

최 중  
연구보고서

초피를 이용한 향신료 개발  
Development of Spices from Chopi

연구기관

주관연구기관 : 순천대학교

위탁연구기관 : 전남대학교

농림부

[별지 제7호 서식]

## 최 종 보 고 서

1998년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 초피를 이용한 향신료 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

2000. 10. 13.

주관연구기관 : 순천대학교

총괄연구책임자 : 김 용 두 (인)

주관연구기관장 : 순천대학교 총장

직 인

농 립 부 장 관 귀 하

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “초피를 이용한 향신료 개발”에 관한 연구과제의 최종보고서로 제출합니다.

2000. 10. 13.

주관연구기관명 : 순천대학교  
총괄연구책임자 : 김 용 두  
연 구 원 : 최 옥 자  
연 구 원 : 서 재 신  
연 구 원 : 정 현 숙  
연 구 원 : 강 성 구  
연 구 원 : 장 미 정  
위탁연구기관명 : 전남대학교  
위탁연구책임자 : 심 재 한

# 요 약 문

## I. 제 목

초피를 이용한 향신료 개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

### 1. 연구개발의 목적

식물체는 예로부터 식품으로서 뿐만 아니라 의약품, 풍미료, 농약, 색소, 향료 등 여러 가지 유용물질의 원료로 사용되어 왔다. UR협상과 선진국들의 물질특허 강화, 환경과피에 따른 식품자원의 감소 등으로 식물자원의 확보가 큰 과제로 부상되었다. 특히 IMF 체제 하에서 우리나라가 나아가야 할 방향은 우리가 사용하는 여러 가지 농업자재 및 식품자재원료물질들에서 외화의 유출을 막고, 점진적으로 생각하여 외화를 벌어들일 수 있는 수단과 방법을 찾아보는 것이 필요할 것이다. 그러나 지금까지 국내의 자원식물이나 전통식품으로 쓰일 수 있는 식품으로부터 기능성의 탐색과 이의 이용개발에 관한 연구는 미진한 형편으로 이에 대한 연구가 시급히 요구되고 있다.

농수산물 수입개방화 이후 농산촌 인구의 감소 및 농업 채산성의 약화로 농한지, 유휴지의 면적이 늘어남에 따라 농가에서는 다양한 대체작목을 찾아 재배하는 등 자구의 노력을 시도하고 있고, 중앙정부 및 지방자치기관 모두, 농산촌 경제활성화 방안을 모색하고자 노력 중이며, 유관 정부기관 및 연구기관에서 이를 제시하는 방안을 입안하고 효율적인 시행을 위해 노력하고 있다. 이러한 목적을 위한 방법 중, 가장 중요한 분야의 하나는 자생하고 있는 우리 고유의 특산작물을 활용하는 것이라고 할 수 있을 것이다. 특히, 우리 자생수종 중에는 식품으로써 품질의 우수성이 뛰어난 물론, 세계적인 희귀성과 함께 개발 가능성이 높은 식물들이 많다. 따라서 이용 가능한 유용식물자원을 검색하고 그 용도개발을 위하여 그 식물이 갖는 다양한 가치, 식용, 약용, 공업, 각종 기호식품으로서의 가치를 구명하고 개발하는 것은 자원의 합리적인

관리 및 이용이라는 측면에서 매우 중요한 일이라고 할 수 있다. 최근, 우리 전통음식에 대한 관심 소홀로 외국에서 들어온 “fast food”나 음료의 과다 섭취로 인하여 성장기 어린이들의 식생활에 있어서의 영양 불균형이나 지금까지 문제가 되지 않았던 병질의 출현은 우리의 음식문화에 대한 재인식을 해야 하는 중요한 시점에 온 것으로 생각된다. 특히 기능성을 갖춘 향미료를 계속 이용해 왔던 전통음식의 고찰 및 개선에 의한 신개념의 향신료로서의 개발이 시급한 실정이다.

한편, 초피는 산초나무속(*Zanthoxylum piperitum* A.P. De Candolle)는 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽관목으로 2-3m 정도 자라며 낙엽이 변한 가지가 대생한다. 주산지는 우리나라 중부 이남, 일본, 중국 등이다. 4-5월에 녹색의 꽃이 집체화서로 피고, 9월경 적갈색의 열매에 흑색종자가 맺게된다. 수피를 천초목, 종자를 초목이라 하여 약용으로 쓰고 어린잎은 식용, 열매는 향미료로 쓰인다. 초피에는 신미, 정유성분, 유지가 함유되어있어 향신료, 약용로서 동북아시아 지역에서 오래전 부터 널리 사용되어왔다. 우리나라의 요록(要錄), 음식지미방(飮食知味方), 주방문(酒方文), 산림경제(山林經濟)에 따르면 고추가 사용되기 전 초피를 김치류의 향신료로서 사용하였고, 고추장에 고추 대신 초피를 사용하였으며, 산초의 잎은 국에 넣어먹고, 종실은 빵아서 추어탕에, 산초의 성숙한 종자는 기름을 짜서 이용하였다. 일본에서는 장어구이의 향신료, 장아찌, 일본된장의 첨가물로 이용하였다. 중국에서는 초피를 화초염(花椒鹽), 화초유(花椒油), 초마(椒麻)로 가공하여 혼합조미료로서 사용하였다. 또한 초피는 여러 가지 생리활성 물질을 함유하고 있기 때문에 의약품으로서 방향성 건위, 소염, 이뇨, 구충제, 위하수증, 식욕증진, 신경통, 냉증, 저혈압, 지사제, 진해제, 중풍치료에 이르기까지 다양하게 이용되어왔다. 이와 같이 초피나무가 유용성이 많은 자원임에도 불구하고, 집단재배가 되지 못한 것은 나무가 자웅이주(雌雄異株)로 과중시 발아율이 나쁘며 접목 활착율이 낮아 증식이 곤란하고, 그동안 초피에 대한 인식 부족으로 우수한 품종이 육성되지 않았기 때문이다. 그러나 초피나무는 산에도 식재가 가능하여 병충해에 강하고 환경 적응력이 좋기 때문에 산림자원으로 유용한 수종으로 알려져 있다. 최근 식생활이 건강 중심으로 변화되고 있어 음식에 사용되는 인공조미료 대신 때문에 천연향신료를 선호하며, 다양성 있는 음식의 맛과 멋을 추구하고, 특히 천연향신료의 향균, 항산화성으로 인하여 가공식품의 저장성 향상으로 인하여 각종 소스류, 통조림류, 레토르트 식품 같은 가공식품의 식품첨가물로서 천연향신료가 새롭게 인식되고 있어 매년 향신료의 소비량은 급격히 증가하고 있다. 이에 따라 향신료에 관한 연구가 최근에 다각적으로 되고 있는 상황에서 전남 동부 시군과 경남

서부 시군에 일대에는 초피나무를 집단으로 대량 재배하여 일본으로 90년 초반부터 수출을 시작하여 수출량이 계속증가하고 있어, 순천시에서는 초피 재배단지 조성지원 사업을 실시하여 재배확대를 시도하고 있으며, 승주읍 초피의 식재면적은 100,000평에 이르며 해마다 수십만주의 묘목을 생산하여 식재하고 있는 중 이다.

그 동안 초피에 관한 연구로 신미성분인 Sosanshool-I, II의 분리 및 구조결정, 정유의 성분확인 및 향미생물효과, 항균효과, 정미성분 분석, 방향성분의 확인, flavonoid성분, ssterol 조성, 지질성분 및 지방산, 아미노산 함량, 어육의 비린내제거 효과, alkaloid 존재 확인 등 많은 연구보고가 되었으나, 초피를 이용한 향신료의 개발은 전혀 연구 되어있지 않다.

따라서 본 연구의 목적은 한국산 초피의 잎, 과피 및 종자로 구분하여 화학성분을 밝히고, 그 생리활성 및 향균성물질을 규명하여 민간요법이나 한약에서 알려진 임상 결과를 뒷받침하고자 하며, 또한 mouse에 대한 독성실험, 역치가 성분의 규명 후 향산화능 검증과 안정성 등을 조사 규명하고 이들의 기초자료를 바탕으로 기능성 향신료의 생산 및 제품공정을 개발하여 국민건강과 생산 농가소득에 기여하고자 한다.

## 2. 연구개발의 중요성

### 가. 기술적 측면

- 기능성 식품으로서의 초피의 가치를 규명하여 식생활에 실용화
- 야생식물의 재배를 특용작물화하여 수입대체 효과 및 수출효과
- 초피가공 기술 개발 및 보급으로 특산품과 관련된 주산지 가공기술 기반조성
- SFE 기술의 이용으로 타 식품산업에 기술이전 기반 조성
- 초피 가공법에 대한 과학적, 종합적 자료확보 및 개량방법 제시로 주산지 특산품 관련 가공기술 기반조성과 기업 활성화 기대.
- 초피 향신료의 기업화에 따른 기술적 뒷받침으로 제품 개선 및 다양화 기능
- 초피 가공기술 개발 및 보급으로 특산품과 관련된 주산지 가공기술 기반 조성
- 증산 및 재배기술 농업에 가공제품 개발을 부가하여 고부가 가치의 새로운 2, 3차산업으로 전환 가능
- 특산식물로 지역특수성을 가진 상품 개발
- 초피의 성분분석 및 기능성물질에 대한 분석으로 가공 시도업체 및 관련산업체의 가공공정 확립에 정확하고 총괄적인 data 제공

- 초피의 성분분석 및 기능성물질에 대한 분석으로 신제품 개발 가능성 향상
- 기능성 식품으로서의 초피의 가치를 규명하여 식생활에 실용화함으로써 각종 질병에 노출된 현대인의 식생활에 도움되고자 하며 더 나아가 이 지역주민의 소득향상에 이바지
- 고역가 균일품 대량생산 기술개발
- 초피 가공 방법에 대한 과학적, 종합적, 자료 확보
- 초피의 기업화에 따른 기술적 뒷받침
- 초피 가공기술 개발 및 보급으로 특산품과 관련된 주산지 가공기술 기반조성
- 초피 가공식품의 개발로 식품저장과 유통산업, 그리고 포장재료 산업에 파급효과 기대
- 초피 가공식품 산업체의 고품질 제품생산과 효율적인 가공공정의 확립 및 know-how 축적에 일익

#### 나. 경제·산업적 측면

- 전통식품의 기능성확인으로 현대인의 식생활에 도움을 주고 지역주민의 소득향상에 이바지
- 제품의 다양화로 인한 대일수출의 확대
- 순수 고유의 전통음료로서 시장성 증대효과
- 우리 자원의 효율적, 활용성 증진으로 생산농가 소득증대
- 수요증가에 따른 농가소득의 증대
- 농산촌의 농가 소득작물로서 확대 보급가능
- 임산자원을 이용한 가공식품의 개발로 자원활용 및 신자원 개발
- 임산물 가공제품의 개발로 해외 농수산물 수요억제와 국제경쟁력 강화로 수출산업의 기회 확대
- 임산물 가공에 대한 고부가가치 창출로 농가소득 증대에 기여하여 농촌사회 안정화
- 복합 가공산업화로 해외 농수산물 수요에 대응할 수 있는 기회 증대
- 순수 고유의 전통적 향신료로서 시장성 증대 효과 유발
- 고품질 생산에 의한 판매량 증가 - 산업체의 경제적 안정 및 고용기회 창출
- 수요증가에 따른 재배면적의 증가와 판매 route의 확보로 농가소득 증대 - UR협상 및 농수산물 수입 자유화로 인한 국내 문제점 해결에 일익

- 순수한 우리의 전통적 천연향신료로서 시장성 증대 효과 유발
- 지역 특수성을 가진 상품으로서의 역할
- 초피 발효식품의 성분분석 및 기능성 물질에 대한 분석으로 신제품 개발 가능성 및 관련산업체의 가공공정 확립에 정확하고 총괄적인 data 제공
- 우리 농산물의 효율적, 활용성 증진으로 생산농가 소득 증대
- 발효식품산업에 새로운 고부가가치성 이윤을 창출하여 산업 경쟁력을 제고

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구의 주요내용은 기능성 향신료 개발을 위하여 초피로부터 화학성분, 항균성 물질 등의 조사를 통한 식품학적 특성 규명, 기능성 초피의 향신료가공 및 조리법 연구 및 초피의 독성 및 신미성분 특성 연구 등 세가지 연구분야로 구성하였으며 각 연구 분야별 연구개발 내용 및 범위는 다음과 같다.

제1세부과제 : 초피의 향신료 개발을 위한 식품학적 특성 규명

1. 초피의 생산과 이용 현황 및 자료 정밀조사
2. 초피를 품종별, 채취시기별 및 부위별로 구별하여 영양성분 분석과 기호성분 등을 최신 정밀분석기기 등을 통하여 함량을 분석
3. 초피의 항균활성 검색 및 활용방안 모색

제2세부과제 : 초피의 향신료가공 및 조리법 연구

1. 초피의 이용 가능한 적용식품의 기초 조사
2. 초피의 저장방법 및 저장 중 성분변화 관찰
3. 초피향신료 실용화 조건 검토
4. 초피 향신료 가공방법 연구
5. 초피 응용식품 개발

제3세부과제: 초피의 독성 및 유용성분 특성 연구

1. 초피의 신미성분 및 유용성분의 분리
2. 초피의 지방산 함량 조사



3. 초피 향산화능의 탐색
4. Mouse에 대한 독성 실험
5. 가공후 역치가 성분 규명
6. 가공품에서의 역치가 성분의 제거가 기능성에 미치는 영향 규명

#### IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

##### 1. 연구개발 결과

###### 가. 초피의 향신료 개발을 위한 식품학적 특성 규명

우리나라를 위시하여 중국과 일본에서도 천연 향신료로 널리 이용되어 온 초피 및 민초피 나무에서 과피와 어린잎을 시기별로 3회에 걸쳐 채취하여, 전통 향신료로서 이용의 최적 시기를 결정하고 한국인의 식습관에 맞는 새로운 향신료 등을 개발하는데 기초자료를 제공하고자, 이들의 일반성분, 무기질, 아미노산 그리고 향기성분과 신미성분 등의 함량 변화를 분석·검토하였으며, 새로운 식품개발에 필요한 기초자료를 얻고 천연보존료 개발의 일환으로 전통적인 향신료로 다양하게 사용되어온 초피 및 민초피를 물과 에탄올로 향균성 물질을 추출하여 몇 종의 병원균과 식중독균 식품과 관련이 있는 세균 및 효모 등 10균주에 대하여 향균성 여부와 추출물의 최소저해농도를 밝히고 미생물의 증식에 미치는 영향, 균체의 지방산 조성과 아미노산 성분변화 등에 미치는 영향을 살펴보았다. 또한 초피추출물을 용매 계통 분획하여 각분획별 향균성분을 밝히고 향균활성이 가장 강하게 나타난 핵산 분획물 중의 주 향균활성 물질을 정제 및 순수 분리하여 그 물질을 동정한 연구 결과는 다음과 같다.

###### 1) 초피의 품종과 수확시기별 성분 변화

가) 일반성분의 변화를 조사한 결과 모든 시료에서 채취 시기가 경과할수록 수분 함량과 조단백질 함량은 공통적으로 감소하였으나, 섬유질 및 회분 함량은 증가하는 경향을 나타냈다. 무기질은 채취 시기가 경과할수록 모든 시료에서 공통적으로 증가하는 경향이었으며, K와 P의 함량이 Ca, Na, Mg의 함량보다 높았다.

나) 15~16종의 성분이 검출된 총 아미노산은 모든 시료에서 공통적으로 채취 초기에 가장 높았고 그 후 점차 감소하였다. 채취 초기를 기준으로, 모든 시료에서 aspartic acid의 함량이 가장 높았고 methionine의 함량이 가장 낮았으며 cysteine은 흔적으로 나타났다. 9~15종이 검출된 유리 아미노산은 총 아미노산보다 종류가 적고 함량도 평균 1/30 정도이다. 유리 아미노산 총량은 초피 및 민초피에서 공통적으로 채취 시기가 경과함에 따라 과피에서는 상당히 감소하였고 잎에서는 반대로 증가하였다.

다) 수증기 증류법을 비롯하여 methanol, diethyl ether, hexane 등의 용매 추출법으로 향기성분을 분석·검토한 결과, 과피의 향기 성분 함량은 채취 시기가 경과할수록 높았고, 잎의 향기 성분 함량은 채취 시기가 빠를수록 향기성분의 함량이 높았는데 이는 초피 및 민초피에 공통적인 경향이였다.

라) 향기성분 분석 중 수증기 증류법에 의한 분석 결과, 채취 말기의 민초피 과피에서 가장 많은 61가지의 향기 성분이 분리되었고 향기 성분의 총량도 258mg%로 가장 높았다. 채취 말기의 민초피 과피에 함유된 향기 성분 중에서는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 함께 분리되어 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 citronellal,  $\beta$ -citronellol의 순이었다. 잎에서의 향기 성분 총량은 채취 초기의 민초피 잎에서 가장 높았고, 향기 성분 중에서는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았으며 그 다음이 geranyl acetate, citronellal의 순이었다.

마) methanol 추출법으로 향기성분을 분석한 결과, 채취 말기의 초피 과피에서 가장 많은 37가지의 향기 성분을 검출하였고, 향기 성분의 총량도 5042mg%로 가장 높았다. 이 시료에서는 수증기증류법에 의한 분석 결과에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았으며 그 다음이 1,8-cineol, citronellal,  $\beta$ -citronellol의 순이었다. 잎의 향기 성분 총량도 수증기증류법에 의한 분석 결과와 같이, 채취 초기의 민초피 잎에서 가장 높았고, 향기 성분으로는 1,8-cineol의 함량이 가장 높았으며 그 다음이 2-tridecanol,  $\beta$ -citronellol, limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 순이었다.

바) diethyl ether 추출법으로 향기성분을 분석한 결과, methanol 추출법에 의한 분

석 결과에서와 같이 채취 말기의 초피 과피에서 가장 많은 42가지의 향기 성분을 검출하였고, 향기 성분의 총량도 9566mg%로 가장 높았다. 이 시료에서는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았고 그 다음이 1,8-cineol,  $\beta$ -myrcene, citronellal,  $\beta$ -citronellol의 순이었다. 잎의 향기 성분 총량은 채취 초기의 초피 잎에서 가장 높았고, 향기 성분으로는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았으며, 그 다음이  $\alpha$ -terpineol, citronellyl acetate,  $\beta$ -citronellol의 순이었다.

사) hexane 추출법으로 향기성분을 분석한 결과, 검출된 향기 성분의 종류나 함량이 다른 용매 추출법에 의한 분석 결과에 비해 가장 적었다. methanol 추출법 및 diethyl ether 추출법에 의한 분석 결과와 같이 모든 시료 가운데 채취 말기의 초피 과피에서 가장 많은 15가지의 향기 성분이 검출되었고 향기 성분의 총량도 177mg%로 가장 높았다. 이 시료에서는 cymene의 함량이 가장 높았고, 채취 말기의 민초피 과피에서는  $\beta$ -citronellol의 함량이 가장 높았다. 잎에서의 향기 성분 총량은 수증기증류법 및 methanol 추출법에 의한 분석 결과와 같이 채취 초기의 민초피 잎에서 가장 높았고, 이 시료에서는  $\beta$ -citronellol의 함량이 가장 높았으며 그 다음으로 trans-geraniol의 함량이 높았다.

아) 채취 시기별 초피 및 민초피의 과피에 함유된 신미성분을 분석한 결과, 검출된 13~16종의 성분 중에서 6~8종의 신미성분이 확인되었다. 전체 신미 성분의 37~60% 정도를 차지하고 있는 tricyclo[3.2.1.0(2,4)] octan-8-one,3,3-dimethyl-과 10~23% 정도를 차지하고 있는 isosorbide dinitrate가 과피의 주된 신미물질로 추정되었는데 채취 시기의 경과에 따라 과피에서는 일반적으로 감소하는 경향이였다. 채취 시기별 초피 및 민초피의 잎에 함유된 신미성분을 분석한 결과, 검출된 8~12종의 성분 중에서 5~7종의 신미 성분이 확인되었다. 그 중에서 전체 신미 성분의 48~56% 정도를 차지하고 있는 isosorbide dinitrate를 비롯하여 diethyl propion hydrochloride 등이 잎의 주된 신미물질로 추정되었는데 어떤 시료에서도 채취 시기의 경과에 따라 신미 성분의 함량에 의미 있는 변화는 나타나지 않았다.

## 2) 초피의 향균활성 및 향균성물질 동정

가) 향균성 검색에 사용된 대부분의 세균에서는 물과 에탄올 추출물 모두에서 종자

를 제외한 잎과 과피에서 항균활성이 나타났으나 효모와 젖산균에서는 나타나지 않았다. 또한 에탄올 추출물이 물추출물보다 더 강한 활성을 보였으며 과피보다는 잎에서 항균활성이 강하게 나타났다.

나) 초피의 종자를 제외한 잎과 과피에서 항균활성을 타났으며 균주별로 보면 그람양성균인 *B. cereus*가 잎과 과피에서 첨가농도가 각각 0.25mg/ml로 가장 낮게 나타났다. 따라서 그람음성균보다 그람양성균에 항균활성이 높게 나타났으며 젖산균과 효모 등의 균주에서는 1.5mg/ml이상의 농도에서도 항균효과는 나타나지 않았다.

다) 초피 에탄올추출물이 미생물의 대수증식기에 미치는 영향은 *E.coli*와 *S.aureus* 두 균주 모두 20 mg/ml이상의 첨가시는 5시간 후부터 균의 생육이 완전히 억제되었다.

라) 대수증식기에 초피 에탄올추출물 첨가에 의한 균체 지방산 조성비의 변화는 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주 모두 큰 변화는 없었으나 에탄올추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 *E. coli*의 경우 대조구에 비해 palmitic acid(16:0)의 함량이 조금 증가하는 반면 palmitoleic acid (16:1)의 함량이 적게 감소하는 경향을 보였으며, *S. aureus* 경우는 palmitic acid(16:0)의 함량이 조금 증가하였으나 그 외 지방산은 별다른 변화가 없었다.

마) 대수증식기에 초피 에탄올추출물 첨가에 의한 균체 아미노산 성분은 전반적으로 큰 변화는 없었으나 *E. coli*의 경우 proline, glycine, valine 및 histidine 등이 증가하였으며, aspartic acid, glutamic acid, tyrosine 및 arginine 등의 아미노산이 약간 감소하는 경향을 보였다. *S. aureus* 경우는 proline, methionine 및 histidine 등의 아미노산이 증가하였으며, aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, tyrosine 및 lysine 등이 감소하는 경향을 보였다.

바) 초피 에탄올추출물에 의해서 균체성분인 단백질과 260 nm 흡수물질(RNA, DNA를 구성하고 있는 염기성 물질 등)의 누출은 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주 모두 40 mg/ml의 첨가구에서 대조구에 비하여 단백질은 1.07, 0.24 mg/g, 260 nm 흡수물질은 0.12, 0.07 mg/g으로 누출량이 증가하였다. 이와 같이 에탄올추출물의 첨가구에서 누출량이 증가함은 항균성 물질에 의해서 막구조의 손상이 초래되는 것으로 생각된다.

사) 초피에탄올 추출물 중의 항균활성 물질은 121℃에서 15분간 가열한 후에도 활성이 유지되었으며 pH의 변화에도 영향을 받지 않았다.

아) 초피에탄올 추출물을 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 물로 용매 계통 분획하여 얻은 각 분획물의 항균활성은 세균의 경우 젖산균을 제외한 그람 양성균과 그람 음성균 모두 헥산 분획물에서 현저한 생육 억제효과가 나타났으며 에테르와 에틸 아세테이트 분획물에서도 헥산 분획물 보다는 낮지만 대부분의 균주에 대하여 항균활성을 보였다. 그러나 젖산균과 효모에서는 모든 분획물에서 항균효과가 거의 없었다.

자) 초피 에탄올추출물 분획중 항균활성이 가장 높았던 헥산분획물을 silicagel column chromatography, HPLC등을 이용해서 분리, 정제하여 항균성이 높게 나타나는 화합물ZA- I 을 순수분리하였다.

카) 순수 분리한 항균물질(ZA- I )은 UV Spectrum 260~270nm에서 흡수 peak를 나타내어 발색단과 조색단이 존재하고, RI Spectrum에서 aromatic ring, -C=C-, isopropyl 및 CH<sub>3</sub>-C의 구조가 존재하며, LC-Mass에서 1-(Biphenyl-2'yl)-5-isopropyl-3, 4-dihydronaphthalen으로 동정되었고 구조식은 C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>로 추정되었다.

#### 나. 초피의 향신료 가공 및 조리법 연구

초피향신료의 가공 및 조리법에 대한 연구결과는 다음과 같다.

1) 초피 과피가루를 0~1% 농도로 첨가하여 90℃에서 5분간 가열하였을 때 초피추출액의 침전물 중량과 탁도는 초피가루 첨가량에 비례하여 증가하였다. 초피추출액의 색도는 초피가루 첨가농도가 증가함에 따라 명도(L)는 현저하게 감소한 반면, 적색도(a), 황색도(b)는 증가하였다. 관능검사 결과 초피가루 첨가량이 증가함에 따라 색이 짙어져 색깔에 대한 기호도는 감소하였으나, 냄새에 대한 기호도는 증가하였다. 음료로는 0.05% 초피가루 첨가가, 향신료 및 조미료로는 0.075%~0.25% 첨가가 선호되었다.

2) 초피저장 중 향기성분을 분석한 결과 저장기간이 경과함에 따라 향기성분의 종류 및 함량이 감소되었으나, 초피의 주된 향기성분은 존재하였다. 저장조건에 따라서는 냉장저장 하였을 때 향기성분의 감소는 적었고, 질소를 충전하여 저장한 시료는 상온 저장의 경우와 차이가 없었다.

3) 초피추출액의 종합적인 선호도는 초피과립 보다는 초피가루를 첨가하였을 때 더 높았고, 초피가루의 크기는 30mesh가 적절하다고 평가되었다.

4) 초피를 볶거나 찌서 열처리한 초피가루를 첨가하였을 때 보다 열처리하지 않은 초피가루를 첨가한 초피추출액의 선호도가 더 높았다.

5) 초피에 다시마를 넣고 같이 가열한 초피추출액은 초피 고유한 맛과 냄새는 현저하게 감소하였고, 쇠고기 다시마를 넣은 초피추출액은 쇠고기의 느끼한 맛이 초피에 의하여 감소되었다. 종합적인 선호도는 다시마 >조개> 쇠고기> 멸치 순으로 선호도가 높았다.

6) 초피에 소금, 간장, 설탕, 식초, 파, 마늘, 생강, 고추 등을 각각 넣고 가열한 초피추출액 중에서 간장, 고추를 넣은 초피추출액은 색깔이 짙어 색에 대한 선호도가 낮았다. 생강, 고추, 마늘, 간장을 넣은 초피추출액은 초피의 고유한 향이 상쇄되어 감소하였고, 소금을 넣은 경우 초피의 향이 증가되었다. 간장, 파를 넣은 초피추출액은 초피 고유한 맛이 감소된 반면, 고추, 식초를 넣었을 때는 초피의 맛이 상승되었다.

7) 초피잎을 이용하여 조리하였을 때 튀겨서 조리한 초피 잎 부각은 선호도가 매우 높은 반면, 데쳐서 조리한 초피나물은 초피의 매운맛과 향이 더욱 증가하여 선호도가 매우 낮았다.

8) 추어탕에 초피가루를 첨가하였을 때 0.05% 첨가시에 선호도가 높았고, 가열 중에 초피를 첨가하였을 때는 가열 후 첨가에 비하여 초피 맛이 더 증가된 반면, 가열 후 초피를 첨가하였을 때는 가열 중 첨가에 비하여 초피향이 증가되었다. 라면에 초피가루를 첨가한 경우 0.075~0.05%에서 좋은 기호도를 나타냈으며 라면의 맛이 개운하고 시원하다고 하였다.

9) 초피장아찌를 만들었을 때 초피잎은 초피열매 보다 매운맛이 덜하고 부드러워 선호도가 더 높았다. 소금물에 먼저 침지하여 장아찌를 담은 경우 무처리한 장아찌에 비하여 염도가 증가되었고 산도는 감소되었다.

10) 초피가루를 첨가한 침채류에서 초피가루 첨가량이 증가할수록 일반세균과 대장균은 생육이 억제되었으나, 젖산균은 변화가 없었다.

11) 초피음료는 초피가루 0.05%, 설탕 3.0%, 구연산 0.1%, 비타민C 0.2%를 첨가하여 만든 음료가 종합적인 선호도가 가장 높았다.

12) 초피정유의 성분은 0.7%이며 비중은 0.86, 굴절율은 1.47, 산도는 5.58, 요드가는 101.58, 비누화값은 143.67로 나타났다.

