



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공 학 석 사 학 위 논 문

초임계 이산화탄소 및 아임계 수 가수
분해법을 이용한 오미자(*Schisandra*
chinensis)의 바이오소재 추출 및 특성



2019년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

식 품 공 학 과

김 창 완

공 학 석 사 학 위 논 문

초임계 이산화탄소 및 아임계 수 가수
분해법을 이용한 오미자(*Schisandra*
chinensis)의 바이오소재 추출 및 특성

지도 교수 전 병 수

본 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함

2019년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

식 품 공 학 과

김 창 완

김창완의 공학석사 학위논문을 인준함.

2019 년 2 월



위 원 장 농학박사 양 지 영 (인)



위 원 농학박사 안 동 현 (인)



위 원 공학박사 전 병 수 (인)



목차

Abstract.....	viii
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법.....	1 0
1. 재료	1 0
2. 시약	1 0
3. 실험 방법	1 1
3.1. 초임계 이산화탄소 추출	1 1
3.2. 오일의 안정성: 산가, 과산화물가, p-Anisidine value, 산화안정성(Oxidation Stability Index).....	13
3.3. 오일의 지방산 함량	15
3.4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry(GC-MS)를 이용한 오일의 화합물 분석	18
3.5. 아임계 가수분해	20
3.6. 가수분해율 및 마이야르 반응 생성물	20
3.7. 추출물의 페놀류 함량	23
3.7.1. 총 페놀 함량	23
3.7.2. 총 플라보노이드 함량	23
3.8. 추출물의 항산화 활성	24

3.8.1. ABTS 라디칼 소거능	24
3.8.2. DPPH 자유 라디칼 소거능	25
3.8.3. FRAP 철 이온 환원력	25
3.8.4. 환원력	26
3.9. 총 탄닌 함량	27
3.10. 총 당 함량	27
3.11. 환원당 함량	28
3.12. 수용성 단백질 함량	28
3.13. 가수분해물의 특성	29
3.13.1 pH	29
3.13.2 색도	29
3.14. 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 가수분해물의 페놀화합물 함량 측정	30
3.15. 가수분해물의 다당류 분리	30
3.16. 가수분해물 내 다당류의 총 항산화능	31
3.17. Thin layer Chromatography	32
3.18. 다당류의 특성 분석	32
3.18.1 UV-Vis analysis	32

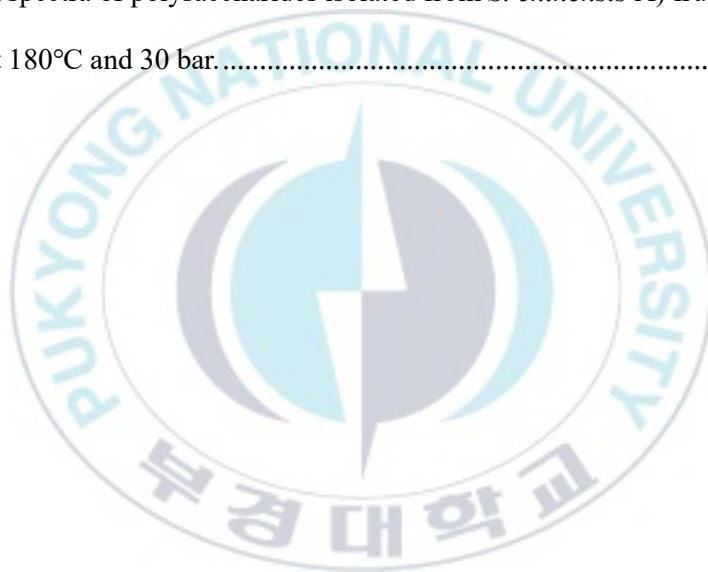
3.18.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR).....	33
3.19. 통계처리.....	33
III. 결과 및 토의	34
1. 초임계 이산화탄소 추출	34
2. 오일의 안정성	36
3. 오일의 지방산 함량	39
4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry(GC-MS)를 이용한 오일의 화합물 분석.....	42
5. 아임계 가수분해물 및 마이야르 반응 생성물.....	46
6. 가수분해물의 총 페놀 함량	48
7. 가수분해물의 항산화 활성.....	50
7.1. ABTS radical scavenging capacity	50
7.2. DPPH free radical scavenging capacity	51
7.3. FRAP ferric reducing activity power assay	51
8. 환원력.....	54
9. 가수분해물의 탄닌 함량.....	56
10. 고속 액체 크로마토그래피를 이용한 가수분해물의 페놀 화합물 함량	58
11. 가수분해물의 총 당 함량.....	65
12. 가수분해물의 환원당 함량.....	67

13. 가수분해물의 수용성 단백질 함량	69
14. 가수분해물의 물리적 특성	71
15. 다당류 분리.....	73
16. 다당류의 총 항산화능	75
17. 다당류의 항산화 활성	77
18. Thin Layer Chromatography (TLC).....	79
19. 다당류 특성 분석	81
19.1 UV-Vis spectroscopy.....	81
19.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) spectroscopy	83
IV. 결론	85
V. 참고문헌	87
감사의 글	95

List of Figure

Fig. 1. Structure of <i>Schisandra chinensis</i> (Omija).....	2
Fig. 2. Block diagram of supercritical carbon dioxide extraction.	12
Fig. 3. Block diagram of pressurized hot water extraction	21
Fig. 4. Hydrolysate of <i>S. chinensis</i> A) Fruit, B) Peel, C) Seed (1) 140 °C, (2) 160 °C, (3) 180 °C, (4) 200 °C.....	22
Fig. 5. Oil extracts of <i>S. chinensis</i> (Fruit, peel and seed).....	35
Fig. 6. Comparison of reducing power for A) ascorbic acid, <i>S. chinensis</i> B) fruit, C) peel, D) Seed.....	55
Fig. 7. Comparison of total tannin acid for <i>S. chinensis</i> fruit, peel and seed.....	57
Fig. 8. Chromatogram of six phenolic compounds (1000 ppm) detected at 280 nm (a:gallic acid, b:catechin, c:coumaric acid, d:rutin, e:quercetin, f:kaempferol).	60
Fig. 9. Chromatogram of different temperature for <i>S. chinensis</i> fruit A) 140°C, B) 160°C, C) 180°C, D) 200°C.	61
Fig. 10. Chromatogram of different temperature for <i>S. chinensis</i> peel A) 140°C, B) 160°C, C) 180°C, D) 200°C.	62
Fig. 11. Chromatogram of different temperature for <i>S. chinensis</i> seed A) 140°C, B) 160°C, C) 180°C, D) 200°C.	63
Fig. 12. Comparison of total glucose contents for <i>S. chinensis</i> fruit, peel and seed.	66
Fig. 13. Comparison of reducing sugar contents for <i>S. chinensis</i> fruit, peel and seed.....	68

Fig. 14. Comparison of soluble protein contents for <i>S. chinensis</i> fruit, peel and seed.....	70
Fig. 15. Thin layer chromatograph for saccharide standards (1: Galactose, 2: Glucose, 3: mannose, 4: Rhamnose, 5: Fructose, 6: Fucose, 7: Arabinose, 8: Glucuronic acid, 9: Galacturonic acid, <i>s. chinensis</i> A) fruit, B) peel, C) seed).	80
Fig. 16. UV-spectra of polysaccharide isolated from <i>S. chinensis</i> A) fruit, B) peel, C) seed at 180°C and 30 bar.	82
Fig. 17. FT-IR spectra of polysaccharides isolated from <i>S. chinensis</i> A) fruit, B) peel, C) seed at 180°C and 30 bar.	84



List of Table

Table 1. Gas chromatography operate condition of <i>S. chinensis</i>	17
Table 2. Gas chromatography-Mass spectrometry operate condition of <i>S. chinensis</i>	19
Table 3. Oil recovery and solubility of <i>S. chinensis</i> oils	35
Table 4. Oil stability values of <i>S. chinensis</i> oils.....	38
Table 5. Fatty acid composition of <i>S. chinensis</i> oils	41
Table 6. Chemical composition of <i>S. chinensis</i> oils.....	44
Table 7. Experimental summary of residue obtained after hydrolysis, yield, pH, maillard reaction products (MRPs)	47
Table 8. <i>S. chinensis</i> hydrolysates of individual phenolic compounds on different condition	49
Table 9. Antioxidant activity measurement.....	53
Table 10. Phenolic acid composition of <i>S. chinensis</i> hydrolysates at 280 nm using HPLC analysis.....	64
Table 11. Color properties of <i>S. chinensis</i> at different reaction temperature and parts.....	72
Table 12. Polysaccharides yield	74
Table 13. Total Antioxidant activity of polysaccharides obtained from <i>S. chinensis</i> hydrolysate	76
Table 14. Radical scavenging activity measurement for polysaccharides	78

Extraction and Characterization of Biomaterials of *Schisandra chinensis* Using Supercritical Carbon Dioxide and Sub-critical Water Hydrolysis

Chang-wan Kim

Department of Food Science and Technology, The Graduate School, Pukyong National
University

Abstract

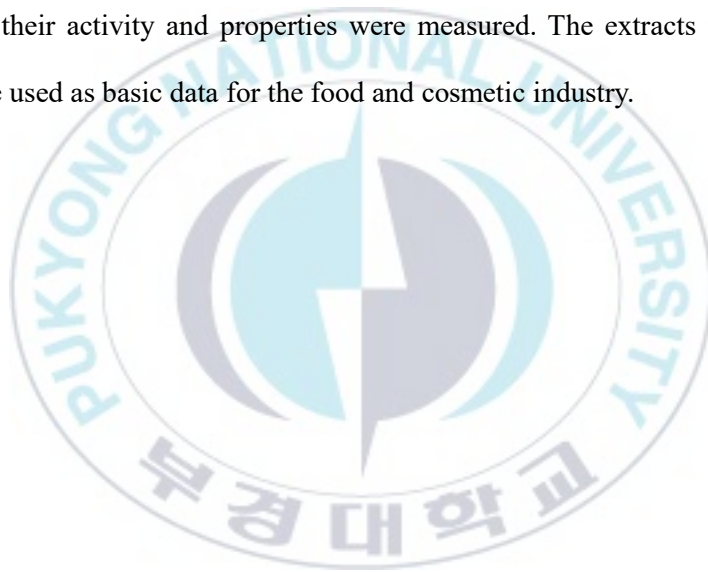
Omija (*Schisandra chinensis*) is a fruit that has been used as an oriental medicinal plant for a long time by magnolia. Omija tends to be neglected as medicinal in some parts of East Asia. Recent research trends are in the analysis of general components or parts of components of omija. The substances that omija contains are mainly lignans such as schizandrin and gomisin, and the existing research is limited to the omija fruit. In addition, as a method of using omija tea, omija chung, omija beverage, the consumption of research and consumer interest is low due to the limitation of consumption style. According to studies, schizandrin and gomisin are known to have antioxidant, anti-inflammatory, and liver function improvement activities. In this study, supercritical fluid extraction was carried out by using carbon dioxide as a main solvent and ethanol as a co-solvent. Carbon dioxide is characterized by a relatively low critical point so that it consumes less energy and can form supercritical carbon dioxide. At this time, the characteristics of the solvent show gas-like diffusivity and liquid-like solubility. In addition, since the extract is easy to separate from the solvent, there is no residual solvent after extraction, and carbon dioxide can be gasified and reused. The lipid-free residue obtained through supercritical carbon dioxide were hydrolyzed using sub-critical water hydrolysis. Subcritical water refers to the

water below the critical point and above the boiling point of water and at sufficient energy pressure to maintain water at liquid state in the subcritical state. Unlike atmospheric water, subcritical water can change physical properties such as dielectric constant and ion production ability by changing temperature and pressure. These properties lead to hydrolysis and can degrade the ester bond, the peptide bond and the glycosidic bond without a catalyst. In recent trends in the extraction process, water has attracted attention as a clean technology. In particular, subcritical water is classified as a clean technology because it does not use toxic substances or organic solvents.

Supercritical carbon dioxide extraction was carried out at a temperature of 45°C and a pressure of 250 bar. The reaction time was fixed to 2 hours. For the first 1 hour 30 minutes, main solvent carbon dioxide and co-solvent ethanol were poured, followed by main solvent carbon dioxide for 30 minutes. The acid value, peroxide value, p-anisidine value, and oxidation stability were measured to determine the stability of the extract and fatty acid analysis was used by gas chromatography. Oxidative stability was high in seed, high in saturated fat and high in unsaturated fatty acid in seeds. Sub-critical water hydrolysis was then carried out at a temperature range of 140-200°C and a pressure of 30 bar. Nitrogen gas, which is a non-reactive gas, was used for the pressure. The ratio of sample to solvent was 1:25, stirring speed was 200 rpm, and extraction time was 10 minutes. The maximum yield of hydrolysis was highest at 200°C in all samples. This indicates that the higher the extraction temperature and pressure, the higher the yield. Hydrolysates extracted at various temperatures were analyzed for total phenol content and total flavonoid content. The total phenolic content was high in the peel and the highest at 200°C. Antioxidant activity was measured to determine the effect of phenol content. The antioxidant activity also showed

similar phenolic content. This means that the antioxidant activity is dependent on the phenol content. Total sugar content and reducing sugar content highest at 180°C, suggesting that the sugar-containing polysaccharides were structurally changed due to heat after 180°C. The content of water-soluble protein tended to increase with increasing temperature and showed the highest content at 200°C in peel and seed.

In this study, physiological functional materials were extracted from supercritical carbon dioxide and subcritical water hydrolysis, which were classified as environment - friendly solvents, and their activity and properties were measured. The extracts from omija are expected to be used as basic data for the food and cosmetic industry.



서론

오미자(*Schisandra chinensis* Baill.)는 목련과 나무로 schisandra (영어), schizandre de Chine (프랑스), wuweizi (중국), gomishi (일본) 등으로 불리며 우리나라에서는 오미자라는 이름으로 잘 알려져 있다. 오미자라는 종은 1596년 Li Shih-Chen에 의해 고대 중국 약학 서적인 “Pen T’shao Kanh Mu”에서 처음으로 사용되었다.

오미자의 영양학적으로 검토한 연구 결과를 보면, 과육에는 탄수화물이 많고 종자에는 조단백질과 조지방 함량이 높으며, 칼륨과 망간 함량이 높은 것으로 보고되어 있다. 이 외에도 오미자에는 schizandrins, gomisins 등의 리그난과 triterpenoid, 지방산, 유기산 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.

오미자의 기능성과 관련해서 많은 연구가 이루어지고 있는데, 항산화능과 항유전독성 효과, 인슐린 민감성 개선 효과, 항염증 효과, 항균 효과 등의 생리활성이 보고 되어 있다(Szopa et al, 2017).

오미자는 주로 한약재로 건오미자나 생오미자 형태로 많이 이용되어 왔으나, 최근 다양한 가공 식품 및 관련 제품이 생산되면서 오미자청, 오미자즙, 오미자막걸리, 오미자와인 등의 다양한 형태로 소비되고 있다(남송이 외, 2014). 오미자를 가공 활용하는데 있어 기능성을 증진시켜 이용하기 위해서는 오미자의 다양한 부위로부터 생리활성 성분의 추출 수율을 증가시키기 위한 연구가 필요하다.

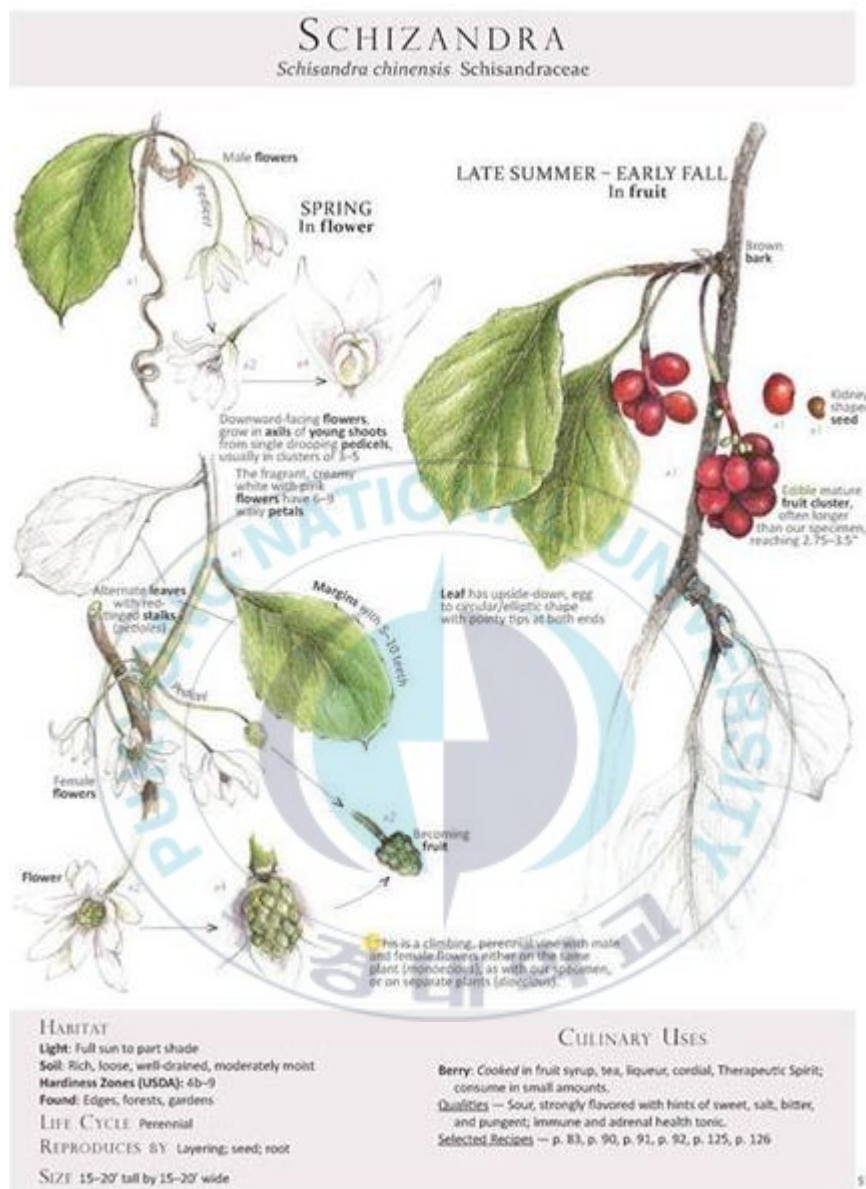


Fig. 1. Structure of *Schisandra chinensis* (Omi).

Source: <https://www.goldenpoppyherbs.com/blog/schizandra-materia-medica/>

약용식물이란 약용에 그대로 사용되거나 또는 의약에 사용하는 성분, 제제의 원료가 되는 식물을 일컫는데 여기에는 넓은 의미로 신약, 가정약의 원료 식물뿐 아니라 식품, 향료, 향신료, 농약과 일반 공업에 이용할 수 있는 식물까지 포함된다.

약용식물은 식물의 부위와 함유 성분에 따라 다른 효능을 가지는데, 특히 효과적인 약리 작용이 있는 성분을 유효성분이라고 한다. 약용식물의 유효성분은 일반적으로 알칼로이드, 배당체, 정유(방향유), 고미질, 탄닌, 테르페노이드 등으로 크게 나뉜다. 알칼로이드를 함유하는 식물은 대체로 유독 식물로서 적당량을 사용할 경우 진통, 마취, 진해, 진정약으로 유효하다.

호흡을 통해 인체로 유입된 산소는 혈액을 통해 각 세포(조직)로 이동하여 에너지를 만들어 낸다. 산소는 에너지원인 영양소(당류, 지질)로부터 에너지(ATP)를 생성하기 위해 반드시 필요하지만 산소의 일부는 대사과정에서 높은 반응성을 가진 활성산소 종(ROS)이 된다.

활성산소 종은 생체 내 방어기전에 의해 대부분 제거되어 항상성이 유지된다. 그러나 활성산소 종이 생성되는 속도보다 클 경우에는 균형이 깨어져 활성산소 종이 많아지는데 이 같은 현상을 ‘산화적 스트레스’라고 한다. 활성산소 종은 매우 불안정하여 산화적 스트레스 상태에서는 활성산소가 세포 구성분인 단백질, DNA, 지질, 효소 등을 공격하여 세포가 손상된다. 손상된 세포가 복구되지 못하여 정상적인 기능을 상실하게 되면 노화가 촉진됨은 물론, 각종 만성질환을 유발한다.

활성산소로부터 우리 몸을 보호하려면 활성산소를 증가시키는 요인은 제거하고, 항산화 물질이 많이 함유된 식품을 충분히 섭취한다.

산소는 생명유지를 위한 필수 불가결한 존재이지만 매일 마시는 산소(약 500 L)의 1%는 유해산소로 만들어진다는 양면성을 갖고 있다.

활성산소는 우리 몸의 내·외적 요인으로부터 생성된다. 자외선, 술, 담배, 과도한 스트레스, 환경오염물질, 과식, 심한 운동, 인스턴트식품 섭취 등으로 인해 활성산소가 급격하게 증가할 수 있다. 또한 나이가 들어감에 따라 활성산소종을 제거하는 능력이 감소되어 활성산소의 생성과 제거의 균형, 즉 우리 몸의 항상성이 깨져서 활성산소종이 증가된다.

우리 몸은 활성산소의 공격으로부터 보호하는 방어기전, 즉 항산화 체계를 갖추고 있다. 항산화 체계로는 크게 2가지로 항산화 물질과 항산화 효소계가 있다. 이들은 생성된 활성산소종을 공격성이 없는 물질로 전환시키거나 활성산소종과 결합하여 활성산소종을 무력화하여 제거하는 역할, 즉 항산화 작용을 한다. 따라서 정상적인 상태에서는 산화적 스트레스는 발생하지 않으며 생체의 항상성이 유지될 수 있다.

