안 반복하여 처리한 후 중성이 될때까지 증류수로 세척하여 사용하였다.

음이온교환수지는 위와 같은 방법으로 하되 1N HCl을 먼저 이용한 후 1N NaOH로 활성화하여 사용하였다.

2. Steffen법을 응용한 콩올리고당의 분리 및 회수

실험방법은 최연배등(1995)에 의해 연구된 방법을 이용하였다. 염화칼슘($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)을 당대비 8-10%을 첨가하여 교반,냉각시켜, 당대비 100-120%의 분말 생석회(CaO)를 첨가하여 교반한 후 5℃에서 20분간 정치시켰다. 425메쉬의 체로 1차 여과과정을 거쳐 cold saccharate를 회수하고, 여액은 75-85℃로 가열하여 2차 여과 과정을 거쳐 hot saccharate를 회수하였다. 이 때 침지 시간에 따른 회수율을 비교하기 위해 2차 여과 시간을 1시간, 1시간 30분, 2시간으로 변화시켜 비교하였다. 두 saccharate를 합쳐 적당한 양의 물로 슬러리를 만든 후 탄산가스를 혼입시켜 당을 탈착시켰다. 탈착 시간은 30분, 1시간, 1시간 30분 간격으로 변화를 주어 비교하였고, cake는 다시 수세하여 400㎖의 증류수만을 첨가한 경우와 325㎖의 수세액에 75㎖의 증류수를 첨가한 경우의 액을 올리고당액으로 하였고 HPLC로 올리고당의 회수 정도를 분석하였다.

3. 활성탄을 이용한 콩올리고당의 분리 및 회수

활성탄은 100 400메쉬 (Sigma Co.,)크기의 입자를 이용하였다. 활성탄의 양에 따른 효과를 보기 위해 0.6g, 0.8g, 1.0g, 1.2g의 활성탄을 칼럼에 충진하여 3배 이상의 물로 탈기하여 충진을 고르게 한후 양이온교환수지(Sigma Co., DOWEX 50W)로 10분간 교반한 시료를 10,000×g 로 원심분리

한 후 10㎖를 칼럼에 용리시켰다. 잔류하는 이물질의 제거를 위해 3배의 증류수로 칼럼을 세척한 후 에탄올로 탈착시켜 분리하였다. 이를 회전진공농축기(rotary evaporator)를 이용하여 농축한 후 다시 증류수를 첨가하여 10㎖로 만들어 HPLC를 이용하여 올리고당의 회수정도를 측정하였다.

제 5 절 두부순물단백질의 분리 및 기능적 특성 측정

]. 동결건조한 두부순물단백질의 이화학적 특성

가. 실험재료

농축하여 회수된 두부순물을 동결건조한 뒤 두부순물 분말을 10% 수용액으로 만든 후 pI로 조절하여 50℃, 30분간 저어준 뒤 pH를 재조정하여 10,900×g에서 15분간 원심분리하였다. 이때 침전물을 모아서 증류수로 여러 번 세척 후 재분산시켜 pH 7.5로 조정한 다음 30분간 교반한뒤 pH를 재조정하여 동결건조한 분말을 두부순물단백질(soybean-curd whey protein ; SWP)로 하였다.

나. 일반성분, 색도

위와 동일한 방법으로 실험하였다.

다. 유동특성

pH 4.1, 6.0, 8.0를 선택하여 회전점도계를 사용하여 20℃에서 전단속도를 0.0-2270 1/s의 범위에서 단계적으로 변화시키면서 전단응력의 변화

를 측정하여 침지액과 순물의 유동 특성을 분석하였다.

2. 동결건조한 두부순물단백질의 수용액에서의 기능적 특성

가. 용해도

Frazen등(1976)과 Sathe등(1981)의 방법을 수정하여 두부순물단백질(SWP)과 분리대두단백질(ISP)의 pH에 따른 용해도를 측정하였다.

단백질시료 0.1g을 증류수 10㎖에 분산시킨 후 1N HCl이나 1N NaOH를 이용하여 pH 2, 4.1, 6, 8, 10, 12로 조절한 후, 10분간 저어준 뒤 pH를 재조정하여 10,900×g에서 15분간 원심분리(Vision Co.)를 하였다. 상징액 1㎖를 취해 증류수 3㎖로 희석한 후 뷰렛용액 4㎖를 넣어 30분간 방치시킨 다음 540㎚에서 흡광도를 측정하였으며, 용해도는 pH 12에서의 용해도를 100%으로 계산하였다.

나. 유화특성

1) 유화력 측정

두부순물단백질(SWP)과 분리대두단백질(ISP)의 pH별 유화성은 Pearce등(1978)의 탁도 측정 방법을 이용하여 측정하였다.

단백질 시료 0.2g에 증류수 50㎖를 넣어 혼합한 후 1N NaOH나 1N HCl을 이용하여 pH를 2, 4.1, 6, 8, 10, 12로 맞춘 후 10분간 교반한 후에 pH를 재조정한 뒤 콩기름(제일제당) 2㎖를 넣은 후 Osterizer Mixer의 'Mix' mode에서 1분간 유화시켰다. 생성된 유화용액 0.1㎖를 0.1% SDS용액으로 1:150이 되게 희석한 뒤 500㎚에서 흡광도를 측정하였으며(Hitachi spectrophotometer) 탁도는 다음 계산식에 의해 구하였으며 이 탁도로 유화성을 나타내었다.

T = 2.303 A/L	T : Turbidity , A : Absorbance at 500㎚, L : Pathlength of Cuvette(1㎝)

2) **유화안정성 측정**

유화액 형성 후 30**분**, 60**분 후에** 0.1**㎖의 유화액을 취해 위와 동일하게** 0.1% SDS**용액** 15**㎖에 넣어** vortex mixer**로 잘 혼합한 다음** 500㎚**에서 흡광도를 측정하여 탁도를 구한 다음 유화안정성을 다음과 같은 식에 의해 계산하였다**

$$\text{Emulsion stability(\%)} = \frac{\text{*T of emulsion after t min.}}{(t = 30\ \text{min},\ 60\ \text{min})} \times 100 \quad (\text{*T of initial emulsion} \quad \text{*T: turbidity})$$

다. **거품성**

1) **거품형성력 측정**

Yasumatsu**등**(1972)**의 방법을 수정하여 두부순물단백질**(SWP), **분리대두단백질**(ISP)**의 거품특성을 측정하였다**. **단백질 시료** 0.2g**을 증류수** 50**㎖에 분산시키고** 1N NaOH**나** 1N HCl**을 이용하여** pH 2, 4.1, 6, 8, 10, 12**로 조절한 후**, 10**분간 교반하여** pH**를 재조정한 후** Osterizer mixer**의** ‘Whip’ mode**에서** 5**분간 교반한 다음 눈금실린더에 붓고** 30**초간 방치한 뒤 거품의 부피을 측정하여 단백질 시료의 거품형성력을 나타내었다**.

2) **거품안정성 측정**

거품형성 후 30, 60**분이 경과한 뒤 남아있는 거품의 부피를 재어 거품의 부피비로 거품안정성을 나타내었다**.

$$\text{Foam stability(\%)} = \frac{\text{Vol. of foam after t min}}{\text{Vol. of initial foam}} \times 100 \quad (t = 30\ \text{min},\ 60\ \text{min})$$

3. 동결건조한 두부순물단백질의 구조적 특성

가. 전기영동

Davis와 Orstein의 비연속완충계를 이용한 Lammli법(Bollag and Edelstein, 1991)을 참고하여 두부순물단백질과 분리대두단백질의 분자량 분포를 알아보고자 전기영동을 실시하였다. Vertical slab instrument (Hoffer Scientific Instrumets, SE 600 series)를 사용하였고 12.5% sodium dodecyl sulfate(SDS)-polyacrylamide gel(16cm ×18cm)과 5% stacking gel를 써서 분석하였다. 두부순물단백질(SWP), 분리대두단백질 분말(ISP)일정량을 Eppendorf 시험관에 넣은후 시료용액과 증류수를 1:5의 비율로 넣어 vortex mixer로 잘 혼합하였다. 끓는 물에서 5분간 중탕으로 가열한 뒤 650×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상징액 25μℓ을 stacking gel에 있는 well에 얹은후 SDS을 포함한 tris-glycine buffer (pH 8.3)를 전개용매로하여 SWP는 90V, 15시간동안 ISP는 200V에서 5시간동안 전개하였다. 시료용액은 0.6mℓ 1M Tris-HCl (pH 6.8), 5mℓ 50% glycerol, 2mℓ 10% SDS, 0.5mℓ 2-mercaptoethanol, 1mℓ 1% bromophenol blue와 0.9mℓ H_2O를 혼합하여 제조하였다.

전개후 coomassie blue G-250를 0.1% 되도록 녹인 MeOH: glacial acetic acid:water (4.5:1:4.5)혼합용액에 담가 30분간 염색을 시킨후 MeOH:glacial acetic acid:water(1:1:8) 혼합용액에서 탈색시켰다.

단백질 분자량을 측정하기위한 표준물질로는 myosin β-galactosidase,phosphorylase,albumin(from bovine),albumin(from egg), carbonic anhydrase, trypsin inhibitor를 사용하였다.

나. 표면소수도

1) ANS 형광성 측정

Hettiarachcy등(1995)과 Wagner등(1990)의 방법을 수정하여 단백질시료의 표면소수도를 분석하였다. 순수 단백질의 농도가 0.06%-0.001%로 되도록 0.01M phosphate buffer(pH7.0)에 녹여 순차적으로 희석하였다. 80㎕의 1-anilino-8-naphthalene sulfonate(ANS:0.01M phophate buffer에 8.0 mM이 되도록 녹임)를 단백질용액 4㎖에 가하였다.

ANS-단백질 복합체의 형광강도는 390nm(excitation wavelength), 470nm(emission wavelength)에서 spectrofluorometer(Kontron, SFM25)로 측정하였으며 강도 수치는 메탄올에 녹인 ANS에 대한 수치를 80% full scale로 표준화하여 얻었고, 각 단백질 농도에서의 순형광강도는 각 시료용액(ANS첨가된것)의 형광강도에서 ANS가 첨가되지 않은 sample blank의 형광강도를 뺀 것이다. 표면소수도는 단백질 농도에 따른 형광강도의 직선 회기분석 결과 얻어진 기울기로 나타내었다.

2) SDS 결합성 측정

Kato등(1984)의 방법에 따라 0.07 mM SDS 용액에 단백질 농도가 0.1 % 되도록 시료를 녹여 30분간 방치하였다. SDS-단백질용액은 미리 활성화시킨 투석관(Spectra/Por Membranes, MWCO: 12-14,000)안에 넣어 0.02M phosphate buffer(pH 7.0) 25㎖에서 48시간 동안 투석한 후 투석관에 있는 용액 500㎕를 취해 5㎖ chloroform이 들어있는 25㎖ screw- capped test tube에 넣어 vortex mixer로 강하게 혼합한 다음 2.5mM methyleneblue용액 1.25㎖를 넣어 역시 vortex mixer로 잘 혼합한 후 2,500rpm(한일고속원심분리기)에서 10분간 원심분리한 후 밑에 있는 층(chloroform층에 있는 SDS-methylene mixture)을 취해 655nm에서 흡광도를 측정하였다. SDS양을

변화시켜 위의 방법으로 표준곡선으로 만들어 단백질에 결합된 SDS양을 결정하였다. SDS결합력은 500㎍ 단백질에 결합된 SDS양을 ㎍으로 나타내었다.

3) 유리 thiol기와 disulfide bond 함량 측정

가) 유리 thiol기 분석

Beveridge등(1974)의 방법을 이용하여 두부순물단백질(SWP), 분리대두단백질(ISP)의 유리 thiol기를 분석하였다. 단백질 시료 0.06g을 tris-glycine buffer(10.4g tris, 6.9g glycine, 1.2g EDTA/liter, pH8.0) 1㎖에 녹이고 4.7g의 guanidine hydrochloride를 첨가하여 10㎖로 만든 뒤 그중 1㎖를 취하여 urea-guHCl(tris-glycine buffer에 녹인 것으로 5M guHCl가 함유된 8M urea) 4㎖와 섞은 후 4㎎/㎖ buffer농도의 Ellman's reagent(5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid; DNTB) 0.05㎖를 섞고 15분뒤에 412nm에서 발색 정도를 측정하였으며 아래의 식을 이용하여 단백질 시료의 유리 thiol기 함량을 계산하였다.

$\mu M\ SH/g = \dfrac{73.53\ A_{412}\ D}{C}$	A_{412} : Absorbance at 412 nm C : Sample concentration(㎎/㎖) D : Dilution factor $73.53 = 10^6 / (1.36 \times 10^4)$ 1.36×10^4 : molar absorbity

나) Disulfide bond 분석

위의 방법에 의해 10㎖로 만든 단백질 용액 1㎖를 mercaptoethanol 0.05㎖, urea-guHCl 4㎖와 섞어 실온에서 방치하고 1시간 후에 12% trichloroacetic acid 10㎖를 첨가하여 단백질을 침전시키고 다시 1시간 동안 방치한 뒤 6700×g에서 10분간 원심분리(Vision Co.)하였다. 침전물은 2-mercaptoethanol을 제거하기 위해 2회에 걸쳐 12% trichloroacetic acid 10

㎖에 분산시키고 다시 원심분리를 하였다. 얻어진 침전물은 8M urea in tris- glycine 10㎖에 녹이고 이중 3㎖를 3㎖의 8M urea in tris-glycine로 희석시킨 뒤, 4㎎/㎖ buffer 농도의 Ellman's reagent 0.04㎖와 섞고 15분후에 412nm에서 발색정도를 측정하였으며 위의방법에 의해 총 thiol기의 함량을 계산하였다.

계산된 총 thiol기의 양은 disulfide group이 환원되어 생성된 thiol기의 양과 유리 thiol기의 양의 합계이므로 이 총 thiol기에서 유리 thiol기를 뺀 뒤 2로 나누어 환원된 disulfide groups의 양을 얻었다.

4) 아미노산분석

위와 동일한 방법으로 실험하였다.

4. 동결건조한 두부순물단백질의 영양학적 특성

가. 단백질의 체외소화율

Miller등(1981)과 Knuckles(1985)의 방법을 변형하여 pepsin과 pancreatin에 의한 단백질의 체외소화율을 분석하였다. 단백질 시료 0.2g을 시험관에 넣은후 증류수 4.8㎖을 넣고 0.1N HCl(pH 2) 19㎖, pepsin용액 1㎖를 넣은 뒤 흔들어 분산시켰다. 이를 다시 활성화시킨 투석막(Spectra/Por Membrane MWCO: 12-14,000)에 넣어 pH 2의 HCl용액 200㎖가 담긴 플라스크 넣은 후 37 ℃로 유지시킨 진탕수조에 넣고 2시간동안 진탕처리하였다.

2시간 후 투석관은 0.1 $NaHCO_3$용액 200㎖가 담긴 다른 플라스크로 옮겨 투석관 안에 1N NaHCO3 2.5㎖를 첨가, 밀봉하여 15분간 수조에서 진탕처리한후 pH 7로 조정한 다음 pancreatin-bile용액 2.5 ㎖를 첨가하였다. 이를 37℃의 항온수조에서 2시간동안 진탕처리한 후 첫번째, 두번째 투석액을 모두 모아서 단백질농도와 부피를 측정 하였다. 소화효소를 처리하기

전에 시료에 존재하는 투석막을 통하여 투과되는 작은 분자량의 단백질의 양이 어느 정도인지를 알아보기 위해 pepsin, pancreatin 등의 효소나 산을 처리하지 않은 채 단백질의 함량을 분석하였다.

단백질은 Lowry방법으로 분석하였고 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하고 이로부터 가용성단백질의 양을 구한 뒤 시료의 총단백질에 대한 가용성단백질의 비로써 소화율을 계산하였다. 투석막을 활성화시키기 위하여 증류수에 2시간동안 담가두면서, 20분에 한번씩 물을 갈아주었다.

제 6 절 UF/NF 농축한 두부순물의 기능성 펩타이드 분리 및 기능성 측정

1. 한외여과와 나노여과를 이용한 저분자량의 펩타이드의 회수

위와 같은 실험방법에 의해 농축한 시료를 동결건조시킨 후 다음 분리 단계의 시료로 사용하였다.

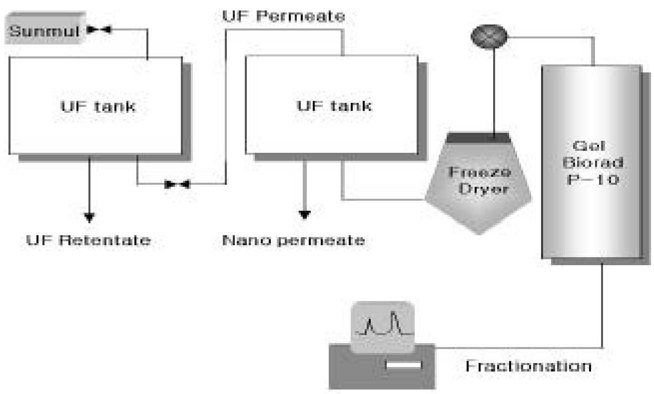


Fig 1. Schematic diagram of purification steps for soybean-curd whey

2. 펩타이드의 분리 및 정제

가. Gel permeation chromatography에 의한 분획

Bio-Gel P-10 fine(Bio-Rad사)를 충진한 XK-column(1.6×70cm, Pharmacia Co.)을 사용하였고, 유속펌프(AS-60101, Won corporation)을 통

해서 용매공급을 일정하게 해주었다. 나노농축물 1g을 2ml의 증류수에 용해시켜 1.5ml을 loading하고 용매의 공급은 0.4ml/min의 유속으로 탈기시킨 3차 증류수를 이용하였으며, fraction collector(Buchler Co. U.S)을 이용하여 3ml씩 받아서 280nm에서 흡광도 및 Lowry법(Lowry et al., 1951)에 의한 단백질 함량을 구하였다. 여러 분획 중 ACE 저해활성이 가장 높은 분획을 모아서 동결건조 하였다.

나. Prep-FPLC chromatography에 의한 정제

GPC을 통해 얻은 분획중에서 ACE저해 활성이 가장 높은 분획물을 분리능이 뛰어난 prep-FPLC(Model AKTA Pharmacia Co.)을 이용하여 Table 5과 같은 조건하에서 재분획하였다.

Table 5. Operating condition of gel permeation chromatography

Column	Superdex 75 HR 10/30
Pressure	0.50MPa
Flow rate	0.5ml/min
Loading volume	100μℓ(20mg/ml)
Eluate FracSize	1ml
UV	280nm

3. ACE 저해 활성의 측정

Angiotensin-I 전환효소(ACE)는 아세톤 침전분말(Sigma Co.) 1g에 붕산완충액 (pH 8.3) 10ml를 가하여 5℃에서 24시간 교반한 후, 원심분리(10,000rpm, 30분)하여 얻은 상층액을 조효소액으로, 기질로는 hippuryl-His-Leu(Sigma Co.)를 사용하였다. 각 분획의 ACE저해 활성 측정은 Cushman의 방법(30)을 응용하였다. ACE 저해 활성은 ACE의 활성을 50%

저해할 수 있는 peptide-nitrogen 량으로 나타내었으며 이것을 IC_{50}으로 표현하였다. Gel chromatography에 의해 얻은 분획물을 100㎕에 200㎕의 붕산 완충액(0.1M sodium borate (pH8.3) containing 300mM NaCl) 및 기질로써 hippuryl-His-Leu 용액 (25mM) 100㎕을 가한 후 37℃에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 ACE 조효소액 100㎕을 가하여 다시 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1.0N HCl 500㎕을 가하여 반응을 정지시켰다. 시료용액 대신 증류수 0.1㎖을 사용하여 보정하고 대조구는 염산용액을 가한 후 효소액을 가하였다. 여기에 ethyl acetate 3.0㎖을 가하여 10초간 교반한 후, 3000rpm에서 5분간 원심분리시켜 상층액 1㎖를 취하였다. 이 상층액을 100℃에서 4시간 건조시킨 뒤 증류수 3㎖을 가하여 용해시키고 228㎚에서 흡광도를 측정하여 다음식에 의해서 ACE 저해율을 측정하였다.

% Inhibition $= [1 - \{(A_s - A_{sc})/(A_b - A_c)\}] \times 100$	A_b = 공실험의 흡광도 A_s = 시료의 흡광도 A_c = 공실험의 대조구 흡광도 A_{sc} = 시료의 대조구 흡광도

4. Thin layer chromatography에 의한 당단백질의 분리 및 정제

펩타이드 분획을 분리하기 위해 박층 크로마토그래피를 행하였다. ACE 저해 활성 측정을 통해 확인된 높은 활성을 갖는 분획물을 일정 농도가 되게 증류수로 녹인 후 silica gel plate(silica gel 60, layer thickness 0.22㎜)에 spot하였다. 전개용매는 BuOH:Acetic acid:H_2O(4:1:1)로 포화시킨 전개조에 spot한 TLC판을 넣고 약 3시간 정도 전개하였다. 약 12㎝까지 전개시킨 후 TLC판을 전개조에서 꺼내어 110℃에서 5분간 건조하였으며, 먼저 UV램프에 의해 단백질의 위치를 확인한 다음 단백질 반응은 ninhydrin(ninhydrin : Acetic acid) 용액으로 분무하여 재건조하였

고, 당은 50% H_2SO_4에 의해 분무하여 반응시켰다.

5. MALDI을 이용한 분자량 측정

Matrix인 CHCA (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid) 0.01g에 H_2O 500 μℓ 와 30% acetonitrile 500μℓ을 넣고 1분간 vortex을 하여 CHCA를 용해시킨 다음 1μℓ 0.3% TFA를 넣어준 후 4,000rpm, 9분간 원심분리를 하여 녹지 않은 matrix는 제거시켰다. 사용한 표준물질은 component는 insulin (bovine), Thioredoxin (E.Coli), Apomyoglobin (horse)으로 각각의 농도는 0.5pmol/μℓ, 2.75pmol/μℓ, 4.0pmol/μℓ씩 들어있는 mixture를 사용하였다. Standard mixture을 30% acetonitril in 0.01% TFA 100μℓ를 넣고 votex를 한 후 microcentrifuge tube에 24μℓ의 혼합물을 넣고 준비한 standard의 1μℓ를 첨가하여 잘 섞어주었다. 분자량 측정을 위해 ACE 저해 활성이 높은 분획물을 10pmole정도 되게 희석을 시킨 다음, 5μℓ의 양을 laser plate에 loading한 후 데시케이터상에서 vaccume에 의해 5분간 건조했다. 건조된 시료 plate를 voyager에 넣은 후 Table 6과 같은 조건에 따라 분석하였다.

Table 6. Operating condition of MALDI mass spectrometry

Accelerating Volatage	25000
Grid Voltage	75.0%
Guid wire Voltage	0.05%
Laer	2540 - 2100
Pressure+	3.01e-07

제 3 장 연구 결과

제 1 절 침지액과 순물의 특성

1. 설문조사

두부제조 공장을 공장 규모를 연간 생산 기준으로 4,000톤이상을 대, 1,500 4,000톤을 중, 1,500톤이하를 소로 분류하여 설문조사한 결과는 Table 7과 같다. 대규모가 PM, JA, DY, KA로, 중규모는 YH, KD, DS, WI로, 소규모는 HY, PC로 분류하였다. 수득률은 콩 50kg당 124kg 165kg으로서 수득률이 좋은 순서는 PM>JA, DY>YH>KA,KD>WI>HY>PC> DS로 나타났다. 이러한 수득률의 차이는 제조공정상의 차이와 응고제, 세척, 분쇄, 가열, 침전, 성형법 등 여러 요인이 작용(강호윤, 1992)에 의해 좌우된다.

두유여과시 전통적 방법으로서 두유를 끓인 후 여과하는 방법을 온비지법이라하고 생비지법은 최근의 방법으로서 콩을 불려 간상태에서 여과한 후 두유를 끓이는 방법으로 이때 생긴 비지는 끓이지 않은 상태이다. 실제로 수거한 공장의 경우 생비지법을 사용하는 PC, DY, HY, YH, KA 5곳이 상대적으로 수득률이 뛰어나게 나타났다.

콩의 침지 시간은 두부의 수득률이나 맛, 성형, 여러 가용성 성분의 함량에 영향을 미치는데(강호윤, 1992) 침지 시간의 순서를 보면 KA>JA, WI, DY, HY, YH>PM>DS>PC>KD의 순서였고 이는 후에 여러 가용성 성분의 함량에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

두부제조 및 순물의 구성 성분에도 가장 큰 영향을 미치는 부분은 응고

제의 종류로 사용하는 응고제의 종류와 양에 따라 두부의 성질과 순물의 성질이 매우 달라진다(강호윤, 1992). 예전에는 보통 단일 응고제로서 $CaSO_4$ 만을 선호하였으나 근래에는 $CaSO_4$ 외에 $MgCl_2$나 $CaCl_2$ 또는 GDL(glucono-δ-lactone)을 소량 첨가하여 함께 사용하는 혼합 응고제법을 대부분 사용하고 있었다. $CaSO_4$는 용해성이 낮아 천천히 응고를 일으켜 두부의 질은 좋게 하는 장점을 가지고 있으나 난용성이므로 이를 보완하기 위해 수용성이면서 맛을 증가시켜 주는 GDL과 $MgCl_2$를 혼합하여 넣어주는 경우가 많다. 두부공장에 따른 응고제의 배합은 Table 7 와 같고 응고제의 양은 보통의 경우 콩무게의 2%를 사용하여 실험실에서의 제조조건과도 일치하였으나 JA의 경우는 1.8%, PM의 경우 2.1%를 사용하고 있었다.

순물의 양은 일반적으로 측정하고 있지 않았으며 단지 JA, KD, DY, PM 만이 알고 있었으며 그 양도 다양하여 콩 50kg 당 205.9ℓ, KD는 144 300ℓ, DY는 75ℓ, PM은 1,342ℓ였다.

순물이나 침지액의 처리는 JA, PC, DY, WI, YH, KA, PM의 경우 정화ㄴ는 종말처리장 처리를 하고 있었으나 나머지 3곳은 그냥 버리고 있었으며 이 3 곳은 소규모가 1곳, 중규모가 2곳으로 역시 규모가 작을수록 폐수 처리에 소홀함을 알 수 있었다.

2. 오염도

가. 생물화학적 산소요구량과 화학적 산소요구량

두부공장에서 배출되는 침지액과 순물의 오염도를 측정하여, 버려지는 침지액과 순물이 환경에 미치는 영향 정도를 파악하고자 하였다.

그에 대한 기초 자료로서 침지액과 순물의 BOD와 COD 값을 측정하였다.

Table 7. Contents of the questionaires on soybean-curd processing companies

Companies / Contents	JA	KD	PC	DY	WI	CS	HY	YH	KA	PM
Company Scale(ton) (output per year)	18,750	2,592	365	4,562	1,800	2,203	1,478	3,500	4,000	19,000
Yield(kg) of soybean-curd (50kg soybean)	158.4	144	134.4	158.4	140	122.4	136	150	144	165
Water to soak	tap water	tap water	tap water	under-ground water	tap water underground water	tab water	tap water underground water	underground water	tab water	sterilized industrial water
Soaking Time(hr)	8	3	4	8	8	5-6	8	8	10	6-6.5
Water Addition for soymilk-making	octuple	sextuple	octuple						octuple	
Soymilk Filtration Method	centri-fuge	centri-fuge	centri-fuge	centri-fuge	pressing		centri-fuge	centri-fuge	centri-fuge	drum
Coagulants	$CaCl_2$ +$CaSO_4$ +$MgCl_2$ +GDL	$CaCl_2$ +$CaSO_4$ +$MgCl_2$ +GDL	$CaSO_4$	$CaCl_2$ +$CaSO_4$ +$MgCl_2$ +GDL	$CaSO_4$	GDL	$CaSO_4$	$CaSO_4$	$CaSO_4$	$CaSO_4$ +$MgCl_2$ +GDL4
Coagulants Contents	$CaSO_4$ 12g $MgCl_2$ 3g GDL 3g/1kg soybean	uncurdled bean curd (GDL 130g/100g soymilk)	2% of soybeans (W/W)		2% of soybeans (W/W)			2% of soybeans (w/w)	2% of soybeans (w/w)	2% of soybeans (w/w)
Coagul-ation Time(min)	20-30	1-5	15-20	12	10		5-10	8	10	15
Treatment of Soybean-curd Whey	정화후 종말처리장	그냥 버린다.	정화하여 버린다.	정화하여 버린다.	정화하여 버린다.	그냥 버린다	그냥 버린다.	정화하여 버린다	종말처리장	정화하여 버린다.
정화방법				활성오니법	간이정화시설 이용			생물화학적 방법		활성오니법
Treatment of Soybean Soaking Water		그냥 버린다.	정화하여 버린다.	정화하여 버린다.	그냥 버린다.	그냥 버린다		정화하여 버린다	종말처리장	정화하여 버린다
기 타			soymilk-heating after filtration	soymilk-heating after filtration			soymilk-heating after filtration	soymilk-heating after filtration	soymilk-heating after filtration	

Table 8 에서 보이는 바와 같이 순물의 BOD와 COD는 각각 12,920 22,760 ppm와 13,000 37,100 ppm의 값을 보였으며 침지액의 BOD와 COD는 각각 164 7,530 ppm과 213 9,000 ppm으로 BOD보다는 COD값이 더 큰 값을 보였다. 김동만 등(1992a)은 순물의 경우 BOD가 20,821 ppm이고 COD는 19,258 ppm이라고 보고하였다.

현재 우리나라 수질환경 보전법의 폐수배출 허용 기준에 의하면 BOD의 경우 60 80 ppm이하와 COD의 경우 70 90 ppm이하여야 하는데 (이기우, 1993), 본 실험의 시료로 수거한 침지액과 순물의 BOD와 COD값은 이 규제치를 훨씬 넘는 수치였다.

Table 8. BOD and COD of the soybean-curd whey and the soybean soaking water

(unit : ppm)

Companies	soybean curd whey		soybean soaking water	
	BOD*	COD**	BOD*	COD**
JA	19,640	21,300	1,270	1,275
KD	22,760	37,100	7,080	9,000
PC	13,820	14,100	183	511
DY	16,880	17,600	651	750
WI	12,920	13,000	1,290	1,175
DS	13,170	17,200	7,530	7,925
HY	16,950	19,800	7,515	8,800
YH	16,400	19,300	7,125	7,725
KA	18,150	17,200	1,701	1,775
PM	21,080	23,200	164	213
Mean	17,177	19,980	3,451	3,915

* : Biochemical Oxvgen Demand
** : Chemical Oxygen Demand

나. pH, 점도, 전기전도도, brix, 굴절률

침지액과 순물의 pH, 점도, 전기전도도, brix, 굴절률등을 측정한 결과를 Table 9 에 나타내었다.

침지액은 pH가 낮게 낮았는데 이는 콩의 침지시간이 길수록, 온도가 상

승할수록 pH가 점차로 낮아진다는(이영헌 등, 1987; Powers et al., 1959)사실과 연관지어 생각할 수 있다.

순물과 침지액의 한외여과시 점도가 한외여과의 효율이나 속도에 영향을 미치는 점도는(김동만 등, 1992b; 이호봉 등, 1992) newtonian적 유체 성질을 보였다. 각 시료의 점도는 순물 1.372 2.066 cp였으며 침지액 1.125 1.346 cp 정도로 침지액보다 순물의 점도가 약간 더 높았다.

전기전도도는 순물 1.55 6.79 mMhos의 다양한 전기전도도를 나타내었고 침지액은 0.25 2.74 mMhos의 전기전도도를 보였다.

Brix는 가용성 고형분 함량 또는 당 함량을 나타내주는 지표로서(김동만 등, 1992a) 아베굴절계로 굴절률과 brix를 측정하였는데, Brix값은 순물 1.2 4.8 brix 값을 나타내었다. 굴절률은 순물 1.335 1.340, 침지액 1.331 1.334이었다.

Table 9. pH, viscosity, conductivity, refractive index, Brix of the soybean-curd whey and the soybean soaking water

	soybean-curd whey					soybean soaking water			
Companies	pH	viscosity (co)	conductivity (mMhos)	refractive index	Brix	pH	viscosity (co)	conductivity (mMhos)	refractive index
JA	5.29	1.585	3.50	1.337	3	4.51	1.224	0.62	1.331
KD	4.62	2.066	6.79	1.340	4.8	5.72	1.234	2.74	1.333
PC	5.73	1.733	4.66	1.337	3	5.40	1.200	0.65	1.334
DY	5.57	1.598	1.55	1.337	3	4.11	1.275	0.63	1.331
WI	5.72	1.629	2.44	1.335	1.2	4.41	1.152	0.46	1.332
DS	5.43	1.780	3.82	1.335	1.2	4.05	1.318	0.25	1.333
HY	4.68	1.372	3.77	1.337	2.8	4.04	1.235	0.51	1.333
YH	4.97	1.582	2.40	1.337	2.8	4.35	1.346	1.67	1.333
KA	5.32	1.575	2.94	1.336	2	4.22	1.241	0.44	1.333
PM	4.53	1.871	3.40	1.337	2.8	4.27	1.125	0.47	1.333
Mean	5.19	1.679	3.53	1.337	2.7	4.51	1.235	0.84	1.333

다. 색도

색소이자 최근 기능성 소재로서 알려진 isoflavone의 함량을 쉽게 눈으로도 파악할 수 있도록 색도와의 상관관계를 알아보고자 순물과 침지액의 색도를 측정하였고 결과는 Table 10 에 나타내었다.

순물은 L값 34.10 89.97, a값 -4.50 -0.41, b값 10.50 14.63 이었고, 침지액은 L값 66.10 94.86, a값 -1.42 0.26, b값 1.51 14.59이었다.

Table 10. Hunter's color values of the soybean-curd whey and the soybean soaking water

Com-panies	L	a	b	L	a	b
JA	85.55	-3.28	12.87	91.71	-0.21	3.16
KD	34.10	-1.43	14.40	79.05	-0.84	14.59
PC	89.97	-2.99	10.50	94.86	-0.34	1.51
DY	89.39	-4.50	14.63	78.80	0.08	6.92
WI	85.86	-3.32	13.36	90.13	-0.21	3.45
DS	87.86	-3.06	11.86	66.10	0.26	12.04
HY	68.83	-0.77	13.23	82.72	-1.24	9.84
YH	66.32	-0.41	13.65	74.91	-1.10	13.56
KA	52.06	-0.88	14.46	78.93	0.11	8.41
PM	67.19	-1.35	14.41	94.26	-0.33	1.95
Mean	72.71	-2.20	13.34	83.15	-0.38	7.54

L : lightness, a : redness, b : yellowness

3. 일반성분

가. 총고형분, 총단백질

순물, 침지액의 총고형분과 단백질함량을 분석한 결과를 Table 11 에 나타내었다. 총고형분은 순물 2.0 3.8%, 침지액 0.11 1.01%이고 총단백질은 순물 0.318 0.670%, 침지액 0.002 0.123%의 단백질을 함유하였다.

이는 순물 0.3 0.4%, 침지액 0.1%라는 Wang(1989)의 보고와 일치하였으며, 순물은 총고형물의 12.1 20.4%, 침지액은 총고형물의 0.6 15.5%가 단백질인 것으로 분석되었고 이는 이영헌 등(1987)의 결과인 총고형분의 12 25%가 총단백질이라는 점과 일치하는 값이었다.

침지 시간과 유출된 총단백질 함량을 비교해보면 콩을 10시간 침지한 KA 0.036%, 8시간 침지한 YH 0.019%, 6시간 침지한 PM 0.017%, 4시간 침지한 PC 0.009%의 총단백질 함량을 보여, 침지 시간이 길어짐에 따라 순물로 유출된 단백질 양이 증가하였음을 알 수 있다.

나. 총 당

영양가, 기능성, 막분리시 영향을 주는 인자로서의 특성을 갖는 총당 함량을 측정한 결과는 Table 11에 나타내었으며, 순물은 0.98 1.64%, 침지액의 경우 0.011 0.316%정도의 총당을 함유했다. 총당이 총고형물중 차지하는 비율은 순물 33.3 60.2% ,침지액 10.0 53.0%였다.

Table 11. Contents of total solid, total protein, total sugars in the soybean-curd whey and the soybean soaking water

	soybean-curd whey			soybean soaking water		
Companies	total solid (%)	total protein(%)	total sugars (g/ℓ)	total solid (%)	total protein(%)	total sugars (g/ℓ)
JA	2.1	0.350	12.636	0.11	0.008	0.399
KD	3.8	0.670	16.414	1.01	0.123	3.163
PC	2.3	0.355	11.645	0.11	0.009	0.110
DY	2.9	0.505	12.116	0.21	0.014	0.212
WI	2.0	0.318	10.050	0.11	0.002	0.241
DS	2.5	0.510	11.180	0.70	0.004	0.955
HY	2.4	0.380	9.828	0.75	0.014	1.336
YH	2.9	0.435	11.513	0.77	0.019	1.153
KA	3.2	0.387	12.983	0.26	0.036	0.287
PM	3.1	0.450	13.012	0.11	0.017	0.583
Mean	2.7	0.434	12.138	0.41	0.025	0.844

4. 기능성 물질의 함량

가. 올리고당

순물과 침지액의 BOD나 COD를 높이는 주요한 성분 중 가장 큰 비중을 차지하는 것은 당성분으로서(박기환, 1994) 대두 올리고당을 회수하기 위한 방법을 고안하기 위한 기초 자료로 분석하였다.

순물과 침지액의 올리고당 함량을 HPLC로 분석한 결과는 Table 12와 같다. 대두 중에는 sucrose: raffinose : stachyose가 5:1:4의 비율로 존재하는데(Kennedy et al., 1985; Kuo et al., 1988; 최연배, 1995) 본실험의 순물의 경우 HY, YH, PM을 제외한 나머지 시료의 평균 sucrose : raffinose : stachyose의 비율이 5.2:1:4.4 로서 원료 콩에서의 비율과 대체로 비슷함을 알 수 있었다. 즉, 두부제조 공정에 의해서 순물로 이행하는 이들 비율은 크게 영향받지 않음을 알 수 있다.

Table 12. Contents of oligosaccharides in the soybean-curd whey

(unit : g/ℓ)

Companies	sucrose	raffinose	stachyose	total
JA	3.829±0.120	0.823±0.062	3.619±0.146	8.271
KD	4.444±0.018	0.965±0.057	4.380±0.021	9.789
PC	3.852±0.055	0.721±0.082	3.774±0.020	8.347
DY	5.052±0.044	0.845±0.023	4.246±0.070	10.143
WI	4.353±0.041	0.769±0.063	3.523±0.091	8.645
DS	4.077±0.084	0.776±0.056	3.427±0.027	8.280
HY	2.788±0.024	0.739±0.045	3.293±0.153	6.820
YH	3.267±0.226	0.752±0.038	3.886±0.113	7.905
KA	5.326±0.071	1.142±0.015	4.922±0.024	11.390
PM	3.741±0.048	0.786±0.023	4.283±0.061	8.810
Mean	4.073±0.765	0.832±0.129	3.935±0.512	8.840±1.290

나. 이소플라본

두부에서 유출되는 순물에서의 isoflavone 함량을 측정한 결과는 Tabe13과 같이 daidzein이 genistein보다 많았으며, daidzein함량 2.08 2.88mg/g, genistein함량 0.976 1.437mg/g(건조중량)이었다. 이는 whole bean이 1744㎍/g(Vinton품종)정도의 isoflavone을 가지고 있다고 생각하면 (Wang, Murphy, 1994) 이 중 10.3 39.9%가 recovery된 양이다.

isoflavone함량은 L값과만 유의적 상관관계(r=0.7826)를 나타내었다.