13) 초피정유를 3% 이하로 식용유에 첨가한 초피조미유는 산도가 1이하로 상태가 양호하였다.

14) 초피에 회향등 한약재료 5~10 가지 섞어서 제조한 혼합향신료를 쇠고기, 돼지고기, 닭고기, 생선에 첨가하여 조리한 후 관능검사를 한 결과 돼지고기의 선호도가 가장 높았다.

15) 소주에 초피가루를 첨가하여 초피 첨가농도 및 침출 일수에 따라 분석한 결과 0.05%, 60일 침출하였을 때 기호도가 가장 높게 나타났다. 초피약주 제조시 초피 첨가 시기는 주말효시기에 0.05% 첨가한 것이 양호하였고, 산도는 초피를 첨가한 뒤 2일째 부터 약간 감소하였다.

#### 다. 초피의 독성 및 유용성분 특성 연구

초피의 유용성분의 특성연구과제에서 생산시기별, 부위별 그리고 품종별로 palmitic acid 등 6 가지 지방산의 함량을 조사분석한 결과 종자나 잎에서 모두 총체적으로 palmitoleic, stearic acid 함량이 높고 palmitic, oleic acid의 함량이 상대적으

로 낮은 것으로 나타났고 종자에서는 시기별로 6월에 4가지 지방산 함량이 높았고 품종별로는 한국산이 일본산보다 총 지방산 함량이 상대적으로 높았으며, 불포화지방산의 함량은 일본산이 상대적으로 높게 나타났다. 부위별로는 종자에서 상대적으로 총 지방산 함량이 높았고 잎에서는 한국산은 6월에 4가지 지방산 함량이 높고 일본산은 5월과 7월에 높게 나타났다. 초피 종자의 정유성분을 분석해본 결과로는 5월과 7월의 중성과 약산성 성분의 Ethyl Ether분획에서 상대적으로 많은 함량을 나타냈다.

초피 종자를 MeOH, EtOAc, CHCl<sub>3</sub> 및 Hexane 등 여러 가지 용매로 추출한 추출물에서 MeOH추출물에서 DPPH에 의한 전자공여능이 제일 높게 나타났고 종자에서 잎보다 활성이 높게 보여주었으며 Thiocyanate에 의한 항산화력 측정에서도 MeOH추출물에서 가장 높은 활성을 보여주었다. Mouse에 초피의 추출물을 경구투여하여 mouse 간의 해독작용에 관여하는 Glutathione-S-transferase(GSH-T)활성에 대하여 측정하여 그 독성을 조사해본 결과 Microsome과 Cytosol 에서 모두 대조구와 투여구 사이에 GSH-T활성은 거의 차이를 보이지 않았다.

SFE를 이용하여 초피의 과피에서 역치가 성분을 추출하여 HPLC에서 분석하여 Rt 9.48, 10.55 그리고 25.36분에서 세 개의 역치가 성분으로 추정되는 peak를 분석하였으며 SFE에서 온도, 압력, modifier양, 그리고 시간별로 조사한 결과 역치가 성분의 최적추출조건을 온도는 60°C, 압력은 300 Kg/cm<sup>2</sup>, modifier ratio(CO<sub>2</sub>:MeOH(V/V))는 80:20으로, 그리고 추출시간은 20분이 가장 적합한 것으로 확립이 되었고 추출된 역치가성분의 HPLC 분석조건은 mobile phase는 Hexane-Isopropanol 15:1에서 최상의 분석결과를 나타낸 것으로 판단되었다. 또한 SFE를 이용한 역치가 성분의 추출 결과는 일반 용매 추출법으로 추출한 결과보다 연구결과의 정확성이나 환경측면에서나 경제성 등 여러 가지로 우월한 분석 방법임을 확인할 수 있었다. 아울러 역치가성분을 제거한 후에 초피의 과피에서는 종자에서보다(94.9 % EDA% 값)는 상당히 낮은 79.3 % (EDA% 값)의 DPPH에 의한 전자공여능을 보여주었다. 초피 과피의 역치가성분을 SFE로 추출하여 그 성분을 규명하기 위하여 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, FT-IR 등 기기를 사용하여 분석한 결과 현재는 [=CH] group, [=CO] group, [C=O] group을 갖고있음을 확인하였으며 또 2중결합 수소가 8개 있음을 밝혔다. 기존의 역치가성분이 한 개의 [C=O]group을 갖고있는 것으로 보고되었으므로 두 가지 성분이 혼합되어있는 것으로 사료된다. 그 외 127 ppm에서 132 ppm 사이에 8개의 methyl, methylene 탄소가 14개 있는 것으로 추정된다.

이 물질은 기존 역치가 성분과는 다른 chemical shift 값을 보이므로 기존에 알려진



물질과 같은 물질은 아니고 형태는 유사한 것으로 생각되어 분리과정을 거친 후 2D-NMR, Mass spec으로 화학구조를 밝히려 한다.

초임계 유체추출(SFE)에 대한 초피 과피 신미성분의 제거는 비록 실험실 조건에서 이루어진 수준이었지만 용매추출에 의한 방법보다 훨씬 더 시간, 경비, 및 노력이 절감되는 방법으로 신세대 및 새 천년의 새로운 향신료로서의 개발에 있어서 산업적인 용도로의 접근도 시도해 볼만한 것으로 생각한다.

## 2. 활용에 대한 건의

본 연구를 통하여 고부가가치의 초피 향신료를 개발 생산함으로써 국민의 식생활 개선과 보건향상 및 농산자원의 가공에 의한 효율적인 측면에 기여할 수 있을 뿐만 아니라, 다른 전통식품에도 확대 적용하여 개발할 수 있는 기폭제로 작용할 수 있을 것으로 예상된다. 따라서 여기에서 개발된 기술 및 산물들은 특허출원하여 산업재산권을 확보할 계획이며, 타 식품업체나 영농조합 등에 기술을 이전하고 홍보활동을 활발히 하여 더욱 생산성 있는 사업으로 확대해야 할 것이다.

이를 위해서는 초피를 고소득작목으로 농산촌에 집단재배단지 조성을 해야할 필요가 있으며, 초피 향신료의 우수성을 재인식시키고 가공기술 및 이용에 관한 홍보가 요구된다.

연구의 결과로 활용가능한 범위는 다음과 같다.

- 가. 신개념 초피 향신료 이용
- 나. 임산물 가공 현지 산업체와 직접 연결하여 실용화된 기술 보급
- 다. 초피가 다량 생산되는 현지에 가공공장 설립으로 농민에 직접 혜택
- 라. 초피의 합리적 제조방법을 기업에 적용, 고품질의 제품 생산에 활용
- 마. 개발된 관련기술을 활용하여 초피를 이용한 새로운 제품개발에 이용
- 바. 가공 시도업체 및 관련업체에 과학적 정보 제공으로 제품의 보완 및 신제품 개발 가능성 증진
- 사. 소비자에게 올바른 인식을 주어 국민 건강 향상에 일익
- 아. 연구 결과 얻어진 과학적 사실들을 유인물 또는 책자로 발간하여 홍보

## SUMMARY

### I. Title

Development of Spices from Chopi

### II. Purpose and significance

Chopi, *Zanthoxylum piperitum* D.C. has been used as a natural spice traditionally in the Far East countries including Korea. This study was performed with the object of providing basic data, firstly for the decision of the appropriate harvesting time for traditional use of Chopi and secondly for developing a new spice satisfying the national dietary custom from Chopi as raw material. After twelve samples were made from peels and leaves of Chopi and Minchopi, *Zanthoxylum piperitum* D.C. var. *inerme* by taking three periods in the process of maturation, comparative examination was carried over the contents and their change of the proximate composition, mineral elements, amino acids, flavor components and pungent principles.

Besides, the 10 microorganisms such as some kinds of food-borne pathogens and bacteria which are related with food poisoning and yeasts were elucidated about the fact whether they have antimicrobial activating property and the minimum inhibitory concentrations(MIC) of the extract by means of extracting antimicrobial substance using water and ethanol. Furthermore, their influences on the growth of microorganism, the formation of fatty acid of pathogene and component change of amino acid were researched.

In addition, the ethanol extracts from Chopi were fractionated by using some kinds of solvent so that antimicrobial component as per each fraction was tried to be found. And a major substance which showed strong antimicrobial activity in the hexane fractions that exhibited high antimicrobial activating property was isolated and identified by silica gel column chromatography, HPLC, UV and IR.

In order to development of useful spice, the antioxidant activity of Chopi was examined by various solvents, and the optimal extraction solvent(methanol) was

found. The fatty acids and the essential oils from Chopi were studied by GC and GC-MS; the pungent principles were isolated from the pericarps was determined, including time, temperature, pressure, and content of modifier. And the possible new pungent principles were determined by  $^1\text{H}$  - NMR,  $^{13}\text{C}$  -NMR, and FT-IR. evaluation of safety on extraction from Chopi pericarps was carried out by toxicity test of mouse.

### **III. Research summary**

#### **1. A Study on the Constituents for Peels, Leaves and Seeds of Chopi and Minchopi**

1) Concerning the content and its change of the proximate composition, the content of moisture and crude protein decreased in every sample, while the content of fiber and ash tended to increase with the lapse of harvest time. The content of mineral elements tended to increase in every sample with the lapse of harvest time, and the content of K and P was higher than that of Ca, Na and Mg.

2) Every sample showed the highest content of 15~16 components of total amino acids at the first period and the content decreased gradually with the lapse of harvest time. On the basis of the first period, every sample showed the highest content of aspartic acid, the lowest content of methionine and the trace of cysteine.

3) Free amino acids counted less number of 9~15 than total amino acids and their content weighed about 1/30 of those on the average. Total amount of free amino acids increased considerably with the lapse of harvest time for peels of Chopi and Minchopi both, while the amount for leaves increased on the contrary.

4) For Chopi and Minchopi and from every analysis of steam distillation, methanol extraction, diethyl ether extraction and hexane extraction, the contents of

flavor components for peels were higher with the lapse of harvest time, while the earlier the leaves were harvested, the greater gets the amount of flavor components.

5) The greatest number of 61 flavor components were detected by steam distillation from Minchopi peels of the last period(MP3), and the same sample contained the greatest amount of 258mg% flavor components. From the sample, limonene  $\beta$ -phellandrene were detected to occupy the greatest amount, and citronellal and  $\beta$ -citronellol were placed next in the order of the amount. Minchopi leaves of the first period(ML1) contained the greatest total amount of flavor components, and limonene  $\beta$ -phellandrene occupied the greatest amount, and geranyl acetate, citronellal were placed next in the order of the amount.

6) Methanol extraction showed that the greatest number of 37 flavor components were detected from Chopi peels of the last period(CP3), and the same sample contained the greatest amount of 5042mg% flavor components. From the sample, limonene  $\beta$ -phellandrene were detected to share the greatest amount as the result of steam distillation, and 1,8-cineol, citronellal and  $\beta$ -citronellol were placed next in the order of the amount. As the result of steam distillation, Minchopi leaves of the first period(ML1) contained the greatest total amount of flavor components, and 1,8-cineol shared the greatest amount, and 2-tridecanol,  $\beta$ -citronellol and limonene  $\beta$ -phellandrene were placed next in the order of the amount.

7) Diethyl ether extraction showed that, as the result of methanol extraction, the greatest number of 42 flavor components were detected from Chopi peels of the last period(CP3), and the same sample contained the greatest amount of 9566mg% flavor components. From the sample, limonene  $\beta$ -phellandrene were detected to hold the greatest amount, and 1,8-cineol,  $\beta$ -myrcene, citronellal and  $\beta$ -citronellol were placed next in the order of the amount. Chopi leaves of the first period(CL1) contained the greatest total amount of flavor components, and limonene  $\beta$ -phellandrene occupied the greatest amount, and  $\alpha$ -terpineol, citronellyl acetate

and  $\beta$ -citronellol were placed next in the order of the amount.

8) The least number and the smallest amount of flavor components were detected from Hexane extraction in comparison with the other methods of extraction. As the result of methanol and diethyl ether extraction, the greatest number of 15 flavor components were detected from Chopi peels of the last period(CP3), and the same sample contained the greatest amount of 177mg% flavor components. From the sample, cymene was detected to hold the greatest amount, and  $\beta$ -citronellol was detected to have the greatest amount from Minchopi peels of the same period(MP3). Minchopi leaves of the first period(ML1) contained the greatest total amount of flavor components as the result of methanol and diethyl ether extraction, and  $\beta$ -citronellol was detected to occupy the greatest amount while trans-geraniol was placed next in the order of the amount.

9) 6~8 were identified of the 13~16 components detected from the analysis of the pungent principles in peels of Chopi and Minchopi. Tricyclo[3.2.1.0(2,4)]octan-8-one,3,3-dimethyl- which accounted for 37~60% of the total amount of pungent principles, isosorbide dinitrate which amounted to 10~23%, were estimated to be the major pungent principles in peels, but they showed general tendency of decreasing with the lapse of harvest time.

5~7 were identified of the 8~12 components detected from the analysis of the pungent principles in leaves of Chopi and Minchopi. Isosorbide dinitrate which accounted for 48~56% of the total amount of pungent principles, and diethyl propion hydrochloride were estimated to be the major pungent principles in leaves, but they didn't show any significant tendency with the lapse of harvest time.

## **2. A study on the Antimicrobial Activity and Antimicrobial substance of *Zanthoxylum piperitum* DC.**

1) As for the general component, the content of moisture and crude protein in peels and leaves of Chopi and Minchopi commonly decreased, while the content of

fiber and ash tended to increase according to the lapse of harvest time. The content of crude fat tended to increase a little in peels of Chopi and in leaves of Minchopi according to the lapse of harvest time. The total content of fat which were contained at both peels and leaves were almost equivalent.

2) As for the total content of amino acid, 15~16 kinds of components were detected from the every sample and those components appeared the most at the first period of harvest time and the content decreased gradually afterwards. As for the total contents of amino acids of respective amino acid, when they were compared on the basis of the early harvest time, the content of aspartic acid was the most quantity, commonly both in peels and leaves of Chopi and Minchopi. On the other hand, the content of methionine was the least, and cysteine appeared as mere a trace.

3) Free amino acid was contained less as much as  $1/30$  compared to the total contents of amino acid. Besides, 9~15 kinds were detected from peals and leaves of Chopi and Minchopi respectively so that the kinds of components appeared to be less, compared to the total amino acid. When the lapse of harvest time was considered, in case of peals of Chopi, the total amount of free amino acids decreased considerably, on the contrary, in case of leaves of Chopi, it increased. And the case of Minchopi, the phenomenon at its peels and leaves were similar to the cases of Chopi.

4) The content of mineral elements tended to increase commonly in every sample with the lapse of harvest time, and the content of K and P was higher than that of Ca, Na and Mg.

5) The volatile fragrance components of peels, leaves and seeds of Chopi were total 32 kinds, where peels have 26 kinds so that it was confirmed that peels had twice as much as the 13 kinds of leaves and seeds. Most components which were confirmed were carbohydrate, where 4 kinds of aldehyde, 3 kinds of alcohol

and 1 kind of ether appeared. And the component of limonene were detected the most in peels, citronella was detected in leaves, and 1-phellandrene was in seeds.

6) As for most bacteria which were used for inspecting the antimicrobial activating property, antimicrobial activities appeared in all the water and ethanol extracts from leaves and peels except seeds, however, they did not appear in yeast and a lactic acid bacteria. Besides, ethanol extract showed more strong antimicrobial activities than water extract, and antimicrobial activating property appeared more powerful in leaves than peels.

7) In case of Chopi, the antimicrobial activating property appeared in leaves and peels except seeds. When the phenomenon was reviewed regarding each microorganism, *B. cereus* that was the Gram positive microorganism, appeared the least in leaves and peels as its additional concentration was 0.25mg/ml respectively. Accordingly, antimicrobial activating property appeared higher in the Gram positive microorganism than in the Gram negative microorganism. And the antimicrobial effect was not found in the microorganisms such as lactic bacteria and yeasts, even in the concentration which was more than 1.5mg/ml.

8) As for the influence of Chopi ethanol extract on the logarithmic growth phase of microorganism, when more than 20mg/ml of both microorganisms of *E. coli* and *staph. aureus* were added, birth and breeding of bacteria were completely inhibited 5 hours after the addition.

9) As for the change of formation rate of fatty acid of microorganism cell body by means of adding the Chopi ethanol extract at the time of logarithmic growth, there appeared no great change in both microorganisms of *E. coli* and *staph. aureus*. However, as the treatment concentration of ethanol extract, in case of *E. coli*, the content of palmitic acid increased a little compared with the contrast control. On the other hand, there showed a tendency that the content of palmitoleic slightly reduced. In case of *S. aureus*, the content of palmitic acid

increased a little, however, there appeared no great change in the other fatty acids.

10) As for the component amino acid of microorganism cell body when the Chopi ethanol extract was added at the time of logarithmic growth, there appeared no great change generally. But in case of *E. coli*, proline, glycine, valine and histidine increased, while some other amino acids such as aspartic acid, glutamic acid, tyrosine and arginine showed a tendency to be decreased slightly. In case of *staph aureus*, amino acids such as proline, glycine, valine and histidine increased. On the contrary, other amino acids such as aspartic acid, glutamic acid, tyrosine and arginine of *E. coli* and aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, tyrosine and lysine showed a tendency of reduction.

11) As for the leakage of protein that was the component of bacterial body cell and 260nm absorptive substances such as basic substances which compose RNA and DNA by means of treating the Chopi ethanol extract, in the additional controls of 40mg/ml for both microorganisms of *E. coli* and *staph aureus*, the leakage quantity of protein increased to 1.07 and 0.24mg/g, respectively, as compared to controls. Similarly, the leakage quantity of 260nm absorptive substances from *E. coli* and *staph aureus* increased to 0.12 and 0.07mg/g by cell weight, respectively. The phenomenon that the leakage quantity increased at the additional controls of ethanol extracts like this was considered that the damage of membrane structure was resulted by means of antimicrobial substances.

12) The activating property of antimicrobial activating substances in the Chopi ethanol extract was maintained after heating at 121°C for 15 minutes and they were not effected by the change of pH at all.

13) As for the antimicrobial activating property of each fraction which was obtained by means of systematically fractioning the Chopi ethanol extract by using some kinds of solvent such as hexane, ether, ethyl acetate and water, in case of



bacteria, prominent inhibitory effect on birth and breeding appeared in hexane fractions of all the Gram positive bacteria and Gram negative bacteria except lactic acid. And in the ether and ethyl acetate fractions, antimicrobial activating property was shown in most microorganisms though the property was a little less than in the hexane fraction. But in the lactic acid and yeast, the antimicrobial effect was found almost none in all the fractions.

14) Anti-compound ZA- I which had high antimicrobial activating property was pure-isolated by separating and refining the hexane fractions whose antimicrobial activating property was the highest in the fractions of Chopi ethanol extract by using silica gel column chromatography and HPLC.

15) The antimicrobial substance ZA- I which was pure-isolated compound indicated its absorptive peak at UV Spectrum 260~270nm so that chromophore and auxochrome could exist. And aromatic ring, -C=C-, isopropyl and the structure of CH<sub>3</sub>-C existed in the RI spectrum. Besides, the compound was identified as 1-(Biphenyl-2'yl)-5-isopropyl-3, 4-dihydronaphthalen in the LC-mass, and its structural formula was estimated as C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>.

### **3. The experimental results of *Zanthoxylum Piperitum* spice and cooking method were follows;**

The experimental results of Chopi spice processing and cooking method were follows;

1) When Chopi powder of 0.1%, is put into the water, and it is heated for 5min. at 90°C, its residue and turbidity is increased in proportion to the added quantity. its chromaticity is changed that is, its Lightness(L) is conspicuously reduced, but both its redness(a) and yellowness(b) is increased, in proportion to the added quantity. According to the sensory evaluation, the more we put Chopi powder, the lower preference we have of color, at the same time, the higher preference we

have of flavor.

2) Flavor components changes were evaluated for stored Chopi during 5 months different conditions, such as low-temperature condition(4°C, LT), room temperature condition(RT) and N<sub>2</sub> gas condition(NG). Flavor components loss were appreciable after 3 months of storage in the order of RT, NG and LT.

3) Extracts of Chopi has an overall preference : Chopi powder is in preference its granules. The size of Chopi powder, 30mesh is considered appropriate.

4) Extracts of Chopi has a overall preference of Chopi powder untreated to that either roasted or steamed.

5) When we put sea tangle into extracts of Chopi, and heat, its natural taste and flavor become weaker conspicuously, on the other hand, when we put beef powder into extracts of Chopi, its greasy taste of beef becomes weaker. The overall preference of Chopi extracts added sea tangle is the highest, followed by shellfish, beef, anchovy in order

6) When extracts of Chopi are added to salt, soy sauce, sugar, vinegar, green onion, garlic, ginger and red pepper, those mixed with soy sauce and red pepper turned deep color and have a lower preference of color. Those mixed with ginger, red pepper, garlic, and soy sauce have weaker natural flavor, while those with salt have stronger natural flavor. those mixed with soy sauce and green onion have weaker natural taste, while those with red pepper and vinegar have stronger natural taste

7) When we make use of Chopi and make it as a food, fried leaves spreaded with the paste of glutinous rice have higher preference for any other thing. When we make Chopi as a seasoned greens, a Korean salad, its has a lower preference.

8) In case we put Chopi powder 0.05% into Loach soup, while we are heating Loach soup, we put Chopi powder into them. In this case, its natural flavor becomes stronger than putting Chopi powder after heating. On the contrary, when we put Chopi powder into loach soup after heating, its natural flavor turn stronger. In case we put Chopi powder 0.05~0.075% Rame, its overall preference is high, we feel ramen refreshed,

9) When we put Chopi fruit and its leaves into soybean paste, the taste of its leaves has a higher preference to that of its fruit, because its spicy taste of Chopi leaves becomes weaker and softened.

10) Food poisoning microorganisms were inhibited with increasing concentrations of the Chopi power in *kimchi*, but not on lactic acid bacteria.

11) Chopi beverage taste the best when we mix the following proportion ; Chopi 0.05%, sugar 3%, citric acid 0.1% and vitamin C 0.2%.

12) The constituent of Chopi has the essential oil of 0.7%, its specific gravity has 0.86, its refractive index has 1.47, its acidity has 5.58, its iodine value has 101.58, and its saponification value has 143.67.

13) A seasoning oil, which soy bean oil is mixed to 3% essential oil of Chopi is very good, because its acidity is below 1.

14) When a mixed spicy seasoning, which oriental dried spicy are mixed to Chopi powder, is added with beef, pork, chicken and fish, pork has the highest sensory evaluation.

#### 4. Studies on the specificity of toxicity and pungent principles of *Zanthoxylum piperitum* D.C.

The pericarps of *Zanthoxylum piperitum* DC. have lone been used as a spice. In order to development of useful spice, the antioxidant activity of *Z. piperitum* DC was examined by various solvents, and the optimal extraction solvent (methanol) was found. The fatty acids and the essential oils from *Z. piperitum* DC were studied by GC and GC-MS; the pungent principles were isolated from the pericarps was determined, including time, temperature, perssure, and content of modifier. And the possible new pungent principles were determined by <sup>1</sup>H - NMR, <sup>13</sup>C -NMR, and FT-IR. evaluation of safety on extraction from *Z. piperitum* pericarps was carried out by toxicity test of mouse.

## CONTENTS

<b>Chapter 1. Introduction</b> .....	43
Section 1. Objective and scope of this study .....	43
Section 2. Background of this research .....	47
Section 3. Status of domestic and abroad .....	49
Section 4. References .....	50
<b>Chapter 2. Studies on compositional characteristics of Chopi</b> .....	53
Section 1. Constituents for Peels and Leaves of Chopi and Minchopi .....	53
1. Introduction .....	53
2. Material and Methods .....	61
1) Samples .....	61
2) Proximate composition analysis .....	61
3) Mineral elements analysis .....	61
4) Amino acid analysis .....	61
(1) Total amino acid analysis .....	61
(2) Free amino acid analysis .....	62
5) Flavor components analysis .....	62
6) Pungent principles components analysis .....	63
3. Results and discussion .....	66
1) Change of proximate composition of chopi .....	66
2) Change of mineral elements of chopi .....	67
3) Change of amino acids of chopi .....	69
(1) Change of total amino acids of chopi .....	69
(2) Change of free amino acids of chopi .....	69
4) Change of flavor components of chopi .....	75
(1) Change of flavor components of chopi by steam distillation .....	75
(2) Change of flavor components of chopi by methanol extraction .....	87

(3) Change of flavor componets of chopi by diethyl ether .....	95
(4) Change of flavor componets of chopi by hexane .....	102
5) Change of pungent principles components of chopi .....	109
4. References .....	119

## Section 2. Antimicrobial activity of chopi extract and identification

of antimicrobial substance .....	125
----------------------------------	-----

1. Introduction .....	125
2. Materials and Methods .....	131
1) Materials .....	131
(1) Samples .....	131
(2) Used microorganism and reagent .....	132
2) Methods .....	132
(1) Extraction of antimicrobial substance .....	132
① Water extract .....	132
② Ethanol extract .....	132
(2) Test of antimicrobial activity .....	132
(3) Effect of growth inhibition by chopi extract .....	133
① Concentration of chopi extract .....	133
② Log-phase.....	133
③ Fatty acid composition of strains .....	133
④ Amino acids.....	135
⑤ Morphological changes .....	135
⑥ Cell body composition .....	135
(4) Determiation of safety of antimicrobial substance .....	136
① Heat safety .....	136
② pH safety .....	136
(5) Fractionation of antimicrobial substance .....	136
① Fractionation of ethanol extract .....	136
② Separate by silical gel column chromatography .....	136
③ Separate by HPLC .....	140

(6) Identification of antimicrobial substance .....	140
① Analysis by UV .....	140
② Analysis by IR .....	141
③ Analysis by LC-Mass .....	141
3. Results and discussion .....	142
1) Screening of antimicrobial activity of chopi extract .....	142
2) MIC of the ethanol extracts of chopi .....	144
3) Effect of growth inhibition by chopi extract .....	145
(1) Concentration of chopi extract .....	145
(2) Log-phase .....	145
(3) Fatty acid composition of strains .....	150
(4) Amino acids .....	153
(5) Cell body composition .....	156
4) Safety of antimicrobial substance .....	157
(1) Heat safety .....	157
(2) pH safety .....	157
5) Fractionation of antimicrobial substance .....	159
(1) Fractionation of ethanol extract .....	159
(2) Separate by silical gel column chromatography .....	160
(3) Separate by HPLC .....	165
6) Identification of antimicrobial substance .....	165
4. References .....	171

**Chapter 3. A study of Chopi spice processing and cooking method ... 181**

Section 1. Introduction .....	181
1. The present condition of food used Chopi in Korea .....	181
2. A Developmental food used Chopi for the future .....	182
3. The Spicy seasoning used Chopi in China .....	183

Section 2. Material and Methods .....	187
1. Samples .....	187
2. Experimental method .....	187
1) Measurement of yield in Chopi .....	187
2) Optimum conditions of Chopi for the practical use .....	187
(1) Weight of residue .....	187
(2) Turbidity .....	187
(3) Chromaticity .....	188
(3) Sensory evaluation .....	188
3) Analysis of flavor components of Chopi during the storage .....	188
4) Characteristic experiment of Chopi sauce for the development .....	189
(1) Ratio mixed of Chopi powder and seed powder .....	189
(2) Ratio mixed of Chopi powder and Chopi grenule .....	189
(3) Characteristic experiment of size in Chopi powder .....	189
(4) characteristic experiment of Chopi depend on processing method .....	189
(5) Optimum conditions of Chopi extracts depend on Dasida variety .....	189
(6) Effect of taste in Chopi extract mixed various seasoning .....	189
5) Cooking method of food used Chopi .....	190
(1) Sensory evaluation of Chopi leaves depend on cooking method .....	190
(2) Sensory evaluation of Loach soup added Chopi .....	190
(3) Sensory evaluation of Ramen added Chopi .....	191
(4) Chopi fruit and leaves preserved in soybean paste .....	191
① Sample .....	191
② Preparation of Chopi fruit and leaves preserved in soybean paste .....	191
③ Experimental method .....	191
a. Proximate composition analysis .....	191
b. Measurement of salt concentration .....	192
c. Measurement of pH and acidity .....	192



d. Chromaticity .....	193
e. Sensory evaluation .....	193
f. Analysis of hot taste component .....	193
(5) Fermentational characteristics of Kimchi added Chopi .....	194
① Preparation of Kimchi added Chopi .....	194
② Measurement of microbial number of Kimchi during fermentation	194
6) Development of processing food used Chopi .....	194
(1) Beverage .....	194
(2) Preparation of seasoning oil from Chopi .....	195
(3) Processing of seasoning mixed various oriental dried spice and Chopi .....	195
(4) Chopi seasoning made easily in home .....	196
(5) Development of Chopi wine .....	196
① Samples .....	196
② Preparation of Chopi wine .....	196
③ Analysis method.....	197
7) A method of Chopi processing and utilization for mass production ...	198
 Section 3. Results and Discussion .....	 199
1. Yield of Chopi .....	199
2. Optimum conditions of Chopi spice for the practical use .....	200
1) Weight of residue in Chopi extracts depend on addition of Chopi ...	200
2) Turbidity in Chopi extracts depend on addition of Chopi .....	200
3) Chromaticity in Chopi extracts depend on addition of Chopi .....	201
4) Sensory evaluation in Chopi extracts depend on addition of Chopi ...	202
5) Weight of residue, turbidity, chromaticity and sensory evaluation in Chopi extracts heated for 5min. at 90°C .....	204
3. Changes in flavor components of Chopi during the storage .....	205
4. Characteristics of Chopi sauce for the development .....	205

