

과제구분	지역농업 기술개발	Code LS0603	수행시기	전반기	연구기간	'99~'01(완결)
연구과제명	Recycle 개념의 생물전환에의한 농업생산 폐기물의 효율적 이용기술개발					
세부과제명	농산부산물로부터 유용성분의 분리 및 이의 산업화 이용기술개발					
구분	성명	소속	직급	전화번호		
세부과제책임자	홍정기	특화작목개발시험장	지방농업연구관	(033)243-1822		
공동연구자	이안수	"	지방농업연구사	"		
	박영학	"	"	"		
색인용어	농산부산물, 도토리박, 폴리페놀, 기능성					

1. 연구배경

농산부산물 및 농산가공 폐기물은 풍부한 영양성분 및 다양한 유효성분을 함유하고 있으나 그대로 폐기되고있어 아까운 자원의 손실을 초래할 뿐 아니라 환경의 주된 오염원이 되고 있다(윤, 1984; 오, 1993). 특히, 이와 같은 유기성 폐기물은 우리 나라에서 발생하는 전체 폐기물의 절반 이상을 차지하고 있어 이들의 재활용에 관한 검토는 시급하다고 하겠다(이, 1998).

이와 같은 경향은 강원도에서도 마찬가지로 도내 식품가공업체에서 폐기되고 있는 농산물 가공 부산물이 총폐기물량의 약 85%정도를 차지하고 있는 등 대부분 재활용되지 못하고 폐기되고 있는 실정이며(정, 1998) 대표적인 부산물은 인진썩박, 도토리박, 칩박, 맥주박, 버섯폐배지, 비지박 등 6종이 있다. 이들 중 도토리는 다량의 전분으로 구성되어 있으며 약 6%의 폴리페놀류 화합물을 함유하고 있다. 한편, 폴리페놀은 항염과 세균발육 억제작용, 고혈압과 동맥경화 예방, 항암효과, 해독 및 항산화작용이 있는 것으로 알려져 있어 이를 활용한 건강식품 제조도 가능할 것으로 보고 있다. 이러한 도토리는 전분 및 목의 제조시 이용되고 있는데 가공 후 부산물인 도토리박도 역시 재활용되지 못하고 폐기되고 있으나 도토리박 속에도 상당량의 폴리페놀 화합물이 존재할 것으로 추정되며 이에 대한 재활용도 검토되어야 된다고 본다.

따라서 본 연구는 강원도내 주요 농산가공 부산물인 도토리박 등 6종으로부터 유용성분을 추출하여 건강식품으로 개발하기 위하여 실시하였는 바 그 결과를 보고하는 바이다.

2. 재료 및 방법

본 연구는 1999년부터 2001년까지 3개년간 실시하였는데 1년차에는 인진썩박, 칩박, 도토리박, 맥주박, 버섯 폐배지 및 비지박 등 6종의 농산부산물을 공시하여 일반성분, 식이섬유, 폴리페놀의 함량을 분석하였고 2~3년차에는 이들 중 활용가치가 높은 폴리페놀의 함량이 높았던 도토리박만을 공시하여 폴리페놀의 효율적인 추출방법과 기능성을 검정하고 이를 이용한 가공식품을 제조하여 실용성 여부를 검토하였는데 성분분석 및 기능성 검정, 가공식품 제조는 각각 다음과 같이 실시하였다

가. 성분분석

일반성분 분석은 AOAC법에 따랐고 식이섬유 분석은 AOAC방법을 변형하여 전분과 단백질을 효소로 분해한 후 무게를 측정하는 방법으로 분석하였다.

시료 1g을 95℃에서 30분간 α-amylase로 액화시킨 후 protease 로 pH 4.5에서 amyloglucosidase로 30분간 분해시켰다. 여과보조제로 0.5g의 celite를 넣은 crucible를 사용하여 식이섬유를 분리하였다. 불용성 식이섬유는 crucible로 여과 후 회수하였고, 수용성 식이섬유는 95% ethanol로 1시간동안 침전시켜 또 다른 여과에 의하여 분리하여 건조 후 무게를 측정하였다. 단백질과 회분량을 보정하여 섬유성유량을 계산하였다. 폴리페놀의 분석 및 동정은 HPLC와 TLC방법으로 수행하였다.