우리 몸 속에서 항산화 작용을 하는 물질로는 비타민 E, 비타민 C, 베타카로틴, 아미노산, Se 등과 같은 항산화 영양소와 글루타티온, GSH, 코엔자임 Q10, 페놀화합물, 요산, 빌리루빈, 타우린 등이 있다. 이들은 식품을 통해 공급된다.

항산화 물질의 작용 기전은 수소공여, 금속이온 킬레이팅, 즉 금속이온의

활동성을 제한하는 기전, 일중항 산소 제거, 산소 소거 및 항산화 효소 등의 5가지 유형이 있다.

대부분의 항산화 물질의 작용기전은 수소공여기전이다. 수소공여 항산화 물질의 특징은 하이드록실(OH)를 하나 이상 지닌 환 구조이고, 지용성으로 메틸기나 비극성 탄화수소 사슬구조를 갖고 있다. 대표적인 항산화제는 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate (PG), tertiary butylhydroquinone (TBHQ)과 같은 합성 항산화제가 있고, 천연 항산화 물질은 토코페롤, 폴리페놀계 물질 등이다(김미리 외, 2015).

피부는 최대의 장기로서 체표를 구성하여 신체를 외부환경으로부터 보호하는 중요한 역할을 담당한다. 피부는 체표를 덮고 자외선이나 건조와 같은 외부의 환경변화에 노출되는 장기이다. 피부노화의 위험인자인 환경 요인에는 건조, 기온, 자외선과 같은 자연 인자와 영양, 스트레스와 같은 생활환경이나 흡연, 음주, 수면과 같은 라이프 스타일에 관련된 인자가 있다. 여기에 미토콘드리아나 중성구 등에서 기인한 내인성 활성산소나 자외선, 화학물질에서 기인한 외인성 활성산소가 악화 요인으로써 가해진다. 이들이 어떻게 피부의 노화 증상 출현이나 진행에 관여하는지는 향후에 과학적인 근거를 축적해 나가야 하겠지만, 일반적으로 특히 피부노화의 특징적 요인으로서 건조, 자외선, 활성산소가 중요하게 고려된다.

피부노화의 큰 특징으로서는 가장 먼저 환경 인자인 자외선의 중요성을 들 수 있으며, 주로 유전적 요인에서 기인하는 ‘내인성 노화’와 구별하여 ‘광노화’

라고 한다. 광노화에 대응하는 용어로는 ‘내인성 노화’와 그 동의어로 ‘생리적 노화’가 종종 사용되는데, 여기서 말하는 내인성 노화는 ‘병적 노화’에 대응하는 ‘생리적 노화’와는 의미가 다른 것으로서, 오히려 환경의 영향을 받지 않고 유전적으로 지배 받는 가령 변화를 가리키는 것이라고 생각할 수 있다. 또한, 화장품 영역에 있어서는 임상적 의미에서의 좁은 의미의 광노화(병적 노화에 속한다)보다는 자외선으로부터 영향을 받은 피부(광 가령 피부)의 변화 전반을 가리키는 경우가 일반적이다.

자외선이 피부에 미치는 영향으로는 형태적 변화, 조직학적 변화, 유전자나 단백질 합성의 변화 등 현상에 대한 지견은 많이 발표되고 있으나 그 인과관계나 제어 시스템에 대해서는 아직 충분히 해명되지 못하였다. 광노화는 명확하게 자외선이라고 하는 환경 인자가 중요하지만, 한편으로 자외선에 대한 피부의 감수성이 유전적인 지배를 받는 것도 사실이다. 기저에 있는 자연 가령에 따른 노화가 어떠한 자외선의 영향으로 어떻게 조직생리학적, 생화학적으로 광노화로 이어지게 되는지 등 향후 연구가 기대된다. 자외선의 영향을 받지 않는 조직이라도 지속적으로 내인성의 활성산소 종에 의하여 유전자나 조직이 손상을 입어서 이른바 유전적 요인으로 인한 내인성 노화가 진행되는데, 그에 더하여 일광에 노출된 피부에서는 자외선이나 건조와 같은 환경 인자가 더해지므로 실제로는 두 인자가 서로 얹혀 노화가 진행되는 것으로 생각된다 (이성옥 외, 2011).

기존의 추출방법으로 유기용매를 이용한 추출, 효소처리에 의한 추출, 화학

적 처리 등이 사용되어 왔으나 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트, 메탄올 등과 같은 유기 용매를 사용할 때 추출이 효과적이나 이러한 유기용매는 인체에 유해하며, 식품 또는 화장품 공정에 사용할 수 있는 유기용매는 에탄올로 극히 제한적이다. 뿐만 아니라, 잔류 용매가 남을 시 추가적으로 용매 제거 공정이 필요하므로 공정의 경제성이 떨어진다. 효소처리의 경우 효소의 단가가 높으며 효소 활성 조건의 조절이 까다롭다는 단점이 있으므로 이러한 문제를 해결할 추출 공정이 필요하다.

초임계 유체로 가장 많이 널리 사용되는 성분은 이산화탄소이다. 이산화탄소는 저렴하고 고순도로 생산이 가능하며 임계 온도와 임계 압력이 다른 성분에 비해 높지 않아 초임계 조건에서 공정의 조작성이 비교적 용이하다. 독성이 없고 불연성이기 때문에 폭발의 위험이 없고 인간과 환경에 위험이 적은 장점이 있다. 이산화탄소가 가지는 단점은 고분자, 제약성분과 같은 큰 분자량을 갖는 유기성분에 대한 용해도가 매우 낮다는 점이다. 그러므로 초임계 추출과 같은 공정으로 이러한 성분을 분리하기에는 이산화탄소가 부적합하다. 또한 이산화탄소가 물과 혼합되었을 때는 산을 생성하기 때문에 부식성을 가지게 된다.

초임계 유체 기술은 친환경 공정으로 주목 받고 있으며 추출공정에 사용되는 이산화탄소는 임계조건이 낮아 쉽게 접근할 수 있고 인체에 무해할 뿐 아니라 불연성이고 화학적으로 안정하며 임계온도가 낮으므로 용질성분의 변질을 일으키지 않는 장점을 갖고 있어 의약품, 식품, 화장품 등의 원료를 추출

하는데 적합하여 천연물로부터 기능성 물질을 추출하는데 활용할 수 있고, 기존의 추출법 보다 추출 시간이 단축될 뿐만 아니라 친환경적인 이점을 제공한다.

물은 식품 가공에서 가장 안전한 용매이며, 무해한 용매일뿐더러 비용이 저렴한 용매 중 하나이다. 물을 끓는점 이상 임계점 이하의 액체영역 상태(아임계 상태)로 가압, 가열하면 가수분해를 일으키며 이를 이용한 공정은 고수율, 친환경, 에너지 저감으로 산업적, 경제적으로 효율적이고 혁신적인 공정이라고 할 수 있다.

아임계 수란 물의 끓는점인 1 bar, 100℃와 임계점인 220 bar, 374℃ 사이에서 아임계 상태로 존재하는 액체상태의 물을 말한다. 물은 아임계 상태에서 고압을 이용하기 때문에 액체로서 존재한다. 아임계 상태의 물은 대기조건에서 물보다 특별한 이점을 제공한다. 아임계 수의 두 가지 이점은 낮은 유전상수 및 높은 이온 생성물이 있다. 아임계 상태에서 유전 상수가 변함에 따라 용매로 유기 화합물을 추출할 수 있으며, 증기압이 증가함에 따라 모체로부터 원하는 화합물의 빠른 열 탈착이 일어나 추출 효율을 증가시킬 수 있다. 게다가 용매로서 유전상수 용해도와 같은 물의 물리적 화학적 성질이 급격하게 변할 수 있다(Zakaria et al, 2016). 결과적으로 아임계 수 가수분해는 비극성 물질을 추출할 수 있으며 또한 물은 유기용매를 대체할 수 있다. 그럼에도 불구하고 유전상수의 다양성은 각각의 화합물에 따라 고려되어야 한다(Castro-Puyana, 2013).

이 추출법은 식품 중 단백질이나 다당류의 가수분해, 아미노·카르보닐 반응이 일어나므로 새로운 식품이 생겨날 가능성이 있는 새로운 식품 가공법이다. 또한 이 상태는 ‘가수분해’와 ‘유기물 용해력’이 강한 특이 성질을 이용하여 유용성분의 추출(분해반응을 수반하는 추출 포함)에 사용되고 있다. 이 성질은 온도와 압력에 따라 변화되므로 추출법을 제어할 수 있다. 즉 가수분해에 의한 저분자화로서 유용성분을 추출할 수 있다. 열분해·산화 분해에 의한 물질 변환으로 유용성분을 얻을 수 있다. 산, 알칼리 등 촉매 없이 물, 열, 압력으로 처리하므로 아임계 수는 친환경 공법이라 할 수 있다.

현재 오미자의 부위별 초임계 유체 추출은 다양한 연구가 진행되었으나 오미자 열매 특히 씨앗의 경우 초임계 유체 추출 이후 아임계 가수분해 및 다당류의 특성을 확인하는 연구는 미비한 실정이다. 특히 씨앗의 경우 80% 가량이 유용성분을 함유하고 있다는 것을 고려할 때 열매를 과피 및 씨앗으로 나누어 항산화능, 항암 등 유용물질의 특징을 규명하는 것이 필요하다고 판단된다. 따라서 본 연구는 약용식물로 널리 알려진 오미자를 초임계 이산화탄소 추출 및 아임계 수 가수분해를 이용하여 생리기능적 물질을 추출한 후 가수분해물을 이용하여 다당류를 분리하여 황산화 활성을 규명하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용된 오미자(*Schisandra Chinensis* Baillon)는 2017년 9월에 수확한 것으로 경상북도 영양군의 너삼 농장에서 구입하였으며 열매 중 일정량은 과피와 씨앗으로 분리하였다. 오미자는 동결건조기를 이용하여 건조되었으며 블렌더(PN SMKA-4000 mixer, PN Co., Ansan-si, Republic of Korea)를 이용하여 열매 및 과피는 710 μm 크기로 분쇄하였고 오일 함량이 상대적으로 높은 씨앗은 1 mm 크기로 분쇄하여 체를 이용하여 입자를 고르게 만들었다. 분쇄된 시료는 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보관하며 실험에 사용하였다.

2. 시약

이산화탄소(Siphon) 및 질소(94%) 가스는 한국에스이엠(KOSEM, Yangsan, Republic of Korea)에서 공급받아 사용하였다. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS^{•+} [2,2-azino-bis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonic acid)], Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), Folin-Ciocalteu reagent 등 분석에 사용된 표준물질은 Sigma Aldrich (St. Louis, MI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 분석에 사용된 시약은 high performance liquid chromatography (HPLC) 등급을 사용하였다.

3. 실험 방법

3.1. 초임계 이산화탄소 추출

오미자의 오일 추출은 초임계 이산화탄소 추출 장비를 이용하여 진행하였다 (Fig. 2). 운전 조건으로 압력은 25 MPa, 온도는 50℃, 주 용매 이산화탄소 유속은 27 g/min 및 보조용매 에탄올은 1 mL/min으로 유지하였다. 이러한 조건은 Lin et al. 2015의 최적 조건에 근거하여 적용하였다(Lin et al, 2015). 추출은 시료 분말 200 g을 스테인리스-스틸로 제작된 추출용기에 넣었다. 추출기 내부에서 유체의 흐름으로 인한 시료의 이탈을 방지하기 위해 탈지면을 반응기 크기에 맞게 잘라 반응기 내부 하단과 상단에 고정하였다. 이후 추출기를 잘 밀봉하고 보조용매를 주입하였다. 먼저 5분간 보조용매 에탄올을 흘려 관에 용매를 채운 뒤 실린더로부터 이산화탄소 가스가 용기로 도달하기 전에 -15℃ 냉각장치를 거쳐 펌프를 통해 고압을 형성한 후 50℃ 항온수조에서 초임계 이산화탄소 상태로 도달하였다. 초임계 이산화탄소와 보조용매 에탄올은 혼합되어 반응기로 주입되었다. 이후 추출물은 미터링 니들 밸브를 열어 분리조를 지나 대기압 상태가 되어 저압화 단계를 거친 초임계 이산화탄소는 추출된 오일로부터 재가스화 및 분리되었다. 총 추출시간은 2시간으로 첫 번째 단계는 1시간 30분간 초임계 이산화탄소 및 보조용매 에탄올을 혼합하여 추출하였고 두 번째로 초임계 이산화탄소 추출 공정을 30분간 진행하였다. 추출된 오일은 50 mL 유리병에 옮겨 -40℃에 보관하여 실험에 사용하였다.

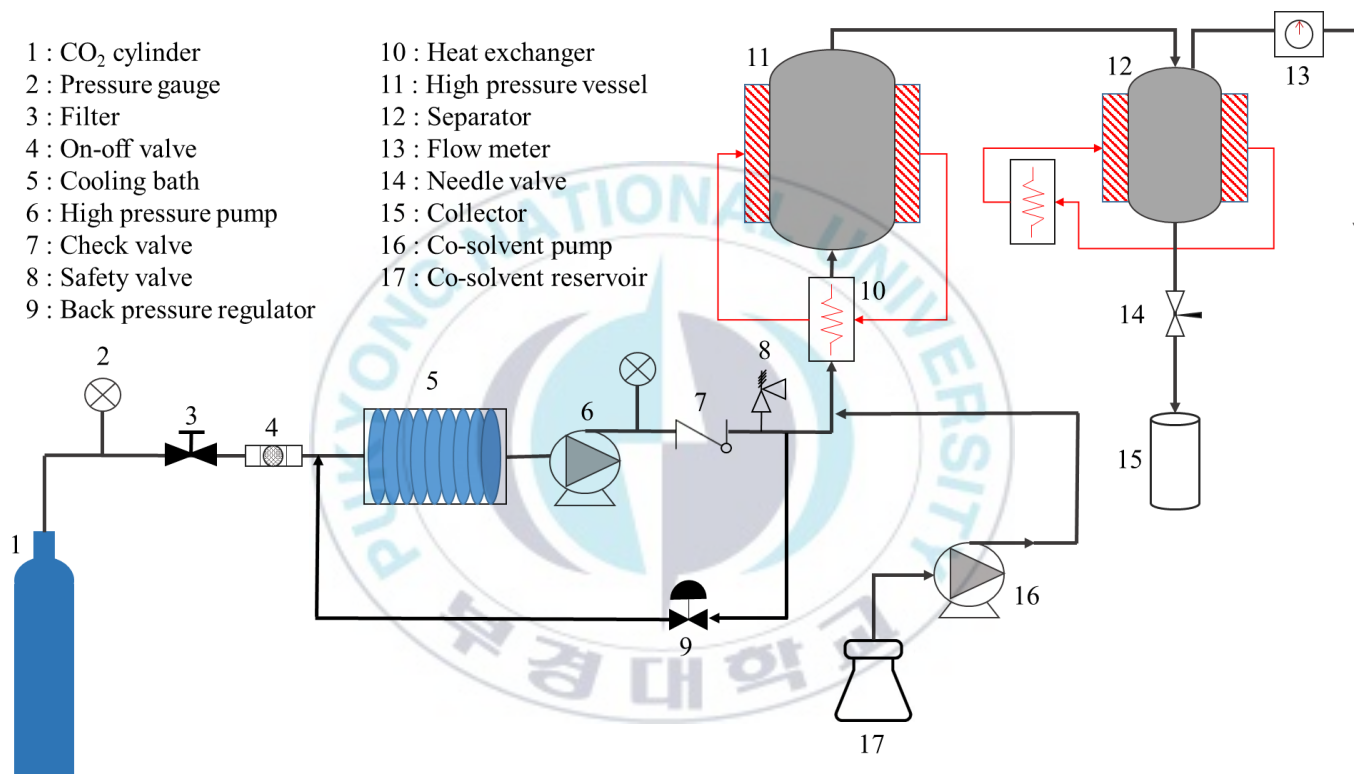


Fig. 2. Block diagram of supercritical carbon dioxide extraction.

3.2. 오일의 안정성: 산가, 과산화물가, p-Anisidine value, 산화안정성 (Oxidation Stability Index)

오일의 산가는 AOCS, Official Method Cd 3d-63, 2006의 방법을 이용하여 측정하였다(AOCS, 2006b). 반응 시약으로 0.1 N KOH (Reagent grade)를 조제하였다. 이후 250 mL 삼각플라스크에 오미자 추출물을 각 0.5 g을 취하고 1% 페놀프탈레인 용액을 지시약으로 하여 2-3 방울 넣은 후 뷰렛을 이용하여 0.1 N KOH을 한 방울씩 첨가하면서 플라스크를 흔들어 연분홍색을 30초간 유지할 때를 종말점으로 하였다. 이와 같은 방법으로 증류수를 이용하여 공시험을 수행하였다. 산가 계산은 아래와 같은 방법으로 계산하였으며, mg KOH/g Sample로 나타내었다.

$$\text{Acid value(mg KOH/g sample)} = \frac{(A - B) \times N \times 56.11}{W}$$

여기서 A는 적정에 사용된 KOH의 부피(mL), B는 공시험 적정에 사용된 KOH의 부피(mL), N은 사용된 KOH의 노르말 농도, W는 질량 즉 시료의 무게(g)을 나타낸다.

오일의 과산화물가는 AOCS, official Method Cd 8-53, 2006의 방법을 약간 변형하여 수행되었다(AOCS, 2006c). 반응시약으로 100 mL 증류수에 10 g KI을 넣어 KI 포화용액을 조제하였다. 20 mL Chloroform 및 30 mL Acetic acid (2:3, v/v)를 혼합하였다. 증류수를 이용하여 0.01 N Na₂S₂O₃를 조제하였다. 실험 방법은 250 mL 삼각플라스크에 각 시료 0.5 g 및 Chloroform with acetic acid 용액 3 mL를 넣고 천천히 흔들어 주면서 오일을 완전히 용해시켰

다. 이후 100 μL (0.1 mL) KI 포화용액을 첨가하여 암소에 5분간 방치하였다. 3 mL 증류수를 가하여 잘 흔들어준 후 1% starch indicator solution을 지시약으로 하여 1 mL를 넣고 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 로 적정하였다. 종말점은 혼합액의 색이 청남색(짙은 청색)에서 무색으로 변하는 지점으로 실험을 수행하였다. 과산화물가 계산은 아래 같은 식을 통해 계산하였으며, milliequivalent peroxide/1000 g sample 로 나타내었다.

$$\text{Peroxide value}(\text{meq}/1000 \text{ g sample}) = \frac{S \times N \times 1000}{W}$$

여기서 S는 각 시료 적정에 사용된 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 의 부피(mL), N은 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 의 노르말 농도, W는 시료의 무게(g)을 나타낸다.

p-Anisidine은 AOCS, official Method Cd 18-90, 2006의 방법을 이용하여 측정하였다(AOCS, 2006d). 반응 시약으로 Isooctane (2,2,4-trimethylpentane, Reagent grade), Glacial acetic acid (analytical reagent quality) 및 *p*-anisidine (analytical reagent quality)를 사용하였다. *p*-anisidine 용액은 0.25 g/100 mL acetic acid로 하여 조제하였다. 실험 방법은 25 mL 바이알에 각 오일을 0.1 ± 0.003 g을 넣고 2.5 mL isooctane과 반응 후 Spectrophotometer를 이용하여 350 nm에서 측정하였다. 이후 500 μL 를 취하여 100 μL *p*-anisidine 시약과 반응시켜 10분 후 350 nm에서 흡광도를 측정하였다. *p*-anisidine은 다음과 같은 관계식을 이용하여 계산되었다.

$$p - Anisidine = \frac{2.5(1.2 * A_S - A_B)}{W}$$

여기서, A_S 는 반응 후 *p*-anisidine에 녹아있는 용액의 흡광도, A_B 는 용액의 흡광도이며, W 는 오일의 무게(g)를 나타낸다.

오일의 산화안정성(Oxidation Stability Index; OSI) 측정은 Reza Farhoosh, 2007의 방법에 따라 수행되었다(Farhoosh and Reza, 2007). 사용한 장비는 743 Rancimat (Metrohm, Swiss)을 사용하였으며, 먼저 오일 시료 각 3.0 g을 반응 용기에 담고 전열장치에 놓았다. 휘발성 유기산들은 증류수가 60 mL 담긴 측정 용기에 포집되었다. 증류수의 전도도는 오일의 산화과정에서 자동적으로 측정되었다. 필터를 통해 오염물이 걸러진 공기의 유속은 20 L/h으로 흘러주었으며 오일 시료의 OSI 측정은 설정온도 100℃에서 이루어졌다. ΔT 값은 $\pm 1.4^\circ\text{C}$ 로 설정하였다. OSI 값은 산화하기 시작하는 시점의 시간(h)으로 나타내었다.

3.3. 오일의 지방산 함량

오일의 지방산 함량 측정은 methylation 후 지방산 분석이 수행되었다(AOCS, 2006a). Methylation은 시료 50 mg을 취해 25 mL 바이알에 넣은 후 C_{17} (heptodexanoid acid) 0.1% Hexane 용액 2 mL를 넣었다. 이후 0.5 N NaOH-methanol 용액 3 mL을 넣은 후 30초간 vortex 후 75 ℃에서 45분간 방치하였다. 이후 상온에서 10분간 방치한 뒤 3 mL BF_3 (Boron trifluoride)을 넣은 후 75℃에서 30분간 방치하였다. 이후 상온에서 10분간 냉각하여 3

mL Hexane 및 10% NaCl을 넣고 Syringe를 이용하여 상등액을 취해 0.22 μ m, 25 mm hydrophobic PTFE syringe filter를 이용하여 여과하였다. 이후 지방산 분석을 위해 Agilent GC system을 이용하였으며 운전 조건은 Table 1과 같다.



