GA0108-9910

최 종
연구보고서

사과 미숙과의 활용도 증진 연구

Studies on The Utilization of Unripe Apples

연구기관

한국식품개발연구원

농 림 부

최 종
연구보고서

GA0108-9910

160

사과 미숙과의 활용도 증진 연구

Studies on The Utilization of Unripe Apples

연구기관

한국식품개발연구원

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "사과 미숙과의 활용도 증진 연구"과제의 최종연구보고서로 제출합니다.

1999. 11.

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원
총괄연구책임자 : 박용곤
연 구 원 : 최인욱
연 구 원 : 김흥만
연 구 원 : 김성란
연 구 원 : 박미원
연 구 원 : 차환수
연 구 원 : 최희돈
연 구 원 : 석호문
연 구 원 : 강윤한

요 약 문

Ⅰ. 제 목

사과 미숙과의 활용도 증진 연구

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

o 적과시 대량으로 발생하나 폐기처분되는 미숙사과의 식품학적 특성과 기능성 물질의 하나인 폴리페놀계화합물의 특성, 분리, 정제를 통하여 미숙사과의 식품가공용 소재로서의 이용 가능성을 모색함과 동시에 미숙사과를 이용한 가공제품을 개발하여 폐자원을 고부가가치화하고자 함

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

1. 미숙사과의 이화학적 특성 검토
   - o 미숙사과의 식이섬유, 무기질, 유기산, 유리당 등의 변화 조사
   - o 미숙사과 착즙액의 산도, 당도, pH, 색도 등 조사

2. 미숙사과의 페놀계화합물
   - o 미숙사과 용매추출물의 페놀계화합물
   - o 미숙사과 착즙액의 페놀계화합물

3. 페놀성화합물의 분리, 정제 및 특성 검토
   - o 페놀성화합물의 분리, 정제
   - o 정제 페놀성화합물의 특성

4. 미숙사과를 이용한 가공제품 개발
   - o 티백형 침출차 제품

o 과립형 분말 제품

o 당액절임 제품

o 발효주 제품

o 음료 제품

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 미숙사과의 식품학적 특성

가. 개화 후 40, 70일 정도에 수확한 미숙사과의 평균중량은 각각 4.7g, 40.5g였다. 총식이섬유의 함량은 5월 30일 시료가 건물기준 32.01%로 높았고 개화 후 성숙이 진행됨에 따라 수용성식이섬유의 함량이 증가하는 반면 불용성식이섬유는 감소하였다.

나. 미숙사과의 유리당은 건물기준 5월 30일 시료는 glucose가 11.7%, fructose가 9.4%로 총유리당 함량의 99%를 차지한 반면 6월 30일 시료는 fructose의 함량이 40.8%로 가장 높았다. 유기산은 5월 30일 시료는 malic acid가 3.0%, qunic acid가 1.8%를 보인 반면 6월 30일 시료는 총량은 차이가 없었으나 malic acid의 함량과 구성비가 증가하였다.

다. 5월 30일 적과된 미숙사과는 6월 30일 시료에 비해 Ca, Mg, K의 함량이 각각 4.3, 3.2, 2배 높았다. 미숙사과의 구성 아미노산은 aspartic acid, glutamic acid, leucine의 순으로 함량이 높았으나 6월 30일 시료의 총아미노산 함량은 3.5배 감소하였다.

라. 미숙사과 착즙액의 당도는 5월 30일의 7.3。BX에서 7월 30일에는 10.7。BX로 증가한 반면 산도는 1.05%에서 0.53%로 감소하였다. 전처리방법을 달리하여 얻은 미숙사과 착즙액의 pH, 비중, 산도는 차이가 없는 것으로 나타났으나 분광광도계에 있어서 파장 변화에 따른 흡광도는 60℃ 예열처리구가 다른 것에 비해 파장별 변화가 큰 것으로 나타났다.

2. 미숙사과의 페놀계화합물의 특성

가. 미숙사과의 부위별 용매추출물의 총폴리페놀 함량은 열수추출물이 수확시기, 부위별 모두 가장 낮은 값을 보인 반면 75% 아세톤추출물은 가장 높은 함량을 보였다. 5월 30일 시료는 추출용매에 관계없이 6월 30일의 시료에 비해 약 3.5배 높은 함량을 보였다. 추출물의 flavanol형 탄닌의 함량은 과피부위, 75% 아세톤추출물이 가장 높았고, 5월 30일 수확한 시료가 6월 30일에 비해 5.5배 높은 함량을 보였다. Chlorogenic acid는 과피부위가 가장 높았고, 수확시기에 따라 3배이상 차이를 보였다.

나. 과피부위 추출물의 flavanol형 탄닌의 중합도는 다른 부위에 비해 낮았고, 열수추출물은 다른 용매추출물보다 중합도가 큰 것으로 나타났다. 총플라보노이드의 함량은 과피부위가 과육부위에 비해 2.7배, 5월 30일 시료가 6월 30일 시료보다 5배 높았다.

다. 5월 30일 수확한 시료는 분말농도 0.1%에서 6월 30일 시료의 0.5%와 유사한 전자공여효과를 보였고, 과피부위는 추출용매에 관계없이 90%이상의 효과를 나타내었다. 또한 5월 30일 시료의 아질산염소거작용은 추출용매에 관계없이 pH 1.2에서 가장 높았고, 특히 80% 메탄올추출물은 pH 3.0에서 다른 추출물과는 달리 약 90%에 가까운 효과를 보였다.

라. 미숙사과 착즙액의 총폴리페놀 함량은 예열처리구가 가장 높고 동결, 해동처리구가 가장 낮았다. 착즙액 또한 chlorogenic acid의 함량과 구성비가 가장 높았다. Flavanol형 탄닌의 중합도는 예열처리구가 다른 처리구에 비해 다소 높았으며, 고분자량 분획의 구성비는 냉동, 해동처리구가 가장 낮았다. 전저공여작용은 예열처리구가 72%로 가장 높고 냉동, 해동처리구가 61%로 가장 낮았다. 아질산염소거작용은 미숙사과를 그대로 착즙한 것이 68%로 가장 높았다. 그러나 착즙액의 ACE 저해효과는 약한 것으로 나타났다.

3. 페놀계 화합물의 분리, 정제 및 특성

가. 미숙사과 착즙액의 폴리페놀물질을 HPLC로 분석한 결과 catechin, chlorogenic acid, epicatechin, phloridzin이 분리, 확인되었다. 착즙액의 전처리 방법에 관계없이 chlorogenic acid와 phloridzin의 함량이 각각 107.8 111.9mg%, 106.8 116.2mg%로 가장 높았고 이들 성분이 총량의 약 70%를 차지하였다. 수확시기별 미숙사과 착즙액은 성숙이 진행됨에 따라 chlorogenic acid와 phloridzin의 함량이 급격히 감소하였고 저장 사과는 chlorogenic acid 이외의 성분들은 검출되지 않았다.

나. 미숙사과 용매추출물의 폴리페놀물질도 착즙액과 동일한 성분들로 구성되어 있었고 chlorogenic acid와 phloridzin의 함량이 높았다. 그러나 용매추출물의 폴리페놀물질의 구성비는 열수추출물의 경우 chlorogenic acid, 75% 메탄올과 80% 아세톤추출물은 phloridzin 의 구성비가 분리, 확인된 물질 중 가장 높았다.

다. 미숙사과 착즙액 폴리페놀물질의 정제를 위해 예열처리 후 착즙한 액을 Sep-Pak C18 카트리지에 흡착 후 메탄올 용액으로 탈착시켜 얻은 용액은 원액과 폴리페놀물질의 함량과 구성비에서 차이가 없었으며, 당성분은 검출되지 않았다. Sep-Pak C18 카트리지에서 1차 정제된 폴리페놀물질을 Sephadex LH-20칼럼에서 2차 정제할 경우 얻어지는 메탄올 용출액은 착즙원액과 비교시 단순폴리페놀화합물인 chlorogenic acid의 구성비가 증가한 반면 아세톤 용출액은 축합형 탄닌의 일종인 phloridzin 의 구성비가 급격히 증가하였다.

라. Sep-Pak C18 카트리지, Sephadex LH-20칼럼에서 정제된 폴리페놀화합물(1.0% 농도)은 pH 2 10의 범위에서 모두 89%이상의 내열성을 보였다. 또한 이들은 pH 2, 4에서 높은 내산성을 보였고, 특히 Sep-Pak C18 및 Sephadex LH-20칼럼 처리 후 아세톤 용출액은 높은 내산성을 나타났다. 전자공여작용은 Sephadex LH-20 칼럼에서 2차 처리 후 아세톤 용출 분획이 78%로 가장 높았고 Sep-Pak으로 1차 정제된 것은 중간 정도였다. 그러나 *S. mutans*에 대한 항균효과는 확인되지 않았다.

4. 미숙사과를 이용한 가공제품 개발

가. 티백형의 침출차는 미숙사과를 쵸핑, 건조, 분쇄, 볶음처리한 후 3g씩 포장하거나 현미를 볶음처리한 것을 동일비율로 혼합하여 완성하였다..

나. 과립형 분말은 착즙액을 여과, 농축(60。BX)한 농축액 15%에 비타민 C 0.2%, 비타민 B2 0.002%, 비타민 B6 0.001%, 구연산 0.2%, 사과산 0.2%, 스테비오사이드 0.1%, 향료 0.33%를 첨가, 용해한 것에 포도당 83.967%를 첨가, 반죽하고 이것을 과립화한 다음 건조, 포장하여 완성하였다.

다. 당절임 제품은 미숙사과를 탐침하고 85℃에서 5분 열처리 후 25%, 35%, 45% 당액에서 연속적으로 1, 2, 3차 당절임을 한 것을 일정량 용기에 넣고 여기에 비타민 C 0.05%, 구연산 0.2%를 함유하는 55% 당액을 동일량 첨가하여 85℃, 15분 살균, 냉각하고 상온에서 6개월 숙성하였다.

라. 발효주는 미숙사과를 초파로 분쇄, 착즙한 액에 중량대비 드라이이스트 0.5%, 설탕 25%를 첨가, 용해한 다음 실온에서 1개월 발효시켰다. 발효가 완료된 액을 여과, 숙성 후 숙성 액 86.4%에 올리고당 9.1%, 미원 0.05%, 주정 4.4%, 향료 0.05%를 첨가, 조미하여 완성하였다.

마. 미숙사과를 이용한 희석식음료는 착즙액 20%에 구연산 0.1%, 비타민 C 0.04%, 글리신 0.01%, 설탕 6.5%, 고과당 6.7%, sodium benzoate 0.05%, 향료 0.07%를 첨가, 용해하고 정제수를 첨가하여 살균, 충전, 후살균처리하여 제조하였다. 저탄산음료는 희석식 음료에 1.2㎖/kg의 탄산가스를 주입하여 완성하였다.

SUMMARY

I. Title

Studies on The Utilization of Unripe Apples

II. Objective and Significance

Abundant amounts of unripe apples, which were picked out before maturation, were abolished every year for wastes. Since unripe apples are known to be rich in functional components, the ultimate objective of this research was to utilize them for food resources. To achieve this purpose, various types of food products were processed with unripe apples. Also, polyphenols in unripe apples were isolated and their various properties were investigated for possible application of them for functional food additives.

III. Scope and Content

1. Physico-chemical properties of unripe apples

○ Changes in contents of dietary fiber, minerals, organic acids, and free sugars of unripe apples

○ Acidity, brix, pH, and color of unripe apple juice

2. Phenolic compounds of unripe apples

○ Phenolic compounds in solvent extracts

○ Phenolic compounds in juice

3. Isolation of polyphenols and their various properties

○ Isolation and purification of polyphenols

○ Properties of purified polyphenols

4. Food products processed by unripe apples

○ Tea-type product

○ Granulated-powder product

○ Sugar-soaked product

○ Fermented liquor product

○ Beverage

IV. Major results and Recommendation

1. Properties of unripe apples

A. Average weights of unripe apples were 4.7 and 40.5g at 40 and 70 days after bloom, respectively. Contents of total dietary fiber was as high as 32.01%(dry weight base) in 5/30 sample and contents of soluble fibers were increased while insoluble ones were decreased as they were getting matured.

B. Contents of glucose and fructose were 11.7 and 9.4%(dry base), respectively, composing 99% of total free sugars in 5/30 sample. However, the content of fructose was abruptly increased to 40.8% in 6/30 sample. Contents of malic and quinic acid were 3.0 and 1.8%, repectively, in 5/30 sample. Although there was no difference in total amounts of organic acids between

5/30 and 6/30 samples, amounts and compositional ratios of malic acids were increased in 6/30 sample.

C. The amounts of Ca, Mg, and K in 5/30 samples were 4.3, 2.2, and 2 times as high as those in 6/30 samples. Proteins in unripe apples were mostly composed of aspartic acid followed by glutamic acid and leucine in 5/30 sample while total amounts of amino acids were decreased to 3.5 times in 6/30 sample.

D. The brix of unripe apple juice was 7.3 oBX in 5/30 sample and, then, increased to 10.7 in 7/30 sample. However, acidity was decreased from 1.05 to 0.53%. Various pre-treatments for obtaining juice didn't play significant roles in changing pH, specific gravity, and acidity.

2. Properties of polyphenol in unripe apples

A. The concentrations of polyphenols in hot water extract were the lowest otherwise those in 75% acetone extract showed the highest values. Concentrations of polyphenols in 5/30 sample were 3.5 times higher than those in 6/30 sample regardless of solvents used for extraction. Flavanolic tannins existed largely in peels and 75% acetone extract, and 3.5 times higher concentrations of them were observed in 5/30 sample when compared to 6/30 sample.

B. The degree of condensation of flavanolic tannins in the peel was lower than other parts, and hot water extract was more condensed than acetone extract. The amount of total flavonoids in the peel and 5/30 samples were 2.7 and 5.0 times higher than the flesh and 6/30 samples, respectively.

C. In 5/30 sample, 0.1% powder of it showed almost same electron-donating ability with 0.5% powder of 6/30 sample. More than 90% of electron-donating ability were observed from the peel extracts regardless of

solvents used for extraction. The nitrite-scavenging effects of solvent extracts of 5/30 sample were the strongest at pH 1.2, and especially, 80% methanol extract exhibited powerful scavenging effect of more than 90% at pH 3.0.

D. Total polyphenols in unripe apple juice were the most effectively extracted by pre-heating treatment. However, by freezing and thawing treatment, extraction was less effective. Among polyphenol compounds in the juice, chlorogenic acids took the largest portions. As in the case of total polyphenols, flavanolic tannins in pre-heated juice were heavily condensed otherwise those in freezed and thawed juice were less condensed. The electron-donating abilities of pre-heated juice and freezed-thawed juice were 72 and 61%, respectively. The nitrite-scavenging effect of original juice was 68% which was the highest among other samples. ACE inhibiting ability of samples were not remarkable.

3. Isolation, purification, and properties of polyphenols

A. According to HPLC analysis, polyphenols in unripe apple juice were mostly composed of catechin, chlorogenic acid, epicatechin, and phloridzin. Regardless of pre-treatments, concentrations of chlorogenic acid and phloridzin took about 70% of total polyphenol concentrations showing 107.8 111.9 and 106.8 116.2mg%, respectively. As apples were getting matured, concentrations of chlorogenic acids and phloridzin were rapidly decreased resulting in only chlorogenic acid in matured apples.

B. The composition of polyphenols in solvent extract was almost same with juice. However, chlogenic acids in 75% methanol and phloridzin in 80% acetone existed with the highest ratios.

C. To isolate polyphenols, juice was extracted from unripe apples by pre-heating. Then the extracted juice was adsorbed to Sep-Pak C18 catridge followed by desorbed by methanol. When the amounts and concentrations of polyphenols in MeOH extracts and original juice were compared, no significant difference was observed. No carbohydrate was detected in MeOH extract. MeOH extract was re-loaded to Sephadex LH-20 and fractionated by MeOH and acetone. The concentration of chlorogenic acids was increased in MeOH extract while abrupt increase of phloridzin was observed in acetone extract.

D. Polyphenols isolated by Sep-Pak and Sephadex LH-20 maintained more than 89% of their activities after heat treatment at pH 2 10 range. The electron-donating ability, 78%, of acetone extract from sephadex LH-20 was the most powerful. No polyphenol extracts inhibited growth of *S. mutans*.

3. Development of processed food products by utilizing unripe apples

A. Tea type product was processed by chopping unripe apples followed by drying, mashing, roasting, and packaging to 3g unit. Also, tea in which roasted brown rice was added was prepared.

B. Granulated powder was processed by filtering unripe apple juice and concentrating it to 60 dBX. To 15%. of concentrated juice, vitamin C, B2, B6, citric acid, malic acid, stevioside, and flavor were added to 0.2, 0.002, 0.001, 0.2, 0.2, and 0.2%, respectively. After all the ingredients were dissolved, 83.97% of glucose was added, granulated and packaged.

C. To produce sugar-soaked products, unripe apples were punctured with tiny needles, heated at 85℃ for 5 minutes and consecutively soaked in 25, 35, and 45% of sugar solution. Then, equal amounts of 55% sugar solution containing 0.05% vitamin C and 0.2% citric acid was added and sterilized at 8

5℃ for 15 min. followed by cooling and aging at room temperature for 6 months.

D. To produce fermented liquor, unripe apples were crashed by chopper, and dry yeast and sugar were added to juice to 0.5 and 25% concentrations, respectively, and fermented at room temperature for a month. After fermentation, fermented liquor was seasoned by mixing oligo-saccharide(9.1%), miwon(0.05%), alcohol(4.4%), and flavor(0.05%) with 86.4% of fermented liquor.

E. Diluted beverage was processed by mixing juice(20%), citric acid(0.1%), vitamin C(0.04%), glycine(0.01%), sugar(6.5%), high fructose corn syrup(6.7%), sodium benzoate(0.05%), and flavor(0.07%). After addition of pure water, this mixture was dissolved, sterilized, bottled, and re-sterilized. Low carbonated beverage was produced by injecting 1.2cm2/kg of carbonic gas to diluted beverage.

CONTENTS

목 차

제 1 장 서 론

사과(*Malus pumila* M)는 약 300년전 중국으로부터 전래되어 전국에 걸쳐 재배되고 있는 대표적인 과일로서 주 생산지역은 경북, 충남, 충북 순이며 이 중 경북이 70%를 차지하고 있다. 주요 생산 품종은 조생종, 중생종, 만생종으로 구분할 때 지역적으로 약간의 차이는 있으나 10월 하순에 수확하는 후지 품종이 전체 생산량의 약 77%, 쓰가루가 20%를 차지하고 있다. 우리나라의 사과 생산량은 61만6천 M/T으로 전체 과일 생산량의 약 30%를 점유하고 있으며, 대부분이 생과로 소비되고 있으나 10만7천3백 M/T가 주스가공에 사용되고 있다.