나. 폴리페놀 추출 및 정제

1년차 연구결과 페놀함량이 가장 높았던 도토리박을 대상으로 폴리페놀을 추출, 정제하여 생리활성 검정 및 가공식품 재료로 이용하였는데 그 방법은 <그림 1>과 같이 실시하였다.

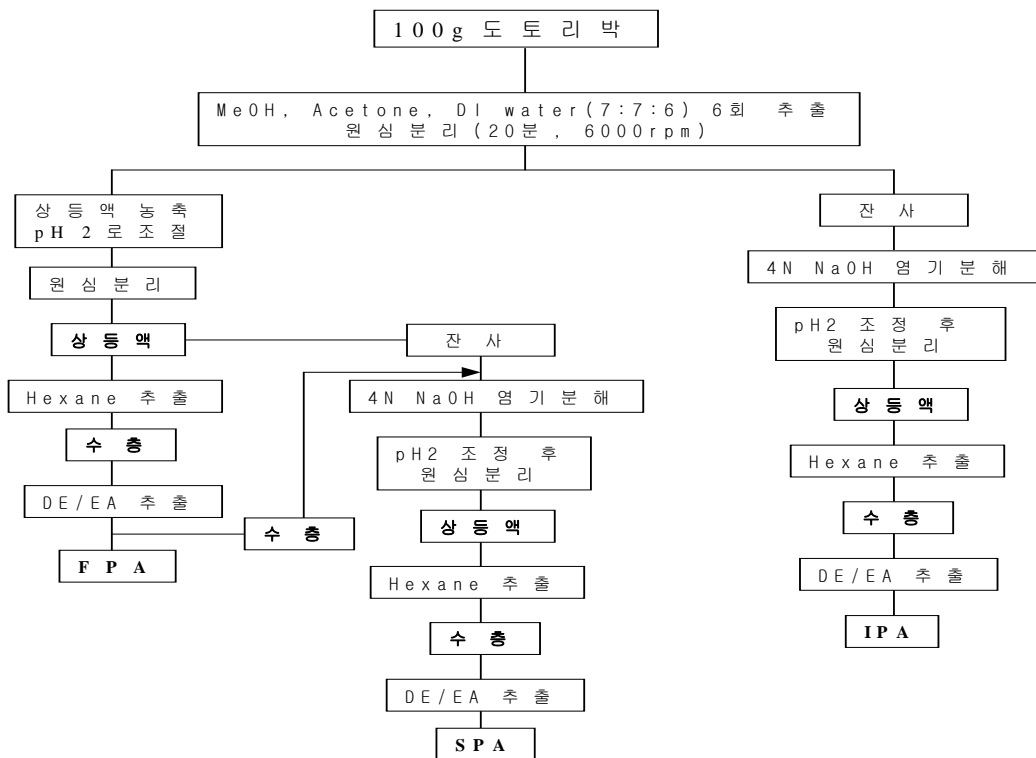


그림 1. 폴리페놀 추출 및 농축 방법

한편, 폴리페놀을 이용한 가공식품 개발을 위한 경제적인 추출방법을 구명하기 위하여 <그림 1> 추출방법을 <표 1>과 같이 3단계로 나누어 단계별 추출물의 생리활성을 검정하였다.

표 1. 폴리페놀 추출 단계

추출단계	추출 방법
1단계	도토리박→메탄올, 아세톤, 증류수 혼합액 추출→여과→농축
2단계	1단계→원심분리→핵산추출→수층
3단계	2단계→ ether, acetate 혼합용매 추출 → 용매층 농축→정제

다. 생리활성 검정

생리활성 검정은 1년차 연구결과 페놀함량이 가장 높았던 도토리박만을 대상으로 실시하였는데 검정 항목별 방법은 다음과 같았다

1) 항산화활성 : TBA법

4×10^{-3} linolenic acid 수용액 5ml에 시료 0.5ml를 넣어서 50℃에서 배양시키면서 마개 달린 test tube에 1.1ml씩 4일마다 채취하여 TCA 1ml, TBA 2ml, BHT 0.1ml, SDS 1ml를 각각 혼합한 후 N₂ gas를 취입하고 밀봉한 후 비등 수욕조에서 15분간 incubation하고 방냉시킨 후 1ml acetic acid와 2ml chloroform을 혼합, 진탕한 후 2,500rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) 혈압조절 효과 : ACE법