Table 1. Gas chromatography operate condition of *S. chinensis*

Parameter	Conditions
Instrument	Agilent 6890N GC System
Split	Splitless
Inject Temperature	250 °C
Carrier Gas & Flow Rate	He, 0.5 mL/min
Oven Condition	140 °C (5 min) → 4 °C /min for 25 min → 240 °C (17 min)
Detect Temperature	260 °C
Column	Supelco sp. 2560, capillary column Fused silica Capillary 100.0 m × 250 µm × 0.2 µm film thickness



3.4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry(GC-MS)를 이용한 오일의 화합물 분석

GC-MS 분석은 Agilent Technologies 7890B GC 장비 및 Agilent Technologies 5977A MSD 가 장착된 장비를 이용하였다. 측정 방법은 M. Pavel et al 의 방법을 약간 변형하여 측정하였다(M. Pavel et al., 2009). 이온화 에너지는 70 eV, ion-source temperature 230℃, Mass spectrometry quadrupole 150℃로 설정하였으며 시료주입 온도는 340℃로 하였다.

컬럼은 Hewlett-Packard 5MS Ultra inert(30 m $\times$ 250 μ m i.d $\times$ 0.25 μ m film thickness)를 사용하였다. 오븐의 온도는 60℃부터 290℃까지 분당 9℃ 상승시켰다(290℃에서 8 분간 대기). 시료는 1 μ L 주입하였다. 측정된 질량 범위는 50-800 AMU 이며 GC-MS 설정 조건은 Table 2 에 나타내었다.

검출된 화합물의 동정은 해당 분자식에 대한 질량 스펙트럼을 미국 표준 기술 연구소(NIST, USA)의 질량 스펙트럼 라이브러리 자료와 비교함으로써 수행되었다.

Table 2. Gas chromatography-Mass spectrometry operate condition of *S. chinensis*

Gas Chromatography	
Parameter	Conditions
Instrument	Agilent Technologies 7890B
Column	HP-5MS Ultra Inert(30 m, 250 μ m i.d and 0.25 μ m film thickness)
Carrier gas	He, 1 mL/min
Temp program	60°C $\rightarrow$ 290°C (9°C/min) for 8 min
Injector temperature	340°C
Detector temperature	290°C
Injection amount	1 μ L
Mass spectrometry	
Parameter	Conditions
Instrument	Agilent Technologies 5977A MSD
Source temp	230°C
MS quadrupole	150°C
Ionization energy	70 eV
Emission current	34.6 μ A
Mass range of	50-800 AMU

3.5. 아임계 수 가수분해

초임계 이산화탄소 추출 이후 씨앗은 재분쇄 후 체를 이용해 710 μm 크기로 준비하였다. 오미자의 아임계 수 가수분해에 사용된 장치의 공정도는 Fig. 3에 나타내었다. 가수분해 실험은 내산화성 및 내열 합금으로 제작된 하스텔로이 특수 금속으로 부피는 200 mL이며 고온 및 고압용 용기와 혼합하기 위한 임펠러가 부착되어 있는 회분식 장치로 수행되었다.

오미자 시료 6 g과 증류수 150 mL (w/v, 1:25)으로 시료를 준비하고 반응기에 넣어주었다. 전열기를 이용해 가열하여 정상상태에서 추출 온도(140℃-200℃)에 도달하면 10분 동안 망치하였다. 이후 가수분해물은 밸브를 열어 냉각장치를 거쳐 회수되었다. 추출물은 4℃ 냉장 보관하며 분석에 사용하였다.

3.6. 가수분해율 및 마이야르 반응 생성물

가수분해물의 가수분해율은 다음과 같은 식으로 계산되었다.

$$\text{Hydrolysis yield}(\%) = \frac{M_{\text{sample}} - M_{\text{residue}}}{M_{\text{sample}}} \times 100$$

가수분해물의 마이야르 반응 생성물(Maillard reaction products; MRPs)은 Plaza et al의 방법을 변형하여 측정하였다(Plaza et al, 2010). 가수분해물은 갈변 정도는 필터 후 즉시 UV-Spectrometer를 이용하여 360 nm 및 420 nm에서 측정되었으며 MRPs는 흡광도 단위(Absorbance Unit, A.U.)로 나타내었다.

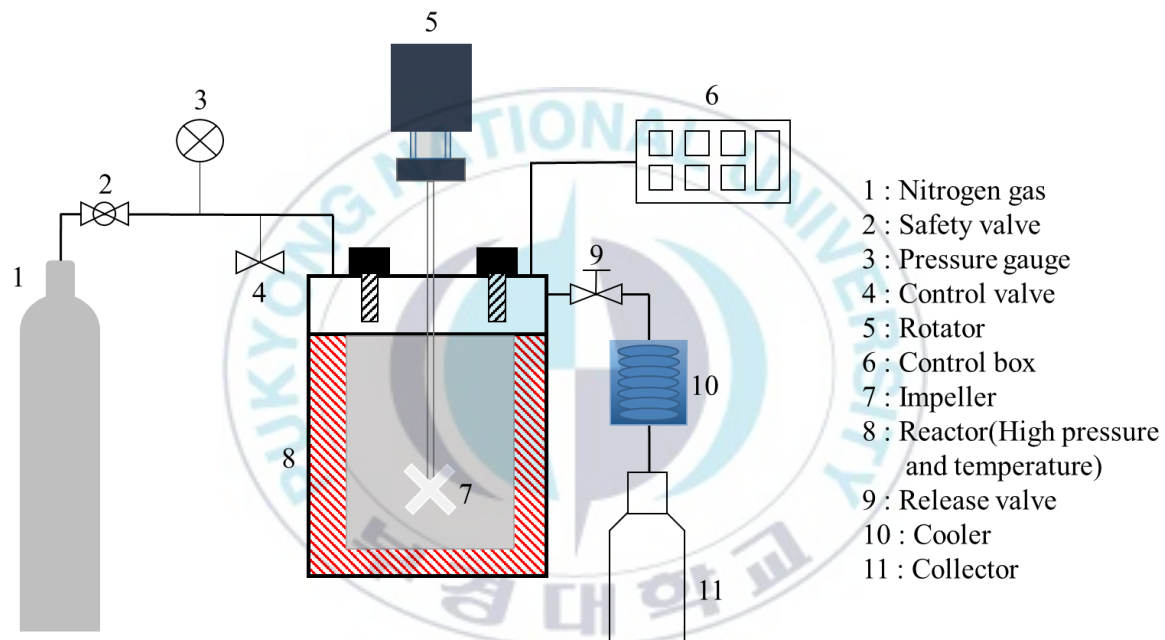


Fig. 3. Block diagram of pressurized hot water extraction

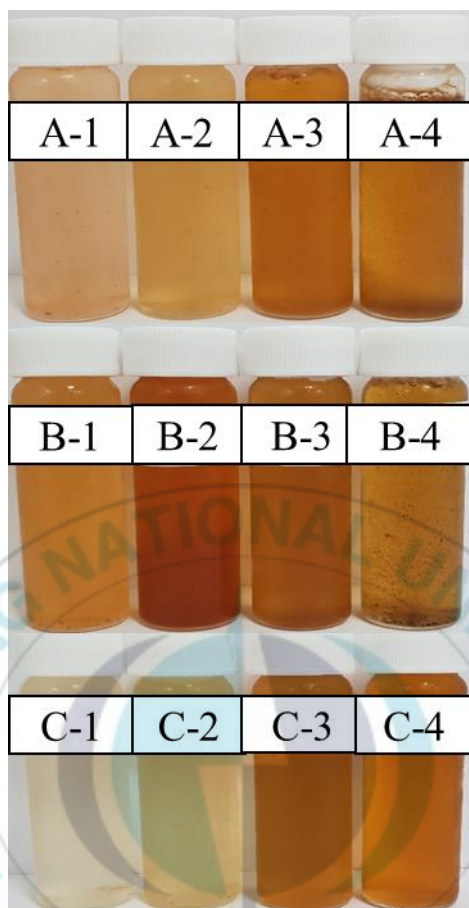


Fig. 4. Hydrolysate of *S. chinensis* A) Fruit, B) Peel, C) Seed (1) 140 °C, (2) 160 °C, (3) 180 °C, (4) 200 °C.

3.7. 추출물의 페놀류 함량

3.7.1. 총 페놀 함량

추출물 및 가수분해물의 총 페놀 함량은 Slinkard et al의 방법을 약간 변형하여 사용하였다(Slinkard et al, 1977). 10 mL 유리 시험관에 시료 0.5 mL, 95% Ethanol 0.5 mL, 증류수 5 mL를 넣은 후 Folin-Ciocalteu reagent (1 N in Distilled water) 0.25 mL를 넣고 5분간 반응시켰다. 이후 5% Na_2CO_3 0.5 mL를 첨가한 뒤 vortex하여 암실에 1시간 동안 방치하였다. 이후 UV-Spectrometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로서 Gallic acid를 사용하여 검량선($y=0.0083x+0.0015$, $R^2 = 0.9996$) 작성 후 함량을 측정하였다.

3.7.2. 총 플라보노이드 함량

추출물 및 가수분해물의 플라보노이드 함량은 Park et al을 약간 변형하여 측정하였다(Park et al, 1997). 먼저 반응 용액으로서 10% Aluminium chloride hexahydrate ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)를 에탄올에 녹이고 1M Potassium acetate (CH_3COOK)를 증류수에 녹여 조제하였다. 시험 방법으로 Eppendorf tube (2 mL)에 증류수 1.12 mL를 넣은 후 각 시료 및 표준 물질을 0.2 mL 넣어준다. 이후 95% Ethanol 0.6 mL를 넣어준 이후 AlCl_3 및 CH_3COOK 용액을 0.04 mL를 가한다. 상온에서 40분간 방치 후 415 nm에서 각 혼합액의 흡광도를

측정한다. 표준물질로서 Quercetin을 이용하여 25, 50 및 100 µg/mL (ppm)으로 에탄올에 용해시켜 조제한 후 검량선($y=0.0015x+0.0381$, $R^2 = 0.9943$)을 작성하여 플라보노이드 함량을 계산하였다.

3.8. 추출물의 항산화 활성

3.8.1. ABTS 라디칼 소거능

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) ABTS 라디칼 소거능은 U. K. S Khanam et al 의 방법을 약간 변형하여 측정하였다(U. K. S. Khanam, 2012). 이 방법은 검량선에서 표준 항산화 물질과 비교하여 ABTS 라디칼 양이온을 제거하기 위한 서로 다른 요소들의 항산화능을 기반으로 한다. 용액은 7 mM ABTS^{•+} 용액과 2.45 mM Potassium persulfate 용액을 조제하여 동일한 양으로 혼합하여 암실에서 12시간 방치한다. 이후 용액 사용 전 ABTS^{•+} 용액을 메탄올을 이용하여 희석한 후 734 nm에서 흡광도를 측정한다(Absorbance = 0.7 ± 0.02). 150 µL의 반응물과 2.85 mL ABTS^{•+} 용액을 혼합시켜 암실에서 2시간 동안 반응시킨다. UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정한다. ABTS 라디칼 소거능은 아래의 식을 이용하여 %로 나타내었다.

$$\text{Inhibition \%} = (1 - A_{\text{sample}}/A_{\text{control}}) \times 100$$

여기서 A_{sample} 은 시료의 흡광도를 나타내며 A_{control} 은 용매의 흡광도를 나타낸다. 양성 표준물질로 Trolox를 사용하였다.

3.8.2. DPPH 자유 라디칼 소거능

모든 추출물의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능은 Yen and Chen 의 방법에 따라 수행되었다(Yen and Chen, 1995). 실험을 위한 반응 용액으로 메탄올에 0.2 mM DPPH 용액을 조제한 후 추출물 또는 가수분해물 0.1 mL와 0.2 mM DPPH 용액 3.9 mL를 넣어 반응시켰다. 혼합물은 상온에서 30분간 방치한 뒤 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{Scavenging effect (\%)} = \left[1 - \left(A_{\text{sample}} - \frac{A_{\text{blank}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

여기서 A_{sample} 은 시료군의 흡광도, A_{blank} 는 사용된 용매와 DPPH 혼합액의 흡광도 및 A_{control} 은 시료 및 용매의 흡광도를 나타낸다.

양성 표준물질로 Ascorbic acid를 사용하였으며 항산화 물질의 환원력은 EC_{50} 으로 나타내었다.

3.8.3. FRAP 철 이온 환원력

Ferric reducing antioxidant power, FRAP 측정은 K. Thaipong et al 의 방법을 약간 변형하여 측정하였다(K. Thaipong et al, 2006). 실험에 필요한 용액으로 300 mM Acetate buffer (1.6 g sodium acetate 및 8 mL acetic acid)를 섞은 후 증류수로 500 mL로 채움, pH 3.6)와 10 mM TPTZ 용액(40

mM HCl 에 용해) 및 20 mM iron (III) chloride 를 조제하여 각 비율을 10:1:1(v/v/v)로 혼합하고 사용하기 전 37℃에서 보관하였다. 추출물 또는 가수분해물 75 mL 와 1.425 mL FRAP 용액을 섞은 후 암실에서 30 분간 보관하였다. Microplate reader 를 이용하여 반응물을 593 nm 에서 흡광도를 측정하고 표준물질로서 Trolox 를 사용하여 검량선($y = 0.0048x + 0.0169$, $R^2 = 0.9995$)을 작성 후 항산화 물질의 환원력은 EC_{50} 으로 나타내었다.

3.8.4. 환원력

환원력은 N. Singh and P. S. Rajini의 방법에 따라 수행하였다(N. Singh and P. S. Rajini, 2004). 실험에 사용된 용액은 Phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) 과 1% $K_3Fe(CN)_6$ 및 10% Trichloroacetic acid를 조제한다. 0.1% $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 를 증류수(0.1 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ /100 mL Distilled water)에 녹여 조제한다. 실험 방법으로 시료 200 μ L를 2 mL Eppendorf tube에 넣은 후 Phosphate buffer 500 μ L 및 $K_3Fe(CN)_6$ 500 μ L를 넣고 50℃에서 30분간 방치한다. 이 후 500 μ L Trichloroacetic acid를 넣은 뒤 원심분리기(MF550, Hanil Sci. Co., LTD, Daejeon)를 이용하여 3000 rpm에서 10분으로 설정하여 원심분리를 실시하였다. 이후 반응액 500 μ L를 취해 다른 tube로 옮긴 뒤 희석하기 위해 500 μ L 증류수를 넣은 후 $FeCl_3$ 를 100 μ L 첨가 후 즉시 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 반응용액의 흡광도에 대한 대조 실험으로 시료를 대신하여 증류수를 200 μ L를 넣어 같은 실험을 진행하였다. 환원력에 대한 값은 흡광도

값(Absorbance Unit, A.U)으로 나타내었다.

3.9. 총 탄닌 함량

총 탄닌 함량은 U. Paaver et al의 방법을 참고하여 수행하였다(U. Paaver et al, 2010). 각 추출물 0.5 mL에 1% $K_3Fe(CN)_6$ 1 mL와 1% $FeCl_3$ 1 mL를 첨가한 다음 vortex하여 5분 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 Tannin acid를 이용하여 검량선($y = 0.0118x + 0.0739$, $R^2 = 0.9971$)을 작성한 후 각 가수분해물의 탄닌 함량을 정량하였다.

3.10. 총 당 함량

가수분해물의 총 당 함량은 Dubois et al의 방법에 따라 수행되었다(Dubois et al, 1956). 실험에 필요한 반응 용액으로 40% Phenol 용액을 조제하였다. 실험 방법으로 가수분해물 0.375 mL를 1.125 mL의 진한 황산과 섞고 0.225 mL의 40% Phenol 용액을 넣은 후 항온수조(100℃)에서 5분간 방치하였다. 냉각시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Glucose를 표준물질로 하여 검량선($y = 0.0039x + 0.1188$, $R^2 = 0.9871$)을 작성한 뒤 sample의 당 함량을 계산하였다. 가수분해물의 총 당 함량은 g glucose/100 g Dried sample로 나타내었다.

3.11. 환원당 함량

가수분해물의 환원당 함량은 Saqib et al에 따른 Dinitrosalicylic acid (DNS) 용액을 이용하여 진행하였다(Saqib et al, 2011). DNS 용액은 10 g Dinitrosalicylic acid 및 300 g Sodium potassium tartrate (Rochelle salt)를 800 mL의 0.5 N NaOH에 녹인 뒤 증류수를 넣어 최종부피가 1 L가 되도록 조제하였다. 실험 방법은 1 mL 추출물과 4 mL의 DNS 용액을 섞은 후 끓는 물(95℃)에서 5분동안 반응시켰다. 실온에서 방치하여 반응물을 냉각하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 glucose를 표준물질로 하여 검량선($y = 0.0008x + 0.0628$, $R^2 = 0.9995$)을 작성한 후 sample의 환원당 함량을 계산하였다. 환원당의 함량은 g glucose/100 g Dried sample로 나타내었다.

3.12. 수용성 단백질 함량

가수분해물의 수용성 단백질 함량은 U. V. Lowry et al., 1951의 방법에 따라 수행되었다(U. V. Lowry et al, 1951). NaOH 2 g과 Na_2CO_3 10 g을 400 mL 증류수에 완전히 녹이고, 최종 부피가 500 mL 되도록 하여 용액1을 만들고 0.1 g potassium sodium-tartrate 와 50 mg cupric sulfate를 8 mL 증류수에 넣어주고 완전히 녹인 후 최종 부피가 10 mL가 되도록 하여 용액 2를 만든 후 용액 1과 용액 2의 비율을 50:1로 섞어 사용하였다. 0.6 mL 가수분해물과 3 mL lowry's solution을 섞고 2초간 혼합한 후 20분간 암실에 보관한다. 0.3 mL FC reagent 용액을 넣고 35분간 암실에 보관한 뒤 microplate reader

(BioTek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하고 표준물질로 bovine serum albumin (Sigma Chemical Co., USA)를 사용하여 검량선($y=0.0014x+0.0998$, $R^2=0.995$)을 작성 후 추출물의 수용성 단백질 함량은 g bovine serum albumin equivalent per 100 g dry weight (mg BSAE/100 g DW)로 나타내었다.

3.13. 가수분해물의 물리화학적 특성

3.13.1 pH

오미자 가수분해물의 pH 측정은 pH meter (Mettler Toledo Five Easy Plus, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. pH 버퍼(pH 4, pH 7, pH 10)를 이용하여 표준값을 설정 후 사용하였다

3.13.2 색도

오미자 가수분해물의 색도 측정은 액체시료용 cell에 가수분해물을 넣은 다음 색차계(Lovibond RT series, The Tintometer Ltd, Amesbury, UK)를 이용하여 L^* (명도), a^* (빨강-초록), b^* (노랑-파랑) 값으로 측정하였다. 이 값들을 이용하여 색조(Hue, H^*) 및 채도(Chroma, C^*)가 다음과 같이 계산되었다.

$$\text{Hue} = \frac{\tan^{-1} b^*}{a^*} \quad \text{Chroma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

3.14. 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 가수분해물의 페놀화합물

함량 측정

가수분해물의 페놀 함량은 Hao Chen et al의 방법을 약간 변형하여 분석하였다(Hao Chen et al, 2001). 사용한 기기는 Hitachi L-2420 UV-VIS detector, L-2130 pump, L-2300 column oven으로 구성되어 있는 High Performance Liquid Chromatography (Hitachi 2000 series, Hitachi Ltd, Japan)를 이용하여 분석하였다. 사용한 이동상 용매로는 포름산 0.1%를 섞은 물(용매 A), 메탄올(용매 B)가 사용되었다. 용매 A의 비율은 0-10 min, 100% A; 10-20min, 98% A; 20-47min, 80% A; 47-80min, 45% A로 설정하여 측정하였으며 유속은 0.7 mL/min으로 설정하였다. 분석에 사용한 컬럼은 Eclipse C₁₈ (Agilent, 5.0 μ m, 4.0 $\times$ 150 mm)를 사용하였으며 상온에서 분석하였다. 시료 주입 전, 오미자 가수분해물은 0.45 μ m 실린지 필터로 여과하였으며 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 페놀 화합물의 함량은 표준물질의 RT값과 일치시켜 검출되었다(Fig. 8). 표준물질은 gallic acid, catechin, coumaric acid, rutin, quercetin 및 kaempferol을 사용하였으며 각 추출물의 페놀 화합물은 전체 중 각 화합물이 차지하는 비율(%)로 나타내었다.

3.15. 가수분해물의 다당류 분리

가수분해물의 다당류 분리는 Zebo Huang et al의 sevag Method를 이용해 단백질을 분리하였고 이후 다당류를 분리하였다(Zebo Huang et al, 1998). 실

험 방법은 chloroform:n-butanol (5:1, v/v)로 섞은 후 가수분해물과 1:1(v/v)로 하여 350 rpm에서 10분간 마그네틱 교반기를 이용하여 반응시켰다. 이후 분액깔때기를 이용하여 상등액을 취하고 같은 과정을 3회 반복하였다. 이후 남은 가수분해물에 99% ethanol을 이용하여 ethanol:hydrolysate (3:1, v/v)로 섞은 후 4℃에서 하루 동안 방치하였다. 방치 후 반응액은 원심분리기(Supra 22K, HANIL Sci. Med., Daejeon)를 이용하여 10,000 rpm에서 10분으로 분리되었다. 분리된 다당류는 에탄올을 완전히 날려보낸 뒤 동결건조기를 이용하여 72시간동안 건조되었다.

