

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(), 비공개(O) 발간등록번호(O)
고부가가치식품기술개발사업 2019년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003046-01

농산물을 활용한 고부가가치 천연 발효조미소재 및 관련 제품 개발

최종보고서

2020. 3. 27.

주관연구기관 / 샘표식품 주식회사
협동연구기관 / 이화여자대학교

농 립 축 산 식 품 부
농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

‘농산물을 활용한 고부가가치 천연발효조미소재 및 관련 제품 개발’(연구개발 기간 : 2017.06.15. ~ 2019.12.31.) 과제의 최종보고서 1부를 제출합니다.

2020. 3. 20.

주관연구기관명 : 샘표식품 주식회사 (대표자) 박 진 선
협동연구기관명 : 이화여자대학교산학협력단 (대표자) 반 효 경



(인)



주관연구책임자 : 이 대 희

협동연구책임자 : 이 상 미

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 최종보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	317035-03	해 당 단 계 연 구 기 간	3년	단 계 구 분	1단계/ 총 1단계
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업 (농림축산식품연구개발사업)			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	농산물을 활용한 고부가가치 천연발효조미소재 및 관련 제품 개발			
연구책임자	이 대 회	해당단계 참여연구원 수	총: 33명 내부: 33명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	정부: 960,000 천원 민간: 670,000 천원 계: 1,630,000 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 33명 내부: 33명 외부: 0명	총 연구개발비	정부: 960,000 천원 민간: 670,000 천원 계: 1,630,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	샘표식품 주식회사 기술연구소			참여기업명	샘표식품 주식회사
국제공동연구	해당사항 없음			해당사항 없음	
위탁연구	해당사항 없음			해당사항 없음	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	-
-------------------------	---

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

<ul style="list-style-type: none"> - 발효모듈 각테일 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> 쌀발효물, 발효채소추출물 5종(양파, 마늘, 대파, 무, 토마토)), 효모 저분자 펩타이드 제조기술 개발 - Natural 하모니 최적화 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> 각 모듈별 조화(Flavor creation) 최적화 기술 개발 - 분자감각학(Sensomics) 기법을 이용한 맛 활성 차별성 분석 - 대사체학(Metabolomics) 기법을 이용한 대사체 특성/메커니즘/지표물질 규명 - 농산물을 활용한 순식물성 발효조미소재, 응용제품 개발 및 상품화 	<p>보고서 면수</p> <p>425</p>
---	--------------------------

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>국내산 농산물을 발효 추출하여 각 원료소재를 발효에 적합한 모듈화 및 모듈별 대사체 특성과 관능검사와의 상관관계를 규명하고, 타겟 제품에 최적화된 모듈별 조화를 통해 식물성 천연발효 조미 소재 제품을 개발하여, 국내에서 사용하고 있는 해외제품들을 대체함은 물론 글로벌 경쟁력을 갖춘 조미소재 제품을 개발하고자 함</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 농산물을 활용한 식물성 천연발효조미소재 제품 3종 및 응용제품 1종 개발 ○ 기존 조미소재와 신규 식물성 천연발효 조미소재의 맛 활성 차별성 분석 ○ 식물성 천연발효 조미소재의 대사체 특성 규명 및 제품화 응용 ○ 식물성천연발효 조미소재의 맛 활성(증진) 성분 탐색 및 분자 구조 규명 ○ 식물성 천연발효 조미소재의 대사체 생성 메카니즘 및 지표물질 규명
<p>연구개발 성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 발효미생물을 이용한 식물성 천연 발효 조미소재 제조기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> -식물성 천연발효 조미소재용 단백질 생산을 위한 쌀발효물 개발 -식물성 천연발효 조미소재용 단백질 생산 우수 효모 균주 1종 선발 및 동정 완료 -효모 발효공정 최적화 및 Scale-up 배양 및 효모크림 시제품 제작 -채소추출물 모듈 5종 (양파, 마늘, 대파, 무, 토마토) 개발 -식물성 천연발효 조미소재용 쌀발효 효모 저분자펩타이드 제조공정 개발 : 평균분자량 500이하 펩타이드 함량 50% 이상 확보 -쌀발효 효모저분자펩타이드의 항산화 기능성 확인 (DPPH Assay, reducing power assay 활용) ○ 발효미생물을 이용한 식물성 천연 발효 조미소재 개발 <ul style="list-style-type: none"> -채소별 향기성분 비교 -채소농축액의 제조방법에 따른 향기성분 비교 -식물성 천연 발효 조미소재 Prototype 3종 (볶음용, 육수용, 범용) 개발 -식물성 천연발효 조미소재 3종 향기성분 분석 비교 -식물성 천연발효 조미소재 요리 적용 평가 ○ 발효미생물을 이용한 식물성 천연 발효 조미소재 산업화 <ul style="list-style-type: none"> -식물성 천연 발효 조미소재 3종 Scale-up 및 공정확립 -식물성 천연발효 조미소재 Food pairing을 통한 성능 평가 -식물성 발효조미소재가 적용된 응용제품개발(소스) 개발 및 출시

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 분자감각학(Sensomics) 기법을 이용한 식물성 천연발효 조미소재의 맛 활성 특성 분석 및 성분 규명 <ul style="list-style-type: none"> -식물성 천연발효 조미소재의 맛 활성 특성에 영향을 미치는 아미노산 및 펩타이드의 분석 -분자감각학(sensomics) 기법을 이용한 발효 조미소재의 맛활성 성분 규명 및 분자구조 확인 -식물성 천연발효 조미소재의 품질지표 및 규격 표준화 기술 확보 ○ 대사체학(Metabolomics) 기법을 이용한 식물성 천연발효 조미소재 대사체 분석 및 향미 특성 규명 <ul style="list-style-type: none"> -최적의 추출법과 기기분석법을 이용하여 식물성 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석 -다변량통계기법(multivariate statistical analysis)을 활용한 식물성 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체의 차이 및 변화양상 확인 -관능 특성에 영향을 미치는 식물성 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 지표 물질 탐색 ○ 기술실시 1건, 제품화 7건, 고용창출 5명, 인력양성 2명, 특허등록 2건, 특허출원 3건, 홍보실적 68건, 전시회 참가 1건, 수상실적 2건 ○ 논문 8건, 학술발표 3건 ○ 식물성 천연발효 조미소재 개발보고서 1부 				
<p style="text-align: center;">연구 개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 식물성 천연발효 조미소재 개발로 한식에 적합한 조미소재 제품화 및 수입 조미소재 제품 대체로 매출확대 ○ 조미소재 대사체 데이터 구축 및 기반 연구로 활용 ○ 국내산 농산물 사용에 따른 농산물 가격 안정화와 농가소득 향상에 기여 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p style="text-align: center;">쌀발효물</p>	<p style="text-align: center;">채소추출물</p>	<p style="text-align: center;">대사체</p>	<p style="text-align: center;">천연 조미료</p>	<p style="text-align: center;">분자감각학</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p style="text-align: center;">rice paste fermented</p>	<p style="text-align: center;">vegetable extract</p>	<p style="text-align: center;">metabolite</p>	<p style="text-align: center;">natural seasoning</p>	<p style="text-align: center;">sensomics</p>

〈 목 차 〉

제 1 장 연구개발과제의 개요	8
제 2 장 연구수행 내용 및 결과	17
제 1 절 발효미생물을 이용한 식물성 천연 발효소재 개발	17
1. 쌀 발효물 모듈 개발	17
2. 우수효모 균주 분리 및 효모 발효기술 개발	29
3. 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 모듈개발 및 Scale-up	51
4. 채소추출물 모듈 개발 및 Scale-up	62
제 2 절 식물성 천연발효 조미소재 개발	87
1. 식물성 천연발효 조미소재 prototype 3종 개발	87
2. 식물성 천연발효 조미소재 향기 성분 분석비교	103
3. 식물성 천연발효 조미소재의 요리적용 평가	121
제 3 절 식물성 천연발효 조미소재 산업화	136
1. 천연발효조미소재 3종 Scale-up	136
2. 식물성 천연발효 조미소재 Food-pairing	149
3. 식물성 발효조미소재가 적용된 응용제품개발 및 출시	177
제 4 절 분자감각학(sensomics) 기법을 이용한 천연 발효조미소재의 맛 활성 특성 분석 및 성분 규명	184
1. 식물성 천연발효 조미소재의 맛활성 특성에 영향을 미치는 아미노산 및 펩타이드 분석	184
2. 천연발효 조미소재의 맛활성 특성 분석 및 성분 규명	192
3. 맛 성분과 관련된 천연발효 조미소재의 품질지표 및 규격 표준화	222
제 5 절 대사체학(Metabolomics) 기법을 이용한 천연발효 조미소재 대사체 분 석 및 향미 특성 규명	227
1. 천연발효 향미소재와 유사 타사 제품과의 비교분석	227
2. 채소 추출물의 휘발성 대사체 분석	282
3. 효모크림의 휘발성 대사체 분석	334
4. 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 발효 대사체의 차이 및 변화양상 확인	343
5. 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석	379

6. 묘사분석을 통한 천연발효 조미소재의 향미특성의 변화 및 특성 강도의 변화측정	398
7. 휘발성 대사체 분석결과와 관능검사 결과와의 상관관계를 통한 천연발효 조미소재의 특성규명	409

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	415
--------------------------------	-----

제 4 장 연구결과의 활용 계획 등	419
---------------------------	-----

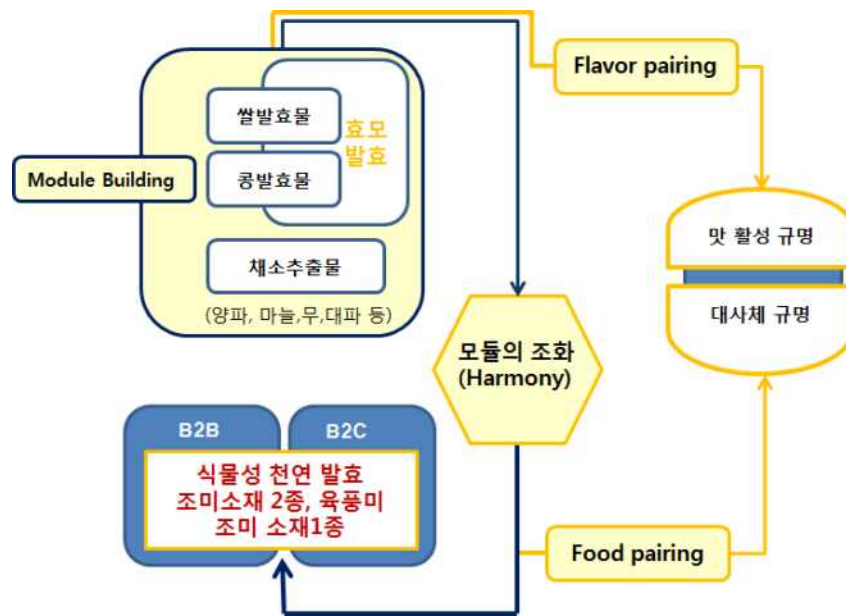
붙임. 참고 문헌	420
-----------------	-----

- <별첨1> 연구개발보고서 초록
- <별첨2> 주관연구기관의 자체평가의견서
- <별첨3> 연구개발 활용계획서

1 장 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

국내산 농산물(쌀, 콩, 무, 대파, 양파, 마늘 등)을 발효/추출하여 각 원료소재를 발효에 적합한 모듈화 및 모듈별 대사체 특성과 관능검사와의 상관관계를 규명하고, 타겟 제품에 최적화된 모듈별 조화를 통해 식물성 천연발효 조미 소재 제품을 개발하여, 국내에서 사용하고 있는 해외제품들을 대체할 수 있는 물론 글로벌 경쟁력을 갖춘 조미소재3종(발효조미소재2종, 육풍미1종) 제품을 개발하고자 함.



<제품 개념도>

○ 핵심기술: 발효미생물을 이용한 식물성 천연발효 조미소재 제조기술(module Building)

- 1) 쌀 발효물 제조기술 : 효모 배양시 탄소원으로 사용하는 당밀을 대체하기 위한 천연 탄소원으로 국내산 쌀을 활용하기 위하여 장류발효용 국균을 제조한 후, 국균의 amylase와 protease를 이용하여 글루코즈, 아미노산, 펩타이드, 무기물 등을 함유하는 쌀 발효물 제조 기술
- 2) 식물성 천연발효 배지를 이용한 우수 효모 발효기술 : 천연 탄소원인 쌀발효물, 기 개발된 천연 질소원인 콩발효물, 기타 미네랄 성분으로 채소추출물을 이용하여 효모를 배양 및 발효 최적화 기술
- 3) 효모 분리 기술 : 쌀 발효물, 콩 발효물, 채소 추출물의 천연배지에서 균체량 생성이 우수하며 핵산등의 정미성분 함량이 높은 효모균주를 선발하는 기술
 - 효모는 균체내 50% 이상이 단백질로 이루어져 있어 다른 식물성 단백질 원료인 콩, 밀, 옥수수 대비 펩타이드의 생산수율이 높은 장점을 가진 원료이며 발효물질 대사경로를 잘

이용하면 정미성분인 특정 아미노산, 펩타이드, 핵산물질을 많이 생산할 수 있는 중요한 단백질 자원임

4) 저분자 펩타이드 제조기술 : 효모 단백질을 이용하여 효소를 사용하여 조미소재의 맛 활성을 높일 수 있는 고함량의 저분자 펩타이드 제조기술

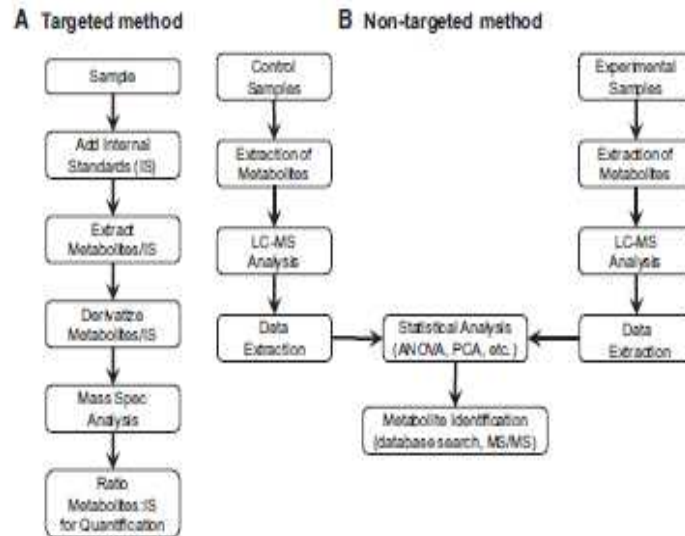
5) 천연 채소추출물 제조기술 : 마늘, 양파, 무, 대파 등의 향신채 채소들의 주요 향미성분들은 황화합물이며 각각의 황화합물을 고농도로 함유하는 천연 조미소재 제조기술

1-2. 연구개발의 필요성

<국내·외 기술동향 및 수준>

○ 기술현황

- 국내산 농산물을 이용한 식물성 천연발효 조미소재개발은 연구적 측면에서 시도하고 있으나 원료의 경제적인 측면에서 실효성 저하로 주로 조미소재는 수입 원료가 대부분이고 국내기술이 상용화 된 경우는 없음.
- 특정 육풍미를 제조하기 위한 reaction process 진행시 식품첨가물인 특정 당이나 아미노산을 첨가하여 반응을 시키고 제조하는 실정임.
- flavor 원료로서 천연 향료의 국내외 기준은 매우 다르다고 볼 수 있는데, 국내 천연향료의 기준은 자연물로부터 추출한 것이어야 하고 용매 역할을 할 수 있는 것은 물, 에탄올, 식용유지만으로 제한되어 있지만, 국외 기준은 천연으로부터 분리 정제, 효소를 이용한 생화학적 합성까지 범위가 넓기 때문에 수입향료의 경우 국내기준에 적합한 천연 향료가 매우 드물.
- 대사체학 기법을 이용하여 분석한 식품 소재의 휘발성, 비휘발성 향미 성분들은 제품의 품질 및 소비자들의 기호도를 결정짓는 중요한 요소이며, 식품 생산 환경이나 경작지별 분류 및 상품의 질을 결정하는 요인이 될 수 있음.
- Metabolomics target analysis를 통한 휘발성 성분 연구 분석으로 일본 녹차 샘플의 품질과 등급을 결정한 바 있으며, 다변량 통계분석방법을 적용하여 녹차의 소비자 기호도와 상관을 통해 녹차의 품질 순위를 예측한 연구가 보고되었음.
- Metabolomics nontargeted analysis를 이용하여 토마토의 휘발성 성분을 분석하여 토마토 종류 구별 및 숙성 정도를 구분하는 평가 지표를 만들었음. 또한, 스위스 네슬레 연구센터에서는 metabolomics nontargeted analysis를 이용하여 커피의 품질 지표 성분으로 알려져 있는 이취 성분(fermented off-note)인 ethyl formate를 동정한 연구가 보고되었음.
- 또한, metabolomics nontargeted analysis를 적용하여 다양한 조건으로부터 형성된 glutathione-Maillard 반응물의 향미 증진 효과에 관련된 성분을 확인하였고, glutathione-Maillard 반응 산물을 첨가한 식품 시스템에서의 관능적 특성과의 상관관계를 규명한 연구가 시도되고 있음.



<Schematic summary of targeted and nontargeted metabolomics methods
(출처:DIABETES)>

- Sensomics 기법은 식품 내에 가장 강하게 인지되는 또는 이미 특정화 된 맛 특성을 taste profiling을 통하여 모식화한 후, 선정된 추출물 또는 시료에서 특징적인 맛 특성을 가지는 성분들을 다양한 기기분석법 및 시료분리/분획법과 맛성분추출물희석분법(taste dilution analysis, TDA)과 같은 human bioresponse를 통하여 그 식품 내 맛활성성분을 규명하는 연구기법임.
- 이러한 기법으로 치즈의 발효에 의해 생성된 L-arginine는 맛 증진 물질로 보고되었으며, 젓갈의 발효 동안 일어나는 생선 단백질의 효소(chymotrypsin, trypsin)는 짠맛을 증진시키고 이에 의한 작용으로 맛 조절 인자인 arginyl dipeptides를 스크리닝 하였음.
- 과마산 치즈의 발효 과정에서 생성되는 γ -glutamyl dipeptides가 치즈 고유의 맛을 증진시켜주는 맛 활성 성분(kokumi)으로 규명되었음. 또한, 이스트나 lactic acid bacteria로 반죽하여 발효한 빵에서 맛 증진 성분인 γ -glutamyl dipeptides이 생성되어 빵의 향미 특성에 긍정적 영향을 미치는 연구가 보고되었음.
- 따라서, 분자감각학(sensomics) 기법을 이용한 발효조미소재의 향미 특성과 관련된 맛 활성 성분 규명에 관한 연구는 단일물질에 대한 단편적인 연구가 아닌 인간의 미각 조절 인자를 스크리닝 하는 총체적인 연구로, 보다 효과적으로 발효조미소재의 주요 맛 활성 성분들을 밝혀낼 수 있을 것으로 기대됨.

○ 시장현황

- 세계 식품시장 규모는 2014년 기준 약 4조 4,342억 달러이며 이중 약 20%의 시장이 할랄 식품시장임.
- 국내 채식주의자 규모는 전체 인구의 약 2% 수준으로 미비하나 해외 채식 시장의 경우, 2010

년 식물성 고기 시장은 12억 달러 에서 2016년 18억 달러로 증가하였으며 2020년에는 30억 달러로 급속히 증가하고 있고 대체 육류시장은 5년간 7.9% 성장하고 있음.

- 전세계적으로 식음료분야에서는 자연원료 사용, Non-GMO, 유기농원료 사용, 첨가물 최소화 및 제로화 등이 가장 핵심적인 트렌드이며 조미소재도 이와 발맞추어 첨가물을 사용하지 않거나 최소화된 natural 조미소재 개발이 필요함.
- 국내 조미료 시장규모는 2015년 기준 4,200억 수준이며 매출증대를 위해서는 글로벌 시장을 공략해야 할 필요성 대두 됨.
- 소득수준의 향상, 여성의 사회진출, 1인가구의 증가와 더불어 천연이며, 건강하고 고급화 되고 특색(차별화된) 맛을 내는 추세여서 풍미가 다양한 천연 조미소재 개발을 요구받고 있음.
- 천연의 트렌드에 맞춰 원물인 소고기나 사골을 이용한 농축액을 직접적으로 사용하긴 하나 원물 사용시 공급량의 한계, 미생물에 대한 오염, 원료단가가 높은 단점이 있어 가격경쟁력이 있으면서도 품질경쟁력이 있는 조미소재를 많이 찾고 있는 실정임.
- 유럽, 일본, 중국 등의 글로벌 업체들이 단백질 가수분해물인 HVP나 효모엑기스를 베이스로 해서 향미소재를 많이 개발하고 있는 추세임.
- 조미변천사를 보면, 1세대의 MSG에서 출발하여 4세대인 순식물성 원료를 사용한 액상 천연 조미료로 발전을 해 왔는데 주로 미각을 충족시켜주는 차원에서의 개발이었다면 후각도 만족시켜 줄 수 있는 천연 조미 소재 방향으로 기술개발이 이루어져야 할 것으로 보임.

○ 경쟁기관현황

- 해외 조미료 제품은 Beef, Chicken, Pork 등을 베이스로 한 Bouillon, Stock, Broth를 핵심 소재화하여 Nestle, Unilever, Kraft社에서는 각 고유의 향미를 지닌 조미료 제품을 지난 수십년간 제품출시를 하고 있으며, 핵심 소재화된 bouillon과 stock등은 해외의 글로벌 향료업체인 Givaudan, International Flavor & Fragrance, Firmenish, Symrise, Kerry ingredient社와 연계하여 flavor적인 부분을 강화한 소재를 조미료 원료로 이용해 왔음.
- 현재 이러한 조미소재는 국내 유명 조미료 제조업체에서도 소고기풍미를 강화하는 핵심원료로 사용하고 있지만, 국내 식문화와 어울리지 않는 단점이 있음.
- 주로 유럽, 일본, 중국 등의 효모엑기스 제조업체에서 효모엑기스나 HVP 소재를 활용해 meat-like flavor를 paste나 powder등의 형태로 개발, 출시하고 있음.
- 그러나 flavor 제조시 특정 당류 및 아미노산등의 첨가물을 사용하여 flavor를 제조하고 있어 100% 천연원료를 이용해 소재를 제조한 제품개발은 없다고 볼 수 있음.
- 국내 업체들은 자체개발 보다는 해외업체의 제품들을 구입하여 사용하고 있는 실정이며 100% 천연유래 flavor 소재를 실험한 제품개발은 없다고 볼 수 있음.

○ 지식재산권 현황

- 효모엑기스에 관한 논문들은 대부분 효모엑기스를 생산하기 위한 연구보다는, 효모 배양에 대한 연구들이 다수임. 주로, 특정 정미성분인 글루타치온과 핵산등의 물질이 다량 함유된 균주개량 연구, 배양 조건 최적화 연구 등이 이에 포함됨.
- 황함유 펩타이드의 정미성이나 그의 항산화 기능에 대한 연구는 꾸준히 연구되어 있으나, 조미소재 개발 소재로의 평가 및 연구는 미비한 실정임.
- 2012년부터 2017년까지 정미성 식품 소재개발의 연구는 총 1110편의 논문이 발표 되었으며, 그 중 약 5%만인 62편만이 효모엑기스를 통한 소재 개발로 아직까지 효모라는 소재를 통한 식품 소재 개발 연구가 미진함.
- 효모엑기스 개발 관련 중에서도 정미성 식품 소재에 대한 연구는 미진한 실정이며, 대다수의 논문들이 효모 자가분해 후, 주류 개발관련 연구 또는 미생물 배지로써의 효모엑기스 개발 연구임.
- 식품 소재로써의 효모엑기스 개발에 대한 연구가 미진한 실정이므로, 효모 발효 연구를 통해 효모 균체 내의 맛에 영향을 주는 성분과 그 성분을 생산할 수 있는 연구가 필요함
- 정미성 효모엑기스 개발 연구 중에서도 맛에 크게 관여하는 펩타이드 관련 논문은 2012년부터 2017년 까지 총 127편이 발표됨. 주로 장 문화가 많이 발달된 일본에서 연구가 진행 되었으며, 국내 논문은 10%에 불과함.
- 일본 아지노모토의 경우 황함유 아미노산 및 황결합 펩타이드를 생산하는 효모 개량에 대한 기술을 확보하고 있었으며, 이를 식품소재로 활용한 연구를 주도적으로 진행하고 있음.
- 국내 연구 기관 중 본 연구기관은 지속적으로 우마미, 고꾸미에 대한 연구를 수행하였으며, 육류 풍미 소재 반응시 필수 소재인 황결합 아미노산, 펩타이드 소재개발에 대한 연구를 수행한바 있음. (2008년, 국내산 농산물로부터 고부가 천연 조미소재 Kokumi 개발, 농림축산식품부)
- 최근 5년간 국내 반응향 조미소재 개발 관련 특허 출원은 2012년 1월 1일부터 2017년 4월 25일까지 총 1건의 특허가 출원이 되었으나, 본 과제와 직접적으로 관련이 있는 특허는 0건으로 전무하며, 천연 조미소재 및 천연 향미소재 관련하여서도 본 과제와 관련이 있는 특허는 7건으로 매우 적은 출원수를 보였음
- 국내와는 다르게 최근 5년간 국외 반응향 조미소재 개발 관련 특허 출원은 2012년 1월 1일부터 2017년 4월 25일까지 각각 총 30건의 특허가 출원이 되었고, 그 중 본 과제와 관련이 있는 특허는 6건으로 국내 특허 출원수 보다는 높은 출원수를 보였음.
- 본 과제와 연관이 있는 특허에 대한 연도별 국내외 특허 출원 현황을 살펴보면, 2016년에 소폭 감소하였으나, 2012년부터 2015년까지 꾸준히 증가함을 확인 할 수 있고 이는 시장에서 니즈가 반영된 것으로 보임.
- 발표된 유사 연구 논문들은 천연원료를 추출하여 사용하였으나, 전구체 일부를 식품첨가물로 사용한 경우(총 10건 중 국내 1건, 국외 9건)가 있고, 순식물성 원료로만 발효, 추출, 반

응하는 연구는 없음.



< 아지노모토(주) ‘맛있다’는 종합적인 개념 >

● 천연 탄소원 개발의 필요성

- 당밀은 효모의 대량 생산 시 경제성 이유로 보편적으로 사용되는 원료이나 100% 수입원료이며 불순물이 많아 사용 전에 불순물 제거 공정이 반드시 수반되어야 함.
- 또한 당밀 특유의 색상과 향으로 효모배양 후 수차례의 원심분리의 세척 작업이 수반되어야 함. 이 과정에서 유리아미노산 및 핵산 등의 정미성분이 감소하는 문제점이 있음.
- 쌀 발효물은 불순물, 색상 등의 제거 필요성이 없으며 쌀 발효물에는 발효당 및 아미노산, 펩타이드, 미네랄 성분 등이 포함되어 있어 맛성분 증가 및 세척공정을 제거할 수 있는 장점이 있음

● 천연 발효배지를 이용 효모 발효 기술 개발의 필요성

- 글로벌 트렌드인 클린라벨은 자연원료사용, 합성첨가물 무첨가가 가장 중요한 필수조건임.
- 효모는 맛소재로서의 아미노산, 펩타이드의 중요한 천연 단백질 자원이기도 하지만 probiotic로서 효모균체로도 중요한 원료이며 시장성장도 두드러지고 있음. 따라서 100% 천연 원료인 쌀, 콩, 채소를 이용한 천연 배지 개발 및 발효조건을 확립하면 향후 100% 유기농 혹은 100% 천연 효모에 대한 수요발생시 바로 대응 가능한 미래 준비 기술이 될 수 있음.
- 본 연구의 주관기관인 샘표는 기 개발된 천연 질소원인 콩 발효물을 이미 보유하고 있으며 품질 및 원가 제조경쟁력도 이미 확보하고 있음.

● 맛 활성이 높은 조미소재 제조기술 개발의 필요성

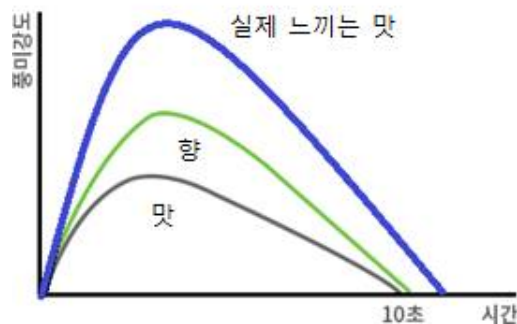
-식품에 존재하는 기본적인 맛인 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛과 감칠맛 중 감칠맛의 특성을 부여하는 주체로 알려져 있으며, 이러한 맛 이외에도 일본에서는 식품의 맛을 지속적으로 유지시켜주며, 맛의 농후한 느낌을 주고, 짠맛과 신맛을 조화시키는 맛인 진한맛(kokumi)의 특성을 지닌 주체로 펩타이드를 주목하고 있다는 보고(Yamashita, S. Arai et al. J. Agr. Food. Chem. 23, 27 1975)가 있음.

-특히 고꾸미의 핵심물질로 감마글루타미드 펩타이드가 지속성, 농후감, 코팅성을 부여하는 것이 과학적으로 규명되고 있으며 (J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 6712-6719) 그중 대표적인 예가 감마글루타미드 펩타이드인 글루타치온 입.

-본 기술에서도 맛활성이 높은 소재개발로 높은 육풍미를 주는 식물성 천연 발효 조미소재를 개발하고자 함.

○ 향과 맛의 combination 조화기술개발

맛과 향은 모든 식품에서 같이 동반이 됨으로써, 이것의 패턴이 일치해야만, 강한 풍미와 기호도가 상승됨. 맛과 향의 패턴이 일치 되지 않는다면, 이미, 이취처럼 느껴져 기호도가 떨어짐.



- 대부분 수입제품에 의존하는 조미소재의 국산화를 위해서도 다양한 재료를 탐색하여 한국음식과 글로벌 음식에 적합한 향과 맛에 대한 연구는 지속적으로 개발 되어야 함.
- 무, 대파, 양파, 마늘 등과 같은 향신채 원료들은 전세계적으로 풍미를 올리는데 주로 사용하는 원료이며 이에 포함되어 있는 황함유 성분들은 향미부여 핵심원료이기도 함.
- 농산물을 활용하여 소비처가 확대될수록 농작물 생산을 계획적으로 할 수 있으며 이는 농산물 가격안정화와 농가소득의 안정화 및 향상에 기여할 것임.
- 농림축산식품부는 정부 양곡 재고가 233만t에 달한다고 보고하였음 (연합뉴스, 2017년 4월 23일). 연간 생산량을 고려하면 쌀 매년 30만t 안팎의 초과물량이 발생함(의무수입물량을 제외). 쌀 재고 문제가 논란이 되고 있으며, 재고 해소를 위한 다양한 대책이 필요함. 쌀 가공식품 등을 통한 소비확대의 정부 대책에 따라 본 연구의 쌀을 이용한 발효조미소재 개발은 시급한 실정임.

원료	국내 농산물 생산 및 소비 현황
쌀	<ul style="list-style-type: none"> ● 2016년 쌀 취급량: 국내생산량(419.7톤)과 수입산(40.8톤)을 합쳐 460.5만톤 ● 가공용: 65.8만톤 , 취반용: 394.7만톤 ● 웰빙 트렌드로 다른 곡물과 혼합해서 먹는 추세로 연간 85만톤 재고분으로 남아 쌀값 하락, 쌀 농가수 감소 발생 ● 가공용 쌀은 저가의 의무수입물량(MMA)에 의한 소진으로 국내쌀 가공을 저조 => 고부가가치 소재로서 개발 필요(출처: 통계청, 양곡소비량 조사)
무	<ul style="list-style-type: none"> ● 생산량: 112만 2천톤(2016년 기준) ● 작황별로 생산량 감소, 출하공백 등의 이유로 가격 등락이 반복 ● 수출입이 미미한 품목으로 국내 생산량에 의해 수급 및 가격이 결정 ● 생산량 감소, 식생활 변화에 따라 생산 및 소비가 감소할 것으로 전망
마늘	<ul style="list-style-type: none"> ● 재배면적: 20,759ha, 생산량: 27만 6천톤(2016년 기준) ● 높은 생산비 부담, 김치 소비 감소 등의 이유로 생산량이 감소 ● 국내산 마늘 생산량의 감소로 마늘 수입량은 증가(2015년 마늘 수입량: 7만 5천톤, 총 공급량의 22%) ● 마늘 수입은 냉동마늘 소비 확대에 의해 연중 꾸준한 형태로 변화 ● 소비 패턴이 변화함에 따라 가공업체를 통해 대부분이 유통되는 저장 마늘의 비중이 증가
양파	<ul style="list-style-type: none"> ● 재배면적은 19,896ha, 생산량은 129만 9천톤(2016년 기준) ● 95% 내외 수준의 자급률을 유지 ● 국내 수급상황에 따라 양파 수입량도 증감을 반복 ● 생산량과 저장시설의 증가로 전체 생산량의 48~51%이 저온 저장 후 대부분 원물 형태로 유통되고 있음
대파	<ul style="list-style-type: none"> ● 재배면적: 1만504ha로 전년 대비 9% 증가, 작황부진으로 생산량은 감소하여 24만 3천톤으로 추정 ● 수입량은 6만 4천톤으로 국내산 대파 가격의 등락에 따라 증감을 반복 ● 1인당 대파 소비량은 6.0kg으로 전년대비 7% 감소 ● 소포장 구매 비중이 점차 늘어나고 구입 빈도는 낮음

<본 연구와 국내외 기술수준 비교>

개발기술명	관련기술 최고보유국	관련기술 최고보유기업	과제수행기관 기술수준		비고
			2017년	2019년	
쌀 발효물 제조기술	한국	샘표식품	50%	100%	
저분자 펩타이드 제조기술	일본	아지노모토	40%	80%	효모엑기스
역삼투압 농축 기술	유럽	GEA	40%	100%	와인, 유제품
반응향 제조기술	다국적	Kerry	30%	70%	meat flavor

* 선진국 100% 대비 기술수준 제시

1-3. 연구개발 범위

- **발효미생물을 이용한 식물성 천연 발효 조미소재 제조기술 개발**
 - 식물성 천연발효 조미소재용 단백질 생산을 위한 쌀발효물 개발
 - 식물성 천연발효 조미소재용 단백질 생산 우수 효모 균주 분리
 - 식물성 천연발효 조미소재용 저분자 펩타이드 개발

- **분자감각학(Sensomics) 기법을 이용한 식물성 천연발효 조미소재의 맛 활성 특성 분석 및 성분 규명**
 - 조미소재의 맛 활성 특성에 영향을 미치는 아미노산 및 펩타이드의 분석
 - 분자 감각학(sensomics) 기법을 이용한 발효 조미소재의 맛활성 성분 규명 및 분자구조 확인
 - 천연발효 조미소재의 품질지표 및 규격 표준화 기술

- **대사체학(Metabolomics) 기법을 이용한 식물성 천연발효 조미소재 대사체 분석 및 향미 특성 규명**
 - 최적의 추출법과 기기분석법을 이용하여 천연 발효조미소재의 휘발성 및 비휘발성 발효 대사체 분석
 - 다변량통계기법(multivariate statistical analysis)을 활용한 천연 발효조미소재의 휘발성 및 비휘발성 발효 대사체의 차이 및 변화양상 확인
 - 관능 특성에 영향을 미치는 발효조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 지표 물질 탐색

- **식물성 천연발효 조미소재의 산업화**
 - 고품질의 식물성 천연발효 조미소재 제품개발
 - 국내외 조미소재 관련 제품 시장조사
 - 개발된 식물성 천연발효 조미소재의 완제품 소비자테스트 분석
 - 개발된 식물성 천연발효 조미소재들을 활용하여 산업화를 통한 매출 창출

2 장 연구수행 내용 및 결과

주관기관 (샘표식품) 세부 연구방법 및 결과

제 1 절 발효미생물을 이용한 식물성 천연 발효소재 개발

1. 쌀 발효물 모듈 개발

가. 실험 방법

(1) 쌀국균 제조

미생물 배양용 천연 탄소원 제조를 위해 쌀국균을 제조하였다. 쌀국균 제조를 위해 사용한 균주는 α -amylase를 주로 생성하는 샘표에서 보유 중인 *Aspergillus oryzae* SMF-138 (KCTC 11989BP)와 glucoamylase 효소 역가가 높은 *Rhizopus delemere* SMF-136(KCTC 11990BP) 두 곰팡이를 사용하였다. 각 균주의 종국을 만들기 위해 국내산 현미를 수분 함량 50%로 조정 후 멸균과정을 통해 멸균 하였다. 1×10^8 cfu/g의 곰팡이 포자를 접종하여 30°C에서 5일간 정치 배양하여 종국을 제조하였다. 쌀국균의 제조는 쌀을 5시간 침지, 물빼기, 증자하여 냉각시킨 후 *Aspergillus oryzae*와 *Rhizopus delemere* 종국을 각각 0.1%(w/w)씩 접종하여 26°C~38°C 온도범위에서 3일간 발효하여 제조하였다.

(2) 이화학성분 분석

수분함량은 105°C 상압 가열건조법, 총질소(TN)함량은 단백질 정량에 사용하는 Kjeldahl법을 사용하여 측정하였다. 아미노태질소(AN)함량은 Formal 적정법으로 정량하였다. pH는 시료 10g에 20ml 증류수를 가하고 상온에서 2분간 magnetic stirrer를 이용하여 교반하여 pH meter (Therme scientific orion, USA)를 사용하여 측정하였다. Glucose 함량은 시료를 1 ml 채취하여 14,000 rpm에서 5 min 원심분리 한 후, 상등액을 사용하여 YSI 2950D-1 (YSI Life Sciences) 기기를 사용하여 분석하였다.

(3) 효소역가

α -amylase 효소 역가 측정은 샘플을 2% NaCl 수용액에 30°C에서 1시간 동안 추출, 여과한 조효소액을 100배 희석한 것을 사용하여 수행하였다. 효소 반응액은 조효소액 1ml, 기질로 1% 전분당 2ml, pH 5.2 인산염 buffer 2ml를 가하여 제조하였으며, 이를 40°C에서 30분간 반응시킨 후 0.1N CH₃COOH 10ml를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응이 종료된 효소 반응액 0.005% KI+I₂ 용액 10ml를 넣어 실온에서 발색시켜 UV 분광 광도계(spectrophotometer)를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

protease 효소 역가 측정은 상기 각각 제조된 쌀국균을 증류수에 30°C에서 1시간 동안 추출한 것을 조효소액으로 사용하여 수행하였다. 효소 반응액은 조효소액 0.5ml, 기질로 2% 밀크

카제인(Milk casein) 1.5ml McIlvaine buffer(pH 6.0) 1ml를 첨가하여 38℃에서 1시간 반응시켰다. 이후, 0.4M TCA 용액을 3ml 넣어 여과한 후, 0.4M Na₂CO₃ 5ml와 페놀 시약 1ml를 넣어 충분히 혼합 후 38℃에서 30분간 발색시키고 분광 광도계를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 효소 활성은 1분간 1μg에 해당하는 티로신을 생성하는 효소의 양을 1 Unit으로 정의하였고, 티로신을 표준물질로 이용하여 검량선을 작성하였다.

glucoamylase 효소 역가 측정은 기질(substrate)을 제공하는 분석 키트 (MegazymeR-AMGR3)을 사용하였으며, 200mM sodium acetate buffer (pH 4.5)시약과 Trizma base (pH 8.5) 시약은 각각 실험실에서 sigma 제품을 사용하여 제조하였다. 기질 200 μl에 샘플의 효소 추출액 200μl를 각각 넣고 40℃에서 10분간 반응하였다. 이후 3ml의 Trizma base을 넣어 반응을 정지하고 400nm에서 흡광을 측정하였다.

(4) 유리아미노산 분석

유리아미노산 분석은 HPLC를 이용하였으며 Ninhydrin과 반응시켜 발색(UV spectrum 570nm, 440nm)에서 검출 분석하였다.

(5) GPC(gel permeation chromatography) 분석

분자량 분포는 Agilent HPLC 기기를 이용하였다. Aquagel-OH 20(Agilent technologies, USA) column과 acetonitrile 용매 조건(water : acetonitrile : trifluoroacetic acid)에서 유속 1.0 mL/min, 220 nm로 검출하였다. 분자량 표준품으로는 75Da의 Glycine부터 13,700Da의 Ribonuclease A까지 다양한 분자 크기의 물질(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)을 사용하였다.

(6) Peptide 분석

질량분석기 LC-MS system (Waters, USA)을 사용하여 분석을 수행하였다. 모든 시료의 정성과 정량은 각 지표물질의 mono-isotope값 (1.0 ppm 이하)을 기준으로 XIC 모드에서 농도에 따른 분자량 값으로 추출하여 분석하였다. Correlation efficient 0.99 이상의 신뢰도로 정량 분석하였다.

(7) 무기물 분석

무기물 분석은 식품공전의 식품의 기준 및 규격 7.2.2.1에 기술된 방법으로 분석하였다. 샘플의 전처리는 습식분해법 중 마이크로웨이브법으로 사용하였으며 기기분석 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. 무기물 분석조건

분석기기	ICP-OES (SPECTRO CIROS CCD)
Generator parameter	Plasma Power : 1400W
	Coolent Flow : 12.00 L/min
	Auxiliary Flow : 1.00 L/min
	Nebulizer Flow : 1.00 L/min

나. 실험결과 및 고찰

(1) 쌀국균의 제조법 확립

(가) 국균에 따른 쌀국균의 제조 및 품질분석

쌀의 전분질을 단당류인 glucose로 분해하기 위해 전분분해효소가 필요하다. 전분을 단당류까지 완전분해하기 위해서는 전분의 사슬구조인 α -1,4 결합을 분해하는 액화와 α -1,6 결합을 분해하고 glucose인 단당류로 분해하는 당화과정을 거쳐야 한다. 천연 전분분해효소를 얻기 위해 액화형 α -amylase 효소 역가가 높은 샘플 보유 균주인 *Aspergillus oryzae*인 SMF-138(KCTC 11989BP)와 당화형 glucoamylase 효소 역가가 높은 *Rhizopus delemere*인 SMF-136(KCTC 11990BP) 곰팡이를 사용하여 쌀국균을 제조하여 일반성분과 효소 역가를 비교 분석하였다. 미생물에 따른 효소 역가 분석결과는 Table 3과 같다. *Aspergillus oryzae* 쌀국균은 *Rhizopus delemere* 쌀국균보다 α -amylase 역가가 9배 정도 높게 분석이 되었으면 glucoamylase역가는 *Rhizopus delemere* 쌀국균에서 *Aspergillus oryzae* 쌀국균 보다 약 1.4배 높게 분석되었다. protease역가는 *Aspergillus oryzae* 쌀국균이 *Rhizopus delemere* 쌀국균 보다 4.4배 더 높게 분석되었다.

Table 2. 쌀국균의 수분함량과 pH 분석

구분	입국시		출국시	
	pH	수분함량 (%, w/w)	pH	수분함량 (%, w/w)
<i>Aspergillus oryzae</i> 쌀국균	6.7	35.4	5.3	28.9
<i>Rhizopus delemere</i> 쌀국균			4.9	30.1

Table 3. 쌀국균의 효소 역가 분석 (단위 U/g)

구분	α -amylase	protease	glucoamylase
<i>Aspergillus oryzae</i> 쌀국균	541	62	481
<i>Rhizopus delemere</i> 쌀국균	60	14	803

(2) 쌀발효물 제조법 확립

(가) 쌀발효물 제조를 위한 최적발효시간 확립

쌀발효물 제조를 위한 최적발효시간을 산출하기 위하여 *Aspergillus oryzae* 쌀국균을 Pyrex Glass Reactor에 넣고 1.5배 물을 가수하여 60°C 온도로 발효를 진행하면서 분해되어 나오는 glucose 함량을 분석하였으며 실험은 3반복 진행하여 결과를 분석하였다(Table 4, Fig. 1).

발효 시간별 glucose 함량을 측정하고 최종 반응 완료 후 발효 수율을 측정한 결과 5시간 발효시 glucose로의 전환율이 98.98%이고 15시간 발효시 glucose로의 전환율이 100% 되는 것을 확인 (Fig. 1)하였으며 향후 제조공정 경제성을 위해 향후 실험에서 쌀발효물을 제조하기 위한 조건은 60°C 발효온도에서 5시간으로 설정하고 진행하였다.

Table 4. 쌀발효물의 발효시간별 glucose 농도 및 전환율

구분	발효시간(hr)	발효상등액 Glucose농도(%w/w)	Glucose 전환율(%)
	0	0.8±0.1	2.73
	1	23.6±0.4	80.55
	2	26.2±0.4	89.42
	3	27.4±0.5	93.52
	4	28.7±0.8	97.95
	5	29.0±0.8	98.98
	8	29.1±1.0	99.32
	12	29.2±0.9	99.66
	15	29.3±1.2	100.00
	18	29.3±1.0	100.00

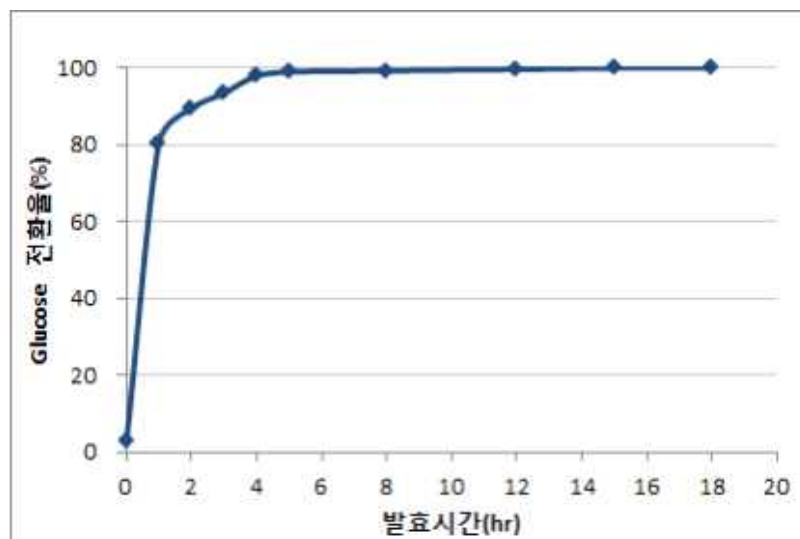


Fig. 1. 쌀발효물 분해시간별 glucose 전환율

(나) 쌀발효물 제조를 위한 가수조건 확립

쌀발효물 제조를 위한 최적 가수량을 설정하기 위하여 *Aspergillus oryzae* 쌀국균을 이용하여 1.5배와 2배의 물을 가수하여 60℃에서 5시간 동안 발효하면서 glucose농도를 측정하였으며 실험은 3반복 진행하여 결과를 분석하였다. glucose 전환율을 분석한 결과 원곡대비 2배 가수 실험구 보다 1.5배 가수한 쌀발효물 제조조건이 glucose농도가 약 6% 높게 분석되어 가수조건은 1.5배로 확립하였다(Table 5).

Table 5. 쌀발효물 제조시 가수조건에 따른 glucose농도

발효시간(hr)	구분	Glucose농도(%, w/v)	
		원곡대비 가수량 1.5배	원곡대비 가수량 2배
0		0.8±0.1	0.7±0.1
1		23.8±0.5	20.5±0.4
2		27.7±0.7	23.10±0.5
3		28.2±0.8	23.50±0.8
4		30.5±1.0	23.46±0.7
5		30.8±1.2	24.50±1.0
고형분농도 (%, w/w)		31.1±1.5	25.80±1.2

(다) *Aspergillus oryzae* 쌀국균과 *Rhizopus delemere* 쌀국균 비율에 따른 쌀발효물 품질비교
Aspergillus oryzae 쌀국균과 *Rhizopus delemere* 쌀국균을 일정비율로 혼합⁴⁾하여 가수량은 원곡대비 1.5배 가수하고 60℃에서 5시간 발효하였다. 실험은 3반복 진행하여 결과를 분석하였다. *Aspergillus oryzae* 쌀국균의 비율이 적어질수록 glucose 전환율의 속도는 느려지는 것으로 나타났다.

이는 쌀전분이 단당류인 glucose로 분해되는 기작은 α-amylase가 작용하여 α-1, 4-glucoside 결합을 가수분해하여 포도당 6개로 된 텍스트린으로 끊은 다음 maltose를 생성시키며 glucoamylase가 α-1, 6-glucoside 결합을 가수분해하고 또한 비환원성 말단부터 glucose로 분해한다. 본 실험 결과 미생물 배양용 천연탄소원을 제조하기 위한 쌀발효물을 발효하기 위해서는 α-amylase 효소역가가 높고 glucoamylase 효소역가도 가지고 있는 *Aspergillus oryzae* 쌀국균만을 사용해도 충분함을 확인 할 수 있었다(Table 6, Fig. 2).

Table 6. 국균을 달리 제조한 쌀국균 혼합비율별 발효시간에 따른 glucose농도 변화

분해시간(hr)	구분	Glucose농도(%, w/v)		
		100% A.oryzae쌀국균	90% A.oryzae쌀국균 10% R.delemere쌀국균	50% A.oryzae쌀국균 50% R.delemere쌀국균
0		0.8±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1
1		23.2±0.4	21.1±0.5	18.1±0.3
2		26.1±0.6	24.0±0.7	20.1±0.5
3		28.2±0.9	26.7±1.0	22.2±1.2
4		28.9±0.8	27.4±0.9	23.1±0.9
5		29.0±1.2	29.0±1.0	25.0±1.1

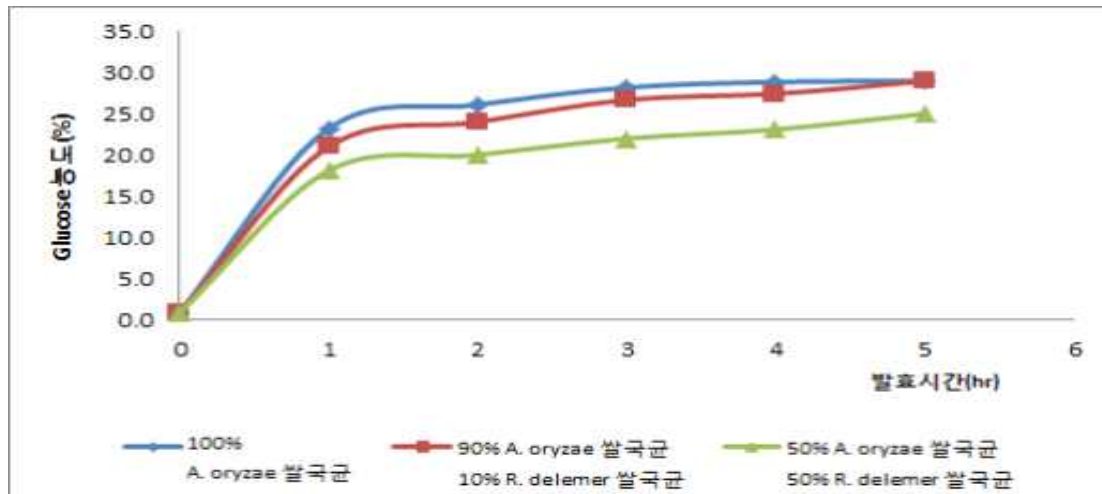


Fig. 2. 국균을 달리 제조한 쌀국균 혼합비율별 발효시간에 따른 glucose농도 변화

(3) 쌀발효물 제조공정의 Scale-up(1ton)

Aspergillus oryzae 쌀국균은 원형제국기를 이용하여 26°C~38°C 온도범위에서 3일간 발효하여 대량 제조하였으며 1톤 scale의 reactor를 사용하여 쌀발효물 scale-up 시제품을 제작하였다. 쌀국균의 수분과 pH의 결과는 Table 7과 같으며 효소역가 측정시 사전 실험결과와 같이 전분질 분해 효소인 α -amylase, glucoamylase와 단백질 분해 효소인 protease역가를 모두 가지고 있음을 확인하였다(Table 8).

Table 7. 쌀국균의 수분함량과 pH

	입국시		출국시	
	pH	수분함량(%)	pH	수분함량(%)
<i>Aspergillus oryzae</i> 쌀국균	6.7	34	5.2	26

Table 8. 쌀국균의 효소역가

(단위 U/g)

	α -amylase	protease	glucoamylase
<i>Aspergillus oryzae</i> 쌀국균	591	69	502

쌀발효물 제조는 사전실험에서 확립된 조건인 100% *Aspergillus oryzae* 쌀국균에 가수량은 1.5배 가수하고 발효조건은 60°C에서 5시간 발효하였다. 발효가 끝난 후 4000rpm조건에서 20분간 원심분리기를 이용하여 여과 하였으며 85°C, 30분간 살균하여 쌀발효물을 제작하였다. 쌀발효물의 발효시간별 glucose농도는 Table 9와 같다. 분해 5시간 후 glucose함량은 30.5%(w/v)이었으며 살균후 제품은 살균시 수분 증발에 의해 함량이 0.3% 증가하여 최종 glucose함량은 30.8%(w/v)이었다.

Table 9. 쌀발효물의 발효시간별 Glucose 농도 분석

발효시간(hr)	쌀발효물 Glucose농도(% w/v)
0	0.8
1	27.5
2	28.6
3	30.0
4	30.2
5	30.5
살균 후	30.8

Aspergillus oryzae 쌀국균을 발효, 여과, 살균 후에 쌀발효물의 당류 정량분석과 프로파일링을 확인하기 위해 총당과 유리당 함량을 분석 하였다. glucose 이외의 당류는 검출되지 않음을 확인 할 수 있었다. 총당 대비 유리당 함량은 약 96%수준으로 분석되었으며 나머지 4%정도는 쌀이 가지고 있는 섬유소 성분과 곰팡이가 자라면서 내는 균사체 유래의 다당류로 판단된다(Table. 10).

Table 10. 쌀발효물의 총당과 유리당 함량

총당 (%, w/w)	유리당(% w/w)				
	fructose	glucose	sucrose	lactose	maltose
31.01	-	29.8	-	-	-

쌀의 단백질 함량이 약 6~7%정도로 알려져 있으며 쌀발효물 내의 단백질 함량은 2.83%로 분석되었다(Table 11). 이는 쌀국균으로 제조되면서 *Aspergillus oryzae*가 생육시 필요한 질소 원으로 사용한 것으로 추정된다.

Table 12에서 보듯이 *Aspergillus oryzae*가 생육시 질소 영양소로 사용한 양을 제외하고 나머지 단백질은 유리아미노산으로 분해되었음을 확인 할 수 있다. 이는 *Aspergillus oryzae*를 이용한 쌀국균 제조시 생성된 protease에 의해 생성된 산물임을 알 수 있다. 쌀발효물의 총 유리아미노산 함량은 0.61%(w/w) 이다. 이러한 결과 더욱 명확히 검증하는 실험을 진행해 보았다. Fig. 3에서 나타낸바와 같이 국내산 쌀을 수세, 침지, 증자하여 가수량을 1.5배 하고 온도를 60℃로 가온하여 상업용 전분분해효소(novozyme社 α-amylas와 glucoamylase를 각각 0.2%(w/w)으로 첨가하였다. 총 5시간을 교반하면서 분해한 쌀분해물의 품질 분석결과인 Table 13에서 보듯이 AN과 이 검출되지 않았다. 이는 쌀국균을 이용해 발효한 쌀분해물과 다르게 단백질분해효소 없이 전분질분해효소만 첨가해서 분해해서 나타난 결과로 해석된다.

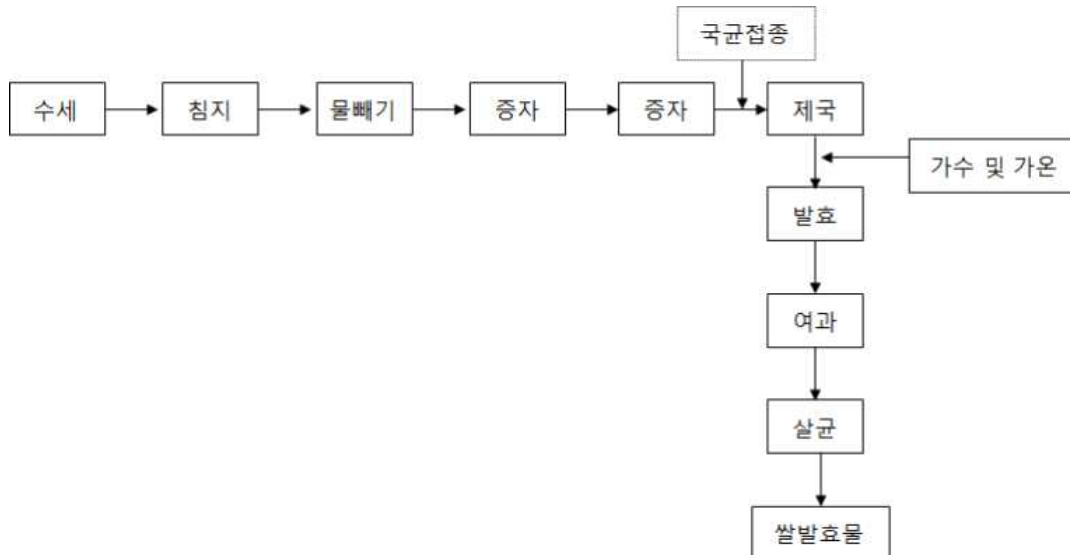


Fig. 3 쌀발효물의 제조공정도

Table 11. 쌀발효물의 총질소함량(TN), 아미노태질소함량(AN), pH분석

	총질소함량 (%, w/w)	단백질함량 (%)	아미노태질소함량 (%, w/w)	pH
쌀발효물	0.452	2.83	0.08	6.20

Table 12. 쌀발효물의 유리아미노산 함량

유리아미노산 종류	유리아미노산 함량 (%, w/w)
ASP	0.04
THR	0.05
SER	0.04
GLU	0.05
PRO	0.02
GLY	0.02
ALA	0.04
CYS	0.00
VAL	0.09
MET	0.02
ILE	0.03
LEU	0.05
TYR	0.03
PHE	0.02
HIS	0.07
LYS	0.04
ARG	0.00
유리아미노산 합계	0.61

Table 13. 쌀분해물의 성분함량

	총당 함량 (%, w/w)	glucose 함량 (%, w/w)	TN (%, w/w)	AN (%, w/w)
쌀분해물	29.59	28.10	0.48	ND

쌀발효물에서의 질소원의 분해산물로 유리아미노산 이외의 영양성분 및 고꾸미 맛성분으로 알려진 peptide를 정성, 정량 분석하였다. Peptide를 정성 분석은 4종의 표준 펩타이드를 10ppm으로 제조하여 분석 했을 때, 1-2min 내에 검출되는 것으로 확인되었다. 각 펩타이드의 정성은 특정 RT (Retention Time)에 해당하는 mass chromatogram 중 mono-isotope 값을 elemental composition하여 조사하였다(Fig. 4 ~ Fig. 6). 따라서, 90% 순도로 합성된 표준 지표물질 펩타이드가 현재 보유한 기기로 분석이 가능함을 확인하였고 이후에 시행될 샘플의 분석 조건이 확립하였다.

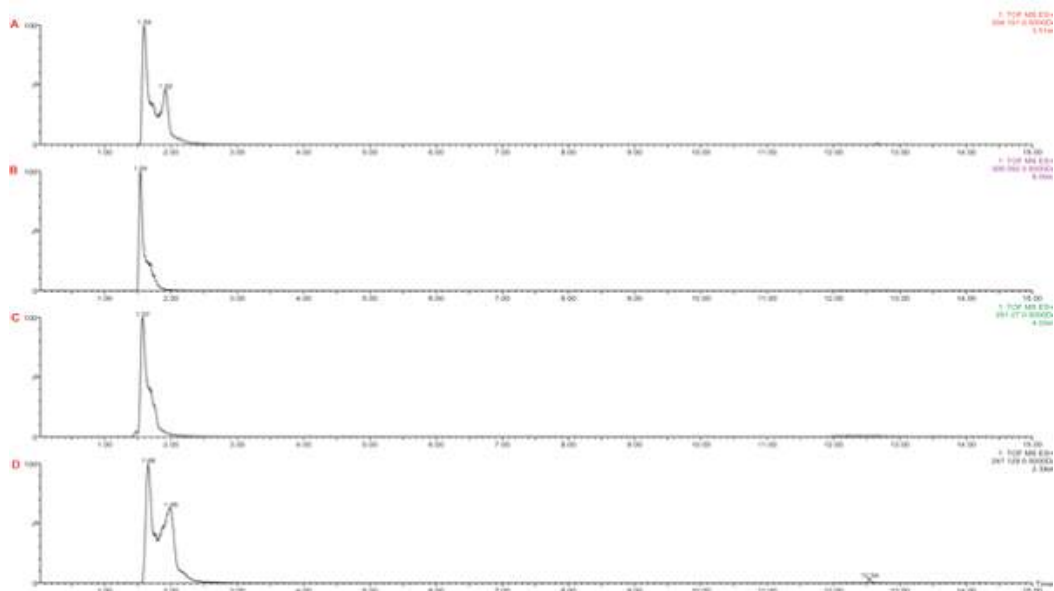


Fig. 4. Peptide 지표물질의 XIC 크로마토그램

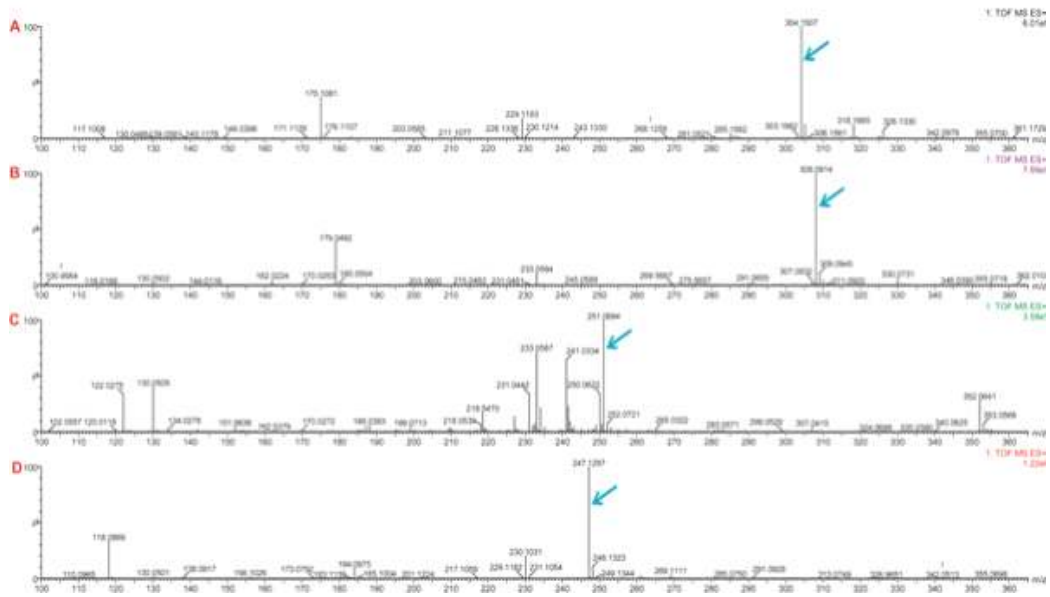


Fig. 5. Peptide 지표물질의 MS 크로마토그램

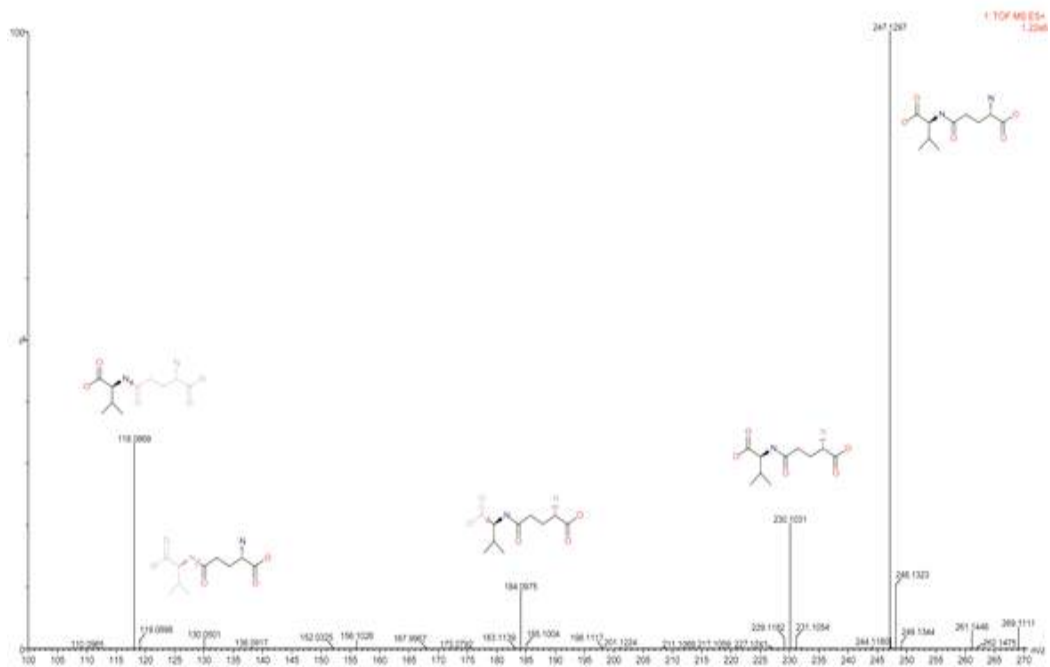


Fig. 6. Peptide 지표물질의 Glu-Val의 MS/MS 크로마토그램 및 예상되는 화학적 구조

Peptide의 정성 및 정량 분석결과 16종의 peptide가 검출이 되었으며 이중 GLU-His, GLU-Lys, GLU-Orn 등의 dipeptide가 많이 존재함을 확인 할 수 있었다(Table 14).

Table 14. 쌀발효물의 peptide 분포 및 정량

단위(ug/ml)

No.	Name.	Formula.	쌀발효물
1	GLU-ALA	C8H14N2O5	9.4
2	GLU-MET(O)	C10H18N2O6S	1.0
3	GLU-VAL-ARG	C16H30N6O6	4.9
4	GLU-THR-GLY	C11H19N3O7	3.1
5	GLU-LEU	C11H20N2O5	13.3
6	GLU-tLEU	C11H20N2O5	5.1
7	GLU-VAL-HIS	C16H25N5O6	13.2
8	GLU-VAL-SER	C13H23N3O7	5.9
9	GLU-VAL-ASN	C14H24N4O7	8.4
10	GLU-SER-GLY	C10H17N3O7	12.9
11	GLU-VAL-GLN	C15H26N4O7	1.8
12	GLU-VAL-GLY	C12H21N3O6	11.9
13	GLU-THR	C9H16N2O6	81
14	GLU-GLU	C10H16N2O7	0.7
15	GLU-ASP	C9H14N2O7	6.8
16	GLU-TYR	C14H18N2O6	8.9

쌀발효물의 평균분자량 측정결과 (Table 15, Fig. 7)는 774 Dalton임을 확인할 수 있었으며 glucose의 분자량이 180 Dalton임을 감안하면 그 이하의 분자량에는 Na, Mg, Ca, Zn, P 등 다양한 무기물이 존재하며(Table 16) 300 Dalton 이상의 분자량을 가지는 다양한 물질이 존재함을 알 수 있다. 이는 향후 미생물 배양시 천연 탄소원으로서 뿐만 아니라 생육에 도움을 주는 영양소 공급원으로 작용할 것으로 보인다.

Table 15. 쌀발효물의 분자량 분포도(GPC)

Molecular Weight(Dalton)	M.W. Distribution (%)
	쌀발효물
More than 10,000	0.40
550 ~ 10,000	21.62
300 ~ 550	7.15
75 ~ 300	24.45
Less than 75	46.38
Total	100
Average molecular weight	774

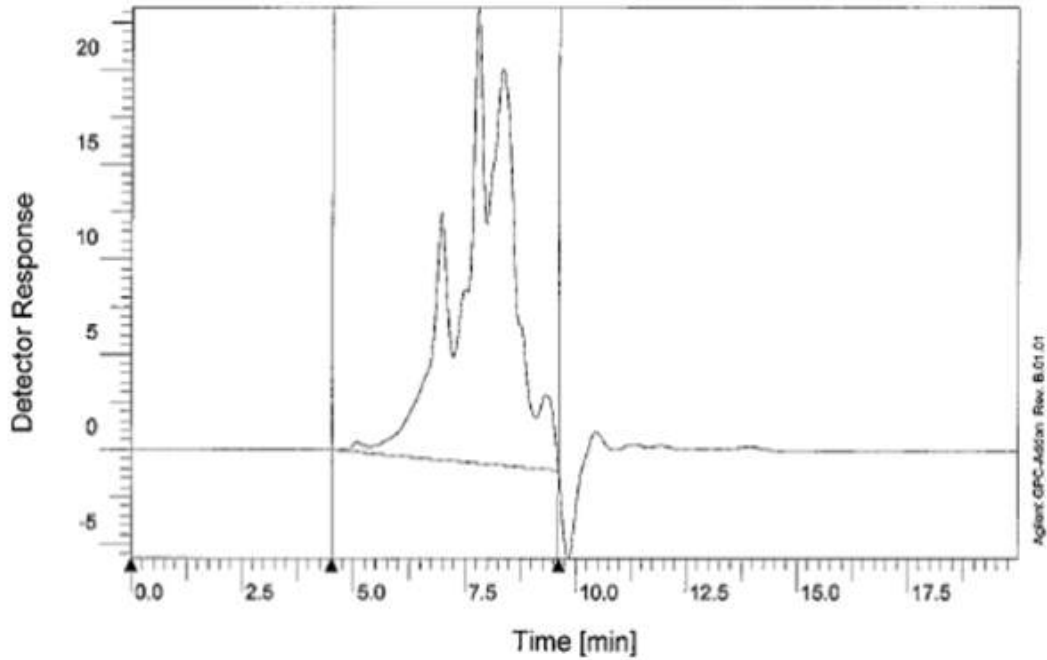


Fig. 7. 쌀발효물의 분자량 분포도 크로마토그램

Table 16. 쌀발효물의 무기물 함량 분석

무기물 함량 (단위:mg/kg)								
Na	Mg	Al	Si	K	Ca	Fe	Zn	P
9.52	66.75	ND	ND	95.54	29.28	ND	2.23	226.87

쌀발효물 시제품 분석결과로 천연 탄소원으로서의 쌀발효물 품질규격을 Table. 17과 같이 설정하여 규격화 하고 품질관리를 하고자 한다.

Table 17. 쌀발효물 모듈의 규격설정

항목	규격
brix(%)	30.0±2.0
glucose함량(% , w/w)	30.0±2.0
pH	6.2±0.3
단백질 함량(% , w/w)	2.5±0.5

(4) 요약

*Aspergillus oryzae*와 *Rhizopus delemere*를 이용한 쌀국균을 제조하여 효소 역가분석, 수분 함량, pH를 분석하였으며 쌀발효물 제조를 위한 발효시간, 가수량조건설정, *Aspergillus oryzae*와 *Rhizopus delemere*의 쌀국균 비율별 쌀발효물 제조 결과를 바탕으로 한 쌀발효물 제조조건 최적화 하였다.

*Aspergillus oryzae*쌀국균을 이용한 쌀발효물 시제품 제작 및 제조공정 확립 쌀발효물 품질 규격설정을 진행하여 효모 배양용 천연 탄소원으로 사용할 쌀발효물 모듈 개발을 완성하였다.

2. 우수효모 균주 분리 및 효모 발효기술 개발

가. 실험 방법

(1) 효모균주 분리

효모를 분리하기 위하여 전통시장에서 전통누룩 및 막걸리를 구입하였으며 각 시료를 25g 채취하여 멸균수에 10배 희석법으로 희석한 후 stomacher(Interscience, France)로 2분간 균질화 하고 10진법에 따라 멸균 생리식염수로 희석평판배양법을 이용하여 0.01% chloramphenicol 을 첨가한 YM(1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract) agar medium 에 도말한 후, 30℃에서 48시간 배양, 단일 콜로니를 획득하였다. 획득된 단일 콜로니 들을 하나씩 선택하여 YM agar medium에 각각 접종하여 30℃에서 24시간 배양하여 순수분리 하였다.

(2) 효모 균체량 측정

배양액을 10ml 취해 원심분리(4000rpm, 15분)를 진행하여 상등액에서 배지성분을 제거하고 증류수로 현탁시켜 원심분리 하여 2회 세척한 후 증류수를 다시 첨가해 칭량접시를 활용하여 105℃ 상압 가열건조법으로 건조균체량을 분석하였다.

(3) glutamine 함량 분석

균체내 glutamine 함량을 측정하기 위하여 원심분리(4000rpm, 15분)한 후 배양된 효모균체를 얻고, 이를 증류수로 2번 세척하였다. 세척한 효모균체에 증류수를 가하고 water bath를 이용하여 85℃에서 15분간 열처리한 후 원심분리하여 상등액을 취하여 YSI 2950D-1 기기를 이용하여 분석하였다.

(4) 분자적 동정

미생물 동정은 마크로젠(주)에 의뢰하여 Nuclear rDNA상에 존재하는 ITS rDNA의 염기 서열에 의한 계통 분리학적 분석을 의뢰하여 동정 결과를 확보하였다.

(5) 배지 최적화를 위한 배양 방법

균주는 *Saccharomyces cerevisiae*로 동정된 SP-006균주를 이용하였으며 seed배양은 20ml의 YM(1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, Difco社) medium에 순수분리 된 SP-006균주의 한 개의 콜로니를 취해 접종하고 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 30℃온도에서 24시간 진탕 배양하였다. seed 배양액은 증류수를 이용하여 2번 세척하여 YM 배지성분을 모두 제거한 후 배양액과 동량의 증류수로 균체를 다시 희석하여 본 배양배지에 접종하였다. 본배양 조건은 본배양 배지 100ml에 seed 10% (v/v) 접종하여 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 30℃온도에서 24시간 진탕 배양하였다.

(6) 균체량 측정

배양액을 10ml 취해 원심분리(4,000rpm, 15min)를 진행하여 상등액에서 배지성분을 제거하고 증류수로 현탁시켜 원심분리를 2회 진행하여 cell을 세척하였다. 증류수를 다시 첨가하고 칭량접시를 활용하여 105℃ 상압 가열건조법으로 건조균체량(dry cell weight)을 분석하였다.

(7) 이화학성분 분석

총질소(TN)함량은 단백질 정량에 사용하는 Kjeldahl법을 사용하여 측정하였다. 아미노태질소(AN)함량은 Formal 적정법으로 정량하였다. pH는 시료 10g을 상온에서 2분간 magnetic stirrer를 이용하여 교반하여 pH meter (Therme scientific orion, USA)를 사용하여 측정하였다.

(8) Glutamine

균체내 glutamine 함량을 측정하기 위하여 원심분리(4000rpm, 15분)한 후 배양된 효모균체를 얻고, 이를 증류수로 2번 세척하였다. 세척한 효모균체에 증류수를 가하고 water bath를 이용하여 85℃에서 15분간 열처리한 후 원심분리하여 상등액을 취하여 YSI 2950D-1 기기를 이용하여 분석하였다.

(9) 잔당 분석

쌀발효 효모 배양액의 잔당(glucose)을 측정하기 위하여 배양액 2ml을 원심분리(4000rpm, 15분)한 후 상등액 1ml을 취하여 YSI 2950D-1 기기를 이용하여 분석하였다.

(10) 쌀발효 효모 발효공정 scale up 최적화를 위한 배지 및 배양조건

Seed배양은 YM(1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, Difco社) medium에서 30℃, 180rpm, 24시간 동안 배양 후에 5리터 jar fermenter(CNS, Korea)를 이용하여 발효공정 최적화 실험을 진행하였다. 배지 살균시 탄소원과 질소원을 분리하여 멸균(121℃, 15min)을 진행하였다. 발효조건은 발효온도 30℃, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM, pH 5.5±0.2로 유지하면서 배양하였다.

(11) 쌀발효 효모 발효공정 scale up 배지 및 배양조건

Scale-up 실험은 5리터, 50리터, 500리터, 5,000리터 발효기 (Kobiotec, Korea)를 이용하여 단계적으로 진행하였다. 50리터 발효기를 이용한 배양 실험에 사용된 seed배양은 2단계를 거쳐 진행하였으며, 1단계로는 YM(1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, Difco社) medium에서 30℃, 180rpm, 24시간 동안 배양하였다. 2단계는 1단계에서 배양한 seed를 5L jar fermenter(CNS, Korea)를 이용하여 working volume 3L로 준비한 배지에 접종하였다. 배양조건은 배양온도 30℃, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM으로 24시간 배양하여 seed를 준비하였다. 500리터 발효기를 이용한 배양 실험에 사용된 seed는 50리터 발효기에서 배양된 균체를 이용하였으며, 5,000리터 배양 실험에서는 500리터의 배양 실험의 균체를 seed로 이용하였다. 배지 살균시 탄소원과 질소원을 분리하여 멸균(121℃, 15min)을 진행하였다. 발효조건은 발효온도 30℃, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM, pH 5.5±0.2로 유지하면서 배양하였다.

(12) 발효 수율 계산식

비성장속도(μ)의 정의에 의하여 단위시간(dt)에 일어나는 균체농도의 변화(dx)는 다음과 같은 식으로 계산하여 구하였다.

$$\mu(h^{-1})=1/X[(X_2-X_1)/(t_2-t_1)]$$

- X_1 : X_1 시간에서의 균체농도(%)
- X_2 : X_2 시간에서의 균체농도(%)
- X : $(t_2-t_1)/2$ 시간에서의 균체농도(%)
- t_1 : t_1 배양시간
- t_2 : t_2 배양시간

균체수율(biomass yield, $Y_{x/s}$)은 기질 소모량에 대한 생성된 균체량의 비(ratio)를 나타내며 다음과 같은 식으로 계산하여 구하였다.

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{(S_0 - S)}$$

- X_0 : 최초의 균체량
- S_0 : 성장 제한기질(growth limiting substrate)의 초기량
- x : 증식한 균체량
- s : 사용된 기질량

나. 실험결과 및 고찰

(1) 우수효모 균주 분리

전통누룩 및 막걸리로부터 일반세균이 증식하지 못하도록 0.01% chloramphenicol을 첨가한 YM(1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract) agar medium에 도말한 후, 30℃에서 48시간 배양하여 효모 단일 콜로니를 획득하여 56개의 효모 균주를 획득하였다(Table 18). 순수 분리된 56종의 효모 균주들을 대상으로 50ml의 YM(Difco社) medium배지에 순수 분리된 각 균주의 콜로니를 한 백금이 취해 접종하고 30℃ 온도에서 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 24시간 배양하였다. 24시간 배양된 seed 배양액은 증류수를 이용하여 2번 세척한 후 YM 배지성분을 모두 제거한 후 배양액과 동량을 증류수로 균체를 다시 희석하여 균체량 생성량이 우수한 균주를 1차 선별하였다. 건조 균체량 함량을 효율적을 분석하기 위하여 건조 균체량과 분광광도계를 이용하여 흡광도(660nm)를 측정하여 상관관계 표준 그래프를 작성하였다(Fig. 8). 건조균체량과 흡광도의 상관관계 표준 그래프 분석에 사용된 균주는 시판용 빵효모(J사, Korea)인 *Saccharomyces cerevisiae* 균주를 사용하였다(Table 19, Fig. 8).

Table 18. 효모균주 분리

분리원	효모균주분리 (YM 배지)
전통 누룩 : 7 제품	31 균주
전통 막걸리 : 5제품	25 균주

Table 19. 효모균주의 건조균체량 함량과 흡광도와의 상관관계 분석

Dry cell lweight (%w/w)	흡광도 값 (OD 660nm)
0.000	0.000
0.105	3.220
0.201	6.337
0.412	12.430
0.616	18.981
0.841	25.318
1.032	31.000
1.723	48.200

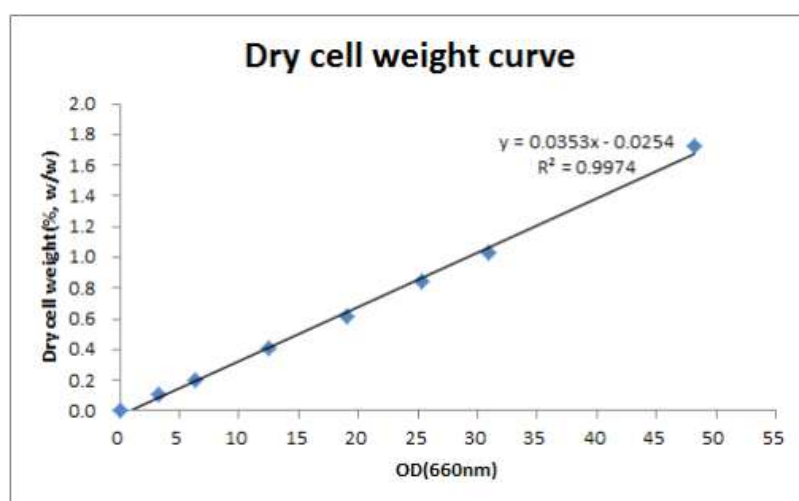


Fig. 8. 효모균주의 건조균체량 함량과 흡광도와의 상관관계 그래프

건조균체량 함량과 흡광도의 상관관계식 $y=0.0353x-0.0254$ 이 도출이 되어 총 56종을 YM 배지에 진탕배양한 후 흡광도를 측정하고 결과 값을 방정식에 대입하여 균체량이 1% 이상인 균주 13종을 1차 선별하였다(Table 20).

1차 선별된 13종 효모 균주를 배양 하여 2차 선별 하였다. seed배양은 20ml의 YM(Difco社) medium배지에 13종 효모 균주의 콜로니를 한 백금이 취해 접종하고 30℃온도에서 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 24시간 진탕 배양하였다. 24시간 배양된 seed 배양액은 증류수를 이용하여 2번 세척한 후 YM 배지성분을 모두 제거한 후 배양액과 동량을 증류수로 균체를 다시 희석하여 우수균주 선별용 배지(Table 21) 100ml에 5% 접종하여 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 30℃온도에서 24시간 진탕 배양한 후 분석하였다. 효모 균체를 천연 맛소재 소재로 활용하기 위하여 건조균체량 함량과 효모 균체 내 정미 성분인 glutamine 함량(w/w) 분석 하였다(Table 23). 우수균주 선별용 배지에 활용한 콩발효물은 샘플에서 기 개발된 아미노산 펩타이드 소재 이며 콩발효물의 제품규격은 Table 22과 같다.

Table 20. 효모 균체량 우수 효모 균주 1차 선별

No.	OD 값	효산 균체량(%)	No.	OD 값	효산 균체량(%)	No.	OD 값	효산 균체량(%)	No.	OD 값	효산 균체량(%)
1	28.4092	0.98	21	26.8328	0.87	81	80.9380	1.07	61	24.0281	0.82
2	26.6779	0.92	22	28.6662	0.81	82	22.2088	0.76	62	26.4248	0.87
3	81.5560	1.09	23	22.8918	0.78	83	17.2726	0.68	63	28.8484	0.80
4	27.0789	0.98	24	88.4820	1.16	84	86.0020	1.26	64	28.1882	0.97
5	26.4298	0.91	25	86.8370	1.24	85	16.6361	0.68	65	88.9640	1.17
6	26.2624	0.87	26	29.1876	1.00	86	17.0288	0.68	66	27.6980	0.96
7	26.4114	0.87	27	22.6684	0.77	87	26.0261	0.86			
8	24.2480	0.88	28	20.8910	0.71	88	84.7980	1.20			
9	80.2860	1.04	29	26.1261	0.86	89	26.7692	0.88			
10	24.2816	0.88	30	26.0696	0.89	40	27.4477	0.94			
11	28.9682	0.82	31	82.0080	1.10	41	26.2164	0.86			
12	28.6186	0.90	32	26.8022	0.90	42	26.9464	0.89			
13	28.7779	0.81	33	21.6771	0.74	43	26.4249	0.87			
14	26.0016	0.86	34	22.9484	0.78	44	80.7640	1.06			
15	24.7287	0.86	35	26.8266	0.87	45	28.2966	0.97			
16	28.1842	0.79	36	21.6404	0.78	46	26.7962	0.92			
17	28.6628	0.81	37	86.8320	1.26	47	27.6714	0.96			
18	22.4467	0.77	38	26.7824	0.88	48	16.6282	0.62			
19	26.2807	0.90	39	20.0061	0.68	49	81.6660	1.09			
20	21.4481	0.78	40	24.7069	0.86	60	17.0276	0.68			

Table 21. 우수균주 선별용 배지조성

구분	배합비 (% , w/v)
쌀발효물	18.00
콩발효물	1.00
75% 인산	0.14
증류수	80.86
합계	100.00

Table 22. 콩발효물 제품규격

항 목	기 준
성 상	밝은 갈색 분말
수분 (% , w/w)	8.0 이하
NaCl (% , w/w)	3.0 이하
TN (% , w/w)	10.0 이상
AN (% , w/w)	2.0 이상
pH (2% Sol)	7.0 ± 0.5

Table 23. 1차 선별 효모 균주별 균체량 및 Gln 함량 분석

NO.	균주명	건조균체함량 (%, w/w)	Gln (%, w/w)	Total Gln양(g)
1	SP-001	0.96	4.4	4.24
2	SP-002	0.86	5.3	4.58
3	SP-003	0.86	7.9	6.79
4	SP-004	0.93	7.6	6.99
5	SP-005	0.86	5.1	4.40
6	SP-006	0.95	8.7	8.28
7	SP-007	1.00	3.2	3.23
8	SP-008	1.04	5.0	5.14
9	SP-009	1.01	3.7	3.70
10	SP-010	0.86	6.9	5.94
11	SP-011	0.88	4.1	3.61
12	SP-012	0.85	6.5	5.50
13	SP-013	0.80	6.4	5.12

1차 선별된 13종 균주 중 균체 생성량이 우수(건조균체량 0.85% 이상)하고 glutamine 생성량(Total Gln 양: 5.5g) 이 높은 5종을 2차 선별하였다(Table 24).

Table 24. 2차 선별 효모 균주별 균체량 및 Gln 함량

균주명	건조균체함량 (%, w/w)	TN (%, w/w)	Gln (%, w/w)	Total Gln 양(g)
SP-003	0.97	8.1	6.40	6.21
SP-004	1.01	8.3	7.83	7.91
SP-006	1.02	8.4	7.83	7.96
SP-010	1.01	8.3	6.37	6.44
SP-012	0.97	8.0	6.13	5.95

2차 선별된 5종의 효모 배양액의 건조 균체량과 TN 함량, 정미성분인 Total Gln 양 모두 종합하여 판단하였을 때 균체 성장이 우수하고 균체내 TN 함량(단백질함량=TN × 질소계수 6.25) 높고 정미성분 함량이 가장 높은 SP-006균주를 최종 균주로 선발 하였다.

최종 선발된 SP-006 균주의 동정을 위해 (주)마크로젠 분석의뢰하여 동정을 진행하였다. ITS의 universal primer인 ITS1 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' 와 ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' primer를 사용하여 증폭시켰으며 분석된 유전정보를 이용하여 phylogenetic tree 결과 확인 빵효모로 잘 알려진 *Sacchromyces cerevisiae*로 최종 동정되었다(Fig. 9).

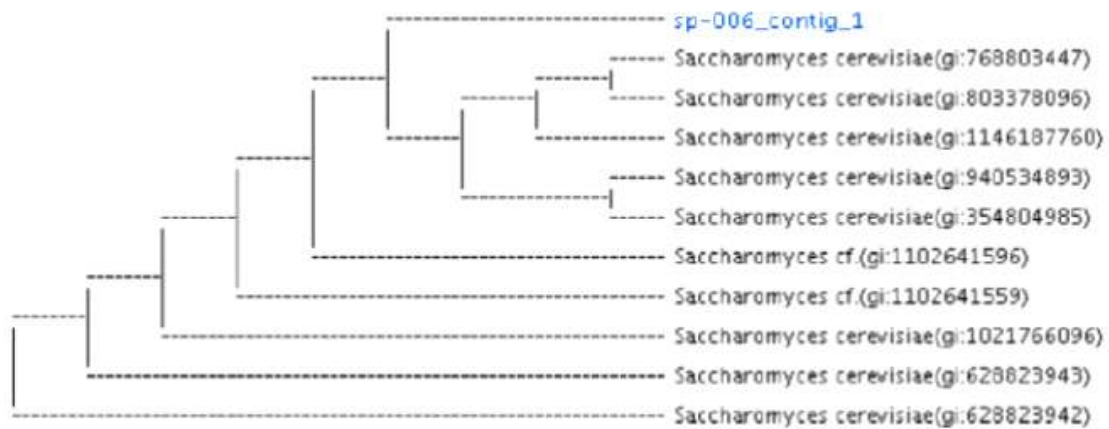


Fig. 9. SP-006균주의 phylogenetic tree

최종 선발된 SP-006균주를 상업용 효모 균주 [J사, 빵효모(*Saccharomyces cerevisiae*)]와 비교 배양테스트를 진행하였다. 배양 시 탄소원을 달리하여 배양하였으며 배지조성은 Table 24와 같다. 탄소원의 함량은 시제품으로 제작된 쌀발효물을 사용하였으며 glucose 함량은 30.8%로 시약용 포도당 함량을 5.54% 맞추었다. seed배양은 20ml의 YM(Difco社) medium배지에서 시판 빵효모와 SP-006균주를 순수분리 배양된 평판배지에서 각각 한 백금이씩 취해 접종하고 30℃온도에서 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 24시간 진탕 배양하였다. 24시간 배양된 seed 배양액은 증류수를 이용하여 2번 세척한 후 YM 배지성분을 모두 제거한 후 배양액과 동량을 증류수로 균체를 다시 희석하여 탄소원별 배지조성(Table 25) 100ml에 5% 접종하여 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 30℃온도에서 24시간 진탕 배양한 후 분석하였다.

Table 25. 탄소원을 달리한 배지조성

성분	천연배지_배합비 (%)	포도당배지_배합비(%)
물	80.86	93.32
쌀발효물 (glucose농도:30.8%)	18.00	0.00
시약용 포도당	0.00	5.54
콩발효물	1.00	1.00
75% 인산	0.14	0.14
합계	100.00	100.00

포도당을 탄소원으로 한 배지에서 배양결과 상업용 효모균주 보다 최종 분리된 SP-006균주가 건조균체량 분석결과 약 13% 이상 건조균체량 함량이 높은 것으로 나타났다. SP-006균주는 탄소원을 포도당으로 사용한 것보다 쌀발효물을 사용한 배지에서 균체량 형성이 약 22% 높은 결과를 보였다. Glu+Gln 함량 (% , w/w)도 균체량이 많아지면 증가하는 것으로 나타났다. SP-006균주를 이용하여 쌀발효물과 콩발효물을 활용한 천연 배지조성 최적화 및 고농도 배양

을 통한 균체생성 수율 향상 및 정미성분인 Glu+Gln와 RNA 함량을 높이는 발효최적화 연구는 2년차에 진행할 예정이다.

<요약>

56종 효모균주 분리후 선별과정을 거쳐 균체량과 정미성분인 Gln 함량분석을 통해 2차 선별을 통해 5종 효모선발 하였으며 5종 효모 중 배양액 내 건조균체량, 균체내 TN 함량분석, 정미성분인 Gln의 함량분석을 통해 최종 균주 1종 선발을 하였고 균주동정 결과 *Sacchromyces cerevisiae* 로 확인되었다.

(2) 우수 효모 발효기술 개발

(가) 쌀발효물, 콩발효물의 효모용 천연배지최적화

① 쌀발효물 농도 최적화

탄소원인 쌀발효물 농도를 결정하기 위한 배지의 조성은 질소원으로서 콩발효물 1%로 고정하고 시제품으로 제작된 쌀발효물을 사용하였다. 쌀발효물의 glucose 함량은 30.8%로 glucose 함량이 1%~7% 농도가 되도록 배지를 제조하였다(Table 26). Glucose 농도별로 제조된 배지 100ml에 seed를 10% (v/v) 접종하여 shaking incubator(교반속도: 180rpm)를 이용하여 30℃ 온도에서 24시간 진탕 배양한 후 균체량과 배양액의 pH를 분석하였다.

Table 26. 쌀발효물 첨가량별 배지조성

실험구	쌀발효물 첨가량 (%, w/w)	배지내 Glucose 함량 (%, w/w)	콩발효물 첨가량 (%, w/w)
대조구 -YM 배지	0.00	1	0
실험구1	3.25	1	1
실험구2	6.49	2	
실험구3	9.74	3	
실험구4	12.99	4	
실험구5	16.23	5	
실험구6	19.48	6	
실험구7	22.73	7	

Table 27. 쌀발효물 첨가량 및 배양 시간에 의한 건조균체량의 변화

실험구	배지내 Glucose 농도 (%)	건조 균체량 (% , w/w)		배양 중 pH	
		배양시간 16h	배양시간 24h	배양시간 16h	배양시간 24h
대조구	1	0.39	0.47	4.50	4.40
실험구1	1	0.41	0.46	5.91	6.75
실험구2	2	0.52	0.68	5.49	5.16
실험구3	3	0.62	0.76	5.17	4.99
실험구4	4	0.64	0.85	4.93	4.77
실험구5	5	0.76	0.84	4.75	4.63
실험구6	6	0.72	0.83	4.61	4.52
실험구7	7	0.70	0.82	4.45	4.48

쌀발효물을 이용하여 glucose 농도별로 배양한 결과 SP-006균주는 glucose 농도 5%까지는 균체량 16시간째와 24시간 까지 증가하나 glucose 함량이 6% 이상의 농도에서는 배양 16시간 째는 균체량 증식이 오히려 5%일 때 보다 감소하는 것으로 나타났다. 배양 중 pH 값을 분석한 결과 쌀발효물을 이용한 배양액은 효모균주가 증식하여 균체량이 많아질수록 pH 감소폭 (초기 pH 7.02)이 큰 것으로 분석되었다. 또한 당 농도가 낮은 상태에서 장시간 배양할 때는 당이 다 소진 후에 2차 대사물질 등으로 pH가 급격히 증가하는 것으로 나타났다. 회분배양 (batch culture) 조건으로 실험한 결과 천연 탄소원으로서 쌀발효물 첨가 농도는 16.23% 일 때가 균체량이 가장 많이 증가한 결과로 나타났다(Table 27, Fig. 10).

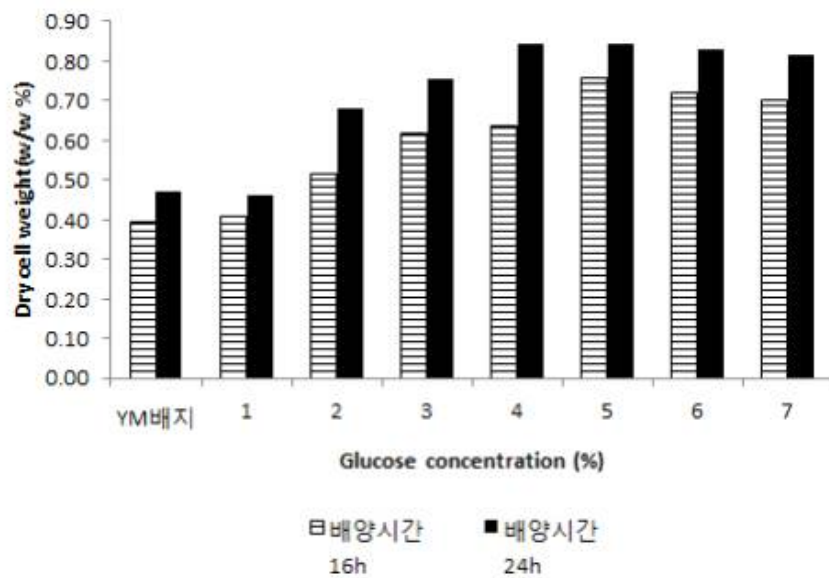


Fig. 10. 쌀발효물 유래 glucose 농도별 건조균체량

② 콩발효물 농도 최적화

천연질소원 농도 최적화를 하기 위해 쌀발효물 함량은 16.23%(w/w)로 고정하고 콩발효물의 농도를 0.5%, 1.0%, 1.5% 첨가하여 배지를 제조하여 24시간 배양 후 균체량을 분석하였다. 콩발효물 농도가 0.5%일때는 최종 균체량이 0.68%이었고 1.0% 첨가되었을 때는 0.94%로 약 38% 증가하는 것을 확인 할 수가 있었다. 또한 콩발효물 농도를 1.5% 첨가하였을 겨우는 1.0% 첨가하였을 때보다 건조균체량이 0.78%로 오히려 감소하는 결과를 확인 할 수 있었다 (Table 28). SP-006 균주 배양시 콩발효물 첨가농도는 1%(w/w)가 최적 함량인 것을 확인 하였다.

Table 28. 콩발효물 농도가 건조균체량에 미치는 영향

실험구	쌀발효물농도 (%, w/w)	콩효물농도 (%, w/w)	건조균체량 (%, w/w)
실험구1	16.23	0.5	0.68
실험구2		1.0	0.94
실험구3		1.5	0.78

③비타민 첨가 유무의 영향

SP-006 균주 배양시 비타민 첨가가 건조균체량 함량과 효모 균체 내 정미성 유리아미노산인 glutamic acid 함량에 어떠한 영향을 주는지 비타민액 첨가 유무에 따른 배양실험을 진행하고 분석하였다(Table 29).

Table 29. 비타민액 조성

성분	배합비(%)
thiamine.HCl	0.106
pyridixine	0.053
Ca-pantothenate	0.053

Table 30. 비타민 첨가유무에 따른 건조 균체량과 glutamic acid 농도 변화

	쌀발효물농도 (%, w/w)	콩발효물농도 (%, w/w)	비타민액 첨가 농도 (%, w/w)	건조균체량 (%, w/w)	Glutamic acid (%, w/w)
실험구2	16.23	1.0	0	0.94	14.20
실험구4			0.14	1.11	17.85

비타민액을 첨가하여 배양한 실험구4가 미첨가 실험구2 보다 건조균체량 함량은 0.94%에서 1.11%로 약 17% 증가하였으며 glutamic acid 함량은 14.20%에서 17.75%로 약 26% 증가하였다. 따라서 배양액에 비타민액을 첨가하면 효모균체량 증식도 개선되면서 정미성 아미노산인 glutamic acid 함량도 증가하는 것을 확인하였다(Table 30).

(나) 효모발효 공정 최적화

① 발효 온도 최적화

SP-006 균주의 균체량 증식에 있어서 최적의 온도를 설정하기 위하여 5리터 jar fermenter (CNS, Korea)를 이용하여 실험을 진행하였다. Seed 배양은 YM 배지를 이용하였으며 본배양 배지 조성은 쌀발효물 16.23%, 콩발효물 1%, 비타민액 0.14% 이었다. 배양시 pH는 조절하지 않았으며 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM으로 16시간 배양하였다.

Table 31. 발효온도에 따른 건조균체량의 변화

Temp.	배양시간 (hrs)	건조 균체량 (% , w/w)
25℃	12	0.34
	14	0.55
	16	0.51
28℃	12	0.44
	14	0.63
	16	0.94
30℃	12	0.56
	14	0.83
	16	0.97
33℃	12	0.67
	14	0.86
	16	0.89

SP-006균주의 배양온도별 배양을 진행 한 후 건조균체량 분석결과, 배양온도 30℃에서 건조균체량 함량이 0.97로 가장 높게 나타났으며 그 다음으로는 배양온도가 28℃일 때가 두 번째로 높은 값을 보였다. 배양온도가 33℃일때는 배양 14시간째 가장 높은 건조균체량함량을 보이다 최종 16시간째는 오히려 30℃에서 배양했을 때보다 감소한 0.89%의 건조균체량 함량을 보였다 (Table 31).

② 발효 pH 최적화

SP-006 균주의 균체량 증식에 있어서 최적의 pH를 설정하기 위하여 5리터 jar fermenter (CNS, Korea)를 이용하여 실험을 진행하였다. seed 배양은 YM 배지를 이용하였으며 본배양 배지조성은 쌀발효물 16.23%, 콩발효물 1%, 비타민액 0.14% 이었다. 배양온도 30℃, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM으로 16시간 배양하였다.

Table 32. pH control에 따른 건조균체량의 변화

pH조건	배양시간 (hrs)	건조 균체량 (%, w/w)
pH 4.5	8	0.53
	10	0.59
	12	0.70
	14	0.80
	16	0.92
pH 5.0	8	0.54
	10	0.64
	12	0.75
	14	0.86
	16	0.93
pH 5.5	8	0.57
	10	0.69
	12	0.76
	14	0.88
	16	1.01
pH 6.0	8	0.26
	10	0.36
	12	0.25
	14	0.24
	16	0.25

SP-006균주의 pH control 배양시 pH 5.5로 유지하였을 경우 건조 균체량 함량이 가장 높게 나타났으며 pH 4.5와 pH 5.0으로 유지 배양 시는 건조 균체량 함량이 유사수준으로 분석되었고 pH 6.0으로 유지하여 배양하였을 경우 균체증식이 잘 일어나지 않는 결과를 보였다(Table 32).

③ 회분배양 조건 최적화

회분배양(Batch culture)을 위한 배지 조성은 Table 33과 같으며 working volume 3리터로 배양을 진행하였다.

Table 33. 회분배양 배지조성

구분	배합비(%, w/w)
쌀발효물	16.23
콩발효물	1.00
비타민액	0.14

Table 34. 회분배양 시간에 따른 건조균체량 및 잔당 농도의 변화

배양시간(hrs)	건조균체량 (% , w/w)	잔당 (g/L)
0	0.35	49.2
4	0.57	21.7
8	0.79	13.3
12	0.92	2.8
16	0.97	0.1
20	0.96	0.0

5리터 jar fermenter를 이용하여 회분배양(batch culture) 진행시 첨가된 쌀발효액 내 초기 glucose 농도는 5%이며 이를 활용하여 균체가 최대로 증식한 시간은 배양 16시간째 이었으며 (Table 34), 16시간 이후에는 잔당의 함량이 매우 낮아 균체 증식이 일어나지 못한 것으로 판단된다. 본 실험인 회분배양에서의 최종 균체수율($Y_{x/s}$)은 12.4%로 분석되었다.

④ 유가배양 조건

천연탄소원인 쌀발효물 Feeding 조건 실험- I

배양 중 균체수율을 개선하기 위하여 유가배양(fed batch culture)을 이용하여 천연탄소원인 쌀발효물의 feeding 조건 세팅을 위한 실험을 진행하였다. 탄소원인 쌀발효물의 공급속도를 설정하기 위하여 투입되는 탄소원은 회분배양(batch culture)에서와 동일하게 쌀발효물로 투입되는 glucose 농도를 최종 배양액 기준 5%로 설정하여 농도구배 feeding 조건으로 유가배양(fed-batch culture)을 진행하였다(Table 35). 배양은 5리터 jar fermenter에 초기 working volume은 2리터로 시작하였다. 발효 후 균체량은 1.18%로 분석되었으며 발효 후 최종 균체수율($Y_{x/s}$)은 14.82%로 분석되었다(Table 36). 배양 2시간 간격으로 배양액의 잔당함량을 분석한 결과 잔당이 거의 남아있지 않는 수치로 분석(Table 11)되었으며 이는 효모균체가 성장하는데 당함량이 부족한 것으로 판단되어 향후 실험에서는 feeding되는 쌀발효액의 초기 투입량을 늘리는 실험을 진행 하였다.

회분배양(batch culture)과 쌀발효물을 농도구배 feeding 조건으로 유가배양(쌀발효물 Feeding 실험조건- I)을 진행한 결과 균체량 증가는 쌀발효물 Feeding 실험조건- I로 진행한 실험에서 균체량이 21.3%로 증가하였으며, 최종 균체 수율 ($Y_{x/s}$) 측면에서도 각각 12.4%와 14.8%로 쌀발효물 Feeding 실험조건- I으로 진행하여 배양한 배양액의 최종 균체수율 증가율은 19.35% 임을 확인하였다(Fig. 11). *Saccharomyces cerevisiae* 균주는 crabtree effect positive균주로서 당 농도가 높으면 호기적인 조건하에서 알코올 발효가 진행되는 균주로 알려져 있다. 때문에 회분배양과 같이 초기에 탄소원 농도를 높여 투입하는 것보다 유가식 배양에서처럼 연속적으로 나눠서 투입하는 것이 균체증식 측면에서는 유리한 것으로 판단된다.

Table 35. 배양시간별 쌀발효물의 feeding 실험조건- I

배양시간 (hrs)	쌀발효액 feeding(%)	쌀발효액 feeding 양(ml)	feeding 유속(ml/min)
0	2.77	11.65	0.19
1	3.20	13.44	0.22
2	3.60	15.11	0.25
3	4.03	16.94	0.28
4	4.47	18.79	0.31
5	5.00	21.00	0.35
6	5.60	23.52	0.39
7	6.21	26.07	0.43
8	6.98	29.30	0.49
9	7.90	33.18	0.55
10	8.71	36.59	0.61
11	9.47	39.78	0.66
12	10.17	42.72	0.71
13	10.62	44.60	0.74
14	11.27	47.32	0.79

Table 36. 쌀발효물 Feeding 실험조건- I 에 의한 건조균체량과 잔당

배양시간 (hrs)	건조 균체량 (%, w/w)	잔당 (g/L)
0	0.44	0.05
2	0.59	0.01
4	0.63	0.00
6	0.74	0.00
8	0.88	0.01
10	0.96	0.00
12	1.07	0.02
14	1.15	0.00
15	1.18	0.02

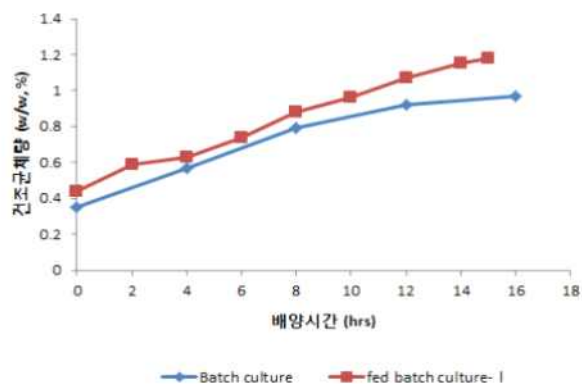


Fig. 11 유가배양- I 배양 후 건조균체량 변화

쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅱ, Ⅲ

쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅰ로 배양 시간에 따른 잔당을 분석한 결과 쌀발효물의 투입량을 배양시간이 지남에 따라 늘려 투입하였음에도 불구하고 배양액 내에 존재하는 잔당농도가 0~0.05g/L 범위였으며, 효모균체가 충분히 증식하기 위한 탄소원 농도가 부족하다고 판단되어 탄소원 공급 유속을 0.78ml/min(쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅱ)와 0.6ml/min(쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅲ)로 정량 투입하여 실험하였다. 최종배양액에 쌀발효물로 투입되는 총 glucose 농도는 각각 12%와 10%이었다.

Table 37. 쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅱ에 의한 균체량 증식 결과

배양시간 (hrs)	쌀발효액 투입량 (L) ¹	건조 균체량 (% , w/w)	비성장속도 (h ⁻¹)	균체수율 Y _{x/s}
0		0.90		-
3	140.0	1.15	0.08	12.70
6	140.0	1.74	0.14	29.40
9	140.0	2.24	0.08	27.96
12	140.0	2.75	0.07	30.55
15	140.0	3.01	0.03	19.95
18	140.0	3.19	0.02	16.70
21	140.0	3.32	0.01	15.40
24	140.0	3.45	0.01	4.39

1. 쌀발효액 투입량(L)= (t₁일 때 투입 배양 volume(L)- t₀일 때 투입 배양 volume(L))

Table 37에서 보는 바와 같이 쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅱ 즉, 쌀발효물을 연속적으로 정량 feeding 배양시 비성장속도가 0.14h⁻¹를 넘지 않았다. 배양 6시간째가 비성장속도가 가장 높았으며, 6시간 이후에는 점점 감소하면서 최종 균체량은 3.45%이었으며 초기 균체량을 제외하면 순수 증가된 균체량은 2.55% 이었다. 3시간 간격의 균체수율(Y_{x/s})분석 결과 배양 9시간에서 12시간까지 최대 30.55%이었으며 최종 균체수율(Y_{x/s})은 12.07%로 분석되었다.

Table 38. 쌀발효물 Feeding 실험조건-Ⅲ에 의한 균체 증식 결과

배양시간 (hrs)	배양 volume(g)	쌀발효액 투입량 (L)	Yeast cell weight (g)	건조 균체량	비성장 속도(h ⁻¹)	균체수율 (Y _{x/s})
0	1744	0	13.94	0.80		
3	1818	109	18.81	1.03	0.09	14.49
6	1892	109	30.78	1.63	0.15	35.67
9	1961	109	43.35	2.21	0.10	37.42
12	2030	109	53.61	2.64	0.06	30.56
15	2099	109	62.14	2.96	0.04	25.43
18	2168	109	73.93	3.41	0.05	35.10
21	2237	109	79.86	3.57	0.02	17.67
24	2306	109	83.40	3.62	0.00	10.55

Table 38에서 보는 바와 같이 쌀발효물 Feeding 실험조건-III 즉, 쌀발효물을 연속적으로 정량 feeding 배양시 비성장속도가 0.15h^{-1} 를 넘지 않았다. 배양 6시간째가 비성장속도가 가장 높았으며 6시간 이후에는 점점 감소하면서 최종 균체량은 3.62%이었으며 초기 균체량을 제외하면 순수 증가된 균체량은 2.82% 이었다. 3시간 간격의 균체수율($Y_{x/s}$) 분석 결과 배양 6시간에서 9시간까지 최대 37.42%이었으며 최종 균체수율($Y_{x/s}$)은 24.2%로 분석되었다.

산소공급 조건에 따른 균체 배양 실험

Saccharomyces cerevisiae 배양시 균체증식에는 주요한 영양원인 탄소원 투입 농도도 중요하고 또 하나는 중요한 인자는 산소공급이다. 효모가 호기적 상태에서 에너지 대사가 활발하기 때문에 산소 공급량이 효모 균체 증식에 중요한 인자이다. 앞에서 언급하였듯이, 효모는 호기적 조건에서는 균체 증식이 원활하지만, 혐기적 조건에서는 알코올 생성을 위해 영양분이 소비되어 균체 증식이 미비한 것으로 알려져 있다. 따라서 산소공급 방식에 따른 배양 중 용존산소량 증가가 균체량 증식 및 균체수율에 어떠한 영향을 주는지 실험을 진행하였다. 실험 진행시 쌀발효물인 탄소원 공급 속도는 사전 실험 결과를 토대로 연속적으로 정량 공급하였다. 기존의 발효기 내의 산소공급 방식인 대기중의 air를 멸균필터를 통해 여과 한 후 통기량을 2VVM 조건으로 산소를 공급하였으며 또 하나의 실험 조정은 기존 발효기 내의 산소공급 장치 이용과 추가로 용존산소량을 높이기 위해, 배양 중 용존산소량을 10~20% 범위로 유지시켜 주었다.

Table 39. 기존 발효기의 산소공급 방법에 의한 균체 증식 결과

배양시간 (hrs)	쌀발효액 투입량 (L)	건조 균체량 (w/w %)	비성장속도 (h^{-1})	균체수율 ($Y_{x/s}$)
0	0	0.85		
3	109	1.10	0.09	15.45
6	109	1.74	0.15	38.05
9	109	2.36	0.10	39.92
12	109	2.82	0.06	32.60
15	109	3.16	0.04	27.13
18	109	3.36	0.02	19.53

Table 39에서와 같이 air 통기량을 2VVM으로 조절하여 쌀발효액을 $0.60\text{ml}/\text{min}$ 의 유속으로 정량 fed-batch 배양을 진행 할 경우, 배양 18시간 동안 최종 건조균체량은 3.36%으로 분석 되었으며 최종 균체수율($Y_{x/s}$)은 27%로 분석되었다.

Table 40. O_2 gas 추가 공급 방법에 의한 균체량 증식 결과

배양시간 (hrs)	쌀발효액 투입량 (L)	건조 균체량 (w/w %)	비성장속도(h^{-1})	균체수율 ($Y_{x/s}$)
0	0	0.85		
3	109	1.11	0.09	16.33
6	109	2.12	0.22	59.39
9	109	2.82	1.06	44.97
12	109	3.36	0.06	38.45
15	109	3.80	0.04	34.42
18	109	4.20	0.03	33.64

쌀발효액을 연속적으로 정량 투입하면서 기존 발효기의 air 공급방식에 추가로 고농도의 DO를 조절하여 용존산소량을 10~20%로 유지 배양하였을 때의 분석 결과는 Table 4와 같다. 최대 비성장속도는 배양 6시간만에 $0.22h^{-1}$ 의 값을 보였으며 최종 균체수율($Y_{x/s}$)도 36.0%로 분석되었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 초반 3시간 동안에는 고농도의 산소를 공급하지 않아도 용존산소 농도가 10% 이상으로 유지가 되었기 때문에 산소 공급 유무에 따른 균체량의 차이는 보이지 않았다. 3시간 이후부터는 균체의 비성장 속도가 빨라지면서 기존 발효기의 air 공급방식으로 배양실험 한 경우 용존산소 농도가 5% 이하로 감소하였고, 고농도의 DO가 되도록 용존 산소량을 10% 이상으로 유지 하였을 때와의 균체량의 격차가 발생하였다. 시간에 따라 균체량의 격차는 점차 증가하였으며, 최종적으로 배양 18시간 기준으로 고농도의 DO를 공급하여 용존산소량을 증가시켰을 때 용존산소량이 5% 미만인 실험에 비해 균체량이 약 25% 증가함을 확인하였다.

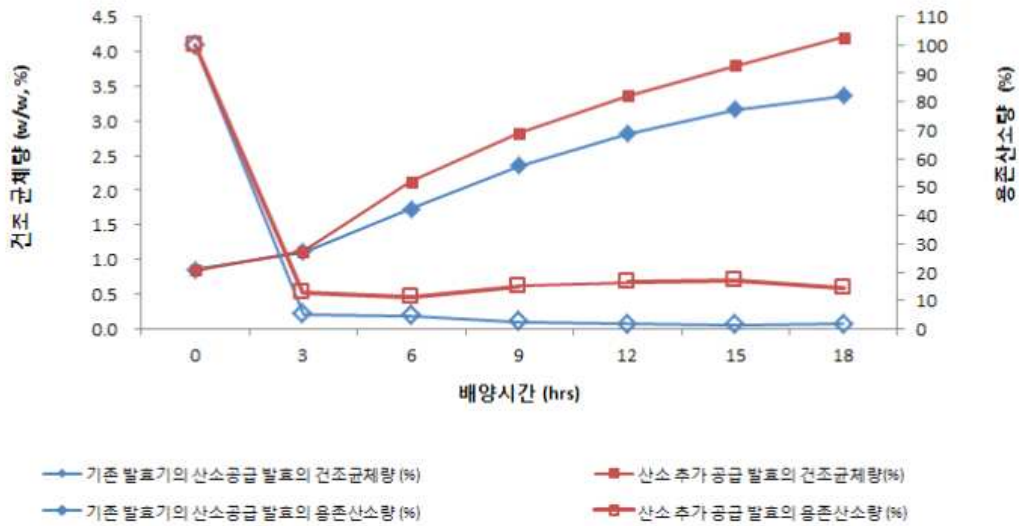


Fig. 12. 용존산소량에 따른 건조균체량 비교

(3) 효모발효 공정 Scale-up

(가) 50리터 Scale-up

50리터 발효기를 이용한 배양 실험에 사용된 seed배양은 2단계를 거쳐 진행하였으며, 1단계로는 YM(1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, Difco社) medium에서 30℃, 180rpm, 24시간 동안 배양 하였다. 2단계는 1단계에서 배양한 seed를 5리터 jar fermenter(CNS, Korea)를 이용하여 working volume 3리터로 준비한 배지에 접종하였다. 배지의 조성은 쌀발효물 16.23%, 콩발효물 1%, 비타민액 0.14% 이었으며 배양조건은 배양온도 30℃, 교반속도 350~400RPM, 통기량 2VVM, 24시간 배양하여 seed를 준비하였다. 본 배양은 50리터 발효기에 working volume 60%가 되도록 배지를 제조 하였으며 배지의 조성은 5리터와 동일하였다. 배양조건은 쌀발효액을 연속적으로 정량 투입하면서 배양온도 30℃, pH 5.5±0.2, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM, 배양 3시간 이후 고농도의 산소를 추가 공급하여 용존 산소량을 10%~20% 수준으로 유지하여 24시간 배양하였다.

Table 41. 50리터 scale-up 배양결과

Time	건조균체량 (%)	비성장 속도(μ) (h^{-1})	용존산소량 (%)	TN (%) ¹⁾	잔당 (g/L)
0	0.85		100	7.50	0.082
3	1.25	0.150	54.2	7.86	0.046
6	2.05	0.182	17.8	8.21	0.029
9	2.78	0.092	15.2	7.99	0.036
12	3.24	0.054	16.5	8.36	0.034
15	3.80	0.047	17.2	8.19	0.029
18	4.20	0.029	14.5	8.34	0.048
21	4.18	0.002	18.6	8.15	0.761
24	4.19	0.000	17.9	8.21	0.990

1) TN (%): Total nitrogen (%)

Table 41에서 보는 바와 같이 배양초기 균체량은 0.85%로 접종하였으며 비성장속도(μ)는 배양시간 6시간째 가장 높은 값인 $0.182h^{-1}$ 값을 보였다. 용존산소량은 배양 3시간까지는 50% 이상을 유지하였다가 배양 6시간 이후부터는 고농도의 산소를 추가 공급으로 15%~19% 범위로 유지시켜 주었다. 배양 21시간 이후에는 비성장속도(μ)가 급격히 낮아지고 잔당의 농도도 증가하면서 균체량 증식이 거의 일어나지 않는 것으로 분석되었다. 최종 배양액인 24시간째 쌀발효 효모의 균체량은 4.19%이었으며 TN값은 8.21이었고 최종 균체수율($Y_{x/s}$)은 37.8%로 분석되었다.

(나) 500리터 Scale-up

500리터 발효기를 이용한 배양 실험에 사용된 seed는 50리터 발효기에서 배양된 균체를 이용하였으며, 배양조건은 쌀발효액을 0.60ml/min의 유속으로 정량 투입하면서 배양온도 30℃, pH 5.5±0.2, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM, 배양 3시간 이후 산소를 추가 공급하여 용존 산소량을 10%~20% 수준으로 유지하여 24시간 배양하였다.

Table 42. 500리터 scale-up 배양결과

Time	건조균체량 (%)	비생장 속도(μ) (h^{-1})	용존산소량 (%)	TN (%)	잔당 (g/L)
0	0.82		100.0	7.48	0.079
3	1.32	0.159	42.0	8.12	0.031
6	2.30	0.185	12.3	8.23	0.015
9	2.93	0.081	15.6	8.06	0.021
12	3.50	0.059	18.2	8.12	0.011
15	4.05	0.049	14.6	8.32	0.080
18	4.40	0.028	16.8	8.26	0.130
21	4.35	0.000	15.5	8.28	0.430
24	4.37	0.002	17.2	8.31	0.840

Table 42에서 보는 바와 같이 배양초기 균체량은 0.82%로 집중하였으며 비생장속도(μ)는 배양시간 6시간째 가장 높은 값인 $0.185h^{-1}$ 값을 보였다. 용존산소량은 배양 3시간까지는 40% 이상을 유지하였다가 배양 3시간 이후부터 공급되는 고농도의 산소로 12%~18% 범위로 유지시켜 주었다. 배양 12시간과 15시간 사이에 잔당농도가 늘어나는 것을 볼수 있으며 이는 비생장속도(μ)도 낮아지는 결과도 볼 수 있었다. 배양 21시간 이후로는 급격히 잔당 농도가 증가하면서 균체량 증식이 거의 일어나지 않는 것으로 분석되었다. 최종 배양액인 24시간째 쌀발효효모의 균체량은 4.37%, TN값은 8.31이었으며 최종 균체수율($Y_{x/s}$)은 38.7%로 분석되었다.

(다) 5,000리터 Scale-up

5,000리터 배양 실험에서는 500리터의 배양 실험의 균체를 seed로 이용하였다. 배양조건은 쌀발효액을 0.60ml/min의 유속으로 정량 투입하면서 배양온도 30°C, pH 5.5±0.2, 교반속도 300RPM, 통기량 2VVM, 배양 3시간 이후 고농도의 산소를 추가 공급하여 용존 산소량을 10%~20% 수준으로 유지하여 24시간 배양하였다.

Table 43. 5,000리터 scale-up 배양결과

Time	건조균체량 (%)	비생장 속도(μ) (h^{-1})	용존산소량 (%)	TN (%)	잔당 (g/L)
0	0.86		100	7.62	0.060
3	1.36	0.153	49	8.08	0.420
6	2.53	0.207	16.8	8.12	0.016
9	3.15	0.073	14.2	8.21	0.018
12	3.65	0.049	17.5	8.11	0.026
15	4.22	0.048	15.8	8.19	0.060
18	4.58	0.027	13.5	8.24	0.980
21	4.61	0.002	16.8	8.29	0.240
24	4.57	0.000	17.2	8.25	0.830

Table 43에서 보는 바와 같이 배양초기 균체량은 0.86%로 집중하였으며 비성장속도 (μ)는 배양시간 6시간째 가장 높은 값인 $0.207h^{-1}$ 값을 보였다. 용존산소량은 배양 3시간까지는 49% 정도를 유지하였다가 배양 3시간 이후부터 공급되는 고농도의 산소로 14%~18% 범위로 유지시켜 주었다. 배양 6시간 이후부터 서서히 잔당농도가 늘어나는 것을 볼 수 있으며 이는 다른 배양결과들과 마찬가지로 비성장속도 (μ)도 낮아지는 결과도 볼 수 있었다. 배양 21시간 이후로는 급격히 비성장속도 (μ)가 0에 가까워지면서 균체량 증가가 일어나지 않는 것으로 분석되었다. 최종 배양액인 24시간째 쌀발효효모의 균체량은 4.57%, TN값은 8.25이었으며 최종 균체 수율($Y_{x/s}$)은 40.6%로 분석되었다.

5리터 발효기에서 정량적으로 쌀발효액을 feeding 하여 유가 배양한 결과를 바탕으로 50L, 500L, 5,000L scale-up 실험을 진행하였다. Table 41, 42, 43에서와 같이 배양 중 용존산소량은 모든 scale에서 10%이상으로 유지하였으며, 배양 시작 3시간 후부터 산소를 주입하였다. 또한, 배양 시간에 따른 TN농도를 분석한 결과, 배양 초기에는 7.4~7.65%에서 시작하여 최종결과 약 8.2~8.3%으로 시간에 따른 경향성을 보이지는 않았다. 5리터~5,000리터 배양기에서 배양한 효모 건조 균체량을 Fig. 4에 나타내었다. 각 배양기에 접종된 균체량의 농도는 0.81~0.86%이었으며, 배양 시작 후 18시간을 기점으로 균체량은 더 이상 증가하지 않았다. 최종 건조 균체량은 모두 4.2%를 초과 하였다. 시간에 따른 건조 균체량을 비교하였을 때, 전반적으로 5리터 배양기에서의 건조 균체량이 나머지 scale의 배양기에서 진행되었던 건조균체량에 비해 적었으며, 이는 비성장속도(μ) 분석을 통해 원인을 확인 할 수 있었다.

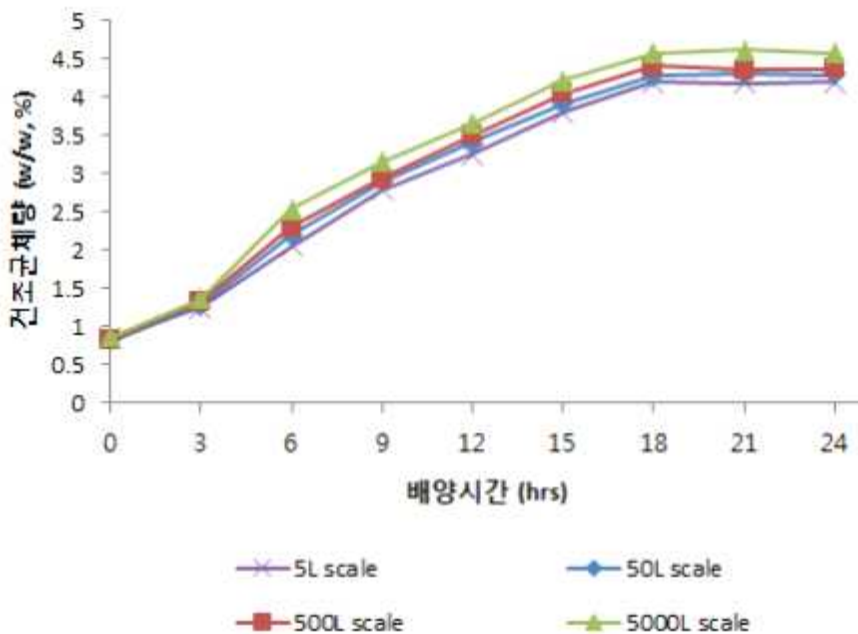


Fig. 13. Scale up에 따른 배양 시간별 건조균체량 (% , w/w)

각 scale의 비성장속도(μ)를 비교한 결과 (Fig. 14), 배양 3시간 후 비성장속도 값이 500리터 배양기에서 $0.158h^{-1}$ 로 가장 높았으며, 배양 6시간 후에는 5,000리터 배양기에서 $0.207h^{-1}$ 로 가

장 높았다. 반면, 5리터 배양기에서는 배양 3시간 후와 6시간 후의 비성장속도 값이 각각 $0.128h^{-1}$ 과 $0.164h^{-1}$ 로 가장 낮은 수치를 확인 할 수 있었다. 이처럼 배양기 scale에 따라 비성장속도 값이 차이가 나는 이유는 scale up 되면서 동일한 교반조건과 통기조건이라도 aeration 이 더 향상되어 균체량 증식속도가 증가한 것으로 사료된다. 또한, 배양기 scale up에 따른 최종 균체 수율 ($Y_{x/s}$)을 비교하였을 때 scale up 됨에 따라 균체수율이 증가하는 것을 확인하였다(Table 44).

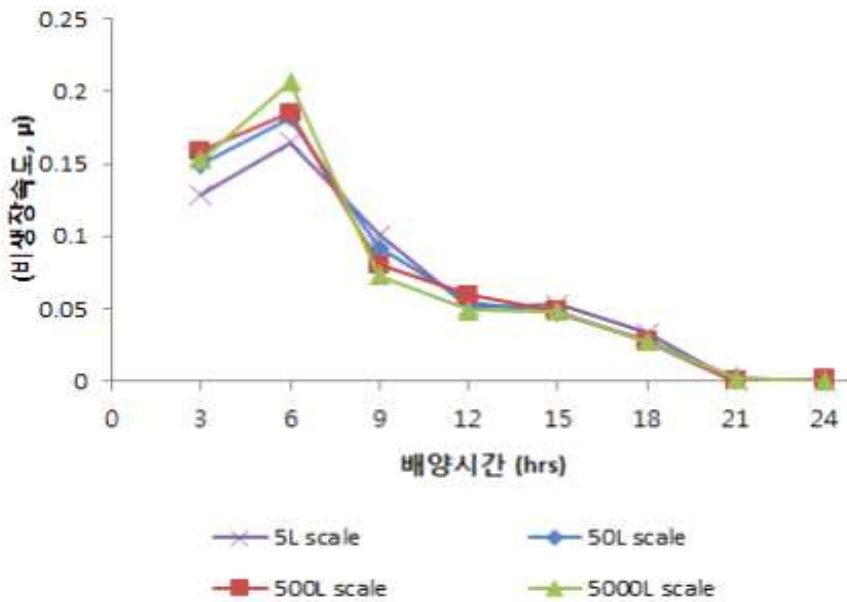


Fig. 14. Scale up에 따른 배양 시간별 비성장속도(μ)

Table 44. Scale-up에 따른 최종 균체수율 ($Y_{x/s}$)

배양기 scale (L)	5	50	500	5000
최종 균체 수율($Y_{x/s}$)	36.4	37.8	38.7	40.6

<요약>

SP-006 균주인 *Saccharomyces cerevisiae* 배양시 균체량을 다량 확보하기 위한 배양조건 최적화 결과 천연 배지조성은 쌀발효물 16.23%(glucose농도 5%), 콩발효물 1%, 비타민액 0.14% 이었다. 배양조건으로는 발효온도 $30^{\circ}C$, 발효시 pH control 조건은 $pH 5.5 \pm 0.$, 용존산소량(DO)은 10~20%를 유지하는 조건에서 배양하는 것이 균체량을 가장 많이 확보되는 최적 조건임을 확인하였다.

Table 45. 발효기 용량 및 배양방법에 따른 최종 균체량 및 균체수율 결과

발효기 용량	배양방법	최종 건조 균체량 (w/w %)	최종 균체수율 (Y _{x/s})
5리터 발효기	회분배양	0.97	17.2
	유가배양	1.18	13.8
	유가배양	3.36	28.8
	유가배양	4.20	36.4
50리터 발효기	유가배양	4.19	37.8
500리터 발효기	유가배양	4.37	38.7
5000리터 발효기	유가배양	4.57	40.6

SP-006 균주를 이용한 발효공정 scale up 연구를 진행한 결과 균체량을 다량 확보하기 위해서는 회분식 배양 보다는 유가식 배양이 유리함을 확인하였다. 유가배양 실험에서는 탄소원 공급방식에 따라 균체량 증식량이 달라지는 것을 확인하였으며 유가 배양시 균체 증식에 따른 쌀발효액의 투입량을 최적화 하였다. 또한, 용존산소량을 10~20% 수준으로 유지하였을 경우 균체량이 증가함을 확인하였다. Scale-up test 에서는 50, 500L를 거쳐 최종 5,000리터에서 최종 건조균체량 4.57%와 최종 균체수율(Y_{x/s})이 40.6%의 결과를 확보하였다(Table 45).

라) 쌀발효 효모크림 시제품 제작

5,000리터 배양기를 이용하여 3,000리터 배양액을 연속식 원심분리기(GEA nozzle separator)를 이용하여 원심분리하였다. 원심분리한 쌀발효 효모크림의 고형분 함량은 15.2%였으며 TN값은 8.2이었다.

Table 46. 쌀발효 효모크림 규격

항목	규격
고형분 함량 (%)	15~16
TN (%)	8.0
일반미생물 (cfu/g)	10,000 이하

3. 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 모듈개발 및 Scale-up

가. 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 모듈개발

1) 재료

가) 쌀발효 효모크림

5,000리터 배양기로 배양 후 원심분리하여 제조한 쌀발효 효모크림 시생산 제품을 사용하였다.

나) 효소

단백질 분해효소는 Novozyme사 Alcalase, Flavourzyme, Protamax, DSM사의 Maxipro BAP, Maxazyme NNPDS, Delvolase, Dupont사의 Alphasase NP를 사용하였다.

2) 실험방법

가) 유리아미노산 분석

유리아미노산 분석은 HPLC를 이용하였으며 Ninhydrin과 반응시켜 발색(UV spectrum 570nm, 440nm)에서 검출 분석하였다.

나) GPC(gel permeation chromatography) 분석

분자량 분포는 Agilent HPLC 기기를 이용하였다. Aquagel-OH 20(Agilent technologies, USA) column과 acetonitrile 용매 조건(water : acetonitrile : trifluoroacetic acid)에서 유속 1.0 mL/min, 220 nm로 검출하였다. 분자량 표준품으로는 75Da의 Glycine부터 13,700Da의 Ribonuclease A까지 다양한 분자 크기의 물질(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)을 사용하였다.

다) DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) assay 방법

효모 가수분해물의 DPPH 소거능에 의한 항산화력은 최창섭 등(2003)과 Shekhar 등(2014)의 방법을 이용하여 측정하였다. 증류수에 녹인 샘플 시료(1-5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 20 μl 을 DPPH(0.111mM)가 함유된 에탄올 용액 180 μl 에 첨가하였다. 이를 25°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선 작성을 위하여 Ascorbic acid가 사용되었으며, DPPH 소거능(%)은 [(무첨가 흡광도-샘플 시료 흡광도) / 무첨가 흡광도] \times 100의 수식으로 계산하여 표시하였다.

라) Reducing power assay 방법

효모 가수분해물의 환원능력은 Oyaizu(1986)의 방법을 이용하여 측정하였다. 구체적으로, 증류수에 녹인 샘플 시료(1-5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60 μl)을 phosphate buffer(150 μl , 0.2M, pH6.6), potassium ferricyanide($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 150 μl , 1%)와 혼합한 후, 50°C에서 20분 동안 반응시켰다. 추가로 Trichloroacetic acid(10%) 150 μl 을 넣어준 다음, 2000 g에서 10 분 동안 원심분리 하였다. 샘플 시료가 포함된 상등액 150 μl 을 D.W 150 μl , FeCl_3 (30 μl , 0.1%)에 첨가하였다. 이를 25°C에서 10분 동안 반응 시킨 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 실험결과 및 고찰

가) 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 제조조건 확립

(1) 효소선정

쌀발효 효모크림을 이용하여 저분자 펩타이드를 제조하기 위한 단백질 분해효소 선정 실험을 진행하였다. 단백질 분해효소는 펩타이드 단위로 랜덤하게 분해하는 endopeptidase와 펩티드사슬의 말단에만 작용하여 아미노산을 차례로 유리시키는 exopeptidase 분해효소로 구분되어지며 endopeptidase 분해효소를 선정하기 위한 실험을 진행하였다. 준비된 쌀발효 효모크림을 60℃로 가온시킨 후 효소를 쌀발효 효모크림의 고형분 대비 각각 1%(w/w)으로 첨가하여 60℃에서 200rpm으로 교반하면서 24시간 동안 분해하였다. 일정시간 간격으로 샘플링하여 원심분리 후 brix meter기를 이용하여 brix를 측정하였으며 최종 24시간 분해 후 샘플은 고형분을 측정하였다.

Table 47. Endopeptidase 종류에 따른 brix변화와 고형분함량 변화

효소종류	brix(%) 측정결과			최종고형분함량(%)
	4hr	20hr	24hr	
Alcalase AF	12.5	16.00	15.8	12.77
Alhalase NP	10.2	14.80	14.6	11.81
Maxipro BAP	13.5	16.00	15.7	12.70
Maxazyme NNP DS	8.2	11.20	11.2	8.94
Delvolase	12.0	15.80	15.6	12.67
protamex	10.8	15.20	15.2	12.17

Table 47에서 보는바와 같이 Alcalase 효소가 초반 분해정도와 최종 고형분함량이 가장 높은 결과 값을 보였다.

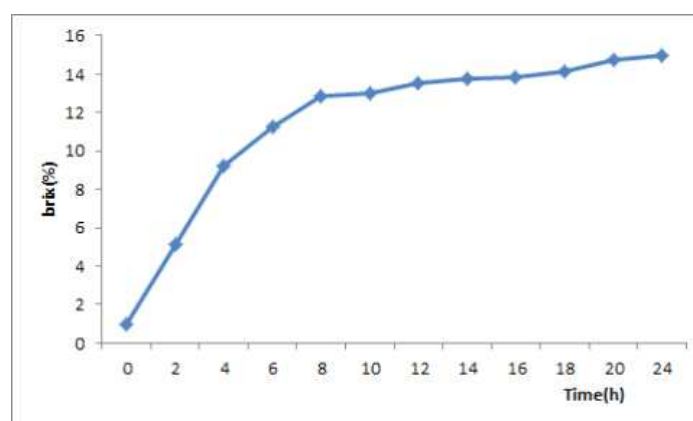


Fig. 15. Alcalase 처리 후 분해시간에 따른 브릭스 변화

Alcalase 처리했을 경우 추출액의 고형분 증가 경향을 간접적으로 파악하기 위하여 브릭스 함량 분석을 진행하였다. 브릭스 증가 기울기를 보면 초반 4시간까지는 급격히 증가하고 4시간에서 8시간까지는 초반 4시간까지의 기울기 보다는 감소하였지만 증가하는 경향을 볼 수 있었

다. 효소 반응 8시간 이후에 기울기가 완만해 지는 것으로 분석되었다. 이 결과로서 Alcalase 첨가시의 효소분해는 초반 4시간에 가장 활발히 일어남을 알 수 있었다(Fig. 15).

Alcalase만으로 분해한 쌀발효 효모 추출액의 관능특징을 분석한 결과 쓴맛이 강했다(Fig. 8). 천연조미소재의 베이스로 사용하기 위해서는 쓴맛을 줄이고 감칠맛을 높여주는 개선작업이 필요하다고 판단하여 아미노산 말단을 끊어주는 Flavourzyme을 0.5% 추가로 처리한 샘플한 샘플을 제조하였다. 쌀발효 효모크림을 60℃로 가온시킨 후 Alcalase 효소를 1%(w/w)으로 첨가하여 60℃에서 200rpm으로 교반하면서 4시간 동안 반응한 후 Flavourzyme을 0.5%(w/w) 첨가하여 20시간 동안 반응하였다. 일정시간 간격으로 샘플링하여 원심분리 후 상등액의 고형분 함량을 측정하였다. 고형분 함량은 Alcalase 효소만 처리하였을 때 보다 Alcalase와 Flavourzyme을 같이 처리한 샘플의 고형분 함량이 약 4.5% 증가하는 결과를 얻었다(Fig. 16).

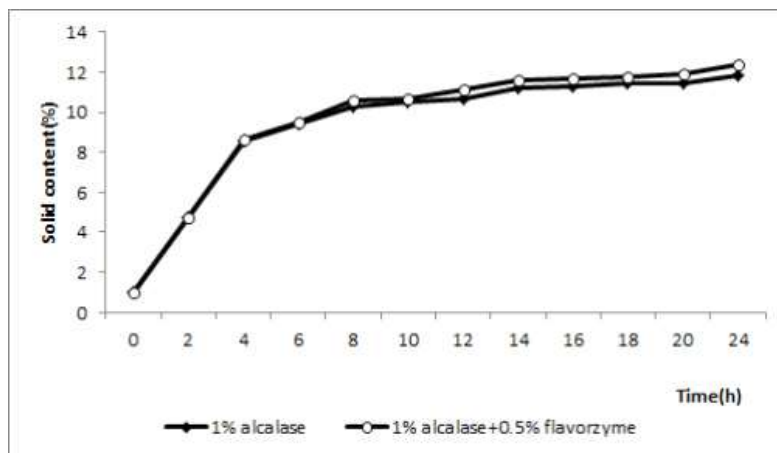


Fig. 16. 쌀발효 효모 추출액의 효소반응에 따른 고형분 변화

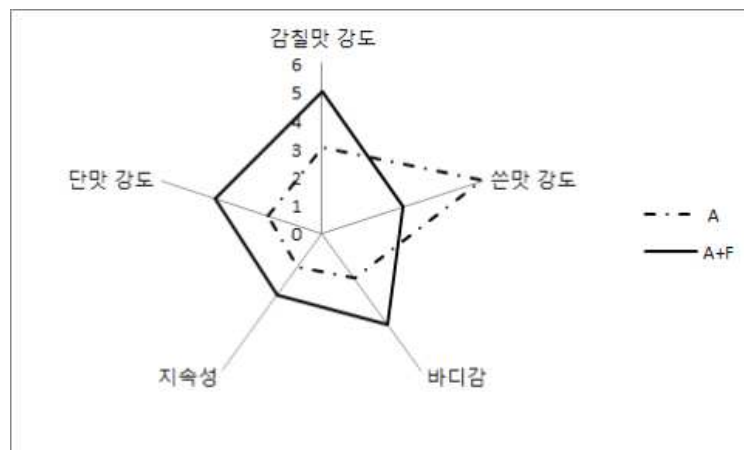


Fig. 17. 쌀발효 효모 추출액 효소에 따른 관능평가

샘플 내에 자체 관능검사원 15명을 대상으로 실시한 1차 관능검사 결과, Alcalase만 1%(w/w)(A) 처리한 샘플보다는 1%(w/w) Alcalase와 0.5%(w/w) Flavourzyme(A+F)을 함께 처리한 샘플에서 쓴맛강도가 감소하고 단맛, 감칠맛, 바디감 강도가 모두 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 17).

총질소함량(TN)과 아미노태질소함량(AN)을 측정하여 분해율(AN/TN*100)로 산출한 결과 1%(w/w) Alcalase만 처리한 샘플보다는 1%(w/w) Alcalase와 0.5%(w/w) Flavourzyme을 순차적으로 처리한 샘플의 아미노태 질소함량(AN)이 증가하여 분해율이 증가한 결과를 얻었다 (Table 48). 평균분자량 측정 결과는 1%(w/w) Alcalase만 처리한 조건에서는 평균분자량이 730dalton 이었으며 1%(w/w) Alcalase와 0.5%(w/w)Flavourzyme 처리한 샘플의 평균분자량은 519 dalton으로 분석되었으며 GPC 크로마토그램을 보면 Alcalase와 Flavourzyme을 같이 처리 하였을 때 전체적으로 분자량이 감소하여 저분자 펩타이드로 제조할 수 있다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 18).

Table 48. 효소종류별 쌀발효 효모 펩타이드의 성분분석 결과

구분	TN (%)	AN (%)	분해율 (%)	평균분자량 (Dalton)
1%(w/w) Alcalase	9.2	2.6	28.26	730
1%(w/w) Alcalase+ 0.5%(w/w) Flavorzyme	9.8	4.5	45.92	515

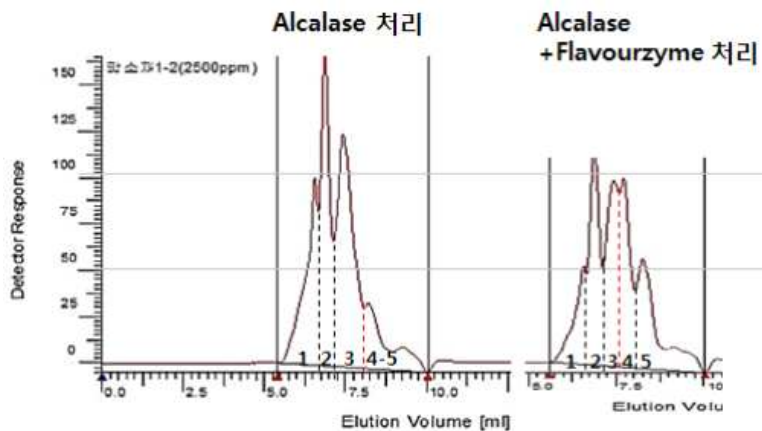


Fig. 18. 효소처리 조건에 따른 쌀발효 효모 추출액의 GPC chromatogram

(2) 반응온도 조건 최적화

쌀발효 효모 저분자 펩타이드 제조에 있어 효소의 최적 반응온도를 설정하기 위한 실험을 진행하였다. 쌀발효 효모크림에 1%(w/w) Alcalase와 0.5%(w/w) Flavourzyme를 동시첨가하여 60℃에서 24시간 반응시켜 제조한 샘플(60℃ A+F), 1%(w/w) Alcalase와 0.5%(w/w) Flavourzyme를 동시 첨가하여 55℃에서 24시간 반응시켜 제조한 샘플(55℃ A+F), 1%(w/w) Alcalase와 0.5%(w/w) Flavourzyme를 첨가하여 50℃에서 24시간 반응시켜 제조한 샘플(50℃ A+F), 1%(w/w) Alcalase를 첨가하여 60℃에서 4시간 반응시킨 후 온도를 55℃로 내리고 0.5%(w/w) Flavourzyme를 첨가하여 20시간 반응시켜 제조한 샘플(60℃ A ->55℃ F) 총 4가지 샘플을 제조하여 분석하였다.

반응 24시간 후에 고형분 함량이 가장 높은 반응온도 조건은 Alcalase를 첨가하여 60℃에서 4시간 반응시킨 후 온도를 55℃로 내리고 0.5%(w/w) Flavourzyme를 첨가하여 20시간 반응시켜 제조한 샘플로 분석되었다(Table 49와 Fig. 19).

Table 49. 반응 온도별 쌀발효 효모 추출액의 고형분 함량 변화

반응시간(h)	60℃ A+F	55℃ A+F	50℃ A+F	60℃ A → 55℃ F
0	1.0	1.0	1.0	1.0
2	5.0	4.7	4.0	5.0
4	7.5	8.2	6.0	8.5
6	8.7	9.2	7.3	10.0
8	9.2	9.9	8.0	10.5
12	9.8	10.6	10.1	11.0
16	10.7	12.3	11.2	13.5
24	11.4	13.2	11.9	13.5

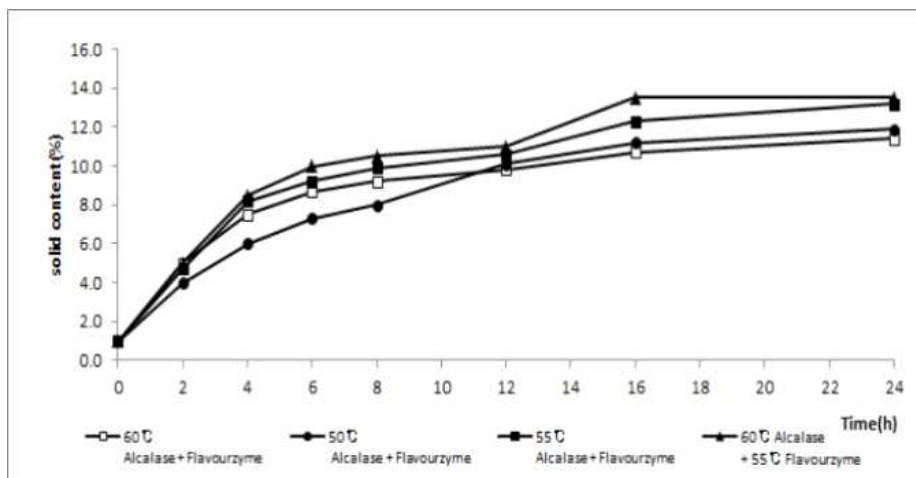


Fig. 19. 반응온도 따른 쌀발효 효모 추출액의 고형분 함량 변화

나) 대사체 분석 데이터 기반 품질규격 설정

쌀발효 효모 펩타이드 제조에 있어서 Alcalase와 Flavourzyme 효소를 이용하여 반응온도 최적화 실험결과 두 효소를 동시에 처리할 경우 분해율은 55℃에서 반응시켰을 때가 가장 높았으나 Alcalase를 첨가하여 60℃에서 4시간 반응시킨 후 온도를 55℃로 내리고 Flavourzyme를 첨가하여 20시간 반응시켜 제조한 샘플의 분해율 뿐만 아니라 조단백질함량도 가장 높았다 (Table 50). 이는 Alcalase와 Flavourzyme의 최적반응 온도 범위가 각각 60℃와 55℃조건이어서 나타난 결과로 보인다. 유리아미노산 분석결과도 분해율이 높은 샘플 순으로 유리아미노산 총합이 높은 것으로 분석되었다(Table 51).

분자량분포도 분석결과는 Table 27과 같다. 평균분자량이 가장 작게 나온 샘플은 1%(w/w) Alcalase를 첨가하여 60℃에서 4시간 반응시킨 후 온도를 55℃로 내리고 0.5%(w/w) Flavourzyme를 첨가하여 20시간 반응시켜 제조한 샘플이며 분자량 분포표를 보면 450 dalton의 물질이 약 75%를 차지하고 있으며 이는 di-peptide와 tri-peptide를 포함하는 것으로 저분자펩타이드가 많이 생성된 것으로 판단된다.

Table 50. 쌀발효 효모 펩타이드 TN, AN 분석결과

샘플명	TN(%)	AN(%)	분해율(%)	조단백질 함량(%)
60°C A+F	9.7	4.4	45.37	60.63
55°C A+F	9.8	4.6	46.94	61.25
50°C A+F	9.6	4.1	42.70	60.00
60°C A → 55°C F	9.9	5.1	51.52	61.88

Table 51. 쌀발효 효모 펩타이드 유리아미노산 프로파일

Free amino acid	60°C A+F %(w/w)	55°C A+F %(w/w)	50°C A+F %(w/w)	60°C A → 55°C F %(w/w)
L-aspartic acid	1.74	2.95	2.04	3.20
L-Threonine	1.93	2.38	1.60	2.63
L-serine	2.73	2.88	2.24	3.12
L-glutamic acid	7.08	8.21	5.57	8.63
L-Proline	0.09	0.27		0.45
Glycine	1.17	1.46	0.95	1.65
L-Alanine	4.28	4.53	3.49	5.00
L-Cystine		0.00	0.03	0.24
L-Valine	3.21	3.08	2.62	3.42
L-methionine	1.12	0.87	0.90	0.96
L-Isoleucine	2.34	2.56	1.87	2.85
L-Leucine	3.96	4.15	3.21	4.46
L-Tyrosine	1.46	1.93	1.08	2.17
L-Phenylalanine	1.85	1.81	1.43	1.94
L-Histidine	3.23	1.82	2.57	1.98
L-Lysine	1.98	3.65	1.63	3.85
L-Arginine	2.00	2.70	1.89	2.91
Total	40.17	45.24	33.12	49.47

Table 52. 쌀발효 효모 펩타이드 분자량 분포도

Molecular weight (Dalton)	60°C A+F %(w/w)	55°C A+F %(w/w)	50°C A+F %(w/w)	Molecular weight (Dalton)	60°C A+55°C F %(w/w)
1000이상	14.1	10.69	14.56	1000이상	7.61
650~1000	20.82	26.28	16.66	600~1000	23.65
450~650	15.36	15.81	12.29	400~600	27.11
300~450	15.63	14.49	18.48	200~450	66.66
300이하	34.09	32.72	38	200이하	7.97
평균분자량	519	481	543	평균분자량	454

샘플 내 자체 관능검사원 15명을 대상으로 실시한 2차 관능검사 결과, Alcalase와 Flavourzyme을 동시 처리 하였을 경우 55℃온도에서 반응한 샘플이 쓴맛 강도가 가장 낮고 반면 단맛 강도가 높아지고 특히 감칠맛 강도가 상승하면서 전반적인 맛 기호도가 높아짐을 알 수 있었다(Fig. 20). 가장 관능이 좋은 샘플은 Alcalase를 첨가하여 60℃에서 4시간 반응시킨 후 온도를 55℃로 내리고 0.5%(w/w) Flavourzyme를 첨가하여 20시간 반응시킨 샘플이었다. 여러 대사체물질 분석을 통해 해석을 하면 단백질 분해율이 높고 유리아미노산 총량이 많으며 분자량이 적은 저분자펩타이드 함량이 많을수록 조미소재로서의 감칠맛을 비롯하여 지속성 바디감 강도가 높아 전반 맛의 기호가 상승한다고 해석될 수 있다.

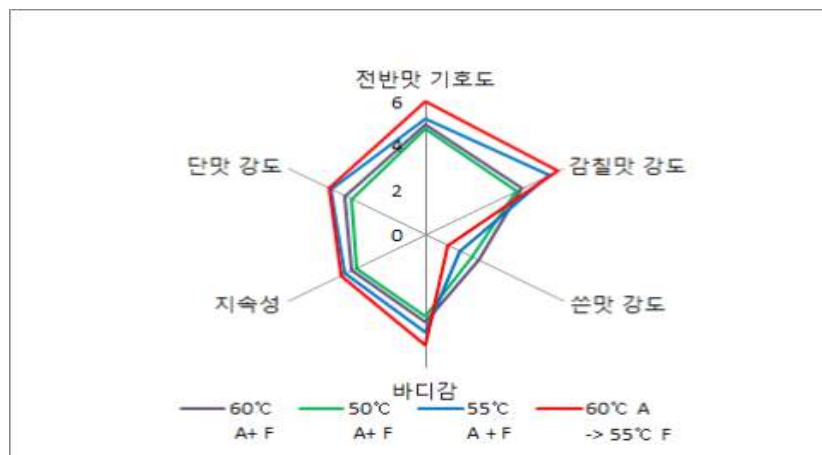


Fig. 20. 반응온도에 따른 쌀발효 효모 펩타이드 관능결과

다) 기능성 확인

(1) 항산화 활성을 갖는 저분자 펩타이드의 스크리닝

쌀발효 효모크림에 1%(w/w) Alcalase만 첨가하여 60℃에서 2시간(A2)과 4시간(A4) 동안 효소반응을 시킨 샘플을 제조하였다. 1% Alcalase를 첨가하여 60℃에서 4시간 반응시킨 후 55℃로 온도를 내려 0.5% Flavourzyme를 첨가하여 10시간 반응시켜 제조한 샘플(AF10) 그리고 추가로 10시간 더 반응시켜 제조한 샘플(AF24)을 각각 취하여 원심분리기로 분리된 상등액을 각각 85℃에서 30분 동안 살균하여 효소 실험시킨 쌀발효 효모 펩타이드에서의 항산화 효능(DPPH)와 환원력(reducing power)를 측정하였다 (Fig. 21, Fig. 22). 이때, Control은 쌀발효 효모크림의 자가소화된 분해물이다.