ACE(angiotension converting enzyme)는 고혈압을 유도하는 효소로 ACE reagent를 사용하여 이 효소의 억제 활성을 측정하였다. 실험 전에 모든 반응물을 37℃로 유지시켜 놓은 후 37℃ 증류수 10ml에 ACE reagent one vial을 용해시키고 1ml씩 취하여 effendorf tube에 넣었다. 각 effendorf tube에 농도별 추출물과 ACE calibrator를 100μl씩 첨가한 후 37℃에서 5분간 반응시켜 340nm에서 흡광도를 측정하여 이것을 초기 A값으로 정하고 다시 5분이 지난 후 측정한 흡광도를 최종 A라 정하였다. 대조구로는 추출물 대신 증류수 100μl를 첨가한 것으로 하였다. Control의 ACE(U/L) 값은 아무 것도 첨가하지 않았을 때의 흡광도 변화를 측정한 것으로 하였으며 ACE의 활성 계산은 다음 공식에 준하여 산출하였다.

$$\text{ACE (U/L)} = \frac{(\text{Initial A} - \text{Final A})_{\text{test}}}{(\text{Initial A} - \text{Final A})_{\text{control}}} \times \text{active of ACE reagent (50U/L)}$$

3) 혈당강하효과 : DNS방법

생체 내에서 혈당 상승의 결정적인 역할을 하는 α-glucosidase를 이용하여 실험을 수행하였다. 먼저 효소를 10mM PIPES buffer에 용해시켜 효소액을 제조하고 20mM maltose와 각 추출물을 각각 10μl, 40μl, 10μl를 혼합하여 최종 부피를 60μl로 각 추출물을 농도별로 혼합한 후 37℃에서 20분간 배양한다. 반응액 60μl에 1ml DNS 시약을 첨가하고 100℃ 물에서 10분간 열탕 처리하여 반응을 정지시킨 후에 540nm에서 흡광도를 측정하여 효소 반응으로 생성된 환원당을 정량하여 각 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 효소 활성 저해율을 계산하였다.

라. 폴리페놀의 가공식품 제조

가공식품 제조도 1년차 연구 결과, 페놀함량이 가장 높았던 도토리박만을 대상으로 실시하였는데 품목별 제조방법은 다음과 같았다

1) 과립차

폴리페놀 추출물에 기타의 부재료를 첨가하고 과립을 제조한 뒤 원적외선을 이용 40℃에서 4시간 건조하여 제품화하였는데 재료의 첨가종류 및 비율은 <표 2>와 같이 하였다.

표 2. 도토리박 폴리페놀 과립차 제조시 주재료 및 부재료의 혼합비율

Treat.	폴리페놀 첨가량(%)	부 재 료 (%)						
		정 제 포도당	무 수 포도당	천 궁 농축물	쌍 화 농축물	대 추 농축물	영 지 농축물	기 타
T1	11	31.8	47.7	2.6	0.1	0.5	0.5	0.6
T2	16	31.8	42.7	2.6	0.1	0.5	0.5	0.6
T3	21	31.8	37.7	2.6	0.1	0.5	0.5	0.6

2) 음료

폴리페놀 추출액을 여과포로 여과하고 부재료를 혼합하여 충전하고 살균하여 제품화하였으며 부재료의 종류 및 비율은 <표 3>과 같이 하였다.

표 3. 도토리박 폴리페놀 음료 제조시 주재료 및 부재료의 혼합비율

Treat.	배 합 비 율 (%)								
	액상 과당	벌꿀	포 도 농축액	매 실 농축액	대 추 농축액	쌍 화 농축액	계 피 농축액	과라나 추출액	기 타
T1	5	0.3	2	0.1	0.5	0.2	0.2	0.2	85.5
T2	5	0.3	2	0.1	0.5	0.2	0.2	0.2	80.5
T3	5	0.3	2	0.1	0.5	0.2	0.2	0.2	75.5

마. 가공식품 특성검정 및 관능검사

제조된 과립차의 특성 평가항목은 용해시간, 당도, 과립형성도, 제품수율, 관능검사 등이며, 음료의 경우에는 당도, pH, 제품수율, 관능검사 등이며 관행의 조사방법을 따랐다.