3.16. 가수분해물 내 다당류의 총 항산화능

다당류의 총 항산화능은 Prieto et al의 방법을 이용하여 수행되었다(Prieto et al, 1999). 실험에 사용된 반응 용액은 0.6 M Sulfuric acid, 28 mM Sodium phosphate monobasic dihydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 4 mM Ammonium molybdate (0.588 mL Sulfuric acid, 49 mg Sodium phosphate, 36 mg Ammonium molybdate를 플라스크에 넣고 10 mL를 조제)로 0.1 mL 시료와 대조군으로서 0.1 mL 증류수에 1 mL 반응 용액을 넣은 후 95℃에서 90분간 반응시킨다. 반응 후 상온에서 방치하여 냉각시키고 695 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준물질은 Trolox를 이용하여 검량선($y=0.0019x-0.0003$, $R^2=0.9955$)을 작성하여 다당류가 나타내는 총 항산화능은 mg TE/g Polysaccharide로 나타내었다.

3.17. Thin layer Chromatography

Thin layer chromatography는 Chapla et al의 방법을 약간 변형하여 수행하였다(Chapla et al., 2012). TLC 판은 silica Gel 60 F254 (Merck, Germany)를 사용하였다. 다당류 3 mg 및 72% 황산 30 μ L를 혼합한 뒤 30°C에서 60분간 반응시켰다. 이후 840 μ L 증류수를 넣고 121°C에서 30분간 방치하였다. 혼합물은 42 mg CaCO_3 을 이용하여 멸균한 뒤 5000 rpm, 10분간 원심 분리하였다. 상등액을 이용하여 TLC 분석을 실시하였다.

단당류는 thin layer chromatography에 의해 성분 확인을 하였으며 혼합물은 아세트나이트릴 및 물 80:20 비율로 섞은 액체를 이동상으로 하고 TLC 판은 100°C, 15분간 오븐에 넣어 건조하였다. 이후 판에 96:4 비율의 에탄올 및 황산에 0.2% naphtoresorcinol를 포함하는 용액을 조제하여 건조된 TLC 판에 분무하였고 TLC 판은 색을 전개하기 위해 오븐에서 100°C로 건조되었다.

3.18. 다당류의 특성 분석

3.18.1 UV-Vis analysis

UV-vis analysis는 각 다당류를 1000 ppm으로 희석한 후, UV-Vis spectrophotometer (Synergy HTX BioTek Instruments, Winooski, USA)를 이용하여 200–700 nm 영역에서 자외선 흡광도를 측정함으로써 측정되었다.

3.18.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

다당류의 FT-IR 스펙트럼 분석은 FT-IR spectrometer (Perkin Elmer, Inc., USA)를 이용하여 측정되었다. FT-IR 스펙트럼은 $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ 의 영역을 나타내었다.

3.19. 통계처리

실험결과의 통계처리는 SPSS (statistical package for social science, version 23) 프로그램을 이용하여 결과에 대한 분산분석 후 평균 및 표준편차를 구하고, 항목들 간의 유의성 검정은 Tukey의 다중비교로 $p < 0.05$ 유의수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

결과 및 토의

1. 초임계 이산화탄소 추출

각 시료의 초임계 이산화탄소 추출 회수율 및 이산화탄소 용해도는 Table 3과 같이 나타났다. 전체 열매 부분의 오일 회수율은 10.67%, 껍질에서 0.079% 및 씨앗에서 16.38%로 나타나 전체 열매 및 껍질보다 씨앗에서의 오일 함량이 높은 것으로 나타났다. 이는 식물에서 유지는 종자에 다량 분포하고 있다는 보고와 일치하는 경향을 나타냄을 알 수 있다(류일환, 권태오, 2012). 또한 추출된 오일로부터 이산화탄소 용매의 용해도는 각각 0.007, 0.0004 및 0.01로 나타났으며 이를 통해 씨앗이 가지는 오일 함량 및 용해도가 가장 높은 것을 알 수 있다.

Table 3. Oil recovery and solubility of *S. chinensis* oils

	Supercritical carbon dioxide extraction		
	Fruit	Peel (118 g)	Seed
Oil Recovery (%)	10.67	0.079	16.85
Oil solubility in CO ₂ (g oil/g CO ₂)	0.007	0.003	0.01

N.B : For Peels, 118 g of the sample was placed in the reactor for sealing because it was bulky.



Fig. 5. Oil extracts of *S. chinensis* (Fruit, peel and seed).

2. 오일의 안정성

오미자 부위별 오일 추출물의 안정성을 비교하여 Table 4에 나타내었다. 산가란 유지 1 g에 함유되어 있는 유리지방산을 중화하는데 필요한 수산화칼륨(KOH)의 mg 수이다(AOCS, 2006b). 오미자 오일의 산가는 씨앗에서 3.61 ± 0.65 mg KOH/g oil로 나타났으며 가장 낮게 측정되었다. 씨앗을 제외한 껍질에서는 산가가 87.37 ± 0.77 mg KOH/g oil로 나타났는데 이는 껍질이 함유하고 있는 시트르산, 말산, 타르타르산으로 인해 나타난 것으로 사료된다(생약학교재편찬위원회, 2007).

과산화물가란 유지 1 kg에 함유되어 있는 과산화물의 mg 당량수이며 오일이 어느 정도 산패가 되면 과산화물을 생성하며 이를 통해 초기 부패 정도를 확인할 수 있다(AOCS, 2006c).

p-Anisidine은 유지에서 고온으로 가열될 때 나타나는 급격한 산화과정의 진행도를 평가하는 척도로 이용되며, 값이 낮을수록 유지의 산화가 적은 것으로 볼수 있다(이수정 외, 2009).

과산화물가 및 p-anisidine은 전체 열매에서 가장 낮게 나타났으나 씨앗 추출물과 유의한 차이는 나타나지 않았다($p < 0.05$). 씨앗 오일 추출물에서는 과산화물가와 p-anisidine은 3.09 ± 0.12 , 3.88 ± 0.10 로 나타났으며 이를 통해 유지의 산패 정도가 낮은 것을 확인할 수 있다.

산화안정성의 또 다른 척도로서 산화유도기간은 과산화물가가 100에 이르는

시간 즉, 고급지방산이 산화되면서 휘발성 저급지방산을 생성하여 전도도값의 변화를 일으키는 정도를 측정하는 방법으로 전체 열매는 1.81 h, 씨앗은 16.34 h으로 나타났다. 전체 열매에서 시간이 짧게 나타난 것은 보조용매 에탄올을 이용한 추출물에 의한 것으로 사료된다(Lin et al, 2015).



Table 4. Oil stability values of *S. chinensis* oils

Oils		Acid value (mg KOH/g)	Peroxide value (meq/kg)	<i>p</i> -Anisidine	Total oxidation value (TOTOX)	OSI(h)
SC-CO₂ Extraction	Fruit	10.07±0.50 ^b	2.13±0.22 ^b	3.73±0.16 ^b	7.99±0.36 ^b	1.81
	Peel	87.37±0.77 ^a	10.3±2.49 ^a	5.65±0.16 ^a	26.25±2.57 ^a	N.A*
	Seed	3.61±0.65 ^c	3.09±0.12 ^b	3.88±0.10 ^b	10.06±0.34 ^b	16.34

Values are expressed as mean ± S.D(Standard Deviation). Different letters in the same column indicate significant differences (p <0.05) according to Tukey's multiple range test.

N.A* : Not analysis.

3. 오일의 지방산 함량

유지는 식물의 경우 종자에 다량 분포하고 있으며 지방산의 glyceryl ester로서 상온에서 액체인 것을 지방유(oils), 고체인 것은 지방(fat)이라 한다. 이 중 포화지방산에서는 palmitic acid, stearic acid가 가장 많고, 불포화지방산에서는 oleic acid, linoleic acid, linolenic acid가 가장 많은 것으로 알려져 있다. 지방유 중의 불포화지방산은 불포화도가 높으면 공기 중에서 산화 중합하여 표면에 피막을 형성하는 특징이 있다(생약학교재편찬위원회, 2007).

오미자의 부위별 오일의 지방산 함량은 Table 5에 나타내었다. 열매, 과피 및 씨앗 시료 전체에서 불포화 지방산이 높은 것으로 나타났으며 포화지방산의 경우 12.79%(열매)에서 22.78%(과피)의 값을 나타낸 반면 불포화지방산의 경우 87.21%(열매)에서 77.22%(과피)로 나타나 불포화지방산이 포화지방산에 비해 6.82배 높은 함량을 나타내었으며 이전의 보고와 유사한 결과를 얻었다(류일환, 권태오, 2007). 열매, 과피 및 씨앗의 불포화 지방산 중 oleic acid는 20.84%, 18.58%, 23.57%로 나타났으며, linoleic acid는 64.30%, 53.24%, 60.19%, linolenic acid는 0.59%, 4.07%로 나타나 전체 지방산 중 불포화 지방산이 86.91%, 77.22%, 84.92%를 차지하였다. 특히 linoleic acid는 인체에 필요한 필수지방산으로 비타민 F로 불리며 γ -linolenic acid (C18:3) 및 arachidonic acid (C20:4)의 생합성 전구체로 알려져 있으며 피부염의 개선 및 당뇨 개선 등 다양한 기능이

알려져 있는 고 기능성 지방산이다. 또한 세포막 지질의 산화 방지 등 항산화
기능도 보고되어 있다(류일환, 권태오, 2007).



Table 5. Fatty acid composition of *S. chinensis* oils

Fatty acid	Retention Time (min)	Supercritical CO ₂ Extracted Oils		
		Fatty acid composition (%)		
		Fruit	Peel	Seed
Caproic Acid (C6:0)	10.821	ND	ND	0.38
Caprylic Acid (C8:0)	12.001	ND	ND	0.41
Capric Acid (C10:0)	14.181	0.35	1.69	ND
Undecanoic Acid (C11:0)	15.45	0.34	2.07	ND
Lauric Acid (C12:0)	16.423	0.64	ND	0.36
Tridecanoic Acid (C13:0)	18.364	0.47	1.01	1.51
Myristic Acid (C14:0)	19.971	ND	0.45	ND
Palmitic Acid (C16:0)	23.324	3.33	7.21	3.08
Heptadecanoic Acid (C17:0)	24.963	5.79	8.97	6.82
Stearic Acid (C18:0)	26.53	0.78	0.90	0.75
Oleic Acid (C18:1n9)	27.63	20.84	18.58	23.57
Elaidic Acid (C18:1n9t)	27.714	1.18	1.33	1.16
Linoleic Acid (C18:2n6c)	29.178	64.30	53.24	60.19
cis-11-Eicosenoic Acid (C20:1)	30.47	0.31	ND	ND
Linolenic Acid (C18:3n3)	30.751	0.59	4.07	ND
Tricosanoic Acid (C23:0)	34.424	0.41	ND	0.59
Lignoceric Acid (C24:0)	35.458	0.67	0.48	1.17
Σ SFA		12.79	22.78	15.08
Σ MUFA		22.32	19.91	24.73
$\Sigma\omega$ -3 PUFA		0.59	4.07	0.00
$\Sigma\omega$ -6 PUFA		64.30	53.24	60.19
Σ PUFA		64.89	57.31	60.19
Σ Total(SFA+MUFA+PUFA)		100.00	100.00	100.00

N.B : ND means Not detected.

SFA=Saturated fatty acid.

MUFA=Monounsaturated fatty acid.

PUFA=Polyunsaturated fatty acid.

4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry(GC-MS)를 이용한 오일의 화합물 분석

Table 6 에 오미자 추출물에 대한 화학적 조성을 나타내었으며 오미자 추출물로부터 화합물의 함량은 상대적인 비율로써 나타내었다. 화합물은 컬럼으로부터 용출된 순서대로 나타내었다.

오미자의 초임계 이산화탄소 추출물은 시료 전체 노랑색을 띠었으며 과피의 경우 갈색에 가까운 색을 띠었다. 전체 오일은 총 46 개의 성분이 gas chromatography-mass spectrometry 를 통해 확인되었다.

오미자 오일 중 과피의 경우 α -Ylangene, β -Himachalene 및 Linoleic acid 가 주요 화합물로 나타났으며 전체 오일의 23.2%, 10.47% 및 8.53%를 차지하는 것으로 확인되었다. 씨앗의 경우 과피보다 많은 화합물들이 검출되었으며 α -Ylangene, Leinoleic acid, α -Cuprene, Thujopsenal, (+)-Cycloisolingifol-5-ol, Zizanal, γ -Muurolene, (E)-Isovalencenal 순으로 높은 함량을 나타내었다. 각각의 함량은 18.79%, 18.52%, 8.48%, 6.64%, 6.24%, 0.97%, 0.61%, 0.31%로 나타났다. Chamigrene 의 경우 과피에서는 4.07%로 나타났으며 씨앗의 경우 0.55%로 과피에 비해 낮은 함량을 나타내었다.

GC-MS 결과를 통해 과피와 씨앗의 화합물의 함량은 크게 차이가 존재하진 않았으나 성분의 수는 씨앗에서 많은 것으로 나타났다. 특히 씨앗의 경우 다가 불포화 지방산인 Leinoleic acid 가 검출되었다.

오미자의 GC-MS 결과는 지리적 환경적 요인뿐만 아니라 식물의 초기 단계가 오미자의 화학 성분을 생성하는 데 기여했다고 판단된다(Ramzi A. Mothana et al, 2013).



Table 6. Chemical composition of *S. chinensis* oils

No.	Constituent	Retention time (min)	Supercritical CO ₂ Oils		
			Area(%)		
			Fruit	Peel	Seed
1	Methyl thymyl ether	8.577	0.44	0.87	0.70
2	trans-Bornyl acetate	9.41	1.13	1.85	1.50
3	α -Longipinene	10.553	1.70	2.76	2.24
4	α -Ylangene	10.741	14.69	23.20	18.79
5	β -Selinene	10.815	1.04	1.48	1.20
6	β -Elemene	10.989	1.43	0.91	0.74
7	Eudesma-1,4(15),11-triene	11.146	0.36	0.40	0.33
8	isodene	11.294	0.29	0.51	0.41
9	2,5-Dimethoxycymene	11.334	0.38	0.53	0.43
10	β -Copaene-4 α -ol	11.417	1.68	1.65	1.33
11	β -Cubebene	11.565	0.49	ND	ND
12	β -Farnesene	11.8	1.16	2.28	1.85
13	β -Bisabolene	11.979	2.28	3.84	3.11
14	Chamigrene	12.285	2.50	4.07	0.55
15	Longifolene-(V4)	12.289	ND	ND	3.29
16	4-epi- α -Acoradiene	12.376	2.66	3.19	2.58
17	γ -Amorphene	12.45	0.86	0.80	0.65
18	α -Selinene	12.494	1.02	0.33	0.26
19	β -Himachalene	12.572	5.17	10.47	ND
20	α -Cuprenene	12.577	ND	ND	8.48
21	γ -Muurolene	12.812	0.84	ND	0.61
22	Isoitalicene	12.865	2.06	4.16	3.37
23	6-epi-shyobunol	13.458	0.41	0.74	0.60
24	Zizanal	13.563	ND	ND	0.97
25	γ -Bisabolene	13.68	0.82	ND	ND
26	β -Costol	14.23	0.31	0.40	0.32
27	epi- α -Cubenol	14.278	0.49	0.77	0.62
28	Ylangenol	14.4	4.09	5.39	4.36
29	β -Copaen-4 α -ol	15.416	0.42	7.71	ND
30	(E)-Isovalencenal	15.621	0.28	ND	0.31
31	Germazone	15.695	0.36	0.73	0.59
32	(+)-Cycloisolongifol-5-ol	15.756	ND	ND	6.24
33	Cuparenal	15.826	0.29	0.33	0.27
34	Thujopsenal	16.258	4.66	ND	6.64
35	Ylangenal	16.472	1.79	2.47	0.33
36	Methyl hinokiate	17.374	0.37	0.52	0.42
37	Saussurea lactone	17.797	0.31	0.61	0.49
38	Palmitic acid	17.928	2.57	2.08	1.69
39	Leinoleic acid	19.834	ND	ND	18.52
40	Linoleic acid	19.852	25.99	8.53	ND

Table 6. Cont.

No.	Constituent	Retention time (min)	Area(%)		
			Fruit	Peel	Seed
41	Oleic Acid	19.891	8.06	ND	ND
42	Mandenol	20.022	1.86	1.18	0.96
43	Ethyl elaidate	20.07	0.68	ND	ND
44	Diethyl phthalate	23.581	0.33	ND	ND
45	Podofilox	24.353	3.07	4.74	3.84
46	γ -Sitosterol	31.946	0.68	0.50	0.40
	Total		100	100	100

N.B : ND means Not detected.



5. 아임계 가수분해율 및 마이야르 반응 생성물

아임계 가수분해율 및 마이야르 반응 생성물은 Table 7에 나타내었다. 모든 시료에서 반응 온도가 증가함에 따라 가수분해율이 증가하는 경향을 나타내었으며 씨앗이 제거된 과피에서 가장 높은 가수분해율이 나타났다. 이는 과피의 분말 특성으로 인해 다른 시료들보다 큰 표면적을 갖기 때문에 분해율이 높게 나타난 것으로 사료된다.

마이야르 반응 생성물은 가열 강도에 의해 영향을 받으며 가열 강도가 높으면 높을수록 마이야르 반응 생성물을 비례적으로 발생시키는 것으로 알려져 있다(Lee et al, 2018).

따라서 온도에 따른 영향력으로 가수분해율이 증가하며 360 nm 및 420 nm에서 측정된 흡광도 값으로 미루어 볼 때 추출 온도가 증가함에 따라 마이야르 반응 생성물의 양이 증가하는 것을 알 수 있다.

Table 7. Experimental summary of residue obtained after hydrolysis, yield, pH, maillard reaction products (MRPs)

	Temperature (°C)	Yield (%)	pH	MRPs(A.U)	
				Absorbance at 360 nm	Absorbance at 420 nm
Fruit	140	78.87	2.81±0.04 ^b	0.92±0.03 ^d	0.42±0.01 ^c
	160	78.96	2.79±0.02 ^b	1.83±0.02 ^c	0.71±0.00 ^c
	180	79.44	2.88±0.03 ^b	3.77±0.02 ^b	1.35±0.03 ^b
	200	80.82	3.20±0.13 ^a	4.00±0.00 ^a	2.44±0.22 ^a
Peel	140	79.32	2.73±0.02 ^b	1.11±0.05 ^c	0.51±0.02 ^d
	160	81.07	2.76±0.04 ^b	1.74±0.02 ^b	0.62±0.00 ^c
	180	82.70	2.81±0.05 ^b	3.59±0.14 ^a	1.28±0.07 ^b
	200	83.13	3.03±0.04 ^a	4.00±0.00 ^a	2.31±0.02 ^a
Seed	140	24.05	4.67±0.05 ^a	2.99±0.03 ^c	1.55±0.11 ^b
	160	38.66	4.41±0.08 ^b	3.09±0.18 ^c	2.01±0.10 ^{ab}
	180	59.36	4.24±0.09 ^{bc}	3.60±0.22 ^b	2.02±0.11 ^{ab}
	200	69.83	4.14±0.08 ^c	4.00±0.00 ^a	2.39±0.03 ^a

6. 가수분해물의 총 페놀 함량

페놀류의 phenolic hydroxyl기는 단백질 및 그 외 거대 분자들과 결합하는 특징을 가지며 항산화 효과 등의 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있으며 이러한 특징으로 인해 페놀 화합물의 함량은 항산화능의 간접적인 척도로써 이용될 수 있다(Cuvelier et al, 1996).

오미자 가수분해물의 총 페놀 함량은 Table 8에 나타내었다. 140℃부터 200℃까지 모든 시료에서 총 페놀 함량은 증가하는 경향을 나타내었으며 그 중 가장 높은 함량은 과피에서 11.10 ± 0.03 로 나타났다.

플라보노이드는 페놀 화합물의 한 종류로 2개의 벤젠 고리가 지방족인 3개의 탄소사슬에 연결되어 있는 구조를 가지고 있다. 이 물질은 음이온 라디칼과 수산기(-OH)를 제거함으로써 지질이 라디칼에 의해 산화되는 것을 방지하는 항산화제로 작용한다. 식물 내에 존재하는 것으로 알려진 플라보놀은 가장 많은 생리학적 기능과 항산화제의 기능을 갖고 있다고 알려져 있다(Zakaria et al, 2016). 플라보노이드의 결과는 총 페놀 결과와 같이 온도가 증가함에 따라 함량이 증가하는 것을 나타내었으며 씨앗에서 과피보다 높은 함량을 나타내었다. 가장 높은 함량은 200℃에서 씨앗은 4.36 ± 0.25 이며 과피는 3.57 ± 0.02 로 나타났다.

Table 8. *S. chinensis* hydrolysates of individual phenolic compounds on different condition

Hydrolysate	Temperature (°C)	Phenolic compound	
		Total phenolic contents (mg GAE*/g sample)	Total flavonoid contents (mg CE**/g sample)
Fruit	140	5.74±0.08 ^d	0.82±0.04 ^c
	160	6.35±0.03 ^c	1.04±0.05 ^{bc}
	180	6.60±0.10 ^b	1.62±0.32 ^b
	200	8.64±0.06 ^a	4.02±0.35 ^a
Peel	140	9.60±0.10 ^c	1.06±0.03 ^d
	160	10.22±0.17 ^b	1.51±0.09 ^c
	180	11.08±0.05 ^a	2.21±0.02 ^b
	200	11.10±0.03 ^a	3.57±0.02 ^a
Seed	140	5.80±0.10 ^d	0.60±0.04 ^d
	160	6.27±0.12 ^c	2.08±0.14 ^c
	180	8.36±0.04 ^b	3.71±0.28 ^b
	200	8.88±0.32 ^a	4.36±0.25 ^a

7. 가수분해물의 항산화 활성

7.1. ABTS radical scavenging capacity

ABTS radical scavenging capacity는 투명한 ABTS를 potassium persulfate를 이용하여 산화시켜 안정적인 양이온 라디칼을 가진 녹색의 ABTS 라디칼로 전환시켜 항산화능을 가진 물질에 의해 전자를 받아 환원되어 무색으로 탈색되는 것을 사용하여 항산화능을 측정하는 방법이다. ABTS radical scavenging capacity는 DPPH free radical scavenging activity와는 달리 에탄올이 아닌 다른 용매에서도 측정이 가능한 방법이지만, 항산화능 측정에서는 라디칼이 전자를 받아 환원되어 무색으로 변한다는 유사한 기작을 가지는 방법이기 때문에 서로 유의적인 상관성이 있다(Khanam et al, 2012). 오미자 가수분해물의 ABTS 라디칼 소거능 결과는 Table 9에 나타내었다. 오미자 가수분해물은 증류수로 5배 희석하여 측정하였으며 표기는 억제율(%)를 통해 나타내었다. 열매 및 씨앗의 경우 140℃ 및 160℃에서 유의한 차이가 나타나지 않았고 과피 및 씨앗의 경우 180℃ 및 200℃에서 유의한 차이가 나타나지 않았다. 특히 과피는 열매 및 씨앗보다 높은 항산화능을 나타내며 반응 온도 200℃일 때 $94.37 \pm 0.09\%$ 을 나타내었다. 이는 가수분해물의 총 페놀화합물과 유사한 경향성을 나타낸다. 이는 높은 압력 및 높은 온도에서 가수분해 효율성이 증가하며 140℃-160℃의 온도범위 보다 180℃이상의 온도 범위에서 유전상수가 감소하여 유기용매와 같은 유전상수를 가지게 되기 때문에 극성 및 비극성의 성질을 가진 아임계 수를 이용하여 오미자 각 부위에 작용함으로 보

다 많은 유용물질의 추출이 가능할 것으로 사료된다.