Table 13. Contents of isoflavones in the soybean-curd whey solids

(unit : mg/g)

Companies	Daidzein	Genistein	Total
JA	2.880±0.009	1.437±0.002	4.317
KD	2.079±0.026	0.976±0.011	3.054
PC	2.367±0.011	1.115±0.006	3.482
DY	2.782±0.011	1.344±0.006	4.126
WI	2.662±0.015	1.179±0.005	3.842
DS	2.645±0.013	1.413±0.005	4.058
HY	2.611±0.017	1.398±0.005	4.009
YH	2.461±0.010	1.216±0.014	3.677
KA	2.134±0.033	1.029±0.008	3.163
PM	2.433±0.029	1.134±0.016	3.567
Mean	2.505±0.262	1.224±0.166	3.730±0.417

다. 아미노산

두부 제조시 부산물인 침지액과 순물은 발효를 이용한 재사용 연구로 주목받았다(Wang, Cavins, 1989). 이는 성분 중 단백질 또는 아미노산의

영양학적 가치가 인정되었기 때문이다(Hackler, Stillings, 1967a). 침지액은 단백질과 아미노산 함량은 적으나 조성에 있어서는 전체 아미노산에 대한 필수 아미노산 비율이 두부나 비지 못지않게 우수하여 미생물 생장을 위한 좋은 질소 급원이 된다고 한다(Wang, Cavins, 1989).

순물의 아미노산 함량과 조성을 amino acid analyzer로 분석한 결과 침지액은 총단백질 함량 자체가 0.002 0.12%로 작았고극히 소량 존재하여 분석시 감도가 매우 낮을 것이라 예상하여 분석에서 제외시켰다.

순물의 아미노산 조성과 함량을 Table 14에 나타내었다. 분리검출된 17종의 아미노산의 총함량은 건조중량으로 94.333 147.035 mg/g 이었으며, 액체중량으로 환산할 경우 0.198 0.422 % 였다. 총단백질에 대한 총 아미노산의 비율은 56.57 96.38 %로 평균으로는 78.58%이었다.

공장규모가 작은 HY, PC, DS, WI는 순물의 총아미노산 함량이 높았는데, 이는 상대적으로 두부나 비지에는 아미노산이 적은 양으로 남아 있음을 유추해볼 수 있었다. JA, KD는 순물의 총아미노산 함량이 적었는데, 이는 이들의 경우 혼합응고제를 사용한 점과 연관지어 생각해볼 수 있다. 특히 이들 혼합응고제에 공통적으로 GDL이 들어가 있는데 GDL 사용시 아미노산 함량이 가장 낮았다는 이선미(1996)의 보고와 일치하였다.

아미노산 조성은, lysine이 가장 많았으며 glutamic acid와 glutamine, aspartic acid와 asparagine 순이었다. Wang등(1989)의 연구에서는 순물에서 lysine의 함량은 높으나 필수아미노산인 isoleucine, leucine, valine, phenylalanine의 함량은 적다고 보고하였는데 본실험의 결과와 일치하였으며, 함황아미노산인 cystein과 methionine이 적은 것으로 보아 trypsin inhibitor단백질이 높은 비율로 존재할 것임을 알 수 있다(Wang, Cavins, 1989). Wang 등(1989)은 총아미노산에 대한 필수 아미노산의 비율이 0.33이었다고 보고하였는데 본실험에서는 평균 0.49로서 다소 높았

다.

Table 14. Contents of amino acids in the soybean-curd whey solids

(unit : mg/g)

	JA	KD	PC	DY	WI	DS	HY	YH	KA	PM
Asx*	7.232	11.258	13.319	12.273	15.106	14.054	17.008	11.732	11.134	11.190
Glx**	11.612	17.212	19.064	18.934	22.009	22.325	25.695	17.463	17.294	18.567
Ser	2.902	3.547	5.153	3.796	5.598	5.192	5.576	5.513	3.805	5.232
Gly	2.675	3.517	4.158	4.408	4.503	4.649	5.219	4.605	3.595	4.502
His	5.254	4.379	6.379	5.128	5.600	5.546	5.689	4.951	3.139	5.065
Arg	5.501	6.490	7.778	7.407	8.211	8.029	8.897	7.126	5.745	7.881
Thr	4.017	5.308	4.605	4.398	6.222	6.128	7.276	4.184	4.887	5.999
Ala	2.716	3.215	3.531	3.522	3.680	3.546	4.637	3.303	2.970	3.663
Pro	2.541	4.423	4.467	4.869	4.975	5.126	5.873	5.306	3.550	4.704
Tyr	7.178	6.965	10.908	8.593	7.611	9.280	7.657	8.505	6.611	7.235
Val	2.312	1.995	2.229	2.371	2.411	2.523	2.125	2.657	2.348	2.399
Met	2.570	3.720	2.821	3.259	3.611	3.571	3.488	2.946	2.979	2.902
Cys	0.456	0.453	1.485	0.548	0.624	0.602	0.700	0.456	0.800	0.760
Ile	2.345	3.302	2.963	5.900	6.987	3.365	6.126	2.680	5.796	5.560
Leu	4.778	4.254	5.833	6.096	6.497	5.787	6.027	4.938	5.480	5.718
Phe	3.884	1.457	4.073	4.763	5.427	4.009	4.272	3.762	5.082	4.511
Lys	26.362	29.582	36.547	34.472	35.844	39.884	30.776	32.996	31.391	29.509
Total	94.333	111.078	135.313	130.737	144.912	143.618	147.035	123.123	116.605	125.399

* : Asx = Aspartic acid + Asparagine
** : Glx = Glutamic acid + Glutamine

라. 이온칼슘 및 총 칼슘

두부제조시 응고제로 DS만 제외하고 모두 $CaSO_4$를 사용하므로 순물에 빠져나오는 칼슘의 양을 측정하고자 총칼슘양과 이온 칼슘의 양을 측정하였다. 순물에 빠져나온 칼슘 정도로 두부에 남아있는 칼슘 정도를 유추하여 두부에 $CaSO_4$가 남아 문제가 되는 정도를 간접적으로 알 수 있으며, 한편 막분리시 액체의 칼슘양이 막분리 효율에 영향을 미치므로 시료의 칼슘 함량이 중요하다.

순물의 이온 칼슘 함량과 총 칼슘 함량은 Table 15 과 같았다. 총 칼슘함량은 193.5 678.1 ppm 으로 다양하였으며, JA와 DY의 경우 그 양이 높았는데 이는 혼합응고제의 사용과 연관되어 있다고 사료된다. 이온 칼슘양과 총 칼슘 양은 유의적 상관관계(r=0.7317)를 보였다.

Table 15. Ionic calcium and Total calcium concentrations of the soybean-curd whey

(unit : ppm)

Companies	ionic calcium	total calcium
JA	134.0	641.3
KD	37.3	225.2
PC	120.0	640.5
DY	188.0	678.1
WI	41.3	281.9
DS	69.2	478.9
HY	106.0	553.5
YH	168.0	498.1
KA	93.0	193.5
Mean	106.3±52.4	465.7±187.5

제 2 절 기능성 물질의 분리, 농축

1. 한외여과막을 이용한 기능성 물질의 농축 및 회수

가. pH 변화와 EDTA처리가 두부순물의 막투과속도 패턴에 미치는 영향

두부순물의 pH 변화와 EDTA 처리시 한외여과 막투과율에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. 재생섬유소막과 polysulphone막을 사용한 경우 모두 pH가 증가할수록 막투과속도는 감소하는 패턴을 보여, pH 3.5로 고정하는 것이 한외여과 효율이 가장 높게 나타났다. 재생섬유소막에서 pH 7.0으로 고정한 경우 초기의 막투과속도는 높았으나, 시간에 따른 막투과속도의 감소율이 커 한외여과 효율은 낮았다. 이러한 결과는 치즈 유장의 pH

를 2 3으로 산성화한 후 원심분리하였을 때 막투과속도의 개선효과가 있었다고 보고한 Kuo와 Cheryan(1983)의 결과와 일치하였다.

EDTA를 0.01M의 농도로 처리한 경우 처리하지 않은 두부순물보다 막투과속도가 오히려 감소하는 것으로 나타나 두부순물의 경우 치즈 유장과는 다른 형태로 칼슘이 존재하는 것으로 생각되어지며, calcium sequestering 시약을 두부순물에 처리하는 것은 한외여과시 막투과속도의 향상에 도움이 되지 못하는 것으로 나타났다.

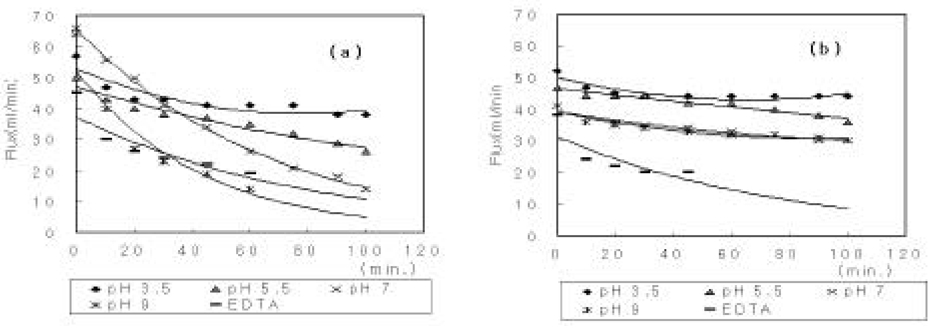


Fig. 2. Effect of membrane type and chemical treatment on flux of soybean curd whey during ultrafiltration.

(a) regenerated cellulose membrane (b) polysulphone membrane

나. pH에 따른 두부순물의 이온성 칼슘의 농도 변화

두부순물의 pH를 조절함으로써 한외여과시 막투과속도가 큰 영향을 받는다는 위 실험의 결과를 바탕으로 하여, 두부순물의 pH를 변화시키면서 이온성 칼슘의 농도를 측정하여 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

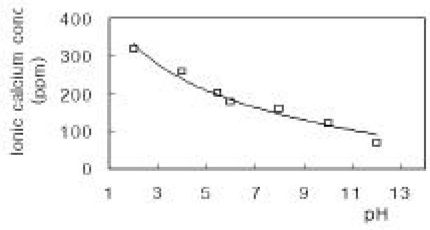


Fig. 3. Changes of ionic calcium concentration in soybean curd whey at various pH.

pH가 증가할수록 이온성 칼슘의 농도는 감소하였다. Kroll(1984)은 유리 칼슘이 콩단백질과 결합할 때 수소이온과 같은 결합 부위에 경쟁적인 결합을 하며 pH가 증가할수록 칼슘이온의 결합부위에 대한 친화력이 증가한다고 보고하였다. 이로써 두부순물도 치즈 유장과 마찬가지로 pH의 변화가 이온성 칼슘의 농도에 영향을 주며, 이것이 한외여과시 막투과속도에 영향을 준다고 생각되어진다.

다. 용적 농축비에 따른 여과액과 농축액의 특성

1) 화학적 산소 요구량 (COD)

두부순물을 한외여과하여 얻은 여과액과 농축액의 COD를 측정한 결과를 Table 16 에 나타내었다. 한외여과전 COD가 23,900, 23,800ppm인 두부순물을 재생섬유소막과 polysulphone막을 사용하여 한외여과한 결과, 여과액의 COD는 각각 56.58%, 79.25%의 COD 최고제거율을 보였다. COD의 막제거계수(MRV)는 한외여과시 농축비를 증가시킬수록 증가하는 경향을 나타내었으며, polysulphone막의 COD 제거율이 재생섬유소막보다 더 효과적인 것으로 나타났다.

Table 16. Effect of membrane type and volume concentration ratio (VCR) on the reduction of COD of soybean curd whey during ultrafiltration

Fraction	VCR[2]	Regenerated cellulose (unit:ppm)	Polysulphone (unit:ppm)
SCW(pH 3.5)[1]		23,900	23,800
Permeate	2	13,600(27.66)[3]	11,800(54.62)
	3	18,700(29.17)	14,100(63.28)
	4	19,350(37.58)	18,400(60.17)
	5	19,350(45.03)	20,200(65.17)
	10	19,450(56.58)	20,000(79.25)
Retentate	2	18,800	26,000
	3	26,400	38,400
	4	31,000	46,200
	5	35,200	58,000
	10	44,800	96,400

1. Soybean curd whey
2. VCR : volume concentration ratio
3. The value in parenthesis is MRV(membrane rejection value) of COD, %.
$MRV(\%) = [1-(C_{permeate}/C_{retentate})] \times 100$

2) 일반성분, 색도, 점도

한외여과시 용적농축비(VCR)에 따른 일반성분의 변화를 Table 17 에 나타내었다. 고형분 함량과 회분은 재생섬유소막과 polysulphone막 모두 모든 용적농축비에서 여과액의 함량이 원액과 비교하여 낮게 나타났다. 단백질 함량은 두 막 모두 원액보다 여과액의 농도가 훨씬 낮게 나타나 대부분의 단백질은 농축액으로 회수됨을 알 수 있었고, 용적농축비별로 단백질의 막제거계수를 계산해 본 결과 재생섬유소막은 용적농축비 5에서 가장 높은 값을 나타낸 후 용적농축비 10에서 다시 낮아졌다.

polysulphone막은 용적농축비가 증가함에 따라 단백질 제거계수 또한 증가하는 경향을 나타내었다. 두 막의 단백질 제거계수를 비교하여 보면, polysulphone막이 재생섬유소막보다 더 효과적으로 나타나, 여과액의 단백질을 제거하고, 농축액으로 단백질을 회수하고자 할 목적으로 한외여과를 행하고자 할 때에는 polysulphone막이 더 적합한 것으로 나타났다.

총당의 경우 재생섬유소막에서는 용적농축비 4까지는 여과액으로 회수되는 비율이 높았으나 용적농축비 5이상에서는 당의 제거계수가 증가하였기 때문에 여과액으로 당을 회수하고자 할 때에는 용적농축비 4가 적당하다고 여겨지며, polysulphone막에서는 용적농축비 5까지 당의 제거계수가 낮아져 당이 여과액으로 회수되는 비율이 높아졌지만, 용적농축비 10에서는 당 제거계수가 다시 증가하는 경향을 보였다. 따라서 polysulphone막을 이용할 때 당을 여과액으로 회수하고자 한다면 용적농축비는 5 정도가 적당한 것으로 여겨진다.

Table 17. Proximate analysis of soybean curd whey, permeate and retentate

		Regenerated cellulose				Polysulphone			
Fraction	VCR2	Solid (%)	Ash (%)	Protein (%)	Total sugar (g/l)	Solid (%)	Ash (%)	Protein (%)	Total sugar (g/l)
SCW1 (pH3.5)		2.58	0.64	0.43	20.10	2.94	0.56	0.462	17.05
Permeate	2	1.58	0.42	0.064(86.75)3	8.99(27.91)4	1.77	0.35	0.062(90.61)	8.55(42.31)
	3	2.05	0.54	0.061(91.21)	12.73(19.02)	2.12	0.51	0.053(95.43)	10.74(43.08)
	4	2.16	0.55	0.032(95.92)	12.59(16.95)	2.24	0.51	0.047(96.18)	12.72(43.21)
	5	1.70	0.51	0.021(98.30)	9.17(32.77)	2.12	0.53	0.037(98.36)	14.01(40.20)
	10	1.85	0.50	0.029(97.72)	9.43(48.22)	2.40	0.50	0.050(98.42)	13.25(61.76)
Retentate	2	2.35	0.48	0.483	12.47	3.25	0.57	0.66	14.82
	3	3.13	0.59	0.694	15.72	4.11	0.43	1.16	18.87
	4	3.51	0.57	0.785	15.16	4.77	0.64	1.23	22.40
	5	3.53	0.61	1.237	13.64	5.12	0.61	2.25	23.43
	10	4.36	0.60	1.270	18.21	8.39	0.60	3.16	34.65

1) SCW : soybean curd whey
2) VCR : volume concentration ratio
3) The value in parenthesis is MRV(membrane rejection value) of protein, %.
4) The value in parenthesis is MRV(membrane rejection value) of total sugar, %.

색도는 L(명도), a(적색도), b(황색도)의 Hunter 체계로 측정하였으며 그 결과는 Table 18 와 같다. 여과액을 두부순물과 비교하여 보면 L값이

현저히 증가하였다. 용적농축비에 따른 유의적인 차이는 없었으며, polysulphone막으로 얻은 여과액의 명도가 더 큰 값을 나타내었다. 적색도를 나타내는 a값은 여과액 모두 음의 값을 나타내었으며, 황색도를 의미하는 b값은 모두 양의 값을 띄었다. 두 막 모두 농축액의 b값이 여과액의 b값보다 커 농축액이 더 노란색을 띄는 것으로 나타났다.

점도를 측정한 결과 두부순물의 점도는 1.10 1.70cP, 여과액은 용적농축비에 상관없이 0.96 1.13cP, 농축액은 10배 농축시 2.61 2.88cP로 나타났으며, 모두 Newton성 유체 성질을 보였다.

Table 18. Hunter's color value of soybean curd whey, permeate and retentate

		Regenerated cellulose			Polysulphone		
Fraction	VCR2	L	a	b	L	a	b
SCW1		57.71	0.05	12.38	60.48	0.27	12.76
Permeate	2	96.69	-1.53	5.27	98.27	-1.78	3.54
	3	94.91	-2.02	7.08	98.60	-2.40	6.05
	4	96.18	-1.90	7.46	98.44	-2.49	6.65
	5	94.74	-1.61	6.15	98.42	-2.46	5.66
	10	95.79	-1.68	6.70	98.32	-2.68	7.47
Retentate	2	61.46	0.20	11.15	61.03	0.36	12.84
	3	59.63	-0.07	12.10	48.80	-0.21	13.02
	4	60.67	-0.08	12.55	41.34	-0.77	13.22
	5	53.32	-0.22	12.21	32.33	-0.66	12.91
	10	40.02	-0.99	12.95	19.80	2.76	11.11

L = lightness (0 100), a=green red(-60 +60), b=blue yellow(-60 +60)
1) SCW : soybean curd whey
2) VCR : volume concentration ratio

3) 올리고당

두부순물과 한외여과 후 얻어진 여과액과 농축액의 올리고당 함량을 Table 19 에 나타내었다. 한외여과시 여과액으로의 라피노오스와 스타키오스 회수율을 높이고 또한 단백질 제거율을 높이는 조건을 찾기 위해 농축비 별로 라피노오스와 스타키오스를 합한 양의 막 제거계수를 계산하여 Table 20 에 나타내었다. 재생섬유소막은 용적농축비 4에서 라피노오스와

스타키오스를 합한 양의 막제거율이 최저값을 보인 후 더 농축할수록 제거율이 증가하는 경향을 보였고, 용적농축비 4에서의 단백질 제거율 또한 95.9%로 효율적으로 여과액의 단백질이 제거되고 있음을 의미해 여과액으로 올리고당의 회수율을 높이고 농축액으로 단백질을 회수하고자 할 때 농축비는 4배 정도가 적당한 것으로 나타났다. 반면 polysulphone막은 용적농축비가 증가할수록 라피노오스와 스타키오스를 합한 양의 제거율도 증가하여 여과액쪽으로의 회수가 비효율적이었으며, 용적농축비 2에서의 단백질 제거계수는 90.61%로 이 값 역시 재생섬유소막보다는 효율성이 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 19. Oligosaccharide contents of soybean curd whey, permeate andretentate

(unit : g/l)

		Regenerated cellulose			Polysulphone		
Fraction	VCR2	sucrose	raffinose	stachyose	sucrose	raffinose	stachyose
SCW1 (pH3.5)		4.67	0.45	3.43	4.95	0.54	3.49
Permeate	2	1.93	0.22	1.23	2.80	0.26	1.43
	3	3.80	0.29	2.08	3.03	0.26	1.96
	4	4.21	0.30	2.43	3.52	0.26	2.45
	5	2.64	0.24	1.72	3.86	0.28	2.61
	10	2.97	0.29	2.12	4.66	0.42	2.58
Retentate	2	2.86	0.31	2.23	2.82	0.31	2.46
	3	4.18	0.43	2.90	3.78	0.44	3.72
	4	3.73	0.35	2.76	4.75	0.54	5.21
	5	3.74	0.26	2.53	4.57	0.67	5.50
	10	3.50	0.43	3.15	4.35	0.77	9.21

1) SCW : soybean curd whey
2) VCR : volume concentration ratio

Table 20. Membrane Rejection Value of sum of raffinose and stachyose content

(unit : %)

VCR1	Regenerated cellulose	Polysulphone
2	42.91	38.99
3	28.83	46.63
4	12.22	52.87
5	29.75	53.16
10	32.68	69.94

1) VCR : volume concentration ratio

제 3 절 UF/NF를 이용한 기능성 성분 및 콩올리고당의 회수

1. 콩올리고당

일반적으로 대두의 올리고당 함량은 다른 두류에 비해 스타키오즈의 함량이 상당히 높아 스타키오즈 : 라피오노즈 : 자당 = 4 : 1 : 5의 비율로 존재한다(Kennedy et al., 1985 ; Kuo et al., 1988 ; 최연배, 1995). 두부 순물의 올리고당 함량을 HPLC로 분석한 결과는 Table 21과 같다.

Table 21. Soybean oligosaccharides contents of the soybean-curd whey by UF/NF

(unit : g/ℓ)

Samples	Sucrose	Raffinose	Stachyose
Sunmul	5.55	0.43	3.58
UF-P	1.31	n.d.	1.91
UF-R	3.27	0.34	1.85
NF-P	1.35	n.d.	n.d.
NF-R	35.8	6.80	32.6
NF-RIE	20.9	2.30	20.6

UF-P : permeate by ultrafiltration　　n.d. : not detected
UF-R : retentate by ultrafiltration　　NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-Rc

두부 순물의 올리고당 조성은 수크로오스 5.5g/ℓ, 라피노오즈 0.43g/ℓ, 스타키오즈 3.58g/ℓ으로 분석되었다. 두부 순물을 한외여과법을 실행한 결과 단백질은 90% 정도의 제거 효과를 보였으나 당의 농축에는 효과적이지 않았고 라피노오즈의 경우 당의 여과액에서는 분석되지 않았다. 이를 좀더 농축하기 위해 nano여과법을 실시하였다. 그 결과 수크로오스는 10배 이상, 라피노오즈와 스타키오즈는 20배이상의 농축효과를 보였다.

Nano여과법에 의해 생성된 여액에서 수크로오즈만이 분석된 점은 nano여과법을 통해 삼탄당, 사탄당의 제거는 거의 완전하게 이루어 짐을 알 수 있다. 그러나 농축액은 Table 22과 같이 칼슘이온이 두부 순물의 20배 이상 농축되므로 이를 제거하기 위해 이온교환수지를 이용하여 정제 하였다. 그 결과 올리고당은 약간 감소하였지만 Table 24에서 분석한 바와 같이 단백질과 회분의 감소가 컸고, 칼슘 이온 역시 42% 이상의 제거 효과를 보였다.

2. 이온 칼슘

두부 제조시 응고제로서 사용되는 CaSO4 때문에 회분 성분중 칼슘의 양이 상대적으로 많았으며, 이를 Table 22에 나타내었다.

Table 22. Ionic calcium concentrations of the soybean-curd whey by UF/NF processing

(unit : ppm)

Samples	Concentration
Sunmul	83.6
UF-P	58.5
UF-R	122.0
NF-P	34.2
NF-R	1670.0
NF-RIE	990.0

F-P : permeate by ultrafiltration　　n.d. : not detected
UF-R : retentate by ultrafiltration　　NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

순물의 경우 83.6ppm으로 나타났는데 이는 이윤경(1997) 의 결과보다는 적은 양으로 응고시 사용된 양과 단백질과의 복합체 형태로 이용된 양에 있어서 차이가 유발하는 것으로 사료된다.

또한 UF/NF의 작동시 주로 농축액에 이온 칼슘의 양이 많은 것으로 나타났다. 이는 칼슘이 그 분자량은 작아도 전하를 띠어 단백질과 같은 물질과 결합하여 기공을 통과하지 못하기 때문으로 전기전도도(r=0.9899), 총당함량(r=0.9844), COD(r=0.9913)등과 높은 양의 상관관계를 보였다. 그러나 두부순물을 시료로 사용하여 당의 농축과 염의 제거를 위해 증류수를 일정량 첨가해 주면서 작동시킨 경우 당의 농축 및 염의 제거가 더 이상 진행되지 않고 유속의 급속한 감소를 보였다. 그 이유는 nano여과법의 Donnan effect 때문인 것으로 사료된다. $CaSO_4$를 응고제로 사용하여 상대적으로 칼슘이온이 많은 상태이므로 증류수를 첨가하여 희석여과(diafiltration)를 하더라도 염은 계속 잔류하여 유속을 저하시키는 것으로 사료되므로 이러한 염을 제거하는 또다른 공정이 요구된다.

3. UF/NF법을 이용하여 획득한 농축물의 일반 성분

가. 총 당

한외여과법을 이용하여 당을 농축하기 위해서는 우선 용적농축비를 설정하여야 한다.

Table 23. Total sugar contents of the soybean-curd whey by UF/NF processing

(unit : g/ℓ)

Samples	Sugar contents
Sunmul	12.21
UF-P	8.71
UF-R	12.78
NF-P	2.84
NF-R	151.09
NF-RIE	120.83

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

당을 용적농축비 2로 하여 회수한 결과 Table 23과 같이 여액보다는 농축액 쪽에 당이 많은 것으로 나타나 효율적이지 않은 것으로 나타났다. 그러나 일반 성분 분석에 따르면 단백질은 Table 24에서 제시한 바와 같이 순물에 0.49% 함유되어 있던 것이 0.05%만이 여과되어 90%의 제거효과를 보였고 회분은 순물에 0.5% 함유되어 있던 것이 한외여과장치를 거친 후 여액으로 0.28%만이 회수되어 57%의 제거효과를 보였다. 따라서 단백질과 회분을 제거하여 nano여과법의 효율을 높이는 전처리과정으로 효과적인 것으로 나타났다.

Nano여과장치에 주입한 결과 12배의 당 농축효과를 보였다. 이 농축액은 아미노산이나 펩타이드, 회분, 색소 역시 농축된 것으로 이러한 불순물을 제거하기 위해 회분의 제거력이 월등한 양이온교환수지를 이용하였다. 그 결과 농축액에 비해 당의 손실이 있었으나 초기의 두부 순물에 비해 10배의 농축효과를 보였고 단백질과 회분이 농축액에 비해 50%이상의 제거효과가 있는 것으로 나타났다.

나. 총단백질, 총회분

일반성분중 단백질과 회분은 막의 유속과 수명에 직접적인 영향인자로서 UF/NF장치의 작동시 콩올리고당의 농축과 단백질, 회분등의 제거효과를 알아 보기 위해 총단백질과 총회분을 분석하였고 그 결과는 Table 26와 같다.

단백질은 주로 한외여과공정을 거치면서 올리고당과 분리가 된다. 이를 한외여과장치를 통과시키면 여과액으로는 0.05% 만이 남아 초기 양의 90%이상이 제거되는 효과를 보였고 회분은 0.5% 함유되어 한외여과 장치는 그대로 통과하는 크기를 지니고 있어 실험결과 여과액 0.48%, 농축액 0.68%로 유사하게 분리되어 약 58%정도의 제거율을 보였다. 단백질과 칼슘은 막표면과 상호작용을 통해 비가역적인 fouling이나 가역적인 농도분극현상과 같은 유속

Table 24. Contents of total protein and total ash in the soybean-curd whey by UF/NF processing

Unit : %(w/w)

Samples	Protein	Ash
Sunmul	0.49	0.50
UF-P	0.05	0.48
UF-R	0.89	0.68
NF-P	0.04	0.30
NF-R	1.31	2.89
NF-RIE	0.66	1.32

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

저해 효과를 보이므로 두부순물과 같이 칼슘이온이 많고 잔존하는 대두단백질에 의한 거품을 제거하기 위해 소포제를 사용하는 경우 이러한 성분을

제거하는 것이 효율을 향상시키는 주요인이 된다.

다. 이소플라본

이소플라본 분석 결과 UF는 별로 효과를 보이지 않았지만 NF를 이용할 경우 2배의 농축효과를 보이는 것으로 분석되었다.

Table 25. Isoflavone contents in the soybean-curd whey by UF/NF processing

	Isoflavone(μg/g)		
	Daidzein	Genistein	Ge+De
sunmul	996.416	285.4686	1281.885
NF-R	1027.04	308.98	1336.02
UF-P	621.96	179.50	801.45
UF-R	633.01	201.18	834.20

4. UF/NF법을 이용하여 농축한 시료의 이화학적인 특성

가. 화학적 산소요구량

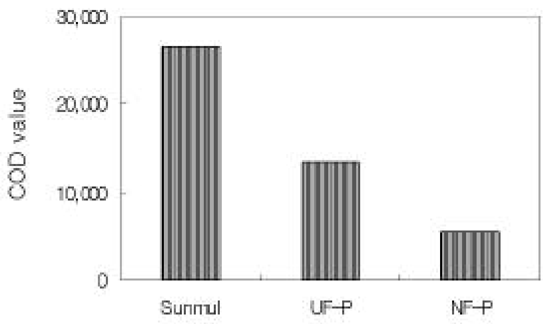
현재 우리나라 수질환경 보전법의 폐수배출 허용 기준에 의하면 COD 는 70-90ppm 이하여야 한다(이기우, 1993). 그러나 본 실험의 시료로 사용된 순물 원액의 COD는 Table 26에서 보여지는 바와 같이 26,500으로 대단히 높게 나타났다. 이를 부직포를 이용하여 간단하게 여과한 후 한외여과 장치를 통과시키면 Fig.4과 같이 COD값이 13,400으로 약 50% 감소하였고 nano여과장치를 통과시킨 경우 5,500으로 약 80%의 감소효과를 보였다. 물론 법적규제치보다는 크게 웃도는 값이지만 회수된 가용성 성분의 재활용 측면에서 뿐만 아니라 별도의 종말처리 과정의 효율성의 측면에서는 효과를 보일 것으로 사료된다.

Table 26. COD of permeate and retentate of the soybean-curd whey by UF/NF

(unit : ppm)

Samples	CCD value
Sunmul	26,500
UF-P	13,400
UF-R	34,000
NF-P	5,500
NF-R	466,000
NF-RIE	213,000

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R



UF-P : permeate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P

Fig. 4. Comparison of COD value from UF/NF permeate

나. pH

순물의 pH를 측정한 결과는 Table 27과 같다. 순물 자체의 pH는 이윤경 (1997)의 결과와 유사한 값으로 나타났다. UF/NF 장치를 이용한 여과액은

순물자체나 농축액에 비해 pH가 상대적으로 높게 나타났다. 이는 농축액중으로 미량 함유되어 있는 유기산등이 이행되어진 결과로 생각된다.

막과 상호작용을 하여 유속을 감소시키는 성분은 크게 단백질과 칼슘이온으로 이는 막의 fouling과 농도분극현상 모두와 관련되는 것으로 생각된다. 따라서 pH를 감소시키는 것은 대두단백질의 등전점인 pI 3.7-4.0 (Wang H.L., Cavins J.F., 1989)이하로 하여 단백질의 응고로 침전시킴으로서 일차적인 제거를 할 수 있고 또한 전반적인 전하의 증가로 칼슘이온의 용해성을 향상시켜 투과속도를 향상시킬 수 있다.

pH의 변화는 계절적인 요인, 공정 과정, 온도, 시간, 사용한 물의 종류 등에 의해서 차이가 있을 것으로 생각되므로 적당한 pH로 보정하여 UF/NF 장치를 이용하는 것이 효과적일 것으로 생각된다.

Table 27. pH change of the soybean-curd whey passed into UF/NF processing

Samples	pH
Sunmul	5.26
UF-P	5.62
UF-R	4.65
NF-P	5.56
NF-R	4.54
NF-RIE	4.07

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

다. 점 도

시료를 계속 농축하는 경우 분리막의 fouling 정도가 심해져 더 이상의 농축이 진행되지 않고 투과유량 및 용질의 확산이 급격히 감소되는 경향을 보이는데 이의 주요한 원인이 점도이다.

특히 두부순물과 같이 당함량이 높은 경우 시료의 처리시 일정한 양의 당이 농축되면 재순환하는 당액의 점도가 높아져서 심한 경우 막의 영구적인 손상의 원인이 되기도 하므로 점도의 유지는 중요하다. 수거한 시료 자체는 Table 28과 같이 20℃에서 0.1823cp의 점성을 지니고 있었고 한외여과막을 통과한 후 여액과 농축액의 점성은 일정하였으나 역삼투막을 통과한 경우 여액은 0.1224cp인 것에 반해 농축액은 0.6486cp로 나타났다. 또한 시료의 물성은 초기에 약간의 차이는 있으나 뉴톤성 흐름의 경향을 보이는 것으로 나타났다.

여액과 농축액의 점도가 큰 차이를 보이는 것으로 미루어 보아 고형분의 대부분이 농축액으로 제거되었음을 알 수 있다. 그러나 여전히 여액으로 빠져 나간 고형분이 존재하므로 이의 완전한 회수를 위한 방법으로 diafiltration과정을 실시하였다. 그러나 두부순물에 경우 당을 농축하기 위해 이 원리를 적용한 결과 diafiltration을 하더라도 그다지 농축효과를 보이지 않는 것으로 나타났다. 이로써 염이 제거되지 않는 상태에서 더 이상의 농축이 진행되지 않음을 알 수 있었으며, 염의 제거를 위해서는 시료의 전처리시 별도의 공정이 요구된다.

Table 28. Viscosity of the soybean-curd whey passed into UF/NF processing

Samples	Viscosity(cp)
Sunmul	0.1823
UF-P	0.1275
UF-R	0.1524
NF-P	0.1224
NF-R	0.6486
NF-RIE	0.2914

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

라. 전기전도도

한외여과막을 이용한 결과 Table 29 에서와 같이 전기전도도의 변화가 그다지 발생하지 않았지만 역삼투막의 경우 여액의 전기전도도는 원액에 비해 감소하는 경향을 보였고 농축액의 전기전도도는 눈에 띠게 증가하였다. 이는 고형분과 이온이 대부분 농축액으로 제거되었음을 보여준다. 또한 이온교환수지를 이용하여 회분을 제거하고자 하여 사용된 혼합수지는 칼슘의 제거율이 뛰어난 소재로서 실험 결과 전기전도도의 감소효과를 보였다.

Table 29. Conductivity of the soybean-curd whey passed into UF/NF processing

Samples	Conductivity(mMhos/cm)
Sunmul	5.4
UF-P	4.8
UF-R	5.3
NF-P	3.3
NF-R	14.6
NF-RIE	10.5

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

마. 굴절률, Brix

측정 결과 Table 30와 같이 순물 자체는 김동만(1992b)등의 연구에서 보고한 2.2 brix보다는 다소 높은 값인 3.7brix를 나타냈고 굴절률은 1.3380으로 측정되었다. Brix와 굴절률의 측정은 간접적으로 당의 농도를 보여 주는 지표로서 당의 종류와 함량에 따라 다소 차이를 보이지만 당 함

량 자체와도 높은 양의 상관관계(r=0.9771)를 보였고 nano여과의 농축액은 24.0 brix로 순물이 6배 이상 농축되었음을 짐작할 수 있었다. 또 이온교환수지를 이용하여 당도는 약간 저하되어 14.3 brix 로서 일반적으로 시럽이 60 brix인 점을 감안한다면 시럽으로서의 이용성은 떨어지지만 각종 식품첨가제로서는 별도의 공정 없이 이용가능할 것으로 생각된다.

Table 30. Refractive index and brix of the soybean-curd whey passed into UF/ NF processing

Samples	Refractive index	Brix
Sunmul	1.3380	3.7
UF-P	1.3365	2.5
UF-R	1.3390	4.3
NF-P	1.3355	1.9
NF-R	1.3700	24.0
NF-RIE	1.3545	14.3

UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

바. 색도

Hunter's values인 L(lightness), a(redness), b(yellowness)를 측정하였고 그 결과는 Table 31과 같았고 UF/NF 이용시 색제거 효과가 뛰어남을 알 수 있다. 이는 기능성 물질로 간주되는 색소의 농축효과를 보이는 지표로서 상업적으로도 이용 효과가 클 것으로 사료된다.

Table 31. Hunter's color values of the soybean-curd whey by UF/NF processing

Samples	L[a]	a[b]	b[c]
Sunmul	60.21	0.55	14.10
UF-P	92.84	-0.98	5.55
UF-R	54.41	0.82	10.39
NF-P	93.75	0.04	2.50
NF-R	36.85	5.20	20.13
NF-RIE	42.32	-0.89	14.35

a : Lightness b : redness c : yellowness
UF-P : permeate by ultrafiltration
UF-R : retentate by ultrafiltration
NF-P : permeate by nanofiltration of UF-P
NF-R : retentate by nanofiltration of UF-P
NF-RIE : solution passed into mixed ion exchange (+ : - = 2 : 1) of NF-R

5. UF/NF로 농축한 올리고당시료의 bifidobacterium 활성에 미치는 영향

B. infantis 은 대조군1의 경우 1.4× 10^{5}cfu/㎖, 실험군의 경우 3.8× 10^{5}cfu/㎖ 로 유사한 증식력을 보였고, *B. longum*의 경우 역시 대조군1은 3.3× 10^{5}cfu/㎖, 실험군 1.6× 10^{5}cfu/㎖로 유사한 증식력을 보여 대두올리고당의 이용력이 글루코즈의 이용력과 유사하다는 것을 알 수 있다.

S. typhimurium, *S.aureus*는 병원성 균으로 두부순물에 5%의 글루코즈를 첨가한 것을 대조군1, 영양성분이 충분한 broth에서 배양한 것을 대조군2로 이용하였다. 그 결과 대두올리고당이 들어있지 않은 대조군2의 경우 *S. typhimurium* 2.1× 10^{8}cfu/㎖, *S.aureus* 9.5× 10^{8}cfu/㎖로 실험군의 5.7× 10^{4}, 4.2× 10^{6}에 비해 높은 증식력을 보여 대두올리고당의 유해균 억제력이 있음을 알 수 있었고 결과는 아래의 Table 32 과 같다.

