

중공사 막을 이용한 감귤 과피 bioflavonoids 분리 및 식이 섬유 회수 공정 최적화

이은영 · 우건조
이화여자대학교 식품영양학과

Optimization of Separation Process of Bioflavonoids and Dietary Fibers from Tangerine Peels using Hollow Fiber Membrane

Eun Young Lee and Gun-Jo Woo

Department of Foods and Nutrition, Ewha Women's University

Abstract

Tangerine peel is mostly discarded as waste in citrus processing. However, tangerine peel contains besides dietary fibers bioflavonoids such as naringin and hesperidin which act as antimicrobials and blood pressure depressants, respectively. A continuous membrane separation process was optimized for the production of bioflavonoids relative to feed flow rate, transmembrane pressure, temperature, and pH. The tangerine peel was blended with 7.5 times water volume and the extract was prefiltered through a prefiltration system. The prefiltered extract was ultrafiltered in a hollow fiber membrane system. The flux and feed flow rate didn't show any apparent correlation, but we could observe a mass-transfer controlled region of over 8 psi. When temperature increased from 9°C to 25°C, the flux increased about 10 liters/m²/min (LMH) but between 25°C and 33°C, the flux increased only 2 LMH. At every transmembrane pressure, the flux of pH 4.8 was the most highest and the flux at pH 3.0 was lower than that of pH 6.0, 7.0, or 9.0. Therefore, the optimum operating conditions were 49.3 L/hr, 10 psi, 25°C, and pH 4.8. Under the optimum conditions, the flux gradually decreased and finally reached a steady-state after 1 hr 50 min. The amount of dietary fibers in 1.0 g retentate in each separation step was analyzed and bioflavonoids concentration in each permeate was measured. The contents of total dietary fiber in the 170 mesh retentate and soluble dietary fiber in the prefiltered retentate were the highest. Naringin and hesperidin concentration in the permeate were 0.45~0.65 mg/g and 5.15~6.86 mg/g respectively, being 15~22 times and 79~93 times higher than those in the tangerine peel. Therefore, it can be said that PM10 hollow fiber membrane separation system may be a very effective method for the recovery of bioflavonoids from tangerine peel.

Key words: bioflavonoids, dietary fibers, tangerine peel, ultrafiltration

서 론

1996년도 국내산 감귤의 연간 생산량은 약 514,000톤으로, 부산에서 소량 재배되는 양을 제외하면 모든 감귤이 제주도에서 생산되고 있다⁽¹⁾. 외국의 경우 1993년 한 해 동안 주요 감귤류 생산국인 브라질과 미국을 포함한 주요 20개국의 감귤류 생산량은 58,000,000 톤이나 되며, 이들 중 85%가 주스로 가공되어 가공 공정 중 엄청난 양의 과피 등이 가공 부산물로 생성되고 있다⁽²⁾. 과실 전체 중량의 약 50%를 차지하는 과피는 수

용성 펙틴이나 bioflavonoids 등의 주요 천연 자원이다⁽³⁾. 특히 감귤 과피는 동물의 사료, 알코올 발효 음료의 원료 등으로 이용되기도 하며, 과피 성분 중 수용성 식이 섬유인 펙틴은 잼이나 젤리를 만드는 데 이용되어왔다^(4,5). 최근 들어 국내에서도 천연 재생 자원(natural renewable resources)인 감귤 과피 성분을 식품 소재로 재 이용하려는 연구가 있었으며⁽⁶⁾ 이들 성분 중 펙틴과 같은 식이 섬유 함량에 관한 연구가 많이 보고되었지만^(7,8) 과피에 많이 함유되어 있는 것으로 알려진 bioflavonoids에 대한 연구 및 이의 대량 생산에 관한 공정 개발 등은 아직 미비한 실정이다. Bioflavonoids란 diphenylpropane (C₆-C₃-C₆)을 기본구조로 하는 물질로서 일부는 항암, 항돌연변이, 항산화 등의

Corresponding author: Gun-Jo Woo, Department of Foods and Nutrition, Ewha Women's University, 11-1 Daehyondong, Sodaemun-ku, Seoul 120-750, Korea

생리 활성을 지니고 있으며^(10,13), 과실 조직이나 과피 oil 내에 다량 존재하는 bioflavonoids의 종류와 양은 과실의 숙성도, 계절, 품종, 추출 방법에 의해 많은 영향을 받는다⁽³⁾. Citrus 종류에는 rutinose류(lemons, oranges, citrons, tangerines)와 neohesperidose류(grapefruit, pummelos, Panderosa lemons)가 있는데, 각 citrus 종류에 따라 bioflavonoids의 조성이 다르며 citrus flavonon의 화학 구조는 일반적으로 flavonon의 7-OH가 glucosidic 결합체에 붙은 탄화수소의 구조를 갖고 있다⁽¹⁴⁾. 감귤 과피 중 naringin과 hesperidin은 각각 항균작용⁽¹⁵⁾과 혈압 저하 효과⁽¹⁶⁾가 있는 것으로 알려졌으며, 감귤류의 tangeretin은 중앙 성장을 억제한다^(12,13). 지금까지는 bioflavonoids 추출에 butanol, methanol 등의 친수성 용매와 hexane, chloroform과 같은 강한 소수성 유기 용매를 혼합 사용하여 왔으나^(6,17), naringin과 hesperidin 등은 수용성이므로⁽¹⁸⁾ 본 연구에서는 이 특성을 막 분리 공정에 이용하고자 하였다. 과거에는 가성조건(pH=10)에서 추출한 후 산성화와 결정화를 거쳐 bioflavonoids를 회수하였으며, 최근에는 수지를 이용하여 주스의 쓴맛 성분 제거 과정에서 naringin, narirutin, hesperidin, neohesperidin 등을 회수하기도 하였다⁽³⁾. 또한 우 등⁽¹⁹⁾은 β -cyclodextrin 중합체와 막분리 공정을 이용하여 쓴맛 성분인 naringin의 포집 형성능과 제거 효과를 비교한 바 있다. 이처럼 과일 주스 가공시 바람직하지 못한 쓴맛 성분으로 제거되었던 bioflavonoids를 회수하거나, 지금까지 폐기되었던 과피내의 섬유소 성분을 재활용하는 것은 환경 보존 측면에서도 그 의의가 크다. 한외여과(ultrafiltration, UF) 막은 주로 주스의 청정화 과정에서 사용되어졌는데⁽²⁰⁻²⁶⁾, 막 분리 시 가장 문제되는 것이 수용성 펙틴과 불용성 펄프 입자들의 막 침착에 의한 flux의 감소 현상이다^(23,24,27). 더욱이 과피는 수용성의 펙틴뿐 아니라 불용성인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 등의 식이 섬유를 과육에 비해 2.5~6배 가량 많이 함유하고 있으므로⁽⁶⁾ UF 막 적용시 심한 침착현상을 유발하게 된다. 따라서 막 침착으로 인한 flux 저하를 최소화할 수 있는 적절한 섬유소 회수 과정이 필요하며, 한외여과 막 적용시에는 최대의 permeate flow rate를 얻을 수 있는 최적조건 확립이 중요하다. 막을 이용한 주스의 청정화 공정 최적화를 위하여 상당수의 연구자들이 막 횡단 압력, 유속, Reynold 수 등을 주요 운용 변수로 하여 flux를 최대화 하고자 한 바 있다^(5,21,24-26).

