

GOVP 12009277

664.024
L 293 L

최 종
연구보고서

농수산물 원료로부터 미세캡슐화 기술을 이용한

신기능성 식품소재 및 공정 개발

(Development of food ingredients and processes by microencapsulation
from the agricultural and marine products)

연구기관

(주) 농심 상품개발연구소

농림부



[별지 제7호 서식]

최 종 보 고 서

1999 년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 농수산물 원료로부터 미세캡슐화 기술을 이용한 신기능성 식품소재 및 공정개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 8부

2. 최종보고서 디스켓 1매

1999 . 11 . .

주관연구기관 : 주)농심 기술개발 연구소

총괄연구책임자 : 김 재 훈 (인)

주관연구기관장 : 김 재 훈

농림부장관 귀하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “농수산물 원료로부터 미세캡슐화 기술을 이용한 신기능성 식품소재 및 공정개발”에 관한 연구과제의 최종보고서로 제출합니다.

1999 . 11 . .

주관연구기관명 : (주) 농심

총괄연구책임자 : 김 재 훈

연 구 원 : 남 회 섭

연 구 원 : 채 한 주

연 구 원 : 김 명 식

연 구 원 : 김 선 호

협동연구기관명 : 연세대학교

협동연구책임자 : 박 지 용

협동연구기관명 : 연세대학교

협동연구책임자 : 양 음

협동연구기관명 : 서울산업대학교

협동연구책임자 : 장 판 식

협동연구기관명 : 서울산업대학교

협동연구책임자 : 강 성 태

요약문

I. 제 목

농수산물원료로부터 미세캡슐화를 이용한 신기능성 식품소재 및 공정개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 연구개발의 목적

원료 농수산물 가공기술개발과 다양한 미세캡슐제품을 독자적으로 개발함으로써 식품산업의 발전도모하고 농어가의 소득증대에 기여

2. 연구개발의 중요성

국내의 독자적인 원료개발과 가공기술개발이 시급히 이루어지지 않으면 수입이 가속화 되어 국내 농수산물 전체의 생산이 지대한 영향을 받게 될 것이며 건강지향 기능성식품 개발이 급속히 진행되고 있는 시점에서 원료에 대한 수입의존도가 상승될 것으로 예상되고 있다. 본 과제에서 개발된 가공제품 및 미세캡슐제품을 가공식품에 광범위하게 접목시켜 한국형 고유의 식품을 창출하고 새로운 가공식품의 식문화 정립에 기여할 것이며 원료농수산물 가공기술개발과 다양한 미세캡슐화기술을 개발함으로써 식품산업 발전과 아울러 선진국과의 격차를 최소화할 것으로 기대되고 있다. 결과적으로 원료의 가공기술과 고부가가치화할 수 있는 첨단가공기술을 정립하여 원료생산 농어가의 안정적 수입원을 확보하고 국가경제적으로 가격 및 수급의 안정화를 유도할 수 있을 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 마늘, 고추를 이용한 신기능성 식품소재개발

가. 마늘, 고추로부터 풍미성분의 추출기술 및 분석법 개발

나. 미세캡슐화 공정최적화 및 TDR, TSR 미세캡슐 개발

2. 미세캡슐화 공정디자인 및 최적화

가. Flavor model system 및 wall material 개발

나. TDR 및 TSR 공정 디자인 및 최적화

다. PSR 및 MAR 공정 디자인 및 최적화

3. 농산물 유래 생체방어물질의 특수용도 신소재화 기술

가. 보리로부터 SOD추출분리 및 보리발효효모로부터 고순도추출물 정제농축기술 정립

나. SOD, SOD mimics 및 glutathione의 효능 및 정량분석

다. 특수용도 신소재 formulation 및 미세캡슐개발

4. ω -3계 고도불포화지방산의 미세캡슐화 기술개발

가. ω -3계 고도불포화지방산의 고안정성emulsion 제조기술개발

나. ω -3계 고도불포화지방산 미세캡슐의 안정성 증대 및 분석방법 개발

다. 안정성강화 미세캡슐의 산업화연구

5. 향신료 미세캡슐의 성분분석 및 안정성 증대

가. 향신료 미세캡슐의 성분 분석법 개발

나. 향신료 미세캡슐의 안정성 비교연구

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 마늘, 고추를 이용한 신기능성 식품소재개발

국내의 농산물 가공기술의 낙후와 가공품 수입의존의 국내적 상황과 생마늘과 고추의 사용상의 문제점을 보완하기 위하여 가공기술개발의 일환으로서, 마늘과 고추가 지니고 있는 독특한 향미성분의 안정성을 증대시켜 가공식품에 광범위하게 응용될 수 있도록 하기 위해 spray drying에 의한 microencapsulation 공정을 최적화하였다.

마늘풍미원료를 제조하기 위해 생마늘을 분쇄, 조여과한 후 효소분해를 이용하여 추출물을 제조하였다. 여러 가지 상업용 cellulase와 pectinase를 검토한 결과 hemicellulase와 pectinase로 구성되어 있는 Rapidase liq(+)가 최적의 효소로 선정되었다. E/S ratio와 반응시간에 대한 불용성 고형분의 입자크기와 점도의 변화를 측정하고 반응시간에 따른 마늘풍미(diallyl sulfide, diallyl disulfide)의 발현정도를 분석한 결과, E/S ratio 0.5%, 반응시간 3시간일 때가 최적조건이었고 65brix까지 진공농축한 후의 점도는 5,000cps(25℃)였다. 한편, 효소분해 추출물 제조과정중에 발생하는 마늘박을 이용한 올레오레진 제조를 위해 건조방법과 추출용매에 따른 풍미 및 수율을 조사한 결과, 진공건조한 시료를 95% EtOH로 추출했을 때가 가장 양호하여 용매량 및 추출시간을 변수로 하여 반응표면분석법에 의하여 추출조건을 최적화한 결과, 추출시간은 7시간 10분, 용매비는 8.51배가 최적이었다. 고추 엑기스 제조를 위한 추출조건은 95% EtOH 단일용매로 수율, 색도, capsaicinoids가 최대값을 보이는 조건을 최적조건으로 선정한 결과, 용매량 14배, 추출시간 8.5시간이었다.

최적화된 마늘 및 고추풍미를 미세캡슐화하기 위하여 피복물질(wall material), 유화공정 및 분무건조공정을 최적화하고자 하였다. 풍미를 지닌 활성물질(core material)로는 효소분해 엑기스(extract)와 올레오레진(oleoresin)을 4:1로 혼합, 균질화한 것을 이용하였고 고추풍미를 지닌 활성물질로는 95% EtOH 추출, 농축물을 이용하였다. 가장 널리 사용되는 미세캡슐용 피복물질인 아라비아검과 변성전분을 100:0, 83:17, 65:35, 50:50, 35:65, 17:83, 0:100으로 혼합하고 28% 수용액을 제조한 후 활성물질을 7% 투입하여 10,000rpm에서 10분간 homomixing한 다음 2,500psi에서 1회 homogenizing하여 35% 유화액을 제조하고 surface DADS(Diallyl disulfide) 및 surface capsaicinoids를 조사한 결과, 마늘풍미는 아라비아검 100%, 고추풍미는 변성전분 100%일 때 최소값을 보였다. 최적 유화압을 선정하기 위해 1,000-10,000psi에서 유화액을 제조한 결과, 유화압이 6,000psi까지 증가함에 따라

surface DADS이 감소하였고 surface capsaicinoids는 5,000psi일 때가 최소값을 나타내었다. 최적조건에서 제조된 유화액의 분무건조공정을 최적화하기 위해 송풍온도와 atomizer speed를 변수하여 중심합성법에 의하여 실험구간을 설정하고 제조된 시료의 total DADS함량, total 및 surface capsaicinoids, 평균입자직경, 균일도, flowability 및 floodability를 측정하여 반응표면분석법으로 분석한 결과, 송풍온도 164℃, atomizer speed 9,750rpm일 때가 마늘풍미 미세캡슐화 공정의 최적조건이었고 송풍온도 157.5℃, atomizer speed 11,146rpm가 고추풍미 미세캡슐화 공정의 최적조건으로 선정되었다.

미세캡슐에 TDR, TSR 특성을 부여할 수 있는 2차 코팅물질로 열안정성이 우수한 변성전분 78-0508을 이용한 중량대비 각각 14, 21% 코팅한 분말에 대해 125℃의 온도에서 처리시간에 따른 DADS(Diallyl disulfide) 조절방출 특성을 살펴본 결과, 78-0508 코팅 분말은 전반적으로 방출이 지연되는 효과를 볼 수 있었고 특히 21% 코팅시 60분간 처리해도 DADS의 방출이 억제되는 효과를 보였다. 변성전분 78-0508은 호화개시온도가 85~90℃로 수분이 없는 분말상태에서는 구조적으로 상당히 안정하기 때문에 효과가 있는 것으로 생각되었다. 온도에 의한 DADS 방출특성은 100℃에서는 방출이 일어나지 않았고 125℃, 60분 처리시 변성전분 78-0508의 코팅 정도에 따라 확연한 방출억제 효과를 보였다. 150℃의 온도에서는 전체적으로 방출이 모두 일어났다. 고추풍미 capsaicinoid는 마늘 풍미인 DADS에 비해 열안정성이 우수하여 시간에 따라 방출이 전반적으로 지연되었다. 특히 변성전분 78-0508의 코팅 정도에 따라 시간 및 온도에 의존적으로 풍미 방출이 지연되었다.

마늘, 고추풍미 S/D 미세캡슐과 2차 코팅 미세캡슐(14%, 21%)은 흡습과정에서는 커다란 차이를 보이지 않았으나 탈습시 코팅의 정도에 따라 탈습이 빨리 이루어져 hysteresis(이력현상)이 줄어들었음을 알 수 있었다. 이런 2차 코팅 미세캡슐의 탈습의 용이함은 코팅물질인 변성전분 78-0508의 탈습특성에 기인되는 것으로 코팅 wall인 78-0508의 뛰어난 탈습특성으로 코팅분말은 수분에 대한 안정성을 확보할 수 있었다.

2. 미세캡슐화 공정 디자인 및 최적화

최근 식품의 가공 공정 중에 발생하는 향기성분의 손실을 최소화하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있는 가운데 본 연구에서는 향기성분의 미세캡슐화를 위한 여러 종류의 피복물질과 캡슐화공정을 최적화하는 데 목표를 갖고 수행되었다.

핵물질은 특성이 다른 5종류의 향기성분을 채종유와 1:4의 비율로 혼합하여 flavor model system으로 사용하였다. 예비실험을 통해 핵물질:피복물질의 비율을 1:4로 하였으며, MD함량은 30%로 고정하였다. GA:MS를 2:8~8:2의 비율로 제조하여 유화액에서의 특성을 분석한 결과, GA:MS=4:6에서 유화안정성이 우수하였으며, flavor release가 가장 적었다. 이 비율에 gellan gum을 1~5% 첨가하여 실험한 결과, 4% 첨가한 것이 결과가 가장 우수하였다. 이상의 결과로 MD:GA:MS:gellan gum=30:26.4:39.6:4의 배합비율이 분무건조를 이용한 향기성분의 미세캡슐화를 위한 피복물질의 최적 배합조건이었으며, 이를 앞으로의 실험에서 wall system으로 사용하였다. 유화압력 및 분무건조에 있어서 송풍 온도와 분무 속도를 최적화하는데 목표를 갖고 수행되었다. 분석지표로 유화액의 유화안정성과 flavor release를, 분무건조 분말의 total oil, surface oil, flavor release, 흡습성을 측정하고, SEM에 의해 분말의 형태를 관찰하였다. Wall system을 이용하여 piston-type homogenizer의 압력을 달리하여 실험한 결과 향기성분의 미세캡슐화를 위한 최적 유화압력은 3,000 psi이었다. 분무건조공정에 있어서 송풍 온도와 분무 속도를 독립변수로, total oil retention, surface oil content, flavor release를 종속변수로 반응 표면 분석법을 행한 결과 송풍 온도는 170°C, 분무 속도는 15,000 rpm이 우수한 공정 조건임을 예측 할 수 있었다.

Spray drying에 의해 제조한 캡슐화 분말을 single encapsulated powder로 하고, 이것을 fluidized bed processing에 의해 2차 fat coating한 분말을 double encapsulated powder를 제조하여 특성을 분석한 결과, double encapsulated powder에서 분말입자 크기가 증가하였으며, 흡습성이 감소하여 수분에 보다 안정함을 알 수 있었다. 산화안정성 실험 결과, double encapsulated powder에서 limonene의 산화물질인 limonene-1,2-epoxide가 늦게 측정되었으며, 산화물질의 양도 적었다.

β CD-flavor complex제조시의 최적조건을 실험한 결과, flavor: β CD=1:10의 비율에서 total oil retention이 가장 높았으며, surface oil content와 flavor release정도가 가장 적어서 최적의 배합비율임을 확인할 수 있었다. 건조조건은 freeze dryer에서 3시간 건조시에 가장 이상적인 분말을 얻을 수 있었다. 이와 같이 제조한 β CD-flavor complex의 특성을 분석한 결과, 흡습성이 매우 낮았으며 산화안정성 실험에서도 저장 20주까지도 산화물질이 측정되지 않아 매우 안정한 캡슐임을 알 수 있었다.

향기성분의 캡슐화를 위해 coacervation 공정조건을 최적화한 결과, coacervation 형성시간은 7시간, pH 3.16, gelatin: κ -carrageenan=1:1.2, total solid concentration은 6%에서

coacervate yield가 가장 높았다.

최적화한 여러 피복물질과 공정방법을 이용하여 조절방출실험을 실시하였다. Wall system으로 제조한 캡슐화한 분말과 β CD-flavor complex를 이용하여 TDR 및 MAR을 측정하였다. TDR 측정 결과, wall system에서는 향기성분이 저장 기간동안 지속적으로 release되었으며, 반면에 β CD에서는 저장동안 release정도가 매우 낮았다. 온도를 달리한 증류수에서 MAR을 측정한 결과, wall system에서는 시료간에 큰 차이를 보이지 않은 반면, β CD에서는 증류수의 온도가 증가할수록 flavor release정도가 서서히 증가하였으며, 100°C에서 급격히 증가하였다.

Single encapsulated powder를 녹는점이 다른 2종류의 fat-hydrogenated palm kernel oil (M.P. 47.3°C), hydrogenated rapeseed oil (M.P. 62.5°C)-을 이용하여 2차 coating한 분말을 각각의 coating물질보다 높은 온도와 낮은 온도에서 incubation한 후, TSR 및 MAR을 측정한 결과, 녹는점보다 높은 온도에서 flavor release가 급격히 증가하였다.

pH를 1~9로 조절하여 PSR을 측정한 결과, 중성 범위 (pH 7)에서 향기성분의 release가 가장 큰 반면, 캡슐이 제조된 pH 3에서는 향기성분의 release가 가장 적어 wall material 간에 결합력이 가장 우수한 것을 확인할 수 있었다.

3. 농산물 유래 생체방어물질의 특수용도 신소재화 기술

호기성 생물체의 경우, 산소를 이용한 호흡대사과정을 통해 생체내에 필요한 에너지를 생산한다. 호흡대사과정에서 대부분의 산소는 산화적 인산화과정을 통해 정상적으로 환원되고 있으나, 일정량의 산소는 계속적으로 반응성이 높은 활성산소종으로 전이되고 있고, 활성산소종은 세포내 성분의 산화적 손상 및 DNA 변이 등을 통해 세포의 항상성을 파괴하여 수많은 퇴행성질환들의 발병 및 노화 현상의 촉진 등에 깊은 연관이 있는 것으로 밝혀지고 있다. 또한 활성산소종은 이러한 호흡대사과정 이외에도 식세포의 식균작용, 세포내 다양한 산화효소 등의 정상적 물질대사과정에서도 생성되어 생체기능성분의 손상을 초래하게 된다.

이러한 '산소독성'을 제거하기 위하여 생물체는 오랜 진화과정을 통해 효소 및 저분자물질 등을 통한 방어체계를 구축하여 왔지만, 여러 가지 원인을 통해 활성산소종이 과잉생산되었을 경우 상기의 방어체계로는 신속한 대응능력이 떨어져 이로 인한 수많은 질병이 유

발되고 있어, 활성산소종의 독성을 제거하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

본과제에서는 활성산소종에 대한 방어체계의 일환으로, 생체내 활성산소종 제거효소의 중추적 역할을 담당하는 superoxide dismutase (SOD)를 선정하여 그 함량이 높은 것으로 보고된 보리로부터 SOD를 분리,정제하였으며 발에서 자라는 보리의 수확한계성을 극복하기 위하여 연중수확이 가능한 보리의 수경재배조건을 확립하여 SOD 생산의 최적조건을 마련하였다. 한편 SOD의 효소적특성인 안정성이 낮은 문제를 극복하기 위해 일차적으로는 미세캡슐화 기술을 이용하여 SOD의 안정성과 효용성을 극대화 시키고자 하였고, 이차적으로는 SOD의 단점의 극복을 위한 저분자 SOD 유사물질의 탐색과 개발을 동시에 수행하였다.

이러한 목적을 위하여, SOD와 SOD 유사물질을 미세캡슐화기술을 이용해 복합제재화했을 때 '21세기의 보약'으로 이용될 수 있는 가능성을 확인하고자 하였으며, 이를 통해 식품첨가물, 또는 고순도 의료용제재로 이용가능한 소재를 개발하고 이의 delivery system을 확립하고자 하였다.

4. ω -3 계 고도불포화지방산의 미세캡슐화 기술개발

현재 우리 나라는 사회적으로 노인인구와 성인병의 증가로 고혈압, 뇌졸중 등이 국민의 주요 사망원인으로 대두되고 있으며, 국민들의 생활수준 향상으로 건강관리에 대한 관심이 고조되고 있는 바, 성인병 예방 및 체내 cholesterol 함량의 강하작용이 우수한 ω -3계 고도불포화 지방산의 효율적인 섭취가 절실히 요구되고 있다. 따라서 이러한 기대에 부응하기 위하여 미세캡슐화된 ω -3계 고도불포화 지방산을 용이하게 섭취하므로써 각종 성인병 치료를 위한 국민의 의료비 경감을 가능케 하며, 고 부가가치 식품소재 또는 기능성 식품의 개발로 식품, 농업, 의약 등 관련산업의 수출화를 통하여 산업발전에도 기여 가능한 중요성을 띠고있다.

한편, ω 3계 고도불포화지방산은 불포화도가 높기 때문에 쉽게 산화되어 직접적으로 식품에 적용하기 어려운 점이 있다. 이를 극복하기 위하여 수화시킨 agar와 waxy corn starch를 피복물질로 하고 DHA(docosahexaenoic acid, C_{22:6}, ω 3) 다량 함유한 정제어유를 중심물질로 하여 미세캡슐화 시킴으로써 안정성이 증가된 미세캡슐 물질을 만들고자 하였다. 이때 캡슐화 조건을 최적화하기 위하여 각 물질들의 비율, 유화제의 농도 및 분산매의 온

도를 반응표면분석법을 이용하여 최적화 하였으며, 이러한 최적 조건에서 생산된 미세캡슐 물질의 온도별 저장 안정성 및 pH 안정성을 측정하였다. 또한 산업화 가능성을 탐색하고자 실험실에서의 미세캡슐화 제조 공정과 scale up에 의한 대량 생산 공정을 비교 검토하였다.

본 연구결과, 안정한 유화액의 제조를 위한 최적조건은 각각 [중심물질] : [피복물질]의 비율 = 6 : 4(w:w), 유화제의 조성 및 농도 = polyglycerol polyricinoleate(0.25%) + sorbitan monolaurate(0.25%) 이었으며 이러한 최적조건하에서는 유화안정지수(ESI)가 6 5℃에서도 2시간 동안 100%로 매우 안정한 유화계를 형성하는 것으로 판단되었다. 또한 이상의 안정한 유화액을 이용하여 최적 미세캡슐화 조건을 확립한 결과, [중심물질] : [피복물질]의 비율 = 4.9 : 5.1(w:w), 유화제 = sorbitan monolaurate (0.5%), 피복물질의 조성 = agar(0.5%)+waxy corn starch(0.25%), 최적 분산매의 온도 = 19.4℃로 결정되었으며 이때의 미세캡슐화 수율은 99.91%로 높은 생산성을 갖는 미세캡슐을 구득할 수 있었다. 마지막으로

제조된 미세캡슐의 저장안정성과 대량생산을 위한 scale up simulation에 의한 결과, DHA 미세캡슐의 최적 저장 온도 = 20~25℃, 최적 저장 pH = 7.0이었으며 25℃에서 1주일간 저장하여도 90%이상 신선한 미세캡슐상태로 존재함을 알 수 있었다. 또한, scale up factor를 고려하여 대량생산(100배까지 확대하여 자동화공정을 수행하였음)을 한 결과 실험실에서의 결과와 유사함을 확인하였다.

결론적으로, 본 연구에 의해 ω3계 고도불포화 지방산인 DHA(혹은 EPA)를 함유하는 미세캡슐을 효과적으로 생산할 수 있었으며, 이러한 microencapsulation 기술에 의해 만들어진 미세캡슐 물질들은 새로운 종류의 운반수단인 약물 방출을 조절하는 분야에 사용되어질 수 있을 것이다.

5. 향신료 미세캡슐의 성분분석 및 안정성 증대

미세캡슐화된 고추올레오레진을 사용하여 올레오레진을 파괴하지 않고, wall material를 제거함으로써 올레오레진 중의 capsaicinoids 함량을 측정하는 방법을 확립하였다. 미세캡슐을 용해할 수 있는 용매로서 dimethylsulfoxide (DMSO)를 선발하였으며, oleoresin의 용해와 wall material의 침전에 ethanol을 이용하였다. 고추올레오레진 중의 total capsaicinoids의 함량은 HPLC를 사용하여 분석하였다. Wall material의 최적 용해 및 추

출 조건을 다음과 같이 확립하였다. DMSO사용량에 대한 미세캡슐의 사용량이 7.5~10%(w/v)가 최적이었으며 DMSO 첨가 후 55℃, 30분의 가열처리가 wall materials를 용해시키기 위한 최적조건임을 알 수 있었다. DMSO 사용량의 8배 이상의 에탄올을 첨가하였을 때 완벽한 추출이 되었다. Ethanol 첨가 후 40Hz에서 3분 이상의 혼합으로 capsaicinoids 함량은 일정한 값을 보여주었고, 21000rpm의 회전속도에서 15분 이상의 원심분리로 capsaicinoids 함량은 일정수준의 capsaicinoids 함량을 나타내었다. Ethanol로 2회 추출하였을 때 미세캡슐 중의 capsaicinoids가 완벽하게 추출되었다.

Oleoresin capsicum을 미세캡슐화하여 고추올레오레진의 색도와 매운맛의 저장안정성에 미치는 영향을 비교하였다. 고추올레오레진 미세캡슐의 wall material (gum arabic:modified starch)을 100:0(w/w), 50:50(w/w), 0:100(w/w)의 세 가지 조성으로 달리하여 각각 시료 A, B, C를 제조하였다. 시료 B가 가장 안정한 wall material로 확인되었으며 45℃에서 저장된 시료 B의 total capsaicinoids의 파괴속도상수(k)와 반감기(half life)는 각각 $0.015(\text{week}^{-1})$, 46.2(week)로 나타났으며, carotenoids는 각각 $0.034(\text{week}^{-1})$, 20.4(week)로 평가되어 다른 조성의 시료 A, C에 비하여 안정하였다. 고추 올레오레진의 total capsaicinoids 및 carotenoids의 반감기는 45℃에서 33.0(week) 및 12.4(week)로 확인되었다.

미세캡슐화된 고추올레오레진 및 고추올레오레진의 색도변화를 조사한 결과, 두가지 모두 Hunter scale에 의한 L, a, b값의 변화는 온도가 높아질수록 L값은 증가하였으나 a 및 b값은 감소하였으며, 고추올레오레진의 변화량 보다 매우 적은 변화량을 나타내었다.

Carotenoids 잔존률에 대한 미세캡슐시료들의 색도변화(L, a, b)를 조사한 결과 미세캡슐 표면의 색도변화는 고추올레오레진의 색도변화와 비슷하였으며 미세캡슐시료들의 색도 변화 보다 큰 변화를 보여주어서 미세캡슐화로 색도의 안정성이 향상되었다. 미세캡슐시료 B를 25℃, 35℃, 45℃의 온도에서 각각 11%, 32%로 상대습도를 유지하여 저장한 결과 습도가 높을수록 total 및 surface capsaicinoids의 함량은 낮게 분석되었고 capsaicinoids가 carotenoids 보다는 잔존률이 높게 나타났다. 저장온도가 높아질수록 이러한 증감변화의 폭이 커지는 경향을 보여주었다.

Gum arabic과 변성전분의 비율을 50:50(w/w)으로 한 wall material을 사용하였을 때 core와 wall material의 사용비율을 8:92(w/w), 10:90(w/w), 12:88(w/w)의 세 가지로 달리하여 각각 시료 D, E, F를 제조하였다. Capsaicinoid와 carotenoid의 저장안정성을 비교하

였을 때 wall의 사용비율이 가장 높은 시료 D가 가장 안정한 wall material로 확인되었으며 45℃에서 저장된 시료 D의 total capsaicinoids의 파괴속도상수(k)와 반감기(half life)는 각각 0.017(week⁻¹), 40.8(week)로 나타났으며, total carotenoids는 각각 0.055(week⁻¹), 12.6(week)로 평가되어 시료 E, F에 비하여 안정하였다. 분말시료의 경우 시료 E (10:90,w/w)가 외관색도의 변화가 가장 적었으나 시료D와의 차이는 거의 없었고 미세캡슐 내부의 올레오레진의 색도는 시료 D(8:92, w/w)에서 가장 안정하여서 시료 D의 미세캡슐이 가장 안정성이 우수하였다.

SUMMARY

To prepare garlic flavor materials, firstly the enzymatic technique was applied to extraction after crushing and pulperizing. Several commercial cellulases and pectinases were tested to select for the proper process. Rapidase liq(+) which was a mixture of hemicelluase and pectinase was selected as the best enzyme suitable for the purpose to convert insoluble particles into soluble or dispersible and reduce its viscosity at high concentration (approx. 65 Brix). After then, the enzymatic reaction conditions were determined as E/S ratio of 0.5% and reaction time of 3 hrs at 50°C considering particle sizes, viscosities and representative garlic flavor components (diallyl disulfide and diallyl sulfide). The final viscosity was around 5,000cps at 25°C after vacuum evaporation to 65Brix. Whereas, to prepare garlic oleoresin from the residue of pulperizing, some kinds of drying methods and solvents were evaluated in aspects of flavor characteristics and yields. As results, vacuum drying and 95% EtOH were selected to prepare the oleoresin from the residue, and then Response Surface Method (RSM) was performed to optimize the extraction conditions considering the solvent amount and extraction time. The optimum was 8.51-fold (w/w) of dried residue and 7.1 hrs.

In case of red pepper flavor materials, we tested same procedure to be done for garlic oleoresin. As results, the proper solvent was 95% EtOH and optimum conditions were 14-fold of dried red pepper and 8.5 hrs.

To prepare the garlic and red pepper flavor microcapsules by spray drying, we optimized wall materials, emulsifying conditions and spray drying conditions. The mixture of garlic enzymatic extract and garlic residue extract by 95% EtOH as ratio of 4 : 1 was used as the core for the garlic microcapsule, and the red pepper extract by 95% EtOH was used for the red pepper microcapsule. The wall materials were optimized to 100% gum arabic for garlic flavor and the wall : core ratio of 4 : 1, whereas, 100% modified starch and ratio of 3 : 1 for red pepper's. The optimum homogenizing pressures were 6,000 psi for garlic's and 5,000 psi for red pepper's respectively by assay of surface DADS, capsaicinoids. To optimize spray drying conditions, we designed the experimental conditions on two factor as atomizer speed

and inlet temperature of spray dryer by Response Surface Method(RSM). And we determined several factors as total DADS, total capsaicinoids, surface capsaicinoids, uniformity, particle size, flowability and floodability, and modified by SAS program, Optimum conditions of garlic flavor microcapsule were inlet temperature of 164°C and atomizer speed of 9,750 rpm, whereas red pepper's conditions were inlet temperature of 157.5°C, atomizer speed of 11,146 rpm. The microcapsules prepared at optimum conditions were tested on their flavor release properties, and were coated secondarily by fluidized bed dryer with a modified starch(78-0508) for control of flavor release. As microcapsules were coated, they released DADS(garlic flavor) and capsaicinoids(red pepper flavor) depending on time and temperature. We, therefore, added the ability of controlling of flavor release to microcapsules by 2nd coating. Microcapsules and their 2nd coated products were studied on moisture absorption and desorption properties by dynamic vapor system(DVS-1). That proved that 2nd coated products had been improved in aspect of desorption ability by coating with the modified starch(78-0508) and it was thought to be due to the desorption property of 2nd coating wall material. Conclusively, 2nd coated microcapsules were able to release their flavor under control of time and temperature and had the stability against water in industrial processes by 2nd coating.

Five fruit flavor compounds having boiling point of 90~200°C were selected as core materials and their mixture was incorporated with rapeseed oil (flavor mixture to oil=1:4). Flavor compound mixture to wall material ratio of 1:4 was selected, and the amount of maltodextrin was fixed to 30% of the wall material mixture. Gellan gum was selected as an additional wall material to increase emulsion stability. The optimum combination ratio of the wall material mixture for maximal total oil retention and minimal surface oil content is: 30.0% MD; 26.4% GA; 39.6% MS; 4% gellan gum.

Using the wall system selected, emulsion process for microencapsulation was optimized on the change of the pressure of piston-type homogenizer. Emulsification pressure of 34.5 MPa was found to be the most suitable for preparing flavor emulsion. Effects of drying temperature and atomizer speed of the spray drier on total oil, surface

oil, and flavor release of the flavor powder were investigated using response surface methodology. The optimum spray drying conditions for minimal surface oil and flavor release and maximum total oil were 170°C inlet temperature and 15,000 rpm atomizer speed. Single encapsulated powder was coated with hydrogenated palm kernel oil in fluid bed granulator. Double encapsulated powder had a larger particle size and a lower moisture uptake, and was more stable against oxidation. The optimum combination ratio for β CD-flavor complex was 1:10 of flavor and β CD. β CD-flavor complex was very stable against oxidation and humidity compared to flavor microcapsule prepared with wall system. As coacervation process for flavor encapsulation was optimized, maximum coacervated yield was obtained at 7 hrs of coacervation time, gelatin and κ -carrageenan ratio of 1:1.2, pH 3.16 and 6% solid concentration.

Controlled release from flavor encapsulated powder prepared using several wall materials and encapsulation technique was carried out. Time-dependent release (TDR) and melting-activated release (MAR) from flavor microcapsule prepared with wall system and β CD-flavor complex were observed. In the results of TDR, flavor from wall system was continuously released during storage period. As flavor encapsulated powders were dissolved in distilled water at different temperature, MAR was observed. Flavor release from wall system was not greatly affected by the temperature of water, otherwise flavor release from β CD was increased as temperature increased. Flavor release from double encapsulated powder ranged from 45 to 55% when incubation temperature did not exceed the melting point of coating fat, but increased to 65~85% when incubation temperature exceeded the melting point of coating fat. As PSR was observed at various pH range, flavor was greatly released at pH 7.

In aerobic organisms, reactive oxygen species (ROS) are continually produced from molecular oxygen through enzymatic and non-enzymatic reactions. These reactive oxygen species are highly reactive and have been implicated in numerous pathological process of many degenerative diseases. The evolutionary survival process has provided aerobic organisms with well-balanced mechanisms to neutralize the oxidative effects of oxygen and its reactive metabolites. Although, reactive oxygen species cause extensive

damage to DNA, proteins, lipids and have been implicated in pathophysiology under conditions in which their levels are elevated for extended periods of time. Exposure to redox cycling xenobiotics, tissue reperfusion and inflammatory conditions are notable examples of conditions that produce ROS-dependent injury.

In many of these instances, elevation of intracellular SOD enzymes, which catalyze the dismutation of superoxide, have been shown to attenuate injury responses. So, we adopted superoxide dismutase as a defense system and prepared from barley. As the harvesting season of the barley was limited, we used hyponex cultivation for producing SOD and established a optimum conditions for growth. However, SOD enzyme treatment has shown some limitations, such as impermeability to cell membrane, and short half-life. To circumvent these problem, we developed liposome-mediated delivery of SOD and searched membrane-permeable SOD mimics possessing superoxide dismutase like activity. We evaluated the ability of chlorophyll derivatives to scavenge reactive oxygen species. In the result, we suggested liposome-capsulated SOD and SOD mimics could be used as functionalized-food additives and pharmaceutical agents.

In recent, the number of adult people who have been suffering from hypertension and/or apoplexy has been increasing. And they have been appeared as the major causes of geriatric diseases. To overcome these problems we had better take some kinds of seafoods containing polyunsaturated fatty acid because of the high ability of reducing the pressure and the amount of cholesterol in blood. However, the ω 3 polyunsaturated fatty acid has detrimental disadvantages of unstability against the oxidation and deterioration from environmental conditions. To solve these problems, it is necessary to provide microcapsule containing ω 3 polyunsaturated fatty acid under the optimal conditions of microencapsulation process. Therefore, microencapsulation technology can be applied to food and pharmaceutical industries and develop new kinds of food materials and foodstuffs.

At first, we have tried to establish the optimal conditions for the stable emulsion which was composed of DHA(docosahexaenoic acid, C_{22:6}) as a core material and [waxy corn starch+agar] as a wall material. And secondly, we have succeeded to form the

most stable microcapsule containing DHA from seafoods. In other words, the optimal conditions for the formation of microcapsule using extrusion technology were able to be determined by response surface methodology. Finally, we have measured the thermal stability and pH stability of the microcapsule obtained from above technique. And we could find out the high applicability of the microencapsulation technique to food industry by the help of statistical work of scale up.

By these concepts and strategies, we could get results for the preparation of stable emulsion and microcapsule containing DHA oil.

The results are as follows,

[I] Results for the stable emulsion:

[Core material] : [Wall material] = 6 : 4(w : w)

Emulsifier : Polyglycerol polyricinoleate(0.25%) + Sorbitan monolaurate (0.25%)

Temperature : 65°C

Emulsion stability index: 100% at 2 hrs of storage temperature of 65°C

[II] Results for the stable microcapsule:

[Core material] : [Wall material] = 4.9 : 5.1 (w : w)

Emulsifier : Sorbitan monolaurate (0.5%)

Wall material : Agar(0.5%) + Waxy corn starch(0.25%)

Optimum temperature of dispersion fluid : 19.4°C

Yield of microencapsulation : 99.91%

[III] Results for storage stability and scale up:

Optimum temperature for the long shelf-life time : 20~25°C

Optimum pH for the long shelf-life time : pH 7.0

Scale up factors do not affect to microencapsulation yield

Conclusively, we can produce effectively the microcapsule containing ω 3 polyunsaturated fatty acid (e.g. DHA and/or EPA). And this technology will be a good tool for enhancing and improving the quality of food materials and the microcapsule made by this microencapsulation technique can be used to the field of drug delivering system as the new kind of transporting tool.

Red pepper oleoresin is an alternative process to minimize lowering in the quality of red pepper during storage, to improve the original flavor and taste, and to provide different functionality in a variety of foods. However, most liquid oleoresin are chemically unstable in the presence of oxygen, light, moisture, and heat. The microencapsulation of red pepper oleoresin can be expected to give a convenience in handling, and the further extension of shelf life. This study was performed to investigate on the quality stability during storage of microcapsule of red pepper oleoresin powder.

A precise and accurate method for the quantitative determination of capsaicinoids in microcapsule has been developed. Among seventeen solvents used for solubilizing wall material (gum arabic and modified starch), of microcapsule dimethylsulfoxide (DMSO) was selected as a optimal solvent. The extracting conditions of oleoresin from microcapsule were studied. The most appropriate mixing ratio of microcapsule to DMSO, carrier solubilizing-temperatures and times, mixing ratio of ethanol to DMSO, vortexing time, and centrifugation conditions were 1 to 10(w/v), 55C for 30min, 8 to 1, 5 min at 40Hz, and 21000 rpm for 15 min, respectively. The precipitant was reextracted. The extracted supernatants were combined. and adjusted to final volume of 25ml. Extracted solutions were analyzed for quantitation of total capsaicinoids by employing HPLC and for quantitation of total carotenoids by spectrophotometric method. This method was used to monitor thermal stability and quality change of capsaicinoid ad carotenoids during storage of red pepper oleoresin microcapsule powder were studied.

Three combination of two wall materials (gum arabic and modified starch) such as 100:0(w/w), 50:50(w/w), 0:100(w/w) have been tried of which the combination of gave the best storage stability. Degradation of capsaicinoids and carotenoids during storage of microcapsule at temperatures ranging from 45C to 105C followed first order kinetics. Capsaicinoids in both control(oleoresin) and microcapsulated oleoresin and was comparatively stable upon heat treatment than carotenoids. The combination of 50:50(w/w) was superior to the other combinations in improving retention of carotenoids and capsaicinoids. Carotenoids and capsaicinoids in red pepper oleoresins encapsulated

with a combination of 50:50(w/w) had a predicted half life of 20.4 weeks and 46.2 weeks at 45C compared to 12.4 weeks and 33.0 weeks for oleoresin alone, respectively. Encapsulation of oleoresin with a wall composition of gum arabic and modified starch (50:50, w/w) increased half life of carotenoids and capsaicinoids 2.2 to 2.5 times and 1.4 to 3.2 times over the control depending on the incubation temperature used. And the degree of extention is increased with increase of storage temperature. Heat induced color deterioration in oleoresin and red pepper oleoresin microcapsule was studied. Based on comparison between the magnitudes of L-Lo, a-ao, b-bo, apparent color deterioration of microcapsules during storage appeared to mainly come from the decrease in 'a'.

Stability of microcapsule (gum arabic and modified starch= 50:50, w/w) was studied at 11% and 32% RH and 25C, 35C, 45C. The rate of carotenoid oxidation and capsaicinoid degradation was faster at high temperatures. And 32% RH slightly accelerated carotenoid oxidation and capsaicinoid degradation during the three weeks of storage compared to 11% at investigated temperatures.

Red pepper oleoresin microcapsule with a combination of gum arabic and modified starch in the ratio of 50 to 50(w/w) was selected for further evaluation of effects of carrier level. Microcapsules with three combination of carrier level, the ratio of core oleoresin to wall material, such as 8:92(w/w), 10:90(w/w), 12:88(w/w) have been prepared. As the proportion of carrier increased, the amount of surface capsaicinoids decreased. The highest storage stability was obtained in the microcapsule with a highest carrier level, 8:92(w/w). Carotenoids and capsaicinoids in red pepper oleoresins encapsulated with a carrier level of 8:92(w/w) had a predicted half life of 40.8 weeks and 12.6 weeks at 45C, respectively. The use of high percentage of wall material to core did not increase color loss.

CONTENTS

SUMMARY

Chapter 1. Introduction

Chapter 2. Development of garlic and red pepper flavor microcapsules having new properites

I . Materials and methods	50
1. Garlic and red pepper extracts	50
1) Garlic extract	50
2) Red pepper extract	51
2. Garlic and red pepper flavor microcapsules	51
1) Core and wall material	52
2) Emulsion	52
3) DADS analysis	52
4) Capsaicinoids analysis	52
5) Particle size analysis	53
6) Powder characteristics analysis	53
5) Spray drying condition	53
3. TDR/TSR microcapsule by 2nd coating	54
1) 2nd coating	54
2) Flavor release property analysis	54
(1) DADS release analysis	54
(2) Capsaicinoids release analysis	55
(3) Absorption/desorption property analysis by DVS	55

(4) Image analysis	55
II. Results and discussion	57
1. Garlic and red pepper extract	57
1) Garlic extract by enzymatic reaction	57
2) Garlic oleoresin by solvent extraction	60
3) Red pepper extract by solvent extraction	61
2. Garlic and red pepper flavor microcapsule	62
1) Garlic flavor microcapsule	62
(1) Wall material optimization	62
(2) Homogenizing pressure optimization	62
(3) Spray drying process optimization	62
(4) Flavor release property	64
2) Red pepper flavor microcapsule	66
(1) Wall material optimization	66
(2) Homogenizing pressure optimization	66
(3) Spray drying process optimization	66
3. TDR/TSR microcapsule by 2nd coating	68
1) 2nd coating wall	68
2) Properties of 2nd coated garlic flavor microcapsule	69
(1) TDR/TSR property	69
(2) Image analysis and sorption/desorption property	69
3) Properties of 2nd coated red pepper flavor microcapsule	70
(1) TDR/TSR property	70
(2) Image analysis and sorption/desorption property	70

Chapter 3. Design and optimization of microencapsulation processes.

I. Materials and methods	72
1. Flavor model system	72
2. Wall material	72
3. Mixture ratio of wall material	72
4. Wall materials for controlled release	73
5. Optimization of homogenization pressure	73
6. Optimization of spray drying process	74
7. Optimization of fluidized bed process for fat coating	74
8. Optimization of β CD complexation process	74
9. Optimization of Coacervation process	75
10. Analytical methods	75
11. Time-dependent release	79
12. Temperature-sensitive release	79
13. pH-sensitive release	79
14. Melting-activated release	79
II. Results and discussion	81
1. Flavor model system	81
2. Characteristics and optimal combination ratio of wall material	81
3. Optimization of homogenization pressure	82
4. Optimization of spray drying process	83
5. Optimization of molecular inclusion process using β -cyclodextrin	83
6. Analytical method for oxidation stability	84
7. Comparison of characteristics flavor encapsulated powders	84
8. Optimization of Coacervation process	85
9. Time-dependent release	86

10. Temperature-sensitive release	86
11. pH-sensitive release	86
12. Melting-activated release	87

Chapter 4. The specialized technology of biodefensive materials from agricultural products

I. Materials and methods	88
1. Purification of superoxide dismutase from barley	88
1) Materials	88
2) Determination of enzyme activity	88
3) Purification of SOD	88
4) Enzymatic properties of SOD	88
2. Cultivation of barley in hyponex system	90
1) Optimum condition in hyponex cultivation	90
2) Composition of the medium	90
3. Characterization of SOD mimics	90
1) Determination of SOD-like activity	90
2) Determination of hydroxyl radical scavenging activity	91
3) Determination of peroxynitrite scavenging activity	91
4) Inhibitory effect of lipid peroxidation	91
5) Protective effect on plasmid DNA from hydroxyl radical	91
6) Protective effect on mammalian cell from paraquat	92
4. Condition of liposome production	92
1) Liposome production by ethanol injection	92
2) Scanning electron microscope (SEM)	92
3) Gel filtration	92

4) Stability of liposome	93
II. Results and discussion	94
1. Purification and characterization of SOD	94
1) Optimization of SOD activity	94
2) Preparation of SOD from barley	94
3) Determination of molecular weight	94
4) Determination of stability	94
5) Effect of specific inhibitors	95
2. Cultivation of barley in hyponex system and purification of SOD	95
1) Optimization of the hyponex cultivation	95
2) The changes in the SOD activity during seeding development	95
3) The changes in the SOD activity to harvesting time	95
3. Development of low molecular weight SOD mimics	95
1) Selection of SOD mimics	96
2) Scavenging activity of superoxide radical	96
3) Scavenging activity of hydroxyl radical	96
4) Scavenging activity of peroxynitrite	96
5) Inhibitory effect of lipid peroxidation	97
6) Protective effect on plasmid DNA	97
7) Protective effect on mammalian cell in oxidative stress	97
4. Microencapsulation of SOD and SOD mimics	98
1) Composition of liposome	98
2) Optimization of liposomal SOD production	98
3) Encapsulation of SOD mimics	98
4) Stability of liposomes	99

Chapter 5. Studies on microencapsulation of ω -3 polyunsaturated fatty acid.

I. Materials and methods100

1. Determination of emulsifier and establishment of stable emulsion by the Emulsion Stability Index(ESI) 101
2. Determination of the optimal composition of wall material 101
3. Microencapsulation process 101
4. Experimental design by Response Surface Methodology 102
5. Optimization of microencapsulation by RSM 102
6. Thermal and pH stability of microcapsule 103
7. Determination of scale up factors 103
8. Preparation of pre-model for the automatic process 103
9. Investigation for the production of double-walled microcapsule 103

II. Results and discussion 105

1. Determination of emulsifier and establishment of stable emulsion by the Emulsion Stability Index(ESI) 105
2. Determination of the optimal composition of wall material 106
3. Preparation of the methodology for the determination of microencapsulation yield 106
4. Optimization of microencapsulation conditions by Response Surface Methodology 107
5. Thermal and pH stability of microcapsule during the storage 108
6. Determination of scale up factors 108
7. Preparation of pre-model for the automatic process 109
8. Investigation for the production of double-walled microcapsule 109

Chapter. 6 Analysis of core materials in spice microcapsule and its stability

I. Materials and Method

1. Materials	111
2. Storage study of microcapsule of red pepper oleoresin and red pepper oleoresin	111
3. Control of water activity	112
4. Extraction of total red pepper-oleoresin from microcapsule	112
5. Extraction of surface red pepper-oleoresin from microcapsule	112
6. HPLC analysis of capsaicinoids in red pepper oleoresin	113
7. Quantitation of carotenoids	113
8. Measurement color values	113
9. Water sorption isotherm of microcapsule of red pepper oleoresin	114

II. Result and discussion

1. The analysis of composition of microcapsule of red pepper oleoresin	115
2. HPLC analysis of capsaicinoids	115
3. Development of method for solubilizing wall material of microcapsule	115
1) Selection of proper solvent	115
2) Effect of ratio of microcapsule to DMSO	116
3) Effect of heat treatment	116
4) Effect of addition volume of DMSO	117
5) Effect of ethanol concentration	117
6) Effect of vortexing time	118
7) Effect of centrifugation	118
8) Effect of addition volume of ethanol	118
4. Storage stability of red pepper oleoresin	120
5. Storage stability of carotenoids in microcapsule of red pepper oleoresin	121

6. Storage stability of color values of microcapsule of red pepper oleoresin	121
7. Storage stability of capsaicinoids in microcapsule of red pepper oleoresin	123
8. The effect of composition of wall material on storage stability of microcapsules	123
9. The effect of water activity on storage stability of microcapsules	125
10. The effect of carrier level on storage stability of microcapsules	126

목 차

제 1 장. 서론

제 2 장. 농수산물 원료로부터 미세캡슐화 기술을 이 용한 신기능성 식품소재 및 공정개발

1절 연구수행방법	50
1. 마늘 및 고추 추출물 제조	50
1) 마늘추출물	51
2) 고추추출물	51
2. 마늘풍미, 고추풍미 미세캡슐 제조	51
1) Core 및 wall material	52
2) 유화물 제조	52
3) DADS 분석	52
4) Capsaicinoids 분석	52
5) Particle size 분석	53
6) 분체물성 분석	53
7) Spray drying 조건선정 및 최적화	53
3. 2차 코팅을 이용한 TDR/TSR 미세캡슐 제조	54
1) 2차 코팅	54
2) 풍미방출특성 분석	54
(1) DADS 방출특성 분석	54
(2) Capsaicinoids 방출특성 분석	55
(3) DVS를 이용한 흡습/탈습특성 분석	55
(4) Image analysis	55

2절 연구수행결과	57
1. 마늘 및 고추 추출물 제조	57
1) 효소분해 마늘추출물 제조	57
2) 마늘 추출물을 이용한 올레오레진 제조	60
3) 고추 추출물 제조	61
2. 마늘풍미, 고추풍미 미세캡슐 제조	62
1) 마늘풍미 미세캡슐 제조	62
(1) Wall material 최적화	62
(2) 유화압 최적화	62
(3) Spray drying 공정 최적화	62
(4) 마늘 미세캡슐의 풍미방출 특성	64
2) 고추풍미 미세캡슐 제조	66
(1) Wall material 최적화	66
(2) 유화압 최적화	66
(3) Spray drying 공정 최적화	66
3. 2차 코팅을 이용한 TDR/TSR 미세캡슐 제조	68
1) 2차 코팅물질 선정 및 코팅	68
2) 마늘풍미 2차 코팅 미세캡슐 특성	69
(1) TDR/TSR 특성	69
(2) Image analysis 및 흡습/탈습특성	69
3) 고추풍미 2차 코팅 미세캡슐 특성	70
(1) TDR/TSR 특성	70
(2) Image analysis 및 흡습/탈습 특성	70

제 3 장. 미세캡슐화 공정 디자인 및 최적화

1절 연구수행방법	72
1. Flavor model system 개발	72

2. Wall material의 특성연구	72
3. Wall material 배합비율 최적화	72
4. 조절 방출실험을 위한 wall material 선정	73
5. 유화압력 조건 최적화	73
6. Spray drying 공정 최적화	74
7. Fat coating을 위한 fluidized bed 공정 확립	74
8. β CD를 이용한 캡슐화 공정 최적화	74
9. Coacervation 공정 최적화	75
10. 제품 평가 방법 확립	75
11. 저장 기간 중의 flavor release 측정 (TDR)	79
12. 온도변화에 따른 flavor release 측정 (TSR)	79
13. pH의 변화에 따른 flavor release 측정 (PSR)	79
14. 녹는 정도에 따른 flavor release 측정 (MAR)	79
2절 연구수행결과	81
1. Flavor model system 개발	81
2. Wall material 특성 분석 및 최적 배합비율 선정	81
3. 유화압력 조건 최적화	82
4. Spray drying 공정 최적화	83
5. β CD-flavor complex 제조조건 확립	83
6. 산화안정성 실험방법 확립	84
7. 분말 특성 비교 및 산화안정성 실험	84
8. Coacervation 공정 최적화	85
9. Time-dependent release (TDR)	86
10. Temperature-sensitive release (TSR)	86
11. pH-sensitive release (PSR)	86
12. Melting activated release (MAR)	87

제 4 장. 농산물 유래 생체방어물질의 특수용도 신소재화 기술

1절 연구수행방법	88
1. 보리로부터의 SOD 분리, 정제	88
1) 실험 재료	88
2) SOD의 활성측정	88
3) SOD의 분리, 정제	88
4) SOD의 특성확인	88
2. 보리의 수경재배	90
1) 수경재배조건	90
2) 수경재배 배양액 조성	90
3. SOD 유사물질의 특성확인	90
1) SOD 활성의 측정	90
2) hydroxyl radical 소거활성의 측정	91
3) Peroxynitrite 소거활성의 측정	91
4) 지질과산화 억제효과	91
5) Hydroxyl radical로부터 plasmid DNA에 대한 보호효과의 측정	91
6) 세포생육보호효과의 확인	92
4. Liposome의 형성조건 및 미세캡슐화	92
1) Liposome의 형성 및 확인	92
2) Scanning electron microscope (SEM)	92
3) Gel filtration	92
4) Liposome의 안정성 확인	93
2절 연구수행결과	94
1. 보리로부터의 SOD 분리, 정제 및 특성확인	94
1) SOD 활성측정의 최적화	94
2) 효소의 분리 및 정제	94

3) 효소의 분자량 측정	94
4) 효소의 안정성	94
5) 저해제에 의한 영향	95
2. 수경재배를 통한 SOD의 분리	95
1) 수경재배조건	95
2) 발생단계별 SOD 활성의 변화	95
3) 수확시기에 따른 활성의 변화	95
3. SOD 유사물질의 탐색 및 확인	95
1) SOD 유사물질의 선정	96
2) Superoxide radical 소거활성	96
3) Hydroxyl radical 소거활성	96
4) Peroxynitrite 소거활성	96
5) 지질과산화 억제효과	97
6) Plasmid DNA에 대한 보호효과	97
7) Oxidative stress에서의 세포생육 보호효과	97
4. 미세캡슐화의 조건설정 및 수행	98
1) Liposome의 조성	98
2) Liposome 최적 형성 조건 및 확인	98
3) SOD 유사물질의 미세캡슐화	98
4) Liposome의 안정성	99

제 5 장. ω -3 계 고도불포화지방산의 미세캡슐화 기술개발

1절 연구수행방법	100
1. 유화안정성 측정에 의한 유화계의 구축 및 유화제의 선정	101
2. 피복물질의 선정 및 혼합 비율의 결정	101
3. 미세캡슐화 방법의 결정	101

4. 반응표면 분석법에 의한 실험설계	102
5. 반응표면분석에 의한 미세캡슐화 조건의 최적화	102
6. 온도 및 pH별 미세캡슐의 저장안정성 실험	103
7. Scale up factor의 결정	103
8. 자동화 공정을 위한 예비모델 제작	103
9. 2중 coating microcapsule 생산을 위한 가능성 조사	103
2절 연구수행결과	105
1. 유화안정성 측정에 의한 최적 유화시스템의 구축 및 유화제의 선정	105
2. 최적 피복물질의 종류 및 혼합 비율의 결정	106
3. 미세캡슐화 수율측정법의 결정	106
4. 반응표면 분석에 의한 미세캡슐화 조건의 최적화	107
5. 미세캡슐의 온도 안정성 및 pH 안정성 측정	108
6. Scale up factor를 결정하기 위한 탐색	108
7. 자동화 공정의 예비모델 제작 및 미세캡슐의 수율 분석	109
8. 2중 coating microencapsule 생산을 위한 가능성 조사	109

제 6 장. 향신료 미세캡슐의 성분분석 및 안정성 증

대

1절 연구수행방법

1. 실험재료	111
2. 고추미세캡슐과 고추올레오레진의 저장조건	111
3. 고추미세캡슐의 습도별 저장조건	112
4. 고추미세캡슐의 total oleoresin의 추출법	112
5. 고추미세캡슐의 surface oleoresin의 분리법	112
6. HPLC를 이용한 capsaicinoids의 분석	113
7. 고추미세캡슐 및 고추올레오레진의 carotenoids의 분석	113
8. 고추미세캡슐 및 고추올레오레진의 색도 측정	113

9. 고추미세캡슐의 등온흡습곡선	114
-------------------------	-----

2절 연구수행결과

1. 고추미세캡슐의 성분분석	115
2. Capsaicinoids의 HPLC 분석	115
3. 고추미세캡슐의 Wall material 분해법 개발	115
1) Wall material의 용해가 가능한 용매의 선정	115
2) 미세캡슐의 사용량과 DMSO의 사용량이 wall material 용해에 미치는 영향 ..	116
3) 가열처리조건이 미세캡슐의 용해에 미치는 영향	116
4) DMSO의 사용량이 고추올레오레진 추출에 미치는 영향	117
5) 에탄올의 농도가 고추올레오레진의 추출에 미치는 영향	117
6) 혼합시간이 capsaicinoid 추출에 미치는 영향	118
7) 원심분리조건을 최적화	118
8) Ethanol의 사용량에 따른 고추올레오레진 추출효과	118
4. 고추올레오레진의 저장안정성	120
5. 미세캡슐화된 고추올레오레진의 carotenoid의 저장안정성	121
6. 고추미세캡슐 분말의 외관색도 안정성	121
7. 미세캡슐화된 고추올레오레진의 capsaicinoid 안정성	123
8. Wall material 조성을 달리한 고추미세캡슐 시료의 안정성	123
9. 저장습도가 고추미세캡슐의 저장안정성에 미치는 영향	125
10. Core와 wall material의 비율을 달리한 미세캡슐의 안정성	126

Table List

Table 1-1. Specification of enzymes

Table 1-2. RSM design of garlic oleoresin.

Table 1-3. Yield, color, and capsaicinoids contents of red pepper extracts on using solvent.

Table 1-4. RSM Table1-5. Particle size and uniformity of garlic microcapsules design of red pepper extracts.

Table 1-6. Flowability and Floodibility of garlic microcapsules

Table 1-7. Gas chromatography conditions

Table 1-8. RSM Design of spray drying conditions of garlic microcapsule.

Table 2-1. Operating conditions of GC of flavor compounds

Table 2-2. Coded level for independent variables used in developing experimental data

Table 2-3. Standard formulation for the coacervation sturdy

Table 2-4. Coded level for dependent variables used in developing experimental data

Table 2-5. Sampling conditions of static headspace autosampler

Table 2-6. Viscosity of the selected wall materials

Table 2-7. Experimental data for particle size, total oil retention, surface oil content and flavor release with different combination of inlet temperature (X1) and atomizer speed (X2) for the RSM

Table 2-8. Compositions and properties of single- and double-encapsulated powders

Table 2-9. Canonical analysis of response surface

Table 3-1. Characteristics of the emulsion containing various kinds of binary systems of emulsifiers

Table 3-2. Coded levels for independent variables in developing experimental data

Table 3-3. Central composite design consisting of 16 experiments for the study of three experimental factors in coded units

Table 3-4. Response of independent variables to the experimental for the microencapsulation of DHA

Table 3-5. Values of regression coefficients calculated for the degree of microencapsulation of DHA

Table 3-6. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data

Table 3-7. Effect of scale up factor on the microencapsulation yield

Table 3-8. Comparison of microencapsulation yield between large scale processing and semi-automatic processing

Table 4-1. Characteristics of the emulsion containing various kinds of binary systems of emulsifiers

Table 4-2. Coded levels for independent variables in developing experimental data

Table 4-3. Central composite design consisting of 16 experiments for the study of three experimental factors in coded units

Table 4-4. Response of independent variables to the experimental for the microencapsulation of DHA

Table 4-5. Values of regression coefficients calculated for the degree of microencapsulation of DHA

Table 4-6. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data

Table 4-7. Effect of scale up factor on the microencapsulation yield

Table 4-8. Comparison of microencapsulation yield between large scale processing and semi-automatic processing

Table 5-1. HPLC condition for the analysis of capsaicinoids.

Table 5-2. The composition of red pepper oleoresin microcapsule

Table 5-3. Trials for solubilizing wall materials of red pepper oleoresin microcapsule

Table 5-4. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and "b" of red pepper oleoresin.^{a)}

Table 5-5. Moisture, total oil and surface oil contents of microcapsule red pepper oleoresin.

Table 5-6. Hunter's color value in microcapsules of red pepper oleoresin capsicum.

Table 5-7. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" during storage of red pepper oleoresin microcapsule powder of different ratio of core and wall material.

Table 5-8. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" of extracted red pepper oleoresin from microcapsule with different composition of wall material.

Table 5-9. Color deterioration rate of colorimetry parameters of various microcapsule powder based on the relative retention of carotenoid of three microcapsules .

Table 5-10. Relative retention of total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Table 5-11. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Table 5-12. Relative retention of total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Table 5-13. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Table 5-14. Effect of relative humidity on total capsaicinoids and carotenoids content of encapsulated red pepper oleoresin in gum and modified starch mixture(50:50, w/w) after three week storage.

Table 5-15. Moisture, total oil and surface oil contents of encapsulated red pepper oleoresin for studying effect of carrier level

Table 5-16. Hunter's color value in microcapsules of Oleoresin Capsicum.

Table 5-17. Relative retention of total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Table 5-18. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Table 5-19. Relative retention of total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Table 5-20. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total carotenoids

in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Table 5-21. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" during storage of red pepper oleoresin microcapsule powder with different combination of carrier level.

Table 5-22. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" of extracted red pepper oleoresin microcapsule with different combination of carrier level

Figure list

Fig.1-1 Changes of soluble solid contents of expressed garlic juice according to treatment of enzymes

Fig.1-2 Changes of apparent viscosity of expressed garlic juice(39Brix) according to treatment of enzymes

Fig.1-3 Changes of apparent viscosity of concentrated garlic juice(65Brix) according to treatment of enzymes

Fig.1-4 Changes of particle size distribution of expressed garlic juice according to treatment of enzymes

Fig.1-5 Effect of reaction temperature on soluble solid contents of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+)

Fig.1-6 Effect of reaction time and E/S ratio on particle size distribution of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) at 50°C

Fig.1-7 Effect of reaction time and E/S ratio on reducing sugar content of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) at 50°C

Fig.1-8 Effect of reaction time and E/S ratio on apparent viscosity of expressed garlic juice(39Brix) treated with Rapidase liq(+) at 50°C

Fig.1-9 Changes of apparent viscosity of concentrated garlic juice(65Brix) according to E/S ratio of Rapidase liq(+) for 5hrs at 50°C

Fig.1-10 Effect of reaction time and E/S ratio on browning of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) at 50°C

Fig.1-11 Effect of reaction time and E/S ratio on generation of diallyl sulfide(DAS) during Rapidase liq(+) treatment

Fig.1-12 Effect of reaction time and E/S ratio on generation of diallyl disulfide(DADS) during Rapidase liq(+) treatment

Fig.1-13 Effect of drying methods and solvents on extraction efficiency of oleoresin from expressed garlic residue

Fig.1-14 Response surface curve of recovery yield as related to extraction time and

solvent ratio

Fig.1-15 Contour plots of recovery yield of garlic extracts as related to extraction time and solvent ratio

Fig.1-16 Contour plots of recovery yield of red pepper extracts as related to extraction time and solvent ratio

Fig.1-17 Contour plots of color as related to extraction time and solvent ratio

Fig.1-18 Contour plots of total capsaicinoids as related to extraction time and solvent ratio

Fig.1-19 Comparison of surface DADS as related to mixture ratio of gum arabic and modified starch

Fig.1-20 Comparison of surface DADS ratio as related to ratio of wall and core

Fig.1-21 Effect of homogenization pressure on surface DADS ratio

Fig.1-22 Response surface curve of total DADS ratio as related to inlet temperature and atomizer speed.

Fig.1-23 Response surface curve of particle size ratio as related to inlet temperature and atomizer speed.

Fig.1-24 Response surface curve of uniformity as related to inlet temperature and atomizer speed.

Fig.1-25 Response surface curve of flowability as related to inlet temperature and atomizer speed.

Fig.1-26 Optimization of spray drying process of garlic microcapsule by RSM

Fig.1-27 Time dependent release(TDR) patterns of spray dried garlic microcapsule at various temperature

Fig.1-28 Temperature sensitive release(TSR) patterns of spray dried garlic microcapsule after heat treatment.

Fig.1-29 Comparison of surface capsaicinoids as related to mixture ratio of gum arabic and modified starch

Fig.1-30 Effect of homogenization pressure on surface capsaicinoids ratio

Fig.1-31 Comparison of total capsaicinoids as spray drying conditions; inlet

temperature and atomizer speed

Fig.1-32 Comparison of surface capsaicinoids as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

Fig.1-33 Comparison of particle size of red pepper microcapsule as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

Fig.1-34 Comparison of uniformity of red pepper microcapsule as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

Fig.1-35 Optimization of spray drying process of red pepper microcapsule by RSM

Fig.1-36 Heat stability of second coating wall materials; a. gum arabic, b. modified starch 78-0508, c. modified starch Solstar-S.

Fig.1-37 Time dependent release(TDR) patterns of secondary coated garlic microcapsule with modified starch(78-0508) at 125°C

Fig.1-38 Temperature sensitive release(TSR) patterns of secondary coated garlic microcapsule with modified starch(78-0508)

Fig.1-39 Photomicrograph(100x magnification) of microcapsule(A), garlic microcapsule secondary coated with 14% (B) and 21%(C) modified starch

Fig.1-40 Figure and schematic principle of DVS(dynamic vapor sorption)

Fig.1-41 Sorption/desorption curve of garlic microcapsule and secondary coated

Fig.1-42 Hysteresis of garlic microcapsule and secondary coated

Fig.1-43 Drying rate of garlic microcapsule and secondary coated

Fig.1-44 Time dependent release(TDR) patterns of spray dried red pepper microcapsule at 125°C

Fig.1-45 Temperature sensitive release(TSR) patterns of spray dried red pepper microcapsule after heat treatment for 1hr

Fig.1-46 Time dependent release(TDR) patterns of secondary coated red pepper microcapsule with modified starch(78-0508) at 125°C

Fig.1-47 Temperature sensitive release(TSR) patterns of secondary coated red pepper microcapsule with modified starch(78-0508)

Fig.1-48 Photomicrograph(100x magnification) of microcapsule(A), red pepper

microcapsule secondary coated with 14% (B) and 21%(C) modified starch

Fig.1-49 Sorption/desorption curve of red pepper microcapsule and secondary coated

Fig.1-50 Hysteresis of red pepper microcapsule and secondary coated

Fig.1-51 Sorption/desorption curve of wall materials

Fig.1-52 Hysteresis of wall materials

Fig.1-53 Drying rate of red pepper microcapsule and secondary coated

Fig.1-54 Drying rate of wall materials

Fig.2-1 Schematic diagram of emulsification and spray drying process of flavor compounds

Fig.2-2 Schematic diagram of second fat coating using fluid bed granulator

Fig.2-3 The preparation of κ -carrageenan/gelatin and flavor complex by coacervation

Fig.2-4 Influence of rapeseed oil content on relative vapor pressure of each flavor compound

Fig.2-5 Stability of flavor emulsion made with different wall materials

Fig.2-6 Micrographs of emulsion prepared by different core:wall ratio.

Fig.2-7 Effect of different wall materials added to the mixture of MD:GA:MS on viscosity and emulsion stability

Fig.2-8 Effect of different wall materials added to the mixture of MD:GA:MS on viscosity and emulsion stability

Fig.2-9 Effect of different wall materials added to the mixture of MD:GA:MS on surface oil content.

Fig.2-10 Effect of GA to MS ratio in flavor emulsion on emulsion stability and flavor release.

Fig.2-11 Effect of gellan gum concentration on emulsion stability and flavor release in emulsion.

Fig.2-12 The effect of emulsion pressure on emulsion stability and flavor release in emulsion.

Fig.2-13 The moisture content of spray dried microcapsules prepared at different emulsion pressure.

Fig.2-14 Comparison of total oil content at different emulsion pressure

Fig.2-15 Comparison of surface oil content at different emulsion pressure.

Fig.2-16 Comparison of flavor release at different emulsion pressure.

Fig.2-17 Contour plots of surface oil content (top), flavor release (middle), total oil retention (bottom) as related to drying temperature and atomizer speed.

Fig.2-18 The effect of different drying methods on surface oil content

Fig.2-19 The effect of different drying methods on flavor release

Fig.2-20 Effect of β -CD concentration on total oil retention.

Fig.2-21 Effect of β -CD concentration on surface oil content.

Fig.2-22 Chromatogram of limonene-1,2-epoxide and carvone

Fig.2-23 Particle size of single encapsulated powder (top), double encapsulated powder (middle), β -CD-flavor complex (bottom).

Fig.2-24 Changes of moisture adsorption of differently prepared powders as time changes

Fig.2-31 Microphotography of coacervate prepared without core material observed by scanning electron microscope

Fig.2-32 Microphotography of coacervate prepared with core material observed by scanning electron microscope

Fig.2-33 Changes in dry coacervate yield according to various total solid concentration

Fig.2-34 Microphotography of optimized capsule observed by scanning electron microscope

Fig.2-35 Microphotography of capsule prepared by atomizer observed by scanning electron microscope

Fig.2-36 Flavor release from single-encapsulated powder and β CD-flavor complex during storage at 37°C

Fig.2-37 Flavor release from double encapsulated powder incubated at 40°C and 60°C respectively.

Fig.2-38 Comparison of flavor release at various pH.

Fig.2-39 Release of octanol-1 at various pH.

Fig.2-40 Comparison of flavor release at various pH.

Fig.2-41 Flavor release from flavor encapsulated powder dissolved at various temperature.

Fig.2-42 Flavor release from double encapsulated powder incubated at various temperature.

Fig.3-1 Purification step of superoxide dismutase from barley

Fig.3-2 Sephadex G-100 chromatogram

Fig.3-3 DEAE-sephadex chromatogram

Fig.3-4 SDS-PAGE of superoxide dismutase during purification

Fig.3-5 Measurement of molecular weight of superoxide dismutase by SDS-PAGE

Fig.3-6 Determination of molecular weight by Sephadex G-100 column chromatography

Fig.3-7 Effect of pH on the activity and stability of SOD

Fig.3-8 Effect of the temperature on stability of SOD

Fig.3-9 Change in specific activity of superoxide dismutase during seeding development

Fig.3-10 수경재배보리 1차, 2차 cutting activity

Fig.3-11 Inhibition of cytochrome C reduction with chlorophyll derivatives

Fig.3-12 Hydroxyl radical scavenging effect of chlorophyll derivatives

Fig.3-13 Peroxynitrite scavenging effect of chlorophyll derivatives

Fig.3-14 Inhibition of lipid peroxidation with chlorophyllin

Fig.3-15 The protective effect of chlorophyll derivatives on plasmid DNA from hydroxyl radical

Fig.3-16 Cytotoxicity of paraquat on Jurkat cell line

Fig.3-17 Protective effect of chlorophyllin on paraquat toxicity

Fig.3-18 Cytotoxic effect of chlorophyllin on Jurkat cell line

Fig.3-19 SOD activity during liposome preparation

Fig.3-20 Scanning electron micrograph of liposome containing SOD

Fig.3-21 Sephadex G-100 chromatogram of liposome

Fig.3-22 SOD activity of liposome-chlorophyllin

Fig.3-23 Scanning electron micrograph of liposome containing chlorophyllin

Fig.3-24 Effect of pH on SOD release

Fig.3-25 Triton-X effect on SOD release

Fig.4-1 ESI values of Cm 2 vs Wm 8 at 120 min

Fig.4-2 ESI values of Cm 4 vs Wm 6 at 120 min

Fig.4-3 ESI values of Cm 6 vs Wm 4 at 120 min

Fig.4-4 ESI values of Cm 8 vs Wm 2 at 120 min

Fig.4-5 ESI value of 0.1% emulsifier concentration

Fig.4-6 ESI value of 0.2% emulsifier concentration

Fig.4-7 ESI value of 0.3% emulsifier concentration

Fig.4-8 ESI value of 0.4% emulsifier concentration

Fig.4-9 ESI value of 0.5% emulsifier concentration

Fig.4-10 ESI value of 0.6% emulsifier concentration

Fig.4-11 ESI value of 0.7% emulsifier concentration

Fig.4-12 ESI value on the mixed emulsifier of 2 kinds

Fig.4-13 ESI value on the concentration of mixed emulsifier at 10 hrs

Fig.4-14 ESI values on the emulsifier conc. at 10 hrs.

Fig.4-15 ESI value on the mixed ratio of agar & gelatin

Fig.4-16 ESI value on the concentration of agar & gelatin

Fig.4-17 Effect of the total concentration of wall material at 10hrs on ESI

Fig.4-18 ESI value on the concentration of gelatin & waxy corn starch

Fig.4-19 ESI value on the mixed ratio agar & waxy corn starch

Fig.4-20 ESI value on the concentration of agar & waxy corn starch at 10 hrs

Fig.4-21 ESI value on the mixed ratio of agar & gelatin at 10 hrs

Fig.4-22 Standard curve for measure of microencapsulation yield.

Fig.4-23 Standard curve for measure of microencapsulation yield.

Fig.4-24 Schematic diagram for the analysis of microencapsulation yield by 5% cupric

acetate-pyridine colorization.

Fig.5-1 Chromatogram of standard and oleoresin

Fig.5-2 Capsaicinoids standard curve by HPLC analysis

Fig.5-3 Effect of the ratio of the weight of the microcapsule to DMSO on solubilization of microcapsule.

Fig.5-4 Effect of the heating time on the content of capsaicinoids after addition of DMSO

Fig.5-5 Effect of the DMSO ratio

Fig.5-6 Effect of ethanol concentration on extraction of capsaicinoids

Fig.5-7 Effect of vortexing time on extraction of capsaicinoids

Fig.5-8 Effect of the centrifugation speed on the contents of capsaicinoids

Fig.5-9 Effect of the centrifugation time on the contents of capsaicinoids

Fig.5-10 Effect of the ratio of ethanol to DMSO on extraction of capsaicinoids

제 1 장 서론

오늘날 우리가 섭취하는 가공식품의 비중은 점차 높아지고 있으며 가공식품의 대부분은 열처리와 같은 여러 공정을 거치면서 향기성분의 손실을 가져온다. 이러한 향기성분의 손실을 보충하기 위하여 천연 또는 합성 향미료를 첨가하나 공정 중에 기화나 화학적 분해에 의해 많은 손실이 일어난다. 이와 같은 향미료의 화학적 분해현상을 방지하고, 합성재료의 사용을 최소화할 수 있는 식품가공기술의 발달에 많은 관심과 연구가 집중되고 있다. 캡슐화기술은 그 한 예로 화합품, 의약품, 식품 연구자에 의해 4반세기에 걸쳐 발전해 왔다.

Encapsulation(캡슐화)기술은 고체, 액체, 또는 기체상의 물질을 특정 조건하에서 조절된 속도로 내용물을 방출할 수 있도록 다른 물질(material)이나, 조직(system) 내부에 포장하는 기술이다. 미세한 포장단위를 microcapsule (미세캡슐)이라 하며 크기는 micron단위에서 수 millimeter로 다양하며, 모양은 구형이 이상적이나 캡슐화되기 전 원래의 물질구조에 따라 크게 영향을 받는다. 내부에 코팅되는 물질을 core material (활성물질), payload, active, internal phase 또는 fill이라 하며, 외부의 피복부위는 wall material (피복물질), carrier, membrane, shell 또는 coating이라 하는데 이 피복부위는 두께와 층수에 따라 다양하게 분류된다.

미세캡슐화기술은 향료나 영양성분 등의 불안정한 물질을 외부환경, 즉 빛, 산소, 수분으로부터 보호하여 손실을 줄이고, 반응성이 큰 물질을 격리시키고, 독성, 냄새, 맛을 은폐시키며, 고형화시켜 취급이 간편해지며, 내용물의 용출속도를 조절하는 등의 목적으로 이용되고 있다. 그러나 식품분야에 있어서 미세캡슐의 이용은 다른 공업분야와 비교해 볼 때, 식품에 이용되는 피복물질이나 용매에 제약이 있고, 코스트나 기능성 등의 문제를 해결하기 위해 적절한 가공공정을 선택하는 것이 중요하다.

본 연구는 활성물질의 미세캡슐화 (microencapsulation)를 위하여 경제적이고, 개선된 피복 물질 (wall material)을 개발하고 특성을 연구하며, 미세캡슐의 최적 생산을 위한 공정을 확립하고, 방출조절 시스템 (controlled release)에 대한 연구를 하는 것을 주목표로 하며, 다음 세부 목표를 기준으로 연구를 수행하였다.

1. 향기성분의 캡슐화에 적당한 피복물질을 개발하고 그 특성을 연구한다.
2. 향기성분의 캡슐화를 위한 공정 - spray drying, fluidized bed, coacervation, molecular inclusion -을 최적화한다.
3. 캡슐화 분말의 특성 및 안정성 분석방법을 확립한다.

4. Temperature sensitive release (TSR), time dependent release (TDR), pH sensitive release (PSR), melting activated release (MAR)등의 조절방출 측정방법을 확립한다.

우선 알려진 향기성분의 chemical들을 일정하게 혼합하여 reservoir에 균질화시키고 안정화하여 model system을 제조하고 이것을 이용하여 미세캡슐화에 대한 각 공정별 분석을 진행하였다. 또한, 실제로 식품에 광범위하게 생식 또는 건조분쇄하여 이용되고 있는 마늘과 고추를 보다 부가가치화 하면서 각종 식품제조공정 중에 안정하게 사용할 수 있도록 하기위해 효소분해와 용매추출에 의해 서로 다른 풍미특성을 지닌 추출물을 제조하고 이들을 미세캡슐화하였다.

한편, 식품의 풍미성분을 미세캡슐화하는 연구와 병행하여 농수산물 유래의 기능성 성분에 대해서도 원료개발 및 미세캡슐화 연구를 진행하였다. 그중 하나로 SOD와 그 유사물질에 대한 연구를 진행하였다.

단세포 동물에서부터 인간에 이르는 포유동물에 이르기까지 항상성 유지 생물체계에 대한 그 첫 번째 위해요인은 그 주체가 활성 산소종(Reactive Oxygen Species)으로 알려지고 있다. 대기의 20.9%를 차지하고 있는 산소는 호기적인 대사를 하는 다양한 생물체에서 energy생산을 위한 산화적 인산화 과정을 통해 전자전달계의 최종 전자수용체로써 전자 4개를 받아 물을 형성하는데 이용되나, 그중 극소수의 산소는 superoxide radical(O_2^-), hydroxyl radical($OH \cdot$), hydrogen peroxide(H_2O_2) 등의 활성산소종으로 전이된다. 이렇게 유리된 superoxide radical을 포함한 활성산소종들은 DNA에 변이를 유발시킬 뿐만 아니라 생체막 지질의 과산화와 각종 생체 기능성분에 손상을 가하게 된다.

이러한 활성 산소종에 대한 가장 중요하고, 첫 번째로 이루어지는 방어 체계가 바로 superoxide dismutase(SOD, EC 1.15.1.1)에 의한 것이다. SOD는 O_2^- 를 H_2O_2 와 O_2 로 전환시키는 반응을 촉매 함으로써 O_2^- 를 제거하는 역할을 한다. SOD는 호흡을 하고, 산소를 이용해서 생명을 영위해나가는 모든 생물체의 생명현상의 영위에 있어서 없어서는 안될 필수 불가결한 효소이다. 생체 내에서 이렇게 유용한 역할을 담당하는 SOD는 다양한 방면으로 의 연구가 활발히 이루어지고 있다. 의약학 분야에서는 항염증제로써 사용되어지고 있고, 화장품 분야에서는 피부노화방지를 위한 미용제재로써, 최근에는 식품첨가물이나 기능성 건강식품의 소재로써의 역할도 연구되어지고 있다.

이에 본 과제에서는, 예비실험을 통하여 보리에서 SOD 함량이 높은 것을 확인하고, 보리로부터 SOD를 분리, 정제하고 이와 함께 유사한 활성이 있는 천연추출물들의 이용가능성

의 증진을 위한 미세캡슐화 기술을 이용해 식품첨가물 또는 의료용 제제로 이용 가능한 소재를 개발하고자 하였다.

한편, 고도불포화 지방산이 여러 가지 바람직한 생리작용을 가진 것으로 보고되면서, 이를 함유한 유지를 식품에 이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 ω 3계 지방산의 일종인 EPA(eicosa pentaenoic acid, C_{20:5}) 및 DHA(docosa hexaenoic acid, C_{22:6})를 많이 함유하는 어유는 인체 영양학적인 측면에서 매우 유용한 것으로 알려져 있으나, 산화에 극히 취약하여 쉽게 산패되며 어유 가공식품의 경우 원료로 사용했던 어유의 비린내가 재발되어 제품의 풍미가 현저하게 나빠지는 문제점이 있다. 따라서 이러한 단점들을 극복하기 위해서 여러 가지 방법들이 시도되고 있으며, 최근에 알려진 미세캡슐화 기술도 이러한 방법이다.

앞서 언급한 미세캡슐화 기술의 특성을 이용하여 지방의 산화를 성공적으로 억제한 연구 사례도 수 차례 보고되어져 왔다.

따라서 본 연구에서는 수화시킨 탄수화물을 피복물질로 하여 ω -3계 고도불포화 지방산을 다량 함유하는 어유(fish oil)를 미세캡슐화 하고자 하였으며, 다음과 같은 계획에 의하여 연구를 수행하였다.

1. 산패안정성 및 열안정성을 위한 최적 wall material과 유화제 선정 및 최적 emulsion system의 구축
2. 미세캡슐화를 위한 공정 조건의 최적화 및 온도 및 pH별 안정성 탐색
3. 대량생산을 위한 scale up factor 규명 및 자동화 공정 모색

상기와 같이 제조된 여러 가지 미세캡슐은 활성물질(core materials)의 선택 및 제조공정에 의하여 최종제품의 품질과 상품성이 좌우된다고 여겨진다. 이것은 미세캡슐화의 기본 목적인 활성성분의 보호, 격리 및 조절방출을 얼마나 효율적으로 달성하였는지에 따라 결정된다. 따라서 최종제품의 안정성을 여러 조건하에서 평가하여 의도하였던 품질특성을 확인하는 작업이 수행되어야하며 이를 위해서는 적절한 분석방법과 안정성 평가방법이 개발되어야 한다. 따라서 본과제의 주요 결과물중의 하나인 고추풍미 미세캡슐을 대상으로 그 안정성 분석방법 및 시스템을 개발하고자 하였다.

새로운 식품공업의 발달로 여러 가지 형태의 다양한 기능성을 지닌 고추를 이용한 제품의 개발이 요구되고 있다. 그 일환으로 최근에는 향신료의 저장성을 고려하여 향신원료를 용매로 추출하여 본래의 맛과 향미, 색깔을 그대로 가지면서 장기 저장이 가능한 oleoresin

형태로의 고추가공이 많이 연구되고 있으며, 보다 새로운 시도로서 고추올레오레진의 미세캡슐화가 수행되고 있다. 대부분의 액상 올레오레진은 산소나 빛, 습도와 열에 접하는 조건에서는 화학적으로 불안정 할 수가 있다. 액상인 올레오레진에 비해 미세캡슐화는 다루기가 용이한 형태인 분말상의 변환된 형태로서, 고추에 있어서 저장 중에 일어나게 되는 맛과 색의 품질저하를 최소화할 수 있는 대안이 되고 있으며 독특한 기능성을 가진 새로운 소재로서의 용도 확장이 기대되며 고추 올레오레진보다도 유통기간의 연장이 기대된다. 고추 올레오레진 미세캡슐의 제조공정 관리 및 저장성의 평가를 위해서는 고추미세캡슐의 성분분석법의 확립이 필수적이다. 물과 유기용매를 사용한 wall material의 분해법과 기계적 마쇄법 혹은 초임계 추출장치 등의 방법이 수행이 가능하지만 정확한 성분분석이 이루어지지 않거나 기자재 구입에 많은 비용이 소모되는 것이 단점으로 지적될 수 있다. 이러한 배경에서 분석 대상물질의 안정성에 영향을 주지 않으면서 저비용으로 수행이 가능한 정확한 풍미성분 분석법의 개발을 수행하였으며, 다양한 wall material 조성의 고추미세캡슐과 core와 wall material의 비율을 달리하여 제조된 고추올레오레진 미세캡슐의 안정성 평가에 확립된 분석법을 이용하여 가장 안정성이 우수한 미세캡슐을 선발하였다.

제 2 장 마늘, 고추를 이용한 신기능성 식품소재개발

제 1 절 연구수행방법

1. 마늘 및 고추추출물의 제조

1) 마늘추출물

실험에 사용된 마늘은 시중에서 구입한 국산 마늘(전남 고흥)을 이용하였다. 국내산 마늘을 crusher(Santos, Italy)에서 착즙하여 착즙액과 착즙박을 얻었고, 착즙박은 별도의 처리 없이 다음 실험에 사용하였다. 마늘착즙액을 1 L 삼각플라스크에 600 ml을 분주한 후 50°C, 30분간 예열하여 효소를 첨가하여 반응시키면서 시간별로 채취하여 분석에 사용하였다. 마늘착즙액의 입도는 Fritch사(독일)의 analysette 22 economy 입도분석기를 이용하여 측정하였으며 7~15%의 시료농도가 되도록 하여 분석였다. 점도는 Brookfield사(미국)의 Model DV-II+를 이용하여 측정하였으며 점도계의 torque가 측정, 허용오차범위(10%~100%)이내에 들어오도록 spindle 종류와 회전속도를 조절하였으며 각 시료를 45°C 항온조에서 일정한도로 예열한 후 500 ml 비이커에 spindle의 표선까지 부어서 42°C에서의 겔보기 점도를 측정하였다. 마늘착즙액을 0.45 μ m disposable membrane kit (SATORIUS사, 독일)로 여과한 후 10배 희석하여 환원당 함량을 측정하였다. 희석액을 1 ml취한 후 DNS reagent를 3 ml 넣고 vortexing한다. 5분동안 물중탕으로 가열한 후 상온까지 냉각하여 10배 희석한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 Sigma사의 glucose를 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10%의 농도로 조제한 후 위의 방법과 동일하게 발색시켜 측정하여 작성하였다. 마늘의 풍미를 GC-FID를 이용하여 분석하였다. Static Head Space법을 이용하여 분석하였는데 column은 HP-FFAP(25m \times 0.2mm \times 0.3 μ m)를 사용하였으며 column flow는 1.5 ml/min였다. 표준물질로는 Fluka사의 diallyl disulfide를 사용하였으며 이를 diethyl ether에 100 ppm으로 희석하여 분석에 사용하였다. 시료를 50 ml Head Space용 GC vial에 10 g 분주하여 60°C에서 30분간 예열한 후 10 ml Gas tight syringe를 이용하여 1 ml injection 하였다.

한편, 마늘 착즙박을 이용한 용매추출물을 제조하기 위하여 용매는 ethanol (덕산, Korea) 과 n-hexane(和光純藥, Japan)을 별도의 정제없이 사용하였다. 제조 방법에 따른

용매 추출의 효과를 검증하기 위해 마늘 착즙박을 서로 다른 세 가지 방법으로 건조하였다. 먼저 냉동건조는 lyophilizer에서 실시하였으며, 진공건조는 vacuum dryer에서 최종 열수 온도 80℃로 맞추어 실시하였다. 열풍건조는 60℃ dry oven에서 실시하였다. 우선 1 L들이 유리 vessel (Eyela, Japan)에 서로 다른 건조 방식에 의해 제조된 건조 분말을 70 g 투입한 후 용매를 500 ml씩 투입하였다. (용매비 = 7.14-fold) 이 후 bath (Eyela, Japan)에서 200 rpm으로 6시간동안 교반하면서 추출을 실시하였다. 추출이 종료된 후 추출액을 filter paper상에서 추출박을 제거하고 남은 추출물을 얻고 이를 evaporator (Eyela, Japan)를 이용하여 농축시켜 용매를 제거하므로써 용매 추출물을 얻었다. 추출시간 및 용매비의 선정을 위해서는 RSM (Response Surface Method : 표면반응분석) 기법을 사용하였다. 이를 위해 두 인자 (추출시간, 용매비)의 중심점을 각각 6 시간, 8-fold로 정하고 중심 합성 실험계획에 의해 실험군을 정하였다. 13가지 실험군에서 제조된 용매 추출물의 제조 수율과 DADS를 정량하여 추출 시간과 용매비에 대해 최적점을 계산하였으며, 이 때는 SAS program(SAS Institute, USA)을 이용하여 통계처리를 실시하였다.

2) 고추추출물

고추는 분말고추(태경농산, RP4호)를 냉장보관하면서 사용하였다. 추출용매는 ethanol (덕산, Korea) 과 n-hexane(和光純藥, Japan)을 별도의 정제없이 사용하였다. 추출방법은 분말고추에 증량대비 10배의 용매를 투입하고 5시간동안 200rpm으로 실온에서 교반추출(OSB-200, EYELA, Japan)한 후, 여과지(Watman No. 5)로 감압여과하여 감압농축함으로써 잔류용매를 제거한 추출물을 제조하였다. 용매사용방법은 단독용매사용과 2단계추출, 즉 하나의 용매로 추출한 다음, 그 추출박에 다른 용매를 가하여 추출하고 감압농축 후, 두가지 추출물을 혼합하는 방법을 병행하여 제조한 후 수율, 색도 및 매운맛강도를 분석하여 최적 용매를 선정하였다. 추출시간 및 용매비의 선정을 위해서는 RSM (Response Surface Method : 표면반응분석) 기법을 사용하였다. 이를 위해 두 인자 (추출시간, 용매비)의 중심점을 각각 6 시간, 8-fold로 정하고 중심 합성 실험계획에 의해 실험군을 정하였다. 13가지 실험군에서 제조된 용매 추출물의 제조 수율과 DADS를 정량하여 추출 시간과 용매비에 대해 최적점을 계산하였으며, 이 때는 SAS program(SAS Institute, USA)을 이용하여 통계처리를 실시하였다.

2. 마늘 및 고추풍미 미세캡슐 제조

1) Core 및 wall materials

미세캡슐용 core로 마늘풍미의 경우, 효소분해추출물과 올레오레진을 4:1로 혼합하여 사용하였고 고추풍미의 경우 추출물100%를 사용하였다. 한편, wall로는 변성전분(N-LOK, octenylsuccinate starch, National starch, USA)와 아라비아검(FT-1, TIC Gums, USA)을 사용하였다.

2) 유화물의 제조

Homomixer를 이용하여 정제수에 wall을 용해하여 33%용액을 제조한 후, core를 비울별로 투입 용해하여 유화물을 제조하였다. 제조된 유화물의 surface DADS, capsaicinoids를 측정하여 유화안정성을 분석하였고, 이후 선정된 조건의 유화물을 homogenizer(APV, Germany)로 1,000-10,000psi에서 균질화하여 유화안정성을 측정하였다.

3) DADS 분석

마늘 미세캡슐 분말의 surface DADS정량을 위해 기존의 제시된 방법으로 미세캡슐 분말과 에탄올을 1:10으로 섞어 30초 동안 vortex한 후 1,000 rpm에서 10분간 centrifuge하고 용매층 회수 및 감압농축을 하고 nitrogen purging을 통해 100 μ l로 농축해 GC 분석에 사용하였다. 이 방법을 기본으로 추출 시간과 시료양을 달리하여 전처리하였다.

Total DADS 정량을 위해서는 미세캡슐 분말과 DMSO를 1:8로 섞어 55 $^{\circ}$ C, 10분간 용해시키고 32배의 에탄올을 첨가해 5분간 vortex하고 18,000 rpm에서 20분간 centrifuge하여 위 과정을 1회 반복하여 용매층을 회수하고 감압농축하였다. 이 방법을 추출용매, 용매비율, 추출방법 등을 변형하여 전처리하였다.

13개 시료에 대해 total DADS 함량을 HP 5890 GC로 분석하였다. Column은 HP-FFAP(2.5m x 0.2mm x 0.3 μ m)를 사용하였으며 column flow는 1.5ml/min이었다. 온도조건은 5분간 35 $^{\circ}$ C에서 유지해주고 10분 동안 150 $^{\circ}$ C로 올려주고 6분간 200 $^{\circ}$ C로 올려 5분간 유지 후 35 $^{\circ}$ C로 떨어트렸다. 표준물질로는 Fluka사의 dipropyl sulfide를 사용하였으며 이를 ethyl ether에 20 ppm 으로 희석하여 분석에 사용하였다. 100 μ l로 농축된 시료중 1 μ l를 GC에 투여 분석하였다.

4) Capsaicinoids 분석

강성태 교수(서울산업대 식품공학과)가 정립한 방법에 의하여 분석하였다.

Total Capsaicinoids 전처리를 위해서 시료 0.15g 에 DMSO 1.25ml를 첨가한 후, 55 $^{\circ}$ C,

20분간 용해하고 EtOH 11ml을 첨가하여 5분간 vortexing하였다. 17,000rpm, 20분간 원심분리하여 상정액을 회수하고 남은 pellet에 EtOH 11ml 을 첨가하여 재차 vortexing 5분, 원심분리 17,000rpm, 20분으로 상정액을 회수하여 합쳐 EtOH로 25ml으로 정용하였다. 이는 HPLC 분석을 위해 0.45 μ m filter로 여과하여 보관하였다.

Surface Capsaicinoids 전처리를 위해서는 시료 2g을 Soxhlet으로 6시간동안 환류추출 (120ml Ethyl ether)하여 감압농축하여 용매를 제거하고 ethyl ether 25ml로 용해한 후, 0.45 μ m로 여과하여 보관하였다.