최근 천연 식품소재 유래의 천연생리활성 물질에 대한 관심이 높아지고 있으며 이러한 천연소재 중 폴리페놀화합물의 각종 기능성, 특히 항산화성과 암질환 예방과의 관련성에 주목하여 폴리페놀 및 항산화 소재가 지닌 구취제거, 미백, 노화방지, 고혈압예방, 항암, 항돌연변이 등의 효과를 활용한 기능성 식품이 인기를 끌고 있다. 이와 관련하여 국내산 식물성 식품중 폴리페놀화합물의 함량과 이들의 생리활성에 관한 연구가 활발히 진행중에 있다.

폴리페놀류는 식물계에 2차 대사물로서 넓게 존재하며 식품으로서 채소, 과일, 차에 많이 함유되어 있고 식품의 3차 기능으로서 주목되고 있는 생체방어와 신체조절 등의 생체조절기능을 나타내는 성분도 다량 발견되고 있다.

사과의 폴리페놀화합물은 hydroxycinamic 유도체(chlorogenic acid, caffeic acid, courmaric acid, ferulic acid), flavan-3-ols(catechin, procyanidin), flavonol(quercetin kaempferol), dihydrochalcone(phloridzin, phloretin) 등이 있으며, 이 중 hydroxycinamic 유도체와 flavan-3-ol류가 90%를 차지한다. 사과 폴리페놀화합물에 대한 연구로는 성숙, 저장중 폴리페놀화합물의 변화, 사과 주스 가공 및 저장 중 폴리페놀 함량 변화, 사과에서 분리한 플라보노이드의 항산화 활성, 폴리페놀화합물이 갈변에 미치는 영향, 사과 폴리페놀화합물의 항알레르기 효과, 한국산 사과와 사과주스의 페놀계 물질 분포 등에 관한 많은 연구가 진행되었다.

한편 사과는 매년 재배과정에서 5월 말경부터 6월에 걸쳐 20 30%의 미숙과가 적

과되어 현장에서 폐기처분되고 있는 실정이며 과거에는 농가에서 이들 적과된 미숙사과를 달여서 착즙한 액을 식용하거나 또는 약용으로 일부 사용하기도 하였다. 이러한 적과시 발생하는 미숙상태의 사과는 성숙과에 비해 여러 가지 성분상의 차이를 가져 유기산류, 아미노산, 칼슘이온 등이 많이 존재하며 또한 미숙과실 중에는 폴리페놀류도 대단히 농도가 높고 성숙과실의 10배 이상의 농도가 존재한다.

적과시 발생하는 미숙사과 폴리페놀화합물의 특성과 식품소재로서의 이용을 위한 연구는 일본의 경우 활발히 진행되어 이들의 항산화작용을 비롯하여 혈압상승에 관여하는 안지오텐신변화효소 저해작용, 발암의 초기과정에 관여하는 변이원성 억제작용, 치석형성 효소저해 및 구강내 세균에 의한 유기산 생성억제를 포함하는 항우식작용, 피부미백과 식품의 흑변방지에 관여하는 멜라닌 생성억제작용, 소취작용, 알레르기 억제작용을 지니고 있음을 확인하였고, 또한 미숙사과에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물을 일부 식품첨가물용 소재로 이용하고 있다. 그러나 국내의 경우 아직까지 적과시 발생하는 미숙사과의 활용과 관련된 연구는 초보적인 단계에 있고 최근 사과의 적과 및 낙과로부터 분리한 폴리페놀추출물의 기능적 특성 및 안정성, 열처리조건에 따른 애사과의 폴리페놀함량 변화에 관한 연구가 보고되었으나 아직까지 이들 적과시 발생하는 미숙사과를 종합적으로 활용할 수 있는 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 매년 사과 적과시 대량으로 발생하는 원예부산물의 하나인 미숙사과의 활용도 증진을 위한 연구의 일환으로 미숙사과에 풍부하게 함유되어 있는 폴리페놀화합물의 함량, 조성 및 이들 물질의 정제공정중 변화를 조사하여 미숙사과의 식품첨가물용 기능성 소재로의 가능성을 탐색함과 동시에 미숙사과를 활용한 다양한 종류의 가공제품을 개발하여 미숙사과의 고부가가치화를 위한 방안을 강구하였다.

제 2 장 재료 및 실험방법

제 1절 재료

본 실험에 사용한 시료는 개화 후 40일정도 된 부사를 1999년 5월말경 경기도 가평군 농장에서 적과시 직접 채취하여 사용하였다. 또한 이화학적 특성 조사를 위해 개화 후 70일, 100일 정도에 각각 미숙사과를 동일 수목상에서 채취하여 사용하였다.

제 2절 실험방법

1. 미숙과의 식품학적 특성

가. 과즙제조 및 착즙수율

과즙의 제조는 미숙사과를 그대로 처리한 것, 60℃에서 30분 열처리 후 냉각한 것 및 동결, 해동한 것을 시료로 하여 먼저 미숙과를 절단, 가정용 녹즙기로 분쇄한 후 200kg/㎠의 압력으로 착즙하고 3,000rpm에서 5분간 원심분리한 액을 사용하였고, 사과무게의 백분율로 계산하여 착즙수율로 하였다.

나. 일반성분

1) 평균중량, 직경

미숙사과의 평균중량은 크기가 비슷한 과실 50개체를 사용하여 중량, 직경을 측정한 후 평균값으로 나타내었다.

2) 당도, pH

처리구별 미숙과 과즙의 당도는 굴절당도계(Atago, pr-100, Japan)로, pH는 pH meter(Orion 720A, Japan)로 측정하였다.

3) 비중, 탁도, UV스펙트럼

과즙의 비중은 3,000rpm에서 5분간 원심분리한 과즙을 100ml 실린더에 넣고 20℃로 맞춰진 수욕조상에서 10분간 안정화시킨 후 표준비중계를 사용하여 측정하였다. 탁도는 분광광도계를 사용하여 650nm에서의 투광도(%T)로 나타내었다. 과즙의 UV스펙트럼 측정은 증류수를 사용하여 시료들을 100배 희석한 액을 분광광도계를 사용하여 측정하였다.

4) 색도

미숙사과 과즙의 색도는 색차계(Color and Color Difference Meter, UC600 IV, Yasuda Seiki CO., Japan)를 이용하여 L(백색도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하였으며, 표준색판은 L=100, a=0, b=0였다.

나. 식이섬유

미숙사과의 식이섬유 측정은 동결건조 후 분쇄한 분말을 시료로 하였다. 총(Total, TDF), 수용성(Soluble, SDF), 불용성(Insoluble, IDF) 식이섬유 함량은 Prosky 등의 방법으로 분석하였다. α-amylase, amyloglucosidase, protease 등으로 처리, 여과 후 불용성 식이섬유를 분리하고 수용성 식이섬유는 에탄올로 침전시켜 이를 건조하여 무게를 측정하였다. 무게를 측정한 후 단백질 함량은 micro Kjeldahl 법, 회분은 525℃ 회화법으로 측정하였다. 총식이섬유 함량은 잔사의 중량에서 단백질과 회분 값을 뺀 값을 식이섬유 함량으로 계산하여 건물량으로 표현하였다.

다. 유리당

미숙사과를 동결건조하여 유리당 분석용 시료로 사용하여 분석하였다. 즉, 동결건조된 미숙사과 분말 5g에 50% ethanol을 가하여 80 85℃의 water bath에서 가열한 다음 상온에서 냉각시켰다. 이때 증발된 양만큼 ethanol을 다시 가하여 채운 후 가열추출하였다. 추출액을 여과하고 여액을 감압농축한 후 농축액을 정용하여 원심분리(3,500rpm, 5min) 후 0.45㎛ membrane filter로 여과하여 HPLC로 분리, 정량하였으며 분석조건은 표 1과 같은 조건으로 분석하였다.

표 1. 유리당의 HPLC 분석조건

Instrument	Jasco PU-980 Pump/Jasco 851-AS sampler Jasco 807-IT Integrator(Japan) Sedex 55 Light Scattering Detector(France)
Column	Carbohydrate Analysis Column(3.9×300mm, USA)
Chart speed	2mm/min
Flow rate	1.5ml/min
Mobile phase	75% Acetonitrile

라. 유기산

동결건조된 미숙사과 분말 5g에 50% ethanol을 가하여 80 85℃의 water bath에서 가열한 다음 상온에서 냉각시켰다. 이때 증발된 양만큼 ethanol을 다시 가하여 채운 후 가열추출하였다. 추출액을 여과하고 여액을 감압농축한 후 농축액 중 50ml을 취하여 Amberlite IRA-120, IRA-400 칼럼에 연속통과시켜 유기산을 흡착시킨 다음 증류수로 수세하여 당류를 제거하였다. 유기산이 흡착된 Amberlite IRA-400 칼럼에 6N formic acid 100ml를 통과시켜 흡착된 유기산을 용출하여 얻은 액을 감압농축하고 정용한 후 0.45μm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분리, 정량하였으며, 분석조건은 표 2와 같다.

표 2. 유기산의 HPLC 분석조건

Instrument	Jasco PU-980 Pump/Jasco 851-AS sampler Jasco 807-IT Integrator(Japan) Sedex 55 Light Scattering Detector(France)
Detector	Waters Associates, UV/visible(210nm)
Column	Aminex HPX-87H Column(7.8×300mm, USA)
Chart speed	5mm/min
Flow rate	0.6ml/min
Mobile phase	0.04M H_2SO_4

마. 총아미노산

미숙사과 분말 0.1g을 정확히 취하여 6N HCl용액 20ml와 함께 분해용 시험관에 넣고 질소가스를 충전시킨 후 105℃에서 24시간 가수분해시킨 다음 HCl을 제거하기 위하여 감압농축하고 여기에 증류수 30ml를 넣어 희석시킨 후 0.45㎛ Millex-HV filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다.

바. 무기질

미숙사과의 무기질 분석은 AOAC법에 따라 미리 항량을 구한 도가니에 시료를 취하고 예비탄화시킨 후 560℃의 회화로에서 백색이나 회백색이 될 때까지 회화시켰다. 회화된 회분을 소량의 이온교환수로 재가 흩어지지 않도록 적신 후 염산용액(염산:이온교환수 = 1:1) 5ml를 가하여 hot plate에서 증발, 건고시킨 다음 다시 5ml의 염산용액(염산:이온교환수 = 1:3)을 가하여 5분간 가열, 용해한 후 여과하여 100ml로 정용하였다. 이 액 중 5ml를 25ml메스플라스크에 취한 후 공존이온의 영향을 제거하기 위해 5% La2O3용액 5ml를 가한 다음 0.1N HCl로 정용하여 ICP(Inductively Coupled Plasma, Jobin Yvon Co., France)로 정량 분석하였다. 이 때의 측정조건은 표 3과 같다.

표 3. 무기질의 ICP 분석조건

ICP Source	Jobin Yvon 38, plus spectroanalyser
HF frequency	27.12MHz
Forward power	1.0kW
Torch	Low Ar consumption, demountable torch
Obserbation height	14mm from the induction coil
Solution uptake rate	1.8ml/min
Data management system	IBM PS2/30 computer system

2. 미숙사과의 페놀계화합물

가. 시료

먼저 미숙사과의 부위별 페놀계화합물의 특성 조사를 위한 시료는 6월 말경 수확한 중량 40g정도의 사과를 수작업으로 1)씨를 함유하는 핵부위만을 제거한 미숙과 전체(과육+과피)와 2)과피부위, 3)과피, 핵을 제거한 과육부위로 분리한 것을 동결건조하여 사용하였다. 또한 본 실험에서는 일반적인 사과 적과시의 중량크기인 5g 정도의 미숙사과를 대상으로 핵를 제거하지 않고 미숙사과 전체를 그대로 동결건조한 분말도 사용하였다.

나. 용매추출물의 제조

앞서 부위를 달리한 미숙사과 분말에 각기 다른 추출용매를 사용하여 추출액을 제조하였다. 즉 열수추출물은 분말 0.5g을 300㎖의 증류수에 현탁시킨 후 98℃에서 1시간 환류추출하고 여과한 여액을 45℃ 진공농축기에서 농축하여 증류수로 100㎖ 정용하고 10,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 75% 아세톤과 80% 메탄올추출물은 분말 0.5g을 각각의 용매 300㎖에 현탁 후 80℃에서 1시간 환류추출하여 열수추출물과 동일한 방법으로 제조하였다.

다. 착즙액의 제조

미숙사과 착즙액중 페놀계화합물의 특성 조사를 위한 시료는 앞서 미숙과의 식품학적 특성 조사를 위해 제조한 착즙액을 시료로 사용하였다. 즉 5월말경 수확된 평균중량 5g정도의 미숙사과를 그대로, 60℃에서 30분 열처리 후 냉각한 것 및 동결, 해동한 미숙사과를 절단, 가정용 녹즙기로 분쇄, 착즙하고 원심분리한여 얻은 액을 사용하였다.

라. 추출물 및 착즙액의 페놀계화합물의 특성

1) 색도, 흡광도

앞서 미숙사과의 부위별, 추출용매를 달리하여 얻은 추출물의 색도는 색차계(Color and Color Difference Meter, UC600 IV, Yasuda Seiki CO., Japan)를 이용

하여 L(백색도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하였으며, 표준색판은 L=100, a=0, b=0였다. 추출물의 흡광도 변화는 분광광도계를 사용하여 측정하였다.

2) 총폴리페놀 및 분획별 함량

총폴리페놀의 함량은 각 용매별 추출물 5ml에 Folin-Denis시약 5ml를 가하여 혼합하고 실온에서 1시간 방치시킨 후 760nm에서의 흡광도를 측정하여 표준물질을 chlorogenic acid로 하여 환산하였다.

Flavanol형 탄닌인 catechin과 leucoanthocyan의 정량은 Swain 등의 vanillin황산법을 일부 변경하여 cathechin으로 계산하였다. 즉 추출물 3ml를 얼음물 중에서 진탕하면서 vanillin시약 6ml를 15초 동안 가하고, 실온에서 15분 방치한 후 500nm에서 흡광도를 측정하였다. Leucoanthocyan의 정량은 염산-부탄올법을 일부 변경하여 cyanidin으로 계산하였다. 즉 추출액 1ml를 cap tube에 넣고 염산-부탄올액(1:19) 10ml를 가하여 혼합한 후 3분간 실온에서 방치하고 밀봉하여 끓는 수욕조에서 30분간 가열시킨 다음 냉각하고 550nm에서 흡광도를 측정하였다. Chlorogenic acid의 정량은 Diazo법에 의해 추출물 5ml에 1% sodium nitrate 2ml와 0.15N acetic acid 2ml를 가하여 혼합하고 5분 후 1N sodium carbonate 1ml를 첨가한 후 530nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 고분자량 분획

미숙사과의 페놀성 물질 중 고분자량 분획의 함량은 각 용매별 추출물 10ml에 2.5%의 gelatin 용액 5ml를 가하여 잘 혼합하고 NaCl 포화용액:진한 황산(97.5:2.5) 용액 10ml을 가한 후 kaolin 1g을 넣고 교반하여 침전이 생길 때까지 40분간 방치 후 여과한 여액을 100ml로 정용하여 Folin-Denis법으로 정량하였다.

4) 총플라보노이드

미숙사과의 각 부위에 대한 총플라보노이드 함량은 동결건조 분말 0.5g에 50%(v/v) methanol 용액 60ml를 가하여 80℃에서 1시간 환류추출 후 냉각하고 50% methanol로 100ml 정용하여 여과한 여액을 시액으로 사용하였다. 시험관에 diethylene glycol 10ml와 시액 1ml를 취해 잘 혼합한 후 여기에 1N NaOH 1ml를 가

하여 다시 잘 혼합하고 37℃에서 1시간 가온 후 420㎚에서 흡광도를 측정하였다. 이 때의 표준곡선은 naringin의 농도가 0 0.5㎎% 범위가 되도록 제조한 표준용액을 이용하여 검량선을 작성하여 플라보노이드 측정에 사용하였다.

5) 아질산염소거작용

미숙사과 추출물의 아질산염 소거능은 다음과 같이 측정하였다. 즉 $NaNO_2$ 용액 2㎖에 일정농도의 추출물 1㎖을 가하고 0.1N HCl(pH 1.2), 0.1mM citrate buffer(pH 3.0, pH 4.0, pH 6.0)를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 조정하여 반응용액의 부피를 10㎖로 하였다. 이 액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1㎖씩 취하여 2% 초산용액 5㎖, Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1 : 1 비율로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4㎖를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 방치 후 분광광도계를 사용하여 520㎚에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 산출하였다. 대조구는 Griess 시약대신 증류수를 0.4㎖ 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하였으며, 아질산염소거작용은 추출물을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율로 나타내었다.

$$\text{아질산염소거능}(\%) = \left(1 - \frac{A - C}{B}\right) \times 100$$

A : 1mM $NaNO_2$ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후 흡광도

B : $NaNO_2$ 용액의 흡광도

C : 시료 자체의 흡광도

6) 전자공여작용

미숙사과 부위별 추출물의 전자공여작용(electron donating ability : EDA)은 각 추출액의 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여효과로 시료의 환원력을 측정하였다. 즉 추출물 0.4㎖에 2×10^{-4}M DPPH용액(absolute ethanol에 용해) 0.8㎖를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하고 10분 후 분광광도계를 사용하여 525㎚에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 시료첨가구와 첨가하지 않은 경

우의 흡광도를 사용하여 백분율(%)로 나타내었다.

$$EDA(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 시료첨가구의 흡광도

B : 시료무첨가구의 흡광도

7) ACE저해작용

추출물을 동결건조한 분말을 증류수에 용해한 시료로 측정하였다. 즉 시료 50㎕에 ACE 조효소액 50㎕, 10mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100㎕를 가한 후 37℃ 세이킹 인큐베이터에서 5분간 반응시켰다. 이 반응액에 기질인 hippuryl-histidyl-leucine용액(HHL, 27mg/2.5ml in sodium borate buffer) 50㎕를 가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 250㎕를 가하여 반응을 종료시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5ml를 가하여 vortex mixer로 15초간 진탕 후 3,000rpm에서 5분간 원심분리 후 상등액 1ml를 취하였다. 이 상등액을 Temp-Block heater로 건조시킨 후 증류수 3ml를 가하여 용해시킨 다음 228nm에서 흡광도를 측정하여 다음의 식에 의해 ACE저해율을 산출하였다. 여기서 대조구 시험은 시료용액 대신에 증류수 50㎕를 가하였다.

$$ACE\ 저해율(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 시료첨가구의 흡광도

B : 시료무첨가구의 흡광도

3. 페놀성물질의 분리, 정제 및 특성 검토

가. 조추출물의 제조

5월말경 수확된 중량 5g 정도의 미숙사과를 그대로 동결건조하여 얻은 분말을 열수, 80% methanol, 75% 아세톤을 추출용매로 하여 추출한 액을 여과한 여과액을 진공농축하여 일정량으로 정용한 것을 폴리페놀성화합물 분리, 정제용 조추출물로 하였다.