본 연구에서는 유기용매를 사용하지 않으면서 연속 공정이 가능한 UF 막을 이용하여 폐기되어지는 감귤 껍질로부터 섬유소와 bioflavonoids를 효과적으로 회

수할 수 있는 최적 조건을 확립하고자 하였다. 예비 여과 시스템에서 회수된 과피 permeate를 feed로 하여 중공사 막(hollow fiber membrane)에 통과시켰을 때의 원료 투입 속도, 막 횡단 압력, 온도, pH, 시간에 따른 flux 변화 양상을 관찰함으로써 감귤 과피즙에서 bioflavonoids를 회수하기 위한 최적 조건을 구하였다. 또한, 각 단계에서 회수한 retentate의 식이 섬유 함량을 분석하고, 각 단계 별 과피즙의 성분 변화를 측정함으로써 막 분리 공정에 의한 bioflavonoids 회수 효율성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에서는 신선한 제주산 조생종 감귤을 시료로 하였으며, 감귤을 흐르는 물에 3분 동안 침수시켜 수세 과정을 거친 후, 꼭지 부분을 제거하여 과피 무게의 7.5배(w/v) 부피에 해당하는 양의 증류수를 첨가하고 믹서(M1209, LG)로 4분 동안 갈아 과피즙으로 하였다. 170 mesh와 400 mesh 분석용 표준망체에 과피즙을 통과시켜 섬유소가 일부 제거된 400 mesh permeate를 얻었으며, 이 용액을 냉장실(4°C)에서 SM (mixed esters of cellulose) 막을 장착한 prefiltration system (Sam Duck Sciences Co., Ltd.)을 사용하여 예비 여과하였다. 예비 여과 시스템에서 분리한 permeate는 4°C에서 냉장 보관한 후, UF 공정의 시료로 하였다. 각 분리 단계(170 mesh, 400 mesh, prefiltration system) 별 retentate는 총 식이 섬유 정량용으로 따로 분리하여 냉동 건조시켰으며, permeate는 냉동 보관 후 bioflavonoids 함량을 분석하였다.

한외여과

예비 여과를 거친 과피 시료의 한외 여과 시스템 공정도를 Fig. 1에 보여 주고 있다. 예비여과 시스템에서는 5 μ m SM membrane (Millipore Co., USA)을 사용하였으며 UF 장치에는 중공사 막(hollow fiber membrane H1P10-43, Amicon, USA)을 이용하였다. 중공사 시스템에는 한계분자량(molecular weight cut-off, MWCO) 10,000, 막 표면적 0.03 m², 길이 20.3 cm, 물의 permeation rate 0.05~0.15 L/min, 내부 지름 1.1 mm, 최대 허용 압력 25 psi인 polysulfone 재질의 막을 사용하였다.

pH

과피 과즙의 pH는 4.8이었으며 각 시료의 pH는 2.0 N HCl과 2.0 N NaOH를 사용하여 25°C에서 pH 3.0,

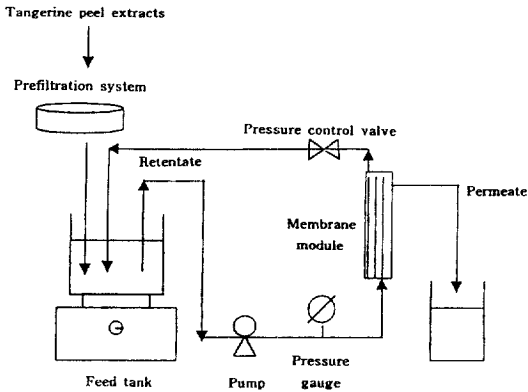


Fig. 1. Schematic flow diagram of the ultrafiltration system used for separation of bioflavonoids.

6.0, 9.0으로 조정하였다.

총 식이 섬유 함량

170 mesh, 400 mesh, 예비 여과 단계로부터 회수된 retentate를 냉동 건조시켜 분말화된 시료를 건조자에 보관하였다. 수용성 식이 섬유와 불용성 식이 섬유 함량은 AOAC 방법을 참조하여⁽²⁸⁾ 각각 정량한 후, 그 합을 총 식이 섬유 함량으로 하였다.

수용성 식이 섬유(soluble dietary fiber, SDF)

400 mL 비이커에 냉동 건조된 분말시료 1.0 g과 0.08 M phosphate buffer (pH 6.0) 50 mL를 혼합하여 용액의 pH가 6.0 ± 0.2 가 되도록 조정한 후, Termamyl 액(α -amylase) 0.1 mL를 첨가하여 95°C~100°C 진탕 항온기에서 30분간 가열하였다. 0.275 N NaOH 용액으로 실온에서 방냉시킨 반응물의 pH를 7.5로 조정한다. protease (0.1 mL)를 첨가하여 60°C 진탕 항온기에서 30분간 반응시켰다. 방냉 후 0.275 N HCl 용액을 사용하여 pH 4.0~4.6으로 조정된 반응물에 amyloglucosidase (0.3 mL)를 첨가하여 진탕 항온기(60°C)에서 30분간 반응시켰다. Celite 0.5 g을 coarse glass-frit (ASTM 40~60 μ m, 60 mL)에 담아 무게를 측정한다. 다음, 반응을 완료시킨 효소 분해물을 여과시키고 잔여물은 증류수, 95% 에탄올 및 아세톤이 각각 10 mL씩 혼합된 용액으로 2회 세척하였다. 여과액과 세척액의 무게가 100 g이 되도록 증류수로 조정하고 이 용액에 에탄올 400 mL (60°C)를 가하여 실온에서 60분간 침전시킨 후, coarse glass-frit으로 침전 혼합물을 여과하였다. 여과 후 잔여물은 78% 에탄올 20 mL, 95% 에탄올과 아세톤 10 mL로 각각 2회 세척하였다. 침전물이 담긴 도가니를 오븐에서 24 시간 건조(105°C)시킨 후,

건조자기에서 방냉하여 무게를 측정하였다. 두 개의 시료 중 하나는 단백질 정량용으로, 하나는 회분 함량 결정에 사용하였다. 수용성 식이 섬유 함량은 아래의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{SDF (\%)} = \frac{[\text{mg residue} - (\text{mg protein in residue} + \text{mg ash in residue}) - \text{blank}]}{\text{mg sample}} \times 100$$