3. 결과 및 고찰

가. 성분분석 결과

인진숙박, 도토리박, 칩박, 맥주박, 버섯폐배지, 비지박 등 6종의 농산부산물의 일반성분

함량을 조사한 결과는 <표 4>과 같았다. 총탄소량은 인진쑥박 > 버섯폐배지 > 도토리박 > 칩 박 및 맥주박순으로 많았고, 조단백 함량은 맥주박이 높았으며, 조지방은 맥주박과 비지박 이 높았다.

표 4. 도토리박등 6종의 농산부산물의 일반성분 함량 비교 (%)

구 분	수 분	총탄소량	조단백	조지방	회분
인진쑥박	8.07	83.91	4.52	0.20	3.30
칩 박	17.57	74.11	4.64	0.27	3.41
도토리박	15.00	74.31	5.63	0.80	4.26
맥 주 박	10.72	53.97	26.07	3.99	5.25
버섯폐배지	7.08	75.55	5.23	0.84	11.30
비 지 박	5.61	62.08	17.93	10.78	3.60

한편 식이섬유 함량 측정결과는 <그림 2>와 같았다. 공시된 농산부산물 중에 함유되어 있는 식이섬유는 수용성 식이섬유 함량은 매우 낮고 불용성 식이섬유가 주를 이루고 있었다. 농산부산물별 식이섬유 함량은 인진쑥박 > 버섯폐배지 > 비지박> 순으로 높았고 나머지 부산물은 30% 가량으로 낮았다.

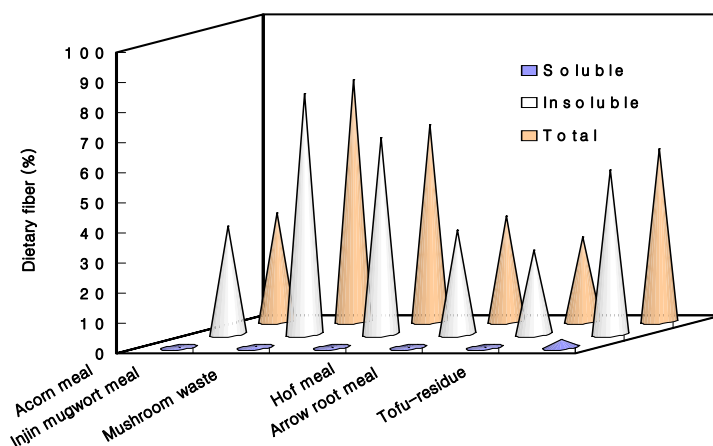


그림 2. 농산부산물별 식이섬유 함량 비교

이들 중 식이섬유 함량이 높은 인진쑥박과 비지박만을 공시하여 섬유질을 분석한 결과는 <표 5>과 같았다. 인진쑥박은 리그닌, 셀룰로스, 헤미셀룰로스 등이 모두 높은 함량을 보 인 반면 비지박은 펙틴의 함량이 높게 나타났다.

표 5. 비지박 및 인진쑥박의 리그닌, 셀룰로스, 헤미셀룰로스 및 펙틴함량

농산부산물명	ADF	NDF	리그닌	셀룰로스 ¹⁾	헤미셀룰로스 ²⁾	펙틴 ³⁾
비 지	25.46	46.20	16.50	8.96	20.74	11.00
인진쑥	61.08	79.44	33.44	27.64	18.36	0.88

¹⁾ Cellulose (%) = ADF - Lignin, ²⁾ Hemicellulose (%) = NDF - ADF

³⁾ Pectin (%) = TDF - NDF

<그림 3>은 페놀 함량을 조사한 결과로 도토리박은 1.05%로 공시된 농산부산물 중 가장 높았으며 비지박이 다음으로 높았다.