고추 미세캡슐 분말의 capsaicinoids 분석을 위하여 Column은 μ -Bondapak C18(3.9 x 300mm), Detector 는 UV 281nm에서, 이동상인 MeOH 과 H2O의 비율은 70:30으로 제조하여 사용하였다. HPLC flow rate는 1ml/min로 하여 20 μ l을 injection하여 정량하였다.

정확한 정량을 위하여 표준검량선 작성하였는데 Aldrich사의 capsaicin standard를 20, 40, 60, 80, 100 ppm되도록 methyl alcohol에 용해한 후, 위의 HPLC조건에서 분석하여 검량선을 작성하였다.

5) Particle size analysis

Spray drying에 의해 제조된 마늘 및 고추 미세캡슐 분말 13개 sample의 평균입자직경과 균일도를 Fritch사(독일)의 analysette22economy 입도분석기를 이용하여 측정하였으며 7~15%의 시료농도가 되도록하여 분석하였다.

6) 분체물성 분석

각각 제조된 마늘 및 고추 미세캡슐 분말에 대한 흐름성과 분류성을 Hosokawa(일본)사의 Powder tester model PT-N을 이용하여 측정하였다.

7) Spray drying 조건 선정 및 최적화

마늘, 고추 미세캡슐 분말 제조를 위해서 spray drying을 사용하였는데, 송풍온도 범위를 120~220 $^{\circ}$ C(중심점 : 170 $^{\circ}$ C), atomizer speed를 6,000~18,000rpm(중심점 : 12,000rpm)으로 설정하여 중심합성법에 의한 실험계획을 수립한 결과 13개 공정조건에서 각각 Spray Drying을 수행하였다.

이상에서 분석한 DADS함량, capsaicinoids 함량, 평균입자직경, 균일도, 흐름성 및 분류

성에 관한 data를 RSM기법을 이용하여 분석함으로써, 마늘 및 고추 미세캡슐화에 있어 Spray Drying의 공정조건을 최적화하였다.

3. 2차 코팅을 이용한 TDR/TSR 미세캡슐 제조

1) 2차 코팅

마늘, 고추 미세캡슐의 2차 코팅물질로 검류, 변성전분류중 변성전분 78-0508(National Starch, USA)과 Solstar-S(대경식품, Korea)를 2차 코팅 wall로 선정하였다.

2차코팅을 위한 예비실험 결과, 전분류를 이용할 경우 최대코팅 가능농도가 미세캡슐분말의 중량대비 21%로 나타났으므로 마늘 및 고추 미세캡슐에 78-0508, Solstar-S를 각각 14, 21%의 농도로 2차 코팅 샘플을 제조하였다. 이를 위한 장치로는 과립기(Fluid Bed Spray Granulator)를 이용하였으며 코팅공정 중 core 성분이 방출되지 않도록 Inlet temperature 75℃, Dry time 30~60초, Shaking time 20초, Feeding rate 83.3 mg/sec, 장치 내 공기압 1.5 kggf/cm²의 조건으로 코팅하였다.

2) 풍미방출 특성 분석

(1) DADS 방출 특성 분석

마늘 풍미(DADS)의 방출특성 분석을 위해, 1g의 마늘 미세캡슐 2차 코팅 분말을 30ml head space vial에 넣어 밀폐하고 오븐에서 125℃의 온도조건에서 30, 60, 120, 180분간의 시간을 달리하여 처리하고 -80℃, 10분간 냉각시켜 열에 의한 반응을 정지시키고 상온에서 보관하였다.

TSR 분석은 TDR을 위한 전처리 방법과 상동하며 오븐에서 100, 125, 150℃의 온도조건에서 60분간 처리하여 보관하였다.

위와 같이 전처리된 시료를 GC-FID를 이용하여 분석하였다. Column은 HP-FFAP(2.5m x 0.2mm x 0.3μm)를 사용하였으며 column flow는 1.5ml/min이었다. 온도조건은 5분간 35℃에서 유지해주고 10분 동안 150℃로 올려주고 6분간 200℃로 올려 5분간 유지 후 35℃로 떨어뜨렸다. 표준물질로는 EB(ethyl benzen)을 사용하였는데, 120ml head space bottle에 2 ml 의 EB를 넣어 밀폐한 후, head space 10μl를 분말이 들어있는 vial에 투여하였다. 이 head space vial에서 1 ml을 GC로 분석하였다.

(2) Capsaicinoids 방출 특성 분석

위의 Total Capsaicinoids 정량법을 변형하여 사용하였다. 열처리에 의해 방출되고 남은 capsaicinoids 양을 정량하여 total capsaicinoids 양에서 뺀으로써 방출된 양을 정량하였다.

이를 위해, 1g의 고추 미세캡슐 2차 코팅 분말을 30ml head space vial에 넣어 밀폐하고 오븐에서 125℃의 온도조건에서 60, 120, 180분간의 시간을 달리하여 처리하고 -80℃, 10분간 냉각시켜 열에 의한 반응을 정지시키고 상온에서 보관하였다. TSR 분석은 TDR을 위한 전처리 방법과 상동하며 오븐에서 100, 125, 150℃의 온도조건에서 60분간 처리하여 보관하였다.

위와 같이 처리한 시료에 DMSO 1.25ml를 첨가한 후, 55℃, 20분간 용해하고 EtOH 11ml을 첨가하여 5분간 vortexing하였다. 17,000rpm, 20분간 원심분리하여 상정액을 회수하고 남은 pellet에 EtOH 11ml을 첨가하여 재차 vortexing 5분, 원심분리 17,000rpm, 20분으로 상정액을 회수하여 합쳐 EtOH로 25ml로 정용하였다. 이는 HPLC 분석을 위해 0.45µm filter로 여과하여 보관하였다. HPLC분석은 위의 total capsaicinoids 분석과 동일한 조건에서 수행하였다.

3) DVS를 이용한 흡습/탈습 특성 분석

DVS(Surface Measurement Systems, England)은 온도와 상대습도 프로그램을 자유롭게 할 수 있는 수분흡습측정 장치로 mg 단위의 샘플에 적합한 DVS-1을 이용하여 실험을 진행하였다. Fig.1-41과 같이 DVS에서는 외부의 건조 gas(질소)와 내부의 습도 유발장치를 통해 상대습도를 자유롭게 조절하며 µg 단위로 샘플의 무게 변화를 정확히 계산해 이를 자동으로 흡습/탈습 변화량(%)과 hysteresis, 속도로 환산해준다. 따라서 기존의 어떠한 등온흡습곡선을 구하는 방법보다 정밀한 방법이다.

각 시료 10 ~ 30mg을 DVS bottle에 loading하여 24.5℃에서 일정하게 유지하면서 상대습도 0%에서 100%까지 10%간격으로 60분간 유지하여 흡습시켰고 100%에서 0%로 동일한 방법으로 탈습시켜 총 21시간 동안 수행하였다.

4) Image analysis

마늘 및 고추 미세캡슐 분말과 2차 코팅분말의 형태학적 특징을 관찰하기 위하여 광학현미경 BH-2(Olympus, 20x5, Japan)과 Image-Pro plus 4.0(Media cybernetics, USA)을 이

용하여 분석하였다.

제 2 절 연구수행결과

1. 마늘 및 고추 추출물 제조

1) 효소분해 마늘추출물 제조

(1) 마늘의 착즙

착즙장치로는 SANTOS사(이탈리아)의 crusher를 사용하였으며 이는 원심식 고액분리기로 착즙수율은 약 69%였다.

(2) 전처리

가) Specification

Crusher로 착즙한 후에도 마늘착즙액 중에는 불용성 고형분이 상당부분 함유되어 있다. 이는 마늘 착즙액의 유동성에 영향을 미치며, 특히 농축시 점도의 상승요인으로 작용하여 흐름성을 떨어뜨려 작업성을 저하시킬 수 있다. 따라서 마늘착즙액에 잔존하는 불용성 고형분을 효소를 이용하여 제거하여 마늘착즙액의 점도를 감소시켜 마늘착즙액의 흐름성을 양호하게 하고자 하였다. 효소는 cellulase, pectinase, hemicellulase들이 복합적으로 섞여 있어 과일 또는 야채 착즙액 중의 불용성 고형분을 제거하거나 청징화하는데 사용되는 상업적 효소들을 구입하여 사용하였으며 이의 사양은 다음의 Table.1-1과 같다.

나) 반응조건

마늘착즙액을 50℃에서 30min동안 예열한 후 효소들을 마늘착즙액 중량 0.1%를 첨가하고 예열온도와 동일온도에서 180분동안 반응시킨 후 분석에 사용하였다.

다) 마늘착즙액의 불용성 고형분 입자크기의 분포 변화

FRITZCH사(독일)의 anlysette 22 economy 입도 분석기를 사용하여 불용성 고형분을 분석하였으며 분석결과, 마늘착즙액의 평균입자크기는 317.7 μm 였고 Multifect CL을 처리한 마늘착즙액의 평균입자크기는 345.9 μm , Econase CEP는 301.0 μm , Rapidase liq (+)는 182.7 μm , Sumyzyme C는 286.4 μm 로 Rapidase liq (+)가 마늘착즙액 중 불용성 고형분의 분해능이 가장 좋았으며 약 58%의 입자크기 감소효과가 있었다(Fig.1-4).

라) 마늘착즙액의 점도 감소 효과

효소처리된 마늘착즙액의 점도를 측정하였다. Brookfield사의 Model DV-II+를 사용하여 점도를 측정하였고 효소처리된 마늘착즙액의 고형분은 39 brix였으며 이때 점도는 96 cP였

고 multifect CL을 처리한 마늘착즙액은 45 cP, Econase CEP는 62 cP, Rapidase LIQ(+)는 44 cP, Sumzyme C는 63 cP였다. 마늘착즙액 중의 불용성 고형분 함량과 크기는 점도 감소와 관계가 있음을 알 수 있으며 점도 감소효과가 가장 뛰어난 효소는 Rapidase liq (+)였다. 또한 마늘착즙액의 농축시 점도의 증가정도를 살펴보기 위하여 효소처리된 마늘착즙액을 65brix까지 농축한 후 점도를 측정한 결과, 점도 감소의 차이는 더 현저하여 효소를 처리하지 않은 마늘착즙액의 점도는 약 98,000 cP로 유동성이 거의 없었고 Multifect CL은 25,000 cP, Econase CEP는 25,900 cP, Rapidase liq (+)는 14,000 cP, Sumzyme C는 40,000 cP였다(Fig.1-2).

(3) Rapidase liq (+)의 첨가량 및 반응시간 선정

가) 반응조건

Rapidase liq (+)의 최적 첨가량을 결정하기 위해 마늘착즙액을 50℃에서 30min간 예열한 후 효소무첨가를 대조군으로 하여 효소를 마늘착즙액 중량 0.05%, 0.1%, 0.50%, 1.00%를 첨가하여 1 hr, 2 hrs, 3 hrs, 5 hrs까지 반응시켰다.

나) 마늘착즙액의 입자크기 분포의 변화

위의 조건으로 반응시킨 후 마늘착즙액의 불용성 고형분의 입자 크기 변화를 살펴본 결과, 마늘착즙액 중의 불용성 고형분의 평균입자크기는 300.71 μ m였으며 Rapidase liq (+)를 0.05%첨가하였을 경우 5 hrs 반응 후에도 평균입자크기가 299.52 μ m로 거의 분해되지 않았다. 0.10%를 첨가한 경우, 점차로 불용성 고형분의 크기가 감소하여 5 hrs이 지난 후에는 144.38 μ m로 감소하였지만 큰 불용성 고형분들의 완전분해는 이루어지지 않았으며 0.50%를 첨가한 경우, 시간이 지남에 따라 불용성 고형분의 크기가 현저히 감소하여 3 hrs이 지난 후에는 완전히 분해되어 평균입자크기가 8.64 μ m로 감소하였다. 또한 1.00%를 첨가한 경우는 1 hr 경과 후에 불용성 고형분이 완전히 분해되어 평균입자크기가 9.38 μ m로 감소하였다. 따라서 0.50%, 3 hrs 또는 1.00%, 1 hr의 조건에서 마늘착즙액 중의 불용성 입자들을 완전히 제거할 수 있었다(Fig.1-6).

다) 환원당 함량의 변화

DNS법을 이용하여 환원당을 측정하였다. Rapidase liq (+)에 의해 마늘착즙액 중의 불용

성 고형분은 단당 또는 이당류로 분해된다. 이렇게 분해된 환원당의 함량을 측정한 결과, 마늘착즙액 중의 환원당 함량은 8 g/L이었고 시간이 경과함에 따라 환원당의 증가가 일어나서 5 hrs이 지난후의 환원당 함량은 0.05%첨가량의 경우 16.5 g/L, 0.10%의 경우 14.0 g/L, 0.50%의 경우 25.0 g/L, 0.10%의 경우 32.5 g/L였다. 하지만 0.10%의 경우 1 시간까지 환원당 함량이 증가하고 그 이후에는 환원당 함량의 큰 변화가 없었으며 0.50%농도의 경우 전체 환원당 생성량의 약76%가 1 hr이내에 생성되었으며, 1.00%농도에서는 전체 환원당 생성량의 약 78%가 1 hr이내에 생성되었다. (Fig.1-7).

라) 겔보기점도 변화

a. 시간과 Rapidase liq (+)첨가량에 따른 겔보기점도 감소 효과

Rapidase liq (+) 첨가량에 따른 마늘착즙액의 겔보기점도 감소 효과를 살펴보았다. 마늘착즙액의 점도는 115 cP였고 Rapidase liq (+)첨가량이 증가함에 따라 점도가 감소하였으며 이는 마늘착즙액의 불용성 고형분 입자 크기의 감소와 유사한 경향을 보였다. 0.05% 첨가량의 경우 겔보기점도가 지속적으로 감소하여 5시간에서는 66 cP였다. 0.50% 첨가량의 경우 3시간까지 겔보기점도가 지속적으로 감소한 후 더 이상의 감소는 보이지 않았고 3시간에서 겔보기점도는 35 cP였다(Fig.1-8).

b. Rapidase liq (+)첨가량에 따른 마늘농축액의 겔보기점도 비교

Rapidase liq (+)를 농도별로 처리한 마늘착즙액을 65 brix까지 농축하여 겔보기점도를 측정하였다(Fig.1-9). 측정결과, 효소 무처리 마늘착즙액은 86,400 cP로 유동성이 거의 없는 고점도를 나타냈고, 0.05%는 8,000 cP, 0.10%는 6,500 cP, 0.50%는 4,200 cP, 1.00%는 3,950 cP를 나타내었다. 40℃의 온도에서 5,000 cP이하의 겔보기점도는 라인 배출 및 이송이 가능한 것으로 알려져 있으며 따라서 0.50%, 3시간 반응과 1.00%, 1시간 반응이 적절한 것으로 사료된다.

마) Rapidase liq (+) 첨가량에 따른 마늘착즙액의 풍미성분 변화 분석

마늘 풍미 중 주요 성분은 diallyl disulfide와 diallyl sulfide 인데 반응시간과 Rapidase liq (+) 첨가량에 따른 두 성분의 변화를 측정해 보았다. 측정결과, diallyl disulfide는 Rapidase liq (+)첨가량에 무관하게 시간이 경과함에 따라 점차로 증가하는 경향을 보였고 (Fig.1-11), diallyl disulfide의 경우는 Rapidase liq (+)의 첨가량과는 무관하게 2시간까지

증가하다가 그 이상의 시간에서는 0.5%의 첨가량이 더 증가하였으며 3시간 이후에서는 더 이상 증가하지 않았다(Fig.1-12).

(3) 마늘 착즙액 농축

가) 농축조건

Rapidase liq (+)를 처리한 마늘착즙액을 rotary evaporator를 이용하여 60℃에서 70 brix 까지 농축하였다. 이 때 vapor온도는 33℃였다.

나) 농축결과

위의 조건으로 농축한 결과, 마늘농축액의 갈변도는 마늘착즙액에 비하여 약 210%정도가 증가하였으며, 점도는 5,850 cP였고 6,000 cP이하의 점도에서는 라인의 이송 및 배출에 문제가 없는 것으로 알려져 있다.

2) 마늘 추출물을 이용한 올레오레진 제조

(1) 추출방법 선정

가) 제조 수율

Fig.1-13에서 볼 수 있는 것처럼 제조 수율 측면에서는 ethanol 추출시가 hexane 추출시 보다 제조 수율이 월등히 높다는 것을 알 수 있었다. 이는 마늘박에서는 비극성 물질보다는 극성 물질들이 많아 ethanol 추출시에 좀 더 많은 고형분들이 추출되어 나오기 때문이다. 따라서 추출 용매는 ethanol로 결정하는 것이 타당할 것이다. 그리고 같은 ethanol 추출물에서는 냉동 건조 (FD)시가 다른 건조 방법에 비해 제조 수율이 높다는 것을 알 수 있었고, 이는 F/D의 경우가 마늘 세포 및 조직들의 파괴가 상대적으로 적어 풍미물질들 또한 많이 추출되어 나오기 때문일 것으로 사료된다.

나) Diallyl disulfide(DADS)의 정량

Fig.1-13에서 보는 바와 같이 전반적으로 ethanol 추출물들이 hexane 추출물들보다 DADS의 함량이 많았으며, 이는 DADS가 극성임에 기인하는 결과라 할 수 있다. 그리고 같은 용매추출물 중에서는 V/D한 경우가 A/D, F/D한 경우보다 DADS 함량이 높았다. 따라서 이상의 건조 방법 및 추출 용매에 따른 마늘박 추출물의 제조 실험 결과에서 수율면에서는 마늘박 F/D 분말을 ethanol로 건조하는 것이 가장 좋았으나, 원재료원가 및 DADS의 함량을 고려할 때 마늘박 V/D 분말을 ethanol로 추출하는 것이 가장 좋은 방법이

라 결론짓고 다음 실험을 진행하였다.

(2) 추출 조건 (추출 시간, 추출 용매비) 결정 실험

가) 추출 조건에 따른 제조 수율

추출 시간과 추출 용매비에 따른 제조 수율의 변화를 RSM을 통해 결정하였다. 우선 중심 합성 실험 법에 의해 결정된 13개의 실험구에 대해 실험을 실시하여 제조 수율을 측정 한 결과를 SAS Program에서 RSM을 통해 분석한 결과, 극대점을 찾을 수 있었다 (Fig.1-14,15). 이 때의 R2 값은 0.8444로 실험치들의 통계적 유의성이 높은 편이었고, lack of fit의 F-ratio도 0.465로 기준값인 0.05이상이므로 RSM의 결과도 acceptable하게 나왔다. 이 극대점에서의 수치들을 다시 환산하여보면 추출시간은 7시간 10분, 추출 용매비 (마늘박 분말 무게/ethanol 부피)는 8.51-fold 이었고, 이 때의 가상 제조 수율은 0.736% 였다.

나) 추출 조건에 따른 DADS의 변화

앞서의 13가지 실험군에 대한 DADS 정량 분석을 실시하였고, 역시 RSM 분석을 통해 추출조건의 최적점을 찾아보았다. 각 실험군의 DADS 함량을 RSM한 결과, R2 값이 0.55로 실험치들의 통계적 유의차가 아주 낮게 나타났다. 실험치들간의 유의차가 낮다는 것은 통계적으로 실험군간의 DADS 함량의 차이는 없다는 것을 의미한다. 즉, 추출조건에 따라 DADS의 함량 차이는 없다라고 해석 할 수 있다.

따라서 이상의 추출조건에 다른 제조 수율, 원재료 원가, DADS의 변화에 대한 실험 결과로, 용매 추출시에는 추출시간은 7시간 10분, 추출용매비는 8.51-fold로 하는 것이 최적임을 결론내릴 수 있었다.

3) 고추 추출물 제조

분말고추에 중량대비 10배의 용매를 투입하고 5시간동안 실온에서 추출한 단일용매 및 단계별 용매추출물의 수율, 색도 및 capsaicinoids를 Table1-3에 나타내었다. 단계별 추출방법이 단일용매 추출방법보다 높은 수율과 품질을 보였고, 그중 95% EtOH ==> hexane의 경우가 가장 좋은 결과를 보였다. 그러나 경제성과 공정시간 및 설비구성 등을 고려하여 95% EtOH 단일용매추출방법을 선정하였다. 추출조건 최적화를 위하여 용매량과 추출시간을 변수로 Table1-4와 같이 중심합성법에 의하여 설계한 후, 각 실험구간에서 추출물을

제조하여 수율 등을 분석하고 SAS program으로 통계처리한 결과(Fig.1-16,17,18), 용매량과 추출시간의 증가에 따라 수율은 지속적으로 상승하였고, 색도와 총 capsaicinoids는 용매량 13-14배, 추출시간 8-9시간에서 최대값을 보였다. 한편, 경제성의 측면에서는 용매량이 비교적 적고 공정시간이 비교적 짧은 구간을 선정하기 위하여 추출대상 성분인 색도와 capsaicinoids가 최대값을 보이는 조건을 최적조건으로 선정한 결과, 용매량 14배, 추출시간 8.5시간이었다.

2. 마늘 및 고추풍미 미세캡슐 제조

1) 마늘풍미 미세캡슐 제조

(1) Wall material 최적화

Fig.1-19와 같이 wall material의 조성을 gum arabic과 modified starch(N-Lok)로 100:0, 83:17, 65:35, 50:50, 35:65, 17:83, 0:100의 비율로 제조한 후, surface DADS를 측정된 결과, gum arabic 100%의 조성이 surface DADS양이 제일 적은 것으로 나타났다.

그리고, Fig.1-20의 wall과 core의 비율 실험에서는 4:1의 비율로 제조하였을 때, 최소의 surface DADS가 정량되었다. 따라서 wall material 최적조건으로는 gum arabic 100%로 wall:core의 비율은 4:1 이었다.

(2) 유화압 최적화

위의 최적 wall material 조건으로 0, 2,000, 4,000, 6,000, 8,000, 10,000 psi의 유화조건으로 1pass 한 후, 제조된 미세캡슐의 surface DADS를 정량한 결과, Fig.1-21과 같이 유화압이 증가함에 따라 surface DADS 양은 줄어들음을 알 수 있었다. 이에 10,000psi를 최적 유화압으로 선정하였다.

(3) Spray drying 공정 최적화

가) Particle Size 및 균일도

13개 실험구간으로 분무건조한 마늘미세캡슐분말의 평균입자직경,표준편차, 균일도를 Table.1-5에 나타내었다. 온도구간대별 미세캡슐분말의 평균입자직경은 Atomizer speed에 의한 일정한 경향을 보였으며 중심점(12,000rpm,170℃)의 평균입자직경은 47.4 μm였다. 입

자의 균일도는 입도분포10%이하의 평균입자직경과 입도분포60%이상의 평균입자직경의 비로서 계산하였다.

나) 분체물성

Hosokawa(일본)사의 Powder tester model PT-N을 이용하여 측정된 13개구간 sample의 흐름성(Flowability)과 분류성(Floodibility)의 data를 Table.1-6에 나타내었다.

Carr의 Index를 기준으로 볼 때, 흐름성은 not good, 분류성은 fairly high 로 분석되었으나 이는 현장 scale로 제조시에 물성이 크게 향상될 것으로 판단된다. 표에서와 같이 분체의 흐름성은 중심점(12,000rpm,170℃)을 기준으로 송풍온도는 160~170℃, Atomizer speed는 중심점 부근에서 상대적으로 양호한 결과를 나타내었다. 분류성은 분체물성을 판단하는 상대적 지표로서 이용되고 있으나 수치의 고저에 의한 비례적 판단변수가 아니므로 참고data로 활용하고 RSM 분석에서는 제외하였다.

다) DADS함량

HP 5890 GC를 이용하여 13개 시료에 대해 total DADS 함량을 분석하여 위와 같은 결과를 얻었다. 전체적인 경향을 살펴보기 위해 다음의 RSM으로 분석하였다

라) RSM에 의한 공정 최적화

이상에서와 같은 DADS함량, 평균입자직경, 흐름성, 입자균일도에 대한 실험결과를 RSM 기법을 적용하여 분석하였는데, 4가지 측정 Parameter가 마늘 미세캡슐분말의 특성에 미치는 영향을 고려하여 중요한 변수순으로 각각에 비중도를 부여하여 최적조건을 선정하였다. DADS함량과 평균입자직경은 Microencapsulation공정에 있어 효율과 분체특성에 미치는 영향이 크므로 70%의 비중을 두었고, 흐름성은 분체의 이송공정에 미치는 영향을 고려하여 20%, 균일도는 평균입자직경 및 흐름성 부분에서 그 특성이 어느정도 반영되었으므로 10%의 비중을 두어 RSM결과를 분석하였다(Fig.1-22,23,24,25).

RSM에 의한 각 항목별 data를 분석하여 종합한 결과 Atomizer speed의 최적조건은 0.5~-1.0 (10,500~9,000rpm), 송풍온도는 0.5~0.0 (157.5 ~ 170℃)의 범위로 분석되어 마늘의 미세캡슐화를 위한 최적S/D 조건을 Atomizer speed 9,750rpm, Inlet Temperature 163.75℃로 결정하였다(Fig.1-26).

(4) 풍미방출 특성

가) 풍미방출 특성 분석방법 정립

마늘 미세캡슐 분말의 release 특성분석을 위하여 다음의 세가지 방법으로 실험을 진행하였다. 이전 보고서에서 total DADS함량 분석에 사용한 용매추출법, release 특성분석이 목적이므로 용매추출 후 head space를 측정하는 방법, 그리고 분말을 직접 열처리하여 head space를 측정하는 방법이다.

a. 용매추출법

1g의 분말을 10ml의 증류수로 30분 반응 후, 10ml의 ethyl ether로 치환한 후 100 μ l로 농축하여 그 중 1 μ l를 GC로 분석하였다. DADS를 측정된 결과 3,841 ppm이 검출되었다. 그러나 이 방법은 전처리 시간, 온도에 따른 차이를 살펴볼 수 없는 방법으로 flavor release 특성 분석에는 적합하지 않은 것으로 생각되었다.

b. 용매추출 & Head space법

1g의 마늘 미세캡슐 분말을 30ml head space vial에 넣어 밀폐하고 증류수 10ml로 30분, 30초 처리하여 DPS(IS)를 넣고 head space 1ml을 GC로 분석하였다. 검출된 DADS 함량은 각각 8,233 ppm과 11,379ppm으로 증류수 처리시간에 따른 차이를 볼 수 없었고 이를 통해 증류수에 의해 캡슐이 모두 터져 flavor가 초기에 모두 release 되는 것을 알 수 있었다.

그리하여, 물을 대신해 사용할 수 있는 용매로 끓는점과 극성을 고려하여 선정하였다. 온도에 따른 release 특성을 살펴보기 위해서는 온도에 안정한 끓는점이 높은 용매, 분말을 초기에 녹이지 않는 비극성 용매의 조건을 갖춘 용매로 propanol을 선정하였다. 증류수를 propanol로 대체하고 80 $^{\circ}$ C에서 30, 60, 120, 180분을 처리하였으나 모두 DADS가 검출되지 않았다. 이로써 용매를 이용한 추출 및 head space법으로는 release 특성을 분석할 수 없었다.

c. Head space법

위와 같은 용매의 사용이 불가능하므로 분말상태로 전처리하여 head space를 측정하였다. 상온에서 미세캡슐은 안정하므로 일정온도와 시간의 처리를 통해 release를 가속화시켰

다.

a) IS 선정실험

기존에 internal standard로 사용하던 DPS는 ethyl ether에 녹아있어 head space에 투여 시 peak의 들뜸으로 DADS를 검출할 수 없어 새로운 IS로 EB(ethyl benzen)을 사용하였다. 120ml head space bottle에 2ml이 EB를 넣어 밀봉한 후, 60℃ oven에 30분간 방치하였다가 꺼내어 상온에서 보관하면서 사용하였다.

b) Total DADS

실험.2를 통해 미세캡슐 분말에 증류수를 첨가하면 분말이 터져 DADS가 모두 방출되는 것을 확인하였으므로 1g의 분말을 head space bottle에 넣고 밀봉한 후, 2ml의 증류수를 투여해 방출된 head space 1ml을 측정함으로써 total DADS를 측정하고 다음의 공식에 의해 방출된 DADS 함량을 산출하였다.

$$\text{Released DADS (\%)} = \frac{\text{DADS sample(area)} \times \text{EB DW(area)} \times 100}{\text{EB sample(area)} \times \text{DADS DW(area)}}$$

DADS sample(area) : 각 처리온도, 시간에 따른 실험군의 DADS 면적

DADS DW(area) : 증류수를 첨가한 군의 DADS 면적

EB sample(area) : 각 처리온도, 시간에 따른 실험군의 ethyl benzene 면적

EB DW(area) : 증류수를 첨가한 군의 ethyl benzene 면적

c) 전처리 온도 및 시간조건 실험

1g의 마늘 미세캡슐 분말을 30ml head space bottle에 넣어 다양한 온도(50, 75, 80, 90, 100, 125, 150, 180℃)와 시간(30, 60, 120, 180분)으로 전처리 한 후, ethyl benzene의 head space 10μl를 첨가해 1ml을 GC로 분석하였다. 그 결과 75℃의 전처리 조건에서는 180분을 처리해도 DADS가 검출되지 않았고 온도를 올림에 따라 검출이 되었으나 100℃에서 180분을 처리해도 30% 이하의 방출 특성을 보였다. 이로써 마늘 미세캡슐 분말이 열에 상당히 안정함을 알 수 있었다. 그리고 180℃ 온도조건에서는 분말이 타고 head space 뚜껑

이 열에 견디지 못하므로 실험이 불가능하였다.

이로써 다음과 같은 마늘 미세캡슐 분말의 release 특성 분석법을 정립하였다.

나) 풍미방출 특성 분석

a. 시간에 따른 특성

*Fig.1-27*와 같이 시간에 의존적인 release특성을 보였다. 100℃이하의 온도에서는 시간에 따른 차이를 볼 수 없었으며 30%이하의 release를 보였고 각 온도에서 120분 처리 이후에는 처리시간에 따른 DADS 방출의 증가현상을 볼 수 없었으므로 120분 처리 전후로 시간의 critical point가 존재함을 알 수 있었다.

b. 온도에 따른 특성

*Fig.1-28*과 같이 온도에 의존적인 release특성을 보였다. 100℃이하의 온도에서는 30%정도의 release를 보이므로 열에 안정함을 알 수 있었고 온도의 증가에 따라 DADS의 방출이 민감하게 증가함을 알 수 있었다.

2) 고추풍미 미세캡슐 제조

(1) Wall material 최적화

*Fig.1-29*와 같이 wall material의 조성을 gum arabic과 modified starch(N-Lok)로 100:0, 83:17, 65:35, 50:50, 35:65, 17:83, 0:100의 비율로 제조한 후, surface DADS를 측정된 결과, N-Lok 100%의 조성이 surface capsaicinoids가 제일 적은 것으로 나타났다. 따라서 wall material 최적조건으로는 N-Lok 100%로 wall:core의 비율은 3:1 이었다.

(2) 유화압 최적화

위의 최적 wall material 조건으로 1,000, 3,000, 5,000, 7,000, 10,000 psi의 유화조건으로 1pass 한 후, 제조된 미세캡슐의 surface capsaicinoids를 정량한 결과, *Fig.1-30*과 같이 5,000 psi에서 최소값을 나타내었다.

(3) Spray drying 공정 최적화

가) Total capsaicinoids 분석

Total capsaicinoids는 미세캡슐을 구성하는 성분의 물성, 혼합비 및 제조하는 공정이 미

세캡슐화에 어떠한 영향을 미치는 가를 나타내는 직접적인 지표로서 상품성을 저하시키지 않는 범위에서 높은 값을 보이는 것이 미세캡슐화 효율이 높다는 것을 입증한다고 알려져 왔다. 13개의 실험구간에서 제조된 미세캡슐분말의 total capsaicinoids를 측정된 결과, 중심점으로 이동할수록 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 일반적인 spray drying 현상과 비교 해석하면, atomizer speed에 의한 입자의 평균직경 즉, 단위무게당 총표면적과 송풍온도가 휘발성 성분의 손실에 미치는 영향을 고려해 볼 때,, 중심점의 조건이 건조속도가 빠르면서 건조열에 의한 손실을 최소화할 수 있는 온도와 입자직경의 범위내에 있다고 추정할 수 있었다(Fig.1-31).

나) Surface capsaicinoids 분석

미세캡슐화 효율을 나타내는 다른 하나의 지표는 surface oil함량이다. Surface oil함량이 많은 경우, 효율이 낮고 품질적으로 외부환경에 의해 보다 쉽게 영향을 받으며, 분체로서의 물성도 저하된다.

Fig.1-32는 각 구간에서 제조된 미세캡슐의 surface capsaicinoids함량을 보여주고 있다. 송풍온도가 낮아질수록, atomizer speed가 중심점으로부터 높아지거나 낮아질수록 감소하는 경향을 보였다.

그러나 일부 data를 제외하고 대부분의 구간에서 data간에 유의적인 차이를 보이지 않았기 때문에 surface capsaicinoids함량에 대한 공정조건의 영향은 크지 않은 것으로 판단되었다.

다) 분체물성 분석

각 구간에서 제조된 미세캡슐의 분체물성을 particle size analyzer와 powder tester로 분석하였다. core의 함량이 전체중량대비 25%로 wall 제조사에서 제시하는 최대 20%범위를 초과하였기 때문에 분체로서의 물성은 매우 불량하였다. 더구나 pilot spray dryer로 소량씩 제조되어 분체물성을 측정하기에는 부적합한 시료로 생각되었으나 평균입자직경과 균일도 측정에는 무관하고 다만, 흐름성과 분류성의 data에 재현성이 없을 것으로 보여 상대적인 비교에만 의미를 두는 것으로 진행하였다.

평균입자직경은 일반적으로 알려진 것과 같이 송풍온도와는 무관하였고 atomizer speeds가 증가할수록 낮아졌다. 한편, 균일도는 중심점으로 갈수록 증가하는 경향을 나타내었다.

흐름성은 두 공정변수의 값이 증가할수록 증가하였고 분류성은 두공정변수가 낮아질수록 증가하다 최적구간을 나타내었다. 따라서 흐름성과 분류성 분석결과에 의한 유의적인 결론을 도출하는 것은 어렵다고 판단되었다(Fig.1-33,34).

라) RSM에 의한 최적공정조건 선정

이상의 결과를 토대로 고추풍미미세캡슐을 제조하기 위한 spray drying의 최적공정조건을 선정하기 위하여 SAS program으로 통계처리하였다. total capsaicinoids는 중심점으로 이동할수록 증가하는 경향을 보였으며 critical point는 송풍온도 171.34℃, atomizer speed 11,584rpm 이었다. 미세캡슐화의 주된 목적이 core를 보다 많이 포집하는 것이므로 최적조건의 선정에 대한 중요도를 60%로 하였다. Surface capsaicinoids의 RSM결과를 나타낸 것으로 송풍온도가 낮아질수록 그 함량은 감소하였는데, 이는 열에 의한 volatile loss에 민감하다는 것으로 보였으나 total capsaicinoids에 비하여 1.5-2.5% 정도이므로 유의적인 차이를 인정하기는 어렵다고 판단되어 중요도를 20%로 하였다. 평균입자직경은 송풍온도와는 무관하고 atomizer speed가 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났고, 균일도에 대한 RSM 결과는 송풍온도는 낮아질수록 atomizer speed는 중심점으로 갈수록 증가하는 것으로 나타나 두 가지 결과로부터, 최초생성된 분무액적의 크기는 원심력에 반비례하고, 건조중 송풍온도가 낮아질수록 건조속도가 낮아져 미건조분말간의 aggregation이 증가되는 것으로 판단되었다.

흐름성에 대한 결과는 송풍온도와 atomizer speed가 높아질수록 증가하는 것으로 나타났고, 분류성은 두 공정변수가 낮은 범위에서 최대값을 나타냈으나 두 결과치 모두 모든 구간에서 매우 불량한 것으로 나타났다. 따라서 분체물성에 관한 4가지의 결과(평균입자직경, 균일도, 흐름성, 분류성)의 중요도를 각각5%로 하여 최적공정조건을 선정하였다. 그림 8에서 보듯이 6가지 결과를 종합하여 각각의 중요도를 고려한 결과, 송풍온도는 135-180℃, atomizer speed는 10,250-12,045rpm의 범위에서 최적조건구간이 선정되었으며 이때의 critical point는 157.5℃, 11,146rpm이었다(Fig.1-35).

3. 2차 코팅을 이용한 TDR/TSR 미세캡슐 제조

1) 2차 코팅물질 선정 및 코팅

미세캡슐에 TDR, TSR 특성을 부여할 수 있는 2차 코팅물질로 검류, 지방산류, 변성전분

류를 검토하였다. 지방산류는 경화유를 검토하였으나 녹는점이 낮아 과립시 굳어버리는 성질로 인해 코팅물질로 부적당하였다. 변성전분 78-0508과 Solstar-S와 검류 중 gum arabic을 대상으로 열안정성 실험을 한 결과 Fig.1-36과 같이 180℃, 30분간 처리했을 때, gum arabic은 열에 의해 검게 변하였으나 변성전분인 78-0508과 Solstar-S는 열에 견디었다. 따라서 변성전분에 대해 코팅실험을 진행하기로 하였다.

2) 마늘풍미 2차 코팅 미세캡슐 특성

(1) TDR/TSR 특성

변성전분 78-0508을 이용한 증량대비 각각 7, 14, 21% 코팅한 분말에 대해 125℃의 온도에서 처리시간에 따른 DADS(Diallyl disulfide) 조절방출 특성을 살펴본 결과 Fig.2와 같이 78-0508 코팅 분말은 전반적으로 방출이 지연되는 효과를 볼 수 있었고 특히 21% 코팅시 60분간 처리해도 DADS의 방출이 억제되는 효과를 보였다.

변성전분 78-0508은 호화개시온도가 85~90℃로 수분이 없는 분말상태에서는 구조적으로 상당히 안정하기 때문에 효과가 있는 것으로 생각된다(Fig.1-37).

온도에 의한 DADS 방출특성은 100℃에서는 방출이 일어나지 않았고 125℃, 60분 처리시 변성전분 78-0508의 코팅 정도에 따라 확인한 방출억제 효과를 보였다. 150℃의 온도에서는 전체적으로 방출이 모두 일어났다(Fig.1-38).

(2) Image analysis 및 흡습/탈습 특성

Fig.1-39는 변성전분 78-0508에 의해 코팅된 분말의 현미경사진을 보여주고 있다. 여기에서 78-0508은 코팅정도가 증가함에 따라 입자를 둘러싸고 있는 피막의 두께가 증가함을 볼 수 있었다.

마늘풍미 S/D 미세캡슐과 2차 코팅 미세캡슐(14%, 21%)은 흡습과정에서는 커다란 차이를 보이지 않았으나 탈습 시 코팅의 정도에 따라 탈습이 빨리 이루어져 hysteresis(이력현상)가 줄어들었음을 알 수 있었다. 특히 hysteresis의 경향에서 상대습도 50% 이하에서는 감소경향이 유사한 것으로 보아 탈습 초기인 상대습도 80, 70, 60%에서 2차 코팅 미세캡슐의 탈습이 활발히 이루어졌음을 짐작할 수 있었다. 이로써 2차 코팅 미세캡슐은 S/D 미세캡슐에 비해 흡습/탈습이 반복될 경우, 수분함유량 면에서 원래상태에 더 근접하는 안정성을 갖을 것으로 기대되었다(Fig.1-41,42).

이런 2차 코팅 미세캡슐의 탈습의 용이함은 코팅물질인 변성전분78-0508의 탈습특성에 기인되리라 생각하여 각 wall material의 흡습/탈습 실험을 진행하였다.

3) 고추풍미 2차 코팅 미세캡슐 특성

(1) TDR/TSR 특성

고추풍미 capsaicinoid는 마늘 풍미인 DADS에 비해 열안정성이 우수하여 Fig.1-46과 같이 시간에 따라 방출이 전반적으로 지연되었다. 특히 변성전분 78-0508의 코팅정도에 따라 시간 의존적으로 풍미 방출이 더욱 지연되었다.

변성전분 78-0508의 코팅정도에 따라 온도에 의한 풍미 방출도 지연되었다(Fig.1-47).

(2) 흡습/탈습 특성

고추풍미 S/D미세캡슐과 2차 코팅 미세캡슐(14%, 21%) 역시 흡습과정에서는 커다란 차이를 보이지 않았으나 탈습시 코팅의 정도에 따라 탈습이 빨리 이루어져 hysteresis(이력현상)가 줄어들었음을 알 수 있었다. 특히 hysteresis의 경향에서 S/D 미세캡슐은 상대습도가 감소함에 따라 50% 까지 증가하는 반면, 2차 코팅 미세캡슐(21%)은 hysteresis가 감소하여 수분함량이 줄어들었다. 이를 통해 고추 역시 탈습 초기에 수분의 이탈이 빨리 이루어지는 것으로 보아 코팅물질인 변성전분 78-0508의 특성이 중요 요인으로 생각된다(Fig.1-49, 50).

또한 고추풍미 S/D미세캡슐은 마늘풍미 S/D미세캡슐에 비해 흡습이 덜 이루어졌음에도 불구하고 탈습이 거의 이루어지지 않는 경향을 보였는데 이는 S/D wall materials인 고추풍미 S/D 미세캡슐의 N-Lok과 마늘풍미 S/D 미세캡슐의 Gum arabic의 특성차이에 기인하리라 생각되어 다음의 실험을 진행하였다.

예상했던 결과와 같이, 각 wall들의 흡습/탈습 특성은 달랐다. 특히 코팅 wall인 변성전분 78-0508은 이상적인 sigmoidal 형태의 등온흡습특성을 보이면서 hysteresis가 극히 적었다. 이에 반해 고추풍미 S/D 미세캡슐의 wall인 N-Lok은 탈습시 수분을 거의 방출하지 않아 hysteresis가 매우 커 수분 안정성 면에서 문제가 될 것으로 생각된다. 그리고 순수한 wall 물질의 hysteresis에 비해 S/D미세캡슐의 hysteresis가 전반적으로 큰 것으로 보아 S/D미세캡슐 내부의 core가 탈습시 수분 이탈을 방해할 것으로 생각된다(Fig.1-51, 52).

이와 같이 마늘풍미, 고추풍미 S/D 미세캡슐 및 2차 코팅 미세캡슐의 탈습특성의 차이는

원료 wall materials의 특성에 기인한 것으로 코팅 wall인 78-0508의 뛰어난 탈습특성으로 코팅분말은 수분에 대한 안정성을 확보할 수 있었다.

흡습이 완료된 후, 탈습시 각 상대습도에서의 건조속도를 구하고 그 최고값을 상대습도 별로 나타내보았다. 상대습도 90%에서는 평형에 도달하기 위해 이탈되는 수분의 양이 전반적으로 적게 소요되므로 건조가 진행되지 않은 반면에, 상대습도 80%에서 60%까지 왕성한 건조가 이루어졌다. 특히 2차 코팅 마늘풍미 미세캡슐(21%)과 변성전분 78-0508의 건조양상은 매우 유사하였는데 S/D미세캡슐에 비해 2차 코팅 미세캡슐의 건조속도가 전반적으로 컸을 뿐만 아니라 상대적으로 높은 상대습도인 80%에서 최고값은 갖는 것으로 보아 코팅에 의해 건조가 쉽게, 빠르게 진행됨을 알 수 있다(Fig.1-43, 53, 54).

이로써 변성전분 78-0508의 쉽게 탈습되는 특성에 의하여 2차 코팅 미세캡슐은 S/D미세캡슐 외부의 수분확산 및 이탈이 초기에 빠르게 진행되어 원래의 수분함량에 근접하는 수분안정성을 갖을 수 있었다.

제 3 장 미세캡슐화 공정 디자인 및 최적화

제 1 절 연구수행방법

1. Flavor model system 개발

첫 단계로서 지금까지 문헌에 발표된 flavor core material의 특성을 조사하고 분류하였다. 이러한 core material 중 식품에 주로 많이 존재하고, 과일 향을 갖는 flavor material의 분자량 (100~150)과 B. P.(50~150°C) 를 고려하여 다양한 범위에서 5 종류의 flavor compounds를 선택하였으며, limonene은 산화안정성의 지표로써 본 실험용으로 선정하였다. 선정된 각 flavor material의 retention time을 GC로 확인하였다. 유화 과정 중에 손실되는 향기성분의 양을 최소화하기 위한 향기성분:채종유의 최적의 비율을 측정하였다. 채종유를 1:0 ~ 1:5의 부피 비로 oil용 homomixer를 이용하여 혼합한 후, 50 ml headspace vial에 담아 90°C oven에서 20분간 활성화시켰다. Headspace에 포집된 휘발성분을 gas-tight syringe로 0.2 ml 취해 gas chromatography로 분석하였다. GC 분석조건은 Table.2-1과 같다.

2. Wall material의 특성연구

Microencapsulation에 사용되고 있는 각종 wall material에 대한 종류 및 특성을 조사하고 분류하였다. 이러한 wall material 중 구입 가능하고, 일반적으로 사용되는 maltodextrin (DE 15), gum arabic, alkenylsuccinated modified starch (N-Lok)를 주 wall material로, gellan gum, gelatin, κ -carrageenan은 유화액의 점도를 증가시켜 유화안정성을 주기 위한 첨가제로 선정하고 각각의 점도와 유화안정성을 측정하고, core:wall의 최적 배합비율을 선정하였다.

3. Wall material 배합비율 최적화

선정한 wall material중 우선 MD의 함량을 결정하였으며, 첨가제를 선정하여 그 배합비율을 결정하였으며, 유화안정성을 증가시키기 위한 첨가제를 선정하였다. MD의 함량을 고정한 후, GA와 MS를 2:8~8:2의 비율로 제조하여 최적의 배합비율을 선정하였다. 여러 문

현에서 식품에 많이 적용한 유화액 제조조건과 spray drying 공정조건을 이용하여 시료를 제조하였다 (Fig.2-1).

4. 조절 방출 (controlled release) 실험을 위한 wall material 선정

1) TSR (temperature-sensitive release)

TSR을 위한 캡슐화공정은 fluidized bed공정을 이용한 2차 fat coating으로 완성하였다. 1차 캡슐화물질은 1차년도에서 선정했던 wall system (MD:GA:MS:gellan gum = 30:26.4:39.6:4)을 사용하였다. TSR 공정을 위한 2차 캡슐화물질은 여러 발표논문에서 사용된 유지 중 hydrogenated palm kernel oil (m.p. 47.3°C)을 선정하였다.

2) TDR (time-dependent release)

1차년도에서 선정된 wall system을 TDR을 위한 캡슐화물질로 사용하여 저장기간 동안의 변화를 살펴보았다. 또한 여러 wall material 중 산화안정성이 매우 우수하다고 알려진 β -cyclodextrin (β -CD)을 TDR을 위한 또 다른 wall material로 선정하여 저장기간 (10주) 중의 flavor release 정도를 wall system과 비교하였다.

3) PSR (pH-sensitive release)

PSR을 위한 wall material은 여러 발표 논문과 예비실험을 통해 κ -carrageenan과 type A gelatin (bloom strength 232, isoelectric point 8.1)을 선정하여 사용하였다.

4) MAR (melting-activated release)

온도변화에 의한 MAR을 위한 2차 fat coating물질로 2차 년도에서 사용한 hydrogenated palm kernel oil (m. p. 47.3°C)과 hydrogenated rapeseed oil (m. p. 62.5°C)을 선정하였다. 물에서의 MAR을 측정하기 위해서는 single encapsulated powder와 β -CD-flavor complex를 이용하였다.

5. 유화압력 조건 최적화

선정된 wall system을 이용하여 piston-type homogenizer의 유화 압력 최적화 실험을 하였다. 유화압력 1,000~8,000 psi에서 유화액을 제조한 후, 유화액의 유화안정성과

%flavor release를 분석하였으며, 분말의 수분함량, total oil retention, surface oil 함량, %flavor release를 측정하였다.

6. Spray drying 공정 최적화

Spray drying 공정 조건을 통계적으로 최적화하기 위해 반응표면분석법 (response surface methodology)을 사용하였다. 2개의 독립변수를 갖는 중심합성계획법 (central composite rotatable design)을 사용하여, inlet temperature (X1)와 atomizer speed (X2)를 주요 독립변수로 하였으며 분말입자 크기, total oil retention, surface oil content, flavor release를 종속변수로 하였다. 170°C, 15,000 rpm을 중심점으로 하여 inlet temperature의 + α 와 - α 값의 범위를 127.5~212.4°C로 설정하고, atomizer speed는 10,758~19,242 rpm을 범위로 설정하였다 (Table.2-2). 제조된 분말의 미세구조를 SEM (scanning electron microscopy)으로 관찰하였다. 분석결과는 SAS를 이용해서 통계처리 하였다.

7. Fat coating을 위한 fluidized bed 공정 확립

Spray dryer (inlet temperature: 180°C, disk rpm: 14,000 rpm)를 이용하여 single encapsulated powder를 제조하였다. 여기에 분말의 흐름성을 개선하기 위해 SSA (sodium silico aluminate)를 1%첨가하였다. 분말을 파립기의 chamber 밑면에 담고 아래쪽에서 공기를 불어넣어 분말을 부상시키고, 이 때 액상으로 만든 hydrogenated palm oil을 4 rpm의 infeed rate로 spray nozzle 통해 분사시켜 double encapsulated powder를 제조하였다 (Fig.2-2). 제조된 double encapsulated powder의 extractable fat content를 측정하였으며, 여러 물리적 특성을 실험하여 single encapsulated powder와 비교하였다.

8. β -CD를 이용한 캡슐화 공정 (β -CD-flavor complex 제조) 최적화

Stir plate의 온도 60°C정도에서 100 g β -CD를 1,000 ml water:ethanol (2:1) solution에 녹였다. Stirring하면서 flavor 10 g을 조금씩 첨가한 후 온도를 서서히 낮추고 emulsion의 온도가 실온으로 떨어지면 12~16 시간 동안 4°C 냉장고에 보관하였다. Whatman No 4 filter paper와 suction flask를 이용하여 filtration시켜 β -CD와 flavor가 complex되어 있는 분말을 회수하였다. 3가지 다른 건조방법 (air drying, vacuum drying, freeze drying)으로 분말을 건조시킨 후 각 건조방법에 따른 분말의 특성을 비교하여 하나의 건조방법을 선정

하였다. Flavor: β -CD의 최적의 배합비율을 선정하기 위해 flavor: β -CD를 1:6~1:12의 비율로 혼합하여 실험하였다. 분말 제조 후, particle size, total oil retention, surface oil content, flavor release, moisture content, 흡습성과 SEM에 의한 형태를 비교하였다.

9. Coacervation 공정 최적화

캡슐화 공정은 여러 발표 논문을 고찰하여 pH에 대한 release 효과를 높이기 위해 single coacervation보다는 반대 전하를 띠는 두 고분자 물질의 pH에 의하여 서로 반응하는 것을 이용하는 complex coacervation을 이용하기로 하였다 (Fig.2-3).

분말을 제조하는데 있어서 coacervation 최적 조건을 결정하는 것이 요구되었다. Standard formulation은 논문들과 예비실험을 통해 결정하여 control로 하고, coacervation 조건들을 차례대로 결정하기로 하였다 (Table 2-3).

Coacervation 공정 조건을 통계적으로 최적화하기 위해 반응표면분석법 (response surface methodology)을 사용하였다. 2개의 독립변수를 갖는 중심합성계획법 (central composite rotatable design)을 사용하여, coacervation pH와 κ -carrageenan과 gelatin의 비율을 주요 독립변수로 하였으며 종속변수는 dry coacervate의 yield로 하였다.

Coacervation pH의 범위는 2.00에서 4.50으로 하였고, κ -carrageenan과 gelatin의 비율은 gelatin의 양을 기준으로 하여 κ -carrageenan의 양을 10~200%로 하였다 (Table.2-4). 분석결과는 SAS를 이용해서 통계처리 하였다.

Wall material의 특성상 일정농도 이상에서는 coacervation 공정이 불가능하므로, 최적화된 조건에서 최대 농도의 product를 생산하기 위해 total polymer concentration을 3~10% (w/v)로 변화시켰다.

Potassium chloride (hardening agent)의 첨가 여부에 따른 캡슐을 비교하였다. 기존에는 hardening agent를 유화액 상태에서 첨가하여 입자 모양이 불균일했으므로 이를 보완하기 위하여 atomizer를 이용하여 hardening agent에 분무하였다. 제조된 캡슐의 미세구조를 SEM (scanning electron microscopy)으로 관찰하였다.

10. 제품 평가 방법 확립

1) Wall material 점도 측정

각 피복물질의 1, 5, 10, 20, 30, 40, 60% 수용액을 제조하여 25, 40, 60, 80℃에서 Brookfield 점도계를 이용하여 점도를 측정하였다.

2) 유화안정성

유화액을 50 ml 메스실린더에 담고 마개를 막은 후 100℃ oven에서 6시간 경과 후 유화액으로부터 분리되어지는 수용액층의 부피를 측정하였으며, 그 측정값은 아래 식에 대입하여 유화안정지수 (emulsion stability index, ESI)로 나타내었다

$$ESI = \left(1 - \frac{\text{분리된 수분층의 부피}}{\text{유화액내 수분의 총부피}}\right) \times 100$$

3) 유화액으로부터의 flavor release

유화액 내 핵물질의 retention을 static headspace analysis system을 사용하여 측정하였다. 제조된 유화액 10 ml를 50 ml vial에 담아 Teflon-faced septa와 aluminum cap으로 capping하고 80℃ oven에서 30분간 활성화시킨 후, headspace에 포집된 휘발성분을 gas-tight syringe로 1 ml 취해 위와 같은 분석 조건에서 GC로 분석하였다. 향기성분을 혼합하여 10 ml를 취해 50 ml vial에 담아 internal standard로 사용하였다.

4) 유화액에서의 유화입자 형태 관찰

제조된 유화액을 slide glass에 10 μL 떨어뜨리고 cover glass로 덮은 후, image analyzer (Diaphot 300, Nikon, Japan)로 직접 관찰하였다.

5) Particle size

분말화된 시료의 입자크기를 particle size analyzer로 측정하였다.

6) 흡습성

분말 10g을 petridish에 계량하여 온도 25℃, 습도 90%로 고정한 항온항습기에서 24시간 보관 후, 무게의 증가를 측정하였다.

분말 5 g을 duplicate로 petridish에 계량하여 항온항습기에서 온도 30℃, 습도 85% RH

에서 1시간 간격으로 분말 무게의 증가를 측정하였다.

7) 분말의 total oil 분석 (TOD)

30 g의 분말을 500 ml flask에 계량하여 200 ml 증류수로 용해하고 Clevenger apparatus 아래에 시료를 넣은 flask를, 위에 water cooled condenser를 장치하였다. 용액을 가열하여 (70~80℃) 3시간동안 증류하고 (시간측정은 Clevenger apparatus 안에 첫 방울이 떨어진 이후부터 시작하였다) oil의 volume을 oil collecting arm (5 ml)에서 직접 읽고 부피를 무게로 환산하였다.

8) 제품의 surface oil 분석 (SOD)

Soxhlet extraction법을 변형하여 분석하였다. 10 g의 분말을 extraction thimble에 담아 glass wool을 덮는다. 시료가 담긴 extraction thimble를 Soxhlet extractor에 넣었다. 용매인 pentane 200 ml를 Soxhlet추출 flask에 넣고 Soxhlet extractor에 flask와 water cooled condenser를 장치하여, steam bath (60℃)에서 2시간동안 추출하였다. 추출액을 40℃에서 25 ml까지 농축시켜, 1.0 μ l를 취해 Flavor release 분석법에 사용한 gas chromatography로 분리 정량하였다. 각 flavor material을 500 ml flask에서 200 ml pentane과 같은 방법으로 농축시켜 external standard로 사용하였다.

9) 분말에서의 flavor release 측정

SOD에서 surface oil이 제거된 분말을 100℃ oven에서 건조시킨 후, 50 ml headspace vial에 담아 유화액에서의 flavor release 측정과 같은 방법으로 실험을 하였다. 분말내의 volatile retention을 확인하기 위해 분말을 증류수 30ml에 용해하여 같은 방법으로 flavor release를 측정하였다.

10) Moisture content 측정

가) Air oven method

분말 5 g을 duplicate로 petridish에 계량하여 petridish+분말의 무게를 측정하였다. 100℃ air drying oven에서 16시간 건조시킨 후 petridish+분말의 무게를 측정하여 건조 전·후의

무게 차로 분말 내 수분의 함량을 계산하였다.

나) Toluene distillation method

분말 20 g을 계량하여 toluene 250 ml가 담긴 500 ml flask에 넣는다. 시료를 담은 flask 위에 Bidwell-stering trap과 condenser를 장치하고, 2.5시간동안 증류하였다. 증류가 끝난 후, trap의 온도를 실온까지 냉각시키고 수분의 volume을 collecting arm에서 직접 읽었다.

11) Double encapsulated powder에서 extractable fat content 측정

Double encapsulated powder 2 g을 extraction thimble에 담아 glass wool을 덮고 무게를 측정한 후, extraction thimble을 Soxhlet extractor에 넣었다. 용매인 petroleum ether 150 ml를 Soxhlet추출 flask에 넣고 Soxhlet extractor에 flask와 water cooled condenser를 장치하여, steam bath(60°C)에서 4시간동안 추출하였다. 추출이 끝난 thimble을 80°C incubator에서 2시간 동안 건조시킨 후 무게를 측정하였다. 건조 전·후의 분말의 무게차를 이용하여 double coating에 사용된 fat의 함량을 계산하였다.

12) 주사전자 현미경 (scanning electron microscopy) 관찰

분말의 형태를 관찰하기 위해서 주사전자 현미경 (scanning electron microscopy, JSM-5410L, Jeol Co., Japan)를 이용하였다. Specimen stub에 양면 테이프를 붙이고, 그 위에 분말을 고정하였다. 준비된 시료를 ion sputter (ϵ -1030, Hitachi, Japan)에서 금으로 코팅한 후 주사전자 현미경에서 150배, 750배로 분말의 형태를 관찰하였다.

13) 산화안정성

분말을 37°C incubator에 20주 동안 보관하면서 1주 단위로 분말 내 산화지표물질인 limonene 1,2-epoxide와 carvone의 함량을 측정하였다. 분말 0.3 g을 50 ml 원심분리용 tube에 담고 10 ml HPLC grade water를 첨가한 후 vortex mixer로 1분간 혼합하였다. Shaking incubator 60°C에서 130 rpm으로 1시간 동안 circulation하여 분말을 완전히 용해시켰다. 2 mg의 nonane (internal standard)을 포함한 10 g의 HPLC grade pentane 첨가한 후 vortex mixer로 1분간 혼합하고 shaking incubator 40°C에서 100 rpm으로 1시간 동안 circulation하면서 flavor compound를 추출하였다. 3000 × g에서 10분간 원심분리시킨 후 -70°C 냉동실에서 1시간 정도 두었다. Clear supernatant layer에서 1 μ L를 취해 GC로 분

석하여 limonene의 산화물질인 limonene 1,2-epoxide와 carvone의 함량을 정량하였다.

11. 저장 기간 중의 flavor release 측정 (TDR)

분말 5 g을 headspace vial에 담아 37°C incubator에 보관하였다. 1주 단위로 분말을 담은 headspace vial을 꺼내 분말에서 release된 flavor의 양을 측정하였다.

12. 온도변화에 따른 flavor release 측정 (TSR)

Double encapsulated powder 0.5 g을 22 ml headspace vial에 담아, 증류수 4.5 ml를 첨가하였다. Wall material인 hydrogenated palm kernel oil의 녹는 점 (47.3°C)보다 높은 온도 (60°C)와 낮은 온도 (40°C)에서 1시간 보관 후, static headspace autosampler와 GC-MS를 이용하여 headspace에서의 flavor concentration을 측정하였다. Static headspace autosampler의 조건은 Table.2-5와 같다. 0.08 g coating fat과 0.42 g single encapsulated powder를 vial에 담아 위와 같은 방법으로 측정하여 standard로 사용하였다.

13. pH의 변화에 따른 flavor release 측정 (PSR)

분말 내의 핵물질의 retention을 static headspace analysis system을 사용하여 측정하였다. 제조된 분말 0.5 g을 50 ml vial에 담아 여러 pH의 phosphate buffer solution 10 ml에 용해시키고 Teflon faced septa와 aluminum cap으로 capping한다. 분말을 담은 headspace vial을 1분 동안 vortexing한 후 80°C oven에서 30분간 활성화시킨 후 headspace에 휘발되는 volatile-phase content를 gas tight syringe로 1 ml 취해 gas chromatography(GC)로 분석하였다.

14. 녹는 정도에 따른 flavor release 측정 (MAR)

1) 수분에 녹는 정도에 따른 flavor release

β CD-flavor complex와 wall system을 이용해 캡슐화한 single encapsulated powder를 50 ml headspace vial에 각각 0.5 g, 1.0 g을 담고, 25, 50, 75, 100°C 증류수와 1:9의 비율로 혼합하였다. 30°C sonicator에서 30분간 activation시킨 후, 분말에서 release된 flavor의 양을 GC로 측정하였다.

2) 녹는점의 차이에 따른 flavor release

2차 coating된 double encapsulated powder 1 g을 50 ml headspace vial에 담고, 증류수 9 ml를 담았다. Hydrogenated palm kernel oil (m. p. 47.3℃)로 coating한 분말은 37, 60℃ incubator에서 30분간 보관하였으며, hydrogenated rapeseed oil (m. p. 62.5℃)로 coating한 분말은 55, 70℃ incubator에서 보관하였다. 분말의 activation조건은 위와 같다.

제 2 절 연구수행결과

1. Flavor model system 개발

향기성분을 피복물질과 혼합해서 유화액을 준비하는 과정에서 많은 양의 향기성분이 손실되므로 이를 최소화하기 위해 채종유와 혼합하였다. 채종유와의 혼합비를 달리하여 실험한 결과, 5종류 향기성분 모두에서 채종유와의 혼합비가 증가할수록 headspace에서의 상대증기압이 감소하였다 (Fig. 4). 향기성분:채종유=1:5의 혼합비에서 가장 낮은 상대증기압을 나타내기는 하였지만, 사용되는 향기성분의 양이 너무 적으므로, 앞으로의 실험에서는 향기성분:채종유=1:4의 부피비로 혼합하여 핵물질로 사용하였다.

2. Wall material 특성 분석 및 최적 배합비율 선정

점도 특성 분석 결과, 고형분 농도 1%와 5%에서는 3종류 피복물질의 점도가 비슷하였으나 10% 이상부터는 농도가 증가할수록 피복물질간의 점도 차이가 커졌다. 40% 이상에서는 피복물질간 현저한 차이를 보였으며 온도에 따라서도 점도차이가 크게 나타났다. 60%에서는 modified starch와 gum arabic의 점도가 너무 높아 측정하기가 어려웠다 (Table.2-6).

유화안정성 실험 결과, maltodextrin은 모든 비율에서 ESI가 0이었으며, modified starch의 경우 1:3과 1:4의 비율에서 유화안정성이 다른 비율보다 약간 높았으나 큰 차이를 보이지는 않았다. Gum arabic의 유화안정성이 가장 우수하였으며, 그 중 1:4의 ESI가 0.7로 가장 우수한 결과를 보였다 (Fig.2-5). 여러 논문에서도 향기성분의 캡슐화를 위한 핵물질:피복물질의 비율은 1:4로 제안하고 있다. Image analyzer에 의한 oil droplet size 분석 결과 (Fig.2-6) core:wall=1:3일 때 유화가 가장 잘 이루어졌으며, 1:4의 경우도 비교적 유화가 잘 형성되었다. 이상의 실험 결과를 토대로 하여 core:wall의 비율을 1:4로 선정하였다.

GA:MS = 5:5의 혼합물에 MD를 20, 30, 40% 첨가하여 유화액을 제조하였다. MD를 30% 첨가한 것이 ESI가 0.11로 가장 우수하였다.

MD:GA:MS = 3:3.5:3.5의 혼합물에 유화액의 점도를 증가시켜 유화안정성을 증가시키기 위한 첨가제를 선택하기 위해 gellan gum, gelatin, κ -carrageenan을 각각 3.3% 첨가하였다. Gellan gum과 κ -carrageenan 첨가 시 ESI가 0.68로 유화안정성이 가장 우수하였으며, total oil retention은 gellan gum의 경우가 63.8%로 가장 높았다 (Fig.2-7, 8). Surface oil 함량은 gellan gum 첨가 시 0.128mg/100g으로 가장 적었다 (Fig.2-9). 위의 결과에 따

라 gellan gum을 첨가제로 선정하였다.

MD를 30%로 고정하였을 때, GA:MS의 최적배합비율을 선정하기 위해 GA:MS를 2:8~8:2의 비율로 반복 실험하였다. ESI는 GA:MS = 2:8 > 4:6 > 7:3 > 8:2 > 5:5, 6:4 > 3:7의 순으로 높았으며, % flavor release는 4:6 < 6:4 < 5:5 < 3:7 < 7:3 < 8:2 < 2:8의 순으로 적었다. 따라서 GA:MS = 4:6을 가장 적합한 배합비율로 선정하였다 (Fig.2-10).

MD:GA:MS = 30:28:42 (GA:MS =4:6)의 배합비율에 첨가제로 선정된 gellan gum을 1~5% 첨가하였다. 그 결과, 유화안정성은 gellan gum 5%첨가에서 ESI = 0.85로 가장 우수하였으며, gellan gum 3%와 4% 첨가 군에서도 각각 0.77, 0.82로 큰 차이를 보이지는 않았다. %flavor release는 gellan gum 첨가군 4%에서 3.61%로 가장 적은 값을 보여, gellan gum 4%를 첨가한 것이 가장 좋은 결과를 보였다 (Fig.2-11).

이상의 결과로 MD = 30%, gellan gum = 4%, GA:MS = 4:6 즉, MD:GA:MS:gellan gum = 30:26.4:39.6:4를 wall material의 최적배합비율로 선정하여 앞으로의 실험에서 wall system으로 사용하였다.

3. 유화압력조건 최적화

유화압력 6,000 psi 이상에서는 ESI = 1로 주어진 조건에서 유화액이 전혀 분리되지 않았으며, 3,000과 5,000 psi 에서도 0.9이상으로 유화안정성이 우수하였다. % flavor release는 1,000 psi 유화압력에서 3.82%로 가장 적었으며, 유화압력 3,000과 7,000 psi 에서도 각각 5.13과 5%로 release되는 flavor 양이 적었으며, 5,000 psi에서는 21.59 %로 가장 많았다 (Fig.2-12). 그러나 유화압력 5,000 psi 이상에서 제조한 유화액은 spray drying하기에는 점도가 너무 높아 사용하지 않았다.

유화압력 1,000~4,000 psi로 제조된 유화액으로부터 spray drying하여 분말을 제조하였다. 제조한 분말의 수분함량은 16.8~18.1%로 비슷하였다 (Fig.2-13). Total oil retention은 2,000~4,000 psi에서 60%로 동일하였으며, 1,000 psi에서만 56%로 조금 낮았다 (Fig.2-14). Surface oil 함량은 3,000 < 4,000 < 2,000 < 1,000 psi의 순으로 적었다 (Fig.2-15). % flavor release는 3,000과 4,000 psi에서 0.05% 정도로 가장 적었다 (Fig.2-16).

이상과 같이 유화액과 spray dried powder를 분석한 결과, 3,000 psi를 최적 유화압력 조건으로 선정하였다.

4. Spray drying 공정 최적화

분무건조기에 관련된 공정변수 중 가장 중요한 inlet temperature와 atomizer speed의 최적화에 초점을 맞추었으며, 3번 반복한 실험의 평균치를 가지고 SAS program을 이용해서 분무건조공정에 있어서 inlet temperature와 atomizer speed의 최적 조건을 예측하였다 (Table.2-7).

Particle size를 종속변수로 했을 때 커다란 차이를 볼 수 없어 제외하였고, 10,000 rpm이상에서는 분말크기에 별다른 영향을 미치지 않는다고 판단되었다.

다중 회귀 분석에 의해 설정된 모델식을 이용한 반응표면 분석법으로 Fig. 17의 결과를 얻었다. Total oil retention을 종속변수로 했을 때 Fig. 6에서 볼 수 있듯이 182°C, 14,779 rpm에서 61.7%의 최대점을 예측할 수 있었다. 송풍 온도와 분무 속도 모두 5% 이내의 유의확률에서 유의성이 있었으나, 분무 속도보다는 송풍 온도의 영향을 더 받는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 분무 속도가 total oil retention에 결정적인 영향을 미친다는 Risch 등⁽²¹⁾의 보고와 비슷하였다. Surface oil content를 종속변수로 했을 때는 Fig.2-7에서 볼 수 있듯이 170°C, 15,000 rpm에서 3.22 mg/100 g의 최소점을 예측할 수 있었다. 독립변수에 있어서는 송풍 온도와 분무 속도 모두 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 있음을 알 수 있었으며, 송풍 온도의 영향을 더 받는 것으로 나타났다. Flavor release를 종속변수로 했을 때 Fig.2-8에서 볼 수 있듯이 182°C, 15,364 rpm에서 2.05%의 최저점을 예측하였다. 독립변수에 있어서 송풍 온도는 5% 이내의 유의확률에서 유의성이 있었지만, 분무 속도는 유의성이 없었다. 분무 속도와 송풍 온도에 대한 각 종속변수들의 contour map을 superimposing 하여 모두를 만족시켜 주는 범위를 나타내 보았다 (Fig.2-9). 예측된 최적조건 범위는 Fig.2-9의 빗금친 부분으로 송풍 온도 165~181.5°C, 분무 속도 13,758~15,364 rpm이 우수한 공정조건이라고 예상하였다. 이상의 예측모델식을 검증하기 위해 최적조건 범위 내의 임의의 최적점 즉, 송풍온도 170°C, 분무 속도 15,000 rpm으로 제조 조건을 설정하여 실제 실험을 실시한 결과, total oil retention 60%, surface oil content 3.52 mg/100g, flavor release 2.3%를 얻어, 실제값들은 예측된 값들과 유사한 수준으로 비교되었다.

5. β CD-flavor complex 제조조건 확립

각각 air drying, vacuum drying, freeze drying에 의해 β CD-flavor complex를 건조한 후, total oil retention을 측정한 결과, freeze drying에서 79%로 가장 높은 수치를 보였으

며, air drying, vacuum drying은 70%로 조금 낮았다. Moisture content는 freeze drying에서 4%로 가장 적었다. Surface oil 함량과 %flavor release는 air drying>freeze drying>vacuum drying의 순으로 적었다 (Fig.2-18, 19).

이상의 결과를 볼 때, air drying과 freeze drying이 β CD-flavor complex 제조에 가장 적합한 건조방법이지만, air drying의 건조시간은 24시간 이상이고, freeze drying은 3시간 이내이므로 이후 실험에서는 분말제조시간을 단축하기 위해 freeze drying을 이용하여 분말을 건조하였다.

향기성분과 β CD의 최적 배합비율을 구하기 위해 flavor: β CD=1:6, 1:8, 1:10, 1:12의 비율로 flavor- β CD complex를 제조한 후, 특성을 분석하였다. Complex 제조 후의 수분함량은 4.5~6.0%로 시료간 큰 차이를 보이지 않았으며, β CD자체의 수분함량 (8.5%) 보다 적었다. Total oil retention은 flavor: β CD=1:10의 비율에서 79.12%로 가장 높았으며, surface oil content는 230.31 mg/100g으로 가장 적었다 (Fig.2-20, 21). Surface oil을 제거한 분말에서 % flavor release를 측정한 결과, flavor: β CD=1:6의 비율에서만 향기성분이 측정되었으며, 다른 비율에서는 전혀 측정되지 않았다. 이상의 결과로 flavor: β CD=1:10을 최적의 배합비율로 선정하였다.

6. 안정성 실험방법 확립

산화안정성 실험을 위해서 분말로부터 캡슐화된 flavor를 완전히 추출하는 방법을 확립하였으며, 산화안정성 지표인 limonene의 산화물질인 limonene-1,2-epoxide와 carvone의 retention time을 확인하였다 (Fig.2-22).

7. 분말특성 비교 및 산화안정성 실험

각각 다른 방법 (spray drying, fat coating, molecular inclusion+freeze drying)으로 제조된 3종류 분말의 특성을 비교했다.

Table.2-8을 보면, total oil retention은 β CD-flavor complex가 68%로 single encapsulated powder, double-encapsulated powder의 58.3%보다 매우 우수하였다.

Particle size는 β CD-flavor complex가 22.27 μ m (range: 3.67~44.68 μ m)로 가장 작았지만 single encapsulated powder가 가장 고른 분포도를 보였다. Double-encapsulated powder는 single-encapsulated powder에 2차로 hydrogenated palm kernel oil로 coating 하

였으므로 particle size가 44.87 μm 로 가장 컸으며, 분포가 일정치 않았다 (Fig.2-23).

85% 상대습도로부터 1시간 간격으로 분말의 수분 흡습성을 측정한 결과, β CD-flavor complex는 분말자체의 특성에 의해 6시간 후에도 흡습성이 3%이내로 매우 낮았다. Single- encapsulated powder는 시간에 따라 흡습성이 급속히 증가하였으며, double-encapsulated powder는 fat coating에 의해 single-encapsulated powder보다는 흡습성이 조금 낮았다. (Fig.2-24).

Surface oil 함량은 single-encapsulated powder가 평균 25.88 mg/100 g으로 β CD-flavor complex의 190.78 mg/100g에 비해 현저히 낮았으며, %flavor release (surface oil을 제거하지 않은 분말)에서도 같은 경향을 보였다. 그러나 β CD-flavor complex에서 %flavor release가 높은 이유는 surface oil 함량이 높기 때문이며, surface oil을 제거한 후 %flavor release를 측정한 결과를 보면 β CD-flavor complex에서 %flavor release가 현저히 낮아졌다 (Fig.2-25, 26). 이 결과를 통해 분말 자체의 안정성은 β CD-flavor complex가 single-encapsulated powder보다 우수함을 알 수 있었다. Double-encapsulated powder의 extractable fat 함량은 13.5%이었다.

Fig.2-27을 보면, single-encapsulated powder에서는 limonene 1,2-epoxide가 저장 6주부터 측정되었으며, 반면에 double-encapsulated powder에서는 7주부터 측정되었다. 저장 20주까지를 보면 double-encapsulated powder에서 산화정도가 비교적 낮아 fat coating이 산소투과를 막아주고 기타의 외부환경으로부터 보호한다는 다른 연구결과와 같은 경향을 보였다. β CD-flavor complex에서는 저장기간동안 산화물질이 전혀 측정되지 않아 figure에는 나타내지 않았다.

8. Coacervation 공정 최적화

예비 실험 단계로서 coacervation 시간을 결정하였다. pH를 조정 한 후 30분 간격으로 10 시간동안 image analyzer로 coacervation형성 정도를 관찰하였다. Fig.2-28을 보면 7 시간 경과 후, coacervate droplets의 모양이 일정해지고 그 분포도 균일해졌다. 따라서 이후의 실험에는 coacervation 시간을 7시간으로 실험을 진행하였다.

Coacervation pH와 gelatin에 대한 κ -carrageenan의 비율을 종속 변수로 하여 반응표면 분석법(RSM)을 시행한 결과, 최적 coacervation pH와 gelatin: κ -carrageenan은 각각 3.16과 1:1.2로 결정되었다 (Table.2-9, Fig.2-29, 30).

SEM으로 형태를 관찰한 결과 물질간의 가교 결합을 확인할 수 있었다. Coacervate의 표

면이 매끄럽지 않은 것은 동결건조 중 수분의 증발로 인한 것이라 판단되었다. Flavor capsule은 coacervate보다 표면이 매끄러웠다(Fig.2-31, 32).

Fig.2-33을 보면, 4% total solid concentration에서 coacervate yield가 85.8%로 가장 높았으나, product의 양은 3.43 g 이었다. 이에 비해, 6% total solid concentration에서는 coacervate yield가 78% 정도로 조금 떨어지지만 product의 양은 4.68 g으로 가장 많았으므로, 앞으로의 실험에서는 최종 product의 양이 많은 6% total solid concentration으로 실험할 계획이다. 7% 이상의 total solid concentration에서는 coacervation이 전혀 이루어지지 않았다.

6%의 total solid concentration으로 제조된 캡슐은 그 모양이 일정하지 않았고, 표면에 향기성분으로 추측되는 모양을 관찰할 수 있었다(Fig. 34). Atomizer를 이용하여 hardening agents를 첨가하여 제조한 캡슐의 경우, 균일하고 작은 입자들이 agglomeration한 상태로 하나의 큰 덩어리를 형성한 것을 확인하였다(Fig.2-35).

9. Time-dependent release (TDR)

Fig.2-36에서 보는 바와 같이 wall system에서는 향기성분이 저장 기간동안 지속적으로 release되는 것을 볼 수 있었다. 저장초기에 향기성분의 %release정도가 높은 것은 분말의 상태가 불안정해서가 아니라 표면에 아직 남아 있는 향기성분이 release된 것으로 보이며, 저장 8주 이후부터 향기성분의 release정도가 서서히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 반면에 β CD는 여러 논문에서 언급한 대로 저장동안 release정도가 매우 낮음을 알 수 있었다.

10. Temperature-sensitive release (TSR)

Double-encapsulated powder를 wall material인 hydrogenated palm oil의 녹는점보다 높은 온도 (60°C)와 낮은 온도 (40°C)에서 1시간 보관 후, headspace에서의 flavor release정도를 측정된 결과, 60°C 보관 후에는 평균 97%정도의 flavor release정도를 보인 반면, 40°C 보관 후에는 flavor release가 평균 60%정도로 가공공정 온도 변화에 따른 release효과를 볼 수 있었다 (Fig.2-37).

11. pH-sensitive release (PSR)

pH를 1~9로 조절하여 향기성분의 release 정도를 측정하였다 (Fig.2-38). Hardening

agents를 첨가하지 않은 sample의 경우 중성 범위 (pH 7)에서 향기성분의 release가 가장 큰 반면, 캡슐이 제조된 pH 3에서는 향기성분의 release가 가장 적어 wall material 간에 결합력이 가장 우수한 것을 확인할 수 있었다. Atomizer를 이용하여 캡슐을 제조했을 때에는 hardening agents의 potassium ion과 carrageenan의 상호 반응에 의해 더욱 결합력이 강한 캡슐이 형성되어 pH에 의한 향기성분의 release의 효과가 매우 적은 것으로 나타났다.

특히, octanol-1를 제외한 향기성분들의 release는 모두 3% 미만으로 극히 미미하여 octanol-1의 release가 전체 향기성분의 release에 크게 영향을 끼치는 것을 확인하였다. (Fig.2-39, 40).

12. Melting activated release (MAR)

Fig.2-41 에서 보는 바와 같이 wall system에서는 분말을 녹이는 온도에 따라 19 ~ 24%의 flavor release정도를 보여, 시료간에 큰 차이를 보이지는 않았으며, 증류수의 온도가 높을수록 flavor release정도가 감소하는 경향을 보였다. 높은 온도에서 flavor release정도가 감소하는 것은 wall system에 사용된 피복물질 중 modified starch가 고온에서 gelling이 일어나기 때문으로 피복물질이 녹는 정도는 낮은 온도와 거의 유사하나, gelling이 일어난 피복물질에 의해 flavor release가 방해받는 것이라 생각되었다. 반면에 β CD-flavor complex에서는 온도가 높을수록 flavor release정도가 서서히 증가하였으며, 100°C에서 급격히 증가하여 분말을 녹이는 증류수의 온도에 크게 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

Fig.2-42 를 보면 hydrogenated palm kernel oil의 녹는점보다 낮은 온도 (37°C)에서 보관한 후에는 flavor release가 49%로 비교적 낮은 반면, 녹는점보다 높은 온도 (60°C)에서는 평균 83%로 flavor release가 급속히 증가하였다. Hydrogenated rapeseed oil의 경우는 녹는점보다 낮은 온도 (55°C)에서 보관한 후에는 flavor release가 55%였으며, 높은 온도 (70°C)에서는 65%로 큰 차이를 보이지는 않았다. 2차 coating에 사용된 fat의 녹는점보다 낮은 온도에서 측정된 flavor release만 비교해보면 hydrogenated palm kernel oil을 사용한 경우에 flavor release정도가 더 낮았는데, 이는 coating fat amount의 차이에 의한 것이라 생각된다. 즉, hydrogenated palm kernel oil을 사용한 double encapsulated powder에서의 coating fat amount는 33%로 hydrogenated rapeseed oil을 사용한 경우 (23%)보다 fat coating이 더 잘 되었기 때문이라 생각되었다.

제 4 장 농산물 유래 생체방어물질의 특수용도 신소재 화 기술

제 1 절 연구수행방법

1. 보리로부터의 SOD 분리, 정제

1) 실험 재료

4월 중순 경기도 수원 농촌진흥청 맥류과에서 실험용으로 재배하고 있는 서둔 찰보리를 분양 받아 분리정제용 실험 재료로 사용하였다. 한편, 수경재배 용으로는 역시 농촌진흥청으로부터 분양 받은 서둔찰보리 seeds를 이용하였다.

2) SOD의 활성측정

McCord와 Fridovich의 방법에 의거하여 SOD 활성을 측정하였다. 반응용액 3ml에는 효소액, 50mM potassium phosphate 완충용액(pH 7.8), 0.1mM EDTA, 0.01mM EDTA, 0.05mM xanthine과 적당량의 xanthine oxidase가 포함되어 있으며 측정은 25℃에서 60초간 실행한 후의 550nm에서의 흡광도 값을 측정함으로써 효소의 활성을 측정하였다. 먼저 효소액과 xanthine oxidase를 제외한 모든 성분들을 첨가한 후, xanthine oxidase의 양을 조절하여 550nm에서의 흡광도의 증가가 $0.025 \pm 0.001/\text{min}$ 이 되도록 조정한 후, 같은 조건에서 효소액을 첨가하여 cytochrome c의 환원을 저해시키는 정도로써 SOD의 활성을 측정하였다. 위와 같은 조건에서 1 unit은 cytochrome c의 환원을 50% 저해시키는 효소의 양으로 정의하였다. 또한 염기성 완충용액에서의 pyrogallol로부터 superoxide를 생성시킨 후 이에 의한 autoxidation을 추출물이 저해하는 정도를 통해 활성을 측정하는 방법을 병용하였다.

3) SOD의 분리, 정제

효소의 정제는 Fig. 1의 방법을 이용하였다. 뿌리를 제외한 잎과 줄기는 4%(W/V)의 polyvinylpolypyrrolidone을 포함하는 0.1M potassium phosphate 완충용액(pH 7.8; 8mL/g

fresh weight)를 waring blendor로써 30분간 5분 단위로 운행과 정지를 반복하면서 균질화하였고, 균질화액은 8층의 cheesecloth를 이용하여 filtering하였다. filtering한 액을 10000 × g에서 30분간 원심분리하여 상정액을 세포 추출액(crude extract)으로 사용하였다.

위에서 얻은 세포추출액(crude extract)을 ammonium sulfate 45% 유안침전 시켰다. 4℃에서 30분간 방치 후 14,000 × g의 속도로 4℃에서 30분간 원심분리하여 상정액을 취하였다. 상정액을 다시 ammonium sulfate의 농도가 85%가 되게 유안 침전시키고, 4℃에서 30분 방치 후 14,000 × g에서 30분간 원심분리하여 침전물을 얻었다.

Ammonium sulfate 분획에서 얻은 침전물을 소량의 20mM potassium phosphate 완충용액(pH 7.8)에 녹인 후 같은 buffer에 투석하였다. 투석시킨 sample에 polyethylene glycol 20000을 끌고루 뿌려준 뒤 4℃에서 하루를 방치한 후 최소량의 20mM potassium phosphate 완충용액(pH 7.8)에 녹였다

4) SOD의 특성확인

(1) SDS-PAGE

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)는 Laemmli 등의 방법을 이용하여 수직 gel 전기영동을 행하였다. 전기영동 gel 은 15%를 사용하였고, 20mA의 전류로 실온에서 약 2시간 동안 전기영동을 한 후, comassie brilliant blue R-250으로 염색하였다. 염색된 gel은 methanol : acetic acid : water (25:10:65) mixture에서 1차 탈색시키고, acetic acid : water(10:90)에서 2차 탈색을 시켰다.

(2) pH 안정성 및 열 안정성의 확인

pH 6.0~11.0의 범위에서 superoxide dismutase 활성의 최적 pH와 pH 안정성을 검정하고자 하였다. pH 안정성은 각 pH 별 완충용액과 효소액을 상온에서 1시간동안 incubation 후 잔존활성을 측정하였다. 각 pH 별 완충용액은 다음과 같다. 50mM potassium phosphate buffer (pH 6.0~8.0), 50mM Tris-HCl(pH 8.0~9.0), NaHCO₂-NaOH(pH 9.0~11.0)을 사용하였다. 또한 효소의 열에 대한 안정성을 검정하기 위하여 효소액을 50℃에서 100℃까지 10℃간격으로 한시간 동안 incubation함에 따라 시간별로 잔존활성을 측정하였다.

(3) 저해제에 의한 효소활성의 변화

효소활성 중심에 함유하고 있는 금속이온의 종류를 추정하기 위해 효소활성에 대한 저해

제를 해당 농도만큼 활성측정액에 첨가하고 효소에 대한 영향을 조사하였다. Sodium cyanide와 sodium azide의 경우는 해당 농도만큼 효소 활성 측정액에 첨가한 후 xanthine oxidase의 양을 조절하여 cytochrome c 환원 속도를 표준 조건으로 맞춘 다음 그 조건에서 활성을 측정하였고, hydrogen peroxide의 경우 효소액에 해당 농도가 되도록 첨가한 후 시간 별로 일정량을 분리하여 활성을 측정하였다.

2. 보리의 수경재배

1) 수경재배조건

육모판 (30X60cm) 당 보리 채종량 - 250g
발아전 보리종자의 침수시간 - 40시간 내외
적정조도 - 5만 Lux
생육적정온도 - 20℃
수경재배방식 - overflow법, 1시간에 5분씩 물공급

2) 수경재배 배양액 조성

Nutrient	Weight (mg/L) X10
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.395
ZnSO ₄ ·4H ₂ O	0.895
MnSO ₄ ·4H ₂ O	6.09
FeSO ₄ ·7H ₂ O	24.89
H ₃ BO ₃	2.63
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.535
KNO ₃	4.705
NH ₄ NO ₃	6.21

3. SOD 유사물질의 특성확인

1) SOD 활성의 측정

상기의 효소정제에 이용되었던 방법과 동일한 방법으로 측정하였다.

2) hydroxyl radical 소거활성의 측정

DMPO 90mM과 50mM phosphate buffer(pH 7.4), 1% H₂O₂, 시료를 섞은 후 UV 254nm 로 1분 30초간 irradiate시켜 DMPO-OH· adduct을 생성시키고, 반응액 중 70 μ l를 JES-TE200 Electron Spin Resonance Spectrometer를 이용하여 signal intensity를 통해 DMPO-OH· adduct의 양을 측정하였다. 이때 DMPO-OH· adduct의 양의 저해를 통해 hydroxyl radical의 소거활성을 확인하였다.

3) Peroxynitrite 소거활성의 측정

α_1 -antiproteinase(8mg/ml) 50 μ l와 chlorophyll 유도체를 0.5M phosphate buffer에 첨가해 0.1ml로 맞추고 15분간 37 $^{\circ}$ C에서 incubation시킨 후 ONOO⁻를 넣고 5분간 incubation, elastase(5mg/ml) 50 μ l를 첨가하고 15분간 incubation시킨다. Elastase의 substrate를 넣음으로써 반응이 시작되고 410nm에서의 초기 흡광도를 측정한다. ONOO⁻ 제거능은 410nm에서의 흡광도 저해 정도를 통해 확인하였다.

4) 지질과산화 억제효과

H₂O₂에 의해 유도된 erythrocytes membrane peroxidation에서 형성된 TBARS를 TBA법으로 532nm에서 측정하였다. 혈액으로부터 분리된 packed cells을 0.15M NaCl로 2번 washing후, catalase를 저해하기 위해 sodium azide를 첨가한 phosphate-saline buffer(pH 7.4)에 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 preincubation시킨다. 2mM H₂O₂를 넣어 membrane peroxidation을 유도하고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 incubation 후 2.8% TCA를 첨가한다. 원심분리 후 상장액 1ml와 1% TBA용액을 혼합한 다음, 100 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시키고 532에서 그 흡광도를 측정하였다.

5) Hydroxyl radical로부터 plasmid DNA에 대한 보호효과의 측정

Hydrogen peroxide 100 μ M과 FeSO₄ 50 μ M을 plasmid DNA에 가하여 hydroxyl radical을 생성시키고, 여기에 여러 가지 chlorophyll 유도체들을 100 μ M의 농도로 첨가했을 때 DNA breakage로부터 DNA를 보호하는 효과를 1% agarose gel electrophoresis를 통해 확

인하였다.

6) 세포생육보호효과의 확인

Human cancer cell인 T jurkat cell을 RPMI1640 medium에서 계대배양시킨 후, 4×10^4 cells/well의 농도로 24well에 plating하고 4시간 후에 chlorophyllin을 첨가한 후 이어 plating 24시간 후에 paraquat을 넣어 세포의 생육을 저해시켰다. 일정간격으로 haematocytometer를 이용한 cell counting을 통해 세포생육에 미치는 첨가물들의 영향을 확인하였다.

4. Liposome의 형성조건 및 미세캡슐화

1) Liposome의 형성 및 확인

Liposome은 다음의 방법을 통해 제조하였다.

(1) wall material - Distearyl phosphatidylcholine : cholesterol : stearylamine (4:2:1)의 비율로 ethanol에 용해시킨다.

(2) 0.9% NaCl 용액에 캡슐화시킬 시료를 첨가한 후 상기의 lipid 용액을 glass syringe를 이용하여 빠르게 injection 시킨다. 이때 용액을 강하게 mixing하여 dispersion한다.

(3) 이어 감압 evaporation을 통해 ethanol을 제거한 후, 원심분리를 통해 침전된 lipid를 제거한다.

형성된 liposome은 1% Triton-X로 처리하여 liposome내의 물질이 유출되도록 한 후 초기활성, Triton-X 처리 전 활성과 Triton-X 처리 후 활성을 측정, 비교하여 캡슐화를 확인하였다.

2) Scanning electron microscope (SEM)

상기과정에서 원심분리 후 얻은 상정액을 동결건조하였다. 약 8시간의 동결건조 후 powder 상태의 시료를 전처리 후 50,000배의 배율로 SEM을 이용해 liposome의 모양을 확인하여 최적 형성조건을 설정하였다.

3) Gel filtration

형성된 liposome이 multilamellar form인지 unilamellar form인지의 확인을 위해

Sephadex G-100 resin을 이용한 gel filtration을 수행하였다. liposome은 300nm에서 측정하여 unilamellar vesicle의 존재를 확인하였다.