불용성 식이 섬유(insoluble dietary fiber, IDF)

효소 분해물을 여과시키고 잔여물은 증류수, 95% 에탄올 및 아세톤이 각각 10 mL씩 혼합된 용액으로 2회 세척하는 단계까지는 수용성 식이 섬유 정량 방법과 같았다. 세척한 다음 침전물이 담긴 도가니를 105°C 건조기에서 하룻밤 건조시켜 건조자기에서 방냉한 후 무게를 측정하였다. 단백질 및 회분 정량용 시료를 별도로 준비하여 정량하였다. 아래 식을 이용하여 불용성 식이 섬유를 계산하였으며, 각 분리 단계별 시료의 섬유질 함량(%)은 습량기준(wet basis)으로 하였다.

$$\text{IDF (\%)} = \frac{[\text{mg residue} - (\text{mg protein in residue} + \text{mg ash in residue}) - \text{blank}]}{\text{mg sample}} \times 100$$

Bioflavonoids 분석

170 mesh, 400 mesh, 예비 여과 단계, PM10 막을 통과한 permeate의 bioflavonoids 함량은 Perfetti 등⁽¹⁷⁾의 방법을 변형하여 HPLC로 분석하였다. HPLC의 운용 조건은 Table 1에 나타내었다.

결 과

예비여과 시스템을 통과한 감귤 과피 시료를 원료로 하여 중공사 막의 막 횡단 압력(transmembrane pressure)을 4, 6, 8, 10 psi로 변화시키면서 다양한 유속(23.4, 49.3, 57.2 L/hr), 온도(9, 18, 25, 33°C), pH (3.0, 4.8, 6.0, 7.0, 9.0)에서 실험하여 최적 분리 조건을 구하였다. 또한, 최적 조건하에서 시간에 따른 flux의 변화를 관찰하였다. 각 실험에서 농축 효과를 최소화하기 위하여

Table 1. Analytical conditions for bioflavonoids by HPLC

Instrument: Jasco HPLC system (Detector Model UV 975)
Column: μ -Bondapak C-18 (3.9 mm I.D. \times 300 mm L., 10 μ m)
Detector wave length: 280 nm
Mobile phase : methanol/acetic acid (1000/5, v/v), H ₂ O/acetic acid (1000/5, v/v)
Flow rate: 1.0 mL/min
Injection volume: 5 μ L
Calibration curve range: 0.5~2.5 μ g/mL

permeate는 다시 feed tank로 재 순환시키지 않았으며, PM10 막을 통하여 최종적으로 막 분리된 permeate는 맑은 황색을 띄었다.

유속과 막 횡단 압력

본 실험에서 사용한 중공사 한외여과 막의 투과도를 측정하기 위하여 막 횡단 압력을 변화시키면서 물의 flux를 측정한 결과, 압력이 증가함에 따라 flux가 직선적으로 증가하였으나 유속 증가에 의한 flux 변화는 없는 것으로 나타났다(Fig. 2.A). 예비 여과를 거친 과피 추출물(9°C)을 polysulfone 막에 통과시킨 결과(Fig. 2.B), 유속 49.3 L/hr, 막 횡단 압력 10 psi일 때 최대의 flux를 나타내었다. 모든 유속에서 막 횡단 압력이 증가함에 따라 flux가 증가하였는데 10 psi이하의 막 횡단 압력에서는 49.3 L/hr > 57.2 L/hr > 23.4 L/hr의 순으로 flux가 높게 측정되어 flux와 유속간에는 일정한 상관관계가 없었다. 4 psi의 낮은 막 횡단 압력에서 세 유속간 flux 차이는 2.4~3.6 liters/m²/hr (LMH)였으나, 8 psi로 압력을 증가하였을 때는 4.8~10.8 LMH로 4 psi일 때에 비해 유속간 flux 차이가 2배 이상 증가하였으며, 8 psi 이상의 막 횡단 압력에서는 모든 유속의 flux 증가율이 10% 미만이었다. 따라서, 감귤 과피즙 permeate의 flux는 유속보다 막 횡단 압력에 의해 더 큰 영향을 받으며 본 실험에서 시료(9°C)의 최적 원료 투입 속도는 49.3 L/hr, 최적 막 횡단 압력은 8 psi이었다. 막 횡단 압력이 증가함에 따라 Fig. 2.A에서처럼 flux가 직선적으로 증가하지는 않았지만, 과피 시료에서는 8 psi 이상의 막 횡단 압력에서 압력 증가에 따른 flux 증가율이 상당히 감소하여 mass-transfer controlled region을 나타내었다(Fig. 2.B).

온도와 막 횡단 압력

막 횡단 압력과 온도가 permeate flow rate에 미치는 효과를 측정하기 위하여 막 횡단 압력을 점차적으로 상승시켜 5~10분간 안정화시킨 후 flux를 측정한 결과(Fig. 3), 온도와 막 횡단 압력이 상승함에 따라 flux가 증가하였으며 막 횡단 압력 6 psi를 기점으로 온도 증가에 따른 flux 변화 양상이 다르게 나타났다. 막 횡단 압력 4 psi일 때는 25°C의 flux가 19.2 LMH로 가장 높았으며 분리 적용 온도가 가장 높았던 33°C와 최저 분리 온도인 9°C 간의 flux 차이가 2.4 LMH로 온도에 따른 flux 차이가 크지 않았다. 6 psi 이상의 막 횡단 압력에서는 33°C의 flux가 가장 높았으며, 막 횡단 압력이 상승함에 따라 각 온도간 flux 차이도 커져 10 psi에서는 30% 내외의 flux 차이를 나타내었다. 그러나,

