

GOVP1200507462

GA 0349-0224

최종
연구보고서

케일가공부산물 및 양파의 마른 껍질로부터 체중조절용 bioflavonoids 소재 개발

Development of Bioflavonoid Materials from Kale
Byproducts and Onion Skin for Controlling Body Weight

연구기관
한국식품개발연구원

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “케일가공부산물 및 양파의 마른 껍질로부터 체중조절용 bioflavonoids 소재 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002년 11월

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 김 혜 영

연 구 원 : 김 현 구

연 구 원 : 홍 석 산

연 구 원 : 류 미 라

연 구 원 : 강 문 희

협동연구기관명 : 강릉대학교

협동연구책임자 : 윤 정 로

요 약 문

I. 제 목

케일 가공부산물 및 양파의 마른 껍질로부터 체중조절용 bioflavonoids 소재 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

케일은 국내 생산량의 대부분이 녹즙으로 가공되거나 녹즙의 재료로서 소비자에게 판매된다. 그러나 케일 녹즙에는 수용성 성분들이 주로 착즙되며 물에 용해되지 않는 성분들은 녹즙으로 착즙되지 않는다. 착즙 부산물로 남는 물에 불용성인 flavonoids는 다양한 생리조절 기능을 가지며 이의 활용도 개발이 필요하다. 한편 양파 껍질은 양파의 식용 부위에 비하여 100-1,000배 높은 양의 flavonoids가 함유되어 있어서 이에 대한 활용도 개발이 필요하다.

한편 국민소득의 향상으로 과도한 열량 섭취 및 식품 섭취 형태의 서구화로 국내에서도 과다체중 및 비만 인구가 최근 10년간 급속도로 증가하고 있다. 따라서 비만 치료에 소요되는 의약품을 대체할 저독성의 식품 소재의 개발이 필요하다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 케일 가공부산물 및 양파 껍질의 bioflavonoids의 지방분해효소 저해 효

과를 구명하며 동물 실험을 통한 체중 조절 효과를 연구함과 동시에 체중조절 기능이 있는 bioflavonoids를 유효 성분으로 함유하는 식품소재의 생산 가공 공정을 확립하고자 하였다.

본 연구의 범위는 케일 가공부산물 및 양파 껍질의 bioflavonoids 분석, 케일 가공부산물 및 양파 껍질로부터 분리한 bioflavonoids 소재의 지방분해효소 저해 효과 연구, 동물 실험을 통한 bioflavonoids 소재의 체중조절효과 연구, 케일 가공부산물 및 양파 껍질로부터 bioflavonoids 소재 제조 가공 공정 연구, 대량 생산 가공 공정 확립 등이었다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구에 의하여 케일 가공부산물 및 양파 껍질로부터 체중을 감소시키거나 유지시킬 수 있는 bioflavonoids 소재의 제조 기술이 개발되었다. 본 기술은 과체중이거나 비만인 사람들이 체중을 감소시키거나 더 이상 체중이 증가되지 않도록 하는 용도의 소재의 생산 기술로 활용될 수 있다.

SUMMARY

In this study, we aimed to develop a bio-material for decreasing or maintaining body weight from kale byproduct and onion skin. We first evaluated the capability of the extracts from kale byproducts and onion skin to induce digestive lipase inhibition. We then tested the inhibitory effect of fat absorption by the extracts and weight-decreasing or maintaining effect in vivo. Finally, the manufacturing process was established.

CONTENTS

Chapter 1. Brief explanation of the research project

Chapter 2. Domestic and foreign technical circumstances of the research project

Chapter 3. Contents and results of the research project

Chapter 4. Achievement of the aim and contribution for related studies

Chapter 5. Plan for the utilization of the research results

Chapter 6. Literatures cited

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	11
제 1절	연구개발의 목적	11
제 2절	연구개발의 필요성	11
1.	기술적 측면	11
2.	경제 산업적 측면	14
3.	사회 문화적 측면	15
제 3절	연구개발의 범위	16
제 2 장	국내외 기술개발 현황	17
제 1절	국내외 관련 분야에 대한 기술개발 현황	17
1.	케일 및 양파의 성분 및 효능	17
2.	체중 조절 소재의 개발 현황	21
제 2 절	연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치	21
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	23
제 1절	이론적 실험적 접근 방법	23
1.	이론적 접근 방법	23
2.	실험적 접근 방법	35
가.	시료	35
나.	Flavonoids 함량 분석	35
다.	지방소화효소 저해 효과 측정	35
라.	케일가공부산물 및 양파껍질 추출물 투여가 지방 흡수에 미치는 영향 측정	36
마.	케일가공부산물 및 양파껍질의 생체내 체중 감소 효과	36
바.	체중조절용 소재 제조 공정 확립 방법	38

제 2절	연구결과	43
1.	케일 및 양파의 bioflavonoids 함량 분석	43
2.	케일 및 양파의 lipase 저해효과 검증	46
제 4 장	목표달성도 및 관련 분야에의 기여도	87
제 1절	연도별 연구목표 및 평가 착안점에 입각한 연구 개발 목표의 달성도	87
제 5 장	연구개발결과의 활용 계획	91
제 6 장	참고문헌	92

표 차 례

표 1. 실험 동물 식이의 조성	37
표 2. Formula for sausage manufacture	42
표 3. 분석 시료의 종류 및 추출 효율	44
표 4. Aglycone, glycosides and total contents of quercetin in kale and onion.	45
표 5. Aglycone and total flavonoid contents of kale and onion.	46
표 6. Flavonoids의 lipase 저해효과1	47
표 7. 케일가공부산물 및 양파 껍질 추출물의 lipase 저해효과	48
표 8. 분리농축된 소재의 lipase 저해효과	49
표 9. 케일가공부산물 및 양파껍질 추출물의 중성지방 흡수에 미치는 영향	50
표 10. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재의 8주간의 투여가 ICR mice의 체중 및 식이 섭취량에 미치는 영향	51
표 11. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 ICR mice의 장기무게에 미치는 영향	51
표 12. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 ICR mice 혈장 중성 지방, 콜레스테롤, 혈당치에 미치는 영향	51
표 13. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 생쥐 혈장 알부민, alkaline phosphatase, 크레아티닌 농도에 미치는 영향	52
표 14. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 생쥐 간 중성지방, 콜레스테롤 농도에 미치는 영향	52
표 15. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 생쥐 분변 양, 분변 지방 함량에 미치는 영향	52
표 16. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재의 8주간의 투여가 ob/ob mice의 체중 및 식이 섭취량에 미치는 영향	53
표 17. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 ob/ob mice 혈장 중성 지방, 콜레스테롤, 혈당치에 미치는 영향	53

⌘ 18. Quercetin concentration in the extract upon equilibrium with various solvent/feed ratios	56
⌘ 19. Quercetin concentration of the dried powder and the yields obtained from various drying methods	62
⌘ 20. Changes of the permeate flux and kaempferol concentration during ultrafiltration of kale extract	64
⌘ 21. Summary of quercetin extraction from dried onion skin and subsequent concentration in pilot plant scale	67
⌘ 22. Percentage of additives used in sausage manufacture	68
⌘ 23. Color of sausages manufactured with various recipes	69
⌘ 24. Sensory analysis of sausages	70

그림 차례

Figure 1. Flow diagram of ultrafiltration system	72
Figure 2. Flow diagram of reverse osmosis system	73
Figure 3. Quercetin concentration of the extract with extraction time as a function of ethanol concentration	74
Figure 4. Effect of solvent/feed ratio on quercetin concentration of the extract obtained from onion skin	75
Figure 5. Recovery test of cleaned membrane based on permeate water flow rate	76
Figure 6. Permeate flux with TMP as a function of retentate flow rate during ultrafiltration	77
Figure 7. Permeate flux and change of quercetin concentration in 30% ethanol extract during ultrafiltration with 30 KDa membrane	78
Figure 8. Permeate flux and change of quercetin concentration in 60% ethanol extract during ultrafiltration with 30 KDa membrane	79
Figure 9. Permeate flux and change of quercetin concentration in 95% ethanol extract during ultrafiltration with 30 KDa membrane	80
Figure 10. Permeate flux with TMP as a function of retentate flow rate during reverse osmosis	81
Figure 11. Permeate flux and change of quercetin concentration in retentate during reverse osmosis	82
Figure 12. Schematic diagram of quercetin purification procedure from onion skin powder using 60% ethanol as a solvent.	83
Figure 13. Permeate flux and change of flavonoids concentration during ultrafiltration of kale extract	84
Figure 14. Permeate flux and change of flavonoids concentration in retentate during reverse osmosis of kale extract	85
Figure 15. Schematic diagram of quercetin extraction from dried onion skin and subsequent concentration in pilot plant scale	86

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

국내산 케일 가공 부산물 및 양파 껍질의 bioflavonoids의 체중조절 효과를 구명하며, 이를 유효 성분으로 함유하는 체중조절용 식품소재를 개발함

제 2절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

케일(*Brassica oleracea* var. *acephala*)은 국내 생산량의 대부분이 녹즙으로 가공되거나, 녹즙의 재료로서 소비자에게 판매되는 십자화과의 채소이다. 케일은 비타민과 무기질이 풍부하며, 특히 비타민 C (146 mg/100g fresh weight), 비타민 U (54 mg/100g), β -carotene (70.3 μ g/g), 칼슘(181 mg/100g), 식이섬유(35.5%), chlorophyll (187mg/100g) 등을 다량 함유하며, flavonoids인 quercetin (110 mg/kg)과 kaempferol (211mg/kg)의 함유량도 높는데, 특히 kaempferol의 함유량은 과채류 중에서 가장 높다. 케일 녹즙에는 수용성 성분들만이 착즙되며 물에 용해되지 않는 성분들은 녹즙으로 착즙되지 않는다. 착즙 부산물로 남는 물에 불용성인 flavonoids는 다양한 생리조절기능을 가지며 이의 활용도의 개발이 필요하다.

양파(*Allium cepa* L.)는 '97년 국내에서 750,000 ton이 생산되어 전량 국내에서 소비

되었으며 국민 1인당 연간 소비량이 12.4kg인 식생활에 필수적인 채소이다. 양파는 산지에서 수확 후 마른 껍질을 어느 정도 벗겨서 출하하며 껍질을 완전히 벗겨서 포장하여 소비자에게 판매하기도 한다. 한편 양파는 재배 면적과 작황 상황에 따라서 가격 변동이 매우 크며 과잉 생산시 이에 대한 소비 대책이 큰 문제점으로 대두되어 최근 몇 년간 농림기술개발사업에서도 양파를 이용한 가공식품개발에 연구비를 지원하고 있다. 양파를 생 것으로 판매하거나 가공식품의 원료로 이용하거나 양파의 비식용부위인 마른 껍질은 폐기되고 있다. 그러나 양파 껍질은 양파의 식용부위에 비하여 100-1,000배 높은 양의 flavonoids가 함유되어 있어서 이에 대한 활용도 개발이 필요하다.

국민소득의 향상으로 과다한 calorie 섭취 및 식품섭취형태의 서구화로 국내에서도 과다체중(overweight) 및 비만(obesity) 인구가 최근 10년간 급속도로 증가하고 있다. 과다체중 및 비만의 판정에는 국내외적으로 다양한 기준이 적용되고 있으나 가장 많이 사용되는 body mass index [BMI; body weight in kilograms/(height in meters)²]를 기준으로 하여 2001년 현재 국내 인구의 약 30%가 체중 과다로 추정된다.

체중 과다는 암, 심장질환, 뇌혈관질환, 고혈압, 동맥경화증, 당뇨병 등의 원인이 될 수 있으며 일단 비만증의 상태로 들어가면 식사요법은 물론이고 약물과 운동으로도 치료하기 힘들다. 따라서 체중이 약간씩 증가하는 초기에 체중을 조절하는 것이 체중조절의 효율면에서나 의료비 지출면에서나 경제적이다. 비만 방지 식품소재로서는 식이섬유와 올리고당이 주종을 차지하나 이는 비만에만 주효한 것이 아니라 일반적 건강증진기능을 가진다. 의학 분야에서 도입된 비만의 치료 mechanism을 이용하여 체중조절 식품

소재를 개발하면 부작용 없이 효율적으로 체중을 조절할 수 있으며 그 원료 농산물은 부가가치가 향상될 수 있지만 국내에서는 아직 시도되지 못하였다.

인체의 위장관내로 분비되는 세 가지 gastrointestinal lipase 즉 gastric lipase, pancreatic lipase, carboxylester lipase (cholesterol ester hydrolase)를 저해함으로써 식이로 섭취한 지방의 흡수 속도를 낮춰서 체중을 조절할 수 있음이 의학적으로 입증되었다. 이 원리를 이용하여 orlistat, orliator 등의 의약품으로 개발되어 비만치료에 사용되고 있다. Orlistat (tetrahydrolipstatin; (S)-1-[(2S,3S)-3-hexyl-4-oxooxetan-2-yl]methyl]dodecylN-formyl-L-leucinate)는 疎水性(hydrophobic)이며, 물에 불용성이다.

Bioflavonoids는 항돌연변이, 항암, 항산화효과 등 다양한 생리조절기능 때문에 최근 식품 분야에서 많은 관심을 불러 일으키고 있다. 그러나 bioflavonoids들이 다양한 생리효과를 나타내는 정도는 그 화합물에 따라 다르며 식품에 존재하는 형태에 따라서도 그 효과가 다르게 발현되는데 이에 대한 연구는 국내에서는 미흡하다. 특히 과채류 가공 부산물은 bioflavonoids의 좋은 공급원이지만 폐기되고 있으며, 과채류를 대상으로 한 가공식품의 제품화 및 연구는 주로 식용 부위에 국한되어 왔다.

미량 성분에 의한 생리조절효과가 우수한 과채류일지라도 그 미량 성분만을 분리하기 위하여 가공하는 것은 경제적이지 못하다. 즉 과채류 섭취시 취할 수 있는 다량의 영양소 및 목적하는 생리조절기능 성분이 아닌 유용 성분을 버리게 된다. 따라서 미량성분의 생리조절 성분 혹은 소재 개발은 가공 부산물 내지 일상적 식용부위가 목적하는 성분의 함유량만 높다면 부산물을 채택하는 것이 가장 경제적이다.

천연물에 존재하는 bioflavonoids 중에서 flavone인 luteolin, flavonols인 kaempferol, quercetin, myricetin, apigenin 등이 gastrointestinal lipase 저해효과를 가진다. Flavonoids는 과채류 중에 함량의 차이는 있지만 보편적으로 함유되어 있으며 대부분 glycosylation 된 상태로 존재한다. 각각의 flavonoids 마다 정도의 차이가 있기는 하지만 flavonoids는 유리된 형태에 비하여 glycosylation되면 lipase 저해효과가 감소한다. Kaempferol은 과채류 중에 널리 함유되지만 다량 함유된 과채류는 드물며 케일에 가장 함유량이 높다. 따라서 케일을 착즙하고 난 부산물에는 kaempferol의 함유량이 높으므로 활용 기술 개발이 필요하다. 양파의 마른 껍질은 예외적으로 flavonol 함량이 높아서, 껍질의 2.5% 이상이 quercetin이며, glycosidation 되지 않은 aglycone으로 주로 존재하기 때문에(총 quercetin의 67-86%) lipase 저해제로서의 유용성은 다른 어떤 농산물보다도 높다.

2. 경제 산업적 측면

자원 재활용 측면에서 폐기물인 케일 가공부산물 및 양파 껍질의 유용 성분을 활용하는 기술 개발이 필요하다. 케일은 국내에서의 재배가 용이하여 활용도 증대에 따른 재배에는 문제가 없으며, 양파 껍질은 지속적으로 발생하고 있다. 시장 규모가 증대하고 있는 기능성 식품산업은 특정한 생리 조절 기능이 우수한 원료 농산물의 발굴을 필요로 한다. 농산물의 가공 후 발생하는 부산물을 이용함으로써 그 농산물의 부가가치는 몇 배 상승한다. 생리조절기능이 우수한 원료를 발굴하여 기능 소재화한다면 국내 소비는 물론

수출 상품이 될 수 있다. 아울러 IMF 이후 환율 상승으로 국내산 원료를 사용한 가공의 경제성이 상승하였다.

생리조절기능이 우수한 제품 생산의 원료가 국내산보다는 수입산의 가격이 낮고 이미 수입산의 점유율이 높다면 그 제품 생산으로 인한 국내 농업에의 파급효과는 매우 낮다. 그러나 케일은 국내에서 이미 생산되어 녹즙으로 가공되고 있으며 그 재배가 매우 용이하며, 양과는 국내 소비량의 전량이 국내에서 생산되는 자급율이 100%인 채소이기 때문에 그 부산물의 이용 기술 개발은 국내 농업에 미치는 효과는 매우 클 것이다. 체중과다 및 비만이 국민 건강에 미치는 영향은 막대하며 비만의 정도가 심해지면 그 치료에 드는 의료비는 세계 시장 규모로 약 300억불, 국내 시장 규모로 약 50억불로 추산되기 때문에, 비만 치료에 소모되는 의약품을 대체할 저독성의 소재 개발이 필요하다.

3. 사회 문화적 측면

농촌 경제 구조가 갈수록 고도화, 전문화되어감에 따라 농산물의 고부가가치화를 추구하고 있다. 이러한 농촌 경제 발전과 더불어 농산물의 이용도 복합적이고 다양화되어야 한다. 폐기되는 가공 부산물을 고부가가치 소재로 활용하는 기술을 개발함으로써 농촌 소득 증대에 기여할 수 있다. 선진국에서는 이미 폐기물 활용과 자원 재활용 차원에서 포도박을 비롯한 농산물 가공 이용에 관해 많은 연구를 수행하고 있다.

계속되는 이농 현상의 증대와 도시로의 인구 유입은 인구문제, 환경오염 문제 등을 야기하여 우리나라의 큰 사회 문제인 바, 농산부산물의 이용 기술 개발은 농가소득 증대

에 기여하여 도농간 소득 격차를 최소화하여 이농 현상을 최소화할 수 있다. 과다 체중 및 비만 인구는 국내인구의 약 20%, 미국 인구의 약 40%를 차지하며 비만은 모든 성인 병의 원인이 되는 질환이다. 일단 약물로 치료를 요할 만큼 비만이 진행되면 약물에 의하여서도 쉽게 치료될 수 없다. 따라서 성장기부터 과다 체중이 되지 않도록 부작용 없는 식품소재의 개발이 절실하다.

제 3절 연구개발의 범위

- 국내산 케일 가공부산물 및 양파 껍질의 bioflavonoids 분석
- 국내산 케일 가공부산물 및 양파 껍질로부터 분리한 bioflavonoids 소재의 gastrointestinal lipase 저해효과 연구
- 동물 실험을 통한 bioflavonoids 소재의 체중조절효과 연구
- 케일 가공부산물 및 양파 껍질로부터 bioflavonoids 제조 기술 개발
- 활용도가 없었던 케일 가공부산물 및 양파껍질의 이용 기술 개발

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 국내외 관련 분야에 대한 기술개발 현황

1. 케일 및 양파의 성분 및 효능

케일은 항돌연변이, 항암, 항산화, 활성산소제거 효과 등이 보고되고 있으며 그 활성 성분은 주로 bioflavonoids로 여겨지고 있다. 또한 과채류를 대상으로 분석한 결과 bioflavonoids의 함량이 가장 높은 것으로 주로 국외에서 보고되고 있다. 케일은 녹즙 이외에는 가공품이 없으며, 다만 녹즙의 분말화 연구가 최근 일본에서 수행되고 있다. 케일을 이용한 가공 제품 개발에 관한 연구는 활발하지 못하였으며, 특히 가공 부산물에 대한 연구는 전무한 실정이다.