4) Liposome의 안정성 확인

캡슐화된 liposome을 Triton-X 처리하지 않고 pH에 따라 유출되어 나오는 SOD의 활성을 측정하였다. 또한 Triton-X의 농도에 따른 SOD의 활성을 측정하여 이들이 SOD에 미치는 영향을 고려하였다.

제 2 절 연구수행결과

1. 보리로부터의 SOD 분리, 정제 및 특성확인

1) SOD 활성측정의 최적화

다른 효소활성 측정에 비해 반응성이 높은 radical을 기질로 하는 본효소의 특성상, 활성 측정방법을 어떻게 적용하느냐 하는 것이 중요한 문제이기 때문에, 우선 SOD 활성측정을 위한 SOD 활성측정방법 최적화와 표준곡선을 작성하였다. Indicator 물질인 cytochrome C의 환원정도를 이용하여 시료의 활성이 나타날 수 있는 조건을 설정하였으며, 이에 따른 SOD 정량곡선을 작성하였다.

2) 효소의 분리 및 정제

Waring blender를 이용하여 30분 동안 5분 간격으로 보리를 homogenization 시킨 후 filtering, 원심분리를 통해 침전물을 제거한 후 ammonium sulfate 유안 침전, PEG 농축 등을 거친 후 Sephadex G-100 column에서의 용출을 통해 SOD가 함유된 분획을 얻었다. (Fig.3-2) 이어 이온교환수지인 DEAE-Sephadex column에 흡착시킨 후 potassium phosphate gradient를 통해 용출시켜 SOD를 분리하였다. (Fig.3-3) 정제된 SOD는 약 3183U/mg정도의 비활성을 나타내어 상업적으로 판매되는 시약정도의 수치를 나타내었다. (Table.3-1)

3) 효소의 분자량 측정

분리, 정제된 SOD는 15% SDS-PAGE상에서 단일한 band를 나타내었고 (Fig.3-4), 분자량 확인을 위한 SDS-PAGE와 Sephadex G-100 column의 수행결과, 정제된 효소는 분자량 37,000 subunit 분자량 20,000의 dimer 형태임이 판명되었다. (Fig.3-5, 6) 기존보고에 따르면 대부분의 진핵생물에서 발견되고 있는 Cu,Zn-SOD의 경우 분자량이 30,000-33,000의 homodimer로 알려져있어, 본 실험에서 정제된 SOD는 기존의 SOD와는 isozyme의 가능성도 예측할 수 있었다.

4) 효소의 안정성

효소의 활성에 미치는 반응용액의 pH 영향을 확인한 결과, pH 10에서 최대의 활성을 나

타내었다. 이는 기존보고와 일치하는 결과를 나타내었고, 효소의 pH 안정성 측정결과, pH 5-11정도의 범위에서 안정한 효소활성을 나타내었다. (Fig.3-7)

효소의 열에 대한 안정성을 조사하기 위해, 각 온도별로 1시간 방치 후 잔존활성을 측정하였다. (Fig.3-8) 60℃까지는 안정하였고 70℃에서는 약 50%의 잔존활성을 나타내었다.

5) 저해제에 의한 영향

정제한 효소의 활성부위에 함유하고 있는 금속이온을 추정해보기 위해 각 SOD에 특이적인 저해제를 이용하여 활성을 비교해보았다. (Table 3-2) Cu,Zn-SOD를 특이적으로 저해하는 CN^- 이온과 H_2O_2 의 경우 NaCN 5mM에서 100%, H_2O_2 1mM에서 38%의 저해를 나타낸 반면, Mn-SOD를 특이적으로 저해하는 NaN_3 에 의해서는 10mM의 농도에서 44%의 저해가 나타난 것으로 보아 본 효소는 활성부위에 Cu,Zn을 함유한 것으로 확인되었다.

상기의 결과를 종합해보면, 본 효소는 기존의 보고된 효소와 활성부위에 함유하고 있는 금속이온은 같으나 크기면에서는 다소 상이한 결과를 얻어, isozyme의 가능성 또한 나타났다.

2. 수경재배를 통한 SOD의 분리

1) 수경재배조건

수확한 보리의 경우 수확시기가 한정되어 있으므로, 연중수확이 가능한 수경재배를 통해 보리를 생산하기 위해 우선, 다양한 조성의 배양액 조건을 통해 SOD 생산에 최적의 조건을 결정하였다.

2) 발생단계별 SOD 활성의 변화

수경재배 조건을 통하여 발생단계별 활성변화를 측정해본 결과, 체장 8cm 단계에서 최대의 비활성을 나타내었다. (Fig.3-9) 이는 옥수수의 경우, germination 후 성장과정에서 최대의 SOD 활성을 나타내었다는 보고와 일치하고 있으며, 발아 후 대사과정이 활발해지면서 생산량이 많아진 활성산소종에 대한 방어기작의 결과로 추정되었다. 이후의 실험에서는 체장 8cm 의 잎을 분리하여 SOD 추출에 이용하였다.

3) 수확시기에 따른 활성의 변화

수경재배를 통한 SOD의 분리, 정제 결과 1차 cutting시 비활성 1319.2U, 수율 5.2% 정도로 정제되었다. (Table.3-3) 2차 cutting 시에는 비활성 1303U, 수율 7.4% 정도로 정제되었다. (Table.3-4) 이는 수확보리에서 분리한 SOD에 비해 활성이 낮은 값을 보이는데 수경재배보리의 SOD 함량이 적기 때문이라고 생각되었다. 수경재배의 연속적인 수확가능성을 확인하기 위하여 절단시기에 따른 활성을 비교해본 결과 전반적으로 수확보리에 비해 활성이 낮게 나타났으나, 성장단계별 비교에서 절단 횟수가 증가해도 활성에는 큰 감소가 없음을 확인할 수 있었다. (Fig.3-10)

수경재배 조건은 강한 자외선 조사가 없는 부드러운 조건이어서 SOD 함량이 상대적으로 미약한 것으로 판단하였다.

3. SOD 유사물질의 탐색 및 확인

1) SOD 유사물질의 선정

식물체에 높은 농도로 함유되어 있는 chlorophyll의 경우 주골격을 형성하고 있는 porphyrin 구조가 SOD 유사물질로서의 가능성이 예측되었기에 chlorophyll 과 그 수용성 유도체들을 SOD 유사물질에 대한 후보물질로 선정하여 이의 특성을 확인하여 보았다.

2) Superoxide radical 소거활성

SOD 유사물질로서의 가능성 탐색을 위한 cytochrome C 환원저해를 통한 SOD 활성측정결과, chlorophyllin, Fe-chlorin e6이 높은 활성을 나타내었다. (Fig.3-11) 이 두물질은 100uM의 농도에서 SOD 5U 정도의 높은 활성이 확인되어 SOD 유사물질로서의 가능성을 제시하였다.

3) Hydroxyl radical 소거활성

생체내 생성되는 활성산소종 중 가장 toxic한 것으로 알려진 hydroxyl radical에 대한 소거활성을 측정하기 위하여 spin-trapping agent인 DMPO를 이용하여 DMPO-OH adduct를 형성시키고, ESR spectrometer를 통해 DMPO-OH adduct의 양을 검출한 결과, chlorophyllin과 Fe-chlorine가 현저하게 감소시킴을 확인하였다. (Fig.3-12)

4) Peroxynitrite 소거활성

최근 들어 생체내 수많은 질병의 유발물질로 인식되고 있는 peroxynitrite의 소거활성을 chlorophyll 유도체들에 대해 측정해보았다. (Fig.3-13) 결과, chlorophyll을 제외한 수용성 유도체들 대부분은 정도의 차이는 있지만, peroxynitrite에 대한 소거활성이 확인되었다.

5) 지질과산화 억제효과

앞선 결과에서 비교적 높은 활성을 나타내었던 chlorophyllin을 이용해 지질과산화 억제 정도를 측정하였다. (Fig.3-14) 정상인의 혈액에서 분리된 적혈구를 대상으로 지질과산화 억제 정도를 측정한 결과, chlorophyllin 100uM의 농도에서 약 78.3%의 높은 억제능력을 확인할 수 있었다.

6) Plasmid DNA에 대한 보호효과

Hydroxyl radical에 의한 plasmid DNA의 breakage에 대한 보호효과를 통해 측정한 결과, 대부분의 chlorophyll 유도체들이 100uM의 농도에서 hydroxyl radical로부터 DNA를 보호하는 것으로 나타났다. (Fig.3-15) 이는 생체내에서 DNA의 활성산소종에 의한 변형 등을 막을 수 있는 기초자료를 제시함은 물론, SOD 유사물질로서 뿐만 아니라 활성산소종에 대한 방어물질로 이용될 수 있는 가능성을 제시하였다.

7) Oxidative stress에서의 세포생육 보호효과

Oxidative stress에 의해 T cell의 생육을 저해시켰을 때 O_2^- , $\cdot OH$, peroxynitrite 소거 활성을 나타낸 chlorophyllin이 보호효과를 나타내는지 확인해보았다. Cell line은 면역세포 군인 T Jurkat을 이용하였고, redox-active material인 paraquat을 첨가하여 세포 내에 활성산소종을 생성시켜 세포생육을 저해시켰다. 첨가되는 paraquat의 농도를 결정하기 위해 paraquat의 cytotoxicity를 우선 확인해보았다. (Fig.3-16) 10uM 정도의 농도에서는 큰 생육 저해효과가 나타나지 않았고, 100uM 이상의 농도에서는 세포의 생육이 거의 나타나지 않아 100uM의 paraquat을 이용하여 이후의 실험에 이용하였다. Paraquat 독성에 대한 보호효과를 알아보기 위하여 chlorophyllin 20uM을 첨가시킨 경우, paraquat만 첨가한 경우에 비해 약간의 세포수 증가를 나타내었으나 뚜렷한 보호효과는 확인할 수 없었다. (Fig.3-17) 하지만 세포생육곡선의 분포를 볼 때 control 과 유사한 경향을 나타내어 충분할 가능성을 제시해주었다. 한편, chlorophyllin의 cytotoxicity를 확인해본 결과, 10-50uM의 농도에서 정상세포와 유사한 경향의 생존곡선을 보여 세포에 독성을 나타내지 않았다. (Fig.3-18)

상기의 결과를 종합해보면 chlorophyll 유도체들은 SOD 유사물질은 물론 각 활성산소종에 대한 방어물질로 사용될 수 있는 가능성이 확인되었고, 이의 미세캡슐화는 더욱 효과적일 것으로 예측되었다.

4. 미세캡슐화의 조건설정 및 수행

1) Liposome의 조성

Liposome 형성을 위한 ethanol injection 방법을 이용하여 캡슐화를 실시하였다. 기존 보고에 따르면 ethanol injection 방법은 small unilamellar vesicle (SUV)을 형성시키고 가장 균일한 조성의 liposome을 형성하는 것으로 알려져 있다. 우선 wall material로 이용된 DSPC, cholesterol, stearylamine의 비율선정을 위한 예비실험결과에 따라 4:2:1의 조성을 설정하였다.

본 실험에 이용된 liposome의 경우, wall material이 액상인 특징으로 인해 일단 체내로 흡수가 되면 쉽게 세포 속으로 core material을 유출할 수 있다는 장점이 있는 반면 흡수되기 전까지는 안정성이 문제가 되므로 본 과제에서는 liposome의 안정성 측정에 주안점을 두었다.

2) Liposome 최적 형성 조건 및 확인

Lipid와 수용액의 비율을 달리하여 최적 liposome 형성조건을 확인하였다. (Fig. 19) NaCN을 이용하여 캡슐화되지 않은 SOD를 불활성화시킨 후 Triton-X를 첨가해 캡슐화된 SOD 활성 측정결과 NaCl과 PC의 비율이 100:7의 조건에서 최적의 수율을 나타내었다. 이는 SEM 사진을 통해서 관찰한 결과에서도 (Fig.3-20) 100:7의 조건이 가장 균일한 liposome을 형성시키며, lipid의 비율이 높은 50:7의 조건의 경우 오히려 lipid간의 aggregation이 나타났다.

형성된 liposome이 multilamellar form인지 unilamellar form인지의 확인을 위한 gel filtration 수행결과, (Fig. 21) liposome은 unilamellar form의 균일한 조성을 가지고 있는 것으로 관찰되었다.

3) SOD 유사물질의 미세캡슐화

SOD 유사물질인 chlorophyllin을 대상으로 캡슐화를 실시한 경우, Triton-X에 의해 유출되는 chlorophyllin의 양을 SOD 활성측정을 통해 확인한 결과 약 10%정도의 수율을 나타

내어 기존의 liposome 제조수율과 유사한 값을 나타내었다. (Fig.3-22) 또한 최적의 비율 설정을 위한 실험결과를 SEM 관찰을 통해 얻을 수 있었다. (Fig.3-23)

4) Liposome의 안정성

Liposome의 안정성 확인을 위해 pH에 따른 SOD의 활성을 측정한 결과, Triton-X를 처리하지 않은 상태에서 pH가 4일 때 SOD가 많이 유출됨을 볼 수 있었고, pH가 7.8일 때 가장 적게 유출되어 낮은 활성을 나타냄을 볼 수 있었다. 즉, liposome은 pH가 4일 때 가장 불안정하고 7.8일 때 상대적으로 안정하였다. (Fig.3-24) 또한 Triton-X로 처리시 농도가 1%일때 가장 높은 활성을 나타내었고, 10%로 liposome을 처리한 경우 낮은 활성을 보였는데 이는 Triton-X의 농도가 너무 높으면 오히려 SOD 활성을 억제하기 때문으로 추정되었다. (Fig.3-25)

제 5 장 고도불포화지방산의 미세캡슐화 기술

제 1 절 연구수행방법

1. 유화안정성 측정에 의한 유화제의 구축 및 유화제의 선정

1) 유화안정지수(Emulsion Stability Index ; ESI)의 산출

어유-식품유화제-다당류 호화액으로 이루어진 유화계를 형성시킨 후 시간이 경과함에 따라 분리되어지는 기름층(어유)의 부피를 측정하여 그 측정값을 아래식에 대입한 후 ESI값을 계산하였다.

$$\text{유화안정지수(ESI,\%)} = \left[1 - \frac{\text{분리된 기름층의 부피}}{\text{유화액 내 어유의 총 부피}} \right] \times 100$$

2) 피복물질의 제조

피복물질은 60℃ 이상의 고온에서 액체화되며 실온에서는 고체화되는 특성이 있는 waxy corn starch, agar 및 gelatin을 증류수에 넣고 60℃ 항온기에서 1시간동안 천천히 교반하면서 녹임으로써 투명한 호화액을 제조할 수 있었는데, 이때 온도를 60℃로 계속 유지하여 고체화되지 않은 상태를 피복물질로 사용하였다.

3) 수중유적형 유화액의 제조

유화액 제조용 시험관 주변의 온도를 60℃로 유지하면서 미리 준비한 피복물질인 다당류 호화액 및 유화제를 적당량 혼합하여 균질기를 사용하여 강하게 교반하였다. 유화제를 충분히 녹인 후, 유화액 제조용 시험관 주변의 온도를 60℃로 계속 유지하면서 어유를 혼합하고 균질기로 강하게 교반하여 O/W형 유화액을 제조하였다.

4) 중심물질과 피복물질의 비율, 유화제 종류 및 조성의 최적화

Waxy corn starch와 agar를 각각 0.5%(w/v) 및 0.25%(w/v)의 농도로 혼합한 투명한 피

복 물질을 제조하고 고체화되지 않는 온도인 60℃에서 각종 유화제(HLB 0.6~16.7; 05%)와 어유를 첨가하여 O/W형 유화계를 형성시켰다. 이때 어유의 농도는 피복물질과의 비율(무게비)이 각각 1:4, 2:3, 3:2, 4:1이 되도록 조절하여 첨가하였다. 유화계 형성 후 2시간이 경과한 다음 ESI 값을 측정하여 최적의 중심물질과 피복물질의 비율 및 단일 유화제의 종류가 유화안정성에 미치는 영향을 검토하였다.

한편, 두 종류 유화제 비율을 최적화하기 위하여 13종의 유화제에서 선정된 PGPR 및 PSML이 동시에 첨가된 유화제의 binary system 하에서 PGPR과 PSML의 함량비(O/W형 유화계 전체 무게에 대한 유화제의 무게)를 1 : 4 (0.10%(w/w) : 0.40% (w/w)) ~ 4 : 1(0.40%(w/w) : 0.10%(w/w))로 변화시키면서 O/W형 유화계의 안정성을 비교·분석하였다.

2. 피복물질의 선정 및 혼합 비율의 결정

O/W형 유화계 형성을 위한 피복물질의 경우 물에 용해되거나 분산되는 성질을 갖고 동시에 중심물질인 ω 3계 고도불포화 지방산에는 용해되지 않는 특성을 구비해야만 하므로, agar, waxy corn starch, gelatin 등의 세 종류를 선정하였다. 또한, 유화제의 경우와 마찬가지로 피복물질을 첨가할 때에도 단일 종류 피복물질 보다 두 종류 피복물질을 사용하는 것이 유리하며 상승효과가 있는 것으로 이미 보고되어져 있는 바, 본 실험에서도 agar와 waxy corn starch, agar와 gelatin, 그리고 gelatin과 waxy corn starch로 조합·혼합하여 ESI값을 측정하여 피복물질의 조성을 최적화 하였다.

3. 미세캡슐화 방법의 결정

1) 미세캡슐화 수율 측정법

5% cupric acetate-pyridine(pH 6.10) 용액에 의하여 oleic acid가 정량적으로 발색됨이 이미 보고되었는 바, 정제어유에 oleic acid를 20%(w/w) 농도로 첨가하여 중심물질로 사용하였다. 그리고 미세캡슐화 되지 않은 지방산을 추출하기 위하여 hexane을 미세캡슐 분산액과 동량 첨가하고 1시간 동안 정치시킨 후 일정 용액을 취해 5% cupric acetate-pyridine으로 발색시켰다. 발색되어진 용액은 3,000rpm에서 5분간 원심분리를 수행하고 상정액을 취한 후 분광광도계(UV-2101, visible spectrophotometer, shimadzu)로 715 nm에서 흡광도를 측정하여 방출된 oleic acid의 양을 계산하는 방법으로 미세캡슐화된 정도를 확인하였다.

2) 미세캡슐화 공정

우선 유화액 제조용 시험관 주변의 온도를 65℃로 유지하면서 중심물질인 정제어유와 유화제를 적당량 혼합하여 호모믹서(Ultra-turrax T25, Janke & Kunkel, Stauffer, Germany)로 30초간 9,000 rpm의 속도로 강하게 교반한 후, 이미 제조되어진 피복물질을 혼합하고 다시 9,000 rpm에서 30초간 교반하여 O/W형 유화액을 제조하였다. 이렇게 하여 제조되어진 수중유적형(O/W형) 유화액을 압축분무기(Wagner, Germany)를 사용하여 일정온도를 유지시킨 증류수로 된 분산매 내로 분무하여 미세캡슐화 하였다.

4. 반응표면분석법에 의한 실험설계

정제어유의 미세캡슐화 실험은 중심합성계획법(central composite design)에 따라 설계하였고, 반응표면회귀분석은 Statistical Analysis System(SAS) program(SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A)을 이용하였다. 미세캡슐화에 영향을 미치는 변수인 [Cm]:[Wm]의 비율, 유화제의 농도, 분산매의 온도 등을 각각의 독립변수로 설정하고, 각 변수들을 -1, 0, 1의 세 단계로 부호화하여 실험값을 Table.4-2에 나타내었는바, 각각의 독립변수에 대한 실험영역은 1차년도의 연구결과 및 예비실험 결과를 이용하여 설정하였다. 이러한 code와 변수를 이용하여 중심합성계획의 2차 모형으로 작성하였으며, Table.4-3에 표현한 총 16개의 실험구를 무작위로 수행하였다.

5. 반응표면분석법에 의한 미세 캡슐화조건의 최적화

중심합성계획법에 따라 설계한 실험구(Table.4-3)에 의하여 도출한 결과(Table.4-4)인 미세캡슐화의 수율을 RSREG(Statistical Analysis System)를 이용하여 통계분석하고, 3차원 분석을 통하여 미세캡슐화 조건의 최적화를 실시하였다.

정제어유의 미세캡슐화에 관련된 독립변수인 [Cm]:[Wm]의 비율(X_1), 분산매의 온도(X_2)와 유화제의 농도(X_3)에 대한 표본회귀모형식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^4 b_i X_i + \sum_{i=1}^4 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 b_{ij} X_i X_j$$

여기서 Y는 반응(종속)변수, X_i , X_j 는 독립변수, b_0 는 절편, b_i , b_{ii} , b_{ij} 는 회귀계수이다. 또한

회귀분석 결과 임계점이 최대점과 최소점이 아니고 안장점(saddle point)일 경우에는 능선분석(ridge of maximum response)을 하여 최적점을 구하였다.

6. 온도 및 pH별 미세캡슐의 저장안정성 실험

미세캡슐 분산용액(%)을 5℃, 15℃, 25℃, 35℃, 45℃ 등에서 각각 7일간 저장하면서 발색법에 의한 수율 측정을 실시하였다. 또한 최적의 저장온도에서 다양한 buffer용액(pH 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 100 mM)을 제조하여 미세캡슐 용액과 1:1(v/v)의 비율로 혼합하여 7일간 저장한 후 미세캡슐의 저장안정성을 측정하였다.

7. Scale up factor의 결정

DHA를 함유하는 어유를 대량으로 미세캡슐화할 때 고려되어야 할 요인들은 [Wall 물질] : [Core 물질]의 비율, 유화액 내의 식품 유화제의 함량(% , w/w), 분산매의 온도, 유화액의 함량 : 분산액의 함량비율(w:v), 분산액의 pH 등으로 Table.5-7과 같이 각 요인들의 조건을 달리하면서 미세캡슐화를 수행하였다.

8. 자동화 공정을 위한 예비모델 제작

간단한 실험 도구들 및 앵글을 이용하여 기존의 미세캡슐화 방법에서 크게 벗어나지 않도록 자동화 공정의 예비모델을 제작하였다. 이 때 고려한 사항들로는 가) 분사구 까지 이어지는 관 내부의 온도유지, 나) 분사시에 발생하는 bubble의 발생 방지, 다) 연속 공정을 위한 분무기의 세척 등이다. 그리고 실험적으로 제작된 예비 모델을 이용하여 scale up한 미세캡슐을 생산하고, 예비모델에 의해 생산되어진 미세캡슐의 수율 분석은 과년도의 방법과 마찬가지로 5% cupric acetate-pyridine에 의한 발색법으로 측정하였으며, 실험결과를 RSM에 의해 최적화한 lab scale의 수율과 비교 측정하였다.

9. 2중 coating microcapsule 생산을 위한 가능성 조사

최적 조건에 의해 생산되어진 미세캡슐 분산액을 어유(fish oil)를 20% 함유하는 미세캡슐 분산액이 되도록 제조한 후 녹는점이 45℃인 고도경화유를 피복물질로 하여 Tween 60을 분산매에 0.1%가 되게 용해시키고, polyglycerine polyricinoleate(H,L,B. 0.6)를 유화제로 하여 미세캡슐화 하였다. 수율 측정을 위해 어유(fish oil)를 함유한 미세캡슐 분산액에

glucose를 1.5%가 되게 용해시킨 후 유화제인 polyglycerine polyricinoleate를 0.5%농도로 첨가하여 교반하였다. 이렇게 만들어진 유화액에 피복물질인 고도경화유를 45℃에서 용해시킨 후 첨가하여 stirrer를 사용하여 교반시키고, Tween 60을 녹인 분산매 내로 분사하여 double-walled microencapsules을 생산하였다. 수율 측정은 DNS에 의한 환원당 정량법에 의해 double-walled microencapsules 분산액을 여과한 후 여과액에 남아있는 glucose를 정량하는 방법으로 이루어 졌다.

제 2 절 연구수행결과

1. 유화안정성 측정에 의한 최적 유화시스템의 구축 및 유화제의 선정

1) ESI (Emulsion Stability Index, %)의 결정

$$ESI = \{1 - (\text{분리되어지는 WM의 부피}) / (\text{초기에 투입된 WM의 부피})\} \times 100 \quad \text{--- ①}$$

$$= \{1 - (\text{분리되어지는 CM의 부피}) / (\text{초기에 투입된 CM의 부피})\} \times 100 \quad \text{--- ②}$$

2) 최적 유화를 위한 [CM]:[WM] 비율의 결정:

Wall 물질이 노화되지 않는 온도인 60℃에서 2시간동안 incubation시킨 후 ESI값을 측정한 결과, [CM] : [WM] 비율이 4 : 6 - 6 : 4인 경우, ESI값이 100으로서 안정한 유화계를 형성함을 알 수 있었으며 경제적인 측면을 고려해볼 때 core 물질이 많이 함유될수록 유리하므로 “[CM]:[WM] = 6:4(w:w)”를 최적의 비율로 결정하였다.(Fig.4-1,2,3,4)

Core Mat.[CM] : Wall Mat.[WM] 비율의 결정 : [CM] : [WM] = 6 : 4(w:w)

3) 최적 유화제(singular system)의 선정:

[CM]:[WM] = 6:4(w:w)(단, 2hrs of incubation at 60℃)에서 Polyglycerine polyricinoleate (PGPR, HLB 0.6), Sorbitan monostearate(SMS, HLB 9.6), 및 Sorbitan monolaurate(SML, HLB 16.7)를 단일 유화제로 사용하였을 때 (0.5%의 농도), 극대의 ESI 값을 얻을 수 있었다.

최적 유화제(singular system)의 선정 : Polyglycerine polyricinoleate(PGPR, HLB 0.6), Sorbitan monostearate(SMS, HLB 9.6), 및 Sorbitan monolaurate(SML, HLB 16.7)를 선정(0.5%의 농도).(Fig.4-5,6,7,8,9,10,11)

4) 최적 유화제(binary system)의 구축:

유화제 2종류를 혼합하여 emulsion을 제조한 결과, Table 1을 완성하였다. 따라서, 이후의 실험은 PGPR+SML을 첨가하는 binary system하에서 수행하였다.(Fig.4-12)

최적 유화제(binary system)의 선정 : PGPR + SML

5) 최적 유화제 혼합비의 선정:

유화제의 binary system에서, (PGPR:SML)의 함량비를 각각 2:8(0.1%+0.4%), 4:6(0.2%+0.3%), 5:5(0.25%+0.25%), 6:4(0.3%+0.2%), 8:2(0.4%+0.1%)로 구분하여 실험한 결과, 5:5(0.25%+0.25%)의 실험구에서 최대 ESI값을 얻었다.(Fig.3-13)

최적 유화제 혼합비의 선정 ; PGPR : SML = 5 : 5(0.25%+0.25%)

6) 혼합유화제의 최적 total농도의 결정:

유화제의 binary system(PGPR:SML=5:5)에서, total 유화제 첨가 농도를 각각 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 및 0.7%(w/v)로 변화시키면서의 ESI값을 측정한 결과, 0.5% 이상에서는 100으로 안정한 emulsion을 형성하는 것으로 판단되었는 바, 최적 total 농도는 0.5%로 결정하였다.(Fig.4-14)

혼합유화제의 최적 total농도의 결정 : 0.5%

2. 최적 피복물질의 종류 및 혼합 비율의 결정

Wall 물질의 종류는 agar, waxy corn starch, gelatin의 세 종류를 agar와 waxy corn starch, agar와 gelatin, gelatin과 waxy corn starch로 혼합하여 혼합비와 전체 농도를 달리 하여 ESI를 측정한 결과 agar(0.5%) : waxy corn starch(0.25%)의 혼합비에서 가장 높은 ESI를 나타내어 Wall 물질을 종류로 agar와 waxy corn starch를 선정하였음.(Fig.4-15,16,17,18,19,20,21)

Wall 물질 종류의 선정 : agar(0.5%)+waxy corn starch(0.25%)

3. 미세캡슐화 수율측정법의 결정

5% cupric acetate-pyridine(pH 6.10) 용액에 oleic acid가 정량적으로 발색됨이 이미 보고되었는바, 정제어유에 oleic acid를 20%(w/w) 농도로 첨가하여 사용하였다. 그리고 미세

캡슐화 되지 않은 지방산을 추출하기 위하여 hexane을 첨가하고 1시간 동안 정치시킨 후 일정 용액을 취해 5% cupric acetate-pyridine으로 발색시켰다. 발색되어진 용액은 3,000rpm에서 5분간 원심분리를 수행하고 상정액을 취한 후 분광 광도계(UV-2101, visible spectrophotometer, shimadzu)로 O.D. 715 nm에서 흡광도를 측정하여 방출된 oleic acid의 양을 계산하는 방법으로 미세캡슐화 된 정도를 확인하였다.(Fig.4-22,23,24)

- 1) [DHA] : [oleate] = 80 : 20(w/w) 혼합비의 결정.
- 2) 미세캡슐화 standard curve (50% ,75%, 90% ,95%, 97.5%, 98.75% ,100%) 작성.

4. 반응표면 분석에 의한 미세캡슐화 조건의 최적화

- 1) RSM factor 선정 (Core material : Wall material 양, 분산액 온도, 유화제 농도)
- 2) RSM factor에 대한 Code value 선정 (-1 , 0, +1) (Table.3-2,3)

지방산의 미세캡슐화 실험은 중심합성계획법(central composite design)에 따라 설계하였고, 반응표면회귀분석은 Statistical Analysis System(SAS) program (SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A)을 이용하였다. 미세캡슐화에 영향을 미치는 변수인 Core material[Cm] : Wall material[Wm]의 비율, 유화제의 농도, 분산매의 온도 등을 각각의 독립변수로 설정하고, 각 변수들을 -1, 0, 1의 세 단계로 부호화 하여 실험값을 Table.4-2에 나타내었고, 이러한 code와 변수를 이용하여 중심합성계획의 2차 모형으로 작성하여 16개의 실험구를 무작위로 수행하였다. (Table.4-3)

중심합성계획법에 의해 설계된 실험 조건하에서 정제어유를 미세캡슐화 시킨 후 수율을 측정한 결과는 Table.5-4과 같으며, 각각의 실험구는 2회 반복한 결과이다.

Table.4-4을 바탕으로 RSREG 처리하여 나타난 결과는 Table.4-5와 같으며, 3가지 독립변수(X_1 :ratio of [Cm]:[Wm], %, X_2 :temperature of dispersion fluid, °C, X_3 :concentration of emulsifier, %)가 각각 변화함에 따른 미세캡슐화의 수율 Y에 대한 회귀식은 다음과 같다.

$$Y = 100.138621 - 0.735000 * X_1 + 0.840000 * X_1 * X_2 + 0.817500 * X_1 * X_3 - 0.852500 * X_2 * X_3$$

이때 결합계수(R-square)는 0.8046이고 유의성은 0.1159로서 10%수준에서 인정되었다.

회귀분석에 의해 설정된 모델식에서, 두 독립변수 상호간의 관계를 나머지 변수를 zero 수준으로 두고 3차원으로 도식하여 종속변수의 값이 최대값 혹은 최소값을 나타낼 때 독립변수의 좌표를 직접 읽어 최적값을 찾는 방법으로 분석을 수행하여 Fig.4-25,26,27의 결과를 얻었으며, 정준분석(canonical analysis)에서 critical value를 나타낸 Table.4-6에서 uncoded value를 이용하여 각각의 독립변수에 대한 최적값을 구하였다. 가장 높은 미세캡슐화 수율을 나타내는 점은 정준분석에서 critical value를 나타낸 점으로, 예측치가 100.46%였으며, 실측치는 99.91%의 수율을 보였다. 따라서 본 실험에서는 이점을 반응표면 분석법에 의한 최적 미세캡슐화 조건으로 정하였으며, 이 점에서의 각 변수의 값은 [Cm]:[Wm]의 비율은 4.9:5.1, 분산매의 온도는 19.4℃, 유화제의 농도는 0.48%였다.

5. 미세캡슐의 온도 안정성 및 pH 안정성 측정

최적조건하에서 제조된 미세캡슐 용액의 온도별 저장안정성 실험 결과는 Fig.4-28에 나타난 바와 같이 25℃에서는 7일이 지나도 99% 이상을 유지하는 것으로 나타났다. 그러나 5℃에서는 7일 후 50% 이하로 감소하는 현상을 볼 수 있는데, 이는 미세캡슐 용액의 온도가 감소하면서 유화제의 유화 능력이 저하되어 나타나는 현상으로 판단되었다. 그리고 35℃ 및 45℃에서는 저장 중에 수율이 다시 상승하는 경향이 있는데, 이는 상대적으로 높은 온도에서 방출되어진 어유 및 oleic acid의 소실로 인해 흡광도에 영향을 미치기 때문인 것으로 판단되었다.

최적 저장온도로 판단되어진 25℃에서 pH별로 측정한 저장안정성의 결과는 Fig.4-29에 나타난 바와 같이 pH 7에서 가장 안정한 것으로 나타났으며, pH 5와 9에서 각각 가장 큰 감소율을 보였다. 그 외의 pH에서는 거의 비슷한 감소수치를 나타내었는데, 특이할 만한 점은 pH 13에서 방출되어진 지방산을 추출하기 위해 hexane을 첨가했을 때 gel화되는 현상으로 인해 수율측정이 불가능해진 점이다. 그리고 온도별 저장안정성과 비교해 볼 때 7일 후 pH 7에서의 수율이 매우 낮아 젖음을 확인할 수 있는데, 이는 높은 몰수(100mM)의 buffer 용액이 미세캡슐에 영향을 주기 때문으로 판단된다.

6. Scale up factor를 결정하기 위한 탐색

ω -3계 고도불포화 지방산의 미세캡슐화 공정을 scale up함으로써 미세캡슐을 다량 생산하기 위하여 먼저 scale up factor를 아래와 같이 선정하였다.

- 1) [Wall 물질] : [Core 물질]의 비율
- 2) 유화액 내의 식품 유화제의 함량(% , w/w)
- 3) 분산액의 온도
- 4) 유화액의 함량 : 분산액의 함량비율(w:v)
- 5) 분산액의 pH

위에서 선정한 factor들을 고려하여 lab scale : pilot plant scale = 1 : 25 ~ 1 : 100의 비율로 가, 나, 라 항목을 scale up하여 미세캡슐화 수율을 측정된 결과, lab scale에서의 미세캡슐화 수율(99.91%±1.01)과 pilot plant scale에서의 결과는 99.68%(±0.12)로서 서로 유사하였다(Table 7 참조). 또한 동등한 비율로 scale up하여 분산액의 온도와 pH를 변화시킨 결과, 분산액의 온도는 20℃(Fig.4-30), pH는 7.0(Fig.4-31)일 때 극대의 미세캡슐화 수율을 얻을 수 있었는데, scale up을 시행하기 전과 동일한 최적 조건임을 알 수 있었다. 따라서, 이상의 결과로부터 scale up을 실시함으로써 변화되는 최적조건은 없는 것으로 판명되었다.

7. 자동화 공정의 예비모델 제작 및 미세캡슐의 수율 분석

실험적으로 제작된 예비 모델을 이용하여 scale up한 미세캡슐을 생산하고 수율을 측정하여 lab scale에서의 미세캡슐화한 수율과 비교 측정하였다. 이상의 결과로부터 scale up을 실시하는 것도 중요하지만 lab scale에서 공정 자동화를 수행하여 자동화된 공정을 set up하는 것이 연속·대량생산을 위하여 중요한 것으로 판단되었다. (Fig.4-32)

수율 분석 결과는 앞에서 언급하였듯이 lab scale에서의 미세캡슐화 수율과 pilot plant scale에서의 결과는 99.68%(±0.12)로 서로 큰 차이는 없었으나, 자동화를 위한 예비모델에 의해 생산된 미세캡슐의 수율은 97.79%(±0.12)로 lab scale에서와 다소 차이가 있었다(Table.4-8). 그 이유는 가. 부분 자동화하면서 상대적으로 길어진 공정으로 인한 O/W 유화계의 불안정성 및 나. 온도저하, 다. 분무기와 고무관 내에 남아있는 유화액의 증가 등으로 판단되었다. 그러나 부분적으로 자동화하여 보다 간편해진 공정을 고려하여 본다면 오히려 생산성의 증가를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

8. 2중 coating microencapsule 생산을 위한 가능성 조사

최적조건에 의해 생산된 미세캡슐 용액을 고도경화유를 사용해서 double-coating을 시도하였다. 수율 임의로 첨가한 glucose를 DNS에 의한 환원당 정량에 의해 측정하였으며, 유화제로는 polyglycerine polyricinoleate(H.L.B. 0.6)를 사용하여 캡슐화 하였다.

위와 같은 예비조건에 의해 생산되어진 double-walled microencapsules의 수율을 DNS에 의한 환원당 정량법에 의해 측정한 결과 평균 48.7%(±5%)의 수율을 나타내었다. 따라서 multi-microcapsule의 생산 가능성을 확인하였는바, 수율의 증대를 위해서는 실험 중에 문제가 되었던 몇 가지 요인들을 우선적으로 해결해야 하겠다. 즉, 가. 피복물질의 선정, 나. 중심물질인 어유를 미세캡슐한 분산액과 피복물질인 고도경화유를 유화시킬 때 사용할 유화제의 선정, 다. 중심물질 : 피복물질의 비율, 라. 중심물질-유화제-피복물질로 형성되는 유화계 확립을 위한 교반조건, 마. 분산매에 사용할 유화제의 종류 및 농도의 결정 등이다.

제 6 장 향신료 미세캡슐의 성분분석 및 안정성 증대

제 1 절 연구수행방법

1. 실험재료

미세캡슐화된 고추올레오레진(1,500,000 Scoville unit)을 테시케이터에 냉장보관하여 실험 재료로 사용하였다. 고추 매운맛의 표준품은 Aldrich제품으로 capsaicin과 dihydrocapsaicin 이 65:35로 조성된 것을 이용하였다. 미세캡슐의 wall material 조성이 안정성에 미치는 영향을 평가하기 위해 미세캡슐은 core 물질인 고추올레오레진: wall material을 8:92(w/w)로 일정하게 하고, wall material 조성을 달리하여 시료A(gum arabic, 100%) , 시료 B(gum arabic: modified starch= 50: 50, w/w), 시료C(modified starch, 100%)로 제조하였고, wall material의 조성을 gum arabic와 modified starch의 비율이 같도록 (50: 50, w/w) 일정하게 하고 core와 wall material의 비율을 달리하여 시료D(Core:wall material = 8 : 92 , w/w), 시료 E (Core:wall material =10 : 90 , w/w) , 시료F (Core:wall material = 12 : 88 , w/w)로 제조하여 wall material의 함량 증가가 안정성에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 고추미세캡슐과 고추올레오레진의 저장조건

1) 고추미세캡슐의 저장조건

제조된 고추oleoresin 미세캡슐 분말 100g을 페트리디쉬에 5℃, 25℃, 45℃, 65℃, 85℃, 105℃의 온도에서 일정 기간 동안 저장하였다. 각 기간별로 꺼낸 시료를 즉시 황산칼슘 (CaSO₄)을 넣은 테시케이터에 3일 동안 상온에서 보존하여 total 및 surface carotenoids 및 capsaicinoid 분석에 이용하였다.

2) 고추올레오레진의 저장조건

올레오레진(150만 SHU) 0.1g에 에탄올 10ml를 가하여 10000ppm의 고추올레오레진 희석액을 만든 후 유리시험관에 각각 2ml을 넣고 5℃, 25℃, 45℃, 65℃, 85℃, 105℃의 온도에서 뚜껑을 열고 일정 기간 동안 저장하였다. 각 기간별로 용매가 증발된 시험관에 에탄올

로 4000ppm의 농도로 조제한 후 capsaicinoids 함량을 HPLC로 측정하였고 carotenoids 함량 및 색도는 용이한 측정을 위해 1000ppm으로 희석하여 측정하였다.

3. 고추미세캡슐의 습도별 저장조건

고추올레오레진 미세캡슐 분말 20g을 황산칼슘(CaSO₄)을 넣은 데시케이터에 5일간 상온에서 보존한 후 25℃, 35℃, 45℃에서 각각 11%, 32%로 조정된 데시케이터에 일정 기간 동안 저장하여 습도가 미세캡슐화된 고추올레오레진의 저장성에 미치는 영향을 검토하였다.

4. 고추미세캡슐의 total oleoresin의 추출법

저장된 고추올레오레진 미세캡슐 분말을 CaSO₄를 넣은 데시케이터에 3일간 상온에서 보존하여 다음 분석에 이용하였다. 원심분리 튜브 5개에 각각 시료의 무게(0.15g)를 정확히 재었다. 원심분리 튜브에 1.25ml의 dimethylsulfoxide(DMSO)를 넣고 시료의 wall material이 완전히 용해되어 맑아지도록 55℃에서 5분간 가열하였다. 에탄올 11ml를 미세캡슐이 용해된 용액에 넣어주고 5분간 vortex mixing하여 고추올레오레진을 추출하였다. 이때 wall material인 탄수화물이 침전되며 이들 혼합물을 21000rpm에서 20분간 원심분리하고 상정액을 채취하여 25ml volumetric flask에 따라 붓고 침전물에 다시 11ml의 에탄올을 첨가한 후 추출 과정을 2회 반복하였다. 에탄올로 25ml volumetric flask에 정용한 다음 capsaicinoids 분석을 위해 그 용액 20 μ l를 HPLC로 분석하였고, 정용된 용액은 carotenoids 측정 및 액상시료의 색도 측정에도 이용하였다. 미세캡슐의 total capsaicin함량은 mg%로 표시하였으며 미세캡슐의 수분함량을 제거한 무게를 기준으로 나타내었다.

$$\text{SHU} = \text{총capsaicin(ppm)} \times 15$$

$$1\% \text{ capsaicinoids} = 150,000 \text{ Scoville unit} = 1000 \text{ mg}\% = 10,000 \text{ ppm}$$

5. 고추미세캡슐의 surface oleoresin의 분리법

미세캡슐시료 2g을 thimble에 넣어 cotten wool을 덮은 후 시료가 담긴 extraction thimble을 soxhlet extractor에 넣었다. 용매인 diethylether 50ml를 extraction cup에 담고 Soxhlet extractor(Soxtec System HT6, Tecator)에 cup을 넣고 15분간 Boiling 위치에 놓

고 45분간 rinsing 위치에 놓아 추출하였다. 용매를 날리고 cup을 꺼내 100℃에서 30분간 건조하고 냉각시켜 에탄올 25ml로 정용한 후 capsaicinoids 분석을 위해 그 용액 20 μ l를 HPLC로 분석하여 surface oil의 함량(%)을 결정하였다. 정용된 용액은 surface carotenoids 측정 및 액상시료의 색도 측정에 이용하였다.

6. HPLC를 이용한 capsaicinoids의 분석

고추올레오레진의 capsaicinoids의 분석을 위한 HPLC의 조건을 Table 1에 나타내었다. 이동상은 메탄올 : 물 = 7 : 3(v/v)으로 하였고, 유속은 1ml/min으로 μ -bondapak C18 symmetry column(3.9 x 300mm)로 분석하였다. 표준시약은 Aldrich 제품으로 capsaicin과 dihydrocapsaicin이 65:35로 조성된 것을 ethanol에 녹여 표준곡선을 구하였으며, eluent 조제용 용매는 모두 HPLC용 특급시약을 사용하였다. 확립된 분석법은 고추올레오레진(control) 및 미세캡슐에서 추출된 고추올레오레진의 total 및 surface capsaicinoids 함량 측정에 이용하였다. 미세캡슐화된 고추올레오레진의 capsaicinoids의 분석을 위하여 한 시료 당 3개의 sample을 만들어 HPLC로 분석하였다.

7. 고추미세캡슐 및 고추올레오레진의 carotenoids의 분석

미세캡슐에서 추출된 고추올레오레진 및 올레오레진(control)의 carotenoids 함량 분석을 위해 Shimazu UV-Vis Spectrophotometer (2101PC-Japan)를 사용하였고 454nm에서 측정 한 흡광도로서 나타내었다. 고추올레오레진의 저장안정성 시험에는 1000ppm으로 희석된 액상시료를 사용하였다.

8. 고추미세캡슐 및 고추올레오레진의 색도 측정

색도는 Color and color difference meter(TRI-Stimulus Colorimeter, Color Techno System Corporation, Model JC801)를 사용하여 측정하였으며, Hunter scale에 의한 L, a 및 b값으로 나타내었다. 저장기간에 따른 고추미세캡슐의 색도측정은 액상시료와 분말의 색도를 모두 측정하였으며 액상시료는 total oleoresin 및 surface oleoresin 제조법에 의해 만들어진 액상시료를 이용하였다. 고추올레오레진은 에탄올로 1000ppm으로 희석하여 측정하였으며 분말 및 액상시료는 각각 5회 측정하여 평균값으로 나타내었다. 표준판은 백색판(L=98.03, a= 0.08, b=-0.56)을 사용하였다.

9. 고추미세캡슐의 등온흡습곡선

수분활성을 조절하기 위해 여러가지 포화 염용액들을 사용하여 주간 저장하고 수분함량을 측정하여 고추미세캡슐 시료의 등온흡습곡선(water sorption isotherms)을 구하였다. LiCl, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaNO₂, NaCl 등의 포화염용액을 사용하여 각각 0.11, 0.32, 0.41, 0.52, 0.62, 그리고 0.75의 수분활성도로 조정하였다.

제 2 절 연구수행결과

1. 고추미세캡슐의 성분분석

고추미세캡슐의 Wall material 분해법의 확립을 위해 조제된 시료는 Core(고추올레오레진)와 Wall material의 비율이 8 : 92(w/w)이며, 고추미세캡슐시료의 수분, 조단백(micro kjeldahl 법), surface oil의 함량(Soxhlet법), 그리고 탄수화물과 고추올레오레진의 함량은 각각 5.4%, 0.3%, 0.3%, 94%로 분석되었다(Table.5-2). Total oil의 함량은 8.7%로 분석되어 약 1.1%의 oil이 표면에 존재하는 것으로 확인되었다. 이때 미세캡슐의 total capsaicinoids함량은 727mg%였다.

2. Capsaicinoids의 HPLC 분석

HPLC로 표준물질을 분석한 결과 8.3분에서 capsaicin, 10.9분에서 dihydrocapsaicin이 검출되었고(Fig.5-1) 재현성도 확보되었다. 두 가지 성분의 total capsaicin peak area와 표준용액의 capsaicin 농도(ppm)의 관계를 Fig.5-2에 나타내었다. Total capsaicinoids함량 37ppm에서 300ppm까지가 재현성이 있는 비례구간이었다. 따라서 이 구간에 포함될 수 있는 시료량과 희석, 추출조건을 설정하고 이후의 실험에 이용하였다.

확립된 분석법은 이후 풍미성분의 안정성 및 미세캡슐화된 고추올레오레진의 풍미성분의 추출율을 비롯한 추출조건의 확립에 이용하였고 미세캡슐제조 공정 및 저장 중의 풍미성분의 변화분석에 이용할 수가 있다.

3. DMSO를 사용한 고추미세캡슐의 Wall material 개발

1) Wall material의 용해가 가능한 용매의 선정

조사한 17가지 용매 중에 dimethylsulfoxide(DMSO)와 진한염산(HCl) 만이 미세캡슐을 용해할 수 있는 용매로서 확인되었다. HCl은 강한 산성으로 인하여 시료의 성분들의 안정성에 영향을 줄 수가 있고 HPLC 분석용 칼럼에도 손상을 줄 수 있으므로 wall material 분해용 용매로는 적당하지 않다고 판단되었으며 최적의 wall material 분해 용매로서 DMSO를 선발하였다(Table.5-3). DMSO는 예비실험 결과 전분과 변성전분은 잘 용해하지 못하였다.

Capsaicin은 ethyl ether>ethanol>acetone>benzene>methanol>n-hexane의 순으로 용해

가 잘되고 cold water, hexane, pentane, petroleum ether에 용해되지 않는 성질을 갖고 있다. Hexane, pentane, petroleum ether 만이 DMSO에 혼합되지 아니하였으며 기타 용매들은 DMSO에 혼합되었다. DMSO와 혼합되지 않는 용매들은 모두 DMSO와 마찬가지로 capsaicinoids를 용해할 수 있어서 완벽한 상전이(phase transfer)의 효과를 얻기가 어렵다고 확인되었으므로 적합하지 않고 판단되었다. DMSO와 혼합이 되는 용매로서 diethylether는 capsaicinoids의 용해도는 가장 크지만 HPLC를 사용하여 분석할 때 비극성의 칼럼이 손상될 가능성이 있고, wall material 용해의 다음 과정인 탄수화물의 제거조작이 쉽지 않다고 판단되었고 높은 휘발성으로 인하여 정량분석에 바람직하지 않다고 판단되었다. DMSO는 높은 boiling point(188℃)를 가진 용매이므로 증발에 의한 제거가 어렵다고 판단되었으므로 DMSO와 혼합되는 용매로서 탄수화물을 침전시킬 수 있으면서 고추올레오레진에 대하여 높은 용해성을 가진 용매인 에탄올을 이용하였다.

2) 미세캡슐의 사용량과 DMSO의 사용량이 wall material 용해에 미치는 영향

2ml의 DMSO를 2ml로 일정하게 사용하고 0.1~0.7g의 고추미세캡슐분말을 첨가하여 wall material 분해조작을 수행하였다. 고추미세캡슐분말 0.15g과 0.2g을 사용하였을 때 capsaicinoids의 함량은 일정한 함량을 보여주었고 이 보다 많은 고추미세캡슐의 첨가는 낮은 capsaicinoids함량을 보여주었다. 이것은 DMSO가 미세캡슐의 wall material을 용해시키는데 한계가 있거나 고추올레오레진을 용해능이 낮기 때문으로 보인다. 따라서 DMSO사용량에 대한 미세캡슐의 사용량이 7.5~10%(w/v)가 최적으로 판단되었다(Fig.5-3).

3) 가열처리조건이 미세캡슐의 용해에 미치는 영향

미세캡슐 0.15g에 DMSO를 2ml 첨가하고 wall material의 용해를 위한 가열온도가 고추올레오레진의 추출에 미치는 영향을 capsaicinoids의 함량을 측정함으로써 평가하였다(Fig.5-4). 30℃, 55℃, 80℃에서 최대의 capsaicinoids의 함량을 보여주는 열처리시간은 각각 30분, 20분, 10분으로서 가열온도를 높여줌에 따라 가열시간은 단축되었다. 그러나 분석되는 capsaicinoids의 최고 함량은 차이가 있어서 가열 온도 30℃ 및 55℃에서의 최고 함량은 765mg% 및 778mg%로 비슷하였으나 80℃에서는 최대 729mg%를 나타내었으며 20분 이상의 가열은 capsaicinoids 함량의 감소를 유발하였다. 이것은 가열처리가 capsaicinoid의 열안정성에 영향을 주어서 일어난 현상으로 보인다.

4) DMSO의 사용량이 고추올레오레진 추출에 미치는 영향

미세캡슐의 사용량을 0.15g으로 일정하게 유지하고 DMSO를 0.5ml~2ml로 달리하여 첨가하고 55℃에서 30분 동안 가열하고 이후에는 같은 방법으로 추출 공정을 수행하였다. 미세캡슐의 사용량에 대하여 8배인 1.25ml의 DMSO를 사용하였을 때 최고의 carotenoids 함량을 보여주었다(Fig.5-5). Spectrophotometer를 사용한 capsaicinoid 함량을 측정하여 HPLC에 의한 함량 분석법과 비교하였다. 281nm에서 흡광도를 측정하였을 때, 미세캡슐의 사용량에 대한 DMSO사용량의 비율이 5이하에서는 매우 낮은 측정치를 보여주었고 같은 시료를 HPLC로 분석한 결과도 capsaicinoid의 함량이 낮게 분석되었다. 따라서 이 범위에서는 DMSO가 용해시킬 수 있는 capsaicinoid의 함량이 낮은 것으로 확인되었다. 반면에 미세캡슐의 사용량에 대한 DMSO의 사용 비율이 높은 10배 이상의 범위에서는 HPLC에 의한 분석 결과 capsaicinoid 함량이 낮게 분석됨과 동시에 spectrophotometer를 사용하였을 때는 높은 흡광도를 보여주었다. 이 범위에서의 spectrophotometer를 사용한 함량측정은, 상대적으로 DMSO에 대한 에탄올의 사용비율이 낮아짐으로 인하여, wall material 성분인 탄수화물을 비롯한 혼탁한 방해물질들이 완벽하게 침전하지 않게 되어 흡광도에 영향을 주는 것으로 보인다. 따라서 미세캡슐의 사용량의 10배 이상의 DMSO를 사용한다면 완벽하게 탄수화물이 제거되지 않은 상태를 야기하여 Spectrophotometer를 사용하는 것은 함량분석에 적합하지 않으며 HPLC를 사용한 분석법이 바람직하다고 판단되었다.

5) 에탄올의 농도가 고추올레오레진의 추출에 미치는 영향

미세캡슐 0.15g에 DMSO를 1.25ml 첨가하고 55℃에서 30분 가열하여 wall material을 용해시키고 50~100%(v/v)의 ethanol을 11ml로 2회 첨가함으로써 첨가되는 ethanol의 농도가 capsaicinoids의 함량측정에 미치는 영향을 평가하였다(Fig.5-6). 에탄올의 농도가 높아짐에 따라 침전물의 무게가 사용된 미세캡슐 사용량의 약 90%로 점차 증가하였으며 이것은 제조된 시료의 wall material 무게가 92%로 투입되어 제조되었다는 사실과 일치하여 거의 완벽하게 wall material 성분이 분리제거 되었다고 볼 수 있다. 50%(v/v)의 ethanol을 사용하였을 때의 높은 capsaicinoids 함량은 혼탁에 의한 것임을 육안으로 확인할 수 있었으며 100%의 ethanol을 사용하였을 때 780mg%로서 가장 높은 capsaicinoids 함량을 보여주었다.

6) 혼합시간이 capsaicinoid 추출에 미치는 영향

1.25ml의 DMSO로 용해된 미세캡슐에 무수 ethanol을 11ml로 2회 첨가한 후 capsaicinoids를 추출하기 위한 혼합효과를 검토하였다(Fig.5-7). 혼합시간을 40Hz에서 3분 이상으로 하였을 때 일정한 분석치를 얻을 수 있었고 본 실험에서는 안전한 추출을 위해 5분 동안 혼합하였다.

7) 원심분리조건의 최적화

원심분리 시간을 20분간으로 일정하게 하고 8000rpm~21000rpm으로 속도로 달리하여 추출된 고추올레오레진의 탄수화물 함량과 capsaicinoids함량에 미치는 영향을 평가하였다. 8000rpm이상의 속도에서 760mg% 이상의 분석치를 얻을 수 있었다(Fig.5-8-a). 5000rpm에서 21000rpm으로 회전속도를 높였을 때 탄수화물의 함량도 8.5%에서 6.9%까지 감소하여 침전물의 보다 완벽한 제거가 분석치의 향상에 기여한 것으로 확인되었다(Fig.5-8-b). 한편 회전속도 21000rpm으로 일정하게 하고 원심분리시간을 달리하였을 때 15분 이상의 원심분리 시간에서 일정한 값을 보였으며 역시 15분 이후에 탄수화물의 함량도 감소하였으므로 본 실험에서는 20분을 채택하였다(Fig.5-9-a,b)

8) Ethanol의 사용량에 따른 고추올레오레진 추출효과

무수알코올을 사용하고 에탄올의 사용량을 달리하였을 때 고추올레오레진의 추출효과를 평가하였다(Fig.5-10). DMSO사용량의 3배 이상으로 ethanol을 첨가하였을 때 wall material의 침전현상을 육안으로 관찰할 수 있었다. 에탄올의 사용량을 상대적으로 증가시킴에 따라 추출이 많이 됨을 알 수가 있었으며 DMSO를 1.25ml 사용하고 10ml 이상의 에탄올을 2회 반복 사용하였을 때 일정한 값에 도달하여 보여주어 DMSO사용량의 8배 이상의 에탄올 사용이 고추올레오레진의 완벽한 추출에 필요함을 보여주었다.

Ethanol을 사용하여 1회만 추출하였을 때는 700mg% 이하의 capsaicinoid 함량을 보여주어 2회 추출을 수행하였을 때 보다 상대적으로 완벽하게 capsaicinoid가 추출이 되지 않았다. Ethanol을 11ml 사용하여 2회 추출하였을 때 797mg%가 미세캡슐의 총 capsaicinoids로 분석되었으며 이를 기준으로 하였을 때 Ethanol을 10ml로 2회 추출하였을 때 거의 같은 함량이 분석되었다. 10ml로 1회 추출하였을 때는 불과 84.4%(673mg%)의 추출이 되었으며 20ml의 ethanol을 1회 사용하였을 때 87.8%(701mg%)가 추출되어서 반복추

출법이 고추올레오레진의 추출에 효과적임이 확인되었다(Fig.5-11).

에탄올로 2회 추출하였을 때 6ml를 2회 사용한 경우는 11ml를 2회 사용하였을 때의 91.4%(728mg%)가 추출되었고 10ml 이상 (DMSO사용량의 8배 이상)을 사용하면 완벽하게 미세캡슐 속의 oleoresin이 추출되었다(Fig.5-11).

8ml, 8ml, 6ml의 에탄올(총 22ml)을 3회 반복 첨가하여 capsaicinoids의 함량을 평가한 결과 97.8%(780.3mg%)로 나타났으며, 이것은 같은 부피의 에탄올을 10ml씩 2회 추출(95.7%)하였을 때와 비슷한 결과로서 같은 부피(20ml)의 에탄올을 사용하였을 때 2회 추출만으로도 3회 추출과 같은 완벽한 추출이 가능함을 알 수 있었다(Fig.5-11).

반복추출이 분석용액내의 탄수화물함량에 미치는 영향을 평가한 결과 1회 추출이 5.5~6.5%로 나타났으며 7~9%를 나타낸 2회 혹은 3회 반복추출 보다 상대적으로 용액내의 탄수화물함량이 낮게 나타났다. 이것은 반복추출에 의하여 탄수화물이 용액 중으로 혼입된 것으로 보인다. 2회 반복 추출시에는 에탄올의 사용량이 많을수록 탄수화물의 양이 감소하여서 상대적으로 DMSO에 비하여 많은 양의 에탄올을 사용하는 것은 탄수화물의 침전을 용이하게 하는 한편 고추올레오레진의 용해를 용이하게 하는 효과가 있었다(Fig.5-12).

온수에 고추미세캡슐을 용해시킨 후 ethylether로 상전이를 시켜 total capsaicinoids를 분석한 결과 총 oleoresin의 함량은 8.7%(727mg%)로 나타났다. DMSO를 사용한 wall material 분해법으로 분석하였을 때가 더 높은 함량의 total capsaicinoids가 분석되었으므로 후자가 상전이법보다 효과적인 분석법임을 확인할 수 있었다.

DMSO를 사용한 total capsaicinoids의 분석법은 diethyl ether를 이용한 상전이법에 비하여 소량의 시료를 사용하여 분석이 가능하며 상전이에 소요되는 시간을 줄일 수가 있다. 또한 용매를 증발시키기 위한 가열처리를 할 필요가 없어서 가열에 의한 oleoresin의 변화가 적으리라 기대되며 DMSO를 사용하여 wall material을 용해시킨 후에 HPLC법을 병용함으로써 진공 증발시킬 수 없는 높은 비등점을 가진 DMSO가 column을 통과하면서 손쉽게 분리되므로 capsaicin성분의 함량측정에 문제를 야기하지 않는 이점을 가지고 있다. DMSO에 용해될 수 있는 미세캡슐의 wall material성분이 존재하기만 하면 그것을 분해시켜 다양한 core material의 분석에 응용할 수 있는 분석법으로 여겨진다.

4. 고추올레오레진의 저장안정성

고추의 적색소는 비교적 안정하지만 가공 및 저장 중 변색이 일어나기 쉽다. 일반적으로 고추의 변색정도, 즉 외관의 색깔이 매운맛 성분과 함께 고추품질평가의 판단 척도가 되고 있는데 고추의 갈변은 주로 산화 갈변반응이 주원인이지만 갈변반응이 품질변화의 주원인이 되는 색도가 낮은 채소류나 식품에 비하여 고추처럼 짙은 색도를 띠는 식품의 경우, 갈변반응은 산화변색에 비하여 큰 문제가 되지 않는다.

각 온도에서 저장 기간에 따른 고추올레오레진의 carotenoids의 잔존율을 Fig.5-13에 나타내었다. 저장 1주 진행 후의 잔존율은 45℃ 이하에서는 80% 이상으로 안정하였으나 65℃ 이상에서는 35%이하로 급격히 감소하였다. 또한 저장 3주 진행 후의 잔존율은 45℃에서는 76.1%로 안정하였으나 65℃ 이상에서는 17.9% 이하로 급격히 감소하였다.

고추올레오레진을 12주 동안 저장하고 저장초기 시료와 저장된 시료의 색도의 차이를 L, a, b 에 대하여 Table 4에 정리하였으며 L, a 및 b의 변화에 대하여 각각 Fig.5-14-a, Fig.5-14-b 및 Fig.5-14-c에 나타내었다. 저장 온도 5℃에서는 L값의 변화는 미미하여 안정하였으나 온도가 높아짐에 따라 45℃까지는 지속적으로 상승하였고 65℃ 이상의 고온에서는 L-Lo는 1주만에 최고수치 16의 급격한 차이를 나타내어 명도가 크게 증가하였다 (Fig.5-14-a). 적색도를 나타내는 a의 변화도 L의 변화와 매우 비슷하였다. 즉, 저장 온도 5℃에서는 a 값의 변화는 매우 적어서 안정하였으나 온도가 높아짐에 따라 45℃까지는 지속적으로 감소하였고 65℃ 이상의 고온에서는 a-ao는 1주만에 최고수치 16으로 완전히 감소하여 쉽게 적색도가 크게 감소하는 양상을 보여주었다(Fig.5-14-b). 고추 oleoresin은 L, a 보다는 b의 변화가 가장 크게 나타나 65℃ 이상의 온도에서 3주간의 저장으로 -30이상의 급격한 변화를 보여주었다(Fig.5-14-c).

고추올레오레진을 12주 동안 여러 온도에서 저장하고 L, a, b에 대한 색도변화를 Fig.5-3에 나타내었다. 45℃ 이상의 저장에서는 초기의 명도(Lo)에 비하여 L-Lo의 값이 12 이상의 큰 변화가 있었고 적색도를 나타내는 a-ao도 역시 같은 수준으로 감소하였다. 따라서 이러한 색도의 급격한 변화를 수반하는 고추올레오레진의 장기저장에는 저온저장이 필수적이라 판단된다. "b"의 경우도 온도가 증가함에 따라 변화량이 점차 커졌으며 65C 이상에서는 약 40 정도의 큰 변화량을 보여주었다.

여러 온도에서 저장기간을 달리한 고추 올레오레진의 색도변화(L, a, b)를 고추올레오레진의 carotenoid의 잔존율에 대하여 Fig.5-16 에 나타내었다. Carotenoid의 초기 함량을

100%로 하였을 때 초기함량의 70%로 감소하기까지 색도 변화가 매우 급격하였으며 이 때의 carotenoid의 잔존율에 따른 oleoresin의 L-Lo, a-ao, b-bo의 평균기울기는 각각 -1.5454, 1.8181, 3.1818이었다. 또한 carotenoid 함량이 70% 이하로 감소되면 더 이상의 L, a, b의 색도의 변화가 나타나지 않았다. carotenoid의 잔존율에 따른 oleoresin의 L-Lo, a-ao, b-bo의 평균기울기는 각각 -0.0212, 0.232, 0.429로 나타났다.

각 온도에서 시간 경과에 따른 고추올레오레진의 capsaicinoid의 잔존율을 Fig.5-17에 나타내었다. 각각의 저장온도에서 capsaicinoid의 시간경과에 따른 잔존율은 carotenoid의 결과와 비교하여 보았을 때 매우 높아서 고추올레오레진의 매운 맛성분이 색소 보다 매우 안정하였다. 저장 6주 진행 후의 capsaicinoid 함량은 45°C이하에서는 초기함량에 비하여 75% 이상의 잔존율을 보여 안정하였으며 85°C 및 105°C에서는 잔존율이 각각 45.5% 및 17.4%였다.

5. 미세캡슐화된 고추올레오레진의 carotenoid의 저장안정성

고추미세캡슐 시료 B와 (gum arabic : modified starch= 50:50, w/w)와 고추올레오레진의 carotenoid의 산화 안정성을 비교하였다.

각 온도에서 저장에 따른 고추미세캡슐 B의 total carotenoids의 잔존율은 Fig. 18과 같다. 저장 6주 진행 후의 잔존율은 45°C 이하에서는 71.0% 이상으로 55.4%의 고추올레오레진 보다 안정하였으며 85°C 및 105°C에서는 29.7%와 25.7%의 잔존율을 보여 7.9%와 3.3%의 고추올레오레진 보다 안정하게 나타났다.

각 온도에서 시간경과에 따른 고추미세캡슐B (gum arabic:modified starch= 50: 50, w/w)의 surface carotenoids의 잔존율을 Fig.5-19에 나타내었다. Surface carotenoid는 고추올레오레진 과 매우 비슷한 변화 양상을 보여줌으로써 Fig.5-18에 나타내었던 미세캡슐의 total carotenoid의 안정성은 미세캡슐 내부에 존재하는 올레오레진의 carotenoid의 변화가 적어진 결과로 확인되었다.

6. 고추미세캡슐 분말의 외관색도 안정성

분말 고추미세캡슐 B (gum: modified starch= 50: 50, w/w)를 12주 동안 저장하여 외관 색도의 변화를 살펴보았다(Fig.5-20-a,b,c). 온도 5°C에서는 L값의 변화가 거의 없이 매우 안정하였으나 저장온도를 높임에 따라 45°C도 까지는 완만하게 L값이 상승하였다. 그러나

고추올레오레진에 비하여 상승폭은 반정도로 낮은 수준으로서 고추올레오레진의 미세캡슐화로 명도의 변화를 줄일 수 있었다. 65℃ 이상의 고온에서는 L-Lo는 3주만에 최고수치 10까지 완전히 상승하여(Fig.5-20-a) 고추올레오레진이 1주만에 16까지 상승(Fig.5-14-a)한 것에 비해 매우 열에 안정하게 나타났다. 105℃에서의 저장은 저장 6주부터 미세캡슐의 탄화로 증가하던 L 값이 오히려 감소하기 시작하였다. 이 현상은 modified starch(100%)를 wall material로 사용한 고추미세캡슐 C에서는 매우 더디게 나타났으며 A에서의 감소폭이 A>B>C인 순으로 나타나 wall material의 gum arabic의 사용량이 증가할수록 탄화에 의한 감소폭이 크게 나타났다. 적색도를 나타내는 a의 변화도 고추올레오레진에 비하여 매우 안정하였다. 즉, 45℃에서 12주 동안의 저장으로 최대 -6.4의 감소를 보여서 45℃이하의 저장 온도에서 매우 안정하게 나타났으며(Fig.5-20-b), 고추 oleoresin이 25℃에서 6주 저장으로 -5의 적색도 변화를 보여주었으므로(Fig.5-14-b) 고추올레오레진에 비하여 비하여 매우 열에 안정하였다. 고추미세캡슐은 65℃ 이상의 고온에서도 고추 oleoresin에 비하여 완만히 감소하였다. 또한 고추올레오레진은 b-bo가 최대 -30의 큰 감소를 나타내어 yellow color의 급격한 감소를 나타내었지만 고추미세캡슐 분말은 85℃ 미만에서 불과 -2의 감소를 나타내었다(Fig.5-20-c). 이것으로 oleoresin의 색소의 안정에 미세캡슐화가 크게 기여함을 보여주었다.

고추미세캡슐분말 B(gum: modified starch= 50:50, w/w)을 12주 저장한 후 여러 온도에서 분말의 색도변화를 측정하였다(Fig.5-21). 온도가 증가함에 따라 변화는 커졌으며 저장 온도가 높아질수록 L, a, b의 증감변화의 폭이 커지는 경향을 보였다. 고추올레오레진과는 달리 미세캡슐의 b-bo의 변화량은 85℃이하에서 -2정도로 매우 작게 나타났으며 미세캡슐의 경우 b 보다는 L과 a의 값이 고추올레오레진의 색소산화에 대한 좋은 지표가 되었다.

고추미세캡슐분말 B(gum: modified starch= 50:50, w/w)을 여러 온도에서 12주 동안 저장한 후에 total oleoresin을 추출하고 정용한 후에 추출된 액상의 고추 oleoresin의 색도 변화를 Fig.5-22에 나타내었다.

고추미세캡슐분말 B(gum: modified starch= 50: 50, w/w)을 여러 온도에서 12주 저장한 후에 Surface oleoresin의 색도 변화를 Hunter scale에 의한 L, a 및 b값으로 측정하여 초기 저장하였을 때의 값인 Lo, ao, 및 bo의 차이로 나타내었다(Fig.5-23), 표면의 색도변화는 온도변화에 따라 고추oleoresin과 매우 비슷한 수치의 변화 양상(Fig.5-15)을 보여줌으로써 Fig.5-18에서 확인된 미세캡슐의 total carotenoid의 안정성은 미세캡슐화로 인한 내부

oleoresin의 색도 변화가 적어진 결과로 확인되었다.

고추미세캡슐시료 B의 surface oleoresin의 색도변화 및 고추미세캡슐에서 추출된 고추올레오레진(total oleoresin)의 색도(L, a, b) 변화를 미세캡슐의 total carotenoid의 잔존율에 대하여 나타내었다(Fig.5-24-a,b,c). 각 그림에서 보듯이 각 시료의 total carotenoid의 잔존율에 대한 표면 oleoresin의 L, a, b의 변화는 total oleoresin의 L, a, b의 변화에 비하여 급격한 변화를 보여주어 미세캡슐 내부의 고추 oleoresin이 표면보다 색도변화에 안정한 것으로 확인되었다.

7. 미세캡슐화된 고추올레오레진의 capsaicinoid 안정성

고추미세캡슐 B(gum: modified starch= 50:50, w/w)에서 추출된 올레오레진 중의 total capsaicinoid의 잔존율을 Fig.5-25에 나타내었다. 저장 6주 진행 후의 잔존율은 65℃ 이하에서는 77.2% 이상으로 안정하였으며 85℃ 및 105℃에서는 66.7% 및 56.8%의 잔존율을 보여 oleoresin 보다 고온에서 상대적으로 안정하였다. 고추 oleoresin은 저온에서는 저장 안정성이 비슷하였으나 85℃와 105℃에서 불과 40%와 3%의 잔존율을 나타내어 미세캡슐화로 고온에서의 안정성이 크게 향상되었다(Fig.5-5).

각 온도에서 저장에 따른 고추미세캡슐 B(gum: modified starch= 50:50, w/w)의 추출된 surface oleoresin의 capsaicinoids의 잔존율은 Fig.5-26와 같다. Surface capsaicinoid는 고추올레오레진과 매우 비슷한 변화 양상을 보여줌으로써 고추미세캡슐의 total capsaicinoid의 안정성은 미세캡슐 내부의 올레오레진의 안정성이 증가한 이유로 해석되었다.

8. Wall material 조성을 달리한 고추미세캡슐 시료의 안정성

고추 Oleoresin capsicum을 미세캡슐화하고 추출된 고추올레오레진의 capsaicinoids 및 carotenoids의 함량 변화와 색도 변화를 측정함으로써 저장안정성을 비교하였다. 고추올레오레진 미세캡슐의 wall material (gum arabic:modified starch)을 100:0(w/w), 50:50(w/w), 0:100(w/w)의 세 가지 조성으로 달리하여 각각 시료 A, B, C를 제조하였다. Wall 구성물질을 달리한 고추미세캡슐의 수분은 5% 내외였으며, surface oil의 함량(%) 및 total oil의 함량(mg%)은 시료A의 경우 1.02%, 715.8mg%이었으며 시료B의 경우 1.90%, 572.5mg%, 그리고 시료C의 경우 1.26%, 704.5mg%로 분석되었다(Table.5-5). 고추미세캡슐 시료 A, B, C의 Hunter color value를 Table.5-6에 나타내었다.

각 저장온도에 따른 분말 시료의 색도 변화(L-Lo, a-ao, b-bo)를 Fig.5-27-a,b,c 및 Table.5-7에 나타내었다. 고추올레오레진 미세캡슐은 45℃이하의 저장온도에서 고추 oleoresin의 L-Lo 및 a-ao의 변화량이 매우 작았으며 b-bo는 65℃ 이상의 고온에서도 거의 변화가 없는 것으로 확인되었다.

일정기간 시료를 저장한 후에 고추미세캡슐로부터 올레오레진을 추출하고 정용하여 total oleoresin의 Hunter scale에 의한 L, a 및 b값을 측정하고 초기값(Lo, ao, bo)과의 차이를 Table.5-8에 정리하였다. 이 L, a 및 b값의 변화를 고추미세캡슐의 total carotenoid 잔존율에 대하여 나타내었다(Fig.5-28-a,b,c).

Total carotenoid 잔존율에 대하여 L, a 및 b값의 변화를 기울기로 나타낼 수 있으며 시료 B가 각각 -0.032, 0.294, 0.071로서 가장 완만한 변화량을 보여주어서 carotenoids 함량 변화에 색도의 변화가 가장 덜 민감하였다. 시료 A는 L, a, b에 대하여 시료 B 보다는 약간 큰 변화를 보이지만 비슷한 기울기를 나타내어 색도의 변화에 큰 차이가 없었다. 변성전분을 wall material로 사용한 고추미세캡슐 C는 A, B에 비하여 L-Lo 값의 증가폭이 크게 나타나서 변성전분만을 wall material로 사용하는 것은 색도의 보존에 바람직하지 않았다(Table.5-9). 고추미세캡슐시료 B에서 추출한 surface oleoresin의 색도 변화(L, a, b)를 total carotenoid의 잔존율에 대하여 나타내었고 L-Lo, a-ao, b-bo의 기울기는 각각 -0.236, 0.327, 0.382로 나타났다(Fig.5-9)(Table.5-9). 이것은 고추올레오레진의 기울기들과 매우 비슷한 값이다. Table.5-9에 Fig.5-4와 Fig.5-14,15의 결과를 종합하였다. 고추미세캡슐 B는 L-Lo, a-ao, b-bo의 변화량이 가장 작게 나타나서 gum과 modified starch가 50:50(w/w)으로 혼합된 wall material이 색도의 변화에 가장 안정한 것으로 확인되었다.

미세캡슐화된 고추 oleoresin의 capsaicinoid 및 carotenoid의 파괴는 1차 반응에 따랐다. 따라서 capsaicinoid 및 carotenoid의 파괴를 1차반응식으로 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$dC/dt = -kC$$

$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

여기서 C_0 는 $t=0$ 일 때의 carotenoid의 농도, C 는 t 시간 후의 농도이다. 또한 capsaicinoid 및 carotenoid의 파괴에 대한 온도 의존성은 Arrhenius 식에 따른다. $k = A \exp(-E_a/RT)$ 여기서 k 는 저장 중 capsaicinoid 및 carotenoid의 파괴 속도 상수, A 는 빈

도인자, E_a 는 활성화에너지, R 은 기체상수이고 T 는 절대온도이다.

Table.5-10에 고추미세캡슐 A, B, C의 저장기간에 따른 total capsaicinoid의 잔존율을 나타내었고 total capsaicinoid에 대하여 계산된 파괴속도 상수와 반감기(half life)를 각 미세캡슐시료들과 고추올레오레진에 대하여 비교하였다. 시료 A, B, C 중에 시료 B가 가장 높은 저장성을 보였으며 시료B의 경우 가장 안정한 저장성(45°C에서 46.2주)을 보여주었다. 65°C, 85°C의 높은 온도에서 저장하였을 때의 반감기는 각각 36.5주, 23.9주로 확인되었다. 고추올레오레진의 capsaicinoids 반감기는 45°C와 65°C, 85°C에서 각각 33주, 19.3주, 12.2주로서 고추올레오레진의 capsaicinoids 자체도 매우 열에 안정하다고 확인되었으며 각 온도에서 7주에서 13주(1.4-3.2배)의 저장성이 미세캡슐화로 인하여 더 증가하였다.

Table.5-12에 고추미세캡슐시료 A, B, C의 total carotenoid의 저장기간에 따른 잔존율을 나타내었고 Table 13에 total carotenoid에 대하여 계산된 파괴속도 상수와 반감기(half life)를 각 미세캡슐시료들과 oleoresin에 대하여 비교하였다. 고추올레오레진의 carotenoid의 반감기는 45°C와 65°C, 85°C에서 각각 12.4주, 4.1주, 8.1주로서 capsaicinoid에 비하여 매우 짧은 반감기를 보여주었다. 고추미세캡슐시료 A, B, C 중에 고추미세캡슐시료 C가 가장 낮은 저장성을 보였으며 고추미세캡슐시료 B의 경우 45°C, 65°C, 85°C에서 저장하였을 때의 반감기는 각각 27.7주, 9.2주 및 7.9주로 온도에 따라 5~15주(2.2-2.5배)의 반감기의 증가를 나타내었고 저장온도가 증가함에 따라 반감기의 증대효과가 더욱 향상되었다.

9. 저장습도가 고추미세캡슐의 저장안정성에 미치는 영향

미세캡슐시료 A, B, C의 등온흡습곡선(WSI)을 나타내었다(Fig.5-29). 세 가지 시료 모두가 0.11 및 0.32의 수분 활성도(A_w)에서 큰 무게 변화 없이 안정하였으므로 고추미세캡슐시료 B를 25°C, 35°C, 45°C의 온도에서 각각 11%, 32%로 수분을 유지하여 3주 동안 밀폐 저장하여 저장습도가 미세캡슐의 저장안정성에 미치는 영향을 25°C, 35°C 그리고 45°C에서 평가하였다. 실험결과 습도가 높을수록 total capsaicinoids 및 surface capsaicinoids의 함량이 낮게 분석되었으나 유의성은 없었으며 3주간의 저장으로는 그 영향을 평가하기가 어려웠다(Table.5-4). 그러나 carotenoid 함량의 변화는 유의적인 변화가 관찰되었고 12주 저장 중의 미세캡슐의 색도 변화를 평가한 결과 상대적으로 0.11 보다는 0.32의 높은 수분활성도에서 L 및 a의 변화가 크게 나타났다(Fig.5-30-a,b). 이러한 습도의 색도 변화 촉진 효과에도 불구하고 올레오레진에 비하여 변화량이 반정도로 나타나 매우 색도 변화에 안정한 것

으로 확인되었다.

10. Core와 wall material의 비율을 달리한 미세캡슐의 안정성

Gum arabic과 변성전분의 비율을 50:50(w/w)으로 조정된 wall material을 사용하였을 때 core와 wall material의 사용비율을 8:92(w/w), 10:90(w/w), 12:88(w/w)의 세 가지로 달리 하여 각각 시료 D, E, F를 제조하였다. 고추미세캡슐의 수분, surface oil의 함량, total oil의 함량은 시료D의 경우 각각 5.67%, 0.25%, 794.2mg%이고 시료 E의 경우 3.00%, 0.38%, 986.4mg%, 시료 F의 경우 2.15%, 1.01%, 1162.mg%로 분석되었다(Table.5-15). 따라서 Wall material의 사용량을 증가시킬수록 surface oleoresin의 양은 감소하였고 미세캡슐의 수분함량은 증가하였다. 고추미세캡슐시료 D, E, F의 Hunter color value를 Table.5-16에 나타내었다.

Table.5-17에 고추미세캡슐 D, E, F의 저장기간에 따른 total capsaicinoid의 잔존율을 나타내었고 Table 18에 총 capsaicinoid에 대하여 계산된 파괴속도 상수와 반감기(half life)를 각 고추미세캡슐시료 D, E, F와 고추올레오레진에 대하여 비교하였다. 시료 D, E, F 중에 시료 D의 capsaicinoid가 45℃에서 40.8주로 가장 높은 저장성을 보였으며 65℃, 85℃, 105℃의 높은 온도에서 저장하였을 때의 반감기는 각각 18주, 15주, 9주로 확인되었다. 고추올레오레진의 반감기는 45℃와 65℃, 85℃ 및 105℃에서 각각 33주, 19.3주, 12주 및 5.5주로서 고추올레오레진 보다 각 저장온도에서 1.2배에서 1.7배 (4주에서 7주정도)의 저장성이 미세캡슐화로 인하여 증가하였다. 이렇게 저장성의 증대효과가 크지 않은 것은 고추 oleoresin의 열안정성에 기인하는 것으로 보인다.

Table.5-19에 고추미세캡슐시료 D, E, F의 total carotenoid의 저장기간에 따른 잔존율을 나타내었다. 고추미세캡슐시료 D, E, F를 6주 동안 저장하였을 때 온도가 증가함에 따라 D<E<F의 순으로 carotenoids의 잔존율이 감소하는 것을 알 수 있었다. 이것은 wall material의 사용량의 감소로 고추올레오레진안정성이 감소된 것으로 보인다. Table.5-20에 총 carotenoid에 대하여 계산된 파괴속도 상수와 반감기(half life)를 각 미세캡슐시료 D, E, F와 올레오레진에 대하여 비교하였다. 고추올레오레진의 반감기는 45℃와 65℃, 85℃에서 각각 12.4주, 4.1주, 8.1주로서 capsaicinoid에 비하여 각 저장온도에 따라 2주-25주의 차이를 보여 반감기가 매우 짧았다. 저장 조건에 따른 미세캡슐시료 D, E, F의 total carotenoid의 반감기는 45℃에서는 유의적인 차이가 없었으며 높은 저장 온도에서는 wall

material의 사용량이 상대적으로 적은 F가 반감기가 가장 낮게 나타났다. 시료D의 경우 45℃, 65℃, 85℃ 및 105℃에서 저장하였을 때의 반감기는 각각 12.6주, 7.5주, 7.1주 및 7.1주로 확인되었으며, 미세캡슐화는 65℃ 이상의 고온에서 저장성의 증대효과를 볼 수 있었고 고추올레오레진의 반감기에 비하여 1.8-2.5배의 반감기 증가효과가 나타났다. 앞의 capsaicinoid의 저장성 증대 효과와 비교할 때 고추올레오레진의 미세캡슐화는 carotenoid의 안정성 증대효과가 더 크게 나타났다.

고추미세캡슐 시료(D, E, F)들을 여러 온도에서 6주 동안 25℃, 45℃, 65℃, 85℃ 그리고 105℃에서 저장하고 분말시료의 외관색도 변화(L-Lo, a-ao, b-bo)를 Table 21에 나타내었다. 25℃에서 65℃의 온도 범위에서는 온도 및 저장기간이 증가할수록 L-Lo는 상승하였고 미세캡슐시료 D, F에 비하여 E가 가장 변화량이 작아서 시료의 품질(명도)에 영향이 가장 작은 것으로 판단되었다. 시료 F는 core와 wall material의 비율이 12:88(w/w)로서 wall material의 사용량이 가장 적으므로 가장 변화가 급격하였으며 최고의 변화치를 보여주었다. Wall material의 사용비율이 높은 많은 시료 D는 시료 D, F에 비하여 높은 수분함량으로 인하여 외관 색도의 변화가 오히려 크게 나타났다. 같은 저장기간에서 저장온도를 달리하였을 때 온도가 색도에 미치는 영향은 민감하여 85℃ 이상에서는 L-Lo의 값이 오히려 큰 폭으로 감소하였고 이것은 고온으로 인하여 wall material이 탄화된 것으로 보인다. 적색도의 변화(a-ao)를 보면 65℃ 이하에서 미세캡슐시료 E가 가장 작은 감소치를 나타내서 분말의 적색도 보존에 가장 유리하게 나타났으며 조사된 모든 온도에서 역시 미세캡슐시료 F가 가장 급격한 적색도의 변화를 보여주었다. 65℃ 미만의 저장온도에서는 b-bo를 살펴보면, 시료 E,와 F에 비하여 시료 D의 변화량이 미미하게 큰 것으로 확인되었으나 저장기간과 온도의 영향이 크지 않게 나타났으며 그 변화량은 불과 최대 2.4 정도의 차이를 나타내었다. 그러나 85℃ 및 105℃에서는 최대 -11.9까지 변화하여서 고온에 의한 미세캡슐의 탄화가 변화에 큰 역할을 한 것으로 보인다.

여러 온도에서 6주 동안 미세캡슐을 저장한 후에 고추올레오레진을 추출하고 정용하여 Hunter scale에 의한 L, a 및 b값을 측정하고 저장 초기의 측정치(Lo, ao, 및 bo)와의 차이를 Table.5-22에 나타내었다. 분말시료의 경우와 마찬가지로 25℃에서 65℃의 온도 범위에서는 온도 및 저장기간이 증가할수록 L-Lo는 상승하였고 고추미세캡슐시료 E가 시료 D, F에 비하여 명도의 변화량이 작아서 가장 안정한 것으로 판단되었다. 고추 미세캡슐시료 시료 F는 가장 변화가 급격하였으며 최고의 변화치를 보여주었다. 같은 저장기간에서 저장

온도를 달리하였을 때 온도가 색도에 미치는 영향은 분말 시료와는 달리 65℃ 또는 85℃에 이르기까지 증가하였고 105℃에서는 L-Lo의 값이 감소하였고 감소 폭은 오히려 분말시료보다 매우 적게 나타났다. 분말시료는 고온으로 인하여 wall material이 탄화되어 큰 감소치를 보인 것으로 해석되며, 액상추출시료는 내부의 추출된 oleoresin의 색도변화를 포함한 결과로 해석된다.

적색도의 변화(a-ao)를 보면 65℃ 이하에서 시료 D가 가장 적은 감소치를 나타내서 분말에서 외관상 적색도 보존에 가장 적합하였던 시료가 E로 확인된 사실과 대조적이었다. 이렇게 시료 D가 가장 적색도의 변화가 가장 적게 나타난 것은 상대적으로 다른 시료보다 wall material을 많이 함유하도록 제조된 미세캡슐시료 D가 내부 oleoresin의 색도 안정에 기여한 것으로 보인다. 역시 시료 F는 역시 모든 온도범위에서 가장 급격한 적색도의 변화를 보여주었다. b 값은 65℃ 미만의 저장온도에서는 -2 정도로 저장기간과 온도의 영향이 크지 않게 나타났었던 분말 시료와는 대조적으로 최대 -23의 큰 변화를 보여주었다. 이것은 분말시료가 yellowness의 변화를 억제하는 역할을 하는 것으로 보인다. 고추미세캡슐시료D는 두꺼운 wall material의 영향으로 85℃ 이상의 고온에서 다른 시료에 비하여 가장 완만한 감소치를 보여주었다. 따라서 실온에서 내부에 존재하는 고추올레오레진의 안정성을 고려할 때는 core 에 비하여 wall material의 사용량을 10:90(w/w)으로 한 시료 E가 색도의 보존에는 가장 적합한 것으로 보인다 그러나 L과 a의 색도차이는 매우 작았으며 매운맛(capsaicinoids)의 안정성을 같이 고려할 때 고추미세캡슐시료 D가 바람직하게 보이며 gum arabic과 변성전분의 비율을 50:50(w/w)으로 하고 core와 wall material의 사용비율을 8:92(w/w)로 하여 제조하는 것이 최적으로 판단되었다.

Tale 1-1. Specification of enzymes

	Multifect CL	Econase CEP	Rapidase LIQ(+)	Sumyzyme C
Type	Cellulase	Cellulase & Hemicellulase	Pectinase & Hemicellulase	Cellulase & Hemicellulase
PH	4.9~5.3	3.5~5.5	3.0~5.0	3.5~6.0
Temperature (℃)	45~55	30~50	10~55	실온~50
Dosage (%)	0.01~0.20	0.005~0.02	0.01~0.02	0.07~0.33
Price (₩/kg)	40,000	90,000	45,000	90,000
Maker	GENENCOR (핀란드)	Primalco biotech (핀란드)	Gist-brocades (네덜란드)	일본

Table 1-2. RSM design of garlic oleoresin.

#	Code		실험치		
	X1 (추출시간)	X2 (용매비)	추출시간 (hr)	마늘박 분말 (g)	Ethanol (ml)
1	1	1	8	72.8	727
2	1	-1	8	114.4	686
3	-1	1	4	72.8	727
4	-1	-1	4	114.4	686
5	0	$\sqrt{2}$	6	68	732
6	0	$-\sqrt{2}$	6	129.6	670
7	$\sqrt{2}$	0	8.828	88.8	711
8	$-\sqrt{2}$	0	3.172	88.8	711
9	0	0	6	88.8	711
10	0	0	6	88.8	711
11	0	0	6	88.8	711
12	0	0	6	88.8	711
13	0	0	6	88.8	711

Table 1-3. Yield, color, and capsaicinoids contents of red pepper extracts on using solvent.

추출법	수율(%)	고형분 추출율(%)	총색도	총 Cap.
95% EtOH	20.5	22.88	202,878	60,368.0
Hexane	10.13	11.31	144,494	8,158.2
95% EtOH →Hexane	24.5	27.34	285,500	63,656.5
Hexane →95% EtOH	22.94	25.60	166,632	33,094.2

Table 1-4. RSM design of red pepper extracts.

#	Code		실험치		
	X1 (용매비)	X2 (추출시간)	Yield	Color value	Tot. Cap.
1	1	1	26.72	380.2	4694
2	1	-1	19.5	363.1	4333
3	-1	1	18.88	326.5	3146
4	-1	-1	12.87	304.6	2439
5	0	$\sqrt{2}$	21.18	379.6	4573
6	0	$-\sqrt{2}$	11.34	274.9	1348
7	$\sqrt{2}$	0	22.3	370.4	4536
8	$-\sqrt{2}$	0	15.41	310.6	2416
9	0	0	20.27	360.4	4317
10	0	0	20.77	354.1	4146
11	0	0	20.16	362	4197
12	0	0	20.06	368.4	4298
13	0	0	20	362.9	4350

Table1-5. Particle size and uniformity of garlic microcapsules

구간대별 공정조건		평균입자직경 (μm)	균일도 (R60/R10)
Atomizer speed (rpm)	송풍온도 ($^{\circ}\text{C}$)		
7,758	170	70.298	2.44
9,000	145	74.458	2.05
9,000	195	39.819	2.96
12,000	135	43.083	1.92
12,000	170	46.942	2.11
12,000	170	46.684	2.29
12,000	170	45.773	2.49
12,000	170	45.768	2.18
12,000	170	49.924	2.29
12,000	205	63.485	2.47
15,000	145	57.722	2.32
15,000	195	31.972	2.00
16,242	170	38.541	2.04

Table 1-6. Flowability and Floodibility of garlic microcapsules

구간대별 공정조건		흐름성 (Flowability)	분류성(Floodibility)
Atomizer speed (rpm)	송풍온도 (°C)		
7,758	170	53.5	71.5
9,000	145	46.0	57.0
9,000	195	58.5	75.0
12,000	135	54.5	67.0
12,000	170	46.0	68.0
12,000	170	54.5	69.0
12,000	170	57.5	80.0
12,000	170	52.5	63.5
12,000	170	57.0	68.5
12,000	205	57.5	76.0
15,000	145	51.0	84.0
15,000	195	48.0	71.4
16,242	170	47.0	61.5

Table. 1-7 Gas chromatography conditions


Conditions	
Column	HP-FFAP(2.5m x 0.2 ^{mm} x 0.3 ^{μm})
Carrier Gas	Nitrogen
Flow Rate	5 ^{ml} /min
Internal Standard	EB(ethyl benzen)
Detector	FID
Detector Temp.	200 °C
Injector Temp.	150 °C
Temperature condition	

Table.1-8 RSM Design of spray drying conditions of garlic microcapsule.

