

GOVP1200725690

최 종
연구보고서

식물추출물(C-2003-10)을 이용한 고혈압 및 신장장애 예방
기능성 조미식품 개발

Development of Functional Seasoning Foods
Preventing Hypertension and Renal Disorders
by Using the Plant Extracts "C-2003-10"

연구기관

조선대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “식물추출물(C-2003-10)을 이용한 고혈압 및 신장장애 예방 기능성 조미식품 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007년 8월

주관연구기관명 : 조선대학교

총괄연구책임자 : 김 경 수

연 구 원 : 심 성 례

연 구 원 : 김 원

협동연구기관명 : 한국식품연구원

협동연구책임자 : 한 규 재

협동연구기관명 : 청 담 원

협동연구책임자 : 유 근 영

요 약 문

I. 제 목

식물추출물(C-2003-10)을 이용한 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 조미식품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 필요성

현대사회는 의료기술의 발달로 생명이 연장되었으나 패스트푸드 등 식생활의 변화로 고혈압을 포함한 성인병 발생이 증가하면서 먹는 것에 대한 관심이 증대되고 소비자들의 식품선택은 더욱 신중해지게 되었다. 이러한 소비 경향에 맞춰 웰빙(well-being) 열풍과 슬로 푸드(slow food)에 대한 관심이 고조되고 있으며, 우리나라의 대표적인 전통 음식인 된장과 간장, 고추장, 김치, 젓갈 등 오염되지 않은 자연 환경에서 생산된 청정 재료를 이용하여 숙성과 발효 등의 방식으로 만든 음식들의 효능이 입증되면서 많은 주목을 받고 있다. 특히 대두가 주원료로 사용된 장류는 한국 음식의 맛을 내는데 대표적인 기본 조미료로 우리의 식생활에 하루도 빠질 수 없는 재료이며, 영양공급 및 기호성 증진차원을 넘어 생리활성을 증진시키는 사실까지 밝혀지고 있어 식품으로서 더욱 비중이 높아지고 있다.

공장에서의 장류 대량 생산방식이 점차 확대됨에 따라 장류제품의 위생성과 안전성에 관한 소비자들의 관심이 커지게 되었고, 장류제품에 함유된 고염 성분이 각종 성인병을 유발한다는 보고가 이어지면서 우리 고유의 식문화에 악영향을 미치고 있어 우리 전통식품을 보호하는 차원에서 대책 마련이 매우 시급한 실정이다.

현재 저염 장류로는 일본에서 수입하여 판매되고 있는 미소와 간장이 있으며 우리나라에서도 일부 업체에서 생산된 저염 간장 등이 유통되고 있지만 나트륨 함량을 줄이는 대신 첨가한 염화칼륨이 일부 신장 기능 저하 환자에게 호흡 곤란은 물론 심장마비까지 일으킬 수 있으므로 식용하는데 주의가 필요하다.

본 연구는 기존의 장류제품이 가지고 있는 문제점을 개선하기 위해 생리 기능성

물질을 접목시켜, 고염식으로 알려진 장류의 이미지를 쇠신시키고, 기능성 식품을 개발하여 발효식품 산업을 활성화하며 소비자의 기능성 식품에 대한 요구를 충족시켜 줌으로써 기능성 장류제품에 대한 구매력을 증진시킬 수 있을 것이다. 또한 국내산 대두의 소비를 촉진시켜 대두의 재배를 권장할 수 있고, 기능성을 함유한 국산 약재와 식품소재 생산을 통해 농촌소득을 증가시키며 국내산 농산물의 우수성을 홍보하는 효과를 기대할 수 있다. 무엇보다도 식생활 패턴이 서구화되고 스트레스로 인한 성인병 등이 계속적으로 증가하고 있어 이러한 질환의 예방과 치료 차원에서 기능성 장류제품 개발에 대한 관심과 수요 잠재력은 매우 높다고 할 수 있다.

2. 연구개발의 목적

본 연구개발의 목표는 혈압을 낮추는 항고혈압 활성과 신장 기능 향상에 효과가 있는 식물 추출물을 장류 제조 시 첨가함으로써 전통 장류의 관능 및 풍미를 저해하지 않으면서 염분에 의한 위해를 예방하고 완화할 수 있는 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 조미식품을 제조하는 것이다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

혈압 강하 효과와 신장 기능을 향상시키는 약효를 가진 약용식물 13종을 혼합하여 제조한 식물추출물을 된장과 간장에 각각 3, 5% 비율로 혼합하여 제조하였으며 관능적으로 우수한 추출물 농도를 갖는 제품을 선발하여 최종 실험 시료로 사용하였다.

1. 식물추출물의 제조

- 식물소재의 탐색
- 식물소재의 선발
- ACE 저해활성 시험

2. 기능성 장류제품(된장, 간장)의 개발

- 가. 기능성 장류제품의 품질평가

- 일반성분 분석
 - 아미노산 분석
 - 관능검사
 - 향기성분 분석
- 나. 기능성 장류제품의 ACE 저해활성 평가
- ACE 저해활성 시험
- 다. 기능성 장류제품의 기능성 검정 시험
- 혈압 저하 효능 시험
 - 혈중 지질 농도 감소 효능 시험

3. 기능성 장류제품 시제품 생산

- 기능성 된장 시제품 생산
- 기능성 간장 시제품 생산

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 기능성 장류제품의 성분 분석 및 관능검사 결과

전체적으로, 일반 장류제품과 3% 및 5%의 식물추출물을 첨가한 기능성 장류제품에 대한 일반성분 분석결과 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

일반 장류와 기능성 장류제품의 총 아미노산과 유리아미노산을 분석한 결과, 총 17종이 검출되었으며 식품의 맛을 좌우하는 정미성분이라고 할 수 있는 glutamic acid가 가장 많은 함량을 나타내었다. 또한 대조군을 포함하여 모든 실험군에는 valine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine 등의 필수 아미노산이 함유되어 있었다.

식물추출물 첨가 비율을 달리한 실험군(기능성 된장 및 간장)에 대한 관능검사 결과에서는 각 그룹간에 통계학적으로 유의적인 차이가 확인되지 않아 식물추출물이 관능에 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다. 향기성분 분석에서는 추출물의 유효 성분들이 기능성 제품에서도 관찰됨으로써 식물추출물을 이용한 기능성 장류제품의 개발 가능성을 보여주었다.

2. 개발제품에 대한 기능성 검정 시험

식물추출물 제조에 사용된 식물의 ACE (Angiotensin Converting Enzyme) 저해 활성도를 측정한 결과 전반적인 저해활성(inhibitory activity)을 가지고 있음을 확인하였다.

추출물을 첨가한 기능성 장류제품의 기능성 확인을 위한 동물시험 결과, 추출물을 급이한 실험군에서 일반사료만을 급이한 대조군이나 추출물을 첨가하지 않은 다른 실험군에 비해 뚜렷한 혈압 상승 억제 효과가 관찰되었다.

식물추출물과 혈중 지질 농도와의 관계에 있어서는 추출물을 급이 하지 않은 그룹과 급이한 그룹 간에는 유의적인 차이를 보이지 않음으로써 추출물과 혈중 지질 농도 간에는 상관관계가 없음이 확인되었다. 그러나 일반사료만을 급이한 대조군에 비해 장류제품을 급이한 실험군에서 총 콜레스테롤, 중성지방 및 인지질이 유의적으로 또는 다소 낮은 수준을 보임으로써 된장 또는 간장의 혈중 지질 농도 감소 효과를 확인할 수 있었다.

3. 연구결과의 활용에 대한 건의

본 연구를 통해 혈압을 낮추는 항고혈압 활성과 신장 기능 향상에 효과가 있는 식물추출물을 장류제품 제조 시 첨가함으로써 전통 장류의 관능과 풍미를 저해하지 않으면서 염분에 의한 위해를 예방하고 완화할 수 있는 기능성 장류제품을 제조하였다. 이러한 제품은 건강기능식품법의 시행으로 인해 건강식품의 기술개발이나 시장에서 큰 영향을 줄 것으로 예상되며, 전통 약용식물을 이용한 기능성 장류제품 개발 기술을 과학과 접목시킴으로써 관련 산업 발전을 도모하고 국민건강에 기여할 것으로 사료된다.

SUMMARY

I. Title

Development of functional seasoning foods intended to prevent hypertension and kidney disorders by using a herb extract (C-2003-10)

II. Necessities and objectives

1. Necessities of the research

The modern society is experiencing the development of medical technologies, which have brought about the extension of human life, and the changes in foods and diets, which have caused many diseases. It calls for people's increasing interest in foods and carefulness when choosing foods. In this line, people have an earnest desire for well-being and slow foods.

Most of traditional Korean foods are slow foods, which are manufactured with clean foodstuffs produced from an unpolluted natural environment by using conventional cuisines like fermentation and aging methods. Representative of the traditional fermented foods include *Doenjang* (fermented soybean paste) & *Ganjang* (soy sauce) made of *meju*, *Gochujang* (fermented red pepper paste), kimchi, and salted fish, all of which are manufactured over a long period of time and are winning much attention from people in recent times when the effectiveness of such fermented foods has been proved. In particular, the fermented soybean products manufactured using soybean as their main material are representative basic seasonings, which characterize the taste of Korean foods. The importance of such foods is gaining more momentum as an essential element of Koreans' daily foods since it has been demonstrated that they not

only contribute to the supply of nutrition but also facilitate physiological activities.

Consumers have paid more attention to the safety and hygiene of fermented soybean products, which are being manufactured in factories in increasingly quantities. Reports have been presented one after another, saying that high salted components of fermented soybean products cause various adult diseases, and the reports have an adverse effect on Koreans' unique food cultures. It calls for really urgent establishment of schemes to preserve the sound traits of Korean traditional foods. There are also low salted foods put on the market, such as *Miso* and soy sauce imported from Japan or soy sauce produced from Korean establishments. However, people need be awakened to the possible danger that potassium chloride added to such foods, instead of sodium, will cause dyspnea and heart failure to some patients with poorly functioning kidney.

This research aims to apply physiological functional materials to solve the problems of existing fermented soybean products, improve the images of such foods that are known as high-salted foods, and develop functional foods in order to help activate the fermented foods industry, satisfy consumers' desires for functional foods, and, eventually, increase their purchasing power for functional fermented soybean products. Moreover, it is intended to encourage the cultivation of and promote the consumption of domestic soybean, increase the income of farming households producing functional medicinal herbs and food stuffs, and publicize the superiority of Korean agricultural products. It is because there are so great potential interest in and demand for foods with a great quantity of functional materials which contribute to the prevention and cure of adult diseases and senile diseases caused by Westernized eating practices and many kinds of stresses.

2. Objectives of the research

This research is purposed to manufacture such functional seasoning foods as

will prevent and/or reduce the harmfulness of salt while not damaging the sensory and flavory traits of traditional fermented soybean products, which are added with herb extract contributing to anti-hypertensive activity and improved function of kidneys.

III. Scope and contents of the research

Fermented soybean products are manufactured by adding herb extract made from 13 traditional herb materials, which are effective in reducing blood pressure and improving kidney functions, to *Doenjang* and *Ganjang*, in the ratio of 3% or 5%. A product which has a superior sensory concentration of the extract is chosen and used in the final experiment.

1. Preparation of herb extract
 - Probing into herb materials
 - Selection of herb materials
 - Test for ACE inhibitory activity

2. Development of functional fermented soybean products (*Doenjang* and *Ganjang*)
 - A. Evaluation of the quality of the developed products
 - Analysis of general components
 - Analysis of amino acids
 - Sensory evaluation
 - Analysis of flavoring components
 - B. Test for ACE inhibitory activity
 - ACE inhibitory activity of the developed products
 - C. Assessment on functionality of the developed products
 - Effect to reduce blood pressure
 - Effect to reduce the lipid concentration in blood

3. Production of pilot products of functional fermented soybean products

(*Doenjang* and *Ganjang*)

- Pilot products of functional *Doenjang*
- Pilot products of functional *Ganjang*

IV. Results of the research

1. Analysis of general components of functional fermented soybean products

As a whole, an analysis of general components of ordinary fermented soybean products and functional fermented soybean products added with 3% or 5% herb extract finds no significant difference in their general components.

An analysis of the total amino acid and free amino acid in ordinary fermented soybean products and functional fermented soybean products detects 17 kinds of amino acids, among which glutamic acid establishing the taste of foods is contained in the greatest quantity. Furthermore, there are contained in all the experiment groups including valine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, etc.

A sensory test on the experiment groups (functional *Deonjang* and *Ganjang*) added with a different proportion of the herb extract finds no significant difference in their sensory components. In analysis of flavoring components, effective components of the extract are also observed in functional products, which implies the possibility that the extract will be used to manufacture fermented soybean products.

2. Test for the functionality of the developed products

Determining the ACE (Angiotensin Converting Enzyme) inhibitory activity of the extract finds that the extract has an overall inhibitory activity.

An animal experiment has been conducted to determine the functionality of

functional soybean products added with a herb extract. The experiment confirms that a clearer anti-hypertensive effect has been observed from experiment groups eating the herb extract, compared to control group eating ordinary feed only or other experiment groups eating fermented soybean products added with no extract.

No correlation has been detected between the extract and the lipid concentration in blood since there is no significant difference between groups administered with the extract and groups with no extract. In contrast, experiment groups administered with fermented soybean products show a significantly low content of total cholesterol, triglyceride and phospholipid compared to control group administered with ordinary feeds only. This demonstrates that *Deonjang* or *Ganjang* contributes to the reduction of the concentration of lipid in blood.

3. Recommendation for the utilization of the research results

Based on the above-mentioned results, this research has successfully manufactured functional fermented soybean products which will not damage the taste and flavor of conventional fermented soybean products but just prevent and/or reduce the harm of salt, by adding a herb extract which contributes to anti-hypertensive activity and kidney function improvement. Now that the healthy and functional foods law is in effect, it is expected that the products in question will have a great impact on the development of technologies for healthy foods and on their market. And it is believed that incorporating the said technologies for functional fermented soybean products into science by means of using conventional medicinal herbs will make a contribution to the growth of related industries and to the health of the nation.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	19
Section 1. Necessities	19
1. Technological aspects	21
2. Economical and industrial aspects	22
3. Social and cultural aspects	22
Section 2. Objectives and scope	24
Chapter 2. Status of the development of domestic and foreign technologies	26
Chapter 3. Methods & Results	27
Section 1. Methods	27
1. Preparation of herb extract	27
2. Preparation of functional fermented soybean products	27
3. Determination of ACE inhibitory activity	30
4. Analysis results for of quality factors in the developed products	31
5. Test for the functionality of the developed products	36
Section 2. Results	43
1. Selection of functional herb materials	43
a) Introduction to selected herbs	43
b) Determination of ACE inhibitory activity in selected herbs	46
2. Analysis results for of quality factors in the developed products	48
a) General components	48

b) Amino acids	52
c) Sensory evaluation	68
d) Volatile components	72
3. ACE inhibitory activity in the developed products	107
4. Assessment on of the functionality of the developed products	109
a) Effect to reduce blood pressure	109
b) Effect to reduce serum lipid concentration	115
c) SGOT and SGPT value	120
d) Weights of main organs	123
e) Body weight gain and feed intake	125
5. Manufacture of pilot products	127
Chapter 4. Achievement and contribution in relative fields	130
Section 1. Check points for assessment of research results	130
Section 2. Measurement of achievement and contribution	131
Chapter 5. Plan for utilization of the research results	133
Section 1. Utilization of the research results	133
Section 2. Recommendations for Utilization	134
Chapter 6. Information on foreign scientific technologies acquired from the research	136
Section 1. Utilization of medicinal herbs in food industry	136
Section 2. Trend in the foreign industry of fermented soybean products	138
References	140
Appendix	153

목 차

제 1 장 연구개발 과제 개요	19
제 1 절 연구개발의 필요성	19
1. 기술적 측면	21
2. 경제·산업적 측면	22
3. 사회·문화적 측면	22
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용	24
제 2 장 국내외 기술개발 현황	26
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	27
제 1 절 연구수행 방법	27
1. 기능성 추출물의 제조	27
2. 기능성 장류제품의 제조	27
3. ACE 저해활성 측정	30
4. 기능성 장류제품의 품질평가	31
5. 개발제품의 기능성 검정 시험	36
제 2 절 연구수행결과	43
1. 기능성 식물 소재의 선정	43
가. 식물소재 개요	43
나. ACE 저해활성	46
2. 기능성 장류제품의 품질평가	48
가. 일반성분	48
나. 아미노산	52
다. 관능검사	68

라. 향기성분	72
3. 기능성 장류제품의 ACE 저해활성 시험	107
4. 기능성 장류제품의 기능성 검정 시험	109
가. 혈압 변화	109
나. 혈중 지질성분 농도 변화	115
다. 간 기능 지표물질 수치	120
라. 주요 장기의 무게	123
마. 식이 섭취량 및 체중변화	125
5. 시제품 제작	127
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	130
제 1 절 연도별 연구목표 및 평가착안점	130
제 2 절 연구개발 목표의 달성도 및 관련분야 기술발전예의 기여도	131
제 5 장 연구개발 활용계획	133
제 1 절 연구 개발의 활용도	133
제 2 절 활용에 대한 건의	134
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	136
제 1 절 약용식물 활용 현황	136
제 2 절 장류산업 해외 동향	138
제 7 장 참고문헌	140
별첨	153

LIST OF TABLES

Table 1. Ratio of content of herb materials for extract preparation	28
Table 2. HPLC operating conditions for total amino acid analysis	33
Table 3. HPLC operating conditions for free amino acid analysis	34
Table 4. Ingredients of experimental diets by group at the 1st phase	38
Table 5. Methods, kits and analyzers used for serum analysis	39
Table 6. Ingredients of experimental diets by group at the 2nd phase	41
Table 7. ACE inhibitory activity of herb materials	47
Table 8. Contents of main components in fermented soybean paste	49
Table 9. Contents of main components in soy sauce	51
Table 10. Contents of total amino acids contents in fermented soybean paste	53
Table 11. Contents of total amino acids contents in fermented soybean paste added with 3% herb extract	54
Table 12. Contents of total amino acids contents in fermented soybean paste added with 5% herb extract	55
Table 13. Contents of total amino acids in soy sauce	57
Table 14. Contents of total amino acids in soy sauce added with 3% herb extract	58
Table 15. Contents of total amino acids in soy sauce added with 5% herb extract	59
Table 16. Contents of free amino acids in fermented soybean paste	61
Table 17. Contents of free amino acids in fermented soybean paste added with 3% herb extract	62
Table 18. Contents of free amino acids in fermented soybean paste added with 5% herb extract	63
Table 19. Contents of free amino acids in soy sauce	65
Table 20. Contents of free amino acids in soy sauce added with 3% herb extract	66

Table 21. Contents of free amino acids in soy sauce added with 5% herb extract	67
Table 22. The value of sensory evaluation on fermented soybean paste added with herb extract	69
Table 23. The value of sensory evaluation on soy sauce added with herb extract	71
Table 24. Volatile components identified in herb extract	74
Table 25. Relative amount of functional groups of volatile components identified in herb extract	75
Table 26. Volatile components identified in fermented soybean paste	79
Table 27. Relative amount of functional groups of volatile components identified in fermented soybean paste	81
Table 28. Volatile components identified in fermented soybean paste added with herb extract	84
Table 29. Relative amount of functional groups of volatile components identified in fermented soybean paste added with herb extract	87
Table 30. Comparison of volatile components identified in SP, SHE and HE	89
Table 31. Volatile components identified in soy sauce	95
Table 32. Relative amount of functional groups of volatile components identified in soy sauce	97
Table 33. Volatile components identified in soy sauce added with herb extract	100
Table 34. Relative amount of functional groups of volatile components identified in soy sauce added with herb extract	102
Table 35. Comparison of volatile components identified in SS, SHE and HE	104
Table 36. ACE inhibitory effect of fermented soybean paste and functional fermented soybean paste	107
Table 37. ACE inhibitory effect of soy sauce and functional soy sauce	108
Table 38. Systolic blood pressure in SHR during the experimental period (1st phase)	110

Table 39. Systolic blood pressure in SHR during the experimental period (2nd phase)	113
Table 40. Serum lipid contents in SHR during the experimental period (1st phase)	116
Table 41. Serum lipid contents in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks (2nd phase)	119
Table 42. SGPT and SGOT values in SHR during the experimental period (1st phase)	121
Table 43. Serum lipid content in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks (2nd phase)	122
Table 44. Weight of organs in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks	124
Table 45. Body weight gain and feed intake in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks	126

LIST OF FIGURES

Figure 1. Manufacturing process of functional fermented soybean products	29
Figure 2. GC/MS chromatogram of volatile components in herb extract	73
Figure 3. GC/MS chromatogram of volatile components in fermented soybean paste	78
Figure 4. GC/MS chromatogram of volatile components from fermented soybean paste added with herb extract	83
Figure 5. GC/MS chromatograms of volatile components in fermented soybean paste (A) and added with herb extract (B)	88
Figure 6. GC/MS chromatogram of volatile components in soy sauce	94
Figure 7. GC/MS chromatogram of volatile components in soy sauce added with herb extract	99
Figure 8. GC/MS chromatograms of volatile components in soy sauce (A) and soy sauce added with herb extract (B)	103
Figure 9. Changes of systolic blood pressure in SHR during the experimental period	114
Figure 10. Picture of functional fermented soybean paste	127
Figure 11. Picture of functional soy sauce	128
Figure 12. Picture of functional seasoning foods	129

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

현대사회는 의료기술의 발달로 생명이 연장되었으나 패스트푸드 등 식생활의 변화로 고혈압을 포함한 성인병 발생이 증가하면서 먹는 것에 대한 관심이 증대되고 소비자들의 식품선택은 더욱 신중해지게 되었다. 이러한 소비 경향에 맞춰 웰빙(well-being) 열풍과 슬로 푸드(slow food)에 대한 관심이 고조되고 있는데 웰빙이란 ‘물질적 가치에 매달리지 않고 몸과 마음의 조화를 통해 건강한 삶을 추구하는 것’이고, 슬로 푸드는 현대인의 패스트푸드 문화에 대응하여 식사와 미각의 즐거움, 전통음식의 보존을 추구하는 개념으로서 느리게 살며 편하게 음식을 먹을 것을 권하는 것으로 정의된다(1). 대부분의 우리나라 전통음식은 오염되지 않은 자연환경에서 생산된 청정 재료를 이용하여 오랜 기간 숙성과 발효 과정을 거쳐 음식을 만드는 대표적인 슬로 푸드이다. 된장과 간장, 고추장, 김치, 젓갈 등은 위와 같은 전통 조리방식으로 만드는 음식으로서 최근 이러한 발효 식품들이 가지는 효능이 여러 연구결과(2-11)에 의해 입증되면서 많은 주목을 받고 있다. 특히 대두가 주원료로 사용된 장류는 한국 음식의 맛을 내는데 대표적인 기본 조미료로서 우리의 식생활에 하루도 빠질 수 없는 재료이며, 영양공급 및 기호성 증진 차원을 넘어 생리활성을 증진시키는 사실까지 밝혀지고 있어 식품으로서 더욱 비중이 높아지고 있다.

우리나라의 장류 이용 역사는 매우 오래 되었으며 주원료인 콩의 처리 방법에 따라 다양한 제품이 만들어지는데 콩 자체에 함유된 물질뿐만 아니라 분해산물도 많은 역할을 하는 것으로 알려지고 있다(12-14). 지금까지 영양장애물질로 알려진 콩에 존재하는 protease inhibitor들도 생리활성물질로 확인되고 있으며 각종 비소화성 탄수화물도 장암의 발생을 억제하는 물질로 알려지고 있다. 이와 같은 연구결과에 따라 서양에서도 유지 이외에는 식품자원으로 거의 이용되지 않던 콩류에 대한 관심이 높아지면서 콩의 기능적 특성과 함께 콩을 바탕으로 한 가공식품에 대한 연구가 활발해져 항산화 기능 및 항암효과가 확인되고 있다(15).

장류(된장, 간장)를 제조하는 방식에는 전통적으로 가정에서 메주를 소금물에 담금 시켰다가 일정기간 동안 발효시키는 재래식 방법과 공장에서 대두와 밀가루 등

에 *Aspergillus oryzae*를 접종, 배양하여 코지를 만들어 제조하는 개량식 방법이 있다. 종래에는 가정에서 제조하여 소비하는 경우가 주류를 이루었으나, 근래에는 핵가족화, 주거 환경의 변화, 여성의 사회참여 증가 등에 따라 많은 가정, 특히 도시지역에서는 공장에서 제조한 개량식 장류의 소비가 주류를 이루고 있다(16). 공장에서 대량 생산방식이 점차 확대됨에 따라 장류제품의 위생과 안전에 대한 소비자들의 관심이 높아지게 되었고, 장류제품에 함유된 고염 성분이 혈압 상승의 위험에 많이 노출되어 있다는 보고가 이어지면서 우리 고유의 음식문화에 나쁜 영향을 미치고 있으므로 우리 전통식품을 보호하는 차원에서 대책 마련이 시급한 실정이다. 현재 저염 장류로는 일본에서 수입하여 판매되고 있는 미소와 간장이 있으며 우리나라에서도 일부 업체에서 생산되는 저염 간장 등이 유통되고 있지만 나트륨(Na) 함량을 줄이는 대신 첨가한 염화칼륨이 일부 신장 기능 저하 환자에게 호흡 곤란은 물론 심장마비까지 일으킬 수 있어 식용하는데 주의가 필요하다(17).

많은 양의 식염 섭취는 고혈압 유발 및 악화에 직접적인 연관성을 지니고 있으며, 동시에 만성 심혈관질환의 진행을 가속화시키는 것으로 보고되어 고염식의 위험성이 보다 강조되고 있다(18-23). 특히 고혈압은 심혈관 및 뇌혈관 질환의 강력한 위험인자가 되고, 오래 지속되면 신장질환을 유발할 수 있으며, 질병 비용에 가장 많은 영향을 미치는 요소에도 포함되어 있어 고혈압 예방은 평균수명의 연장과 삶의 질 향상 및 의료비 절감을 위해서 매우 중요하다(24,25). 현재 고혈압 환자는 전 세계적으로 6억 명을 넘어선 것으로 추산되며, 미국에만 6,000만 명 이상의 환자 수를 보유하고 있고, 치료에 소요되는 경비도 세계적으로 연간 약 400억 달러를 넘는 것으로 평가되고 있다. 국내도 연 6,000억 원대의 고혈압 치료제 시장이 형성되어 있으며, 매년 평균 15-20%의 고성장을 하고 있는 것으로 파악되고 있어 고혈압 예방을 위한 대책이 시급한 실정이다(26).

현대 식품산업의 목표는 관능적으로 우수하고 맛이 좋은 식품, 가능한 한 살이 찌지 않는 저칼로리 식품, 먹고 오래 살 수 있는 장수식품, 병을 유발하지 않는 친환경 기능성 식품을 개발하는 것이다. 최근에는 건강에 대한 관심이 높아지면서 각종 기능성 원료를 첨가한 기능성 식품이 증가하는 추세이다. 본 연구 결과물인 “전통이 과학으로 이어지는 장류(된장 및 간장)”는 국내산 대두로 만든 전통 장류에 식물소재 13가지를 혼합하여 제조하였으며, 그 추출물을 장류에 첨가하더라도 맛, 향 등의 관능적 특성을 손상하지 않아 소비자의 기호와 전통적인 맛에 부응할 것으로 예상

된다. 기존의 장류가 가진 문제점에 생리 기능성 물질을 접목시켜, 고염식으로 알려진 장류의 이미지를 쇠퇴시키고, 기능성을 부여함으로써 전통 발효식품 산업을 활성화하며 소비자의 기능성 식품에 대한 관심을 충족시켜줌으로써 기능성 장류제품에 대한 구매력을 높일 수 있을 것이다. 또한, 국내산 대두의 소비를 촉진해 대두의 재배를 권장할 수 있고 기능성을 갖는 국내산 약재와 식품소재 생산을 통해 농가 소득을 증대시키며 국산 농산물의 우수성을 홍보하는 효과를 기대할 수 있을 것이다 (27). 무엇보다도 식생활 패턴이 서구화되고 스트레스에 의한 성인병 등이 계속 증가하고 있어 이러한 질환의 예방과 치료차원에서 기능성 장류제품의 개발에 대한 관심과 수요의 잠재력은 매우 높다고 할 수 있다.

1. 기술적 측면

콩은 한반도 전역이 생산지로 우리나라는 콩 음식문화권의 집산지이고, 다양한 형태로 변화되어 식용되며, 우리 국민의 식단에서 없어서는 안 될 필수적인 작물이다. 한국의 전통장류인 된장 및 간장은 대두로부터 복잡한 미생물 발효를 통하여 만들어진 식품으로서 음식의 맛과 풍미를 부여하는 조미료의 기능과 대두로부터의 영양성분의 공급기능을 함께 갖고 있으며, 특히 된장은 육류 섭취가 부족했던 시대에 중요한 단백질원으로 대용되었다. 국내에서 생산되는 된장이나 간장은 영양학적, 관능적으로 매우 우수한 제품이나 이들 제품에 함유된 다량의 식염(12-20%)으로 인한 고혈압 및 신장 기능 장애가 우려된다. 최근 이러한 문제점을 없애기 위하여 기능성 소재 등 부원료를 첨가한 장류제품의 특허출원이 증가하고 있는데 이는 건강에 대한 관심이 발병 이후의 치료 중심이 아닌 발병 이전의 예방 중심으로 전환되었음을 의미하고 있다.

본 과제는 고혈압 및 신장장애를 예방할 수 있는 기능성 장류를 제조·생산하는 것으로서 전통 담금 방법으로 제조하여 전통 장류의 영양학적 우수성을 살리며 관능 및 풍미를 저해하지 않고 자생식물을 이용한 추출물을 첨가하여 항고혈압 활성과 신장 기능 향상 효과를 가지는 기능성 장류를 제조하고자 하였다. 시험 생산된 기능성 장류의 효능 분석과 관능적 기호도 조사를 통하여 제품의 규격화를 완성하고, 시제품 생산을 통해 기술적으로 완성된 대량 생산 공정을 확보하여 앞으로 장류 이외에 다른 고염식품(김치, 젓갈류 등)에도 본 기술을 접목하여 기능성 제품을 개발하고자

한다.

2. 경제·산업적 측면

국내 장류 산업의 규모 및 시장현황을 살펴보면 2005년도 기준으로 총액 6,000억 원 정도이다. 이중 간장과 된장은 각각 2,130억과 1,870억 규모로 전체시장의 35% 및 31%를 차지하고 있다(28). 이들 장류는 대부분 대량생산 방식으로 몇몇 대기업에서 제조 판매하며 일부 전통적 방법으로 생산하는 제품은 대부분 영세한 규모의 전통장류 제조업체 또는 농가형 제조업체에서 극히 소량 생산하고 있다. 본 과제에서 연구 개발하여 생산하고자 하는 기능성 장류는 국내에서 아직 유사 제품이 생산되지 않고 있으며, 이들 제품을 웰빙용 식품(가정), 단체급식용(학교), 고혈압·신장장애 등 환자용(병원), 대체 의학을 위한 자연 식이요법용 등으로 제조·판매하고자 한다.