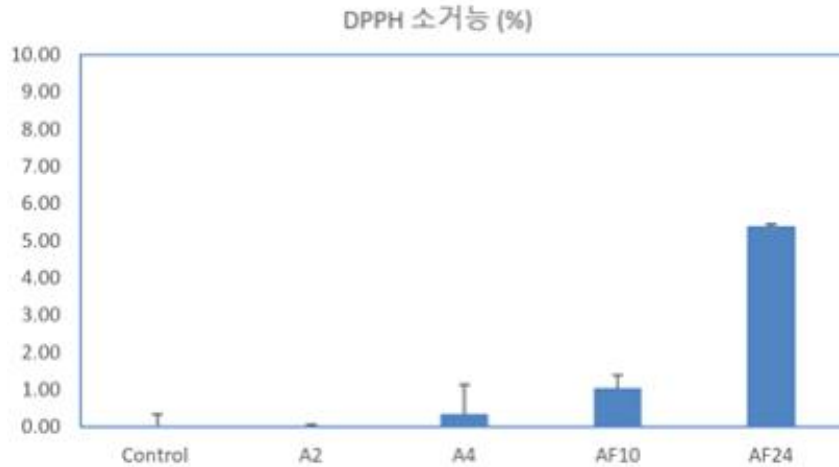


Fig. 21. 쌀발효 효모 펩타이드 DPPH 소거능 측정결과

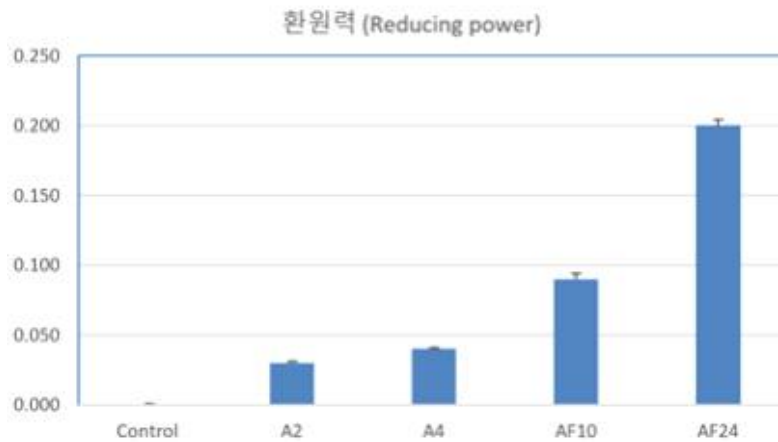


Fig. 22. 쌀발효 효모 펩타이드 환원력(reducing power) 측정결과

Fig. 21와 Fig. 22에서 보는 바와 같이 각각의 쌀발효 효모 펩타이드(A2, A4, AF10, AF24)에 대한 DPPH 소거능과 환원력을 측정된 결과 Alcalase와 Flavourzyme를 순차적으로 처리하여 다단으로 분해한 AF24의 쌀발효 효모 펩타이드에서 가장 높은 DPPH 소거능과 환원력이 나타남을 확인하였다. 즉, 동일한 쌀발효 효모 펩타이드에서도 사용된 효소와 반응시간, 온도에 따라 상이한 DPPH 소거능과 환원력을 가지고 있음을 알 수 있었다.

라) 제조공정 scale-up (100kg) 및 시제품 제작

쌀발효 저분자펩타이드 제조는 사전 실험에서 확립한 조건에 따라 진행하였다. 쌀발효 효모 크림을 고형분 15%로 제조하고 60℃로 가온시킨 후 alcalase 효소를 쌀발효효모크림 고형분 대비 1%(w/w)가 되게 첨가하여 200rpm으로 교반하면서 4시간 반응시켰다. 온도를 55℃로 낮추고 0.5%(w/w) Flavourzyme를 첨가하여 20시간 반응시킨 후 원심분리기를 통하여 원심분리 진행 후 상등액을 수거하였다. 수거된 상등액을 85℃, 30min로 열처리 하여 잔존하는 효소를 실효시킴과 동시에 살균을 진행하였다. 이후 농축기를 이용하여 농축하여 쌀발효 효모 저분자 펩타이드를 제조하였으며 제조공정도는 Fig. 23와 같다.

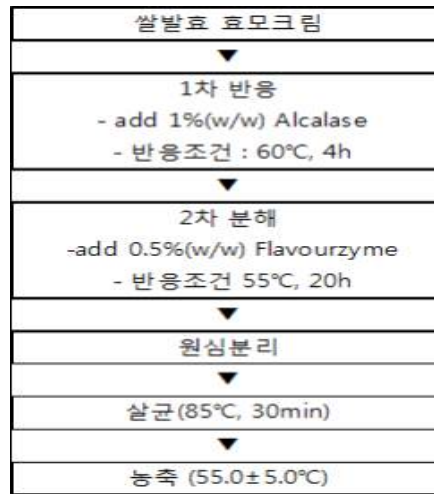


Fig. 23. 쌀발효 효모펩타이드 제조과정

쌀발효물 효모 저분자 펩타이드 시제품의 분석결과 TN값은 9.7%이며 AN은 4.4%로 분해율은 약 45%수준으로 분석되었다(Table 53). 이는 전에 진행했던 제조조건 실험 중 동일 효소 처리 조건으로 제조한 샘플과 유사한 결과 값을 보였다.

Table 53. 시제품 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 분석결과

샘플명	TN (% w/w)	AN (% w/w)	분해율(%)
쌀발효 효모 저분자 펩타이드	9.7	4.4	45.37

또한 GPC를 이용하여 분자량을 분석한 결과 평균분자량은 406 dalton 으로 분석되었으며 350 dalton이하의 분자량 분포율이 52.56%로 분석되어 저분자량의 펩타이드들이 다량 포함되어 있는 것을 알 수 있다(Table 54, Fig.24).

Table 54. 쌀발효 효모 펩타이드 분자량 분포도

Molecular weight (Dalton)	쌀발효 효모 저분자 펩타이드
1000이상	2.84
650~1000	22.76
350~650	21.83
250~350	38.71
250이하	13.85
평균분자량	406

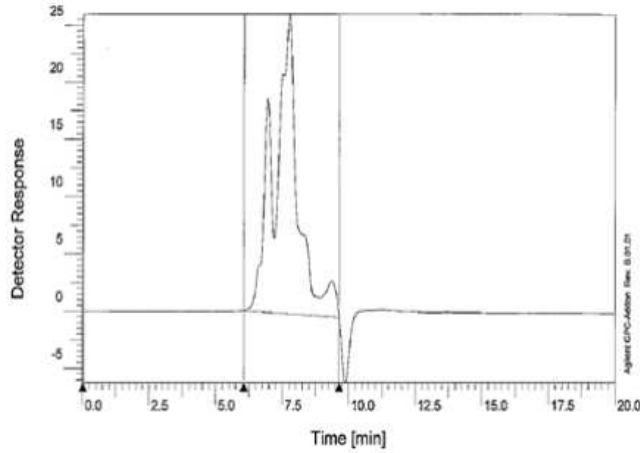


Fig. 24. 쌀발효 효모 펩타이드 GPC chromatogram

Table 55에서 보는 바와 같이 유리아미노산 분석결과 감칠맛을 내는 L-glutamic acid가 8.73%로 가장 높은 비율을 나타내었으며, L-aspartic acid도 3.14%함량으로 분석되었다. 단맛을 내는 L-Alanine도 L-glutamic acid 다음으로 많은 함량인 4.82%로 분석되었으며 유리아미노산 총량은 48.13%이었으며 이러한 유리아미노산들은 쌀발효 효모저분자 펩타이드가 천연 발효 조미소재의 기본 베이스로 감칠맛과 깊은맛을 내는데 역할을 할 것으로 판단된다.

Table 55. 쌀발효 효모 펩타이드 유리아미노산 프로파일

Free amino acid	쌀발효 효모 저분자 펩타이드(% w/w)
L-aspartic acid	3.14
L-Threonine	2.53
L-serine	3.07
L-glutamic acid	8.73
L-Proline	0.28
Glycine	1.55
L-Alanine	4.82
L-Cystine	0.00
L-Valine	3.28
L-methionine	0.92
L-Isoleucine	2.72
L-Leucine	4.41
L-Tyrosine	2.06
L-Phenylalanine	1.92
L-Histidine	1.93
L-Lysine	3.88
L-Arginine	2.87
Total	48.13

쌀발효 효모저분자 펩타이드 제조 연구결과와 시제품 분석결과를 바탕으로 품질규격을 Table 56과 같이 설정하였다.

Table 56. 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 품질규격

항목	규격
TN (%)	9.0 이상
AN (%)	4.5 이상
평균분자량	500이하
일반세균 (CFU/ml)	10000 이하
대장균	음성

4. 채소추출물 모듈개발 및 Scale-up

가. 채소추출물의 제조 공정 최적화

1) 재료 및 실험방법

본 실험에서 국내산 채소5종(마늘, 양파, 대파, 무, 방울토마토)을 구매하여 제이팜스(충남 공주)에서 초핑기로 분쇄하여 사용하였다.

가) 양파 추출물 제조

(1) 양파 분쇄추출 농축액 제조

분쇄된 양파를 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA, Japan) 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

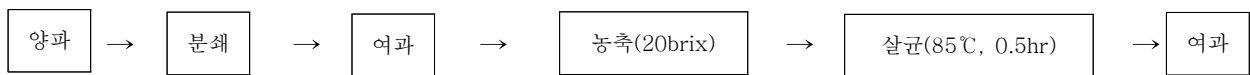


Fig. 25. 양파 분쇄추출 농축액의 제조공정

(2) 양파 열수추출 농축액 제조

분쇄된 양파를 90℃, 3시간 열수추출 후 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과한다. 여과한 액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA, Japan) 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

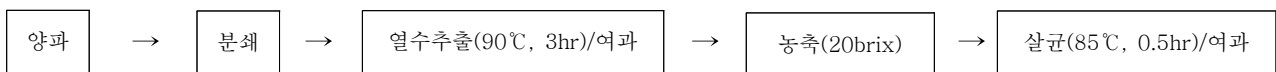


Fig. 26. 양파 열수추출 농축액의 제조 공정

(3) 양파 추출 역삼투압 농축액의 제조

① 양파 착즙액의 제조

양파 착즙액의 제조는 분쇄된 양파를 여과포로 압착 여과후, 규조토를 통하여 2차 여과하다.

② 양파 착즙액의 한외여과

2차 여과로 얻어진 양파 착즙액을 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막 특성과 공정은 다음과 같다.

Table 57. 한외여과막의 특성 및 공정조건

material	Polyethersulfone (PES)
Pressure(bar)	2
Temperature(℃)	25
pH	6.5

③ 양과 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 batch system의 역삼투막 분리하여 착즙액의 고형분 함량이 15birx에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 58. 역삼투압막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Pressure(bar)	40
Temperature(°C)	25
pH	6.5

나) 마늘 추출물 제조

(1) 마늘 분쇄추출 농축액의 제조

분쇄된 마늘 1.2L를 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과한 액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA, Japan) 20 Brix까지 감압 농축하였다. 이를 85°C, 30분간 가열살균 후 여과하여 시료를 얻었다.

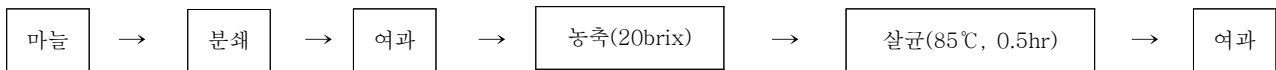


Fig. 27. 마늘 분쇄추출 농축액의 제조공정도

(2) 마늘 열수추출 농축액의 제조

분쇄된 마늘 0.7L를 90°C, 3시간 열수 추출후 여과지(Whatman No.2, Maidstone, England)를 사용하여 여과한 액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA, Japan) 20 Brix까지 감압 농축하여 85°C, 30분간 가열 살균 후 여과하였다.

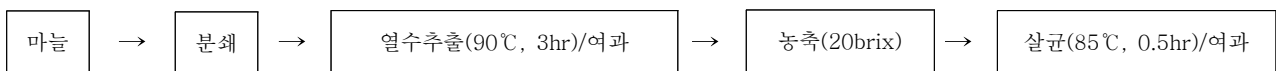


Fig. 28. 마늘 열수추출 농축액의 제조 공정도

(3) 마늘 효소분해 농축액의 제조

분쇄된 마늘 0.5L에 상업용 효소 Viscozyme L 0.5% 투입 후 45°C, 3시간 효소 분해후 90°C, 1시간 효소 실활 후 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과한다. 여과액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA, Japan) 20 Brix까지 감압 농축한 후 85°C, 30분간 살균 후 여과하였다.

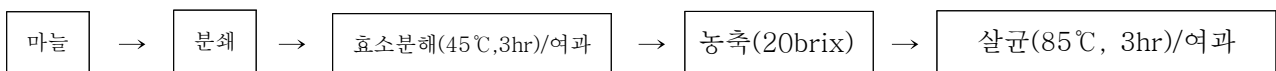


Fig. 29. 마늘 효소분해 농축액의 제조공정도

(4) 마늘 추출 역삼투압 농축액 제조

① 마늘 착즙액의 제조

마늘 착즙액의 제조는 분쇄된 마늘을 여과포로 여과한 1차 착즙액을 규조토를 통하여 2차 착즙액을 얻었다.

② 마늘 효소분해 착즙액의 제조

마늘의 1차 착즙액으로부터 얻어진 마늘 잔사에 마늘 잔사와 Viscozyme L 0.5%로 45℃에서 4시간 가수분해하여 종료후, 규조토를 여과하여 효소분해 착즙액을 얻었다.

③ 마늘 착즙액의 한외여과

마늘의 2차 착즙액과 효소분해 착즙액을 혼합하여 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 59. 한외여과막 특성 및 공정조건

material	Polyethersulfone (PES)
Pressure(bar)	2
Temperature(℃)	25
pH	6.2

④ 마늘 혼합액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액과 효소분해 하여 얻은 착즙액을 혼합하여 batch system의 역삼투막으로 분리하여 착즙액의 고형분 함량이 25birx에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 60. 역삼투압막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Pressure(bar)	40
Temperature(℃)	25
pH	6.2

다) 대파 추출물 제조

(1) 대파 분쇄추출 농축액 제조

분쇄된 대파 2.6 L를 여과지(Whatman No. 2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

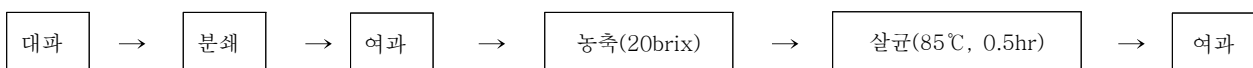


Fig. 30. 대파 분쇄추출 농축액의 제조공정

(2) 대과 열수추출 농축액 제조

분쇄된 대과 1.8L를 교반 후 90℃, 3시간 열수 추출 후 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evapo-rator(EYELA, Japan)로 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

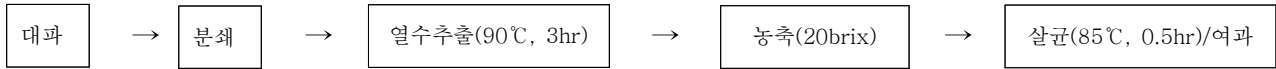


Fig. 31. 대과 열수추출 농축액의 제조과정

(3) 대과 추출 역삼투압 농축액 제조

① 대과 착즙액의 제조

대과 착즙액의 제조는 분쇄된 대과를 여과로포 압착 여과후, 규조토를 통하여 2차 여과하였다.

② 대과 착즙액의 한외여과

2차 여과로 얻어진 대과 착즙액을 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막 특성과 공정은 다음과 같다.

Table 61. 한외여과막의 특성 및 공정조건

material	Polyethersulfone (PES)
Pressure(bar)	2
Temperature(℃)	25
pH	6.0

③ 대과 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 batch system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 15brix에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 62. 역삼투압막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Pressure(bar)	40
Temperature(℃)	25
pH	6.0

라) 무 추출물 제조

(1) 무 분쇄추출 농축액 제조

분쇄된 무 2L를 교반 후 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary

vacuum evaporator (EYELA,Japan)로 20Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

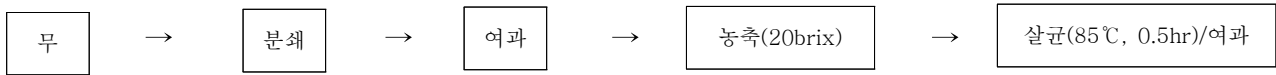


Fig. 32. 무 분쇄추출 농축액의 제조과정

(2) 무 열수추출 농축액 제조

분쇄된 무 1.35L를 교반 후 90℃, 3시간 열수 추출 후 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

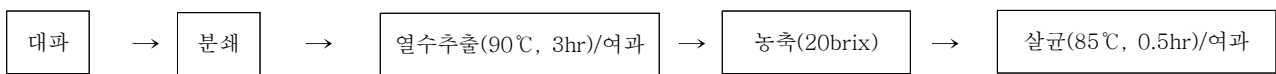


Fig. 33. 무 열수추출 농축액의 제조과정

(3) 무 추출 역삼투압 농축액 제조

① 무 착즙액의 제조

무 착즙액의 제조는 분쇄된 무를 여과포로 압착 여과후, 구조토를 통하여 2차 여과하였다.

② 무 착즙액의 한외여과

2차 여과로 얻어진 양파 착즙액을 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막 특성과 공정은 다음과 같다.

Table 63. 한외여과막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Pressure(bar)	2
Temperature(℃)	25
pH	6.5

③ 무 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 batch system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 15brix에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 64. 역삼투압막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Pressure(bar)	40
Temperature(℃)	25
pH	6.5

마) 토마토 추출물 제조

분쇄된 방울토마토 1L에 Viscozyme L 0.3% 투입 후 45℃, 3시간 효소 분해하여 90℃, 1시간 효소 실활시켜 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균하여 여과하였다.

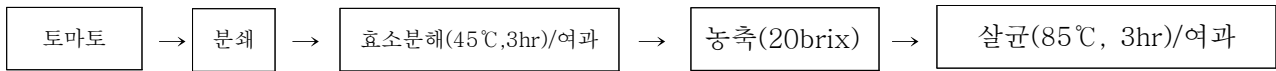


Fig. 34. 토마토 효소분해 농축액의 제조공정

각기 다른 추출 농축 방법으로 제조된 채소추출물은 다음과 같다.

채소추출농축액 14종			
			
양파분쇄추출농축액	양파열수추출농축액	양파역삼투압농축액	
			
마늘분쇄추출농축액	마늘열수추출농축액	마늘효소분해농축액	마늘역삼투압농축액
			
대파분쇄추출농축액	대파열수추출농축액	대파역삼투압농축액	
			
무분쇄추출농축액	무열수추출농축액	무역삼투압농축액	토마토효소분해농축액
			
무분쇄추출농축액	무열수추출농축액	무역삼투압농축액	토마토효소분해농축액

Fig. 35. 채소추출물의 외관

바) 채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)의 초임계유체 추출물 제조

제약, 식품분야에서 특정 성분을 추출하는 방법으로 알려진 초임계유체 추출(supercritical fluid extraction, SFE)공정을 채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)에 적용시켜 천연발효 조미소재로 써, 추출방법에 대한 적합성을 검토하였다.

(1) 재료

실험에 쓰이는 시료의 수분은 추출효율을 감소시키는 요인으로 건조된 시료를 쓰여야 하며, 건조 방법은 예비 실험을 통하여 열풍으로 건조된 시료를 초임계 추출하였을 때, 채소의 가열 취까지 추출되므로 적합한 방법이 아님을 파악하였다. 그러므로 채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)은 동결건조법으로 제작된 분말을 사용하였다.

(2) 실험방법

본 실험은 위해 ENS Nature (중앙대학교, 안성)의 초임계 추출설비를 임대하여 진행하였으며, 초임계유체 추출은 이산화탄소를 용매로써, 단독 사용하지만 추출효율이 낮기 때문에 식품에 사용범위가 가능한 co-solvent로 주정을 사용하였으며, 추출설비와 동결건조된 채소분말의 부피에 따라 그 양을 다르게 하였다.

(3) 결과

채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)에 대한 추출 조건과 수율은 다음과 같다.

Table 65. 채소 4종(양파,마늘, 대파, 무)의 초임계 추출 조건 및 결과

조건	300bar, 30°C, 4hr			
시료	양파동결건조분말	마늘동결건조분말	대파동결건조분말	무동결건조분말
시료량	200.0g	240.0g	120.0g	160.0g
주정투입량	400.0g	480.0g	480.0g	480.0g
추출물량	279.4g	296.7g	396.8g	279.9g
잔사무게	183.2g	240.0g	102.1g	139.3g
이산화탄소투입량	40Kg	40Kg	40Kg	40Kg



Fig. 36. 채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)의 초임계 추출물

결과물에 대하여 주정함량이 매우 높은 영향으로 관능이나 실제 식품원료로써, 판단이 어려웠다. 추가적으로 co-solvent인 주정을 제외하고 추출온도를 40℃로 변경하여 양파의 동결건조 분말만을 추출하였다.

Table 66. 양파동결건조분말의 추출 조건 및 결과

조건	300bar, 40℃, 4hr
시료	양파 동결건조분말
시료량	202.87g
추출물량	1.2g (수율 0.59%)
잔사무게	199.33g

(4) 요약 및 결론

천연발효 조미소재로써, 채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)를 초임계 추출을 실시하였으나, 제품화 가능성이 매우 낮은 방법으로 확인 되었다. 추출 수율을 위해서는 국내 식품 법규 범위에서 co-solvent로 주정이 유일하지만, 해외 수출시 단점이 될 수 있으며, co-solvent 없이 추출하였을 경우, 순수 향기성분에 가까운 에센셜 오일에 가까운데, 이는 해외 수입산 에센셜 오일과 비교했을 때 경제성이 매우 낮음을 확인하였다. 경제성을 위하여 채소의 부산물을 이용 하였을 때는 식품의 건전성을 위해하는 바, 천연 발효 조미소재로써, 채소 추출물을 초임계 추출방법은 적합하지 않음을 확인하였다.

나. 채소추출물의 향미 대사체 분석

1) 채소 및 채소추출물의 향기성분분석

가) 시료의 휘발성 향기성분 추출

시료의 고형분 함량에 따라 일정량의 정제수를 넣고 vortexing하여 이를 5g씩 20mL vial에 넣어 50℃에서 200 rpm으로 40분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS)fiber를 주입하고 40분간 50℃에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

나) 분석 조건

국산 채소의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-5MS를 사용하였으며, 채소의 향기성분은 mass spectral data와retention index (RI)value를 이용하여 확인하였고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C10~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다.

Table 67. GC/MS conditions

Sample 실험량	5g
Column	DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 μm film thickness)
Gas flow rate	0.8mL/min
Oven temp	50℃ (5min) ▶5℃/min ▶120℃ ▶3℃/min ▶200℃ ▶10℃/min ▶250℃/min (2min)

다) 분석 결과

(1) 양파 추출물의 주요 향기성분 비교분석

분쇄된 양파와 양파농축액의 제조방법에 따라 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 총 29종의 향미성분이 동정되었으나 peak area값이 크고 특징적인 물질 8종만을 선정하여 table 35에 정리하였다. 양파 고유의 향기 성분이라 할 수 있는 sulfide 황화합물 7종과 1종의 aldehyde로 4종의 샘플을 비교 분석하였을 때, 제조방법에 따라 휘발성 향기 성분의 전체적 구성과 그에 따른 관능적 description이 상이 하게 달라 각각 향기 특성이 다르다는 것을 확인하였다.

역삼투압 농축액 샘플에서는 초핑분쇄한 양파에서 검출되는 2-methyl-2-pentenal이 분석되었는데, 이 물질은 과일의 과즙향과 풀냄새의 특징⁷⁾을 나타내는 것으로 알려져 있다.^{8,9)} 따라서 분쇄된 양파만의 향긋한 가열되지 않는 향취가 느껴지는 것을 확인할 수 있다. Propyl기가 붙은 sulfide는 양파에서 주로 나타나는 향기 성분으로, 알싸하지만 단맛과 단향이 느껴지는 것이 특징적이다.¹⁰⁾ (z)Propenyl propyl disulfide는 열수추출 농축액과 역삼투압 농축액에서만 확인되었고 propyl trisulfide는 초핑분쇄와 분쇄추출 농축액에서만 동정되었다. 따라서 샘플의 추출 방법에 따른 propyl기 황화합물의 차이를 발견하지는 못하였다. 결과적으로 역삼투압 농축액은 선정된 총 8종의 향기성분들 가운데 6종의 물질이 정성되어 4종의 샘플 중 가장 많은 종류의 성분이 동정되었다.

Table 68. 양파추출농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	초핑분쇄	분쇄추출	열수추출	역삼투압(RO)	Description
1	4.86	Methyl disulfide		✓	✓		sulfurous vegetable cabbage onion
2	7.95	2-methyl-2-pentenal	✓			✓	powerful green grass somewhat fruity gassy
3	11.70	Methyl propenyl disulfide		✓	✓	✓	sulfurous vegetable onion
4	13.05	Dimethyl trisulfide		✓	✓	✓	sulfurous cooked onion savory meaty
5	18.10	(z)Propenyl propyl disulfide 1,5-Dithiocane			✓	✓	sulfurous onion cooked onion
6	21.21	Dimethyl tetrasulfide				✓	garlic meaty sulfurous
7	24.66	Propyl trisulfide	✓	✓			sulfurous green garlic metallic
8	25.14	3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane			✓	✓	sulfurous

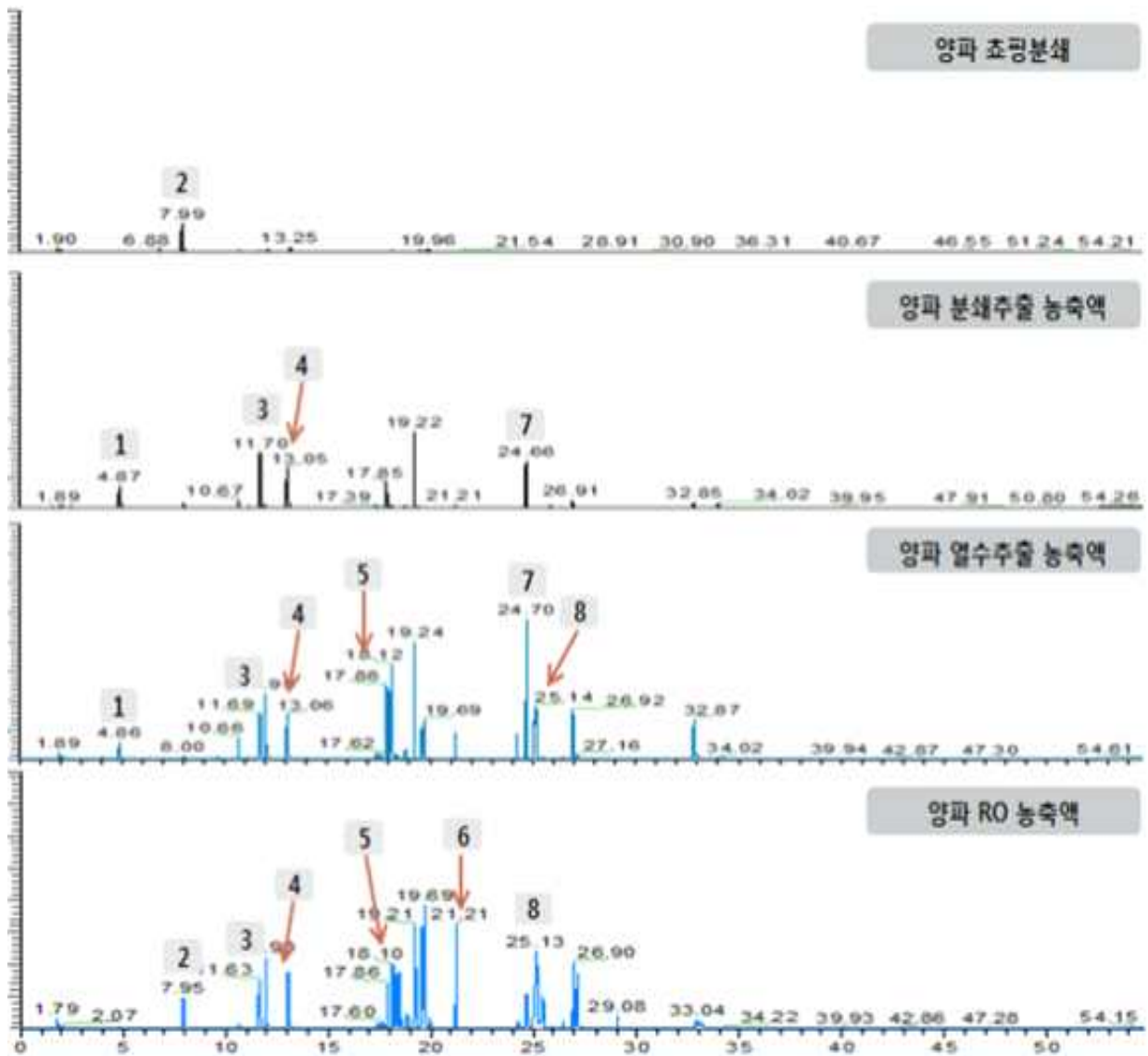


Fig. 37. 양파의 추출 및 농축방법에 따른 향기성분의 chromatogram

(2) 마늘 추출물의 주요향기성분 비교분석

분쇄된 마늘과 마늘농축액의 제조방법에 따라 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 마늘에서는 총 32종의 다양한 향기 성분이 정성되었으나, 마늘의 주요 성분으로 알려져 있는 물질들과 peak area값이 큰 성분들로 10종을 선정하여 아래 table 30에 정리하여 나타내었다. 선정한 10종류의 향기 성분 가운데 aldehyde는 2-butenal과 2-ethenyl-2-butenal로 총 2종이며 나머지 8종은 sulfide 황화합물로 확인되었다(Table 38).

2-Butenal은 floral하고 spicy한 향기 특성을 가진 성분으로 생마늘의 향취와 관련이 있다고 할 수 있는데, 5종의 샘플들 가운데 열수추출 농축액을 제외한 나머지 4종의 샘플에서 모두 확인되었다. 양파와 구별되는 마늘 고유의 향기 성분이라 할 수 있는 allyl 황화합물은 allyl methyl sulfide, diallyl sulfide, diallyl disulfide, methyl allyl trisulfide, diallyl trisulfide, diallyl tetrasulfide로 6종이 동정되었다. Allyl 황화합물의 경우는 제조방법에 따라 휘발성 향기 성분의 전체적 구성이 서로 다르게 판단되어 특별한 패턴을 발견할 수는 없었으나, 비교적 분자량이 작은 allyl methyl sulfide나 diallyl sulfide는 분쇄추출과 열수추출한 농축액에서만 동정되었다. 반면에 diallyl disulfide나 diallyl trisulfide는 5개의 추출물 샘플 모두에서 확인되는 결과가 나타났다. 효소분해하여 얻어진 농축액에서는 다른 농축방법과 달리 diallyl tetrasulfide가 분석되는 특징을 보였다.

결과적으로 양파에 비하여 마늘 추출액은 5개 샘플의 향기성분패턴이 유사하기는 하였으나, 그 중에서도 분쇄추출법 및 열수추출법으로 얻은 농축액의 향기성분 구성이 더 비슷하게 나타나는 것을 확인하였다. 또한 마늘을 초핑 분쇄한 것과 이것을 역삼투압으로 농축한 것이 비슷한 패턴으로 나타났으며, 효소분해하여 얻어진 농축액은 또 다른 특성을 가지는 것으로 분류되었다.

Table 69. 마늘추출농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	초핑분쇄	분쇄추출	열수추출	효소분해	역삼투압(RO)	Description
1	2.98	2-Butenal	✓	✓		✓	✓	Flower
2	3.67	Allyl methyl sulfide		✓	✓			allieaceous garlic onion
3	8.26	2-Ethenyl-2-butenal				✓		unknown
4	8.92	Diallyl sulfide		✓	✓			pungent sulfurous onion garlic horseradish metallic
5	13.05	Dimethyl trisulfide				✓		sulfurous allieaceous gassy savory meaty fresh vegetable
6	16.96	Diallyl disulfide	✓	✓	✓	✓	✓	Allieaceous, onion and garlic-like with metallic nuances
7	17.91	1,3-dithiane	✓			✓	✓	onion garlic metallic
8	18.63	Methyl allyl trisulfide		✓	✓	✓	✓	allieaceous creamy garlic onion
9	23.96	Diallyl trisulfide	✓	✓	✓	✓	✓	garlic green onion metallic
10	31.97	Diallyl tetrasulfide				✓		garlic onion

(3) 대파 추출물의 주요향기성분 비교분석

분쇄된 대파와 대파추출물의 제조방법에 따라 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 대파는 총 37종의 성분이 분석되었으나 대파의 주요 향기 성분이라고 문헌상 알려져 있는 물질들과 더불어 peak area값이 큰 성분들을 8종 선정하여 아래 table 39에 나타내었다. 대파는 타 채소들에 비하여 추출 공정과정의 변화에 따라 향기 특성 차이가 매우 다르게 나타나는 것이 특징적이다. 따라서 어떠한 추출방법을 선택하느냐가 대파향의 품질을 결정짓는 것에 큰 영향을 미칠 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 아래 4종의 샘플에서는 추출 농축방법을 사용한 것으로 구분되었다.

앞선 양파 농축액 결과에서 확인했던 신선한 floral, green취에 영향을 미치는 2-methyl-2-pentenal은 초핑 분쇄된 대파와 역삼투압 농축액에서만 동정되어, 대파 자체의 향취가 역삼투압 농축액에 그대로 남아있다는 것을 확인하였다. 그 외에도 대파 역삼투압 공정을 거친 농축액은 아래에 선정한 8종류의 향기 성분이 모두 정성되어, 분쇄추출 농축액과 열수추출 농축액에 비해 다양한 향기 성분이 손실되지 않고 그대로 유지되는 결과가 나타났다.

가열농축 방법을 사용한 분쇄추출과 열수추출 농축액 두 샘플을 비교하자면, 분쇄 추출한 농축액에서는 methyl propenyl disulfide, methyl propenyl trisulfide, 3,5-diethyl-1,2,4-trithiolane가 동정되었다. 그러나 상대적으로 더 높은 온도에서 가열시간이 길게 가지는 열수추출 농축액의 경우 이 성분들을 확인할 수 없었다. 또한 대파 열수추출 농축액은 역삼투압 농축액에 비하여 20 brix 정도의 더 높은 농도로 농축되었음에도 불구하고 동정되는 향기 성분의 종류가 적어, 대파의 다양한 향을 모두 추출하기에는 적합하지 않은 방법으로 판단된다.

결과적으로 대파는 양파나 마늘에 비하여 추출방법이 농축액의 향기 품질을 결정짓는 매우 중요한 요소인 것으로 생각되며, 역삼투압 농축액이 다양한 향기 성분을 정성할 수 있는 추출 방법인 것으로 실험 결과 확인되었다.

Table 70. 대파추출농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	초핑분쇄	분쇄추출	열수추출	역삼투압(RO)	Description
1	7.95	2-Methyl-2-pentenal	✓			✓	powerful green grass somewhat fruity gassy alliaceous garlic onion
2	11.99	Methyl propenyl disulfide		✓	✓	✓	sulfurous cooked onion
3	18.11	Propenyl propyl disulfide	✓	✓		✓	onion, garlic, green, metallic
4	19.95	Methyl propenyl trisulfide		✓		✓	garlic, meaty
5	21.19	Dimethyl tetrasulfide				✓	sulfurous alliaceous pungent green onion tropical vegetable
6	24.65	Propyl trisulfide				✓	sulfurous
7	25.14	3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane		✓		✓	
8	32.83	Diallyl tetrasulfide				✓	sulfurous

(4) 무 추출물의 주요향기성분 비교분석

분쇄된 무와 무농축액의 제조방법에 따라 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 총 20종의 서로 다른 물질들이 확인되었으나 peak area값이 커 크로마토그램 상으로 비교 분석이 가능한 4종의 성분들만을 선정하여 아래 table 40에 나타내었다. ethanol을 제외하고 methyl disulfide, dimethyl trisulfide, dimethyl tetrasulfide의 3종류는 모두 sulfide 황화합물로 확인되었다.

문헌상에 알려져 있는 무의 주요한 향기 성분으로는 3-methylthiopropyl isothiocyanate, 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate, 4-methylthiobutyl isothiocyanate 등의 isothiocyanate 기 물질들이다.¹⁰⁾ 이 성분들은 황이 함유된 당류의 일종에서 유래하는데, 브로콜리, 와사비, 배추와 같은 채소들이 썰거나 갈기 등의 조리예 의해 파괴되면 isothiocyanate기가 생성되면서 알싸하고 코를 톡 쏘는 특유의 향미가 나타나게 된다.¹⁰⁾ 이번 분석에서 위의 물질들이 동정되기는 하였으나 peak area값이 너무 작게 분석되어 아래 table과 크로마토그램 상에는 표시하지 않았다. 무를 각기 다른 방법으로 농축한 4종류의 샘플에서 향기 성분에 따른 큰 차이가 확인되지 않았다. 열수추출한 농축액에서만 dimethyl tetrasulfide가 동정되지 않는 결과가 보였으나, 그 외에는 모두 유사한 패턴으로 나타났다.

Table 71. 무추출농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	효평분쇄	분쇄추출	열수추출	역삼투압(RO)	Description
1	7.95	Ethanol	✓	✓	✓	✓	strong alcoholic ethereal medical
2	11.99	Methyl disulfide	✓	✓	✓	✓	sulfurous vegetable cabbage onion
3	18.11	Dimethyl trisulfide	✓	✓	✓	✓	sulfurous alliaceous gassy savory meaty fresh vegetable
4	19.95	Dimethyl tetrasulfide	✓	✓		✓	garlic meaty sulfurous

3) 채소 및 채소추출물의 정량분석

분쇄된 채소는 여과지(Whatman No.2, Maidstone, England)로 여과하여 사용했다.

가) 채소(양파, 마늘, 대파) 및 채소 추출농축액의 Pyruvic acid 함량분석

DNPH(2,4-dinitrophenylhydrazine, sigma aldrich, USA)를 2 N염산에 용해시켜 0.0125% 용액을 만들어 사용하였고. pyruvate 표준품으로는 sodium pyruvate(sigma aldrich, USA)를 사용하였다. Pyruvic acid 정량은 샘플시료100 μL에 DNPH 4 mL을 넣어37°C 항온수조에서 반응시키고, 10분후에 반응을 종료 시키기 위하여 1N NaOH 8mL을 넣어준 후 spectrophotometer(UV-1201, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 485 nm에서 흡광도를 측정하였다.

나) 채소(양파, 마늘, 대파) 및 채소 추출농축액의 Pyruvic acid 정량비교

양파, 마늘 및 대파 등 Allium속 식물들의 향미성분은 주로 휘발성 황화합물에 기인하는 것으로, 이는 그 전구물질인 alliin의 분해과정에서 형성된 것으로 알려지고¹⁰⁾ 있으며, 무색, 무취인 alliin은 cysteine-sulfoxide lyase(alliinase, EC. 4.4.1.4)의 작용으로 생성된 alliin과 2개의 분자의 pyruvate 및 ammonia로 분해되는 과정에서 생성된다. 즉 diallyl thiosulfinate는 매우 불안정하기 때문에 곧 비효소적 반응으로 thiosulfonate와 diallyl disulfide등으로 분해되면서 마늘 특유의 flavor를 생성하게 된다고 알려져 왔다. Alliin은 독특한 향미 성분으로서 양파, 마늘 및 대파등의 저장이나 가공 중 중요한 품질지표로 사용되지만 불안정한 상태로 존재하여 측정이 어렵기 때문에 alliin의 구조상 결합물질인 유황성분 혹은 최종분해물질인 Pyruvic acid 함량을 측정하고 있다. 따라서 pyruvic acid 함량은 마늘 및 양파의 향미성분과 높은 상관관계가 있어 Allium속 식물의 향미성분을 측정하는 간접적인 척도로서 많이 이용되고 있다.

각 채소를 분쇄하여 각기 다른 농축제조 방법에 따라 pyruvic acid의 함량을 측정하였다. 각 채소농축액의 농축정도가 조금씩 다르지만, 역삼투압 농축방법에 비해 분쇄추출, 열수추출 및 효소분해의 농축방법이 상대적으로 pyruvic acid의 함량이 적게 검출 되었다. 이는 공정에서 손실 및 변성이 추정되며, 각 채소추출물의 농축액에 대하여 향기성분 분석과도 비교해 볼 때, Allium속 역삼투압 농축액의 제조 공정상 지표물질로 적합함을 판단하였다.

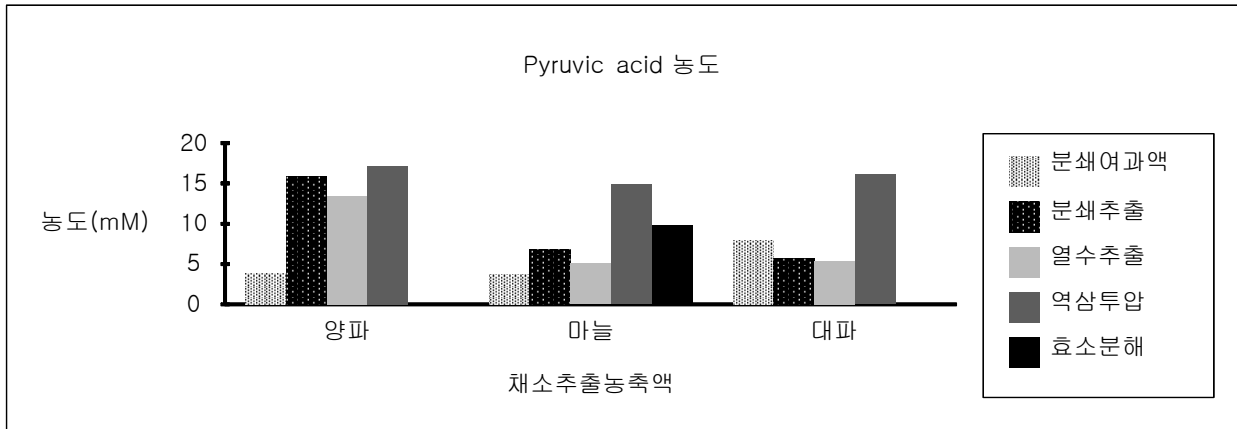


Fig. 38. 양파, 마늘 및 대파 추출 농축액의 Pyruvic acid 농도

다) 무 및 무 추출농축액의 Glucosinolate 함량 분석

Glucosinolates는 Brassicaceae에 다량 함유되어있고 flavor precursor로서, 식물체내에서 glucosinolate와 결합되어있는 myrosinase(thioglucoside glucohydrolase)가 식물조직이 파괴되어지거나 자가소화가 일어날때 세포로부터 방출되어glucosinolate를 분해시키며 이때 isothiocyanate, thiocynate, nitrile 등의 분해산물을 형성시키며 십자화과의 특징적인 관능을 나타내는 것으로 알려져 있다.

관능적 특징에 영향을 주는 성분으로써 분쇄된 상태 및 각기 다른 제조 공정에 따라 존재 유무를 확인해 보았다. 시료는 water(HPLC grade)를 사용하여 10배 희석 후, 0.45µm membrane filter로 여과하여 HPLC로 다음과 같은 조건에서 분석하였다. 표준시약으로는 (-)-Sinigrin hydrate (Sigma-Aldrich, USA)로 사용하였다.

Table 72. Glucosinolate의 HPLC condition

Parameter	Condition
Column	C18 column (4.6 × 250mm, 5µm)
Time	32min
Mobile phase	A: 100% water B: 20% acetonitrile (v/v)
Gradient	Time : 0 , 18, 29, 32 A% : 99, 1 B% : 1, 99
Flow rate	1.0ml/min
Temp	room temp
Injection volume	10µl
wavelength	227nm

라) 무 및 무 추출농축액의 Glucosinolate 정성 정량 비교

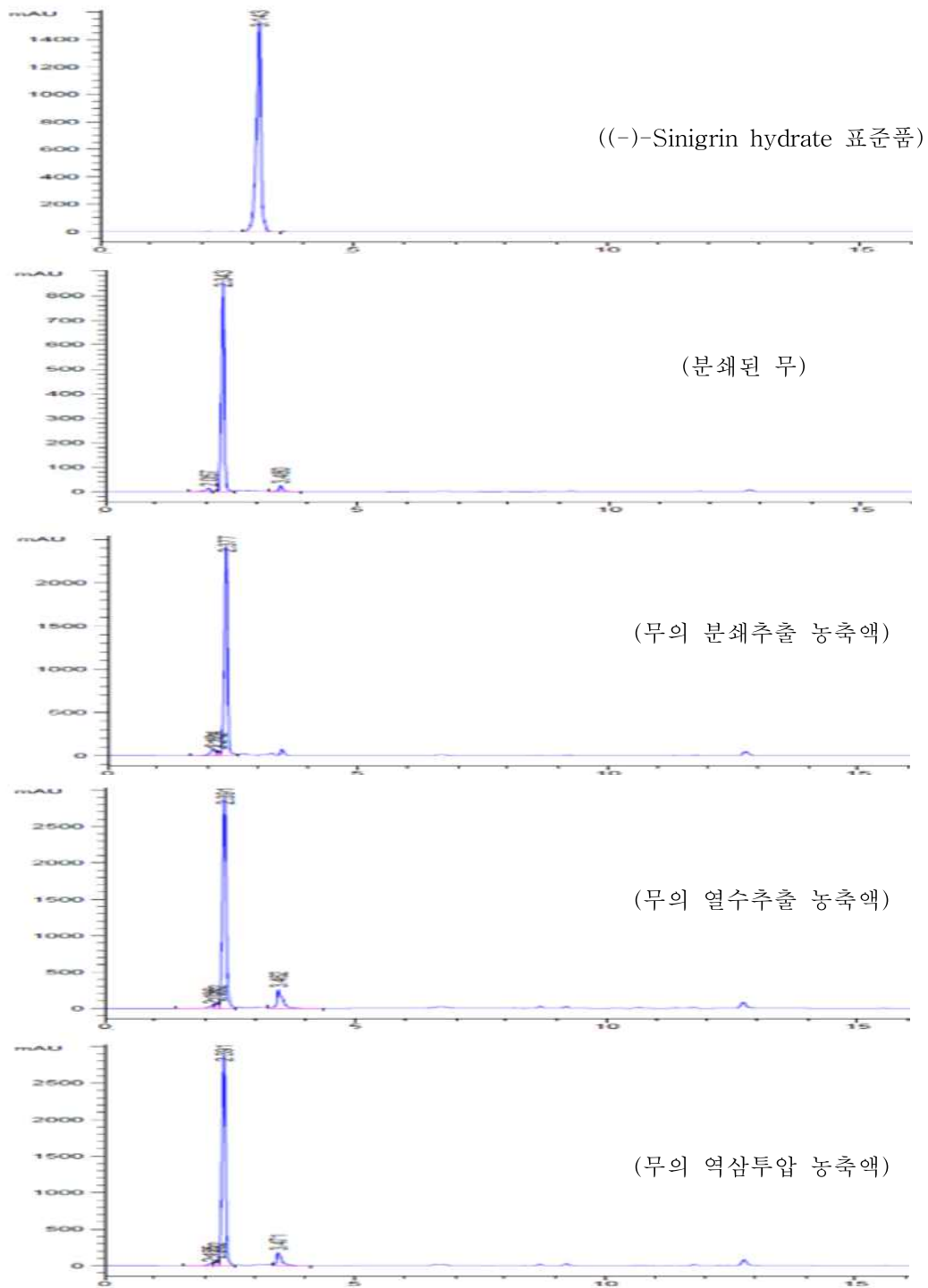


Fig. 39. 추출 및 농축방법에 따른 무 추출농축액의 Glucosinolate의 HPLC chromatogram

정성분석의 결과 확인을 위하여 spiking 과정을 실시하였으나, 각 시료에 대하여 glucosinolate 성분이 분석 되지 않았음을 보였다. 이는 무의 분쇄 공정중 모두 glucose 및 isothiocyanate, thiocyanate, nitrile 등의 분해산물을 형성되었음을 추정되나, Solid phase microextraction을 이용한 향기 성분 분석에서는 정성되지 않아 생성 여부나 공정중 손실 및 변성이었는지 추가적인 확인이 필요하다.

마) 무 및 무 추출농축액의 관능비교

무의 추출농축 제조공정에 대하여 선정하기 위하여 분쇄하여 여과한 무 착즙액을 표준으로 사내 10명을 대상으로 aroma description을 통일하여 Freshness(신선감), Grassy(풋내), Sour(신냄새), Burnt(탄냄새), Boiled(삶은 냄새), Caramel(설탕조림냄새)의 냄새강도를 항목으로 10점 채점법으로 실시하였다(Fig. 24). 평가한 내용은 다음그림과 같이 나왔으며, 비가열 추출농축방법인 역삼투압 농축액이 무 분쇄여과액과 유사하게 나왔으며, 가열공정인 분쇄추출농축액과 열수 추출농축이 같은 경향을 보였다.

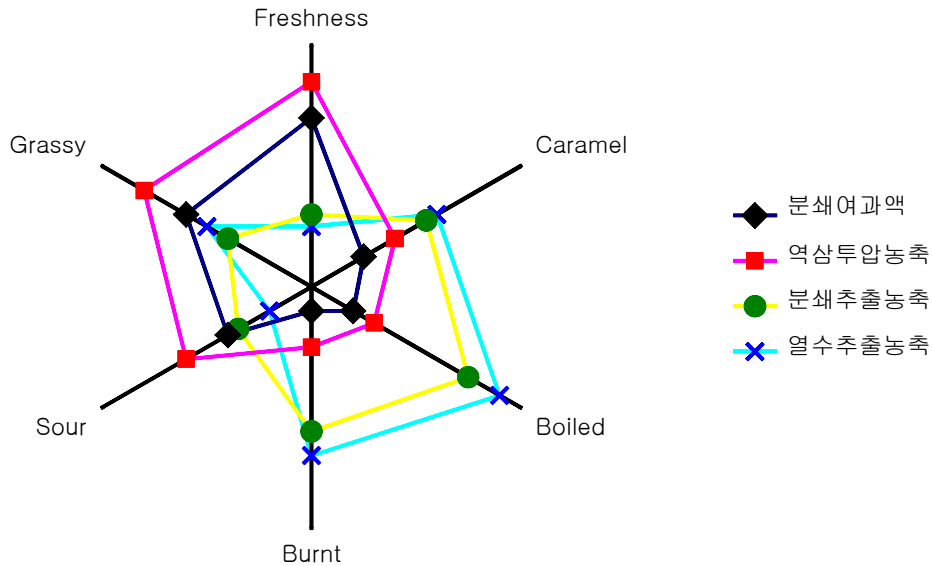


Fig. 40. 무의 추출 및 농축방법에 따른 시료의 관능비교

바) 토마토 추출농축액의 Glutamic acid 함량

(1) Glutamic acid 함량 분석방법

유리아미노산 분석은 HPLC(제조사:SYKAM, 모델명: S7130)를 이용하였으며 Ninhydrin과 반응시켜 발색(UV spectrum 570nm, 440nm)에서 검출 분석하였다.

(2) Glutamic acid의 정량

조미소재로써 방울토마토 효소분해 농축액의 glutamic acid함량을 알아보기 위해 토마토를 같은 제조 공정으로 효소분해 농축액을 제조하였으며 그 함량은 다음과 같다.

Table 73. 토마토와 방울 토마토의 Glutamic acid 함량

함량	토마토	방울토마토
Glutamic acid 함량 (% / brix)	3.65	5.23
Glutamic acid 함량 (g) / 100g	0.12	0.28

방울토마토는 일반 토마토보다 약 2배 이상의 함량을 보여 선정하게 되었다.

4) 채소추출물 모듈 확립

가) 양파, 마늘, 대파, 무의 추출 및 농축법 확립

채소 4종(양파, 마늘, 대파, 무)은 관능에 주요영향인자로서, 추출 및 농축방법에 따라 그 특징이 매우 달라졌다. Allium속 식물(양파, 마늘, 대파)들의 향미성분 분석은 alliin의 분해과정의 생성산물인 pyruvic acid의 함량과 향기성분을 분석하였다. 그 결과 채소를 분쇄하여 추출 후 비가열방식인 역삼투압 농축방법으로 제조된 농축액이 가열제조공정이 있는 분쇄추출농축액과 열수추출농축액보다 적합한 제조공정으로 판단되며, 무 추출농축액의 관능평가 결과에서도 역삼투압 농축방법이 무 고유의 풍미와 유사함을 나타냈다.

과채류의 농축액은 포장, 수송, 저장비용을 절감하는 경제성과 가공식품의 공정 편의성을 요구되며, 최근에는 향기의 특성을 부여한 제품이 요구된다. 이와 관련한 농축방법으로는 크게 증발농축법, 냉동농축법 한외여과(UF) 및 역삼투압(RO)과 같은 막분리를 이용한 방법이 있지만, 크게 가열공정을 이용한 방법과 비가열 방법으로 나뉘본다면 이번 실험에서의 양파, 마늘, 대파, 무의 추출 및 농축방법은 향 페턴에 따라 응용 제품을 개발 할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

나) 토마토의 감칠맛 소재화

채소 중에 토마토는 Glutamic acid의 함량이 높은 것으로 알려져 있으나, Ahn의 연구에서는 방울토마토의 품종간의 차이는 있으나, 약 1800mg~2400mg/100g(dry weight)의 함량을 보여 조미식품의 감칠맛 소재로 장점으로 판단되어 토마토와 방울토마토의 Glutamic acid의 함량을 확인하였고, 유리 아미노산을 활용하기 위하여 추출 및 농축방법을 최적화 하였다.

방울토마토의 Glutamic acid의 함량은 품종, 작황의 상태에 따라 변동이 예상되므로 천연발효조미소재 개발에 중요 소재로서, Glutamic acid의 목표 함량에 따라 농축정도를 조절하여 최종 제품에 반영할 계획이다.

다. 제조공정 Scale-up 및 시제품 제작

1) 재료 및 제조 공정

국내산 채소5종(마늘, 양파, 대파, 무, 방울토마토)을 구매하여 제이팜스(충남 공주)에서 초핑기로 분쇄하여 60mesh로 여과하여 사용하였다.



Fig. 41. Pilot filter press (SCFP-630 R+M 4 30)

가) 양파 추출 역삼투압 농축액 제조

(1) 양파 착즙액의 제조

여과액에 규조토를 혼합한 후, 필터프레스로 압착 여과하여 양파 착즙액을 얻었다. 필터프레스는 JsPT社의 Pilot filter press (SCFP-630 R+M 4 30) 모델을 사용하였다.

(2) 양파 착즙액의 한외여과

필터프레스로 얻어진 양파 착즙액으로 한외여과를 시행하였다. 막특성 및 막분리 조건은 다음과 같다.

Table 74. 한외여과막의 특성 및 공정조건

Manufacture	Koch社
Model No.	3838MFK-618
Material	Polyethersulfone (PES)
Pore size	0.1 micron
Pressure	4.0 kgf/cm ²
Type	spiral
Temperature(℃)	25
pH	6.5

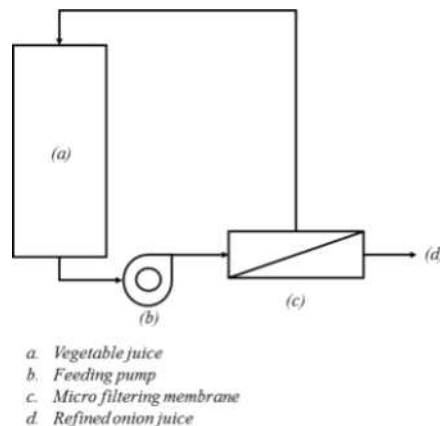


Fig. 42. 한외여과장치의 도면

(3) 양파 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 continouse system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 20birx에 도달후 종료하였다. 역삼투압 농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 75. Reverse osmosis membrane의 특성 및 공정조건

Manufacture	Filmtec 社
Model No.	LC HR-4040
Material	Polyamide
Pore size	100 M/W
Min. salt rejection	99.5%
Pressure	600psig
Type	spiral
Temperature(℃)	25
pH	6.5

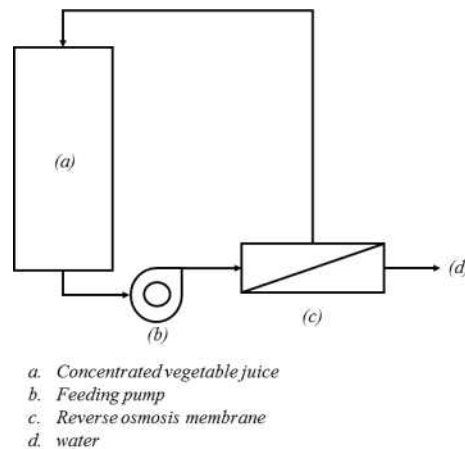


Fig. 43. 역삼투압 농축 장치의 도면

나) 마늘 추출 역삼투압 농축액 제조

(1) 마늘 착즙액의 제조

분쇄된 마늘을 60mesh로 여과한 여과액과 여과후 잔사를 Viscozyme L 0.5%로 45℃에서 4시간 가수분해해서 얻어진 분해액을 혼합하였다. 이에 규조토 혼합후, 필터프레스로 압착 여과하여 마늘 착즙액을 얻었다.

(2) 마늘 착즙액의 한외여과

필터프레스로부터 얻어진 마늘 착즙액으로 한외여과를 시행하였으며, 막특성 및 조건, 장치는 Table 74와 Figure 42와 같다.

(3) 마늘 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 continouse system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 20birx에 도달후 종료하였다. 역삼투압 농축의 막특성과 공정은 Table 75와 Figure 43과 동일하다.

다) 대파 추출 역삼투압 농축액 제조

(1) 대파 착즙액의 제조

분쇄된 대파를 60mesh로 여과하여 구조토로 혼합한 후, 필터프레스로 압착 여과하여 대파 착즙액을 얻었다.

(2) 대파 착즙액의 한외여과

필터프레스로부터 얻어진 대파 착즙액을 한외여과로 시행하였으며, 막특성 및 조건, 장치는 Table 74와 Figure 42와 같다.

(3) 마늘 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 continouse system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 15birx에 도달후 종료하였다. 역삼투압 농축의 막특성과 공정은 Table 75와 Figure 43와 동일하다.

라) 무 추출 역삼투압 농축액 제조

(1) 무 착즙액의 제조

분쇄된 무를 60mesh로 여과하여 구조토로 혼합한 후, 필터프레스로 압착 여과하여 무 착즙액을 얻었다.

(2) 무 착즙액의 한외여과

필터프레스로부터 얻어진 무 착즙액을 한외여과로 시행하였으며, 막특성 및 조건, 장치는 Table 74와 Figure 42와 같다.

(3) 무 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 continouse system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 15birx에 도달후 종료하였다. 역삼투압 농축의 막특성과 공정은 Table 75와 Figure 43와 동일하다.

마) 토마토 추출 농축액 제조

분쇄된 방울토마토를 발효 탱크에 투입하고, Viscozyme L 0.3%(w/w) 첨가하여 45℃, 3시간 동안 효소 분해를 시행하고, 구조토 혼합하여 필터프레스 여과하였다. 여과액은 70℃에서 강제 순환식 농축기로 감압 농축하고 90℃, 30분간 살균하였다.

2) 결과

토마토를 제외한 양파, 마늘, 대파, 무의 추출물은 모두 동일하게 역삼투압 방식의 농축제조 방법으로 제조하였다. 이러한 제조방법을 사용한 이유는 고유의 향기성분을 유지하기 위하여 비가열 방식의 제조방법을 선택하였다. 토마토추출농축액은 향기성분의 유지보다는 glutamic acid의 추출을 위하여 감압농축방식을 선택하였다.

라. 채소추출물 모듈의 Lab-scale과 Pilot-scale 향기성분 비교

1) 채소(양파, 마늘, 대파, 무) 추출 역삼투압 농축액의 향기성분분석

가) 시료의 휘발성 향기성분 추출

시료의 고형분 함량에 따라 일정량의 정제수를 넣고 vortexing하여 이를 5g씩 20mL vial에 넣어 50℃에서 200 rpm으로 40분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면

SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS)fiber를 주입하고 40분간 50℃에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

나) 분석 조건

국산 채소의 역삼투압 농축액에서 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-5MS를 사용하였으며, 채소의 향기성분은 mass spectral data와 retention index (RI) value를 이용하여 확인하였고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C10~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다.

Table 76. GC/MS conditions

Sample 실험량	5g
Column	DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 µm film thickness)
Gas flow rate	0.8mL/min
Oven temp	50℃ (5min) ▶5℃/min ▶120℃ ▶3℃/min ▶200℃ ▶10℃/min ▶250℃/min (2min)

다) 분석 결과

(1) 양파 추출 역삼투압 농축액의 주요향기성분 비교분석

산업화 생산을 위하여 역삼투압(reverse osmosis) 농축방법에 따라 소규모 제작용(lab-scale)과 양산화를 위한 시제품(Pilot-scale)의 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 총 29종의 향미성분이 동정되었으나 peak area값이 크고 특징적인 물질 8종만을 선정하여 Table 77에 정리하였다. 양파 고유의 향기 성분이라 할 수 있는 sulfide 황화합물 7종과 1종의 aldehyde가 검출되었으며, 양파에서 검출되는 2-methyl-2-pentenal이 분석되었는데, 이 물질은 과일의 과즙향과 풀냄새의 특징을 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 분쇄된 양파만의 향긋하고 가열되지 않는 향취가 느껴지는 것을 소규모 제작용과 시제품 모두 나타났으며, Propyl기가 붙은 sulfide는 양파에서 주로 나타나는 향기 성분으로, 알싸하지만 단맛과 단향이 느껴지는 것이 특징으로 (z)Propenyl propyl disulfide과 propyl trisulfide 모두 검출되어 농축액의 양산화 단계에 적합함을 알 수 있었다.

Table 77. 양파추출 역삼투압 농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	Description	Lab	Pilot
1	4.86	Dimethyl disulfide	sulfurous vegetable cabbage onion	✓	
2	7.95	2-methyl-2-pentenal	powerful green grass somewhat fruity gassy	✓	✓
3	11.70	Methyl propenyl disulfide	sulfurous vegetable onion	✓	✓
4	13.05	Dimethyl trisulfide	sulfurous cooked onion savory meaty	✓	✓
5	18.10	(z)Propenyl propyl disulfide 1,5-Dithiocane	sulfurous onion cooked onion	✓	✓
6	21.21	Dimethyl tetrasulfide	garlic meaty sulfurous	✓	✓
7	24.66	Propyl trisulfide	sulfurous green garlic metallic	✓	✓
8	25.14	3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane	sulfurous	✓	✓

(2) 마늘 추출 역삼투압 농축액의 주요향기성분 비교분석

산업화 생산을 위하여 역삼투압(reverse osmosis) 농축방법에 따라 소규모 제작용(lab-scale)과 양산화를 위한 시제품(Pilot-scale)의 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 마늘에서는

총 32종의 다양한 향기 성분이 정성되었으나, 마늘의 주요 성분으로 알려져 있는 물질들과 peak area값이 큰 성분들로 11종을 선정하여 아래 Table 78에 정리하여 나타내었다. 선정된 11종류의 향기 성분 가운데 aldehyde는 2-butenal과 hexanal로 총 2종이며 나머지 6종은 sulfide 황화합물로 확인되었다(Table 77). 2-Butenal은 floral하고 spicy한 향기 특성을 가진 성분으로 생마늘의 향취와 관련이 있다고 할 수 있으며, hexanal은 생 식물체에서 풋내 및 풀냄새의 특징을 갖고 있다. 마늘 고유의 향기 성분이라 할 수 있는 allyl 황화합물은 methyl allyl trisulfide, diallyl disulfide, diallyl trisulfide로 3종이 동정되었다. Allyl 황화합물의 경우는 제조 공정 조건에 따라 다른 황화합물로 변화 될 수 있지만 양산화를 위한 공정에서는 변화가 없었으며, 두 시료에서의 향기성분 차이가 없었다.

Table 78. 마늘 추출 역삼투압 농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	Description	Lab	Pilot
1	2.76	Methylthiirane	fresh garlic	✓	✓
2	2.98	2-Butenal	flower	✓	✓
3	6.50	Hexanal	glass leafy	✓	✓
4	10.11	3,4-dimethylthiophene	savory roasted onion	✓	✓
5	13.45	β-Pinene	dry woody fresh pine hay green resinous	✓	✓
6	15.05	Limonene	terpenic pine herbal peppery	✓	✓
7	16.96	Diallyl disulfide	Alliaceous, onion and garlic-like with metallic nuances	✓	✓
8	17.91	1,3-dithiane	onion garlic metallic	✓	✓
9	18.63	Methyl allyl trisulfide	alliaceous creamy garlic onion	✓	✓
10	23.96	Diallyl trisulfide	garlic green onion metallic	✓	✓
11	31.54	β-Caryophyllene	Sweet woody-spice clove dry tenacious	✓	

(3) 대과 추출 역삼투압 농축액의 주요향기성분 비교분석

산업화 생산을 위하여 역삼투압(reverse osmosis) 농축방법에 따라 소규모 제작품(lab-scale)과 양산화를 위한 시제품(Pilot-scale)의 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다. 농축액에서 총 37종의 성분이 분석되었으나 대과의 주요 향기 성분이라고 문헌상 알려져 있는 물질들과 더불어 peak area값이 큰 성분들을 8종 선정하여 아래 Table 79에 나타내었다.

앞선 양과 추출 역삼투압 농축액 결과에서 확인했던 신선한 fruity, green취에 영향을 미치는 2-methyl-2-pentenal이 동정되었으며, 공정을 거친 농축액은 아래에 선정된 8종류의 향기 성분이 모두 정성되어, 두 시료의 주요 향기성분 모두 검출되었다.

두 시료간의 차이는 휘발성 향기성분의 정성적인 부분에서 차이가 없음을 확인하였고, 향기성분의 주요 역할을 하는 황화합물 성분도 동일하게 정성되었다.

Table 79. 대과 추출 역삼투압 농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	Description	Lab	Pilot
1	7.95	2-Methyl-2-pentenal	powerful green grass somewhat fruity gassy	✓	✓
2	11.99	Methyl propenyl disulfide	alliaceous garlic onion	✓	✓
3	18.11	Propenyl propyl disulfide	sulfurous cooked onion	✓	✓
4	19.95	Methyl propenyl trisulfide	onion garlic green metallic	✓	✓
5	21.19	Dimethyl tetrasulfide	garlic, meaty	✓	✓
6	24.65	Propyl trisulfide	alliaceous pungent green onion tropical vegetable	✓	✓
7	25.14	3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane	sulfurous	✓	✓
8	32.83	Diallyl tetrasulfide	sulfurous	✓	✓

(4) 무 추출 역삼투압 농축액의 주요향기성분 비교분석

산업화 생산을 위하여 역삼투압(reverse osmosis) 농축방법에 따라 소규모 제작용품(lab-scale)과 양산화를 위한 시제품(Pilot-scale)의 휘발성 향기 성분을 분석하여 비교하였다.

제조방법에 따라 농축된 무 추출 역삼투압 농축에서는 총 20종의 서로 다른 물질들이 확인되었으나 peak area값이 큰 크로마토그램 상으로 비교 분석이 가능한 4종의 성분들만을 선정하여 아래 Table 80에 나타내었다. Ethanol을 제외하고 methyl disulfide, dimethyl trisulfide, dimethyl tetrasulfide의 3종류는 모두 sulfide 황화합물로 확인되었다.

문헌상에 알려져 있는 무의 주요한 향기 성분으로는 3-methylthiopropyl isothiocyanate, 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate, 4-methylthiobutyl isothiocyanate 등의 isothiocyanate가 주요 향기성분 및 자극성 물질들이고, 이 성분들은 향이 함유된 당류의 일종에서 유래하는데, 브로콜리, 와사비, 배추와 같은 채소들이 썰거나 갈기 등의 조리법에 의해 파괴되면 isothiocyanate가 생성되면서 알싸하고 코를 톡 쏘는 특유의 향미가 나타나게 된다. 하지만 이번 분석에서 위의 물질들이 동정되기는 하였으나 peak area값이 너무 작게 분석되었으며, 황화합물로서 무의 특징적인 향기성분을 아래 Table 80에 표기하였고, 소규모 제작용품과 양산화의 시제품에서의 차이를 확인하였다.

Table 80. 무 추출 역삼투압 농축액의 SPME (Solid phase microextraction) 비교분석

No	RT	Compounds	Description	Lab	Pilot
1	7.95	Ethanol	strong alcoholic ethereal medical	✓	✓
2	11.99	Methyl disulfide	sulfurous vegetable cabbage onion	✓	✓
3	18.11	Dimethyl trisulfide	sulfurous alliaceous gassy savory meaty fresh vegetable	✓	✓
4	19.95	Dimethyl tetrasulfide	garlic meaty sulfurous	✓	✓

2) 채소(양파, 마늘, 대파) 추출 역삼투압 농축액의 정량분석

가) 채소(양파, 마늘, 대파) 추출 역삼투압 농축액의 Pyruvic acid 함량분석

DNPH(2,4-dinitrophenylhydrazine, sigma aldrich, USA)를 2 N염산에 용해시켜 0.0125% 용액을 만들어 사용하였고, pyruvate 표준품으로는 sodium pyruvate(sigma aldrich, USA)를 사용하였다. Pyruvic acid 정량은 샘플시료 100 µL에 DNPH 4 mL을 넣어 37°C 항온수조에서 반응시키고, 10분 후에 반응을 종료시키기 위하여 1N NaOH 8mL을 넣어준 후 spectrophotometer(UV-1201, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 485 nm에서 흡광도를 측정하였다.

나) 채소(양파, 마늘, 대파) 추출 역삼투압 농축액의 Pyruvic acid 정량비교

양파, 마늘 및 대파 등 Allium속 식물들의 향미성분은 주로 휘발성 황화합물에 기인하는 것으로, 이는 그 전구물질인 alliin의 분해과정에서 형성된 것으로 알려지고 있으며, 무색, 무취인 alliin은 cysteine-sulfoxide lyase(alliinase, EC. 4.4.1.4)의 작용으로 생성된 allicin과 2개의 분자의 pyruvate 및 ammonia로 분해되는 과정에서 생성된다. 즉 diallyl thiosulfinate는 매우 불안정하기 때문에 곧 비효소적 반응으로 thiosulfonate와 diallyl disulfide등으로 분해되면서 마늘 특유의 flavor를 생성하게 된다고 알려져 있다. Allicin은 독특한 향미 성분으로서 양파, 마늘

및 대파등의 저장이나 가공 중 중요한 품질지표로 사용되지만 불안정한 상태로 존재하여 측정이 어렵기 때문에 allicin의 구조상 결합물질인 유황성분 혹은 최종분해물질인 Pyruvic acid 함량을 측정하고 있다. 따라서 pyruvic acid 함량은 마늘 및 양파의 향미성분과 높은 상관관계가 있어 Allium속 식물의 향미성분을 측정하는 간접적인 척도로서 많이 이용되고 있다.

각 채소를 분쇄하여 각기 다른 농축제조 방법에 따라 pyruvic acid의 함량을 측정하였다. 각 채소농축액의 농축정도가 조금씩 다르지만, 역삼투압 농축방법에 비해 분쇄추출, 열수추출 및 효소분해의 농축방법이 상대적으로 pyruvic acid의 함량이 적게 검출 되었다. 이는 공정에서 손실 및 변성이 추정되며, 각 채소추출물의 농축액에 대하여 향기성분 분석과도 비교해 볼 때, Allium속 역삼투압 농축액의 제조 공정상 지표물질로 적합함을 판단하였다.

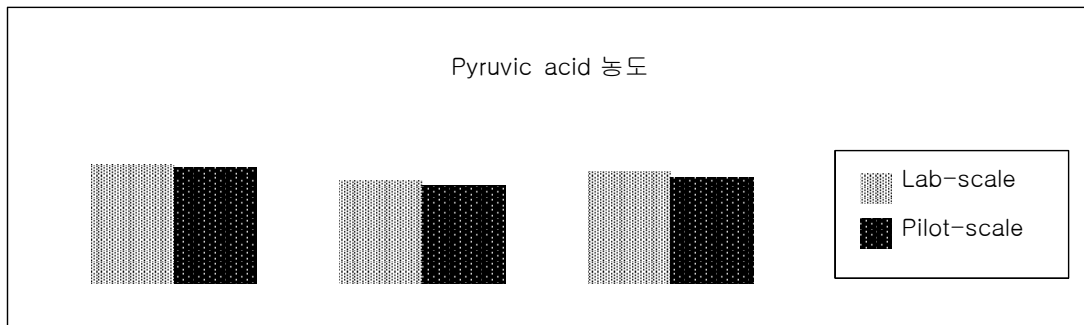


Fig. 44. 양파, 마늘 및 대파 추출 농축액의 Pyruvic acid 농도

다) 토마토 추출농축액의 Glutamic acid 함량

(1) Glutamic acid 함량 분석방법

유리아미노산 분석은 HPLC(제조사:SYKAM, 모델명: S7130)를 이용하였으며 Ninhydrin과 반응시켜 발색(UV spectrum 570nm, 440nm)에서 검출 분석하였다.

(2) Glutamic acid의 정량

산업화 생산을 위하여 역삼투압(reverse osmosis) 농축방법에 따라 소규모 제작용(lab-scale)과 양산화를 위한 시제품(Pilot-scale)의 Glutamic acid 함량을 비교하였다.

Table 81. Glutamic acid 함량비교

함량	Lab-scale	Pilot-scale
Glutamic acid 함량 (% / brix)	5.23	5.25
Glutamic acid 함량 (g) / 100g	0.28	0.29

제 2 절 식물성 천연 발효 조미소재 개발

1. 식물성 천연발효 조미소재 prototype 3종 개발

국내산 양파, 마늘, 대파, 무를 이용한 역삼투압 농축액과 국내산 청피망, 당근, 토마토(농협)를 구매하여 초핑 분쇄 후, 사용하였다.

가. 천연발효조미소재 3종 공정 최적화

1) 볶음용(볶음풍미) 조미소재 prototype 제조 공정

가) 볶음용 조미소재를 위한 Reaction flavor 제조

(1) Reactor를 이용한 볶음풍미 reaction flavor 제조 공정 개발

고온에서 발생하는 볶음풍미의 생성과정은 요리에서 유래한 식품의 성분으로부터 시작한다. 특히, 기름성분의 지방산은 고온에서 aldehyde를 발생시키며, 이는 식품의 성분과 반응하며 다양한 휘발성 성분으로 전환 시킨다. 이는 식품 성분에 따라 다른 휘발성 성분을 생성하기 때문에 식품 원료에 따른 반응 향기를 알아보기 위하여 reactor를 사용하여 reaction flavor 생성 공정을 확립하고, flavor profile를 비교하였다.



Fig. 45. 고온고압 Reactor

(2) Reaction flavor 생성의 최적 조건 설정

■ Reaction flavor 생성의 반응 조건 선택

Reaction flavor 생성에 가장 중요한 요소 중 하나인 반응 온도의 최적화 조건을 비교 실험하였다. 채소의 볶음풍미에 영향을 줄 수 있는 반응 재료를 이용하여, 온도에 따른 Reaction Flavor의 차이를 비교하였다. 최저온도 120℃와 최고 온도 180℃에서 생성되는 Reaction Flavor의 차이를 비교하였다. GC 분석과 GC/MS를 이용하여 Flavor chemical identity 확인하여 비교한 후, 볶음 풍미에 좀 더 적합한 조건을 최적 조건으로 설정하였다.

SPME 조건은 다음과 같다. 시료5g을 20mL vial에 넣어 60℃에서 200 rpm으로 30분간 평형 상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS/DVB)fiber를 주입하고 30분간 60℃에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

GC/MS 조건은 다음과 같다. 탈착시간을 2분으로 하여, Initial temp 50, ramp 5℃, Injector temp 250℃, detector temp 250℃, oven temp 150℃, Final temp 240℃, Final time 15min, Vent Flow 30sec (Splitless).에서 실시하였다

Table 82. 반응 조건을 위한 sample의 formulation

Ingredient	Formulation(% , w/w)
정제수	43.00
채종유	25.00
양파역삼투농축액	10.00
마늘역삼투농축액	3.00
청피망	8.00
당근	4.00
백설탕	7.00

Reaction flavor의 반응온도를 최적화하기 위해 온도를 달리한 실험을 통해서 180℃의 반응 온도 조건이 가장 목표로 하는 Burnt Flavor에 가까웠다. 180℃의 반응온도가 Burnt나 Grill 감을 주어, Top note 특성에 적합하였으나, Burnt, Grill 향 이외에 더해줄 Middle note의 Reaction Flavor 생성을 위한 Ingredient의 연구가 필요하였다.

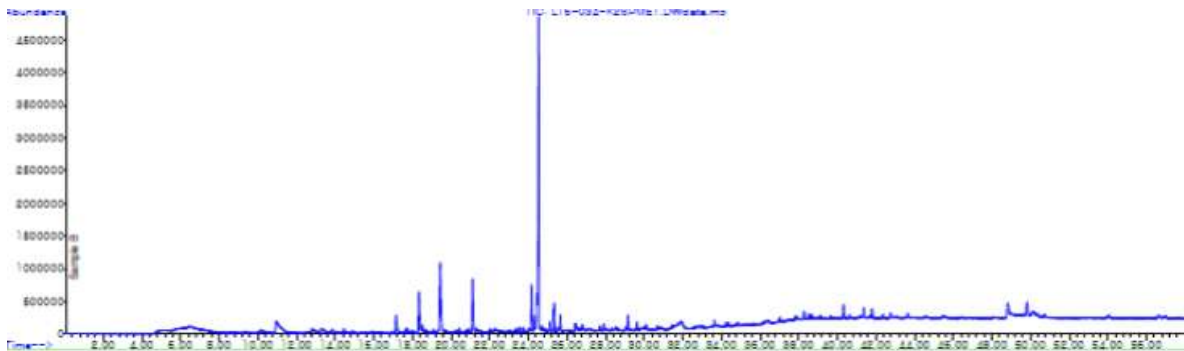


Fig. 46. 반응온도 120℃에서 SPME법을 이용한 GC/MS 분석 결과.

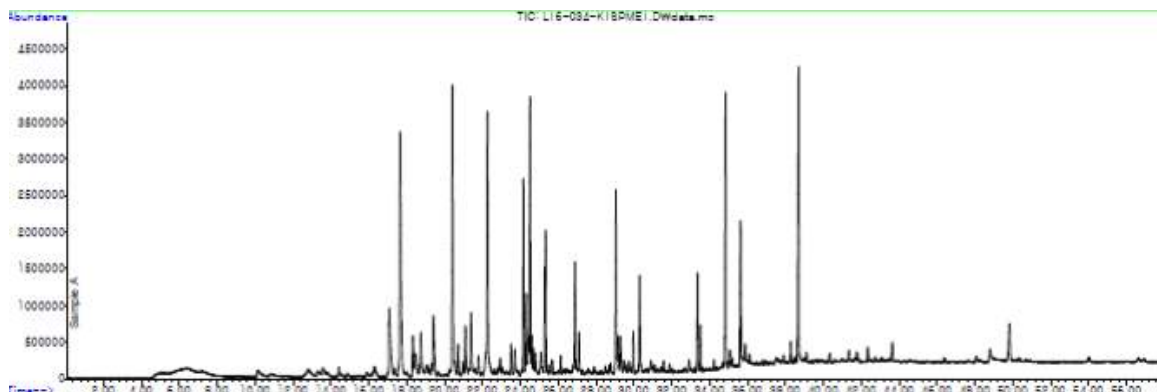


Fig. 47. 반응온도 180℃에서 SPME법을 이용한 GC/MS 분석 결과.

Flavor Profile Description은 다음과 같다. flavor substance를 비교 분석하여 특징적

chemical을 비교 분석을 진행하고 있으며, 각각의 향기성분이 나타내는 향미 특성의 description을 함께 정리하였다. 향미 특성 description은 서적 Steffen Arctander의 Perfume and Flavor Chemicals을 참고하였다. 향미 특성 description을 참조하여 정제된 시약의 flavor chemical의 향과 비교 평가하여 특징적 flavor chemical을 규명하여, Reaction flavor에 특성을 기여하는 characteristic flavor chemical로 인지하였다.

Table 83. 온도에 따른 주요 Peak의 변화(Area%)와 그 성분의 Flaovr Characters

RT	Flavor Substances	Character	120°C Area%	180°C Area%
17.10	Acetic acid	pungent, stinging sour odor, unpleasant when concentrated, less repulsive when diluted below 15% in water. clean-sour, acid taste, perceptible well below 1% in water.	3.78	4.54
17.70	Furfural	pungent, but sweet, bread-like, caramellic, cinnamon-almond-like odor of poor tenacity.	1.44	11.57
18.35	Diallyl disulfide	pungent odor, not truly reminiscent of garlic, but heavier, more "sulfide-like", obnoxious odor.	7.73	1.47
18.78	2-Furyl methyl ketone	powerful balsamic-sweet odor with a tobacco-like, almost narcotic pungency. Floral undertones are of balsamic-cinnamic character.	0.16	1.54
19.45	Unknown	-	15.79	2.44
20.42	5-Methyl furfural	sweet-spicy, warm, and slightly caramellic odor.	0.55	10.25
21.05	2,2-Bifuran	-	-	0.41
22.10	Phyenyyl acetaldehyde	very powerful and penetrating, pungent green, floral and sweet odor of Hyacinth-type. The tenacity is rather poor, but traces of polymerized material in the commercial product may act as a fixative and give the impression of good tenacity. The odor of such material is naturally weaker.	0.95	2.62
22.25	Furfuryl alcohol	very mild, warm-oily, "burnt" odor. Chemically pure furfuryl alcohol is - in the opinion of many observers - virtually odorless.	0.32	6.65
24.55	3-Vinyl 1,2-dithi-4-ene	-	46.98	6.50
25.30	beta-Sesquiphellandrene	-	2.53	2.44
26.18	Maple lactone	Faint, sweet-aromatic odor, rather non-descript. Sweet, slightly caramellic taste, overall weak.	0.19	0.45
26.90	Unknown	-	0.12	2.86

27.05	Unknown	-	0.16	1.00
29.08	Maltol	warm-fruity, caramellic-sweet odor with emphasis on the caramellic note in the dry state, while solutions of maltol show a pronounced fruity, jam-like odor of pineapple, strawberry type. Glycol-solutions show more strawberry-like character, and phenylethylalcohol-solutions of maltol are more balsamic, pine-like, with fruity under tones. the tenacity is excellent in spite of the unusually high vapor pressure at room temperature.	0.55	5.20
29.19	2-Acetyl pyrrole	-	0.73	0.86
29.28	2,5-Furandicarboxaldehyde	-	0.37	1.73
30.30	Furaneol	-	0.12	2.60
33.38	Methyl 5-formyl-2-furoate	-	0.17	2.33
33.51	5-Acetoxyethyl-2-furaldehyde	-	-	1.02
35.62	Levulinic acid	mild caramellic odor, or almost odorless(when pure). Decomposition causes acid odor and pungency.	0.22	4.80
38.63	5-Hydroxymethyl furfural	warm-herbaceous, winey-ethereal odor, remotely resembling that of Hungarian Chamomile (Matricaria-oil). Samples from different suppliers show considerable odor difference. A natural sweetness is common, a similarity to Hay and caramel, tobacco etc. is often perceptible.	0.64	9.76

■ Reaction Flavor Profile 향상을 위한 전구 물질 선발 및 formulation 최적화

Reaction flavor profile은 기본적인 반응 물질과 더불어 첨가되는 식용유 및 마늘, 양파과 같은 향신 물질에 의해 향신 소재의 자체 향과 함께 reaction에 2차 향성분의 형성에 따라 전체 reaction flavor profile의 바뀌게 된다. 이에 따라 향신 소재의 양과 비율에 따른 reaction flavor profile을 비교하였다. 반응 물질을 선택하기에 앞서 마늘, 양파, 청피망, 당근, 첨가에 따른 각 향의 특성을 알아보고, 반응물질로 선택하였다.

기본재료를 Control로 한 Sample과 기본재료에서 grilled 및 burnt 풍미에 영향을 줄 수 있

는 채종유 및 밀가루를 첨가하여 50℃에서 30분간 교반 후 180℃의 Reactor에서 반응을 진행 하였다. 이로부터 얻은 Reaction Flavor Sample중 grilled 및 burnt 풍미가 가장 강한 VG04를 key note로 하여 향기성분의 안정화를 위하여 encapsulation 공정을 진행하였다.

Table 84. 볶음풍미 조미소재의 ingredient formulation

Ingredient	Control (%, w/w)	VG01 (%, w/w)	VG02 (%, w/w)	VG03 (%, w/w)	VG04 (%, w/w)
정제수	43.00	33.00	33.00	41.00	38.00
채종유	25.00	25.00	35.00	25.00	25.00
양과역삼투농축액	10.00	15.00	10.00	10.00	10.00
마늘역삼투농축액	3.00	8.00	3.00	3.00	3.00
청피망	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
당근	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
백설탕	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
밀가루	-	-	-	2.00	5.00

Table 85. 원재료에 따른 볶음풍미소재의 aroma chemical의 Peak area% 비교

Chemical	R.T	control%	VG01%	VG02%	VG03%	VG04%
600	4.738	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
Cyclopentane	4.851	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Acetald.	4.902	0.04	0.18	0.03	0.03	0.03
700	4.962	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Propanal	5.261	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01
800	5.393	0.03	0.01	0.04	0.01	0.00
2-Methyl furan	5.762	0.09	0.06	0.03	0.03	0.05
2-Ethyl furan	6.060	0.04	0.01	0.02	0.01	0.03
2-Butanone	6.033	0.01	0.00	0.03	0.02	0.01
900	6.111	0.10	0.01	0.17	0.00	0.00
Isovalerald.	6.124	0.00	0.00	0.06	0.12	0.09
Allyl methyl sulfide	6.410	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
Benzene	6.518	0.04	0.03	0.02	0.03	0.02
1-Nonene	6.562	0.07	0.01	0.17	0.01	0.00
2,5-Dimethyl furan	6.612	0.06	0.02	0.08	0.05	0.11
unknown	6.741	0.03	0.01	0.05	0.01	0.00
Diacetyl	6.808	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00
1000	7.321	0.31	0.10	0.41	0.11	0.01
α-Pinene	7.353	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03
Toluene	7.910	0.04	0.02	0.11	0.02	0.02

1-Decene	7.920	0.21	0.07	0.41	0.02	0.02
2,3-Pentandione	8.055	0.01	0.01	0.04	0.06	0.06
Camphene	8.060	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
unknown	8.187	0.11	0.04	0.16	0.00	0.12
unknown	8.411	0.06	0.02	0.08	0.00	0.06
Hexanal	8.621	0.18	0.05	0.14	0.11	0.08
2-Methyl thiophene	8.833	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
β -Pinene	8.906	0.00	0.00	0.00	0.03	0.04
Allyl alcohol	8.917	0.00	0.00	0.40	0.10	0.06
1100	9.072	0.64	0.39	0.72	0.00	0.00
α -Phellandrene	9.161	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
3-Methyl thiophene	9.372	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3-Penten-2-one	9.482	0.02	0.01	0.04	0.03	0.02
Ethyl benzene	9.589	0.06	0.01	0.21	0.02	0.01
m-Xylene	9.664	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00
p-Xylene	9.800	0.02	0.01	0.05	0.01	0.00
2-Vinyl 5-methyl furan	10.041	0.01	0.01	0.08	0.00	0.02
unknown	10.174	0.15	0.07	0.33	0.01	0.00
unknown	10.304	2.68	1.62	3.36	0.23	0.00
unknown	10.585	1.58	0.96	1.99	0.13	0.00
o-Xylene	10.766	0.05	0.01	0.14	0.01	0.00
Pyridine	10.777	0.06	0.16	0.05	0.01	0.01
Heptanal	10.792	0.79	0.40	0.08	0.76	0.30
Pyrazine	11.271	0.01	0.01	0.07	0.02	0.02
Limonene	11.281	0.43	0.39	0.54	0.32	0.59
1200	11.309	0.89	0.65	0.67	0.11	0.00
γ -Terpinene	11.400	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
Eucalyptol	11.410	0.00	0.00	0.05	0.02	0.05
Propyl benzene	11.473	0.19	0.06	0.37	0.02	0.00
2-Methyl pyridine	11.637	0.22	0.21	0.07	0.00	0.00
unknown	11.703	0.37	0.23	0.35	0.03	0.10
unknown	11.781	0.61	0.37	0.56	0.07	0.13
2-Pentyl furan	11.923	0.33	0.19	0.11	0.09	0.15
unknown	11.977	0.45	0.35	0.35	0.07	0.00
Methyl propyl disulfide	12.021	0.00	0.00	0.00	0.03	0.06
unknown	12.235	0.43	0.44	0.79	0.07	0.00

unknown	12.358	0.25	0.76	1.28	0.13	0.00
Styrene	12.531	0.12	0.03	0.63	0.08	0.02
unknown	12.588	1.59	0.97	2.16	0.20	0.00
2-Methyl tetrahydro furan-3-one	12.65	0.00	0.00	0.07	0.08	0.10
2-Methyl pyrazine	12.72	0.09	0.05	0.06	0.28	0.42
Allyl methyl disulfide	13.058	0.00	0.00	0.00	0.13	0.23
Acetoin	13.152	0.03	0.01	0.06	0.05	0.04
2-Octanone	13.252	0.19	0.11	0.32	0.13	0.05
Octanal	13.454	2.36	1.65	2.26	1.60	0.71
Acetol	13.517	1.48	0.72	1.42	1.78	1.06
unknown	13.756	0.61	0.44	1.06	0.00	0.00
unknown	14.084	0.33	0.20	0.36	0.04	0.00
unknown	14.053	1.20	0.68	1.31	0.09	0.01
2,5-Dimethyl pyrazine	14.179	0.04	0.03	0.00	0.04	0.12
Heptanol	14.207	0.00	0.00	0.00	0.19	0.36
†-2-Heptenal	14.242	0.88	0.50	0.00	0.44	0.33
2,6-Dimethyl pyrazine	14.336	0.17	0.13	0.00	0.08	0.38
2-Hexyl furan	14.412	0.17	0.13	0.15	0.00	0.00
unknown	14.472	0.62	0.53	0.93	0.00	0.00
Amyl cyclohexa-1,3-diene	14.639	0.37	0.20	0.48	0.03	0.00
1-Tridecene	14.919	0.39	0.36	0.82	0.00	0.00
2-Cyclopenten-1-one	15.012	0.51	0.21	0.90	0.56	0.34
unknown	15.181	1.56	1.25	2.76	0.37	0.00
2-Methyl 2-cyclopenten-1-one	15.384	0.55	0.28	1.16	0.67	0.49
Dimethyl trisulfide	15.679	0.00	0.00	0.02	0.01	0.02
UnID: 2,4-Dimethyl anisole	15.781	0.15	0.03	0.08	0.01	0.00
2-Ethyl 6-methyl pyrazine	15.87	0.08	0.06	0.45	0.12	0.21
2-Nonanone	15.947	0.36	0.29	0.39	0.15	0.09
2-Ethyl 5-methyl pyrazine	16.043	0.03	0.03	0.13	0.03	0.05
1,3,5-Undecatriene 1	16.058	0.23	0.05	0.21	0.03	0.00
Nonanal	16.168	6.72	5.85	3.75	4.20	2.02
Indane	16.28	0.30	0.19	0.38	0.05	0.01
2-Ethyl 3-methyl pyrazine	16.356	0.05	0.02	0.24	0.06	0.09
1400	16.374	0.27	0.26	0.48	0.07	0.00
2,3,5-Trimethyl pyrazine	16.397	0.09	0.09	0.65	0.09	0.15
1,3,5-Undecatriene 2	16.404	0.23	0.09	0.20	0.12	0.00

Amyl benzene	16.652	1.64	1.68	1.96	0.19	0.03
c-1-Propenyl propyl disulfide	16.640	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
Acetic acid	16.800	6.94	4.39	7.37	8.19	6.74
α -Angelica lactone	16.898	0.17	0.11	0.07	0.12	0.31
Allyl propyl disulfide	16.924	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
t-2-Octenal	16.986	1.22	0.93	0.00	0.54	0.33
t-1-Propenyl propyl isulfide	17.108	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
2-Ethyl 3,6-dimethyl pyrazine	17.329	0.03	0.03	0.27	0.02	0.04
2,3-Dimethyl 2-cyclopenten-1-one	17.418	0.24	0.16	0.49	0.00	0.17
Acetol acetate	17.499	0.99	0.71	0.90	0.37	0.50
Furfural	17.620	5.37	2.88	6.24	16.19	19.26
Formic acid	18.165	1.72	1.45	1.19	2.66	2.62
5-Methyl indane	18.195	0.13	0.09	0.13	0.01	0.00
Diallyl disulfide	18.232	0.00	0.00	0.00	0.05	0.11
Furfuryl formate	18.357	0.56	0.53	0.25	0.25	1.46
2-Methyl indane	18.523	1.01	0.75	1.08	0.14	0.00
2-Furyl methyl ketone	18.659	2.00	1.30	3.08	3.68	4.56
Decanal	18.794	1.77	1.74	0.88	0.60	0.31
Furyl acetone	18.968	0.13	0.08	0.16	0.01	0.18
1-Methyl cyclopenten-3-one	19.145	1.11	0.99	1.34	0.52	0.42
Benzald.	19.208	0.86	0.59	1.72	1.04	1.18
Propionic acid	19.237	1.06	0.70	1.07	1.05	0.95
Hexyl benzene	19.282	1.11	1.03	1.35	0.14	0.00
Furfuryl acetate	19.359	0.29	0.29	0.29	0.77	0.96
Methyl propyl trisulfide	19.562	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01
t-2-Nonenal	19.657	0.93	0.82	0.00	0.50	0.28
2,3-Dimethyl 2-cyclopenten-1-one	19.702	1.39	1.23	1.80	0.95	0.83
Isobutyric acid	20.011	0.00	0.00	0.15	0.00	0.16
2-Furyl ethyl ketone	20.435	0.47	0.25	0.96	0.45	0.57
5-Methyl furfural	20.331	0.00	22.29	1.26	20.24	17.80
1-Cylopentene-3,4-dione	20.622	0.65	0.31	0.58	0.43	2.17
2-Methyl benzofuran	21.023	0.78	0.59	0.48	0.36	0.21
2-Acetyl pyridine	21.131	0.14	0.13	0.00	0.03	0.07
Isomaltol	21.319	0.00	0.00	0.10	0.00	0.24
Butyric acid	21.378	0.41	0.30	0.47	0.25	0.25
2-Acetyl 5-methyl furan	21.382	2.62	2.40	2.21	1.96	2.48

2-Propenoic acid	21.450	0.75	0.33	0.96	0.65	0.93
γ -Butyrolactone	21.724	1.00	0.84	0.72	0.28	0.25
Heptyl benzene	21.863	0.35	0.31	0.44	0.05	0.02
3-Ethyl 2-cyclopenten-1-one	21.892	0.48	0.50	0.65	0.26	0.23
Phenyl acetaldehyde	22.044	0.09	0.05	0.16	0.08	2.80
Furfuryl alcohol	22.192	3.85	2.86	3.23	1.30	4.81
t-2-Decenal	22.268	0.53	0.57	0.12	0.41	0.28
2-Methyl butyric acid	22.440	0.08	0.07	0.11	0.09	0.10
Isovaleric acid	22.446	0.17	0.14	0.22	0.24	0.28
β -Angelica lactone	22.807	1.63	1.43	0.60	0.49	0.55
5-Methyl 2-furfuryl furan	22.851	0.59	0.12	0.39	0.12	0.50
Dipropyl trisulfide	23.064	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
c-2-Butenoic acid	23.251	0.11	0.09	0.10	0.07	0.07
5-Methyl furfuryl alcohol	23.631	0.99	0.53	0.00	0.14	0.08
Borneol	23.565	0.82	0.26	0.86	0.01	0.46
α -Methyl γ -Crotolactone	23.731	0.73	0.43	0.23	0.18	0.18
Valeric acid	23.973	0.48	0.43	0.48	0.18	0.25
Heptadecene	24.139	0.46	0.50	1.68	0.23	0.01
γ -Crotolactone	24.505	1.43	1.33	0.55	0.56	0.42
t-2-Butenoic acid	24.696	0.47	0.43	0.33	0.25	0.25
UnID: 95, 138	24.980	0.50	0.42	0.17	0.57	1.07
3,5-Dimethyl 1,2-cyclopentanedione	25.322	0.36	0.36	0.29	0.17	0.24
2-Hydroxy acetophenone	25.730	0.23	0.23	0.24	0.24	0.37
t,t-2,4-Decadienal	25.927	0.25	0.27	0.06	0.24	0.55
Maple lactone	26.052	2.35	2.46	1.08	0.70	0.66
Hexanoic acid	26.365	0.63	0.62	0.72	0.23	0.39
unknown	26.829	0.96	0.68	0.30	0.42	0.30
unknown	27.006	1.01	0.97	0.59	0.97	2.53
Hexenoic acid	27.613	0.21	0.20	0.42	0.07	0.05
Benzyl nitrile	28.277	0.08	0.08	0.20	0.09	0.09
Heptanoic acid	28.619	0.68	0.67	0.95	0.29	0.42
Maltol	28.951	0.86	0.98	0.38	0.21	0.26
2-Acetyl pyrrole	29.050	0.22	0.25	0.44	0.18	0.33
UnID: 95, 124	29.183	0.21	0.31	0.04	0.13	0.09
o-Cresol	29.588	0.62	0.68	0.64	0.32	0.65
Phenol	29.640	1.32	1.37	1.48	0.80	1.09

2-Formyl pyrrole	30.118	0.26	0.07	0.09	0.05	0.08
Furaneol	30.204	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
2,3-Dihydro 1H-inden-1-one	30.207	0.15	0.17	0.27	0.11	0.14
2-Pyrrolidinone	30.384	0.02	0.02	0.04	0.02	0.04
Octanoic acid	30.778	0.39	0.38	0.49	0.17	0.35
p-Cresol	31.157	0.55	0.63	0.66	0.38	0.57
m-Cresol	31.304	0.30	0.35	0.34	0.17	0.32
5-Methyl 2-formyl pyrrole	31.606	0.03	0.04	0.05	0.02	0.05
Octenoic acid	31.959	0.06	0.07	0.05	0.03	0.04
Methyl 5-formyl 2-furoate	33.260	0.18	0.29	0.03	0.12	0.09
5-Acexoyethyl 2-furaldehyde	33.415	0.21	0.30	0.04	0.20	0.17
Syringol	34.626	0.03	0.03	0.02	0.01	0.01
unknown	34.740	0.16	0.22	0.01	0.01	0.00
Decanoic acid	34.795	0.13	0.13	0.16	0.07	0.11
5-Hydroxy maltol	34.988	0.05	0.06	0.01	0.01	0.01
Levulinic acid	35.537	0.33	0.64	0.01	0.06	0.01
5-HMDF	38.328	0.03	0.06	0.00	0.00	0.00
5-HMF	38.568	0.91	1.33	0.06	0.23	0.05
Lauric acid	38.472	0.04	0.02	0.02	0.07	0.03
Myristic acid	42.645	0.17	0.12	0.17	0.53	0.21
Palmitic acid	48.653	1.30	1.08	1.07	9.97	1.14
Total		100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

볶음풍미베이스의 encapsulation은 다음과 같다. 고온고압의 Reactor로부터 얻은 key note는 아라비아검, 잔탐검, 가티검을 이용하여 유지성분을 분산하고 가공식품산업에서 위생 및 조리 공정으로 인하여 향기성분의 손실 및 변화를 초래하므로 encasulation (Homomix 12000rpm, 30min)공정으로 최소화하였고, flavor enhancer로써 효모를 사용하였다.

Table 86. 볶음풍미베이스의 encapsulation

Ingredient	(%, W/W)
볶음풍미 key note	93.8
가티검	2.5
잔탐검	0.2
아라빅검	1.0
효모식품	2.5

2) 육수용(육수풍미) 조미소재 prototype 제조 공정

가) 육수용 조미소재를 위한 Reaction flavor 제조

(1) Reactor를 이용한 육수풍미 reaction flavor 제조 공정 개발

Maillard reaction으로부터 생성하는 육풍미는 육류의 아미노산과 환원당을 시작으로 요리의 조리 조건에서 비휘발성의 고분자 물질이 분자량 약 500이하의 휘발성 물질로 변화하는 과정이다. 특히, maillard reaction으로부터 생성하는 황화합물은 육풍미와 관련성이 높고 aroma active가 강한 threshold value 가 낮은 화합물이다. 육수용 조미소재를 개발하기 위해선, 단백질의 발효소재인 쌀발효 효모와 당류 공급원으로써는 포도당과 과당 함유량이 높은 양과역삼투압농축액(포도당 8.16%, 과당 7.2%) 및 황화합물 공급원으로써는 마늘역삼투압농축액으로 고온고압의 reactor로 maillard reaction을 실시하였다.

(2) 육수풍미 flavor 생성의 최적 조건 설정

■ Maillard reaction 생성의 반응 조건 선택

육수풍미 생성에 가장 중요한 요소 중 하나인 반응 시간과 양과 역삼투압 농축액 및 마늘역삼투압 농축액 함량에 대하여 최적화 조건을 비교 실험하였다. 최적온도 조건은 육류의 boiling flavor 가 가장 많이 생성되는 조리 조건인 90~100℃으로써 95℃에서 실시하였고, 교반속도는 200rpm으로 1hr동안 반응하였다. 육수 풍미의 최적 formulation을 위한 sample의 함량은 다음 표와 같다.

Table 87. 육수풍미베이스의 formulation (% , w/w)

ingredient	control	BF01	BF02	BF03	BF04	BF05
샘플 Yeast Ext.	60.0	50.0	70.0	50.0	70.0	73.0
양과RO농축액	30.0	30.0	20.0	10.0	25.0	25.0
마늘RO농축액	10.0	20.0	10.0	40.0	5.0	2.0

■ 육수풍미베이스의 향강도평가

관능평가를 통하여 총 6개의 샘플을 5명의 패널에게 가장 강한 고기풍미의 샘플을 선택하도록 하였다. 이중 가장 강한 풍미는 BF05로써 육수풍미의 Key note로 사용하였다.

■ 육수풍미베이스의 반응시간 조건 최적화

BF05의 Key note 반응시간을 최적화하기 위하여 반응 시간별 향강도를 비교하였다. 반응시간은 control 1시간을 기준하여 2hr, 3hr, 4hr와 비교하였고, 2hr이후의 반응은 탄취가 강해지는 특성이 있어 2hr 반응시간을 기준으로 하였다.

■ 육수풍미베이스의 채소풍미 첨가

BF05의 Key note 의 기호도를 높이기 위하여 key note와 무역삼투압농축액 및 대과역삼투압농축액을 70℃, 1hr동안 가열하여 유해 미생물을 살균하고 채소풍미를 최적화 하였다.

Table 88. 육수풍미베이스의 채소풍미 최적화 Formulation (%w/w)

ingredient	control	BF05-01	BF05-02	BF05-03
BF05	80.0	75.0	75.0	75.0
무역삼투압농축액	10.0	10.0	15.0	20.0
대과역삼투압농축액	10.0	15.0	10.0	5.0

관능평가는 총 4개의 샘플을 0.5% 수용액으로 만들어 waterbath에서 30℃ 유지 시켜 5명의 패널에게 전체적인 기호도를 평가하도록 하였다. 이중 BF05-03이 가장 높은 평가를 받아 이것을 기준으로 하기위하여 Flavor profile을 분석하였다.

■ 육수풍미베이스의 휘발성 성분 분석

SPME 조건은 다음과 같다. 시료 5g을 20mL vial에 넣어 60℃에서 200 rpm으로 30분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS/DVB)fiber를 주입하고 30분간 60℃에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

GC/MS 조건은 다음과 같다. 육수풍미베이스 BF05-03의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-5MS를 사용하였으며, 채소의 향기성분은 mass spectral data와 retention index (RI) value를 이용하여 확인하였고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C10~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다.

Table 89. GC/MS conditions

Sample 실험량	5g
Column	DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 µm film thickness)
Gas flow rate	0.8mL/min
Oven temp	40℃ (5min) ▶ 4℃/min ▶ 200℃ ▶ 10℃/min ▶ 250℃/min (10min)

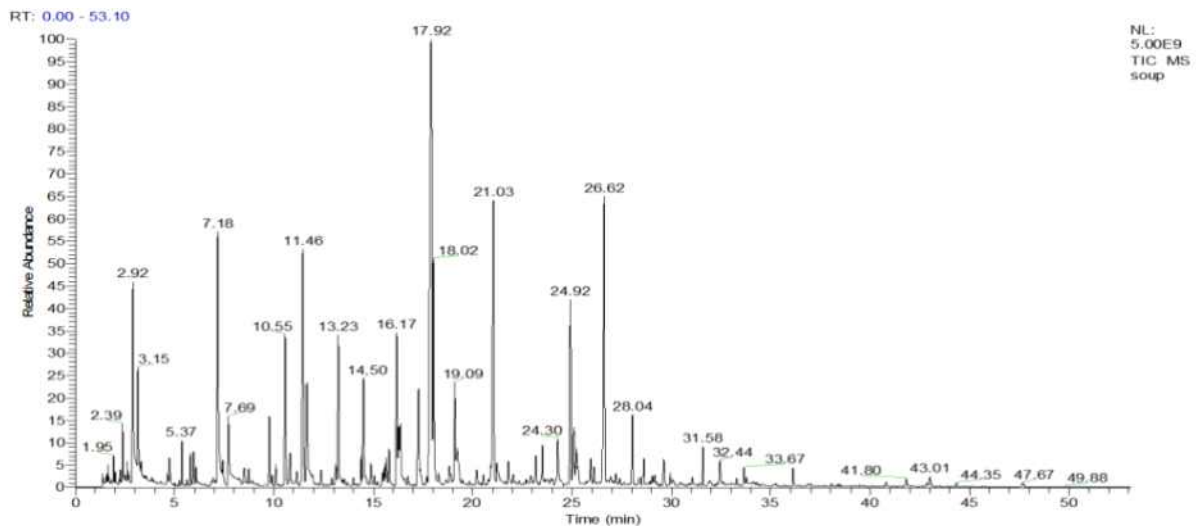


Fig. 48. 육수풍미베이스 BF05-03의 SPME GC/MS chromatogram

Table 90. 육수풍미베이스 BF05-03의 peak list

CAS No.	RT	Chemicals	Peak Area%
75-07-0	1.59	Acetaldehyde	0.11
75-15-0	1.65	Carbon Disulfide	0.18
67-64-1	1.95	Acetone	0.27
107-03-9	2.03	Propyl mercaptan	0.13
930-27-8	2.28	3-Methylfuran	0.14
870-23-5	2.39	Allyl mercaptan	0.77
96-17-3	2.63	2-Methyl-butanal	0.17
64-17-5	2.91	Ethanol	3.80
10152-76-8	3.15	Allyl methyl sulfide	1.24
3710-43-8	3.34	2,4-Dimethylfuran	0.12
124-18-5	3.86	Decane	0.05
123-15-9	3.95	2-methyl pentanal	0.02
110-02-1	4.31	Thiophene	0.03
108-88-3	4.63	Methylbenzene	0.18
4170-30-3	4.74	2-Butenal	0.43
600-14-6	5.25	2,3-pentanedione	0.08
624-92-0	5.37	Dimethyl disulfide	0.55
66-25-1	5.63	Hexanal	0.09
554-14-3	5.80	2-Methylthiophene	0.40
1115-11-3	5.95	2-Methyl-2-butenal	0.51
27817-67-0	6.08	Allyl propyl sulfide	0.23
554-14-3	6.48	2-Methyl-thiophene	0.01
592-88-1	7.18	Allyl sulfide	4.95
623-36-9	7.69	2-Methyl-2-pentanal	1.15
638-00-6	8.52	2,4-Dimethylthiophene	0.42
110-86-1	8.73	Pyridine	0.22
288-47-1	9.60	Thiazole	0.03
2179-60-4	9.78	Methyl propyl disulfide	1.14
3777-69-3	9.89	2-Pentyl furan	0.17
632-15-5	10.55	3,4-Dimethylthiophene	2.76
5905-47-5	10.82	Methyl 1-propenyl disulfide	0.60
109-08-0	11.15	Methylpyrazine	0.28
2179-58-0	11.46	Methyl allyl disulfide	5.20
5905-47-5	11.66	Trans propenyl methyl disulfide	1.99
104-51-8	12.39	Butylbenzene	0.29
108-50-9	13.10	2,6-Dimethylpyrazine	0.36
3658-80-8	14.50	Dimethyl trisulfide	2.29
538-68-1	15.80	Pentylbenzene	0.59
2179-59-1	16.17	Allyl propyl disulfide	2.74
123-115	16.75	Anisaldehyde	0.17
1998-01-01	17.68	Furfural	0.12
2179-57-9	17.91	Allyl disulfide	13.95
13679-61-3	20.20	Methyl tiofuroate	0.31
34135-85-8	21.03	Methyl allyl trisulfide	6.10
108-29-2	21.80	Dihydro-5-methyl-2(3H)-Furanone	0.45
6028-61-1	23.18	Propyl trisulfide	0.51
98-00-0	23.51	Furfuryl alcohol	0.66
590-42-1	24.92	Isobutyl isothiocyanate	3.66
2050-87-5	26.62	Allyl trisulfide	6.69
62488-53-3	28.04	3-Vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene	1.26

430-40-01-3	28.39	3-Methyl-1,2,4-trithiane	0.20
111-14-8	31.06	Heptanoic acid	0.12
1072-83-9	31.58	2-Acetylpyrrole	0.70
124-07-2	33.67	Octanoic acid	0.29
108-39-4	34.45	m-Cresol	0.03
112-05-0	36.14	Nonanoic acid	0.30
-	38.07	4,6-Diethyl-1,2,3,5-terathiolane	0.05
-	38.29	2,5-Dimethyl-2-hydroxy-3(2H)-thiophenone	0.02
28564-83-2	38.40	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one	0.04
334-48-5	38.50	Decanoic acid	0.02
65-85-0	41.80	Benzoic acid	0.14
88-14-2	41.91	2-Furoic acid	0.03
-	43.01	3H-1,2-Dithiole-3-thione	0.20
67-47-0	43.47	5-HMF	0.02

육수풍미베이스 BF05-03의 샘플에서는 meaty, savory의 향을 갖는 dimethyl trisulfide 이외에 마늘, 양파의 향기성분이 여러종류가 분석되었고, 특히 생대파의 향기성분인 propyl mercaptan이 검출되었다.

3) 범용 조미소재 prototype 제조 공정

가) 범용 조미소재를 위한 Reaction flavor 제조

(1) 토마토의 Glutamic acid를 이용한 감칠맛 소재 개발

샘플에서 개발한 토마토추출농축액은 방울토마토의 Glutamic acid를 감칠맛에 이용한 조미소재이다. 일반토마토보다 방울토마토가 2배 정도의 Glutamic acid 함량이 측정되었지만, 함량에 대한 경제성을 확인할 필요가 있다.

(2) Meat flavor 생성의 최적 조건 설정

■ Maillard reaction 생성의 반응 조건 선택

Meat 풍미 생성을 위하여 양파역삼투압농축액과 토마토추출농축액 및 쌀발효 효모추출물에 대하여 최적화하였다. 최적온도 조건은 육류의 boiling flavor 가 가장 많이 생성되는 조리 조건인 90~100℃으로써 95℃에서 실시하였고, 교반속도는 200rpm으로 1~4hr동안 반응하였다. 각각 풍미의 최적 formulation을 위한 sample의 함량은 다음표와 같다.

Table 91. 채소풍미베이스의 formulation (% , w/w)

ingredient	MF01(1~4hr)	MF02 (1~4hr)	MF03(1~4hr)
샘플 Yeast Ext.	80.0	50.0	65.0
양파RO농축액	10.0	40.0	10.0
토마토추출농축액	10.0	10.0	25.0

■ 채소풍미베이스의 휘발성 성분 분석

관능평가를 통하여 총 12개의 샘플을 5명의 패널에게 waterbath에서 30℃유지 시킨 0.5% 수

용액으로 서술하도록하였다.

평가내용은 모두 2시간이상 가열한 샘플에 대하여 구운취가 발생하였고, 양파역삼투압농축액이 많이 함유한 MF02 샘플에서는 짜장소스와 같이 느껴졌다. 관능상 가장 적합한 샘플로는 MF03 배합을 2시간 반응한 것으로 추정되어 향기성분의 분석으로 주요성분에 대하여 분석하였다.

SPME 조건은 다음과 같다. 시료 5g을 20mL vial에 넣어 60°C에서 200 rpm으로 30분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS/DVB)fiber를 주입하고 30분간 60°C에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

GC/MS 조건은 다음과 같다. 채소풍미베이스 MF03의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-5MS를 사용하였으며, 채소의 향기성분은 mass spectral data와retention index (RI)value를 이용하여 확인하였고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C10~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다.

Table 92. GC/MS conditions

Sample 실험량	5g
Column	DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 µm film thickness)
Gas flow rate	0.8mL/min
Oven temp	40°C (5min) ▶4°C/min ▶200°C ▶10°C/min ▶250°C/min (10min)

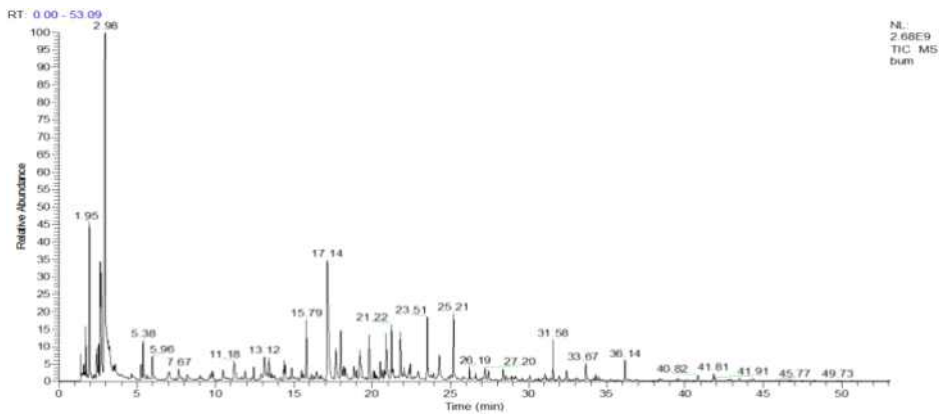


Fig. 49. 채소풍미베이스 MF03의 SPME GC/MS chromatogram

Table 93. 채소풍미베이스 MF03의 peak list

CAS No.	RT	Chemical	Peak area %
75-18-3	1.7	Dimethyl sulfide	1.00
67-64-2	1.95	2-propanone	4.07
141-78-6	2.42	Ethyl acetate	0.97
563-80-3	2.53	2-butanone	0.94
96-17-3	2.65	2-methyl butanal	3.03
64-17-5	2.96	ethanol	24.89
600-14-6	5.25	2,3-pentandione	0.52
624-92-0	5.38	dimethyl disulfide	1.20
66-25-1	5.64	hexanal	0.21

1115-11-3	5.96	2-methyl-2-butenal	0.86
110-43-0	7.47	2-heptanone	0.07
623-36-9	7.67	2-methyl-2-pentanal	0.44
931-35-1	7.87	2-ethyl-4-methylimidazoline	0.03
108-95-2	7.96	phenol	0.01
110-12-3	8.4	5-methylhexanone	0.07
110-86-1	8.73	pyridine	0.07
20662-84-4	8.99	trimethyloxazole	0.19
107-86-8	9.14	3-methyl-2-butenal	0.03
290-37-9	9.56	pyrazine	0.05
2179-60-4	9.67	Methyl propyl disulfide	0.13
3777-69-3	9.77	2-pentyl furan	0.23
638-00-6	10.47	2,4-dimethyl thiophene	0.40
109-08-0	11.18	methyl pyrazine	1.12
31367-46-1	11.88	3-methyl-2-heptanol	0.36
104-51-8	12.3	butylbenzene	0.11
116-09-6	12.43	1-hydroxy-2-propanone	0.49
123-32-0	12.93	2,5-dimethylpyrazine	0.22
108-50-9	13.12	2,6-dimethylpyrazine	0.94
13925-00-3	13.26	Ethylpyrazine	0.13
110-93-0	13.42	6-Methyl-5-hepten-2-one	0.76
5910-89-4	13.77	2,3-dimethylpyrazine	0.11
	14.37	unknown	0.67
3658-80-8	14.45	dimethyltrisulfide	0.63
13925-03-6	14.86	2-ethyl-6-methyl- pyrazine	0.46
821-55-6	15.02	2-nonanone	0.08
14667-55-1	15.49	Trimethyl pyrazine	0.42
538-68-1	15.61	Pentyl benzene	0.19
1014-60-4	16.14	1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene	0.17
13925-07-0	16.75	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	0.17
64-19-7	17.14	Acetic acid	6.00
1998-01-01	17.67	Fufural	1.29
505-20-4	18.00	1,2-Dithiane	1.82
13925-09-2	18.18	2-ethenyl-6-methyl-pyrazine	0.56
104-76-7	18.3	2-ethyl hexanol	0.28
3600-24-6	18.37	Diethyl trisulfide	0.10
1192-62-7	18.83	2-Acetylfuran	0.57
100-52-7	19.21	Benzaldehyde	1.49
1979-09-04	19.82	Propionic acid	1.80
78-70-6	20.08	L-Linalool	0.25
13679-61-3	20.17	Methyl thiofuroate	0.19
79-31-2	20.68	isobutyric acid	0.26
620-02-0	20.8	5-methyl furfural	0.19
620-02-0	20.9	5-methyl furfural	2.20
104-55-2	21.34	cinnamaldehyde	0.40
108-29-2	21.82	Dihydro-5-methyl-2(3H)-Furanone	1.86
1193-79-9	22.04	2-Acetyl-5-methylfuran	0.49
96-48-0	22.36	Dihydro-2(3H)-furanone	0.43
107-92-6	22.43	Butyric acid	0.51
98-86-2	22.95	Acetophenone	0.37
98-00-0	23.51	Furfuryl alcohol	2.42
3857-25-8	25.21	5-methyl-2-furanmethanol	2.23
109-52-4	25.49	Valeric acid	0.06
585-74-0	25.81	3'-methyl-acetophenone	0.15

104-87-0	26.33	4-methyl benzaldehyde	0.10
118-93-4	27.07	2'-hydroxy-acetophenone	0.06
23726-93-4	27.45	Damascenone	0.40
43040-01-3	28.37	3-methyl-1,2,4-trithiane	0.52
100-51-6	29.17	Benzyl alcohol	0.20
71637-34-8	30.89	3-thiophenemethanol	0.06
	31.07	heptanoic acid	0.26
1072-83-9	31.58	2-Acetylpyrrole	1.54
124-07-2	33.57	octanoic acid	0.01
106-44-5	34.29	p-cresol	0.20
108-39-4	34.46	m-cresol	0.12
112-05-0	36.14	nonanoic acid	0.78
611-13-2	36.85	methyl 2-furoate	0.05
95-65-8	37.46	3,4-xylenol	0.02
28564-83-2	38.41	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	0.09
334-48-5	38.56	decanoic acid	0.07
96-76-4	39.51	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	0.08
123-76-2	39.69	levulinic acid	0.05
1708-32-3	40.82	Dihydrothiophene	0.20
65-85-0	41.81	benzoic acid	0.28
88-14-2	41.91	2-Furancarboxylic acid	0.11
4412-96-8	42.91	3-methyl-2-furancarboxylic acid	0.06
67-47-0	43.48	5-Hydroxymethylfufural	0.08

샘플 MF03에서는 savory의 특성이 있는 dimethyl trisulfide이외에 토마토의 향기성분특성이 있어 한식요리보다는 제품의 확정성을 고려하여 서양식 요리의 조미소재로 적합하다는 것을 알 수 있다.

2. 식물성 천연발효 조미소재 향기 성분 분석비교

타사 target제품과 비교하고 prototype의 조미소재 제품이 요리 적용 성능평가에서 flavor profile 특성을 파악하고자 비교분석하였다. 타사 target 제품에 대한 정보는 다음과 같다.

Table 94. 타사 target 제품

Category	Product name
범용 타겟	A
	B
	C
육수용 타겟	D
	E
	F
볶음용 타겟	G
	H

1) 식물성 천연발효 조미소재 prototype의 향기성분 분석

가) Solid Phase Microextraction(SPME)

천연발효 조미소재의 향미성분을 흡착하기 위해 다양한 범위의 물질을 흡착할 수 있는 Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber (supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였다. 20ml amber vial에 각각의 시료를 5g을 담아, 시료를 60°C에서 200rpm으로 30분동안 평형상태를 유지시킨 다음, SPME fiber 2mm를 노출시켜 30분동안 휘발성 성분을 흡착하였다. GC-MS 주입구(250°C)에서 5분간 탈착하였다.

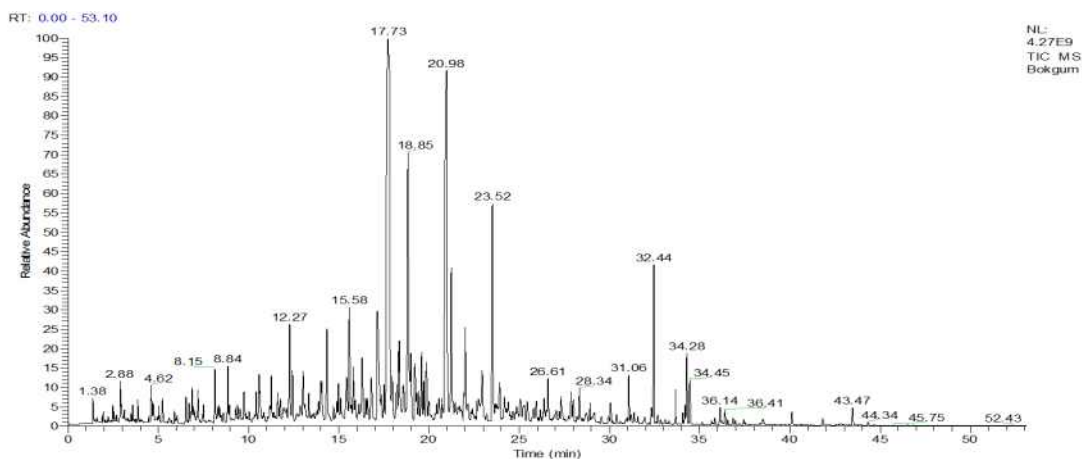
나) GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

SPME를 사용하여 추출한 천연발효조미소재의 향미성분은 Trace 1310 gas chromatograph에 연결된 ISO Single Quadrupole MS mass detector (Tnermo Scientific)로 분석하였으며, column은 DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C 에서 3분간 유지시키고 200°C까지 분당 4°C씩 올린 후 10분간 유지시켰다. Injector와 Detector transfer line의 온도는 각각 250°C와 280°C, Mass scan range는 30-350 a.m.u.이었으며 mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 splitless mode로 분석하였다.

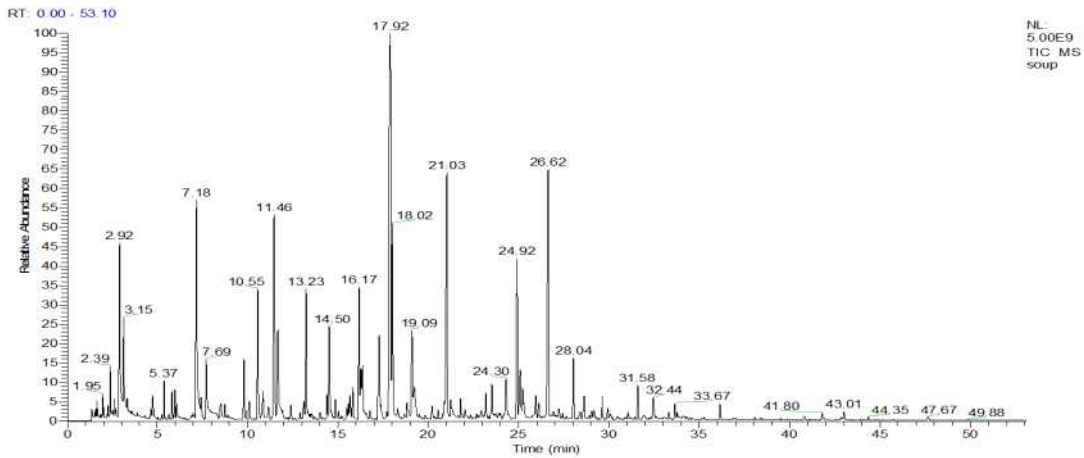
다) 휘발성분의 정성

천연발효 조미소재의 휘발성 성분들의 동정은 mass spectral database (Wiley9n.1)를 사용하였으며, 각 peak의 area는 전체 peak area의 합으로 나눈 값을 사용하였다.

볶음풍미베이스



육수풍미베이스



채소풍미베이스

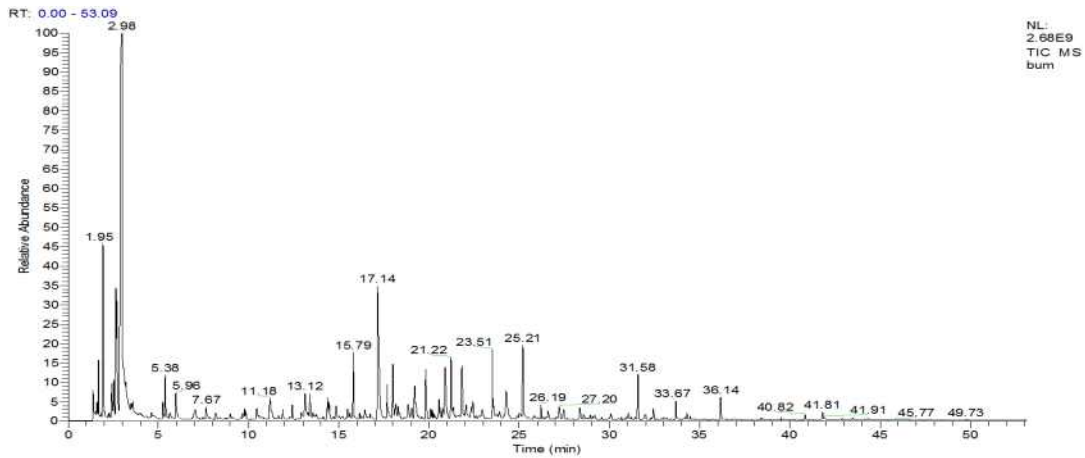


Fig. 50. 천연발효 조미소재의 GC/MS total ion

Table 95. 식물성 천연발효 조미소재의 Peak area %

CAS	RT	compounds	채소 풍미	육수 풍미	볶음 풍미
75-07-0	1.59	acetaldehyde		0.11	0.04
75-15-0	1.65	Carbon disulfide		0.18	
75-18-3	1.70	Dimethyl sulfide	1.00		
111-65-9	1.86	Octane			0.10
67-64-1	1.95	Acetone	4.07	0.27	0.10
107-03-9	2.03	Propyl mercaptan		0.13	
930-27-8	2.28	2-methylfuran		0.14	
870-23-5	2.39	Allyl mercaptan		0.77	
141-78-6	2.42	Ethyl acetate	0.97		
111-84-2	2.48	Nonane			0.19
563-80-4	2.53	2-butanone	0.94		
96-17-3	2.63	2-methyl-butanal	3.03	0.17	
590-86-3	2.69	isovaleraldehyde	2.97		0.06
64-17-5	2.91	ethanol	24.89	3.80	0.61

10152-76-8	3.15	Allyl methyl sulfide		1.24	
625-86-5	3.15	2,5-dimethylfuran		0.12	0.12
107-87-9	3.49	2-Pentanone			0.08
431-03-8	3.58	Diacetyl			0.17
124-18-5	3.86	decane		0.05	0.23
123-15-9	3.95	2-methyl pentanal		0.02	
110-02-1	4.31	Thiophene		0.03	
1192-62-7	4.49	2-Acetylfuran			0.06
108-88-3	4.63	Methylbenzene		0.18	0.48
4170-30-3	4.74	2-Butenal		0.43	0.31
600-14-6	5.25	2,3-pentanedione	0.52	0.08	0.31
624-92-0	5.37	Dimethyl disulfide	1.20	0.55	
66-25-1	5.63	Hexanal	0.21	0.09	
591-78-6	5.60	2-hexanone			0.10
554-14-3	5.80	2-methylthiophene		0.40	
1120-21-4	5.90	Undecane			0.10
1115-11-3	5.95	2-methyl-2-butenal	0.86	0.51	
27817-67-0	6.08	Allyl propyl sulfide		0.23	
554-14-3	6.48	2-methyl-thiophene		0.01	
100-41-4	6.52	Ethylbenzene			0.33
106-42-3	6.72	p-xylene			0.23
95-47-6	6.87	o-xylene			0.43
625-33-2	6.93	3-Penten-2-one			0.31
592-88-1	7.18	Allyl sulfide		4.95	
4941-53-1	7.19	5-Undecene			0.39
110-43-0	7.47	2-heptanone	0.07		
108-39-4	7.44	m-cresol			0.08
623-36-9	7.69	2-methyl-2-pentanal	0.44	1.15	
931-35-1	7.87	2-ethyl-4-methylimidazoline	0.03		
108-95-2	7.96	phenol	0.00		
106-42-3	8.15	p-xylene			0.74
5989-27-5	8.30	D-Limonene			0.16
110-43-0	8.38	2-Heptanone			0.25
110-12-3	8.40	5-methylhexanone	0.07		
120-92-3	8.47	Cyclopentanone			0.09
638-00-6	8.52	2,4-dimethylthiophene		0.42	
112-40-3	8.62	Dodecane			0.17
110-86-1	8.73	pyridine	0.07	0.22	
103-65-1	8.84	Propylbenzene			0.81
20662-84-4	8.99	trimethyloxazole	0.19		
107-86-8	9.14	3-methyl-2-butenal	0.03		
611-14-3	9.31	1-ethyl-2-methyl-benzene			0.18
622-96-8	9.39	1-ethyl-4-methyl-benzene			0.18
763-93-9	9.53	3-hexen-2-one			0.17
290-37-9	9.56	Pyrazine	0.05		
288-47-1	9.60	Thiazole		0.03	
2179-60-4	9.67	Methyl propyl disulfide	0.13	1.14	

3777-69-3	9.77	2-pentyl furan	0.23	0.17	
534-22-5	9.74	2-methyl-furan			0.40
638-02-8	10.44	2,5-dimethyl-thiophene	0.40	2.75	0.40
100-42-5	10.59	Styrene			0.86
5905-47-5	10.82	Methyl 1-propenyl disulfide		0.60	
109-08-0	11.18	Methyl pyrazine	1.12	0.28	0.13
108-67-8	11.25	1,3,5-trimethylbenzene			0.63
2179-58-0	11.46	Methyl allyl disulfide		5.20	
111-13-7	11.63	2-Octanone			0.33
5905-47-5	11.66	Trans propenyl methyl disulfide		1.99	
31367-46-1	11.88	3-methyl-2-heptanol	0.36		
104-51-8	12.30	Butylbenzene	0.11	0.29	1.42
116-09-6	12.42	Acetol	0.49		0.68
535-77-3	12.69	m-cymene			0.09
29381-66-6	12.88	Heptenal			0.21
123-32-0	12.93	2,5-dimethylpyrazine	0.22		0.19
108-50-9	13.12	2,6-dimethylpyrazine	0.94	0.36	
13925-00-3	13.26	Ethylpyrazine	0.13		
30434-64-1	13.33	3,4-dimethyl-2-cyclopenten-1-one			0.36
3664-60-6	13.50	7-octen-2-one			0.07
110-93-0	13.42	6-Methyl-5-hepten-2-one	0.76		
488-23-3	13.62	1,2,3,4-tetramethylbenzene			0.11
5910-89-4	13.77	2,3-dimethylpyrazine	0.11		
99-87-6	13.82	p-cymene			0.10
930-30-3	14.00	cyclopentenone			0.46
611-15-4	14.07	o-methyl-styrene			0.46
1120-73-6	14.34	2-methyl-2-cyclopentenone			1.50
3658-80-8	14.45	Dimethyltrisulfide	0.63	2.29	
13925-03-6	14.86	2-ethyl-6-methyl-pyrazine	0.46		
821-55-6	15.02	2-nonanone	0.08		0.42
14667-55-1	15.49	Trimethyl pyrazine	0.42		
538-68-1	15.61	Pentyl benzene	0.19	0.59	1.51
1014-60-4	16.14	1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene	0.17		
2719-52-0	16.31	(1-methylbutyl)-benzene			1.15
591-12-8	16.50	Angelica lactone			0.36
498-60-2	16.60	3-Furaldehyde			0.30
13925-07-0	16.75	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	0.17		
123-115	16.75	Anisaldehyde		0.17	
1121-05-7	16.80	2,3-methyl-2-cyclopenten-1-one			0.87
64-19-7	17.14	Acetic acid	6.00		2.75
4313-03-05	17.52	2,4-heptadienal			1.19
1998-01-01	17.67	Fufural	1.29	0.12	14.92
2179-57-9	17.91	Allyl disulfide		13.95	
505-20-4	18.00	1,2-Dithiane	1.82		
7525-62-4	18.19	m-Ethylstyrene			0.46
13925-09-2	18.18	2-ethenyl-6-methyl-pyrazine	0.56		
1193-79-9	18.30	2-acetyl-5methylfuran			0.77

104-76-7	18.30	2-ethyl hexanol	0.28		
3600-24-6	18.37	Diethyl trisulfide	0.10		
271-89-6	18.59	Benzofuran			0.64
1192-62-7	18.83	2-Acetylfuran	0.57		4.65
100-52-7	19.20	Benzaldehyde	1.49		1.03
	19.61	5-Hydroxy-2-heptanone			1.09
1979-09-04	19.82	Propionic acid	1.80		
1575-57-1	19.86	1-Acetoxy-2-butanone			1.04
78-70-6	20.08	L-Linalool	0.25		
13679-61-3	20.17	Methyl thiofuroate	0.19	0.31	
79-31-2	20.68	isobutyric acid	0.26		
620-02-0	20.80	5-methyl furfural	2.40		9.51
34135-85-8	21.03	Allyl methyl trisulfide		6.10	
930-60-9	21.24	2-cyclopentene-1,4-dione			2.66
104-55-2	21.34	Cinnamaldehyde	0.40		
108-29-2	21.80	Dihydro-5-methyl-2(3H)-Furanone	1.86	0.45	
1193-79-9	22.04	2-Acetyl-5-methylfuran	0.49		1.40
96-48-0	22.36	Dihydro-2(3H)-furanone	0.43		
107-92-6	22.43	Butyric acid	0.51		0.21
122-78-1	22.73	Phenyl acetaldehyde			0.38
98-86-2	22.95	Acetophenone	0.37		0.83
6028-61-1	23.18	Propyl trisulfide		0.51	
98-00-0	23.51	Furfuryl alcohol	2.42	0.66	3.53
13678-51-8	24.66	2-(2-furanylmethyl)-5-methyl-furan			0.16
3524-87-6	24.79	6-methyl-4(1H)-Pyrimidinone			0.08
51080-20-7	24.85	4-Methyl-2-pentylfuran			0.26
590-42-1	24.92	isobutyl isothiocyanate		3.66	
62488-52-2	25.05	3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene			0.42
3857-25-8	25.21	5-methylfurfuryl alcohol	2.23		
4505-38-8	25.42	1,4-cyclohex-2-enedione			0.30
109-52-4	25.49	Valeric acid	0.06		0.21
26444-19-9	25.79	Methylacetophenone			0.23
585-74-0	25.81	3'-methyl-acetophenone	0.15		
497-23-4	25.95	gamma-crotonolactone			0.39
25152-84-5	26.16	(E,E)-2,4-Decadienal			0.18
104-87-0	26.33	4-methyl benzaldehyde	0.10		
591-12-8	26.37	5-methyl-2(3H)-Furanone			0.38
	26.61	1-(5-Methyl-2-furyl)-2-propanone			0.73
2050-87-5	26.62	Allyl trisulfide		6.69	
118-93-4	27.07	2'-hydroxy-acetophenone	0.06		0.16
23726-93-4	27.45	Damascenone	0.40		
80-71-7	27.89	2-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one			0.44
62488-53-3	28.02	3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene		1.26	0.38
91-57-6	28.21	2-methyl-naphthalene			0.06
142-62-1	28.34	Hexanoic acid			0.50
43040-01-3	28.37	3-methyl-1,2,4-trithiane	0.52	0.20	
623-30-3	28.71	3-(2-furanyl)-2-Propenal			0.28

100-51-6	29.17	Benzyl alcohol	0.20		0.26
89-83-8	29.93	Thymol			0.14
576-26-1	30.05	2,6-dimethyl phenol			0.33
140-29-4	30.40	Benzyl cyanide			0.16
1072-83-9	30.59	2-Acetylpyrrole			0.05
71637-34-8	30.89	3-thiophenemethanol	0.06		
111-14-8	31.07	heptanoic acid	0.26	0.12	
1072-83-9	31.58	2-Acetylpyrrole	1.54	0.70	
95-48-7	32.44	o-cresol			2.69
1119-60-4	32.70	6-Heptenoic acid			0.14
1003-29-8	32.86	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde			0.07
124-07-2	33.66	Octanoic acid	0.00	0.29	0.49
90-00-6	34.07	2-ethyl-phenol			0.16
95-97-4	34.19	2,5-xylenol			0.27
106-44-5	34.28	p-cresol	0.20		1.16
108-39-4	34.45	m-cresol	0.12	0.03	0.67
18719-24-9	35.14	7-Octenoic acid			0.05
21981-18-0	35.65	2-ethyl-1-octen-3-yne			0.06
105-67-9	35.83	2,4-xylenol			0.10
112-05-0	36.14	nonanoic acid	0.78	0.30	0.25
108-68-9	36.41	3,5-Xylenol			0.20
620-17-7	36.56	3-ethyl-phenol			0.07
	36.84	5-Formyl-2-furfurylmethanote			0.10
611-13-2	36.85	methyl 2-furoate	0.05		
95-65-8	37.44	3,4-Xylenol	0.02		0.08
527-60-6	37.52	2,4,6-trimethyl-phenol			0.03
	38.07	4,6-Diethyl-1,2,3,5-terathiolane		0.05	
	38.29	2,5-dimethyl-2-hydroxy-3(2H)-thiophenone		0.02	
28564-83-2	38.40	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one		0.04	
28564-83-2	38.41	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	0.09		
334-48-5	38.50	Decanoic acid	0.07	0.02	0.12
96-76-4	39.51	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	0.08		
123-76-2	39.69	levulinic acid	0.05		
1708-32-3	40.82	Dihydrothiophene	0.20		
65-85-0	41.80	Benzoic acid	0.28	0.14	0.13
88-14-2	41.91	2-Furancarboxylic acid	0.11	0.03	
4412-96-8	42.91	3-methyl-2-furancarboxylic acid	0.06		
	43.01	3H-1,2-Dithiole-3-thione		0.20	
67-47-0	43.47	5-Hydroxymethylfurfural	0.08		0.31

2) 식물성 천연발효 조미소재 prototype의 향기성분 결과

식물성 천연발효 조미소재의 서로 다른 특징을 보유했다. 볶음풍미베이스는 Furfural, 5-Methyl Furfural, Furfuryl alcohol과 Xylene, Thymol, Cymene, Cresol, Styrene 성분이 동시

에 존재함으로써 burnt, smoky의 flavor profile을 보이며, 동시에 2-Octanone, 2-Heptanone, 2,4-Heptadienal, Heptanoic acid과 같은 지방산이 분해된 휘발성 향기성분이 metal-like 관능에 관여하여 grilled 풍미로 추정된다. 육수풍미베이스에서는 allium 채소계열의 sulfur compounds와 maillard reaction 으로부터 생성된 Pyrazine, Thiophen, Thiazole등이 flavor profile에 주요 성분으로 보여진다. 채소풍미베이스는 토마토향기성분의 특징인 Dimethyl sulfide, Acetophenone, Damascenone flavor 의 특징으로 보이며, cinnamaldehyde의 영향으로 조리감을 주는데 역할을 할 수 있다.

3) 식물성 천연발효 조미소재 prototype과 경쟁사의 유사제품과 비교

분석한 유사제품들의 특징은 roasted flavor 와 연관성이 있는 pyrazine 계열이 다양하게 검출되었으며, 특히 샘플 G와 H는 소재로써 roasted character를 부여하는 소재로 추정된다. 샘플 E는 sulfur-contain compounds중 beef flavor 로써 threshold value 낮고 주요 key compounds로 알려진 2-methyl-3-furanthiol를 다량 함유해 beef-like character의 역할을 하는 소재로 추정된다. 이외의 다른 샘플은 Meaty-like profile로 추정되는 샘플 A, B, C 의 2-Methyl-3-(methyldisulfanyl)furan가 다량 검출되었고, coffee와 roasted pork에서 분석되는 주요성분 중 4-Ethyl-5-methyl-1,3-thiazole는 샘플 C, E, G에서 공통적으로 다량 검출되었다. 유사제품의 특성들은 모두 roasted, meaty, beef-like와 같은 특성을 갖고 있으나, 샘플에서 개발된 볶음풍미베이스는 Benzene계열과 Phenol계열 및 지방산이 flavor 특성을 나타내어 smoky, grill의 특성을 갖고, 육수풍미베이스는 양파, 마늘, 대파, 무우의 황화합물이 유래되어 Dimethyltrisulfide compound는 savory meaty의 특성과 Propyl mercaptan, Allyl mercaptan, Allyl sulfide, Allyl methyl sulfide, Allyl propyl sulfide, Isobutyl isothiocyanate 의 채소 풍미로 flavor profile의 특성을 가졌다. 채소풍미베이스의 flavor profile 특성은 토마토의 향기성분인 Dimethyl sulfide, Acetophenone, Damascenone 과 spicy로 알려져있지만 토마토의 cooked character를 부여하는 cinnamaldehyde가 존재하여 채소풍미베이스의 전체적인 profile로 보여진다.