1) Characteristics of Chopi extracts depend on ratio mixed of Chopi powder and seed powder .....	205
2) Characteristics of Chopi extracts depend on ratio mixed of Chopi powder and Chopi grenules .....	209
3) Characteristics of Chopi extracts depend on size in Chopi powder .....	211
4) Characteristics of Chopi extracts depend on processing method .....	213
5) Characteristics of Chopi extracts depend on Dasida variety .....	215
6) Characteristics of Chopi extracts mixed various seasoning .....	218
5. Cooking method of food used Chopi .....	221
1) Sensory evaluation of Chopi leaves depend on cooking method .....	221
2) Sensory evaluation of Loach soup added Chopi .....	223
3) Sensory evaluation of Ramen added Chopi .....	224
4) Components and sensory evaluation of Chopi fruit and leaves preserved in soybean paste .....	225
5) Changes in microbial number of Kimchi added Chopi .....	230
6. Development of processing food used Chopi .....	234
1) Beverage .....	234
2) Characteristics of seasoning oil from Chopi .....	235
3) Processing of seasoning mixed various oriental dried spice and Chopi .....	237
4) Chopi seasoning made easily in home .....	238
5) Development of Chopi wine .....	238
7. A method of Chopi processing and utilization for mass production .....	244
1) Crude processing of Chopi .....	244
2) Processing of Chopi powder .....	245
3) Processing of flavor oil from Chopi .....	245
4) Processing of flavor essential oil from Chopi .....	246
Section 4. Reference .....	247

<b>Chapter 4. Studies on the specificity of toxicity and pungent principles of <i>Zanthoxylum piperitum</i> D.C.</b> .....	253
Section 1. Introduction .....	253
Section 2. Material and Methods .....	254
1. Materials .....	254
1) Samples .....	254
2) Mouse .....	254
3) Reagents .....	254
Palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, behenic acid, professor Y. D. Kim.lignocelic acid,oleic acid, linoleic acid and arachidonic acid were obtaind from Aldrich (U.S.A), $\alpha$ -Pinene, Myrcene, Limonene, Linalool, Terpeneol, and $\alpha$ -Terpineol were purchased from Sigma(U.S.A). The other solvents and reagents were used extra pure grade.	
4) Instrument .....	255
(1) SFE : Supercritical fluid extractor, JASCO, JAPAN. ....	255
(2) HPLC : High performance liquid chromatograph, KONTRON, ITALA. ....	255
(3) GC : Gas chromatograph, HEWLETT PACKARD, HP4890A, USA. ....	255
(4) GC-MS : Gas chromatography Mass spectrometer, HEWLETT PACKARD, HP.... , USA. ....	255
(5) $^1\text{H}$ - NMR : Hydrogen 1, Nuclear magnetic resonance abosrption, Unity plus - 300 ( 300 MHz), Varian, USA.....	255
(6) $^{13}\text{C}$ -NMR : Carbon 13, Nuclear magnetic resonance abosrption, Unity inova-500 (500 MHz), Varian, USA. ....	255
(7) FT-IR : Fourier Transform Infrared spectrometer, FTS 175 C Biorad, USA. ....	255

2. Methods .....	255
1) Sample preparation .....	255
2) Analysis of useful compounds from <i>Zanthoxylum piperitum</i> .....	255
(1) Examination of Fatty acid from <i>Zanthoxylum piperitum</i> .....	255
(2) Analysis of oil compounds from <i>Zanthoxylum piperitum</i> .....	256
3) Extract of material and analysis of Antioxidative activity .....	257
(1) Analysis of antioxidative activity by DPPH method .....	257
(2) Analysis of antioxidative activity by Thiocyanate method.....	257
4) Toxicity test of Mouse .....	258
5) Analysis of pungent compounds from <i>Zanthoxylum piperitum</i> .....	259
6) Determination of extraction conditons of pungent compounds by SFE	259
(1) Analysis in various temperature .....	259
(2) Analysis in various pressure .....	259
(3) Analysis in various modifier quantity .....	259
(4) Analysis in various extraction time .....	260
7) Comparison and analysis of result by SFE extract and solvent	260
extract .....	
8) Determination of antioxidative activity after extraction of	
pungent constituent .....	260
9) Determination of pungent constituent after processing .....	261
 Section 3. Result and Discussion .....	 261
1. Contents of fatty acid and oil compound .....	261
2. Antioxidative activity of <i>Znthoxylum piperitum</i> .....	266
3. Toxicity to Mouse .....	269
4. Conditions of Aptimal extraction of pungent compounds by SFE .....	274
5. Result of Comparison and analysis by SFE extract and solvent	285
extract .....	
6. antioxidative activity of pungent-free <i>Znthoxylum piperitum</i> .....	287
7. Structure of pungent compounds from SFE extract of <i>Znthoxylum</i>	287
<i>piperitum</i> .....	
 Section 4. Reference .....	 293

## 목 차

제출문 .....	1
요약문 .....	2
Summary.....	16
Contents .....	27
제 1 장 서론.....	43
제1절 연구개발의 목적과 범위 .....	43
제2절 연구배경 .....	47
제3절 국내외 연구동향 .....	49
제4절 참고문헌 .....	50
제 2 장 제1세부과제 : 초피의 식품학적 성분특성 연구 분야 .....	53
제1절 초피의 품종과 수확시기에 따른 성분변화.....	53
1. 서 론 .....	53
2. 재료 및 방법 .....	61
가. 재료 .....	61
나. 실험방법 .....	61
1) 일반성분 분석 .....	61
2) 무기질 분석 .....	61
3) 아미노산 분석 .....	61
가) 구성아미노산 .....	61
나) 유리아미노산 .....	62
4) 향기성분 분석 .....	62
5) 신미성분 분석 .....	63
가) 시료처리 .....	63
나) 신미성분 추출방법 .....	64
다) 신미성분의 측정방법 .....	64

라) 신미성분의 분리 및 정제 .....	64
(1) Column chromatography에 의한 분리 .....	64
(2) 분획물의 UV 측정 .....	64
(3) HPLC에 의한 분리 .....	64
마) 신미성분의 동정 .....	65
(1) UV 분석 .....	65
(2) IR 분석 .....	65
(3) LC-Mass 분석 .....	65
3. 결과 및 고찰 .....	66
가. 일반성분 함량 변화 .....	66
나. 무기질 함량 변화 .....	67
다. 아미노산 함량 변화 .....	69
1) 구성아미노산 함량 변화 .....	69
2) 유리아미노산 함량 변화 .....	69
라. 향기성분 함량 변화 .....	75
1) 수증기증류법에 의한 향기 성분 변화 .....	75
2) Methanol 추출법에 의한 향기 성분 변화 .....	87
3) Diethyl Ether 추출법에 의한 향기 성분 변화 .....	95
4) Hexane 추출법에 의한 향기 성분 변화 .....	102
마. 신미성분의 추출, 분리 및 동정 .....	109
1) 추출용매별 신미성분 함량 비교 .....	109
2) 신미성분의 분리 및 정제 .....	109
가) Column chromatography에 의한 신미성분 분리 .....	109
나) 분획물의 UV 측정값 .....	110
다) HPLC에 의한 신미성분의 순수분리 .....	112
3) 신미성분의 동정 .....	114
가) UV spectrum에 의한 구조분석 .....	114
나) IR spectrum에 의한 구조분석 .....	114
다) LC-Mass에 의한 구조분석 .....	114
4. 참고문헌 .....	119

제2절 초피의 항균성과 항균성물질에 관한 연구 .....	125
1. 서 론 .....	125
2. 재료 및 방법 .....	131
가. 재료 .....	131
1) 실험재료 .....	131
2) 사용균주 및 시약 .....	132
나. 실험방법 .....	132
1) 항균성 물질의 추출 .....	132
가) 물추출 .....	132
나) 에탄올추출 .....	132
2) 항균력 측정 .....	132
3) 추출물이 미생물의 증식에 미치는 영향 .....	133
가) 추출물 농도의 영향 .....	133
나) 대수증식기에 미치는 영향 .....	133
다) 균체지방산 조성에 미치는 영향 .....	133
라) 균체 아미노산 성분에 미치는 영향 .....	135
마) 누출된 미생물 균체성분의 영향 .....	135
(1) 단백질 정량 .....	135
(2) 260nm 흡수물질정량 .....	135
(3) 균체측정 .....	135
4) 항균성 물질의 안정성 측정 .....	136
가) 열 안정성 .....	136
나) pH 안정성 .....	136
5) 항균성물질의 분리 및 정제 .....	136
가) 에탄올추출물의 분리 정제 .....	136
나) silica gel colum chromatography에 의한 분리 .....	136
다) HPLC에 의한 순수분리 .....	140
6) 항균성 물질 ZA-I의 동정 .....	140
가) UV 분석 .....	140
나) IR 분석 .....	141
다) LC-Mass 분석 .....	141
3. 결과 및 고찰 .....	142
가. 항균활성 검색 .....	142
나. 에탄올 추출물의 최소저해 농도 .....	144

다. 추출된 항균성 물질이 미생물 증식에 미치는 영향 .....	145
1) 추출물 농도의 영향 .....	145
2) 대수증식기에 미치는 영향 .....	145
3) 균체 지방산 조성에 미치는 영향 .....	150
4) 균체 아미노산 성분에 미치는 영향 .....	153
5) 균체성분의 누출 .....	156
라. 초피에탄올 추출물의 안정성 .....	157
1) 열 안정성 .....	157
2) pH 안정성 .....	157
마. 항균성 물질의 분리 및 정제 .....	159
1) 추출물 분획의 항균활성 .....	159
2) Silica gel colum chromatography에 의한 항균활성 물질분리 .....	160
3) HPLC에 의한 항균성물질의 순수분리 .....	165
바. 항균성물질의 동정 .....	165
1) UV 흡수 spectrum에 의한 구조분석 .....	165
2) IR spectrum에 의한 구조분석 .....	165
3) LC-Mass에 의한 구조분석 .....	165
4. 참고문헌 .....	171

<b>제 3 장 제2세부과제 : 초피의 향신료 가공 및 조리법 연구 분야</b> .....	181
제1절 서론 .....	181
1. 우리 나라의 초피를 이용한 식품의 현황 .....	181
2. 앞으로 개발 가능한 식품 .....	182
3. 초피를 이용한 중국의 향신조미료 .....	183
제2절 재료 및 방법 .....	187
1. 실험재료 .....	187
2. 실험방법 .....	187
가. 초피의 수율실험 .....	187
나. 초피 향신료 실용화를 위한 최적조건 실험 .....	187
1) 침전물의 중량 .....	187
2) 탁도 .....	187



3) 색도 측정 .....	188
4) 관능검사 .....	188
다. 초피저장 중 향기성분 측정 .....	188
라. 초피소스 개발을 위한 특성 실험 .....	189
1) 과피가루와 종자가루의 혼합 비율 .....	189
2) 과피가루와 과립의 혼합 비율 .....	189
3) 과피가루의 크기에 따른 특성 .....	189
4) 초피과피의 가공방법에 따른 특성 .....	189
5) 다시다 종류에 따른 초피추출물의 최적조건 실험 .....	189
6) 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때의 맛의 효과 실험 .....	189
마. 초피를 이용한 식품의 조리 .....	190
1) 초피잎의 조리방법에 따른 관능검사 .....	190
2) 초피 추어탕의 관능검사 .....	190
3) 초피를 첨가한 라면의 관능검사 .....	191
4) 초피 장아찌 .....	191
가) 실험재료 .....	191
나) 장아찌 제조 .....	191
다) 실험방법 .....	191
(1) 일반성분의 분석 .....	191
(2) 염도의 측정 .....	192
(3) pH 및 적정산도 측정 .....	192
(4) 색도 측정 .....	193
(5) 관능검사 .....	193
(6) 신미성분의 분석 .....	193
5) 초피첨가 침채류의 발효특성 실험 .....	194
가) 시료김치의 제조 .....	194
나) 김치발효 중 관련 미생물수 측정 .....	194
바. 초피를 이용한 가공식품 개발 .....	194
1) 초피 음료 .....	194
2) 초피조미유 조제 .....	195
3) 혼합향신료 가공 .....	195
4) 가정에서 쉽게 만들 수 있는 초피조미료 .....	196
5) 초피주 개발 .....	196
가) 실험재료 .....	196

나) 초피주 제조 .....	196
다) 성분 분석방법 .....	197
사. 대량생산을 위한 초피의 가공과 이용 방안 .....	198
3. 결과 및 고찰 .....	199
가. 초피의 수율 .....	199
나. 초피 향신료 실용화를 위한 최적조건 .....	200
1) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 침전물 중량 .....	200
2) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 탁도 .....	200
3) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 색도 .....	201
4) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출물의 관능검사 특성 .....	202
5) 90℃에서 5분 추출하였을 때 초피추출액의 침전물 중량, 탁도, 색 도 및 관능검사 .....	204
다. 초피저장 중 향기성분의 변화 .....	205
라. 소스 개발을 위한 특성 .....	205
1) 과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따른 초피 추출액의 특성 ...	205
2) 과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 특성 .....	209
3) 초피의 가루의 크기에 따른 특성 .....	211
4) 초피과피의 가공방법에 따른 특성 .....	213
5) 다시다 종류에 따른 초피 추출물의 특성 .....	215
6) 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때 초피 추출물의 특성 .....	218
마. 초피를 이용한 식품의 조리 .....	221
1) 초피잎의 조리방법에 따른 관능검사 .....	221
2) 초피 추어탕의 관능검사 .....	223
3) 초피를 첨가한 라면의 관능검사 .....	224
4) 초피장아찌 성분함량 및 관능검사 .....	225
5) 초피첨가 침채류의 미생물 증식 변화 .....	230
바. 초피과피를 이용한 가공식품 개발 .....	234
1) 초피음료 개발 .....	234
2) 초피조미유의 특성 .....	235
3) 혼합향신료의 가공 .....	237
4) 가정에서 쉽게 만드는 초피조미료 .....	238
5) 초피주 개발 .....	238
사. 대량생산을 위한 초피의 가공과 이용 방안 .....	244
1) 초피의 조가공 .....	244
2) 초피가루의 가공 .....	245

3) 초피 향유 가공 .....	245
4) 초피향 정유 가공 .....	246
4. 참고문헌 .....	247
<부록1> .....	251

#### 제 4 장 위탁과제 : 신개념 향신료 개발을 위한 초피의 신미 성분 및

유용성분 특성 분야 .....	253
제1절 서 설 .....	253
제2절 재료 및 방법 .....	254
1. 재료 .....	254
가. 시료 .....	254
나. 시약 .....	254
다. Mouse .....	254
라. 사용 기기 .....	255
2. 방법 .....	255
가. 시료 조제 .....	255
나. 초피의 유용성분의 분석 .....	255
1) 초피의 지방산 함량조사 .....	255
2) 초피의 정유성분 분석 .....	256
다. 항산화물질 추출 및 항산화활성 측정 .....	257
1) DPPH에 의한 전자공여능 측정 .....	257
2) Thiocyanate에 의한 항산화력 측정 .....	257
라. Mous에 대한 독성실험 .....	258
마. 초피 과피의 역치가 성분 분석 .....	259
바. SFE에 의한 초피 과피의 역치가성분의 추출조건 확립 .....	259
1) 온도별 분석 .....	259
2) 압력별 분석 .....	259
3) modifier 양별 분설 .....	259
4) 추출시간별 분석 .....	260
사. 초피 과피에서 역치가 성분의 SFE 추출과 용매추출의 비교 .....	260
아. 역치가성분 제거후 항산화성 검증 .....	260
자. 가공후 역치가 성분 규명 .....	261

제3절 결과 및 고찰 .....	261
1. 초피의 지방산과 정유성분의 함량 .....	261
2. 초피의 항산화능 .....	266
3. Mouse에 대한 독성 .....	269
4. 초피 과피의 역치가 성분의 초적분석 조건 .....	269
5. SFE를 이용한 초피 과피의 역치가 성분의 최적추출 조건 .....	274
6. SFE 추출결과와 용매추출결과의 비교결과 .....	285
7. 역치가 성분 제거후 항산화활성 .....	287
8. 역치가 성분의 구조 .....	287
제4절 참고문헌 .....	293

# 제1장 서론

## 제1절 연구개발의 목적과 범위

### 1. 연구개발의 목적

초피는 산초나무속(*Zanthoxylum piperitum* A. P. De Candolle)의 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽관목으로 2-3m 정도 자라며 낙엽이 변한 가지가 대생한다<sup>1-10)</sup>. 주산지는 우리나라 중부 이남, 일본, 중국 등이다<sup>11,12)</sup>. 4-5월에 녹색의 꽃이 집계화서로 피고, 9월경 적갈색의 열매에 흑색종자가 맺게된다. 수피를 천초목, 종자를 초목이라 하여 약용으로 쓰고 어린잎은 식용, 열매는 향미료로 쓰인다. 초피에는 신미, 정유성분, 유지가 함유되어 있어 향신료, 약용으로서 동북아시아 지역에서 오래전부터 널리 사용되어왔다<sup>13-18)</sup>.

초피는 향기가 강한 향신료로서 우리나라에서는 요록(要錄), 음식지미방(飲食知味方), 주방문(酒方文), 산림경제(山林經濟)에 따르면 고추가 사용되기 전 초피를 김치류의 향신료로서 사용하였고, 고추장에 고추 대신 초피를 사용하였으며, 산초의 잎은 국에 넣어먹고, 종실은 빵아서 추어탕에, 산초의 성숙한 종자는 기름을 짜서 이용하였다. 일본에서는 장어구이의 향신료, 장아찌, 일본된장의 첨가물로 이용 및 미숙과를 이용하여 염장식품 제조 등 매우 다양하게 이용되고 있으며, 유럽의 여러 선진국에서도 이용량이 점차 늘어나고 있다. 중국에서는 초피를 화초염(花椒鹽), 화초유(花椒油), 초마(椒麻)로 가공하여 혼합조미료로서 사용하였다. 또한 초피는 여러가지 생리활성 물질을 함유하고 있기 때문에 의약품으로서 방향성 건위, 소염, 이뇨, 구충제, 위하수증, 식욕증진, 신경통, 냉증, 저혈압, 지사제, 진해제, 중풍치료에 이르기까지 다양하게 이용되어왔다<sup>19-23)</sup>. 이와 같이 초피나무가 유용성이 많은 자원임에도 불구하고, 집단재배가 되지 못한 것은 나무가 자웅이주(雌雄異株)로 과중시 발아율이 나쁘며 접목 활착율이 낮아 증식이 곤란하고, 그 동안 초피에 대한 인식 부족으로 우수한 품종이 육성되지 않았기 때문이다. 그러나 초피나무는 산에도 식재가 가능하여 병충해에 강하고 환경 적응력이 좋기 때문에 산림자원으로 유용한 수종으로 알려져 있다.

최근 식생활이 건강 중심으로 변화되고 있어 음식에 사용되는 인공조미료 대신 때문에 천연향신료를 선호하며, 다양성 있는 음식의 맛과 멋을 추구하고, 특히 천연향

신료의 향균, 항산화성으로 인하여 가공식품의 저장성 향상으로 인하여 각종 소스류, 통조림류, 레토르트 식품 같은 가공식품의 식품첨가물로서 천연향신료가 새롭게 인식되고 있어 매년 향신료의 소비량은 급격히 증가하고 있다<sup>24)</sup>.

이에 따라 향신료에 관한 연구가 최근에 다각적으로 되고 있는 상황에서 전남 순천시에서는 초피 재배단지 조성지원사업을 실시하여 재배확대를 시도하고 있으며, 순천시 승주읍 초피의 식재면적은 100,000평에 이르며 해마다 수십만주의 묘목을 생산하여 식재하고 있는 중 이다. 또한 경남 서부 시군의 일대에서도 초피나무를 집단으로 대량 재배하여 일본으로 90년 초반부터 수출을 시작하여 수출량이 계속 증가하고 있으나 정확한 통계는 나타나지 않고 있다.

초피는 세계적으로 보아 우리나라에서 자생하는 초피의 향기가 가장 좋은 것으로 알려져 있으나 국내소비량이 많지 않고 초피에 대한 인식이 부족하여 가장 좋은 상품과 최대의 소비국을 가까이 가지고 있으면서도 수출상품으로 개발하지 못한 것이다. 초피를 국내에서 대중화시킬 수 있다면 후추의 대응으로서 와화 절약에도 도움이 될 것이며, 일본으로 많은 량을 수출할 수 있을 것이다. 따라서 초피의 부가가치를 높일 수 있는 가공기술의 개발이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

초피에 관한 연구로는 신미성분인 sanshool-I, II의 분리 및 구조결정<sup>25,26)</sup>, 정유의 성분확인 및 향미생물 효과<sup>27,28)</sup>, 정미성분 분석<sup>29,30)</sup>, 방향성분의 확인<sup>31)</sup>, flavonoid성분<sup>32)</sup>, sterol 조성<sup>33)</sup>, alkaloid 존재 확인<sup>34)</sup> 및 어독성분 동정<sup>35)</sup> 등 많은 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 신개념의 향신료로서 개발의 가능성이 많음에도 불구하고 이에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구의 목적은 한국산 초피의 잎, 과피 및, 종자로 구분하여 화학성분을 밝히고, 그 생리 활성 기능성물질을 규명하여 민간요법이나 한약에서 알려진 임상결과를 뒷받침하고자 하며, 또한 기능성 향신료의 생산 및 제품공정을 개발하여 국민 건강과 생산 농가소득에 기여하고자 한다.

#### 가. 기술적측면에서의 필요성

초피는 오래 전부터 널리 사용되어 왔다. 우리나라의 요록(要錄), 음식지미방(飲食知味方), 주방문(酒方文), 산림경제(山林經濟)에 따르면 고추가 사용되기 전 초피를 김치류의 향신료로서 사용하였다고 기록되어 있는데 현재는 지리산 인근지역과 경상도 일부지역에서 먹고 있으나 과학적인 이론체계가 확립되어 있지 않다. 또한 남부지방에서 전통 향미료로 쓰이는 초피는 향미료로서 뿐만 아니라 약리작용으로 더 널리 알

려져 있지만 어떤 성분이 인체에 어떤 약리작용을 하는지는 과학적으로 알려져 있지 않다. 따라서 초피 향신료의 품질고급화를 위해서는 유용성분의 탐색이 선행되어야 하며, 초피 향신료의 개발과 함께 장기간 안전 저장 및 산업화 품질 표준화 기술 개발 등이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 따라서 초피 향신료의 고 부가가치 제조를 위하여 품미개선, 영양 및 위생성 향상, 제품의 다양화, 기능성 보강, 포장 방법 등과 관련된 과학적인 생산공정과 현대인의 구미에 맞는 향신료 제조 기술의 개발이 요구되고 있다.

#### 나. 경제·산업적 측면에서의 필요성

최근 농수산물 수입 개방화 정책이 시행되고 난 후, 농산촌이 겪고 있는 농촌의 경제적 문제는 인구 도시 집중화와 더불어 매우 그 심각성을 더해가고 있다. WTO와 UR에 이어 IMF 시대의 출범은 21세기를 무한적인 세계경쟁의 소용돌이 속으로 몰아가고, 산업구조의 급격한 변화는 우리나라의 자생 천연식품의 질과 양의 수준을 높이고 개발하여 수입을 줄이고 수출은 늘려 가는 방식의 전략이 요구될 때이다.

초피는 일본에서는 향신료로 널리 사용하고 있어 이미 우리나라에서는 초피를 수출하고 있는데 이의 질을 높이고 1차 가공을 하여 수출품으로서의 격을 높이고 내수시장에도 우리 전통음식의 기능성 및 장점을 널리 홍보하여 외화를 벌어들이고 국민건강 및 보건 향상에 이바지할 수 있을 것으로 생각된다. 초피 향신료의 가내 가공을 고품질화, 산업화함으로써 생산원가 절감과 생산성 증대로 국내 소비확대와 수출산업 증대 및 국제 식품화가 가능한 품목이다. 따라서 농산촌의 경제 활성화와 산업력 약화의 해소에 초피의 향신료 개발이 크게 기여할 것으로 기대된다.

#### 다. 사회·문화적 측면에서의 필요성

우리나라는 국민소득의 증가와 더불어, 사회 전반적으로 선진국으로 발돋움하고자 모든 국민들이 총력을 기울이고 있으며, 그 방법의 일환으로 신속한 행동과 정보취득이 무엇보다도 요구되고 있다. 이에 따라 현대인들은 과도한 업무, 승차시간의 증가, 컴퓨터를 이용한 작업시간의 증가 등에서 기인한 운동부족, 긴장에서 오는 stress, 불규칙적인 식생활 등 때문에 암, 고혈압, 동맥경화증, 비만 등의 각종 질병에 크게 노출되어 있으며, 건강을 위한 욕구로 인하여 천연자연식품, 건강보조식품 및 건강식품에 대한 요구가 날로 증가하고 있다. 초피 향신료는 주원료가 국산 농산물이기 때문에 우리 농산민이 생산한 농산물의 소비를 촉진할 수 있고, 또한 우리 전통식품의 우

수성을 살려 품질을 개선하고 생산공정을 과학화함으로써 날로 증가되는 식품의 서구화를 억제하고 수입식품의 소비를 억제시킬 수 있으며, 전통식품의 기능성 확인 및 역치가의 제거로 인한 질의 향상은 국민보건 향상뿐 아니라 수출품으로서 세계시장에 내다 팔 수 있는 상품생산과 다른 전통식품 및 천연물 자원 개발의 기술축적이 기대된다. 아울러 파생되는 여러 관련 식품산업체의 활력과 생산의욕을 불어넣어 줄 수 있을 것으로 생각된다.

## 2. 연구개발의 범위

본 연구의 주요내용은 기능성 향신료 개발을 위하여 초피로부터 화학성분, 항균성 물질 등의 조사를 통한 식품학적 특성 규명, 기능성 초피의 향신료가공 및 조리법 연구 및 초피의 독성 및 신미성분 특성 연구 등 세가지 연구분야로 구성하였으며, 각 연구분야별 연구개발 내용 및 범위는 다음과 같다.

### 제1세부과제 : 초피의 향신료 개발을 위한 식품학적 특성 규명

1. 초피의 생산과 이용 현황 및 자료 정밀조사
2. 초피를 품종별, 채취시기별 및 부위별로 구별하여 영양성분 분석과 기호성분 등을 최신 정밀분석기기 등을 통하여 함량을 분석
3. 초피의 항균활성 검색 및 활용방안 모색
4. 초피 향신료의 품질 평가를 통해 대량생산 및 제조방법의 표준화 모색

### 제2세부과제 : 초피의 향신료가공 및 조리법 연구

1. 초피의 이용가능한 적용식품의 기초 조사
2. 초피의 저장방법 및 저장 중 성분변화를 관찰
3. 초피향신료 실용화 조건 검토
4. 초피 향신료 가공방법 연구
5. 응용식품 개발
  - 가. 인스턴트 식품용 스프 개발
  - 나. 초피술 제조
  - 다. 초피장아찌 제조
  - 라. 침채류 첨가방법 정립
  - 마. 기타식품



제3세부과제: 초피의 독성 및 유용성분 특성 연구

1. 초피의 신미성분 및 유용성분의 분리
2. 초피의 지방산 함량 조사
3. 초피 항산화능의 탐색
4. Mouse에 대한 독성 실험
5. 가공후 역치가 성분 규명
6. 가공품에서의 역치가 성분의 제거가 기능성에 미치는 영향 규명

## 제2절 연구배경

식물체는 예로부터 식품으로서 뿐만 아니라 의약품, 풍미료, 농약, 색소, 향료 등 여러 가지 유용물질의 원료로 사용되어 왔다. UR협상과 선진국들의 물질특허 강화, 환경파괴에 따른 식물자원의 감소 등으로 식물자원의 확보가 큰 과제로 부상되었다. 특히 IMF 체제하에서 우리나라가 나아가야 할 방향은 우리가 사용하는 여러 가지 농업 자재 및 식품자재원료물질들에서 외화의 유출을 막고, 점진적으로 생각하여 외화를 벌어들일 수 있는 수단과 방법을 찾아보는 것이 필요할 것이다. 그러나 지금까지 국내의 자원식물이나 전통식품으로 쓰일 수 있는 식품으로부터 기능성의 탐색과 이의 이용개발에 관한 연구는 미진한 형편으로 이에 대한 연구가 시급히 요구되고 있다.