본 연구를 토대로 기능성 장류를 생산함에 있어서 그 원료 수급과정은 지역 근린 농가의 소득창출에 이바지할 것으로 예측되며, 지속적인 제품 개발과 과학적인 근거 자료가 뒷받침된다면 세계적인 식품으로서 발돋움할 가능성이 충분하리라 전망된다.

3. 사회·문화적 측면

현대인의 질병예방과 건강에 대한 관심 고조로 나타나는 웰빙 문화는 새로운 삶의 방식과 문화 소비 코드로 대두하면서 소비자들의 식품선택에도 영향을 주어 맛, 색, 향기와 같은 관능적 특성을 포함하여 식품의 기능성까지 중요시하게 되었다.

최근 콩의 isoflavone이 항산화, 항암활성 및 에스트로겐 유사활성을 지녀 골다공증 및 심혈관계질환 예방 등에 효과적이라는 연구 결과가 발표(29-37)되면서 콩의 가치가 더욱 커지고 있는데, 특히 콩 발효 식품인 장류는 우리나라의 음식문화에서 커다란 영향력을 가지고 있다. 그러나 장류에 함유된 다량의 식염(12-20%)으로 인한 고혈압 및 신장 기능 장애가 우려되므로 우리의 전통식품을 보호하는 차원에서 대책 마련이 매우 시급한 실정이다. 일반적으로 장류 제조공장에서 생산되고 있는 간장은 주로 단백질 가수분해에 의해 제조된 화학간장이 혼합된 개량식 간장으로서 소비자들로부터 MCPD, DCP와 같은 발암물질의 문제점이 지속적으로 제기되고 있다. 따라서 천연 양조간장인 재래식 간장에 기능성을 부여하면 소비자들의 호응을 기대할 수

있을 것이다. 현재 시중에 유통되고 있는 저염 제품은 나트륨 함량을 줄인 대신 짠 맛을 유지하기 위해 염화칼륨을 첨가하는데, 이 때 염화칼륨 대부분은 신장으로 배출되기 때문에 신장 기능이 떨어진 사람이 이를 많이 섭취하면 호흡 곤란은 물론 심장마비까지 일으킬 수 있다. 또한, 신장병 치료제로 혈중 칼륨 수치를 높일 수 있는 약제가 흔히 사용되고 있으므로 여기에 칼륨이 많이 포함된 저염 제품까지 섭취하면 매우 위험한 결과를 가져올 수 있다. 본 과제에서 연구된 『고혈압 및 신장장해 예방 기능성 장류』는 웰빙 식품으로서 시장성이 있고 국민 건강에 크게 기여하며, 나아가 전통식품의 개발과 소비 활성화를 촉진하여 전통 식문화의 계승발전에 이바지하고 국가 이미지 제고라는 점에서 커다란 의의를 가지고 있다. 최근 동양의 음식문화에 대한 관심이 고조되고 있는 가운데 우리 전통식품의 세계화도 가능할 것으로 전망된다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

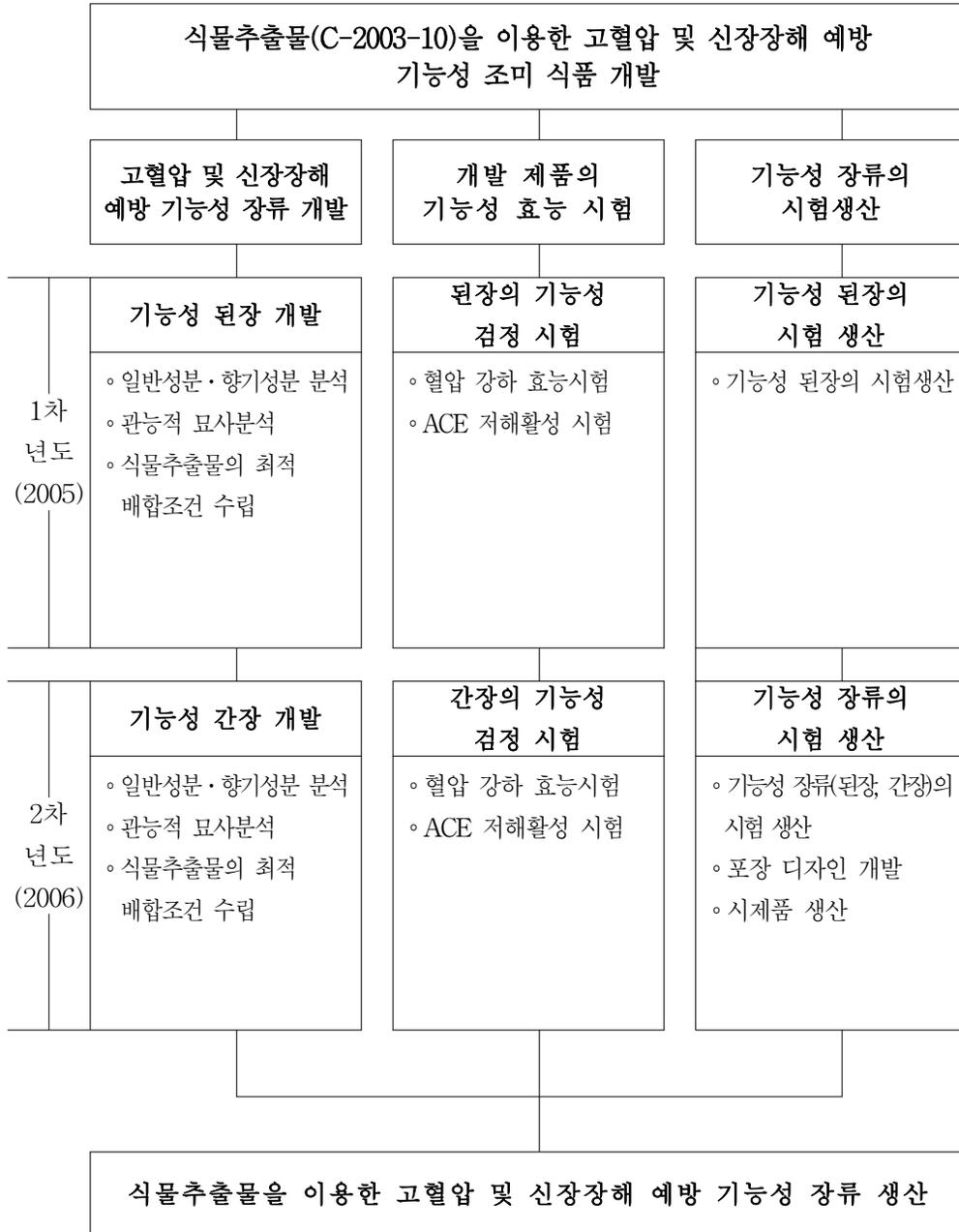
1. 연구 목표와 내용

본 연구개발의 목표는 혈압을 낮추는 항고혈압 활성과 신장 기능 향상에 효과가 있는 식물추출물을 장류 제조 시 첨가함으로써 전통장류의 관능 및 풍미를 저해하지 않으면서 염분에 의한 위해를 예방하고 완화할 수 있는 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 조미식품을 제조하는 데 있다.

연구의 범위는 첫째, 기능성 장류제품을 제조하기 위한 약용식물을 선발하고 선발된 소재에 대한 ACE 저해활성을 탐색하며, 둘째, 선발된 약용식물의 혼합추출물을 장류제품에 적용하여 기능성을 확인한 후 최종적으로 항고혈압 및 신장장해 예방 기능성 장류제품을 제조하는 것이다.

구분 (연도)	연구목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (2005)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 기능성 된장 제조 및 기능성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 추출물 선발을 위한 자료 조사 및 ACE 저해활성 시험 ○ 기능성 추출물을 첨가한 된장의 제조 및 성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 일반성분 분석 - 아미노산 분석 - 관능검사 - 향기성분 분석 ○ 기능성 된장의 ACE 저해활성 시험 ○ 기능성 된장의 기능성 확인을 위한 동물시험 <ul style="list-style-type: none"> - 혈압강하 및 혈중 지질농도 시험
2차 년도 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 기능성 간장 제조 및 기능성 평가 ■ 기능성 장류 시제품 생산 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 추출물을 첨가한 간장 제조 및 성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 일반성분 분석 - 아미노산 분석 - 관능검사 - 향기성분 분석 ○ 기능성 간장의 ACE 저해활성 시험 ○ 기능성 간장의 기능성 확인을 위한 동물시험 <ul style="list-style-type: none"> - 혈압 강하 및 혈중 지질농도 시험 ○ 기능성 장류 시제품 제작(된장, 간장)
최종 목표	<ul style="list-style-type: none"> ■ 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 장류 개발 	

2. 연구개발 추진체계



제 2 장 국내외 기술개발 현황

장류의 공업화는 1800년대 말 일본인들에 의해 시작되었고 6·25 전쟁 당시 군납을 통해서 장류 산업이 발전하여 1970년대에는 150여 개의 공장으로 번창하였으나 80년대 산분해 간장에 대한 불신으로 소비가 급감하자 80여 개로 정비되었다. 그러나 주거환경 및 음식문화의 변화와 편의성 추구 등으로 공장산 장류제품에 대한 수요가 다시 급증하면서 현재는 장류생산 업체가 500여 개에 이르고 있으나 대부분이 영세한 규모이다. 2005년 생산량은 간장 201,942 톤, 된장 162,694 톤이며 총매출액이 4,000억 원 내외이다(27). 근래에는 제품이 다양화되어 간장 제품으로 불고기양념간장, 초간장, 회간장, 무침간장 등이, 된장 제품으로 짬장 등과 같이 기능별로 다양화된 제품이 개발되어 시판되고 있다.

일본에서는 1980년대 초 글루탐산 발효법을 완료하고 이를 간장 분야에 활용하면서 간장 분야의 특허출원을 주도하고 있다. 우리나라에서는 1985년 산분해 간장 파동과 1996년 불임 및 발암물질 검출 파동으로 위해 물질의 생성을 최소화하는 연구가 진행되면서 본격적인 전통발효 간장에 대한 특허출원이 이루어지고 있다. 또한, 저염 장류에 대한 소비자들의 요구가 증가함에 따라 소금에 포함된 나트륨 염의 대체 염류에 관한 출원도 이루어지고 있다.

최근 장류를 비롯한 국산 전통식품들의 과학적 효능분석에 대한 국책연구사업이 수행되어 항암효과, 항혈전 작용 등 생리활성 효과가 우수하다는 학계의 실험결과가 보고되면서 전통식품에 대한 과학적 연구에 대한 관심이 고취되고 있다. 그런데 전통장류는 고유의 색과 향미를 갖고 있으나 신세대 소비층의 기호성 변화로 소비가 감소하고 있고 고염식품의 이미지가 강하므로 이에 알맞은 새로운 대체식품 개발이 요구된다.

본 과제는 기능성 식물추출물(C-2003-10)을 이용하여 장류에 함유된 다량의 식염에 의한 위해를 방지할 수 있는 기능성 장류제품을 개발하는 연구로서 국민의 영양학적 측면, 국가 의료 보호 차원의 경제적인 측면, 나아가 전통발효식품 산업부분의 발전에도 크게 이바지할 것으로 기대된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구수행 방법

1. 기능성 추출물의 제조

식물추출물(C-2003-10)은 어성초, 결명자, 산수유, 오미자, 복령, 백출, 저령, 백작약, 황기, 천궁, 황금, 회침, 육계 등 13종으로 구성된 혼합 추출물로서 전통식 장류 제조 후 첨가하였다. 각 시료는 시중에서 유통되는 건조된 형태의 국내산 제품을 구입한 후 시료 절단기(SPM-240)를 이용하여 약 1 cm 내외 길이로 얇게 절단하였으며 저온저장하면서 사용하였다. 추출물은 상기 재료들을 깨끗한 청정수로 씻은 후 Table 1과 같은 비율로 혼합하여 1 kg을 제조한 후 6 L의 물과 함께 고온 고압 약탕기에 넣어 5시간 동안 열수 추출하고 미세여과포로 여과하여 제조하였다.

2. 기능성 장류제품의 제조

장류 제조를 위해 사용된 모든 재료는 전라남도 곡성군의 재래시장에서 구입하였다. 황금빛이 나는 대두를 삶은 다음 으깨어 무게가 대략 2.0-2.5 kg 되는 입방형 덩어리를 제조하였다. 이 덩어리를 2-3일간 건조한 후 균열이 생기면 짚을 이용하여 27-28℃에서 2주간 세균과 곰팡이에 의한 효소작용을 일으키도록 방치하고 햇빛에 건조하여 메주를 제조하였다. 씻어 말린 메주는 식염수를 넣은 항아리에 뜰 정도로 넣고 숯, 대추, 고추 등을 넣어 봄에 햇빛이 잘 드는 곳에서 발효시켰다. 약 40-50일 동안 숙성하여 즙액을 분리한 후, 액은 장달임하여 간장을 제조하고 남은 메주는 된장을 제조하였다 (Figure 1). 기능성 장류는 재래식 장류(된장, 간장)에 기능성 식물추출물을 농도별(3 및 5%)로 첨가하고 10분간 균질화하여 실험 재료로 사용하였다.

Table 1. Ratio of content of herb materials for extract preparation

(Unit: %)

Scientific name of herb material	Korean name	Ratio of content
<i>Hottuynia cordata</i> Thunb.	어성초	10.81
<i>Cassia tora</i> L.	결명자	10.81
<i>Cornus officinalis</i> Sieb. et Zucc.	산수유	10.81
<i>Schizandra chinensis</i> Baillon	오미자	10.81
<i>Poria cocos</i> Wolf.	복령	8.11
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	백출	8.11
<i>Polyporus umbellatus</i> Fries	저령	8.11
<i>Paenia albiflora</i> Pallas var. <i>trichocarpa</i> Bunge	백작약	8.11
<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	황기	5.41
<i>Cnidium officinale</i> Makino	천궁	5.41
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	황금	5.41
<i>Siegesbeckia pubescens</i> Makino	희첩	5.41
<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	육계	2.68
		100

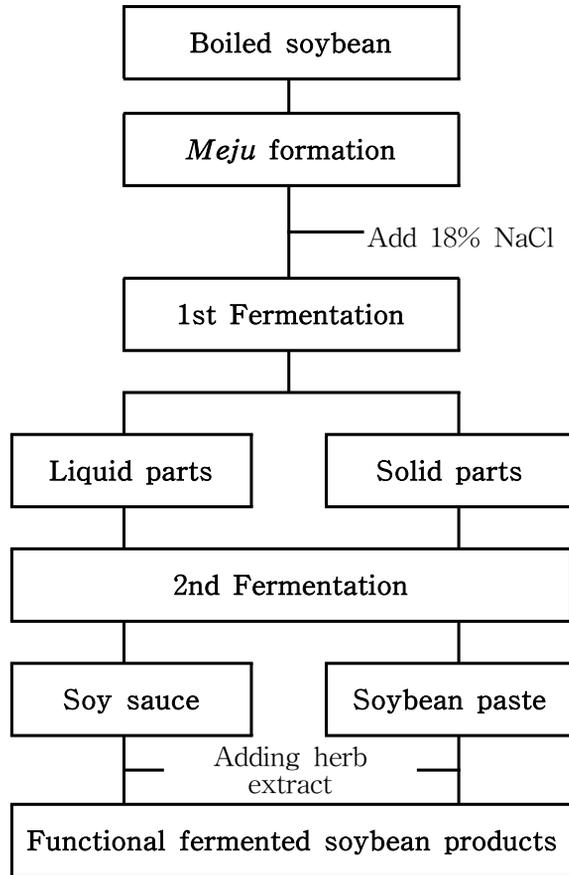


Figure 1. Manufacturing process of functional fermented soybean products.

3. ACE 저해활성 측정

ACE (Angiotensin Converting Enzyme)는 RAS (Renin-Angiotensin System)에서 renin에 의해 angiotensinogen으로부터 활성화된 angiotensin I을 angiotensin II로 전환시키는데, angiotensin II는 계속하여 부신, 혈관평활근세포, 신장, 심장 등에 존재하는 4종의 AT receptor에 작용하며 그 중 AT₁ receptor는 혈관수축, aldosterone과 vasopressin의 방출, 세뇌관의 나트륨 흡수, 신장으로의 혈류량 감소 등을 유발함으로써 심혈관, 신장 및 중추에서 여러 가지 병변을 가져오게 된다(38). 한편 ACE는 Kallikrein-Kinin System (KKS)에서 B₂ receptor를 통해 혈관확장의 촉진, 혈소관의 흡착 및 평활근세포 증식의 저해 기능을 하는 bradykinin을 불활성화하기도 하는데 (39), 결국 심혈관계에 여러 문제를 유발시키므로 ACE의 작용에 대한 저해물질인 ACE inhibitor는 고혈압뿐만 아니라 만성신장병, 동맥경화, 심장발작 등을 효과적으로 감소시킬 수 있다.

즉, ACE inhibitor는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성저해, aldosterone 분비 감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 나트륨의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다.

가. 시료 제조

선정된 약용식물 13종을 각각 ethanol로 추출한 후 추출 용매를 완전히 제거하여 식물별 추출물을 제조하였다. 각 추출물과 기능성 장류(된장, 간장)를 1%(v/v, 10% ethanol)의 농도로 제조하여 실험에 사용하였다.

나. 효소용액의 제조

ACE storage buffer는 300 mM NaCl을 함유한 0.1 M Sodium borate buffer (pH 8.3)로 조정하여 냉장보관 한 후 Sigma사(MO, USA)로부터 구입한 ACE (rabbit lung acetone powder)를 0.1 unit/mL씩 희석하여 용해시킨 것을 냉동 보관하며 효소 활성측정 시 해동하여 사용하였다.

다. 기질용액의 제조

Substrate storage buffer는 300 mM NaCl을 함유한 0.1 M Sodium borate buffer

(pH 8.3) 5 mL에 HHL (hippuryl-histidyl-leucine) 25 mg을 첨가하여 실험에 사용하였다.

라. ACE 저해활성 측정

시험관에 1%(v/v) 농도의 시료 50 μ l를 넣은 후 완충용액 100 μ l와 ACE 효소액 50 μ l를 넣고 37°C water bath에서 5분간 예비반응 하였다. 여기에 기질용액 50 μ l를 넣고 37°C에서 30분간 반응 시킨 후 1 N HCl 250 μ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 5분간 vortex한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 원심분리 한 상등액 1 mL를 취해 120°C에서 30분간 건조한 후 증류수 4 mL를 가하여 1시간 동안 완전히 용해시킨 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\{(C - C_b) - (S - S_b)\}}{(C - C_b)} \times 100$$

C : Control (Control의 흡광도)

C_b : Control Blank (Control 공시료의 흡광도)

S : Sample (Sample의 흡광도)

S_b : Sample Blank (Sample 공시료의 흡광도)

4. 기능성 장류제품의 품질평가

가. 일반성분 분석

일반 및 기능성 장류제품에 대한 일반성분은 현행 식품공전의 일반시험분석법(40)에 따라 분석하였다. 수분함량은 105°C 상압가열건조법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 직접회화법을 시행하여 정량하였고, 탄수화물은 100에서 수분함량, 조단백질, 조지방, 조회분 함량을 뺀 값을 사용하였다. 각 실험은 3회 반복하여 얻은 평균값을 사용하였다.

나. 아미노산 분석

일반 및 기능성 장류제품에 대한 총아미노산과 유리 아미노산 분석은 현행 식품공

전(40)에 의한 분석법을 사용하였고, 아미노산 자동 분석기(SYKAM S433H, Vertriebs GmbH, Germany)를 사용하여 분석하였다. 총아미노산 분석조건은 Table 2, 유리아미노산 분석조건은 Table 3에 제시하였으며, 분석된 시료의 아미노산 계산식은 다음과 같다.

$$\text{아미노산 함량(mg/g)} = \text{검량선에서 계산된 수치}(\mu\text{g/mL}) \times \frac{\text{시험용액의부피(ml)}}{\text{시료의무게(g)}} \times \frac{1\text{mg}}{1000\mu\text{g}}$$

다. 관능검사

관능검사는 조선대학교 식품영양학과 대학원 및 연구원 15명을 대상으로, 시료의 검사방법, 평가할 특성과 항목 등에 대하여 충분히 인지하도록 훈련시킨 후 검사에 참여하도록 하였다. 된장, 간장의 색, 향, 맛 및 종합적 기호도의 4가지 특성에 대하여 9점 척도법으로 조사하였다. 기호도는 “가장 좋다(like extremely)”를 9점으로, “가장 싫다(dislike extremely)”를 1점으로 평가하였다(41). 관능검사 요원에게는 식물 추출물을 첨가하여 제조한 된장, 간장을 각각 10 g(색, 향에 대한 평가 시료, 흰색 접시에 제공), 그리고 된장, 간장 5 g 씩에 물 100 ml를 넣고 충분히 용해시켜 흰색의 종이컵에 일정량씩 나눠 담은 시료(맛에 대한 평가 시료)와 평가 사이사이에 입을 가릴 수 있도록 정수한 물을 제공하였다. 결과는 SPSS 통계 프로그램의 Analysis of Variance (ANOVA)와 Duncan’s multiple range test (DMRT)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

Table 2. HPLC operating conditions for total amino acid analysis

Column	Esclipse AAA (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)mm		
Column temperature	40°C		
Injection volume	10 μl		
Mobile phase	Time	%A : 40 mM NaH ₂ PO ₄ (pH 7.8)	%B : ACN: MeOH: DW (45:45:10)
	0.00	100	0
	2.48	100	0
	21.14	43.3	56.7
	24.22	0	100
	29.72	0	100
	30.94	100	0
	34.66	100	0
Flow rate	1.5 mL/min		
Detector	UV 338 nm		

Table 3. HPLC operating conditions for free amino acid analysis

Column	Esclipse AAA (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m)mm		
Column temperature	40°C		
Injection volume	10 μ l		
Mobile phase	Time	%A : 40 mM NaH ₂ PO ₄ (pH 7.8)	%B : ACN: MeOH: DW (45:45:10)
	0.00	100	0
	2.48	100	0
	30.00	43.3	56.7
	31.00	0	100
	32.00	0	100
	35.00	100	0
	40.00	100	0
Flow rate	1.5 mL/min		
Detector	UV 338 nm		

라. 향기성분 분석

1) 향기성분의 추출

각각의 시료를 Milli Q water 1 L와 혼합하여 Waring blender (MR 550 CA, Braun, Spain)로 1분간 분쇄한 후 0.1 N NaOH 수용액을 첨가하여 pH meter (Pinnacle 530P, Nova Analytics Corporation, USA)로 측정하면서 pH가 약 6.5가 되도록 조절하였고, 이를 휘발성 유기성분의 추출용 시료로 사용하였다.

향기성분의 추출은 Schultz (42) 등의 방법에 따라 개량된 연속수증기 증류추출장치 (Simultaneous steam distillation and extraction apparatus, Likens & Nikerson type, SDE) (43)로 상압에서 2시간 동안 추출하였다. 이때 향기성분의 추출용매는 재증류한 n-pentane과 diethylether 혼합용매(1:1, v/v) 200 mL를 사용하였으며 정량분석을 위해 n-butylbenzene 1 mg을 내부표준물질로서 준비된 시료에 직접 첨가하였다. SDE 방법으로 추출된 추출용매에 무수 Na_2SO_4 를 첨가하여 하룻밤 동안 방치하여 수분을 제거하였고, 추출된 향기성분의 유기용매 분획분은 Vigreux column (Normschliff Geratebau, Germany)을 사용하여 약 1 mL까지 농축하고 GC용 vial에 옮긴 후 질소가스 기류하에서 약 0.5 mL까지 농축하여 GC/MS의 분석시료로 하였다.

2) GC/MS에 의한 향기성분 분리·분석

SDE 방법으로 추출, 농축된 향기성분을 GC/MS에 의하여 분석하였고, 향기성분의 질량분석에 사용한 GC/MS 분석기기는 Shimadzu GC/MS QP-5050 (Shimadzu Co., Kyoto, Japan)을 사용하였으며 시료의 이온화는 electron impact ionization(EI)방법으로 행하였다. GC/MS 분석조건은 ionization voltage를 70 eV로 하였고, ion source 온도는 230°C로 설정하였고, 온도 프로그램은 40°C에서 3분간 유지한 다음 2°C/min의 속도로 150°C까지 4°C/min의 속도로 200°C까지 상승시킨 후 10분간 유지하도록 설계하였다. 또한 분석할 분자량의 범위(m/z)는 40~350으로 설정하였다. Column은 DB-wax (J&W, 60 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness)을 사용하였다. Injector와 detector의 온도는 각각 250, 300°C이며, carrier gas는 helium을 사용하여 유속은 1.0 mL/min으로 하고 시료는 1 μl 를 주입하였고 split ratio는 1:20으로 하였다.

3) 향기 성분의 확인 및 정량

GC/MS에 의해 total ionization chromatogram (TIC)에 분리된 각 peak의 성분분석은 mass spectrum library(WILEY 139, NIST 62와 NIST 12)와 mass spectral data book의 spectrum(44)과의 일치 및 GC-FID 분석에 의한 retention index와 문헌상의 retention index(45, 46)와의 일치, 그리고 표준물질의 분석 data를 비교하여 확인하였다.

정량을 위하여 향기성분 추출 시 내부표준물질로 첨가된 n-butylbenzene과 동정된 향기성분의 peak area를 이용하여 시료 1 kg에 함유된 휘발성 향기성분을 상대적으로 정량하였다.

$$\text{Component content(mg/kg)} = \frac{B}{A \times C} \times 1000$$

- A : n-butylbenzene의 peak area
- B : 각 성분의 peak area
- C : 추출에 사용된 시료의 양(g)

5. 개발제품의 기능성 검정 시험

가. 1년차 기능성 검정 시험(된장)

1) 식이 및 실험군 조성

본태성 고혈압 쥐(Spontaneously Hypertensive Rat; SHR)는 Shizuoka Laboratory Center Inc. Ltd. (Japan)에서 6주령의 수컷을 구입하여 납품시점의 혈압 수치에 따라 각 군당 평균 혈압이 유사하도록 8마리씩 배치한 후 1주간 적응시켰다. SHR의 고지혈증 유발을 위하여 일반사료에 식용둔지(롯데삼강) 15%와 콜레스테롤(Kanto Chemical Co., Japan) 2%를 첨가한 고지방 사료를 제조하였다. 일반사료를 섭취시킨 군을 대조군으로 하고, 고지방 사료 급이군을 실험군 I, 고지방 사료에 된장 10%를 혼합한 사료를 급이한 군을 실험군 II, 된장함유 고지방 사료를 급이하면서 매일 1.25 mL의 식물추출물을 경구 투여한 군을 실험군 III, 된장함유 고지방 사료에 식물추출물을 1.5 및 3.0% 첨가한 사료를 급이한 군을 각각 실험군 IV, 실험군 V로 하였고, 일반사료에 된장 10% 및 식물추출물 3.0%를 혼합한 사료를 급이한 군을 실험군 VI로 하였다(Table 4). 모든 사료는 펠렛 형태로 제조하여 물과 함께 자유 섭취시켰

다. 식물추출물의 첨가량은 인체 섭취량과 동일한 양을 기준치(총 사료량의 3%)로 하였다. 즉, 한약 처방에 따를 경우 60 kg 성인이 하루에 3봉(1봉=100 mL)을 섭취하게 되는데 실험에 사용된 식물추출물은 통상적인 추출 농도의 2배로 제조하였으므로 150 mL가 권장복용량이 되며 이는 인체 체중의 0.25%에 해당된다. SHR은 4주령시 약 100 g, 8주령시 350 g이 되므로 평균 체중을 250 g으로 할 때 체중의 0.25%에 해당되는 식물추출물의 양은 0.625 mL이다. 따라서, 하루 20 g 정도의 사료를 섭취하는 쥐가 하루에 0.625 mL를 섭취하기 위한 식물추출물의 첨가 비율은 사료량의 3%(0.03125)이다.

2) 혈압 측정

혈압은 실험기간 동안 매주 1회 같은 시간에 측정하였다. SHR을 36℃로 조절된 항온조에 넣어 약 10분간 안정화시킨 후 간접혈압장치(Indirect Automatic BP Analyser, LE5002, PANLAB, S.L., Spain)를 이용하여 꼬리동맥으로부터 수축기, 이완기 및 평균 혈압을 측정하였다. 한 동물에서 4회 이상 반복 측정하여 최대값과 최소값을 제외한 나머지 2회 측정값의 평균을 측정치로 하였다.

3) 혈청 지질 농도 및 효소 활성 측정

매주 1회 모세혈관을 SHR의 안구에 삽입하여 1.5-2 mL의 혈액을 채혈하고 헤파린 처리된 tube에서 2시간 정치시킨 후 4,500 rpm에서 7분간 원심분리하여 얻은 혈청으로 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방, 인지질 농도 및 ALT와 AST의 활성을 측정하였다. 총콜레스테롤과 HDL-, LDL-콜레스테롤 및 인지질 함량은 효소법, 중성지방은 Lipase, GK, GPD법, SGPT와 SGOT는 IFCC법으로 검사하였으며, 검사 kit는 각각 Cholesterol reagent (Bayer, NY, USA), Direct HDL-Colesterol (Bayer, NY, USA), Cholestest LDL (Daiichi, Tsukuba, Japan), L-Type PL (Wako Pure Chemicals, Tokyo, Japan), Triglycerides reagents (Bayer, NY, USA), ALT reagents (Bayer, NY, USA), AST reagents (Bayer, NY, USA)를 사용하였으며 Multifunctional Biochemistry Analyzers (ADVIA 1650, Bayer, Japan 및 Hitachi 7180, Hitachi, Japan)로 분석하였다(Table 5).

Table 4. Ingredients of experimental diets by group at the 1st phase

Ingredients	Content (%)						
	Control	Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V	Group VI
Normal feed ¹⁾	100	-	-	-	-	-	87.0
High fat feed ²⁾	-	100	90.0	90.0	88.5	87.0	-
Soybean paste	-	-	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Extracts	-	-	-	1.5 ml/day ³⁾	1.5	3.0	3.0

¹⁾ Compositions of Normal feed:

- Crude protein no less than 22.1%
- Crude fat no less than 3.5%
- Crude Fiber no less than 5.0%
- Crude ash no less than 8.0%
- Ca no less than 0.6%
- P no less than 0.4%

²⁾ Ingredients of High fat feed: Normal feed 83%, Lard 15%, Cholesterol 2%

³⁾ oral administration.