실험구No.	Code		실험치	
	X1 (송풍온도)	X2 (Atomizer speed)	송풍온도 (°C)	Atomizer speed (rpm)
1	1	1	195	15,000
2	1	-1	195	9,000
3	-1	1	145	15,000
4	-1	-1	145	9,000
5	0	$\sqrt{2}$	170	16,242
6	0	$-\sqrt{2}$	170	7,758
7	$\sqrt{2}$	0	205	12,000
8	$-\sqrt{2}$	0	135	12,000
9	0	0	170	12,000
10	0	0	170	12,000
11	0	0	170	12,000
12	0	0	170	12,000
13	0	0	170	12,000

** Coded level

X1 : $-\sqrt{2}$ (135), -1(145), 0(170), 1(195), $\sqrt{2}$ (205)

X2 : $-\sqrt{2}$ (7,758), -1(9,000), 0(12,000), 1(15,000), $\sqrt{2}$ (16,242)

Table 2-1. Operating conditions of GC of flavor compounds

Instrument	Hewlett-Packard, model 6890 gas chromatograph
Column	Ultra 2-fused silica capillary column (25 m × 0.20 mm I.D. × 0.33 μm)
Column temp.	35°C (5 min) → 10°C/min → 180°C
Carrier gas	Hydrogen at 1.0 mL/sec
Split ratio	1 : 50
Injection temperature	200°C
Detector temperature	250°C

Table 2-2. Coded level for independent variables used in developing experimental data

Variable	Coded level					unit
	- α (-1.414)	-1	0	1	α (1.414)	
Inlet temperature (°C)	127.5	140	170	200	212.4	30
Atomizer speed (rpm)	10758	12000	15000	18000	19242	3000

Table 2-3. Standard formulation for the coacervation studies

κ -Carrageenan : type A gelatin ratio	1:2
polymer concentration	3% w/v
coacervation temperature	40°C
coacervation initial pH	9.0
coacervation final pH	4.0

Table 2-4. Coded level for dependent variables used in developing experimental data

Variable	Coded level				
	$-\alpha$ (-1.414)	-1	0	1	α (1.414)
pH	2.000	2.366	3.250	4.134	4.500
Carrageenan/gelatin ratio (%)	10.00	37.81	105.00	172.19	200.00

Table 2-5. Sampling conditions of static headspace autosampler

Instrument	Tekmar 7000 headspace autosampler
Tempering condition	37°C (40 min)
Pressurization	30 sec
Loop filling	30 sec
Injection	30 sec
Headspace loop temp.	45°C

Table 2-6. Viscosity of the selected wall materials

%solids in water	Solution temperature (°C)	Viscosity of compounds (cp)		
		MD ¹⁾	MS ²⁾	GA ³⁾
1	80	- ⁴⁾	-	-
	60	-	-	10.9
	40	10.5	11.5	11.5
	25	11.5	12.5	12.5
5	80	-	-	12.6
	60	-	11.2	13.7
	40	10.7	12.1	14.9
	25	13.0	14.1	17.4
10	80	-	12.4	16.7
	60	10.6	13.9	18.3
	40	12.8	15.9	22.6
	25	14.2	19.6	28.2
20	80	13.3	21.6	34.3
	60	14.5	25.7	41.0
	40	16.3	34.7	51.7
	25	19.0	42.3	66.0
30	80	18.0	35.7	69.0
	60	22.2	50.3	90.3
	40	28.9	61.2	104.2
	25	35.8	83.2	141.4
40	80	25.2	74.6	100.6
	60	32.6	105.0	160.0
	40	48.2	132.8	265.5
	25	61.8	256.5	444.5

¹⁾Maltodextrin.

²⁾Alkenylsuccinated modified starch.

³⁾Gum arabic.

⁴⁾Viscosity of solution was too low to be measured.

Table 2-7. Experimental data for particle size, total oil retention, surface oil content and flavor release with different combination of inlet temperature (X1) and atomizer speed (X2) for the RSM

No.	Coded level of independent variables		Experimental data			
	X1	X2	Particle size (μm)	Total oil retention (%)	Surface oil content (mg/100g)	Flavor release (%)
1	1	1	32.0	59.2	3.99	4.24
2	1	-1	33.4	60.0	3.90	3.21
3	-1	1	32.6	49.2	4.80	3.44
4	-1	-1	31.8	57.0	4.02	3.64
5	α	0	32.7	60.0	4.63	2.02
6	$-\alpha$	0	32.3	52.5	4.29	4.30
7	0	α	32.3	55.0	3.48	2.44
8	0	$-\alpha$	31.9	55.0	3.48	1.93
9	0	0	32.8	58.2	3.15	2.14
10	0	0	32.9	62.5	3.28	2.21
11	0	0	33.4	62.5	3.02	2.21
12	0	0	33.4	54.2	3.42	1.83
13	0	0	32.4	62.5	3.24	2.34

Table 2-8. Compositions and properties of single- and double-encapsulated powders

		Single-	Double-
Total oil retention (%)		56.2	-
Surface oil content (mg/100g)		7.08	-
Coating amount (%)		-	16.5
Moisture content (%)		1.0	1.8
Particle size	mean (μm)	30.7	45.2
	range (μm)	15.2 ~ 43.5	0.67 ~ 94.4

Table 2-9. Canonical analysis of response surface

Factors	Degrees of freedom	Sum of square	Mean Square	F-ratio	Prob>F
pH	3	20.334	6.778	0.170	0.9127
Carrageenan/ gelatin ratio (%)	3	577.057	192.352	4.831	0.0485

Factors	Critical values	
	Coded	Uncoded
pH	-0.0707	3.16
Carrageenan/gelatin ratio (%)	0.1544	119.66
Predicted value at stationary point		80.71 %

Table 3-1. Characteristics of the emulsion containing various kinds of binary systems of emulsifiers

Emulsifier composition	Wall material separated	Core material separated	Emulsion state
PGPR+SMS	No	Yes	Not bad
SMS+SML	Yes	Yes	Bad
PGPR+SML	No	No	Good

Table 3-2. Coded levels for independent variables in developing experimental data

Coded X_i	Variables	Coded Levels		
		-1	0	+1
X_1	Core material:wall material ratio(w/w)	3 : 7	5 : 5	7 : 3
X_2	Temperature of dispersion fluid (°C)	5	15	25
X_3	Concentration of emulsifier (w/w)	0.2	0.4	0.6

Table 3-3. Central composite design consisting of 16 experiments for the study of three experimental factors in coded units

Run no.	Coded variables ¹⁾			Process variables ²⁾		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1	3 : 7	5	0.2
2	+1	-1	-1	7 : 3	5	0.2
3	-1	+1	-1	3 : 7	25	0.2
4	+1	+1	-1	7 : 3	25	0.2
5	-1	-1	+1	3 : 7	5	0.6
6	+1	-1	+1	7 : 3	5	0.6
7	-1	+1	+1	3 : 7	25	0.6
8	+1	+1	+1	7 : 3	25	0.6
9	-1	0	0	3 : 7	15	0.4
10	+1	0	0	7 : 3	15	0.4
11	0	-1	0	5 : 5	5	0.4
12	0	+1	0	5 : 5	25	0.4
13	0	0	-1	5 : 5	15	0.2
14	0	0	+1	5 : 5	15	0.6
15	0	0	0	5 : 5	15	0.4
16	0	0	0	5 : 5	15	0.4

¹⁾ X₁ : Core material:wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 3-4. Response of independent variables to the experimental for the microencapsulation of DHA

Run no.	Independent variables ¹⁾			Dependent variables
	X ₁	X ₂	X ₃	Yield of microencapsulation(%)
1	-1	-1	-1	99.77
2	1	-1	-1	93.04
3	-1	1	-1	99.94
4	1	1	-1	99.77
5	-1	-1	1	99.98
6	1	-1	1	99.72
7	-1	1	1	99.94
8	1	1	1	99.84
9	-1	0	0	99.93
10	1	0	0	99.84
11	0	-1	0	99.81
12	0	1	0	99.96
13	0	0	-1	99.83
14	0	0	1	99.96
15	0	0	0	99.89
16	0	0	0	99.91

¹⁾ X₁ : Core material:wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 3-5. Values of regression coefficients calculated for the degree of microencapsulation of DHA

Independent variables ¹⁾	Coefficient	t-value	Significance level(P)
Constant	100.138621	177.0	
X ₁	-0.735000	-1.945	<0.1
X ₂	0.713000	1.886	
X ₃	0.709000	1.876	
X ₁ X ₁	-0.372931	-0.507	
X ₂ X ₁	0.840000	1.988	<0.1
X ₂ X ₂	-0.372931	-0.507	
X ₃ X ₁	0.817500	1.935	
X ₃ X ₂	-0.852500	-2.017	<0.1
X ₃ X ₃	-0.362931	-0.493	
R ²			0.8046
F			2.745
Probability of F			0.1159

¹⁾ X₁ : Core material : wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 3-6. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data

Variables ¹⁾	Coded	Uncoded
X ₁	-0.060879	-0.060879
X ₂	0.440079	0.440079
X ₃	0.391347	0.391347

¹⁾ X₁ : Core material:wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 3-7. Effect of scale up factor on the microencapsulation yield

Scale up factor	Scale up (Lab scale → Large scale)	Microencapsulation yield (%)
Amount of wall material and core material	20 g → 500 g ×25	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 2.5 g ×25	99.86
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 500 g/5L ×25	
Amount of wall material and core material	20 g → 1 kg ×50	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 5 g ×50	99.54
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 1 kg/10L ×50	
Amount of wall material and core material	20 g → 1.5 kg ×75	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 7.5 g ×75	99.72
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 1.5 kg/15L ×75	
Amount of wall material and core material	20 g → 2 kg ×100	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 10 g ×100	99.61
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 2 kg/20L ×100	

Table 3-8. Comparison of microencapsulation yield between large scale processing and semi-automatic processing

Product of microcapsule	Microencapsulation yield (%)
By large scale processing	99.68±0.12
By semi-automatic processing	97.79±1.47

Table 4-1. Characteristics of the emulsion containing various kinds of binary systems of emulsifiers

Emulsifier composition	Wall material separated	Core material separated	Emulsion state
PGPR+SMS	No	Yes	Not bad
SMS+SML	Yes	Yes	Bad
PGPR+SML	No	No	Good

Table 4-2. Coded levels for independent variables in developing experimental data

Coded X_i	Variables	Coded Levels		
		-1	0	+1
X_1	Core material:wall material ratio(w/w)	3 : 7	5 : 5	7 : 3
X_2	Temperature of dispersion fluid (°C)	5	15	25
X_3	Concentration of emulsifier (w/w)	0.2	0.4	0.6

Table 4-3. Central composite design consisting of 16 experiments for the study of three experimental factors in coded units

Run no.	Coded variables ¹⁾			Process variables ²⁾		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1	3 : 7	5	0.2
2	+1	-1	-1	7 : 3	5	0.2
3	-1	+1	-1	3 : 7	25	0.2
4	+1	+1	-1	7 : 3	25	0.2
5	-1	-1	+1	3 : 7	5	0.6
6	+1	-1	+1	7 : 3	5	0.6
7	-1	+1	+1	3 : 7	25	0.6
8	+1	+1	+1	7 : 3	25	0.6
9	-1	0	0	3 : 7	15	0.4
10	+1	0	0	7 : 3	15	0.4
11	0	-1	0	5 : 5	5	0.4
12	0	+1	0	5 : 5	25	0.4
13	0	0	-1	5 : 5	15	0.2
14	0	0	+1	5 : 5	15	0.6
15	0	0	0	5 : 5	15	0.4
16	0	0	0	5 : 5	15	0.4

¹⁾ X₁ : Core material:wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 4-4. Response of independent variables to the experimental for the microencapsulation of DHA

Run no.	Independent variables ¹⁾			Dependent variables
	X ₁	X ₂	X ₃	Yield of microencapsulation(%)
1	-1	-1	-1	99.77
2	1	-1	-1	93.04
3	-1	1	-1	99.94
4	1	1	-1	99.77
5	-1	-1	1	99.98
6	1	-1	1	99.72
7	-1	1	1	99.94
8	1	1	1	99.84
9	-1	0	0	99.93
10	1	0	0	99.84
11	0	-1	0	99.81
12	0	1	0	99.96
13	0	0	-1	99.83
14	0	0	1	99.96
15	0	0	0	99.89
16	0	0	0	99.91

¹⁾ X₁ : Core material:wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 4-5. Values of regression coefficients calculated for the degree of microencapsulation of DHA

Independent variables ¹⁾	Coefficient	t-value	Significance level(P)
Constant	100.138621	177.0	
X ₁	-0.735000	-1.945	<0.1
X ₂	0.713000	1.886	
X ₃	0.709000	1.876	
X ₁ X ₁	-0.372931	-0.507	
X ₂ X ₁	0.840000	1.988	<0.1
X ₂ X ₂	-0.372931	-0.507	
X ₃ X ₁	0.817500	1.935	
X ₃ X ₂	-0.852500	-2.017	<0.1
X ₃ X ₃	-0.362931	-0.493	
R ²			0.8046
F			2.745
Probability of F			0.1159

¹⁾ X₁ : Core material : wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 4-6. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data

Variables ¹⁾	Coded	Uncoded
X ₁	-0.060879	-0.060879
X ₂	0.440079	0.440079
X ₃	0.391347	0.391347

¹⁾ X₁ : Core material:wall material ratio, %, X₂ : Temperature of dispersion fluid, °C, X₃ : Concentration of emulsifier, %

Table 4-7. Effect of scale up factor on the microencapsulation yield

Scale up factor	Scale up (Lab scale → Large scale)	Microencapsulation yield (%)
Amount of wall material and core material	20 g → 500 g ×25	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 2.5 g ×25	99.86
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 500 g/5L ×25	
Amount of wall material and core material	20 g → 1 kg ×50	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 5 g ×50	99.54
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 1 kg/10L ×50	
Amount of wall material and core material	20 g → 1.5 kg ×75	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 7.5 g ×75	99.72
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 1.5 kg/15L ×75	
Amount of wall material and core material	20 g → 2 kg ×100	
Total amount of emulsifiers in emulsion	0.1 g → 10 g ×100	99.61
Amount of emulsion in dispersion fluid	20 g/200mL → 2 kg/20L ×100	

Table 4-8. Comparison of microencapsulation yield between large scale processing and semi-automatic processing

Product of microcapsule	Micrioencapsulation yield (%)
By large scale processing	99.68±0.12
By semi-automatic processing	97.79±1.47

Table 5-1. HPLC condition for the analysis of capsaicinoids.

Instrument	Model : Shimadzu LC - 10AD Injector : System Controller SCL - 10A Detector : UV - Vis (SPD - 10A) Intergrator : C - R7A (Cotati, California RHEDOYRE) Colum Oven : CTO - 10A
Column	μ Bondapak C18 125Å 10 μ m(Waters) 3.9×300nm
Mobil phase	Methanol : Water (70 : 30)
Flow rate	1.0ml/min
Injector	20 μ l
Detector	UV 281nm
ATTEN	5
Chart Speed	3.0

Table.5-2. The composition of red pepper oleoresin microcapsule

composition	content(%)
Moisture	5.44
crude protein	0.42
surface oil	0.09
carbohydrate + inner oleoresin	94.05
Total oil ^{a)}	8.7

a) the difference of one hundred percent minus sum of the other component

The concentratiion of total oil was determined by HPLC as 727 ± 22.5 mg%

Table.5-3. Trials for soilubilizing waii materials of red pepper oleoresin microcapsule

Solvents	A ₂₈₀	B.P(°C)	miscibility with DMSO ^a	Solubility of micecapsule of red pepper oleoresin ^b
Acetone	-	56.29	M	dispersed
Acetonitrile	0.005	81.6	M	attached to wall
Chloroform	0.005	61.15	M	attached to wall
Methanol	0.005	64.7	M	dispersed
Ethyl acetate	0.050	77.11	M	formation of droplet
HCl	-	-	M	solubilized
Hexane	0.005	68.7	I	formation of droplet
Isopropanol (propanol-2)	0.003	82.26	M	dispersed
Pentane	0.005	36.07	I	dispersed
Petroleum ether	0.005	30-60	I	formation of droplet
sec-butanol(Isobutyl alc)	0.03	107.7	M	dispersed
n-propyl alcohol	0.005	97.2	M	dispersed
Acetic acid	-	-	M	dispersed
1-butanol	0.007	74.12	M	dispersed
ethyl alcohol	-	-	M	dispersed
Diethyl ether	0.005	74.12	M	dispersed
DMSO	0.300	189	M	solubilized

a. Miscibility test was conducted by mixing 2 ML DMSO with each solvent to be tested

M.: Miscible with DMSO I: Immiscible with DMSO.

b. 20mg microcapsule was mixed with a 50ml testing solvent, then shaking for 2hr.

Table.5-4. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and "b" of red pepper oleoresin.^{a)}

Hunter's color value	Storage temp(°C)	Storage time(weeks)			
		3	6	9	12
L-Lo	25	0.45	1.00	2.66	4.81
	45	5.41	7.31	8.86	12.09
	65	13.81	15.15	14.41	15.08
	85	13.85	14.25	15.71	16.79
	105	16.31	17.50	17.05	16.90
a-ao	25	-2.54	-5.02	-6.43	-8.84
	45	-9.57	-12.94	-15.07	-17.70
	65	-18.26	-18.15	-18.00	-16.40
	85	-17.72	-17.45	-16.52	-16.00
	105	-16.11	-16.23	-16.02	-15.80
b-bo	25	-0.93	-2.38	-1.79	-2.47
	45	-4.78	-8.81	-11.90	-21.20
	65	-28.02	-32.09	-32.02	-37.60
	85	-31.67	-33.48	-38.16	-39.60
	105	-39.53	-40.11	-40.07	-40.50

a) Oleoresin was stored at concentration of 1000ppm.

Table.5-5. Moisture, total oil and surface oil contents of microcapsule red pepper oleoresin.

Sample ^{a)}	Moisture (%)	Surface oil (%)	Surface capsaicinoid (mg%)	Total Capsaicinoid (mg%)
A	5.38	1.02	97.8	715.8
B	4.53	1.90	144.9	572.5
C	4.00	1.26	118.1	704.5

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50% : 50% (w/w) (1)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-6. Hunter's color value in microcapsules of red pepper oleoresin capsicum.

Sample ^{a)}	Hunter's color value ^{b)}					
	Powder			Liquid		
	L	a	b	L	a	b
A	48.00	29.63	27.25	83.69	10.17	45.92
B	50.11	28.87	27.72	83.78	8.78	43.73
C	51.42	29.32	28.89	80.51	8.74	42.53

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50% : 50% (w/w) (1)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

b) L : Degree of lightness(white + 100↔0 black)

a : Degree of redness(red + 100↔80 green)

b : Degree of yellowness(yellow + 70↔80 blue)

Table.5-7. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" during storage of red pepper oleoresin microcapsule powder of different ratio of core and wall material.

Microcapsule ^{a)}		A				B				C			
Hunter's color value	Storage temp(°C)	Storage time(weeks)				Storage time(weeks)				Storage time(weeks)			
		3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
L-Lo	25	0.76	1.35	2.46	2.69	0.49	0.87	1.63	1.84	-0.02	1.30	2.41	2.57
	45	1.61	2.93	4.74	5.52	1.46	2.38	5.05	6.44	2.12	3.50	5.30	6.54
	65	7.23	9.04	10.77	11.03	7.10	9.40	10.83	11.64	8.66	10.70	13.71	14.30
	85	7.72	8.98	9.45	8.19	8.24	9.73	10.30	9.08	10.25	11.80	13.10	12.22
	105	3.65	-3.90	-7.66	9.22	4.54	-12.00	-15.40	-15.90	8.72	3.64	-0.09	-1.32
a-ao	25	0.09	-0.70	-0.82	-1.07	0.05	-0.40	-0.74	-0.88	-0.02	-0.90	-1.12	-1.66
	45	-0.92	-2.20	-3.72	-4.67	-0.96	-2.30	-4.20	-5.35	-1.48	-3.30	-5.12	-6.45
	65	-10.51	-15.00	-15.00	-17.40	-10.30	-13.00	-14.20	-17.00	-11.60	-15.00	-15.90	-18.70
	85	-13.46	-16.00	-17.70	-19.80	-13.10	-16.00	-18.00	-20.10	-15.10	-18.00	-20.6	-20.90
	105	-20.07	-18.00	-18.00	-17.40	-29.80	-17.00	-17.40	-16.50	-20.90	-20.00	-18.30	-17.70
b-bo	25	0.38	-0.20	0.66	1.16	0.15	0.07	0.31	0.72	-0.02	0.00	0.81	0.84
	45	0.49	0.67	1.25	1.43	0.68	0.38	1.07	1.02	0.38	0.11	0.73	0.86
	65	0.60	-0.40	-0.83	-0.23	0.08	-0.70	-1.20	-0.79	-0.17	-1.10	-1.89	-1.64
	85	-0.06	-0.70	-1.59	-0.75	-0.43	-1.50	-2.23	-1.39	-0.86	-1.70	-2.04	-1.39
	105	-2.37	-5.60	-7.48	-6.92	-2.37	-8.70	-10.60	-9.35	-1.98	-3.40	-3.80	-3.42

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50% : 50% (w/w) (1)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-8. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" of extracted red pepper oleoresin from microcapsule with different composition of wall material.

Microcapsule ^{a)}		A				B				C			
Hunter's color value	Storage temp(°C)	Storage time(weeks)				Storage time(weeks)				Storage time(weeks)			
		3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
L-Lo	25	3.54	1.54	5.27	4.86	2.79	1.55	3.65	2.27	6.06	4.18	7.45	7.43
	45	3.34	2.93	5.54	5.98	5.27	3.74	5.78	6.31	6.55	5.53	8.52	9.98
	65	7.21	8.12	9.04	8.21	9.12	9.26	10.07	9.15	12.50	11.67	13.22	12.91
	85	8.11	7.84	11.11	10.17	10.07	9.62	9.69	10.22	12.20	11.46	14.36	13.58
	105	9.04	8.16	8.26	8.78	10.93	8.23	8.27	7.71	12.65	12.48	11.15	13.82
a-ao	25	-2.62	-1.42	-4.23	-3.22	-0.59	-0.66	-1.40	-0.65	-0.55	-2.16	-1.92	-0.43
	45	-3.05	-3.50	-4.81	-3.49	-3.28	-2.21	-3.60	-2.44	-2.11	-2.90	-3.86	-2.61
	65	-7.27	-7.81	-8.01	-5.65	-6.30	-5.89	-6.42	-6.19	-6.08	-6.20	-6.46	-4.03
	85	-7.87	-7.60	-8.13	-8.73	-6.64	-6.94	-6.69	-7.22	-6.61	-6.23	-6.73	-7.42
	105	-8.82	-8.35	-8.51	-8.61	-7.15	-7.31	-7.20	-7.36	-7.41	-7.06	-6.72	-6.69
b-bo	25	-2.89	-1.45	-6.72	-9.92	0.39	-0.52	-0.79	-4.52	1.59	-2.14	-0.76	-3.13
	45	-3.60	-4.73	-8.14	-10.77	-4.26	-2.45	-5.95	-11.55	-4.56	-4.91	-6.11	-9.04
	65	-14.49	-19.99	-21.05	-24.55	-15.61	-17.38	-20.53	-20.27	-17.63	-14.64	-20.19	-20.91
	85	-19.27	-20.14	-26.32	-24.81	-19.65	-18.78	-23.04	-23.57	-15.74	-16.24	-22.77	-21.00
	105	-24.93	-24.68	-21.43	-22.10	-24.54	-18.42	-18.25	-16.33	-22.44	-23.16	-22.65	-23.55

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50% : 50% (w/w) (1)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-9. Color deterioration rate of colorimetry parameters of various microcapsule powder based on the relative retention of carotenoid of three microcapsules .

Sample ^{a)}	Temperature(°C)	Incubation time(weeks)		
		3	6	9
A	45	90.3	81.3	70.5
	65	87.7	70.2	55.1
	85	72.9	67.0	47.3
	105	58.8	51.6	41.7
B	45	90.0	81.4	77.8
	65	87.8	77.2	67.8
	85	81.1	66.7	57.1
	105	60.0	56.8	41.5
C	45	84.4	81.4	73.1
	65	79.7	70.6	61.6
	85	70.7	63.0	47.7
	105	52.8	50.4	35.1
Oleoresin	45	84.5	75.0	75.2
	65	77.7	60.8	60.8
	85	63.0	45.5	42.4
	105	28.6	17.4	13.3

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic 50% : Modified starch 50%(1)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

b) L : Degree of lightness(white + 100↔0 black)

a : Degree of redness(red + 100↔80 green)

b : Degree of yellowness(yellow + 70↔80 blue)

Table.5-10. Relative retention of total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Sample ^{a)}	Slope on the basis of percent retention of carotenoids ^{b)}		
	L-L0	a-a0	b-b0
A	-0.066	0.333	0.048
B	-0.032	0.294	0.071
C	-0.115	0.259	0.036
B(Surface)	-0.236	0.327	0.382
Oleoresin	-0.212	0.232	0.429

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-11. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Sample ^{a)}	Ea (Kcal/mol)	degradation rate(-/week),k				half life(weeks)			
		45℃	65℃	85℃	105℃	45℃	65℃	85℃	105℃
A	4.31	0.015	0.026	0.029	0.048	46.2	26.7	23.9	14.4
B	4.13	0.015	0.019	0.020	0.041	46.2	36.5	23.9	16.9
C	4.65	0.015	0.025	0.033	0.050	46.2	27.7	21.0	13.9
Oleoresin	6.96	0.021	0.036	0.057	0.127	33.0	19.3	12.2	5.5

- a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%
 B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50% : 50%(w/w)
 C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-12. Relative retention of total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Sample ^{a)}	Temperature(℃)	Incubation time(weeks)			
		3	6	9	12
A	45	65.8	62.3	64	50.5
	65	38.9	29.3	27.6	20.7
	85	28.8	30.7	25.7	18.3
	105	25.0	22.5	26.1	25.8
B	45	69.5	71.0	62.3	61.0
	65	39.2	35.3	32.1	27.7
	85	26.8	29.7	21.5	21.6
	105	23.4	25.7	22.4	19.0
C	45	72.7	62.8	46.7	48.8
	65	26.9	33.3	31.5	22.4
	85	29.7	30.3	24.0	21.5
	105	19.0	19.1	22.3	17.9
Oleoresin	45	55.4	46.2	36.1	22.8
	65	13.5	9.8	9.2	7.1
	85	10.5	7.9	5.1	4.9
	105	3.0	3.3	3.3	2.9

- a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%
 B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w)
 C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-13. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different composition of wall materials.

Sample ^{a)}	Ea (Kcal/mol)	degradation rate(-1/week),k				half life(weeks)			
		45°C	65°C	85°C	105°C	45°C	65°C	85°C	105°C
A	2.09	0.034	0.085	0.089	0.108	20.4	8.2	7.8	6.4
B	2.64	0.025	0.075	0.088	0.098	27.7	9.2	7.9	7.1
C	2.37	0.034	0.086	0.080	0.120	20.4	8.1	8.7	5.8
Oleoresin	2.78	0.056	0.168	0.184	0.247	12.4	4.1	3.8	2.8

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic 100%

B : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50% : 50%(w/w)

C : Core 8%, Wall material = Modified starch 100%

Table.5-14. Effect of relative humidity on total capsaicinoids and carotenoids content of encapsulated red pepper oleoresin in gum and modified starch mixture(50:50, w/w) after

Temp(°C)	Relative humidity	Total Capsaicinoids (mg%)	Relative retention of total Capsaicinoids(%)	Total Carotenoids (OD454nm)	Relative retention of total Carotenoids(%)
25°C	11%	563.4±24.8	98.5	0.64	87.2
	32%	547.4±30.0	95.7	0.63	85.6
35°C	11%	529.7±12.8	92.6	0.55	74.9
	32%	514.8± 2.9	90	0.50	68.5
45°C	11%	520.5±24.4	91	0.54	74.0
	32%	513.7±17.7	89.8	0.48	66.2

three week storage.

* Original content : Total capsaicinoids (572.5±13.7) mg%

Carotenoids OD454nm=0.73

Table.5-15. Moisture, total oil and surface oil contents of encapsulated red pepper oleoresin for studying effect of carrier level

Sample ^{a)}	Moisture (%)	Surface oil (%)	Surface capsaicinoid (mg%)	Total Capsaicinoid (mg%)
D	5.67	0.25	26.5	794.2
E	3.00	0.38	50.6	986.4
F	2.15	1.01	156.2	1162.5

- a) D : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w) (2)
 E : Core 10%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w)
 F : Core 12%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w)

Table.5-16. Hunter's color value in microcapsules of Oleoresin Capsicum.

Sample ^{a)}	Hunter's color value ^{b)}					
	Powder			Liquid		
	L	a	b	L	a	b
D	49.87	28.44	28.44	85.79	7.37	44.49
E	49.45	29.26	28.23	84.13	9.65	47.81
F	49.37	29.90	28.23	82.19	12.58	49.63

- a) D : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w) (2)
 E : Core 10%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w)
 F : Core 12%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50% (w/w)
- b) L : Degree of lightness(white + 100↔0 black)
 a : Degree of redness(red + 100↔80 green)
 b : Degree of yellowness(yellow + 70↔80 blue)

Table.5-17. Relative retention of total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Sample ^{a)}	Temperature(°C)	Incubation time(weeks)		
		2	4	6
D	45	92.5	87.5	78.8
	65	89.0	82.4	59.1
	85	84.2	71.1	52.8
	105	55.4	53.5	35.3
E	45	83.4	85.2	74.2
	65	81.6	84.1	61.7
	85	79.9	73.2	47.7
	105	59.9	50.9	34.7
F	45	95.5	89.7	70.7
	65	93.0	81.8	58.0
	85	87.8	70.6	49.7
	105	65.6	49.8	41.0
Oleoresin	45	86.4	81.7	75.0
	65	77.5	77.0	60.8
	85	69.3	58.8	45.5
	105	39.9	23.9	17.4

a) D : Core : Wall material = 8 : 92

E : Core : Wall material = 10 : 90

F : Core : Wall material = 12 : 88

* The composition of wall material was gum arabic and modified starch (50 : 50, w/w)

Table.5-18. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total capsaicinoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Sample ^{a)}	Ea (Kcal/mol)	degradation rate(-1/week),k				half life(weeks)			
		45°C	65°C	85°C	105°C	45°C	65°C	85°C	105°C
D	5.55	0.017	0.038	0.046	0.075	40.8	18.2	15.1	9.2
E	5.05	0.022	0.035	0.054	0.077	31.5	19.8	12.8	9.6
F	2.70	0.025	0.039	0.051	0.065	27.7	17.8	13.6	10.7
Oleoresin	6.96	0.021	0.036	0.057	0.127	33.0	19.3	12.2	5.5

a) D : Core : Wall material = 8 : 92

E : Core : Wall material = 10 : 90

F : Core : Wall material = 12 : 88

* The composition of wall material was gum arabic and modified starch (50 : 50, w/w)

Table.5-19. Relative retention of total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Sample	Temperature(°C)	Incubation time(weeks)		
		2	4	6
D	45	60.6	51.2	46.5
	65	59.1	49.6	27.5
	85	37.3	39.4	26.2
	105	36.3	38.8	25.8
E	45	78.1	74.1	48.1
	65	55.2	47.1	28
	85	43.2	43.2	25
	105	32.2	35.6	23.9
F	45	66.9	61.6	46.1
	65	50.0	39.6	26.5
	85	35.6	32.4	22.1
	105	26.0	25.9	18.4
Oleoresin	45	76.1	56.1	46.2
	65	17.9	11.4	9.8
	85	10.3	10.4	7.9
	105	4.6	3.3	3.3

a) D : Core : Wall material = 8: 92

E : Core : Wall material = 10 : 90

F : Core : Wall material = 12 : 88

* The composition of wall material was gum arabic and modified starch (50 : 50, w/w)

Table.5-20. Arrhenius parameters(first order) and half life values for total carotenoids in red pepper oleoresin microcapsules with different combination of carrier level

Sample ^{a)}	Ea (Kcal/mol)	degradation rate(-1/week),k				half life(weeks)			
		45°C	65°C	85°C	105°C	45°C	65°C	85°C	105°C
D	2.15	0.055	0.093	0.097	0.098	12.6	7.5	7.1	7.1
E	2.57	0.053	0.092	0.101	0.104	13.1	7.5	6.9	6.7
F	3.01	0.056	0.096	0.109	0.123	12.4	7.2	6.4	5.6
Oleoresin	2.78	0.056	0.168	0.184	0.247	12.4	4.1	3.8	2.8

a) A : Core 8%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50%(w/w)

B : Core 10%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50%(w/w)

C : Core 12%, Wall material = Gum arabic : Modified starch = 50%:50%(w/w)

Table.5-21. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" during storage of red pepper oleoresin microcapsule powder with different combination of carrier level.

Microcapsule ^{a)}		D			E			F		
Hunter's color value	Storage temp(°C)	Storage time(weeks)			Storage time(weeks)			Storage time(weeks)		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6
L-Lo	25	2.53	5.24	7.02	1.33	3.49	5.09	1.82	4.26	5.53
	45	5.03	8.48	10.03	1.81	4.76	6.49	3.17	5.50	6.97
	65	6.74	7.10	7.01	4.73	6.17	6.51	6.05	7.97	8.57
	85	4.51	3.89	3.01	4.37	4.82	3.77	6.97	6.88	5.30
	105	-8.66	-13.00	-16.30	-5.40	-6.20	-10.00	-0.70	-1.70	-9.90
a-ao	25	-1.54	-3.18	-5.16	-0.90	-1.90	-3.70	-1.10	-1.90	-4.10
	45	-4.94	-8.49	-11.40	-2.50	-4.8	-8.60	-4.00	-5.60	-9.10
	65	-12.01	-15.24	-17.80	-9.10	-14.00	-17.00	-11.00	-15.00	-19.00
	85	-15.96	-16.42	-18.50	-17.00	-17.00	-19.00	-17.00	-18.00	-20.00
	105	-18.70	-17.14	-18.50	-19.00	-18.00	-19.00	-21.00	-19.00	-20.00
b-bo	25	0.80	1.98	2.43	0.53	1.50	1.97	0.83	1.83	2.28
	45	0.79	1.28	1.21	0.46	1.03	0.95	0.76	1.17	1.10
	65	-0.80	-2.83	-3.39	-0.40	-2.10	-3.00	-0.70	-1.90	-2.80
	85	-3.49	-4.21	-4.52	-3.30	-3.90	-4.40	-2.70	-3.80	-4.30
	105	-8.38	-10.20	-11.90	-7.40	-7.60	-9.00	-6.20	-6.30	-7.00

a) D : Core : Wall material = 8: 92

E : Core : Wall material = 10 : 90

F : Core : Wall material = 12 : 88

* The composition of wall material was gum arabic and modified starch (50 : 50, w/w)

Table.5-22. Variation of the colorimetry parameter "L", "a" and b" of extracted red pepper oleoresin microcapsule with different combination of carrier level

Microcapsule ^{a)}		D			E			F		
Hunter's color value	Storage temp(°C)	Storage time(weeks)			Storage time(weeks)			Storage time(weeks)		
		2	4	6	2	4	6	2	4	6
L-Lo	25	2.76	2.79	4.87	1.41	1.60	3.99	2.20	1.52	6.20
	45	4.41	5.00	7.29	2.08	2.80	4.50	4.16	4.36	7.76
	65	5.52	7.06	7.29	4.30	4.83	6.20	6.55	7.58	9.06
	85	4.96	6.82	7.76	5.29	6.94	7.57	8.05	8.27	10.47
	105	4.58	4.63	7.01	4.37	6.30	9.14	8.34	8.90	9.76
a-ao	25	-1.85	-3.61	-4.20	-1.60	-3.10	-4.70	-1.90	-4.70	-7.10
	45	-3.20	-4.57	-4.60	-2.50	-4.60	-5.80	-4.50	-7.20	-8.40
	65	-4.26	-4.78	-5.10	-5.10	-6.50	-6.30	-8.00	-7.70	-9.10
	85	-5.02	-5.22	-5.10	-7.10	-7.30	-6.80	-9.90	-9.10	-9.60
	105	-5.55	-5.59	-3.80	-7.90	-7.80	-7.70	-11.00	-9.10	-9.60
b-bo	25	-3.60	-8.00	-10.00	-2.70	-4.80	-8.30	-1.30	-5.00	-8.50
	45	-7.70	-13.00	-18.00	-4.60	-8.10	-13.00	-4.30	-8.90	-14.00
	65	-13.00	-20.00	-23.00	-10.00	-16.00	-23.00	-11.00	-18.00	-24.00
	85	-17.00	-20.00	-24.00	-17.00	-20.00	-26.00	-17.00	-22.00	-27.00
	105	-20.00	-20.00	-23.00	-23.00	-24.00	-27.00	-24.00	-26.00	-28.00

a) D : Core : Wall material = 8: 92

E : Core : Wall material = 10 : 90

F : Core : Wall material = 12 : 88

* The composition of wall material was gum arabic and modified starch (50 : 50, w/w)

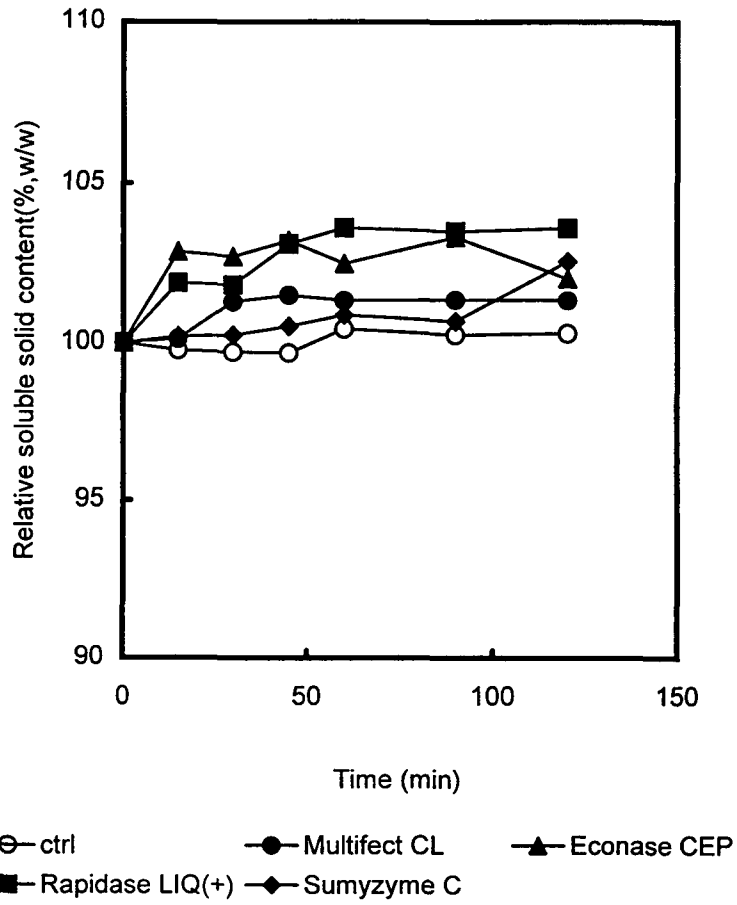


Fig.1-1 Changes of soluble solid contents of expressed garlic juice according to treatment of enzymes Enz. Assay : E/S ratio = 1%(w/w, dry basis), Temperature = 50°C

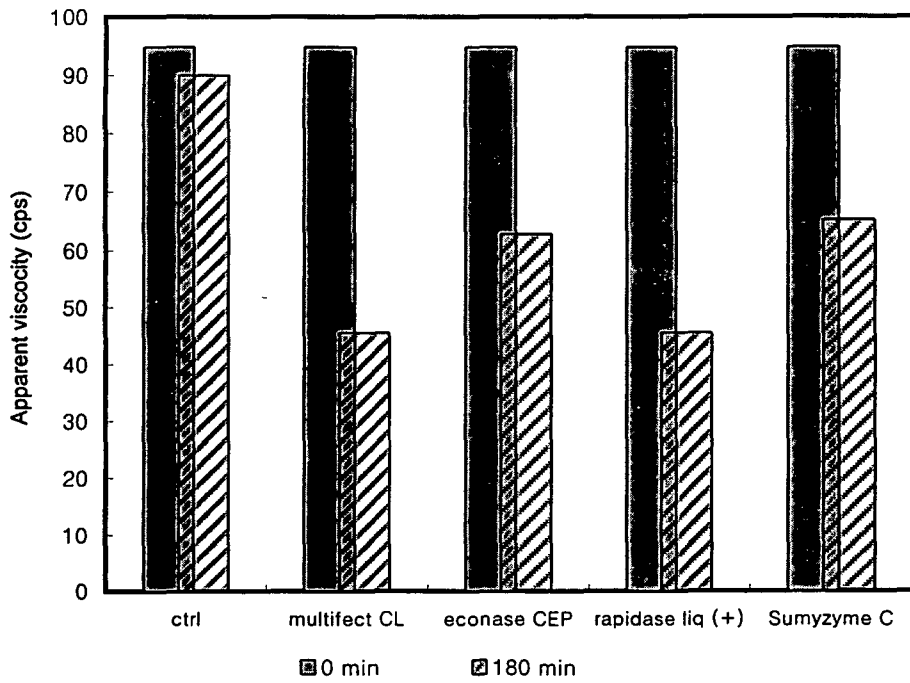


Fig.1-2 Changes of apparent viscosity of expressed garlic juice(39Brix) according to treatment of enzymes
 Enz. Assay : E/S ratio = 0.1%(w/w, dry basis), Temperature = 50°C,
 Time = 3hrs
 Viscometry : Spindle No. = RV1(Brookfield), Speed = 50rpm
 Temperature = 42.1 ± 2.0°C

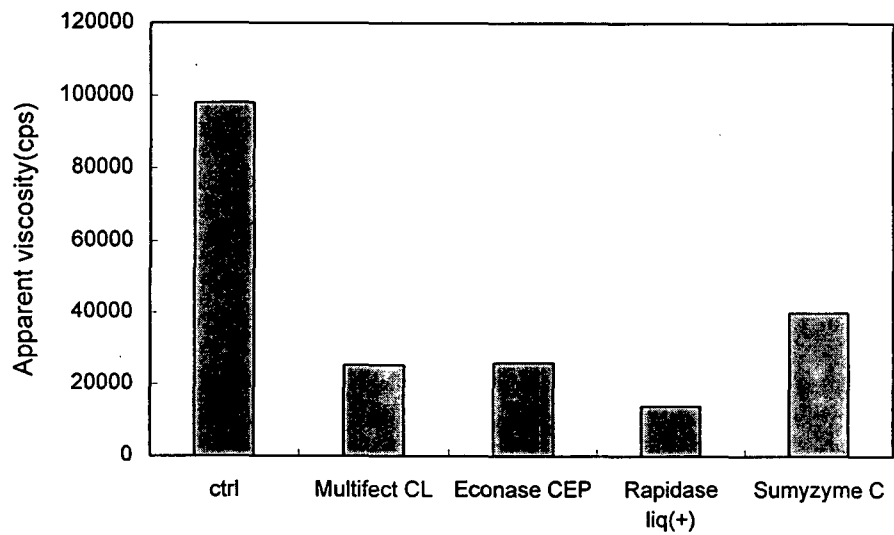
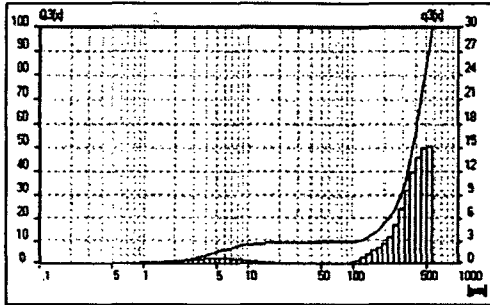
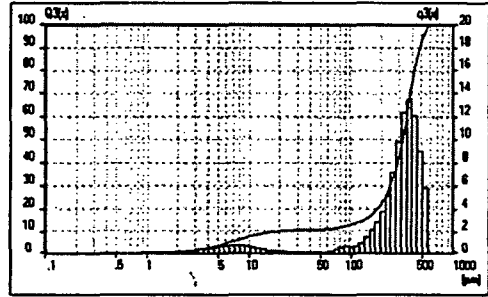


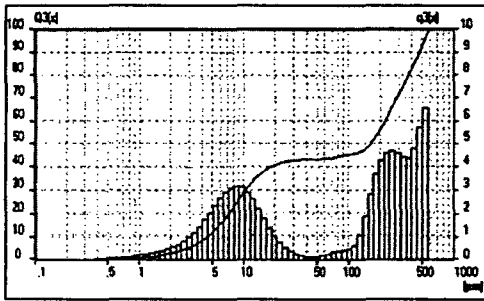
Fig.1-3 Changes of apparent viscosity of concentrated garlic juice(65Brix) according to treatment of enzymes
 Enz. Assay : E/S ratio = 0.1%(w/w, dry basis), Temperature = 50°C,
 Time = 3hrs Viscometry : Spindle No. = RV5(Brookfield), Speed =
 2.5rpm Temperature = 42.1±2.0°C



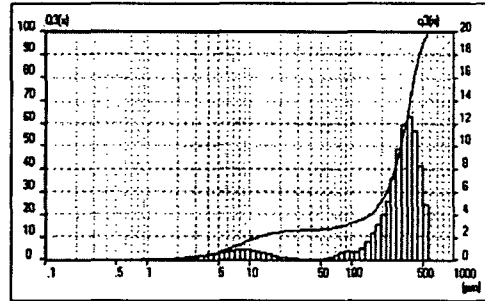
Multifect CL



Econase CEP



Rapidase liq(+)



Sumzyme C

Fig.1-4 Changes of particle size distribution of expressed garlic juice according to treatment of enzymes

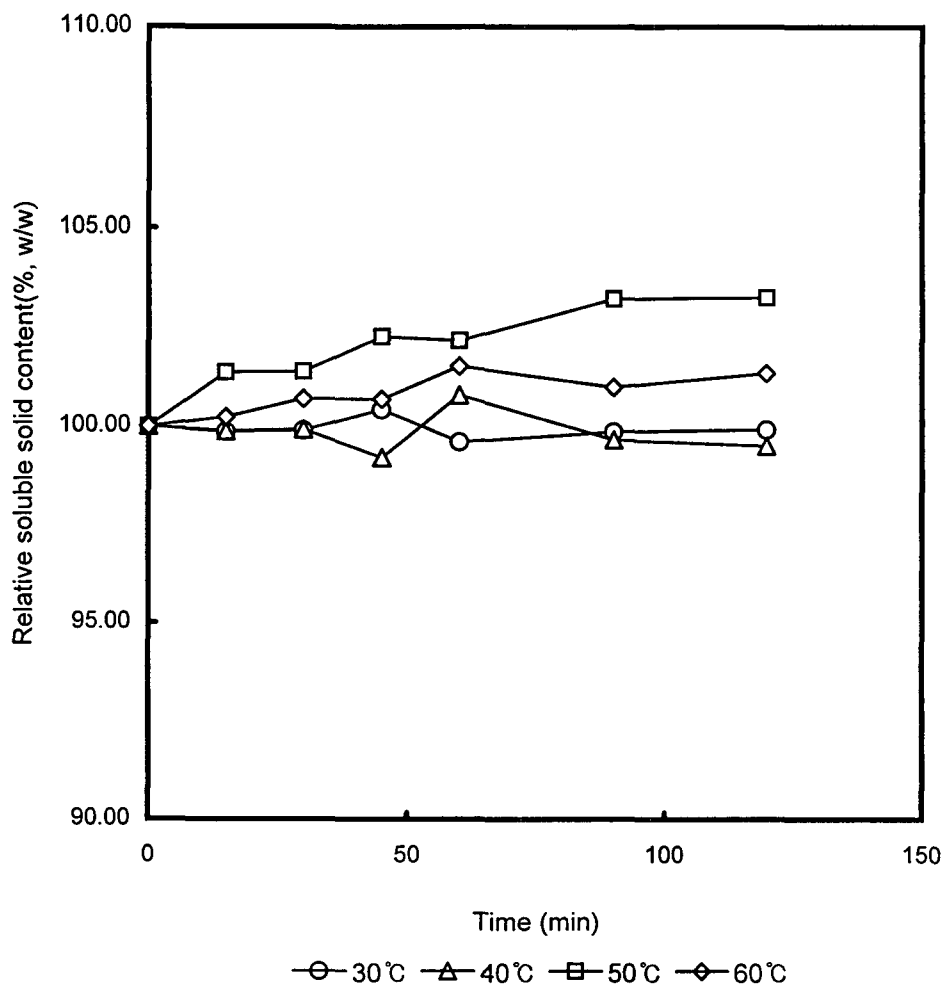


Fig.1-5. Effect of reaction temperature on soluble solid contents of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) Enz. Assay : E/S ratio = 0.1%(w/w. dry basis)

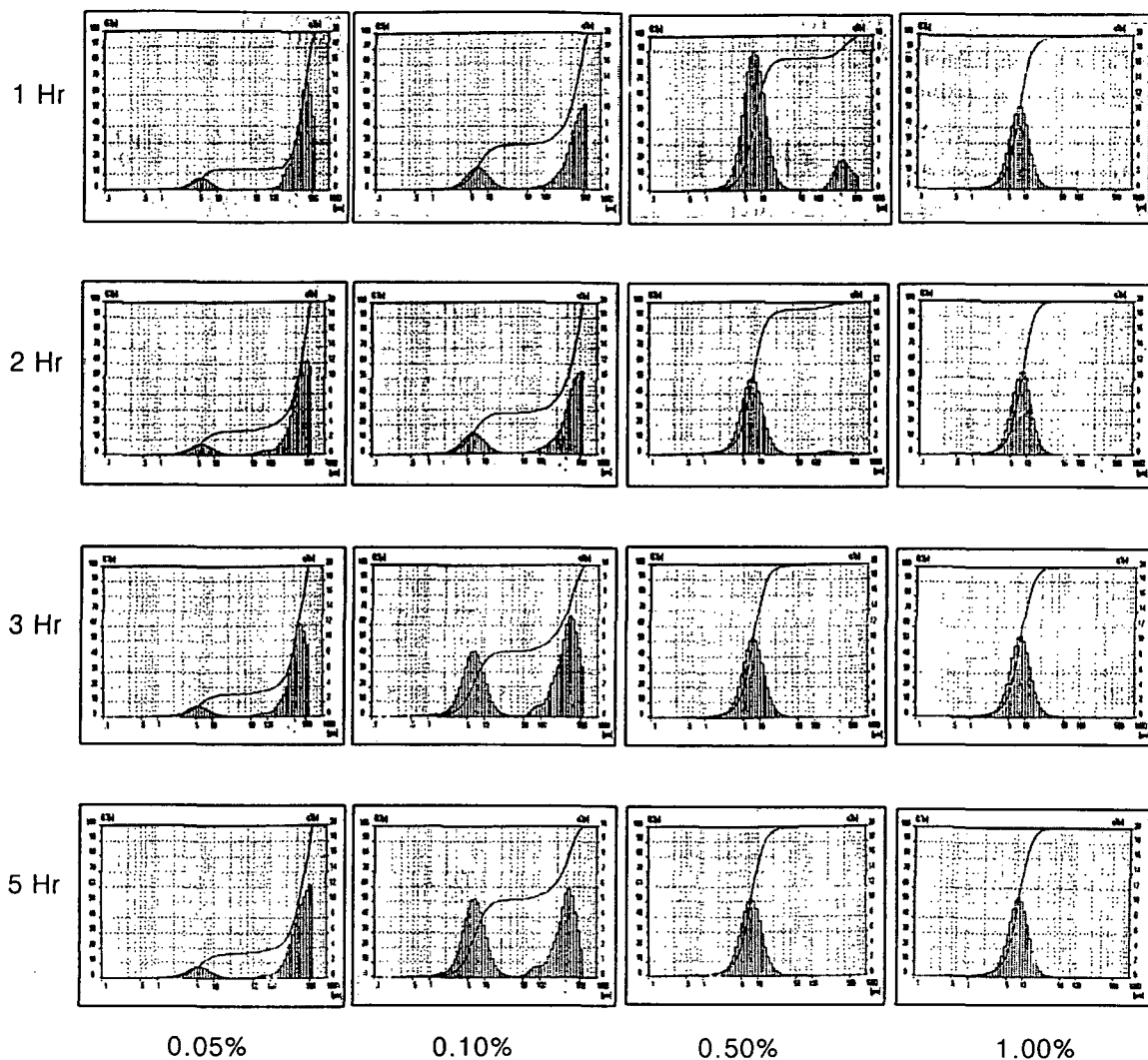


Fig.1-6. Effect of reaction time and E/S ratio on particle size distribution of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) at 50°C

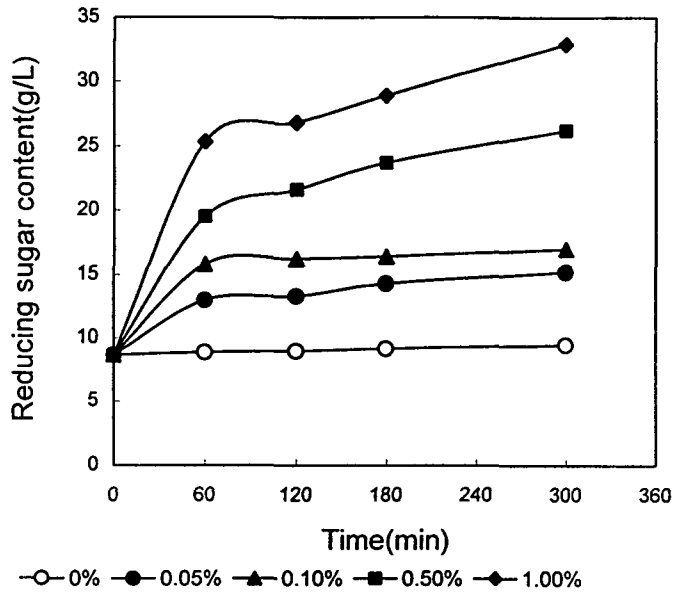
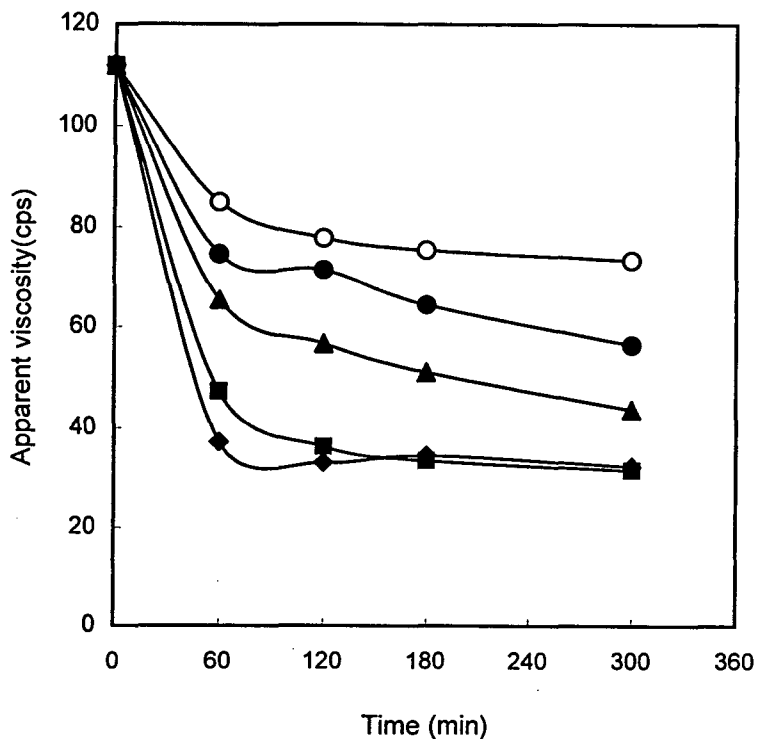


Fig.1-7. Effect of reaction time and E/S ratio on reducing sugar content of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) at 50°C



○ ctrl ● 0.05% ▲ 0.10% ■ 0.50% ◆ 1.00%

Fig.1-8. Effect of reaction time and E/S ratio on apparent viscosity of expressed garlic juice(39Brix) treated with Rapidase liq(+) at 50°C
 Viscometry : Spindle No.= RV1(Brookfield), Speed = 50rpm
 Temperature = 42.1 ± 2.0°C

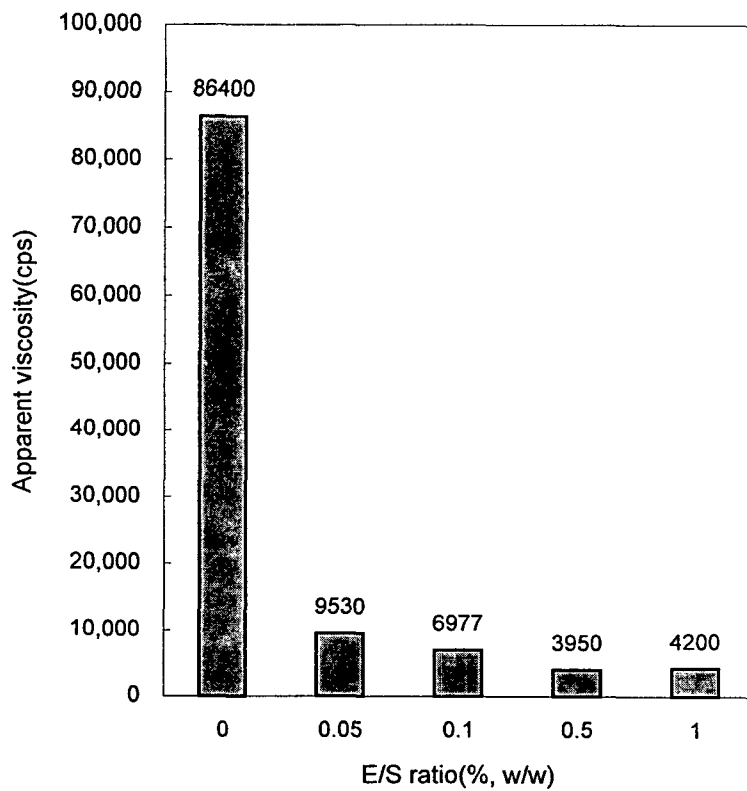


Fig.1-9. Changes of apparent viscosity of concentrated garlic juice(65Brix) according to E/S ratio of Rapidase liq(+) for 5hrs at 50°C Viscometry : Spindle No.= RV5(Brookfield), Speed = 2.5rpm Temperature = 42.1 ± 2.0°C

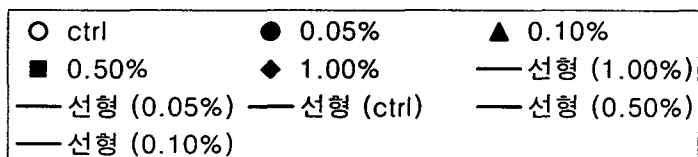
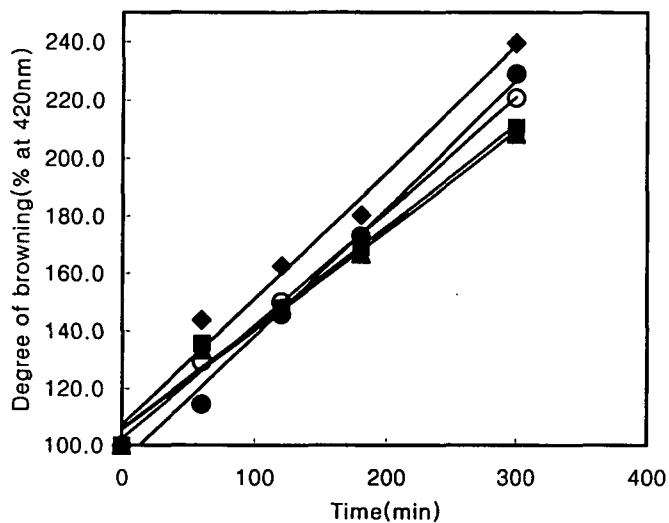


Fig.1-10. Effect of reaction time and E/S ratio on browning of expressed garlic juice treated with Rapidase liq(+) at 50°C

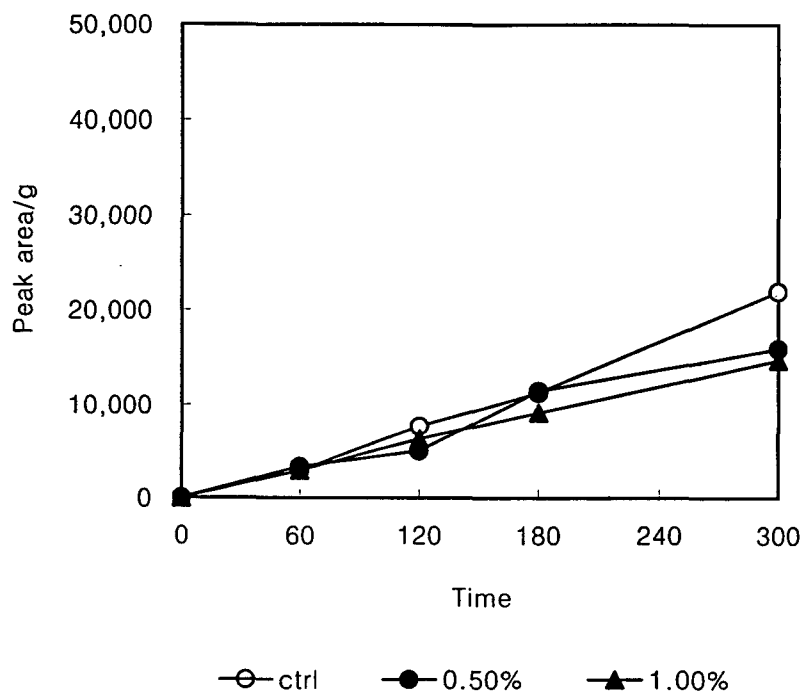


Fig.1-11. Effect of reaction time and E/S ratio on generation of diallyl sulfide(DAS) during Rapidase liq(+) treatment

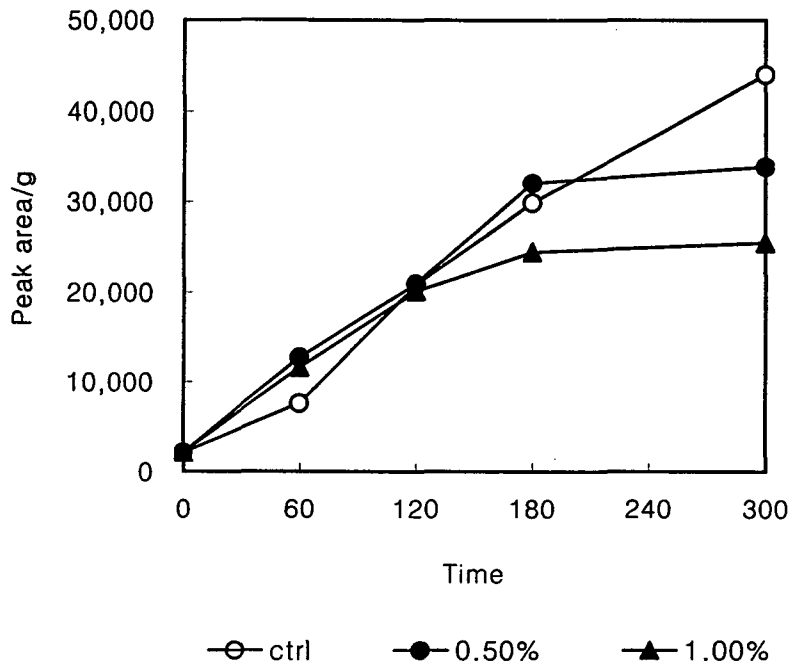


Fig.1-12. Effect of reaction time and E/S ratio on generation of diallyl disulfide(DADS) during Rapidase liq(+) treatment

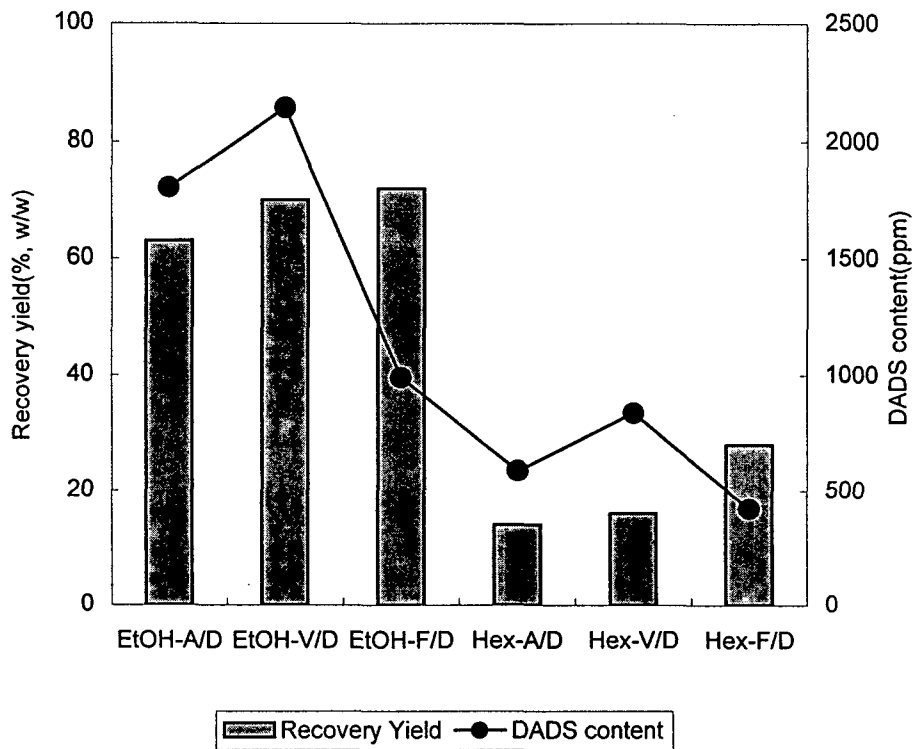


Fig.1-13. Effect of drying methods and solvents on extraction efficiency of oleoresin from expressed garlic residue
 Abr. EtOH : Ethanol Hex : Hexane
 A/D : Air drying V/D : Vacuum drying F/D : Freeze drying

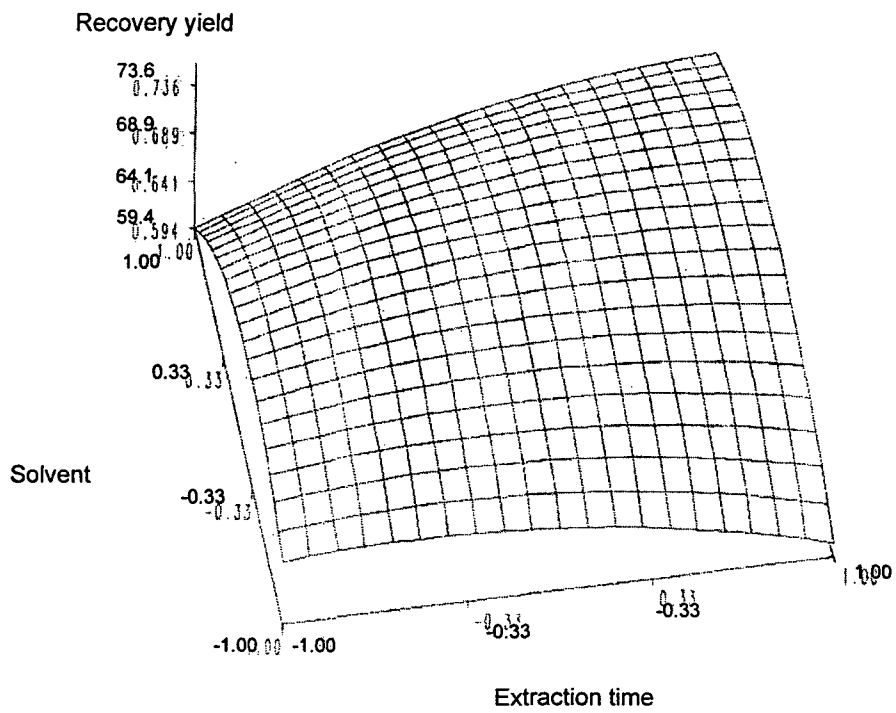


Fig.1-14. Response surface curve of recovery yield as related to extraction time and solvent ratio

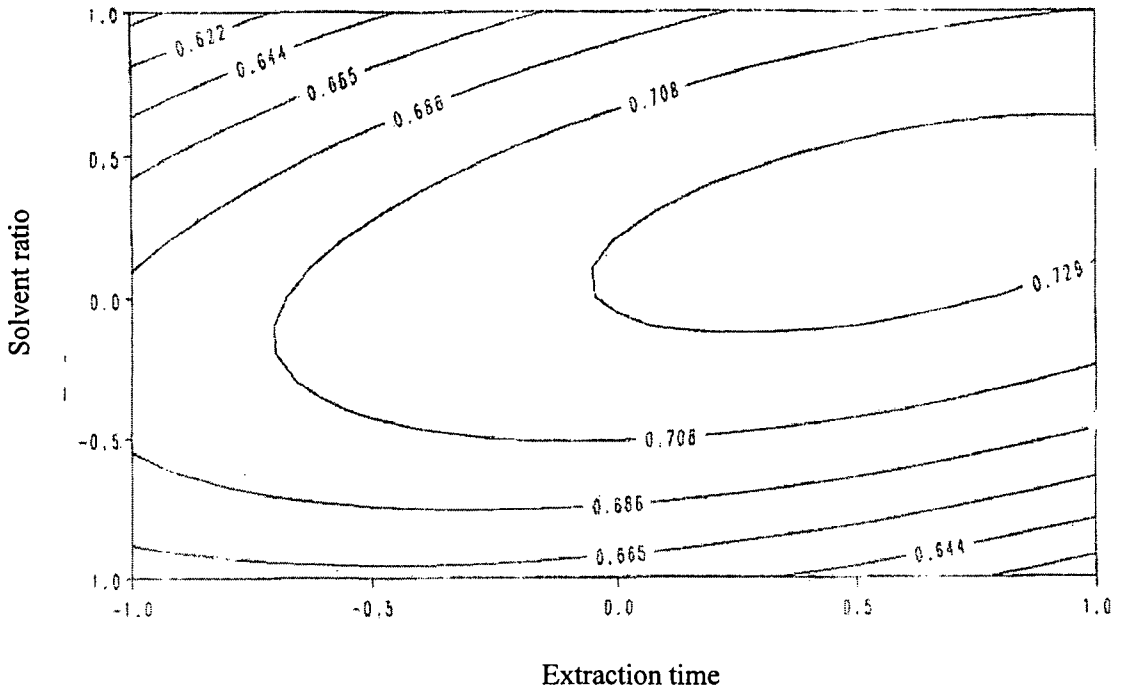


Fig.1-15. Contour plots of recovery yield of garlic extract as related to extraction time and solvent ratio

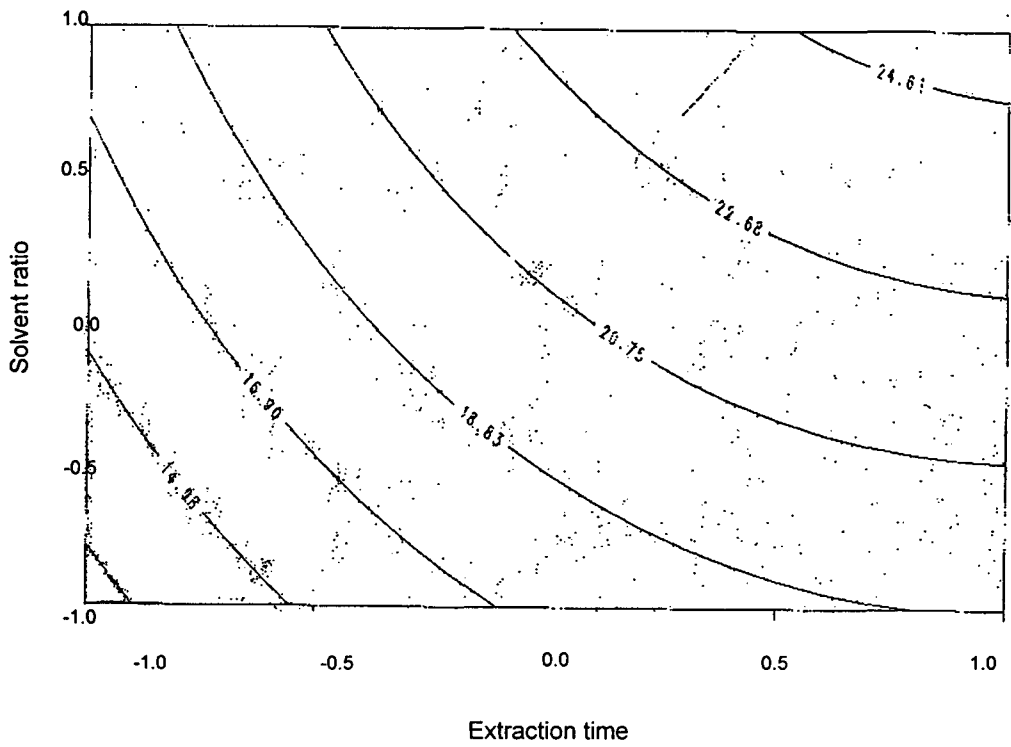


Fig.1-16. Contour plots of recovery yield of red pepper extract as related to extraction time and solvent ratio

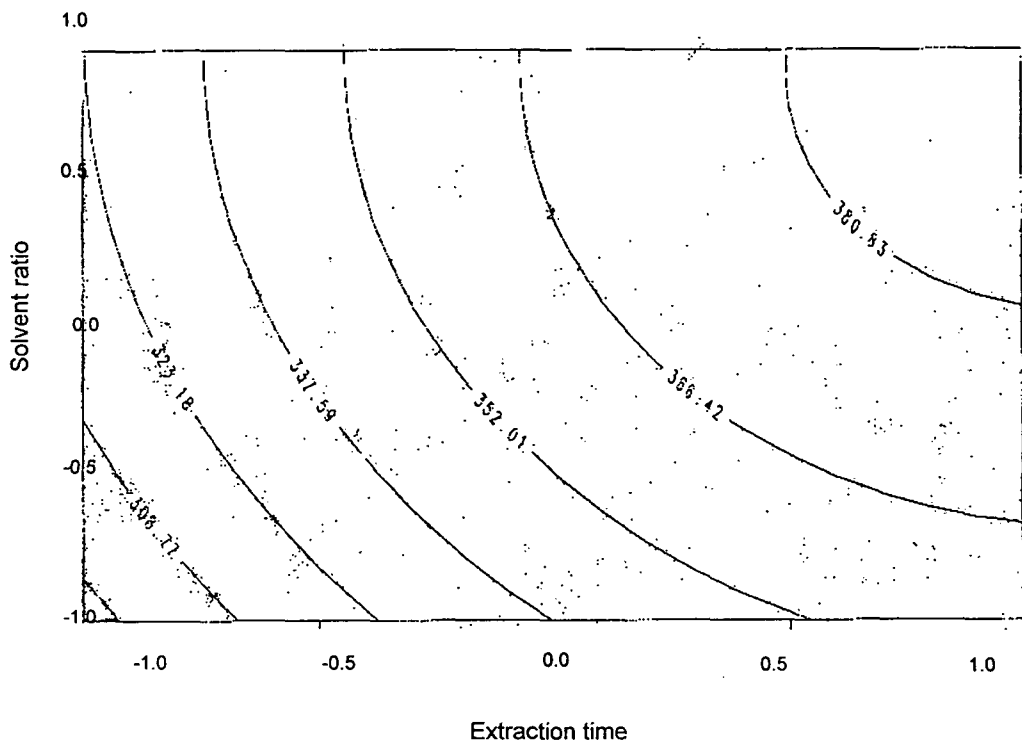


Fig.1-17. Contour plots of color of red pepper extract as related to extraction time and solvent ratio

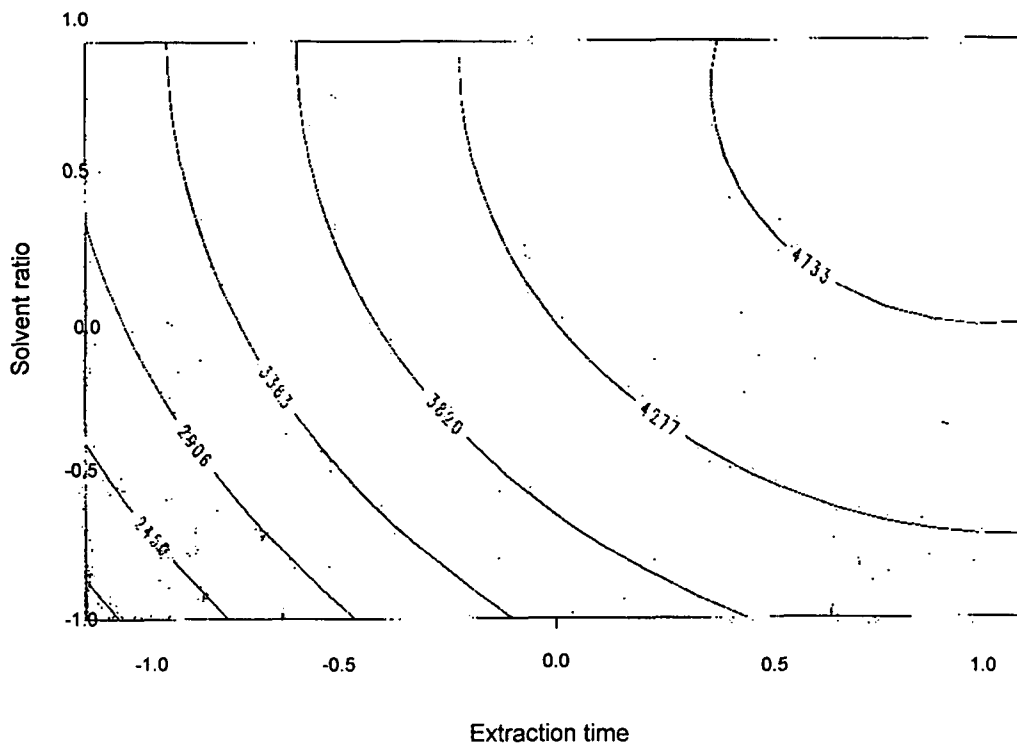


Fig.1-18. Contour plots of total capsaicinoids of red pepper extract as related to extraction time and solvent ratio

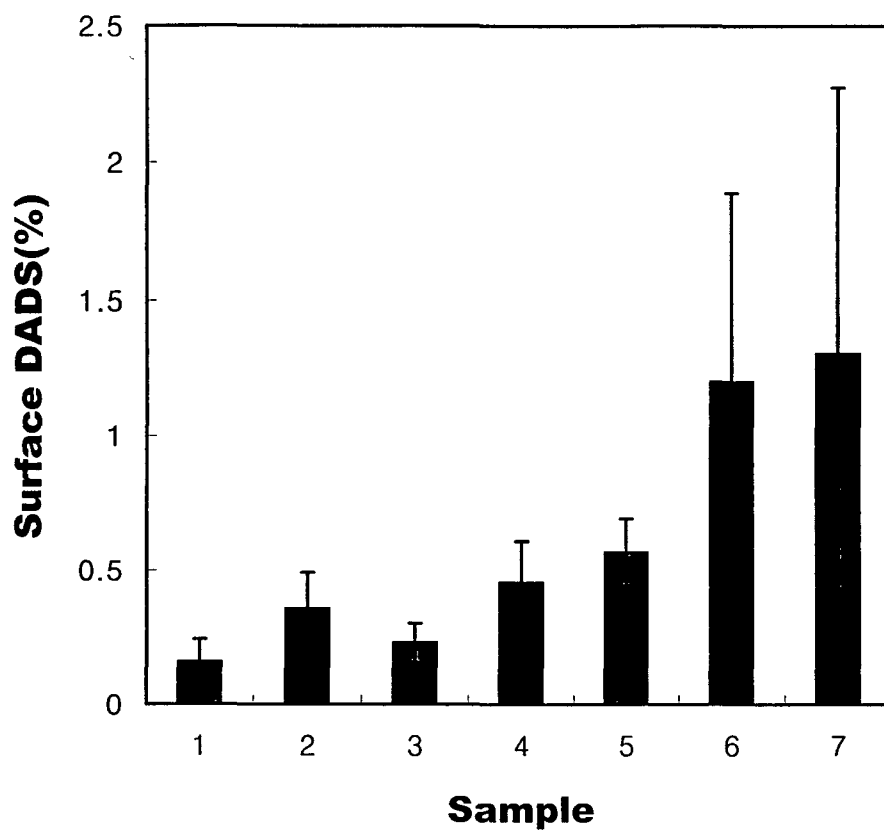


Fig.1-19. Comparison of surface DADS as related to mixture ratio of gum arabic and modified starch
 Prep. Emulsion : 35% solution(wall : core = 4:1)
 homomixing at 10,000rpm for 10min, homogenizing at 2,500psi for 1 pass

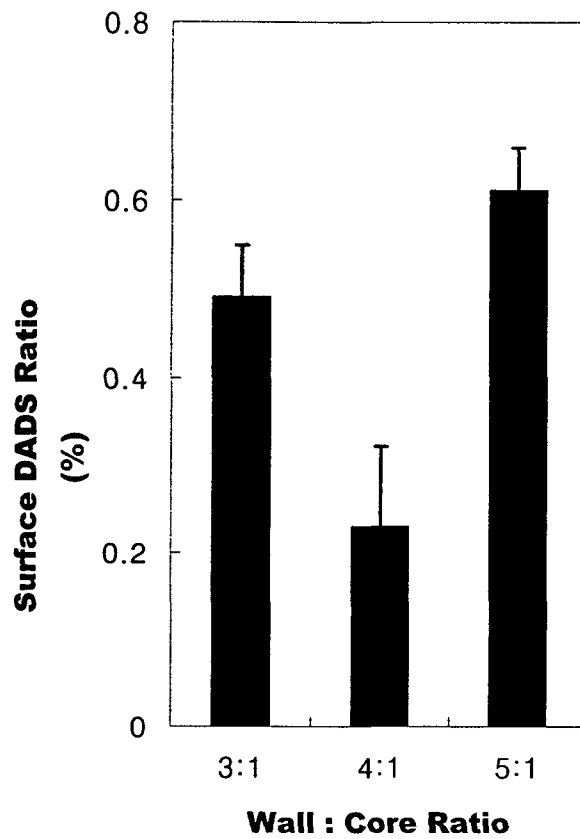


Fig.1-20. Comparison of surface DADS ratio as related to ratio of wall and core
homomixing at 10,000rpm for 10min
Prep. Emulsion : 35% solution, homogenizing at 2,500psi for 1 pass

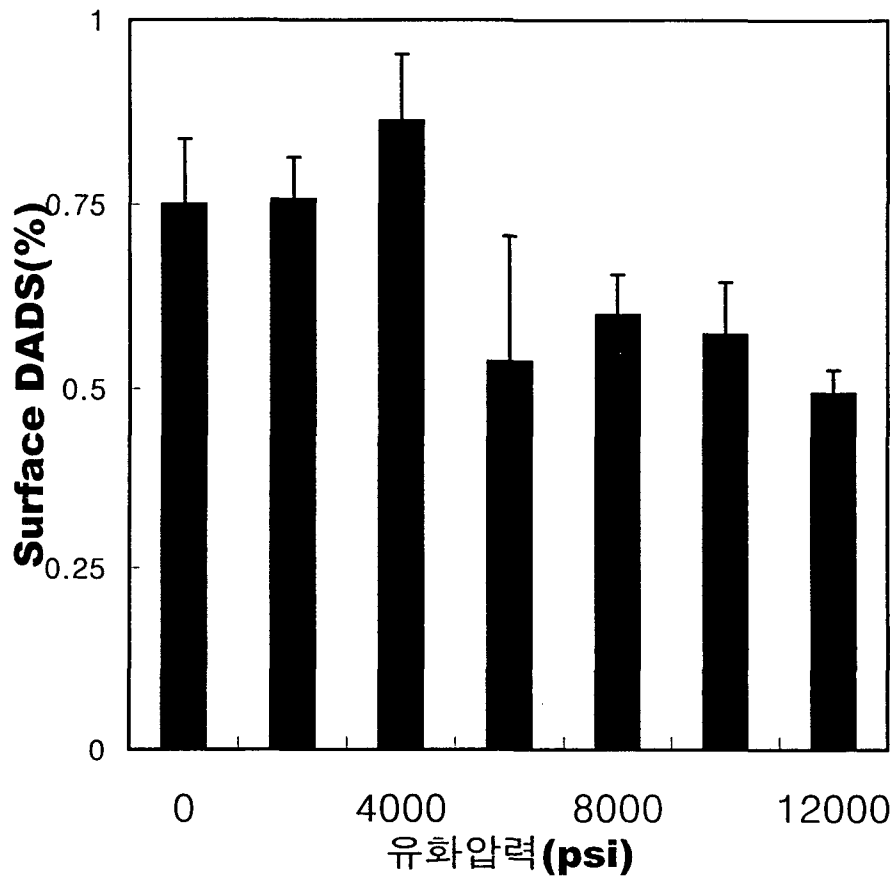


Fig.1-21. Effect of homogenization pressure on surface DADS ratio
 Prep. Emulsion : 35% solution(wall : core =4:1)
 homomixing at 10,000rpm for 10min, homogenizing for 1 pass

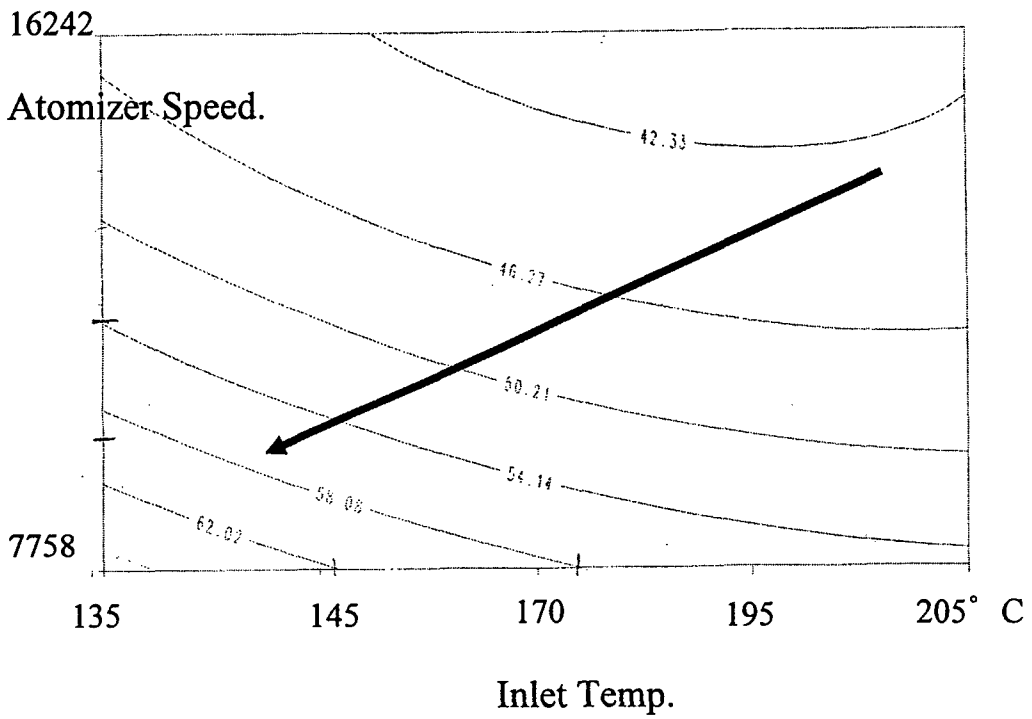


Fig.1-22. Response surface curve of total DADS ratio as related to inlet temperature and atomizer speed.

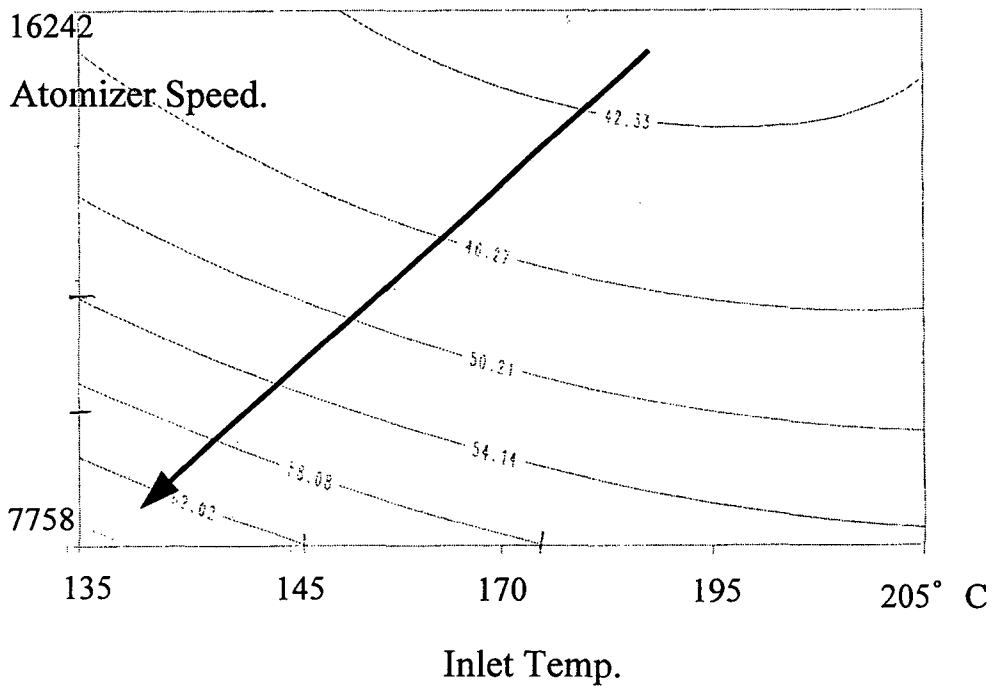


Fig.1-23. Response surface curve of particle size ratio as related to inlet temperature and atomizer speed.