7.2. DPPH free radical scavenging capacity

DPPH free radical scavenging capacity는 안정적인 자유 라디칼을 갖는 DPPH가 항산화능을 가진 물질을 만나 전자를 내어주며 짙은 자색이 탈색되어 노란색으로 바뀌는 원리를 이용한 방법으로 항산화 물질의 항산화 활성 측정에 많이 이용되고 있다. 가수분해물의 DPPH 자유 라디칼 소거능은 Table 9에 나타내었으며 시료의 농도를 희석하여 측정한 결과를 이용해 효과가 50%에 달하는 농도 즉 최대 반수효과(EC₅₀)로서 표기하였다. DPPH 자유 라디칼 소거능은 안정한 유리기로 시스테인, 글루타티온과 같은 아미노산과 아스코르브산, 방향족 아민 등에 의해 환원되어 탈색 반응하는 것으로 항산화 물질 함량에 따라 항산화능 측정에 널리 이용되는 방법이다(Blois and Marsden S., 1958). 최대 반수효과의 수치가 낮으면 낮을수록 높은 활성을 나타내는 것이며 ABTS 라디칼 소거능 결과와 같이 과피에서 $39.57 \pm 2.31 \mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 활성을 나타내었다.

7.3. FRAP ferric reducing activity power assay

철 환원 항산화능(FRAP) 분석법은 반감기 환원 전위를 가진 항산화제의 존재 하에 제2철 이온(Fe^{3+})로부터 제1철 이온(Fe^{2+})로 환원되는 항산화 물질의 환원력을 측정하는 방법이다(Gliszczyńska-Świgło, Anna., 2006). 이 분석

법은 식물 추출물의 단일 산화 방지제 및 총 산화활성에 대한 일반적인 지표로써 통용되고 있다. 오미자 가수분해물의 FRAP assay 결과는 Table 9에 나타내었다. 철 이온 환원력 또한 DPPH와 동일한 표기를 통하여 나타내었다. 철 이온 환원활성은 과피에서 200℃에서 가장 높은 활성을 나타내었으며 농도는 $151.42 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 과피보다 씨앗에서 더욱 높은 활성을 나타내었으며 200℃에서 $120.67 \pm 0.35 \mu\text{g/mL}$ 으로 나타났다. 이는 씨앗이 가진 리그난 물질로 인해 나타난 결과로 사료된다.

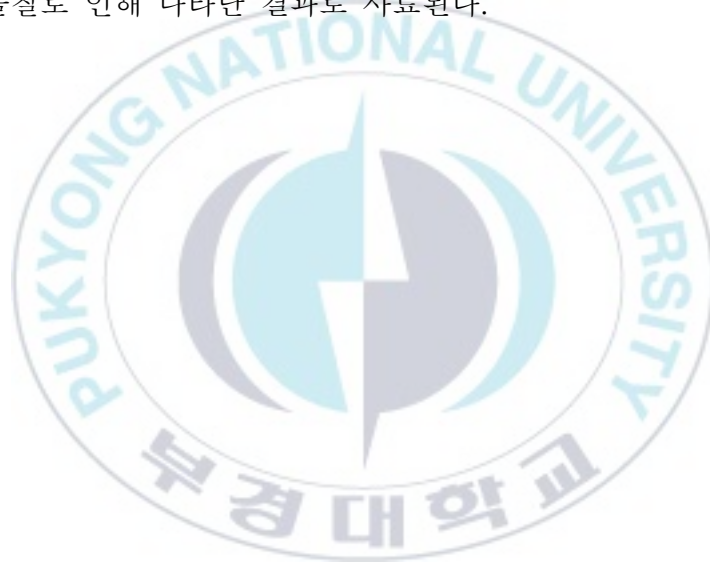


Table 9. Antioxidant activity measurement

	Temperature (°C)	ABTS (Inhibition, %)	DPPH (EC ₅₀ *, µg/mL)	FRAP (EC ₅₀ , µg/mL)
Fruit	140	66.95±0.90 ^c	108.18±0.94 ^a	234.45±0.52 ^a
	160	69.24±1.21 ^c	91.90±0.88 ^b	258.03±0.29 ^b
	180	72.78±0.83 ^b	86.85±0.46 ^c	177.98±0.77 ^c
	200	89.58±0.38 ^a	43.15±0.81 ^d	143.14±0.32 ^d
Peel	140	88.53±0.31 ^c	47.42±1.54 ^a	193.31±0.25 ^a
	160	93.67±0.08 ^b	45.50±0.49 ^{ab}	161.37±0.23 ^b
	180	94.22±0.09 ^a	42.30±1.51 ^{bc}	159.70±0.37 ^c
	200	94.37±0.09 ^a	39.57±2.31 ^c	151.42±0.25 ^d
Seed	140	62.46±2.77 ^b	61.94±2.13 ^a	314.33±0.25 ^a
	160	64.16±0.85 ^b	57.67±2.08 ^{ab}	279.83±0.52 ^b
	180	86.24±0.15 ^a	55.20±1.35 ^b	195.82±0.58 ^c
	200	87.34±0.35 ^a	47.22±0.86 ^c	120.67±0.35 ^d
Standard	Trolox	91.12±0.11 (1mM)	-	16.28
	Ascorbic acid	-	6.36	-

Values are expressed as mean ± SD (Standard Deviation). Different letters indicate significant differences (p < 0.05) according to Tukey's multiple range test.

*EC₅₀ : Half maximal effective concentration.

8. 환원력

환원력 측정에서 시험 용액의 황색은 각 가수분해물의 환원력에 따라 녹색과 청색의 다양한 색으로 변한다. 산화방지제의 존재는 Fe^{3+} /ferricyanide 화합물을 철 착화합물 형태로 환원시킨다. 따라서 700 nm에서 Perl 's Prussian blue 의 형성을 측정하는 것으로 Fe^{2+} 농도를 알 수 있다(Chou et al, 2003, Ferreira et al, 2007 and Singh et al, 2004). 가수분해물의 환원력은 Fig. 6에 나타내었다. 폴리페놀을 다량 함유하고 있는 과피에서 가장 높은 활성을 나타내었으며 씨앗은 과피보다 조금 낮은 활성을 보였다. 이를 통해 폴리페놀 함량이 높으면 높을수록 환원력에 미치는 영향에 차이가 나타나는 것으로 사료된다.

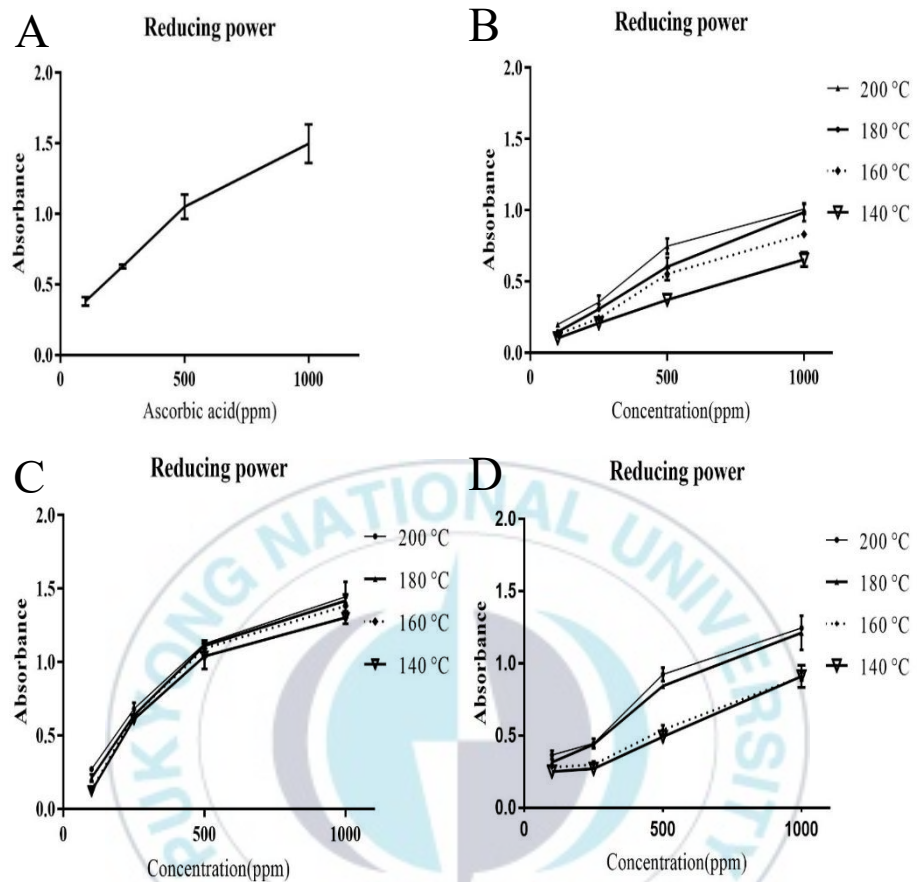


Fig. 6. Comparison of reducing power for A) ascorbic acid, *S. chinensis* B) fruit, C) peel, D) Seed.

9. 가수분해물의 탄닌 함량

탄닌은 페놀의 한 종류이며 차의 중요한 성분 중 하나이다. 탄닌은 차의 향기, 맛 및 색도에 깊이 관여하며, 다양한 생리작용을 나타내는 성분으로 알려져 있으며 탄닌 성분이 많으면 많을수록 짙은 맛을 나타내는 경향이 강해지는 것으로 알려져 있다(이남숙, 2017). 탄닌은 식물에 함유된 polyphenol 로 단백질 및 alkaloid 등과 결합하여 난용화의 경향을 나타내는 물질이라고 정의한다. 탄닌은 화학적 성질로 가수분해형 탄닌과 축합형 탄닌으로 대별된다. 가수분해형 탄닌은 기본구조에 다수의 ester 결합을 가지고 있으며 산, 효소 등으로 가수분해되기 쉬우나, 축합형 탄닌은 가수분해 및 산화 등으로 분자간의 축합이 진행되어 암갈색의 고분자물질인 phlobaphen 으로 변하기 쉬운 경향이 있다. 탄닌은 단백질과 결합하여 난용성 침전을 형성하는데 이는 탄닌 혹은 단백질을 서로 정성, 정량하는 데에 이용되기도 한다. 단백질과의 결합은 수렴작용을 나타내므로 탄닌은 지사, 정장제의 목적으로 의약품으로 활용된다. 또한 금속이온과 결합하기 쉬운 구조를 가지고 있어 Fe^{3+} 와 결합하여 산화억제 등의 성질도 가지고 있다(생약학교재편찬위원회, 2007).

오미자 가수분해물의 탄닌 함량은 Fig. 7 에 나타내었다. 오미자의 탄닌 함량은 온도가 높아질수록 함량이 높아지는 것으로 나타났으며 이는 온도가 증가함에 따라 페놀류의 함량이 증가한다는 연구결과를 미루어 보았을 때 유사한 경향을 나타냄을 알 수 있다.

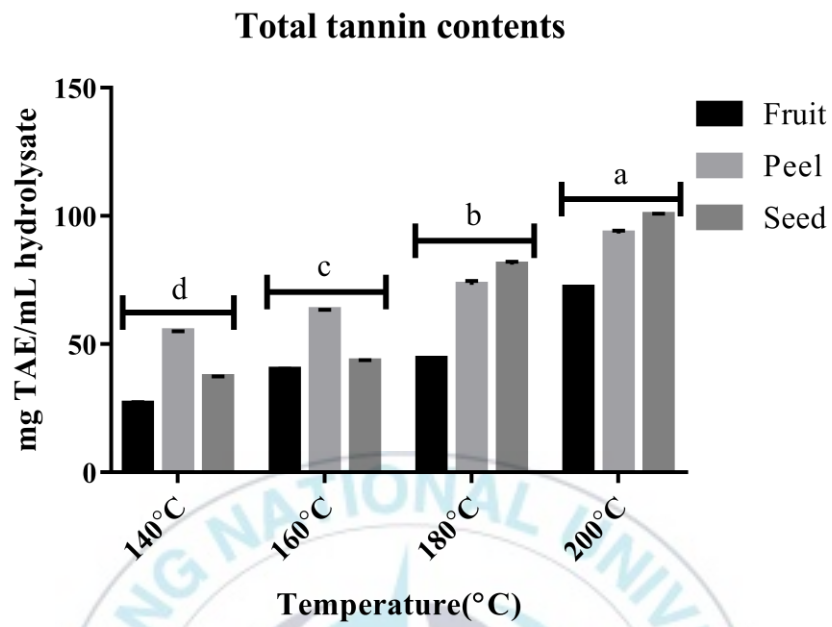


Fig. 7. Comparison of total tannin acid for *S. chinensis* fruit, peel and seed.

10. 고속 액체 크로마토그래피를 이용한 가수분해물의 페놀 화합물 함량

고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 가수분해물의 페놀 화합물 측정은 Table 8에 나타내었으며 함량은 백분율로 표기하였다(Ming-Lu Xu et al, 2010). 6가지 표준물질(gallic acid, catechin, coumaric acid, rutin, quercetin, kaempferol)에 대한 크로마토그램은 Fig. 8에 나타내었다. 페놀 화합물의 총 함량은 온도의 증가에 따라 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 9-11). 함량 중 가장 높은 함량을 나타내는 것은 과피 및 종자 모두 gallic acid로 나타났다. 함량은 추출 온도가 높아짐에 따라 낮아지는 것으로 보이나 이는 봉우리의 면적을 백분율로 표기하여 모든 시료에서 주요 봉우리들의 면적이 증가하면서 페놀 화합물의 면적비가 낮아졌기 때문이다. 따라서 주요 봉우리들을 예외로 하여 보았을 때 추출 온도가 증가할수록 페놀 화합물의 함량을 높일 수 있으며 이는 높은 온도로 인해 열적 분해가 원활히 이루어져 페놀 화합물 등 유용 물질의 회수를 높일 수 있는 것으로 사료된다(Cuvelier et al, 1996). 또한 높은 온도에서는 주요 유용물질 외 나타난 다양한 봉우리로 미루어 볼 때 페놀 화합물 등을 핵심 물질로 추출하고자 할 때는 높은 온도가 적합한 것으로 사료된다.

특히 크로마토그램에서 나타난 결과 중 주목할 만한 점은 종자에서는 140℃에서는 봉우리들이 발견되지 않았으나 180℃ 이후 주요 봉우리들이 나타났다. 이를 통해 종자의 경우 과피에 비해 아임계 수 가수분해 시 종자에서 일어나

는 열적 변형은 180℃ 보다 높은 온도 조건으로 사료되며 종자를 실제 산업에서 활용하기 위해서는 높은 온도 조건에서 추출이 이루어져야 함을 알 수 있다. 그러나 대량공정으로 확대하기 위해서는 200℃ 보다 높은 온도 조건에서의 페놀 함량 측정 및 각 화합물 내에 나타난 주요 봉우리에 대해서 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.



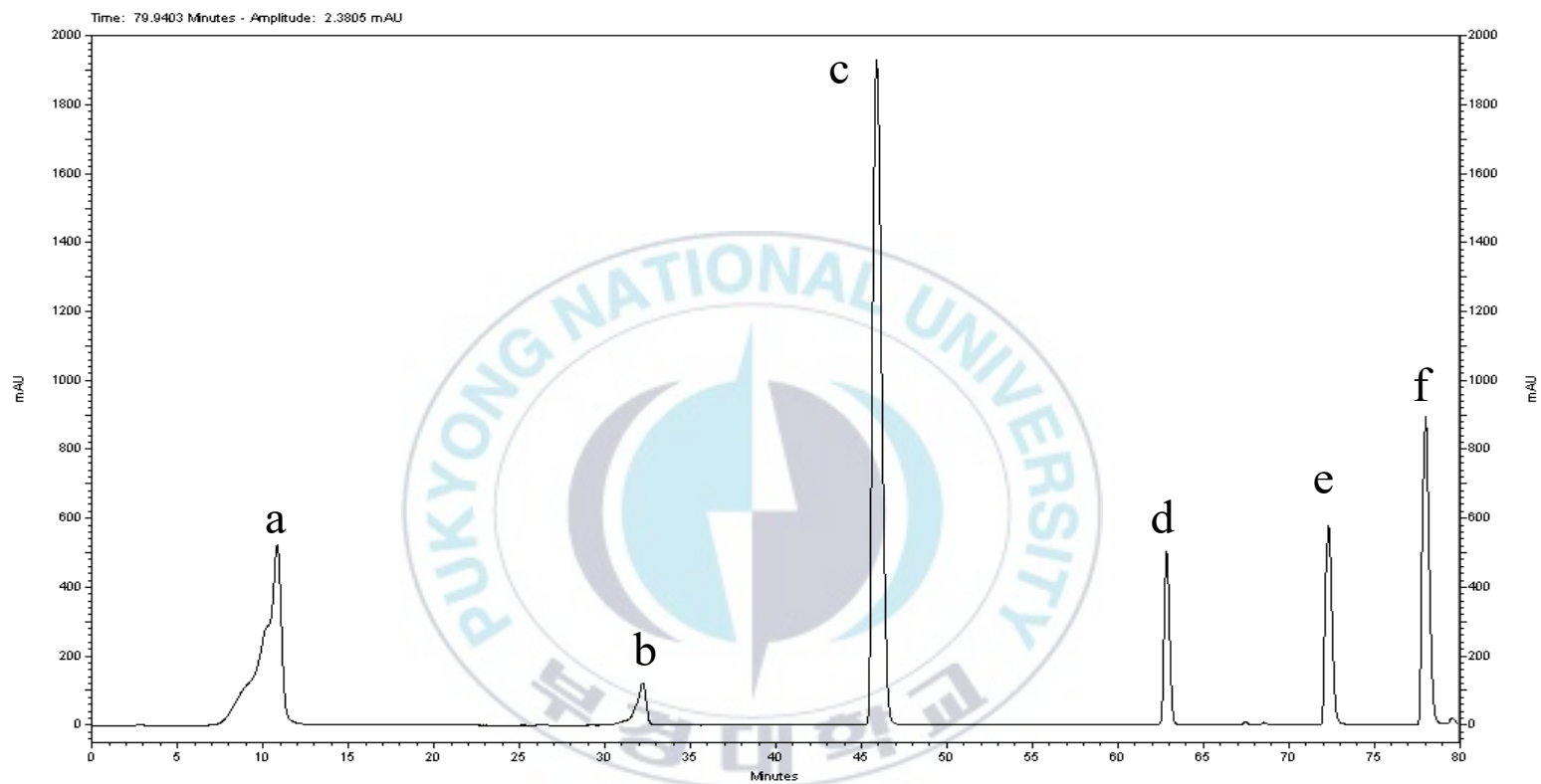


Fig. 8. Chromatogram of six phenolic compounds (1000 ppm) detected at 280 nm (a:gallic acid, b:catechin, c:coumaric acid, d:rutin, e:quercetin, f:kaempferol).