Table 5. Methods, kits and analyzers used for serum analysis

Item	Analysis method	Kit	Analyzer
Cholesterol, total	Enzymatic, colorimetry	Cholesterol reagent /Bayer/USA	ADIVA 1650 /Bayer/Japan
HDL-Cholesterol	Enzymatic, colorimetry	Direct HDL-Cholesterol /Bayer/USA	ADIVA 1650/ Bayer/Japan
LDL-Cholesterol	Enzymatic, colorimetry	Cholestest LDL /Daiichi/Japan	Hitachi 7180 /Hitachi/Japan
		LDL-Colesterol /Bayer/USA	ADIVA 1650 /Bayer/Japan
Triglyceride	Lipase, GK, GPD, colorimetry	Triglycerides reagents /Bayer/USA	ADIVA 1650 /Bayer/Japan
Phospholipid	Enzymatic method	L-type PL /Wako/Japan	Hitachi 7180 /Hitachi/Japan
SGPT	IFCC	ALT reagents /Bayer/USA	ADIVA 1650 /Bayer/Japan
SGOT	IFCC	AST reagents /Bayer/USA	ADIVA 1650 /Bayer/Japan

나. 2년차 기능성 검정 시험(된장 및 간장)

1년차 시험에서 고혈압과 혈중 지질 농도에 대한 식물추출물(C-2003-10)의 급이 효과를 시험한 결과, 추출물을 급이 하지 않은 그룹에서는 혈압이 지속적으로 상승되었으나 추출물을 급이한 그룹에서는 시험 개시 수준의 혈압을 유지하거나 혈압이 저하되는 추세를 확인하였다. 고지방 사료 급이를 통하여 고지혈증을 유발한 후 추출물 급이에 따른 혈중 지질 성분의 변화를 확인한 결과, 추출물을 급이한 그룹이나 급이 하지 않은 그룹 간에 유의적인 차이를 보이지 않음으로써 추출물의 급이와 혈중 지질 농도와는 상관관계가 없는 것으로 확인되었다. 다만, 혈압 저하 효과와 관련하여, 추출물 혼합 급이군이 추출물 경구 투여군에 비해 오히려 혈압 감소가 더 뚜렷하게 나타난 것은 혈압측정상의 오차로 추정되었다.

다양한 항고혈압 기능성 장류제품을 개발하기 위하여 2차년도에는 추출물을 된장과 간장에 확대 적용하여 이들 추출물 혼합 장류제품의 혈압 저하 효과를 확인하고, 1차년도에서 혈압측정상의 오차로 추정되는 결과를 확인하기 위하여 추출물을 장류제품에 섞어 급이한 그룹과 경구 투여한 그룹 간의 혈압 저하 효과 비교시험을 다시 실시하였다.

1) 식이 및 실험군 조성

실험동물은 Shizuoka Laboratory Center Inc. Ltd. (Japan)에서 구입한 6주령의 수컷 본태성 고혈압 쥐(Spontaneously Hypertensive Rat; SHR)를 사용하였다. 60마리를 입식 시점의 혈압 수치에 따라 각 군당 평균 혈압이 유사하도록 10마리씩 6개군으로 분류하여 배치한 후 일반사료(Fomula-M07, (주)e-조은사료, 한국)를 급이하면서 2주간 적응시켰다. 일반사료를 섭취시킨 군을 대조군으로 하고, 일반사료에 된장 10%를 혼합한 사료를 급이한 군을 실험군 I, 일반사료에 간장 10%를 혼합한 사료 급이군을 실험군 II, 된장 10%와 추출물 3%를 혼합한 사료 급이군과 간장 10%와 추출물 3%를 혼합한 사료 급이군을 각각 실험군 III과 IV로 하였고, 일반사료만을 급이하면서 1.25 mL의 추출물을 매일 경구 투여한 군을 실험군 V로 하였다(Table 6). 추출물은 8주령 SHR의 평균 사료섭취량(20 g/일)과 평균 체중(250 g/마리)을 고려하여 통상적인 인체 투여량과 동일한 량(체중의 0.25% = 0.625 mL)을 섭취하도록 사료에 혼합(전체 사료량의 3.125%)하였으며, 경구 투여군(실험군 V)에는 통상적인 인체 투여량의 2배(1.25 mL/일)를 투여하였다. 모든 사료는 펠렛 형태로 제조하여 물과 함께 자유 섭취시켰다.

Table 6. Ingredients of experimental diets by group at the 2nd phase

Ingredients	Content (%)					
	Control	Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V
Normal feed ¹⁾	100	90	90	87	87	100
Soybean paste	-	10	-	10	-	-
Soy sauce			10	-	10	-
Extract	-	-	-	3	3	1.25ml/day ²⁾

¹⁾ Composition of Normal feed:

- Crude protein no less than 20.0%
- Crude fat no less than 7.0%
- Crude Fiber no more than 7.0%
- Crude ash no more than 6.0%
- Ca no less than 0.5%
- P no less than 0.4%
- Moisture no more than 10.0%

²⁾ Oral administration

2) 혈압 측정

혈압 측정은 1년차 시험과 동일한 방법으로 시행하였다. 즉, 실험동물을 36℃로 조절된 항온조에 넣어 약 10분간 안정화시킨 후 간접혈압장치(Indirect Automatic Blood Pressure Analyser, LE5002, PANLAB, S.L., Spain)를 이용하여 꼬리동맥으로부터 수축기, 이완기 및 평균 혈압을 매주 1회 같은 시간에 5회 이상 반복 측정하여 최대값과 최소값을 제외한 평균치를 산출하였다.

3) 혈청 지질 농도 및 효소 활성 측정

시험 종료 시 실험동물을 12시간 절식시킨 후 모세혈관을 안구에 삽입하여 1.5-2 mL의 혈액을 채혈하고 헤파린 처리된 tube에서 2시간 정치시킨 후 4,500 rpm에서 7분간 원심분리하여 얻은 혈청을 이용하여 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성 지방, 인지질 등 혈중 지질 농도를 측정하였고 간 기능 지표 검사를 위하여 SGOP, SGPT 활성도를 측정하였다.

총콜레스테롤과 HDL- 및 LDL-콜레스테롤, 인지질 함량은 효소법, 중성지방은 Lipase, GK, GPD법, SGPT와 SGOT는 IFCC법으로 검사하였으며, 검사 kit는 각각 Cholesterol reagent (Bayer, NY, USA), Direct HDL-Colesterol (Bayer, NY, USA), LDL-Colesterol (Bayer, NY, USA), L-Type PL (Wako Pure Chemicals, Tokyo, Japan), Triglycerides reagents (Bayer, NY, USA), ALT reagents (Bayer, NY, USA), AST reagents (Bayer, NY, USA)를 사용하였으며 Multifunctional Biochemistry Analyzers (ADVIA 1650, Bayer, Japan 및 Hitachi 7180, Hitachi, Japan)로 분석하였다.

4) 주요 장기의 무게 측정

채혈이 끝난 실험동물을 7 mg sodium pentobarbital/100 g BW로 마취시켜 개복한 후 간, 신장, 고환, 비장과 신장 및 고환 주위 지방을 적출하여 생리식염수로 세척, 정리한 후 여지로 물기를 제거하고 각각의 무게를 측정하였다.

5) 통계처리

본 실험 결과는 실험군당 평균과 표준편차를 계산하였고 one-way ANOVA를 실시한 후 Ducan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을

$P < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

제 2 절 연구수행결과

1. 기능성 식물 소재의 선정

가. 식물소재 개요

식품공전에 등록되어 있는 식품원료 중에서 인체 건강에 유해하지 않고 고혈압 및 신장장애 예방 등의 신진대사 작용에 관여하는 소재에 대한 문헌조사를 통하여 선발하였다(47,48). 선발된 기능성 식물소재는 어성초, 결명자, 산수유, 오미자, 복령, 백출, 저령, 백작약, 황기, 천궁, 황금, 희침, 육계로 구성된 총 13 종이었다.

어성초(*Hottuyntia cordata* Thunb.)는 약모밀이라고도 하며 높이 15-30 cm 되는 여러해살이풀로서 해독 및 이뇨 효과가 있으며 백일해, 기관지염, 간염 등의 증상을 완화한다고 알려져 있다(49). 어성초의 성분 중 quercitrin이 생엽에 함유되어 있으며, 이뇨, 강심작용, 항virus 작용, 폐렴 유발에 대한 면역 기능 증강 효과 및 항종양 효과가 있다고 보고되어 있으며(50), 또한 뇌출혈의 예방과 모세혈관을 강화하여 혈류 촉진 작용을 돕고 특히 뇌동맥의 활력증진 작용뿐만 아니라 체내 지질 저하 작용이 높이 평가되고 있다(51).

결명자(*Cassia tora* L.)는 높이 약 1 m 정도의 한해살이풀로서 씨(결명자)에서 emodin, obtusifolin, obtusin, chryso-obtusin, aurantio obtusin과 그 배당체가 분리되었다. 또한 paper chromatography에 의하여 chrysophanol, chrysophanic acid-9-anthrone, aloe emodin, rhein이 확인되었다. 씨의 물 또는 알콜 추출물은 동물실험에서 혈압 저하작용이 있으며 동의치료에서는 신을 보호하고 간열을 내리우며 거풍, 해열 효과가 있다고 하여 바람으로 머리가 아프며 눈병을 치료하는데 쓰였다(52,53).

산수유(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)는 산수유나무 열매 껍질로 열매에는 결정성 유기산, 몰식자산, 사과산, 포도주산 등이 있으며 열매 껍질에는 iridoid 배당체인 morroniside, loganin 등이 있다. 동의치료에서는 자양강장약, 수렴약으로 콩팥을 보하며 땀을 자주 흘리고 오줌이 조금씩 자주 나올 때, 허리아픔, 달거리가 고르지 않을 때 사용한다(54).

오미자나무(*Schizandra chinensis* Baillon)의 열매인 오미자의 알코올 추출물은 45-47%, 물 추출물은 39~41%이며, 많은 양의 유기산이 함유되어 있다. 씨까지 포함한 열매의 유기산은 citric acid, malic acid, tartaric acid 등이 있고, 당분, tannin,

anthocyanin, pectin, 점액, 정유가 들어 있다. 또한 열매에는 수지, saponin, ascorbic acid가 함유되어 있다. 동의치료에서는 폐를 보호하고 콩팥을 돕는 목적에 기침멧이 약, 수렴약, 자양 강장약으로 기침, 입안이 마르며 설사가 멎지 않고 땀이 나고 가래가 많을 때 사용하며, 심근쇠약, 심장신경증 등에도 사용한다(55,56).

복령(*Poria cocos* Wolf.)의 주성분은 탄수화물, 수분, 조섬유질, 무기물 및 미량의 단백질 등이며 이뇨작용, 진정작용, 심장수축 강화작용 등이 있는 것으로 알려져 있다(57). 복령 중에는 다당류인 pachyman이 약 94%, triterpene, 당, 무기물, ergosterol이 있으며, triterpenoids 성분은 항구토, 항염증, 항피부암 등의 효과를 가지며(58,59) 자연산 및 재배 복령이 폐암, 난소암, 피부암, 중추신경암, 직장암 세포 성장에 강한 저해활성을 가지는 것이 밝혀진 바 있다(60). 동의치료에서 오줌내기약, 진정약으로 오줌이 잘 나오지 않을 때 붓기와 물고임, 먹은 것이 내려가지 않고 입맛이 없을 때, 위내정수, 가슴 할랑거림, 잠을 이루지 못할 때 쓴다. 또한 근육의 간대성 경련과 어지럼증에도 쓴다(57,61).

백출은 삼주(*Atractylodes japonica* Koidzumi) 또는 당백출(*Atractylodes ovata* Koidzumi)의 뿌리줄기 또는 주피를 제거한 것이다. 정유성분은 2-3%로 atractylon, 3- β -hydroxy-atractylon, atractylenolide I, II, III 등이 함유되어 있으며, 중추억제, 경도의 혈압 강하 및 촉진효과, 말초혈관억제 등의 제작용이 있다. 함유성분으로는 주요 생리활성 성분인 atractylon에는 간 장해 억제작용이 있고, attractan A, B, C에는 혈당강하 작용이 있다. 또한 방향성 건위제로 한방에서는 비장을 보강하는 건비, 보비 처방에 사용되며 진정, 이뇨, 지한, 자양, 안태효과, 진통작용, 항염증작용, 혈당치저해효능, 혈압 강하 등이 보고되고 있다(62).

저령(*Polyporus umbellatus* Fries)은 민주름 버섯목(*Aphyllporales*) 구멍장이 버섯과(*Polyporaceae*)에 속하는 담자균으로서 활엽수, 특히 오리나무속(*Alnus* spp.) 참나무속(*Quercus* spp.) 및 자작나무속(*Betula* spp.) 등의 뿌리에 기생하여 땅 속에서 흑색의 균핵을 형성하며, 자실체는 가을에 균핵으로부터 지상에 발생한다. 약리작용으로는 신장질환, 부종, 신염, 설사, 소변불리, 구갈, 각기, 백색대하, 빈뇨, 간경화, 복수 등에 사용된다(63,64).

백작약(*Paenia albiflora* Pallas var. *trichocarpa* Bunge)은 목단과에 속하는 식물로서 진경, 진통, 수렴, 완화약으로 근육의 경련, 두통, 복통, 이직, 세균성감염 및 지한, 조경 등에 유효하다. 주로 간에 작용하며 간의 기운을 부드럽게 하고 혈액을 보충하는

기능이 있어서 월경의 주기가 불규칙한 여성과 스트레스로 인해 짜증이 있는 경우에 좋은 효과를 나타낸다. 약리작용의 주성분은 paeoniflorin, albinoflorin 등의 monoterpene glucoside로 알려져 있다(65,66).

황기(*Astragalus membranaceus* Bunge)는 주피를 거의 벗긴 뿌리로 중국 약전에는 이 이외에 몽고황기 *A. membranaceus* Bunge. var *mongholicus* Hsiao도 원식물로 기재하고 있다(47). 황기의 약리성분으로는 astragaloside를 비롯하여 isoflavonoid, isoflavone류, isoflavan, coumarin, saponin, polysaccharide, betaine 등이 알려져 있다(67). 한방에서는 맛이 달고 성질이 따뜻한 약재로 지한, 이뇨, 강장, 혈압 강하 등의 목적으로 사용되며 약리 실험에서 강장작용, 강심작용, 이뇨작용, 면역기능 조절 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다(68,69).

천궁(*Cnidium officinale* Makino)은 중국이 원산이며 우리나라 한랭한 산간지방에서 자라는 여러해살이풀로 강한 방향을 풍긴다. 땅속에 있는 덩어리 형태로 된 줄기 뿌리를 천궁이라 하고 약용으로 하며(70), 뿌리는 진경작용, 진정작용, 혈압 강하작용, 혈관확장작용, 항균작용, 항진균작용, 비타민 E 결핍증 치료 등의 약리작용을 가지고 있다. 또한 간질과 치질, 구취 증상을 가볍게 하고 피를 맑게 하며 혈압을 낮추고 혈류량을 증가시키는 작용을 하여 두통, 어지럼증, 고혈압, 협심증, 근육마비, 신경통 및 수족냉증 등에 좋은 약으로 이용되고 있다(71,72). 한방에서는 예로부터 보혈, 강장, 진정약으로 쓰이고 있으며, 빈혈증, 냉증, 축농증, 월경불순 및 부인병 질환 등에도 널리 쓰이고 있다(71).

황금은 속 썩은 풀(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 주피를 벗긴 뿌리로 봄과 가을에 채취하여 줄기와 수염뿌리를 제거하고 양건한 것을 쓴다. 약리작용으로는 항히스타민 효과, 항간장독, 항균작용, 항암작용, 항박테리아 활성, 항염증효과 등이 알려져 있다(73).

회침(*Siegesbeckia pubescens* Makino)은 식물 높이 약 1 m의 국화과의 한해살이풀이며 들이나 밭 근처에서 자란다. 만지면 샘털이 있어 찢득찢득 하기 때문에 진득찰이라 한다. 한방에서는 뿌리를 제외한 전체를 약재로 쓰는데, 관절염, 사지마비, 중풍, 고혈압, 두통, 어지럼증, 급성간염, 황달, 중기, 피부가려움증, 습진 등에 효과가 있다(47,74).

육계는 일본의 남부에서 재배하는 *Cinnamomum cassia* Blume의 뿌리껍질로 정유 성분이 약 1% 정도 함유되고 주성분은 cinnamaldehyde, camphor, linalool 등이며,

계피와 같은 목적으로 사용하는 대용품이며 주로 식용, 향신료로 사용한다(75,76).

나. ACE 저해활성

안지오텐신 전환효소 억제제는 당뇨병성 신증과 비 당뇨병성 만성 신질환에서 단백뇨를 감소시키고 신기능의 악화를 지연시키는 신 보호효과가 알려져 임상에서 만성 신질환 환자의 치료제로 많이 사용되고 있다(77-81). 본 실험에 사용된 약용식물의 ACE 저해활성을 측정한 결과는 Table 7에 제시한 바와 같다. 실험한 결과 80% 이상의 높은 ACE 억제활성을 보인 약용식물은 황금($86.37 \pm 1.31\%$), 저령($84.59 \pm 4.24\%$)등 2종이었다. 30-59%의 ACE 억제 활성을 보인 약용식물은 총 4종으로 결명자($47.55 \pm 2.28\%$), 백작약($38.25 \pm 2.65\%$), 여성초($37.64 \pm 1.65\%$), 천궁($31.96 \pm 1.01\%$) 등이었고 복령, 회침, 육계, 황기, 오미자, 백출, 산수유 등은 20-29%의 ACE 억제활성을 보였다. 이러한 ACE 저해활성 결과는 앞으로 고혈압 예방에 유용한 활성물질 개발의 기초 자료로서 활용될 것으로 사료된다.

Table 7. ACE inhibitory activity of herb materials

Scientific name of herb materials	Korean name	used part	ACE inhibition rate (%)
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	황금	R	86.37±1.31
<i>Polyporus umbellatus</i> Fries	저령	SC	84.59±4.24
<i>Cassia tora</i> L.	결명자	S	47.55±2.28
<i>Paenia albiflora</i> Pallas var. <i>trichocarpa</i> Bunge	백작약	R	38.25±2.65
<i>Hottuyntia cordata</i> Thunb.	어성초	L	37.64±1.65
<i>Cnidium officinale</i> Makino	천궁	R	31.96±1.01
<i>Poria cocos</i> Wolf.	복령	SC	28.62±1.99
<i>Siegesbeckia pubescens</i> Makino	희침	A	27.63±1.77
<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	육계	B	25.81±2.03
<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	황기	R	23.42±3.90
<i>Schizandra chinensis</i> Baillon	오미자	F	22.34±3.16
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	백출	R	20.96±1.51
<i>Cornus officinalis</i> Sieb. et Zucc.	산수유	F	20.49±3.31

A: all, B: bark, F: fruits, L: leaves, S: seeds, SC: sclerotium, R: roots

2. 기능성 장류제품의 품질평가

가. 일반성분

1) 된장

된장의 일반성분 함량 분석결과는 Table 8과 같이, 수분 $53.7\pm 0.8\%$, 회분 $11.6\pm 0.3\%$, 조단백질 $16.0\pm 0.3\%$, 조지방 $8.7\pm 0.4\%$, 탄수화물이 $10.0\pm 0.2\%$ 이었다. 이는 식품성분표(82) 중 전통된장의 일반성분 규격인 수분 54%, 회분 12.5%, 조단백질 13.6%, 조지방 8.2%, 탄수화물 11.7%와 비교하였을 때, 단백질의 함량은 약간 높았으며, 탄수화물의 함량은 약간 낮은 것으로 확인되었다. 또한 식품공전(39)에서는 된장의 성분규격을 “조단백질 8% 이상, 조지방 2% 이상이어야 한다”고 규정하고 있는데, 이는 본 연구에 사용된 제품이 콩만을 사용한 전통된장이기 때문에 식품공전의 기준을 훨씬 상회하고 있음을 알 수 있었다. 식물추출물을 3%의 농도로 첨가한 된장의 일반성분 함량 분석결과는 수분 $54.2\pm 1.1\%$, 회분 $11.5\pm 0.4\%$, 조단백질 $15.7\pm 0.4\%$, 조지방 $8.5\pm 0.4\%$, 탄수화물이 $10.1\pm 0.3\%$ 이었다. 식물추출물을 5% 함유한 기능성 된장의 일반성분 함량은 수분 $54.6\pm 0.4\%$, 회분 $11.1\pm 0.3\%$, 조단백질 $15.7\pm 0.3\%$, 조지방 $8.3\pm 0.3\%$, 탄수화물이 $10.3\pm 0.2\%$ 이었다. 박(83) 등은 시판 전통식 된장의 일반성분을 분석하였는데 수분 함량은 평균 54.7%로서 49.8-58.9%의 범위를 나타내어 본 연구결과와 비슷하였고, 조단백질 함량은 평균 13.8%로서 시료 간에 11.8-16.8% 범위로 많은 차이를 나타내었으며 본 연구에서도 유사한 결과를 확인하였다. 조지방의 함량은 평균 8.0%로서 7.1-8.6%의 범위를 보여 본 연구 결과와 비슷하였다. 시판되는 공장의 중국 된장(수분: 47.7%, 조지방: 6.7%, 조단백질: 11.5%)에 비해서는 모두 높았다(84). 또 다른 연구자에 의해 보고된 40-60일 숙성 전통 된장 및 중국 된장의 수분함량(48-52%) 보다는 약간 높았고, 조지방의 함량(8.6-10%)은 비슷한 수준이었으며, 조단백질(12.6-14.3%) 함량은 약간 높았다(85). 이와 같은 현상은 이들 장류의 숙성기간의 차이, 제조방법의 차이 및 종균, 효모 활성능의 차이에 기인하는 것으로 사료된다.

전체적으로 일반 된장과 기능성 된장에서는 식물추출물의 비율이 높아질수록 수분 함량이 약간 증가하였으나 식물추출물의 농도에 따른 기능성 된장의 일반성분 조성 변화는 관찰되지 않았다.

Table 8. Contents of main components in fermented soybean paste

(Unit: %)

Material	Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate	Crude ash
SP ¹⁾	53.7±0.8	16.0±0.3	8.7±0.4	10.0±0.2	11.6±0.3
HE3 ²⁾	54.2±1.1	15.7±0.4	8.5±0.4	10.1±0.3	11.5±0.4
HE5 ³⁾	54.6±0.4	15.7±0.3	8.3±0.3	10.3±0.2	11.1±0.3

¹⁾ fermented soybean paste

²⁾ fermented soybean paste added with 3% herb extract

³⁾ fermented soybean paste added with 5% herb extract

2) 간장

간장의 일반성분 함량 분석결과는 Table 9에 나타내었으며, 수분 $71.3 \pm 0.7\%$, 회분 $15.0 \pm 0.4\%$, 조단백질 $8.6 \pm 0.4\%$, 조지방 $0.3 \pm 0.04\%$, 탄수화물은 $4.8 \pm 0.2\%$ 로 확인되었다. 이는 식품성분표(82) 중의 전통 간장의 일반성분 규격인 수분 70.4%, 회분 16.7%, 조단백질 7.7%, 조지방 0.3%, 탄수화물 4.9%와 거의 비슷한 수준을 보였다. 식물추출물을 3% 농도로 첨가한 기능성 간장에서는 수분 $71.9 \pm 0.4\%$, 회분 $14.6 \pm 0.5\%$, 조단백질 $8.4 \pm 0.3\%$, 조지방 $0.3 \pm 0.03\%$, 탄수화물은 $4.8 \pm 0.1\%$ 로 확인되었다. 5% 첨가한 간장에서는 수분 $72.7 \pm 0.27\%$, 회분 $14.1 \pm 0.4\%$, 조단백질 $8.0 \pm 0.4\%$, 조지방 $0.3 \pm 0.01\%$, 탄수화물은 $4.9 \pm 0.3\%$ 이었다.

간장의 일반성분 분석결과, 된장의 경우와 같이 추출물 첨가에 따른 일반성분에는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다.

Table 9. Contents of main components in soy sauce

(Unit: %)

Material	Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate	Crude ash
SS ¹⁾	71.3±0.7	8.6±0.4	0.3±0.04	4.8±0.2	15.0±0.4
HE3 ²⁾	71.9±0.4	8.4±0.3	0.3±0.03	4.8±0.1	14.6±0.5
HE5 ³⁾	72.7±0.7	8.0±0.4	0.3±0.01	4.9±0.3	14.1±0.4

¹⁾ soy sauce

²⁾ soy sauce added with 3% herb extract

³⁾ soy sauce added with 5% herb extract

나. 아미노산

1) 총 아미노산

가) 된장

대조군인 일반 된장을 포함하여 기능성 된장의 총 아미노산 함량을 분석한 결과, 10,946-11,391 mg%로 확인되었으며, 총 17종의 아미노산으로 구성되었다. 일반 된장의 주요 구성 아미노산은 식품의 맛을 좌우하는 주요 정미성분인 glutamic acid로 총 아미노산의 14.8%를 차지하였다(Table 10). 그 다음으로는 aspartic acid(9.2%), phenylalanine(8.1%), leucine(7.8%), lysine(7.0%) 순으로 나타났고, 비교적 소량 확인된 아미노산은 methionine, cysteine 등이었으며 methionine과 cysteine 함량이 적게 검출된 것은 김 (86)등의 연구 결과와 일치하였다. 식물추출물을 3% 첨가한 된장에서는 총 아미노산에 대하여 glutamic acid(14.8%), aspartic acid(9.1%), phenylalanine(8.3%), leucine(7.9%), lysine(7.0%) 순으로(Table 11) 검출되었으며, 5%의 식물추출물 첨가된 된장에서는 glutamic acid(14.6%), aspartic acid(9.2%), leucine(8.1%), phenylalanine(8.1%), lysine(7.1%)으로 확인되었다(Table 12).

결과적으로 일반 및 기능성 된장의 아미노산 조성은 모든 실험군에서 비슷한 양상을 보였으며(Table 10-12), 구성 아미노산 중 glutamic acid 함량이 가장 많았고 valine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine 등의 필수아미노산이 함유되어 있었다.

Table 10. Contents of total amino acids contents in fermented soybean paste

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	10.50	9.2
Threonine	6.67	5.9
Serine	5.79	5.1
Glutamic acid	16.87	14.8
Proline	4.28	3.8
Glycine	6.83	6.0
Alanine	7.10	6.2
Cysteine	1.47	1.3
Valine	6.81	6.0
Methionine	2.07	1.8
Isoleucine	5.05	4.4
Leucine	8.83	7.8
Tyrosine	4.63	4.0
Phenylalanine	9.25	8.1
Histidine	4.37	3.8
Lysine	7.97	7.0
Arginine	5.42	4.8
Total	113.91	100

Table 11. Contents of total amino acids contents in fermented soybean paste with 3% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	10.10	9.1
Threonine	6.55	5.9
Serine	5.55	5.0
Glutamic acid	16.43	14.8
Proline	4.22	3.8
Glycine	6.66	6.0
Alanine	6.88	6.2
Cysteine	1.33	1.2
Valine	6.44	5.8
Methionine	1.89	1.7
Isoleucine	4.89	4.4
Leucine	8.77	7.9
Tyrosine	4.77	4.3
Phenylalanine	9.22	8.3
Histidine	4.11	3.7
Lysine	7.77	7.0
Arginine	5.44	4.9
Total	111.02	100

Table 12. Contents of total amino acids contents in fermented soybean paste with 5% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	10.07	9.2
Threonine	6.35	5.8
Serine	5.47	5.0
Glutamic acid	15.98	14.6
Proline	4.05	3.7
Glycine	6.57	6.0
Alanine	7.11	6.5
Cysteine	1.31	1.2
Valine	6.68	6.1
Methionine	1.97	1.8
Isoleucine	4.60	4.2
Leucine	8.87	8.1
Tyrosine	4.49	4.1
Phenylalanine	8.87	8.1
Histidine	4.16	3.8
Lysine	7.77	7.1
Arginine	5.14	4.7
Total	109.46	100

나) 간장

대조군인 일반 간장을 포함하여 기능성 간장에서 모두 17 종의 아미노산이 검출되었으며, 총 아미노산 함량은 6,618-6,902 mg%로 확인되었다. 간장 역시 모든 실험군에서 정미성분인 glutamic acid가 가장 많은 함량을 나타내었다. 일반 간장에서 비교적 많이 검출된 구성 아미노산은 총 아미노산 함량에 대하여 glutamic acid(23.5%), lysine(10.0%), aspartic acid(8.4%), alanine(7.7%), glycine(7.5%) 순이었으며, 소량 검출된 아미노산은 methionine(1.3%), cysteine(0.2%) 등이었다(Table 13). 3% 식물추출물을 첨가한 간장에서는 총 아미노산 중 glutamic acid(22.9%), lysine (10.3%), aspartic acid(8.1%), glycine(7.6%), alanine(7.5%) 순으로 검출되었고, 5% 식물추출물을 첨가한 간장에서는 glutamic acid(23.2%), lysine(10.0%), aspartic acid(8.3%), alanine(7.8%), glycine(7.5%) 순으로 확인되었다(Table 14-15).

결과적으로 간장에서도 된장의 경우처럼 총 아미노산에 대한 식물추출물의 영향은 확인되지 않았으며, valine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine 등의 필수 아미노산이 함유되어 있었다.

Table 13. Contents of total amino acids in soy sauce

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	5.80	8.4
Threonine	4.89	7.1
Serine	3.50	5.1
Glutamic acid	16.26	23.5
Proline	2.36	3.4
Glycine	5.15	7.5
Alanine	5.32	7.7
Cysteine	0.16	0.2
Valine	3.27	4.7
Methionine	0.88	1.3
Isoleucine	2.76	4.0
Leucine	4.00	5.8
Tyrosine	1.64	2.4
Phenylalanine	2.81	4.1
Histidine	2.15	3.1
Lysine	6.92	10.0
Arginine	1.15	1.7
Total	69.02	100

Table 14. Contents of total amino acids in soy sauce added with 3% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	5.43	8.1
Threonine	4.76	7.1
Serine	3.49	5.2
Glutamic acid	15.35	22.9
Proline	2.41	3.6
Glycine	5.10	7.6
Alanine	5.03	7.5
Cysteine	0.13	0.2
Valine	3.22	4.8
Methionine	1.01	1.5
Isoleucine	2.61	3.9
Leucine	3.96	5.9
Tyrosine	1.74	2.6
Phenylalanine	2.82	4.2
Histidine	2.01	3.0
Lysine	6.91	10.3
Arginine	1.07	1.6
Total	67.05	100

Table 15. Total amino acids contents in soy sauce added 5% herb extracts

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	5.49	8.3
Threonine	4.83	7.3
Serine	3.44	5.2
Glutamic acid	15.36	23.2
Proline	2.32	3.5
Glycine	4.96	7.5
Alanine	5.16	7.8
Cysteine	0.13	0.2
Valine	3.11	4.7
Methionine	0.86	1.3
Isoleucine	2.58	3.9
Leucine	3.77	5.7
Tyrosine	1.65	2.5
Phenylalanine	2.78	4.2
Histidine	1.99	3.0
Lysine	6.62	10.0
Arginine	1.13	1.7
Total	66.18	100

2) 유리 아미노산

가) 된장

유리 아미노산 분석 결과 중 glutamic acid는 모든 실험군에서 공통적으로 많이 검출된 아미노산(Table 16-18)으로서 여러 연구 결과에서 확인된 바 있다(87-89). 일반 된장의 유리 아미노산 총 함량은 3,797 mg%로 glutamic acid(18.6%), alanine(10.0%), leucine(9.4%), lysine(8.7%), valine(7.5%), proline(6.9%) 순으로 구성되어 있으며(Table 16), 3% 식물추출물이 첨가된 된장(3,653 mg%)에서는 glutamic acid(18.8%), alanine(10.1%), leucine(9.3%), lysine(8.7%), valine(7.4%) 순으로 확인되었다(Table 17). 5% 식물추출물이 첨가된 된장에서 확인된 유리 아미노산의 구성은 glutamic acid(18.6%), alanine(10.0%), leucine(9.4%), lysine(8.8%), valine(7.4%) 순으로 총 유리 아미노산의 함량은 3,549 mg%이었다(Table 18). 총 유리 아미노산의 함량에 대한 glutamic acid의 비율은 보고된 시판 된장의 결과(87)와 비교하였을 때 전통된장이 더 낮은 경향을 보였으며, 이는 대부분 시판 된장들이 MSG를 인위적으로 첨가한 것으로 판단되었다. 한편, 안 등(89), 서 등(90)의 *Aspergillus oryzae*와 *Bacillus*속 메주로 담근 된장의 총 유리아미노산에 대한 결과와 비슷한 경향이었으나, 각각의 유리아미노산의 함량 면에서는 본 연구와 차이를 나타내었다. 이는 원료 조성, 배합원료비, 균주의 활성 차이에서 기인한 것으로 판단되었다.