Table 96. 식물성 천연발효 조미소재와 유사제품의 휘발성 성분의 비교

possible volatile compound	CAS #	relative peak area (%)										
		A	B	C	D	E	F	G	H	채소풍미	육수풍미	볶음풍미
acids												
2-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)acetic acid	037148-64-4	-	14.792	-	5.782	5.536	14.422	1.454	6.913	-	-	-
Acetic acid	000064-19-7	0.988	3.229	2.091	3.362	0.342	3.928	1.438	0.819	6.00	-	2.75
Propionic acid	000079-09-4	0.122	0.163	0.102	0.105	0.085	3.020	0.211	0.607	1.8	-	-
Isobutyric acid	000079-31-2	0.104	0.427	0.166	1.508	0.242	10.186	0.403	1.374	0.26	-	-
Butyric acid	000107-92-6	0.155	0.546	0.131	0.157	0.134	1.978	0.197	1.238	0.51	-	0.21
Valeric acid	000109-52-4	0.938	0.464	0.450	-	0.239	5.730	1.989	0.801	0.06	-	0.21
4-Methylpentanoic acid	000646-07-1	0.047	-	0.120	0.032	0.113	-	0.579	-	-	-	-
Hexanoic acid	000142-62-1	0.456	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.50
Heptanoic acid	000111-14-8	0.019	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-Heptanoic acid	001119-60-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.14
Octanoic acid	000124-07-2	19.278	1.360	0.164	0.263	0.138	0.193	0.165	-	0.00	0.29	0.49
7-Octenoic acid	000719-24-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05
Nonanoic acid	000112-05-0	0.016	-	0.037	-	-	-	-	-	0.78	0.30	0.25
Decanoic acid	000334-48-5	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	0.02	0.12
Benzoic acid	000065-85-0	0.007	-	0.027	-	-	-	-	-	0.28	0.14	0.13
Levulinic acid	000123-76-2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-
2-Furancarboxylic acid	000412-96-8	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08	-	0.31
aldehydes												
Acetaldehyde	000075-07-0	-	0.237	-	0.137	-	0.269	0.149	0.220	-	0.11	0.04
2-Methylpropanal	000078-84-2	0.344	1.359	0.204	0.584	-	2.646	2.072	5.216	-	-	-
2-Methylbutanal	000096-17-3	0.669	7.344	2.000	2.524	0.304	5.645	6.642	14.286	3.03	0.17	-
Isovaleraldehyde	000590-86-3	-	-	-	-	-	-	-	-	2.97	-	0.06
3-Methylbutanal	000590-86-3	0.854	17.161	1.662	2.199	0.307	7.778	5.988	14.641	-	0.43	0.31
2-Methylidenebutanal	000922-63-4	-	0.102	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Methylpentanal	000123-15-9	-	-	-	0.042	-	-	-	-	-	0.02	-
Hexanal	000066-25-1	-	-	-	0.088	-	0.687	-	0.104	0.21	0.09	-
(E)-2-Methylbut-2-enal	001115-11-3	-	0.426	-	-	-	-	0.093	0.245	0.86	0.51	-
2-Methyl-2-pentanal	000623-36-9	-	-	-	-	-	-	-	-	0.44	1.15	-
2,4-Dimethylpent-2-enal	999018-23-2	-	-	-	-	-	-	-	0.390	-	-	-
Heptanal	000111-71-7	0.015	0.023	-	0.044	-	0.582	0.166	0.094	-	-	-
Heptenal	029381-66-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.21
Octanal	000124-13-0	-	-	-	-	-	0.587	0.176	0.108	-	-	-
(2E)-2-Isopropyl-5-methyl-2-hexenal	999075-20-8	0.162	0.106	0.042	-	-	-	5.476	0.707	-	-	-

Nonanal	000124-19-6	-	0.111	-	0.116	-	4.825	0.180	0.244	-	-	-
Furan-3-carbaldehyde	000498-60-2	-	-	-	0.759	-	-	-	-	-	-	0.30
Anisaldehyde	000123-11-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.17	-
Decanal	000112-31-2	-	0.058	0.041	-	-	0.417	-	-	-	-	-
Benzaldehyde	000100-52-7	0.804	3.908	0.298	-	0.720	1.375	5.113	6.519	1.49	-	1.03
2,4-heptadienal	004313-03-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.19
Furfural	000098-01-1	-	-	-	-	-	-	-	-	1.29	0.12	14.92
5-Methyl furfural	000620-02-0	-	-	-	-	-	-	-	-	2.40	-	9.51
Cinnamaldehyde	000104-55-2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.40	-	-
2-Phenylacetaldehyde	000122-78-1	0.974	2.301	0.320	0.078	0.037	-	1.241	7.525	-	-	0.38
(E,E)2,4-Decadienal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.14
3-Ethylbenzaldehyde	034246-54-3	-	-	0.033	-	-	-	-	-	0.1	-	-
4-Propan-2-ylbenzaldehyde	000122-03-2	-	-	-	-	-	0.251	-	-	-	-	-
(Z)-2-Phenylbut-2-enal	004411-89-6	-	-	-	-	-	-	0.313	0.364	-	-	-
4-Methyl-2-phenylpent-2-enal	026643-91-4	0.018	0.053	0.022	-	0.034	-	0.372	0.529	-	-	-
1H-Pyrrole-2-carbaldehyde	001003-29-8	0.030	-	-	0.159	0.042	0.016	-	-	-	-	0.07
5-Methyl-2-phenylhex-2-enal	021834-92-4	-	0.065	0.043	-	-	-	0.196	0.367	-	-	-
1-Methylpyrrole-2-carbaldehyde	001192-58-1	-	-	-	-	-	-	0.060	-	-	-	-
5-Hydroxymethylfurfural	000067-47-0	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08	-	0.31
esters												
Ethyl acetate	000141-78-6	-	-	0.080	1.591	-	-	-	-	0.97	-	-
Ethyl propanoate	000105-37-3	0.019	-	-	0.201	-	-	-	-	-	-	-
pentadecan-4-yl 2-acetyloxyacetate	999527-65-6	-	-	0.071	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl hexanoate	000123-66-0	0.008	-	-	0.259	-	-	-	-	-	-	-
Methyl 3-hexanoate	002396-78-3	8.197	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl octanoate	000111-11-5	0.964	-	0.100	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl octanoate	000106-32-1	0.358	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(2,2,4-trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptanyl) acetate	013851-11-1	0.008	-	-	-	-	-	-	0.123	-	-	-
Furan-2-ylmethyl acetate	000623-17-6	0.049	-	0.097	0.182	-	-	0.238	0.053	-	-	-
Methyl decanoate	000110-42-9	0.095	-	0.038	0.089	0.129	-	-	-	-	-	-
Benzyl formate	000104-57-4	1.397	-	-	-	-	-	0.413	0.232	-	-	-
Benzyl acetate	000140-11-4	0.557	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate	999067-89-0	0.136	0.127	-	0.370	0.082	2.106	0.064	0.049	-	-	-
Benzyl propionate	000122-63-4	0.072	-	-	-	-	-	0.021	-	-	-	-
Methyl dodecanoate	000111-82-0	-	-	-	-	0.055	-	-	-	-	-	-
3-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl	074367-34-3	0.062	0.251	0.261	0.216	0.533	0.462	0.079	0.466	-	-	-
2-methylpropanoate	[2,4,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl]	074381-40-1	-	0.231	0.192	0.332	5.177	1.709	0.081	0.374	-	-
2-methylpropanoate	(1-hydroxy-2,4,4-trimethylpentan-3-yl)2-methylpr	074367-33-2	-	-	0.168	0.172	0.417	-	-	0.316	-	-

opanoate													
Ethyl (E)-hexadec-9-enoate	054546-22-4	-	-	-	-	0.035	-	-	-	-	-	-	-
Benzyl octanoate	010276-85-4	-	0.053	-	-	0.026	-	-	-	-	-	-	-
Diethyl benzene-1,2-dicarboxylate	000084-66-2	-	-	0.012	-	-	-	-	-	-	-	-	-
furans													
Furan	000110-00-9	-	-	-	-	-	1.267	-	-	-	-	-	-
2-Methylfuran	000534-22-5	0.075	-	1.988	0.878	0.229	0.804	0.030	0.392	-	0.14	0.04	-
4-Methyl-2,3-dihydrofuran	034314-83-5	-	-	0.155	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-Dimethylfuran	000625-86-5	0.011	-	-	-	-	0.399	0.081	0.166	-	0.12	0.12	-
2-Acetyl furan	001192-62-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-
2-Prop-2-enylfuran	075135-41-0	-	-	-	0.084	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Butyl-4-methyl-1,3-dioxolane	074094-60-3	0.127	-	-	-	-	-	0.321	-	-	-	-	-
4-Methyl-2-pentyl-1,3-dioxolane	001599-49-1	-	-	0.023	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Pentylfuran	003777-69-3	0.056	0.072	0.061	1.112	0.048	0.254	-	0.125	0.23	0.17	-	-
2-(furan-2-yl)furan	005905-00-0	0.042	-	-	0.128	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Acetyl-5-methylfuran	001193-79-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.77
2-Acetylfuran	001192-62-7	-	-	-	-	-	-	-	-	0.57	-	-	4.65
Benzofuran	000271-89-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.64
2-(2-furanylmethyl)-5-methyl furan	013678-51-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.16
4-Methyl-2-pentylfuran	051080-20-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.26
3-Phenylfuran	013679-41-9	-	0.312	0.032	-	0.069	-	0.290	0.234	-	-	-	-
alcohols													
3-Methylbut-3-en-2-ol	010473-14-0	-	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-	-
Ethanol	000064-17-5	-	-	-	-	-	-	-	-	24.89	3.80	0.61	-
Butan-1-ol	000071-36-3	-	0.627	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4-Dimethyl-2,4-pentadien-1-ol	999018-26-0	-	-	0.037	-	-	-	1.877	0.409	-	-	-	-
3,5,5-Trimethylcyclohex-2-en-1-ol	000470-99-5	0.040	-	-	-	-	-	2.882	-	-	-	-	-
2,3,4,5-Tetramethylcyclopent-2-en-1-ol	082061-20-9	-	-	-	-	-	-	-	0.279	-	-	-	-
3-methyl-2-heptanol	031367-46-1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.36	-	-	-
2-Methyl-2-propylPropane-1,3-diol	000078-26-2	-	-	-	-	-	-	-	0.525	-	-	-	-
Adamantan-1-ol	000768-95-6	-	-	-	0.017	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexan-1-ol	000111-27-3	-	-	-	-	0.082	-	-	-	-	-	-	-
Pyridin-3-ol	000109-00-2	-	-	-	-	0.310	-	-	-	-	-	-	-
2-Ethylhexan-1-ol	000104-76-7	-	0.210	0.032	-	0.143	0.325	-	-	0.28	-	-	-
L-Linalool	000078-70-6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.25	-	-	-
2-(2-methoxyethoxy)ethanol	000111-77-3	-	-	0.020	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Furfuryl alcohol	000098-00-0	0.245	-	0.457	1.000	-	0.589	0.198	0.087	2.42	0.66	3.53	-
Benzyl alcohol	000100-51-6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	-	0.26
2-Methylquinolin-8-ol	000826-81-3	-	0.030	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-(2-butoxyethoxy)ethanol	000112-34-5	-	-	0.020	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Phenylmethanol	000100-51-6	14.817	0.391	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-Pent-3-en-2-ol	001569-50-2	-	-	-	-	-	0.085	-	-	-	-	-
Phenylmethanol	000100-51-6	-	-	-	-	-	-	0.088	-	-	-	-
phenols												
2-Methoxyphenol	000090-05-1	0.076	0.374	0.026	-	0.257	-	-	0.122	-	-	-
2,6-Ditert-butyl-4-methylphenol	000128-37-0	-	0.040	-	0.168	0.149	0.830	0.055	0.072	-	-	-
o-Cresol	000095-48-7	-	-	-	-	-	0.024	0.012	-	-	-	2.69
p-Cresol	000106-44-5	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	1.16
m-Cresol	000108-39-4	-	-	-	-	-	-	-	-	0.12	0.03	0.67
Phenol	000108-95-2	0.017	0.037	0.012	-	0.013	0.040	0.026	0.118	-	-	-
Thymol	000089-83-8	-	-	-	-	-	0.172	-	-	-	-	0.14
2,6-Dimethylphenol	000576-26-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.33
2,4,6-Trimethylphenol	000527-60-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20
2-Ethylphenol	000090-00-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.16
3,5-Xylenol	000108-68-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20
2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol	000096-76-4	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08	-	-
2,6-Dimethoxyphenol	000091-10-1	0.018	0.181	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-Ditert-butylphenol	005875-45-6	-	0.022	0.084	0.189	0.092	0.087	-	-	-	-	-
lactones												
Angelica lactone	000591-12-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.74
5-Methyloxolan-2-one	000108-29-2	0.530	0.028	-	-	-	0.197	0.128	0.086	-	-	-
Oxolan-2-one	000096-48-0	0.025	0.109	0.498	0.080	0.065	0.451	1.234	0.963	-	-	-
5-Ethyloxolan-2-one	000695-06-7	-	-	-	-	-	0.140	-	-	-	-	-
γ-crotonolactone	000497-23-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.39
3-Hydroxy-4,4-dimethyloxolan-2-one	052126-90-6	-	-	-	-	-	-	0.101	-	-	-	-
ketones												
Propan-2-one	000067-64-1	-	1.988	0.230	-	-	-	-	-	4.07	0.27	0.10
Butan-2-one	000078-93-3	0.177	1.679	0.092	0.138	1.378	0.722	0.451	0.793	0.94	-	-
Diacetyl	000431-03-8	-	-	-	-	0.049	-	-	-	-	-	0.17
Pentan-2-one	000107-87-9	-	-	0.288	0.134	4.130	-	0.056	0.200	-	-	0.08
Butan-2-one	000563-80-4	-	-	-	-	-	0.796	0.025	-	-	-	-
2,3-Pentanedione	000600-14-6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.52	0.08	0.31
4-Methylpentan-2-one	000108-10-1	-	0.086	0.080	-	-	-	0.113	-	-	-	-
2,2,5,5-Tetramethylhexan-3-one	000868-91-7	-	-	-	-	0.016	-	-	-	-	-	-
Hexan-3-one	000589-38-8	-	-	-	-	0.171	-	-	-	-	-	-
5-Methylhexan-3-one	000623-56-3	-	-	0.052	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexan-2-one	000591-78-6	-	-	-	-	0.097	-	-	-	-	-	0.01
1-(2-methylcyclopenten-1-yl)ethanone	003168-90-9	-	-	-	-	-	-	0.087	-	-	-	-
3-penten-2-one	000625-33-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.31
4-Methylhexan-2-one	000105-42-0	-	0.039	0.044	-	0.020	-	0.111	-	-	-	-

2,4-Dimethylpentan-3-one	000565-80-0	-	-	-	-	-	0.148	0.063	-	-	-	-
Hexane-2,3-dione	003848-24-6	-	-	-	0.363	-	-	-	-	-	-	-
2,4-Dimethylpentan-3-one	000565-80-0	-	-	-	-	-	-	-	0.065	-	-	-
Heptan-2-one	000110-43-0	-	-	-	-	-	0.066	-	-	0.07	-	0.25
5-Methylhexan-2-one	000110-12-3	-	0.268	0.225	0.040	0.147	0.026	0.739	0.205	0.07	-	-
Cyclopentanone	000120-92-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.09
Hexane-3,4-dione	004437-51-8	0.267	-	-	-	-	-	-	0.047	-	-	-
Heptane-2,3-dione	000096-04-8	-	0.100	0.034	0.041	0.007	0.122	0.181	0.222	-	-	-
Heptan-2-one	000110-43-0	0.074	0.034	-	0.187	0.056	-	0.165	0.107	-	-	-
3-hexen-2-one	000763-93-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.17
(2R)-2-Methylcyclopentan-1-one	001120-72-5	-	-	0.026	-	0.019	-	-	-	-	-	-
6-Methylheptan-2-one	000928-68-7	0.008	0.023	0.029	-	0.095	-	0.107	0.101	-	-	-
2-Octanone	000111-13-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.33
3,4-Dimethylcyclopentan-1-one	019550-73-3	-	-	-	-	0.055	-	-	-	-	-	-
2-Methyloctan-3-one	000923-28-4	-	-	-	-	-	-	0.056	-	-	-	-
2-Methyloxolan-3-one	003188-00-9	-	-	1.943	0.138	1.268	-	-	0.296	-	-	-
Octane-3,5-dione	003214-41-3	-	-	0.022	-	-	-	-	-	-	-	-
Octane-2,3-dione	000585-25-1	-	-	0.150	0.051	0.024	-	0.463	0.521	-	-	-
2,7-Dimethyloctan-4-one	059387-92-7	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-	-
1-Hydroxypropan-2-one	000116-09-6	-	-	-	-	0.207	-	-	-	-	-	-
3,4-Dimethyl-2-cyclopentene-1-one	030434-64-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.36
7-Octen-2-one	003664-60-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07
6-Methylhept-5-en-2-one	000110-93-0	0.008	-	0.356	-	-	-	-	0.120	0.76	-	-
Cyclopentenone	000930-30-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.46
2-methyl-2-cyclopentenone	000120-73-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.50
2-Nonane	000821-55-6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08	-	0.42
2,3-Dimethyl-2-cyclopenten-1-one	001121-05-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.87
1-(furan-2-yl)ethanone	001192-62-7	0.122	0.265	0.090	0.275	0.326	-	0.957	0.726	-	-	-
2,3-Dimethyl-2-cyclopenten-1-one	001121-05-7	-	-	-	-	0.042	-	0.056	0.070	-	-	-
1-Acetoxy-2-butanone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.04
1H-Pteridin-4-one	036239-33-5	0.369	-	0.205	0.394	0.244	-	-	-	-	-	-
2-Cyclopentene-1,4-dione	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.66	-
Acetophenone	000098-86-2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.37	-	0.83
1,4-Cyclohex-2-enedione	004505-38-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03
Methylacetophenone	026444-19-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.23
3'-Methylacetophenone	000585-74-0	-	-	-	-	-	-	-	-	0.15	-	-
1-Morpholin-4-ylbutan-1-one	999081-32-1	-	-	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-
Imidazolidin-2-one	000120-93-4	-	-	-	-	-	-	-	0.033	-	-	-
6-Methyl-4(1H)-Pyrimidione	003524-87-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08
4-[tert-butyl(dimethyl)silyloxy]-3,3-dimethylcyclohexan-1-one	999136-30-8	-	-	0.063	-	-	-	-	-	-	-	-

3-Methyl-1-phenylbutan-1-one	000582-62-7	-	-	-	-	-	-	-	0.054	-	-	-	-
1-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)ethanone	001450-72-2	0.013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Phenylheptan-1-one	001671-75-6	-	-	-	-	-	-	-	0.028	-	-	-	-
2-Hexylcyclopentan-1-one	013074-65-2	-	-	-	-	-	0.064	-	-	-	-	-	-
2-Acetylpyrrole	001072-83-9	0.169	0.414	0.460	0.739	0.117	0.113	1.111	0.652	1.54	0.70	-	-
5-Methylhomoadamantan-4-one	999126-41-4	-	-	-	-	0.028	-	-	-	-	-	-	-
hydrocarbons													
Hexane	000110-54-3	-	-	-	0.074	-	0.142	0.058	-	-	-	-	-
2,2-Dimethylhexane	000590-73-8	-	-	-	0.023	-	-	-	-	-	-	-	-
Heptane	000142-82-5	0.153	-	-	-	-	-	0.080	-	-	-	-	-
Octane	000111-65-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1-0
Nonane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.19
Decane	000124-18-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	0.23	-
Undecane	000112-40-3	1.198	0.813	0.160	0.516	0.210	-	-	0.217	-	-	-	0.01
5-Undecane	400941-53-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.39
2-Methyldodecane	001560-97-0	-	-	-	-	-	0.051	-	-	-	-	-	-
Dodecane	000629-50-5	0.042	-	-	0.058	0.027	-	-	0.060	-	-	-	0.17
Tridecane	000629-59-4	0.301	-	0.038	0.225	0.305	-	0.296	0.090	-	-	-	-
sulfur-containing compounds													
Carbon disulfide	000075-15-0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.18	-	-
Dimethyl sulfide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.00	-	-	-
Methanethiol	000074-93-1	-	-	-	0.068	0.300	-	0.034	0.120	-	-	-	-
Methanedithione	000075-15-0	-	-	0.021	-	0.064	0.514	-	-	-	-	-	-
Methylsulfanylmethane	000075-18-3	0.054	0.061	0.048	0.037	0.045	-	-	0.071	-	-	-	-
Propyl mercaptan	000107-03-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-
Allyl mercaptan	000870-23-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.77	-	-
Allyl methyl sulfide	010152-76-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.24	-	-
Dimethyl disulfide	000624-92-0	0.570	3.958	0.103	2.009	0.024	0.917	5.150	0.785	1.20	0.55	-	-
Thiophene	000110-02-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-
2-Methylthiophene	000554-14-3	-	-	6.409	2.648	0.477	0.950	-	0.195	-	0.04	-	-
Allyl propyl sulfide	27817-67-0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.23	-	-
Allyl sulfide	000592-88-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.95	-	-
3-Methylthiophene	000616-44-4	-	-	0.803	-	-	-	-	0.100	-	-	-	-
2-Methyl-4,5-dihydrothiophene	004610-02-0	-	-	0.164	-	0.060	-	-	-	-	-	-	-
1-(Disulfanyl)butane	002179-60-4	-	0.091	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Ethylthiophene	000872-55-9	0.147	-	-	0.026	0.015	-	-	-	-	-	-	-
2-Ethyl-5-methylthiophene	040323-88-4	-	-	-	-	-	-	-	0.090	-	-	-	-
Thiazole	000288-47-1	0.089	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-
Methyl propyl disulfide	002179-60-4	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	1.14	-	-
2,5-Dimethylthiophene	000638-02-8	-	-	-	-	-	-	-	0.098	0.40	2.75	0.40	-
Trans propenyl methyl disulfide	005905-47-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.59	-	-

Allyl methyl disulfide	002179-58-0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.20	-
2,4-Dimethylthiophene	000638-00-6	-	-	0.038	-	-	-	0.102	0.098	-	-	0.42	-
2,3,4-Trimethylthiophene	001795-04-6	-	0.080	-	-	0.010	-	-	-	-	-	-	-
4-Methyl-1,3-thiazole	000693-95-8	0.141	-	0.056	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methyl-1,2,4-trithiane	043040-01-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.52	0.20	-
2-Methylfuran-3-thiol	028588-74-1	-	-	-	-	5.892	-	-	-	-	-	-	-
Thiophene-3-carboxylic acid	000088-13-1	0.083	-	0.084	-	0.335	-	-	-	-	-	-	-
4,5-Dimethylthiazole	003581-91-7	-	-	0.060	-	0.013	-	-	-	-	-	-	-
Dimethyltrisulfide	003658-80-8	0.132	7.722	0.112	2.746	-	1.476	1.465	1.165	0.63	2.29	-	-
2-Methyl-5-methylsulfanylfuran	013678-59-6	-	-	-	-	0.037	-	-	-	-	-	-	-
2,5-Dimethyl-4-ethyl-1,3-thiazole	032272-57-4	-	0.028	0.019	-	0.036	-	0.067	0.078	-	-	-	-
4-Ethyl-5-methyl-1,3-thiazole	052414-91-2	-	-	21.218	0.037	21.213	-	21.193	-	-	-	-	-
4-Methyl-5-ethyl-1,3-thiazole	031883-01-9	-	-	0.369	0.086	0.036	-	-	-	-	-	-	-
2,4-Dimethyl-5-ethyl-1,3-thiazole	038205-61-7	-	-	0.302	-	0.041	-	-	-	-	-	-	-
Furan-2-ylmethanethiol	000098-02-2	-	-	-	-	0.325	-	-	-	-	-	-	-
2,5-Dipropyl-1,3-thiazole	041981-73-1	1.564	-	-	-	-	-	-	0.108	-	-	-	-
Dihydro-2-methyl-3(2H)-thiophenone	013679-85-1	-	-	4.471	-	1.341	-	-	-	-	-	-	-
Allyl disulfide	002179-57-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13.95	-
1,2-Dithiane	000505-20-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.82	-	-
1,2,4,5-Tetraazinan-3,6-dithione	036239-33-5	0.592	-	-	0.749	0.319	-	-	0.291	-	-	-	-
Diethyl trisulfide	003600-24-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-
Allyl methyl trisulfide	034135-85-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.10	-
Propyl trisulfide	006028-61-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.51	-
3-Methylsulfanylthiophene	020731-74-2	0.471	-	-	-	0.070	-	0.335	-	-	-	-	-
Isobutyl isothiocyanate	000590-42-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.66	-
2-Methyl-5,6-dihydro-1,4-oxathiine	003643-97-8	-	-	1.662	-	-	-	0.032	-	-	-	-	-
3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene	062488-52-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.42
2-Methyl-3-(methylsulfanyl)furan	065505-17-1	2.878	4.610	2.534	1.307	0.526	-	-	-	1.287	-	-	-
Dihydrothiophene	001708-32-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-	-
cis-3-Ethyl-5-methyl-1,2-dithiolan-4-one	999088-88-0	-	-	-	-	0.107	-	-	-	-	-	-	-
1-(4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)ethanone	999051-54-7	-	-	0.011	-	-	0.104	-	-	-	-	-	-
2,5-Dihydro-1,2-thiazole	000288-47-1	-	-	-	-	0.013	-	-	-	-	-	-	-
3-Methylsulfanylpropan-1-ol	000505-10-2	0.079	-	-	-	-	-	0.055	-	-	-	-	-
5-Amino-1,2-dihydro-1,2,4-triazole-3-thione	016691-43-3	-	-	0.783	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,3-Thiazolidine	000504-78-9	0.024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-[[[(E)-Prop-1-enyl]trisulfanyl]propane	999128-44-1	-	-	-	-	-	-	-	0.115	-	-	-	-
2-[(Methylsulfanyl)methyl]furan	057500-00-2	0.043	-	0.253	0.273	0.012	-	-	-	-	-	-	-
5-(2-Chloroethyl)-4-methyl-1,3-thiazole	000533-45-9	-	-	-	-	-	-	-	0.024	-	-	-	-
1,3-Benzothiazole	000095-16-9	-	-	0.019	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-Methyl-1,3-thiazol-2-amine	007305-71-7	0.047	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Propylthiolane	001551-34-4	0.078	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3-Phenylthiophene	002404-87-7	-	0.058	0.579	-	0.030	-	-	0.087	-	-	-
2-Methyl-3-[(2-methylfuran-3-yl)disulfanyl]furan	999251-01-3	0.087	0.045	0.957	0.041	5.983	-	-	0.035	-	-	-
Isothiocyanatobenzene	000103-72-0	0.030	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)ethanol	000137-00-8	-	0.386	0.726	-	0.757	-	-	0.253	-	-	-
terpenes												
α -Pinene	000080-56-8	2.538	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -Pinene	000127-91-3	2.398	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sabinene	003387-41-5	0.624	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Carene	013466-78-9	2.927	0.301	-	-	0.046	-	-	-	-	-	-
dl-Limonene	000138-86-3	8.569	-	3.836	-	-	-	0.408	-	-	-	0.16
Moslene	000099-85-4	0.258	0.079	0.067	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Terpinolen	000586-62-9	0.151	-	0.026	-	-	-	-	-	-	-	-
Copaene	003856-25-5	0.097	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Junipene	000475-20-7	-	-	-	0.091	0.058	-	-	-	-	-	-
Caryophyllene	000087-44-5	0.474	0.066	0.318	-	-	0.530	0.152	-	-	-	-
Humulene	006753-98-6	0.013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -Selinene	017066-67-0	0.069	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Muurolene	031983-22-9	-	-	-	-	0.016	-	-	-	-	-	-
δ -Cadinene	000483-76-1	0.020	-	-	1.379	-	-	-	-	-	-	-
Aromadendrene	000489-39-4	-	-	-	0.165	-	-	-	-	-	-	-
(-)- α -Copaene	003856-25-5	-	-	-	0.034	-	-	-	-	-	-	-
benzenes												
Toluene	000108-88-3	0.208	0.192	0.607	0.080	0.340	0.453	6.009	1.266	-	0.18	0.48
Ethylbenzene	000100-41-4	0.070	-	0.107	-	-	-	0.295	-	-	-	0.33
1,3-Xylene	000108-38-3	0.021	-	0.029	-	-	-	0.028	-	-	-	-
p-Xylene	000106-42-3	-	0.027	0.045	-	-	-	-	-	-	-	0.97
o-xylene	000095-47-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.43
m-cresol	000108-39-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08
Propylbenzene	000103-65-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.81
1-ethyl-2-methyl benzene	000611-14-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.18
1-ethyl-4-methyl benzene	000622-96-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.18
Styrene	000100-42-5	0.009	0.076	-	-	-	0.059	0.158	0.374	-	-	0.86
1,3,5-Trimethylbenzene	000108-67-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.63
Butyl benzene	000104-51-8	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11	0.29	1.42
m-Cymene	000535-77-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.09
1,2,3,4-tetramethylbenzene	000488-23-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11
p-Cymene	000099-87-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11
o-methyl-styrene	000611-15-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.46
Pentylbenzene	000538-68-1	0.065	-	-	-	0.022	0.055	-	-	0.19	0.59	1.51
11,3-bis(1,1-dimethylethyl)benzene	001014-60-4	-	-	-	-	-	-	-	-	0.17	-	-
(1-methylbutyl)benzene	002719-52-0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.15

m-Ethylstyrene	007525-62-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.46
Pentan-3-ylbenzene	001196-58-3	-	-	-	-	-	-	-	-	0.105	-	-	-
[(E)-2-methoxyethenyl]benzene	004747-15-3	0.948	0.143	-	-	-	-	-	0.131	-	-	-	-
Naphthalene	000091-20-3	1.113	-	0.131	0.081	0.045	-	-	-	-	-	-	-
Aniline	000062-53-3	-	-	-	-	-	0.055	0.072	-	-	-	-	-
1,6-Dimethyl-4-propan-2-ynaphthalene	000489-84-9	-	-	-	0.033	-	-	-	-	-	-	-	-
pyrazines													
2-Ethyl-4-methylimidazole	000931-35-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-
Pyridine	000110-86-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	0.22	-
Pyrazine	000290-37-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-
3-Tert-butyl-1,5-dimethylpyrazole	999070-51-3	-	-	-	0.061	0.042	-	-	1.053	-	-	-	-
2-Methylpyrazine	000109-08-0	0.037	0.307	0.151	-	-	0.156	0.470	0.090	1.12	0.28	0.13	-
2,5-Dimethylpyrazine	000123-32-0	0.168	0.717	0.145	0.046	-	0.524	4.425	0.638	0.22	-	0.19	-
2,6-Dimethylpyrazine	000108-50-9	0.124	1.295	0.138	0.119	-	0.378	0.716	0.355	0.94	0.36	-	-
Ethylpyrazine	013925-00-3	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13	-	-	-
2,3-Dimethylpyrazine	005910-89-4	0.023	0.054	0.042	-	-	0.081	0.295	0.262	0.11	-	-	-
2-Ethyl-6-methylpyrazine	013925-03-6	0.291	1.197	0.112	0.552	0.037	0.309	1.288	0.526	0.46	-	-	-
2-Ethyl-5-methylpyrazine	013360-64-0	0.118	0.339	0.081	0.271	0.027	0.216	1.299	0.520	-	-	-	-
Trimethylpyrazine	014667-55-1	0.292	0.413	0.150	0.279	-	0.821	0.891	0.527	0.42	-	-	-
2-Ethyl-3-methylpyrazine	015707-23-0	-	-	-	-	-	-	0.922	0.282	-	-	-	-
2,6-Diethylpyrazine	013067-27-1	-	0.043	-	0.037	-	-	0.207	0.182	-	-	-	-
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazine	013360-65-1	0.211	0.523	0.094	0.124	-	0.716	7.114	1.595	0.17	-	-	-
2,3-Diethylpyrazine	015707-24-1	-	-	-	-	-	-	0.031	0.029	-	-	-	-
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine	013925-07-0	0.196	1.416	0.119	0.304	0.055	-	1.034	1.476	-	-	-	-
2-Methyl-3-(2-methylpropyl)pyrazine	013925-06-9	-	-	0.016	-	-	-	0.359	0.165	-	-	-	-
2-Methyl-3,5-diethylpyrazine	018138-05-1	0.030	0.171	0.014	0.099	-	0.098	1.720	1.008	-	-	-	-
2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	017398-16-2	-	-	-	0.118	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Methyl-3-(2-methylpropyl)pyrazine	013925-06-9	-	-	-	-	-	-	0.220	0.061	-	-	-	-
2-(2-methylpropyl)-3,6-dimethylpyrazine	999094-48-4	-	-	-	-	-	-	1.847	0.428	-	-	-	-
2,5-Diethyl-3,6-dimethylpyrazine	999094-46-4	-	0.078	-	-	-	0.399	0.148	0.085	-	-	-	-
2-(2-methylpropyl)-3-(1-methylethyl)pyrazine	999125-81-6	0.171	0.029	0.156	-	-	0.114	0.207	0.205	-	-	-	-
2,5-Dimethyl-3-isoamylpyrazine	018433-98-2	-	0.090	-	-	0.020	0.165	-	-	-	-	-	-
2-Methyl-6-(3-methylbutyl)pyrazine	091010-41-2	-	0.358	0.146	-	-	-	1.165	0.363	-	-	-	-
2-Butyl-3-methylpyrazine	015987-00-5	-	-	-	-	-	-	0.593	0.145	-	-	-	-
2,5-Dimethyl-3-(3-methylbutyl)pyrazine	018433-98-2	-	0.443	0.029	-	-	-	4.372	1.854	-	-	-	-
5-Isopentyl-2,3-dimethylpyrazine	018450-01-6	-	-	-	-	-	-	0.055	-	-	-	-	-
2,3,5-Trimethyl-6-propylpyrazine	092233-82-4	-	-	-	-	-	-	0.249	-	-	-	-	-
2,3,5-Trimethyl-6-(3-methylbutyl)pyrazine	010132-43-1	-	0.071	-	-	-	-	0.188	0.062	-	-	-	-
amines													
2,4,6-Trimethylbenzene-1,3-diamine	003102-70-3	-	-	-	-	-	-	0.141	-	-	-	-	-
Anthracen-2-amine	000613-13-8	-	-	0.050	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N-(3-aminophenyl)acetamide	000102-28-3	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-	-
2,4,6-Trimethylbenzene-1,3-diamine	003102-70-3	-	-	-	-	0.063	0.068	0.058	-	-	-	-
N-(2-methoxyphenyl)formamide	005470-34-8	-	-	-	0.042	0.060	-	-	-	-	-	-
6-Methoxy-2-methylquinolin-8-amine	999149-51-8	-	-	-	-	-	0.033	0.319	0.105	-	-	-
oxazoles												
4,5-Dimethyl-1,3-oxazole	020662-83-3	-	-	-	-	0.029	-	-	-	-	-	-
Trimethyloxazole	020662-84-4	-	-	-	-	-	-	-	0.19	-	-	-
4-Ethyl-2,5-dimethyl-1,3-oxazole	030408-61-8	-	-	0.044	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Methyl-1,3,4-oxadiazole	003451-51-2	0.028	-	0.044	-	0.056	-	-	-	-	-	-
pyrroles												
1-(Furan-2-ylmethyl)pyrrole	001438-94-4	-	-	-	0.054	-	-	-	-	-	-	-
nitriles												
2-Iminocyclopentane-1-carbonitrile	002321-76-8	0.137	-	0.007	0.016	-	-	-	-	-	-	-
2-(Dimethylamino)acetonitrile	000926-64-7	-	-	0.108	-	0.091	-	-	-	-	-	-
aniline												
N,N-Dimethyl-4-(2,3,4,5,6-pentamethylphenyl)aniline	999368-32-6	0.149	-	-	-	-	0.525	-	-	-	-	-
indole												
1H-Indole	000120-72-9	-	-	-	-	0.007	-	-	-	-	-	-

3. 식물성 천연발효 조미소재의 요리적용 평가

식품산업에서의 조미소재는 가공식품특성에 따라 형태, 규격, 용도가 결정되어진다. 소재의 확장성과 시장성을 고려하면 가공식품의 시장규모에 따라 제품군, 컨셉에 맞춰 소재의 성능 검토가 필요해진다. 요리 적합성 검토에는 시장 규모에 따라 요리 종류가 정해질 수 있다. 최근 2013년부터 2015년까지 한국농수산물유통공사의 가공식품 세분화 시장 현황조사를 근간으로 시장규모를 파악하였다.

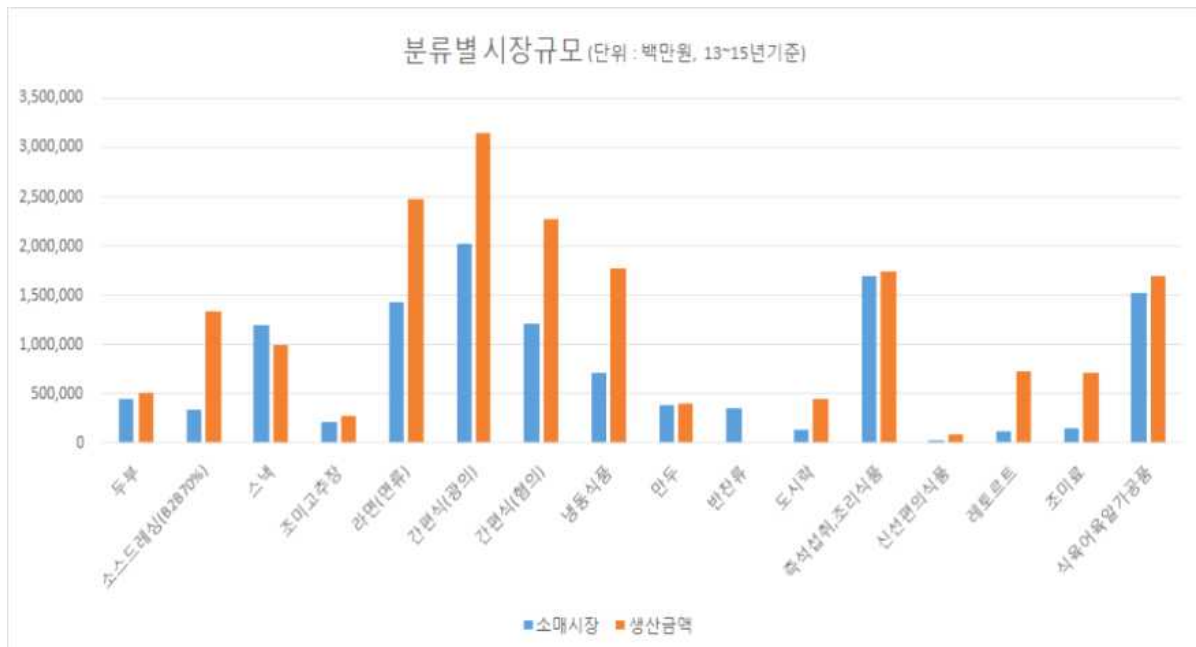


Fig. 51. 13~15년 가공식품 분류별 시장규모 (한국농수산물유통공사)

가. 식물성 천연발효 조미소재 3종 요리적용 평가

1) 볶음용(볶음퐁미) 조미소재 prototype의 요리 적합성 검토

가공식품에 있어서 고온의 요리퐁미 재현에 적합한 요리를 선별하여 레시피화하여 패널 5명에게 적합성을 검토하였다.

가) 볶음퐁미베이스를 이용한 채소볶음밥 비교검토

볶음밥은 재료가 무엇이 들어가느냐에 따라 수십 가지의 다양한 볶음밥이 있지만, 기본 식자재를 이용한 채소볶음밥을 기준으로 하였다.

Table 97. 채소볶음밥의 레시피

원료명	A_Control		B_볶음퐁미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
쌀밥	90.00	47.95	90.00	47.95
포도씨유	7.00	3.73	7.00	3.73
대파	15.00	7.99	15.00	7.99
양파	40.00	21.31	40.00	21.31
당근	10.00	5.33	10.00	5.33
호박	20.00	10.66	20.00	10.66
친일엽	0.62	0.33	0.62	0.33
우리콩연두	3.20	1.70	3.20	1.70
정제수	1.88	1.00	-	-
볶음퐁미베이스			1.88	1.00
합계	187.70	100.00	198.70	100.00
조리방법	1. 쌀을 깨끗이 씻은 후 쌀과 물을 1:1비율로 밥을 짓는다. 2. 대파, 양파, 당근, 호박을 잘게 다진다. 3. 팬에 포도씨유를 두른 후 야채를 볶은 뒤 밥을 넣어 볶아 준다.			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 채소본연의 맛과 향이 잘 느껴진다.

양파 볶아진 향이 좋다.

양파기름의 맛이 달큰하다.

기름기가 많아 느끼하다.

짜장 향이 난다.

야채볶은 향들이 싱싱하게 잘 살아 있다.

-B_볶음퐁미베이스 : 채소향이 낮아지면서 고기가 들어간듯한 향이 난다.

은은한 탄 향이 끝맛으로 갈수록 강해진다.

감칠맛이 더 강해진 듯하다.

단맛이 나는 것 같다.

나) 볶음퐁미베이스를 이용한 볶음쌀국수(팟타이) 비교검토

팟타이는 태국의 대중적인 요리이며, 동남아의 볶음요리로써 국내 시장에서 가공식품화의 시장성이 높은 요리로 파악되어 성능을 평가해보았다.

Table 98. 볶음쌀국수(팟타이)의 레시피

원료명	A_Control		B_볶음퐁미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
포도씨유	25.00	3.96	25.00	3.96
마늘	4.00	0.63	4.00	0.63
새우	190.00	30.06	190.00	30.06
양파	40.00	6.33	40.00	6.33
양배추	68.00	10.76	68.00	10.76
숙주	72.00	11.39	72.00	11.39
후추	0.50	0.08	0.50	0.08
소금	0.85	0.13	0.85	0.13
부추	24.00	3.80	24.00	3.80
쌀국수	185.00	29.27	185.00	29.27
소스	19.60	3.10	19.60	3.10
정제수	3.15	0.50		
볶음퐁미베이스	-	-	3.15	0.50
합계	632.10	100.00	632.10	100.00
조리방법	1. 숙주와 부추를 물에 씻어 준비하고 양배추, 양파는 0.4cm x 5cm로 썰어 준비한다. 2. 쌀국수를 끓는 물에 2분간 익혀 찬물로 헹궈준다. 3. 팬에 기름을 두른 후 강한 불에서 마늘을 익힌 후 채소를 볶다가 소스를 넣고 면을 넣어준다			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 달큰하다.

- 신 향이 느껴진다.
- 기름 맛이 난다.
- 어묵볶음 맛이 난다.
- 돼지고기가 들어간 맛이다. 느끼하다.
- 감칠맛이 높다.
- 불 맛이 잘 느껴진다.
- 부추의 향이 강하다.

-B_볶음퐁미베이스 : 기존보다 워으로 볶아 조리한 듯 불 향이 강하다.

새우를 먹을 땐 새우의 향이 강해 볶은 퐁미가 느껴진다.

다) 볶음퐁미베이스를 이용한 새우만두 비교검토

냉동식품군에서 가장 시장성이 높은 요리이다. 주재료는 새우로 중화풍 만두를 반영하여 조미소재의 성능을 평가하였다.

Table 99. 새우만두의 레시피

원료명	A_Control		B_볶음퐁미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
부추	118.00	26.07	118.00	26.07
두부	75.00	16.57	75.00	16.57
새우살	225.00	49.71	225.00	49.71
후추	0.56	0.12	0.56	0.12
간장	12.40	2.74	12.40	2.74
진분	12.00	2.65	12.00	2.65
소금	0.68	0.15	0.68	0.15
만두피	9.0	4.30	9.0	4.30
합계	452.64	100.00	452.64	100.00
만두소	207.00	99.00	207.00	99.00
정제수	2.10	1.00	-	-
볶음퐁미베이스	-	-	2.10	1.00
합계	209.1	100.00	209.1	100.00
조리방법	1. 부추, 두부, 새우살을 다져서 후추, 진장, 진분, 소금을 넣고 잘 섞어준다. 2. 만두를 빚어 찜기에 20분간 익혀준다.			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 깔끔하고 담백한 맛이다.

간이 약하다.

퐁내가 난다.

새우의 퐁내가 난다.

-B_볶음퐁미베이스 : 전체적인 퐁내가 사라졌다.

단맛이 난다.

당이 탄 냄새가 난다.

라) 채소볶음밥에서의 볶음퐁미베이스 Flavor profile 성능검토

요리적합성 검토를 통하여 채소볶음밥을 관능평가 요리로 선정하였다. 관능평가는 샘플식품의 전문패널요원을 이용하여 볶음퐁미베이스의 관능적 평가를 실시하여, Flavor profile를 파악하고, GC/MS분석 추정 결과와 Pairing DATA로 활용하였다.

관능평가는 채소볶음밥의 control과 볶음퐁미베이스를 첨가한 대조군으로 실시하였고, 전문패널 12명으로 하여 진행하였다. 패널테스트는 0점 '매우 약함'와 7점 '매우 강함'를 기준으로, 항목으로는 Sweet, Caramel-like, Vegetable, Meaty, Grill, Smoky, Oily로 하였다.

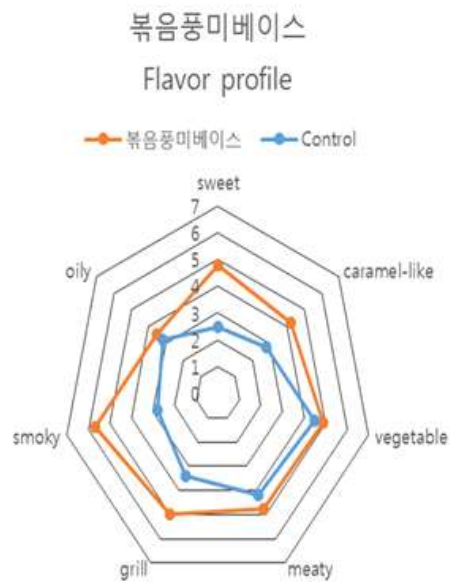


Fig. 52. 볶음퐁미베이스의 Flavor profile

패널 테스트 결과는 볶음퐁미베이스를 첨가한 대조군에서 Sweet, caramel-like, grill, smoky의 flavor profile을 나타낸 것으로 보인다.


2) 육수용(육수풍미) 조미소재 prototype의 요리 적합성 검토

한식은 국물요리가 다양하게 있으며, 시장트렌드에 따라 편의성을 갖춘 가공식품제품이 선보이고 있다. 이에 육수풍미 재현에 적합한 요리를 선별하여 레시피화, 패널 5명에게 적합성을 검토하였다.

가) 육수풍미베이스를 이용한 갈비탕 비교검토

갈비탕은 대표적인 편의식이다. 기본 식자재를 이용한 요리방법을 기준으로 성능 비교하였다.

Table 100. 갈비탕의 레시피

원료명	A_Control		B_육수풍미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
기본 갈비탕육수	44.08	45.23	44.80	45.23
정제수	19.20	19.38	19.20	19.38
갈비살	20.00	20.19	20.00	20.00
갈비뼈	12.00	12.12	12.00	12.00
천일염	0.40	0.40	0.36	0.36
대파슬라이스	2.00	2.02	2.00	2.02
정제수	0.65	0.66	0.04	0.04
육수풍미베이스	-	-	0.65	0.66
합계	99.05	100.00	99.05	100.00
기본갈비탕육수				
갈비(찜갈비/한우)	2000.00	23.03		
정제수	6000.00	69.08		
통후추	1.00	0.01		
대파	140.00	1.61		
편생강	12.00	0.14		
양파	120.00	1.38		
무우	400.00	4.61		
천일염	12.00	0.14		
합계	8685.00	100.00		
조리방법	1. 사방 3cm *4cm 자른 갈비찜용 갈비를 냉수에 4시간 동안 30분마다 갈아준다 (무게 대비 2배의 물로 채운다). 2. 끓는 물에 핏물 제거한 갈비를 넣고 끓어오르면 4분정도 끓인 후 핏물을 버리고 깨끗하게 갈비를 헹궈준다. 3. 다시 6리터의 물이 끓어오르면 갈비를 넣고 소금을 넣은 후 60분을 끓인다(중불). 4. 규격에 맞게 자른 채소를 넣고 30분간 중불에 끓여낸다.			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 국물 맛이 밋밋하다.

국물이 묵직한 느낌이다.

살짝 밋밋하고 느끼하다.

국물의 맛이 약하고 소금 맛이 된다. .

-B_육수풍미베이스 : 국물의 맛이 더 진하고 여러 야채를 넣은듯한 맛이 나며 조화롭다.

간이 더 강하게 느껴진다. 덜 느끼하다.


감칠맛이 매우 강하게 느껴진다.

달걀 비린 향 같은 냄새가 약하게 난다.

나) 육수풍미베이스를 이용한 잔치국수 비교검토

잔치국수의 육수는 멸치를 우려내는 맛으로 가공식품에서는 육수이외에 다른 맛(가쓰오)을 첨가하여 만드는 경우가 많았다. 해산물육수에도 가능함을 알기 위해 성능 평가하였다.

Table 101. 잔치국수의 레시피

원료명	A_Control		B_육수풍미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
기본멸치육수	34.25	34.08	34.25	34.08
정제수	34.25	34.08	34.25	34.08
면	25.00	24.88	25.00	24.88
천일염	0.50	0.50	0.50	0.50
호박	1.20	1.19	1.20	1.19
당근	1.00	1.00	1.00	1.00
지단(흰자)	1.20	1.19	1.20	1.19
지단(노른자)	2.00	1.99	2.00	1.99
대파	0.60	0.60	0.60	0.60
정제수	0.50	0.50	-	-
육수풍미베이스	-	-	0.50	0.50
합계	100.50	100.00	100.50	100.00
기본멸치육수				
다시용 멸치	100.00	0.89		
양파	120.00	1.07		
대파	100.00	0.89		
마늘	100.00	0.89		
생강	25.00	0.22		
통후추	5.00	0.04		
정종	100.00	0.89		
무	700.00	6.22		
건다시마	10.00	0.09		
건홍고추(땡초)	1.20	0.01		
정제수	10000.00	88.80		
합계	11261.20	100.00		
조리방법	<ol style="list-style-type: none"> 1. 찬물에 다시마와 멸치를 넣고 중불에서 끓인다. 2. 한 소끔 끓어오르면 다시마를 건지고 야채, 간장, 후추를 넣고 약 10분간 더 끓인다. 다시마 건지고 난후 10분간 정종 넣고 강한불에서 끓인다. 3. 팬에 올리브유를 두르고 소금을 넣어 당근과 애호박을 각각 볶아준다. 4. 달걀에 소금을 넣고 잘 풀어 준 후 팬에 익혀준 뒤 길게 채쳐준다. 			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 멸치 비린 향이 강하다.

물맛이 난다.

짭조름하다.

건어물 냄새가 난다.

국물에서 씹쓸한 맛이 난다.

-B_육수풍미베이스 : 씹쓸한 맛이 줄어들었다.

감칠맛이 매우 높아졌다.

비린 향이 줄었다.

국물 색이 연한 갈색이다.

감칠맛이 너무 강해 느끼하다.

간이 더 강하게 느껴진다.

다) 육수풍미베이스를 이용한 떡국 비교검토

떡국의 육수는 사골육수의 맛으로 하는 가공식품이 많은 편이다. 사골육수가 많은 한식에 성능을 평가하고자 한다.

Table 102. 떡국의 레시피

원료명	A_Control		B_육수풍미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
사골육수	35.00	35.12	35.00	35.12
정제수	35.00	35.12	35.00	35.12
떡국떡	28.00	28.10	28.00	28.10
천일염	0.31	0.31	0.30	0.30
마늘	0.15	0.15	0.15	0.15
대파	0.70	0.70	0.70	0.70
후추	0.01	0.01	0.01	0.01
정제수	0.49	0.49	-	-
육수풍미베이스	-	-	0.50	0.500
합계	99.66	100.00	99.66	100.00
조리방법	1. 육수와 물을 섞고 떡국 떡을 넣어 끓여준다. 2. 천일염 마늘 후추를 넣고 끓여준다. 3. 접시에 담은 후 파와 고명을 올린다.			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

- A_Control : 국물 맛이 약간 밋밋하다.
 사골의 누린내가 난다.
 소금의 짠맛이 된다.
 국물 맛이 담백하다.
- B_육수풍미베이스 : 라면국물 맛이 난다.
 조화로운 국물 맛이다.
 감칠맛이 강해진다.
 사골 누린내가 줄어들었다.
 국물 색이 조금 어둡다.
 다시다의 느끼한 맛이 있다.

라) 갈비탕에서의 육수풍미베이스 Flavor profile 성능검토

요리적합성 검토를 통하여 갈비탕을 관능평가 요리로 선정하였다. 관능평가는 샘플식품의 전문패널요원을 이용하여 육수풍미베이스의 관능적 평가를 실시하여, Flavor profile를 파악하고, GC/MS분석 추정 결과와 Pairing DATA로 활용하였다.

관능평가는 갈비탕의 control과 육수풍미베이스를 첨가한 대조군으로 실시하였고, 전문 패널 12명으로 하여 진행하였다. 패널테스트는 0점 ‘매우 약함’와 7점 ‘매우 강함’를 기준으로, 항목으로는 vegetable, Meaty, Salty, Rich taste, Umami, Fatty, Overall로 하였다.

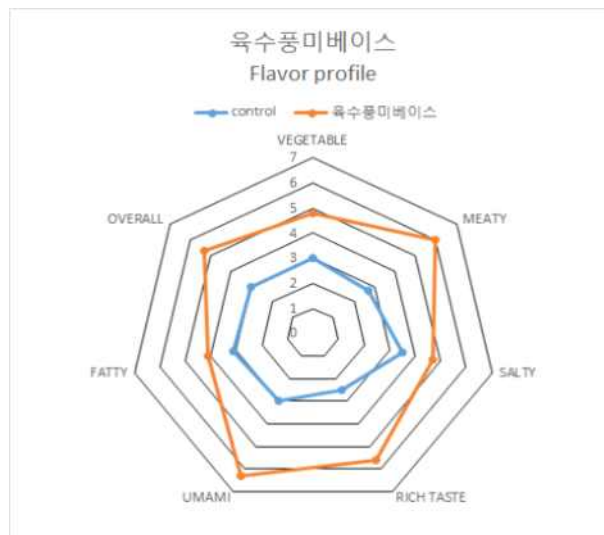


Fig. 53. 육수풍미베이스의 Flavor profile

패널테스트결과는 육수풍미베이스를 첨가한 대조군이 vegetable, meaty, fatty와 같은 향기성분과 관련된 항목에서 더 강한 강도로 느껴졌으며, 감칠맛, 농후감이 또한 강하게 느껴져 염미까지 강하게 느껴지는 결과로 보인다. 이것은 저염 효과도 기대할 수 있는 결과이다.

2) 범용(채소풍미) 조미소재 prototype의 요리 적합성 검토

가공식품산업에서는 한식요리이외에 동남아 및 서양요리를 제품화하고 있다. 이는 확장성과 범용성이 가능한 소재의 접목이 필요하고 특히, 서양식 요리에서는 토마토를 기본으로 하는 요리가 주류를 이룬다. 이에 서양식 요리를 고려하여 토마토베이스와 어울리는 소재로써, 적합한 요리를 선별하여 개발된 레시피로 패널 5명에게 소재의 적합성을 검토하였다.

가) 채소풍미 베이스를 이용한 미네스트로네 스프 비교검토

미네스트로네 스프는 서양 가정식의 대표적인 요리이다. 토마토베이스의 국물요리의 기준으로 성능 비교를 검토하였다.

Table 103. 미네스트로네 스프의 레시피

원료명	A_Control		B_채소풍미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
감자	80.00	13.31	80.00	13.31
양파	47.00	7.82	47.00	7.82
당근	23.00	3.83	23.00	3.83
양배추	34.00	5.66	34.00	5.66
샐러리	32.00	5.33	32.00	5.33
베이컨	22.00	3.66	22.00	3.66
마늘	3.00	0.50	3.00	0.50
방울토마토	52.00	8.65	52.00	8.65
파마산치즈	1.30	0.22	1.30	0.22
올리브오일	8.60	1.43	8.60	1.43
건과슬리	0.10	0.02	0.10	0.02
후추	0.03	0.00	0.03	0.00
천일염	2.40	0.40	2.40	0.40
바질페스토	7.50	1.25	7.50	1.25
우리콩연두	2.10	0.35	2.10	0.35
정제수	284.00	47.27	284.00	47.27
정제수	1.80	0.30	-	-
채소풍미베이스	-	-	1.80	0.30
합계	600.83	100.00		
조리방법	<ol style="list-style-type: none"> 1. 감자, 양파, 당근, 양배추, 샐러리를 얇게 나막썰기한다. 베이컨은 잘게 썰어준다. 2. 토마토는 끓는물에 데쳐 껍질을 벗겨 손질해준다. 3. 올리브 오일을 두른 팬에 마늘(1분)을 넣고 볶는다. 4. 당근과 양파를 볶는다(5분) 5. 감자(4분) → 베이컨(2분) → 토마토(1분) → 샐러리(30초)을 넣고 순서대로 볶는다. 6. 볶은 야채에 밀간(소금)을 해준다. 7. 물을 넣은 후 10분정도 끓인다. 8. 파마산치즈, 바질페스토, 발효물, 다진 파슬리, 소금, 후추를 넣고(1분) 끓여준뒤 불을 끄고 접시에 담아준다. 			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 토마토와 샐러리 향이 향기롭다.

토마토에서 우러난 국물이 시다.

물 맛이 난다. 밋밋하다.

베이컨 향이 약하게 난다.

담백하고 가벼운 맛이다.

채소로 육수를 낸 국물 맛이다.

-B_채소풍미베이스 : 단 맛이 더 잘 느껴진다.

마늘이 더 들어간 것처럼 양념 맛이 더 느껴지고 풍부한 맛이 난다.

감칠맛이 훨씬 풍부하게 느껴진다.


신맛이 줄어들고 국물이 더 부드러워진 느낌이다.

고기육수 맛이 난다.

나) 채소풍미베이스를 이용한 브로콜리 스프 비교검토

브로콜리 스프는 크림베이스의 서양식 요리의 기준으로 성능 비교를 검토하였다.

Table 104. 브로콜리 스프의 레시피

원료명	A_Control		B_채소풍미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
브로콜리	67.00	18.04	67.00	17.99
감자	34.00	9.16	34.00	9.13
양파	34.00	9.16	34.00	9.13
대파	13.00	3.50	13.00	3.49
정제수	60.00	16.16	60.00	16.11
우유	135.00	36.35	135.00	36.25
생크림	20.00	5.39	20.00	5.37
버터	7.00	1.88	7.00	1.88
후추	0.07	0.02	0.07	0.02
천일염	1.30	0.35	1.30	0.35
정제수	1.0	0.27	-	-
채소풍미베이스	-	-	1.00	0.27
합계	372.37	100.00	372.37	100.00
조리방법	1. 브로콜리의 송이 부분과 감자, 양파, 대파는 적당한 크기로 자른다. 2. 팬에 버터를 두르고 양파, 대파(3분), 감자(2분), 브로콜리(2분)를 넣고 볶는다. 3. 우유(5분)넣고 재료를 익혀준 후, 휘핑크림(3분) 넣고 끓인다. 4. 믹서기에 넣고 갈아준다. 5. 갈아준 뒤 소금, 후추, 발효물을 넣고 조금 더 농도가 나오도록 끓여준다.			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 볶아진 채소의 조화로운 향이 난다.

짠맛이 된다.

가벼운 맛이다.

-B_채소풍미베이스 : 우유맛, 크림맛이 풍부해진다.

감자의 맛이 풍부해지고 생크림을 많이 넣은 듯 진하고 고소하다.

부드러운 수프 맛이다.


고소한 맛이 강하다.

감칠맛이 매우 강해졌다.

다) 채소풍미베이스를 이용한 키슈 비교검토

키슈요리는 달걀과 치즈베이스의 요리로 오븐에서 200°C에서 구워내는 요리의 적합성을 알아보는 대표적인 것으로 판단하였다. 오븐요리에서의 성능 비교를 검토하였다.

Table 105. 키슈의 레시피

원료명	A_Control		B_채소풍미베이스첨가	
	제조량(g)	함량(%)	제조량(g)	함량(%)
달걀	75.00	45.53	75.00	45.53
모짜렐라치즈	25.00	15.14	25.00	15.14
우유	22.00	13.33	22.00	13.33
볶은시금치	40.00	24.23	40.00	24.23
후추	0.02	0.01	0.02	0.01
천일염	0.35	0.21	0.35	0.21
건바질	0.03	0.02	0.03	0.02
올리브유	1.50	0.91	1.50	0.91
간장	1.00	0.61	1.00	0.61
정제수	0.20	0.12	-	-
채소풍미베이스	-	-	0.20	0.12
합계	161.50	100.00	165.10	100.00
조리방법	1. 달걀을 접시에 잘 풀어 준다. 2. 시금치를 끓는물에 데쳐놓는다. 3. 달걀물에 재료들을 넣고 200°C 예열한 오븐에 25분간 익혀준다.			
사진참조				

전문 요리사 패널 5명에게 평가 내용을 서술하도록 하였다. 평가 의견은 다음과 같다.

-A_Control : 약간 비릿한 계란냄새가 난다.

달걀찜 맛이 난다. 약간 느끼하다.

캔 옥수수맛과 향이 난다. 향신향이 강하다. 계란향이 난다.

치즈와 계란향이 구수하게 입안에 퍼진다.

시금치의 향이 신선한듯 살아있다.

채소 찐 향이 같이 난다. 달걀냄새가 나고 우유냄새가 난다. 간이 짜다.

-B_유타풍미베이스 : 버터향과 맛이 난다. 풍부한 감칠맛이 난다.

짭조름 하지만 입 맛이 당긴다. 버터느낌이 강하게 느껴진다.

꼬릿한 치즈의 향이 구수하게 난다.

간이 좀 더 강하게 느껴지고 고급스러운 맛이다.

맛이 무거운 느낌이다. 느끼한 맛이 느껴져 더 풍부한 느낌이다.

맛과 향이 조화롭게 된 느낌이다. 축냄새가 난다.

허브같은 향신료 냄새가 난다. 간이 덜 느껴진다.

라) 미네스트로네 스프에서의 채소풍미베이스 Flavor profile 성능검토

요리적합성 검토를 통하여 미네스트로네 스프을 관능평가 요리로 선정하였다. 관능평가는 샘플식품의 전문패널요원을 이용하여 채소풍미베이스의 관능적 평가를 실시하여, Flavor profile를 파악하고, GC/MS분석 추정 결과와 Pairing DATA로 활용하였다.

관능평가는 미네스트로네 스프의 control과 채소풍미베이스를 첨가한 대조군으로 실시하였고, 전문 패널 12명으로 하여 진행하였다. 패널테스트는 0점 ‘매우 약함’와 7점 ‘매우 강함’를 기준으로, 항목으로는 Vegetable, Meaty, Salty, Rich taste, Umami, Fatty, Overall로 하였다.

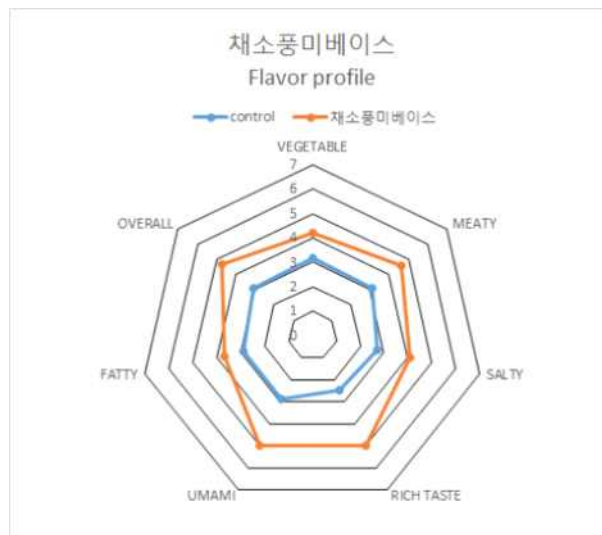


Fig. 54. 채소풍미베이스의 Flavor profile

패널테스트결과는 채소풍미베이스를 첨가한 대조군이 vegetable, meaty, fatty와 같은 향기성분과 관련된 항목에서 더 강한 강도로 느껴졌으며, 감칠맛, 농후감이 또한 강하게 느껴져 염미까지 강하게 느껴지는 결과로 보인다. 이것은 저염 효과도 기대할 수 있는 결과이다.

제 3 절 식물성 천연발효 조미소재 산업화

1. 식물성 천연발효조미소재 3종 Scale-up

가. 식물성 천연발효조미소재 3종의 Scale-up 제조공정

국내산 양파, 마늘, 대파, 무을 이용한 역삼투압 농축액과 국내산 청피망, 당근, 토마토를 구매하여 초핑 분쇄후, 사용하였다.

1) 볶음용(볶음풍미) 조미소재 Scale-up

가) 볶음용 조미소재를 위한 Reaction flavor Scale-up

(1) 볶음풍미 reaction flavor 생성의 Pilot-scale 최적 조건 설정

■ 볶음풍미 Reaction flavor 생성의 반응 조건 비교

Lab-scale과 pilot-scale에서 생성된 reaction flavor 및 주요 volatile compounds 함량을 비교하여 반응 조건을 최적화하였다. 채소의 볶음풍미에 영향을 줄 수 있는 반응 재료를 이용하여, 온도에 따른 Reaction Flavor의 차이를 비교하였다. Lab-scale에서의 제조한 것을 Control로 하여 50℃에서 30분간 교반 후 180℃의 Reactor에서 반응을 진행하였다. 이로부터 얻은 액상을 key note로 하여 향기성분의 안정화를 위하여 encapsulation 공정을 진행하였다.

Table 106. 볶음풍미 조미소재의 ingredient formulation

Ingredient	Control (% , w/w)
정제수	38.00
채종유	25.00
양파역삼투농축액	10.00
마늘역삼투농축액	3.00
청피망	8.00
당근	4.00
백설탕	7.00
밀가루	5.00

Table 107. 볶음풍미 조미소재의 반응시간

Reation time	Control	VG201	VG202
1차 반응 50℃	30.0 min	30.0 min	30.0 min
2차 반응 180℃	0.0 min	0.0 min	10.0 min

Table 108. 볶음풍미베이스의 encapsulation

Ingredient	(%, W/W)
볶음풍미 key note	93.8
가티검	2.5
잔탐검	0.2
아라빅검	1.0
효모식품	2.5

■ 볶음풍미베이스의 휘발성 성분 비교

SPME 조건은 다음과 같다. 시료 control, VG201, VG202 각각 5g을 20mL vial에 넣어 60°C에서 200 rpm으로 30분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS/DVB)fiber를 주입하고 30분간 60°C에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

GC/MS 조건은 다음과 같다. 탈착시간을 2분으로 하여, Initial temp 50, ramp 5°C, Injectior temp 250°C, detector temp 250°C, oven temp 150°C, Final temp 240°C, Final time 15min, Vent Flow 30sec (Splitless).에서 실시하였다

Table 109. 원재료에 따른 볶음풍미소재의 aroma chemical의 Peak area% 비교

Chemical	R.T	Aroma description	Control%	VG201%	VG202%
Acetald.	4.902	pungent, fresh, aldehydic, refreshing and green	0.03	0.01	0.01
700	4.962		0.00	0.00	0.00
Propanal	5.261	musty yeasty ethereal nutty vegetable potato cheesy bleu cheese grape banana apple broccoli almond chocolate	0.01	0.01	0.01
800	5.393		0.00	0.01	0.00
2-Methyl furan	5.762	ethereal green cocoa nutty almond coffee	0.05	0.03	0.03
2-Ethyl furan	6.060	solvent dirty musty brown earthy	0.03	0.02	0.03
2-Butanone	6.033	chemical fruity green	0.01	0.02	0.01
900	6.111		0.00	0.00	0.00
Isovalerald.	6.124	fruity dry green chocolate nutty leafy cocoa	0.09	0.12	0.09
Allyl methyl sulfide	6.410	sulfurous alliaceous onion savory	0.01	0.01	0.02
Benzene	6.518		0.02	0.03	0.02
1-Nonene	6.562		0.00	0.01	0.00
2,5-Dimethyl furan	6.612	chemical ethereal meaty gravy roast beef bacon	0.11	0.08	0.12
unknown	6.741		0.00	0.01	0.00
Diacetyl	6.808	sweet, buttery, creamy, milky	0.00	0.00	0.02
1000	7.321		0.01	0.11	0.01
α-Pinene	7.353	woody pine terpenic camphoreous herbal spicy tropical	0.03	0.05	0.04
Toluene	7.910	sweet	0.02	0.00	0.03
1-Decene	7.920		0.02	0.02	0.02
2,3-Pentandione	8.055	toasted buttery caramellic marshmallow molasses	0.06	0.04	0.08
Camphene	8.060	woody herbal fir needle	0.01	0.00	0.00
unknown	8.187		0.12	0.00	0.00
unknown	8.411		0.06	0.00	0.00
Hexanal	8.621	fresh green fatty aldehydic grass leafy fruity sweaty	0.08	0.09	0.11
2-Methyl thiophene	8.833	sulfurous roasted green cabbage onion bitter	0.00	0.00	0.02
β-Pinene	8.906	fresh pine woody terpenic resinous minty camphoreous spicy	0.04	0.01	0.02
Allyl alcohol	8.917	pungent mustard	0.06	0.10	0.07
1100	9.072		0.00	0.00	0.00

α -Phellandrene	9.161	terpenic citrus lime fresh green	0.01	0.01	0.00
3-Methyl thiophene	9.372	fatty winey	0.00	0.00	0.01
3-Penten-2-one	9.482	musty, stale water and phenolic with a fishy and shell fish nuance	0.02	0.01	0.03
Ethyl benzene	9.589		0.01	0.02	0.01
m-Xylene	9.664	plastic	0.00	0.00	0.01
p-Xylene	9.800		0.00	0.01	0.01
2-Vinyl 5-methyl furan	10.041		0.02	0.00	0.02
unknown	10.174		0.00	0.00	0.01
unknown	10.304		0.00	0.06	0.00
unknown	10.585		0.00	0.01	0.00
o-Xylene	10.766	geranium	0.00	0.01	0.00
Pyridine	10.777	sickening sour putrid fishy amine	0.01	0.01	0.01
Heptanal	10.792	green aldehydic oily cortex grassy clover cilantro	0.30	0.76	0.30
Pyrazine	11.271	pungent sweet corn like roasted hazelnut barley	0.02	0.04	0.02
Limonene	11.281	terpenic cilantro green juniper berry	0.59	0.32	0.28
1200	11.309		0.00	0.04	0.00
γ -Terpinene	11.400	terpenic citrus lime oily green tropical fruity	0.01	0.00	0.01
Eucalyptol	11.410	minty camphoreous cooling eucalyptus medicinal	0.05	0.00	0.05
Propyl benzene	11.473		0.00	0.02	0.00
2-Methyl pyridine	11.637	astringent hazelnut nutty	0.00	0.00	0.00
unknown	11.703		0.10	0.08	0.01
unknown	11.781		0.13	0.05	0.05
2-Pentyl furan	11.923	green waxy musty cooked caramellic	0.15	0.06	0.15
unknown	11.977		0.00	0.07	0.00
Methyl propyl disulfide	12.021	onion garlic tomato potato alliaceous vegetable	0.06	0.08	0.06
unknown	12.235		0.00	0.02	0.00
unknown	12.358		0.00	0.04	0.00
Styrene	12.531	sweet balsam floral plastic	0.02	0.00	0.04
unknown	12.588		0.00	0.20	0.00
2-Methyl tetrahydro furan-3-one	12.65	nutty astringent creamy almond	0.10	0.02	0.10
2-Methyl pyrazine	12.72	nutty brown roasted musty astringent	0.42	0.18	0.48
Allyl methyl disulfide	13.058	alliaceous garlic green onion	0.23	0.13	0.23
Acetoin	13.152	creamy dairy sweet oily milky buttery	0.04	0.01	0.04
2-Octanone	13.252	dairy, waxy, cheese, woody, mushroom and yeast	0.05	0.13	0.05
Octanal	13.454	waxy citrus orange peel green fatty	0.71	1.60	0.68
Acetol	13.517	sweet green burnt	1.06	1.78	1.00
unknown	13.756		0.00	0.02	0.00
unknown	14.084		0.00	0.01	0.00
unknown	14.053		0.01	0.12	0.01
2,5-Dimethyl pyrazine	14.179	musty potato cocoa nutty fatty oily	0.12	0.04	0.16
Heptanol	14.207	musty pungent leafy green vegetable fruity apple banana	0.36	0.19	0.41
t-2-Heptenal	14.242	green fatty oily fruity	0.33	0.44	0.45
2,6-Dimethyl pyrazine	14.336	nutty coffee cocoa musty bready meaty	0.38	0.08	0.38
2-Hexyl furan	14.412		0.00	0.11	0.00

unknown	14.472		0.00	0.05	0.00
Amyl cyclohexa-1,3-diene	14.639		0.00	0.03	0.00
1-Tridecene	14.919		0.00	0.05	0.00
2-Cyclopenten-1-one	15.012		0.34	0.56	0.39
unknown	15.181		0.00	0.18	0.00
2-Methyl 2-cyclopenten-1-one	15.384		0.49	0.67	0.51
Dimethyl trisulfide	15.679	sulfureous, alliaceous, gassy, savory and meaty with a fresh, vegetative nuance	0.02	0.01	0.02
UnID: 2,4-Dimethyl anisole	15.781		0.00	0.01	0.00
2-Ethyl 6-methyl pyrazine	15.87	roasted hazelnut	0.21	0.09	0.21
2-Nonanone	15.947	cheesy, green, fruity, dairy, dirty, buttery	0.09	0.15	0.09
2-Ethyl 5-methyl pyrazine	16.043	coffee beany nutty grassy roasted	0.05	0.03	0.08
1,3,5-Undecatriene	16.058		0.00	0.03	0.00
Nonanal	16.168	waxy aldehydic rose fresh orris orange peel fatty peely	2.02	4.20	1.02
Indane	16.28		0.01	0.05	0.01
2-Ethyl 3-methyl pyrazine	16.356	nutty peanut musty corn raw oily	0.09	0.06	0.09
1400	16.374		0.00	0.07	0.00
2,3,5-Trimethyl pyrazine	16.397	nutty nut skin earthy powdery cocoa potato baked potato peanut roasted peanut hazelnut musty	0.15	0.04	0.21
1,3,5-Undecatriene	16.404		0.00	0.06	0.00
Amyl benzene	16.652		0.03	0.06	0.03
c-1-Propenyl propyl disulfide	16.640		0.02	0.00	0.02
Acetic acid	16.800	pungent, stinging sour odor, unpleasant when concentrated	6.74	1.19	7.25
α -Angelica lactone	16.898	sweet creamy coconut vanilla hay coumarinic	0.31	0.12	0.36
Allyl propyl disulfide	16.924	alliaceous garlic onion green onion	0.02	0.04	0.02
t-2-octenal	16.986	sweet green citrus peel spicy cucumber oily fatty brothy	0.33	0.54	0.33
t-1-Propenyl propyl disulfide	17.108		0.01	0.00	0.05
2-Ethyl 3,6-dimethyl pyrazine	17.329	cocoa	0.04	0.02	0.03
2,3-Dimethyl 2-cyclopenten-1-one	17.418		0.17	0.00	0.17
Acetol acetate	17.499	fruity buttery dairy nutty	0.50	0.21	0.61
Furfural	17.620	pungent, but sweet, bread-like, caramellic, cinnamon-almond-like odor of poor tenacity.	19.26	6.19	22.24
Formic acid	18.165	pungent vinegar formyl	2.62	1.66	3.12
5-Methyl indane	18.195		0.00	0.01	0.00
Diallyl disulfide	18.232	pungent odor, not truly reminiscent of garlic, but heavier.	0.11	0.08	0.11
Furfuryl formate	18.357	ethereal	1.46	0.25	1.66
2-Methyl indane	18.523		0.00	1.06	0.00
2-Furyl methyl ketone	18.659	powerful balsamic-sweet odor with a tobacco-like, almost narcotic pungency. Floral undertones are of balsamic-cinnamic	4.56	3.68	4.84

		character.			
Decanal	18.794	sweet aldehydic waxy orange peel citrus floral	0.31	1.60	0.31
Furyl acetone	18.968	caramellic fruity spicy radish	0.18	0.01	0.21
1-Methyl cyclopenten-3-one	19.145		0.42	0.62	0.32
Benzald.	19.208	sweet, oily, almond, cherry, nutty and woody	1.18	0.42	1.61
Propionic acid	19.237	pungent acidic cheesy vinegar	0.95	1.05	1.05
Hexyl benzene	19.282		0.00	0.14	0.02
Furfuryl acetate	19.359	estery ethereal green banana peel nasturtium	0.96	0.77	0.96
Methyl propyl trisulfide	19.562	onion garlic fresh metallic cheesy	0.01	0.01	0.01
t-2-Nonenal	19.657	green soapy cucumber melon aldehydic fatty	0.28	0.50	0.32
2,3-Dimethyl 2-cyclopenten-1-one	19.702		0.83	0.95	0.73
Isobutyric acid	20.011	acidic sour cheesy limburger cheese dairy creamy	0.16	0.00	0.17
2-Furyl ethyl ketone	20.435		0.57	0.15	0.75
5-Methyl furfural	20.331	sweet-spicy, warm, and slightly caramellic odor.	17.80	10.24	18.20
1-Cylopentene-3,4-dione	20.622		2.17	3.43	1.17
2-Methyl benzofuran	21.023	phenolic burnt	0.21	0.36	0.21
2-Acetyl pyridine	21.131	cornmeal nutty bready	0.07	0.03	0.11
Isomaltol	21.319	burnt caramellic fruity	0.24	0.04	0.34
Butyric acid	21.378	acidic sour, cheesy, dairy, creamy with a fruity nuance	0.25	0.23	0.27
2-Acetyl 5-methyl furan	21.382	nutty cocoa toasted bready	2.48	1.96	2.48
2-Propenoic acid	21.450		0.93	0.65	0.13
γ -Butyrolactone	21.724	milky creamy fruity peach	0.25	0.40	0.05
Heptyl benzene	21.863		0.02	0.05	0.02
3-Ethyl 2-cyclopenten-1-one	21.892		0.23	0.26	0.21
Phenyl acetaldehyde	22.044	very powerful and penetrating, pungent green, floral and sweet odor of Hyacinth-type.	2.80	0.08	0.18
Furfuryl alcohol	22.192	very mild, warm-oily, "burnt" odor.	4.81	2.30	4.96
t-2-Decenal	22.268	waxy fatty earthy coriander green mushroom aldehydic chicken pork fatty	0.28	1.68	0.22
2-Methyl butyric acid	22.440	fruity, dirty, acidic with a dairy buttery and cheesy nuance	0.10	0.09	0.10
Isovaleric acid	22.446	sour stinky feet sweaty cheese tropical	0.28	0.22	0.31
β -Angelica lactone	22.807		0.55	0.19	0.35
5-Methyl 2-furfuryl furan	22.851		0.50	0.12	0.40
Dipropyl trisulfide	23.064	sulfurous green onion garlic tropical	0.02	0.00	0.02
c-2-Butenoic acid	23.251		0.07	0.02	0.05
5-Methyl furfuryl alcohol	23.631	sweet caramellic	0.08	0.14	0.08
Borneol	23.565	pine woody camphoreous balsamic	0.46	0.08	0.32
α -Methyl γ -Crotolactone	23.731		0.18	0.18	0.18
Valeric acid	23.973	sickening putrid acidic sweaty rancid	0.25	0.18	0.22
Heptadecene	24.139		0.01	0.23	0.01
γ -Crotolactone	24.505	buttery	0.42	0.56	0.28
t-2-Butenoic acid	24.696		0.25	0.42	0.31
UnID: 95, 138	24.980		1.07	1.58	1.11
3,5-Dimethyl	25.322	sweet maple fenugreek burnt caramellic	0.24	0.17	0.44

1,2-cyclopentanedione		burnt sugar resinous phenolic			
2-Hydroxy acetophenone	25.730	phenolic sharp almond bitter almond cherry tropical melon tobacco	0.37	0.12	0.37
t,t-2,4-Decadienal	25.927	oily cucumber melon citrus pumpkin nut meat	0.55	0.24	0.75
Maple lactone	26.052	Faint, sweet-aromatic odor, rather non-descript. Sweet, slightly caramellic taste, overall weak.	0.66	0.20	0.85
Hexanoic acid	26.365	cheesy fruity phenolic fatty goaty	0.39	0.18	0.44
unknown	26.829		0.30	0.20	0.30
unknown	27.006		2.53	0.97	2.18
Hexenoic acid	27.613	fruity sweet warm herbal	0.05	0.07	0.05
Benzyl nitrile	28.277		0.09	0.09	0.09
Heptanoic acid	28.619	Waxy, cheesy, fruity, dirty and fatty	0.42	0.22	0.32
Maltol	28.951	warm-fruity, caramellic-sweet odor with emphasis on the caramellic note in the dry state	0.26	0.08	0.31
2-Acetyl pyrrole	29.050	musty nut skin cherry maraschino cherry coumarinic licorice bready walnut bready	0.33	0.11	0.39
UnID: 95, 124	29.183		0.09	0.09	0.09
o-Cresol	29.588	musty phenolic plastic medicinal herbal leathery	0.55	0.32	0.65
Phenol	29.640	phenolic plastic rubber	1.09	0.80	0.61
2-Formyl pyrrole	30.118		0.08	0.05	0.09
Furaneol	30.204		0.00	2.70	0.00
2,3-Dihydro 1H-inden-1-one	30.207		0.14	0.11	0.14
2-Pyrrolidinone	30.384		0.04	0.02	0.04
Octanoic acid	30.778	fatty waxy rancid oily vegetable cheesy	0.35	0.17	0.35
p-Cresol	31.157	phenolic	0.57	0.28	0.59
m-Cresol	31.304	Medicinal, woody, leather, phenolic	0.32	0.17	0.38
5-Methyl 2-formyl pyrrole	31.606		0.05	0.02	0.05
Octenoic acid	31.959		0.04	0.03	0.04
Methyl 5-formyl 2-furoate	33.260		0.09	0.12	0.19
5-Acexoymethyl 2-furaldehyde	33.415		0.17	0.20	0.38
Syringol	34.626	smoky phenolic balsamic bacon powdery woody	0.01	0.01	0.01
unknown	34.740		0.00	0.01	0.00
Decanoic acid	34.795	soapy waxy fruity	0.11	0.07	0.32
5-Hydroxy maltol	34.988		0.01	0.01	0.01
Levulinic acid	35.537	mild caramellic odorpungency.	0.01	0.06	0.01
5-HMDF	38.328		0.00	0.00	0.01
5-HMF	38.568	fatty buttery musty waxy caramellic	0.05	0.23	0.05
Lauric acid	38.472	mild fatty coconut	0.03	5.72	0.03
Myristic acid	42.645	waxy, fatty, soapy, creamy, cheesy, with a good mouth feel	0.21	10.53	0.18
Palmitic acid	48.653	waxy, creamy fatty, soapy with a crisco like fatty, lard and tallow like mouth feel and a dairy nuance	1.14	12.97	1.04
Total			100.00	100.00	100.00

Scale-up에 따라 반응 시간을 추가하였으며, 이에 따라 반응 시간에 따라 증가하는 furfural, 5-methylfurfural, furfuryl alcohol을 기준으로 lab-scale에 가장 근접한 VG202 제조공정을 표준으로 정하였다.

2) 육수용(육수풍미) 조미소재 Scale-up

가) 육수용 조미소재를 위한 Reaction flavor Scale-up

(1) 육수풍미 reaction flavor 생성의 Pilot-scale 최적 조건 설정

■ 육수풍미 Reaction flavor 생성의 반응 조건 비교

육수풍미 조미소재의 Scale-up 과정중 가장 중요한 요소는 Key note의 반응조건이다. Lab-scale 조건을 control로써, Key note를 95℃에서 실시하였고, key note를 이용한 육수용 조미소재는 70℃, 1hr동안 가열하여 유해 미생물을 살균하였다. Key note와 육수풍미 소재의 최적 formulation을 위한 sample의 함량은 다음표와 같다.

Table 110. 육수풍미 베이스 Key note 의 formulation (% , w/w)

Ingredient	formulation
쌀발효 Yeast Ext.	73
양파RO농축액	25
마늘RO농축액	2

Table 111. 육수용 베이스의 formulation (% , w/w)

Ingredient	formulation
육수풍미 Key note	80.0
무역삼투압농축액	10.0
대과역삼투압농축액	10.0

육수풍미 조미소재의 같은 formulation을 이용하여 Pilot-scale의 공정을 최적화하기 위해 Lab-scale의 샘플과 향기성분의 변화를 비교하였다. Lab-scale과 Pilot-scale의 공정은 다음과 같다.

Table 112. 육수풍미 베이스의 반응시간

Reation time	Lab-scale	Pilot-scale
1차 가열 95℃	180.0 min	200.0 min
2차 가열 70℃	60.0 min	60.0 min

■ 육수풍미베이스의 휘발성 성분 비교

SPME 조건은 다음과 같다. 각 시료 5g을 20mL vial에 넣어 60℃에서 200 rpm으로 30분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS/DVB)fiber를 주입하고 30분간 60℃에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

GC/MS 조건은 다음과 같다. 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-5MS를 사용하였으며, 채소의 향기성분은 mass spectral data와 retention index (RI) value를 이용하여 확인하였고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C10~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다.

Table 113. GC/MS conditions

Sample 실험량	5g
Column	DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 μm film thickness)
Gas flow rate	0.8mL/min
Oven temp	40℃ (5min) ▶4℃/min ▶200℃ ▶10℃/min ▶250℃/min (10min)

Table 114. 육수풍미베이스의 peak list (Peak area%)

CAS No.	RT	Chemicals	Aroma description	Lab %	Pilot%
75-07-0	1.59	Acetaldehyde	pungent, fresh, aldehydic, refreshing and green	0.11	0.10
75-15-0	1.65	Carbon Disulfide		0.18	0.18
67-64-1	1.95	Acetone		0.27	0.25
107-03-9	2.03	Propyl mercaptan	onion sharp pungent meaty sulfurous brothy chicken	0.13	0.10
930-27-8	2.28	3-Methylfuran		0.14	0.09
870-23-5	2.39	Allyl mercaptan	alliaceous onion, garlic and leek. it has meaty bouillon savory nuances	0.77	0.84
96-17-3	2.63	2-Methylbutanal	musty rummy nutty cereal caramellic fruity	0.17	0.16
64-17-5	2.91	Ethanol		3.80	3.80
10152-76-8	3.15	Allyl methyl sulfide	sulfurous alliaceous onion savory	1.24	1.38
3710-43-8	3.34	2,4-Dimethylfuran		0.12	0.12
124-18-5	3.86	Decane		0.05	0.05
123-15-9	3.95	2-methyl pentanal	vegetable green fruity grape	0.02	0.01
110-02-1	4.31	Thiophene	alliaceous garlic	0.03	0.04
108-88-3	4.63	Methylbenzene	meaty onion garlic chemical metallic	0.18	0.15
4170-30-3	4.74	2-Butenal	flower	0.43	0.38
600-14-6	5.25	2,3-pentanedione	buttery nutty toasted caramellic buttery	0.08	0.03
624-92-0	5.37	Dimethyl disulfide	sulfurous vegetable cabbage onion	0.55	0.61
66-25-1	5.63	Hexanal	fresh green fatty aldehydic grass leafy fruity sweaty	0.09	0.07
554-14-3	5.80	2-Methylthiophene	sulfurous roasted green cabbage onion bitter	0.40	0.43
1115-11-3	5.95	2-Methyl-2-butenal	fresh fruity green pulpy almond nutty	0.51	0.48
27817-67-0	6.08	Allyl propyl sulfide	alliaceous green onion garlic	0.23	0.25

554-14-3	6.48	2-Methylthiophene	sulfurous roasted green cabbage onion bitter	0.01	0.01
592-88-1	7.18	Allyl sulfide	sulfurous onion garlic horseradish metallic	4.95	5.08
623-36-9	7.69	2-Methyl-2-pentanal		1.15	1.21
638-00-6	8.52	2,4-Dimethylthiophene		0.42	0.44
110-86-1	8.73	Pyridine	sickening sour putrid fishy amine	0.22	0.18
288-47-1	9.60	Thiazole	pyridine nutty meaty	0.03	0.02
2179-60-4	9.78	Methyl propyl disulfide	onion, garlic, tomato, potato, alliaceous and vegetative	1.14	1.21
3777-69-3	9.89	2-Pentyl furan	green, waxy, with musty, cooked caramellic nuances	0.17	0.08
632-15-5	10.55	3,4-Dimethylthiophene	savory roasted onion	2.76	3.21
5905-47-5	10.82	Methyl 1-propenyl disulfide		0.60	0.24
109-08-0	11.15	Methylpyrazine	nutty brown roasted musty astringent	0.28	0.29
2179-58-0	11.46	Methyl allyl disulfide	alliaceous garlic onion green onion	5.20	5.73
5905-47-5	11.66	Trans propenyl methyl disulfide		1.99	2.43
104-51-8	12.39	Butylbenzene		0.29	0.04
108-50-9	13.10	2,6-Dimethylpyrazine	nutty coffee cocoa musty bready meaty	0.36	0.42
3658-80-8	14.50	Dimethyl trisulfide		2.29	2.24
538-68-1	15.80	Pentylbenzene		0.59	0.71
2179-59-1	16.17	Allyl propyl disulfide	alliaceous garlic green onion	2.74	2.65
123-115	16.75	Anisaldehyde	creamy powdery vanilla spicy marshmallow	0.17	0.11
1998-01-01	17.68	Furfural	sweet woody almond fragrant baked bread	0.12	0.18
2179-57-9	17.91	Allyl disulfide	green onion and garlic-like with meaty nuances	13.95	14.21
13679-61-3	20.20	Methyl tiofuroate		0.31	0.21
34135-85-8	21.03	Methyl allyl trisulfide	alliaceous creamy garlic onion	6.10	6.33
108-29-2	21.80	Dihydro-5-methyl-2(3H)-Furanone	tonka coumarinic tobacco cocoa chocolate dark chocolate coconut	0.45	0.38
6028-61-1	23.18	Propyl trisulfide	alliaceous sulfurous green garlic metallic minty tropical	0.51	0.50
98-00-0	23.51	Furfuryl alcohol	burnt, sweet, caramellic, brown	0.66	0.71
590-42-1	24.92	Isobutyl isothiocyanate	green	3.66	4.21
2050-87-5	26.62	Allyl trisulfide	sulfurous onion green onion	6.69	6.82
62488-53-3	28.04	3-Vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene		1.26	1.08
430-40-01-3	28.39	3-Methyl-1,2,4-trithiane	meaty	0.20	0.13
111-14-8	31.06	Heptanoic acid	waxy, cheesy, fruity, dirty and fatty	0.12	0.08
1072-83-9	31.58	2-Acetylpyrrole	sweet musty nutty tea	0.70	0.72
124-07-2	33.67	Octanoic acid	rancid soapy cheesy fatty brandy	0.29	0.26
108-39-4	34.45	m-Cresol	medicinal woody leather phenolic	0.03	0.01
112-05-0	36.14	Nonanoic acid	waxy dirty cheese cultured dairy	0.30	0.14
-	38.07	4,6-Diethyl-1,2,3,5-terathiolane		0.05	0.01
-	38.29	2,5-Dimethyl-2-hydroxy-3(2H)-thiophenone		0.02	0.00
28564-83-2	38.40	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one		0.04	0.00
334-48-5	38.50	Decanoic acid	soapy waxy fruity	0.02	0.01
65-85-0	41.80	Benzoic acid	faint balsam urine	0.14	0.02
88-14-2	41.91	2-Furoic acid	acidic caramellic earthy	0.03	0.01
-	43.01	3H-1,2-Dithiole-3-thione	garlic like	0.20	0.04
67-47-0	43.47	5-HMF	herbal hay tobacco	0.02	0.01

육수풍미베이스의 Scale-up에는 반응 시간을 추가하였으며, meaty 및 vegetable 풍미의 중요인자인 allyl mercaptan, allyl disulfide, allyl sulfide을 기준으로 lab-scale에 가장 근접한 1차 가열 시간을 200 min 제조공정을 표준으로 정하였다.

3) 범용 조미소재 Scale-up

가) 범용 조미소재를 위한 Reaction flavor Scale-up

(1) Meat flavor 생성의 Pilot-scale 최적 조건 설정

■ Meat flavor 생성의 반응 조건 비교

Lab-scale의 Meat 풍미 생성은 양파역삼투압농축액과 토마토추출농축액 및 쌀발효 효모추출물에 대하여 95℃에서 2시간 가열하였지만, Pilot-scale에서는 반응 시간을 2시간 15분간 가열하였다.

다음 표는 Meat 풍미를 갖는 채소풍미베이스(범용 조미소재)의 배합량이다.

Table 115. 채소풍미베이스의 formulation (% , w/w)

Ingredient	formulation
샘표 Yeast Ext.	65.0
양파RO농축액	10.0
토마토추출농축액	25.0

■ 채소풍미베이스(Meat flavor)의 휘발성 성분 분석

SPME 조건은 다음과 같다. 각 시료 5g을 20mL vial에 넣어 60℃에서 200 rpm으로 30분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME(Solid phase micro extraction: CAR/PDMS/DVB) fiber를 주입하고 30분간 60℃에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다.

GC/MS 조건은 다음과 같다. 채소풍미베이스의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-5MS를 사용하였으며, 채소의 향기성분은 mass spectral data와 retention index (RI) value를 이용하여 확인하였고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C10~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다.

Table 116. GC/MS conditions

Sample 실험량	5g
Column	DB-5MS (30 m length x 0.25 mm i.d x 0.25 μm film thickness)
Gas flow rate	0.8mL/min
Oven temp	40℃ (5min) ▶4℃/min ▶200℃ ▶10℃/min ▶250℃/min (10min)

Table 117. 채소풍미베이스의 peak list

CAS No.	RT	Chemical	Aroma description	Lab%	Pilot%
75-18-3	1.7	Dimethyl sulfide	sulfury onion sweet corn vegetable cabbage tomato green radish	1.00	0.93
67-64-2	1.95	2-propanone		4.07	3.98
141-78-6	2.42	Ethyl acetate	etherial, fruity, sweet, with a grape and cherry nuance	0.97	1.02
563-80-3	2.53	2-butanone	chemical fruity green	0.94	0.87
96-17-3	2.65	2-methyl butanal	musty rummy nutty cereal caramellic fruity	3.03	2.74
64-17-5	2.96	ethanol		24.89	23.56
600-14-6	5.25	2,3-pentandione	toasted buttery caramellic marshmallow molasses	0.52	0.38
624-92-0	5.38	dimethyl disulfide	sulfurous cabbage, malt, cream	1.20	1.02
66-25-1	5.64	hexanal	fresh green fatty aldehydic grass leafy fruity sweaty	0.21	0.29
1115-11-3	5.96	2-methyl-2-butenal	fresh fruity green pulpy almond nutty	0.86	0.74
110-43-0	7.47	2-heptanone	cheese, fruity, coconut, waxy, green	0.07	0.02
623-36-9	7.67	2-methyl-2-pentanal		0.44	0.37
931-35-1	7.87	2-ethyl-4-methylimidazole		0.03	0.01
108-95-2	7.96	phenol	phenolic plastic rubber	0.01	0.02
110-12-3	8.4	5-methylhexanone		0.07	0.05
110-86-1	8.73	pyridine	sickening sour putrid fishy amine	0.07	0.04
20662-84-4	8.99	trimethyloxazole	burnt nutty hazelnut oily nut skin potato earthy mushroom	0.19	0.16
107-86-8	9.14	3-methyl-2-butenal	sweet, fruity and green with a nutty and cherry background	0.03	0.02
290-37-9	9.56	pyrazine	pungent sweet corn like roasted hazelnut barley	0.05	0.08
2179-60-4	9.67	Methyl propyl disulfide	onion, garlic, tomato, potato, alliaceous and vegetative	0.13	0.18
3777-69-3	9.77	2-pentyl furan	green, waxy, with musty, cooked caramellic nuances	0.23	0.31
638-00-6	10.47	2,4-dimethyl thiophene	onion	0.40	0.44
109-08-0	11.18	methyl pyrazine	nutty brown roasted musty astringent	1.12	1.22
31367-46-1	11.88	3-methyl-2-heptanol		0.36	0.24
104-51-8	12.3	butylbenzene		0.11	0.09
116-09-6	12.43	1-hydroxy-2-propanone	sweet green burnt	0.49	0.23
123-32-0	12.93	2,5-dimethylpyrazine	musty potato cocoa nutty fatty oily	0.22	0.25
108-50-9	13.12	2,6-dimethylpyrazine	nutty coffee cocoa musty bready meaty	0.94	1.12
13925-00-3	13.26	Ethylpyrazine	nutty musty woody potato earthy cocoa fishy	0.13	0.08
110-93-0	13.42	6-Methyl-5-hepten-2-one	green vegetable musty apple banana bean green bean	0.76	0.64
5910-89-4	13.77	2,3-dimethylpyrazine	nutty nut skin peanut cocoa coffee roasted coffee walnut corn chip bready	0.11	0.28
	14.37	unknown		0.67	0.45
3658-80-8	14.45	Dimethyltrisulfide	sulfurous cooked onion savory meaty	0.63	0.71
13925-03-6	14.86	2-ethyl-6-methylpyrazine	roasted hazelnut	0.46	0.38
821-55-6	15.02	2-nonanone	cheesy, green, fruity, dairy, dirty, buttery	0.08	0.02
14667-55-1	15.49	Trimethyl pyrazine	raw nut skin vegetable cocoa toasted earthy chocolate coffee	0.42	0.38
538-68-1	15.61	Pentyl benzene		0.19	0.10
1014-60-4	16.14	1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene		0.17	0.24
13925-07-0	16.75	2-ethyl-3,5-dimethylpy	sweet nutty caramellic coffee corn cocoa potato	0.17	0.11

		razine			
64-19-7	17.14	Acetic acid	sharp pungent sour vinegar	6.00	6.11
1998-01-01	17.67	Furfural	sweet woody almond fragrant baked bread	1.29	1.54
505-20-4	18.00	1,2-Dithiane	garlic metallic sulfurous	1.82	1.96
13925-09-2	18.18	2-ethenyl-6-methyl-pyrazine	hazelnut nutty	0.56	0.45
104-76-7	18.3	2-ethyl hexanol	citrus fresh floral oily sweet	0.28	0.18
3600-24-6	18.37	Diethyl trisulfide	sulfurous garlic onion	0.10	0.06
1192-62-7	18.83	2-Acetylfuran	sweet nutty roasted sweet baked	0.57	0.88
100-52-7	19.21	Benzaldehyde	sweet, oily, almond, cherry, nutty and woody	1.49	1.61
1979-09-04	19.82	Propionic acid	acidic, dairy with a pronounced fruity lift	1.80	1.82
78-70-6	20.08	L-Linalool	citrus bois de rose orange blueberry floral berry tropical	0.25	0.24
13679-61-3	20.17	Methyl thiofuroate	milky creamy fried onion cooked onion	0.19	0.20
79-31-2	20.68	isobutyric acid	acidic sour cheesy limburger cheese dairy creamy	0.26	0.28
620-02-0	20.8	5-methyl furfural	sweet, brown, caramellic, grain, maple-like	0.19	0.21
620-02-0	20.9	5-methyl furfural	sweet, brown, caramellic, grain, maple-like	2.20	2.24
104-55-2	21.34	cinnamaldehyde	spicy, cinnamon and cinnamon bark	0.40	0.44
108-29-2	21.82	Dihydro-5-methyl-2(3H)-Furanone	tonka coumarinic tobacco cocoa chocolate dark chocolate coconut	1.86	1.76
1193-79-9	22.04	2-Acetyl-5-methylfuran	nutty cocoa toasted bready	0.49	0.34
96-48-0	22.36	Dihydro-2(3H)-furanone	milky creamy fruity peach	0.43	0.32
107-92-6	22.43	Butyric acid	acidic sour, cheesy, dairy, creamy with a fruity nuance	0.51	0.41
98-86-2	22.95	Acetophenone	powdery, bitter almond cherry pit-like with coumarinic and fruity nuances	0.37	0.36
98-00-0	23.51	Furfuryl alcohol	burnt, sweet, caramellic, brown	2.42	2.73
3857-25-8	25.21	5-methyl-2-furanmethanol	sweet caramellic	2.23	2.33
109-52-4	25.49	Valeric acid	acidic, dairy-like with milky and cheese nuances	0.06	0.02
585-74-0	25.81	3-methylacetophenone		0.15	0.12
104-87-0	26.33	4-methylbenzaldehyde	sweet spicy cinnamon fruity almond bitter almond	0.10	0.08
118-93-4	27.07	2-hydroxyacetophenone	naphthyl cinnamon cherry coumarinic phenolic tobacco honey	0.06	0.01
23726-93-4	27.45	Damascenone	woody sweet fruity earthy green floral	0.40	0.42
43040-01-3	28.37	3-methyl-1,2,4-trithiane		0.52	0.24
100-51-6	29.17	Benzyl alcohol		0.20	0.12
71637-34-8	30.89	3-thiophenemethanol		0.06	0.02
111-14-8	31.07	heptanoic acid	waxy, cheesy, fruity, dirty and fatty	0.26	0.19
1072-83-9	31.58	2-Acetylpyrrole	musty nut skin cherry maraschino cherry coumarinic licorice bready walnut bready	1.54	1.38
124-07-2	33.57	octanoic acid	fatty waxy rancid oily vegetable cheesy	0.01	0.00
106-44-5	34.29	p-cresol	phenolic	0.20	0.16
108-39-4	34.46	m-cresol	medicinal woody leathery phenolic	0.12	0.08
112-05-0	36.14	nonanoic acid	waxy dirty cheese cultured dairy	0.78	0.54
611-13-2	36.85	methyl 2-furoate	sweet caramellic sugar brown sugar musty	0.05	0.01
95-65-8	37.46	3,4-xyleneol	smoky, sweet and earthy notes	0.02	0.00
28564-83-2	38.41	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one		0.09	0.01
334-48-5	38.56	decanoic acid	soapy waxy fruity	0.07	0.00
96-76-4	39.51	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol		0.08	0.01

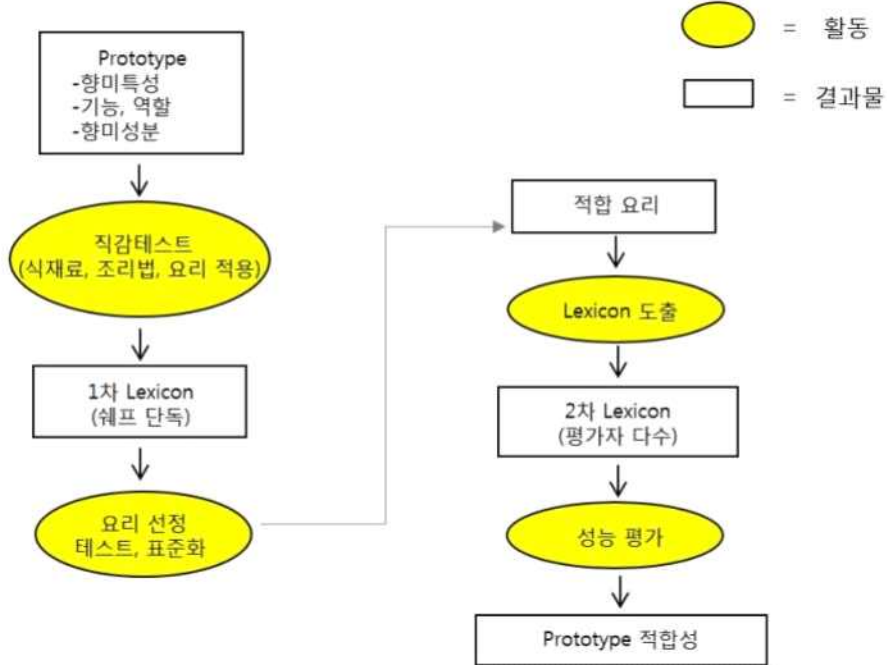
123-76-2	39.69	levulinic acid	acidic, sweet, creamy and slight dairy	0.05	0.00
1708-32-3	40.82	Dihydrothiophene		0.20	0.11
65-85-0	41.81	benzoic acid	faint balsam urine	0.28	0.05
88-14-2	41.91	2-Furancarboxylic acid	acidic caramellic earthy	0.11	0.02
4412-96-8	42.91	3-methyl-2-furancarboxylic acid		0.06	0.01
67-47-0	43.48	5-Hydroxymethylfufural		0.08	0.11

채소풍미베이스(범용조미소재)의 Scale-up에는 반응 시간을 추가하였으며, vegetable 및 tomato 풍미의 중요한자인 methyl thiofuroate, 2,4-dimethyl thiophene, acetophenone, damascenone을 기준으로 lab-scale에 가장 근접한 반응 시간을 135 min 제조공정을 표준으로 정하였다.

2. 식물성 천연발효 조미소재 Food-pairing

가. 채소풍미베이스 Food-pairing 평가

Food Pairing 평가 Process



Process

구분	Prototype sample 정보
향미특성	소고기 육수, 토마토, 채소
기능, 역할	토마토 감칠맛을 기본으로 소고기, 채소 풍미 향상
향미성분	Dimethyl sulfide, Dimethyl disulfide, Acetic acid, Damascenone

Prototype
-향미특성
-기능, 역할
-향미성분



채소 풍미 베이스 사진

■ 직감테스트

• 맛보기

직감테스트
(식재료, 조리법,
요리 적용)

채소 풍미 베이스 맛보기	
• 무짠지 냄새가 난다.	
• 탄내가 살짝 난다.	
• 채소의 비릿한 냄새가 난다.	
• 물에 섞어 먹으니 연한 무+간장 졸인 물 같다.	
• 간장 짠맛이 느껴진다.	
• 간장의 짠내가 진하게 난다.	
• 원액만 먹으니 엄청 짜다.	
• 첫맛은 짜다가 뒷맛은 달짝지근하다.	
• 원액은 진하게 달여진 농축액과 같은 향이 난다.	
• 한약냄새가 난다.	
• 시큼한 토마토 향이 난다.	
• 계속 맡으면 머리 아플 것 같은 향이다.	
• 토마토의 감칠맛이 난다.	
• 끝맛이 깔끔하지 않고 짹짹하다.	
• 살짝 비린 맛이 난다.	
• 점성이 많지는 않다.	
• 원액에서는 토마토의 신맛이 난다.	
• 원액이 시다.	
• 액젓, 라면스프 냄새가 난다.	
• 짹짹하다.	
• 칼국수 라면 맛이 난다.	
• 자극적인 향이 난다.	

1. 발효물 특성 확인

- 원액은 진하게 달여진 농축액과 같은 향이 난다.
- 토마토의 감칠맛이 있다
- 물에 섞어 먹으니 무,간장이 졸인물 같다.
- 원액에서 토마토 신맛이 나다.
- 첫맛은 짜다가 뒷맛은 달짝지근하다

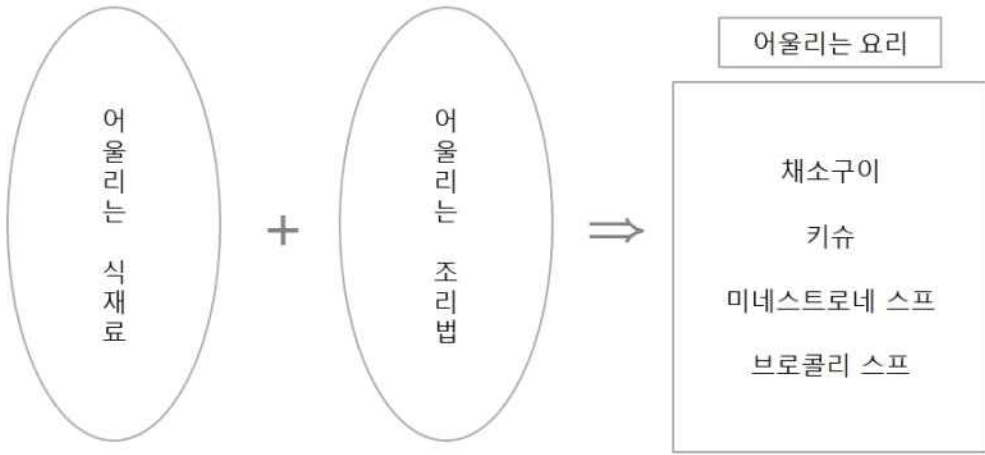
2. 어울리는 식재료와 조리법 구상

소고기	(X)	Grilling	(O)
돼지고기	(△)	Boiling	(O)
베이컨	(O)	Poaching	(X)
닭다리살	(X)	Pan-frying	(△)
연어	(X)	Steaming	(O)
새우	(X)	Stir-frying	(O)
오징어	(X)	Baking	(△)
홍합	(X)	Sauteing	(O)
양파	(O)	Simmering	(O)
당근	(O)	Broiling	(△)
고구마	(X)	Roasting	(O)
바질	(O)	Braising	(△)
시금치	(O)	Deep-frying	(X)
고수	(X)		
토마토	(O)		
브로콜리	(O)		
계란	(O)		
치즈	(X)		
우유	(X)		

O : 잘 어울림
△ : 보통
X : 안 어울림

• 테스트 요리 선정(4개)

직감테스트
(식재료, 조리법,
요리 적용)



■ 1차 Lexicon 도출

직감테스트
(식재료, 조리법,
요리 적용)

[채소구이]



- 감자가 웨지감자 같다.
- 로즈마리향과 매콤함이 좋다.
- 단호박의 순수한 맛은 약해졌다.
- 전체적으로 스프를 넣은 것 같다.
- 오일리하고 너무 향신료 향이 강하다.
- 감자에서 허브향이 난다.
- 당근의 향도 없고 단맛도 없다.

[키슈]



- 버터향과 맛이 많이 난다.
- 풍부한 감칠맛이 난다.
- 짭조름하지만 입맛이 당긴다.
- 버터가 강하게 느껴진다.
- 꼬릿한 치즈의 향이 구수하게 난다.
- 간이 좀 더 강하게 느껴지고 고급스러운 맛이다.
- 썩냄새가 난다.
- 허브같은 향신료 냄새가 난다.

[미네스트로네 스프]



- 국물색이 진해 보인다.
- 향이 깊다.
- 국물맛이 풍부하다.
- 약간의 토마토 신맛이 있지만 싫지 않다.
- 느끼하지 않고 삼삼하다.
- 샐러리가 씹히는 맛이 신선하다.
- 베이컨이 고소하다.
- 바질향이 진하게 난다.
- 채소의 맛과 육수가 잘 어울린다.
- 새콤한 향이 난다.

[브로콜리 스프]



- 우유, 크림맛이 풍부해진다.
- 감자의 맛이 풍부해지고 생크림을 많이 넣은 듯 진하고 고소하다.
- 부드러운 스프맛이다.
- 고소한 맛이 매우 강하다.
- 감칠맛이 많이 난다.

1차 Lexicon
(쉐프)

■ 요리선정 테스트, 표준화

• 적합요리 3개 후보 선정

1차 Lexicon
(쉐프)

[키슈]



선정 이유

“풍부한 감칠맛이 많이 난다.”, “간이 좀더 강하게 느껴지고 고급스런 맛이 난다.”라는 lexcicon에서 소재의 특성을 볼수 있음.

[미네스트로네 스프]



선정 이유

“향이 깊다”, “국물맛이 풍부하다.” “채소의 맛과 육수가 잘 어울린다.”라는 lexcicon에서 소재의 특성이 보임

[브로콜리 스프]



선정 이유

“우유, 크림맛이 풍부해진다”, “고소한맛이 매우강하다”, “감칠맛이 많이난다”라는 lexcicon에서 소재의 특성이 나타남

■ 레시피 평가

평가기준

요리 선정
테스트, 표준화

- ① 식재료 맛이 살아날 정도의 양념량 만 사용하여야 한다.
- ② 짜지 않아야 한다.
- ③ 달지 않아야 한다.
- ④ 가능하면 연두순 원액으로 맛을 내는 요리여야 한다.
- ⑤ 발효물의 특성이 잘 보이도록 하여야 한다.
- ⑥ 자극적이지 않아야 한다.
- ⑦ 느끼하지 않아야 한다.
- ⑧ 첨가물, 설탕을 사용하지 않아야 한다.

■ 키슈의 레시피 평가



요리 선정
테스트, 표준화

채소풍미 베이스_개선 전			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식 재 료	달걀	75.00	46.30
	모짜렐라치즈	25.00	15.43
	우유	22.00	13.58
	시금치	40.00	24.69
	소계	162.00	100.00
	비율(%)		98.12
맛 내 기	후추	0.02	0.65
	천일염(시금치볶음)	0.35	11.29
	건바질	0.03	0.97
	올리브오일(시금치볶음용)	1.50	48.39
	진장	1.00	32.26
	채소풍미 베이스	0.20	6.45
	소계	3.10	100.00
	비율(%)		1.88
	총계	165.1	

■미네스트로네 스프의 레시피 평가

요리 선정
테스트, 표준화



① 초기 레시피에 제품 "우리콩 연두" 를 사용하였으나 채소
풍미베이스의 성능이 높아 순수한 연두순원액 3개월 탈색액으
로 바꿈.

채소풍미 베이스_개선 전			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식 재 료	감자	80.00	27.30
	양파	47.00	16.04
	당근	23.00	7.85
	양배추	34.00	11.60
	샐러리	32.00	10.92
	베이컨	22.00	7.51
	마늘	3.00	1.02
	밤울토마토	52.00	17.75
	소계	293.00	100.00
	비율(%)		48.77
맛 내 기	파마산 치즈	1.30	0.42
	올리브 오일	8.60	2.79
	건파슬리	0.10	0.03
	후추	0.03	0.01
	천일염	2.40	0.78
	바질 페스토	7.50	2.44
	우리콩 연두	2.10	0.68
	물(550)	284.00	92.26
	채소풍미 베이스	1.80	0.58
	소계	307.83	100.00
	비율(%)		51.23
	총계	600.83	



채소풍미 베이스_개선 후			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식 재 료	감자	80.00	27.30
	양파	47.00	16.04
	당근	23.00	7.85
	양배추	34.00	11.60
	샐러리	32.00	10.92
	베이컨	22.00	7.51
	마늘	3.00	1.02
	밤울토마토	52.00	17.75
	소계	293.00	100.00
	비율(%)		48.77
맛 내 기	파마산 치즈	1.30	0.42
	올리브 오일	8.60	2.79
	건파슬리	0.10	0.03
	후추	0.03	0.01
	천일염	2.40	0.78
	바질 페스토	7.50	2.44
	연두순원액3개월	2.10	0.68
	물(550)	284.00	92.26
	채소풍미 베이스	1.80	0.58
	소계	307.83	100.00
	비율(%)		51.23
	총계	600.83	

■브로콜리 스프의 레시피 평가

요리 선정
테스트, 표준화



채소풍미 베이스_개선 전			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식 재 료	브로콜리	67.00	45.27
	감자	34.00	22.97
	양파	34.00	22.97
	대파	13.00	8.78
	소계	148.00	100.00
	비율(%)		39.75
맛 내 기	물	60.00	26.74
	우유	135.00	60.17
	매일생크림	20.00	8.91
	이즈니버터	7.00	3.12
	후추	0.07	0.03
	천일염	1.30	0.58
	채소 풍미 베이스	1.00	0.45
	소계	224.37	100.00
	비율(%)		60.25
	총계	372.37	

■적합 요리 1종 선정 (미네스트로네 스프)

요리 선정 테스트, 표준화

요리선정을 위한 평가지					
prototype명	채소 풍미 베이스	날짜	2019.08.11	이름	정은희
prototype 특성	1. 케첩에서 나타나는 성분과 유사한 향기 부여 2.고급스런 신맛. 방향. 구운향등 부드러운향의 성능을 보임				
관능 방법	1. 요리를 드시기 전에 각 샘플 병 향을 맡아보고 느끼는 대로 적어주세요. 외관도 같이 적어주세요. 2. 드시면서 각 식재료에서 느껴지는 향이나 질감, 맛을 표현해 주세요. 3. 또, 본연의 요리에서 느껴지는 맛과 향을 생각하면서 감성적이거나 감각적인 느낌을 표현해주세요. *특성과 잘 어울리는 순서대로 1, 2, 3을 써주세요.				
	키슈	미네스트로네 스프		브로콜리 스프	
	버터향과 맛이 난다. 풍부한 감칠맛이 난다. 짭조름 하지만 입맛이 당긴다.	국물색이 진해보인다. 향이 매우 깊다. 국물맛이 풍부하다. 느끼하지 않다. 샐러리가 씹히는 맛이 신선하다. 많이 먹어도 느끼하지 않다.		우유, 크림맛이 풍부해진다. 감자의 맛이 풍부해지고 생크림을 넣은 듯 진하고 고소하다. 부드러운 스프맛이다. 고소한 맛이 강하다.	
순번	3	순번	1	순번	2

구분	키슈	미네스트로네 스프	브로콜리 스프
정은희	3	1	2
심재언	2	1	3
김영주	3	1	2
조수빈	3	1	2
손혜지	2	1	3
합계	13	5	12



요리사(4명) 외 개발 담당 연구원(1명) 총 5명 관능 묘사 및 평가(낮은 점수가 선정됨)

미네스트로네 스프 란?

요리 선정 테스트, 표준화

- 요리 중에 채소 풍미 베이스의 성능을 가장 잘 볼 수 있는 요리이다. 재료의 신선한 맛을 살려 다양한 채소와 페이스트 소스를 넣어 만든 이탈리아식 채소 스프이다. 채소 스프에 확장하여 적용 할 수 있는 범용 베이스로 보여진다.

구분	미네스트로네	토마토 스투	맑은 감자 버섯 스프	렌틸콩 스프
사진				
신선한 식재료	양파, 감자, 당근, 파슬리, 샐러리	양파, 감자, 당근, 샐러리, 마늘	감자, 새송이버섯, 양파, 마늘, 샐러리	렌틸콩, 양파, 대파, 표고버섯, 마늘
고소한, Oily한 식재료	올리브유	완두콩, 올리브유	올리브유	올리브유
감칠맛을 주는 식재료	토마토, 베이컨	토마토, 치킨스톡	다시마	베이컨, 치킨스톡
요리 정보	다양한 채소와 페이스트 소스를 넣어 만든 이탈리아식 채소 스프	토마토홀과 페이스트로 맛을 낸 채소 스프	감자와 버섯이 주 재료인 다시마 육수로 풍미를 낸 맑은 채소 스프	렌틸콩이 주 재료인 맑은 육수 스프로, 이탈리아 대표 스프

■ 레시피 표준화

• 상세한 조리법 process

1단계 Cutting

감자, 양파, 당근, 양배추, 샐러리, 베이컨, 마늘, 파슬리

Cutting vegetables and bacon

2단계 Tomato peel

방울토마토(칼집) + 뜨거운 물

Peeling tomato

+

3단계 Pan-frying

손질 채소 + 기름, 소금, 소스, 물

4단계 Boiling

미네스트로네 스프

요리 선정 테스트, 표준화

■ 레시피 표준화

• 상세한 조리법 process

1단계 Cutting

- ① 감자, 양파, 당근, 양배추, 샐러리를 세척한 후, 감자, 양파, 당근은 껍질을 벗기고, 샐러리는 필러를 이용해 섬유질을 제거해 준다.
- ② 당근, 감자는 가로 2.5cm, 세로 2cm 막대모양으로 썰어준 후 두께 0.5cm로 나박썰기 한다.
- ③ 양파는 반으로 자르고 양배추와 함께 가로 2.5cm, 세로 2cm 크기로 썰어준다.
- ④ 샐러리는 2cm 두께로 썰어주고, 베이컨은 0.5cm 두께로 채 썰어준다.
- ⑤ 마늘은 꼭지를 제거하고 잘게 다지고, 파슬리는 씻어 잎 부분만 1cm 크기로 다져준다.

2단계 Tomato peel

- 방울토마토는 꼭지를 제거하고 밑동 부분에 십자가 모양으로 살짝 칼집을 내준 후 끓는 물에 살짝 데쳐 껍질을 벗겨 반을 잘라준다.

3단계 Pan-frying

- ① 올리브오일을 냄비에 계량한 후, 센 불로 예열해 당근, 양파를 볶아준다.
- ② 40초에 마늘 -> 1분20초에 감자, 천일염 후추 ½ -> 4분에 베이컨 -> 5분에 양배추 -> 6분10초에 샐러리 -> 7분에 방울토마토, 나머지 천일염 후추 ½ 를 넣고 볶아준다.

4단계 Boiling

- ① 불을 세게하고 물을 넣어준 후 17분이 될 때 까지 끓여준 후 17분이 되면 파마산치즈, 소스, 파슬리를 넣고 끓여준다. (총 20분 조리)

요리 선정 테스트, 표준화

•요리과정 촬영

①



②



③



요리 선정
테스트, 표준화

① 전체 식재료 촬영

사진, 동영상으로 기록을 남기 되 식재료와 발효물의 이미지가 나올 수 있도록 촬영

② 조리 과정 촬영

조리 과정에서 핵심이 된다고 생각되는 과정을 촬영
ex) 미네스트로네 스프의 경우 스프를 끓이는 과정을 촬영

③ 완성 사진 촬영

완성된 음식을 플레이팅용 접시에 담아 촬영

•요리제공



요리

- 개인당 충분히 먹을 수 있는 양 제공
- 본연의 요리 온도에 맞춰 제공
- 요리의 Visual을 좋게 함



공간

- 편안하고 쾌적한 환경 조성
- 식기 류, 물, 냅킨 등 필요한 도구 세팅



시간

- 음식의 맛을 객관적으로 느낄 수 있는 시간 선정
- 허기지지 않은 상태 (오전 11시 -11시 30분 사이)



사람

- 연령, 성별 등을 고려하여 감각적이고 감성적인 다양한 평가자(연구원) 모집
- 직접요리 한 사람은 평가자에서 제외 (숙지한 조리법과 조리 시 맡게 되는 냄새로 인해 평가에 영향을 끼칠 우려가 있음)
- 평가자 유도 (외관, 향을 먼저 보게 한 후 미각을 통해 느껴지는 다양한 표현을 유도)
- 식재료 만의 표현, 요리 본연에 대한 평가를 구분하여 작성
- 개인당 20개 이상 쓸 수 있도록 유도

요리 선정
테스트, 표준화

■ 채소풍미베이스 Food-pairing 결과

P-value 0.01 이하 ***(신뢰도 99%)
 0.05 이하 **(신뢰도 95%)
 0.1 이하 *(신뢰도 90%)

긍정적인 재료의 맛	control	채소풍미베이스	P-value
샐러리향이 좋다 샐러리 씹을 때 향이 많이 난다 샐러리 향이 화하게 퍼진다.	1.00	1.75	0.444
샐러리 식감이 좋다 익은 샐러리가 좋다	0.50	2.00	0.116
바질향이 좋다	1.25	2.75	0.026
토마토 맛과 향이 좋다 토마토 신맛과 감칠맛이 좋다. 토마토가 새콤달콤하다	2.00	1.75	0.760
양배추 익힘이 좋다 양배추가 부드럽다 양배추 식감이 좋다 양배추 단맛이 좋다	1.50	2.50	0.253
양파의 단맛이 조화롭다.	2.00	2.50	0.368
감자가 고소하다	2.25	1.25	0.167
베이컨의 고기풍미가 오래 남는다.	0.25	1.50	0.179
국물에서 버터에 볶은 마늘 풍미가 남는다.	-0.50	0.25	0.275
채소가 잘 익혀졌다	2.00	2.75	0.237
이국적인 향신료 냄새가 난다	1.50	1.00	0.610
치즈 맛이 느껴진다	-1.50	-0.75	0.355

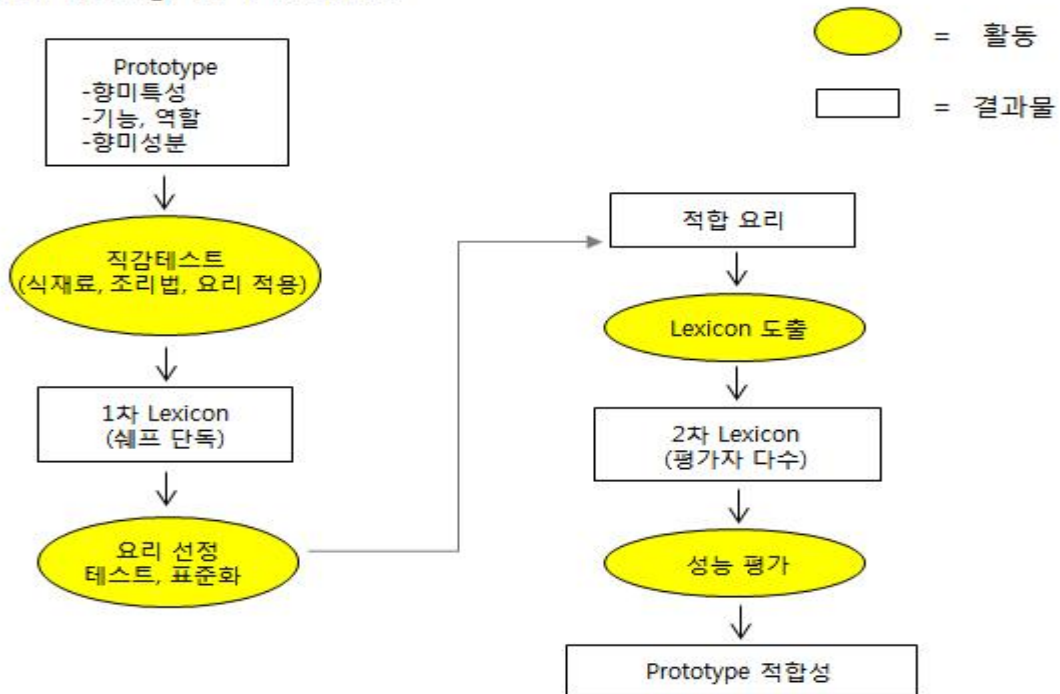
부정적인 재료의 맛	Control	채소풍미베이스	P-value
샐러리맛이 좋지않다 샐러리의 풋내가 강하다 샐러리의 맛과향이 강하다	-1.00	-1.00	1.000
샐러리가 억세다	-0.75	-2.50	0.065
바질향이 약하다	-1.25	-2.25	0.264
토마토신맛이 강하다 토마토쥬스같다 토마토가 너무 시다 시큼한 맛이 너무 오래 지속된다.	-1.25	-3.00	0.035
양배추가 덜 익었다.	-1.00	-2.50	0.143
양파가 덜 익었다.	-2.00	-3.00	0.152
감자가 덜 익었다.	-2.25	-2.25	1.000
베이컨이 질기고 퍽퍽하다.	-2.00	-2.00	1.000
마늘 풍미가 튀다.	-2.25	-2.25	1.000
채소가 덜 익혀졌다.	-1.50	-3.00	0.069
기름 맛이 많이 난다.	0.50	-1.00	0.193
기름이 많이 떠 있어 지저분해 보인다	-1.00	-1.50	0.633

긍정적인 요리의 맛	Control	채소풍미베이스	P-value
국물맛이 풍부하다 국물에서 깊은맛이 난다 식재료를 풍부하게 넣은 느낌이다.	0.75	1.25	0.603
맛이 삼삼하다 깔끔하다 맛이 담백하다 맑은 느낌이다.	0.75	1.25	0.649
느끼하지 않다. 많이 먹어도 느끼하지 않다.	0.75	1.75	0.336
고기국물맛이 느껴진다. 육수의 풍미가 좋다.	0.00	0.75	0.455
향긋한 허브향이 느껴진다.	1.50	3.00	0.041
국물이 새콤하여 덜 느끼하다.	1.75	2.50	0.338
국물이 새콤 달콤하다 감칠맛이 좋다.	1.00	1.25	0.811
감칠맛이 강하고 오래간다. 후미가 오래 지속된다.	0.25	1.00	0.475
채소풍미가 오래간다.	0.75	1.25	0.628
오래 끓인 느낌이다.	-0.50	0.75	0.243
채소의 맛과 육수가 잘 어울린다.	1.75	3.00	0.082

부정적인 요리의 맛	Control	채소풍미베이스	P-value
전체적 풍미가 약하다	-0.50	-1.25	0.472
맛이 밋밋하다 맛이가볍다.	-0.25	-1.50	0.272
느끼하다. 느끼함이 오래간다. 뒤틀맛이 느끼하다.	-1.50	-2.25	0.401
가공식품같은 맛이 난다. (라면스프같다.)	-2.25	-3.00	0.177
허브향이 한방같다.	-2.25	-2.00	0.752
신맛이 강하다	-1.00	-2.25	0.196
단맛이 강하다	-2.50	-1.75	0.338
감칠맛이 약하다.	0.25	-0.75	0.391
간이 짜다.	-2.50	-3.00	0.328
덜 익힌 느낌이다.	-2.00	-3.00	0.152
국물에서 감자 맛이 너무 강하다	-2.00	-2.50	0.755

나. 육수풍미베이스 Food-pairing 평가

Food Pairing 평가 Process



Process

구분	Prototype sample 정보
향미특성	소고기 육수, 혼합채소
기능,역할	소고기 감칠맛과 풍미 및 혼합채소 풍미 향상
향미성분	Allyl mercaptan, Allyl methyl sulfide, Allyl sulfide, 2,5-dimethylthiophene, Dihydro-5-methyl-2(3H)-Furanone, 2-Acetylpyrrole

Prototype
-향미특성
-기능, 역할
-향미성분



육수 풍미 베이스 사진

■ 직감테스트

• 맛보기

직감테스트
(식재료, 조리법,
요리 적용)

육수 풍미 베이스 맛보기	
•	코를 찌르는 듯한 강한 향이 난다.
•	생양파를 갈은 듯한 향이 난다.
•	채소를 숙성시킨 냄새가 난다.(무짬아찌)
•	생마늘 냄새가 난다.
•	마늘간장 냄새가 난다.
•	뒷맛에 멀지맛이 남는다.
•	많이 진한 냄새가 난다.
•	감칠맛이 매우 진하다.
•	라면 스프 맛이 난다.
•	가스오부시 쪄유 맛이 난다.
•	채소의 알싸한 향이 난다.
•	바비큐 소스 맛이 난다.(치토스맛)
•	맛이 묵직하게 오래 남는다.
•	뒷맛이 너무 비리다.
•	건어물의 맛이 진하게 남는다.
•	뒷맛이 살짝 쓰다.
•	느끼하다.
•	입안에 짝 달라붙는 맛이다.
•	고농축 소스 느낌이다.(데리야끼)

1. 발효물 특성 확인

- 감칠맛이 매우 진하다.
- 맛이 묵직하게 오래 남는다.
- 마늘 간장 냄새가 난다.
- 고농축 소스 느낌이다.
- 입안에 짝 달라붙는 맛이다.

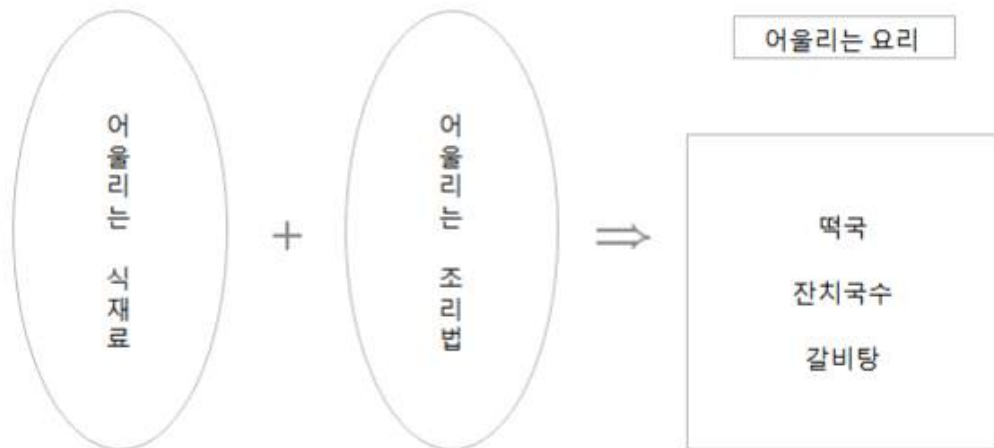
2. 어울리는 식재료와 조리법 구상

소백	(O)	Grilling	(X)
소갈비	(O)	Boiling	(O)
돼지고기	(X)	Poaching	(O)
닭다리살	(X)	Pan-frying	(△)
멸치	(O)	Steaming	(△)
새우	(O)	Stir-frying	(X)
홍합	(O)	Baking	(X)
양파	(X)	Sauteing	(O)
당근	(O)	Simmering	(O)
대파	(O)	Broiling	(X)
토마토	(O)	Roasting	(X)
호박	(O)	Braising	(△)
계란	(O)	Deep-frying	(X)
치즈	(X)		
떡	(O)		

O : 잘 어울림
△ : 보통
X : 안 어울림

• 테스트 요리 선정(3개)

직감테스트
(식재료, 조리법,
요리 적용)



■ 1차 Lexicon 도출

[떡국]



- 라면국물 맛이 난다.
- 조화로운 국물 맛이 난다.
- 감칠맛이 강해졌다.
- 사골 누린내가 줄어들었다.
- 국물 색이 조금 어둡다.
- 다시다의 느끼한 맛이 있다.

[잔치국수]



- 씹쓸한 맛이 줄어들었다.
- 감칠맛이 매우 높아졌다.
- 비린 향이 줄어들었다.
- 국물 색이 연한 갈색이다.
- 간이 더 강하게 느껴진다.

[갈비탕]



- 국물 맛이 깔끔하다.
- 시중에 파는 것처럼 느끼하지 않고 가볍고 깔끔하다.
- 파 맛이 신선하다.
- 살짝 느끼하다.
- 간이 적당하다.
- 느끼하지만 뒷맛은 가볍고 깔끔하다.
- 고기진한 맛이 난다.
- 고기가 부드럽다.
- 달 자극적이다.
- 감칠맛이 있어 입에 착착 붙는다.
- 국물 맛이 진하다.
- 여러 야채를 넣은 듯한 맛이 나며 조화롭다.
- 간이 적당하다.
- 감칠맛이 매우 강하게 느껴진다.
- 달걀 비린 향 같은 냄새가 난다.

직감테스트
(식재료, 조리법, 조리 순서)

1차 Lexicon
(쉐프)

■ 요리선정 테스트, 표준화

• 적합요리 3개 후보 선정

[떡국]



선정 이유

"조화로운 국물 맛이 난다", "사골 누린내가 줄어들었다"는 용어에서 특성 보임

[잔치국수]



선정 이유

"씹쓸한 맛이 줄어들었다", "비린 향이 줄어들었다"는 용어에서 소재 특성 보임

[갈비탕]



선정 이유

"국물맛이 진한 맛이 난다", "여러 야채를 넣은 듯하며 조화롭다", "국물 맛이 깔끔하다"는 용어에서 특성 보임

■ 레시피 조정

• 조정기준

- ① 식재료 맛이 살아날 정도의 양념 량만 사용하여야 한다.
- ② 짜지 않아야 한다.
- ③ 달지 않아야 한다.
- ④ 가능하면 연두순원액으로 맛을 내는 요리여야 한다.
- ⑤ 발효물의 특성이 잘 보이도록 하여야 한다.
- ⑥ 자극적이지 않아야 한다.
- ⑦ 느끼하지 않아야 한다.
- ⑧ 첨가물, 설탕을 사용하지 않아야 한다.

요리 선정
테스트, 표준화

• 떡국의 레시피 조정



레시피 조정 없음

- 연두순원액을 추가하면 더 육수 풍미 높아지나 개발자 요청에 의해 조정안함.
- 단순한 상태에서 소제의 능력을 봐야 그 소제때문에 영향을 알수 있다함.

개선 전_ 육수 물미 베이스				
	원료명	제조량(g)	백분율(%)	
식재료	대파	0.70	2.44	
	양파	28.00	87.56	
	합계	28.70	100.00	
	비율(%)		28.8	
맛내기	사골육수	35.00	49.32	
	물(희석액)	35.00	49.32	
	천일염	0.30	0.42	
	간대파	0.15	0.21	
	후추	0.01	0.01	
	육수 물미 베이스	0.50	0.70	양도8.2%
	합계	70.96	100.00	
	비율(%)		71.20	
총 합계	100			

기본 사골육수		
원료명	제조량(g)	백분율(%)
사골	1000.00	1.84
물	60000.00	98.16
합계	61000.00	100.00
조리후 육수 무게	28000.00	

요리 선정
테스트, 표준화

• 잔치국수의 레시피 조정



레시피 조정 없음

- 연두순원액을 추가하면 더 육수 풍미 높아지나 개발자 요청에 의해 조정안함.

개선 전_ 육수 물미 베이스			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식재료	삶은 소면	25.00	82.24
	호박	1.20	3.95
	당근	1.00	3.29
	지단(완자)	1.20	3.95
	지단(노.완자)	2.00	6.58
	합계	30.40	100.00
맛내기	비율(%)		30.43
	천일염	0.50	0.72
	기본 열지육수	34.25	49.28
	물(희석액)	34.25	49.28
	육수 물미 베이스	0.50	0.72
	합계	69.50	100.00
	비율(%)		69.57
총합계	99.90		

기본 열지육수		
원료명	제조량(g)	백분율(%)
다시말치	100.00	0.89
양파	120.00	1.07
대파	100.00	0.89
마늘	100.00	0.89
생강	25.00	0.22
통우추	5.00	0.04
정종	100.00	0.89
무	700.00	6.22
건다시마	10.00	0.09
건홍고추(명조)	1.20	0.01
물	10000.00	88.80
합계	11261.20	100.00
조리후 육수 무게	8000.00	

•갈비탕의 레시피 조정



① 옥수베이스의 특성이 더 들어나게 하기 위해 첨가량을 더 줄임.
연두순 원액을 첨가하여 진행한다던 완벽한 국물 맛이 될 것 같음.

요리 선정 테스트, 표준화

옥수 풀미베이스_개선 전			
원료명	제조량(g)	백분율(%)	
갈비살	20.00	62.50	
갈비뼈	12.00	37.50	
소계	32.00	100.00	
비율(%)		32.31	
갈비탕육수	44.80	66.82	
물(희석액)	19.20	28.64	
전일염	0.36	0.53	
대파슬라이스	2.00	2.98	
옥수베이스 소재	0.69	1.03	
소계	67.05	100.00	
비율(%)		67.69	
총계	99.05		

기본 갈비탕육수			
원료명	제조량(g)	백분율(%)	염도(%)
갈비(정갈미(산우))	2000.00	10.79	
동우유	1.00	0.01	
대파	140.00	0.76	
마늘	150.00	0.84	
현생강	12.00	0.06	
양파	120.00	0.65	
무우	400.00	2.16	
천일염	12.00	0.06	0.06
물(8000)	4000.00	21.59	
일계	6785.00	36.62	
백	370.00		
호리후 옥수	3500.00	0.51	
호리후 무우	350.00		

옥수 풀미베이스_개선 후			
원료명	제조량(g)	백분율(%)	
갈비살	70.00	100.00	
소계	70.00	100.00	
비율(%)		21.01	
갈비탕육수	145.00	55.08	
물(희석액)	61.00	23.17	
살은 무	48.00	18.23	
전일염	0.86	0.33	
대파슬라이스	6.70	2.55	
옥수베이스 소재	1.68	0.64	
소계	263.24	100.00	
비율(%)		78.99	
총계	333.24		

•적합 요리 1종 선정 (갈비탕)

요리 선정 테스트, 표준화

요리선정을 위한 평가지					
prototype명	옥수 풀미 베이스	날짜	2019.10.11	이름	정은희
prototype 특성	소고기 감칠맛과 풀미 및 혼합채소 풀미 향상				
관능 방법	1. 요리를 드시기 전에 각 샘플 별 맛을 맡아보고 느끼는 대로 적어주세요. 외관도 같이 적어주세요. 2. 드시면서 각 신재료에서 느끼지는 향이나 질감, 맛을 표현해 주세요. 3. 또, 본인의 요리에서 느끼지는 맛과 향을 생각하면서 감칠맛이거나 갈라진 맛 느낌 표현해주세요. *특성과 맛 어울리는 순서대로 1, 2, 3을 써주세요.				
떡국		잔치국수		갈비탕	
라면국물 맛이 난다. 감칠맛이 강하다. 국물 색이 조금 어둡다. 다시다와 느끼한 맛이 있다.		감칠맛이 매우 높아졌다. 비린내가 줄었다. 간이 더 잘하게 느껴진다.		국물맛이 깔끔하다. 시중에 하는 것 처럼 느끼하지 않고 가볍고 깔끔하다. 파맛이 신선하다.	
순번	3	순번	2	순번	1

구분	떡국	잔치국수	갈비탕
정은희	3	2	1
심재언	2	3	1
김영주	3	1	2
조수빈	3	2	1
손혜지	3	1	2
합계	14	9	7

요리사(4명) 외 개발 담당 연구원(1명) 총 5명 관능 모사 및 평가 (낮은 점수가 선정됨)

•적합 요리 1종 선정 (갈비탕)

요리 선정 테스트, 표준화

요리선정을 위한 평가지					
prototype명	육수 품미 베이스	날짜	2019.07.11	이름	정은희
prototype 특성	1. 2.				
관능 방법	1. 요리를 드시기 전에 각 샘플 별 맛을 맡아보고 느끼는 대로 적어주세요. 원관토 같이 적어주세요. 2. 드시면서 각 식재료에서 느껴지는 향이나 질감, 맛을 표현해 주세요. 3. 또, 평면의 요리에서 느껴지는 맛과 맛을 생각하면서 감성적이거나 감각적인 느낌을 표현해주세요. *특성과 향 어울리는 순서대로 1, 2, 3을 써주세요.				
면목	떡국	잔치국수	갈비탕		
	바람꽃을 많이 넣는다. 감칠맛이 강하다. 국물 내어 뜨겁게 먹는다. 다시따와 느끼한 맛이 있다.	감칠맛이 매우 좋아졌다. 비밀맛이 좋았다. 간이 더 강하게 느껴진다.	국물맛이 깔끔하다. 시름에 하는 것처럼 느끼하지 않고 가볍고 깔끔하다. 피맛이 신선하다.		
순번	3	순번	2	순번	1

구분	떡국	잔치국수	갈비탕
정은희	3	2	1
심재연	2	3	1
김영주	3	1	2
조수빈	3	2	1
손혜지	3	1	2
합계	14	9	7



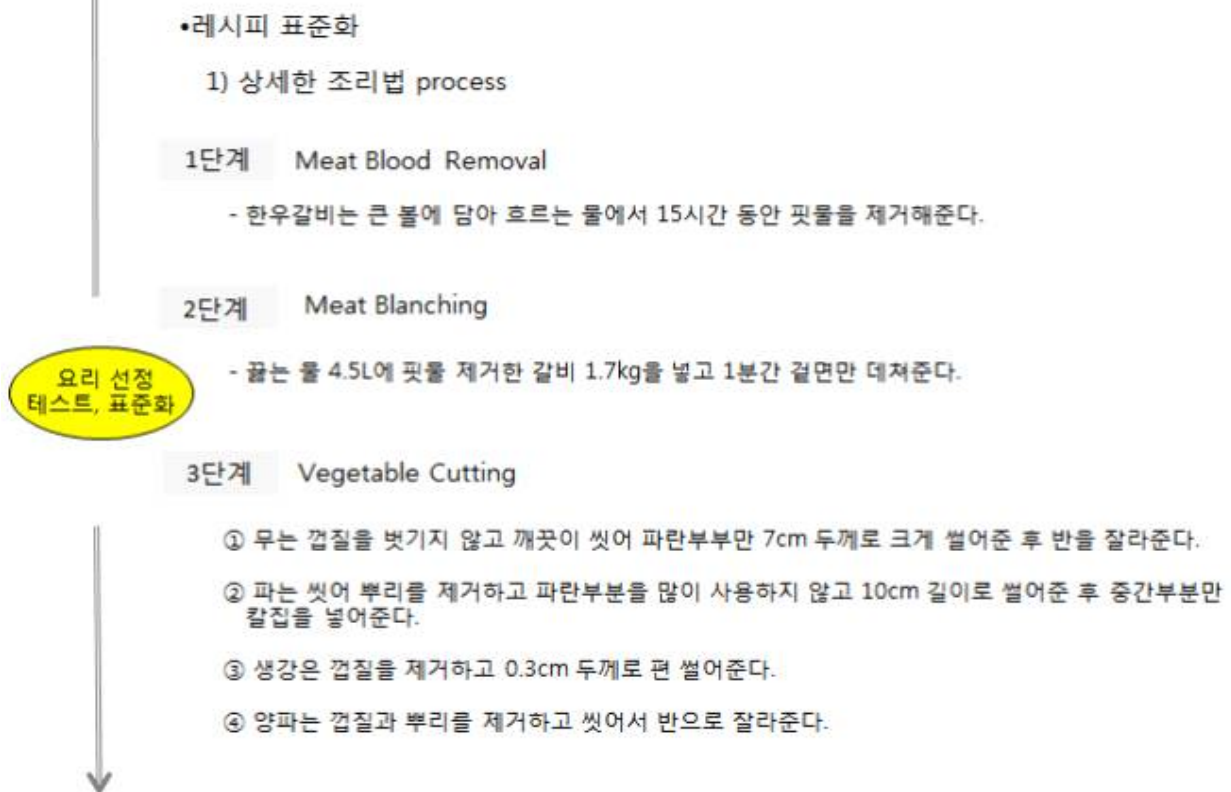
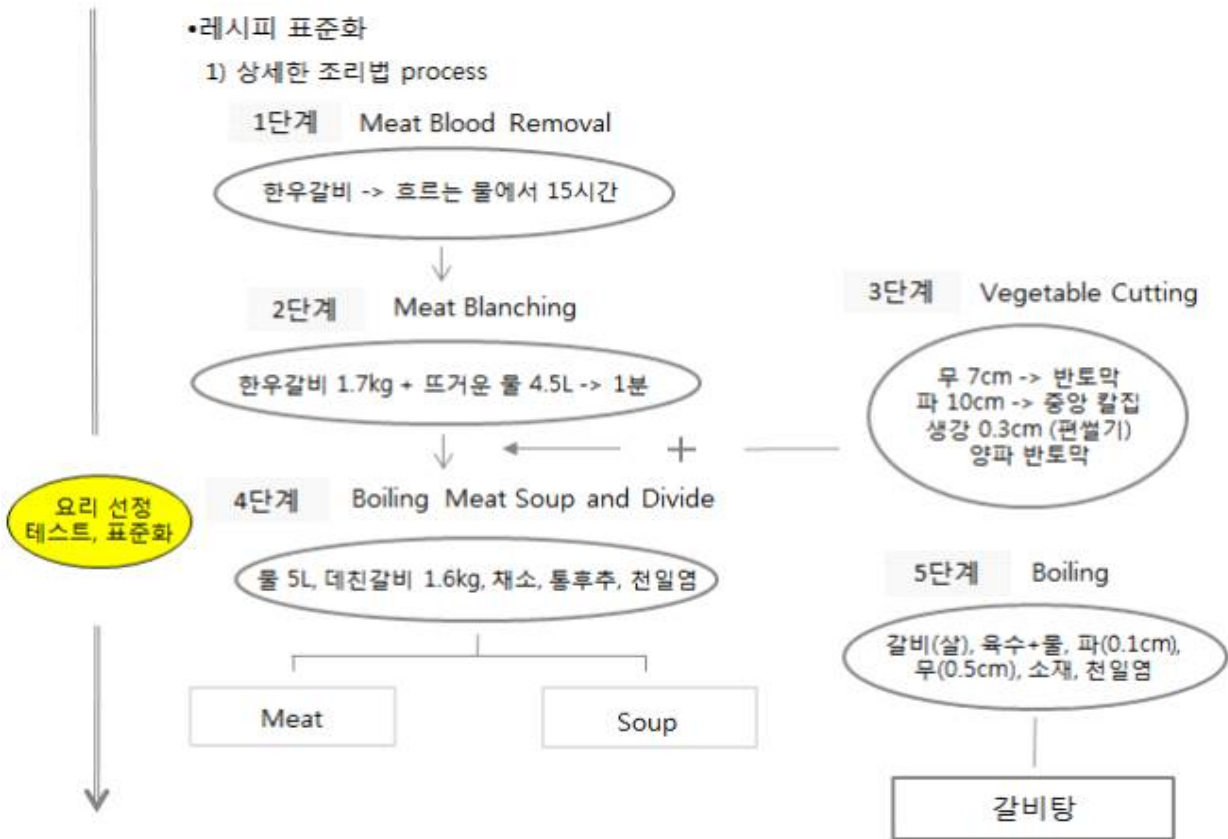
요리사(4명) 외 개발 담당 연구원(1명) 총 5명 관능 모사 및 평가 (낮은 점수가 선정됨)

갈비탕 이란?

- 갈비탕은 소의 갈비부위를 주재료로 하는 탕류로 오랜 시간 우려내야 하는 것으로 국 간장과 소금으로 양념을 하여 먹는 것으로 뭔가 깔끔한 향에 진한 맛이 있지만 시원한 맛을 추구하는 탕류에 확장 가능할 듯함.

요리 선정 테스트, 표준화

구분	갈비탕	육계장	동태찌개
사진			
신선한 식재료	대파, 무우, 양파,	숙주, 대파	무우, 숙갓, 대파, 고추
고소한, Oily한 식재료	-	토란대, 고사리, 고추기름	두부
감칠맛을 주는 식재료	갈비살	양지살	동태살
요리 정보	갈비에 고기 국물을 내어서 만든 음식	고사리, 숙주, 토란대, 등의 나물과 소고기를 넣고 푹 끓인 국물에 대량의 고춧가루와 국간장으로 간한 요리	무와 토막 낸 동태를 넣고 끓이다가 다진 마늘·생강, 고춧가루, 채 썬 양파, 두부를 넣고 끓여 장, 소금으로 간한 요리



4단계 Boiling Meat Soup and Divide

- ① 물 5L에 데친 갈비 1.6kg을 넣고 증불(DIPO 6)에서 1시간 동안 푹 삶아준다. (기름이 오르면 수시로 제거해준다 -> 최소 10번 이상)
- ② 1시간이 지나면 양파, 생강, 통후추는 기름망에 담아 넣어 주고, 무, 대파, 전일염을 넣어준다.
- ③ 채소를 넣고 센불로 한 후 끓으면 중불로 낮춰준 후 30분 더 끓여준다.
- ④ 채소와 고기를 따로 건져낸 후 면보를 이용해서 육수를 걸러 식혀두고, 무와 고기를 제외한 채소는 버려준다.
- ⑤ 고기를 뼈와 살로 분리한다.

요리 선정
테스트, 표준화

5단계 Boiling

- ① 육수와 물을 희석한 후, 소재와 전일염을 넣고 희석육수를 만들어 준다.
- ② 갈비(살)를 따로 나는 희석육수에 넣고 끓으면 불을 끄고 데워준 후, 삶은 무를 0.5cm 은행잎 썰기로 썰어준 후 전자레인지에 2분간 데워준다.
- ③ 대파는 0.1cm 두께로 얇게 원형썰기한다.
- ④ 독배기에 고기 70g, 파 6.7g, 무 48g, 희석육수 210g을 넣고 살짝 끓여 제공한다.

•과정 촬영



요리 선정
테스트, 표준화

- ① 전체 식재료 촬영
사진, 동영상으로 기록을 남기 되 식재료와 발효물의 이미지가 나올 수 있도록 촬영
- ② 조리 과정 촬영
조리 과정에서 핵심이 된다고 생각되는 과정을 촬영
ex) 갈비탕의 경우 육수를 끓이는 과정을 촬영
- ③ 완성 사진 촬영
완성된 음식을 플레이팅용 접시에 담아 촬영

3) 요리제공



- 요리**
- 개인당 충분히 먹을 수 있는 양 제공
 - 본연의 요리 온도에 맞춰 제공
 - 요리의 Visual을 좋게 함



- 공간**
- 편안하고 쾌적한 환경 조성
 - 식기 류, 물, 냅킨 등 필요한 도구 세팅

요리 선정
테스트, 표준화



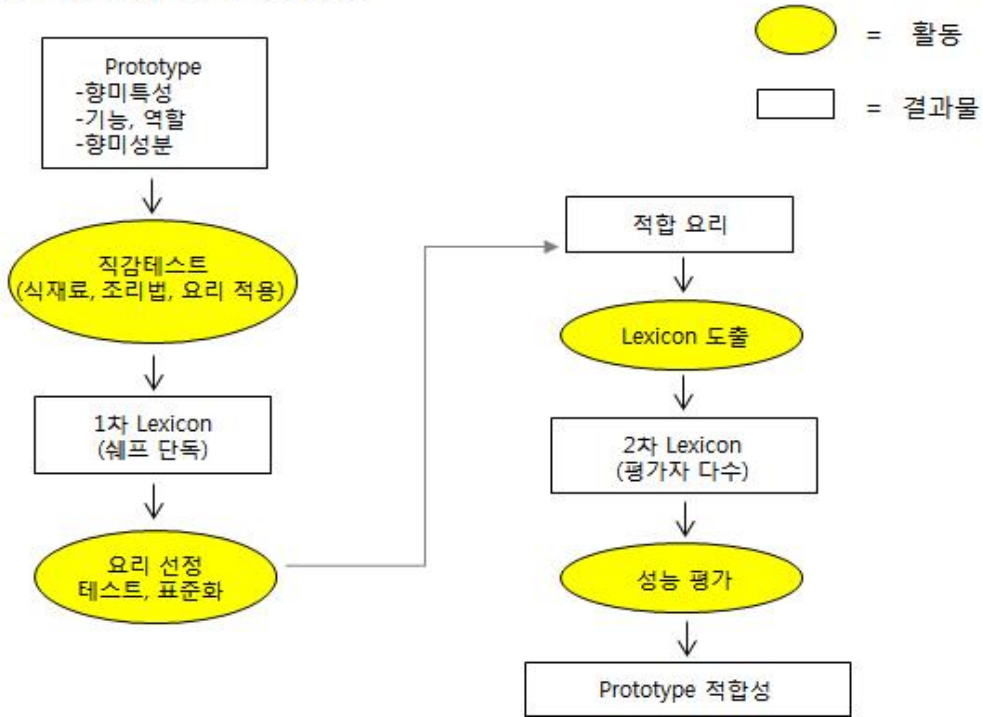
- 시간**
- 음식의 맛을 객관적으로 느낄 수 있는 시간 선정
 - 허기지지 않은 상태 (오전 11시 -11시 30분 사이)



- 사람**
- 연령, 성별 등을 고려하여 감각적이고 감성적인 다양한 평가자(연구원) 모집
 - 직접요리 한 사람은 평가자에서 제외 (숙지한 조리법과 조리 시 맡게 되는 냄새로 인해 평가에 영향을 끼칠 우려가 있음)
 - 평가자 유도 (외관, 향을 먼저 보게 한 후 미각을 통해 느껴지는 다양한 표현을 유도)
 - 식재료 만의 표현, 요리 본연에 대한 평가를 구분하여 작성
 - 개인당 20개 이상 쓸 수 있도록 유도

다. 볶음풍미베이스 Food-pairing 평가

Food Pairing 평가 Process



Process

구분	Prototype sample 정보
향미특성	채소를 오일에 고온으로 조리한 풍미
기능, 역할	채소를 오일에 볶은 듯한 풍미 부여
향미성분	Furfural, 5-methylfurfural, Furfuryl alcohol, Xylene, cresol, Acetic acid, 2,4-heptadienal,

Prototype
-향미특성
-기능, 역할
-향미성분



볶음 풍미 베이스 사진

■ 직감테스트

• 맛보기

직감테스트
(식재료, 조리법, 요리 적용)

- 볶음 풍미 베이스 맛보기**
- 냄새가 너무 강해서 코가 뺨 툭린다.
 - 뻘한 냄새가 심하게 난다.
 - 되게 진한 고농축 치킨스톡 냄새
 - 알싸한 마늘 냄새
 - 향이 되게 진하다.
 - 코를 찌르는 진한 까나리액젓 냄새가 난다.
 - 희석했지만 향이 진하게 난다.
 - 신맛이 난다.
 - 무의 매운 맛이 난다.
 - 향이 너무 강해서 맛이 느껴지지 않는다.
 - 기름을 먹는 맛이다.
 - 쓴 냄새가 난다.
 - 훈연향이 강하다.
 - 청정원 '안주야' 냄새
 - 화학적인 향
 - 계속 먹으면 몸에 안 좋을 것 같다.
 - 건 나무냄새
 - 원액은 기름의 질감이다.
 - 뒷맛이 길게 남는다.
 - 기름 전내가 난다.

1. 소재 특성 확인

- 향이 되게 진하다.
- 훈연향이 강하다.
- 기름을 먹는 맛이다.
- 뒷맛이 길게 남는다.
- 되게 진한 고농축 치킨 스톡 냄새

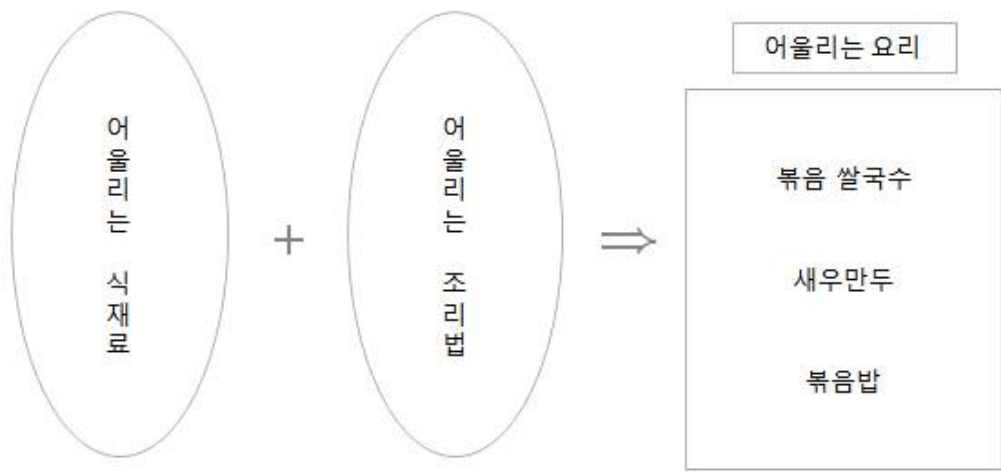
2. 어울리는 식재료와 조리법 구상

소고기	(X)	Grilling	(X)
돼지고기	(△)	Boiling	(O)
베이컨	(△)	Poaching	(O)
닭다리살	(X)	Pan-frying	(O)
연어	(X)	Steaming	(O)
새우	(O)	Stir-frying	(O)
완두콩	(O)	Baking	(X)
당근	(O)	Sauteing	(△)
양파	(O)	Simmering	(O)
마늘	(O)	Broiling	(△)
고구마	(X)	Roasting	(X)
양배추	(O)	Braising	(X)
숙주	(O)	Deep-frying	(△)
고추	(O)		
부추	(O)		
밀가루	(O)		
계란	(O)		
치즈	(X)		
국수	(O)		

O : 잘 어울림
△ : 보통
X : 안 어울림

• 테스트 요리 선정(3개)

직감테스트
(식재료, 조리법, 요리 적용)



■1차 Lexicon 도출

직감테스트
(식재료, 조리법,
요리 적용)

[볶음 쌀국수]



- 볶음풍미가 있다.
- 웍에서 볶은 것처럼 느껴진다.
- 숙주에서 볶음 풍미가 좋다.
- 새우의 향이 강해서 볶음 풍미가 줄어들었다.
- 웍에서 볶아낸 듯한 팟타이 같다.
- 새우와는 어울리지 않는 향인 것 같다.

[새우만두]



- 깔끔하고 담백한 맛이다.
- 전체적인 풍내가 사라졌다.
- 단맛이 난다.
- 당이 탄 냄새가 난다.

[볶음밥]



- 계란 볶음밥 같다.
- 해물 볶음밥 향이 난다.
- 조개가 들어있는 듯하다.
- 돼지고기 맛이 난다.
- 기름이 많은 듯하다.
- 중식 요리 같은 맛이 난다.
- 중국집에서 볼로 볶은 듯 한 맛있는 맛이 난다.
- 풍부한 향이 난다.
- 야채 볶음 맛이 좋다.
- 살짝 달다.

1차 Lexicon
(쉐프)

■요리선정 테스트, 표준화

•적합요리 3개 후보 선정

[볶음 쌀국수]



선정 이유
"볶음 풍미가 있다,"
웍 에서 볶은 것 처럼
느껴진다." " 숙주가 볶
음 풍미가 좋다 " 라는
lexicon 에서 특성을
보임

[새우만두]



선정 이유
"전체적인 풍내가 사
라졌다," 당이 탄 냄새
가 난다"라는 lexicon
에서 특성을 보임

[볶음밥]



선정 이유
"해물 볶음밥 향이 난
다," 풍부한 향이 난다"
"중국집에서 볼로 볶은
듯 한 맛있는 맛이 난
다.라는 lexicon 에서
특성을 보임

1차 Lexicon
(쉐프)

2.2 레시피 조정

- 1) 조정기준
- ① 식재료 맛이 살아날 정도의 양념 량만 사용하여야 한다.
 - ② 짜지 않아야 한다.
 - ③ 달지 않아야 한다.
 - ④ 가능하면 연두순원액으로 맛을 내는 요리여야 한다.
 - ⑤ 발효물의 특성이 잘 보이도록 하여야 한다.
 - ⑥ 자극적이지 않아야 한다.
 - ⑦ 느끼하지 않아야 한다.
 - ⑧ 첨가물, 설탕을 사용하지 않아야 한다.