농수산물수입개방화 이후 농산촌 인구의 감소 및 농업 체산성의 약화로 농한지, 유휴지의 면적이 늘어남에 따라 농가에서는 다양한 대체작목을 찾아 재배하는 등 자구의 노력을 시도하고 있고, 중앙정부 및 지방자치기관 모두, 농산촌 경제활성화 방안을 모색하고자 노력 중이며, 유관 정부기관 및 연구기관에서 이를 제시하는 방안을 입안하고 효율적인 시행을 위해 노력하고 있다. 이러한 목적을 위한 방법 중, 가장 중요한 분야의 하나는 자생하고 있는 우리 고유의 특산작물을 활용하는 것이라고 할 수 있을 것이다. 특히, 우리 자생수종 중에는 식품으로써 품질의 우수성이 뛰어난 것은 물론, 세계적인 희귀성과 함께 개발 가능성이 높은 식물들이 많다. 따라서 이용 가능한 유용식물자원을 검색하고 그 용도개발을 위하여 그 식물이 갖는 다양한 가치, 식용, 약용, 공업, 각종 기호식품으로서의 가치를 구명하고 개발하는 것은 자원의 합리적인 관리 및 이용이라는 측면에서 매우 중요한 일이라고 할 수 있다. 최근, 우리전통음식에 대한 관심

소홀로 외국에서 들어온 'fast food'나 음료의 과다 섭취로 인하여 성장기 어린이들의 식생활에 있어서의 영양 불균형이나 지금까지 문제시 되지 않았던 병질의 출현은 우리의 음식문화에 대한 재인식을 해야 하는 중요한 시점에 온 것으로 생각된다. 특히 기능성을 갖춘 향미료를 계속 이용해 왔던 전통음식의 고찰 및 개선에 의한 신개념의 향신료로서의 개발이 시급한 실정이다.

한편, 초피는 그 향기와 신미가 우리나라 국민의 식성에 잘 맞는 향신료로서 옛부터 우리나라의 산야에 자생하고 있어 손쉽게 구할 수가 있어서 후추와 고추가 들어오기 전에는 각종 음식의 향신료로서 다양하게 사용되어 왔다는 것은 이조 시대의 전통식품만 보더라도 쉽게 알 수 있다. 중국이나 일본사람들 보다는 그 식성 면에서 우리나라 사람들은 맵고 개운한 것을 좋아하는 식성인데도, 현재에는 초피의 이용도가 중국이나 일본처럼 다양하게 사용하고 있지 않은 것은, 초피에 대한 인식 부족과 전통식품에 대한 무관심, 후추나 고추의 사용이 급증한 여러 가지 원인이 있겠지만, 근래에 와서 중국이나 일본이 초피의 우수성을 확인하며, 초피의 재배법을 영구 개발하여 국가의 경제 수종으로 선정하여 널리 보급하는 한편, 신상품 개발에 심혈을 기울인데 반하여, 우리나라에서는 그렇지 못하였다는데 큰 원인이 있다 하겠다. 우리나라의 초피 수요는, 후추뿐만 아니라 고추가 들어오고 나서부터 초피는 그 설자리를 잃게 되었고, 지금에 와서는 옛 전통 식품마저도 전문음식점이 아니면 찾아 볼 수가 없게 되었다.

우리나라에서 초피를 집단재배 하는 곳은 극히 드문 실정이지만, 전남 동부인 순천, 구례, 광양, 곡성군 등과 영남 서부 지역인 하동, 산청, 거창군, 경북 영주시 등에 일대에는 초피나무를 많이 재배하고 있으며 그 재배 형태는 대부분 유흥지를 이용하여 재배하고 있는 실정이나 최근 4-5년전부터는 재배면적 급증하면서 대규모로 집단재배하고 그 수량은 각 군별로 300,000주에서 1,000,000주가 넘는 시군도 있다. 또한 앞으로 재배 증가 수량은 1개 시군에서 많게는 연간 200,000주(경북 영주시 3년간 묘목 생산자와 계약됨) 보통 연간 100,000주 이상씩 재배를 증가할 추산이다. 반면 현재 초피의 소비는 국내에서 소량 자급용으로 사용하고 있으며, 생산량의 대부분은 90년 초반부터 일본에 수출하고 있다. 가격은 생산지에서 5월말경은 1kg당 5,000원 6월 초순에는 1kg당 4,500원(97년 순천, 구례 등의 가격임)에 중간 상인이 수집하여 염장하여 일본에 1kg당 \$7.4에 수출하고 있으나 일본에서 가루로 가공하여 10배 이상의 가격으로 시판하고 있다.

그러나 앞으로 현재대로 식재가 각 시군에서 계획대로 시행될 경우 생산량이 급증하

면 가격이 급락할 우려가 있어 가격의 폭락에 대비하기 위하여 국내 소비처를 다양하게 하고 소비량을 증가시키기 위하여 국내 소비자에게 기호도 높은 다양한 향신료와 식품으로 개발하는 것이 시급한 실정이다.

### 제3절 국내외 연구동향

#### 1. 국내 및 국외의 연구개발 실적

국내의 초피에 관한 연구로는 왕초피나무 과피의 생약학적 연구, 산초류 생약의 성분 검색, 민산초나무 종실의 유지 및 단백질 조성, 초피의 지방산 조성, 신미성분, 정유성분, 산초종실에서 skimmianine 등의 물질 동정, 초피의 어독성분 등에 관한 연구 등이 있으나 주로 성분분석에 관한 연구가 산발적으로 되어 있으며, 초피를 이용한 향신료의 개발에 관한 연구는 극히 미흡한 실정이다. 더구나 초피의 가공식품에 대해서는 너무나 미비하여 일부 농가에서 초피를 김치나 민물고기의 탕류에 사용하는 것이 전부로 그 기술이 전근대적이고 학문적인 뒷받침이 되지 않아 전문적인 연구기관을 통하여 초피 가공기술의 과학화가 시급한 실정이며, 그 가공업체도 거의 전무한 실정이다. 외국의 경우는 주로 일본에서 많은 연구가 이루어 지고 있는데 국내의 연구 동향과 비슷한 실정이며, 초피의 과피에서 정유성분의 분리, 정유성분의 향미생물 효과, 초피잎의 flavonoid화합물, 초피의 구조, 과피의 지방산 조성, 어육의 비린내 제거 효과, 약리작용 등이 연구 보고되고 있으나 향신료에 관한 구체적인 연구사례는 없다.

#### 2. 현 기술상태의 취약성

현재 산업 현장에서 초피 향신료의 제조 기술은 거의 축적되어 있지 않으며, 일부 가정 또는 음식점 등에서 초피가 생산되는 계절에만 소규모 단위로 단순 첨가방법에 의존하고 있기 때문에 제품의 생산성이 떨어지며 생산기술의 수준은 기초단계에 있을 뿐만 아니라 제품개발 및 품질향상을 위한 체계적인 가공기술이 확립되어 있지 않아 품질의 표준화에 있어서도 어려움이 있다. 또한 초피를 향신료로 이용하는 측면에서 연구된 것이 극히 한정되어 있으며, 생리활성 물질의 존재 여부와 이들 물질의 확인에 대한 연구가 필요하다. 초피의 가공식품 개발화를 위하여 필요한 원료개발, 품미향상, 신제품 개발 및 가공제품의 다양화, 생산공정의 과학화, 정확한 성분분석 그리

고 기타 활용방안 등에 대한 연구가 국내, 국외 모두 미흡한 상태이다.

## 제4절 참고문헌

1. 세종실록지리지 卷148·149·150·151·153.
2. 金洪善,柳庚秀 : 왕초피나무 과피의 생약학적 연구(I), 生藥學會誌, 1(4), 125-132 (1970)
3. 權昌鎬, 洪南斗, 金昌政 : 산초류 생약의 성분 검색, 生藥學會誌, 4(4), 209-212 (1973)
4. 黃震聲, 金榮斗, 金是璟 : 초피나무의 成分利用 및 栽培方法에 관한 연구, 文教部 研究報告書 농학계 1, 1-9 (1979)
5. 임업시장 : 야생식용식물도감, 237
6. 李時珍 : 本草綱目, 807, 고문사 (1975)
7. 林基興 : 藥用植物學(각론), 160-161, 166, 동명사 (1975)
8. 武政三男 : スパイス百科事典, 203, 三琇書房 (1981)
9. 육창수, 한국약품자원식물도감, 234, 진로출판사 (1981)
10. 北村四郎, 村田源 : 原色日本植物圖鑑(木本篇( I )), 324, 保育社 (1983)
11. 李昌福 : 植物分類學, 183-184 (1969)
12. 木村康一·木村孟淳, 原色日本藥用植物圖鑑, 47-48 (1975).
13. 임업시장 : 야생식용식물도감, 237 (?).
14. 李時珍 : 本草綱目, 807, 고문사 (1975).
15. 林基興 : 藥用植物學(각론), 160-161, 166, 동명사 (1975).
16. 李昌福 : 大韓 植物學圖鑑, 501-502, 향문사 (1982).
17. 李春寧, 金友政 : 天然 香辛料와 食用色素, 鄉文社, 29-30 (1988).
18. 이원호 : 약초재배법과 야생약초의 이용법, 獎學出版社, 241-242 (1976).
19. The Society of Korean Biopharmacology : *Handbook of biopharmacology*. Nokjisa, p.213 (1984)
20. Lee, S. I. : *Bonchohak*. Sooseowon, p.255 (1981)
21. Lee, S. U. : *History of foods in life before Korea dynasty*. Hyangmoonsa, Seoul, p.523 (1978)

22. 杉田浩一, 堤忠一, 森雅中編 : 新編日本食品事典. 醫齒藥出版株式會社, p. 545 (1982)
23. 武政三男 : 스페이스百科事典. 三秀書房, p.203 (1981)
24. 이서래, 식품의 안전성 연구, 이화여대출판부, pp. 389-397 (1993).
25. Aihara, T: On the Principles of Xanthoxylum piperitum DC.II. The Isolation of Sanshools and the Structure of Sanshool- I. *Yakugaku zasshi*, 70, 405-409 (1950)
26. Aihara, T. : On the Principles of Xanthoxylum piperitum DC.III. The Structure of Sanshool-II. *Yakugaku Zasshi*, 70, 409-411 (1950)
27. Katayama, T. : Chemical significance of the volatile components of spices in the food preservative viewpoint I. On the volatile components of Xanthoxylum piperitum. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 24, 511-514 (1958)
28. Kurita, N. and Koike, S. : Synergistic Antimicrobial Effect of Sodium Chloride and Essential oil Components. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 159-165 (1982)
29. Kusumoto, S., Yoshihara, K. and Hirose : Constituents of fruit oil from Japanese pepper, *Chem. Soc. Bull.*, 41, 1945-1949 (1968)
30. Kusumoto, S., Ohsuka, A. and Kotake, M.: Constituents of leaf oil from Japanese pepper, *Chem. Soc. Bull.*, 41, 1950-1953 (1968)
31. Sakai, T., Yoshihara, K. and Hirose : A comparative study of the constituents of volatile oils of Xanthoxylum. *Chem. Soc. Bull.*, 43, 484-487 (1970)
32. 有富正和 : 食用植物の化學的成分(第2報), サソシヨウ葉のフテポノイド. 家政學雜誌, 34, 236 (1983)
33. Oka, Y., Kiriyaama, S. and Yoshida, A. : Sterol Composition of Vegetables, *J. Jap. Soc. Food and Nutr.*, 26, 121-128(1973)
34. Woo,I.K., Yun, H.S., Chi, H. J. and Woo, W.S. : Occurrence of Alkaloids in Korean Medicinal plants. *Report of Natural Product Institute of Seoul National University, Seoul, Korea* 17, 17-19 (1978)
35. Kim, Y. D., Kang, S. K., and Oh, M. R. : A Study on the Ichthyotoxic Constituents of chopi(*Zanthoxylum popetitum* DC). *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22, 617-620 (1993)



## 제2장 제1세부과제 초피의 식품학적 성분특성 연구 분야

### 제1절 초피의 품종과 수확시기에 따른 성분변화

#### 1. 서론

현대인들의 식생활 수준이 날로 향상되고 화학첨가물의 이용이 증가함에 따라 그 중독성이 사회 문제의 하나로 부각되고 있다. 이에 따라 최근에는 천연 향신료에 대한 사람들의 관심이 점차 커지고 있다<sup>1)</sup>.

초피나무(*Zanthoxylum piperitum* DE CANDOLLE=*Xanthoxylum p.* D.C., 이하 Chopi)는 예로부터 우리나라에 자생하고 있어<sup>2)</sup> 천연 향신료로서뿐만 아니라 약용식물로서 많이 활용되어 왔다. 우리나라에서는 운향과(芸香科; Rutaceae)의 Citrus 屬에 속하는 *Zanthoxylum* 종의 하나인 초피나무, 그리고 이것과 식물 형태학적인 면에서 아주 유사한 산초나무(*Zanthoxylum schinifolium* S. et Z.)를 명확히 구분하지 않은 채 이들의 종실을 초피, 쨌피, 제피, 川椒(천초), 巴椒(파초), 南椒(남초), 點椒(점초), 漢椒(한초), 蜀椒(촉초) 및 山椒(산초)라는 수많은 이름으로 부르며 천연향신료로 이용해 왔다. 현재 통용되는 영어 명칭으로는 한국산 초피를 Korean pepper(초피), 중국산을 Chinese pepper(花椒, 蜀椒), 그리고 일본산을 Japanese pepper(山椒)라 부른다<sup>3-11)</sup>.

쨌피나무, 제피나무 또는 쯤피나무라고 불리는 초피나무는, 분지나무, 분디나무, 조피나무, 촉피나무, 견피나무, 천초나무 등의 별명을 가진 산초나무와 이름뿐만 아니라 실제 용도에서도 혼용되어 왔다. 이 초피나무와 산초나무는 나무와 열매의 형태가 유사하고, 초피의 한방 생약명이 천초(川椒, *Zanthoxylum piperitum* D.C.=*Xanthoxylum p.* D.C.)로서 영명은 Japanese pepper이며 일본명은 sanshō(山椒)이기 때문에 더욱 혼동하기 쉽다<sup>7, 8)</sup>. 그러나 초피나무는 산초나무에 비해 향신성분의 함량이 높기 때문에 열매에서 씨를 제거하고 과피만을 제분한 것을 천초말 또는 조피가루라 하여 주로 향신료로 사용하였고, 산초나무는 초피나무처럼 잎과 열매로 장아찌 등을 만들어 식용하기도 하였으나 신미성분은 거의 없으며 산초의 성숙한 종실에는 유지 함유량이

많아 주로 착유(搾油)하여 식용하거나 머릿기름 또는 등불용 기름으로 이용한 용도의 차이가 있었다<sup>6-8, 12-14</sup>.

향신성분을 많이 함유하고 있는 초피나무는 중국, 일본, 우리나라 중부 이남에 주로 자생하고 있는 낙엽활엽관목으로서, 2~3m 정도 자라며 托葉(탁엽)이 변한 가시가 약 1cm 크기로 대생하는데, 잎은 호생하고 기수 1회 우상복엽이며 소엽은 9~19개 정도의 긴 달걀형으로 톱니를 가지고 있다. 4~6월에 자웅이체의 녹색 작은 꽃이 복층상화서로 많이 피며 9월경에 광택 있는 조그마한 구형의 흑색 열매가 맺히는데, 이 열매의 과피와 잎을 비롯하여 수피나 뿌리 등에도 독특한 매운 맛 성분과 각종 정유 성분 그리고 유지가 함유되어 있다.<sup>15, 16</sup>

기본종인 초피나무에 대하여, 변종이라 볼 수 있는 민초피 나무(*Zanthoxylum piperitum* D.C. var. *inerme*, 이하 Minchopi)는 가지에 가시가 없는데 이것 또한 덕유산(거창군 북상면), 함천, 산청 등지에 자생하고 있으며 이것은 근래에 맨들쭈피라고도 불리고 있다<sup>3, 12, 17, 18</sup>. 이 민초피나무는 가지 있는 초피나무에 비하여 가시가 없으므로 재배시나 열매의 채취시 작업이 용이하였다<sup>17, 19</sup>.

일본에서는 오래 전부터 가시 없는 초피나무 품종을 개발·육성한 결과, 결실량과 정유량이 많은 조창산초(*Zanthoxylum piperitum* D.C. var. *inerme* Makino; Asakura-sanshō)등의 우량품종을 널리 재배하고 있을 정도로 초피가 인기있는 향신료로 널리 사용되고 있다<sup>20</sup>. 우리나라에서도 최근 들어 일부 지역에서 민초피나무가 대량 재배되고 있으며 완숙 전의 열매를 ‘청산초(aosanshō)’라 하여 일본인들이 요구하는 상품으로 수출까지 하고 있는 실정이다<sup>21</sup>.

초피나무는 辛味成分이나 香氣가 있는 精油成分을 함유하고 있기 때문에 예로부터 중국에서는 초피[花椒]·계피·회향·진피·정향 등의 五香 중에서 초피를 으뜸가는 香辛料로 이용해 왔고, 일본에서도 일본요리에 특유한 풍미를 주는 香辛料로서 또는 藥用으로서 널리 이용하여 왔다<sup>5, 22, 23</sup>.

중국의 고서인 『詩經』이나 『楚辭』 속에 초피의 방향을 노래하고 있는데, 이 향기는 신이 내리는 것이라고 생각할 만큼 귀하게 여겨 무당이 제의를 행할 때 초피를 들고 춤을 추었다 한다. 그리고 그것이 향기롭기도 하고 오래 복용하면 장수하는 효능이 있다 하여 설날 축하주로서 초피를 넣어 담근 椒酒(초주)나 椒柏酒(초백주)를 사용하였다. 前漢 초엽에는 초피 열매를 섞은 진흙으로 벽을 바른 황후의 거처를 椒房(초방)이라 불렀는데, 점차 보통 사람들의 방이나 술집의 벽도 초피 열매를 섞어 바르게 되었으며 길을 만들 때에도 초피를 흙에 섞어서 초피길을 만들었다고 전한다. 茶에



방향을 더할 때 또는 닭·돼지점의 노린내를 제거하기 위하여 초피를 가미하였으며, 근래에도 튀김 등에 곁들여 먹는 ‘花椒鹽’(화초염: huajiaoyan), 花椒油(화초유), 椒麻(초마) 등이 중국요리에 혼합 조미료로 이용되고 있다<sup>24)</sup>.

일본에서는 전국에서 초피(蜀椒·秦椒)를 진상하였다는 기록이 있고, 궁중에서는 이를 약재로 또는 음식물의 첨가물로 사용하였다. 새순을 비롯한 어린잎·어린열매 즉 ‘konome’(木の芽)는 그대로 국물요리, ‘wanmori’(椀盛り) 그리고 회나 초밥 등의 요리에 향신료로서 사용되고, ‘konome-ae’(木の芽和え), ‘konome-yaki’(木の芽焼き), ‘konome-dengaku’(木の芽田樂) 등 초피의 상큼한 향기를 즐기기 위한 요리에도 잘 이용된다<sup>24)</sup>. 또한 숫 꽃봉오리(hana-sanshō, 花山椒)는 고급요리의 마지막 볶음재로 사용되고, 녹색의 미숙과는 볶음이나 절임에 주로 이용되며, 성숙과는 과피만을 세분하여 돼지고기 요리 또는 장어구이나 민물 생선탕류의 노린내나 비린내를 제거하는 데 이용된다. 최근에는 senbei(煎餅)나 젤리 등의 일본 과자류 또는 카레에까지 풍미를 더해 주는 향신료로서 초피가 이용되고 있다<sup>24, 25)</sup>.

우리나라에서는 조선시대 초기의 『閨壺是議方』(규곤시의방)에서 오이김치 등의 김치류 외에도 만두·개장국·자라탕·붕어찜·게젓 등 여러 가지 요리에 초피(천초)를 양념으로 많이 이용한다고 전하고 있고<sup>26)</sup>, 『朝鮮王朝實錄』의 中宗實錄에는 후추 대신 천초를 여러 가지 요리에 독특한 진미를 내는 방향성 신미료로 사용할 수 있다고 기록되어 있으며<sup>20, 27)</sup> 17세기 말엽의 『要錄』이라는 古食品書에도 오늘날의 고추 대신 초피가 향신료로 이용되었다고 전해지고 있기 때문에 임진왜란 전후 일본에서 유입되었다는 고추<sup>28, 29)</sup>를 사용하기 훨씬 전부터 초피를 이용하였음을 알 수 있다. 따라서 유사 이래 근세조선 초기 고추가 유입되기 전까지는 가장 일반적인 향신료로 초피를 이용하여 온 것으로 추정된다<sup>29, 30)</sup>.

전래의 천연 양념류 가운데 ‘椒’(초) 字를 가진 川椒(천초), 山椒(산초), 胡椒(후추), 苦椒(고추) 중 우리나라에서 자생해 온 초피와 산초류가 전통적인 매운맛의 조미를 위한 고유의 천연 향신료로 주로 이용되었고, 약용이나 제유용으로도 이용되었는데, 동물성 먹이감을 많이 취하였던 석기시대에도 초피류의 천연 향신료를 상상 이상으로 많이 이용하였을 것으로 추측되며<sup>31, 32)</sup> 산초보다 초피의 이용도가 매우 높아 고려시대에는 초피가 참초(眞椒)라 불려지기도 하였다. 고추가 사용되기 전부터 초피를 김치류의 향신료로 이용해 온 이래 현재까지도 중부 이남의 일부 지역에서는 고추로 담근 김치에 초피가루를 가미하거나 민물고기류의 매운탕 등에 첨가하고 있는데, 이는 초피가 젓갈이나 생선류의 비린내를 소거(消去)시키고 입맛을 돋구는 효과를 가지고 있

어 중요한 천연 향신료로서 손색이 없음을 보여 주는 것이다<sup>28, 33)</sup>. 특히 향신성분이 강하므로 초피의 과피를 일반적으로 많이 이용하지만 일부에서는 어린 잎을 된장국이나 초피장떡 요리에 사용하기도 하고 초피의 잎과 열매로 장아찌를 담그며 초피밥 또는 초피튀김을 하는 등 다양하게 활용하고 있다<sup>34-37)</sup>.

이와 같이 우리나라에서는 초피를 주로 향신료로서 이용하여 왔으나, 초피의 수피를 천초목, 종자를 초목이라 하여 약용으로도 이용하였는데 위장을 자극하여 식욕을 증진시키고 진위·정장 작용을 하며 치통·신경통·저혈압증·냉증·감기·중풍의 치료에도 효과가 있다고 진한다. 또한 살충·해독 작용이 있어 수피 등을 건조시킨 분말을 이용하여 물고기를 잡거나, 벌레에 물린부위를 초피잎 다린물로 치료하기도 하였다<sup>38-41)</sup>.

초피와 산초류에 대한 연구는 다양하게 이루어져 왔는데, 식물형태학적·생약학적 연구 및 재배에 관한 연구 또는 지질·아미노산·플라보노이드 등의 성분 즉 향기성분이나 신미 성분의 분석 또는 그 성분에 의한 항균작용에 대한 연구들로서 일본에서 많이 이뤄지고 있다.

먼저 국내의 연구로는 김 등<sup>3)</sup>이 1970년에 왕초피나무 과피의 생약학적 연구의 하나로 산초와 초피의 과피를 형태학적인 면에서 비교 검토하였고, 권 등<sup>4)</sup>은 산초류 생약의 성분검색을 위해 약전품인 산초와 혼동될 우려가 있는 한국 특산 식물 왕초피나무와 국내에 널리 퍼져 있는 초피의 과피 성분들을 Thin layer chromatography(TLC)로 분석하여 감별하였다.

김 등<sup>28)</sup>은 혼용되고 있는 *Zanthoxylum*屬 중 왕초피나무의 성분을 밝힘으로써 형태분류학적으로 그 상관관계를 고찰하였고 효용가치를 제시하였다. 박 등<sup>42)</sup>은 초피나무屬의 엽과 엽침의 형태 및 해부학적 특성을 연구하여 초피나무屬의 다섯가지 종에 대한 검색표를 제시하였다.

윤 등<sup>20)</sup>은 민산초나무 종실의 유지 및 단백질 조성에 관한 연구에서 민산초 종자는 비교적 다량의 유지(47.05%), 단백질(20.14%) 그리고 회분(3.10%)을 함유하고 있어 영양가가 높은 식품 및 식용유로 이용 가능하다고 보고하였으며, 박<sup>43)</sup>은 초피의 종실을 압착하여 얻은 초피유의 지방산 조성이 oleic acid, linoleic acid, linolenic acid를 주성분으로 하고, 그 외에 palmitic acid, stearic acid, arachidonic acid 등을 함유하고 있다고 보고하였다.

최<sup>44)</sup>는 초피나무와 유사한 머귀나무의 지질성분에 관한 연구에서, 머귀 종자와 초피 종자 및 과피의 지질 성분을 TLC, Gas chromatography(GC) 등으로 분석한 결과, 중성 지질은 머귀 종자, 초피 종자, 초피 과피에서 각각 71.23%, 69.27%와 48.87%의 함

량비를 보였고 조지질의 지방산은 모두 oleic acid와 palmitic acid의 함량이 높다고 보고하였다.

韓<sup>45)</sup>은 초피와 산초의 종실을 각각 과피와 종자를 구분하여 당·유기산·지질·아미노산 및 정유성분 등을 계통적으로 분석·비교하였는데 4개의 시료 중 공통적으로 함량이 높은 정유 성분은 limonene,  $\beta$ -phellandrene, citronellal, cineol 등의 순서였으며 isopulegol 및 linalool의 함량은 초피 과피에서 현저히 높았다. 정 등<sup>46, 47)</sup>은 식용할 수 있는 단백질 및 유지의 자원을 얻고자 초피 종자 및 민초피 종자에 대한 각각의 아미노산과 지방산 조성을 분석하였다.

鄭<sup>48)</sup>은 초피나무를 과피 및 수피로 구분하여 정유성분과 신미성분을 각각 GC와 High performance liquid chromatography(HPLC)로 분석한 연구에서, 과피 및 수피의 정유성분 함량은 수피에서보다 과피에서 더 높았는데, 과피에서는 cineol과 limonene이 주된 성분이었고 수피에서는  $\alpha$ -terpineol과 pinene이 대부분이었으며, 辛味 成分은 과피 및 수피에서 sanshool-III 외에 3종의 sanshool이 분리되었는데 과피의 신미 성분 총함량이 수피의 약 12배 정도였다고 보고한 바 있다.

그리고 초피나무 수피의 지질 성분은 초피 종자와 과피의 중성 지질보다는 적은 양이 함유되어 있는데, 중성 지질 중 triglyceride 함량이 가장 많았고 GC에 의하여 palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid의 불포화지방산이 검출되었으며 myristic acid, palmitic acid, stearic acid의 세 가지 포화지방산이 소량 검출되었다고 신 등<sup>49)</sup>은 보고한 바 있다.

이<sup>50)</sup>는 한국산 초피의 과피와 잎의 휘발성 향기성분의 분석 방법에 중점을 두어 시료 채취 및 확인 과정에서 상호 보완적인 실험 방법을 통하여 천연 복합성분의 분석 능력 및 정확성을 높이고자 하였으며, 權<sup>51)</sup>은 초피나무의 휘발성 성분을 여러 방법으로 분리 및 동정하였는데 분리된 112종의 성분 중 limonene과  $\beta$ -phellandrene, citronellal, citronellol, citronellyl acetate가 주된 성분들이었고, 휘발성 성분의 항균성을 밝힌 결과 초피열매, 과피, 종실 등이 초피잎이나 수피보다 효과적인 항균성을 지녔다고 보고하였다. 또 한 등<sup>52)</sup>은 건조 초피의 식품부패미생물 증식에 관한 저해효과 등에 대한 연구에서, 초피에 대한 메타놀 추출액의 클로로포름 분획이 대장균·고초균 등의 균증식을 최대한 억제했다고 보고했다.

박<sup>53)</sup>은 각종 식물 종자유에 급이가 흰쥐의 체지질 조성에 미치는 영향을 연구하였는데 콜레스테롤 첨가 식이뿐만 아니라 콜레스테롤 무첨가 식이에서도 공통적으로 초피 종자유군과 산초 종자유군이 가장 낮은 혈청 총콜레스테롤 농도를 보였으며 간장

의 중성지질 농도도 낮았다고 보고하였다.