본 실험에서 유리 아미노산의 총 함량은 식물추출물 첨가 된장이 일반 된장보다 다소 적게 나타났으나 추출물 농도에 따른 차이는 관찰되지 않았고, 된장 및 기능성 된장의 총 아미노산 함량 중 약 1/3 정도가 유리상태로 존재하는 것으로 나타났다.

Table 16. Contents of free amino acids in fermented soybean paste

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	1.09	2.9
Threonine	2.06	5.4
Serine	2.02	5.3
Glutamic acid	7.07	18.6
Proline	2.62	6.9
Glycine	1.90	5.0
Alanine	3.79	10.0
Cysteine	0.36	1.0
Valine	2.83	7.5
Methionine	0.71	1.9
Isoleucine	2.17	5.7
Leucine	3.57	9.4
Tyrosine	0.91	2.4
Phenylalanine	2.01	5.3
Histidine	1.00	2.6
Lysine	3.32	8.7
Arginine	0.54	1.4
Total	37.97	100

Table 17. Contents of free amino acids in fermented soybean paste with 3% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	1.06	2.9
Threonine	1.94	5.3
Serine	1.97	5.4
Glutamic acid	6.87	18.8
Proline	2.52	6.9
Glycine	1.79	4.9
Alanine	3.69	10.1
Cysteine	0.33	0.9
Valine	2.70	7.4
Methionine	0.69	1.9
Isoleucine	2.12	5.8
Leucine	3.40	9.3
Tyrosine	0.91	2.5
Phenylalanine	1.94	5.3
Histidine	0.95	2.6
Lysine	3.18	8.7
Arginine	0.47	1.3
Total	36.53	100

Table 18. Contents of free amino acids in fermented soybean paste with 5% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	1.03	2.9
Threonine	1.92	5.4
Serine	1.92	5.4
Glutamic acid	6.60	18.6
Proline	2.45	6.9
Glycine	1.77	5.0
Alanine	3.55	10.0
Cysteine	0.35	1.0
Valine	2.63	7.4
Methionine	0.71	2.0
Isoleucine	2.02	5.7
Leucine	3.34	9.4
Tyrosine	0.85	2.4
Phenylalanine	1.88	5.3
Histidine	0.89	2.5
Lysine	3.12	8.8
Arginine	0.46	1.3
Total	35.49	100

나) 간장

일반 간장의 유리 아미노산 총 함량은 3,890 mg%로 glutamic acid(21.8%), alanine(9.2%), leucine(8.1%), aspartic acid(7.1%) 및 lysine(7.1%) 순이었으며(Table 19), 3% 식물추출물이 첨가된 간장(3,741 mg%)에서는 glutamic acid(21.6%), alanine(9.2%), leucine(8.1%), lysine(7.4%), aspartic acid(7.2%) 순으로 확인되었다(Table 20). 5% 식물추출물을 첨가한 간장(3,703 mg%)에서는 glutamic acid(22.2%), alanine(9.1%), leucine(7.8%), lysine(7.5%), aspartic acid(7.2%) 순으로 확인되었다(Table 21). 간장의 유리 아미노산 중 glutamic acid 함량이 높다는 결과는 여러 연구결과에서도 확인된 바 있다(91-94). 김 (92)등이 보고한 대두를 이용하여 제조한 재래식 조선간장의 유리 아미노산 조성 비율과 약간 차이가 나는데 이는 대두의 품종과 재래식 메주 중의 각종 미생물들에 의한 아미노산 조성비가 달라지기 때문인 것으로 생각된다. L-아미노산의 맛에 대하여는 일반적으로 glycine, alanine, lysine, threonine 등은 단맛을, methionine, valine, isoleucine, phenylalanine, leucine 등은 쓴맛을, glutamic acid, aspartic acid 는 맛난 맛을 낸다(95)고 알려져 있는데 이렇게 맛을 나타내는 아미노산은 숙성이 진행됨에 따라 일반적으로 그 함량이 증가하는 경향이 있다고 보고 된 바 있다(92).

본 연구에서는 식물추출물 첨가 시 간장의 유리 아미노산 함량 조성은 일반 간장에 비해 소량 감소되었지만, 추출물농도에 따른 차이는 관찰되지 않았고, 식물추출물의 첨가 여부에 따른 유리 아미노산 조성은 변화가 없었다.

Table 19. Contents of free amino acids in soy sauce

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	2.81	7.1
Threonine	2.00	5.2
Serine	2.32	6.0
Glutamic acid	8.51	21.8
Proline	0.98	2.5
Glycine	1.90	4.9
Alanine	3.57	9.2
Cysteine	0.06	0.2
Valine	1.60	4.1
Methionine	0.81	2.1
Isoleucine	2.01	5.2
Leucine	3.13	8.1
Tyrosine	1.48	3.8
Phenylalanine	1.81	4.7
Histidine	1.04	2.7
Lysine	2.82	7.1
Arginine	2.05	5.3
Total	38.90	100

Table 20. Contents of free amino acids in soy sauce added with 3% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	2.69	7.2
Threonine	2.02	5.4
Serine	2.28	6.1
Glutamic acid	8.08	21.6
Proline	0.75	2.0
Glycine	1.83	4.9
Alanine	3.44	9.2
Cysteine	0.04	0.1
Valine	1.57	4.2
Methionine	0.94	2.5
Isoleucine	1.95	5.2
Leucine	3.03	8.1
Tyrosine	1.42	3.8
Phenylalanine	1.76	4.7
Histidine	0.97	2.6
Lysine	2.77	7.4
Arginine	1.87	5.0
Total	37.41	100

Table 21. Contents of free amino acids in soy sauce added with 5% herb extract

Amino acids	Amount (mg/g)	Ratio (%)
Aspartic acid	2.67	7.2
Threonine	1.96	5.3
Serine	2.22	6.0
Glutamic acid	8.22	22.2
Proline	0.89	2.4
Glycine	1.81	4.9
Alanine	3.37	9.1
Cysteine	0.07	0.2
Valine	1.59	4.3
Methionine	0.67	1.8
Isoleucine	2.00	5.4
Leucine	2.89	7.8
Tyrosine	1.33	3.6
Phenylalanine	1.67	4.5
Histidine	0.96	2.6
Lysine	2.78	7.5
Arginine	1.93	5.2
Total	37.03	100

다. 관능검사

1) 된장

일반 된장과 식물추출물을 첨가하여 제조한 된장의 관능검사 결과는 Table 22와 같다. 패널 요원 15명이 각 평가 항목에 대하여 “가장 좋다(like extremely)”를 9점으로, “가장 싫다(dislike extremely)”를 1점으로 평가한 결과, 색(color)과 향(flavor)에서는 대조군, 3% 첨가군, 5% 첨가군 순으로 높은 점수를 받은 반면, 맛과 종합적 기호도에서는 3% 첨가군이 가장 높은 점수를 받았고, 5% 첨가군은 맛에서, 대조군은 종합적 기호도에서 가장 낮은 점수를 받았다. 그러나 이러한 점수 차이는 평균 점수만에 의한 단순 비교일 뿐 각 실험군 간에는 모든 평가 항목에서 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다($P < 0.05$).

결과적으로 된장에서 3% 또는 5%의 식물추출물 첨가는 색, 풍미, 맛, 종합적 기호도에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었으며, 이러한 결과를 종합적으로 고려할 때 기능성 된장 제조를 위해서는 관능적 특성에 별다른 영향을 주지 않으면서 모든 평가 항목에서 상대적으로 점수가 높았던 3% 첨가군이 5% 첨가군에 비해 더 적합한 것으로 판단되었다.

Table 22. The value¹⁾ of sensory evaluation on fermented soybean paste with herb extract

Soybean paste	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
Control ²⁾	7.17±1.52 ^{a5)}	7.33±1.23 ^a	7.20±1.20 ^a	7.07±0.88 ^a
I ³⁾	7.11±1.00 ^a	7.25±1.06 ^a	7.41±1.10 ^a	7.28±0.80 ^a
II ⁴⁾	6.97±1.21 ^a	7.20±1.15 ^a	7.19±1.15 ^a	7.13±0.91 ^a

¹⁾Each value represents mean±SD

²⁾Ordinary traditional fermented soybean paste

³⁾with 3% herb extract

⁴⁾with 5% herb extract

⁵⁾Means followed by the same letter in column are not significantly different (p<0.05)

2) 간장

일반 간장과 식물추출물을 첨가하여 제조한 간장의 관능검사 결과는 Table 23과 같다. 간장에서도 된장의 경우와 마찬가지로 각 실험군 간에는 색, 향, 맛, 종합적 기호도 등 모든 항목에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다($P < 0.05$). 다만, 각 평가 항목의 평균 점수만을 단순 비교할 경우 색에서는 5% 첨가군이, 향에서는 대조군이, 맛에서는 3% 첨가군이, 종합적 기호도에서는 대조군이 가장 높은 점수를 받았다. 그러나 3% 첨가군과 5% 첨가군만을 비교하였을 경우 5% 첨가군은 색에서만 높은 점수를 받은 반면, 향, 맛, 종합적 기호도에서는 3% 첨가군의 점수가 다소 높았다.

따라서, 간장의 경우에 있어서도 기능성 간장 제조를 위해서는 관능적 특성에 별다른 영향을 주지 않으면서도 대부분의 평가 항목 점수가 상대적으로 높았던 3% 첨가군이 5% 첨가군에 비해 유리한 것으로 판단되었다.

Table 23. The value¹⁾ of sensory evaluation on soy sauce added with herb extract

Soy sauce	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
Control ²⁾	6.93±0.96 ^{a5)}	6.87±1.25 ^a	6.67±1.29 ^a	6.80±1.21 ^a
I ³⁾	6.87±1.01 ^a	6.77±0.96 ^a	6.91±1.12 ^a	6.78±0.74 ^a
II ⁴⁾	7.00±1.25 ^a	6.73±1.03 ^a	6.87±1.25 ^a	6.67±1.05 ^a

¹⁾Each value represents mean±SD

²⁾Control; Traditional soy sauce

³⁾Soy sauce added with 3% herb extract

⁴⁾Soy sauce added with 5% herb extract

⁵⁾Means followed by the same letter in column are not significantly different (p<0.05)

라. 향기성분

1) 식물추출물의 휘발성 향기성분 분석

식물추출물의 향기성분을 SDE법으로 추출하여 GC/MS로 분리 동정하였다. 분석된 total ion chromatogram은 Figure 2에 나타내었고, 확인된 휘발성 향기성분의 조성과 함량, 관능기에 따른 상대적 비율은 Table 24와 Table 25에 나타내었다.

식물추출물로부터 총 179.03 mg/kg의 휘발성 향기성분을 회수하였으며, 동정된 성분은 총 35종으로 ketone류 10종, alcohol류와 aldehyde류가 각각 6종, hydrocarbon류 5종, acid와 질소화합물이 각각 1종, 그리고 기타화합물 4종의 순으로 확인되었다.

식물추출물의 향기성분에 기여하는 관능기는 전체의 74.68%를 차지하는 alcohol류로 확인되었으며, 주요 성분은 paeonol (4-hydroxy-2-methoxyacetophenone)로 그 함량은 130.767 mg/kg이었다. 백작약에 함유된 Paeonol은, 통풍, 류마티즘 관절염의 진통, 피부발진에 대한 항염증 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(96). 또한, 식물추출물에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로 천궁에서 유래되는 senkyunolide A, cnidilide, ligustilide가 확인되었고, 이들의 함량은 18.9 mg/kg으로 전체 휘발성 성분의 10% 이상을 차지하는 것으로 나타났다. 이러한 천궁의 정유성분은 달콤한 약초향이 나며 셀러리 같은 독특한 향을 지니며, ligustilide는 약리작용을 지닌 것으로 알려져 있다(97,98). 그 외 향균활성을 가지는 terpenoid류 중 sesquiterpene hydrocarbon류로 분류되는 calarene, α -humulene, junipene, (β -caryophyllene 등이 확인되었으며, 이러한 sesquiterpene류는 약리작용 또한 나타내어 예로부터 민간요법 및 제약산업에 사용되는 성분이다(99). Caryophyllene은 후추에 약 19%, clove에 5-12%가 포함된 나무향으로 천연에 iso-form의 mixture form 으로 존재하며 향을 오래 지속시키는 휘발성성분의 고착제 역할을 하는 것으로 알려져 있다(100,101). Calarene과 (β -caryophyllene은 오미자로부터 유래된 것으로 생각되며, Hyun 등(102)이 흑오미자의 주요 정유성분으로 보고한 바 있다.

식물추출물의 제조는 열수추출법에 의한 방법으로 당류의 가열에 의해서 형성되는 가열 분해산물들(thermal degradation products) (99)인 furfural, 5-methyl furfural, furfuryl alcohol 등이 상당량(8.53 mg/kg) 확인되었다. 이들은 각각 달콤한 향, 카라멜향, 꽃 또는 과일향으로 묘사(103,104)되며 식물추출물의 관능적 기호도를 높이는 역할을 할 것으로 기대된다.

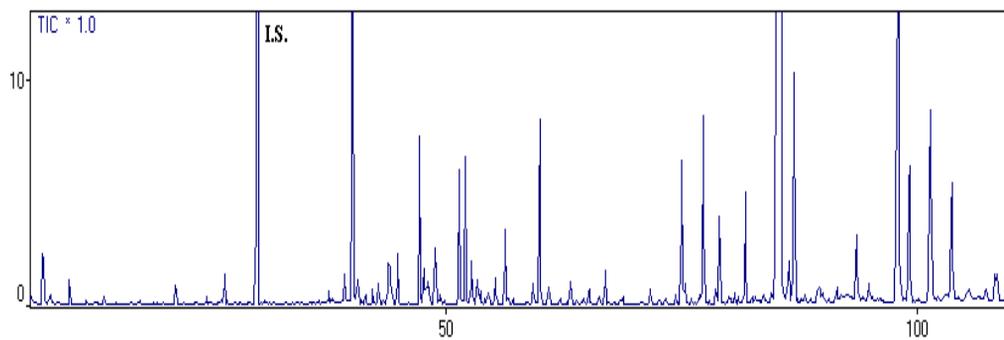


Figure 2. GC/MS chromatogram of volatile components in herb extract.

Table 24. Volatile components identified in herb extract

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
1	7.364	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.665	0.37
2	8.033	923	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.071	0.04
3	8.167	927	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.123	0.07
4	10.145	976	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86	0.312	0.17
5	13.870	1055	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.066	0.04
6	21.466	1183	Pyridine	C ₅ H ₅ N	79	0.216	0.12
7	24.752	1233	Acetyl acetate	C ₄ H ₆ O ₃	102	0.071	0.04
8	26.647	1261	Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.311	0.17
I.S. ⁵⁾	30.157	1311	<i>Butylbenzene</i>	C ₁₀ H ₁₄	134	-	-
9	39.344	1449	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	0.345	0.19
10	40.217	1463	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	6.099	3.41
11	42.332	1494	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.116	0.07
12	42.889	1502	2-Acetyl furan	C ₆ H ₆ O ₂	110	0.228	0.13
13	43.999	1520	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	0.419	0.23
14	45.004	1536	2,3,4,5-Tetramethyl-tricyclo[3.2.1.0(2,7)]oct-3-ene	C ₁₂ H ₁₈	162	0.542	0.30
15	47.314	1571	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	1.939	1.08
16	48.953	1595	(<i>E</i>)- β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.578	0.32
17	51.493	1637	α -Humulene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.458	0.81
18	52.152	1648	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	1.679	0.94
19	52.843	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.431	0.24
20	55.306	1699	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.194	0.11
21	56.419	1717	Junipene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.751	0.42
22	60.039	1777	Calarene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.502	1.40
23	61.020	1793	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.204	0.11
24	68.879	1917	3-Methoxyacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.093	0.05
25	74.451	2023	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	0.118	0.07
26	75.158	2037	Cinammic aldehyde	C ₉ H ₈ O	132	1.796	1.00
27	77.380	2081	3-Methyl phenol	C ₇ H ₈ O	108	2.060	1.15
28	79.106	2121	Furanodiene	C ₁₅ H ₂₀ O	216	0.768	0.43
29	81.867	2195	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	1.244	0.70
30	85.379	2281	Paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	130.767	73.04
31	87.014	2318	Solativone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	2.691	1.50
32	93.663	2448	Coumarine	C ₉ H ₆ O ₂	146	1.262	0.71
33	98.070	2524	Senkyunolide A	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	12.192	6.81
34	99.265	2543	Cnidilide	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	2.734	1.53
35	101.500	2576	Ligustilide	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	3.985	2.23
Total						179.03	100

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight, ⁵⁾Internal standard

Table 25. Relative amount of functional groups of volatile compounds identified in herb extract

Functional groups	Number	Relative amount (%)
Acids	1	0.19
Alcohols	6	74.68
Aldehydes	6	5.83
Esters	2	0.41
Hydrocarbons	5	3.25
Ketones	10	4.24
N-containing compounds	1	0.12
Miscellaneous	4	11.28
Total	35	100

2) 일반 된장의 휘발성 향기성분 분석

재래식 된장의 향기성분을 SDE방법으로 추출하고 GC/MS로 분석한 chromatogram은 Figure 3에 도식하였으며, 확인된 휘발성 향기성분의 조성과 함량은 Table 26, 휘발성 향기성분의 관능기에 따른 상대적 농도는 Table 27에 나타내었다.

재래식 된장에서 총 69종(113.09 mg/kg)의 휘발성 향기성분이 확인되었으며, 관능기에 따라 ester류가 23종으로 대부분을 차지하였고, alcohol류 18종, ketone류 10종, 질소화합물 9종, aldehyde류 5종, acid 1종의 순으로 확인되었으며, 기타 화합물이 3종이었다.

Ester류는 전체 휘발성 향기성분의 69.57%로 된장의 향기성분의 주요한 관능기로 확인되었으며, 이들은 전통된장의 구수한 냄새성분에 기여한다고 보고되었다(105). 그 중 ethyl linoleate가 35.52%로 주요 성분이었으며, 다음으로 ethyl oleate, ethyl hexadecanoate, ethyl linolenate, methyl linoleate, methyl oleate 등 지방산의 methyl 및 ethyl ester류가 대부분으로 확인되었다. 이는 재래식 된장 제조 시 탈지대두가 아닌 환대두를 사용하였기 때문으로 사료되며, 다량의 ethyl linoleate는 대두에 가장 많이 함유된 지방산인 linoleic acid에서 기인된 것으로 생각된다(106). Ethyl acetate도 상당량 함유된 것으로 확인되었고, 이는 alcohol을 ester로 전환하는 endogenous esterifying enzyme system에 의해 많은 양의 ethanol에서 유래된 화합물로(106,107), 배(108,109), 사과(110), 바나나(111) 등의 과일향으로 대표된다.

된장의 향기성분에 기여하는 두 번째 화합물은 alcohol류로 전체의 14.60%로 나타났다. phenol, 1-octen-3-ol, 4-ethyl guaiacol, 2- 및 3-methyl butanol이 주요 alcohol류로 확인되었다. Phenol과 4-ethyl guaiacol은 증자대두의 주요 향기성분으로 보고되었으며, 이러한 phenol성 화합물은 된장 및 간장의 특징적인 향으로 평가되고 있다(112,113). 특히, 4-ethyl guaiacol은 재래식 메주로 담은 된장에서만 확인되며, 일본 장류의 향미에 큰 영향을 미친 대표적인 성분으로 알려져 있다(114). 1-Octen-3-ol은 침지하는 동안 효소적 반응에 의해 생성되며 대두의 풋냄새(green and beany odor)에 관여하는 물질이며(112,114), 2- 및 3-methyl butanol은 생 및 증자대두에서는 확인되지 않으며, 아미노산인 leucine을 전구체로 생성된다(115).

다음으로는 ketone류(8.15%)와 질소화합물(5.51%) 순으로 된장의 향기성분에 기여하였으며, 2,6-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine 등의 전형적인 볶음향을 나타내는 pyrazine류는 당과 아미노산의 분해, 축합 등에 의하여 생

성되는 것으로(116), 이들은 혈전(血栓)의 원인이 되는 혈소판 응고를 억제하며, methyl group을 가진 pyrazine류의 활성이 10배 정도 강하고 그 수가 3개까지는 대체적으로 강하며, 4개가 되면 약간 감소하는 것으로 보고되어 있다(113). 그 외에 pyrolysis에 의해 생성되는 1,2-demethoxybenzene과 같은 benzene유도체들이 확인되었으며, 이는 바닐라와 유사한 향을 내며, 된장의 기호도를 높이는데 기여할 것으로 생각된다. 이처럼 된장의 향기에는 메주 및 된장의 발효에서 대두의 구성 성분인 탄수화물, 단백질, 지질 등이 복합적으로 관여하여 이들 화합물의 분해 및 상호작용 등에 의하여 생성된 alcohol, carbonyl화합물, 합질소화합물 등이 flavor 형성에 주도적인 역할을 하는 것으로 생각된다.

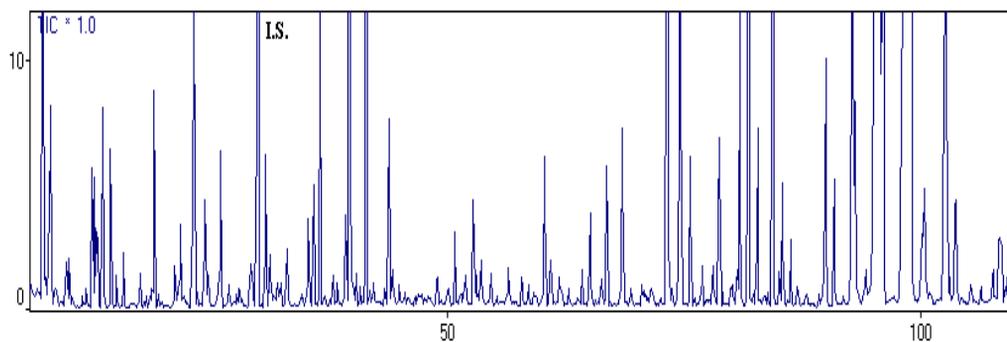


Figure 3. GC/MS chromatogram of volatile components in fermented soybean paste.

Table 26. Volatile components identified in fermented soybean paste

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
1	7.357	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1.188	1.05
2	7.697	914	2-Butanone	C ₄ H ₈ O	72	0.064	0.06
3	8.045	924	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.157	0.14
4	8.175	927	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.658	0.58
5	8.667	940	2-Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.053	0.05
6	8.850	945	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	0.056	0.05
7	10.133	975	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86	0.167	0.15
8	11.542	1006	Methyl 2-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.033	0.03
9	11.967	1015	Methyl 3-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.079	0.07
10	12.512	1027	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.454	0.40
11	12.840	1034	Ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.363	0.32
12	13.134	1040	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.238	0.21
13	13.687	1051	Ethyl 2-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.495	0.44
14	14.532	1067	Ethyl 3-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.408	0.36
15	15.151	1079	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	0.084	0.07
16	15.889	1091	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.138	0.12
17	19.159	1148	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.585	0.52
18	21.290	1180	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	0.095	0.08
19	21.924	1189	Methyl hexanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.226	0.20
20	23.296	1210	2-Methyl butanol +3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	1.162	1.03
21	23.750	1217	Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	0.040	0.04
22	24.476	1229	2-Pentyl furan	C ₉ H ₁₄ O	138	0.272	0.24
23	26.174	1255	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	0.389	0.34
IS ⁵⁾	30.167	1311	<i>Butylbenzene</i>	<i>C₁₀H₁₄</i>	134	-	-
24	30.928	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.502	0.44
25	31.336	1329	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.140	0.12
26	32.230	1343	Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	0.043	0.04
27	32.540	1347	2,3-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.060	0.05
28	33.172	1357	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.142	0.13
29	35.394	1388	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	142	0.211	0.19
30	35.990	1396	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.301	0.27
31	36.644	1406	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.874	0.77
32	38.030	1428	(<i>E</i>)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	0.079	0.07
33	38.506	1436	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.036	0.03
34	39.317	1449	3-Ethyl-2,5-dimethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.381	0.34
35	39.797	1456	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	3.690	3.26

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight, ⁵⁾Internal standard

Table 26. Continued.

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
36	40.032	1460	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.076	0.07
37	40.125	1461	Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	0.056	0.05
38	40.469	1467	2,6-Diethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.089	0.08
39	41.535	1482	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	2.257	2.00
40	43.950	1520	3,5-Diethyl-2-methyl pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	0.573	0.51
41	49.121	1597	Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.057	0.05
42	52.077	1647	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	0.109	0.10
43	52.790	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.321	0.28
44	53.126	1664	Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.078	0.07
45	53.662	1673	<i>p</i> -Methoxy styrene	C ₉ H ₁₀ O	134	0.109	0.10
46	56.563	1720	1,2-Dimethoxybenzene	C ₈ H ₁₂ O ₂	138	0.107	0.09
47	60.325	1782	4-Ethyl phenyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.478	0.42
48	60.992	1792	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.148	0.13
49	65.161	1858	Guaiacol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.297	0.26
50	66.367	1876	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	0.124	0.11
51	66.902	1884	Ethyl phenyl propionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	0.407	0.36
52	68.538	1911	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.610	0.54
53	73.334	2000	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	4.731	4.18
54	74.403	2022	Pentadecanone	C ₁₅ H ₃₀ O	226	0.101	0.09
55	74.674	2028	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2.667	2.35
56	75.731	2049	Ethyl tetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.382	0.34
57	80.972	2171	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.896	0.79
58	81.895	2196	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	7.876	6.96
59	82.861	2220	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.431	0.38
60	84.543	2261	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	5.694	5.04
61	85.469	2283	Ethyl 9-hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	0.350	0.31
62	90.045	2380	<i>o</i> -Coumaric acid	C ₈ H ₈ O	120	0.920	0.81
63	92.804	2433	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	1.355	1.20
64	93.160	2439	Methyl oleate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	1.280	1.13
65	95.663	2485	Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	17.278	15.28
66	96.211	2495	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	3.784	3.35
67	99.02	2539	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	40.170	35.52
68	100.44	2560	Methyl linolenate	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	0.469	0.42
69	102.78	2595	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	4.943	4.37
Total						113.089	100

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight

Table 27. Relative amount of functional groups of volatile components identified in fermented soybean paste

Functional groups	Number	Relative amount (%)
Acid	1	0.81
Alcohols	18	14.60
Aldehydes	5	0.93
Esters	23	69.57
Ketones	10	8.15
N-Containing compounds	9	5.51
Miscellaneous	3	0.43
Total	69	100

3) 기능성 된장의 휘발성 향기성분 분석

식물추출물(3%)이 첨가된 기능성된장의 휘발성 향기성분을 SDE방법으로 추출하고 GC/MS로 분리·분석하였다. 된장에서 확인된 향기성분의 조성과 함량은 Table 28에 나타내었고, 관능기에 따른 상대적 농도는 Table 29에 나타내었으며, chromatogram은 Figure 4에 도식하였다.

기능성 된장에서 확인된 휘발성 향기성분의 총 함량은 120.46 mg/kg으로 73종이 동정되었으며, 된장의 구수한 향을 나타내는 ester류가 24종(69.14%)으로 향기성분의 대부분을 차지하였다. 그 다음으로 alcohol류 18종(15.29%), 질소화합물 10종(6.59%), ketone류 9종(7.10%)의 순으로 향기성분에 기여하는 것으로 나타났으며, aldehyde류(6종), acid류(2종) 및 기타 화합물(4종)은 1% 미만으로 확인되었다.

기능성 된장의 주요 휘발성 향기성분은 ethyl linoleate, ethyl oleate, ethyl hexadecanoate, ethyl linolenate 등의 ester류이었으며, 증자대두의 특징적인 향기성분이 되는 1-octen-3-ol(3.459 mg/kg), phenol(4.851 mg/kg), 4-ethyl guaiacol (2.314 mg/kg)도 된장과 비슷한 수준으로 확인되어 재래식 된장에서 확인된 향기성분 profile과 동일하게 나타났다(Table 30). 또한, 식물추출물 중 백작약의 주성분으로, 진정작용, 최면작용, 진통작용 등에 효과가 있는(117) paeonol이 2.46 mg/kg으로 확인되어 기능성 된장에 매운맛을 부여하고, 된장의 기능성을 강화할 수 있을 것으로 생각된다.

재래식 된장에서 확인된 2-butanone, 2-propanol, ethanol, 2,3-butanedione 등 7종이 기능성 된장에서 확인되지 않았으며, 2,3-pentanedione, 2-ethyl hexanol, 5-methyl furfural 등 10종이 추가적으로 확인되었다. 소실된 성분의 경우 극미량으로 분석오차 혹은 다른 화합물로의 전환을 예상할 수 있으며, 추가적으로 확인된 성분은 식물추출물에서 유래되었거나, 다른 성분에서의 전환, 축합 등에 의해 생성되었을 것으로 생각된다. 그러나 식물추출물 첨가에 따른 된장의 휘발성 향기성분의 변화는 극미량으로 전체적인 휘발성 향기성분의 특징은 동일하였으며, 달콤한 꽃향기를 가지는 1,4-dimethoxy benzene 등의 화합물이 확인되어, 기능성 된장의 관능적 기호도를 높일 것으로 사료된다.

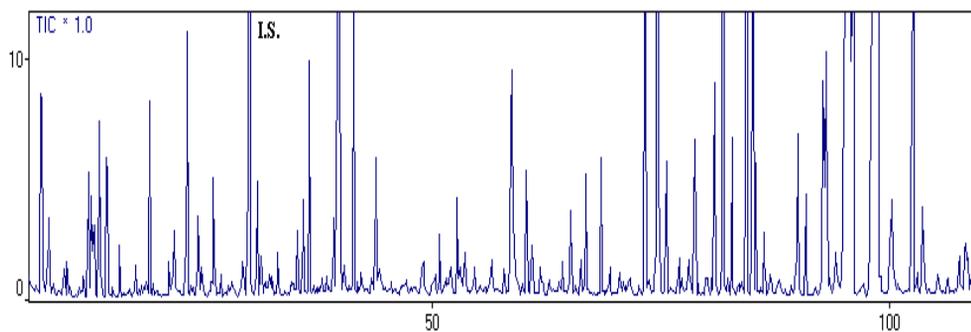


Figure 4. GC/MS chromatogram of volatile components from fermented soybean paste added with herb extract.