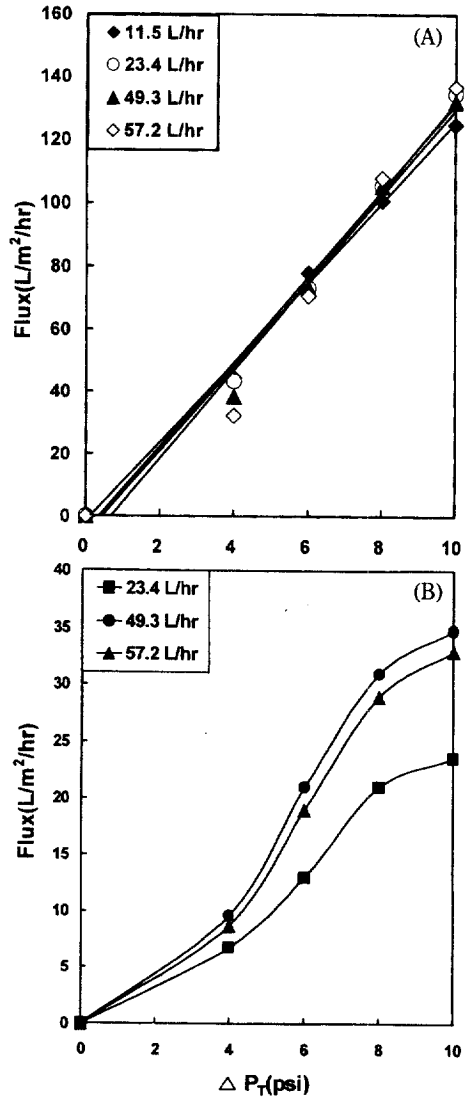


Fig. 2. (A) Effect of average transmembrane pressure (ΔP_T) and water flow rate at 9°C in PM10 membrane use. (B) Effect of average transmembrane pressure (ΔP_T) and feed stream flow rate on permeate flux at 9°C in PM10 membrane use. Feed stream flow rate was calculated as the average velocity within the hollow fiber tube in liters per hour (L/hr). Permeate flux was measured after steady state was obtained. The points on the different curves represent data from an individual ultrafiltration run starting with regulated tangerine peel prefiltration permeate. Each sample was controlled to have concentration effects of less than 1%.

33°C는 25°C에 비해 flux 증가율이 6% 이하로 분리 온도 상승에 비해 flux 증가 효과가 적었다. 다양한 온도 중 9°C 시료에서 유일하게 level-off 현상이 나타났는데, 이는 9°C 시료를 사용하여 최적 유속과 최적 막 횡

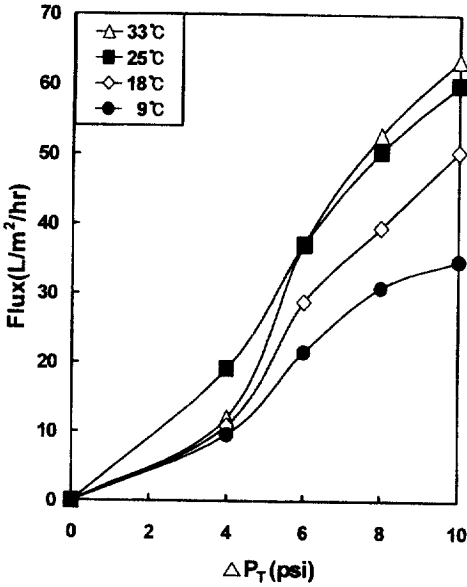


Fig. 3. Effect of temperature on permeate flux at various average transmembrane pressures (ΔP_T) using PM10 membrane. Feed stream flux was 49.3 L/hr. Permeate not returned to feed tank. Sample's pH was 4.8.

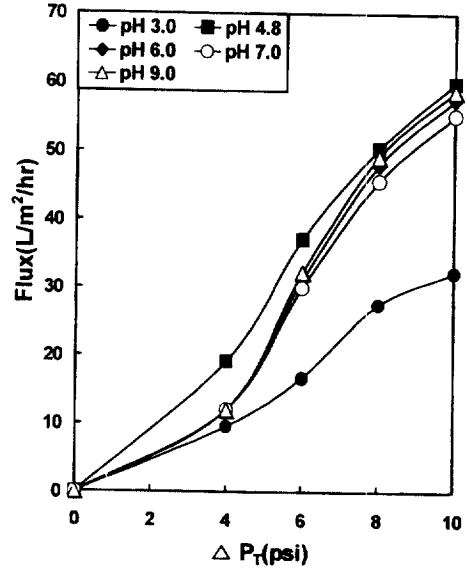


Fig. 4. Effect of pH on permeate flux at various average transmembrane pressures (ΔP_T) using PM10 membrane. Feed stream flow rate was 49.3 L/hr. Permeate not returned to feed tank. Each sample was controlled to have concentration effects of less than 1%. pH was regulated with 2.0 N HCl and 2.0 N NaOH.

단 압력을 실험한 Fig. 2.B와 일치하는 결과였다. 모든 온도의 시료에서 막 횡단 압력이 상승함에 따라 flux 증가율이 다소 감소하였으나, 9°C를 제외한 18°C, 25°C, 33°C 시료에서 최대 적용 압력인 10 psi까지 level-off 현상을 나타내지 않은 것으로 보아 10 psi 이상의 압력에서도 flux의 계속적인 증가를 예측할 수 있었다. 따라서, PM10 막을 사용하여 예비 여과된 감귤 과피즙으로부터 bioflavonoids를 막 분리하기 위한 최적 운용 조건은 유속 49.3 L/hr, 온도 25°C, 막 횡단 압력 10 psi이었다.

pH와 막 횡단 압력

예비 여과된 감귤 과피즙의 pH 변화와 막 횡단 압력에 따른 flux 변화를 살펴본 결과(Fig. 4), 모든 막 횡단 압력 하에서 감귤 과피즙의 고유 pH인 pH 4.8일 때 flux가 가장 높았고 산성 pH인 3.0일 때 가장 낮은 flux를 나타내었다. pH 3.0 시료의 경우, 4 psi의 낮은 적용 압력 하에서는 다른 pH의 시료들과 flux 차이가 크지 않았으나, 10 psi에서는 32.4 LMH의 flux를 나타내어 pH 4.8일 때의 60 LMH에 비하면 거의 절반 수준이었다. 막 횡단 압력 4 psi에서 pH 6.0, pH 7.0, pH 9.0 시료의 flux는 12.0 LMH로 동일하였으며, 최고 막 횡단 압력인 10 psi에서도 이들 시료간 flux 차이가 2 LMH내외로 flux 차이가 적었다. 따라서, 25°C의 예비

여과된 감귤 과피즙을 49.3 L/hr의 유속으로 투입하여 막 분리하였을 때, 최적 pH는 4.8이었으며 막 횡단 압력 10 psi에서 최대의 flux를 나타내었다.

시간에 따른 flux 변화

이상의 실험결과로부터 얻어진 감귤 과피즙의 최적 막 분리 조건인 원료 투입 속도 49.3 L/hr, 온도 25°C, pH 4.8, 막 횡단 압력 10 psi에서 시간에 따른 flux 변화는 Fig. 5와 같다. 막 분리 초기에는 22.1 LMH로 분리 속도가 빨랐으나 시간이 경과함에 따라 flux가 점차 감소하여 약 1시간 50분 경과 후 정상상태에 이르러서는 10.1 LMH로 초기에 비하여 약 50%가량 flux가 감소하였다. 그러나, 초기 10분 경과시 16.5%의 flux 감소율을 제외하면 대부분의 구간(약 7분 간격)에서 6%내외의 낮은 flux 감소율을 보여 시간 경과에 따른 flux 저하 현상은 심하지 않은 것으로 나타났다.