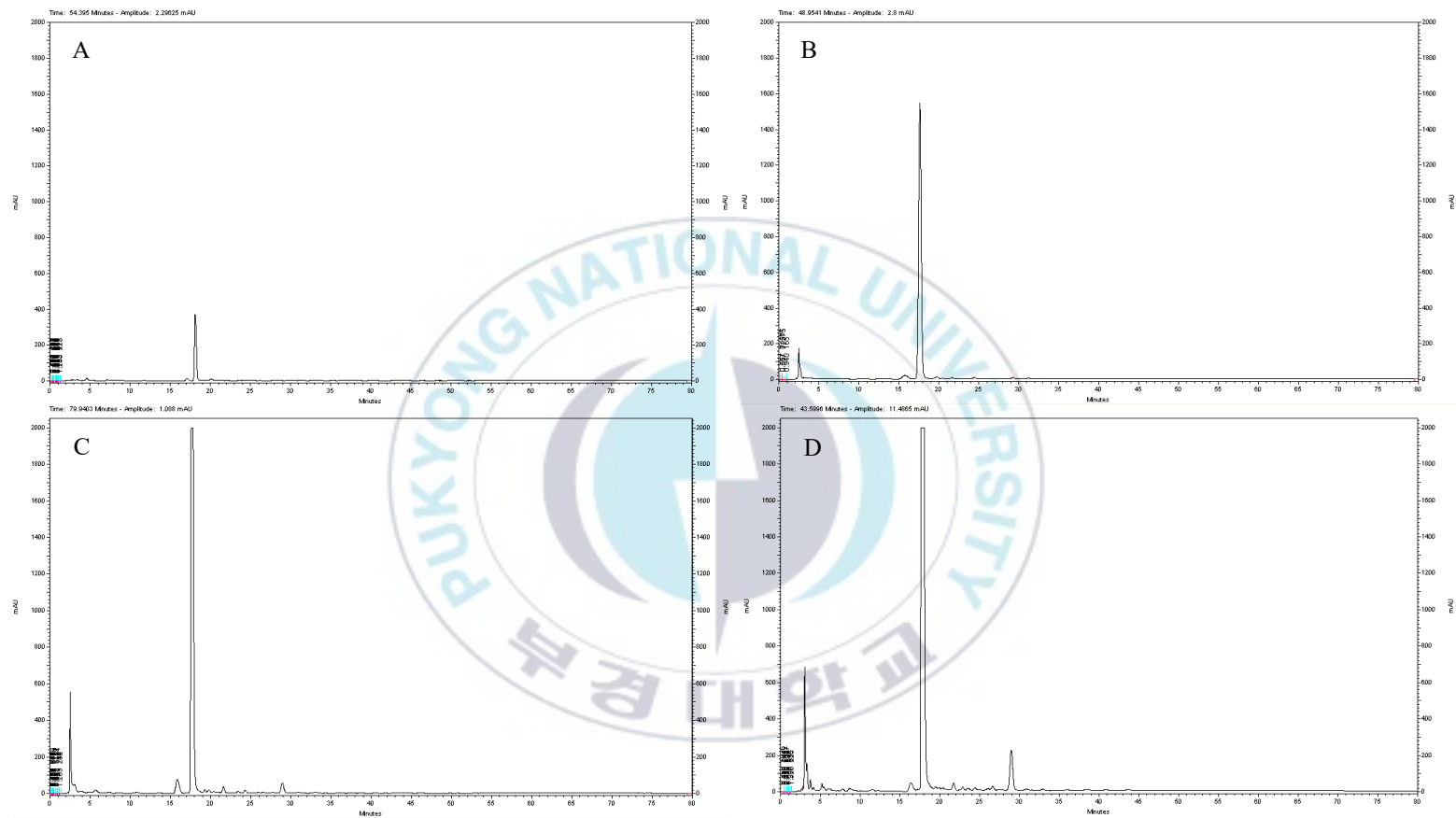


Fig. 9. Chromatogram of different temperature for *S. chinensis* fruit A) 140°C, B) 160°C, C) 180°C, D) 200°C.

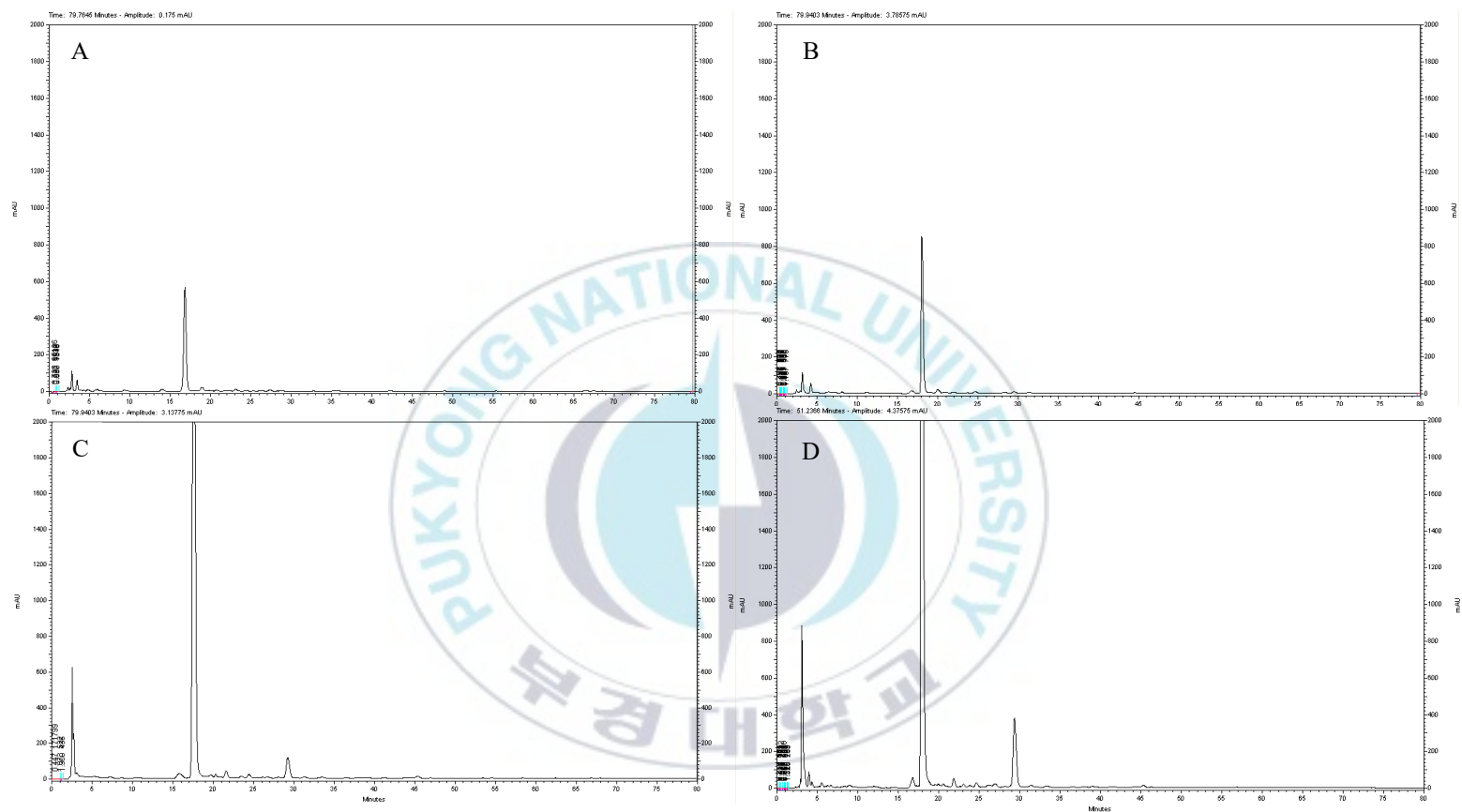


Fig. 10. Chromatogram of different temperature for *S. chinensis* peel A) 140°C, B) 160°C, C) 180°C, D) 200°C.

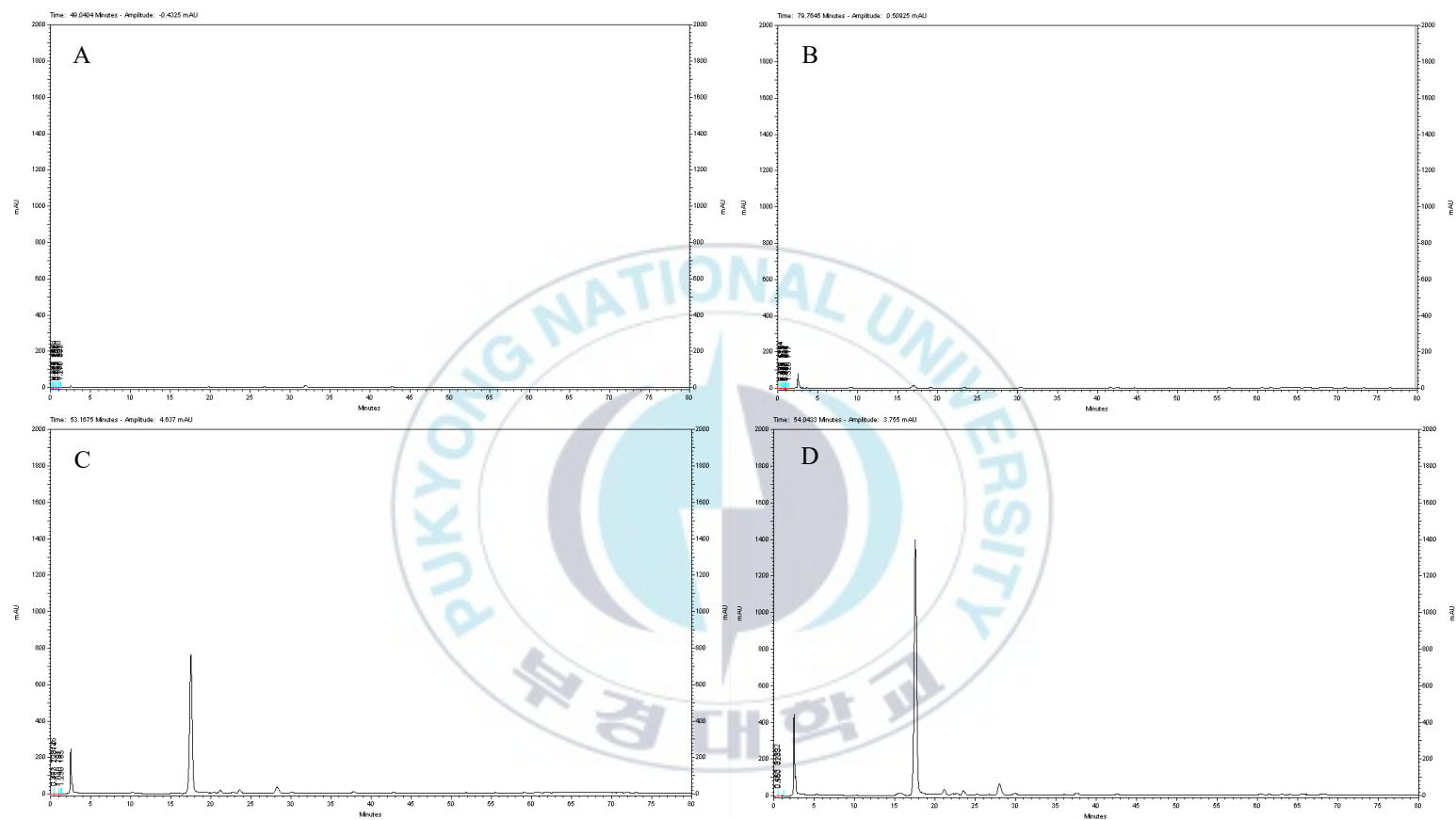


Fig. 11. Chromatogram of different temperature for *S. chinensis* seed A) 140°C, B) 160°C, C) 180°C, D) 200°C.

Table 10. Phenolic acid composition of *S. chinensis* hydrolysates at 280 nm using HPLC analysis.

	SF- 140	SF- 160	SF- 180	SF- 200	SP- 140	SP- 160	SP- 180	SP- 200	SS- 140	SS- 160	SS- 180	SS- 200
Gallic acid (%)	ND	0.38	0.31	0.24	ND	ND	0.32	0.26	5.89	3.28	0.78	0.64
Catechin (%)	0.44	0.37	0.24	0.12	0.87	0.43	0.30	0.22	1.54	0.94	0.18	0.11
Coumaric acid (%)	ND	0.12	0.07	0.7	0.53	0.31	0.29	0.16	1.14	1.22	0.18	0.12
Rutin (%)	0.13	0.05	0.03	0.02	0.10	0.09	0.02	0.02	1.01	0.82	0.12	0.06
Quercetin (%)	0.10	0.03	0.01	0.01	0.08	0.06	0.02	0.01	1.03	0.48	0.09	0.06
Kaempferol (%)	0.08	0.03	0.02	0.02	0.09	0.04	0.01	≤0.01	2.07	0.86	0.05	0.03

SF - *S. chinensis* fruit.

SP - *S. chinensis* peel.

SS - *S. chinensis* seed.

ND - not detected.

11. 가수분해물의 총 당 함량

당은 환원당과 비환원당 두 가지로 나눌 수 있으며 이를 합한 값을 총 당이라고 한다(Vardanega et al, 2017). 오미자 가수분해물의 총 당 함량은 Fig. 12에 나타내었다. 온도가 증가함에 따라 유의한 증가를 나타내었으며 180℃ 이후 감소하는 경향을 보였다. 과피의 경우 160℃와 180℃ 사이에서 유의한 차이는 나타나지 않았으며 씨앗의 경우는 180℃에서 가장 높은 함량을 나타냈으며 180℃ 이후에 감소하는 경향을 보였다. 연구된 바에 의하면 160℃ 이후 갈변화 반응 또는 카라멜화 등으로 인해 당 함량이 감소할 수 있다고 보고하였다. 오미자 시료의 경우 180℃ 이후 당 함량이 감소하는 경향을 나타내었으며 추후 온도 범위 또는 추출 시간에 따른 당 함량 변화 및 다당류의 페놀산 분석 등이 필요할 것으로 사료된다.

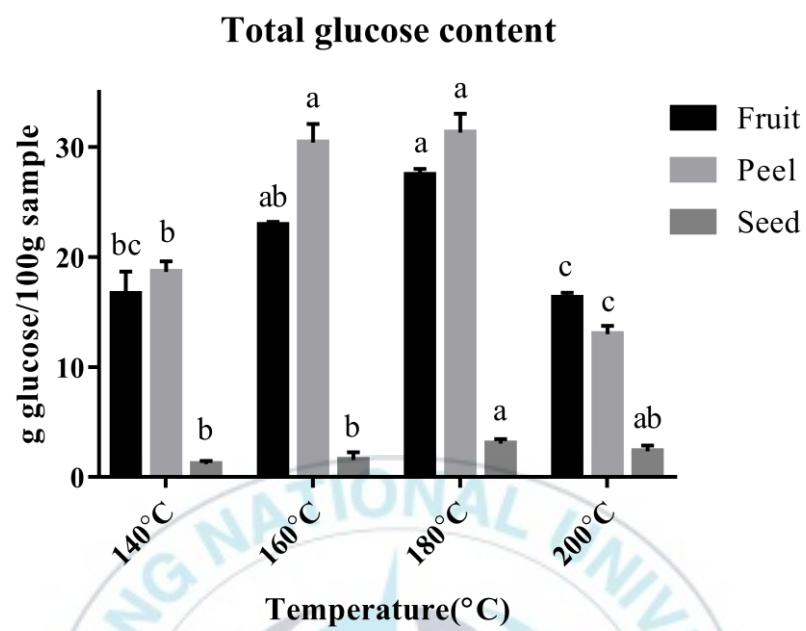


Fig. 12. Comparison of total glucose contents for *S. chinensis* fruit, peel and seed.

12. 가수분해물의 환원당 함량

물 분자 하나가 빠져나오면서 중합되어 형성되는 결합을 글리코시드성 결합이라 하는데 이는 탄수화물을 지탱하는 가장 주된 결합이다. 이당류 이상의 당류에서 발견되는 특징이 있으며 이 결합이 종료된 시점에서 아노머 탄소에 붙어있는 수산기(-OH)가 당 분자 내에서 존재한다면 이를 환원당이라 한다. 단당류는 모두 환원당이며, 설탕 및 트레할로스를 제외한 포도당, 과당 및 맥아당 등의 이당류는 환원당이다(조신호 외, 2014).

환원당의 결과는 Fig. 13 에 나타내었다. 가수분해 온도가 증가함에 따라 환원당은 증가하는 경향을 나타내었으며 과피 및 씨앗 모두 180℃에서 가장 높은 함량을 나타내었으며 15.49 ± 1.48 , 2.96 ± 0.22 g glucose/100 g sample 로 나타났다. 총 당 함량 및 환원당 함량 결과로 미루어 볼 때 당류는 대부분 과피에 존재하는 것을 알 수 있으며 가수분해 온도가 180℃ 이상에서는 고온으로 인한 갈변 반응 혹은 캐러멜화로 인한 다당류의 구조적 분해가 이루어 지는 것으로 사료된다.

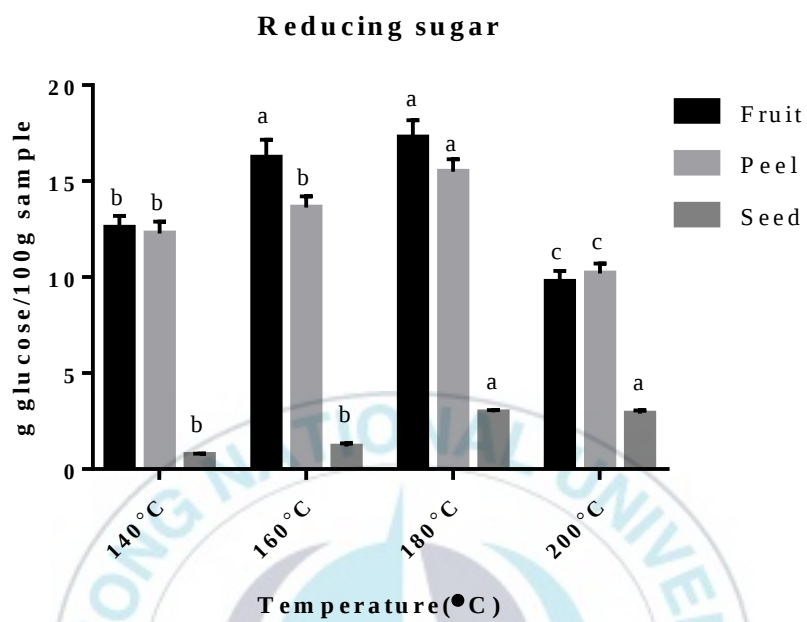


Fig. 13. Comparison of reducing sugar contents for *S. chinensis* fruit, peel and seed.

13. 가수분해물의 수용성 단백질 함량

다양한 온도조건에서 수행된 아임계 가수분해물의 단백질함량은 Fig. 14에 나타내었다. 그림은 일반적으로 온도가 증가함에 따라 단백질 회수율 또한 증가하는 경향을 나타낸다. 특히 140℃에서 160℃사이의 조건에서 온도가 증가함에 따라 근소하게 증가하는 것을 알 수 있으나 반면 180℃에서 유의적으로 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 아임계 가수분해를 이용하여 쌀겨로부터 단백질 및 아미노산을 추출한 보고에 따르면 가수분해 온도가 180℃ 이후에서는 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다는 결과와 유사한 경향을 나타냄을 알 수 있다(Sereewatthanawut et al, 2008). 가장 높은 단백질 함량을 나타낸 조건은 200℃로 나타났으며 과피 및 씨앗에서 11.28 ± 0.07 , 11.67 ± 0.10 g BSAE/100 g sample로 나타났으며 과피보다 씨앗에서 약간 높은 함량을 나타내었다.

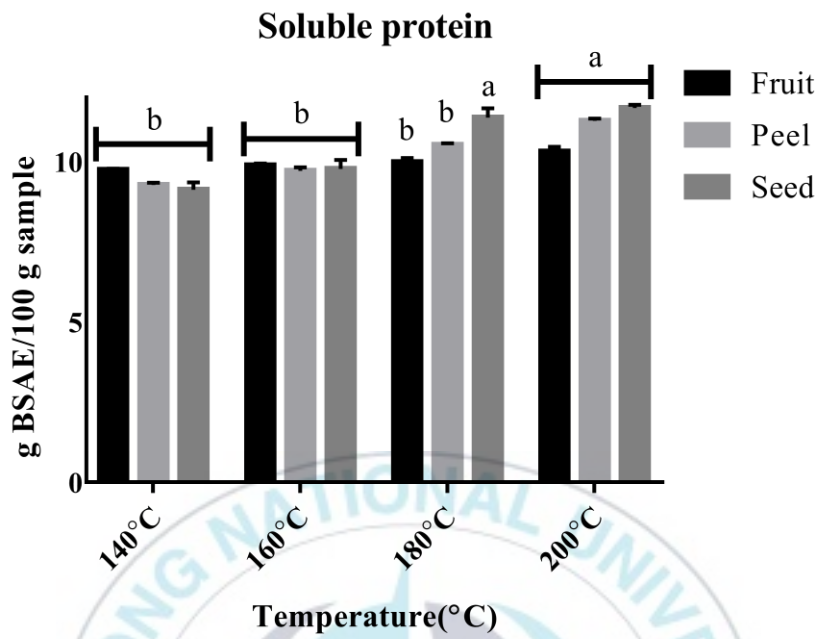


Fig. 14. Comparison of soluble protein contents for *S. chinensis* fruit, peel and seed.

14. 가수분해물의 특성

온도 변화에 따른 pH 변화는 Table 11에 나타내었다. 과피의 경우 온도가 상승함에 따라 pH가 미약하게 증가하였으며 200℃에서 3.03 ± 0.04 로 가장 높게 나타났다. 일반적으로 pH는 온도가 증가함에 따라 유기산이 증가하기 때문에 감소하는 경향을 나타내는데(Getachew et al, 2017) 오미자의 경우 과피 입자의 크기가 작아 표면적이 넓어 열적 손상으로 인한 유기산의 분자구조 변형 등으로 인해 온도가 증가함에 따라 200℃에서 가장 높은 pH를 나타낸 것으로 사료된다. 그러나 씨앗의 경우 온도가 증가함에 따라 pH가 감소하는 경향을 나타내는데 이 경우 온도에 따라 높은 온도가 외과피에 미치는 영향이 증가하기 때문인 것으로 사료된다.

온도 변화에 따른 색도 변화 또한 Table 11에 나타내었다. 온도가 증가 함에 따라 밝기 수치인 L^* 값은 모든 시료에서 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 높은 온도일수록 갈변 반응으로 인한 것으로 사료된다. 반면 a^* , b^* 값은 온도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 가수분해 온도가 낮을수록 과피에서는 빨간색을 띠었으나 온도가 증가함에 따라 갈변 반응으로 인한 적색을 나타내는 수치가 증가하는 것으로 사료되며 갈변화 반응은 씨앗에서 더욱 눈에 띄게 나타나는 것으로 판단된다.