Table 32. Viable cell counts of the cultures of concentrated solutions from UF/NF processing

	control 1a	control 2b	samples
S. typhimurium	8.5×104	2.1×108	5.7×104
S. aureus	2.4×106	9.5×108	4.2×106
B. infantis	1.4×106	1.8×105	3.8×105
E. longum	3.3×105	1.4×105	1.6×105

a : samples + 0.5% glucose
b : BHI broth incubation without samples(0.05% cysteine addition in case of *B. infantis*, *B. longum*)

6. 정제된 대두올리고당의 특성

가. 무기질 함량

제품화를 위해서는 제품규격상 유해성분인 중금속의 함량은 매우 중요하다. 칼피스사의 콩올리고당시럽의 규격 기준에 준하여 정제된 콩올리고당과 칼피스사의 콩올리고당의 무기질 함량을 분석한 결과 Table 33와 같이 Pb, Cd는 2ppm이하로 나타났다. 제품규격에서 Pb는 10ppm 이하로 규제하고 있는 것을 고려해보면 아주 적합한 것으로 사료된다. 특히 Pb의 경우 실험실의 콩올리고당이 칼피스사의 제품보다 적게 함유되어 있는 것으로 나타났다. As는 두 시료 모두 8ppm으로 나타났다. 그러나 제품 규격상에서는 1ppm이하로 제시하고 있는데 이는 분석 방법상의 차이에서 비롯되는 것으로 사료된다. 제품규격상의 실험방법은 DDTC-Ag흡광광도법을 이용한 점으로 보아 분석방법상의 차이로 사료된다.

이외에 Ca, Na는 칼피스사의 제품보다 훨씬 많은 함량을 함유하고 있어 또다른 탈염과정이 필요한 것으로 사료된다.

Table 33. Mineral analysis of purified soybean oligosaccharides

(unit : ppm)

	Ca	As	Cd	Pb	Na
정제콩올리고당	252	8	< 2	< 2	410
칼피스사콩올리고당	6.8	8	<2	2	22

나. 외견 · 상태

제품규격상 콩올리고당 분말은 백색의 과립상이며 감미가 있고 이물이 없어야 하는 것으로 제시하고 있고 이는 정제된 콩올리고당과 매유 유사한 상태이다. 수분함량은 3%이하로 나타났으며 색차계(Minolta ; Japan)로 측정한 결과 L=92.04, a=-0.50, b=1.52 로 나타났다.

다. 총당 함량

당함량 분석결과 정제된 총고형분의 98% 이상을 차지 하는 것으로 나타났다.

라. 관능검사

관능검사 결과 단맛은 칼피스사의 콩올리고당보다 낮은 것으로 나타났지만 뒷맛과 이취는 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p<0.05$).

제 4 절 여러 가지 방법으로 농축한 콩올리고당액의 회수

1. 기능성 물질의 농축 및 회수

가. 이온교환수지를 이용한 불순물 제거 및 당의 회수

UF/NF 공정 이후 불순물을 제거하는 과정으로 이용 가능성을 알아보기 위해 순물의 각 성분과의 흡착 성질을 알아보고자 하였다. 양이온교환수지에 비해 음이온교환수지는 약간의 당을 흡착하여 Table 34에서 제시하는 바와 같이 양이온교환수지는 99.5%, 음이온교환수지는 97.3%의 높은 회수율을 보였으며 당의 회수를 위해서는 양이온교환수지가 좀 더 효과적일 것으로 생각된다. 그러나 이온교환수지는 단백질이나 회분, 색소등의 제거력도 고려되어야 한다.

Table 34는 당이외의 성분인 단백질과 회분의 제거력 또한 제시하고 있다. 단백질의 경우 음이온교환수지를 이용했을 때 86%이상의 제거효과를 보여 양이온에 비해 월등히 뛰어난 것으로 나타났고, Table 35는 색소 제거 효과를 보여주는 것으로 yellowness의 감소 효과가 뛰어나 상대적으로 lightness가 증가한 것으로 나타났다. 반면 양이온교환수지는 회분을 99%이상 제거하는 것으로 나타났다.

이러한 차이를 적절히 조절하고 당이외의 성분을 제거하는 상승효과를 얻기 위해 혼합수지를 이용하였다. 그 결과 수지의 혼합비율에 따라 차이가 있었지만 양이온 대 음이온의 비율이 2 : 1인 경우 당의 회수율이 98.18 %로 높게 나타났고 단백질과 회분 제거 효과 역시 뛰어났다. 또한

당의 회수율이 수지에 따라 차이를 보이지만 97%이상이라는 점을 미루어 보아 올리고당을 회수하는 방법으로 적당한 것으로 생각된다.

Table 34. Proximate common contents of soybean-curd whey treated with different ion exchange resin

(unit : g/ℓ)

	Total sugar contents	Protein	Ash
Sunmul	15.332	0.410	0.857
Cation exchange resin	15.261(99.54)*	0.287(69.92)*	0.007(0.92)*
Anion exchange resin	14.920(97.31)*	0.057(13.82)*	0.016(1.83)*
Mixed resin(+ : - = 2 : 1)	15.053(98.18)*	0.143(34.96)*	0.008(0.94)*

( )* : % recovery

Table 35. Hunter's color values of the soybean-curd whey treated with different ion exchange resin

	La	ab	bc
Sunmul	60.21	0.55	14.10
Cation exchange resin	66.30	1.86	11.81
Anion exchange resin	85.13	0.89	5.58
Mixed resin(+ : - = 2 : 1)	86.24	0.84	5.24

La : lightness , ab : redness, bc : yellowness

나. Steffen 법을 이용한 콩올리고당의 분리 및 회수

콩올리고당의 회수율은 위와 같은 요소 외에 침지 시간과 탈착 시간의 영향이 클 것으로 사료되어 이를 확인하고자 하였다. 침지 시간을 90분, 120분, 150분으로 변화시키면서 탈착 시간을 30분, 60분, 90분으로 변화시켜 회수율을 비교하였다. 그 결과 2시간 침지, 1시간 탈착시키는 경우 수크로오스 51.6%, 라피노오즈 63.5%, 스타키오즈 53.1%의 회수율을 보였고 수세액을 재 사용하는 경우 Table 36와 같이 수크로오스 89.4%, 라피노오즈 89.91%, 스타키오즈 78.84%의 높은 회수율을 보였다.

Table 36. Recovery of soybean oligosaccharide in steffen method

(unit : g/ℓ)

	Sunmul	Recovery Ⅰa	Recovery Ⅱb
Sucrose	5.00	2.58(51.6)*	4.47(89.4)*
Raffinose	0.52	0.33(63.5)*	0.47(89.91)*
Stachyose	4.35	2.31(53.1)*	3.43(78.84)*

( )* : Recovery
a : Using distilled water in cleaning cake after second filtration
b : Re-using permeated solution in cleaning cake after second filtration

다. 활성탄을 이용한 콩올리고당의 분리 및 회수

예비실험을 통해 순물에 함유된 당이외의 성분이 칼럼의 용리를 지연시키는 것으로 사료되어 이를 제거하고자 전처리 과정으로 Table 37에서 확인된 바와 같이 회분의 제거에 효과적인 양이온교환수지를 이용하여 이를 제거한 뒤 원심분리를 통해 수지, 회분, 단백질등의 제거를 도모하였다. Table 37와 같이 활성탄의 양을 0.6g, 0.8g, 1.0g, 1.2g으로 변화를 주어 실험하였고 50%에탄올을 전개액으로 사용하였다. 그 결과 Fig. 5와 같이 스타키오즈와 라피노오즈는 활성탄의 농도가 시료의 10%인 1.0g의 농도에서 스타키오즈 89.7%, 라피노오즈 81%의 높은 회수율을 보였고 오히려 그 이상의 양에서는 감소하는 경향을 보였다. 이러한 작용 기작을 이용하면 콩올리고당 중 스타키오즈와 라피노오즈만을 선택적으로 회수하고자 할 때 활성탄의 농도를 조절함으로서 당의 선택적인 회수가 가능하리라 사료된다.

Table 37. Change of oligosaccharides recovery by charcoal concentration

(unit : %)

Charcoal contents(g)	Sucrose	Raffinose	Stachyose
0.6	16.1	29.9	46.2
0.8	22.0	62	88.7
1.0	32.8	81	89.7
1.2	48.4	33.6	47.6

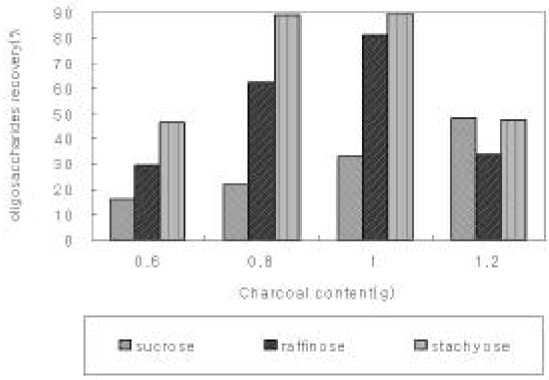


Fig. 5. Adsorption characteristics of oligosaccarides at various amounts of activated charcoal

제 5 절 두부순물단백질의 분리 및 기능적 특성 측정

1. 농축한 두부순물단백질의 이화학적 특성

가. 일반성분

동결건조한 두부순물, 한외여과법으로 2배 농축후 동결건조한 두부순

물, 두부순물단백질, 분리대두단백질의 일반성분 분석은 Table 38와 같다. 먼저 단백질의 함량을 살펴보면, 두부순물중의 단백질 함량은 0.41%였다. 동결건조한 두부순물은 16.19%였으며, 두부순물을 한외여과법으로 2배 농축후에 다시 동결건조시켰을때는 23.82%이었다. 또한 한외여과법으로 농축한 다음 동결건조시킨 시료를 산침전법에 의해 단백질을 추출하였을시의 단백질 함량은 43.15%이었다. 한편 분리대두단백질의 단백질 함량은 91.47%을 나타냈다. 또한 순물에 들어있는 회분의 양은 0.875%였으며, 동결건조한 두부순물의 회분의 양은 18.81%, 한외여과후 2배 농축한 동결건조시료는 17.78%, 두부순물단백질은 12.99%, 그리고 분리대두단백질은 2.55%을 나타내었다. 한편, 총당의 함량을 비교했을시에 본래 순물에 들어있던 총당의 함량은 1.53%였으나, 순물을 동결건조시에는 41.7%였으며, 순물을 한외여과법으로 여과시킨후 잔액을 가지고 동결건조한 시료의 총당함량은 28.1%로 한외여과법에 의한 당의 제거효과를 볼 수 있었다. 또한 두부순물단백질의 총당함량은 4.2%였다.

Table 38. Proximate analysis of [a]FDW, [b]FDCW, [c]SWP and [d]ISP

unit:w/w(%)

	Crude protein	Ash	Total sugars
[a]FDW	16.19	18.81	41.7
[b]FDCW	23.82	17.78	28.1
[c]SWP	43.15	12.99	4.2
[d]ISP	91.47	2.55	-

[a]Freeze-dried soybean-curd whey
[b]Freeze-dried concentrated soybean-curd whey by ultrafiltration
[c]Soybean-curd whey protein [d]Isolated soybean protein

나. 유동특성

3%의 단백질 시료용액을 음료에 적용할수 있는 pH 범위인 4.1, 6, 8를 선택하여 회전점도계(Physica)를 이용하여 20℃, 0-2270/sec의 전단속도에

따른 전단응력의 변화 및 점도를 측정한 결과 3%의 SWP와 ISP 용액에서 전단속도에 따른 전단응력의 변화가 대체적으로 전단속도가 증가할수록 전단응력도 비례하여 증가하는 뉴톤 유체의 특성을 보였다. SWP의 경우는 각각의 pH에서 전단속도에 따른 전단응력의 증가가 별 차이를 보이지 않았지만, ISP에 있어서는 pH 4.1, 6, 8의 순서로 그 증가율이 약간 커지고 있음을 관찰할 수 있었다.

다. 색도

Hunter's values인 L(명도), a(적색도), b(황색도)를 측정하였으며 그 결과는 Table 39 에 나타내었다. 동결건조한 두부순물, 한외여과법으로 농축후 동결건조한 두부순물, 두부순물단백질, 분리대두단백질의 L값은 차례로 86.35, 83.40, 80.68, 78.31을 보였으며, a 값은 -1.91, -1.46, 0.09, 1.59, b값은 15.59, 11.66, 12.22, 13.99였다.

단백질의 함량이 증가할수록 색도의 L값은 감소하는 경향을, a값은 증가하는 경향을 보였으며, 상관관계를 분석했을시 단백질과 L값의 상관관계는 -0.91626이었으며, a값과의 상관관계는 0.91939였으나, 각각 유의적이지는 않았다.

Table 39. Hunter's color values of [a]FDW, [b]FDCW, [c]SWP and [c]ISP

	L	a	b
[a]FDW	86.35	-1.91	15.59
[a]FDCW	83.40	-1.46	11.66
[a]SWP	80.68	0.09	12.22
[c]ISP	78.31	1.59	13.99

L : lightness, a : redness, b : yellowness
[a]Freeze-dried soybean-curd whey
[b]Freeze-dried concentrated soybean-curd whey by ultrafiltraion
[c]Soybean-curd whey protein

2. 농축한 두부순물단백질의 수용액에서의 기능적 특성

가. 용해도

용해도는 pH가 감소함에 따라 감소하다가 등전점인 pH 4.1에서 최소값을 나타냈으며, 산성쪽으로 기울수록 용해도가 다시 증가하는 전형적인 단백질의 경향을 보였다. 두부순물단백질(SWP)의 용해도는 전반적으로 ISP보다 높은 용해도를 나타내었으며 이는 역삼투압법으로 분리농축한 두부순물단백질과 ISP의 용해도를 비교한 김동만등(1992)의 결과와 유사한 경향을 보였다. 한편 SWP는 전반적으로 높은 용해도를 보여주었다. 이는 이미 두부제조시에콩의 주요 단백질이 두부로 응고되고 분자량이 작은 수용성 단백질이 순물로 유출되어 SWP의 용해도가 이런 작은 분자량의 수용성에 의해 증가되었기 때문이라고 사료된다.

나. 유화특성

1) 유화력

SWP, ISP의 pH별 유화력은 용해도 곡선과 유사한 양상으로 등전점인 pH 4.1 에서 최소치를 보이며 등전점에서 멀어질수록 유화력이 증가하는 경향을 보였다.

두부순물에서 추출한 단백질이 ISP보다 높은 용해도를 보였음에도 불구하고 더 낮은 유화력을 보이는 것은 유화성이 용해도의 변화와 상관 관계를 보여주기는 하나 용해도 이외에도 단백질의 다른 성질들이 유화성에 관여하고 있다. 본 실험에서의 이런 결과를 표면소수성과 관련지어 생각해보면 SWP보다 표면소수도 훨씬 높았던 ISP에서는 표면으로 노출되어 있는 소

수기가 많으므로 계면을 형성하는 단백질간의 회합을 용이하게 해주어 유화력이 증대(Quaglia et al., 1990 ; 변진원, 1993)된 것으로 사료된다.

2) 유화안정성

각각의 pH에서 SWP와 ISP용액의 유화액을 형성한 후 30분, 60분이 경과될 때 보여진 유화안정성의 변화는 ISP는 등전점부근에서 유화안정성이 가장 낮은 것을 관찰할 수가 있었으나, SWP는 등전점보다는 pH 6에서 가장 낮은 유화안정성를 보였다. SWP와 ISP 모두 산성과 알칼리쪽으로 가면서 유화안정성이 증가하는 것을 관찰할 수가 있었다. SWP가 ISP에비해 전반적으로 낮은 유화안전성을 보이는 것은 SWP단백질은 두부제조시에 가열처리가 된 변성된 단백질이며 분자량이 ISP에 비해 상대적으로 작기 때문에 이 단백질에 의해 형성된 지방구둘레의 단백질 막이기 때문에 안정성이 떨어지는 것으로 사료된다.

다. 거품성

1) 거품형성력

두부순물단백질(SWP), ISP용액의 pH를 달리하여 측정한 거품형성력은 Table 40와 같다. 두부순물단백질 용액의 pH 2, 4.1, 6, 8, 10, 12에서의 거품형성력은 각각 6㎖, 6㎖, 4㎖, 1㎖, 4㎖, 4㎖로 전반적으로 ISP용액에 비해 낮았다. ISP는 pH 4.1과 pH 8에서의 거품의 부피가 각각 4㎖, 5㎖ 로 최저치를 보이는 반면 pH 12에서는 80㎖의 높은 거품형성력을 나타내었으나 Table 40에서와 같이 거품안정도는 최저 수치를 보였다.

두부순물단백질의 이러한 열등한 거품형성력은 순물이 Batch-type으로 한외여과되는 동안에 여액으로 나가지 않은 농축액 성분은 다시 주입용액으로 되돌아가서 한외여과장치에 재공급되는 반복적인 순환과정을 거치는

데, 이때 액체의 계속적인 이동에 기인한 자연적인 교반힘에 의해 공기가 유입되어 비교적 안정하고 단단하고 두터운 거품의 형성이 관찰된다. 즉 단백질 용액에서 거품형성을 도울 만한 기능성을 가진 단백질들이 이때의 거품구성성분으로 포집됨으로써 농축액을 수거할때 수거되지 않은 거품에 거품을 잘 형성하는 단백질이 일부 남아있게 되기 때문으로 추측된다.

두부순물단백질의 낮은 거품형성력은 존재하는 분자들의 높은 용해도로 인해 단백질 분자가 거품의 기체표면으로 일단 빠르게 확산되어 흡착되기는 하지만 낮은 표면소수도등의 구조적 인자로 기체표면으로 향해져 있는 단백질에 대한 액체표면을 둘러싸인 단백질의 비율의 불균형, 단백질 분자의 표면장력을 낮추는 능력의 저하로 안정한 거품을 생성하기 어려운 것으로 사료된다.

Table 40. Foam volume of soybean-curd whey protein (SWP) and isolated soybean protein (ISP) at different pH

unit : mℓ

pH \ Samples	SWP	ISP
2	6	17
4.1	6	4
6	4	18
8	1	5
10	4	14
12	4	81

2) 거품안정성

ISP는 pH 전범위와 30분, 60분 지남에 따라 거품의 감소가 급격하게 나타났다. SWP나 ISP에서 특히 pH 12에서 매우 낮은 안정성을 보였다. SWP의 경우 매우 낮은 거품형성력을 보인것과 마찬가지로 pH 4.1와 pH 8에서의 비교적 높은 안정성을 제외하고는 pH 6의 0mℓ을 비롯해서 30분이 경과되는 동안에 급격한 안정성의 감소를 보였다. pH 8에서의 높은 안정성

은 pH 8에서의 형성된 거품이 1㎖로 매우 낮은 수치로 안정성이 높다고 보기에는 의미가 없는 것으로 생각되며, pH 4.1에서 비교적 높은 안정성은 등전점에서는 용해도의 감소가 단백질 표면에 높은 점도를 가지게 해서 거품형성은 어려우나 거품의 안정성은 증가한다는 보고(변진원, 1993 ; Pomeranz, 1985)에 따라 해석할수 있다.

위의 결과를 종합해보면 whipping, toppings, frozen dessert같은 식품에서 대두단백질이 달걀 albumin을 대체해서 사용되기도 하나 본 실험에서 사용된 두부순물추출단백질이나 ISP는 상기한 식품뿐만 아니라 거품형성제로 사용될수 있는 적용범위에 이용되기는 부적합하다고 생각한다.

3. 농축한 두부순물단백질의 구조적 특성

가. 전기영동 특성

본 실험중 200V에서 전개한 ISP 전기영동 실험에서도 위의 보고와 유사하게 basic subunit의 영역에서 일치하는 분획이 20 kDa근처에서 acidic subunit로 볼 수 있는 분획을 38 kDa 근처에서 볼수 있었다. 또한 66에서 90kDa사이에서 β, α, α'로 생각되는 분획을 관찰할수 있었다. 한편 90V에서 전개한 SWP의 subunit양성을 살펴보면 가장 큰 subunit가 200kDa부근에서 관찰되었으며 김동만등과 이선미의 실험에서 관찰되지 않던 29와 49 kDa사이에서 7S의 β subunit로 볼 수 있는 밴드와 바로 그 아래 11S의 acidic subunit로 볼 수 있는 밴드를 관찰할수 있었다. 또한 7S의 subunit중 또 다른 한 분획이라 여겨지는 66kDa이상에서 볼수 있었다. 한편 20kDa이하에서 비교적 넓은 band를 관찰 할수 있었다. 이로 두부순물속에는 두부제조시 응고되지 않은 작은 subunit의 단백질의 존재를 확인할수

있었다.

나. 표면소수도

본 실험에서는 두부순물단백질(SWP)과 ISP의 표면소수도를 ANS형광성측정법와 SDS결합방법으로 측정하였으며, 그 결과는 Table 41 과 같다. 먼저 ANS형광측정법으로 측정한 결과는 SWP가 75(FI/ %protein), ISP가 215(FI/ %protein)였으며, SDS결합방법으로 측정했을시에는 SWP가 7.94 ㎍, ISP가 8.83㎍이었으며 두가지 측정법 모두 ISP가 SWP보다 더 높은 수치를 보였다. 두가지 소수도 측정에서 SWP의 소수성 아미노산이 상대적으로 ISP보다 적음을 알 수 있었다.

Table 41. Surface hydrophobicities of soybean-curd whey protein (SWP) and isolated soybean protein (ISP) as measured by ANS and Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) binding methods

Sample	ANS hydrophobicitya	SDS bindingb
SWP	75	7.94
ISP	215	8.83

a Fluorescence intensity / percentage protein concentration
b ㎍ of SDS / ㎎ of protein

다. 유리 thiol기와 disulfide bond 함량

두부순물단백질(SWP), ISP의 유리 thiol기 함량과 disulfide bond 함량을 분석한 결과 환원제 처리전 SWP 및 ISP의 thiol기 함량은 각각 14.31 ㎛ole/g protein과 10.39 ㎛ole/g protein이었으며, 60분후에는 thiol기가 각각 103.9 ㎛ole/g protein와 65.2 ㎛ole/g protein로 증가하였다. Disulfide bond함량은 SWP는 44.8 ㎛ole/g protein, ISP는 27.41 ㎛ole/g protein이었다. 두부순물단백질의 경우 disulfide bond 함량이 더 높았는데 이는 두부순물추출단백질이 두부 제조시에 가해진 열처리로 인해 변성될시 이미 S-S결합이 많이 형성된 것으로 생각된다.

라. 아미노산

두부순물단백질(SWP)와 분리대두단백질(ISP)의 아미노산 분석 결과는 Table 42과 같다. 모두 glutamic acid와 aspartic acid이 높은 비율을 나타내었다. 전체아미노산에 대한 tryptophan을 제외한 필수아미노산 비율을 mole % 살펴보면 SWP의 경우는 0.36이고 ISP는 0.37로서 비슷한 결과를 보였다.

Table 42. Amino acid composition of soybean-curd whey protein (SWP) and isolated soybean protein (ISP)

unit :

	SWP	ISP
Asx*	9.65	10.77
Glx*	18.58	17.85
Ser	5.15	5.38
Gly	9.46	7.43
His	2.82	2.59
Arg	4.43	5.91
Thr	5.19	3.83
Ala	9.60	6.46
Pro	5.94	6.79
Tyr	0.78	2.34
Val	5.47	5.96
Met	1.14	1.08
Ile	4.74	5.42
Leu	6.65	8.28
Phe	2.77	4.24
Lys	7.58	5.67
1)E/T	0.36	0.37
Lys/Arg	1.71	0.96
2)MRH	35	37

* : Asx = Aspartic acid + Asparagine
** : Glx = Glutamic acid + Glutamine
1)E/T : the sum of essential amino acids/ the sum of total amino aicds ratio
2)MRH : Molar ratio of hydrophobic amino acids (mol/mol, %)

한편, 대두단백질이 혈청 cholesterol을 낮춘다는 연구 결과가 많이 보고되면서 그 작용기작을 설명하기 위하여 여러 가지 가설이 제시되었는데, 그 중 하나가 바로 섭취한 단백질의 아미노산 조성차이에 의해서 혈청 cholesterol농도가 달라진다는 것이다. 그 중 하나가 바로 lysine/ arginine의 비율(한응수, 1990 ;Tanaka & Sugno, 1989)에 관한 것이다. Lysine/arginine비율을 보면 SWP는 1.71이고 ISP의 0.96보다 높은 수치를 보였으나 위의 한응수의 실험에서 casein의 그 비율보다는 역시 낮음을 관찰할수 있었다. 또한 proline, leucine, valine, phenylalanine, alanine와 같은 소수성 아미노산의 합이 전체 아미노산중에 차지하는 비율을 관찰하면, mole분율로 SWP가 35%, ISP가 37%로 비슷한 결과를 나타냈다.

Table 43. Average hydrophobicity of soybean-curd whey protein (SWP) and isolated soybean protein (ISP)

unit : cal・mole-1

		SWP	ISP
	△Ft	△Ft × n/100	△Ft × n/100
Ile	2,970	140.778	160.974
Tyr	2,870	22.386	67.158
Phe	2,650	73.405	112.36
Pro	2,600	154.44	176.54
Leu	2,420	160.93	200.376
Val	1,690	92.443	100.724
Lys	1,500	113.7	85.05
Met	1,300	14.82	14.04
Ala	730	70.08	47.158
Arg	730	32.339	43.143
His	500	14.1	12.95
Glu	550	102.465	98.175
Asp	540	52.11	58.158
Thr	440	22.836	16.896
Ser	40	2.06	2.152
Gly	0	0	0
Sum		1068.892	1195.854

분석한 아미노산을 토대로 평균 소수도를 계산하였을 때 Table 43과 같은 결과를 얻었다. 평균 소수도 계산은 Bigelow와 Ney에 의해 제안된 식을 아래와 같이 변형하여 사용하였다(김수호, 1985).

$$Q = \frac{\sum \triangle Ft \cdot n}{100} \ (cal \cdot mole^{-1})$$

Q : average hydrophobicity
△Ft : transfer free energy of an amino acid from an aqueous solution(at a certain concentration) to an ethanolic solution (at the same concectration)
n : mole % of each amino acid

평균 소수도를 보면 SWP가 1068.892 cal·mole-1, ISP가 1195.854 cal·mole-1로 ISP가 더 높음이 관찰되었다. 본 연구에 사용된 SWP도 비록 평균소수도가 1068.892 cal·mole-1로 낮은 수치를 보였지만, 가수분해가 진행됨에 따라 증가되는 평균소수도를 통해, 인체내에서 소화과정을 통한 가수분해를 받는다면 역시 소수성 잔기의 노출이 큰 담즙산 결합 펩타이드의 생성의 가능성을 기대할 수 있다.

4. 농축한 두부순물단백질의 영양학적 특성

가. 단백질의 체외 소화율

두부순물단백질(SWP)과 분리대두단백질(ISP)를 펩신과 판크레아틴으로 처리하여 측정한 단백질의 체외 소화율(*in vitro* digestibility)을 살펴보면 가수분해하기 전에 투석막을 통과하는 단백질의 비율을 보면 두부순물단백질은 7.83%, 분리대두단백질은 0.522%였다. 또한 펩신과 판크레아틴으로 충분히 가수분해한 결과를 보아도 두부순물단백질이 59.3%로 소화율이 52.9%인 분리대두단백질보다 약간 높은 수치를 보였나, 가수분해전의

투석막을 통과하는 단백질의 비율을 고려해보면 결과적으로 소화율이 비슷함을 알수 있었다.

나. ACE 저해 활성도 측정

0.2%의 단백질시료 용액을 조제하여 원심분리한 후 그 상징액을 취한 crude extracts 형태로의 두부순물단백질과 분리대두단백질용액에서 ACE 저해효과는 각각 25%, 21%였으며, pepsin-pancreatin으로 소화시킨 후의 투석액을 모아 그 활성을 측정한 결과 SWP와 ISP에서 각각 54%, 41%을 나타내었다. 두 시료 모두 crude extract형태에서보다 pepsin- pancreatin 소화액 형태가 ACE 저해효과에서 더 큰 활성을 보여주었다.

제 6 절 UF/NF 농축한 두부순물의 기능성 펩타이드 분리 및 기능성 측정

1. UF/NF를 이용한 저분자량의 펩타이드의 분리 및 회수

가. 한외여과를 이용한 저분자량의 펩타이드의 회수

지금까지 밝혀진 대부분의 ACE 저해 펩티드의 특성은 저분자량으로 많이 보고되고 있다. 따라서 MWCO가 10,000이하인 polysulphone을 이용한 한외여과를 이용하므로써 고분자 폴리펩티드를 제거하고 저분자 펩타이드만을 얻었고, 나노여과법을 이용하여 15배 정도로 농축하였으며 이렇게 하여 얻어진 시료는 영하 50℃에서 감압농축하여 분말상태로 만들었다. 한편 투과액의 ACE 저해 활성은 table 44와 같이 나타났으며 투과액을 나노

여과에 의해 농축시킨 NF-R의 IC_{50}은 53μg/ml인 것으로 나타나 두부순물로 부터 얻은 나노농축액(NF-R)은 그 자체로서도 혈압강하 활성을 갖는 조분획물로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 44. Purification of ACE inhibitory peptides from the nanofiltrated soybean-curd whey

Purification step	ACE Inhibition ratio(%)
Sunmul	54
UF-permeate[a]	19
UF-Retentate[b]	40
NF-Retentate[c]	80

a UF-Permeate, permeate by ultrafiltration
b UF-Retentate, retentate by ultrafiltration
c NF-Retentate, retentate by nanofiltration of UF-permeate

나. 나노여과를 이용한 저분자량의 펩타이드의 농축

일반성분중 단백질의 양을 알아보기 위해서 Lowry법에 의해 peptide-nitrogen량을 측정하였고 그 결과는 Table 45과 같다. 두부순물중에 단백질은 0.49%을 차지하고, 이를 한외여과장치를 통해 얻어지는 여과액에는 0.05%만이 존재하는 것으로 미루어 보아 두부순물에 존재하는 10.000이상의 분자량을 갖는 펩타이드의 90%정도가 한외여과에 의해 제거됨을 알 수 있었다.

Table 45. Concentrations of total protein in the soybean-curd whey by UF/NF

Purication step	Protein(mg/ml)
Sunmul	86
UF-Pa	10.2
NF-Rb	17.7
F2 Fraction(FD)c	0.47

a UF-Permeate, permeate by ultrafiltration
b NF-Retentate, retentate by nanofiltration of UF-permeate
c Freeze-dried sample of F5 fraction.

2. 펩타이드 분획의 ACE 저해 펩타이드의 정제 및 특성

순수한 펩타이드을 얻기 위해 분자량에 의한 다른 성분들과의 분리를 open column chromatography을 통해서 분리, 분획 하고자 하였다. 냉동건조 시료 1g을 3ml 물에 용해한 뒤 1.5ml을 주입하여 4개의 peak가 포함된 chromatogram을 얻은 후 각 분획들을 280nm에서의 흡광도와 단백질 함량을 Fig. 6에 나타내었다. 이 chromatogram을 4개의 분획으로 나누어 각 분획물의 ACE 저해 활성을 측정한 결과는 Table 46와 같다. 특히, F2 분획물에서 다른 분획물에 비해 훨씬 높은 ACE 저해 활성을 나타내었으며, F2의 IC_{50}은 20μg/ml으로 나타났다.

Gel permeation chromatography에 의한 분자량 분석을 한 결과는 Fig. 7에 나타나 있으며 분자량 표준물과 비교하였을 때, A는 γ-globulin (bovine, M.W158,000)이고, B는 ovalbumin(chicken, M.W 44,000), 그리고 C는 myoglobin(horse, M.W 17,000)으로서, C의 peak와 비슷한 위치를 가지므로 F2 분획물의 분자량은 약 10,000 dalton 인 것으로 나타났다.

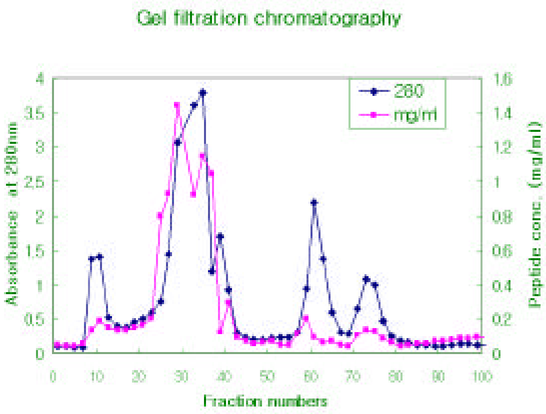


Fig. 6. elution profile of nanofiltrated soybean curd whey

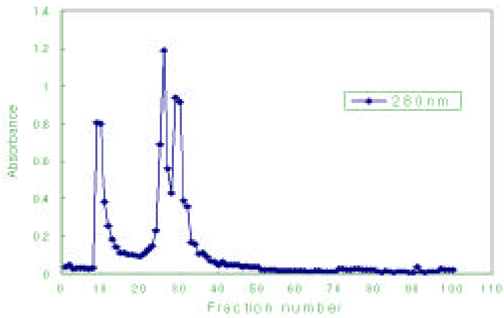


Fig. 7. Elution profile of molecular weight standards

Table 46. ACE inhibitory activity of each fraction obtained from the first gel filtration chromatography of the peptide fractions from NF-Ra

Fractions	ACE Inhibition ratio(%)
F1 (Fraction No.10 29)	17.5
F2 (Fraction No.30 49)	80
F3 (Fraction No.50 69)	8.4
F4 (Fraction No.70 89)	20.2
F5 (Fraction No.90 100)	4.3

a NF-R, retentate by nanofiltration of UF-permeate

b IC_{50}, defined as the concentration which inhibits 50% of the angiotensin-I converting enzyme activity.

N.D, : not detected

지금까지 밝혀진 대부분의 ACE 저해 펩타이드는 분자량이 2,000이하인 것으로 보고되고 있다(Ariyoshi, Y. 1993). 따라서 gel filtration에 의해 얻어진 10,000이상의 물질을 더욱 정제 및 분리할 필요가 있다.

ACE 저해 활성이 가장 높은 F2 분획물을 시료로, 분리능이 뛰어난 prep-FPLC(AKTA, Superdex 75 HR)을 이용하여 계속 정제를 시도하여 냉동건조시킨 F2 분획물 20mg/ml로 하여 100㎕를 주입하였으며, 용매의 공급은 탈기된 3차 증류수를 흘려주었으며, 그 결과는 Fig. 8와 같다. 이 chromatogram에서 나타난 2개의 뚜렷한 peak를 얻어 각각을 F21, F22라고 하였으며 이들의 ACE 저해 활성은 Table 47 와 같은 결과를 얻을 수 있었다.

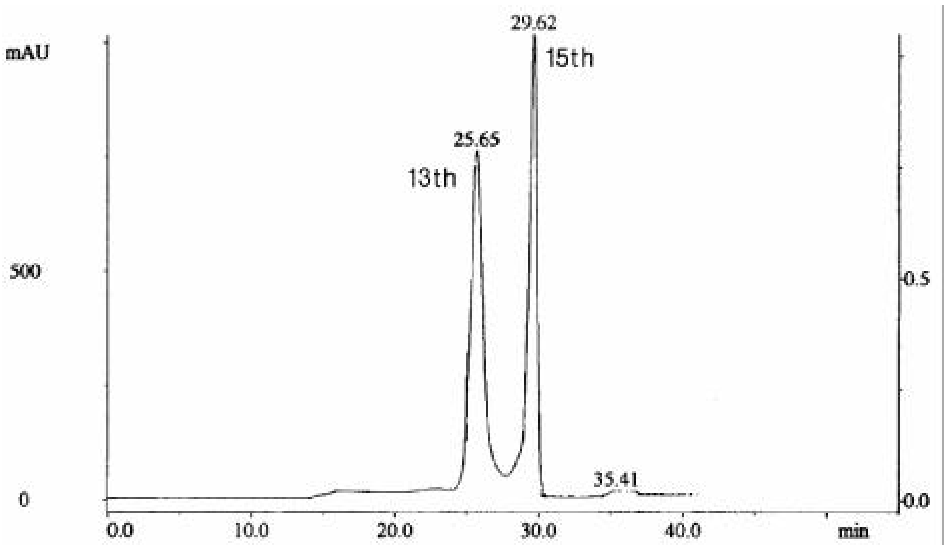


Fig. 8. Preparative FPLC chromatogram of the F2 fraction

Table 47. Purification of ACE inhibitory peptides from nanofiltrated soybean curd whey

Purification step	IC_{50}[a] (μg/ml)
Sunmul	123
NF-R[b]	53
F2 fraction(FD)[c]	20
F2.2 fraction	13

[a] IC_{50}, defined as the concentration which inhibits 50% of the angiotensin-I converting enzyme activity.
[b] NF-R, retentate by nanofiltrated
[c] Freeze-dried sample of F5 fraction

4. MALDI mass spectrometry을 이용한 분자량

최근 들어 MALDI (Matrix-assisted laser desorption/ionization) mass spectrometry는 단백질이나 펩타이드의 연구를 하는데 굉장한 bioanalytical 도구로 이용되고 있다(Cheung, H.S., et al., 1980 ; Hillenkamp, F., et al., 1991). ACE 활성이 높은 F2 분획물을 시료로 하여 MALDI mass spectrometry에 의해 질량을 구한 결과 분자량이 약 10,000dalton으로 나타났다.