•볶음 쌀국수의 레시피 조정



① 소스들을 연두순원액으로 바꾸고 천일염을 연두순원액으로 대체했을 시 더 좋은 결과를 보일 것같아 변경

요리 선정 테스트, 표준화

볶음콩미 베이스_개선 전			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식재료	새우	190.00	32.82
	양파	40.00	6.91
	양배추	68.00	11.74
	옥수수	72.00	12.44
	쌀국수	185.00	31.95
	부추	24.00	4.15
	소계	579.0	100.00
	비율(%)		93.2
	맛내기	후추	0.5
굴소스		0.8	1.9
무스타소스		16.0	37.6
올리고당		2.9	6.7
볶음콩미		3.2	7.4
포도씨유		25.0	58.8
마늘		4.0	9.4
소계		52.3	123.0
비율(%)			8.42
총계		631.32	

볶음콩미 베이스_개선 후			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식재료	새우	190.00	32.82
	양파	40.00	6.91
	양배추	68.00	11.74
	옥수수	72.00	12.44
	쌀국수	185.00	31.95
	부추	24.00	4.15
	소계	579.0	100.00
	비율(%)		93.2
	맛내기	후추	0.5
연두순원액3개월		7.0	16.5
올리고당		2.9	6.7
볶음콩미		3.2	7.4
포도씨유		25.0	58.8
마늘		4.0	9.4
소계		42.5	100.0
비율(%)			6.84
총계	621.52		

•새우만두의 레시피 조정



① 레시피 변경 없음
연두순원액을 넣으면 시너지가 생겨 첨가함.

요리 선정 테스트, 표준화

볶음 콩미베이스_개선 전			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식재료	부추	53.96	26.97
	두부	34.30	17.14
	새우살	102.90	51.43
	만두피	8.91	4.45
	소계	200.07	100.00
	비율(%)		93.54
맛내기	볶음콩미 베이스	2.10	15.19
	후추	0.26	1.85
	연두순원액3개월	5.67	41.02
	감자전분	5.49	39.69
	천일염	0.31	2.25
	소계	13.83	100.00
	비율(%)		6.46
총계	213.89		

요리 선정
테스트, 표준화

•볶음밥의 레시피 조정



볶음 롱미베이스_개선 전			
	원료명	제조량(g)	백분율(%)
식재료	쌀밥	90.00	51.43
	대파	15.00	8.57
	양파	40.00	22.86
	당근	10.00	5.71
	호박	20.00	11.43
	소계	175.00	100.00
	비율(%)		
맛내기	천일염	0.62	4.88
	연두순원액 3개월	3.20	25.20
	볶음롱미베이스	1.88	14.80
	포도씨유	7.00	55.12
	소계	12.70	100.00
	비율(%)		
총계	187.70		

① 레시피 변경 없을 연두순원액을 넣으면 시너지가 생겨 첨가함.

•적합 요리 1종 선정 (볶음밥)

요리 선정
테스트, 표준화

요리선정을 위한 평가지					
prototype명	볶음 롱미 베이스	남파	2019.07.11	이름	정은희
prototype 특성	채소를 오일과 볶은 롱미 볶아				
관능 방법	1. 요리를 드시기 전에 각 샘플 접안을 맡아보고 느끼는 대로 적어주세요. 외관도 같이 적어주세요. 2. 드시면서 각 샘플로에서 느껴지는 향미나 질감, 맛을 표현해 주세요. 3. 또 동일한 요리에서 느껴지는 맛과 향을 생각하면서 감성적이거나 감각적인 느낌을 표현해주세요. *특성과 향 어울리는 순서대로 1, 2, 3을 써주세요.				
	볶음 쌀국수	새우만두		볶음밥	
	볶음과 쌀을 넣을경 같이 출연일이 낫다. 기름지다. 향갈이 산뜻하다. 풍부하다. 채소들의 향이 있으면 달콤하다.	만두피가 약간 두껍다. 향이 없으면 속이 풍부하다. 약간 속이 기름지다.		입히는 맛이 채소가 맞았다. 향이 고소고소하다. 맛의 조화가 좋다. 풍부한 맛이 좋다	
순번	2	3		1	

구분	볶음 쌀국수	새우만두	볶음밥
정은희	2	3	1
심재언	3	2	1
김영주	3	1	2
조수빈	3	2	1
손혜지	2	3	1
합계	13	11	6



요리사(4명) 외 개발 담당 연구원(1명) 총 5명 관능 묘사 및 평가(낮은 점수가 선정됨)

채소 볶음밥 이란?

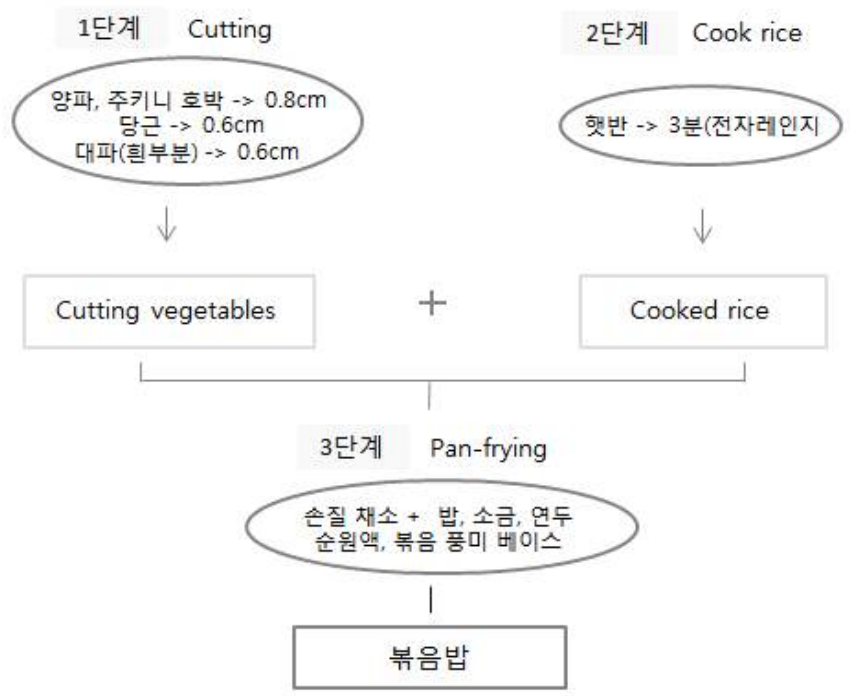
- 볶음밥은 쌀밥에 채소 등을 잘게 썰어 기름에 볶아 만든 요리로 가장 기본적인 볶음이다. 이를 통해 소제의 볶음풍미를 확인함.
- 곡물의 고소함을 더욱 풍부하게 하는 볶음향과 채소 풍미를 높여주는 성능을 세계 각 나라마다의 볶음밥에도 확장 가능한 요리로 보임.

요리 선정 테스트, 표준화

구분	볶음밥	파에야	나시고렝	카오팟
사진				
신선한 식재료	감자, 당근, 양파, 대파, 호박	사프란, 파프리카, 양파	토마토, 고추, 양파	양파, 당근, 마늘, 고추
고소한, Oily한 식재료	올리브유, 쌀	올리브유, 쌀	올리브유, 쌀	올리브유, 쌀
감칠맛을 주는 식재료	X	오징어, 새우, 조개	소고기, 돼지고기, 콩	고기, 해산물(새우), 콩
요리 정보	여러가지 채소를 밥과 함께 볶아 낸 요리	고기, 채소, 오징어를 넣고 사프란을 넣어 만든 스페인식 볶음밥	밥과 채소, 고기, 고추 소스 등과 함께 볶아 만든 인도네시아식 볶음밥	해산물, 고기, 달걀, 채소 등을 재빨리 볶아 낸 태국식 볶음밥

•레시피 표준화
상세한 조리법 process

요리 선정 테스트, 표준화



레시피 표준화

- 상세한 조리법 process(볶음밥)

1단계 Cutting

- ① 양파는 껍질과 뿌리를 제거한 후 반을 잘라 가로세로 0.8cm의 크기로 잘게 다져준다.
- ② 주키니 호박은 씻어 양쪽 고티머리만 살짝 자른 후 가로세로 0.8cm의 크기로 잘게 다져준다.
- ③ 당근은 껍질과 뿌리를 제거한 후 가로세로 0.6cm로 잘게 다져준다.
- ④ 대파는 씻어 뿌리를 제거하고 흰부분만을 사용하며, 길이로 십자모양으로 썰어준 후 0.6cm의 길이로 썰어준다.

2단계 Cook rice

- 핫반은 비닐을 뜯은 후 전자레인지에 3분간 돌려준다.

3단계 Pan-frying

- ① 올리브오일을 두른 팬을 센불로 가열해준다.
- ② 열이 오르면 양파, 당근 -> 1분 40초에 대파 -> 3분 10초에 주키니 호박 -> 4분 20초에 소금 $\frac{1}{2}$, 연두순원액 $\frac{1}{2}$ 을 순서대로 볶아준다.
- ③ 6분 10초가 되면 불을 줄인 후 밥 -> 7분 30초에 소금, 연두순원액 나머지 -> 9분 40초에 볶음종미 베이스를 넣고 국자로 눌러가며 총 10분 50초가 될 때 까지 볶아준다. (총 조리시간 : 10분 50초)

요리 선정 테스트 표준화

•요리과정 촬영



요리 선정 테스트 표준화

① 전체 식재료 촬영

사진, 동영상으로 기록을 남기 되 식재료와 소재의 이미지가 나올 수 있도록 촬영

② 조리 과정 촬영

조리 과정에서 핵심이 된다고 생각되는 과정을 촬영
ex) 볶음밥의 경우 볶음밥을 볶는 과정을 촬영

③ 완성 사진 촬영

완성된 음식을 플레이팅용 접시에 담아 촬영

•요리제공



- 요리**
- 개인당 충분히 먹을 수 있는 양 제공
 - 본연의 요리 온도에 맞춰 제공
 - 요리의 Visual을 좋게 함



- 공간**
- 편안하고 쾌적한 환경 조성
 - 식기 류, 물, 냅킨 등 필요한 도구 세팅

요리 선정
테스트, 표준화



- 시간**
- 음식의 맛을 객관적으로 느낄 수 있는 시간 선정
 - 허기지지 않은 상태 (오전 11시 -11시 30분 사이)



- 사람**
- 연령, 성별 등을 고려하여 감각적이고 감성적인 다양한 평가자(연구원) 모집
 - 직접요리 한 사람은 평가자에서 제외 (숙지한 조리법과 조리 시 맡게 되는 냄새로 인해 평가에 영향을 끼칠 우려가 있음)
 - 평가자 유도 (외관, 향을 먼저 보게 한 후 미각을 통해 느껴지는 다양한 표현을 유도)
 - 식재료 만의 표현, 요리 본연에 대한 평가를 구분하여 작성
 - 개인당 20개 이상 쓸 수 있도록 유도

■ 볶음풍미베이스 Food-pairing

P-value 0.01 이하 *** (신뢰도 99%)

0.05 이하 ** (신뢰도 95%)

0.1 이하 * (신뢰도 90%)

요리의 풍미특성	Control	볶음풍미베이스	P-value
탄맛이 난다**	-2.70	-0.60	0.035
석쇠에 구운듯한 맛이 난다***	-2.70	1.20	0.000
숯불에 구운듯한 맛이 난다.***	-2.40	1.80	0.000
구수한 풍미가 난다	2.40	2.70	0.660
달콤한듯 고소한 냄새가 있다	2.40	2.70	0.660
대파를 구운듯한 냄새가 난다.**	0.30	2.40	0.035
양파를 구운듯한 냄새가 난다.**	0.90	3.00	0.031
당근을 구운듯한 냄새가 난다.	-0.60	0.00	0.613
호박을 구운듯한 냄새가 난다.	-0.30	1.50	0.137
쌀밥이 탄듯한 냄새가 난다.***	-3.00	-0.90	0.004
고기 구운 듯한 풍미가 있다.***	-1.80	2.10	0.001
식용유 볶음 냄새가 난다	2.70	2.70	1.000
쇠 냄새가 난다.*	-3.00	-1.80	0.087
소독약 냄새가 난다.	-3.00	-2.70	0.331
비린풀냄새가난다.	-2.10	-2.40	0.696
푼내가 난다.	-1.50	-2.40	0.382
나무 탄내가 난다.**	-3.00	-0.90	0.015
신맛이 난다.	-2.10	-1.20	0.431
구운생선, 튀긴 어묵 냄새가 난다.	-2.10	-0.90	0.250
버섯냄새가난다.***	-1.50	1.20	0.010
느끼한 냄새가 난다.	1.20	1.50	0.759
흙 냄새가 난다.	-2.70	-2.40	0.556
과일 냄새가 난다.	-3.00	-2.40	0.151

3. 식물성 발효조미소재가 적용된 응용제품개발 및 출시

가. 제품개발의 목적

소비자에게 다양한 맛의 떡볶이양념을 제공하고자 하였다. 시판중인 떡볶이양념은 주로 고추장을 베이스로 한 양념들로 그 외 플레이버는 거의 없다. 새로운 플레이버 라인업 개발을 통해 이마트 등 주요 대형마트에 입점을 돕고, 소비자에게 다양한 맛의 떡볶이양념을 제공하고자 하였다.

나. 신제품 기획 및 개발

1) 제품 Concept

떡꼬치양념

덜 매운 고춧가루와 다진 마늘을 넣어 매콤하면서도 고소한 맛을 살린 마성의 떡꼬치양념. 다른 별도의 재료 없이 떡만 구워서 양념만 발라주면 간단히 떡꼬치를 집에서도 먹을 수 있습니다.

2) 제품 설계

타겟 시장	맛집 떡볶이를 집에서 간편하고 저렴하게 먹고자 하는 국내 소비자
목표판매가	약 1,900 원
용기	한식양념 파우치
포장 형태	폴리프로필렌(PP)
식품의 유형	소스(살균제품)
관능기준	소비자테스트 결과

3) Prototype 개발

개발 방향 설정을 위해 음식점 방문, 시식을 진행하였다.

- 대치동 M음식점, 선릉역 K음식점, 건대입구역 Y음식점을 방문하여 관능 확인하였다.
- M음식점 : 튀겨낸 떡에 소스를 버무리지 않고 위에 뿌려주는 형태이며, 맛은 신맛이 강하여 초고추장스러움
- K음식점 : 일반적인 분식집 떡꼬치의 외관을 띄며, 마늘과 견과류가 약간 씹히며 단맛이 매우 강함. 보편적인 떡꼬치의 맛으로 특색 없음.
- Y음식점 : M음식점과 같이 떡에 소스를 뿌려주는 형태이며, 케찹 맛이 매우 강했으며 풍미가 단순함

관능결과 고추장과 케찹을 베이스로, 단맛과 신맛 강도의 차이만 있었다. 차별화된 제품으로 개발 검토했으나, 시중에 출시된 떡꼬치양념이 많지 않으며, 제대로 된 맛을 내는 양념이 없어 대중들이 원하는 떡꼬치의 맛을 대로 구현해내는 것 자체가 강점이 될 수 있을 것으로 개발 방향을 설정하였다.

맛 강도는 다음과 같이 설정하였다. 어린 아이들이 주 타겟으로, 매운맛과 단맛의 맛 강도와 밸런스를 맞추는 방향으로 개발하고자 하였다. 요리 특성상 떡에 양념이 배는 것이 아니기에 양념의 맛 강도를 높이고 떡에 잘 묻어나도록 점성을 개선하였다. 콜플로, 잔탄검 함량별 적용 테스트를 통해 떡에 잘 버무러지며 인위적이지 않고 자연스러운 점성을 부여해주는 잔탄검을 사용하는 것으로 확정하였다.

단순한맛을 개선하기 위해 채소풍미베이스, 다진마늘, 야채분말, 표고버섯분말 등의 적용을 검토하여 감칠맛을 부여하고자 하였다.

주 베이스인 고추장과 단맛보다 마늘 풍미가 강하면 이취, 아린맛이 인지되며 고추장멸치볶음 같은 반찬의 양념과 같은 맛이 나는 것을 확인하였다. 채소풍미베이스는 효모와 채소를 반응시킨 원료로, 사용 시 양념 맛이 더 풍부해지고 풍미가 부드러워져 관능 선호되었다.

이에 채소풍미베이스, 다진마늘을 사용하는 것으로 결정하였다.

떡꼬치양념 시식 평가시 아래의 표준레시피로 조리하여 관능을 확인하였다.

재료준비		소스	쌀떡(大)	식용유
	표시법	1 봉	350 g	약간
	중량	105 g		15 g
조리방법	① 팬에 기름을 두른다. ② 떡이 노릇노릇해질때까지 굽는다. ③ 그릇에 떡을 담고 그 위에 소스를 부어 버무린다.			

* 에어프라이어 조리법(에어프라이어에 떡을 넣고 180℃에서 약 6분 조리)은 관능이 양호하나, 기름 없이 조리하여 소스를 버무리면 점성이 높아 보이고 후미에 매운맛이 튀어 이취로 느껴짐. 팬프라이시 맛 조화도가 더 선호됨.

*활용 레시피 : 소떡소떡으로 먹을 경우 떡 200 g, 소시지 150 g 사용

Prototype 관능검사

▪ 2019. 06. 28 : HUT 결과(N=44)

전반적 만족도	응답비율(%)					기호도		
	불만족	불만족한 편	보통	만족한 편	매우 만족	외관	향미	점성
3.9		5	9	77	9	4.2	3.7	3.7

- 전반적 만족도 3.9점(Top2: 86%)으로 긍정적이었으며 외관 기호도도 높은 편.

간편하게 떡꼬치를 즐길 수 있고, 매콤달콤한 맛으로 사먹는 떡꼬치만큼 맛이 좋고 맛 적당도(짠맛, 감칠맛) 모두 적당한 편으로 SPEC 확정하였다.

4) 시험 생산 TEST

▪ 시험생산(2019.08.23) : 동방푸드마스터 각 400 kg

1) 제조공정

- 1-1) 원료 투입 및 가운
- 1-2) 가운 및 교반 : 90℃, 20분
- 1-3) 규격 검사
- 1-4) 충전 및 일부인인쇄
 - 떡꼬치양념 g : 2019. 08. 23 THK
- 1-5) 레토르트 살균 : 110℃, 10분
- 1-6) 냉각 : 20분

▪ 배합비

No.	원료명	배합비(%)	비고
1	맥아이온물엿	30.00	
2	설탕	25.00	
3	프리미엄고추장	20.00	
4	토마토케첩	10.00	
5	다진마늘	8.00	
6	진간장 덕용	3.50	
7	정제수	1.89	
8	고춧가루	1.00	
9	채소풍미베이스	0.50	샘표식품
10	향미증진제	0.10	
11	잔탄검	0.01	
	TOTAL	100.00	

5) 미생물 안전성 테스트 결과

시생산전 HUT 샘플로 항온(35℃) 보관하여 주차별 미생물 분석 결과, 미생물 증식 경향 없으며 관능 이상이 없음을 확인하였다.

항온 35℃	일반세균 (cfu/g)	<i>B. cereus</i> (cfu/g)	대장균군 (cfu/g)	효모 (cfu/g)
0주차	10 미만	10 미만	음성	10 미만
1주차	10 미만	10 미만	-	-
2주차	10 미만	10 미만	-	-
6주차	20	10 미만	-	-

6) 원재료 및 배합비율

시생산 배합비와 변동사항 없이 동일하다.

No.	원료명	배합비(%)	비고
1	맥아이온물엿	30.00	
2	설탕	25.00	
3	프리미엄고추장	20.00	
4	토마토케첩	10.00	
5	다진마늘	8.00	
6	진간장 덕용	3.50	
7	정제수	1.89	
8	고춧가루	1.00	
9	채소풍미베이스	0.50	샘표식품
10	향미증진제	0.10	
11	잔탄검	0.01	
	TOTAL	100.00	

7) 규격 설정

항목	규격	비고	검사주기
성상	고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다	한도건본 보관 및 비교	매 lot 별
이물질	불검출		매 lot 별
Brix(%)	68.5 ± 1.5	샘표식품 시험표준	매 lot 별
NaCl(%)	2.1 ± 0.3	샘표식품 시험표준	매 lot 별
pH	4.3 ± 0.2	샘표식품 시험표준	매 lot 별
일반세균	10,000 이하(CFU/g)	샘표식품 시험표준	자사 : 1회/6개월 OEM : 매 lot 별
바실러스 세레우스	10,000 이하(CFU/g)	샘표식품 시험표준	자사 : 1회/6개월 OEM : 매 lot 별
대장균군	n=5, c=1, m=0, M=10	식품공전 시험법	자사 : 1회/3개월 OEM : 매 lot 별
타르색소	불검출	식품공전 시험법	1회/년
보존료	0.2 이하(g/kg) (과라옥시안식향산으로서)	식품공전 시험법	
내용량	105 g	내용량 이상	매 lot 별

8) 제조공정

No	공정명	제조방법	비고
1	원재료 계량	분말 및 액상 원료 정량 확인	
2	배합	1차 정제수→분말원료→액상원료→생물원료 →2차 정제수 순	잔탄검은 분말원료에 충분히 혼합한 후 투입.
3	가온	교반을 진행하면서 90℃까지 가온	온도 체크
4	중간분석	90℃ 도달 즉시, 규격 검사를 실시한 후 규격에 맞지 않을 경우 보정 작업 진행	Brix, NaCl, pH규격 확인
5	가열배합	90±2℃, 20±1분간 가열	온도, 시간 체크
6	배합물 이송	105 g 이상 충전 *가열배합이 완료된 이후로부터 2시간 30분 이내 충전 완료	내용량 확인
7	일부인 인쇄	“0000.00.00. A 까지” 로 표시	일부인 확인
		제조일로부터 유통기한 18개월 인쇄	
8	레토르트 살균	트레이에 제품을 담은 후 스팀 살균기에서 110℃, 10분간 레토르트 살균	온도, 시간 체크
9	냉각	20분간 제품 냉각	40℃ 이하
10	박스포장 및 일부인 인쇄	제품을 박스 포장	일부인 확인
		“0000.00.00 A 까지” 의 표시방법으로 제조일로부터 유통기한 18개월 인쇄	

9) 표시사항

Fig. 55. 응용제품(소스) 외관



○사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	1.3억원
			향후 3년간 매출	50억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 1 % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : 15 % 국외 : 1 %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		2위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		1위

- 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세 부 항 목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년			
	소요예산(백만원)	2,000			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		1.3	50		
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	1	15	
		국외		1	
향후 관련기술, 제품을 응용한 다 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	1.3	50		
	수 출				

협동기관 (이화여대) 세부 연구방법 및 결과

제 4 절 분자감각학(sensomics) 기법을 이용한 천연 발효조미소재의 맛 활성 특성 분석 및 성분 규명

1. 식물성 천연발효 조미소재의 맛활성 특성에 영향을 미치는 아미노산 및 펩타이드 분석

가. 유리 및 결합형 아미노산 조성 및 펩타이드 함량 분석 조건 확립 및 최적화

① 발효 조미소재 선정 및 시료준비

본 연구에 사용된 조미소재는 일본 제품(TS sample)과 샘플에서 개발된 제품(AB sample)을 제공받아 사용하였다.

② 발효 조미소재 비휘발성 맛성분 물질 분획

㉠ Ultrafiltration

2%의 조미소재 수용액 500 mL 을 분자량에 따라 (<1kDa, 1kDa-3kDa, 3kDa-5kDa, 5kDa-10 kDa, >10kDa) 분획하기 위하여 ultrafiltration을 수행하였다. Ultrafiltration은 stirred ultrafiltration cells (Amicon model UFSC 40001, Millipore Co., U.S.A)을 사용하였고, 1kDa, 3kDa, 5 kDa, 또는 10kDa의 regenerated cellulose membrane (Millipore Co., U.S.A)을 장착하여 질소가스로 10 psi 의 압력을 주면서 저온실 (4℃)에서 수행되었다.

㉡ 동결 건조를 통한 분획물 준비

각각의 시료에서 얻은 5개의 ultrafiltration 분획들을 freeze-drying flask (Ilshin Lab Co. Ltd., Korea) 에 옮겨 담아 deep-freezer (-70℃) 에서 4시간 이상 완전히 동결시킨 뒤, 동결건조기 (TFD 8503, Ilshin Lab Co. Ltd., Korea)에서 3일 동안 (-80℃, 5 mTorr) 이동상을 제거하였다.

③ 발효 조미 소재 맛활성 분획물의 아미노산 및 펩타이드 분석 조건 확립 및 최적화

동결건조 된 분획물을 10 mL 의 water에 넣어 vortexing 한 뒤, syringe filtration 하여 분석시료로 준비하였다. Amino acid 분석은 Table 1의 분석 조건으로 수행되었다.

Table 1. Conditions of amino acid analyzer

amino acid analyzer: S-433, Sykam GmbH	
Column	Sykam (4.6 x 150mm, 5μm)
Flow rate	0.45μl/min
UV spectrum	570, 440 nm

④ 발효 조미 소재 맛활성 분획물의 아미노산 및 펩타이드 분석 결과

아미노산과 펩타이드는 식품의 다양한 맛 특성에 기여할 수 있다. 이러한 아미노산 중 유리 아미노산 분석 결과는 Table 2과 3에 나타내었다. 전체적으로 L-glutamic acid L-arginine, L-aspartic acid, L-alanine 등의 아미노산의 함량이 높게 나타났으며, 특히, 이는 감각 특성 중 우마미 맛활성 특성을 갖는 분획물에서 더 높게 나타났다. 우마미 맛 특성이 더 크게 인지된 TS-UF5 sample에서 L-glutamic acid(31.70%)와 L-Arginine (29.60%)의 함량이 더 높게 나타났다. 반면에, 쓴맛의 맛 활성 특성이 더 많이 나타난 AB sample 에서는 L-Alanine, L-Valine, L-Isoleucine, L-Leucine 등의 아미노산의 함량이 더 높게 나타났다. 특히, 이러한 아미노산의 함량은 쓴맛이나 신맛의 맛활성 특성을 나타내는 AB-UF5 (L-Alanine: 8.30%, L-Valine: 12.10%, L-Isoleucine; 5.42% L-Leucine; 9.89%)에서 더 크게 나타났다. 각각의 분획물의 유리 아미노산 분석을 통해 맛활성 특성에 관여하는 아미노산의 함량이 다르게 나타남을 알 수 있었다.

대부분의 아미노산이 각각의 맛 특성을 나타내는 물질임에도 불구하고, 그들의 상호작용은 식품의 맛활성 특성에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들면, 우마미와 단맛 사이에 상호작용은 간장과 Glutamate-sucrose 혼합물의 우마미 맛 특성을 증진시킨다는 연구가 보고되었다. 또한, 쓴맛을 나타내는 아미노산은 MSG-NaCl 혼합물에서 우마미 맛 특성의 강도에 기여 한다고 보고되었다. 따라서, 맛 특성에 기여하는 맛활성 물질의 탐색을 위하여 아미노산 분석 뿐만 아니라 맛성분 추출 회석 분석법을 통한 맛활성 성분 및 맛 증진 성분을 규명하는 연구가 요구되어졌다.

Table 2. Free amino acid composition of natural fermented flavor seasonings(TS sample) and ultrafiltration fractions.

free amino acid	TS		TS-UF1		TS-UF2		TS -UF3		TS -UF4		TS -UF5	
	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%
L-aspartic acid	5.05	9.58	0.12	6.96	0.09	12.5	0.02	15.6	0.34	32.6	3.50	8.92
L-Threonine	0.67	1.29	0.01	0.61	0.01	0.55	0.01	0.95	0.01	0.35	0.34	0.87
L-serine	0.87	1.65	0.01	0.65	0.01	0.56	0.01	0.96	0.01	0.32	0.43	1.09
L-glutamic acid	15.31	29.06	0.25	14.90	0.10	13.8	0.04	23	0.08	7.92	12.43	31.70
L-Proline	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0.00	0	0.00	0.00	0.00	0.00
Glycine	0.73	1.39	0.02	1.20	0.01	0.87	0.01	0.74	0.01	0.52	0.31	0.78
L-Alanine	2.71	5.14	0.06	3.43	0.02	2.70	0.01	3.99	0.02	1.55	2.00	5.11
L-Valine	1.15	2.19	0.02	1.35	0.01	1.19	0.003	2.14	0.01	0.82	1.01	2.57
L-methionine	1.60	3.04	0.16	9.71	0.07	10.00	0.003	2.13	0.07	6.66	0.43	1.10
L-Isoleucine	1.06	2.01	0.13	7.69	0.05	7.18	0.004	2.76	0.04	4.18	0.51	1.29
L-Leucine	0.30	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.21	0.00	0.00	0.16	0.41
L-Tyrosine	0.57	1.08	0.17	9.75	0.06	8.52	0.01	1.55	0.06	5.97	0.48	1.23
L-Phenylalanine	0.47	0.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	2.24	0.00	0.00	0.28	0.70
L-Histidine	4.39	8.32	0.24	14.00	0.10	13.90	0.02	12.1	0.15	14.10	3.11	7.93
L-Lysine	3.36	6.37	0.09	5.06	0.04	5.18	0.01	6.9	0.05	4.96	2.61	6.65
L-Arginine	14.44	27.41	0.42	24.70	0.17	23.00	0.04	24.7	0.21	20.20	11.60	29.60
total	52.69	100	1.69	100	0.73	100	0.15	100	1.06	100	39.17	100

Table 3. Free amino acid composition of natural fermented flavor seasonings(AB sample) and ultrafiltration fractions.

free amino acid	AB		AB-UF1		AB-UF2		AB-UF3		AB-UF4		AB-UF5	
	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%	(mg/mL)	%
L-aspartic acid	8.05	9.38	0.06	8.46	0.05	8.02	0.02	6.73	0.03	9.26	8.47	8.74
L-Threonine	3.15	3.67	0.02	2.60	0.01	2.12	0.01	3.28	0.01	3.36	4.90	5.06
L-serine	4.81	5.61	0.03	4.65	0.03	4.53	0.01	4.59	0.02	5.07	7.00	7.22
L-glutamic acid	10.78	12.57	0.06	9.07	0.05	8.63	0.03	10.79	0.04	12.41	12.71	13.12
L-Proline	1.50	1.76	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	1.77	1.61	1.66
Glycine	1.64	1.92	0.01	1.72	0.01	1.52	0.01	1.38	0.01	1.72	3.11	3.21
L-Alanine	6.27	7.30	0.04	5.41	0.03	4.51	0.02	5.79	0.02	6.32	8.04	8.30
L-Valine	12.43	14.48	0.08	11.90	0.07	12.67	0.03	9.84	0.03	11.17	11.73	12.10
L-methionine	2.19	2.56	0.04	5.68	0.02	3.17	0.01	2.60	0.01	2.33	2.27	2.35
L-Isoleucine	4.74	5.52	0.05	7.54	0.03	5.54	0.02	5.24	0.02	5.61	5.25	5.42
L-Leucine	9.13	10.64	0.05	7.46	0.05	8.04	0.03	9.29	0.03	10.05	9.59	9.89
L-Tyrosine	2.76	3.21	0.04	5.64	0.03	4.50	0.01	2.04	0.01	2.90	2.65	2.74
L-Phenylalanine	3.36	3.91	0.04	6.20	0.02	3.42	0.01	4.12	0.01	3.78	3.40	3.51
L-Histidine	3.98	4.64	0.05	7.83	0.08	13.72	0.05	18.79	0.03	10.60	4.04	4.17
L-Lysine	5.02	5.85	0.04	5.93	0.04	7.47	0.02	7.42	0.02	6.61	5.98	6.17
L-Arginine	6.01	7.00	0.07	9.96	0.07	12.19	0.02	7.98	0.02	7.20	6.14	6.33
total	85.80	100	0.68	100	0.57	100	0.28	100	0.30	100	96.90	100

나. 쌀 발효 효모 소재의 유리 및 결합형 아미노산 조성 및 펩타이드 함량 분석

① 발효 조미소재 선정 및 시료준비

본 연구에 사용된 조미소재는 샘플에서 연구개발 중인 쌀 발효 효모 시료(A, B 샘플)를 제공받아 사용하였다.

② 발효 조미소재 맛성분 물질 분석법 확립

㉠ Ultrafiltration

2%의 조미소재 수용액 500 mL 을 분자량에 따라 (< 1kDa, 1kDa-3kDa, 3kDa-5kDa, 5kDa-10 kDa, > 10kDa) 분석하기 위하여 ultrafiltration을 수행하였다. Ultrafiltration은 stirred ultrafiltration cells (Amicon model UFSC 40001, Millipore Co., U.S.A)을 사용하였고, 1kDa, 3kDa, 5 kDa, 또는 10kDa의 regenerated cellulose membrane (Millipore Co., U.S.A)을 장착하여 질소가스로 10 psi 의 압력을 주면서 저온실 (4℃)에서 수행되었다.

㉡ 분획물 준비

각각의 시료에서 얻은 5개의 ultrafiltration 분획들을 freeze-drying flask (Ilshin Lab Co. Ltd., Korea) 에 옮겨 담아 deep-freezer (-70℃) 에서 4시간 이상 완전히 동결시킨 뒤, 동결건조기 (TFD 8503, Ilshin Lab Co. Ltd., Korea)에서 3일 동안 (-80℃, 5 mTorr) 이동상을 제거

하였다.

③ 발효 조미 소재 맛활성 분획물의 아미노산 및 펩타이드 분석 확립 및 최적화

유리 아미노산(free amino acids)은 아래와 같은 아미노산 분석기를 통하여 분석되었다. 동결건조 된 분획물을 10 mL 의 water에 넣어 vortexing 한 뒤, syringe filtration 하여 분석시료로 준비하였다. Amino acid 분석은 Ninhydrin과 반응시켜 다음과 같은 UV spectrum에서 검출하였다. 분석 조건은 다음과 같다. 또한, A 샘플과 UF5 샘플의 총 아미노산 (total amino acids)은 110°C에서 24시간 동안 가수분해 후 분석되었다.

Table 4. Conditions of amino acid analyzer

amino acid analyzer: S-433, Sykam GmbH	
Column	Sykam (4.6 x 150mm, 5 μ m)
Flow rate	0.45 μ l/min
UV spectrum	570, 440 nm

④ 아미노산 및 펩타이드 분석 결과

유리 아미노산의 정량 및 정성 분석을 위하여 분석법을 확립하고, 쌀발효 효모 펩타이드 소재의 ultrafiltration 분획물의 유리 아미노산에 대한 크로마토그램은 Fig.6에 나타내었다. 각각의 분획물의 유리 아미노산 분석을 통해 맛활성 특성에 관여하는 아미노산의 함량이 다르게 나타남을 알 수 있었다. 대부분의 아미노산이 각각의 맛 특성을 나타내는 물질임에도 불구하고, 그들의 상호작용은 식품의 맛활성 특성에 다른 영향을 미칠 수 있다. 이러한 아미노산 중 유리 아미노산 분석 결과는 Table 5에 나타내었다. 전체적으로 L-glutamic acid, L-leucine, L-Isoleucine, L-aspartic acid, L-alanine, L-lycine 등의 아미노산의 함량이 높게 나타났으며, 특히, 이는 감각 특성 중 우마미 맛활성 특성을 갖는 분획물(UF5)에서 더 높게 나타났다. 우마미 맛 특성이 더 크게 인지된 A-UF5 분획물에서 L-glutamic acid(10.50%)와 L-leucine (9.26%)의 함량이 가장 크게 나타났다. 각각의 분획물의 유리 아미노산 분석을 통해 맛활성 특성에 관여하는 아미노산의 함량이 다르게 나타남을 알 수 있었다.

대부분의 아미노산이 각각의 맛 특성을 나타내는 물질임에도 불구하고, 그들의 상호작용은 식품의 맛활성 특성에 다른 영향을 미칠 수 있다. 예를 들면, 우마미와 단맛 사이에 상호작용은 간장과 Glutamate-sucrose 혼합물의 우마미 맛 특성을 증진시킨다는 연구가 보고되었다. 또한, 쓴맛을 나타내는 아미노산은 MSG-NaCl 혼합물에서 우마미 맛 특성의 강도에 기여한다고 보고되었다. 따라서, 맛 특성에 기여하는 아미노산은 유리 아미노산 뿐만 아니라 bound-type 아미노산 분석의 결과도 중요한 영향을 미친다. 특히, 유리 아미노산 뿐만 아니라 L-glutamyl oligopeptides가 우마미 맛 특성에 크게 기여한다고 보고되었다 (Arai, Yamashita, Noguchi, and Fujimaki, Agricultural and Biological Chemistry, 1973, 37, 151 - 156). 또한, 생

선 단백질 가수분해물에서 Glutamic acid가 포함되는 펩타이드인 Glu-Glu, Glu-Asp, Thr-Gly, Glu-Ser, Glu-Gly-Ser, Ser-Glu-Glu, Glu-Gln-Glu, Glu-Asp-Glu, Asp-Glu-Ser 등이 우마미 증진 펩타이드로 동정되었다. (Noguchi, Arai, Yamashita, Kato, Fujimaki, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1975, 23, 49 - 53). 치킨 단백질 가수분해물에서는 Glu-Glu, Glu-Val, Ala-Asp-Glu, Ala-Glu-Asp, Pro-Glu-Glu, and Ser-Pro-Glu 등의 펩타이드가 우마미 펩타이드로 보고되었다 (Maehashi, Matsuzaki, Yamamoto, Udaka, Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1999, 63, 555 - 559). 본 연구에서 우마미 맛 특성을 강하게 나타내는 UF-5 분획물의 bound-type 아미노산 분석 결과, L-glutamic acid (26.21%), L-alanine (19.21%), L-aspartic acid (34.50%)의 함량이 높게 나타났다. (Table 6) 이와 같은 결과는 이러한 아미노산을 포함하는 bound-type 아미노산이 UF-5분획물의 우마미 맛 특성에 크게 관여함을 나타냈다.

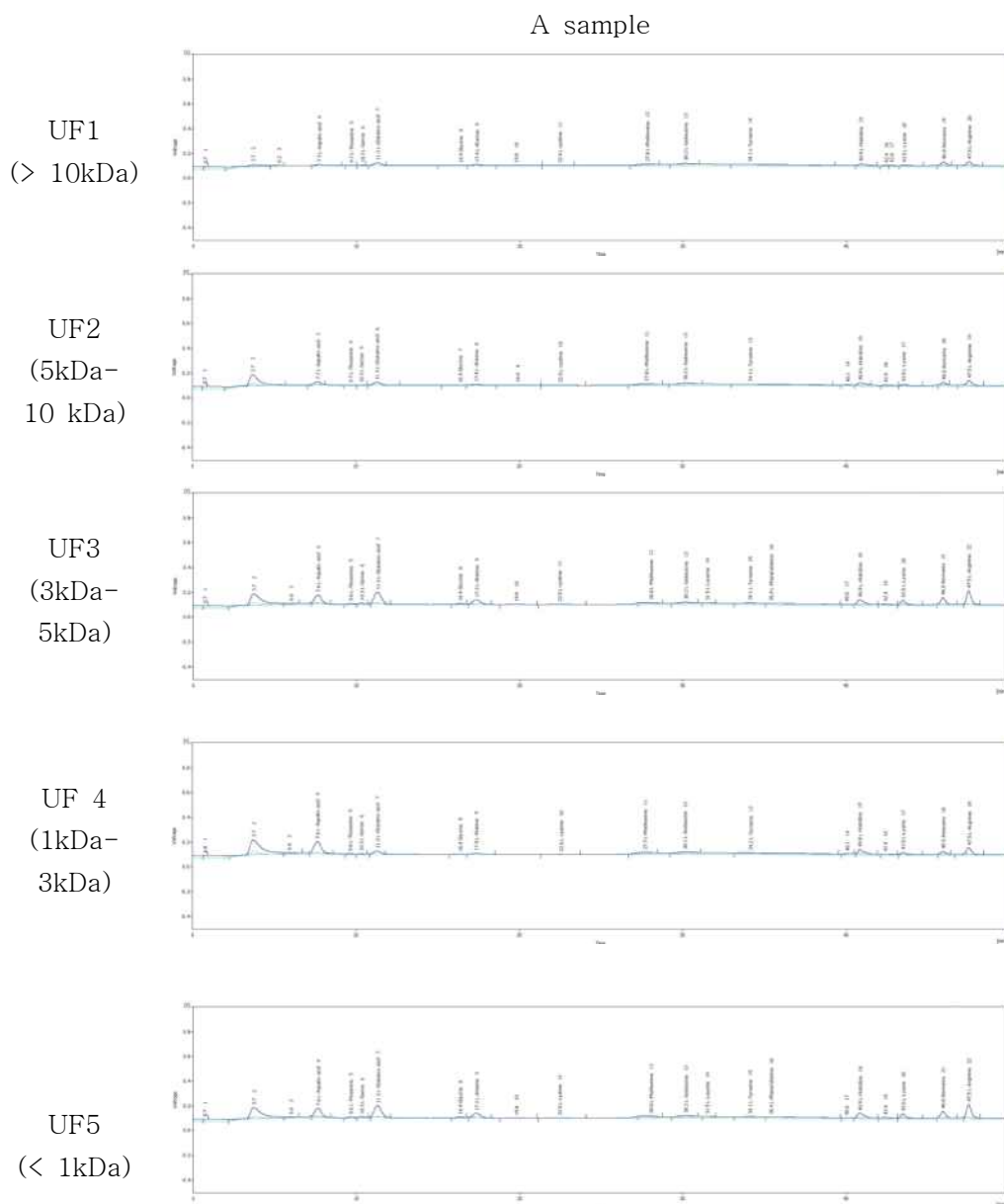


Fig. 1. Chromatograms of ultrafiltration-fractions isolated fermented rice samples.

Table 5. Free amino acid composition of rice sample fermented by yeast and their ultrafiltration fractions.

free amino acid	A		A-UF1		A-UF2		A -UF3		A -UF4		A -UF5	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
L-aspartic acid	17.76	6.07	0.18	3.98	0.04	3.83	0.02	4.28	0.02	4.37	24.86	5.65
L-Threonine	17.08	5.84	0.22	4.8	0.06	5.45	0.02	4.9	0.02	5.44	25.26	5.74
L-serine	17.71	6.05	0.22	4.92	0.06	5.53	0.02	4.46	0.02	5.86	27.62	6.28
L-glutamic acid	52.72	18.21	0.52	11.5	0.12	11.5	0.04	11.3	0.05	14.2	76.28	17.3
L-Proline	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glycine	9.54	3.26	0.15	3.21	0.03	3.07	0.01	2.67	0.01	3.11	14.65	3.33
L-Alanine	31.15	10.71	0.47	10.3	0.1	9.6	0.03	8.34	0.04	9.77	46.05	10.5
L-Cystine	5.66	1.94	0.06	1.3	0	0	0.01	1.39	0	1.11	5.64	1.28
L-Valine	18.46	6.31	0.22	4.74	0.05	5.02	0.02	5.01	0.02	4.59	28.2	6.41
L-methionine	6.47	2.21	0.1	2.18	0	0.06	0	0	0	0.05	7.241	1.65
L-Isoleucine	17.99	6.15	0.25	5.59	0.05	5.23	0.02	5.01	0.02	5.01	29.89	6.79
L-Leucine	29.28	10.02	0.37	8.16	0.08	8.12	0.03	7.5	0.03	7.17	40.76	9.26
L-Tyrosine	6.87	2.35	0.13	2.88	0.03	2.56	0.01	2.51	0.01	2.8	10.82	2.46
L-Phenylalanine	16.91	5.78	0.27	5.97	0.06	5.97	0.02	5.84	0.03	6.88	19.52	4.44
L-Histidine	15.17	5.19	0.44	9.73	0.15	14	0.07	18	0.05	14.9	12.02	2.73
L-Lysine	27.51	9.41	0.87	19.1	0.19	18.6	0.07	17.3	0.05	13.6	38.04	8.65
L-Arginine	2.18	0.75	0.07	1.6	0.02	1.54	0.01	1.47	0	1.11	3.495	0.79
total	292.41	100	4.53	100	1.04	100	0.38	99.9	0.37	99.9	440.4	100

Table 6. Total, free, and bound-type amino acid composition of rice sample fermented by yeast(A) and ultrafiltration fraction(UF5), a key umami fraction.

	A						A-UF5					
	total		free		bound		total		free		bound	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
L-aspartic acid	69.23	11.13	17.76	6.07	51.51	15.6	65.22	11.72	24.86	5.65	40.42	34.50
L-Threonine	31.35	5.05	17.08	5.84	14.32	4.34	28.92	5.18	25.26	5.74	3.64	3.11
L-serine	29.91	4.81	17.72	6.05	12.21	3.71	28.47	5.11	27.62	6.28	0.85	0.73
L-glutamic acid	113.61	18.32	52.72	18.04	60.91	18.51	106.91	19.21	76.28	17.31	30.6	26.21
L-Proline	13.97	2.25	0	0	14.23	4.25	11.93	2.13	0	0	11.91	10.22
Glycine	27.19	4.38	9.54	3.26	17.63	5.36	25.22	4.52	14.65	3.33	10.62	9.04
L-Alanine	56.14	9.04	31.15	10.73	25.21	7.59	53.44	9.58	46.05	10.51	7.41	6.32
L-Cystine	7.95	1.28	5.66	1.94	2.29	0.73	6.48	1.16	5.64	1.28	0.84	0.71
L-Valine	38.99	6.28	18.46	6.31	20.51	6.24	33.95	6.09	28.21	6.41	5.75	4.91
L-methionine	9.15	1.47	6.47	2.21	2.68	0.82	7.80	1.43	7.24	1.65	0.56	0.48
L-Isoleucine	40.94	6.59	17.99	6.15	22.91	6.97	31.49	5.65	29.89	6.79	1.61	1.37
L-Leucine	49.04	7.89	29.28	10.02	19.82	6.01	42.74	7.66	40.76	9.26	1.98	1.69
L-Tyrosine	17.99	2.93	6.87	2.35	11.11	3.38	14.92	2.68	10.82	2.46	4.11	3.51
L-Phenylalanine	23.81	3.83	16.93	5.78	6.92	2.14	20.54	3.68	19.52	4.44	1.01	0.87
L-Histidine	17.35	2.79	15.17	5.19	2.18	0.66	14.53	2.61	12.02	2.73	2.52	2.15
L-Lysine	52.68	8.48	27.51	9.41	25.21	7.65	46.73	8.38	38.04	8.65	8.68	7.42
L-Arginine	27.86	4.48	2.18	0.75	25.72	7.82	25.95	4.65	3.50	0.79	22.51	19.21
total	621.20	100	292.4	100	329.02	100	557.62	100	440.41	100	117.02	100

2. 천연발효 조미소재의 맛활성 특성 분석 및 성분 규명

가. 천연발효 향미소재의 맛활성 성분 탐색을 위한 맛활성 특성 분석

① 발효 조미소재 선정 및 시료준비

본 연구에 사용된 조미소재는 일본 제품(TS sample)과 샘플에서 개발된 제품(AB sample)을 제공받아 사용하였다.

② 발효 조미소재 비휘발성 맛성분 물질 분획 방법 확립

㉠ Ultrafiltration

2%의 조미소재 수용액 500 mL 을 분자량에 따라 (< 1kDa, 1kDa-3kDa, 3kDa-5kDa, 5kDa-10 kDa, > 10kDa) 분획하기 위하여 ultrafiltration을 수행하였다. Ultrafiltration은 stirred ultrafiltration cells (Amicon model UFSC 40001, Millipore Co., U.S.A)을 사용하였고, 1kDa, 3kDa, 5 kDa, 또는 10kDa의 regenerated cellulose membrane (Millipore Co., U.S.A)을 장착하여 질소가스로 10 psi 의 압력을 주면서 저온실 (4℃)에서 수행되었다.

㉡ 동결 건조를 통한 분획물 준비

각각의 시료에서 얻은 5개의 ultrafiltration 분획들을 freeze-drying flask (Ilshin Lab Co. Ltd., Korea) 에 옮겨 담아 deep-freezer (-70℃) 에서 4시간 이상 완전히 동결시킨 뒤, 동결건조기 (TFD 8503, Ilshin Lab Co. Ltd., Korea)에서 3일 동안 (-80℃, 5 mTorr) 이동상을 제거하였다.

③ 감각 특성 검사 방법 확립

㉠ 패널 선정

발효 조미 소재의 감각적 특성 평가를 위하여 이화여자대학교 식품공학과 3학년 이상의 학부생 및 대학원생을 대상으로 11명을 후보로 패널 선정 검사를 실시하였다. 패널 선정 검사는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛의 기본 맛 인식 검사와 기본 맛 구별능력을 보기 위하여 Stone 등 (1974)의 패널 선발 절차를 수정하여 사용하였다. 기본 맛 인식검사에서는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 감칠맛 수용액 및 정수(무미)로 구성된 시료가 패널에게 제공되었다 (Table 7). 삼점검사에서는 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛 및 감칠맛 수용액을 각각 2가지 농도로 제조한 시료 6 set가 패널에게 제시되었다(Table 8). 기본 맛 인식검사와 삼점검사 결과, 정답률이 60% 이상이며 지속적으로 평가에 참여할 의지가 있는 8명이 패널로 선발되었다.

Table 7. The information on samples used in the taste recognition test for panelist selection

Taste attributes	Samples
Sweet	1.5% Sucrose (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Salty	0.2% Sodium chloride (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Bitter	0.05% Caffeine (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Sour	0.05% Citric acid (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Umami	0.15% Monodosium glutamate (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Water	강원 평창수 (Haitai htb, Pyeongchang, Gangwon-do, Korea)

Table 8. The information on samples used in triangle test for panelist selection

Taste attributes	Samples
Sweet	0.75% and 1.5% Sucrose (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Salty	0.1% and 0.2% Sodium chloride (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Bitter	0.025% and 0.05% Caffeine (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Sour	0.025% and 0.05% Citric acid (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Umami	0.075% and 0.15% Monodosium glutamate (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Water	강원 평창수 (Haitai htb, Pyeongchang, Gangwon-do, Korea)

㊤ 패널 훈련 및 시료 제시

선별된 패널에 대한 훈련은 감칠맛과 짠맛 특성 위주로 이루어졌다. 앞선 패널 선정 검사에서 선별된 패널들은 모두 짠맛과 감칠맛 각각에 대해 기본 맛 인식능력과 농도에 따른 맛 구별 능력이 있는 것으로 파악되었으나, 일반적인 식품이나 본 연구에서 알아보고자 발효 조미 소재와 같이 짠맛과 감칠맛이 혼합되어 존재하는 경우 두 가지 맛을 구별하고 각각의 강도를 측정하는 데에 있어 어려움을 느끼는 것으로 파악되었다. 따라서 본 연구에서는 본 실험에서 사용할 발효 조미 소재 시료의 특성을 고려하여 0~2% 사이의 MSG 및 0~1% 사이의 NaCl 농도를 가진 혼합 수용액을 제공하여 이들 용액에서 두 가지 맛을 구별하여 느낄 수 있도록 하

는 패널 훈련을 진행하였다. 감칠맛과 짠맛에 대한 패널 훈련은 총 7회 매 회 약 30분에 걸쳐 이루어졌으며, 이 때 훈련을 위해 사용된 시료는 3자리 난수를 기입하여 랜덤한 순서로 제공되었으며, 제공된 시료에 대한 정보는 Table 9와 같았다. 평가 시 냄새에 대한 오류를 배제하기 위하여 nose-clamp을 착용하도록 하였다. 시료와 시료 사이에는 입안의 잔여물을 제거하기 위하여 물로 입을 충분히 헹구도록 하였다. 각 시료는 2 mL 씩 제공되었으며, 난수표에서 추출한 세 자리 숫자를 부여하여 랜덤하게 제시하였다.

Table 9. The information on samples used for panel training

Samples		Session 1			Session 2 & 3			Session 4 & 5			Session 6 & 7		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
농도(%)	NaCl	0.5	0.5	1	0	0.5	1	1	0.5	0.5	0.5	1	1
	MSG	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1	2	2	0.5	1



Fig. 2. Panel training for tasting salty taste and umami.

㉔ 패널 훈련 결과에 대한 통계 분석 방법

본 훈련에서 훈련의 진행 정도는 Panel Check (Panel Check Version 1.4.1, <http://www.panelcheck.com>) 프로그램을 이용해 이원분산분석 (2-Way analysis of variance, 2-Way ANOVA)를 수행하여 assessor effect를 분석하였다.

㉕ 시료의 Taste Profiling Analysis

시료를 맛 특성별로 분류하기 전에 screening 하기 위하여, 훈련된 패널은 각 시료(일본제품, 샘플 개발제품)에 대하여 5 가지 맛 특성 (단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 우마미 등)을 묘사하고, 그 강도를 측정 하도록 하였다. taste profiling을 위하여 각각의 시료는 2% 수용액으로 만든 뒤, 2 mL 정도로 맛을 보도록 하였다.

㉖ Ultrafiltration을 통한 분획물의 맛활성 특성 평가

Ultrafiltration을 통해 얻은 분획물의 맛 특성을 묘사하고, 그 강도를 측정하였다. 각 시료에서 분획되어 동결건조 시킨 5개의 맛성분 분획들을 각각 생수 100 mL 에 녹인 뒤, 시료로 준비하였다. 훈련된 세 명의 패널은 각 시료에 대하여 2 mL 씩 맛을 보며 맛특성(단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 우마미)을 묘사하고, 그 강도를 평가하였다. 시료 제시는 위의 시료 제시 방법과 동일하게 수행되었다.

④ 감각 검사 패널 훈련 결과

혼합 용액을 사용하여 감칠맛과 짠맛에 대한 훈련에서 훈련 정도는 패널 간 평가 경향의 일치성을 기준으로 분석하고자 Panel Check 프로그램을 이용하여 각 훈련 session에서의 두 가지 맛(짠맛, 감칠맛)에 대한 profile plot과 assessor effect를 구하였으며, 그 결과는 Figure 3-5와 같았다.

Set 1에서는 NaCl과 MSG 농도가 각각 0.5%인 혼합수용액을 기준으로 두고 여기에서 NaCl 농도를 1%로 증가시킨 용액과 MSG농도를 1%로 증가시킨 용액, 총 3가지를 제공하여 짠맛과 감칠맛의 강도를 평가하게 함으로써 패널들이 짠맛과 감칠맛의 차이를 잘 인지하고 있는지를 파악하고자 하였다. Set 1 결과, 짠 맛에 대해서는 평가자에 따른 유의적인 차이가 없었으나, 감칠맛에 대해서는 assessor effect가 존재하여 패널 간의 강도 평가에 있어 유의적인 차이($p < 0.01$)가 있는 것으로 나타났다. 이를 통해 초기 패널들은 짠맛에 대해서는 비교적 잘 인지하고 있으나, 감칠맛에 대해서는 아직 이해가 부족하며 일부 패널들의 경우 이 감칠맛을 짠맛과 혼동하여 이와 같은 결과가 나온 것으로 판단하였다.

이후 Set 2에서는 MSG 농도는 모두 0.5%로 동일하고 NaCl 농도만 0, 0.5, 1%로 다르게 한 혼합수용액을 준비하여 짠맛과 감칠맛 강도를 평가하도록 하였다. 이 때 짠맛에서는 유의수준 0.05 수준, 감칠맛의 경우에는 유의수준 0.01에서 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다. 특히 감칠맛에 대해서는 패널에 따라 서로 다른 평가 경향을 보였는데, 일부 패널들은 모든 시료의 감칠맛을 비슷하게 평가하였고, 일부 패널들은 NaCl 농도가 높은 용액의 감칠맛을 훨씬 강하게 평가하기도 하였으며, 또 다른 패널들의 경우에는 이와 반대로 NaCl 농도가 높은 용액에서의 감칠맛을 짠맛에 부하하고 실제 감칠맛 강도는 매우 낮게 평가하기도 하는 등 패널 간에 서로 다른 평가 경향을 보였다. 이를 통해 패널들은 감칠맛과 짠맛에 대한 개념 및 이해가 부족하며 패널들 간 특성에 대한 이해가 일치하지 않아 이와 같은 결과가 나타난 것으로 보고 이에 대한 훈련을 진행하였다. Set 2과 Set 3 사이에는 농도가 다른 MSG와 NaCl 수용액을 제공하고 패널들끼리 감칠맛과 짠맛 특성에 대해 논의하고 특징을 구별하도록 하는 훈련을 진행하였으며, 그 결과 Set 3에서는 감칠맛 모두에서 assessor effect가 앞선 Set 2에 비해 감소하였다.

앞선 훈련을 통해 짠맛과 감칠맛에 대한 이해가 보다 증가한 것으로 이어지는 Set 4에서는 서로 다른 NaCl 및 MSG 농도를 가진 보다 복잡한 혼합용액에 대해 짠맛과 감칠맛 강도를 평가하도록 하였다. Set 4에서는 NaCl과 MSG 두 가지의 농도를 모두 변화시킴으로써 제시되는 시료의 complexity를 증가시켰기 때문에 이로 인해 일부 패널들이 짠맛과 감칠맛을 다시 혼동하여 assessor effect가 증가하였고, 따라서 패널 간 평가 결과에 유의적인 차이 ($p < 0.01$)가 있는 것으로 나타났다. 따라서 Set 4과 Set 5 사이에 두 표준시료 (NaCl 및 MSG 수용액)를 맛보며 짠맛과 감칠맛에 대한 맛을 이해시키고, 다양한 농도의 NaCl과 MSG를 제공하여 감칠맛과 짠맛에 대해 강도 차이를 인지하도록 하는 훈련을 진행하였으며, 이어서 앞선 Set 1에서 제시되었던 용액을 다시 제공하고 이들 용액 사이의 차이를 구별하는 훈련을 진행하였다. 그 후 이어진 Set 5에서는 감칠맛에서 평가자에 의한 assessor effect가 감소하여 평가자에 따른 유의적인 차이가 없는 것으로 분석되었으며, 짠맛에 대해서는 평가자에 따른 유의적인 차이

($p < 0.01$)는 있었으나 앞선 Set 4에 비해서는 assessor effect가 다소 감소한 것을 확인하였다. 이어지는 Set 6에서 패널들이 용액에 대해 익숙해지고, 예측하는 것을 방지하기 위해 다시 용액의 구성을 Set 4, 5와는 다르게 조금 변경시켜 훈련을 계속하였으며, 그 결과 최종적으로 Set 7에서는 감칠맛과 짠맛 모두에서 패널에 따른 평가 경향에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

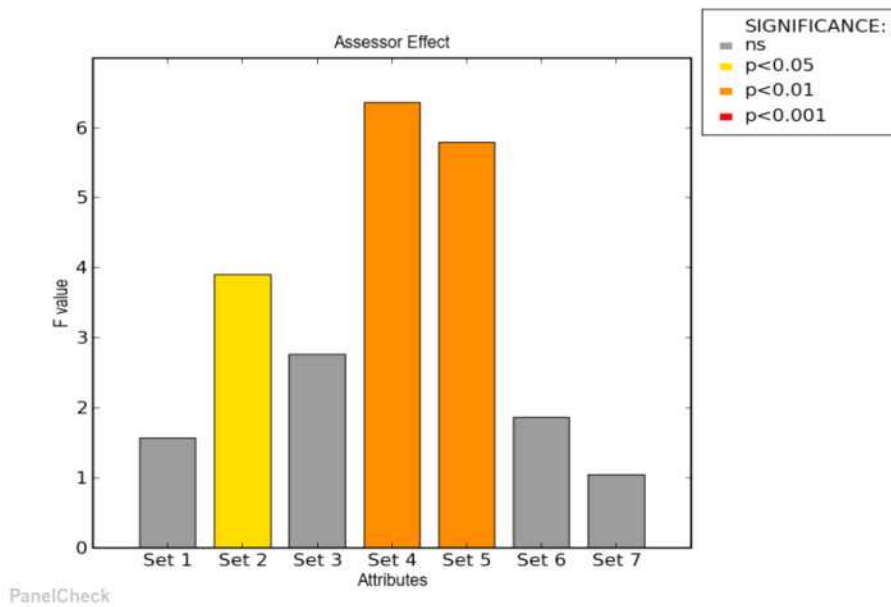


Fig. 3. Assessor effect of salty taste during training sessions.

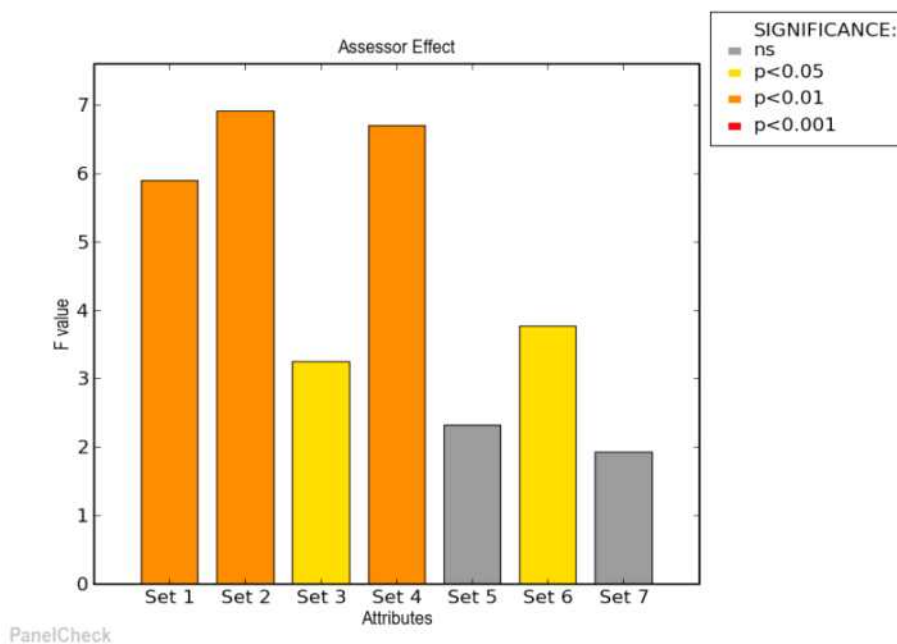
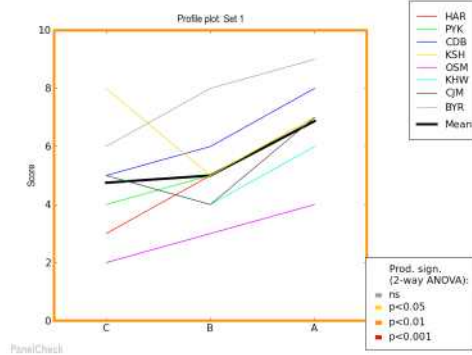
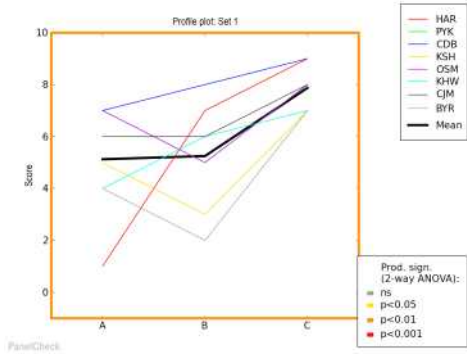


Fig. 4. Assessor effect of umami taste during training sessions.

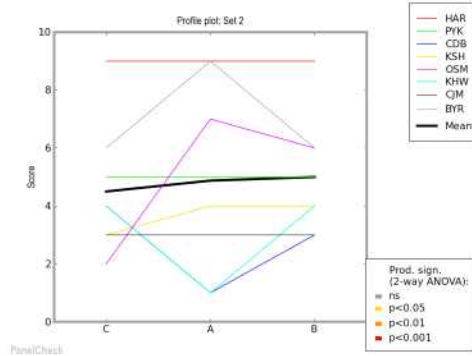
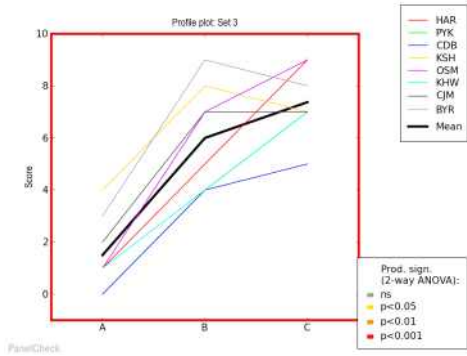
Salty

Umami

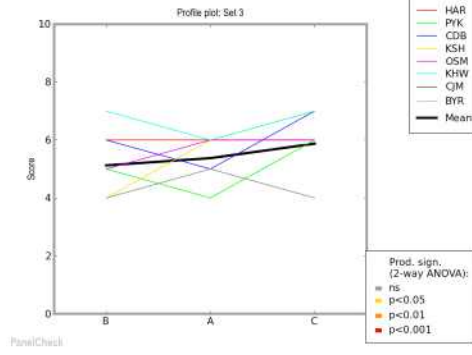
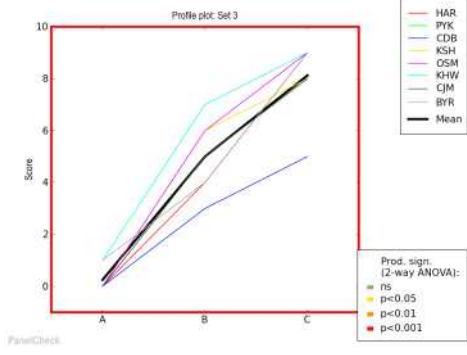
Set 1



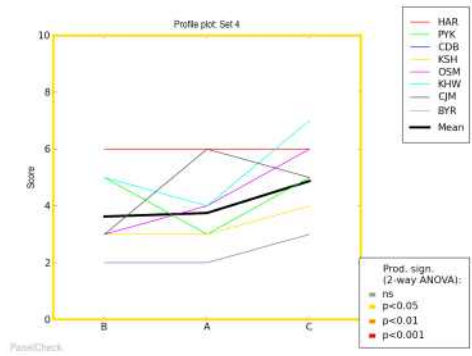
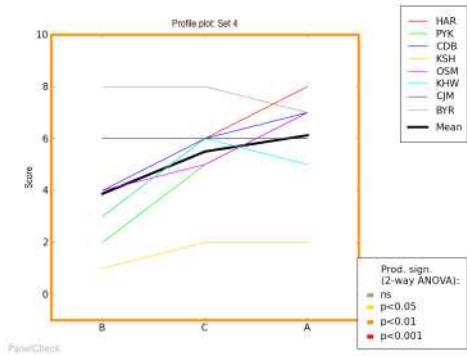
Set 2



Set 3



Set 4



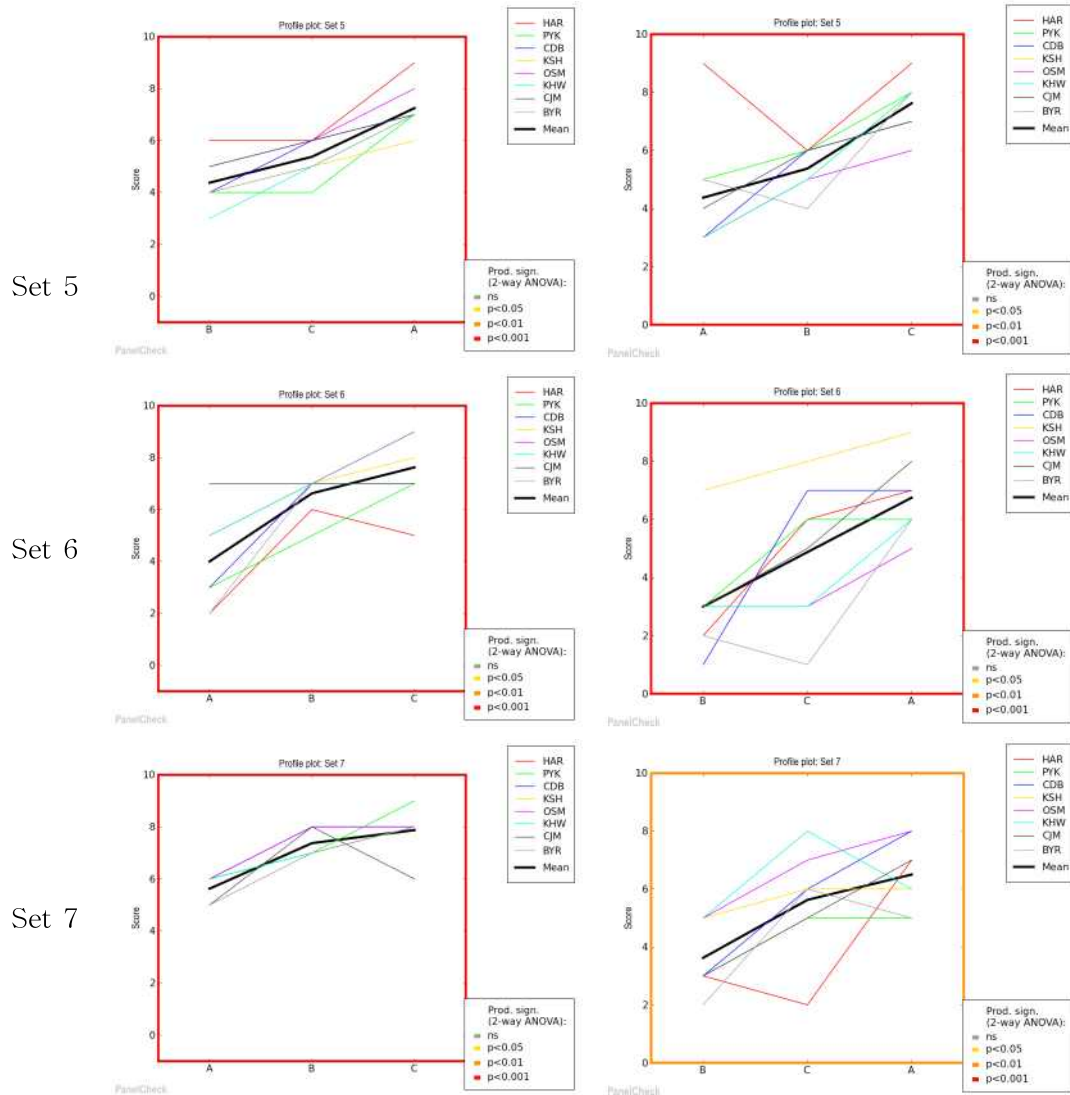


Fig. 5. Profile plot of salty and umami taste

⑤ Taste Profiling Analysis 결과

두 가지 종류의 발효 조미 소재 시료 (TS sample:일본 제품, AB sample: 샘플 개발 제품)의 taste profiling을 위하여 관능검사를 실시한 결과는 Fig. 6 와 같다. 두 가지 종류의 발효 조미 소재는 그 자체가 우마미와 짠맛 감각 특성을 강하게 가지는데, 특히 AB 시료의 경우 쓴맛과 신맛 특성에 대하여 조금 더 높은 강도가 측정되었다. 따라서, 제품 개발 시 타겟 제품인 일본 제품의 맛 특성에 맞추기 위해, 쓴맛과 신맛을 저감화 하여야 할 것으로 사료된다.

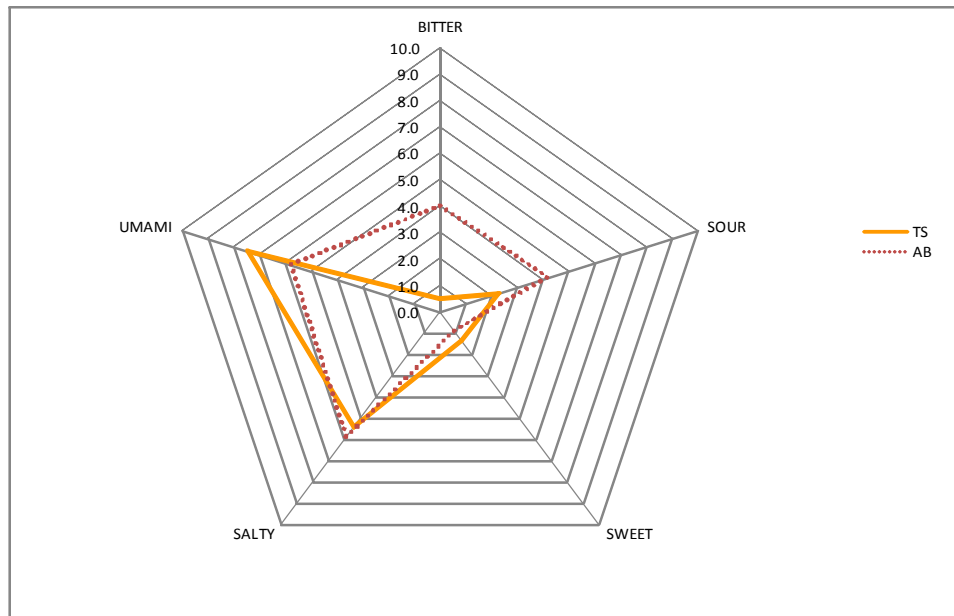


Fig. 6. Taste profile analysis of natural fermented flavor seasoning (TS and AB samples).

⑥ Ultrafiltration을 통한 분자량에 따른 cut-off 분획물

Ultrafiltration method를 통하여 발효 조미 소재 용액 500 mL 을 10 kDa 에서 cut-off 한 뒤, 10 kDa 이하의 분획물을 순차적으로 5 kDa, 3 kDa, 1 kDa 에서 cut-off 하여 총 5개의 분획물을 얻었다 (< 1kDa, 1kDa-3kDa, 3kDa-5kDa, 5kDa-10 kDa, > 10kDa). 1 kDa에서 cut-off 된 분획물은 65% 이상 회수되었으며, 이에 대한 결과는 Table 10과 같다. 특히, AB sample은 UF5(< 1kDa)이 90% 정도 회수되어 더 많은 저분자 분획물을 획득하였다.

Table 10. Solid contents of ultrafiltration fractions of natural fermented flavor seasonings

Fractions	TS sample (mg/mL)	AB sample(mg/mL)
UF1(> 10kDa)	4.10 (20.5%)	1.10 (5.5%)
UF2 (5kDa-10 kDa)	1.35 (6.7%)	0.85 (4.3%)
UF3 (3kDa-5kDa)	0.12 (0.6%)	0.27 (1.3%)
UF4 (1kDa-3kDa)	1.22 (6.1%)	0.10 (0.5%)
UF5(< 1kDa)	13.21 (66.1%)	17.68 (88.4%)

⑦ Ultrafiltration에 의한 발효 조미 소재의 맛성분 분리 분석 결과

발효 조미 소재의 맛성분을 분리하기 위하여 ultrafiltration 사용하여, cut-off 분획물을 얻었다. 각 샘플에서 5개의 분획물을 얻었으며(Table 10), 이러한 분획물을 훈련된 패널이 맛 특성을 묘사하고 강도를 평가한 결과는 Fig. 7과 같다. 다른 분획물 보다도 UF5(< 1kDa) 분획물에서 우마미와 짠맛 특성이 강하게 인지되었다. 특히, 우마미 특성이 AB sample에서 TS sample

보다 낮게 인지되었다. 이 중 저분자 분획 (< 1 kDa) 에서 발효 조미 소재 특유의 우마미와 짠맛 특성이 강하게 느껴져 발효 조미 소재 1 kDa 이하의 저분자 물질들을 다시 preparative-LC 로 분리하여 맛 성분 물질의 분획법을 확립하고 맛활성 성분의 규명이 요구되었다.



Fig. 7. Taste profile of ultrafiltration-fractions isolated natural fermented flavor seasonings.

나. 쌀 발효 효모 소재의 맛 활성 특성 분석

① 발효 조미소재 선정 및 시료준비

본 연구에 사용된 조미소재는 샘플에서 연구개발 중인 쌀 발효 효모 시료(A, B 샘플)를 제공받아 사용하였다.

② 발효 조미소재 맛성분 물질 분석법 확립

㉠ Ultrafiltration

2%의 조미소재 수용액 500 mL 을 분자량에 따라 (< 1kDa, 1kDa-3kDa, 3kDa-5kDa, 5kDa-10 kDa, > 10kDa) 분획하기 위하여 ultrafiltration을 수행하였다. Ultrafiltration은 stirred ultrafiltration cells (Amicon model UFSC 40001, Millipore Co., U.S.A)을 사용하였고, 1kDa, 3kDa, 5 kDa, 또는 10kDa의 regenerated cellulose membrane (Millipore Co., U.S.A)을 장착하여 질소가스로 10 psi 의 압력을 주면서 저온실 (4℃)에서 수행되었다.

㉡ 분획물 준비

각 시료에서 얻은 5개의 ultrafiltration 분획들을 freeze-drying flask (Ilshin Lab Co. Ltd., Korea)에 옮겨 담아 deep-freezer (-70℃) 에서 4시간 이상 완전히 동결시킨 뒤, 동결건조기 (TFD 8503, Ilshin Lab Co. Ltd., Korea)에서 3일 동안(-80℃, 5 mTorr) 이동상을 제거하였다.

③ 맛성분추출분석법을 통한 맛 활성 성분 분석법 확립

㉠ 패널 선정

소재의 감각적 특성 평가를 위하여 이화여자대학교 식품공학과 3학년 이상의 학부생 및 대학원생을 대상으로 10명을 후보로 패널 선정 검사를 실시하였다. 패널 선정 검사는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛의 기본 맛 인식 검사와 기본 맛 구별능력을 보기 위하여 Stone 등 (1974)의 패널 선발 절차를 수정하여 사용하였다. 기본 맛 인식검사에서는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 감칠맛 수용액 및 정수(무미)로 구성된 시료가 패널에게 제공되었다(Table 11). 삼점검사에서는 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛 및 감칠맛 수용액을 각각 2가지 농도로 제조한 시료 6 set가 패널에게 제시되었다(Table 12). 기본 맛 인식검사와 삼점검사 결과, 정답률이 60% 이상이며 지속적으로 평가에 참여할 의지가 있는 패널이 선발되었다.

Table 11. The information on samples used in the taste recognition test for panelist selection

Taste attributes	Samples
Sweet	1.5% Sucrose (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Salty	0.2% Sodium chloride (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Bitter	0.05% Caffeine (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Sour	0.05% Citric acid (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Umami	0.15% Monodosium glutamate (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Water	강원 평창수 (Haitai htb, Pyeongchang, Gangwon-do, Korea)

Table 12. The information on samples used in triangle test for panelist selection

Taste attributes	Samples
Sweet	0.75% and 1.5% Sucrose (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Salty	0.1% and 0.2% Sodium chloride (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Bitter	0.025% and 0.05% Caffeine (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Sour	0.025% and 0.05% Citric acid (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Umami	0.075% and 0.15% Monodosium glutamate (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Water	강원 평창수 (Haitai htb, Pyeongchang, Gangwon-do, Korea)

⊕ 패널 훈련 및 시료 제시

선별된 패널에 대한 훈련은 감칠맛과 짠맛 특성 위주로 이루어졌다. 본 연구에서는 사용할 발효 조미 소재 시료의 특성을 고려하여 0~2% 사이의 MSG 및 0~1% 사이의 NaCl 농도를 가진 혼합 수용액을 제공하여 이들 용액에서 두 가지 맛을 구별하여 느낄 수 있도록 하는 패널 훈련을 진행하였다. 평가 시 냄새에 대한 오류를 배제하기 위하여 nose-clamp을 착용하도록 하였다. 시료와 시료 사이에는 입안의 잔여물을 제거하기 위하여 물로 입을 충분히 헹구도록 하였다. 각 시료는 2 mL 씩 제공되었으며, 난수표에서 추출한 세 자리 숫자를 부여하여 랜덤하게 제시하였다.



Fig. 8. Panel training for tasting salty taste and umami.

㉔ 시료의 taste profiling analysis에 의한 맛 활성 특성 평가

시료를 맛 특성별로 분획하기 전에 screening 하기 위하여, 훈련된 패널은 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 시료에 대하여 5 가지 맛 특성 (단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 우마미 등)을 묘사하고, 그 강도를 측정 하도록 하였다. taste profiling을 위하여 각각의 시료는 2% 수용액으로 만든 뒤, 3 mL 정도로 맛을 보도록 하였다.

㉕ Ultrafiltration을 통한 분획물의 맛활성 특성 평가

Ultrafiltration을 통해 얻은 분획물의 맛 특성을 묘사하고, 그 강도를 측정하였다. 각 시료에서 분획되어 동결건조 시킨 5개의 맛성분 분획들을 각각 생수 100 mL 에 녹인 뒤, 시료로 준비하였다. 훈련된 세 명의 패널은 각 시료에 대하여 2 mL 씩 맛을 보며 맛특성(단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 우마미)을 묘사하고, 그 강도를 평가하였다. 시료 제시는 위의 시료 제시 방법과 동일하게 수행되었다.

④ Taste Profiling Analysis에 의한 맛 활성 특성 평가 결과

두 가지 종류의 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 소재 시료 (A, B samples: 샘플 개발 제품)의 taste profiling을 위하여 관능검사를 실시한 결과는 Fig. 8 와 같다. 두 가지 종류의 소재는 그 자체가 우마미 감각 특성을 강하게 가지는데, 특히, A 시료의 경우 쓴맛과 우마미의 맛 특성에 대하여 더 높은 강도가 측정되었다. 또한, B 시료의 경우 신맛과 우마미 맛 특성에 대하여 높은 강도가 측정되었다. 본 연구에서는 맛 활성 성분 규명을 위하여 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 소재 시료 중에서 좀 더 강한 우마미 맛 특성을 갖는 A시료를 다음 단계 분획을 위해 사용되었다.

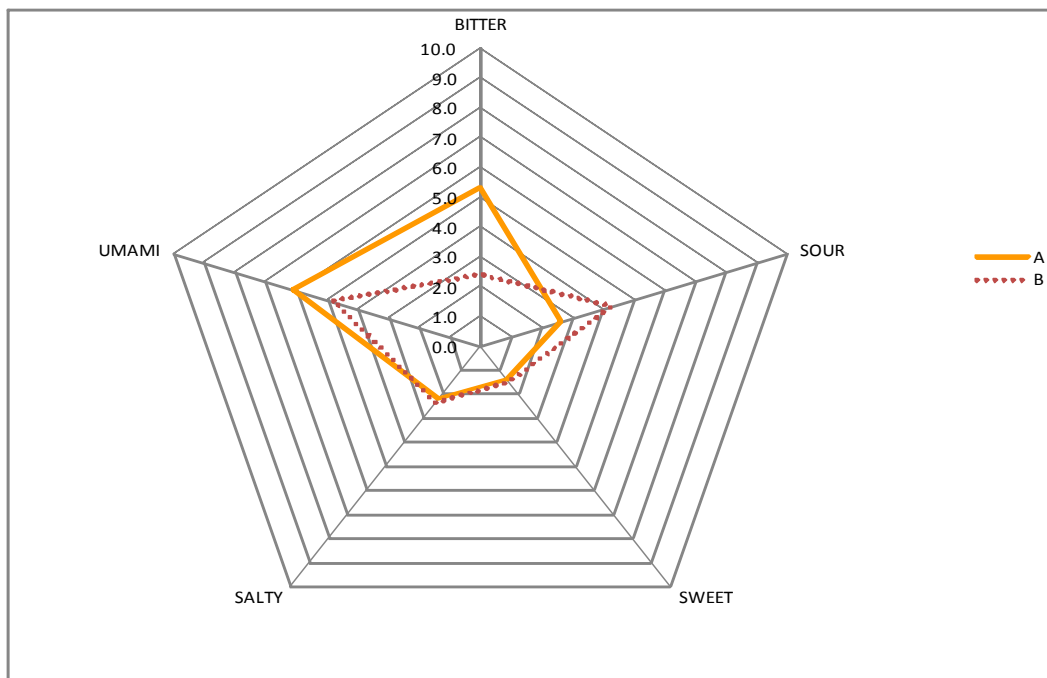


Fig. 9. Taste profile analysis of rice samples fermented by yeast (A and B samples).

⑤ 맛성분추출분석법을 통한 맛 활성 성분 규명

Ultrafiltration method를 통하여 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드(A sample) 수용액 500 mL을 10 kDa 에서 cut-off 한 뒤, 10 kDa 이하의 분획물을 순차적으로 5 kDa, 3 kDa, 1 kDa에서 cut-off 하여 총 5개의 분획물을 얻었다 (< 1kDa, 1kDa-3kDa, 3kDa-5kDa, 5kDa-10 kDa, > 10kDa). 1 kDa에서 cut-off 된 분획물은 65% 이상 회수되었으며, 소재의 맛성분을 분리하기 위하여 ultrafiltration 사용하여, cut-off 분획물을 얻었다. 각 샘플에서 5개의 분획물을 얻었으며, 이러한 분획물을 훈련된 패널이 맛 특성을 묘사하고 강도를 평가한 결과는 Fig. 9과 같다. 다른 분획물 보다는 UF5(< 1kDa) 분획물에서 우마미와 쓴맛 특성이 강하게 인지되었다. 저분자 분획물(< 1 kDa)에서 우마미 특성이 강하게 느껴져 1 kDa 이하의 저분자 물질들을 preparative-LC로 분리하여 TD factor를 통한 맛활성 성분을 규명하고자 하였다.

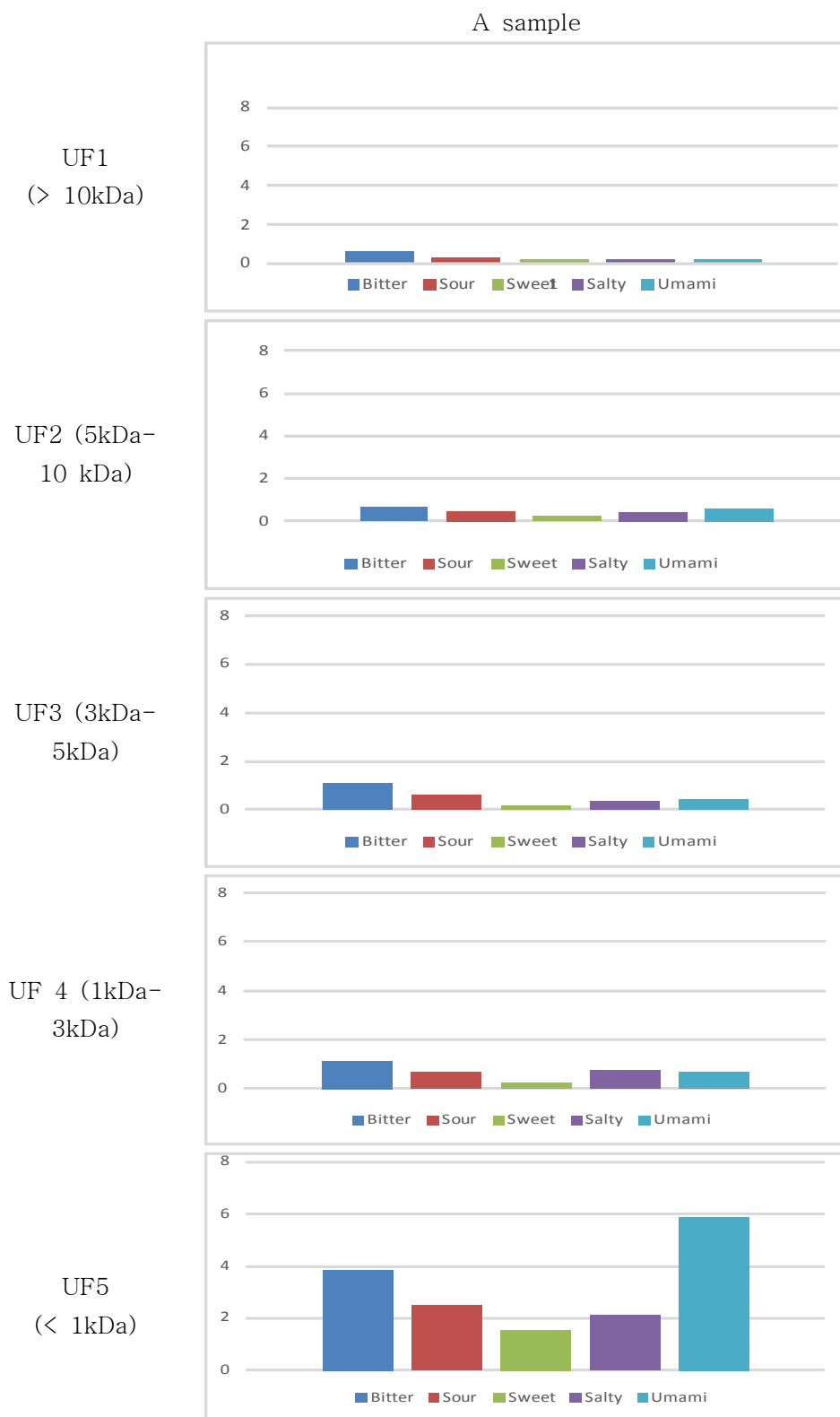


Fig. 10. Taste profile of ultrafiltration-fractions isolated in rice sample fermented by yeast (A sample).

다. 맛성분추출회석 분석법을 이용한 맛 활성 성분 규명

① 맛 성분의 효율적 분리 및 prep-LC 조건 최적화

조미소재의 맛활성 특성 중 가장 강하게 인지된 우마미 맛 성분 물질들의 효율적인 분리를 위하여 prep-HPLC (Agilent Technologies, USA)를 사용하였으며, 이에 대한 분석 조건은 다음과 같다.

Table 13. prep_LC 분석조건

prep-HPLC 1260 Infinity II (Agilent Technologies, USA)	
mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile
flow rate	10 mL/min
detector	ELSD 1260 Infinity II

② 맛성분추출회석분석법을 이용한 Taste Dilution(TD) factor 결정

Taste descriptive sensory analysis를 통하여 우마미 특성을 강하게 나타낸 분획물(UF5)을 선별하여 훈련된 패널을 대상으로 Taste Dilution Analysis를 수행하였다. 시료 평가는 회석배수가 높은 순서에서 낮은 순서로 진행하여 이전 시료에 의한 오차를 방지하였으며, 우마미 맛이 감지되지 않는 회석배수까지 맛을 보고, 우마미 특성이 감지되기 시작할 때의 회석배수를 Taste Dilution(TD) factor로 결정하였다.

**맛성분추출회석분석법은 사람의 미각 반응을 이용하여 미각 자극 물질을 screening 하는 방법으로 다양한 기기분석적인 방법에 의해 분리된 물질을 연속적으로 회석한 후 맛을 느끼기 시작하는 농도의 역치값을 taste dilution(TD) factor로 정하여 맛의 강도를 측정하는 기법

③ Sensomics 기법을 이용한 맛 활성 및 맛 증진 성분 탐색

Sensomics 기법을 이용하여 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 시료의 맛활성성분을 규명하기 위하여, 맛활성 성분 물질의 효율적인 분리를 수행하였다. 저분자 분획물 (< 1 kDa) 에서 시료 특유의 우마미 맛특성이 강하게 느껴져 1 kDa 이하의 저분자 물질들을 다시 prep-LC를 통하여 더 효율적으로 분리하였다. 최적화된 prep-LC 분석 조건을 확립하고 이를 통하여 분석한 맛활성 성분 물질의 효율적인 분리 크로마토그램은 다음과 같다. (Fig. 10) 또한, TDA (Taste dilution analysis)를 수행하기 위하여 관능검사를 위한 분획물 회수를 위해 preparative HPLC를 통하여 계속적인 반복 실험을 수행하였다.

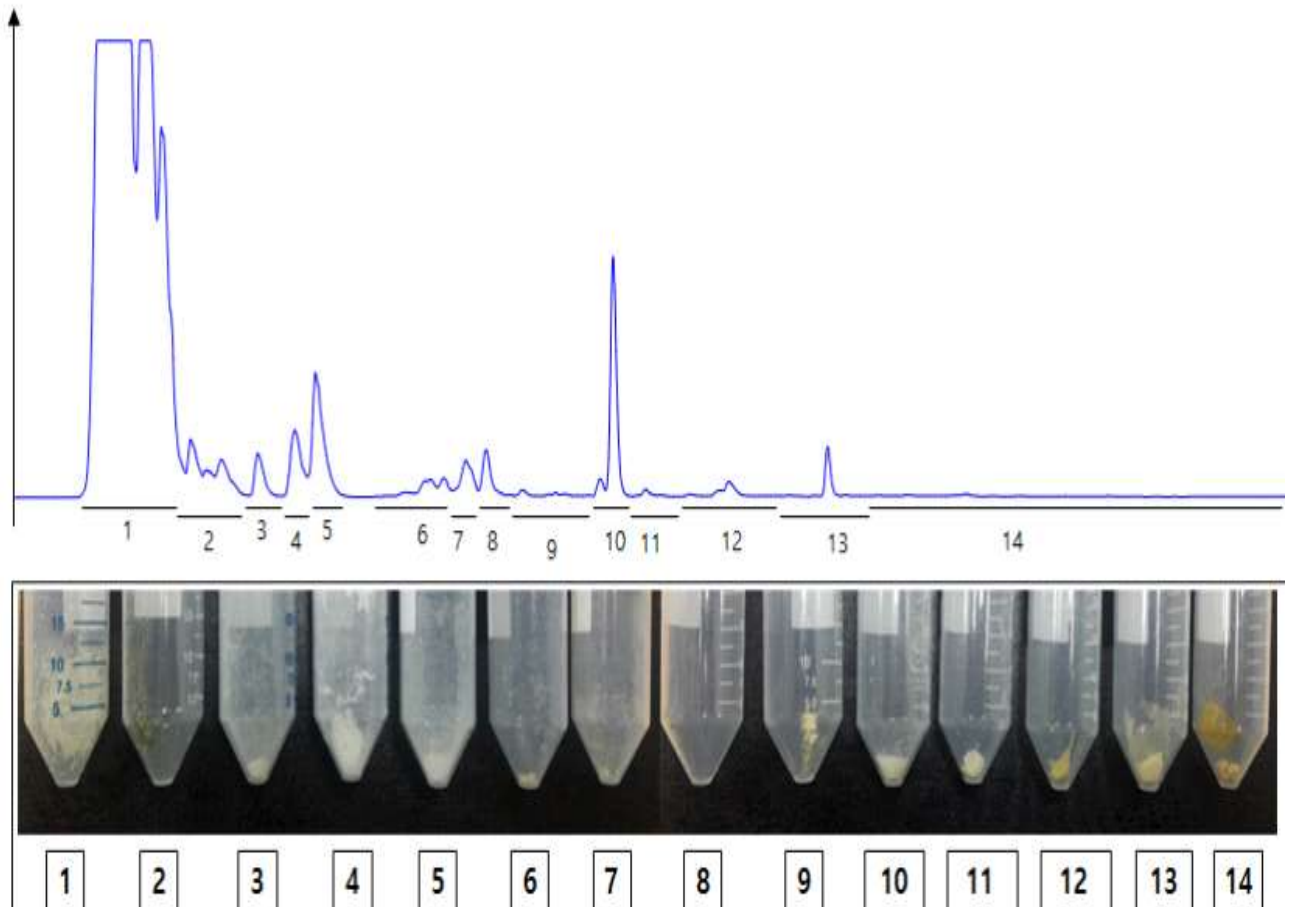


Fig. 11. Prep-HPLC chromatogram of ultrafiltration-fraction UF5(< 1 kDa)isolated from fermented rice sample.

관능검사를 통한 맛성분물질 탐색으로서 훈련된 패널에게 희석된 배수의 sample을 순차적으로 제시하여 맛활성이 큰 fraction을 찾아내는 방법인 TDA (Taste dilution analysis)를 시행하였다. 각각의 분획물의 TD factor 결과는 Fig. 12 에 나타내었다. 그 결과, F1, F5, F10, F13의 fraction에서 TD factor가 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 시료 중에서 이러한 fraction에 우마미 맛 특성이 큰 성분들이 포함되어 있음을 알 수 있었다. 또한, 이러한 fraction을 단계별 preparative-HPLC를 통해 좀 더 순수한 물질로 분리하여 우마미 맛 특성을 갖는 맛활성 성분의 구조 분석을 수행하고자 하였다.

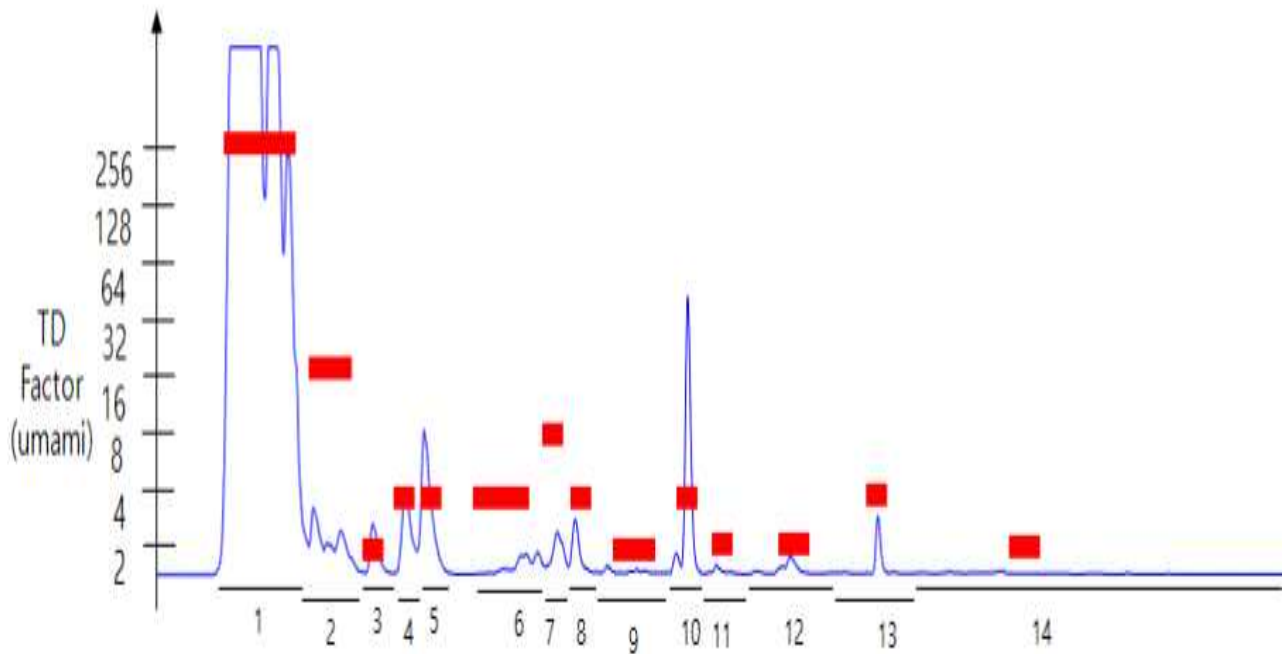


Fig. 12. Taste dilution (TD)-factors of ultrafiltration-fraction UF5(< 1 kDa) isolated from fermented rice sample.

라. 주요 맛 활성 성분의 분자구조 확인

① 분획물의 분리 및 시료 준비

주요 맛 활성 성분의 분자구조를 확인하기 위한 물질의 분획물은 단계별 preparative-HPLC를 통해 좀 더 순수한 물질로 분리되었다. 이러한 단계를 거쳐 5개의 분획물이 분리되었고, 이는 기기분석(Liquid chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry)을 위해 사용되어졌다.

② Liquid chromatography-mass spectrometry(LC-MS)와 liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry(LC-MS/MS) 기기분석법 확립

③ LC/Q-TOF Mass Spectrometry의 분석 조건 확립

순수한 물질로 분리한 분획물의 구조분석을 위하여 LC/Q-TOF Mass Spectrometry 분석조건은 다음과 같다.

Table 14. LC/Q-TOF Mass Spectrometry 분석조건

UHPLC / 1290 Infinity (Agilent) , MS Q-TOF / G6550A (Agilent)	
mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile 5% B for 3 min, 5-80 % for 10 min, 80 % B for 2 min, 80-5 % for 2 min, 5% B for 3 min.
Ion Source	Dual AJS ESI
Mass Rages (m/z)	20-1700
LC Column	Agilent Extend-C18 column (50mm x 2.1 mm, 1.8 μ m)
LC flow rate	0.3mL/min
Injection Vol	1.0 μ l
Polarity(kV)	Positive mode (4.0)
Scan rate	1 spectra/sec
Temperature	25 $^{\circ}$ C

⊕ LC/QQQ Mass Spectrometry의 분석 조건 확립

순수한 물질로 분리한 분획물의 구조분석을 위하여 LC/QQQ Mass Spectrometry 분석조건은 다음과 같다.

Table 15. LC/QQQ Mass Spectrometry 분석조건

LC / 1290 Infinity(Agilent) , MS 6495 Triple Quad (Agilent)	
mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile 5% B for 3 min, 5-80 % for 10 min, 80 % B for 2 min, 80-5 % for 2 min, 5% B for 3 min.
Ion Source	Dual AJS ESI
Mass Rages (m/z)	100-1700
LC Column	Agilent Extend-C18 column (50mm x 2.1 mm, 1.8 μ m)
LC flow rate	0.3mL/min
CE (V)	5, 10, 15, 20
Polarity(kV)	Positive mode (3.5)
Scan time	500
Temperature	30 $^{\circ}$ C

③ 주요 맛 활성 성분의 분자 구조 확인

맛성분추출회석분석법을 통해 우마미(감칠맛) 특성에 관하여 높은 TD factor를 가지는 맛 활성성분을 규명하고, LC/Q-TOF Mass Spectrometry, LC/QQQ Mass Spectrometry 등의 기기분석법을 사용하여 그들의 분자구조를 확인하였다. 강한 감칠맛(우마미)의 맛 활성 특성을 갖는 UF-5 분획물에서 FD factor가 높은 1과 2 분획물을 Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography로 단계적으로 순수한 물질로 분리하였다. 최종적으로 5개의 분획물을 얻었고, 이와 같은 5개의 분획물(F1, F2, F3, F4, F5)은 구조 분석을 위하여 LC/Q-TOF Mass Spectrometry를 수행하였다. 이에 대한 결과는 Fig.12-16와 같다. 이에 대한 결과로 얻은 accurate mass 값은 F1-1 : 365.12532, F1-2: 365.12452, F1-3: 429.3404, F2-1: 365.12527, F2-2: 385.31320, F3-1: 365.12406, F3-2: 411.11401, F3-3: 385.31185, F3-4: 485.13807, F4-1: 365.12485, F4-2: 559.15964, F4-3: 385.31267, F5-1: 175.12802, F5-2: 385.31243 과 같았다. 이를 바탕으로 MS/MS fragments를 확인하기 위하여, LC/QQQ Mass Spectrometry 분석을 수행하였다. 이에 대한 결과는 Fig. 17-21 과 같다. 이러한 분석 결과를 바탕으로 구조분석을 수행하여 우마미 맛 특성에 기여하는 맛 활성 성분을 동정하였다. (Table 16)

이러한 맛 활성 성분 중에서, 감칠맛(우마미) 특성에 관여하는 아미노산 및 펩타이드인 Arg, Glu-Asp-Cys, Leu-Pro-Arg (또는 Pro-Leu-Arg) 등이 동정되었다. 특히, 이들은 TD factor가 높게 인지되어 쌀 효모 저분자 펩타이드 소재의 감칠맛(우마미) 특성에 기여하는 주요 성분으로 동정되었다. 감칠맛(우마미) 특성을 갖는 맛성분에 대한 생성 경로가 명확하지 밝혀진 않았지만, 미생물의 효소 활성에 의한 식품의 원재료의 단백질이나 펩타이드 분해는 맛 성분 생성의 주요 메카니즘으로 알려져 있다. 감칠맛(우마미)과 쓴맛 특성을 갖는 아미노산인 glutamic acid, aspartic acid, leucine은 발효식품의 감칠맛 특성을 부여해 주기 위하여 함께 동정되거나 펩타이드 형태로 발견된다고 보고된 바 있다 (Lioe, H. N., Kinjo, A., Yasuda, S., Kuba-Miyara, M., Tachibana, S., & Yasuda, M. 2018. Taste and chemical characteristics of low molecular weight fractions from tofuyo - Japanese fermented soybean curd. Food chemistry, 252, 265-270.; Utami, R., Wijaya, C. H., & Lioe, H. N. 2016. Taste of water-soluble extracts obtained from over-fermented tempe. International Journal of Food Properties, 19, 2063 - 2073.) 본 연구에서 쌀 효모 저분자 펩타이드에서 동정된 펩타이드는 Glu-Asp-Cys, Leu-Pro-Arg (또는 Pro-Leu-Arg)로서 감칠맛과 쓴맛 특성을 나타내는 아미노산의 결합된 형태였다. 특히, glutamic acid를 포함하는 di-펩타이드와 tri-펩타이드는 발효식품의 감칠맛을 강하게 나타낸다고 보고된 바 있다. 따라서, 본 연구에서 동정된 Glu-Asp-Cys는 glutamic acid를 포함하는 tri-펩타이드로서 쌀발효 효모 저분자 펩타이드 시료에서 강한 감칠맛 특성을 갖는 맛활성 성분으로 동정되었다. 또한, 아미노산인 arginine과 arginine을 포함하는 펩타이드는 감칠맛과 짠맛을 증진시켜주는 맛 증진 물질로도 알려져있다. (Schindler, A., Dunkel, A., Stähler, F., Backes, M., Ley, J., Meyerhof, W., & Hofmann, T. (2011). Discovery of salt taste enhancing arginyl dipeptides in protein digests and fermented fish sauces by means of a sensomics approach. Journal of agricultural and food chemistry, 59(23), 12578-12588.)

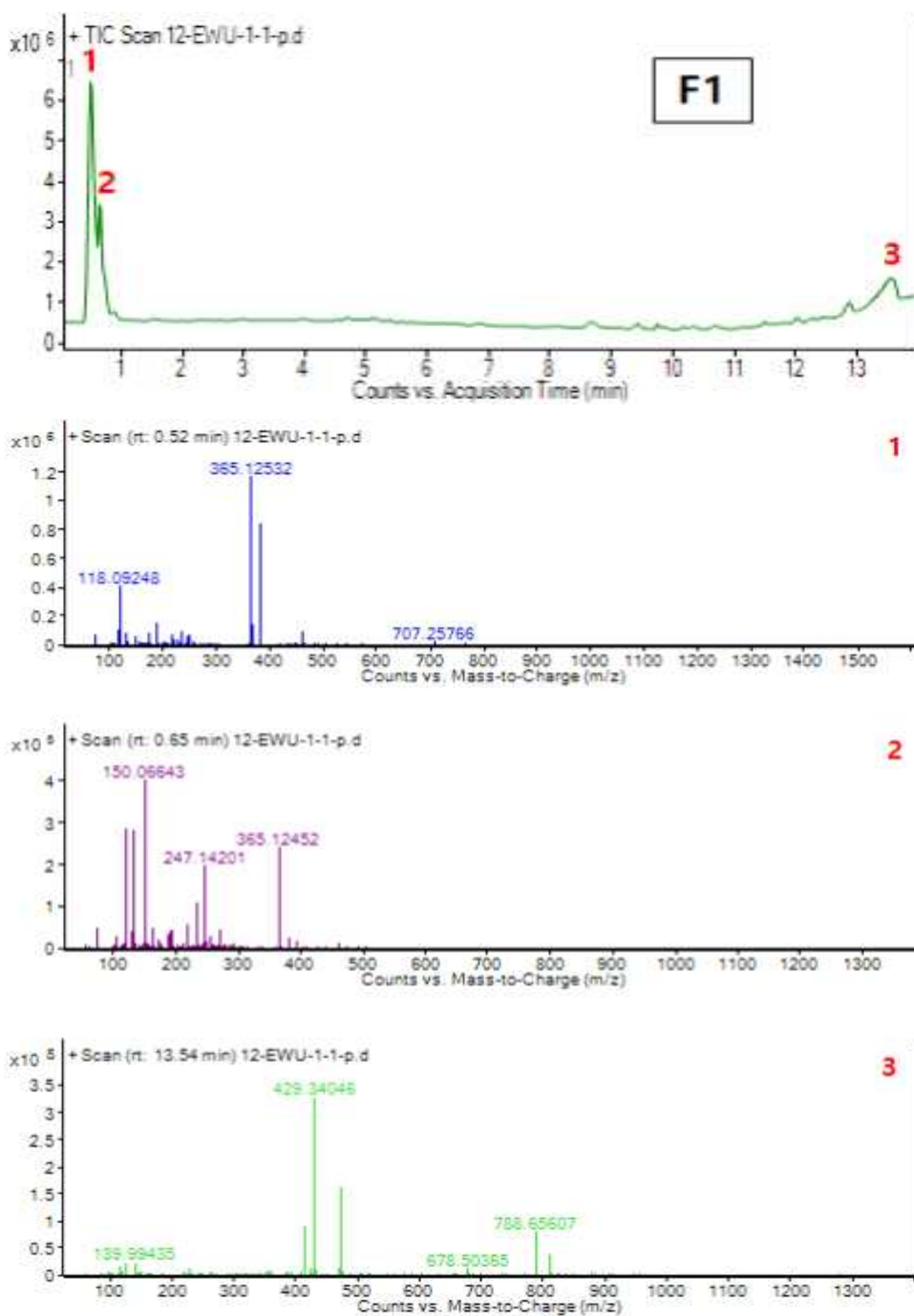


Fig. 13. Total ion chromatogram and LC/Q-TOF mass spectrum (ESI+) of F1 fraction in fermented rice sample.

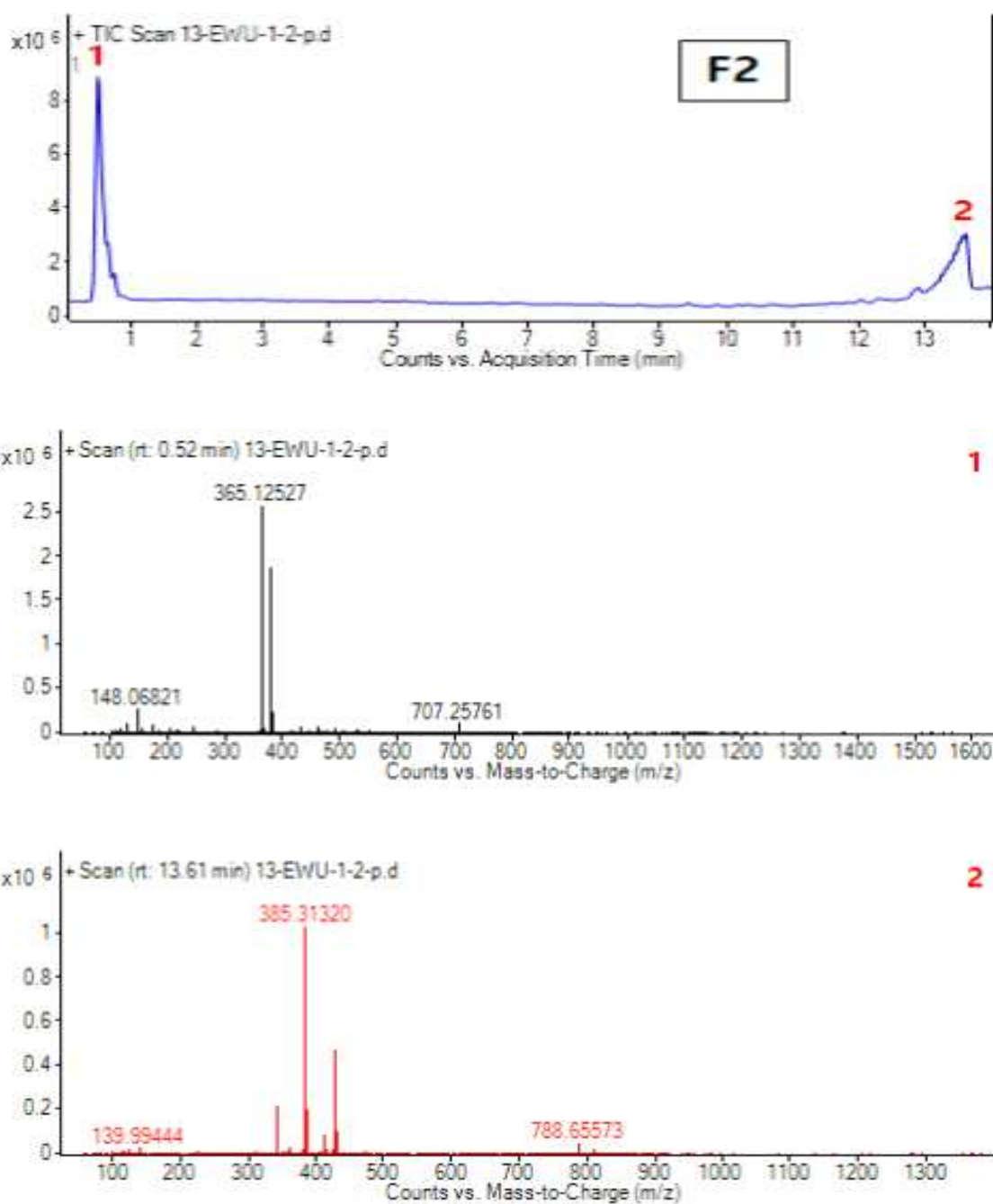


Fig. 14. Total ion chromatogram and LC/Q-TOF mass spectrum (ESI+) of F2 fraction in fermented rice sample.

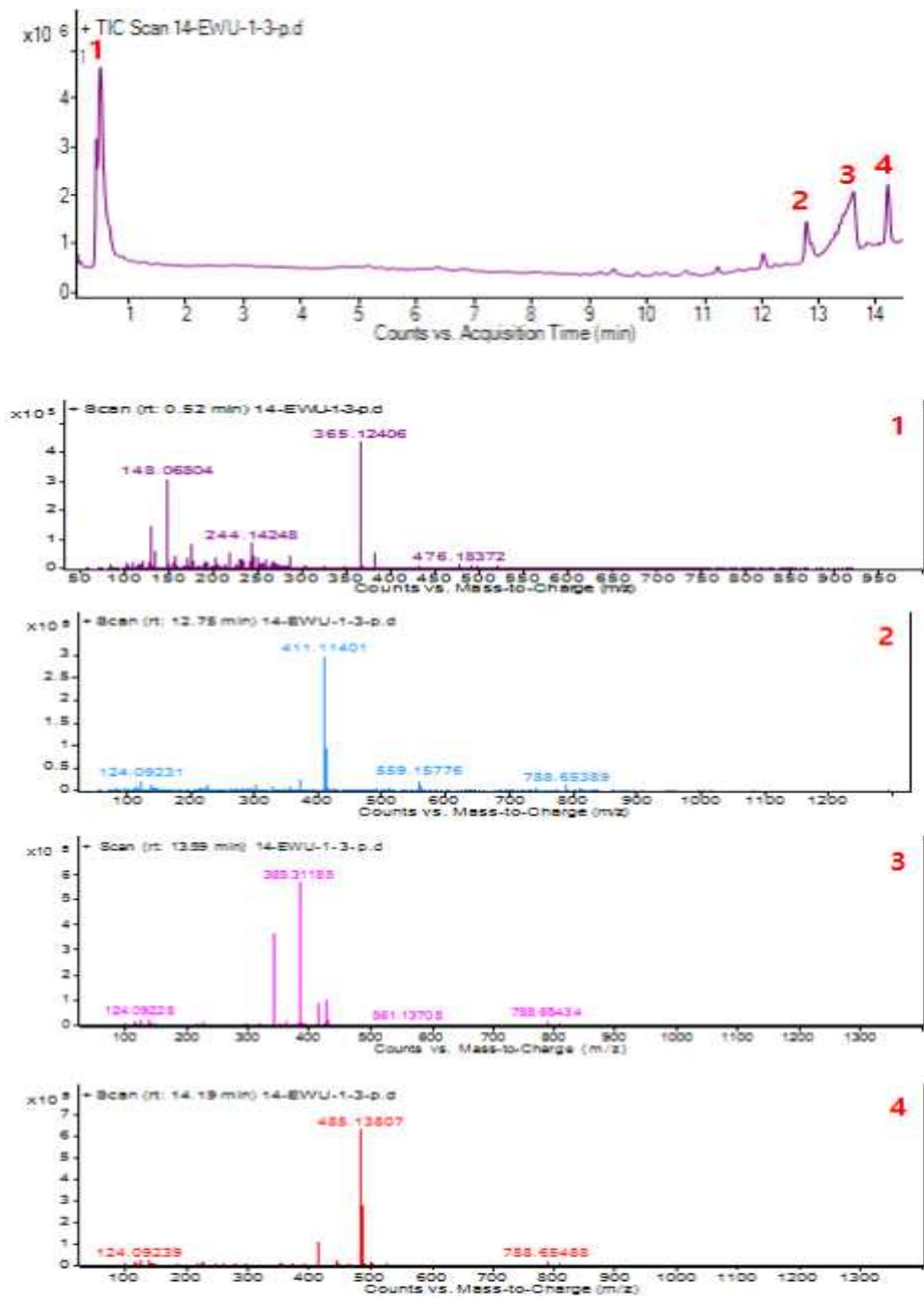


Fig. 15. Total ion chromatogram and LC/Q-TOF mass spectrum (ESI+) of F3 fraction in fermented rice sample.

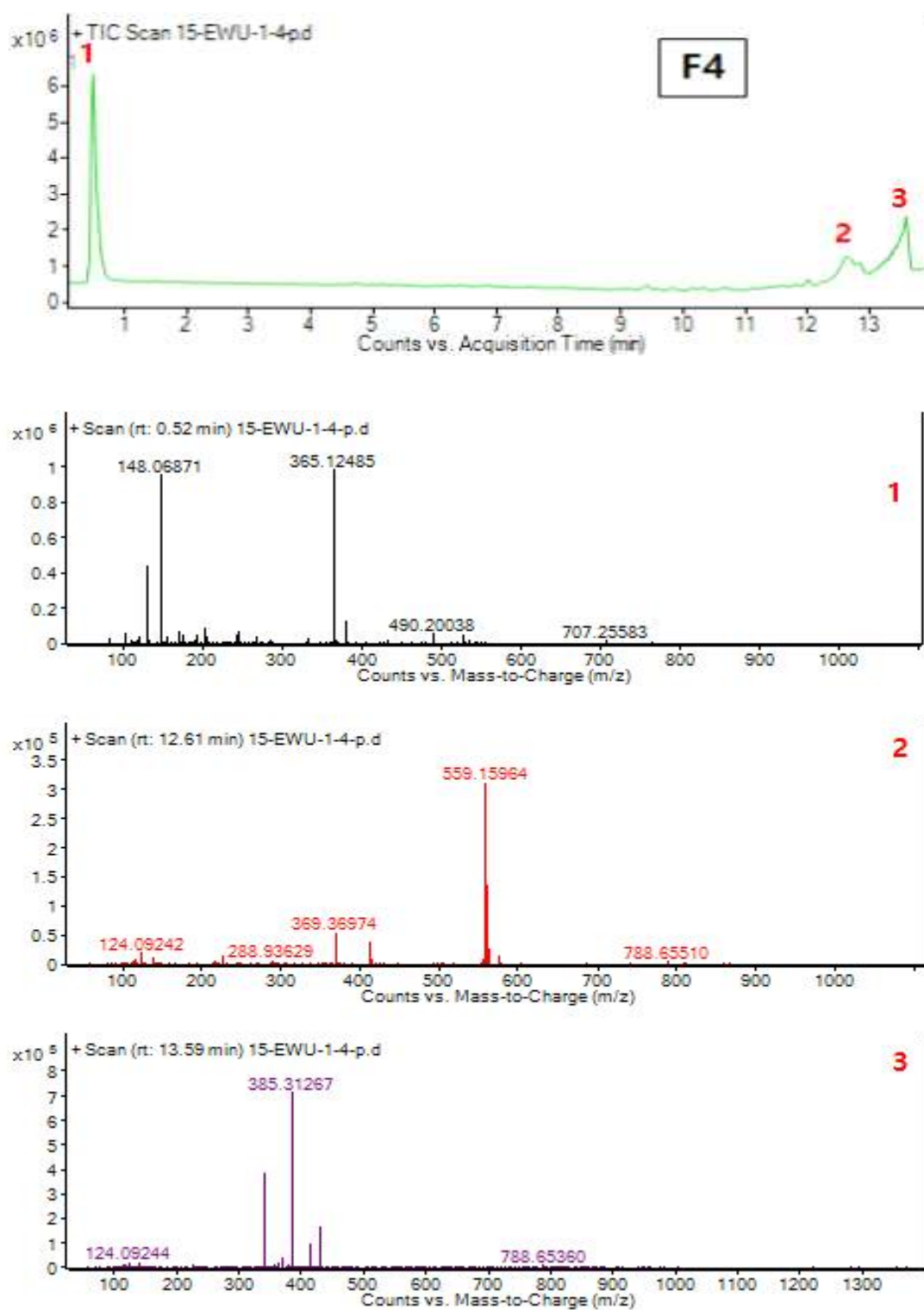


Fig. 16. Total ion chromatogram and LC/Q-TOF mass spectrum (ESI+) of F4 fraction in fermented rice sample.

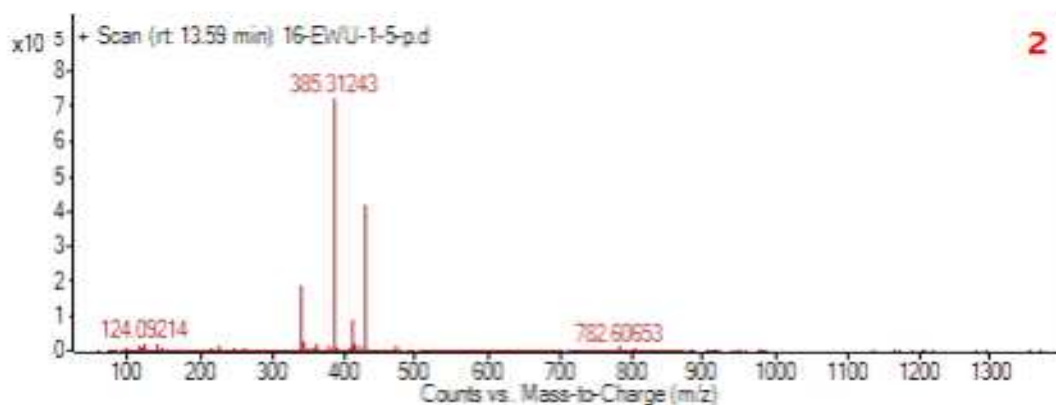
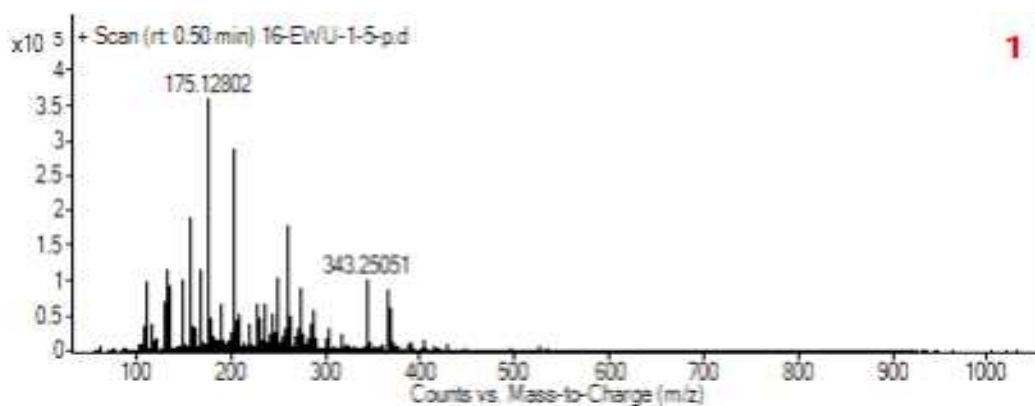
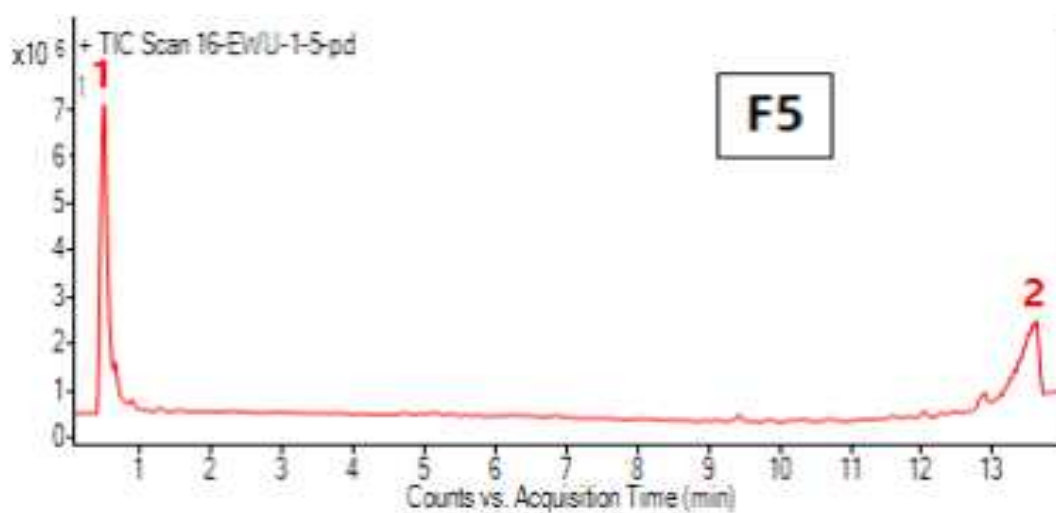
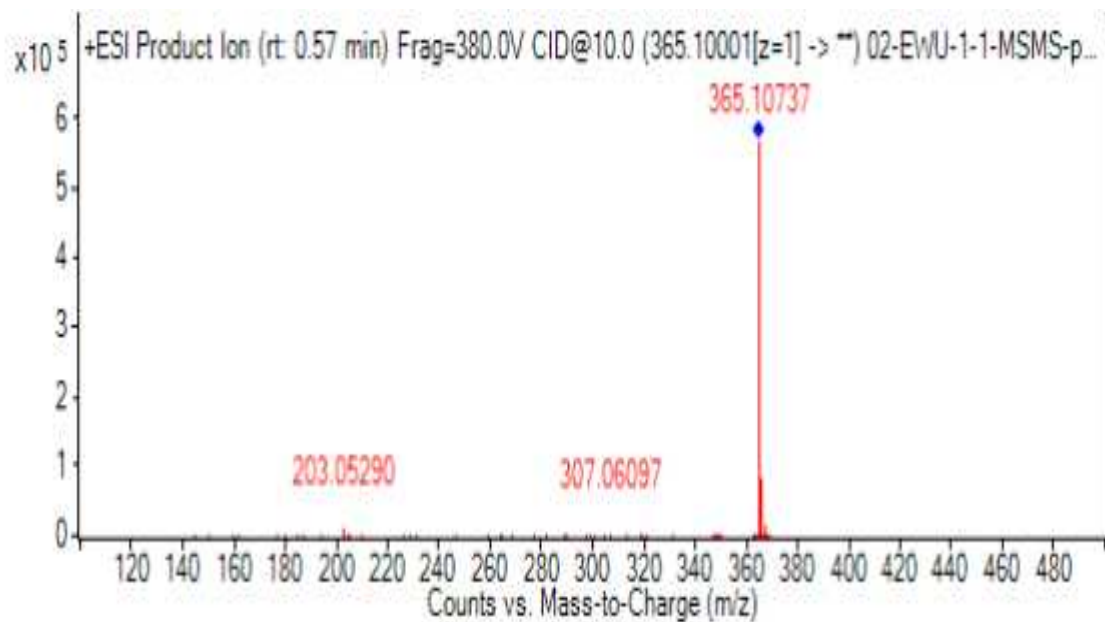


Fig. 17. Total ion chromatogram and LC/Q-TOF mass spectrum (ESI+) of F5 fraction in fermented rice sample.

(a)



(b)

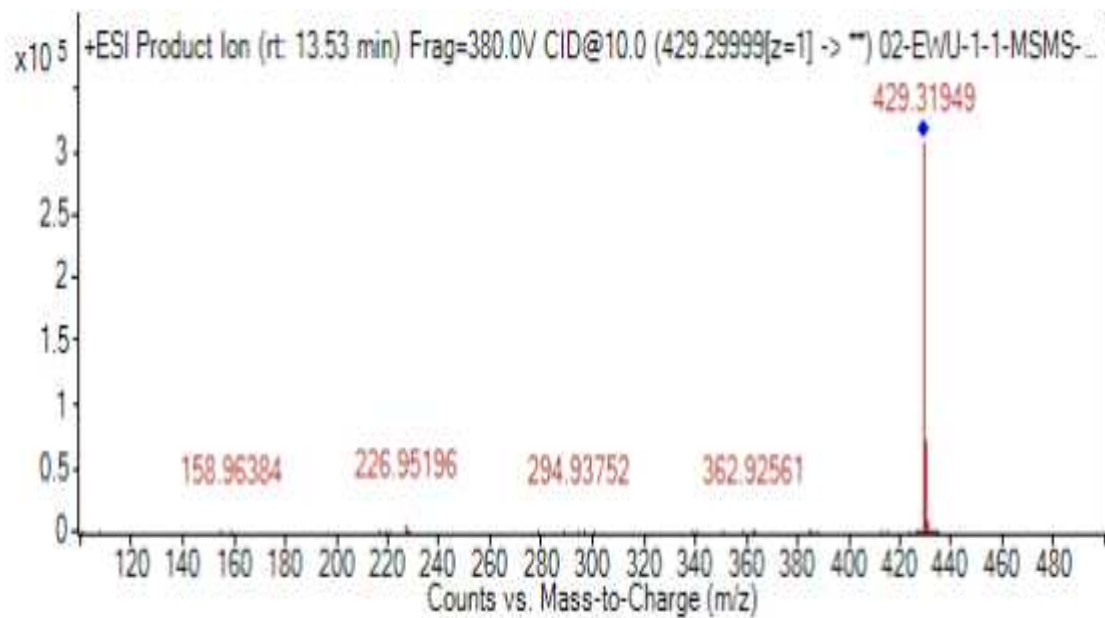
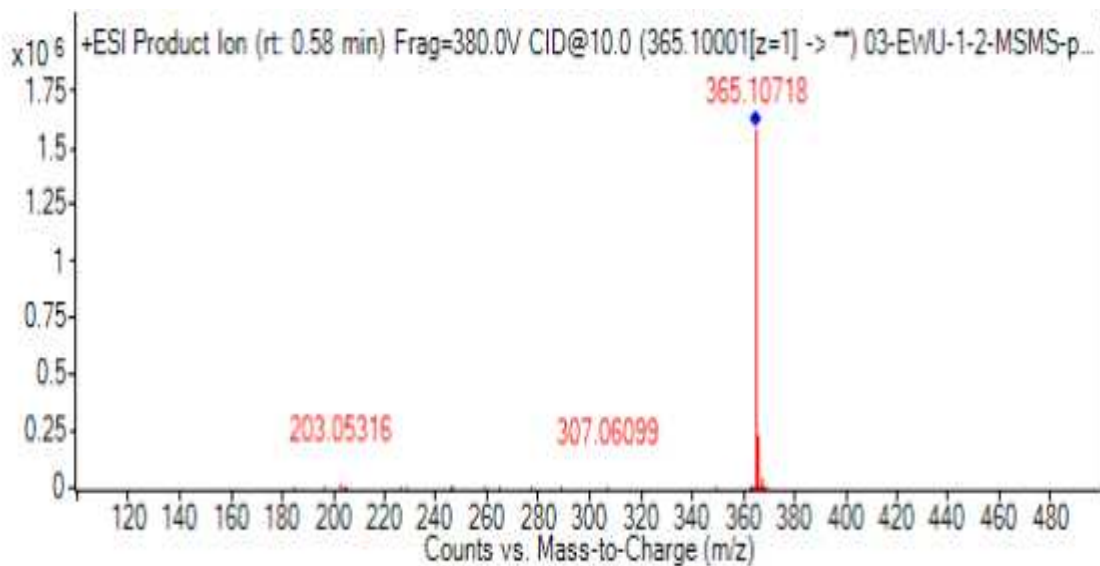


Fig. 19. LC-MS/MS (ESI+) of F2-1 (a) and F2-2 (b) fractions isolated from fraction F2.

(a)



(b)

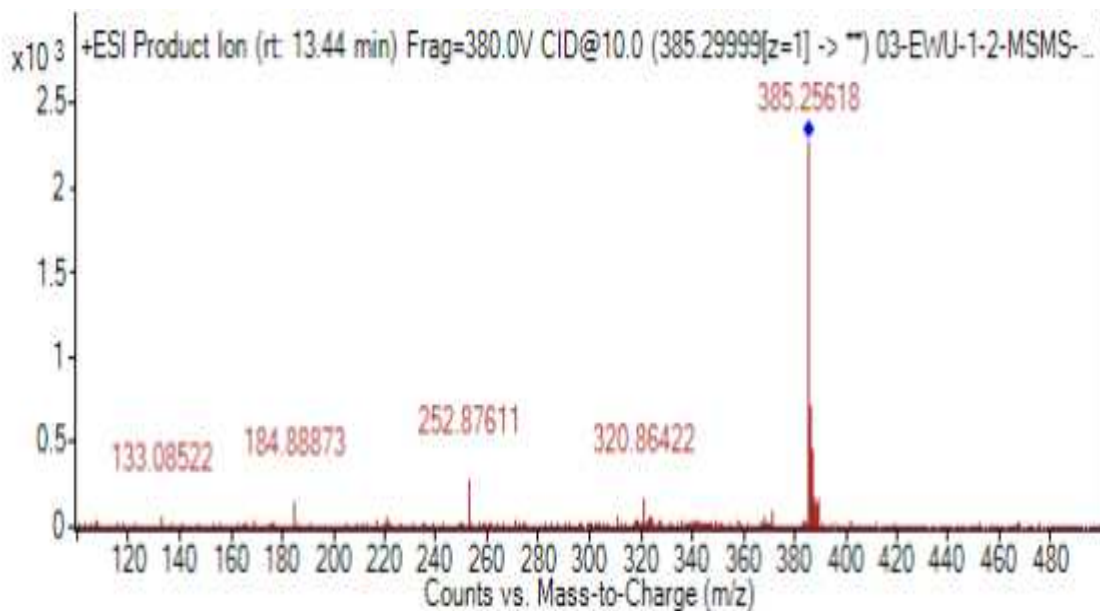
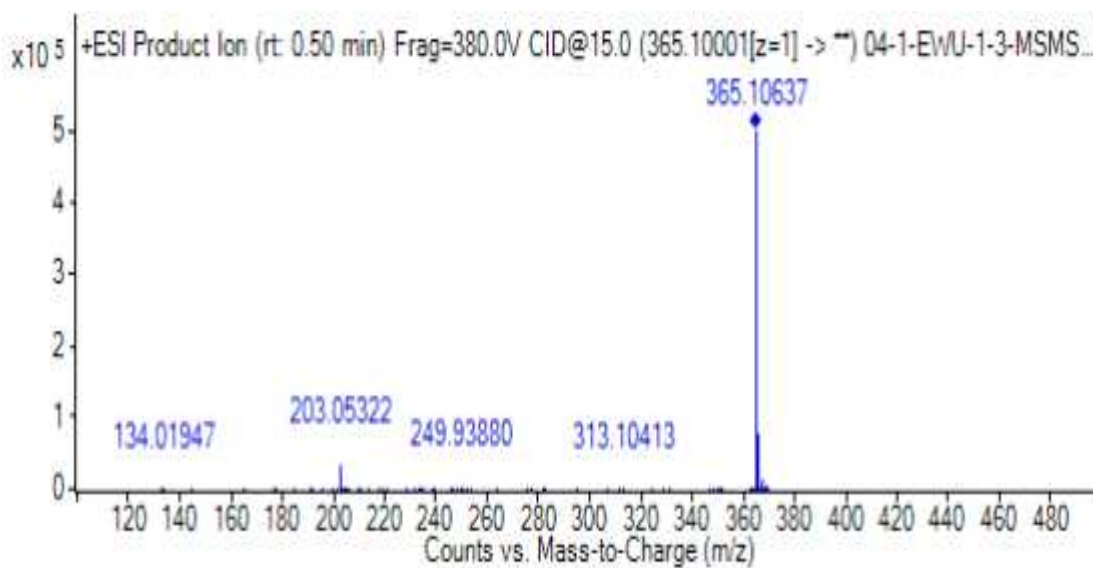


Fig. 19. LC-MS/MS (ESI+) of F2-1 (a) and F2-2 (b) fractions isolated from fraction F2.

(a)



(b)

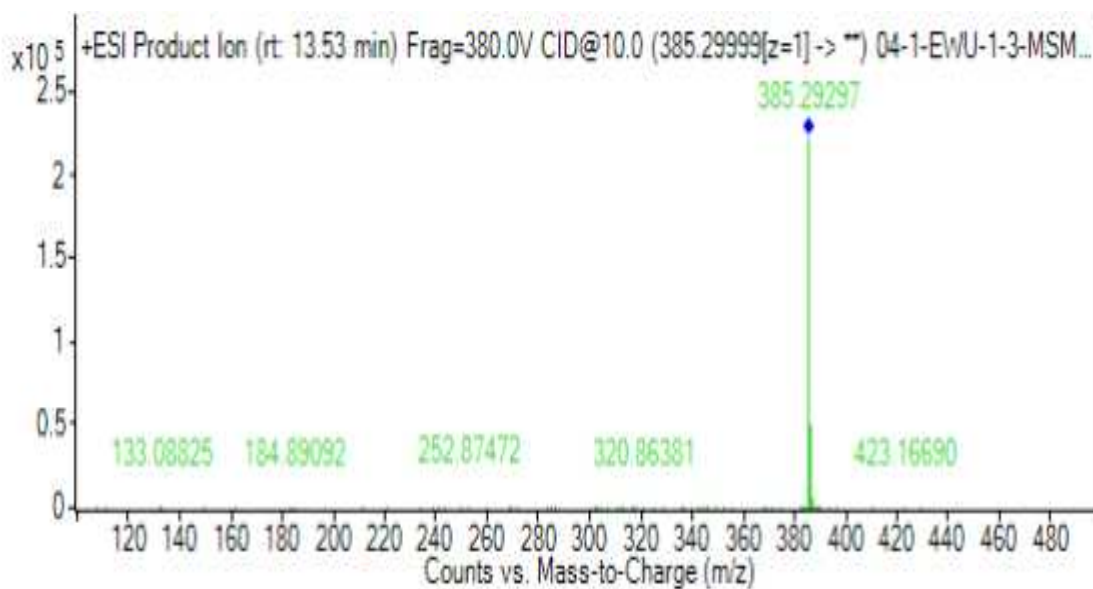
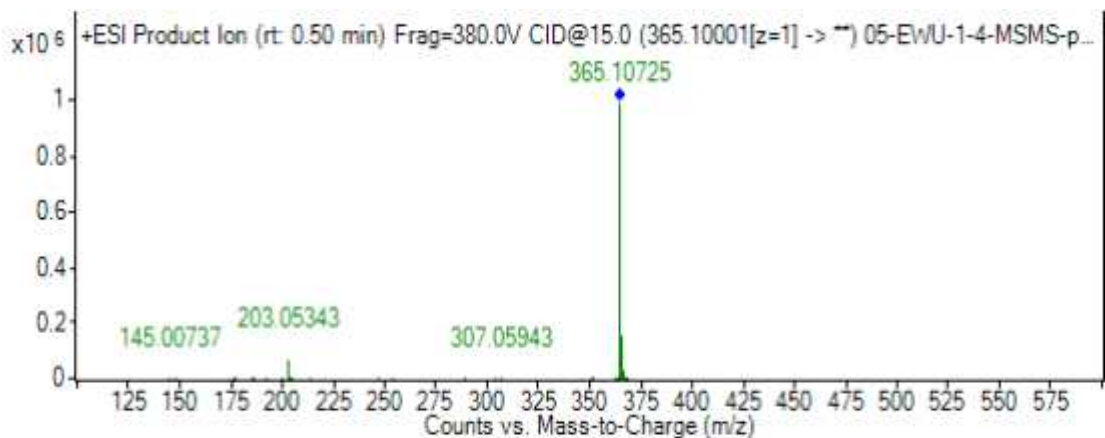
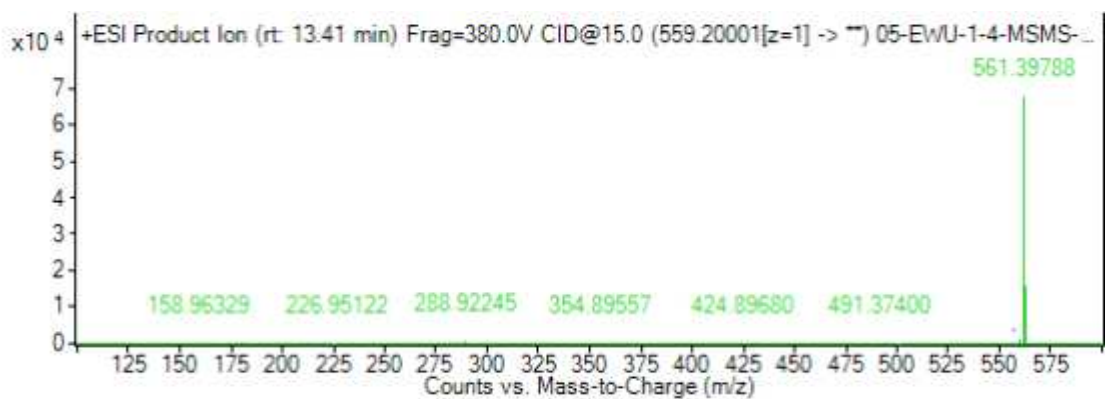


Fig. 20. LC-MS/MS (ESI+) of F3-1 (a) and F3-2 (b) fractions isolated from fraction F3.

(a)



(b)



(c)

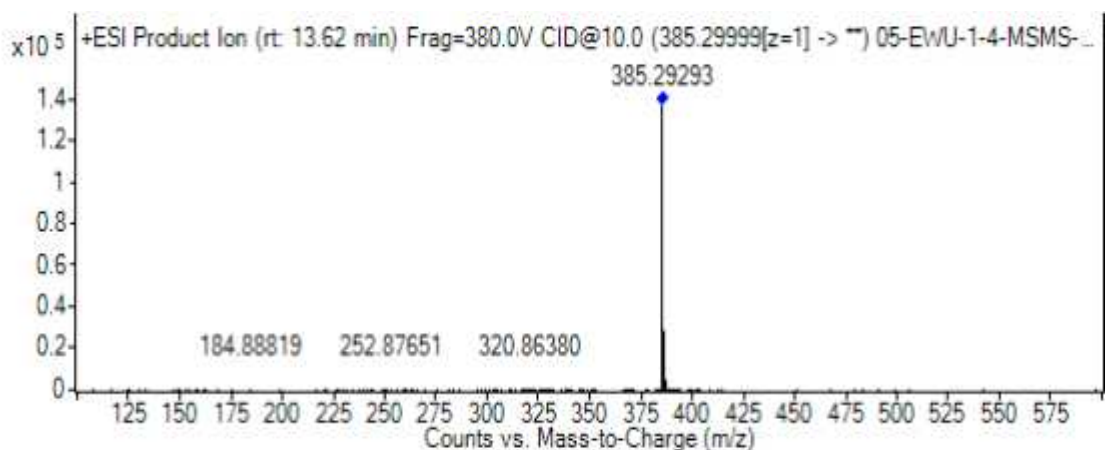
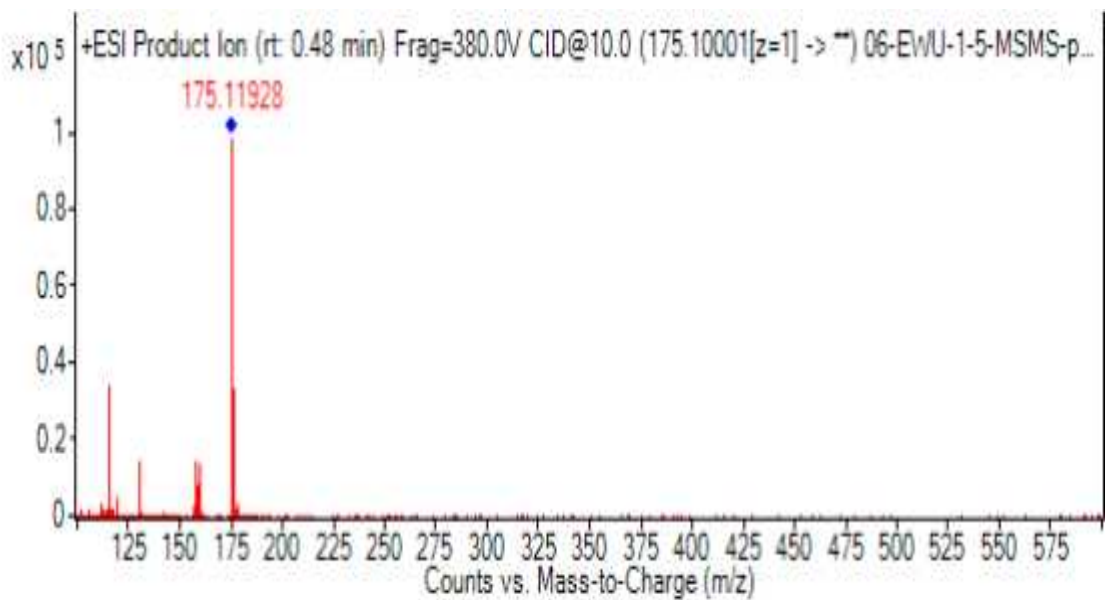


Fig. 21. LC-MS/MS (ESI+) of F4-1 (a), F4-2 (b) and F4-3 (c) fractions isolated from fraction F4.

(a)



(b)

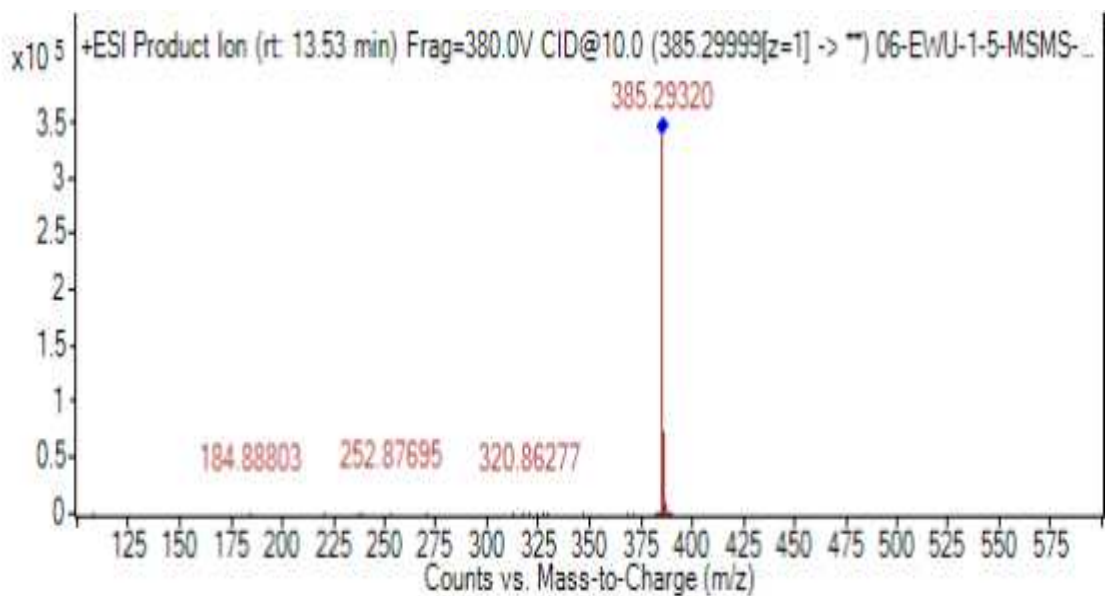


Fig. 22. LC-MS/MS (ESI+) of F5-1 (a) and F5-2 (b) fractions isolated from fraction F5.

Table 16. Taste-active compounds identified in rice fermented materials

Fraction No.	Retention time(min)	MS/MS fragments	Exact mass [M+H] ⁺	Nominal mass	Molecular formula	Compounds
F1-1	0.56	307.0606, 203.0532	365.1071	364	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₇ S	Glu-Asp-Cys
F1-2	13.53	362.9256, 294.9375, 226.9520, 158.9641	429.3195	428	-	Unknown
F2-1	0.56	307.0627, 203.0533	365.1071	364	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₇ S	Glu-Asp-Cys
F2-2	13.44	320.8642, 252.8761, 184.8887, 133.0851	385.2931	384	C ₁₇ H ₃₂ N ₆ O ₄	Leu-Pro-Arg / Pro-Leu-Arg
F3-1	0.52	313.1041, 249.9388, 203.0532, 134.0194	365.1061	364	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₇ S	Glu-Asp-Cys
F3-2	13.53	320.8638, 252.8765, 184.8902, 133.0882	385.2929	384	C ₁₇ H ₃₂ N ₆ O ₄	Leu-Pro-Arg / Pro-Leu-Arg
F4-1	0.48	307.0594, 203.0534, 145.0073	365.1072	364	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₇ S	Glu-Asp-Cys
F4-2	13.37	491.3742, 424.8971, 354.9848, 288.9221, 226.9504, 158.9633	561.3984	560	-	Unknown
F4-3	13.62	320.8637, 252.8765, 184.8881	385.2932	384	C ₁₇ H ₃₂ N ₆ O ₄	Leu-Pro-Arg / Pro-Leu-Arg
F5-1	0.47	175.1195	175.1195	174	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	Arg
F5-2	13.53	320.8627, 252.8769, 184.8880	385.2932	384	C ₁₇ H ₃₂ N ₆ O ₄	Leu-Pro-Arg / Pro-Leu-Arg

3. 맛 성분과 관련된 천연발효 조미소재의 품질지표 및 규격 표준화

서로 다른 육수풍미베이스 시료들을 비교해 보았을 때, 비휘발성 향미 대사체 중 단맛, 신맛, 감칠맛의 맛 특성과 관련된 성분들을 선정했다. 이 중 단맛과 관련된 당과 당알코올에서는 fructose, glucose, arabitol, mannitol, inositol이 많이 생성되어 단맛을 대표하는 품질지표 성분으로 선정되었다. 또한 신맛과 관련된 유기산에서는 상대적으로 큰 정량값을 나타낸 lactic acid가 품질지표 성분으로 선정되었다. 감칠맛과 관련된 아미노산에서는 glutamic acid와 glutamine이 품질지표 성분으로 선정되었다.

Table 17. 선정된 육수풍미베이스의 품질지표성분

당	Fructose
	Glucose
당알코올	Arabitol
	Mannitol
	Inositol
유기산	Lactic acid
아미노산	Glutamic acid
	Glutamine

가. Standard solution을 통한 품질지표성분의 절대 농도 결정

① 절대 농도 결정을 위한 방법 확립

㉞ 비휘발성 품질지표 성분(당, 당알코올, 유기산, 아미노산)의 standard sample 제조 및 분석

선정된 품질지표 성분들을 다양한 농도 별로 standard solution을 만들어 200 μ L을 1.5 mL Eppendorf tube (Eppendorf, Hamburg, Germany)에 넣고 당과 당알코올을 분석하기 위한 내부표준물질 L-threitol 100ppm 10 μ L, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid 100ppm 20 μ L, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 5 μ L을 넣고 40 $^{\circ}$ C로 설정된 centri-vap (Labconco Co. Kansas City, MO, USA)에서 하루 동안 완전히 건조시켰다. 비휘발성 성분의 유도체화는 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 실험하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride(20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 100 μ L 를 넣고 centri vap (Labconco.)에서 30 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoro -acetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco, Bellefonte, PA, USA) 100 μ L를 넣고 60분간 70 $^{\circ}$ C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μ L를 주입하였다.

유도체화 시킨 standard solution은 Agilent 6890N gas chromatograph-time-of-flight(TOF) Pegasus III mass spectrometer (Leco)로 분석하였으며 column은 DB-5MS (30m

length x 0.25mm i.d. x 0.25µm film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Helium 0.8 mL/min을 유지하고 splitless mode로 설정하였으며 oven의 온도는 80°C에서 5분간 유지 후 180°C 까지 분당 10°C씩 상승시킨 다음 5분간 유지하였다. 그 후 240°C 까지 분당 8°C씩 상승시킨 다음 5분간 유지 후 280°C 까지 분당 10°C씩 상승시킨 다음 10분간 유지하였다. Injector와 transfer line의 온도는 각각 270°C, 260°C이었으며 acquisition rate는 20 spectra/sec, mass scan range는 35-350 a.m.u.로 분석하였다.