Table 11. Color properties of *S. chinensis* at different reaction temperature and parts

Hydrolysate		pH	Color				
			L*	a*	b*	Hue	Chroma
Fruit	140 °C	2.79±0.02 ^b	54.73±2.20 ^a	5.61±0.52 ^d	13.33±1.65 ^c	15.37±1.38 ^a	56.30±1.65 ^a
	160 °C	2.81±0.04 ^b	53.42±0.53 ^a	6.71±0.13 ^c	23.51±0.46 ^b	13.05±0.25 ^b	56.60±2.53 ^a
	180 °C	2.88±0.03 ^b	47.27±1.05 ^b	8.44±0.34 ^b	55.97±2.51 ^a	10.55±0.41 ^c	24.44±0.46 ^b
	200 °C	3.20±0.13 ^a	43.45±2.63 ^b	9.89±0.11 ^a	55.42±1.69 ^a	9.00±0.10 ^c	14.45±1.74 ^c
Peel	140 °C	2.73±0.02 ^b	53.84±0.72 ^a	3.59±0.16 ^b	36.01±1.21 ^b	24.31±0.52 ^a	36.19±0.82 ^b
	160 °C	2.76±0.04 ^b	52.12±2.51 ^a	3.85±0.35 ^b	47.65±0.95 ^a	23.19±2.11 ^a	47.80±1.04 ^a
	180 °C	2.81±0.05 ^b	50.99±2.44 ^{ab}	4.75±0.41 ^a	50.63±1.11 ^a	18.72±0.61 ^b	50.84±1.24 ^a
	200 °C	3.03±0.04 ^a	48.21±1.35 ^b	5.22±0.33 ^a	48.91±2.21 ^a	17.08±1.10 ^b	49.18±2.24 ^a
Seed	140 °C	4.67±0.05 ^a	61.66±0.95 ^a	0.53±0.26 ^d	2.55±0.20 ^d	129.60±13.04 ^a	2.61±0.20 ^d
	160 °C	4.41±0.08 ^b	58.11±0.81 ^b	2.43±0.18 ^c	12.6±0.41 ^c	35.39±2.50 ^b	12.83±0.43 ^c
	180 °C	4.24±0.09 ^{bc}	48.27±0.65 ^c	5.27±0.06 ^b	53.08±0.52 ^b	16.86±0.19 ^c	53.34±0.52 ^b
	200 °C	4.14±0.08 ^c	41.37±1.07 ^d	15.62±0.15 ^a	55.73±1.40 ^a	5.70±0.06 ^d	57.87±1.34 ^a

Values are expressed as mean ± SD. Different letters indicate significant differences (p <0.05) according to Tukey's multiple range test.

15. 다당류 분리

다당류는 생리 기능적 활성이 항상 만족할 조건은 아니지만 항산화 활성, 항균, 항염 작용에서 이상적인 생리기능적 특성을 가지는 것으로 알려져 있다 (Szopa et al, 2017).

가수분해물의 다당류 분리 결과는 Table 12에 나타내었다. 180℃에서 과피 및 씨앗은 가장 높은 회수율인 0.21%로 나타났다. 다당류의 추출은 총 당 함량과 유사한 경향을 나타냈으나 회수율이 낮아 수율을 증대시키기 위해 전처리 적용 등의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

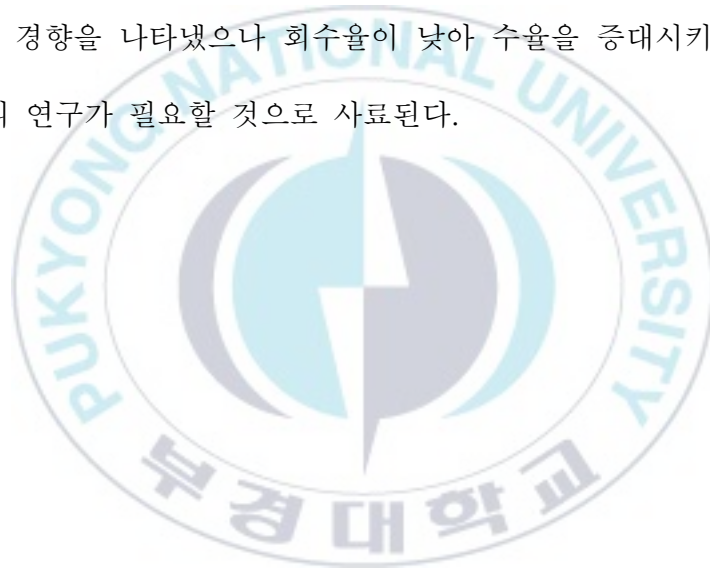


Table 12. Polysaccharides yield

	Temperature(°C)	Yield(%)
Fruit	140	0.082
	160	0.093
	180	0.44
	200	0.012
Peel	140	0.024
	160	0.18
	180	0.21
	200	0.04
Seed	140	0.032
	160	0.20
	180	0.21
	200	0.13



16. 다당류의 총 항산화능

분리된 다당류를 이용하여 총 항산화 활성을 측정한 결과는 Table 13 에 나타내었다. 추출 온도가 증가함에 따라 과피에서는 각 추출 온도에서 활성이 유의적으로 증가하다가 180℃ 이후 감소하는 경향을 나타내었다. 과피에서의 최대 활성은 180℃에서 $34.37 \pm 0.00 \mu\text{g AAE/g sample}$ 으로 나타났다. 그러나 씨앗에서는 160℃ 및 200℃ 사이에서 유의적 차이가 나타나지 않았으며 180℃에서는 $21.91 \pm 0.30 \mu\text{g AAE/g sample}$ 로 나타났다.



Table 13. Total Antioxidant activity of polysaccharides obtained from *S. chinensis* hydrolysate

Temperature (°C)	Polysaccharides(μg AAE*/g sample)		
	Fruit	Peel	Seed
140	16.47±0.00 ^d	16.65±0.31 ^d	17.53±0.91 ^b
160	24.72±0.30 ^c	32.26±0.00 ^b	20.68±0.00 ^a
180	36.65±0.31 ^a	34.37±0.00 ^a	21.91±0.30 ^a
200	34.79±0.31 ^b	19.63±0.53 ^c	20.68±0.00 ^a

*AAE : Ascorbic acid equivalent.



17. 다당류의 항산화 활성

다당류의 항산화 활성은 Table 14 에 나타내었다. 다당류의 총 항산화능에서 과피가 종자보다 높은 활성을 나타내었으나 항산화 활성의 경우 종자에서 근소하게 높은 활성을 나타내었다. 자세하게는 ABTS 의 경우는 과피에서 높은 활성이 나타났으며 180°C 에서 $51.74\pm 1.79\%$ 로 나타났다. DPPH 및 FRAP 분석에서는 종자에서 높은 활성을 보였으며 180°C 에서 $485.69\pm 0.71\text{ }\mu\text{g/mL}$, $120.67\pm 0.75\text{ }\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 이는 종자가 가진 페놀 화합물뿐만 아니라 쉬잔드린, 고미신과 같은 리그난 물질에 의한 영향을 받은 것으로 사료된다.

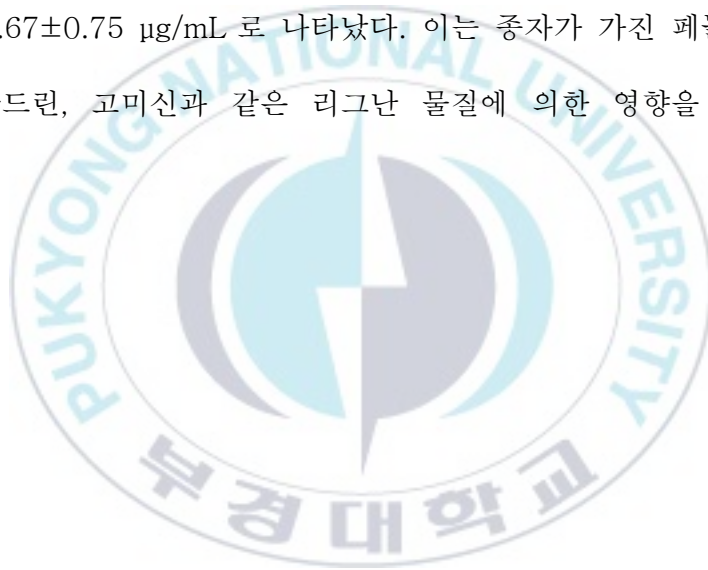


Table 14. Radical scavenging activity measurement for polysaccharides

	Temperature (°C)	ABTS (Inhibition, %)	DPPH (EC ₅₀ , µg/mL)	FRAP (EC ₅₀ , µg/mL)
Fruit	140	8.17±2.38 ^c	1577.42±1.24 ^a	193.31±0.71 ^a
	160	17.57±1.51 ^b	442.99±0.29 ^c	161.37±1.37 ^b
	180	55.02±0.52 ^a	333.20±0.92 ^d	151.42±0.89 ^c
	200	24.13±1.86 ^b	483.47±0.77 ^b	159.70±1.47 ^b
Peel	140	7.39±2.37 ^c	1003.29±1.57 ^a	234.45±0.98 ^b
	160	18.55±2.00 ^b	572.45±1.11 ^c	177.98±1.01 ^c
	180	51.74±1.79 ^a	509.78±0.51 ^d	143.14±0.52 ^d
	200	15.61±2.53 ^b	607.19±1.19 ^b	258.04±0.95 ^a
Seed	140	11.06±1.75 ^b	781.11±1.33 ^a	313.33±1.05 ^a
	160	15.47±1.86 ^b	650.52±0.61 ^b	278.64±1.36 ^b
	180	27.02±1.89 ^a	485.69±0.71 ^d	120.67±0.75 ^d
	200	26.28±0.43 ^a	544.96±0.49 ^c	195.82±0.59 ^c
Standard	Trolox	91.12±0.11 (1 mM)	-	16.28
	Ascorbic acid	-	6.36	-

Values are expressed as mean ± SD. Different letters indicate significant differences (p < 0.05) according to Tukey's multiple range test.

18. Thin Layer Chromatography (TLC)

다당류의 TLC 분석 결과는 Fig. 15 에 나타내었다. 분리된 오미자 다당류의 단당류를 분석하기 위한 표준물질로서 galactose, glucose, mannose, rhamnos, fructose, fucose, arabinose, glucuronic acid, galacturonic acid 로 총 9 종을 사용하였다.

각 화합물에서 분리된 다당류의 경우 과피 및 종자 모두 galactose, rhamnose 로 나타난 것으로 사료된다. 그러나 과피에서 galactose 가 선명하게 나타났다.



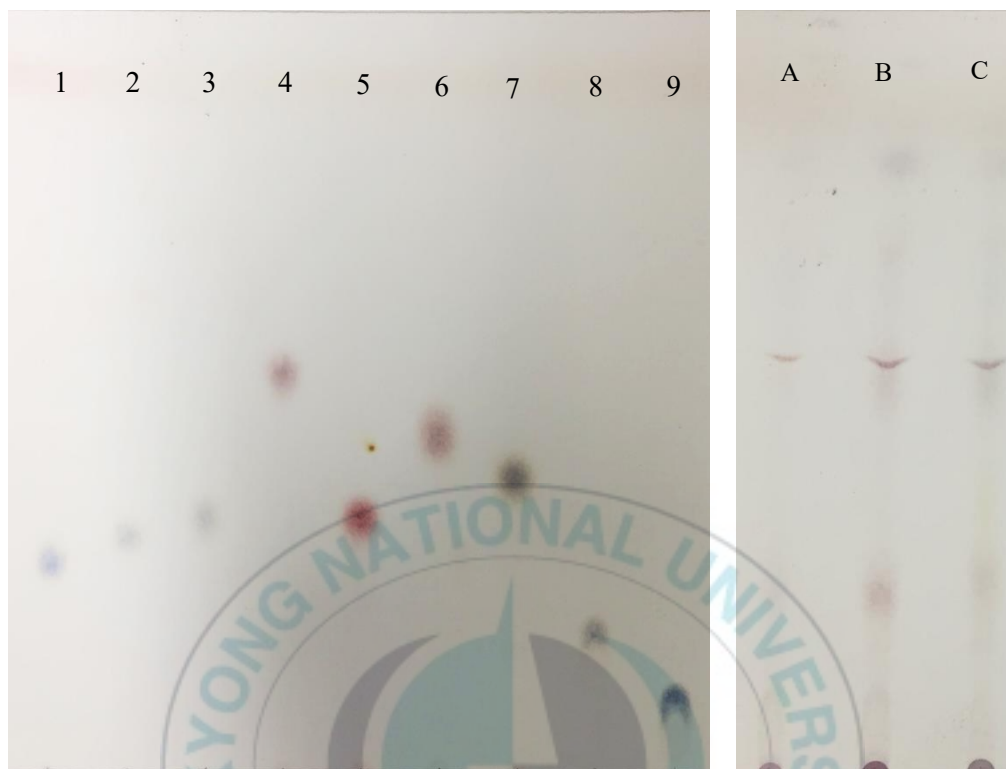


Fig. 15. Thin layer chromatograph for saccharide standards (1: Galactose, 2: Glucose, 3: mannose, 4: Rhamnose, 5: Fructose, 6: Fucose, 7: Arabinose, 8: Glucuronic acid, 9: Galacturonic acid, *s. chinensis* A) fruit, B) peel, C) seed).

19. 다당류 특성 분석

19.1 UV-Vis spectroscopy

오미자로부터 분리한 다당류의 UV spectra는 Fig. 16에 나타내었다. 그림에 나타난 바와 같이 모든 시료에서 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그러나 각 다당류 별로 최대 흡수 강도를 나타낸 파장은 280 nm이며 과피 및 종자의 흡광도는 각각 3.728, 3.718로 나타났다. 두 번째로 높은 강도를 나타낸 파장은 230 nm이며 과피는 3.638, 종자는 3.627로 나타났다. 이러한 높은 강도를 나타낸 봉우리는 당류 결합 중 카보닐기에 대한 봉우리로 사료된다. Choi et al., Kelishomi et al. and Kim et al.에 따르면 250 nm에서 280 nm 구간에서 발생하는 최대 봉우리는 카보닐기에 의한 것이라고 보고하였다(Choi et al. 2010, Kelishomi et al. 2016 and Kim et al. 2008).

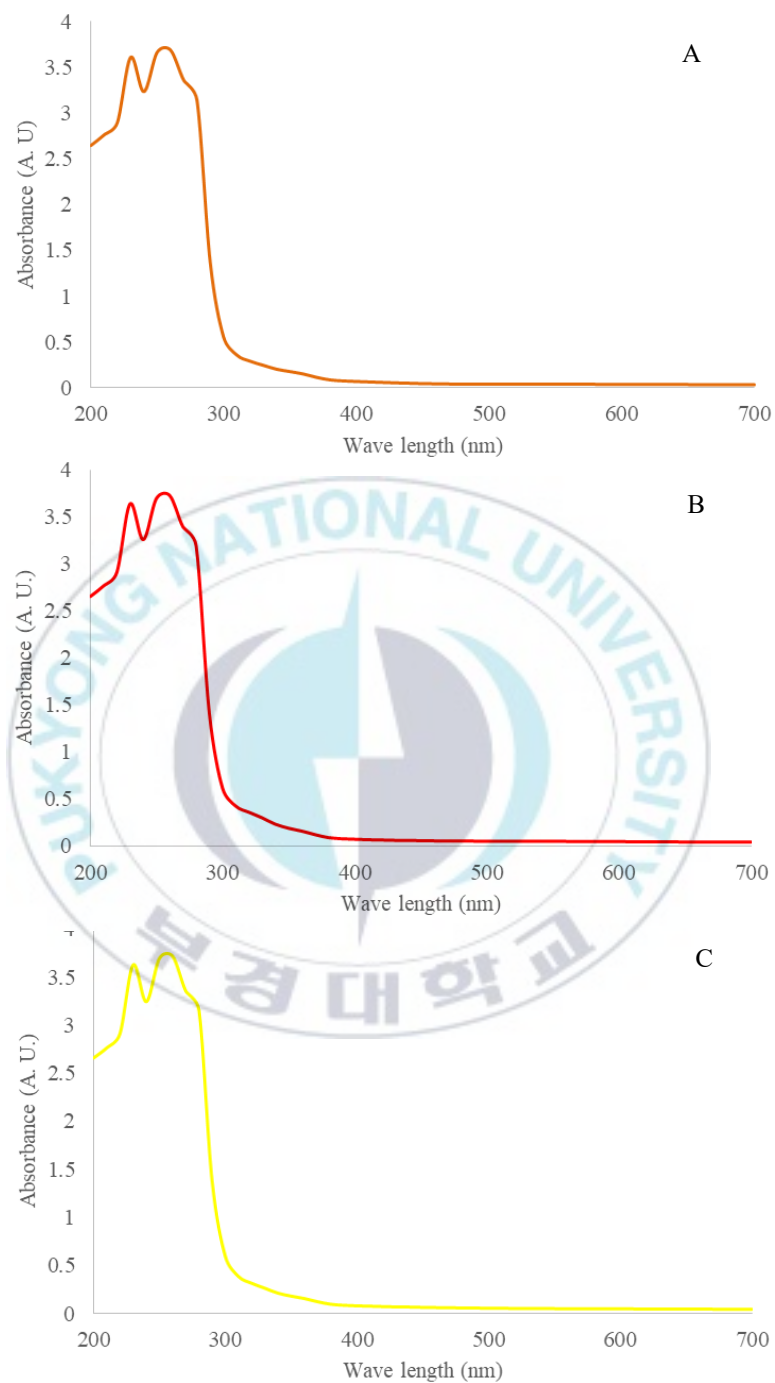


Fig. 16. UV-spectra of polysaccharide isolated from *S. chinensis* A) fruit, B) peel, C) seed at 180°C and 30 bar.

19.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) spectroscopy

다당류는 구조의 변화 및 새로운 작용기의 형성에 대해 규명하기 위해 FTIR 장비를 이용하여 측정하였다. FT-IR spectra 는 Fig. 17 에 나타내었다. 보고된 이전 연구의 다른 다당류 IR spectra 를 비교해 보았을 때 180°C, 30 bar 에서 회수된 다당류에 대한 FTIR spectra 는 전형적인 탄수화물의 패턴 양상보다 낮은 경향성을 나타내었다. FTIR spectrum 의 유사한 패턴은 커피박 자가가수분해로부터 얻어진 다당류에 대해 보고되었다(Lina F. Ballesteros et al, 2017). 그러나 흡수 강도는 각 시료마다 약간 다르게 나타났다. 진동 크기 3,600 cm^{-1} 및 3,200 cm^{-1} 사이의 넓은 피크는 수산기의 O-H 스트레칭 진동과 관련이 있다. 3,000 cm^{-1} 및 2,800 cm^{-1} 사이의 영역은 C-H 의 스트레칭 진동으로 인한 것이다. 2,000 cm^{-1} 에서 1,700 cm^{-1} 사이의 영역은 방향족에 의한 것으로 알려져 있으며, 1,200 cm^{-1} 및 1,000 cm^{-1} 사이의 존재는 C-O 진동 때문인 것으로 알려져 있다. 778 cm^{-1} 및 884 cm^{-1} 에서의 피크는 α -glycosidic 및 β -glycosidic 결합의 존재와 관련되며, 이는 α -D-galactopyranose 및 β -D-mannopyranose unit 으로부터 기인한다.

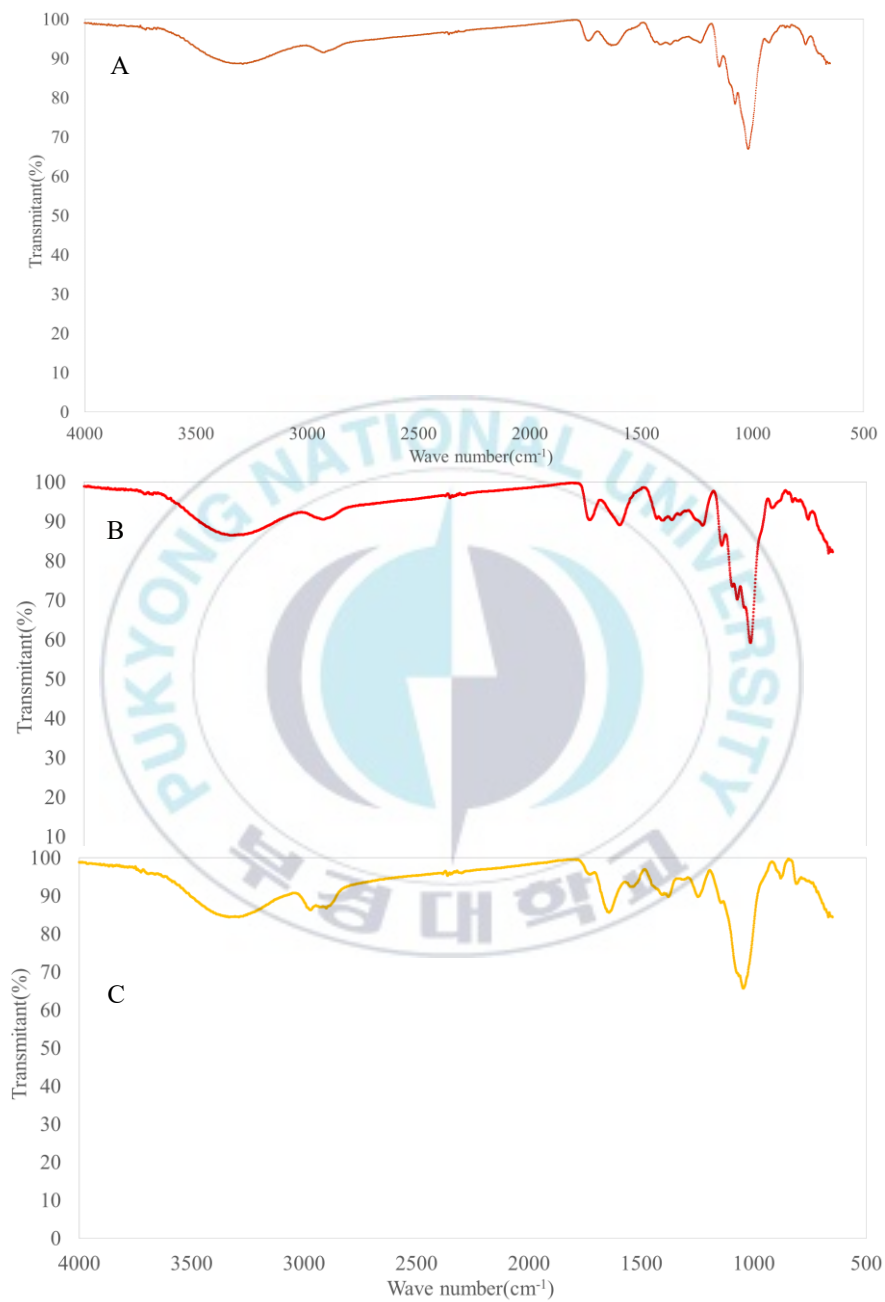


Fig. 17. FT-IR spectra of polysaccharides isolated from *S. chinensis* A) fruit, B) peel, C) seed at 180°C and 30 bar.