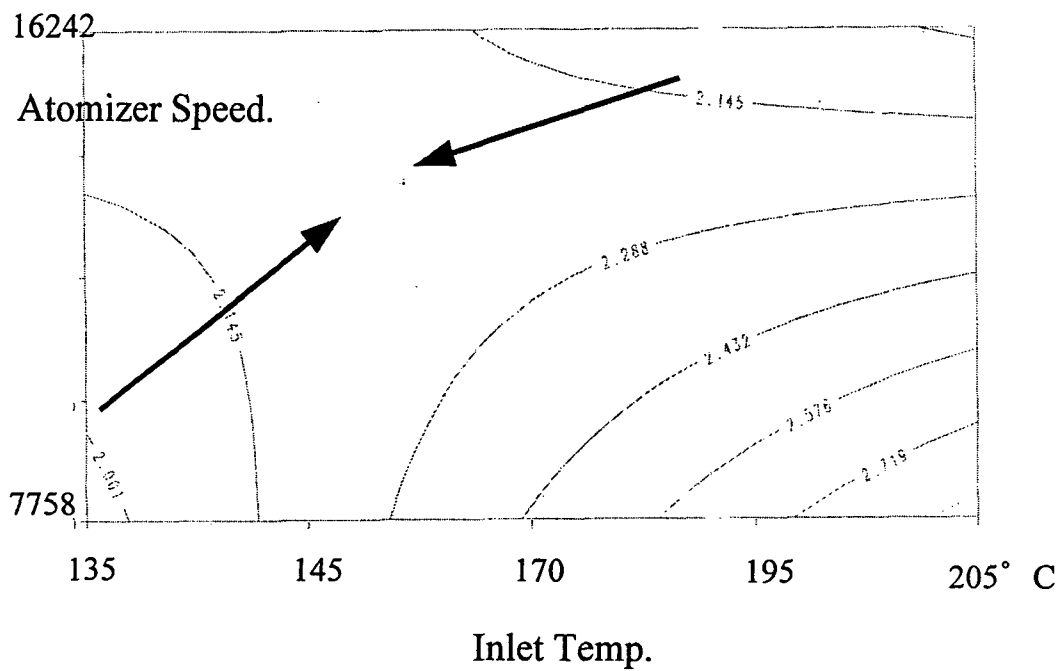


Fig.1-24. Response surface curve of uniformity as related to inlet temperature and atomizer speed.

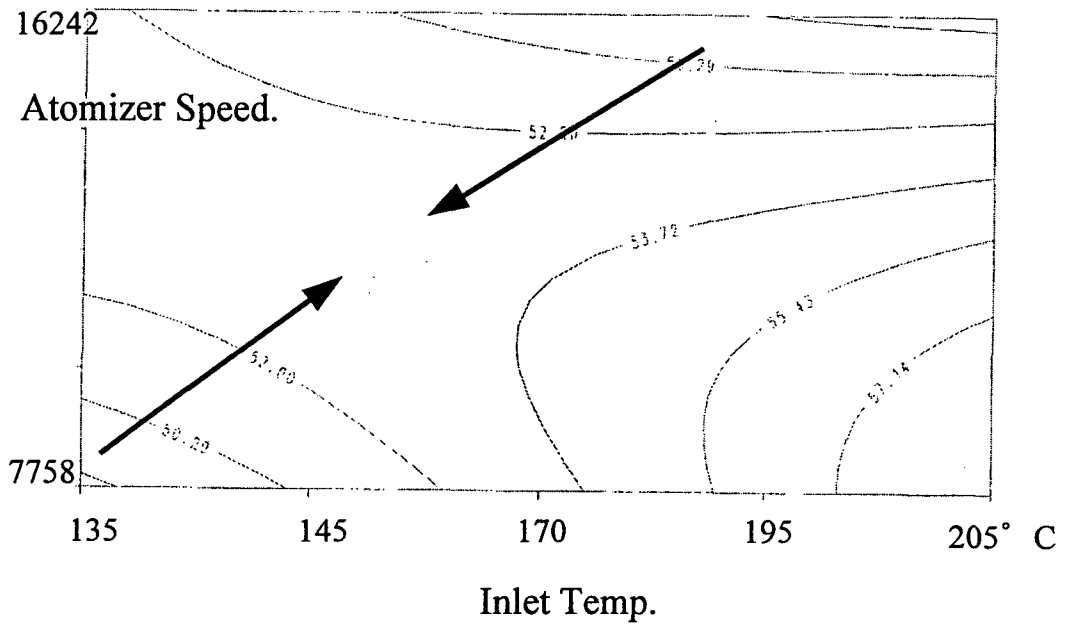


Fig.1-25. Response surface curve of flowability as related to inlet temperature and atomizer speed.

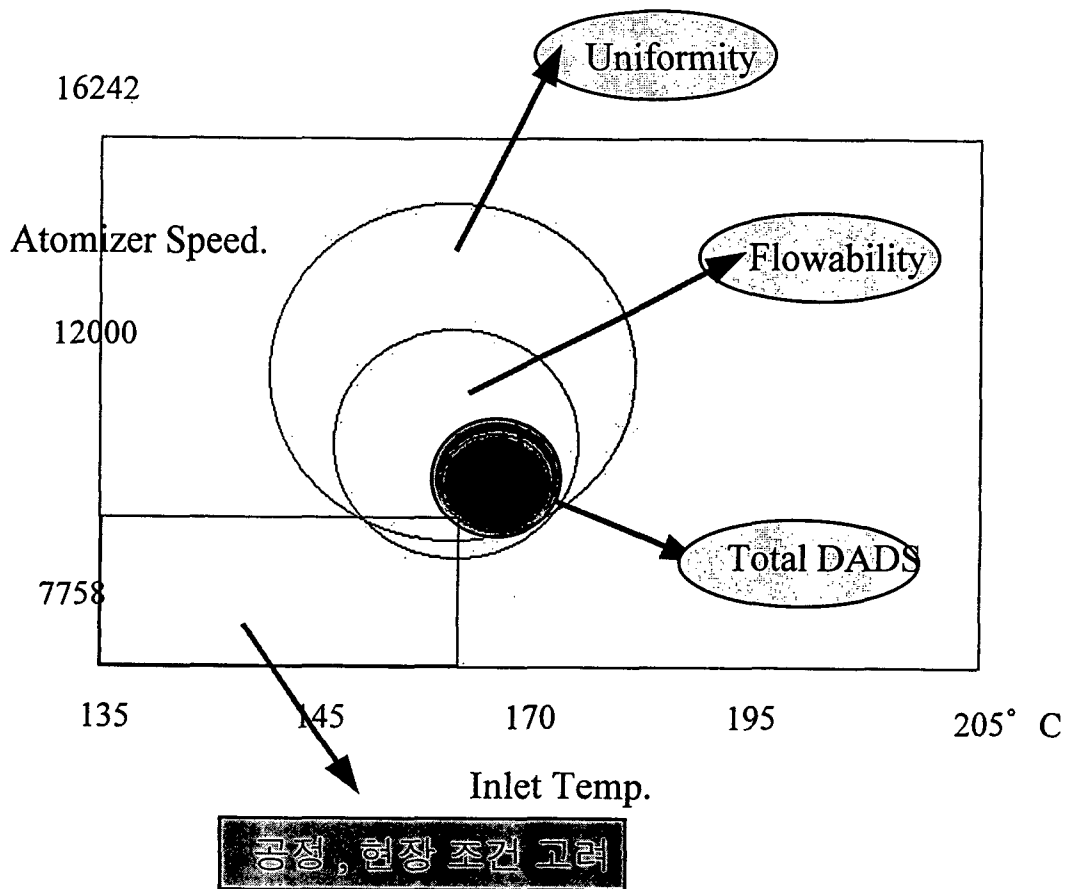


Fig.1-26. Optimization of spray drying process of garlic microcapsule by RSM

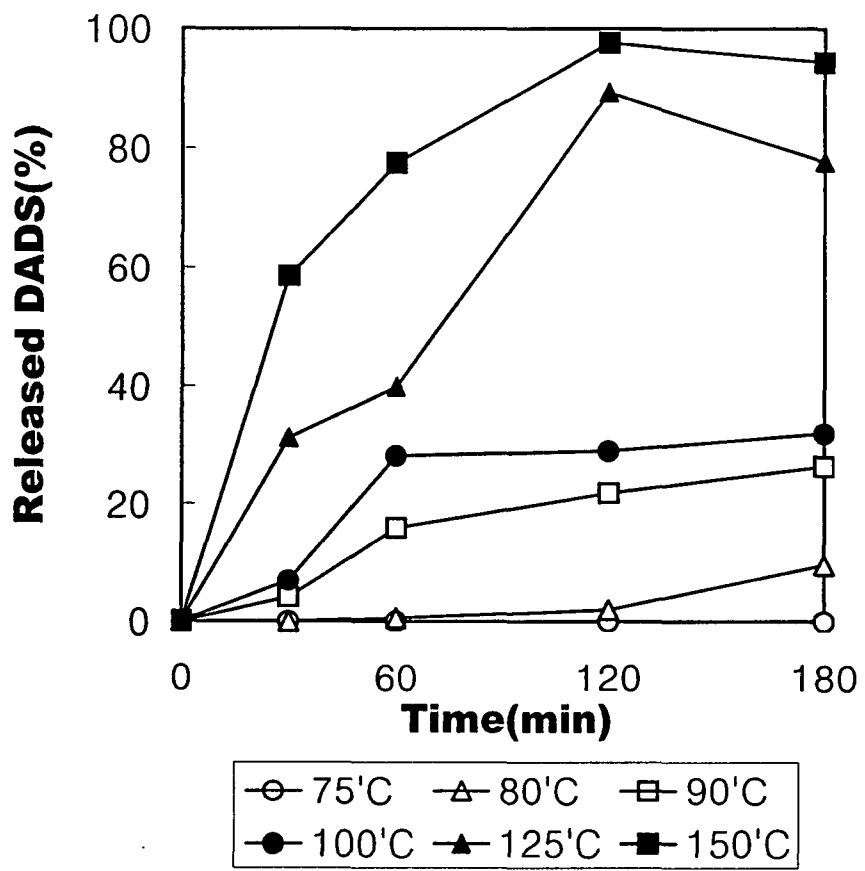


Fig.1-27 Time dependent release(TDR) patterns of spray dried garlic microcapsule at various temperature

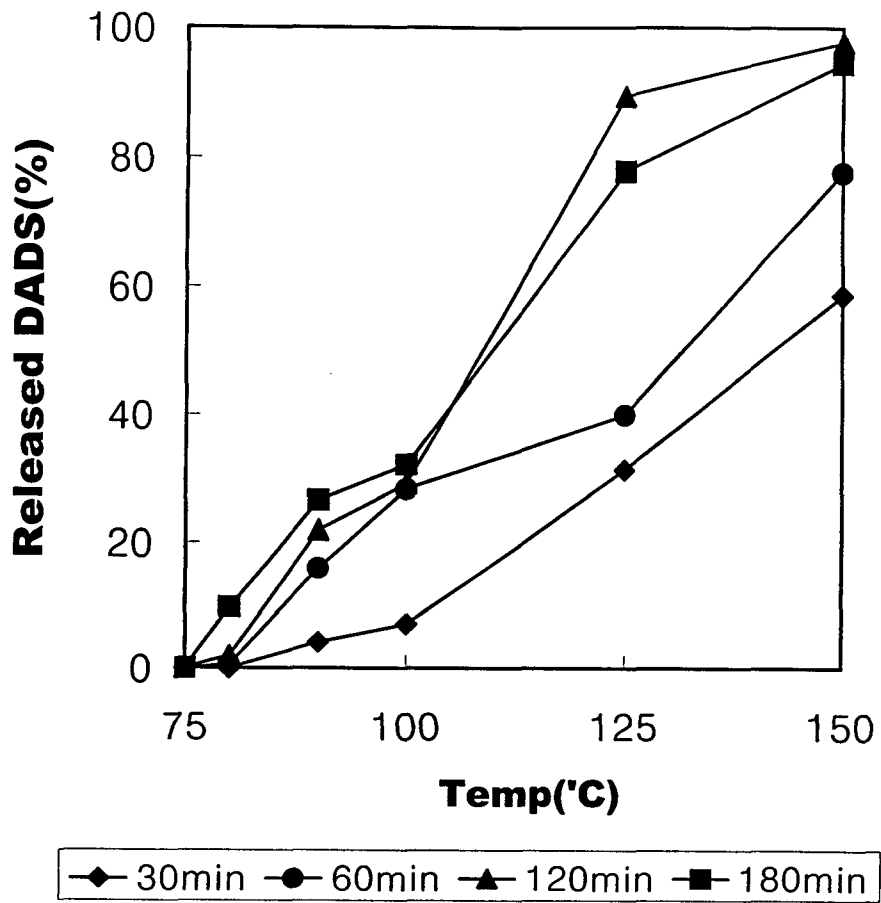


Fig.1-28. Temperature sensitive release(TSR) patterns of spray dried garlic microcapsule after heat treatment

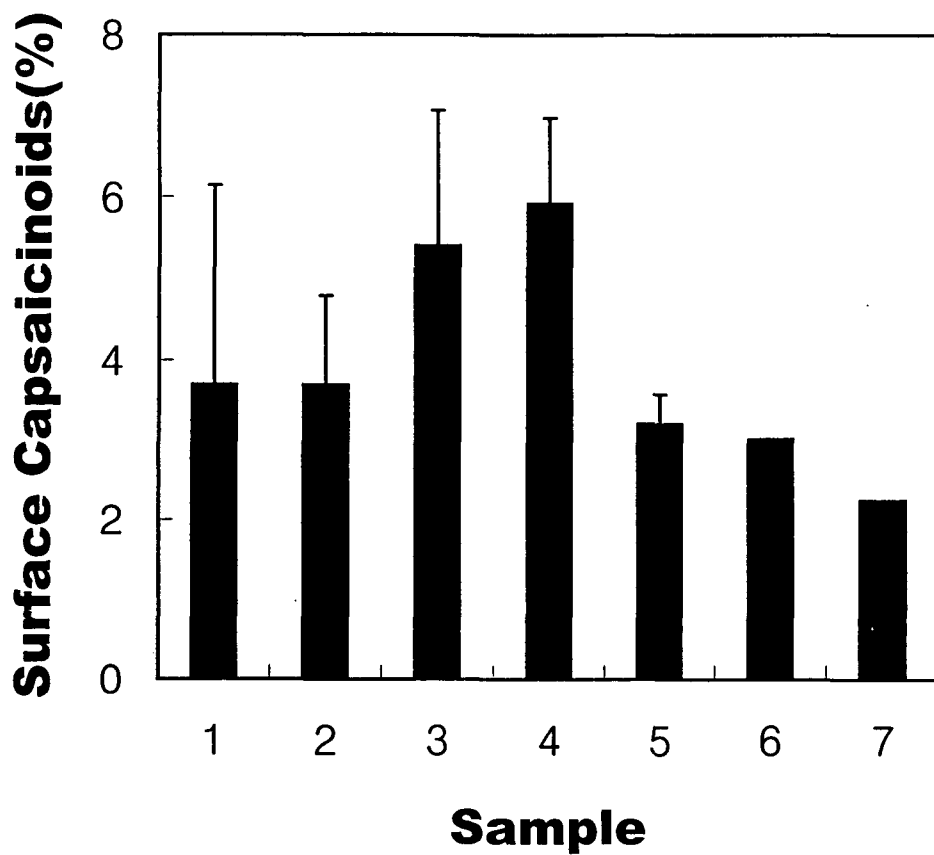


Fig.1-29. Comparison of surface capsaicinoids as related to mixture ratio of gum arabic and modified starch
 Prep. Emulsion : 35% solution(wall : core = 4:1)
 homomixing at 10,000rpm for 10min, homogenizing at 2,500psi for 1 pass

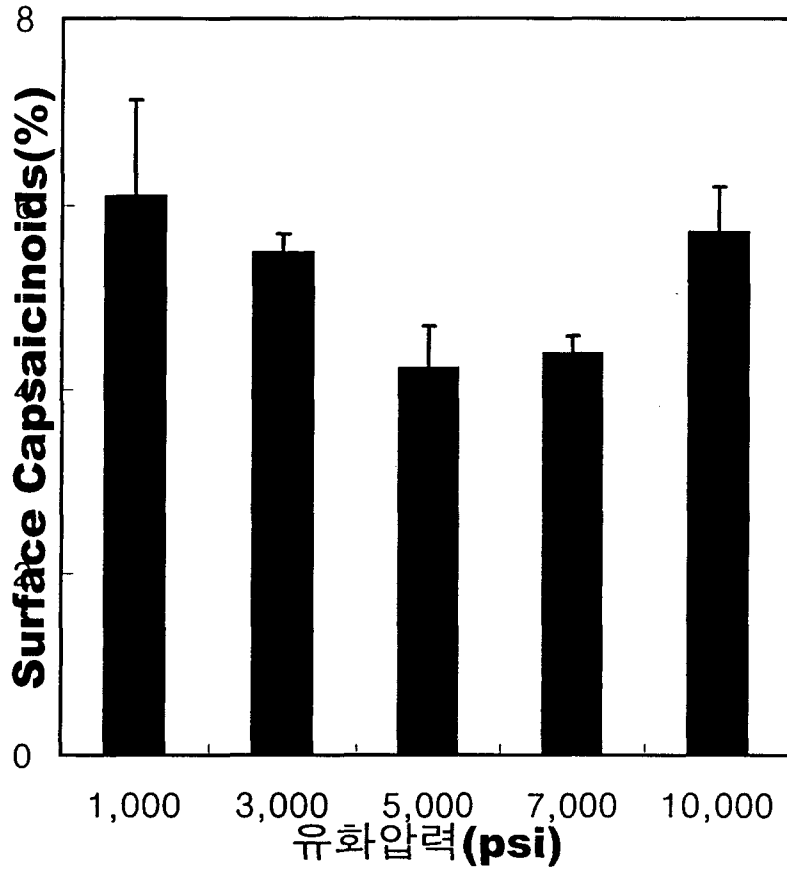


Fig.1-30. Effect of homogenization pressure on surface capsaicinoids ratio
 Prep. Emulsion : 35% solution(wall : core =4:1)
 homomixing at 10,000rpm for 10min, homogenizing for 1 pass

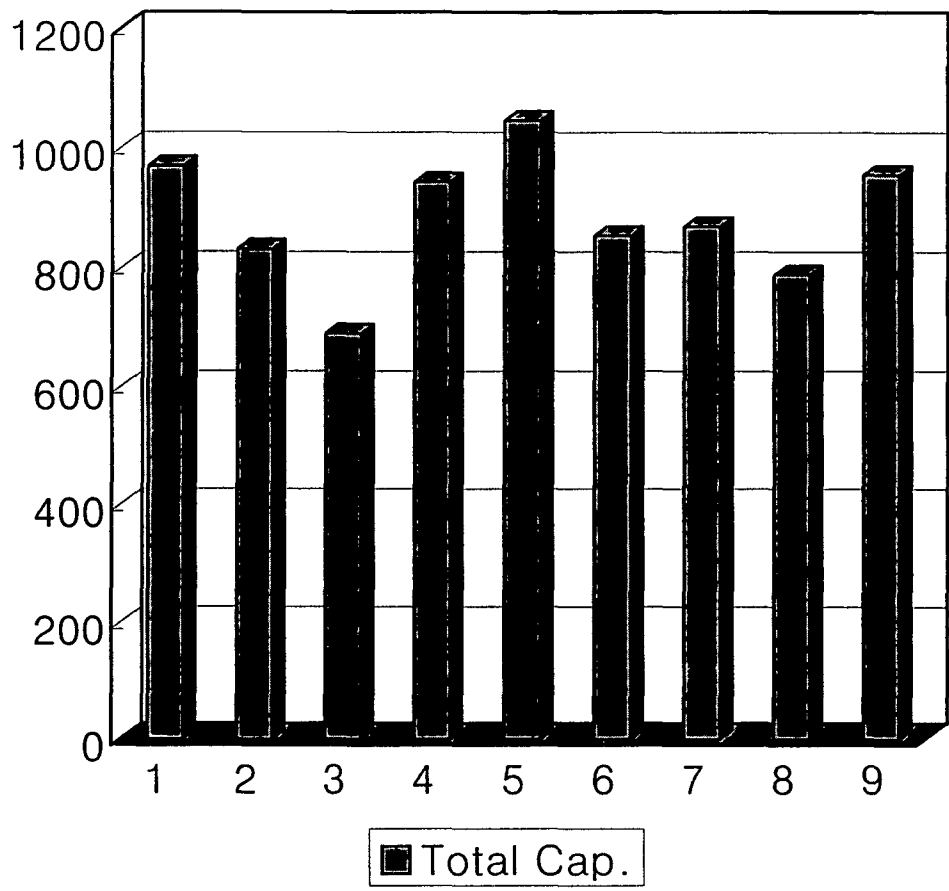


Fig.1-31. Comparison of total capsaicinoids as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

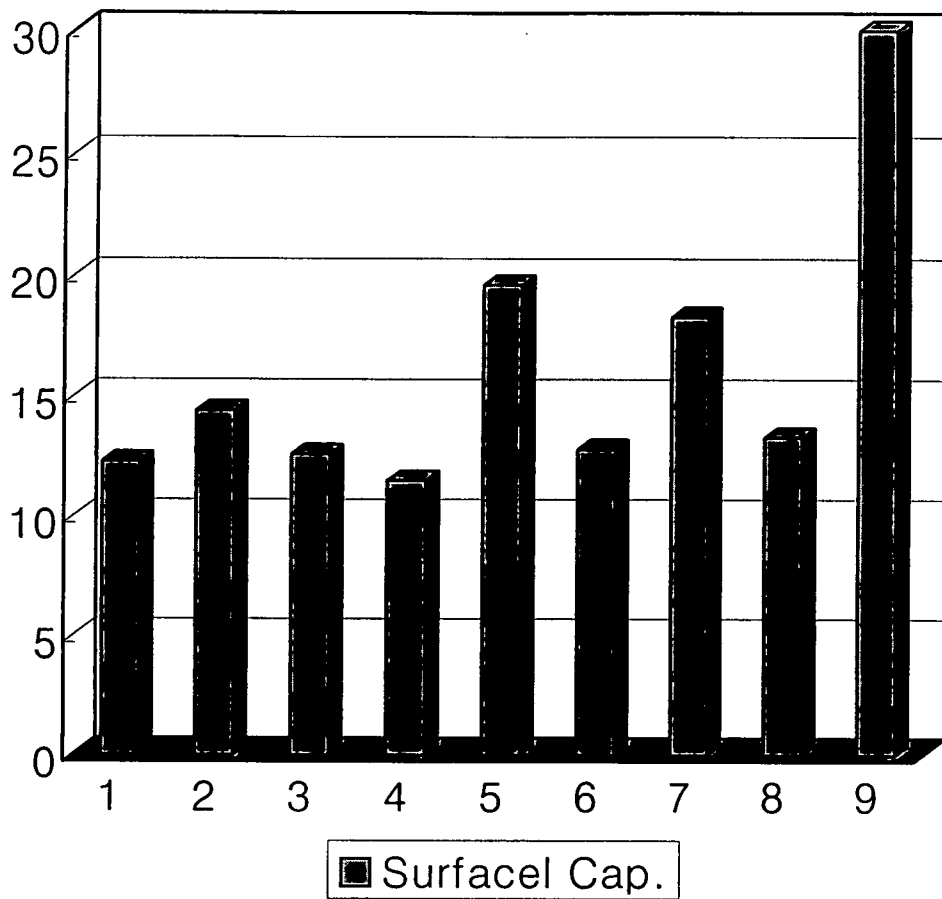


Fig.1-32. Comparison of surface capsaicinoids as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

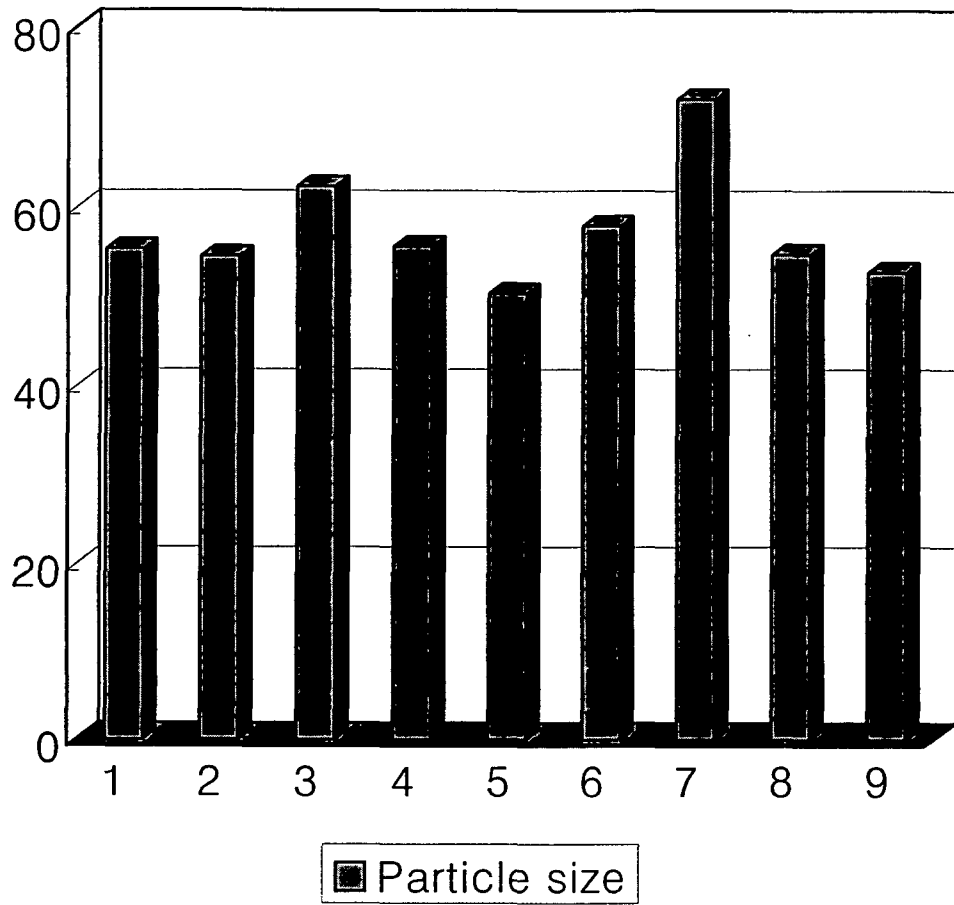


Fig.1-33. Comparison of particle size of red pepper microcapsule as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

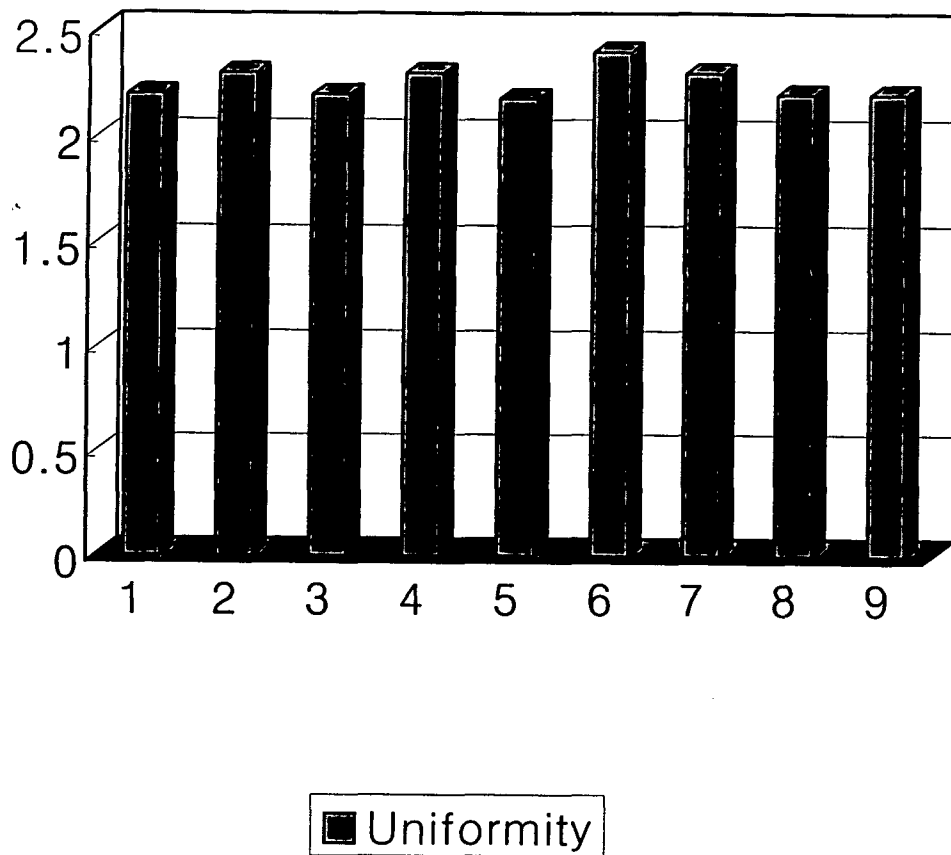


Fig.1-34. Comparison of uniformity of red pepper microcapsule as spray drying conditions; inlet temperature and atomizer speed

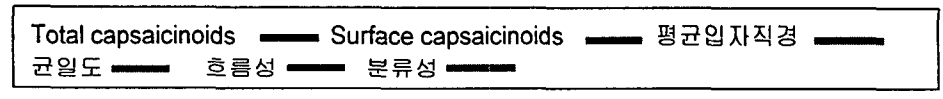
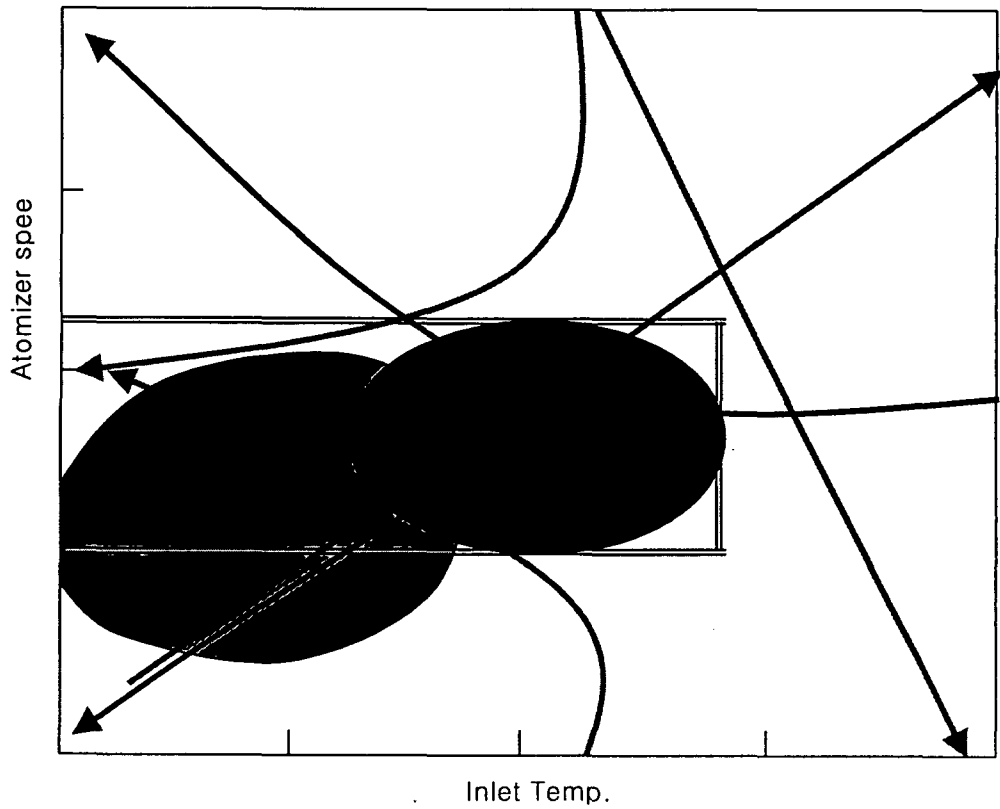


Fig.1-35. Optimization of spray drying process of red pepper microcapsule by RSM

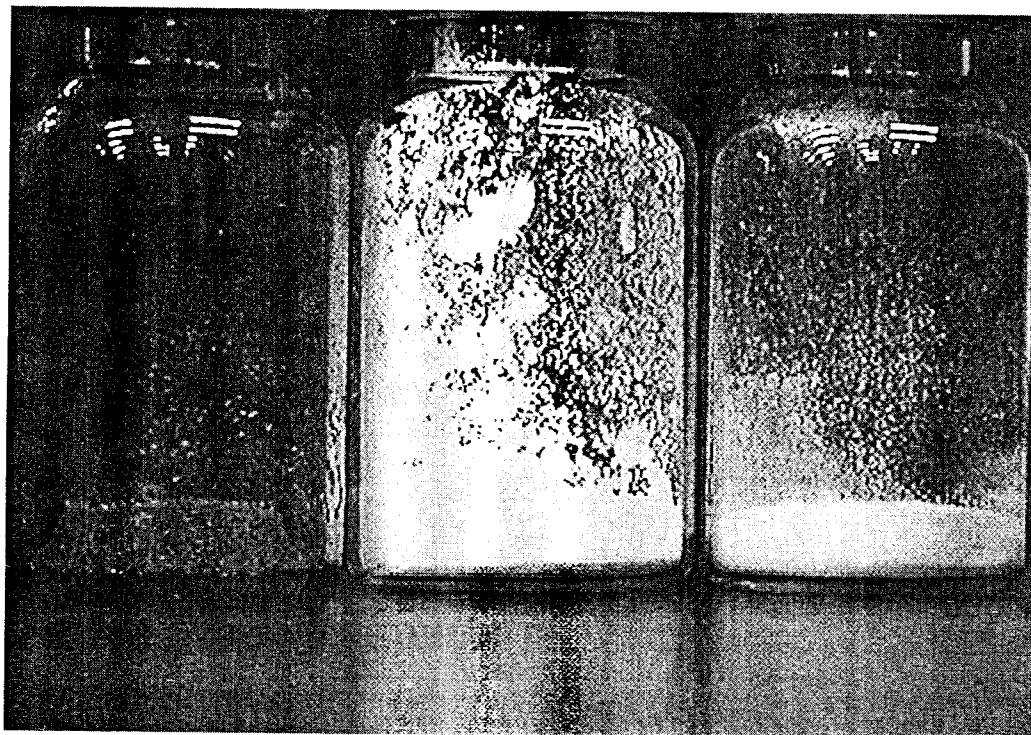


Fig.1-36 Heat stability of second coating wall material; a. gum arabic, b. modified starch 78-0508, c. modified starch Solstar-S

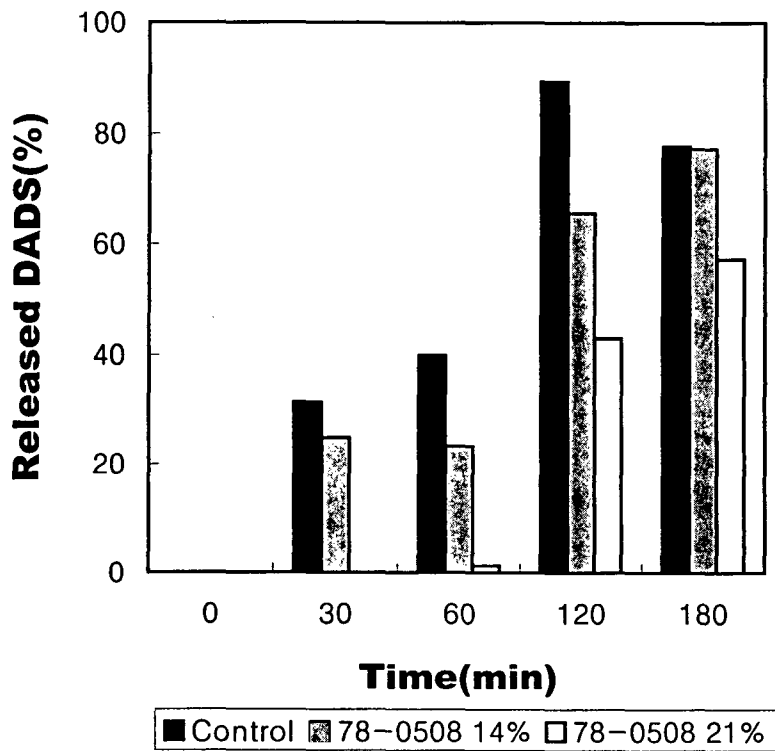


Fig.1-37 Time dependent release(TDR) patterns of secondary coated garlic microcapsule with modified starch(78-0508) at 125°C

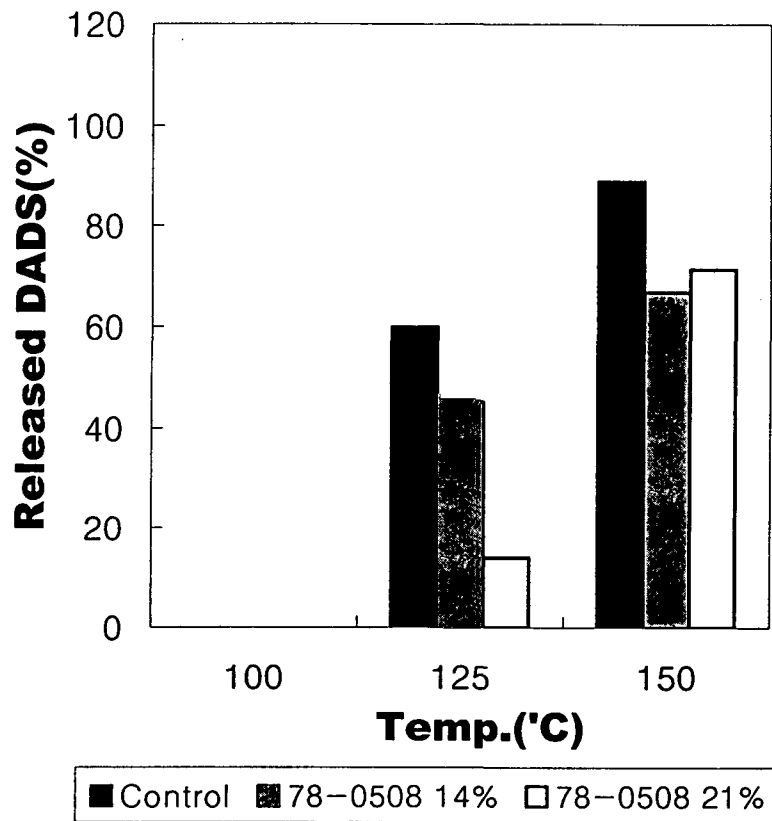
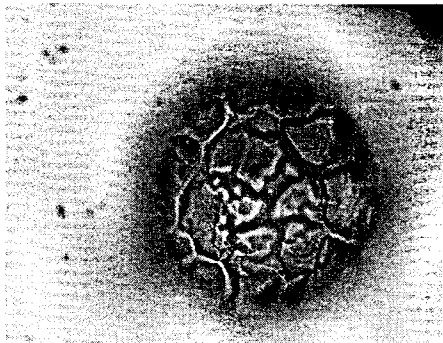


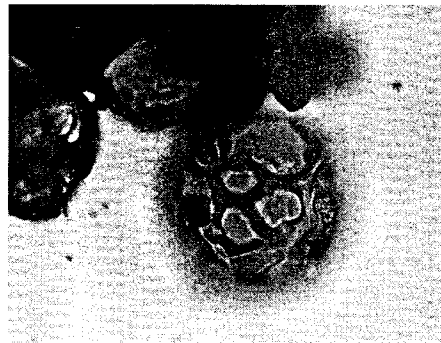
Fig.1-38 Temperature sensitive release(TSR) patterns of secondary coated garlic microcapsule with modified starch(78-0508)



(A)



(B)



(C)

Fig.1-39. Photomicrograph(100x magnification) of microcapsule(A), garlic microcapsule secondary coated with 14% (B) and 21%(C) modified starch

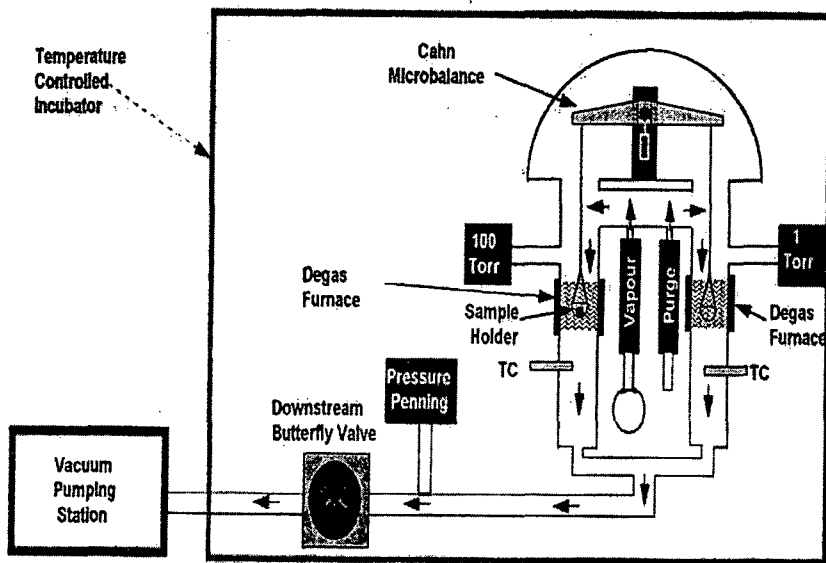
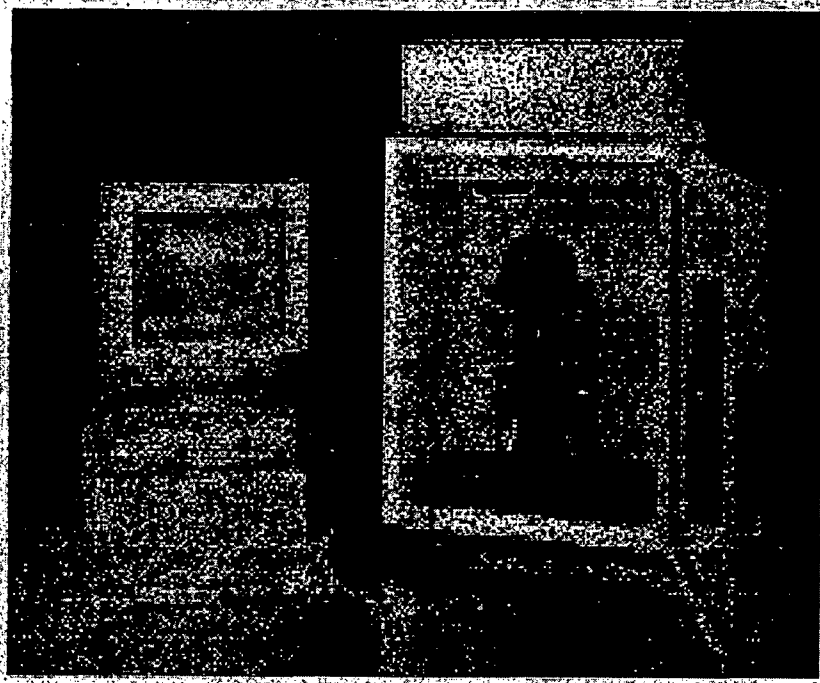


Fig.1-40 Figure and schematic principle of DVS(dynamic vapor sorption)

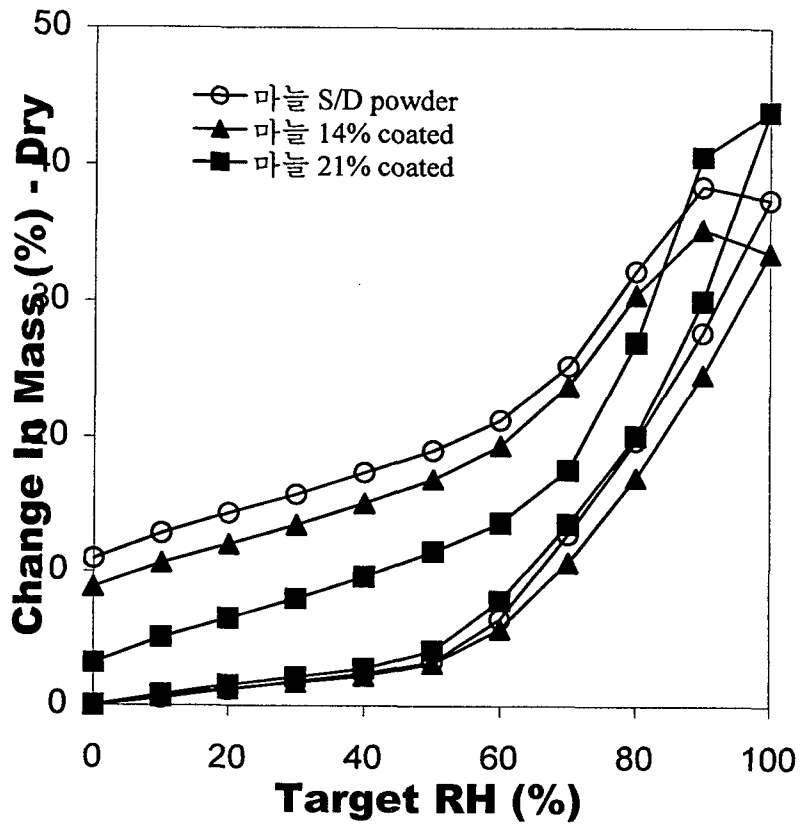


Fig.1-41 Sorption/desorption curve of garlic microcapsule and secondary coated

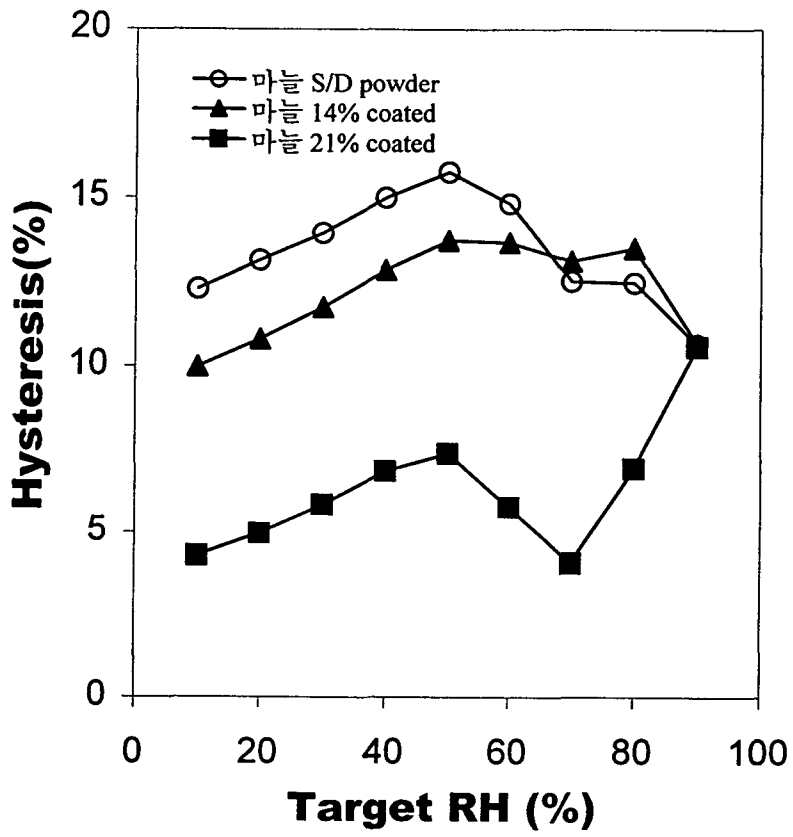


Fig.1-42 Hysteresis of garlic microcapsule and secondary coated

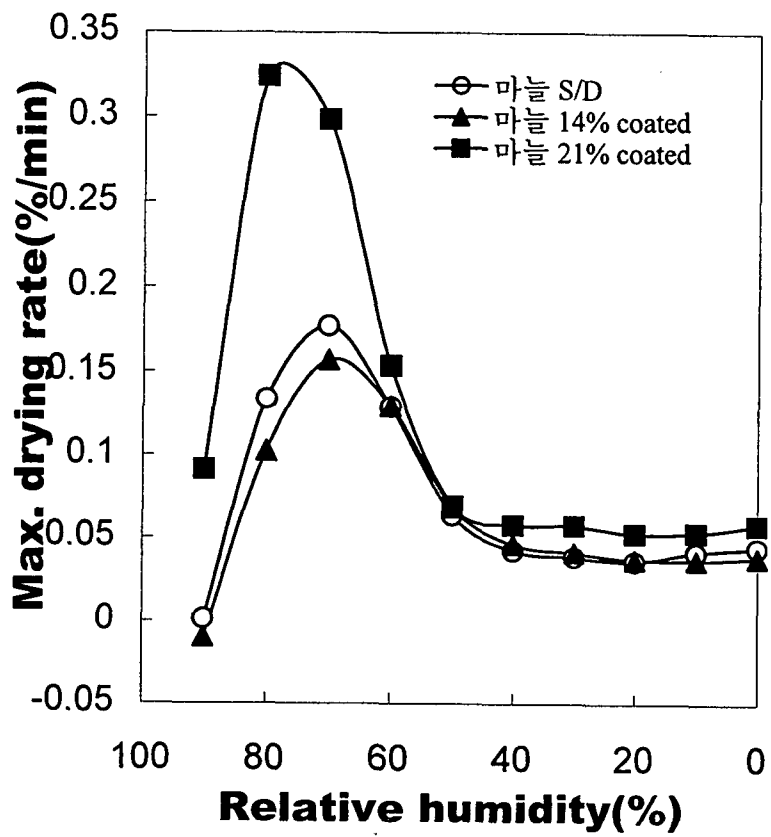


Fig.1-43 Drying rate of garlic microcapsule and secondary coated

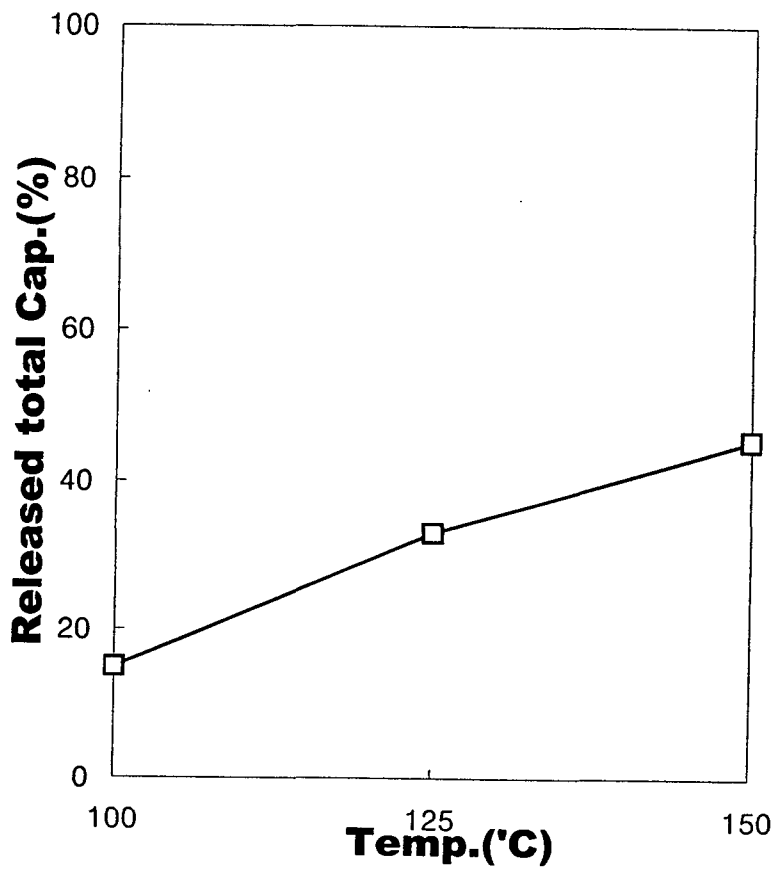


Fig.1-44. Temperature sensitive release(TSR) patterns of spray dried red pepper microcapsule after heat treatment for 1hr

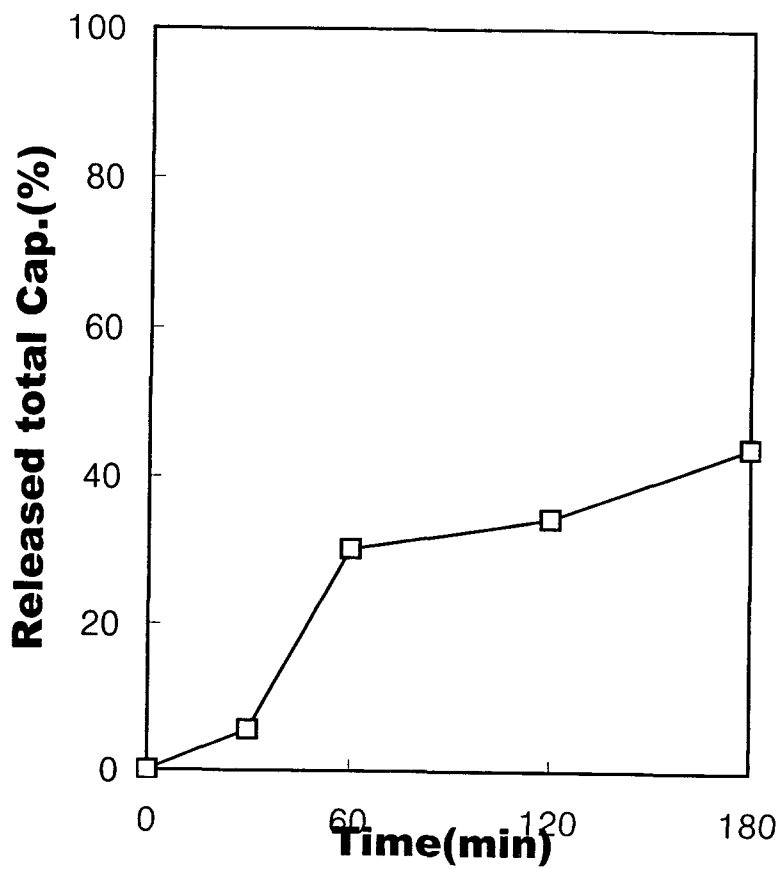


Fig.1-45 Time dependent release(TDR) patterns of spray dried red pepper microcapsule at 125°C

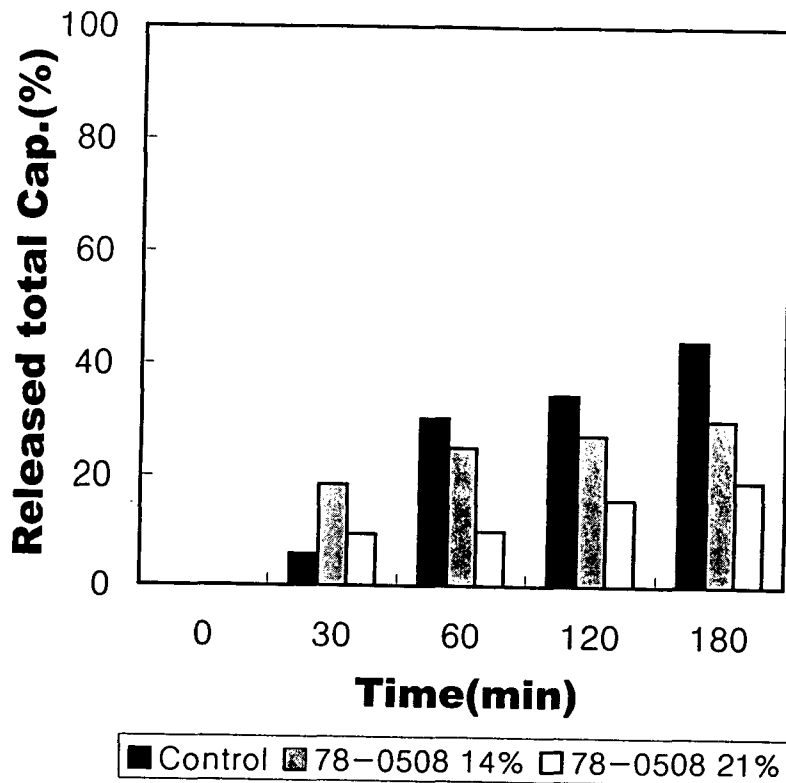


Fig.1-46 Time dependent release(TDR) patterns of secondary coated red pepper microcapsule with modified starch(78-0508) at 125°C

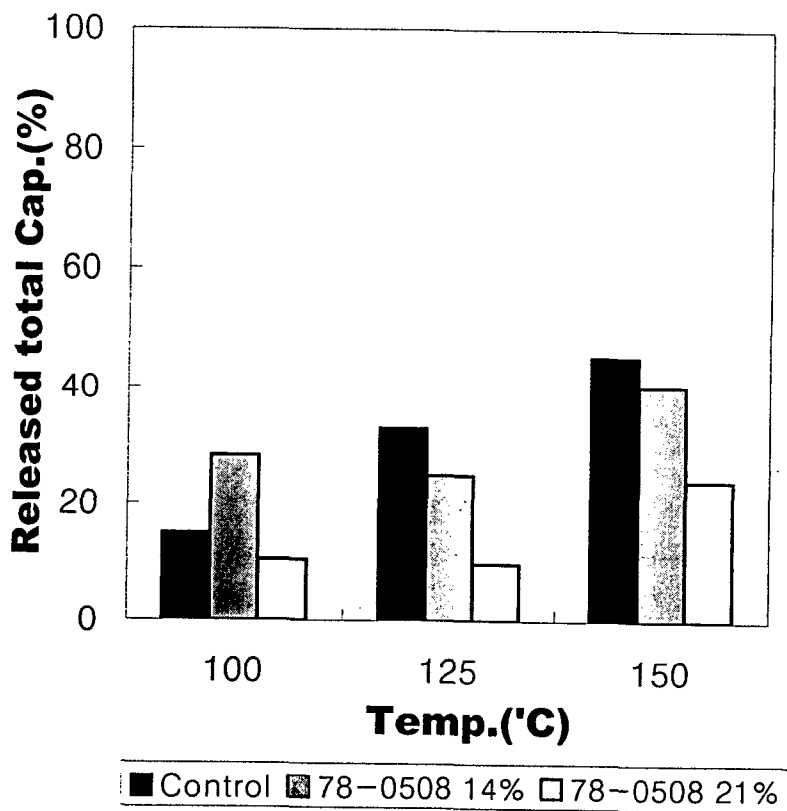
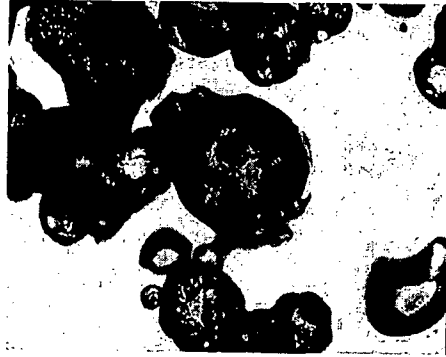


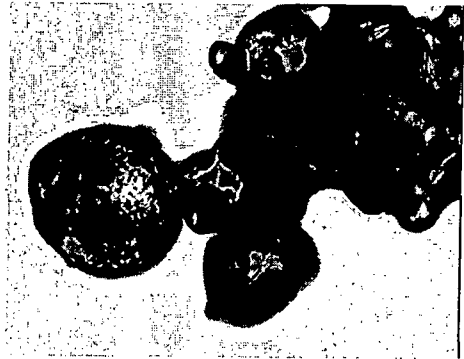
Fig.1-47 Temperature sensitive release(TSR) patterns of secondary coated red pepper microcapsule with modified starch(78-0508)



(A)



(B)



(C)

Fig.1-48. Photomicrograph(100x magnification) of microcapsule(A), red pepper microcapsule secondary coated with 14% (B) and 21%(C) modified starch

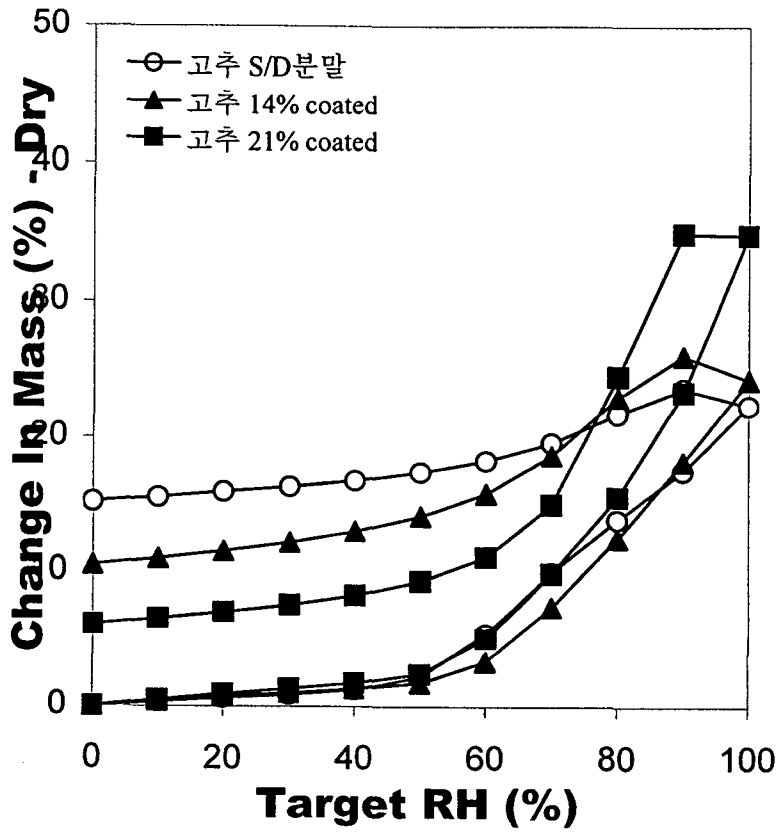


Fig.1-49 Sorption/desorption curve of red pepper microcapsule and secondary coated

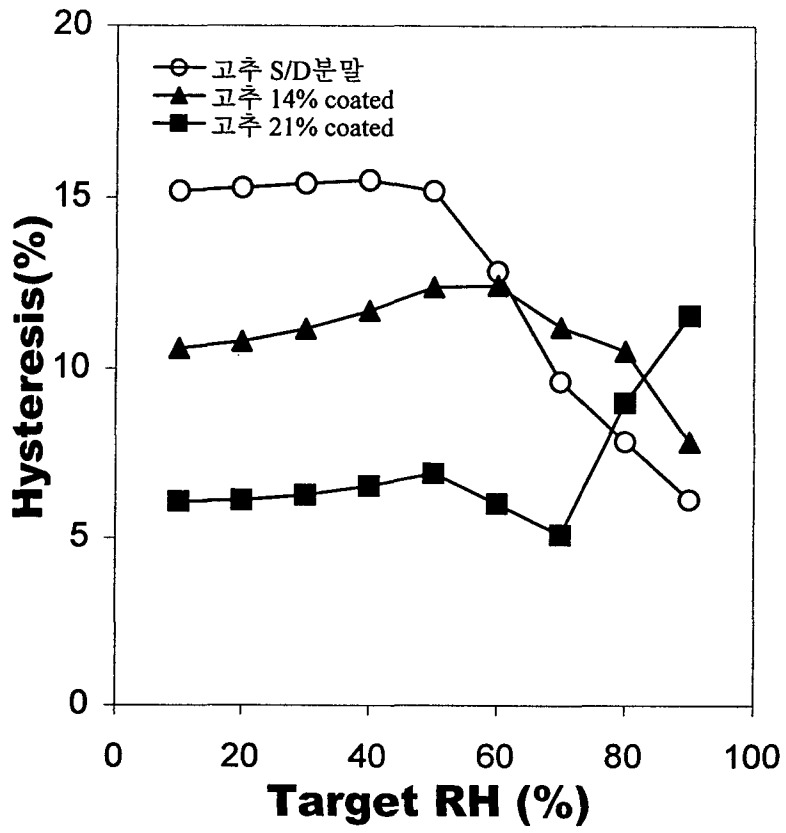


Fig.1-50 Hysteresis of red pepper microcapsule and secondary coated

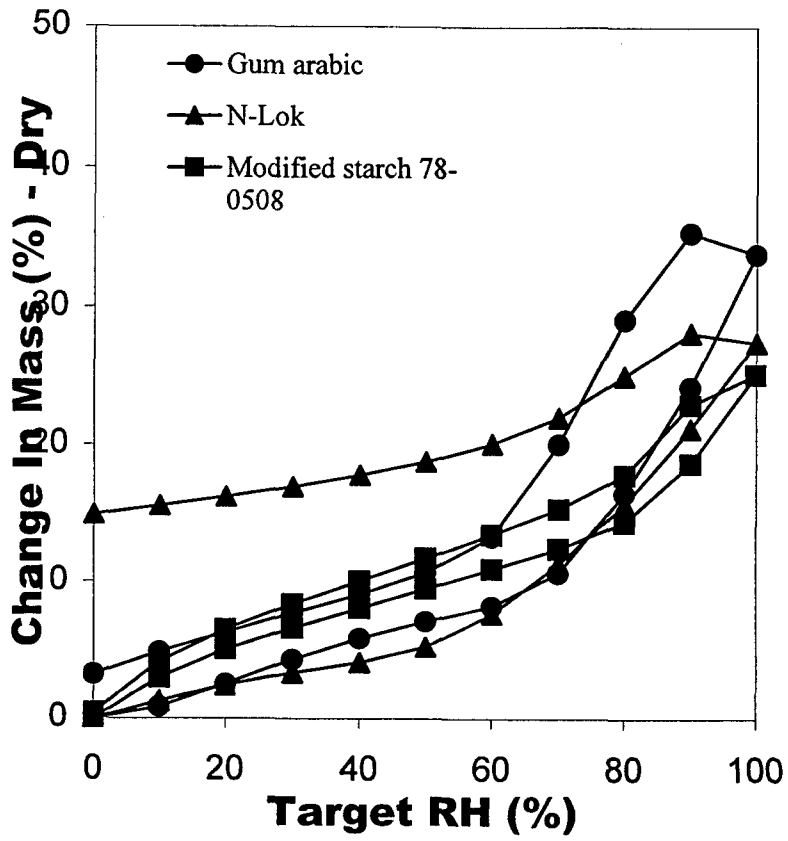


Fig.1-51 Sorption/desorption curve of wall materials

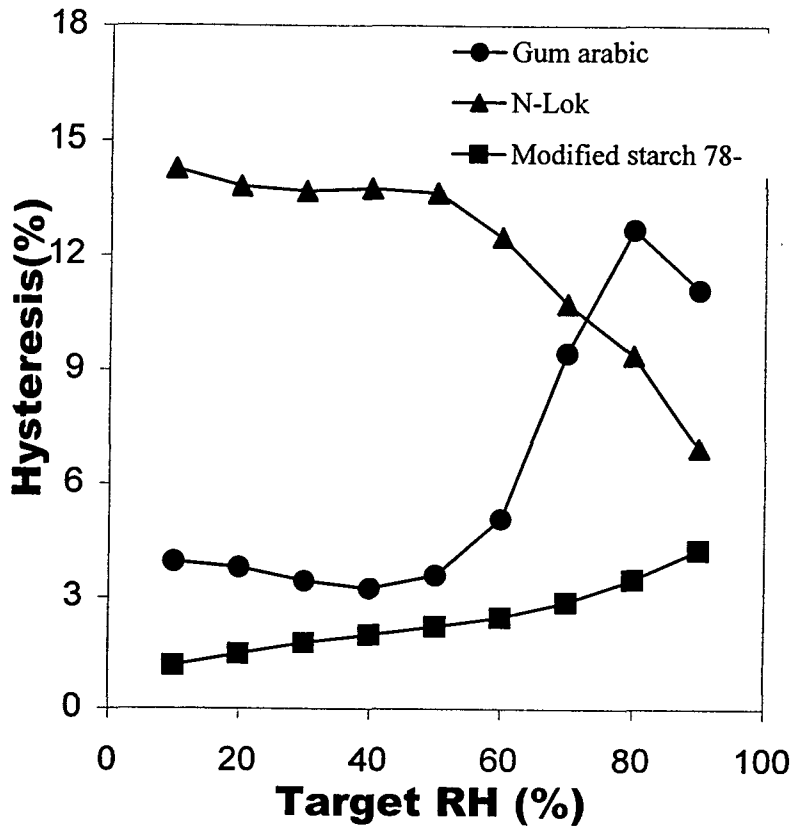


Fig.1-52 Hysteresis of wall materials

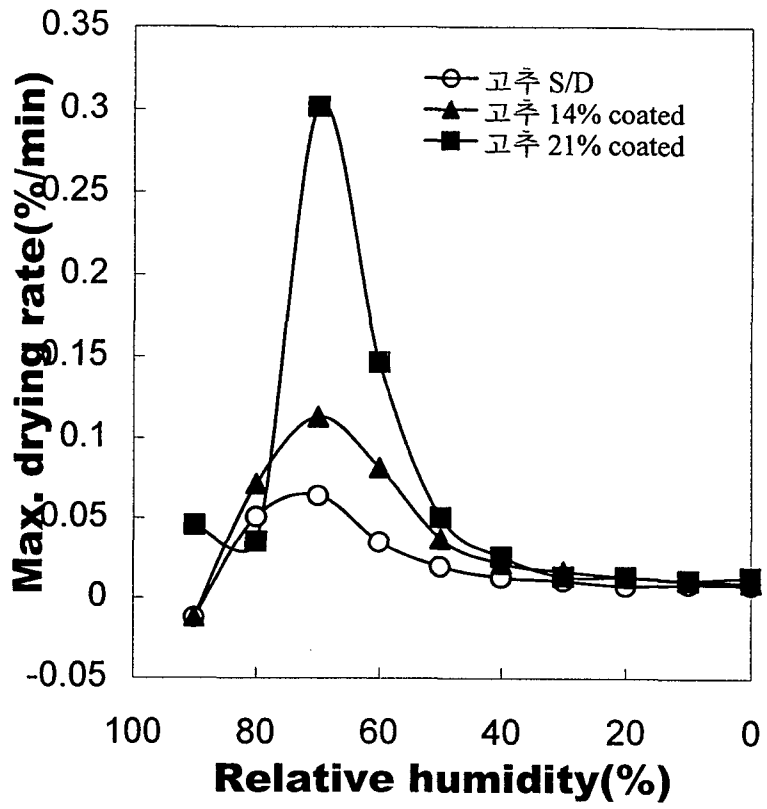


Fig.1-53 Drying rate of red pepper microcapsule and secondary coated

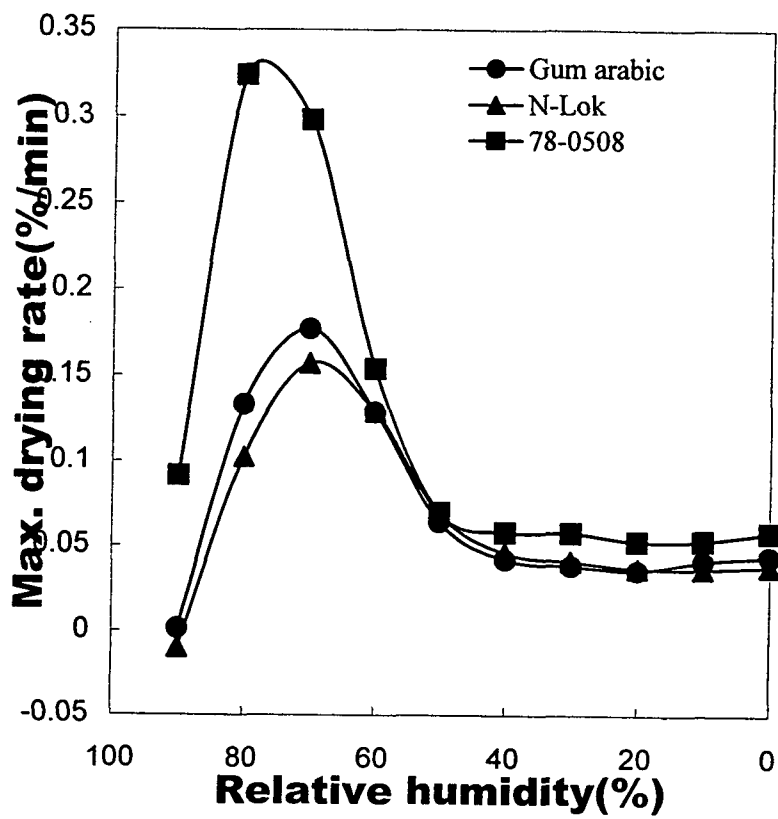


Fig.1-54 Drying rate of wall materials

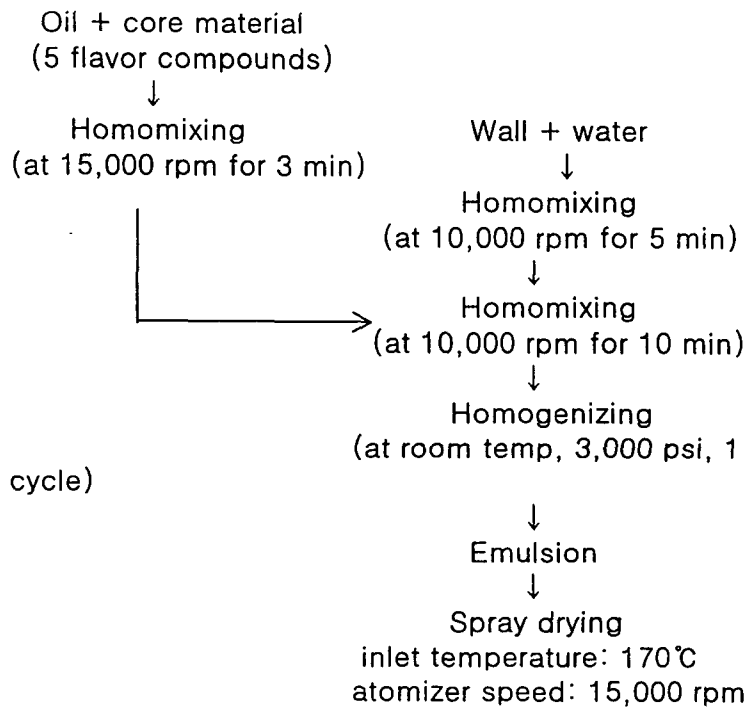


Fig.2-1. Schematic diagram of emulsification and spray drying process of flavor compounds

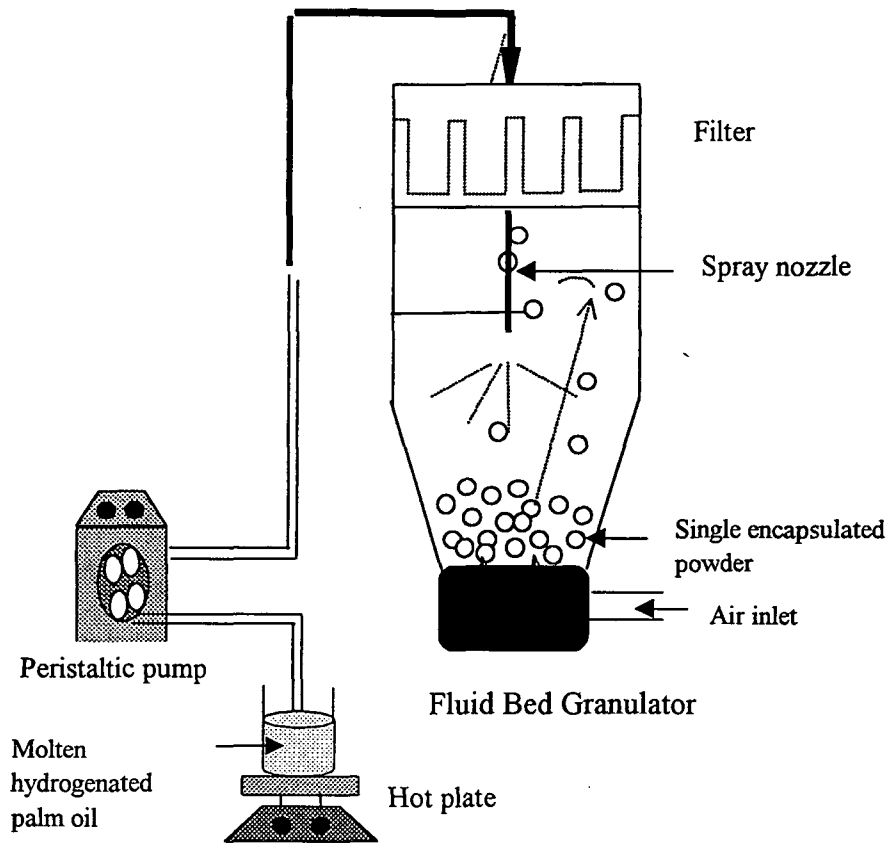


Fig.2-2. Schematic diagram of second fat coating using fluid bed granulator

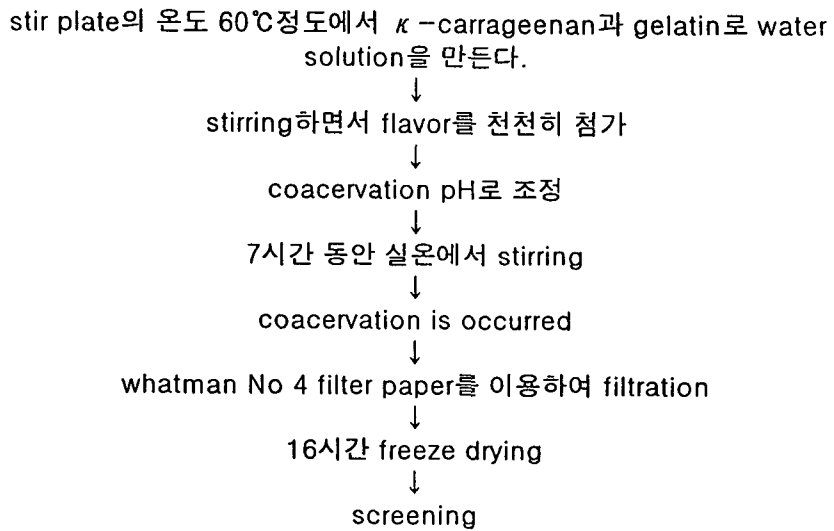


Fig.2-3. The preparation of κ -carrageenan/gelatin and flavor complex by coacervation

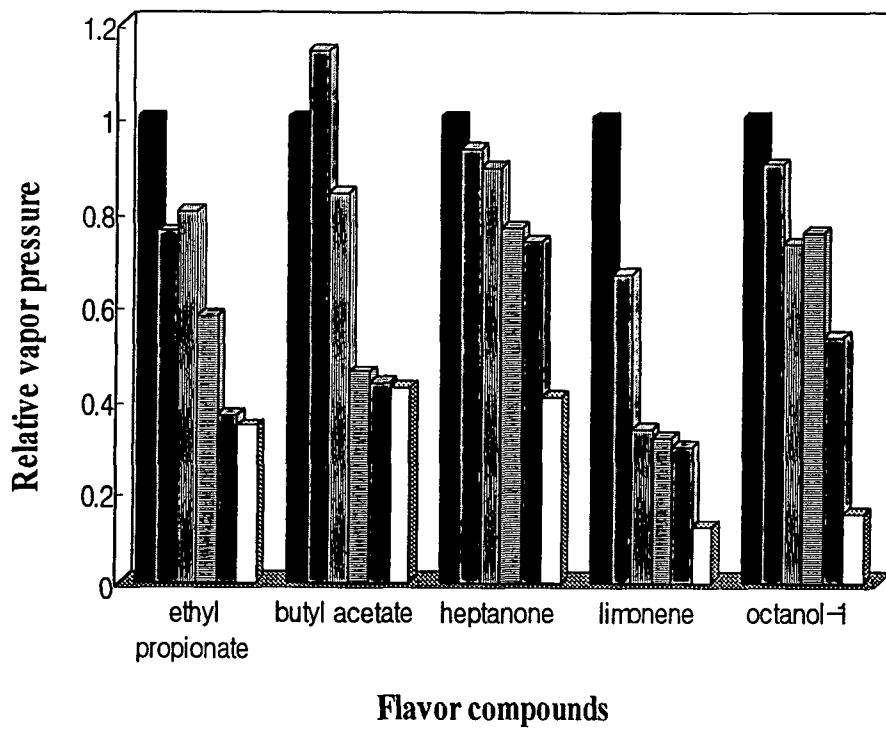


Fig.2-4. Influence of rapeseed oil content on relative vapor pressure of each flavor compound. ■: flavor:rapeseed oil = 1:0, ▨: 1:1, ▩: 1:2, ▪: 1:3, ▫: 1:4, □: 1:5..

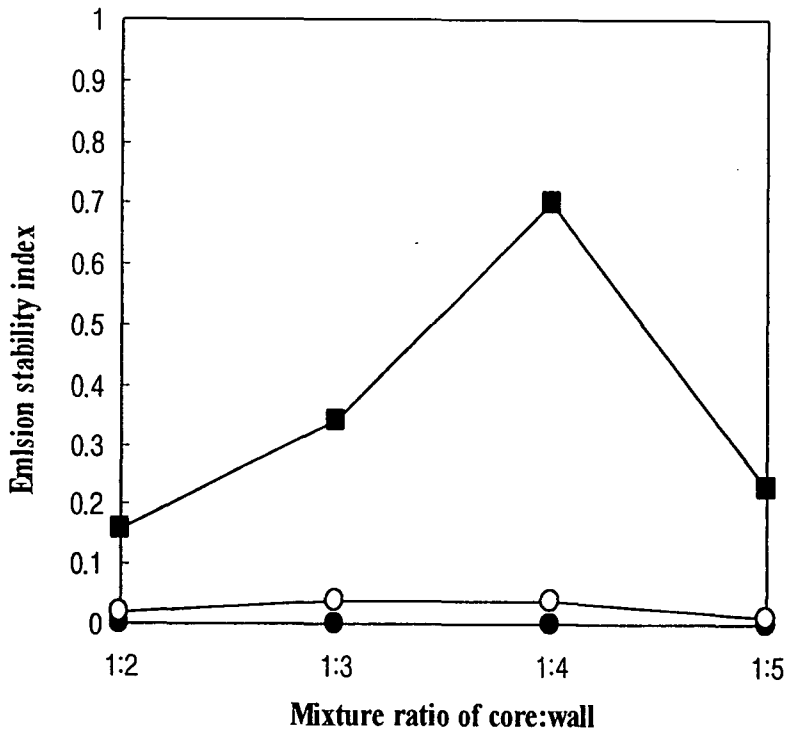


Fig.2-5. Stability of flavor emulsion made with different wall materials. ●—●: maltodextrin, ○—○: modified starch, ■—■: gum arabic.

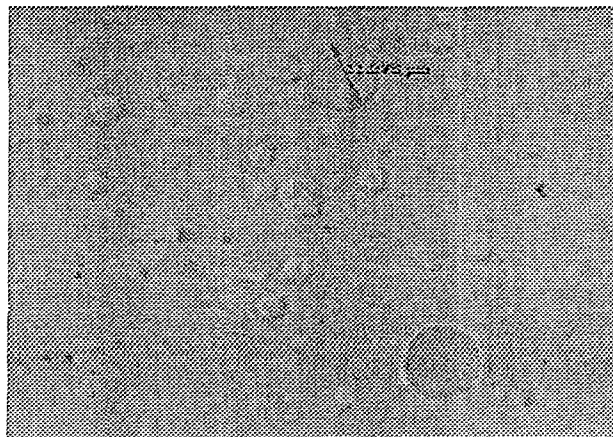
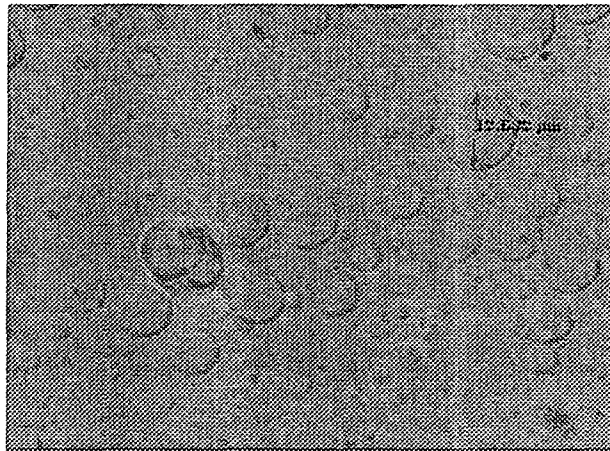
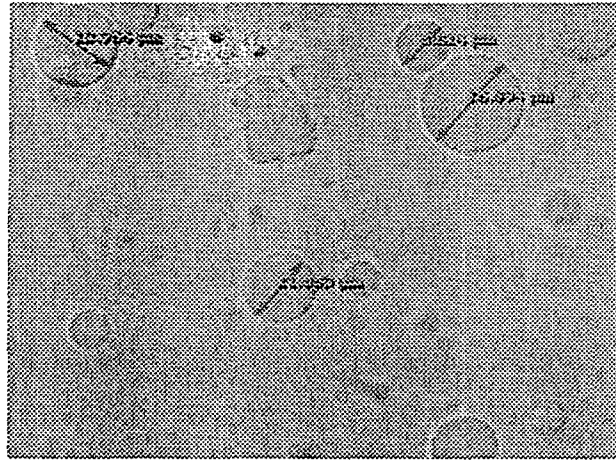


Fig.2-6 Micrographs of emulsion prepared by different core:wall ratio
Top: 1:2, middle: 1:3, bottom:1:4.

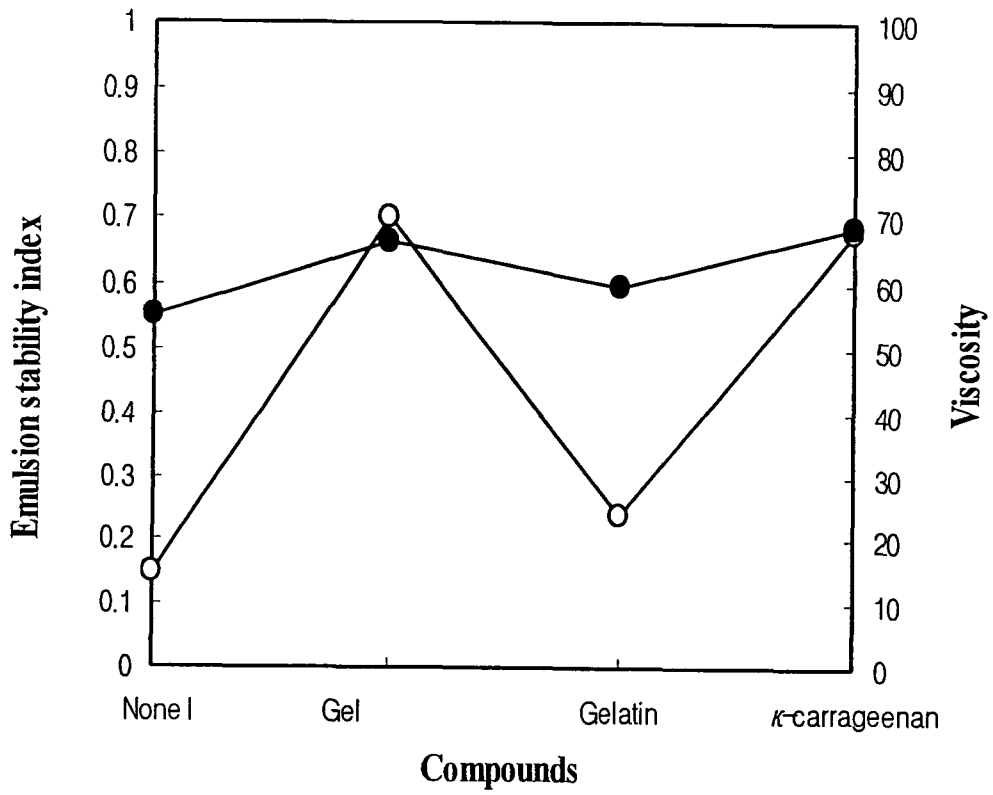


Fig.2-7 Effect of different wall materials added to the mixture of MD:GA:MS on viscosity and emulsion stability. ●—●: emulsion stability index (ESI), ○—○: viscosity.

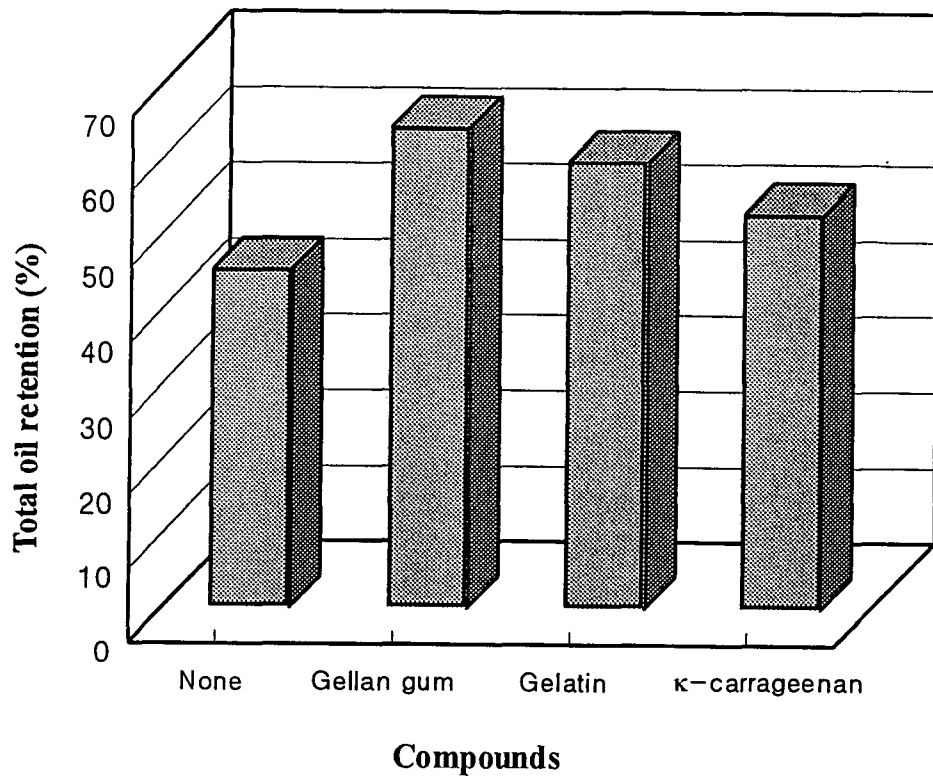


Fig.2-8. Effect of different wall materials added to the mixture of MD:GA:MS on viscosity and emulsion stability. ●—●: emulsion stability index (ESI), ○—○: viscosity.