미숙사과를 대량 처리할 경우 제조원가의 절감과 작업의 간편성 및 원료의 저장을 고려하여 미숙과를 그대로, 60℃에서 30분 열처리 후 냉각한 것 및 동결, 해동한 것을 각각 절단, 분쇄, 착즙하고 원심분리하여 얻은 액을 조추출물로 사용하였다.

나. 조추출물의 정제

1) Sep-Pak C18에 의한 정제

미리 순수 methanol로 활성화시킨 후 증류수로 수세한 Sep-Pak C18 카트리지에 앞서 제조한 조추출물중 미숙사과를 착즙하여 얻은 액을 첨가하여 페놀성 물질을 흡착시켰다. 증류수로 카트리지를 수세한 다음 methanol로 흡착된 페놀성 물질을 탈착시켜 얻은 액을 진공농축기에서 농축하였다. 농축물을 증류수로 용해 후 동결건조하였다.

본 실험에서 사용한 Sep-Pak 카트리지의 사용, 가능한 횟수를 검토하고자 한번 사용한 카트리지를 methanol로 수세한 다음 다시 활성화시키고 위와 동일한 공정을 10회 반복하여 얻은 각각의 처리물의 총페놀함량을 조사하였다.

2) Sephadex LH-20에 의한 정제

앞서 Sep-Pak 처리 후 농축한 농축물을 60% methanol로 평형화시킨 Sephadex LH-20(4.0 x 20㎝)에 주입, 페놀성물질을 흡착시켰다. 60% methanol로 수세하여 1차 단순폴리페놀물질을 용출시킨 다음 다시 60% acetone용액을 용출시켜 축합형 탄닌물질을 용출시킨 다음 각각의 용출액을 진공농축기에서 농축하고 여기에 증류수를 가하여 용해 후 동결건조하였다.

다. 페놀성 물질의 확인 및 동정

조추출물과 이들을 Sep-Pak C18과 Sephadex LH-20으로 정제하여 얻은 페놀성 물질 구성성분의 분리, 동정 및 각 정제 공정 단계별 페놀성물질의 이행 여부에 대한 분석은 HPLC로 실시하였으며, 이 때 분석조건은 표 4와 같다.

표 4. 페놀성물질의 HPLC 분석조건

Instrument	Jasco PU-980 Pump/Jasco 851-AS sampler
	Jasco 807-IT Integrator(Japan)
	Sedex 55 Light Scattering Detector(France)
Column	Waters μBondapak C18
Solvent	A : Water with 0.05% phosphoric acid
	B : Methanol
	gradient 2 to 50% during 50min

라. 분리, 정제 페놀성 물질의 특성

1) UV 흡수 스펙트럼

Sep-Pak C18과 Sephadex LH-20으로 분리, 정제하여 얻은 동결건조분말을 각각 0.05%의 농도로 methanol에 용해 후 이들 용액의 흡광도 변화를 분광광도계를 이용하여 200nm에서 500nm의 범위에서 측정하였다.

2) 내열성

Sep-Pak C18과 Sephadex LH-20으로 분리, 정제하여 얻은 동결건조분말을 0.01%, 0.1% 농도의 용액으로 제조하고 이들의 pH를 각각 2, 4, 7, 10으로 조정한 다음 120℃에서 30분 가열 후 용액에 잔존하는 총폴리페놀의 함량을 Folin-Denis법으로 측정하였다

3) 내산성

Sep-Pak C18과 Sephadex LH-20으로 분리, 정제하여 얻은 분말을 0.01%, 0.1% 농도의 용액으로 제조하고 이들의 pH를 각각 2, 4, 7, 10으로 조정한 다음 35℃ 항온기

에 7일간 보존한 후 잔존하는 총폴리페놀의 함량을 측정하였다

4) 전자공여작용

Sep-Pak C18과 Sephadex LH-20으로 분리, 정제하여 얻은 분말을 이용하여 앞서 미숙사과의 페놀계화합물의 특성 조사에서 언급한 방법으로 측정하였다.

5) 항균효과

Sep-Pak C18과 Sephadex LH-20으로 분리, 정제하여 얻은 동결건조분말의 *S. mutans*에 대한 항균효과는 disc diffusion방법을 이용하여 측정하였다. 미리 제조한 BHI agar plate에 *S. mutans* 배양액을 도말하고 여기에 1/4" Bacto concentration disks sterile blanks(Difco Lab., USA)를 올려 놓고 disc에 각각 500 2,000ppm의 농도로 시료를 용해한 액을 10㎕ loading하였다. 37℃에서 48시간 동안 배양한 후 disc 주위에 나타난 clear zone 의 직경을 측정하였다.

4.미숙사과를 이용한 가공제품 개발

가. 티백형 침출차제품

1) 침출차제조

미숙사과를 이용한 티백형의 침출차 제조는 수세한 미숙과를 1) 쵸핑 후 건조한 것, 2) 미숙과 중량의 20%의 현미를 첨가하여 쵸핑 후 건조한 것, 3) 쵸핑 후 트레할로스를 중량대비 10%첨가하여 혼합하고 실온에서 1주일 발효한 다음 건조한 처리구를 각각 120℃에서 2분간 볶음처리한 다음 3g씩 티백에 포장하였다. 이들 침출차를 35℃에 저장하면서 저장 중 품질 변화를 조사하였다.

2) 침출차의 특성

가) 이화학적 특성

3g씩 포장된 처리구별 티백을 95℃온수 100㎖에서 3분간 추출한 액의 당도, 색도, pH, 투광도, 총폴리페놀 함량을 조사하였다.

나) 관능검사

관능평가방법은 훈련된 관능요원을 선발, 이들 침출액에 대한 색상, 맛, 향, 종합적기호도에 관하여 9점법에 의하여 행하였다.

나. 과립형 분말제품

수세, 60℃에서 30분 열처리 후 냉각하고 분쇄, 착즙하여 얻은 미숙사과 착즙액을 농축(60。BX)한 것에 부형제로 포도당을 첨가하고 분말의 기호도 증진을 위해 구연산, 향료, 비타민 등을 첨가하여 반죽한 다음 과립화 시킨 것을 건조하여 제조하였다.

다. 당액절임제품

미숙사과를 수세하고 탐침기를 이용하여 시료의 표면을 탐침한 다음 85℃의 온수에 넣어 5분간 열처리한 후 건져내었다. 미리 제조한 25% 설탕액에 동일중량의 열처리한 미숙과를 넣고 설탕액의 당도가 16。BX정도로 떨어질 때까지 10℃에서 1차 당절임하였다. 1차 당절임이 완료된 시료를 건져내어 다시 동일중량의 35% 설탕액에 넣어 마찬가지로 설탕액의 당도가 25。BX로 떨어질 때까지 2차 당절임하였다. 2차 당절임이 끝난 시료를 다시 45% 설탕액에 넣어 설탕액의 당도가 37。BX로 떨어질 때까지 3차 당절임을 하였다. 3차에 걸쳐 당절임이 완료된 미숙과를 병용기에 일정량씩 넣고 여기에 미리 준비한 비타민 C 0.05%, 구연산 0.2%를 함유하는 55% 설탕액을 동일량 첨가하여 85℃에서 15분간 살균, 냉각하였다. 살균, 냉각이 완료된 병제품은 실온에서 6 12개월정도 숙성하여 제품으로 하였다.

라. 발효주제품

미숙사과를 수세, 해동하고 쵸파로 분쇄 후 착즙한 액에 대해 중량대비 0.5%의 드라이이스트와 설탕을 첨가하여 착즙액의 최종당도를 20, 25, 30, 35。BX로 조정, 용해한 것을 실온에서 1개월간 발효시켰다. 발효가 완료된 액을 여과한 다음 10℃에서 숙성하였다. 이들 발효주의 알콜농도, 색도, 당도, 투광도, pH, 관능적 특성을 조사하였다.

바. 음료제품

미숙사과를 동결, 해동한 것을 분쇄, 착즙하여 얻은 액을 사용하여 희석식음료를 제조하였다. 먼저 과즙을 75℃에서 15분간 열처리한 후 냉각하고 여과하였다. 여과액 일정량에 감미료, 향료 등을 조합하여 희석식음료를 제조하엿고, 또한 이들 음료에 1.2㎤/kg의 탄산가스를 주입, 충진하여 저탄산음료를 제조하였다. 제조된 음료는 75℃에서 10분간 후살균하고 냉각하였다.

제 3 장 결과 및 고찰

제 1절 미숙사과의 식품학적 특성

표 5는 수확시기가 다른 미숙사과의 평균 직경, 길이, 중량을 조사한 결과로서 개화 후 40일정도인 5월 30일에 수확된 것은 각각 22.1㎜, 16.2㎜, 4.7g을 나타내었다. 그러나 개화 70일 후인 6월 30일 수확된 것은 중량이 급격히 증가하여 5월 30일의 시료보다 8.6배 높은 40.5g을 나타내었다.

표 5. 미숙사과의 중량, 직경 변화

수확시기(월/일)	직경(㎜)	길이(㎜)	중량(g)
5/30	22.1	16.2	4.7
6/30	36.3	41.9	40.5

이들 수확시기별 미숙사과를 착즙하여 얻은 액의 특성을 조사한 결과는 표 6, 7과 같다. 착즙액의 당도는 5월 30일의 7.3。BX에서 개화 후 100일 정도에 수확한 7월 30일의 시료는 10.7。BX, pH는 6월 30일 까지는 3.6으로 변화가 없었으나 7월30일 것은 4.0으로 약간 증가하였으나 산도는 1.05%에서 0.53%로 감소하였다. 착즙액의 수율은 사과의 숙도가 진행됨에 따라 서서히 증가하여 개화 후 100일정도인 7월 30일경에는 72.0%를 나타내었다. 분광광도계의 650㎚에서의 투광도 변화로 나타낸 착즙액의 탁도(%T)는 5월 30일의 시료보다 수확시기가 늦어질수록 증가하는 것으로 나타났다. 착즙액의 색도 변화를 색차계로 조사한 결과 액의 백색도 값은 5월 30일 시료의 18.5에서 7월 30일 시료의 23.9로 증가한 반면 적색도와 황색도인 a, b 값은 각각 10.4에서 7.2, 14.1에서 10.6으로 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 착즙액의 색도 변화는 미숙사과에 함유된 폴리페놀화합물이 polyphenol oxidase와 반응하여 일어나는 갈변현상과 깊은 관계를 가지므로 미숙사과 폴리페놀의 손실방지를 위한

전처리 방법이 강구된다.

표 6. 미숙사과 착즙액의 특성

수확시기(월/일)	수율(%)	당도(。BX)	pH	탁도(%T)	산도(%)
5/30	61.7	7.3	3.6	26.6	1.05
6/30	64.3	9.3	3.6	28.9	0.85
7/30	72.0	10.7	4.0	30.7	0.53

표 7. 미숙사과 착즙액의 색도

수확시기(월/일)	L	a	b	△E
5/30	18.5	10.4	14.1	85.0
6/30	21.2	8.8	12.4	78.9
7/30	23.9	7.2	10.6	74.5

개화 후 40일인 5월 30일에 수확한 미숙사과의 착즙액 제조시 polyphenol oxidase에 의한 폴리페놀물질의 갈변 현상을 방지하고 시료의 장기저장을 위한 방안의 하나로 전처리방법을 달리한 시료를 대상으로 착즙한 액의 특성을 조사한 결과는 표 8, 9와 같다. 착즙액의 수율과 당도는 냉동 시료를 해동하여 착즙한 것이 다른 처리구에 비해 각각 63.2%, 7.5。BX로 다소 높았다. 그러나 착즙액의 pH, 비중, 산도는 각각 3.5, 74.5, 1.05정도로 처리구간에 거의 차이가 없었다. 색도의 경우 60℃ 온수에서 30분 예열처리 후 착즙한 것의 황색도, 적색도 값이 각각 3.5, 3.8로 다른 것에 비해 낮은 값을 보였다.

이들 착즙액의 분광광도계에 있어서 파장에 따른 흡광도의 변화를 조사한 결과 (그림 1) 최대 흡광도를 나타내는 파장이 처리구에 따라 다소 차이를 보였다. 즉 예열처리 후 착즙한 액은 223㎚, 동결, 해동 후 착즙한 것은 217㎚에서 최대 흡광도를 보여 미숙사과를 그대로 착즙한 것의 209㎚와는 차이가 있었고 처리구 중 예열처

리구가 다른 것에 비해 파장별 흡광도 변화가 가장 높았다.

표 8. 전처리방법별 착즙액의 특성

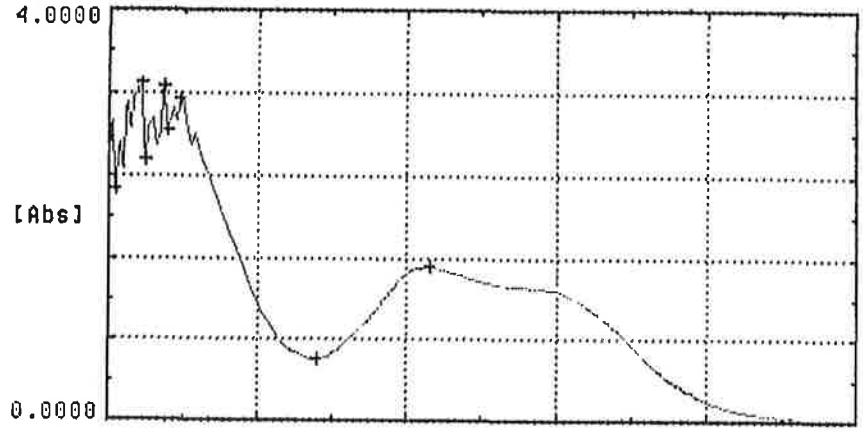
전처리방법	수율(%)	당도(。BX)	탁도(%T)	pH	비중	산도(%)
그대로 착즙	61.4	7.3	26.6	3.6	74.5	1.1
예열처리 후 착즙	60.1	7.4	2.7	3.5	74.5	1.2
동결,해동 후 착즙	63.2	7.5	9.8	3.6	74.5	1.2

표 9. 전처리방법별 착즙액의 색도

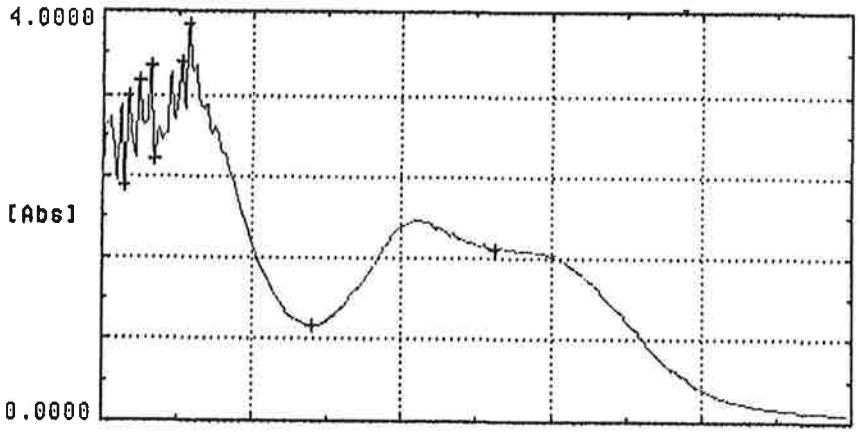
전처리방법	L	a	b	△E
그대로 착즙	18.5	10.4	14.1	85.0
예열처리 후 착즙	5.9	3.5	3.8	94.3
동결,해동 후 착즙	9.0	5.8	5.8	91.3

수확시기가 다른 미숙사과의 식이섬유 함량과 구성비를 조사한 결과는 표 10과 같다. 총식이섬유의 함량은 5월 30일 수확한 것이 32.01%로 6월 30일의 22.21%보다 높았으나 수용성 식이섬유의 함량은 6월 30일 수확한 것이 3.41%로 증가하여 총식이섬유의 약 15.4%의 구성비를 보여 미숙사과는 개화 후 성숙이 진행됨에 따라 식이섬유의 구성성분 중 수용성 식이섬유의 함량이 증가하는 반면 불용성식이섬유는 감소함을 알 수 있었다.

그대로 착즙



열처리 착즙



동결 착즙

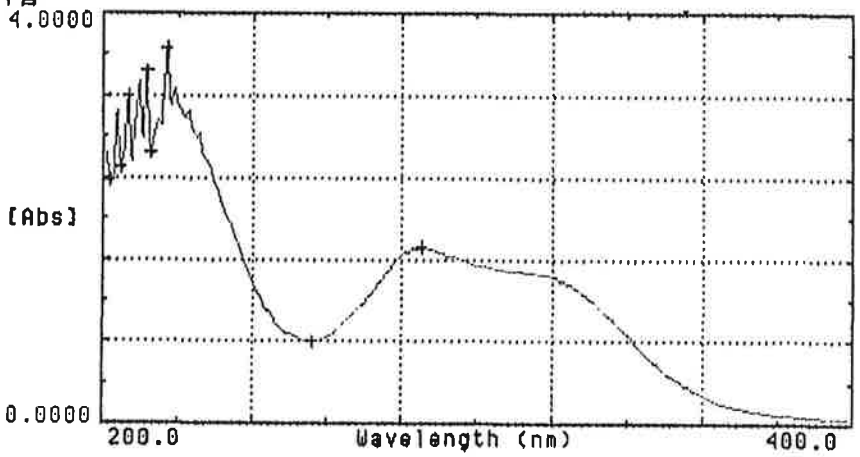


그림 1. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 UV스펙트럼

표 10. 미숙사과의 수용성, 불용성 및 총식이섬유의 함량

(%, dry weight)

수확시기(월/일)	수용성	불용성	총량
5/30	2.85(8.9)	31.51(91.1)	32.01(100)
6/30	3.41(15.4)	17.60(84.6)	22.21(100)

*( ) 는 구성비임

미숙사과의 유리당 조성과 함량을 조사한 결과 표 11에서 볼 수 있는 바와 같이 미숙사과의 유리당 조성은 개화 후 70일까지의 시료에서는 수확시기에 관계없이 fructose, glucose, sucrose로 구성되어 있었으나 이들 유리당의 함량은 수확시기에 따라 큰 차이를 보여 5월 30일 시료는 건물기준 glucose가 11.7%, fructose가 9.4%로 총유리당 함량의 99%를 차지하였다. 그러나 6월 30일 시료의 경우 fructose의 함량이 40.8%로 구성 유리당중 그 함량이 가장 높아 총유리당의 62.9%를 차지하였고, sucrose 또한 12.8%로 증가한 반면 glucose는 5월 30일 시료와 비교할 때 함량면에서 11%정도로 차이가 없었으나 구성비가 크게 감소하였다.