양파의 생리조절효과에 관하여는 국내외적으로 많은 연구가 진행되었으나, 양파 껍질의 생리조절효과에 대하여는 연구가 소홀하였다. 폐기되는 양파의 비식용부위에 대한 연구는 전무한 실정이어서 본 과제를 통하여 양파 껍질을 이용할 수 있는 기술이 개발된다면 양파의 부가가치를 향상시킬 수 있을 것이다.

양파는 페르시아 원산으로 백합과 식물이며 300가지 이상의 파속 식물중 한가지이다. 밭에서 재배하는 2년초로서 키는 50~100cm, 비늘줄기는 지름 10cm이며 납작한 둥근 모양이거나 둥근 모양을 하고 있다. 겉의 비늘잎은 건조한 막질, 자줏빛이 도는 갈색을 띠며 안쪽의 비늘은 두꺼우며, 층층이 겹쳐지고, 매운맛이 난다. 꽃줄기는 원통형이고 2~3장의 잎이 달리며, 잎은 속이 빈 원기둥 모양으로 녹색이며 개화시 말라 버린다. 꽃은 흰색, 꽃줄기 끝에 다수가 둥근 산형화서로 달린다. 화피는 6장이며 도란상 피침형으로 6개의 수술을 가지고 있으며 그중 3개는 화사 양쪽에 잔 돌기가 있다. 전초는 식용으로 사용하며 근경은 약용으로 이용하고 있다(이영노, 1998).

양파의 재배면적이 1996년 9,661ha, 2000년 16,773ha로 1.7배 정도로 증가하였으며, 생산량은 1996년 578,574M/T, 2000년 877,514M/T로 1.5배 증가하였다. 전남(무안, 함평등)산은 조. 중. 만생종등 재배품종이 다양하며 그 중 조생종의 재배 비율이 70~80%를 차지하고, 중생종이 20~30%, 만생종은 극소수이다. 전남산은 육지산으로 가장 빠르게 수확되며 전국에서 가장 많은 양을 시장에 출하하나 대부분 조생종으로 저장성이 약하다. 경남(창녕, 의령등) 지역은 양파 재배역사가 길어 생산자와 재배기술이 발달한 지역으로 토성, 기후여건이 양파재배에 적합한 지역으로 주로 만생종을 재배해 육질이 단단하고 껍질이 두꺼우며 구짜임새가 알차고 속심(층)이 적기 때문에 저장기간이 오래간다. 또한 독특한 감미가 있어 타 지방산보다 소비자 선호율이 높다. 경북(영천, 경산 등)산은 대체로 경산은 구릉지의 답재배가 많아 선택이 떨어지고 모양이 균일하지 못하며 저장성이 떨어지나 영천 신령산은 토질이 양파재배에 적합하며 껍질이 두텁고 단단하며 선택 및 모양이 크고 둥글고 고르며 상품성이 우수하다. 제주산은 주조생종으로 가장 빠른 시기인 4월경에 잎이 달린 채로 조기 출하된다. 단맛이 강한 반면 매운맛이 적으며 저장성이 약하다.

종래 양파는 각종 음식물의 재료로 사용되어 온 것으로 풍부한 비타민과 영양소를 포함하고 있고, 위장이나 간 등의 소화기 계통을 보호하여 튼튼하게 하고 혈액순환을 촉진시키며 체온을 따뜻하게 유지하는 등의 한방효과와 더불어 스테미너 식품으로도 애용되고 있다. 이와 같은 작용 효과를 갖는 양파는 강한 냄새와 미각을 마취시키는 특유의 매운맛 때문에 음식물로 만들어 익힌 상태로 섭취하게 되며, 익히는 과정에서

매운맛과 냄새를 내는 휘발성 성분이 제거되어 먹기 좋은 상태가 되나 열에 약한 비타민과 영양소가 파괴되는 단점이 있다. 양파가 갖는 유용한 효과를 얻기 위하여 조리 상태의 음식물로서만 섭취하여야 하는 종래의 불편을 해소하고 일상적으로 양파의 유용한 성분을 섭취할 목적으로 양파를 음료화하는 방법이 제시되고 있다.

양파는 양념류로서 중요할 뿐만 아니라 東醫寶鑑에 중풍 치료제로 나와있고, 오늘날 몇몇 연구에서도 심혈관계 질환의 예방에 유효한 것으로 보고되고 있다(서화중 & 정두레, 1997). 양파는 마늘과 동속식물로 일찍이 그 활성 성분 구조가 마늘의 주성분인 alliin과 비슷한 것으로 밝혀졌으나 생리작용에 관한 연구는 마늘에 비해 매우 미흡한 실정이다. 그동안 보고된 Allium 속 식물의 유익한 생리활성 작용은 혈중 지질농도를 낮추는 작용에 관한 보고가 주를 이루고 있으며 특히 마늘의 allicin이 간에서 cholesterol과 triglyceride 합성 효소작용을 억제하여 혈중 지질농도 상승을 억제한다는 보고가 있다. 그 외에 Allium속 식물의 항미생물 작용, 항혈전 작용, 혈당저하 작용, 항산화 작용에 관한 보고들이 있으나 이들 대부분은 마늘에 관한 것이다.

양파 중의 주요 생리활성물질은 양파의 특유한 향기 성분인 유기황화합물과 flavonoid계의 색소 성분인 quercetin이다. 또한 양파는 칼슘, 철 등의 무기질이 풍부하다. 이들 생리활성 성분의 함량과 종류는 품종에 따라 또는 가공 방법에 따라 달라진다.

양파는 quercetin 4'-glucoside, quercetin 4'7-diglycoside, quercetin 3,7-diglycoside, quercetin 3,4'-diglycoside, quercetin aglycon, isorhamnetin

monoglycoside, kaempferol monoglycoside 등의 flavonoid류를 함유하며, 이 중 80%가 quercetin diglycoside, monoglycoside, quercetin aglycone으로 구성된다. 그러나 양파 껍질은 양파에 비하여 약 10-100배의 flavonoids를 함유하며, 주요한 flavonoid는 quercetin이며, 양파와는 반대로 약 80%가 aglycone으로 존재한다 (Leighton et al, 1992). Bilyk 등(1984)은 양파 종류에 따라 flavonoid의 농도 변화가 커서 노란 양파와 붉은 양파의 경우 육질의 flavonol 농도는 60mg/kg에서 1,000mg/kg의 범위를 나타낸다고 하였고, 색을 가진 마른 껍질에 특히 flavonol 함량이 높아 2.5~6.5%로 많은 양이 함유되어 있으며 이들의 함량은 산지, 품종에 따라 상당한 차이가 있다고 보고하였다. 또한 양파에 대한 항산화 효과는 대부분 양파 육질이나 양파즙에 대한 것으로 상당히 많은 양의 flavonoid를 함유하고 있는 국내산 양파껍질에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

최근 양파가 각종 성인병에 약용효과가 있다는 것이 과학적으로 입증돼 주목을 받고 있다. 그동안 마늘, 파, 당근 등과 같은 채소에 밀려 우리의 시선을 끌지 못했던 양파의 인식이 차츰 달라지고 있는 것이다. 양파를 임상실험한 결과 고혈압, 심장병, 동맥경화, 심근경색, 당뇨병 등의 각종 성인병에 두드러진 효능이 있는 것으로 밝혀졌으며 암을 억제하는 데도 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 양파는 조리법에 상관없이 약용효과가 있으며 아무리 많이 섭취해도 부작용이 없는 것이 특징이다.

2. 체중 조절 소재의 개발 현황

체중 감량이나 비만을 억제하는데 직, 간접적으로 효과가 있는 소재를 개발하려는 노력이 있어 왔다. 그러나 비만치료 의약품은 부작용의 위험이 항상 공존한다. 따라서 합성 화학 의약품보다는 천연에서 기능성과 안전성을 갖춘 성분을 탐색하려는 연구가 전세계적으로 활발히 진행되고 있다.

제 2 절 연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치

국민 소득 향상으로 과도한 에너지 섭취 및 식품 섭취 형태의 서구화로 국내에서도 과다체중 및 비만 인구가 최근 10년간 급속도로 증가하고 있다. 그러나 국내 관련 산업계는 기능 소재 개발을 위한 연구보다는 외국에서의 수입에 치중하고 있거나 활성 성분과 작용 mechanism의 구명 없이 단순한 추출물의 판매에만 노력하고 있다. 핵심 기술의 개발이 없이는 제품의 생명이 단명할 수밖에 없으며 수출 상품화는 불가능할 것으로 판단된다. 국내에서 이미 다량 재배되어 소비되고 있는 케일 및 양파를 대상으로 체중을 조절할 수 있는 소재의 기술 개발은 재배 농가에 파급 효과가 클 것이다.

1999년도 미국의 건강식품 시장 규모는 260억불이라는 거대한 규모이며 이 분야는 미국내 산업 중에서 가장 성장률이 높은 분야이다. 미국은 지난 10년간 건강식품 혹은 천연물 산업에 집중적인 투자를 하였으며 1994년에는 건강보조식품, 대중 천연약물에 관한 법률을 제정하여 건강식품 분야에서도 선두적인 역할을 하고 있다. 일본은

일상적으로 섭취하는 통상의 식품 형태를 가질 것을 조건으로 한 특정보건용 식품을 제정하였으나, 미국의 통상 압력을 못 이겨 통상의 식품 형태가 아닌 것도 영양보조 식품으로 제정하기 위한 법제화가 검토되고 있다. 국내에서도 기능성 식품 시장은 높은 신장률을 보이고 있으며 이미 통상의 식품 형태가 아닌 형태로도 시판되고 있다. 따라서 본 연구는 폐기되는 자원을 이용하며, 그 활성 성분 및 작용 기작이 밝혀진 체중 조절 소재를 개발한다는 점에 있어서 국내외에서 기술적으로 우위에 있다고 볼 수 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 이론적 실험적 접근 방법

1. 이론적 접근 방법

소장은 음식이 위장을 통과하여 실질적으로 흡수되는 최초의 신체기관으로 이 기관의 지방 흡수기능을 저해시킴으로써 궁극적으로 비만을 억제할 수 있다고 발표되고 있다. 특히 지방대사와 관련해서 소장 차원에서 총지방 흡수를 또는 일부 지방(중성지방이나 콜레스테롤)을 선택적으로 줄일 수 있는 가능성이 보고되고 있다. 이 원리를 이용하여 올리스테트라라는 약물이 개발되어 임상적으로 처방되고 있으나 그 부작용이 문제시되고 있다.

본 연구에서는 양파 및 케일로부터 flavonoids를 추출하여 비만억제용 식품소재를 제조하고자 하였다. 즉 추출, 분리·농축, 건조공정을 수행함에 있어서 관여하는 공정변수를 조사하고 제조공정을 확립하기 위하여 그 중 가장 핵심적인 공정인 추출과 분리·농축을 중심으로 연구를 수행하였다. 분리·농축공정에는 비열처리 공정인 막분리공정을 적용하고자 하였으며 이들 핵심공정의 기본원리와 관련 공정변수 및 적용예를 살펴보면 다음과 같다.

가. 추출

추출은 액체 또는 고체원료 중에 포함되어 있는 유용한 가용성 성분을 용매에 용해하여 분리하는 조작이다. 추출조작은 원료가 용매와 접촉하여 추재 내에 있는 용질이 용매 속으로 이동되는 일종의 물질이동 조작이다. 이때 물질이동 속도는 원료와 용매 사이의 농도차의 크기에 비례하게 되며, 용질이 고-액의 2개의 상 사이에서 평형상태에 도달하면 용질의 이동은 일어나지 않는다. 이렇게 추출은 평형상태와 밀접한 관계가 있기 때문에 용매와 원료를 효과적으로 접촉시켜 평형에 도달하게 하여

유효성분을 분리하는 접촉평형 분리조작이라고 요약할 수 있다¹⁾.

1) 추출을 위한 추재의 전처리

전처리 방법은 고체의 성질이나 용질의 함량과 분포 등에 따라 달라진다. 용질이 비용해성 물질로 둘러싸여 있는 경우에는 분쇄하여 용질이 용매와 쉽게 접촉할 수 있도록 함으로써 추출속도를 증가시킬 수 있다. 생체원료는 세포조직으로 구성되며, 대부분의 경우 용질은 세포내에 존재하므로 용질이 세포막을 투과할 때 확산저항을 받아 추출속도가 느리다. 예를 들면 사탕무와 같은 경우, 얇게 자르면 용매인 물이 각 세포까지 확산 도달하기 쉬워 추출효과가 상승하게 된다. 또한 식물의 잎, 뿌리, 줄기 등에서 의약품을 추출하는 경우, 원료를 추출하기 전에 건조시킨 다음 세포벽을 파열시켜 용질이 직접 용매에 용해되도록 해준다.²⁾ 본 연구에서 목적하는 비만억제용 식품소재는 flavonoids로써 분자량이 대략 400 Dalton 정도인 것으로 알려져 있다. 이들이 추출 시 쉽게 용해되어 추출될 수 있도록 케일은 동결건조 후에 분쇄하고 양파 껍질의 경우는 건조된 껍질을 분쇄함으로써 세포벽이 파열되어 flavonoids가 쉽게 용해되고 또한 확산되어 나오는 시간이 단축될 수 있도록 전처리를 하는 것이 필요하다.

2) 추출속도

고체-액체 추출조작에서 가장 중요한 문제는 추출속도에 영향을 미치는 인자와 원료로부터 가용성 성분을 가능한 완전히 추출하는 동시에 고농도의 추출액을 얻는 방법이다. 고체 내부의 가용성 성분을 용매로 추출하는 과정은 다음의 3가지 단계로 진

행된다. (1) 먼저 용매가 고체 내부로 침투하여 가용성 성분을 녹인다. (2) 용해된 물질은 농도차에 의하여 고체내부에서 표면으로 확산된다. (3) 고체표면에서 액체경막을 통하여 용매로 확산된다. 일반적으로 위의 단계 중 (1)단계와 (3)단계는 빠르다. 그러므로 많은 경우 내부확산에 의한 가용성 성분의 이동속도가 침출공정에서 속도제한 단계(rate limiting step)가 된다. 용해된 용질이 고체 내부에서 표면으로 확산하는 속도는 여러 가지 인자에 의하여 좌우된다.

따라서 본 연구에서는 추출시 평형에 도달하였을 때의 농도 및 시간, 용매/추제비 등이 추출에 미치는 효과를 조사함으로써 효율적인 추출조건의 확립을 기하였다.

나. 막분리

분리공정이란 기본적으로 분리대상 물질의 크기 차이를 이용하여 액상 혹은 기체상의 혼합물로부터 둘 혹은 그 이상의 물질들을 나누는 공정을 지칭한다. 막분리공정을 증발농축 공정과 비교하였을 때 갖는 특징과 장점은 다음과 같다. i) 상변화 없이 연속분리가 가능하다. ii) 펌프 작동에 필요한 전기적 에너지만 필요하다. iii) 증발농축기를 운용하는 데는 응축기가 필수 부품이며, 응축기 운용에는 상당량의 냉각수가 필요한데 막분리공정에서는 응축기를 필요로 하지 않는다. iv) 실온에서 운용 가능하며 제품품질향상을 기할 수 있다³⁾.

막분리공정은 사용하는 막의 pore size에 따라 microfiltration(MF), ultrafiltration(UF), nanofiltration(NF), reverse osmosis(RO)로 대별될 수 있으며 각 공정에서의 적용대상도 달라지게 된다. 본 연구에서는 MF 및 UF를 행함으로써

flavonoids 보다 분자량이 큰 물질들을 제거하고 이후 RO 공정을 통하여 농축을 시도하고자 하였다.

1) 미세여과 공정 (microfiltration)

Microfiltration (MF)는 입자가 적은 물질서부터 수 μm 정도의 콜로이드성 물질의 분리에 사용되는 공정을 말한다. 막분리공정 중에서 MF용 막의 세공의 크기는 비교적 큰 편에 속하며 주로 분자 크기에 의한 선택적 분리를 위하여 사용되고 있다. MF는 분자량 200,000dalton 이상의 물질들을 선택적으로 분리하는데 유효한 공정으로서 MF막에 의하여 분리 가능한 용질의 크기는 0.1~10 μm 정도이며, 대개의 MF막의 pore size는 0.01~10 μm 이다. MF 공정의 분리효과는 근본적으로 분리 대상 물질과 막의 pore size에 의해서 결정된다. 그러나 막의 pore size보다 작은 물질들이 전부 막을 통과하는 것은 아니고 분리 대상물질이 막에 흡착되거나 pore 부근에서 입체적 장애 현상이 발생하면 pore size보다 작은 물질들도 막을 통과하는데 제한을 받게 된다. 일반적으로 MF 공정운용 상의 가장 큰 문제점은 콜로이드성 입자에 의한 막침착 현상을 들 수 있다. MF에 적절한 막세공의 용적은 막 총부피의 80%가 적절한 것으로 알려져 있다. MF 시스템에서 분리대상으로 하는 용액 중에는 5.0 μm 이하의 작은 콜로이드성 입자들이 들어 있어서 표면전기 인력이 콜로이드의 응집속도와 분리 막내에서의 확산 속도에 영향을 준다. 일반적으로 막표면에서의 흡착은 i) 용착 (deposition), ii) 부착(adhesion), iii) 흡착(adsorption)현상으로 세분할 수 있으며, MF 공정에서 주된 분리 대상인 콜로이드성 입자는 MF막에 용착을, 단백질은 막에 흡착

을 주로 야기시키는 것으로 알려져 있다. MF 공정의 막횡단압력은 reverse osmosis (RO)나 nanofiltration (NF) 공정보다 훨씬 낮아서(10~100psi), RO나 NF 공정보다 막 분리 시스템의 운영비가 적은 특징을 갖고 있다.

MF 분리막 공정 적용 분야의 시장규모는 막분리공정 분야 중 가장 크며 제균, 의약품, 생물공학제품에까지 이르고 있다. 의약품에의 적용은 MF 공정의 주된 시장이며 비교적 분자량이 크고 열에 민감한 항생제, 혈액제, 안과용 제제, 주사액의 제균, 혈액 정화 등에 이용되고 있다. 발효공업 분야에서는 pore size 0.45 μ m의 MF 막이 와인 제조의 전처리 공정에 이용되고 있다. 따라서 MF 공정은 단일 공정으로서 뿐만 아니라 UF, NF 혹은 RO 공정과의 연계하에 운용시키면 각종 식품용 생리활성 물질 등을 상변화 없이 효율적으로 분리 및 정제가 가능하다³⁾.

2) 한외여과 공정 (Ultrafiltration)

Ultrafiltration (UF)는 10~200Å 이상의 크기를 갖는 천연 고분자성 거대물질들 (proteins, starch, gums)이나 콜로이드성 분산물질들(pigments, paints, clays, latex particles)을 분리하는 공정으로서 UF시 분리 대상 거대물질의 분자량 범위는 1,000~1,000,000 daltons에 해당되며 막에 적용되는 막 횡단 압력은 역삼투에 비하여 상대적으로 낮은 압력(1,000 kPa)이 적용된다. UF 공정의 식품산업에서의 적용분야는 우유의 농축과 유청처리, 효소, 과일과 야채 주스의 청징화 및 농축, 알부민등 전통적인 식품가공분야에 집중되어 있다.

UF 공정은 RO 공정에 비하여 분리대상으로 하는 물질들은 분자량이 커서 상대적

으로 삼투압이 낮기 때문에 높은 막횡단 압력을 필요로 하지 않는다. UF 공정에서는 한계분자량(molecular weight cut-off, MWCO)의 개념이 중요한 분리변수로 작용하는데 이는 막을 통과할 수 있는 물질의 한계치를 의미한다. 실질적으로 사용막에 의해서 분리대상물질이 90% 배제되었을 때의 분자량을 MWCO라고 한다.