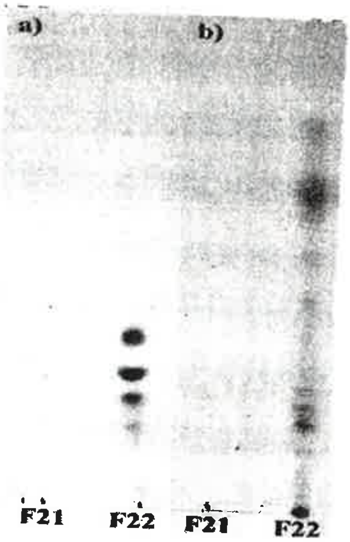


Fig. 9 Thin layer chromatogram on silica gel of compounds isolated from F21, F22

Developing solvent:BuOH : Acetic acid:H2O = 4:1:1
a) Ninhydrin reaction b) Sulfuric reaction

제 4 장 참고 문헌

강 호윤. 두부제조의 이론과 실제. 고려서적. (1992)

김 동만, 백 형희, 진 재순, 이 세은, 김 길환. 역삼투법을 이용한 두부순물의 가용성 물질 제거에 관한 연구. 한국식품과학회지. 24(4): 306.(1992a)

김 동만, 백 형희, 진 재순, 이 세은, 김 길환. 역삼투법으로 분리, 농축한 두부순물의 이화학적 특성. 한국식품과학회지. 24(4): 311. (1992b)

김송이 재래식 조선간장에서 유래한 종양억제 펩타이드. 서울대학교 석사학위논문 (1994)

김수호, 이형주 치즈 및 된장에서의 쓴 맛 펩타이드 특성. 한국식품과학회지 17: 26 (1983)

박 기환. 미국 식품산업계의 용수처리 및 재활용. 식품과학과 산업. 27(1): 43.(1994)

변진원 단백분해효소처리가 두유단백질의 특성과 두유의 칼슘강화에 미 치는 영향. 서울대학교 박사학위논문 (1993)

성장훈 대두 발효식품에 함유된 기능성 펩티드의 탐색. 서울대학교 석사학위논문 (1994)

신재익, 안창원, 남희섭, 이형재, 이형주, 문태화 된장으로부터 Angiotensin Converting Enzyme(ACE) 저해 Peptide의 분획. Korean J. Food Sci. Technol., 27(2): 230 (1995)

양 병수. 용수 및 폐수처리. 동화기술. (1988)

이 기우 환경법. 학현사. (1993)

이 선미 응고제를 달리하여 제조한 두부의 텍스쳐 특성과 두부순물의 성분. 서울대학교 대학원 석사학위 논문. (1996)

이 영헌, 정 해옥, 이 종욱. 대두의 침지과정중 침출액의 성분변화. 한국식품과학회지. 19(6): 492. (1987)

이 호봉, 이 승렬, 장 영상, 신 재익. 한외여과에 의한 다시마 정미성분 분리에 대한 연구. 한국식품과학회지. 24(3): 199. (1992)

이기우 환경법. 학현사 (1993)

이윤경 두부 제조시 발생되는 침지액과 순물의 이화학적 특성 및 기능성 물질의 함량 분석. 서울대학교 석사학위논문 (1997)

정건섭, 윤기도, 홍석산, 권동진 전통장류의 항돌연변이성 및 항암성. 전통콩 발효식품(된장, 청국장, 간장)의 기능 및 생리적 활성에 대 한국제 심포지움: 3 (1996)

최 연배, 김 강성, 손 헌수. 산화칼슘을 이용한 대두올리고당의 회수. 한국식품과학회지. 27(2): 225. (1995)

한응수 대두펩타이드의 래트 혈청 콜레스테롤 저하효과와 그 기작. 서울대학교 박사학위 논문 (1990)

한응수, 이형주, 손동화 대두 펩타이드의 아미노산 조성 및 평균소수도가 흰쥐의 혈청 콜레스테롤 농도에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 25(5): 552 (1993)

Ariyoshi, Y Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from food proteins. Trend in Food Science and Technol., May, 139 (1993)

Beveridge, T., Toma, S.J., and Nakai, S. Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using Ellman's Reagent. *J. Food Sci.*, 39: 49 (1974)

Bollag, D.M. and Edelstein, S.J. Protein Method. Chapter 5. Gel Electrophoresis under denaturating conditions *Wiley-Liss* (1991)

Cheung, H.S., Wang, F.L., Ondetti, M.A., Sabo, E.F. and Cushman, D.W. Binding of peptides substrates and inhibitors of angiotensin converting enzyme. *J. Biol. Chem.*, 255(2): 401(1980)

Fotsis, T., Pepper, M., Adlercreutz, H., Fleischmann, G., Hase, T., Montesano, R. and Schweigerer, L. Genistein, a Dietary-drived Inhibitor of in vitro Angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90: 2690.(1993)

Franzen, K.L. and Kinsella, J. E. Functional Properties of Succinylated and Acetylated Soy Protein. *J. Agric. Food Chem.* 24(4): 788(1976)

Hackler, L. R. and Stillings, B.R. Amino Acid Composition of Heat-processed Soymilk and Its Correlation with Nutritive Values.*Cereal Chem.* 44: 70 (1967)

Hettiarachchy, N.S., Kalapathy U., and Myers D.J. Alkali-Modified Soy Protein with Improved Adhesive and Hydrophobic Properties. *JACCS.*, 72(12): 1461 (1995)

Hillenkamp, F., Karas, M., Beavis, R.C., and Chait, B.T. Anal. Chem. 63,1193A (1991)

Kato, A., Tsutsumi, N., Matsudomi, N., and Kobayashi, K. and Nakai, S. *Agric. Biol. Chem.*, 45: 2755 (1981)

Kaufmann, R. J. Biotechnol. 41(2-3): 155 (1995)

Kennedy, I.R., Mwandemele, O.D. and McWhirter, K.S. Estimation of Sucrose, Raffinose and Stachyose in Soybean Seeds. *Food Chem*. 17:85. (1985)

Keung, W.M. and Vallee, B.L. Daidzein: A Potent, Selective Inhibitor of Human Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90: 1247. (1993)

Knucles, B.E., Kuzmicky, D.D., and Betschart, A.A. Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on in vitro protein digestibility. *J. Food Sci*., 50: 1080 (1985)

Kuo, T.M., Van Middlesworth, J.F. and Wolf, W.J. Content of Raffinose Oligosaccharides and Sucrose in Various Plant Seeds. *J. Agric. Food Chem*. 36: 32. (1988)

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., A. Lewis Farr, and Rose, J. Randall Proteinmeasurment with the folin phenol reagent. J.Bio.Chem., 193:265 (1951)

Miller, C.D., Denning, H., and Bauer, A. Relation of nutrients in commercially prepared soybean curd. Food Res., 17: 26 (1952)

Naim, M., Gestetner, B., Bondi, A. and Birk, Y. Antioxidative and Antihemolytic Activities of Soybean Isoflavones. *J. Agric. Food Chem*. 24(6): 1174. (1976)

Pomeranz,. Y. Functional Properties of Food Components. AP Inc.,: 200(1985)

Powers, J.J., Dratt, D.E. and Joiner, J.E. *Food Technol*. 15: 41. (1959)

Quaglia, G.B., Orban, E. Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of Sardine (*Sardinepilchardus*)protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 55: 1571 (1990)

Sathe, S.K., Salunche, D.K. Solubilization and electrophoretic charactierization of great nothern bean proteins. *J. Food Sci.*,46: 82 (1981)

Shino, A. Tsukuda, R., Odaka, H., Kitazaki, T., Tsuda, M. and Matsuo, T.Suppressive Effect of Ipriflavone on Bone Depletion in the Experimental Diabetic Rat. *Life Sci*. 42(11): 1123. (1988)

Wagner, J.R. and Anon, M.C. Influence of Denaturation,Hydrophobicity and Sulfhydryl Content on Solubility and Water Absorbing Capacity of Soy Protein Isolates. *J. Food Sci.*, 55(3): 765 (1990)

Wang, H.L. and Cavins, J.F. Yield and Amino Acid Composition of Fractions Obtained during Tofu Production. *Cereal Chem*. 66(4): 359. (1989)

제 5 세부과제. 천연 칼슘소재 개발

제 1장 서 론

국내의 달걀 가공 산업은 외국에 비하여 낙후되어 있으나, 96년도 농림부 축산국 통계에 의하면 달걀 소비량은 43만톤으로 계속적인 증가 추세에 있으며, 이중 난각이 차지하는 47천톤의 대부분이 폐기되고 있어 난각의 처리 문제가 대두되고 있다. 폐기되고 있는 난각은 칼슘 함량의 비율이 높아 이를 효율적으로 처리한다면, 천연 칼슘 소재로 재활용할 수 있다.

현대인은 동물성 단백질의 섭취가 늘어나고 있는데, 단백질의 섭취 증가는 칼슘의 배설을 촉진시키므로 칼슘 섭취에 대한 필요성은 더욱 증대되고 있다. 한국 야쿠르트 빌딩에서 『칼슘이 인체에 미치는 영향』이라는 주제로 열린 세미나에서 유춘희(상명대)는 주제 발표를 통해 다음과 같이 밝혔다. "칼슘은 뼈조직의 유지 외에도 대장암의 발병을 줄이고 혈압을 저하시키는 효과가 크다. 그러나 우리 나라 성인 남녀 1인당 칼슘 섭취량은 권장량의 75% 수준에 그치고 있다. 이에 따라 칼슘 섭취량을 현재의 세배 수준인 1,500 2,500㎎으로 대폭 늘려야 하며, 이를 위해 우유, 어류, 야채 등의 식사를 통해 섭취하는 것이 좋다"고 권고하였으며, 『기능성 우유의 생산 현황과 전망』이란 주제를 발표한 강희국(성균관대)은 "칼슘 흡수율을 비교한 결과, 우유가 53%로 가장 높았고 이어 어류 38%, 난각 25%, 야채 18% 순으로 나타났다"고 지적하였다.

위와 같이 음식물이나 체내로 섭취한 칼슘이 흡수되기 위해서는 위장 내에서 먼저 붕괴되고 용해되어 칼슘 이온(Ca^{2+})으로 전리되어야만 한다. 섭취한 칼슘이 장내에서 흡수되기 위해서는 붕괴와 용해를 거쳐 칼슘 이온으로 변해야 하기 때문에 칼슘의 흡수율은 섭취한 칼슘의 붕괴 속도와 용해도에 의해 크게 영향을

받게 된다. 즉 붕괴 속도가 빠르고, 용해도가 높을수록 흡수율이 높아진다고 할 수 있다.

본 과제에서는 폐기되고 있는 난각에 다량으로 함유되어 있는 칼슘 성분을 효율적으로 분리하고, 체내흡수율을 높이기 위한 방법을 개발하였고 개발된 유기산 난각칼슘을 실제식품(생면, 식빵, 라면, 두유)에 첨가하여 칼슘 강화 식품의 실용화 타당성에 대한 연구를 수행하였고 유기산 난각칼슘을 연간 240톤 생산할 수 있는 공장의 상세한 설계를 하였다.

제 2 장 연구 방법

제 1 절 난각에서 천연 무기물의 분리 및 이용

1. 재료 및 시약

실험에 사용된 난각(계란 껍질)은 아주대학교 구내 식당에서 사용하고 폐기한 것을 수집하여 사용하였고, Acetic acid, citric acid, malic acid와 같은 유기산은 Sigma(USA)사의 제품을 CC(calcium-citrate complex), CM(calcium-malate complex)은 제조하여 사용하였다.

2. 난막 제거

용량 6ℓ(ball이 차지하는 부피는 0.6ℓ)의 ball mill(Model 41-BN-200, Kukje Science, Korea)을 사용하여 난각을 분쇄한 후, 수중에서 난막과 난각의 비중 차이를 이용해 난막을 분리하였다. 이때의 ball mill내 체류 시간, 회전 속도, ball mill 용량에 대한 난각의 부피비 등의 공정 변수를 최적화 하였다. 또한, 본 연구에서 사용된 난막 제거 방법과 예비 분쇄 없이 수중에서 교반하여 난막을 제거하는 방법과 비교하였다.

3. 난각의 회화

250mℓ 용량의 알루미나 도가니에 난막을 제거한 난각 200g를 넣고 전기로(Model FU-7063, Kukje Science, Korea)에서 회화시켜, 난각 칼슘분을 얻어 색

도 색차계(Model CR-300, MINCLTA, Japan)를 이용하여 L(백색도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하여 ΔE 값을 구하였다. 난각 칼슘분은 100mesh이하로 분쇄하여 색도 색차계의 감응부에 접촉시켜 측정하였으며, 3회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

4. Hausner ratio 측정

Bulk density는 200㎖ 메스실린더에 담기는 난각 칼슘분의 무게를 용기의 체적으로 나눈 값(g/㎤)으로 하였다. 한편, Hausner ratio는 메스실린더에 담긴 난각 칼슘분을 100회 두드린 다음, bulk density를 측정하여 이를 tapped bulk density로 하고, 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$HR = P_T / P_O$$

HR : Hausner ratio

P_T : Tapped bulk density

P_O : Bulk density of ashed eggshell

5. 칼슘이온 농도 측정

250㎖의 삼각 플라스크에 50㎖의 증류수를 넣고 난각 칼슘분을 충분히 첨가해 자석 교반기 위에서 격렬히 교반하여 가스가 더 이상 발생하지 않는 점에서 calcium probe를 연결한 ion meter(Model 720A pH/ISE meter, Orion, USA)를 사용하여 칼슘 이온의 농도를 정량적으로 측정하였으며, 측정시 간섭 물질을 제거하기 위하여 칼슘 용액 10㎖에 calcium ionic strength adjuster(4M KCl) 0.2㎖을 첨가하였다.

6. 유기산 난각 칼슘의 제조

난각 칼슘분 대 10% 유기산의 비율을 5.6g : 50㎖로 섞어 교반하여 CO_2 발생이 극히 적은 부분까지 반응시킨 후, 잔류 수분과 유기산을 제거하기 위하여 동결 건조하여 CC(calcium-citrate complex), CM(calcium-malate complex)을 얻었다.

7. 유기산 난각칼슘의 응집처리 공정

응집기(UNI, Germany)를 사용하여 응집처리를 하였다. 응집용매로 증류수를 이용하였으며 응집기 chamber 온도는 70℃로 유지시키며 응집시켰다.

8. 수분용해도지수(WSI) 및 수분흡수지수(WAI) 측정

유기산 난각칼슘 2.5g를 취하여 증류수 30ml를 넣은 원심분리관에서 분산시킨다. 매 10분마다 흔들어 주면서 30분간 방치시킨 후 3000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액중 고형분량을 측정하여 WSI를 구하고, 잔사무게를 측정하여 WAI를 구했다.

제 2 절 유기산 칼슘이 강화된 식품의 물성

1. 숙면

가. 재료

난각(계란 껍질)은 아주대학교 구내 식당에서 폐기한 것을 수집하여 사용하였다. 유기산 난각칼슘염 (Calcium-citrate complex, calcium-malate complex)은 신과 김의 방법 에 따라, 난각을 수세, 회화하고 유기산 처리한 후 건조하여 사용하였다. 소맥분은 수분 함량 14%, 회분 0.45%, 단백질 13%, Farinogram 상에서 흡수율 63%, 안정도 20분 이상의 것을 사용하였다.

설탕은 제일제당 정백당으로 수분 0.1% 이하, 당도 99.9% 이상의 것을 사용하였으며, 소금은 한주(주)의 제품으로 순도 98% 이상의 것을 사용하였다. 그리고 효모는 제일 유니버샬의 생효모로 활성 실험에서 1시간 이내에 gas 발생이 280㎖ 이상인 것을 사용하여 실험하였으며, 이스트 후드는 독일 베링거잉겔하임사의 상표명 올림피아 200 제품을 사용하였다.

생면은 신과 김의 방법에 따라 제조하였으며, 배합률은 Table 1과 같다. Otake 제면기(Model RC60B, 尾又葉鐵工所, Japan)를 사용하였고, 밀가루에 식염, 물, 유기산 난각 칼슘을 첨가하고, 믹서(Model MG8, 尾又葉鐵工所, Japan)의 교반 속도는 80rpm으로 하여 20분간 배합하고 실온에서 30분간 숙성하였다. 롤 간격은 10 - 8 - 6 - 4 - 2.5㎜의 순서로 두께를 점차 감소시키고, 제면기 롤 No. 10을 사용해 3.0㎜ 너비로 절단하였다.

식염과 유기산 난각 칼슘은 미리 배합수에 녹여 사용하였으며, 유기산 난각 칼슘 첨가 비율은 밀가루 무게 기준으로 0.2 1.0%를 사용하였다.

Table 1. Composition of raw noodle

Ingredients	Flour basis(%)
Flour	100
Salt	3
Water	40
Organic calciums	0.2 1.0

나. 반죽 성질

밀가루의 반죽 성질을 조사하기 위해서 사용한 기기는 Farinograph(Model Sew, Brabender, Germany)를 사용하였으며, Farinogram에서 밀가루의 수분 흡수율(absorption), 반죽 생성 시간(developing time), 안정도(stability), 탄력도(extensibility), 약화도(weakening of dough), 강력도(Dough consistency)를 측정하였다.

다. 조리 성질 분석

절단면 대 압착면의 비율이 3 : 2.5 ㎜로 제조한 생면을 6.5 ㎝의 길이로 자른 다음 20 g를 취하여 300 ㎖의 끓고 있는 물에 넣고 5 25분간 조리 후 체에 건져 1.5분간 방치한 다음 중량과 부피를 측정하였다. 부피는 미리 증류수 130 ㎖를 채운 250 ㎖ 메스실린더에 숙면을 넣고 증가하는 부피로부터 구하였다. 조리 중 수분의 확산 정도를 알아보기 위하여 아래의 식을 이용하여 중량 및 부피 증가 속도 상수를 계산하여 수분의 확산 속도를 예측하였다.

$$\frac{Wt - Wo}{Wo} = k_w \sqrt{t}$$

$$\frac{Vt - Vo}{Vo} = k_v \sqrt{t}$$

여기에서 W 는 중량, V 는 부피, o 는 조리 개시점, t 는 조리 개시 후 t분 경

과 후 점, k_w 는 중량 증가 속도 상수(min-1/2), k_v 는 부피 증가 속도 상수

(min-1/2)를 의미한다.

라. 텍스쳐 측정

생면을 13분간 조리하여 수돗물에 6초간 냉각시킨 다음, 1.5분간 방치하고 Rheometer(Model CR-200D, Sun Scien. Co., Japan)를 이용하여 Table 2와 같은 조건에서 측정하였다.

Table 2. Operating conditions for rheometer

Items	Conditions
Item selection	Mastication
Table speed	60mm/min
Chart speed	30No/sec
Load cell	1kg
Critical area	314mm2
Sample height	5mm
Sample width	10mm

마. 칼슘 이온량 측정

조리된 숙면 10 g를 분쇄기(Model CJM-496AC, LG Co., Korea)를 이용하여 1분간 분쇄 후 90 ml의 증류수를 가하여 자석 교반기 위에서 60분간 교반하여, 유리되어 나온 칼슘 이온의 양을 ion meter(Model pH/ISE 720A, Orion, USA)를 이용하여 정량 하였다.

바. 관능 검사

준비된 생면을 13분간 조리 후 냉각시킨 다음, 세 자리의 임의의 숫자를 기록한 종이컵에 1인당 4 g씩 담고 2분간 방치한 후 관능 검사원에게 평가하도록 하였다. 관능 검사는 8명의 검사 요원이 2회씩 반복하여 실시하였으며, 사용된 검사 방법은 삼점 검사법에 의한 차이 식별 검사로 χ^2값을 구하여 유의성을 평가하였다.

2. 식빵 제조

가. 배합률 및 제조 공정

식빵은 삼립식품에서 현재 사용하고 있는 배합률과 제조공정에 따라 제조하였으며, 배합률은 Table 3에서 제시하였다. 밀가루는 캐나다산을 제분한 대한제분의 제품을 사용하였다.

1) 중종

- 1차 혼합 및 발효

생효모를 물에 분산시키고 식염, 유화제, 후드25와 혼합한 밀가루를 mixer(Model A200T, Hobart, USA)에 넣고 믹서 속도는 저속 3분, 중속에서 2분간 반죽하여 반죽 온도가 24℃가 되게 조절한다. 생지 온도 27℃, 습도 75%에서 4시간 동안 1차 발효한다.

Table 3. Formulas for loaf bread

Ingredients	Flour basis(%)	
	1st mixing	2nd mixing
Flour	70	30
Water	42	18
Salt	0.2	1.64
Yeast	26	
Emulsifier(SG-300)	2	
Food No25	0.2	
Sugar		10
Dried skim milk		2.7
Butter		15
α-amylase		1
Organic acid eggshell calciums		0.2 1.0

2) 본종

• 2차 혼합 및 발효

물, 설탕, 탈지 분유, 식염과 유기산 난각 칼슘을 넣고 밀가루와 혼합한 다음, 1차 발효시킨 생지를 넣고 믹서 속도, 저속 3분, 중속 2분 조건에서 혼합한 후, 버터콩파운드를 최종적으로 넣고 저속 3분, 중속에서 6분간 혼합하여, 반죽온도가 27℃가 되게 조절한 생지를 숙성 15분, 분할, bench time 15분, 정형, panning 순으로 진행한다. 2차 발효 조건은 온도 38℃, 습도 85%에서 45 50분간 발효한다.

3) 소성

2차 발효가 끝난 생지를 oven(Model MF SS-2, Sungil Mech., Korea)에 넣고 상면 온도 200℃, 하면 온도 220℃의 조건에서 25분간 소성한 후, 완제품을 꺼내 냉각, 포장한다.

나. 텍스쳐 측정

식빵을 제조하여 상온에서 24시간 동안 보관한 후, Rheometer(Model CR-200D, Sun Scien. Co., Japan)를 사용하여 Table 4에서와 같은 조건에서 측정하였으며, plunger 모양은 원통형을 사용하였다.

Table 4. Measurement conditions of rheometer for loaf bread

Items	Conditions
Table speed	100㎜/min
Chart speed	60No/sec
Critical area	1256㎜2
Sample height	52㎜
Sample width	130㎜

다. 칼슘 이온양 측정

식빵 10g에 물 90㎖를 가하여 분쇄한 다음, 자석 교반기에서 60분간 교반한 후 칼슘 이온의 농도를 정량적으로 측정하였다

라. 관능 검사

생면의 관능 검사에서 사용한 삼점 검사법(triangle test)을 사용하였다.

3. 라면제조

가. 유기산 난각칼슘 강화라면 제조

두 가지 유기산 난각칼슘을 0.4, 0.7, 1.0%의 수준으로 라면의 원료 배합시 첨가하여 라면 생산라인에 통과시켜 라면을 제조하였다.

나. 라면 물성조사

라면을 100℃ 물에 4분간 조리한 후 Texture Analyzer(TA-XT2 Stable Systems, U.K.)를 사용하여 springiness, hardness, chewiness를 40회 반복 측정하였다.

다. 칼슘이온 측정

유기산 난각칼슘이 첨가된 라면과 라면 국물의 칼슘이온을 calcium probe를 연결한 ion meter (720A pH/ISE meter, Crion, USA)로 측정하였다.

라. 라면에서 용출된 칼슘이온양 측정

조리된 라면을 잘 blender로 잘 갈아서 30g를 취한 후 증류수 300ml에 넣고 교반을 하면서 시간별로 sampling을 하여 calcium ion meter로 칼슘이온 농도를 측정한다.

마. 관능검사

차이 식별검사 방법을 사용하였다.

4. 두유

가. 재료 및 시약

두유 제조용 대두는 시중에서 판매되고 있을 사용하였으며, 시약은 Sigma사에서 구입한 bile (B-3883), pepsin (P-7000), HCl (H-7020), pancreatin (P-1750)을 사용하였다.

나. 칼슘강화 두유의 제조

대두의 침지, 마쇄, 가열, 여과를 거쳐 두유를 제조한 뒤 유기산 칼슘을 두유에 대해 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3%(v/w)로 가하여 칼슘강화 두유를 제조하였다.

다. 체내조건에서의 칼슘강화 두유의 이온양 측정

가상의 위액은 각각의 칼슘강화 두유 5㎖를 취한 후 20㎖의 0.1N HCl, 0.1N HCl/pepsin(0.1%), 0.05N HCl/pepsin(0.1%)에 넣은 후 37℃에서 1시간 동안 흔들어 준 후 칼슘 이온량을 측정하였으며, 가상의 장액은 가상의 위액 10㎖를 취한 후 이것에 0.5% pancreatin 과 5% bile을 첨가하여 0.1N HCl/pepsin/pancreatin/bile 과 0.05N HCl/pepsin/pancreatin/bile 조건을 만든 후 칼슘 이온량을 측정하였다.

제 3 절 유기산 난각칼슘 제조공장 설계

1. 공정흐름도

각 공정에 대한 mass balance와 energy balance를 구하였고, 이를 바탕으로 공정흐름도를 제시하였으며, 공정흐름도를 통하여 기계배치를 알 수 있으며 효율적인 공정관리를 할 수 있는 자료를 제시해 준다.

2. 고정자본 투자

고정자본 계산은 기계구입비, 설치비, 배관, 전기, 건물, 대지조성, 서비스시설, 토지, 엔지니어링 및 시설, 계약자 보수, 예비비 등과 같은 목록으로 구성되어 있으며 기계구입비를 바탕으로 설치비, 배관, 전기 건물, 대지조성, 서비스시설, 엔지니어링 및 시설에 관한 비용을 계산할 수 있으며, 직접비를 통해 계약자보수 와 예비비를 구할 수 있으며 이것들을 토대로 총 고정자본 투자액을 구했다.

3. 제조원가 계산

제조원가는 크게 유동비용과 고정비용으로 나뉘어져 있으며 이것을 토대로 직접제조비용을 구할 수 있고, 이것을 통해 영업, 연구 개발 및 일반 오버헤드를 얻을 수 있다.

유동비용은 원료비, 포장재료비, 노무비, 유틸리티 등으로 구성되어 있으며, 고정비용 구성은 감가상각비, 관리유지비, 조세와 보험, 관리직 노임으로 되어 있다. 이것들을 각각 구하여 제시하였으며, 제조원가를 계산하였다.

제 3 장 연구 결과

제 1 절 난각에서 천연 무기물의 분리 및 이용

1. 난막 제거

수집된 난각은 난백, 난막 이외에도 다른 오염 물질이 섞여 있어서 이상한 냄새를 발생하기 쉽다. 그러므로, 이취를 발생하지 않고 효과적으로 난각만을 얻기 위해서 난각을 세척하여 ball mill에 넣고 난각을 분쇄하여 난막을 제거하는 방법을 사용하였다. 그 결과, 짧은 시간 내에 우수한 난막 제거 효과를 보였으며, 이 때의 난막 제거 최적 조건은 volume fraction(난각의 부피/ball mill의 보이드 부피)은 0.08, ball mill내 체류 시간 30분, 회전 속도 30rpm에서 난각 회수율이 가장 높았으며, 이 때의 난각 회수율은 77%(w/w)을 유지하였다.

최적 조건보다 낮은 조건에서는 난막 제거가 충분하게 이루어지지 않았으며, 높은 조건에서는 파쇄된 난각의 미분말화로 인해 수중에서 난각과 난막의 비중 차이를 이용한 난각분 회수 과정 중 손실이 증가하여 회수율이 저하되는 현상을 보였다.

수중에서 난각을 교반하면서 난막을 분리한 후 정치하면, 비중의 차이로 인해 비중이 작은 난막은 대부분 탱크 위로 뜨게 되고, 난각은 무거우므로 탱크 바닥으로 침전된다. 따라서 교반 종료 후, 떠있는 난막을 물과 함께 따라 내면 손쉽게 난막을 제거한 난각을 얻을 수 있으나, ball mill을 사용하여 난막을 제거하는 방법보다는 난막 제거 효율이 떨어져 회수율이 최고 68%(w/w)였다. 이 때 사용하는 물의 양과 난각의 비율이 10 : 2 일 때가 난막 제거 효율이 가장 높았으며, 수온의 영향은 미미하였다.

위와 같은 방법으로 난각을 회수하고 제거된 난막만을 따로 수집하고 난막 유용 성분을 가용화 한다면, 화장품이나 식품 등에 배합하여 물성 개량제로도 사용이 가능하므로, 부산물로 얻어지는 난막의 활용도를 높일 수 있는 방법에 대한 연구도 추진이 가능하다.

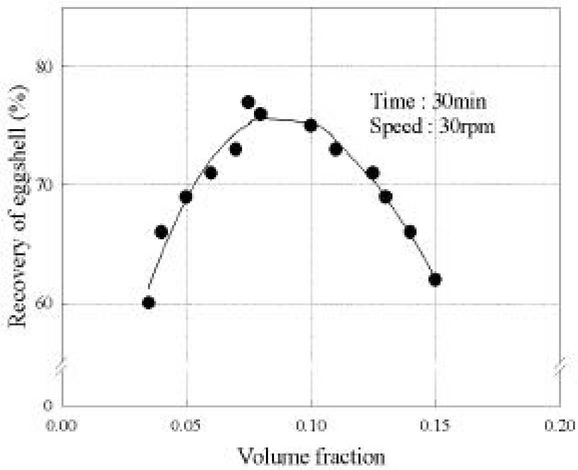


Fig. 1. Effect of volume fractions in a ball mill on the recovery of eggshell.

2. 난각 탈색

국내에서 생산되는 대부분의 계란은 갈색으로 이를 분말화하여 밀가루 식품에 첨가할 경우 색도를 저하시키므로 이를 방지하고 이온화 정도를 높이기 위해 난막을 회화하여 백색도를 높이는 방법을 시도하였다.

난막을 제거한 난각을 전기로 온도 850, 900, 1000℃에서 각각 회화시켜 색소, 유기물 등을 제거한 난각 칼슘분을 얻어 Hunter's colorimeter를 사용하여 백색도를 측정하였다. 850, 900, 1000℃에서 각각 14, 9, 3시간이 경과하면 L값이 90 이상의 백색도가 우수한 난각 칼슘분을 얻을 수 있다.

회화 과정 중의 난각의 무게 변화를 측정하기 위해서 난각 칼슘분 200g를 취해 회화시키면서 무게 변화를 조사였다. 120g(±5)에서 회화가 종료되는 것으로 조사되어 난각 칼슘분의 획득 수율을 알 수 있었다. 난각의 회화 과정 중에는 $CaCO_3$ + heat →CaO + CO_2와 같은 화학 변화가 일어나는데, 이 때 발생하는 이산화탄소가 난각 무게 감소의 주요 요인이다. 회화 전•후 난각의 분자량은 회화 전의 시료는 100, 종료되었을 때의 분자량은 56으로 난각 칼슘분은 약 120g에서 회화가 종료된다는 결과를 입증해 주며, 그 외에 유기물, 색소 등의 연소도 감소 요인이 된다.

회화 전•후 난각분의 tapped bulk density를 측정한 결과를 Hausner ratio로 표시하면, 회화가 종료되었을 때는 1.43으로 회화 과정 중 난각이 부드러운 분말로 변한다는 것을 알 수 있었다. 회화 과정을 거친 난각 칼슘분은 무취의 백색 분말로서 고미를 가지고 있다.

Table 4. Effect of ashing temperature on the color(lightness) and color difference of eggshell powder

T(℃)	900				1000			
Time(h)	L*	a	b	ΔE**	L	a	b	ΔE
1	53.37	-0.15	+0.82	38.60	69.31	+0.10	+0.73	22.99
2	68.55	+0.09	+0.52	23.75	85.35	+0.17	+0.58	6.96
3	78.55	+0.12	+0.35	13.75	93.21	+0.22	+0.47	0.93
4	79.75	+0.07	+0.23	12.80				
5	83.53	+0.09	+0.22	6.77				
6	85.62	+0.19	+0.37	6.68				
7	87.75	+0.18	+0.35	4.55				
8	89.25	+0.18	+0.38	3.05				
9	91.78	+0.20	+0.40	0.53				

* L : lightness(100=white, 0=black)
a : redness(-=green, +=red)
b : yellowness(-=blue, +=yellow)
** ΔE :color difference($=[(\Delta L)^2+(\Delta a)^2+(\Delta b)^2]^{1/2}$)
NBS(ΔE) : unit classification : 0 0.5=trace, 0.5 1.5=slight,
1.5 3.0=noticeable, 3.0 6.0=appreciable,
6.0 12.0=much, over 12.0=very much.

Table 5. Change in eggshell weight with time at various ashing temperature (unit : g)

T (℃) / Time(h)	850	900	1000
0	200	200	200
1	191	164	141
2	185	154	123
3	178	140	116
4	174	135	
5	170	130	
6	168	125	
7	164	122	
8	155	119	
9	153	118	
10	145		
11	140		
12	132		
13	129		
14	124		

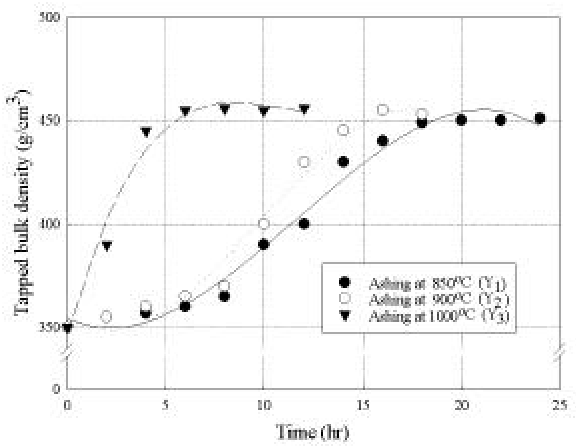


Fig. 2. Change in tapped bulk density with ashing time at various ashing temperatures.

3. 난각 칼슘분의 이온화 정도

전기로에서 회화시켜 얻은 난각 칼슘분은 회화시키지 않고 난각을 그대로 분쇄한 난각분보다 상대적으로 이온화 정도가 증가되었다.

난각 칼슘분을 백색도와 수온을 변화시키면서 물에서의 이온화 정도를 측정하였다. 회화 전의 난각분은 칼슘 이온의 농도가 20ppm 정도로 물에서는 거의 이온화되지 않는데, 회화 과정을 거친 난각 칼슘분은 같은 회화 과정을 거친 난각 칼슘분인 경우에도 탈색 정도가 우수하여 L값이 큰 난각 칼슘분이 상대적으로 높은 이온화 정도의 증가를 가져와 L값이 70, 80, 90 이상일 경우 각각 600, 700, 1000ppm으로 최고 50배 이온화 정도가 증가하였다. 실험에 사용된 수온 범위(0 30℃)내에서는 영향이 없는 것으로 조사되었다.

난각 칼슘분은 이온화되면서 급격한 pH의 변화가 생겨 L값이 90 이상인 것은 pH 6.5의 증류수를 20분 이내에 pH 14까지 증가시키는 강알칼리성(20)을 나타내었다.

칼슘이 체내로 흡수되기 위해서는 먼저 칼슘 이온으로 전리되어야만 가능한데, 현재까지 주로 난각을 회수하여 그대로 미분쇄해 식품 첨가물이나 사료로 사용하는 형태의 난각분은 주성분이 탄산칼슘으로 칼슘의 이온화 정도가 극히 낮아(solubility : 0.002per 100parts by weight of the water at 100℃) 체내 흡수율이 의문시되는데 반해, 전기로에서 회화시켜 얻은 난각 칼슘분은 이온화 정도가 상대적으로 높아(solubility : 0.077per 100parts by weight of the water at 100℃) 체내 흡수율의 증가를 기대할 수 있다.

유기산을 사용하여 난각 칼슘분의 이온화 정도를 높이는 방법을 조사하기 위하여, 각각의 유기산의 농도(0.1 2%)를 변화시키면서 유기산의 종류가 난각 칼슘분의 이온화 정도에 미치는 영향을 조사하였다. citric acid의 경우 농도를

달리한 50㎖의 수용액에 10g의 난각 칼슘분을 첨가해 60분 뒤의 칼슘 이온의 농도를 측정한 결과, 1% 농도에서 최고 3600ppm으로 포화 곡선을 얻을 수 있었으며, pH 2.3의 수용액을 20분내에 pH 9.5의 알칼리 용액으로 변화시키는데 유기산의 농도가 높을수록 pH는 낮아, 짧은 시간에 난각 칼슘분의 붕괴 속도를 가속화하여 이온화 정도가 증가된다는 것을 알 수 있다. 그 외 acetic acid 수용액에서도 1% 농도에서 최고 3400ppm의 칼슘 이온 농도로 포화 농도를 보였으며, lactic acid 수용액은 0.5%에서 4100ppm의 농도를 나타내었다.

위의 결과를 보면 주스와 같이 pH가 낮은 음료에 본 실험에서 제조한 난각 칼슘을 첨가한다면 칼슘 강화 주스의 제조가 가능하다.

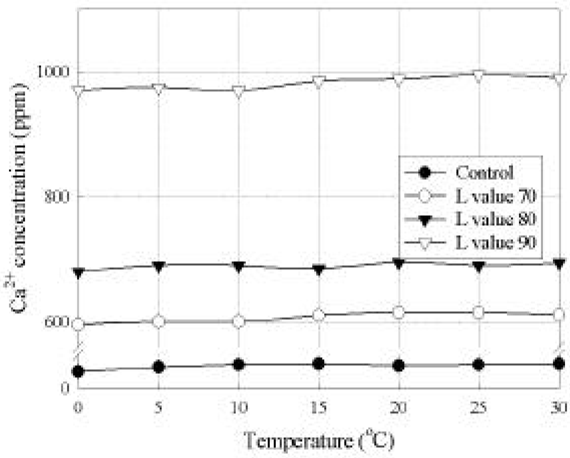


Fig. 3. Effect of temperatures on the water solubility of calcium of eggshell powder.

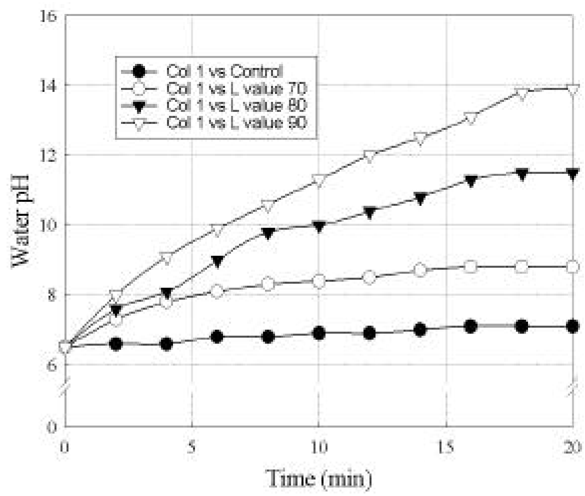


Fig. 4. Time course change of pH in water during eggshell powder solubilization.

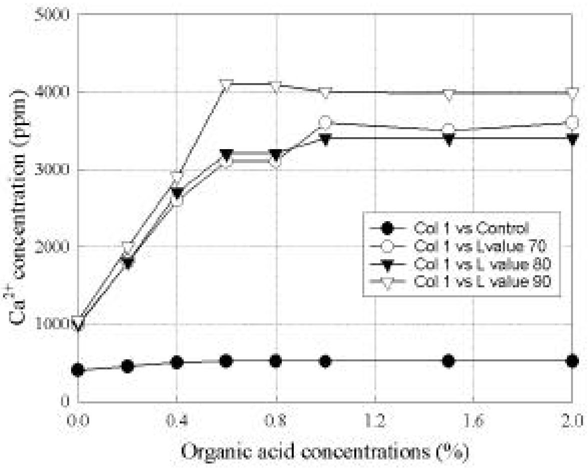


Fig. 5. Effect of organic acid concentrations on the solubility of eggshell powder.

4. 유기산 칼슘 분말의 WSI와 WAI

1) 수분용해도 지수(WSI)

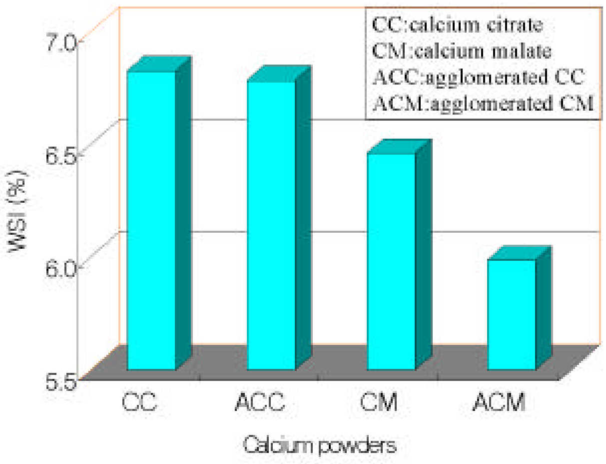


Fig. 6. WSI of some calcium powders

2) 수분흡수지수(WAI)

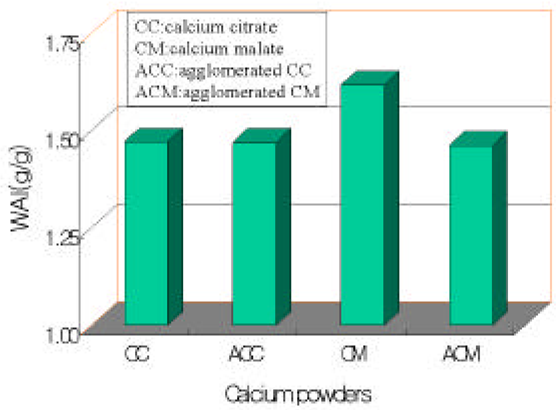
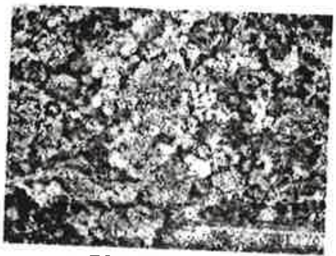


Fig. 7. WAI of some calcium powders

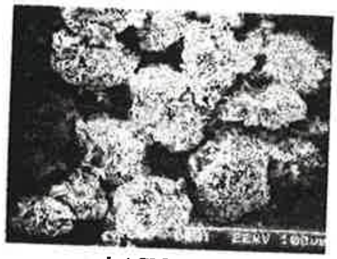
5. 유기산 칼슘 분말의 전자사진(SEM)



a. CC (x 500)

b. ACC (x 500)

c. CM (x 500)



d. ACM (x 500)

Fig. 8. SEM of some calcium powders

(CC:calcium citrate CM:calcium malate
ACC:agglomerated CC ACM:agglomerated CM)

제 2 절 유기산 칼슘이 강화된 식품의 물성

1. 숙면

가. 반죽 성질

난각 칼슘분을 그대로 첨가할 경우 알칼리제의 첨가시와 유사하게 반죽의 경도를 높이는 것은 물론 반죽 성질에 많은 변화를 유발한다. 결과적으로 면의 절단력과 압착력의 증대 등 생면 특유의 식감에 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 단점을 보완하기 위하여 본 연구에서는 제조한 난각 칼슘을 유기산

이와 같은 단점을 보완하기 위하여 본 연구에서는 제조한 난각 칼슘을 유기산으로 처리한 후 밀가루에 첨가하여 반죽 성질에 미치는 영향을 조사하였다. 생면 제조시 사용되는 밀가루의 흡수율은 63%로 여기에 calcium citrate (CC)와 calcium malate (CM)를 첨가하였을 때 CC의 경우는 흡수율의 변화가 거의 없었던 반면, CM은 첨가량이 0.8% 이상으로 증가함에 따라 흡수율이 급격히 증가하여 1.0% 첨가시에는 66%로 증가하였다(Fig. 9). 일반적으로 밀가루의 흡수율은 식염의 첨가에 의하여 감소되며 식염과 알칼리제가 동시에 존재할 때는 식염만 첨가하였을 때보다 높은 것으로 보고되고 있다. 이는 본 연구에서 사용한 밀가루 반죽 제조시 식염만 첨가된 반죽에 비하여 칼슘이 강화된 반죽의 흡수율이 증가한 결과와 일치함을 보여 주었다.