표 11. 미숙사과의 유리당 함량

(%, dry basis)

수확시기(월/일)	Fructose	Glucose	Sucrose	Total
5/30	9.4 (44.1)	11.7 (54.9)	0.2 (0.9)	21.3 (100)
6/30	40.8 (62.9)	11.3 (17.4)	12.8 (19.7)	64.9 (100)

이들 미숙사과의 유기산 조성과 함량을 조사한 결과(표 12)에 있어서도 사과의 수확시기에 따른 함량의 차이를 보여 5월 30일 시료는 malic acid가 3.0%, qunic acid가 1.8%를 보인 반면 6월 30일에 수확한 사과는 총유기산 함량은 5월 30일 시료

와 큰 차이가 없었으나 malic acid의 함량이 4.3%로 증가하여 미숙사과 유기산 총량의 약 96%를 차지하였고, qunic acid는 함량 뿐 만 아니라 그 구성비가 5월 30일 시료의 37.5%에서 4.4%로 크게 감소하였다.

표 10. 미숙사과의 유기산 함량

(%, dry basis)

수확시기(월/일)	Malic	Qunic	Total
5/30	3.0 (62.5)	1.8 (37.5)	4.8 (100)
6/30	4.3 (95.6)	0.2 (4.4)	4.5 (100)

미숙사과의 무기질 함량을 ICP로 분석한 결과는 표 13과 같다. 개화 후 70일까지의 시료에서는 수확시기에 관계없이 K의 함량이 가장 높았고, Ca, Mg의 순으로 높은 함량을 보였다. 5월 30일 적과된 미숙사과는 6월 30일 시료에 비해 Ca이 4.3배, Mg이 3.2배, K은 2배정도 높은 함량을 나타내었다.

표 14는 미숙사과의 수확시기별 총아미노산의 조성과 함량을 조사한 결과이다. 시료 모두 총 17종의 아미노산이 분리되었으나 이들 구성 아미노산의 함량에 있어서는 사과의 수확시기에 따른 차이를 보였다. 개화 후 40일에 수확된 시료의 경우 aspartic acid의 함량이 3,966.9mg%로 가장 높았고, glutamic acid가 887.4mg%, leucine이 571.7mg%, lysine이 560.3mg%로 높은 함량을 보여 이들 아미노산의 합은 총아미노산의 약 60%를 차지하는 것으로 나타났다. 6월 30일 수확된 사과 또한 aspartic acid, glutamic acid, lysine, leucine의 순으로 높은 함량을 보였으나 5월 30일의 시료와 비교할 때 이들 개개의 아미노산 및 총아미노산의 함량이 약 3.5배 감소하였다.

표 13. 미숙사과의 무기질 함량

(ppm, dry basis)

수확시기(월/일)	Ca	Mg	K
5/30	1,870.7	1,312.0	11,697.6
6/30	430.1	408.2	5,671.5

표 14. 미숙사과의 총아미노산 함량

(mg% dry basis)

아미노산	수확시기(월/일)		아미노산	수확시기(월/일)	
	5/30	6/30		5/30	6/30
Aspartic acid	3966.9	1131.5	Valine	368.1	112.9
Threonine	353.1	97.6	Methionine	146.3	20.9
Serine	441.6	138.2	Isoleucine	324.5	81.0
Glutamic acid	887.4	408.5	Leucine	571.7	153.2
Proline	478.3	64.0	Tyrosine	234.1	31.9
Glycine	379.8	126.9	Phenylalanine	370.6	87.3
Alanine	473.5	137.2	Histidine	174.4	36.7
Cystine	108.4	-	Lysine	560.3	158.8
Arginine	366.8	93.4	Total	10205.8	2880.1

제 2절 미숙사과의 페놀계화합물

1. 미숙사과 용매추출물의 페놀계화합물

가. 색도

표 15는 개화 후 70일경인 6월30일 채취한 미숙사과를 과피, 과육(씨제거) 및 씨만 제거한 전체부위(과육+과피)로 세분한 다음 동결건조한 분말에 각기 다른 종류의 용매로 추출한 추출물의 색도를 비교한 결과이다.

백색도의 경우 열수추출물은 90.13 91.12로 미숙사과의 부위에 따른 차이를 나타내지 않았으나 75% 아세톤과 80% 메탄올추출물은 86.70 94.70의 범위로 부위에 따른 차이를 보여 과육>과육+과피>과피의 순으로 나타났다. 또한 적색도는 열수추출물의 경우에는 각 부위별 차이를 보이지 않았으나 아세톤과 메탄올추출물은 과피부위의 적색도가 다른 부위에 비해 월등히 높은 것으로 나타났으며, 특히 75% 아세톤 추출물의 과피의 적색도가 -4.49로 가장 높은 값을 보였다. 황색도는 열수추출물에서 각 부위가 3.14 3.77로 뚜렷한 차이가 없었으나 아세톤과 메탄올추출물의 경우 과피부위의 황색도가 12.52, 10.97로 특히 높게 나타났으며 75% 아세톤>80% 메탄올 추출물의 순으로 각 용매에 따른 차이를 보였다.

나. 파장별 흡광도

표 16은 미숙사과의 부위별 용매 추출물의 주요파장별 흡광도 변화를 나타낸 결과로서 열수, 메탄올추출물이 230㎚부근에서 모두 최대 흡광도를 나타낸 반면 아세톤추출물의 경우 330㎚에서 최대 흡광도를 나타내어 용매에 따른 차이가 있는 것으로 나타났다. 미숙사과의 용매 추출물의 부위별 흡광도 변화를 보면 모든 추출물에서 부위에 따른 차이가 뚜렷이 나타나 과피>과육+과피>과육의 순이었다.

표 15. 미숙사과 용매추출물의 색도 변화

추출용매 / 부 위	L	a	b	△E
열 수				
과육	91.12	-0.14	3.14	9.29
과육+과피	90.26	-0.11	3.56	10.24
과피	90.13	-0.10	3.77	10.44
75% 아세톤				
과육	94.05	-1.03	3.11	6.77
과육+과피	91.38	-1.46	5.24	10.17
과피	86.70	-4.49	12.52	18.79
80% 메탄올				
과육	94.70	-0.79	2.29	5.85
과육+과피	91.68	-0.91	4.72	9.63
과피	89.19	-2.87	10.97	15.69

표 16. 미숙사과 용매추출물의 주요파장(㎚)에 따른 흡광도 변화

(O・D)

추출용매	부 위	208㎚	280㎚	331㎚
열 수	과육	2.99	0.47	0.24
	과육+과피	3.43	0.65	0.37
	과피	3.51	0.98	0.51
75% 아세톤	과육	0.60	0.85	0.26
	과육+과피	1.00	0.84	0.33
	과피	1.00	0.78	0.52
80% 메탄올	과육	3.17	0.48	0.18
	과육+과피	3.47	0.72	0.35
	과피	3.73	1.17	0.57

다. 폴리페놀성 물질의 함량

1) 총폴리페놀

표 17은 5월 30일 수확한 미숙사과 전체와 6월 30일 수확한 부위별 시료의 용매 추출물의 총폴리페놀 함량을 나타낸 결과이다. 열수추출물의 총폴리페놀 함량이 수확시기별 및 모든 부위에서 가장 낮은 값을 보인 반면 75% 아세톤추출물은 과육, 과육+과피 및 과피에서 각각 3,157.0, 4,283.6, 680.8㎎%로 다른 용매 추출물의 총폴리페놀 함량에 비해 높은 것으로 나타났고, 과피부위가 가장 높았다. 또한 5월 30일 시료를 6월 30일 수확된 과육+과피부위의 함량과 비교할 때 추출용매에 관계없이 총폴리페놀의 함량이 약 3.5배 이상 높은 것으로 나타났다.

표 17. 미숙사과 용매별추출물의 총폴리페놀 함량

(㎎%, dry weight)

추출용매	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
열 수	10,743	2059.0	3001.8	5102.2
75% 아세톤	16,203	3157.0	4283.4	6680.8
80% 메탄올	13,777	2849.6	3559.6	6218.8

2) Flavanol형 탄닌

표 18은 미숙사과의 수확시기별, 부위별 용매추출물의 flavanol형 탄닌인 catechin과 leucoanthocyan의 함량을 나타낸 결과로서 6월 30일 시료에서 열수추출물의 경우 과육, 과육+과피, 과피부위의 함량이 각각 247.4, 399.4 및 1,048.0㎎%로 나타나 75% 아세톤 및 80% 메탄올추출물에 비해 낮은 값을 보였으며, 과피부위의 경우 추출용매의 종류에 관계없이 과육부위에 비해 3배 이상 높은 함량을 보였고, 특히 75% 아세톤추출물은 추출용매 중 가장 높은 함량을 나타내었다. 5월 30일 수확한 시료는 flavanol형 탄닌의 함량이 아세톤 처리구의 4,799.0㎎%에서 열수처리구의 2,700.5㎎%의 범위로 6월 30일 시료중 과육+과피부위에 비해 5.5배 이상 그 함량이 높은 것으로 나타났다.

표 18. 미숙사과 용매추출물의 flavanol형 탄닌의 함량

(mg%, dry basis)

추출용매	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
열 수	2,700.5	247.4	399.4	1048.0
75% 아세톤	4,799.0	518.64	873.4	1636.2
80% 메탄올	3,729.4	400.86	596.2	1463.2

3) Leucoanthocyan

표 19는 미숙사과 추출물의 leucoanthocyan 함량을 나타낸 결과로서 개화 후 40일에 수확한 시료는 열수추출물의 706.56mg%에서 75% 아세톤추출물의 1,249.28mg%의 범위로 6월30일 채취한 시료의 과육+과피부위의 함량 207.36mg%에서 379.65mg%보다 그 함량이 높았다. 미숙사과의 부위를 달리한 6월 30일 시료의 경우 과피, 과육+과피, 과육부위의 순으로 함량이 높았으나 추출용매에 있어서는 과피, 과육+과피부위의 경우 75% 아세톤, 열수, 80% 메탄올추출의 순으로 함량이 높은 반면 과육부위는 아세톤, 메탄올, 열수추출의 순으로 함량이 높은 것으로 나타났다.

표 19. 미숙사과 용매추출물의 leucoanthocyan 함량

(mg%, dry basis)

추출용매	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
열 수	706.56	144.64	229.38	577.28
75% 아세톤	1,249.28	249.86	379.65	642.05
80% 메탄올	1,047.04	156.67	207.36	352.76

4) 클로로겐산

표 20은 미숙사과의 부위별 용매추출물의 클로로겐산 함량을 측정한 결과로서 과피부위의 경우 75% 아세톤추출물이 3,276.50mg%로 가장 높은 반면 과육, 과육+과피

부위는 80% 메탄올추출물이 각각 1,284.26㎎%, 1,830.16㎎%로 가장 높은 함량을 보였다. 5월 30일 시료는 75% 아세톤추출물이 6,055.5㎎%, 열수추출물이 4,232.5㎎%로 6월 30일의 시료보다 3배 이상 높은 함량을 보였다.

표 20. 미숙사과 용매추출물의 클로로겐산 함량

(㎎%, dry basis)

추출용매	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
열 수	4,232.5	776.54	1016.22	1991.06
75% 아세톤	6,055.5	1078.14	1715.22	3276.50
80% 메탄올	5,881.0	1284.26	1830.16	2984.96

이상의 미숙사과 용매추출물의 페놀성 물질의 함량 측정 결과를 토대로 개개 분획의 함량이 총폴리페놀에서 차지하는 구성비를 살펴보면 먼저 5월 30일 시료는 용매의 종류에 관계없이 추출물의 페놀성 물질중 chlorogenic acid의 구성비가 총폴리페놀 함량의 약 37 42%를 차지하였고, flavanol형 탄닌이 25 29%를 차지하는 것으로 나타났다. 6월 30일 시료도 추출용매에 따른 구성비의 차이는 없었으나 미숙사과의 부위에 따른 차이는 보여 과피부위는 다른 것에 비해 각각의 추출용매에서 flavano형 탄닌, leucoantocyan, chlorogenic acid 분획의 구성비가 높은 것으로 나타났다. 따라서 미숙사과에 존재하는 폴리페놀성 물질은 주로 chlorogenic acid로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

라. Flavanol형 탄닌의 중합도

미숙사과의 부위별 용매추출물의 flavanol형 탄닌의 중합도를 나타낸 결과는 표 21과 같다. flavanol형 탄닌의 중합도는 흔히 flavanol형 탄닌(V) 함량을 전체 폴리페놀(TP) 함량으로 나눈 값으로 나타내며, V/TP 값이 작을수록 중합도가 상대적으로 크고, V/TP 값이 클수록 중합도가 상대적으로 작다. 과피부위의 추출물이 과육 및 과육+과피부위 추출물보다 flavanol형 탄닌의 중합도가 낮은 것으로 나타났고, 열수추출물이 아세톤, 메탄올추출물보다 중합도가 큰 것으로 나타났다. 또한 5월 30

일 시료가 6월 30일 시료보다 추출용매에 관계없이 모두 flavanol형 탄닌의 중합도가 낮았다.

표 21. 미숙사과 용매추출물의 flavanol형 탄닌의 중합도*

추출용매	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
열 수	0.25	0.12	0.13	0.21
75% 아세톤	0.30	0.16	0.20	0.22
80% 메탄올	0.27	0.14	0.16	0.24

* 중합도 : Flavanol tannin/Total polyphenol

마. 총플라보노이드

표 22는 미숙사과의 수확시기별, 부위별 총플라보노이드의 함량을 측정한 결과로서 과피부위가 657.11㎎%로 과육부위의 239.72㎎%보다 2.7배 높은 함량을 보였으며, 미숙사과의 씨만 제거하고 과피와 과육을 분리하지 않은 시료(과육+과피)는 이들 개개부위의 중간정도인 350.87㎎%의 함량을 나타내었으나 수확시기가 빠른 5월 30일 시료는 총플라보노이드 함량이 1,706.4㎎%로 6월 30일의 것보다 약 5배 높은 것으로 나타났다.

표 22. 미숙사과의 총플라보노이드 함량

(㎎%, dry basis)

	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
총플라보노이드	1,706.43	239.72	350.87	657.11

바. 고분자량 분획

표 23은 미숙사과의 페놀성 물질 중 고분자량 분획의 함량과 총폴리페놀에 대한 이들의 구성비를 조사한 결과로서 과피부위의 경우 고분자량 분획의 구성비가 74

77%를 차지하였으나 과육부위는 이보다 다소 낮은 58 66%의 구성비를 보였다. 추출용매별로 볼 때 75% 아세톤추출물이 66 76%로 80% 메탄올 및 열수추출물보다 다소 높은 구성비를 보였다. 또한 6월 30일 시료보다 수확시기가 빠른 5월 30일의 것이 추출용매에 관계없이 76 84%로 고분자량 분획의 구성비가 높았다.

표 23. 미숙사과의 용매추출물의 고분자량 분획의 함량

(mg%, dry basis)

추출용매	5/30	6/30		
		과 육	과육+과피	과피
열 수	6,748.81) (76.39)2)	1207.8 (58.66)	1921.6 (64.66)	3768.2 (73.85)
75% 아세톤	12,789.4 (84.70)	2095.0 (66.36)	2998.2 (70.00)	5132.6 (76.83)
80% 메탄올	11,039.3 (82.40)	1845.6 (64.77)	2317.8 (65.11)	4829.8 (77.66)

1) : 폴리페놀 물질 중 고분자량 분획

2) : ( ) 총폴리페놀에 대한 고분자량 분획의 구성비

사. 전자공여작용

미숙사과 용매추출물의 전자공여작용을 조사한 결과는 표 24와 같다. 수확시기, 추출용매의 종류에 관계없이 추출물의 제조시 사용된 시료의 농도가 증가함에 따라 전자공여작용은 모두 증가하는 것으로 나타났다.

α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 추출물의 전자공여 효과는 열수 추출물보다는 75% 아세톤, 80% 메탄올추출물이 높은 것으로 나타났으나 실험시 사용된 추출물 제조용 미숙사과 분말의 농도가 높을 수록 용매간의 차이는 적었다. 미숙사과의 부위별로 볼 때 0.5%농도에서 과피부위가 52.0 81.0%로 높았고 과육부위가 32.2 61.1로 가장 낮았다. 특히 과피부위는 시료 1.0%농도에서 추출용매에 관계없이 90%이상의 전자공여 효과를 나타내었다. 미숙사과의 수확시기별로 볼 때 5월 30일 수확한 시료를 사용한 추출물은 미숙사과 분말농도 0.1% 에서도 6월 30일 시료의 0.5%농도와 거의 유사한 전자공여효과를 보여 일반적으로 과수원에서 사과를 적과하

는 시기인 개화 후 40 50일 정도에 채취한 시료가 전자공여작용이 높음을 알 수 있었다.

표 24. 미숙사과 용매별추출물의 전자공여작용

(%, dry basis)

추출용매	5/30			6/30					
				과육		과육+과피		과피	
	0.1%	0.2%	0.3%	0.5%	1.0%	0.5%	1.0%	0.5%	1.0%
열 수	34.30	69.30	91.00	32.2	72.3	34.3	81.8	52.0	90.1
75% 아세톤	56.10	71.80	93.70	61.1	91.1	80.4	95.1	81.0	95.3
80% 메탄올	44.10	74.70	94.30	55.1	84.8	71.7	94.4	81.8	95.3

아. 아질산염소거작용

표 25은 5월 30일 수확한 시료의 농도와 추출용매를 달리하여 얻은 추출물의 아질산염소거작용을 조사한 결과이다. 추출용매에 관계없이 반응 pH 1.2에서 가장 높은 아질산염소거작용을 보였고, 특히 80% 메탄올추출물은 반응 pH 3.0에서 다른 추출물과는 달리 약 90%에 가까운 효과를 나타내었다. 시료의 농도가 상승함에 따라 아질산염소거작용은 증가하였으나 추출용매에 따라 다소 차이를 보여 열수추출물은 15㎎%, 75% 아세톤은 10㎎%, 80% 메탄올추출물은 5㎎% 이상의 농도에서 각각 90% 이상의 아질산염소거작용을 보였다.

표 25. 미숙사과(5월 30일) 용매별추출물의 아질산염소거작용

(%, dry basis)

추출용매	시료농도 (mg%)	반응 pH			
		1.2	3.0	4.2	6.0
열 수	5	56.60	41.14	4.22	0
	10	55.17	37.91		0
	15	96.22	55.16	9.78	0
75% 아세톤	5	77.23	51.33	2.71	0
	10	91.16	64.92	11.68	2.68
	15	96.95	75.02	23.48	0
80% 메탄올	5	94.21	86.59	14.62	8.96
	10	96.26	88.36	32.35	16.94
	15	96.51	95.77	46.18	37.32

6월 30일 채취한 시료 분말을 0.1%농도로 조정하여 얻은 추출물의 아질산염소거작용(표 26)은 부위에 관계없이 80% 메탄올을 용매로 사용할 경우 가장 높았고, 반응 pH 1.2에서 과피의 경우 열수추출물이 70.65%, 80% 메탄올추출물이 85.25% 로 다른 부위에 비해 높은 아질산염소거작용을 보였다. 그러나 80% 메탄올추출물은 시료의 부위에 관계없이 다른 용매추출물 보다 아질산염소거능이 우수한 것으로 나타났다.