UF 공정에서 흔히 관찰되는 현상으로는 막횡단압력을 올리더라도 더 이상 비례적으로 flux가 증가하지 않는 현상이 나타나는데, flux가 어느 정도 비례적으로 증가하는 부분을 pressure controlled region이라고 하고, 적용압력의 증가가 더 이상의 flux 증가에 큰 영향을 주지 못하는 부분을 mass-transfer controlled region이라고 구분짓고 있으며, 산업적으로 최적 막횡단 압력을 산출할 때에 유의해야 할 사항이다. UF 공정에서 flux의 감소는 크게 feed 용액의 물성변화와 관련된 막 침착현상(membrane fouling)과 농도 분극 현상(concentration polarization) 때문에 발생하며 막 분리시 flux를 저하시키는 주요 요인이다. 용매가 다공질의 한외여과막을 통과할 때는 Hagen-Poiseuille 법칙을 따르므로 고형물이 농축되면 feed의 점도와 밀도가 상승하고 확산도가 감소하여 물보다 낮은 flux를 나타낸다. 농도분극 현상은 단백질과 같은 수화성 콜로이드물질이나 펙틴, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 같은 물질에 의하여 발생하며 이들 물질들은 막 표면에 점성이 있는 겔 층(gelatinous-type layer)을 형성한다. 막 표면에 용질의 농도가 국부적으로 증가하면 삼투압이 현저히 증가하여 구동력(driving force = $\Delta P_T - \Delta\pi$, ΔP_T = transmembrane pressure, $\Delta\pi$ = osmotic pressure of retained solutes)이 줄어들어 결과적으로 flux가 감소한다. 분리 초기에

막으로 용질이 전달되어 점차 막 표면에 쌓이게 되면 boundary layer내에 농도 차가 발생하며 이로 인해 확산 현상(diffusional effect)이 일어나 용질을 투입 유체 쪽인 반대 방향으로 전달시킨다. 결과적으로 일정 시간 경과 후 flux가 정상상태에 도달하게 되는 것은 위에 언급한 두 현상이 평형을 이루게 되기 때문이다.

UF 공정은 전통적으로 우유의 농축과 유청처리, 효소, 과일과 야채 주스의 청징화 및 농축, 알부민등 전통적인 식품가공분야에 집중되어 왔지만, 앞으로는 각종 생리활성기능(면역기능부활, 항염증, 혈당강하, 항종양)이 알려진 천연물 유래 기능성소재 및 의약품의 원료로 주목받고 있는 다양한 종류의 점질다당(mucopolysaccharides)의 분리 정제에 적용할 가치가 높다. 한외여과 공정은 특히 식품산업 분야에서의 활용도가 크다. 치즈 유청(cheese whey)으로부터 유청 단백질의 분리, 치즈 제조를 위한 우유의 농축, 과일즙의 청징(clarification) 등에 한외여과 공정이 사용되고 있다. UF 공정의 또 다른 중요한 응용분야로는 전착도료의 회수공정, 의약/반도체 산업용 순수 제조공정, 음료수 제조공정, 생물공학의 후처리(downstream)공정 등을 들 수 있다. 최근에는 포도주의 청징, 식초의 양조, 젤라틴의 농축 등에도 UF 공정이 사용되고 있다.

3) 역삼투 공정 (reverse osmosis)

삼투(osmosis) 현상은 희석된 쪽에서 농축된 쪽으로 반투과성 막(semi-permeable membrane)을 통하여 화학적 전위차(chemical potential differences)를 구동력(driving force)으로 하여 용매가 이동하는 자연계의 현상을 말한다. 이러한 자연적인 삼투현

상의 구동력과 반대 방향으로 인위적인 압력구배(pressure gradient, 30~100 기압)를 가하면 삼투현상과는 반대로 고농도 용액 쪽의 용매가 저농도 용액 측으로 역류하게 되는데, 이러한 현상을 이용하여 용매(물)를 제외한 용액내의 모든 성분 물질들을 거르는 dewatering technique를 역삼투(reverse osmosis, RO)라고 한다.

RO 공정은 1970년대에 해수의 담수화에 적용된 이래 폐수처리 뿐만 아니라 유기물의 회수, 식품의 농축, 반도체산업용 초순수(ultrapure water)의 제조, 의약품 및 생물학 제제의 분리·농축에 적용되어 산업적으로 성공한 바 있다.

RO 공정은 용존염의 분리제거효율이 높아 생리활성물질 제조 및 분리 공정에 사용되는 염의 탈염과정에 이용될 수 있으며, 분자량이 극히 작은 생리활성 유기물질 중 aromatic hydrocarbon의 분리 조작에 대한 이용가능성이 많이 제시되고 있으므로 식품 유래 생리 활성물질들 중에서는 각종 flavonoids, carotenoids, saponins, natural colors, antioxidants 등의 분리 농축에 적용할 만한 공정이다³⁾.

4) 막오염(Membrane fouling)

UF 공정 (특히 단백질 용액의 한외여과)에 있어서 막투과량은 일반적으로 조작시간이 증가함에 따라 점차 감소하게 된다. 이처럼 조작시간에 따라 막투과량이 감소하는 이유는 막표면 또는 막세공 내에 콜로이드, 입자상 용질, 거대분자 등의 유·무기 물질들의 비가역적 침착현상을 통상 막오염(membrane fouling)이라 한다. 농도분극(concentration polarization)은 막표면에서의 용질의 가역적 침착현상이기 때문에 조작조건의 변화(예, 도입액 유속의 증가)로서 상당한 정도까지 제어가 가능하나, 막오염은

용질의 비가역적 침착현상이기 때문에 단순히 조작조건을 변화시키는 방법으로는 제거가 거의 불가능하여 한외여과의 실제적 응용시 심각한 문제를 야기시키게 된다⁴⁾.

거대분자 용액의 한외여과에서 조작시간에 따른 막투과량 감소는 통상 3단계 과정으로 구분한다. 1단계는 한외여과 조작이 시작된 이후 수분동안에 걸쳐 일어나는 막투과량의 급속한 감소 단계로서 막표면 근방에 농도 분극층이 형성되는 과정이다. 2단계는 막투과량의 급속한 감소 이후부터 약 1시간까지의 보다 완만한 막투과량 감소 단계로서 용액 중에 포함된 분리대상 물질이나 기타의 유·무기물들이 막표면 또는 막세공 내에 흡착(주로 단분자 흡착)되는 과정이다. 3단계는 1시간 이후의 막투과량이 서서히 감소하는 단계로서 2단계에서의 흡착층 위에 추가적으로 용질들이 더 흡착 또는 침지되고 이 침지층이 고형화(겔화)되는 과정이다.

대부분의 한외여과막은 다양한 크기를 갖는 세공들로 구성되어 있기 때문에 용질이 흡착 또는 침착되는 막오염 현상이 일어나면 막 세공의 일부 또는 전체가 막히거나 세공 크기가 줄어들게 된다. 이렇게 되면 필연적으로 막투과량이 감소하게 되고 막의 세공분포가 달라져 막이 갖는 본래의 분리성능(분획분자량)에 변화를 초래시킨다.

특정 용질을 함유한 용액의 한외여과시, 막오염의 정도는 용액의 물리적, 화학적 특성(농도, pH, 이온강도 등), 막재질 및 특성(소수성 정도, 전하량, 다공도 및 세공분포 등), 조작조건(온도, 압력차, 도입액 유속 등)에 따라 크게 달라진다. 즉, 도입액의 농도를 증가시키면 일반적으로 막표면의 가역적 오염(농도분극 형성)과 막세공 내

에의 비가역적 오염을 유발시켜 막투과량을 감소시킨다. 일반적으로 친수성 막보다는 소수성 막에의 단백질 용질의 흡착량이 크며 따라서 소수성 막의 경우에 막오염이 심하다.

막투과량이 크면 막세공에서의 높은 전단력을 유발시키므로 용질 (특히 단백질)의 변성(denaturation)을 유발시켜 막오염을 가속화시키며 막 본래의 분획분자량을 변화시킨다. 한편 단백질 이외의 용액의 경우에는 조작온도가 증가하면 점도가 감소하고 확산계수가 증가하므로 막오염이 작아지나, 단백질 용액의 경우에는 열변성에 의한 단백질 응집체의 형성으로 막오염이 더 심해지게 된다. 또한 조작 압력을 증가시키면 초기에는 막투과량의 증가를 기할 수 있으나 조작시간이 증가하면서 오히려 막오염을 증가시키게 된다. 도입액 유속을 증가시키면 막 모듈의 유로 내에 난류흐름을 유발시키므로 막오염 형성을 어느 정도 억제할 수 있으나, 과도한 유속은 용질의 변성을 유발시킬 수도 있으며, 펌핑비용 등의 조작비용을 상승시키게 된다.

5) 막오염의 제어

분자량이 작은 염류 및 무기이온을 주 분리대상으로 하는 RO의 경우에는 다양한 도입액 전처리법들 (염소 처리, 응집제 처리, 열처리, 활성탄 흡착, pH 조정 등)이 사용되고 있으나, 단백질 물질을 주 분리대상으로 하는 UF의 경우에는 도입액의 전처리에 상당한 주의가 필요하다. 세심한 검토 없이 도입액의 화학적/물리적 전처리를 하게 되면 단백질 물질의 변성을 유발시켜 오히려 막오염을 가중시킬 수도 있다.

물질전달 계수를 증가시키는 방법으로서 가장 널리 사용되고 있는 방법은 도입액

의 유속을 증가시키는 것이다. 물론 도입액의 유속을 증가시키면 막오염의 형성을 상당히 억제할 수 있으나, 이에 따른 동력 소요량 (펌핑 에너지)의 증가도 고려해야만 한다. 일반적으로 동력 소요량은 유속의 3승에 비례한다. 또한 단백질 용액의 경우 도입액 유속의 증가는 단백질의 변성을 유발시켜 막오염을 가중시킬 수도 있다. 따라서 도입액과 막모듈의 형태에 적절한 최적 도입 유속의 설정이 필요하다.

압력이 증가되면 농축이 일어나면서 농도 분극층이 형성되므로 flux는 크게 증가하지 않는다. 이 상태에서 더욱 압력을 증가시키면 gel층 상에서 용질의 상호확산은 초기상태와는 달리 새로운 평형상태를 유지하면서 flux(여액)는 더 이상 증가하지 않게 된다. 이때 membrane fouling은 급격히 진척되면서 막성능이 떨어지게 되므로 필요이상으로 압력을 높이게 되면 운전비가 증가될 뿐만 아니라 막 성능도 저하되므로 항상 적당한 압력에서 운전하여야 한다⁵⁾.

6) 식품산업에서 막분리 응용

상기에서 서술한 막분리가 가지는 여러가지 장점 (에너지 비용절감, 열변성방지 등)으로 인하여 유가공관련산업⁶⁻¹⁴⁾, 주스산업¹⁵⁻¹⁹⁾ 효소산업²⁰⁻²⁶⁾ 등에 적용이 활발하게 진행되고 있으며 UF와 RO 가 함께 사용된 경우도 적지 않다. 예를 들면 발효액으로부터 glutamic acid를 회수하기 위하여 막분리공정이 적용되었다. 발효액을 UF공정을 거친 뒤 retentate는 diafiltration (DF) 공정을 통하여 불순물을 제거하였으며 DF permeate는 RO공정을 통해 농축시켰다. 막분리공정을 이용한 박테리아 cell로부터 glutamic acid의 분리는 후속 공정인 evaporation과 crystallization 공정의 효율을 증

가시킬 수 있었다²⁷⁾. 또 다른 예로서는 고구마전분 공정에서의 폐수처리를 들 수 있다. 여기서는 전분제조 공정시 발생한 폐수를 UF 와 RO공정을 통해 BOD와 COD를 낮추었다. UF 공정을 먼저 수행한 후 UF permeate를 RO을 사용하여 농축하였다²⁸⁾.

다. 본 연구에의 적용

본 연구에서 목적하는 bioflavonoids가 추출 시 쉽게 용매에 용해되어 추출될 수 있도록 건조하여 분쇄를 행한 후 추출 시 평형에 도달하기 까지의 소요시간, 농도, 용매/축재비가 추출에 미치는 효과를 조사함으로써 효율적인 추출조건의 확립을 꾀하고자 하였다.

얻어진 추출물은 원심분리를 통하여 추출잔사로부터 분리하고 RO 공정에 의하여 flavonoids를 농축하기 앞서 MF와 UF공정을 통하여 분자량이 큰 이물질들을 제거함으로써 정제효과를 얻음과 동시에 RO 공정에서의 fouling이 급속히 일어나는 것을 방지하고자 하였다. 즉 분획분자량이 300 kDa인 membrane을 이용하여 MF를 행함으로써 콜로이드성 입자들을 제거한 후, 분획분자량이 30K Dalton인 membrane을 이용하여 UF를 행하고 여기서 얻어진 permeate의 농축을 시도하고자 하였다. 즉 UF를 통하여 추출물에 존재하는 고분자물질을 제거함에 있어서 fouling을 최소화하고 permeate flux를 최대로 할 수 있도록 공정 변수 (TMP, cross flow rate)를 설정하고 이어서 RO를 수행함에 있어서 필요한 기초자료를 확립하고자 하였다.

2. 실험적 접근 방법

가. 시료

서울 가락동 도매시장에서 구입한 양파의 껍질을 40℃로 열풍건조한 후 분쇄기로 분쇄하여 35~100 mesh에 속하는 분말을 시료로써 사용하였다. 케일은 동결건조후 분쇄기로 분쇄하여 100 mesh를 통과한 분말을 시료로써 사용하였다.

나. Flavonoids 함량 분석

케일을 착즙하면 주로 수용성 성분들이 착즙되며 불용성 성분들은 대부분 착즙 잔사에 남는다. 케일을 착즙하였을 때 flavonoids의 분포를 알아보기 위하여 whole kale, juice, residue를 동결건조하여 용매로 추출하였다. 양파 껍질은 분쇄하여 추출하였으며 양파 육질은 동결건조후 분쇄하여 추출하였다. 각 시료 0.1g에 60% methanol 20ml을 가하여 70℃에서 2시간 추출한 후 여과하여 감압건조하였다.

다. 지방소화효소 저해 효과 측정

케일가공부산물 및 양파 껍질 추출물에 의한 췌장의 지방소화효소 저해효과는 pH-stat controller를 이용하여 분석하였다. 기질은 tributyrin을 사용하였다.

라. 케일가공부산물 및 양파껍질 추출물 투여가 지방 흡수에 미치는 영향 측정

5주령의 SD male rats(108.42±4.61 body weight)를 난괴법에 의하여 체중을 일정하게 분포하도록 모두 5군으로 나누어 대조군, 케일가공부산물 투여군(50mg/kg BW),

양과깍질 투여군(50mg/kg BW), Quercetin군(6mg/kg BW), Orlistat군(0.1mg/kg BW)으로 구분하였다. 기질 유화액은 대두유 6mL에 Cholic acid 80mg과 cholesterylolete 1g을 첨가한 후에 생리적 식염수 6mL을 넣어 준비하였다. 쥐를 하룻밤 절식 후 모든 군에게 기질 유화액을 7.5ml/kg bw로 경구 투여 후 각각의 시료를 투여하였다. 투여 후 4시간 동안 1시간 간격으로 안와정맥총에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 2,500rpm에서 10분동안 원심분리 후 혈장을 얻었다. 분석전까지 -20℃에서 보관하였다. 혈장 중성지방 함량은 효소법에 의한 분석용 키트 사용하여 측정하였다.

마. 케일가공부산물 및 양과깍질의 생체내 체중 감소 효과

케일 가공부산물 및 양과 깍질의 50% ethanol 추출물의 체중 조절 효과는 ICR mice를 이용하여 검증하였으며, 바항의 ‘체중조절용 소재 제조 공정 확립 방법’에 의하여 제조된 소재의 체중 감소 효과는 인슐린 저항성을 가진 비만모델 동물인 ob/ob mice를 이용하여 검증하였다.

1) 실험동물 및 식이

8주령의 mice를 환경에 적응시키기 위해 일주일간 고형사료로 예비 사육한 후 난피법에 의하여 2개의 군으로 나누어 대조군(5% corn oil + 10% lard), 케일군 혹은 양과군[(5% corn oil + 10% lard)+5% 추출물군]으로 구분하여 8주간 실험식이(표 1)로 사육하였다. 사육장의 명암은 12시간 주기로 조절하였고 온도는 22±2℃, 습도는 50~60%로 유지하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였다.

표 1. 실험 동물 식이의 조성

성분	대조군(g)	추출물 투여군(g)
Casein	200	200
Cellulose	50	50
Choline bitartrate	2	2
Corn oil	50	50
Lard	100	100
Corn starch	350	300
Methionine	3	3
Mineral mixture	35	35
Sucrose	200	200
Vitamin mixture	10	10
Kale or onion extract	-	50
BHT	0.003	0.003
Total	1000	1000

2) 시료채취 및 처리

실험 마지막 날에 실험동물을 ether로 마취시킨 후 heparinized tube에 혈액을 모아 2,000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 취하여 분석용 시료로 사용하였다. 채혈 후 즉시 간과 paramaterial adipose tissue를 적출하여 무게를 잴다. 혈장과 간 및 adipose tissue는 분석할 때까지 -20℃에 보관하였다. 분변은 희생하기 전 48시간 동안 모아 건조하여 -20℃에 보관하였다가 동결건조시킨 후, 분변의 무게를 측정하여 건조중량으로 하였다.

3) 체중변화량 및 식이섭취량

식이섭취량은 일주일에 두 번 일정한 시간에 칭량하여 1주일 단위로 주당 1일 평

균식이섭취량을 구하였다. 체중도 일주일에 두 번 일정한 시간에 동일한 순서로 측정하였다.

4) 생화학적 분석

혈장 포도당 농도의 분석은 glucose oxidase법을 적용한 glucose kit(Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, Cat. NO. 315-100)를 이용하였으며, 혈장 cholesterol, 중성지방 함량은 효소법에 의한 kit를 사용하여 측정하였다. 간시료의 콜레스테롤과 중성지방의 추출은 Folch 등의 방법을 수정한 방법으로 kit를 사용하여 측정하였다. 건조하여 분말화한 변은 soxhlet법으로 지질을 추출한 후, 비중법으로 총지방 함량을 측정하였다.

바. 체중조절용 소재 제조 공정 확립 방법

앞 서 서술한 사항을 중심으로 하여 추출과 관련된 최적조건을 확립하고 확립된 추출조건하에서 케일 및 양파껍질로부터 bioflavonoid를 추출하고 원심분리 및 여과를 통하여 입자가 큰 고형분을 제거하였다. 이어서 MF와 UF를 통하여 거대분자를 제거하고 reverse osmosis를 통하여 bioflavonoid를 농축하고 분무건조를 통하여 건조를 행하였다. 케일과 양파껍질로부터 bioflavonoids를 추출함에 있어서 추출대상물질과 추출 후 농축 정제공정은 서로 유사하다. 따라서 양파껍질로부터 추출 및 정제 공정을 먼저 확립한 후 케일에 적용하는 방향으로 연구하고자 하였다. 이러한 일련의 연구를 수행함에 있어서 향후 산업화를 염두에 두고 볼 때, 추출과 분리·농축공

정이 가장 중요하므로 이를 중심으로 하여 연구를 수행하였다.

또한 실험실적으로 확립한 제조공정의 산업화에 무리가 없도록 하기 위하여 pilot plant 규모로 시험생산을 시도하였다. 이 과정을 통하여 발견된 산업화에 무리가 있는 공정은 과감하게 대량생산이 가능한 공정으로 대체함으로써 향후 산업화함에 있어서 문제가 될 소지를 사전에 예방하고자 하였다.