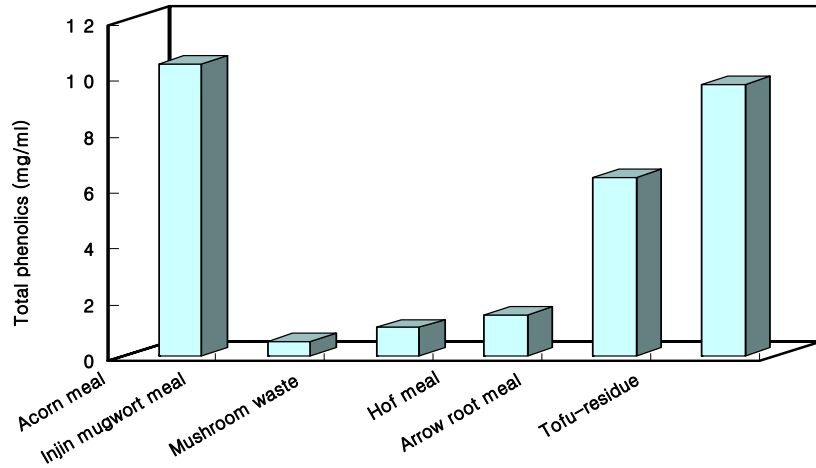


그림 3. 농산부산물별 총페놀 함량 비교

농산부산물에 존재하고 있는 페놀의 종류는 가수분해형 페놀이 주를 이루고 있었다.<그림 4>

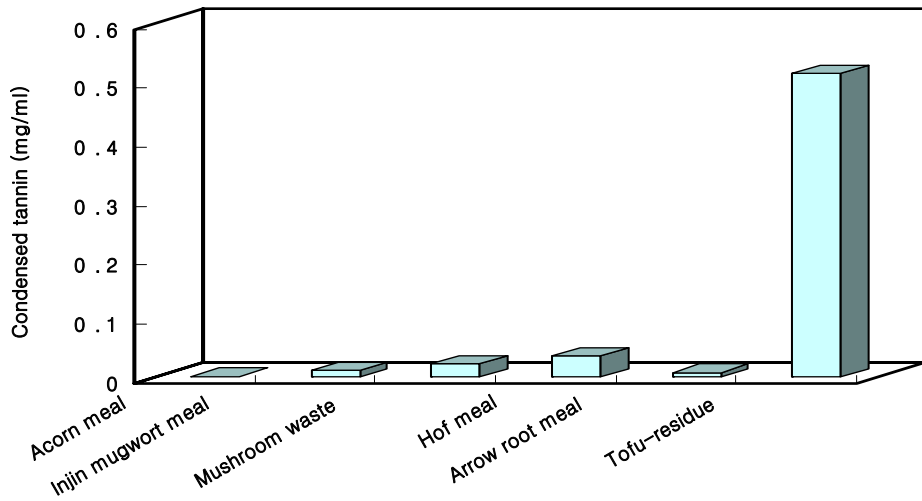


그림 4. 농산부산물별 축합 탄닌 함량 비교

나. 폴리페놀 추출방법에 따른 수율

폴리페놀 추출 방법에 따른 수율은 <그림 5>와 같이 IPA(insoluble phenolic acid)> FPA(Free phenolic acid)> SPA(soluble phenolic acid)의 순으로 높았다

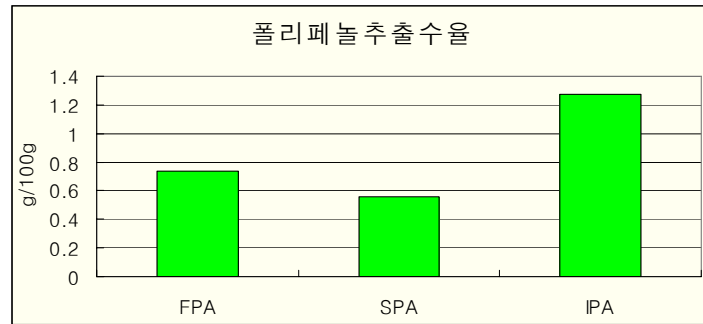


그림 5. 도토리박의 추출방법에 따른 폴리페놀 추출 수율 비교

다. 도토리박 폴리페놀 추출물의 생리활성 검정

도토리박을 추출·분획·농축한 결과, 3종의 폴리페놀(FPA, SPA, IPA)을 분리하였는데 이를 이용하여 생리활성을 검정한 결과는 <그림 6, 7, 8>과 같았다.