표 26. 미숙사과(6/30일) 용매별 추출물의 아질산염소거작용

(%, dry basis)

추출용매	pH	과육	과육+과피	과피
열 수	1.2	25.63	12.02	70.65
	4.2	6.92	9.10	9.19
75% 아세톤	1.2	19.53	21.84	80.02
	4.2	9.70	9.38	12.19
80% 메탄올	1.2	71.66	71.66	85.25
	4.2	40.72	40.72	41.58

자. ACE 저해작용

5월 30일 수확한 미숙사과 용매추출물을 대상으로 혈압상승작용을 가지는 angiotensin II를 생성하는 angiotensin I converting enzyme에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 27과 같다. 미숙사과 추출물의 경우 추출용매에 관계없이 50%미만의 ACE 저해작용을 보였으나 열수추출물이 47.1%로 가장 그 중 가장 높았다.

표 27. 미숙사과 용매별추출물의 ACE 저해작용

(%)

열 수	75% 아세톤	80% 아세톤
47.10	33.40	39.80

2. 미숙사과 착즙액의 페놀계화합물

5월 30일 채취한 미숙사과를 이용하여 그대로, 60℃에서 30분 열처리 후 냉각한 것 및 동결 후 해동한 처리구로 나누었다. 이들을 세절한 다음 가정용 녹즙기로 분쇄한 후 200kg/cm2의 압력으로 착즙하고 3,000rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 착즙액의 폴리페놀성물질의 함량을 조사한 결과는 표 28과 같다.

총폴리페놀의 함량은 60℃에서 예열처리 후 착즙한 액이 751.6mg%로 가장 높았고, 동결, 해동 착즙액이 624.2mg%로 가장 낮았다. 이들 착즙액의 폴리페놀성 물질의 분획별 함량을 살펴보면 전처리 방법에 관계없이 chlorogenic acid의 함량이 342.1 425.4mg%로 가장 높았고, 다음으로 flavanol형 탄닌이 88.1 124.5mg%로 높았다. 총폴리페놀함량에 대한 이들 개개 폴리페놀성물질 분획이 차지하는 구성비를 살펴보면 chlorogenic acid 가 53%이상을 차지하는 것으로 나타나 착즙액에 존재하는 폴리페놀물질 또한 앞서 미숙사과 분말을 각기 다른 용매로 추출한 추출물과 마찬가지로 chlorogenoc acid 로 구성되어 있음을 알 수 있었다. 전처리 방법중에서는 예열처리구가 다소 높은 구성비를 보였다. 그러나 착즙액의 총폴리페놀 함량은 동일

시기의 미숙사과를 동결건조한 분말을 75% 아세톤으로 추출하여 얻은 추출물의 그것보다 20배 이상 낮은 농도였으며 분획들의 구성비에 있어서는 상대적으로 chlorogenic acid는 증가한 반면 flavanol형 탄닌과 leucoantocyan은 감소하였다.

표 28. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 총폴리페놀 및 분획별 함량

(㎎%, apple juice)

전처리방법	Total polyphenol	Flavanol형 탄닌	Leucoantocyan	Chlorogenic acid
그대로 착즙	745.1 (70.2)	104.2 (14.0)	21.0 (2.8)	397.7 (53.4)
예열처리 후 착즙	751.6 (76.4)	124.5 (16.6)	23.9 (3.2)	425.4 (56.6)
동결,해동 후 착즙	624.2 (71.8)	88.1 (14.1)	18.0 (2.9)	342.1 (54.8)

표 29은 이들 착즙액의 flavanol형 탄닌의 중합도, 고분자량 분획의 함량과 구성비를 조사한 결과이다. Flavanol형 탄닌의 중합도는 예열처리구가 0.17로 다른 처리구에 비해 다소 높았으며, 6월 30일 수확한 시료를 부위별로 구분하여 용매추출한 추출물의 결과와 비교하면 과육부위의 그것과 유사하였다. 고분자량 분획의 함량과 구성비는 미숙사과를 그대로 착즙한 것이 각각 431.25㎎%, 57.88%로 가장 높았고 냉동, 해동처리구가 각각 284.2㎎%, 45,53% 로 가장 낮았다.

표 29. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 flavanol형 탄닌의 중합도와 고분자량 분획 함량 및 구성비

전처리방법	Flavanol형 탄닌의 중합도	고분자 분획 (㎎%, apple juice)
그대로 착즙	0.14	431.2(57.88)
에열처리 후 착즙	0.17	362.3(48.20)
동결, 해동 후 착즙	0.14	284.2(45.53)

표 30은 착즙액의 전자공여작용을 측정한 결과로서 예열처리구가 72.23%로 가장

높았고 냉동, 해동처리구가 61.46%로 가장 낮았다. 미숙사과를 60℃에서 예열처리하여 착즙한 액의 전자공여효과를 용매종류를 달리하여 미숙사과 분말에서 얻은 추출물의 결과와 비교하면 5월 30일 시료를 0.2% 농도로 하여 추출한 것과 유사하였다.

표 30. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 전자공여작용

(%)

그대로 착즙	예열처리 후 착즙	냉동,해동 후 착즙
65.02	72.23	61.46

5월 30일 수확한 미숙사과 착즙액의 아질산염소거작용은 표 31에서 볼 수 있는 바와 같이 미숙사과를 그대로 착즙한 것이 68.09% 로 가장 높았고, 예열처리 및 냉동, 해동처리구는 약 57%정도로 유사한 값을 보였다. 착즙액의 아질산염소거작용을 각기 다른 시료농도와 용매로 추출한 추출물의 결과와 비교하면 착즙액은 아세톤, 메탄올추출물보다는 낮으나 열수추출물 제조시 시료농도를 10㎎% 이하로 한 처리구보다는 높았다.

표 31. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 아질산염소거작용

(%)

반응 pH	그대로 착즙	예열처리 후 착즙	냉동,해동 후 착즙
1.2	68.09	57.46	56.57
3.6	49.93	22.16	10.93

이들 착즙액의 ACE 저해작용(표 32)은 시료를 그대로 착즙한 것, 예열처리 후 착즙한 것이 각각 13.3%, 11.2%를 나타내어 냉동, 해동처리구의 4.8% 보다 높았으나 착즙액의 ACE 저해효과는 거의 없는 것으로 나타났다.

표 32. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 ACE 저해작용

(%)

그대로 착즙	예열 후 착즙	냉동,해동 후 착즙
13.3	11.2	4.8

제 3절 페놀성물질의 분리,정제 및 특성

1. 페놀성물질의 분리, 정제

가. 착즙액 폴리페놀물질의 분리, 확인

앞서 전처리 방법을 달리하여 얻은 미숙사과 착즙액의 폴리페놀물질을 HPLC로 분석하여 얻은 chromatogram은 그림 2와 같다. 표준 폴리페놀화합물질의 retention time과 비교한 결과 (+)-catechin, chlorogenic acid, (-)-epicatechin, phloridzin이 확인되었으며 이들 분리, 확인된 폴리페놀물질의 함량과 구성비를 분석한 결과는 표 33과 같다.

착즙액의 폴리페놀물질은 미숙사과의 전처리 방법에 관계없이 chlorogenic acid와 phloridzin의 함량이 각각 107.8 111.9mg%, 106.8 116.2mg%로 가장 높았고 이들 성분의 합은 총량의 70%를 차지하였다. 60℃에서 예열처리 후 착즙한 액이 다른 처리구에 비해 총량이 다소 높았다. 전처리 방법별 착즙액의 개개 폴리페놀물질의 구성비에 있어서는 catechin은 예열처리구가 4.6%, epicatechin은 동결, 해동처리구가 3.2%로 다른 것에 비해 다소 낮은 반면 chlorogenic acid의 구성비는 약35%로 처리구간에 차이가 없으나 phloridzin은 동결, 해동처리구가 37.6%로 다소 높은 것으로 나타났다.

한편 그림 2의 착즙액에서 분리된 폴리페놀화합물중 retentio time 45.30분의 피크는 표준품 phloridzin과 동일한 retention time을 보였으나 이들 물질이 축합형 탄닌과 같은 다른 물질들과 혼입되었는지의 여부를 조사하였다.

즉 미숙사과 착즙액을 1N HCl의 조건으로 조정한 후 이 액을 환류냉각기가 부착

된 heating block에서 1시간 가수분해한 후 일정량으로 정용한 액을 여과하여 HPLC로 분석하였다. 가수분해전·후 폴리페놀화합물의 크로마토그람은 그림 3과 같다. 그림에서 볼 수 있는 바와 같이 phloridzin에 결합되어 있는 당류가 가수분해로 인해 절단되어 해당 aglycone인 phloretin으로 변화됨을 확인할 수 있었다. 따라서 착즙액의 폴리페놀물질의 크로마토그람에서 retention time 45.30분에서의 피크는 phloridzin만의 단일 피크로 간주할 수 있었다.

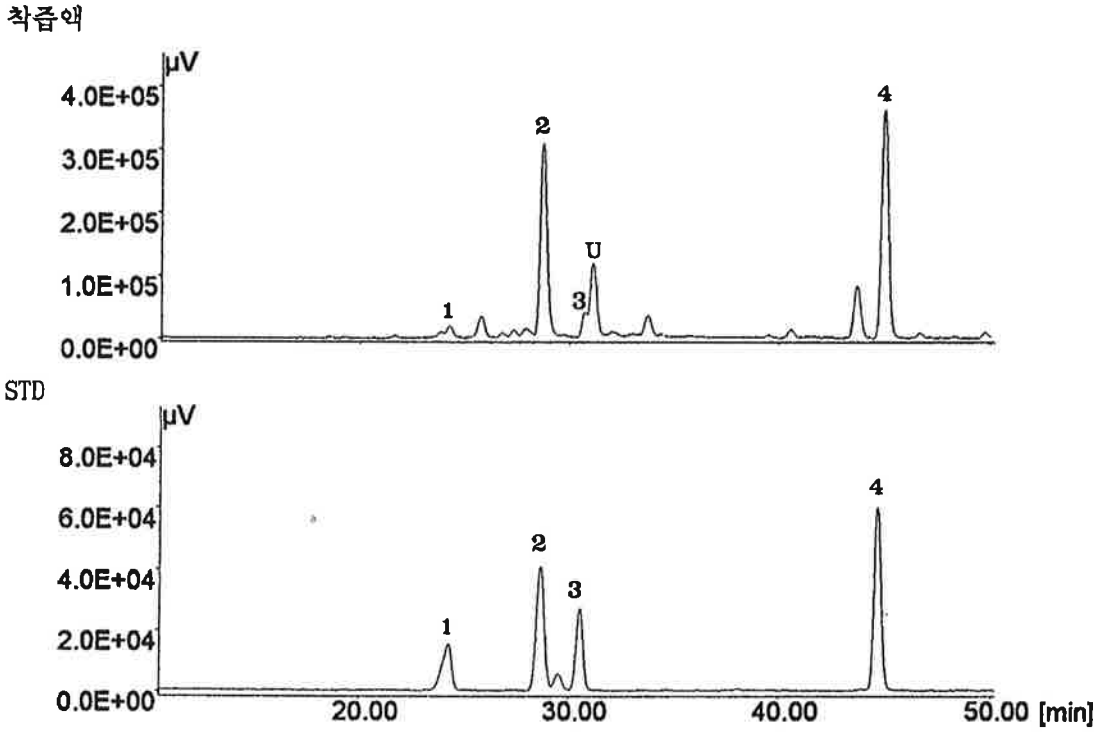


그림 2. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 폴리페놀화합물의 크로마토그람

1: Catechin, 2: Chlorogenic acid, 3: Epicatechin
4: Phloridzin, U: Unknown

표 33. 전처리 방법별 미숙사과 착즙액의 폴리페놀화합물의 함량 및 구성비

(㎎%)

폴리페놀화합물	그대로 착즙	예열처리 후 착즙	동결,해동 후 착즙
Catechin	17.0 (5.6)	14.5 (4.6)	18.9 (6.1)
Chlorogenic acid	107.8 (35.5)	111.9 (35.1)	109.9 (35.6)
Epicatechin	13.8 (4.6)	18.1 (5.7)	9.7 (3.2)
Unknown	58.1 (19.1)	64.1 (20.1)	54.0 (17.5)
Phloridzin	106.8 (35.2)	110.0 (34.5)	116.2 (37.6)
Total	303.7 (100)	318.8 (100)	309.0 (100)

표 34는 수확시기가 다른 사과 착즙액의 폴리페놀물질의 함량 및 구성비 변화를 조사한 결과이다. 개화 후 40일경인 5월 30일 시료에 비해 성장시기가 경과한 6월 30일 시료의 경우 미확인물질을 제외한 다른 성분들은 함량이 급격히 감소하였고 특히 미숙사과의 주요 폴리페놀성분인 chlorogenic acid와 phloridzin이 각각 31.1㎎%, 22.5㎎%로 감소하였다. 또한 시중에 유통되고 있는 98년산 저장 사과의 경우 chlorogenic acid 만이 8.2㎎%의 함량을 보였고 나머지 catechin, epicatechin, phloridzin성분들은 검출되지 않았다.

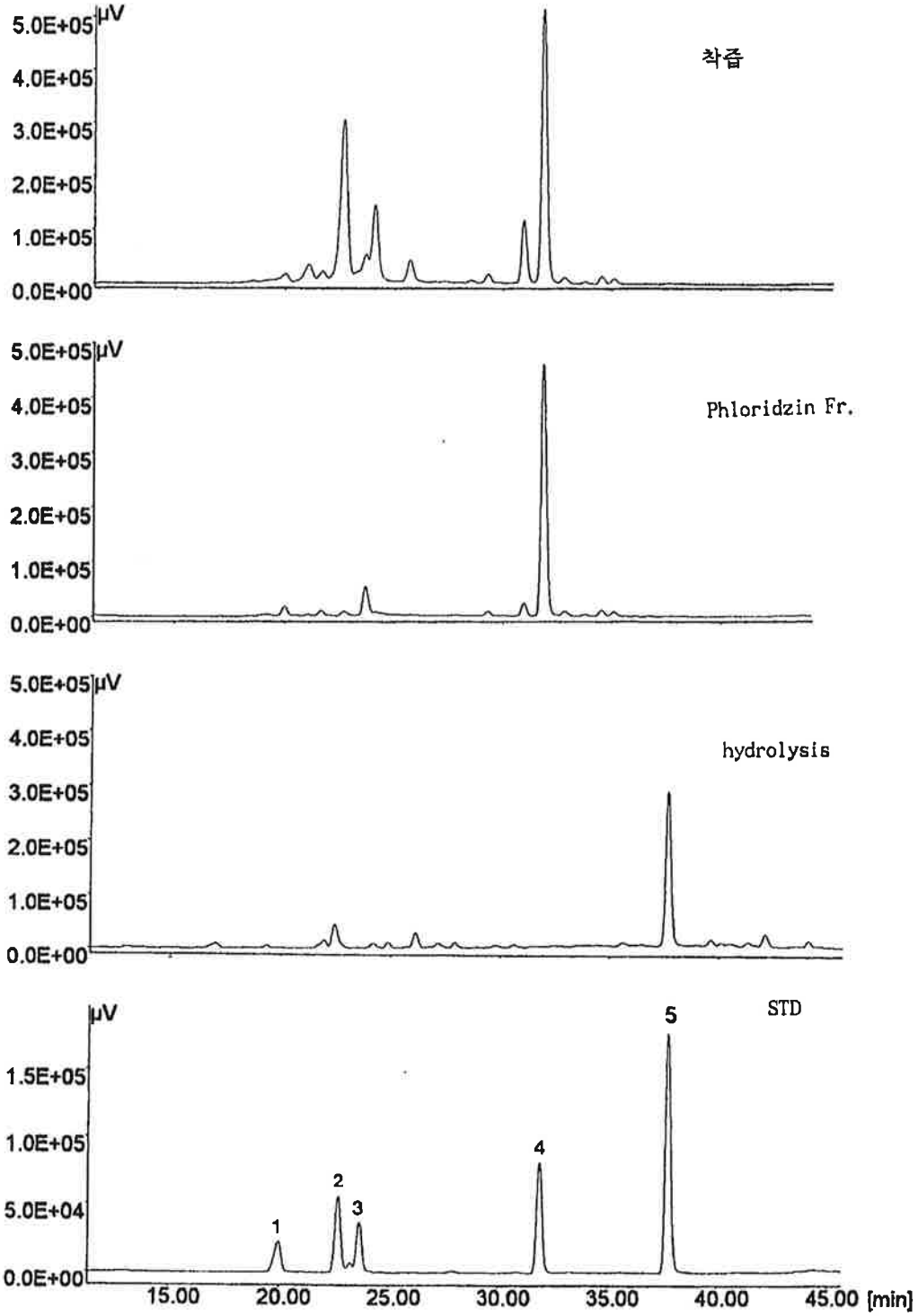


그림 3. 미숙사과 착즙액 폴리페놀화합물의 가수분해전・후의 크로마토그람

1:Catechin, 2:Chlorogenic acid, 3:Epicathchin, 4:Phloridzin, U:Unknown

표 34. 숙도별 미숙사과 착즙액의 폴리페놀화합물의 함량과 구성비

(mg%)

폴리페놀화합물	5/30	6/30	완숙과
Catechin	17.0 (5.6)	trace	-
Chlorogenic acid	107.8 (35.5)	31.1 (38.1)	8.2 (82.0)
Epicatechin	13.8 (4.6)	trace	-
Unknown	58.1 (19.1)	50.6 (61.9)	1.7 (18.0)
Phloridzin	106.8 (35.2)	trace	-
Total	303.7 (100)	81.8 (100)	10.0 (100)

나. 용매추출물의 폴리페놀물질의 분리, 확인

표 35은 5월 30일 수확한 미숙사과를 각기 다른 용매로 추출하여 얻은 추출물의 폴리페놀물질의 함량과 구성비를 조사한 결과이다. 미숙사과 착즙액과 마찬가지로 (+)-catechin, chlorogenic acid, (-)-epicatechin, phloridzin이 분리, 확인되었으며 용매추출물 또한 chlorogenic acid 와 phloridzin이 주된 폴리페놀성분으로 각각 30%이상의 구성비를 보여 착즙액과 차이가 없었다. 그러나 이들 용매추출물의 폴리페놀물질의 함량과 개개 페놀물질의 구성비는 추출용매에 따른 차이를 보여 열수추출물은 chlorogenic acid의 구성비가 38.9%로 분리, 확인된 페놀물질들중 가장 높은 반면 75% 메탄올, 80% 아세톤 추출물은 phloridzin의 구성비가 각각 37.2%, 36.9%로 높았다. 또한 75% 메탄올추출물은 catechin, epicatechin, 열수추출물은 phloridzin, 80% 아세톤추출물은 chlorogenic acid의 구성비가 추출물중 가장 낮은 것으로 나타났다.