1) 추출조건

용매/추재 비율을 10, 20, 50, 200으로 달리하여 상온에서 200rpm으로 교반하면서 60% ethanol을 추출 용매로 하여 2시간 동안 추출하였다. 추출시 일정간격으로 sampling하여 추출물의 flavonoid 성분을 각각 측정하였다.

2) Trap Filter

고형분 제거를 위해 사용된 trap filter (Pall-Filtron, U.S.A)의 pore size는 5 μ m이며, 유속은 700 ml/min 이었다.

3) Microfiltration 및 Ultrafiltration (MF/UF) System

MF/UF system은 시료를 공급해주는 시료탱크, 막분리가 일어날 수 있는 구동력을 제공하는 펌프, 실제 막분리가 일어나는 한외여과 module, 압력과 유량을 조절하는 valve, 시료가 지나가는 통로가 되는 pipe 등으로 구성되어 있으며 (Fig. 1) retentate의 flow rate는 유속계 (NF10-TTN, Aichi Tokei Co., Ltd., Japan)를 사용하여 측정하였다.

4) MF/UF Membrane

한외여과막은 Pall사 (Pall corp, New York, U.S.A)의 cassette type TFF (Tangential Flow Filtration)로서 분획분자량 300 kDa membrane은 MF 처리시, 30 kDa membrane은 UF 처리시 사용하였으며 재질은 polyethersulfone 이었고 여과 면적은 1 ft² 이었다.

5) UF 공정조건

일정한 cross flow rate (CFR)에서 permeate flux를 최대로 하면서 동시에 transmembrane pressure difference (TMP)를 최소로 하는 구간으로 최적공정 TMP를 설정하였다. UF는 분획분자량이 300 kDa인 membrane을 사용하여 TMP가 15 psi, cross flow rate (CFR)가 1 ℓ/min인 조건 하에서 실시하였다.

6) MF 공정조건

분획분자량 30 kDa인 membrane을 사용하여 일정 CFR에서 permeate flux를 최대로 하면서 TMP를 최소로 하는 구간을 설정하여 이러한 조건하에서 실시하였다.

7) 한외여과막의 세척

한외여과막의 세척은 0.2N NaOH를 사용하여 p_{in}/p_{out} (30~40psi/20~30psi), retentate flow rate 2.0~4.0 ℓ/min로 45분간 순환시켰으며 증류수를 사용하여 permeate flux를 측정하여 세척이 완료되었음을 확인하였다.

8) Reverse Osmosis System

RO system (DDS Filtration, Denmark)은 UF system과 유사한 형태로 구성되었으나 UF의 경우보다 고압에서 작동되기 때문에 pumping시 시료의 온도 상승을 막을

수 있도록 열교환기가 장착되어 있었다 (Fig. 2). 본 연구에서 사용된 membrane은 (HR95PP, DOW Co. Ltd., Denmark) pore size의 salt rejection율이 95%이었으며 재질은 polypropylene이었고, 여과면적은 0.018 m²/sheet로 본 연구에서는 10장을 장착하여 사용하였다.

9) 분무건조

Spray dryer (Eyela SD-1000, Japan)를 30분간 warm-up 시킨 후 농축액을 투입하여 건조하였다. 건조 조건은 feed rate 10 ml/min, air flow rate 0.54 m³/min, inlet air temperature 180°C, atomizing pressure 1.5×10⁵ Pa 이었으며 분무건조가 끝난 후 건조제품을 회수하여 칭량하였다.

10) Pilot Plant 실험

양과 분말 5 kg을 60% ethanol 100 l로 추출을 행한 후 일련의 분리·농축 공정을 수행하였다.

11) 소시지 제조

소시지는 강원도 고성군 토성면에 소재하고 있는 (주)설악축산유통의 소시지 제조 공정 설비를 이용하여 다음과 같이 제조하였다. 표 2와 같은 배합비에 의거하여 원료를 혼합하고 cutting한 후 예멸전을 충전하였다. White 소시지의 제조시에는 85°C에서 20분간 (R.H. = 99%) 열처리한 후 냉각하였으며 훈연소시지의 제조시에는 열처리 전에 훈연실에서 발색 (50°C에서 15분), 건조 (58°C에서 18분), 훈연 (65°C에서 30분) 과정을 추가로 실시하였다.

표 2. Formula for sausage manufacture

Ingredient	Amount (kg)
Lean pork	3.10
Pork fat	0.90
Ice	1.00
Salt	0.09
Sugar	0.04
Phosphate	0.01
Spices	0.06

12) TBA 값

소시지 저장 중의 산화정도를 측정을 목적으로 Witte 등²⁹⁾의 방법에 따라 thiobarbituric acid (TBA) 값을 측정하였다.

13) 관능검사

강릉대학교 식품과학과 대학원생 및 학부4년생 중 차이식별검사를 위한 기본 훈련을 마친 9명의 평가요원을 대상으로 소시지로서의 맛, 색상, 조직감, 향에서의 기호정도를 5단계 기호척도법을 사용하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과는 난괴법으로 분산분석하고 Duncan의 다중비교를 실시하였다.³⁰⁾

14) 색도측정

색도측정은 Minolta 색차계 (Model CR300, Japan)을 사용하여 Hunter "L"값, "a"값, "b"값으로 측정하였다. 전체적인 색도의 차이를 나타내는 ΔE 값은

$$\sqrt{(L-L_o)^2 + (a-a_o)^2 + (b-b_o)^2}$$

에 의하여 구하였다.³¹⁾

제 2절 연구결과

1. 케일 및 양파의 bioflavonoids 함량 분석

시료의 종류 및 동결건조시킨 시료로부터 조추출물이 얻어지는 효율을 표 1에 나타내었다. 60% methanol에 의한 추출 수율이 케일은 6.3%이며 착즙 잔사의 수율은 10.6%이었으며, 양파 껍질의 수율은 8.9%, 육질은 2.5%이었다. 케일은 가수분해에 의하여 수율이 증가하여 glycosides의 함량이 높은 것으로 사료되며 상대적으로 양파는 glycosides의 함량이 낮은 것으로 사료된다.

표 3. 분석 시료의 종류 및 추출 효율

시료	처리조건	가수분해 여부	추출 효율(%) ¹	추출 효율(%) ²
케일	Whole kale	-	21.0	6.30
		+	32.9	9.88
	즙	-	65.0	3.25
		+	84.2	4.21
	착즙후 잔사	-	26.5	10.6
		+	45.3	18.1
양파	껍질	-	8.9	8.9
		+	11.9	11.9
	육질	-	25.2	2.52

+

27.7

2.77

¹동결건조된 시료로부터 얻어지는 추출물의 비율(w/w, %)

²Fresh weight로부터 얻어지는 추출물의 비율(w/w, %)

케일의 flavonoids는 aglycone(free form) 및 monoglycosides의 형태로 존재하며 (Hertog et al., 1992), 양파의 flavonoids는 aglycone, monoglycosides, diglycosides의 형태로 존재한다(Patil et al., 1995). 본 연구에서 사용한 HCl 농도에서 monoglycosides는 aglycone으로 99% 가수분해되며, diglycosides는 monoglycosides와 aglycone으로 가수분해됨을 확인하였다.

본 연구 결과에 의하면 케일은 다양한 flavonoids를 함유하며, 양파는 주로 quercetin을 함유하였다. 케일에는 quercetin이 aglycone의 형태로 3.22mg/100g, glycosides의 형태로 12.98mg/100g 함유되었으며 주요한 glycosides는 arabinoglucoside(peltatoside)이었다. 케일을 착즙하면 flavonoids는 즙보다는 잔사에 주로 남았다(표 4, 5). 케일에는 kaempferol, myricetin, morin, apigenin 등이 주로 glycosides로 함유되었으며 (표 5), kaempferol이 aglycone으로 2.23mg/100g, glycosides로 3.07mg/100g 함유되었다(표 5). 양파 껍질에는 quercetin이 aglycone의 형태로 1012mg/100g, glycosides의 형태로 477mg/100g 함유되어 총 quercetin 함량의 68.0%가 aglycone으로 존재하였다(표 4). 양파 껍질 quercetin glycosides의 주요 형태는 rhamnoside (quercitrin)로 총 glycosides의 68%를 차지하였다(표 5).

표 4. Aglycone, glycosides and total contents of quercetin in kale and onion.

Samples	Quercetin (mg/100g dry weight)					
	Aglycone	Rutinoside (Rutin)	Rhamnoside (Quercitrin)	Arabinoglucoside (Peltatoside)	Diglycosides ¹	Total
케일						
착즙 전	3.22±0.07	2.18±1.09	3.79±0.98	7.02±0.45	-	16.21±2.30
즙	2.10±0.33	1.81±0.09	0.79±0.08	4.11±0.23	-	8.81±1.11
착즙 잔사	5.43±0.17	3.51±2.11	5.79±0.69	10.3±0.81	-	25.0±2.40
양파						
껍질	1012±7.33	11.23±2.45	324.4±5.38	14.60±1.21	127.0±1.23	1489±3.54
육질	2.48±0.10	2.98±0.34	0.04±0.07	1.02±0.40	2.08±0.78	8.60±0.78

ND, not detected

¹가수분해 전후의 aglycone 및 glycosides 함량차이로부터 산출한 값

표 5. Aglycone and total flavonoid contents of kale and onion.

Samples	Flavonoids (mg/100g dry weight)							
	Kaempferol		Myricetin		Morin		Apigenin	
	Aglycone ¹	Total ²	Aglycone	Total	Aglycone	Total	Aglycone	Total
케일								
착즙 전	2.23±0.14	5.30±1.35	4.00±0.09	10.6±0.31	4.23±0.45	5.77±0.84	0.16±0.09	1.90±0.61
즙	1.11±0.04	3.95±0.35	1.90±0.02	2.98±1.13	ND	ND	0.02±0.05	0.98±0.61
착즙잔사	8.22±0.23	10.9±2.82	5.00±0.23	13.1±3.41	6.50±0.57	8.43±0.89	1.23±0.12	4.90±0.72
양파								
껍질	3.21±1.25	12.3±1.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND
육질	0.29±0.01	0.46±0.02	0.08±0.01	1.72±0.01	0.18±0.06	0.46±0.04	ND	0.37±0.04

ND, not detected; ¹가수분해 전의 함량; ²가수분해 후의 함량

케일은 착즙 전후로, 양파는 부위별로 준비하여 flavonoids를 분석하였을 때 케일에는 quercetin이 aglycone로 3.22mg/100g, glycosides로 12.98mg/100g 함유되었으며 주요한 glycosides는 arabinoglucoside(peltatoside)이었으며, 양파 껍질에는 quercetin이 aglycone으로 1012mg/100g, glycosides로 477mg/100g 함유되어 총quercetin 함량의 68%가 aglycone으로 존재함을 확인하였다. 케일에는 kaempferol, myricetin, morin, apigenin 등 다양한 종류의 flavonoids가 함유되었으며 양파에는 quercetin이 주로 함유되었다.

2. 케일 및 양파의 lipase 저해효과 검증

가. Bioflavonoids의 lipase 저해효과

케일 및 양파로부터 gastrointestinal lipase를 저해함으로써 섭취한 지방의 소화흡수 속도를 낮추어 체중을 조절할 수 있는 소재를 개발하고자 먼저 케일 및 양파에 존재하며 체중조절효과가 예상되는 bioflavonoids(표2)의 lipase 저해효과를 검증하였다. 즉 pancreatic lipase가 tributyrin을 분해하는 속도를 0.2-0.3 $\mu\text{mol fatty acids}/\text{min per ml}$ 이 되는 조건에서 fatty acids에 의해 pH가 낮아지는 것 만큼 첨가된 50mM NaOH의 부피로부터 pancreatic lipase의 활성을 구하였으며, flavonoids 첨가시의 활성으로부터 저해율을 구하였다(표6). 그 결과 검정한 flavonols 및 flavones중 kaempferol의 IC_{50} 이 2.5 μM 로서 가장 활성이 높았으며, 나머지들은 6.0-9.8 μM 로 비슷한 수준이었다. Glycosides는 aglycones에 비해 활성이 낮았다.

표 6. Flavonoids의 lipase 저해효과¹

Flavonoids	IC ₅₀ (μM) ²
Flavonols	
Quercetin	9.8 ± 0.24
Kaempferol	2.5 ± 0.11
Myricetin	8.0 ± 0.50
Isorhamnetin	6.0 ± 0.34
Morin	7.1 ± 0.51
Flavones	
Apigenin	8.5 ± 0.33
Luteolin	7.1 ± 0.09
Flavonol glycosides	
Rutin	55 ± 1.3
Quercitrin	60 ± 1.5
Peltatoside	37 ± 2.1
Isorhamnetin 3-glucoside	42 ± 0.8
Isoquercitrin	25 ± 1.8

¹Flavonoids 첨가시의 lipase activity를 다음 식에 의해 구하여 대조군과 비교하여 저해율을 구함

²Mean±S.D. from 3 determinations.

나. 케일 및 양파 추출물의 lipase 저해 효과

케일 및 양파의 60% methanol 추출물의 lipase 저해효과를 검증한 결과 양파 껍질 추출물의 IC₅₀이 0.76mg/ml로서 가장 효과가 높았다. 이는 양파껍질의 높은 quercetin 함량(1489mg/100g)에 기인하는 것으로 판단되며 양파껍질의 quercetin은 주로 aglycone으로 존재하기 때문에 가수분해 후에도 저해활성은 크게 증가하지 않았다 (IC₅₀ 0.69mg/ml). 케일은 양파에 비하여는 lipase 저해활성이 낮았는데 이는 저해활성이 가장 높은 flavonoids인 kaempferol 함량이 케일에 높기는 하지만 flavonoids 총량이 양파보다 낮는데 기인하는 것으로 여겨진다.

표 7. 케일가공부산물 및 양파 껍질 추출물의 lipase 저해효과

Samples	Hydrolysis of glycosides	IC ₅₀ (mg/ml) ¹
케일 착즙전	-	4.58 ± 0.04
	+	3.21 ± 0.13
즙	-	6.04 ± 0.03
	+	5.02 ± 0.10
착즙후 잔사	-	3.76 ± 0.9
	+	1.93 ± 0.2
양파 껍질	-	0.76 ± 0.05
	+	0.69 ± 0.02
육질	-	5.01 ± 0.70
	+	5.56 ± 0.35

Mean±S.D. from 3 determinations.

다. 분리농축된 소재의 lipase 저해효과

RO 및 UF 공정을 거쳐 분리 농축된 소재의 lipase 저해 효과는 IC₅₀이 케일가공 부산물 소재는 1.89 mg/ml, 양파 껍질 소재는 0.55 mg/ml이었다(표 8). 케일가공부산물 소재는 추출물보다 lipase 저해효과가 상승하지 않았으나 양파 껍질 소재는 추출물보다 저해효과가 20% 상승하였다.

표 8. 분리농축된 소재의 lipase 저해효과

시료	IC ₅₀ (mg/ml)
케일가공부산물 소재	1.89 ± 0.11
양파껍질 소재	0.55 ± 0.09

3. 케일가공부산물 및 양파 껍질이 흰쥐의 중성 지방 흡수에 미치는 영향

케일가공부산물(50mg/kg BW) 및 양파 껍질 추출물(50mg/kg BW)을 대두유와 함께 투여하였을 때 대조군에 비하여 투여 후 3시간의 중성지방 흡수는 각각 40%, 42% 저해하였으며, 투여 후 4시간의 중성지방은 38%, 39% 저해하였다. 투여 4시간 동안의 총 중성지방 흡수는 각각 25%, 27% 유의적으로 억제하였다 (표 9).

표 9. 케일가공부산물 및 양파껍질 추출물의 중성지방 흡수에 미치는 영향

(△ Plasma TG, mg/dL)

실험군	투여후1시간	2 시간	3 시간	4 시간	면적
대조군	97.6±47.8	271±70.2	422±108 ^a	422±168 ^a	1001±196 ^a
케일군	99.8±23.7	222±60.6	254±66.6 ^b	260±70.1 ^b	750±108 ^b
양과군	124±21.6	234±77.6	245±75.6 ^b	256±84.7 ^b	731±188 ^b
퀴세틴군	86.3±41.8	246±89.1	224±83.0 ^b	175±106 ^{bc}	643±238 ^b
올리스태트군	72.4±30.6	172±83.4	101±41.2 ^c	30.1±52.6 ^c	360±137 ^c
Significance			p<0.001	p<0.001	p<0.001
Each value represents mean±SEM(n=10). Means with different letters(a,b,c) within a column are significantly different from each other at α =0.05 as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c)					

4. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재의 장기간의 투여가 생쥐 체중 감소에 미치는 영향

가. 케일가공부산물 및 양과 껍질 추출물의 체중조절효과

케일가공부산물 및 양과껍질 추출물의 8주간의 투여는 대조군에 비하여 ICR mice의 체중은 각각 29%, 25% (표 10); 피하지방양은 30%, 34% (표 11); 혈중 중성지방 농도는 19%, 21%; 혈중 콜레스테롤 농도는 15%, 19%; 혈당치는 11%, 17% (표 12); 유의적으로 감소시켰다. 케일가공부산물 및 양과껍질 추출물은 혈장 알부민, alkaline phosphatase, 크레아티닌 농도에는 영향을 주지 않았다(표 13). 간의 중성지방 및 콜레스테롤 농도에는 영향을 주지 않았다(표 14). 흡수되지 않은 지방의 배설이 증가하여 분변 양, 분변 중의 지방 양 등을 증가시켰다(표 15).

표 10. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재의 8주간의 투여가 ICR mice의 체중 및 식이 섭취량에 미치는 영향

실험군	초기 체중 (g)	말기 체중 (g)	체중변화량 (g/wk)	식이섭취량 (g/day)
대조군	22.73±1.28	27.90±2.62	0.69±0.18 ^a	3.35±0.45
케일군	22.55±1.11	26.50±1.88	0.49±0.10 ^b	3.57±0.40
양과군	22.68±1.30	26.94±1.93	0.53±0.15 ^b	3.79±0.56

Each value represents mean±SEM(n=10).
Means with different letters within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

표 11. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재 투여가 ICR mice의 장기무게에 미치는 영향

Groups	Liver (g/100g BW)	Parametrial adipose tissue (g/100g BW)	Fecal dry weight (g/day)
대조군	3.56±0.24	1.99±0.85 ^a	0.26±0.06
케일군	3.45±0.17	1.40±0.51 ^b	0.29±0.09
양과군	3.54±0.27	1.32±0.61 ^b	0.35±0.11

Each value represents mean±SEM(n=10).
Means with different letters within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

표 12. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재 투여가 ICR mice 혈장 중성 지방, 콜레스테롤, 혈당치에 미치는 영향

Groups	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)
대조군	85.32±19.02 ^a	153.43±29.61 ^a	80.65±25.95 ^a
케일군	69.50±6.44 ^b	130.42±20.54 ^b	71.78±10.46 ^b
양과군	67.76±5.43 ^b	124.42±17.48 ^b	67.63±11.67 ^b

Each value represents mean±SEM(n=10).
Means with different letters within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

표 13. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재 투여가 생쥐 혈장 알부민, alkaline phosphatase, 크레아티닌 농도에 미치는 영향

Group	Albumin (g/dL)	Alkaline phosphatase activity (U/L)	Creatinine (mg/dL)
대조군	4.14±0.71	32.38±8.17	0.55±0.10
케일군	4.09±0.22	37.66±9.01	0.59±0.1
양과군	4.28±0.36	38.70±10.53	0.60±0.09

Each value represents mean±SEM(n=10).

표 14. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재 투여가 생쥐 간 중성지방, 콜레스테롤 농도에 미치는 영향

Group	Liver (g/100g BW)	Triglyceride (mg/g)	Cholesterol (mg/g)
대조군	3.56±0.24	23.06±3.72	4.31±0.78
케일군	3.49±0.17	20.11±5.78	4.20±0.50
양과군	3.54±0.27	21.36±7.89	4.23±0.82

Each value represents mean±SEM(n=10).