일본의 산초류에 대한 연구로는 1931년부터 村山 등<sup>54)</sup>이 초피의 신미성분에 대하여 보고한 것을 필두로 하여 Asano 등<sup>23)</sup>의 Semen Xanthoxylii의 성분 에 대한 연구, 조 sanshoöl의 분리를 시도한 Aihara(1949)<sup>55)</sup>, sanshoöl- I 과 sanshoöl- II를 분리하여 각각의 구조를 밝힌 Aihara(1950)<sup>56)</sup>, sanshoamide를 분리하여 그 구조를 밝힌 Aihara(1951)<sup>57)</sup> 등의 연구를 초기의 업적으로 들 수 있다.

Crombie 등은 Aihara가 제시한 sanshoöl I의 분자식에서 얻을 수 있는 두 개의 입체 이성체는 어느 것도 sanshoöl I과 동일하지 않으며, 이외에도 발표된 sanshoöl I의 분광학적 자료와 약간 상이하므로 sanshoöl I의 구조식에 착오가 있거나 sanshoamide가 순수 상태로 추출되지 않았던 것이라고 결론을 내리고<sup>58)</sup> sanshoöl을  $\alpha$ -sanshoöl과  $\beta$ -sanshoöl로 구분하여  $\alpha$ -sanshoöl의 구조식을 밝히고  $\beta$ -sanshoöl은 sanshoöl II일 것이라고 주장하였다<sup>59)</sup>.

정유성분에 관한 연구는 片山<sup>60)</sup>가 초피의 과피에서 citronellal, d-limonene, terpenolene 등을 분리했으며, 阿部 등<sup>61)</sup>은 초피 과피에서 depentene, geraniol 등 정유 성분의 존재를 밝혔고 또한 초피나무의 수피에서 xanthoxylol 등의 다섯 가지 새로운 lignans을 발견하였으며 l-asarinin, l-sesamin 등을 분리하여 그 구조식을 밝혔다<sup>62)</sup>. 최근 Kurita 등<sup>63)</sup>은 염분과 정유 성분의 향미생물 효과에 관한 연구에서 일본산 초피 잎에 함유되어 있는 정유 성분이 7% 이상의 염분에서 식품을 효과적으로 보존하는데 이용될 수 있다고 보고하였다.

Kusumoto 등<sup>64)</sup>은 朝倉山椒(조창산초)의 미숙과 및 완숙과를 수증기 증류하여 정유 성분을 Gas liquid chromatography(GLC)로 분류하고 Infra-red(IR), Nuclear magnetic resonance(NMR) 그리고 Gas chromatography mass (GC-Mass) 등으로 그 구조식을 밝혔으며 130여 종의 peak를 분리하여 limonene과  $\beta$ -phellandrene을 비롯하여 56종의 성분을 동정하였다. 또한 Kusumoto 등<sup>65)</sup>은 조창산초의 신선한 잎을 수증기 증류법으로 실험한 결과 약 100여 종의 peak를 분리하였고 총정유량의 60% 정도를 차지하는 limonene과  $\beta$ -phellandrene 등을 비롯한 42종의 성분을 동정하였다.

Sakai 등<sup>66)</sup>은 3 가지 *Zanthoxylum* 종의 완숙한 초피류를 증류하여 GC로 분리하고 IR, NMR 그리고 GC-Mass로 동정한 결과 조창산초, Hana-sanshō, Fuyu-sanshō의 순으로 많은 양의 정유성분이 분리·확인되었는데 *Zanthoxylum* 속의 향기로운은 주로 citronellal의 독특한 향기에 기인한다고 보고하였다.

安田 등<sup>67)</sup>은 초피류의 과피에서 새로운 신미물질 즉  $\gamma$ -sanshoöl과 hydroxy  $\gamma$

-sanshoöl을 분리해 내고, 또 일본산 산초의 대체품으로 수입한 중국산 산초의 신미 성분 및 정유 성분에 관한 품질 평가에서 신미성분으로서 이미 발견되어 구조가 결정된  $\alpha$ -sanshoöl(I) 및  $\beta$ -sanshoöl(II) 이외에 3 종류의 물질 즉 hydroxy  $\alpha$ -sanshoöl(III),  $\psi$ -sanshoöl(IV) 및 hydroxy  $\psi$ -sanshoöl(V)이 주된 辛味 成分임을 밝혔다. 또한 중국산 산초를 GC로 분석한 결과 정유성분으로 1급품에서는 isopulegol을 주성분으로 하여 linalool, limonene 등 여러 가지 성분을 확인했고, 2급품에서는 2-hydroxy-4,6-dimethoxyacetophenone을 위시하여 sabinene,  $\beta$ -phellandrene, terpinen-4-ol 등 여러 가지 성분을 확인하여 일본산 산초와는 다른 생약임을 분명히 하였다<sup>68)</sup>. 그리고 이들은 7 종과 2 변종의 일본산 산초류로부터 불포화 지방산 아미드를 분류하고 이미 알려진 hydroxy  $\alpha$ -sanshoöl을 분리하여 그 구조식을 확인하였다<sup>69)</sup>. 또한 산초류에 함유된 정유성분과 신미성분의 구조식 및 화학적 연구에 관한 보고에서, 산초는 limonene을 주성분으로 130여 종의 정유성분을 함유하고, 신미성분은 sanshoöl이라는 불포화지방산 아미드류라 밝혀, 그 신미활성과 화학구조에 대해 검토하였다<sup>70)</sup>.

그리고 有富<sup>71)</sup>의 초피 잎 flavonoid 화합물에 대한 보고에 의하면 초피 잎에서 quercitrin, hyperin, afjelin 및 quercetin 외에 hesperidin의 존재를 새로이 증명하였으며, flavonoid 성분의 계절적인 변화는 없었다고 보고하였다.

Fish 등<sup>72)</sup>은 아프리카의 산초종(Fagara species)으로부터 TLC와 전기 영동법에 의해서 제 4급 염기와 유사한 혼합물을 규명했다.

川原 등<sup>73)</sup>이 朝倉山椒와 和歌山縣의 葡萄山椒(Budō-sanshō)의 품질을 평가하여 얻은 결과는 朝倉山椒의 생약 성분 함량이 더 높았고, 정유함량은 葡萄山椒 쪽이 더 높았다고 보고하였다.

吳垠 등<sup>74)</sup>은 靑山椒(71개 시료)와 葉山椒(75개 시료)의 정유 및 향기성분을 분석한 결과, 靑山椒와 葉山椒가 정유 함량에서 약 5~6배까지 차이가 있었고 靑山椒에서는  $\beta$ -phellandrene(45%), d-limonene(23%),  $\beta$ -pinene(11%)이 대부분을 차지하며 含 酸 素 terpene의 citronellal, linalool, isopulegol,  $\alpha$ -terpineol, geranyl acetate 그리고 citronellol 등이 주요성분이었다. 그리고 葉山椒에서는  $\beta$ -phellandrene,  $\alpha$ -pinene, d-limonene 그리고  $\beta$ -pinene 등 terpene 탄화수소가 전체의 80%를 차지하는데 품종에 따라 香氣 成分의 차이가 있었다고 보고하였다.

小池 등<sup>75)</sup>은 山椒 配合 外用劑의 藥理作用에 관한 연구에서, 山椒에 局所 痲醉作用이 있음에 착안하여 貼付劑(첩부제)에 배합할 것을 목적으로 황소개구리의 반사시간을

측정함으로써 진통작용을 검토한 결과, 山椒 軟액기스配合 貼付劑에서 局所癱醉作用을 확인하고 염증의 동통을 완화하는 데 유효함을 시사하는 결과를 얻었다.

尾崎<sup>76)</sup>는 山椒의 藥理作用과 임상사용에서의 효능·효과와의 관련성을 검토한 바, 중추신경계, 순환기계, 소화관 등에 대한 작용 그리고 국소마취작용, 항균작용, 구충작용 등의 약리작용을 보고했다.

阿部 등<sup>77)</sup>은 초피 뿌리의 유효 성분을 명확히 밝히기 위하여 alkaloid 등과 생합성적으로 흥미있는 신물질인 methyl 2,4-dimethoxy-5-hydroxycinnamate를 분리·보고하였다.

小松 등<sup>78)</sup>은 과피와 종자의 형태적 특징과 과실의 성숙에 따른 형태변화를 주사현미경으로 관찰하고 조직학적으로 비교하였으며 長野縣·和歌山縣·奈良縣·鳥取縣 등지의 일본산 상품의 구성을 조사하였다.

米田<sup>79)</sup>은 가지없는 朝倉山椒와 가지가 있는 것의 중간형인 山朝倉山椒 (Yama-asakura-sanshō)를 소개하고, 葡萄山椒의 생산성이나 시장평가는 높지만 식물학적으로 불분명한 점이 많으며, 朝倉山椒는 生藥으로서는 이용 가능하나 山椒를 생산하는 데 종자와 과피를 분리하는 것은 곤란한 작업임을 밝혔다.

이상과 같이 초피류에 대한 연구는 일본에서 많이 이루어져는데, 식물형태학, 생약학, 식품분석 등 여러 분야에 걸쳐 행하여졌다. 또한 향기성분 및 신미성분에 관한 연구를 다양하게 수행해 왔는데, 어린 열매나 어린잎을 식용하는 일본인의 식생활을 반영하여 靑山椒 및 葉山椒가 주된 실험재료로 사용된 연구들이었다. 그러나 국내에서는 식품분석 분야에서 초피의 지질이나 아미노산 그리고 향기성분 분석 등이 약간 연구되었을 뿐, 신미성분에 관한 연구는 거의 이루어지지 않은 실정으로 한국인의 식생활을 반영하여 주로 식용하고 있는 성숙한 초피를 실험 재료로 한 연구가 미진한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 야생식량자원으로서 활용의 여지가 많은 초피를 천연향신료로서 이용의 최적 시기를 결정하고, 한국인의 식습관에 맞는 새로운 향신료 등을 개발하는 데 기초 자료를 제공하고자 초피(가지 있는 것)와 민초피(가지 없는 것)의 2품종을 수확 시기별로 3회에 걸쳐 채취하여 어린잎, 종실의 과피 및 종자로 구분하여 영양성분, 향기성분 및 신미성분 등의 변화를 최신 정밀 분석기기 등을 통하여 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

본 연구의 성분 및 항균성 조사에 사용한 초피(*Zanthoxylum Piperitum* DC. 가지 있는 것, 이하 Chopi)와 민초피(*Zanthoxylum Piperitum* DC. var. *inerme*, 가지없는 것, 이하 Minchopi)는 전남 순천시 근교에서 1999년 5월 25일, 6월 25일, 7월 25일 등 1개월 간격으로 3회에 걸쳐 각각 어린잎과 종실을 채취하였고, 초피의 저장성에 사용한 초피는 '98년산 종실을 순천시에서 구입하여 과피와 종자로 분리한 후 냉동보관(-40℃) 하면서 시료로 사용하였다.

### 나. 실험방법

#### 1) 일반성분 분석

수분은 105℃ 직접건조법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조단백은 micro-kjeldahl법, 회분은 550℃ 직접회화법 그리고 조섬유는 AOAC법<sup>80)</sup>으로 각각 정량하였다.

#### 2) 무기성분 분석

시료 3g을 550℃로 12시간 灰化하고 건식분해법<sup>81)</sup>으로 분해하여 deionized 증류수로 정용하고 검액으로 하였다. 무기질 중 Ca, K, Na, Mg의 정량은 원자흡광비색기<sup>82)</sup>(Baird Alpha-4 U.K.)를 사용하였으며 P는 Vanado-molybdate법으로 처리하여 Spectrophotometer(東京光電 Model 1)를 이용하여 660nm에서 흡광도를 비색정량하였다<sup>83)</sup>.

#### 3) 아미노산 분석

##### 가) 구성아미노산

시료 1g을 ampoule에 넣고 6N HCl 용액 15ml를 가한 후 110℃에서 24시간 가수분해 시켜서 얻은 여액을 원심분리하고, 상등액을 50℃에서 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨 후, 구연산나트륨 완충용액(pH 2.2)을 사용하여 5ml로 정용한 다음 0.22 $\mu$ m membrane filter로 여과한 다음 여액을 취하여 분석시료로 사용하였다. 아미노

산 분석기기의 조건은 Table 1과 같다.

나) 유리아미노산

유리 아미노산은 시료 10g을 칭량하여 homogenizer로 마쇄하고 유리당을 추출한 다음 0.45 $\mu$ m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 Ohara 등<sup>85)</sup>의 방법으로 분석하였다. 즉 여액 10ml에 sulfosalicylic acid 25mg을 첨가하여 4 $^{\circ}$ C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(50,000 rpm, 30분)하여 단백질을 제거하고, 상정액을 0.22 $\mu$ m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 분석시료로 사용하였다. 분석조건은 총 아미노산 분석에서의 Table 1과 같으며, 계산방법 또한 총 아미노산과 동일한 조건으로 하였다.

**Table 1. Analytical condition of amino acid analyzer for amino acid**

Items	Conditions
Instrument	LKB 4150, alpha autoanalyzer Ultrapac 11 cation exchange resin
Buffer solution	pH3.2-pH4.25-pH10.0, sodium citrate
Flow rate	Buffer 35ml/hr, ninhydrin 25ml/hr
Column temp.	50~80 $^{\circ}$ C
Chart speed	2cm/min
Injection volume	40 $\mu$ l

4) 향기성분 분석

향기 성분은 과피와 잎에서 각각 수증기증류법<sup>86)</sup>과 용매추출법<sup>87, 88, 89)</sup> 등 2가지 방법으로 포집하여 측정하였다.

수증기증류법에 의한 포집은 각 시료 50g을 수기에 넣고 증류수를 가한 후 수증기 증류하여 그 유액에 diethyl ether를 넣어 잘 교반하고 분획이 확실하게 되도록 하룻 동안 냉장고에 방치한 후 diethyl ether를 회수하고 50ml로 정용한 다음 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 탈수하였다.

용매추출법은 시료 5g을 methanol, diethyl ether 및 hexane 각각 50ml에 넣고



homogenizer로 마쇄, 여과하여 잔사를 다시 2회 각각의 용매로 세척하고 여액을 합하여 그 양을 50ml로 정용한 후 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 탈수하여 GC와 GC-Mass로 분석하였고 분석조건은 Table 2와 같으며, 향기성분의 정량은 GC를 사용하여 linalool(Sigma Co. USA)을 표준품으로 외부 표준법에 의하여 계산하였고, 향기성분의 동정<sup>90, 91)</sup>은 Hewlett Packard GC-Mass(HP 5970 Mass)로 하였으며 컴퓨터에 내장된 Willy library를 사용하여 성분을 확인하였다.

**Table 2. Analytical condition of GC-Mass for flavor components**

Instrument	Hewlett-Packard 5890A G.C Hewlett-Packard 5970B GC-MSD
Detector	Flame ionization dectector : GC MSD(mass selectivity dectector) mass range m/z 20-150 ionization voltage 70eV
Column	FFAP(Hewlett-Packard Co)capillary 50M(L) × 0.2MM (Φ) Ultra-2( HP Co.) capillary 50M(L) × 0.2MM(Φ)
Column oven temp.	initial temp.35 <sup>0</sup> C, initial time 10min. finial temp. 180 <sup>0</sup> C, finial time 5min. program rate 10 <sup>0</sup> C/min.
Carrier gas	Helium, 5psi
Injection	1ul Split, 30:1

## 5) 신미성분 분석

### 가) 시료처리

신미성분을 분석하기 위한 시료는 초피의 열매를 과피와 씨로 구분한 뒤 과피를 20mesh로 마쇄하여 신미성분 추출용 시료로 사용하였다.

#### 나) 신미성분 추출방법

추출용매에 의한 신미성분의 추출정도를 확인하기 위하여 20mesh로 마쇄된 초피가루 100g에 물, ethanol, chloroform, ethyl ether 및 hexane 등 5종의 용매를 각각 500ml씩 첨가하여 3회 추출하여 여과하고 여액을 모두 모아 감압농축기로 농축하여 각각의 용매 100ml로 정용한 후 신미성분 추출시료로 사용하였다.

#### 다) 신미성분의 측정방법

신미성분의 측정은 관능검사로 측정하였다, 즉 추출용매별 신미성분 추출시료를 1ml씩을 취하여 ethanol에 녹인 후 순천대학교 식품공학과 대학원생 및 교수에게 음용 하게 하여 관능으로 신미성분 추출정도를 확인하였다.

#### 라) 신미성분의 분리 및 정제

##### (1) Column chromatography에 의한 분리

용매별로 추출하여 신미성분이 강한 추출액을 silica gel( $\phi$ 3cm x 35cm, 70~270 mesh, Merck) column chromatography에 10ml를 넣고 hexane : iso propanol = 10 : 1용액으로 분당 2ml씩 용리시켜 분취기로 10ml씩 100개의 fraction으로 나눈 후 각 fraction을 완전히 농축한 후 ethanol에 용해시켜 신미성분이 있는 fraction을 관능검사 통하여 확인하였다.

##### (2) 분획물의 UV 측정

Silica gel column chromatography에서 분리한 각각의 분획을 감압 농축하여 chloroform으로 용해하여 spectrophotometer(8453 Hewlett Packard Co. USA)로 200nm~1050nm까지 spectrum을 측정하고, 이 spectrum에서  $\lambda_{max}$ 값을 구하여 이 파장에서 흡광도를 측정하였으며 신미성분 있는 분획과 비교하였다

##### (3) HPLC에 의한 분리

신미성분의 HPLC에 의한 분리는 Yasuda법에 준하였다. 즉 silica gel column chromatography에서 신미성분이 확인된 fraction을 모아서 감압농축하고, 0.45 $\mu$ m의 막여과기로 여과한 후 florsil sep-pak(Waters co. USA)에 통과시켜 활성화시킨 액을 다시 HPLC(Waters Co., M224)를 사용하여 신미물질을 최종 순수분리하였다. 즉, 1

차적으로 신미성분이 확인된 분획을 분취용 porasil(8mm x 30cm) column(waters co. USA)을 사용하여 순수분리를 행하였다. 이 때 사용된 용매는 hexane:iso-propanol = 15 : 1의 비율로 하여, 유속은 분당 2ml, 시료 주입량은 0.1ml, 270nm에서 검출하여 7개의 분획물을 분취하였다. 이와 같이 하여 얻은 6개의 분획물을 50℃ 수욕상에서 감압농축하여 ethanol로 희석하여 관능검사를 실시하여 신미성분이 있는 분획을 확인하였다. 신미성분이 있는 분획물을 다시 2차 분리하였다. 즉 분취용 porasil column에서 분리하여 신미성분이 확인된 분획물을 porasil(4mm x 30cm) column을 사용하여 Table 3과 같은 분석조건으로 각각의 peak를 분취하고 peak별로 감압농축한후 신미성분을 확인하였다. 최종적으로 신미성물질을 단일 물질로 순수분리하였다.

**Table 3. The condition of HPLC for the analysis of pungent principles**

Instrument	Waters M244
Column	porasil(4mm x 30cm)
Solvent	hexane:iso-propanol=15:1(V/V)
Flow rate	20 ml/min
Detector	UV 270 nm

#### 마) 신미성분의 동정

##### (1) UV 분석

단일물질로 순수분리된 신미성분 물질을 chloroform에 녹여 UV spectrophotometer를 사용하여 UV spectrum을 측정하였다.

##### (2) IR 분석

순수분리된 신미성분 물질 1mg을 0.5ml chloroform에 용해 시켜 KBr cell에 넣어 IR( Perkin Elmer M-1330) spectrometer로 흡수 spectrum을 측정하였다.

##### (3) LC-Mass 분석

신미성분의 분자량과 물질 확인을 위하여 HPLC에서 순수분리된 분획을

Hypersil column(100mm×2.1mm, Hewlett Packard Co. USA)에 50 $\mu$ l을 주입 하였으며. 이 때 사용된 용매는 hexane:iso-propanol=15:1(V/V), 유속은 분당 0.1 ml이 었고 기기는 LC-Mass(Hewlett Packard Co. USA)이였으며 1090 HPLC (Hewlett Packard Co. USA), interface는 59908B Particle Beam (Hewlett Packard Co. USA), chamber의 He 70psi, chamber temp. 55 $^{\circ}$ C, detertor는 5898B mass(Hewlett Packard Co. USA)로 EI mode, mass range 20~1000 m/z,의 조건으로 분석하였으며 Table 4와 같다.

**Table 4. Analytical condition LC-Mass for pungent principles**

Items	Conditions
Instrument	5989 Mass (Hewlett Packard Co. USA) 1090 HPLC (Hewlett Packard Co. USA)
Interface	59908B Particle Beam (Hewlett Packard Co. USA) He 70psi Chamber temp. 55 $^{\circ}$ C
Detector	5898B Mass Mass range 20~1000 m/z
Column	Hypersil (Hewlett Packard Co. USA) 100mm×2.1mm
Solvent	hexane:iso-propanol=15:1(V/V)
Injection	50 $\mu$ l

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 일반성분 함량 변화

초피와 민초피의 두종류의 채취 시기별, 종류별 수분함량의 변화는 Table 5와 같다. 초피의 경우, 잎과 과피의 수분함량은 채취 초기에는 68.76%와 21.74%를 보였으나, 중기에 63.94%와 11.64%, 말기에 63.17%와 10.98%로 점차 감소하는 경향을 보였으며, 민초피의 경우에는 채취 초기에는 63.35%와 18.92%를 보였으나, 중기에 59.96%와 18.92%, 말기에 55.46%와 16.80%로 점차 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과로 보면 초피와 민초피 모두 채취시기가 늦어질수록 수분함량이 감소하는 경향을 보였다.

또한 잎의 수분함량은 민초피보다 초피가 더 높게 나타났으나 과피에서는 민초피의 수분함량이 더 높은 것으로 나타났다.

**Table 5. Proximate composition of Chopi and Minchopi**

Samples	Moisture	Cruded protein	Cruded fat	Fiber	Ash	(%)
						Soluble nitrogen substance
CL-1	68.78	5.47	1.65	17.74	3.32	3.06
CL-2	63.94	5.33	1.50	23.33	4.96	0.94
CL-3	63.17	4.70	1.43	24.01	5.08	1.61
ML-1	63.35	6.20	1.93	20.81	3.57	4.14
ML-2	59.96	5.46	2.03	23.42	3.74	5.39
ML-3	55.46	4.40	2.28	27.88	4.28	5.70
CP-1	21.74	7.50	1.45	41.00	5.21	23.10
CP-2	11.64	7.11	1.57	49.83	5.76	24.09
CP-3	10.98	6.89	1.67	51.36	5.94	23.16
MP-1	21.80	7.11	1.26	41.59	5.55	22.69
MP-2	18.92	6.92	1.19	44.26	6.02	22.69
MP-3	16.80	6.09	1.17	45.42	6.39	24.13

Chopi : *Zanthoxylum piperitum* D.C.

Minchopi : *Zanthoxylum piperitum* D.C. var. *inermis*

1; Sampled May 25, 2; Sampled June 25, 3; Sampled July 27

CL:leaves of Chopi, CP; peels of Chopi, ML:leaves of Minchopi, MP; peels of Minchopi

#### 나. 무기질 함량 변화

초피와 민초피의 두종류의 채취 시기별, 종류별 무기질 함량의 변화는 Table 6과 같다.

K 함량은 두 시료 모두에서 잎과 과피에서 채취 시기가 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보이고 있으며, 채취 말기의 함량을 비교해보면 초피의 잎과 과피의 함

량은 120.17mg%, 310.83mg%이고, 민초피는 87.21mg%, 413.73mg%로 각각 보였다. K 함량은 초피의 잎이 민초피 잎에서보다 높게 나타났으나 과피에서는 민초피가 더 높은 함량을 보였다.

Ca함량은 초피와 민초피의 과피에서 채취 중기에는 상당량 감소했다가 채취말기에 약간 증가하였으며 잎에서는 채취시기가 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였다. 채취 말기의 함량을 비교해보면 초피의 잎과 과피의 함량은 141.26mg%, 103.97 mg%이고, 민초피는 155.36mg%, 87.89mg%를 각각 보였다.

Na함량은 초피 및 민초피의 과피에서 초기 보다 중기에 감소한 후에 말기에 약간 증가하고 있으나 초기함량보다는 낮은 결과를 보였다.

Mg함량은 초피 및 민초피의 과피에서 채취초기보다 중기에 상당량 감소했다가 말기에 증가하는 것으로 나타났으나, 잎에서는 초기 함량보다 중기에 약간 증가하다가 말기에는 약간 낮게 나타났다.

P의 함량은 초피 및 민초피의 과피에서 채취 중기에는 급격한 증가를 나타냈다가 말기에는 감소하였으나 채취초기의 함량보다는 높게 나타났다.

**Table 6. Contents of mineral elements in Chopi and Minchopi**

Samples	(mg%)				
	K	Ca	Na	Mg	P
CL-1	115.21	74.52	5.96	9.90	75.08
CL-2	117.14	138.41	5.77	10.09	96.45
CL-3	120.17	141.26	4.40	9.35	102.76
ML-1	77.79	125.05	6.65	18.36	98.34
ML-2	83.06	133.76	5.84	22.11	144.56
ML-3	87.21	155.36	5.52	19.79	167.39
CP-1	261.87	111.14	17.78	18.72	255.17
CP-2	275.57	75.32	10.18	9.60	389.43
CP-3	310.83	103.97	13.01	14.79	325.36
MP-1	267.72	115.37	19.49	22.34	164.38
MP-2	301.02	55.58	17.30	8.87	286.35
MP-3	413.78	87.89	14.15	12.37	241.47

Samples shown in Table 5

## 다. 아미노산 함량 변화

### 1) 구성아미노산 함량 변화

초피와 민초피의 두종류의 채취 시기별, 종류별 총아미노산의 조성 및 함량변화는 Table 7, Table 8과 같다. 17종의 아미노산이 동정되었으며, 이 중에는 8종의 필수 아미노산이 고루 포함되어 있다. 초피의 경우 총 아미노산 함량은 잎에서는 초기에 1,489mg%로 가장 높게 나타났으며 그 후 감소하다 다시 증가하는 경향을 보였다. 과피에서는 초기에 1,980mg%로 가장 높았으며 그 후 점차 함량이 감소하였다. 민초피의 경우도 과피와 잎에서도 초피에서와 같이 채취초기의 총 아미노산 함량이 각각 1,819mg%와 1,931mg%로 가장 높은 함량을 보였으며 채취 시기가 경과함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서 초피의 과피 및 잎에 함유된 총 아미노산 함량은 채취초기가 가장 높고 시기가 경과됨에 따라 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 초피와 민초피에서 총 아미노산 함량을 비교해보면 거의 비슷한 함량을 나타냈고, 초피에서는 과피의 함량이 잎에서보다 약간 더 높았으며, 민초피에서는 과피에서의 함량이 잎에서보다 약간 낮았다. 초피와 민초피에서 가장 많은 함량을 보인 아미노산은 Asp.로서 212mg%, 194mg%를 각각 보였으며, 그 다음으로는 Arg, Lys, Glu, Leu, His 등으로 나타났다. 한편, 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 잎의 경우 초피가 45~46%, 민초피가 32~45%를 보였으며, 과피에서는 초피가 45~48%, 민초피가 45~49%를 각각 보였다.

### 2) 유리아미노산 함량 변화

초피와 민초피의 두종류의 채취 시기별, 종류별 유리 아미노산의 조성 및 함량 변화는 Table 9와 Table 10과 같다. 유리 아미노산 총 함량은 총아미노산에 비하여 평균 1/30배정도로 낮은 함량을 보였으며, 초피와 민초피에서 거의 비슷한 함량을 보였다. 초피잎에서는 초기, 중기, 말기에 걸쳐 유리아미노산의 총함량이 증가하는 추세를 보였다.

초기의 초피잎에서는 10종의 성분이 검출되었는데, 이 중 His의 함량이 가장 많고 다음으로는 Arg, Thr, Lys, Ser 순이었고, 중기에는 15종이 검출되어 아미노산의 조성이 성숙기에 더 증가함을 보였는데 이때에도 His 함량이 가장 많았고 다음으로는 Pro, Glu, Ser, Arg순으로 나타났다. 말기에는 15종이 검출되었으나 중기와는 달리 Pro 함량이 가장 높았고 다음으로는 His, Lys, Arg순으로 나타났다. 민초피의 잎

에서는 총 함량이 감소한 후 증가하는 경향을 보였는데, 초기 잎에서는 9종, 중기에는 10종, 말기에는 14종의 성분이 검출되었는데, 이중 가장 높은 함량을 보인 아미노산은 초피에서와 마찬가지로 His으로 나타났으며 그의 성분들의 변화도 비슷한 경향을 보였다.

한편, 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 잎의 경우 초피가 39~55%, 민초피가 36~46%를 보였으며, 과피에서는 초피가 38~55%, 민초피가 43~53%를 각각 보였다.