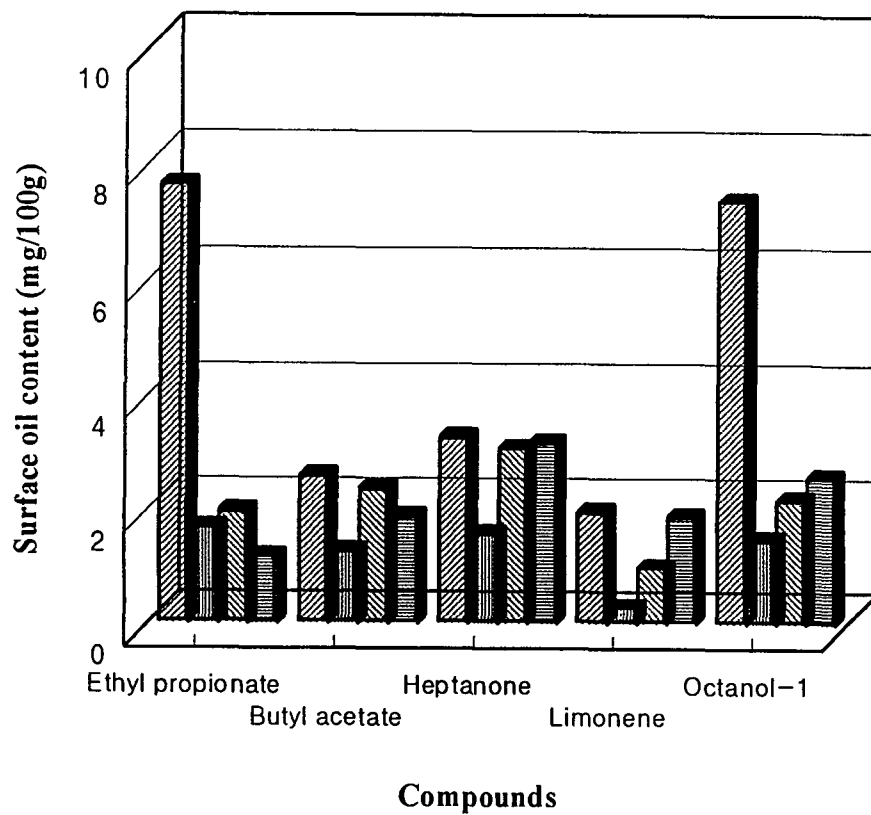


Fig.2-9. Effect of different wall materials added to the mixture of MD:GA:MS on surface oil content. ▨: no addition, ▩: gellan gum, ▤: gelatin, ▥: κ -carrageenan.

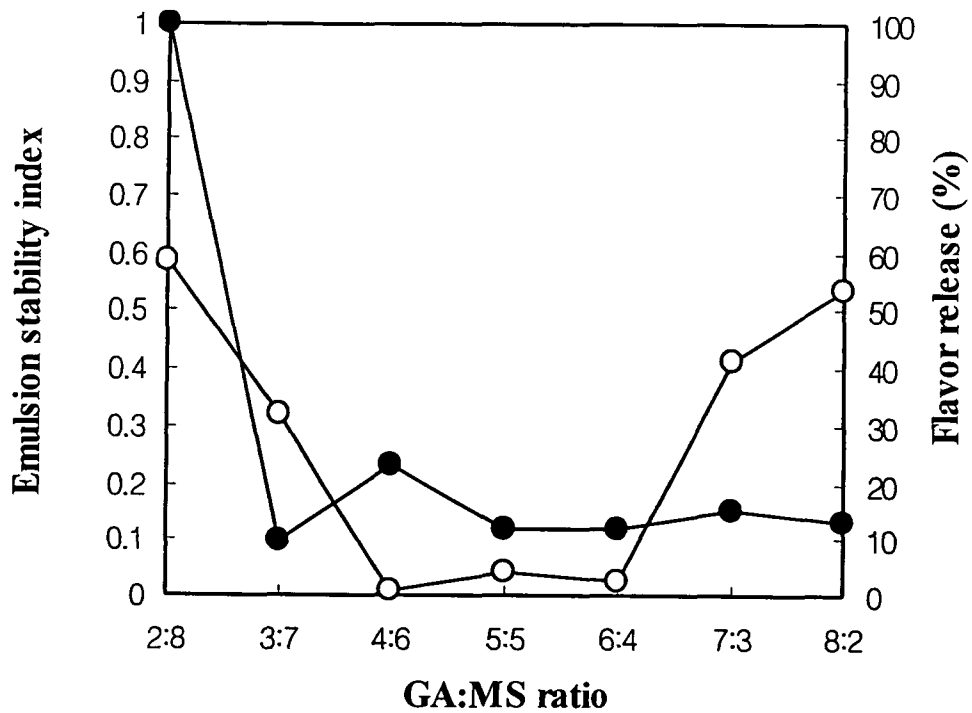


Fig.2-10. Effect of GA to MS ratio in flavor emulsion on emulsion stability and flavor release. ●—●: emulsion stability index (ESI), ○—○: flavor release.

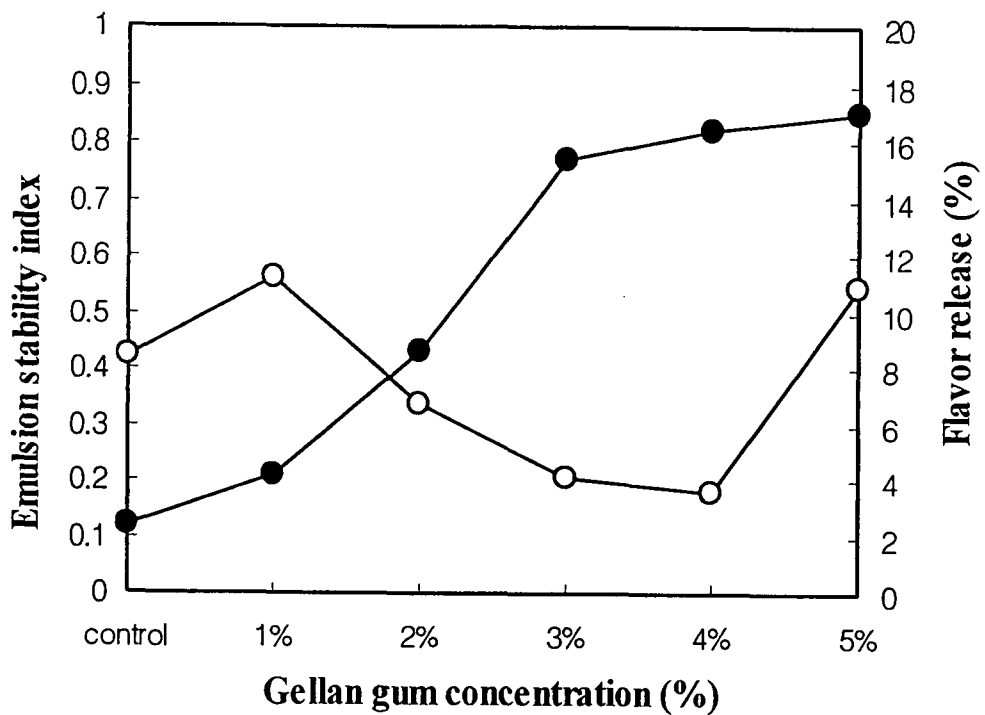


Fig.2-11. Effect of gellan gum concentration on emulsion stability and flavor release in emulsion. ●—●: emulsion stability index (ESI), ○—○: flavor release.

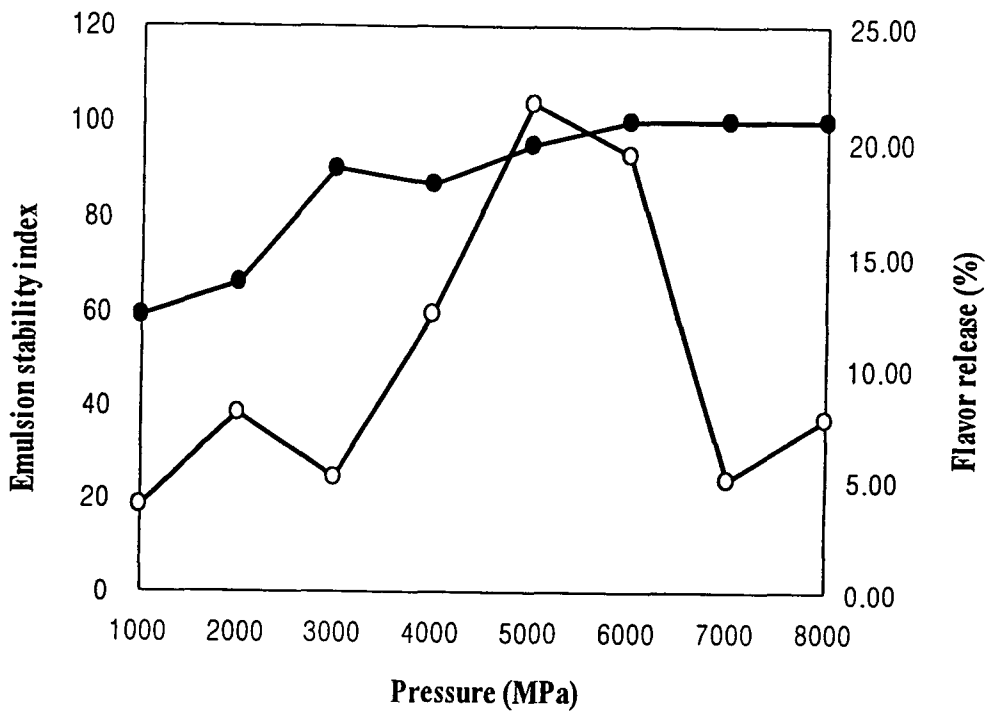


Fig.2-12. The effect of emulsion pressure on emulsion stability and flavor release in emulsion. ●—●: emulsion stability index (ESI), ○—○: Flavor release.

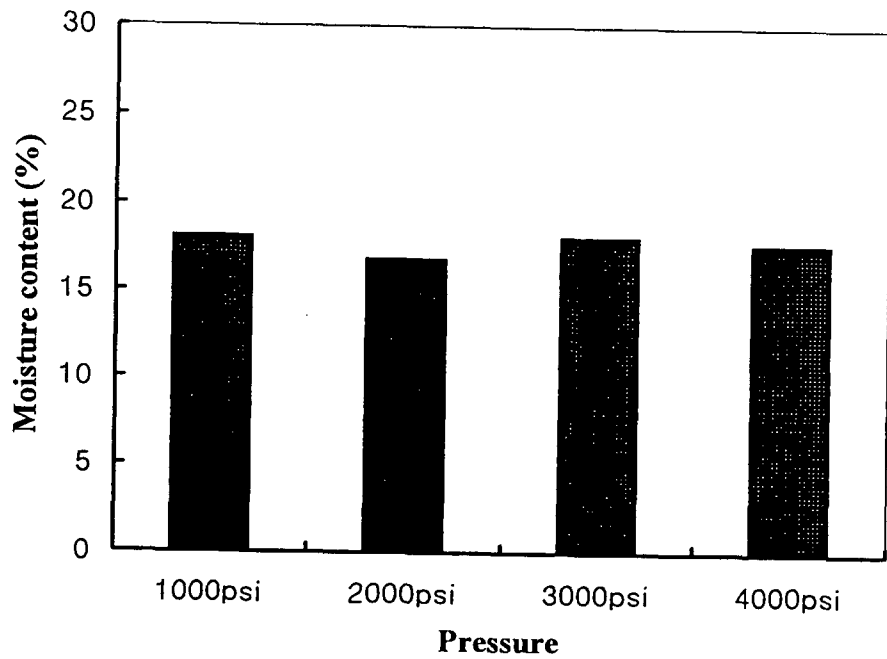


Fig.2-13. The moisture content of spray dried microcapsules prepared at different emulsion pressure..

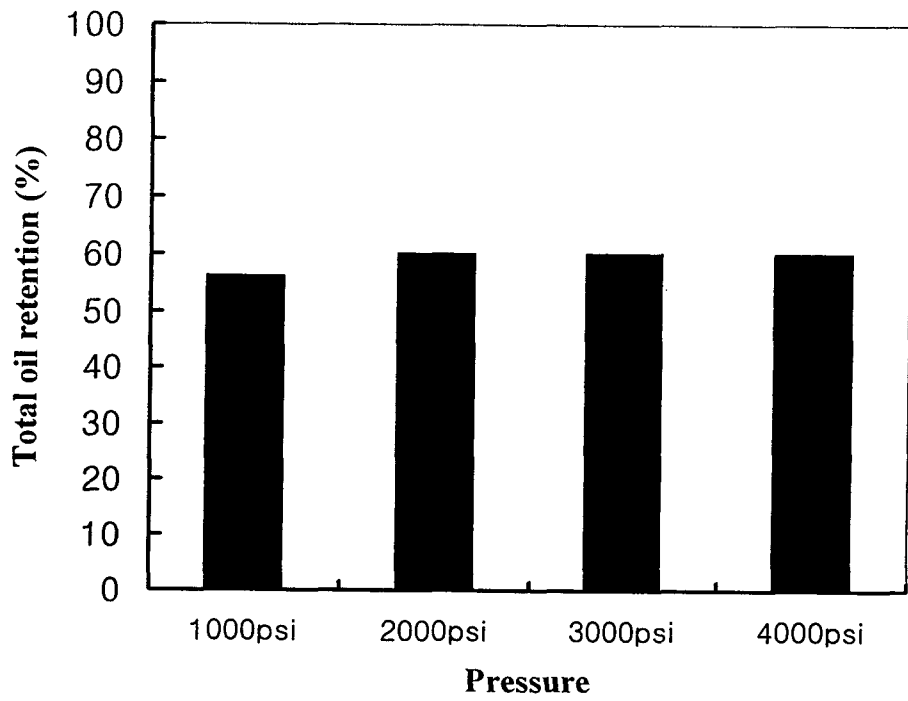


Fig.2-14. Comparison of total oil content at different emulsion pressure

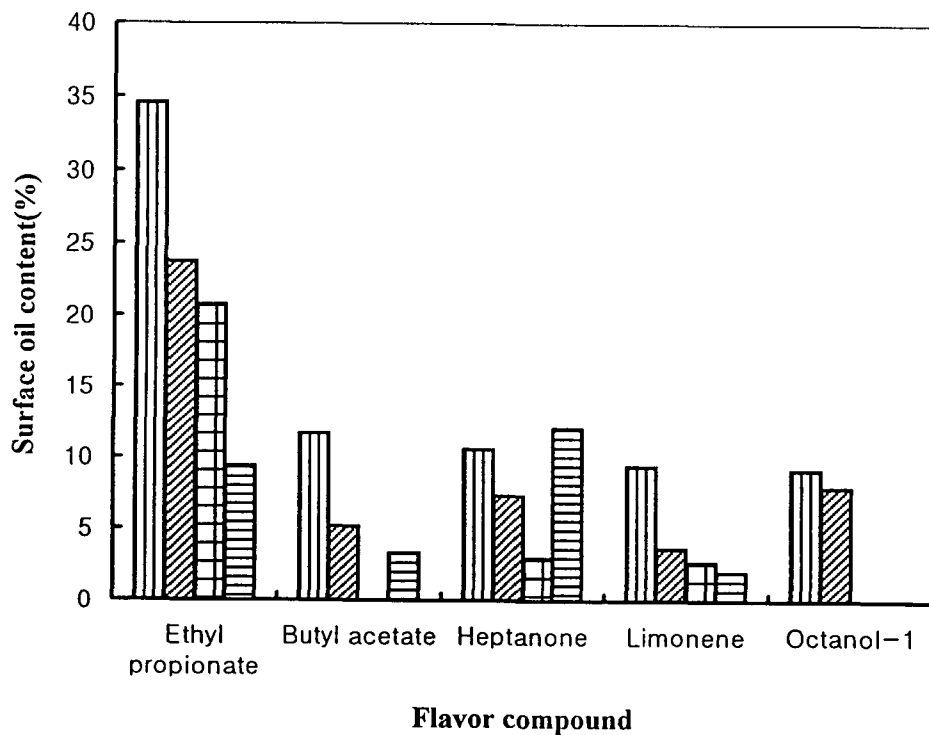


Fig.2-15. Comparison of surface oil content at different emulsion pressure.

▨: 6.9 MPa, ▨: 13.8 MPa, ▨: 20.7 MPa, ▨: 27.6 MPa.

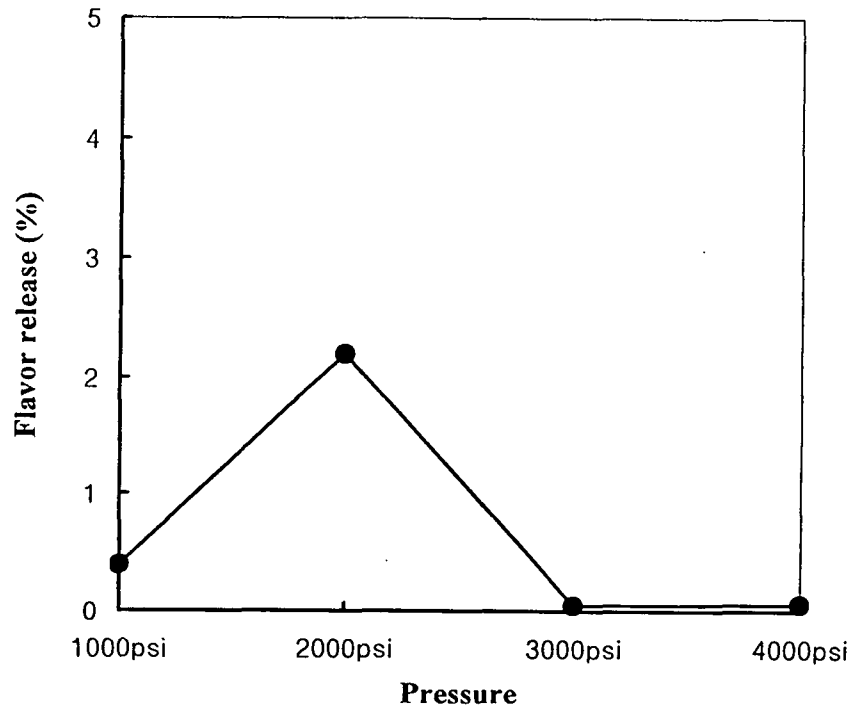


Fig.2-16. Comparison of flavor release at different emulsion pressure.

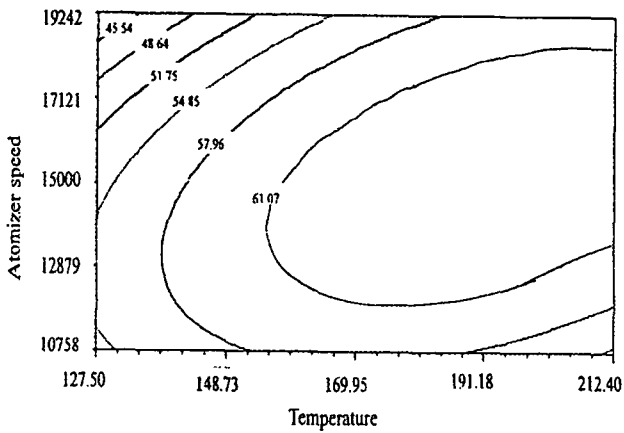
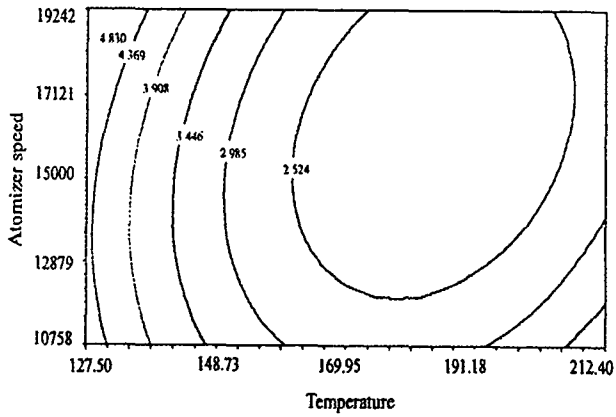
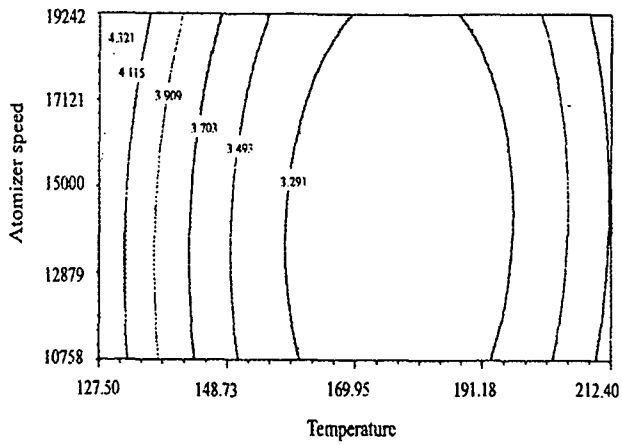


Fig.2-17. Contour plots of surface oil content (top), flavor release (middle), total oil retention (bottom) as related to drying temperature and atomizer speed.

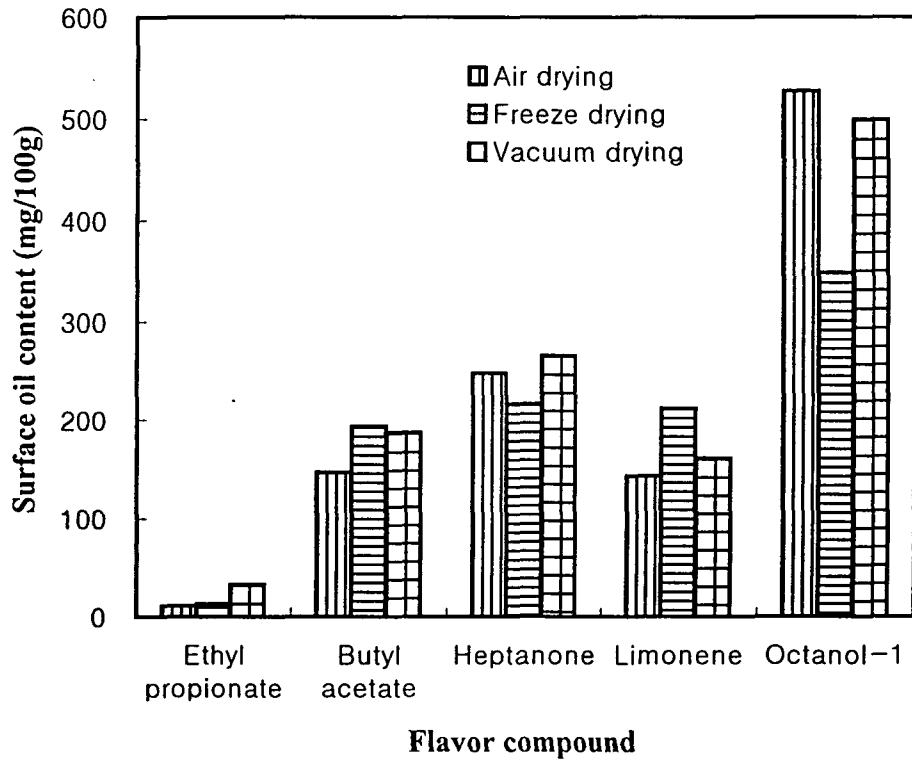


Fig.2-18. The effect of different drying methods on surface oil content

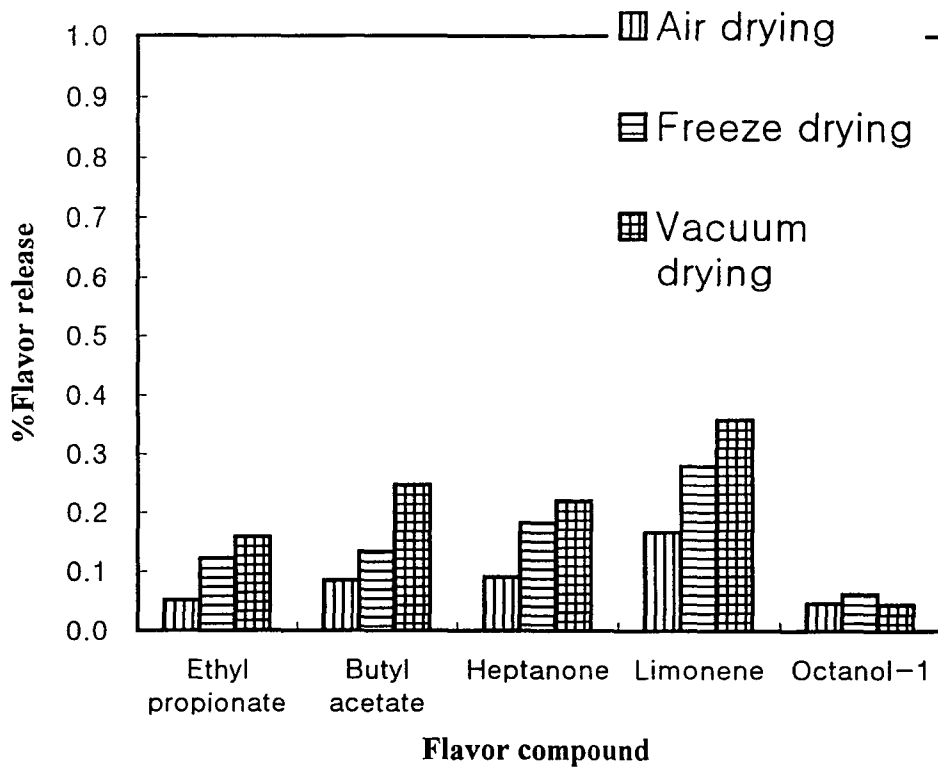


Fig.2-19. The effect of different drying methods on flavor release

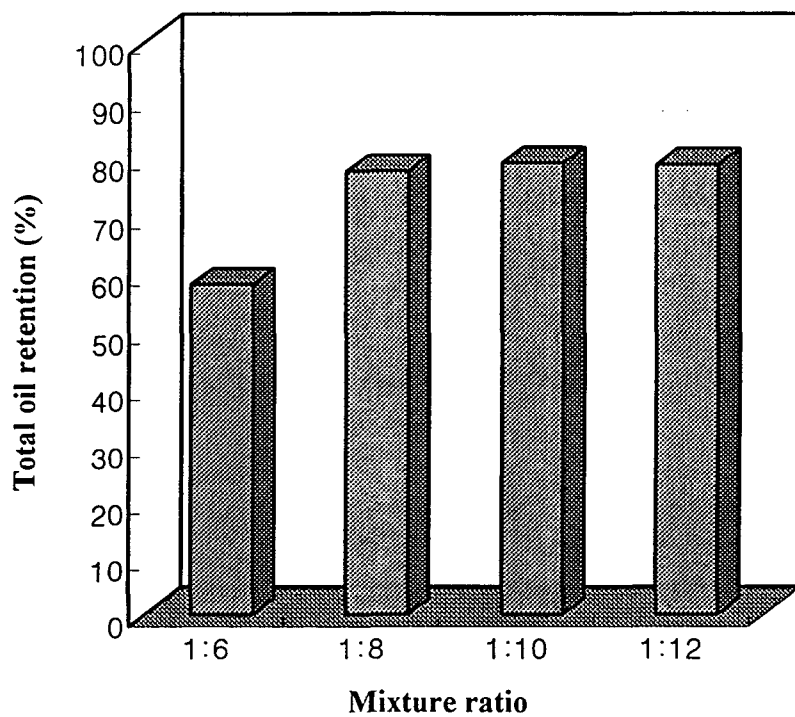


Fig.2-20. Effect of β -CD concentration on total oil retention.

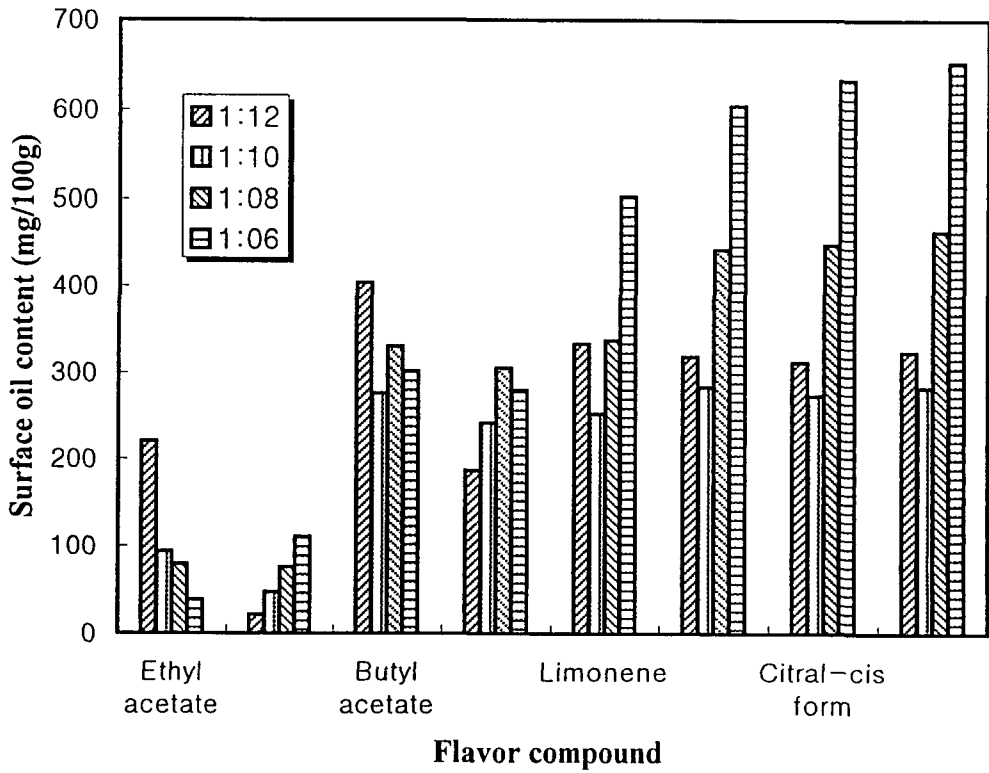


Fig.2-21. Effect of β -CD concentration on surface oil content.

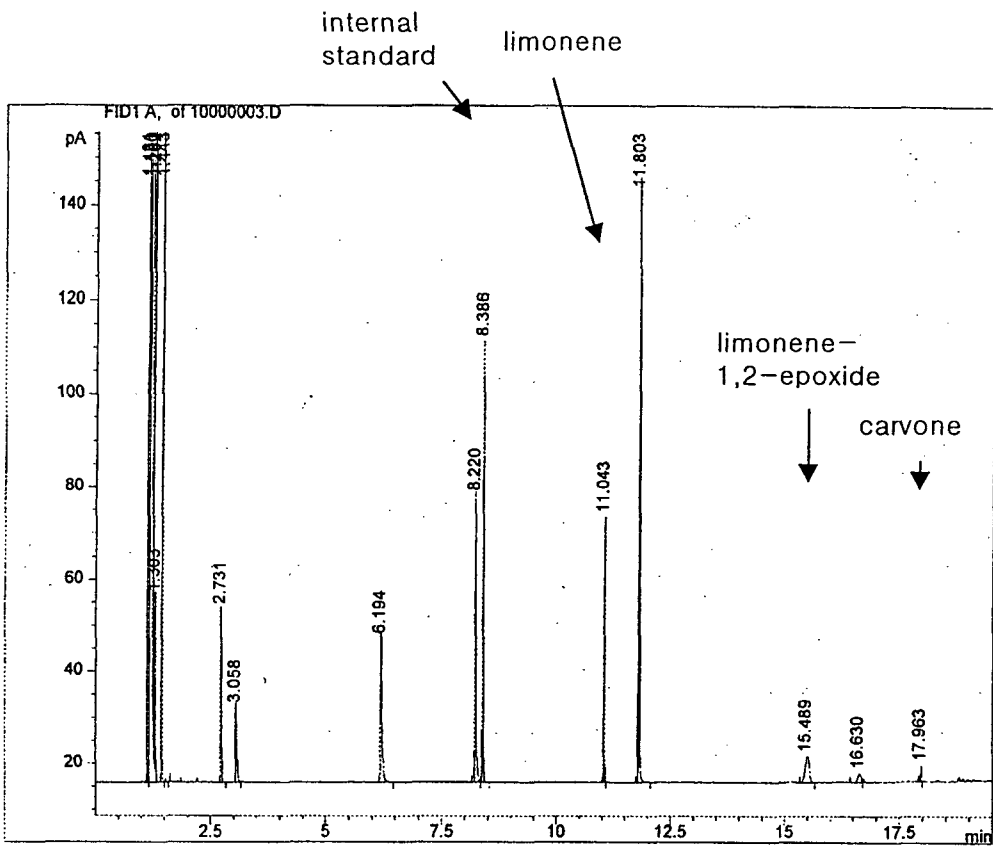


Fig.2-22. Chromatogram of limonene-1,2-epoxide and carvone

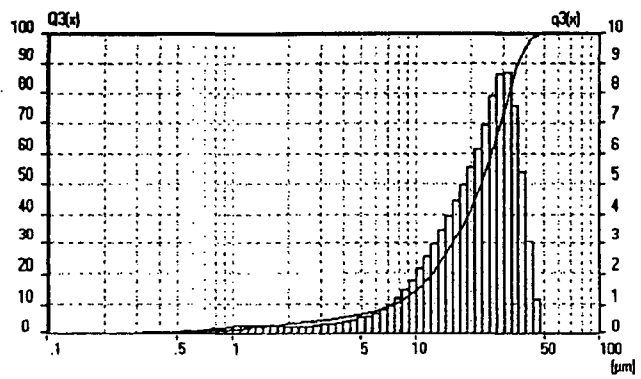
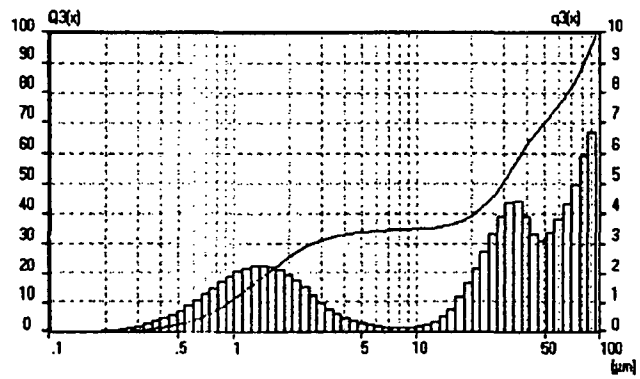
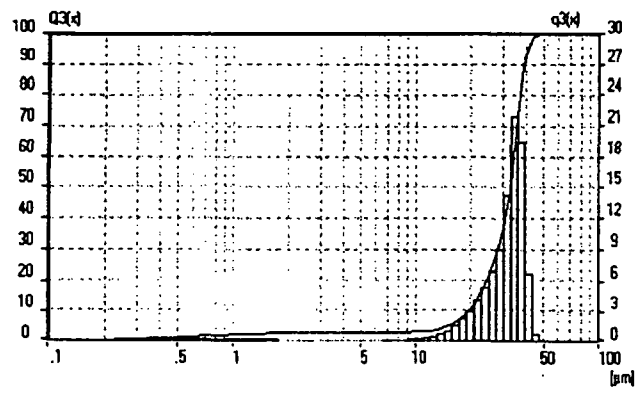


Fig.2-23. Particle size of single encapsulated powder (top), double encapsulated powder (middle), β -CD-flavor complex (bottom).

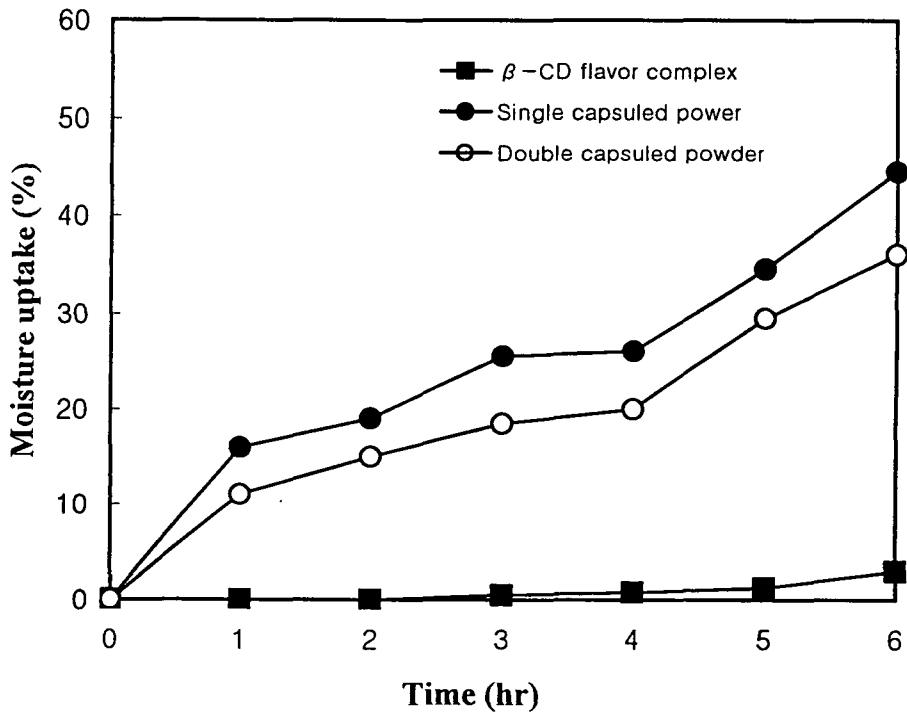


Fig.2-24. Changes of moisture adsorption of differently prepared powders as time changes

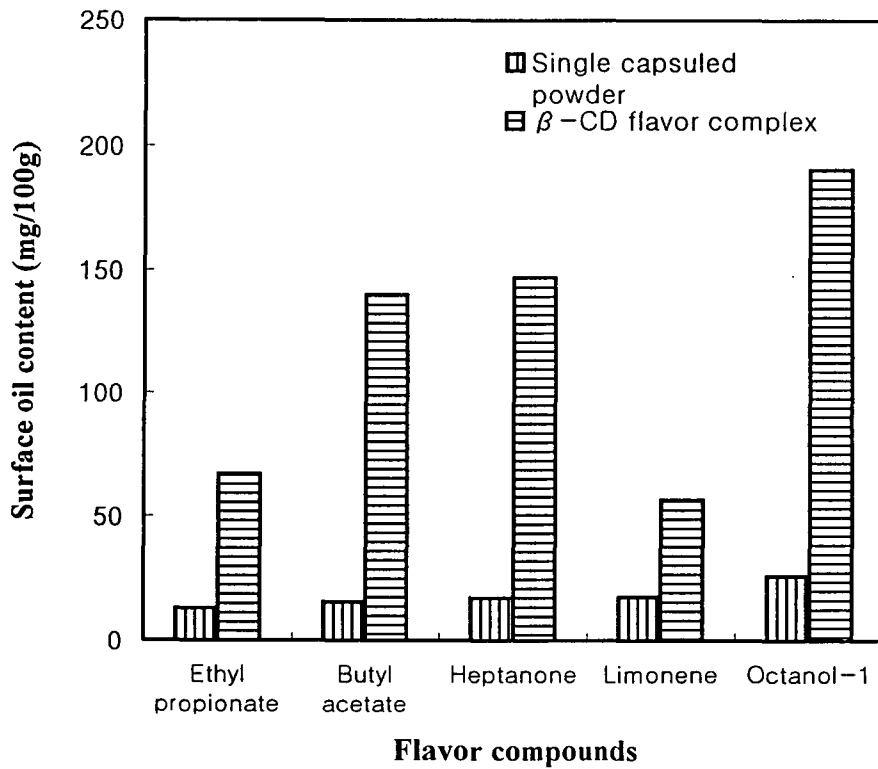


Fig.2-25. Comparison of surface oil content in differently prepared powder

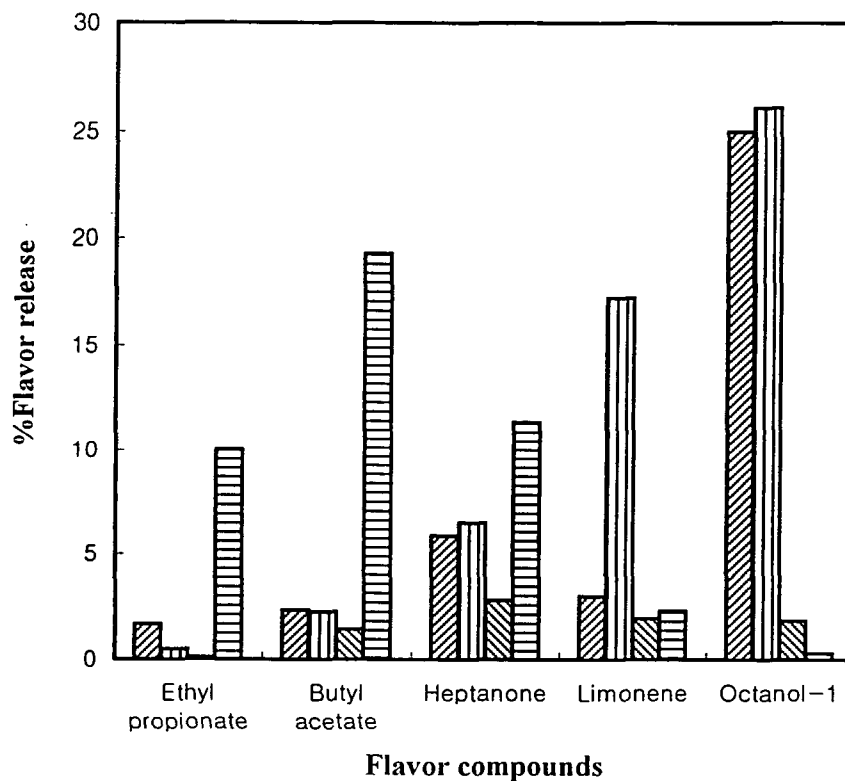


Fig.2-26. Comparison of flavor release from differently prepared powders. : single capsuled powder without surface oil, : single capsuled powder with surface oil, : β -CD-flavor complex without surface oil, : β -CD-flavor complex with surface oil.

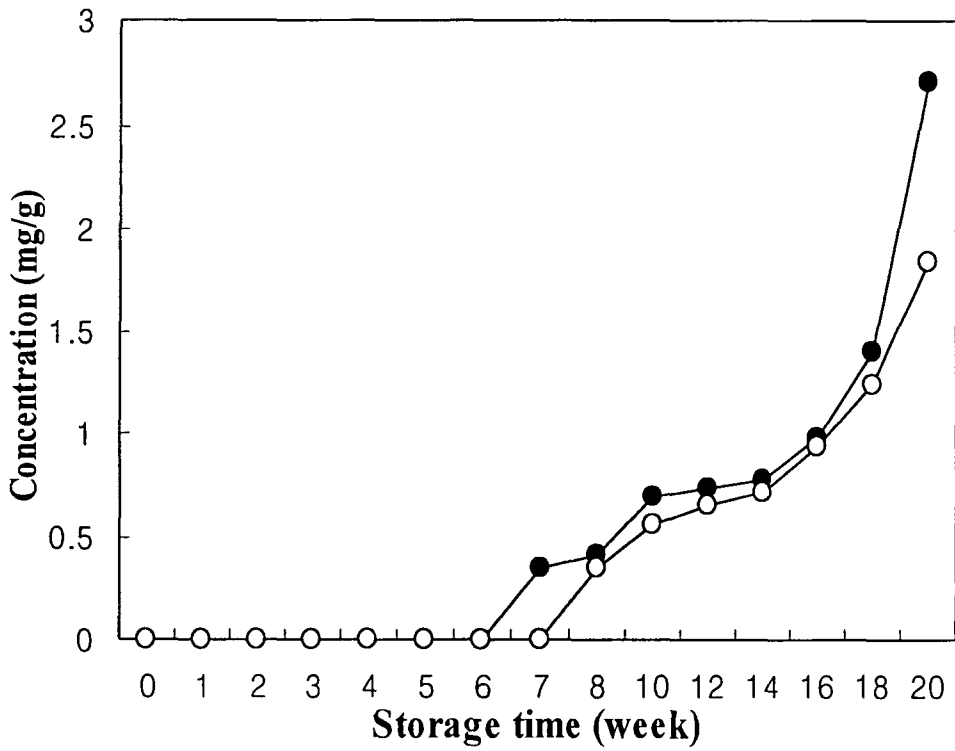


Fig.2-27. Concentraion of limonene 1,2-epoxide formed in single- and double-encapsulated powder as a function of time of storage at 37°C.

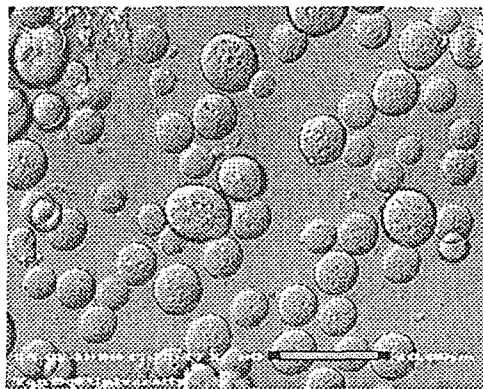
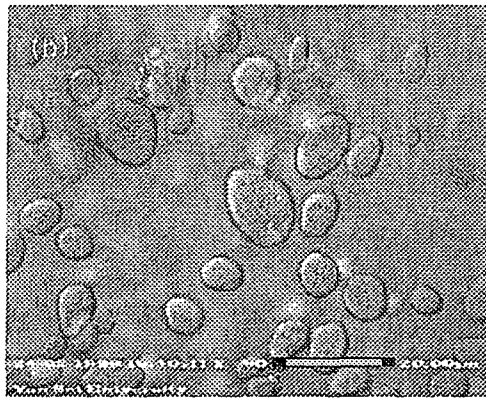
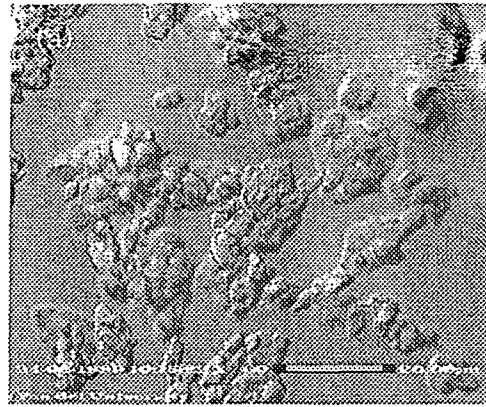


Fig.2-28. Photographs of the κ -carrageenan/gelatin coacervates droplets after (top) adjusting pH, and then (middle) 30 min, and (bottom) 7 hrs.

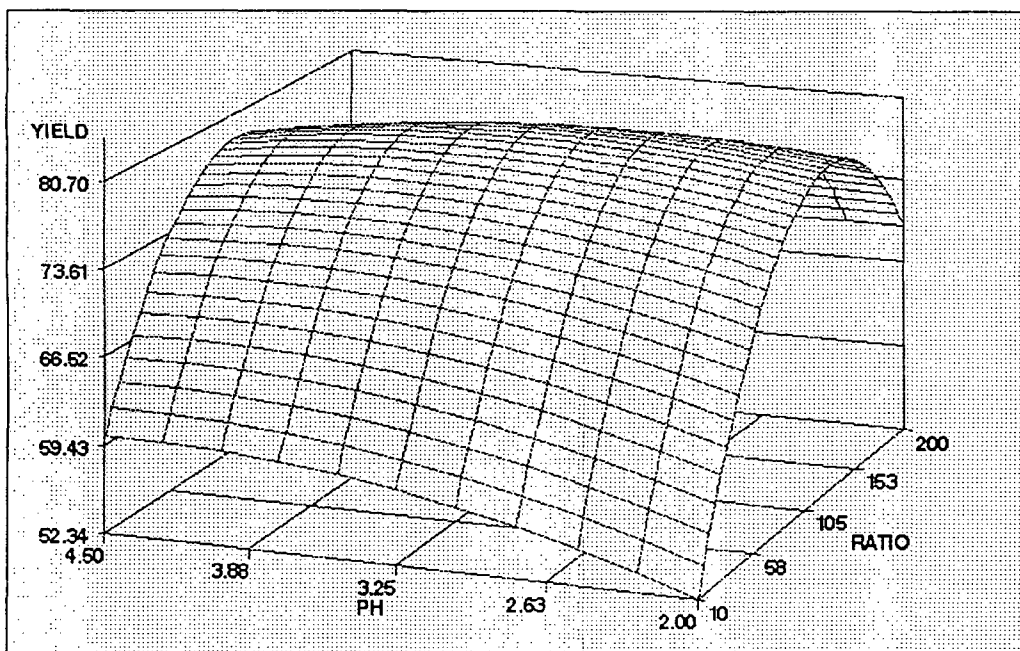


Fig.2-29. Response surface curve of dry coacervate yield as related to pH and κ -carrageenan/gelatin ratio

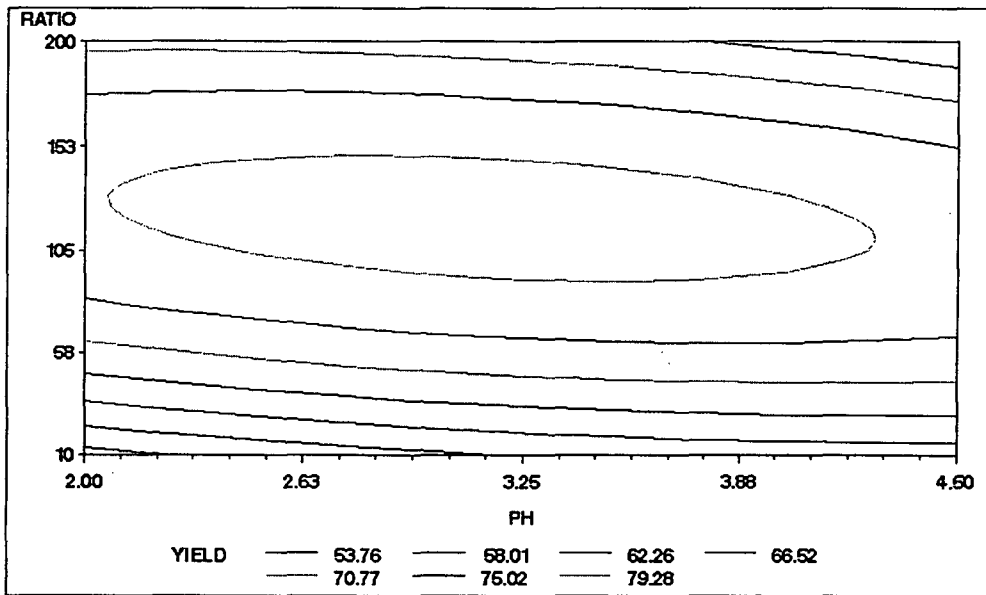
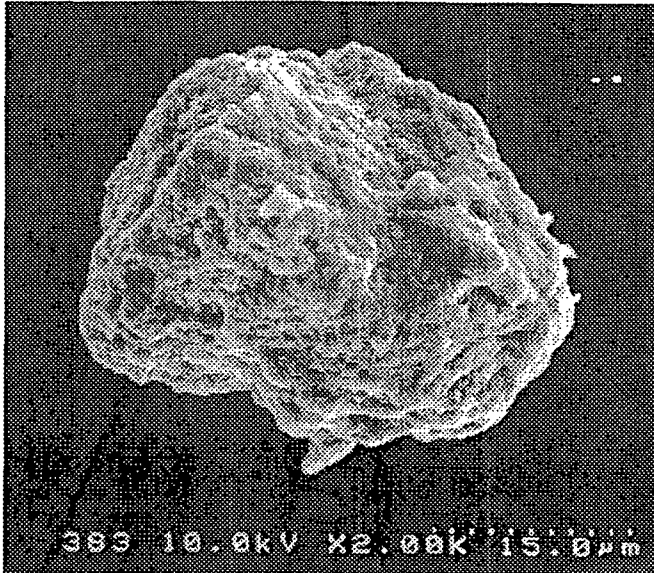
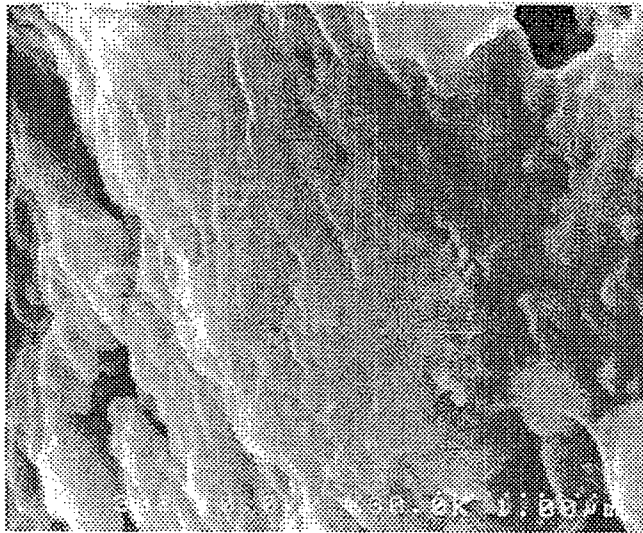


Fig.2-30. Contour plots of dry coacervate yield as related to pH and κ -carrageenan/gelatin ratio

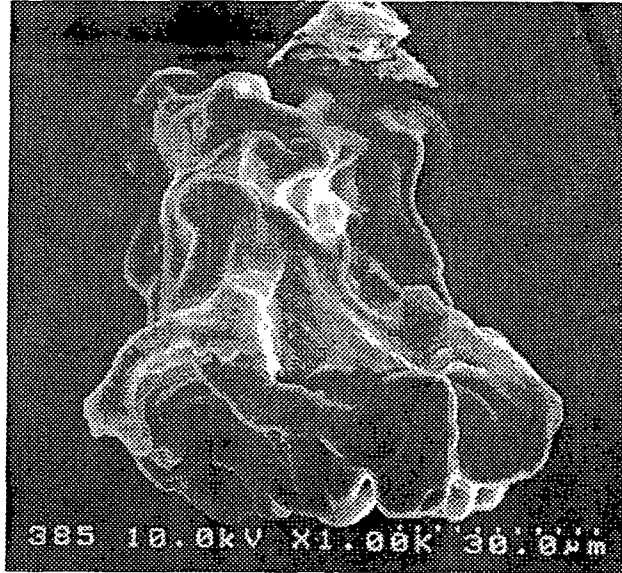


(a)

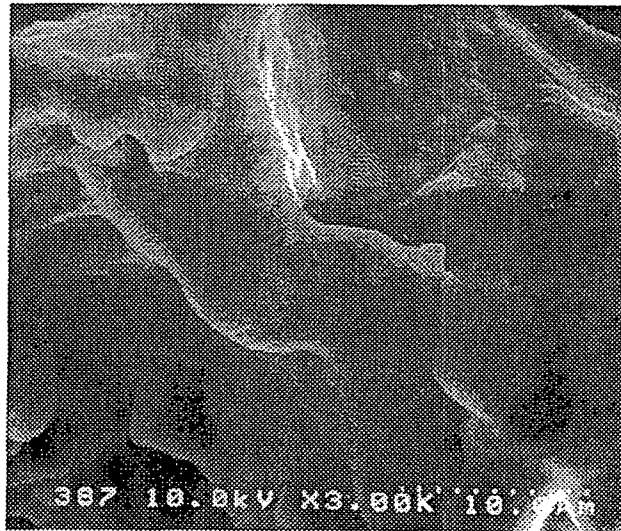


(b)

Fig.2-31. Microphotography of coacervate prepared without core material observed by scanning electron microscope (a) at 2,000 \times , (b) the surface of coacervate at 30,000 \times



(a)



(b)

Fig.2-32. Microphotography of coacervate prepared with core material observed by scanning electron microscope (a) at 1,000 \times , (b) the surface of coacervate at 3,000 \times

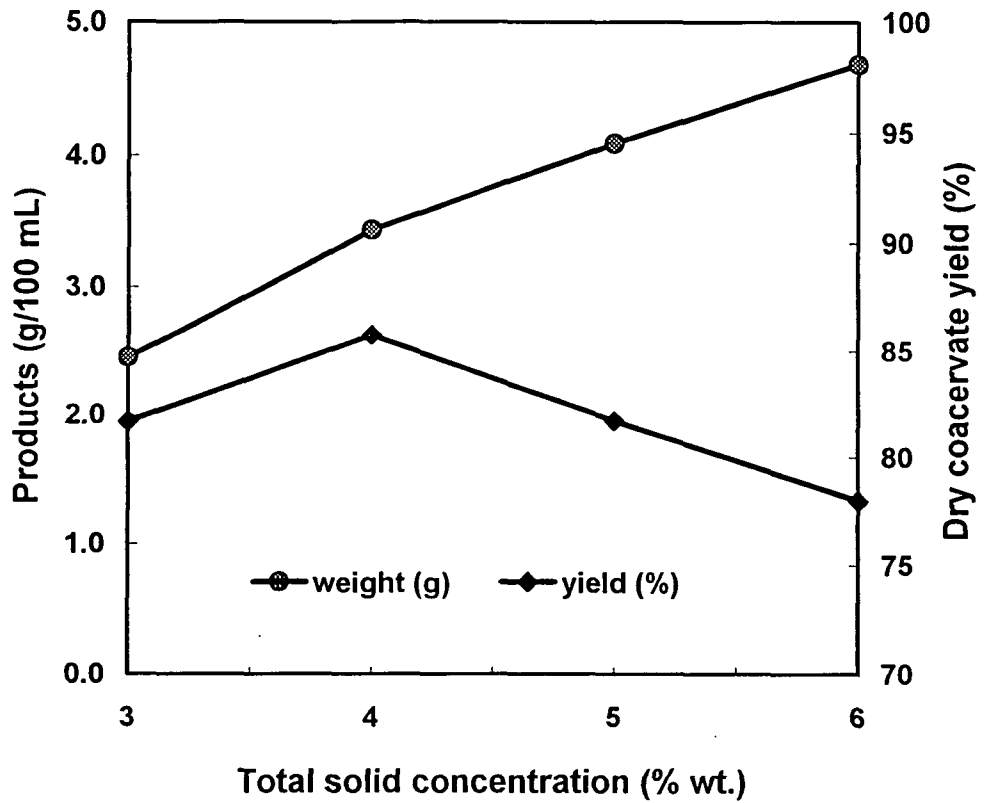


Fig.2-33. Changes in dry coacervate yield according to various total solid concentration

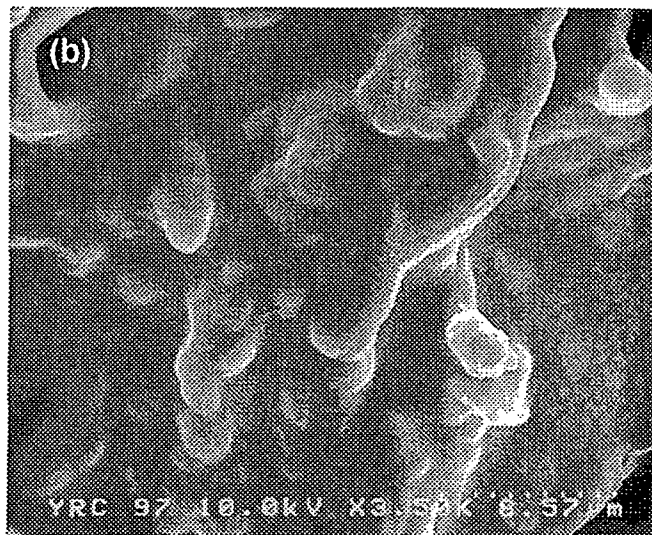
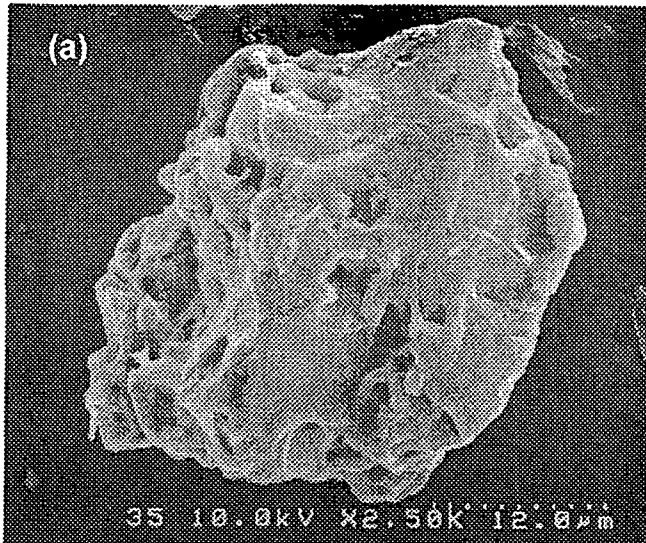


Fig.2-34. Microphotography of optimized capsule observed by scanning electron microscope (a) at 2,500 \times (b) the surface of coacervate at 3,500 \times

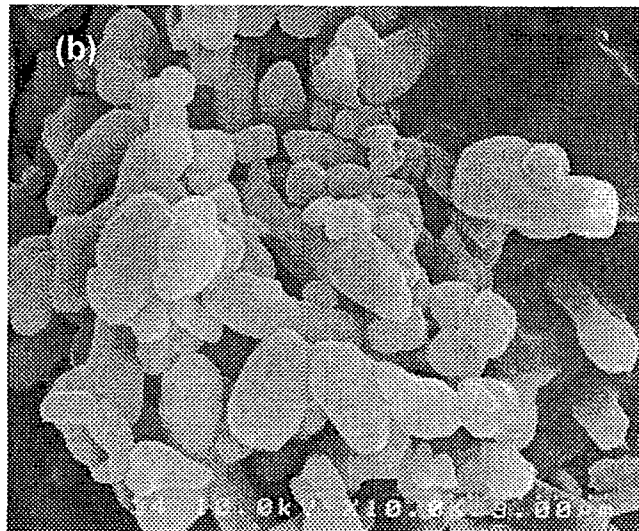
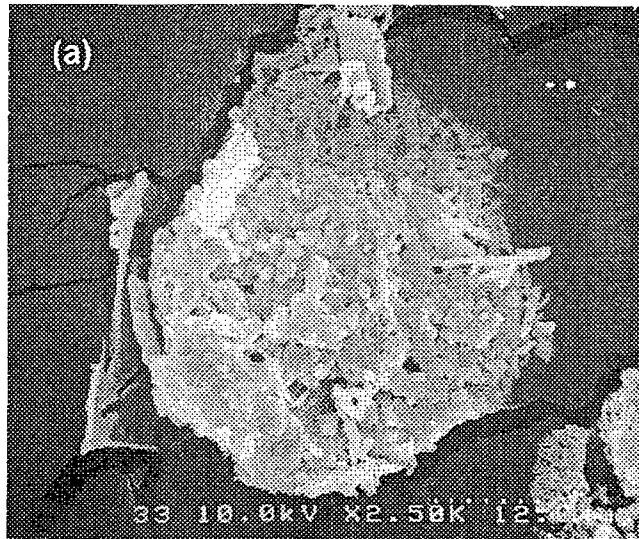


Fig.2-35. Microphotography of capsule prepared by atomizer observed by scanning electron microscope (a) at 2,500 \times , (b) the surface of coacervate at 10,000 \times

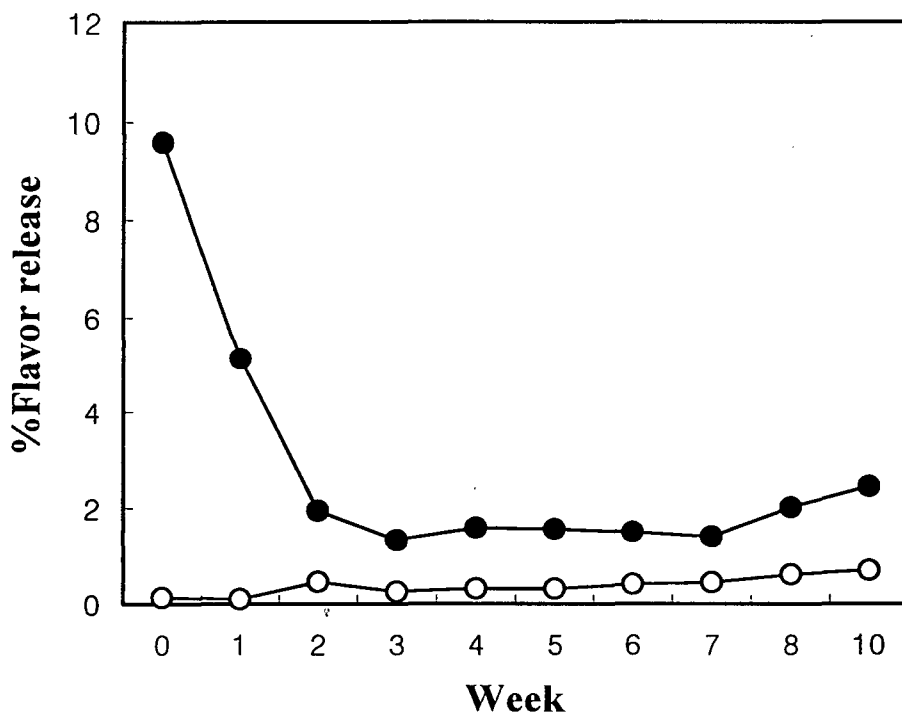


Fig.2-36. Flavor release from single-encapsulated powder and β CD-flavor complex during storage at 37°C. ●: single-encapsulated powder, ○: β CD-flavor complex

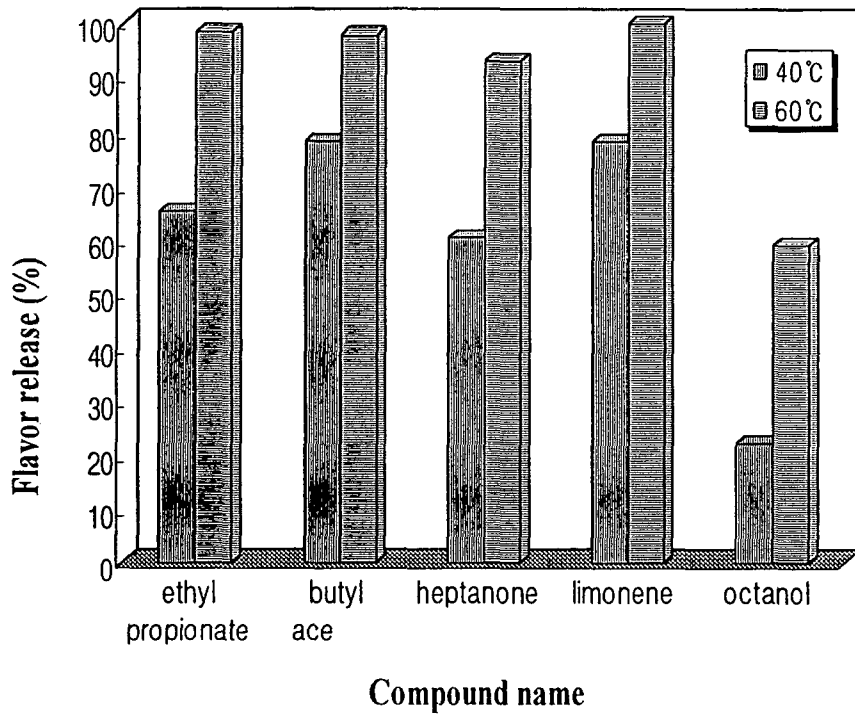


Fig.2-37. Flavor release from double encapsulated powder incubated at 40°C and 60°C respectively.

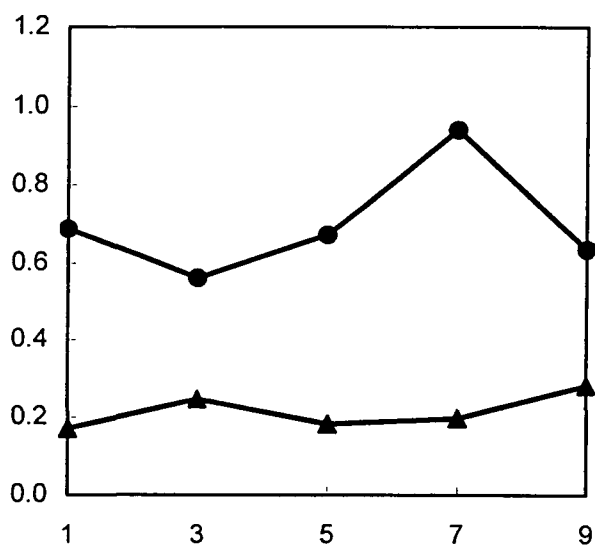


Fig.2-38. Comparison of flavor release at various pH. ●: capsuled powder prepared without adding the hardening agents, ▲: capsuled powder with adding the hardening agents using the atomizer.

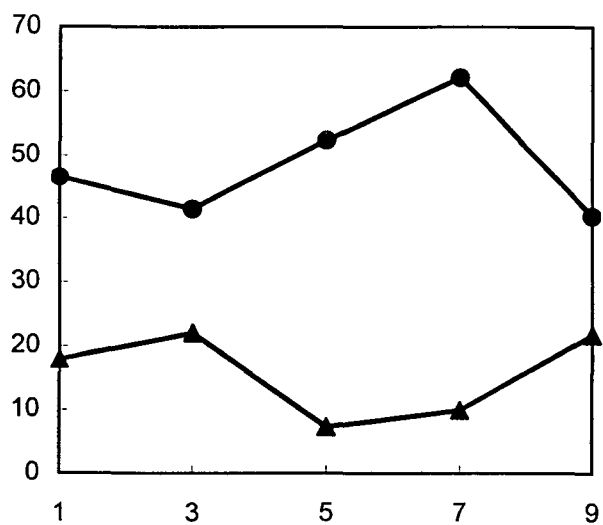
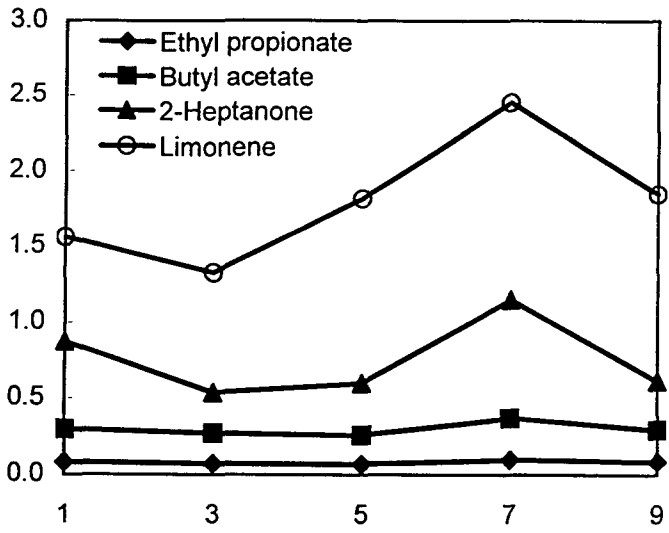
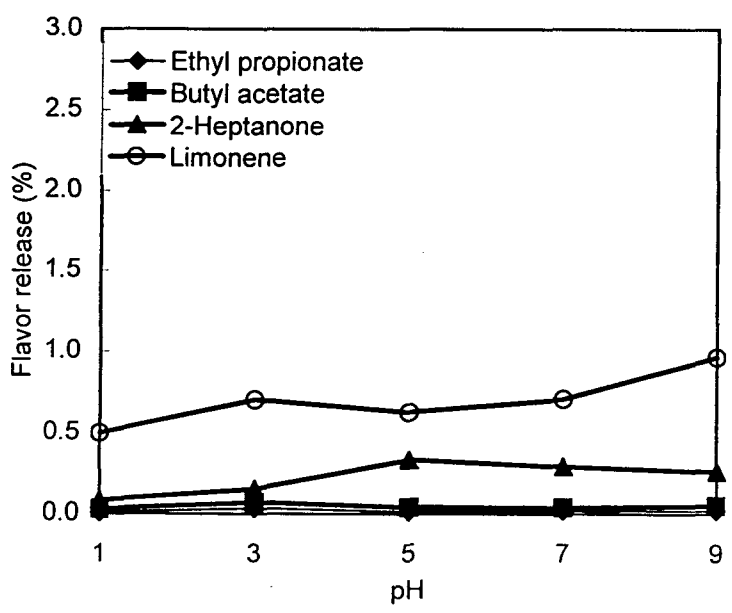


Fig.2-39. Release of octanol-1 at various pH. ●: capsuled powder prepared without adding the hardening agents, ▲: capsuled powder with adding the hardening agents using the atomizer.



(a)



(b)

Fig.2-40. Comparison of flavor release at various pH. (a) capsuled powder prepared without adding the hardening agents, (b) capsuled powder with adding the hardening agents using the atomizer.

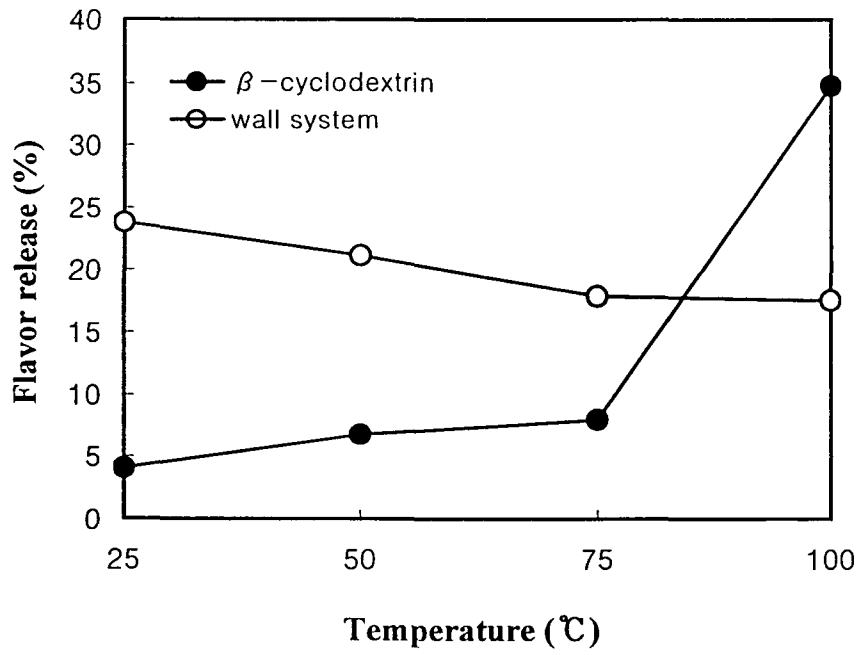


Fig.2-41. Flavor release from flavor encapsulated powder dissolved at various temperature.

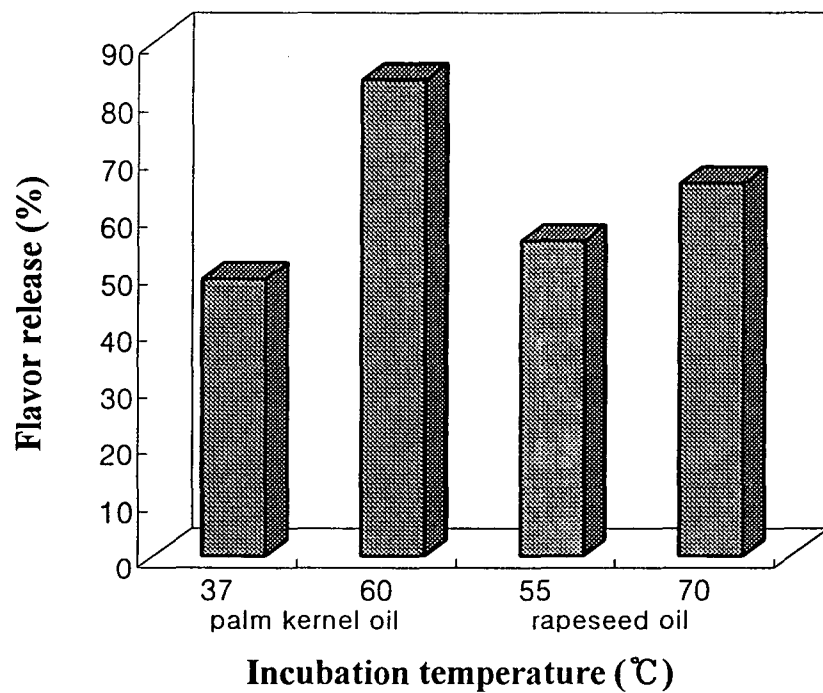


Fig.2-42. Flavor release from double encapsulated powder incubated at various temperature.

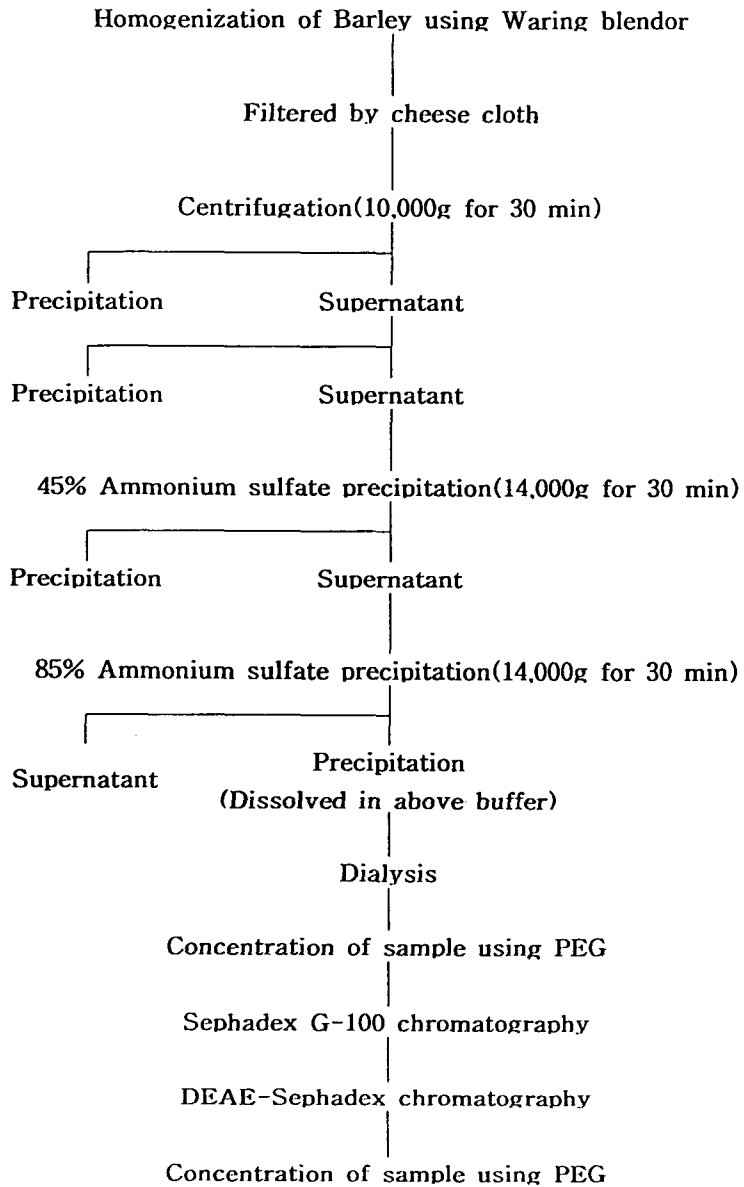


Fig.3-1 Purification step of superoxide dismutase from barley.