결론

본 연구는 친환경 공정으로 분류된 초임계 이산화탄소 및 아임계 수 가수분해 공정을 이용하여 오미자의 추출물을 얻고 나아가 가수분해물로부터 다당류를 분리하여 해당 추출물 및 다당류의 생리활성 및 특성을 분석하였다. 초임계 이산화탄소의 공정 변수로는 추출 온도, 압력, 입자크기, 유체의 유속 등이 있고 아임계 가수분해의 공정 변수로는 추출 온도, 압력, 입자크기, 고체/액체 (Solid/Liquid) 비율, 추출 시간 등이 있으며 본 연구에서는 추출압력, 추출시간을 고정한 채 다른 변수들을 약간 변형함으로써 오미자 열매, 과피 및 씨앗으로 나누어 생리활성을 비교 및 측정하였다. 초임계 이산화탄소 추출물 및 추출 후 아임계 수 가수분해와 가수분해물로부터 얻은 다당류의 함량 및 활성을 측정하여 얻은 결론은 아래와 같다.

알려진 최적 조건으로 초임계 이산화탄소에 대해 250 bar, 45℃에서 추출율이 가장 높게 나타났으며 과피에서는 종자보다 낮은 오일 함량을 나타냈으며 2시간동안 이산화탄소를 이용하여 추출하였을 때 과피 및 종자에서의 회수율은 0.079, 16.85%로 나타났다. 또한 과피는 부피가 큰 특성이 있어 같은 반응기에서 약 1/2의 양을 이용하여 추출에 사용되었다.

오미자 추출물 중 오일의 안정성은 종자에서 높게 나타났으며 과피에서는 포화지방산이 많이 분포되어 있으며 종자에서는 불포화지방산을 다량 함유하고 있어 안정성이 높게 나타난 것으로 사료된다.

아임계 수 가수분해에서는 온도가 높아질수록 물의 이온화 경향 및 유전상수가 감소하여 유기용매와 같은 극성을 가지며 300℃ 이상의 온도에서는 비극성 기능성 물질을 추출할 수 있다. 따라서 추출 온도가 증가함에 따라 가수분해물의 페놀류 함량 및 단백질 함량은 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 당 함량은 온도가 증가함에 따라 증가하나 180℃에서 최대 함량을 나타내며 이후 감소하는 경향을 보였다. 이는 열 변성에 의한 당의 구조 변화에 기인한 것으로 사료된다.

천연물 유래 기능성 물질 중 다당류는 식품 또는 화장품의 첨가제로 활용할 수 있으며 본 연구에서는 180℃에서 가장 높은 활성이 나타났다. 부위별로는 과피에서 총 항산화능이 높게 나타났으며 종자에서는 DPPH, FRAP 활성이 높은 것으로 나타났다.

본 연구는 초임계 이산화탄소 및 아임계 수 가수분해를 이용하여 천연물 유래 친환경 용매추출법을 제시하였으며, 연구결과를 종합하여 미루어 볼 때 기존의 추출법보다 환경에 무해하며 추출 시간을 줄일 수 있으며 추출 후 후처리 공정 없이 상업화에 활용할 수 있다는 점에서 효과적임을 알 수 있다.

나아가 본 연구에서 미비한 분야인 가수분해물의 항균활성, 다당류 회수율 개선 등 차후 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

- [1] AOCS. Official Method Ce. 2-66., "Fatty Acid Composition by Gas Chromatography." *Champaign-Urbana. Illinois, USA: American Oil Chemists' Society.* (2006a).
- [2] AOCS. Official method Cd. 3d-63., "Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils: Acid Value. ." *Champaign-Urbana. Illinois, USA: American Oil Chemists' Society.* (2006b).
- [3] AOCS. Official method Cd. 8-53., "Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils: Peroxide Value." *Champaign-Urbana. Illinois, USA: American Oil Chemists' Society.* (2006c).
- [4] AOCS, Official method Cd 18-90. "Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils: P-Anisidine Value." *Champaign-Urbana. Illinois, USA: American Oil Chemists' Society.* (2006d).
- [5] Blois, Marsden S. "Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical." *Nature* 181., **4617** 1199 (1958).
- [6] Castro-Puyana, María, Miguel Herrero, Iratxe Urreta, Jose A Mendiola, Alejandro Cifuentes, Elena Ibáñez, and Sonia Suárez-Alvarez. "Optimization of Clean Extraction Methods to Isolate Carotenoids from the Microalga *Neochloris Oleoabundans* and Subsequent Chemical Characterization Using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry." *Analytical and bioanalytical chemistry* 405, **13** 4607-16 (2013)
- [7] Chapla, Digantkumar, Pratima Pandit, and Amita Shah. "Production of Xylooligosaccharides from Corncob Xylan by Fungal Xylanase and Their

- Utilization by Probiotics." *Bioresource Technology* **115** 215-21 (2012).
- [8] Choi, Jong-il, Jae-Kyung Kim, Jae-Hun Kim, Dong-Keon Kweon, and Ju-Woon Lee. "Degradation of Hyaluronic Acid Powder by Electron Beam Irradiation, Gamma Ray Irradiation, Microwave Irradiation and Thermal Treatment: A Comparative Study." *Carbohydrate Polymers* 79, **4** 1080-85 (2010).
- [9] Chou, S-T, W-W Chao, and Y-C Chung. "Antioxidative Activity and Safety of 50% Ethanolic Red Bean Extract (Phaseolus Radiatus L. Var. Aurea)." *Journal of food science* 68, **1** 21-25 (2003).
- [10] Cuvelier, Marie-Elisabeth, Hubert Richard, and Claudette Berset. "Antioxidative Activity and Phenolic Composition of Pilot-Plant and Commercial Extracts of Sage and Rosemary." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73, **5** 645-52 (1996).
- [11] Dubois, Michel, Kyle A Gilles, Jean K Hamilton, PA t Rebers, and Fred Smith. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances." *Analytical chemistry* 28, **3** 350-56 (1956).
- [12] Farhoosh, Reza. "The Effect of Operational Parameters of the Rancimat Method on the Determination of the Oxidative Stability Measures and Shelf-Life Prediction of Soybean Oil." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 84, **3** 205-09 (2007).
- [13] Ferreira, Isabel C. F. R., Paula Baptista, Miguel Vilas-Boas, and Lillian Barros. "Free-Radical Scavenging Capacity and Reducing Power of Wild Edible Mushrooms from Northeast Portugal: Individual Cap and Stipe Activity." *Food Chemistry* 100, **4** 1511-16 (2007).

- [14] Getachew, Adane Tilahun, and Byung Soo Chun. "Influence of Pretreatment and Modifiers on Subcritical Water Liquefaction of Spent Coffee Grounds: A Green Waste Valorization Approach." *Journal of cleaner production* **142** 3719-27 (2017).
- [15] Gliszczyńska-Świgło, Anna. "Antioxidant Activity of Water Soluble Vitamins in the Teac (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) and the Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power) Assays." *Food Chemistry* 96, **1** 131-36 (2006).
- [16] Huang, Zebo, Yongding Liu, Berit Smestad Paulsen, and Dag Klaveness. "Studies on Polysaccharides from Three Edible Species of Nostoc (Cyanobacteria) with Different Colony Morphologies: Comparison of Monosaccharide Compositions and Viscosities of Polysaccharides from Field Colonies and Suspension Cultures." *Journal of Phycology* 34, **6** 962-68 (1998).
- [17] Kelishomi, Zahra Habibi, Bahram Goliaei, Hossein Mahdavi, Alireza Nikoofar, Mahmood Rahimi, Ali Akbar Moosavi-Movahedi, Fatemeh Mamashli, and Bahareh Bigdeli. "Antioxidant Activity of Low Molecular Weight Alginate Produced by Thermal Treatment." *Food Chemistry* **196** 897-902 (2016).
- [18] Khanam, Umma Khair Salma, Shinya Oba, Emiko Yanase, and Yoshiya Murakami. "Phenolic Acids, Flavonoids and Total Antioxidant Capacity of Selected Leafy Vegetables." *Journal of Functional Foods* 4, **4** 979-87 (2012).
- [19] Kim, Jae Kyung, Periasamy Srinivasan, Jae Hun Kim, Jong-il Choi, Hyun Jin Park, Myung Woo Byun, and Ju Woon Lee. "Structural and Antioxidant Properties of Gamma Irradiated Hyaluronic Acid." *Food Chemistry* 109, **4** 763-70 (2008).
- [20] Kyriakidis, Nikolaos B, and Theophanis Katsiloulis. "Calculation of Iodine Value from Measurements of Fatty Acid Methyl Esters of Some Oils: Comparison with the

- Relevant American Oil Chemists Society Method." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77, **12** 1235-38 (2000).
- [21] Lee, Jeong-Hyun, Min-Jung Ko, and Myong-Soo Chung. "Subcritical Water Extraction of Bioactive Components from Red Ginseng (*Panax Ginseng* Ca Meyer)." *The Journal of Supercritical Fluids* **133** 177-83 (2018).
- [22] Lin, Chih-Hsiung, Hsin-Wei Lin, Jau-Yann Wu, Jer-Yiing Houn, Hou-Peng Wan, Tzu-Yueh Yang, and Ming-Tsai Liang. "Extraction of Lignans from the Seed of *Schisandra Chinensis* by Supercritical Fluid Extraction and Subsequent Separation by Supercritical Fluid Simulated Moving Bed." *The Journal of Supercritical Fluids* **98** 17-24 (2015).
- [23] Markom, Masturah, Masitah Hasan, Wan Ramli Wan Daud, Harcharan Singh, and Jamaliah Md Jahim. "Extraction of Hydrolysable Tannins from *Phyllanthus Niruri* Linn.: Effects of Solvents and Extraction Methods." *Separation and Purification Technology* 52, **3** 487-96 (2007).
- [24] NAKAGAWA, MUNEYUKI, and INE AMANO. "Evaluation Method of Green Tea Grade by Nitrogen Analysis." *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 21, **2** 57-63 (1974).
- [25] Paaver, Urve, Vallo Matto, and Ain Raal. "Total Tannin Content in Distinct *Quercus Robur* L. Galls." *Journal of Medicinal Plants Research* 4, **8** 702-05 (2010).
- [26] Park, Yong K, Michel H Koo, Masaharu Ikegaki, and Jose L Contado. "Comparison of the Flavonoid Aglycone Contents of *Apis Mellifera* Propolis from Various Regions of Brazil." *Arquivos de biologia e tecnologia* (1997).
- [27] Pavel, Mariana, Valeria Rădulescu, and Diana Carolina Ilies. *Gc-MS Analysis of*

- Essential Oil Obtained from the Species Thymus Comosus Heuff. Ex Griseb.(Lamiaceae)*. **57** 479-84 (2009).
- [28] Pińkowska, Hanna, Paweł Wolak, and Adrianna Złocińska. "Hydrothermal Decomposition of Xylan as a Model Substance for Plant Biomass Waste – Hydrothermolysis in Subcritical Water." *Biomass and Bioenergy* 35, **9** 3902-12 (2011).
- [29] Plaza, Merichel, Miryam Amigo-Benavent, Maria D Del Castillo, Elena Ibáñez, and Miguel Herrero. "Facts About the Formation of New Antioxidants in Natural Samples after Subcritical Water Extraction." *Food Research International* 43, **10** 2341-48 (2010).
- [30] Prado, Juliana M., Tânia Forster-Carneiro, Mauricio A. Rostagno, Luis A. Follegatti-Romero, Francisco Maugeri Filho, and M. Angela A. Meireles. "Obtaining Sugars from Coconut Husk, Defatted Grape Seed, and Pressed Palm Fiber by Hydrolysis with Subcritical Water." *The Journal of Supercritical Fluids* **89** 89-98 (2014).
- [31] Prieto, Pilar, Manuel Pineda, and Miguel Aguilar. "Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E." *Analytical biochemistry* 269, **2** 337-41 (1999).
- [32] Ramzi A. Mothana, Mansour S. Al-Said, Mohammed A. Al-Yahya, Adnan J. Al-Rehaily and Jamal M. Khaled. "GC and GC/MS Analysis of Essential Oil Composition of the Endemic Soqatraen *Leucas virgata* Balf.f. and Its Antimicrobial and Antioxidant Activities." *International Journal of Molecular Sciences*, **14** 23129-39 (2013)

- [33] Saqib, Abdul Aala Najmus, and Philip John Whitney. "Differential Behaviour of the Dinitrosalicylic Acid (Dns) Reagent Towards Mono-and Di-Saccharide Sugars." *Biomass and bioenergy* 35, **11** 4748-50 (2011).
- [34] Saravana, Periaswamy Sivagnanam, Adane Tilahun Getachew, Raju Ahmed, Yeon-Jin Cho, Yang-Bong Lee, and Byung-Soo Chun. "Optimization of Phytochemicals Production from the Ginseng by-Products Using Pressurized Hot Water: Experimental and Dynamic Modelling." *Biochemical engineering journal* **113** 141-51 (2016).
- [35] Sereewatthanawut, Issara, Surawit Prapintip, Katemane Watchirarужи, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, and Artiwan Shotipruk. "Extraction of Protein and Amino Acids from Deoiled Rice Bran by Subcritical Water Hydrolysis." *Bioresource technology* 99, **3** 555-61 (2008).
- [36] Singh, Nandita, and PS Rajini. "Free Radical Scavenging Activity of an Aqueous Extract of Potato Peel." *Food Chemistry* 85, **4** 611-16 (2004).
- [37] Slinkard, K, and VL Singleton. "Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods [Sweet Wines]." *American Journal of Enology and Viticulture (USA)* (1977).
- [38] Socrates, George. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*. John Wiley & Sons, 12-30 (2004).
- [39] Szopa, Agnieszka, Radosław Ekiert, and Halina Ekiert. "Current Knowledge of Schisandra Chinensis (Turcz.) Baill. (Chinese Magnolia Vine) as a Medicinal Plant Species: A Review on the Bioactive Components, Pharmacological Properties, Analytical and Biotechnological Studies." *Phytochemistry Reviews* 16, **2** 195-218

(2017).

- [40] Thaipong, Kriengsak, Unaroj Boonprakob, Kevin Crosby, Luis Cisneros-Zevallos, and David Hawkins Byrne. "Comparison of Abts, Dpph, Frap, and Orac Assays for Estimating Antioxidant Activity from Guava Fruit Extracts." *Journal of food composition and analysis* 19, 6-7 669-75 (2006).
- [41] Ulmer Verlag Lowry, O, N Rosebrough, A Farr, and R Randall. "Protein Measurement with Folin-Phenol Reagent." *J Biol Chem* 193 265-75 (1951).
- [42] Vardanega, Renata, Pedro IN Carvalho, Diego T Santos, and M Angela A Meireles. "Obtaining Prebiotic Carbohydrates and Beta-Ecdysone from Brazilian Ginseng by Subcritical Water Extraction." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 42 73-82 (2017).
- [43] Xu, Ming-Lu, Lan Wang, Jian-He Hu, Soek Ki Lee, and Myeong-Hyeon Wang. "Antioxidant Activities and Related Polyphenolic Constituents of the Methanol Extract Fractions from Broussonetia Papyrifera Stem Bark and Wood." *Food Science and Biotechnology* 19, 3 677-82 (2010).
- [44] Yen, Gow-Chin, and Hui-Yin Chen. "Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 1 27-32 (1995).
- [45] Zakaria, Siti Maisurah, and Siti Mazlina Mustapa Kamal. "Subcritical Water Extraction of Bioactive Compounds from Plants and Algae: Applications in Pharmaceutical and Food Ingredients." *Food Engineering Reviews* 8, 1 23-34 (2016).
- [46] 김미리, 김정희, 김미라, 강명화, 이명숙, 송효남, 박은주, 이정민. *건강에*

- 도움이 되는 기능성식품. 249-60 (2015).
- [47] 남송이, 이진영, 고정숙, 김정봉, 장환희, 김행란, and 이영민. "추출용매
별 오미자의 항산화 및 항균 활성 변화." *한국국제농업개발학회지* 26,
4 513-18 (2014).
- [48] 류일환, and 권태오. "오미자씨에서 추출된 유지의 성분및 항산화 효과."
Korean Journal of Medicinal Crop Science Vol 20, 1 62-71 (2012).
- [49] 생약학교재편찬위원회. "생약학." 617-20 (2007).
- [50] 이남숙. *당신이 알고 싶은 식물의 모든 것*. 220-21 (2017).
- [51] 이성옥, 김기영, 이만성, 이미희, 이정숙, 장진미. *최신 화장품 과학*.
129-34 (2011).
- [52] 이수정, 신정혜, 서종권, 성낙주. "식용유지의 가열시 와송 추출물이 산화
안정성에 미치는 영향." *한국식품위생안전성학회지* 24, 1 12-18 (2009).
- [53] 임팩트(imFact). *건강기능식품과 기능성식품소재 시장현황*. 224-27
(2016).
- [54] 조신호, 신성균, 박헌국, 송미란, 차윤환, 한명륜, 유경미. "식품화학." 3
(2014).

감사의 글

부경대학교 식품공학과 일반대학원에 입학하여 새로운 학문과 지식을 쌓고 실험, 실습에 도움을 준 모든 분께 감사드립니다. 먼저 식품공학이란 전문지식이 부족하고 어려웠지만 많은 지도와 가르침, 올바르게 나아갈 수 있도록 지도해주신 전병수 교수님께 감사의 마음을 전합니다.

심사위원으로 짧은 시간이지만 귀한 시간 내시어 논문을 살펴주시고 제언해주신 양지영 교수님, 안동현 교수님께 감사의 말씀 전합니다. 또한 2 년간 많은 가르침을 주신 김선봉 교수님, 이양봉 교수님, 김영목 교수님, 왕진호 교수님께 감사의 마음을 전합니다.

아울러 짧다면 짧고 길다면 긴 1년이라는 시간 동안 연구원으로 오셔서 본 연구에 많은 도움을 주신 허명록 교수님께 깊은 감사 말씀 전합니다. 제겐 배움에 있어 너무나도 짧은 시간이었으나 찰나의 순간을 함께하며 모자람 없이 가르쳐주신 모든 것을 앞으로의 삶에 잘 녹여 살아갈 수 있도록 하겠습니다. 또한 힘들 때 진심으로 응원해주시고 격려해주시며 기쁠 때 함께 해주신 바 감사드립니다.

그리고 항상 고민은 없는지 문제는 없는지 물어봐 주시며 공감해주신 이희정 교수님, 장난치며 웃고 재미있게 보내긴 했지만 서로의 애로사항을 알며 공유하고 공감해준 진석이, 2학기에 들어와서 많은 시간을 공유하진 못했지만 잘 따라주고 실험 등 다양한 부분에서 열심히 배우고자 노력해준 유린이, 석

사과정 들어와서 모르는 것 많은 데 여러모로 많이 도와준 연진이, 항상 혼나기 일쑤여서 불편했을 수도 있지만 궁금한 것 물어주고 스스로없이 대해준 준호, 가끔씩 버르장머리 없이 굴 때도 있지만 실험실 생활 잘 따라주고 많이 도와준 채영이, 때로는 형처럼 때로는 삼촌처럼 많은 정보를 알려주고 사막의 오아시스처럼 쉼터가 되어준 듩직한 형 아다네, 장난끼 많은 David, 유머도 잘 통하고 코드도 잘 맞아 편하게 장난 다 받아주고 힘들 때 힘이 되어주고 인생에 있어서도 많은 귀감이 되어준 씨제, 항상 부지런하고 본인 할 일 잘 해내는 호, 가끔 지나친 장난도 치지만 넓은 오지랖으로 꿀팁을 방출해주며 실험 및 연구 방면에서도 많은 도움 준 사라바나를 포함하여 실험실 선후배 연구원들께 심심한 감사의 말씀 드립니다.

그리고 막내가 타지에 떨어져 공부한다고 걱정 많이 하셨을 아버지, 멀리서 묵묵히 응원해주고 잘 버텨준 하나뿐인 형, 형수님, 조카 도일이, 도윤이에게 감사 말씀 드립니다.

또한 석사과정 동안 귀한 시간 내어 동생 밥 한 끼 사주며 옆에서 든든하게 버팀목이 되어주고 위로가 되어준 마술사 식구들뿐만 아니라 형님들, 친구들, 동생들에게 이 논문을 통해 깊은 감사의 말을 전합니다. 더불어 시간 내어 만나지 못했지만 가끔 연락해 안부 물어주고 아낌없는 응원해준 지인 분들께도 심심한 감사의 말씀 올립니다.

끝으로 석사과정 동안 짧게나마 많은 경험을 얻었습니다. 이 귀중한 경험을 바탕으로 하여 지성인으로 거듭나도록 꾸준히 노력하겠습니다. **감사합니다.**