Table 28. Volatile components identified in fermented soybean paste added with herb extract

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
1	7.369	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.855	0.71
2	8.067	924	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.124	0.10
3	8.186	928	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.299	0.25
4	11.550	1006	Methyl 2-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.032	0.03
5	11.974	1016	Methyl 3-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.116	0.10
6	12.531	1028	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.502	0.42
7	12.852	1035	Ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.354	0.29
8	13.154	1041	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.254	0.21
9	13.697	1052	Ethyl 2-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.558	0.46
10	13.917	1056	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.064	0.05
11	14.547	1068	Ethyl 3-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.439	0.36
12	15.167	1079	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	0.037	0.03
13	15.913	1092	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.153	0.13
14	19.183	1148	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.669	0.56
15	21.319	1181	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	0.095	0.08
16	21.942	1190	Methyl hexanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.209	0.17
17	23.192	1208	2-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	0.243	0.20
18	23.319	1210	3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	0.872	0.72
19	24.483	1229	2-Pentyl furan	C ₉ H ₁₄ O	138	0.246	0.20
20	26.194	1255	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	0.317	0.26
I.S. ⁵⁾	30.176	1311	<i>Butylbenzene</i>	<i>C₁₀H₁₄</i>	134	-	-
21	30.965	1324	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.438	0.36
22	31.366	1330	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.132	0.11
23	32.269	1343	Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	0.037	0.03
24	32.567	1348	2,3-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.063	0.05
25	33.211	1357	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.141	0.12
26	35.414	1388	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	142	0.183	0.15
27	36.012	1396	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.285	0.24
28	36.667	1406	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.778	0.65
29	38.057	1429	(<i>E</i>)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	0.044	0.04
30	38.530	1436	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.036	0.03

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight, ⁵⁾Internal standard

Table 28. Continued

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
31	39.358	1450	3-Ethyl-2,5-dimethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.328	0.27
32	39.810	1456	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	3.459	2.87
33	40.079	1461	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.196	0.16
34	40.493	1467	2,6-Diethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.102	0.08
35	41.536	1482	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	2.133	1.77
36	42.342	1494	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.101	0.08
37	43.970	1520	3,5-Diethyl-2-methyl pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	0.519	0.43
38	44.325	1525	2-Nonanol	C ₉ H ₂₀ O	144	0.064	0.05
39	47.292	1571	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	0.068	0.06
40	49.151	1598	Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.102	0.08
41	52.135	1648	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	0.102	0.09
42	52.842	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.359	0.30
43	53.150	1664	Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.116	0.10
44	53.693	1673	<i>p</i> -Methoxy styrene	C ₉ H ₁₀ O	134	0.110	0.09
45	56.618	1721	1,2-Dimethoxybenzene	C ₈ H ₁₂ O ₂	138	0.116	0.10
46	57.936	1743	1,4-Dimethoxybenzene	C ₈ H ₁₂ O ₂	138	0.083	0.07
47	58.790	1757	Thialdine	C ₆ H ₁₃ NS ₂	163	2.312	1.92
48	59.217	1764	4-Ethyl phenyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.043	0.04
49	61.024	1793	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.215	0.18
50	65.207	1859	Guaiacol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.372	0.31
51	66.930	1884	Ethyl phenyl propionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	0.429	0.36
52	68.585	1912	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.561	0.46
53	73.371	2001	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	4.851	4.03
54	74.407	2022	Pentadecanone	C ₁₅ H ₃₀ O	226	0.079	0.07
55	74.692	2028	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2.314	1.92
56	75.744	2049	Ethyl tetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.368	0.31
57	78.825	2113	Ethyl pentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.441	0.37
58	80.989	2172	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.754	0.63
59	81.905	2196	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	7.399	6.14
60	82.867	2220	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.487	0.40

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight

Table 28. Continued

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
61	84.533	2261	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	6.016	4.99
62	85.105	2275	Paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	2.460	2.04
63	85.480	2283	Ethyl 9-hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	0.463	0.38
64	90.074	2380	<i>o</i> -Coumaric acid	C ₈ H ₈ O	120	0.808	0.67
65	92.831	2433	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	1.141	0.95
66	93.176	2439	Methyl oleate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	1.423	1.18
67	95.609	2484	(<i>Z</i>)-Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	15.815	13.13
68	95.894	2489	(<i>E</i>)-Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	1.166	0.97
69	96.178	2494	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	4.013	3.33
70	98.670	2533	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	44.809	37.20
71	100.400	2560	Methyl linolenate	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	0.287	0.24
72	102.740	2595	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	4.771	3.96
73	108.360	2690	Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.128	0.11
Total						120.460	100

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight

Table 29. Relative amount of functional groups of volatile components identified in fermented soybean paste added with herb extract

Functional groups	Number	Relative amount (%)
Acids	2	0.78
Alcohols	18	15.29
Aldehydes	6	0.64
Esters	24	69.14
Ketones	9	7.10
N-containing Compounds	10	6.59
Miscellaneous	4	0.46
Total	73	100

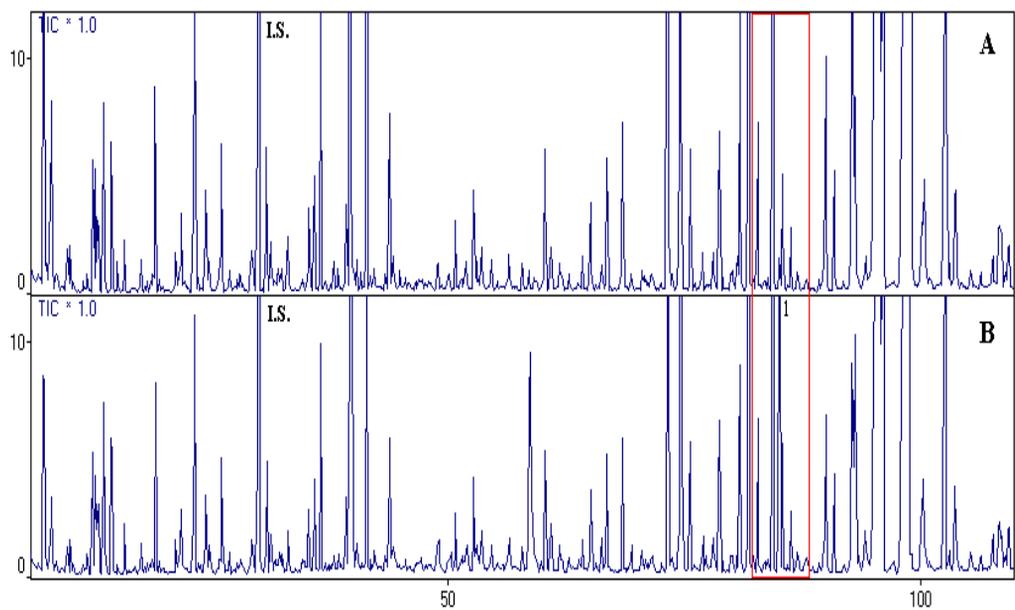


Figure 5. GC/MS chromatograms of volatile components in fermented soybean paste (A) and fermented soybean paste added with herb extract (B) (1; paeonol).

Table 30. Comparison of volatile components identified in SP, SHE and HE

No.	R.I. ¹⁾	Compound Name	MF ²⁾	MW ³⁾	mg/kg		
					SP ⁴⁾	SHE	HE
1	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1.188	0.855	0.665
2	914	2-Butanone	C ₄ H ₈ O	72	0.064	-	-
3	924	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.157	0.124	0.071
4	927	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.658	0.299	0.123
5	940	2-Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.053	-	-
6	945	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	0.056	-	-
7	975	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86	0.167	-	0.312
8	1006	Methyl 2-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.033	0.032	-
9	1015	Methyl 3-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.079	0.116	-
10	1027	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.454	0.502	-
11	1034	Ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.363	0.354	-
12	1040	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.238	0.254	-
13	1051	Ethyl 2-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.495	0.558	-
14	1056	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	100	-	0.064	0.066
15	1067	Ethyl 3-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.408	0.439	-
16	1079	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	0.084	0.037	-
17	1091	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.138	0.153	-
18	1148	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.585	0.669	-
19	1180	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	0.095	0.095	-
20	1183	Pyridine	C ₅ H ₅ N	79	-	-	0.216
21	1189	Methyl hexanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.226	0.209	-
22	1210	2-Methyl butanol +3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	1.162	1.115	-
23	1217	Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	0.040	-	-
24	1229	2-Pentyl furan	C ₉ H ₁₄ O	138	0.272	0.246	-
25	1233	Acetyl acetate	C ₄ H ₆ O ₃	102	-	-	0.071
26	1255	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	0.389	0.317	-
27	1261	Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone	C ₅ H ₈ O ₂	100	-	-	0.311
I.S. ⁵⁾	1311	Butylbenzene	C ₁₀ H ₁₄	134	-	-	-
28	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.502	0.438	-
29	1329	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.140	0.132	-
30	1343	Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	0.043	0.037	-
31	1347	2,3-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.060	0.063	-
32	1357	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.142	0.141	-
33	1388	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	142	0.211	0.183	-
34	1396	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.301	0.285	-
35	1406	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.874	0.778	-

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾SP: soybean paste, SHE: soybean paste added with herb extract, HE: herb extract

Table 30. Continued

No.	R.I. ¹⁾	Compound Name	MF ²⁾	MW ³⁾	mg/kg		
					SP ⁴⁾	SHE	HE
36	1428	(<i>E</i>)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	0.079	0.044	-
37	1436	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.036	0.036	-
38	1449	3-Ethyl-2,5-dimethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.381	0.328	-
39	1449	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	-	-	0.345
40	1456	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	3.690	3.459	-
41	1460	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.076	0.196	6.099
42	1461	Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	0.056	-	-
43	1467	2,6-Diethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.089	0.102	-
44	1482	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	2.257	2.133	-
45	1494	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	-	0.101	0.116
46	1502	2-Acetyl furan	C ₆ H ₆ O ₂	110	-	-	0.228
47	1520	3,5-Diethyl-2-methyl pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	0.573	0.519	-
48	1520	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	-	-	0.419
49	1525	2-Nonanol	C ₉ H ₂₀ O	144	-	0.064	-
50	1536	2,3,4,5-Tetramethyl-tri-cyclo[3.2.1.0(2,7)]oct-3-ene	C ₁₂ H ₁₈	162	-	-	0.542
51	1571	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	-	0.068	1.939
52	1595	(<i>E</i>)- β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.578
53	1597	Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.057	0.102	-
54	1637	α -Humulene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	1.458
55	1647	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	0.109	0.102	1.679
56	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.321	0.359	0.431
57	1664	Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.078	0.116	-
58	1673	ρ -Methoxy styrene	C ₉ H ₁₀ O	134	0.109	0.110	-
59	1699	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	-	0.194
60	1717	Junipene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.751
61	1720	1,2-Dimethoxybenzene	C ₈ H ₁₂ O ₂	138	0.107	0.116	-
62	1743	1,4-Dimethoxybenzene	C ₈ H ₁₂ O ₂	138	-	0.083	-
63	1757	Thialdine	C ₆ H ₁₃ NS ₂	163	-	2.312	-
64	1777	Calarene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	2.502
65	1782	4-Ethyl phenyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.478	0.043	-
66	1792	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.148	0.215	0.204
67	1858	Guaiacol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.297	0.372	-
68	1876	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	0.124	-	-
69	1884	Ethyl phenyl propionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	0.407	0.429	-
70	1911	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.610	0.561	-

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾SP: soybean paste, SHE: soybean paste added with herb extract, HE: herb extract

Table 30. Continued

No.	R.I. ¹⁾	Compound Name	MF ²⁾	MW ³⁾	mg/kg		
					SP ⁴⁾	SHE	HE
71	1917	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	-	-	0.093
72	2000	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	4.731	4.851	0.118
73	2022	Pentadecanone	C ₁₅ H ₃₀ O	226	0.101	0.079	-
74	2028	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2.667	2.314	-
75	2037	Cinammic aldehyde	C ₉ H ₈ O	132	-	-	1.796
76	2049	Ethyl tetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.382	0.368	-
77	2081	3-Methyl phenol	C ₇ H ₈ O	108	-	-	2.060
78	2113	Ethyl pentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	-	0.441	-
79	2121	Furanodiene	C ₁₅ H ₂₀ O	216	-	-	0.768
80	2171	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.896	0.754	-
81	2196	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	7.876	7.399	1.244
82	2220	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.431	0.487	-
83	2261	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	5.694	6.016	-
84	2275	Paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	-	2.460	130.767
85	2283	Ethyl 9-hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	0.350	0.463	-
86	2318	Solativone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	-	-	2.691
87	2380	<i>o</i> -Coumaric acid	C ₈ H ₈ O	120	0.920	0.808	-
88	2433	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	1.355	1.141	-
89	2439	Methyl (<i>Z</i>)-9-octadecenoate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	1.280	1.423	-
90	2448	Coumarine	C ₉ H ₆ O ₂	146	-	-	1.262
91	2485	(<i>Z</i>)-Ethyl octadec-9-enoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	17.278	15.815	-
92	2489	(<i>E</i>)-Ethyl octadec-9-enoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	-	1.166	-
93	2495	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	3.784	4.013	-
94	2524	Senkyunolide A	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	-	-	12.192
95	2539	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	40.170	44.809	-
96	2543	Cnidilide	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	-	-	2.734
97	2560	Methyl linolenate	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	0.469	0.287	-
98	2576	Ligustilide	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	-	-	3.985
99	2595	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	4.943	4.771	-
100	2690	Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	-	0.128	-
Total					112.92	120.458	179.03

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾SP: soybean paste, SHE: soybean paste added with herb extract, HE: herb extract

4) 일반 간장의 휘발성 향기성분 분석

간장의 향기성분을 SDE 방법으로 추출하고 GC/MS로 분석한 chromatogram은 Figure 6에 도식하였으며, 확인된 휘발성 향기성분의 조성구성과 함량은 Table 31에 나타내었고, 휘발성 향기성분의 관능기에 따른 상대적 농도는 Table 32에 나타내었다.

간장으로부터 19.025 mg/kg의 휘발성 향기성분을 확인하였으며, 총 47종으로 원료 및 효모의 발효에 의해 유래되는 alcohol류가 17종으로 향기성분의 대부분을 차지하였고, 다음으로 ester류 8종, aldehyde류 6종, ketone류 5종, 질소화합물이 5종, acid류 4종, 그리고 황화합물 2종의 순으로 확인되었다.

간장에서 확인된 주요 향기성분은 3-methyl butanol (13.87%), 4-ethyl guaiacol (12.28%), butanol (11.76%), octanoic acid (9.62%), ethyl acetate (5.77%), phenethyl alcohol (5.35%) 등이었으며, 3-methyl butanal, ethyl linoleate, 2-methyl propanol, furfuryl alcohol 등도 상당량 확인되었다. Ethyl linoleate, ethyl oleate도 상당량 확인되었는데, 이는 메주 제조에 사용된 재료가 환대두로써 대두의 지방산에서 유래된 것으로 생각된다. 그 외에, 주로 식품이나 원료의 가열조작에 의해 생성되는 갈변 flavor의 대표적 물질인 2,5-methyl pyrazine 및 2,6-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine 등의 pyrazine류가 확인되었다. 이러한 pyrazine류는 단백질, 아미노산의 열분해, 당과 단백질 혹은 아미노산과의 반응에서 생성되는 것으로 알려져 있으며, 가열식품의 향기에 중요한 역할을 하는 물질이다(114).

재래식 간장에서 확인된 3-Methyl butanol과 3-methyl butanal은 대두 중에 함유된 leucine을 전구체로 하여 생성되며, 3-methyl butanol은 특히 대두 풋냄새(green and beany odor)에 관련된 중요물질로 증자 대두에 중요 향기물질로 존재하고 있다(113,115). 4-Ethyl guaiacol(4-EG, 4-ethyl-2-methoxy phenol)과 4-ethyl phenol(4-EP)은 간장의 특징적인 향으로 알려져 있으며, 훈연향, 약품취를 가져 고농도일 경우 관능적 기호도가 감소하는 경향을 나타내기도 한다(113). Ethyl acetate는 alcohol을 ester로 전환하는 endogenous esterifying enzyme system에 의해 많은 양의 ethanol에서 유래된 화합물로(106,107), 배(108,109), 사과(110), 바나나(111) 등의 과일향으로 대표되며, 간장의 상큼한 향에 기여할 것으로 생각된다. Phenethyl alcohol은 4-EG나 4-EP와 마찬가지로 간장의 중요한 향기성분으로 보고되고 있으며, 장미, 복숭아꽃과 유사한 향을 나타내어(113) 간장에 순한 향을 부여할 것으로 사료된다.

재래식 간장에서 주요 향기성분으로 확인된 3-methyl butanol, 3-methyl butanoic acid, 4-ethyl guaiacol, 4-ethyl phenol, phenethyl alcohol 등은 *Aspergillus oryzae* 가 많은 국(麴)을 사용하여 제조한 간장의 특징적인 향기성분으로(113), 본 연구에서 제조된 간장이 재래식으로 제조된 것을 의미하며, 일본 간장의 특징적인 향인 HEMF [4-hydroxy-2(or5)-ethyl-5(or2)methyl-3(2H)-furanone은 확인되지 않아 (116), 제조방법에 따른 휘발성 향기성분의 특징을 확인하였다.

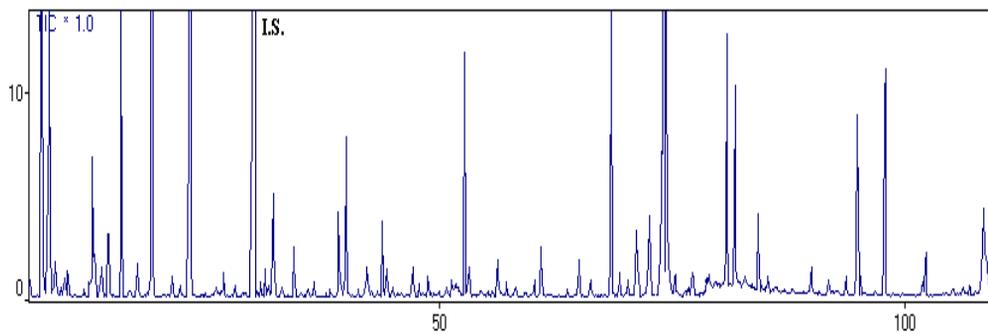


Figure 6. GC/MS chromatogram of volatile components in soy sauce.

Table 31. Volatile components identified in soy sauce

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
1	7.372	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1.099	5.77
2	8.067	924	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.238	1.25
3	8.193	928	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.863	4.54
4	8.675	941	2-Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.018	0.10
5	8.858	945	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	0.082	0.43
6	10.159	976	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86	0.091	0.48
7	12.494	1027	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.040	0.21
8	12.840	1034	Ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.325	1.71
9	13.119	1040	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.115	0.61
10	13.662	1051	Ethyl 2-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.029	0.15
11	13.869	1055	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.059	0.31
12	14.549	1068	Dimethyl disulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	0.183	0.96
13	15.942	1092	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.740	3.89
14	17.667	1123	(<i>E</i>)-3-Penten-2-one	C ₅ H ₈ O ₂	84	0.081	0.42
15	19.269	1150	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	2.237	11.76
16	21.441	1183	Pyridine	C ₅ H ₅ N	79	0.039	0.21
17	23.376	1211	3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	2.639	13.87
18	26.918	1265	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	0.053	0.28
19	28.143	1282	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.027	0.14
<i>I.S.</i> ⁵⁾	<i>30.201</i>	<i>1312</i>	<i>Butylbenzene</i>	<i>C₁₀H₁₄</i>	<i>134</i>	-	-
20	30.530	1317	4-Methyl pentanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.004	0.02
21	30.929	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.019	0.10
22	31.338	1329	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.055	0.29
23	32.235	1343	Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	0.195	1.02
24	34.415	1374	Dimethyl trisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	126	0.108	0.57
25	36.600	1405	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.029	0.15
26	39.263	1448	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	0.217	1.14
27	40.063	1460	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.378	1.99
28	42.298	1494	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.056	0.29
29	43.958	1520	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	0.186	0.98
30	47.245	1570	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	0.068	0.36

¹⁾Retention time ²⁾Retention index ³⁾Molecular formula ⁴⁾Molecular weight ⁵⁾Internal standard

Table 31. Continued

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
31	52.801	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.605	3.18
32	53.350	1668	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	0.077	0.40
33	60.307	1781	Ethyl phenyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.024	0.13
34	60.965	1792	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.112	0.59
35	65.132	1857	Guaiacol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.112	0.59
36	66.332	1876	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	0.035	0.18
37	68.540	1911	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	1.018	5.35
38	69.500	1929	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	0.060	0.32
39	71.692	1970	1-Phenyl-1-propanol	C ₉ H ₁₂ O	136	0.181	0.95
40	73.346	2001	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	0.223	1.17
41	74.650	2027	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2.337	12.28
42	75.093	2036	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	1.830	9.62
43	80.962	2171	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.586	3.08
44	84.329	2256	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.141	0.74
45	90.037	2380	<i>o</i> -Coumaric acid	C ₈ H ₈ O	120	0.092	0.49
46	94.996	2473	(<i>Z</i>)-Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	0.545	2.86
47	97.967	2523	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	0.774	4.07
Total						19.025	100

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight

Table 32. Relative amount of functional groups of volatile components identified in soy sauce

Functional groups	Number	Relative amount (%)
Acids	4	11.65
Alcohols	17	57.96
Aldehydes	6	9.44
Esters	8	16.45
Ketones	5	1.94
N-Containing compounds	5	1.03
S-Containing compounds	2	1.53
Total	47	100

5) 기능성 간장의 휘발성 향기성분 분석

기능성 간장의 향기성분을 SDE 방법으로 추출하고 GC/MS로 분석한 chromatogram은 Figure 7에 도식하였고, 확인된 휘발성 향기성분의 조성과 함량 및 관능기에 따른 상대적 농도는 각각 Table 33과 Table 34에 나타내었다.

기능성 간장에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 50종으로 26.597 mg/kg을 회수하였다. Alcohol류가 전체의 63.43%(17종)로 기능성 간장 향기성분의 대부분을 차지하였고, ester류가 11.40%(8종), aldehyde류가 8.70%(3종), acid류가 7.49%(4종)로 주요 관능기를 구성하였으며, ketone류가 8종으로 5.50%, 황화합물이 3종으로 2.09% 및 질소화합물 5종이 1.39%로 확인되었다.

기능성 간장의 주요 향기성분은 기능성 된장과 마찬가지로 첨가된 식물추출물에서 유래된 paeonol(5.74 mg/kg)로, 전체 휘발성 향기성분의 21.56%로 대부분을 차지하였으며, 그 함량은 기능성 된장에서 보다 높은 것으로 확인되었다. 또한, 3-methyl butanol과 4-ethyl guaiacol이 각각 8.98% 및 8.67%로 주요 휘발성 향기성분으로 확인되었고, butanol, octanoic acid, ethyl acetate, 3-methyl butanal, phenyl ethyl alcohol 등도 상당량 확인되었다. Furfural, furfuryl alcohol 등의 당류 가열 분해산물들이 된장에서 보다 상당량 확인되었으며, 이는 간장의 달임 과정에서 생성된 화합물과 열수추출시 식물추출물에서 생성된 화합물이 더해진 결과로 사료된다. 그 외 달콤한 약초향을 내고 켈러리 같은 독특한 향을 지니는 senkyunolide A와 cnidilide가 확인되었으며(97,98), 각각 0.4, 0.1 mg/kg으로 극미량이나 기능성 간장에서 긍정적인 향을 부여하고, 간장의 기능성을 높이는데 기여할 것으로 생각된다.

결과적으로, 식물추출물이 첨가된 간장의 주요 향기성분 조성은 첨가 전과 유사하였으며, 기능성 추출물에서 유래된 paeonol과 senkyunolide A 및 cnidilide는 기능성 간장의 기능성을 강화하고, 간장에 달콤한 향을 부여함으로써 관능적인 면에서도 기호도를 높일 것으로 사료된다.

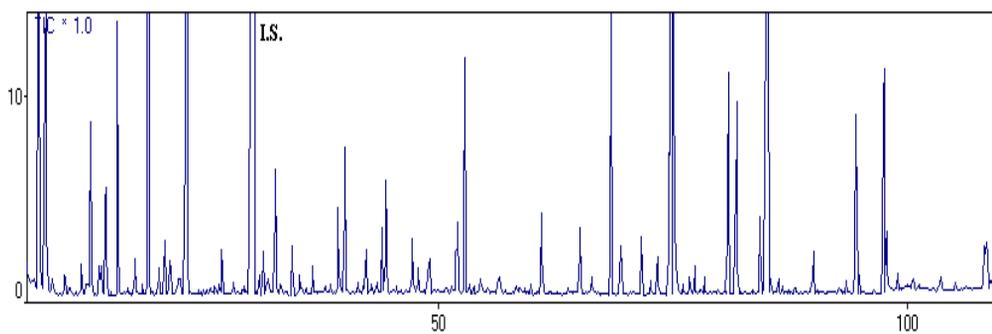


Figure 7. GC/MS chromatogram of volatile components in soy sauce added with herb extract.

Table 33. Volatile components identified in soy sauce added added with herb extract

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
1	7.361	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1.123	4.22
2	8.068	924	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.361	1.36
3	8.178	927	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	1.003	3.77
4	8.858	945	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	0.061	0.23
5	10.167	976	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86	0.105	0.39
6	12.494	1027	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.03	0.11
7	12.840	1034	Ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.32	1.19
8	13.119	1040	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.172	0.65
9	13.662	1051	Ethyl 2-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.03	0.11
10	13.869	1055	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.081	0.30
11	14.579	1068	Dimethyl disulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	0.173	0.65
12	15.906	1092	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.707	2.66
13	17.669	1123	(<i>E</i>)-3-Penten-2-one	C ₅ H ₈ O ₂	84	0.107	0.40
14	19.136	1147	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	2.074	7.79
15	21.470	1183	Pyridine	C ₅ H ₅ N	79	0.100	0.38
16	23.271	1210	3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	2.388	8.97
17	26.946	1266	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	0.052	0.20
<i>I.S.</i> ⁵⁾	<i>30.170</i>	<i>1311</i>	<i>Butylbenzene</i>	<i>C₁₀H₁₄</i>	<i>134</i>	-	-
18	30.946	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.033	0.12
19	31.369	1330	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.126	0.47
20	32.235	1343	Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	0.180	0.68
21	33.208	1357	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.059	0.22
22	34.450	1375	Dimethyl trisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	126	0.269	1.01
23	36.635	1406	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.061	0.23
24	39.366	1450	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	0.155	0.58
25	40.093	1461	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.494	1.85
26	42.333	1494	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.104	0.39
27	43.995	1520	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	0.204	0.77
28	47.282	1571	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	0.102	0.38
29	49.141	1598	Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.107	0.40
30	51.915	1644	2-Acetyl thiazole	C ₅ H ₅ NOS	127	0.114	0.43

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight, ⁵⁾Internal standard

Table 33. Continued

No.	R.T. ¹⁾	R.I. ²⁾	Compound name	MF ³⁾	MW ⁴⁾	mg/kg	Total%
31	52.129	1648	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	0.270	1.01
32	52.845	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.646	2.43
33	60.307	1781	4-Ethyl phenyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.015	0.06
34	61.020	1793	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.305	1.15
35	65.212	1859	Guaiacol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.264	0.99
36	68.569	1911	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.993	3.73
37	69.554	1930	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	0.152	0.57
38	71.741	1971	1-Phenyl-1-propanol	C ₉ H ₁₂ O	136	0.264	0.99
39	73.412	2002	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	0.146	0.55
40	74.650	2027	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2.305	8.66
41	75.093	2036	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	1.753	6.58
42	77.386	2081	3-Methyl phenol	C ₇ H ₈ O	108	0.090	0.34
43	80.962	2171	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.846	3.18
44	84.329	2256	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.128	0.48
45	85.109	2275	Paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	5.735	21.54
46	90.037	2380	<i>o</i> -Coumaric acid	C ₈ H ₈ O	120	0.088	0.33
47	94.996	2473	(<i>Z</i>)-Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	0.53	1.99
48	97.967	2523	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	0.709	2.66
49	97.880	2521	Senkyunolide A	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	0.400	1.50
50	99.115	2540	Cnidilide	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	0.093	0.35
Total						26.627	100

¹⁾Retention time, ²⁾Retention index, ³⁾Molecular formula, ⁴⁾Molecular weight

Table 34. Relative amount of functional groups of volatile components identified in soy sauce added with herb extract

Functional groups	Number	Relative amount (%)
Acid	3	7.49
Alcohols	17	63.43
Aldehydes	6	8.70
Ester	8	11.40
Ketones	8	5.50
N-Containing compounds	5	1.39
S-Containing compounds	3	2.09
Total	50	100

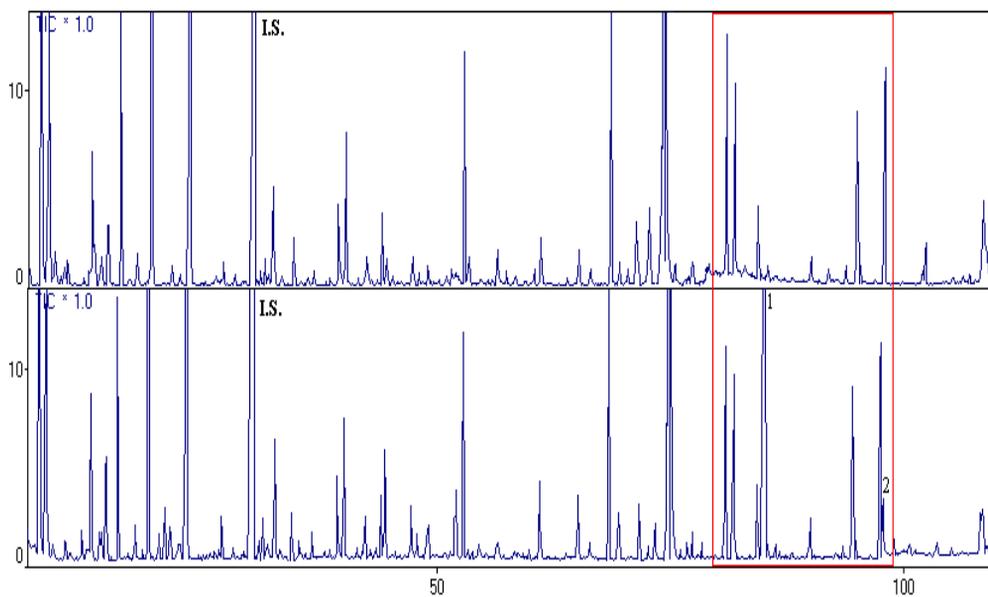


Figure 8. GC/MS chromatograms of volatile components in soy sauce (A) and soy sauce added with herb extract (B) (1; paeonol, 2; senkyunolide A).