㉔ 비휘발성 품질지표 성분(당, 당알코올, 유기산, 아미노산)의 standard solution 의 농도 별 정량

GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 품질지표 성분의 농도 별 standard solution은 Chroma TOF에 의해 deconvolution 되어 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여 동정하였다. 또한 맛 특성 관련 비휘발성 품질지표 성분의 정량은 각 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 relative peak area 값을 사용하였다.

㉕ 절대 농도 결정을 위한 calibration curve 작성

㉕ Standard solution의 calibration curve 작성

위와 같이 각각의 농도에 따른 relative peak area 값을 이용해 calibration curve를 그려 이후 품질의 지표를 규명하고자 하였다. GC-TOF-MS에 주입하여 얻은 크로마토그램의 농도 대면적 비를 통해 검량선을 작성하였으며, 검량선의 상관계수(R2)는 fructose의 경우 0.9911, glucose는 0.9935, 당알코올에 해당하는 arabitol, mannitol, inositol은 순서대로 0.9930, 0.9938, 0.9941이었다. 나머지 아미노산과 유기산에서의 검량선의 상관계수(R2)의 경우, glutamic acid는 0.9945, glutamine은 0.9927, lactic acid는 0.9970, acetic acid는 0.99 이었다.

- 당류 (Fructose, glucose)의 경우 1-500 mg/L 범위 내 4 가지 농도로 실험을 수행한 결과, fructose의 경우 검량선의 Calibration Curve는 $y = 0.3949x$, 상관계수 0.9911을 나타냈으며, glucose의 경우 $y = 0.1672x$ 상관계수 0.9935를 나타냈다.
- 당알코올류 (Arabitol, mannitol, inositol)의 경우 1-20 mg/L 범위 내 4 가지 농도로 실험을 수행한 결과, arabitol의 경우 검량선의 Calibration Curve는 $y = 0.1946x$, 상관계수 0.9930을 나타냈으며, mannitol의 경우 $y = 0.1379x$, 상관계수 0.9938을 나타냈으며, inositol의 경우 $y = 0.145x$, 상관계수 0.9941을 나타냈다.
- 아미노산류 (Glutamic acid, glutamine)의 경우 1-20 mg/L 범위 내 4 가지 농도로 실험을 수행한 결과, glutamic acid의 경우 검량선의 Calibration Curve는 $y = 0.3097x$, 상관계수 0.9945를 나타냈으며, glutamine의 경우 $y = 0.0664x$ 상관계수 0.9927을 나타냈다.
- 유기산류 (Lactic acid)의 경우 1-200 mg/L 범위 내 4 가지 농도로 실험을 수행한 결과, 검량선의 Calibration Curve는 $y = 0.2203x$, 상관계수 0.9970을 나타냈다.

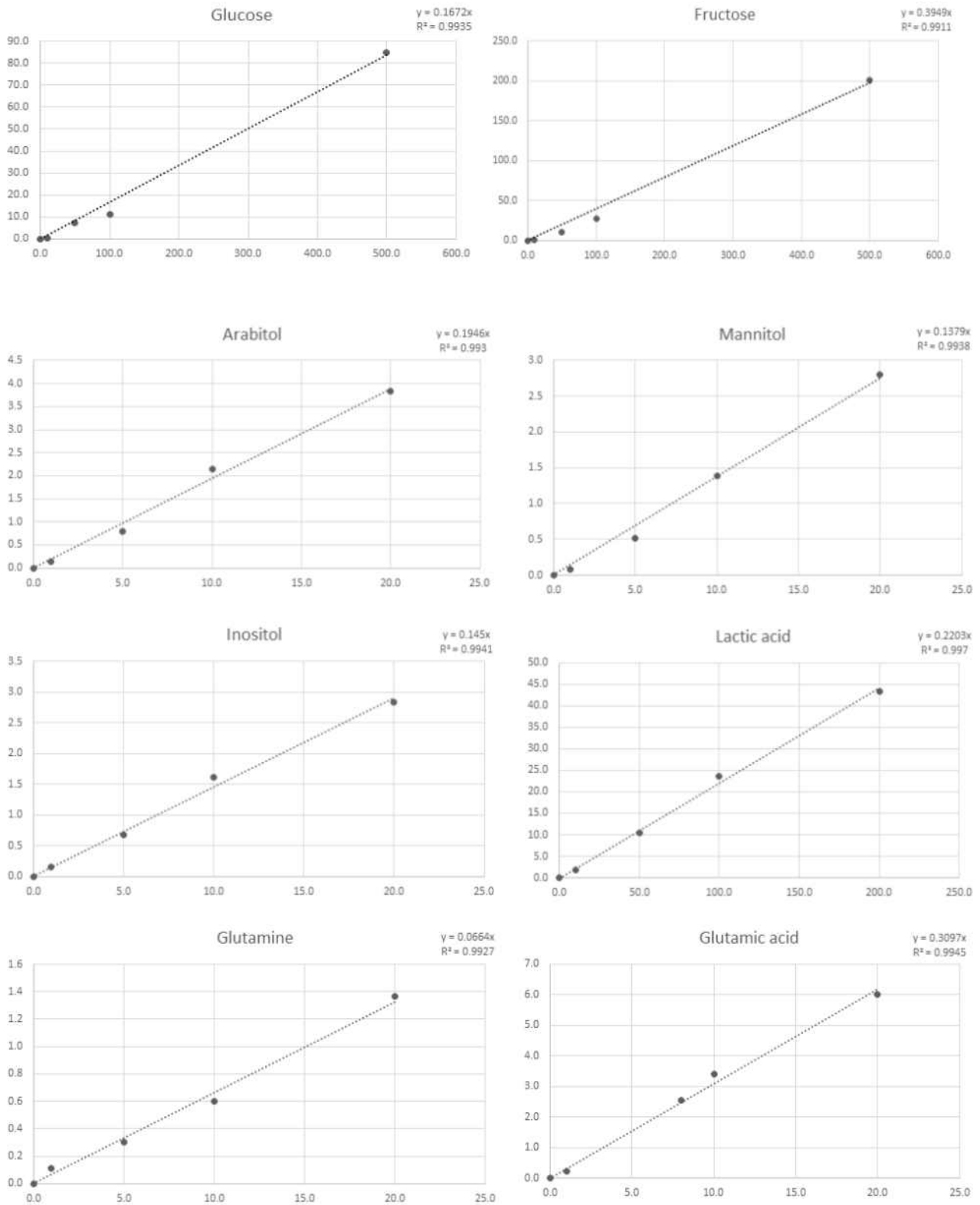


Fig. 23. 품질지표 성분들의 calibration curve

㉔ 육수풍미베이스 내 품질지표 성분 정량

GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 품질지표 성분들은 Chroma TOF에 의해 deconvolution 되어 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여 동정하였다. 또한, 육수풍미베이스 내의 맛 특성 관련 비휘발성 향미 대사체의 정량은 각 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 relative peak area 값을 사용하였다. (표 14)

Table 18. 육수풍미베이스 시료 내 품질지표 성분의 relative peak area

품질지표성분	시료			
	sample 1	sample 2	sample 3	sample 4
Lactic acid	37.33	27.68	27.72	20.74
Glutamine	0.71	0.58	0.79	0.63
Fructose	146.72	180.33	137.02	125.28
Glucose	42.04	43.19	20.74	41.15
Arabitol	1.08	1.55	0.86	1.76
Mannitol	1.43	0.98	1.70	2.05
Inositol	1.86	1.51	2.01	3.12

㉕ 육수풍미베이스 시료 내 품질지표 성분의 규격 결정

실험을 통해 얻어진 calibration curve 식에 각 성분들의 relative peak area 값을 대입하여 품질지표 성분들의 절대 농도 ($\mu\text{g/mL}$)를 구했다. (Table 19) 이를 통해 같은 공정 하에서 다른 로트에서 생성되었거나 생산된 일자가 다른 4가지 육수풍미베이스 시료의 fructose, glucose, arabitol, mannitol, inositol, lactic acid, glutamine 절대 농도를 구했다. 신맛과 관련된 유기산인 lactic acid는 94-169.47 $\mu\text{g/mL}$ 의 절대 농도를 나타냈다. 감칠맛과 관련된 아미노산인 glutamine은 8.75-11.96 $\mu\text{g/mL}$ 의 절대 농도를 나타냈고, 단맛과 관련된 당, 당알코올에 속하는 fructose, glucose는 각각 317.24-456.65 $\mu\text{g/mL}$, 124.02-258.33 $\mu\text{g/mL}$ 의 상대적으로 높은 값의 절대 농도 범위를 나타냈다. 당알코올인 arabitol, mannitol, inositol은 각각 4.40-9.05 $\mu\text{g/mL}$, 7.07-14.85 $\mu\text{g/mL}$, 10.39-21.52 $\mu\text{g/mL}$ 의 절대 농도를 나타냈다. 이러한 결과로부터 품질지표 성분의 제품 내 규격은 다음과 같이 설정되었다. (Table 20) 유기산인 lactic acid는 50-200 $\mu\text{g/mL}$ 의 품질지표 규격을 설정하였다. 감칠맛과 관련된 아미노산인 glutamine은 5-15 $\mu\text{g/mL}$ 의 품질지표 규격으로, 단맛과 관련된 당, 당알코올에 속하는 fructose, glucose는 각각 300-500 $\mu\text{g/mL}$, 100-300 $\mu\text{g/mL}$ 의 품질지표 규격을 설정하였다. 당알코올인 arabitol, mannitol, inositol은 각각 4-10 $\mu\text{g/mL}$, 5-15 $\mu\text{g/mL}$, 5-25 $\mu\text{g/mL}$ 의 규격을 설정하였다.

Table 19. 검량선에 따른 육수풍미베이스 시료 내 품질지표 성분의 절대 농도

품질지표성분	시료($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
	sample 1	sample 2	sample 3	sample 4
Lactic acid	169.47	125.65	125.81	94.15
Glutamine	10.76	8.75	11.96	9.46
Fructose	371.54	456.65	346.97	317.24
Glucose	251.42	258.33	124.02	246.11
Arabitol	5.57	7.98	4.40	9.05
Mannitol	10.36	7.07	12.32	14.85
Inositol	12.84	10.39	13.83	21.52

Table 20. 비휘발성 품질지표 성분의 육수풍미베이스 시료 내 규격

품질지표 성분	품질지표 규격 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Lactic acid	50 - 200
Glutamine	5 - 15
Fructose	300 - 500
Glucose	100 - 300
Arabitol	4 - 10
Mannitol	5 - 15
Inositol	5 - 25

제 5 절 대사체학(Metanolomics) 기법을 이용한 천연 발효조미소재 대사체 분석 및 향미 특성 규명

1. 천연발효 향미소재와 유사 타사 제품과의 비교분석

가. 실험 재료

쌀 발효물의 휘발성 성분 분석 및 비휘발성 성분 분석을 위하여 샘플에서 제조한 쌀 발효물 샘플 2종을 사용하였으며, 각 시료에 대한 정보는 다음 Table 1과 같다.

Table 1. Fermented rice samples used in the experiment

Product name	Samples identification
TEST-1	곰팡이를 이용해 곡자를 만들어 발효한 쌀발효물
TEST-5	쌀을 발효하지 않고 증자하여 상업용 효소로 분해한 쌀발효물

TEST-1은 전통적인 방법으로 발효시킨 시료로 곡류의 주성분인 전분질은 당분으로 전환시켜 술을 제조하므로 미생물이 생성하는 효소가 필요하며 그 발효원이 누룩이다. (Lee 1986). 누룩은 원료에 부착된 미생물과 공기 중의 다양한 미생물의 집식체로서 곰팡이, 효모, 젖산균과 일반세균 등이 생육하고 있다. 이들 미생물 중 곰팡이는 당화과정에서 관여하는 amylase를 분비하여 효모는 발효제로 알코올과 CO₂를 생산하고 젖산균은 초기에 pH저하에 의한 유해균의 오염을 방지한다. (Kim, 1989).

TEST-5은 효모를 이용하여 상업적 방식으로 발효한 시료로 TEST-1과 다른점은 누룩에 포함되어 있는 다양한 효소들 중 원료의 단백질을 분해하는 효소가 있지만(Park, 1993), 상업적으로 효모를 이용한 발효에서는 특정 당 분해효소만을 사용한다.

유사 타사 제품의 휘발성 성분 분석 및 비휘발성 성분 분석을 위하여 샘플에서 제공한 경쟁사 제품 8종을 사용하였으며, 각 시료에 대한 정보는 다음 Table 2와 같다.

Table 2. Target product samples used in the experiment

Category	Product name
범용 타겟	A
	B
	C
육수용 타겟	D
	E
	F
볶음용 타겟	G
	H

나. 쌀발효물의 휘발성 향미성분 분석

① 휘발성 성분 추출

㊦ Solid Phase Microextraction (SPME)

SPME 추출법은 분석물질을 일정한 온도에서 유지시켜 휘발성 성분을 headspace로 이동시키고 이를 polymer로 코팅된 fiber에 흡착시켜서 추출하는 방법으로 휘발성이 비교적으로 강한 성분 분석에 유리하다. 또한 용매를 쓰지 않으며 적은 양의 시료로도 분석이 가능하고, 비교적 빠르고 간단히 분석이 가능하다는 장점을 지니고 있다 (Lee et al., 1999). 본 연구에서는 SPME 추출법을 이용하여 각 시료들의 휘발성 향미성분을 추출하고자 하였다 (Fig. 1).

쌀발효물 시료 내 휘발성 향미성분들을 흡착시키기 위해 다양한 범위의 물질을 흡착할 수 있는 Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA)가 사용되었다. 20mL의 갈색 vial에 쌀발효물 시료 10g을 담아 50°C에서 250 rpm으로 25분 동안 평형상태를 유지시킨 다음 SPME fiber 2 mm를 노출시켜 5분 동안 휘발성 성분을 흡착하였다. 휘발성 성분의 탈착은 GC-MS 주입구 (250°C)에서 5분간 수행하였으며 모든 분석을 2번 반복적으로 수행하였으며, 분리능을 위해 Cryo Trapping 과정을 진행하였다 (Fig. 2).

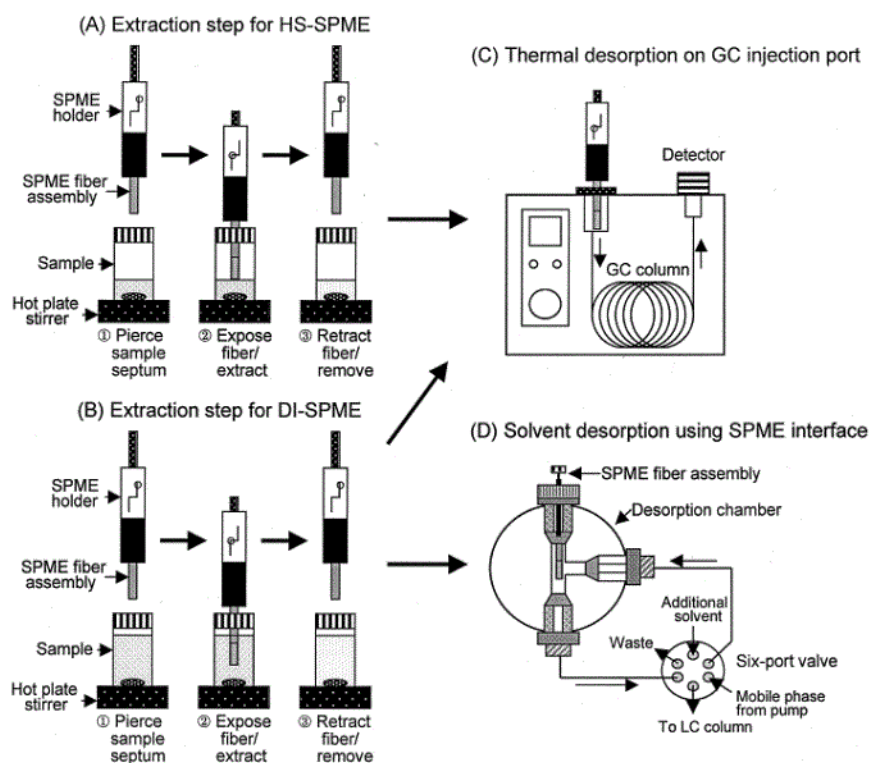


Fig. 1. Applications of solid-phase microextraction in food analysis (Kataoka et al., 2000).

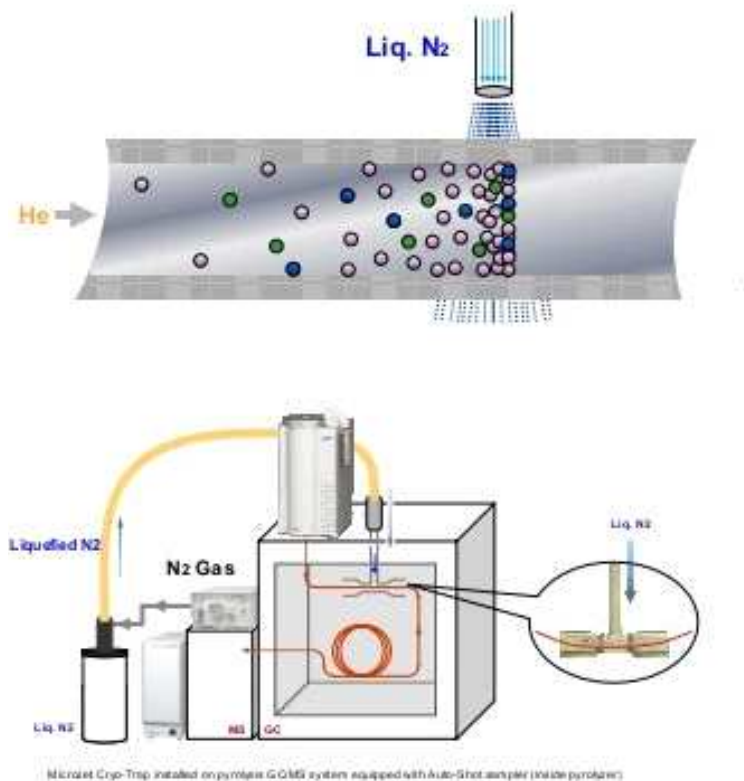


Fig. 2. Cryo trapping principle

㊤ GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

SPME를 사용하여 추출한 쌀발효물의 휘발성 향미 성분은 HP 7890A gas chromatograph에 연결된 5975C mass detector (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였으며, column은 HP-innowax (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25 μ m film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. GC oven 온도는 40 $^{\circ}$ C 에서 5분간 유지시키고 150 $^{\circ}$ C까지 분당 2 $^{\circ}$ C씩 올린 후 220 $^{\circ}$ C까지 분당 6 $^{\circ}$ C씩 올린 후 5분간 유지시켰다. Injector와 Detector transfer line의 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C와 280 $^{\circ}$ C, mass scan range는 35-350 a.m.u.이었으며 mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 splitless mode로 분석하였다.

㊤ 휘발성분의 정성 및 정량

쌀발효물의 휘발성 성분들의 동정은 non-targeted analysis를 위하여 MSD ChemStation (Agilent Technologies)을 이용해 이루어졌다. 휘발성 향미성분의 동정은 mass spectral database (Wiley9n.1) 및 manual interpretation에 의해 이루어졌으며 분석 조건으로 RTE Integrator Parameters는 data filtering은 5-point, start threshold는 0.05, stop threshold는 0으로 하였다. 각 peak의 area는 GC-MS total ion chromatogram상에서 얻은 전체 peak area의 합으로 나눈 값을 사용하였다.

다. 유사 타사 제품의 휘발성 향미성분 분석

① 휘발성 성분 추출

㉞ Solid Phase Microextraction (SPME)

유사 타사 제품의 향미성분을 흡착하기 위해 다양한 범위의 물질을 흡착할 수 있는 Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber (Supelco)를 사용하였다. 20ml amber vial에 각각의 시료를 3차 증류수로 4배 희석한 후, 20mL의 갈색 vial에 희석 시료 3g을 담아, 시료를 40°C에서 250rpm으로 30분동안 평형상태를 유지시킨 다음, SPME fiber 2mm를 노출시켜 30분동안 휘발성 성분을 흡착하였다. GC-MS 주입구(250°C)에서 5분간 탈착하였으며 모든 분석을 2번 반복 수행하였다.

㉞ GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

SPME를 사용하여 추출한 유사 타사 제품의 향미성분은 HP 7890A gas chromatograph에 연결된 5975C mass detector (Agilent Technologies)로 분석하였으며, column은 HP-innowax (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25µm film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C 에서 6분간 유지시키고 200°C까지 분당 4°C씩 올린 후 5분간 유지시켰다. Injector 와 Detector transfer line의 온도는 각각 250°C와 280°C, Mass scan range는 35-350 a.m.u.이였으며 mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 splitless mode로 분석하였다.

㉞ 휘발성분의 정성 및 정량

유사 타사 제품의 휘발성 성분들의 동정은 non-targeted analysis를 위하여 MSD ChemStation (Agilent Technologies)을 이용해 이루어졌다. 휘발성 향미성분의 동정은 mass spectral database (Wiley9n.l) 및 manual interpretation에 의해 이루어졌으며 분석 조건으로 RTE Integrator Parameters는 data filtering은 5-point, start threshold는 0.05, stop threshold는 0으로 하였다. 각 peak의 area는 GC-MS total ion chromatogram상에서 얻은 전체 peak area의 합으로 나눈 값을 사용하였다.

라. 쌀발효물의 비휘발성 성분 분석

① 비휘발성 당, 유기산 및 유리아미노산 추출

쌀발효물의 비휘발성 성분 추출을 위해 쌀발효물 샘플 1g에 methanol (J. T. Baker., Phillipsburg, NJ, USA) 80% 용액 20mL를 ultrasonicator (Branson, Danbury, CT, USA)를 이용하여 70°C에서 25분간 sonication 하였다. 그리고 상온에서 30분간 보관 후, chloroform (J. T. Baker.) 2mL를 넣은 후 앞의 방법과 같은 방법으로 20분간 sonication 하였다. 그 후 4°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리 (UNION 32R plus)한 다음 상층액 100µL과 1.5 mL

Eppendorf tube에 넣고 당을 분석하기 위한 내부표준물질 L-threitol 100ppm 10 μ L, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid 100ppm 10 μ L, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 10 μ L을 centri-vap (Labconco. Kansas City, MO, USA)에서 하루동안 완전히 건조시켰다.

쌀발효물의 비휘발성 성분의 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 유도체화 하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 50 μ L 를 넣고 centri vap (Labconco.)에서 30 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA [N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco] 90 μ L를 넣고 30분간 70 $^{\circ}$ C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μ L를 주입하였다.

② GC-TOF-MS를 이용한 비휘발성 성분 분석

유도체화 시킨 쌀발효물의 비휘발성 성분은 Agilent 6890N gas chromatograph-time-of-flight (TOF) Pegasus III mass spectrometer (LECO, St. Joseph, MI, USA)로 분석하였으며 column은 DB-5MS (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25 μ m film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Helium 0.8 mL/min을 유지하고 splitless mode로 설정하였으며 oven의 온도는 80 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지 후 180 $^{\circ}$ C 까지 분당 10 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 5분간 유지하였다. 그 후 240 $^{\circ}$ C 까지 분당 5 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 5분간 유지 후 280 $^{\circ}$ C 까지 분당 10 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 10분간 유지하였다 Injector와 transfer line의 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C, 280 $^{\circ}$ C이었으며 acquisition rate는 20 spectra/sec, mass scan range는 35-350 a.m.u.로 분석하였다.

③ 비휘발성 유기산 및 당류의 정성 및 정량

GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 쌀발효물의 당, 유기산 및 유리아미노산은 Chroma TOF에 의해 deconvolution 되어 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여 동정하였다. 또한 비휘발성 성분의 정량은 각 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 값을 사용하였다.

마. 유사 타사 제품의 비휘발성 성분 분석

① 비휘발성 당, 유기산 및 유리아미노산 추출

유사 타사 제품의 비휘발성 성분 추출을 위해 쌀발효물 샘플 1g에 methanol (J. T. Baker) 80% 용액 20mL를 ultrasonicator (Branson)를 이용하여 70 $^{\circ}$ C에서 25분간 sonication 하였다. 그리고 상온에서 30분간 보관 후, chloroform (J. T. Baker.) 2mL를 넣은 후 앞의 방법과 같은 방법으로 20분간 sonication 하였다. 그 후 4 $^{\circ}$ C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리 (UNION 32R plus)한 다음 상층액 100 μ L과 1.5 mL Eppendorf tube 에 넣고 당을 분석하기 위한 내부

표준물질 L-threitol 100ppm 10 μ L, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid 100ppm 10 μ L, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 10 μ L을 centri-vap (Labconco.)에서 하루동안 완전히 건조시켰다.

쌀발효물의 비휘발성 성분의 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 유도체화 하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 50 μ L 를 넣고 centri vap (Labconco.)에서 30 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA [N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco] 90 μ L를 넣고 30분간 70 $^{\circ}$ C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μ L를 주입하였다. 쌀발효물의 비휘발성 성분 추출을 위해 쌀발효물 샘플 1g에 methanol (J. T. Baker) 80% 용액 20mL를 ultrasonicator (Branson)를 이용하여 70 $^{\circ}$ C에서 25분간 sonication 하였다. 그리고 상온에서 30분간 보관 후, chloroform (J. T. Baker) 2mL를 넣은 후 앞의 방법과 같은 방법으로 20분간 sonication 하였다. 그 후 4 $^{\circ}$ C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리 (UNION 32R plus)한 다음 상층액 100 μ L과 1.5 mL Eppendorf tube에 넣고 당을 분석하기 위한 내부표준물질 L-threitol 100ppm 10 μ L, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid 100ppm 10 μ L, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 10 μ L을 centri-vap (Labconco.)에서 하루동안 완전히 건조시켰다.

쌀발효물의 비휘발성 성분의 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 유도체화 하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 50 μ L 를 넣고 centri vap (Labconco.)에서 30 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA [N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco] 90 μ L를 넣고 30분간 70 $^{\circ}$ C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μ L를 주입하였다.

② GC-TOF-MS를 이용한 비휘발성 성분 분석

유도체화 시킨 유사 타사 제품의 비휘발성 성분은 Agilent 6890N gas chromatograph-time-of-flight (TOF) Pegasus III mass spectrometer (Leco)로 분석하였으며 column은 DB-5MS (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25 μ m film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Helium 0.8 mL/min을 유지하고 splitless mode로 설정하였으며 oven의 온도는 80 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지 후 180 $^{\circ}$ C 까지 분당 10 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 5분간 유지하였다. 그 후 240 $^{\circ}$ C 까지 분당 5 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 5분간 유지 후 280 $^{\circ}$ C 까지 분당 10 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 10분간 유지하였다 Injector와 transfer line의 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C, 280 $^{\circ}$ C이었으며 acquisition rate는 20 spectra/sec, mass scan range는 35-350 a.m.u.로 분석하였다.

③ 비휘발성 유기산 및 당류의 정성 및 정량

GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 유사 타사 제품의 당, 유기산 및 유리아미노산은 Chroma TOF에 의해 deconvolution 되어 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여

동정하였다. 또한 휘발성 성분의 정량은 각 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나누는 값을 사용하였다.

바. 분석 결과 및 고찰

① 쌀발효물의 휘발성 성분 분석

㉞ 휘발성 성분의 정성 및 정량

쌀발효물 휘발성 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌고 GC-MS를 통해 분석되었다. 이에 따른 크로마토그램 결과는 Fig. 3에 나타내었고, Table 3는 쌀발효물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분들을 나타낸 것이고, Table 4은 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이다.

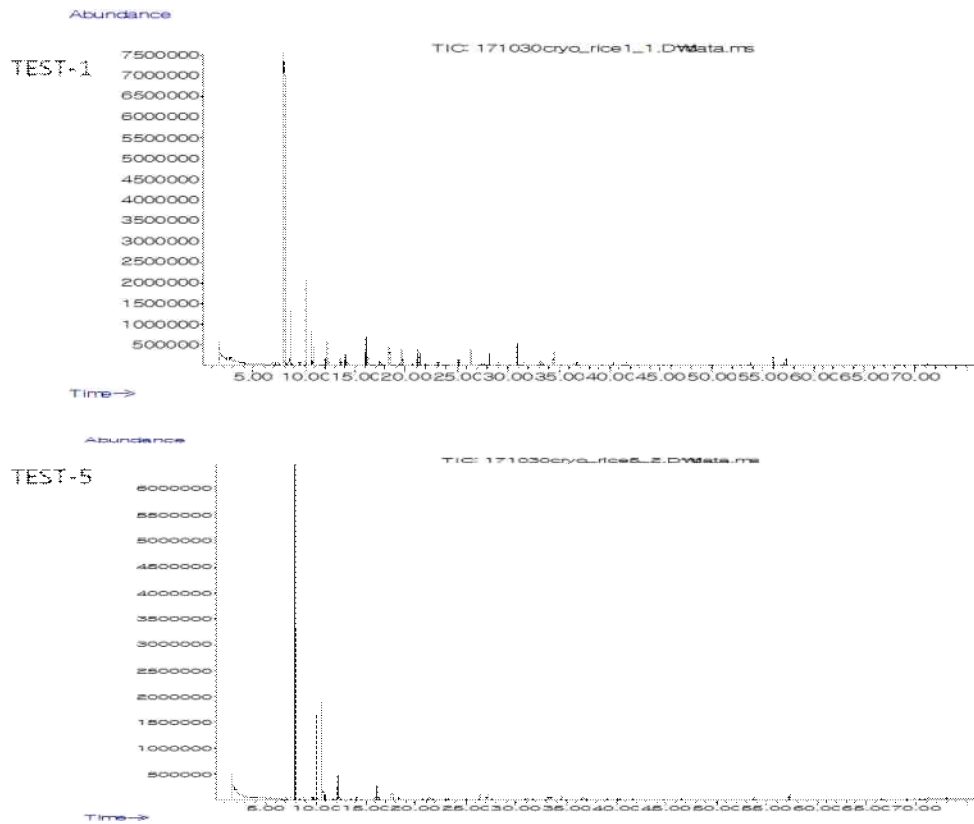


Fig. 3. GC-MS total ion chromatograms of volatile compounds in fermented rice samples.

Table 3. Volatile compounds identified in fermented rice samples using GC-MS

No.	RI ¹⁾	possible volatile compounds	CAS #	2)relative peak area (%)		ID ³⁾
				TEST1	TEST5	
acids						
1	1464	acetic acid	000064-19-7	0.955	1.141	MS/RI
2	>190 0	benzoic acid	000065-85-0	0.263	-	MS/RI
aldehydes						
3	808	(E)-but-2-enal	000123-73-9	-	0.112	MS
4	907	2-methylbutanal	000096-17-3	2.413	-	MS/RI
5	918	3-methylbutanal	000590-86-3	6.804	-	MS/RI
6	959	(E)-2-methylbut-2-enal	001115-11-3	-	0.170	MS/RI
7	1080	hexanal	000066-25-1	4.406	13.093	MS/RI
8	1284	octanal	000124-13-0	-	1.991	MS/RI
9	1317	(E)-hept-2-enal	018829-55-5	0.862	1.098	MS/RI
10	1388	nonanal	000124-19-6	1.076	4.840	MS/RI
11	1421	(E)-oct-2-enal	002363-89-5	1.249	-	
12	1514	benzaldehyde	000100-52-7	5.347	3.809	MS/RI
13	1720	3-methylthiophene-2-carbaldehyde	999030-41-4	0.022	-	MS
esters						
15	990	dimethyl carbonate	000616-38-6	-	2.065	MS
16	1071	butyl acetate	000123-86-4	-	0.226	MS
17	1867	3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate	074367-34-3	0.244	0.826	MS/RI

18	>1900	[2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate	006846-50-0	0.870	4.236	MS
19	>1900	2,3-di(octanoyloxy)propyl octanoate	000538-23-8	0.059	-	MS
20	>1900	diethyl benzene-1,2-dicarboxylate	000084-66-2	0.085	-	MS/RI
21	>1900	bis(2-methoxyethyl) benzene-1,2-dicarboxylate	000117-82-8	-	0.261	MS
22	>1900	dibutyl benzene-1,2-dicarboxylate	000084-74-2	0.171	-	MS
furan						
23	1227	2-pentylfuran	003777-69-3	4.654	2.455	MS/RI
lactones						
24	1758	4-methyl-4-vinyl- γ -butyrolactone	001073-11-6	0.048	0.292	MS/RI
phenol						
25	>1900	2,6- <i>ditert</i> -butyl-4-methylphenol	000128-37-0	1.198	-	MS/RI
26	>1900	4-butan-2-yl-2,6- <i>ditert</i> -butylphenol	017540-75-9	1.192	-	MS
27	>1900	phenol	000108-95-2	0.043	-	MS/RI
28	>1900	2,6- <i>ditert</i> -butyl-4-methylphenol	000128-37-0	0.096	-	MS/RI
29	>1900	4-ethenyl-2-methoxyphenol	007786-61-0	0.053	0.252	MS/RI
30	>1900	4-ethenylphenol	999025-63-4	-	0.318	MS
alcohol						
31	949	ethanol	000064-17-5	0.541	1.481	MS/RI
32	1106	3-methyl-2-propyl-1-pentanol	054004-40-9	0.050	-	MS
33	1145	butan-1-ol	000071-36-3	0.190	0.777	MS/RI
34	1208	3-methylbutan-1-ol	999006-35-5	1.303	-	MS
35	1249	pentan-1-ol	000071-41-0	-	0.555	MS
36	1398	2-butoxyethanol	000111-76-2	-	0.383	MS

37	1452	oct-1-en-3-ol	003391-86-4	6.714	1.031	MS
38	1455	heptan-1-ol	000111-70-6	0.650	0.752	MS/RI
39	1491	2-ethylhexan-1-ol	000104-76-7	1.267	2.919	MS/RI
40	1559	octan-1-ol	000111-87-5	0.613	1.827	MS/RI
41	1879	phenylmethanol	000100-51-6	0.117	0.991	MS/RI
hydrocarbons						
42	<600	hexane	000110-54-3	0.297	0.453	MS
43	671	hept-1-ene	000592-76-7	-	0.155	MS
44	767	octane	000111-65-9	0.304	0.665	MS
45	821	oct-1-ene	000111-66-0	0.147	0.397	MS
46	894	nonane	000111-84-2	0.271	0.508	MS
47	946	(3E)-octa-1,3-diene	001002-33-1	0.201	-	MS
48	995	decane	000124-18-5	0.225	0.603	MS
49	1006	2,3,8-trimethyldecane	062238-14-6	0.334	-	MS
50	1053	3-methylpentane	000096-14-0	0.062	-	MS
51	1066	butylcyclohexane	001678-93-9	-	0.418	MS
52	1075	3,7-dimethylundecane	017301-29-0	-	0.352	MS
53	1086	undecane	001120-21-4	0.394	1.092	MS/RI
54	1189	dodecane	000112-40-3	0.429	0.965	MS
55	1239	2,6,10-trimethyldodecane	003891-98-3	0.189	-	MS
56	1292	tridecane	000629-50-5	0.653	0.995	MS
57	1393	tetradecane	000629-59-4	0.549	0.975	MS
58	1405	non-4-yne	020184-91-2	3.653	-	MS
59	1494	pentadecane	000629-62-9	0.682	-	MS

60	1497	1-nitrohexane	000646-14-0	-	2.556	MS
benzenes and benzene derivatives						
61	930	benzene	000071-43-2	0.222	0.579	MS/RI
62	1034	toluene	000108-88-3	3.035	3.995	MS/RI
63	1120	ethylbenzene	000100-41-4	1.292	1.296	MS/RI
64	1127	1,4-xylene	000106-42-3	-	1.135	MS/RI
65	1127	1,3-xylene	000108-38-3	1.227	2.418	MS/RI
66	1133	1,2-xylene	000095-47-6	2.088	-	MS/RI
67	1176	xylene	001330-20-7	-	2.129	MS
68	1214	1-ethyl-4-methylbenzene	000622-96-8	0.211	0.137	MS
69	1217	1-ethyl-3-methylbenzene	000620-14-4	0.201	-	MS/RI
70	1234	1,2,4-trimethylbenzene	000095-63-6	0.139	0.367	MS/RI
71	1251	styrene	000100-42-5	5.191	0.599	MS/RI
72	1271	1,2,3-trimethylbenzene	000526-73-8	0.555	0.836	MS/RI
73	>1900	1-methyl-2-phenylbenzene	000643-58-3	0.047	-	MS
74	>1900	1-methyl-4-phenylbenzene	000644-08-6	0.016	-	MS
ketones						
75	988	hexan-2-one	000591-78-6	0.298		MS/RI
76	1123	1-(cyclohexen-1-yl)ethanone	000932-66-1	-	0.148	MS
77	1177	heptan-2-one	000110-43-0	3.979	-	MS/RI
78	1180	5-(3-aminopropyl)-5,10-dihydro-11H-dibenzo[b,e] [1,4] diazepin-11-on	013450-73-2	4.844	-	MS
79	1232	6-methylheptan-2-one	000928-68-7	0.105	-	MS

80	1334	6-methylhept-5-en-2-one	000110-93-0	0.439	0.336	MS
81	1400	(E)-oct-3-en-2-one	018402-82-9	0.162	-	MS
82	1641	1-(1,3-thiazol-2-yl)ethanone	024295-03-2	1.258	-	MS/RI
83	1717	oxolan-2-one	000096-48-0	-	1.405	MS
84	1740	1-phenylethanone	000098-86-2	-	0.483	MS
85	>1900	1-(4-ethylphenyl)ethanone	000937-30-4	0.102	-	MS
86	>1900	diphenylmethanone	000119-61-9	0.068	-	MS
terpenes						
87	1186	limonene	000138-86-3	0.185	0.464	MS/RI
88	1195	cineole	000470-82-6	0.141	0.520	MS/RI
pyrazines						
89	1259	2-methylpyrazine	000109-08-0	0.090	-	MS/RI
90	1314	2,5-dimethylpyrazine	000123-32-0	0.351	-	MS/RI
pyridine						
91	1283	3-methylpyridine	000108-99-6	5.507	-	MS/RI
sulfur-containing compounds						
92	1608	7-[(4'-formphenyl)ethynyl]-10-methyl-10H-phenothiazine	999556-92-8	0.083	0.044	MS
93	>1900	1,3-benzothiazole	000095-16-9	1.206	7.726	MS/RI
indole						
94	>1900	1H-indole	000120-72-9	-	1.169	MS/RI
amines						
95	1212	N-[1-(2-aminophenyl)ethylidene]hydroxylamine	999065-64-7	1.040	4.886	MS
96	1617	ethenamine	004549-40-0	1.387	-	MS

Table 4. Flavor descriptions of volatile compounds in fermented rice samples

No.	possible volatile compounds	flavor discription
acids		
1	acetic acid	pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste
2	benzoic acid	very weak, balsamic odor and burning taste
aldehydes		
3	(E)-but-2-enal	sharp warm spicy odor
4	2-methylbutanal	strong, cocoa-like, malty, fermented odor
5	3-methylbutanal	pungent, cocoa, green fruity odor; cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution
6	hexanal	strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor
7	octanal	fatty-fruity odor; sweet, citrus-orange-fatty taste
8	(E)-hept-2-enal	intense green, fatty, sweet, fresh fruity apple skin nuances at 4 ppm
9	nonanal	fresh, citrus, floral, green note
10	(E)-oct-2-enal	fatty, green vegetable odor; fatty-green vegetable, melon, citrus taste
11	benzaldehyde	bitter almond, sweet cherry taste
esters		
12	dimethyl carbonate	ethereal, mild acetone like odor
13	butyl acetate	strong, sweet, fruity; banana, pear, pineapple notes
furan derivates		
14	2-pentylfuran	earthy, green, beany with vegetable & fruity notes
lactones		
15	4-methyl-4-vinyl- γ -butyrolactone	weak, floral, fruity with peppermint connotation
phenols		
16	2,6- <i>ditert</i> -butyl-4-methylphenol	antioxidant for flavor oils - See comments

17	phenol	phenolic medicinal odor and taste
18	4-ethenyl-2-methoxyphenol	sweet, spicy, clove-like, somewhat smoky odor; sweet taste
alcohols		
19	ethanol	sweet, ethereal (alcoholic) odor; primarily used as a solvent
20	butan-1-ol	winey, fusel oil-like
21	3-methylbutan-1-ol	alcoholic whiskey
22	pentan-1-ol	alcoholic-breathtaking, fusel-like odor with a burning taste
23	2-butoxyethanol	weak oily, pleasant ethereal, alcoholic, somewhat fruity
24	oct-1-en-3-ol	very strong, sweet, earthy mushroom odor and taste
25	2-ethylhexan-1-ol	sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste
26	octan-1-ol	orange-rose, waxy, sweet odor; waxy, green, citrus taste
27	phenylmethanol	faint, sweet, almond fruity aroma, sweet, but somewhat chemical taste
hydrocarbons		
28	nonane	hydrocarbon odor (gasoline-like)
29	decane	hydrocarbon odor (gasoline-like)
30	undecane	gassy, hydrocarbon odor
31	dodecane	sweet hydrocarbon like; weak
32	tridecane	hydrocarbon odor
33	tetradecane	mild hydrocarbon odor
34	pentadecane	mild waxy, hydrocarbon odor
35	oct-1-ene	hydrocarbon, gassy (gasoline) notes
36	octane	hydrocarbon odor (gasoline-like)
benzenes and benzene derivatives		
37	styrene	characteristic resinous-balsamic pungent gassy-plastic odor
38	1-methyl-4-phenylbenzene	grape and fig-like at 10 ppm in sugar syrup; see comments
ketones		
39	hexan-2-one	fruity, ketonic, yeasty, blue-cheese, dairy notes
40	heptan-2-one	fruity, cheese, cinnamon odor; in dilution- blue cheese-coconut-fruity
41	6-methylheptan-2-one	herbaceous, ketonic, spicy-herbal and minty notes

42	6-methylhept-5-en-2-one	mild, green fruity aspects
43	oxolan-2-one	weak, slightly caramellic, nutty, buttery odor
44	1-phenylethanone	sweet, pungent, harsh, cherry-like odor and taste
45	1-(1,3-thiazol-2-yl)ethanone	nutty, popcorn, bread, toasted cereal notes
46	1-(4-ethylphenyl)ethanone	sweet, warm, somewhat pungent-floral odor with a herbaceous-balsamic note
47	diphenylmethanone	rose-like, geranium-like odor
	terpenes	
48	limonene	hydrocarbon citrus-turpentine note; often harsh
49	cineole	strong, camphoraceous, cool, fresh odor
	pyrazines	
50	2-methylpyrazine	green, nutty, cocoa, musty, potato, fishy-ammoniacal notes
51	2,5-dimethylpyrazine	chocolate, roasted nuts, earthy; chocolate taste
	pyridine	
52	3-methylpyridine	green earthy with hazelnut notes on dilution; somewhat tobacco
	sulfur containing compounds	
53	1,3-benzothiazole	burnt, sulfuraceous, vegetative, cooked, beefy and coffee-like
	indole	
54	1H-indole	erogenic floral animalic odor and taste in dilution; cheese notes

*Reference: "1-flavor-base 2010" software

1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

2) Average of peak area of individual compound divided by total peak area detected.

3) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database

SPME 추출법을 이용하여 분석한 쌀발효물의 휘발성 향미성분을 분류하면 acid 류 2개, aldehyde류 12개, ester류 8개, furan류 1개, lactone류 1개, phenol류 6개, alcohol류 11개, hydrocarbon류 19개, benzene류 14개, ketone류 12개, terpene류 2개, pyrazine류 2개, pyridine류 1개, sulfur 함유향미성분 2개, indole류 1개, amine 류 2개 등으로 총 96개의 성분이 동정되었다.

Acid류는 acetic acid, benzoic acid가 검출되었으며 이 중 benzoic acid는 TEST-5에서는 발견되지 않고, TEST-1에서만 검출되었다.

Aldehydes류의 경우에는 (E)-but-2-enal, 2-methylbutanal, 3-Methylbutanal, (E)-2-methylbut-2-enal, hexanal, octanal, (E)-hept-2-enal, nonanal, (E)-oct-2-enal, benzaldehyde, 3-methylthiophene-2-carbaldehyde, terephthalaldehyde 가 검출 되었으며, hexanal, (E)-hept-2-enal, nonanal, benzaldehyde가 두 시료에서 공통적으로 검출되었다.

2-methylbutanal과 3-methylbutanal은 TEST-1에서만 검출되는 경향을 보인다. 2-methylbutanal과 3-methylbutanal은 isoleucine과 leucine이 Maillard 반응에서 Strecker 반응산물로 생성되는 것으로서 (Mario Estévez et al., 2011) (Fig. 4), 2-methylbutanal는 strong, cocoa-like, malty, fermented odor, 3-methylbutanal은 cocoa, green fruity odor, cheesy-sweet-cocoa fruity 한 향미특성을 띈다.

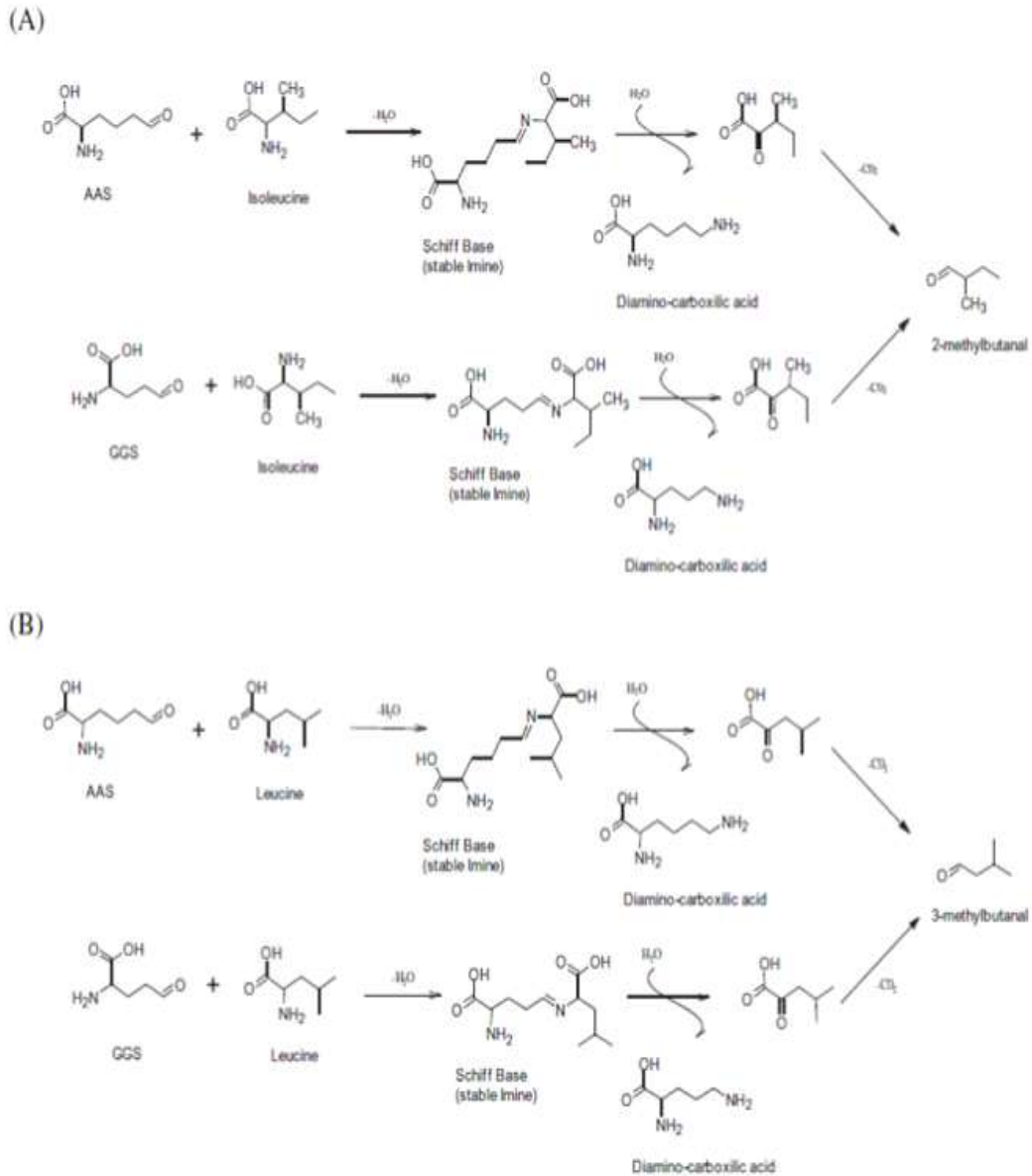


Fig. 4. Strecker reaction in (A)leucine and (B)isoleucin (Mario Estévez et al., 2011).

Hexanal은 TEST-5에서 특히 많이 검출되었다. hexanal은 주로 불포화지방산인 linoleic acid로부터 생성된다 (Luciano do N. Batista, 2015). hexanal은 green, grassy unripe fruit odor 향미특성에 기여하는 성분으로 TEST-5의 향기성분 중 13%를 차지함으로써, 가장 높은 비중을 지니고 있다는 것을 확인할 수 있었다. Nonanal은 TEST-5에서 더 많은 양이 검출되었으며, nonanal은 주로 oleic acid가 분해되면서 생성되는 것으로 알려져 있으며, 이에 대한 생성과정은 Fig. 5에 나타내었다 (Tolibjon S. Omonov et al., 2014).

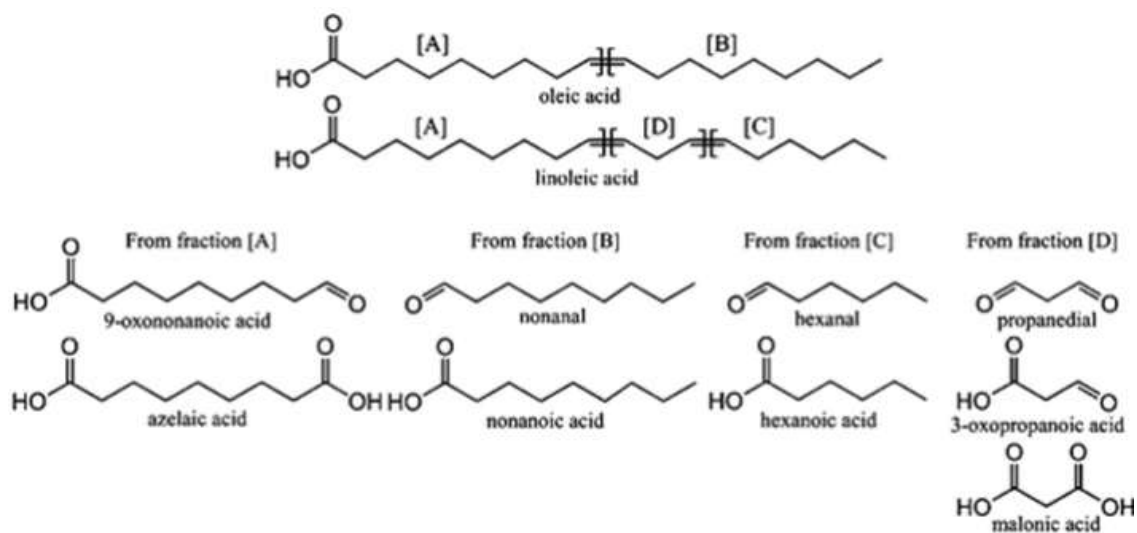


Fig. 5. Oleic, linoleic acid structure and expected products of the oxidative cleavage of the double bonds (Tolibjon S. Omonov et al., 2014).

Benzaldehyde는 bitter almond, cherry-like 특성을 지니는 성분으로 TEST-1과 TEST-5의 aldehyde류 부분에서 상당한 양을 차지하는 성분이다. 이는 phenylalanine의 Strecker degradation에 의해 생성되며, phenylalanine의 효소적, 비효소적 과정에 의해 얻어진 phenylalanine degradation의 부산물인 phenylacetaldehyde가 benzaldehyde로 전환될 수 있다 (Adamiec et al., 2001) (Fig. 6).

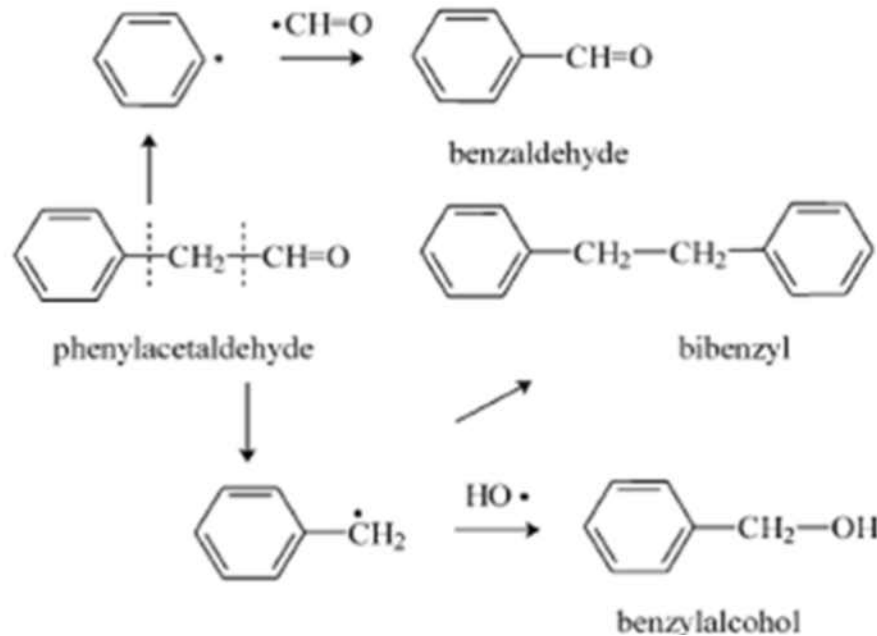


Fig. 6. Pathway leading to the formation of benzaldehyde (Adamicc et al., 2001).

Ester류는 전반적으로 TEST-5에서 비교적 더 많은 양이 검출되었는데, dimethyl carbonate, butyl acetate, [2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate, 2,3-di(octanoyloxy)propyl octanoate, diethyl benzene-1,2-dicarboxylate, bis(2-methoxyethyl) benzene-1,2-dicarboxylate, dibutyl benzene-1,2-dicarboxylate, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate가 검출되었다. esters류는 sweet, fruity, floral 한 향을 가지며, 이러한 esters는 쌀이 발효하는 동안 acetyl-CoA와 alcohol을 이용하여 alcohol acetyltransferase에 의해 미생물이 합성하거나 (Feng Chen, 2003), 화학적 혹은 효소적 반응에 의해 발생하는 alcohols와 지방산의 esterification을 통해 형성된다. (Ansorena et. al., 2001).

Furan류는 2-pentylfuran이 발견되었으며, 지방분해 산물인 2-pentylfuran은 linoleic acid의 singlet oxygen oxidation 반응으로 생성되며 (D.B. MIN et al., 2003) (Fig. 7), 기타 가열반응에 의해서도 생성된다. 이 성분은 TEST-5보다 TEST-1에서 더 많이 검출되었다. Lactone류는 lavender lactone이라고도 불리는 4-methyl-4-vinyl-gamma-butyrolactone이 검출되었는데 Weak, floral, fruity with peppermint connotation 향미를 띤다. 이러한 lactones류는 미생물에 의해 아미노산으로부터 형성될 수 있고, 형성경로는 다음의 Fig. 8과 같다. 또한, 지방의 산화과정 중 aldehydes류가 산화되면서 생성될 수 있다.

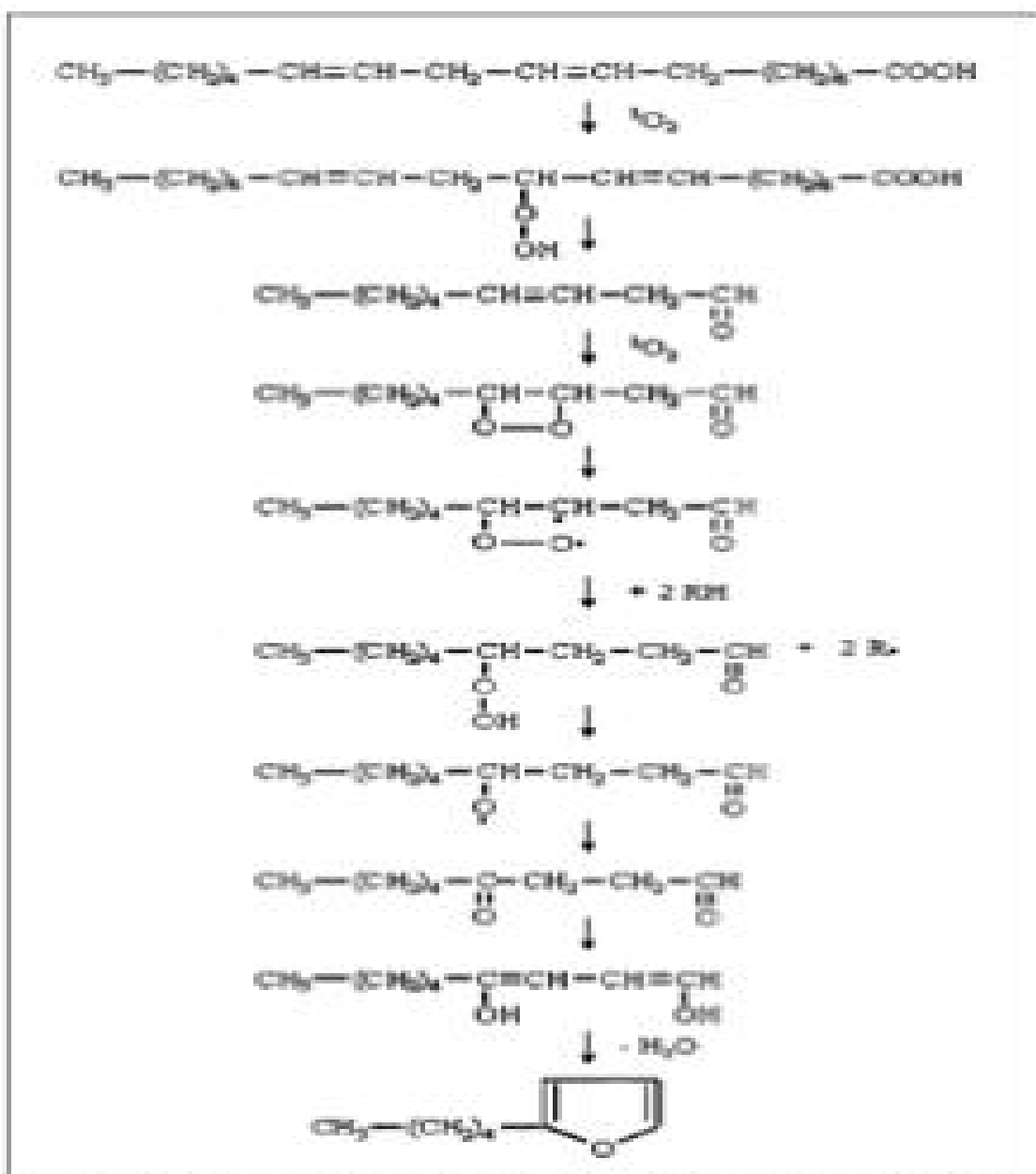


Fig. 7. Formation of pentylfuran from linoleic acid by singlet oxygen (D.B. Min et al., 2003).

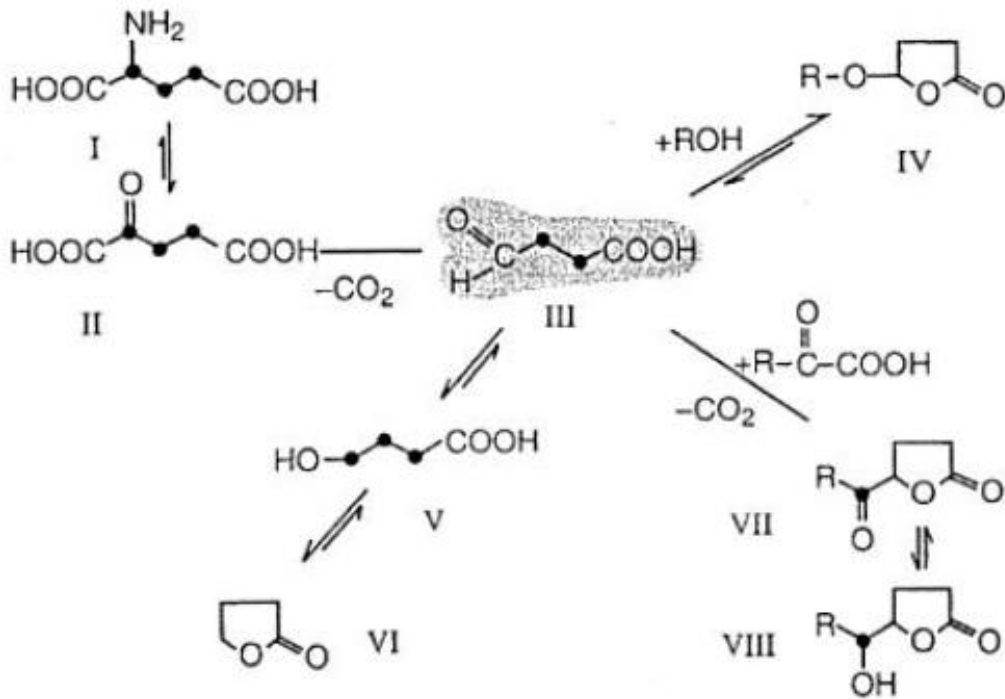


Fig. 8. Formation of lactones by microorganisms (Tressel, R et al., 1978).

Phenol류로는 2,6-*ditert*-butyl-4-methylphenol, 4-butan-2-yl-2,6-*ditert*-butylphenol, phenol, 2,6-*ditert*-butyl-4-methylphenol, 4-ethenyl-2-methoxyphenol 가 검출 되었는데, 이 중 TEST-5에서 4-ethenyl-2-methoxyphenol의 phenol류만 검출되었으며, 이는 spicy, clove-like, smoky odor를 띄는 성분이다. 이러한 volatile phenols류는 주로 식물의 세포벽이 분해되면서 생성되거나 (Randhir, R.; Shetty, K., 2005), phenylalanine과 같은 aromatic amino acids의 분해로 인해 생성될 수 있다, 이에 대한 생성경로는 아래 Fig. 9와 같다.

Alcohol류로는 ethanol, 3-Methyl-2-propyl-1-pentanol, butan-1-ol, 3-methylbutan-1-ol, pentan-1-ol, 2-Butoxyethanol, oct-1-en-3-ol, heptan-1-ol, 2-ethylhexan-1-ol, octan-1-ol, phenylmethanol이 검출 되었고 TEST-1에서 6.714의 값을 띄는 oct-1-en-3-ol을 제외하고는 거의 비슷한 값을 갖는다. Oct-1-en-3-ol은 earthy, mushroom한 향미를 가지고 있으며, linoleic acid가 효소에 의해 분해되고, 산화되며 생성된다 (Fig. 10).

Hydrocarbone류로는 hexane, nonane, decane, 3-methylpentane, butylcyclohexane, undecane, dodecane, 2,6,10-trimethyldodecane, tridecane, tetradecane, pentadecane, 1-nitrohexane, hept-1-ene, oct-1-ene, (3E)-octa-1,3-diene, octane, 2,3,8-trimethyldecane, 3,7-dimethylundecane, non-4-yne이 검출되었다.

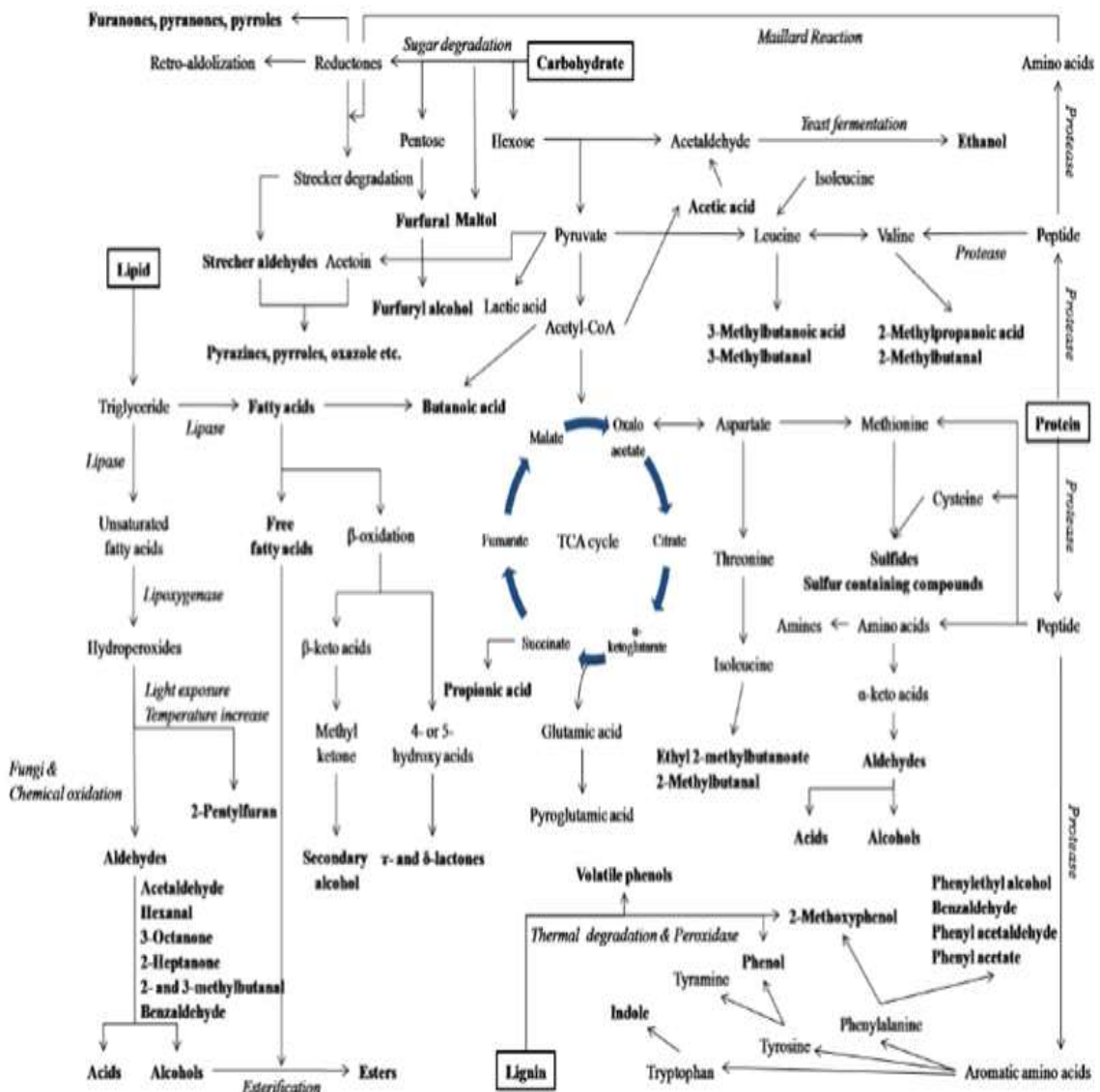


Fig. 9. General scheme of major flavor formation in *Doenjang* (Y. J. Jo et al., 2011).

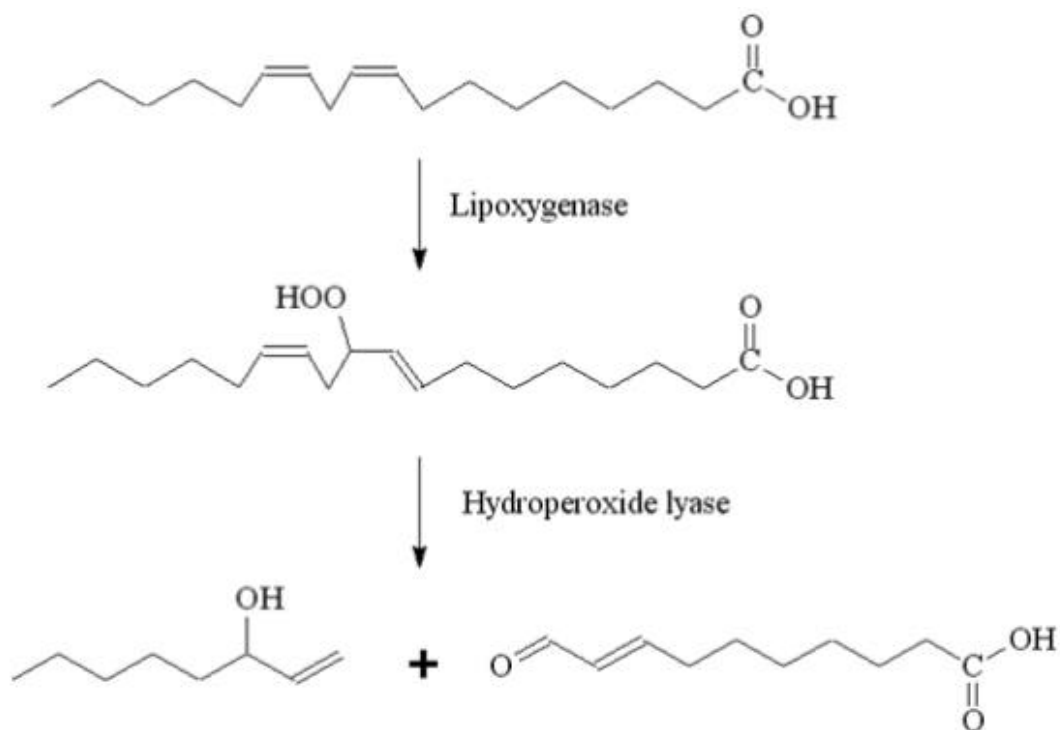


Fig. 10. Formation of 1-octen-3-ol by oxidation and degradation products of linoleic acid (M. Wurzenberger et al., 1984).

Benzene류로는 benzene, toluene, ethylbenzene, 1,4-xylene, 1,3-xylene, 1,2-xylene, xylene, 1-ethyl-4-methylbenzene, 1-ethyl-3-methylbenzene, 1,2,4-trimethylbenzene, styrene, 1,2,3-trimethylbenzene, 1-methyl-2-phenylbenzene, 1-methyl-4-phenylbenzene이 검출되었다. TEST-1에서는 1,2-xylene이 가장 높게 검출되었고, TEST-5에서는 1,3-xylene이 가장 높게 검출되었다. Benzene 및 benzene derivatives류에서는 plastic-like한 향미를 가져 쌀발효물의 부정적 향미성분으로 작용할 것으로 보인다.

Ketone류는 hexan-2-one, 1-(cyclohexen-1-yl)ethanone, heptan-2-one, 6-methylheptan-2-one, 6-methylhept-5-en-2-one, (E)-oct-3-en-2-one, oxolan-2-one, 1-phenylethanone, 1-(1,3-thiazol-2-yl)ethanone, 1-(4-ethylphenyl)ethanone, diphenylmethanone, 5-(3-aminopropyl)-5,10-dihydro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on이 검출되었다. Ketones류는 주로 lipid oxidation과 free fatty acids의 β -oxidation에 의해 생성된다 (Feng Chen. 2003). 전반적으로 TEST-1에서 다량의 ketone이 검출되었으며 큰 비중을 차지한 heptan-2-one은 fruity, cheese, cinnamon odor, blue cheese-coconut-fruity한 향을 띤다.

Terpenes류로는 -limonene과 cineole으로 두 종류가 검출되었는데, 전반적으로 TEST-5에서 더 높은 양의 terpene류를 가지는 것을 확인할 수 있다.

Pyrazine류는 2-methylpyrazine, 2,5-dimethylpyrazine가 검출되었고 둘 다 TEST-1에서만 검출 되었다.

Sulfur-containing compounds는 마늘이나 양파 등의 주요 향미성분으로 알려져 있는데, 주로 마늘 등에 함유된 allicin이 분해되어 생기는 성분이며, (Freeman and Whenham, 1976) methionine, cysteine 등의 sulfur amino acid와 황을 함유한 peptides로부터 형성될 수 있다. 이 실험에서는 1,3-benzothiazole, 7-[(4'-formphenyl)ethynyl]-10-methyl-10H-phenothiazine가 검출되었으며 둘 다 TEST-1에서만 검출되었다.

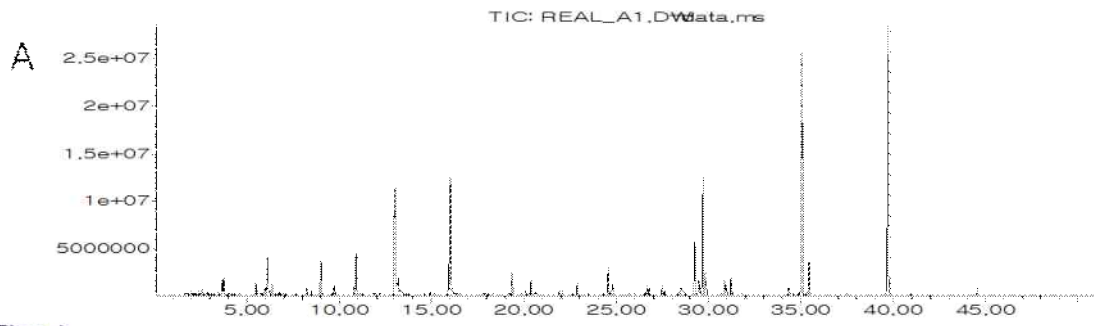
그 외 특징적인 향미성분은 Indole으로 1H-indole이 TEST-5에서 발견되었으며, indole은 다량이 있을 때 배변물 취가 느껴지지만, 소량이 있을 시 floral한 향이 느껴지는 것이 특징적이다.

② 유사 타사제품의 휘발성 성분 분석

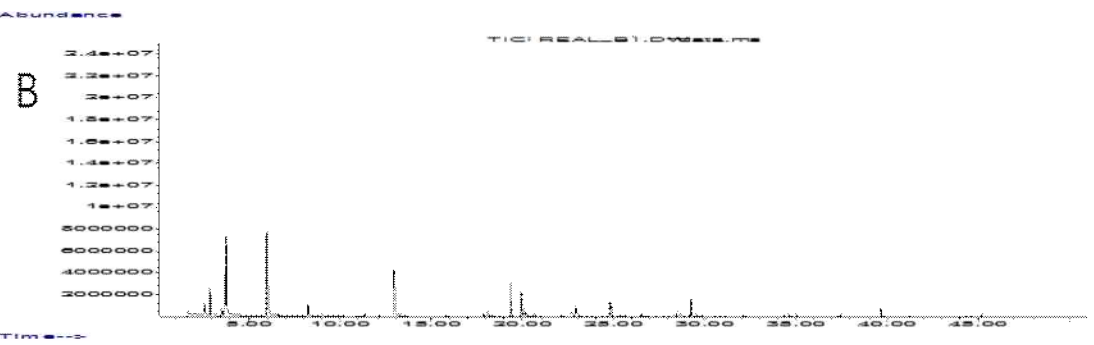
㉞ 휘발성 성분의 정성 및 정량

유사 타사 제품의 휘발성 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌고 GC-MS를 통해 분석되었다. 이에 따른 크로마토그램 결과는 Fig. 11에 나타내었고, Table 5는 유사 타사 제품에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분들을 나타낸 것이며, Table 6은 휘발성 향미성분의 향기특성을 나타낸 표이다.

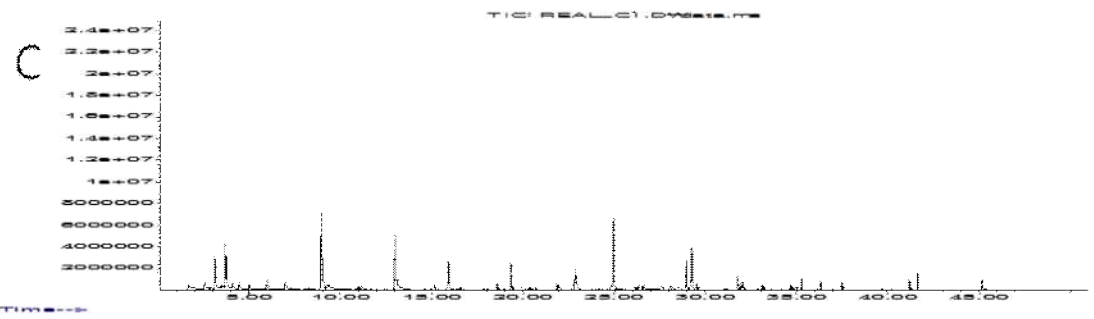
Abundance



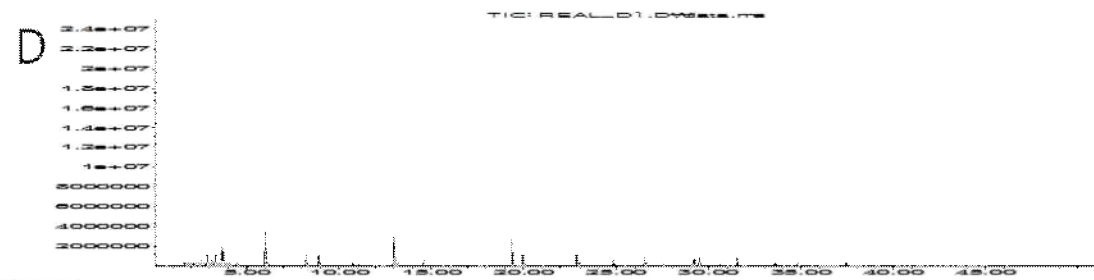
Abundance



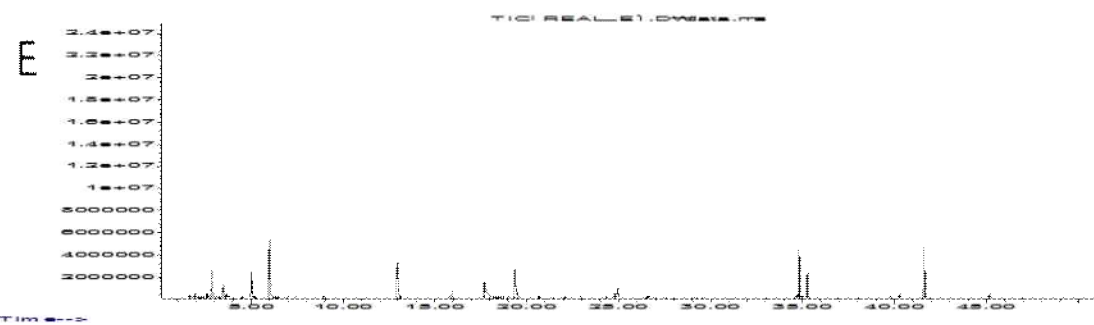
Abundance



Abundance



Abundance



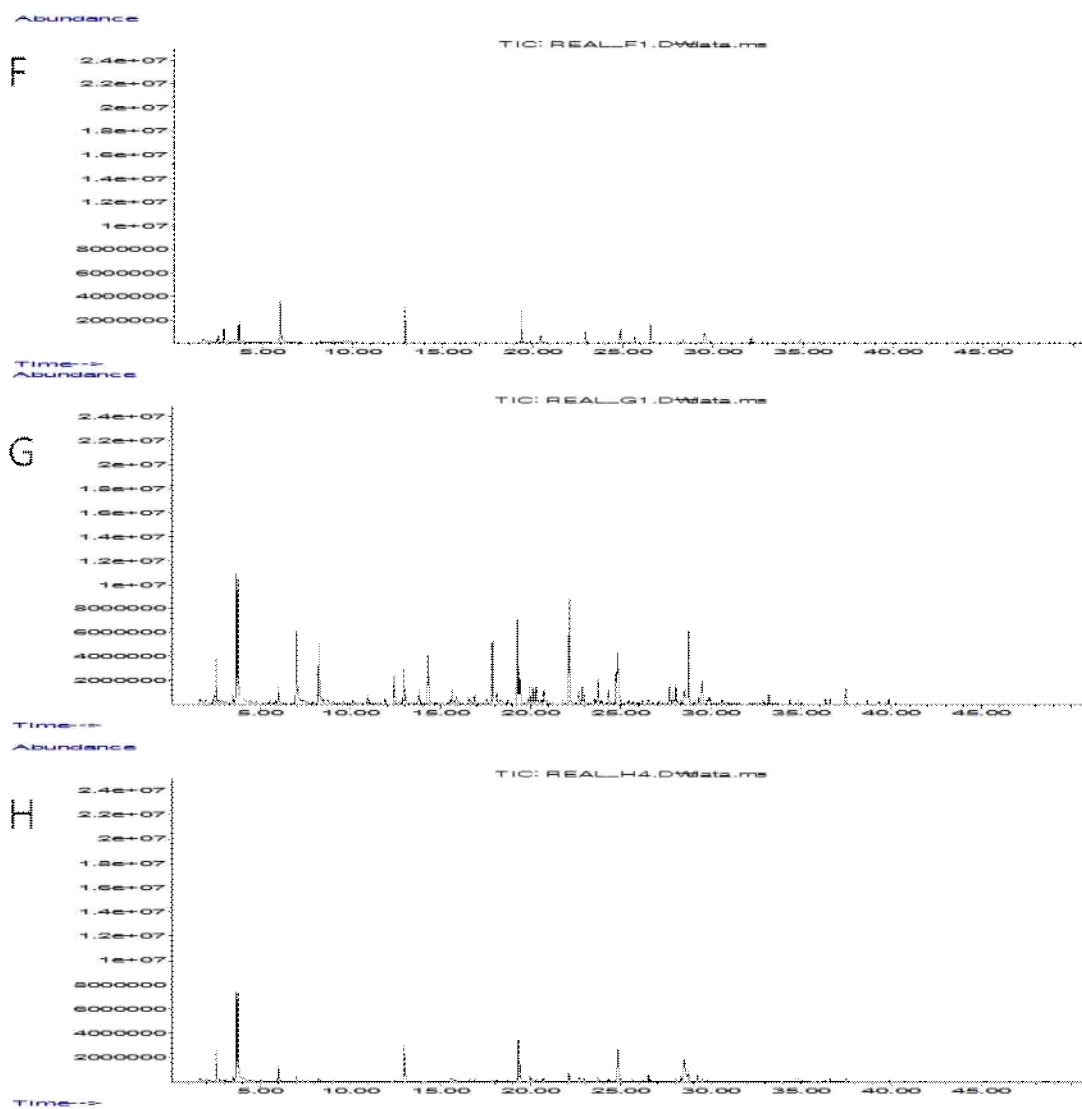


Fig. 11. GC-MS total ion chromatograms of volatile compounds in target product samples.

Table 5. Volatile compounds identified in target product samples using GC-MS

No.	RI ¹⁾	possible volatile compound	CAS #	relative peak area ²⁾ (%)								ID ³⁾
				A	B	C	D	E	F	G	H	
acids												
1	1104	2-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)acetic acid	037148-64-4	- ⁴⁾	14.792	-	5.782	5.536	14.422	1.454	6.913	MS
2	1311	acetic acid	000064-19-7	0.988	3.229	2.091	3.362	0.342	3.928	1.438	0.819	MS/RI
3	1359	propionic acid	000079-09-4	0.122	0.163	0.102	0.105	0.085	3.020	0.211	0.607	MS
4	1376	2-methylpropanoic acid	000079-31-2	0.104	0.427	0.166	1.508	0.242	10.186	0.403	1.374	MS
5	1407	butanoic acid	000107-92-6	0.155	0.546	0.131	0.157	0.134	1.978	0.197	1.238	MS
6	1428	pentanoic acid	000109-52-4	0.938	0.464	0.450	-	0.239	5.730	1.989	0.801	MS
7	1491	4-methylpentanoic acid	000646-07-1	0.047	-	0.120	0.032	0.113	-	0.579	-	MS
8	1511	hexanoic acid	000142-62-1	0.456	-	-	-	-	-	-	-	MS
9	1559	heptanoic acid	000111-14-8	0.019	-	-	-	-	-	-	-	MS
10	1605	octanoic acid	000124-07-2	19.278	1.360	0.164	0.263	0.138	0.193	0.165	-	MS
11	1650	nonanoic acid	000112-05-0	0.016	-	0.037	-	-	-	-	-	MS/RI
12	1765	benzoic acid	000065-85-0	0.007	-	0.027	-	-	-	-	-	MS/RI
aldehydes												
13	<700	acetaldehyde	000075-07-0	-	0.237	-	0.137	-	0.269	0.149	0.220	MS/RI
14	<700	2-methylpropanal	000078-84-2	0.344	1.359	0.204	0.584	-	2.646	2.072	5.216	MS/RI
15	<700	2-methylbutanal	000096-17-3	0.669	7.344	2.000	2.524	0.304	5.645	6.642	14.286	MS/RI
16	<700	3-methylbutanal	000590-86-3	0.854	17.161	1.662	2.199	0.307	7.778	5.988	14.641	MS/RI
17	<700	2-methylidenebutanal	000922-63-4	-	0.102	-	-	-	-	-	-	MS
18	<700	2-methylpentanal	000123-15-9	-	-	-	0.042	-	-	-	-	MS
19	908	hexanal	000066-25-1	-	-	-	0.088	-	0.687	-	0.104	MS/RI
20	937	(E)-2-methylbut-2-enal	001115-11-3	-	0.426	-	-	-	-	0.093	0.245	MS/RI

21	1071	2,4-dimethylpent-2-enal	999018-23-2	-	-	-	-	-	-	-	0.390	MS/RI
22	1097	heptanal	000111-71-7	0.015	0.023	-	0.044	-	0.582	0.166	0.094	MS/RI
23	1193	octanal	000124-13-0	-	-	-	-	-	0.587	0.176	0.108	MS/RI
24	1244	2-isopropyl-5-methyl-(E)-2-hexenal	999075-20-8	0.162	0.106	0.042	-	-	-	5.476	0.707	MS
25	1267	nonanal	000124-19-6	-	0.111	-	0.116	-	4.825	0.180	0.244	MS/RI
26	1316	furan-3-carbaldehyde	000498-60-2	-	-	-	0.759	-	-	-	-	MS
27	1332	decanal	000112-31-2	-	0.058	0.041	-	-	0.417	-	-	MS
28	1346	benzaldehyde	000100-52-7	0.804	3.908	0.298	-	0.720	1.375	5.113	6.519	MS/RI
29	1411	2-phenylacetaldehyde	000122-78-1	0.974	2.301	0.320	0.078	0.037	-	1.241	7.525	MS/RI
30	1440	3-ethylbenzaldehyde	034246-54-3	-	-	0.033	-	-	-	-	-	MS
31	1484	4-propan-2-ylbenzaldehyde	000122-03-2	-	-	-	-	-	0.251	-	-	MS
32	1547	(Z)-2-phenylbut-2-enal	004411-89-6	-	-	-	-	-	-	0.313	0.364	MS
33	1551	4-methyl-2-phenylpent-2-enal	026643-91-4	0.018	0.053	0.022	-	0.034	-	0.372	0.529	MS
34	1590	1H-pyrrole-2-carbaldehyde	001003-29-8	0.030	-	-	0.159	0.042	0.016	-	-	MS
35	1608	5-methyl-2-phenylhex-2-enal	021834-92-4	-	0.065	0.043	-	-	-	0.196	0.367	MS
36	1629	1-methylpyrrole-2-carbaldehyde	001192-58-1	-	-	-	-	-	-	0.060	-	MS
esters												
37	<700	ethyl acetate	000141-78-6	-	-	0.080	1.591	-	-	-	-	MS/RI
38	<700	ethyl propanoate	000105-37-3	0.019	-	-	0.201	-	-	-	-	MS/RI
39	1092	pentadecan-4-yl 2-acetyloxyacetate	999527-65-6	-	-	0.071	-	-	-	-	-	MS
40	1146	ethyl hexanoate	000123-66-0	0.008	-	-	0.259	-	-	-	-	MS/RI
41	1177	methyl 3-hexanoate	002396-78-3	8.197	-	-	-	-	-	-	-	MS
42	1266	methyl octanoate	000111-11-5	0.964	-	0.100	-	-	-	-	-	MS/RI
43	1296	ethyl octanoate	000106-32-1	0.358	-	-	-	-	-	-	-	MS/RI
44	1319	(2,2,4-trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptanyl) acetate	013851-11-1	0.008	-	-	-	-	-	-	0.123	MS/RI
45	1356	furan-2-ylmethyl acetate	000623-17-6	0.049	-	0.097	0.182	-	-	0.238	0.053	MS/RI
46	1385	methyl decanoate	000110-42-9	0.095	-	0.038	0.089	0.129	-	-	-	MS/RI

47	1434	benzyl formate	000104-57-4	1.397	-	-	-	-	-	0.413	0.232	MS
48	1454	benzyl acetate	000140-11-4	0.557	-	-	-	-	-	-	-	MS/RI
49	1473	methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate	999067-89-0	0.136	0.127	-	0.370	0.082	2.106	0.064	0.049	MS
50	1483	benzyl propionate	000122-63-4	0.072	-	-	-	-	-	0.021	-	MS
51	1486	methyl dodecanoate	000111-82-0	-	-	-	-	0.055	-	-	-	MS/RI
52	1517	3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate	074367-34-3	0.062	0.251	0.261	0.216	0.533	0.462	0.079	0.466	MS
53	1520	[2,4,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate	074381-40-1	-	0.231	0.192	0.332	5.177	1.709	0.081	0.374	MS
54	1523	(1-hydroxy-2,4,4-trimethylpentan-3-yl)2- methylpropanoate	074367-33-2	-	-	0.168	0.172	0.417	-	-	0.316	MS
55	1692	ethyl (E)-hexadec-9-enoate	054546-22-4	-	-	-	-	0.035	-	-	-	MS
56	1694	benzyl octanoate	010276-85-4	-	0.053	-	-	0.026	-	-	-	MS
57	1731	diethyl benzene-1,2-dicarboxylate	000084-66-2	-	-	0.012	-	-	-	-	-	MS
furans												
58	<700	furan	000110-00-9	-	-	-	-	-	1.267	-	-	MS/RI
59	<700	2-methylfuran	000534-22-5	0.075	-	1.988	0.878	0.229	0.804	0.030	0.392	MS/RI
60	<700	4-methyl-2,3-dihydrofuran	034314-83-5	-	-	0.155	-	-	-	-	-	MS/RI
61	<700	2,5-dimethylfuran	000625-86-5	0.011	-	-	-	-	0.399	0.081	0.166	MS/RI
62	1123	2-prop-2-enylfuran	075135-41-0	-	-	-	0.084	-	-	-	-	MS
63	1069	2-butyl-4-methyl-1,3-dioxolane	074094-60-3	0.127	-	-	-	-	-	0.321	-	MS
64	1103	4-methyl-2-pentyl-1,3-dioxolane	001599-49-1	-	-	0.023	-	-	-	-	-	MS
65	1141	2-pentylfuran	003777-69-3	0.056	0.072	0.061	1.112	0.048	0.254	-	0.125	MS/RI
66	1387	2-(furan-2-yl)furan	005905-00-0	0.042	-	-	0.128	-	-	-	-	MS
67	1512	3-phenylfuran	013679-41-9	-	0.312	0.032	-	0.069	-	0.290	0.234	MS
alcohols												
68	<700	3-methylbut-3-en-2-ol	010473-14-0	-	-	-	-	-	-	-	0.025	MS
69	1049	butan-1-ol	000071-36-3	-	0.627	-	-	-	-	-	-	MS/RI

70	1088	2,4-dimethyl-2,4-pentadien-1-ol	999018-26-0	-	-	0.037	-	-	-	1.877	0.409	MS
71	1137	3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-ol	000470-99-5	0.040	-	-	-	-	-	2.882	-	MS
72	1137	2,3,4,5-tetramethylcyclopent-2-en-1-ol	082061-20-9	-	-	-	-	-	-	-	0.279	MS
73	1198	2-methyl-2-propylpropane-1,3-diol	000078-26-2	-	-	-	-	-	-	-	0.525	MS
74	1204	adamantan-1-ol	000768-95-6	-	-	-	0.017	-	-	-	-	MS
75	1243	hexan-1-ol	000111-27-3	-	-	-	-	0.082	-	-	-	MS/RI
76	1286	pyridin-3-ol	000109-00-2	-	-	-	-	0.310	-	-	-	MS
77	1329	2-ethylhexan-1-ol	000104-76-7	-	0.210	0.032	-	0.143	0.325	-	-	MS/RI
78	1383	2-(2-methoxyethoxy)ethanol	000111-77-3	-	-	0.020	-	-	-	-	-	MS
79	1422	uran-2-ylmethanol	000098-00-0	0.245	-	0.457	1.000	-	0.589	0.198	0.087	MS
80	1445	2-methylquinolin-8-ol	000826-81-3	-	0.030	-	-	-	-	-	-	MS
81	1483	2-(2-butoxyethoxy)ethanol	000112-34-5	-	-	0.020	-	-	-	-	-	MS
82	1523	phenylmethanol	000100-51-6	14.817	0.391	-	-	-	-	-	-	MS/RI
83	1593	(E)-pent-3-en-2-ol	001569-50-2	-	-	-	-	-	0.085	-	-	MS
84	1620	phenylmethanol	000100-51-6	-	-	-	-	-	-	0.088	-	MS/RI
phenols												
85	1516	2-methoxyphenol	000090-05-1	0.076	0.374	0.026	-	0.257	-	-	0.122	MS
86	1539	2,6-ditert-butyl-4-methylphenol	000128-37-0	-	0.040	-	0.168	0.149	0.830	0.055	0.072	MS/RI
87	1582	2-methylphenol	000095-48-7	-	-	-	-	-	0.024	0.012	-	MS
88	1583	phenol	000108-95-2	0.017	0.037	0.012	-	0.013	0.040	0.026	0.118	MS/RI
89	1670	5-methyl-2-propan-2-ylphenol	000089-83-8	-	-	-	-	-	0.172	-	-	MS
90	1690	2,6-dimethoxyphenol	000091-10-1	0.018	0.181	-	-	-	-	-	-	MS
91	1710	2,5-ditert-butylphenol	005875-45-6	-	0.022	0.084	0.189	0.092	0.087	-	-	MS
lactones												
92	1393	5-methyloxolan-2-one	000108-29-2	0.530	0.028	-	-	-	0.197	0.128	0.086	MS
93	1403	oxolan-2-one	000096-48-0	0.025	0.109	0.498	0.080	0.065	0.451	1.234	0.963	MS
94	1439	5-ethyloxolan-2-one	000695-06-7	-	-	-	-	-	0.140	-	-	MS

95	1596	3-hydroxy-4,4-dimethyloxolan-2-one	052126-90-6	-	-	-	-	-	-	0.101	-	MS
ketones												
96	<700	propan-2-one	000067-64-1	-	1.988	0.230	-	-	-	-	-	MS/RI
97	<700	butan-2-one	000078-93-3	0.177	1.679	0.092	0.138	1.378	0.722	0.451	0.793	MS/RI
98	<700	butane-2,3-dione	000431-03-8	-	-	-	-	0.049	-	-	-	MS/RI
99	<700	pentan-2-one	000107-87-9	-	-	0.288	0.134	4.130	-	0.056	0.200	MS/RI
100	<700	butan-2-one	000563-80-4	-	-	-	-	-	0.796	0.025	-	MS/RI
101	<700	4-methylpentan-2-one	000108-10-1	-	0.086	0.080	-	-	-	0.113	-	MS/RI
102	<700	2,2,5,5-tetramethylhexan-3-one	000868-91-7	-	-	-	-	0.016	-	-	-	MS
103	735	hexan-3-one	000589-38-8	-	-	-	-	0.171	-	-	-	MS/RI
104	880	5-methylhexan-3-one	000623-56-3	-	-	0.052	-	-	-	-	-	MS
105	905	hexan-2-one	000591-78-6	-	-	-	-	0.097	-	-	-	MS/RI
106	974	1-(2-methylcyclopenten-1-yl)ethanone	003168-90-9	-	-	-	-	-	-	0.087	-	MS
107	1000	4-methylhexan-2-one	000105-42-0	-	0.039	0.044	-	0.020	-	0.111	-	MS
108	1025	2,4-dimethylpentan-3-one	000565-80-0	-	-	-	-	-	0.148	0.063	-	MS/RI
109	1026	hexane-2,3-dione	003848-24-6	-	-	-	0.363	-	-	-	-	MS
110	1028	2,4-dimethylpentan-3-one	000565-80-0	-	-	-	-	-	-	-	0.065	MS/RI
111	1034	heptan-2-one	000110-43-0	-	-	-	-	-	0.066	-	-	MS/RI
112	1034	5-methylhexan-2-one	000110-12-3	-	0.268	0.225	0.040	0.147	0.026	0.739	0.205	MS/RI
113	1039	hexane-3,4-dione	004437-51-8	0.267	-	-	-	-	-	-	0.047	MS/RI
114	1055	heptane-2,3-dione	000096-04-8	-	0.100	0.034	0.041	0.007	0.122	0.181	0.222	MS/RI
115	1094	heptan-2-one	000110-43-0	0.074	0.034	-	0.187	0.056	-	0.165	0.107	MS/RI
116	1103	(2R)-2-methylcyclopentan-1-one	001120-72-5	-	-	0.026	-	0.019	-	-	-	MS/RI
117	1148	6-methylheptan-2-one	000928-68-7	0.008	0.023	0.029	-	0.095	-	0.107	0.101	MS/RI
118	1159	3,4-dimethylcyclopentan-1-one	019550-73-3	-	-	-	-	0.055	-	-	-	MS
119	1170	2-methyloctan-3-one	000923-28-4	-	-	-	-	-	-	0.056	-	MS
120	1175	2-methyloxolan-3-one	003188-00-9	-	-	1.943	0.138	1.268	-	-	0.296	MS/RI

121	1176	octane-3,5-dione	003214-41-3	-	-	0.022	-	-	-	-	-	MS
122	1190	octane-2,3-dione	000585-25-1	-	-	0.150	0.051	0.024	-	0.463	0.521	MS
123	1204	2,7-dimethyloctan-4-one	059387-92-7	-	-	-	-	-	-	0.025	-	MS
124	1206	1-hydroxypropan-2-one	000116-09-6	-	-	-	-	0.207	-	-	-	MS/RI
125	1231	6-methylhept-5-en-2-one	000110-93-0	0.008	-	0.356	-	-	-	-	0.120	MS/RI
126	1338	1-(furan-2-yl)ethanone	001192-62-7	0.122	0.265	0.090	0.275	0.326	-	0.957	0.726	MS
127	1352	2,3-dimethyl-2-cyclopenten-1-one	001121-05-7	-	-	-	-	0.042	-	0.056	0.070	MS
128	1395	1H-pteridin-4-one	036239-33-5	0.369	-	0.205	0.394	0.244	-	-	-	MS
129	1437	1-morpholin-4-ylbutan-1-one	999081-32-1	-	-	0.025	-	-	-	-	-	MS
130	1451	imidazolidin-2-one	000120-93-4	-	-	-	-	-	-	-	0.033	MS
131	1490	3-methyl-1-phenylbutan-1-one	000582-62-7	-	-	-	-	-	-	0.054	-	MS
132	1538	1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)ethanone	001450-72-2	0.013	-	-	-	-	-	-	-	MS
133	1554	1-phenylheptan-1-one	001671-75-6	-	-	-	-	-	-	0.028	-	MS
134	1558	2-hexylcyclopentan-1-one	013074-65-2	-	-	-	-	0.064	-	-	-	MS
135	1566	1-(1H-pyrrol-2-yl)ethanone	001072-83-9	0.169	0.414	0.460	0.739	0.117	0.113	1.111	0.652	MS
136	1591	5-methylhomoadamantan-4-one	999126-41-4	-	-	-	-	0.028	-	-	-	MS
hydrocarbons												
137	<700	hexane	000110-54-3	-	-	-	0.074	-	0.142	0.058	-	MS
138	<700	2,2-dimethylhexane	000590-73-8	-	-	-	0.023	-	-	-	-	MS
139	700	heptane	000142-82-5	0.153	-	-	-	-	-	0.080	-	MS
140	1109	undecane	000112-40-3	1.198	0.813	0.160	0.516	0.210	-	-	0.217	MS
141	1199	2-methyldodecane	001560-97-0	-	-	-	-	-	0.051	-	-	MS
142	1200	dodecane	000629-50-5	0.042	-	-	0.058	0.027	-	-	0.060	MS
143	1300	tridecane	000629-59-4	0.301	-	0.038	0.225	0.305	-	0.296	0.090	MS
sulfur-containing compounds												
144	<700	methanethiol	000074-93-1	-	-	-	0.068	0.300	-	0.034	0.120	MS/RI
145	<700	methanedithione	000075-15-0	-	-	0.021	-	0.064	0.514	-	-	MS

146	<700	methylsulfanylmethane	000075-18-3	0.054	0.061	0.048	0.037	0.045	-	-	0.071	MS/RI
147	870	(methyldisulfanyl)methane	000624-92-0	0.570	3.958	0.103	2.009	0.024	0.917	5.150	0.785	MS/RI
148	928	2-methylthiophene	000554-14-3	-	-	6.409	2.648	0.477	0.950	-	0.195	MS/RI
149	952	3-methylthiophene	000616-44-4	-	-	0.803	-	-	-	-	0.100	MS/RI
150	1041	2-methyl-4,5-dihydrothiophene	004610-02-0	-	-	0.164	-	0.060	-	-	-	MS
151	1077	1-(disulfanyl)butane	002179-60-4	-	0.091	-	-	-	-	-	-	MS/RI
152	1078	2-ethylthiophene	000872-55-9	0.147	-	-	0.026	0.015	-	-	-	MS
153	1157	2-ethyl-5-methylthiophene	040323-88-4	-	-	-	-	-	-	-	0.090	MS
154	1161	2,5-dihydro-1,2-thiazole	000288-47-1	0.089	-	-	-	-	-	-	-	MS/RI
155	1162	2,5-dimethylthiophene	000638-02-8	-	-	-	-	-	-	-	0.098	MS
156	1169	2,4-dimethylthiophene	000638-00-6	-	-	0.038	-	-	-	0.102	0.098	MS/RI
157	1183	2,3,4-trimethylthiophene	001795-04-6	-	0.080	-	-	0.010	-	-	-	MS
158	1190	4-methyl-1,3-thiazole	000693-95-8	0.141	-	0.056	-	-	-	-	-	MS/RI
159	1214	2-methylfuran-3-thiol	028588-74-1	-	-	-	-	5.892	-	-	-	MS/RI
160	1238	thiophene-3-carboxylic acid	000088-13-1	0.083	-	0.084	-	0.335	-	-	-	MS
161	1253	4,5-dimethylthiazole	003581-91-7	-	-	0.060	-	0.013	-	-	-	MS
162	1256	(methyltrisulfanyl)methane	003658-80-8	0.132	7.722	0.112	2.746	-	1.476	1.465	1.165	MS
163	1262	2-methyl-5-methylsulfanylfuran	013678-59-6	-	-	-	-	0.037	-	-	-	MS
164	1277	2,5-dimethyl-4-ethyl-1,3-thiazole	032272-57-4	-	0.028	0.019	-	0.036	-	0.067	0.078	MS
165	1282	4-ethyl-5-methyl-1,3-thiazole	052414-91-2	-	-	21.218	0.037	21.213	-	21.193	-	MS
166	1294	4-methyl-5-ethyl-1,3-thiazole	031883-01-9	-	-	0.369	0.086	0.036	-	-	-	MS
167	1297	2,4-dimethyl-5-ethyl-1,3-thiazole	038205-61-7	-	-	0.302	-	0.041	-	-	-	MS
168	1299	furan-2-ylmethanethiol	000098-02-2	-	-	-	-	0.325	-	-	-	MS
169	1343	2,5-dipropyl-1,3-thiazole	041981-73-1	1.564	-	-	-	-	-	-	0.108	MS
170	1349	dihydro-2-methyl-3(2H)-thiophenone	013679-85-1	-	-	4.471	-	1.341	-	-	-	MS
171	1378	1,2,4,5-tetraazinan-3,6-dithione	036239-33-5	0.592	-	-	0.749	0.319	-	-	0.291	MS
172	1414	3-methylsulfanylthiophene	020731-74-2	0.471	-	-	-	0.070	-	0.335	-	MS

173	1419	2-methyl-5,6-dihydro-1,4-oxathiine	003643-97-8	-	-	1.662	-	-	-	0.032	-	MS
174	1424	2-methyl-3-(methyldisulfanyl)furan	065505-17-1	2.878	4.610	2.534	1.307	0.526	-	-	1.287	MS
175	1431	(Z)-3-ethyl-5-methyl-1,2-dithiolan-4-one	999088-88-0	-	-	-	-	0.107	-	-	-	MS
176	1436	1-(4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)ethanone	999051-54-7	-	-	0.011	-	-	0.104	-	-	MS
177	1438	2,5-dihydro-1,2-thiazole	000288-47-1	-	-	-	-	0.013	-	-	-	MS/RI
178	1448	3-methylsulfanylpropan-1-ol	000505-10-2	0.079	-	-	-	-	-	0.055	-	MS
179	1467	5-amino-1,2-dihydro-1,2,4-triazole-3-thione	016691-43-3	-	-	0.783	-	-	-	-	-	MS
180	1470	1,3-thiazolidine	000504-78-9	0.024	-	-	-	-	-	-	-	MS
181	1471	1-[[<i>(E)</i> -prop-1-enyl]trisulfanyl]propane	999128-44-1	-	-	-	-	-	-	-	0.115	MS
182	1490	2-[(methyldisulfanyl)methyl]furan	057500-00-2	0.043	-	0.253	0.273	0.012	-	-	-	MS/RI
183	1542	5-(2-chloroethyl)-4-methyl-1,3-thiazole	000533-45-9	-	-	-	-	-	-	-	0.024	MS
184	1556	1,3-benzothiazole	000095-16-9	-	-	0.019	-	-	-	-	-	MS/RI
185	1574	5-methyl-1,3-thiazol-2-amine	007305-71-7	0.047	-	-	-	-	-	-	-	MS
186	1628	2-propylthiolane	001551-34-4	0.078	-	-	-	-	-	-	-	MS
187	1633	3-phenylthiophene	002404-87-7	-	0.058	0.579	-	0.030	-	-	0.087	MS
188	1641	2-methyl-3-[(2-methylfuran-3-yl)disulfanyl]furan	999251-01-3	0.087	0.045	0.957	0.041	5.983	-	-	0.035	MS
189	1666	isothiocyanatobenzene	000103-72-0	0.030	-	-	-	-	-	-	-	MS
190	1706	2-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)ethanol	000137-00-8	-	0.386	0.726	-	0.757	-	-	0.253	MS
terpenes												
191	<700	α -pinene	000080-56-8	2.538	-	-	-	-	-	-	-	MS/RI
192	936	β -pinene	000127-91-3	2.398	-	-	-	-	-	-	-	MS/RI
193	982	sabinene	003387-41-5	0.624	-	-	-	-	-	-	-	MS/RI
194	1030	3-carene	013466-78-9	2.927	0.301	-	-	0.046	-	-	-	MS/RI
195	1123	limonene	000138-86-3	8.569	-	3.836	-	-	-	0.408	-	MS/RI
196	1151	moslene	000099-85-4	0.258	0.079	0.067	-	-	-	-	-	MS/RI
197	1185	α -terpinolen	000586-62-9	0.151	-	0.026	-	-	-	-	-	MS/RI
198	1324	copaene	003856-25-5	0.097	-	-	-	-	-	-	-	MS

199	1364	junipene	000475-20-7	-	-	-	0.091	0.058	-	-	-	MS
200	1381	caryophyllene	000087-44-5	0.474	0.066	0.318	-	-	0.530	0.152	-	MS
201	1419	humulene	006753-98-6	0.013	-	-	-	-	-	-	-	MS
202	1443	β -selinene	017066-67-0	0.069	-	-	-	-	-	-	-	MS
203	1447	α -muurolene	031983-22-9	-	-	-	-	0.016	-	-	-	MS
204	1463	δ -cadinene	000483-76-1	0.020	-	-	1.379	-	-	-	-	MS/RI
205	1599	aromadendrene	000489-39-4	-	-	-	0.165	-	-	-	-	MS
206	1660	(-)- α -copaene	003856-25-5	-	-	-	0.034	-	-	-	-	MS
benzenes												
207	<700	toluene	000108-88-3	0.208	0.192	0.607	0.080	0.340	0.453	6.009	1.266	MS/RI
208	1004	ethylbenzene	000100-41-4	0.070	-	0.107	-	-	-	0.295	-	MS/RI
209	1018	1,3-xylene	000108-38-3	0.021	-	0.029	-	-	-	0.028	-	MS/RI
210	1092	1,4-xylene	000106-42-3	-	0.027	0.045	-	-	-	-	-	MS/RI
211	1165	styrene	000100-42-5	0.009	0.076	-	-	-	0.059	0.158	0.374	MS/RI
212	1280	pentylbenzene	000538-68-1	0.065	-	-	-	0.022	0.055	-	-	MS
213	1437	pentan-3-ylbenzene	001196-58-3	-	-	-	-	-	-	-	0.105	MS
214	1452	[(E)-2-methoxyethenyl]benzene	004747-15-3	0.948	0.143	-	-	-	-	0.131	-	MS
215	1456	naphthalene	000091-20-3	1.113	-	0.131	0.081	0.045	-	-	-	MS/RI
216	1469	aniline	000062-53-3	-	-	-	-	0.055	0.072	-	-	MS
217	1669	1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-naphthalene	000489-84-9	-	-	-	0.033	-	-	-	-	MS
pyrazines												
218	1125	3- <i>tert</i> -butyl-1,5-dimethylpyrazole	999070-51-3	-	-	-	0.061	0.042	-	1.053	-	MS
219	1172	2-methylpyrazine	000109-08-0	0.037	0.307	0.151	-	-	0.156	0.470	0.090	MS/RI
220	1217	2,5-dimethylpyrazine	000123-32-0	0.168	0.717	0.145	0.046	-	0.524	4.425	0.638	MS/RI
221	1221	2,6-dimethylpyrazine	000108-50-9	0.124	1.295	0.138	0.119	-	0.378	0.716	0.355	MS/RI
222	1234	2,3-dimethylpyrazine	005910-89-4	0.023	0.054	0.042	-	-	0.081	0.295	0.262	MS/RI
223	1260	2-ethyl-6-methylpyrazine	013925-03-6	0.291	1.197	0.112	0.552	0.037	0.309	1.288	0.526	MS/RI

224	1264	2-ethyl-5-methylpyrazine	013360-64-0	0.118	0.339	0.081	0.271	0.027	0.216	1.299	0.520	MS/RI
225	1272	2,3,5-trimethylpyrazine	014667-55-1	0.292	0.413	0.150	0.279	-	0.821	0.891	0.527	MS/RI
226	1273	2-ethyl-3-methylpyrazine	015707-23-0	-	-	-	-	-	-	0.922	0.282	MS/RI
227	1293	2,6-diethylpyrazine	013067-27-1	-	0.043	-	0.037	-	-	0.207	0.182	MS/RI
228	1299	2-ethyl-3,6-dimethylpyrazine	013360-65-1	0.211	0.523	0.094	0.124	-	0.716	7.114	1.595	MS/RI
229	1306	2,3-diethylpyrazine	015707-24-1	-	-	-	-	-	-	0.031	0.029	MS
230	1309	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	013925-07-0	0.196	1.416	0.119	0.304	0.055	-	1.034	1.476	MS
231	1325	2-methyl-3-(2-methylpropyl)pyrazine	013925-06-9	-	-	0.016	-	-	-	0.359	0.165	MS
232	1327	2-methyl-3,5-diethylpyrazine	018138-05-1	0.030	0.171	0.014	0.099	-	0.098	1.720	1.008	MS/R I
233	1329	2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine	017398-16-2	-	-	-	0.118	-	-	-	-	MS
234	1331	2-methyl-3-(2-methylpropyl)pyrazine	013925-06-9	-	-	-	-	-	-	0.220	0.061	MS
235	1345	2-(2-methylpropyl)-3,6-dimethylpyrazine	999094-48-4	-	-	-	-	-	-	1.847	0.428	MS
236	1358	2,5-diethyl-3,6-dimethylpyrazine	999094-46-4	-	0.078	-	-	-	0.399	0.148	0.085	MS
237	1367	2-(2-methylpropyl)-3-(1-methylethyl)pyrazine	999125-81-6	0.171	0.029	0.156	-	-	0.114	0.207	0.205	MS
238	1391	2,5-dimethyl-3-isoamylpyrazine	018433-98-2	-	0.090	-	-	0.020	0.165	-	-	MS
239	1397	2-methyl-6-(3-methylbutyl)pyrazine	091010-41-2	-	0.358	0.146	-	-	-	1.165	0.363	MS
240	1401	2-butyl-3-methylpyrazine	015987-00-5	-	-	-	-	-	-	0.593	0.145	MS
241	1415	2,5-dimethyl-3-(3-methylbutyl)pyrazine	018433-98-2	-	0.443	0.029	-	-	-	4.372	1.854	MS
242	1417	5-isopentyl-2,3-dimethylpyrazine	018450-01-6	-	-	-	-	-	-	0.055	-	MS
243	1433	2,3,5-trimethyl-6-propylpyrazine	092233-82-4	-	-	-	-	-	-	0.249	-	MS
244	1447	2,3,5-trimethyl-6-(3-methylbutyl)pyrazine	010132-43-1	-	0.071	-	-	-	-	0.188	0.062	MS
amines & amides												
245	1340	2,4,6-trimethylbenzene-1,3-diamine	003102-70-3	-	-	-	-	-	-	0.141	-	MS
246	1343	anthracen-2-amine	000613-13-8	-	-	0.050	-	-	-	-	-	MS
247	1455	N-(3-aminophenyl)acetamide	000102-28-3	-	-	-	-	-	-	0.025	-	MS
248	1461	2,4,6-trimethylbenzene-1,3-diamine	003102-70-3	-	-	-	-	0.063	0.068	0.058	-	MS

249	1467	N-(2-methoxyphenyl)formamide	005470-34-8	-	-	-	0.042	0.060	-	-	-	MS
250	1588	6-methoxy-2-methylquinolin-8-amine	999149-51-8	-	-	-	-	-	0.033	0.319	0.105	MS
oxazoles												
251	1049	4,5-dimethyl-1,3-oxazole	020662-83-3	-	-	-	-	0.029	-	-	-	MS/RI
252	1162	4-ethyl-2,5-dimethyl-1,3-oxazole	030408-61-8	-	-	0.044	-	-	-	-	-	MS
253	1595	2-methyl-1,3,4-oxadiazole	003451-51-2	0.028	-	0.044	-	0.056	-	-	-	MS/RI
pyrroles												
254	1501	1-(furan-2-ylmethyl)pyrrole	001438-94-4	-	-	-	0.054	-	-	-	-	MS
nitriles												
255	1225	2-iminocyclopentane-1-carbonitrile	002321-76-8	0.137	-	0.007	0.016	-	-	-	-	MS/RI
256	1568	2-(dimethylamino)acetonitrile	000926-64-7	-	-	0.108	-	0.091	-	-	-	MS
aniline												
257	1354	N,N-dimethyl-4-(2,3,4,5,6-pentamethylphenyl)aniline	999368-32-6	0.149	-	-	-	-	0.525	-	-	MS/RI
indole												
258	1768	1H-indole	000120-72-9	-	-	-	-	0.007	-	-	-	MS

1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

2) Average of peak area of individual compound divided by total peak area detected.

3) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database

4) Not detected.

Table 6. Flavor descriptions of volatile compounds in rival product samples

No.	possible volatile compound	flavor description
acids		
1	acetic acid	pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste
2	propionic acid	pungent, sour milk odor; sour milk and cheese taste
3	2-methylpropanoic acid	sour cheesy odor; In dilution a fruity odor and taste
4	butanoic acid	strong, cheese, butter-like, sour-rancid odor and taste
5	pentanoic acid	powerful, "sweaty" cheese-like odor; fruity, cheese, dairy taste diluted
6	4-methylpentanoic acid	unpleasant, sour, pungent cheese odor; sour, cheese taste
7	hexanoic acid	heavy, fatty, cheesey-sweaty odor and taste
8	heptanoic acid	fatty, sour-sweat-like, rancid odor; cheesy, fruity, fatty, dirty taste
9	octanoic acid	fatty, rancid, animallic, sweaty odor; cheese like taste in dilution
10	nonanoic acid	mild, fatty, dairy-cheese, nut-like odor; fatty-waxy-cheese & nutty taste
11	benzoic acid	very weak, balsamic odor and burning taste
aldehydes		
12	acetaldehyde	pungent, breathtaking; in dilution a nutty alcoholic note; enhances citrus
13	2-methylpropanal	in dilution, pleasant, fruity, cheese, chocolate, green, banana-like odor
14	2-methylbutanal	strong, cocoa-like, malty, fermented odor
15	3-methylbutanal	pungent, cocoa, green fruity odor; cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution
17	2-methylpentanal	somewhat green, fruity, cocoa, cheese like in dilution
18	hexanal	strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor
19	heptanal	fatty-rancid; in dilution sweet, nutty, green, fatty-cognac like; citrus

20	octanal	fatty-fruity odor; sweet, citrus-orange-fatty taste
21	nonanal	fresh, citrus, floral, green note
22	decanal	strong, penetrating, sweet, waxy, orange peel odor; citrus taste
23	benzaldehyde	bitter almond, sweet cherry taste
24	2-phenylacetaldehyde	strong floral green odor (rose-hyacinth-honey); floral honey taste
25	4-propan-2-ylbenzaldehyde	pungent, green, herbaceous, characteristic cumin-like odor and taste
26	(Z)-2-phenylbut-2-enal	phenylacetaldehyde-like, musty-floral, honey cocoa notes
27	4-methyl-2-phenylpent-2-enal	floral, phenylacetaldehyde-like odor; cocoa-chocolate taste
28	1H-pyrrole-2-carbaldehyde	pungent, corn, burnt roasted notes with some nutty character
29	5-methyl-2-phenylhex-2-enal	cocoa like odor and taste
30	1-methylpyrrole-2-carbaldehyde	somewhat burnt, roasted, nut
esters		
31	ethyl acetate	ethereal, sharp, wine-brandy, like odor
32	ethyl propanoate	strong, ethereal, fruity, rum-like odor and rum, mixed fruit taste
33	ethyl hexanoate	strong, fruity, pineapple, banana with strawberry, pear & tropical notes
34	methyl 3-hexanoate	fruity, honey, pineapple, green-tropical odor and taste
35	methyl octanoate	strong, winey-fruity, orange-like odor; green fruity, waxy, citrus taste
36	ethyl octanoate	fruity, winey, sweet odor, cognac-apricot taste
37	(2,2,4-trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptanyl) acetate	sweet fir needle like odor; pine needle herbaceous taste
38	furan-2-ylmethyl acetate	ethereal, floral fruity-banana odor; weak, warm, fruity taste
39	methyl decanoate	fatty, oily, fruity-winey-cognac
40	enzyl formate	strong, fresh fruity; cherry, raspberry, blueberry nuance flavor
41	benzyl acetate	sweet, floral, fruity odor of jasmin and gardenia, fruity taste
42	benzyl propionate	fruity, floral (jasmin) odor & banana, melon, pineapple-peach flavor

43	methyl dodecanoate	waxy, creamy fatty soapy-coconut taste
44	ethyl (E)-hexadec-9-enoate	fatty-oily odor, adds mouthfeel
45	benzyl octanoate	fruity, peach, slightly fatty floral
furans and furan derivatives		
46	furan	peculiar, sweetish spice-smoke-like, burnt on dilution
47	2-methylfuran	sweet-gassy, solvent, metallic-burnt with musty nutty notes
48	2,5-dimethylfuran	ethereal, solvent, rum-cognac odor
49	2-butyl-4-methyl-1,3-dioxolane	green-nutty, somewhat fatty, alcoholic, fermented
50	4-methyl-2-pentyl-1,3-dioxolane	green, fruity, green-vegetable-waxy
51	2-pentylfuran	earthy, green, beany with vegetable & fruity notes
alcohols		
52	butan-1-ol	breathtaking, winey, fusel oil-like
53	hexan-1-ol	chemical, winey, slight fatty-fruity odor
54	2-ethylhexan-1-ol	sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste
55	uran-2-ylmethanol	weak odor, fermented, burnt-sugar, creamy, caramellic notes flavor
56	phenylmethanol	faint, sweet, almond fruity aroma, sweet, but somewhat chemical taste
phenols		
57	2-methoxyphenol	strong, sweet, smoke-like & vanilla, phenolic-medicinal notes
58	2,6- <i>ditert</i> -butyl-4-methylphenol	antioxidant for flavor oils - See comments
59	2-methylphenol	phenolic, medicinal odor and taste
60	phenol	phenolic medicinal odor and taste
61	5-methyl-2-propan-2-ylphenol	strong, sweet, medicinal-herbaceous, spicy-phenolic odor/taste
62	2,6-dimethoxyphenol	phenolic-woody-medicinal, smoky odor; a tarry, spicy, smoky (bacon) taste
lactones		

63	5-methyloxolan-2-one	sweet, hay-like, coumarinic odor and coconut taste
64	oxolan-2-one	weak, slightly caramellic, nutty, buttery odor
65	5-ethyloxolan-2-one	coumarin-like, sweet odor and taste; creamy note
ketones		
66	propan-2-one	characteristic solvent odor
67	butan-2-one	sweet, solvent, acetone-like ketonic odor; fruity camphor odor
68	butane-2,3-dione	strong, buttery odor and taste on dilution
69	pentan-2-one	ethereal fruity-ketonic, rum & whiskey odor; banana & dairy in dilution
70	butan-2-one	ethereal-camphoraceous ketonic odor; ethereal winey fruity taste
71	4-methylpentan-2-one	ethereal, sweet, green fruity odor and taste
72	hexan-3-one	grape, wine-like, ethereal odor; fruity. waxy, somewhat rummy flavor
73	hexan-2-one	fruity, ketonic, yeasty, blue-cheese, dairy notes
74	2,4-dimethylpentan-3-one	ketonic, camphoraceous, Herbaceous-fruity, cheese
75	hexane-2,3-dione	creamy, sweet buttery odor & butter-cheese, fruity, caramellic taste
76	2,4-dimethylpentan-3-one	ketonic, camphoraceous, Herbaceous-fruity, cheese
77	heptan-2-one	fruity, cheese, cinnamon odor; in dilution- blue cheese-coconut-fruity
78	5-methylhexan-2-one	mild, sweet ketonic, minty cheesy-fruity
79	hexane-3,4-dione	buttery, cooked caramel odor; caramel, nutty; buttery creamy taste
80	heptane-2,3-dione	strong, sweet, butter, fatty, cheesy odor; sweet buttery taste
81	heptan-2-one	fruity, cheese, cinnamon odor; in dilution- blue cheese-coconut-fruity
82	6-methylheptan-2-one	herbaceous, ketonic, spicy-herbal and minty notes
83	2-methyloxolan-3-one	sweet, roasted, bread-like, buttery, rum and caramellic
84	octane-2,3-dione	sweet, buttery-creamy odor with cheesy & grilled fat notes
85	1-hydroxypropan-2-one	slightly green, Weak sweet somewhat caramellic-winey note
86	6-methylhept-5-en-2-one	mild, green fruity aspects

87	1-(furan-2-yl)ethanone	sweet, caramellic, balsamic, cereal, slight nut notes
88	1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)ethanone	aromatic, spicy with phenolic, cherry, honey, and coumarinic notes
89	2-hexylcyclopentan-1-one	green floral, jasmin-like, fruity
90	1-(1H-pyrrol-2-yl)ethanone	somewhat cherry (acetophenone) like; musty, nutty and tea-like
hydrocarbons		
91	2,2-dimethylhexane	hydrocarbon odor, mild gasoline
92	octane	hydrocarbon odor (gasoline-like)
93	dodecane	sweet hydrocarbon like; weak
94	tridecane	hydrocarbon odor
sulfur-containing compounds		
95	methanethiol	odor of "rotting" cabbage; Cheesy, vegetative, meaty & coffee taste
96	methylsulfanylmethane	pungent, cabbage, cooked vegetable odor; corn-like on dilution
97	(methyldisulfanyl)methane	strong onion, cabbage-like odor
98	2-methylthiophene	onion, pungent, sulfurous, roasted, green
99	3-methylthiophene	sulfurous, pungent; Fatty; winey at 8.5 ppm in coffee
100	1-(disulfanyl)butane	odor and taste reminiscent of onion/garlic, radish & vegetative
101	2-ethylthiophene	styrene-like at 10 ppm in sugar syrup, mouldy, green leek
102	2-ethyl-5-methylthiophene	diphenyloxide-like at 10 ppm in sugar syrup.
103	2,5-dihydro-1,2-thiazole	pyridine, nutty, meaty odor
104	2,5-dimethylthiophene	xylene-like, fresh onion & green notes
105	4-methyl-1,3-thiazole	nutty, green vegetative, meaty, with an alliaceous note
106	2-methylfuran-3-thiol	odor and taste of roasted meat; sweet beef broth, HVP notes
107	4,5-dimethylthiazole	roasted, nutty, meat-poultry, seafood ,green note
108	(methyltrisulfanyl)methane	strong, onion-garlic with cabbage & cauliflower notes odor and taste
109	2-methyl-5-methylsulfanylfuran	strong, sulfuraceous, burnt odor, coffee, alliaceous taste
110	2,5-dimethyl-4-ethyl-1,3-thiazole	burnt, earthy, coffee & potato flavor
111	4-ethyl-5-methyl-1,3-thiazole	roasted, burnt, green, with meaty notes

112	4-methyl-5-ethyl-1,3-thiazole	green vegetables, raw hazelnut odor & nutty, green earthy flavor
113	furan-2-ylmethanethiol	weak sweet, reminiscent of vanillin
114	dihydro-2-methyl-3(2H)-thiophenone	sulphurous, Fruity, Berry; catty, black currant, burnt
115	2-methyl-3-(methyldisulfanyl)furan	sulfurous; meaty, brothy, roasted notes, coffee in dilution
116	2,5-dihydro-1,2-thiazole	pyridine, nutty, meaty odor
117	3-methylsulfanylpropan-1-ol	strong, meaty, mushroom, soup-like odor & taste in dilution
118	2-[(methyldisulfanyl)methyl]furan	roasted coffee, meat, onion; some bread crust odor in dilution
119	1,3-benzothiazole	burnt, Sulfuraceous, vegetative, cooked, beefy and coffee-like
120	2-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)ethanol	in dilution, meaty-beef like with nutty note
terpenes		
121	β -pinene	dry, woody, pine like, resinous odor; turpentine like taste
122	sabinene	spicy terpenic citrusy
123	3-carene	fresh, sweet, coniferous turpentine like notes
124	limonene	hydrocarbon citrus-turpentine note; often harsh
125	moslene	refreshing herbaceous-citrus like terpene odor & flavor
126	α -terpinolen	sweet, piney, citrus, slightly anisic, pleasant odor
127	copaene	woody, spicy
128	junipene	weak sweet slightly camphoraceous woody note
129	caryophyllene	woody, spicy, dry odor; spicy, woody, with citrus undertone taste
130	humulene	mild woody-balsamic with earthy weak spice notes
131	δ -cadinene	dry, woody, slight burnt, spice character
132	(-)- α -copaene	woody, spicy
133	α -pinene	resinous, pine odor; turpentine taste
benzenes		
134	styrene	characteristic resinous-balsamic pungent gassy-plastic odor
135	naphthalene	characteristic dry tarry camphorous hydrocarbon odor; musty taste
pyrazines		

136	2-methylpyrazine	green, nutty, cocoa, musty, potato, fishy-ammoniacal notes
137	2,5-dimethylpyrazine	chocolate, roasted nuts, earthy; chocolate taste
138	2,6-dimethylpyrazine	chocolate, roasted nuts, fried potato odor;
139	2,3-dimethylpyrazine	green, nutty, potato, cocoa, coffee, caramel, meaty notes
140	2-ethyl-6-methylpyrazine	roasted, hazelnut, cocoa, cooked potato like notes
141	2-ethyl-5-methylpyrazine	coffee , Nutty, roasted, toffee, cocoa, some green note
142	2,3,5-trimethylpyrazine	baked potato, roasted nut, cocoa, coffee, burnt odor & taste
143	2-ethyl-3-methylpyrazine	burnt nutty-hazelnut roasted, cereal, earthy potato, green notes
144	2-ethyl-3,6-dimethylpyrazine	cocoa, chocolate, nutty (burnt almond) notes
145	2,3-Diethylpyrazine	earthy, raw potato, roasted nut; aroma of damp black earth
146	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	cocoa, chocolate, nutty (burnt almond) notes
147	2-methyl-3-(2-methylpropyl)pyrazine	powerful herbaceous, vegetative, green pepper, earthy notes
148	2-methyl-3,5-diethylpyrazine	coffee-like taste at 10 ppm; green earthy notes; cocoa, nutty
149	2-methyl-3-(2-methylpropyl)pyrazine	powerful herbaceous, vegetative, green pepper, earthy notes
150	2-butyl-3-methylpyrazine	anise-like, liquorice flavor at 2.5 ppm in sugar syrup
	oxazole	
151	4-ethyl-2,5-dimethyl-1,3-oxazole	green, vegetative, nutty, hazelnut
	pyrrole	
152	1-(furan-2-ylmethyl)pyrrole	pungent, somewhat alliaceous-vegetative earthy-smoky odor and taste
	indole	
153	1H-indole	erogenic floral animalic odor and taste in dilution; cheese notes

SPME 추출법을 이용하여 분석한 유사타사제품들의 휘발성 향미성분을 분류하면 acid류 12개, aldehyde류 24개, ester류 21개, furan류 10개, phenol류 7개, alcohol류 17개, lactone류 4개, hydrocarbon류 7개, benzene류 10개, ketone류 42개, terpene류 16개, pyrazine류 27개, sulfur 함유향미성분 47개, indole류 1개, oxime류 3개, amine류 6개, oxazol류 3개, pyrrole류 1개, aniline류 1개, indole류 1개 등으로 총 259개의 성분이 동정되었다.

Acid류에서는 11개의 acid가 발견되었고 A시료에서만 heptanoic acid, hexanoic acid이 검출되었다. 2-methylpropanoic acid, acetic acid, butanoic acid, propionic acid이 공통적으로 모든 시료에서 검출되었으며 2-methylpropanoic acid에서는 sour cheesy odor를 띄고, acetic acid에서는 pungent, sour, vinegar한 향을, butanoic acid는 strong, cheese, butter-like, sour-rancid한 향미를 가지고 있으며, propionic acid에서는 pungent, sour milk 향미를 띄고 있다.

Aldehyde류에서는 24개의 aldehyde가 검출되었다. 모든 시료에서 2-methylbutanal과 3-methylbutanal가 큰 값을 보였으며, 이 두 성분은 앞에서 기술한 것과 같이 isoleucine과 leucine이 Maillard 반응에서 Strecker반응산물로 생성되는 것으로, 모든 유사 타사 제품의 향미가 높은 온도에서 Maillard 반응을 거쳐 만들어졌음을 예측할 수 있다. 특히 시료 B와 H가 높은 함량을 가지며 다른 시료에 비해 더 많은 Maillard 반응이 일어났음을 유추할 수 있다. Heptanal은 fatty-rancid, sweet, nutty, green, fatty-cognac like, citrus 향미를 지닌다.

2,4-dimethylpent-2-enal는 H시료에서만 검출되었고, furan-3-carbaldehyde는 D시료에서만, 3-ethylbenzaldehyde는 C시료에서만 검출되었다. 마지막으로 burnt, nutty, roasted 향미를 띄는 1-methylpyrrole-2-carbaldehyde는 G에서만 검출되었고, 대부분의 aldehyde류가 시료간 차이가 무의미하였다.

Ester 류는 21개가 동정되었으며, 특히 시료 A에서 ethyl propanoate, ethyl hexanoate, methyl 3-hexanoate, methyl octanoate, ethyl octanoate, (2,2,4-trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptanyl) acetate, furan-2-ylmethyl acetate, methyl decanoate, benzyl formate, benzyl acetate, methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate, benzyl propionate, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate의 총 13개의 ester가 검출되며 가장 많은 ester를 지닌 시료였다. 이 성분들은 fruity, floral취를 가지며, methyl 3-hexanoate가 A시료중 가장 높은 함량을 가지는 성분으로 fruity, honey, pineapple, green-tropical 향미특성을 가진다.

3-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate는 모든 시료에서 검출되었으며, 모든 시료에서 비슷한 양이 동정되었다. Pentadecan-4-yl 2-acetyloxyacetate는 C시료에서만 발견되었고, methyl 3-hexanoate는 A시료에서만 발견되었다. fruity, winey, sweet odor, cognac apricot taste를 지니는 ethyl octanoate는 A시료에서만 검출되었고, waxy, creamy fatty soapy-coconut taste 향미를 띄는 methyl dodecanoate는 시료 E에서만 검출되었다.

Furan 류는 총 10개의 성분이 동정되었다. 2-Pentylfuran은 G시료를 제외하고 모든 시료에서 검출되었는데, 특히 D시료에서 다른시료에 비해 많이 검출 되었다. 2-pentylfuran은 green, beany with vegetable를 가지는 향미성분으로 콩비린내와 같은 off-flavor에 기여를 하는 성분이다 (Sugunya Wongpornchai., 2004).

2-Methylfuran은 B시료를 제외하고 모든 시료에서 검출되었는데, 특히 C시료에서 다른 시료에 비해 많이 검출되었으며, sweet-gassy, solvent, metallic-burnt with musty nutty notes 향미성분을 가지고 있다. 특징적인 furan류로는 F 시료에서만 검출된 peculiar, sweetish

spice-smoke-like, burnt 향미를 가지는 furan, C 시료에서만 검출된 green, fruity, green-vegetable-waxy 향미를 가지는 4-methyl-2-pentyl-1,3-dioxolane 이었다.

Alcohol류는 17개가 검출되었으나, 전체 시료에서 모두 검출된 alcohol은 없었다. Long chain aliphatic alcohols 류인 1-hexanol은 fruity, nutty한 향미특성을 갖고 있으며, 지방산의 β -oxidation에 의해 생성된다 (Audrain 2015). 몇몇 short-chain alcohols 류인 1-butanol은 저산소 조건 상태에서 생성될 수 있다 (Audrain 2015, Farag 2013). Uran-2-ylmethanol은 B와 E 시료를 제외한 모든 시료에서 검출되며 가장 중복되는 성분이었으며, weak odor, fermented, burnt-sugar, creamy, caramellic notes 를 지닌다. Phenyl ethanol은 특히 A시료에서 가장 높은 정량값을 보였다.

Phenol류는 총 7개가 검출되었다. phenolic medicinal odor and taste를 가지는 phenol은 D시료를 제외한 모든 시료에서 발견되었고 전체적인 평균정량값 또한 비슷하였다.

Lactone류는 5-methyloxolan-2-one, oxolan-2-one, 5-ethyloxolan-2-one, 3-hydroxy-4,4-dimethyloxolan-2-one으로 총 4가지가 검출되었다. Oxolan-2-one은 모든 시료에서 검출되었으며, 특히 G 시료에서 많이 검출되었다.

Ketone류는 총 42개가 검출되었다. 모든 시료에서 검출된 ketone은 butan-2-one과 1-(1H-pyrrol-2-yl)ethanone 이다. Ketone류는 모든 성분이 시료마다 거의 비슷한 평균정량값을 가짐을 볼 수 있다.

Hydrocarbons 류는 7개가 검출되었으며, 향미성분에는 큰 영향을 미치지 않는 성분이다.

가장 많은 평균정량값을 차지하는 sulfur 함유향미성분은 47개가 검출되었는데, 주로 낮은 역치값과 특이적인 향 특성으로 인해 향미를 결정하는 중요한 역할을 한다.

(Methyldisulfanyl)Methane는 모든 시료에서 검출되며 strong onion, cabbage-like odor향미를 가진다. 그 중에서도 특히 B시료와 G시료에서 많이 검출되었다. C시료를 제외하고 모든 시료에서 검출된 (methyltrisulfanyl)methane 또한 B시료에서 가장 많이 검출되었고, roasted, burnt, meaty notes 향미특성을 가지는 4-ethyl-5-methyl-1,3-thiazole는 C 시료에서 sulfur-containing compounds 중 가장 높은 정량값을 보였다.

Sulfur 함유 alcohols 중에서 두유의 ultrahigh-temperature (UHT) 공정에서 off-flavor로 생성되는 methanethiol (Lozano et al., 2007)은 D, E, G, H 시료에서 소량 발견되었으며, methanethiol은 methionine으로부터 methionine- γ -lyase에 의해 분해되어 생성되며 (Fig.12) Maillard 반응에 의해 methionine 조성을 형성하며, methionine은, 치즈나 우유에 있는 펩타이드와 아미노산이 대사체 내에서 분해되어 생성되기도 한다 (Fig. 13).

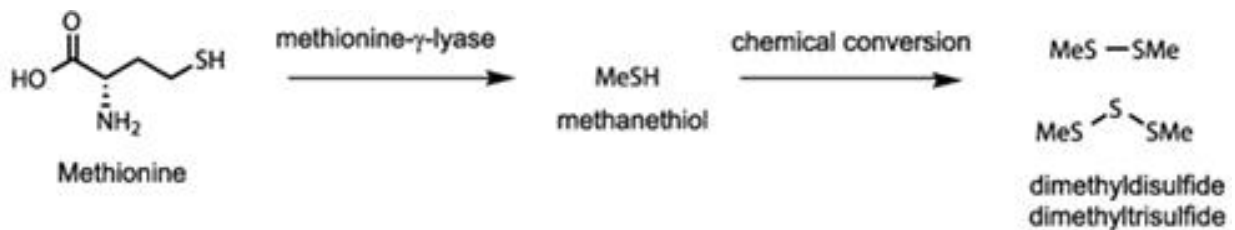


Fig. 12. Formation of methanethiol from methionine by methionine- γ -lyase (Hohnson Matthey. 2013).

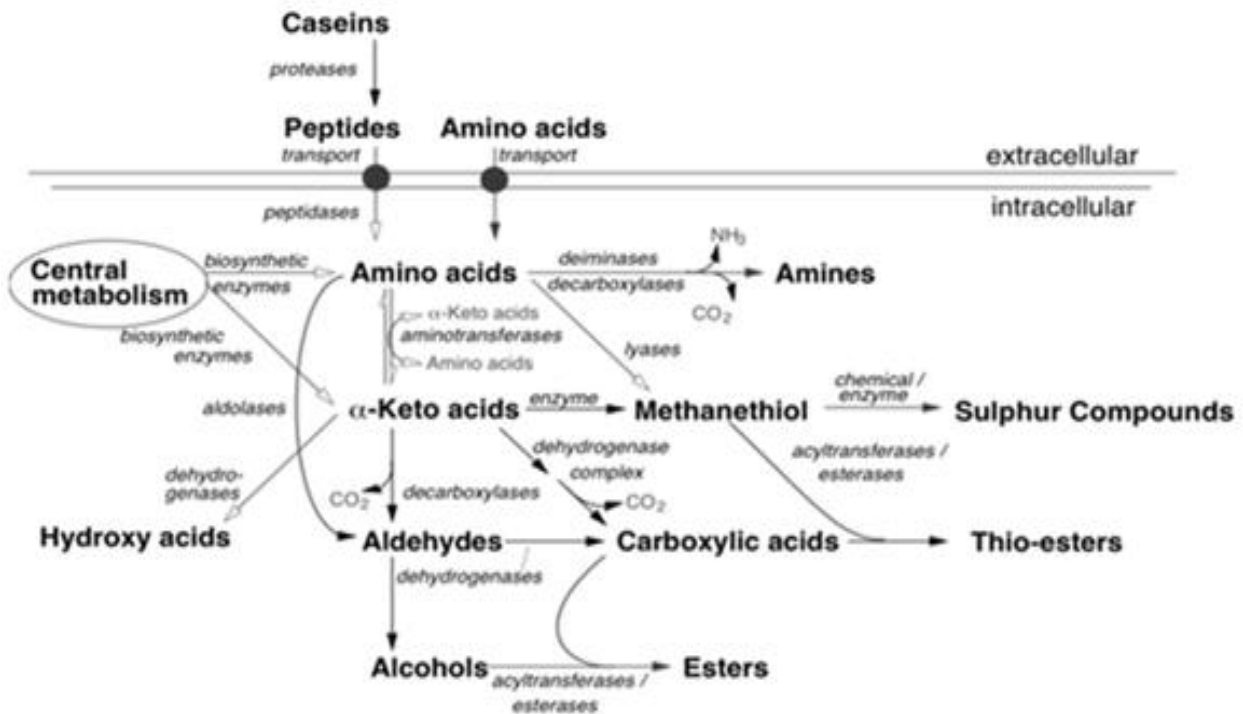


Fig. 13. General pathways leading to intracellular metabolites, and their degradation routes to potential flavor compounds (R van Kranenburg et al., 2002).

Terpene류는 19개가 검출되었고, 특히 다른시료에 비해 냄새가 강했던 A시료에서 15개의 terpene이 발견되며, 가장 많은 terpene 함유의 경향을 보였다. Terpene류는 식물의 방어를 목적으로 세포 내에서 합성된 후 방출되는 기작 (Pichersky, 2006)을 통해 대부분의 식물에 존재하는 것으로 알려져 있으며, 생강의 주요 성분인 zingiberene과 같이 특정 식물에서만 주로 검출되는 성분도 있다.

모든 시료에서 공통적으로 발견된 terpene은 없었지만 woody, spicy, dry odor; spicy, woody, with citrus undertone taste 향미성분을 띠는 caryophyllene이 D, E, H 시료를 제외하고 공통적으로 검출되었다.

limonene 은 A 시료에서 terpene 함유량 중 가장 높은 함유량을 보였다. limonene과 같은 terpene류는 monoterpene류에 속하는데 생성기작은 Fig. 14와 같다 (Zhang, 2011). Monoterpene류의 생성기작은 plastid 내에서 이루어지며 methylerythritol이 isopentenyl pyrophosphate (IPP)로 전환되는 methylerythritol 4-phosphate (MEP) pathway를 통해 생성된다 (Fig. 15).

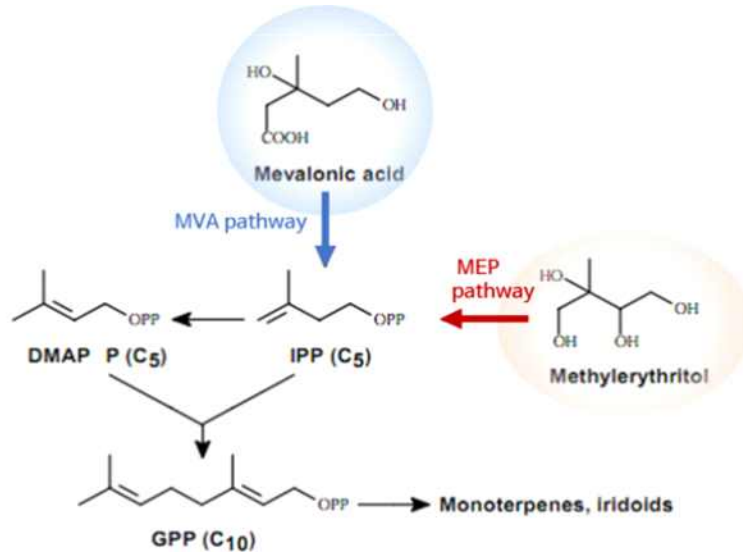


Fig. 14. Mevalonic acid methyl erythritol biosynthetic pathways of monoterpene (Zhang et al., 2011).

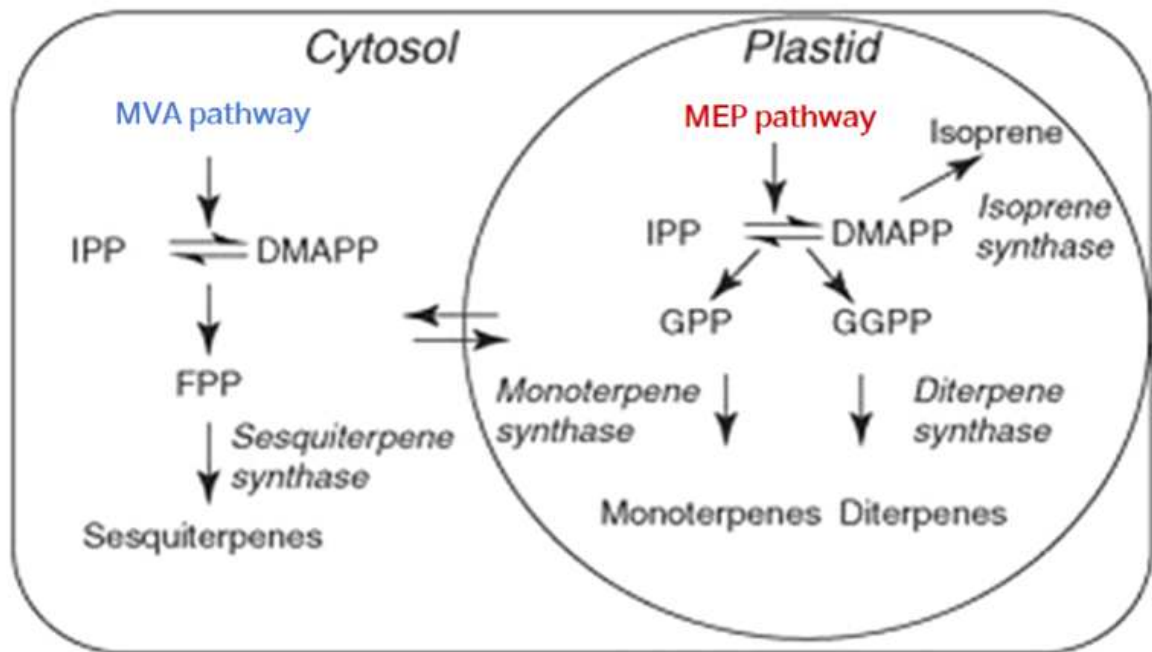


Fig. 15. Methylerythritol biosynthetic pathway of terpenes in plants (Tholl et al., 2006).

Benzene류는 총 11개가 검출되었으며, 그 중 toluene이 모든시료에서 공통적으로 검출되었고, G, H시료에서 특히 함유량이 높았다.

Pyrazine류에서는 총 27개가 검출되었다. 2-ethyl-6-methylpyrazine과 2-ethyl-5-methylpyrazine이 공통적으로 모든 시료에서 검출되었으며, 2-ethyl-6-methylpyrazine는 roasted, hazelnut, cocoa, cooked potato like notes 향미를 가지고, 2-ethyl-5-methylpyrazine는 coffee, nutty, roasted, toffee, cocoa, some green note 향미를 가지는 특성이 있다. 두 성분간의 평균정량값은 모든 시료에서 비슷하게 나타났다.

그 밖의 특이적인 향기성분으로는 green, vegetative, nutty, hazelnut 향취를 가지는 4-ethyl-2,5-dimethyl-1,3-oxazole가 시료 C에서만 검출되었고, pungent, somewhat alliaceous-vegetative earthy-smoky odor and taste 향기성분을 가지는 1-(furan-2-ylmethyl)pyrrole이 시료 D에서만 검출되었다. 또한 1H-indole이 시료 E에서만 검출되었다.

③ 쌀발효물의 비휘발성 성분 분석

㊸ 비휘발성 성분의 동정 및 정량

GC-TOF-MS로 분석된 쌀발효물의 비휘발성 성분들에 대한 chromatogram은 Fig. 16과 같으며 이로부터 정성 및 정량한 성분들의 결과는 Table 7과 같다.

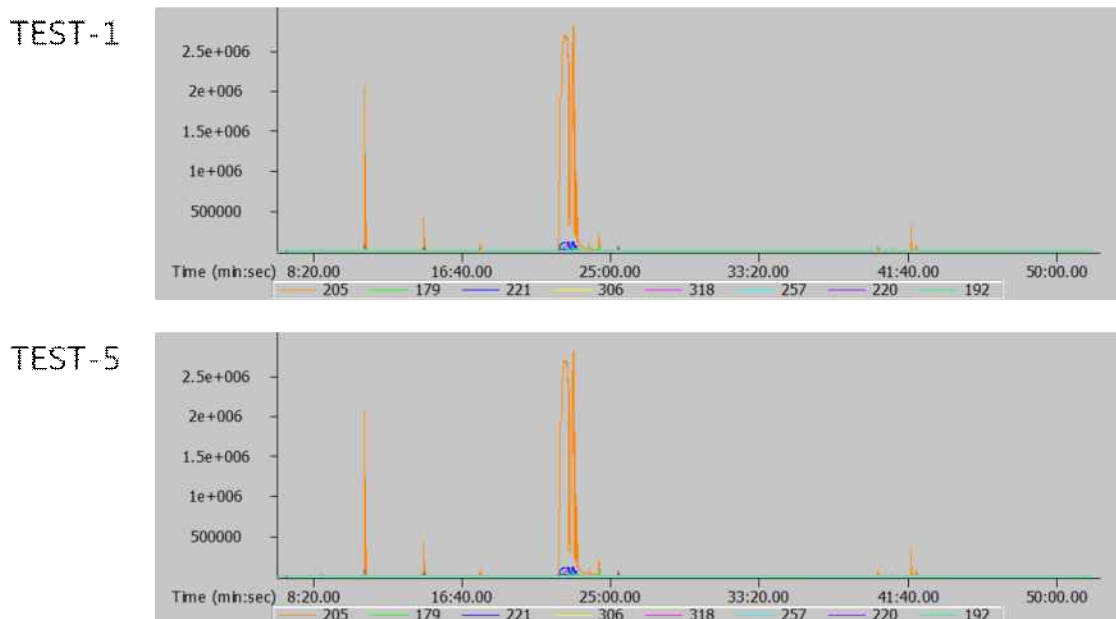


Fig. 16. GC-TOF-MS total ion chromatograms of non-volatile compounds in fermented rice samples.

Table 7. Non-volatile compounds identified in fermented rice samples using GC-TOF-MS

No.	non-volatile compounds	relative peak area	
		TEST1	TEST5
amino acids			
1	alanine	0.816	0.164
2	asparagine	0.128	-
3	aspartic acid	0.456	0.025
4	glutamic acid	0.205	0.270
5	glycine	1.019	1.915
6	histidine	0.835	0.009
7	methionine	0.498	-
8	norvaline	1.131	-
9	ornithine	0.204	-
10	proline	1.801	0.025
11	serine	0.274	-
12	threonine	0.310	-
13	tyrosine	1.316	-
14	valine	0.299	-
organic acids			
15	acetic acid	0.409	-
16	citric acid	1.422	0.033
17	lactic acid	0.104	0.727
18	malic acid	-	0.057
19	oxalic acid	3.323	0.096
20	propanoic acid	0.035	-
21	succinic acid	0.279	0.058
carbohydrates			
22	galactose	3.197	108.806
23	glucose	49.518	134.434
24	maltose	3.228	26.813
25	mannitol	0.255	0.653
26	mannose	0.350	0.595
27	<i>myo</i> -inositol	0.181	-
28	ribose	0.446	-
29	sucrose	0.024	0.470
30	xylitol	3.894	9.755
31	xylose	0.155	-

쌀발효물 2종에서 동정된 아미노산은 14종류로, alanine, asparagine, glutamic acid, glycine, histidine, methionine, norvaline, ornithine, proline, serine, thereonine, tyrosine, valine이 검출되었다. TEST-5에서 검출된 아미노산은 alanine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, histidine, proline 뿐이었고, 모두 TEST-1에 비해 적은 평균정량값을 보였으나, glycine은 TEST-1보다 큰 정량값을 보였다.

TEST-1과 TEST-5에서 검출되는 주요 아미노산이 달랐는데, 이는 발효제의 종류에 따라 유리 아미노산의 조성이 크게 달라지며, 신맛, 감칠맛, 단맛, 및 쓴맛을 나타내는 유리 아미노산들이 균형있게 함유되어 있어야 한다 라는 결과 (So MH, 1999)를 확인할 수 있었다.

유기산은 7종류로, acetic acid, citric acid, lactic acid, malic acid, oxalic acid, propanoic acid, succinic acid가 검출되었으며 그 중, citric acid, lactic acid, oxalic acid, succinic acid가 공통적으로 검출되었다. Citric acid는 강한 신맛을 부여하는 성분으로, TEST-1에서 TEST-5에 비해 약 50배정도 검출되었다. Lactic acid는 신맛에 기여하는 성분으로 주로 발효 중 당이 분해되며 생성된다. 위의 결과로 TEST-5에서 더 많이 검출되었다.