반죽 형성 시간은 대조군이 약 29분인데 비하여 칼슘염을 첨가한 반죽은 첨가량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다(Fig. 10). 즉, CM 첨가시에는 급격한 감소를 보여서 0.2% 첨가시에 약 9분을 나타내었다. 이에 반하여 CC 첨가시에는 소량 첨가시에는 큰 변화가 없었으나 첨가량의 증가에 따라 반죽 형성 시간이 서서히 감소하였다. 반죽 형성 시간은 gluten이 형성되는 기간으로서 이 기간이 너무 짧은 경우에 gluten 형성이 충분히 이루어지지 않았을 가능성이 존재한다. 한편 식염의 첨가는 반죽형성기간을 증가시키며 식염과 알칼리제를 동시에 첨가하는 경우 반죽형성기간이 급격히 증가하는 것으로 보고되고 있으나, 본 연구의 결과와는 일치하지 않는 면을 보였다. 이는 전통적인 알칼리제로 사용되고 있는 알칼리금속인 칼륨, 나트륨과 본 연구에서 첨가된 알칼리토류 금속인 칼슘간에는 차이가 있음을 보여주고 있다 하겠다.

한편 칼슘 첨가가 반죽의 안정도에 미치는 영향을 살펴보면, CC의 첨가시에는 첨가량이 증가함에 따라 0.4%까지는 안정도가 8분에서 12분으로 증가하였다. 그러나 첨가량이 더욱 증가함에 따라 안정도는 급격히 감소하여 1% 첨가시 약 4분을 나타내었다 (Fig. 11). 이에 반하여 CM의 첨가시에는 첨가량이 0.2% 이상

인 경우에 급격한 감소를 보여 약 2분을 나타내었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 밀가루 반죽의 특성인 흡수율, 반죽형성기간, 안정성의 3가지 요인에 있어서 CM 의 경우가 CC 의 경우보다 크게 영향을 미치고 있어 그 첨가량에 있어서도 더 큰 제약이 수반됨을 확인하였다. 즉 반죽의 특성에 크게 영향을 주지 않는 범위의 첨가량은 CM의 경우 0.1% 이하이고, CC의 경우는 약 0.4% 이하임을 알 수 있었다.

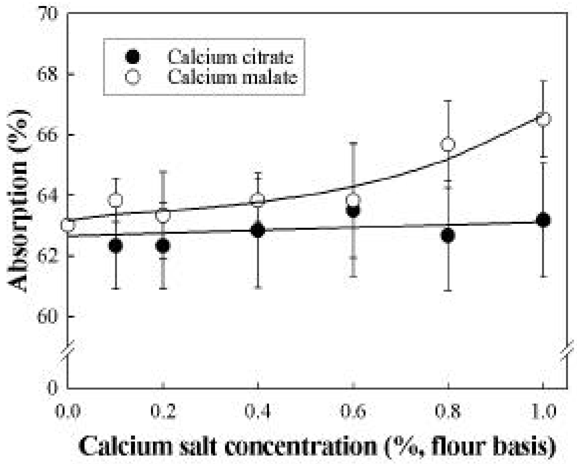


Fig 9. Effect of calcium salt concentration on the water absorption of wheat flour (Error bars indicate 95% confidence intervals).

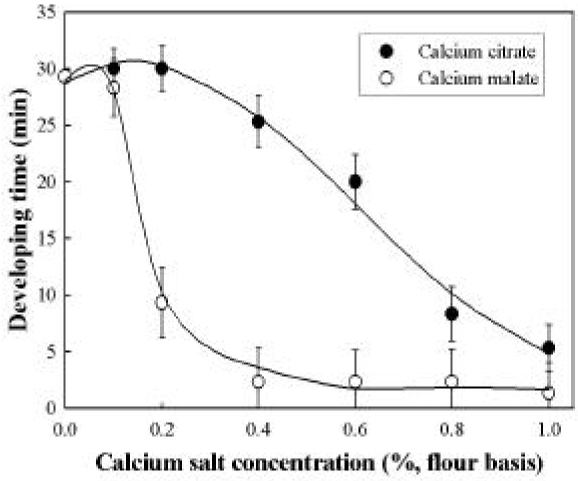


Fig. 10. Effect of calcium salt concentration on the development time of wheat flour (Error bars indicate 95% confidence intervals).

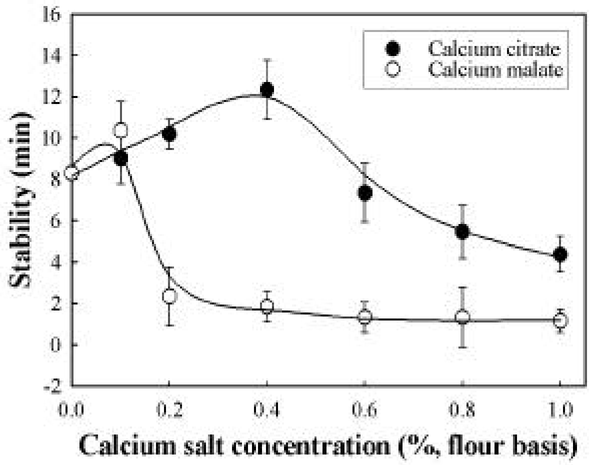


Fig. 11. Effect of calcium salt concentration on the stability time of wheat flour (Error bars indicate 95% confidence intervals).

나. 조리 성질

생면의 조리 성질에 미치는 영향을 조사하고자 칼슘염을 일정 비율로 첨가한 생면 20 g를 5 25분간 조리하여 변화되는 중량과 부피 증가를 측정하였다.

칼슘염을 첨가하여 생면을 제조하였을 때 제조된 생면의 조리시의 부피 증가 속도는 첨가량이 증가함에 따라서 속도는 감소하였으며 이 경향은 CM 첨가시가 CC 첨가시보다 더욱 뚜렷하게 나타났다 (Table 6). CC의 경우 첨가량이 0.8%일 때, 부피증가 속도상수는 무첨가 시의 0.072 $min^{-1/2}$에서 0.067 $min^{-1/2}$로 감소하였다. 그러나 CM의 경우 0.2% 첨가시에 0.063 $min^{-1/2}$로서 CC 0.8% 첨가시보다 오히려 더 큰 감소를 보였으며 CM을 0.8% 첨가하였을 경우 그 값은 0.058 $min^{-1/2}$로 매우 낮았다. 이에 반하여 칼슘염의 첨가가 중량 증가 속도에 미치는 영향은 미약하였다. 이러한 결과는 칼슘이 강화되지 않은 건면의 경우에 있어서 마찬가지이어서 중량증가 속도상수가 부피증가속도 상수보다 낮은 것으로 보고되고 있으며 이는 조리시에 조리된 생면의 팽윤이 빠른 속도로 진행되기 때문인 것으로 추정된다.

Table 6. Weight gain and volume expansion rate constants of cooked noodle by salt addition level

Cooked noodle		Weight gain rate constant ($min^{-1/2}$)	Volume gain rate constant ($min^{-1/2}$)
Control		0.057	0.072
CC*	0.2%	0.057	0.070
	0.4%	0.056	0.069
	0.6%	0.055	0.069
	0.8%	0.054	0.067
CM**	0.2%	0.054	0.063
	0.4%	0.054	0.061
	0.6%	0.054	0.060
	0.8%	0.054	0.058

*CC ; calcium citrate, **CM ; calcium malate

다. 텍스쳐 측정

Rheometer로 텍스쳐 측정을 한 결과를 보면, hardness는 유기산 난각 칼슘의 첨가량에 따라 큰 변화는 없었으나, CC를 첨가하면 증가하는 경향을 보여 알칼리제를 첨가하는 것과 같은 경향을 보였다. 첨가량이 증가함에 따라 CC를 첨가한 생면의 springiness는 0.6% 이상에서 증가하였으며, cohesiveness는 CC 첨가 생면이 0.1 감소하였다. Adhesiveness는 CC가 상대적으로 감소 폭이 커 면의 강도와 탄력성이 증가함에 따라 부착성도 변하였다. 유기산 난각 칼슘을 첨가한 생면의 텍스쳐가 변한 것은 밀가루의 반죽 성질의 변화에 의한 것으로 생각되며, 유기산 난각 칼슘의 첨가에 의해 밀가루의 반죽시 미세 구조 변화에 미치는 영향 등은 세부적인 연구가 필요하리라 생각된다.

기계적으로 측정한 밀가루 반죽 성질과 생면의 텍스쳐 측정의 결과, 제조시 첨가할 수 있는 유기산 난각 칼슘의 최적 첨가량은 0.4%, 최대 0.6%라는 것을 알았으나, Nagao들은 생면의 경우 관능 검사를 대신할 수 있는 기계적 측정법의 이용 가능성은 부정적이라는 보고도 하였으므로, 최적 첨가량을 조사하는데는 관능 검사가 필수적으로 수반되어 기계적 측정법의 결과를 보완해야 한다.

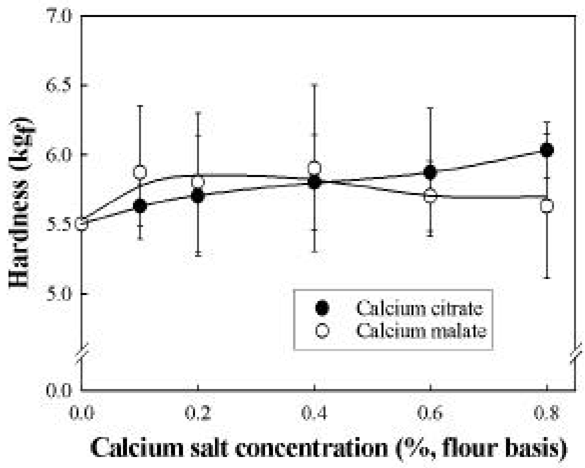


Fig. 12. Effect of calcium salt concentration on the hardness of wet noodle (Error bars indicate 95% confidence intervals).

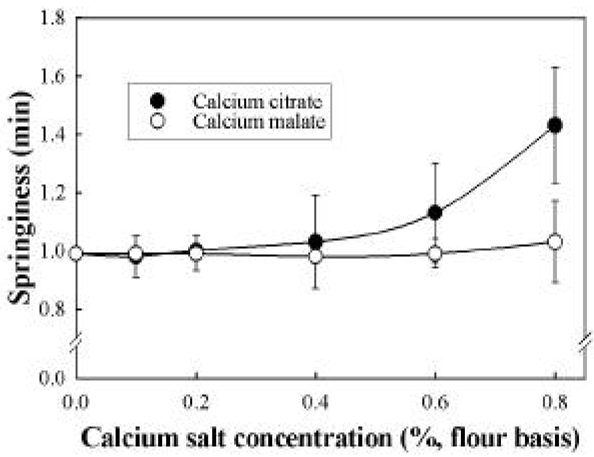


Fig. 13. Effect of calcium salt concentration on the springiness of wet noodle (Error bars indicate 95% confidence intervals).

라. 칼슘이온 농도

밀가루에는 약 13㎎의 칼슘이 존재하나 조리시에 이온으로 용해되어 전리되

는 칼슘의 양은 적어, 칼슘 이온의 농도는 18ppm 정도를 유지하였다. 칼슘의 첨가량이 증가할수록 유리되는 이온 형태의 칼슘량이 증가하여 CC, CM을 첨가한 생면은 1.0% 농도에서 각각 최고 98, 105ppm을 나타내었다.

유기산 난각 칼슘 0.6%를 첨가한 생면 200g의 총 칼슘 이온의 양은 1300ppm으로 대조군의 360ppm보다 약 3.6배 증가하였으며, 체내 흡수율을 예상할 때 정상적인 위산의 pH에서는 모든 칼슘이 가용성 상태가 되어 실험 결과보다 높은 칼슘이 이온으로 전리되리라 예상되므로 체내의 칼슘 흡수률이 높아질 수 있다. 그러므로, 식감에 나쁜 영향을 미치지 않는 범위 내에서 최대 첨가량을 찾는다면, 밀가루 식품의 섭취 비율이 높은 현대인의 칼슘 부족을 보충할 수 있는 생면의 제조가 가능하다.

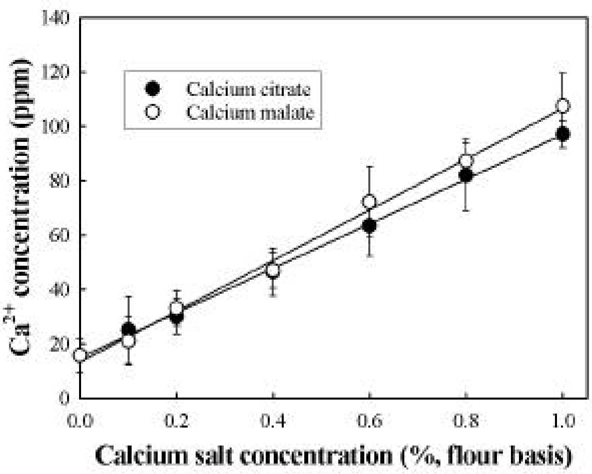


Fig. 14. Relationship between calcium salt concentration of raw noodle and calcium ion concentration of cooked noodle dispersed in distilled water with 1:9 weight ratio (Error bars indicate 95% confidence intervals).

마. 관능검사

텍스쳐 측정의 결과에서 얻은 최적 유기산 난각 칼슘의 첨가량을 확인하기 위해 CC, CM을 각각 0.8% 이하의 농도로 첨가한 생면을 제조하여, 13분간 조리 후 8명의 검사 요원이 2회에 걸쳐 삼점 검사법으로 관능 검사를 실시하여, chi-square(χ^2) test를 통해 결과를 분석하였다.

Table 7에서와 같이 CC는 유기산 난각 칼슘 첨가량 0.6%의 생면에서 5% 수준에서 유기산 난각 칼슘을 첨가하지 않은 생면과 유의적인 차이가 있었으며, CM을 0.8% 첨가한 생면의 경우 5% 수준에서 유의적인 차이가 있었다.

관능 검사의 결과를 종합해 보면, 생면에 첨가하는 유기산 난각 칼슘은 CM이 상대적으로 고농도로 첨가가 가능한 것으로 나타났다. 이는 텍스쳐 측정으로 얻은 유기산 난각 칼슘의 첨가량보다는 최대 0.2%가 증가한 결과로 기계적인 측정과 관능 검사로 얻은 결과간의 차이를 입증하기는 어려웠다. 이는 첨가량에 따른 각각의 미세한 차이를 관능 검사 방법으로 채택한 삼점 검사로는 정확하게 구분하지 못하고 여러 가지 특성을 종합적으로 판단한 결과 때문이라고 생각된다.

Table 7. Difference analysis for cooked noodle fortified with CC[1]) and CM[2])

Organic acids-eggshell calcium salts	Salt Concentration (%, flour basis)	Number of correct answers out of 16	χ^2
CC	0.2	5	0.008
	0.4	7	0.38
	0.6	11	7.51*
	0.8	16	29.07**
CM	0.2	6	0.08
	0.4	7	0.38
	0.6	9	2.82
	0.8	14	18.76**

1)CC ; calcium citrate, 2)CM ; calcium malate
*Significant at $p < 0.05$, **Significant at $p < 0.01$

2. 식빵

가. 텍스쳐 측정

Rheometer로 식빵의 텍스쳐 측정을 하면, hardness는 1.0%의 CM을 첨가한 경우 1.0에서 0.1로 떨어져 유기산 난각 칼슘 첨가가 생면의 hardness를 높인다는 결과와는 상반된다. Springiness는 생면의 CC와 같이 증가하였으나, 증가율은 식빵이 높았다. 유기산 난각 칼슘분을 첨가한 식빵의 그 외의 텍스쳐 변화도 생면과 비슷한 경향을 보였다. 식빵 제조시 반죽이나 발효 조건, 소성 온도 등의 많은 공정 변수와 실험자의 숙련도 등에 의해 여러 가지 다른 결과를 얻을 수 있으므로, 유기산 난각 칼슘의 첨가로 식빵의 텍스쳐가 변화하였는지는 관능 검사를 통한 추가적인 보강이 필요하다.

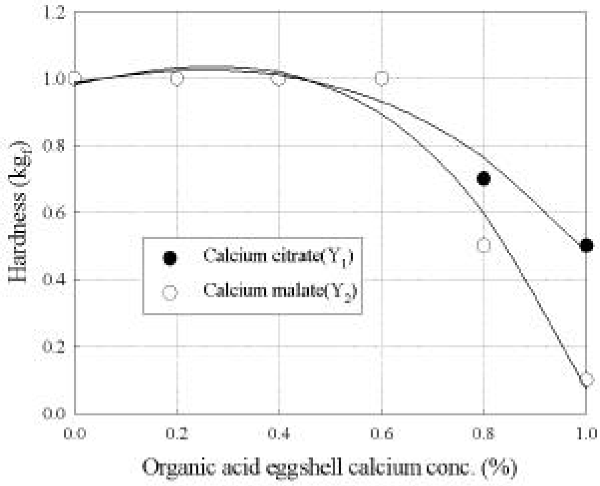


Fig. 15. Effect of organic acid eggshell calcium concentrations on the hardness of loaf bread.

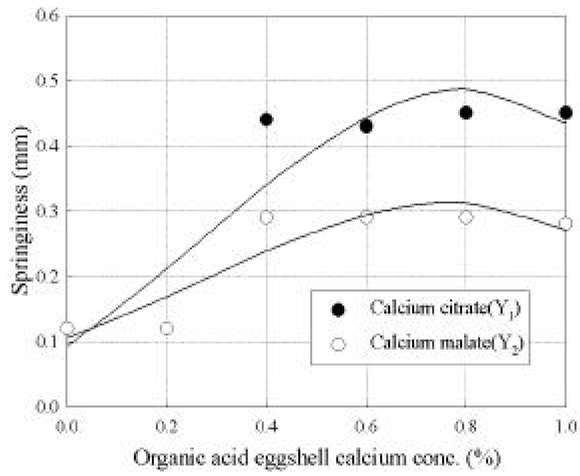


Fig. 16. Effect of organic acid eggshell calcium concentrations on the springiness of loaf bread.

나. 칼슘이온양 측정

식빵에서 전리되는 칼슘 이온의 농도는 생면보다 높아 1.0%의 CC를 첨가한 식빵은

220ppm, CM은 240ppm으로 생면과는 다른 여러 종류의 첨가물과 조직 특성, 또한 200℃이상의 소성으로 첨가된 유기산 난각 칼슘이 칼슘 이온으로 전리되기 쉬운 형태로 결합되어 있는 것으로 예상된다. 1.0%의 유기산 난각 칼슘 첨가시에 최대 칼슘 이온 농도를 보였으므로, 식감에 영향을 미치지 않는 최대량을 첨가하는 것이 칼슘을 보강 한 식빵으로써 유리하다.

다. 관능검사

0.8% 이하의 농도로 첨가한 식빵을 제조하여 8명의 검사 요원이 2회에 걸쳐 삼점 검사법으로 관능 검사를 실시하였고, 유의성 검증은 chi-square(χ^2) test를 통해 분석하였다.

0.2 0.8%의 유기산 난각 칼슘을 첨가한 식빵의 관능 검사에서는 CC, CM을 첨가한 식빵이 모두 0.8%의 첨가량에서 1% 수준의 유의적인 차이를 나타내었다.

관능 검사의 결과 식빵에 첨가하는 유기산 난각 칼슘의 농도는 CC, CM 모두 0.6% 이하의 농도로 첨가해야 식감의 변화를 줄일 수 있다.

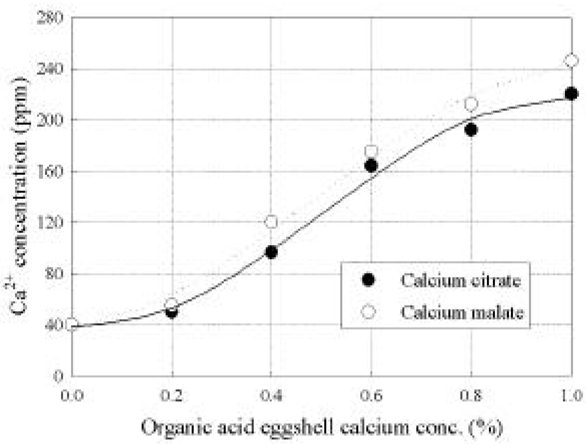


Fig. 17. Calcium ion concentrations of loaf bread with the amount of addition of organic acid eggshell calcium.

Table 8. Difference analysis for loaf breads from CC, CM fortified and concentrations

Crganic acid eggshell calciums		Number of correct answers out of 16	χ^2
CC	0.2%	9	0.38
	0.4%	9	0.38
	0.6%	7	3.78
	0.8%	2	13.13*
CM	0.2%	11	0.01
	0.4%	10	0.01
	0.6%	7	2.82
	0.8%	3	14.45*

3. **라면**

가. 칼슘강화 라면에서 용출된 칼슘이온양

1**시간을 기준으로** CM**과** CC**를 각각** 1.0%(w/v) **첨가한 라면으로부터 용출되어 나온 칼슘이온 양은** 62.8, 24.8ppm**으로 이것은 대조구에 대하여**, 198**배**, 78**배** MEP(0.7% w/v)**에 비해서** 11**배**, 4**배 높은 수치였다**.

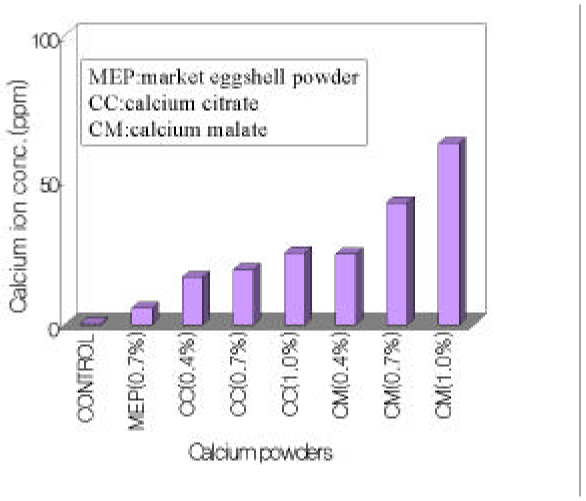


Fig. 18. Calcium ion conc. after 1 hour soaking

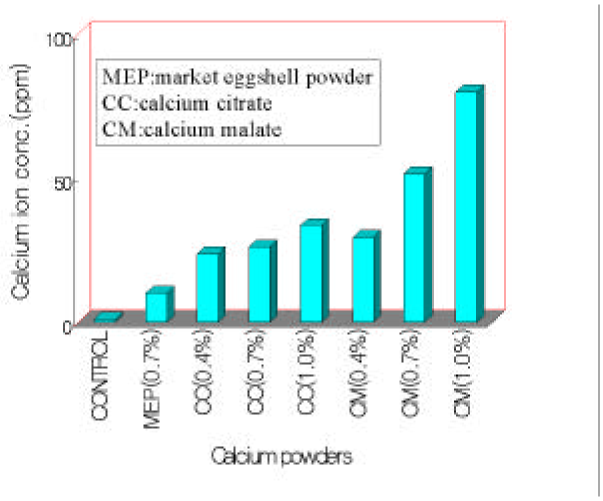


Fig. 19. Calcium ion conc. after 6 hour soaking

나. 칼슘강화 라면국물에 남아 있는 칼슘이온양

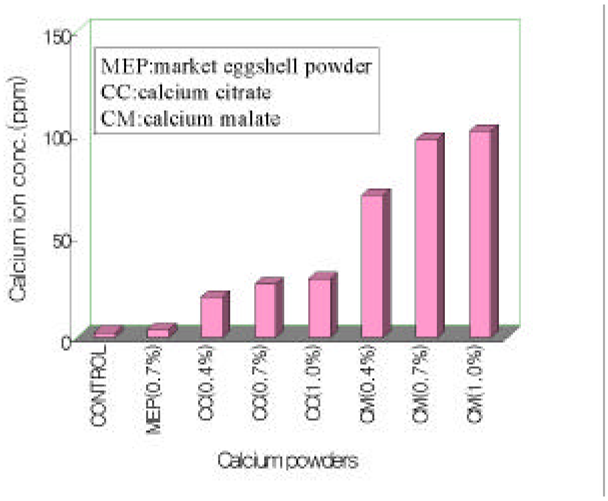


Fig. 20. Residual calcium ion conc. in Ramen soup

다. 칼슘강화 라면의 물성

1) Springiness

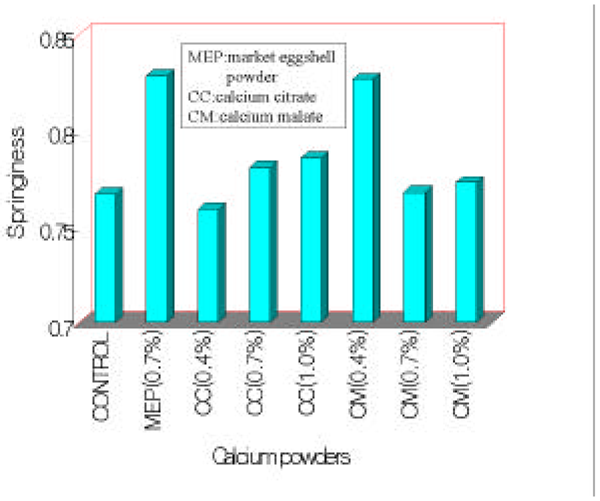


Fig. 21. Effect of calcium on springiness of Ramen

2) Hardness

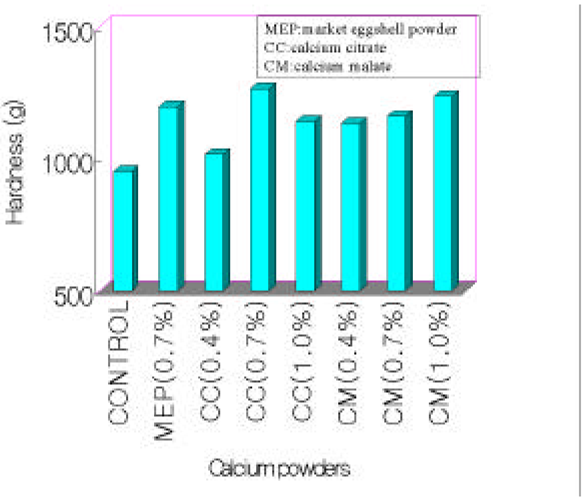


Fig. 22. Effect of calcium on hardness of Ramen

3) Chewiness

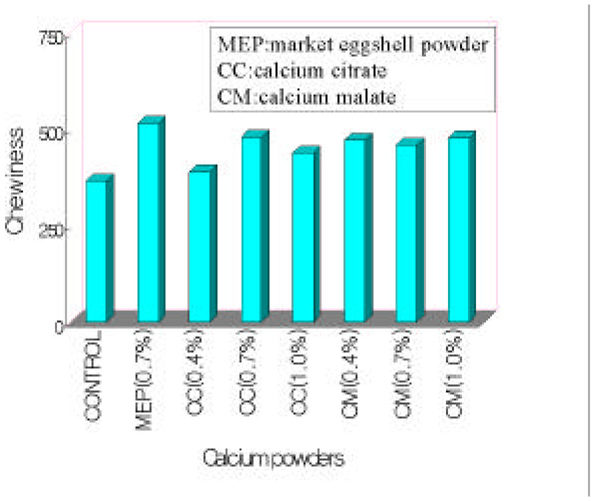


Fig. 23. Effect of calcium on chewiness of Ramen

라. 칼슘강화 라면의 관능검사

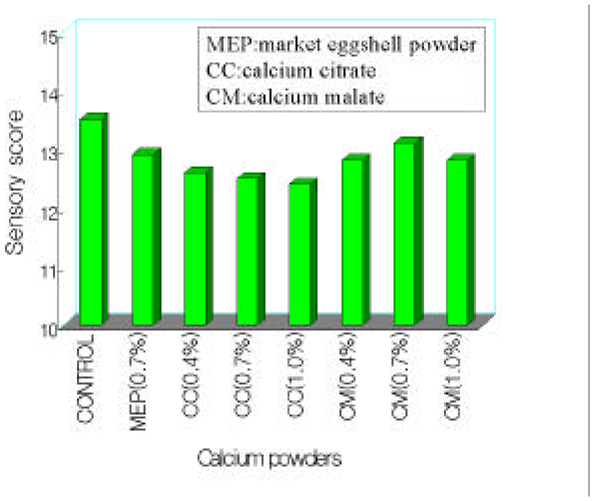


Fig. 24. Sensory results of Ramen fortified with calcium powders

4. 두유

가. 칼슘강화 두유의 이온화 정도

칼슘첨가량이 두유의 쓴맛 증대에 미치는 효과를 관능검사를 통하여 분석한 결과 calcium citrate의 첨가시 첨가량이 0.2%(w/v)이하인 경우는 대조구와 비교하여 유의성이 없는 것으로 나타났다. 따라서 calcium citrate의 경우에는 calcium citrate를 0.2%(w/v)를 첨가하는 것이 최적첨가량으로 추정된다. Calcium malate를 첨가하는 경우 CM 첨가량 0.25%(w/v)까지는 대조구와 유의성이 없는 것으로 나타났다. 이것으로 보아 CM의 경우는 CM 0.25%(w/v)를 첨가하는 것이 최적 첨가량으로 추측된다. Calcium citrate malate를 첨가하는 것은 5% 수준에서 유의성이 없지만 두유의 안정성을 고려해 볼 때 CCM 0.15%(w/v)를 첨가하는 것이 최적 첨가량으로 추측된다.

Table 9. Calcium ion concentration in soy milk fortified with various forms of calcium additives (ppm)

	control	0.05%	0.1%	0.15%	0.2%	0.25%	0.3%
CC	4.60	6.73	10.54	22.66	30.84	39.26	50.60
CM	4.60	7.42	18.72	39.30	55.08	90.12	123.20
CCM	4.60	10.97	16.96	24.96	34.40	47.80	58.70

CC: calcium citrate CM: calcium malate CCM: calcium citrate malate

나. 가상의 위액조건에서의 칼슘강화 두유의 이온화 정도

강산(0.1N HCl)의 존재하에서 칼슘염의 이온화는 2.3 6.1배 정도 증가하였다. 이는 수소이온에 대한 칼슘의 치환 반응에 기인한 것으로 추정된다. 한편 체내의 위액의 경우를 모방하여 0.1HCl/pepsin 처리하였을 때 0.1N HCl 단독으로 처리한 경우에 비하여 큰 변화는 보이지 않았다.

Table 10. Calcium ion concentration in soy milk fortified with various forms of calcium additives in 0.1N HCl (ppm)

	control	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.06%
CC	2.35	7.84	13.27	18.63	27.87	32.60	47.03
CM	2.35	9.70	16.27	24.67	35.73	45.60	53.67
CCM	2.35	8.39	9.44	13.30	17.70	25.27	25.67

CC: calcium citrate CM: calcium malate CCM: calcium citrate malate

Table 11. Calcium ion concentration in soy milk fortified with various forms of calcium additives in 0.1N HCl/Pepsin (ppm)

	control	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.06%
CC	2.78	10.18	11.57	20.93	27.53	34.63	42.80
CM	2.78	10.98	18.30	24.37	34.23	48.50	50.60
CCM	2.78	9.52	13.43	13.00	19.73	23.77	28.27

CC: calcium citrate CM: calcium malate CCM: calcium citrate malate

Table 12. Calcium ion concentration in soy milk fortified with various forms of calcium additives in 0.05N HCl/Pepsin (ppm)

	control	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.06%
CC	3.27	8.94	12.22	17.63	22.80	30.13	38.47
CM	3.27	9.47	14.67	22.63	33.77	43.60	56.07
CCM	3.27	8.04	9.15	12.77	16.00	21.17	23.73

CC: calcium citrate CM: calcium malate CCM: calcium citrate malate

다. 가상의 장액조건에서의 칼슘강화 두유의 이온화 정도

가상의 장액(pH 7)에서는 위액(pH 1.0)에서보다 상대적으로 칼슘 이온 농도가 감소하였으며 이는 산도가 감소함에 기인한 것으로 추정된다.