섬유질 함량

과피에 다량 존재하는 섬유질을 예비여과단계에서 미리 회수하여 막 분리시 막 침착에 의한 flux 감소를 방지하고, 회수된 과피 섬유질을 식이 섬유로 이용하고자 여러 단계에 걸쳐 예비 여과 막의 한계 분자량을 달리하여 분리하였다. 각 분리 단계별로 회수된 식이

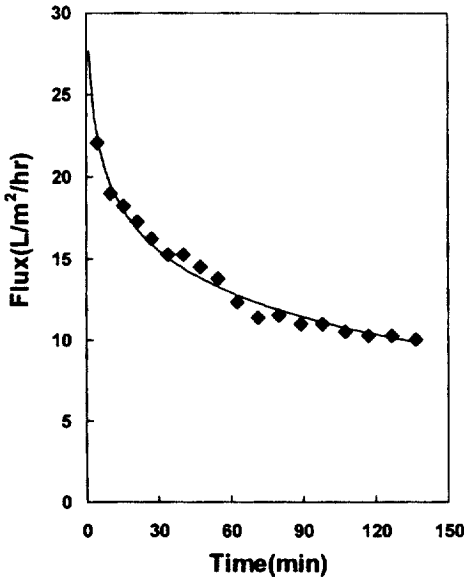


Fig. 5. Effect of time on permeability of tangerine peel water extracts in hollow fiber module (HIP10-43, Amicon). Experiment was done at the optimum separation condition (feed stream flow rate: 49.3 L/hr, temperature: 9°C, pH: 4.8, ΔP_T : 8 psi).

섬유소의 총량, 불용성 식이 섬유소, 수용성 식이 섬유소를 정량한 결과는 Table 2와 같다. 과피 껍질의 총식이 섬유 함량은 과피 무게의 약 42%였으며, 불용성 식이 섬유와 수용성 식이 섬유가 각각 30%와 12%로 불용성 식이 섬유의 양이 2배 이상이었다. 단위 무게당 총식이 섬유 함량은 170 mesh retentate > 400 mesh retentate > prefiltered retentate 순으로 높았고, 이들 retentate내에 함유된 식이 섬유의 비율(%)은 원 과피 시료보다 높았다. 생리 활성을 지닌 수용성 식이 섬유의 조성율은 prefiltered retentate > origin > 170 mesh retentate > 400 mesh retentate 순으로 비율이 높았다. 각 예비 여과 단계별 불용성 식이 섬유와 수용성 식이 섬유의 비율은 감귤 과피 고유의 불용성 섬유소 함량이 수

Table 2. Dietary fiber contents (%) of retentates in each separation step

Separation Step	DF ¹⁾		
	IDF ²⁾	SDF ³⁾	TDF ⁴⁾
I. Original tangerine peel	29.5±1.2	12.3±0.9	41.8±2.1
II. 170 mesh retentate	63.4±1.1	10.4±0.7	73.9±1.7
III. 400 mesh retentate	55.7	4.2	59.9
IV. Prefiltered retentate	28.0	28.2	56.2

¹⁾Dietary Fiber.
²⁾Insoluble Dietary Fiber.
³⁾Soluble Dietary Fiber.
⁴⁾Total Dietary Fiber.

Table 3. Bioflavonoids contents (mg/g) of permeates in each separation step

Separation Step	Bioflavonoids	
	Naringin	Hesperidin
I. 170 mesh permeate (pore size 90 μ m)	0.50	6.05
II. 400 mesh permeate (pore size 38 μ m)	0.58	5.15
III. Prefiltered permeate (pore size 5 μ m)	0.65	6.85
IV. PM 10 permeate (MWCO 10,000)	0.45	6.33

용성 섬유소에 비해 2.2배 많은 것에 비해 170 mesh는 6.1배, 400 mesh는 13.3배 많았다. 5 μ m의 막을 사용한 예비 여과 시스템에서 수용성과 불용성 식이 섬유소의 비율은 1:1로 동일하였다.

Bioflavonoids 함량

예비 여과 단계별 permeate와 최적 운용조건에서 얻은 PM10 permeate에 함유된 bioflavonoids의 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 170 mesh, 400 mesh, 5 μ m SM 막, PM10 막을 통과한 permeate의 naringin과 hesperidin 농도는 각각 0.45~0.65 mg/g, 5.15~6.85 mg/g으로 분석되어 hesperidin이 naringin에 비해 평균 11배 가량 많았다. 막 분리 공정 이전의 예비 여과 단계에서 각 단계별 permeate내 함량이 꾸준히 증가하는 naringin과 달리 hesperidin의 함량은 400 mesh를 거치면서 감소하였다가 5 μ m SM permeate에서 다시 증가하였다. 5 μ m SM permeate의 naringin과 hesperidin 함량은 예비 여과 초기 permeate에 비해 각각 30%, 13%씩 증가하였으나 PM10 막을 통과한 용액내에는 이들의 함량이 바로 전 단계에 비해 각각 44%, 8% 가량 감소하여 막분리 중 naringin이 hesperidin보다 retentate로 더 많이 소실된 것으로 나타났다.

고 찰

유속과 막 횡단 압력

막 횡단 압력과 유속을 달리하여 물과 예비 여과된 감귤 과피즙의 flux를 측정된 결과, 물과 과피즙 모두 막 횡단 압력이 증가함에 따라 flux가 비례적으로 증가하였으나 유속과는 별다른 상관 관계가 없었다(Fig. 2.A, Fig. 2.B). 일반적으로 원료 투입 속도가 증가하면 flux도 증가한다^(21,24,26). 낮은 유속일 때는 막 표면에 일시적인 농도 증가로 인해 물질의 막 통과가 저해되어 flux가 감소하지만, 빠른 유속에서는 막 표면에 층

(boundary layer)을 형성하고 있던 분자들이 막으로부터 떨어져 나와 flux를 증가시킨다. 그러나, 막 횡단 압력이 낮은 조건에서 feed의 농도가 낮고 투입속도가 빠를 때에는 유속과 flux간에 비례관계가 성립하지 않는 것으로 알려져 있다⁽²⁹⁾. 실제로 ceramic 막에서 온도가 다른 물의 flux를 측정된 결과나^(30,31) pH가 다른 유체의 한외여과 막 투과시 유속에 따른 flux 향상 효과는 없는 것으로 나타났다⁽²⁹⁾. Fig. 2.A의 실험 결과 유체 투입 속도 23.4 L/hr 이상의 빠른 유속 하(49.3 L/hr, 57.2 L/hr)에서는 압력 조절 밸브를 완전히 연 상태에서도 막 입구 압력(inlet pressure)이 8 psi 이상이었다. 이 때 작용한 압력은 구동력으로 작용하는 막 횡단 압력이 아니라, 지름이 큰 관을 통하여 빠른 속도로 흐르던 용액이 지름이 작은 중공사 막 내부로 흘러 들어 오면서 발생한 막 표면의 저항 압력에 기인한 것으로 사료된다. 그러므로, 중공사 막 표면에 있는 미세한 구멍사이로 한계 분자량보다 작은 물질을 통과시키기 위해서는 빠른 유속으로 인한 저항력을 극복할 수 있는 막 횡단 압력이 필요한 것으로 판단된다. 물과 예비 여과된 과피즙 모두 막 횡단 압력이 증가함에 따라 flux가 증가하였는데 물의 경우 직선적으로 flux가 증가하는 반면(Fig. 2.A), 과피즙의 경우 8 psi 이상에서 낮은 flux 증가율을 나타내는 것은(Fig. 2.B) 과피즙이 bioflavonoids나 예비 여과 단계에서 회수되지 않은 수용성 식이 섬유 등을 함유하고 있어 비교적 높은 막 횡단 적용 압력에서 막에 침착현상을 일으켰기 때문이다.