표 15. 케일가공부산물 및 양과껍질 소재 투여가 생쥐 분변 양, 분변 지방 함량에 미치는 영향

Group	Fecal dry weight (g/day)	Fat intake (g/day)	Fecal fat (g/day)	% of amount ingested	Fat absorption (g/day)
대조군	0.263±0.062 ^b	0.557±0.152	0.011±0.005 ^b	97.44±1.39 ^a	0.546±0.152
케일군	0.334±0.118 ^a	0.466±0.101	0.019±0.007 ^a	95.35±1.47 ^b	0.460±0.106
양과군	0.354±0.108 ^a	0.445±0.181	0.018±0.006 ^a	94.04±2.47 ^b	0.427±0.179

Each value represents mean±SEM(n=10).
Means with different letters within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

나. 케일가공부산물 및 양과 껍질 소재의 체중조절효과

케일가공부산물 및 양과껍질 소재의 8주간의 투여는 ob/ob mice의 체중증가를 대

조군에 비하여 각각 71%, 93% 유의적으로 저해하였다(표 16). 혈장 중성 지방 상승은 각각 13%, 21% 저해하였으며, 콜레스테롤치 상승은 15%, 19% 유의적으로 저해하였다(표 17).

표 16. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재의 8주간의 투여가 ob/ob mice의 체중 및 식이섭취량에 미치는 영향

실험군	초기 체중 (g)	말기 체중 (g)	체중변화량 (g/wk)	식이섭취량 (g/day)
대조군	52.73±3.22	62.90±4.29	1.27±0.11 ^a	5.96±0.60
케일군	52.55±3.10	55.51±3.33	0.37±0.10 ^b	6.01±0.55
양파군	52.68±2.90	53.50±5.05	0.10±0.10 ^b	6.23±0.63

Each value represents mean±SEM(n=10).
Means with different letters within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

표 17. 케일가공부산물 및 양파껍질 소재 투여가 ob/ob mice 혈장 중성 지방, 콜레스테롤, 혈당치에 미치는 영향

Groups	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)
대조군	185.32±17.02 ^a	203.43±21.61 ^a	120.65±14.95 ^a
케일군	152.96±6.24 ^b	172.92±20.04 ^b	115.24±10.36
양파군	146.18±5.23 ^b	164.97±17.18 ^b	109.06±11.57 ^b

Each value represents mean±SEM(n=10).
Means with different letters within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

5. 케일가공부산물 및 양파껍질로부터 체중조절용 소재 제조 공정 확립

1) 양파껍질로부터 체중조절용 소재 제조 공정 확립

가) 분쇄 및 미분쇄에 의한 추출실험

건조 양파껍질을 분쇄공정을 거치지 않고 추출하는 경우와 분쇄를 거친 후 추출하는 경우 추출물에서 quercetin의 농도를 측정한 결과 분쇄의 경우가 0.64 mg/ml, 미분쇄의 경우가 0.27 mg/ml로써 분쇄의 경우가 약 2.4배가 높았다. 양파껍질의 경우 두께가 얇아서 추출시 물질전달에 있어서 저항이 크지 않을 듯하나 추출대상물인 flavonoids가 양파껍질의 세포내에 존재하기 때문에 이의 효율적인 추출을 위해서는 세포조직의 파괴가 필수적임을 시사한다. 따라서 추출 후의 분리공정에서 다소 어려움이 뒤따르더라도 분쇄공정이 필수적이라고 결론지을 수 있었다.

나) 추출용매(ethanol) 농도에 따른 추출 실험

Quercetin을 비롯한 bioflavonoids는 ethanol에는 잘 녹으나 물에는 불용성으로 알려져 있다. 순수 ethanol만으로 추출을 행하는 경우 용매로써의 가격도 비쌌 뿐 아니라 bioflavonoids 이외의 다른 지용성 물질들이 다량 용해될 것이므로 이들을 다음 공정에서 제거하여야 하는 부담이 커지게 된다. 따라서 본 연구에서는 ethanol 농도를 달리하여 이것이 추출에 미치는 효과를 조사하였다. 그 결과 ethanol 농도가 30%, 60%, 90% 일 때 추출물의 quercetin 함량은 각각 63 $\mu\text{g/ml}$, 98 $\mu\text{g/ml}$, 68 $\mu\text{g/ml}$ 이 얻어졌으며 60% ethanol 추출시가 가장 효과적임을 알 수 있었다 (Fig. 3).

다) 용매/추재 비율이 추출에 미치는 영향

용매를 사용하여 고체로부터 목표물질을 추출할 때에는 용매를 가장 적게 사용하

여 원하는 물질을 추출해 내는 것이 다음 공정 즉 용매를 제거하는 공정에 부담을 주지 않게 된다. 또한 적은 양의 용매로 추출하는 것이 고농도의 추출을 할 수 있어 바람직하다. 용매/추재비를 10, 20, 50, 200 으로 각각 달리하여 추출을 행하고 quercetin의 추출에 미치는 효과를 조사한 결과 Figure 4에서 보여 주듯이 용매/추재비가 증가할수록 추출물의 quercetin 농도는 감소하는 전형적인 추출곡선을 나타내었다. 즉 용매/추재비가 10인 의 경우가 quercetin의 양이 가장 높아서 $699\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고 20, 50, 200인 경우는 각각 $298\mu\text{g}/\text{ml}$, $140\mu\text{g}/\text{ml}$, $37\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로써 10인 경우와 비교하여 각각 약 1/2, 1/5 그리고 1/20에 해당하였다. 그러나 추재 1g당 추출된 quercetin의 양을 구하면 용매/추재비가 10, 20, 50, 200 일 때 각각 $6990\mu\text{g}$, $5960\mu\text{g}$, $7000\mu\text{g}$, $7400\mu\text{g}$ 으로 추출량에 있어서 큰 차이를 보이고 있지 않았다 (표 18). 이는 quercetin이 용매 (60% ethanol)에 대한 용해도가 매우 커서 상기의 조건에서는 용출되는데 별 무리가 없으며 용매/추재비가 높을수록 희석되는 결과를 나타내고 있다. 따라서 추출 이후의 공정에서의 제약이 따르지 않는 한 용매/추재비가 낮을수록 농축과정에서의 energy 비용이 적게 들어 유리하다. 그러나 용매/추재비가 10인 경우 추출후 한외여과 공정에서 flux가 현저히 낮았던 까닭에 용매/추재비가 20인 경우가 가장 바람직한 것으로 판단되었다.

표 18. Quercetin concentration in the extract upon equilibrium with various solvent/feed ratios

Solvent/feed ratio	Quercetin concentration ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	Solvent volume* ($\text{m}\ell$)	Amount of quercetin in the extract* (μg)
200	37	200	7400
50	140	50	7000
20	298	20	5960
10	699	10	6990

*Calculated from quercetin concentration based on 1g of feed

한편 본 연구에서 quercetin의 추출속도는 매우 빨라서 약 2시간 정도이면 용매/추재비에 관계없이 실질적인 평형에 도달하고 있으며 약 30분만 경과하여도 평형시의 농도의 약 90% 이상에 해당하는 농도에 도달하였다 (Fig. 4).

추출이 빠르게 진행된 까닭은 추재의 입도가 작아서 (30~100 mesh) 추출된 flavonoid가 고체 표면에서 액체상으로 확산되는데 소요되는 시간이 매우 짧았기 때문인 것으로 사료된다.

라) Microfiltration에 의한 추출물의 전처리

본 연구에서 사용된 양과껍질 분쇄물은 입자가 미세하여 (100 mesh 통과분말) 여과공정을 거치는 경우 여과가 진행됨에 따라 filter cake 형성에 따른 ΔP 의 증가가 심각하기 때문에 원심분리를 통하여 미세 입자를 제거하고 상정액을 따르는 과정에서 혼입되는 미세입자는 trap filter를 통하여 제거하였다. 이러한

방법으로 전처리가 행하여진 추출물 9.1 ℓ에 대하여 300K membrane을 사용하여 MF을 시도한 결과 permeate flux는 초기에 $79.3 \ell/m^2 \cdot hr$ 에서 말기에는 $27.7 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 감소하였다. MF에 총 소요된 시간은 약 2 hr이었으며 약 8.6 ℓ의 permeate가 얻어졌다. 300 kDa membrane에서는 전처리 과정에서 커다란 입자들이 대부분 제거되었기 때문에 membrane fouling이 그다지 크지 않았기 때문인 것으로 사료된다.

마) 한외여과시 최적 TMP의 설정

50K membrane을 사용하여 한외여과를 실시함에 있어서 transmembrane pressure difference (TMP)에 따른 permeate flow rate를 세정이 끝난 membrane과 새로 구입한 membrane에 대하여 측정된 결과 (Fig. 5) 세정 후의 상태가 사용 전과 동일하게 복원되었음을 확인할 수 있었다. TMP 변화에 따른 permeate water flux는 직선적으로 증가하였다. 이는 증류수에 대하여 TMP 변화에 따른 막자체의 고유저항이 일정함을 나타내는 것이다. TMP를 낮게 유지하면서 permeate flux를 최대로 얻는 것이 한외여과 공정의 최적조건이 된다. 이는 membrane fouling이 생기는 관점에서 permeate에 대한 상대적인 fouling을 고려할 때 막오염을 최대한 줄일 수 있게 한다. 막오염과 농도분극은 TMP가 증가할수록 커지게 되고, cross flow rate (CFR)가 커질수록 감소하게 된다. 따라서 가능한 한도 내에서 TMP는 낮게 하고 CFR은 높게 하면서 permeate flux를 최대로 얻는 조건을 찾아야 한다. 이를 위하여 CFR을 일정하게 유지하면서 TMP변화에 따른 permeate flux를 측정하였다. 높은 TMP는 fouling을 증대시키는 효과를 지니고 있으므로 가능한 한 TMP를 낮게 유지하는 가운

데 높은 permeate flux를 보이는 구간이 최적 공정조건이 된다. 본 연구에서는 CFR가 1.0~1.5 ℓ/min 이고 TMP가 10~15 psi일 때가 30KDa membrane을 사용한 한외여과 농축의 최적조건임을 알 수 있었다.(Fig. 6)

바) 한외여과

앞서 ethanol농도에 따른 추출 효율면에서 60% ethanol 용액이 30% 또는 90% ethanol 용액보다 우수한 것으로 밝혀졌다. 그러나 한외여과시에 flux와 fouling 측면에서의 효율성 여부 또한 검토가 되어야 한다. 따라서 ethanol농도를 달리하여 추출하고 MF과정을 거쳐 얻어진 permeate를 30 kDa membrane으로 TMP를 15psi, CFR을 1 ℓ/min 로 하여 UF를 시도하였다 (Fig. 7~9).

30% ethanol 추출액의 경우 permeate flux는 초기에 약 $18.7 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 에서 2배 농축(CF=2) 되는 동안 $9.3 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 로 약 절반 감소하였으며 그 이후에도 감소를 나타내어 CF=7 일 때 $1.3 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 를 나타내었다. 한편 UF가 진행됨에 따라 quercetin의 함량은 retentate의 경우 초기의 $92 \mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 CF=7 일 때 $193 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 약 2.1배 증가하였으며 permeate의 경우는 초기의 농도와 큰 변화가 없었다.

이에 반대에 60% ethanol 추출액의 경우 permeate flux는 초기의 $29.4 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 에서 2배 농축되는 동안 $9.3 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 로 급격히 감소하였으며 이후 완만한 감소를 나타내었다 (Fig. 8). Quercetin의 함량은 초기의 $444 \mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 CF=7일 때 retentate와 permeate는 $614 \mu\text{g}/\text{ml}$ 와 $569 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 각각 1.4배 및 1.3배 증가하였다.

또한 95% ethanol 추출액의 경우 permeate flux는 초기의 $6.5 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 에서 2배

농축되는 동안 $3.2 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 반감하였으며 이후로 완만히 감소하였다 (Fig. 9). Quercetin의 함량은 초기의 $308 \mu g/ml$ 에서 CF=6일 때 retentate와 permeate는 $448 \mu g/ml$ 와 $430 \mu g/ml$ 로 각각 1.5배 및 1.4배 증가하였다.

이상의 결과를 종합하여 보면 한외여과시의 permeate flux에서의 변화는 농도분극층의 형성으로 인하여 일어난 flux의 급격한 감소와 fouling에 의한 완만한 감소로 대별될 수 있음을 알 수 있다. 초기 flux의 경우 60% ethanol 추출액이 $29.4 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 가장 높았고 30% ethanol 추출액 ($18.7 \ell/m^2 \cdot hr$) 그리고 95% ethanol 추출액 ($6.5 \ell/m^2 \cdot hr$)의 순이었다. 또한 flux가 완만히 감소하는 구간인 CF=3에서 CF=6까지의 평균 flux를 비교하여 볼 때 60% 추출액의 경우가 $8.3 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 가장 높고 30% 추출액과 95% 추출액은 모두 $2.4 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 60% 추출액의 경우보다 훨씬 낮았다. 따라서 60% ethanol에 의한 추출이 추출액에서의 quercetin의 농도에서 뿐만 아니라 UF시의 permeate flux 측면에서도 단연 뛰어남을 알 수 있었다. 본 연구에 사용된 membrane의 pore size (30,000 Da)와 flavonoid의 분자량 (<1,000 Da)과 비교하여 볼 때 permeate와 retentate의 경우 초기와 UF가 끝난 후 모두 동일한 flavonoid 농도를 보일 것으로 기대 되었으나 본 연구에서는 예상외로 증가함을 보였다. 이는 아마도 quercetin의 일부가 30 kDa보다 분자량이 더 큰 거대분자에 흡착되어 있기 때문 아닌가 여겨진다.

사) Reverse Osmosis

RO를 수행함에 있어서 pump가 고압에서 작동하는 까닭에 시료의 온도가 상승하

게 되며 온도상승에 따른 시료의 점도변화는 flux에 영향을 미치게 된다. 따라서 본 연구에서는 항온수조를 사용하여 feed tank의 온도를 일정하게 유지하였으며 pumping 후 membrane을 통과하기 이전에 열교환기를 설치하여 온도가 상승하는 것을 억제하였다. 한편 일정온도에서 TMP에 따른 permeate flux를 측정한 결과는 Fig. 10과 같았다. 압력이 증가함에 따라 각 온도에 있어서 permeate flux는 직선적으로 증가하였다. 또한 일정 압력하에서 온도가 증가함에 따라 flux도 증가하였다. 이는 온도가 증가함에 따라 시료의 점도가 감소하여 membrane 통과시의 저항이 감소하였기 때문인 것으로 추정되었다.

본 연구에서 사용한 RO system의 경우 최대 작동가능한 압력이 약 600 psi 이었던 까닭에 그 이상의 압력에 의한 효과는 측정할 수 없었다. 따라서 60% ethanol 추출물을 UF 처리한 permeate (quercetin 함량 $515 \mu\text{g/ml}$) 7ℓ를 사용하여 최대 작동가능 압력보다 조금 낮은 압력인 500 psi, 온도 35℃에서 RO를 실시하였다 (Fig. 11). 그 결과 permeate의 flux는 초기에 $23 \text{ l/m}^2 \cdot \text{hr}$ 에서 concentration factor (CF)가 3으로 증가함에 따라 $16.6 \text{ l/m}^2 \cdot \text{hr}$ 로 감소하였으며 permeate의 quercetin 함량은 CF가 1, 2, 3일 때 각각 $1.2 \mu\text{g/ml}$, $2.0 \mu\text{g/ml}$, $31.9 \mu\text{g/ml}$ 이었다. RO에 사용된 시료의 quercetin함량이 $515 \mu\text{g/ml}$ 이었음을 감안하면 permeate로 빠져나가는 quercetin의 양은 무시할 수 있을 정도로 작은 것임을 알 수 있었다. 한편 retentate의 경우 초기의 quercetin의 함량이 $523 \mu\text{g/ml}$ 에서 CF가 2, 3으로 증가함에 따라 $1037 \mu\text{g/ml}$, $2400 \mu\text{g/ml}$ 로 각각 1.98배, 4.59배 증가하였다.

즉 농축이 진행됨에 따라 예정된 농축배수보다도 더욱 농축된 결과로 나타났는데 이는 ethanol의 증발에 의한 농축이 아울러 진행되었기 때문인 것으로 사료된다.

아) 건조

Reverse osmosis를 통하여 농축된 시료 용액은 ethanol의 농도가 각각 30%, 60% 이므로 이를 건조하기 위하여 감압농축기에서 ethanol을 증발시켰다. Ethanol을 완전히 증발시키게 되면 flavonoids의 용해도가 저하되어 석출되게 된다. 따라서 본 연구에서는 ethanol을 완전히 증발시키고 여과하여 석출된 flavonoids를 분리하여 소량의 ethanol에 용해시킨 후 vacuum drying을 하였으며 여과액은 동결건조를 행하였다 (Fig. 12). 또 이와는 별도로 ethanol 용액을 완전히 증발시키지 않고 약 10% 정도의 농도를 유지하게 한 후 spray drying을 실시하여 얻어진 분말을 분석하였다.

표 20은 양과분말 500g을 추출하였을 때 최종적으로 얻어진 분말의 농도와 수율을 나타내고 있다. 여기서 수율은 편의상 reverse osmosis를 마친 상태에서의 농축용액에 존재하는 quercetin의 총량(4.14g) 대비로 하였다. 각 건조공정 별로 얻어진 건조 분말에서 quercetin이 차지하는 함량은 vacuum drying, spray drying, freeze drying의 순으로 많았다. Vacuum drying의 경우는 ethanol을 증발시키면서 flavonoids가 석출되기 때문에 수용성 물질들이 자연스럽게 제거되어서 분말에 이행되는 양이 적기 때문에 flavonoids가 농축될 수 있어서 가장 높은 함량을 나타내었다.

표 19. Quercetin concentration of the dried powder and the yields obtained

from various drying methods

Drying Method	Quercetin Concentration (mg/g powder)		Dried Amount(g)		Yield	
	30%	60%	30%	60%	30%	60%
	ethanol	ethanol	ethanol	ethanol	ethanol	ethanol
	Vacuum	96.3	139.4	2.16	21	21.9
Freeze	15.1	45.5	21.2	8.3	33.7	9.2
Spray	31.9	72.6	3.4	7.7	11.6	13.6

반면에 동결건조의 경우는 주로 수용성 물질들이 남아 있는 수용액을 동결시켜 건조하였기 때문에 농도가 가장 낮았다. Spray drying의 경우는 최종 alcohol 농도를 약 10% 정도로 하여 건조하였기 때문에 alcohol에 용해되는 flavonoids 뿐만 아니라 기타 수용성 물질들도 함께 혼입되어 있어서 농도는 freeze drying 보다는 높고 vacuum drying 보다는 낮은 31.9 mg/g powder를 나타내었다.

공정면으로 보면 spray drying이 가장 간편하여 좋으나 vacuum drying보다 건조된 제품의 순도가 떨어지는 단점이 있다. 한편 vacuum drying의 경우는 alcohol을 모두 증발시키는 과정에서 flavonoid가 석출되고 evaporator 내에서 단단하게 벽면에 결합되어 긁어내기가 쉽지 않았다. 따라서 남아있는 수용액을 모두 여과하고 벽에 붙어 있는 석출물을 소량의 alcohol을 가하여 용해하고 다시 증발시켜 재결정하는 다소 복잡한 공정을 거치게 되는 단점을 지니고 있다. 이러한 현상은 30% ethanol 또는 60% ethanol 추출물의 경우 모두 공통적으로 나타났으며 60% ethanol로 추출하여 얻어진 건조물의 경우가 30% 추출물에 의한 건조물보다 순도가 높았다.