표 35. 미숙사과 용매별추출물의 폴리페놀화합물의 함량과 구성비

(mg%, dry weight)

폴리페놀화합물	열 수	80% 메탄올	75% 아세톤
Catechin	139.9 (5.8)	111.7 (3.5)	136.4 (4.6)
Chlorogenic acid	947.8 (38.9)	1110.9 (34.9)	1011.1 (34.4)
Epicatechin	200.6 (8.2)	249.8 (5.7)	233.8 (8.0)
Unknown	506.6 (20.8)	675.5 (21.2)	641.0 (21.8)
Phloridzin	839.1 (34.5)	1185.3 (37.2)	1085.2 (36.9)
Total	2433.6 (100)	3186.5 (100)	2939.1 (100)

다. 착즙액 폴리페놀화합물의 분리, 확인

미숙사과 착즙액에는 폴리페놀화합물과 함께 당류, 유기산 등 다양한 종류의 물질이 혼용되어 있어 미숙사과의 기능성 물질의 하나인 폴리페놀화합물을 식품가공용 소재로 이용하기 위해서는 이들로부터 폴리페놀화합물만 분리, 정제하여 순도를 높일 필요가 있다. 본 연구에서는 60℃에서 예열처리 후 착즙한 액을 미숙사과 폴리페놀화합물 제조를 위한 조추출물로 사용하여 Sep-Pak C18 카트리지에서 이들 폴리페놀화합물의 정제를 위한 흡착, 탈착정도를 조사하였다.

미숙사과 착즙액을 미리 메탄올 용액으로 활성화시킨 Sep-Pak C18 카트리지에 주입하여 폴리페놀화합물을 흡착시켰으며, 이 때 카트리지에 흡착되지 않고 통과한 액을 분취하였다. 카트리지에 증류수를 주입, 수세하였으며, 수세액을 분취하였다. 카트리지에 메탄올 용액을 주입하여 흡착되어 있는 폴리페놀화합물을 탈착시켰고 그 액을 분취하였다. 이들 분취액 중의 폴리페놀화합물의 함량과 구성비를 조사한 결과는 표 36과 같다. 먼저 착즙액을 카트리지에 주입하여 일정한 속도로 통과시킬 경우 Sep-Pak 카트리지에 흡착되지 않고 통과한 액에는 폴리페놀화합물이 검출되지 않았다. 또한 폴리페놀화합물이 흡착된 카트리지를 증류수로 수세한 액에도 폴리페놀화합물이 검출되지 않았다. 그러나 흡착된 폴리페놀화합물을 탈착시키기 위해 사용된

메탄올용액은 시료 원액과 유사한 폴리페놀물질의 함량을 보일 뿐 아니라 개개 폴리페놀물질의 구성비도 원액의 그것과 차이가 없어 Sep-Pak C18 을 미숙사과 착즙액중 폴리페놀화합물의 정제에 사용함은 별 문제가 없는 것으로 판단되었다.

표 36. 착즙액의 Sep-Pak처리전·후 폴리페놀화합물의 함량과 구성비

(mg%)

폴리페놀화합물	Sep-Pak통과전 원액	Sep-pak통과후 미흡착액	Sep-Pak수세액	Sep-Pak탈착 메탄올액
Catechin	14.5 (4.6)	-	-	14.1 (3.3)
Chlorogenic acid	111.9 (35.1)	-	-	108.8 (33.1)
Epicatechin	18.1 (5.7)	-	-	18.3 (5.6)
Unknown	64.1 (20.1)	-	-	72.9 (22.2)
Phloridzin	110.0 (34.5)	-	-	114.5 (34.8)
Total	318.8 (100)	-	-	328.6

표 37은 Sep-Pak C18 카트리지로 착즙액의 폴리페놀화합물을 정제할 경우 반복 사용 횟수에 따른 착즙액내의 폴리페놀물질의 흡착, 탈착능을 조사한 결과이다. 처음 사용 후 카트리지를 methanol로 수세, 재활성화를 시킨 결과 처리횟수가 증가함에 따라 메탄올용액에 용출되는 총폴리페놀의 함량은 약간 감소하였으나 큰 차이는 없었다.

표 37. Sep-Pak C18(칼럼형)의 재사용 횟수에 따른 용출액의 총폴리페놀 함량

(mg%)

재사용 횟수	흡착되지 않고 통과한 액	1차 증류수로 수세한 액	메탄올 용출액	재사용을 위해 메탄올로 수세한 액
1	2.5	5.0	438.8	0.7
3	2.4	3.7	398.6	0.4
5	1.7	5.1	393.0	0.5
7	1.8	3.8	386.9	0.4
9	1.5	4.6	392.5	0.3
11	1.8	4.8	395.8	2.3

미숙사과 착즙액의 폴리페놀화합물의 정제도를 높이기 위해 Sep-Pak 카트리지로 1차 처리한 액을 Sephadex LH-20칼럼에서 2차 정제하였으며, 이들을 HPLC로 분석한 크로마토그람은 그림 4와 같다. 표 38은 착즙액의 정제단계별 폴리페놀화합물의 함량과 구성비를 조사한 결과이다. 착즙액을 Sep-Pak C18 카트리지에 흡착, 메탄올로 탈착하여 얻은 액은 원액과 폴리페놀화합물의 함량과 구성비가 거의 유사하나 이들을 Sephadex LH-20 칼럼에 주입하고 메탄올과 아세톤을 용매로 용출시켜 얻은 액의 폴리페놀화합물은 서로 다른 함량과 구성비를 보였다. 즉 Sephadex LH-20칼럼에서 메탄올을 용매로 사용하여 용출시킨 용액은 미숙사과 착즙원액과 비교할 때 단순폴리페놀물질인 chlorogenic acid의 구성비가 60.1%로 2배정도 증가하여 주된 물질로 나타난 반면 Sephadex LH-20칼럼에서 메탄올 용출 후 아세톤을 용매로 용출시킨 용액은 phloridzin의 구성비가 2배 정도 증가한 73.8%로 주된 물질로 나타났다.

착즙

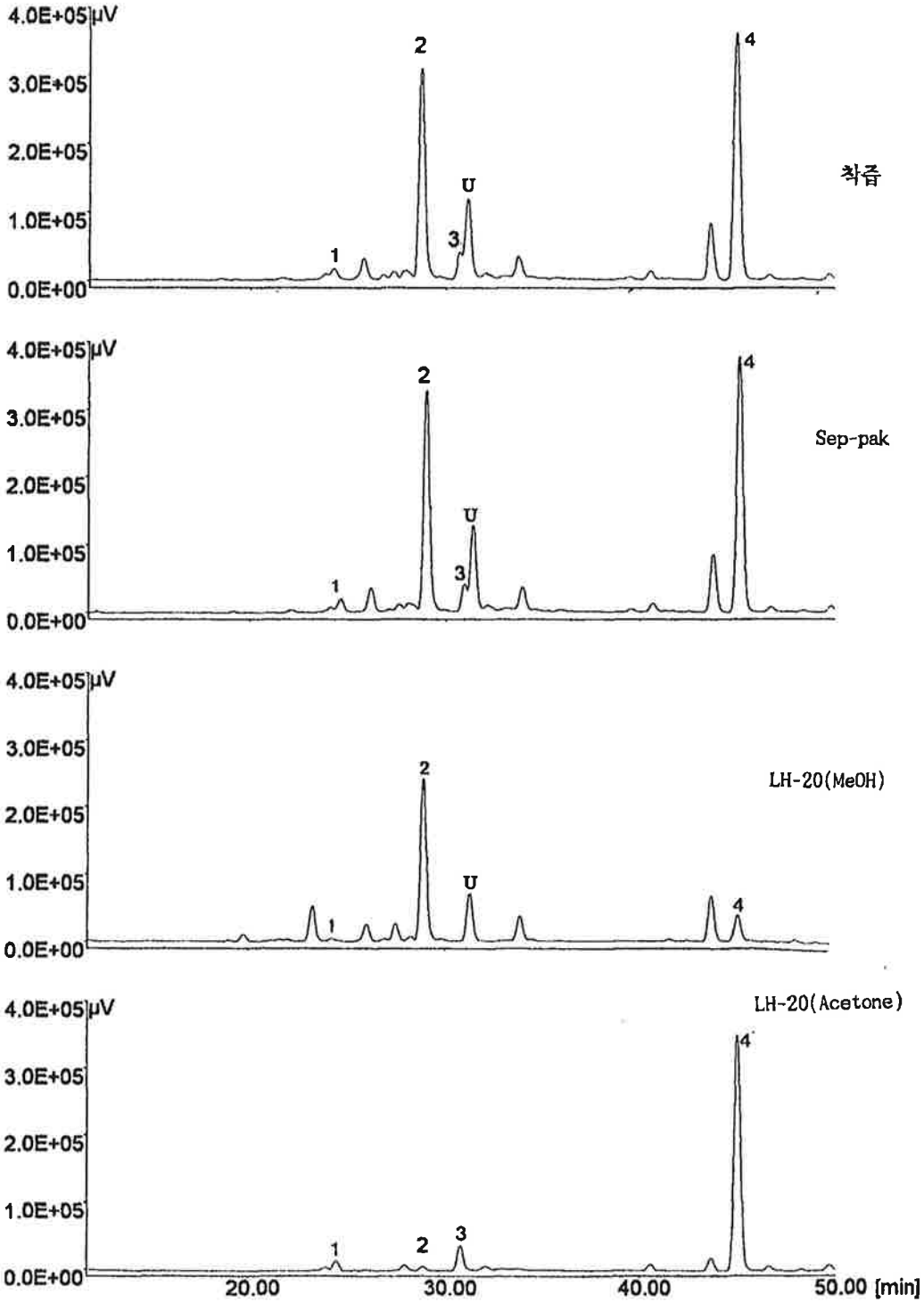


그림 4. 미숙사과 착즙액 정제 단계별 폴리페놀화합물의 크로마토그람

1:Catechin, 2:Chlorogenic acid, 3:Epicathchin, 4:Phloridzin, U: Unknown

표 38. 미숙사과 착즙액의 정제 단계별 폴리페놀화합물의 함량과 구성비

(mg%)

폴리페놀화합물	착즙원액	Sep-Pak C18 처리 후	SephadexLH-20 처리 후 메탄올 분획	SephadexLH-20 처리 후 아세톤 분획
Catechin	14.2 (4.0)	11.5 (3.0)	2.9 (2.3)	12.4 (7.5)
Chlorogenic acid	117.3 (32.9)	115.2 (30.0)	76.7 (60.1)	2.8 (1.7)
Epicatechin	22.4 (6.3)	16.6 (4.3)	0.9 (0.7)	26.9 (16.2)
Unknown	86.6 (24.3)	103.1 (26.8)	43.5 (34.1)	1.0 (0.7)
Phloridzin	115.8 (32.5)	137.8 (35.9)	3.5 (2.8)	122.1 (73.8)
Total	356.5 (100)	384.5 (100)	127.6 (100)	165.3 (100)

2. 페놀성 물질의 특성

가. UV 흡수스펙트럼

착즙액 폴리페놀화합물을 정제하는 각 단계에서 얻어진 분말의 분광광도계에서의 파장 변화에 따른 흡광도 변화를 조사한 결과는 그림 5와 같다. Sep-Pak처리액 >Sephadex LH-20처리 후 메탄올 용출액>Sephadex LH-20처리 후 아세톤 용출액의 순으로 흡광도값이 높은 것으로 나타났고, 280㎚, 320㎚의 흡수스펙트럼을 비교하면 Sephadex처리 후에는 320㎚에서의 흡수대가 급격히 감소함을 알 수 있었어 epicatechin의 polymer에 해당하는 구성비가 증가함을 확인하였다.

나. 내열성

미숙사과 착즙액에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물의 열 안정성을 조사하기 위하여 정제단계별로 얻은 동결건조분말을 0.01%, 0.1%의 농도로 용해한 액을 pH 2, 4, 7, 10구간으로 나누어 120℃에서 30분 가열 후 잔존하는 잔존하는 총폴리페놀의 함량을 측정한 결과는 표 39와 같다.

정제단계에 관계없이 분말농도 0.01%에서는 pH 2, 4의 범위에서 높은 총폴리페놀

정제단계에 관계없이 분말농도 0.01%에서는 pH 2, 4의 범위에서 높은 총폴리페놀의 잔존율을 보인 반면 pH 7이상에서는 열처리 후 총폴리페놀의 잔존율이 떨어지는 것으로 나타났다. 그러나 분말 농도 1.0%의 경우 정제단계별 시료 모두 pH 2~10범위에서 89%이상의 잔존율을 보였다.

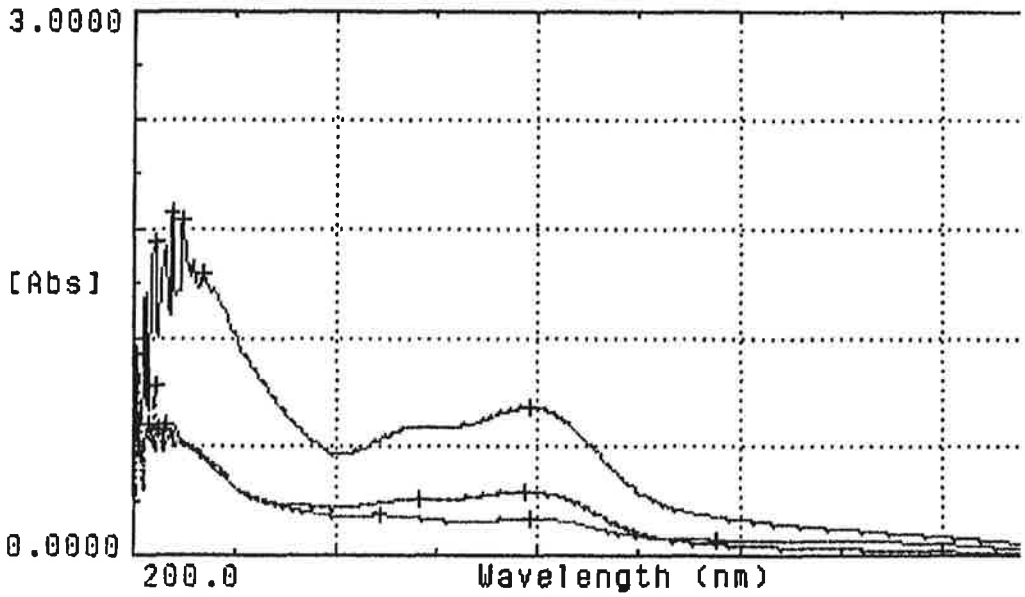


그림 5. 착즙액의 정제 단계별 폴리페놀화합물의 UV 스펙트럼 변화

표 39. 미숙사과 착즙액에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물의 열안정성

(잔존율, %)

정제단계별 분말	농도 (%)	pH			
		2.0	4.0	7.0	10.0
Sep-Pak 처리 후 분말	0.01	99.5	82.6	66.7	53.3
	0.1	91.2	99.8	95.7	99.5
Sephadex LH-20처리 후 메탄올분획 분말	0.01	95.8	93.9	55.3	61.4
	0.1	91.8	95.8	89.7	95.8
Sephadex LH-20처리 후 아세톤분획 분말	0.01	91.9	71.9	65.3	37.3
	0.1	93.1	99.1	91.0	90.0

다. 내산성

이들 분말의 pH 안정성을 조사하기 위하여 분말농도 0.01%, 0.1%용액을 pH 2, 4, 7, 10 구간으로 나누어 37℃에서 7일 저장 후 잔존하는 잔존하는 총폴리페놀의 함량을 측정하였다(표 40).

정제단계별 분말은 pH 2, 4 에서 보다 높은 폴리페놀의 잔존율을 보였고 Sep-Pak 처리분말, Sephadex LH-20처리 후 메탄올분획 분말이 Sephadex LH-20처리 후 아세톤 분획 분말보다 높은 잔존율을 보였다. 이러한 결과로 미숙사과에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물은 알카리보다는 산성쪽에서 보다 안정성이 우수함을 알 수 있었다.

라. 전자공여작용

정제단계별 미숙사과 폴리페놀화합물의 전자공여작용을 조사한 결과는 표 41과 같다. Sephadex LH-20처리 후 아세톤분획 분말이 78%로 가장 높은 효과를 보였고, 단순폴리페놀화합물로 구성된 Sephadex LH-20처리 후 메탄올분획 분말이 42%로 가장 낮았으며, Sep-Pak 처리 후 분말은 이들의 중간정도의 효과를 나타내었다.

표 40. 미숙사과 착즙액에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물의 내산성

(잔존율, %)

정제단계별 분말	농도 (%)	pH			
		2.0	4.0	7.0	10.0
Sep-Pak 처리 후 분말	0.01	99.7	86.8	62.6	57.8
	0.1	89.3	94.0	81.2	78.7
Sephadex LH-20처리 후 메탄올분획 분말	0.01	98.7	94.9	78.2	84.2
	0.1	82.1	90.1	79.8	86.5
Sephadex LH-20처리 후 아세톤분획 분말	0.01	88.9	73.2	72.1	66.5
	0.1	77.3	86.8	71.5	81.1

표 41. 미숙사과 착즙액에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물의 전자공여작용

(%)

Sep-Pak처리 후 분말	Sephadex LH-20처리 후 메탄올분획 분말	Sephadex LH-20처리 후 아세톤분획 분말
65.60	42.40	78.40

마. 항균효과

미숙사과에서 분리, 정제한 폴리페놀화합물을 disc diffusion방법을 이용하여 *S. mutans*에 대한 항균효과를 확인하였다. 정제단계별로 얻은 동결건조분말은 *S. mutans*에 대해 500-2,000ppm의 농도에서 clear zone을 전혀 형성하지 못하여 항균활성이 없는 것으로 확인되었다. 그러나 미숙사과의 폴리페놀화합물의 구성성분인 (+)-catechin, 축합형 탄닌 등의 성분은 GTase 활성억제 효과 및 S. mutans의 cell adherence 억제 효과가 큰 것으로 보고되어 있어 미숙사과 폴리페놀화합물은 충치예방을 위한 기능성 식품소재로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

제 4절 새로운 형태의 가공제품 개발

1. 침출차 제품

가. 침출차 제조 및 특성

침출차라 함은 기호성 식물의 어린 싹이나 잎, 꽃, 줄기, 뿌리, 열매 또는 곡류 등의 원료를 단독으로 또는 이들을 2종 이상 혼합하거나 이에 다른 식품을 가하여 가공한 것으로 물에 침출(침출이라 함은 식물성 원료를 그대로 또는 미세 다공질의 종이 포장재로 소포장 한 것을 물에 넣어서 차 고유의 성분이 우러나게 하는 것을 말함)하여 그 여액을 음용하는 기호성 식품을 말한다.