온도와 막 횡단 압력

온도와 막 횡단 압력을 달리하여 예비 여과된 감귤 과피즙을 막 분리하였을 때, 온도가 높을수록 flux가 높았으며 막 횡단 압력이 증가함에 따라 flux는 증가하였으나 flux의 증가율은 감소하였다(Fig. 3). 용액의 온도가 높을수록 flux가 증가하는 것은 유체의 점성이 낮아지기 때문이며⁽³²⁾, 막 횡단 압력이 증가함에 따라 막 표면에 거대 분자들이 층을 형성하여 농도 분극 현상을 일으키기 때문에 flux는 점차적으로 감소한다⁽³²⁾. 이러한 결과는 flux가 막 횡단 압력과 용액의 점도, 막 투과도에 의하여 결정된다는 Hagen-Poiseuille의 법칙과 일치한다. 용질의 농도가 투입 유체쪽 농도보다 높아 막 표면 근처에 boundary layer가 형성되어 겔과 같은 망상 구조를 막 표면에 형성하기도 하며 이러한 현상이 농도 분극 현상을 증가시킨다⁽²⁹⁾. 특히 높은 막 횡단 압력을 가하였을 때는 이러한 망상 구조가 더 단단해져 침착된 물질의 물에 대한 용해도를 감소시켜

flux를 감소시킨다^(23,29). 단백질 함량이 높은 유체와 펙틴이나 당을 함유한 과즙 등 시료에 따라 막 표면에서 형성하는 겔의 망상 구조가 다르며^(21,32) 막 횡단 압력에 대한 flux의 감소 경향도 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다. Kirk 등⁽²¹⁾에 의하면 압력 증가에 따른 단백질 용액의 flux 감소 경향과는 달리 펙틴질을 많이 함유한 과즙은 중 모양의 flux 감소 경향을 나타내는데, 이러한 현상은 한외 여과 중 압력이 증가함에 따라 flux가 증가하다가 막 표면에서 단단한 겔층의 형성으로 인하여 어느 한계 압력에서는 flux가 급격히 감소하기 때문이다. Flux의 급격한 감소는 겔을 형성하고 있는 펙틴질이 수소 결합에 의해 갈락투론산과 사슬 구조로 결합되어 있다가 높은 막 횡단 압력으로 인해 압착되어 이들 결합이 깨어지고 사슬의 망상 구조가 막을 뚫기 때문이다⁽³³⁾. 본 실험 결과와 상기한 연구 결과들을 비교해 볼 때, 적용 막 횡단 압력이 다소 낮아 10 psi 이상의 압력에서의 flux 변화를 정확히 예측할 수는 없지만, 10 psi까지는 압력이 증가함에 따라 flux도 비례적으로 증가하는 pressure controlled region이 관찰되었다.

pH와 막 횡단 압력

선택적 다공질의 polysulfone 막은 과피즙에 존재하는 고분자량의 펙틴, 셀룰로오스 등을 배제시키는 반면, 물과 대부분의 유기산, bioflavonoids, carotene, 휘발성 물질 등은 투과시킨다. 이때 일부 bioflavonoids, carotene, 휘발성 물질 등은 분자량이 작음에도 불구하고 polysulfone 막을 통과하지 못하고 막에 흡착되거나 retentate에 남기도 한다⁽³⁴⁾. 이러한 이유 때문에 막 분리 초기에 빠져나오는 permeate의 색은 투입되는 시료의 색보다 옅지만, 공정이 진행될수록 농축되는 retentate의 색은 진해치는 것으로 사료된다. Bioflavonoids는 3개의 benzene ring이 연결된 diphenylpropane을 기본 구조로 하는 물질로서^(35,36), 극성 용액내에서 소수성 결합에 의한 물리적 흡착을 일으키기도 한다⁽³⁵⁾. 산성에서는 용해되지 않으나 염기성 수용액에서는 bioflavonoids가 완전히 해리 되는데, pH 7 이상일 때 부분적으로 해리 되기 시작하여 수용액 속으로 용해된다⁽³⁵⁾. pH 3.0은 비교적 강한 산성 용액으로서, 수용액 속에 용해되는 bioflavonoids의 양이 적어 polysulfone 막에 많은 양이 흡착되므로 flux가 다른 pH 시료의 절반 수준인 반면(Fig. 4), 염기성으로 갈수록 부분적 해리가 진행되어 flux가 점차 증가하는 것으로 판단된다. pH 6.0 이상의 시료와 pH 4.8 시료의 flux 차이가 적었던 것은 이 pH 범위에서는 bioflavonoids의 구조 변화나

막과 bioflavonoids의 물리적 흡착력 차이가 적어 flux에 미치는 영향이 거의 없었기 때문에 사료된다.

시간 경과에 따른 flux 변화

Fig. 5에서처럼 분리 시간 경과에 따라 점차적으로 flux가 감소하였으나 각 구간(7분 간격)별 감소 속도가 6% 정도로 낮고 정상상태에 이르렀을 때에도 초기 flux에 비해 약 50%의 flux를 유지하여 심한 flux 저하는 관찰되지 않았다. 이러한 flux의 감소는 크게 feed 용액의 물성변화와 관련된 막 침착현상(membrane fouling)과 농도 분극 현상(concentration polarization) 때문에 발생하며 막 분리 시 flux를 저하시키는 주요 요인이다⁽²⁹⁾ 용매가 다공질의 한외여과 막을 통과할 때는 Hagen-Poiseuille 법칙을 따르므로 고형물이 농축되면 feed의 점도와 밀도가 상승하고 확산도가 감소하여 물보다 낮은 flux를 나타낸다⁽²⁹⁾. 농도분극 현상은 단백질과 같은 수화성 콜로이드물질이나^(26,29) 펙틴, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 같은 물질에 의해 발생하는데⁽²³⁾ 본 실험에서 농도 분극 현상을 발생시키는 것은 bioflavonoids나 예비 여과 단계를 통과한 식이 섬유소이며 이들 물질들은 막 표면에 점성이 있는 겔 층(gelatinous-type layer)을 형성한다^(21,24) 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⁽²⁹⁾. 결과적으로 Fig. 5에서 1시간 50분 경과 후 일정한 flux를 유지하는 것은 위에 언급한 두 현상이 평형을 이루게 되어 정상상태에 이르게 되었기 때문이다.