Table 13. Calcium ion concentration in soy milk fortified with various forms of calcium additives in 0.1N HCl/Pepsin/Pancreatin/Bile (ppm)

	control	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.06%
CC	0.13	0.57	0.96	3.03	5.94	8.73	11.63
CM	0.13	0.56	1.43	4.17	7.58	11.72	14.57
CCM	0.13	0.35	0.64	0.98	2.57	3.64	5.45

CC: calcium citrate   CM: calcium malate   CCM: calcium citrate malate

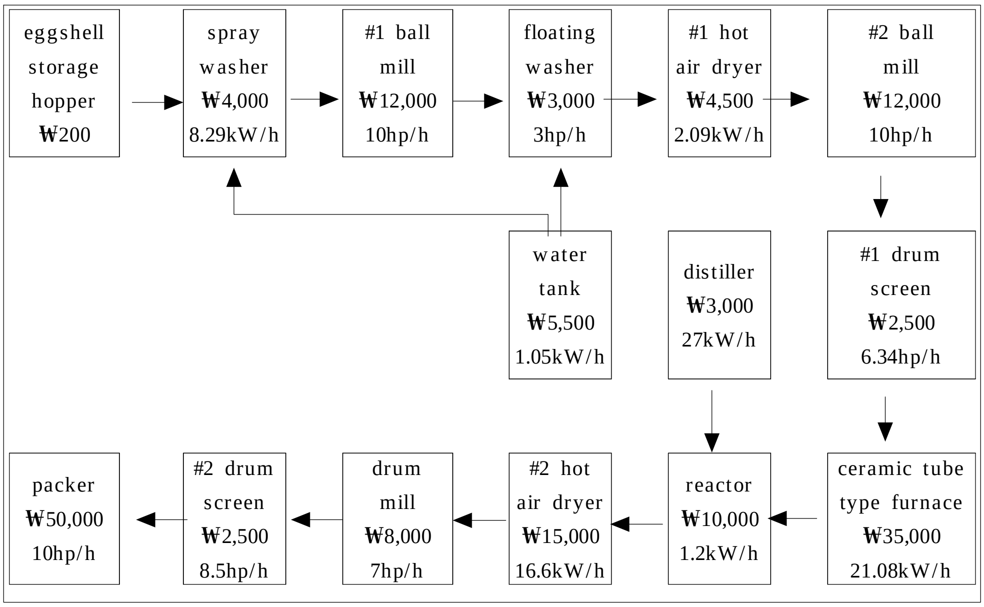
Table 14. Calcium ion concentration in soy milk fortified with various forms of calcium additives in 0.05N HCl/Pepsin/Pancreatin/Bile (ppm)

	control	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.06%
CC	2.18	2.68	4.19	5.87	8.35	11.30	15.97
CM	2.18	3.46	4.64	7.13	10.57	15.07	19.33
CCM	2.18	3.02	3.29	4.35	5.62	6.86	8.70

CC: calcium citrate   CM: calcium malate   CCM: calcium citrate malate

1. 유기산 난각 칼슘 생산 공정흐름도

가. 공정흐름도



(block 안의 숫자는 장치 가격을 표시:₩단위는 천원)

나. Mass Balance

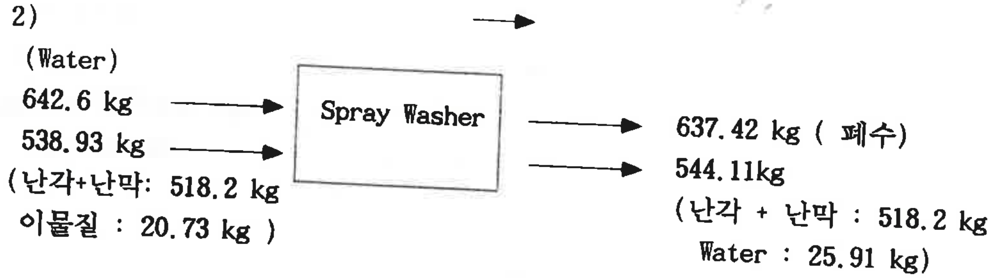
가정) **계란 1개중 (난각 + 난막) 무게** = 6.4g (6.1g + 0.3g)
난각중 $CaCO_3$ **무게** = 5.8g

1)

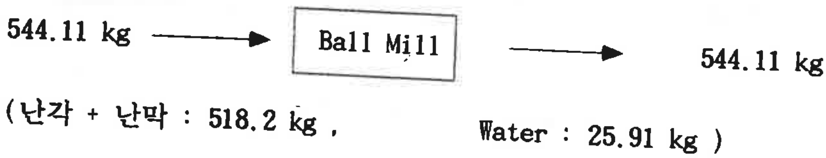
538.93kg → **난각 보관통** → 538.93kg

난각 + 난막: 518.2kg　　　**이물질**: 20.73kg

2)


(Water)
642.6 kg
538.93 kg
(난각+난막: 518.2 kg
이물질 : 20.73 kg)
Spray Washer
637.42 kg (폐수)
544.11kg
(난각 + 난막 : 518.2 kg
Water : 25.91 kg)

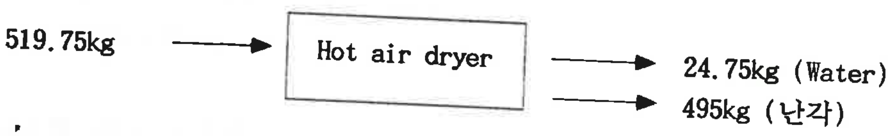
3)


544.11 kg
Ball Mill
544.11 kg
(난각 + 난막 : 518.2 kg ,
Water : 25.91 kg)

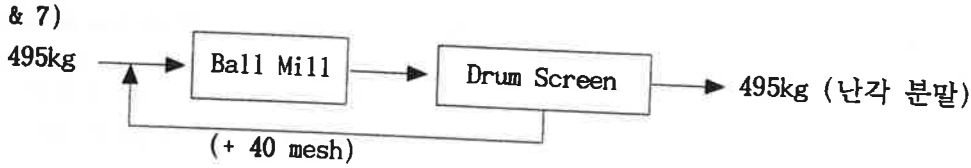
4)


2720.55kg (Water)
544.11kg (wet eggshell)
Floating Washer
2720.55kg (Water)
3.2 kg(난막)+1.16 kg(water)
495kg(난각)+24.75kg(Water)

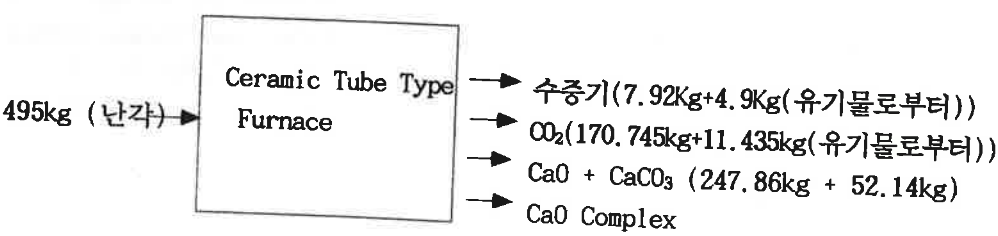
5)


519.75kg
Hot air dryer
24.75kg (Water)
495kg (난각)

6) & 7)

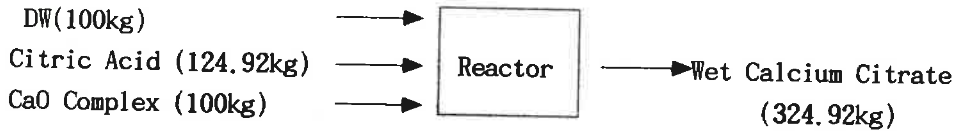

495kg
Ball Mill
Drum Screen
495kg (난각 분말)
(+ 40 mesh)

8)

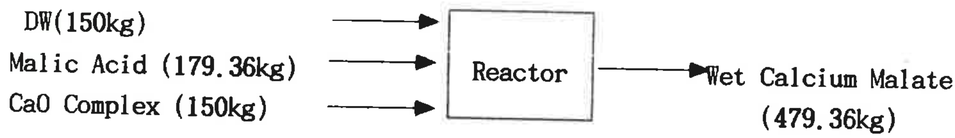

495kg (난각)
Ceramic Tube Type
Furnace
수증기(7.92Kg+4.9Kg(유기물로부터))
CO2(170.745kg+11.435kg(유기물로부터))
CaO + CaCO3 (247.86kg + 52.14kg)
CaO Complex

9)

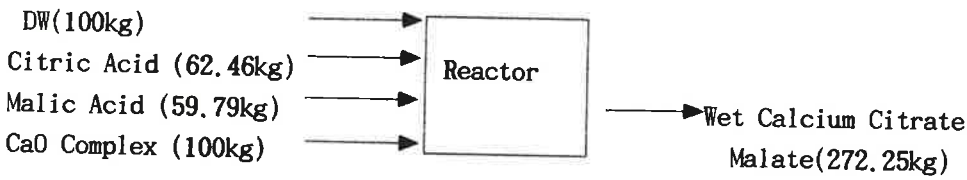
a)


DW(100kg)
Citric Acid (124.92kg)
CaO Complex (100kg)
Reactor
Wet Calcium Citrate (324.92kg)

b)

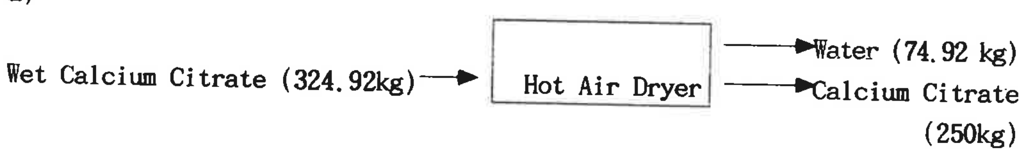

DW(150kg)
Malic Acid (179.36kg)
CaO Complex (150kg)
Reactor
Wet Calcium Malate (479.36kg)

c)


DW(100kg)
Citric Acid (62.46kg)
Malic Acid (59.79kg)
CaO Complex (100kg)
Reactor
Wet Calcium Citrate Malate(272.25kg)

10)

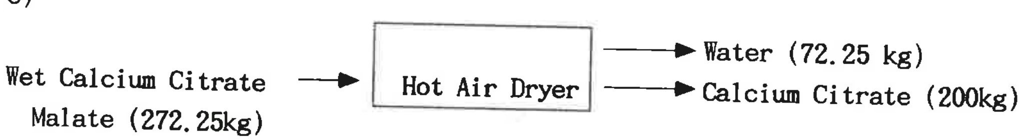
a)


Wet Calcium Citrate (324.92kg)
Hot Air Dryer
Water (74.92 kg)
Calcium Citrate (250kg)

b)

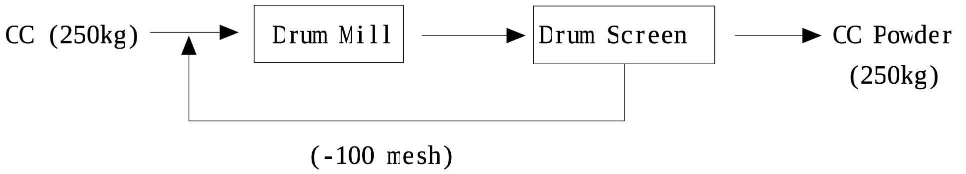

Wet Calcium Malate (479.36kg)
Hot Air Dryer
Water (129.36 kg)
Calcium Malate (350kg)

c)

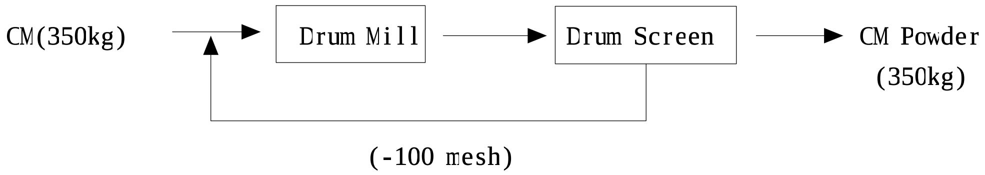

Wet Calcium Citrate Malate (272.25kg)
Hot Air Dryer
Water (72.25 kg)
Calcium Citrate (200kg)

11) & 12)

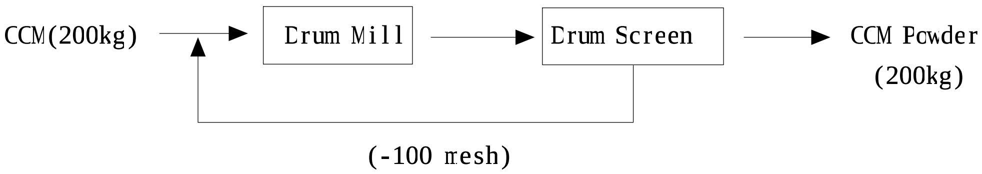
a)



CC (250kg)
Drum Mill
Drum Screen
CC Powder
(250kg)
(-100 mesh)



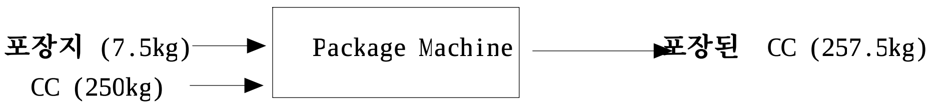
CM(350kg)
Drum Mill
Drum Screen
CM Powder
(350kg)
(-100 mesh)



CCM(200kg)
Drum Mill
Drum Screen
CCM Powder
(200kg)
(-100 mesh)

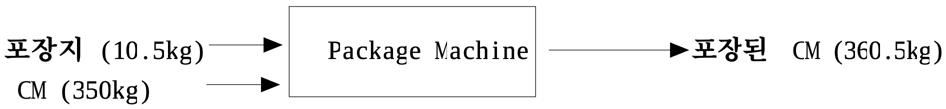
13)

a)



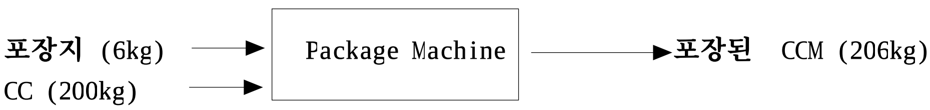
포장지 (7.5kg)
CC (250kg)
Package Machine
포장된 CC (257.5kg)

b)



포장지 (10.5kg)
CM (350kg)
Package Machine
포장된 CM (360.5kg)

c)



포장지 (6kg)
CC (200kg)
Package Machine
포장된 CCM (206kg)

2. 고정자본 투자액 분석

(단위 : 천원)

항목	비율	금 액	누진 합계
기계구입비		177,200	177,200
설치비	43%1)	76,196	
배관	14%1)	24,808	
전기	15%1)	26,580	
건물	35%1)	62,020	
대지조성	13%1)	23,036	
서비스시설	20%1)	35,440	
토지2)		100,000	525,280
엔지니어링 및 시설	30%1)	53,160	578,440
계약자 보수	7%3)	40,490.8	
예비비	15%3)	86,766	705,697.8
총 고정자본투자			705,697.8

1) : 기계구입비에 대한 % 2) : 토지 구입비는 시가를 적용하였음

3) : 직접비에 대한 %

3. 유기산 난각 칼슘의 제조 원가 계산

가. 유동비용

1) 원료비

원료	사용량(kg/day)	단가 (원/kg)	금액(원)
난각	518.20	-	-
citric acid	187.38	5,750	1,077,435
malic acid	238.75	5,300	1,265,375
1일			2,342,810
1년(300일)			702,843,000

2) 포장재료비

구 분	사용량(㎥/년)	단가(원/㎥)	금액(원/년)	비고
낱포장	76,800	160	12,288,000	포장당(5kg) 256원

3) 노무비

작업부문	숙련공 (2600원/h)	비숙련공 (1770원/h)	반장 (2700원/h)	합계
spray washer #1 ball mill floating washer		1		
#1 hot air dryer #2 ball mill #1 drum screen ceramic tube type furnace	1		1	
reactor #2 hot air dryer drum mill #2 drum screen	1			
packer		1		
총 인원수	2	2	1	5
시간당 노무비	5,200	3,540	2,700	11,440
연간노무비	12,480,000	8,496,000	6,480,000	27,456,000
복리후생비(1)				10,982,400
상 여 금(2)				9,152,000
합 계				47,590,400

(1) : 연간 노무비의 40%

(2) : 연간 월임금의 400%

4) 유틸리티비

항목	단위	사용량 (/년)	단가 (원)	금액 (원/년)
전기	kW/h	323,194	46	14,866,906
용수	ton	1,981	200	700
폐수처리	ton	1,015	700	710,289
총액				15,973,384

5) 관리직노임

구분	인원	월간	연간
경리	1	680,000	8,160,000
일반공무	1	750,000	9,000,000
소계	2		17,160,000
복리후생비(1)			6,864,000
상여금(2)			5,720,000
총계			29,744,000

(1) : 연간 노무비의 40%

(2) : 연간 월임금의 400%

6) 유기산 난각칼슘의 제조원가

비 용	항 목	금액 (원/년)	제조원가 (5kg 포장당) (원)
유동비용	원료비	702,843,000	14,643
	포장재료비	12,288,000	256
	노무비	47,590,400	991
	유틸리티	15,973,384	333
고정비용	감가상각비1)	544,917,200	11,352
	관리유지비2)	34,790,750	725
	조세와 보험3)	13,916,300	290
	관리직노임	29,744,000	620
직접제조비용		1,402,063,034	29,210
영업, 연구 개발 및 일반 오버헤드4)		280,412,607	5,842
유기산 칼슘의 연간 제조 비용		1,682,475,641	35,052

1) : 토지 구입비와 건물비를 제외한 고정 자본 투자의 10%와 건물의 2%

2) : 고정 자본 투자의 5% 3) : 고정 자본 투자의 2% 4) : 직접 제조 비용의 20%

제 4 장 참고 문헌

1. Fenema, O. R., (1985) ‘Fod chemistry’ 2nd Ed., 521 525, 675, Marcel deker, NewYork, USA.
2. 김동연, 권용주, 양희천, (1991) ‘식품화학’ 216 215, 영지문화사.
3. Rivka, L. G. and S. Edelsteien, (1996) Calcium citrate : A revised look at calcium fortification. *J Food Tech.*, 50, 96 98.
4. Heaney, R. P. and M. J. Barger-Lux, (1991) Calcium in nutrition and prevention of disease. *Food Nutr. News*, 63, 7 10.
5. 박승수, (1989) 콜로이드상 탄산칼슘의 생성 반응에 관한 연구. 인하대학교 박사 학위논문.
6. 박노신, (1991) 비정질 탄산칼슘의 합성과 그 특성에 관한 연구. 인하대학교 석사 학위논문.
7. Bronner, F., (1990) ‘Intracellular calcium regulation’ 2nd Ed., Wiley-Liss, NewYork, USA.
8. Smith, K. T., (1988) Calcium and trace mineral interactions. *Cereal Foods World*, 33, 776 777.
9 Lucinda L. W. and D. A. McCARRON, (1986) Dietary calcium : An assessment of its protective action inhuman and experimental hypertension. *J. food Tech., 40, 93 95.*
10. 송재철, 박현정,(1995) ‘식품 물성학’ 80 86, 681 686, 울산대학교 출판부.
11. 김광옥, 이영춘, (1996) ‘식품의 관능 검사’ 166 182, 학연사.
12. 이영화, 이관영, 이서래, (1974) Texturometer에 의한 성상별 식품군의 texture 특성. *Korean J. Food Sci. Tech.*, 6, 42 54.

13. Finkowski, J. W. and Peleg, M., (1980) Some rheological characteristics of soy extrudates in tension.*J.Food Sci.*,45,200 207.

14. Moskowitz, H. R., (1987) ‘Food texture’1st Ed., 3 33, 177 215,Marcel dekker, NewYork, USA.

15. Williams, M., (1989) ‘Foods’ 2nd Ed., 435, Macmillan, NewYork, USA.

16. 김중만, 백승화, (1988) 난각으로부터 두부 응고제 제조와 그 이용에 관하여. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 17, 25 31.

17. 中嶋初吉, (1993) 鷄卵を原材料ひした健康食品製造法. 日本 特許廳 特開平 5-76313.

18. 변진원, 황인경, (1996) 칼슘강화 두유의 제조 및 단백질과 칼슘의 체외 소화 특성. *Korean J. Food Sci. Tech.*, 28, 995 10.

19. 小畑紘一, (1981) 鷄卵卵殼の灰化物ならびにえの生肉の接着劑および麵類のゆでのび防止劑てとしての用途. 日本特許廳 昭 56-96681

20. 지성규,(1994) 칼슘강화제의 개발현황. *식품과학과 산업*, 27, 33 42.

21. Smith, K. T. and S. M. Henders, (1987) Calcium absorption from a new calcium delivery system(CC). *Calcif. Tissues*

22. Boyle, E. A. E., P. B. Addis and R. J. Epley, (1994) Calcium fortified, reduced fat beef emulsion product.*J. Food Sci.*, 59, 928 932.

25. Vidal, S. and F. Z. Saleeb, (1993) Calcium citrate anticaking agent. US patent 5, 208,372.

26. 猪股哲二, (1984) 卵殼の處理方法. 日本特許廳 昭59-71667.

제 6 세부과제. 생분해성 포장재 개발

제 1 장 서 론

제 1 절 연구 배경

1. 생분해성 플라스틱에 관한 연구

합성플라스틱의 사용량은 매년 급격한 속도로 증가하여 2000년에는 약 2300억 파운드의 플라스틱이 생산될 것으로 추정된다. 이러한 플라스틱은 내부식성, 내수성, 생물학적 안정성이 뛰어나 매립되어진 후 환경중에서 자연적으로 분해가 되지 않거나 분해되기까지 수백년 이상이 걸리므로 버려진 폐플라스틱으로 인한 환경오염은 심각한 문제로 대두되고 있다(Potts 등 1973, 김영하 1994). 따라서 플라스틱 폐기물 및 쓰레기에 대한 문제가 야기되면서 자연중에서 분해가 가능한 '분해성 플라스틱'의 연구개발이 1970년대부터 활발하게 시작되었다(Wei & Nikolov 1992).

생분해성 플라스틱의 충진제로서 전분의 이용은 과거 30년 동안 관심의 대상이 되어왔다. 전분은 비교적 손쉽게 다량으로 얻을 수 있는 천연물로서 생분해성이 뛰어나고 가격 또한 저렴하기 때문에 생분해성 충진제로 사용하기에 매우 적합한 물질이다. 그러나 전분은 화학구조적으로 수많은 하이드록실기를 가지고 있어 친수성을 강하게 띠고 있기 때문에 소수성을 지닌 합성 고분자에 친수성인 전분이 첨가됨에 따라 필름의 강도, 탄력성 등의 물리적 성질들이 저하되므로 이를 보완할 수 있는 방법이 개발되어야 한다. 따라서 친수성 전분과 합성 고분자의 친화력을 강화시키기 위하여

전분 입자 표면을 화학적으로 변형시킬 필요가 있다. 일반적으로 분산상의 전분 입자와 연속상으로 있는 고분자간의 계면접착을 개선시키기 위하여 전분 입자 자체를 변성시키기도 하며(김성철 1997), 전분 표면을 소수성으로 만들어서 starch/polymer interface를 변화시켜 이용하기도 하였다(Maddever 1989).

Griffin(1974)은 쌀, maize, 밀, 콩, 감자, 옥수수, arrowroot를 포함하는 수많은 전분을 이용한 생분해성 필름에 관한 연구를 했다. 생전분을 이용한 polyethylene필름에서는 polyethylene과 전분간에 친화력이 약하여 필름의 강도가 감소되는 현상이 나타난다. Otey 등(1977, 1980, 1987)은 전분과 EAA(ethylene-co-acrylic acid)를 혼합한 생분해성 필름을 연구하였고, 전분과 polyethylene간의 친화력을 높이기 위해 전분표면에 silian을 처리하여 소수성을 부여하는 방법도 연구되었으며, 소수성 작용기인 octenyl succinate group을 전분에 부착시켜 polyethylene과의 친화력을 높이는 방법도 연구되었다. 또한 polyethylene과 전분을 연결시키는 다리역할을 하도록 oxidized polyethylene을 첨가시킨 연구도 보고되었다. 또한 필름의 물리적 성질들을 향상시키기 위한 변성 전분의 이용에 관한 연구도 계속되고 있다. 여러 변성 전분들이 생분해성 필름의 개발에 이용되었으며, 이러한 전분의 변성은 esterification, etherification, oxidation 등을 포함한다(Loomis 등 1993). 변성시키지 않은 전분으로 제조한 필름은 잘 분해되지 않는다고 보고되었다(Johnson 1987). 수용성 포장재를 개발하기 위해 PVA (polyvinyl alcohol)와 변성 전분을 혼합하여 이용하였고(Otey 등 1977), Swanson 등(1988)은 생분해성 필름의 기계적 성질들을 향상시키기 위해 변성 전분의 영향을 연구했다. 그러나 아직까지 변성전분을 이용한 분해성 필름에 관한 연구는 미흡한 실정이어서 다양한 변성전분으로 제조한 생분해성 필름의 제조, 기계적 성질 및 분해도 평가

에 대한 더 많은 연구가 필요하다.

2. 본 연구의 필요성 및 목적

충진제로서 전분의 이용은 잉여 농산물의 이용과 석유자원을 절약할 수 있다는 경제적인 측면에서도 큰 장점을 가진다(신용섭 & 신부영 1994). 그러나 생전분이나 호화전분을 이용하여 제조한 생분해성 필름은 비닐의 투명도는 향상되었으나 강도는 약해지는 단점을 가진다. 따라서 필름의 기계적 성질 및 분해성 향상시키기 위해 전분을 변성시켜 이용할 필요가 있다. 그리고 우리나라에서는 곡류가 주식으로 이용되고 있으므로 곡류로부터 얻은 전분의 가격은 높고 주된 식량자원을 비닐 제조에 사용하기에는 무리가 많으므로 우리나라의 실정에 맞는 저렴한 전분 급원을 이용하여 이를 비닐 제조에 적합하도록 이용하는 것이 바람직하다. 감자 전분은 생분해성 비닐에 사용되어질 수 있는 충진제인데 감자는 스넥이나 반조리 가공식품에 많이 사용되고 있다. 감자를 이용하는 식품공장에서는 감자의 껍질을 벗겨 가식부위만 사용하므로 여기서 폐기되는 감자 껍질의 양은 상당하다. 그러므로 이 감자껍질을 그대로 폐기하지 않고 여기에서 감자 전분을 추출하여 생분해성 비닐에 이용한다면 식품폐기물의 활용면에서나 전분가격의 절감면에서나 매우 바람직한 일이 될 것이다.

따라서 본 연구에서는 감자 폐기물에서 추출한 전분을 원료로 하여 분해성 필름의 기계적 성질 및 분해성을 향상시키기 위해 감자 전분을 화학적으로 변성시키고 이 전분을 이용하여 생분해성 필름을 제조하여 필름의 기계적 성질들을 비교하였으며, 신속하고 재현성 있는 방법을 이용하여 필름들의 열분해 특성과 생분해 특성을 평가하였다.

제 2 장　연구 방법

제 1 절 변성 감자 전분 제조 및 이화학적 특성 측정

1. 감자 전분의 제조

감자 껍질은 경북대학교 구내식당에서 수거하여 사용하였으며 감자껍질의 세척시 물에서 일차적으로 흔들어 수세한 후 1 kg씩 망에 담아 물이 담긴 교반기에서 3시간 동안 교반하고 가는 튜브를 이용하여 수압을 높여 다시 수세함으로써 껍질에 들어 있는 흙등의 이물질을 제거하였다.

감자 전분은 알칼리 침지법(이신영 1984)에 의해 제조하였다. 제조된 전분은 40℃에서 48시간 건조한 후 100메시 체를 통과시켜 데시케이터에 보관하였다.

2. 변성 감자 전분의 제조

가. 가교결합 감자전분의 제조

가교결합 감자 전분은 Jane 등(1992)의 방법을 수정하여 제조하였다. 즉, 감자 전분 100 g을 증류수 166 mL에 현탁시켜 상온에서 2시간동안 교반한 후 감자 전분 무게의 0.1%, 0.5%, 1%, 2% epichlorohydrin을 첨가하였다. 여기에 1M NaOH용액을 가하여 pH를 10.5로 맞추고 상온에서 24시간 동안 교반하면서 가교반응을 진행시킨 후 acetic acid를 사용하여 pH 5.5로 맞추었다. 이 용액을 Whatman No. 2 여과지로 여과한 다음 동량의 증류

수로 2번, 95% 에탄올로 1번 수세하여 여과하였다. 얻어진 가교 전분은 40℃에서 48시간 건조한 후 100메시 체를 통과시켰다.

나. 하이드록시프로필화 감자 전분의 제조

하이드록시프로필화 전분은 Wootton 및 Manatsathit(1983)의 방법에 의하여 제조하였으며 제조한 전분은 40℃ 건조기에서 건조시킨 뒤 분쇄하여 100메시 체를 통과시켰다.

3. 전분의 치환도 결정

가. 가교화도 측정

전분과 epichlorohydrin의 반응 수율과 전분의 가교화도는 Hamerstrand 등(1960)의 방법에 따라 가교결합당 무수포도당 개수(anhydroglucose units per crosslink, AGU/CL)와 몰가교화도(molar degree of crosslinking, MDC)로 계산하여 표시하였다.

나. 하이드록시프로필기 정량

전분의 하이드록시프로필기의 정량은 Johnson 등(1969)의 방법에 따라 ninhydrin 발색법을 사용하여 정량하였다.

4. 전분의 이화학적 성질 측정

가. 전분의 색차

전분의 색차는 색차계(Model whiteness checker RF-1, Nippon Denshoku Kogyo Co., Japan)를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였다. 백색판의 L은 92.5, a는 0.7, b는 3.0이었다.

나. 물결합력

Medcalf 및 Gilles(1965)의 방법에 따라 물결합력을 측정하였다.

다. 청가

Gilbert 및 Spragg(1964)의 방법에 따라 청가를 측정하였다.

라. 호화특성

시차주사열량계(Differential Scanning Calorimeter, Rheometric Scientific SP+, England)를 이용하여 배 등(1997)의 방법에 따라 호화특성을 조사하였다.

마. 호화온도

김(1997)의 방법에 따라 0.2% 농도 현탁액의 호화온도를 측정하였다.

바. 용해도 및 팽화력

전분의 용해도 및 팽화력은 Schoch(1964)의 방법에 따라 측정하였다.

사. 요오드 흡착 특성

배 등(1997)의 방법에 따라 요오드 흡착 특성을 측정하였다.

아. X-선 회절도 분석

X-선 회절도는 X-선 회절기(Philips, X'pert PW3710, Nedalland)를 이용하여 target: Cu-kα, scanning speed: 0.04° 2θ/s, voltage: 30kV, current:20mA의 조건으로 회절각도 2θ: 5-40°까지 회절시켜 분석하였다.

자. 전분 입자의 형태

전분 입자의 형태를 주사 전자 현미경(Scanning electron microscope, Hitachi S-4200, Japan)을 이용하여 700배 확대비율로 관찰하였다.

제 2 절. 변성 감자 전분을 이용한 starch-polyethylene 필름의 제조 및 기계적 특성 측정

1. Starch-Polyethylene 필름의 제조

필름의 구성성분은 치환도가 다른 변성시킨 감자 전분 5%와 10%를 각각 linear low density polyethylene, prooxidant(IR1025, Novon International, INC., NY, USA)와 혼합하여 제조하였다(Table 1, Table 2). 즉 가교결합 감자 전분 및 하이드록시프필화시킨 감자 전분을 진공오븐에서 수분을 0.3% 이하로 제거한 후, polyethylene과 전분을 동량으로 혼합하여 150℃, 50 rpm의 kneader(Haake Rheomex 3000)로 kneading하여 50% master batch를 만들었다. 이것을 Haake Rheocord 90(Germany)본체에 single screw extruder (Rheomex 254)를 장착하여 barrel 온도 150℃, 145℃, 150℃, 150℃, screw speed 20 rpm에서 가교결합 감자 전분 및 하이드록시프로필화 감자 전분이 각각 5%와 10% 함유되도록 50% master batch와 polyethylene과 prooxidant를 혼합하여 0.5㎝ 칩으로 제조하였다. 제조된 칩을 single screw extruder를 사용하여 barrel온도 120℃, 140℃, 150℃, 150℃, screw speed 55 rpm으로 하여 10종류의 cast 필름을 제조하였다. 변성시킨 감자 전분으로 제조한 필름과 비교하기 위해 무처리 감자 전분으로 제조한 필름도 동일한 조건에서 제조하였다. 필름제조 과정을 도식화하면 Fig. 2와 같다.

2. Starch-Polyethylene film의 색도

무처리 감자 전분으로 제조한 필름과 하이드록시프로필화 감자 전분으로 제조한 필름의 색차는 색차계(Model whiteness checker RF-1, Nippon Denshoku Kogyo Co., Japan)를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였다. 이때 사용한 표준백판(standard plate)은 L 92.5, a 0.7, b 3.0이었다.

3. Starch-polyethylene 필름의 기계적 성질 측정

가교 결합 감자 전분과 하이드록시프로필화 감자 전분으로 제조한 필름을 0.12㎜의 두께를 가진 것만 취해 1㎝ × 3㎝의 strip으로 자른 후 Instron(Shimadzu, Japan)을 이용하여 load cell: 50 kgf, load range: 5, speed: 100㎜/min의 조건으로 필름의 tensile strength, percent elongation, strain energy를 측정하였다. Instron을 측정하기 전에 필름은 50% 항온항습기에서 40시간 이상 유지시킨 후 측정하였고 각 종류의 필름은 10번씩 반복 측정하였다.

Table 1. Composition of the crosslinked potato starch-poly -ethylene films

Type of film	Concentration of Propylene oxide (%)	Starch content (g)	Prooxidant1) (g)	Polyethylene (g)
5%- Native/PE	0	50	50	900
10%- Native/PE	0	100	50	850
5%- 0.1 CL/PE	2.5	50	50	900
10%- 0.1 CL/PE	2.5	100	50	850
5%- 0.5 CL/PE	5.0	50	50	900
10%- 0.5 CL/PE	5.0	100	50	850
5%- 1.0 CL/PE	7.5	50	50	900
10%- 1.0 CL/PE	7.5	100	50	850
5%- 2.0 CL/PE	10.0	50	50	900
10%- 2.0 CL/PE	10.0	100	50	850

1)Prooxidant contained native starch(10%), unsaturates content(8.0%), and transition metal compounds(0.2%) in linear low density polyethylene

Table 2. Composition of the hydroxypropylated potato starch- polyethylene films

Type of film	Concentration of Propylene oxide (%)	Starch content (g)	Prooxidant1) (g)	Polyethylene (g)
5%- Native/PE	0	50	50	900
10%- Native/PE	0	100	50	850
5%- 2.5HP/PE	2.5	50	50	900
10%- 2.5HP/PE	2.5	100	50	850
5%- 5.0HP/PE	5.0	50	50	900
10%- 5.0HP/PE	5.0	100	50	850
5%- 7.5HP/PE	7.5	50	50	900
10%- 7.5HP/PE	7.5	100	50	850
5%- 10.0HP/PE	10.0	50	50	900
10%- 10.0HP/PE	10.0	100	50	850

1)Prooxidant contained native starch(10%), unsaturates content(8.0%), and transition metal compounds(0.2%) in linear low density polyethylene

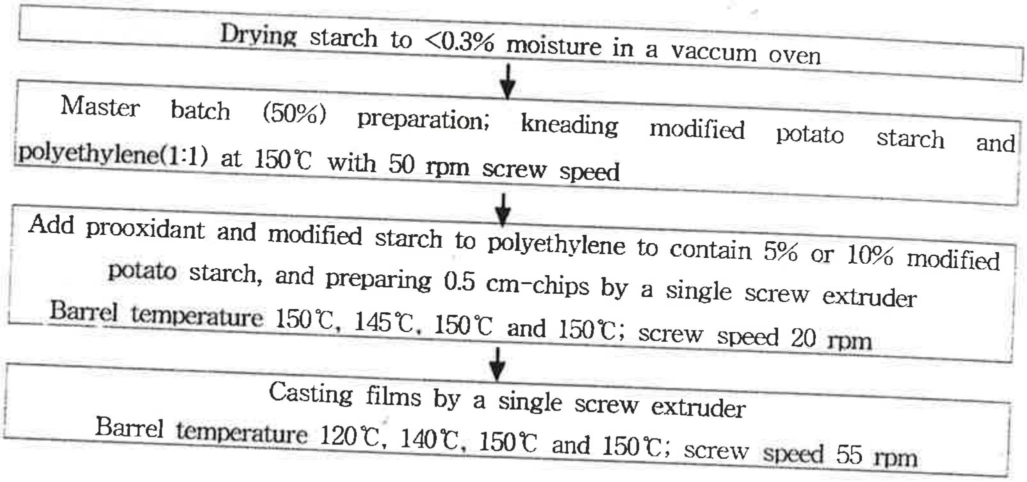


Fig. 2. Scheme of preparation for the modified potato starch -polyethylene films.

제 3 절 Starch-polyethylene 필름의 열분해도 및 생분해도 측정

1. 열분해도 측정

가. 필름의 열처리

무처리 전분과 변성시킨 감자 전분으로 제조한 필름을 0.12㎜의 일정한 두께로 1×3㎝의 strip으로 자른 후 70℃ oven에서 12주동안 열처리하였다.

나. FT-IR에 의한 필름의 열분해 특성

열처리한 필름을 매주 FT-IR로 측정하여 이것으로부터 Carbonyl index(Kim 등 1994)를 계산함으로써 필름의 열분해 특성을 알아보았다.

다. 기계적 성질에 의한 필름의 열분해 특성

열처리한 필름을 매주 Instron(Shimadzu, Japan)을 이용하여 load cell: 50kgf, load range: 5, speed: 100㎜/min의 조건으로 tensile strength, percent elongation, strain energy를 측정하여 필름의 열분해 특성을 측정하였다. Instron을 측정하기 전에 필름은 50% 항온항습기에서 40시간 이상 유지시킨 후 측정하였고 각 종류의 필름은 4번씩 반복 측정하였다.

2. 생분해도 측정

가. 필름의 chemical disinfection

무처리 감자 전분 및 변성시킨 감자 전분으로 제조한 생분해성 필름에 자연적으로 존재하는 미생물을 화학적으로 멸균시켰다. 즉, 각 필름을 1× 3㎝으로 자른 후, 이것을 Universal disinfection solution에 첨가하여 1 2시간 동안 교반시켰다. 이것을 멸균된 핀셋을 이용하여 1 L의 멸균증류수에 옮겨 다시 1시간 동안 교반하였다. 이 필름을 95%와 70% 에탄올, 마지막으로 멸균증류수에 연속적으로 세척하였다.

나. *Pseudomonas aeruginosa*의 접종 및 배양

(1)의 과정에 의해 멸균된 필름을 멸균된 nutrient broth가 담긴 삼각 플라스크에 넣고 35℃, 100 rpm에서 하루동안 배양시켜 미생물에 대한 각 필름의 멸균정도를 관찰하였다. 필름의 멸균상태를 확인한 후 플라스크에 *Pseudomonas aeruginosa*(KCTC 2651)를 접종한 뒤 35℃ incubator에서 100 rpm으로 교반하면서 4주동안 배양하였다. 대조군은 *Pseudomonas aeruginosa*를 접종하지 않고 동일한 과정을 거쳐 배양하였다.

다. FT-IR에 의한 필름의 생분해도 측정

위의 방법으로 4주동안 배양된 필름을 각각 삼각 플라스크로부터 멸균수로 옮겨 세척하고, 다시 70% 에탄올에 30분동안 담궜다. 이 필름을 petridish로 옮긴 후 45℃ 오븐에서 8시간 건조시켰다. 건조된 필름에 대

해 FT-IR spectrum을 측정하여 Carbonyl index와 Hydroxyl index를 측정하였다(Kim 등 1994).

라. 기계적 성질에 의한 필름의 생분해도 측정

배양 후 건조시킨 필름을 Instron을 이용하여 기계적 성질을 측정하였다.

마. 필름의 형태 측정

배양 후 필름의 형태를 주사 전자 현미경(Scanning electron microscope, Hitachi S-4200, Japan)을 이용하여 2,000배 확대비율로 관찰하였다.

제 3 장 연구결과 및 고찰

제 1 절 변성 감자 전분의 이화학적 특성 분석

1. 감자 전분의 치환도

가. 감자 전분의 가교화도

전분과 epichlorohydrin의 가교결합 반응수율은 75% 91%의 범위로 평균 85%로 나타났다(Table 3). 이는 반응에 사용한 epichlorohydrin의 85%가 반응하였다는 Hollinger 등(1974)의 보고와 비슷하였다. 알칼리 존재에서 전분과 epichlorohydrin의 반응은 glycerol mono-와 diethers의 형성을 가져오며 이 복잡한 혼합물의 정확한 양은 확실히 측량하기 어렵다고 한다. 따라서 점도와 팽윤력같은 가교결합 전분의 이화학적 성질들을 가교화도를 측정하는데 일반적으로 이용하기도 한다(Kasemsuwan & Jane 1994). 감자 전분의 몰가교화도는 사용한 epichlorohydrin양에 비례하여 증가하였다(r^2=0.9992).

나. 감자 전분의 하이드록시프로필기 정량

Propylene oxide 첨가량이 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0%일때 치환도는 각각 0, 0.0485, 0.1092, 0.1300, 0.2645으로서 propylene oxide 첨가량이 증가할수록 치환도가 비례적으로 증가되었다(r^2 = 0.93)(Table 4). 이를 옥수수 전분의 하이드록시프로필화에 대해 실험한 연구(육철 1991)와 비교해

볼 때, propylene oxide를 동량 사용한 경우 옥수수 전분보다 감자 전분에서 치환도가 높게 나타나 하이드록시프로필기의 치환이 감자 전분에서 더 용이하게 일어났음을 알 수 있었다.

Table 3. Degree of crosslinking and reaction yield in the crosslinked potato starches

	Type of starch			
	0.1 CL	0.5 CL	1.0 CL	2.0 CL
Epichlorohydrin applied (g per 100 g of starch)	0.1	0.5	1.0	2.0
Unreacted epichlorohydrin (g per 100 g of starch)	0.02469	0.05935	0.14972	0.16439
Reacted epichlorohydrin (g per 100 g of starch)	0.07531	0.44065	0.85028	1.83561
Reacted epichlorohydrin (mole/ 100 g starch)	0.0008135	0.004760	0.009185	0.019829
Reaction yield(%)	75.31	88.13	85.03	91.78
AGU1)/crosslink	732	124	64	30
Crosslink/100AGU (MDC2))	0.137	0.807	1.563	3.333

1) Anhydroglucose unit 2) Molar degree of crosslinking

Table 4. Determination of hydroxypropyl group and degree of substitution in the hydroxypropylated potato starches

Type of Starch	Propylene oxide concentration(%)	H.P1) (%)	DS2)
2.5 HP	2.5	1.7088	0.0485
5.0 HP	5.0	3.7625	0.1092
7.5 HP	7.5	4.4486	0.1300
10.0 HP	10.0	9.2363	0.2645

1)H.P : hydroxypropyl group 2)DS : degree of substitution

2. 전분의 이화학적 성질

가. 전분의 색차

가교결합 감자 전분을 무처리 감자 전분의 색차와 비교했을 때 L, a값은 거의 차이가 없었으나, b값은 무처리 감자 전분에 비해 다소 낮게 나타났다(Table 5). 그러나 가교결합 감자 전분들간에는 차이가 거의 없어 가교결합의 정도가 전분의 색도에는 별로 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 하이드록시프로필화 전분의 색차는 무처리 전분보다 하이드록시프로필화 전분이 L값이 다소 높아 하이드록시프로필 처리에 의해 전분의 백색도가 약간 증가함을 알 수 있었다(Table 6). 그러나 하이드록시프로필화 전분들간의 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았으며 a, b 값은 전분간의 차이가 별로 없어 치환정도는 색차에 크게 영향을 미치지 않았음을 알 수 있었다.

나. 물결합력

가교결합 감자 전분의 물결합력은 무처리 감자 전분에 비해 상당히 높게 나타났으며 가교화도가 증가할수록 물결합력은 점차로 증가하였다(Table 5). 이 결과는 김 등(1996)의 보고와 일치하는 결과로 김 등은 가교화도가 증가할수록 물결합력이 증가하는 것은 전분 입자의 비결정성 영역에 더 많은 내부공간이 생기게 되고 이 공간에 물과 같은 작은 분자가 채워져 물결합력이 증가하는 것이라고 설명하였다. 무처리 감자 전분도 옥수수나 밀과 같은 다른 전분에 비해 물결합력이 높았는데(Lim & Seib 1993) 이는 감자 전분 입자의 크기가 다른 전분에 비해 커서 입자와 입자

사이의 공간이 커지므로써 물결합력이 증가된 것으로 사료된다(Rasper 1980). 하이드록시프로필기에 의한 치환도가 증가할수록 물결합력이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 DS 0.2645 전분은 매우 높은 물결합력을 나타내었다(Table 6).