Table 35. Comparison of volatile components identified in SS, SHE and HE

No.	R.I. ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	mg/kg		
					SS ⁴⁾	SHE	HE
1	904	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1.099	1.123	0.665
2	924	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.238	0.361	0.071
3	928	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0.863	1.003	0.123
4	941	2-Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.018	-	-
5	945	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	0.082	0.061	-
6	976	2,3-Butanedione	C ₄ H ₆ O ₂	86	0.091	0.105	0.312
7	1027	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.040	0.030	-
8	1034	Ethyl butyrate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.325	0.320	-
9	1040	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.115	0.172	-
10	1051	Ethyl 2-methyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.029	0.030	-
11	1055	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.059	0.081	0.066
12	1068	Dimethyl disulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	0.183	0.173	-
13	1092	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.740	0.707	-
14	1123	(<i>E</i>)-3-Penten-2-one	C ₅ H ₈ O ₂	84	0.081	0.107	-
15	1150	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	2.237	2.074	-
16	1183	Pyridine	C ₅ H ₅ N	79	0.039	0.100	0.216
17	1211	3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	2.639	2.388	-
18	1233	Acetyl acetate	C ₄ H ₆ O ₃	102	-	-	0.071
19	1261	Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone	C ₅ H ₈ O ₂	100	-	-	0.311
20	1265	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	0.053	0.052	-
21	1282	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.027	-	-
I.S. ⁵⁾	1312	<i>Butylbenzene</i>	<i>C₁₀H₁₄</i>	<i>134</i>	-	-	-
22	1317	4-Methyl pentanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.004	-	-
23	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.019	0.033	-
24	1329	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.055	0.126	-
25	1343	Ethyl lactate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	0.195	0.180	-
26	1357	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	-	0.059	-
27	1374	Dimethyl trisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	126	0.108	0.269	-
28	1405	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.029	0.061	-
29	1448	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	0.217	0.155	0.345
30	1460	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.378	0.494	6.099

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾SS: soy sauce, SHE: soy sauce added with herb extract, HE: herb extract

Table 35. Continued

No.	R.I. ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	mg/kg		
					SS ⁴⁾	SHE	HE
31	1494	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.056	0.104	0.116
32	1502	2-Acetyl furan	C ₆ H ₆ O ₂	110	-	-	0.228
33	1520	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	0.186	0.204	0.419
34	1536	2,3,4,5-Tetramethyl-tricyclo [3.2.1.0(2,7)]oct-3-ene	C ₁₂ H ₁₈	162	-	-	0.542
35	1570	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	0.068	0.102	1.939
36	1595	(<i>E</i>)- β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.578
37	1598	Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	170	-	0.107	-
38	1637	α -Humulene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	1.458
39	1644	2-Acetyl thiazole	C ₅ H ₅ NOS	127	-	0.114	-
40	1648	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	-	0.270	1.679
41	1659	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.605	0.646	0.431
42	1668	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	0.077	-	-
43	1699	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	-	0.194
44	1717	Junipene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.751
45	1777	Calarene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	2.502
46	1781	4-Ethyl phenyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.024	0.015	-
47	1792	Butyrophenone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.112	0.305	0.204
48	1857	Guaiacol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.112	0.264	-
49	1876	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	0.035	-	-
50	1911	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	1.018	0.993	-
51	1917	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	-	-	0.093
52	1929	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	0.060	0.152	-
53	1970	1-Phenyl-1-propanol	C ₉ H ₁₂ O	136	0.181	0.264	-
54	2001	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	0.223	0.146	0.118
55	2027	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2.337	2.305	-
56	2036	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	1.830	1.753	-
57	2037	Cinammic aldehyde	C ₉ H ₈ O	132	-	-	1.796
58	2081	3-Methyl phenol	C ₇ H ₈ O	108	-	0.090	2.060
59	2121	Furanodiene	C ₁₅ H ₂₀ O	216	-	-	0.768
60	2171	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.586	0.846	-

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾SS: soy sauce, SHE: soy sauce added with herb extract, HE: herb extract

Table 35. Continued

No.	R.I. ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	mg/kg		
					SS ⁴⁾	SHE	HE
61	2195	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	-	-	1.244
62	2256	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.141	0.128	-
63	2275	Paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	-	5.735	130.767
64	2318	Solativone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	-	-	2.691
65	2380	<i>o</i> -Coumaric acid	C ₈ H ₈ O	120	0.092	0.088	-
66	2448	Coumarine	C ₉ H ₆ O ₂	146	-	-	1.262
67	2473	(<i>Z</i>)-Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	0.545	0.540	-
68	2523	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	0.774	0.709	-
69	2524	Senkyunolide A	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	-	0.400	12.192
70	2543	Cnidilide	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	-	0.093	2.734
71	2576	Ligustilide	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190	-	-	3.985
Total					19.025	26.627	179.03

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾SS: soy sauce, SHE: soy sauce added with herb extract, HE: herb extract

3. 기능성 장류제품의 ACE 저해활성 시험

가. 일반 된장과 기능성 된장

된장의 ACE 저해활성에 관한 문헌을 살펴보면, 이(118)등은 재래식 된장에서 ACE 저해활성이 숙성기간의 경과에 따라 증가하는 경향을 확인하였고, 양 (119)등은 된장에서 생성된 저분자 peptide의 길이나 구조 및 아미노산 종류와 배열 등의 복합적인 작용에 의한 ACE 활성 저해효과가 있음을 시사하였으며, 남(120)등은 된장을 대상으로 ACE 저해 효과가 있는 peptide를 분리하여 얻은 분획물로부터 ACE 저해활성과 관련이 있음을 보고하였다.

이처럼 된장은 본래 자체에 ACE 저해활성을 가지고 있으며, 본 연구에서 확인한 결과, 일반 된장은 42.80±4.21%의 저해율을 보였으나 3% 식물추출물이 첨가된 기능성 된장에서는 52.72±6.49%를 기록하여 기능성 소재를 첨가함으로써 기존 된장의 기능성이 강화되는 것을 확인하였다(Table 36). 이처럼 식물추출물 첨가구가 무 첨가구에 비해 비교적 높은 ACE 저해활성을 보여 이와 같은 기능성 강화식품 소재 개발은 발효 식품을 비롯하여 응용분야가 매우 다양할 것으로 사료된다.

Table 36. ACE inhibitory effect of fermented soybean paste and functional fermented soybean paste

Materials	ACE inhibition rate (%)
Soybean paste	42.80±4.21 ¹⁾
Functional soybean paste	52.72±6.49

¹⁾Each value represents the mean±S.D. of three plates

나. 일반 간장과 기능성 간장

본 연구에서의 ACE 저해활성의 경우, 일반 간장은 $28.57 \pm 3.20\%$ 의 저해율을 보였으나 3% 식물추출물이 첨가된 기능성 된장에서는 $35.79 \pm 4.63\%$ 의 저해율을 기록하여 기능성 소재를 첨가함으로써 기존 간장의 기능성이 강화되는 결과를 확인하였다 (Table 37). 간장의 ACE 저해활성은 된장에서의 ACE 저해활성 보다 낮은 경향을 나타내는데 이는 콩의 함량이 된장보다 낮아 ACE 활성 저해 작용을 갖는 아미노산이 상대적으로 적은 것에 기인하는 것으로 생각된다. 고혈압 예방 효과를 갖는 혈압강하 활성 peptide의 존재는 된장 등의 대두 발효식품에서 이미 보고되었고(120), 이들의 생성은 대두 발효식품에 존재하는 단백질을 가수분해하는 발효 균주에 의한 것일 가능성이 높다고 박 (121) 등은 조사한 바 있다. 또한, Cheug (122) 등은 여러 가지 dipeptide를 합성하여 ACE 활성 저해 효과에 미치는 C말단 및 N말단 아미노산잔기의 영향을 검토한 결과 C말단 잔기로서는 Tro, Phe, Tyr 및 Pro을, N말단 잔기로서는 Val과 Ile을 가지는 dipeptide가 높은 ACE 활성 저해 효과를 가진다는 것을 밝히고 저해작용의 발현에 있어 방향족 및 소수성 아미노산잔기의 기여가 중요하다는 것을 시사하였다.

위의 실험 결과에서 기능성 간장 역시 식물추출물 첨가구가 대조군에 비해 ACE 저해활성이 비교적 높은 경향을 보여 기능성 장류 제조 가능성을 보여 주었다.

Table 37. ACE inhibitory effect of soy sauce and functional soy sauce

Materials	ACE inhibition rate (%)
Soy sauce	28.57 ± 3.20 ¹⁾
Functional soy sauce	35.79 ± 4.63

¹⁾Each value represents the mean±S.D. of three plates

4. 기능성 장류제품의 기능성 검정 시험

가. 혈압 변화

1) 1년차 시험 결과(된장)

된장과 추출물 혼합 여부에 따른 본태성 고혈압 쥐의 식이별 수축기 혈압은 Table 38에 제시한 바와 같다. 대조군, 실험군 모두 시험 1주차의 혈압이 시험 개시 시점에서 측정된 혈압에 비해 공통적으로 저하되었는데 이는 SHR이 실험환경에 적응한 결과에 따른 혈압 저하 효과로 사료된다. 2주차부터 추출물을 급이 하지 않은 대조군 및 실험군 I, II의 혈압은 지속적으로 증가하는 추세를 보인 반면, 추출물을 투여 또는 급이한 실험군 III, V, VI은 3주차까지 초기 혈압보다 낮은 수준을 유지하다가 이후부터 급격한 혈압 상승을 보였으나 5주차를 정점으로 다시 완만한 혈압 저하 효과를 보였다. 이와는 달리 1.5%의 추출물 혼합 급이군(IV)은 3주차까지 계속해서 혈압이 상승하였으나 이후부터 점차 감소하는 추세를 보임으로써 결국 추출물을 급이한 실험군(III-VI) 모두 8주차 수축기 혈압이 유사한 수준을 보였고 추출물을 급이 하지 않은 대조군 및 실험군 I, II에 비해 유의적으로 낮은 수준을 보였다.

이러한 결과로부터 본 시험에 사용된 기능성 추출물의 혈압 상승 억제 효과를 확인할 수 있었으며, 추출물의 혼합 비율이 낮을 경우 장기간을 급이 하여야만 혈압 상승 억제 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 추출물 경구 투여군(III)에 비해 추출물 혼합 급이군(IV, V, VI)에서 오히려 더 뚜렷한 혈압 상승 억제 효과를 보였는데 이는 경구 투여한 추출물의 양이 혼합 급이량의 두 배인 점을 고려할 때 다소 예외적인 결과로 사료된다.

Table 38. Systolic blood pressure in SHR during the experimental period (1st phase)

Group	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control ¹⁾	188±39 ²⁾	180±18	197±40	202±17	189±33	207±50	206±25	229±22	222±29
I	190±20	185±28	201±22	206±35	200±21	207±61	209±31	207±20	209±23
II	183±20	179±19	206±46	215±46	197±43	216±25	205±46	207±36	216±36
III	187±37	177±31	162±55	181±52	200±33	211±40	205±35	200±38	194±34
IV	188±46	174±24	203±22	218±21	199±38	207±32	199±15	198±19	195±37
V	192±56	177±44	173±51	164±43	192±19	205±27	201±28	200±18	198±29
VI	190±53	178±27	187±39	186±60	190±19	197±15	190±33	189±18	190±28

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

2) 2년차 시험 결과(된장 및 간장)

된장 또는 간장과 추출물 혼합 여부에 따른 식이별 본태성 고혈압 쥐의 수축기 혈압과 혈압 변화 추이는 각각 Table 39 및 Figure 9와 같다. 수축기 혈압은 일반사료만을 급이한 대조군과 일반사료에 된장 또는 간장을 혼합한 사료를 급이한 실험군(I, II)에서 시험기간 전 주기 동안 지속적으로 혈압이 증가하여 시험 종료 시에는 개시 시점보다 8.9-13.0%의 혈압 증가율을 나타낸 반면, 일반사료에 된장 또는 간장과 추출물을 함께 혼합한 사료를 급이한 실험군(III, IV)에서는 전술한 대조군 및 실험군에 비해 상대적으로 완만한 증가세를 나타내었다. 또한 일반사료만을 급이하면서 추출물을 경구 투여한 실험군 V는 실험 개시 시점에 비해 지속적으로 혈압이 저하되는 결과를 나타내었다. 즉, 각 실험군별 전 주기 동안의 평균혈압은 추출물을 혼합하지 아니한 사료를 급이한 그룹(대조군 및 실험군 I, II)과 추출물을 혼합한 사료를 급이한 그룹(실험군 III, IV), 그리고 추출물을 경구 투여한 그룹(실험군 V) 간에 $\alpha = 0.001$ 수준에서 유의적인 차이를 나타내었다.

그러나 실험군 간의 수축기 혈압을 매주 단위로 하여 유의차를 검증할 경우 실험군 II(일반사료+간장 혼합 사료)와 실험군 V(일반사료+추출물 경구 투여) 간에 시험 4주차와 6-8주차에서 유의적인 차이를 보였을 뿐 그 외 실험군 간에는 유의적인 차이가 관찰되지 않았는데 이는 각 실험군 내에서 개체 간 혈압 측정치의 편차가 높기 때문인 것으로 사료된다.

추출물을 경구 투여한 실험군 V는 추출물을 된장 또는 간장에 혼합하여 급이한 실험군 III, IV에 비해 뚜렷한 혈압 저하 효과를 나타내었는데 이는 경구 투여한 추출물의 양이 된장 또는 간장에 혼합한 추출물 양의 두 배였던 점과 경구 투여에 따른 체내 흡수율의 차이에서 오는 당연한 결과로 사료되며, 동일한 실험에 대하여 상반된 결과(추출물을 사료를 통하여 급이한 실험군이 추출물을 경구 투여한 실험군에 비해 더 뚜렷한 혈압 저하 효과를 보임)을 보였던 1년차 실험 결과는 혈압측정상의 오차로 사료된다.

한편, 일반사료만을 급이한 대조군과 일반사료에 된장 또는 간장을 혼합한 사료를 급이한 실험군(I, II) 간에는 통계적으로 유의적인 차이는 없었지만 대조군에 비해 실험군 I, II의 혈압 상승이 다소 높게 나타나는 경향을 보였는데 이는 본 연구의 필요성에서 기술하고 있는 바와 같이 된장 또는 간장에 함유된 NaCl의 섭취가 혈압 상승에 어느 정도 영향을 미쳤기 때문인 것으로 사료된다(123).

이상의 실험 결과로부터, 추출물을 혼합한 된장 및 간장의 혈압 상승 억제 효과를 확인하였으며 고추장, 쌈장 등 다른 장류제품에 대한 추출물의 적용 가능성도 확인하였다.

류 등(124,125)은 본태성 고혈압 쥐에게 홍국을 0.1%, 0.3% 첨가한 사료를 급여하였을 때 2주 후부터 혈압상승이 억제되었음과 된장 제조에 사용되는 koji의 약 30%를 홍국으로 대체하여 제조한 홍국 된장을 식이에 3.7% 첨가하였을 때 유의적인 혈압상승 억제 효과를 보고하였고, 신 등(126)은 불포화 지방산이 많이 포함된 어유(고등어유)를 5% 급여한 식이군에서 8주차 이후부터 혈압 상승 억제 효과를 보고하였다. 이 밖에 한 등(127,128)은 천마의 에탄올 추출물과 메밀, 감자, 옥수수 전분 등의 혼합 식이에서, 홍 등(129)은 천마성분 분획물 식이에서 혈압 상승 억제 효과를 보고하였고, 도 등(130)은 3%의 마늘 식이군에서, 이 등(131)은 5%의 표고버섯 식이군에서 혈압이 유의하게 감소하였음을 보고하였다.

본 연구의 목적이 기능성 장류제품 개발임을 고려할 때 이들 보고에서 사용된 식품재료들을 항고혈압 효과를 기대할 수 있을 정도의 양만큼 장류제품에 혼합할 경우 제품 고유의 색깔, 향미, 맛 등 관능적 특성은 물론 물성에도 많은 영향을 미치게 된다. 그러나 본 연구를 통해 개발된 기능성 추출물을 적절한 농도로 추출하여 사용할 경우 기존 제품의 고유 특성에 대한 영향을 최소화하면서 항고혈압 기능을 갖는 식품 소재로서의 활용이 가능하며, 이를 장류제품 및 젓갈류 제품 등 다양한 고염분 식품에 적용할 경우 혈압 상승을 억제하거나 완화시킬 수 있는 기능성 식품 개발에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Table 39. Systolic blood pressure in SHR during the experimental period (2nd phase)

Group	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control ¹⁾	213±21 ^{2)(NS3)}	214±23 ^{NS}	218±19 ^{NS}	218±16 ^{NS}	221±23 ^{ab}	227±20 ^{NS}	226±27 ^{ab}	227±19 ^{ab}	232±20 ^{ab}
I	213±22	218±35	220±27	219±14	224±24 ^{ab}	221±26	221±20 ^{ab}	233±24 ^a	235±14 ^{ab}
II	214±16	219±27	219±20	225±34	230±17 ^a	230±24	231±17 ^a	235±16 ^a	242±11 ^a
III	214±12	214±27	213±33	219±19	218±18 ^{ab}	216±22	209±28 ^{ab}	210±15 ^{bc}	219±20 ^{bc}
IV	214±20	210±33	207±20	215±22	214±23 ^{ab}	219±23	222±15 ^{ab}	220±25 ^{abc}	219±26 ^{bc}
V	212±11	208±22	207±19	210±16	203±20 ^b	202±30	202±11 ^b	205±30 ^c	204±17 ^c

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

³⁾It means 'not significantly different between the values in a column'

⁴⁾The values with different alphabet in a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

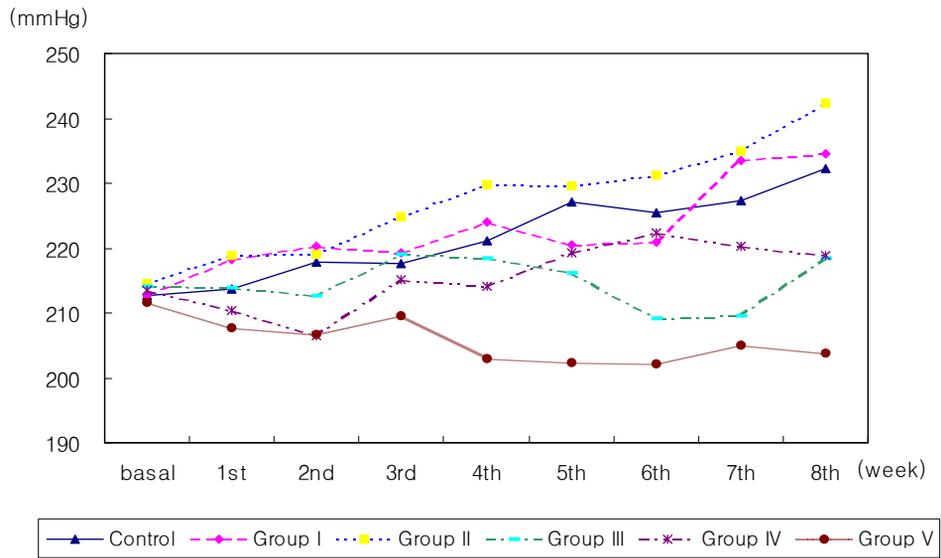


Figure 9. Changes of systolic blood pressure in SHR during the experimental period.

나. 혈중 지질성분 농도 변화

1) 1년차 시험 결과(된장)

매주 1회 동일한 시각에 채취한 혈액의 혈중 지질 성분 농도는 Table 40과 같다. 고지방 사료를 급여한 실험군 I-V까지는 1주차부터 급격한 콜레스테롤 증가 현상을 보였고 이후 감소하는 경향을 보였으며, 추출물을 급여한 실험군(III, IV, V)과 추출물을 급여 하지 않은 실험군(I, II) 간에는 유의적인 차이가 없었다. 따라서, 추출물과 콜레스테롤 저하와는 상관관계가 없는 것으로 판단된다. 한편, 대조군과 실험군 VI에서도 초기 증가 없이 총 콜레스테롤이 점차 감소하는 경향을 보였는데 된장을 혼합 급여한 실험군 VI의 경우 된장 급여에 따른 지질 성분 감소 효과로 추정되나 일반사료만을 급여한 대조군에서도 동일한 콜레스테롤 감소 추세를 보인 결과에 대해서는 좀더 보완적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

HDL-콜레스테롤은 전 그룹에서 실험 기간 전 주기 동안 별다른 변화를 보이지 않았으며 실험군 간에도 차이가 없었다. LDL-콜레스테롤은 일반사료 급여군(대조군 및 VI)에 비해 고지방 사료 급여군(I-V)이 높은 수준의 농도를 보였으나 역시 추출물의 급여 여부에 따른 유의적 차이는 없었다. 중성 지방은 고지방 사료 급여군(I-V)에서 실험 1주차에 급격히 증가한 후 점차 감소하였으나 추출물을 급여한 군과 급여 하지 않은 군과 간에는 차이가 없어 총콜레스테롤, HDL- 및 LDL-콜레스테롤과 같은 경향을 보여주었으며 인지질 함량에서도 역시 같은 결과를 보여주었다.

Table 40. Serum lipid contents in SHR during the experimental period (1st phase)

Group	Total cholesterol (mg/dL)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control ¹⁾	80±6 ²⁾	73±4	74±4	67±4	67±2	75±7	65±4	67±4	66±4
I	77±8	100±8	100±5	87±7	89±6	90±8	84±3	86±5	85±5
II	78±5	93±11	96±5	84±6	88±5	87±5	83±4	87±6	82±3
III	80±8	94±8	95±4	85±4	92±6	94±6	81±4	95±6	83±5
IV	76±9	102±8	102±8	82±6	86±4	90±6	79±4	95±6	83±5
V	75±4	93±8	92±8	78±6	84±4	86±4	78±7	84±7	82±4
VI	77±4	70±3	69±2	62±3	64±3	65±5	63±5	84±7	65±3

Group	HDL-cholesterol (mg/dL)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control	29±1	30±2	31±2	30±2	26±1	34±4	28±2	28±1	28±2
I	28±4	33±1	36±2	30±2	28±1	32±2	27±2	28±2	27±1
II	29±2	32±3	35±2	29±2	29±2	33±2	27±2	29±2	27±1
III	29±2	32±2	35±1	29±2	29±2	35±2	28±2	30±3	29±2
IV	29±4	33±2	37±2	29±2	28±2	32±2	27±2	28±1	27±1
V	28±2	32±2	34±3	28±2	28±1	31±1	26±2	28±2	27±2
VI	29±1	30±2	29±2	27±1	26±1	30±2	26±2	27±2	27±1

Group	LDL-cholesterol (mg/dL)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control	10±1	7±1	7±1	7±1	7±1	8±2	7±1	8±1	7±1
I	9±1	16±2	20±3	18±2	19±1	19±3	18±1	20±2	19±2
II	9±1	16±4	19±2	17±3	18±2	19±2	18±2	21±3	19±2
III	10±1	15±2	18±3	17±1	20±2	20±2	18±2	22±2	19±2
IV	9±2	16±2	21±2	17±2	18±1	19±2	18±2	18±3	19±2
V	9±1	15±3	18±3	16±2	17±2	19±2	17±2	20±3	19±2
VI	9±1	7±1	8±1	7±1	7±1	7±1	7±1	8±1	8±1

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

Table 40. Continued

Group	Triglyceride (mg/dL)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control ¹⁾	107±33 ²⁾	122±21	117±10	110±13	99±17	115±19	108±14	111±17	102±24
I	98±30	283±81	196±44	171±20	192±40	169±25	152±15	148±20	141±30
II	86±18	237±90	168±32	153±19	177±31	157±27	134±13	138±21	129±17
III	97±21	266±64	174±34	197±33	211±30	176±16	138±22	210±30	124±35
IV	90±30	320±77	197±33	172±41	159±23	180±37	137±13	138±16	132±21
V	87±24	248±51	173±50	164±51	184±39	179±24	147±14	161±34	129±32
VI	83±20	108±18	94±20	96±16	105±17	130±31	91±11	98±23	74±19

Group	Phospholipid (mg/dL)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control	171±16	158±7	145±9	149±8	145±6	148±14	146±9	148±8	149±12
I	158±22	177±11	160±8	156±8	149±6	142±10	140±5	149±10	147±7
II	161±14	167±19	151±10	149±7	152±10	141±8	141±6	150±8	144±9
III	163±16	169±16	151±9	151±5	158±7	148±6	136±6	164±13	150±7
IV	155±23	182±12	159±10	149±8	149±3	143±10	138±8	146±6	148±8
V	159±12	168±10	148±14	145±11	148±7	141±10	136±10	147±11	149±7
VI	167±29	153±9	137±9	139±7	146±6	141±9	139±9	152±11	147±8

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

2) 2년차 시험 결과(된장 및 간장)

시험 종료 시 실험동물을 12시간 절식시킨 후 모세혈관을 안구에 삽입하여 채취한 혈청의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방, 인지질 함량과 간 기능 지표인 SGOP 및 SGPT의 분석 결과는 Table 41과 같다.

각 실험군 간의 혈중 지질 성분은 신장과 고환 주위 지방 조직의 무게와 유사한 양상을 보였다. 즉 일반사료만을 급여한 대조군 및 실험군 V에 비해 된장 또는 간장을 혼합한 사료를 급여한 실험군(I, II, III, IV)의 혈중 지질 성분 농도가 대체적으로 낮은 수준을 보였고 특히 간장+추출물 혼합사료 급여군(IV)의 경우 대조군에 비해 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지방 및 인지질 함량이 유의적으로 낮은 수준을 보임으로써 된장의 혈중 지질 농도 감소와 관련된 여러 보고들(132-134)과 일치된 결과를 보였다. 그러나 추출물을 급여 하지 않은 그룹과 급여한 그룹 간에는 유의적인 차이를 보이지 않음으로써 추출물과 혈중 지질 농도 간에는 상관관계가 없었던 1년차 시험 결과를 다시 확인할 수 있었다.

Table 41. Serum lipid contents in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks (2nd phase)

Group	Total Cholesterol (mg/dL)	HDL Cholesterol (mg/dL)	LDL Cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	Phospholipid (mg/dL)	SGOT (I.U./L)	SGPT (I.U./L)
Control ¹⁾	62.9±3.7 ^{2)a3)}	19.5±1.0 ^{ab}	4.6±0.5 ^{ab}	71.3±16.7 ^a	123.4±7.6 ^a	96.3±26.9 ^{NS3)}	62.4±6.0 ^{NS}
I	58.3±5.1 ^{ab}	18.1±1.1 ^{abc}	5.0±0.7 ^a	54.0±7.2 ^b	114.5±6.4 ^{ab}	92.8±25.9	60.3±5.3
II	57.4±6.0 ^{ab}	17.7±1.5 ^{bc}	4.3±0.7 ^{ab}	61.4±14.1 ^{ab}	114.5±9.7 ^{ab}	93.5±19.3	61.5±5.6
III	59.9±4.8 ^{ab}	18.1±1.0 ^{abc}	5.0±0.5 ^a	64.2±12.0 ^{ab}	113.9±8.2 ^{ab}	103.6±23.9	57.4±4.5
IV	53.9±3.3 ^b	16.8±0.9 ^c	4.2±0.6 ^b	54.4±7.6 ^b	108.8±5.4 ^b	96.0±23.9	64.3±8.7
V	61.2±7.4 ^a	18.7±1.9 ^{ab}	4.6±0.5 ^{ab}	66.2±13.3 ^{ab}	117.3±11.3 ^{ab}	92.4±22.3	58.1±6.6

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

³⁾The values with different alphabet in a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

⁴⁾It means 'not significantly different between the values in a column'

다. 간 기능 지표물질 수치

1) 1년차 시험 결과(된장)

추출물 투여(급이)로 인한 간 기능 이상 여부를 확인하기 위하여 실시한 SGPT, SGOT 활성도에 대한 측정 결과는 Table 42와 같다. SGPT 수치는 추출물 경구 투여군(III)을 제외하고 각 군 간에 별다른 차이가 없었다. 다만 경구 투여군의 경우 실험 기간 중간 단계에서 다른 군에 비해 SGPT 수치가 다소 높게 나타났으나 실험 종료 단계에서는 다른 군들과 동일한 수준을 보였다. SGOT 수치도 경구 투여군에서 SGPT와 유사한 경향을 보였으나 대조군 및 그 외 실험군에서는 실험 전 기간에 걸쳐 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 본 시험에 사용된 추출물은 간 기능에 아무런 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다.

2) 2년차 시험 결과(된장 및 간장)

추출물 급이 또는 투여에 따른 간 기능의 이상 여부를 확인하기 위해 실시한 SGOT 및 SGPT 활성도 측정 결과, 각 실험군 간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았으므로 본 연구를 통해 개발된 기능성 추출물은 간 기능에 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다(Table 43).

Table 42. SGPT and SGOT values in SHR during the experimental period (1st phase)

Group	SGPT value (U/L)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control ¹⁾	59±2 ²⁾	53±2	65±4	65±17	60±6	69±8	62±5	61±5	65±4
I	58±4	59±5	71±5	63±4	59±5	63±9	58±3	60±6	65±7
II	59±2	62±6	76±6	64±3	58±5	59±3	61±5	61±5	65±3
III	56±4	64±5	78±6	73±10	76±16	70±7	68±6	70±7	67±4
IV	57±7	60±5	76±7	65±3	60±6	63±4	59±4	61±5	68±4
V	58±4	61±4	75±5	72±13	61±4	61±3	61±5	66±5	69±4
VI	57±6	48±7	61±9	59±8	56±5	60±7	61±13	62±9	64±5

Group	SGOT value (U/L)								
	Basal	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th (week)
Control	101±16	104±28	103±18	105±26	106±23	133±48	104±22	98±16	117±30
I	94±6	106±37	96±15	90±12	96±13	105±31	93±10	93±17	108±27
II	92±9	92±23	103±16	98±16	103±45	97±19	114±27	90±13	95±7
III	97±13	96±11	110±23	125±36	106±21	118±19	90±17	114±41	91±8
IV	102±16	95±25	103±22	96±11	96±11	110±22	95±17	94±13	127±31
V	99±10	87±7	100±8	102±25	93±15	104±26	116±53	107±16	103±16
VI	97±23	89±12	104±23	107±30	97±15	112±21	112±40	107±23	107±12

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

Table 43. Serum lipid content in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks (2nd phase)

Group	SGOT (I.U./L)	SGPT (I.U./L)
Control ¹⁾	96.3±26.9 ^{2)NS3)}	62.4±6.0 ^{NS}
I	92.8±25.9	60.3±5.3
II	93.5±19.3	61.5±5.6
III	103.6±23.9	57.4±4.5
IV	96.0±23.9	64.3±8.7
V	92.4±22.3	58.1±6.6

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

³⁾It means 'not significantly different between the values in a column'

라. 주요 장기의 무게

시험 종료 직후 측정된 실험군별 주요 장기의 무게는 Table 44와 같다. 간장, 비장, 신장 및 고환 등 주요 장기 무게는 전반적으로 각 실험군간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 다만, 추출물을 경구 투여한 실험군(V)이 다른 군에 비해 간장과 비장의 무게가 약간 높은 수준을 보였으나 일부 실험군(II, III)을 제외하고는 전반적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

한편 신장과 고환 주위 지방 조직의 무게는 된장 또는 간장 급이군(I, II, III, IV)이 일반사료 급이군(대조군 및 V)에 비해 대체적으로 낮은 수치를 보였고 특히 된장 혼합사료 급이군(I)과 간장+추출물 혼합사료 급이군(IV)에서 유의적으로 낮았는데, 이는 전통 장류의 급이가 간, 신장 주위 지방조직의 중성지방 및 콜레스테롤을 유의적으로 감소시켰다는 보고(133)와 연관되는 결과로 판단되며, 본 연구에서는 된장에 비해 간장이 지질 대사에 더 많은 영향을 미친 것으로 추정된다.