섬유질 함량

170 mesh에서 회수된 1차 예비 여과 단계 retentate는 74%의 총 식이 섬유를 함유하고 있었는데, 이것은 원과피의 42%보다 상당히 높은 비율이었다. 이러한 결과는 감귤 과피의 식이 섬유 사이에 존재하고 있던 정유, bioflavonoids, 색소 물질 등이 물과 함께 permeate로 170 mesh를 빠져나감으로써 retentate 내의 식이 섬유가 상대적으로 농축되었기 때문이다. 170 mesh와 400 mesh를 거치면서 회수된 식이 섬유 내에는 수용성 식이 섬유에 대한 불용성 식이 섬유의 비율이 각각 6배, 13배 높았는데, 망의 구멍 크기가 작아질수록 분자량이

큰 불용성 셀룰로오스가 상대적으로 많이 회수되었기 때문이며 5 μ m SM 막에서 이러한 비율이 1:1로 같아진 것은 400 mesh도 통과한 분자량 200,000-400,000의 펙틴이나 분자량 10,000-40,000의 헤미셀룰로오스 등이 마지막 예비 여과 단계에서 막을 통과하지 못하였기 때문에 사료된다. 제주산 감귤 과피 총 식이 섬유의 1/3이 수용성 식이 섬유였으며, 단위 무게당 수용성 식이 섬유의 회수율은 prefiltered retentate가 가장 높았다. 수용성 식이 섬유가 인체내에서 콜레스테롤 저하, 변비방지, 대장암 예방 등과 같은 생리활성 기능을 갖는 점을 고려하면 회수된 각 분리 단계별 식이 섬유의 활용 용도를 달리하여야 할 것으로 판단된다. 이처럼 예비 여과 단계에서 대부분의 식이 섬유가 제거되었으므로 막 공정시 막 침착을 유발하는 물질은 잔존하는 펙틴 등의 수용성 식이 섬유와 일부 bioflavonoids가 polysulfone 막에 침착되어 flux를 감소시키는 것으로 추측된다. Braddock⁽⁶⁾은 감귤의 waste stream 으로부터 limonene을 분리할 때 특히 polysulfone 막에 침착 현상을 관찰한 바 있다.

Bioflavonoids 함량

최종적으로 막 분리하여 얻은 naringin과 hesperidin은 각각 0.45 mg/g, 6.33 mg/g이었는데, 이는 은 등⁽⁶⁾이 제주산 감귤 과피로부터 정량한 0.0295 mg naringin/g, 0.0653 mg hesperidin/g에 비해 각각 15배, 97배 농축된 양이다. 이와 같은 결과는 식이 섬유를 제거함으로써 예비 여과 단계에서 효율적으로 bioflavonoids의 농축과 PM10 막을 통하여 bioflavonoids 회수가 가능하였음을 의미하며, 더 나아가 역삼투(reverse osmosis) 공정을 이용하면 가격 경쟁력이 있는 식품 신소재로서 bioflavonoids의 산업적인 대량 생산이 가능할 것으로 사료된다. Naringin과 달리 400 mesh에서 hesperidin의 양이 다소 감소하는 것은 다른 단계에 비해 회수되는 불용성 식이 섬유의 비율이 높아 이 단계에서 일부 흡착되어 소실된 것으로 판단되며, PM10 permeate에서 naringin과 hesperidin이 모두 감소하는 것은 막에 일부 침착 또는 흡착되어 소실되었기 때문이다.

결 론

제주산 감귤 과피를 천연 재생 자원으로 이용하여 생리 활성을 갖는 식이 섬유와 bioflavonoids를 분리하기 위하여 여러 단계의 예비 여과 과정과 막분리 공정에 PM10 막을 사용하였다. 예비 여과 단계를 거치면서 회수한 각 단계별 retentate를 분석한 결과 총 식이

섬유와 수용성 식이 섬유 함량은 각각 170 mesh retentate와 prefiltered retentate에서 가장 높았으며, 각 분리 단계별 permeate의 naringin과 hesperidin 농도는 원과 피 시료보다 각각 15배, 97배 가량 높은 수치였다. PM10 막을 사용한 한외여과 공정의 최적 운용 조건에서 flux 감소율이 비교적 적고 정상상태의 flux가 초기 flux의 절반 수준을 유지할 뿐만 아니라 PM10 막을 통과한 permeate내의 bioflavonoids 함량도 매우 높아 본 연구에서 사용한 PM10 막과 최적화된 막 분리 공정이 폐 감귤과피로부터 고부가가치의 생리 활성 물질인 bioflavonoids를 대량 생산하는데 효율적인 분리 공정임을 제시하였다.

요 약

감귤류의 가공 부산물인 감귤 과피 내에는 식이 섬유소 외에 미생물의 성장을 억제시키는 naringin과 혈압 저해 능력이 있는 hesperidin 등의 bioflavonoids가 다량 함유되어있었지만, 대부분이 가공 과정 중 폐기되고 있다. 생리 활성 물질인 bioflavonoids를 회수하기 위하여 원료 투입 속도, 막 횡단 압력, 온도, pH 등을 조절하여 최적 막 분리 조건을 구하였다. 감귤 과피에 7.5 배의 물을 첨가하여 균일하게 혼합한 후, 혼합 용액을 예비 여과 시스템에서 여과하였다. 예비 여과된 추출물은 중공사 막을 이용하여 한외 여과하였다. 원료 투입 속도와 flux간에는 일정한 상관 관계가 없었지만, 막 횡단 압력 8 psi 이상에서 pressure controlled region이 관찰되었다. 9°C에서 25°C로 온도가 상승함에 따라 10 liters/m²/hr (LMH)씩 flux가 증가하였으나, 25°C에서 33°C 구간에서는 flux 증가폭이 2 LMH에 그쳤다. 모든 적용 막 횡단 압력에서 pH 4.8일 때의 flux가 가장 높았으며, pH 3.0에서의 flux가 pH 6.0, 7.0, 9.0 일 때 보다 훨씬 낮았다. 최적 운용 조건은 원료 투입 속도 49.3 L/hr, 막 횡단 압력 10 psi, 온도 25°C, pH 4.8 이었다. 최적 분리 조건하에서 막 분리 하였을 때, 시간이 경과함에 따라 flux가 점차적으로 감소하여 약 1시간 50분 경과 후 정상 상태에 도달하였다. 각 분리 단계별로 retentate 단위 무게당 식이 섬유 함량과 permeate의 bioflavonoids 농도를 측정하였다. 분리 단계별 retentate 중 단위 무게당 총 식이 섬유와 수용성 식이 섬유 함량은 각각 170 mesh retentate와 prefiltered retentate에서 가장 높았다. 한외 여과 permeate내의 naringin과 hesperidin 농도는 각각 0.45-0.65 mg/g, 5.15-6.86 mg/g으로, 감귤 과피 고유의 함량보다 각각 15-22배, 79-93배 높은 수치였다. 따라서, 감귤 과피로부터

bioflavonoids를 회수하는데 있어서 PM10 중공사 막의 운용이 매우 효과적인 분리 시스템을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부에서 시행한 보건의료기술개발사업비(HMP-96-F-3-0012)의 지원으로 수행된 연구 결과의 일부로서 이에 감사드립니다. 섬유질 함량과 bioflavonoids 분석에 도움을 주신 전남대학교 식품공학과 강민영께 깊은 감사를 드립니다.