당은 galactose, glucose, maltose, mannitol, mannose, *myo*-inositol, ribose, sucrose, xylitol, xylose가 검출되었다. Glucose와 sucrose, glutamic acid와 aspartic acid는 Sweetness와 감칠맛 (umami taste)을 결정하는 중요한 역할을 하며 쌀의 palatability에 영향을 미친다 (Tran et al., 2005). TEST-5에서 galactose, glucose의 평균정량값이 월등히 큰 값을 보였으며, glucose와 galactose는 lactose가 분해되어 생기는 물질 (Hyoung Churl Bae, 2010) 이다. 젖산균에 의한 lactose 대사과정 중 생성되는 glucose는 약 95%가 lactic acid로 전환되며, 이 lactic acid는 발효제품의 풍미 및 영양 면에서 중요한 역할을 담당하게 된다.

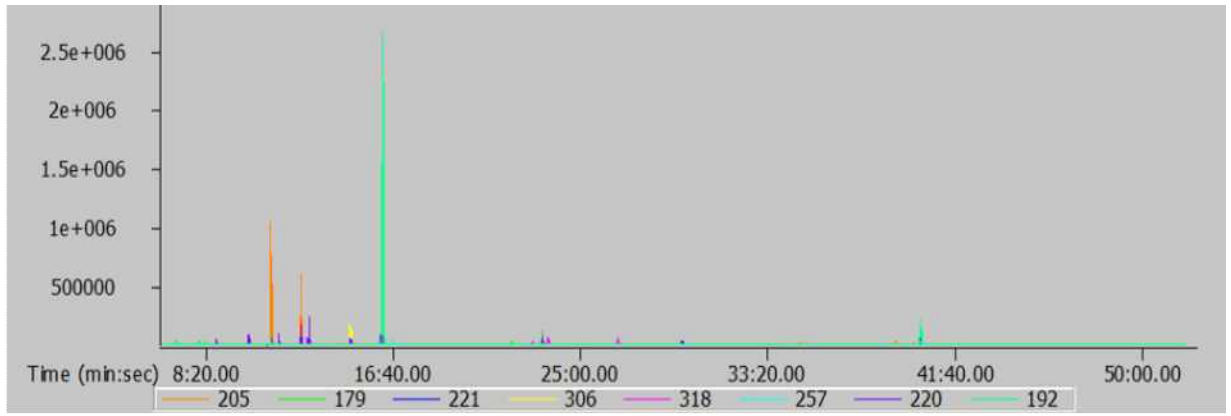
Jeong 등 (2002)의 연구에 따르면 발효원으로 사용된 젖산균이 lactose를 분해하여 glucose를 생육하는 데 사용하기 때문에 당도가 감소하고, galactose는 계속 잔존하기 때문에 당도가 유지될 것 이라는 사실이 예측된다.

④ 유사 타사제품의 비휘발성 성분 분석

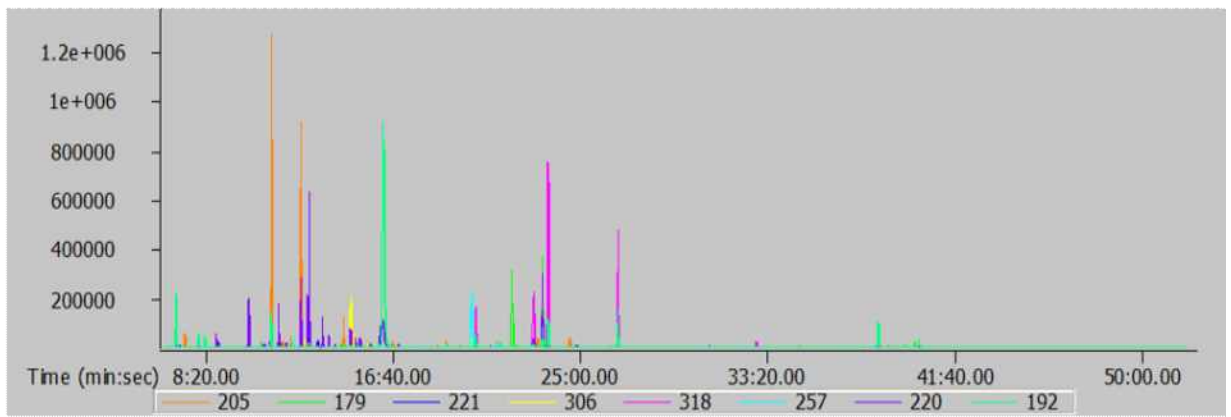
㉞ 비휘발성 성분의 동정 및 정량

GC-TOF-MS로 분석된 유사 타사제품의 비휘발성 성분들에 대한 chromatogram은 Fig. 17과 같으며 이로부터 정성 및 정량한 성분들의 결과는 Table 8과 같다.

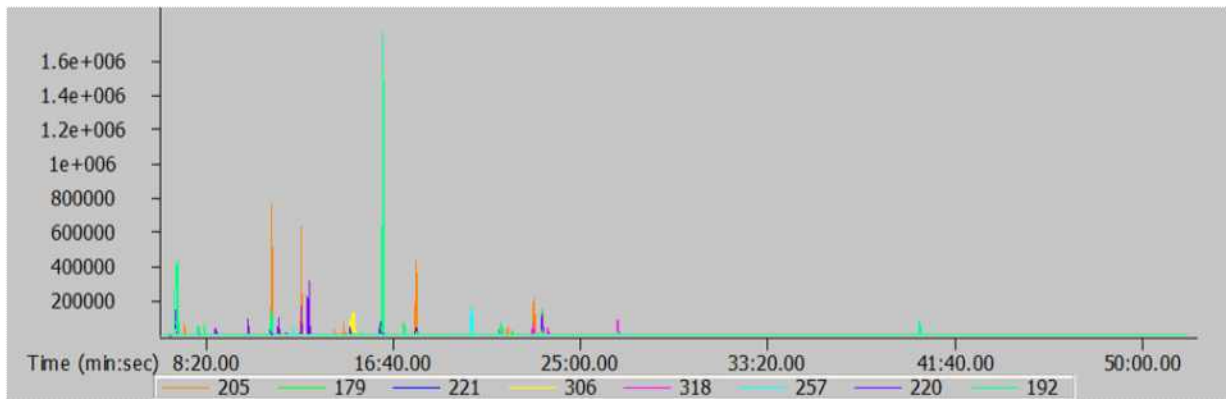
A



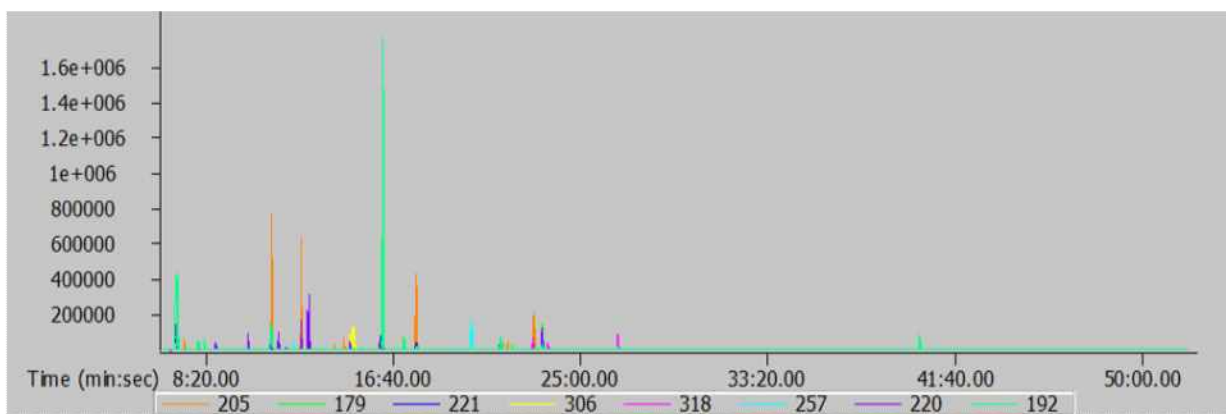
B



C



D



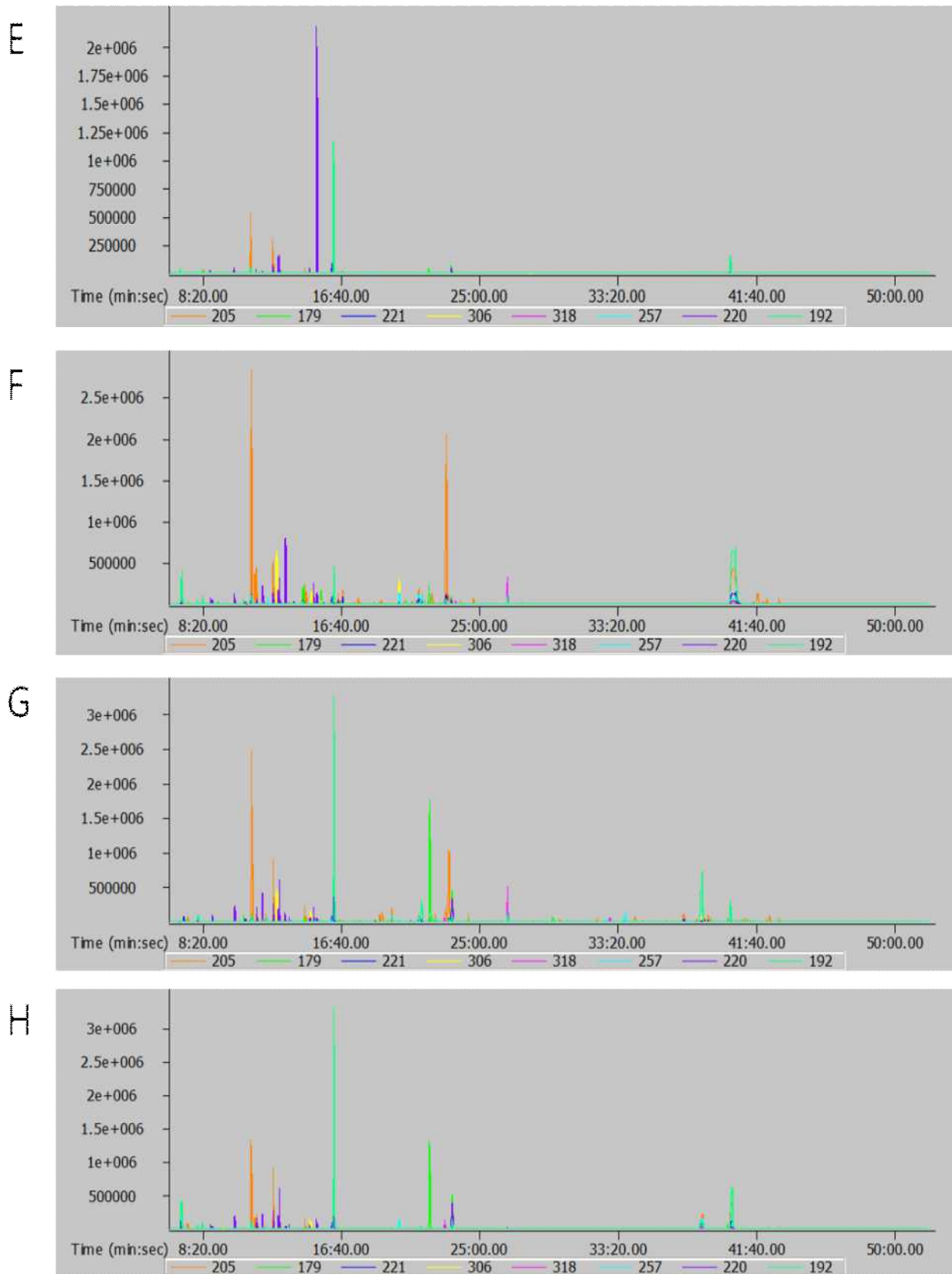


Fig. 17. GC-TOF-MS total ion chromatograms of non-volatile compounds in rival product samples.

Table 8. Non-volatile compounds identified in rival samples using GC-TOF-MS

No.	non-volatile compounds	relative peak area							
		A	B	C	D	E	F	G	H
amino acids									
1	alanine	29.502	5.173	28.661	12.593	27.196	14.700	23.008	3.351
2	asparagine	0.571	9.447	3.443	0.781	10.110	-	0.162	11.755
3	aspartic acid	9.345	22.616	7.922	1.040	6.082	7.575	7.789	10.031
4	glutamic acid	39.037	92.372	39.788	16.621	111.016	7.862	18.185	15.588
5	glutamine	0.667	94.642	77.351	52.028	105.925	-	-	68.138
6	glycine	24.573	17.662	11.829	4.522	13.697	3.278	14.424	13.634
7	histidine	0.838	7.769	22.263	1.150	2.050	-	-	3.978
8	isoleucine	-	-	15.431	2.518	29.249	-	16.237	23.460
9	leucine	-	1.227	-	-	-	-	-	-
10	lysine	5.422	18.166	10.983	9.609	7.688	-	1.721	6.810
11	methionine	0.358	2.978	0.942	0.701	20.738	-	-	2.872
12	ornithine	-	2.992	9.005	4.728	1.789	-	1.768	4.756
13	phenylalanine	-	14.382	16.767	0.873	18.084	-	13.822	19.474
14	proline	49.985	48.528	26.316	55.007	1.860	56.919	16.738	0.730
15	serine	14.945	15.428	7.345	0.960	8.296	8.507	8.035	10.859
16	threonine	11.293	19.804	11.570	1.215	8.731	8.669	6.195	8.511
17	tyrosine	8.465	13.063	7.109	1.723	11.768	3.897	10.456	8.329
18	valine	46.683	21.348	14.838	3.959	13.393	13.783	16.961	12.437
organic acids									
19	acetic acid	47.049	1.606	-	3.342	0.876	0.893	1.855	1.458
20	citric acid	10.631	12.202	42.288	0.181	0.796	10.139	2.564	21.990
21	lactic acid	17.249	21.253	241.837	23.849	18.264	64.646	3.126	127.072
22	malic acid	3.430	0.506	2.576	1.507	0.122	8.126	2.920	1.366
23	oxalic acid	-	2.625	3.432	-	-	-	1.550	1.274
24	picolinic acid	0.048	0.036	0.072	-	0.060	0.134	-	-
25	propionic acid	2.782	1.475	1.830	1.123	1.083	2.042	5.528	27.171
26	succinic acid	20.141	9.073	30.865	6.049	-	79.305	47.097	61.487
carbohydrates									
27	arabitol	0.066	0.104	0.056	-	0.357	0.641	0.711	-
28	fructose	0.697	0.251	7.864	0.609	0.322	0.163	0.234	0.594
29	galactose	1.999	0.114	0.060	0.985	0.385	0.399	0.431	3.802
30	glucitol	-	0.000	-	-	-	0.043	-	-
31	glucose	2.740	0.115	0.103	0.289	0.305	0.229	0.956	0.441
32	maltose	10.072	0.375	-	0.536	5.029	4.276	1.407	6.323
33	mannitol	-	0.197	1.098	-	0.296	4.537	3.038	-
34	mannose	-	0.071	0.201	-	-	0.232	0.260	0.052
35	myo-inositol	5.840	3.859	1.512	0.231	0.029	4.631	2.047	-

36	pentitol	-	0.046	-	-	-	0.369	-	-
37	ribitol	2.683	0.041	-	-	-	0.198	-	-
38	ribose	-	0.315	0.256	0.253	-	0.016	0.961	-
39	sucrose	2.004	0.105	1.058	1.025	0.057	0.122	-	0.020
40	xylitol	-	21.639	8.553	0.582	0.043	2.418	2.088	-
41	xylose	-	0.922	0.733	0.639	0.063	0.502	1.268	-

유사 타사 제품 8종에서 동정된 아미노산은 alanine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, ornithine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tyrosine, valine으로 총 18개 였으며, 모든 시료에서 공통적으로 검출된 아미노산은 alanine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, proline, serine, threonine, tyrosine, valine이었다.

Alanine은 일반적으로 피루브산의 환원적 아미노화 반응에 의해 생성되며, 알라닌 회로를 통해서 젖산과 더불어 단백질로부터 포도당을 합성하는 역할을 한다. 수육, 가금류, 어류, 난류, 유제품과 같은 단백질이 포함된 식품에 풍부하게 포함되어 있으며, 모든 시료에서 비교적 큰 값을 보였고, 시료 A, C, E, G에서 가장 많은 함유량을 보였다. aspartic acid는 특히 B시료에서 큰 값을 보였다. glycine은 시료 전체적으로 비슷한 양의 값을 보였으나, A시료에서 큰 값을 보였다. proline은 시료 전체적으로 큰 양이 함유되어있었지만, 시료 E와 H에서 현저히 적은 양이 발견되었다. serine에서도 전체적으로 비슷한 함유량 이었지만, D시료에서 가장 적은 값을 보였다. 그 밖에 threonine과 tyrosine은 전체시료에서 무의미한 차이값을 보였으나 valine에서는 A시료가 다른 시료에 비해 4배 이상의 함유값을 보였다.

유기산은 acetic acid, citric acid, lactic acid, malic acid, oxalic acid, picolinic acid, propanoic acid, succinic acid가 검출 되었다. 전체 시료에서 모두 동정된 유기산은 citric acid, lactic acid, malic acid, propanoic acid이다. malic acid는 과일 등의 신맛에 관여하는 성분으로, 당류와 함께 있을 때 독특한 신맛과 단맛을 내고 이 성분은 F시료에서 가장 많이 검출되었다. lactic acid가 전체시료에서 가장 많은 비중을 차지하였다. 특히 C 시료와 H 시료에서 큰 값을 보였다.

당류는 arabinol, fructose, galactose, glucitol, glucose, maltose, mannitol, mannose, myo-inositol, pentitol, ribitol, ribose, sucrose, xylitol, xylose가 검출되었다. 전체시료에서 모두 검출된 당은 fructose, galactose, glucose으로 단당류만 모든 시료에서 공통적으로 검출되었다. erythritol은 단맛을 내지만 몸에 잘 흡수되지 않는 이점을 가진다.

2. 채소 추출물의 휘발성 대사체 분석

가. 채소 추출물의 휘발성 유기화합물 (VOC)의 추출법, 기기분석법

① 실험 재료

본 실험에서 채소의 추출별 휘발성 성분 분석을 위하여, 1차년도 채소추출물 모듈개발을 위해 샘플에서 추출한 채소 5종 추출물 (대파, 양파, 방울토마토, 무, 마늘)을 사용하였다. 각기 다른 추출 농축 방법으로 제조된 채소추출물은 다음과 같다. 대파, 무, 양파 추출물은 초핑 분쇄물, 분쇄 추출물, 열수 추출물, 역삼투 농축액, 농축액 (20 brix) 타사제품으로 추출하여 비교하였으며, 마늘 추출물은 초핑 분쇄물, 분쇄 추출물, 열수 추출물, 역삼투 농축액, 효소분해 추출물, 농축액 (20 brix) 타사제품으로 방울토마토 추출물은 초핑 분쇄물, 효소분해 추출물, 농축액 (20 brix) 타사제품으로 추출하여 비교하였다. 각 추출 방법에 대한 정보는 다음과 같다.

㉠ 초핑 분쇄물

분쇄된 채소

㉡ 분쇄 추출물

분쇄된 채소를 여과지 (Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA, Kyoto, Japan) 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

㉢ 열수 추출물

분쇄된 채소를 90℃, 3시간 열수추출 후 여과지 (Whatman No.2)를 사용하여 여과한다. 여과한 액을 rotary vacuum evaporator로 (EYELA) 20 Brix까지 감압 농축한 후 85℃, 30분간 살균 후 여과하였다.

㉣ 역삼투 농축액

● 채소 착즙액의 제조

채소 착즙액의 제조는 분쇄된 채소를 여과로포 압착 여과후, 규조토를 통하여 2차 여과하다.

● 채소 착즙액의 한외여과

2차 여과로 얻어진 채소 착즙액을 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 9. 한외여과막의 특성 및 공정조건

material	Polyethersulfone (PES)
Temperature (°C)	25
pH	6.5

● 채소 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 batch system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 15brix

에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 10. 역삼투압막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Temperature (°C)	25
pH	6.5

● 효소분해 추출물

채소의 1차 착즙액으로부터 얻어진 채소 잔사에 채소 잔사와 viscozyme L 0.5%로 45°C에서 4시간 가수분해하여 종료 후, 규조토를 여과하여 효소분해 착즙액을 얻었다.

② 채소 추출물 내 휘발성 유기화합물의 Solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 추출 방법 및 GC/MS 분석 방법

㉠ Solid phase micro-extraction (SPME)

쌀발효물 시료 내 휘발성 향미성분들을 흡착시키기 위해 다양한 범위의 물질을 흡착할 수 있는 Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber (Supelco)가 사용되었다. 20mL의 갈색 vial에 채소 추출물 시료를 고형분 함량에 따라 일정량의 정제수로 희석한 후 4g을 담아 40°C에서 250 rpm으로 30분 동안 평형상태를 유지시킨 다음 SPME fiber 2 mm를 노출시켜 5분 동안 휘발성 성분을 흡착하였다. 휘발성 성분의 탈착은 GC-MS 주입구 (250°C)에서 5분간 수행하였으며 모든 분석을 2번 반복적으로 수행하였다.

㉡ GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

● 양파, 토마토 대파

SPME를 사용하여 추출한 채소 추출물의 휘발성 향미 성분은 HP 7890A gas chromatograph에 연결된 5975C mass detector (Agilent Technologies)로 분석하였으며, column은 DB-WAX (30m x 0.25mm x 0.25µm, Agilent)를 사용하였다. GC oven 온도는 40°C에서 6분간 유지시키고 60°C까지 분당 4°C씩 올린 후 3분간 유지한 후 130°C까지 분당 2°C씩 올린 후 160°C까지 분당 4°C씩 올린 후 200°C까지 분당 8°C씩 올렸다. Injector와 detector transfer line의 온도는 각각 250°C와 280°C, mass scan range는 35-350 a.m.u.이었으며 mass spectra는 70 eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 splitless mode로 분석하였다.

● 마늘, 무

SPME를 사용하여 추출한 마늘과 무 추출물의 휘발성 향미 성분 또한 HP 7890A gas chromatograph에 연결된 5975C mass detector (Agilent Technologies)로 분석하였으며, column은 DB-WAX (30m x 0.25mm x 0.25µm, Agilent)를 사용하였다. GC oven 온도는 40°C에서 6분간 유지시키고 90°C까지 분당 3°C씩 올린 후 5분간 유지한 후 120°C까지 분당 1°C씩 올리고, 160°C까지 분당 4°C씩 올린 후 200°C까지 분당 8°C씩 올렸다. Injector와 detector transfer line의 온도는 각각 250°C와 300°C, mass scan range는 35-350 a.m.u.이었으며 mass

spectra는 70 eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 split mode로 분석하였다.

㉔ 휘발성분의 정성 및 정량

채소 추출물의 휘발성 성분들의 동정은 retention index (RI), mass spectral database (Wiley9n.1) 및 manual interpretation에 의해 수행되었다. 분석 조건으로 RTE Integrator Parameters는 data filtering은 5-point, start threshold는 0.05, stop threshold는 0으로 하였다. 각 peak의 area는 GC-MS total ion chromatogram상에서 얻은 전체 peak area의 합으로 나눈 값을 사용하였다.

㉕ 휘발성분에 대한 다변량 통계분석

GC-MS로 분석하여 얻은 채소추출물의 다양한 휘발성 향미성분에 대하여 SIMCA-P software (SIMCA-P version 11.0, Umetrics, Umea, Sweden)을 이용해 주성분 분석 (principal component analysis, PCA)를 실시하였다.

① 채소추출물 휘발성 유기화합물(VOC)의 동정 및 정량 분석

㉔ 대파 추출물의 휘발성 향미 성분 분석

대파 추출물의 휘발성 향미 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌고 GC-MS를 통해 분석되었다. Table 11은 대파 추출물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이고, GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms는 Fig. 18와 같다.

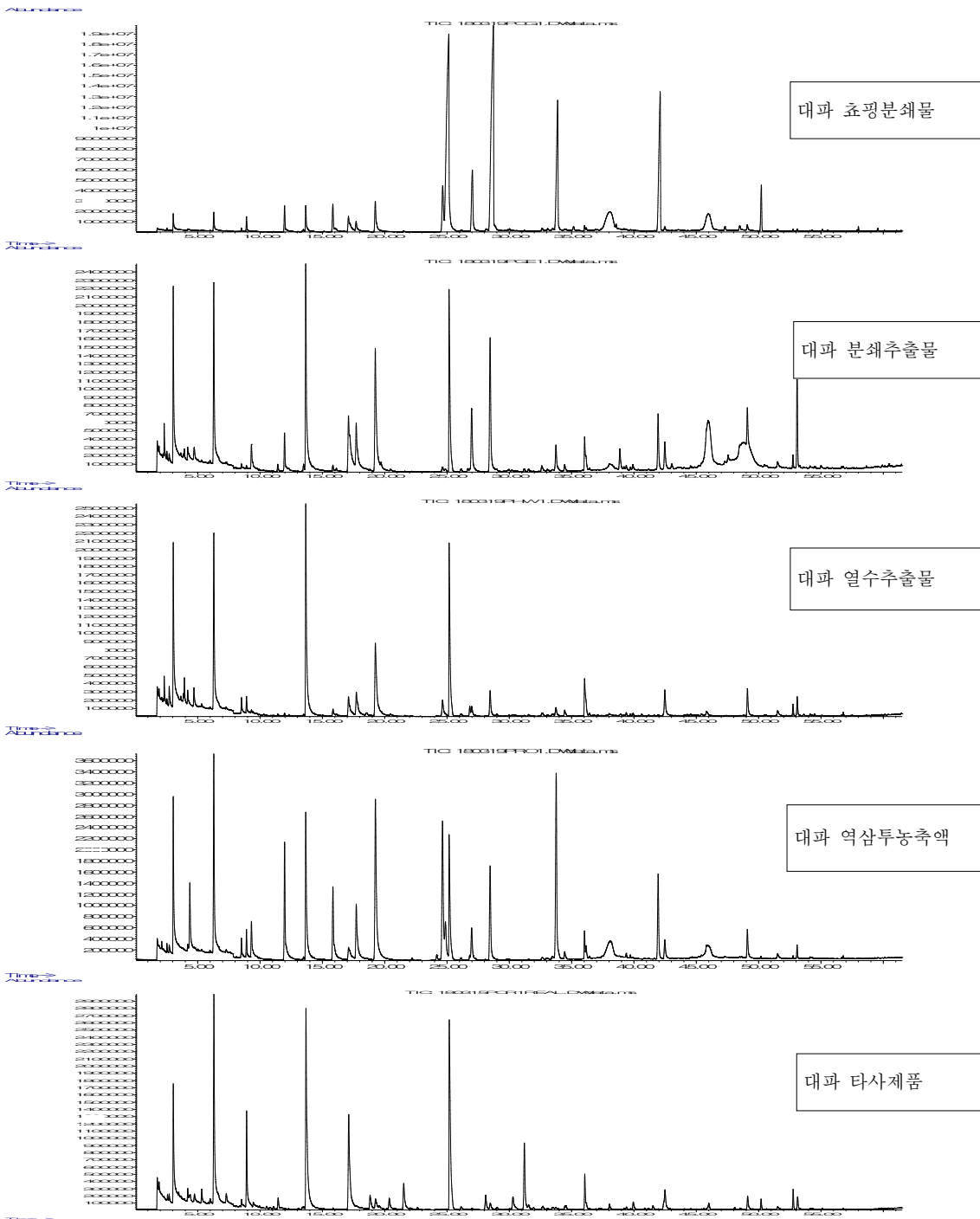


Fig 18. 대파추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 11. Volatile compounds identified in spring onion samples using GC-MS

No.	RI ⁵⁾	cas #	possible volatile compounds	odor descriptions ⁶⁾	Relative peak area (%) ⁷⁾					ID ⁸⁾
					효평 분쇄	분쇄 추출	열수 추출	역삼투 추출	타사 농축	
acids										
1	1387	004208-49-5	prop-2-enyl furan-2-carboxylate	caramellic, fruity, coffee odor; pineapple, strawberry taste	- ⁹⁾	0.219	-	-	-	MS
2	1448	000064-19-7	acetic acid	pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste	0.000	-	-	-	-	MS/RI
3	1716	000079-09-4	propionic acid	pungent, sour milk odor; sour milk and cheese taste	4.090	-	-	-	-	MS
alcohols										
4	929	000064-17-5	ethanol	sweet, ethereal (alcoholic) odor; primarily used as a solvent	-	-	-	4.037	-	MS/RI
5	1051	999298-90-9	2-ethyl-2-methyltridecan-1-ol	-	-	-	-	0.497	-	MS
6	1349	000111-27-3	hexan-1-ol	chemical, winey, slight fatty-fruity odor	-	-	-	0.378	-	MS/RI
7	1390	000565-67-3	2-methylpentan-3-ol	-	-	0.125	-	-	-	MS
8	1445	003391-86-4	oct-1-en-3-ol	very strong, sweet, earthy mushroom odor and taste	0.039	-	-	-	-	MS/RI
9	1485	000104-76-7	2-ethylhexan-1-ol	sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste	5.119	-	-	-	-	MS/RI
10	1486	000104-76-7	2-ethylhexan-1-ol	sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste	-	-	-	0.070	-	MS/RI
11	1576	000111-77-3	2-(2-methoxyethoxy)ethanol	-	-	0.499	0.263	-	0.701	MS/RI
12	1609	000111-90-0	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	-	-	-	0.413	-	1.009	MS/RI
13	1688	010482-56-1	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexan-1-ol	-	-	-	0.176	-	-	MS

14	1907	000128-37-0	2,6- <i>ditert</i> -butyl-4-methylphenol	antioxidant for flavor oils - See comments	-	0.080	0.297	-	-	MS/RI
15	1974	000112-53-8	dodecan-1-ol	oily-fatty, slight waxy-floral-citrus odor; fatty waxy taste	-	0.129	-	0.047	-	MS/RI
16	>2000	999109-43-3	3,4-dimethylnon-1-en-4-ol	-	0.133	-	-	-	-	MS

aldehydes

17	788	000123-38-6	propanal	breathtaking green acetaldehyde-like odor; green-nutty winey taste	0.069	0.337	0.594	0.336	-	MS/RI
18	908	000096-17-3	2-methylbutanal	strong, cocoa-like, malty, fermented odor	-	0.111	0.680	-	-	MS/RI
19	911	000590-86-3	3-methylbutanal	pungent, cocoa, green fruity odor; cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution	-	0.357	2.249	-	0.139	MS/RI
20	968	000110-62-3	pentanal	strong, acrid, pungent odor; chocolate & nut-like below 10ppm	0.027	-	-	-	1.064	MS/RI
21	1071	000066-25-1	hexanal	strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor	0.443	0.091	1.697	1.181	4.576	MS/RI
22	1081	001115-11-3	(E)-2-methylbut-2-enal	-	0.011	1.369	0.473	2.077	4.437	MS/RI
23	1115	001576-87-0	pent-2-enal	-	-	-	-	-	0.124	MS/RI
24	1139	000623-36-9	(E)-2-methylpent-2-enal	pungent green, fruity odor; sharp sweet, fruity, jammy brown taste	0.649	1.932	0.300	6.578	-	MS/RI
25	1168	000111-71-7	heptanal	fatty-rancid; in dilution sweet, nutty, green, fatty-cognac like; citrus	-	-	-	-	0.183	MS/RI
26	1303	057266-86-1	(Z)-hept-2-enal	-	0.056	-	-	-	4.063	MS/RI
27	1317	026266-68-2	2-ethylhex-2-enal	-	-	-	-	0.137	-	MS
28	1373	000124-19-6	nonanal	fresh, citrus, floral, green note	0.064	0.238	0.331	0.199	0.329	MS/RI
29	1410	002363-89-5	(E)-oct-2-enal	fatty, green vegetable odor; fatty-green vegetable, melon, citrus	-	-	-	-	2.041	MS/RI

30	1472	004313-03-5	hepta-2,4-dienal	taste fatty, green, citrus with an oily, greasy note, somewhat cinnamon	0.146	-	-	-	0.119	MS/RI
31	1485	000112-31-2	decanal	strong, penetrating, sweet, waxy, orange peel odor; citrus taste	-	0.454	0.370	-	-	MS/RI
32	1497	000100-52-7	benzaldehyde	bitter almond,sweet cherry taste	-	0.053	0.440	0.173	0.139	MS/RI
33	1590	060714-25-2	4-(2,3-dimethyl-1-cyclopent-2-enyl)-4- methylpentanal	-	-	1.372	-	-	-	MS
34	1594	000432-25-7	2,6,6-trimethylcyclohexene-1-carbaldehyde	sweet, mild green, grassy floral hay-like, minty, slightly fruity odor	0.068	0.040	-	-	-	MS/RI
35	1622	000116-26-7	2,6,6-trimethylcyclohexa-1,3-diene-1- carbaldehyde	powerful saffron aroma and taste; tobacco-camphoraceous notes	-	-	0.327	-	-	MS/RI
36	1626	003913-81-3	dec-2-enal	waxy, fatty, earthy, coriander, mushroom, green, pork & chicken fat notes	-	-	-	-	0.169	MS/RI
37	1683	034246-54-3	3-ethylbenzaldehyde	-	-	-	0.069	-	-	MS/RI
38	1809	010486-19-8	tridecanal	fatty, waxy, orange citrus odor; ripe citrus, orange-tangerine taste	-	-	0.068	-	-	MS/RI
39	>2000	000626-19-7	benzene-1,3-dicarbaldehyde	-	-	0.051	0.049	-	0.056	MS
benzene derivatives										
40	1030	000108-88-3	toluene	-	0.015	0.085	0.244	0.184	0.775	MS/RI
41	1109	000100-41-4	ethylbenzene	-	-	-	-	-	0.226	MS/RI
42	1116	000095-47-6	1,2-xylene	-	0.022	-	-	-	0.092	MS/RI
43	1121	000108-38-3	1,3-xylene	-	0.027	-	-	-	0.215	MS/RI
44	1121	000106-42-3	1,4-xylene	-	-	-	0.065	-	-	MS/RI
45	1231	000100-42-5	styrene	characteristic resinous-balsamic pungent gassy-plastic odor	0.023	-	-	-	-	MS/RI

46	1709	000091-20-3	naphthalene	characteristic dry tarry camhorous hydrocarbon odor; musty taste	-	-	0.087	-	-	MS/RI
47	1720	030364-38-6	1,1,6-trimethyl-2H-naphthalene	petrol hydrocarbon note; woody, somewhat licorice	-	-	-	-	0.823	MS/RI
48	1760	000644-30-4	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)benzene	-	-	-	-	-	0.198	MS/RI
esters										
49	822	000079-20-9	methyl acetate	sweet, volatile ethereal-fruity odor; similar to ethyl acetate	0.010	-	-	0.246	0.614	MS/RI
50	1224	000123-66-0	ethyl hexanoate	strong, fruity, pineapple, banana with strawberry, pear & tropical notes	-	-	-	0.018	-	MS/RI
51	1863	074367-34-3	3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate	-	0.060	0.707	1.294	0.172	1.438	MS/RI
52	1872	006846-50-0	[2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate	-	0.077	6.275	-	0.734	1.140	MS
53	1872	074381-40-1	[2,4,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate	-	-	-	1.988	-	-	MS/RI
54	>2000	000141-04-8	bis(2-methylpropyl) hexanedioate	-	0.006	0.059	0.043	0.047	-	MS
furans										
55	799	000110-00-9	furan	peculiar, sweetish spice-smoke-like, burnt on dilution	-	-	-	-	0.337	MS/RI
56	943	003208-16-0	2-ethylfuran	strong, sweet-ethereal, burnt brown, somewhat coffee musty odor	-	-	2.099	-	-	MS/RI
57	1219	003777-69-3	2-pentylfuran	earthy, green, beany with vegetable & fruity notes	-	0.145	0.152	-	-	MS/RI
58	1289	070424-14-5	2-[(E)-pent-2-enyl]furan	-	-	0.065	0.360	-	-	MS/RI
ketones										
59	812	000067-64-1	propan-2-one	characteristic solvent odor	0.011	0.419	1.567	0.213	0.619	MS/RI

60	900	000078-93-3	butan-2-one	sweet, solvent, acetone-like ketonic odor; fruity camphor odor	-	-	0.753	-	-	MS/RI
61	956	002758-18-1	3-methylcyclopent-2-en-1-one	sweet, caramellic, ketonic and somewhat chemical notes	-	-	-	0.108	-	MS
62	968	000107-87-9	pentan-2-one	ethereal fruity-ketonic, rum & whiskey odor; banana & dairy in dilution	-	0.062	0.352	-	-	MS/RI
63	1057	006704-19-4	1-cyclopropylpropan-1-one	-	-	-	-	-	0.083	MS
64	1287	004312-99-6	oct-1-en-3-one	powerful, harsh metallic mushroom like odor	-	-	-	-	1.445	MS/RI
65	1295	002408-37-9	2,2,6-trimethylcyclohexan-1-one	thujone-like, camphoraceous cistus-tobacco notes	-	-	-	-	0.059	MS/RI
66	1308	000585-25-1	octane-2,3-dione	sweet, buttery-creamy odor with cheesy & grilled fat notes	0.004	-	-	-	-	MS/RI
67	1324	000110-93-0	6-methylhept-5-en-2-one	mild, green fruity aspects	-	-	-	-	0.257	MS/RI
68	1485	001192-62-7	1-(furan-2-yl)ethanone	sweet, caramellic, balsamic, cereal, slight nut notes	-	-	-	-	0.521	MS/RI
69	1583	000112-12-9	undecan-2-one	fatty fruity-rosy-orange & Rue like odor; waxy-fruity, cheese-dairy taste	0.259	-	-	-	-	MS/RI
70	1596	064149-32-2	5-methyl-3-propan-2-ylidenehex-4-en-2-one	-	-	0.061	-	-	-	MS
71	1692	006175-49-1	dodecan-2-one	fruity, citrus, floral odor	-	0.188	0.137	-	-	MS/RI
72	1799	000593-08-8	tridecan-2-one	milky, herbaceous, slight spicy odor; milky-dairy-coconut taste	2.733	-	-	0.115	0.981	MS/RI
73	1850	003796-70-1	6,10-dimethylundeca-5,9-dien-2-one	-	-	-	-	-	0.040	MS/RI
74	1989	033922-66-6	2-hexyl-5-methylfuran-3-one	fresh, floral, rosy-green, slight fruity	-	-	-	0.042	-	MS/RI
N-containing compounds										
75	1515	000610-49-1	anthracen-1-amine	-	-	-	0.532	0.385	-	MS

76	1780	999067-89-0	methyl(Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate	-	1.340	3.462	2.559	1.420	2.111	MS
S-containing compounds										
77	742	000075-18-3	methyl sulfide	pungent, cabbage, cooked vegetable odor; corn-like on dilution	-	1.190	2.366	-	-	MS/RI
78	829	000107-03-9	propane-1-thiol	strong, sulfuraceous, onion, meaty, eggy, cabbage-like odor and taste	0.010	-	-	-	-	MS/RI
79	1061	000624-92-0	dimethyldisulfide	strong onion, cabbage-like odor	0.122	0.185	1.497	0.738	0.333	MS/RI
80	1105	000554-14-3	2-methylthiophene	onion, pungent, sulfurous, roasted, green	-	-	0.087	-	-	MS/RI
81	1128	000592-88-1	allyl sulfide	sweet, pungent, garlic-horseradish like	-	0.575	0.215	-	1.149	MS/RI
82	1170	000638-02-8	2,5-dimethylthiophene	xylene-like, fresh onion & green notes	1.623	4.116	0.174	0.390	0.258	MS/RI
83	1189	999020-08-9	(E)-1-[(E)-prop-1-enyl]sulfanylprop-1-ene	-	0.018	-	-	-	-	MS/RI
84	1203	002179-60-4	methyl propyl disulfide	odor and taste reminiscent of onion/garlic, radish & vegetative	1.639	0.351	0.879	3.799	0.170	MS/RI
85	1218	002432-43-1	S-propyl propanethioate	-	0.036	-	-	-	-	MS/RI
86	1235	000632-15-5	3,4-dimethylthiophene	toluene-benzene like, fried onion odor & fresh onion taste	0.205	4.072	4.505	0.788	17.017	MS/RI
87	1262	052195-40-1	(Z)-1-methylsulfanylprop-1-ene	-	-	-	-	-	2.045	MS
88	1267	030453-31-7	ethyl propyl disulfide	sulfurous; onion-garlic, roasted savory, gamey-fatty, green, vegetative	0.096	-	-	-	-	MS/RI
89	1269	005905-47-5	propenyl methyl disulfide	pungent fresh leek-onion like	2.930	16.122	24.030	17.652	1.844	MS/RI
90	1355	003658-80-8	dimethyl trisulfide	strong, onion-garlic with cabbage & cauliflower notes odor and taste	-	0.430	4.326	9.483	-	MS/RI

91	1359	000629-19-6	dipropyl disulfide	alliaceous, garlic, green onion, chive odor and taste	25.440	0.184	-	3.151	-	MS/RI
92	1413	999062-19-6	propenyl propyl disulfide	-	28.983	15.274	6.863	8.479	0.954	MS/RI
93	1425	999681-11-6	cyclohexylmethyl heptadecyl sulfite	-	-	-	0.173	-	0.098	MS
94	1461	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	-	0.301	0.286	-	-	MS/RI
95	1461	002179-57-9	3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene	strong, pungent, Garlic odor and taste	-	-	-	-	8.223	MS/RI
96	1467	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	-	-	-	0.047	0.569	MS/RI
97	1499	003120-74-9	3-methyl-4-methylsulfanylphenol	-	4.620	-	-	-	-	MS
98	1502	999073-33-5	methyl propyl trisulfide	-	-	1.898	1.834	-	-	MS/RI
99	1505	042137-24-6	5-nitrothiophene-3-carbonitrile	-	0.276	-	-	-	-	MS
100	1515	035373-10-5	2-methylisoindole-1,3-dithione	-	-	0.417	-	-	0.404	MS
101	1522	041830-43-7	prop-2-enyl propanedithioate	-	0.331	-	-	-	-	MS/RI
102	1551	067727-99-5	pentyl propyl disulfide	-	0.037	-	-	-	-	MS/RI
103	1566	042848-06-6	(E)-1-methylsulfanylprop-1-ene	-	-	-	-	0.058	-	MS
104	1572	001892-29-1	diethanol disulfide	-	2.892	-	-	2.053	-	MS
105	1600	999556-92-5	3-formyl-N-methyl-9-[phenylethynyl]dibenzo[2,3-a : 5,6-a'] (1,4)-thiazine	-	-	0.237	0.260	0.170	0.286	MS
106	1609	000638-00-6	2,4-dimethylthiophene	-	-	0.299	-	-	-	MS/RI
107	1717	999128-44-0	propenyl propyl trisulfide	-	0.476	12.240	0.000	3.024	0.000	MS

108	1769	105643-80-9	allyl cyanomethyl sulfide	-	-	-	-	-	0.153	MS
109	>2000	010441-57-3	1-methylpyrrolidine-2-thione	-	0.050	-	-	-	-	MS
110	>2000	014542-14-4	5-methoxy-1,3-thiazole	-	0.109	-	-	-	-	MS
hydrocarbons										
111	604	000110-54-3	hexane	-	0.068	0.430	2.133	0.364	1.242	MS/RI
112	995	000124-18-5	decane	hydrocarbon odor (gasoline-like)	0.016	0.146	0.182	0.148	0.889	MS/RI
terpenes										
113	1145	000123-35-3	myrcene	resinous terpene odor; balsamic-herbaceous-citrus taste	-	0.105	-	-	-	MS/RI
114	1147	000127-91-3	β -pinene	dry, woody, pine like, resinous odor; turpentine like taste	-	-	0.182	-	-	MS/RI
115	1591	041678-29-9	edulan I	-	-	-	0.419	-	-	MS/RI
116	1638	999191-97-4	γ -curcumene	-	-	-	-	-	0.446	MS
117	1926	000079-77-6	β -ionone	woody, violet, fruity odor; woody-raspberry on dilution	0.100	-	-	-	0.098	MS/RI

5) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

6) Reference: "1-flavor-base 2010" software

7) Average of peak area of individual compound divided by total peak areas (%).

8) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference:: "<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>" website

9) not detected

대파 추출물의 휘발성 향미성분을 분류하면 acid류 3개, alcohol류 13개, aldehyde류 24, benzene류 9개, ester류 6개, furan류 4개, ketone류 16개, nitrogen 함유향미성분 2개, sulfur 함유향미성분 34개, hydrocarbon류 3개, terpene류 5개로 총 119개의 성분이 동정되었다.

대파의 독특하고 강한 향미특성을 결정하는 주요 향미성분은 전체 휘발성 유기성분의 약 40%에 해당하는 sulfur 함유 휘발성 성분들이다. dimethyl disulfide, methyl propyl disulfide, 3,4-dimethylthiophene, propenyl methyl disulfide, propenyl propyl disulfide, dipropyl trisulfide, propenyl propyl disulfide, dipropyl trisulfide는 대파의 주요한 향기성분으로 알려져 있으며, 그 외에 다수의 sulfur 함유 유기향미성분들이 확인되었다. 또한 non-volatile flavor precursor의 열분해로 생성된 물질로 추정하고 있는 2,5-dimethylthiophene (Huh, K., 1985)도 검출 되었다. 대파에서 자극적인 냄새 특성을 갖는 sulfide류 중 monosulfide로는 methyl sulfide, allyl methyl sulfide, allyl sulfide, allyl cyanomethyl sulfide 4종이었으며, disulfide류는 dimethyl disulfide, methyl propyl disulfide, ethyl propyl disulfide, propenyl methyl disulfide, dipropyl disulfide, propenyl propyl disulfide, pentyl propyl disulfide, diethanol disulfide로 8종이 발견되었고, trisulfide류는 dimethyl trisulfide, methyl propyl trisulfide, dipropyl trisulfide, propenyl propyl trisulfide로 4종이 검출되었다. 휘발성 함유황 유기향미성분들은 Allium속의 특징적인 냄새와 맛의 원인이 되는 성분으로 액포에 있는 효소 alliinase, S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide lyase (E.C. 4.4.1.4)가 식물의 분쇄과정에 의해 유리된 무취, 비휘발성의 향 전구물질인 S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide (ACSOs)류를 pyruvate, ammonia 그리고 수많은 alk(en)yl-thiosulfinate류 즉, 휘발성 함유황 유기향미성분로 가수분해하여 생성된다 (Block, E., 1992). Alliinase는 garlic (*A. sativum*), onion (*A. cepa*), leek (*A. porrum*), shallot (*A. ascalonicum*), welsh onion (*A. fistulosum*), Chinese chives (*A. tuberosum*), rakkyo (*A. chinense*), ramson (*A. ursinum*)과 같은 Allium속의 많은 식물에서 발견되는 homodimeric glycoprotein으로, C-S lyase 활성을 가지고 있기 때문에 amino acid cysteine의 sulfoxide 유도체의 결합을 분해할 수 있다 (Kuettner, E.B., 2002).

추출 시 열을 가하는 분쇄추출물과 열수추출물에서 pungent, cabbage, cooked vegetable odor; corn-like 의 향미특성을 나타내는 methyl sulfide와 toluene-benzene like, fried onion odor 그리고 fresh onion 맛을 띠는 3,4-dimethylthiophene의 함량이 많이 나타나 sweet, cooked spring onion 특성을 띠는 경향을 보였고, 열을 가하지 않는 초평분쇄물과 역삼투농축액에서는 alliaceous, garlic, green onion, chive odor and taste의 향미특성을 보이는 dipropyl disulfide, strong, green onion-like, durian odor and taste의 향미특성을 보이는 dipropyl trisulfide의 함량이 비교적 많이 나타나는 경향을 보여 green, strong, garlic onion flavor 향미 특성을 공통적으로 확인할 수 있었다.

Aldehyde류는 총 24개가 검출되었고, acetaldehyde, propanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, pentanal, hexanal, nonanal, (E)-oct-2-enal, benzaldehyde가 대표적인 알데히드류로 확인되었으며 시료간의 유의적인 차이는 보여지지 않았다. 특히 strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor를 띠는 hexanal은 주로 불포화지방산인 linoleic acid로부터 주로 생성되는 성분으로 (Luciano do N. Batista, 2015) 타사 농축액에서만 높은 비율로 존재하는 것을 확인할 수 있어 이 성분이 샘플에서 제조한 대파 농축액과 구분되는 성분임을 확인할 수 있었다.

Acid류, alcohol류, benzene derivative류, ketone류 또한 전체적으로 추출방법에 따른 차이가 유의적으로 보여지지 않았다. propionic acid, ethanol, oct-1-en-3-ol, toluene, propan-2-one, butan-2-one, 3-methylcyclopent-2-en-1-one, pentan-2-one, 1-cyclopropylpropan-1-one, oct-1-en-3-one가 대표적으로 검출되었으며, pungent, sour milk odor; sour milk and cheese taste를 띄는 propionic acid가 sulfur, green-like 향미를 띄는 대파 초핑 분쇄물에서만 특이적으로 높은 함량이 검출되었다. 또한 sweet, ethereal (alcoholic) odor를 띄는 ethanol은 대파 역삼투 농축액에서만 유의적으로 높은 함량을 가지는 것을 확인할 수 있었다.

Ester류는 floral, fruity한 향미성분을 띄는 향미성분으로 methyl acetate, ethyl hexanoate, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate, [2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate, bis(2-methylpropyl) hexanedioate 총 5개가 검출되었으며 분쇄추출물에서 비교적 높은 정량값을 가짐을 확인할 수 있었다.

㉔ 대파 추출물 휘발성 성분에 대한 다변량 통계분석

추출 방법에 따른 대파 추출물의 휘발성 향미 성분 차이를 분석하기 위하여 다변량 통계 분석 중 주성분 분석을 하였고 그 결과는 Fig. 19와 같다.

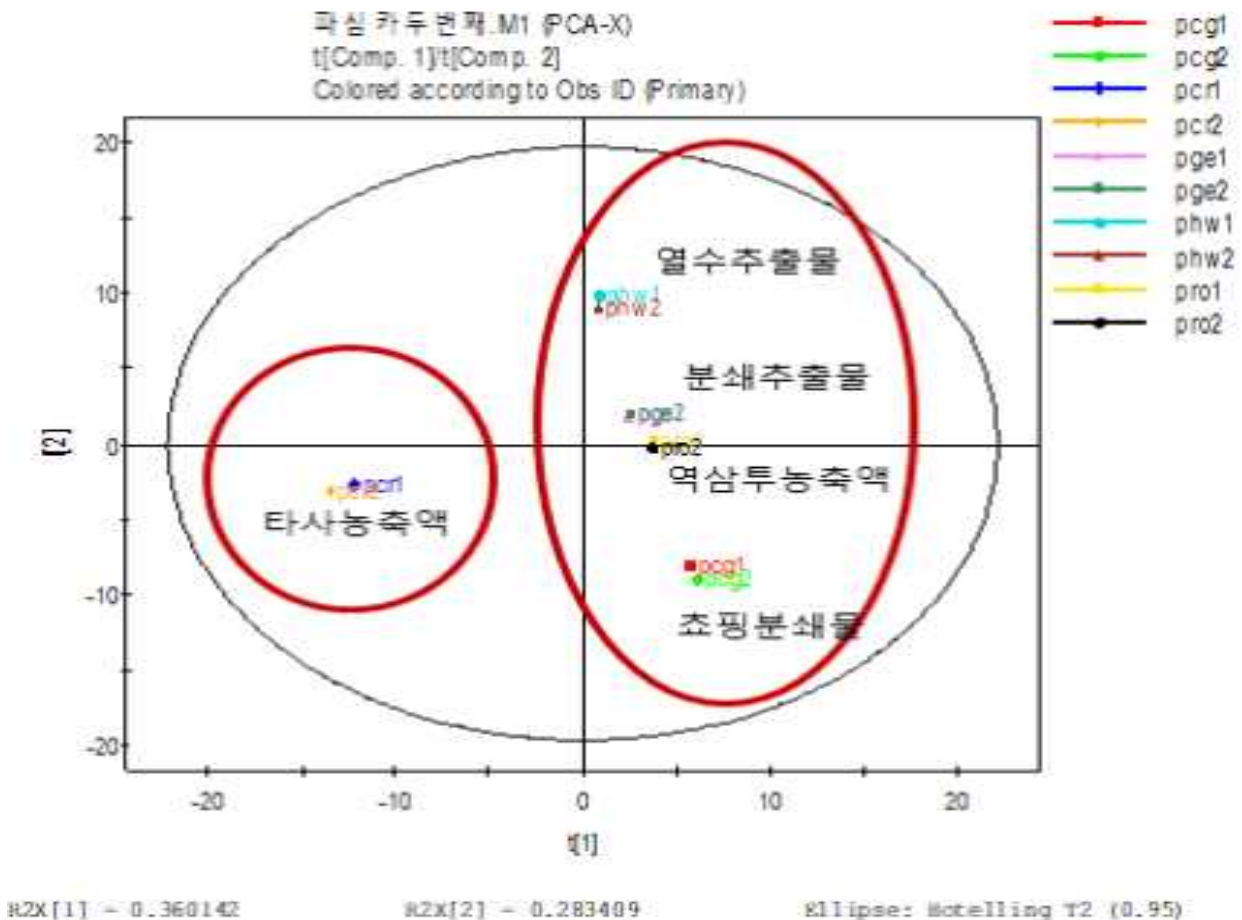


Fig. 19. PCA derived score plot of the volatile compounds in spring onion extract. (pcg: 초핑분쇄물, pcr: 타사농축액, pge: 분쇄추출물, phw: 열수추출물, pro: 역삼투농축액)

주성분 분석을 통하여 타사농축액이 샘플에서 제조한 농축액과 차이를 보이는 것을 확인할 수 있다. PCA component 1 양의 방향에 위치한 주요 향미 성분 (VIP value>0.9)들은 dipropyl trisulfide, 2,6,6-trimethylcyclohexene-1-carbaldehyde, methyl propyl disulfide, propenyl propyl trisulfide 등 이고 음의 방향에 위치한 주요 향미성분들은 3,4-dimethylthiophene, toluene, 3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene, hexanal, oct-1-en-3-one 등인 것으로 나타났다.

㉔ 양과 추출물의 휘발성 향미 성분 분석

양과 추출물의 휘발성 향미 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌으며, GC-MS를 사용하여 분석되었다. Table 12은 대과 추출물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이고, GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms 는 Fig. 20와 같다.

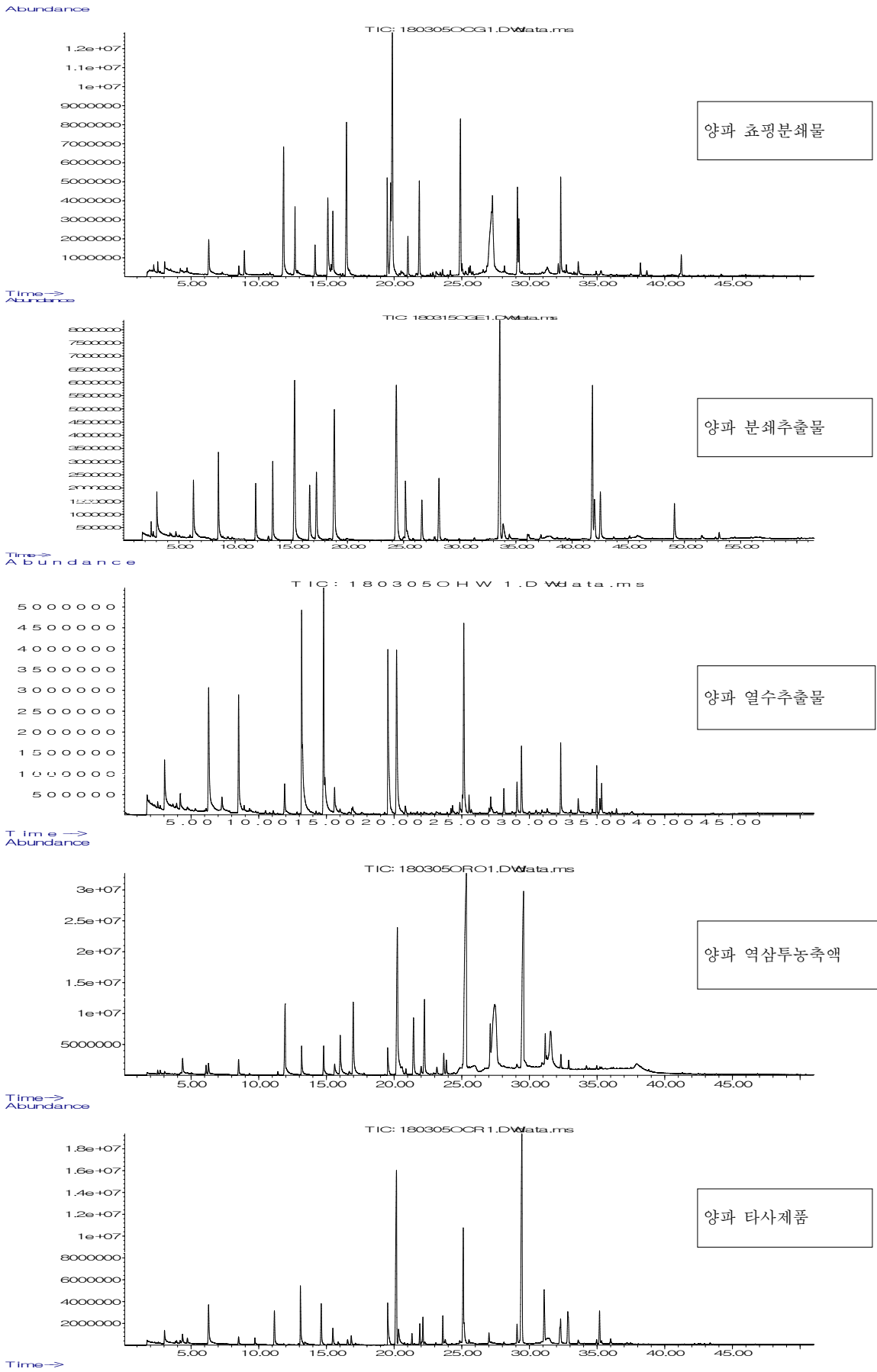


Fig. 20. 양파추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 12. Volatile compounds identified in onion samples using GC-MS

No.	RI ¹⁾	cas #	possible volatile compounds	odor descriptions ²⁾	Relative peak area(%) ³⁾					ID ⁴⁾
					초평 분쇄	분쇄 추출	열수 추출	역삼투 추출	타사 농축	
acids										
1	1446	000064-19-7	acetic acid	pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste	0.166	0.015	0.092	- ⁵⁾	-	MS/RI
alcohols										
2	929	000064-17-5	ethanol	sweet, ethereal (alcoholic) odor; primarily used as a solvent	-	-	-	0.796	1.104	MS/RI
3	956	057951-62-9	1-prop-1-ynylcyclopropan-1-ol	-	-	0.062	-	0.037	-	MS/RI
4	1296	000105-30-6	2-methylpentan-1-ol	sweet ethereal, alcoholic with fusel-fermented notes	-	-	-	0.063	-	MS/RI
5	1317	013254-34-7	2,6-dimethylheptan-2-ol	fresh, floral, lavender, muguet with citrus nuances	0.020	-	-	-	-	MS/RI
6	1391	000565-67-3	2-methylpentan-3-ol	-	-	-	0.318	-	-	MS/RI
7	1485	000104-76-7	2-ethylhexan-1-ol	sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste	0.074	0.032	0.685	-	-	MS/RI
8	1610	000111-90-0	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	-	0.049	0.028	-	-	0.125	MS/RI
9	1631	002216-51-5	(1R,2S,5R)-5-methyl-2-propan-2-yl cyclohexan-1-ol	string trigeminal cooling sensation; slight mint note	-	-	0.044	-	-	MS/RI
10	1871	000100-51-6	phenylmethanol	faint, sweet, almond fruity aroma, sweet, but somewhat chemical taste	-	-	-	-	2.138	MS/RI
12	>1900	000110-63-4	butane-1,4-diol	-	0.127	0.024	-	-	-	MS/RI
13	>1900	000112-42-5	undecan-1-ol	oily-fruity, floral, citrus-like odor; fruity citrus taste	-	0.036	-	-	-	MS/RI
14	>1900	000128-37-0	2,6- <i>ditert</i> -butyl-4-methylphenol	antioxidant for flavor oils - See comments	0.043	0.054	0.133	-	-	MS/RI
aldehydes										
15	789	000123-38-6	propanal	breathtaking green acetaldehyde-like odor; green-nutty winey taste	0.287	0.499	0.496	0.165	-	MS/RI
16	909	000096-17-3	2-methylbutanal	strong, cocoa-like, malty, fermented odor	-	-	0.112	-	0.152	MS/RI
17	912	000590-86-3	3-methylbutanal	pungent, cocoa, green fruity odor;	-	-	0.424	-	0.303	MS/RI

18	968	000110-62-3	pentanal	cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution strong, acrid, pungent odor; chocolate & nut-like below 10ppm	0.029	-	-	-	-	MS/RI
19	1000	000123-15-9	2-methylpentanal	somewhat green, fruity, cocoa, cheese like in dilution	-	0.023	0.208	0.765	-	MS/RI
20	1072	000066-25-1	hexanal	strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor	1.871	0.118	0.507	0.034	-	MS/RI
21	1082	000497-03-0	2-methylbut-2-enal	green, herbaceous, fruity-green & almond character in dilution	-	0.054	0.312	0.057	-	MS/RI
22	1138	000623-36-9	(E)-2-methylpent-2-enal	pungent green, fruity odor; sharp sweet, fruity, jammy brown taste	13.940	2.260	2.955	6.708	0.074	MS/RI
23	1375	000124-19-6	nonanal	fresh, citrus, floral, green note	0.507	0.119	0.476	0.071	0.087	MS/RI
24	1482	000112-31-2	decanal	strong, penetrating, sweet, waxy, orange peel odor; citrus taste	-	-	-	-	0.099	MS/RI
25	1498	000100-52-7	benzaldehyde	bitter almond,sweet cherry taste	-	-	0.026	-	-	MS/RI
benzene derivatives										
27	1030	000108-88-3	toluene	-	0.184	0.026	0.151	0.019	0.088	MS/RI
28	1106	000100-41-4	ethylbenzene	-	0.049	0.008	-	-	0.014	MS/RI
29	1112	000106-42-3	1,4-xylene	-	0.038	-	-	-	-	MS/RI
30	1116	001330-20-7	xylene	-	0.048	-	-	-	-	MS/RI
31	1153	000095-47-6	1,2-xylene	-	0.155	-	-	-	-	MS/RI
32	1234	000100-42-5	styrene	characteristic resinous-balsamic pungent gassy-plastic odor	0.334	-	-	-	-	MS/RI
33	1253	000108-67-8	1,3,5-trimethylbenzene	-	0.067	-	-	-	-	MS/RI
esters										
34	884	000141-78-6	ethyl acetate	ethereal, sharp, wine-brandy, like odor	0.222	-	-	-	-	MS/RI
35	1468	054774-91-3	6-methylheptyl prop-2-enoate	-	-	-	0.063	-	-	MS/RI
36	1656	999061-16-6	ethyl N-propan-2-yloxy carbamate	-	8.209	3.154	-	-	-	MS/RI
37	1780	999067-89-0	methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximide	-	4.967	2.657	1.301	0.444	2.424	MS/RI
38	1864	074367-34-3	3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate	-	0.102	0.125	1.263	0.072	0.246	MS/RI
39	1872	999420-40-5	2-methylpropyl	propan-2-yl -	0.480	0.341	2.114	0.167	-	MS/RI

			-2,2-dimethyl-3-propan-2-ylbutanedioate								
40	>1900	000141-04-8	bis(2-methylpropyl)hexanedioate	nearly odorless, possibly used as a co-solvent	0.039	-	-	-	0.041	MS/RI	
furans											
41	943	000625-86-5	2,5-dimethylfuran	ethereal, solvent, rum-cognac odor	0.208	-	-	-	-	MS/RI	
42	1209	003777-69-3	2-pentylfuran	earthy, green, beany with vegetable & fruity notes	0.287	-	-	-	-	MS/RI	
pyran											
43	1275	000110-87-2	3,4-dihydro-2H-pyran	-	-	-	-	-	0.075	MS/RI	
ketones											
44	812	000067-64-1	propan-2-one	characteristic solvent odor	0.051	0.173	0.644	0.056	0.123	MS/RI	
45	968	000431-03-8	butane-2,3-dione	strong, buttery odor and taste on dilution	-	-	0.217	-	-	MS/RI	
46	1202	000763-93-9	(E)-hex-3-en-2-one	-	-	-	0.232	-	-	MS/RI	
47	1269	000513-86-0	3-hydroxybutan-2-one	creamy-buttery, yogurt-like odor and flavor	-	0.070	0.384	-	-	MS/RI	
48	1584	000112-12-9	undecan-2-one	fatty fruity-rosy-orange & Rue like odor; waxy-fruity, cheese-dairy taste	1.649	-	-	-	-	MS/RI	
49	1693	006175-49-1	dodecan-2-one	fruity, citrus, floral odor	-	-	0.052	-	-	MS/RI	
50	1799	000593-08-8	tridecan-2-one	milky, herbaceous, slight spicy odor; milky-dairy-coconut taste	0.417	-	-	-	-	MS/RI	
51	>1900	033922-66-6	2-hexyl-5-methylfuran-3-one	fresh, floral, rosy-green, slight fruity	0.103	-	-	-	-	MS/RI	
N-containing compounds											
52	1169	013450-73-2	5-(3-aminopropyl)-5,10-dihydro-11H-dibenzo [b,e][1,4]diazepin-11-on	-	6.498	4.343	22.513	3.354	-	MS/RI	
54	1549	999368-32-6	N,N-dimethyl-4-(2,3,4,5,6-pentamethylphenyl) aniline	-	0.253	-	-	-	-	MS/RI	
S-containing compounds											
55	743	000075-18-3	methyl sulfide	pungent, cabbage, cooked vegetable odor; corn-like on dilution	-	0.039	0.090	-	0.102	MS/RI	
56	829	000107-03-9	propane-1-thiol	strong, sulfuraceous, onion, meaty, eggy, cabbage-like odor and taste	0.019	0.023	-	-	0.012	MS/RI	
57	944	010152-76-8	allyl methyl sulfide	sulfurous, garlic, onion notes	-	0.242	0.155	0.109	0.776	MS/RI	
58	1062	000624-92-0	methyl disulfide	strong onion, cabbage-like odor	0.560	4.382	11.113	1.290	1.263	MS/RI	

59	1093	999022-60-3	allyl n-propyl sulfide	-	-	0.292	0.038	0.428	2.102	MS/RI
60	1128	000592-88-1	allyl sulfide	sweet, pungent, garlic-horseradish like	-	0.096	-	0.924	2.891	MS/RI
61	1161	000632-15-5	3,4-dimethylthiophene	toluene-benzene like, fried onion odor & fresh onion taste	1.009	0.269	-	0.070	7.568	MS/RI
62	1207	002179-60-4	methyl propyl disulfide	odor and taste reminiscent of onion/garlic, radish & vegetative	1.011	11.723	18.673	2.739	5.093	MS/RI
63	1224	999472-82-2	pentan-2-yl undecyl sulfite	-	0.048	-	-	-	-	MS/RI
64	1227	000638-02-8	2,5-dimethylthiophene	xylylene-like, fresh onion & green notes	4.038	3.824	1.810	0.793	1.842	MS/RI
65	1255	002179-58-0	methyl allyl disulfide	powerful, sulfurous odor; cooked garlic-onion notes	-	-	-	0.115	0.411	MS/RI
66	1257	000505-23-7	1,3-dithiane	-	0.132	-	-	-	-	MS/RI
67	1264	005905-47-5	(E)-propenyl methyl disulfide	pungent fresh leek-onion like	10.714	14.707	0.278	9.931	0.747	MS/RI
68	1352	003658-80-8	dimethyl trisulfide	strong, onion-garlic with cabbage & cauliflower notes odor and taste	10.079	13.372	13.939	14.173	-	MS/RI
69	1354	000629-19-6	propyl disulfide	alliaceous, garlic, green onion, chive odor and taste	5.434	0.103	-	-	23.953	MS/RI
70	1388	999062-19-6	(E)-propenyl propyl disulfide	-	1.771	6.431	0.035	8.047	2.747	MS/RI
71	1412	002179-59-1	allyl propyl disulfide	alliaceous, characteristic garlic-onion, cooked savory notes	5.062	-	-	-	-	MS/RI
73	1464	002179-57-9	allyl disulfide	strong, pungent, Garlic odor and taste	0.424	0.147	-	0.776	2.127	MS/RI
75	1505	999073-33-5	methyl propyl trisulfide	-	0.793	1.382	10.836	26.539	10.411	MS/RI
78	1563	042848-06-6	(E)-1-methylsulfanylprop-1-ene	-	0.243	0.392	-	-	0.501	MS/RI
79	1566	034135-85-8	methyl allyl trisulfide	powerful onion-garlic odor and taste	-	-	-	0.994	-	MS/RI
80	1567	052195-40-1	(Z)-1-methylsulfanylprop-1-ene	-	3.867	-	-	1.658	-	MS/RI
81	1646	006028-61-1	dipropyl trisulfide	strong, green onion-like, durian odor and taste	3.346	12.460	2.635	17.623	25.175	MS/RI
83	1712	037981-34-3	(Z)-1-propenyl propyl sulfide	-	-	-	-	0.140	-	MS/RI
84	1743	999128-44-1	propenyl propyl trisulfide	-	0.618	-	-	-	0.975	MS/RI
85	1746	054644-28-9	3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane	sulfurous garlic; cooked seafood. tarragon-fennel	0.057	0.021	-	-	0.195	MS/RI
86	1766	999128-44-0	(Z)-propenyl propyl trisulfide	-	0.508	0.047	-	0.540	2.906	MS/RI
87	1822	080028-57-5	2-ethenyl-4H-1,3-dithiine	-	-	-	-	0.061	-	MS/RI

88	>1900	999033-10-7	3,4-dimethyl-5H-thiophen-2-one	-	-	0.020	0.075	0.041	-	MS/RI
89	>1900	014542-14-4	5-methoxy-1,3-thiazole	-	0.134	-	-	-	-	MS/RI
hydrocarbons										
90	600	000110-54-3	hexane	-	-	-	3.693	-	0.243	MS/RI
91	800	000111-65-9	octane	hydrocarbon odor (gasoline-like)	-	-	-	-	0.097	MS/RI
93	996	000124-18-5	decane	hydrocarbon odor (gasoline-like)	-	-	-	-	0.058	MS/RI
94	1084	001120-21-4	undecane	gassy, hydrocarbon odor	0.014	0.033	-	0.037	0.020	MS/RI
95	1500	000629-62-9	pentadecane	mild waxy, hydrocarbon odor	-	-	0.100	-	-	MS/RI
96	1600	000544-76-3	hexadecane	weak waxy hydrocarbon odor	-	-	0.020	-	-	MS/RI
miscellaneous										
97	1502	999411-71-5	2-(4-methylpentyl) 1-prop-2-en-1-yl pyrrolidine-1,2-dicarboxylate	-	0.786	1.363	9.758	20.973	8.168	MS/RI

1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

2) Reference: "1-flavor-base 2010" software

3) Average of peak area of individual compound divided by total peak areas (%).

4) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference:: "<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>" website

5) not detected

양파 추출물의 휘발성 향미 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌으며, GC-MS를 사용하여 분석되었다. 양파 추출물의 휘발성 향미성분을 분류하면 acid류 1개, alcohol류 12개, aldehyde류 11개, benzene류 7개, ester류 7개, furan류 2개, pyran류 1개, ketone류 8개, nitrogen 함유향미성분 2개, sulfur 함유향미성분 35개, hydrocarbon류 7개, 기타 1개로 총 97개의 성분이 동정되었다.

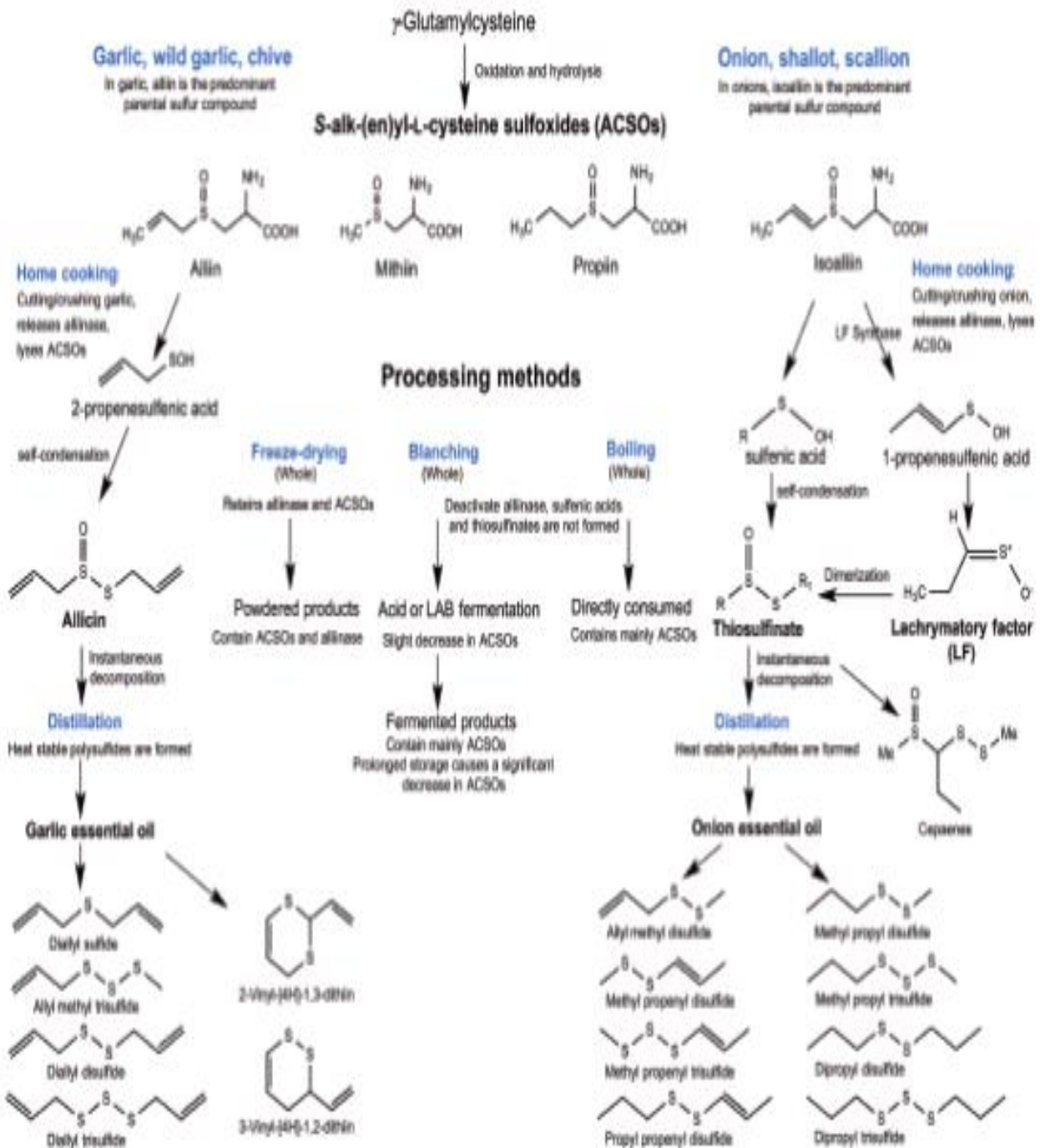


Fig 21. Overview of the transformations of organo sulfur compounds in *Alliums* during processing (Tocmo et al. 2015).

양파 추출물에서 sulfur 함유향미성분은 isoallin에서 유래되는 성분으로 정성, 정량적으로 큰 부분을 차지하며 주요한 향미특성을 부여하는 향미성분이다.

양파의 주요한 황함유 유기향미성분은 methyl disulfide, methyl propyl disulfide, 2,5-dimethylthiophene, (E)-propenyl methyl disulfide, dimethyl trisulfide, (E)-propenyl propyl disulfide, methyl propyl trisulfide, dipropyl trisulfide, 3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane 등으로 다수의 함유황 유기향미성분이 건 양파 특유의 휘발성 특성을 구성하였다. strong onion, cabbage-like odor를 띠는 methyl disulfide는 열수추출물에서 높은 정량값을 보였고, onion/garlic, radish, vegetative 향미성분을 띠는 methyl propyl disulfide는 분쇄추출물과 열수추출물에서 높은 정량값을 보였으며, 3-methyl-4-methylsulfanylphenol은 분쇄추출물에서, methyl propyl trisulfide는 역삼투농축액에서 특이적으로 높은 정량값을 보임을 확인할 수 있었다. 또한 3,4-dimethylthiophene, propyl disulfide, allyl disulfide, strong, dipropyl trisulfide 그리고 (Z)-propenyl propyl trisulfide가 타사농축액에서 샘플에서 제조한 양파 추출물에 비해 높은 정량값을 지님을 확인할 수 있었다.

Sulfide류는 양파세포가 파괴될 때 alliinase에 의해서 S-alkyl- 또는 S-alkenyl-L-cysteine sulfoxide류로부터 분해되어 생성된 alkyl 또는 alkenyl thiosulfinate가 다시 반응하여 생성된다 (Silvam, G.p., 2001). 양파의 특징적 향에 기여하는 주요한 향미성분로 Boelens 등은 propyl thiosulfonate (freshly cut onion), propyl propenyl disulfide와 propyl propenyl trisulfide류 (boiled onion), 그리고 dimethylthiophene (fried onion)을 확인하고, 이러한 향미성분들의 생성 경로에 대해 설명하였다 (Boelens, M., 1971). 또한, propanethiol, propylene sulfide, dimethyl disulfide, 2,4-dimethyl thiophene, propenyl methyl disulfide, dimethyl trisulfide, propenyl propyl disulfide, methyl propyl trisulfide, propenyl propyl trisulfide는 양파에서 중요한 함유황 유기 향미성분로 특징적이라고 보고된 바 있다 (Amault, I.N., 2000).

Acid류는 acetic acid만 검출된 것을 확인할 수 있었다.

Alcohol류는 총 12개가 동정되었고, sweet, almond fruity aroma 특성을 띠는 phenylmethanol에서만 비교적 높은 정량값으로 검출되어 타사제품의 sweet, honey의 관능적 특성에 기여한 것으로 확인된다.

Aldehyde류는 11개가 검출되었는데, (E)-2-methylpent-2-enal은 propanal 두 분자로부터 aldol condensation과 계속되는 dehydration에 의해 형성되는데 propanal은 생양파의 중요한 향미성분 중의 하나로 이는 중요한 양파의 향 전구물질인 S-propenyl-cystein-S-oxide가 불안정한 lachrymatory factor (최루요소)인 thiopropanal S-oxide를 형성하며 자연적으로 propanal과 sulfur 형태로 재배열되어 생성된다 (Boelen, M., 1971).

또한 모든 추출물에서 검출된 fresh, citrus, floral, green note 향미특성을 지니는 nonanal은 oleic acid가 분해되면서 생성되는 것으로 알려져 있으며, 이에 대한 생성과정은 Fig. 22에 나타내었다 (Tolibjon S. Omonov., 2014).

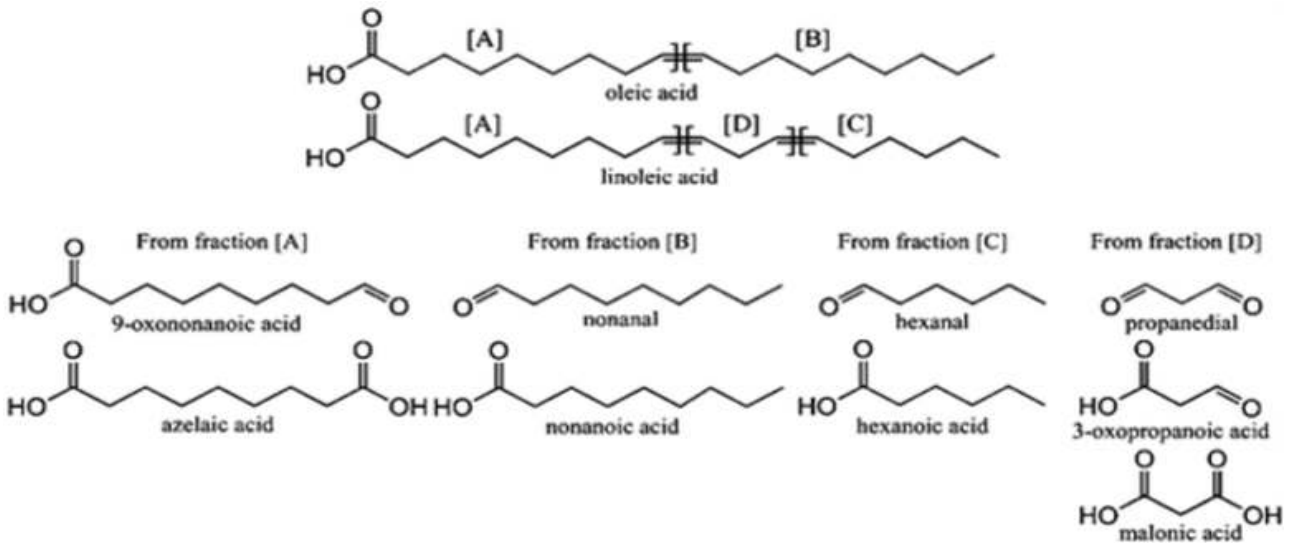


Fig 22. Oleic, linoleic acid structure and expected products of the oxidative cleavage of the double bonds (Tolibjon S. Omonov et al., 2014).

Benzene derivative 향미성분은 7개가 검출되었으며, toluene, ethylbenzene, 1,4-xylene, xylene, 1,2-xylene, styrene, 1,3,5-trimethylbenzene은 초핑분쇄물에서 모두 검출됨을 확인하였다. 이 중 비교적 높은 함량으로 검출된 styrene은 resinous-balsamic pungent gassy-plastic odor를 가지는 것으로 알려져있다.

Ester류는 총 7개가 검출되었으며, ethyl N-propan-2-yloxycarbamate는 초핑분쇄물에서 높은 정량값을 차지하였다. 또한 methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate는 모든 추출물에서 공통적으로 검출되었다.

Furan류는 총 2개가 검출되었는데, 초핑 분쇄물에서만 검출되는 것을 확인할 수 있었다. 검출된 furan은 ethereal, solvent, rum-cognac odor를 지니는 2,5-dimethylfuran과 earthy, green, beany with vegetable & fruity notes를 지니는 2-pentylfuran이다. 이 중 2-pentylfuran이 발견되었으며, 지방분해 산물인 2-pentylfuran은 linoleic acid의 singlet oxygen oxidation 반응으로 생성되며 (D.B. Min et al., 2003), 기타 가열반응에 의해서도 생성된다.

Pyran은 3,4-dihydro-2H-pyran만이 타사제품에서만 검출되었고, hydrocarbon은 총 7개로 대부분 타사제품에서 검출됨을 확인하였다.

Ketone류는 총 8종이 검출되었으며 solvent odor를 띄는 propan-2-one이 모든 추출물에서 검출됨을 확인할 수 있었다. 또한 milky, herbaceous, slight spicy odor, milky-dairy-coconut taste 향미를 띄는 tridecan-2-one은 초핑분쇄물에서만 측정된 향미성분로 myristic acid의 분해산물로 잘 알려져 있는 성분이다 (Boelen, M., 1971).

질소 함유 향미성분은 총 3개가 검출되었고, 그 외에 2-(4-methylpentyl) 1-prop-2-en-1-yl pyrrolidine-1,2-dicarboxylate가 모든 추출물에서 검출되었다.

㉔ 양과 추출물 휘발성 성분에 대한 다변량 통계분석

추출 방법에 따른 대과 추출물의 휘발성 향미 성분 차이를 분석하기 위하여 다변량 통계 분석

중 주성분 분석을 하였고 그 결과는 Fig. 23과 같다.

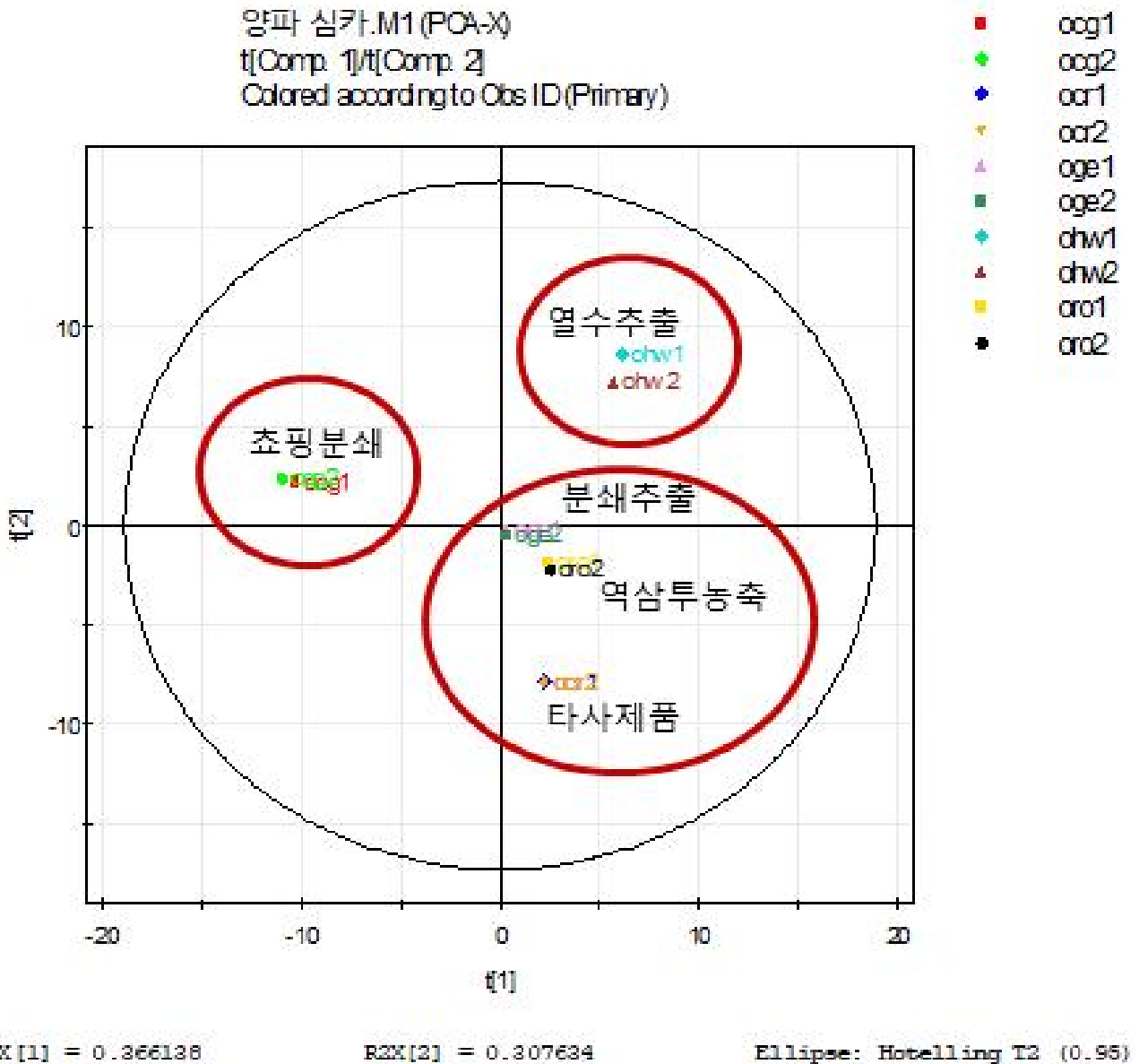


Fig 23. PCA derived score plot of the volatile compounds in onion extract (ocg: 초핑분쇄, ocr: 타사제품, oge: 분쇄추출, ohw: 열수추출, oro: 역삼투농축)

주성분 분석을 통하여 초핑분쇄물, 열수추출물, 그리고 나머지 추출물 3개의 그룹으로 구분 짓는 것을 확인할 수 있었다. PCA component 1 양의 방향 그리고 component 2 양의 방향에 공통적으로 위치한 주요 향미 성분들은 (VIP value>0.9) 열수추출물을 다른 그룹과 구분 짓는 성분들로 solvent odor를 가지는 propan-2-one, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate 등 이고 component 1 음의 방향에 위치한 주요 향미성분들은 1,4-xylene, fresh, floral, rosy-green, slight fruity 향미특성을 가지는 2-hexyl-5-methylfuran-3-one 등으로 초핑분쇄물을 다른 그룹과 구분 짓는 성분임을 확인할 수 있었다.

㉓ 방울토마토 추출물의 휘발성 향미 성분 분석

방울토마토 추출물의 휘발성 향미 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌고 GC-MS를 통해 분석되었다. Table 13는 방울토마토 추출물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이고, GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms는 Fig. 24와 같다.

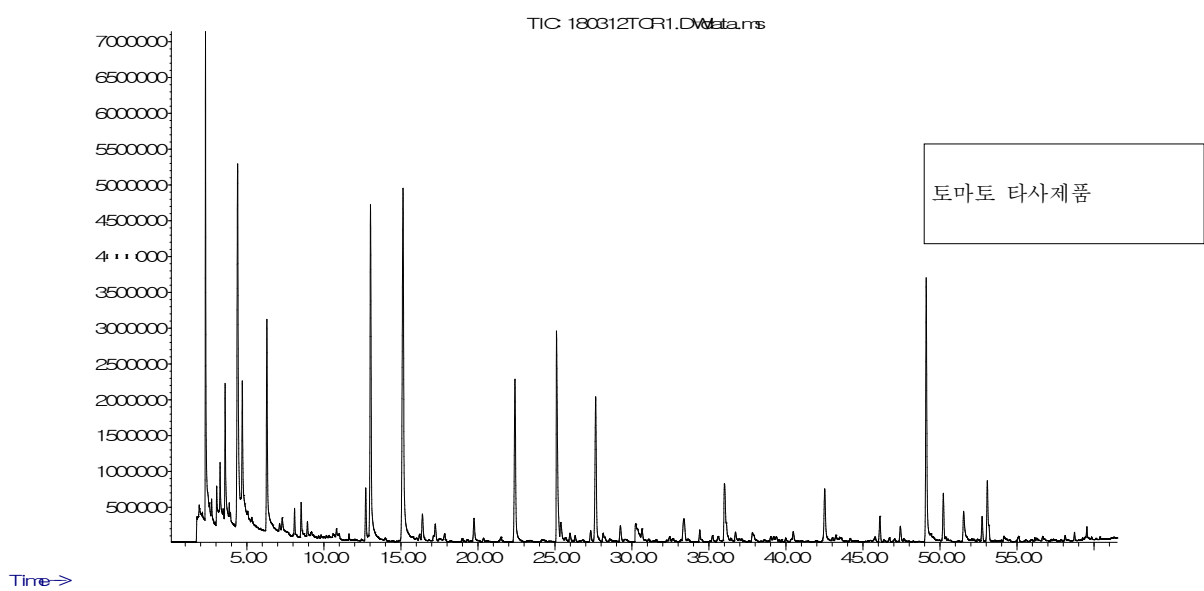
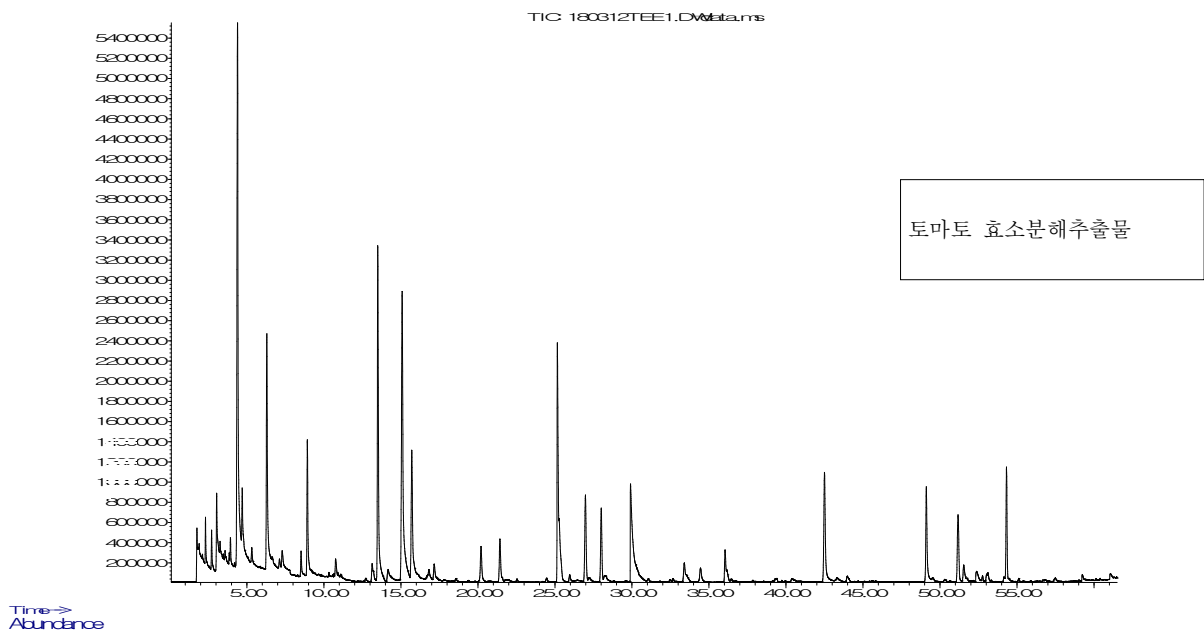
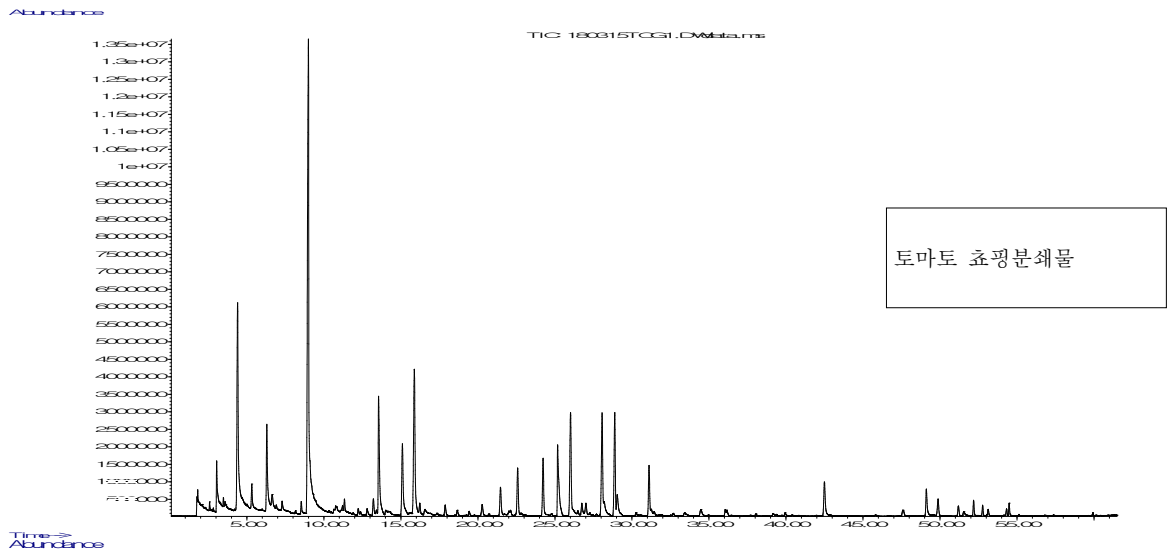


Fig 24. 토마토추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 13. Volatile compounds identified in tomato samples using GC-MS

No	RI ¹⁾	cas #	possible volatile compounds	odor descriptions ²⁾	Relative peak area (%) ³⁾			ID ⁴⁾
					초평 분쇄	효소 분해 추출	타사 제품	
acids								
1	1440	000064-19-7	acetic acid	pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste	- ⁵⁾	0.232	4.387	MS/RI
2	1854	000142-62-1	hexanoic acid	heavy, fatty, cheesy-sweaty odor and taste	-	-	1.953	MS/RI
3	>2000	000124-07-2	octanoic acid	fatty, rancid, animallic, sweaty odor; cheese like taste in dilution	-	-	0.311	MS/RI
4	>2000	000110-44-1	hexa-2,4-dienoic acid	preservative	-	-	0.307	MS/RI
alcohols								
5	930	000064-17-5	ethanol	sweet, ethereal (alcoholic) odor; primarily used as a solvent	10.475	17.477	16.885	MS/RI
6	1049	999029-22-8	2,5-dimethylhex-5-en-3-yn-2-ol	-	-	0.360	-	
7	1315	001576-95-0	(Z)-pent-2-en-1-ol	ethereal, green, fruity odor with citrus connotation	0.409	-	-	
8	1348	000111-27-3	hexan-1-ol	chemical, winey, slight fatty-fruity odor	2.706	-	-	MS/RI
9	1377	000928-96-1	(Z)-hex-3-en-1-ol	strong, fresh, green, grassy odor	5.093	-	-	MS/RI
10	1389	018640-74-9	2-(2-methylpropyl)-1,3-thiazole	green tomato aroma and taste; tomato leaf aroma	0.610	-	-	
11	1446	003391-86-4	oct-1-en-3-ol	very strong, sweet, earthy mushroom odor and taste	0.218	-	-	MS/RI
12	1485	000104-76-7	2-ethylhexan-1-ol	sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste	0.381	-	0.123	MS/RI
13	1576	000111-77-3	2-(2-methoxyethoxy)ethanol	-	0.062	-	-	MS/RI
14	1580	999159-97-4	3-[4'-Isopropyl-2'-methylphenyl]propan-1-ol	-	-	0.119	-	
15	1604	029957-43-5	(5E)-3,7-dimethylocta-1,5,7-trien-3-ol	fresh floral, slightly woody, fruity	-	0.033	-	MS/RI
16	1609	000111-90-0	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	-	0.167	-	-	MS/RI
17	1687	010482-56-1	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexan-1-ol	-	-	0.117	-	

18	1788	006939-33-9	7-methylnaphthalen-1-ol	-	-	0.398	1.609		
19	1840	999057-86-9	naphthalen-1-ol	-	-	0.049	-		
20	1871	000100-51-6	phenylmethanol	faint, sweet, almond fruity aroma, sweet, but somewhat chemical taste	-	-	0.212	MS/RI	
21	1903	000060-12-8	2-phenylethanol	floral, rose-like odor; floral taste	0.260	0.021	3.284	MS/RI	
22	1927	000110-63-4	butane-1,4-diol	-	-	-	0.091		
aldehydes									
23	701	000075-07-0	acetaldehyde	pungent, breathtaking; in dilution a nutty alcoholic note; enhances citrus	-	0.874	-		
24	908	000096-17-3	2-methylbutanal	strong, cocoa-like, malty, fermented odor	0.077	0.420	0.169	MS/RI	
25	911	000590-86-3	3-methylbutanal	pungent, cocoa, green fruity odor; cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution	0.025	0.535	0.507	MS/RI	
26	968	000110-62-3	pentanal	strong, acrid, pungent odor; chocolate & nut-like below 10ppm	1.125	0.278	0.453	MS/RI	
27	1072	000066-25-1	hexanal	strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor	28.281	0.385	3.481	MS/RI	
28	1115	001576-87-0	pent-2-enal	-	0.276	-	0.836	MS/RI	
29	1123	006789-80-6	(Z)-hex-3-enal	strong, pungent, fresh green-grass leafy odor; green tomato like	0.056	-	-	MS/RI	
31	1139	000623-36-9	(E)-2-methylpent-2-enal	pungent green, fruity odor; sharp sweet, fruity, jammy brown taste	0.113	-	-	MS/RI	
32	1167	000111-71-7	heptanal	fatty-rancid; in dilution sweet, nutty, green, fatty-cognac like; citrus	0.644	0.130	-	MS/RI	
33	1202	006728-26-3	hex-2-enal	green, fruity, fresh, apple with leafy and grassy note	6.008	-	12.680	MS/RI	
34	1271	000124-13-0	octanal	fatty-fruity odor; sweet, citrus-orange-fatty taste	0.219	-	0.042	MS/RI	
35	1305	018829-55-5	(E)-hept-2-enal	intense green, fatty, sweet, fresh fruity apple skin nuances at 4 ppm	1.862	-	1.604		
36	1377	000124-19-6	nonanal	fresh, citrus, floral, green note	-	0.068	3.268	MS/RI	
37	1411	002363-89-5	(E)-oct-2-enal	fatty, green vegetable odor; fatty-green vegetable, melon, citrus taste	6.396	-	2.777	MS/RI	
38	1473	004313-03-5	hepta-2,4-dienal	fatty, green, citrus with an oily, greasy note, somewhat cinnamon	0.174	-	-	MS/RI	
39	1482	000112-31-2	decanal	strong, penetrating, sweet, waxy, orange peel odor; citrus taste	-	-	0.088	MS/RI	

40	1498	000100-52-7	benzaldehyde	bitter almond,sweet cherry taste	0.271	0.804	0.463	MS/RI
41	1524	021662-09-9	(Z)-dec-4-enal	diffusive, powerful, citrus-orange, cardamom, rancid, waxy-floral odor	0.062	-	-	MS/RI
42	1570	005577-44-6	(2E,4E)-octa-2,4-dienal	strong fatty odor; Green-fruity, melon, citrus, fatty and tallow	0.064	-	-	MS/RI
43	1596	000432-25-7	2,6,6-trimethylcyclohexene-1-carbaldehyde	sweet, mild green, grassy floral hay-like, minty, slightly fruity odor	0.213	0.272	-	MS/RI
44	1617	000122-78-1	2-phenylacetaldehyde	strong floral green odor (rose-hyacinth-honey); floral honey taste	0.086	0.090	0.387	MS/RI
45	1622	000116-26-7	2,6,6-trimethylcyclohexa-1,3-diene-1-carbaldehyde	powerful saffron aroma and taste; tobacco-camphoraceous notes	-	0.190	-	MS/RI
46	1682	034246-54-3	3-ethylbenzaldehyde	-	0.043	-	0.186	
47	1752	025152-84-5	deca-2,4-dienal	strong, deep fat flavor; fatty-citrus notes	1.290	-	-	MS/RI
48	>2000	001003-29-8	1H-pyrrole-2-carbaldehyde	pungent, corn, burnt roasted notes with some nutty character	-	0.016	-	MS/RI
benzene derivatives								
49	1108	000100-41-4	ethylbenzene	-	0.095	0.069	0.097	MS/RI
50	1030	000108-88-3	methylbenzene	-	0.322	0.356	0.555	MS/RI
51	1117	000106-42-3	1,4-dimethylbenzene	-	0.074	0.098	-	MS/RI
52	1160	000108-38-3	1,3-dimethylbenzene	-	0.085	0.366	0.108	MS/RI
53	1231	000578-58-5	1-methoxy-2-methylbenzene	camphoraceous, earthy, walnut notes; nut-like, sweet flavor	-	0.944	0.488	
54	1236	000100-42-5	ethenylbenzene	characteristic resinous-balsamic pungent gassy-plastic odor	-	-	0.573	MS/RI
55	1314	000526-73-8	1,2,3-trimethylbenzene	-	-	0.039	-	
56	1414	001014-60-4	1,3-ditert-butylbenzene	-	-	5.223	-	
57	1418	001195-32-0	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylbenzene	citrus, lemon-like, pine, spicy, styrene with phenolic-clove note	-	0.382	-	MS/RI
58	1438	000635-81-4	1,2,4,5-tetraethylbenzene	-	-	0.611	-	
59	1458	055682-80-9	1,4,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene	-	-	0.043	-	
60	1720	030364-38-6	1,1,6-trimethyl-2H-naphthalene	petrol hydrocarbon note; woody, somewhat licorice	-	0.180	-	MS/RI
61	1760	000644-30-4	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)benzene	-	0.041	-	-	MS/RI
esters								

62	822	000079-20-9	methyl acetate	sweet, volatile ethereal-fruity odor; similar to ethyl acetate	0.074	-	-	MS/RI	
63	883	000141-78-6	ethyl acetate	ethereal, sharp, wine-brandy, like odor	0.275	-	0.315	MS/RI	
64	1061	000108-64-5	ethyl 3-methylbutanoate	strong, fruity, apple odor/taste with buttery-wine-banana-blueberry notes	0.365	-	-	MS/RI	
65	1424	000106-32-1	ethyl octanoate	fruity, winey, sweet odor, cognac-apricot taste	3.372	-	-	MS/RI	
66	1780	999067-89-0	methyl (Z)-N-hydroxybenzenecarboximidate	-	0.673	0.515	1.434		
67	1865	074381-40-1	[2,4,4-trimethyl-1-(2-methylpropanoyloxy) pentan-3-yl] 2-methylpropanoate	-	0.409	0.219	0.162		
68	1873	006846-50-0	[2,2,4-trimethyl-1-(2-methylpropanoyloxy) pentan-3-yl] 2-methylpropanoate	-	0.307	0.940	0.295	MS/RI	
furan derivatives									
69	863	000534-22-5	2-methylfuran	sweet-gassy, solvent, metallic-burnt with musty nutty notes	0.250	5.801	1.055	MS/RI	
70	943	003208-16-0	2-ethylfuran	strong, sweet-ethereal, burnt brown, somewhat coffee musty odor	-	5.053	2.558	MS/RI	
71	1026	001703-52-2	2-ethyl-5-methylfuran	fresh gassy, ethereal, burnt note	-	0.218	0.241		
72	1119	004466-24-4	2-butylfuran	musty, nutty, Wasabi & vegetative, somewhat burnt-spicy	-	0.050	0.061	MS/RI	
73	1218	003777-69-3	2-pentylfuran	earthy, green, beany with vegetable & fruity notes	8.853	14.641	5.133	MS/RI	
74	1278	187749-77-5	N-(6-furan-2-yl-2-oxopyran-3-yl)benzamide	-	-	0.131	0.013	MS	
75	1288	070424-14-5	2-[(E)-pent-2-enyl]furan	-	0.266	0.746	-		
76	1319	003777-70-6	2-hexylfuran	-	-	0.091	-	MS/RI	
77	1390	015186-51-3	2-(3-methylbut-2-enyl)furan	lemon, citrus odor	-	0.210	-		
78	1406	000539-52-6	3-(4-methylpent-3-enyl)furan	-	0.110	0.352	-	MS/RI	
79	1673	059212-75-8	2-methyl-5-[2-(5-methylfuran-2-yl)propan-2-yl]furan	-	-	0.167	-		
ketones									
80	812	000067-64-1	propan-2-one	characteristic solvent odor	0.043	1.403	0.797	MS/RI	
81	1014	001629-58-9	pent-1-en-3-one	strong, penetrating pungent mustard-radish (alliaceous-like) odor/taste	1.128	-	0.392	MS/RI	
82	1166	000110-43-0	heptan-2-one	fruity, cheese, cinnamon odor; in dilution- blue cheese-coconut-fruity	-	0.135	0.702	MS/RI	
83	1240	000106-68-3	octan-3-one	earthy, herbaceous-fruity, cheese odor; earthy-cheese	0.082	-	-	MS/RI	

84	1271	000111-13-7	octan-2-one	fruity taste fruity, choking alcoholic-like, green odor; nut, whiskey taste	-	0.049	-	MS/RI	
85	1287	004312-99-6	oct-1-en-3-one	powerful, harsh metallic mushroom like odor	0.411	-	-	MS/RI	
86	1294	002408-37-9	2,2,6-trimethylcyclohexan-1-one	thujone-like, camphoraceous cistus-tobacco notes	0.098	0.093	-	MS/RI	
87	1324	000110-93-0	6-methylhept-5-en-2-one	mild, green fruity aspects	1.262	6.262	-	MS/RI	
88	1381	000078-59-1	3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one	sharp, sweet-green-camphoraceous odor; minty-honey-tobacco on dilution	-	0.359	-	MS	
89	1486	001192-62-7	1-(furan-2-yl)ethanone	sweet, caramellic, balsamic, cereal, slight nut notes	-	0.143	-		
90	1488	999066-03-2	1-(2-furan-2-ylcyclopropyl)ethanone	-	-	0.185	-		
91	1574	001604-28-0	(3E)-6-methylhepta-3,5-dien-2-one	spicy, cinnamon-nut like odor; green, sweet, brown, herbal taste	-	0.266	-	MS/RI	
92	1670	105640-09-3	4,4,7-trimethylchroman-2-one	-	-	0.226	-		
93	1804	023726-93-4	(E)-1-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexa-1,3-dienyl)but-2-en-1-one	-	-	1.036	0.152	MS/RI	
94	1813	089907-33-5	2,2,3,3-tetramethylinden-1-one	-	-	0.793	-		
95	1850	003796-70-1	6,10-dimethylundeca-5,9-dien-2-one	-	0.634	0.060	-	MS/RI	
96	1927	014901-07-6	4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)but-3-en-2-one	-	0.070	-	-		
97	>2000	013927-47-4	(3E,5Z)-6,10-dimethylundeca-3,5,9-trien-2-one	-	-	0.093	-	MS/RI	
98	>2000	001134-87-8	3-(phenylmethyl)pentane-2,4-dione	-	-	0.118	-	MS/RI	
99	>2000	013927-47-4	(3E,5Z)-6,10-dimethylundeca-3,5,9-trien-2-one	-	-	0.127	-	MS/RI	
N-containing compounds									
100	1112	000625-28-5	3-methylbutanenitrile	-	-	0.048	-	MS/RI	
101	1173	013450-73-2	5-(3-aminopropyl)-5,10-dihydro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on	-	5.497	8.241	12.510	MS	
102	1531	000621-42-1	N-(3-hydroxyphenyl)acetamide	-	-	0.159	-		
S-containing compounds									
103	742	000075-18-3	methylsulfanylmethane	pungent, cabbage, cooked vegetable odor; corn-like on dilution	-	0.253	0.807	MS/RI	
104	1061	000624-92-0	methylsulfanyldisulfanylmethane	strong onion, cabbage-like odor	-	1.101	0.622	MS/RI	

105	1079	000616-44-4	3-methylthiophene	sulfurous, pungent; Fatty; winey at 8.5 ppm in coffee	-	0.055	-	MS/RI	
106	1122	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	-	-	0.086	MS/RI	
107	1259	002179-58-0	3-methyldisulfanylprop-1-ene	powerful, sulfurous odor; cooked garlic-onion notes	0.261	-	0.090	MS/RI	
108	1353	003658-80-8	methylsulfanyltrisulfanylmethane	strong, onion-garlic with cabbage & cauliflower notes odor and taste	-	0.124	0.100	MS/RI	
109	1459	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	0.210	-	3.045	MS	
110	1460	002179-57-9	3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene	strong, pungent, Garlic odor and taste	2.283	-	-	MS/RI	
hydrocarbons									
111	500	000109-66-0	pentane	-	0.832	-	-	MS/RI	
112	605	000110-54-3	hexane	-	-	0.842	-	MS/RI	
113	663	001574-41-0	(3Z)-penta-1,3-diene	-	0.258	-	-		
114	700	000142-82-5	heptane	-	0.401	-	-	MS/RI	
115	734	000592-76-7	hept-1-ene	-	0.098	-	-	MS/RI	
116	798	000111-65-9	octane	hydrocarbon odor (gasoline-like)	0.275	-	-	MS/RI	
117	955	000142-96-1	1-butoxybutane	-	0.261	-	-	MS/RI	
118	957	035059-40-6	5-tert-butylcyclopenta-1,3-diene	-	-	0.268	-		
119	995	000124-18-5	decane	hydrocarbon odor (gasoline-like)	0.051	-	-	MS/RI	
120	1020	999048-12-6	(5E)-3-ethylocta-1,5-diene	-	0.187	-	-		
121	1077	020185-16-4	3,3-dimethyl-6-methylidenecyclohexene	-	-	0.048	-	MS/RI	
122	1106	999015-41-5	1,4-dimethylcyclohexa-1,3-diene	-	-	0.055	-		
123	1129	016609-28-2	1,5,5-trimethyl-3-methylidenecyclohexene	-	-	0.084	-		
124	1285	013643-08-8	octa-2,4-diene	-	-	-	1.387	MS	
125	1360	041898-89-9	2,4-dimethylhepta-2,3-dien-5-yne	-	-	0.033	-		
126	1386	053907-60-1	1,1,3,4-tetramethylcyclopentane	-	0.200	-	-		
127	1393	061142-36-7	(3E)-3-ethyl-2-methylhexa-1,3-diene	-	0.703	-	1.699		
128	1555	000592-46-1	(2Z,4E)-hexa-2,4-diene	-	-	0.300	-	MS/RI	
phenols									
129	1261	000535-77-3	2-methyl-6-propan-2-ylphenol	-	-	0.315	-		

130	1826	000099-71-8	4-butan-2-ylphenol	-	0.427	-	1.510	
131	1999	000108-95-2	phenol	phenolic medicinal odor and taste	0.017	0.015	0.137	
132	>2000	007786-61-0	4-ethenyl-2-methoxyphenol	sweet, spicy, clove-like, somewhat smoky odor; sweet taste	-	-	0.021	
terpenes								
133	1052	000079-92-5	camphene	-	0.097	-	-	MS/RI
134	1147	000123-35-3	myrcene	resinous terpene odor; balsamic-herbaceous-citrus taste	-	0.230	-	MS/RI
135	1178	000138-86-3	limonene	hydrocarbon citrus-turpentine note; often harsh	-	1.944	-	MS
136	1239	013877-91-3	ocimene	-	-	0.292	-	MS/RI
137	1265	000586-62-9	α -terpinolene	sweet, piney, citrus, slightly anisic, pleasant odor	-	0.186	-	MS/RI
138	1280	000514-96-5	β -pyronene	-	-	0.035	-	MS
139	1502	000464-17-5	bornylene	-	-	0.635	-	
miscellaneous								
140	1752	999154-95-5	megastigmatrienone 3	-	-	0.584	-	MS

1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

2) *Reference: "1-flavor-base 2010" software

3) Average of peak area of individual compound divided by total peak areas (%).

4) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference: " <https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>" website

5) not detected

방울토마토 추출물의 휘발성 향미 성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌으며, GC-MS를 활용하여 분석되었다. Table 13는 방울토마토 추출물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이다. 토마토 추출물의 휘발성 향미성분을 향미성분로 분류하면 acid류 4개, alcohol류 18개, aldehyde류 26개, benzene류 13개, ester류 7개, furan류 11개, ketone류 20개, nitrogen 함유향미성분 3개, sulfur 함유향미성분 8개, hydrocarbon류 19개, phenol류 5개, terpene류 7개, 기타 2개로 총 140개의 성분이 동정되었다.

Acid류는 4종이 검출되었고 모든 acid 향미성분이 효소분해 추출물에서 검출되었다. 특히 acetic acid는 발효 시 발생하는 향미성분으로 효소가 분해되면서 생성되었을 가능성이 있다. 그 밖에 heavy, fatty, cheesy-sweaty odor and taste를 가지는 hexanoic acid, fatty, rancid, animallic, sweat, cheese like taste를 가지는 octanoic acid 그리고 hexa-2,4-dienoic acid가 검출되었다,

Alcohol류는 총 18가 검출되었는데, 이 중 ethanol과 floral, rose-like odor; floral taste를 가지는 2-phenylethanol이 주요한 compound로 확인되었다. 2-phenylethanol은 phenylalanine으로부터 유래되며, tomato의 aromatic amino acid decarboxylase가 2-phenylethanol and 2-phenylacetaldehyde의 생성에 기여하는 것이 밝혀져있다 (Fig. 25).

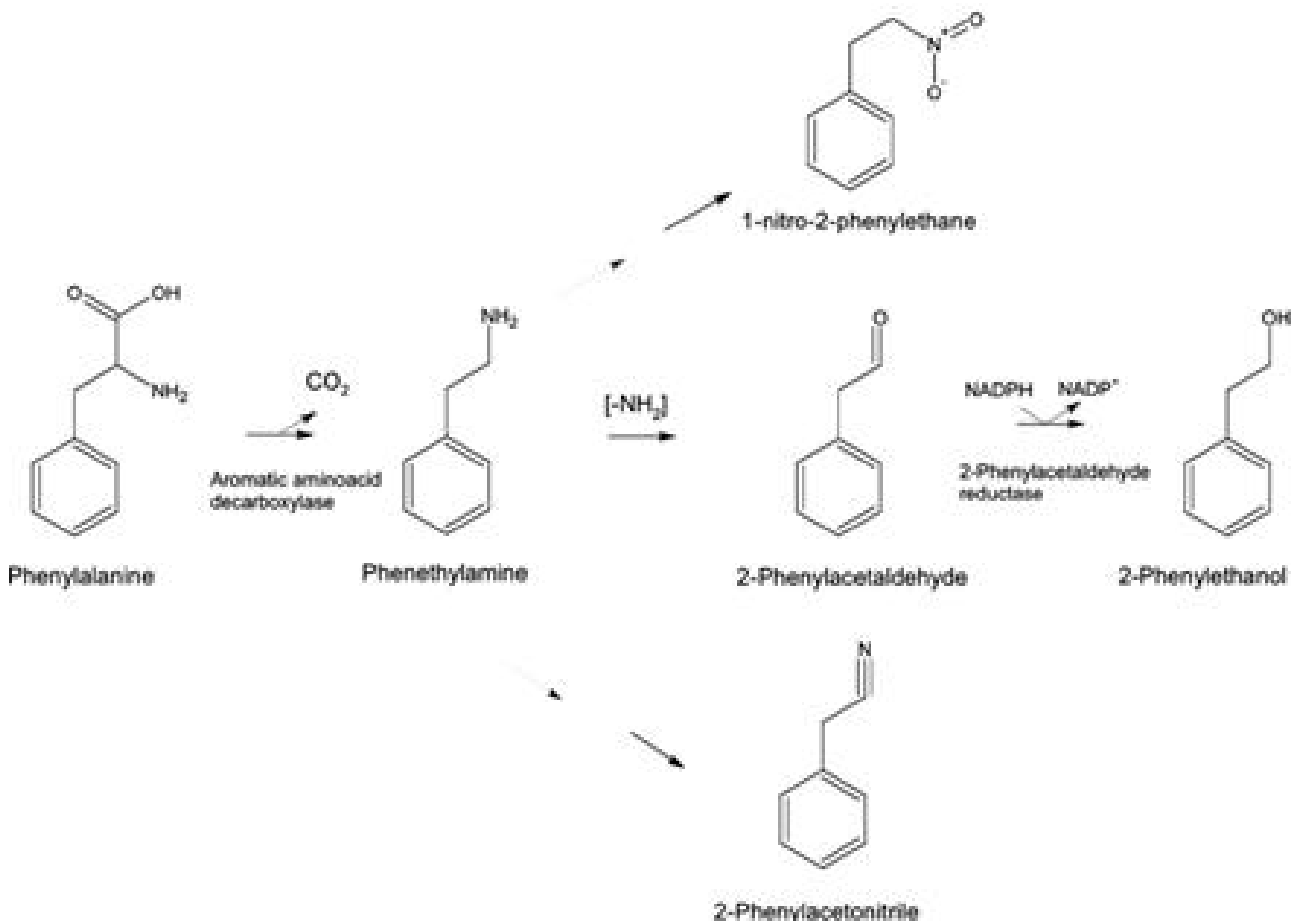


Fig. 25. Pathway for production of the volatile compounds 2-phenylacetaldehyde and 2-phenylethanol (DM Tieman et. al., 2007).

Aldehyde는 총 36종이 검출되었고, 특히 초핑분쇄물에서 많이 검출되었는데, 초핑 시에 생성되는 enzyme으로 인해 lipoxygenase-derived aldehyde가 생성되기 때문이다. Pentanal, hexanal, (Z)-hex-3-enal, hex-2-enal 같은 탄소 C₅, C₆ aldehyde는 green related notes를 띄며, (E)-hept-2-enal, hepta-2,4-dienal 같은 C₇는 tomato fruity notes를 띄는 것이 특징이다. 또한 2-methylbutanal과 3-methylbutanal은 모든 추출물에서 검출되는 경향을 보인다. 2-methylbutanal과 3-methylbutanal은 isoleucine과 leucine이 Maillard 반응에서 Strecker 반응 산물로 생성되는 것으로서 (Mario Estévez et. al., 2011) (Fig 26), 2-methylbutanal은 strong, cocoa-like, malty, fermented odor, 3-methylbutanal은 cocoa, green fruity odor, cheesy-sweet-cocoa fruity 한 향미특성을 띤다.

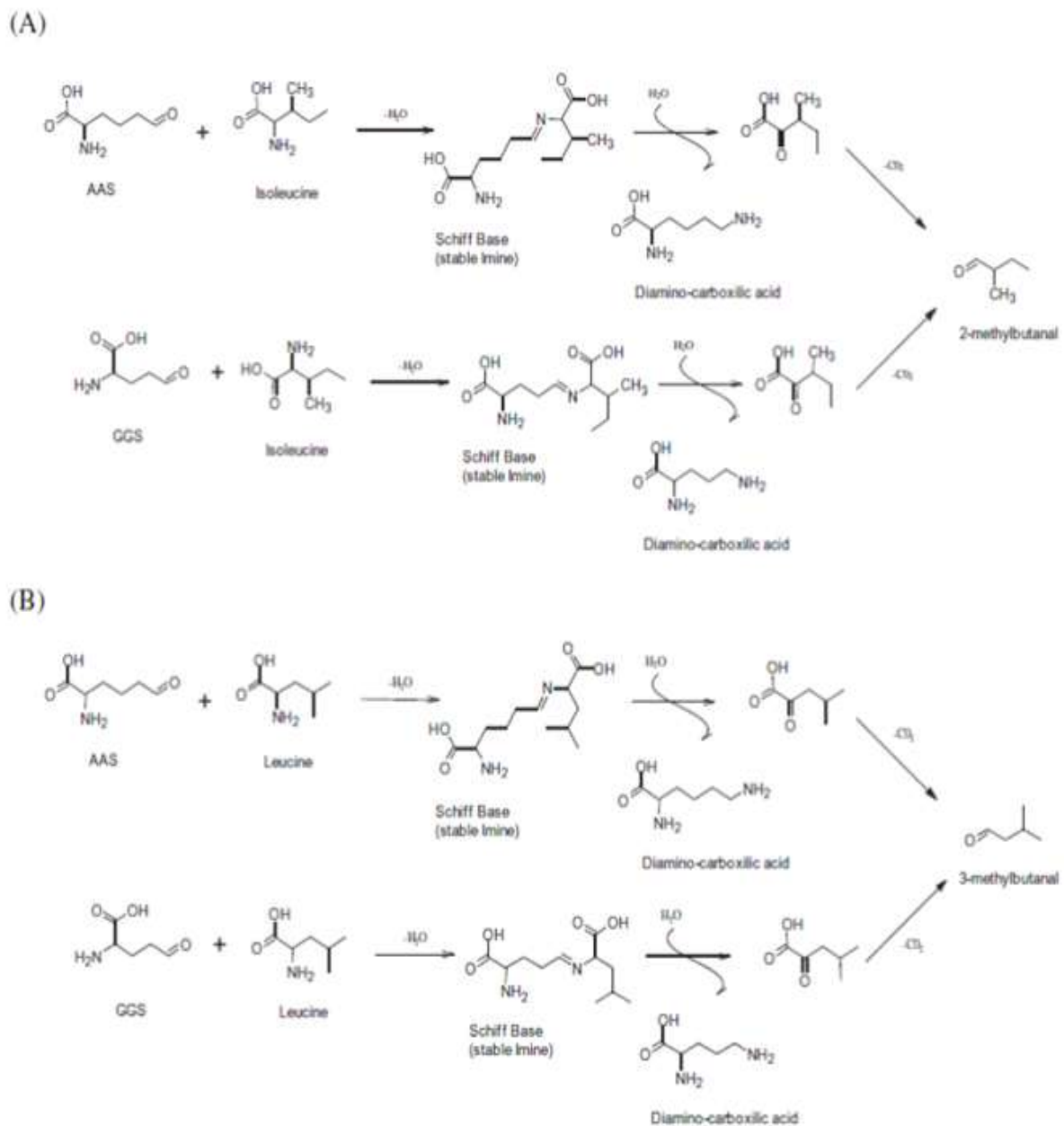


Fig 26. Strecker reaction in leucine (A) and isoleucin (B) (Mario Estévez et al., 2011).

Benzaldehyde는 bitter almond, cherry-like 특성을 지니는 성분으로 역시 모든 추출물에서 검출되었으며, aldehyde류 부분에서 상당한 양을 차지하는 성분이다. 이는 phenylalanine의 Strecker degradation에 의해 생성되며, phenylalanine의 효소적, 비효소적 과정에 의해 얻어진 phenylalanine degradation의 부산물인 phenylacetaldehyde가 benzaldehyde로 전환될 수 있다 (Adamiec et al., 2001).

토마토의 특징적인 향미성분은 carotenoid degradation products인 2,6,6-trimethylcyclohexene-1-carbaldehyde, 2,6,6-trimethylcyclohexa-1,3-diene-1-carbaldehyde, 1,4,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene, 1,1,6-trimethyl-2H-naphthalene, 1,1,6-trimethyl-2H-naphthalene, β -ionone, 1,4-dimethylcyclohexa-1,3-diene, 1,5,5-trimethyl-3-methylidenecyclohexene는 타사 농축액에서 많이 검출되는 것을 확인할 수 있었다. carotenoid의 분해경로는 Fig 27과 같다.

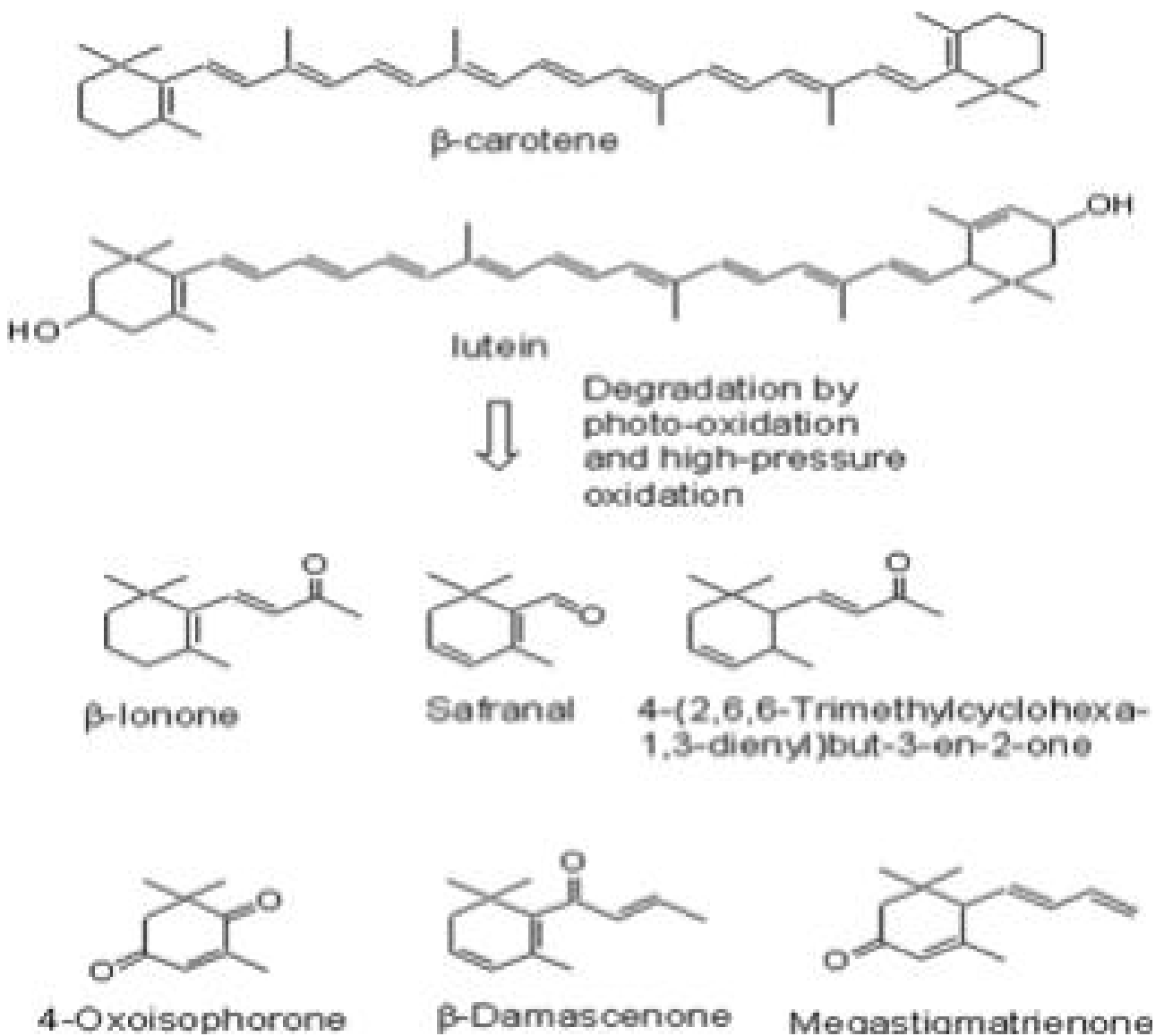


Fig 27. Some tobacco carotenoid degradation products (Lee et.al., 2015).

그 밖에 발효취, fruity note를 띠는 ester류는 methyl acetate, ethyl acetate, ethyl 3-methylbutanoate, ethyl octanoate 등으로 모두 초핑분쇄물에서 검출되었으며, terpene류는 총 8개가 검출되었고, 타사농축액에서 많이 검출되는 것을 확인할 수 있었다. 그 밖에 이취로도 작용될 수 있는 ketone은 3종이 검출됨을 확인할 수 있었다.

㉔ 마늘추출물 휘발성 향미 성분 분석

마늘 추출물의 휘발성 향미 성분 분석 마늘 추출물의 휘발성 향미성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌고 GC-MS를 통해 분석되었다. Table 14은 마늘 추출물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이고, GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms는 Fig. 28와 같다.

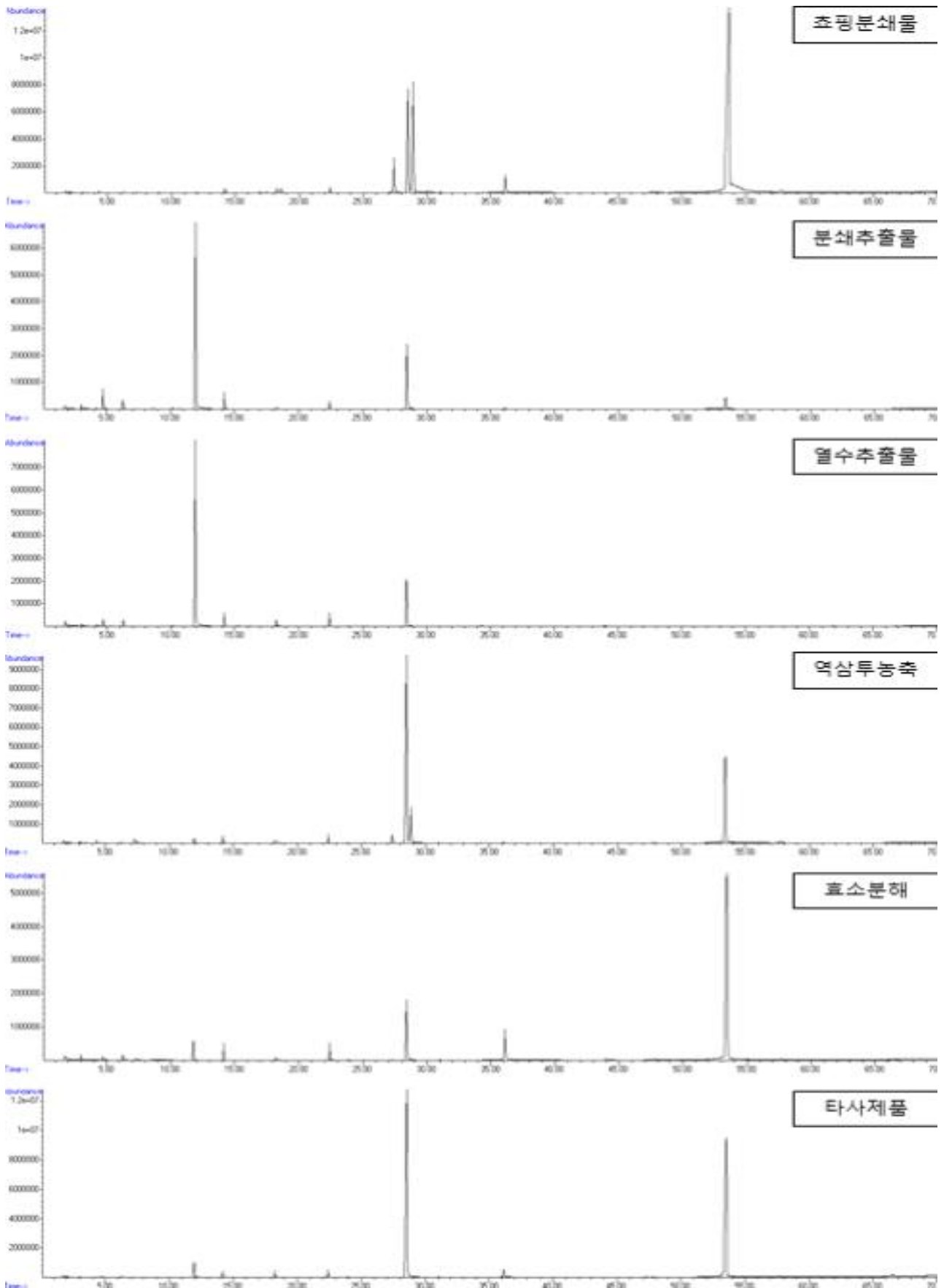


Fig. 28. 마늘추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 14. Volatile compounds identified in garlic samples using GC-MS

No.	RI ¹⁾	cas #	possible volatile compounds	odor descriptions ²⁾	Relative peak area (%) ³⁾						ID ⁴⁾
					쇼핑분쇄	분쇄추출	열수추출	역삼투압	효소분해	타사제품	
alcohols											
1	931	000064-17-5	ethanol	sweet, ethereal (alcoholic) odor,	0.135	- ⁵⁾	0.298	0.346	-	0.029	MS/RI
2	1113	000107-18-6	prop-2-en-1-ol	mustard-like	0.012	0.118	-	0.028	-	-	MS/RI
3	1209	000123-51-3	3-methylbutan-1-ol	Fusel, alcoholic, ethereal	-	-	0.252	-	-	-	MS/RI
4	1394	000110-03-2	2,5-dimethylhexane-2,5-diol	mild camphor	-	-	-	0.068	-	-	MS
aldehydes											
5	838	000107-02-8	prop-2-enal	irritating	0.010	-	-	0.014	-	-	MS/RI
6	1032	004170-30-3	(Z)-but-2-enal	pungent, suffocating odor	0.074	-	-	1.025	0.416	-	MS/RI
7	1075	000066-25-1	hexanal	strong, penetrating, fatty-green, grassyunripefruitodor	0.081	-	-	-	-	-	MS/RI
8	1084	001115-11-3	(E)-2-methylbut-2-enal	pungent, green, ethereal, nutty, anisic, fruity	0.008	-	-	0.016	-	-	MS/RI
9	1100	017854-46-5	2-methylidenepent-4-enal	-	0.017	-	-	0.023	0.206	-	MS
10	1388	000124-19-6	nonanal	fresh, citrus, floral, green note	-	-	-	-	-	0.013	MS/RI
esters											
11	>1800	006846-50-0	[2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl]2-methylpropanoate	-	-	-	-	-	-	0.024	MS
ketones											
12	1276	000513-86-0	3-hydroxybutan-2-one	buttery, Bland, woody, yogurt	-	-	0.581	-	-	-	MS
S-containing compounds											
13	743	000075-18-3	methylsulfanylmethane	pungent, cabbage, cooked vegetable odor,	-	-	0.028	-	-	-	MS/RI

				corn-like								
14	883	000870-23-5	prop-2-ene-1-thiol	leek, onion-like, skunky	-	-	0.169	-	0.010	-	MS/RI	
15	884	001072-43-1	2-methylthiirane	-	0.014	-	-	-	-	-	MS/RI	
16	946	010152-76-8	3-methylsulfanylprop-1-ene	sulfurous, Garlic, onion notes	0.007	3.488	2.163	0.040	-	0.118	MS/RI	
17	1063	000624-92-0	(methyldisulfanyl)methane	strong onion, cabbage-like odor	-	0.204	0.045	-	0.053	0.010	MS/RI	
18	1139	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	4.911	45.877	66.566	2.774	3.751	2.152	MS/RI	
19	1222	002179-60-4	1-(disulfanyl)butane	odor and taste reminiscent of onion, garlic, radish & vegetative	-	0.043	-	-	-	-	MS/RI	
20	1243	000638-02-8	2,5-dimethylthiophene	xylene-like, fresh onion & green notes	0.124	-	-	-	-	-	MS/RI	
21	1254	005905-47-5	(Z)-1-methylsulfanylprop-1-ene	pungent fresh leek-onion like	0.078	-	-	-	-	-	MS/RI	
22	1271	002179-58-0	3-methylsulfanylprop-1-ene	alliaceous garlic green onion	0.541	0.434	2.266	0.547	0.600	0.923	MS/RI	
23	1278	005905-47-5	(Z)-1-methylsulfanylprop-1-ene	pungent fresh leek-onion like	0.407	-	-	0.070	-	-	MS/RI	
24	1366	003658-80-8	(methyltrisulfanyl)methane	strong, onion-garlic with cabbage, cauliflower notes odor and taste	0.017	0.038	-	-	0.243	0.311	MS/RI	
25	1418	999022-60-3	3-propylsulfanylprop-1-ene	-	-	0.631	0.595	0.122	0.074	0.079	MS	
26	1450	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	4.841	-	-	1.912	0.189	-	MS/RI	
27	1466	002179-57-9	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	strong, pungent, Garlic odor and taste	17.470	41.396	26.647	65.130	15.452	50.661	MS/RI	
28	1474	002444-49-7	3-prop-2-enylsulfanyldisulfanylprop-1-ene	sulfurous, garlic, onion	17.965	-	-	-	-	-	MS	
29	1570	034135-85-8	3-methylsulfanyldisulfanylprop-1-ene	alliaceous, creamy, garlic, onion	1.382	-	-	0.206	7.162	-	MS/RI	

30	1704	062488-52-2	3-ethenyl-3,6-dihydrodithiine	-	0.357	-	-	-	-	-	MS
31	1767	002050-87-5	3-prop-2-enylsulfanyldisulfanylprop-1-ene	garlic, onion, green onion, metallic	56.369	7.627	-	28.967	71.982	45.221	MS/RI
32	>1800	080028-57-5	2-ethenyl-4H-1,3-dithiine	-	-	-	-	0.580	0.016	0.580	MS/RI
33	>1800	000758-16-7	N,N-dimethylmethanethioamide	-	-	-	-	-	-	0.358	MS
phenols											
34	>1800	007786-61-0	4-ethenyl-2-methoxyphenol	sweet, spicy, clove-like, smoky	-	-	0.039	-	-	-	MS/RI

1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

2) Reference: "1-flavor-base 2010" software

3) Average of peak area of individual compound divided by total peak areas (%).

4) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference:: "<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>" website

5) not detected

마늘 추출물의 휘발성 향미성분을 분류하면, alcohol류 4개, aldehyde류 6개, ketone, ester, phenol류 각1개, sulfur 함유향미성분 21개로 총 34종의 성분이 분석 되었다.

Alcohol류는 ethanol, prop-2-en-1-ol, 3-methylbutan-1-ol, 2,5-dimethylhexane-2,5-diol 가 검출되었다. 이 중 fusel, alcoholic, etherial 한 향미특성을 가지는 3-methylbutan-1-ol은 열수추출물에서, mild camphor의 향미특성을 가지는 2,5-dimethylhexane-2,5-diol은 역삼투압 추출물에서만 검출되었다.

Aldehyde류에서는 prop-2-enal, (Z)-but-2-enal, hexanal, (E)-2-methylbut-2-enal, 2-methylidenepent-4-enal, nonanal 이 검출되었다. 마늘의 thiosulfinate류로부터 알콜류가 생성되고, 알콜류가 산화되어 aldehyde향미성분이 생성된다 (신동빈, 1999). 검출된 10종의 aldehyde향미성분 중 초평분쇄물에는 6개, 역삼투압 추출물에는 5개, 효소분해 추출물과 타사 제품에는 각각 2개, 1개씩 동정 되었고, 분쇄추출물과 열수추출물에서는 검출되지 않았다. 이는 추출물의 제조과정 중 열처리 에 의하여 마늘의 향기성분이 감소한 것으로 사려된다.

Ester류에서는 [2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl]2-methylpropanoate이 타사 제품에서 검출되었고, kenton류에서는 buttery, bland, woody, yogurt 한 향미특성을 가지는 3-hydroxybutan-2-one이 열수추출물에서만 유일하게 검출되었다.

Sulfur-containing 향미성분은 모든 시료에서 가장 많은 향미성분이 동정되었다. 마늘의 각종 함유 향미성분은 마늘 중에 존재하는 (+)-S-allyl-L-cysteine sulfoxide (alliin), (+)-S-methyl-L-cysteine sulfoxide 및 (+)-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine sulfoxide (isoalliin)가 alliinase (alliin alkyl-sulfenate-lyase)의 작용에 의하여 allicin (2-propene-1-sulfinothioic acid S-2-propenyl ester)을 비롯한 methyl allyl, 1-propenyl allyl, allyl 1-propenyl, 1-propenyl methyl, dimethyl thiosulfinate 등의 thiosulfide류 향미성분과 이들의 분해물 또는 분해산물들의 재결합에 의하여 생성되는 것이다 (Fig. 29) (Lawson LD, 1991).

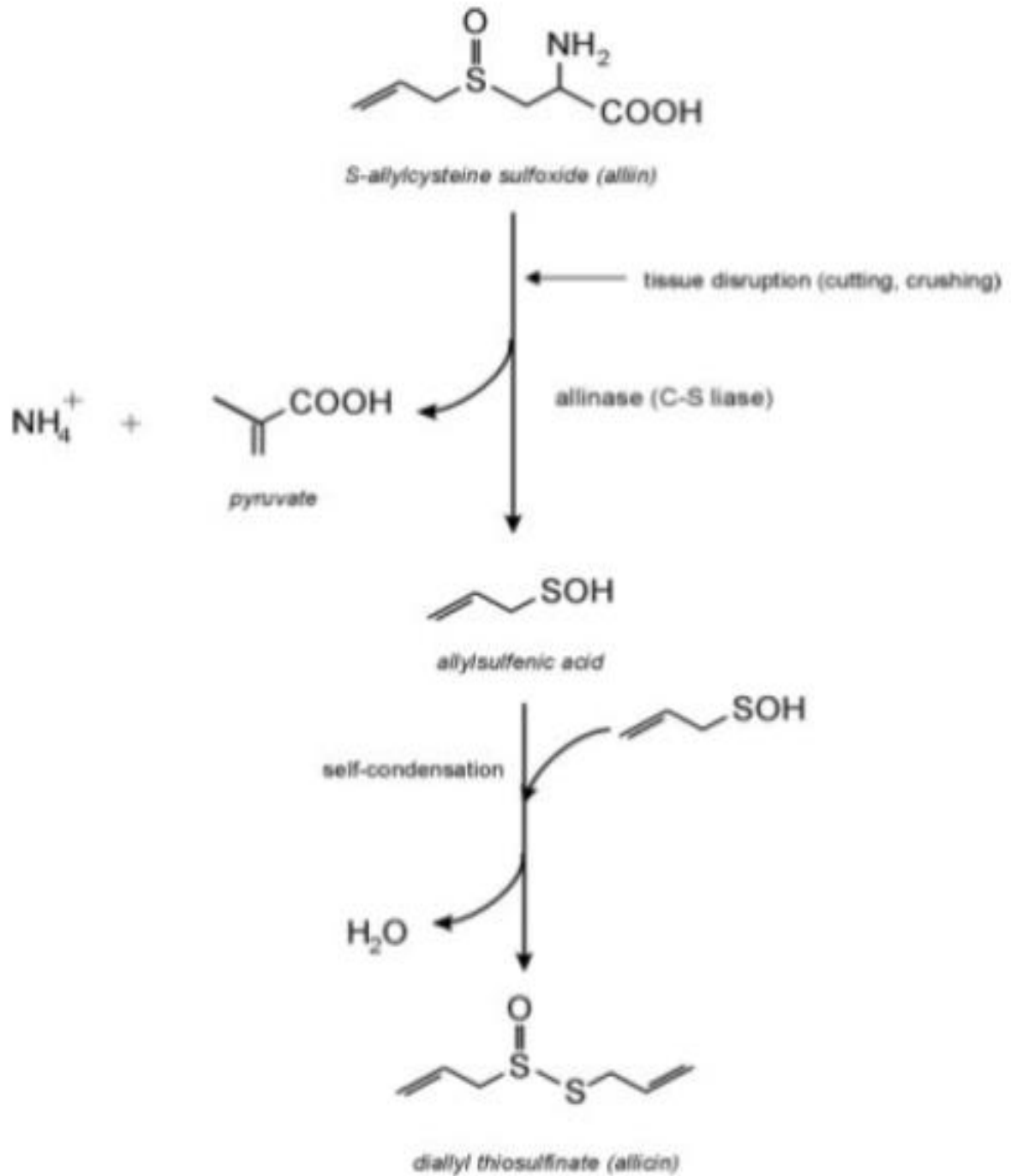


Fig 29. Conversion of alliin to allicin catalyzed by allinase (Małgorzata Iciek et al., 2009).

마늘의 주요한 성분으로 알려진 allin을 비롯한 thiosulfates는 불안정한 향미성분으로서 분해되어 diallyl sulfide 및 저급의 sulfides 향미성분을 생성하는 것으로 알려져 있다 (Fig 30) (Brodnitz M, 1971).

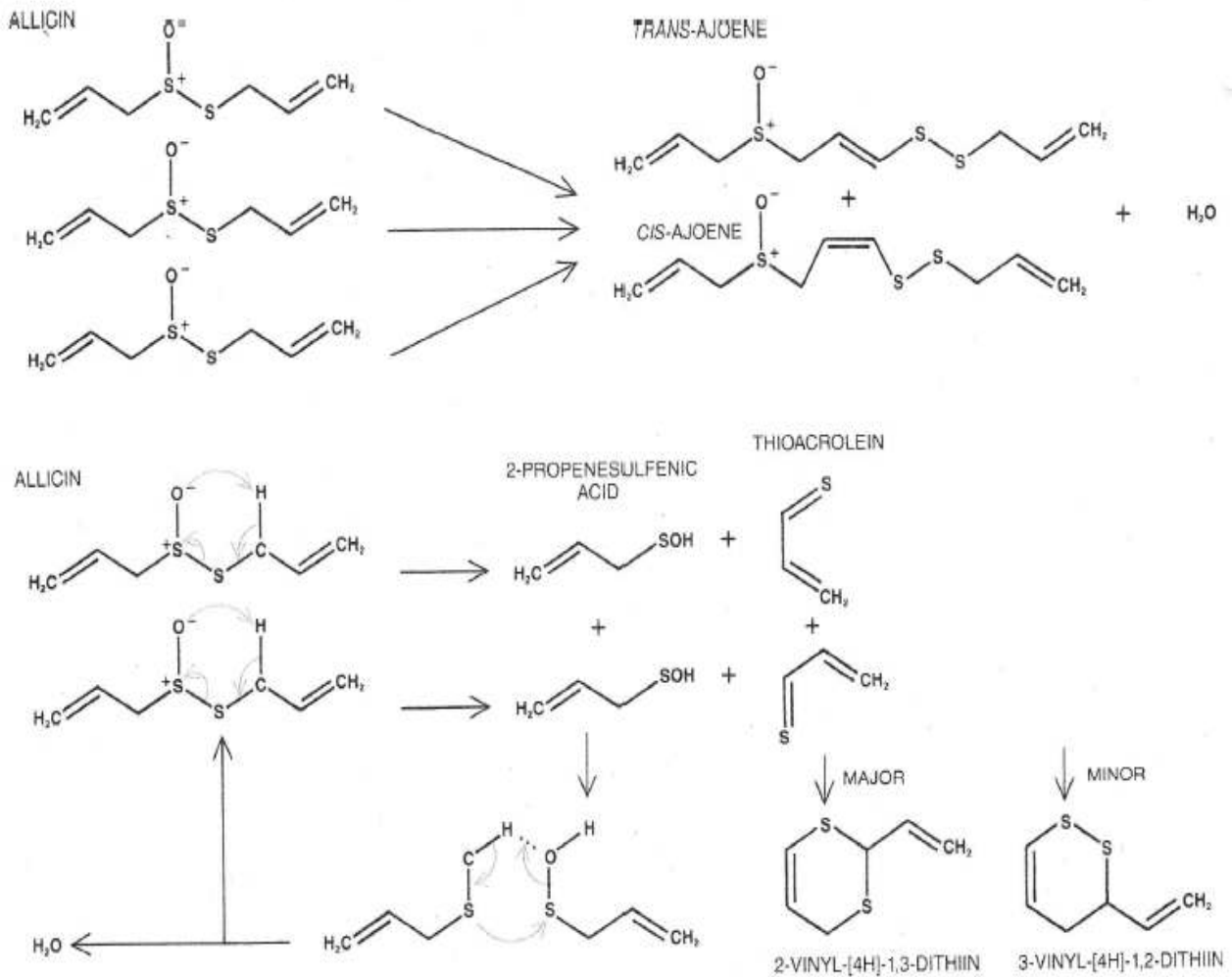


Fig 30. Decomposition of alliin (Eric Block et al., 2014).

추출물 중 초핑분쇄물에서 14개의 sulfur 함유 향미성분이 동정되어 가장 많은 종류가 정성되었고, 다음으로 효소분해 추출물에서 11개, 역삼투압 향미성분과 타사제품에서 10개, 분쇄추출물과 열수추출물에서 각 9개, 8개가 검출되었다. 검출된 sulfur 향미성분 중 fresh onion like 한 향미특성을 가지는 2,5-dimethylthiophene 와 (Z)-1-methyldisulfanylprop-1-ene 는 초핑분쇄물에서 검출 되었으며, 3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene, 3-methyldisulfanylprop-1-ene, 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene 은 모든 시료에서 공통적으로 동정되었다. 초핑분쇄물과 효소분해 추출물에서는 garlic, onion, green onion, metallic 한 향미특성을 가지는 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene이 가장 많은 양으로 정성 되었고, 분쇄추출물과 열수추출물에서는 sweet, pungent, garlic-horseradish한 향미특성을 가지는 3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene 가, 역삼투압 추출물과 타사제품에서는 strong, pungent, garlic 한 향미특성을 가지는 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene 이 정성적으로 가장 많은 양으로 검출되었다.

Phenol류에서는 sweet, spicy, clove-like, smoky한 향미특성을 가지는 4-ethenyl-2-methoxyphenol이 열수추출물에서만 검출되었다.

㉞ 마늘 추출물 휘발성 성분에 대한 다변량 통계분석

추출 방법에 따른 대파 추출물의 휘발성 향미 성분 차이를 분석하기 위하여 다변량 통계 분석 중 주성분 분석을 하였고 그 결과는 Fig 31과 같다.