Table 44. Weight of organs in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks

(Unit: g)

Group	Liver	Spleen	Kidney	Testis	Fat around kidney	Fat around testis
Control ¹⁾	10.87±0.59 ^{2)ab3)}	0.53±0.03 ^{ab}	1.43±0.11 ^{NS4)}	1.46±0.08 ^{NS}	1.59±0.30 ^{ab}	1.96±0.36 ^a
I	10.90±0.69 ^{ab}	0.51±0.04 ^{ab}	1.44±0.05	1.49±0.06	1.37±0.19 ^b	1.69±0.18 ^{ab}
II	11.17±0.88 ^{ab}	0.49±0.04 ^b	1.43±0.07	1.51±0.07	1.63±0.27 ^{ab}	1.78±0.29 ^{ab}
III	10.51±0.48 ^b	0.54±0.06 ^{ab}	1.43±0.08	1.48±0.03	1.54±0.31 ^{ab}	1.78±0.24 ^{ab}
IV	10.78±0.54 ^{ab}	0.51±0.05 ^{ab}	1.38±0.06	1.49±0.09	1.39±0.19 ^b	1.57±0.13 ^b
V	11.40±0.57 ^a	0.56±0.03 ^a	1.47±0.06	1.54±0.04	1.87±0.42 ^a	1.93±0.29 ^a

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

³⁾The values with different alphabet in a column are significantly different from each other at α=0.05 by Duncan's multiple range test

⁴⁾It means 'not significantly different between the values in a column'

마. 식이 섭취량 및 체중변화

각 실험군의 일일 평균 사료섭취량은 18.8-19.7 g 수준이었다. 2주간의 적응기 동안 일반사료만을 급이하다가 된장 또는 간장을 첨가한 사료를 급이한 실험군에서는 향미 변화로 인한 식이섭취량의 감소가 우려되었으나 일반사료만을 급이한 대조군 및 실험군 V와 10%의 된장 또는 간장을 혼합한 사료를 급이한 실험군(I-IV) 간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 오히려 된장 및 간장을 혼합한 사료를 급이한 실험군이 약간 높은 수준의 평균 사료섭취량을 보였다.

시험 개시 시점과 종료 시점 사이의 8주간 각 실험군의 증체량은 76.3-97.1 g으로 나타났는데 일반사료만을 급이한 대조군 및 실험군 V에 비해 간장과 추출물을 함께 혼합한 사료를 급이한 실험군 IV에서 유의적으로 낮은 수준의 증체량을 보였으며, 통계적인 유의차를 보이지는 않았으나 된장 또는 간장을 혼합한 사료를 급이한 실험군 I, II와 된장과 추출물을 함께 혼합한 사료를 급이한 실험군 III에서도 대조군 및 실험군 V에 비해 다소 낮은 수준의 증체량을 보였다(Table 45). 이러한 결과는 된장 또는 간장의 혼합율(10%)을 고려할 때 된장 또는 간장 혼합 사료가 일반사료에 비해 영양 성분이 감소되는 효과에 기인하는 것으로 사료되지만, 전통 장류가 체중 감소 또는 비만 억제 효과가 있다는 보고(132,133)와 일치되는 결과로도 추정해볼 수 있다.

Table 45. Body weight gain and feed intake in SHR fed with the experimental diets for 8 weeks

Group	Feed intake (g/day)	Body weight (g)		
		Initial b.w.	Final b.w.	Weight gain
Control ¹⁾	18.8±0.5 ^{2)NS3)}	243.5±10.6	340.6±10.9	97.1±5.9 ^{a4)}
I	19.4±0.5	247.4±4.6	334.8±14.3	87.4±13.5 ^{ab}
II	19.4±0.7	248.2±6.1	335.6±16.8	87.3±14.2 ^{ab}
III	19.7±0.3	245.1±5.3	333.5±12.3	88.4±12.2 ^{ab}
IV	19.2±0.7	249.3±6.7	325.6±15.6	76.3±11.1 ^b
V	18.7±0.6	249.5±7.7	341.0±11.1	92.6±9.6 ^a

¹⁾See the legend of table

²⁾Values are mean ± SD (n=10)

³⁾It means 'not significantly different between the values in a column'

⁴⁾The values with different alphabet in a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

5. 시제품 제작

고혈압과 신장장애 예방에 우수한 활성을 나타낸 식물추출물을 전통 장류에 첨가하여 기능성 조미식품 개발을 위한 시제품을 제조하였다.



Figure 10. Picture of functional fermented soybean paste.



Figure 11. Picture of functional soy sauce.



Figure 12. Picture of functional seasoning foods.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연도별 연구목표 및 평가착안점

구분	연도	세부연구목표	평가의 착안점 및 기준
1차년도	2005	<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 된장의 성분 분석 • 기능성 된장의 관능적 묘사분석 • 기능성 된장의 기능성 효능시험 	<ul style="list-style-type: none"> • 영양성분 · 향기성분 분석(40) • 관능적 묘사분석과 기호도 조사(30) • 혈압 강하 효능 및 신장장해 완화 효능실험(30)
2차년도	2006	<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 장류(된장, 간장) 개발 • 기능성 장류의 관능적 평가 • 기능성 장류의 기능성 평가비교 • 기능성 장류의 시제품 생산 	<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 장류의 성분 변화 비교(20) • 기호도 평가에 의한 관능검사 및 향기성분비교(20) • 식물추출물 및 기능성 장류의 기능성 평가(40) • 기능성 장류의 시험제품생산(20)
최종평가		<ul style="list-style-type: none"> • 고혈압 및 신장장해 예방 • 기능성 장류 개발 • 기능성 장류의 기능성 효능시험 	<ul style="list-style-type: none"> • 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 장류 개발(60) • 기능성 장류의 기능성 효능시험(40)
총점			300점

각 연차별 연구 목표 및 내용에 대한 실험을 수행하면서 식물추출물 첨가 된장을 제조한 후, SHR에 대한 혈압 강하 효능과 ACE 저해활성도까지 확인하여 기능성 장류를 생산하였으므로 목표를 100% 달성한 것으로 사료된다. 본 연구에서는 약용 식물의 사용에 관한 과학적 근거를 제시하였고, 이를 이용한 다양한 제품개발이 가능할 것으로 기대된다.

제 2 절 연구개발 목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전 에의 기여도

본 연구에서 개발된 기능성 장류 제조방법은 실제 식품 산업에 적용 될 수 있을 것이다. 고유의 전통 조미식품으로써 장류는 좋은 영양 섭취원이지만 염분 함량이 높기 때문에 고혈압 등의 성인병을 일으킬 수 있는 단점이 있었다. 그러나 본 과제에서 연구된 기능성 장류는 이러한 부분을 개선하여 약리효과와 영양, 기호성을 동시에 충족시킬 수 있는 고부가가치 상품을 제조함으로써 국민 건강증진에 기여 할 수 있으며 나아가 경제 산업 발전을 도모할 수 있을 것이다. 또한, 국내 전통식품 산업의 수준을 한 단계 끌어올릴 수 있을 것으로 사료되며 특히 발효식품 산업의 발전에 크게 기여할 수 있을 것이다. 이번 연구개발은 영양학적 측면 뿐만 아니라 침체되었던 기능성 장류 식품의 해외 수출 산업화를 위한 중요한 연구적 바탕이 될 수 있을 것이라 사료된다.

또한, 기능성 장류의 개발을 통해 약용식물 분야에서 원료의 재배, 연구개발, 제조 및 생산 분야 등의 총체적인 발전을 기대할 수 있다. 즉, 소비자에게 안정된 가격과 우수한 품질의 약용식물을 공급하는 생산자, 우수한 식물의 효능과 안전성 탐색을 하여 기본적인 정보를 제공할 수 있는 연구개발, 마지막으로 제품개발 과정에서 얻어진 새로운 소재나 기술에 대한 산업재산권 확보를 통해 기술을 보호, 육성하여 국제 식품 산업에서 우리나라 식품의 선도적 발전 가능성을 예측할 수 있다.

1. 연구개발 목표 달성도

가. 장류의 품질평가

전통장류 제조 시 품질의 객관적 지표를 설정하기 위해 일반성분 및 아미노산 조성을 분석하였으며, 이는 개발된 제품의 품질 평가를 위한 기초자료로 사용하였다.

나. 관능적 묘사분석과 기호도 조사 분석

기호도 조사를 통한 기능성 장류의 관능검사를 실시한 결과, 대조군과의 유의적인 차이가 없음을 확인하였으며 추출물 첨가 장류의 최적 추출농도를 확립하였다.

다. 혈압 강하 효능 및 신장장해 완화 효능실험

추출물을 첨가한 기능성 장류제품의 항고혈압 기능에 대한 동물시험 결과, 추출물 첨가 장류제품 급이군에서 일반사료만을 급여한 대조군이나 추출물 무첨가 장류제품 급이군에 비해 뚜렷한 혈압 상승 억제 효과가 관찰되었다. 고혈압뿐만 아니라 만성 신장병 등을 효과적으로 감소시키는 ACE (Angiotensin Converting Enzyme)에 대한 저해활성도를 측정하였을 때 전반적인 저해활성(inhibitory activity)을 가지고 있음을 확인하였다.

라. 기능성 장류의 성분 변화 비교

일반 장류와 기능성 장류의 일반성분에는 유의적인 차이가 확인되지 않았으며, 휘발성 향기성분의 profile도 유사하였다. 휘발성 향기성분 분석을 통하여 기능성 장류에서만 확인할 수 있는 식물추출물에서 기인한 유효성분을 확인함으로써 일반 장류와 기능성 장류의 구별가능성을 확인하였다.

마. 식물추출물 및 기능성 장류의 기능성평가

신장장해 예방에 도움이 되는 ACE(Angiotensin Converting Enzyme)에 대한 저해활성도를 측정하여 식물추출물 소재의 전반적인 저해활성(inhibitory activity)을 확인하였고, 기능성 장류에서 식물추출물 첨가에 의한 ACE 저해활성이 강화되는 것을 확인하였다.

바. 기능성 장류의 시험제품 생산

위의 기술을 토대로 하여 풍미를 저해하지 않으면서 고혈압과 신장장해 예방에 우수한 활성을 나타낸 식물추출물을 전통식 장류에 첨가하여 시제품을 완성하였다.

2. 산업재산권

- 특허출원: 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 간장 및 그 제조방법

[출원번호: 10-2007-0007871]{별첨1-1, 1-2}

- 상표출원: 된장, 간장 로고[출원번호: 40-2007-0005330]{별첨 2-1, 2-2}

제 5 장 연구개발 활용계획

혈압을 낮추는 항고혈압 활성과 신장 기능 향상에 효과가 있는 식물추출물을 장류 제조 시 첨가함으로써 기존 제품의 관능과 풍미를 저해하지 않으면서 염분에 의한 위해를 예방하고 완화할 수 있는 고혈압 및 신장장해 예방 기능성 조미식품을 제조하였다. 이렇게 개발된 제품은 건강기능식품법의 시행으로 인해 건강식품의 기술개발이나 관련 시장에서 새로운 수요를 창출할 수 있을 것이며, 그 법적 취지에 맞게 약용식물을 이용한 기능성 장류의 개발 기술을 과학과 접목시켜 산업화함으로써 식품산업 발전을 도모할 수 있으며 나아가 국민건강에 기여할 것으로 생각된다.

앞으로 참여기업과 함께 새로운 제품을 생산하도록 협력하고 본 연구내용을 좀더 보강하여 추후 장류 이외에 다른 고염식품(김치, 젓갈류 등)에도 본 기술을 접목해 기능성 제품을 개발할 예정이다. 현재, 전 세계 나라들은 개방화, 국제화 추세 속에서 경쟁력을 높이기 위하여 자국이 가지고 있는 자원의 부가가치를 높이는데 주력을 하고 있는데 이러한 국제 환경에 부응하기 위해서는 본 연구 결과인 독자적인 전통 기술의 이점을 살려 전통 장류의 제조 기술을 되살리는 것이 중요하다.

본 연구의 최종 산물인 기능성 장류제품은 우리나라 전통 장류의 품질을 향상시키면서 국민 건강증진을 위하여 개발된 것으로 다음과 같은 활용도를 가질 것이다.

제 1 절 연구개발의 활용도

1. 기술적 측면

본 연구의 목표는 장류가 가지고 있는 고염식의 이미지를 탈피하고 기능성을 높여 전통식품의 경쟁력을 높이는 것이다. 기능성 식물추출물을 발효식품에 첨가함으로써 기능성 발효식품 제조의 기술축적을 이루며, 생리활성 연구 발전에 보탬이 될 수 있다. 전통장류 제조 시 품질의 객관적 지표를 위한 향기성분과 일반 성분들의 특성구명을 통한 data base 축적은 개발된 제품의 품질 평가에 이용가능하고, 연구 결과의 산업 현장 적용으로 인해 장류의 품질이 향상될 수 있다. 또한, 학술회의, 강연회 등을 통하여 개발된 전통 장류 생산기술을 널리 홍보하여 현대화된 전통장류 생산기술을 널리 보급하고 전통 장류 기술의 맥을 계승 발전시킬 수 있으며, 장류 소비 증

진을 위한 홍보에 활용 할 수 있다

2. 경제 산업적 측면

본 기술의 적용으로 기능성이 강화된 전통발효식품을 생산함으로써 기능성 식품으로서의 잠재력이 높은 장류 산업을 보다 활성화시킬 것으로 전망되며 더불어 조미식품 산업의 발전에도 이바지할 수 있다. 나아가 한국 전통식품의 현대화를 촉진시키고 동시에 농업과 식품산업의 연계 발전을 기대할 수 있으며, 우리나라 전통식품의 기능성을 강화시켜 세계화 할 수 있는 기반을 마련할 수 있다. 기능성 장류제품 개발을 통한 전통식품의 세계화는 한류 식문화의 전파와 함께 국내 식품제조업과 서비스업의 부가가치 창출에 크게 기여할 것이다.

제 2 절 활용에 대한 건의

1. 국내 기능성 장류 산업이 국제 경쟁력을 가지기 위해서는 다양한 기능성 생리활성 성분이 농축되어 있는 우리 고유의 소재(천연물) 즉, 약용식물을 이용한 기능성 소재의 끊임없는 탐색과 이의 산업적 이용이 필요하다. 나아가 본 과제에서 연구된 약용식물을 포함하여 더 많은 생리활성 물질의 탐색이 요구된다.

2. 약용식물을 이용한 기능성 장류의 개발을 위해서는 원료의 재배, 연구개발, 제조 및 생산, 마케팅 전략을 종합적으로 연계하여 구축할 필요가 있다. 먼저 원료의 재배에서부터 공급에 이르기까지 위생적이고 안전한 원료가 공급되어야 한다. 생산자를 보호하면서 소비자에게 저렴하고 안정된 가격으로 약용식물을 공급할 수 있는 시스템이 갖추어져야 한다. 또한, 약용식물의 성분을 기능성 소재로 활용하기 위해서 원료의 적절한 관리가 요구되며, 생물활성의 평가 및 검색이 체계적으로 연구되어야 한다. 연구개발에서는 약용식물의 효능과 안전성 탐색이 중시되며, 모든 정보의 데이터베이스화를 통해 체계적인 관리가 이루어 질 수 있도록 해야 하며, 제품개발 과정에서 얻어진 새로운 소재나 기술에 대한 산업재산권 확보를 통해 기술을 보호, 육성할 수 있어야 한다.

3. 지금까지 수행된 기능성 장류 제조 기반 기술을 바탕으로 대량생산과 판매를

위한 홍보가 필요하고 본 연구결과의 실용화를 위한 반복실험 및 규모별 연구가 진행되어야 하며 이를 위한 지속적인 지원이 요구된다. 또한, 저장 유통, 포장 등의 문제는 기업적 측면에서의 추가 연구를 통한 해결이 필요하다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

장류에 관한 해외 논문에서는 국내 논문, 특허와는 달리 기술향상을 위한 연구 보다는 기존 장류 특성 및 장류의 고유성분 또는 기능성 성분 규명을 위한 연구가 주를 이루었고, 연구 수행기간 동안 본 과제와 일치하는 연구는 찾아볼 수 없었으나 각종 약용식물과 장류산업의 전반적인 현황 자료를 수집할 수 있었다.

제 1 절 약용식물 활용 현황

1. 미국

식품으로 사용되고 있는 식용식물의 추출물 또는 해당 식물의 주 생리활성 phytochemical의 소재화에 대한 연구개발이 활발히 이루어지고 있으며, 대체의학 요법의 확산과 함께 허브의 생리 및 약리 활성화에 관한 연구개발이 국가 연구 사업으로 자리 잡고 있다. 또한, 1994년 식이보충제 및 건강교육법(Dietary Supplements and Health Education Act)이 제정되어 건강식품의 주원료가 되는 각종 약용식물 활용이 급격히 증가하였고, 업체에서 이들 약용식물의 효능을 입증할 경우 건강강조표시를 자유롭게 허용함으로써 약용식물을 식품산업에 적용하는데 있어서 선도적인 역할을 하고 있다(135).

2. 일본

일본 후생성은 “98년 3월 31일 허브류의 취급에 대하여”라는 통지문에서 의약품 범위 기준완화를 발표하면서 많은 허브류를 식품으로 인정하게 되었으며, 이후에도 규제 완화 대상 식품을 계속 추가할 계획을 밝힌 바 있다. 이에 따라 많은 허브류가 식품에서 많이 활용되고 있으며 부처별로 기능성 식품 관련 연구프로젝트가 진행되고 있다(136).

3. 유럽

유럽연합 산하 기술분과위원회 중에 의약품 관련 분과위원회 EMEA는 미국의 BDP(Botanical Drug Products)에 관한 새로운 규정의 제정에 맞추어 Traditional Herbal Medicinal Product라는 규정을 도입하였다. 이는 품질을 관리하기 위하여 기존의 생약 약물의 범주에서 현대적 기준시험법에 의한 품질관리, 안전성, 유효성 평가를 거치는 과정이 유럽연합의 통일 규정으로 채택되었다(135).

독일에서는 1998년 독일 의약품법에 게재된 의약품의 13.4%에 해당하는 1,266가지의 처방이 약용 허브의 조제에 관한 것이며, 1993년부터 약용 허브를 이용한 식물요법이 의사 국가고시의 필수 항목이 될 정도로 허브류가 각광을 받고 있다(136).

4. 중국

중국의 기능성 식품소재로 사용되고 있는 재료들은 우리나라뿐만 아니라 세계인들의 관심을 끌고 있는 건강식품 소재로서 각광을 받고 있다. 중국 정부는 의약식품 감독관리국(State Food and Drug Administration)을 근래 신설하고 한약의 품질 강화에 노력을 기울이고 있다. 전통적인 과종과 식목 및 양식업을 현대화된 생산품질 관리규범화(Good Agricultural Practice, GAP)를 진행하고 있으며 국가약품감독관리국은 국외의 경험을 교훈으로 2002년 7월 정식으로 “중약재 생산과 품질 관리 규정(시행령)”을 반포하고 2003년 9월 “인정관리방법(시행령)”과 “한약재GAP인정검사평정표준(시행령)”을 반포하였다. 이 규범은 일반적으로 중약재 GAP(GAP for traditional chinese medicine)라 하는데 2003년 11월 11일부터 국가식품약품감독관리국은 정식으로 중약재 GAP 인정 신청을 수리하였다.

중국산 한약재는 재배에 따른 비용이 저렴하고, 한약재 생산·제조(가공)·유통에 따르는 항온·항습 보관 창고 등 유통기반 시설을 국가가 지원하고 있으며, 현재 고품질 가공 등을 통해 품질향상을 지속적으로 추진하고 있다(137).

제 2 절 장류산업 해외 동향

1. 일본

2001년 장류 수출량은 약 10,000톤으로 1993~2001년간 연평균 11.6%씩 증가하여 수출액이 장류 시장의 약 4%를 차지하는 규모인 것으로 추정된다. 일본 장류 소비 패턴은 건강, 기능성, 안전성이 확보된 식품소재 및 첨가물을 사용한 가공식품 구매로 급격히 변화하고 있어 향후 일본에서는 기능성 식품소재 및 첨가물의 시장이 급격히 증가할 것으로 예상된다. 또한 2003년 일본 국립암센터에서 일본 여성 2만여 명을 10년간 관찰한 결과, 장국을 하루 한 그릇 마시는 여성에 비해 세 그릇 마시는 여성은 40%, 두 그릇 마시는 여성은 20%나 유방암이 줄어 된장이 유방암을 예방한다는 연구 결과를 발표하기도 하였다(138).

일본에서는 소비자의 맛, 편리성, 안전성 등에 대한 욕구를 충족시키기 위한 다양한 종류의 간장, 된장이 생산되고 있으며(139), 우리에게서 전수된 기술을 바탕으로 만들어진 일본 된장이 홍보와 마케팅, 그리고 꾸준한 기술 개발로 “된장”보다도 “미소”라는 이름으로 세계에 많이 알려지고 있는 실정이다.

2. 중국

중국의 장류 생산 업체 수 및 생산량에 대한 국가 차원의 통계는 입수가 불가능하지만, 가장 많이 생산되는 제품은 역시 간장이었음을 알 수 있었으며, 국가표준도 상당히 체계화되어있다(140). 간장의 경우에는 연간 50,000톤 이상의 규모로 생산하는 업체가 4개 정도 있으며, 전체적으로는 약 500개 이상의 업체가 존재하는 것으로 추정되며, 이들 업체의 생산기술 수준은 발효 및 숙성조건을 제외하고는 우리나라 업체와 거의 같은 수준을 보이고 있으나, 자동화 시설 수준은 중국의 저렴한 인건비 관계로 아직 미흡한 실정이다. 중국에서 가장 많이 소비되는 장류는 간장이며, 한국의 된장과 유사한 제품으로는 콩된장(豆醬), 밀가루된장(麵醬)이 있다. 그 용도와 제법에 따라 다양한 형태로 제조되고 있지만, 이들 장(醬)은 그대로 소비되기보다는 가정에서 다른 원료를 첨가한 후 볶아서 식용하거나, 여러 가지 요리의 조미료로 사용된다.

3. 미국

2001년 미국으로의 된장 수출액은 약 1,494천불로 전반적으로 일본 수출 증가율보다 높으며 일본 수출이 거의 정체하거나 다소 증가하는 추세이기 때문에 된장의 해외 수출 증가는 미국의 수출 증가가 주도 하고 있다고 할 수 있다.

미국 내에 전통 장류를 유통하는 방식은 기본적으로 한인을 상대로 유통하거나 한인식당을 중심으로 유통하는 방식이다. 주 소비층은 한국계와 일부 동양계로 한정되어 있지만 미국 식품 시장에서의 소비패턴을 살펴보면 외국 전통식품 시장이 크게 성장하고 있다는 점과 콩에 관련된 긍정적인 여러 연구결과(2-11)가 보고되면서 전통 장류 소비의 잠재력을 충분히 예상할 수 있다. 미국 국립암연구소에서는 대표적인 암예방 식품으로 대두를 인정하였으며(37), 1995년 존스 홉킨스 병원에서는 전립선 암 수술의 최고 권위자로 알려진 비노기과 패트릭 월시 교수는 전립선암을 예방하는 식품으로 미소(된장)가 중요한 역할을 하는 것으로 발표하기도 하였다(138).

제 7 장 참고문헌

1. 경향신문 2004. 4.28 보도기사
2. Lee, S. L. and Kim, J. G. (2005) Inhibitory effects of deon-jang (Korean fermented soybean paste) and soybean extracts on the growth of KB cells. Kor. J. Env. Hlth., 31(5), 444-450
3. Hyun, K. W., Lee, J. S., Ham, J. H. and Choi, S. Y. (2005) Isolation and identification of microorganism with potent fibrinolytic activity from Korean traditional deonjang. Kor. J. Microbiol. Biotechnol., 33(1), 24-28
4. Yun, K. H., Lee, E. T. and Kim, S. D. (2003) Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus amyloliquefaciens* K42 isolated from Korean soy sauce. Kor. J. Microbiol. Biotechnol., 31(3), 284-291
5. Young, H. T. and Choi, H. J. (2005) Studies on the properties of *Kochujang* by addition of natural plant extracts. Korean J. Food & Nutr., 18(3), 225-228
6. Kim, D. H., Yook, H. S., Youn, K. C., Sohn, C. B. and Byun, M. W. (2001) Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *kochujang*(Fermented hot pepper paste). Korean J. Food Sci. Technol., 33(1), 72-77
7. Kim, S. J., Ma, S. J. and Kim, H. L. (2005) Probiotic properties of lactic acid bacteria and yeasts isolated from Korean traditional food, *Jeot-gal*. Korean J. Food preserv., 12(2), 184-189
8. Jo, C. H., Kim, D. H., Lee, W. D., Lee, J. J. and Byun, M. W. (2003) Application of gamma irradiation on manufacturing *Changran Jeotgal*(aged and seasoned intestine of Alaska pollack): Microbiological and sensory characteristics. J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr., 32(5), 673-678
9. Lee, N. K., Kim, H. W., Choi, S. Y. and Paik, H. D. (2003) Some probiotic properties of some lactic acid bacteria and yeasts isolated from *Jeot-gal*. Kor. J. Microbiol. Biotechnol., 31(3), 297-300
10. Cha, S. K., Ahn, J. S. and Ahn B. H. (2001) Searching and preservation of microbial resources from traditional fermented foods. Food industry and

nutrition., 6(1), 60-66

11. Lee, J. S. and Choi, H. S. (1997) Composition and antioxidative characteristics of phenolic fractions isolated from soybean fermented food. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 26(3), 383-389
12. Joo, J. H., Yi, S. D., Lee, G. H., Lee, K. T. and Oh, M. J. (2004) Antimicrobial activity of soy protein hydrolysate with *Asp. saitoi* protease. J Korean Soc Food Sci Nutr., 33(2), 229-235
13. Jeong, K. H., Seo, J. H. and Jeong, Y. J. (2005) Characteristics of soybean hydrolysates prepared with various protease. Korean J. Food Preserv., 12(5), 460-464
14. Suh, H. J., Kim, Y. S., Chung, S. H., Kim, Y. S. and Lee, S. D. (1996) Functionality and inhibitory effect of soybean hydrolysate on angiotensin converting enzyme. Korean J. Food & Nutrition., 9(2), 167-175
15. 고려대학교 이철호. (1996) 간장류의 기능성 및 안정성: 국제심포지움. 영남대학교 장류연구소, 55-71
16. Mok, C. K. (2005) Effect of ethanol addition on growth of microorganism in soybean paste. Food engineering progress, 9(2), 161-164
17. 김인숙, 주은정, 이경자, 박은숙 (2006) 임상영양과 식사요법, 효일, p. 285-335
18. 천기영, 김임술, 최경규, 김종자, 김정순, 이상애, 김중환. (2004) 소금염-의존성 고혈압의 유해성과 고혈압-관련 교감신경전달물질의 변동에 대한 물리적 자극의 효과. 한국노년학회지, 24(3), 1-11
19. Stephanie W. Watts, R. Clinton Webb. Watts, W. and Webb, R. C. (1996) Vascular Gap Junctional Communication Is Increased in Mineralocorticoid-Salt Hypertension. The hypertension, 28, 888-893
20. Kim, B., Kim, J., Bae, Y. M., Cho, S. I., Kwon, S. C., Jung, J. Y., Park, J. C. and Ahn, H. Y. (2004) p 38 Mitogen-activated protein kinase contributes to the diminished aortic contraction by endothelin-1 in DOCA-salthypertensive rats. The hypertension, 43, 1-6
21. Choe, M., Kim, J. D. and Kim, S. S. (1996) A study on correlation between blood pressure and NA, K intakes pattern in the family members of normal

- and hypertension patients. J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr., 25(6), 1045-1049
22. 대한고혈압학회 Available at: <http://www.koreanhypertension.org>
 23. 성낙웅(1999) 혈압상승을 막는 생활산업보건 140, 40-44
 24. 대한신장학회 Available at: <http://www.ksn.or.kr/>
 25. 우리나라의 고혈압 진료지침. (2004) 대한고혈압학회 고혈압진료지침제정위원회
 26. Med. Ad. News. 21(2): 8. February 2002
 27. 한국식품개발연구원 임성일 (2000) 기능성 소재를 첨가한 장류제품 개발(1차년도). 한국식품개발연구원 보고서
 28. 대한장류공업협동조합(<http://www.jangryu.or.kr>), 정보광장, 산업정보, 제품생산실적
 29. Katherine A. Jackman, Owen L. Woodman, *Sophocles Chrissobolis* and *Christopher G. Sobey*. (2007) Vasorelaxant and antioxidant activity of the isoflavone metabolite equol in carotid and cerebral arteries. Brain research., 1141, 99-107
 30. Shin, M. Y., Lee, J., Choi, J. H., Choi, S. Y., Nam, S. H., Seo, K. I., Lee, S. W., Sung, N. J. and Park, S. K. (2007) Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of *chungkukjang*. J. Food composition and analysis, 20, 113-118
 31. Chen. Y. M., Suzanne C. Ho, Silvia S. H. Lam, Susan S. S. Ho and Jean L. F. Woo. (2003) Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass. J Clin Endocrinol Metab. 88(10), 4740-4747
 32. Atkinson, C., Compston, J. E., Day, N. E., Dowsett, M. and Bingham, S.A. (2004) The effects of phytoestrogen isoflavones on bone density in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Am J Clin Nutr. 79(2), 326-333
 33. Chen, Y. M., Ho, S. C., Lam, S. S., Ho, S. S. and Woo, J. L. (2004) Beneficial effect of soy isoflavones on bone mineral content was modified by years since menopause, body weight, and calcium intake: a double-blind, randomized, controlled trial. Menopause. 11(3), 246-254
 34. Jane A. Cauley, John Robbins, Zhao Chen, Steven R. Cummings, Rebecca D.