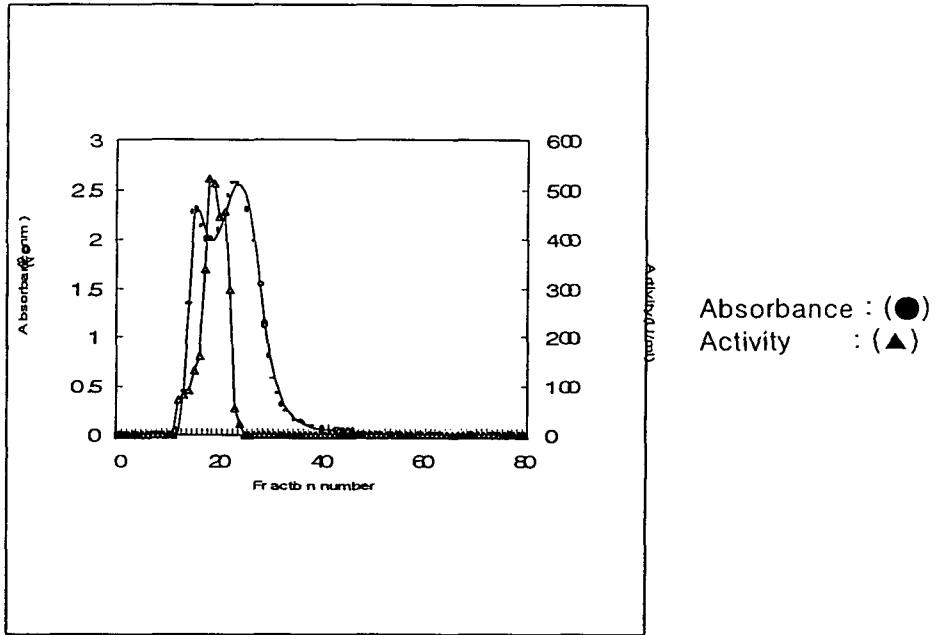


Fig.3-2 Sephadex G-100 chromatogram

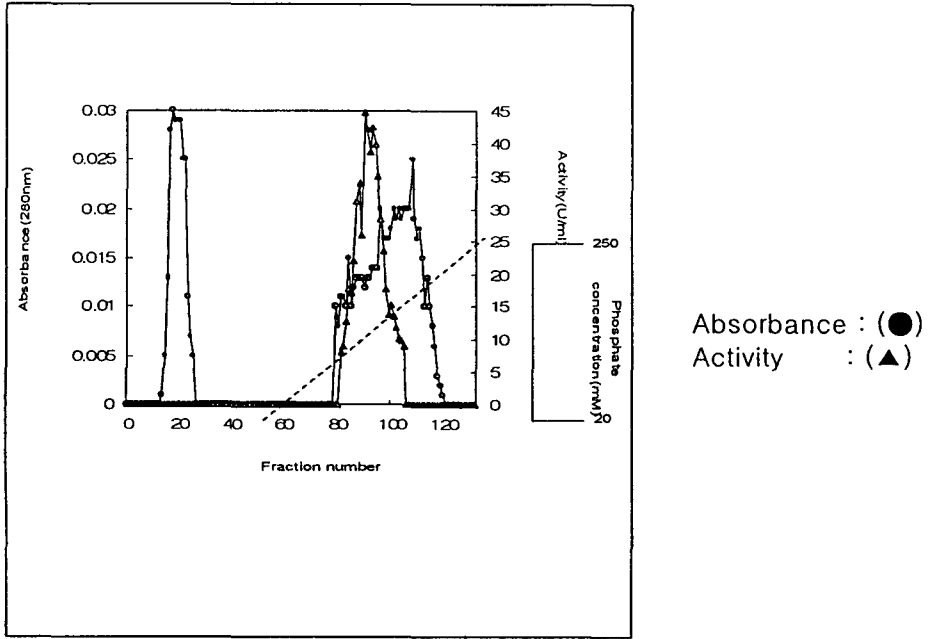
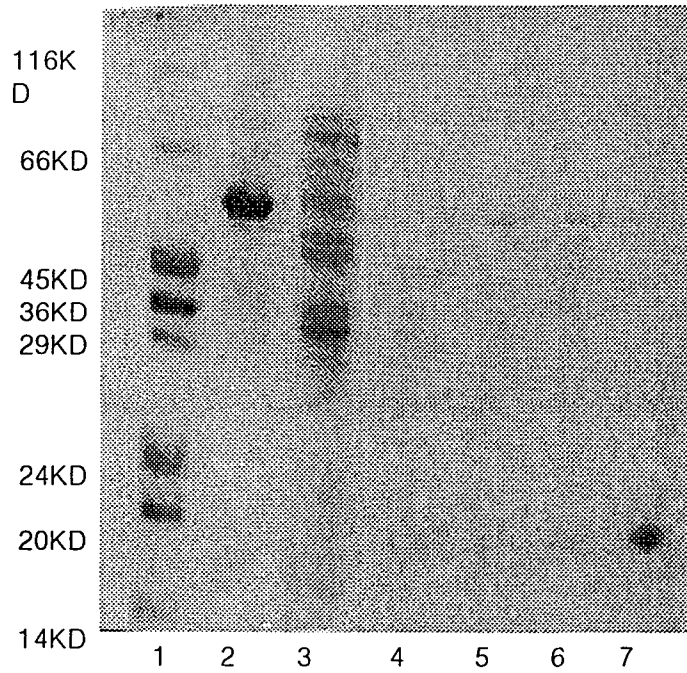


Fig.3-3 DEAE-sephadex chromatogram



1. Molecular weight marker
2. Crude extract
3. Ammonium sulfate precipitate(45-85%)
4. Concentration of SOD using PEG 20000
5. Sephadex G-100 chromatography
6. DEAE-Sephadex chrmatography
7. Concentration of SOD using PEG 20000

Fig.3-4 SDS-PAGE of superoxide dismutase during purification

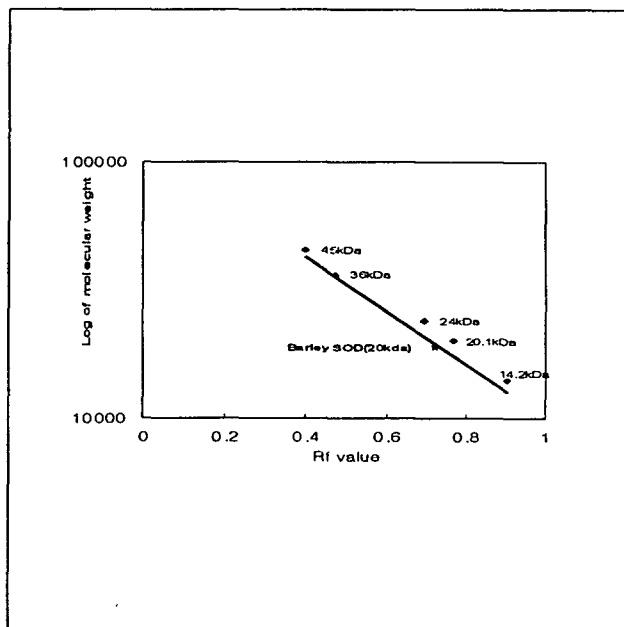


Fig.3-5 Measurement of molecular weight of superoxide dismutase by SDS-PAGE

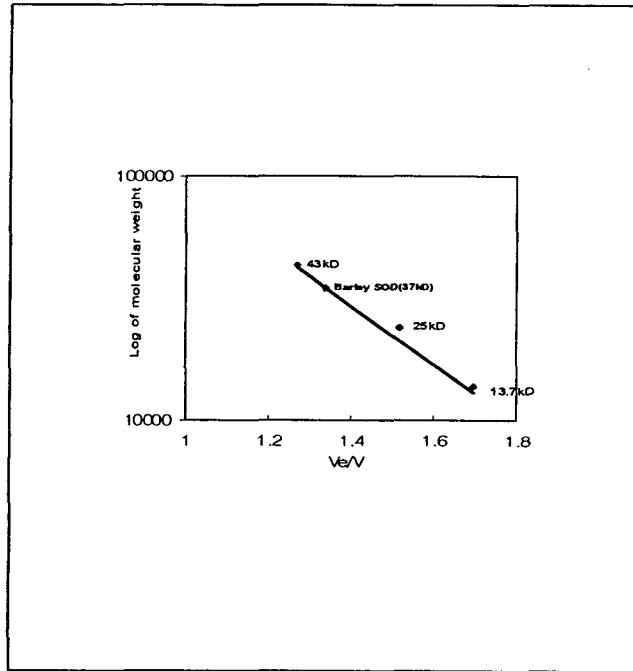


Fig.3-6 Determination of molecular weight by Sephadex G-100 column chromatography

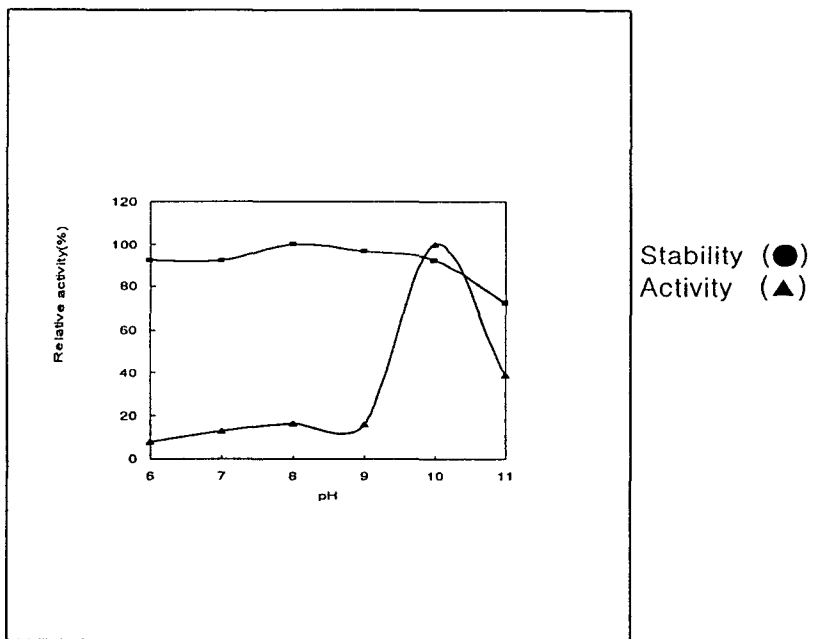
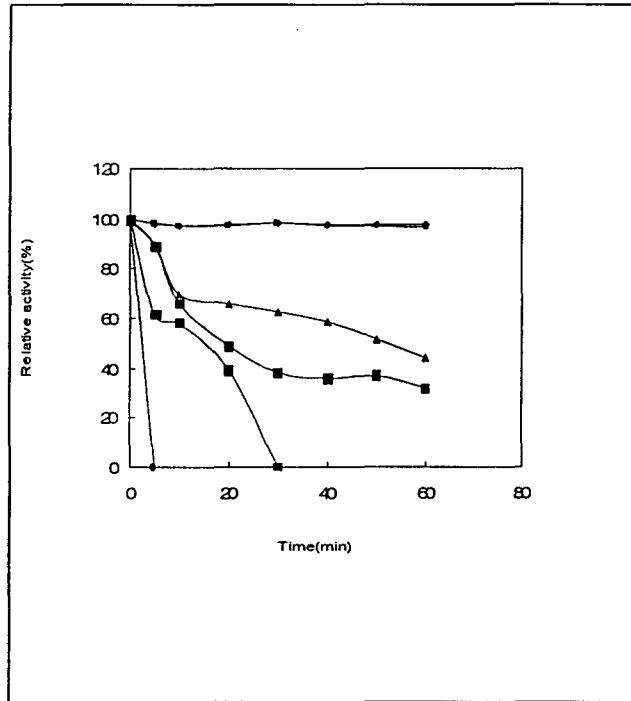


Fig.3-7 Effect of pH on the activity and stability of SOD



◆ 50°C, ■ 60°C, ▲ 70°C, × 80°C, × 90°C, ● 100°C

Fig.3-8 Effect of the temperature on stability of SOD

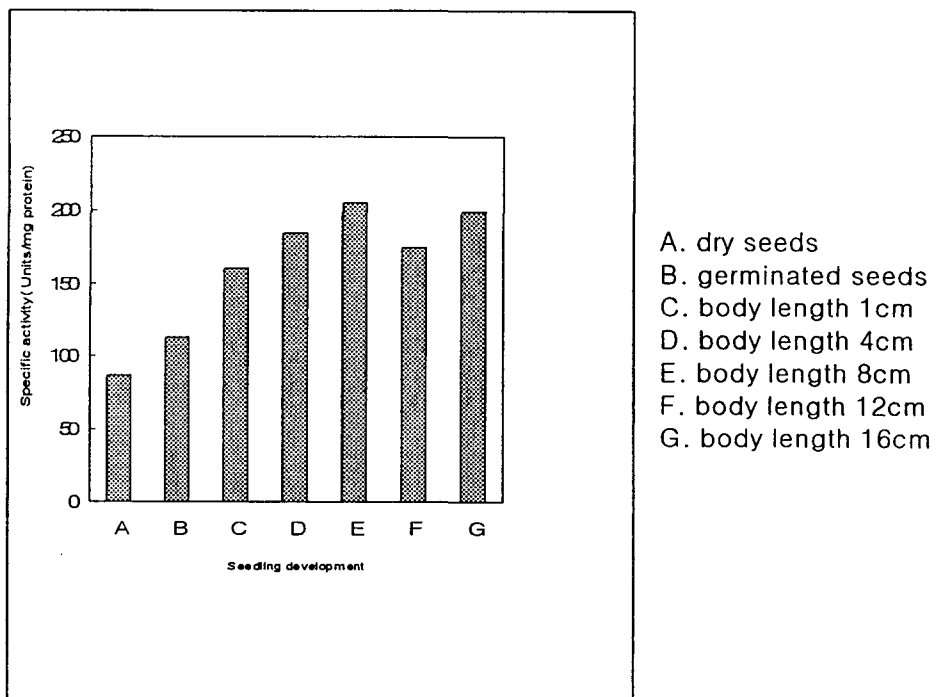
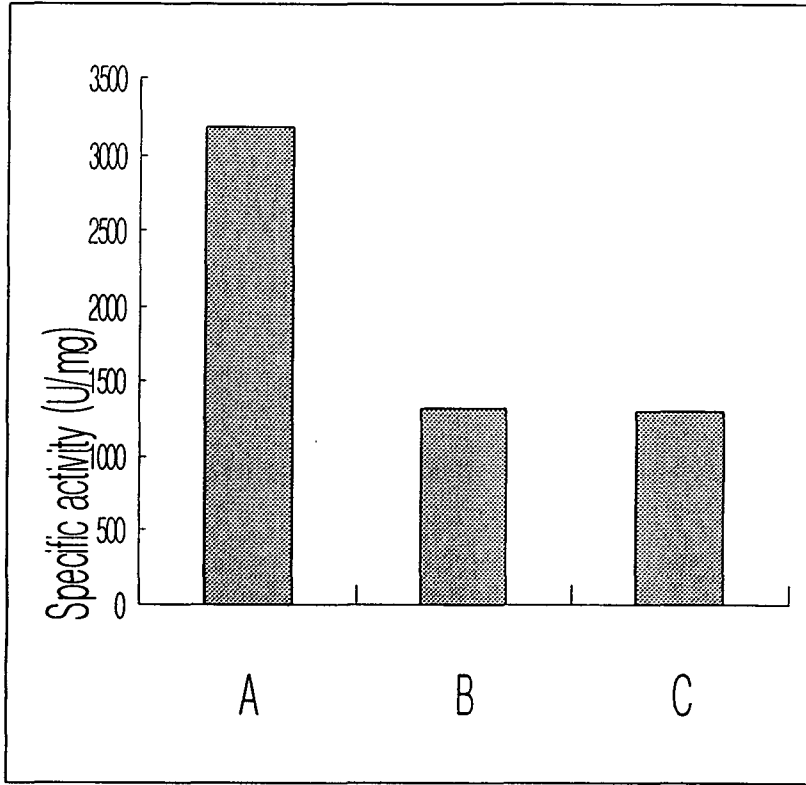


Fig. 3-9 Changes in specific activity of superoxide dismutase during seedling development



A. 수확보 B. 수경재배 C. 수경재배 2차 cutting

Fig.3-10 수경재배보리 1차,2차 cutting 활성비교

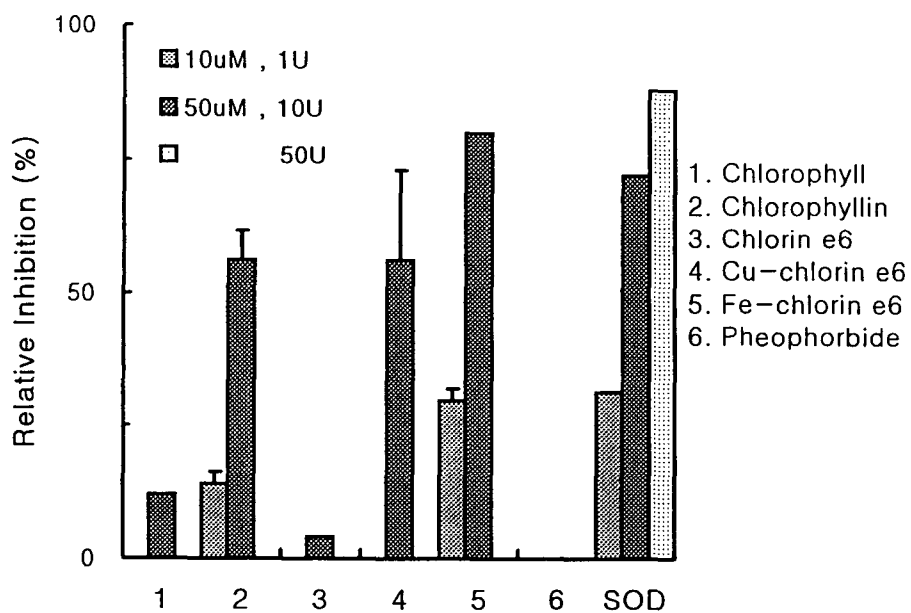


Fig.3-11 Inhibition of cytochrome C reduction with chlorophyll derivatives

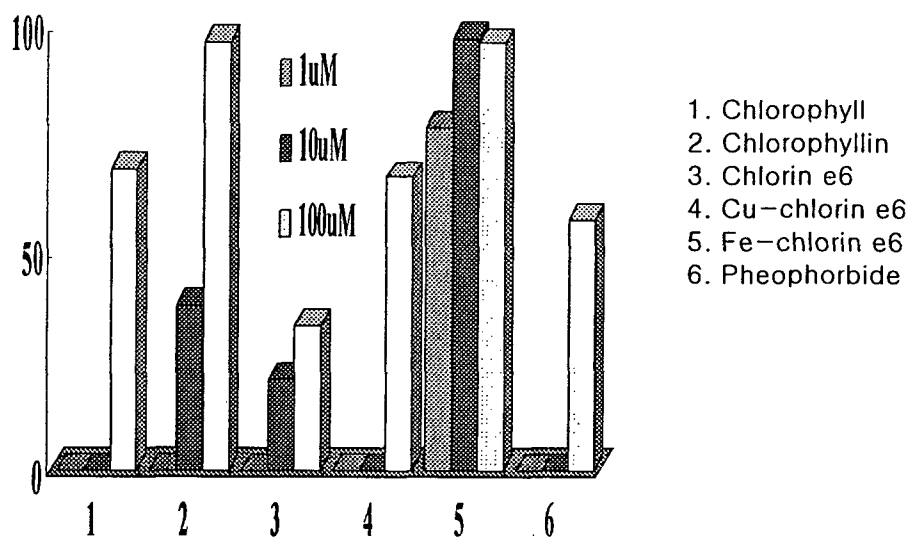


Fig. 3-12 Hydroxyl radical scavenging effect of chlorophyll derivatives

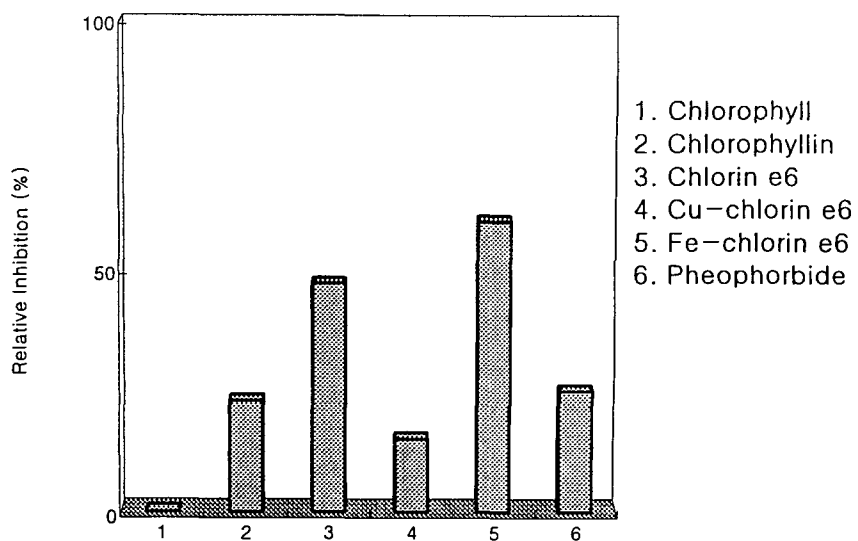


Fig.3-13 Peroxynitrite scavenging effect of chlorophyll derivatives

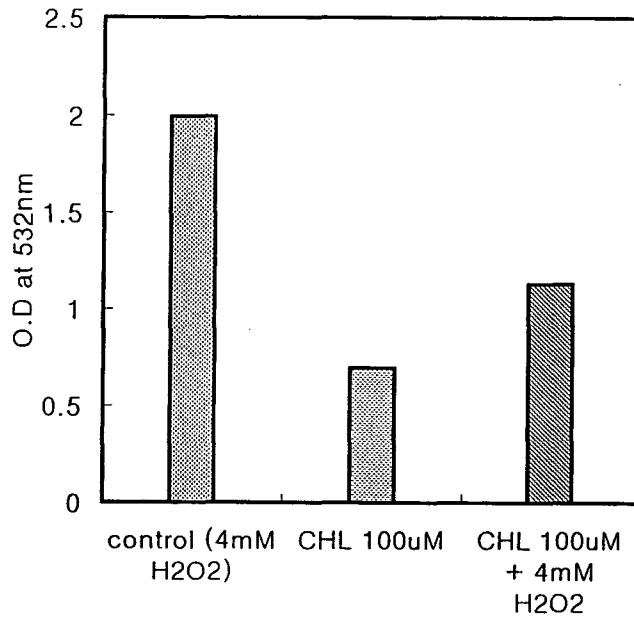
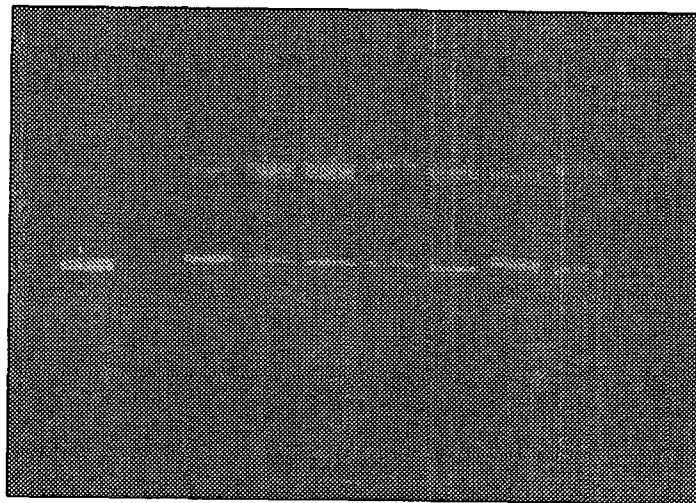


Fig.3-14 Inhibition of lipid peroxidation with chlorophyllin



C F 1 2 3 4 5 6 7

C: control plasmid DNA / F: H₂O₂, Fe²⁺
1: F with chlorophyll / 2: F with chlorophyllin
3: F with chlorin e6 / 4: F with Cu-chlorine6
5: F with Fe-chlorine6/6: F with pheophorbide
7: F with mannitol

Fig.3-15 The protective effect of chlorophyll derivatives on plasmid DNA from hydroxyl radical

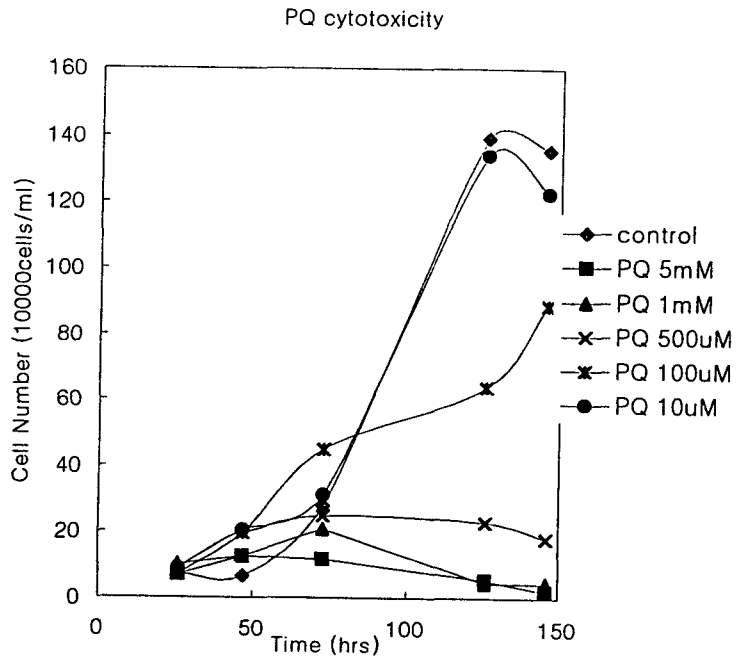


Fig.3-16 Cytotoxicity of paraquat on Jurkat cell line

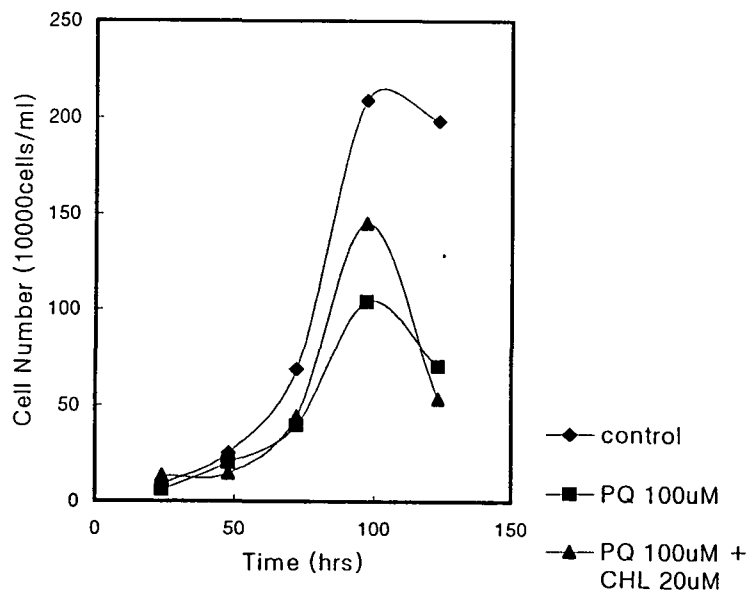


Fig. 3-17 Protective effect of chlorophyllin on paraquat toxicity

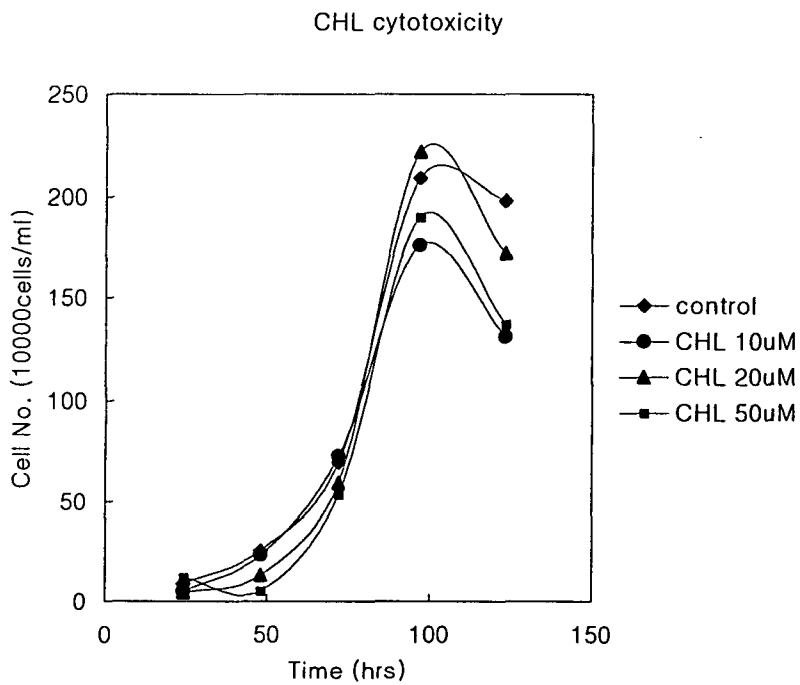


Fig.3-18 Cytotoxic effect of chlorophyllin on Jurkat cell line

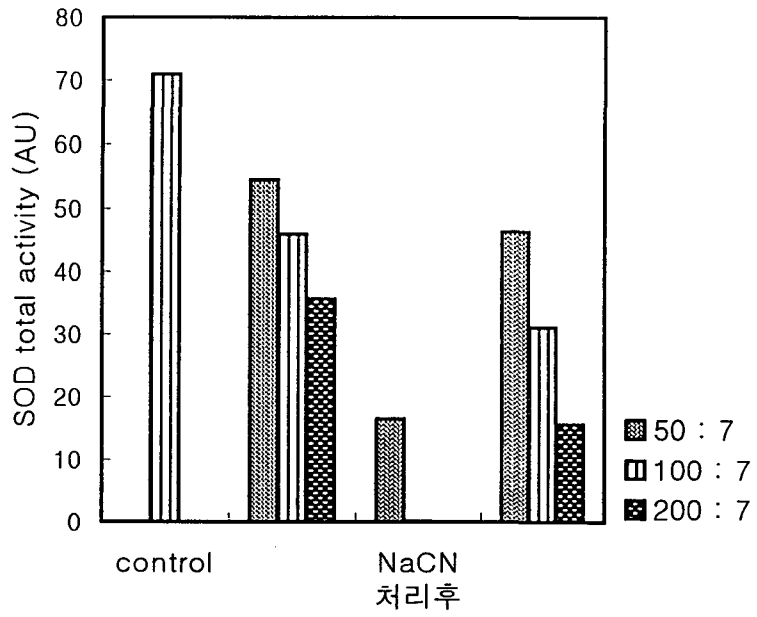
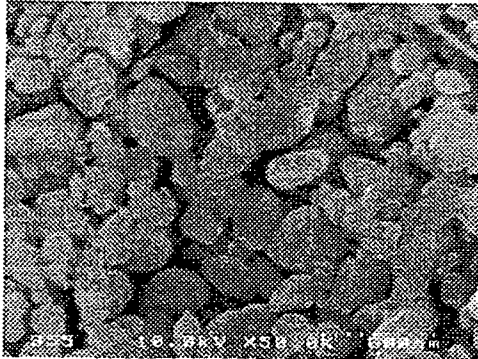
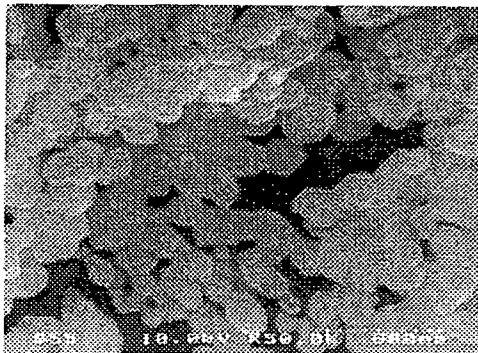


Fig.3-19 SOD activity during liposome preparation



NaCl : PC
a. 50 : 7

b. 100 : 7



c. 200 : 7

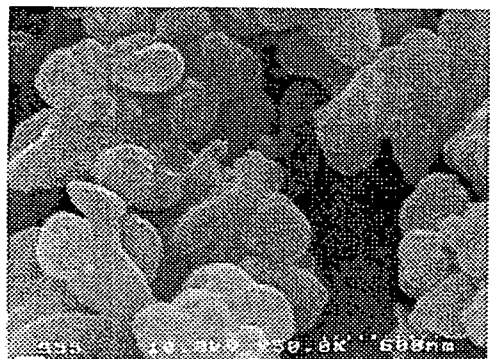


Fig.3-20 Scanning electron micrograph of liposome containing SOD

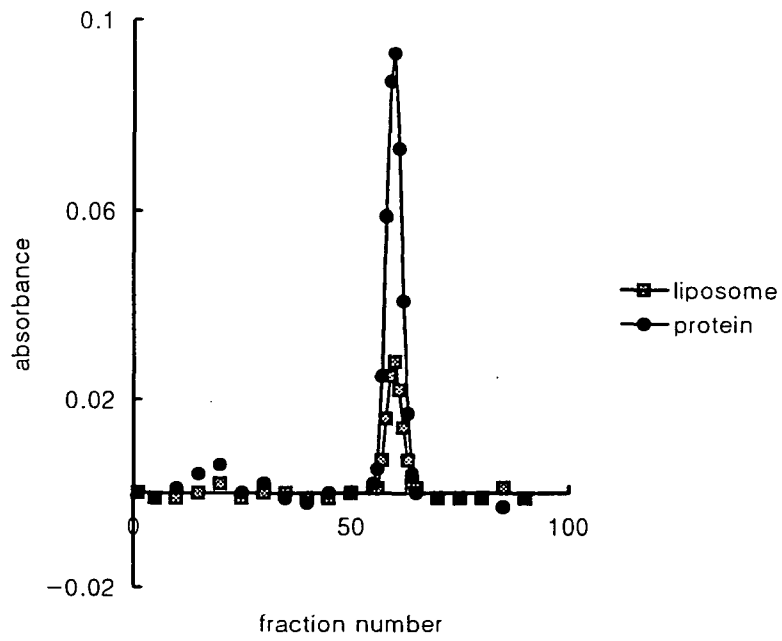


Fig.3-21 Sephadex G-100 chromatogram of liposome

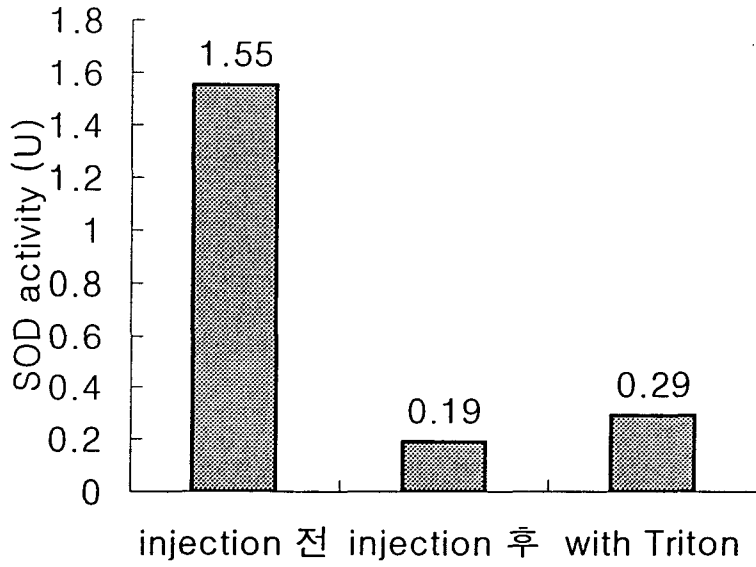
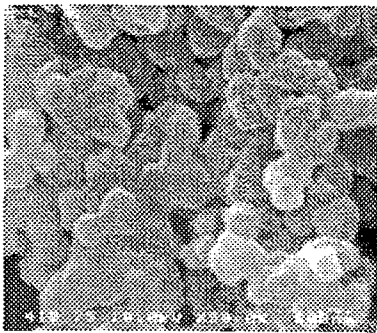


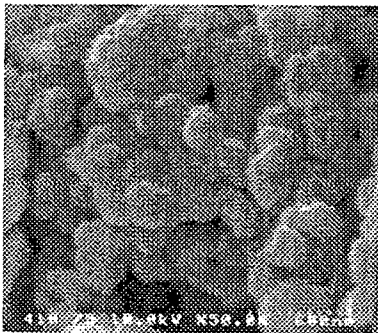
Fig.3-22 SOD activity of liposome-chlorophyllin



NaCl (0.9%), chlorophyllin, lipid (PC ug/ EtOH ul)

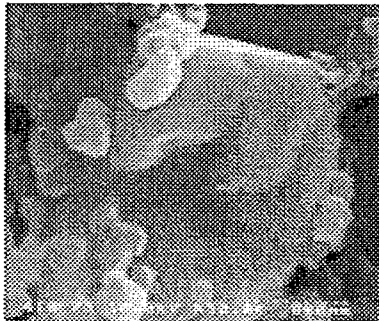
5ml

3.5mg



5ml

3.5mg



5ml

3.5mg

Fig.3-23 Scanning electron micrograph of liposome containing chlorophyllin

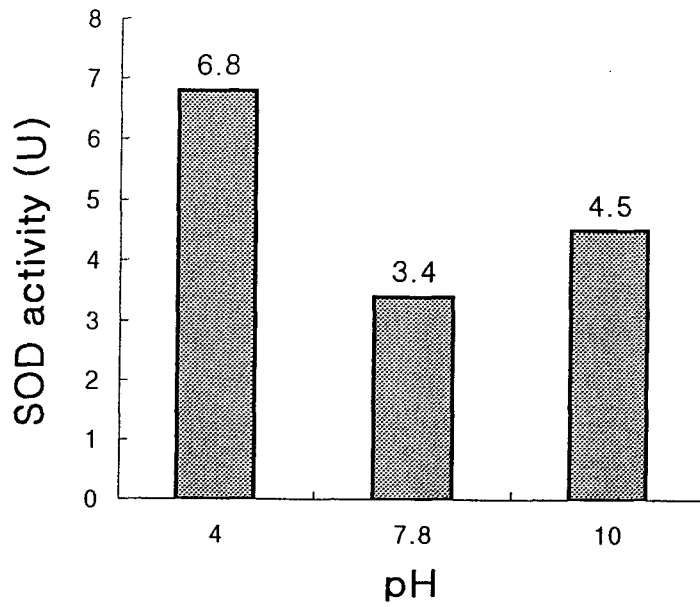


Fig.3-24 Effect of pH on SOD release

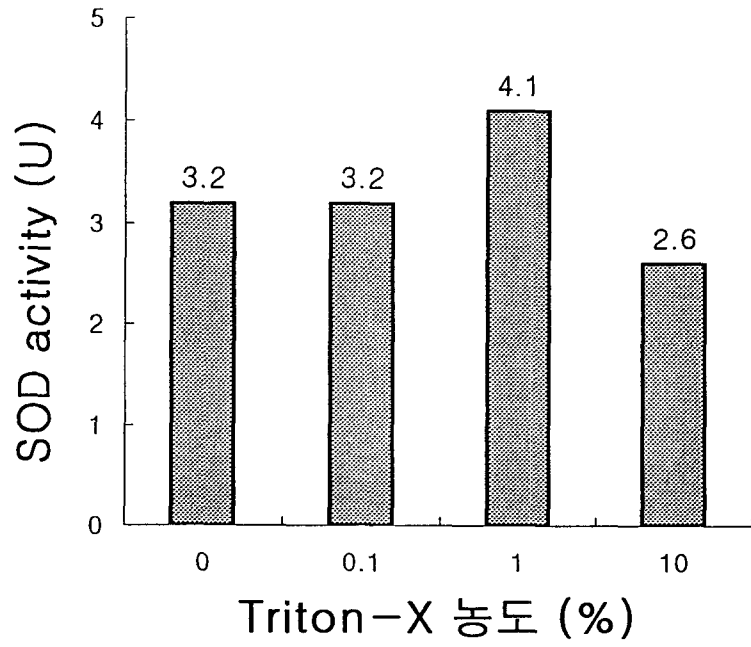


Fig.3-25 Triton-X effect on SOD release

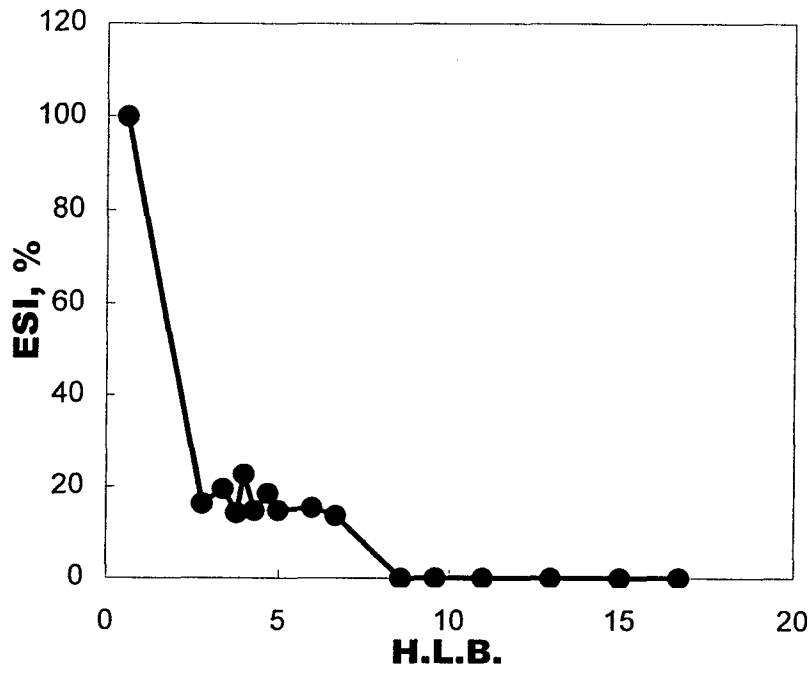


Fig.4-1 ESI values of Cm 2 vs Wm 8 at 120 min

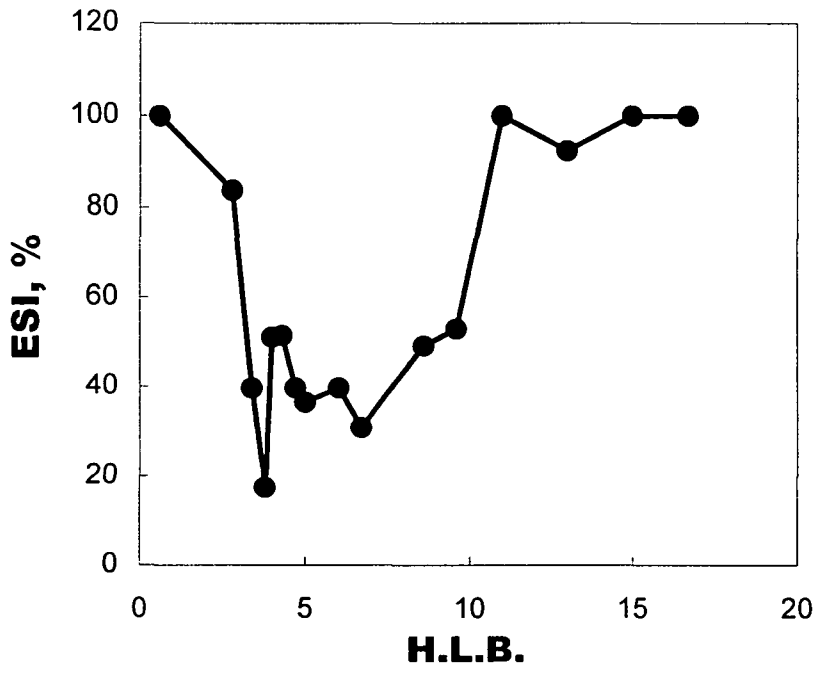


Fig.4-2 ESI values of Cm 4 vs Wm 6 at 120 min

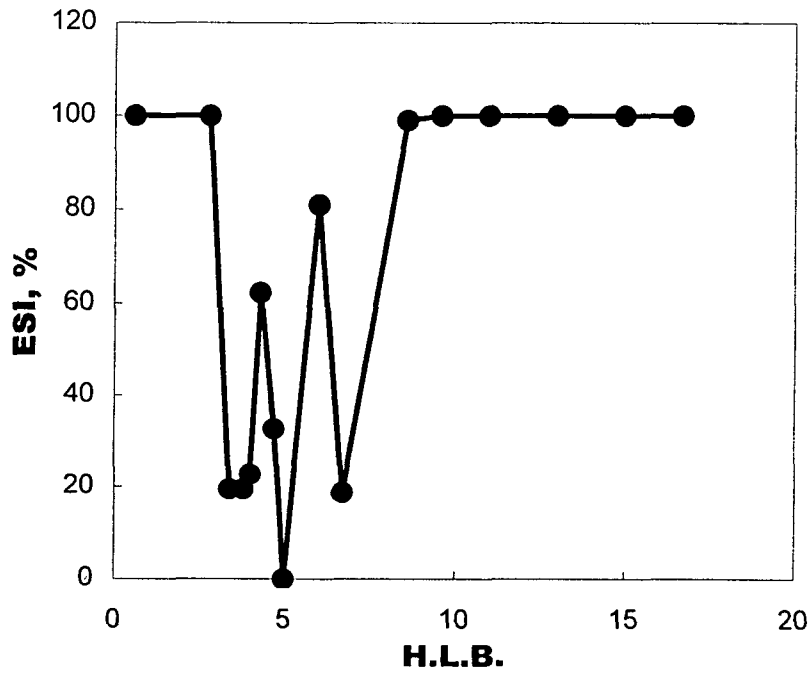


Fig.4-3 ESI values of Cm 6 vs Wm 4 at 120 min

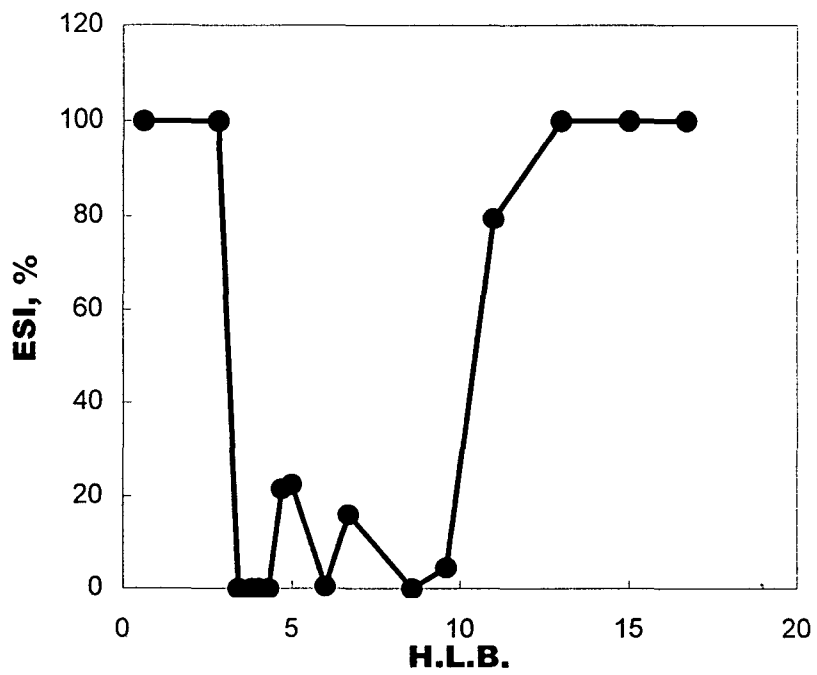


Fig.4-4 ESI values of Cm 8 vs Wm 2 at 120 min

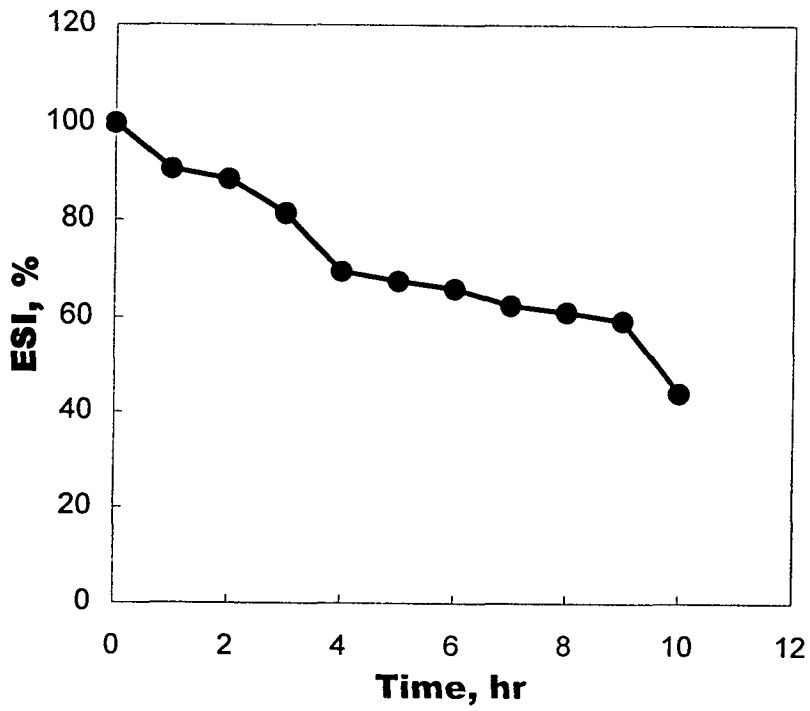


Fig.4-5 ESI value of 0.1% emulsifier concentration

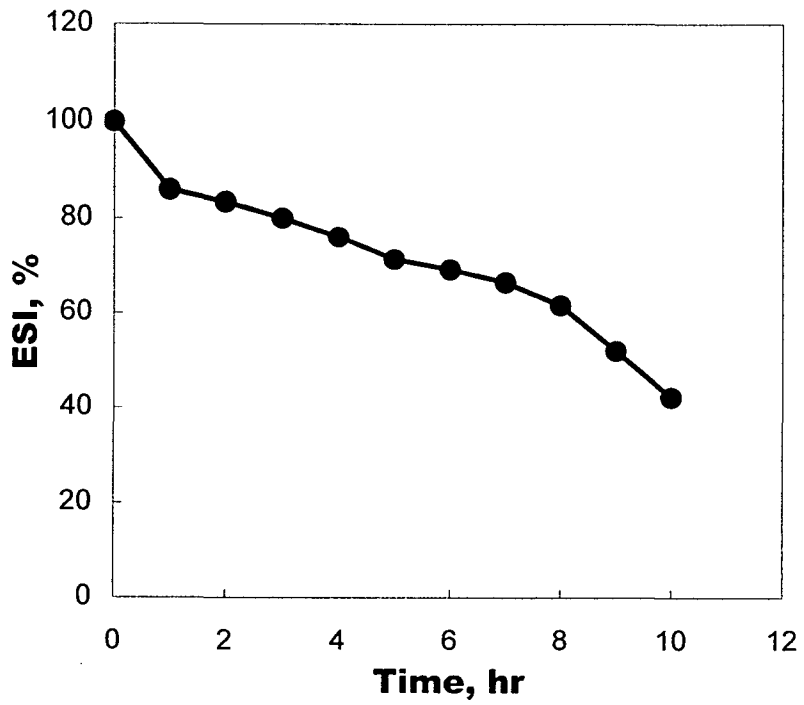


Fig.4-6 ESI value of 0.2% emulsifier concentration

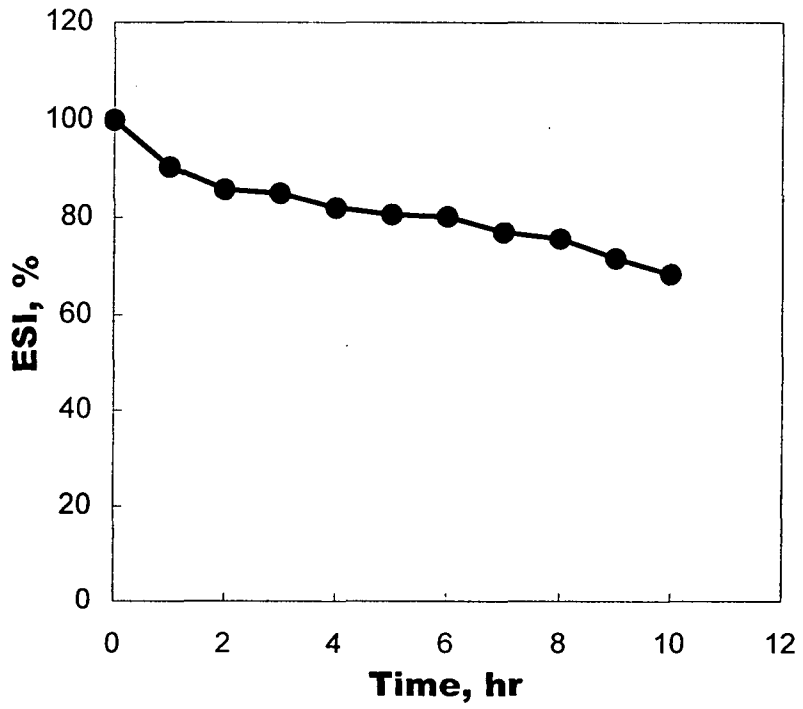


Fig.4-7 ESI value of 0.3% emulsifier concentration

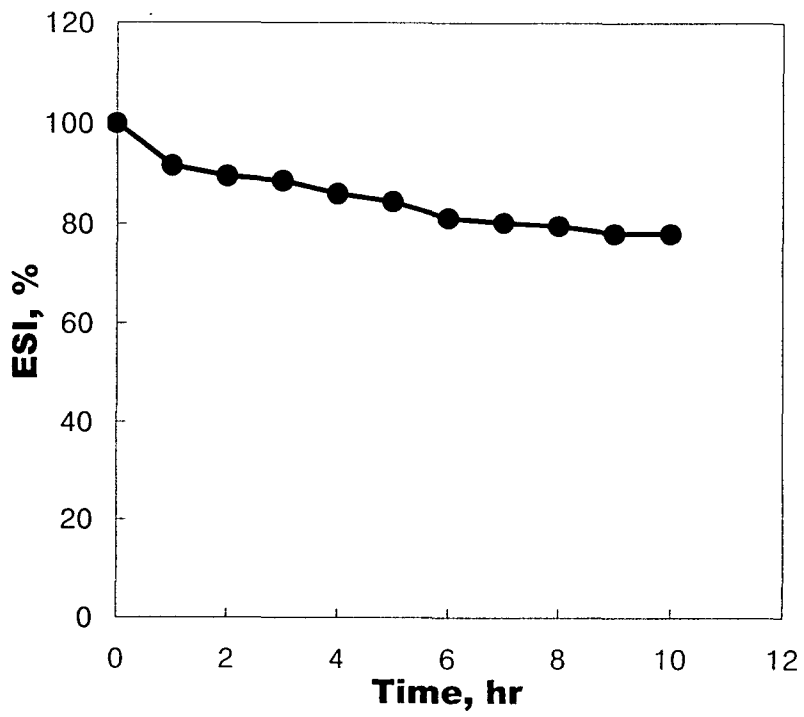


Fig.4-8 ESI value of 0.4% emulsifier concentration

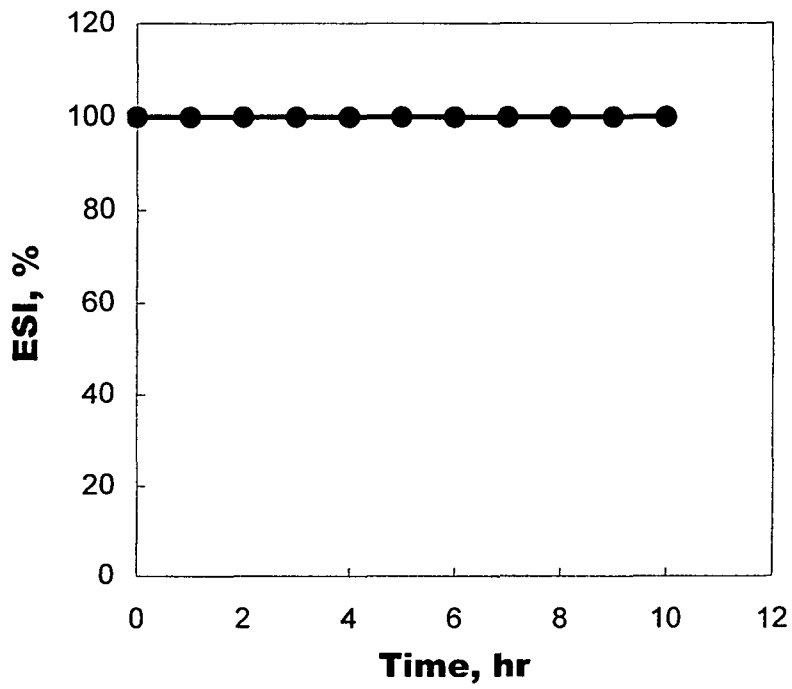


Fig.4-9 ESI value of 0.5% emulsifier concentration

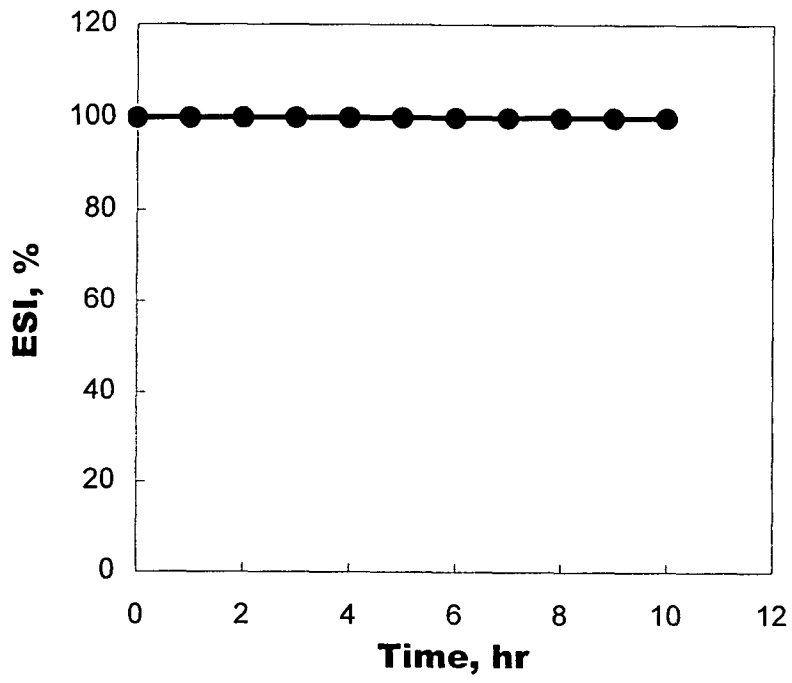


Fig.4-10 ESI value of 0.6% emulsifier concentration

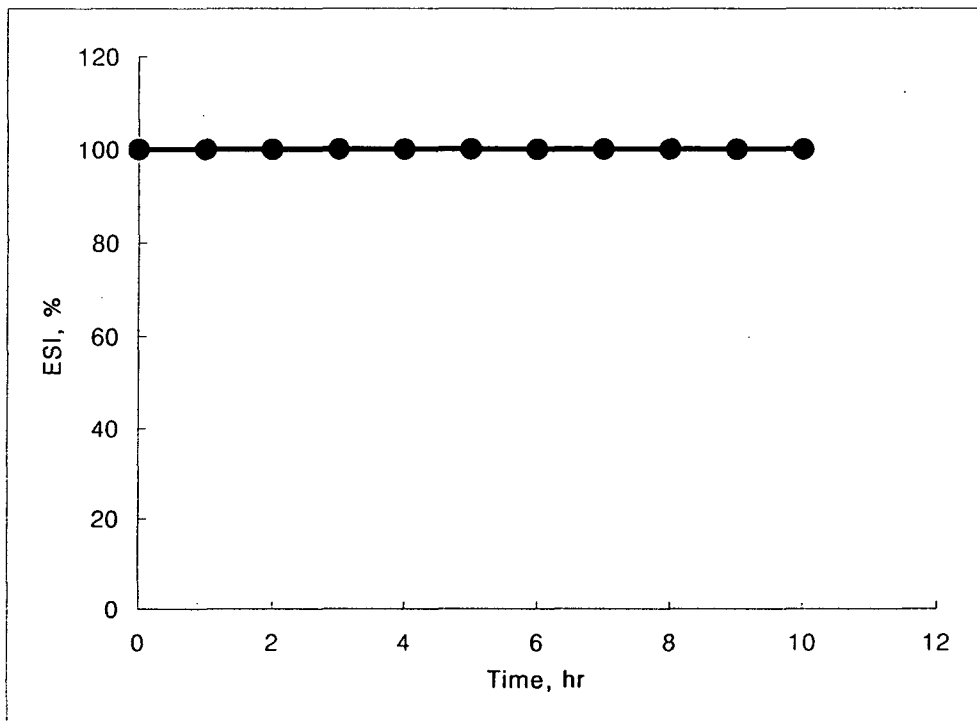


Fig.4-11 ESI value of 0.7% emulsifier concentration

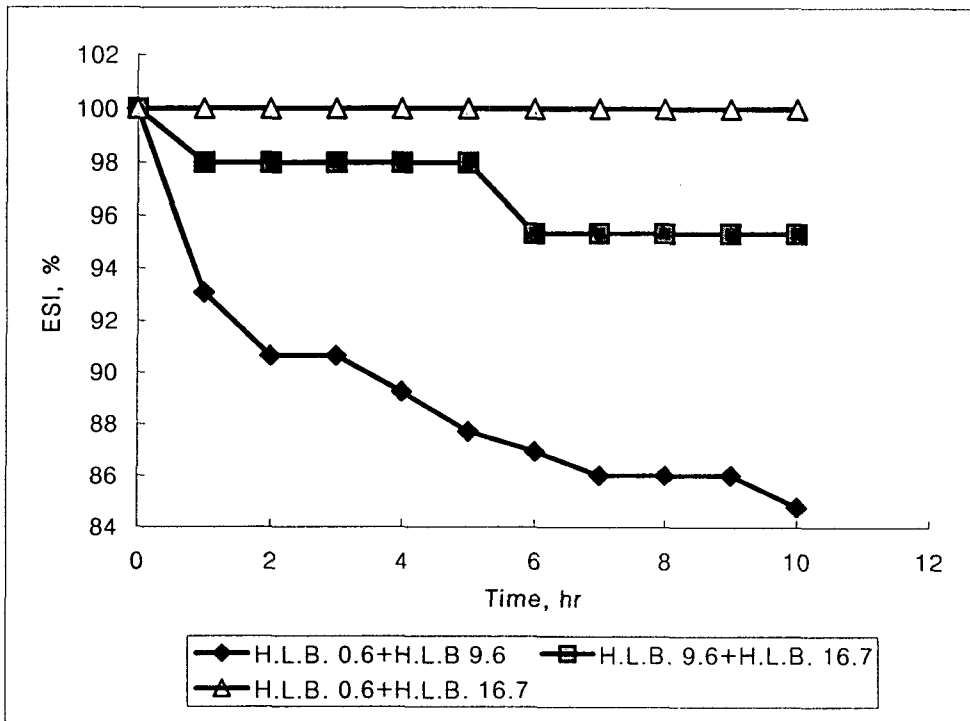


Fig.4-12 ESI value on the mixed emulsifier of 2 kinds

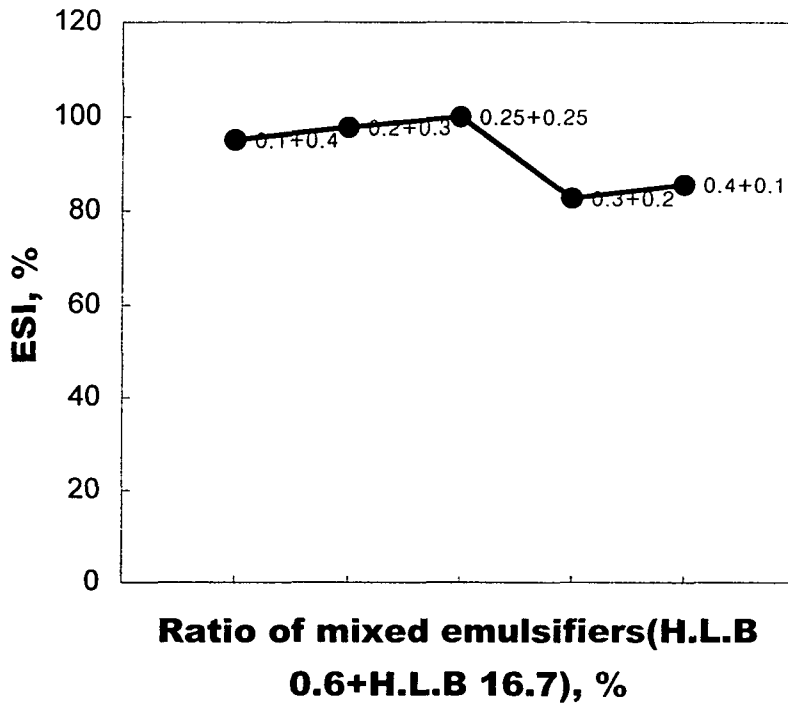


Fig.4-13 ESI value on the concentration of mixed emulsifier at 10 hr

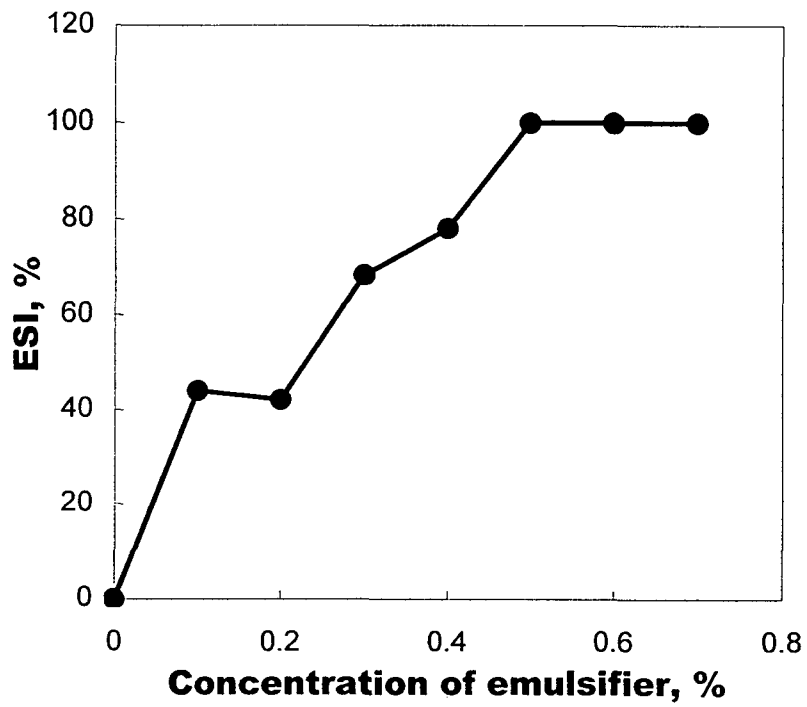


Fig.4-14 ESI values on the emulsifier conc. at 10 hr.

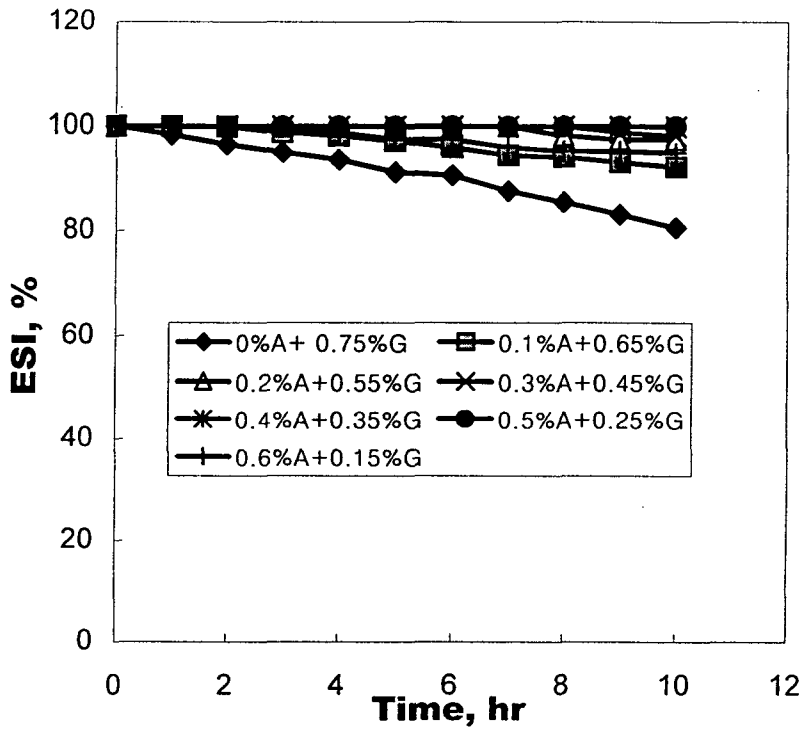


Fig.4-15 ESI value on the mixed ratio of agar & gelatin

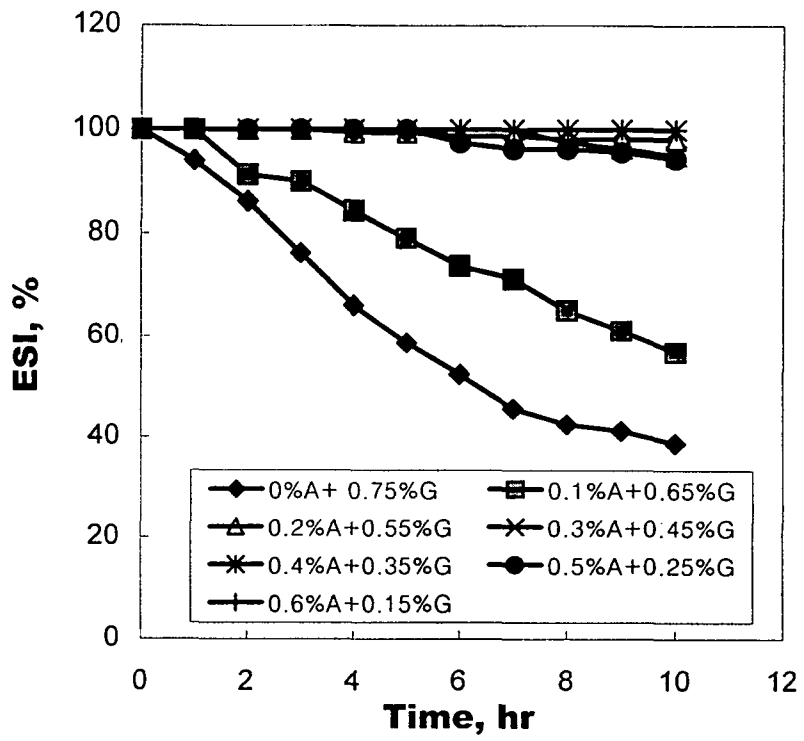


Fig.4-16 ESI value on the concentration of agar & gelatin

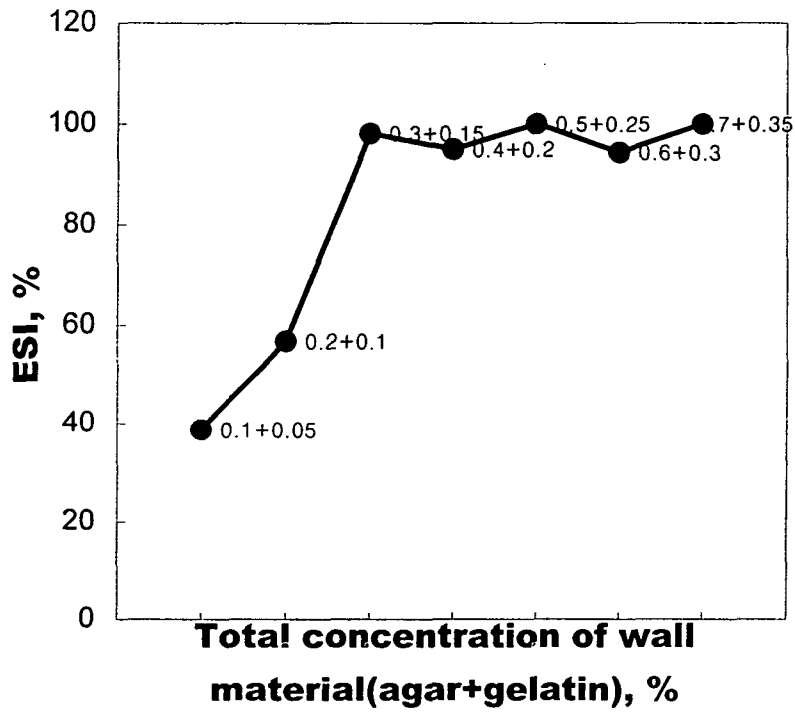


Fig.4-17 Effect of the total concentration of wall material at 10hr on ESI

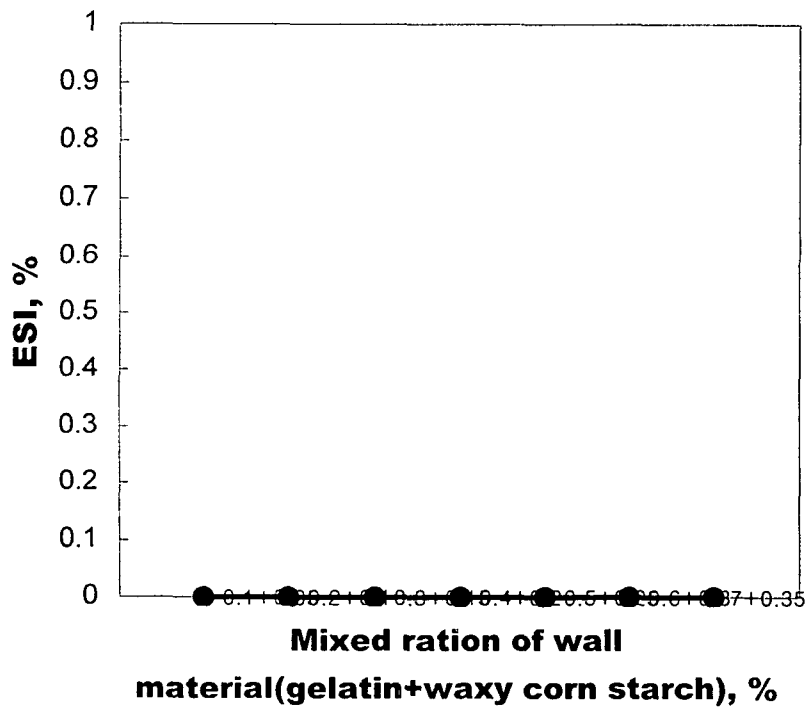


Fig.4-18 ESI value on the concentration of gelatin & waxy corn starch

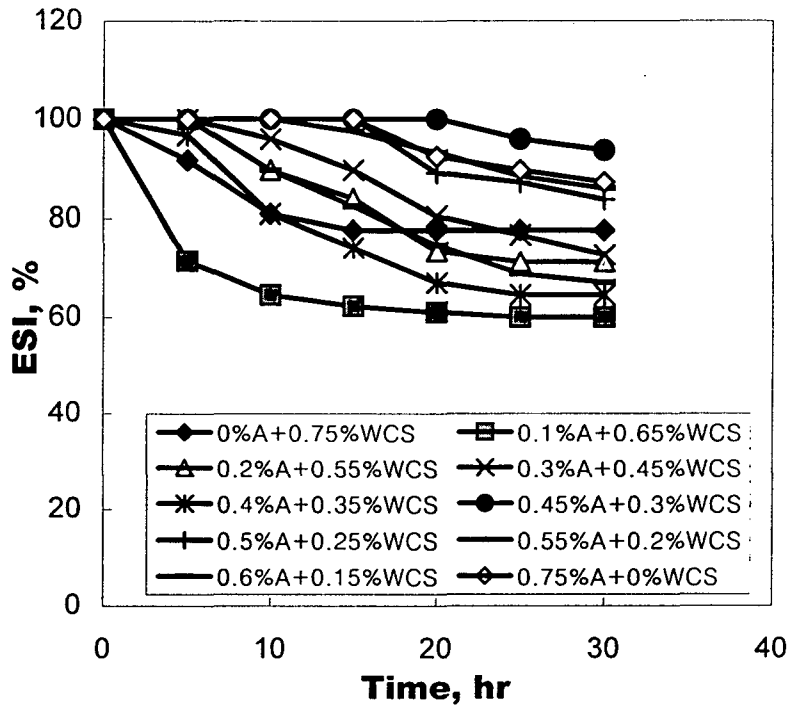


Fig.4-19 ESI value on the mixed ratio agar & waxy corn starch

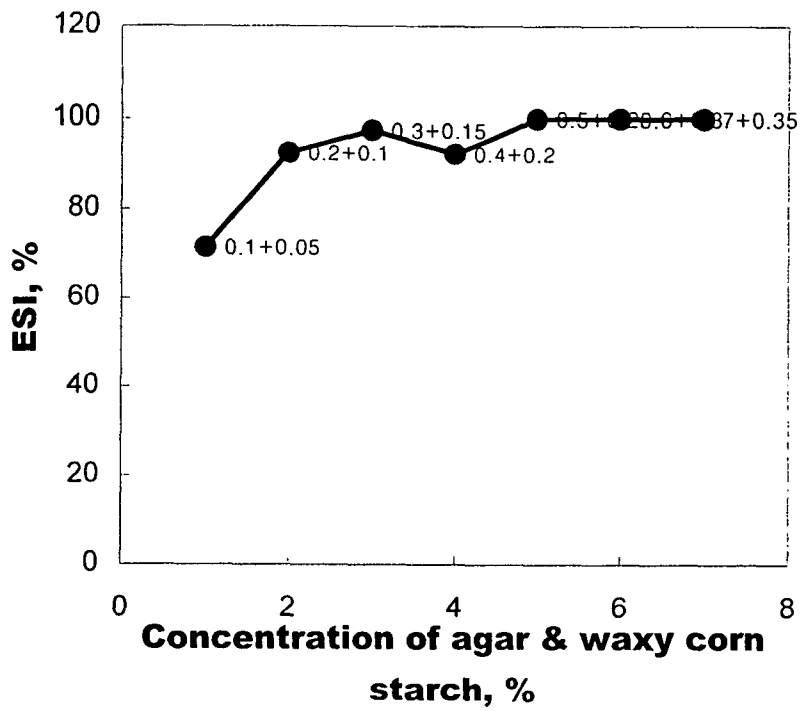


Fig.4-20 ESI value on the concentration of agar & waxy corn starch at 10 hr

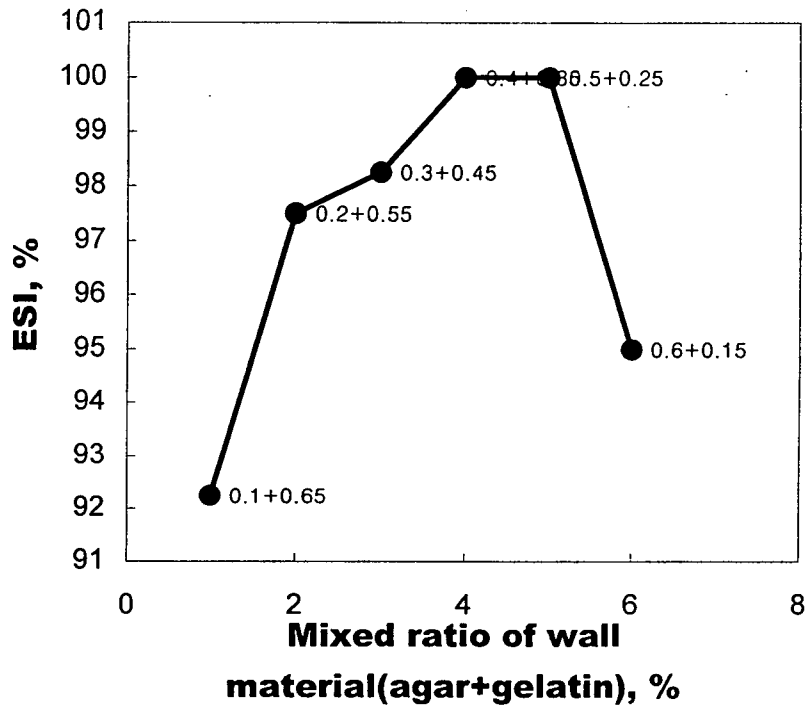


Fig.4-21 ESI value on the mixed ratio of agar & gelatin at 10 hr

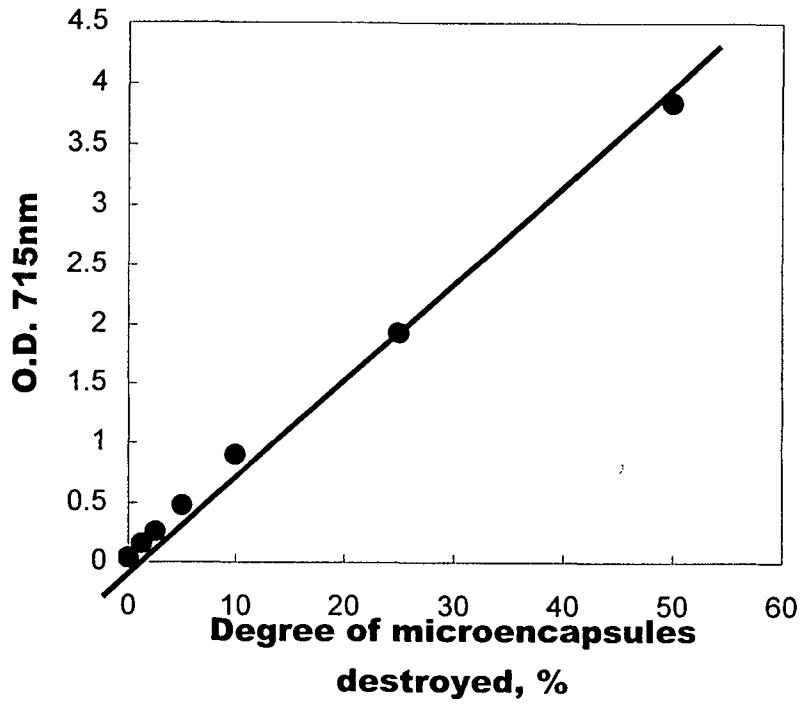


Fig.4-22 Standard curve for measure of microencapsulation yield

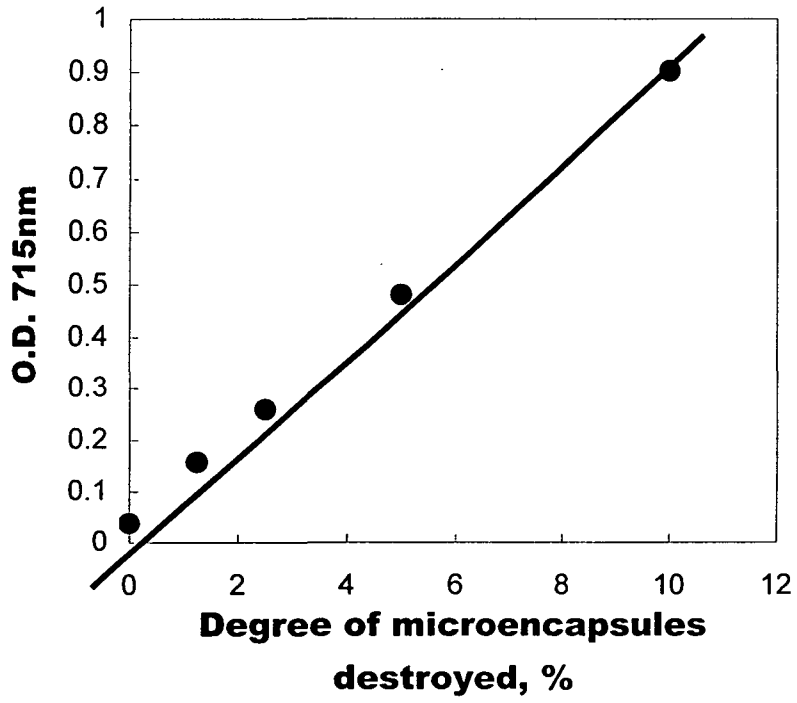


Fig.4-23 Standard curve for measure of microencapsulation yield.

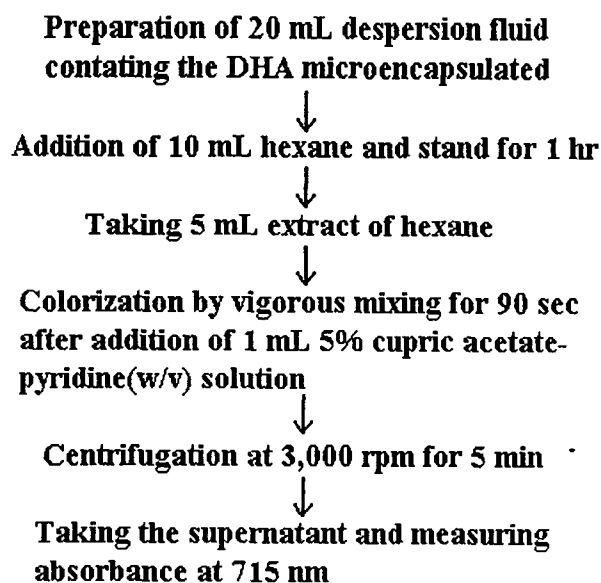


Fig. 4-24 Determination of microencapsulation yields of DHA.

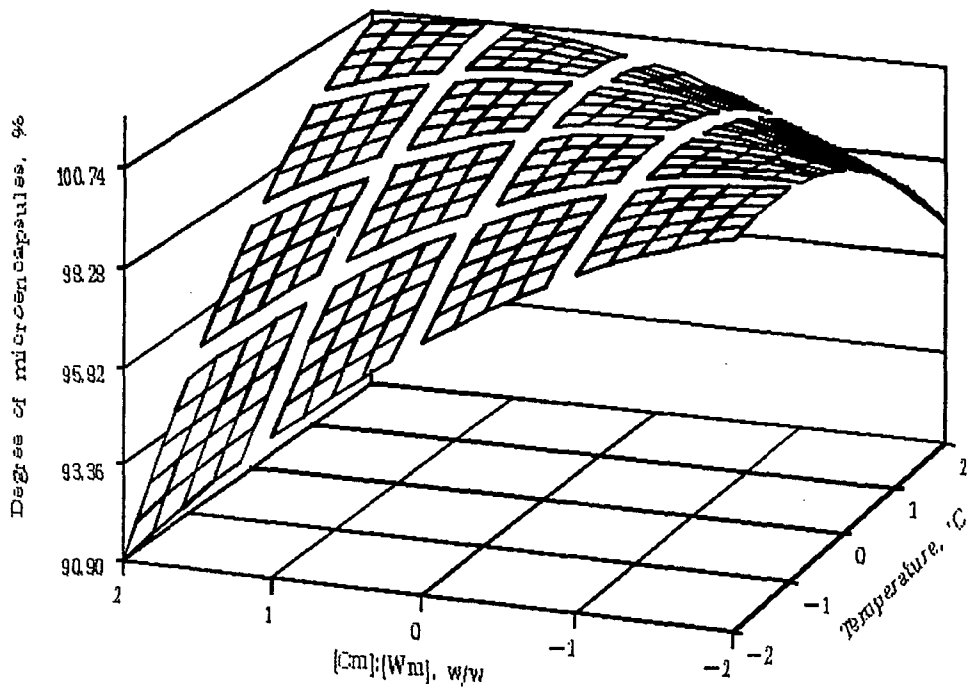


Fig.4-25 Response surface curve of microencapsulation yield as related to temperature and ratio of Cm, Wm

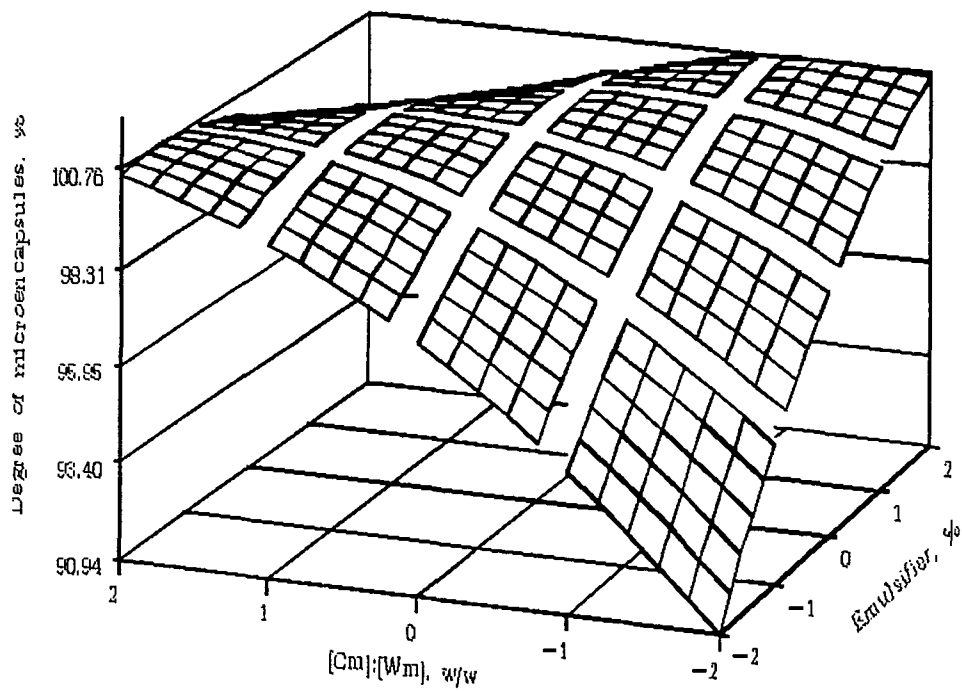


Fig.4-26 Response surface curve of microencapsulation yield as related to temperature and ratio of Cm, Wm

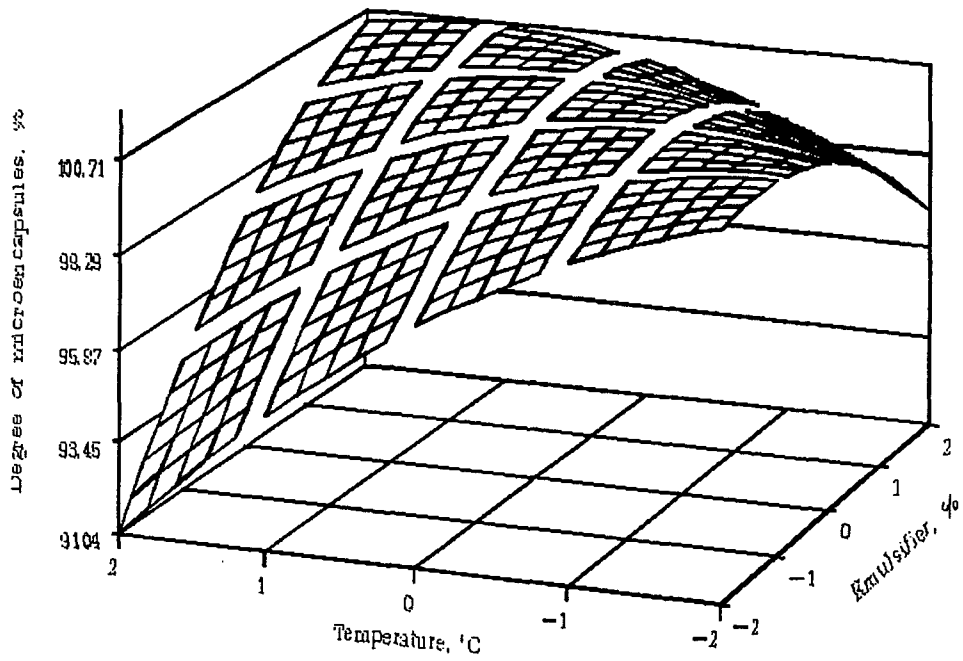


Fig.4-27 Response surface curve of microencapsulation yield as related to temperature and ratio of C_m , W_m

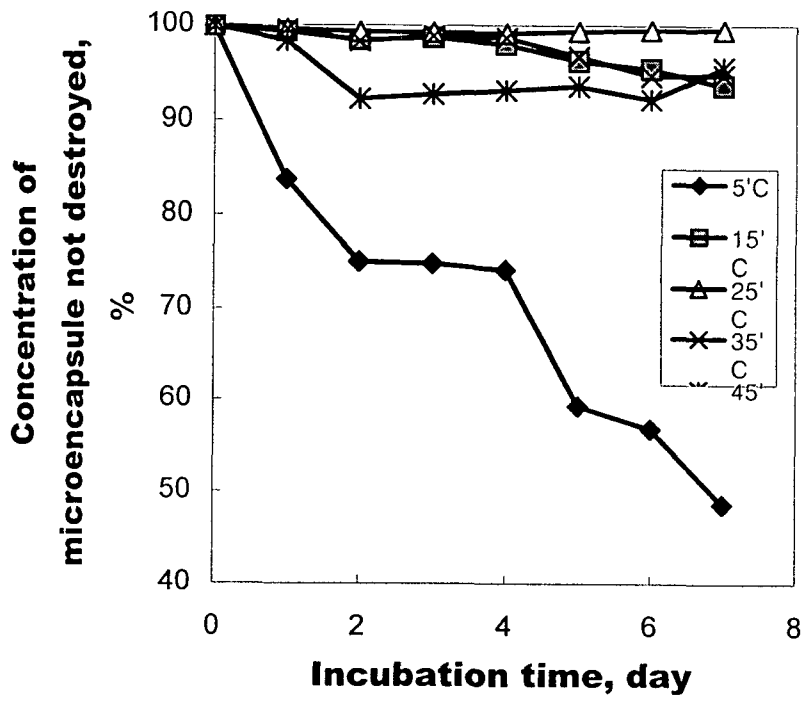


Fig.4-28 Effect of temperature on the storage stability of DHA microencapsulated with waxy corn starch and agar.

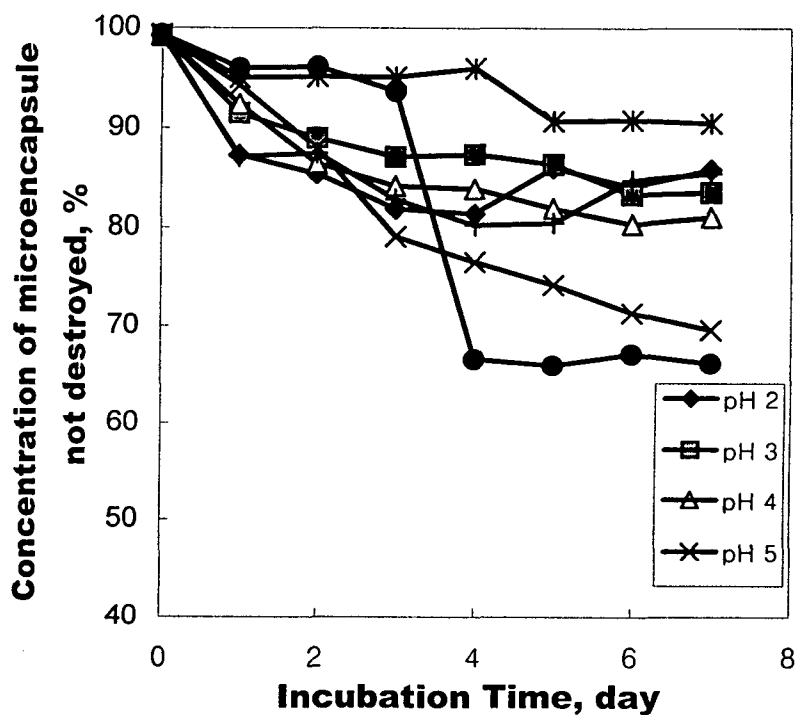


Fig.4-29 Effect of pH on the storage stability of DHA microencapsulated with waxy corn starch and agar.

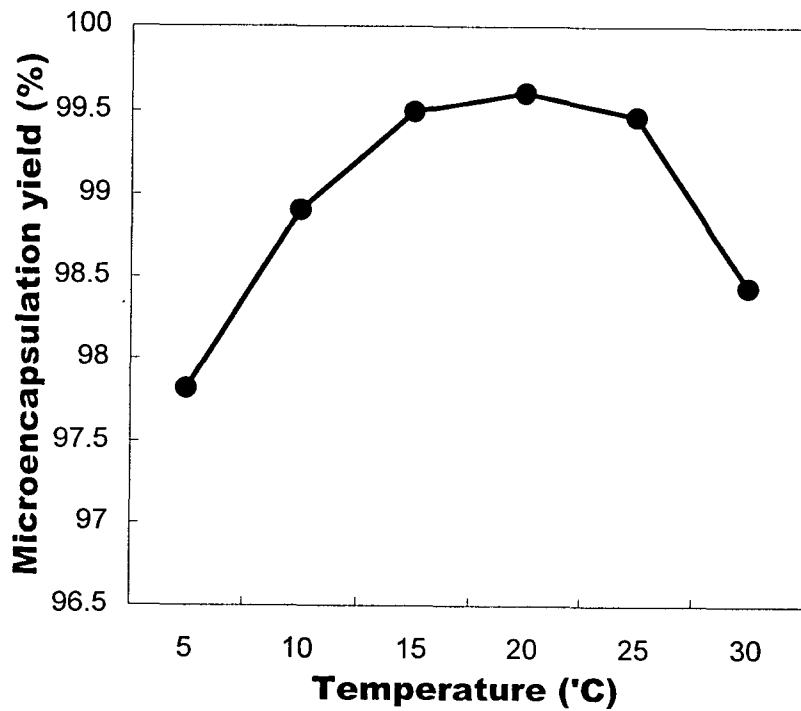


Fig.4-30 Effect of temperature of dispersion fluid on the microencapsulation yield at the scale factor of 100.

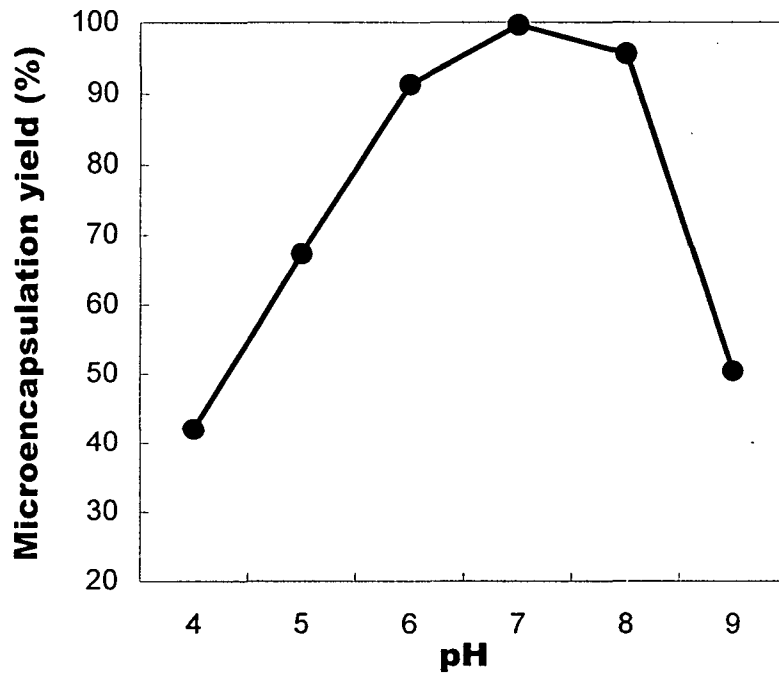


Fig.4-31 Effect of pH of fluid on the microencapsulation yield at the scale factor of 100.

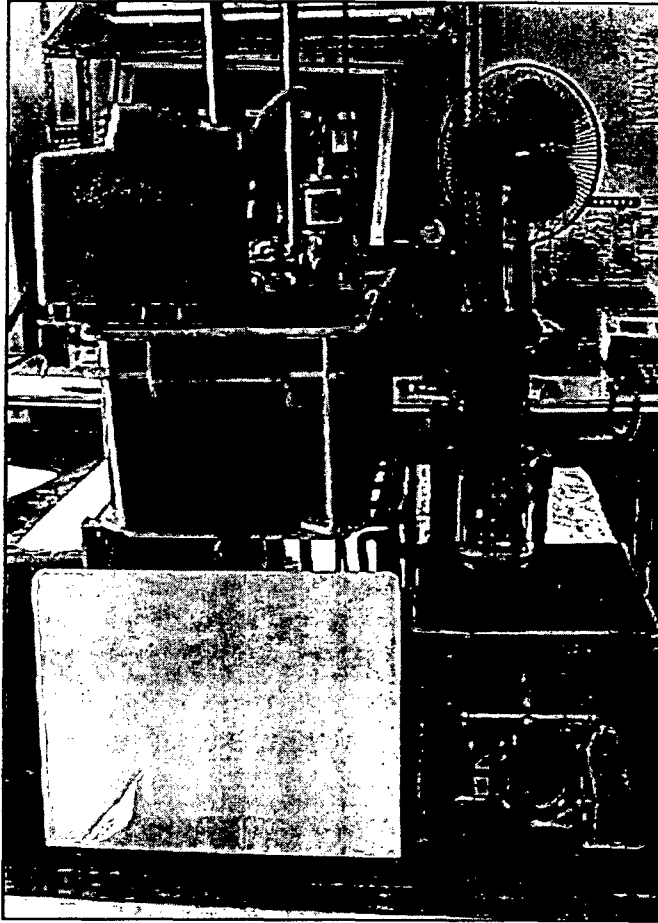


Fig.4-32. Schematic diagram of semi-automation for microencapsulation.

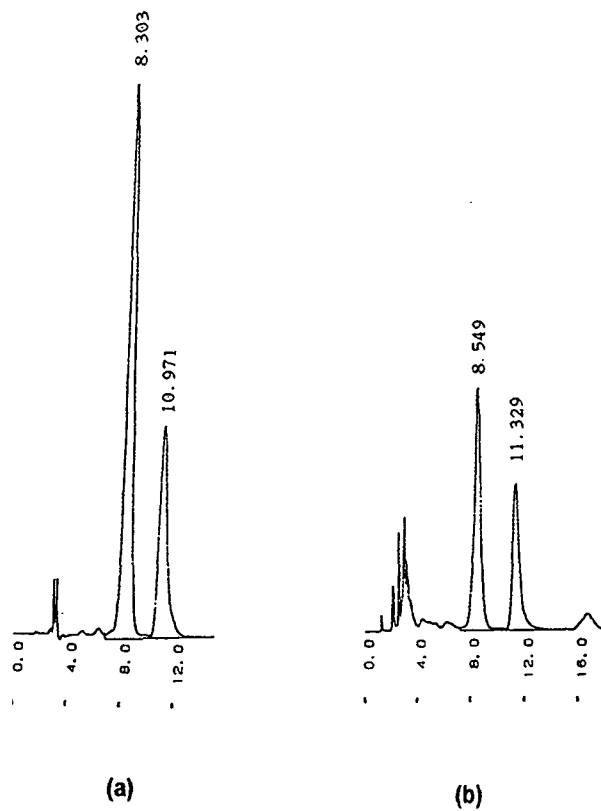


Fig.5-1 Chromatogram of standard (a) and oleoresin (b).