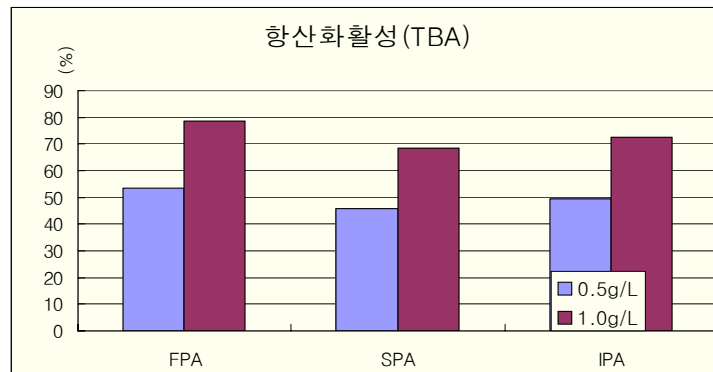


그림 6. 도토리박 추출방법에 따른 폴리페놀의 항산화활성 비교

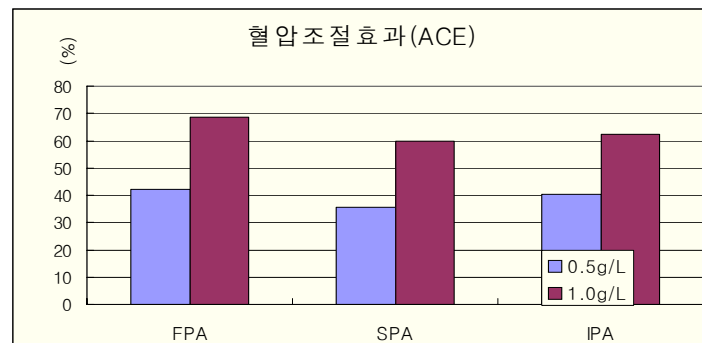


그림 7. 도토리박 추출방법에 따른 폴리페놀의 혈압조절효과 비교

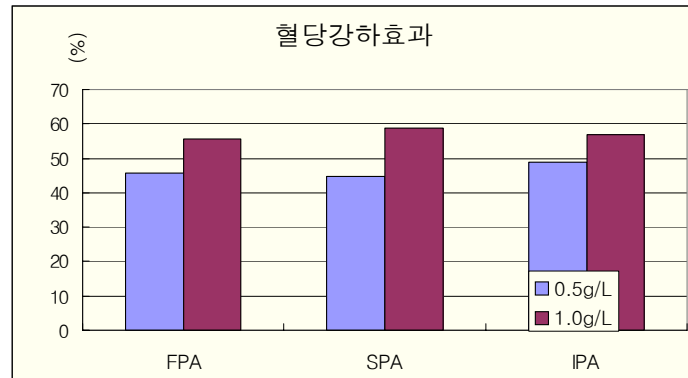


그림 8. 도토리박 추출방법에 따른 폴리페놀의 혈당강하효과 비교

라. 폴리페놀 추출단계별 추출물의 생리활성 비교

경제적인 FPA의 추출방법 구명을 위한 추출단계별 수율 및 생리활성 검정결과는 <표 6>에 나타내었다. 추출단계별 수율은 큰 차이를 보여 첫 번째 단계에서 가장 많은 폴리페놀이 추출되었고 2, 3단계로 진행 할수록 수율은 낮아지는 경향이였다. 한편 혈당강하효과, 고혈압억제 효과 등 생리활성은 단계별로 차이를 보이지 않아 1단계 추출만으로 가공용 재료로 활용하는 것이 가장 효율적인 것으로 판단되었다.

표 6. 추출단계별 수율 및 생리활성 비교 (%/mg/ml)

추출단계	추출수율(%)	혈당강하	고혈압억제
1단계	5.81	44	50
2단계	4.90	49	52
3단계	0.74	46	49

마. 폴리페놀 추출물을 이용한 가공식품 제조 가능성 검토

1) 과립차

폴리페놀을 이용 과립차를 제조한 후 특성을 검정한 결과는 <표 7>과 같았다. 폴리페놀 추출물 16% 첨가시 과립 형성이 양호하고, 제품의 수율이 높았으며, 관능조사 결과도 우수하였다.