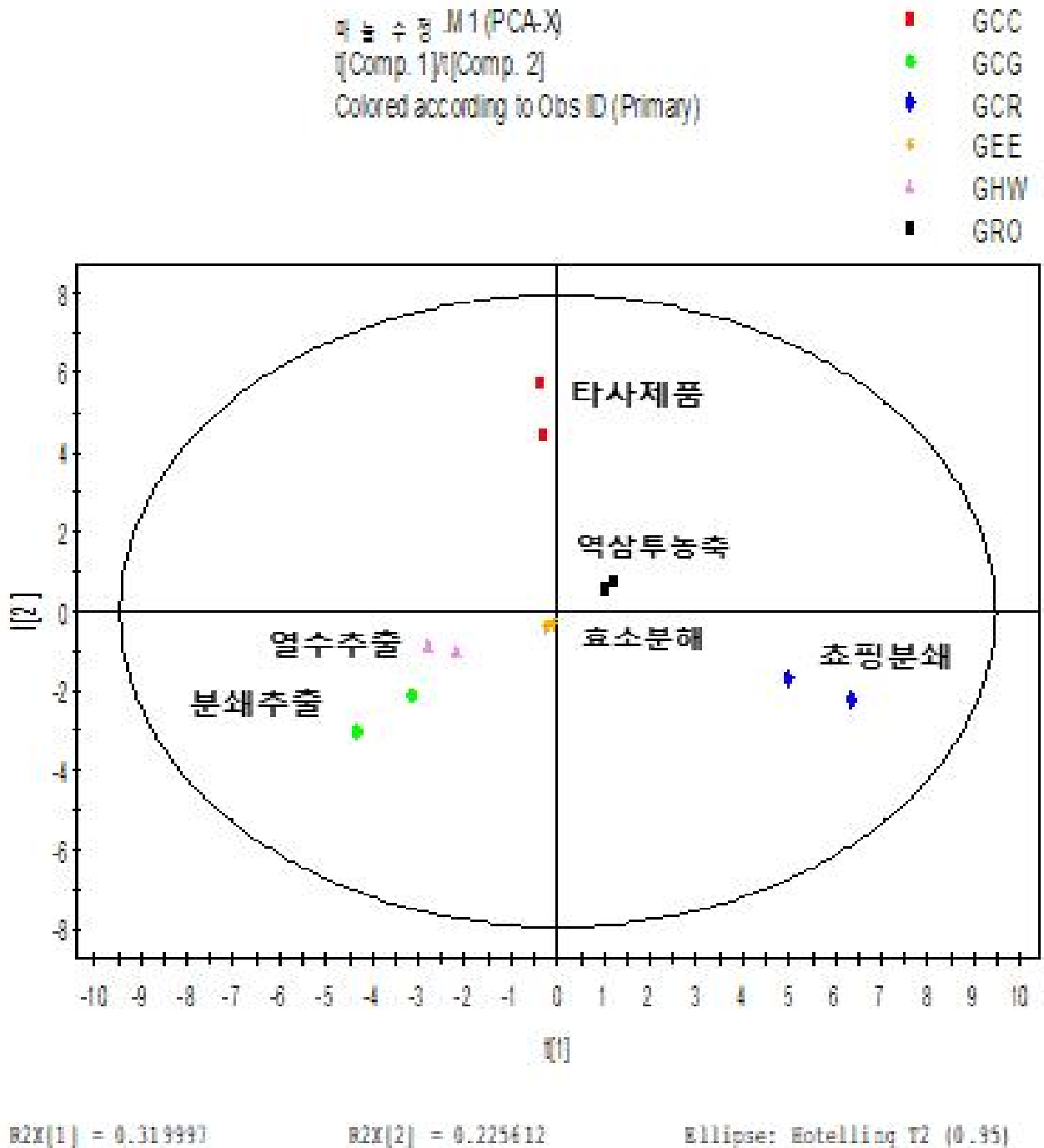


Fig 31. PCA derived score plot of the volatile compounds in garlic extract (GCC: 타사제품, GCG: 분쇄추출, GCR: 초핑분쇄, GEE: 효소분해, GHW: 열수추출, GRO: 역삼투농축).

주성분 분석을 통하여 각 시료들의 분포 및 양과 음의 방향에 주요한 영향을 미치는 성분들을 알 수 있다. PCA component 1 음의 방향 그리고 component 2 음의 방향에 공통적으로 위치한 주요 향미 성분 (VIP value>0.9)들은 열수추출물과 분쇄추출물을 다른 그룹과 구분 짓는 성분들로 (methyldisulfanyl)methane, 3-methylsulfanylprop-1-ene, 3-propylsulfanylprop-1-ene등 이고 component 2 양의 방향에 위치한 주요 향미성분들은 [2,2,4-trimethyl-3-(2-methylpropanoyloxy)pentyl] 2-methylpropanoate, (methyltrisulfanyl)methane, Nonanal 등으로 타사제품을 다른 그룹과 구분 짓는 성분임을 확인할 수 있었다. 전체적으로 시료들 간에 유의적인 차이는 보이지 않았다.

㉔ 무 추출물의 휘발성 향미 성분 분석

무 추출물의 휘발성 향미성분의 추출은 SPME법을 통해 이루어졌고 GC-MS를 통해 분석되었다. Table 15는 무 추출물에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 검출된 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사한 표이고, GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms는 Fig. 32와 같다.

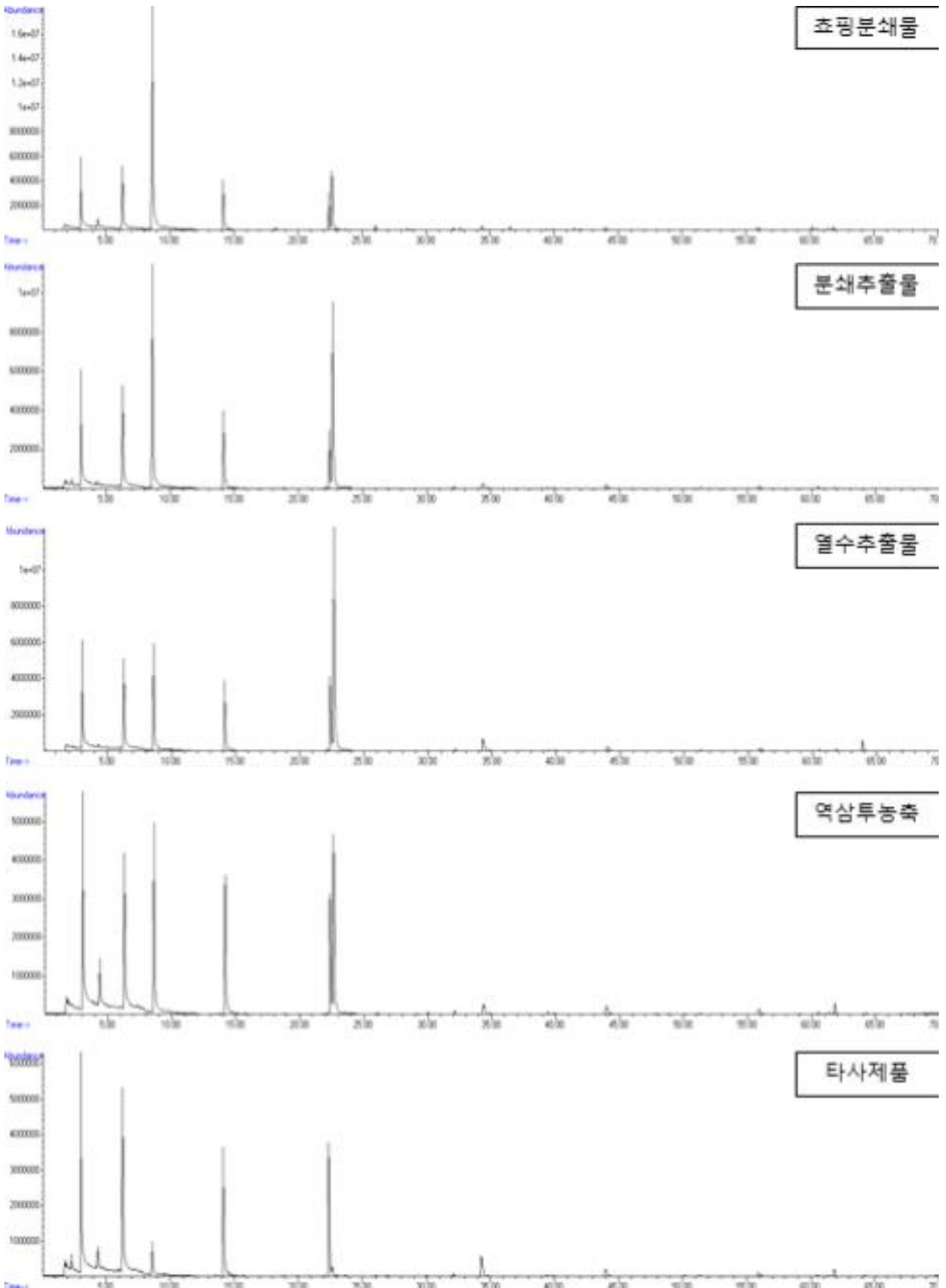


Fig. 32. 무추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 15. Volatile compounds identified in radish samples using GC-MS

No	RI ¹⁾	cas #	possible volatile compounds	odor description ²⁾	Relative peak area (%) ³⁾					ID ⁴⁾
					초평 분쇄	분쇄 추출	열수 추출	역삼투압	타사 제품	
alcohols										
1	930	000074-93-7	ethanol	sweet, ethereal (alcoholic) odor,	1.912	- ⁵⁾	-	8.299	34.549	MS/RI
aldehydes										
2	909	000074-93-4	2-methylbutanal	malty	-	-	-	0.202	-	MS/RI
3	1374	000124-19-6	nonanal	fresh, citrus, floral, green note	0.061	0.356	0.426	0.446	-	MS/RI
4	1496	033617-38-8	benzaldehyde	almond-like	-	-	-	0.272	-	MS/RI
benzene derivatives										
5	1028	000108-88-3	methylbenzene	-	0.134	-	-	-	1.772	MS/RI
6	1209	000095-47-6	1,2-xylene	-	-	0.060	0.055	0.097	-	MS/RI
7	1116	000106-42-3	1,4-dimethylbenzene	-	-	0.066	0.083	0.140	0.688	MS/RI
8	1164	000095-47-6	1,2-dimethylbenzene	-	-	0.059	-	-	0.425	MS/RI
esters										
9	1221	000123-66-0	ethyl hexanoate	strong, fruity, pineapple,, pear & tropical notes	0.048	-	-	-	-	MS/RI
10	1287	002396-83-0	ethyl hex-3-enoate	fruity, green, sweet pineapple like	6.015	-	-	-	-	MS/RI
11	1418	000106-32-1	ethyl octanoate	fruity, winey, sweet odor, cognac-apricot taste	0.564	-	-	-	-	MS/RI
12	1789	000106-33-2	ethyl dodecanoate	waxy, soapy and floral with a creamy, dairyandfruitynuance	7.908	-	-	-	-	MS/RI
13	1872	074367-34-3	3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl) 2-methylpropanoate	-	0.100	0.289	-	-	2.577	MS
14	>2000	006846-50-0	[2,2,4-trimethyl-1- (2-methylpropanoyloxy) pentan-3-yl]2-methylpropanoate	-	0.031	-	0.222	-	7.144	MS
furan derivatives										
15	1217	003777-69-3	2-pentylfuran	earthy, green, beany with vegetable, fruity notes	0.024	-	-	-	-	MS/RI
ketones										
16	812	000074-93-3	propan-2-one	-	0.056	0.430	-	0.226	0.825	MS/RI
S-containing compounds										
17	676	000074-93-1	methanethiol	Vegetable oil, alliaceous, eggy, cabbage, Alcoholic	0.065	-	-	0.039	23.806	MS/RI
18	744	000074-93-2	methylsulfanylmethane	-	-	0.706	0.319	0.090	-	MS/RI
19	1059	000624-92-0	methyldisulfanylmethane	strong onion, cabbage-like odor	62.636	51.707	22.800	32.126	36.221	MS/RI
20	1130	000592-88-1	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	sweet, pungent, garlic-horseradish like	-	0.067	-	-	-	MS/RI
21	1261	002179-58-0	3-methyldisulfanylprop-1-ene	alliaceous garlic green onion	0.325	-	-	-	-	MS/RI
22	1353	003658-80-8	methylsulfanyldisulfanylmethane	strong, onion-garlic with cabbage, cauliflower	6.086	43.332	59.171	32.114	-	MS/RI

hydrocarbons										
23	607	000110-54-3	hexane	-	0.072	0.062	0.129	0.322	6.026	MS
24	927	000074-93-6	2,2,5,5-tetramethylhexane	-	-	0.350	-	-	-	MS
25	995	000124-18-5	decane	hydrocarbon odor (gasoline-like)	0.066	-	-	-	-	MS/RI
26	1082	001120-21-4	undecane	gassy, hydrocarbon odor	-	-	-	-	0.897	MS
27	1461	000629-12-9	1-isothiocyanatopentane	green	0.166	-	-	-	-	MS
28	1628	004404-45-9	1-Isothiocyanatohexane	sharp green	0.231	-	-	-	-	MS/RI

- 1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.
- 2) Reference: "1-flavor-base 2010" software
- 3) Average of peak area of individual compound divided by total peak areas (%).
- 4) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference:: " <https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>" website
- 5) not detected

무 추출물의 휘발성 향미성분을 분류하면, alcohol류 1개, aldehyde류 3개, benzene류 4개, ester류 6개, furan류, ketone류 각 1개, sulfur 함유향미성분 6개, hydrocarbon류 6개 로 총 28종의 성분이 분석되었다.

Alcohol류에서는 sweet, etherea한 향미특성을 가지는 ethanol 1개의 성분이 동정 되었고, 초핑 분쇄물, 역삼투압 농축액, 타사제품 세 가지 시료에서만 검출되었다. 특이적으로, 타사제품에서 ethanol이 높은 함량으로 검출되었다.

Aldehyde류에서는 fresh, citrus, floral, green note한 향미 특성을 가지는 nonanal이 타사제품을 제외하고 모든 시료에서 검출되었고, 2-methylbutanal 과 benzaldehyde는 역삼투압 농축액에서만 검출되었다.

Benzene & derivatives류로는 methylbenzene, 1,2-xylene, 1,4-dimethylbenzene, 1,2-dimethylbenzene 4가지 향미성분이 검출되었다. 이 중 분쇄추출물, 열수추출물, 역삼투압 농축액에서 1,2-xylene, 1,4-dimethylbenzene 이 공통적으로 동정되었다.

Ester류에서는 특이적으로, 다른 추출물에서 동정되지 않은 성분들이 초핑분쇄물에서는 많이 검출되어 풀냄새와 과일향미의 향미특성을 부여하였다. 따라서, 이러한 향미성분들이 초핑분쇄물의 향미특성에 크게 기여하는 것으로 사려된다.

Furan류에서는 earthy, green, beany with vegetable, fruity한 향미 특성을 가지는 2-pentylpuran가 초핑분쇄물에서만 검출되었고, keton류에서는 propan-2-one이 열수추출물을 제외하고 모든 시료에서 검출되었다.

모든 시료에서 sulfur 함유 향미성분이 정성적으로 많은 양으로 검출되었다. 특히, strong onion, cabbage-like한 향미특성을 가지는 methylsulfanylmethane 이 모든 시료에서 높은 정량값을 보였고, strong, onion-garlic with cabbage, cauliflower한 향미 특성을 가지는 methylsulfanyldisulfanylmethane 가 분쇄추출물, 열수추출물, 역삼투압 농축액에서 높은 함량으로 검출되어 이들의 향미를 결정하는 중요한 역할을 할 것으로 사려된다. 이러한 sulfur-containing compounds는 무의 glucosinolate가 분해되며 생성될 수 있다. 무에서 특 쏘는 맛과 쓴맛과 같은 향미특징을 가진 glucosinolate는 myrosinase에 의해 분해되어 isothiocyanate와 thiocyanate가 되며 이들이 발효, 숙성, 저장과정을 거치면서 그들의 분해산물인 alcohols, aldehydes, sulfur-containing compounds가 생성되면서 매운맛을 상실한다(Fig. 33).

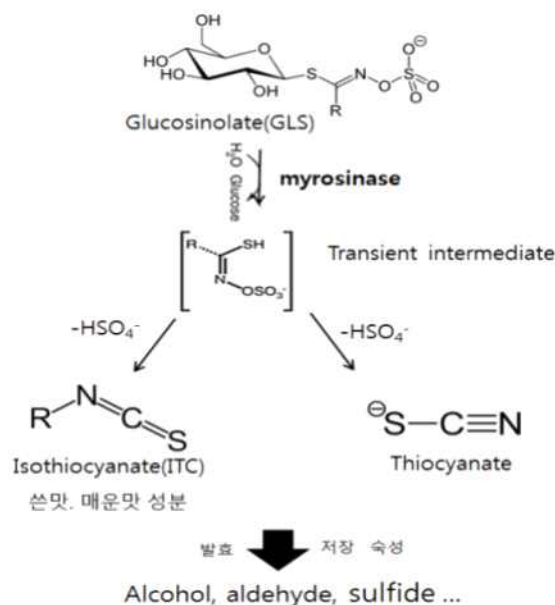


Fig. 33. Degradation of glucosinoate in radish (Fenwick GR et al., 1983).

Hydrocarbon류는 6개가 검출되었으며, 향미성분에는 큰 영향을 미치지 않는 성분이다. 이 중 hexane이 모든 시료에서 검출되었고 decane, 1-isothiocyanatopentane, 1-Isothiocyanatohexane은 초핑분쇄물에서만 검출되었다.

㉠ 무 추출물 휘발성 성분에 대한 다변량 통계분석

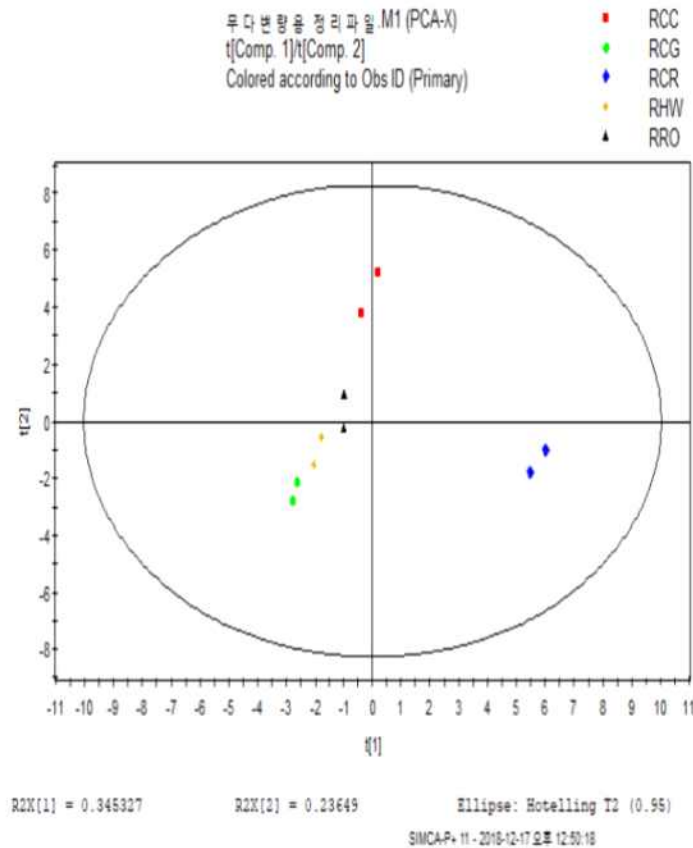


Fig 34. PCA derived score plot of the volatile compounds in radish extract (RCC: 타사제품, RCG: 분쇄추출, RCR: 초핑분쇄, RHW: 열수추출, RRO: 역삼투농축).

주성분 분석을 통하여 초핑분쇄물이 다른 농축액들과 차이를 보이는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 34). PCA component 1 양의 방향에 위치한 주요 향미 성분 (VIP value>0.9)들은 3-methyldisulfanylprop-1-ene, 1-isothiocyanatopentane, metylbenzene 등이고 음의 방향에 위치한 주요 향미성분들은 methylsulfanylmethane, 1,2-xylene, [2,2,4-trimethyl-1-(2-methylpropanoyloxy)pentan-3-yl] 2-methylpropanoate 등이므로 나타났다.

3. 효모크림의 휘발성 대사체 분석

가. 효모크림 휘발성 유기화합물(VOC)의 추출법, 기기분석법

① 실험 재료

효모 크림 시제품의 휘발성 성분 분석을 위하여 샘플에서 제조한 효모크림 시제품 샘플 3종을 사용하였으며, 각 시료에 대한 정보는 다음 Table 16와 같다.

Table 16. 실험에 사용된 효모크림 시료

Product name	Samples identification
WEC	당밀사용 효모크림
WCC	당밀사용 효모크림 1차 세척액
REC	쌀발효물 사용 효모크림

WEC는 당밀을 사용하여 제조한 효모크림 이며, WCC는 이를 1차세척한 효모크림이다. REC는 쌀발효물을 사용하여 제조하였다.

② 효모크림 내 휘발성 유기화합물의 Solid phase micro-extraction (SPME)를 이용한 추출 방법 및 GC/MS 분석 방법

㉠ Solid phase micro-extraction (SPME)

SPME 추출법은 분석 물질을 일정한 온도에서 유지시켜 휘발성 성분을 headspace로 이동시키고 이를 polymer로 코팅된 fiber에 흡착시켜서 추출하는 방법으로 휘발성이 비교적 높은 성분들의 분석에 유리하다. 또한 용매를 쓰지 않으며 적은 양의 시료로도 분석이 가능하고, 비교적 빠르고 간단히 분석이 가능하다는 장점을 지니고 있다 (Lee et al., 1999). 본 연구에서는 SPME 추출법을 이용하여 각 시료들의 휘발성 향미성분을 추출하고자 하였다.

효모크림 시료 내 휘발성 향미성분들을 흡착시키기 위해 다양한 범위의 물질을 흡착할 수 있는 Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber (Supelco)가 사용되었다. 20mL의 갈색 vial에 효모크림 시료 4g을 담아 50°C에서 250 rpm으로 25분 동안 평형상태를 유지시킨 다음 SPME fiber 2 mm를 노출시켜 5분 동안 휘발성 성분을 흡착하였다. 휘발성 성분의 탈착은 GC-MS 주입구 (250°C)에서 5분간 수행하였으며 모든 분석을 2번 반복적으로 수행하였으며, 분리능을 위해 cryo-focusing 과정을 진행하였다.

㉡ GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

SPME를 사용하여 추출한 효모크림의 휘발성 향미 성분은 HP 7890A gas chromatograph에 연결된 5975C mass detector (Agilent Technologies)로 분석하였으며, column은 DB-5 (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25µm film thickness, Agilent)를 사용하였다. GC oven 온도는 40°C

에서 6분간 유지시키고 120°C까지 분당 3°C씩 올린 후 160°C까지 분당 4°C씩 올린 후, 200°C까지 분당 8°C씩 올린 후, 3분간 유지시켰다. Injector와 detector transfer line의 온도는 각각 250°C와 280°C, mass scan range는 35-350 a.m.u.이었으며 mass spectra는 70 eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 splitless mode로 분석하였다.

㉔ 효모크림의 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법

효모크림의 휘발성 성분들의 동정은 MSD ChemStation (Agilent Technologies)을 이용해 이루어졌다. SPME법으로 추출한 휘발성 성분의 동정은 retention index (RI), mass spectral database (Wiley9n.1 및 NIST08) 및 manual interpretation에 의해 수행되었다. 효모크림의 정량은 내부표준물질을 이용하였으며, 2-ethenylpyrazine 100 ppm (w/v)을 2μL 사용하였다. 분석 조건으로 RTE Integrator Parameters는 data filtering은 5-point, start threshold는 0.05, stop threshold는 0으로 하였다.

(나) 효모크림 휘발성 유기화합물 (VOC)의 동정 및 정량 분석

SPME, GC-MS를 통해 분석된 효모크림의 크로마토그램 결과는 아래 Table 16에 나타내었고, Fig. 35은 각 효모크림에서 추출, 분리, 동정된 휘발성 향미성분과 휘발성 성분들의 향기특성을 묘사하였다.

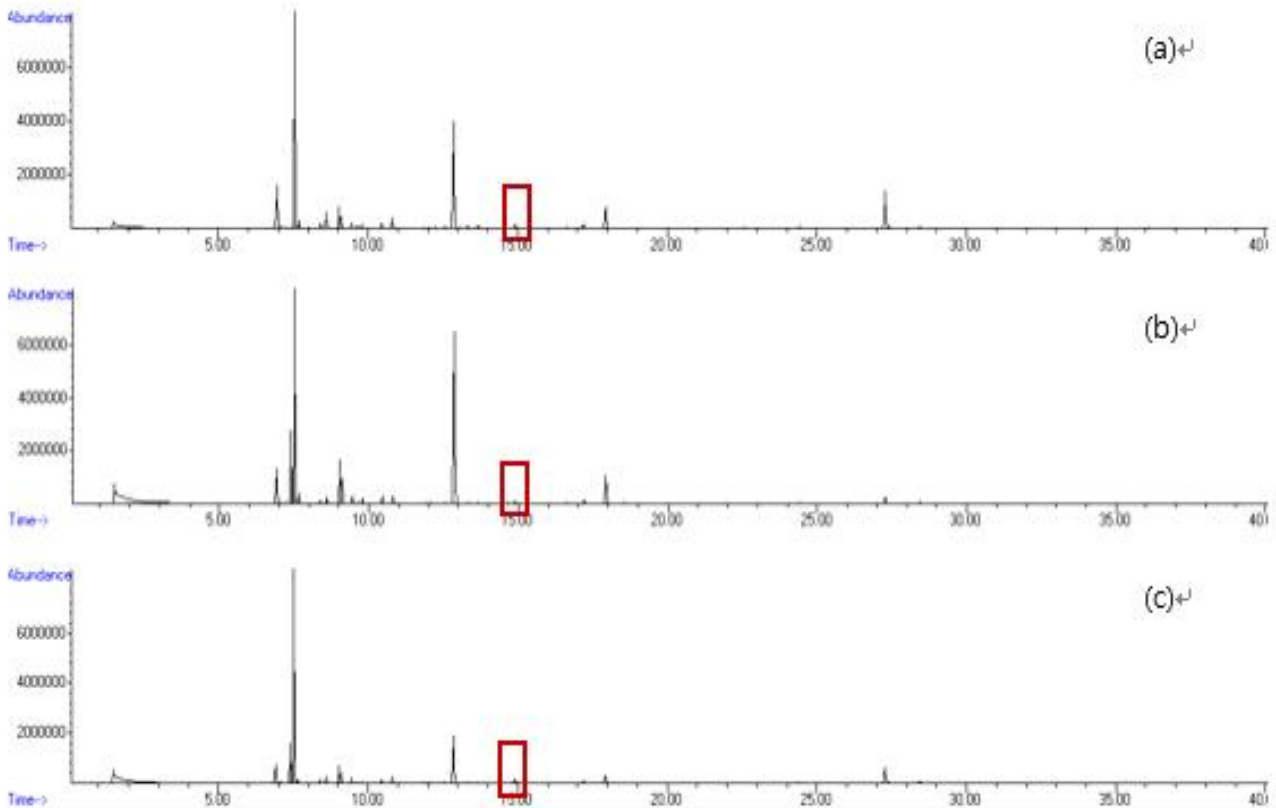


Fig 35. 효모크림의 GC-MS total ion chromatograms (box 표시한 부분이 2-ethenylpyrazine의 peak): (a) 당밀사용 효모크림, (b) 당밀사용 효모크림 1차세척액, (c) 쌀발효물 사용 효모크림.

Table 17. Volatile compounds identified in yeast cream samples using GC-MS

No.	RI ¹⁾	possible volatile compounds	cas #	odor description ²⁾	Relative peak area			ID ⁴⁾
					(%) ³⁾	WEC	WCC	
acids								
1	749	2-methylpropanoic acid	000079-31-2	sour cheesy, in dilution a fruity odor and taste	0.012	0.061	- ⁵⁾	MS/RI
alcohols								
2	<600	ethanol	000064-17-5	sweet, ethereal, primarily used as a solvent	9.265	9.372	3.503	MS/RI
3	<600	propan-1-ol	000071-23-8	alcoholic, fermented, musty and yeasty, with aslightlysweetfruitynuanceofappleandpear	0.148	0.065	0.014	MS/RI
4	629	2-methylpropan-1-ol	000078-83-1	ethereal winey cortex	0.804	1.534	0.325	MS/RI
5	732	3-methylbutan-1-ol	000123-51-3	alcoholic whiskey	2.912	8.057	2.341	MS/RI
6	736	2-methylbutan-1-ol	000137-32-6	roasted wine onion fruity fusel alcoholic whiskey	1.777	4.384	1.449	MS
7	843	3-methylpentan-1-ol	000589-35-5	whiskey, green, apple,with an alcoholic nuance	-	-	0.041	MS/RI
8	1028	2-ethylhexan-1-ol	000104-76-7	sweet, oily-fermenty weak rose odor, fattyfruity-musty,tea-floraltaste	0.122	0.132	0.100	MS/RI
9	1111	2-phenylethanol	000060-12-8	sweet, floral, fresh and bready witharoseyhoneynuance	0.052	0.088	-	MS/RI
aldehydes								
10	<600	2-methylpropanal	000078-84-2	in dilution, pleasant, fruity, cheese, chocolate,green,banana-like	0.069	-	-	MS/RI
11	654	3-methylbutanal	000590-86-3	pungent, cocoa, green fruity odor, cheesy-sweaty-cocofruityindilution	0.033	-	0.019	MS/RI
12	664	2-methylbutanal	000096-17-3	strong, cocoa-like, malty, fermented	0.084	0.036	0.017	MS/RI
benzene derivatives								
13	763	toluene	000108-88-3	sweet, pungent, benzene-like	0.256	0.199	0.175	MS/RI
14	857	ethylbenzene	000100-41-4	petroleum-like, sweet, gasoline-like	0.125	0.121	0.093	MS/RI
15	866	1,4-xylene	000106-42-3	sweet, aromatic odor	0.206	0.255	0.081	MS/RI

16	868	xylene	001330-20-7	sweet, aromatic odor	0.034	0.041	0.031	MS
17	843	methyl(Z)-N-hydroxy benzenecarboximidate	999067-89-0	-	0.313	0.274	0.195	MS
18	958	1-ethyl-2-methylbenzene	000611-14-3	-	0.026	0.034	0.020	MS/RI
19	992	1,2,4-trimethylbenzene	000095-63-6	plastic	0.030	0.064	0.039	MS/RI
esters								
20	<600	methyl acetate	000079-20-9	sweet, volatile ethereal-fruity odor, similar to ethyl acetate	0.018	0.137	0.085	MS/RI
21	614	ethyl acetate	000141-78-6	ethereal, sharp, wine-brandy, like odor	26.645	28.163	22.012	MS/RI
22	702	S-methyl ethanethioate	001534-08-3	sulfurous, eggy, cheese, dairy, vegetable, cabbage	-	0.183	-	MS/RI
23	711	ethyl propanoate	000105-37-3	strong, ethereal, fruity, rum-like odor, rum, mixed fruit taste	1.799	0.896	0.660	MS/RI
24	713	propyl acetate	000109-60-4	fruity, pungent, raspberry, pear, celery, melon, strawberry	0.233	0.147	0.059	MS/RI
25	720	methyl butanoate	000623-42-7	pungent, ethereal, fruity, perfumey, fusel with a fermented, cultured, creamy undertone	-	0.029	0.025	MS/RI
26	754	ethyl 2-methylpropanoate	000097-62-1	sweet, fruity, ethereal, with a rum like nuance	0.805	1.411	0.639	MS
27	770	2-methylpropyl acetate	000110-19-0	beverages, apple, cherry, chocolate, dairy products, hard fruits, peach, raspberry, soft fruits	0.578	0.951	0.192	MS/RI
28	802	ethyl butanoate	000105-54-4	strong, ethery-fruity, banana, pineapple	0.870	1.573	0.531	MS/RI
29	809	propyl propanoate	000106-36-5	sharp, chemical, pungent with sweet fruity lift notes	0.065	-	0.016	MS/RI
30	846	ethyl 2-methylbutanoate	007452-79-1	esters, very fruity, reminiscent of papaya, apple, quince, apricot and strawberry	0.177	0.362	0.184	MS/RI
31	851	ethyl 3-methylbutanoate	000108-64-5	sweet, diffusive, estery, fruity, sharp pineapple, apple, green and orange	0.144	0.423	0.125	MS/RI
32	875	3-methylbutyl acetate	000123-92-2	sweet, banana, fruity with a ripe estery nuance	20.866	40.871	8.283	MS/RI
33	902	ethyl pentanoate	000539-82-2	sweet, fruity, acidic, pineapple apple, green, berry and tropical	0.123	0.068	0.034	MS/RI
34	914	pentyl acetate	000628-63-7	ethereal, fresh-fruity, reminiscent of pear, banana and apple	0.133	-	-	MS/RI
35	914	2-methylpropyl	000097-85-8	alcoholic beverages, bakery, banana, dairy products,	-	0.063	-	MS/RI

36	924	2-methylpropanoate methyl hexanoate	000106-70-7	grape, pineapple, softfruits, tropicalfruits ethereal, pineapple, apricot, strawberry	0.022	0.231	0.040	MS/RI	
37	955	2-methylpropyl butanoate	000539-90-2	sweet, fruity, candy, berry, cherry, tutti frutti, overripe and bubblegum-like	-	0.031	-	MS/RI	
38	970	3-methylbutyl propanoate	000105-68-0	fruity, sweet: tropical, pineapple, banana	0.103	0.220	0.051	MS/RI	
39	970	pentyl propanoate	000624-54-4	mild fruity, somewhat ethereal, apple- and banana-like	0.199	-	-	MS/RI	
40	978	hexyl acetate	000142-92-7	green, fruity, sweet, fatty, fresh, apple and pear	0.044	-	-	MS	
41	948	ethyl hexanoate	000123-66-0	strong, fruity, pineapple, banana with strawberry, pear&tropical notes	5.203	8.372	1.669	MS	
42	1013	3-methylbutyl 2-methylpropanoate	002050-01-3	sweet, fruity, apricot, pineapple, banana	0.118	0.252	0.057	MS/RI	
43	1016	3-methylbutyl butanoate	000106-27-4	apple, apricot, banana, cherry, grape, tomato	-	0.054	-	MS/RI	
44	1057	butyl 3-methylbutanoate	000109-19-3	apple, banana, cheese, chocolate, cocoa, peach, pear	-	0.056	-	MS/RI	
45	1095	propyl hexanoate	000626-77-7	sweet, fruity, juicy, pineapple, green and tropical	0.032	-	-	MS/RI	
46	1098	ethyl heptanoate	000106-30-9	fruity, pineapple, sweet, estry, banana, berry, cognac and slightly green	0.260	0.172	0.078	MS/RI	
47	1124	methyl octanoate	000111-11-5	strong, winey-fruity, orange-like odor, green, fruity, waxy, citrus taste	0.024	-	0.042	MS/RI	
48	1151	2-methylpropyl hexanoate	000105-79-3	sweet, fruity, pineapple, green, tropical, estry	0.024	0.038	-	MS/RI	
49	1197	ethyl octanoate	000106-32-1	fruity, winey, sweet odor, cognac-apricot taste	10.642	2.306	3.995	MS/RI	
50	1253	2-phenylethyl acetate	000103-45-7	floral, sweet: honey, rosy, yeasty, cocoa, basalmic	0.071	-	-	MS/RI	
51	1396	ethyl decanoate	000110-38-3	sweet, waxy, fruity, apple	0.260	-	-	MS/RI	
furans									
52	604	2-methylfuran	000534-22-5	sweet-gassy, solvent, metallic-burnt with musty nutty notes	0.051	-	-	MS/RI	
hydrocarbons									
53	<600	3-methylpentane	000096-14-0	gasoline-like	-	0.020	-	MS/RI	

54	601	hexane	000110-54-3	gasoline-like, petroleum-like	0.011	8.793	3.470	MS	
55	658	cyclohexane	000110-82-7	mild sweet, chloroform-like, pungent petroleum-like	-	0.060	0.015	MS/RI	
ketones									
56	718	3-hydroxybutan-2-one	000513-86-0	buttery, bland, woody, yogurt	0.068	0.022	-	MS/RI	
57	889	heptan-2-one	000110-43-0	fruity, cheese, cinnamon odor, in dilution-bluecheese-coconut-fruity	0.104	-	-	MS/RI	
58	1035	4-methyl-4-vinyl γ-butyrolactone	001073-11-6	fruity, minty	0.159	0.155	0.143	MS/RI	
59	1091	nonan-2-one	000821-55-6	fruity, sweet, waxy, soapy, cheese, green, herb, coconut-like	0.075	-	0.046	MS/RI	
S - c o n t a i n i n g compounds									
60	1221	1,3-benzothiazole	000095-16-9	burnt, sulfuraceous, vegetative, cooked, beefy and coffee-like	0.270	0.392	0.410	MS/RI	

- 1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.
- 2) Reference: "1-flavor-base 2010" software.
- 3) Relative peak area is each volatile components peak area / 2-ethenylpyrazine peak area ratio
- 4) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference:: "<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>" website
- 5) not detected

SPME 추출법을 이용하여 분석한 효모크림의 휘발성 향미 성분을 분류하면 acid류 1개, alcohol류 8개, aldehyde류 3개, benzene류 7개, ester류32개, furan류 1개, hydrocarbon류 3개, ketone류 4개, sulfur 함유향미성분 1개로 총 60개의 성분이 동정 되었다.

Acid류에서는 2-methylpropanoic acid 1개가 동정 되었다. acidic, cheese, rancid, sour, butter-like 한 향미 특성을 갖는 이 향미성분은 쌀 발효물 사용 효모크림에서는 검출되지 않았고, 당밀을 사용한 두 효모크림에서 공통적으로 동정 되었다.

Alcohol류에서는 ethanol, propan-1-ol 등 8개의 성분이 동정되었다. 그 중 매운 냄새를 띠며 낮은 역치값을 가지는 propan-1-ol은 모든 시료에서 검출되었고, green, apple with an alcoholic nuance 향미 특성을 가지는 3-methylpentan-1-ol 은 쌀발효물 효모크림에서만, sweet, floral, fresh 한 향미특성을 가지는 2-phenylethanol 은 두 가지 당밀사용 효모크림에서만 검출되었다. 이 성분은 효모를 함유한 액중발효를 이용하여 제조한 빵에 중요한 향미특성을 부여한다 (Gassenmeier and Schieberle, 1995). 효모를 이용하여 L-phenylalanine으로부터 transamination, decarboxylation, dehydrogenation을 거쳐 2-phenylethanol을 합성하는 경로를 Fig. 36에 나타내었다.

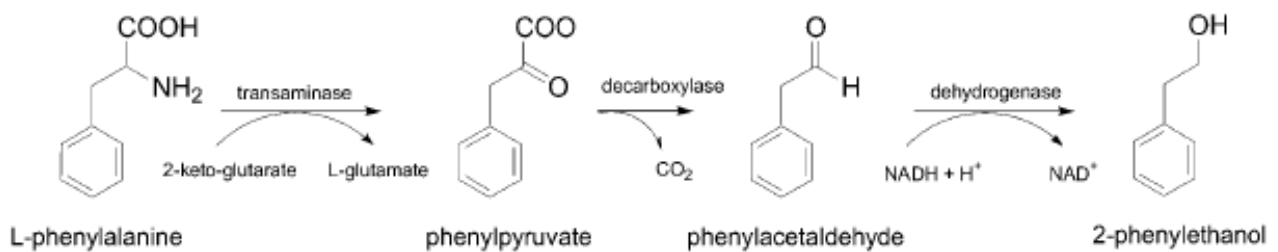
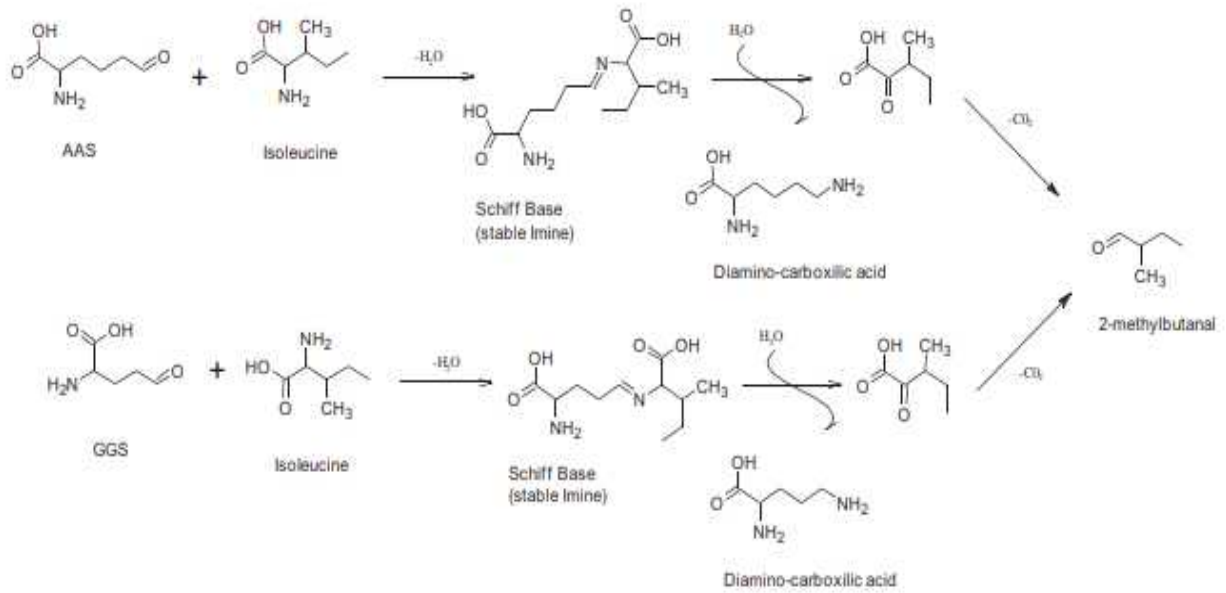


Fig. 36. Ehrlich pathway for 2-phenylethanol formation (M. Etschmann et al., 2002).

Aldehyde류에서는 2-methylpropanal, 3-methylbutanal, 2-methylbutanal 가 검출되었다. 이 중 strong, cocoa-like, malty, fermented 한 향미 특성을 가지는 2-methylbutanal이 세가지 시료에서 공통적으로 검출되었다. 2-methylbutanal과 3-methylbutanal은 isoleucine과 leucine이 Maillard 반응에서 Strecker 반응산물로 생성된다 (Fig. 37, Mario Estévez et al., 2011).

(A)



(B)

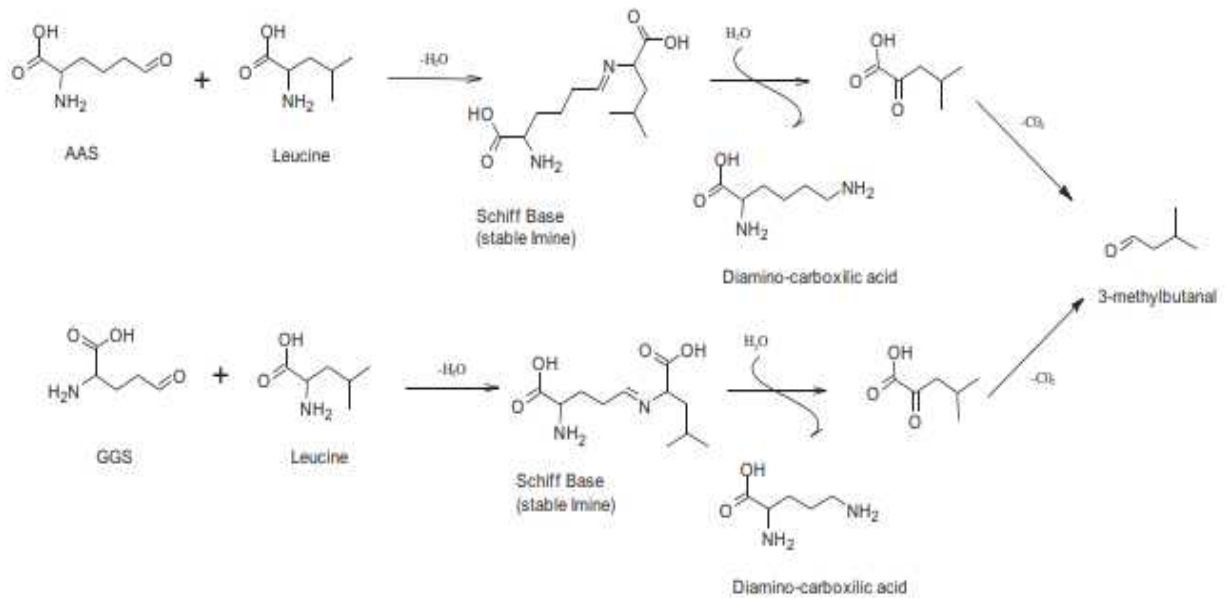


Fig 37. Strecker reaction in leucine (A) and isoleucin (B) (Mario Estévez et al., 2011).

Benzene & derivatives류로는 toluene, ethylbenzene, xylene, 1-ethyl-2-methyl benzene, 1,2,4-trimethylbenzene 등의 성분이 검출되었고, 세 가지 시료에서 7가지 향미성분이 모두 검출되었다.

Ester류는 세 가지 시료에서 모두 정량적으로 가장 많은 향미성분이 동정되었다. 그 중 ethereal, sharp, wine-brandy, grape and rum-like의 향미특성을 가지는 ethyl acetate가 가장 많은 양으로 검출되었고, 다음으로 sweet, banana, fruity with a ripe estry nuance의 향미특성을 가지는 3-Methylbutyl acetate, strong, fruity, pineapple, banana with strawberry 한 향미특성을 가지는 Ethyl hexanoate 가 높은 함량으로 검출되었다. 3-methylbutyl acetate는 당밀

사용 효모크림에서 쌀 발효물 사용 효모크림 보다 두 배 이상 많은 양으로 검출되었다. ester류는 주로 sweet, fruity, floral 한 향을 가지며, 이러한 esters는 발효하는 동안 acetyl-CoA와 alcohol을 이용하여 alcohol acetyltransferase에 의해 미생물이 합성하거나 (Feng Chen, 2003), 화학적 혹은 효소적 반응에 의해 발생하는 alcohols와 지방산의 esterification을 통해 형성된다 (Ansorena 2001, Shahidi 1986, Edwards 1991, Engels 1997). 당밀 사용 효모크림에서는 총 27개의 ester류 향미성분이 동정되었고, 이 중 pentyl acetate, pentyl propanoate, hexyl acetate, 2-phenylethyl acetate, ethyl decanoate 는 세 시료 가운데 당밀사용 효모크림에서만 검출되었다.

Furan류는 당밀 사용 효모크림에서만 2-methylfuran이 검출되었다. 식품 중 furan은 원재료보다 가열처리 중 생성되는 것으로 알려져 있다 (A. Becalski, 2010).

Hydrocarbone류로는 3-methylpentane, hexane, cyclohexane 이 검출되었다. 이 중 gasoline-like의 향미특성을 가지는 3-methylpentane은 당밀사용 효모크림 1차 세척액에서만 동정되었다.

Ketone류는 3-hydroxy butan-2-one, heptan-2-one, 4-methyl-4-vinyl γ -butyrolactone, nonan-2-one 이 검출되었다. Ketone류는 주로 lipid oxidation과 free fatty acids의 β -oxidation에 의해 생성되는데 (Feng Chen, 2003), 이 중 buttery, bland, woody, yogurt 향미특성을 가지는 3-hydroxy butan-2-one은 당밀을 사용한 효모크림 두 종에서만 동정되었고, fruity, blue-cheese, cinnamon의 향미 특성을 가지는 heptan-2-one은 당밀사용 효모크림에서만 동정되었다. fruity, minty 한 특성을 가지는 4-methyl-4-vinyl γ -butyrolactone은 모든 시료에서 공통적으로 검출되었다. sulfur 함유 향미성분에서는 burnt, sulfuraceous, vegetative한 향미특성을 가지는 1,3-benzothiazole이 검출되었고, 모든 시료에서 분석되었다.

총 60개의 향미성분 중 당밀 사용 효모크림에서는 51종이, 당밀사용 1차 세척 효모크림에서는 45종, 쌀 발효물 사용 효모크림에서는 41종이 검출되었다. 쌀 발효물에서 보다 당밀사용 효모크림에서 정성적으로 더 많은 향미성분이 검출되었고, 검출양도 더 높게 정량되었다.

4. 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 발효 대사체의 차이 및 변화양상 확인 가. 대과 추출물의 저장기간에 따른 휘발성 향미성분 분석 및 항산화제 효율성 비교

① 실험 재료 및 실험 조건

㉠ 대과 추출물 제조

본 실험에서 대과 추출물의 저장기간에 따른 휘발성 성분 분석을 위하여, 샘플에서 직접 제조된 역삼투압 대과 추출물을 사용하였다. 대과는 2018년 신안지역에서 생산되어 오송 농협에서 구매되었으며, 추출 방법에 대한 정보는 다음과 같다.

● 대과 착즙액의 제조

대과 착즙액의 제조는 분쇄된 대과를 여과포로 압착 여과 후, 규조토를 통하여 2차 여과하였다.

● 대과 착즙액의 한외여과

2차 여과로 얻어진 대과 착즙액을 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 18. 한외여과 막특성과 공정조건

material	Polyethersulfone (PES)
Temperature (°C)	25
pH	6.0

● 대과 착즙액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 batch system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 5birx에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 19. 역삼투압막의 특성 및 공정조건

Material	Polyamide
Temperature (°C)	25
pH	6.0

㉡ 시료

Table 20. 분석 시료 정보

product name	information
control	역삼투압 대과추출물
rutin	역삼투압 대과추출물 + 효소처리 루틴
vitamin	역삼투압 대과추출물 + Ascorbic acid

항산화제의 효율성을 비교하기 위하여 대과 추출물에 각기 다른 항산화제를 0.05g/100g (w/w)의 양으로 첨가해 분석하였다. 분석된 시료에 대한 정보는 다음과 같다.

㉔ 실험 조건

실온에서의 저장환경을 위해 temperature & humid. chamber (Han Baek Scientific Co., Bucheon-si, Korea)에서 25°C로 유지하여 시료를 저장하였다. 빛에 의한 시료의 변형을 막기 위해 50mL의 amber laboratory bottle (Simax, New York, USA)에 시료 20mL를 담은 후, PBT screw cap with PTFE coated silicon gasket으로 밀봉하여 외부 공기를 차단하였다.

㉕ 대파추출물 내 휘발성 유기화합물의 Solvent Extraction (SE)를 이용한 추출 방법 및 GC/MS 분석 방법

㉕ Solvent extraction (SE) 법을 이용한 대파 추출물의 분석

이 실험에 사용된 solvent extraction 법은 유기 용매를 이용하여 시료의 유기물질을 추출하는 방법이다. Solvent extraction법은 direct injection 법에 비해 당이나 단백질 등 여러 수용성 물질에서 유기 물질을 분리하여 분석하는 방법으로 다양한 상 (phase)를 가진 물질의 분석에 용이하다 (Perpète et al., 1999; Ortega et al., 2001). 반면에 solvent extraction 법은 시료 중의 유기 물질을 추출하는데 시간이 걸리며, 유기 용매에 따라 추출되는 유기 물질이 다를 수 있고 지방 및 지용성 색소등으로 인해 컬럼의 오염 문제가 생길 수 있어 충분한 예비실험이 필요하다 (Woo et al., 2005).

시료를 부유물과 균질화를 하여 10 mL, 추출 용매 dicloromethane (J.T.Baker) 20 mL 와 내부표준 물질로 사용한 100ppm (mg/L) ethyl phenylacetate (Sigma-Aldrich) 0.15 mL를 50 mL 의 laboratory bottle (Simax)에 넣은 후, PBT screw cap with PTFE coated silicon gasket으로 밀봉하였다. 200rpm 으로 60분간 shaking incubator (LK Lab Korea, Sungnam-si, Korea) 에 넣어 shacking 한 뒤, funnel 에서 전체 용매를 separation 시켰다. 분리된 용매층에서 추출 용매층을 분별하였다. 분별한 유기용매 층을 3차 증류수 20mL 로 1번 washing 하여 다시 분별한 뒤, 25 mL 의 glass falcon tube 에 20 mL씩 넣은 후, 부유물 층과의 정확한 분리를 위해 원심분리기에서 4°C, 3000rpm 에서 15분 동안 처리하였다. 그 뒤, 다시 분리한 유기 용매 층을, 무수 sodium sulfate (Sigma-Aldrich) 로 걸러 내부 수분 물질을 제거하였다. 걸러진 추출물을 N₂ gas 를 이용하여 0.1 mL 로 농축한 후, GC-MS 로 분석을 하였다. 모든 분석은 3번 반복 하였다.

㉕ GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

SE를 사용하여 추출한 유사 타사 제품의 향미성분은 HP 7980A gas chromatograph (Agilent Technologies)에 연결된 5975C mass selective detector (Agilent Technologies)와 CTC-PAL autosampler (Agilent Technologies) 가 장착된 GC-MS 시스템을 사용하였다. column은 DB-5 (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25µm film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C 에서 3분간 유지시키고 240°C까지 분당 2°C씩 올린 후 260°C까지 분당 10°C씩 올렸다. Injector와 detector transfer line의 온도는 각각 270°C와 280°C, Mass scan range는 35-350 a.m.u.이였으며 scan rate는 4.5 scan/s, scan mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 injection volume은 1µL를 주입하여 20:1 mode로 분석하였다.

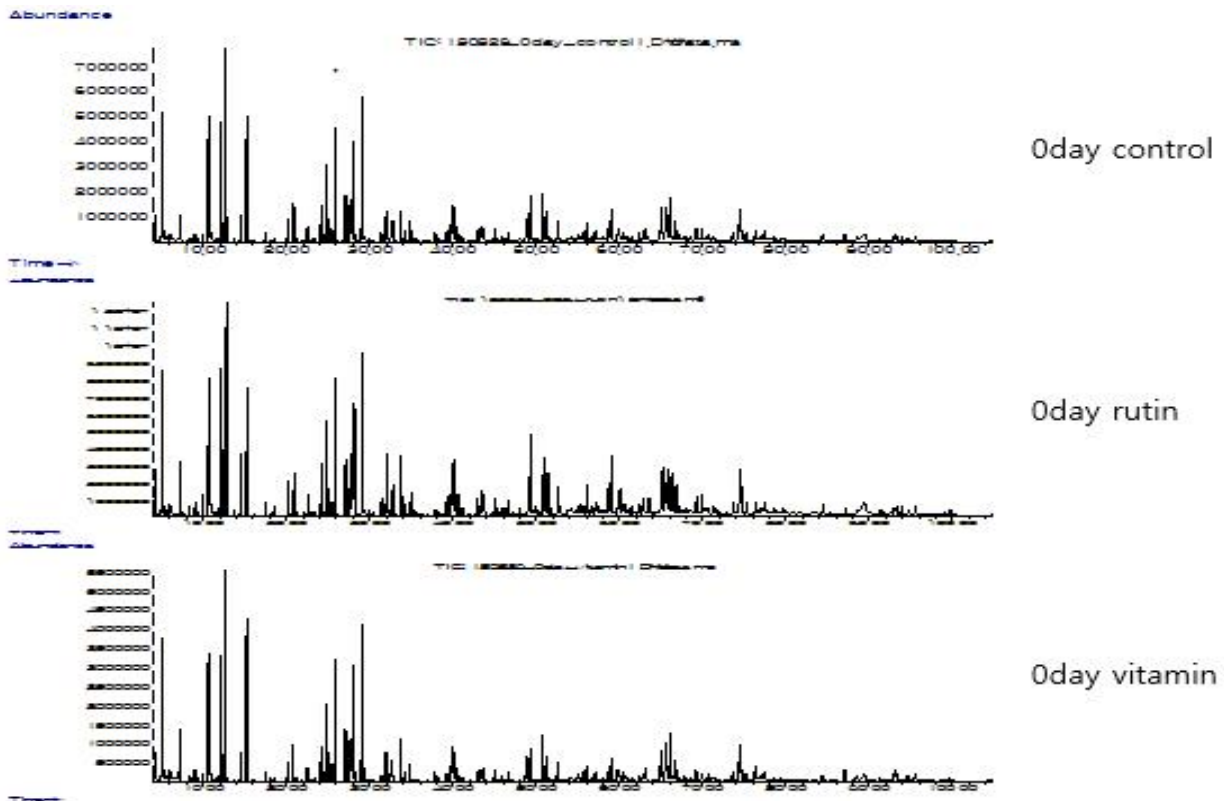
㉔ 대과 추출물의 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법

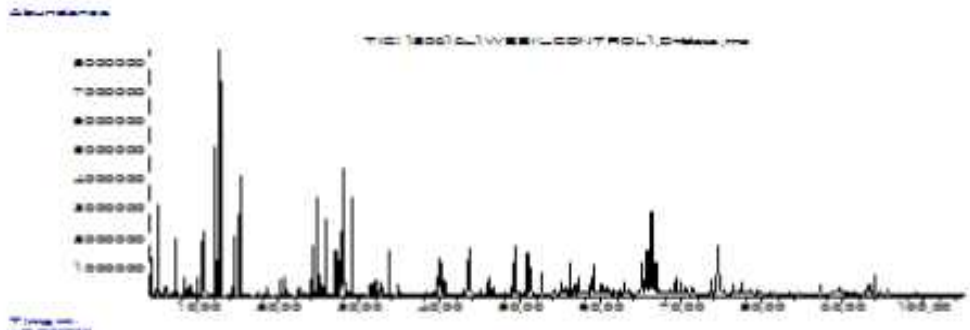
대과 추출물의 휘발성 성분들의 동정은 MSD ChemStation (Agilent Technologies)을 이용해 이루어졌다. 휘발성 향미성분의 동정은 mass spectral database (W9N08.L) 및 manual interpretation에 의해 이루어졌으며 분석 조건으로 RTE Integrator Parameters는 data filtering은 5-point, start threshold는 0.001, stop threshold는 0으로 하였다. 각 peak의 area는 GC-MS total ion chromatogram상에서 얻은 peak area을 내부표준물질의 peak area로 나눈 relative peak area 값을 사용하였다.

② 대과추출물 휘발성 유기화합물 (VOC)의 동정 및 정량 분석

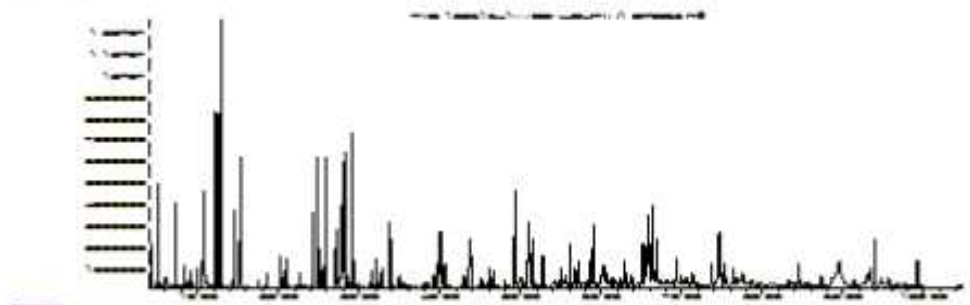
㉕ 휘발성 성분의 정성 및 정량

SE법을 이용하여 추출한 대과추출물의 휘발성 향미성분은 Table 20와 같으며 GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms는 Fig 38와 같다.

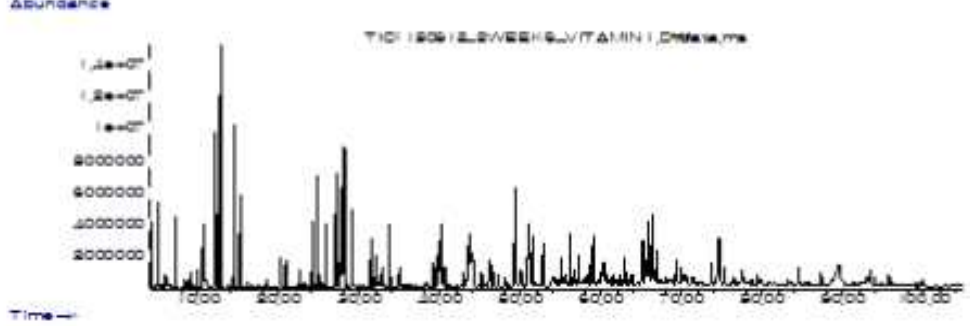




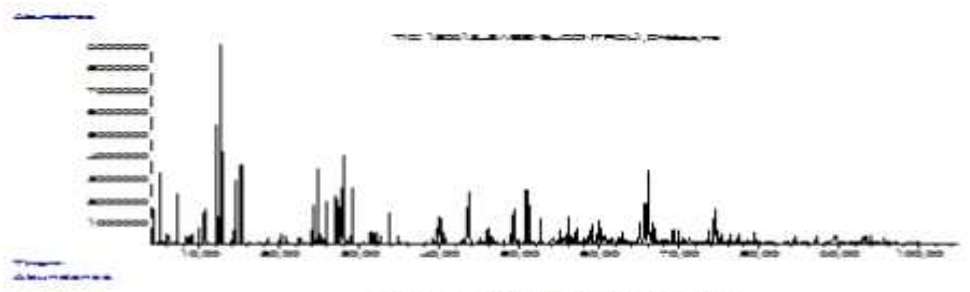
1week control



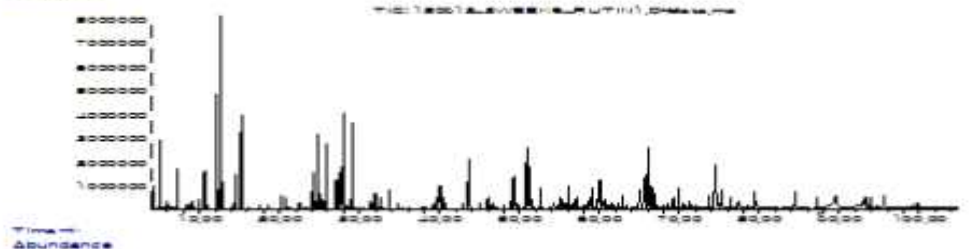
1week rutin



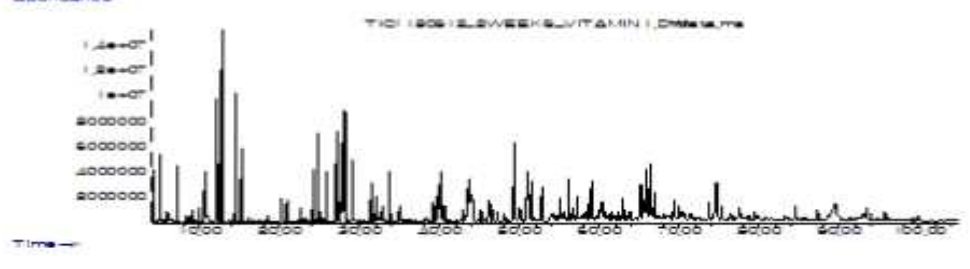
1week vitamin



2weeks control



2weeks rutin



2weeks vitamin

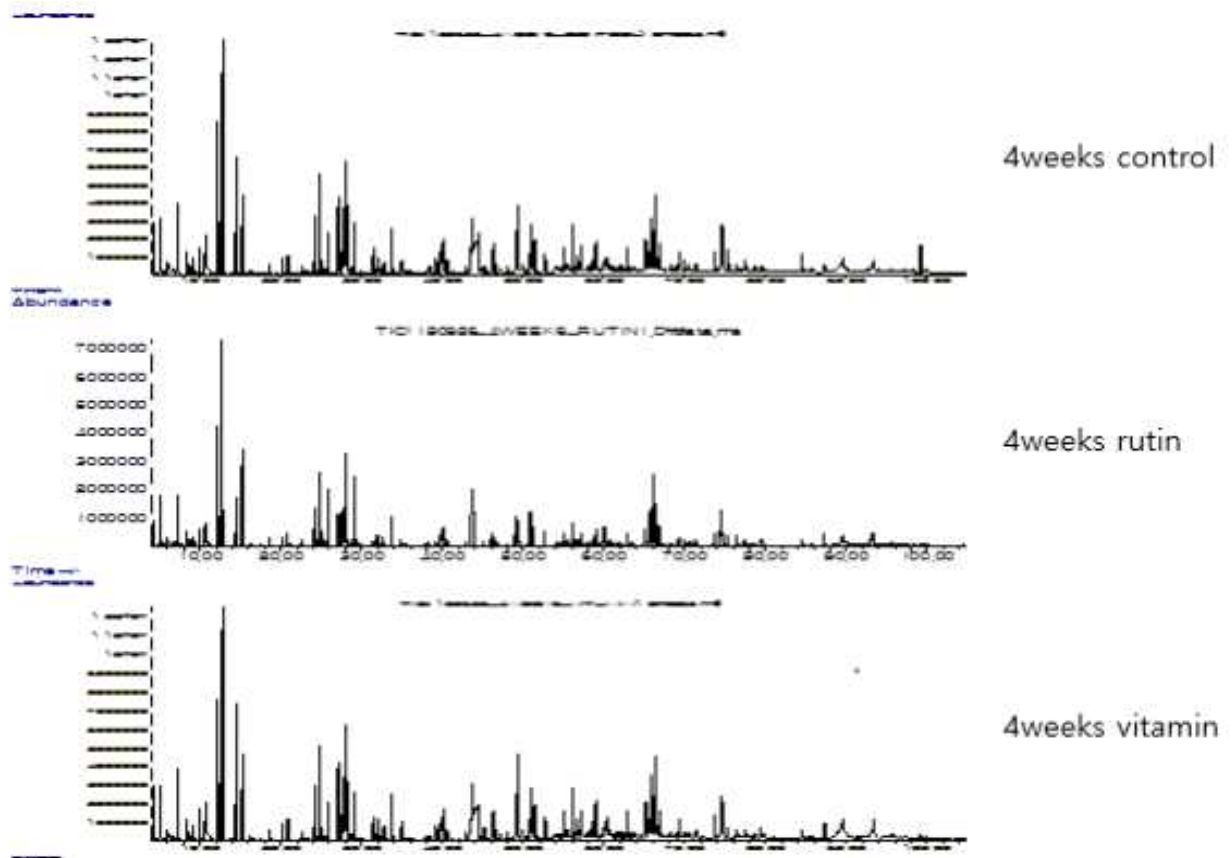


Fig 38. 저장기간 별 대파추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 21. Volatile compounds identified in spring onion samples using GC-MS

No.	RI ¹⁾	Possible volatile compounds	cas #	relative peak area (%) ²⁾						ID ³⁾
				ODAY		1WEEK		2WEEK		
				CONTROL	RUTIN	CONTROL	RUTIN	CONTROL	RUTIN	
sulfur-containing compounds										
thiols										
1	<800	2-methylbut-3-ene-2-thiol	999012-40-5	0.098±0.006	0.08±0.003	- ⁴⁾	-	-	-	MS
2	854	propane-1,3-dithiol	000109-80-8	0.113±0.008	0.067±0.039	0.206±0.051	0.187±0.053	0.206±0.012	0.362±0.232	MS
3	1122	2-(1-propenylthio)-1-propene-1-thiol	054677-58-6	0.494±0.064	0.395±0.122	0.278±0.009	0.359±0.012	0.194±0.009	0.496±0.208	MS
4	1580	prop-2-ene-1-thiol	000870-23-5	0.08±0.024	-	-	-	-	-	MS
sulfides										
5	888	dipropyl sulfide	000111-47-7	0.037±0.004	0.031±0.004	0.037±0.008	0.026±0.001	0.021±0.006	0.033±0.006	MS
6	897	propyl-(E)-1-propenyl sulfide	037981-34-3	0.055±0.007	0.044±0.007	0.025±0.003	0.03±0.003	0.006±0.01	0.032±0.01	MS
7	906	propyl-(Z)-1-propenyl sulfide	037981-35-4	0.261±0.071	0.156±0.008	0.128±0.036	0.121±0.04	0.056±0.014	0.181±0.102	MS
8	920	allyl sulfide	000592-88-1	0.066±0.009	0.055±0.002	0.024±0.002	0.028±0.002	0.021±0.001	0.03±0.013	MS
9	1268	furfuryl methyl sulfide	001438-91-1	0.124±0.009	0.087±0.028	0.047±0.007	0.088±0.034	-	0.12±0.098	MS
10	1407	allyl sulfide	000592-88-1	0.101±0.015	0.082±0.01	0.038±0.014	0.061±0.048	0.051±0.009	0.031±0.03	MS
11	1426	allyl isopropyl sulfide	050996-72-0	0.266±0.037	0.203±0.008	0.631±0.012	0.476±0.01	-	0.881±0.444	MS
12	1604	allyl-2,3-epoxypropyl sulfide	999035-90-4	0.132±0.033	0.127±0.048	0.179±0.013	0.226±0.063	0.139±0.065	0.234±0.09	MS
13	1661	(E)-1-propenyl propyl sulfide	999022-64-4	-	-	-	-	0.296±0.025	-	MS
disulfides										
14	<800	methyl disulfide	000624-92-0	0.422±0.066	0.373±0.072	0.464±0.064	0.427±0.026	0.517±0.101	0.503±0.17	MS
15	910	methyl allyl disulfide	002179-58-0	0.059±0.012	0.058±0.047	0.061±0.058	0.044±0.023	0.026±0.002	0.046±0.016	MS
16	925	methyl(Z)-1-propenyl disulfide	005905-47-5	3±0.303	2.424±0.298	3.168±0.075	2.935±0.139	3.134±0.361	4.67±2.117	MS
17	934	methyl(E)-1-propenyl disulfide	005905-47-5	5.258±0.668	4.082±0.242	5.732±0.18	5.209±0.295	5.702±0.608	8.751±4.225	MS
18	1039	<i>tert</i> -butyl methyl disulfide	035166-82-6	0.203±0.335	-	-	-	-	-	MS
19	1104	propyl(E)-1-propenyl disulfide	999062-19-7	1.095±0.135	0.864±0.034	1.144±0.048	1.117±0.036	1.113±0.126	1.774±0.797	MS

20	1112	propyl(Z)-1-propenyl disulfide	999062-19-6	2.201±0.247	1.723±0.134	2.23±0.091	2.179±0.062	2.114±0.23	3.533±1.67	MS
21	1480	1-methyl-2-(3,5-dimethylthien-4-yl)disulfide	999152-59-1	1.401±0.284	1.237±0.407	1.11±0.138	1.361±0.365	1.073±0.104	1.437±0.397	MS
22	1587	1-propyl-2-(4-thiohept-2-en-5-yl)disulfide	999238-69-5	0.327±0.127	0.195±0.113	0.142±0.026	0.2±0.002	0.258±0.057	0.277±0.109	MS
23	1640	1-Propenyl(2,3-dimethylthien-5-yl)disulfide	999221-77-9	0.329±0.078	0.328±0.113	0.121±0.017	0.325±0.114	0.242±0.025	0.257±0.083	MS
24	1648	1-propenyl(2,4-dimethylthien-5-yl)disulfide	999221-77-8	0.904±0.179	0.848±0.319	0.369±0.036	0.874±0.215	0.454±0.054	0.851±0.266	MS
trisulfides										
25	962	dimethyl trisulfide	003658-80-8	0.777±0.1	0.743±0.212	1.155±0.169	1.05±0.035	1.425±0.308	1.291±0.37	MS
26	1145	methyl propyl trisulfide	999073-33-5	2.111±0.192	1.779±0.96	1.576±0.127	1.722±0.192	1.462±0.284	2.033±0.633	MS
27	1321	dipropyl trisulfide	006028-61-1	-	0.29±0.016	0.201±0.02	0.152±0.111	0.218±0.035	0.318±0.113	MS
28	1325	(E)-propenyl propyl trisulfide	999128-44-0	0.337±0.059	0.253±0.064	0.091±0.019	0.139±0.068	0.083±0.018	0.231±0.077	MS
29	1334	(Z)-propenyl propyl trisulfide	999128-44-1	0.995±0.119	0.755±0.114	0.675±0.044	0.741±0.03	0.642±0.108	1.059±0.306	MS
30	1446	dimethyl trisulfide	003658-80-8	0.033±0.02	0.042±0.004	0.035±0.002	0.042±0.002	0.061±0.006	0.095±0.047	MS
31	1868	diallyl trisulfide	002050-87-5	0.196±0.029	0.176±0.039	0.16±0.018	0.185±0.013	0.148±0.032	0.24±0.134	MS
tetrasulfides										
32	1206	dimethyltetrasulfide	005756-24-1	0.331±0.047	0.3±0.057	0.307±0.023	0.33±0.022	0.364±0.105	0.436±0.098	MS
sulfoxides										
33	<800	thiopropal sulfoxide	999006-65-8	2.534±0.298	1.928±0.174	1.386±0.07	1.26±0.145	1.226±0.19	2.082±0.981	MS
34	908	trimethylene sulfoxide	013153-11-2	0.087±0.032	0.127±0.062	0.099±0.016	0.1±0.083	0.11±0.055	0.292±0.421	MS
35	1019	butyl methyl sulfoxide	002976-98-9	0.071±0.016	0.111±0.019	-	-	-	-	MS
36	1020	methyl propyl sulfoxide	014094-08-7	0.084±0.079	-	0.035±0.032	0.042±0.039	-	-	MS
37	1189	dipropyl sulfoxide	004253-91-2	0.039±0.019	-	-	0.026±0.004	-	-	MS
38	1588	methyl 2-hydroxyethyl sulfoxide	021281-74-3	-	-	0.08±0.022	0.099±0.034	-	0.258±0.21	MS
39	1680	S-isobutyl-2-propenyl-sulfoxide	124469-87-0	0.191±0.025	0.104±0.066	0.123±0.003	-	0.199±0.031	0.259±0.224	MS
sulfone										
40	1033	tetramethylene sulfone	000126-33-0	0.016±0.003	0.016±0	-	0.014±0.013	-	-	MS
41	1272	diallyl sulfone	999059-05-6	-	-	-	-	0.097±0.025	-	MS
heterocyclic compounds										

42	<800	2-methylthiophene	000554-14-3	0.147±0.027	0.111±0.019	0.061±0.013	0.058±0.008	0.044±0.007	0.071±0.038	MS
43	863	dithiolane	000557-22-2	0.189±0.014	0.127±0.074	0.184±0.06	0.157±0.058	0.1±0.024	0.273±0.22	MS
44	872	2,4-dimethylthiophene	000638-00-6	0.113±0.016	0.089±0.022	0.106±0.024	0.107±0.012	0.059±0.006	0.175±0.138	MS
45	901	3,4-dimethylthiophene	000632-15-5	3.85±0.535	2.95±0.203	1.958±0.142	1.968±0.085	1.325±0.135	2.392±1.166	MS
46	950	1,3-dithiane	000505-23-7	0.086±0.02	0.082±0.031	0.046±0.013	0.107±0.018	0.032±0.008	0.063±0.018	MS
47	1047	(E)-2-ethyl-3-methylthiophane	061568-37-4	0.573±0.481	0.677±0.165	-	0.567±0.127	0.315±0.043	0.711±0.266	MS
48	1047	2,5-dimethylthiophene	000638-02-8	-	-	0.416±0.033	-	-	-	MS
49	1080	(Z)-2-ethyl-3-methylthiophane	061568-36-3	0.421±0.069	0.361±0.021	-	0.263±0.033	-	0.394±0.214	MS
50	1089	1,2,4-trithiolane	000289-16-7	0.095±0.018	0.072±0.014	0.065±0.017	0.06±0.007	0.078±0.018	0.106±0.047	MS
51	1173	2-mercapto-3,4-dimethyl-2,3-dihydrothiophene	999059-31-8	5.019±0.762	4.05±0.282	2.543±0.173	3.15±0.127	1.755±0.173	4.566±2.263	MS
52	1216	1,2,5-trithiepane	006576-93-8	0.435±0.066	0.576±0.437	1.839±1.32	0.235±0.029	0.284±0.083	0.438±0.155	MS
53	1243	3,5-dimethyl-2-methylsulfanylthiophene	069442-33-7	0.036±0.021	0.045±0.039	0.033±0.008	0.032±0.028	-	-	MS
54	1264	2-methyl-4-methylsulfanyl-2,3-dihydrothiophene	999059-30-4	0.089±0.042	0.1±0.028	0.042±0.023	0.09±0.033	-	0.097±0.083	MS
55	1278	2-propenyl-1,3-dithiane	064899-10-1	0.049±0.007	0.036±0.005	-	0.017±0.015	-	-	MS
56	1308	5-methyltetrathiane	116664-30-3	0.129±0.013	0.097±0.016	-	-	-	0.15±0.063	MS
57	1330	3,5-diethyl-1,2,4-trithiolane	054644-28-9	0.785±0.083	0.604±0.059	0.758±0.087	0.802±0.012	0.72±0.171	0.992±0.263	MS
58	1333	2-methylthiophene	013129-38-9	1.272±0.127	0.983±0.053	0.959±0.055	0.971±0.014	0.738±0.111	1.27±0.405	MS
59	1505	[2-13C]-1,3-dithiane	999025-20-7	2.169±0.259	1.847±0.605	1.622±0.262	2.427±0.271	2.392±0.487	3.674±2.253	MS
60	1771	thiophene-3-carbaldehyde	000498-62-4	0.896±0.123	1.214±0.177	1.439±0.105	-	1.453±0.135	1.984±1.114	MS
61	1983	2-thiophenecarboxaldehyde	000098-03-3	0.47±0.05	0.387±0.126	0.36±0.074	0.372±0.04	0.345±0.026	0.736±0.476	MS
other sulfur-containing compounds										
62	917	2-methyl-3,4-dihydro-2H-thiopyran	078050-24-5	0.056±0.01	0.045±0.004	0.034±0.006	0.03±0.006	0.028±0.006	0.036±0.021	MS
63	1057	methyl methanethiolsulfonate	002949-92-0	1.706±0.291	1.45±0.21	0.707±0.045	0.763±0.073	0.374±0.073	0.849±0.304	MS
64	1093	5-methylperhydro-1,3,4-thiadiazine	999023-68-1	0.097±0.01	0.08±0.02	0.032±0.007	-	0.029±0.009	0.071±0.064	MS
65	1116	2-(methoxymethyl)-3-propylthiirane	999059-58-2	0.787±0.096	0.643±0.161	0.464±0.026	0.565±0.024	0.313±0.03	0.769±0.34	MS
66	1155	1-propenyl ester methanesulfinothioic acid	999042-72-7	0.883±0.067	0.756±0.181	0.698±0.009	0.613±0.048	0.42±0.053	0.722±0.244	MS
67	1159	1-methylsulfanylsulfinylpropane	999046-08-9	3.858±0.314	3.041±0.404	3.497±0.017	3.51±0.033	3.213±0.431	5.342±2.252	MS

68	1162	(E)-1-methylsulfanylprop-1-ene	042848-06-6	0.232±0.018	0.187±0.073	0.187±0.01	0.174±0.015	0.114±0.008	0.2±0.083	MS
69	1184	2-(bromomethyl)thiirane	031207-14-4	0.128±0.04	-	-	-	-	-	MS
70	1215	propylmethanethiosulfonate	999073-32-0	1.124±0.161	0.673±0.348	0.447±0.058	0.552±0.084	0.369±0.027	0.756±0.261	MS
71	1218	3,4-dimethyl-5H-thiophen-2-one	999033-10-7	0.164±0.023	0.113±0.009	0.093±0.008	0.081±0.019	0.108±0.02	0.15±0.059	MS
72	1224	1-propenylmethanethiosulfonate	999068-74-7	0.883±0.114	0.685±0.066	0.366±0.038	0.391±0.081	0.279±0.016	0.543±0.203	MS
73	1226	methylpropanethiosulfonate	999073-32-1	0.597±0.084	0.455±0.052	0.263±0.025	0.257±0.027	0.195±0.022	0.317±0.106	MS
74	1247	2-methyl-3-(methyldisulfanyl)furan	065505-17-1	0.368±0.044	0.258±0.048	0.035±0.003	0.053±0.002	-	-	MS
75	1249	1,2-bis(ethylsulfanyl)propane	054410-62-7	0.012±0.01	-	0.021±0.026	-	-	-	MS
76	1257	methyl-1-propenethiosulfonate	999068-74-6	0.716±0.158	0.516±0.044	0.315±0.025	0.211±0.033	0.3±0.024	0.329±0.121	MS
77	1301	5-propyl-1,2,3,4-thiatriazole	999034-94-4	-	0.248±0.104	-	0.147±0.038	-	0.284±0.216	MS
78	1342	methylthiofuran	097756-97-3	0.501±0.074	0.439±0.031	0.348±0.032	0.389±0.037	0.319±0.072	0.571±0.18	MS
79	1350	4-thiabicyclo[3.3.1]nonane	999054-04-2	0.309±0.052	0.226±0.033	0.078±0.01	-	-	-	MS
80	1385	1-propenyl propanethiosulfonate	999128-35-2	0.354±0.027	0.108±0.187	-	-	-	-	MS
81	1386	2-methylthiirane	001072-43-1	-	-	-	0.226±0.202	-	-	MS
82	1432	5-methylthiophen-3-amine	999018-91-7	0.075±0.015	0.081±0.031	0.043±0.005	-	-	0.119±0.079	MS
83	1471	5,5-dimethyl-1,3-dithian-2-one	125370-44-7	0.2±0.103	-	-	-	-	-	MS
84	1500	2-ethenyl-4H-1,3-dithiine	080028-57-5	0.033±0.022	-	0.077±0.032	-	-	-	MS
85	1529	2-methyl-3,4-dihydro-2H-thiopyran	078050-24-5	0.098±0.008	-	0.034±0.008	-	-	-	MS
86	1577	4-methyl-5-sulfanylidene-1,2,4-triazolidin-3-one	022244-61-7	-	0.215±0.07	-	0.339±0.02	-	0.67±0.355	MS
87	1594	5-propyl-1,2,3,4-thiatriazole	999034-94-4	0.585±0.111	0.47±0.112	0.789±0.055	0.727±0.048	0.841±0.123	1.128±0.432	MS
88	1601	homothiophen	999017-72-8	0.063±0.024	0.046±0.006	0.126±0.038	0.117±0.014	0.272±0.025	0.309±0.17	MS
89	1608	4,5-dimethyl-1,2-thiazole	027330-47-8	0.04±0.024	0.116±0.058	0.088±0.01	0.155±0.086	0.063±0.015	0.109±0.022	MS
90	1643	2,3-dihydronaphtho[2,3-b][1,4]dithiin	999228-05-9	0.681±0.108	0.497±0.129	0.21±0.032	0.466±0.162	0.19±0.026	0.484±0.156	MS
91	1671	1,3-benzothiazol-2-amine	000136-95-8	0.352±0.051	0.211±0.068	0.054±0.094	0.043±0.04	0.961±0.091	0.171±0.083	MS
92	1677	[2,3,4-triacetyloxy-1-(1,3-dithiolan-2-yl)butyl]acetate	040733-16-2	0.197±0.021	0.162±0.071	0.033±0.016	0.166±0.019	0.156±0.011	0.384±0.203	MS
93	1692	methyl acetamidomethanedithioate	016696-88-1	0.13±0.018	0.105±0.042	0.091±0.01	0.163±0.029	0.152±0.074	0.256±0.095	MS

94	1695	5-methylsulfanyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine	005319-77-7	0.025±0.025	0.024±0.021	0.124±0.022	-	0.096±0.026	0.153±0.104	MS
95	1708	3-methyl-2-sulfanylidene-1,3-thiazolidin-4-one	004807-55-0	0.324±0.044	0.244±0.066	0.085±0.067	0.167±0.097	0.217±0.038	0.285±0.127	MS
96	1746	4,4-dimethyl-1,3-oxazolidine-2-thione	054013-55-7	-	-	0.172±0.085	-	0.071±0.014	0.061±0.031	MS
97	1773	bis-2,3-ephithiopropyl ether	999088-87-6	0.334±0.062	0.839±0.314	-	1.432±0.056	-	0.367±0.635	MS
98	1785	4-methyl-5-sulfanylidene-1,2,4-triazolidin-3-one	022244-61-7	0.121±0.018	0.125±0.023	0.184±0.043	0.173±0.007	-	0.21±0.109	MS
99	1793	5-propyl-1,2,3,4-thiatriazole	999034-94-4	0.262±0.036	0.23±0.03	0.284±0.016	0.279±0.021	0.635±0.087	0.444±0.217	MS
100	1799	4,4-dimethyl-1,3-oxazolidine-2-thione	054013-55-7	0.176±0.028	0.102±0.053	0.055±0.023	0.087±0.003	0.24±0.039	0.154±0.068	MS
101	1878	5-methoxy-1,3-thiazole	014542-14-4	0.152±0.027	0.122±0.017	0.156±0.004	0.187±0.004	0.111±0.012	0.341±0.136	MS
102	1886	3-methyl-2-sulfanylidene-1,3-thiazolidin-4-one	004807-55-0	0.102±0.043	0.103±0.043	0.022±0.02	-	0.179±0.019	-	MS
103	1927	5-methoxy-1,3-thiazole	018277-27-5	0.374±0.018	0.288±0.059	0.032±0.007	0.434±0.014	0.065±0.015	0.756±0.434	MS
104	2188	2-methyl-3-(methyldisulfanyl)furan	065505-17-1	-	-	0.08±0.013	-	0.21±0.185	-	MS
105	<800	S-methyl ethanethioate	001534-08-3	0.102±0.013	0.074±0.005	0.017±0.015	0.045±0.006	0.023±0.002	0.066±0.029	MS
106	<800	(Z)-1-methylsulfanylprop-1-ene	052195-40-1	0.11±0.027	0.081±0.025	0.039±0.009	0.044±0.004	0.025±0.012	0.044±0.015	MS
acids										
107	991	hexanoic acid	000142-62-1	0.025±0.008	0.045±0.032	0.018±0.032	0.059±0.012	-	0.154±0.127	MS
108	1072	methyl ester of 5-hydroxy-hexanoic acid	999059-61-8	0.067±0.031	0.059±0.009	-	-	-	-	MS
109	1076	2-prop-2-enylsulfanylacetic acid	020600-63-9	0.047±0.003	0.042±0.003	-	0.052±0.004	-	0.066±0.018	MS
110	1484	9-oxononanoic acid	002553-17-5	-	-	-	0.097±0.09	0.083±0.037	0.137±0.127	MS
111	1495	(S)-(+)-1,4-dioxo-8-thia-spiro[4.5]decane-6-carboxylic acid	999188-47-6	0.035±0.017	-	-	0.035±0.017	-	-	MS
112	1579	propionic acid	000079-09-4	-	0.161±0.07	-	0.125±0.017	0.132±0.034	0.185±0.097	MS
113	1949	4-thiophen-2-ylbutanoic acid	004653-11-6	0.384±0.067	0.486±0.25	0.555±0.016	0.491±0.032	1.236±0.043	0.709±0.425	MS
114	1960	hexadecanoic acid	000057-10-3	0.304±0.01	0.283±0.074	0.127±0.026	0.456±0.067	0.434±0.068	0.867±0.53	MS
115	2160	octadecanoic acid	000057-11-4	0.251±0.027	0.266±0.118	-	0.391±0.167	-	0.75±0.494	MS
116	2499	2-(2-ethylhexoxycarbonyl)benzoic acid	004376-20-9	0.051±0.005	0.055±0.004	0.427±0.511	2.238±1.841	0.082±0.022	0.173±0.06	MS
117	>2500	erucic acid	000112-86-7	0.082±0.016	0.099±0.018	-	0.044±0.009	0.069±0.019	0.226±0.095	MS
alcohols										

118	<800	butane-2,3-diol	000513-85-9	-	-	0.02±0.009	0.015±0.013	0.013±0.012	-	MS
119	800	hexan-3-ol	000623-37-0	0.131±0.021	0.108±0.021	0.129±0.016	0.122±0.025	0.112±0.014	0.153±0.071	MS
120	866	hexan-1-ol	000111-27-3	0.211±0.04	0.201±0.013	0.206±0.024	0.219±0.015	0.213±0.029	0.29±0.107	MS
121	885	cyclohex-2-en-1-ol	000822-67-3	0.344±0.046	0.379±0.029	0.408±0.01	0.372±0.068	0.391±0.14	0.414±0.154	MS
122	918	2-methyl-but-2-ene-1-ol	004675-87-0	0.123±0.016	0.113±0.005	0.018±0.007	0.019±0.005	0.01±0.002	0.027±0.021	MS
123	1000	2-(2-ethoxyethoxy)ethanol	000111-90-0	0.024±0.004	0.023±0.006	-	0.024±0.007	-	0.05±0.022	MS
124	1024	2-chlorocyclohexan-1-ol	001561-86-0	0.113±0.086	0.167±0.011	0.193±0.001	0.237±0.035	0.15±0.052	0.184±0.053	MS
125	1028	2-ethylhexan-1-ol	000104-76-7	0.016±0.005	-	-	-	-	-	MS
126	1041	1-(2-hydroxypropoxy)propan-2-ol	025265-71-8	-	-	-	0.041±0.022	-	0.049±0.068	MS
127	1092	non-1-en-4-ol	035192-73-5	0.024±0.004	0.034±0.016	0.025±0.008	0.054±0.04	0.035±0.003	0.058±0.018	MS
128	1109	2-phenylethanol	000060-12-8	-	-	0.02±0.006	-	0.038±0.002	0.069±0.031	MS
129	1153	dithiane-4,5-diol	014193-38-5	1.607±0.171	1.254±0.043	1.596±0.027	1.516±0.08	1.677±0.314	2.258±0.83	MS
130	1168	endo-borneol	000507-70-0	0.04±0.008	-	1.216±1.992	0.088±0.015	0.056±0.009	-	MS
131	1184	2-(2-butoxyethoxy)ethanol	000112-34-5	-	-	-	0.078±0.006	0.031±0.006	0.126±0.067	MS
132	1191	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexan-1-ol	010482-56-1	0.093±0.015	0.081±0.007	0.016±0.028	-	0.073±0.018	0.138±0.056	MS
133	1499	methylephedrin	017605-71-9	-	-	-	0.087±0.009	0.045±0.019	0.043±0.075	MS
134	1519	homovanillyl alcohol	002380-78-1	0.207±0.032	0.154±0.019	0.066±0.015	0.056±0.023	0.086±0.007	0.102±0.073	MS
135	1631	2-nonoxyethanol	018913-04-7	0.13±0.024	0.104±0.022	-	-	-	0.24±0.153	MS
136	1812	2-nonoxyethanol	018913-04-7	0.165±0.024	0.17±0.038	0.117±0.031	0.095±0.035	0.065±0.032	0.187±0.131	MS
137	1826	2-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)ethanol	000137-00-8	0.063±0.03	-	0.049±0.001	-	0.096±0.008	0.161±0.086	MS
138	1880	1-ethylcyclohexan-1-ol	001940-18-7	0.066±0.028	0.065±0.061	0.155±0.002	0.148±0.016	0.158±0.01	0.299±0.172	MS
aldehydes										
139	<800	cyclopentene-1-carbaldehyde	999008-19-0	0.033±0.003	0.033±0.004	0.039±0.004	0.043±0.009	0.043±0.014	0.053±0.034	MS
140	802	hexanal	000066-25-1	0.241±0.104	0.174±0.124	0.105±0.024	0.098±0.014	0.139±0.061	0.258±0.107	MS
141	826	(E)-2-methylpent-2-enal	000623-36-9	0.652±0.111	0.615±0.057	0.804±0.093	0.895±0.072	0.854±0.162	0.882±0.395	MS
142	835	(E)-2-ethenylbut-2-enal	020521-42-0	0.029±0.005	0.035±0.02	0.061±0.021	0.053±0.029	0.039±0.007	0.06±0.035	MS
143	957	benzaldehyde	000100-52-7	0.051±0.012	0.052±0.005	0.185±0.023	0.736±0.542	0.342±0.06	0.257±0.093	MS

144	1417	2-fluoro-4,5-dimethoxybenzaldehyde	071924-62-4	0.092±0.017	0.077±0.016	0.041±0.005	0.047±0.016	0.028±0.006	0.03±0.028	MS
145	1556	2,4-dimethyl-5,6-dithia-2,7-nonadienal	999183-70-5	0.08±0.021	0.072±0.025	0.048±0.011	0.059±0.013	-	-	MS
benzene ring containing compounds										
146	<800	toluene	000108-88-3	-	-	0.085±0.007	0.082±0.008	0.035±0.01	0.04±0.015	MS
147	1009	2,3-dihydro-1H-indene	000300-57-2	0.269±0.034	0.234±0.027	0.084±0.026	0.132±0.032	0.03±0.004	0.119±0.054	MS
148	1260	(3E)-6-ethenyl-3,6-dimethylocta-1,3,7-triene	999091-20-6	0.079±0.004	0.073±0.01	0.046±0.008	0.084±0.004	-	0.068±0.039	MS
149	1304	4-ethenyl-2-methoxyphenol	007786-61-0	0.047±0.017	-	-	-	-	-	MS
150	1443	5-(hydroxymethyl)-2-methoxyphenol	004383-06-6	-	0.04±0.003	0.041±0.007	0.068±0.021	-	-	MS
151	1674	2-phenyl-1,3-dioxolane	000822-83-3	-	0.049±0.045	0.055±0.017	0.078±0.009	0.07±0.02	0.23±0.099	MS
152	1724	phloroglucinol	000108-73-6	0.485±0.114	0.582±0.128	0.073±0.045	0.326±0.01	0.015±0.026	0.18±0.148	MS
esters										
153	1288	phenyl 2-methylprop-2-enoate	002177-70-0	0.063±0.012	0.056±0.001	-	-	-	0.065±0.037	MS
154	1288	methyl 3-methyl-2-methylidenebutanoate	003070-67-5	-	-	-	0.04±0.008	0.029±0.008	-	MS
155	1320	methyl 2-[(Z)-2-methoxyethenyl]-4-methylpent-4-enoate	999139-75-2	0.41±0.033	-	-	-	-	-	MS
156	1507	methyl vanillate	003943-74-6	0.471±0.065	0.318±0.072	0.346±0.069	0.313±0.056	0.326±0.045	0.654±0.377	MS
157	1540	methyl-6-nonenoate	020731-21-9	0.053±0.008	0.1±0.173	0.032±0.028	0.545±0.066	-	-	MS
158	1583	diethyl benzene-1,2-dicarboxylate	000084-66-2	0.176±0.049	0.126±0.075	0.032±0.019	0.081±0.055	0.131±0.018	0.463±0.223	MS
159	1717	ethyl 3-(2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolan-2-yl)propanoate	005404-43-3	0.339±0.186	-	0.546±0.034	0.507±0.035	0.298±0.246	0.809±0.419	MS
160	1759	ethyl 1-methyl-2-oxocyclohexane-1-carboxylate	005453-94-1	1.3±0.217	-	0.86±0.115	0.943±0.102	0.69±0.165	1.07±0.536	MS
161	1947	dibutyl benzene-1,2-dicarboxylate	000084-74-2	0.163±0.282	1.543±0.199	1.598±0.066	0.967±0.839	1.059±0.148	3.032±1.742	MS
162	2049	ethyl 2-(1H-indol-3-yl)acetate	000778-82-5	0.083±0.04	0.081±0.02	0.171±0.071	0.23±0.165	0.447±0.061	1.069±0.621	MS
163	2222	ethyl N-naphthalen-2-ylcarbamate	005255-69-6	0.285±0.038	0.26±0.113	0.38±0.077	0.442±0.148	0.077±0.007	0.752±0.573	MS
164	2324	phenylmethyl but-2-enoate	071338-71-1	0.128±0.016	0.096±0.017	0.074±0.005	0.093±0.019	0.863±0.168	0.093±0.041	MS
165	2385	bis(2-ethylhexyl) hexanedioate	000103-23-1	0.228±0.062	0.16±0.048	0.634±0.245	0.951±0.598	0.319±0.014	0.6±0.215	MS
furans										
166	989	2-pentylfuran	003777-69-3	0.037±0.005	0.035±0.016	0.053±0.015	0.059±0.013	0.057±0.025	0.105±0.063	MS

167	1048	2-furan-2-yl-4,5-dihydro-1H-imidazole	999043-21-5	-	-	0.087±0.002	-	0.068±0.013	-	MS
168	1297	5-methyl-4-phenyl-2,3-dihydro-furan	029113-91-5	0.035±0.007	-	-	0.029±0.004	-	-	MS
169	1300	2-benzofuran-1,3-dione	000085-44-9	0.407±0.031	-	0.134±0.029	-	0.086±0.021	-	MS
170	1436	2-hexyl-5-methylfuran-3-one	033922-66-6	0.265±0.031	0.228±0.014	0.22±0.019	0.236±0.007	0.2±0.018	0.143±0.163	MS
171	1664	methyl 7-furan-2-ylheptanoate	098188-02-4	0.454±0.046	0.568±0.279	0.386±0.158	0.099±0.171	-	1.381±0.67	MS
172	1716	2,5-dimethoxy-2,5-dihydrofuran	000332-77-4	0.133±0.118	-	-	-	0.366±0.154	-	MS
nitrogen-containing compounds										
173	1391	N-nitrosomethylpetadeuteroethylamine	999005-78-9	-	0.544±0.095	-	0.116±0.2	-	0.372±0.645	MS
174	1384	2-phenylacetamide	000103-81-1	0.634±0.12	0.619±0.21	0.219±0.379	1.981±1.397	4.012±0.739	3.507±5.124	MS
175	1427	5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine	000108-33-8	-	-	-	-	0.737±0.077	0.508±0.325	MS
176	1431	5-methyl-1,2,4-triazole-3,4-diamine	021532-07-0	-	-	-	0.192±0.069	0.367±0.044	0.311±0.123	MS
177	1781	N-(4-fluorophenyl)cyclopropanecarboxamide	999127-19-5	-	1.38±0.196	3.849±0.224	-	3.998±0.393	-	MS
178	1976	4-(4-dimethylaminophenyl)imino-2,5-dimethylcyclohexa-2,5-dien-1-one	999331-94-2	0.057±0.006	0.043±0.006	-	-	0.238±0.105	-	MS
179	2008	N-difluorophosphanyl-N-methoxymethanamine	999034-86-5	0.336±0.035	0.247±0.032	0.309±0.029	0.303±0.041	0.31±0.04	0.42±0.125	MS
ketones										
180	926	cyclohex-2-en-1-one	000930-68-7	0.423±0.193	0.54±0.032	0.65±0.004	0.638±0.08	0.601±0.151	0.766±0.305	MS
181	1166	3,4-dimethylpyrrole-2,5-dione	017825-86-4	-	-	0.062±0.02	0.062±0.007	0.067±0.012	0.126±0.056	MS
182	1271	2,4-dimethyl-3-hexanone	018641-70-8	0.047±0.01	-	0.04±0.022	-	-	-	MS
183	1475	acetoguaiacon	000498-02-2	0.986±0.142	0.837±0.128	1.008±0.068	1.089±0.069	1.066±0.066	1.78±0.788	MS
184	1535	1,6-dioxacyclododecane-7,12-dione	000777-95-7	-	0.559±0.15	-	0.343±0.031	-	1.443±0.533	MS
185	1760	6a-methyl-3,3a,4,5-tetrahydro-2H-pentalene-1,6-dione	092485-86-4	-	0.904±0.357	-	0.75±0.137	-	0.998±0.383	MS
186	1893	7,9-ditert-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-diene-2,8-dione	082304-66-3	0.061±0.01	0.051±0.006	-	0.051±0.006	-	0.152±0.059	MS
187	2002	(Z)-1-(1,2,2-trimethylcyclopentyl)pent-2-ene-1,4-dione	999202-23-4	0.166±0.017	0.096±0.06	0.101±0.045	-	0.131±0.02	0.212±0.127	MS
terpenes										
188	1308	terpin hydrate	002451-01-6	-	-	0.107±0.037	0.136±0.017	0.075±0.011	-	MS

189	1561	β -ocimene	003779-61-1	0.151±0.08	-	-	-	-	-	MS
190	1562	α -pinene	000080-56-8	-	-	-	-	0.466±0.306	0.431±0.206	MS
miscellaneous										
191	849	7-oxabicyclo[4.1.0]heptane	000286-20-4	0.129±0.008	0.117±0.014	0.314±0.023	0.286±0.024	0.134±0.051	0.11±0.057	MS
192	922	6-fluoro-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane	999020-25-8	0.054±0.011	0.044±0.007	0.019±0.008	0.021±0.002	0.016±0.002	2.205±3.779	MS
193	1317	1-methylpyrrole	000096-54-8	0.055±0.005	0.036±0.016	0.019±0.007	0.016±0.014	0.023±0.009	-	MS
194	1430	1-(ethyl-fluorophosphoryl)oxy-3,5,5-trimethylhexane	999284-70-2	0.061±0.007	0.05±0.013	0.184±0.028	-	-	-	MS
195	1779	5-thiatriacyclo[4.1.0.0(2,4)]heptane	999017-72-3	1.933±0.23	1.38±0.196	-	3.142±0.099	-	5.641±3.136	MS

1) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

2) Mean values of relative peak areas to that of internal standard area (n=3) ± standard deviation..

3) Tentative identification was performed as follows: MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database, IS, mass spectrum and retention index were consistent with those of the literatures, reference:: “ <https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>” website

4) not detected

SE 추출법을 이용하여 분석한 대파 추출물의 휘발성 향미성분을 분류하면 acid류 11개, alcohol류 21개, aldehyde류 7, benzene류 7개, ester류 14개, furan류 7개, ketone류 8개, nitrogen 함유향미성분 11개, sulfur 함유향미성분 106개, terpene류 3개, miscellaneous 5개로 총 195개의 성분이 동정되었다.

황 함유 향미성분은 마늘이나 양파 등의 주요 향미성분으로 알려져 있는데, 주로 마늘 등에 함유된 allicin이 분해되어 생기는 성분이며 (Freeman and Whenham, 1976), methionine, cysteine 등의 sulfur amino acid와 황을 함유한 peptides로부터 형성될 수 있다. sulfur기의 종류에 따라 다시 분류하였는데, thiol류 4개, sulfide류 9개, disulfide류 18개, trisulfide류 7개, tetrasulfide류 1개, sulfoxide류 7개, sulfone류 9개, 그 외의 황 함유 향미성분 44개로 총 117개로 전체 동정된 성분의 50% 이상을 차지하였다.

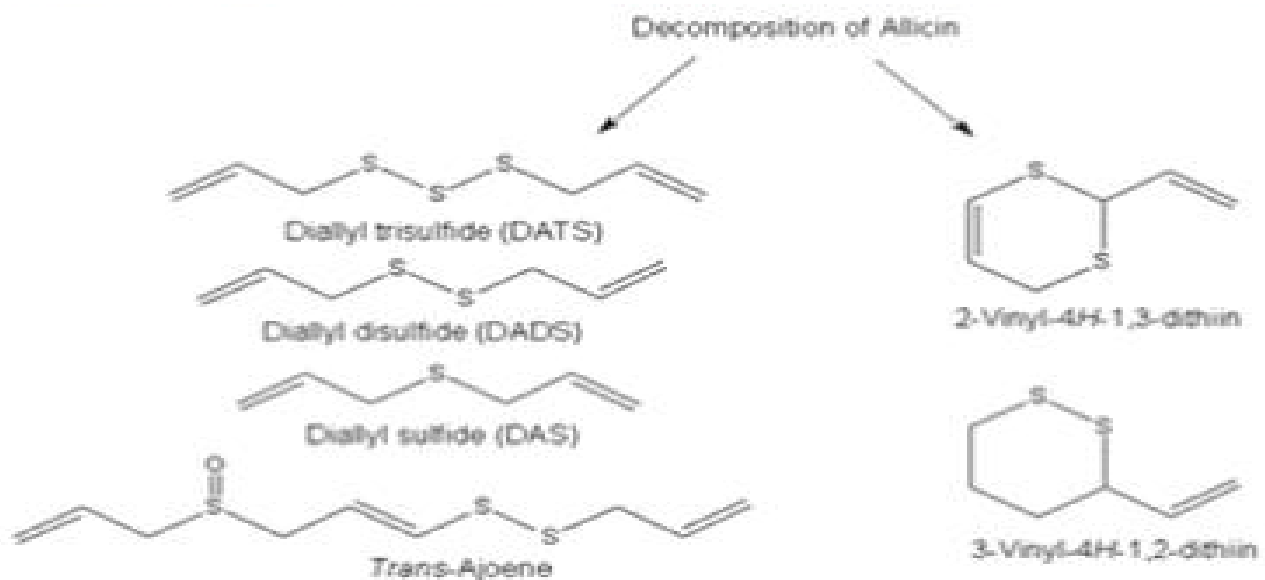


Fig. 39. Some organosulfur compounds derived from the decomposition of allicin (Freeman and Whenham, 1976).

검출된 thiol류는 2-methylbut-3-ene-2-thiol, propane-1,3-dithiol, 2-(1-propenylthio)-1-propene-1-thiol, prop-2-ene-1-thiol이며, 저장기간에 따라 감소하는 경향을 확인할 수 있었다. 특히 2-methylbut-3-ene-2-thiol과 prop-2-ene-1-thiol은 0 day 이후로 검출되지 않는 것을 확인할 수 있었다. thiol을 포함하여 낮은 분자량을 가지는 sulfur 향미성분은 일반적으로 strong, unpleasant odor를 가진다.

Sulfide류는 dipropyl sulfide, propyl-(E)-1-propenyl sulfide, propyl-(Z)-1-propenyl sulfide, allyl sulfide, furfuryl methyl sulfide, allyl sulfide, allyl isopropyl sulfide, allyl-2,3-epoxypropyl sulfide, (E)-1-propenyl propyl sulfide로 총 9개가 검출되었는데, 저장기간이 지남에 따라 전체적으로 감소하는 경향을 보였으나, allyl isopropyl sulfide는 증가하는 경향을 보였다.

Disulfide류는 11개가 검출되었고, 변화 양상은 다르게 나타났다. methyl disulfide, methyl(Z)-1-propenyl disulfide, methyl(E)-1-propenyl disulfide, propyl(E)-1-propenyl

disulfide, propyl(Z)-1-propenyl disulfide는 저장기간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보였으나, methyl allyl disulfide, *tert*-butyl methyl disulfide, 1-methyl-2-(3,5-dimethylthien-4-yl)disulfide, 1-propyl-2-(4-thiohept-2-en-5-yl)disulfide, 1-propenyl(2,3-dimethylthien-5-yl)disulfide, 1-propenyl(2,4-dimethylthien-5-yl)disulfide는 감소하는 경향을 보인다. 특히 methyl(Z)-1-propenyl disulfide, methyl(E)-1-propenyl disulfide와 propyl(E)-1-propenyl disulfide, propyl(Z)-1-propenyl disulfide는 높은 정량 값을 보여 대과추 출물의 향기성분에 크게 기여하는 것을 확인할 수 있었다.

Trisulfide류 또한 향미성분간 다른 양상을 보였다. dimethyl trisulfide, dipropyl trisulfide, dimethyl trisulfide은 증가하는 양상을 보였고, methyl propyl trisulfide, (E)-propenyl propyl trisulfide, (Z)-propenyl propyl trisulfide, diallyl trisulfide는 감소하는 양상을 확인할 수 있었다. 그 밖에 tetrasulfide류는 dimethyl tetrasulfide이 동정되었고, 전체적으로 미미하게 증가하는 경향을 보였다.

Sulfoxide류는 7개가 동정되었는데, thiopropal sulfoxide, trimethylene sulfoxide, butyl methyl sulfoxide, methyl propyl sulfoxide, dipropyl sulfoxide, methyl 2-hydroxyethyl sulfoxide, S-isobutyl-2-propenyl-sulfoxide가 검출됨을 확인할 수 있었고, 대부분 저장기간에 따라 감소하는 영향을 보였으며 thiopropal sulfoxid 이외에는 작은 정량값을 보여 sulfur 그룹에서 큰 비중을 차지하지 않았다. 그 외에 sulfone은 총 2개가 검출되었고, 이 향미성분 역시 큰 비중을 차지하지 않는 것을 확인할 수 있었다.

Sulfur 향미성분의 산화는 oxidative stress 환경에서 생성된 redox-active sulfur compound 인 reactive sulfur species로부터 산화될 수 있으며, Fig. 40 과 같은 경로로 산화된다.

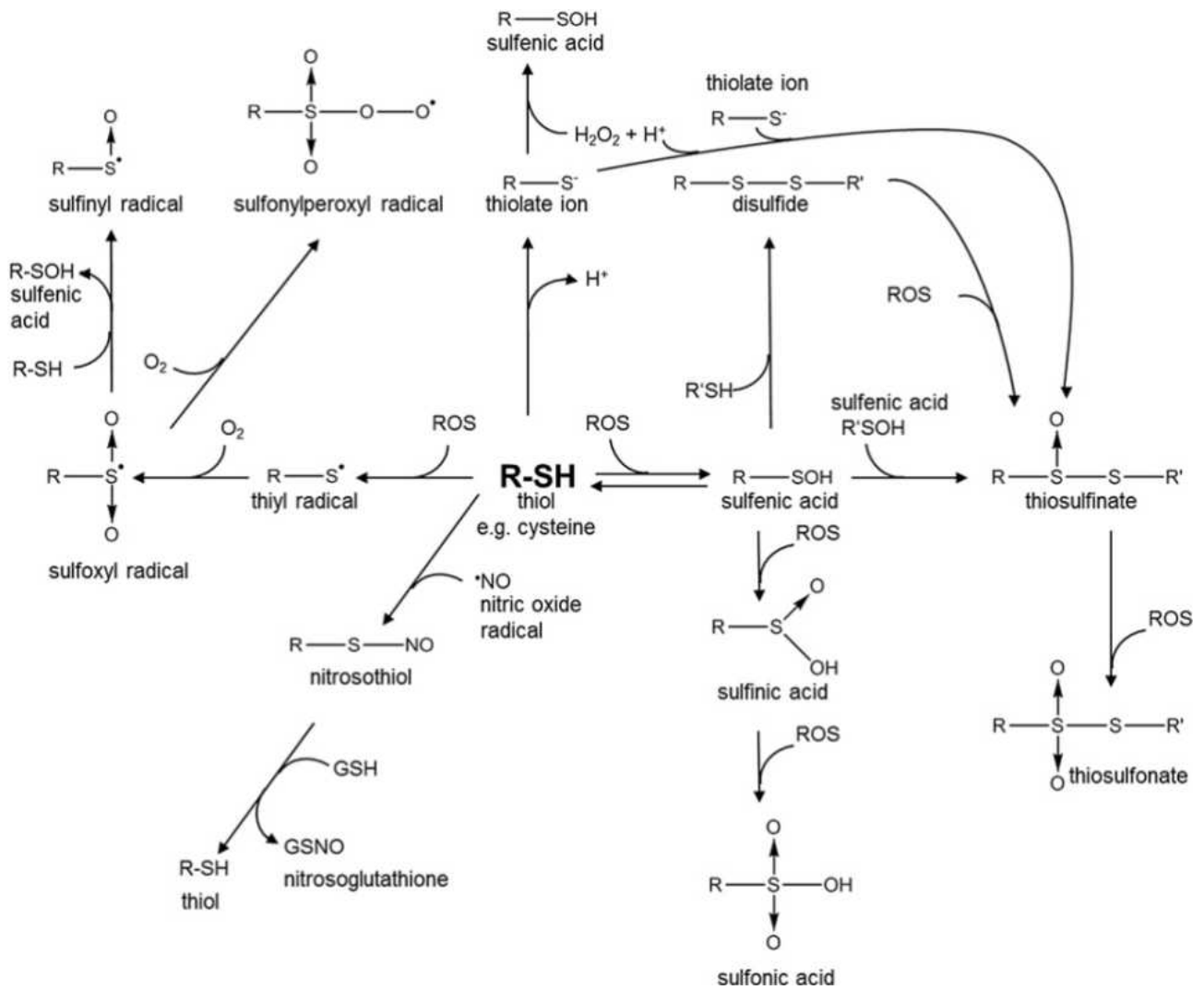


Fig. 40. Generation of various reactive sulfur species from a thiol which might be for example glutathione or a sulphydryl group in cysteine (Martin C.H. et al., 2012).

Aromatic 구조를 형성하는 황 함유 향미성분은 20개가 검출되었는데, 특히 3,4-dimethylthiophene와 [2-13C]-1,3-dithiane가 큰 정량값을 보여 주요한 휘발성 향기성분임을 확인 할 수 있었다. heterocyclic sulfur-containing compounds의 기본 골격구조는 Fig.41과 같다.

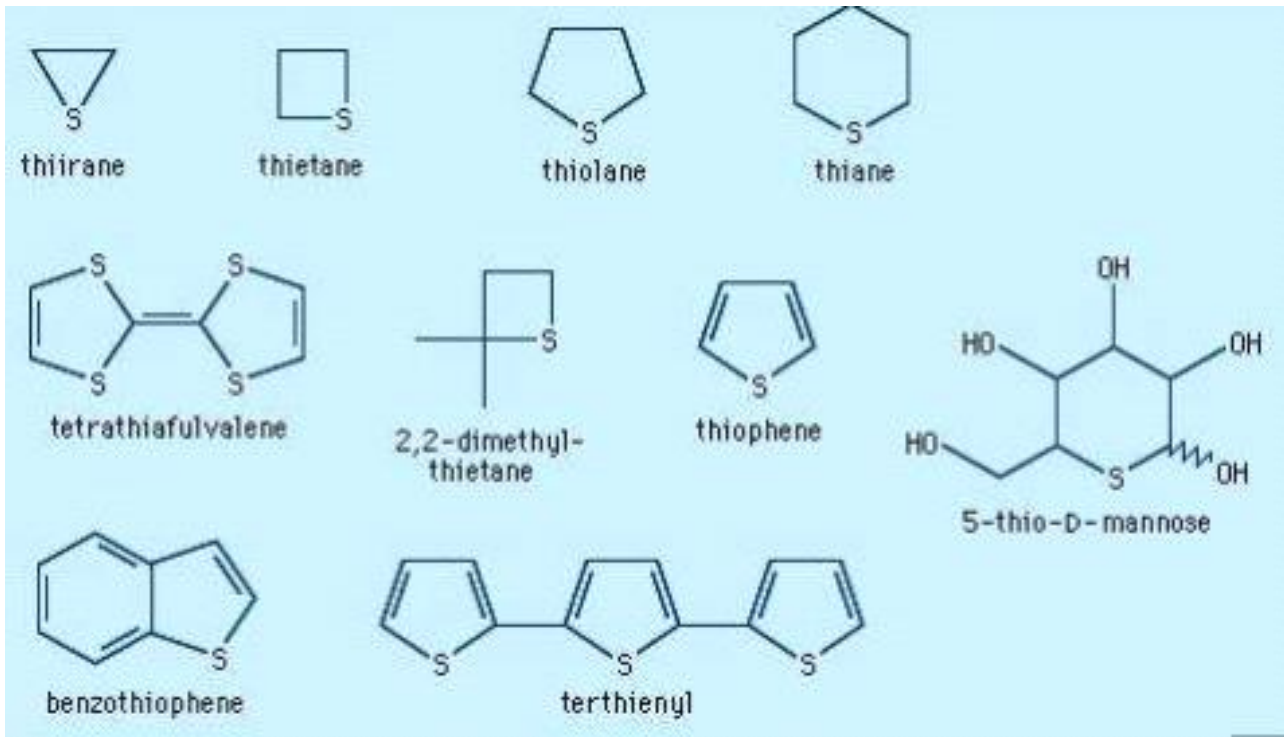


Fig. 41. sulfur-contains heterocycle (Encyclopedia Britannica, 1997).

그 밖에 44개의 황 함유 향미성분이 발견되었으며, 4,5-dimethyl-1,2-thiazole, 5-methoxy-1,3-thiazole, 5-methoxy-1,3-thiazole를 포함한 thiazole 류는 적은 농도로도 강한 sulfur odor를 내며 저장기간에 따라 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또 대파 추출물의 향기 성분을 결정하는 주요한 향미성분 중 5-propyl-1,2,3,4-thiatriazole, homothiophen, 5-methoxy-1,3-thiazole는 증가하는 양상을 보였고, methyl methanethiolsulfonate, 1-propenyl ester methanesulfinothioic acid, methylpropanethiosulfonate, methylthiofuran, 1,3-benzothiazol-2-amine는 감소하는 양상을 보였으며, 3-methyl-2-sulfanylidene-1,3-thiazolidin-4-one는 감소하다가 증가하는 양상을 보였다.

Acid 류는 총 11개가 동정되었으며, 전체적으로 저장기간이 증가함에 따라, 증가하는 양상을 보인다. 특히 가장 큰 정량값을 보이는 octadecanoic acid는 0일 대비 2주차에 3배 이상 증가함을 확인할 수 있다.

Aldehyde 류는 총 7개가 검출되었으며 전체적으로 증가하는 현상을 보인 반면에, 2,4-dimethyl-5,6-dithia-2,7-nonadienal만 점차 증가하다가 2주차에는 검출되지 않았다.

Benzene 류는 총 7개가 검출되었으며 변화 양상은 각기 다르게 나타났다. 대파 추출물에서 큰 정량값을 가지는 phloroglucinol는 저장기간이 증가함에 따라 크게 감소하는 것을 확인할 수 있었던 반면에, 2-phenyl-1,3-dioxolane은 처음에는 미미한 정량값을 보이다가 저장기간이 증가함에 따라 대폭 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

Ester 류는 methyl vanillate, ethyl 1-methyl-2-oxocyclohexane-1-carboxylate, ethyl N-naphthalen-2-ylcarbamate, bis(2-ethylhexyl) hexanedioate등의 주요한 ester 성분을 포함하여 총 14개가 검출되었다. ester 역시 변화 양상이 각기 다르게 나타났는데, 특히 ethyl 3-(2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolan-2-yl)propanoate, dibutyl benzene-1,2-dicarboxylate, ethyl

2-(1H-indol-3-yl)acetate, ethyl N-naphthalen-2-ylcarbamate, bis(2-ethylhexyl) hexanedioate 가 증가하는 양상을 확인할 수 있었다.

Furan 류는 총 7개가 검출되었는데, 대과 추출물의 주요 furan 성분인 2-pentylfuran, methyl 7-furan-2-ylheptanoate 그리고 2,5-dimethoxy-2,5-dihydrofuran이 저장기간이 증가함에 따라 큰 폭으로 증가한 반면, 2-hexyl-5-methylfuran-3-one과 methyl 7-furan-2-ylheptanoate는 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

질소 함유 향미성분 역시 황 함유 향미성분과 같이 독특하고 강한 냄새를 띄는 것이 특징인데, 대과 추출물에서는 11개가 검출되었다. 큰 정량값을 가지는 2-phenylacetamide와 N-difluorophosphanyl-N-methoxymethanamine는 저장기간이 증가함에 따라 크게 증가하는 양상을 확인할 수 있었다.

Ketone류는 총 8개가 검출되었고, 주요한 ketone 류인 cyclohex-2-en-1-one, acetoguaiacon, (Z)-1-(1,2,2-trimethylcyclopentyl)pent-2-ene-1,4-dione, 3,4-dimethylpyrrole-2,5-dione는 저장기간이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다.

Terpene류는 대과 추출물 0일 제 분석한 결과 β -ocimene만이 소량 검출되었으나 저장기간이 증가함에 따라 검출되지 않고, terpin hydrate와 α -pinene이 소량 검출되는 것을 확인할 수 있었다.

그 밖에 향미성분로는 7-oxabicyclo[4.1.0]heptane, 6-fluoro-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane, 1-methylpyrrole, 1-(ethyl-fluorophosphoryl)oxy-3,5,5-trimethylhexane, 5-thiatriacyclo[4.1.0.0(2,4)]heptane이 검출되었으며, 특히 6-fluoro-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane와 5-thiatriacyclo[4.1.0.0(2,4)]heptane이 저장기간이 증가함에 따라 증가하는 양상을 보였다.

나. 마늘 역삼투압 농축액의 공정단계에 따른 휘발성 및 비휘발성 향미성분 분석

① 실험 재료

㉞ 마늘 역삼투압 농축액 제조

본 실험에서 마늘 역삼투압 농축액의 공정단계에 따른 휘발성 성분 분석을 위하여, 샘플에서 직접 제조된 마늘 추출물을 사용하였다. 마늘은 2019년 괴산지역에서 생산되어 오송 농협에서 구매되었으며, 추출 방법에 대한 정보는 다음과 같다.

● 마늘 추출액의 제조

마늘 추출액의 제조는 분쇄, 1차 여과, 2차 여과, 한외여과, 역삼투압 농축 순서의 5단계로 진행되었다. 마늘 농축액의 제조 단계는 Fig. 42과 같다.

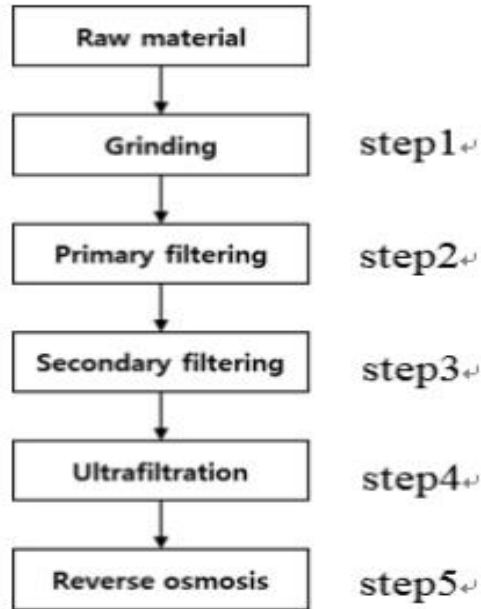


Fig. 42. 마늘농축액의 제조 단계

● 마늘 추출액의 한외여과

2차 여과로 얻어진 대과 착즙액을 batch system의 한외여과를 시행하였다. 한외여과의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 22. 한외여과의 막특성과 공정조건

material	Polyethersulfone (PES)
Temperature (°C)	25
pH	6.0

● 마늘 추출액의 역삼투압 농축

한외여과로 얻은 착즙액을 batch system의 역삼투막분리하여 착즙액의 고형분 함량이 5birx에 도달후 종료하였다. 역삼투농축의 막특성과 공정은 다음과 같다.

Table 23. 역삼투막특성과 공정조건

Material	Polyamide
Temperature (°C)	25
pH	6.0

② 마늘 추출물 휘발성 유기화합물 (VOC)의 추출법, 기기분석법

㉠ 마늘추출물 내 휘발성 유기화합물의 Solvent Extraction (SE)를 이용한 추출 방법 및

GC/MS 분석 방법

● Solvent extraction (SE) 법을 이용한 마늘 추출물의 분석

이 실험에 사용된 solvent extraction 법은 유기 용매를 이용하여 시료의 유기물질을 추출하는 방법이다. Solvent extraction법은 direct injection 법에 비해 당이나 단백질 등 여러 수용성 물질에서 유기 물질을 분리하여 분석하는 방법으로 다양한 상 (phase)를 가진 물질의 분석에 용이하다 (Perpète et al., 1999; Ortega et al., 2001). 반면에 solvent extraction 법은 시료 중의 유기 물질을 추출하는데 시간이 걸리며, 유기 용매에 따라 추출되는 유기 물질이 다를 수 있고 지방 및 지용성 색소등으로 인해 컬럼의 오염 문제가 생길 수 있어 충분한 예비실험이 필요하다 (Woo et al., 2005).

시료를 부유물과 균질화를 하여 30mL, 추출 용매 dicloromethane (J.T.Baker)와 내부표준 물질로 사용한 200ppm (mg/L) ethyl phenylacetate (Sigma-Aldrich, St. Louis, M.O., USA) 0.1mL를 50mL 의 laboratory bottle (Simax)에 넣은 후, PBT screw cap with PTFE coated silicon gasket으로 밀봉하였다. 200rpm 으로 60분간 shaking incubator (LK Lab Korea) 에 넣어 shaking 한 뒤, funnel 에서 전체 용매를 분리시켰다. 분리된 용매층에서 추출 용매층을 분별한 후, 분별한 유기용매 층을 3차 증류수 10mL 로 1번 washing 하여 다시 분별하였다. 부유물층과의 정확한 분리를 위해 glass wool (Sigma-Aldrich) 과 무수 sodium sulfate (Sigma-Aldrich)를 넣은 유리피펫으로 여과하였다. 걸러진 추출물은 N₂ gas를 이용하여 0.3mL 로 농축한 후, GC-MS 로 분석을 하였다. 모든 분석은 3번 반복 하였다.

● GC-MS를 이용한 휘발성 성분 분석

SE를 사용하여 추출한 유사 타사 제품의 향미성분은 HP 7980A gas chromatograph (Agilent Technologies)에 연결된 5975C mass selective detector (Agilent Technologies)와 CTC-PAL autosampler (Agilent Technologies)가 장착된 GC-MS 시스템을 사용하였다. column은 DB-5 (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25µm film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Oven 온도는 40°C 에서 3분간 유지시키고 80°C까지 분당 2°C씩 올린 후 5분간 유지시키고, 160°C까지 분당 3°C씩 올린 후, 200°C 까지 분당 5°C씩 올렸다. Injector와 detector transfer line의 온도는 각각 250°C와 280°C, Mass scan range는 35-350 a.m.u.이었으며 scan rate는 4.5 scan/s, scan mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다. Carrier gas는 helium으로 0.8 mL/min의 유속을 유지하고 Injection volume는 1µl를 주입하여 20:1 mode로 분석하였다.

● 마늘 추출물의 휘발성 유기화합물 동정 및 정량 방법

마늘 추출물의 휘발성 성분들의 동정은 MSD ChemStation (Agilent Technologies)을 이용하여 이루어졌다. 휘발성 향미성분의 동정은 mass spectral database (W9N08.L) 및 manual interpretation에 의해 이루어졌으며 분석 조건으로 RTE Integrator Parameters는 data filtering은 5-point, start threshold는 0.001, stop threshold는 0으로 설정하였다. 각 peak의 area 값은 GC-MS total ion chromatogram 상에서 얻은 peak area 값을 내부표준물질의 peak area 값으로 나눈 relative peak area 값을 사용하였다.

㉞ 마늘추출물 휘발성 유기화합물 (VOC)의 동정 및 정량 분석

● 휘발성 성분의 정성 및 정량

SE법을 이용하여 추출한 마늘추출물의 휘발성 향미성분은 Table 23와 같으며 GC-MS를 이용해 분석한 total ion chromatograms는 Fig. 43와 같다.

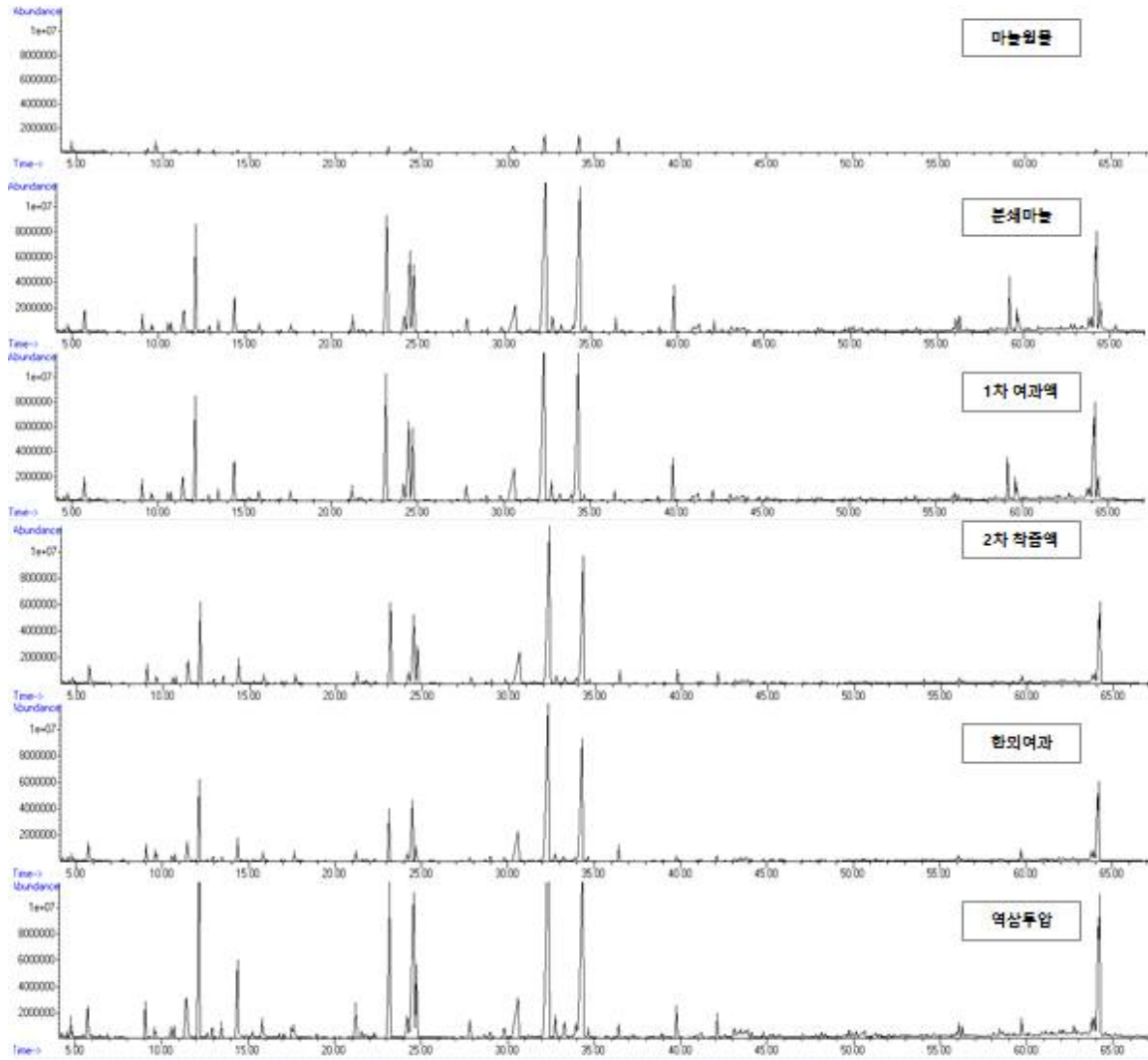


Fig 43. 공정단계 별 마늘추출물의 GC-MS total ion chromatograms.

Table 24. Volatile compounds of garlic extracts obtained throughout processing steps

No.1)	RI ²⁾	possible volatile compounds	Relative peak area ³⁾						ID ⁴⁾
			Processig steps ⁵⁾						
			RG	CR	PF	SF	UF	RO	
Acids									
a1	1,144	bicyclo[2.1.0]pentane-5-carboxylic acid	0.017±0.006a ⁶⁾	0.41±0.099b	0.562±0.055c	0.38±0.038b	0.297±0.066b	0.553±0.268a	C
a2	1,957	hexadecanoic acid	0.027±0.028a	1.157±0.999b	2.44±0.309c	N.D. ⁷⁾	N.D.	N.D.	A
Alcohols									
ac1	1,021	(1R,2R)-2-chlorocyclohexan-1-ol	0.034±0.013a	0.029±0.019a	0.026±0.003a	0.026±0.009a	0.025±0.008a	0.039±0.012a	C
ac2	1,059	cyclohexane-1,2-diol	0.02±0.01b	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	C
ac3	1,473	tetradecan-1-ol	0.018±0.015b	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	A
Aldehydes									
ah1	733	(E)-2-methylbut-2-enal	0.21±0.152b	0.028±0.026a	0.054±0.008a	0.029±0.003a	0.018±0.005a	0.084±0.012b	A
ah2	739	3-hydroxybutanal	0.057±0.004a	0.017±0.056a	0.035±0.014a	0.1±0.01ab	0.129±0.05b	0.175±0.033a	C
ah3	800	hexanal	0.051±0.042b	0.049±0.018b	0.11±0.035b	N.D.	N.D.	N.D.	A
Benzenes									
b1	758	methylbenzene	0.006±0.001b	0.01±0.004b	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	A
b2	848	7-oxabicyclo[4.1.0]heptane	0.03±0.014bc	0.025±0.006ab	0.041±0.001c	0.024±0.004ab	0.018±0.009a	0.017±0.002bc	C
b3	853	ethylbenzene	0.152±0.067a	0.16±0.017a	0.177±0.016a	0.173±0.05a	0.161±0.045a	0.212±0.024a	A
b4	863	1,3-dimethylbenzene	0.954±0.097a	0.751±0.166a	0.979±0.067a	0.771±0.168a	0.867±0.263a	0.912±0.176a	A
Esters									
e1	946	2-phenylethyl 2-methylpropanoate	0.163±0.05a	3.811±0.813c	4.539±0.031c	2.365±0.355b	1.846±0.661b	5.143±2.139a	A
e2	1,428	ethyl 4-amino-1-methyl-5-oxo-2H-pyrrole-3-carboxylate	N.D.	0.028±0.004c	0.01±0.007b	0.006±0.001ab	0.003±0.001a	0.042±0.017a	C
e3	1,442	2-ethylhexyl 2-methylpropanoate	N.D.	0.19±0.049c	0.184±0.021c	0.036±0.003a	0.02±0.004a	0.088±0.048a	C
e4	1,494	dimethyl 2,3-dimethoxybutanedioate	N.D.	0.095±0.008d	0.051±0.008c	0.025±0.003b	0.018±0.005ab	0.152±0.036a	C

e5	1,990	ethyl hexadecanoate	0.011±0.003a	0.2±0.135b	0.185±0.014b	N.D.	N.D.	N.D.	A
Furans									
f1	1,252	3-methyl-5H-furan-2-one	N.D.	N.D.	0.042±0.001a	0.036±0.021a	0.019±0.011a	0.193±0.068a	A
f2	1,462	1-[4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]-5-methylpyrimidine-2,4-dione	0.012±0.007a	0.33±0.112c	0.315±0.031c	0.155±0.035b	0.122±0.04b	0.333±0.047a	C
Hydrocarbons									
h1	988	(2E)-hepta-2,4-diene	0.035±0.015a	0.258±0.096b	0.266±0.044b	0.143±0.076ab	0.12±0.083ab	0.168±0.083a	C
N-containing compounds									
n1	807	2,4,5-trimethyl-2,5-dihydro-1,3-oxazole	N.D.	0.067±0.064b	0.119±0.015c	0.065±0.012b	0.073±0.024b	0.238±0.035a	A
n2	877	1,4-dimethyl-5,6-diazabicyclo[2.2.1]hept-5-ene	0.002±0.001a	0.004±0.005b	0.025±0.002c	0.018±0.007bc	0.016±0.004b	0.027±0.009a	B
n3	1,466	4-(difluoromethoxy)-5-ethyl-1-[4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]pyrimidin-2-one	0.011±0.006a	0.301±0.107c	0.297±0.028c	0.134±0.034b	0.105±0.034b	0.228±0.103a	C
n4	1,582	4-nitro-1H-pyrazole	0.008±0.004a	0.13±0.041d	0.268±0.008e	0.058±0.004a	0.029±0.007a	0.073±0.037a	C
S-containing compounds									
s1	716	(E)-1-methylsulfanylprop-1-ene	N.D.6)	0.097±0.02bc7)	0.117±0.006cd	0.084±0.045b	0.066±0.02b	0.199±0.029a	C
s2	727	(Z)-1-methylsulfanylprop-1-ene	N.D.	0.14±0.03bc	0.172±0.012cd	0.127±0.01bc	0.1±0.027b	0.306±0.039a	B
s3	735	methyldisulfanylmethane	N.D.	0.335±0.122c	0.293±0.012bc	0.201±0.038bc	0.171±0.065b	0.742±0.111a	A
s4	761	thietane 1-oxide	0.01±0.004a	0.137±0.045c	0.216±0.012d	0.1±0.034bc	0.072±0.026b	0.131±0.044a	C
s5	781	1-sulfanylpropan-2-one	N.D.	0.035±0.02a	0.051±1.455a	0.03±0.016a	0.019±0.013a	0.05±0.01a	C
s6	803	1,3-dithietane	0.011±0a	0.028±0.005ab	0.08±0.043b	0.025±0.007ab	0.022±0.007a	0.057±0.02a	C
s7	816	ethyl methanesulfinate	N.D.	N.D.	0.005±0.019a	0.014±0.01a	0.007±0.005a	0.089±0.025a	C
s8	852	3-prop-2-enylsulfanylprop-1-ene	0.05±0.015a	1.281±0.11c	1.583±0.104d	1.167±0.053bc	0.862±0.251b	2.69±0.239a	B
s9	857	3-ethylthiophene	0.01±0.003a	0.05±0.018b	0.085±0.006c	0.055±0.019b	0.048±0.017b	0.064±0.034a	B
s10	867	(1E)-1-(propylsulfanyl)-1-propen	N.D.	0.004±0bc	0.006±0d	0.005±0.001cd	0.003±0.001b	0.187±0.216a	C
s11	886	bis(propen-1'-yl)sulfide	0.226±0.094a	1.16±0.383bc	1.606±0.104c	0.949±0.304b	0.812±0.323b	0.999±0.561a	C
s12	901	methanesulfonic acid	0.008±0.007a	2.194±0.541b	3.913±0.151b	2.668±0.626b	2.008±0.593b	2.036±0.714a	C
s13	912	3-methyldisulfanylprop-1-ene	0.303±0.122a	8.822±2.125cd	10.366±0.542d	6.379±1.297bc	5.044±2.106b	12.141±6.513a	B
s14	919	6-(methylthio)hexa-1,5-dien-3-ol	0.003±0.001a	0.134±0.054b	0.158±0.016b	0.1±0.034b	0.091±0.044b	7.842±9.22a	C

s15	924	(Z)-1-methyldisulfanylprop-1-ene	0.187±0.069a	0.547±0.141c	0.6±0.035d	0.377±0.092bc	0.325±0.109b	0.531±0.304a	B
s16	932	(E)-1-methyldisulfanylprop-1-ene	0.018±0.005a	0.882±0.208d	1.176±0.04d	0.581±0.047b	0.355±0.105b	0.971±0.333a	B
s17	960	methylsulfanyldisulfanylmethane	N.D.	0.218±0.095c	0.179±0.006bc	0.146±0.017bc	0.08±0.034ab	0.497±0.146a	A
s18	968	methylsulfanyl-sulfanylmethane	N.D.	0.649±0.11c	0.897±0.072d	0.554±0.102bc	0.425±0.08b	0.942±0.531a	B
s19	984	1,3-dithiolane	N.D.	0.112±0.059b	0.159±0.013b	0.115±0.031b	0.089±0.028b	0.788±0.59a	C
s20	997	5-thiabicyclo[4.1.0]hept-2-ene	0.015±0.01a	0.901±0.316b	1.322±0.005c	0.843±0.111b	0.664±0.125b	0.736±0.297a	C
s21	1,015	2-butylthiolane	N.D.	0.132±0.057b	0.155±0.025b	0.107±0.038b	0.091±0.046b	0.525±0.261a	C
s22	1,043	2-ethyl-3-methylthiolane	N.D.	0.086±0.027cd	0.108±0.009d	0.051±0.013b	0.037±0.004b	0.061±0.015a	C
s23	1,051	methylsulfonylsulfanylmethane	N.D.	0.219±0.057a	0.845±1.077a	0.46±0.456a	0.104±0.012a	0.441±0.194a	B
s24	1,046	2-methyl-2-methylsulfanylpropane	N.D.	0.15±0.114ab	0.413±0.047c	0.247±0.05bc	0.167±0.029ab	1.547±1.584a	C
s25	1,092	3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene	1.207±0.361a	25.93±3.69c	33.555±1.616d	17.323±2.369b	12.465±5.214b	34.749±6.473a	B
s26	1,095	1,4,6-oxadiazocane-5-thione	0.214±0.08a	5.212±1.356c	9.207±0.378d	3.437±0.419b	1.516±0.581a	4.481±1.328a	A
s27	1,125	3,4-dimethyl-2,3-dihydrothiophene-2-thiol	0.015±0.01a	0.209±0.113bc	0.235±0.058c	0.093±0.053a	0.075±0.044a	0.117±0.051a	C
s28	1,131	3-methylsulfanyldisulfanylprop-1-ene	0.013±0.002a	1.932±0.494cd	2.2±0.034d	0.699±0.102b	0.519±0.134ab	1.497±0.954a	C
s29	1,141	3,4-dimethyl-5H-thiophen-2-one	0.005±0.001a	0.314±0.114c	0.314±0.015c	0.182±0.011b	0.138±0.033b	1.29±0.915a	C
s30	1,153	1-methyl-3-[(1E)-1-propen-1-yl]trisulfane	0.011±0.002a	0.513±0.338bc	0.766±0.059cd	0.296±0.15ab	0.281±0.108ab	0.999±0.273a	C
s31	1,161	1,3-dithiane	0.373±0.202a	4.788±0.4bc	8.547±0.791e	5.705±1.059c	4.403±0.502b	6.954±3.704a	Z
s32	1,183	3-ethenyl-3,6-dihydrodithiine	1.219±0.187a	31.306±5.472c	38.707±1.432d	21.345±2.599b	17.577±2.384b	36.003±22.058a	B
s33	1,193	methyl thiocyanate	0.011±0.008a	0.711±0.132cd	0.791±0.047d	0.559±0.018c	0.362±0.06b	2.128±0.313a	B
s34	1,208	3-ethenyl-3,4-dihydrodithiine	1.418±0.028a	21.153±2.831c	29.342±1.569d	16.01±2.531b	13.618±2.265b	26.509±14.692a	B
s35	1,212	2-ethenyl-1,3-dithiane	0.015±0.005a	0.588±0.174c	0.614±0.009c	0.34±0.036b	0.273±0.064b	0.92±0.132a	C
s36	1,230	2-methyl-5-methylsulfanylthiophene	N.D.	0.029±0.01bc	0.049±0.017c	0.018±0.01ab	0.014±0.007ab	0.048±0.014a	C
s37	1,235	dithiolane 1-oxide	N.D.	N.D.	N.D.	0.03±0.006b	0.026±0.009b	0.062±0.024a	C
s38	1,255	S-methyl-1-propenethiosulfonate	0.004±0.002a	0.108±0.063b	0.107±0.004b	0.046±0.019a	0.032±0.011a	0.093±0.048a	C
s39	1,273	2-ethenyl-4H-1,3-dithiine	N.D.	0.016±0.001a	0.018±0.001a	0.03±0.012a	0.023±0.017a	0.089±0.04a	C
s40	1,279	dithiolane	N.D.	0.41±0.104c	0.323±0.016bc	0.056±0.051d	0.052±0.028a	0.35±0.096a	C
s41	1,293	3-prop-2-enylsulfanyldisulfanylprop-1-ene	0.025±0.001a	3.403±0.182c	4.35±0.145d	0.902±0.018a	0.473±0.193a	1.804±1.27a	B

s42	1,337	3-thiocyanatoprop-1-ene	0.049±0.026a	0.743±0.049b	0.957±0.047b	0.796±0.042b	0.53±0.009a	1.508±0.887a	C
s43	1,342	(E)-1-[(E)-prop-1-enyl]sulfanylprop-1-ene	0.004±0.002a	0.043±0.014b	0.046±0.004b	0.012±0.006a	0.005±0.002a	0.012±0.002a	C
s44	1,363	2-prop-2-enylsulfanylacetonitrile	0.008±0.002a	0.144±0.007c	0.203±0.011d	0.095±0.049b	0.097±0.008b	0.461±0.212a	C
s45	1,400	2,4-dimethyl-1,3-thiazole	N.D.	0.07±0.06b	0.175±0.019cd	0.125±0.014bc	0.094±0.036b	0.211±0.141a	A
s46	1,407	3-propan-2-ylsulfanylprop-1-yne	N.D.	0.097±0.009c	0.123±0.005d	0.086±0.005c	0.057±0.012b	0.248±0.058a	C
s47	1,519	ethyl 2-oxo-2-thiophen-2-ylacetate	N.D.	0.092±0.066bc	0.116±0.01bc	0.069±0.032ab	0.054±0.029ab	0.259±0.102a	C
s48	1,771	2,4-dimethyl-5,6-dithia-2,7-nonadienal	0.031±0.016a	0.437±0.244c	1.169±0.055d	0.251±0.014b	0.054±0.02a	0.146±0.048a	C
s49	1,792	1,3-benzenedithiol	N.D.	0.176±0.078bc	0.201±0.004c	0.107±0.033b	0.107±0.04b	0.607±0.419a	C
s50	1,860	3-(2,3,4-trithia-6-heptenyl)-1-thia-cyclohex-5-ene	N.D.	0.197±0.116b	0.179±0.045b	0.078±0.018a	0.048±0.053a	0.261±0.146a	C

- 1) All volatile compounds were grouped in chemical class and listed in the order of their RI values..
- 2) Retention indices were determined using n-alkanes C₇-C₃₀ as external standards.
- 3) Mean values of relative peak area to that of internal standard ± standard deviation.
- 4) Identification of the compounds was based as follows; A, mass spectrum and retention index agreed with those of W9N08 mass spectral database, the literatures and authentic standards; B, mass spectrum was identical with that of W9N08 mass spectral database, and retention index was consistent with that of the literatures; C, mass spectrum was consistent with that of W9N08 (Wiley and NIST) and manual interpretation.
- 5) Processing steps. RG: raw garlic; CR: crushed garlic; PF: primary filtering; SF: secondary filtering; UF: ultra filtration; RO: reverse osmosis.
- 6) Significant differences ($p < 0.05$) between garlic samples according to processing steps using Duncan's multiple comparison test.
- 7) N.D. = not detected.

SE 추출법을 이용하여 분석한 마늘 추출물의 휘발성 향미성분을 분류하면 acid류 2개, alcohol류 3개, aldehyde류 3개, benzene류 4개, ester류 4개, furan류 2개, hydrocarbon류 1개, nitrogen 함유향미성분 4개, sulfur 함유향미성분 50개, miscellaneous 1개로 총 74개의 성분이 동정되었다. 그중 raw garlic에서 49개, 분쇄마늘에서 71개, 1차여과액 에서 72개, 2차 여과액, 한외여과액, 역삼투 농축액 에서 70개씩 정성 되었다.

정성 및 정량적으로 가장 많이 동정된 황 함유 향미성분은 마늘의 주요 향미성분으로 마늘의 특징 적인 향 과 맛에 기여하는 것으로 알려져 있다 (Lanzotti et al., 2006). 이러한 황함유 향미성분은 마늘의 alliin이 alliinase 에 의해 분해되어 allicin을 형성한 후 저급의 황 향미성분로 전환되어지는 것으로 보고된 바 있다 (Fig. 44) (Lee, Kim, and Lee, 2003). 정성된 향미성분 중 황 함유 향미성분은 raw garlic에서 정량적으로 75%, 나머지 샘플에서는 93-95% 수준으로 나타났다.

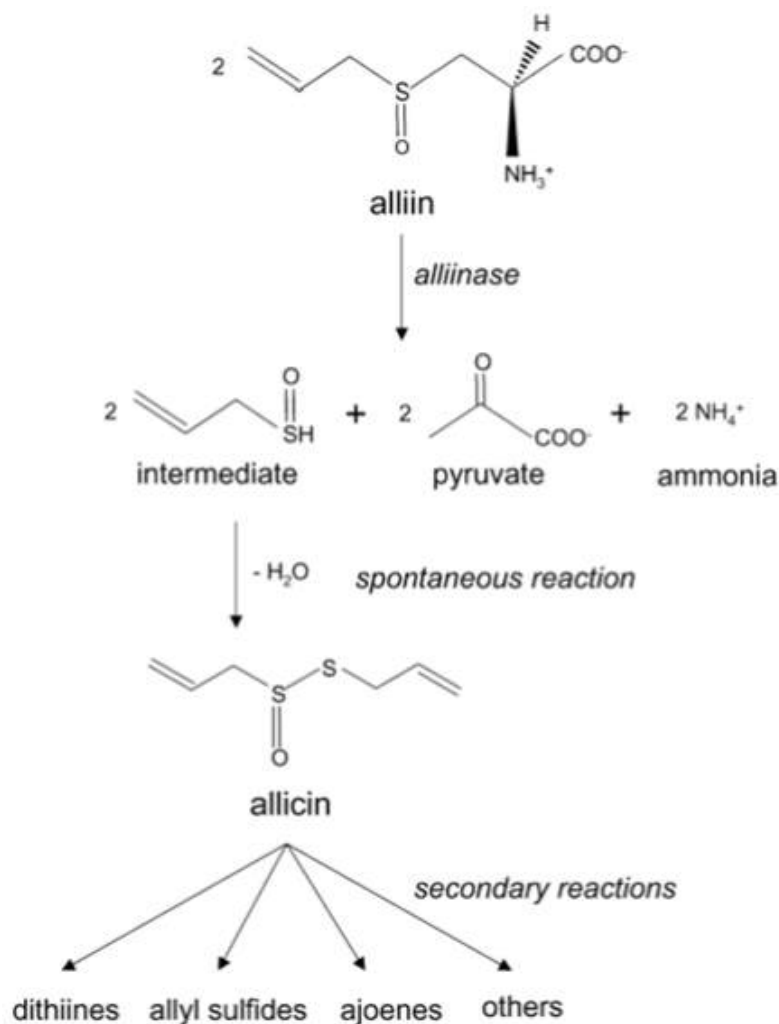


Fig. 44. Enzymatic reaction of alliinase with alliin of garlic (Lee et al., 2003)

공정단계별 향미성분들의 변화는 Fig. 45와 같다. total sulfur, acid, benzene, esters, furan, hydrocarbon, nitrogen 은 공통적으로 분쇄시 크게 증가하여 1차 여과 후 가장 높은 정량 값을 보였고, 2차 여과에서 가장 큰 손실을 보였다. 이후 한외여과에서 감소 후, 역삼투 농축에서 다시 증가하였다. 반면 total alcohol, aldehyde 는 raw garlic에서 가장 높은 정량 값을 보인 후 분쇄 시 가장 큰 손실을 보였다.

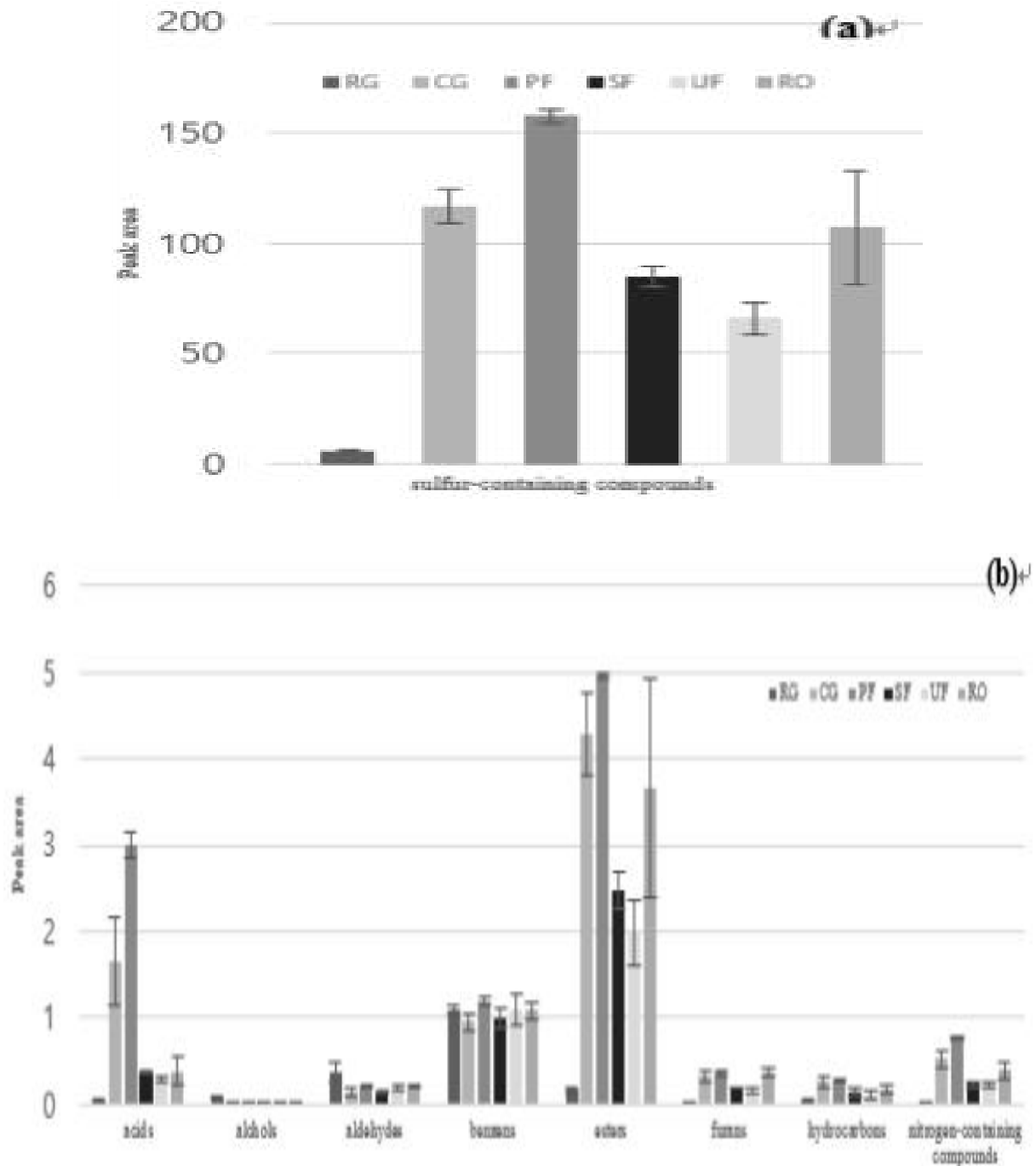


Fig. 45. Change of total volatile peak areas in garlic during processing
 (a) sulfur-containing compounds (b) non-sulfur containing compounds
 (RG: raw garlic, CG: 분쇄마늘, PF: 1차 여과, SF: 2차 여과, UF: 한외여과, RO: 역삼투농축)

이를 단계별로 정리해보면, step 1인 분쇄단계에서는 모든 sulfur-containing compounds가 정량적으로 증가하였다. 특히 3-ethenyl-3,6-dihydrodithiine, 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene, 3-ethenyl-3,4-dihydrodithiine, 3-methyldisulfanylprop-1-ene 는 이 단계에서 큰 증가를 보였다.