**Table 7. Contents of total amino acids for leaves of Chopi and Minchopi**

(mg%)

Amino acid	Samples					
	CL-1	CL-2	CL-3	ML-1	ML-2	ML-3
Asp	146.75	84.91	122.05	151.91	104.79	123.50
Thr	77.78	51.10	79.82	84.63	69.54	64.57
Ser	90.15	57.50	86.82	128.44	102.77	83.65
Glu	138.56	78.95	128.54	236.38	120.35	114.36
Pro	87.31	50.28	133.80	129.77	705.86	57.05
Gly	115.55	85.82	108.23	120.57	93.13	90.93
Ala	88.33	57.34	75.98	123.57	66.56	72.40
Cys	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Val	85.40	57.86	74.56	111.35	77.25	66.07
Met	20.19	tr	0.81	27.18	19.77	0.74
Iso	78.69	52.98	72.55	97.11	69.28	65.54
Leu	142.32	95.85	133.10	192.37	122.79	115.92
Tyr	57.19	38.49	49.00	69.58	40.03	36.03
Phe	88.36	57.93	74.57	104.11	64.56	62.01
His	82.30	69.29	97.96	148.48	83.17	71.07
Lys	104.14	91.96	118.54	120.40	110.48	100.16
Arg	86.42	90.94	80.69	86.09	69.86	65.32
TAA**	1297.88	836.30	1234.79	1724.45	1737.85	1020.840
EAA***	679.18	476.97	651.91	885.91	616.84	546.08
EAA/TAA(%)	45.60	46.71	45.37	45.86	32.12	45.92

\*Wet basis ; \*\*TAA, total amino acid,

\*\*\*EAA, total essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys)

Samples shown in Table 9

**Table 8. Contents of total amino acids for peels of Chopi and Minchopi**

(mg%)

Amino acid	Samples					
	CP-1	CP-2	CP-3	MP-1	MP-2	MP-3
Asp	212.71	142.26	65.69	194.93	99.64	89.16
Thr	101.57	71.05	51.30	100.31	64.54	32.08
Ser	113.64	86.03	62.57	110.25	73.44	67.77
Glu	166.27	125.20	80.44	156.61	121.13	42.48
Pro	107.50	83.01	128.64	86.13	73.83	85.42
Gly	109.32	84.18	64.88	113.78	66.80	44.68
Ala	90.27	65.90	43.90	93.43	57.97	29.88
Cys	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Val	104.23	70.93	41.59	105.68	63.73	29.59
Met	10.12	5.91	2.88	11.34	7.92	18.55
Iso	94.59	67.02	48.77	94.49	59.03	29.94
Leu	152.25	111.24	88.93	152.52	99.12	55.82
Tyr	73.32	46.22	65.90	72.09	39.07	25.01
Phe	91.55	58.42	73.28	92.55	51.86	29.96
His	150.03	114.26	91.05	133.87	92.82	49.89
Lys	195.62	164.33	146.86	171.42	143.27	129.45
Arg	207.17	105.17	58.96	130.08	73.76	65.55
TAA**	1576.37	1129.63	906.82	1516.98	968.9	627.23
EAA***	899.96	663.16	544.66	862.18	582.29	375.28
EAA/TAA(%)	45.45	47.33	48.82	47.39	49.02	45.48

\*Wet basis ; \*\*TAA, total amino acid,

\*\*\*EAA, total essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys)

Samples shown in Table 9

**Table 9. Contents of free amino acids for leaves of Chopi and Minchopi**

(mg%)

Amino acid	Samples					
	CL-1	CL-2	CL-3	ML-1	ML-2	ML-3
Asp	tr	3.36	4.01	tr	tr	tr
Thr	4.22	3.40	4.76	tr	3.21	2.96
Ser	3.52	4.86	2.16	3.15	3.15	6.61
Glu	3.36	6.25	3.18	8.82	3.10	4.55
Pro	0.08	8.05	17.78	9.52	6.21	3.95
Gly	0.01	0.38	1.16	0.20	0.30	0.81
Ala	2.62	3.66	3.10	4.14	2.31	3.03
Cys	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Val	0.84	1.08	2.08	1.08	0.75	1.62
Met	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Iso	tr	0.44	0.70	tr	tr	0.51
Leu	tr	0.36	0.77	tr	tr	0.47
Tyr	tr	1.18	0.76	tr	tr	2.04
Phe	tr	0.88	1.30	tr	tr	0.84
His	10.07	11.13	8.91	11.06	10.72	12.24
Lys	4.00	3.90	5.32	5.47	2.87	5.22
Arg	5.71	3.90	4.81	5.43	7.73	6.57
TAA**	23.72	43.03	47.670	36.97	27.75	36.63
EAA***	19.13	21.19	23.84	17.61	17.55	23.86
EAA/TAA(%)	55.56	40.11	39.21	36.03	43.51	46.40

\*Wet basis ; \*\*TAA, total amino acid,

\*\*\*EAA, total essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys)

Samples shown in Table 9

)

Table 10. Contents of free amino acids for peels of Chopi and Minchopi

(mg%)

Amino acid	Samples					
	CP-1	CP-2	CP-3	MP-1	MP-2	MP-3
Asp	tr	4.29	5.35	tr	2.79	2.77
Thr	tr	8.87	5.82	4.09	2.78	0.65
Ser	8.03	2.53	1.15	3.67	1.67	1.20
Glu	6.01	4.47	2.26	3.71	2.62	3.42
Pro	2.65	7.49	7.80	3.76	1.17	1.99
Gly	0.50	0.45	0.53	0.46	0.04	0.55
Ala	1.59	1.71	1.00	1.32	0.98	0.78
Cys	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Val	0.87	0.81	0.45	1.01	0.89	0.75
Met	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Iso	tr	0.32	0.21	0.37	0.04	0.38
Leu	tr	0.44	0.28	0.62	0.24	0.43
Tyr	0.44	0.49	tr	tr	tr	1.09
Phe	0.47	0.39	tr	0.52	tr	tr
His	7.99	8.06	3.45	5.99	6.82	3.97
Lys	10.43	6.45	6.90	5.52	4.80	5.41
Arg	12.83	9.61	3.23	2.63	5.17	3.20
TAA**	27.550	38.32	25.3	24.52	18.04.0 0	14.98
EAA***	19.76	25.34	17.11	18.12	15.57	11.59
EAA/TAA(%)	38.15	44.95	44.52	53.82	51.90	43.59

\*Wet basis ; \*\*TAA, total amino acid,

\*\*\*EAA, total essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys)

Samples shown in Table 9

## 라. 향기성분 함량 변화

### 1) 수증기증류법에 의한 향기 성분 변화

초피 및 민초피의 과피와 잎을 수증기증류법으로 추출한 향기 성분을 분석한 결과는 Table 11, 12와 같고, 과피와 잎에 대한 GC-Mass total ion chromatogram은 Fig. 1과 같으며 민초피의 과피와 잎에 대한 gas chromatogram은 각각 Fig. 2, Fig.3과 같다. 또한 GC-Mass에 의해서 분석된 초피 및 민초피의 향기 성분 중 주요 성분의 peak mass spectrum은 Fig. 4과 같다.

초피 과피에서 수증기증류법으로 추출한 초기, 중기 그리고 말기에서의 향기 성분 총량이 각각 69mg%, 69mg%, 108mg%로서 초피 과피의 채취 시기가 경과될수록 향기 성분의 함량이 증가하는 경향을 나타냈으며, 민초피의 과피에서는 초기, 중기와 말기의 향기 성분 총량이 각각 2.21mg%, 9.03mg%, 258mg%로서 민초피 과피의 채취 시기가 늦어질수록 향기 성분 총량이 25배 이상 급격히 증가하였다.

초피 및 민초피의 과피에 대한 향기 성분의 총량을 비교할 때, 채취 초기와 중기에는 초피의 향기 성분 총량이 민초피의 8~35배 정도 높게 나타났으나 말기에는 초기와 반대로 민초피의 향기 성분 총량이 초피의 2.5배 정도로 높게 나타났다. 이상과 같이 채취 초기에는 초피가 민초피보다 더 많이, 그리고 채취 말기에는 민초피가 초피보다 더 많은 향기 성분을 지닌 것으로 나타났으므로 채취 시기를 결정할 때는 이 점을 고려해야 할 것이다.

수증기 증류에 의한 향기 성분은 초기의 초피 과피에서는 41종의 검출 성분 중 31종의 성분이 확인되었고 10종의 성분이 확인되지 않았다. citronellal이 32mg%로 총량의 약 1/2 정도로서 가장 높았고 그 다음이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene, 1,8-cineol, geranyl acetate,  $\beta$ -myrcene의 순으로 높았으며 각각 14.26mg%, 6.25mg%, 2.95mg%, 2.29mg%이었다.

중기에서는 43종 검출 성분 중 33종의 향기 성분이 확인되었고 10종의 성분이 확인되지 않았는데, 초기에서와 같이 citronellal의 함량이 21mg%로 가장 높았고 그 다음이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene, 1,8-cineol, geranyl acetate,  $\beta$ -myrcene의 순으로 높았으며 각각 14.15mg%, 12.54mg%, 5.51mg%, 2.37mg%의 순으로서 초기와 같은 경향이다. 말기에서의 향기 성분은 초기나 중기에서보다 더 많은 46종의 성분이 검출되었는데 그 중 36종의 성분이 확인되었고 10종의 성분이 확인되지 않았다. 그 중 limonene 및  $\beta$ -phellandrene, citronellal이 각각 26mg%, 25mg%로 비슷하게 높은 함량을 나타냈고,

그 다음으로  $\beta$ -citronellol, 1,8-cineol이 각각 15mg%, 14mg%의 높은 함량을 보였는데  $\beta$ -myrcene은 채취 시기가 경과함에 따라 계속 증가하였다.

이처럼 limonene 및  $\beta$ -phellandrene, citronellal,  $\beta$ -citronellol, 1,8-cineol 등이 초피의 과피에서 주된 향기 성분이었음을 확인한 것은 韓<sup>45)</sup>, 鄭<sup>48)</sup>, 權<sup>51)</sup>, 片山<sup>60)</sup>, Sakai 등<sup>66)</sup>의 보고와도 일치하였다.

초기의 민초피 과피에서는 16종의 성분이 검출되어 14종의 성분이 확인되었고 2종의 성분이 확인되지 않았는데 citronellal의 함량이 0.49mg%로 가장 높았으나, 초기의 초피 과피에 함유된 citronellal의 함량(32mg%)에 비하면 극히 적은 양이다.

중기의 민초피 과피에서는 27종의 성분이 검출되어 23종의 성분이 확인되고 4종의 성분이 확인되지 않았는데 geranyl acetate의 함량이 2.16mg%로서 가장 높았고 그 다음이 citronellal(1.52mg%), limonene 및  $\beta$ -phellandrene(1.06mg%)의 순이었다.

말기의 민초피 과피에서는 초기와 중기에 비하여 3~4배 정도나 되는 61종의 성분이 검출되어 그 중 45종의 성분이 확인되었는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 함께 분리되어 78mg%로서 가장 높은 함량을 보였고 그 다음이 citronellal(64mg%),  $\beta$ -citronellol(36mg%)의 순이었다.

이처럼 민초피 과피의 주된 향기 성분이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene으로 확인된 것은 Kusumoto 등<sup>64)</sup>의 결과와도 일치하였다.

이상과 같이 채취 시기를 달리한 초피 및 민초피의 과피에 대하여 수증기 증류법으로 추출한 향기 성분을 분석·비교한 결과, 향기 성분의 총량에서는 말기의 민초피 과피에 대한 향기 성분 함량이 258mg%로서 가장 높았고 그 다음 순으로 말기의 초피 과피에 대한 향기 성분 함량이 108mg%로서 높았는데, 이로써 초피와 민초피의 과피에서는 모두 채취 시기가 늦어질수록 향기 성분의 함량이 높아짐을 알 수 있었고, 검출된 성분의 종류수에서도 채취 말기의 민초피 과피에서 61종이 검출되어 그 다음으로 많이 검출된 말기의 초피 과피에서 46종보다 15종이나 더 많이 검출되었다.

향기 성분 중 limonene과  $\beta$ -phellandrene이 overlap되어 함께 분리되었는데, 그 함량은 초피 과피에서 초기에 14.26mg%, 중기에 14.15mg%, 말기에 26.14mg%로 서서히 증가하는 경향이었으나 민초피에서는 초기에 0.33mg%, 중기에 1.06mg%, 말기에 78.19 mg%로서 초기에 비해 마지막 채취시 250배 정도로 급격히 증가하였다. 1,8-cineol, citronellal과  $\beta$ -citronellol 등에서도 초피의 향기 성분이 채취 시기가 경과함에 따라 그 함량이 서서히 증가하였으나, 민초피의 향기 성분은 말기의 함량이 초기의 함량에 비하여 약 35~260배로 급격히 증가하였다.

Table 11의 결과와 같이 초피 잎에서 수증기증류법으로 추출한 향기 성분은 초기, 중기와 말기에 각각 27종, 29종과 21종이 검출되었는데 각 시기별 총량은 8.18mg%, 6.89mg%와 6.06mg%로서 채취 시기가 경과할수록 그 함량이 서서히 감소하였다. 초기, 중기와 말기의 민초피 잎의 향기 성분은 각각 26종, 21종과 29종이 검출되었고 그 총량은 11.28mg%, 5.90mg%, 6.36~8mg%로서 초피 잎에서와 같이 점차 감소하는 경향이 있었다.

수증기 증류에 의한 향기 성분을 GC와 GC-Mass로 분리 동정한 결과, 초기의 초피 잎에서는 27종의 검출 성분 중 21종의 성분이 확인되었고 6종의 성분이 확인되지 않았는데 cis-ocimene이 1.50mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로는  $\beta$ -citronellol이 1.22mg%, citronellal이 1.01mg%, geranyl acetate가 1.01mg%의 순이었다.

중기의 초피 잎에서 29종의 검출 성분 중 23종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 6종이었는데 citronellal이 1.64mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이  $\beta$ -citronellol(1.04mg%)이었다.

말기의 초피 잎에서는 21종의 검출 성분 중 19종의 성분이 확인되었고 2종의 성분이 확인되지 않았는데 citronellal이 1.43mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 함께 분리된 limonene 및  $\beta$ -phellandrene(1.29mg%)의 순이었다. 채취 시기가 경과함에 따라 limonene 및  $\beta$ -phellandrene은 증가하였고 cis-ocimene과 geranyl acetate는 감소하였다.

초기의 민초피 잎에서는 26종의 검출 성분 중 21종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 5종이었는데 함께 분리된 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 2.79mg%로서 함량이 가장 높았으며, 그 다음으로 geranyl acetate가 1.79mg%, citronellal이 1.35mg%,  $\beta$ -3-carene이 1.22mg%의 순이었다.

중기의 민초피 잎에서는 21종의 성분이 검출되어 16종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 5종이었는데, 초기의 잎의 경우와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 1.35mg%의 가장 높은 함량을 보였고, 그 다음이 citronellal(0.94mg%), cis-ocimene(0.87mg%)의 순이었다.

말기의 민초피 잎에서는 29종의 성분이 검출되어 25종의 성분이 확인되고 미확인 성분이 4종이었는데, 이 또한 초기 및 중기와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 1.20mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 citronellal이 0.99mg%,  $\beta$ -citronellol이 0.66mg%, geranyl acetate가 0.65mg%의 순이었다.

이처럼 민초피 잎의 주된 향기 성분이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene으로 확인된 것

은 Kusumoto 등<sup>64)</sup>의 결과와도 일치하였다.

초피 및 민초피의 잎에 대한 향기 성분의 총량을 비교해 보면, 채취 초기에는 초피보다 민초피 잎의 향기 성분 총량이 더 높았으나 점차 채취 시기가 경과하면서 초피와 민초피가 거의 비슷한 함량을 보였다.

이상과 같이 채취 시기를 달리한 초피 및 민초피의 잎에 대하여 수증기증류법으로 추출한 향기 성분을 분석·비교한 결과, 향기 성분의 총량에서는 초기의 민초피 잎이 11.28mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 초기의 초피 잎(8.18mg%)이 그 다음 순으로 높았으므로 초피 및 민초피의 잎에서는 모두 채취 시기가 빠를수록 향기 성분의 함량이 높게 나타났다. 과피와 잎의 향기 성분 총량을 비교하면, 잎의 향기 성분 총량이 약간 낮게 나타났고 초기의 민초피 잎에서는 11.3mg%로 민초피 과피 2.21mg%보다 함량이 높게 나타나 과피와 잎을 이용할 때는 과피는 성숙 후기에, 잎은 성숙 초기에 채취하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.



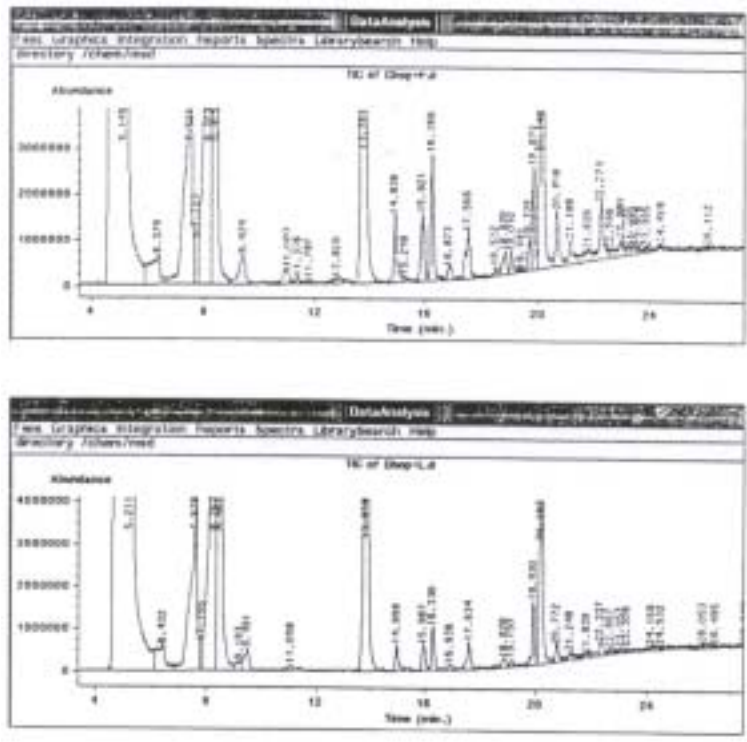


Fig. 1. GC-Mass total ion chromatogram of flavor components in peels and leaves of Chopi by steam distillation.

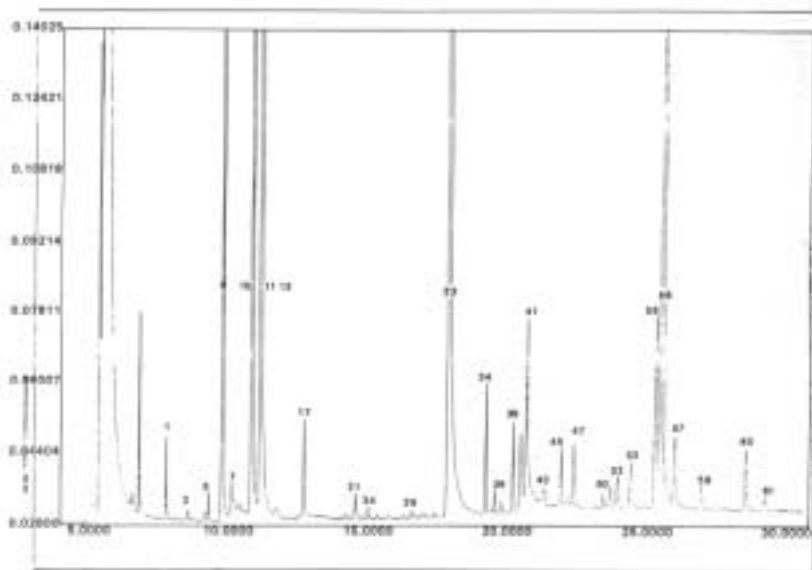


Fig. 2. Gas chromatogram of flavor components in Minchopi peels by steam distillation.

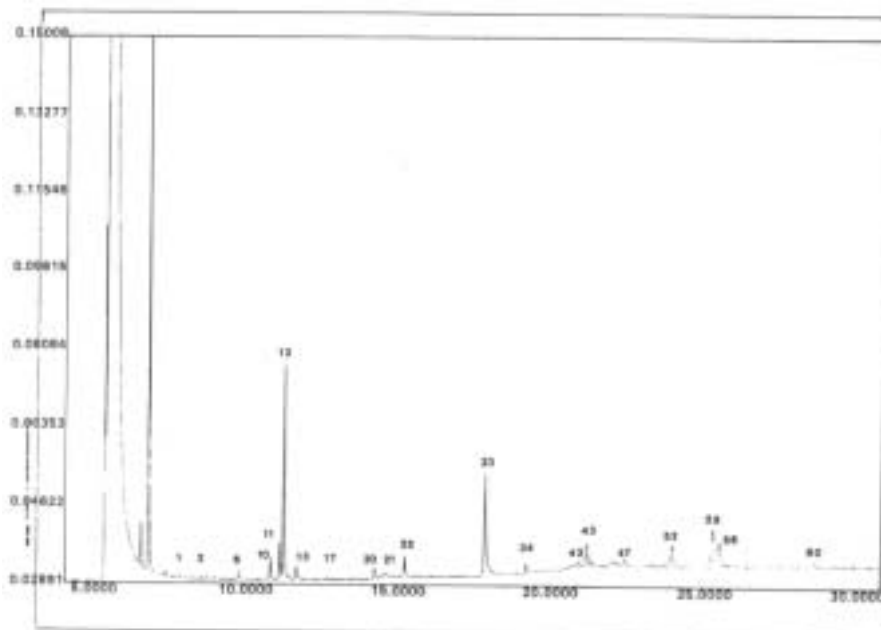


Fig. 3. Gas chromatogram of flavor components in Minchopi leaves by steam distillation.

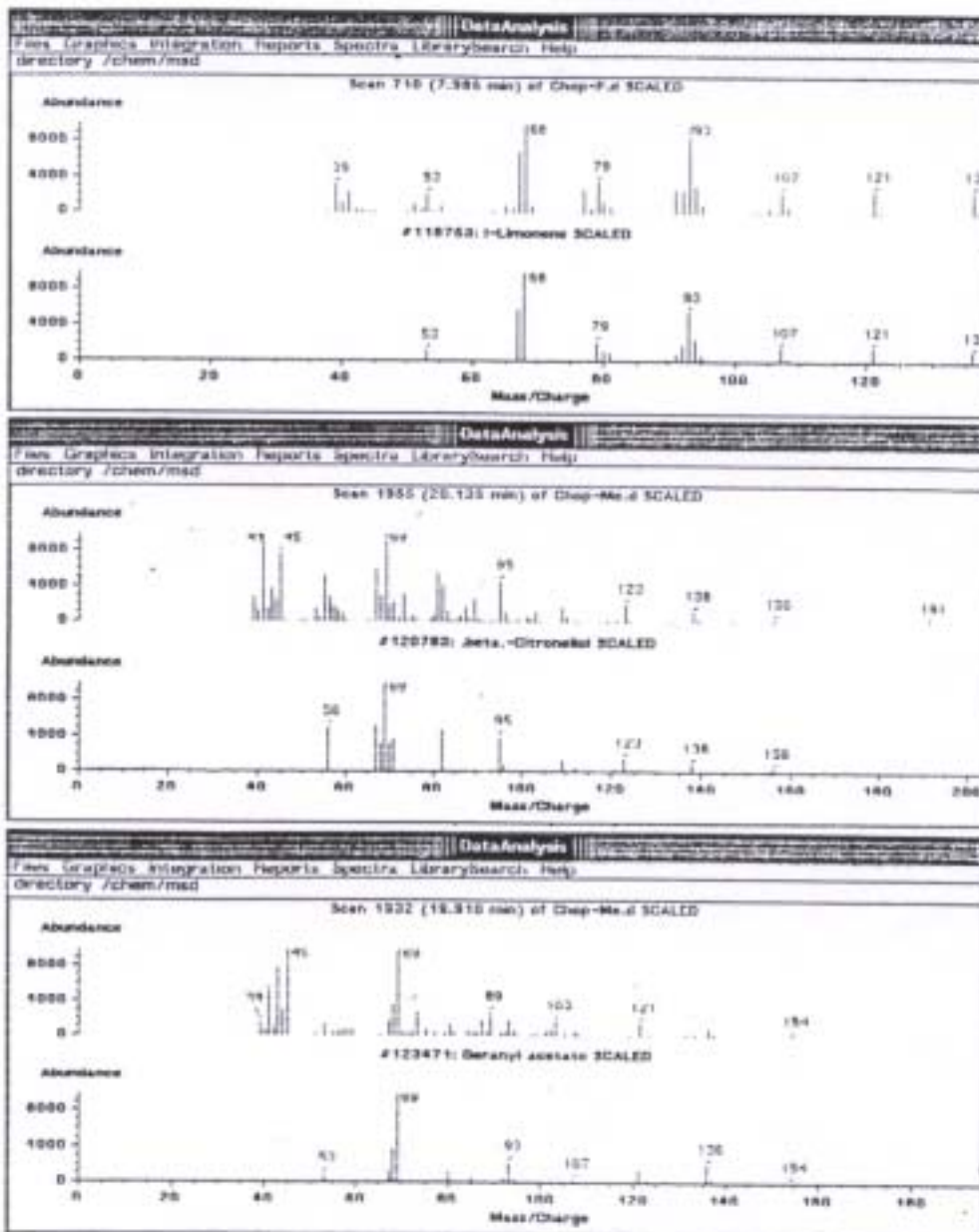


Fig. 4. GC-Mass spectrum profiles of flavor components

**Table 11. Contents of flavor components from peels of Chopi and Minchopi by steam distillation**

Flavor components	(mg%)					
	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
$\alpha$ -pinene	0.10	0.15	0.09	-	-	1.06
unknown 1	-	-	0.18	0.02	-	0.13
unknown 2	-	-	-	-	-	0.02
$\beta$ -pinene	0.02	-	0.02	-	-	0.13
unknown 3	0.05	0.05	0.08	-	-	0.41
$\beta$ -myrcene	2.29	2.37	4.60	-	0.07	14.78
$\alpha$ -thujene	0.20	0.17	0.27	-	0.03	0.64
1-phellandrene	-	-	0.16	-	-	0.45
$\alpha$ -terpinene	0.08	0.09	0.10	-	-	0.26
limonene + $\beta$ -phellandrene	14.26	14.15	26.14	0.33	1.06	78.19
1,8-cineol	6.25	12.54	14.91	0.12	0.64	26.82
cis-ocimene	0.05	0.06	0.09	-	0.03	0.19
$\psi$ -terpinene	0.04	0.03	0.06	-	-	0.15
2-hexanal	0.03	0.02	-	-	-	0.04
cymene	-	0.09	-	-	-	0.11
unknown 4	0.44	0.57	0.73	-	-	1.64
unknown 5	-	1.55	-	-	-	0.03
alloocimene	-	0.05	-	-	-	0.03
$\delta$ -3-carene	0.04	-	0.08	-	-	0.11
rose oxide	-	-	0.19	-	-	0.60
unknown 6	0.24	-	-	-	0.03	0.05
unknown 7	-	0.07	-	-	-	0.05
4-pyridinol, 5-methoxy-2-methyl	-	-	0.08	-	-	0.24
unknown 8	0.02	-	-	-	-	0.09
unknown 9	-	-	-	-	-	0.04
unknown 10	-	-	0.60	-	-	0.02
unknown 11	-	0.02	-	-	-	0.04
(E)-2-(1-propenyl) toluene	-	-	0.06	-	-	0.21
unknown 12	-	-	0.04	-	-	0.23
unknown 13	0.05	0.04	0.08	-	-	0.11
unknown 14	-	-	-	-	-	0.02
citronellal	32.86	21.58	25.90	0.49	1.52	64.53
( $\pm$ )-linalool	1.20	1.40	1.80	0.41	0.98	2.28