문 헌

1. 농림부 : 농림통계연보 (1997)
2. Florida Department of Agriculture: *Citrus Summary*. 1993 Florida Agr. Statistics Serv., Orlando, Fla. (1995)
3. Braddock, R.J.: Products from juice extraction residues have many functional uses in food and beverage processing. *Food Technol.*, **49**, 74-77 (1995)
4. Kesterson, J.W. and Braddock, R.J.: By-products and specialty products of Florida citrus. *Fla. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* No. 784. University of Florida, Gainesville, Fla. (1976)
5. Woo, G.J., Nam, J. and Eun, J.B.: Optimization of membrane separation process for the production of dietary fibers from tangerine peels (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 378-383 (1996)
6. Eun, J.B., Jung, Y.M. and Woo, G.J.: Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium* var.) (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 371-377 (1996)
7. Chang, H.N., Nam, K.E. and Hur, J.W.: Studies on the utilization of Korean citrus peel waste (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **9**, 251-254 (1977)
8. Moon, S.J., Sohn, K.H., Lee, M.H. and Lee, M.H.: The content and chemical and physical properties of the pectin in tangerine peel (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **14**, 63-66 (1982)
9. Lee, K.S. and Lee, S.R.: Analysis of dietary fiber content in Korean vegetable foods (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**, 225-231 (1993)
10. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Venema, D.P.: Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1591-1598 (1992)
11. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B.: Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2379-2383 (1992)
12. Bracke, M.E., Bruyneel, E.A., Vermeulen, S.J., Vennekens, K., Marck, V.V. and Mareel, M.M.: Citrus flavonoid effect on tumor invasion and metastasis. *Food Technol.*, **48**, 121-124 (1994)

13. Lam, L.K.T., Zhang, J. and Hasegawa, S.: Citrus limonoid reduction of chemically induced tumorigenesis. *Food Technol.*, **48**, 104-108 (1994)
14. Albach, R.F. and Redman, G.H.: Composition and inheritance of flavanones in citrus fruit. *Phytochemistry*, **8**, 127-143 (1969)
15. Han, S.S. and You, L.J.: Studies on antimicrobial activities and safety of natural naringin in Korea (in Korean). *Kor. J. Mycol.*, **16**, 33-40 (1988)
16. Son, H.S., Kim, H.S., Kwon, T.B. and Ju, J.S.: Isolation, purification and hypotensive effect of bioflavonoids in *Citrus sinensis* (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 136-142 (1992)
17. Perfetti, G.A., Joe, F.L., Fazio, T. and Page, S.W.: Liquid chromatographic methodology characterization of orange juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 469 (1988)
18. Pulley, G.N.: Solubility of naringin in water. *Ind & Eng. Chem. Anal.*, **8**, 360 (1936)
19. Woo, G.J. and Ha, S.M.: Debittering of citrus products using β -cyclodextrin polymer and ultrafiltration process (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 302-308 (1997)
20. Hernandez, E., Couture, R., Rouseff, R., Chen, C.S. and Barros, S.: Evaluation of ultrafiltration and absorption to debitter grapefruit juice and grapefruit pulp wash. *J. Food Sci.*, **57**, 664-666 (1992)
21. Kirk, D.E., Montgomery, M.W. and Kortekaas, M.G.: Clarification of pear juice by hollow fiber ultrafiltration. *J. Food Sci.*, **48**, 1663-1666 (1983)
22. Wilson, E.L. and Burns, D.J.W.: Kiwifruit juice processing using heat treatment techniques and ultrafiltration. *J. Food Sci.*, **48**, 1101-1105 (1983)
23. Chiang, B.H. and Yu, Z.R.: Fouling and flux restoration of ultrafiltration of passion fruit juice. *J. Food Sci.*, **52**, 369-371 (1987)
24. Amar, R.B., Gupta, B.B. and Jaffrin, M.Y.: Apple juice clarification using mineral membranes: Fouling control by backwashing and pulsating flow. *J. Food Sci.*, **55**, 1620-1625 (1990)
25. Kim, K.H., Meysami, B. and Wiley, R.C.: Pectinase recovery from ultrafiltered apple juice. *J. Food Sci.*, **54**, 412-415 (1989)
26. Alvarez, V., Andres, L.J., Riera, F.A. and Alvarez, R.: Microfiltration of apple juice using inorganic membranes: Process optimization and juice stability. *Canadian J. Chem. Eng.*, **74**, 156-162 (1996)
27. Kang, H.A. and Chang, K.S.: Concentration of persimmon juice by reverse osmosis system (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 279-283 (1997)
28. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*. 16th ed., Association of Official Analytical chemists, Washington, D. C. (1995)
29. Cheryan, M.: *Ultrafiltration Handbook*. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA (1986)
30. Padilla-zakour, O. and Mclellan, M.R.: Optimization and modeling of apple juice cross-flow microfiltration with a ceramic membrane. *J. Food Sci.*, **58**, 369-374 (1993)
31. Matsumoto, Y., Nakao, S. and Kimura, S.: Cross-flow filtration of solutions of polymers using ceramic microfiltration. *Int. Chem. Eng.*, **28**, 677-683 (1988)
32. Pouliot, G. and Goulet, J.: Hollow fiber ultrafiltration of maple sap: A performance study. *J. Food Sci.*, **52**, 1394-1396 (1987)
33. Pilnik, W. and Voragen, A.G.J.: Pectic substances and other uronides. In *The Biochemistry of Fruits and Their Products*, Hulme, A.C. (Ed.), Academic press, London, England, vol. 1, p.53 (1970)
34. Jonson, J.R., Braddock, R.J. and Chen, C.S.: Flavor losses in orange juice during ultrafiltration and subsequent evaporation. *J. Food Sci.*, **61**, 540-543 (1996)
35. Yoon, S.Y., Choi, W.J. and Park, J.M.: Selective adsorption of flavonoids compounds from the leaf of *Ginkgo biloba L* (in Korean). *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **11**, 726-732 (1996)
36. Braddock, R.J.: Ultrafiltration and reverse osmosis recovery of limonene from citrus processing waste streams. *J. Food Sci.*, **47**, 946-948 (1982)

(1998년 1월 12일 접수)