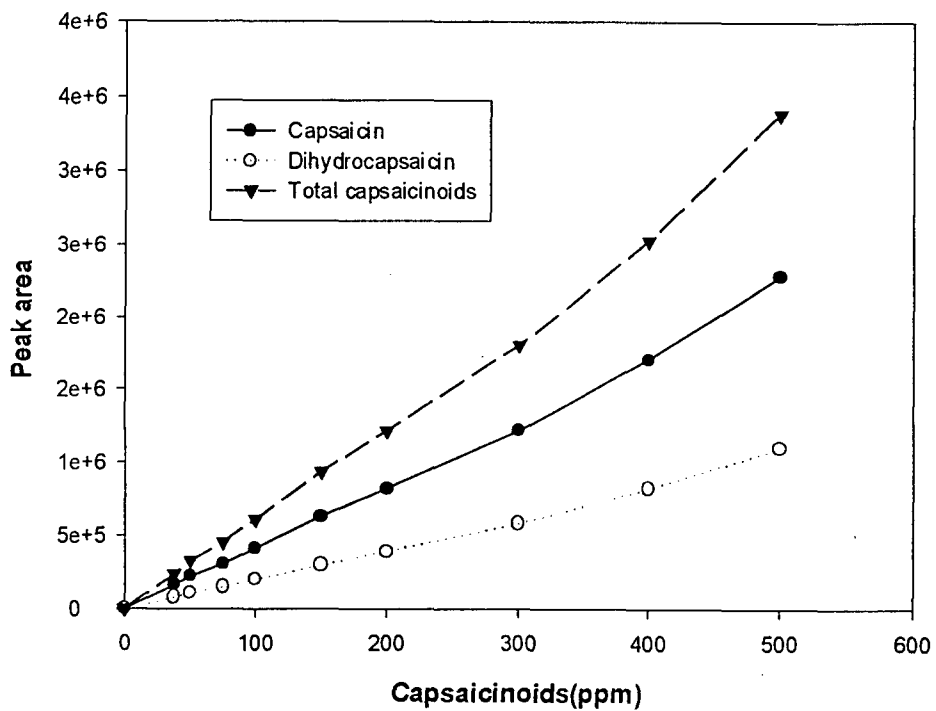


Fig.5-2 Capsaicinoids standard curve by HPLC analysis.

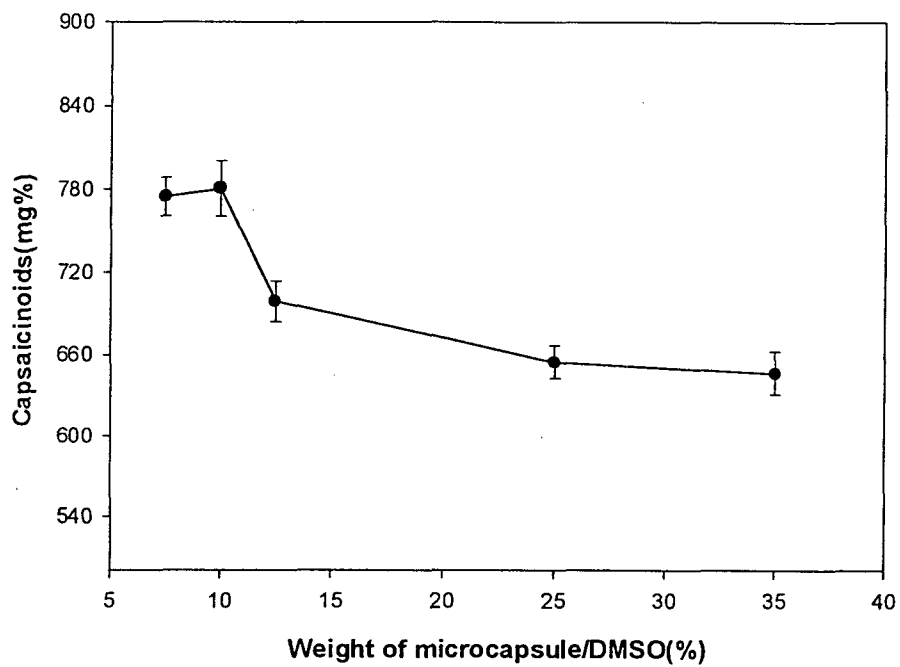


Fig.5-3 Effect of the ratio of the weight of microcapsule to DMSO on solubilization of microcapsule. The mixtures were heated at 55°C for 20min. The volume of DMSO was 2.0ml.

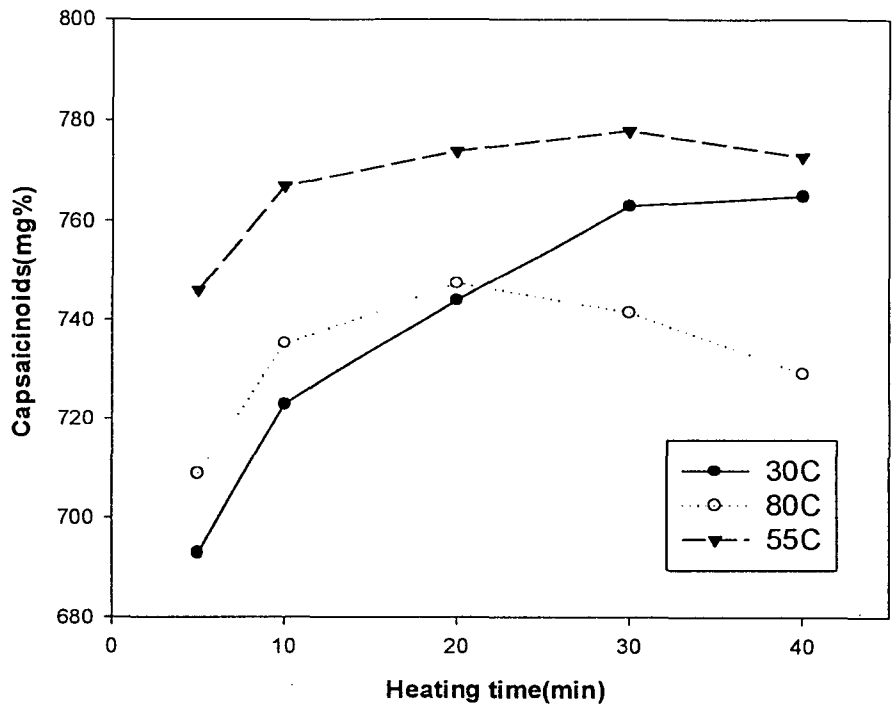


Fig.5-4 Effect of the heating time on the content of capsaicinoids after addition of DMSO. (12000rpm)

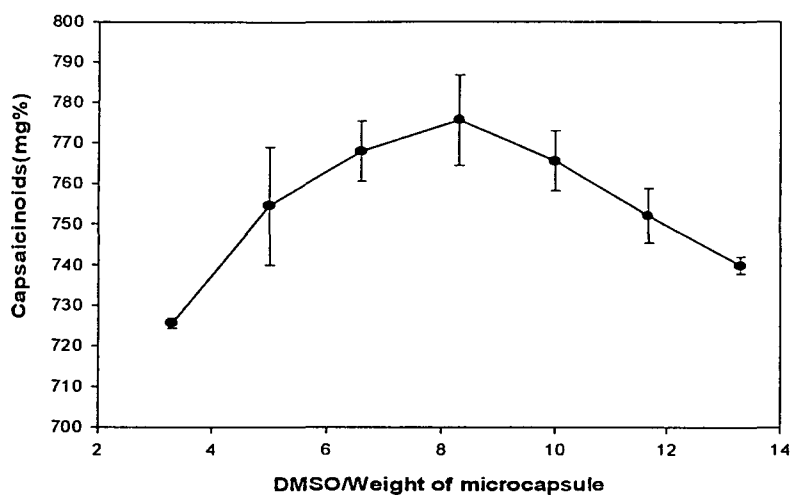


Fig. 5-a. Effect of ratio of the DMSO to the weight of microcapsule on the solubilization of microcapsule. The weight of microcapsule was 0.15g. 12000rpm, 10 min.

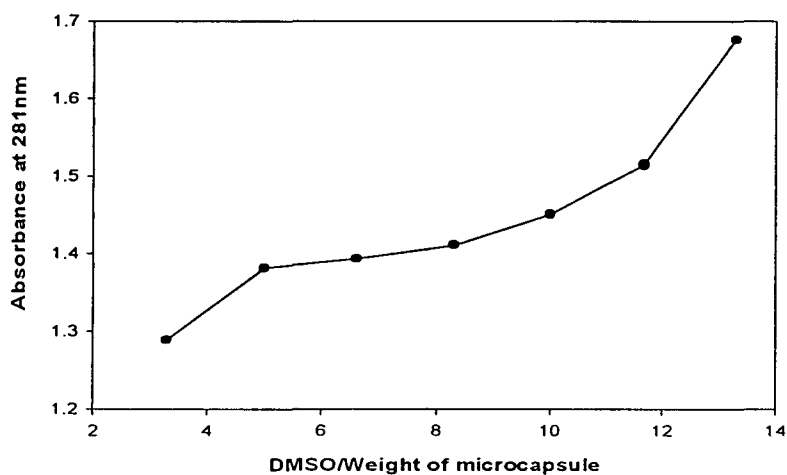


Fig. 5-b. Effect of ratio of the DMSO to the weight of microcapsule on the solubilization of microcapsule. The weight of microcapsule was 0.15g. 12000rpm, 10 min.

Fig.5-5 Effect of the DMSO ratio

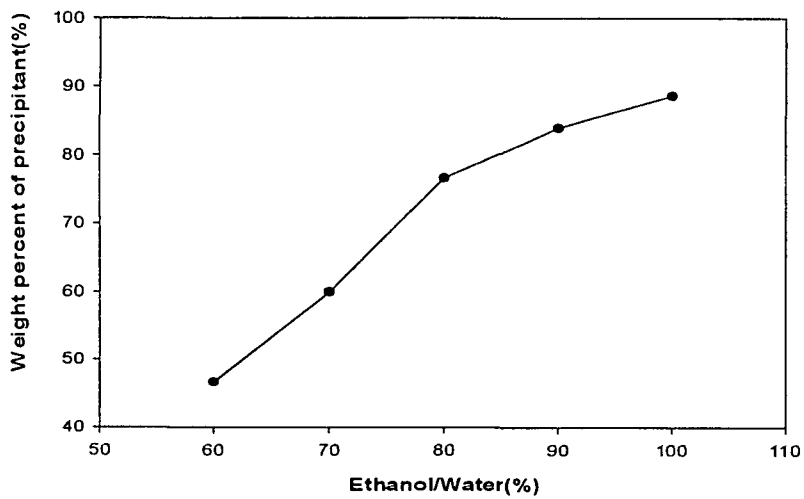


Fig. 6-a. Effect of ethanol concentration on the extraction of capsaicinoids and on the precipitation of carbohydrates.

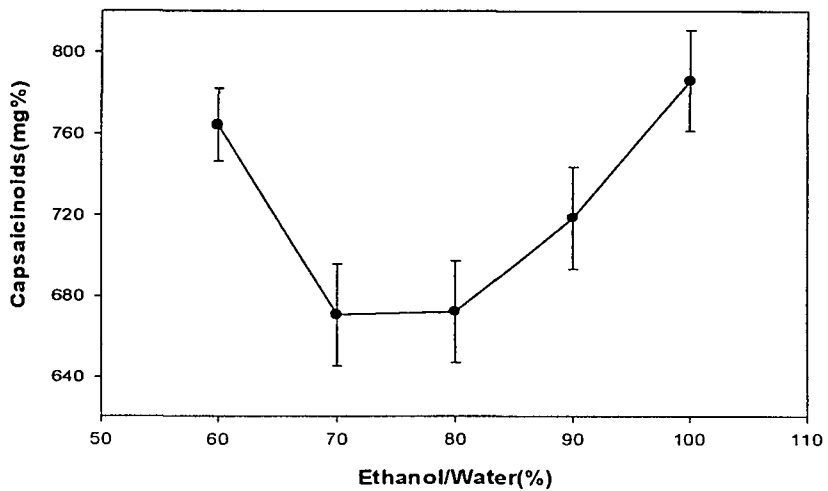


Fig. 6-b. Effect of ethanol concentration on extraction of capsaicinoids and on the precipitation of carbohydrates

Fig.5-6 Effect of ethanol concentration on extraction of capsaicinoids

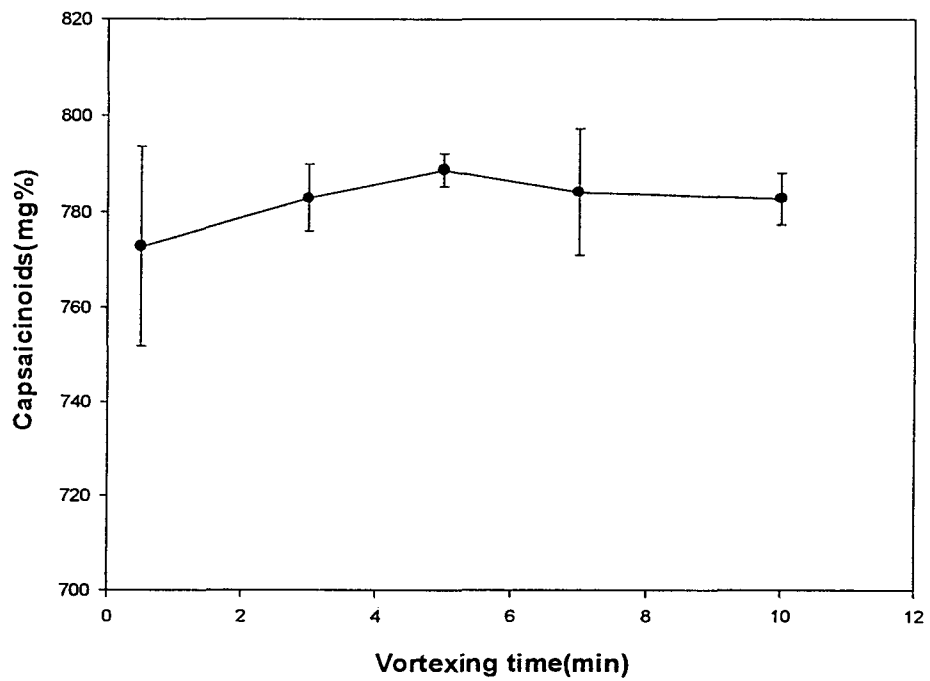


Fig.5-7 Effect of the vortexing time on the extraction of capsaicinoids from the DMSO solubilized mixture after addition of ethanol.

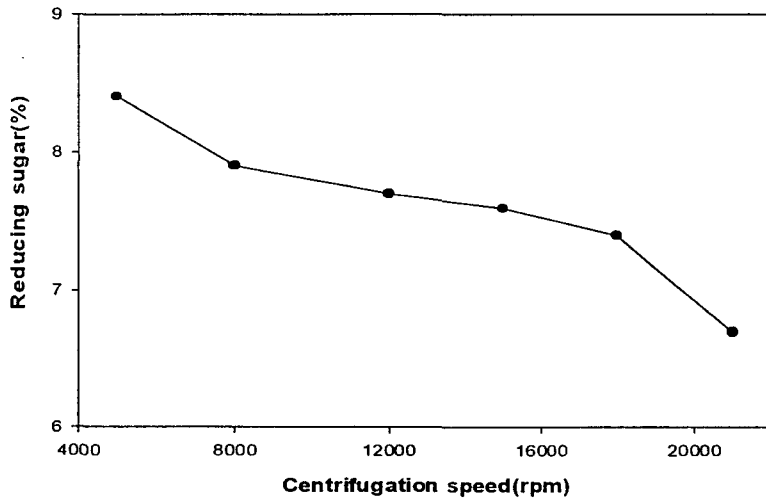


Fig. 8-a. Effect of the centrifugation speed on the content of capsaicinoids.

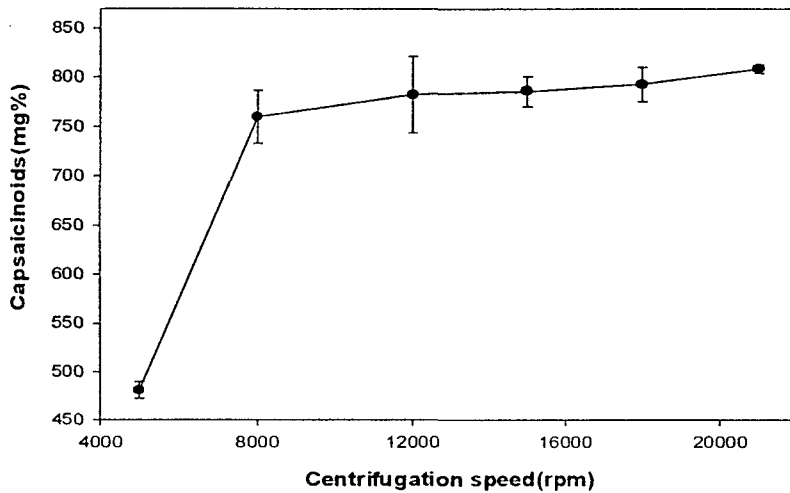


Fig. 8-b. Effect of the centrifugation speed on the content of capsaicinoids.

Fig.5-8 Effect of the centrifugation speed on the contents of capsaicinoids

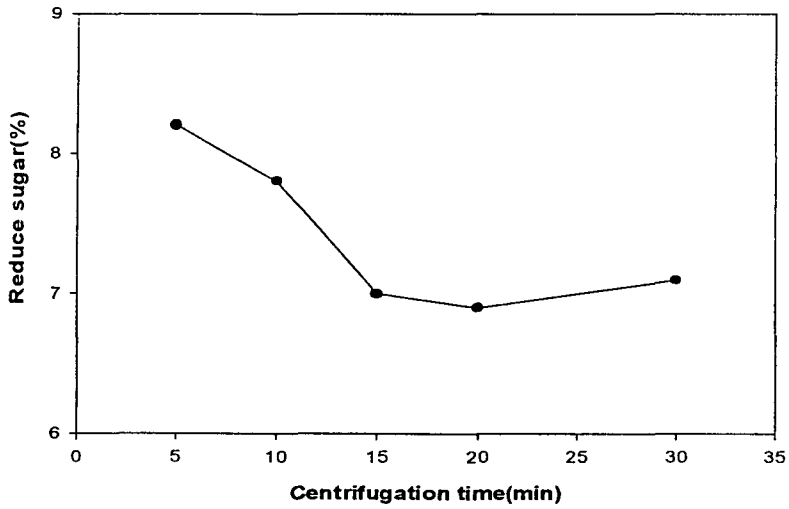


Fig. 9-a. Effect of the centrifugation time at 21000rpm on the extraction of capsaicinoids and on the content of carbohydrates

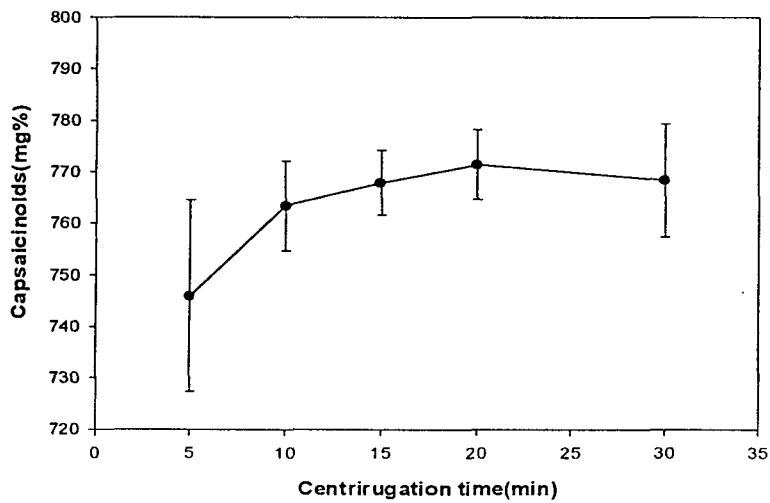


Fig. 9-b. Effect of the centrifugation time at 21000rpm on the extraction of capsaicinoids and on the content of carbohydrates.

Fig.5-9 Effect of the centrifugation time on the contents of capsaicinoids

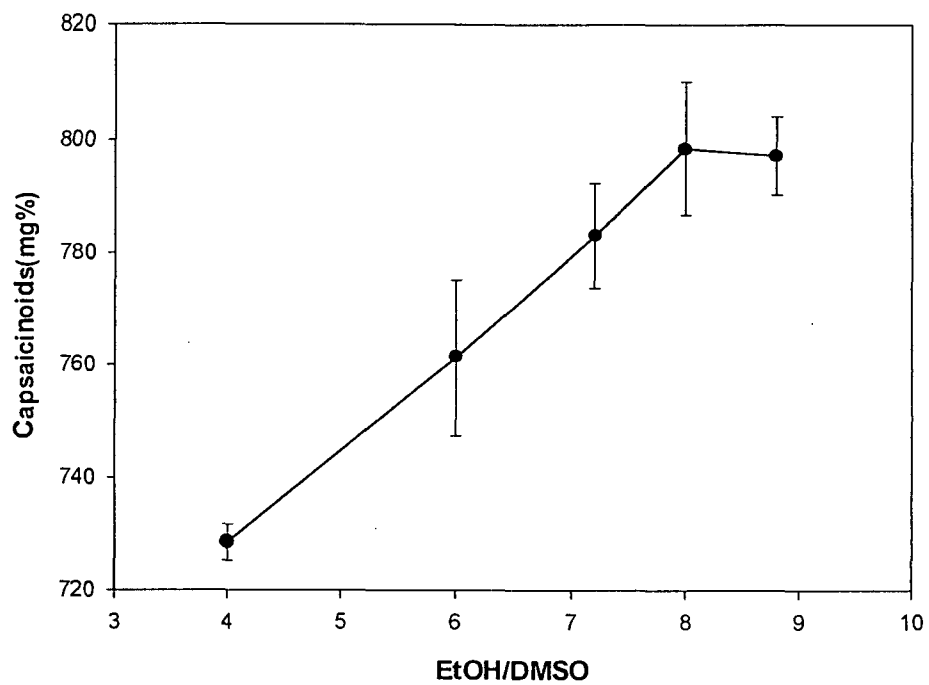


Fig.5-10 Effect of the ratio of EtOH to DMSO on the extraction of capsaicinoids

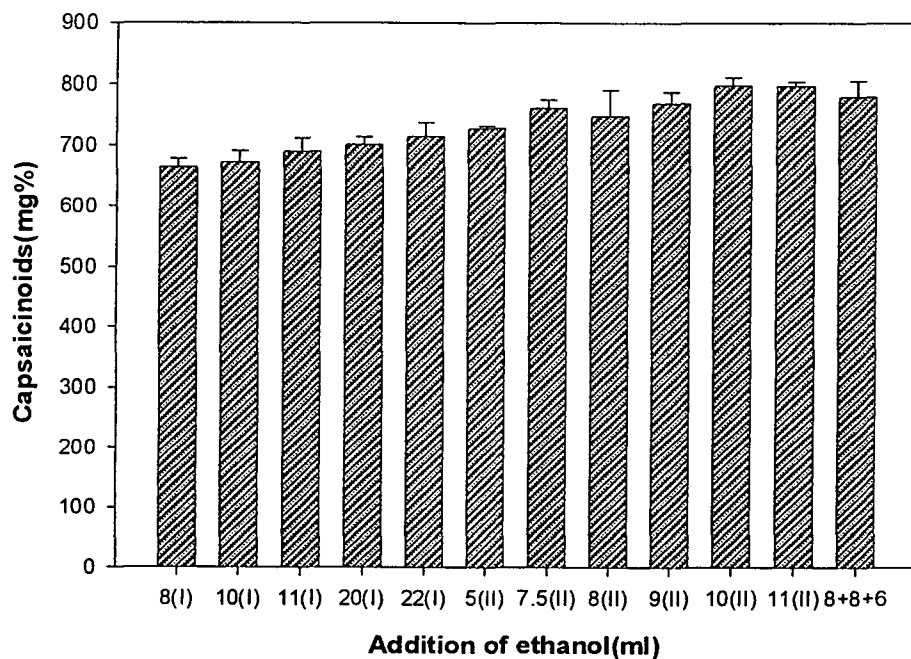


Fig. 11. Effect of addition of ethanol to DMSO - solubilized microcapsule on the content of capsaicinoids. 1.25ml of DMSO was added to 0.15g of microcapsule.

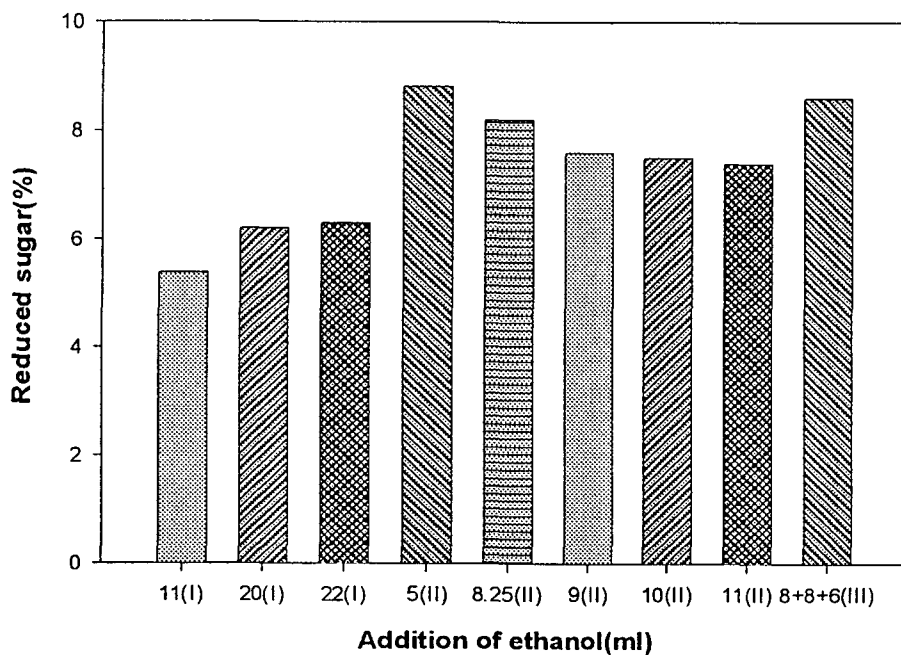


Fig. 12. Effect of addition of ethanol DMSO - solubilized microcapsule on the content of capsaicinoids. 1.25ml of DMSO was added to 0.15g of microcapsule.

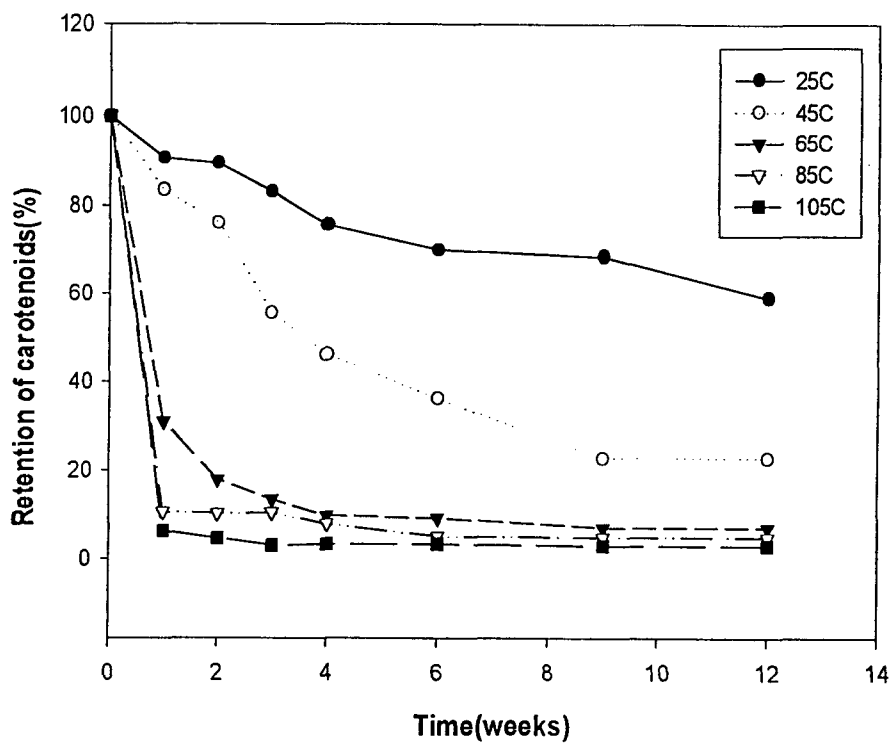


Fig. 13. Change in carotenoids content of red pepper oleoresin during storage at various temperature.

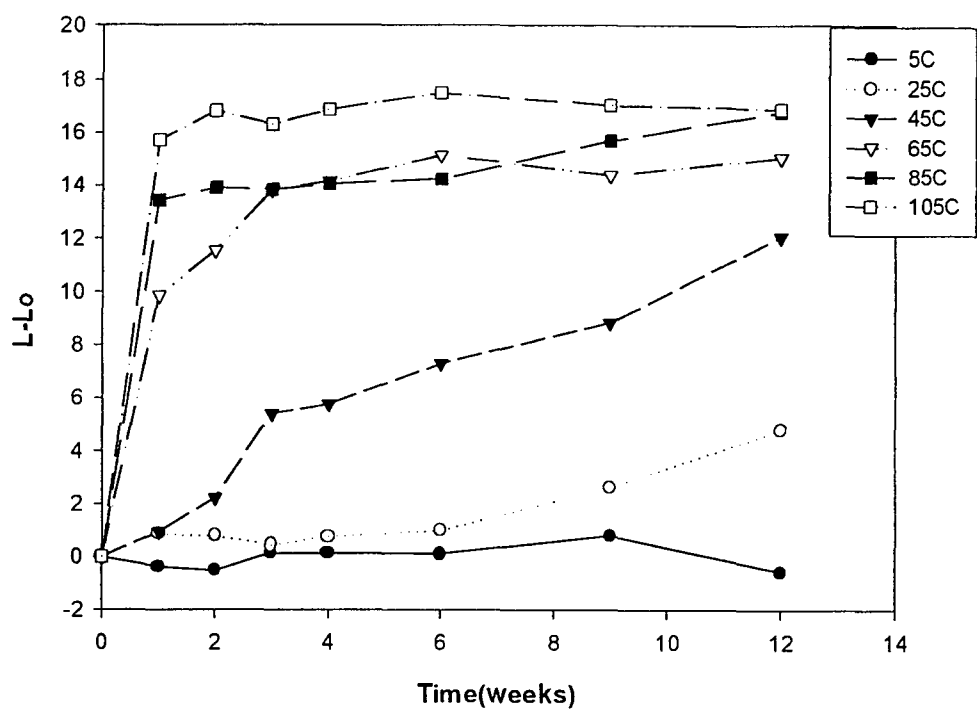


Fig. 14-a. Variation of the colorimetry parameter "L-Lo" during storage of red pepper oleoresin. Storage at 5°C, 25°C, 45°C, 85°C and 105°C.

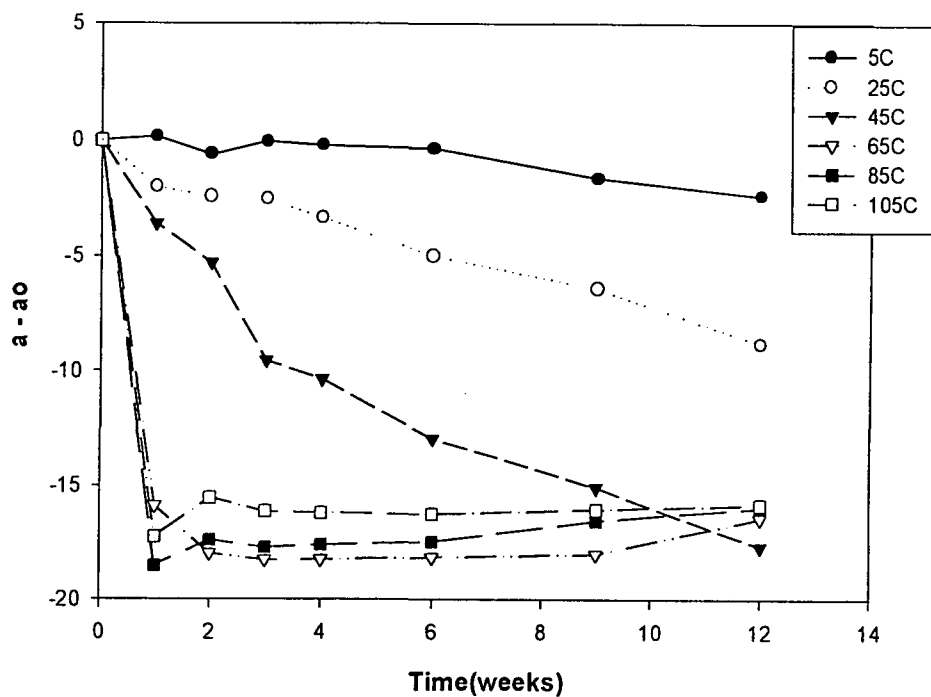


Fig. 14-b. Variation of the colorimetry parameter "a -ao" during storage of red pepper oleoresin. Storage at 5°C,25°C,45°C, 65°C,85°C and 105°C.

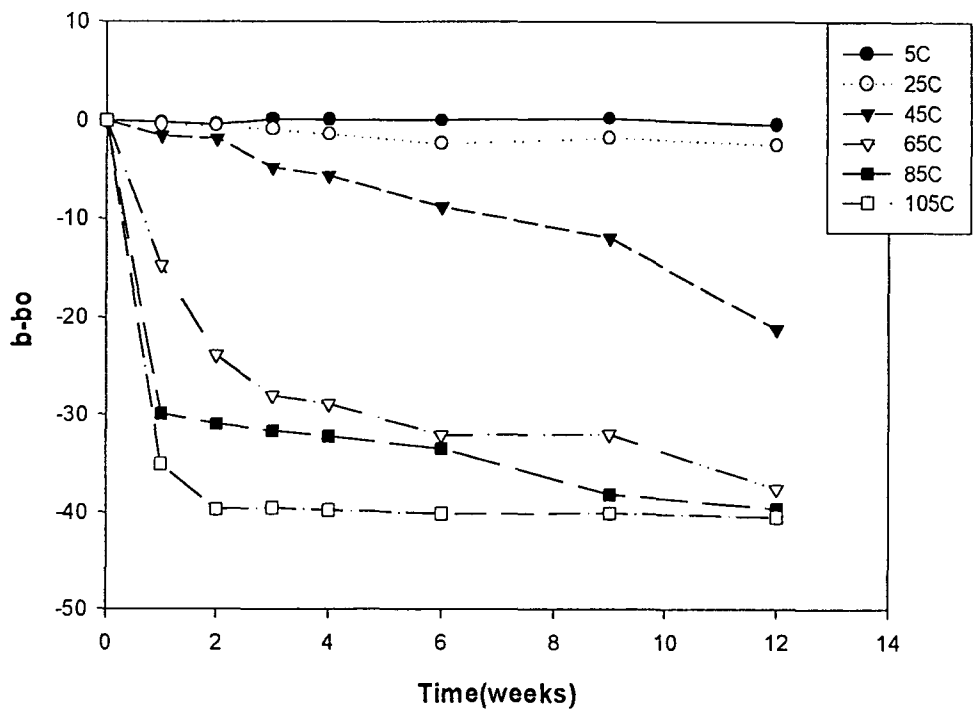


Fig. 14-c. Variation of the colorimetry parameter "b-bo" during storage of red pepper oleoresin. Storage at 5°C, 25°C, 45°C, 65°C, 85°C and 105°C.

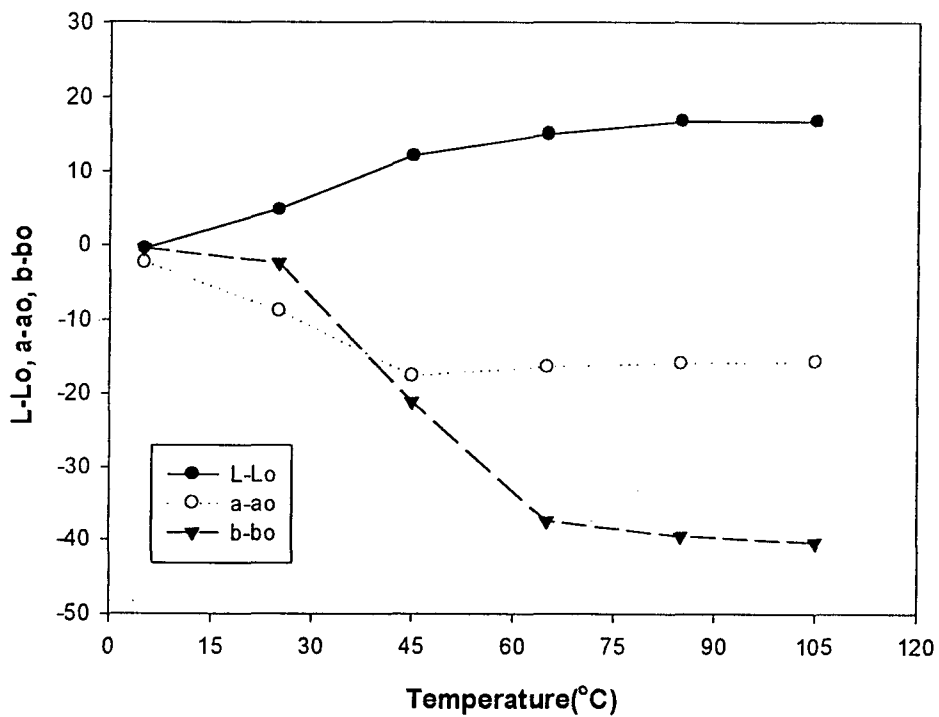


Fig. 15. Variation of the colorimetry parameter "L-Lo", "a-ao" and "b-bo" after 12 week storage of red pepper oleoresin.

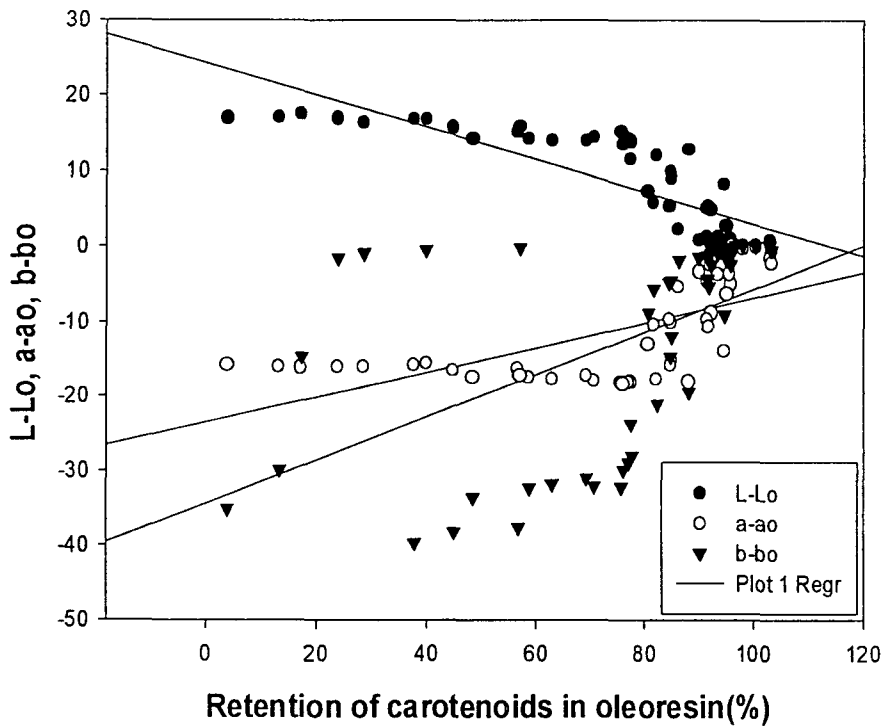


Fig. 16. Correlation between colorimetry parameter "L-Lo", "a-ao" and "b-bo" and carotenoids retention in red pepper oleoresin.

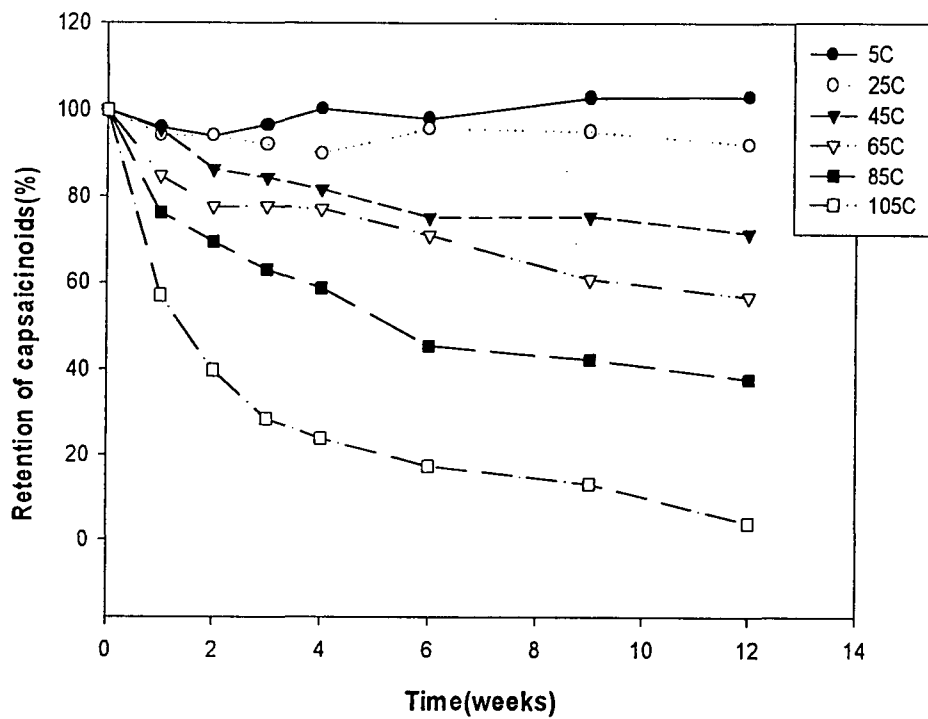


Fig. 17. Changes in capsaicinoids content of red pepper oleoresin during storage at various temperature.

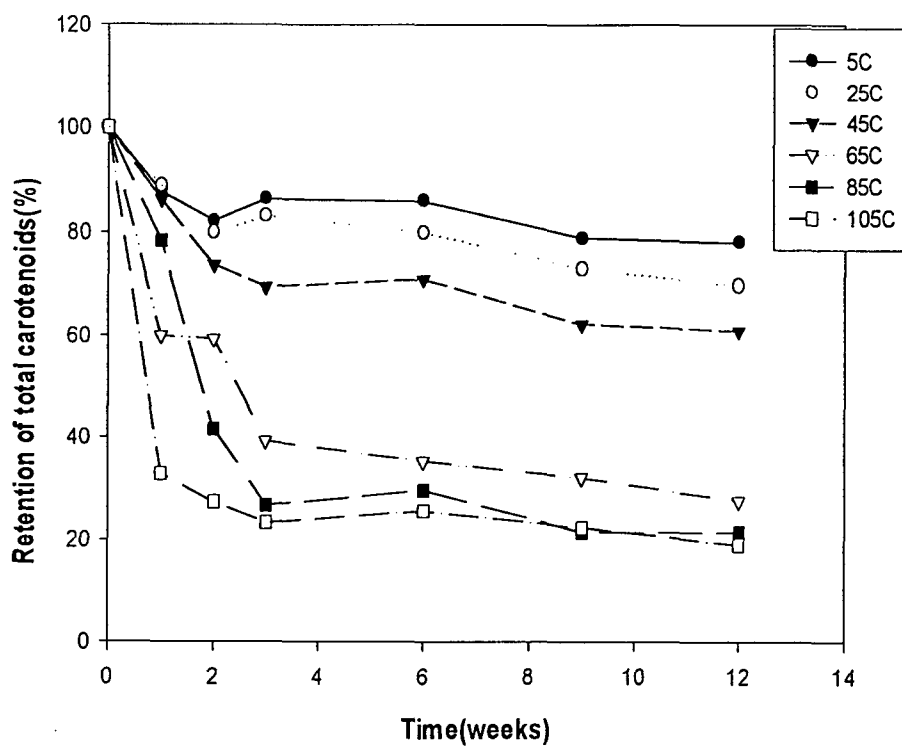


Fig. 18. Change in total carotenoid content of encapsulated red pepper oleoresin in gum and modified starch mixture (50:50, w/w).

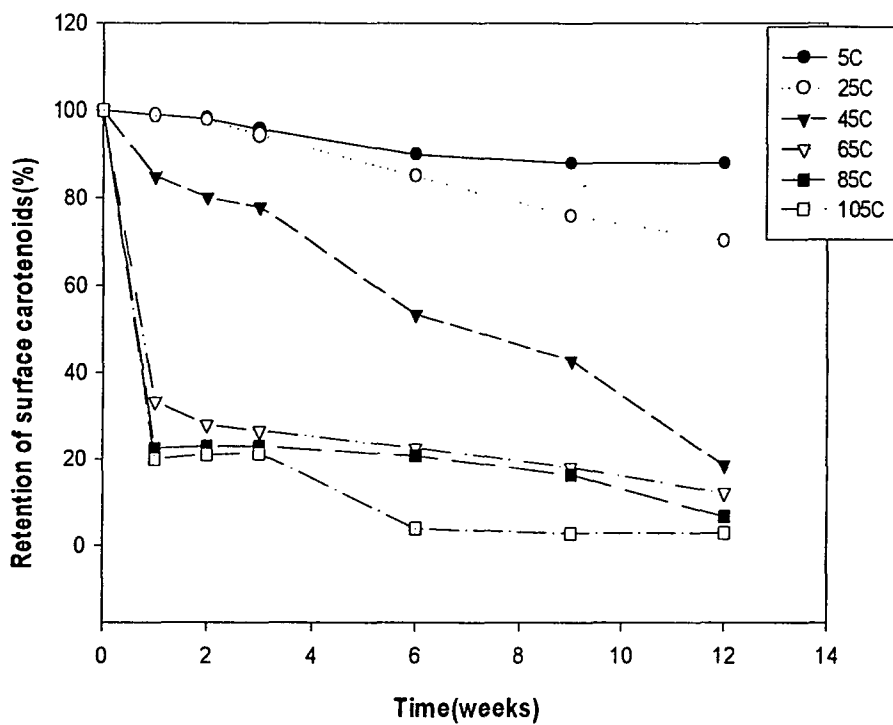


Fig. 19. Changes in surface carotenoid content of encapsulated red pepper oleoresin in gum and modified starch mixture (50:50, w/w).

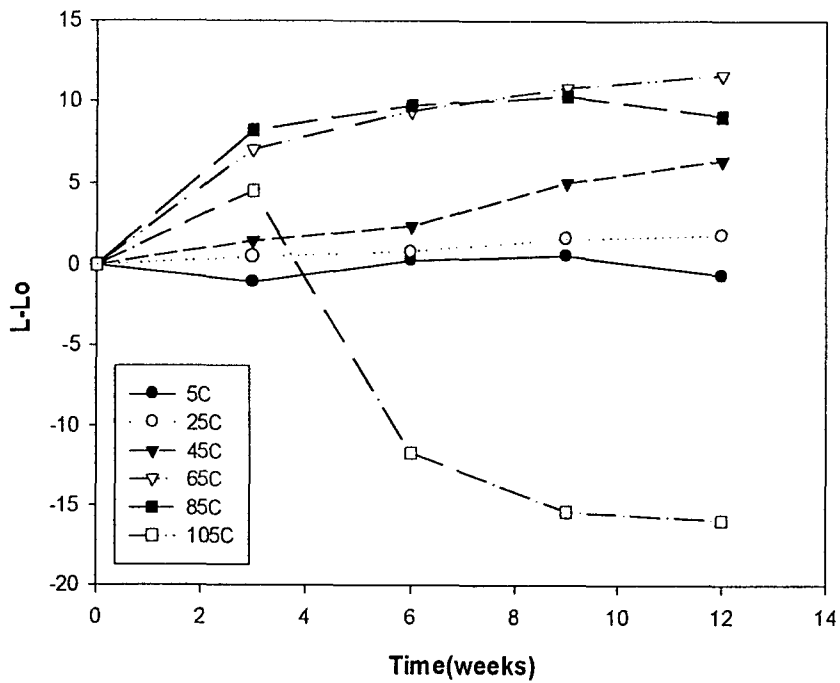


Fig. 20-a. Variation of the colorimetry parameter "L-Lo" during storage of red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50, w/w, powder). Storage at 5°C,25°C,45°C,65°C 85°C and 105°C.

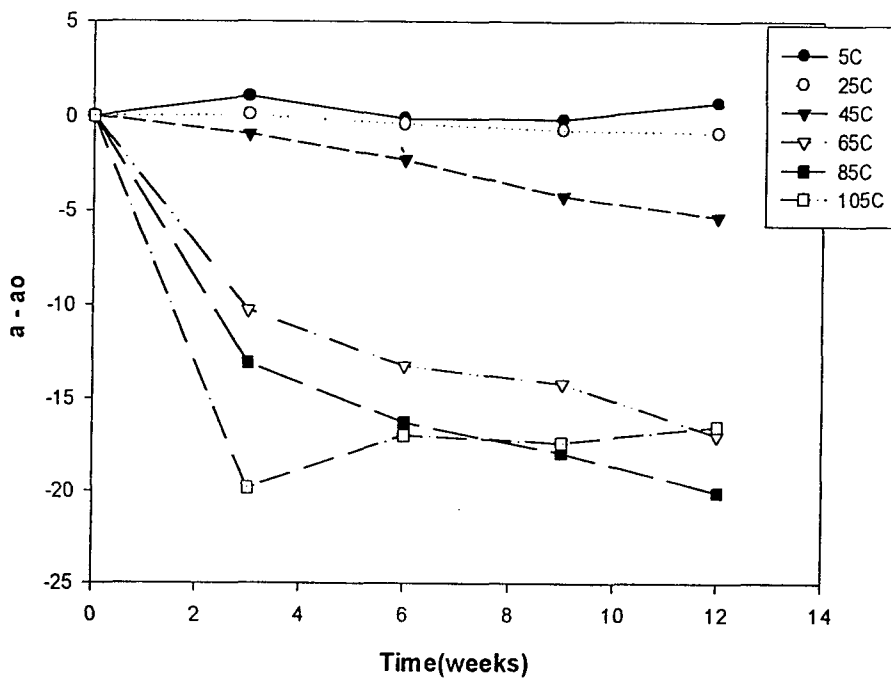


Fig. 20-b. Variation of the colorimetry parameter "a-a₀" during storage of red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50, w/w, powder). Storage at 5°C, 25°C,45°C,65°C,85°C and 105°C.

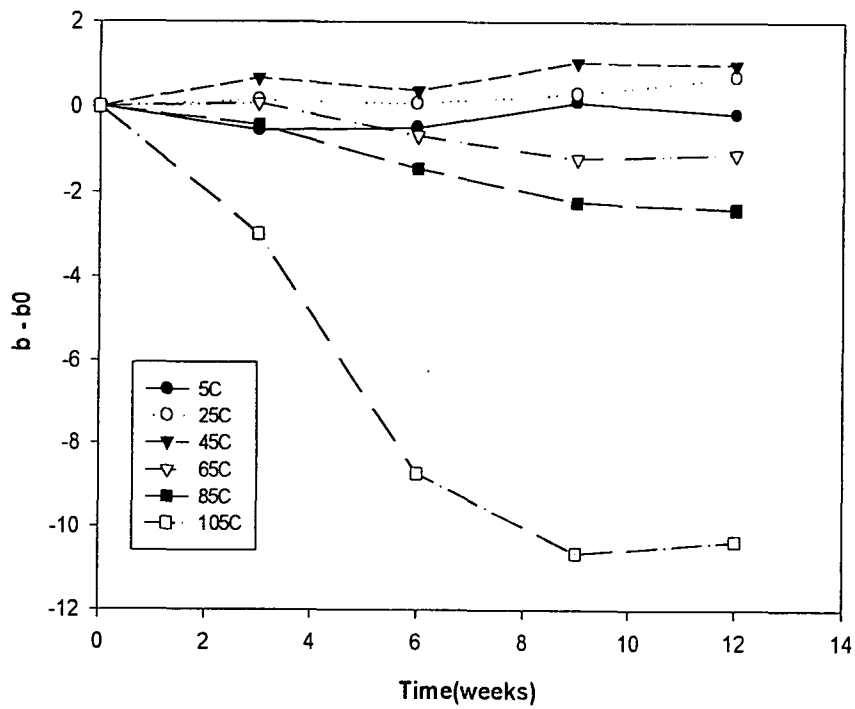


Fig. 20-c. Variation of the colorimetry parameter "b - b₀" during storage of red pepper oleoresin encapsulated powder storage 5C,25C,45C,65C, 85C and 105C.

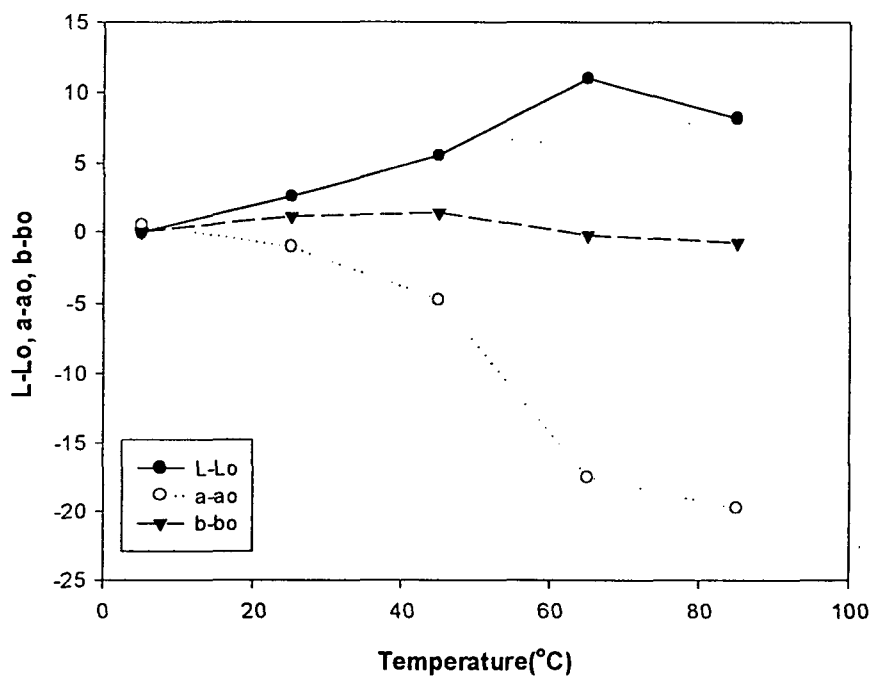


Fig. 21 Variation of the colorimetry parameter "L-Lo", "a-ao", "b-bo" after 12 week storage of red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50%, w/w, Powder).

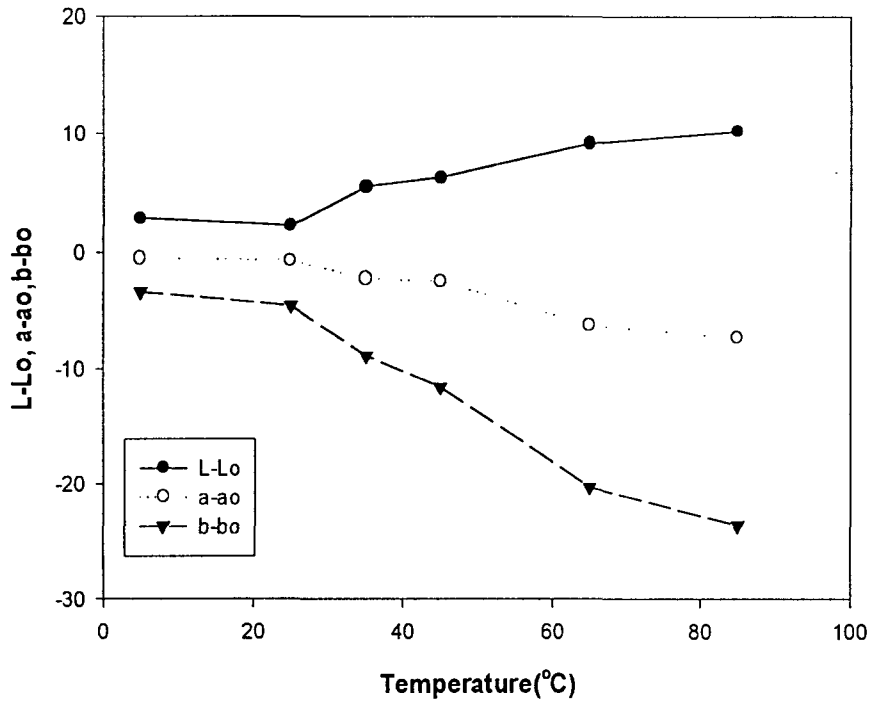


Fig. 22. Variation of the colorimetry parameter "L-Lo","a-ao","b-bo' after 12 week storage of red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch(50:50, w/w, Extracted total oleoresin).

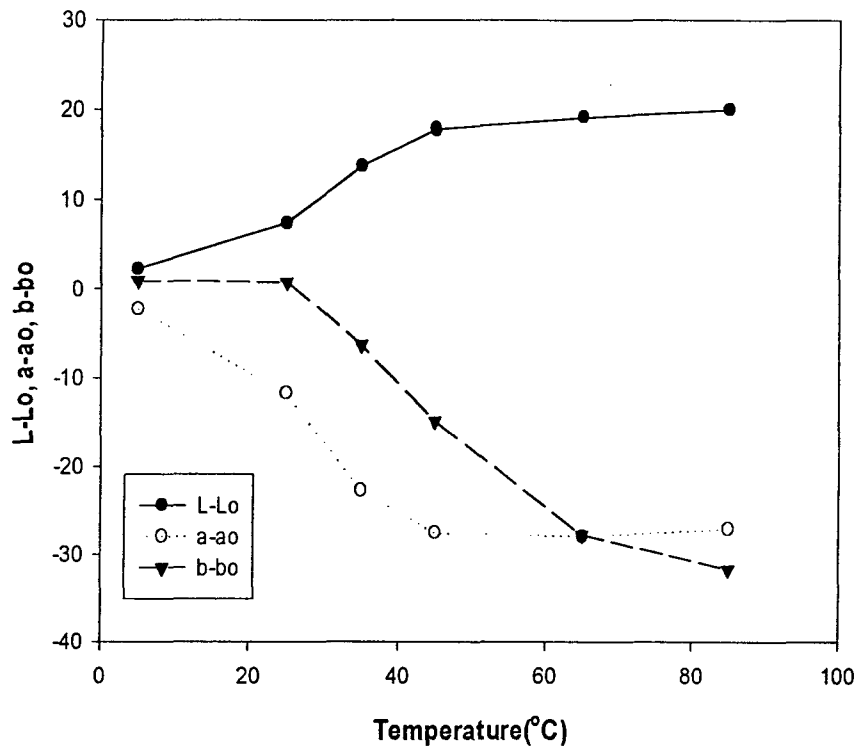


Fig. 23. Variation of the colorimetry parameter "L-Lo", "a-ao", "b-bo" of surface oleoresin after 12 week storage of red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50%, w/w).

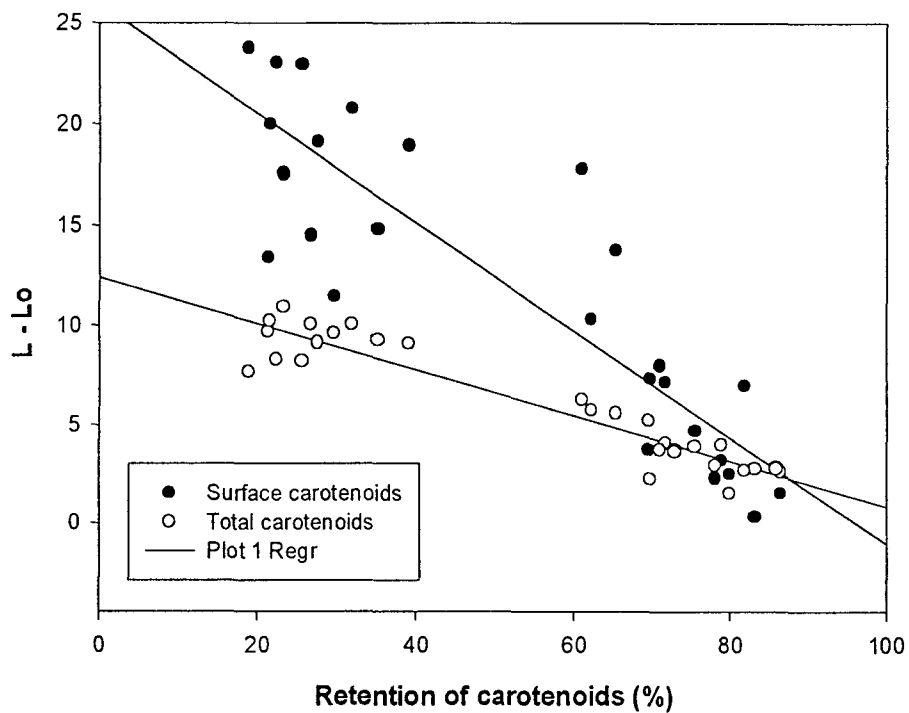


Fig. 24-a. Correlation between colorimetry parameters L-L₀ and carotenoids retention in red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50, w/w).

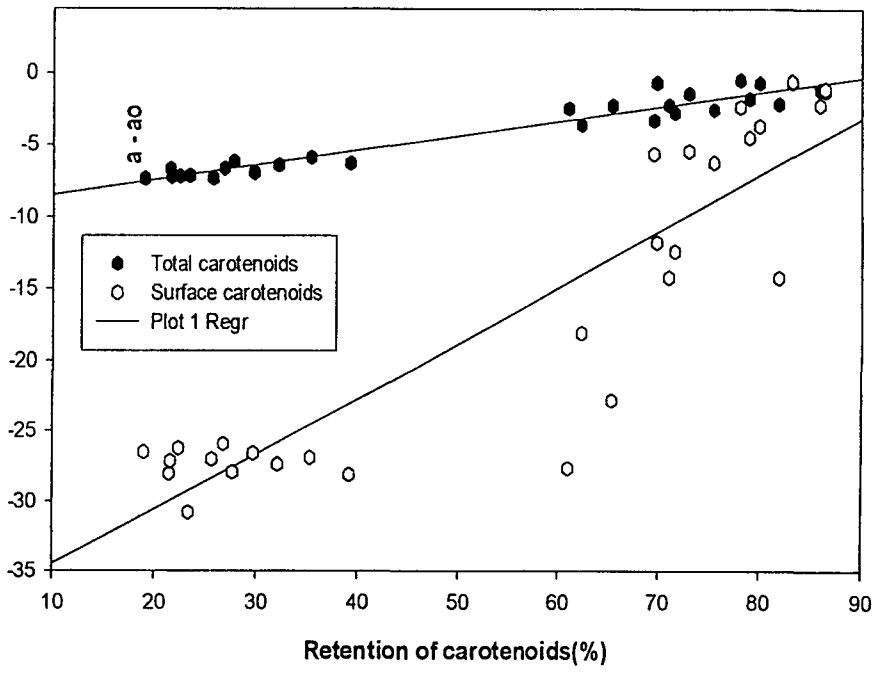


Fig. 24-b. Correlation between colorimetry parameters "a-ao" and carotenoids retention in red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50, w/w).

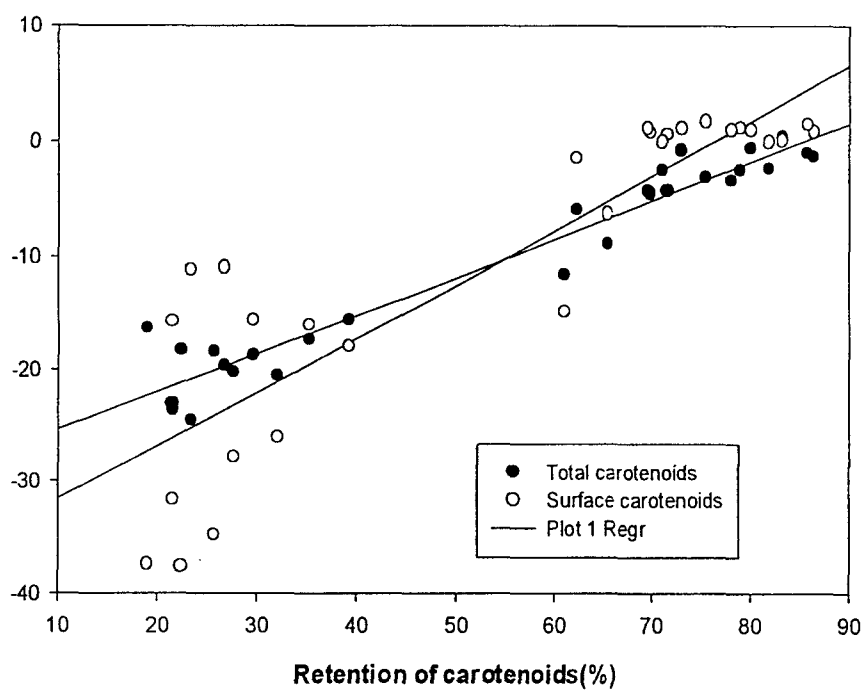


Fig. 24-c. Correlation between colorimetry parameters $b-b_0$ and carotenoids retention in red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50, w/w).

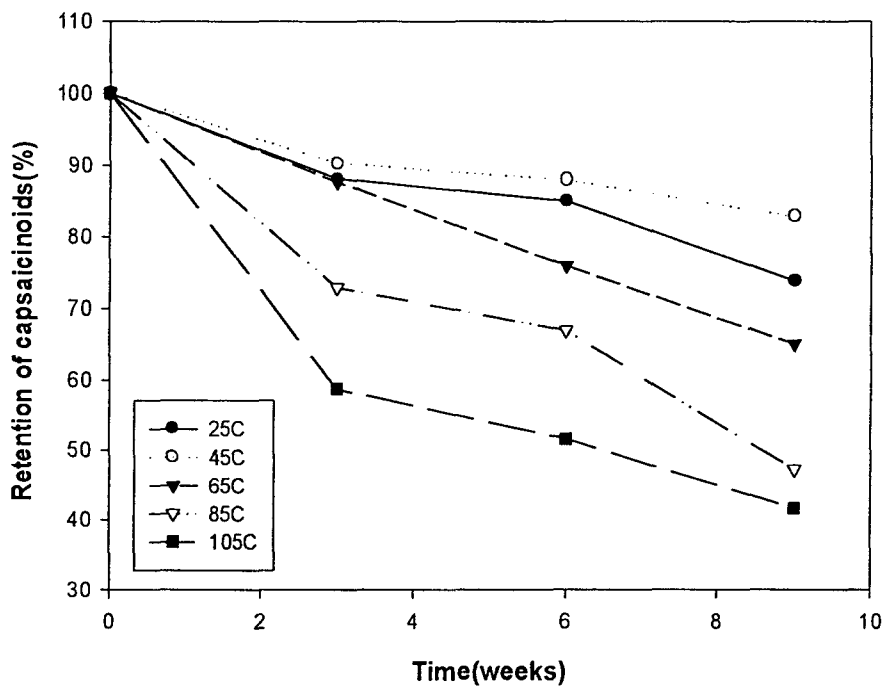


Fig. 25. Change in total capsaicinoids of encapsulated red pepper oleoresin in gum and modified starch mixture (50:50, w/w).

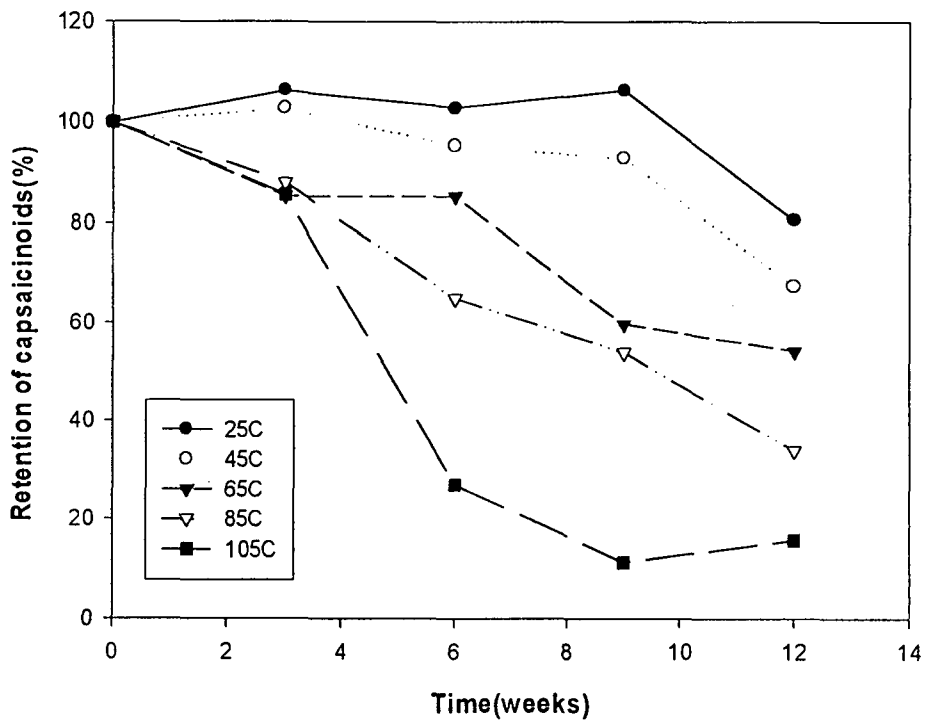


Fig. 26. Change in surface capsaicinoids of encapsulated red pepper oleoresin in gum and modified starch mixture (50:50, w/w).

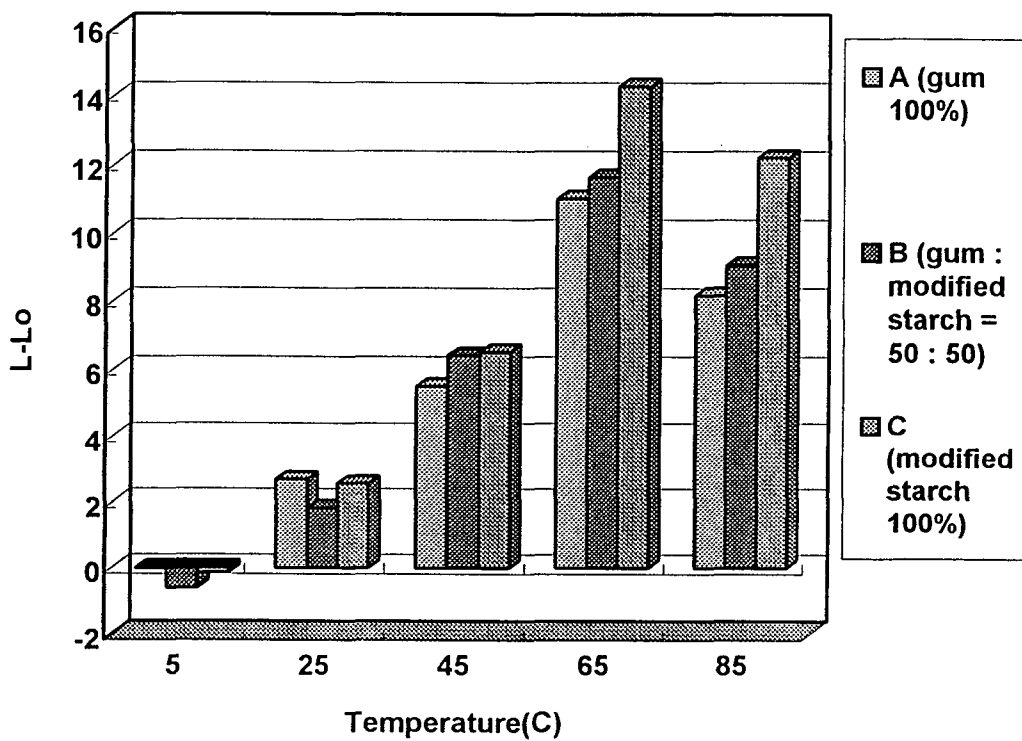


Fig. 27-a. Variation of the colorimetry parameter "L-Lo" after storage of microcapsules with different wall material for 12 weeks(Powder).

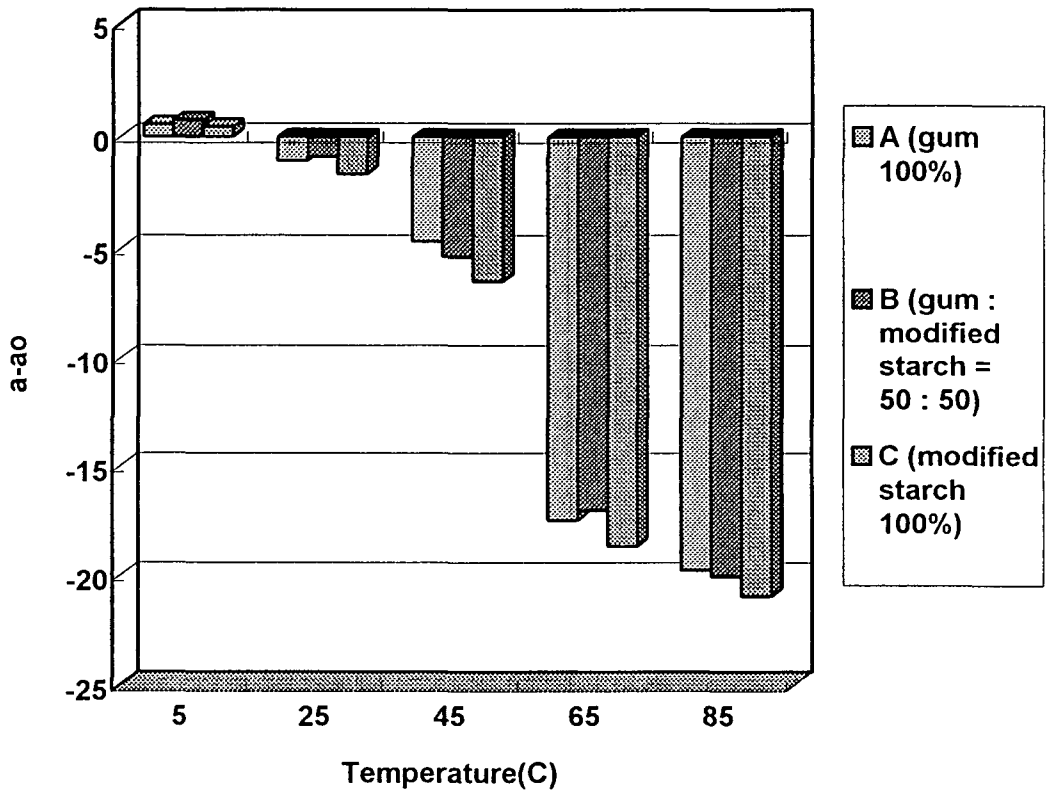


Fig. 27-b. Variation of the colorimetry parameter "a-ao" after storage of microcapsule of different wall material for 12 weeks(Powder).

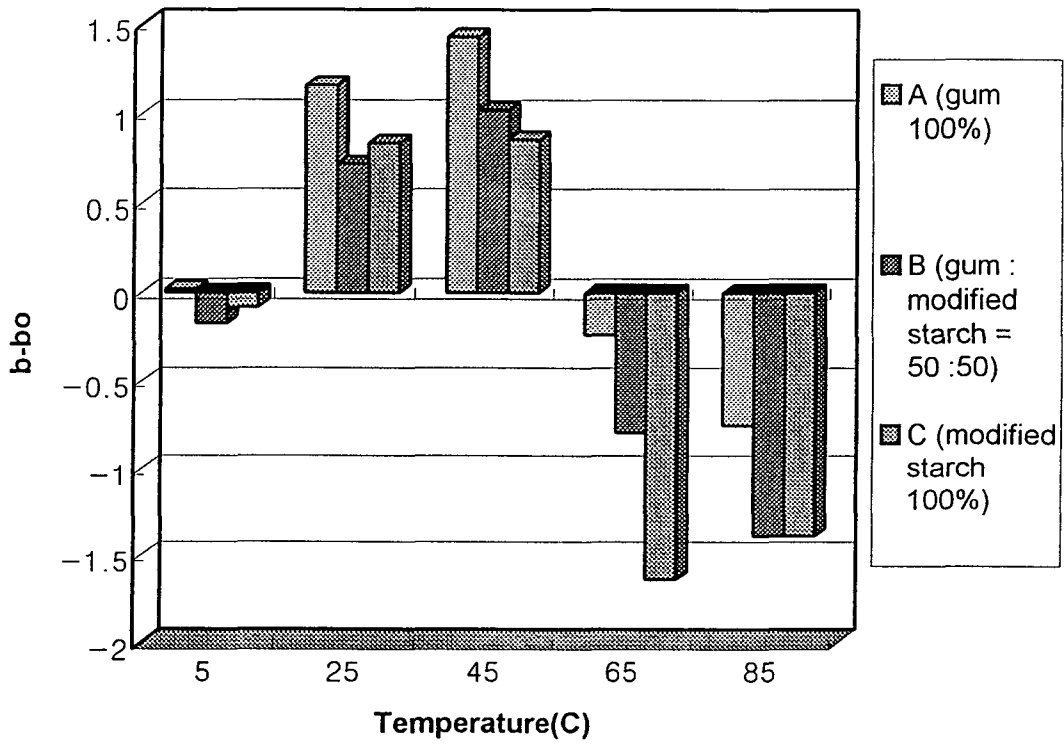


Fig. 27-c. Variation of the colorimetry parameter "b-bo" after storage of microcapsules with different wall material for 12 weeks(Powder).

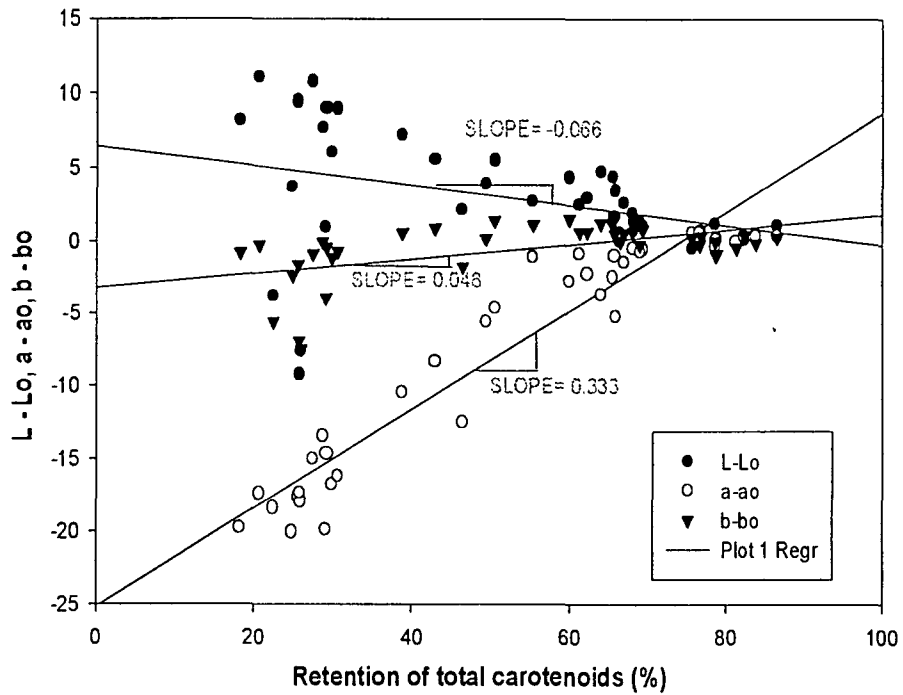


Fig. 28-a. Correlation between colorimetry parameters "L-Lo" , "a-ao" and "b-bo" and carotenoid retention in red pepper oleoresin encapsulated in gum(Microcapsule A).

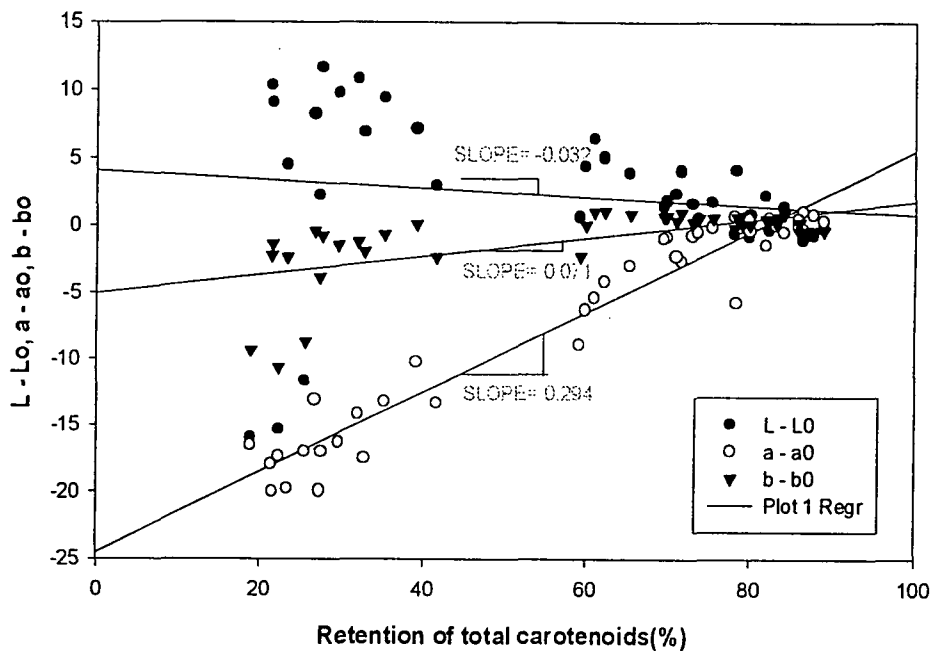


Fig. 28-b. Correlation between colorimetry parameters "L-Lo", "a-a0" and "b-b0" and carotenoid retention in red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture (50:50, w/w). (Microcapsule B)

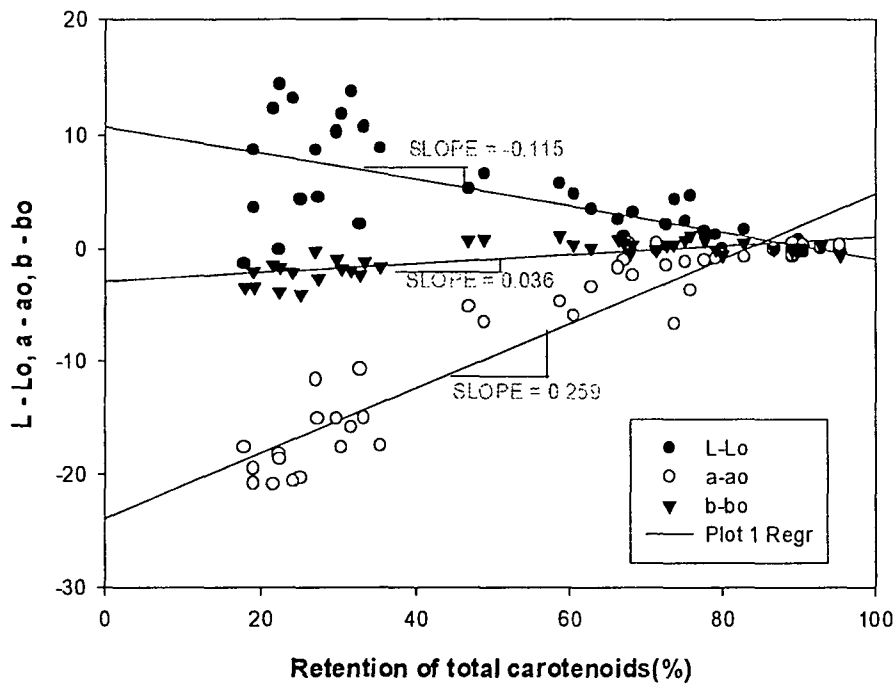


Fig. 28-c. Correlation between colorimetry parameters "L-Lo", "a-ao" and "b-bo" and carotenoids retention in red pepper oleoresin encrocapsulated in modified starch(Microcapsule C)

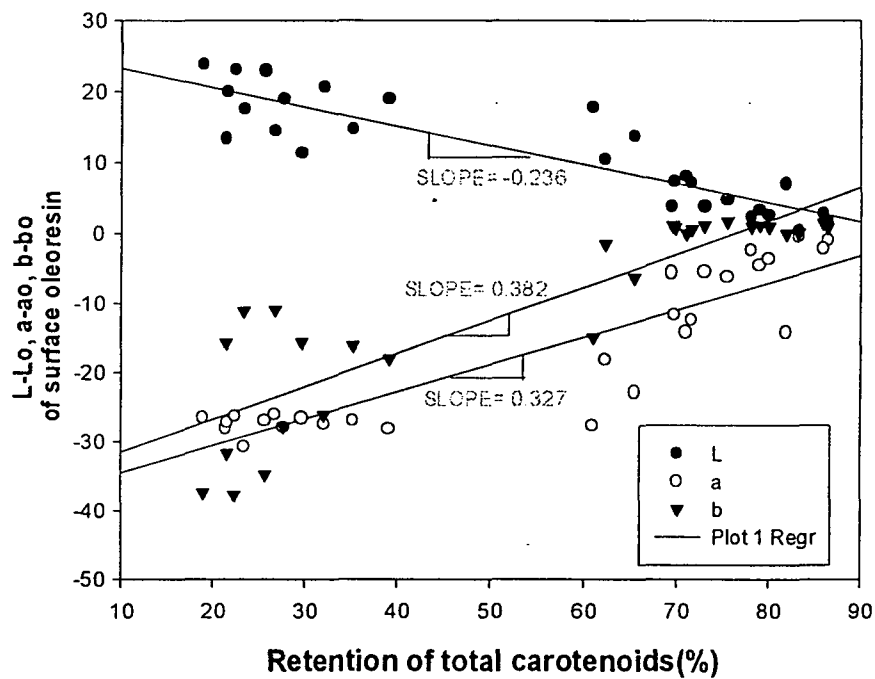


Fig. 29. Correlation between colorimetry parameters "L-Lo", "a-a0" and "b-bo" of extracted surface oleoresin and carotenoids retention of red pepper oleoresin encapsulated in gum and modified starch mixture(50:50, w/w).

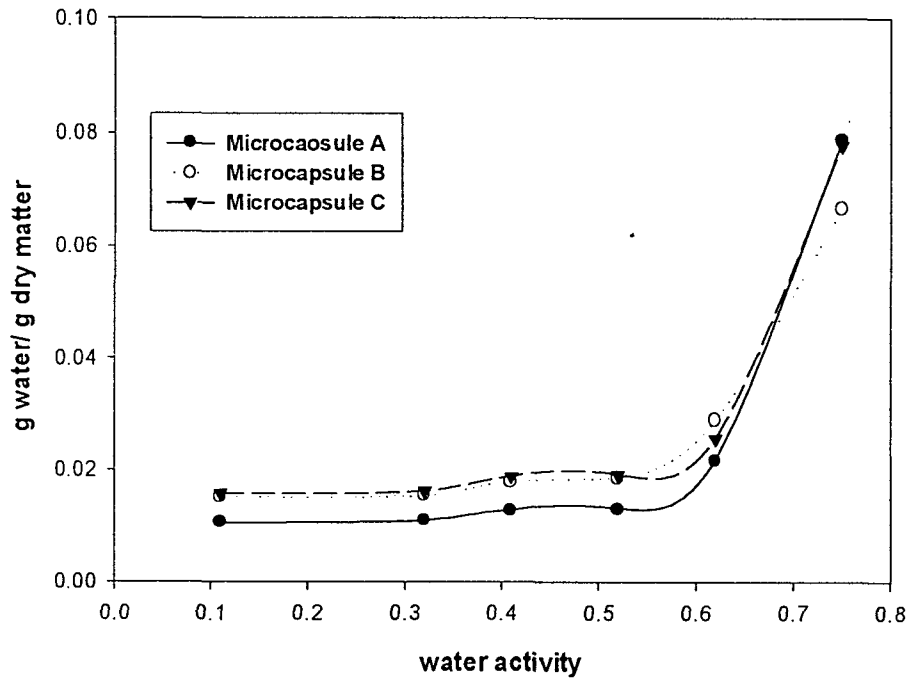


Fig. 30. Water Sorption Isotherm of various wall materials with red pepper oleoresin encapsulated at 45°C. Wall material of microcapsule A, B and C(A-gum 100%, B-gum : modified starch 50 : 50, C-modified starch 100%).

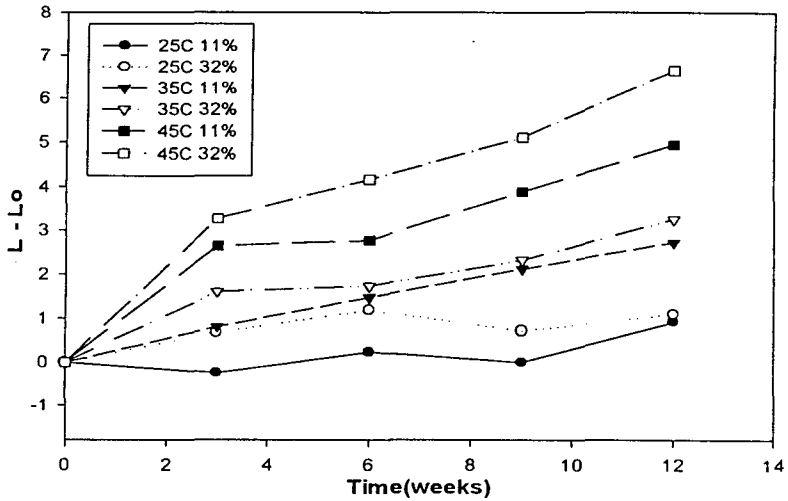


Fig. 31-a. Variation of the colorimetry parameter "L" and "a" during storage of red pepper oleoresin encapsulated stored 25C, 35C and 45C and both 11% RH and 32% RH.

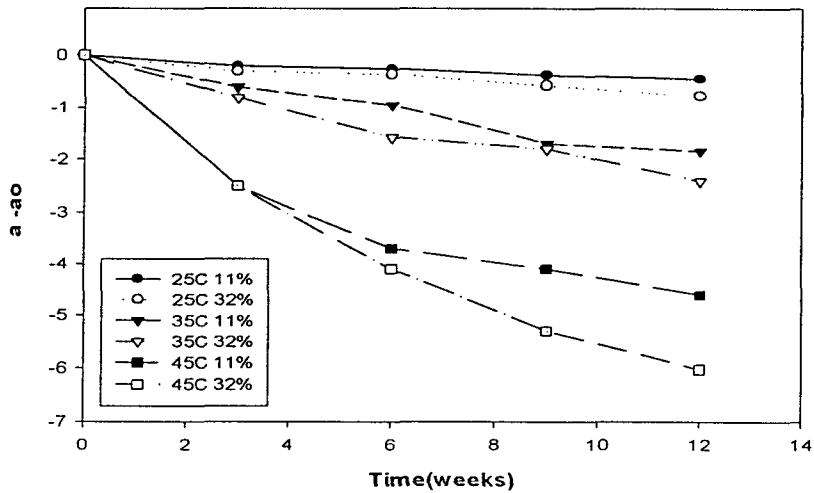


Fig. 31-b. Variation of the colorimetry parameter "L" and "a" during storage of red pepper oleoresin encapsulated storage 25C,35C and 45C and both 11% RH and 32% RH.