한편 spray drying의 경우 소량을 건조함으로 인하여 cyclone의 벽면에 붙거나 열풍에 entrain되어 손실되는 양이 상당량에 이르는 까닭에 회수된 분말의 양이 작았고 따라서 수율은 vacuum drying에 비하여 현저히 낮았다. 그러나 spray drying의 경우 수율은 대량생산 시 급격히 제고될 수 있으리라 사료된다.

2) 케일가공부산물로부터 체중조절용 소재 제조 공정 확립

가) 케일가공부산물로부터 flavonoid 추출

케일가공부산물에서 flavonoid의 추출은 용매/추재비를 양파에서의 경우와 동일하게 20으로 하여 행하였다. 60% ethanol을 사용하여 얻어진 추출물을 분석한 결과 kaempferol, isorhamnetin-3-glucoside, myricetin이 얻어졌고 그 함량은 각각 77.5 μ g/ml, 6.9 μ g/ml, 2.9 μ g/ml로 kaempferol 함량이 가장 높았다. 이 추출물에 대하여 양파 껍질의 경우와 동일하게 원심분리와 trap filter로 여과하여 전처리를 행한 후 UF를 사용하여 한외여과를 실시하였다 (표 20).

한외여과가 진행됨에 따라 concentration factor가 1에서 2, 4, 8로 증가함에 따라 permeate flux는 37.3 $l/m^2 \cdot hr$ 에서 25.3 $l/m^2 \cdot hr$, 18.7 $l/m^2 \cdot hr$, 17.3 $l/m^2 \cdot hr$ 으로 각각 감소하였다. 이는 농축이 진행됨에 따라 한외여과막에 fouling이 발생하였기 때문으로 생각되어진다. 한편 peltatoside의 농도는 동일한 concentration factor에서 retentate가 permeate보다 높았으나 한외여과에 사용된 원액의 농도 (77.5 μ g/ml)와 대등함을 보였다. 이는 kaempferol의 분자량이 한외여과막의 분획분자량 (50K) 보다

훨씬 작기 때문이다.

본 한외여과 공정의 concentration factor가 8까지 진행되는 동안 TMP는 10psi, CF는 1 ℓ/min로 유지되었으며 permeate flux는 37.3 ℓ/m² · hr에서 시작하여 17.3 ℓ/m² · hr까지 감소하였다. 이는 양과깍질의 경우 동일조건하에서 초기 flux가 약 5 ℓ/m² · hr에 불과하였던 것에 비하면 매우 양호하다고 할 수 있다.

표 20. Changes of the permeate flux and kaempferol concentration during ultrafiltration of kale extract

Concentration factor	Flux (ℓ /m ² · hr)	Kaempferol concentration (μg/ml)	
		Permeate	Retentate
1	37.3	66.5	73.8
2	25.3	72.1	75.9
4	18.7	75.1	78.3
8	17.3	76.9	81.2

나) Ultrafiltration

케일가공부산물의 경우 전처리과정을 거친 8.8 ℓ의 추출액을 300kDa membrane으로 MF를 하였을 때 permeate flux는 초기에 42.6 ℓ/m² · hr에서 말기에는 21.9 ℓ/m² · hr로 감소하였다. MF에 총 소요된 시간은 약 1.5 hr 이었으며 약 8 ℓ의 permeate가

얻어졌다. 300 kDa membrane에서는 전처리 과정에서 커다란 입자들이 대부분 제거되었기 때문에 membrane fouling이 그다지 크지 않았기 때문인 것으로 사료된다.

한편 여기서 얻어진 permeate를 30 kDa membrane으로 UF를 시도한 결과는 Fig. 13과 같았다. Permeate flux는 초기에 약 $22.6 \ell/m^2 \cdot hr$ 에서 2배 농축(CF=2) 되는 동안 $16.8 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 감소하였으며 CF=8 일 때 $12.2 \ell/m^2 \cdot hr$ 를 나타내어 flux는 양파의 경우보다 양호하였으나, UF가 진행됨에 따라 flavonoid의 함량은 retentate의 경우 kaempferol과 isorhmnetin-3-glucoside이 초기에 각각 $0.901 \mu g/ml$ 과 $0.226 \mu g/ml$ 에서 CF=8 일 때 $1.552 \mu g/ml$ 와 $0.417 \mu g/ml$ 로 약 1.7배, 1.85배 증가하였으며 permeate의 경우 농도에 있어서 큰 변화를 보이지 않았다.

다) Reverse Osmosis

30 kDa membrane을 사용한 UF공정결과 얻어진 permeate (kaempferol 함량 $0.908 \mu g/ml$, Isorhmnetin-3-glucoside 함량 $0.501 \mu g/ml$) 7 ℓ 를 사용하여 RO를 실시하였다 (Fig. 14). 그 결과 permeate의 flux는 초기에 $17 \ell/m^2 \cdot hr$ 에서 concentration factor (CF)가 3으로 증가함에 따라 $11 \ell/m^2 \cdot hr$ 로 감소하였으며 permeate의 kaempferol과 isorhmnetin-3-glucoside의 함량은 CF가 3일 때 각각 $0.04 \mu g/ml$ 와 $0.052 \mu g/ml$ 으로 permeate로 빠져나가는 flavonoids의 양은 무시할 수 있을 정도로 작은 것임을 알 수 있었다. 한편 retentate의 경우 초기의 flavonoid의 함량이 CF가 3으로 증가함에 따라 각각 3.5배, 4.36배 증가하였다.

3) Pilot plant 실험

본 연구에서 얻어진 결과를 산업화함에 있어서 공정면에서 적용하기 어려운 공정의 대체공정의 확립과 대량 생산 시에 혹 야기될 수 있는 기술적인 측면에서의 문제점의 해결을 위하여 100ℓ 규모의 추출을 행하고 이후의 분리·농축 공정을 수행하였다 (Fig. 15). 실험실적 방법으로는 추출 후 여과→원심분리→trap filter의 3단계 공정이 적용되었으나 연속식 원심분리기(S-6, 國産精工, 日本)로 10,000rpm에서 깨끗하게 분리함으로써 공정을 단순화 할 수 있었다 (Fig. 15). 이후 MF 공정에서는 별 어려움이 없었으나 UF 공정에서는 30 KDa membrane으로는 permeate flux가 너무 낮아서 (<2ℓ/hr) 100 KDa membrane으로 공정을 수행하였으며 이때 65ℓ를 처리하는데 소요된 시간은 약 10min 정도이었다. 이후 RO 공정에서의 permeate flux는 18ℓ/m²·hr로 통상적으로 산업화에 적용되고 있는 RO공정에서의 flux (30ℓ/m²·hr)와 거의 대등한 값을 나타내었다. 본 실험에 있어서 추출 및 막분리공정이 상온에서 이루어졌음을 감안하여 볼 때 필요에 따라서는 약간의 가열을 통하여 flux의 증대를 꾀할 수 있을 것으로 사료된다 (Fig. 10).

감압농축은 centrifugal thin film evaporator (Okawara, Japan)에 의하여 40℃에서 0.1mm의 박막을 형성하여 이루어졌으며 약 40분이 소요되었다. 농축 후의 총량은 약 2.5ℓ로써 분무건조할 양이 많지 않은 관계로 소형 spray drier를 사용하여 건조하였다.

분무건조 후의 분말은 L=63.2, a=3.07, b=9.69 의 갈색으로써 10% ethanol 용액에

즉각 용해되었으며 물에서도 쉽게 분산되었다. 분말이 가지는 quercetin 함량은 66.4mg/g으로써 양파껍질에 존재하는 quercetin 함량인 1.2mg/g보다 약 55.3배 높았다. 또한 membrane filtration을 통하여 그 순도가 거의 2배 정도 증가되었음을 알 수 있었다 (표 21).

표 21. Summary of quercetin extraction from dried onion skin and subsequent concentration in pilot plant scale

Unit operation	Quercetin concentration	Total mass or volume	Quercetin content (g)	Yield (%)
Grinding	1.2 mg/g	5000 g	60.0	100
Extraction	205.6 mg/l	100 l	20.5	34.3
Centrifugation	248.3 mg/l	70 l	17.4	29.0
MF	253.3 mg/l	67 l	17.0	28.3
UF	263.8 mg/l	62 l	16.4	27.3
RO+Evaporation	3621 mg/l	2.5 l	9.1	15.1
Drying	66.4 mg/g	120 g	8.0	13.3

한편 분쇄된 양파 분말에 존재하는 quercetin을 기준으로 한 최종제품의 수율은 13.3%로 그리 높지 않았다. 이는 양파 분말을 ethanol로 단지 1회 추출을 하였기 때문으로 용매를 나누어서 여러 회에 걸쳐서 추출하면 수율의 대폭적인 증대를 꾀할 수 있다고 사료된다.

4) 소시지 제조

본 연구에서는 quercetin의 비만억제 효과를 이용한 기능성 식품의 제조를 시도하

였다. Quercetin이 flavonoid로서 황색을 띠고 있기 때문에 고지방함유 식품 중 적황색을 띠고 있는 소시지에 적용을 검토하였다.

소시지는 표 22의 배합비에 따라 다음과 같이 nitrite, erythorbic acid 그리고 quercetin을 추가로 첨가하여 제조하였다 (표 22).

표 22. Percentage of additives used in sausage manufacture

Sausage	Added amount in sausage (%)		
	nitrite	erythorbic acid	quercetin
A	0.01	0.02	0
B	0.01	0	0.002
C	0.01	0	0.004
D	0	0	0.004

본 연구에서 최종적으로 제조된 quercetin 분말의 경우 그 순도가 약 6.6%이었으므로 이를 감안하여 소시지 제조시 순수한 quercetin 첨가량이 B의 경우 0.002%, C와 D의 경우 0.004%가 되도록 제조하였다.

전통적인 훈연소시지로서 시중에서 유통되고 있는 배합비(A)와 여기에서 항산화제로 사용되고 있는 erythorbic acid 대신에 quercetin을 첨가한 배합비(B,C)와 nitrite와 erythorbic acid 대신에 quercetin을 첨가한 배합비(D)의 4가지 형태로 제조하였을 때 (Table 6) 제조 후의 색상은 Fig.16과 같았다. 즉 대조구(A)의 붉은 선홍색은 quercetin의 첨가량이 증가될수록 황색이 가미되어 붉은 색이 조금씩 퇴조됨을 보였

다.

색차계로 측정된 결과 명도의 경우 대조구(A)가 가장 높았고 quercetin 첨가군(B, C, D)간에는 5% 유의수준에서 유의성이 인정되었으며 B, C, D간에는 유의성이 없었다 (표 23).

훈연소시지의 색상에 가장 큰 영향을 끼치는 적색도(a)에 있어서 A, B, C, D로 갈수록 그 값이 감소하였으며 서로간에 모두 5% 수준에서 유의성이 있는 것으로 나타났다. 또한 황색도(b)는 B가 가장 낮았고 A, C, D 간에는 서로 유의성이 인정되지 않았다.

한편 대조구를 기준으로 하는 평균 색상의 변화(ΔE)는 B, C, D로 갈수록 4.72, 5.03, 5.77로 증가함을 보였다.

표 23. Color of sausages manufactured with various recipes

sausage	Hunter Color			ΔE
	L	a	b	
A	61.15 ^a ±0.31 ¹⁾	18.81 ^a ±0.29	35.47 ^a ±0.43	0
B	57.31 ^b ±0.48	16.39 ^b ±0.42	34.18 ^b ±0.42	4.72
C	57.00 ^b ±0.20	15.98 ^c ±0.10	35.72 ^a ±0.18	5.03
D	57.66 ^b ±0.88	14.23 ^d ±0.82	35.78 ^a ±0.28	5.77

¹⁾mean±standard error

가) 관능검사

4종류의 소시지에 대하여 소시지로서 선호하는 색과 코로 맡았을 때의 냄새에 대

하여 관능검사를 실시하고 난괴법으로 분석한 결과 5% 수준에서 유의성이 발견되지 않았다. 그러나 끓는 물에서 5분간 익힌 소시지에 대하여 색깔, 저작시의 조직감과 향에 대하여 관능검사를 실시한 결과 조직감과 향기에 있어서는 5% 수준에서 유의성이 없었으나 선호하는 색깔에 있어서는 1% 유의수준에서 유의성이 인정되었다 (표 24).

Duncan의 다중비교결과 B의 경우는 대조구(A)와 비교하여 5% 유의수준에서도 유의성이 발견되지 않았다. 색상의 경우에 있어서 색차계에서 뚜렷한 차이를 보였음에도 불구하고 관능검사 결과 선호도에 있어서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 대조구와 비교하여 1% 유의수준에서 유의성이 인정된 C, D의 경우와 대조적이다. 따라서 관능적인 측면을 고려할 때 quercetin의 첨가량은 순도 100%를 기준으로 하여 0.002%이하로 첨가하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다.

표 24. Sensory analysis of sausages

Sausage	Raw			Cooked	
	Color	Flavor	Texture	Flavor	Color
A	4.17±0.19 ¹⁾	4.22±0.22	4.50±0.24	4.11±0.26	4.72 ^a ±0.15
B	4.56±0.23	3.83±0.36	4.22±0.23	4.06±0.38	4.50 ^{ab} ±0.17
C	3.89±0.42	4.33±0.28	4.39±0.23	4.28±0.28	3.72 ^{bc} ±0.30
D	3.83±0.41	4.33±0.17	4.22±0.36	4.06±0.27	3.17 ^c ±0.44

¹⁾mean±standard error

나) TBA 값

Quercetin은 lipase 저해작용 이외에도 항산화효과가 있는 것으로 알려져 있다. 따

라서 소시지에서 항산화제로 사용되고 있는 erythorbic acid의 사용량에 (0.02%) 준하여 erythorbic acid를 대체하여 white 소시지를 제조한 후 4℃에서 저장 중의 산화정도를 TBA 값으로 측정하였다 (표 25).

시료의 특성상 미생물 증식 등으로 오랜 저장이 어려워 비록 저장기간을 오래두고 관찰하기는 어려웠으나 1주일간의 저장 중에 TBA 값에 있어서는 그다지 큰 변화가 없었으며 두 시료간에 5% 수준에서 차이가 없는 것으로 나타났다.

표 25. Change of TBA values during storage of white sausage

Storage time (day)	TBA Value	
	Control	Quercetin added
1	0.263±0.008 ¹⁾	0.252±0.013
3	0.265±0.003	0.289±0.003
5	0.239±0.003	0.289±0.003
7	0.260±0.005	0.270±0.010

¹⁾ mean±standard error

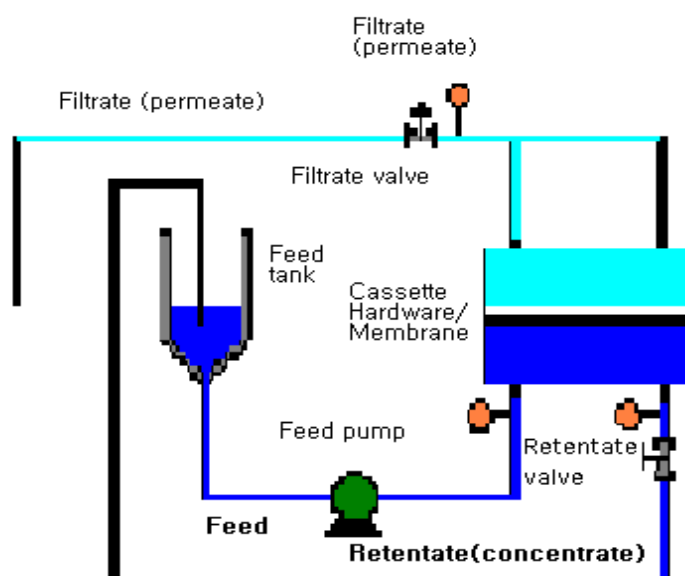


Figure 1. Flow diagram of ultrafiltration system

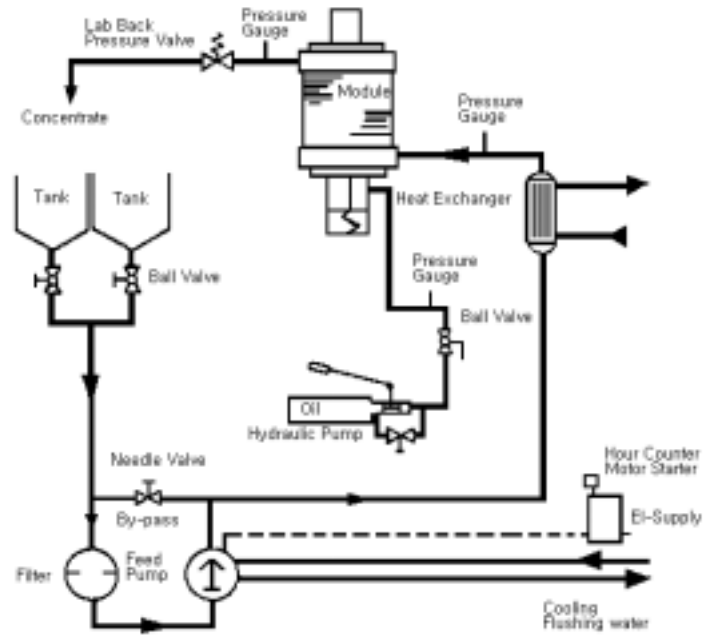


Figure 2. Flow diagram of reverse osmosis system

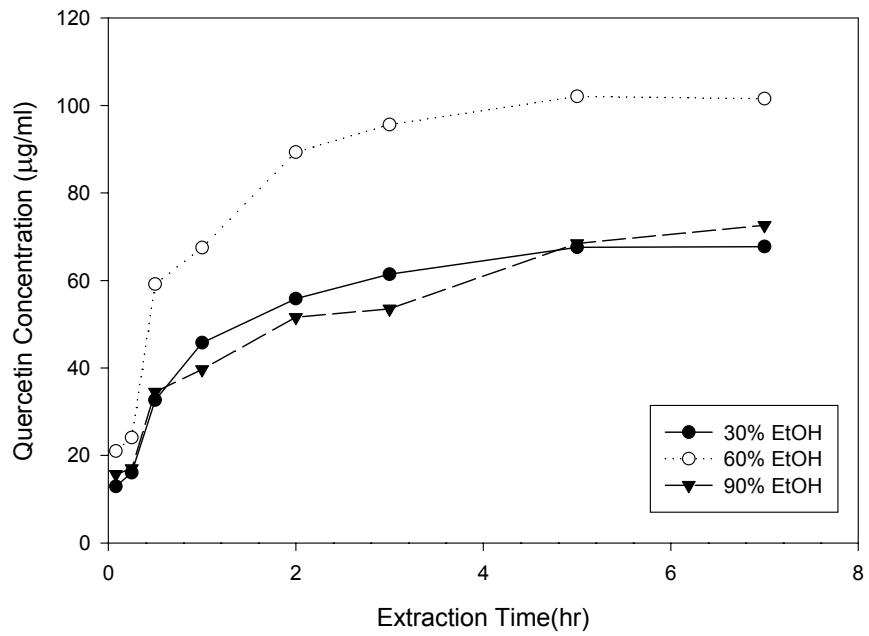


Figure 3. Quercetin concentration of the extract with extraction time as a function of ethanol concentration