**Table 11. Continued**

Flavor components	(mg%)					
	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
unknown 15	0.04	0.04	0.07	-	0.03	0.11
$\alpha$ -terpinolene	0.16	0.13	0.28	-	0.03	0.41
unknown 16	0.07	0.06	0.14	-	-	0.24
thujil alcohol	-	-	-	-	-	0.02
unknown 17	0.77	0.73	0.87	0.14	0.26	1.65
camphene hydrate	0.68	0.68	0.77	-	0.05	2.07
isopulegol	2.05	2.30	1.78	0.07	0.13	5.83
3,6,9,12-tetraoxahexadecan-1-ol	-	0.25	0.09	-	-	0.23
1,4-terpineol	0.32	0.42	0.33	0.04	0.09	0.84
ethanol,2-(1-methylethoxy)	-	-	-	-	-	0.05
citronellyl acetate	0.47	0.46	0.62	0.13	0.21	1.15
2-pentadecanol	0.14	0.14	0.09	-	-	0.40
2-tridecanol	0.48	0.29	0.88	-	0.03	1.38
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	-	-	-	-	0.02	0.02
unknown 18	0.04	-	0.04	-	-	0.07
ethanol, 2-[2-(2-butoxyethoxy)ethoxy]	0.15	0.12	0.16	0.02	0.04	0.33
ethylene oxide trimer	0.14	0.21	0.26	0.03	0.13	0.61
$\alpha$ -terpineol	0.45	0.46	0.67	0.14	0.31	0.98
unknown 19	0.15	0.17	0.36	-	0.05	1.20
camphane	0.08	0.04	0.06	-	-	0.12
geranyl acetate	2.95	5.51	7.01	0.04	2.16	4.98
$\beta$ -citronellol	1.11	0.98	15.11	0.13	0.13	36.88
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	0.86	0.84	0.73	0.10	0.33	2.04
di-iso-propylamine	0.04	0.04	0.17	-	0.03	0.55
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	-	0.03	-	-	-	0.09
trans-geraniol	0.24	0.26	1.90	-	0.64	1.76
3,6,9,12,15-pentaoxanonadecane-1-ol	0.03	0.07	0.12	-	-	0.38
Total	69.64	69.23	108.77	2.21	9.03	258.09

**Table 12. Contents of flavor components from leaves of Chopi and Minchopi by steam distillation**

Favor components	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
$\alpha$ -pinene	0.07	0.02	-	-	0.02	0.03
unknown 1	-	-	-	-	-	-
unknown 2	0.18	0.04	-	0.11	0.10	-
$\beta$ -pinene	-	-	-	-	-	0.02
unknown 3	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -myrcene	0.17	0.06	0.06	0.13	0.05	0.13
$\alpha$ -thujene	-	-	-	-	-	-
1-phellandrene	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	0.60	0.92	1.29	2.79	1.35	1.20
1,8-cineol	0.34	0.07	0.12	0.62	0.06	0.33
cis-ocimene	1.50	0.74	0.22	0.60	0.87	0.22
$\gamma$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
2-hexanal	-	-	-	-	-	-
cymene	-	-	-	-	-	-
unknown 4	-	-	-	-	-	0.02
unknown 5	0.07	0.02	-	0.04	0.03	-
alloocimene	0.38	-	-	-	-	-
$\beta$ -3-carene	0.11	0.10	-	1.22	0.08	0.18
rose oxide	-	-	-	-	-	0.05
unknown 6	-	-	-	-	-	-
unknown 7	-	-	-	-	-	-
4-pyridinol, 5-methoxy-2-methyl	-	-	-	-	-	-
unknown 8	0.34	0.25	-	0.19	0.40	0.37
unknown 9	0.05	0.08	-	0.02	0.06	-
unknown 10	-	-	-	-	-	-
unknown 11	-	-	-	0.11	-	-
(E)-2-(1-propenyl) toluene	-	-	-	-	-	-
unknown 12	-	-	-	-	-	-
unknown 13	-	-	-	-	-	-
unknown 14	-	-	-	-	-	-
citronellal	1.01	1.64	1.43	1.35	0.94	1.00
( $\pm$ )-linalool	0.23	0.18	0.08	0.32	0.30	0.16

Samples shown in Table 9

Table 12. Continued

Favor components	(mg%)					
	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
unknown 15	-	-	-	-	-	-
ethanol,2-(1-methylethoxy)	-	-	-	-	-	-
α-terpinolene	-	-	-	0.02	-	-
unknown 16	-	-	-	-	-	-
thujil alcohol	-	-	-	-	-	-
unknown 17	0.05	0.05	0.07	0.09	0.03	0.03
camphene hydrate	0.02	0.05	0.03	0.06	-	0.05
isopulegol	0.07	0.10	0.06	0.07	0.04	0.07
3,6,9,12-tetraoxahexadecan-1-ol	0.03	0.05	0.02	-	-	0.10
1,4-terpineol	0.10	0.19	0.14	0.07	0.09	0.23
citronellyl acetate	0.04	0.31	0.39	0.07	-	0.02
2-pentadecanol	-	-	-	-	-	-
2-tridecanol	0.05	0.09	0.07	0.04	-	0.14
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	-	0.05	-	-	-	0.03
unknown 18	-	-	-	-	-	0.08
ethanol, 2-[2-(2-butoxyethoxy)ethoxy]	-	0.04	0.07	-	-	-
ethylene oxide trimer	-	-	0.02	0.03	-	0.06
α-terpineol	0.26	0.12	0.11	0.44	0.22	0.32
unknown 19	0.06	0.06	0.08	-	-	0.03
camphane	-	-	-	-	-	-
geranyl acetate	1.01	0.53	0.42	1.79	0.61	0.65
β-citronellol	1.22	1.04	1.34	0.93	0.36	0.66
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	0.11	0.07	0.08	0.04	0.06	0.03
di-iso-propylamine	-	-	-	-	-	-
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	-	-	-	-	-	-
trans-geraniol	0.15	0.05	-	0.15	0.23	0.17
3,6,9,12,15-pentaoxanonadecane-1-ol	-	-	-	-	-	-
Total	8.22	6.92	6.10	11.30	5.90	6.38

Samples shown in Table 9



## 2) Methanol 추출법에 의한 향기 성분 변화

초피 및 민초피의 과피와 잎에 대하여 methanol 추출한 향기 성분을 GC-Mass로 확인한 결과는 Fig. 5와 같고 그 중 초피 및 민초피의 과피에 대한 향기 성분을 GC 및 GC-Mass로 분리·동정한 결과는 Table 13과 같다.

초기, 중기, 말기의 초피 과피에서 각각 21종, 17종, 37종이 검출되었는데 총량은 각각 1406mg%, 993mg%, 5042mg%로서 채취 시기가 경과될수록 향기 성분의 함량이 증가하는 경향을 나타냈다. 민초피의 과피에서도 초기, 중기와 말기에 각 시기별로 20종, 24종, 26종이 검출되었고 총량은 각각 986mg%, 2001mg%, 2607mg%로서 초피 과피에서와 같이 성숙되어 감에 따라 향기 성분의 함량이 초기에 비해 2.5배나 증가한 것으로 나타났다..

초피 및 민초피의 과피에 대한 향기 성분의 총량을 비교하면, 채취 초기에는 초피의 향기 성분 총량이 민초피에 비하여 약 1.5배였으나 채취 말기에는 약 2.0배 정도였다.

향기 성분은 초기의 초피 과피에서 21종의 검출 성분 중 19종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 2종이었는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 630mg%로서 가장 높게 함량을 나타냈고, 그 다음으로는 citronellal이 334mg%, 1,8-cineol이 172mg%,  $\beta$ -myrcene이 141mg%,  $\beta$ -citronellol이 56mg%의 순이었다.

중기에는 17종의 검출 성분 중 14종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 3종이었는데, 초기와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 447mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 citronellal이 233mg%, 1,8-cineol이 123mg%,  $\beta$ -myrcene이 105mg%의 순이었다.

말기에는 초기 및 중기보다 더 많은 37종의 성분이 검출되었는데 이 중 26종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 11종이었는데 초기, 중기와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 2452mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 1,8-cineol이 702mg%,  $\beta$ -myrcene이 618mg%, citronellal이 615mg%,  $\beta$ -citronellol이 336mg%의 순이었다.

초기, 중기와 말기의 초피 과피에서 채취시기가 경과함에 따라 더 많은 종류의 향기성분이 검출되었고 양적으로도 증가하였으나 공통적으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene, 1,8-cineol,  $\beta$ -myrcene 그리고 citronellal 등이 많은 증가를 나타냈다.

초기의 민초피 과피에서는 검출된 20종의 성분 중 16종의 성분이 확인되었고 미확

인 성분이 4종이었는데 1,8-cineol이 542mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 288mg%,  $\beta$ -myrcene이 64mg%, citronellal이 45 mg%의 순이었다.

중기의 민초피 과피의 경우 검출된 24종의 성분 중 19종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 5종이었는데, 초기에서와 같이 1,8-cineol이 875mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 575mg%,  $\beta$ -citronellol이 273 mg%,  $\beta$ -myrcene이 126mg%, citronellal이 76mg%의 순이었다.

말기의 민초피 과피에서는 초기와 중기에서보다 더 많은 26종의 성분이 검출되었고 그 중 21종의 성분이 확인되었으며 미확인 성분이 5종이었는데, 초기 및 중기에서와 같이 1,8-cineol이 1103mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 756mg%,  $\beta$ -citronellol이 387mg%,  $\beta$ -myrcene이 193mg%의 순이었다.

이상에서와 같이 채취 시기를 달리한 초피 및 민초피의 과피에 대하여 methanol로 추출한 향기 성분의 분석 결과, 미확인 물질이 계속 나타났으며, 채취 시기별로 향기 성분의 총량과 종류도 다양하였다. 향기 성분의 총량은 말기의 초피 과피나 민초피 과피에서 각각 5042mg%와 2607mg%로 성숙 후반에 높게 나타났으며 또한 많은 종류의 성분이 검출되었는데 이러한 경향은 수증기증류법에 의한 향기 성분의 분석 결과와도 일치하였으므로 초피나 민초피의 과피를 이용하고자 할 때에는 채취 말기에 수확하는 것이 바람직하다고 판단된다.

초피 및 민초피의 잎에 대하여 methanol로 추출한 향기 성분을 GC와 GC-Mass로 분리·동정한 결과는 Table 14와 같다.

초피의 잎에서 초기, 중기, 말기에 모두 17종씩의 향기 성분이 검출되었고 그 함량은 각각 175mg%, 172mg%, 174mg%로 변화가 거의 나타나지 않았다.

초기의 초피 잎에서는 검출된 17종의 성분 중 15종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 2종이었는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 41mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 2-pentadecanol이 28mg%,  $\beta$ -citronellol이 25mg%, citronellal이 17 mg%의 순이었다.

중기에 검출된 17종 중 14종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 3종이었는데 이 또한 초기에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 45mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, citronellal이 21mg%로 그 다음의 높은 함량을 보였다.

말기에 검출된 17종의 성분 중 15종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 2종이었

다. 초기 및 중기에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 64mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 citronellal이 28mg%, 1,8-cineol이 13mg%, 그리고  $\beta$ -myrcene이 각각 12mg%로 그 다음 높은 함량을 보였다.

그리고 초기, 중기, 말기의 민초피 잎에서는 각각 15종, 17종, 25종의 향기 성분이 검출되었고, 총량은 각각 196mg%, 151mg%, 164mg%로서 약간의 감소 경향을 나타냈다. 초기에 검출된 15종의 성분 중 11종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 4종이었는데, 1,8-cineol이 33mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 2-tridecanol이 22mg%,  $\beta$ -citronellol이 22mg%, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 20mg%의 순이었다.

중기에는 17종의 성분이 검출되었고 13종의 성분이 확인되었으며 4종의 성분이 확인되지 않았는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 25mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 21mg%의 함량을 보인  $\beta$ -citronellol이었다.

말기에도 25종의 성분이 검출되었고 17종의 성분이 확인되었으며 8종의 성분이 확인되지 않았는데, 중기에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 24mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 2-pentadecanol이 16mg%, 1,8-cineol이 15mg%,  $\beta$ -citronellol이 15mg%의 순이었다.

이와 같은 경향은 葉山椒에서 limonene 및  $\beta$ -phellandrene,  $\beta$ -citronellol 등이 주된 향기 성분이었다는 吳垠 등<sup>74)</sup>의 결과와도 일치하였다.

이상과 같이 methanol로 추출한 초기에서 말기까지의 초피 잎에서, 그리고 초기에서 말기까지의 민초피 잎에서도 향기 성분의 종류 및 함량은 변화가 거의 없었다. 향기 성분의 총량은 초기의 민초피 잎이 196mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 초기의 초피 잎에서 그 다음으로 높았으므로 초피 및 민초피의 잎에서는 모두 채취 시기가 빠를수록 향기 성분의 함량이 높았음이 확인되었는데, 이는 수증기 증류법에 의한 잎의 향기 성분 분석 결과와도 일치하였다. 대체로 초기의 초피 잎에서 추출된 향기 성분의 총량이 초기의 초피과피의 향기성분 총량에 비해 훨씬 높았다.

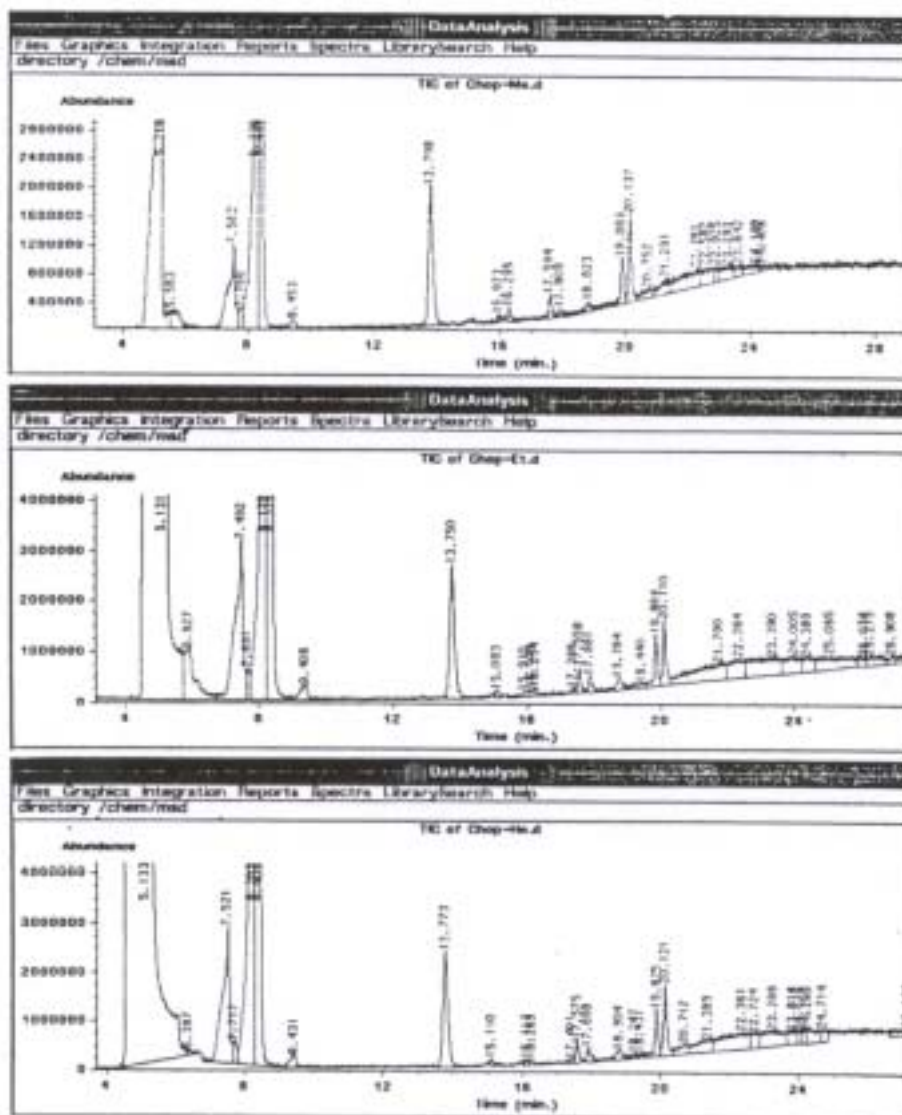


Fig. 5. GC-Mass total ion chromatogram of flavor components in peels and leaves of Chapi by solvent extraction.

**Table 13. Contents of flavor components from peels of Chopi and Minchopi by methanol extraction**

Flavor components	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
$\alpha$ -pinene	1.52	1.39	5.68	1.97	3.32	3.07
unknown 1	-	-	0.72	1.75	1.89	1.85
$\beta$ -pinene	-	-	3.33	1.02	3.52	4.13
unknown 2	-	0.75	14.50	-	-	-
$\beta$ -myrcene	141.12	105.06	618.70	64.90	126.97	193.76
$\alpha$ -thujene	-	-	16.70	-	-	1.27
1-phellandrene	-	-	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	630.05	447.01	2452.12	288.39	575.28	756.73
1,8-cineol	172.84	123.48	702.66	542.60	875.38	1103.53
cis-ocimene	-	-	2.86	-	-	-
cymene	10.39	7.16	1.87	3.34	7.77	0.67
unknown 3	-	-	38.20	-	-	11.10
unknown 4	-	-	-	-	-	-
unknown 5	-	-	-	-	-	-
unknown 6	2.24	1.78	1.76	2.39	3.21	-
unknown 7	-	-	2.89	-	-	-
citronellal	334.13	233.98	615.34	45.55	76.52	70.37
unknown 8	-	-	2.74	-	-	-
linalool	4.55	2.90	7.75	3.82	7.16	8.01
$\alpha$ -terpinolene	6.20	3.76	16.86	2.72	4.51	5.66
unknown 9	-	-	0.41	-	-	-
thujil alcohol	-	-	3.01	-	-	-
camphene hydrate	-	-	7.11	-	-	0.44
isopulegol	8.71	3.28	-	0.08	1.55	-
1,4-terpineol	-	7.75	14.81	-	-	1.38
citronellyl acetate	2.00	10.88	0.63	3.96	-	19.96
2-pentadecanol	-	-	18.77	-	10.93	-
2-tridecanol	17.52	0.92	57.45	2.83	5.35	6.99

(mg%)

**Table 13. Continued**

Flavor components	(mg%)					
	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	1.77	-	4.89	-	4.59	2.60
α-terpineol	3.21	-	12.76	1.57	0.77	2.48
unknown 10	-	-	4.98	-	1.75	3.08
unknown 11	-	-	0.53	-	1.25	1.03
unknown 12	6.74	5.08	23.07	2.50	8.05	8.59
unknown 13	-	-	2.54	6.24	-	-
geranyl acetate	0.66	-	20.20	-	0.30	4.98
β-citronellol	56.02	38.14	336.66	9.89	273.76	387.85
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	3.00	-	4.79	0.58	0.91	0.89
di-iso-propylamine	-	-	18.27	-	-	-
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	1.46	-	-	-	-	-
trans-geraniol	2.72	-	5.50	-	6.60	6.84
3,6,9,12,15-pentaoxanonadecane-1-ol	-	-	1.03	-	-	-
Total	1406.85	993.32	5042.09	986.10	2001.34	2607.26

Samples shown in Table 9

**Table 14. Contents of flavor components from leaves of Chopi and Minchopi by methanol extraction**

(mg%)

Flavor components	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
$\alpha$ -pinene	2.07	3.22	4.65	15.04	8.57	8.61
unknown 1	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -pinene	-	-	0.62	2.14	-	2.55
unknown 2	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -myrcene	8.13	8.03	12.11	6.25	5.29	5.91
$\alpha$ -thujene	-	-	-	-	-	-
1-phellandrene	-	-	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	41.91	45.18	64.01	20.62	25.12	24.19
1,8-cineol	11.17	11.88	13.28	33.03	13.80	15.83
cis-ocimene	2.93	-	-	-	-	-
cymene	-	-	-	-	-	-
unknown 3	-	-	-	-	-	-
unknown 4	-	14.62	6.64	19.56	14.80	12.79
unknown 5	-	-	-	2.44	-	4.07
unknown 6	6.07	9.29	8.71	10.23	9.24	11.45
unknown 7	-	-	-	-	-	-
citronellal	17.07	21.02	28.04	19.15	13.24	14.74
unknown 8	-	-	-	-	-	0.10
linalool	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinolene	-	-	-	-	-	-
unknown 9	-	-	-	-	-	-
thujil alcohol	-	-	-	-	-	-
camphene hydrate	-	-	-	-	-	-
isopulegol	4.97	3.93	-	-	2.08	-
1,4-terpineol	-	-	2.33	-	-	4.94
citronellyl acetate	0.85	-	1.45	14.25	-	1.47
2-pentadecanol	28.27	12.45	8.04	-	8.60	16.25

**Table 14. Continued**

Flavor components	(mg%)					
	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
2-tridecanol	-	3.03	3.30	22.44	2.38	1.02
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	10.24	17.59	10.87	-	19.85	8.01
$\alpha$ -terpineol	3.44	4.30	1.91	8.57	3.78	5.64
unknown 10	-	0.70	-	-	-	0.81
unknown 11	2.43	-	-	0.71	0.35	2.22
unknown 12	-	0.67	-	-	1.49	1.87
unknown 13	-	-	-	-	-	0.60
geranyl acetate	-	-	-	-	-	3.01
$\beta$ -citronellol	25.02	13.33	7.64	22.02	21.21	15.52
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	-	-	-	-	-	-
di-iso-propylamine	-	-	-	-	-	-
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	9.70	-	0.47	-	-	-
trans-geraniol	1.15	-	-	-	1.38	1.36
isopulegol	-	2.93	-	-	-	2.01
Total	175.42	172.17	174.07	196.45	151.18	164.97

Samples shown in Table 9



### 3) Diethyl Ether 추출법에 의한 향기 성분 변화

초피 및 민초피의 과피에 대하여 diethyl ether로 추출한 향기 성분을 GC와 GC-Mass로 분리·동정한 결과는 Table 15와 같다.

초기, 중기와 말기의 초피 과피에서 각각 31종, 36종과 42종의 성분이 검출되었고 그 총량은 각각 4613mg%, 6387mg%, 9566mg%로서 과피 채취 시기가 경과될수록 향기 성분의 함량이 증가하여 채취 말기에는 채취 초기의 2배 이상으로 나타났다.

초기의 초피 과피에서 검출된 31종의 성분 중 25종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 6종이었는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 2434mg%로 가장 높았으며, 그 다음으로 1,8-cineol이 724mg%,  $\beta$ -myrcene이 609mg%, citronellal이 489mg%의 순이었다.

중기에는 36종의 검출 성분 중 29종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 7종이었는데, 초기에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 2722mg%로 가장 높았으며 그 다음으로 1,8-cineol이 1843mg%,  $\beta$ -myrcene이 706mg%, citronellal이 655mg%,  $\beta$ -citronellol이 111mg%의 순이었다.

말기에는 초기나 중기에서보다 더 많은 42종의 성분이 검출되어 그 중 31종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 11종이었는데, 초기와 중기에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 3933mg%로 가장 높았으며 그 다음으로 1,8-cineol이 1809mg%,  $\beta$ -myrcene이 1536mg%, citronellal이 978mg%,  $\beta$ -citronellol이 516mg%의 순으로 채취 시기가 늦어질수록 향기 성분의 함량이 증가하였다.

초기, 중기와 말기의 민초피 과피에서 추출된 향기 성분의 종류는 각각 28종, 33종과 34종이었고 그 총량은 각각 3887mg%, 6166mg%, 7245mg%로서 초피 과피에서와 같이 채취 시기가 경과될수록 향기 성분의 함량이 증가하여 채취 말기에는 채취 초기의 2배 정도가 되었다.

초기의 민초피 과피에서 검출된 28종의 성분 중 22종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 6종이었는데, 1,8-cineol이 2216mg%의 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 1119mg%,  $\beta$ -myrcene이 290mg%의 순이었다.

중기에는 초기보다 더 많은 33종의 성분이 검출되어 그 중 26종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 7종이었는데, 초기에서와 같이 1,8-cineol이 2801mg%의 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 1879mg%,  $\beta$ -citronellol이 618mg%,  $\beta$ -myrcene이 492mg%, citronellal이 103mg%의 순이었다.

말기에는 초기와 중기에서보다 더 많이 검출된 34종의 성분 중 26종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 8종이었는데, 초기와 중기에서와 같이 1,8-cineol이 3457mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 2582mg%,  $\beta$ -citronellol이 447mg%,  $\beta$ -myrcene이 418mg%의 순이었다. 그리고 이와 같이 높은 함량을 가진 향기 성분들은 채취 시기가 경과함에 따라 증가하였다.

이상과 같이 초피 및 민초피의 과피에 대하여 diethyl ether로 추출한 향기 성분의 총량을 비교해 보면, 채취 초기, 중기 및 말기에 이르기까지 초피의 향기 성분 총량이 민초피보다 더 높았는데 초기의 초피 및 민초피 과피의 향기 성분 함량은 각각 4613 mg%, 3887mg%에서 채취 시기가 경과함에 따라 말기에 9566mg%, 7245mg%로 증가하였다.

초피 및 민초피의 잎에 대하여 diethyl ether로 추출한 향기 성분을 GC와 GC-Mass로 분리·동정한 결과는 Table 16과 같다.

초기, 중기와 말기의 초피 잎에서 각각 15종, 10종과 8종의 향기 성분이 검출되었고 그 총량은 각각 225mg%, 113mg%, 99mg%로, 채취 시기의 경과에 따라 감소하였다.

초기의 초피 잎에서 15종의 향기 성분이 검출되었는데 그 중 14종의 성분이 확인되었고 1종만 확인되지 않았는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 68mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로  $\alpha$ -terpineol이 32mg%, citronellyl acetate가 26mg%,  $\beta$ -citronellol이 23mg%의 순이었다.

중기에는 검출된 10종의 성분 모두 확인되었는데, limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 51mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 1,8-cineol이 14mg%,  $\beta$ -myrcene이 10mg%,  $\beta$ -citronellol이 10mg%, citronellal이 9.84mg%의 순이었으며 모든 부분에서 검색된 성분들이었다.

말기에는 검출된 8종의 성분 모두 확인되었는데, 초기 및 중기와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 48mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 1,8-cineol이 13 mg%, citronellal이 11mg%,  $\beta$ -myrcene이 9.76mg%,  $\alpha$ -terpineol이 9.59mg%,  $\beta$ -citronellol이 4.9mg%, citronellyl acetate가 2.54mg%의 순이었다.

초기, 중기와 말기의 민초피 잎에서 각각 14종, 10종, 11종의 향기 성분이 검출되었고 그 총량은 각각 115mg%, 72mg%, 68mg%로서 초피의 잎에서와 같이 채취 시기의 경과에 따라 향기 성분 함량이 감소하였다.

초기의 민초피 잎에서는 검출된 14종의 성분 중 11종의 성분이 확인되었고, 3종의 성분이 확인되지 않았는데 초피의 잎에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 39

mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 1,8-cineol이 36mg%, citronellyl acetate가 9.98mg%,  $\alpha$ -terpineol이 6.95mg%의 순이었다.

중기에는 검출된 10종의 성분 모두 확인되었는데, 역시 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 26mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 1,8-cineol이 12mg%,  $\alpha$ -terpineol이 10mg%,  $\beta$ -citronellol이 10mg%의 순이었다.

말기에는 11종의 검출된 성분 중 9종의 성분이 확인되었고 2종의 성분이 확인되지 않았는데, 초기와 중기에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 19mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음이 1,8-cineol이 14mg%,  $\alpha$ -terpineol이 7.66mg%, citronellyl acetate가 6.81mg%,  $\beta$ -citronellol이 6.48mg%의 순이었다.

이상과 같이 diethyl ether로 추출한 잎의 향기 성분은 초기, 중기, 말기의 초피 잎에서 각각 15종, 10종과 8이 검출되었는데 그 총량은 225mg%, 113mg%와 99mg%로 나타났다. 그리고 초기, 중기, 말기의 민초피 잎에서 각각 14종, 10종과 11종의 향기 성분이 검출되었으며 그 총량은 각각 115mg%, 72mg%와 68mg%로서 성숙 시기가 경과함에 따라 성분의 종류와 총량이 감소하였다.

이와 같은 경향은 앞에서 언급한 수증기증류법 및 methanol 추출법에 의한 향기 성분의 분석 결과와 일치하였다.