사과 적과시 발생하는 중량 4 5g 정도의 미숙사과는 그 크기가 과실이라기 보다는 열매와도 같은 것으로 이들을 그대로 활용할 수 있는 가공제품의 하나로 티백형의 침출차를 제조하였다.

즉 미숙과를 1) 쵸핑 후 60℃에서 건조, 2) 원료 중량의 20% 현미를 첨가하여 함께 쵸핑 후 건조, 3) 쵸핑 후 트레할로스를 중량대비 10%첨가하여 혼합하고 실온에서 1주일 발효한 다음 건조한 각각의 처리구를 120℃에서 2분간 볶음처리하고 티백에 포장하였다.

표 42은 이들 처리구별 시료를 3g씩 티백에 포장한 것을 95℃ 온수 100㎖에서 3분간 침출한 액의 특성을 조사한 결과이다. 침출액의 당도와 pH는 당알콜의 일종인 트레할로스를 첨가, 발효시킨 처리구가 각각 4.04。BX, 2.1로 높았고, 미숙사과 중량대비 20%의 현미첨가구가 3.73。BX, 0.7로 가장 낮았다. 침출액의 투광도(%T) 변화를 650㎚에서 측정한 결과 현미첨가구가 92.4로 다른 처리구의 70에 비해 높은 것으로 나타났다. 그러나 총폴리페놀의 함량은 미숙과를 그대로 건조, 볶음한 처리구가 170.5㎎%로 가장 높았고, 발효처리구는 60.4㎎%, 현미첨가구는 36.5㎎%의 폴리페놀물질이 침출액으로 용출되었다.

표 42. 처리구별 미숙사과 침출차 침출액의 특성

처리구	당도(。BX)	pH	투광도(%T)	총폴리페놀(㎎%)
건조,볶음	3.85	1.4	70.2	351.2
현미가미 건조,볶음	3.73	0.7	92.4	50.5
발효,건조,볶음	4.04	2.1	70.6	109.5

이들 처리구별 침출액의 색도와 관능적 특성을 조사한 결과는 표 43과 같다. 백색도는 앞서 침출액의 투광도 측정 결과와 마찬가지로 현미첨가구가 80.5로 가장 높았고, 다른 처리구는 유사하였다. 그러나 적색도인 a값은 현미첨가구가 0.73으로 다른 것의 20에 비해 낮았다. 이들 침출액의 관능적 특성에서는 미숙과를 그대로 건조, 볶음처리한 것이 색, 맛, 종합적 기호도에서 가장 높은 것으로 나타났고, 침출액의 향은 현미첨가구가 우수하였다. 따라서 미숙과를 이용한 침출차 제품은 단일침출차의 경우 미숙과를 쵸핑, 건조, 볶음처리하여 제조함이 바람직하였고, 혼합침출차는 앞서 제조한 단일 침출차에 현미를 단독으로 볶음처리한 것을 혼합함이 바람직한 것으로 판단되었다.

표 43. 처리구별 미숙사과 침출차 침출액의 색도와 관능적 특성

처리구별	색도				관능적 평가			
	L	a	b	△E	색	맛	향	종합도
건조,볶음	55.0	20.0	33.2	60.0	5.9	6.4	6.3	6.1
현미가미 건조,볶음	80.5	0.7	34.8	39.9	5.2	5.8	6.5	5.6
발효,건조,볶음	54.5	20.8	33.7	60.3	4.5	4.9	5.0	4.7

그림 6은 이들 침출액의 향기성분의 조성과 향기의 강도 차이를 전자코시스템 장치를 사용하여 분석한 결과이다. 처리구 사이에 침출액에 추출되는 향기 성분은 거의 동일한 것으로 밝혀졌다. 그러나 향의 강도에 있어서는 그림에서 볼 수 있는 바와 같이 현미첨가구>발효처리구의 순으로 향이 강한 것으로 나타났고, 미숙과를 그

대로 건조, 볶음처리한 것이 다른 처리구보다 향의 강도가 다소 낮은 것으로 나타나 현미첨가구를 제외하고는 관능적 특성에서 나타난 향기 측정 결과와는 다소 차이가 있었다.

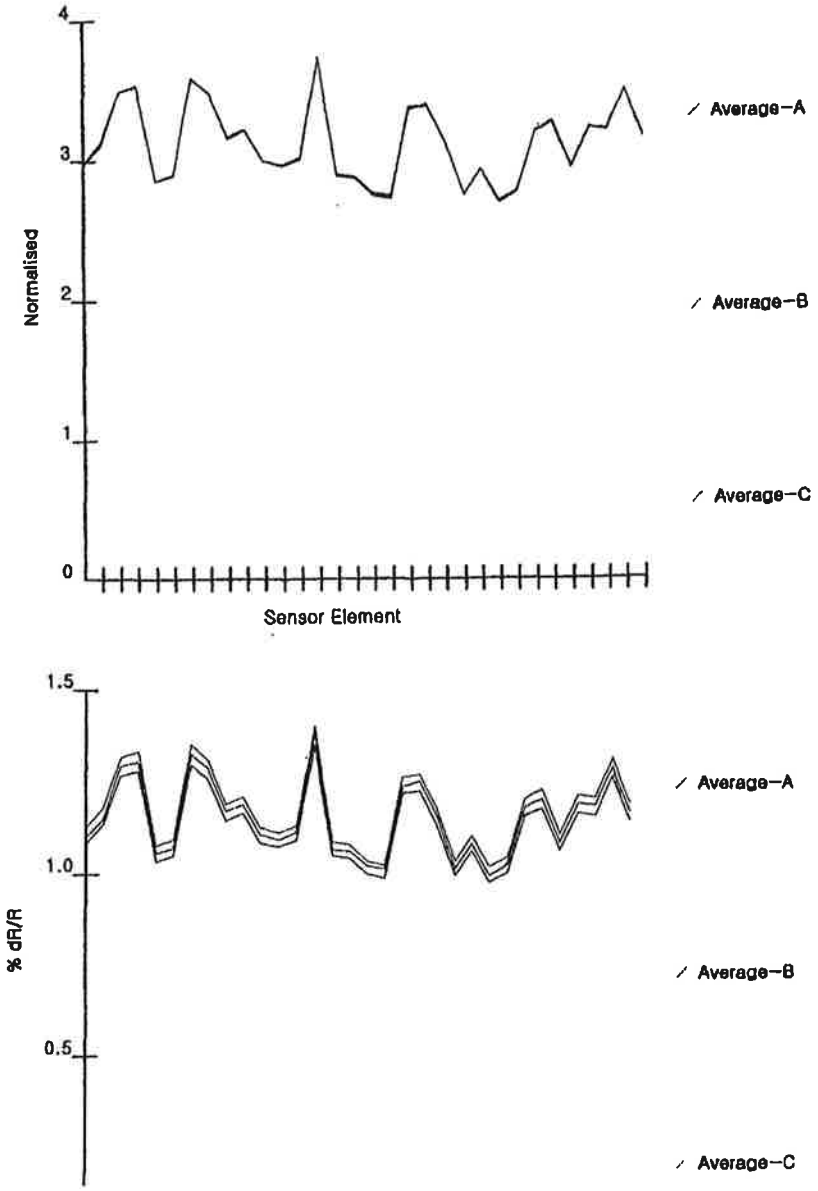


그림 6. Aroma scan에 의한 미숙사과 침출차 침출액의 향기분석

차는 하나의 기호식품이기 때문에 저장 중에 맛이나 향이 변할 경우에는 가치가 없어지게 되므로, 차 본래의 맛과 향을 유지하는 것이 매우 중요하다. 일반적으로 차는 다른 건조식품과 마찬가지로 오랜 기간 동안 저장하기 위해 건조하여 보관하므로 미생물의 의한 변질은 없으나 흡습성이 강하여 고온에서 흡습하였을 경우 급속히 변질이 일어나게 된다.

미숙사과를 이용하여 제조한 단일 침출차를 35℃에 일정기간 저장한 후 100㎖의 뜨거운 물에 이들 tea bag을 넣고 3분간 우려낸 침출액 품질 특성을 조사한 결과는 표 44와 같다.

총폴리페놀화합물은 저장기간이 길어질수록 온수에 우러나오는 함량이 줄어들어 35℃에서 60일 저장할 경우, 총폴리페놀성분의 66%가 잔존하였다. 이와 같은 결과는 미숙과에 함유된 폴리페놀성분이 저장 중 산화되어 갈변 물질로 변화하기 때문인 것으로 추측되며 항산화 및 항암효과 등과 같은 생리활성을 가지고 있는 폴리페놀성분의 저장 중 소실을 방지하기 위해서는 비교적 낮은 온도에서 보관하는 것이 바람직할 것이다.

침출차의 저장 중 색도의 변화는 저장기간이 경과할수록 색택이 떨어져 전반적으로 밝기를 나타내는 L값은 높아졌고, 황색도인 b값은 낮아지는 경향이 있었다. 따라서 미숙과 침출차의 색택 유지를 위해서는 저온저장이 효과적일 것이다. 흔히 차류의 색택 변화를 방지하기 위해 차단지나 알루미늄박 혹은 플라스틱 필름 등으로 포장하는 방법과 질소가스 및 탈산소제 등을 첨가하여 보관하는 방법, 진공 포장에 의한 방법 등의 포장을 통하여 차의 저장성을 높일 수 있는 방법들이 알려져 있다.

침출차의 저장기간 중 관능적으로 현저한 향미의 변화는 감지되지 않았으며 35℃에서 120일 동안 저장하였을 때도 뚜렷한 품질저하는 일어나지 않아 침출차의 권장 유통기한인 상온에서 2년이 미숙사과 침출차에도 적용될 수 있으리라 사료된다.

표 44. 저장기간에 따른 미숙사과 침출차 침출액의 품질 특성

저장일수(일) / 측정항목	0	30	60	120
색도				
L	55.0	60.5	65.2	70.1
a	20.0	20.9	22.6	25.4
b	33.2	32.4	30.2	28.6
△E	60.0	68.1	70.7	75.5
관능적 평가				
색	5.9	6.2	6.0	5.7
향	6.3	5.6	5.7	5.2
맛	6.4	5.3	5.7	5.6
종합적기호도	6.1	5.3	5.3	5.5
총폴리페놀함량 (mg%)	170.5	150.8	112.5	108.2

나. 침출차 제조 공정

1) 원료

o 미숙과는 개화 후 40 50일정도에 수확한 것을 사용한다.

o 상처과, 부폐과는 선별, 제거한다.

2) 수세, 파쇄

o 원료를 1차 세제로 수세하고 2차 물로 다시 수세한 후 물이 빠질 수 있는 용기에 건져내어 자연탈수한다.

o 미숙과를 쵸파로 파쇄한다.

3) 증열

o 증열은 미숙과에 함유되어 있는 산화효소인, polyphenol oxidase, peroxidase 등을 증기처리로 불활성화시킴과 동시에 생원료의 풋냄새를 없애는 것이 주된 목적이다.

o 특히 증열공정으로 저장중 이들 산화효소에 의한 품질저하를 막을 수 있으며 또한 음용시 유효성분의 침출을 용이하게 하여준다.

o 파쇄된 미숙사과를 고르게 깔고 증기로 2분 증열처리한다.

o 증열처리된 것은 빠른 시간에 뒤집기를 하여 내부의 품온 상승을 방지한다.

4) 건조

o 증열처리한 미숙사과를 건조판에 고르게 펴서 75℃ 건조기에서 열풍건조시켜 수분함량을 6 7% 내외로 유지시킨다.

5) 분쇄

o 분쇄공정은 tea bag에 포장하여 새어 나오지 않게 적당한 입자 크기를 형성할 수 있도록 행한다.

o 건조된 시료를 chopper 또는 절단기에 통과시켜 분쇄한다.

6) 포장

o 단일 침출차의 경우 건조된 분말을 3g 단위로 tea bag에 충진하여 포장한다.

o 혼합 침출차는 볶은 현미를 중량대비 1:1의 비율로 혼합하여 3g 단위로 tea bag에 충진하여 포장한다.

2. 과립형 분말 제품

가. 과립형분말의 제조

미숙사과에는 플라보노이드 화합물을 포함한 다양한 종류의 유용물질이 함유되어 있어 본 연구에서는 미숙과를 이용하여 레모나와 유사한 형태의 과립형 분말제품을 제조하였다.

미숙사과를 쵸핑한 다음 보자기에 넣고 유압식 압착계로 착즙하여 미숙과 착즙액을 제조하였다. 이들 착즙액을 1차 여과한 후 60℃미만에서 진공농축하여 미숙과 농축액(60。BX)을 제조하였다.

미숙사과를 착즙, 농축한 액만을 이용한 과립상 제품의 제조를 위한 농축액의 적

정 첨가량을 설정하였다. 표 45에서 볼 수 있는 바와 같이 각기 다른 농도의 농축액을 포도당에 첨가하여 반죽 후 과립화를 시도한 결과 농축액의 첨가량이 15%미만인 경우 과립화가 이루어지지 않았으며, 첨가량이 20%정도일 때는 반죽이 질고 과립화 후 입자가 달리 붙는 특성을 보여 농축액 첨가량은 15 17.5%정도의 범위가 적당하였다. 또한 과립시 사용되는 포도당의 입자가 큰 것일수록 과립 후 제품의 색상은 황색을 많이 띄었으나 입안에서 녹는 정도가 느린 것으로 나타나 포도당은 입자가 미세한 것을 사용하였다.

표 45. 미숙사과를 이용한 과립제조를 위한 농축액 첨가량별 배합비

	배합비1	배합비2	배합비3	배합비4	배합비5
포도당	90.0	87.5	85.0	82.5	80.0
농축액	10.0	12.5	15.0	17.5	20.0

그러나 미숙과 농축액만을 포도당과 함께 과립화한 것의 경우 제품의 색상, 맛, 향이 떨어지는 것으로 판명되어 과립제품의 품질개선을 통한 기호도 증진을 위한 부원료의 선정이 필요하였다. 레모나형태의 제품과 유사한 분말상 제품의 품질 및 기호도개선을 위해 표 46과 같이 농축액의 첨가량은 15.0%로 고정하고 비타민 B6, 비타민 B2, 비타민 C, 구연산, 향료의 첨가유무를 달리하여 혼합, 반죽 후 과립분말을 제조하였다.

표 46. 미숙사과을 이용한 과립의 품질개선을 위한 부원료 배합비

(%)

원부재료	배합비1	배합비2	배합비3	배합비4
포도당	84.55	84.15	83.97	83.967
농축액	15.0	15.0	15.0	15.0
비타민 B2	-	-	-	0.002
비타민 B6	-	-	-	0.001
비타민 C	0.1	0.2	0.2	0.2
구연산	0.1	0.2	0.2	0.2
사과산	0.1	0.2	0.2	0.2
스테비오	-	0.1	0.1	0.1
향료	0.15	0.15	0.33	0.33

과립제조를 위한 부재료로서 비타민 B2를 첨가한 것은 비첨가구에 비해 과립분말 색상이 황색을 띄었고, 구연산과 향료 첨가에 의해 분말을 입에 넣을 경우 기호도가 상승하는 것으로 나타났다.

표 47. 과립의 관능검사 결과

관능항목	배합비1	배합비2	배합비3	배합비4
색 상	4.5	4.4	4.4	6.2
맛	3.6	4.5	5.0	6.3
입안촉감	5.5	5.6	5.5	5.8
전반적기호도	4.4	5.6	5.8	6.4

1 : 아주나쁘다, 5 : 보통이다, 9 : 아주좋다

나. 과립형 분말의 제조공정

1) 원료

o 미숙과는 개화 후 40 50일정도에 수확한 것을 사용한다.

o 상처과, 부폐과는 선별, 제거한다.

2) 수세

o 원료를 1차 세제로 수세하고 2차 물로 다시 수세한 후 물이 빠질 수 있는 용기에 건져내어 자연탈수한다.

3) 파쇄, 착즙

o 미숙과를 쵸파로 파쇄한 다음 삼배포에 넣고 유압식 압착기로 착즙한다.

4) 여과

o 착즙을 완료한 후 얻은 착즙액을 200메쉬정도의 체를 통과시켜 여과한다.

o 착즙, 여과액의 수율은 초기 계량된 원료 중량의 약 70%이다.

5) 농축

o 착즙액을 회전식농축기로 60℃미만에서 대략 60。BX정도로 농축한다.

o 농축액의 수율은 착즙액 중량대비 약 14%였다.

6) 계량

o 농축액(60。BX) 15.0%, 함수결정포도당 83.967%, 사과산 0.2%, 구연산 0.2%, 비타민 B2 0.002%, B6 0.001%, 스테비아사이드 0.1%, 향료 0.33%를 batch별로 용기에 각각 계량하여 둔다.

7) 혼합, 반죽

o 함수결정포도당에 미숙과 농축액, 비타민, 구연산 등을 혼합용기에 넣고 함께 혼합한다. 혼합기의 용량에 따라 1batch 분량씩 계량된 각각의 원료를 혼합기에 투입한다

o 혼합이 완료된 것은 반죽하여 덩어리로 만든다.

8) 과립화

o 일정한 크기로 과립기를 이용하여 반죽을 과립화시킨다.

9) 건조

o 과립이 완료된 입자를 건조용 판에 적당한 두께로 널고 40℃ 건조기에서 건조시킨다.

o 건조된 과립의 수율은 계량된 원료 중량의 87%였다.

10) 검수

o 과립의 색상, 향, 맛 등의 관능검사를 실시한다.

o 검수 결과 양호한 상태일 경우에 한하여 충전공정으로 들어간다.

11) 충전 및 포장

o 건조된 과립을 일정량씩 일회용의 은박비닐용기에 포장한다.

o 비닐포장된 개개의 용기를 한통에 일정량씩 박스포장한다.

12) 품질검사

o 완성된 제품을 롯트별 랜덤(무자기)으로 수거하여 병의 캡핑상태, 관능검사 등 품질검사를 실시한 다음 합격품을 출고한다.

13) 유통기한

o 상온에서 12개월로 한다.

14) 허가사항

o 과·채가공품류

3. 당액절임 제품

가. 원료

당절임용 원료는 경기도 가평에서 개화 후 40일정도인 1999년 5월 30일에 적과한 미숙사과를 사용하였다.