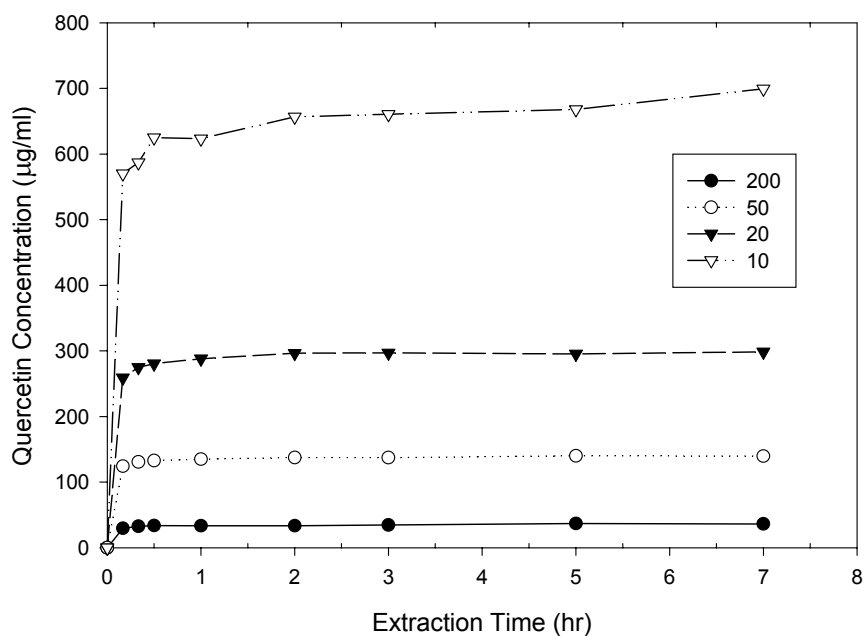


Figure 4. Effect of solvent/feed ratio on quercetin concentration of the extract obtained from onion skin

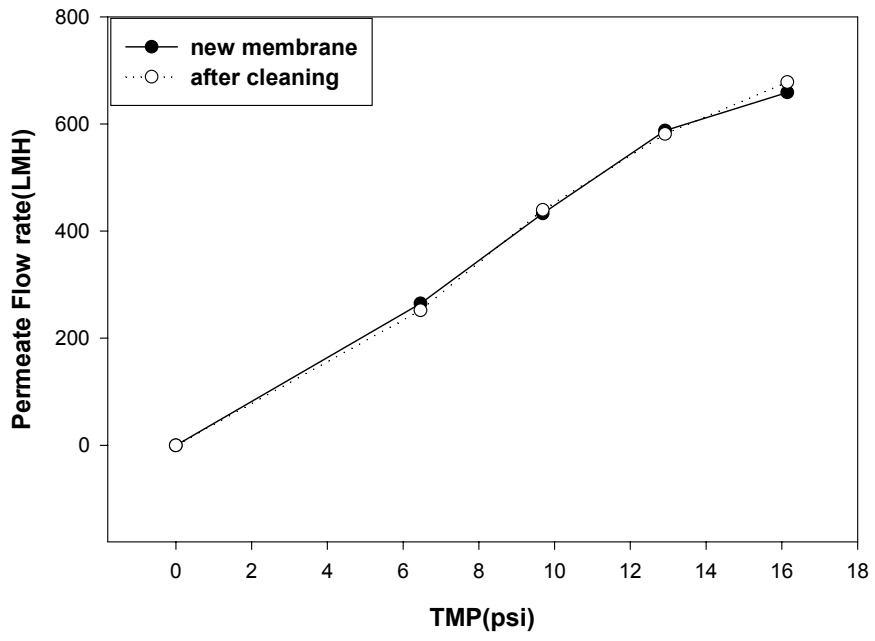


Figure 5. Recovery test of cleaned membrane based on permeate water flow rate

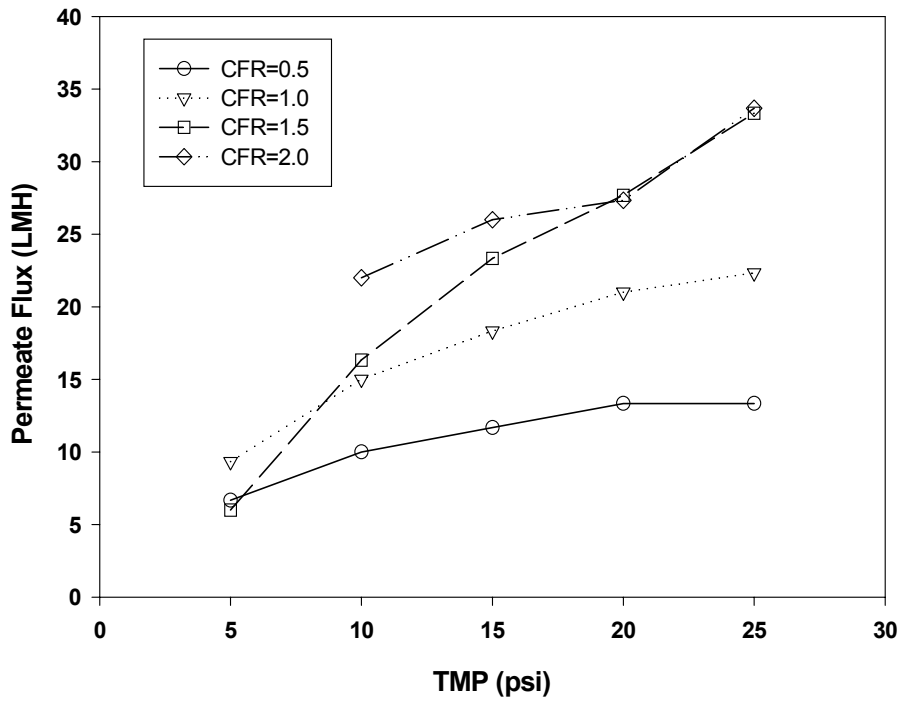


Figure 6. Permeate flux with TMP as a function of retentate flow rate during ultrafiltration

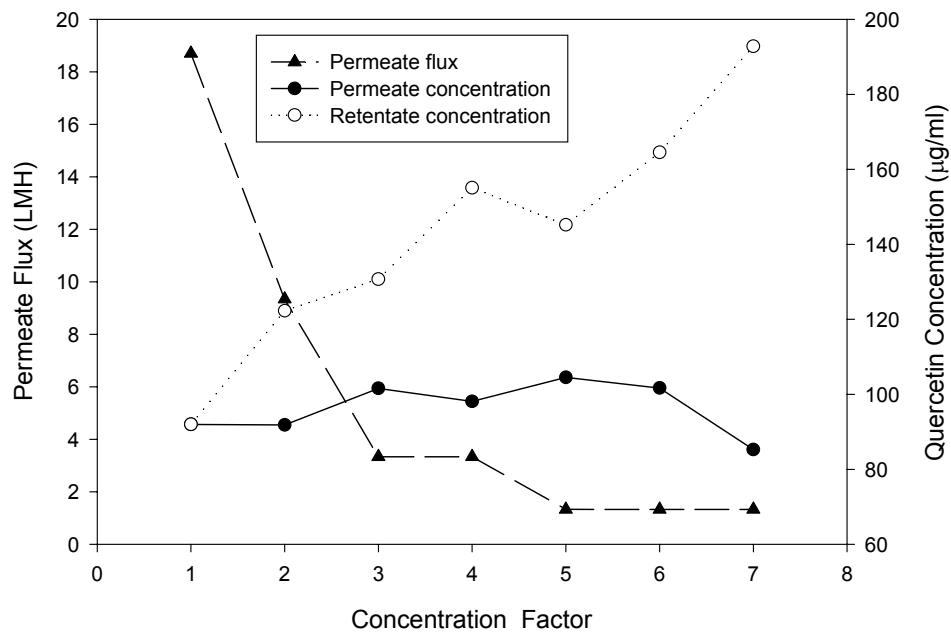


Figure 7. Permeate flux and change of quercetin concentration in 30% ethanol extract during ultrafiltration with 30 KDa membrane

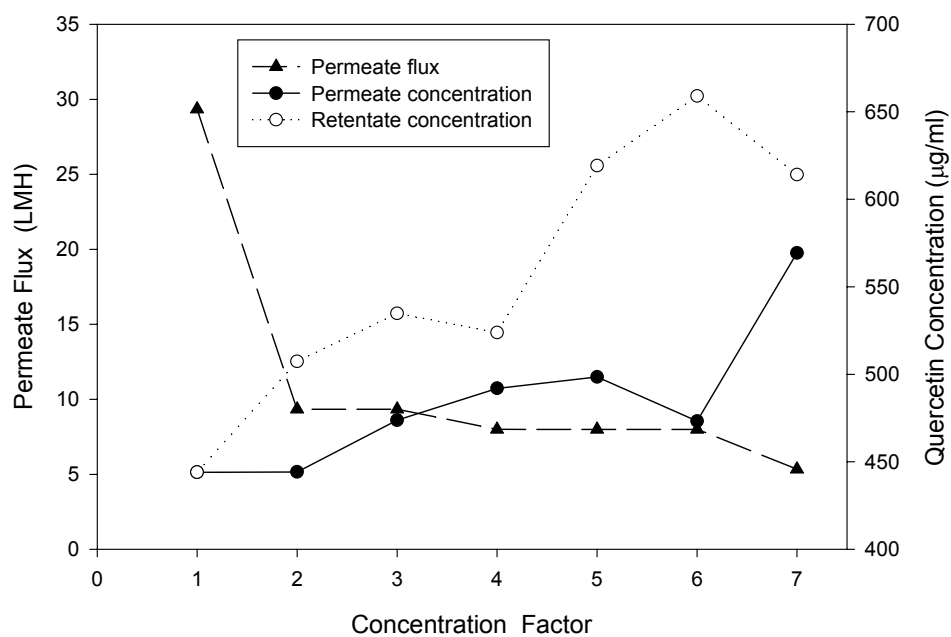


Figure 8. Permeate flux and change of quercetin concentration in 60% ethanol extract during ultrafiltration with 30 KDa membrane

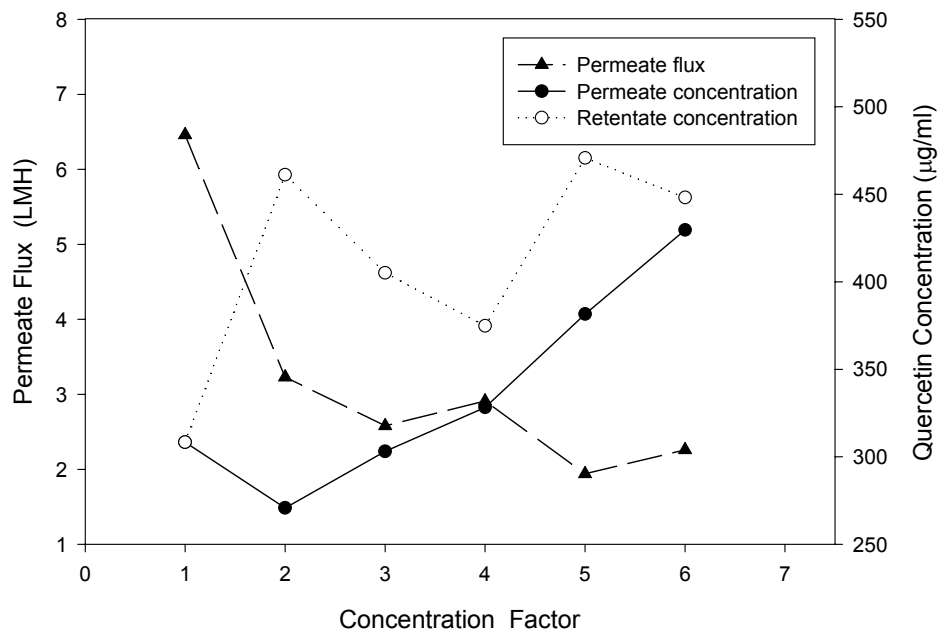


Figure 9. Permeate flux and change of quercetin concentration in 95% ethanol extract during ultrafiltration with 30 KDa membrane

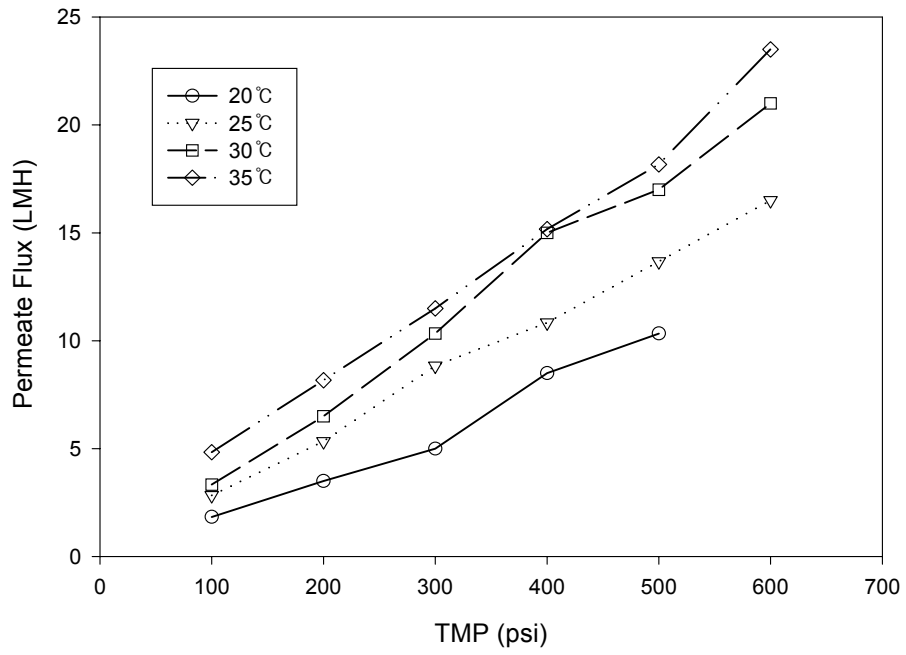


Figure 10. Permeate flux with TMP as a function of retentate flow rate during reverse osmosis

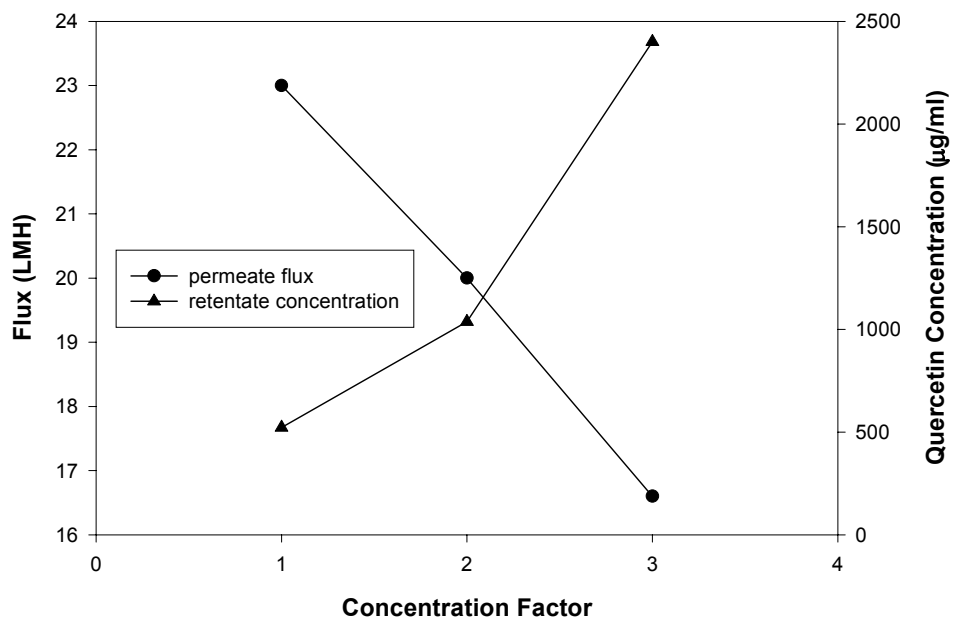


Figure 11. Permeate flux and change of quercetin concentration in retentate during reverse osmosis

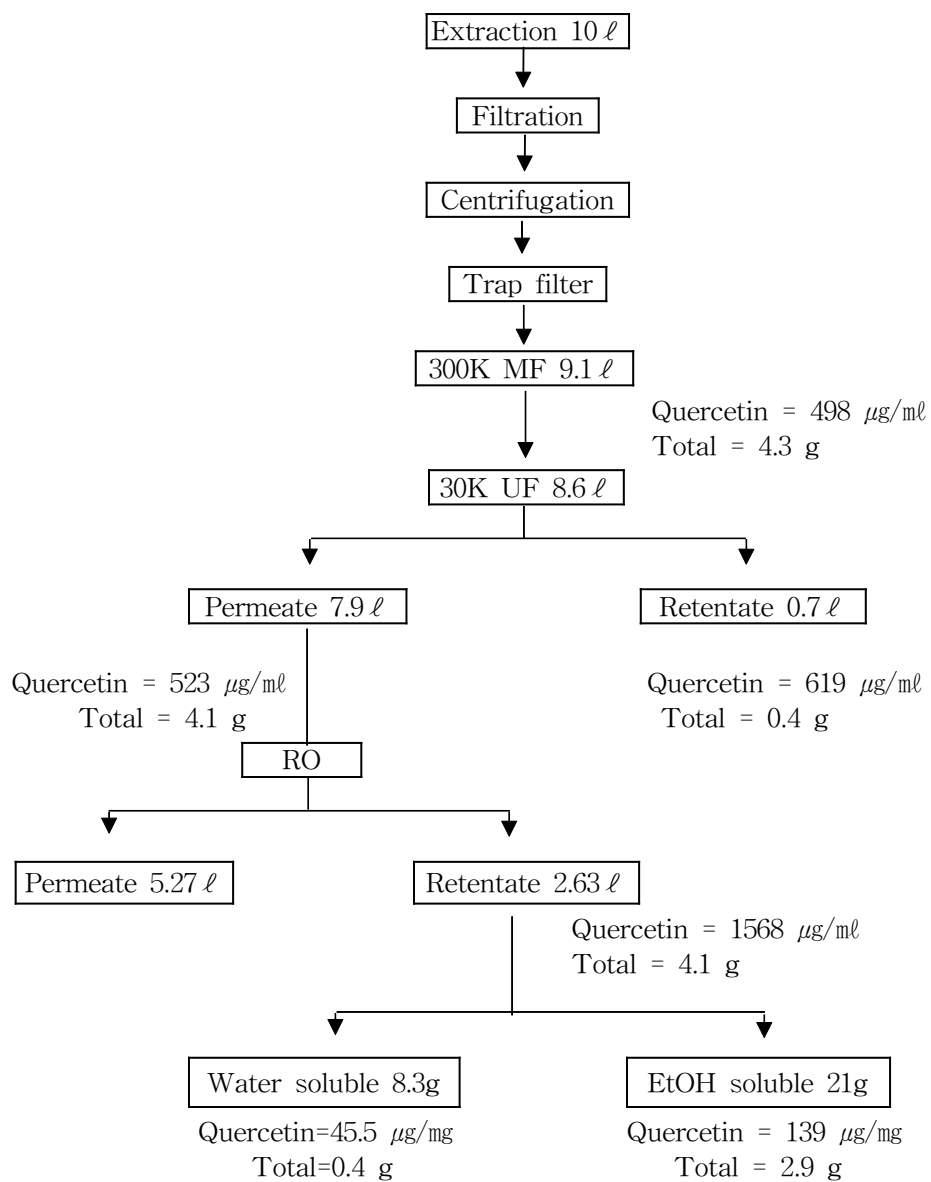


Figure 12. Schematic diagram of quercetin purification procedure from onion skin powder using 60% ethanol as a solvent.