다. 청가

가교결합 감자 전분과 하이드록시프로필화 감자 전분 의 청가는 가교화도 및 치환도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였다(Table 5, Table 6). 전분의 청가가 감소한 것은 가교결합에 의해 전분 분자의 형태가 변화함으로써 전분내에 요오드와 복합체를 형성할 수 있는 나선형 구조의 아밀로오스 함량이 감소되었기 때문이라고 사료된다.

Table 5. Some physicochemical properties of the crosslinked potato starches

Property		Type of starch				
		Native	0.1 CL	0.5 CL	1.0 CL	2.0 CL
Color1)	L	93.2	93.1	93.3	93.9	93.5
	a	1.03	0.97	1.00	1.00	1.00
	b	2.27	2.07	2.13	2.13	2.03
Water binding capacity(%)		165.0	184.0	186.2	187.0	191.5
Blue value		0.6741	0.0266	0.0092	0.0072	0.0068

라. 호화 특성

가교결합 감자 전분의 호화 양상은 Table 7과 같다. DSC thermogram에서 무처리 감자 전분의 호화개시온도는 53.3℃이고 가교결합 감자 전분의

Table 6. Some physicochemical properties of the hydroxypropylated potato starches

Property		Type of starch				
		Native	2.5 HP	5.0 HP	7.5 HP	10.0 HP
Color1)	L	92.1	93.5	93.5	93.3	93.8
	a	1.3	1.5	1.5	1.2	1.2
	b	1.7	1.3	1.5	1.2	1.2
Water binding capacity(%)		181.2	195.0	210.0	220.0	339.2
Blue value		0.3986	0.3056	0.2814	0.2496	0.2230

1)DS: degree of substitution

호화개시 온도는 55.63 56.24℃로 나타났으며, 무처리 감자 전분의 호화최대온도는 59.31℃로 나타난 반면, 가교결합 감자 전분은 60.80 61.32℃ 부근에서 나타나 가교결합 감자 전분이 무처리 감자 전분에 비해 호화개시 온도, 호화최대온도가 약간 높게 나타남을 볼 수 있었다. 이 결과는 Kartha 등(1985)의 결과와 일치하는 것으로 가교결합 전분은 가교결합에 의해 계속되는 가열에도 쉽게 파괴되지 않고 입자를 그대로 보유하므로 고온에 더 저항적이 되어 무처리 감자 전분의 호화온도보다 더 높게 나타난 것으로 사료된다. 하이드록시프로필화 감자 전분의 호화양상은 Table 8과 같다. DSC thermogram의 첫번째 흡열 피크는 호화 상전이 현상을 나타내는 부분으로 58 63℃근처에서 나타났다. 호화개시온도는 52 59℃부근이었고 호화 엔탈피는 2.08 4.05 mcal/mg으로 나타났으며, 무처리 전분은 하이드록시프로필화 전분에 비해 호화개시온도, 호화최대온도, 호화엔탈피가 높았다. 이 결과는 Wootton 등(1984)의 보고와 일치하였다.

Table 7. DSC characteristics of crosslinked potato starches

Variety	Type of starch				
	Native	0.1 CL	0.5 CL	1.0 CL	2.0 CL
TC[1](℃)	53.3	55.97	55.63	56.24	56.02
TP[2](℃)	59.31	61.32	60.80	61.16	61.23
△HC[3](mcal/mg)	3.46	3.68	3.02	2.97	3.31

1) TC: Onset temperature, 2) TP: Peak temperature, 3)△HC: Enthalpy of gelatinization

Table 8. DSC characteristics of hydroxypropylated potato starches

Variety	Type of starch				
	Native	2.5 HP	5.0 HP	7.5 HP	10.0 HP
TC[1](℃)	53.3	54.41	53.29	52.56	52.94
TP[2](℃)	59.31	59.07	58.90	58.06	58.01
△HC[3](mcal/mg)	3.46	3.02	2.08	2.85	2.73

1) DS: degree of substitution, 2) TC: Onset temperature, 3) TP: Peak temperature
4)△HC: Enthalpy of gelatinization

마. 호화온도

무처리 감자 전분과 epichlorohydrin을 0.5% 첨가한 전분은 50 60℃에서 광투과도가 증가하기 시작했으며, 나머지 가교결합 감자 전분들은 60℃ 부근에서 광투과도가 증가하기 시작하여 60 65℃에서 급격한 광투과도에서의 증가를 보였다(Fig. 2). 이로부터 무처리 감자 전분의 호화온도가 가교결합 감자 전분보다 낮음을 알 수 있었다. 2.5 HP, 5.0 HP은 40 50℃에서 광투과도가 증가하기 시작하기 시작하여 50℃이후에는 광투과도가 급격하게 증가하였다(Fig. 3). 7.5 HP, 10.0 HP전분은 50℃이후부터 광투과도

가 급격하게 증가함을 보였다. 따라서 전분을 하이드록시프로필화 시킴에 따라 호화온도가 낮아짐을 알 수 있었다.

바. 용해도 및 팽화력

가교결합 감자 전분의 용해도는 무처리 감자 전분에 비해 훨씬 낮았으며 치환도가 증가할수록 용해도가 감소하였다(Fig. 4). 무처리 감자 전분은 60℃까지 용해도의 증가가 완만하다가 60℃이상에서 급격히 용해도가 증가하는 반면, epichlorohydrin을 0.1%, 0.5% 첨가한 가교결합 감자 전분은 70℃이후 용해도가 약간 증가하였으나 무처리 감자 전분에 비해서는 낮았다. Epichlorohydrin을 1%, 2% 첨가한 가교결합 감자 전분은 온도에 따른 용해도의 증가가 크지 않았다. 즉 전분의 가교결합이 증가할수록 전분의 용해도가 감소함을 볼 수 있는데 이는 전분의 가교결합으로 전분 입자의 팽윤이 억제되어 입자의 용해도가 감소되기 때문으로 생각된다. 일반적으로 용해도가 증가하는 것은 전분의 직쇄상 부분이 용출되기 때문인데, Kasemsuwan 등(1994)은 큰 분자량의 아밀로오스가 아밀로펙틴과 가교화됨으로써 가용성 전분의 용출량이 감소한다고 하였다. 가교결합 감자 전분의 팽화력 또한 가교화도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였다(Fig. 5). 하이드록시프로필화 감자 전분은 온도에 따른 용해도의 증가가 크지 않았다(Fig. 6). 하이드록시프로필화 감자 전분의 팽윤력은 Fig. 7에 나타내었다. 무처리 감자 전분은 50℃이후 팽윤력이 증가하기 시작하여 60℃ 이후부터 팽윤력이 급격히 증가하는 반면, 하이드록시프로필화 감자 전분은 온도가 증가함에 따라 약간만 증가하였다.

사. 요오드 흡착특성

가교결합 감자 전분은 무처리 감자 전분에 비해 흡착 강도가 낮아짐이 관찰되었다(Fig. 8). 또한 흡착강도는 가교결합 치환도가 증가함에따라 감소하는 경향을 나타내었다. 이것은 김(1996)등과 Kartha등(1985)의 보고와 같이 가교결합과 같은 반응들은 요오드와의 복합체의 성질에 변화를 가져올 수 있는데 아밀로오스 chain이 복합체 구조에 영향을 주었기 때문으로 생각된다. 하이드록시프로필화시킨 감자 전분의 최대 흡수파장을 보면, 하이드록시프로필화에 의해 최대흡수파장이 낮아져 무처리 전분(A)은 620nm 부근에서 최대 흡수파장을 나타낸 반면 하이드록시프로필화 전분들은 모두 610nm 근처에서 최대 흡수파장을 보였다(Fig. 9). 또한 치환도가 증가함에 따라 흡착강도가 낮아졌는데 이는 El-Hinnawy 등(1982)이 전분의 요오드 흡착은 나선형 아밀로오스의 평균길이와 결정성 정도에 영향을 받는다고 한 보고에 근거하여 치환도가 높아질수록 요오드를 싸고 있는 나선형 아밀로오스 구조가 많이 파괴되어 요오드와 아밀로오스의 친화성이 낮아졌기 때문이라고 생각되었다.

아. X-선 회절도

무처리 감자전분과 가교결합 감자 전분 모두 2θ 5.59, 14.4, 17.2, 22.2등의 부근에서 피크가 나타나 Zobel(1964)의 분류에 따라 전형적인 B형 전분에 속하였으나, 가교결합 감자 전분은 무처리 감자 전분에 비해 2θ 14.4, 17.2 17.5, 22, 24 근처에서 피크가 약해지는 것이 관찰되었다(Fig. 10). 그러나 가교결합 감자 전분들간의 X-선 회절도에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. Komiya(1986)의 방법으로 측정한 상대결정화도 역

시 무처리 감자 전분과 가교결합 감자 전분사이에 큰 차이가 없는 것으로 보아 전분의 가교결합은 전분의 결정성 영역에는 큰 변화를 미치지 않고 있는 것으로 추정되었다(Table 9). 한편 하이드록시프로필화 감자 전분도 2θ 5.7, 14.1 14.4, 17.1 17.4, 22.1 22.6 등에서 피크가 나타나 전형적인 B형으로 분석되었다(Fig. 11). 하이드록시프로필화 감자 전분은 2θ 5.7, 17.1 17.4, 22, 24 근처에서 피크가 약해지는 것이 관찰되었고 상대결정화도가 감소하는 경향을 보였다(Table 10). French(1972)와 Robin(1974)은 전분의 결정성은 짧은 사슬들이 평행하게 집합체를 이루기 때문에 생기고 시료간 결정성의 차이는 주로 아밀로펙틴때문이라고 하였다. 본 실험에서 나타난 X-선 회절양상과 전분의 상대결정화도 감소를 볼 때 하이드록시프로필화가 전분 입자의 무정형부분 이외에 결정성 영역에도 영향을 주었다고 추정되었다.

자. 전분의 입자 형태

주사 전자 현미경으로 관찰한 전분 입자의 형태는 Fig. 12에 나타나 있다. 가교결합 감자 전분의 입자 형태는 무처리 감자 전분의 입자 형태와 큰 차이가 없었다. 이는 전분을 가교결합시켜도 전분 입자의 표면 형태에는 영향을 주지 않았다고 한 다른 보고(Kartha, 1985)와 일치한 결과로 2%의 고농도 epichlorohydrin 처리에도 전분입자가 손상을 받지 않았고 가교화도가 높아져도 입자형태에 변화가 생기지 않았음을 보여주었다. 무처리 감자 전분에 비해 하이드록시프로필화 감자 전분의 치환도가 높아질수록 전분 입자 형태의 파괴가 심하게 일어났는데, 2.5 HP(B)에서는 표면이 경미하게 거칠어졌으나 5.0 HP(C)부터는 전분 입자가 파괴되기 시작하였고 10.0 HP(E)에서는 심한 파괴가 일어나 입자의 일부는 붕괴된 모양을 볼 수

있었다(Fig. 13). 따라서 하이드록시프로필기의 치환도가 높아질수록 전분 입자의 붕괴는 표면에서 내부로 심화되어지는 것을 알 수 있었다.

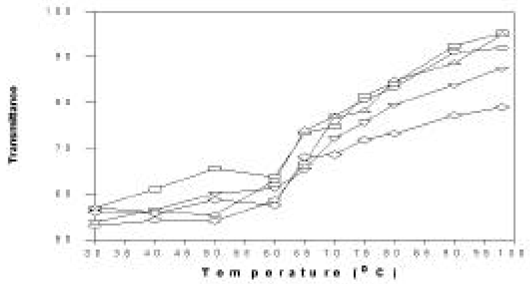


Fig. 2. Transmittance of 0.2% pastes of crosslinked potato starches. ○, native starch; □, 0.1 CL; ▽, 0.5 CL; △, 1.0 CL; ◇, 2.0 CL

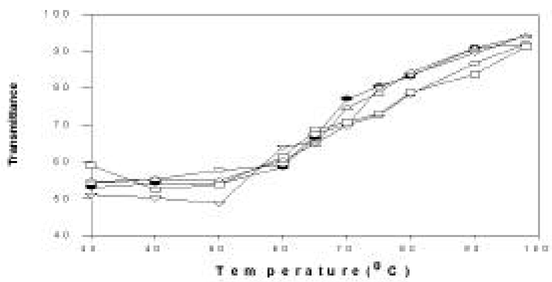


Fig. 3. Transmittance of 0.2% pastes of hydroxypropylated potato starches. ●, native starch; ○, 2.5 HP; □, 5.0 HP; △, 7.5 HP; ▽, 10.0 HP

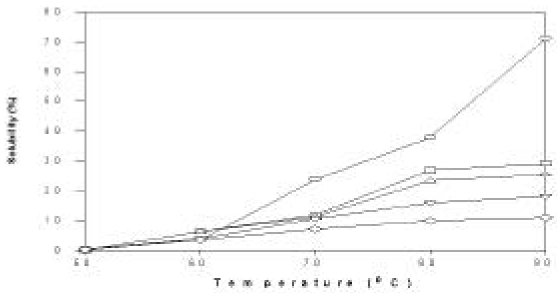


Fig. 4. Solubility of the crosslinked potato starches.
○, native starch; □, 0.1 CL; ▽, 0.5 CL; △, 1.0 CL; ◇, 2.0 CL

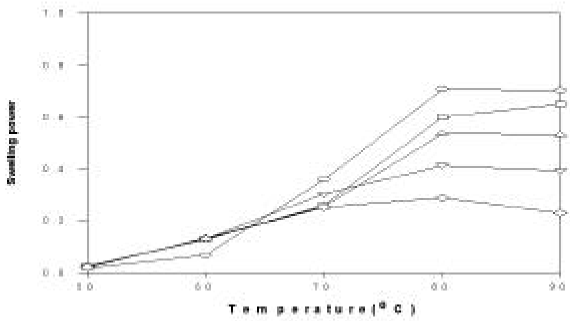


Fig. 5. Swelling power of the crosslinked potato starches.
○, native starch; □, 0.1 CL; ▽, 0.5 CL; △, 1.0 CL; ◇, 2.0 CL

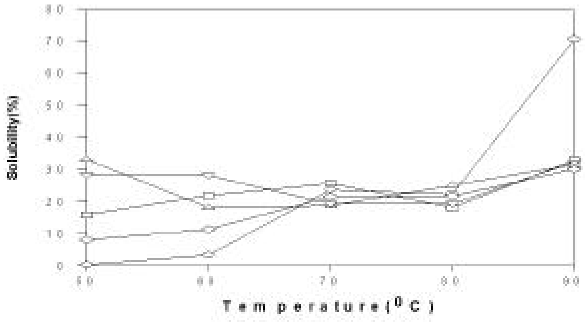


Fig. 6. Solubility of the hydroxypropylated potato starches.
○, native starch; □, 2.5 HP; ▽, 5.0 HP; △, 7.5 HP; ◇, 10.0 HP

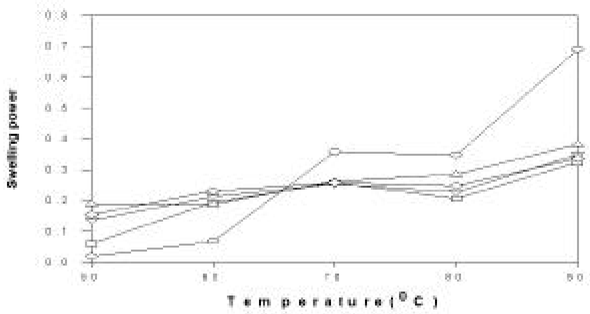


Fig. 7. Swelling power of the hydroxypropylated potato starches. ○, native starch; □, 2.5 HP; ▽, 5.0 HP; △, 7.5 HP; ◇, 10.0 HP

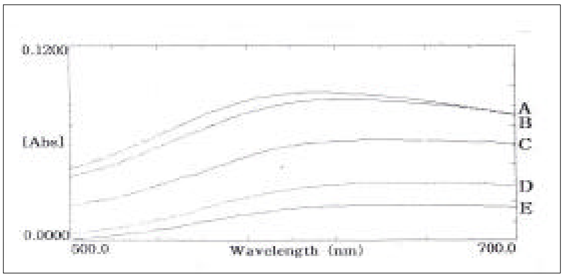


Fig. 8. Iodine absorption spectrum of crosslinked potato starches.
A, Native ; B, 0.1 CL; C, 0.5 CL; D, 1.0 CL; E, 2.0 CL

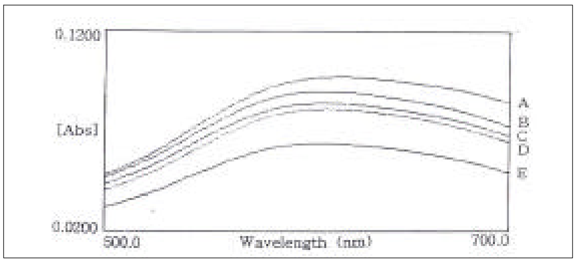


Fig. 9. Iodine absorption spectrum of hydroxypropylated potato starches. A, Native ; B, 2.5 HP; C, 5.0 HP; D, 7.5 HP; E, 10.0 HP

Table 9. Relative crystallinity of crosslinked potato starches

Property	Type of starch				
	native	0.1 CL	0.5 CL	1.0 CL	2.0 CL
Crystallinity (%) (Ac1)/(Ac+Aa2))	39.59	38.15	39.39	39.68	38.11

1) Ac: crystalline area 2) Aa: amorphous area

Table 10. Relative crystallinity of hydroxypropylated potato starches

Property	Type of starch				
	Native	2.5 HP	5.0 HP	7.5 HP	10.0 HP
Crystallinity (%) (Ac1)/(Ac+Aa2))	39.59	36.67	34.30	32.90	32.79

1) Ac: crystalline area 2) Aa: amorphous area

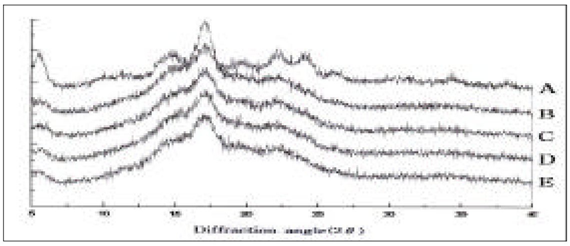


Fig. 10. X-ray diffraction patterns of crosslinked potato starches.
A, Native ; B, 0.1 CL; C, 0.5 CL; D, 1.0 CL; E, 2.0 CL

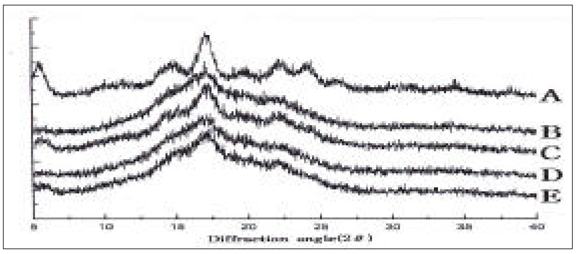


Fig. 11. X-ray diffraction patterns of hydroxypropylated potato starches.
A, Native ; B, 2.5 HP; C, 5.0 HP; D, 7.5 HP; E, 10.0 HP

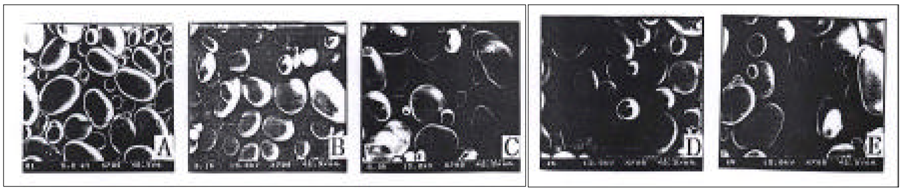


Fig. 12. Scanning electron micrographs(×700) of crosslinked potato starches. A, Native; B, 0.1 CL; C, 0.5 CL; D, 1.0 CL; E, 2.0 CL

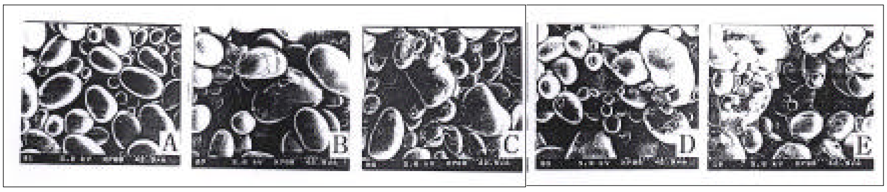


Fig. 13. Scanning electron micrographs(×700) of hydroxypropyl- ated potato starches. A, Native; B, 2.5 HP; C, 5.0 HP; D, 7.5 HP; E, 10.0 HP

제 2 절 Starch-polyethylene 필름의 특성 분석

1. Starch-polyethylene 필름의 색도

가교결합 감자 전분을 5%(wt) 첨가하여 제조한 필름에서는 L, b값에서는 유의적인 차이가 없었고 a값은 2.0 CL전분으로 첨가한 필름에서 유의적으로 높아 노란 색이 진한 것을 알 수 있었다(Table 11, Table 12). 가교결합 감자 전분을 10%(wt) 첨가하여 제조한 필름에서는 a, b값이 유의적인 차이가 없었고 L값은 가교결합 감자 전분으로 제조한 필름이 무처리 감자

전분으로 제조한 필름보다 유의적으로 높음으로 보아 더 밝은 색을 가짐을 알 수 있었다. 하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유하여 제조한 필름에서는 a, b값에서 유의적으로 차이가 없었고 L 값에서는 무처리 감자 전분으로 제조한 필름에서 유의적으로 높아 좀 더 밝은 색을 가지고 있음을 알 수 있었다(Table 13, Table 14). 하이드록시프로필화 감자 전분을 10%(wt) 함유하여 제조한 필름에서도 a, b값은 유의적으로 차이가 없었으나 L값은 10.0 HP전분으로 제조한 필름에서 유의적으로 가장 낮아 필름의 밝기에는 약간의 영향을 주었으나 다른 색도에는 별로 영향을 주지 않았다고 생각되었다.

Table 11. Color properties of the crosslinked potato starch(5%)-polyethylene films

Type of film	L	a	b
5% - Native/PE	23.53±0.90	-0.07±0.06^{bc}	-3.23±0.38
5% - 0.1 CL/PE	23.63±1.42	-1.23±0.45^{c}	-3.53±0.64
5% - 0.5 CL/PE	24.67±0.93	0.73±0.72^{ab}	-4.37±1.05
5% - 1.0 CL/PE	26.03±0.12	-0.83±0.59^{bc}	-2.77±0.75
5% - 2.0 CL/PE	25.07±1.20	2.03±1.64^{a}	-2.03±2.93

Means±SEM, Each value is mean for three replicates.
$^{a-b}$Means with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

2. Starch-polyethylene 필름의 기계적 성질

가교결합 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름에서 tensile strength는 1.0 CL전분으로 제조한 필름에서 유의적으로 가장 높았고, percent elongation과 strain energy는 가교결합 전분으로 제조한 필름이 무처리 전분으로 제조한 필름에서보다 유의적으로 높음을 알 수 있었다(Table

Table 12. Color properties of the crosslinked potato starch(10%)-polyethylene films

Type of film	L	a	b
10%- Native/PE	27.33±0.38c	0.30±1.23	-3.30±0.87
10%- 0.1 CLPE	28.70±1.04b	-0.20±2.36	-4.07±0.74
10%- 0.5 CL/PE	31.80±0.53a	-2.77±1.00	-3.80±0.36
10%- 1.0 CL/PE	28.17±0.47bc	-2.47±1.78	-3.90±0.56
10%- 2.0 CL/PE	29.33±0.57b	2.23±2.87	-5.33±0.97

Means±SEM. Each value is mean for three replicates.
a-bMeans with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

Table 13. Color properties of the hydroxypropylated potato starch (5%)- polyethylene films

Type of film	L	a	b
5% - Native/PE	23.53±0.89a	-0.07±0.06	-3.23±0.38
5% - 2.5 HP/PE	21.07±1.46b	-0.93±2.11	-2.03±1.42
5% - 5.0 HP/PE	21.93±0.70ab	-0.23±1.78	-4.57±0.90
5% - 7.5 HP/PE	20.43±1.29b	-3.80±1.4	-4.03±1.55
5% - 10.0 HP/PE	21.37±0.64b	-0.80±0.87	-2.93±0.46

Means±SEM, Each value is mean for three replicates.
a-bMeans with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

Table 14. Color properties of the hydroxypropylated potato starch (10%)- polyethylene films

Type of film	L	a	b
10%- Native/PE	27.33±0.38ab	0.30±1.23	-3.30±0.87
10%- 2.5 HP/PE	27.80±1.56a	-1.00±6.58	-3.67±0.93
10%- 5.0 HP/PE	28.90±0.46a	4.47±1.95	-3.03±0.50
10%- 7.5 HP/PE	28.03±1.07a	-1.97±1.07	-2.67±0.25
10%- 10.0 HP/PE	25.77±0.59b	-1.17±0.42	-3.33±1.27

Means±SEM, Each value is mean for three replicates.
a-bMeans with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

15, Table 16). 또한 가교결합 감자 전분을 10%(wt) 함유하여 제조한 필름에서 tensile strength는 0.5 CL/PE필름을 제외하고 가교결합시킨 감자 전분으로 제조한 필름이 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 높았으며, strain energy는 가교결합시킨 감자 전분으로 제조한 필름에서 높았다. 따라서 전분을 가교결합시키면 전분과 고분자간의 결합력이 증가되어 기계적 성질들이 향상되었다고 생각되었다. 하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름에서는 10.0 HP전분으로 제조한 필름을 제외하고는 하이드록시프로필화 감자 전분으로 제조한 필름이 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 기계적 강도가 모두 유의적으로 높게 나타났다(Table 17, Table 18).

Table 15. Mechanical properties of the crosslinked potato starch (5%)-polyethylene films

Type of film	Tensile strength (kgf/mm2)	Percentage elongation (%)	Strain energy (kgf-mm)
5%- Native/PE	1.0253±0.04b	200.42±19.71c	62.979±8.34b
5%- 0.1 CL/PE	1.2320±0.03ab	230.62±32.78ab	89.975±14.28a
5%- 0.5 CL/PE	1.0492±0.03b	252.95±35.78a	87.125±13.41a
5%- 1.0 CL/PE	1.5831±0.94a	217.11±20.07bc	87.624±8.77a
5%- 2.0 CL/PE	1.304±0.05ab	227.35±21.55b	91.418±10.10a

Means±SEM, Each value is mean for ten replicates. a-cMeans with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

Table 16. Mechanical properties of the crosslinked potatostarch (10%)- polyethylene films

Type of film	Tensile strength (kgf/mm2)	Percentage elongation (%)	Strain energy (kgf- mm)
10%- Native/PE	1.0061±0.05d	175.73±16.00	52.203±5.38c
10%- 0.1 CL/PE	1.0447±0.04c	183.37±10.90	59.350±5.67bc
10%- 0.5 CL/PE	0.9159±0.03e	191.21±32.51	56.762±10.90bc
10%- 1.0 CL/PE	1.2201±0.04a	185.54±23.45	70.476±10.42a
10%- 2.0 CL/PE	1.1663±0.03b	175.89±13.22	63.958±5.73ab

Means±SEM, Each value is mean for ten replicates. a-cMeans with different superscript within the same column are significantly different($p<0.05$).

Table 17. Mechanical properties of the hydroxypropylated potato starch(5%) -polyethylene films

Type of film	Tensile strength (kgf/mm2)	Percentage elongation (%)	Strain energy (kgf- mm)
5%- Native/PE	1.0253±0.04d	200.42±19.71c	62.98±8.33c
5%- 2.5 HP/PE	1.5385±0.06a	235.37±23.85b	107.53±13.38a
5%- 5.0 HP/PE	1.3988±0.07b	259.81±26.83a	110.59±14.48a
5%- 7.5 HP/PE	1.4995±0.04a	200.70±23.88c	88.68±12.52b
5%- 10.0HP/PE	1.1082±0.02c	121.78±14.19d	37.12±5.54d

Means±SEM, Each value is mean for ten replicates. a-cMeans with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

Table 18. Mechanical properties of the hydroxypropylated potato starch (10%)-polyethylene films

Type of film	Tensile strength (kgf/mm2)	Percentage elongation (%)	Strain energy (kgf- mm)
10%- Native/PE	1.0061±0.05d	175.73±15.99a	52.20±5.38b
10%- 2.5 HP/PE	1.2358±0.04b	157.63±14.30b	55.53±6.90b
10%- 5.0 HP/PE	1.1671±0.05c	160.24±22.47b	53.89±10.01b
10%- 7.5 HP/PE	1.4588±0.06a	169.60±9.17ab	71.28±6.72a
10%- 10.0 HP/PE	0.9631±0.05d	96.16±8.78c	24.30±3.40c

Means±SEM, Each value is mean for ten replicates. a-cMeans with different superscript within the same column are significantly different ($p<0.05$).

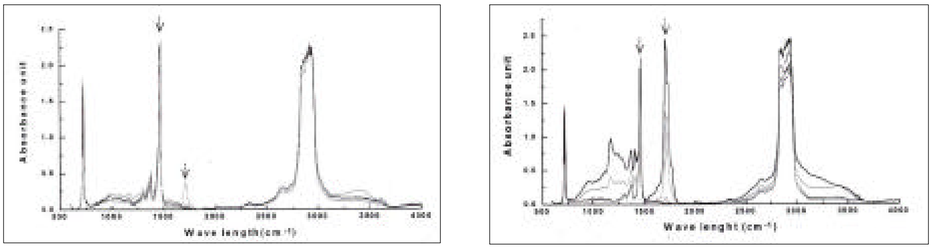
제 3 절 Starch-polyethylene 필름의 열분해 및 생분해 특성 분석

1. Starch-polyethylene 필름의 열분해 특성

가. FT-IR에 의한 열분해 특성 분석

Starch-PE film의 산화적 생산물로서 ketone, aldehyde 등의 carbonyl compounds가 생성되는데 이것은 FT-IR spectrum에 의해 쉽게 관찰할 수 있다(Wei & Nikolov 1992). 본 실험에서는 starch-PE film의 산화 정도를 aldehyde carbonyl, ketone carbonyl 등(1705 1740cm^{-1})의 생성 정도로 관찰하였다(Fig. 14). 가교결합 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름에서는 12주의 열처리동안 무처리 감자 전분으로 제조한 필름의 carbonyl index는 변화가 거의 없는 반면, 0.1 CL전분으로 제조한 필름은 4주 이후부터 carbonyl index가 증가하기 시작하였으며, 0.5 CL전분과 2.0 CL전분으로 제조한 필름은 5주 이후부터 그리고 1.0 CL 전분으로 제조한 필름은 6주 이후부터 carbonyl index가 증가 하기 시작하였다(Fig. 15). 가교결합 감자 전분을 10%(wt) 첨가하여 제조한 필름에서는 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 8주 이후 carbonyl index가 약간만 증가하였으나, 0.1 CL전분으로 제조한 필름은 4주 이후부터 carbonyl index가 증가하기 시작하였으며 0.5 CL전분과 2.0 CL전분으로 제조한 필름은 5주 이후부터 그리고 1.0 CL 전분으로 제조한 필름은 6주 이후부터 carbonyl index가 증가하기 시작하였다(Fig. 15). 그러므로 가교결합 감자 전분으로 제조한 필름이 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 열처리에 의해 더 빨리 산화적 분해가 일

어났음을 알 수 있었다. 또한 전분의 함량이 5%(wt)에서 10%(wt)으로 증가함에 따라 carbonyl index가 더 빠르게 증가하는 것으로 보아 더 빠르게 열분해됨이 관찰되었다. 하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름에서는 10.0 HP전분과 7.5 HP전분으로 제조한 필름은 7주 이후부터, 5.0 HP전분으로 제조한 필름은 8주 이후부터, 2.5 HP전분으로 제조한 필름은 10주 이후부터 carbonyl index가 급격히 증가하였다(Fig. 16) . 또한 하이드록시프로필화의 치환도가 높은 전분으로 제조한 필름일수록 carbonyl index가 더 높음을 알 수 있었다. 하이드록시프로필화 감자 전분을 10%(wt) 함유하여 제조한 필름에서도 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 8주 이후 carbonyl index가 약간만 증가하였으나, 7.5 HP전분과 10.0 HP전분으로 제조한 필름은 6주부터 서서히 증가하여 7주 이후 급격히 증가하였고, 2.5 HP전분과 5.0 HP전분으로 제조한 필름은 8주 이후부터 carbonyl index가 급격하게 증가함으로써 하이드록시프로필화의 치환도가 높은 전분으로 제조한 필름일수록 carbonyl index가 훨씬 더 높고 더 빨리 증가됨을 알 수 있었다(Fig. 16). 이것은 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 하이드록시프로필화 감자 전분으로 제조한 필름에서 더 쉽게 산화적 분해가 일어나고, 필름에 함유된 전분의 양이 많을수록 더 빨리 분해된다는 것을 의미하였다.



(a) (b)

Fig. 14. FT-IR spectra of starch-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks. (a) 10%-Native/PE film, (b) 10%- 10.0 HP/PE film. For each set of spectra the top-to bottom sequence is 12, 8, 7, 1, 0 week.

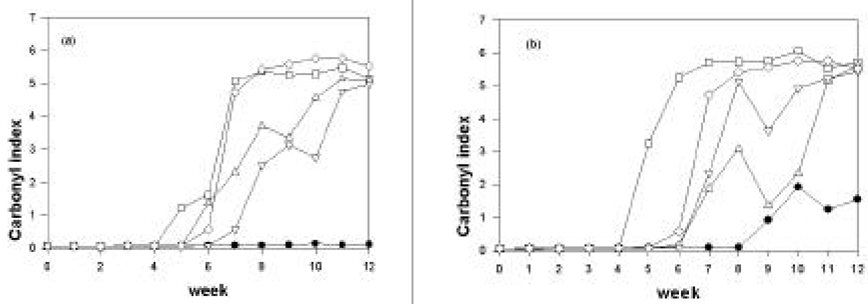


Fig. 15. Carbonyl index of crosslinked potato starch-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks. (a): CL(5% wt)/PE films, (b): CL(10% wt)/PE films. ●, Native/PE ; □, 0.1 CL/PE ; △, 0.5 CL/PE ; ▽, 1.0 CL/PE ; ◇, 2.0 CL/PE

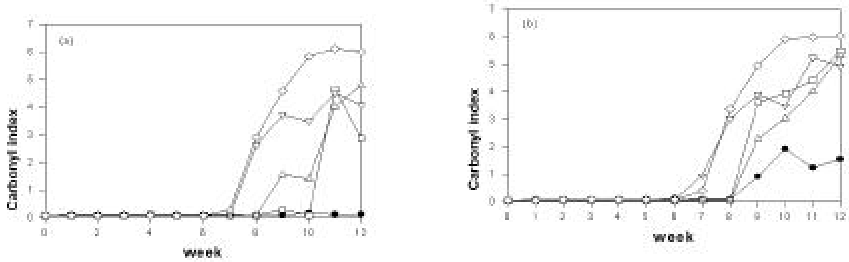


Fig. 16. Carbonyl index of hydroxypropylated potato starch-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks. (a): HP(5% wt)/PE films, (b): HP(10% wt)/PE films. ●, Native/PE ; □, 2.5 HP/PE ; △, 5.0 HP/PE ; ▽, 7.5 HP/PE ; ◇, 10.0 HP/PE

나. 기계적 성질에 의한 열분해 특성 분석

70℃에서 열처리한 필름의 기계적 성질에서의 변화들은 FT-IR spectrum에 의한 carbonyl index의 변화와 일치하였다. 가교결합 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름의 기계적 성질에서 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 tensile strength, percent elongation, strain energy 모두에서 11주 이후 유의적으로 감소된 반면, 0.1 CL전분과, 2.0 CL 전분으로 제조한 필름은 5주 이후, 0.5 CL전분과 1.0 CL전분으로 제조한 필름은 7주부터 기계적 성질들이 유의적으로 감소하였다($p<0.05$)(Table 19, Table 20, Table 21). 또한 가교결합 감자 전분을 10%(wt) 함유한 필름의 기계적 성질에서 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 기계적 강도가 9주 이후부터 약간씩 감소되었다(Table 22, Table 23, Table 24), 그러나 0.1 CL전분은 5주 이후부터, 0.5 CL전분과 1.0 CL 전분과 그리고 2.0 CL전분으로 제조한 필름은 6주 이후부터 tensile strength, percent elongation, strain energy 모두가 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 그러므로 가교결합 감자

전분으로 제조한 필름이 무처리 감자 전분으로 제조한 필름보다 더 빨리 열분해됨을 알 수 있었다. 특히 0.1 CL전분으로 제조한 필름에서 가장 빨리 열분해됨을 관찰할 수 있었다. 하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름의 경우, 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 tensile strength, percent elongation, energy 모두에서 11주 이후 유의적으로 감소하였다($p<0.05$)(Table 25, Table 26, Table 27). 한편 7.5 HP 전분과 10.0 HP전분으로 제조한 필름은 7주 이후부터 기계적 강도들이 유의적으로 급격히 감소하였고 9주 이후부터는 산화적 분해로 인해 필름이 부스러지면서 기계적 성질들을 측정할 수 없었다. 또한 2.5 HP전분과 5.0 HP전분으로 제조한 필름은 9주 이후부터 유의적으로 감소되었다. 하이드록시프로필화 감자 전분을 10%(wt) 함유한 필름에서는 하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유하여 제조한 필름에서보다 더 빨리 기계적 강도들이 저하됨이 관찰되었다(Table 28, Table 29, Table 30).