나. 동결저장

미숙 사과는 수확 후 호흡열이 대단히 많은 과실이기 때문에 1차로 0 10℃의 저온창고에서 예냉을 하여 자체 호흡열을 감소시켜 동결시 냉동부하를 줄이고 동결시간을 단축하여 동결, 해동에 대한 품질을 유지할 수 있다. 따라서 당절임용 시료는 수확 후 곧바로 예냉을 거쳐 급속동결(-40℃)한 후 -20℃의 동결실에 보관하면서 필요에 따라 사용하여야 한다.

다. 수세 및 해동

동결실에서 꺼낸 미숙 사과를 수세조에 수돗물을 흘려보내면서 세척과 함께 해동을 시킨다. 해동시 과육 내부의 품온이 0 3℃가 되도록 해동한다. 해동시 주의할점은 과육의 내부 품온이 높아지도록 오래 두면 최종제품의 조직이 질겨지기 때문에 주의하여 작업을 하여야 한다.

라. 탐침

탐침은 당침시 당분의 침투가 용이하게 할 뿐 아니라 삼투현상으로 인한 원료가 쭈그러지는 것을 방지하기 위하여 가느다란 바늘침으로 약 10여곳 정도 탐침(기계적 탐침장치 이용)을 한다.

마. 브랜칭

브랜칭도 탐침과 같이 떫은 맛이 강한 시료의 맛을 완화하기 위하여 행하며 끓는 물에서 85 90℃에서 3 5분간 행한 후 자연냉각한다.

바. 1차 당적

브랜칭이 끝난 미숙사과를 당적할 때에는 1회에 한하여 하지 않고 3차에 걸쳐 하여야 한다. 최종 당액의 농도가 45 50。 BX로 조정하여야 하기 때문에 당액의 농도가 높아 사과가 쭈그러지는 현상이 발생하기 때문이다. 따라서 1차 당액은 25%의 설탕액으로 하여 시료와 설탕액의 양이 1 : 1이 되게하여 당적한다. 매 5시간마다 당도계로 체크하면서 당액의 설탕농도가 16 18。BX로 떨어져 평형을 이루면 1차 당적을 완료한다. 여름철에는 외기의 온도가 높아 발효가 일어날 수가 있기 때문에 10℃내의 저온저장고에서 행한다.

사. 2차 당적

1차 당적이 완료된 시료를 소쿠리에 건져내어 미리 준비된 35%의 설탕액에 시료와 설탕액의 양이 1 : 1이 되게 당적한다. 매 5시간마다 당도계로 체크하면서 당액의 설탕농도가 25 27。BX로 떨어져 평형을 이루면 2차 당적을 완료한다. 여름철에는 외기의 온도가 높아 발효가 일어날 수가 있기 때문에 1차 당적때와 마찬가지로 10℃내의 저온저장고에서 행한다.

아. 3차 당적

3차 당적은 45% 설탕액으로 하여 시료와 설탕액의 양이 1 : 1이 되게하여 당적한다. 매 5시간마다 당도계로 체크하면서 당액의 설탕농도가 37。BX에 떨어져 평형에 도달하면 3차 당적을 완료한다. 여름철에는 외기의 온도가 높아 발효가 일어날 수가 있기 때문에 10℃내의 저온저장고에서 행한다. 3차 당적이 끝난 설탕액은 45%로 보정하여 재차 사용한다.

자. 선별

3차 당적이 완료된 당절임 사과를 외관상 쭈그러들었거나 최종제품의 품질에 적합하지 않은 것은 선별하여 제거한다.

차. 병입

선별이 완료된 당절임 사과를 용기에 계량하여 담은 다음 미리 준비된 55%의 설

탕액(비타민 C 0.05%와 구연산 0.2% 포함)을 3차 당절임 시료와 동일 중량비(1 : 1)로 넣는다. 55% 설탕액은 가열로 녹인 다음 식혀서 주입한다. 이때 가열로 당농도가 올라가면 식힌 상태에서 물을 가하여 55。BX로 맞추어서 주입한다.

카. 살균 및 냉각

병입이 완료된 최종제품은 상온유통을 전제로 80℃에서 15 20분간 살균한 다음 용기를 거꾸로 뒤집어 10분간 뚜껑부위의 미생물을 살균한다. 살균이 끝나면 곧바로 냉각조에 넣고 수돗물을 흘려보내면서 30분정도 냉각시킨다.

타. 숙성

당절임용 시료는 미숙상태의 사과를 사용하였기 때문에 조직의 씹히는 맛이 부드럽지 못한 점이 있다. 따라서 이러한 단점은 당절임 동안 숙성으로 인하여 해결이 될 수 있다. 숙성기간은 미숙사과의 과육조직 속에 당액이 완전히 침투되어 과육의 조직이 부드러울 때까지 실온에서 6개월이상 숙성한다.

4. 발효주 제품

표 48은 미숙사과 착즙액에 당농도를 달리하여 발효시킨 발효액의 특성을 조사한 결과이다. 발효초기 첨가되는 당농도가 증가함에 따라 발효주의 pH도 다소 상승하였다. 발효 후 액에 잔존하는 잔당의 당도는 설탕 20%첨가구가 10.2。BX, 35%첨가구가 18.0。BX를 나타내었다. 발효액의 투광도는 20%, 35% 설탕첨가구가 95정도로 다른 첨가구에 비하여 높았다. 이들 발효액의 알콜농도는 발효초기 첨가된 설탕농도 25% 첨가구가 13.55로 다른 첨가농도에 비해 높았다.

표 48. 미숙사과 발효액의 특성

초기 당농도 (。BX)	pH	당도(。BX)	투광도(%T)	알콜농도(%)
20	3.47	10.2	95.1	9.0
25	3.46	11.1	91.9	13.5
30	3.52	13.4	91.6	12.3
35	3.51	18.0	95.4	11.8

발효액의 색도와 관능적 특성을 조사한 결과는 표 49와 같다. 색도의 경우 백색도인 L값은 20% 설탕첨가구가 73.29, 적색도 값은 30%첨가구가 15.22, 황색도 값은 35%첨가구가 35.86으로 가장 높았다. 이들 발효액의 관능적 특성은 설탕 25%첨가구가 다른 첨가구에 비해 색상, 향, 맛에서 가장 높은 기호도를 보였다.

표 49. 미숙사과 발효액의 색도와 관능적 특성

초기 당농도 (。BX)	색 도				관능적 특성			
	L	a	b	△E	색상	향	맛	종합적 기호도
20	73.29	8.44	33.00	43.28	6.1	5.5	5.2	5.4
25	65.07	14.01	34.89	51.28	6.0	6.0	5.8	5.9
30	64.52	15.22	34.29	51.64	6.4	5.7	5.5	5.5
35	67.89	13.66	35.86	50.03	6.4	4.8	4.5	4.8

표 50은 앞서 관능적 특성이 우수한 것으로 나타난 설탕 25%첨가구의 발효액을 이용하여 기호도가 증진된 발효주 제조를 위한 조미용 원부재료의 배합비를 나타내었다. 발효액 86.4%에 올리고당, 주정, 미원, 향료를 각각 9.1, 4.4, 0.05, 0.05%를 첨가, 조미한 배합비 3이 가장 우수한 기호 특성을 가진 발효주로 판명되었다.

표 50. 미숙사과 발효주의 조미용 부재료 배합비

(%)

원부재료	배합비1	배합비2	배합비3	배합비4
발효액	100	92.9	87.5	82.5
올리고당	-	7.0	8.0	13.0
미원	-	0.05	0.05	0.05
주정	-	-	4.4	4.4
향료	-	0.05	0.05	0.05

5. 음료 제품

가. 미숙사과 착즙액을 이용한 음료 제조

5월 30일 수확한 미숙사과를 이용하여 기존의 사과 과즙이 함유된 희석식 음료를 제조하였다. 즉 동결, 해동한 미숙사과를 착즙, 여과하여 얻은 액을 70℃에서 15분간 열처리한 후 원심분리한 액을 사용하였다.

예비실험 결과 선정된 착즙액의 첨가농도를 20%로 하여 음료의 최종당도가 13。BX가 되도록 설탕, 고과당을 첨가한 후 여기에 표 51의 각종 원부재료를 첨가, 배합, 용해하였다. 이 때 향료는 사과, 레몬향을 각각 첨가한 처리구로 나누었으며, 각각의 희석식음료에 대해 1.2㎤/kg의 탄산가스가 가미된 저탄산음료로 구분하였다. 충진된 음료는 75℃에서 10분간 후살균하였다.

표 52는 이들 미숙사과 음료의 관능적 특성을 조사한 결과이다. 과즙농도를 비롯한 원부재료의 첨가량을 고정하고 향료의 종류를 달리하여 제조한 음료에 탄산가스의 첨가 유무를 달리한 결과 향료의 종류에 관계없이 탄산가스가 첨가된 배합비 2, 4가 높은 관능점수를 보였다. 또한 기존의 희석식 사과 음료와 같이 사과향을 첨가한 배합비 2가 herbal 음료의 일종인 홍차음료와 유사하게 레몬향을 가미한 것보다 더욱 관능적 특성이 우수한 것으로 나타났다. 전반적으로 사과향 가미 음료가 레몬향 가미 음료에 비해 전반적으로 부드럽고 산뜻한 맛이 강한 반면 레몬향 첨가구는

음료의 맛이 다소 자극적인 것으로 나타났다. 미숙사과 과즙 20%를 이용하여 본 실험에서 제조한 저탄산음료는 기존의 사과를 이용하여 제조, 판매되고 있는 희석식 음료와 향미의 측면에서 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다.

표 51. 미숙사과 착즙액을 이용한 음료 제조용 원부재료의 배합비

(%)

원부재료	배합비1	배합비2	배합비3	배합비4
미숙과 과즙	20	20	20	20
구연산	0.10	0.10	0.10	0.10
비타민 C	0.04	0.04	0.04	0.04
글리신	0.01	0.01	0.01	0.01
설탕	6.50	6.50	6.50	6.50
고과당	6.70	6.70	6.70	6.70
sodium benzoate	0.05	0.05	0.05	0.05
Flavor(DJ02576)	0.07	0.07	-	-
Flavor(JAF990750)	-	-	0.07	0.07
정제수	66.53	66.53	66.53	66.53
CO2 gas(㎖/kg)	-	1.20	-	1.20

표 52. 미숙과 착즙액 음료의 관능검사결과

관능항목	배합비1	배합비2	배합비3	배합비4
색 상	7.0	7.0	7.1	7.1
향	6.8	7.1	4.9	5.6
맛	5.7	7.5	4.5	5.5
종합적기호도	6.2	7.1	4.9	5.6

1 : 아주나쁘다, 5 : 보통이다, 9 : 아주좋다

나. 음료의 제조공정

1) 원료

o 미숙사과는 개화 후 40 50일 정도의 것을 사용한다.

o 상처과, 부폐과는 선별, 제거한다.

2) 수세, 파쇄

o 원료를 1차 세제로 수세하고 2차 물로 다시 수세한 한 후 물이 빠질 수 있는 용기에 건져내어 자연탈수한다.

o 수세한 미숙과를 쵸파로 파쇄한다.

3) 착즙, 여과

o 파쇄한 미숙과를 삼배포에 넣고 유압식 압착기로 착즙한다.

o 착즙을 완료한 후 얻은 착즙액을 200메쉬정도의 체를 통과시켜 여과한다.

o 착즙, 여과액의 수율은 초기 계량된 세절감귤 중량의 약 75%이다.

o 여과액은 당류 등 부원료를 첨가하여 농축시럽(55-60。BX)으로 하여 저장한다.

4) 계량, 배합

o 원료는 배합에 들어가기 전에 batch별로 용기에 각각 계량하여 둔다.

o 미숙과 과즙 20%, 설탕 6.5%, 고과당 6.7%, 구연산 0.1%, 비타민 C 0.04%,

글리신 0.01%, sodium benzoate 0.05%, 향료 0.07%, 정제수 66.53%를 batch 별로 용기에 각각 계량하여 둔다.

5) 혼합, 용해

o 배합탱크의 용량에 따라 1batch 분량씩 계량된 각각의 원료를 탱크에 투입한다

o 부원료가 균일하게 용해되도록 충분히 교반하여 용해시킨다.

6) 탄산주입

o 용해가 완료된 액에 1.2㎤/kg의 탄산을 주입한다.

7) 충전, 캡핑

o 내용물을 80℃로 예열, 탈기처리하고 순간살균기에 통과시켜 105℃에서 30초간 살균한 다음 핫필링한다.

o 충전이 완료된 병을 캡핑한다.

8) 살균, 냉각

o 충전 된 제품을 내용물의 온도가 75℃되게 하여 10분간 살균한다.

o 살균한 제품을 콘베이어를 통과하면서 병을 트위스트시켜 병상단부를 살균한 후 40℃ 이하로 냉각시킨다.

8) 건조 및 포장

o 냉각이 완료된 병은 면의 물기를 air로 건조한 후 인쇄된 라벨을 부착하거나 생산일자 등을 인쇄한 후 판매단위로 박스포장한다.

9) 품질검사

o 완성된 제품을 롯트별 랜덤(무자기)으로 수거하여 병의 캡핑상태, 관능검사 등 품질검사를 실시한 다음 합격품을 출고한다.

10) **유통기한**

- o **상온에서 1년으로 한다.**

11) **허가사항**

- o **착향탄산음료**

참 고 문 헌

1. Cushman, D. W. and Cheung, H. S.: Spectrophotometrics assay properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochemical Pharmacology, 20, 1637(1971)
2. Kato, H., Lee, , N. V., Kim, S. B. and Hayase, F.: Inhibition of nitrosamine formentation by nondialyzable melanoidins, Agric. Biol. Chem., 51(5), 1333-1338(1987)
3. Burda, S.,Oleszek, W. and Lee, C. Y.: Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. J. Agric. Food Chem, 38, 945-948(1990)
4. Spanos, G. A., Wrolstad, R. E. and Heatherbell, D. A. : Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. J. Agric. Food Chem, 38, 1572-1579(1990)
5. Amiot, M. J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas, J. : Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at Maturaty. J. Food Science, 57(4), 958-962(1992)
6. Olezek, W., Lee, C. Y., Jaworski, A. W. and Price, K. R.: Identification of some phenolic compounds in apples, J. Agric. Food Chem, 36, 430-432(1990)
7. Lister, c. E., Lancaster, J. E. and Sutton, K. H.: Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green cultivar. j. Sci, Food Agric., 64, 155-161(1994)
8. **日本食品總合研究所: 食品品質 評價のための品質特性 測定法マニコアル**(2)P. 61(1990)
9. Nakabayashi, T.: Studies on tannin of fruits and vegetables. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 15, 73(1968)
10. Komiyama, Y., Harakawa, M. and Tsuji, M.: Polyphenol contents and

enzymatic browning of plums harvested in Japan. Nippon Shokuuhin Kogyo Gakkaishi, 28, 325(1979)

11. Mayumi, O. K., Ak, Y., Tomomasa, K. and Tadahiro, N.: Identification of catechin oligomers from apple in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and fast-atom bombardment mass spectroscopy. Rapid Commun. Mass Spectrom., 11, 31-36(1997)
12. Lee, J. J., Kim, C. S., Kim, S. H., Huh, C. S. and Baek, Y. J.: Changes of polyphenol contents in unripe apples according to heat treatments(in Korea). Kor. J. Food. Sci. Technol., 31, 147-152(1999)
13. AOAC.: Official methods of analysis, 13th ed., Association of official analytical chemists, Washington, D.C(1980)
14. Price, M. L., Van Scoyoc, S. and Butler, L. G.: A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. J. Agric. Food Chem., 26, 1214(1978)
15. Auki, S., Yahagi, Y. and Tamura, T.: The use of polyvinylpyrrolidine column for the quantitative determination of chlorogenic acid in apple fruit. J. Japanese Soc. Food Sci. Tech., 31(2), 110(1984)
16. CoSeteng, M. Y., Lee, C. Y.: Changes in apple polyphenoloxidase and poly phenol concentration in relation to degree of browning. J. Food Sci. 52, 985-989(1987)
17. Jaworski, A. W., Lee, C. Y.: Fractionation and HPLC determination of grape phenolics. J. Agric. Food Chem. 35, 257-259(1987)
18. Oleszek, W., Lee, C. Y., Lee, C. Y., Jaw, A. W.and Price, K. R.: Identification of some phenolic compounds in apples. J. Agric. Food Chem. 36, 430-432(1988)
19. Mosel, H. D. and Herrmann, K.: changes in catechin and hydroxycinnamic acid derivatives during development of apples and pears. J. Agric. Food Chem., 25, 251-256(1974)

20. McRae, K.B., Lister, P. D., DeMarco A. C. and Dick, A. J.: Comparision of the polyphenol profiles of apple fruit cultivars by correspondence analysis. J. Agric. Food Chem., 50, 329-342(1990)
21. Dick, A. J., Redden P. R., DeMarco A. C., Lister, P. D. and grindley, T. B.: Flavonoid glycosides of Spartan peel. J. Agric. Food Chem., 35, 529-531(1987)
22. Harel, E., Mayer, A. M., and Shain, Y. : Catechol oxidases, endogenous substrates and browning in developing apple. J. Sci. Food Agric., 17(9), 389(1966)
23. Kolesnik, A, Elizarova, L. G, Starodubsteva, T. V., Afanasyeva, V. S., and Erukhia, T. S.: Changes in polyphenols during storage of fruits and vegetables. Prikl. Biokhim. Mikrobiol, 13, p.333-339(1977)
24. Spanos, G. A., and Wrolstad, R. E.: Phenolics of apple , pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. J. Agric. Food Chem., 40, 1478-1487(1992)
25. Van Buren, J., De Vos, L., Pilnik, W.: Polyphenols in golden delicious apple juice in relation to method of preparation. J. Agric. Food Chem., 24, 448-451(1976)
26. Sannomaru, Y., Katayama, O., Kashimura, Y., and Kaneko, K.: Changes in polyphenol content and polyphenoloxidase activity of apple fruits during ripening precess. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 45, 37-43(1998)
27. Sannomaru, Y., Katayama, O., Kashimura, Y., and Kaneko, K.: Effects of polyphenol content and polyphenoloxidase activity on browning reaction of apple fruits. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 45, 37-43(1998)
28. Dick, A. J.: Apple fruit polyphenols and fruit softening. Liason Groupe Polyphenols, 13, 358-364(1986)
29. Weurman, C., and Swain, T.: Changes in the enzymic browning of Bramley's seedling apples during their development. J. Sci. Food Agric., 6, 186(1955)

30. Wilson, E. L. : High-performance liquid chromatography of apple juice phenolic compounds. J. Sci. Food Agric., 32, 257-264(1981)
31. Valles, B. S., Victorero, J. S., Alonso, J. M. and Gomis, D. B. : High-performance liquid chromatography of neutral phenolic compounds of low molecular weight in apple juice. J. Agric. Food Chem., 42, 2732-2736(1994)

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업의 연구보고서입니다
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.