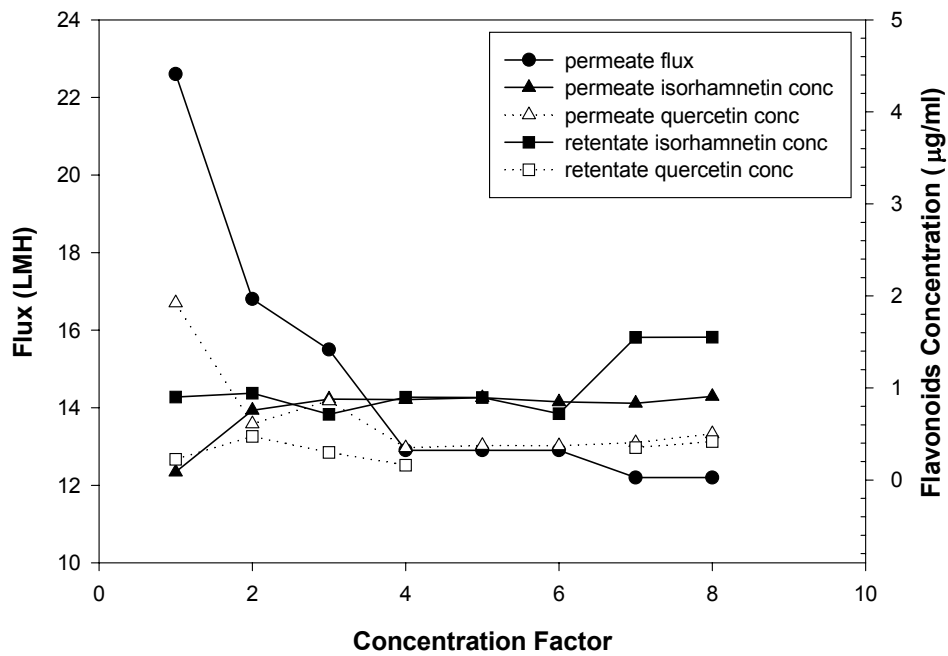


Figure 13. Permeate flux and change of flavonoids concentration during ultrafiltration of kale extract

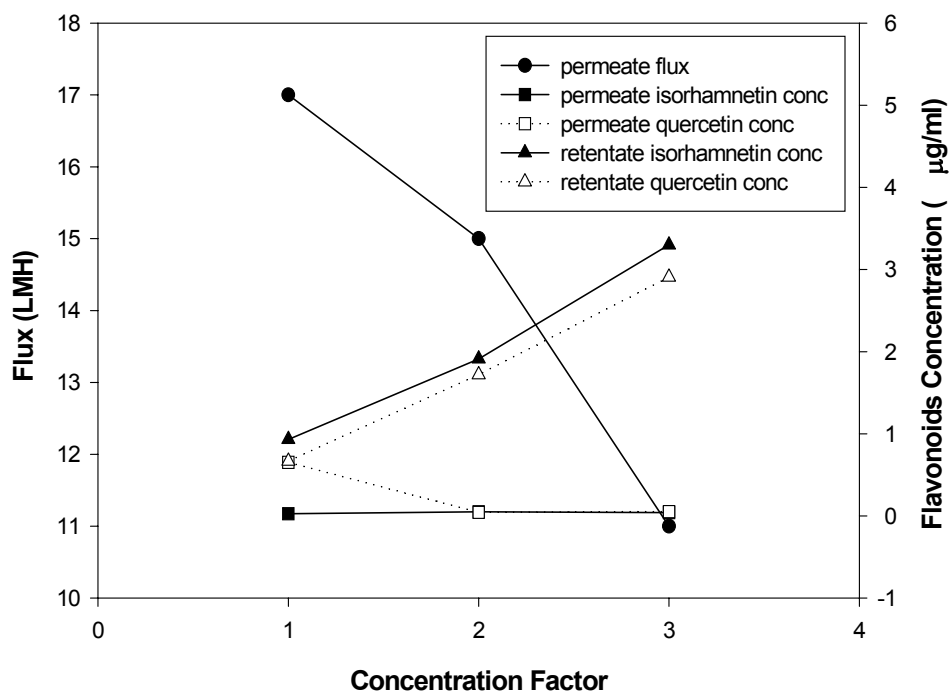


Figure 14. Permeate flux and change of flavonoids concentration in retentate during reverse osmosis of kale extract

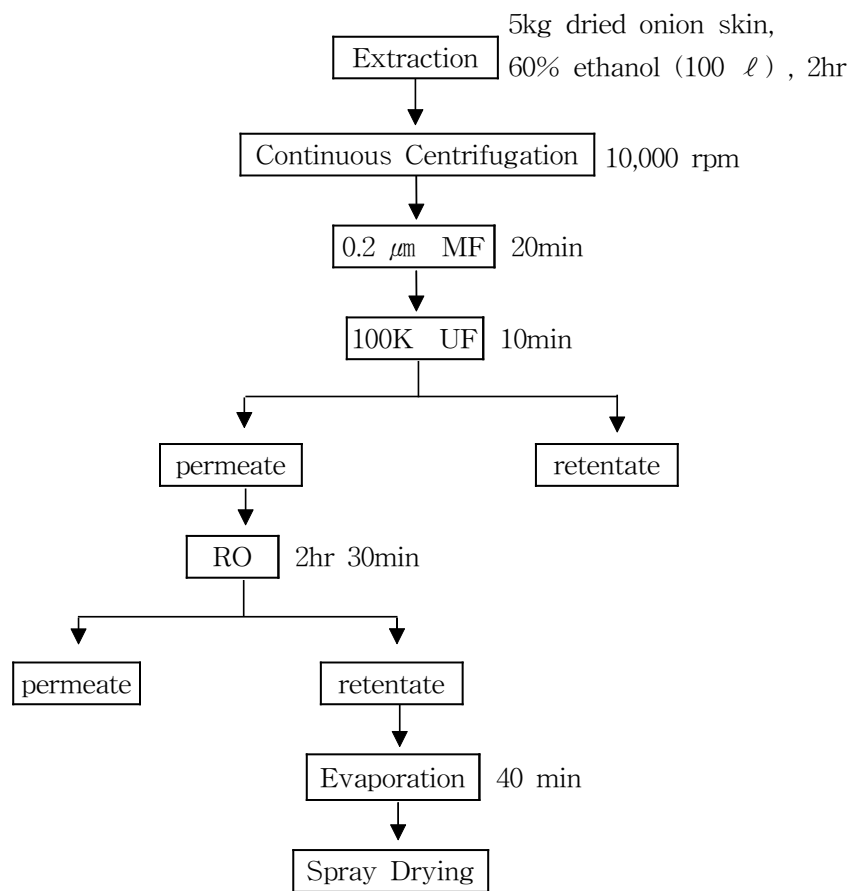


Figure 15. Schematic diagram of quercetin extraction from dried onion skin and subsequent concentration in pilot plant scale

제 4 장 목표달성도 및 관련 분야에의 기여도

제 1절 연도별 연구목표 및 평가 착안점에 입각한 연구 개발 목표의 달성도

1. 제 1차년도

가. 케일 가공 부산물 및 양파 껍질의 flavonoids 함량 분석

케일에는 quercetin이 aglycone의 형태로 3.22mg/100g, glycosides의 형태로 12.98mg/100g 함유되었으며 주요한 glycosides는 arabinoglucoside(peltatoside)이었다. 케일을 착즙하면 flavonoids는 즙보다는 잔사에 주로 남았다. 케일에는 kaempferol, myricetin, morin, apigenin 등이 주로 glycosides로 함유되었으며, kaempferol이 aglycone으로 2.23mg/100g, glycosides로 3.07mg/100g 함유되었다. 양파 껍질에는 quercetin이 aglycone의 형태로 1012mg/100g, glycosides의 형태로 477mg/100g 함유되어 총 quercetin 함량의 68.0%가 aglycone으로 존재하였다. 양파 껍질 quercetin glycosides의 주요 형태는 rhamnoside (quercitrin)로 총glycosides의 68%를 차지하였음을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

나. 케일가공부산물 및 양파 껍질의 lipase 저해효과 검증

케일 및 양파의 60% methanol 추출물의 lipase 저해효과를 검증한 결과 양파 껍질 추출물의 IC₅₀이 0.76mg/ml로서 가장 효과가 높았다. 이는 양파껍질의 높은 quercetin 함량(1489mg/100g)에 기인하는 것으로 판단되며 양파껍질의 quercetin은 주로 aglycone으로 존재하기 때문에 가수분해 후에도 저해활성은 크게 증가하지 않았다 (IC₅₀ 0.69mg/ml). 케일은 양파에 비하여는 lipase 저해활성이 낮았는데 이는 저해활성이 가장 높은 flavonoids인 kaempferol 함량이 케일에 높기는 하지만 flavonoids 총량이 양파보다 낮는데 기인하는 것으로 여겨짐을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

다. 최적 추출 용매 및 추출 조건 확립

시료는 분쇄 공정을 거쳐야 하며, 용매/추재비가 20일 때가 최적 추출 조건이며, 60% ethanol 추출시가 가장 효과적임을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

라. Microfiltration 조건 확립

MF에 총 소요된 시간은 약 2 hr 이었으며 약 8.6ℓ의 permeate가 얻어졌으며 300 kDa membrane에서는 전처리 과정에서 커다란 입자들이 대부분 제거됨을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

2. 제 2차년도

가. 케일 가공 부산물의 체중 조절 효과 검증

케일가공부산물 추출물의 8주간의 투여는 ICR mice의 체중을 29%, 피하지방양을 30% 유의적으로 감소시킴을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

나. 양과 껍질의 체중 조절 효과 검증

양과껍질 추출물의 8주간의 투여는 ICR mice의 체중을 25%, 피하지방양은 34% 유의적으로 감소시킴을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

다. 역삼투에 의한 농축 공정 확립

60% ethanol 추출물을 UF 처리한 permeate (quercetin 함량 $515 \mu\text{g/ml}$) 7 ℓ 를 사용하여 최대 작동가능 압력보다 조금 낮은 압력인 500 psi, 온도 35°C 에서 RO를 실시하였다. 그 결과 permeate의 flux는 초기에 $23 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 에서 concentration factor (CF)가 3으로 증가함에 따라 $16.6 \ell/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 로 감소하였으며 permeate의 quercetin 함량은 CF가 1, 2, 3일 때 각각 $1.2 \mu\text{g/ml}$, $2.0 \mu\text{g/ml}$, $31.9 \mu\text{g/ml}$ 이었다. RO에 사용된 시료의 quercetin함량이 $515 \mu\text{g/ml}$ 이었음을 감안하면 permeate로 빠져나가는 quercetin의 양은 무시할 수 있을 정도로 작은 것임을 알 수 있었다. 한편 retentate의 경우 초기의 quercetin의 함량이 $523\mu\text{g/ml}$ 에서 CF가 2, 3으로 증가함에 따라 $1037 \mu\text{g/ml}$, $2400\mu\text{g/ml}$ 로 각각 1.98배, 4.59배 증가하였다. 이상의 결과를 얻었으므로 100% 달성하였다.

라. Ultrafiltration에 의한 고분자물질 제거의 최적 조건 확립

60% ethanol 추출물의 최적 UF 조건을 확립하였으므로 100% 달성하였다.

3. 제 3차년도

가. 케일 가공부산물 및 양파 껍질로부터 분리농축된 소재의 lipase 저해효과 검증

케일가공부산물 소재는 추출물보다 lipase 저해효과가 상승하지 않았으나 양파 껍질 소재는 추출물보다 저해효과가 20% 상승하였음을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

나. 케일 가공 부산물 및 양파 껍질로부터 분리농축된 소재의 체중조절 효과 검증

케일가공부산물 및 양파껍질 소재의 8주간의 투여는 ob/ob mice의 체중증가를 대조군에 비하여 각각 71%, 93% 유의적으로 저해함을 확인하였으므로 100% 달성하였다.

다. 분리농축된 소재를 이용한 체중조절용 제품 개발

분리농축된 소재를 소지지에 첨가하여 제품 개발을 하였으므로 100% 달성하였다.

제 2 절 관련분야의 기술발전예의 기여도

본 연구에서는 케일가공부산물 및 양파 껍질의 추출물이 지방소화효소 저해 작용을 통하여 지방 흡수 억제 작용 및 체중감소 작용 등을 연구하였다. 이는 새로운 체중감소의 기작을 식품에 적용하였다는 점에서 기능성 식품소재 분야에 기여하였다. 아울러 케일가공부산물 및 양파껍질로부터의 flavonoid의 추출 및 분리·농축 공정에 관여하는 공정변수들을 검토하고 pilot plant에 의한 생산을 통하여 scale-up을 대비한

공정을 확립하였다. 이러한 추출 및 농축공정이 확립됨으로써 산업화가 가능하게 되어 폐기물의 재활용과 부가가치를 높이는데 효과가 기대되며 아울러 본 연구를 통하여 개발된 공정은 이와 유사한 천연물의 추출 및 농축에 응용될 수 있으리라 사료된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용 계획

본 과제에 의하여 개발된 케일가공부산물 및 양파 껍질로부터 체중조절소재 제조 기술 및 특허는 산업체에 이전하고자 한다. 본 과제의 성공적인 수행은 폐기되는 케일 가공부산물 및 양파 껍질을 활용할 수 있으므로 재배 농가는 부산물 및 비식용부위의 판매에 의하여 추가 수입을 올릴 수 있다. 본 연구 과제에서 개발된 체중조절 소재 평가 기술은 농산물로부터 체중조절 기능을 갖는 식품 소재 개발의 기반 기술로 활용할 수 있다.

제 6 장 참고문헌

Leighton, T., Ginther, C., Fluss, L., Harter, W.K., Cansado, J. and Nortario, V. Molecular characterisation of quercetin and quercetrin glycosides in Allium vegetables, Phenolic Compounds in Food and Their effects on health II, ACS,

Washington, D.C., 221, 1992

Bilyk, A., Cooper, P.L. and Sapers, G.M. Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion(*Allium cepa* L.) tissue. *J. Agric. Food Chem.* 32:274, 1984

서화중, 정두레, 흰쥐에 양파즙 투여가 혈액 지질량에 미치는 영향, *한국식품영양과학회지*, 26(6):1164-1172, 1997

Block, E. The organosulfur chemistry of genus *allium* implication for the organic chemistry of sulfur. *Angewante. Chemie. J. Gesellschaft Deutscher Chem. ikal.* 31:1135, 1992

Sheo, H.J., Lim, H.J. and Jung, D.L. Effects of onion juice on toxicity of lead in rat, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22:138, 1993

Baker, H.J., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H. The laboratory rat. Academic Press, Inc., New York, Vol II, 123, 1984

Augusti, K.T. and Sheela, C.G. Antiperoxide effect of S-allylcystein sulfoxide an insulin secretagogue, in diabetic rats, *Experintia*, 52:115-120, 1996

1. 전재근 : 식품공학 이론과 응용. 개문사 (1994)
2. 변유량 : 현대식품공학. 지구문화사 (1996)
3. Geankoplis, C.J. : Transport Processes and Unit Operations, 3rd ed., Prentice Hall International Editions (1993)
4. 민병렬 : 막분리서론. 한국막학회편 막분리기초, 자유아카데미(1996)
5. Cheryan, M. : Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. Technomic Publishing Co., Pennsylvania (1998)
6. Rodriguez, J., Requena, T. and Juarez, M. : Process for low-fat cheese from

- ultrafiltered milk. *J. Food Sci.* 63: 665-667, (1998)
7. Wooychik, J.H., cooke, P., and Lu, D. : Microporous ultrafiltration of skim milk. *J. Food Sci.* 57: 46-48, (1992)
 8. Higuera-Ciapara, I., Esqueda-Valle, M. and Nieblas, J. : Reduction of aflatoxin M₁ from artificially contaminated milk using ultrafiltration and diafiltration. *J. Food Sci.* 60: 645-647, (1995)
 9. Raphaelides, S., Antoniou, K.D. and Petridis, D. : Texture evaluation of ultrafiltered teleme cheese. *J. Food Sci.* 60: 1211-1215, (1991)
 10. Mangino, M.E., Huffman, L.M. and Regester, G.O. : Changes in the hydrophobicity and functionality of whey during the processing of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 53: 1684-1686, (1988)
 11. Sharma, S.K., Ferrier, L.K. and Hill, A.R. : Effect of modified manufacturing parameters on the quality of cheddar cheese made from ultrafiltered (UF) milk. *J. Food Sci.* 54: 573-577, (1989)
 12. Arndt, E.A. and Wehling, R.L.: Development of hydrolyzed and hydrolyzed-isomerized syrups from cheese whey ultrafiltration permeate and their utilization in ice cream. *J. Food Sci.* 54: 880-884, (1989)
 13. Fischbach-Greene, L. and Potter, N.N. : Effects of ultrafiltration on retention of minerals and other components of milk. *J. Food Sci.* 51: 345-347, (1986)
 14. Koschak, M.S., Fennema, O., Amundson, C.H. and Lee, J.Y. : Protein stability of frozen milk as influenced by storage temperature and ultrafiltration. *J. Food Sci.* 46: 1211-1217, (1981)
 15. Chiang, B.H. and Yu, Z.R. : Fouling and flux restoration of ultrafiltration of passion fruit juice. *J. Food Sci.* 52: 369-380, (1987)
 16. Rwabahizi, S. and Wrolstad, R.E. : Effects of mold contamination and

ultrafiltration on the color stability of strawberry juice and concentrate. *J. Food Sci.* 53: 857-861, (1988)

17. Barefoot, S.F., Tai, H.Y., Brandon, S.C. and Thomas, R.L. : Production of microbiologically stable apple juice by metallic membrane ultrafiltration. *J. Food Sci.* 54: 408-411, (1989)

18. Yu, Z.R. and Chiang, B.H. : Passion fruit juice concentration by ultrafiltration and evaporation. *J. Food Sci.* 51: 1501-1505, (1986)

19. Hernandez, E., Couture, R., Rouseff, R., Chen, C.S. and Barros, S. : Evaluation of ultrafiltration and adsorption to debitter grapefruit juice and grapefruit pulp wash. *J. Food Sci.* 57: 664-666, (1992)

20. Fukumoto, L.R., Delaquis, P. and Girard, B. : Microfiltration and Ultrafiltration ceramic membranes for apple juice clarification. *J. Food Sci.* 63: 845-850, (1998)

21. Mannheim, A. and Cheryan, M. : Continuous hydrolysis of milk protein in a membrane reactor. *J. Food Sci.* 55: 381-390, (1990)

22. Diosday, L.L., Tzeng, Y-M. and Rubin, L.J. : Preparation of rapeseed protein concentrates and isolates using ultrafiltration. *J. Food Sci.* 49: 768-770, (1984)

23. Chiang, B.H., Su, C.K., Tsai, G.J. and Tsao, G.T. : Egg white lysozyme purification by ultrafiltration and affinity chromatography. *J. Food Sci.* 58: 303-306, (1993)

24. Lonergan, D.A. : Isolation of casein by ultrafiltration and cryodestabilization. *J. Food Sci.* 48: 1817-1821, (1983)

25. Lacroix, M., Amiot, J. and Brisson, G.J. : Hydrolysis and Ultrafiltration treatment to improve the nutritive value of rapeseed proteins. *J. Food Sci.* 48: 1644-1645, (1983)

26. Sims, K.A. and Cheryan, M. : Continuous production of glucose syrup in an

ultrafiltration reactor. J. Food Sci. 57: 163-166, (1992)

27. Kuo, W.S. and Chiang, B.H. : Recovery of glutamic acid from fermentation broth by membrane processing. J. Food Sci. 52: 1401-1404, (1987)

28. Chiang, B.H. and Pan, W.D. : Ultrafiltration and Reverse osmosis of the waste water from sweet potato starch process. J. Food Sci. 51: 971-974, (1986)

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

30. Hubbard, M.R. : Statistical quality control for the food industry. Van Nostrand Reinhold, New York pp.90-100 (1990)

31. Gullett, E.A. : Color and food in *Encyclopedia of food science and technology* Hui, Y.H.(ed), John Wiley and Sons Inc., New York p.456 (1992)

주 의

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