표 7. 과립차의 품질 특성 및 관능검사 결과 비교

Treat.	용해시간 (sec)	당도 (。 Bx)	과립형성	제품수율 (%)	관능조사 (1~5)			
					맛	색	향기	기호도
T1	5	6.1	불량	50	3.3	3.1	3.1	3.2
T2	5	6.2	양호	88	3.6	3.4	3.5	3.5
T3	5	5.8	보통	70	3.5	3.3	3.2	3.3

↓ 관능검사 : 1(매우불량) ~ 5(매우양호)

2) 음료

폴리페놀을 이용 제조한 음료의 특성 및 관능검사 결과는 <표 8>과 같았다. 추출물의 첨가농도별로 당도, pH, 제품수율, 관능검사 결과 등이 차이를 보이지 않았으며 과립차에 비해 제품의 품질이 전반적으로 낮아 실용성이 없는 것으로 인정되었으며 도토리박 폴리페놀 추출물을 이용한 식품 제조시 음료보다는 과립차가 유리할 것으로 평가되었다

표 8. 음료의 품질특성 및 관능검사 결과비교

Treat.	당도 (. Bx)	pH	제품수율 (%)	관능검사 (1~5) ¹⁾			
				맛	색	향기	전반적인 기호도
T1	10.1	3.91	98	2.6	2.8	2.8	2.7
T2	10.2	3.98	98	2.0	3.0	3.0	3.0
T3	10.5	3.97	98	2.9	2.9	3.0	2.9

1) 관능검사 : 1(매우불량) ~ 5(매우양호)

4. 적 요

본 연구는 강원도내 주요 농산가공 부산물인 도토리박 등 6종으로부터 유용성분을 추출하여 건강식품으로 개발하기 위하여 실시하였는 바 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 가. 인진숙박 등 6종의 농산부산물의 유용성분을 검정한 결과 도토리박의 폴리페놀만이 함량이 1% 이상으로 높았으며 가공식품 원료로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.
- 나. 도토리박에서 3종의 폴리페놀(FPA, SPA, IPA)을 추출·분획·농축하여 수율을 측정한 결과 IPA가 가장 높았으나 생리활성을 검정한 결과는 FPA가 항산화활성 및 혈압조절효과 등 생리활성효과가 높았다.
- 다. 따라서 FPA를 건강식품 재료로 활용하고자 추출공정을 3단계로 나누어 단계별로 수율 및 생리활성을 검정한 결과, 1단계 추출시 수율이 가장 높았으며 생리활성 기능도 우수하여 2~3단계 추출 공정까지 진행시킬 필요가 없는 것으로 판단되었다.
- 라. FPA 1단계 추출물로 과립차 및 음료를 제조한 결과 과립차는 폴리페놀 추출액을 16% 첨가시 과립형성도 및 기호도에서 가장 우수하였으나 음료는 폴리페놀 첨가량에 관계없이 기호도가 낮아 폴리페놀을 이용한 가공식품 제조는 음료보다는 과립차 형태가 기호도 등 전반적인 면에서 유리한 것으로 인정되었다.

5. 인용문헌

- 강태수, 안문섭, 한동준, 이해승. 1999. 고체발효기를 이용한 농산폐기물의 퇴비화에 따른 물리화학적 및 미생물상 변화. 강원도립대학 논문집. 제2집 p189~196
- 신항식, 황웅주. 1998. 유기성 폐기물 자원화 가능성 및 퇴비이용 전망 평가. 폐기물자원회

- 오상집. 1993. 축산폐기물로부터 새로운 고단백 고급사료원의 개발 및 이용에 관한 연구. 강원대
- 윤 풍. 1984. 연초폐기물 처리 및 재활용에 관한 연구. 한국화학연구원.
- 이기상. 1998. 비료의 개발과 이용. 한국토양비료학회지. 31.
- 정광용. 1998. 유기성 폐기물 비료화. 한국토양비료학회지. 31.