- Jackson, Andrea Z. LaCroix, Meryl LeBoff, Cora E. Lewis, Joan McGowan, Joan Neuner, Mary Pettinger, Marcia L. Stefanick, Jean Wactawski-Wende and Nelson B. Watts. (2003) Effects of estrogen-progestin on risk of fracture and bone mineral density. *JAMA*. 290, 1729-1738
35. Arjmandi, B. H., Khalil, D. A., Smith, B. J., Lucas, E. A., Juma, S., Payton, M. E. and Wild, R. A. (2003) Soy Protein has a greater effect on bone in postmenopausal women not on hormone replacement therapy, as evidenced by reducing bone resorption and urinary calcium excretion. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 88(3), 1048-1054
36. Nikander E, Metsa-Heikkila M, Ylikorkala O and Tiitinen A. (2004) Effects of phytoestrogens on bone turnover in postmenopausal women with a history of breast cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 89(3), 1207-1212
37. Available at: <http://www.isoflavones.info>
38. Zhu, Y.C., H. M. Stauss, G. Bao, P. Gohlke, Zhu, Y. Z., Th. Redlich, Th. Unger. (1995) Role of bradykinin in the antihypertensive and cardioprotective actions of converting enzyme inhibitors. *Can. J. Physiol. & Pharmacol.*, 73, 827-831
39. Nancy J. Brown, James V. Gainer, C. Michael Stein and Douglas E. Vaughan (1999) Bradykinin stimulates tissue plasminogen activator release in human vasculature. *Hypertension.*, 33, 1431-1435
40. 한국식품공업협회 (2006) 식품공전, 문영사
41. Association of Korean Standardization: General Method of Organoleptic Test, KS A7001(1992)
42. Schultz, T.H., Flath, R.A., Mon, T.R., Enggling, S.B. and Teranishi, R. (1977) Isolation of volatile components from a model system. *J. Agric. Food Chem.* 25, 446-449
43. Nikerson, G.B. and Likens, S.T. (1966) Gas chromatography evidence for the occurrence of hop oil components in beer. *J. Chromatogram*, 21, 1-5
44. Robert, P.A. (1995) Identification of essential oil components by gas

- chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, USA, Stehagen, E., Abrahamsom, S. and Malafferty, F.W. (1974) *The Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data*, John Wiley and Sons, N.Y.
45. Davies, N.W. (1990) Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J Chromatography.*, 503, 1-24
 46. Sadtler Research Laboratories. (1986) The sadtler standard gas chromatography retention index library. Sadtler, USA
 47. 주성필 (2004) 본초학, 아카데미서적
 48. 대한한의과대학 공동교재편찬위원회 (2005) 본초학, 영림사, p. 579-581
 49. Kang, M. J., Shin, J. H., Seo, J. K., Choi, S. Y., Lee, S. J. and Sung, N. J. (2006) Influence of *Houttuynia cordata* Thunb powder mixtures on plasma lipid composition in pigs. *Korean J. Food & Nutr.*, 19(1), 103-109
 50. Wang, Y. S. (1983) *Jungyi Yakli Yo Ungyong Peoples*. Sanitation Publishing Co. Peking, p. 709
 51. Sung, N. J., Lee, S. J., Kim, J. H. and Kim, H. S. (1998) The effect of feeding juice and powder of *Houttuynia cordata* Thunb on serum lipids in rat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 1229-1233
 52. Joo, H. K., Yun, J. G., Kim, K. G., Sa, T. M. and Lee, Y. T. (1997) Effects of Roasted *Cassia tora* L . Extracts on the chemical changes and microbial growth. *Agricultural chemistry and biotechnology.*, 40(6), 472-477
 53. Na, K. M., Han, H. S., Ye, S. H. and Kim, H. K. (2004) Extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia tora* L. extracts. *Korean J. Food Culture.*, 19(5), 499-505
 54. Kim. O. K. (2005) Antidiabetic and Antioxidative Effects of *Corni fructus* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, 22(2), 157-167
 55. Lee, W. Y., Choi, S. Y., Lee, B. S., Park, J. S., Kim, M. J. and Oh, S. L. (2006) Optimization of extraction conditions from omija(*Schizandra chinensis* Baillon) by response surface methodology. *Korean J. Food Preserv.*, 13(2),

56. Kim, H. D. (2006) A Study on quality characteristics of medicinal demi-glace sauce with added omija. The Korean Journal of culinary research. 12(3), 119-233
57. Hoang L., Kwon, S. H., Kim, K. A. Hur, J. M., Kang, Y. H. and Song, K. S. (2005) Chemical standardization of *poria cocos*. Korean. J. Pharmacogn., 36(3), 177-185
58. Tai, T., Akita, Y., Kinoshita, K., Koyama, K., Takagashi, K. and Watanabe, K. (1995) Anti-emetic principles of *poria cocos*. Plant Medica., 61, 527-530
59. Nukaya, H., Yamashiro, H., Fukazawa, H., Ishida, H. and Tsuji, K. (1996) Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema from hoelen, *poria cocos*. Chem. Pharm. Bull., 44, 847-849
60. Kwon, M. S., Chung, S. K., Choi, J. U., Song, K. S. and Kang, W. W. (1998) Quality and functional characteristics of cultivated hoelen(*Poria cocos* Wolf) under the picking date. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 1034-1040
61. Kwon, M. S., Chung, S. K., Choi, J. U., Song, K. S. and Lee, I. S. (1999) Antimicrobial and antitumor activity of triterpenoids fraction from *poria cocos* wolf. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28(5), 1029-1033
62. Lee, S. O., Seo, J. H., Lee, J. W., Yoo, M. Y., Kwon, J. W., Choi, S. U., Kang, J. S., Kwon, D. Y., Kim, Y. K., Kim, Y. S. and Ryu, S. Y. (2005) Inhibitory effects of the rhizome extract of *Atractylodes japonica* on the proliferation of human tumor cell lines. Korean. J. Pharmacogn., 36(3), 210-204
63. 이지열 (1988) 한국식물버섯도감, 아카데미서적
64. Ha, Y. D. (2001) Antitumoral, antioxidant and antimicrobial activities of solvent fractions from *Grifola umbellatus*. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 8(4), 481-487
65. Available at: http://www.koriz.com/db/search_new.asp
66. 약용식물 학문출판사 한국자원식물학 장상문 외. 1996 서울 학문사
67. Lim, D. S., Jin, D. C., Sung, J. S., Bang, K. H., Kim, O. T., Cha, S. W. and Park, H. W. (2007) Discrimination of *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bunge

- from *A. membranaceus* (Fisch) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) with SCAR marker. Korean J. Medicinal Crop Sci., 15(1), 51-55
68. Min, S. H. (2006) Quality characteristics of doenjang containing *Astragalus membranaceus* water extracts. Korean J. Food Cookery Sci., 22(4), 514-520
69. 대한한의과대학 공동교재편찬위원회 (2005) 본초학, 영림사, p. 579-581
70. Lee, J. H., Chung, M. S. and Lee, M. S. (2002) Studies on *cnidium officinale* as natural spices. Korean J. Soc. Food Cookery Sci., 18(1), 13-19
71. 최국주 (1994) 생약학, 동명사, p170-171
72. 허준 (1986) 동의보감, 남산당
73. Kim, S. C., Ahn, K. S., Park, C. K., Jeon, B. S., Lee, J. T. and Park, W. J. (2006) Isolation of antioxidative compound from *Scutellaria baicalensis* G. Korean J. Medicinal Crop Sci., 14(4), 212-216
74. Kim, J. H. and Han, K. D. (1974) Diterpenoids of *Siegesbeckia pubescens* Makino. Kor. J. Pharmacog., 5(1), 17-29
75. 김인락, 엄태원 (2003) 계피류의 효능에 대한 이론적 연구. 동의학연구소지, 33-39
76. Kim, N. M., Ko, S. R., Choi, K. J. and Kim, W. J. (1993) Effect of some factors on extraction of effectual components in cinnamon extracts. J. Korean Agric. Chem. Soc., 36(1), 17-22
77. Park, H. S., Yang, C. W., Jin, D. C., Kim, Y. S., Chang, Y. S. and Bang, B. K. (2005) Renoprotective effect of angiotensin converting enzyme inhibitor and angiotensin receptor blocker in chronic uremic rats: comparison of early treatment with delayed treatment. The Korean journal of Nephrology., 24(1), 32-46
78. Ruggenenti P, Perna A, Gherardi G., Gaspari F, Benini R. and Remuzzi G. (1998) Renal function and requirement for dialysis in chronic nephropathy patients on long-term ramipril: REIN follow-up trial. Lancet., 352, 1252-1256
79. Brenner, B. M., Cooper, M. E., de Zeeuw D., Keane, W. F., Mitch, W. E., Parving, H., Remuzzi, G., Snapinn, S. M. Zhang, Z. and Shahinfar S. (2001) Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type

- 2 diabetes and nephropathy. *N. Engl. J. Med.*, 345, 861-869
80. Lewis, E. J., Hunsicker, L. G., Clarke, W. R., Berl, T., Pogl, M. A., Lewis, J. B., Ritz, E., Atkins, R. C., Rohde, R. and Raz, I. (2001) Renoprotective effect of the angiotensin receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 345, 851-860
81. Nakao, N., Yoshimura, A., Morita, H., Takada, M., Kayano T. and Ideura, T. (2003) Combination treatment of angiotensin II receptor blocker and angiotensin converting enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease(COOPERATE): a randomised controlled trial. *Lancet.*, 361, 117-124
82. 식품성분표 (2001년 제 6 개정판) 제 I 판, 농촌생활연구소, 농촌진흥청
83. Park, S. K., Seo, K. I., Choi, S. H., Moon, J. S., Lee, Y. H. (2000) Quality assessment of commercial doenjang prepared by traditional method. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(2), 211-217
84. 문주석, 이영환, 조양희, 박경진, 박석규 (1998) 전통식품의 위생규격 설정을 위한 연구. 한국식품위생연구원 보고서
85. Hwang, J. H. (1997) Angiotensin I converting enzyme inhibitory effect of doenjang fermented by *B. subtilis*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(5), 775-783
86. Kim, J. G. (2004) Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste -amino nitrogen, amino acids, and color-. *J. Fd. Hyg. Safety.*, 19(1), 31-37
87. Jeong, J. H., Kim, J. S., Lee, S. D., Choi, S. H. and Oh, M. J. (1998) Studies on the contents of free amino acids, organic acids and isoflavones in commercial soybean paste. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, 27(1), 10-15
88. Lee, C. H. (1973) Studies on the amino acid composition of Korean fermented soybean meju products and the evaluation of the protein quality. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 5(4), 210-214
89. An, H. S., Lee, T. S. and Bae, J. S. (1987) Comparison of free amino acids , sugars and organic acids in soybean paste prepared with various organisms. *J. Korean Agricultural chemical society.*, 30(4), 345-350

90. Seo, J. S., Han, E. M. and Lee, T. S. (1986) Effect of meju shapes and strains on the chemical composition of soybean paste. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 15(4), 1-9
91. Lee, C. H. (1973) Studies on the amino acid composition of Korean fermented soybean meju products and the evaluation of the protein quality. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 5, 210-214
92. Kim, J. K. and Kim, C. S. (1980) The taste components of ordinary Korean soy sauce. *J. Korean Agricultural chemical society.*, 23(2), 89-105
93. Kaneko, K., Tsuji, C. H. Kim, C. Ootoguro., T. Sumino., K. Aida., K. Sahara and T. Kaneda (1994). Contents and composition of free sugars, organic acids, free amino acids and oligopeptides in soy sauce and soy paste produced in Korea and Japan, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 41, 148-156
94. Park, H. K. and Sohn, K.H. (1997) Analysis of significant factors in the flavor of traditional Korean soy sauce(II). *Korean J. Dietary Culture.*, 12, 63-69
95. Lee, M. O., Youn, J. B., Park, S. A., Lee, Y. S., Bin, J. H. and Lee, S. H. (2002) Investigation on the quality characteristics of sansung takju compared with commercial takju. *Rep. Busan Inst. Health & Environ.*, 12, 48-62
96. Wang, B., Pang, Z. and Zhang, Q. (1994) Chemiluminescence in the study of paeonol. *Chinese Pharmaceutical J.*, 29(1), 35-38
97. Choi, K. J. (1994) Pharmacy. Dongmyongsa, Seoul, Korea, p. 170-171
98. Lee, J. G., Kwon, Y. J., Chang, H. J., Kim, O. C. and Park, J. Y. (1994) Studies on the volatile compounds of *Cnidium officinale*. *J. Korean Society Tobacco Sci.*, 16, 20-25
99. Hyun, K. H., Kim, H. J. and Shin, S. C. (2000) Chemical composition of *Schizandra nigra Maxim.* *Korean J. Plant Res.*, 13(1), 35-40
100. Collins, E., Donnelly, W. J. G. and Shannon, P. V. R. (1972) Hops constituents, synthesis of deoxyhumulones. *Chemistry and Industry.*, 3, p.112
101. Lam, K. C. and Deinzer, M. L. (1987) Tentative identification of humulene diepoxides by capillary gas chromatography/chemical ionization mass

- spectrometry. J. Agric. Food Chem., 35, 57-59
102. Hyun, K.H., Kim, H.J. and Shin, S.C. (2000) Chemical composition of *Schizandra nigra* Maxim. Korean J. Plant Res. 13(1), 35
 103. 김동열 (2005) 식품화학, 탐구당, 서울, 한국, p.416-421
 104. Available at; <http://www.flavornet.org/flavornet.html>
 105. Kim, J. K., Seo, J. S., Chang, H. G. and Lee, S. J. (1993) Characteristic flavor of Koeran soybean paste. J. Microbiol. Biotechnol., 3, 277-284
 106. Suwanagul, A. and Richardson, D. G. (1998) Identification of headspace volatile compounds from different pear (*Pyrus communis* L.) varieties, Acta Horticulturae 475, 605-623
 107. Olias J. M., Perez A. G., Rois J. J. and Sanz L. C. (1993) Aroma of virgin olive oil: Biogenesis of the "green" odor notes. J. Sci. Food Agric., 70, 506-508
 108. Creveling, R. K. and Jennings, W. G. (1970) Volatile components of Bartlett Pear : Higher Boiling Esters. J. Agric. Food Chem., 18, 19-24
 109. Takeoka, G. R. Buttery, R. G. and Flath, R. A. (1992) Volatile constituents of Asian Pear (*Pyrus Serotina*). J. Agric. Food Chem., 40, 1925-1929
 110. George, A. B. (1995) Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, 3rd e.d., CRC Press Inc., NY, USA
 111. Steffen, A. (1969) Perfume and Flavor Chemicals, Vol. III, Denmark : Det Hoffensbergske Etablissement
 112. Kim, G. E., Kim, M. H., Choi, B. D. Kim, T. S. and Lee, J. H. (1992) Flavor compounds of domestic Meju and Doenjang. J. Korean So. Food Nutr., 21(5); 557-565
 113. Kim, N. D. (2006) Trend of research papers on the soy sauce flavor in Japan. Food Industry and Nutrition., 11, 66-84
 114. Ji, W. D., Lee, E. J. and Kim, J. K. (1992) Volatile flavor components of soybean pastes manufactured with traditional Meju and improved Meju. J Korean Agric. Chem., 35, 248-253
 115. Reineccius, G. (1994) Source book of flavors. Chapman&Hall, New York,

USA, p. 67

116. Kato, H., Doi, Y., Tsugita, T., Kosai, K., Kamiya, T. and Kurata, T. (1981), Changes in volatile flavor components of soybeans during roasting. *Food Chem.*, 7, 87-94
117. 농생명과학연구정보센터 기능성 식물 데이터베이스 Available at: <http://www.alric.org/>
118. Rhee, C. H., Kim, W. C., Rhee, I. K., Lee, O. S. and Park, H. D. (2006) Changes in the physicochemical property, angiotensin converting enzyme inhibitory effect and antimutagenicity during the fermentation of Korean traditional soy paste. *Korean J. Food Preserv.*, 13(5), 603-610
119. Yang, H. C., Seo, H. J., Seo, D. B., Jung, S. H., Hwang, J. H. and Seong, H. J. (1994) Purification of ACE inhibitor from soybean paste. *Agricultural chemistry and biotechnology.*, 37(6), 441-446
120. Nam, H. S., Shin, Z. I., Ahn, C. W., Lee, H. J., Lee, H. J. and Moon, T. H. (1995) Fractionation of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(2), 230-234
121. Cha, M. H. and Park, J. R. (2001) Isolation and characterization of the strain producing angiotensin converting enzyme inhibitor from soy sauce. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(4), 594-599
122. Cheung, H. S. and D. W. Chshman. (1971) Spectrometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Phamacol.*, 20, 1637-1647
123. Lee, W. J. (1999) Salt and hypertension. *J. of the East Asian Society of Dietary Life.*, 9(3), 378-385
124. Rhyu, M. R., Kim, E. Y. and Han, J. S. (2003) Effect of *Monascus koji* on blood pressure and serum cholesterol composition of SHR by chronic dietary administration. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32(3), 464-468
125. Rhyu, M. R., Kim, E. Y. and Han, J. S. (2002) Antihypertensive effect of the soybean paste fermented with fungus *Monascus*. *Kor J. Food Sci. Technol.*, 37, 585-588
126. Shin, E. N., Bae, B. S., Lee, W. J. and Cho, S. H. (1989) Effect of fish oil

- diet on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rat—Changes in serum lipid status. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 18(1), 1-13
127. Han, C. K., Lee, O. H., Kim, K. I., Park, J. M., Kim, Y. C. and Lee, B. Y. (2003) Effect of powder, 50% ethanol and hot water extracts of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipids and blood pressure in SHR fed high-fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32(7), 1095-1101
128. Han, C. K., Lee, B. H., Song, K. S., Lee, N. H. and Yoon, C. S. (1996) Effects of antihypertensive diets mainly consisting of buckwheat, potato, and perilla seed on blood pressures and plasma lipids in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Nutrition*, 29(10), 1087-1095
129. Hong, H. D., Shim, E. J., Kim, K. I., Choi, S. Y. and Han, C. K. (2007) Effect of *Gastrodiae elata* Blume components on systolic blood pressure and serum lipid concentrations in spontaneously hypertensive rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 36(2), 174-179
130. Do, S. G., Choi, P. W., Suh, J. G., Kim, C. S., Shin, H. K., Won, M. H. and Oh, Y. S. (1999) Effects of garlic on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Korean J. of the Lab. Anim. Sci.*, 15(3), 275-282
131. Lee, S. H., Park, H. J., Cho, S. Y. and Jeong, H. J. (2004) Supplementary effect of *Lentinus edodes* on serum and hepatic lipid levels in spontaneously hypertensive rat. *Korean J. Nutrition*, 37(7), 509-514
132. Park, J. H., Ha, A. W. and Cho, J. S. (2005) Effects of green tea-soybean paste on weights and serum lipid profiles in rats fed high fat diet. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 37(5), 806-811
133. Kwon, S. H., Lee, K. B., Im, K. S., Kim, S. O. and Park, K. Y. (2006) Weight reduction and lipid lowering effects of Korean traditional soybean fermented products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(9), 1194-1199
134. Lee, I. K. and Kim, J. G. (2002) Effects of dietary supplementation of Korean soybean paste (Doenjang) on the lipid metabolism in rats fed a high fat and/or a high cholesterol diet. *J. Korean Public Health Assoc.* 28, 282-305
135. 바이오허브 (2005) 외국의 약용식물 및 생약관련 규정연구. 식품의약품안전청보고서

136. 손은수 (2003) 한약재를 이용한 기능성식품의 개발동향. 한국과학기술정보연구원 기술동향분석보고서
137. 원광대학교 권동렬 (2004) 한약재 규격품 유통 활성화 방안 연구. 식품의약품안전청 보고서
138. 중앙일보. 2006. 9. 4 보도자료
139. 한국식품개발연구원 길복임 (2000) 일본 장류(미소 및 간장) 현황 조사, 한국식품개발연구원 귀국보고서
140. 한국식품개발연구원 김명호 (2001) 중국의 장류제품 생산현황 및 기술수준. 해외출장보고서

[별첨 1-1] 특허 출원번호





예일국제특허법률사무소®

135-915 서울시 강남구 역삼동 609-17 예일퍼트빌딩 TEL: (02)555-1717(비서실) / 555-2040(소장) / 2009-1717(사무실) FAX: (02)555-1784
E-mail: yeilr@chollian.net / yeil@yeilpat.com Homepage: www.yeilpat.com / yeilpatenmart.com / 예일퍼트.com / 예일특허마트.com



예일특허마트®

사건내용문의-변리사 이덕록/직통전화 (02) 2009-1719 기타진행문의-국내출원/등록관리 과장 서은식/직통전화 (02) 2009-1722

문서번호 예일 2007-01158 2007. 1. 29 (월)
 수신 조선대학교 식품영양학과
 김경수 교수님
 제목 특허출원완료 보고의 건

출원번호	특허출원 제 2007-7871 호	출원일	2007.01.25
발명의 명칭	교활암 및 신장장애 예방 기능성 간장 및 그 제조방법		
출원인	김경수	발명자	김경수, 한규재, 조난철, 송원파, 서혜영, 심성래, 유근영, 김원

교수님의 건승을 기원합니다.

당소에 위임하신 특허출원을 완료하였기에 그 내역을 상기와 같이 알려드리으며, 출원서 사본을 별첨과 같이 송부하오니 귀 업무에 참고하시기 바랍니다.

특허출원된 서류는 출원일로부터 18개월 경과후 자동으로 공개되며, 공개후 특허청 심사관은 심사청구 순서에 따라 심사를 하게 되는데 그 기간은 현재기준으로 25-28개월이 소요됩니다.

다만, 이 출원 후 i) 국제특허출원(PCI)을 한 경우, 또는 ii) 해외에 1개국 이상을 출원한 경우, iii) 공장을 임대하여 사업을 개시하여 사업소득이 있는 경우, iv) 벤처기업확인서를 제출할 수 있는 경우, v) 제3자가 특허출원내용대로 사업을 진행하여 침해하는 경우에는 우선심사할 수 있으나 연락주시기 바랍니다.

※ 특기사항 : 출원 후 주소 등 연락처가 변경될 경우, 출원인이 개인인 경우에는 주민등록초본, 법인인 경우에는 법인등기부등본(발소사항포함) 1부를 반드시 당소 주소지로 송달시킨 후 전화해 주시기 바랍니다.

만일, 주소 등 연락처가 당소에 도달되지 않아서 당소가 후속 서비스를 대리하여 드리지 못한 때에는 출원인 또는 법인의 책임으로 귀결되오니 이점 특히 유의하시기 바랍니다.

첨부 1. 출원번호통지서 및 출원서 사본
2. 해외출원내문

각 1부.
1부. 끝.

예일국제특허법률사무소
대표변리사 공학박사 이 덕 록



판인결탁
출원번호통지서

출원일자 2007.01.25
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2007-0007871 (접수번호 1-1-2007-0076321-00)
출원인성명 김경수(4-2000-036037-3)
대리인성명 이덕복(9-1998-000461-7)

특 허 청 장

- 출원번호통지서 출원 이후 심사진행 상황 등을 확인하실 때에는 출원번호가 필요하오니 출원번호통지서는 출원절차가 종료될 때까지 보관하시기 바랍니다.
- 2-가. 특허 및 실용신안 출원은 심사청구 후 평균 10개월에 1차 심사처리가 이루어지고, 상표 및 디자인은 출원 후 평균 6개월에 1차 심사처리가 이루어집니다.
2-나. 특허 및 실용신안은 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr> 이하 "홈페이지"라 함) "마이 특허넷"에서 1차 심사처리 1개월 전에 1차 심사결과통지 예정시기를 확인할 수 있으며, 또한 통 코너에 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면 1차 심사처리 약 1개월 전에 해당 출원 건의 1차 심사결과통지 예정시기를 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.
2-다. 상표 및 디자인은 특허청 홈페이지(공지사항)에 유별 1차 심사결과통지 예정시기를 매일 게시하고 있으며, 특허청 보호검색서비스 시스템(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원건에 대한 1차 심사결과통지 예정시기를 알려드립니다. 또한, 출원시 1차 심사결과통지 예정시기 알림 서비스를 신청하시면, SMS 또는 E-mail 서비스로 제공해 드립니다.
유 상기 1차 심사결과통지 예정시기는 사정에 의해 다소 늦거나 빨라 질 수 있습니다.
2-라. 1차 심사결과통지서(심사관이 특허결정의 등본을 송달하기 전 또는 심사관이 최초로 거절이유를 통지한 후 출원인이 그 거절이유를 받기 전 중 바뀔 때)까지 귀하께서는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.
- 심사청구 특허출원은 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 심사청구를 하지 않으면 그 출원은 출원취하된 것으로 간주하여 처리됨을 알려드립니다.
- 우선심사 특허출원 또는 디자인등록출원에 대해 조기에 심사방기를 원하시면 우선심사제도를 이용하실 수 있습니다. (★ 우선심사의 대상, 신청절차 등 자세한 내용은 특허청 홈페이지 <http://www.kipo.go.kr> 지재권제도안내의 우선심사안내코너를 참조하시기 바랍니다.)
기술평가 실용신안의 경우 제3자에 대하여 권리행사를 하기 위해서는 기술평가를 청구하여 등록유지결정을 받아야 하며 기술평가청구순서에 따라 기술평가를 실시합니다.
- 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등을 변경하고자 하는 경우에는 특허법 시행규칙 별지 제4호의 2서식에 의한 출원인 정보변경(경청) 신고서를 제출하여야 합니다.
신고서식은 지방 상공회의소에 비치되어 있으며, 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr>)에 게재되어 있습니다.
- 산업재산권 표시, 광고요령 특허 등 산업재산권을 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원상태임을 다음과 같이 표시하여야 하며, 이를 위반할 경우 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.
예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상표등록출원 40-2001-0000001
- 미성년자 미성년자인 출원인이 만20세에 도달하는 경우 출원인의 부모 등 법정대리인의 대리권은 소멸하게 되므로, 출원인은 직접 또는 대리인을 새로이 선임하여 특허에 관한 절차를 밟을 수 있습니다.
- 문의처 기타 문의사항이 있으시면 우리청 고객센터(042-481-5220~2)이나 출원서비스팀(042-481-5201~5) 또는 특허청 서울 사무소(02-568-6079)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr>)를 참고하시기 바랍니다.
- 특허청 주소 302-701 대전광역시 서구 둔산동 920 정부대전청사 4동
특허청 서울사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
FAX: 대전 : 042-472-7140, 서울 : 02-566-8454

[별첨 2-1] 상표 출원번호

문서번호 :
 수 신 : 조남철님 2007년 1월 29일
 창 조 :
 제 목 : 상표 「출원 제 40-2007-0005330 호」에 대한 출원완료

1. 귀사(하)에서 위임하신 아래 상표에 대한 등록출원서가 완성되고 출원되어 대한민국의 특허청으로부터 출원번호통지서가 접수되었기에 알려드립니다.

- 아 래 -

구 분	상 표	출 원 일	2007.01.29
출 원 번 호	40-2007-0005330	출 원 인	김경수, 류근영
표 장 및 류	로고+(주)청담원(제 30 류)		
지 정 상 품	된장, 간장		

- ◎ 특허청 심사관은 출원순서에 따라 등록여부를 결정하게 되며, 현재 기준으로 약 7-10개월이 소요됩니다.
- 2. 안내
- ◎ 해외에서도 권리를 보호받고자 할 때는 국내출원일로부터 6개월 이내에 별도로 보호받고자 하는 국가의 특허청에 우선권주장을 하여 출원하여야만 출원일소급 혜택을 받을 수 있습니다.
- ◎ 출원후 주소등 연락처가 변동될 경우 특허청에 "출원인 정보변경 신고서"를 제출해야 하므로 변동시 당소로 연락하여 불이익을 받지 않도록 하시기 바랍니다.

빛고을특허법률사무소
 변리사 박태우



※ 첨부서류 : 1. 출원서 및 출원번호통지서 사본 1부
 2. 특허청 납입영수증 1부 끝.

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2007.01.29
특기사항
출원번호 40-2007-0005330 (접수번호 1-1-2007-0084652-39)
출원인 성명 김경수(4-2000-036037-3) 외 1명
대리인 성명 박태우(9-1998-000246-8)

특 허 청 장

- 출원번호통지서 출원 이후 심사진행 상황 등을 확인하실 때에는 출원번호가 필요하오니 출원번호통지서는 출원일자가 종료될 때까지 보관하시기 바랍니다.
- 2-가. 특허 및 실용신안 출원은 심사청구 후 평균 10개월에 1차 심사처리가 이루어지고, 상표 및 디자인은 출원 후 평균 6개월에 1차 심사처리가 이루어집니다.
2-나. 특허 및 실용신안은 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr> 이하 "홈페이지"라 함) "마이 특허넷"에서 1차 심사처리 1개월 전에 1차 심사결과통지 예정시기를 확인할 수 있으며, 또한 통 코너에 1차 심사결과통지 예정시기를 알림 서비스를 신청하시면 1차 심사처리 약 1개월 전에 해당 출원 건의 1차 심사결과통지 예정시기를 SMS 또는 E-mail 서비스로 제공 받을 수 있습니다.
2-다. 상표 및 디자인은 특허청 홈페이지(공지사항)에 유별 1차 심사결과통지 예정시기를 매월 게시하고 있으며, 특허정보검색서비스 시스템(<http://www.kipris.or.kr>)을 통해 개별 출원건에 대한 1차 심사결과통지 예정시기를 알려드립니다. 또한, 출원시 1차 심사결과통지 예정시기를 알림 서비스를 신청하시면, SMS 또는 E-mail 서비스로 제공해 드립니다.
※ 상기 1차 심사결과통지 예정시기는 상황에 의해 다소 늦거나 빨라질 수 있습니다.
2-러. 1차 심사결과통지서(심사관이 특허결정의 등본을 송달하기 전 또는 심사관이 최초로 거절이유를 통지한 후 출원인이 그 거절이유를 받기 전 중 폐된 때)까지 귀하께서는 특허출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 발원 안에서 명세서 또는 도면을 보정할 수 있습니다.
- 심사청구 특허출원은 출원일로부터 5년 이내에 특허법시행규칙 별지 제24호서식에 의거 심사청구를 하지 않으면 그 출원은 출원취하된 것으로 간주하여 처리됨을 알려드립니다.
- 우선심사 특허출원 또는 디자인등록출원에 대해 조기에 심사발기를 원하시면 우선심사제도를 이용하실 수 있습니다. (★ 우선심사의 대상, 신청절차 등 자세한 내용은 특허청 홈페이지 <http://www.kipo.go.kr> 지재권제도안내의 우선심사안내코너를 참조하시기 바랍니다.)
- 기술평가 실용신안의 경우 제3자에 대하여 권리행사를 하기 위해서는 기술평가를 청구하여 등록유지결정을 받아야 하며 기술평가청구순서에 따라 기술평가를 실시합니다.
- 주소 등 변경신고 출원인의 주소 등을 변경하고자 하는 경우에는 특허법 시행규칙 별지 제4호의 2서식에 의한 출원인 정보변경(경정) 신고서를 제출하여야 합니다.
신고서식은 지방 상공회의소에 비치되어 있으며, 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr>)에 게재되어 있습니다.
- 산업재산권 표시, 광고요령 특허 등 산업재산권을 출원 중에 있는 경우에는 해당 산업재산이 출원상태임을 다음과 같이 표시하여야 하며, 이를 위반할 경우 특허법 제224조 및 제227조에 의거 처벌 받게 됩니다.
(예) 특허출원 10-2001-0000001, 실용신안등록출원 20-2001-0000001, 디자인등록출원 30-2001-0000001, 상표등록출원 40-2001-0000001
- 미성년자 미성년자인 출원인이 만20세에 도달하는 경우 출원인의 부모 등 법정대리인의 대리권은 소멸하게 되므로, 출원인은 직접 또는 대리인을 새로이 선임하여 특허에 관한 절차를 밟을 수 있습니다.
- 문의처 기타 문의사항이 있으시면 우리청 고객센터팀(042-481-5220~2)이나 출원서비스팀(042-481-5201~5) 또는 특허청 서울 사무소(02-568-6079)에 문의하시거나 특허청 홈페이지(<http://www.kipo.go.kr>)를 참고하시기 바랍니다.
- 특허청 주소 302-701 대전광역시 서구 둔산동 920 정부대전청사 4동
특허청 서울사무소 주소 135-911 서울특별시 강남구 역삼동 647-9 한국지식센터
FAX) 대전 : 042-472-7140, 서울 : 02-566-8454

<http://kporc.kipo.go.kr:7073/ir/receipt/online/appNoOffcAct.do?rcptNo=1120070084...> 2007-01-29

주 의

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