여과포 여과인 step 2에서도 대부분의 compounds가 정량적으로 증가하는 경향을 보였고, 그중 3-ethenyl-3,6-dihydrodithiine, 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene, 3-ethenyl-3,4-dihydrodithiine, 3-methyldisulfanylprop-1-ene의 함량이 큰 증가를 보였다.

또한 step 1에서 24개 compounds가, step 2에서는 2개의 compounds가 새롭게 정성 되었는데, 이 두 단계에서의 정성 및 정량적인 증가는 앞서 언급한 allin의 분해와 관련된 것으로 사려된다. Step 3인 구조조도 여과는 일반적으로 펄프제거의 목적으로 막 공정 전처리로 사용되는 여과법으로 이 단계에서 대부분의 휘발성 향미성분이 정량적으로 가장 크게 감소하였으며, ethyl hexadecanoate, ethyl hexadecanoate, hexanal 는 이 단계에서 주로 손실 되었다. 정량적으로 가장 큰 감소를 보인 휘발성 성분들은 공통적으로 long chain 또는 benzene ring을 가진다는 특징을 가졌다.

Step 4인 한외여과는 부유 물질, 고분자 물질 뿐만 아니라 미생물, 효소, 바이러스 제거가 가능한 공정으로, 액체의 정화, 농축 및 정제를 위한 다목적으로 사용되며, 과일 주스의 정화 및 저온 살균에 많이 이용되는 방법이다 (Zárate Rodríguez, Ortega Rivas, and Barbosa Cánovas, 2001). 본 연구에서는 이 단계에서 휘발성 향미성분의 농도가 약간씩 감소하였으나, 유의미한 농도 변화는 없었다.

마지막 step 5인 역삼투압 농축은 물 제거를 위한 상변화를 수반하지 않으며, 작동시 고온 사용이 필요하지 않기 때문에 휘발성 향미성분의 손실을 최소화하는 농축방법이다 (Girard and Fukumoto, 2000; Jesus, DF et al., 2007). 이 단계에서는 대부분의 휘발성 향미성분이 정량적으로 증가하였고, 특히 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene, 3-ethenyl-3,6-dihydrodithiine, 3-ethenyl-3,4-dihydrodithiine 가 가장 큰 증가를 보였다.

최종 물질인 역삼투압 농축액을 분쇄마늘을 비교해보면, 역삼투압 농축액은 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene, 6-(methylthio)hexa-1,5-dien-3-ol, 3-ethenyl-3,4-dihydrodithiine, 3-ethenyl-3,6-dihydrodithiine, 3-methyldisulfanylprop-1-ene 등의 향미성분을 정량적으로 더 많이 보유하고, 반면에 분쇄마늘은 3-prop-2-enyldisulfanylprop-1-ene, 1,4,6-oxadiazocane-5-thione, 3-methylsulfanyldisulfanylprop-1-ene, 2,4-dimethyl-5,6-dithia-2,7-nonadienal 등의 향미성분을 더 많이 보유하고 있다.

① 마늘 추출물 비휘발성 향미성분의 추출법, 기기분석법

㉠ 마늘추출물 내 비휘발성 향미성분의 추출 방법 및 GC-TOF/MS 분석 방법

● 비휘발성 당, 유기산 및 유리아미노산 추출

마늘 추출물의 비휘발성 성분 추출을 위해 마늘 추출액 샘플 1g에 methanol (J. T. Baker) 10mL를 ultrasonicator (Branson)를 이용하여 60분간 sonication 하였다. 그 후 4°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리 (UNION 32R plus)한 다음 상층액 200μL와 당을 분석하기 위한 내부표준물질 L-threitol 100ppm 20μL, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid

100ppm 20 μ L, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 20 μ L을 1.5 mL Eppendorf tube에 넣고 centri-vap (Labconco.)에서 하루 동안 완전히 건조시켰다. 마늘 추출물의 비휘발성 성분의 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 유도체화하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 100 μ L 를 넣고 centri vap (Labconco.)에서 30 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA [N,O-bis(trimethylsilyl)- trifluoroacetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco] 90 μ L를 넣고 60분간 70 $^{\circ}$ C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μ L를 주입하였다.

- GC-TOF/MS를 이용한 비휘발성 향미성분 분석

유도체화 시킨 마늘 추출물의 비휘발성 성분은 Agilent 6890N gas chromatograph-time-of-flight (TOF) Pegasus III mass spectrometer (Leco)로 분석하였으며 column은 DB-5MS (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25 μ m film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Helium 0.8 mL/min을 유지하고 splitless mode로 설정하였으며 oven의 온도는 80 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지 후 180 $^{\circ}$ C 까지 분당 10 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 5분간 유지하였다. 그 후 240 $^{\circ}$ C 까지 분당 5 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 5분간 유지 후 280 $^{\circ}$ C 까지 분당 10 $^{\circ}$ C씩 상승시킨 다음 10분간 유지하였다 Injector와 transfer line의 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C, 280 $^{\circ}$ C이었으며 acquisition rate는 20 spectra/sec, mass scan range는 35-500 a.m.u.로 분석하였다. scan mass spectra는 70eV에서 electron ionization (EI) 방식에 의해 얻어졌다.

- 마늘 추출물의 비휘발성 향미성분 동정 및 정량 방법

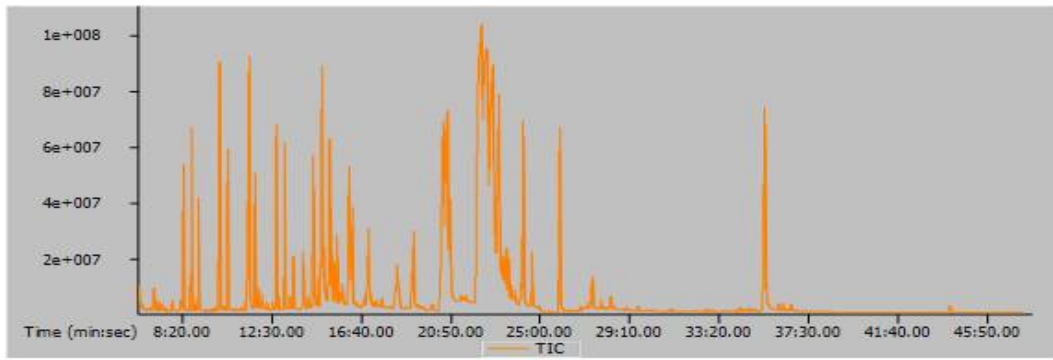
GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 마늘 추출물의 당, 유기산 및 유리아미노산은 Chroma TOF에 의해 deconvolution 되어 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9, replibrary 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여 동정하였다. 또한 비휘발성 성분의 정량은 각 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 값을 사용하였다.

- ④ 마늘추출물 비휘발성 향미성분의 동정 및 정량 분석

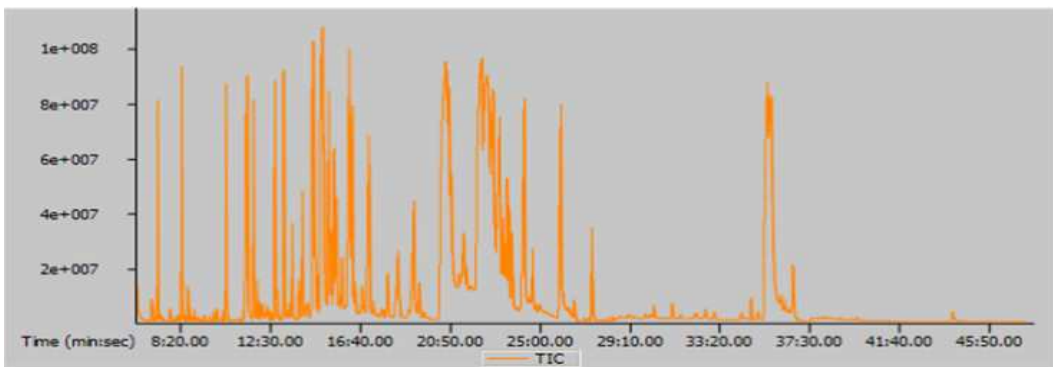
- 비휘발성 성분의 정성 및 정량

GC-TOF-MS로 분석된 마늘추출물의 비휘발성 성분들에 대한 total ion chromatogram은 Fig. 46 과 같으며 이로부터 정성 및 정량한 성분들의 결과는 table 24와 같다.

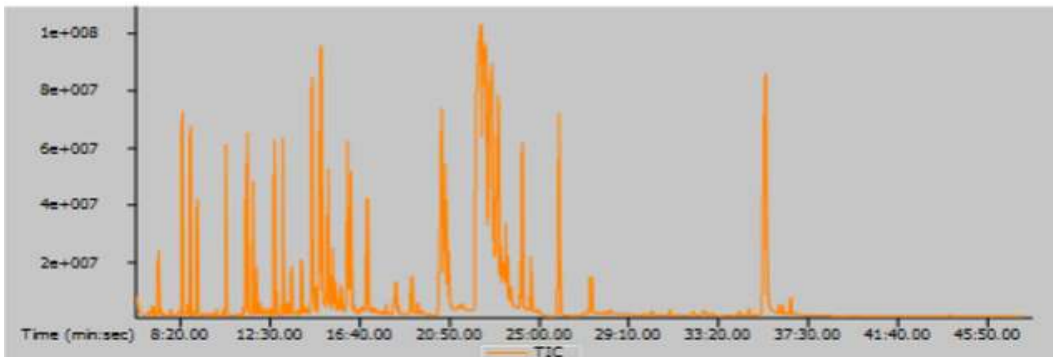
마늘원물



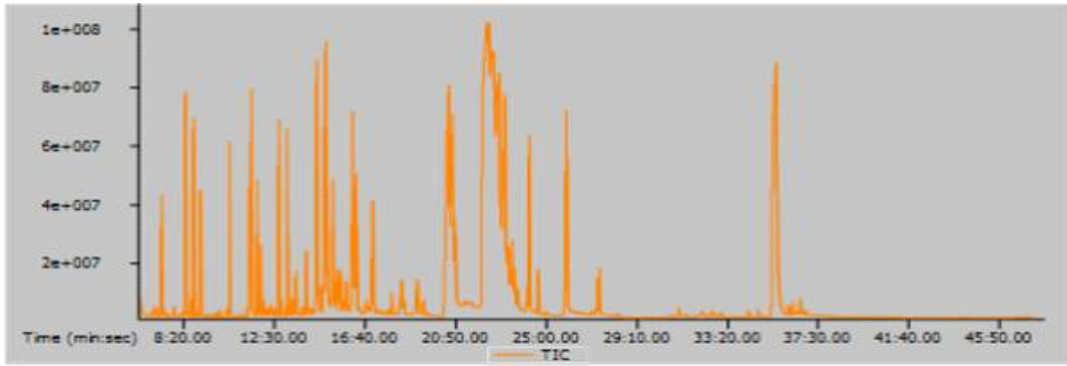
분쇄마늘



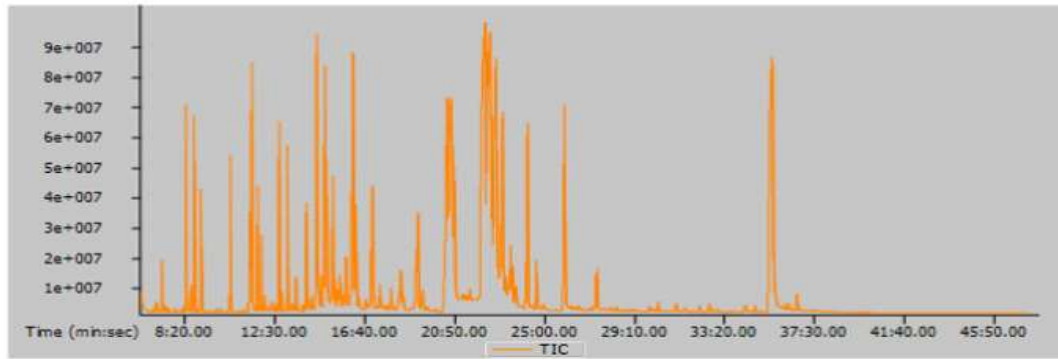
1차어과액



2차여과액



한외여과액



역삼투
농축액

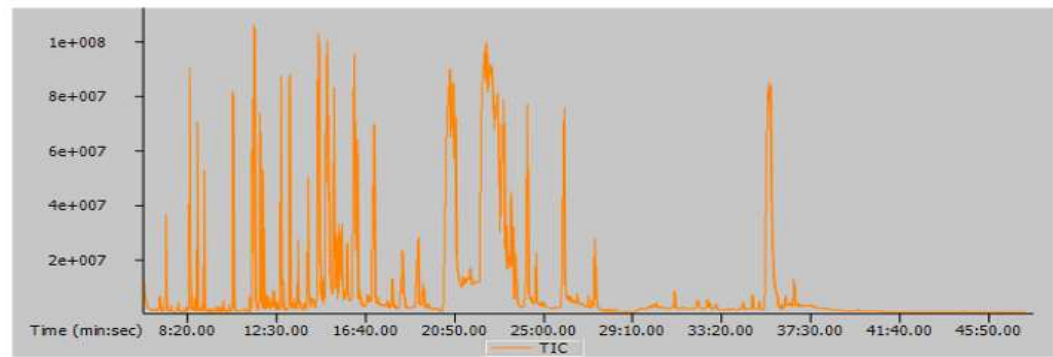


Fig. 46. 공정단계 별 마늘추출물의 GC-TOF/MS total ion chromatograms.

Table 25. Non-volatile compounds of garlic extracts obtained throughout processing steps

No.	Non-volatile compounds	Relative peak area ¹⁾						ID ²⁾
		Processig steps ³⁾						
		RG	CR	PF	SF	UF	RO	
Carbohydrates								
c1	threose	0.059±0.005a ⁴⁾	0.04±0.005bc	0.048±0.004c	0.061±0.004d	0.038±0.002ab	0.07±0.008a	A
c2	erythrose	0.062±0.001b	0.059±0.001b	0.061±0.004b	0.082±0.001c	0.039±0.005a	0.105±0.018b	A
c3	ribose	0.074±0.008c	0.062±0.008b	0.108±0.005d	0.084±0.005c	0.036±0.002a	0.053±0.009c	A
c4	xylose	11.807±0.015bc	0.074±0.015ab	0.096±0.007bc	0.126±0.004c	0.043±0.003a	0.103±0.01bc	A
c5	arabitol	204.62±3.432a	11.807±3.432a	26.802±34.132a	10.262±0.884a	5.971±0.341a	17.065±0.975a	A
c6	fructose	52.655±52.809bc	204.62±52.809a	283.964±28.642bc	330.347±5.674c	192.287±14.606a	240.668±17.989bc	A
c7	glucose	4.73±15.471b	52.655±15.471a	82.37±9.31b	75.697±3.35b	40.502±1.591a	53.86±5.431b	A
c8	mannitol	21.614±0.916a	4.73±0.916c	4.685±0.404c	3.134±0.146b	2.919±0.048b	5.138±0.365a	A
c9	inositol	48.886±2.868a	21.614±2.868c	20.801±1.583c	19.329±0.467c	16.047±0.189b	26.114±1.144a	A
c10	sucrose	1.014±8.416a	48.886±8.416c	32.237±0.915b	42.384±0.735c	31.239±0.441b	45.568±1.975a	A
c11	trehalose	0.041±0.238a	1.014±0.238cd	0.848±0.133c	0.602±0.035b	0.533±0.025b	1.083±0.063a	A
c12	maltose	35.564±0.02a	0.041±0.02a	0.076±0.008ab	0.122±0.005bc	0.034±0.001a	0.169±0.062a	A
Amino acids								
aa1	alanine	23.197±6.31a	35.564±6.31cd	35.674±1.465c	35.004±0.385c	26.388±0.344b	48.561±7.59a	A
aa2	valine	15.306±3.803a	23.197±3.803bc	20.522±0.674b	18.579±0.112b	13.717±0.079a	27.903±4.087a	A
aa3	leucine	10.506±1.072a	15.306±1.072b	13.221±0.469b	12.924±0.207b	8.518±0.163a	19.951±3.409a	A
aa4	isoleucine	18.715±1.23a	10.506±1.23b	9.27±0.304b	8.949±0.078b	6.135±0.088a	12.377±1.569a	A
aa5	proline	2.747±2.443a	18.715±2.443c	18.647±0.715c	17.07±0.173bc	13.931±0.284ab	27.721±3.612a	A
aa6	glycine	11.655±1.125a	2.747±1.125ab	4.383±0.543c	5.335±0.379c	4.167±1.213bc	7.136±1.048a	A
aa7	serine	7.344±1.137a	11.655±1.137b	10.625±0.216b	10.416±0.041b	9.061±0.096ab	16.249±2.085a	A
aa8	threonine	2.496±0.545a	7.344±0.545b	6.534±0.13b	6.034±0.066b	4.527±0.078a	9.855±1.361a	A

aa9	S-methylcysteine	1.938±0.17a	2.496±0.17cd	2.097±0.05bc	1.786±0.03b	1.16±0.025a	3.04±0.434a	C
aa10	aspartic acid	101.152±0.305a	1.938±0.305ab	1.847±0.027ab	2.213±0.067b	1.879±0.023ab	3.121±0.408a	A
aa11	5-oxoproline	3.739±14.96ab	101.152±14.96e	88.911±5.341c	83.729±1.949b	56.664±4.073a	110.346±12.635ab	A
aa12	lanthionine	19.987±0.183ab	3.739±0.183e	2.246±0.243c	1.641±0.133b	0.849±0.106a	2.797±0.412ab	B
aa13	ornithine	6.481±3.124a	19.987±3.124ab	17.504±1.428ab	16.237±0.741ab	23.471±0.711b	33.601±5.446a	A
aa14	glutamic acid	19.281±0.523a	6.481±0.523b	7.847±0.327bc	8.349±0.124c	6.915±0.085bc	11.547±1.436a	A
aa15	phenylalanine	11.081±0.841a	19.281±0.841c	16.431±0.278bc	15.182±0.196b	9.907±0.143a	24.299±3.068a	A
aa16	asparagine	5.442±1.944a	11.081±1.944a	14.075±1.167a	10.778±0.455a	10.973±0.436a	25.181±4.14a	A
aa17	glutamine	2.244±1.912ab	5.442±1.912a	8.953±2.677ab	6.399±1.139a	15.503±4.017bc	19.601±5.68ab	A
aa18	lysine	18.117±0.217a	2.244±0.217a	2.017±0.153a	2.112±0.09a	3.653±0.126b	4.81±0.74a	A
aa19	tyrosine	7.681±0.744a	18.117±0.744c	17.435±0.652c	17.357±0.302c	12.216±0.259b	23.84±2.73a	A
aa20	tryptophan	0.929±1.957a	7.681±1.957b	6.114±1.434b	5.342±0.15b	4.889±0.162ab	12.034±2.743a	B
Organic acids								
oa1	propanedioic acid	21.024±0.717a	0.929±0.717a	1.813±0.405b	1.415±0.257ab	0.595±0.013a	0.654±0.304a	B
oa2	propanoic acid	0.233±6.721a	21.024±6.721d	6.583±0.437b	12.313±0.338c	4.445±0.097ab	8.756±0.697a	B
oa3	lactic acid	0.289±0.183a	0.233±0.183a	0.342±0.057a	0.344±0.015a	0.399±0.14a	0.652±0.087a	A
oa4	acetic acid	0.304±0.066a	0.289±0.066a	0.285±0.018a	0.426±0.011b	0.254±0.006a	0.506±0.074a	A
oa5	pyruvic acid	0.48±0.055a	0.304±0.055d	0.158±0.015ab	0.164±0.007ab	0.211±0.02c	0.395±0.092a	A
oa6	oxalic acid	5.683±0.023c	0.48±0.023ab	0.626±0.076c	0.478±0.025ab	0.407±0.028a	0.589±0.046c	A
oa7	succinic acid	1.282±1.376a	5.683±1.376b	6.382±0.584b	6.982±0.234c	6.759±1.842b	17.657±0.519a	A
oa8	2-butenedioic acid (fumaric acid)	2.282±0.15a	1.282±0.15d	0.781±0.036b	1.327±0.012d	1.113±0.024c	2.533±0.123a	B
oa9	butanedioic acid	59.426±1.767ab	2.282±1.767c	0.349±0.034a	1.041±0.011ab	0.776±0.018ab	0.807±0.043ab	B
oa10	malic acid	3.753±8.623a	59.426±8.623c	53.038±2.53bc	54.388±0.854bc	51.405±0.761b	85.67±3.112a	A
oa11	threonic acid	3.405±0.493a	3.753±0.493a	9.79±12.26a	2.743±0.165a	1.172±0.174a	4.311±0.605a	A
oa12	aconitic acid	2.179±0.221a	3.405±0.221c	2.179±0.102b	4.232±0.323d	3.337±0.053c	5.934±0.173a	C
oa13	ribonic acid	48.154±0.259a	2.179±0.259b	2.069±0.208b	2.062±0.089b	1.875±0.103b	3.593±0.138a	C

oa14	citric acid	0.1±14.459a	48.154±14.459a	37.829±13.786a	41.737±7.661a	69.078±2.242a	59.221±44.24a	A
oa15	gluconic acid	±0.031a,b	0.1±0.031bc	0.104±0.034bc	0.068±0.007ab	0.054±0.008a	0.114±0.021a,b	A

- 1) Mean values of relative peak area to that of internal standard ± standard deviation.
- 2) Identification of the compounds was based as follows; A, mass spectrum and retention index agreed with those of W9N08 mass spectral database, the literatures and authentic standards; B, mass spectrum was identical with that of W9N08 mass spectral database, and retention index was consistent with that of the literatures; C, mass spectrum was consistent with that of W9N08 (Wiley and NIST) and manual interpretation.
- 3) Processing steps. RG: raw garlic; CR: crushed garlic; PF: primary filtering; SF: secondary filtering; UF: ultra filtration; RO: reverse osmosis.
- 4) Significant differences ($p < 0.05$) between garlic samples according to processing steps using Duncan's multiple comparison test.

마늘 추출물에서 동정된 향미성분은 총 47종으로, 당 12개, 아미노산 20개, 유기산 15가 정성되었다. 공정단계별 비휘발성 향미성분의 변화는 Fig. 47와 같다.

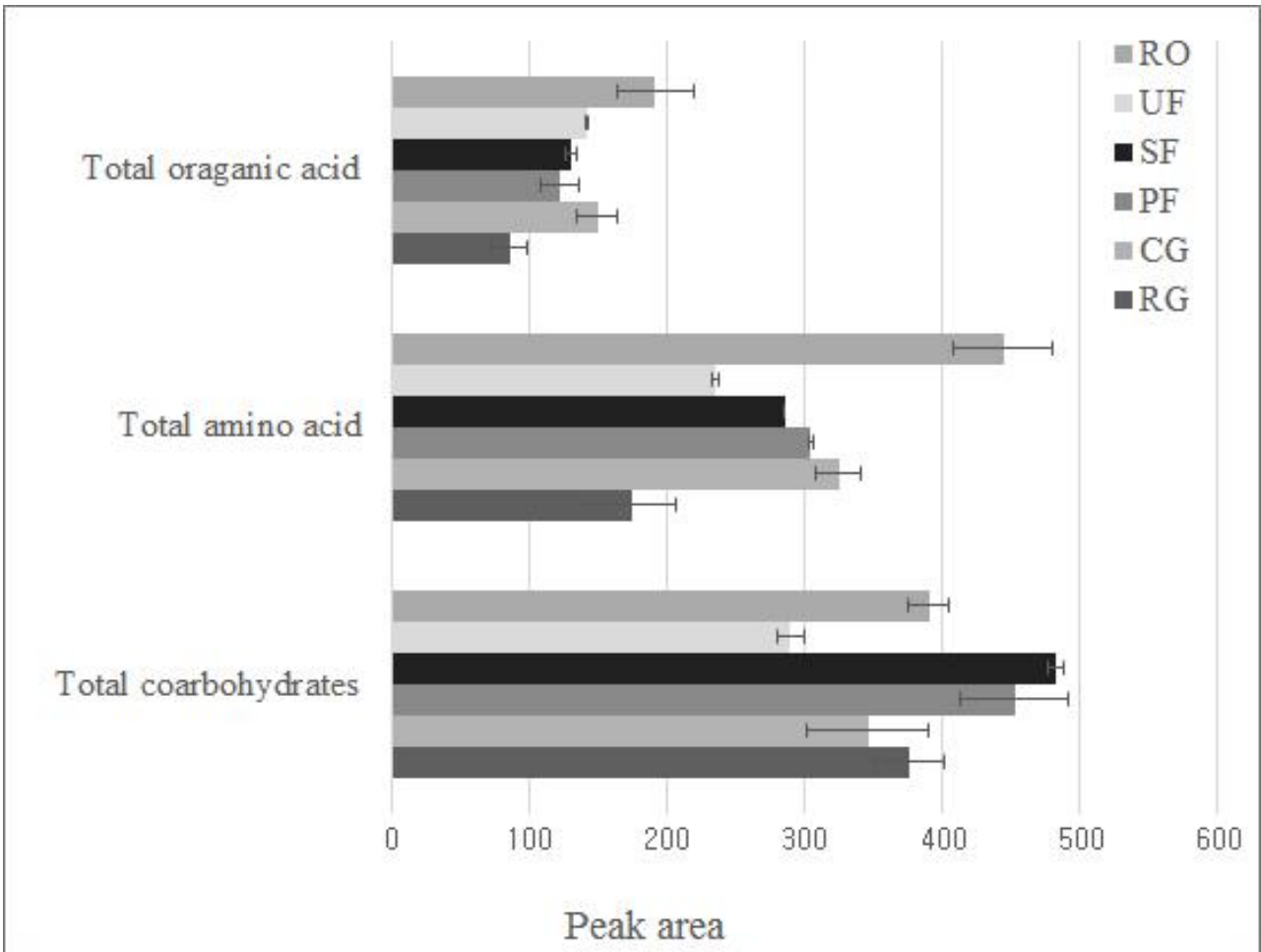


Fig. 47. Change of total non-volatile peak areas in garlic during processing (RG: raw garlic. CG: 분쇄마늘, PF: 1차 여과, SF: 2차 여과, UF: 한외여과, RO: 역삼투농축)

총 비휘발성 성분들의 함량은 당에서는 2차여과액이, 아미노산 및 유기산은 역삼투압 농축액에서 가장 높게 나타났으며, 당과 아미노산의 주요 손실은 한외여과에서, 유기산은 1차 여과에서 발생하였다. 이를 향미성분 별로 살펴보면, 당에서는 fructose 와 glucose 가 모든 시료에서 정량적으로 가장 큰 함량을 보였으며, 공정단계별 변화에서는 한외여과에서 가장 큰 손실이 일어났다. 분쇄마늘 대비 마늘 역삼투 농축액에서 대부분의 비휘발성 성분들이 유의적으로 증가하였고, 그 중 maltose, erythrose, threose 에서 가장 큰 증가를 보였다. 아미노산에서는 alanine, 5-oxoproline이 가장 큰 함량을 보였고, 당에서와 마찬가지로 한외여과에서 가장 큰 손실이 일어났다. 분쇄마늘 대비 lantionine이 유의적으로 감소하였고, glutamine, glycine, asparagine 에서 가장 큰 증가를 보였다. 유기산에서는 citric acid 와 malic acid 가 가장 큰 함량을 보였고 당, 아미노산과는 달리 1차 여과에서 가장 큰 손실이 일어났다. 분쇄마늘 대비 propanoic acid 와 butanedioic acid 가 유의적으로 감소하였고, succinic acid, lactic acid 가 가장 많이 증가하였다.

5. 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석

가. 천연발효 조미소재 시료 선정

Table 26. 시료의 종류 및 배합 성분

	육수 ST	육수 A	육수 B	육수 E	육수 F	육수 G
쌀발효효모 A	○	○	○	○	○	○
쌀발효효모 B	○			○	○	○
양파추출물	○	○	○	○	○	○
마늘추출물	○		○	○	○	
무추출물	○				○	
대파추출물	○			○		

본 실험에서는 육수풍미베이스 ST, A, B, E, F, G 시료의 휘발성 및 비휘발성 성분 분석을 진행하였다. 시료는 각 배합물들의 유무에 따른 차이를 각각 비교할 수 있도록 선택되었다. 효모 B 유무에 따른 차이는 A와 G시료를 비교하여 알 수 있고, 마늘추출물 유무에 따른 차이는 A와 B 시료, 무추출물 유무에 따른 차이는 ST와 E 시료, 대파추출물 유무에 따른 차이는 ST와 F 시료를 비교하면 알 수 있기 때문에 위와 같은 육수 6종을 선택하게 되었다 (Table 25). 6종의 육수풍미베이스와 더불어 기존 제품과의 대사체 분석 및 관능검사와의 상관관계 규명을 위해 기존에 출시되어있는 H제품의 휘발성 및 비휘발성 성분 분석도 함께 진행되었다.



Fig. 48. 실험에 사용된 육수풍미베이스 6종 (육수 ST, A, B, G, E, F)

나. 육수풍미베이스 시료 및 기존 제품의 휘발성 향미성분 분석

① 시료의 휘발성 향기성분 추출

시료의 고형분 함량에 따라 일정량의 정제수를 넣고 vortexing하여 이를 4g씩 20mL vial에 넣어 40°C에서 250 rpm으로 30분간 평형상태를 유지시켰다. 평형상태에 도달하면 SPME (Solid phase micro extraction) DVB/CAR/PDMS fiber를 주입하고 30분간 40°C에서 vial의 headspace에 노출시켜 휘발성 향기성분을 흡착시켰다. 휘발성 성분의 탈착은 GC-MS 주입구 (200°C) 에서 5분간 수행하였으며 모든 분석은 2번 반복적으로 수행하였다.

② 분석 조건

육수풍미베이스 6종의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 column은 DB-wax를 사용하였으며, 시료의 향기성분은 mass spectral data와 retention index value (RI) 를 이용하여 확인하였

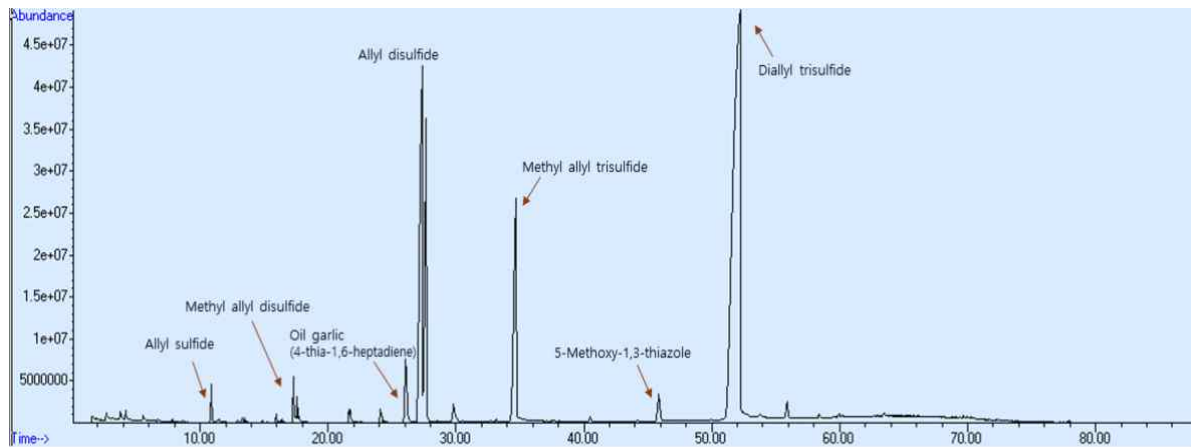
고 mass spectral data는 on-computer library에 의하여, RI는 외부표준물질로 사용된 C6~C22의 머무름 시간과 비교하여 분석하였다 (Table 26).

Table 27. GC/MS conditions

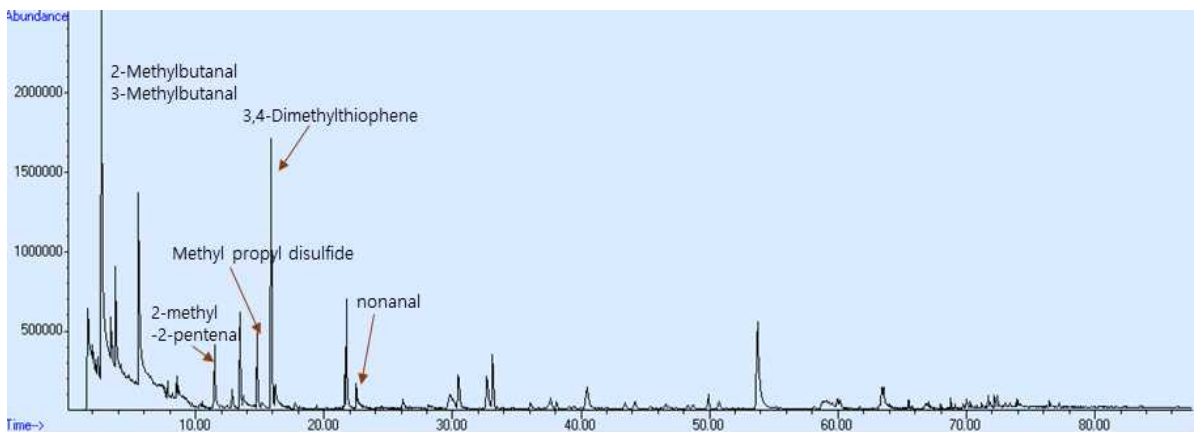
Column	DB-WAX (30m x 0.25mm x 0.25 μ m, Agilent)
Inlet temperature	200 $^{\circ}$ C
Oven temperature	40 $^{\circ}$ C (6min)->4 $^{\circ}$ C/min->60 $^{\circ}$ C (3min)->2 $^{\circ}$ C/min->130 $^{\circ}$ C->4 $^{\circ}$ C/min->160 $^{\circ}$ C->8 $^{\circ}$ C/min->200 $^{\circ}$ C (15min)
Detector temperature	250 $^{\circ}$ C
Split ratio	Splitless
Gas flow rate(He)	0.8ml/min
Mass scan range	35-350 m/z

③ 분석 결과

ST



A



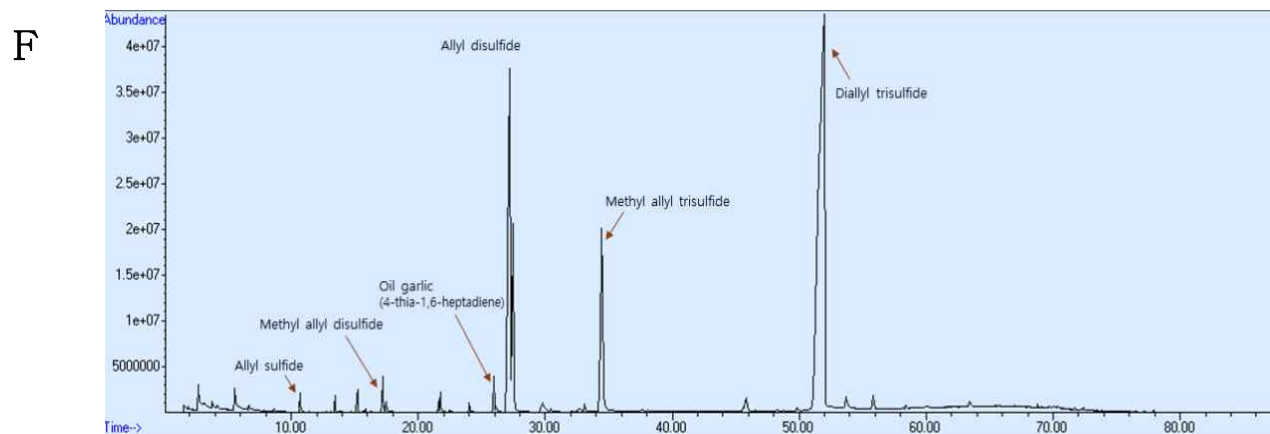
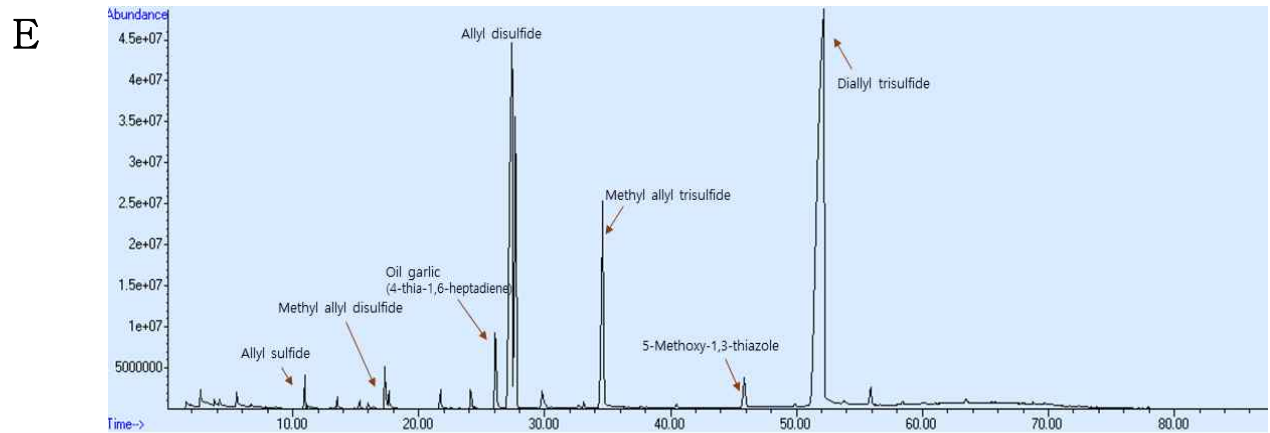
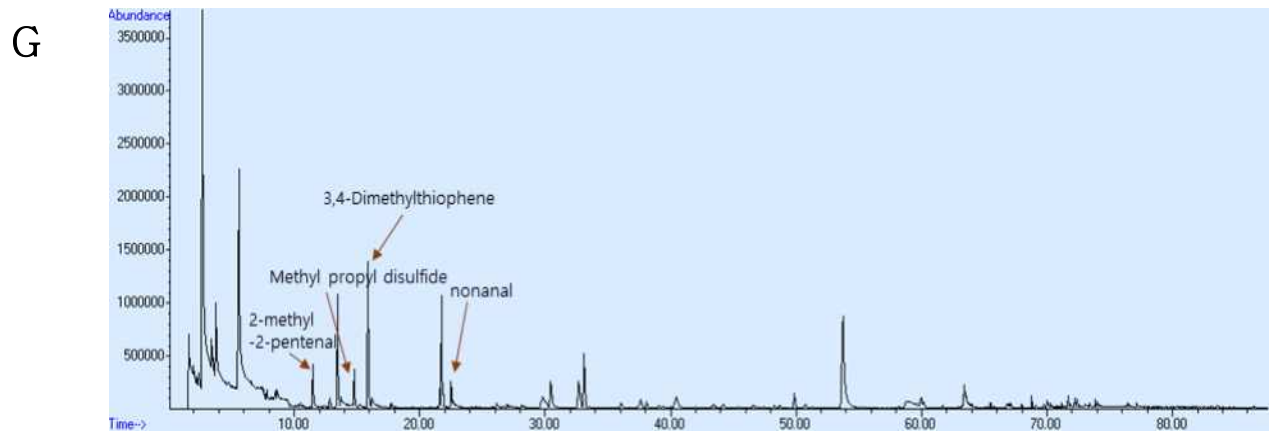
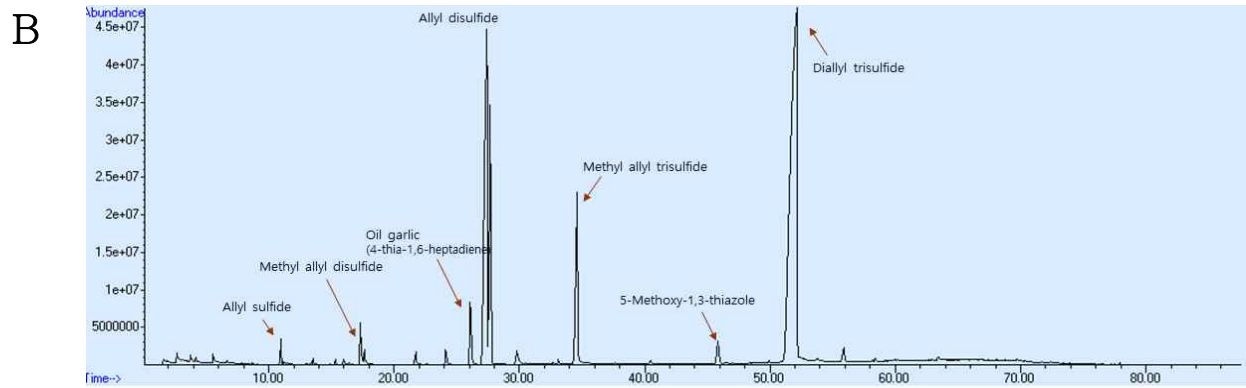


Fig. 49. SPME-GC/MS chromatograms of volatile compounds in samples (sample ST, A, B, G, E, F)

Table 28. Volatile compounds identified in samples and existing product using GC-MS(sample ST, A, B, G, E, F, H제품)

No.	RI ⁵⁾	cas #	possible volatile compounds	odor description ⁶⁾	Relative peak area(% ⁷⁾)						
					육수 ST	육수 A	육수 B	육수 G	육수 E	육수 F	H제품
Alcohols											
1	932	000064-17-5	Ethanol	strong, alcoholic, ethereal	0.002	0.068	0.002	0.054	0.002	0.002	0.389
2	1217	000470-82-6	1,8-Cineole	minty, cooling, eucalyptus	-	-	-	-	-	-	0.002
3	>1780	000106-44-5	4-Methylphenol	phenolic, minosa, animal	-	-	-	-	-	-	0.001
Aldehydes											
4	1093	004170-30-3	2-Butenal	pungent, sharp	0.001	-	0.001	-	0.001	0.001	-
5	1153	000623-36-9	2-Methyl-2-pentenal	sweet, fruity, jammy brown, with an alliaceous sharpness	0.001	0.056	-	0.034	-	-	-
6	913	000096-17-3	2-Methylbutanal	musty, cocoa, coffee, nutty	-	0.014	-	0.009	-	-	0.004
7	917	000590-86-3	3-Methylbutanal	ethereal, aldehydic, chocolate, peach, fatty	-	0.013	-	0.008	-	-	-
8	1093	000497-03-0	2-Methyl-2-Butenal	strong, green, fruit	-	-	-	0.006	-	0.001	-
9	1388	000124-19-6	Nonanal	waxy aldehydic citrus fresh green lemon peel cucumber fatty	-	-	-	0.012	-	-	-
10	1527	000100-52-7	Benzaldehyde	sweet, oily, almond, cherry, nutty, woody	0.001	-	0.002	-	0.002	0.002	0.001
S-containing compounds											
11	952	010152-76-8	Methyl allyl sulfide	onion, savory, alliaceous, sulfurous	0.001	-	0.001	-	0.001	0.001	-

12	1070	000624-92-0	Dimethyl disulfide	sulfurous, cabbage, malt, cream	0.000	0.011	-	0.006	-	-	0.049
13	1140	000592-88-1	Allyl sulfide	Sweet, pungent, garlic-horseradish like	0.016	-	0.016	-	0.010	0.012	-
14	1246	000632-15-5	3,4-Dimethylthiophene	Toluene-benzene like, fried onion	0.001	0.108	0.001	0.115	0.001	0.001	-
15	1290	002179-58-0	Methyl allyl disulfide	alliaceous, garlic, onion, green onion	0.008	-	0.009	-	0.009	0.007	0.004
16	1281	005905-47-5	Methyl-1-propenyl-disulfide	Pungent fresh leek-onion like	0.003	-	0.003	-	0.002	0.003	-
17	1370	003658-80-8	Dimethyl trisulfide	sulfurous, onion, cooked onion, meaty	0.014	-	-	-	-	0.002	0.014
18	1648	006028-61-1	Dipropyl trisulfide	sulfurous, alliaceous, onion, green, onion, garlic, tropical	0.022	-	0.027	-	0.021	0.005	-
19	1476	002179-57-9	Diallyl disulfide	garlic, alliaceous	0.175	-	0.139	-	0.122	0.116	-
20	1578	034135-85-8	Methyl allyl trisulfide	alliaceous, creamy, garlic, onion	0.098	-	0.079	-	0.085	0.094	-
21	1779	002050-87-5	Diallyl trisulfide	garlic, onion, green onion, metallic	0.569	-	0.552	-	0.565	0.590	-
22	1221	002179-60-4	Methyl propyl disulfide	sulfurous, onion, alliaceous, radish, mustard, tomato	-	0.037	-	0.032	-	-	0.001
23	1419	002179-59-1	Propyl allyl disulfide	alliaceous garlic onion green onion	0.002	-	0.004	-	0.004	0.002	-
24	1089	000554-14-3	2-Methylthiophene	Onion, pungent, sulfurous, roasted, green	-	0.011	-	0.007	-	-	-
25	1762	054644-28-9	3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane	sulfurous	-	-	-	0.003	-	-	-
Acids											
26	1455	000064-19-7	Acetic acid	pungent, sharp, sour, vinegar	-	-	-	0.004	-	-	-
27	1194	037148-64-4	Phenylacetic acid	sweet floral chocolate honey tobacco	-	-	0.005	0.148	-	-	0.099

Esters											
28	910	000141-78-6	Ethyl acetate	ethereal, fruity, sweet, grape	-	-	-	-	-	-	0.012
29	987	000097-62-1	Ethyl isobutyrate	sweet, ethereal, fruity, pungent	-	-	-	-	-	-	0.011
30	1071	007452-79-1	Ethyl 2-methylbutyrate	fruity, berry, tropical	-	-	-	-	-	-	0.007
31	1092	000123-86-4	Butyl acetate	sweet, banana, tropical	-	-	-	-	-	-	0.009
32	1251	005837-78-5	Ethyl tiglate	fruity, sweet, floral, caramelic, berry	-	-	-	-	-	-	0.002
33	1534	005405-41-4	Ethyl 3-hydroxybutanoate	fruity, grape, green, tropical	-	-	-	-	-	-	0.001
34	1569	999553-37-9	3-Hydroxymandelic acid ethyl ester	-	-	-	-	-	-	-	0.005
Miscellaneous											
35	1064	000600-14-6	2,3-Pentanedione	buttery, nutty, toasted, caramelic	-	-	-	0.004	-	-	-
36	1596	000108-29-2	γ -Valerolactone	herbal, tobacco, cocoa, woody	-	-	-	0.005	-	-	-
37	1133	000123-19-3	4-Heptanone	acetone-like	-	0.004	-	-	-	-	-
38	548	000078-79-5	2-Methyl-1,3-butadiene	gasoline-like	-	-	-	-	-	-	0.010
39	1134	000100-41-4	Ethylbenzene	gasoline-like	-	-	-	-	-	-	0.001
40	1297	000513-86-0	3-Hydroxy-2-butanone	sweet, buttery, milky, yogurt	-	-	-	-	-	-	0.027

5) Retention indices were determined using n-paraffins C₇-C₂₂ as external references.

6) Reference: "1-flavor-base 2010" software

7) Average of peak area of individual compound divided by total peak areas (%).

SPME 추출법을 이용하여 분석한 육수풍미베이스 6종 및 기존 H제품의 휘발성 향미 성분을 화합물로 분류하면 alcohol류 3개, aldehyde류 7개, sulfur 함유화합물 15개, acid류 2개, ester류 7개, 기타성분 6개로 총 40개의 성분이 동정되었다.

Alcohol류에서는 ethanol이 모든 시료에서 공통적으로 정성되었고, 1,8-cineole과 4-methylphenol의 경우 육수풍미베이스 6종에서는 검출되지 않고 기존 H제품에서만 정성되었다.

Aldehyde류에서는 pungent, sharp한 향미 특성을 갖는 2-butanal이 마늘추출물을 함유한 육수 ST, B, E, F에서 공통적으로 정성되었다. 마늘추출물이 아닌 효모 A와 양파추출물을 공통적으로 함유한 육수 A와 G에서는 musty, cocoa, coffee, nutty 한 향미 특성을 가지는 2-methylbutanal과 ethereal, aldehydic, chocolate, fatty 한 향미 특성을 가지는 3-methylbutanal이 공통적으로 정성되었다. 2-methylbutanal과 3-methylbutanal은 isoleucine과 leucine이 Maillard 반응에서 Strecker 반응의 산물로 생성되는 성분이다 (Fig. 50., Mario Estévez et. al., 2011).

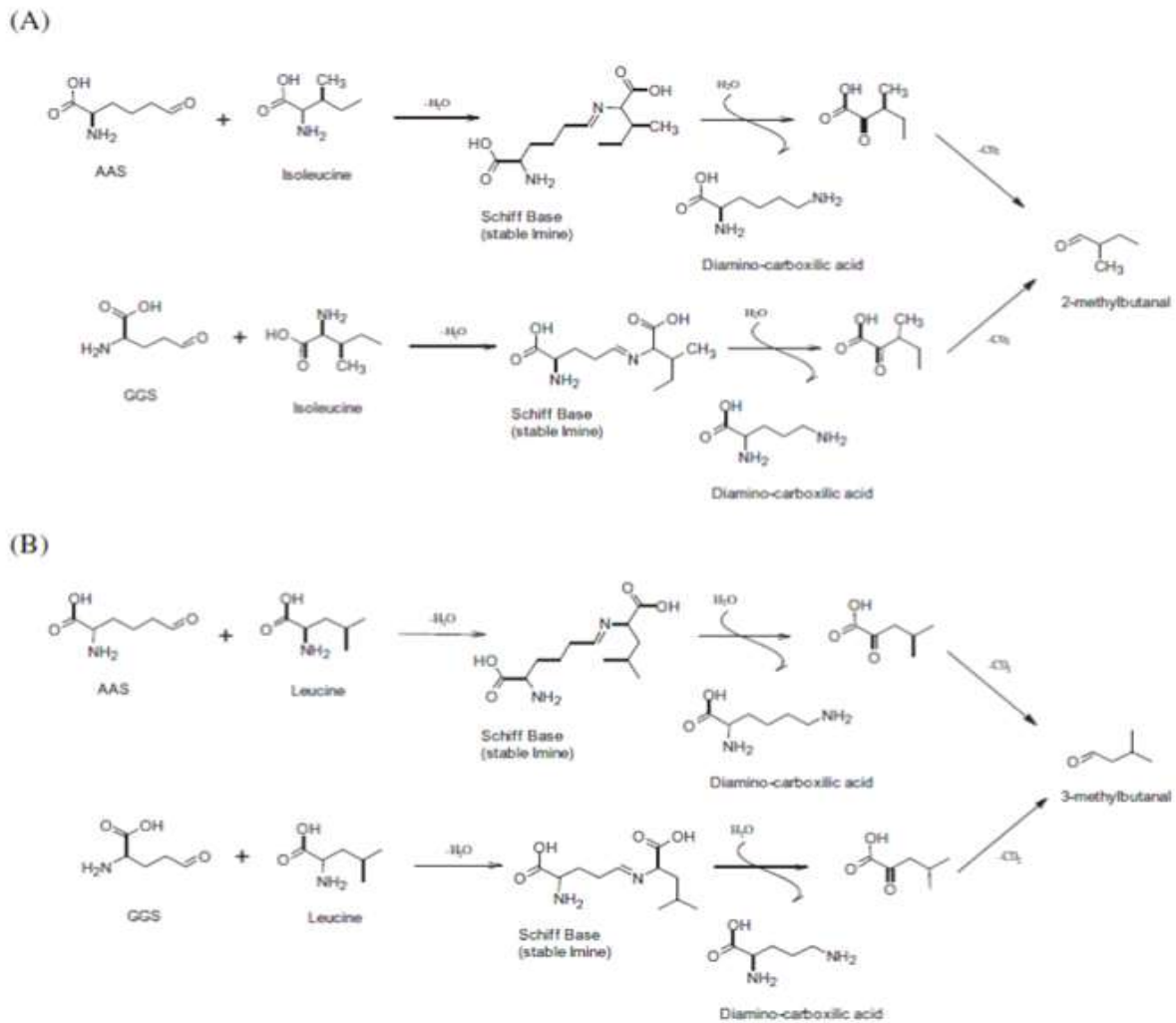


Fig. 50. Strecker reaction in (A)leucine and (B)isoleucin (Mario Estévez et al., 2011).

그 외 pungent, ethereal, aldehydic, fruity한 향미특성을 가지는 acetaldehyde와 sweet, almond, cherry, nutty 한 향미 특성을 가지는 benzaldehyde의 경우 기존 H제품에서만 정성되었다. Benzaldehyde는 bitter almond, cherry-like 특성을 지니는 성분으로 육수풍미베이스 6종과 H제품 시료 중 육수 B, E, F에서 비교적 크게 검출된 성분이다. 이는 phenylalanine의 Strecker degradation에 의해 생성되며, phenylalanine의 효소적, 비효소적 과정에 의해 얻어진 phenylalanine degradation의 부산물인 phenylacetaldehyde가 benzaldehyde로 전환될 수 있다 (Adamiec et al., 2001) (Fig. 51).

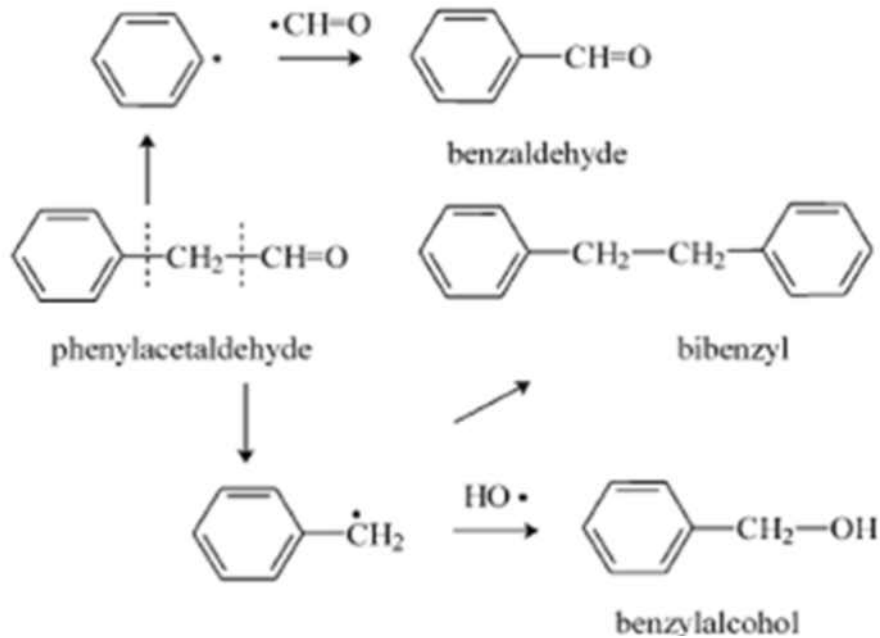


Fig. 51. Pathway leading to the formation of benzaldehyde (Adamiec et al., 2001).

황 함유 향미성분은 마늘이나 양파 등의 주요 향미성분으로 알려져 있는데, 주로 마늘 등에 함유된 allicin이 분해되어 생기는 성분이며, methionine, cysteine 등의 sulfur amino acid와 황을 함유한 peptides로부터 형성될 수 있다 (Freeman and Whenham, 1976) (Fig. 52). 시료로부터 동정된 전체 황 함유 향미성분은 15개로 총 40개로 동정된 성분의 약 38%를 차지하였다.

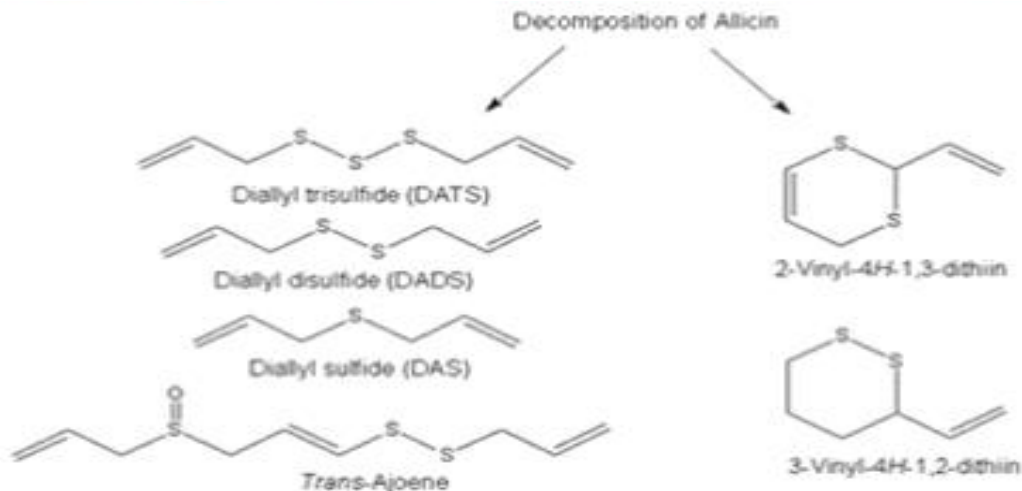


Fig. 52. Some sulfur compounds derived from the decomposition of alicin (Freeman and Whenham, 1976).

검출된 sulfide류는 methyl allyl sulfide, allyl sulfide로 총 2개가 검출되었는데 각각은 onion, savory, alliaceous, sulfurous 한 향미 특성과 sweet, pungent, garlic, horseradish-like 한 향미 특성을 갖는다.

Disulfide류는 dimethyl disulfide, methyl allyl disulfide, methyl-1-propenyl disulfide, diallyl disulfide, methyl propyl disulfide, propyl allyl disulfide로 총 6개가 검출되었다. 이 중 methyl allyl disulfide, methyl-1-propenyl-disulfide, diallyl disulfide, propyl allyl disulfide는 마늘 추출물을 함유하고 있는 육수 ST, B, E, F에서 공통적으로 모두 검출되었다. 이들은 모두 alliaceous, garlic, onion, pungent, sulfurous 한 향미 특성을 갖는 성분들이다.

Trisulfide류는 dimethyl trisulfide, methyl allyl trisulfide, diallyl trisulfide로 총 3개가 검출되었는데, 이 중 methyl allyl trisulfide와 diallyl trisulfide는 마늘 추출물을 공통적으로 함유하고 있는 육수 ST, B, E, F에서 모두 검출되었으며 이들 또한 alliaceous, garlic, onion, green onion 한 향미 특성을 갖는 성분들에 속한다.

Acid류는 acetic acid, phenylacetic acid로 총 2개가 검출되었는데, 두 성분 모두 육수 G에서 공통적으로 정성되었다. Acetic acid의 경우 pungent, sharp, sour, vinegar와 같은 향미 특성을 가지며 phenylacetic acid의 경우 sweet, chocolate, honey, floral 한 향미 특성을 갖는다.

Ester류는 모든 성분이 기존 H제품에서만 정성되었다. 그 중 ethereal, sharp, wine-brandy, grape, rum-like의 향미 특성을 가지는 ethyl acetate가 높은 함량으로 검출되었고, sweet, fruity, tropical, pungent한 향미 특성을 가지는 ethyl isobutyrate, butyl acetate, ethyl 2-methylbutyrate가 순서대로 정량적으로 높은 값을 나타냈다. Ester류는 주로 sweet, fruity, floral 한 향을 가지며, 이러한 esters는 발효하는 동안 acetyl-CoA와 alcohol을 이용하여 alcohol acetyltransferase에 의해 미생물이 합성하거나 (Feng Chen, 2003), 화학적 혹은 효소적 반응에 의해 발생하는 alcohols와 지방산의 esterification을 통해 형성된다 (D Ansorena et al., 2001).

다. 육수풍미베이스 시료의 비휘발성 향미성분 분석

① 비휘발성 당, 유기산, 지방산 및 유리아미노산 추출

육수풍미베이스 6종의 비휘발성 성분 추출을 위해 시료 1g에 methanol (J. T. Baker.) 80% 용액 10mL를 ultrasonicator (Branson)를 이용하여 상온에서 60분간 sonication 하였다. 그 후 4°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리 (UNION 32R plus)한 다음 상층액 200μL을 1.5 mL Eppendorf tube에 넣고 당을 분석하기 위한 내부표준물질 L-threitol 100ppm 10μL, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid 100ppm 20μL, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 5μL, 지방산을 분석하기 위한 내부표준물질 heptadecanoic acid 100ppm 10μL을 넣고 40°C로 설정된 centri-vap (Labconco.)에서 하루 동안 완전히 건조시켰다.

육수풍미베이스 6종의 비휘발성 성분의 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 유도체화 하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 100 μL 를 넣고 centri-vap (Labconco.)에서 30°C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA [N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco] 100 μL를 넣고 60분간 70°C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μL를 주입하였다.

② GC-TOF-MS를 이용한 비휘발성 성분 분석

유도체화 시킨 육수풍미베이스 6종의 비휘발성 성분은 Agilent 6890N gas chromatograph-time-of-flight (TOF) Pegasus III mass spectrometer (Leco)로 분석하였으며 column은 DB-5MS (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25μm film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Helium 0.8 mL/min을 유지하고 splitless mode로 설정하였으며 oven의 온도는 80°C에서 5분간 유지 후 180°C 까지 분당 10°C씩 상승시킨 다음 5분간 유지하였다. 그 후 240°C 까지 분당 8°C씩 상승시킨 다음 5분간 유지 후 280°C 까지 분당 10°C씩 상승시킨 다음 10분간 유지하였다. Injector와 transfer line의 온도는 각각 270°C, 260°C이었으며 acquisition rate는 20 spectra/sec, mass scan range는 35-350 a.m.u.로 분석하였다.

③ 비휘발성 유기산, 아미노산, 지방산 및 당류의 정성 및 정량

GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 시료들의 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여 동정하였다. 또한 비휘발성 성분들의 정량은 GC-MS total ion chromatogram 상에서 각 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 값을 사용하였다 (Table 28).

라. 기존 제품의 비휘발성 성분 분석

① 비휘발성 당, 유기산, 지방산 및 유리아미노산 추출

기존 제품으로 선정된 H제품의 비휘발성 성분 추출을 위해 시료 1g에 methanol (J. T. Baker.) 80% 용액 10mL를 ultrasonicator (Branson)를 이용하여 상온에서 60분간 sonication 하였다. 그 후 4°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리 (UNION 32R plus)한 다음 상층액 200

μL을 1.5 mL Eppendorf tube (Eppendorf)에 넣고 당을 분석하기 위한 내부표준물질 L-threitol 100ppm 10μL, 유기산을 분석하기 위한 내부표준물질 tropic acid 100ppm 20μL, 아미노산을 분석하기 위한 내부표준물질 L-norleucine 100ppm 5μL, 지방산을 분석하기 위한 내부표준물질 heptadecanoic acid 100ppm 10μL을 넣고 40°C로 설정된 centri-vap (Labconco.)에서 하루 동안 완전히 건조시켰다.

H제품 시료의 비휘발성 성분의 추출을 높여주기 위해 Patricia M. (2007)의 방법을 수정하여 유도체화 하였다. 완전히 건조된 시료에 methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL)가 첨가된 pyridine 100 μL 를 넣고 centri vap (Labconco.)에서 30°C에서 90분간 반응시켰다. 후에 BSTFA [N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide containing 1% trimethyl-chlorosilane, TMCS, Supelco] 100 μL를 넣고 60분간 70°C에서 heating한 후 상온에서 cooling하고 GC-TOF-MS에 1 μL를 주입하였다.

② GC-TOF-MS를 이용한 비휘발성 성분 분석

유도체화 시킨 기존 제품의 비휘발성 성분은 Agilent 6890N gas chromatograph-time-of-flight (TOF) Pegasus III mass spectrometer (Leco)로 분석하였으며 column은 DB-5MS (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25μm film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. Helium 0.8 mL/min을 유지하고 splitless mode로 설정하였으며 oven의 온도는 80°C에서 5분간 유지 후 180°C 까지 분당 10°C씩 상승시킨 다음 5분간 유지하였다. 그 후 240°C 까지 분당 8°C씩 상승시킨 다음 5분간 유지 후 280°C 까지 분당 10°C씩 상승시킨 다음 10분간 유지하였다. Injector 와 transfer line의 온도는 각각 270°C, 260°C이었으며 acquisition rate는 20 spectra/sec, mass scan range는 35-350 a.m.u.로 분석하였다.

① 비휘발성 유기산, 유리아미노산, 지방산 및 당류의 정성 및 정량

GC-TOF-MS 에 의해 동정 및 정량된 기존 제품의 당, 유기산, 지방산 및 유리아미노산은 Chroma TOF에 의해 deconvolution 되어 mass spectrum data를 근거로 Chroma TOF 내 main library와 wiley 9 및 standard compounds로 직접 구성한 user library를 이용하여 동정 하였다. 또한 비휘발성 성분들의 정량은 GC-MS total ion chromatogram 상에서 각 peak area 를 내부표준물질의 peak area로 나눈 값을 사용하였다 (Table 29).

Table 29. Non-volatile compounds identified in samples using GC-TOF/MS (sample ST, A, B, G, E, F)

No.	non-volatile compounds	Relative peak area (%)					
		육수 ST	육수 A	육수 B	육수 G	육수 E	육수 F
Carbohydrates							
1	arabinitol	9.05	14.94	-	9.01	4.50	6.12
2	arabitol	24.07	34.61	6.02	10.56	23.24	10.91
3	fructose	225.07	113.56	186.74	113.71	204.74	176.32
4	galactose	22.21	3.31	5.62	2.00	21.92	1.73
5	glucitol	-	-	-	12.63	1.66	10.90
6	glucose	56.48	17.43	37.72	23.37	40.78	22.17
7	hexitol	3.83	12.60	1.78	8.30	0.29	-
8	inositol	2.38	1.95	4.30	1.86	5.11	4.44
9	maltose	4.51	8.35	1.69	11.35	69.70	57.86
10	mannitol	2.71	2.57	4.27	2.83	5.54	4.09
11	mannose	2.58	4.53	0.26	74.43	60.04	6.98
12	melibiose	2.93	11.14	-	-	-	-
13	pentitol	13.13	-	1.48	0.11	1.45	0.43
14	sucrose	20.16	17.00	21.79	16.21	15.98	9.91
15	trehalose	25.35	26.10	36.61	33.30	38.10	28.64
16	turanose	25.07	-	11.24	1.78	1.95	1.93
17	xylulose	-	-	19.76	1.31	20.38	15.20
18	lyxose	-	-	0.13	-	-	-
19	arabinose	-	-	6.83	-	-	-
20	allose	-	15.40	5.48	1.95	-	0.86
21	ribitol	3.63	1.69	-	-	0.79	0.40

Amino acids							
22	alanine	201.34	63.22	134.15	66.25	77.84	51.60
23	asparagine	11.26	7.59	8.56	9.37	9.36	11.49
24	aspartic acid	22.16	2.85	0.72	5.16	5.80	29.47
25	cysteine	0.66	-	0.02	1.02	1.20	0.15
26	glutamic acid	2.01	2.79	2.98	6.43	4.60	1.08
27	glutamine	0.25	1.31	1.08	1.41	2.22	0.41
28	glycine	53.66	40.38	40.85	35.97	40.20	32.66
29	isoleucine	47.17	0.92	0.84	48.83	16.59	7.62
30	leucine	1.56	0.52	0.04	1.91	0.90	1.15
31	lysine	8.50	-	0.12	4.94	5.61	6.25
32	phenylalanine	10.31	2.20	5.61	7.27	8.03	6.67
33	proline	55.69	50.70	51.70	38.24	34.93	34.56
34	serine	27.61	13.94	15.18	18.95	18.15	18.42
35	threonine	40.31	26.54	27.02	27.08	24.79	24.82
36	tryptophan	1.01	0.35	0.03	0.40	1.80	1.52
37	tyrosine	10.71	0.16	0.23	31.71	27.68	1.70
38	valine	110.82	70.71	71.87	51.50	76.04	68.80
Fatty acids							
39	butanoic acid	111.54	88.61	121.41	101.09	100.99	116.65
40	hexadecanoic acid	3.75	3.61	2.76	7.41	4.73	7.28
41	hexanoic acid	1.71	1.27	0.90	2.14	1.98	3.69
42	octadecanoic acid	2.17	2.35	1.45	3.60	3.75	2.29
43	pentanedioic acid	0.77	0.55	0.40	0.56	0.65	0.96
44	pentanoic acid	7.65	7.35	3.82	3.43	5.69	4.23
Organic acids							
45	2-butenedioic acid	0.76	1.67	2.52	0.44	0.41	4.89

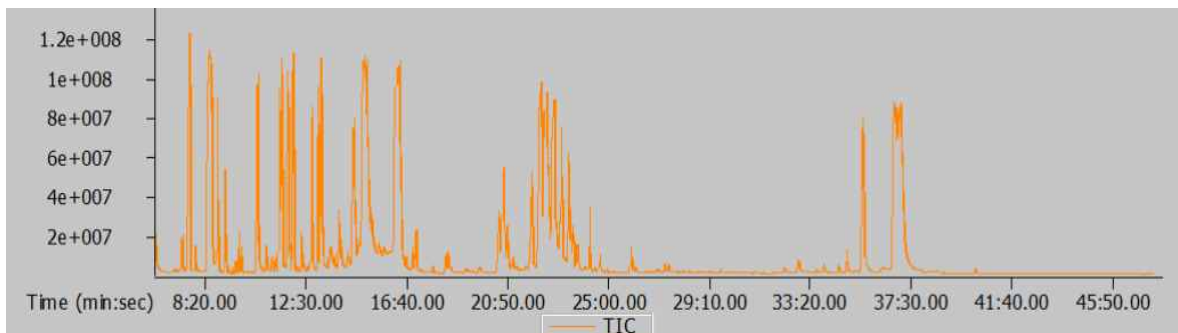
46	acetic acid	1.59	1.59	1.83	0.94	1.24	1.63
47	aconitic acid	0.07	0.13	0.45	0.05	0.08	0.72
48	butanedioic acid	0.08	0.43	6.97	0.09	0.03	0.31
49	citric acid	18.89	28.69	15.51	12.31	14.60	20.00
50	galactonic acid	-	0.10	0.26	0.05	0.02	-
51	gluconic acid	0.14	3.16	0.22	0.29	0.10	3.09
52	lactic acid	44.47	36.38	31.55	29.64	29.81	37.70
53	malic acid	25.49	31.61	21.20	10.10	10.89	4.88

Table 30. Non-volatile compounds identified in products using GC-TOF/MS

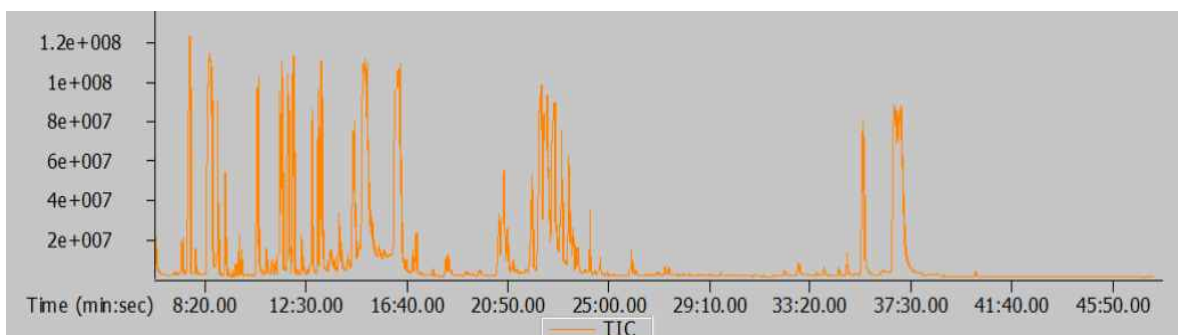
No.	Non-volatile compounds	Relative peak area (%)	
		육수 ST	H제품
Carbohydrates			
1	arabinitol	9.05	-
2	arabitol	24.07	55.41
3	fructose	225.07	44.53
4	galactose	22.21	1.73
5	glucose	56.48	4.76
6	hexitol	3.83	-
7	inositol	2.38	14.099
8	maltose	4.51	4.24
9	mannitol	2.71	0.18
10	mannose	2.58	3.51
11	melibiose	2.93	-
12	pentitol	13.13	-
13	sucrose	20.16	0.46
14	trehalose	10.37	-
15	turanose	25.07	-
16	lyxose	-	3.99
17	arabinose	-	0.38
18	allose	-	27.94
19	ribitol	3.63	0.17
20	ononitol	-	1.63
Amino acids			
21	alanine	201.34	2.10
22	asparagine	11.26	0.01
23	aspartic acid	22.16	25.38
24	cysteine	0.66	0.36
25	glutamic acid	58.72	15.56
26	glutamine	11.01	7.13
27	glycine	53.66	0.73
28	isoleucine	47.17	1.05
29	leucine	1.56	0.83
30	lysine	8.50	4.98
31	phenylalanine	10.31	0.07
32	proline	55.69	0.66
33	serine	27.61	0.09
34	threonine	40.31	14.19
35	tryptophan	1.01	0.23
36	tyrosine	10.71	9.55
37	valine	110.82	24.57

Fatty acids			
38	butanoic acid	111.54	28.11
39	hexadecanoic acid	3.75	6.79
40	hexanoic acid	1.71	-
41	octadecanoic acid	2.17	3.66
42	pentanedioic acid	0.77	1.89
43	pentanoic acid	7.65	-
44	octadecenoic acid	-	0.12
45	nonanoic acid	-	0.19
Organic acids			
46	2-butenedioic acid	0.76	0.09
47	acetic acid	1.59	0.62
48	aconitic acid	0.07	0.01
49	butanedioic acid	0.08	0.23
50	citric acid	18.89	0.04
51	galactonic acid	-	0.01
52	gluconic acid	0.14	0.02
53	lactic acid	44.47	2.52
54	malic acid	25.49	0.34

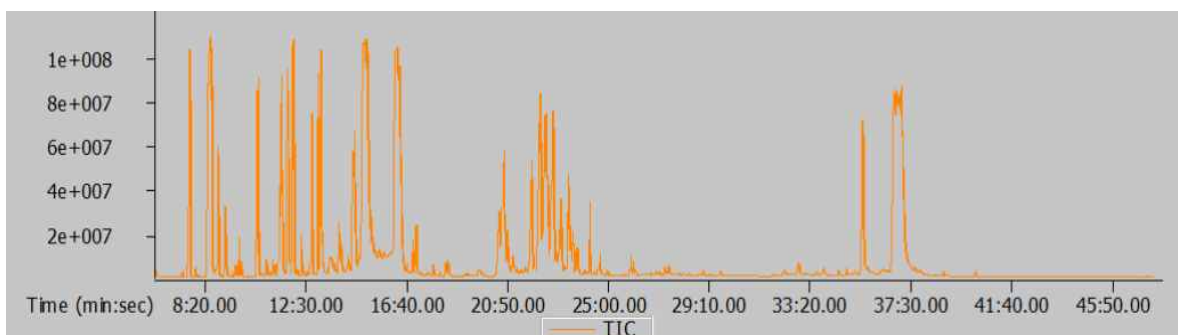
ST



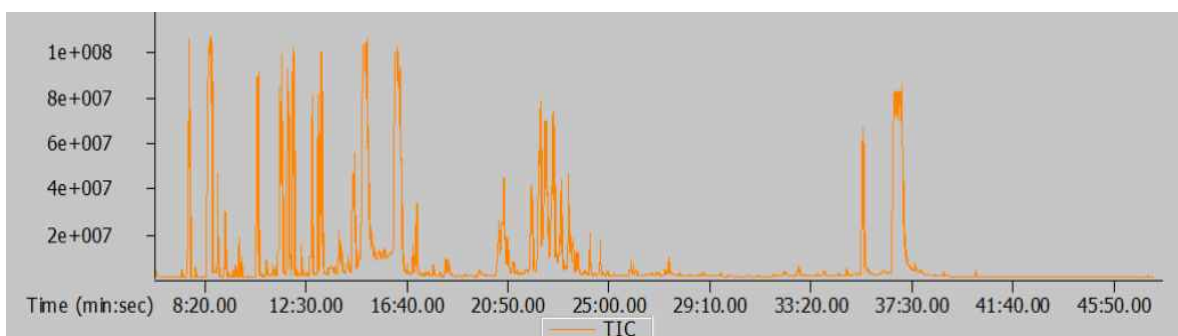
A



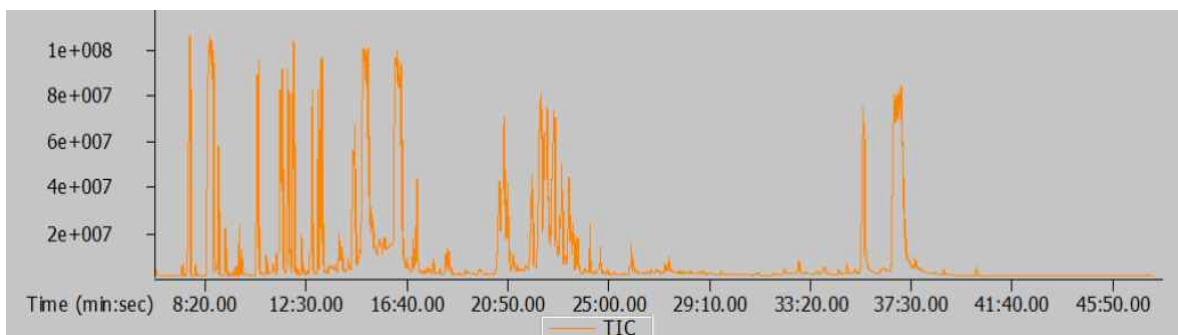
B



G



E



F

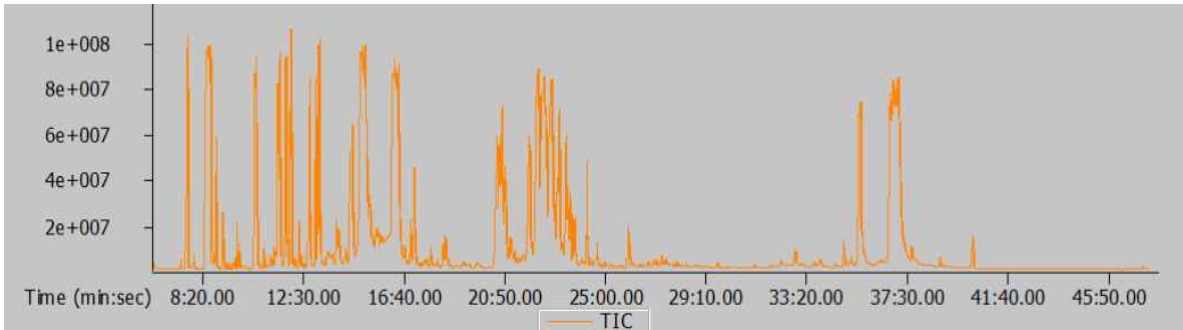
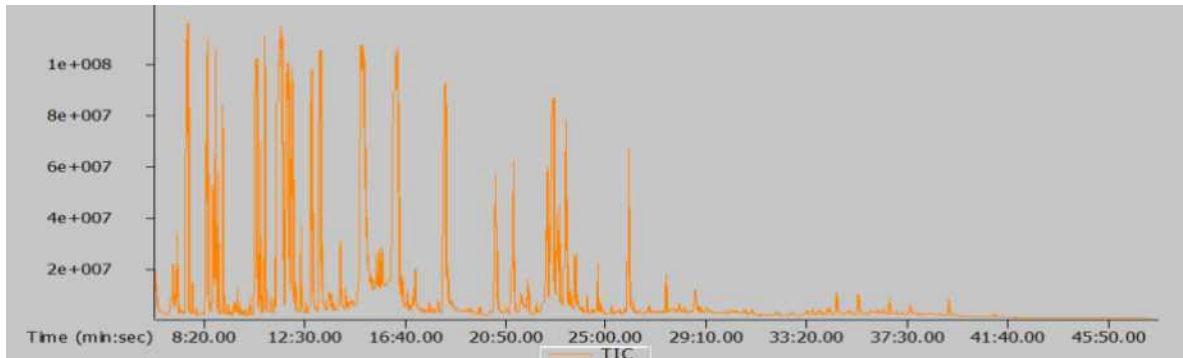
H
제품

Fig. 53. GC-TOF/MS total ion chromatograms of non-volatile compounds in samples (sample ST, A, B, G, E, F, H제품)

육수풍미베이스 6종에서 동정된 당류는 21 종류로, arabinitol, arabitol, fructose, galactose, glucitol, glucose, hexitol, inositol, maltose, mannitol, mannose, melibiose, pentitl, sucrose, trehalose, turanose, xylulose, lyxose, arabinose, allose, ribitol이 검출되었다. 이 중 glucose와 sucrose는 glutamic acid, aspartic acid와 함께 sweetness와 감칠맛 (umami taste)을 결정하는 중요한 역할을 하며 식품에서의 palatability에 영향을 미친다 (Tran et al., 2005).

육수풍미베이스 6종에서 동정된 아미노산은 17 종류로, alanine, asparagine, aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine이 검출되었다. 모든 시료에서 공통적으로 검출된 아미노산은 alanine, asparagine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine, isoleucine, leucine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine으로, 대부분의 아미노산이 모든 시료에서 공통적으로 검출되었다. Alanine은 일반적으로 피루브산의 환원적 아미노화 반응에 의해 생성되며, 알라닌 회로를 통해서 젖산과 더불어 단백질로부터 포도당을 합성하는 역할을 한다. 이는 수육, 가금류, 어류, 난류, 유제품과 같은 단백질이 포함된 식품에 풍부하게 포함되어 있다. 이러한 alanine은 육수 ST 시료에서 다른 시료들과 2배 이상의 큰 값을 나타냈다. Asparagine과 aspartic acid는 육수 ST와 F 에서 큰 값을 보였다. Isoleucine, leucine, phenylalanine, glutamic acid, glutamine은 모든 추출물을 공통적으로 함유하고 있는 육수 ST에서 가장 큰 값을 보였다. Glycine 또한 육수 ST에서 가장 큰 값을 나타냈으나 다른 시료들과 비교했을 때 약 1.5배의 차이만을 가졌다. Proline, serine, threonine, valine 또한 마찬가지로 모든 추출물을 공통적으로 함유하고 있는 육수 ST에서 큰 값을 보였다. 육수풍미베이스 6종에서 다양한 추출물의 유무에 따라 검출되는 주요 아미노산이 달랐는데, 육수 ST의 경우 alanine, glutamic acid, glutamine, glycine, lysine, phenylalanine, proline, serine, threonine,

valine과 같이 대부분의 아미노산이 상대적으로 크게 나타났다. 육수 B의 경우 alanine이, 육수 G의 경우 isoleucine, leucine, tyrosine이, 육수 E의 경우 cysteine, phenylalanine, tryptophan, tyrosine, valine이, 육수 F의 경우 asparagine, aspartic acid, lysine, tryptophan이 각각의 시료에서 주요 아미노산으로 나타났다.

지방산의 경우 6 종류로, butanoic acid, hexadecanoic acid, hexanoic acid, octadecanoic acid, pentanedioic acid, pentanoic acid가 검출되었다. 이 중 butanoic acid는 모든 시료에서 크게 나타났다.

유기산의 경우 9 종류로, 2-butenedioic acid, acetic acid, aconitic acid, butanedioic acid, citric acid, galactonic acid, gluconic acid, lactic acid, malic acid가 검출되었다. 모든 시료에서 공통적으로 검출된 유기산은 acetic acid, citric acid, malic acid, propanoic acid, threonic acid였다. 이 중 citric acid의 경우 강한 신맛을 부여하는 성분에 해당한다. Lactic acid 또한 신맛에 기여하는 성분으로 주로 발효 중당이 분해되어 생성된다. Malic acid는 과일 등의 신맛에 관여하는 성분으로, 당류와 함께 있을 때 독특한 신맛과 단맛을 낸다. Lactic acid와 malic acid는 모든 추출물을 공통적으로 함유하고 있는 육수 ST에서 가장 크게 나타났다 (표 28).

육수 ST와 기존 H제품을 비교한 표를 보면 (표 29), 당의 경우 20 종류로, arabinitol, arabitol, fructose, galactose, glucose, hexitol, inositol, maltose, mannitol, mannose, melibiose, pentitol, sucrose, trehalose, turanose, lyxose, arabinose, allose, ribitol, ononitol이 검출되었다. 이 중 arabinitol, hexitol, melibiose, pentitol, trehalose, turanose, ribitol의 경우 육수 ST에서만 검출되었다. 반대로 기존 제품에서만 검출된 성분으로는 lyxose, arabinose, allose, ononitol이 있다. 육수 ST와 기존 제품에서 공통적으로 검출된 성분 중 fructose의 경우 육수 ST에서 약 5배 더 높은 값을 나타냈고, galactose의 경우 약 20배 더 높은 값을 나타냈다. Glucose, fructose, sucrose, ribitol, galactose는 육수 ST에서 확연히 높은 값을 보인 성분들이고, arabitol, inositol은 기존 제품에서 확연히 높은 값을 보인 성분들에 해당한다.

아미노산의 경우 17 종류로, alanine, asparagine, aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine이 검출되었다. 검출된 모든 아미노산은 육수 ST와 기존 제품에서 공통적으로 나타났다. Alanine, asparagine, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine, 즉 aspartic acid를 제외한 모든 아미노산이 육수 ST에서 높은 값을 보였다.

지방산의 경우 8 종류로, butanoic acid, hexadecanoic acid, hexanoic acid, octadecanoic acid, pentanedioic acid, pentanoic acid, octadecenoic acid, nonanoic acid가 검출되었다. 이 중 butanoic acid는 육수 ST에서 약 5배 큰 값을 보였다.

유기산의 경우 9 종류로, 2-butenedioic acid, acetic acid, aconitic acid, butanedioic acid, citric acid, galactonic acid, gluconic acid, lactic acid, malic acid가 검출되었다. 모든 시료에서 공통적으로 검출된 유기산은 galactonic acid를 제외한 2-butenedioic acid, acetic acid, aconitic acid, butanedioic acid, citric acid, gluconic acid, lactic acid, malic acid였다. 이 중 citric acid의 경우 강한 신맛을 부여하는 성분에 해당한다. Lactic acid 또한 신맛에 기여하는 성분으로 주로 발효 중당이 분해되어 생성된다. Malic acid는 과일 등의 신맛에 관여하는 성분으로, 당류와 함께 있을 때 독특한 신맛과 단맛을 낸다. Citric acid, lactic acid, malic acid는 모든 추출물을 공통적으로 함유하고 있는 육수 ST에서 상대적으로 크게 나타났다 (표 29).

6. 묘사분석을 통한 천연발효 조미소재의 향미특성의 변화 및 특성 강도의 변화 측정

가. 옥수풍미베이스 시료

① 천연발효 조미소재 시료 선정

본 연구에 사용된 소재는 선택식품에서 연구개발 중인 옥수 풍미 베이스 시료 (ST, A, B, E, F, G 시료)를 제공받아 사용하였다. 시료 8개 중 6개를 선택하여 실험을 진행했는데, 모든 시료에는 쌀발효 효모A와 양파추출물이 함유되어 있었다. 쌀발효효모 B, 마늘추출물, 무추출물, 대파추출물의 첨가에 따른 차이를 분석하기 위해 해당 시료들을 선택하였다. 각 시료의 구성성분은 아래와 같다 (Table 30).

Table 31. 옥수 풍미 베이스 시료 6종의 구성

	옥수 ST	옥수 A	옥수 B	옥수 E	옥수 F	옥수 G
쌀발효효모 A	○	○	○	○	○	○
쌀발효효모 B	○			○	○	○
양파추출물	○	○	○	○	○	○
마늘추출물	○		○	○	○	
무추출물	○				○	
대파추출물	○			○		

② 묘사분석을 이용한 발효조미소재의 감각적 특성 검사

㉠ 패널 선정

옥수 풍미 베이스 시료의 감각적 특성 평가를 위하여 이화여자대학교 공과대학 식품공학과 대학원생 7명을 후보로 패널 선정 검사를 실시하였다. 패널 선정 검사는 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 감칠맛의 기본 맛 구별 능력을 검사하였다. 단맛 (1.5% Sucrose), 짠맛 (0.2% Sodium chloride), 쓴맛 (0.05% Caffeine), 신맛 (0.05% Citric acid), 감칠맛 (0.15% L-glutamic acid monosodium salt hydrate) 수용액 및 정수 (무미)로 구성된 시료에 3자리 난수를 부여하여 패널들에게 제공하였다. 삼점검사에서는 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛 및 감칠맛 수용액을 각각 원래의 농도와 절반 농도로 제조한 시료 5종류의 세트가 패널들에게 제시되었다 (Table 31). 기본 맛 인식검사와 삼점검사 결과, 평균 정답률이 60% 이상이며 지속적으로 평가에 참여할 의지가 있는 신규패널 7명이 선발되었다. 연령이 만 22세 부터 만 26세인 총 7명의 패널이 선정되었다 (Table 32).

Table 32. The information on samples used in triangle test for panelist selection

Taste attributes	Samples
Sweet	0.75% and 1.5% Sucrose (Sigma-aldrich, St.Louis, Mo, USA) solution
Salty	0.1% and 0.2% Sodium chloride (Sigma-aldrich) solution
Bitter	0.025% and 0.05% Caffeine (Sigma-aldrich) solution
Sour	0.025% and 0.05% Citric acid (Sigma-aldrich) solution
Umami	0.075% and 0.15% L-glutamic acid monosodium salt hydrate (Sigma-aldrich) solution
Water	퓨어 라이프 (Nestle, Pocheon, Gyeonggi-do, Korea)

Table 33. 패널선정 결과

패널명	기본맛 인식검사 정답률 (%)	삼점검사 정답률 (%)	패널선발여부
KDM	100	80	○
LSY	67	60	○
YJH	67	100	○
LJI	100	60	○
PYK	83	80	○
JEJ	100	60	○
KSY	67	80	○

㉔ 패널 훈련

선발된 패널들에게 본 실험에서 평가할 시료를 제시하여 묘사적 표현을 도출하였다 (Fig. 54). 육수풍미베이스 6개 제품에 대해 패널들 간에 토의를 한 결과 간장향, 생양파향, 생마늘향, 소고기육수향, 짠맛, 감칠맛, 신맛, 쓴맛, 단맛, 간장향미, 생마늘향미, 삶은마늘향미, 삶은대파향미, 삶은양파향미, 삶은감자향미, 삶은버섯향미, 삶은무향미, 닭고기육수향미, 소고기육수향미로 총 19개의 감각적 특성 묘사용어가 개발되었다. 이때, 각 용어에 대해 표준시료를 제시하여 각 용어의 정의와 표준시료 정의를 정하였다 (Table 33). 묘사용어를 확정된 뒤, 패널들이 시료 및 평가방법에 익숙해지고 재현성 있는 결과를 보일 때까지 강도평가 훈련을 진행하였다. 강도평가 훈련은 총 7주에 걸쳐 진행되었으며 주 2회, 1시간 씩 총 14번 진행되었다.



Fig. 54. 패널 훈련 과정

Table 34. 묘사용어 및 표준시료 정의

감각특성	정의	표준시료
간장향	국간장의 향	4% 국간장 희석액
생양파향	생양파의 향	양파
생마늘향	생마늘의 향	다진 마늘
소고기육수향	소고기육수의 향	소고기 양지머리 200g, 물 500g에 20분 삶아낸 육수
단맛	Sucrose의 단맛	2% Sucrose 희석액
짠맛	Sodium chloride의 짠맛	0.5% NaCl 희석액
감칠맛	MSG의 감칠맛	0.3% MSG 희석액
쓴맛	Caffeine의 쓴맛	0.03% Caffeine 희석액
신맛	Citric acid의 신맛	0.03% Citric acid 희석액
간장향미	국간장의 향미	4% 국간장 희석액
삶은버섯향미	삶은 표고버섯의 향미	끓는 물에 2분 삶은 표고버섯
삶은무향미	삶은무의 향미	끓는 물에 20분 삶은 무
닭고기육수향미	닭고기 육수의 향미	닭가슴살 200g, 물 500g에 20분 삶아낸 육수
소고기육수향미	소고기 육수의 향미	소고기 양지머리 200g, 물 500g에 20분 삶아낸 육수
삶은감자향미	삶은감자의 향미	끓는 물에 20분 삶은 감자
생마늘향미	생마늘의 향미	다진 마늘
삶은마늘향미	삶은마늘의 향미	끓는 물에 5분 삶은 마늘
삶은대파향미	삶은대파의 향미	끓는 물에 3분 삶은 대파
삶은양파향미	삶은양파의 향미	끓는 물에 5분 삶은 양파

㉔ 시료 준비 및 제시

시료는 수령 후 냉동보관 (-10℃)하였으며 실험 하루 전에 샘플링하여 냉장보관 (4℃)한 뒤, 실험 1시간 전에 실온 보관하였다. 시료는 생수에 5% 농도로 희석하여 무향, 흰색의 지름 7 cm의 플라스틱 용기에 20ml씩 넣어 제시하였다. 평가 시 냄새가 나지 않는 일회용 스포이드를 함께 제시하였다. 모든 시료는 세자리 난수로 표기하여 임의의 순서로 제시했고 평가 시 한 번에 맛보는 시료 양은 0.75ml로 정하였다.

㉕ 평가 내용 및 절차

육수풍미베이스 시료의 감각적 특성은 정량적 묘사분석 (Quantitative descriptive analysis, QDA) 방법으로 평가하였다. 한 시료의 모든 감각적 특성을 평가한 후 다음 시료를 평가하는 monadic 절차를 사용하였다. 한 시료의 평가가 끝난 후에는 정수로 입을 한번 헹군 후, 다음 시료를 평가하도록 하였다. 평가 척도는 15점 항목척도를 사용하였다. 0점에서 15점으로 갈수록 강도가 강해짐을 나타내었고 특성이 없는 경우에는 0점으로 표시하도록 하였다. 패널은 느껴지는 각 특성의 강도를 주어진 척도 상에 표시하였다. 패널은 뚜껑을 닫은 용기에 제공된 시료를 먼저 뚜껑을 반만 열고 향 특성을 평가 한 후, 맛 특성을 평가한 뒤에 마지막으로 향미특성을 평가하였다. 패널에게는 평가 1시간 전부터 물 이외의 음료나 자극적인 음식물 섭취를 피하도록 지도하였으며 향이 강한 화장품의 사용을 금하도록 하였다. 검사 시 패널에게 제시한 평가지는 Fig. 55에 나타냈다.

평가 시작 전에, 먼저 물로 입행감을 해주십시오.

제시된 시료의 시료번호를 확인하신 후 맛을 보고 감각 특성의 강도를 평가해주십시오.

각 시료를 평가한 후에는 준비된 물로 충분히 입행감을 하여 주십시오.

평가 후에는 누락된 곳이나 중복된 곳이 없는지 확인해 주십시오.

[향]

1. 간장 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

2. 생양파 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

3. 생마늘 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

4. 소고기 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

Fig. 55. 육수풍미베이스의 묘사분석 평가지

㉔ 통계분석

시료에 따른 감각적 특성 차이가 있는지 알아보기 위하여 분산분석을 수행하였다. 그 결과, 시료 간 유의적 차이가 있는 특성에 대해 사후분석으로 Duncan's multiple range test ($\alpha=0.05$)를 수행하였다.

③ 묘사분석 실험 결과 및 분석

육수풍미베이스 6종의 향 특성별 분산분석 결과 (Table 34), 개발된 총 4가지 감각특성 모두 시료 간 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다 ($p<0.05$). 간장향 (Soysauce O)의 경우, G와 A시료에서 각각 11.19, 11.00으로 가장 강하게 나타났으며, ST, B, F, E시료는 동일 집단군으로 약하게 나타났다. 생양파향 (Onion O)은 F, E, ST, B 시료가 동일 집단군으로 강한 것으로 나타났고 G와 A시료는 각각 2.14, 1.76으로 가장 약한 것으로 나타났다. 생마늘향 (Garlic O)의 경우 F, ST, E, B 시료가 동일 집단군으로 강한 것으로 나타났고 G, A 시료가 가장 약하게 나타났다. 소고기육수향 (Beefsoup O)은 G, A 시료에서 가장 강하게 나타났으며 ST, B, F, E 시료에서 동일 집단군으로 약하게 나타났다. 육수풍미베이스 6종의 맛 특성별 분산분석 결과, 개발된 5가지 감각특성 중 단맛에 대해서만 시료 간 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다 ($p<0.05$). 단맛 (Sweet)은 A, G 시료에서 가장 강하게 나타났으며 ST, B, F, E 시료에서 동일 집단군으로 약하게 나타났다. 나머지 짠맛 (Salty), 감칠맛 (Umami), 쓴맛 (Bitter), 신맛 (Sour)은 시료 간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 육수풍미베이스 6종의 향미 특성별 분산분석 결과, 개발된 총 10가지 감각특성 중 닭고기육수향미 (Chicken_soup F)를 제외한 나머지 특성들은 시료 간 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다 ($p<0.05$). 간장향미 (Soysauce F), 삶은버섯향미 (B_mushroom F), 삶은무향미 (B_radish F), 소고기육수향미 (Beefsoup F), 삶은감자향미 (B_potato F)는 A, G 시료에서 가장 강하게 나타났고, ST, B, E, F 시료에서 동일 집단군으로 약하게 나타났다. 반면 생마늘향미 (Garlic F), 삶은마늘향미 (B_garlic F), 삶은대파향미 (B_green onion F), 삶은양파향미 (B_onion F)는 ST, B, E, F 시료에서 동일 집단군으로 가장 강하게 나타났고 A, G 시료에서 가장 약하게 나타났다.

마늘추출물이 포함되지 않은 A, G 시료가 비슷한 특성을 보였고, 마늘추출물이 포함된 ST, B, E, F 시료끼리 유사한 양상을 나타냈다. 즉, 마늘추출물이 시료의 주요향미성분을 결정하는데에 주요한 역할을 한 것을 알 수 있었다. 특히 A와 B 시료를 비교했을 때, 대부분의 향/향미 특성에서 극명한 차이를 나타냈다. 두 시료의 구성성분의 차이점은 마늘추출물의 유무가 유일하다. A 시료는 B 시료에 비해 간장향/향미, 소고기육수 향/향미가 높게 나타났고, B 시료에서는 생양파향, 생마늘향/향미, 삶은마늘향미, 삶은대파향미, 삶은양파향미가 높게 나타났다.

효모B 첨가에 따른 차이는 A와 G 시료의 비교를 통해 알 수 있었는데, 향이나 향미 특성에는 유의적인 변화가 없었고 맛 특성 중 짠맛과 신맛이 증가하는 경향을 보였다.

무 추출물에 따른 차이는 E와 ST 시료의 비교를 통해 알 수 있었는데, 무 추출물이 함유된 ST 시료에서 삶은무향미가 높게 나타났다.

Table 35. Mean intensity score^{1),2)} of sensory attributes of 육수풍미베이스

감각특성	ST	A	B	E	F	G
Soysauce O	3.52 ^a	11.00 ^b	3.24 ^a	2.81 ^a	3.10 ^a	11.19 ^b
Onion O	9.76 ^b	1.76 ^a	9.05 ^b	9.86 ^b	10.14 ^b	2.14 ^a
Garlic O	10.19 ^b	1.57 ^a	9.52 ^b	9.95 ^b	10.29 ^b	1.86 ^a
Beefsoup O	2.95 ^a	10.95 ^b	2.76 ^a	2.38 ^a	2.62 ^a	11.10 ^b
Sweet	5.71 ^a	8.71 ^b	5.24 ^a	5.90 ^a	6.33 ^a	8.76 ^b
Salty	4.90 ^b	3.95 ^a	4.24 ^{ab}	4.62 ^{ab}	5.10 ^b	4.76 ^{ab}
Umami	5.76 ^a	5.67 ^a	5.67 ^a	5.43 ^a	6.38 ^a	6.10 ^a
Bitter	1.52 ^a	1.33 ^a	1.57 ^a	1.43 ^a	1.62 ^a	1.67 ^a
Sour	2.00 ^{ab}	1.62 ^a	1.95 ^{ab}	2.24 ^b	1.95 ^{ab}	1.86 ^{ab}
Soysauce F	3.95 ^a	11.10 ^b	3.90 ^a	3.62 ^a	3.71 ^a	11.05 ^b
B_mushroom F	3.05 ^a	7.00 ^b	3.00 ^a	2.76 ^a	3.10 ^a	7.14 ^b
B_radish F	4.52 ^{ab}	5.14 ^{bc}	3.67 ^a	3.62 ^a	4.24 ^{ab}	5.95 ^c
Chicken_soup F	5.62 ^a	4.57 ^a	5.62 ^a	4.86 ^a	5.62 ^a	4.67 ^a
Beefsoup F	3.00 ^a	10.48 ^b	2.48 ^a	2.52 ^a	3.10 ^a	10.19 ^b
B_potato F	2.76 ^a	8.95 ^b	2.67 ^a	3.05 ^a	3.14 ^a	8.76 ^b
Garlic F	8.76 ^b	1.71 ^a	8.71 ^b	9.05 ^b	8.52 ^b	1.67 ^a
B_garlic F	9.43 ^b	2.43 ^a	9.38 ^b	10.00 ^b	9.52 ^b	2.52 ^a
B_green onion F	8.24 ^b	1.86 ^a	8.33 ^b	8.62 ^b	8.19 ^b	2.05 ^a
B_onion F	9.00 ^b	2.38 ^a	9.00 ^b	9.48 ^b	8.81 ^b	2.57 ^a

1) Values within a row sharing a letter are significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test)

2) 15 point category scale (0=none, 15=strong)

나. 기존제품과 육수풍미베이스 ST

① 시료 선정

샘표식품에서 제공받은 육수풍미베이스 ST (이하 ST)와 기존 H제품 총 2가지 시료를 선정하였다. ST 시료는 효모A, 효모B, 양파추출물, 마늘추출물, 무추출물, 대파추출물로 구성되었다.

② 패널선정 및 훈련

앞서 진행한 육수풍미베이스 6종의 묘사분석 실험과 동일한 패널 7명이 참여하였다. 선발된 패널들에게 본 실험에서 평가할 시료를 제시하여 묘사적 표현을 도출하였다. 2개의 시료에 대해 패널들 간에 토의를 한 결과 간장향, 생양파향, 삶은양파향, 생마늘향, 삶은마늘향, 삶은대파향, 소고기육수향, 짠맛, 감칠맛, 신맛, 쓴맛, 단맛, 간장향미, 삶은양파향미, 삶은마늘향미, 삶은무향미, 삶은대파향미, 소고기육수향미, 삶은감자향미로 총 19개의 감각적 특성 묘사용어가 개발되었다. 이때, 각 용어에 대해 표준시료를 제시하여 각 용어의 정의와 표준시료 정의를 정하였다 (Table 36). 묘사용어를 확정된 뒤, 패널들이 시료 및 평가방법에 익숙해지고 재현성

있는 결과를 보일 때까지 강도평가 훈련을 진행하였다. 강도평가 훈련은 총 7주에 걸쳐 진행되었으며 주 2회, 1시간 씩 총 14번 진행되었다.

Table 36. 묘사용어 및 표준시료 정의

감각특성	정의	표준시료
간장향	국간장의 향	4% 국간장 희석액
생양파향	생양파의 향	얇게 썬 생양파
삶은양파향	삶은양파의 향	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 양파
생마늘향	생마늘의 향	얇게 썬 생마늘
삶은마늘향	삶은마늘의 향	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 마늘
삶은대파향	삶은대파의 향	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 대파
소고기육수향	소고기육수의 향	소고기 양지머리200g, 물500g에 20분 삶아낸 육수
단맛	Sucrose의 단맛	2% Sucrose 희석액
짠맛	Sodium chloride의 짠맛	0.5% NaCl 희석액
감칠맛	MSG의 감칠맛	0.3% MSG 희석액
쓴맛	Caffeine의 쓴맛	0.03% Caffeine 희석액
신맛	Citric acid의 신맛	0.03% Citric acid 희석액
간장향미	국간장의 향미	4% 국간장 희석액
삶은양파향미	삶은양파의 향미	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 양파
삶은마늘향미	삶은마늘의 향미	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 마늘
삶은무향미	삶은무의 향미	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 무
삶은대파향미	삶은대파의 향미	소고기 양지머리 육수에 20분 삶은 대파
소고기육수향미	소고기 육수의 향미	소고기 양지머리200g, 물500g에 20분 삶아낸 육수
삶은감자향미	삶은감자의 향미	끓는 물에 20분 삶은 감자

③ 시료 준비 및 제시

시료는 수령 후 냉동보관 (-10℃)하였으며 실험 하루 전에 샘플링하여 냉장보관 (4℃)한 뒤, 실험 1시간 전에 실온 보관하였다. 시료는 미리 제조한 소고기육수에 4% 농도로 희석하여 무향, 흰색의 지름 7 cm의 플라스틱 용기에 20ml씩 넣어 제시하였다. 두 시료 간 염도를 동일하게 하기위해 ST시료에 일정 비율의 NaCl을 첨가하였다 (Table 36). 평가 시 냄새가 나지 않는 일회용 스포이드를 함께 제시하였다. 소고기육수는 샘플식품으로부터 받은 레시피대로 제조하였다 (Table 37). 모든 시료는 세자리 난수로 표기하여 임의의 순서로 제시했고 평가 시 한 번에 맛보는 시료 양은 1.0ml로 정하였다.

Table 37. 시료 회석 비율

관능테스트 (w/w, %)	Sample 1	Sample 2
소고기 육수	96	96
H제품	4	
ST		3.5
NaCl		0.5

Table 38. 소고기 육수^{1,2)} 제조 레시피

원료명	제조량 (g)
한우 양지 (생)	300
간마늘	17
간대파	135
통후추	1
양파	45
물 (시작시 2700)	1650
합계	2148
조리후 무게	1500
조리방법	1. 쇠고기 양지는 길이를 4cm, 두께1cm로 썰어 30분간 찬물에 담가 핏물을 빼서 물기를 따라내고 그릇에 담아둔다. 2. 끓는물 2700g에 물을 300g만 덜어서 1번에 넣어 저은 뒤 불순물을 따라 버린다. 남은 2400g에 고기를 넣고 떠오르는 불순물을 지속적으로 제거한다. 20분 동안 끓인다. 3. 20분 후에 간 마늘, 간 통 대파, 간 양파를 각각 2등분하여 망에 넣어 15분간 증발에서 끓인다. 이때, 육수 색깔이 탁해지지 않도록 한다. 4. 채소를 건져내고 남은 육수를 거름망에 거르고 식혀 사용한다.

1) 소제 성능과약을 위한 간이 테스트 육수

2) Bouillon (부용, 고기나 채소를 끓여서 만든 육수로서 맑은 스프나 소스). 국물이 필요한 요리에 물 대신 깊고 풍부한 맛을 낼 수 있도록 함. Stock, broth와 비슷함.

④ 평가 내용 및 절차

ST와 H제품의 감각적 특성은 정량적 묘사분석 (Quantitative descriptive analysis, QDA) 방법으로 평가하였다. 한 시료의 모든 감각적 특성을 평가한 후 다음 시료를 평가하는 monadic 절차를 사용하였다. 한 시료의 평가가 끝난 후에는 정수로 입을 한번 헹군 후, 다음 시료를 평가하도록 하였다. 평가 척도는 15점 항목척도를 사용하였다. 0점에서 15점으로 갈수록 강도가 강해짐을 나타내었고 특성이 없는 경우에는 0점으로 표시하도록 하였다. 패널은 느껴지는 각 특성의 강도를 주어진 척도 상에 표시하였다. 패널은 뚜껑을 닫은 용기에 제공된 시료를 먼저 뚜껑을 반만 열고 향 특성을 평가 한 후, 맛 특성을 평가한 뒤에 마지막으로 향미특성을 평가하였다. 패널에게는 평가 1시간 전부터 물 이외의 음료나 자극적인 음식물 섭취를 피하도록 지도하였으며 향이 강한 화장품의 사용을 금하도록 하였다. 검사 시 패널에게 제시한 평가지는 Fig. 57에 나타냈다.

평가 시작 전에, 먼저 물로 입행감을 해주십시오.

제시된 시료의 시료번호를 확인하신 후 맛을 보고 감각 특성의 강도를 평가해주십시오.

각 시료를 평가한 후에는 준비된 물로 충분히 입행감을 하여 주십시오.

평가 후에는 누락된 곳이나 중복된 곳이 없는지 확인해 주십시오.

[향]

1. 간장 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

2. 생양파 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

3. 삶은양파 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

4. 생마늘 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

5. 삶은마늘 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

6. 삶은대파 향

시료번호	None															Strong	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	

Fig. 56. 기존 제품과 제조된 시제품의 묘사분석 평가지

⑤ 통계분석

두 시료 간 유의적인 감각적 특성 차이가 있는지 알아보기 위하여 SPSS (ver.25, IBM, New York, United State) 통계 분석 프로그램을 이용하여 T-test를 수행하였다. 유의성 판별 기준은 $p < 0.05$ 이었다.

⑥ 묘사분석 실험 결과 및 분석

육수ST와 H제품 시료의 감각적 특성을 단변량 분석한 결과, 5개의 맛 특성을 제외한 나머지 모든 향, 향미 특성에서 유의적인 차이가 나타났다 (표 39). 개발된 총 7가지 향 감각특성에 대해, 육수ST 시료에서는 생양과향, 삶은양과향, 생마늘향, 삶은마늘향이 강하게 나타났고 기존 제품에서는 간장향, 삶은대파향, 소고기육수향이 강하게 나타났다. 개발된 7가지 향미 감각 특성에 대해, 육수ST 시료에서는 삶은양과향미와 삶은마늘향미가 강하게 나타났고 기존 제품 시료에서는 간장향미, 삶은대파향미, 소고기육수향미, 삶은무향미, 삶은감자향미가 강하게 나타났다. 두 시료 간 유의적 차이가 있는 특성들의 분석 결과는 spider web plot으로 제시하였다 (Fig. 57, 58).

Table 39. Mean intensity score of sensory attributes of samples

감각특성 ¹⁾	ST	H제품	F-value ²⁾	p-value ²⁾
간장향***	5.14±2.58	8.57±2.48	0.535	0.000
생양과향***	8.05±1.69	1.76±1.34	2.283	0.000
삶은양과향***	6.38±1.77	3.76±1.26	4.842	0.000
생마늘향***	8.95±1.80	1.76±1.41	0.556	0.000
삶은마늘향***	7.10±2.30	3.05±2.27	0.010	0.000
삶은대파향***	4.10±1.45	6.43±1.83	3.749	0.000
소고기육수향***	4.52±2.09	9.19±1.72	1.422	0.000
단맛	5.67±2.94	6.19±2.58	0.191	0.543
짠맛	5.76±2.66	5.76±2.93	0.088	1.000
감칠맛	5.90±3.15	5.90±2.95	0.369	1.000
쓴맛	1.29±1.01	0.90±0.77	3.422	0.176
신맛	1.81±1.08	1.62±0.97	0.678	0.551
간장향미*	6.10±2.70	8.05±2.46	0.304	0.019
삶은양과향미***	7.05±2.13	3.86±1.71	0.059	0.000
삶은마늘향미***	8.38±2.50	3.00±2.19	2.462	0.000
삶은대파향미**	4.62±1.91	6.48±1.89	2.470	0.021
소고기육수향미***	4.95±2.33	8.90±1.76	0.347	0.003
삶은무향미***	3.71±1.42	6.10±1.61	0.055	0.000
삶은감자향미*	2.67±1.32	3.76±1.61	0.386	0.000

1) Sensory attributes with $p < 0.05$ marked with *, $p < 0.01$ marked with **, $p < 0.001$ marked with ***

2) F-values and p-values associated with the effect of sample obtained from T-test. p-values smaller than 0.05 were highlighted in bold.



Fig. 57. 시료 간 향 특성 차이



Fig. 58. 시료 간 향 특성 차이

7. 휘발성 대사체 분석결과와 관능검사 결과와의 상관관계를 통한 천연발효 조미소재의 특성 규명 및 지표물질 선정

가. 육수풍미베이스의 휘발성 향미성분과 관능적 특성과의 상관관계 분석

육수풍미베이스의 관능적 특성과 휘발성 향미성분 간의 상관관계에 대해 알아보기 위해 관능적 특성에 대한 묘사분석 자료를 바탕으로 Partial Least Squares Regression (PLSR)을 수행하였다. 육수풍미베이스의 휘발성 향미성분과 관능적 특성과의 상관관계를 나타낸 PLSR 기반 loading plot은 Fig. 59와 같으며, Table 6에는 이러한 결과를 바탕으로 Variable important plot (VIP)을 기준으로 하여 묘사분석을 수행한 관능적 특성과 상관관계가 높은 성분을 순서대로 나열하였다 (Table 39). PLS1에 의해 62.1%, PLS2에 의해 13.3%로 총 75.4%를 설명할 수 있었다. 분석 결과, 주된 설명력을 가지는 PLS1에 대해, PLS1의 양의 방향에는 A, G시료의 주요 특성인 간장향, 소고기육수향, 단맛, 간장향미, 삶은버섯향미, 소고기육수향미, 삶은감자향미가 있었다. VIP 값이 0.8이상이고 regression coefficient가 해당 특성들과 positive한 관계를 가지는 성분들은 2-Methyl-2-pentenal, 2-Methylbutanal, 3-Methylbutanal, Nonanal, 3,4-Dimethylthiophene, Methyl propyl disulfide, 2-Methylthiophene, 3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane, Acetic acid, 2,3-Pentanedione, γ -Valerolactone, 2,4-Dimethyl-3-pentanone이 있었다. 이 중 간장향/향미, 소고기육수향/향미에 기여한 성분들은 aldehyde류인 것으로 사료된다. PLS1의 음의 방향에는 ST, B, E, F 시료의 대표특성인 생양파향, 생마늘향, 생마늘향미, 삶은마늘향미, 삶은대파향미, 삶은양파향미가 있었다. VIP 값이 0.8이상이고 regression coefficient가 해당 특성들과 positive한 관계를 가지는 성분들은 Ethanol, 2-Butenal, 2-Methyl-2-butenal, Methyl allyl sulfide, Methyl allyl disulfide, Methyl allyl trisulfide, Diallyl disulfide, Diallyl trisulfide, Dipropyl trisulfide, Allyl sulfide, Methyl-1-propenyl-disulfide가 있었다. 이 중 sulfur-containing 향미성분, 특히 allyl기를 가진 향미성분들은 마늘에서 생성된 것으로 생양파향, 생마늘향, 생마늘향미, 삶은마늘향미, 삶은대파향미, 삶은양파향미에 기여한 것으로 사료된다.

Table 40. Variable important plot (VIP) list of volatile compounds in samples (VIP>0.8)

VIP value	Compounds	Flavor description
1.149	3,4-Dimethylthiophene	savory, roasted onion, Toluene-benzene like
1.145	3-Methylbutanal	ethereal, chocolate, peach, fatty, malty, almond
1.144	2-Methylthiophene	onion, pungent, sulfurous, roasted, green
1.143	2-Methylbutanal	musty, cocoa, coffee, nutty, malty, almond
1.138	Methyl allyl trisulfide	alliaceous, creamy, garlic, onion
1.134	Diallyl trisulfide	garlic, onion, green onion, metallic
1.129	Methyl propyl disulfide	sulfurous, onion, alliaceous, radish, mustard, tomato
1.117	2-Butenal	pungent, flower
1.108	Diallyl disulfide	garlic, alliaceous
1.099	Methyl allyl disulfide	alliaceous, garlic, onion, green onion, sulfurous
1.096	Methyl allyl sulfide	onion, savory, alliaceous, sulfurous
1.067	Ethanol	strong, alcoholic, ethereal
1.030	Methyl-1-propenyl-disulfide	pungent, fresh, leek-onion like, acidic, garlic
1.010	Allyl sulfide	sweet, pungent, garlic-horseradish like
1.009	Dipropyl trisulfide	sulfurous, alliaceous, pungent, onion, green onion, garlic, tropical, metallic, minty
1.009	Acetic acid	pungent, sharp, sour, vinegar
0.990	2,4-Dimethyl-3-Pentanone	acetone-like
0.920	2-Methyl-2-butenal	strong, green, fruit
0.892	Nonanal	citrus, fresh, green, lemon, cucumber, fatty
0.892	3,5-Diethyl-1,2,4-trithiolane	sulfurous
0.892	2,3-Pentanedione	buttery, nutty, toasted, caramelic
0.892	γ -Valerolactone	herbal, tobacco, cocoa, woody
0.878	Propyl allyl disulfide	alliaceous, garlic, onion, green onion
0.876	Acetyl sulfide	-
0.868	2-Methyl-2-pentenal	sweet, fruity, alliaceous, sharpness

나. 육수 ST와 기존 제품의 휘발성 향미성분과 관능적 특성과의 상관관계 분석 및 지표물질 선정

육수ST에 기여하는 관능적 특성은 생양파향, 삶은양파향, 생마늘향, 삶은마늘향, 삶은마늘향미, 삶은양파향미였다. 육수ST에서 검출된 황 함유 향미성분은 Methyl allyl sulfide, Dimethyl disulfide, Allyl sulfide, Methyl allyl disulfide, Methyl-1-propenyl-disulfide, Dimethyl trisulfide, Diallyl disulfide, Methyl allyl trisulfide, Diallyltrisulfide, Dipropyltrisulfide로, 정성적으로나 정량적으로 기존 H제품에 비해 많은 양이 나타났다 (Table 40). 마늘의 Alliin성분은 alliinase 효소에 의해 Allicin이 되고, 계속 반응하여 Diallyl sulfide, Diallyl disulfide, Diallyl trisulfide등 여러 종류의 황 함유 향미성분이 생성된다. 이 외에 2-Butenal과 2-Methyl-2-pentenal이 검출되었는데, 2-Butenal은 지방산이 산화되어 생성되는 물질로 알려져 있고 (Fig. 60) 2-Methyl-2-pentenal은 Propanal로부터 유래되었다는 것 외에 생성 기작이 명확히 알려지지 않았다 (Fig. 61). 하지만 양파에서 검출된다는 특징이 있다. 이러한 성분들이 육수 ST 특유의 신선한 야채 향/향미 특성에 기여했음을 확인할 수 있었다.

Table 41. 육수ST의 휘발성 향미 성분

Compounds	Odor description
Ethanol	strong, alcoholic, ethereal
2-Butenal	pungent, flower
2-Methyl-2-pentenal	sweet, fruity, alliaceous, sharpness
Methyl allyl sulfide	onion, savory, alliaceous, sulfurous
Dimethyl disulfide	garlic-like, sulfurous, cabbage, malt, cream
Allyl sulfide	sweet, pungent, garlic-horseradish like
3,4-Dimethylthiophene	savory roasted onion, toluene-benzene like
Methyl allyl disulfide	alliaceous, garlic, onion, green onion, sulfurous
Methyl-1-propenyl-disulfide	pungent, fresh, leek-onion like, acidic, garlic
Dimethyl trisulfide	sulfurous, onion, cooked onion, meaty
Diallyl disulfide	garlic, alliaceous
Methyl allyl trisulfide	alliaceous, creamy, garlic, onion
Diallyltrisulfide	garlic, onion, green onion, metallic, meaty, alliaceous, savory, cooked, gassy
Dipropyltrisulfide	sulfurous, alliaceous, pungent, onion, green onion, garlic, tropical, metallic, minty

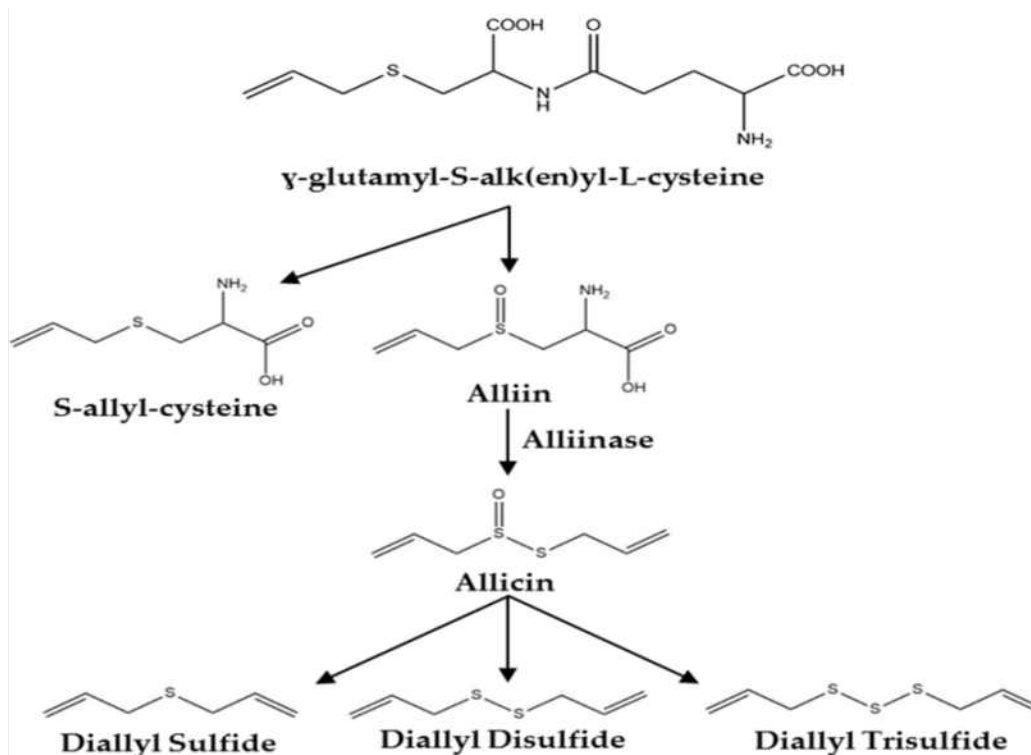


Fig. 60. Degradation pathway of alliin by allinase (Puccinelli et al., 2017).



Fig. 61. Proposed formation mechanisms of 2-butenal from oxidation of n-3 family fatty acids of cod liver oil (S.X. Pan et al., 2005, 639-647).

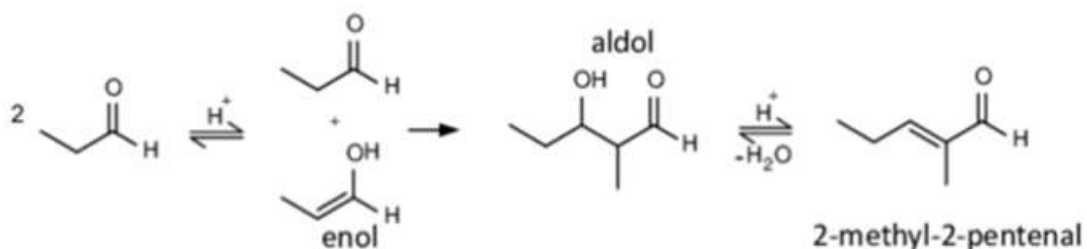


Fig. 62. Potential reactions of propanal in the presence of sulfuric acid (A.L. Van Wyngarden et al., 2014)

기존 H제품에 기여하는 관능적 특성은 간장향, 소고기육수향, 삶은대파향, 간장향미, 삶은무향미, 소고기육수향미, 삶은감자향미, 삶은대파향미로 나타났다. H 제품에서는 특히 ester류가 육수 ST에 비해 많이 검출되었는데, 육수 ST에서는 검출되지 않았던 Ethyl acetate, Ethyl isobutyrate, Ethyl 2-methylbutyrate, Butyl acetate, Ethyl tiglate 성분이 나타났다 (Table 41). 이러한 향미성분들이 H제품 특유의 간장 향/향미와 소고기육수 향/향미에 기여했을 것으로 사료된다.

Table 42. H제품의 휘발성 향미 성분

Compounds	Odor description
1,8-Cineole	minty, cooling, eucalyptus, pungent, spicy
4-Methylphenol	phenolic, mimosa, animal, sweet, tarry
Acetaldehyde	pungent, ethereal, aldehydic, fruity
Benzaldehyde	sweet, oily, almond, cherry, nutty, woody
Dimethyl disulfide	garlic-like, sulfurous, cabbage, malt, cream
Methyl allyl disulfide	alliaceous, garlic, onion, green onion, sulfurous
Dimethyl trisulfide	sulfurous, onion, cooked onion, meaty
Methyl propyl disulfide	sulfurous, onion, alliaceous, radish, mustard, tomato, potato, garlic
Ethyl acetate	ethereal, fruity, sweet, grape, weedy
Ethyl isobutyrate	sweet, ethereal, fruity, alcoholic, fusel, rummy, pungent
Ethyl 2-methylbutyrate	fruity, berry, tropical, grape, pineapple, mango, cherry
Butyl acetate	fruity, sweet, banana, tropical
Ethyl tiglate	fruity, sweet, floral, caramellic, berry

3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

- 발효미생물을 이용한 식물성 천연발효 조미소재 개발
- 식물성 천연발효 조미소재의 맛활성(증진) 성분 탐색 및 분자구조 규명
- 식물성 천연발효 조미소재 대사체의 생성 메카니즘 및 지표물질 규명
- 식물성 천연발효 조미소재 산업화(소재제품 3종/응용제품 1종 출시)

3-2. 목표 달성여부

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	달성도 (%)	자체평가
쌀발효물 모듈개발 (환원당 목표 함량: 25% 이상)	100	<ul style="list-style-type: none"> • 천연 발효 조미소재를 개발을 위해 효모 배양용 천연탄소원 개발목적으로 쌀발효물 모듈을 개발함. 발효조건을 최적화하였으며 쌀발효물 제조공정 확립함. 쌀발효물 환원당 함량 기준: 30.0±2.0% (목표 초과달성)
우수 효모균주 분리 (효모 1종 확보)	100	<ul style="list-style-type: none"> • 천연발효조미소재 개발을 위해 효모저분자펩타이드 모듈을 만들기 위한 균체생성량이 우수하고 단백질 함량 (52.5%)이 높으며 정미성분(Gln)이 우수한 GRAS의 효모를 자체 분리하고자 하였으며 56종의 효모균주를 발효식품에서 분리하여 3차 선별을 거쳐 최종 1종의 우수 효모균주를 선발함.
채소추출물 모듈 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> • 최종 목표의 제품개발을 위한 소재로써 추출 및 농축 방법에 따른 5종의 모듈 개발함.
분자감각학 기법을 이용한 맛 성분의 효율적 추출 및 분석 방법 확립	100	경쟁사 제품과 개발 소재의 맛활성 특성 비교분석 완료 <ul style="list-style-type: none"> • 천연발효 향미소재의 맛활성 성분 탐색과 Sequential solvent extraction을 통한 추출물의 Taste profiling 방법 확립 • 분자감각학(Sensomics) 기법을 이용한 맛 성분의 효율적 추출 방법 최적화 확립
유리 및 결합형 아미노산 조성 및 peptide 함량 분석 조건 확립	100	경쟁사 제품과 개발 소재의 맛활성 특성 비교분석 완료 <ul style="list-style-type: none"> • 유리 및 결합형 아미노산 조성 및 peptide 함량 분석 조건 확립 및 최적화 확립
천연 발효 조미소재의 대사체 분석을 위한 추출법 및 기기분석법 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> • 쌀 시료, 쌀 발효물과 유사 타사 제품의 휘발성 대사체 및 비휘발성 발효 대사체의 최적 추출법 연구 및 발효 대사체 정성 및 정량 분석

<p>제품 종류별 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석</p>	<p>100</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 쌀 시료, 쌀 발효물과 유사 타사 제품의 휘발성 대사체 및 비휘발성 발효 대사체의 정성 및 정량 분석 • 발효조건이 다른 쌀 발효물 2종과 유사 타사 제품 8종의 휘발성 향기성분과, 비휘발성 성분을 각각 분석하여 비교
<p>천연 배지를 이용한 우수효모 발효기술 개발</p>	<p>100</p>	<ul style="list-style-type: none"> • sp006 균주를 배양하기 위한 쌀발효물과 콩발효물 농도 최적화 등 천연배지조성 확정 • 효모 발효공정을 확립하기 위한 발효온도, pH, 탄소원의 공급방식(batch culture와 fed-batch culture)비교 실험, 탄소원 feeding양 최적화, DO값 설정등 발효조건 최적화 • 5리터, 50리터, 500리터, 5,000리터를 순차적으로 Scalup 실험 진행 • 5,000리터 발효기를 이용해 발효한 효모를 원심분리하여 쌀 발효 효모크림을 제작하고 성분분석 진행, 효모크림 규격설정
<p>쌀발효 효모 저분자펩타이드 모듈개발 (분자량 500이하 펩타이드 함량 50% 이상)</p>	<p>100</p>	<ul style="list-style-type: none"> • endopeptidase와 exopeptidase 효소선정 및 효소반응온도 조건별 샘플 제조실험 • 각 조건별 샘플의 대사체 분석을 통하여 품질지표 확보 및 저분자펩타이드 제조조건 확인 - 분자량 500이하 펩타이드 함량 50% 이상 확보 • 쌀발효 효모펩타이드의 반응시간과 효소 처리 조건에 따른 DPPH Assay와 reducing power assay로 쌀발효 효모저분자펩타이드의 항산화 능력을 확인 • 쌀발효물 효모 저분자펩타이드 시제품 제작 및 제조공정 확립 (Fig. 14) • 쌀발효물 효모 저분자펩타이드 규격 확립 - 평균분자량 : 500이하
<p>발효 채소추출물 scale-up</p>	<p>100</p>	<p>양파, 마늘, 대파, 무 역삼투압 농축액 Scale-up</p> <ul style="list-style-type: none"> • 토마토추출농축액 Scale-up • 농축액의 품질규격 확인 • Lab-scale 및 Pilot-scale 비교검토
<p>식물성 천연 발효 조미소재 Prototype 개발</p>	<p>100</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 볶음용 조미소재(볶음풍미베이스)제조공정 확립 • 육수용 조미소재(육수풍미베이스)제조공정 확립 • 범용 조미소재(채소풍미베이스)제조공정 확립 • 천연발효조미소재 3종 (볶음용,육수용,범용)향기분석 비교 • 유사제품과 비교분석 • 천연발효조미소재 3종을 9가지 요리에 적용평가 • 각 천연발효조미소재의 요리에서의 성능평가

천연 발효조미소재의 맛 활성 물질의 분획법 확립 및 분석법 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 시료의 맛활성 성분 탐색과 Sequential solvent extraction을 통한 추출물의 Taste profiling 수행 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 시료의 맛 성분의 효율적 분리 및 prep-LC 조건 최적화
맛성분추출회석 분석법을 통한 맛 활성 성분 탐색	100	<ul style="list-style-type: none"> 맛성분추출회석 분석법을 이용한 쌀 발효 효모 저분자 펩타이드 시료의Taste Dilution(TD) factor 결정
맛 활성 특성에 관여하는 유리 및 결합형 아미노산 조성 및 peptide 함량 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> 유리 및 결합형 아미노산의 정량 및 정성 분석을 위하여 분석법을 확립 쌀발효 효모 펩타이드 소재의 ultrafiltration 분획물의유리 및 결합형 아미노산의 정량 및 정성 분석 수행
발효 조건에 따른 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> 대파 추출물, 양파 추출물, 토마토 추출물, 마늘 추출물, 무 추출물에 대해 확립된 최적의 추출법과 기기분석법을 이용하여 반복 실험 후 정성 및 정량 분석완료 Solvent extraction 추출, GC-MS로 저장기간별 대파 추출물의 휘발성 향미성분 분석완료 SPME 추출, GC-MS로 분석한 효모크림의 휘발성 향미 성분 분석완료 SPME 추출, GC-MS 및 GC-TOF/MS를 이용해 마늘추출물의 공정별 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석 완료
다변량통계기법(multivariate statistical analysis)을 활용한 천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 발효 대사체의 차이 및 변화양상 확인	100	<ul style="list-style-type: none"> 다변량통계기법인 PCA, VIP cut-off value를 적용하여 대 파추출물, 양파추출물, 마늘추출물, 무추출물에서 정성 및 정량 분석된 휘발성 및 비휘발성 발효 대사체 주성분 분석 수행 완료
식물성 천연발효 조미소재 3종/응용제품 1종 scale up	100	<ul style="list-style-type: none"> 볶음용 조미소재(볶음풍미베이스) scale up 완료 육수용 조미소재(육수풍미베이스) scale up 완료 범용 조미소재(채소풍미베이스) scale up 완료 범용 조미소재(채소풍미베이스)를 활용한 응용제품(소스류) 1종 scale up 완료
식물성 천연발효 조미소재 3종/응용제품 1종 시제품 제작	100	<ul style="list-style-type: none"> 본생산 스케일로 시생산, 품질규격 확보 및 관능평가 결과 확보
식물성 천연발효 조미소재 3종/응용제품 1종 출시	100	<ul style="list-style-type: none"> 소재 4종 출시 <ul style="list-style-type: none"> -풍미베이스SP -깊은맛발효농축액 -맑은콩발효소스 -범용 조미소재(채소풍미베이스) 응용제품 2종 출시 및 1종 상품화 예정 <ul style="list-style-type: none"> -발라먹고 짹어먹는 떡꼬치 양념 -Gochujang Gluten free -Gochujang with lemon Gluten free (상품화 예정)
맛 특성에 영향을 미치는 modulator 성분 규명	100	<ul style="list-style-type: none"> 맛성분추출회석 분석법을 이용한 맛 활성 성분 규명 Sensomics 기법을 이용한 맛 활성 및 맛 증진 성분 탐색완료

주요 맛 활성 성분의 분자 구조 확인	100	<ul style="list-style-type: none"> • Liquid chromatography-mass spectrometry(LC-MS)와 liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry(LC-MS/MS) 기기분석법 확립 • 감칠맛(우마미) 특성에 관하여 높은 TD factor를 가지는 맛 활성성분을 규명하고 기기분석법을 사용하여 그들의 분자구조를 확인 [2개의 peptide 및 1개의 아미노산 확인]
맛 성분과 관련된 천연발효 조미소재의 품질지표 규격	100	<ul style="list-style-type: none"> • 신맛, 감칠맛, 단맛에 관련된 비휘발성 품질 지표 물질 선정 및 정량 분석법 확립 • 품질지표성분의 절대 농도 결정 • 육수풍미베이스 시료 내 품질지표 성분의 규격 결정
천연발효 조미소재의 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> • SPME 추출, GC-MS 및 GC-TOF/MS를 이용해 육수풍미베이스 6종 시료 및 제조된 시제품에 대해 휘발성 및 비휘발성 대사체 분석완료
관능검사를 통한 천연발효 조미소재의 향미 특성 변화 및 강도 측정	100	<ul style="list-style-type: none"> • 육수풍미베이스 6종 및 제조된 시제품에 대해 묘사분석 수행을 통해 묘사용어 확립 및 향미 특성 강도 평가 완료
대사체와 관능검사 결과와의 상관관계를 통한 발효조미소재의 특성 규명	100	<ul style="list-style-type: none"> • 육수풍미베이스 6종에 대해 다변량통계기법 (PLSR)을 이용한 기기분석 결과와 관능검사 결과와의 상관관계 분석 완료 • 제조된 시제품에 대해 기기분석 결과와 관능검사 결과와의 상관관계 분석 완료
관능적 특성에 영향을 미치는 지표물질 선정	100	<ul style="list-style-type: none"> • 육수풍미베이스 6종에 대해 다변량통계기법 (PLSR) 및 VIP cut-off value를 적용시켜 지표물질 선정함
합계	100	

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- SCI 논문 4건, 비SCI 논문 5건을 목표로 하였으나, 상향조정하여 논문 게재함에 따라 SCI 논문 7건, 비SCI 논문 1건 게재함.
논문 추가 게재 진행 중에 있음 (논문명: 역삼투압법에 의한 대파착즙액의 휘발성 성분 변화)
- 특히 3건 출원, 3건 등록을 목표로 하였으나, 특히 등록 1건이 현재 심사 진행 중에 있음.

4 장 연구결과의 활용 계획 등

- 본 연구 성과물인 ‘식물성 천연조미소재 및 응용제품 개발 기술’에 대해 2019년 기술실시를 진행하였으며, 이를 이용한 제품 사업화를 적극 수행 중에 있음.
소재 생산시설 증설투자 및 적극적인 B2B 영업을 통해 국내 소재 사업의 성장에 기여하고자 함.
- 농산물 유래 맛과 향의 과학적 우수성을 확보하였으며, 맛과 향의 연계성에 대한 과학적 근거를 마련함. 이에 대해 학술발표, 논문, 전시회 참여 등을 통해 국내외 홍보하고자 함.

붙임. 참고문헌

1. Journal of General Microbiology (1991), 137, 2463-2468.
2. 알파-아밀라아제 활성능 및 글루코아밀라아제 고활성능을 가지는 리조푸스 균주 및 그 배양 방법, 특허 공개번호 10-2013-0061448
3. 향미가 증진된 고기능성 현미발효물과 응용제품 개발, 농림축산식품부 최종보고서
4. 현미의 복합균주 고상발효물 및 그 제조방법, 특허공개번호 10-2017-0004627
5. Cyclic acetals of 2-methyl-2-pentenal and food flavor uses thereof US 05/827,253
6. Järvenpää, E. P., Zhang, Z., Huopalahti, R., & King, J. W. (1998). Determination of fresh onion (*Allium cepa* L.) volatiles by solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *ZeitschriftfürLebensmitteluntersuchungund-ForschungA*, 207(1),39-43.
7. Gary Reineccius, Flavor chemistry and technology 2nd
8. Mondy, N., Duplat, D., Christides, J. P., Arnault, I., & Auger, J. (2002). Aroma analysis of fresh and preserved onions and leek by dual solid-phase microextraction - liquid extraction and gas chromatography - mass spectrometry. *JournalofChromatographyA*, 963(1),89-93.
9. Rowe, D. (1998). Aroma chemicals for savory flavors. *PerfumerandFlavorist*, 23,9-18.
10. Li, J., Xie, B., Yan, S., Li, H., & Wang, Q. (2015). Extraction and determination of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate in Chinese radish (*Raphanus sativus* L.) roots. *LWT-FoodScienceandTechnology*, 60(2),1080-1087.
11. Merson, R.L. and Morgan, A.I.(1968) Juice concentration by reverse osmosis. *Food Technology*, 22:631
12. Deshpande, S.S., Bolin, H.R. and Salunkhe, D.K.(1982) Freeze concentration of fruit juices. *Food Technology*. 36(5):68
13. Sheu, M.J. and Wiley, R.C.(1983) Preconcentration of apple juice by reverse osmosis. *J. Food Sci.*, 48:422
14. Wilson, E.L. and Burns, D.J.W.(1983) Kiwifruit juice processing using heat treatment techniques and ultrafiltration. *J. Food Sci.*, 48:1101
15. Braddock R.J. and Adams, J.P.(1984) Recovery of citrus oils by ultrafiltration and reverse osmosis. *Food technology*, 38(12):109
16. Paulson, D.J., Wilson, R.L. and Spatz, D.D. (1984) Crossflow membrane technology and its application. *Food technology*, 38(12):77
17. Braddock, R.J. and Marcy, J.E.(1985) Freeze concentration of pineapple juice, *J. Food Sci.*, 50:1636

18. Braddock , R.J. and Marcy, J.E(1987) Quality of freeze concentrated orange juice. *J. Food Sci.*, 52:159
19. Barefoot, S.F., Tai, H.Y., Brandon, S.C. and Thomas, R.L.(1988) Production of microbiologically stable apple juice by metallic membrane ultrafiltration. *J. Food Sci.*, 54:408
20. Braddock, R.J., Nikdel, S. and Nagy, S.(1988) Composition of some organic and inorganic compounds in reverse osmosis-concentrated citrus juices. *J. Food Sci.* 53:508
21. Amino Acid, Amino Acid Metabolite, and GABA Content of Three Domestic Tomato Varieties
22. Adamiec, J., Rössner, J., Velišek, J., Cejpek, K., & Šavel, J. (2001). Minor strecker degradation products of phenylalanine and phenylglycine. *European Food Research and Technology*, 21(2), 135–140.
23. Ansorena, D., Gimeno, O., Astiasarán, I., & Bello, J. (2001). Analysis of volatile compounds by GC - MS of a dry fermented sausage: Chorizo de pamplona. *Food Research International*, 34(1), 67–75.
24. Arnault, I., Mondy, N., Cadoux, F., & Auger, J. (2000). Possible interest of various sample transfer techniques for fast gas chromatography - mass spectrometric analysis of true onion volatiles. *Journal of Chromatography A*, 896(1-2), 117–124.
25. Audrain, B., Farag, M. A., Ryu, C., & Ghigo, J. (2015). Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(2), 222–233.
26. Bae, H., Lee, J., Renschinkhand, G., & Nam, M. (2010). Fermentation properties of amylase activity and added rice yogurt of enterococcus faecium KHM-11 isolated from korean human milk. *Korean Journal of Agricultural Science*, 37(3), 387–392.
27. Batista, L. d. N., Da Silva, V. F., Pissurno, É. C., da Conceição Soares, T., de Jesus, M. R., Kunigami, C. N. (2015). Formation of toxic hexanal, 2-heptenal and 2, 4-decadienal during biodiesel storage and oxidation. *Environmental Chemistry Letters*, 13(3), 353–358.
28. Becalski, A., Hayward, S., Krakalovich, T., Pelletier, L., Roscoe, V., & Vavasour, E. (2010). Development of an analytical method and survey of foods for furan, 2-methylfuran and 3-methylfuran with estimated exposure. *Food Additives and Contaminants*, 27(6), 764–775.
29. Block, E. (1992). The organosulfur chemistry of the genus Allium - implications for the organic chemistry of sulfur. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 31(9), 1135–1178.
30. Boelens, M., De Valois, P. J., Wobben, H. J., & Van der Gen, A. (1971). Volatile flavor

- compounds from onion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(5), 984–991.
31. Brodnitz, M. H., Pascale, J. V., & Van Derslice, L. (1971). Flavor components of garlic extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(2), 273–275.
 32. Chen, F., D’Auria, J. C., Tholl, D., Ross, J. R., Gershenzon, J., Noel, J. P., & Pichersky, E. (2003). An arabidopsis thaliana gene for methylsalicylate biosynthesis, identified by a biochemical genomics approach, has a role in defense. *The Plant Journal*, 36(5), 577–588.
 33. del Castillo–Lozano, M. L., Delile, A., Spinnler, H., Bonnarme, P., & Landaud, S. (2007). Comparison of volatile sulphur compound production by cheese–ripening yeasts from methionine and methionine - cysteine mixtures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(6), 1447–1454.
 34. Estévez, M., Ventanas, S., & Heinonen, M. (2011). Formation of strecker aldehydes between protein carbonyls - α -aminoacidic and γ -glutamic semialdehydes - and leucine and isoleucine. *Food Chemistry*, 128(4), 1051–1057.
 35. Etschmann, M., Bluemke, W., Sell, D., & Schrader, J. (2002). Biotechnological production of 2-phenylethanol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(1), 1–8.
 36. Farag, M. A., Zhang, H., & Ryu, C. (2013). Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: Induced resistance by bacterial volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 39(7), 1007–1018.
 37. Feng, P., Zhang, S., Pan, S., Chen, Y., & He, B. (2005). Cyclic solving process and realization for conceptual design of complex function product. *Chinese Journal of Mechanical Engineering*, 41(3), 135–141.
 38. Fenwick, G. R., Heaney, R. K., Mullin, W. J., & VanEtten, C. H. (1983). Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18(2), 123–201.
 39. Freeman, G., & Whenham, R. (1976). Nature and origin of volatile flavour components of onion and related species [garlic, leeks]. *International Flavours and Food Additives*,
 40. Gassenmeier, K., & Schieberle, P. (1995). Potent aromatic compounds in the crumb of wheat bread (french-type)–Influence of pre-ferments and studies on the formation of key odorants during dough processing. *Zeitschrift Für Lebensmittel–Untersuchung Und Forschung*, 201(3), 241–248.
 41. Girard, B., & Fukumoto, L. (2000). Membrane processing of fruit juices and beverages: A review. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 40(2), 91–157.
 42. Gruhlke, M. C., & Slusarenko, A. J. (2012). The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98–107.
 43. Huh, K., Lee, S., & Park, J. (1985). Effect of garlic on the hepatic xanthine oxidase

activity in rats. *Korean Biochem.J*, 18, 209–214.

44. Iciek, M., Kwiecień, I., & Włodek, L. (2009). Biological properties of garlic and garlic derived organosulfur compounds. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(3), 247–265.
45. Jang, K., Choi, J., Lee, J., Lee, J., Jang, S., & Jeong, Y. (2002). Fermentation characteristic of kefir beverage added fruit juice. *Food Sci.Nutr*, 7(3), 35–38.
46. Jesus, D., Leite, M., Silva, L., Modesta, R., Matta, V., & Cabral, L. (2007). Orange (citrus sinensis) juice concentration by reverse osmosis. *Journal of Food Engineering*, 81(2), 287–291.
47. Jo, Y., Cho, I. H., Song, C. K., Shin, H. W., & Kim, Y. (2011). Comparison of fermented soybean paste (doenjang) prepared by different methods based on profiling of volatile compounds. *Journal of Food Science*, 76(3), C368–C379.
48. Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880(1–2), 35–62.
49. Kuettner, E. B., Hilgenfeld, R., & Weiss, M. S. (2002). Purification, characterization, and crystallization of alliinase from garlic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 402(2), 192–200.
50. Lanzotti, V. (2006). The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, 1112(1–2), 3–22.
51. Lawson, L. D., Wood, S. G., & Hughes, B. G. (1991). HPLC analysis of allicin and other thiosulfinates in garlic clove homogenates. *Planta Medica*, 57(03), 263–270.
52. Lee, C., Lee, Y., Lee, J., & Buglass, A. J. (2015). Development of a reduced pressure headspace solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometric (rpHSSPME-GC/MS) method and application to aroma analysis. *Analytical Methods*, 7(16), 6504–6513.
53. Lee, J., Jang, H., Kwag, J., Kim, O., & Lee, G. (1999). Analysis of volatile components of sancho (*zanthoxylum schinifolium*) by solid phase micro extraction. *Korean Journal of Food and Nutrition*, 12, 119–123.
54. Lee, S., Kim, N., & Lee, D. (2003). Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography - mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 377(4), 749–756.
55. Lee, Y., Yi, H., Hwang, K. T., Kim, D., Kim, H. J., Jung, C. M., & Choi, Y. (2012). The qualities of makgeolli (korean rice wine) made with different rice cultivars, milling degrees of rice, and nuruks. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 41(12), 1785–1791.
56. Min, D., Callison, A., & Lee, H. (2003). Singlet oxygen oxidation for 2-pentylfuran and

- 2 pentenyfuran formation in soybean oil. *Journal of Food Science*, 68(4), 1175–1178.
57. Moio, T., Spare, C.G. and Virtanen, A.I. (1962). Mass spectral studies of the chemical nature of the lachrymatory factor formed enzymatically from S-(1-propenyl)-cysteine sulfoxide isolated from onion (*Allium Cepa*). *Suom. Kemistilehti*. B 35, 29.
58. M. Wurzenberger, and W. Grosch. (1984). *Biochim. Biophys. Acta*, Simon Cotton Uppingham School, Rutland UK., <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/octenol/octenolh.htm> 794, 18–24; 25–30; *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, 795, 163–165.
59. Omonov, T. S., Kharraz, E., Foley, P., & Curtis, J. M. (2014). The production of biobased nonanal by ozonolysis of fatty acids. *RSC Advances*, 4(96), 53617–53627.
60. Park, J., Kim, S., Yoo, J., Pyo, B., & Kim, S. (1993). Some properties of acetobacter sp. isolated from traditional fermented vinegar. *Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering (Korea Republic)*,
61. Pichersky, E., Noel, J. P., & Dudareva, N. (2006). Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science (New York, N.Y.)*, 311(5762), 808–811. doi:311/5762/808 [pii]
62. Puccinelli, M., & Stan, S. (2017). Dietary bioactive diallyl trisulfide in cancer prevention and treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(8), 1645.
63. Randhir, R., & Shetty, K. (2005). Developmental stimulation of total phenolics and related antioxidant activity in light- and dark-germinated corn by natural elicitors. *Process Biochemistry*, 40(5), 1721–1732.
64. Shahidi, F., Rubin, L. J., D'Souza, L. A., Teranishi, R., & Buttery, R. G. (1986). Meat flavor volatiles: A review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluation. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 24(2), 141–243.
65. Sivam, G. P. (2001). Protection against helicobacter pylori and other bacterial infections by garlic. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1106S–1108S.
66. So, M., Lee, Y., Han, S., & Noh, W. (1999). Analysis of major flavor compounds in takju mash brewed with a modified nuruk. *Korean J Food Nutr*, 12, 421–426.
67. Tholl, D. (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 297–304.
68. Tieman, D. M., Loucas, H. M., Kim, J. Y., Clark, D. G., & Klee, H. J. (2007). Tomato phenylacetaldehyde reductases catalyze the last step in the synthesis of the aroma volatile 2-phenylethanol. *Phytochemistry*, 68(21), 2660–2669.
69. Tocmo, R., Liang, D., Lin, Y., & Huang, D. (2015). Chemical and biochemical mechanisms underlying the cardioprotective roles of dietary organopolysulfides. *Frontiers in Nutrition*, 2, 1.
70. Tressel, R., Apetz, M., & Arrieta, R. (1978). Flavour of food and beverage.

71. van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., van Hylckama Vlieg, J., Ursing, B. M., Boekhorst, J., Smit, B. A., . . . Siezen, R. J. (2002). Flavour formation from amino acids by lactic acid bacteria: Predictions from genome sequence analysis. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 111-121.
72. Van Wyngarden, A. L., Mar, K. A., Quach, J., Nguyen, A. P., Wiegel, A. A., Lin, S., Lee, Y. T. (2014). The non-statistical dynamics of the ^{18}O $^{32}\text{O}_2$ isotope exchange reaction at two energies. *The Journal of Chemical Physics*, 141(6), 2866.
73. Virtanen, A., & Spåre, G. (1961). *Isolation of the precursor of the lachrymatory factor in onion.(allium cepa)*
74. Wongpornchai, S., Dumri, K., Jongkaewwattana, S., & Siri, B. (2004). Effects of drying methods and storage time on the aroma and milling quality of rice (*oryza sativa* L.) cv. khao dawk mali 105. *Food Chemistry*, 87(3), 407-414.
75. Zárate Rodríguez, E., Ortega Rivas, E., & Barbosa Cánovas, G. V. (2001). Effect of membrane pore size on quality of ultrafiltered apple juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 36(6), 663-667.
76. 김성현, 최덕주, 신정혜, 이준열, & 성낙주. (1994). *Aspergillus usamii* mut. *shirousamii* S 1 에 의한 밀가루누룩 제조시 amylase 와 protease 의 생산조건. *한국식품영양학회지*, 7(1), 51-57.
77. 김재욱. (1989). *식품가공학*, 5. 서울: 문운당.
78. 이서래. (1986). *한국의 醱酵食品*. 서울: 이화여자대학교출판부.
79. D. Koo, B. S. (2005). Flavor characteristics according to parts of raw materials on *Allium fistulosum* L. seasoning oil. *KoreanJournalofFoodPreservation*, 12.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발 사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.