Table 19. Tensile strength of the crosslinked potato starch(5%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Tensile strength(kgf/mm2) Type of film				
	Native/PE	0.1 CL/PE	0.5 CL/PE	1.0 CL/PE	2.0 CL/PE
0	C1.049a	E1.243a	C1.077a	A1.296a	A1.320a
1	A1.114a	A1.135ab	E0.942b	A1.161ab	A1.113b
2	C1.041a	E1.149ab	L0.952b	A1.222ab	EC1.098b
3	A1.071a	AE1.056b	C0.870b	AE1.069b	E1.032b
4	C1.031a	E1.112b	L0.895b	A1.200ab	EC1.077b
5	E0.978a	E0.873c	E0.878b	A1.124ab	E0.895c
6	E0.933a	C0.619d	E0.862b	A1.162ab	E0.853cd
7	A0.989a	-	EC0.702cd	AE0.887c	C0.590e
8	1.041a	-	0.757c	0.856c	0.790d
9	0.956a	-	0.728cd	0.782cd	-
10	0.969a	-	0.623d	0.647d	-
11	0.572b	-	-	-	-
12	0.136c	-	-	-	-

Each value is mean for four replicates. Means with different superscript are significantly different($p<0.05$), A-D : Duncan`s multiple range test for starch/PE film (column), a-e : Duncan`s multiple range test for week (row)

Table 20. Percent elongation of the crosslinked potato starch(5%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Percent elongation(%) Type of film				
	Native/PE	0.1 CL/PE	0.5 CL/PE	1.0 CL/PE	2.0 CL/PE
0	C210.5a	E253.1a	A279.8a	C227.4a	EC231.7a
1	197.2a	186.1b	211.2b	196.0bc	184.5bc
2	198.2a	192.6b	179.9b	210.9ab	181.7bc
3	183.6a	192.2b	188.5b	171.6c	199.2b
4	178.7a	206.0b	196.0b	193.1bc	168.4c
5	A155.3a	E46.8c	A184.3b	A174.8c	E59.0d
6	AE150.0a	C3.3d	E121.1c	A200.7abc	C15.3e
7	A148.2a	-	E22.1d	E30.7d	E3.6e
8	175.0a	-	7.6d	9.4d	6.4e
9	A157.5a	-	E4.4d	E5.9d	-
10	A145.1a	-	E3.1d	E5.6d	-
11	19.9b	-	-	-	-
12	3.5b	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 21. Strain energy of the crosslinked potato starch(5%)- polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Strain energy(kgf-mm) Type of film				
	Native/PE	0.1 CL/PE	0.5 CL/PE	1.0 CL/PE	2.0 CL/PE
0	E67.5a	A99.3a	A97.8a	A92.5a	A95.8a
1	69.9a	68.0b	66.9b	73.2bc	65.0b
2	E67.0a	AE72.2b	E57.7b	A83.0ab	E63.7b
3	61.7a	65.7b	55.0bc	58.3d	65.5b
4	E58.5a	A73.7b	E58.9b	A74.3bc	E57.6b
5	A48.3a	E14.5c	A54.2bc	A63.1cd	E17.0c
6	E43.6a	C0.4c	E36.0c	A74.5bc	C3.7d
7	A47.0a	-	E5.3d	E8.4e	E0.5d
8	59.8a	-	1.7d	2.0e	1.2d
9	A52.0a	-	E0.7d	E1.4e	-
10	A48.2a	-	E0.5d	E1.1e	-
11	3.5b	-	-	-	-
12	2.6b	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 22. Tensile strength of the crosslinked potato starch(10%)- polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 week

Week	Tensile strength(kgf/mm^2) Type of film				
	Native/PE	0.1 CL/PE	0.5 CL/PE	1.0 CL/PE	2.0 CL/PE
0	E1.002ab	C1.039a	E0.939a	A1.242a	E1.174a
1	E0.982ab	E0.956a	C0.860ab	A1.104b	A1.077abc
2	E0.992ab	E0.989a	C0.885ab	A1.133b	A1.110ab
3	A1.038ab	E0.939a	C0.782bc	A1.059bc	A1.034bc
4	AE1.053a	CE0.921a	E0.868ab	A1.110b	EC0.983c
5	A1.025ab	E0.276b	A0.837ab	A1.071bc	A0.984c
6	A1.009ab	E0.777a	E0.728cd	A0.985c	E0.719d
7	A0.934ab	-	E0.637d	A0.800d	-
8	0.911b	-	0.631d	0.767d	-
9	0.716c	-	0.665d	0.747d	-
10	0.693c	-	-	-	-
11	0.675c	-	-	-	-
12	0.616c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 23. Percent elongation of the crosslinked potato starch(10%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Percent elongation(%) Type of film				
	Native/PE	0.1 CL/PE	0.5 CL/PE	1.0 CL/PE	2.0 CL/PE
0	179.4a	188.4a	210.4a	196.9a	172.3a
1	AE165.8ab	AEC154.9b	EC153.2b	A178.3a	C133.3ab
2	AE164.0ab	EC150.1b	EC146.4b	A177.8a	C135.7ab
3	A167.8ab	E137.2b	E139.2b	A180.5a	E141.0ab
4	A166.4ab	AEC157.5b	EC144.5b	A183.5a	C123.4b
5	A166.3ab	C4.5c	AE136.8b	A169.6a	E106.3b
6	A138.1ab	E9.2c	E26.4c	A98.2b	E17.1c
7	A147.2ab	-	E9.3c	E18.0c	-
8	120.9b	-	4.4c	6.5c	-
9	45.5c	-	7.2c	7.5c	-
10	10.6c	-	-	-	-
11	7.3c	-	-	-	-
12	4.5c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 24. Strain energy of the crosslinked potato starch(10%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Strain energy(kgf-mm) Type of film				
	Native/PE	0.1 CL/PE	0.5 CL/PE	1.0 CL/PE	2.0 CL/PE
0	E53.4a	E60.9a	E63.7a	A76.1a	E62.7a
1	E49.7ab	E46.5b	E42.7b	A62.2b	E42.5b
2	E49.7ab	E46.8b	E42.4b	A64.2b	E45.3b
3	A53.5a	E40.1b	E35.0b	A60.4b	E43.8b
4	AE54.0a	EC45.3b	C41.0b	A64.9b	C38.1b
5	A53.0a	C0.9c	E37.0b	A57.4b	E32.6b
6	A42.6ab	E1.9c	E6.6c	A30.6c	E3.7c
7	A42.2ab	-	E2.0c	E4.3d	-
8	35.9b	-	0.6c	1.3d	-
9	11.1c	-	1.5c	1.7d	-
10	2.2c	-	-	-	-
11	1.3c	-	-	-	-
12	0.7c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 25. Tensile strength of the hydroxypropylated potato starch(5%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Tensile strength(kgf/mm2) Type of film				
	Native/PE	2.5 HP/PE	5.0 HP/PE	7.5 HP/PE	10.0 HP/PE
0	D1.049a	A1.554ab	E1.426abc	A1.518bc	C1.112a
1	D1.114a	E1.635a	C1.534a	A1.807a	D1.182a
2	D1.041a	E1.522ab	E1.487ab	A1.620abc	C1.140a
3	C1.071a	E1.425bc	E1.494ab	A1.751ab	C1.122a
4	E1.031a	A1.513ab	A1.484ab	A1.563abc	E1.134a
5	D0.978a	E1.464abc	AE1.529a	A1.607abc	C1.122a
6	D0.933a	E1.415bc	E1.439abc	A1.674abc	C1.147a
7	E0.989a	A1.488abc	A1.392bc	A1.445c	C0.700b
8	E1.041a	A1.321c	A1.344c	C0.574d	C0.127c
9	0.956a	0.733d	0.907e	0.210d	-
10	0.969a	0.535d	1.051d	-	-
11	0.572b	0.332e	-	-	-
12	0.136c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 26. Percent elongation of the hydroxypropylated potato starch(5%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Percent elongation(%) Type of film				
	Native/PE	2.5 HP/PE	5.0 HP/PE	7.5 HP/PE	10.0 HP/PE
0	C210.5a	E246.8a	A270.8a	C193.4a	D123.9a
1	A197.2a	AE173.3b	E161.4c	E155.9a	C104.6b
2	A198.2a	EC163.6b	AE188.3bc	C142.8a	D111.0b
3	A183.6a	AE169.9b	A182.6bc	EC143.0a	C110.0b
4	E178.7a	C149.4b	A207.6b	EC161.6a	D112.8b
5	A155.3a	A177.8b	A175.4bc	A166.9a	E101.3b
6	E150.0a	A173.9b	A179.6bc	E145.8a	C102.4b
7	A148.2a	A173.4b	A185.3bc	E80.9b	E29.1c
8	A175.0a	A167.1b	A161.3c	E3.3c	-
9	A157.5a	E14.0d	E9.9d	E1.5c	-
10	145.1a	27.7c	11.2d	-	-
11	19.9b	1.8d	-	-	-
12	3.5b	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 27. Strain energy of the hydroxypropylated potato starch(5%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Strain energy(kgf-mm) Type of film				
	Native/PE	2.5 HP/PE	5.0 HP/PE	7.5 HP/PE	10.0 HP/PE
0	C67.5a	A114.1a	A116.9a	B85.6a	D37.8a
1	B69.9a	A86.6b	AB77.8bc	A85.4a	C34.6ab
2	B67.0a	B74.7bc	A88.1bc	B69.1a	C34.6ab
3	B61.7a	AB73.9bc	A86.3bc	AB74.2a	C34.0ab
4	C58.5a	BC66.0c	A97.1b	B76.2a	D35.1ab
5	B48.3a	A78.5bc	A84.4bc	A81.1a	B31.0b
6	B43.6a	A74.6bc	A81.4bc	A72.3a	C31.8b
7	B47.0a	A77.0bc	A81.0bc	B38.3b	C6.1c
8	A59.8a	A66.5c	A67.9c	B0.4c	B0.1d
9	A52.0a	B4.0ce	B2.7d	B1.1c	-
10	48.2a	9.3d	7.7d	-	-
11	3.5b	0.1e	-	-	-
12	2.6b	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 28. Tensile strength of the hydroxypropylated potato starch(10%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 week

Week	Tensile strength(kgf/mm2) Type of film				
	Native/PE	2.5 HP/PE	5.0 HP/PE	7.5 HP/PE	10.0 HP/PE
0	D1.002ab	B1.253b	C1.200ab	A1.467b	D0.991a
1	C0.982ab	B1.309ab	B1.275ab	A1.672a	C1.040a
2	D0.992ab	B1.369ab	C1.221ab	A1.558ab	D0.988a
3	C1.038ab	B1.420a	B1.323a	A1.595ab	C0.937a
4	D1.053a	B1.362ab	C1.203ab	A1.483b	B0.900a
5	C1.025ab	AB1.333ab	BC1.179ab	A1.447b	D0.702b
6	C1.009ab	B1.257b	B1.191ab	A1.472b	D0.431bc
7	B0.934ab	A1.331ab	B1.112bc	B0.809c	C0.513c
8	0.911b	0.978c	0.878d	0.602d	-
9	0.716c	-	0.959cd	-	-
10	0.693c	-	-	-	-
11	0.675c	-	-	-	-
12	0.616c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

Table 29. Percent elongation of the hydroxypropylated potato starch (10%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Percent elongation(%) Type of film				
	Native/PE	2.5 HP/PE	5.0 HP/PE	7.5 HP/PE	10.0 HP/PE
0	A179.4a	A162.8a	A172.0a	A168.5a	E102.4a
1	A165.8ab	E123.3b	E125.7b	E133.2b	C68.6b
2	A164.0ab	C120.8b	EC127.3b	AE145.9b	E93.4a
3	A167.8ab	E129.2b	E130.8b	E134.0b	C84.8ab
4	A166.4ab	E121.2b	E126.2b	E132.5b	C83.6ab
5	A166.3ab	E127.4b	E119.7b	E126.6b	C37.4c
6	A138.1ab	A119.0b	A120.2b	A132.1b	E14.6cd
7	A147.2ab	AE135.6b	E105.5b	C30.7c	C9.9d
8	A120.9b	E38.6c	E49.7c	E4.5d	-
9	45.5c	-	20.6c	-	-
10	10.6c	-	-	-	-
11	7.3c	-	-	-	-
12	4.5c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

2. Starch-polyethylene 필름의 생분해 특성

가. FT-IR에 의한 필름의 생분해 특성 분석

가교결합 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름의 경우, 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 *P. aeruginosa*를 처리한 필름과 대조군 필름에서(Fig. 17) carbonyl index와 hydroxyl index 모두 거의 차이가 없었지만, 가교결합 감자 전분으로 제조한 필름은 1.0 CL/PE를 제외하고는 *P. aeruginosa*를 처리한 필름이 대조군 필름에서보다 carbonyl index와 hydroxyl index가 더 높았다. 또한 가교결합 감자 전분을 10%(wt) 함유한 필름의 경우, 무처리 감자 전분으로 제조한 필름에서는 carbonyl index는 *P. aeruginosa*의

배양에 의해 차이가 없었고 hydroxyl index는 *P. aeruginosa*를 처리한 필

Table 30. Strain energy of the hydroxypropylated potato starch(10%)-polyethylene films by the heat treatment at 70℃ for 12 weeks

Week	Strain energy(kgf-mm) Type of film				
	Native/PE	2.5 HP/PE	5.0 HP/PE	7.5 HP/PE	10.0 HP/PE
0	E53.4a	E58.4a	E59.5a	A71.2a	C26.8a
1	E49.7ab	E47.0ab	E47.4abc	A65.9ab	C22.5ab
2	E49.7ab	E47.2ab	E45.1bc	A66.8a	C24.3ab
3	A53.5a	A53.3ab	A51.1ab	A62.5abc	E21.6ab
4	AE54.0a	EC48.0ab	C44.2bc	A57.0bc	E19.4b
5	A53.0a	AE48.6ab	E41.3bc	A53.4c	C8.7c
6	E42.6ab	E43.1b	E41.9bc	A57.3bc	C2.5cd
7	AE42.2ab	A52.1ab	E35.9c	C10.1d	C1.4d
8	A35.9b	E12.0c	AE14.4d	E1.6e	-
9	11.1c	-	4.9d	-	-
10	2.2c	-	-	-	-
11	1.3c	-	-	-	-
12	0.7c	-	-	-	-

Descriptions for this table are the same as above.

름에서 약간 증가하였다. 그러나 가교결합 감자 전분으로 제조한 필름에서는 *P. aeruginosa*를 처리한 필름이 대조군 필름에서보다 carbonyl index와 hydroxyl index 모두 훨씬 증가됨이 관찰되었다(Fig. 18). 하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름의 경우 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 *P. aeruginosa*를 처리한 필름과 대조군 필름에서 carbonyl index 및 hydroxyl index에 거의 차이가 없었다. 반면, 2.5 HP/PE 필름과 5.0 HP/PE 필름에서는 *P. aeruginosa*를 처리한 필름이 대조군 필름보다 carbonyl index와 hydroxyl index가 약간 증가하였으며, 특히 7.5 HP/PE, 10.0 HP/PE 필름에서는 *P. aeruginosa*를 처리한 필름에서 carbonyl index 및 hydroxyl index가 상당히 증가되는 것이 관찰되었다(Fig. 19). 하이드록시프로필화 감자 전분을 10%(wt) 함유한 필름에서 무처리 감자 전분으로

제조한 필름의 carbonyl index는 *P. aeruginosa*의 배양에 의해 차이가 없었고 hydroxyl index는 *P. aeruginosa*를 처리한 필름에서 약간 증가하였으나 하이드록시프로필화 전분으로 제조한 필름보다는 증가폭이 낮았다 (Fig. 20). 그러나 하이드록시프로필화 전분으로 제조한 필름에서는 대조군 필름보다 *P. aeruginosa*를 처리한 필름에서 carbonyl index와 hydroxyl index가 상당히 높았으며 특히 5.0 HP/PE 필름에서 두드러지게 높게 나타났다. 이것은 전분을 하이드록시프로필화 시킴에 의해 미생물이 생성하는 효소에 의한 공격이 더 용이하여 Starch/PE film이 더 쉽게 분해됨으로써 carbonyl기와 hydroxyl기(1,2차 alcohol)가 더 많이 생성되었다는 것을 의미한다. *Streptomyces* 균주에 의한 생분해 연구에서도 미생물을 처리하지 않은 필름은 FT-IR spectrum에서 변화가 없었지만 *Streptomyces setonii*와 *Streptomyces viridosporus*로 처리된 필름은 900 1,200cm-1(1, 2차 alcohol 영역)에서 증가하였다고 보고하였다(PomettoIII 등 1992). 전분을 하이드록시프로필화 시키면 전분의 무정형 영역뿐 아니라 결정성 영역에도 영향을 주며, 이로 인해 전분의 상대적 결정화도가 감소됨을 보았다(Fig. 11 , Table 10). 따라서 결정성 정도가 낮고 친수성이 강한 하이드록시프로필화 전분이 첨가된 필름에서 *P. aeruginosa*가 생산하는 효소에 의해 더 쉽게 공격을 받아 필름의 생분해가 촉진된 것으로 사료된다. Octenyl succinate로 변성시킨 전분의 생분해 연구에서는 octenyl succinate으로 전분표면이 소수성으로 변화되어 오히려 전분의 생분해가 방해받았다고 보고하였다(Evangelista 1991). 그러므로 미생물에 의한 생분해 정도에는 미생물의 종류, 첨가된 물질의 화학적 구조, 분자량 등이 중요한 변수로 작용한다고 사료된다. Gage(1990)는 에너지 근원과 생분해를 위해 더 많은 전분이 첨가됨에 따라 필름의 더 많은 부분이 생분해된다고 보고하였다. 본 실험에서도 하이드록시프로필화 감자 전분의 함량이

10%(wt)일 때 carbonyl index와 hydroxyl index가 더 크게 증가한 것으로 보아 필름이 더 많이 생분해된 것으로 생각된다.

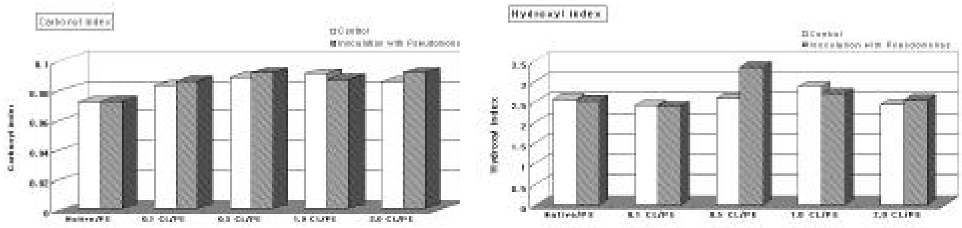


Fig. 17. Carbonyl index and hydroxyl index of the crosslinked potato starch(5%)-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks.

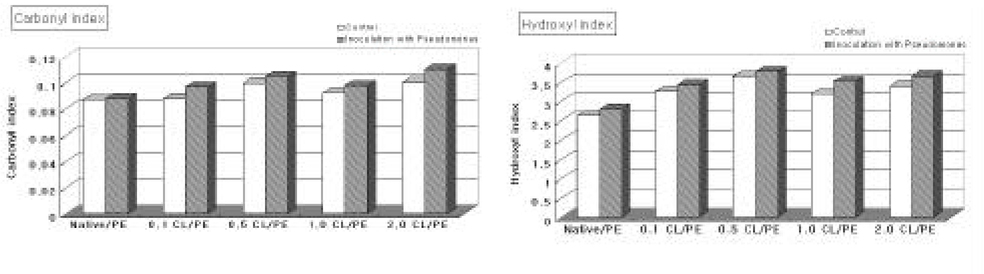


Fig. 18. Carbonyl index and hydroxyl index of the crosslinked potato starch(10%)-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks.

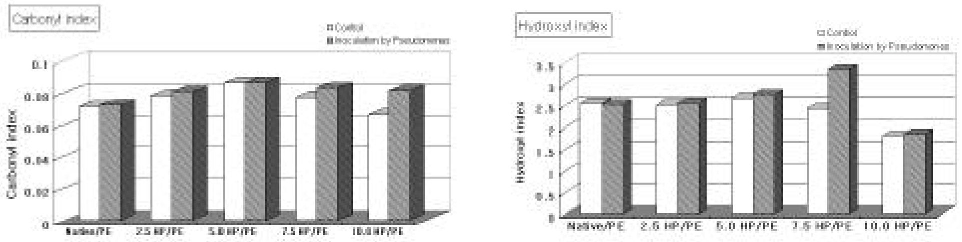


Fig. 19. Carbonyl index and hydroxyl index of the hydroxypropylated potato starch(5%)-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks.

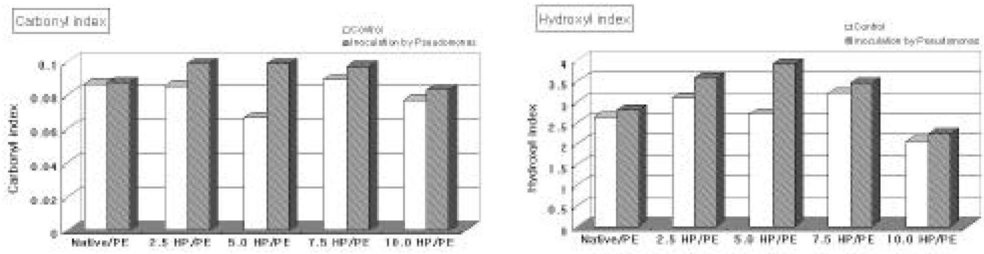


Fig. 20. Carbonyl index and hydroxyl index of the hydroxypropylated potato starch(10%)-polyethylene films cultured wih *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks.

나. 기계적 성질에 의한 생분해 특성 분석

*Pseudomonas aeruginosa*를 처리한 필름과 *P. aeruginosa*를 처리하지 않은 필름의 생분해 정도를 기계적 성질의 특성변화로써 관찰하였다. 기계적 성질의 변화는 FT-IR spectrum에 의한 carbonyl index 및 hydroxyl index의 변화와 일치하였다. 먼저 가교결합 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름에서 는 무처리 감자 전분으로 제조한 필름은 *P. aeruginosa*를 처리한 필름이 대조군 필름에 비해 tensile strength와 strain energy는 약간 증가하였고 elongation은 거의 비슷하였다(Fig. 21). 그러나 가교결합 감자 전분으로 제조한 필름에서는 0.5 CL/PE를 제외하고는 *P. aeruginosa*를 처리한 필름이 대조군 필름에 비해 거의 모든 기계적 성질들이 저하되었다. 또한 가교결합 감자 전분을 10%(wt) 함유하여 제조한 필름에서도 무처리 감자 전분으로 제조한 필름에서는 percent elongation이 *P. aeruginosa*를 처리한 필름과 대조군 필름에서 차이가 없었고 tensile strenth와 strain energy는 오히려 약간 높았다(Fig. 22),. 그러나 가교결합 감자 전분으로 제조한 필름에서는 특히 0.1 CL전분과 1.0 CL 전분으로 제조한 필름에서

*P. aeruginosa*를 처리한 필름에서 대조군 필름에 비해 기계적 성질들이 감소됨이 관찰되었다.

하이드록시프로필화 감자 전분을 5%(wt) 함유한 필름에서는 하이드록시프로필화 전분으로 제조한 필름에서도 *P. aeruginosa*를 처리한 필름이 대조군 필름에 비해 거의 모든 기계적 성질들이 저하되었고, 특히 10.0 HP/PE필름에서 현저하게 기계적 성질들이 감소된 것으로 나타났다(Fig. 23). 또한 하이드록시프로필화 감자 전분을 10%(wt) 함유한 필름에서도 하이드록시프로필화 전분으로 제조한 필름은 5.0 HP/PE의 tensile strength를 제외하고 *P. aeruginosa*를 처리한 필름의 tensile strength, percent elongation, strain energy 모두가 대조군 필름에 비해 훨씬 감소되었고, 특히 7.5 HP/PE 필름에서 현저하게 감소되었다(Fig. 24). 이는 하이드록시프로필화 전분이 무처리 감자 전분보다 *P. aeruginosa*의 대사에 더 적합한 환경조건을 제공하여 이 미생물에 의해 더 쉽게 생분해 된다는 것을 의미한다. 신 등(1994)은 전분이 포함된 필름에서 생분해시 기계적 강도가 감소되는 원인은 기질 분자내에 포함된 전분이 미생물에 의해 분해되기 떄문이라고 보고하였다.

다. 필름의 형태적 특성 분석

*P. aeruginosa*를 처리한 필름과 *P. aeruginosa*를 처리하지 않은 필름의 형태를 주사전자 현미경을 이용하여 관찰하였다(Fig. 25, Fig. 26). 대조군 필름(A)에서는 초기의 필름 형태와 거의 차이가 없었으나 *P. aeruginosa*를 처리한 필름에서는 미생물의 대사과정에서 생성되는 효소에 의한 공격으로 전분 입자와 필름이 약간 파괴된 것을 볼 수 있었다. 따라서 이러한 필름의 분해가 필름의 연속성을 저하시켜 결국 필름구조의 붕괴

및 기계적 특성의 감소를 일으킨 것으로 사료되었다. Goheen 및 Wool(1991)은 만약 polyethylene에 충분한 전분이 제공된다면 미생물들에 의해 필름이 더 쉽게 분해된다고 하였다. 필름의 생분해도를 측정하기 위한 매립과 같은 대부분의 실험들이 변화가 심한 환경하에서 1년 10년이 소요되는데 비해 본 실험에서는 일정한 조건하에서 단기간내에 재현성 있게 필름의 생분해도를 측정할 수 있었다.

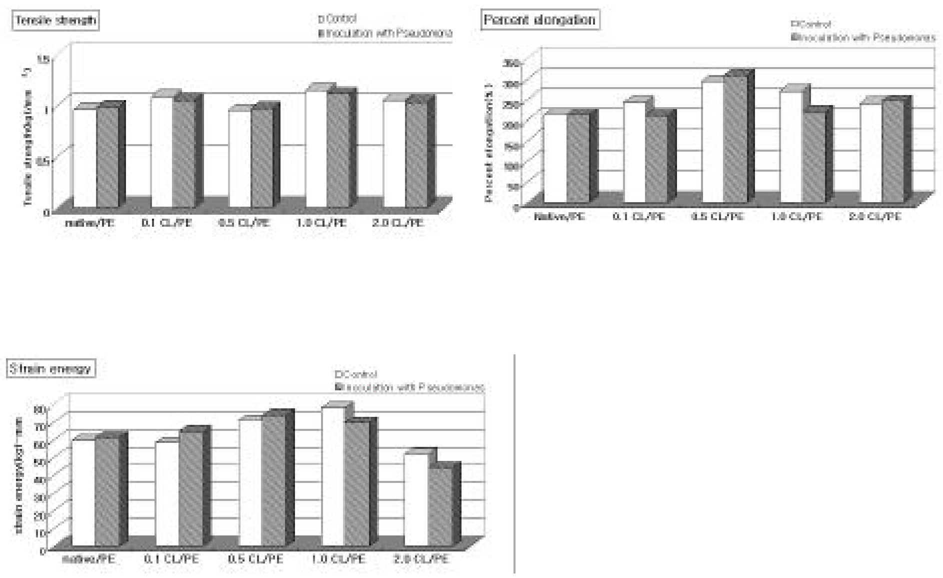
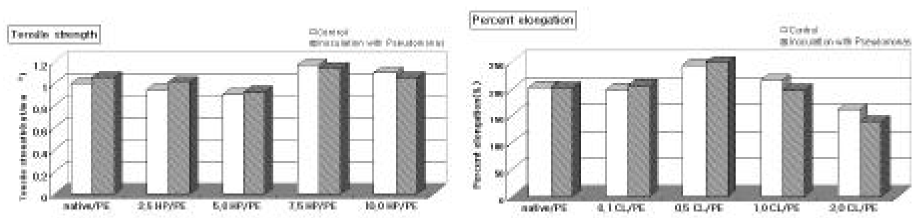


Fig. 21. Mechanical properties of the 5% crosslinked potato starch-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks. Each data represents mean for four replicates.



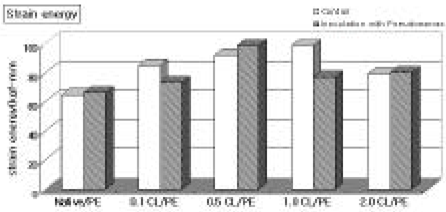


Fig. 22. Mechanical properties of 10% the crosslinked potato starch-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks. Each data repersents mean for four replicates.

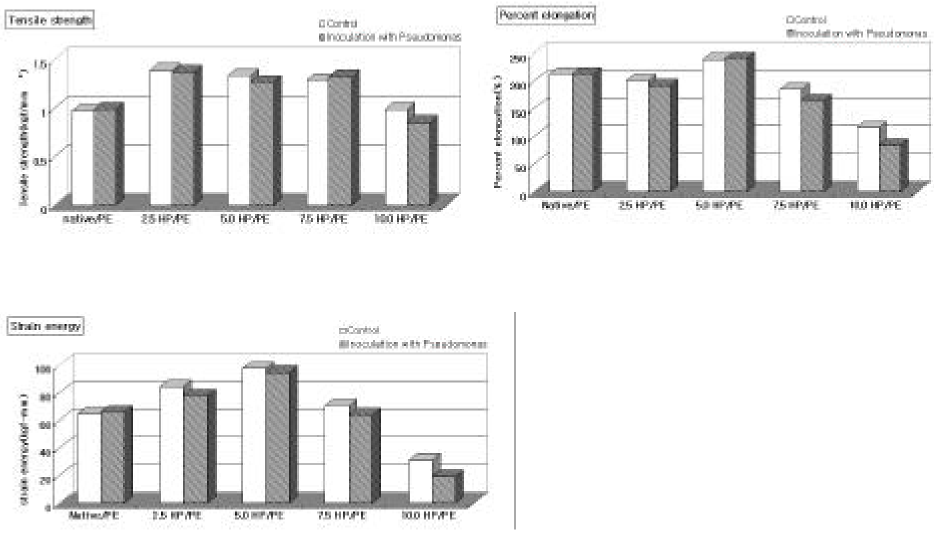


Fig. 23. Mechanical properties of the hydroxypropylated potato starch (5%)-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks. Each data repersents mean for four replicates.

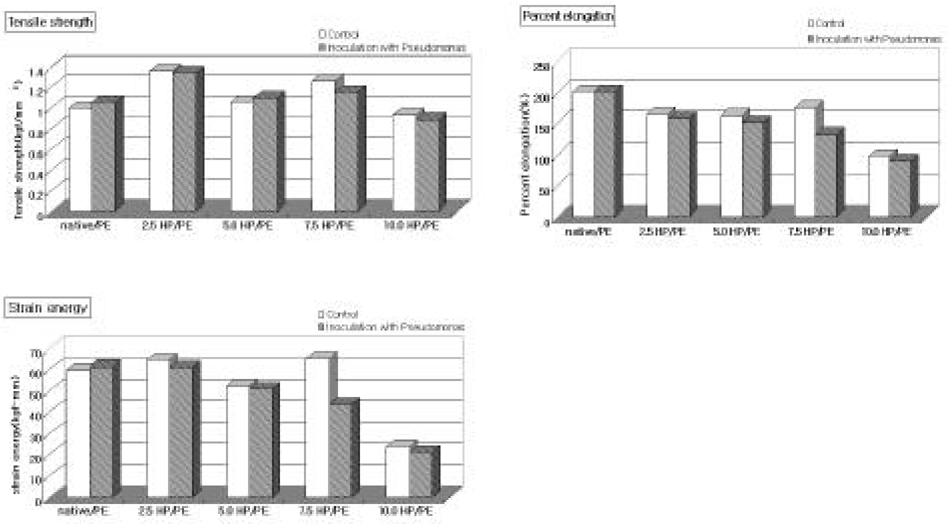


Fig. 24. Mechanical properties of the hydroxypropylated potato starch (10% wt)-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks. Each data represents mean for four replicates.

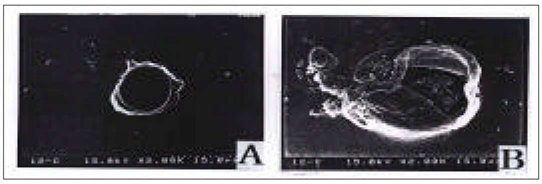


Fig. 25. Scanning electron micrograph(×2,000) of the crosslinked potato starch-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks. A, Control(no inoculation); B, Inoculation by *Pseudomonas aeruginosa*

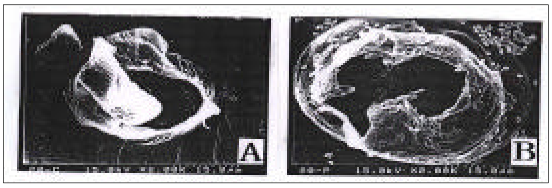


Fig. 26. Scanning electron micrograph(×2,000) of the hydroxypropylated potato starch-polyethylene films cultured with *Pseudomonas aeruginosa* for 4 weeks. A, Control(no inoculation); B, Inoculation by *Pseudomonas aeruginosa*

제 4 절 경제성 검토

감자 껍질과 같은 폐기물을 이용하여 전분을 추출하고 이를 가교화 및 하이드록시프로필화시켜 제조한 polyethylene 필름은 위에서 살펴보았듯이 천연 무처리 감자 전분을 사용하여 제조한 필름보다 기계적 강도와 분해도가 향상되었다. 따라서 현재 생분해성 필름 제조에 사용되고 있는 전분을 식품 폐기물인 감자 껍질로부터 얻는다면 이는 폐기물의 수거 비용을 절감하고 폐기물을 매립하기 위한 토지 구매 비용을 절약해 줄 뿐만 아니라 자원을 재활용하여 새로운 고부가가치의 필름을 제조함으로써 경제적으로 많은 이익이 있을 것으로 기대된다. 전분의 가교화 및 하이드록시프로필화를 시키게 되면 천연 전분을 이용할 때보다 가격 상승이 있겠으나(약 5% 정도) 이러한 변성 전분을 사용함으로써 필름의 기계적 강도와 분해도가 향상되며 보다 빠른 분해를 기대할 수 있기 때문에 가격상승에 대한 충분한 가치가 있다고 생각된다.

제 4 장 참고 문헌

김미라 : Sodium hypochlorite으로 산화된 감자 전분의 이화학적 특성, 동아시아식생활학회지, 7(3):315-324, 1997.

김성철 : 고분자공학Ⅱ, pp322 331, 1997.

김영하 : 국내 분해성 고분자의 개발현황, Polymer Science and Technology, 5(1):3 4, 1994.

김향숙, 이영은 : 가교결합 감자 전분의 이화학적 특성, 한국식품과학회지, 28:573, 1996.

배수경, 이선자, 김미라 : Propylene oxide로 하이드록시프로필화시킨 감자 전분의 이화학적 특성, 동아시아식생활학회지, 7(4):519 526, 1997.

신용섭, 신부영 : 전분과 탄산칼슘을 포함한 고밀도 폴리에틸렌 필름의 광분해 및 생분해, Polymer(Korea), 18(4):613 621, 1994.

육철, 백운화, 박관화 : 하이드록시프로필화 옥수수 전분의 이화학적 특성, 한국식품과학회지, 23:175 182, 1991.

이신영, 변유량, 조형용, 유주현, 이상규 : 쌀 전분의 현탁액과 호화액의 유동거동, 한국식품과학회지, 16:29 1984.

El-Hinnawy, S. I., El-Saied, H. M., Fahmy, A., El-Shirbeeny, A. E. and El-Sahy, K. M.: Viscosity and gelatinization characteristics of hydroxyethyl starch, Stärke, 34:112, 1982.

Evangelista, R. L., Nikolov, Z. L., Wei, S., Jane, J. and Gelina, R. J. : Effect of compounding and starch modification on properties of starch-filled low-density polyethylene, Ind. Eng. Chem. Res., 30(8):1841 1846, 1991.

French, D. : Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules, J. Jpn. Soc. Starch Sci., 19:8, 1972.

Gage, P. : Degradable polyethylene film-the facts, Tappl Journal, 161 169, 1990.

Gilbert, G. A. and Spragg, S. P. : Iodometric determination of amylose. In "*Methods in carbohydrate chemistry*", Whistler, R. L.(ed.), Academic Press, New York, N.Y., vol. 4. p.168, 1964.

Goheen, S. M. and Wool, R. P. : Degradation of polyethylene-starch blends in soil, J. of Appl. Poly. Sci., 42:2691 2701, 1991.

Griffin, J. L. : Biodegradable fillers in thermoplastics, Advances in chem. series Amer. chem. Soci., Washington D. C., 159 170, 1974.

Griffin, J. L. : Synthetic resin sheet material, U. S. Patent, 4,021,388, 1977.

Hamerstrand, G. E., Hofretter, B. T. and Mehltretter, C. L. : Determination of the extent of reaction between epichlorohydrin and starch, *Cereal Chem.*, 37, 519, 1960.

Hollinger, G., Kuniak, L. and Marchessault, R. H. : Thermodynamic aspects of gelatinization and swelling of crosslinked starch, *Biopolymers*, 13:879, 1974.

Jane, T., Xu, A., Radosavljevic, M. and Seib, P. A. : Location of amylose in normal starch granules. I . Susceptibility of amylose and amylopectin to cross-linking reagents, *Cereal Chem.*, 69:405, 1992.

Johnson, D. P. : Spectrophotometic determination of the hydroxypropyl group in starch ethers, Anal. Chem., 41:859 860, 1969.

Kartha, K. P. R. and Srivastava, H. C., Ahmedabad. : Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymers. partⅡ. Starch reaction mechanism and physicochemical properties of modified starch, *Stärke*, 37: 297, 1985.

Kasemsuwan, T. and Jane, J. : Location of amylose in normal starch granules. Ⅱ. Locations of phosphodiester cross-linking revealed by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance, *Cereal Chem.*, 71:282, 1994.

Kim, M., PomettoⅢ, A. L., Johnson, K. E. and Fratzke, A. R. : Degradation studies of novel degradable starch-polyethylene plastics containing oxidized polyethylene and prooxidant, J. Environ. Polym. Degra., 2:27 38, 1994.

Komiya, T., Nara, S. and Tsu, M. : Changes in Crystallinity and Gelatinization phenomena of potato starch by acid treatment, Stärke, 38:9 13, 1986.

Lim, S. and Seib, P. A. : Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphate. *Cereal Chem.*, 70:137, 1993.

Loomis, G. L., Hopkins, A. R. and George, E. R. : Starch-based materials, In biodegradable polymers and packaging, ed. by Ching, C., Kaplan, D. L., Thomas, E. L., pp43 51, 1993.

Medcalf, D. G. and Gilles, K. A.: Wheat starches. Ⅰ. Comparison of physicochemical properties, Cereal Chem., 42:558, 1965.

Otey, F. H. Westhoff, R. P. and Russell, C. R. : Biodegradable films from starch and ethylene-acrylic acid copolymer, Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., 16(4):305 308, 1977.

Otey, F. H., Westhoff. R. P., Doane, W. M. : Starch-based blown film, Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., 19:592 595, 1980.

Otey, F. H., Westhoff, R. P., Doane, W. M. : starch-based blown film 2, Ind. Eng. Chem. Res., 26:1659 1663, 1987.

Potts, J. E., Clendinning, R. A., Ackart, W. B. and Niegisch, W. D. : "Polymer and Ecological problems', Plenum press, New York, p61, 1973.

Rasper, V. F. and Deman, J. M. : Effect of Granule size of substituted starches on the rheological character of composite doughs. *Cereal Chem.*, 57:331, 1980.

Robin, J. P., Mercier, C., Charbonniers, R. and Guilbort, A. : Lintnerized starches, Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch, Cereal Chem., 51:389 406, 1974.

Schoch, T. J. : Swelling power and solubility of granular starches. In "*Methods in carbohydrate chemistry*", Whistler, R. L.(ed.), Academic Press New York, N. Y., vol. 4, p.106, 1964.

Swanson, C. L., Westhoff, R. P., Doane, W. P. : Modified starches in plastic films, Proceedings of the corn utilization conferenceII, Columbus, OH, 1988: National Corn Growers Association: St. Louis, Mo, 1988.

Wei, S., Nikolov, Z. L. : Accelerated degradation studies of starch-filled polyethylene films, Ind. Eng. Chem. Res., 31(10):2332 2339, 1992.

Wootton, M. and Manatsathit, A.: The influence of molar substitution on the water binding capacity of hydroxypropyl maize starches, Stärke, 35:92 94, 1983.

Zobel, H. F.: X-ray analysis of starch granular starches, In Methods in Carbohydrate Chemistry, Whistler, R. L.(ed), Academic Press, New York, 4:109 113, 1964.