**Table 15. Contents of flavor components from peels of Chopi and Minchopi by diethyl ether extraction**

Flavor components	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
$\alpha$ -pinene	8.54	8.02	15.86	9.00	11.11	9.11
unknown 1	0.87	1.42	2.21	3.34	4.07	3.33
$\beta$ -pinene	4.62	5.47	11.70	1.90	3.43	3.08
unknown 2	16.42	19.51	41.44	8.74	14.15	12.26
$\beta$ -myrcene	609.05	706.29	1536.58	290.50	492.87	418.61
$\alpha$ -thujene	19.35	18.83	38.61	3.93	12.70	5.43
1-phellandrene	16.18	18.71	31.75	-	11.39	22.35
$\alpha$ -terpinene	0.57	0.59	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	2434.05	2722.51	3933.99	1119.81	1879.92	2582.49
1,8-cineol	724.29	1843.75	1809.11	2216.70	2801.16	3457.25
cis-ocimene	2.97	3.68	9.17	2.97	3.86	2.96
$\psi$ -terpinene	-	1.13	2.95	-	-	-
cymene	43.73	40.37	104.20	18.22	26.42	26.83
unknown 3	-	-	-	-	-	1.13
unknown 4	-	-	-	-	-	-
$\xi$ -3-carene	-	-	0.66	-	-	-
rose oxide	-	-	2.03	-	-	-
unknown 5	-	-	0.56	-	-	-
unknown 6	-	-	-	0.55	1.50	1.41
unknown 7	3.57	5.55	15.18	-	4.15	3.62
citronellal	489.11	655.96	978.95	61.42	103.44	93.46
unknown 8	-	-	1.42	-	3.53	2.67
unknown 9	-	-	-	2.45	-	-
linalool	6.87	8.48	12.78	5.89	12.42	9.99
unknown 10	-	-	1.42	-	-	-
$\alpha$ -terpinolene	10.25	13.67	29.15	5.50	9.17	8.57
unknown 11	-	0.47	0.67	-	-	-
thujil alcohol	1.26	2.15	5.31	-	-	-
unknown 12	3.86	6.02	11.68	-	-	-
camphene hydrate	4.40	6.23	11.28	-	-	-

Table 15. Continued

Flavor components	(mg%)					
	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
isopulegol	10.17	13.72	19.21	-	0.73	1.46
1,4-terpineol	-	-	-	2.91	4.03	3.30
ethanol,2-(1-methylethoxy)	-	-	1.11	-	-	-
citronellyl acetate	14.50	20.95	46.00	32.27	46.18	38.34
2-pentadecanol	-	-	-	-	0.39	1.65
2-tridecanol	27.70	37.29	101.89	5.72	8.73	9.73
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	5.69	11.18	28.79	0.41	5.12	4.86
unknown 13	-	-	1.50	-	-	-
ethylene oxide trimer	-	-	3.46	1.17	1.33	2.61
1- $\alpha$ -terpineol	31.27	51.46	124.94	15.64	31.31	31.61
unknown 14	4.48	4.86	11.84	5.94	8.02	6.96
unknown 15	14.66	19.99	45.22	7.38	13.96	12.04
geranyl acetate	10.70	16.22	34.92	7.92	12.74	10.52
$\beta$ -citronellol	86.86	111.48	516.77	55.31	618.47	447.14
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	4.42	4.31	7.52	0.69	2.30	0.97
di-iso-propylamine	-	2.33	1.71	-	3.56	1.47
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	-	0.33	-	-	-	-
trans-teraniol	3.58	3.28	10.33	0.75	14.32	7.94
3,6,9,12,15-pentaoxanonadecane-1-ol	-	1.20	2.22	-	-	-
Total	4613.99	6387.41	9566.09	3887.03	6166.48	7245.15

**Table 16. Contents of flavor components from leaves of Chopi and Minchopi by diethyl ether extraction**

Flavor components	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
$\alpha$ -pinene	-	-	-	-	-	-
unknown 1	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -pinene	-	-	-	-	-	-
unknown 2	-	-	-	2.39	-	1.35
$\beta$ -myrcene	16.49	10.40	9.76	6.03	3.61	4.17
$\alpha$ -thujene	-	-	-	-	-	-
1-phellandrene	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	68.80	51.33	48.29	39.72	26.30	19.54
1,8-cineol	19.73	14.84	13.36	36.73	12.51	14.29
cis-ocimene	3.31	-	-	1.25	-	-
$\gamma$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
cymene	-	-	-	-	-	-
unknown 3	-	-	-	-	-	-
unknown 4	-	-	-	-	-	2.02
$\beta$ -3-carene	-	-	-	-	-	-
rose oxide	1.17	-	-	3.25	1.74	3.70
unknown 5	-	-	-	-	-	-
unknown 6	-	-	-	-	-	-
unknown 7	-	-	-	-	-	-
citronellal	13.04	9.84	11.08	-	2.43	-
unknown 8	-	-	-	-	-	-
unknown 9	-	-	-	-	-	-
linalool	-	-	-	-	-	-
unknown 10	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinolene	-	-	-	-	-	-
unknown 11	-	-	-	-	-	-
thujil alcohol	-	-	-	-	-	-
unknown 12	-	-	-	-	-	-

**Table 16. Contineud**

(mg%)

Flavor components	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
camphene hydrate	-	-	-	-	-	-
isopulegol	-	-	-	-	-	-
1,4-terpineol	3.22	-	-	-	-	-
ethanol,2-(1-methylethoxy)	-	-	-	-	-	-
citronellyl acetate	26.06	6.57	2.54	9.98	3.38	6.81
2-pentadecanol	-	-	-	-	-	-
2-tridecanol	1.98	1.56	-	-	-	-
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	-	-	-	-	-	-
unknown 13	-	-	-	-	-	-
ethylene oxide trimer	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpineol	32.42	8.17	9.59	6.95	10.66	7.66
unknown 14	4.09	-	-	0.26	-	-
unknown 15	-	-	-	0.75	-	-
geranyl acetate	-	-	-	3.17	-	2.17
$\beta$ -citronellol	23.75	10.04	4.99	1.33	10.34	6.48
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	-	-	-	-	-	-
di-iso-propylamine	-	-	-	-	-	-
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	10.07	-	-	-	-	-
trans-geraniol	1.65	0.58	-	-	1.65	-
3,6,9,12,15-pentaoxonadecane-1-ol	-	-	-	3.46	-	-
Total	225.78	113.33	99.61	115.27	72.62	68.19

#### 4) Hexane 추출법에 의한 향기 성분 변화

초피 및 민초피의 과피에 대하여 hexane으로 추출한 향기 성분을 GC와 GC-Mass로 분리·동정한 결과는 Table 17과 같다. 다른 용매 추출법 등에 비해 검출 성분의 종류나 향기 성분의 총량도 훨씬 적게 나타났다.

초기, 중기와 말기의 초피 과피에서 각각 12종, 8종, 15종의 성분이 검출되었고 그 총량은 각각 94mg%, 103mg%, 177mg%로서 채취 시기가 경과될수록 향기 성분의 함량이 증가하는 경향을 나타냈다.

초기의 초피 과피에서는 12종의 검출 성분 중 8종의 성분이 확인되었고 4종의 성분이 확인되지 않았는데 cymene이 39mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 2-cyclohexen-1-one,3-methyl이 21mg%, di-iso-propylamine이 12mg%, trans-geraniol이 5.30mg%의 순이었다. 중기에는 8종의 검출 성분 중 7종의 성분이 확인되었고 성분 1종만 확인되지 않았는데, 초기와 같이 cymene이 38mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 geranyl acetate가 19mg%, di-iso-propylamine이 18mg%의 순이었다. 말기에는 15종의 검출 성분 중 11종의 성분이 확인되었고 4종의 성분이 확인되지 않았는데, 초기, 중기와 같이 cymene이 37mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol이 27mg%, 15번의 미지 물질이 24mg%, 2-cyclohexen-1-one,3-methyl이 16mg%, linalool이 13mg%의 순이었다. 초기, 중기와 말기의 민초피 과피에서 각각 11종, 10종, 11종의 성분이 검출되었고 그 총량은 각각 46mg%, 72mg%, 112mg%로서 민초피의 과피에서도 초피 과피에서와 같이 채취 시기가 경과될수록 향기 성분의 함량이 증가하여 채취 초기에 비해 채취 말기에는 약 2.5배나 증가하였다.

초기의 민초피 과피에서 검출된 11종의 성분 중 8종의 성분이 확인되었고 3종의 성분이 확인되지 않았는데  $\beta$ -citronellol이 28mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 cymene이 6.78mg%의 함량이 대부분이었다. 중기에는 검출된 10종의 성분 중 8종의 성분이 확인되었고 미확인 성분이 2종이었는데 초기와 같이  $\beta$ -citronellol이 19mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 linalool이 17mg%, unknown 15가 13mg%의 순이었다. 말기에는 초기 및 중기와 유사하게 검출된 11종의 성분 중 9종의 성분이 확인되었고 2종의 성분이 확인되지 않았는데, 이 또한 초기 및 중기와 같이  $\beta$ -citronellol이 30mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로 2-cyclohexen-1-one,3-methyl이 22mg%, linalool이 16mg%, di-iso-propylamine이 15



mg%, citronellal이 10mg%의 순이었다.

이상과 같이 초피 및 민초피의 과피에 대한 향기 성분의 총량은 채취 초기에는 초피의 향기 성분 총량이 민초피에 비하여 약 2배였으나 채취 말기에는 약 1.5배 정도였다. 그리고 향기 성분은 모두 채취 시기가 경과할수록 함량이 증가함을 확인하였다.

초피 및 민초피의 잎에 대하여 hexane으로 추출한 향기 성분을 GC와 GC-Mass로 분리·동정한 결과는 Table 18과 같다.

초기, 중기와 말기의 초피 잎에서 검출된 향기 성분은 각각 8종, 5종과 4종이었고 그 총량은 각각 87mg%, 45mg%, 28mg%로 채취 시기가 경과할수록 상당량이 감소하였으며, 초기, 중기와 말기의 민초피 잎에서는 각각 6종, 2종과 6종이 검출되어 그 총량은 각각 107mg%, 24mg%, 20mg%로서 채취 시기의 경과에 따라 많이 감소하였다.

초기의 초피 잎에서 검출된 8종의 성분 중 5종의 성분이 확인되었고 2종의 성분이 확인되지 않았는데, trans-geraniol이 32mg%로서 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음으로  $\beta$ -citronellol이 22mg%, geranyl acetate가 14mg%의 순이었다.

중기에도 검출된 5종의 성분 중 4종의 성분이 확인되었고 1종의 성분이 확인되지 않았는데 geranyl acetate가 16mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 unknown 15가 13mg%, 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl이 7.88mg%,  $\beta$ -citronellol이 2.61mg%의 순이었다.

말기에 검출된 4종의 성분이 모두 확인되었는데,  $\beta$ -citronellol이 23mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음으로 2,5,8,11,14-penta oxahexadecan-16-ol이 9.66mg%, 2-cyclohexen-1-one이 4.43mg%, citronellal이 4.12mg%의 순이었다.

초기의 민초피 잎에서는 9종의 향기 성분이 검출되었는데 그 중 7종의 성분이 확인되었고 2종의 성분이 확인되지 않았는데,  $\beta$ -citronellol이 28mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 trans-geraniol이 22mg%, 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl이 20mg%의 순이었다.

중기에는 단지 2종의 성분만 검출·확인되었는데, trans-geraniol이 24mg%로 함량이 높았고  $\alpha$ -terpineol이 0.47mg%이었다.

말기에는 검출된 6종의 성분 중 5종의 성분이 확인되었고 1종의 성분이 확인되지 않았는데, trans-geraniol이 16mg%로 가장 높은 함량을 나타냈고 citronellal이 2.40mg%이었다.

이상과 같이 향기 성분이 잎에서는 초피나 민초피 모두 채취 초기에 향기 성분의 함량이 높았고 채취 시기가 경과함에 따라 향기 성분의 종류와 총량이 감소하는 경향

이 있다.

초피 및 민초피의 과피와 잎에 함유된 향기 성분 총량을 비교해 보면 과피에서는 채취 시기가 늦을수록, 그리고 잎에서는 채취 시기가 빠를수록 그 함량이 높았는데 이러한 경향은 수증기증류법과 methanol, diethyl ether, hexane 등의 용매 추출법에 의한 향기 성분의 분석 결과에서 공통적으로 나타났다.

**Table 17. Contents of flavor components from peels of Chopi and Minchopi by hexane extraction**

Flavor components	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
$\alpha$ -pinene	-	-	-	-	-	-
unknown 1	0.68	0.74	4.82	-	-	-
$\beta$ -pinene	-	-	-	-	-	-
unknown 2	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -myrcene	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -thujene	-	-	-	-	-	-
1-phellandrene	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	-	-	-	-	-	-
1,8-cineol	-	-	-	-	-	-
cis-ocimene	-	-	-	-	-	-
$\psi$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
cymene	39.79	38.50	37.68	6.78	5.57	3.30
unknown 3	-	-	-	-	-	-
unknown 4	-	-	-	-	-	-
$\xi$ -3-carene	-	-	-	-	-	-
rose oxide	-	-	-	-	-	-
unknown 5	1.06	-	1.51	0.43	1.40	1.37
unknown 6	1.54	-	-	-	-	-
unknown 7	-	-	-	-	-	-
citronellal	3.36	11.45	12.12	1.91	3.30	10.83
unknown 8	-	-	-	0.79	-	-
unknown 9	-	-	7.49	-	-	-
linalool	4.05	13.73	14.04	1.78	17.36	16.76
unknown 10	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinolene	-	-	-	-	-	-
unknown 11	-	-	-	-	-	-
thujil alcohol	-	-	-	-	-	-
unknown 12	-	-	-	-	-	-

( mg% )

**Table 17. Continued**

( mg% )

Flavor components	Samples					
	CP1	CP2	CP3	MP1	MP2	MP3
camphene hydrate	-	-	4.95	-	-	1.92
isopulegol	-	-	-	-	-	-
1,4-terpineol	-	-	-	-	-	-
ethanol,2-(1-methylethoxy)	-	-	-	-	-	-
citronellyl acetate	-	-	-	-	-	-
2-pentadecanol	-	-	-	1.51	-	-
2-tridecanol	0.41	0.03	0.71	-	-	-
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	-	-	4.91	-	-	4.74
unknown 13	-	-	-	-	-	-
ethylene oxide trimer	0.17	-	-	-	-	0.36
1- $\alpha$ -terpineol	-	-	-	-	-	-
unknown 14	-	-	-	0.01	-	-
unknown 15	4.32	-	24.06	-	13.09	-
geranyl acetate	-	19.28	11.39	-	1.75	-
$\beta$ -citronellol	-	-	-	28.21	19.51	30.14
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	21.24	-	16.25	0.90	-	22.33
di-iso-propylamine	12.76	18.01	10.43	1.95	7.22	15.13
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	-	-	27.21	-	1.38	-
trans-geraniol	5.30	1.93	-	1.74	1.48	5.62
3,6,9,12,15-pentaoxanonadecane-1-ol	-	-	0.18	-	-	-
Total	94.68	103.67	177.75	46.01	72.06	112.50

**Table 18. Contents of flavor components from leaves of Chopi and Minchopi by hexane extraction**

( mg% )

Flavor components	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
$\alpha$ -pinene	-	-	-	-	-	-
unknown 1	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -pinene	-	-	-	-	-	-
unknown 2	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -myrcene	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -thujene	-	-	-	-	-	-
1-phellandrene	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
limonene + $\beta$ -phellandrene	-	-	-	-	-	-
1,8-cineol	-	-	-	-	-	-
cis-ocimene	-	-	-	-	-	-
$\psi$ -terpinene	-	-	-	-	-	-
cymene	-	-	-	-	-	-
unknown 3	-	-	-	-	-	-
unknown 4	-	-	-	-	-	-
$\delta$ -3-carene	-	-	-	-	-	-
rose oxide	-	-	-	-	-	-
unknown 5	-	-	-	-	-	-
unknown 6	-	-	-	-	-	-
unknown 7	0.36	-	-	-	-	-
citronellal	-	0.44	4.13	-	-	2.40
unknown 8	-	-	-	-	-	-
unknown 9	-	-	-	-	-	-
linalool	-	-	-	-	-	-
unknown 10	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinolene	-	-	-	-	-	-
unknown 11	-	-	-	-	-	-
thujil alcohol	-	-	-	-	-	-
unknown 12	-	-	-	-	-	-

**Table 18. Continued**

( mg% )

Flavor components	Samples					
	CL1	CL2	CL3	ML1	ML2	ML3
camphene hydrate	-	-	-	-	-	-
isopulegol	-	-	-	-	-	-
1,4-terpineol	-	-	-	-	-	-
ethanol,2-(1-methylethoxy)	-	-	-	-	-	-
citronellyl acetate	-	-	-	-	-	-
2-pentadecanol	-	-	-	-	-	-
2-tridecanol	0.20	-	-	0.20	-	0.19
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	-	-	-	2.40	-	-
unknown 13	-	-	-	7.89	-	-
ethylene oxide trimer	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpineol	-	-	-	-	0.47	-
unknown 14	-	-	-	-	-	-
unknown 15	3.48	13.23	-	1.81	-	0.52
geranyl acetate	14.45	16.21	-	15.43	-	-
$\beta$ -citronellol	22.33	2.61	10.11	28.01	-	-
2-cyclohexen-1-one, 3-methyl	6.23	7.88	4.43	20.38	-	1.10
di-iso-propylamine	7.93	-	-	7.95	-	0.02
2,5,8,11,14-pentaoxahexadecan-16-ol	-	-	9.66	1.04	-	-
trans-geraniol	32.96	-	-	22.61	24.38	16.59
3,6,9,12,15-pentaoxanonadecane-1-ol	-	-	-	-	-	-
Total	87.94	40.37	28.33	107.72	24.85	20.82

마. 신미성분의 추출, 분리 및 동정

1) 추출용매별 신미성분 함량 비교

분쇄된 초피가루를 용매별로 신미성분의 추출정도를 확인하기 위하여 물, ethanol, chloroform, ethyl ether 및 hexane 등 5종의 용매 추출액을 감압농축기로 농축하여 각각의 용매 100ml에 녹여인 후에 1ml씩을 취하여 ethanol에 녹여 신미 정도를 관능적으로 측정된 결과는 Table 19에서 보는 바와 같다. 신미성분의 용출은 chloroform과 ethyl ether에서 아주 강하게 나타났으며, ethanol과 hexane에서도 상당히 많은 량이 검출되었고 물에서도 소량 검출되었다. 이와 같은 현상은 극성이 비교적 강한 용매부터 비극성 용매까지 검출되었다. 물에서 검출된 것은 초피를 향신료로 사용할 때 신미성분이 나타난 것과 같은 이유인 것으로 추정되어 진다.

**Table 19. Sensory quality of pungent principles of Chopi by extracting method**

	Extract Solvent				
	Water	Ethanol	Chloroform	Ethyl ether	Hexane
Sensory quality	+	++	+++	+++	++

+ : weakly, ++ : strong, +++ : very strong

2) 신미성분의 분리 및 정제

가) Column chromatography에 의한 신미성분 분리

용매별로 추출하여 신미성분이 제일 강하게 확인된 chloroform 추출액을 silica gel column chromatography를 행하여 10ml씩 분취하고 농축한 후 ethanol에 용해 시켜 관능검사로 신미성분을 확인 한 결과는 Table 20에서 보는 바와 같다. 즉, 분획 1~23번까지는 신미를 느낄 수 없었고 24번부터 나타나서 27번 분획에서 강하게 나타났고 32번 분획부터 점점 약하게되어 37번 이상 분획에서 신미성분의 감지되지 않았다. 따라서 본 실험에서는 신미성분이 강한 26번 분획부터 31번 분획 까지를 이후의 시료로 사용하였다.

**Table 20. Sensory quality of the fraction of the pungent principle of Chopi**

	Fraction No.														
	1~23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37~100
Sensory quality	-	+	+	++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	-

-: not detected, +: weakly, ++: strong, +++ : very strong

나) 분획물의 UV 측정값

Silica gel column chromatography에서 분리한 각각의 분획을 감압 농축하여 chloroform으로 용해하여 각각의 분획을 spectrophotometer에 scanning spectrum의 결과는 Fig. 6에서 보는 바와 같으며, 이 spectrum에서 구한  $\lambda_{max}$ 값인 270nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Table 21에서 보는 바와 같다. 신미성분이 강한 분획과 없는 분획을 비교하여 본 결과 270nm에 강한 흡광을 보인 분획에서 신미성이 강하여  $\lambda_{max}$ 을 270nm으로 추정하였다.

신미성분이 없는 1번~23 번 분획에서는 흡광도 0.5 이하를 보였으며 신미성분을 느낀 24번~26번 분획에서는 흡광도가 급격히 상승하여 21.3로 증가하였고 신미성분이 강한 분획인 27번과 28번 분획은 분광도가 123.2와 111.3으로 흡광도가 매우 높았고 신미성분이 감소한 32번 분획 이후의 흡광도는 급격히 감소하였다. 따라서 이와 같이 신미성분의 관능검사와 column chromatography의 분획의 흡광도를 비교한 결과 HPLC의 검출 파장을 270nm로 결정하였다.



**Print Window**

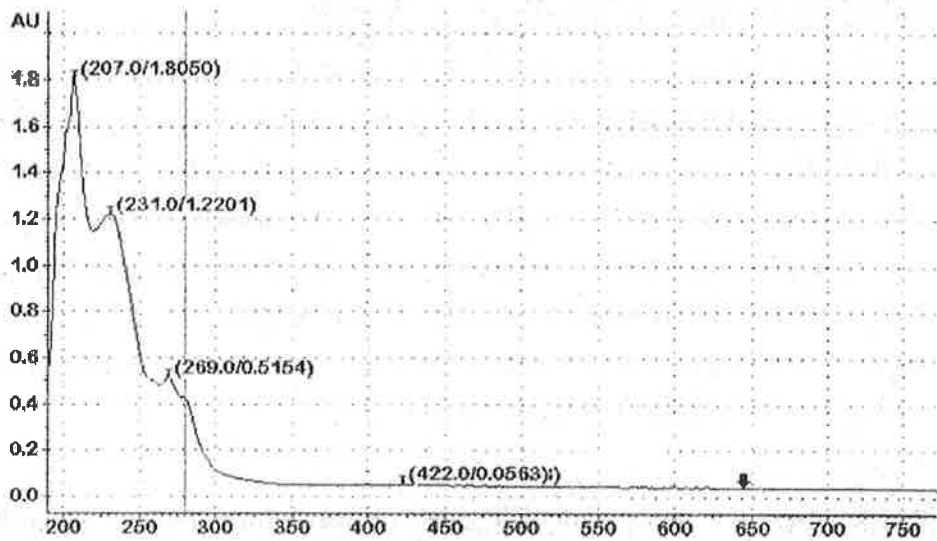


Fig 6. Ultraviolet spectrum of fraction No.26-31 in Table 20.

**Table 21. Optical density of the fraction of the pungent principle of Chopi**

	Fraction No.														
	1~23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37~100
OD (270nm)*)	0.5	1.4	12.3	21.3	123.2	111.3	74.3	42.5	15.3	9.1	3.3	2.3	2.2	2.1	1.7

\*) : 흡광도×회석배수

다) 신미성분의 HPLC에 의한 순수 분리

Silica gel column chromatography에서 분획하여 신미성분이 강하게 확인된 26번부터 31번 분획까지를 HPLC를 사용하여 물질을 분리한 chromatogram은 Fig. 7에서 보는 바와 같고, 각 peak의 신미성분의 관능적 검사결과와 함량은 표 22에서 보는 바와 같다. 총 peak수는 10개가 확인되었으며, 그 중 7개 peak를 계산이 가능하였고 각 peak를 분취하여 감압 농축하고 ethanol에 녹여서 관능검사를 한 결과 7번 peak만이 신미성이 있었고 기타 peak에서는 신미성을 느낄수 없었다.

Peak별 면적의 비율을 보면 7번 peak가 65%, 6번 peak 26.8%, 1번 peak 4%의 순으로 대부분을 6과 7번 peak가 차지하고 있었다.

**Table 22. Sensory quality of each peak of chloroform extract separated by the HPLC**

	Peak No.						
	1	2	3	4	5	6	7
Sensory quality	-	-	-	-	-	-	+++
Relative peak area(%)	4.0)	0.4	1.7	1.6	0.5	26.8	65.0

-: not detected, +: weakly, ++: strong, +++ : very strong

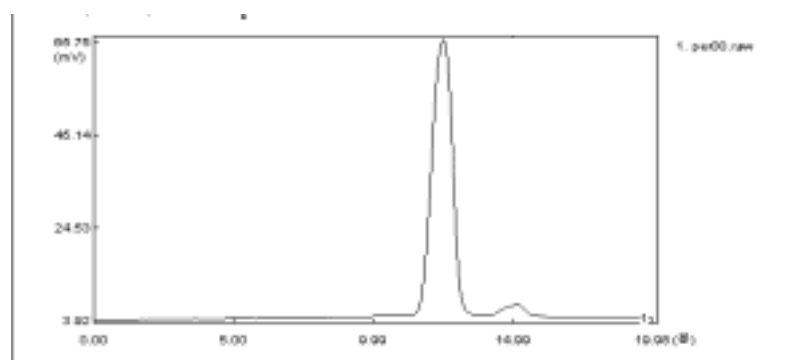
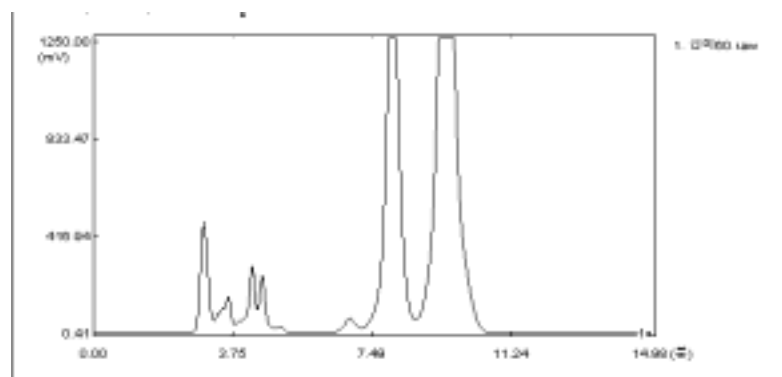


Fig. 7. HPLC chromatogram of fraction No.26-31 in Table 20 monitored by UV detector.

### 3) 신미성분의 동정

#### 가) UV spectrum에 의한 구조분석

HPLC에서 분리된 7번 peak를 분취하여 농축 후에 hexan에 녹여 UV spectrophotometer를 사용하여 얻은 UV spectrum은 Fig. 8과 같다. 209nm에서 1.24, 233nm에서 0.65, 259nm에서 0.54, 269nm에서 0.61 및 279nm에서 0.50의 흡광도를 보인 것으로 보아 이중 결합과 conjugation결합을 하고 있으며 C=O결합을 갖고 있는 물질로 추정되어 진다.

#### 나) IR spectrum에 의한 구조분석

HPLC에서 분리된 7번 peak를 분취하여 농축 후에 chloroform에 용해 시켜 KBr cell에 넣어 IR spectrophotometer로 흡수 spectrum을 측정한 결과는 Fig. 9와 같다. spectrum은  $2900\text{cm}^{-1}$ ,  $1750\text{cm}^{-1}$ ,  $1450\text{cm}^{-1}$  및  $1375\text{cm}^{-1}$ 에서 흡수 peak를 보였어 이들 구조는  $\text{CH}_2\text{-CH}$ ,  $\text{CH=CH}$ ,  $\text{C=O}$ ,  $\text{C=O-NH}_2$  등의 구조를 갖는 것으로 판명되었다.

#### 다) LC-Mass에 의한 구조분석

신미성분의 분자량과 물질 확인을 위하여 HPLC에서 순수분리된 분획을 Hypersil column를 사용하여 LC-Mass로 분석하였으며 LC-Mass total ion chromatogram은 Fig. 10와 같으며 신미성분의 mass spectrum은 Fig. 11과 같다. mass spectrum에서 보면  $273\text{m/z}$ ,  $255\text{m/z}$ ,  $129\text{m/z}$  및  $69\text{m/z}$ 에서 peak가 있는 것으로 분자량은 273이며 이는 Yasuda 등이 보고한 hydroxy  $\Psi$ -sanshool에서 이중 결합이 1개 감소한 유도체로 추정되어 졌다. 반면 Yasuda 등은 5개의 peak에서 신미성분이 존재하는 것으로 보고하였으나 본 연구에서는 HPLC의 7번 peak 이외에서는 신미성이 없었으나 Yasuda 등이 보고한 HPLC chromatogram과 같은 결과를 보였다.

Print Window

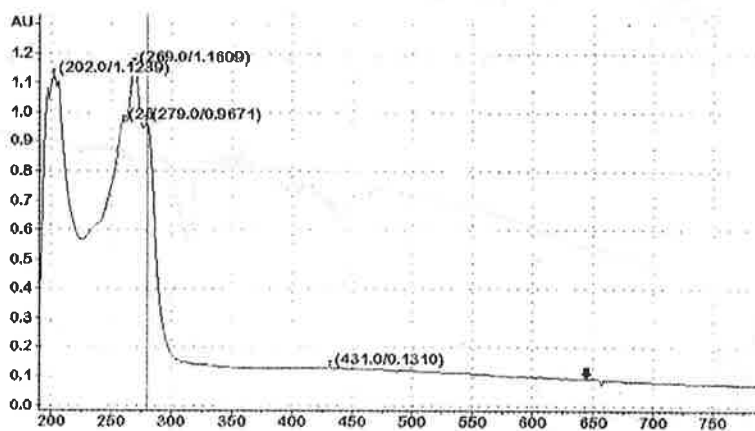
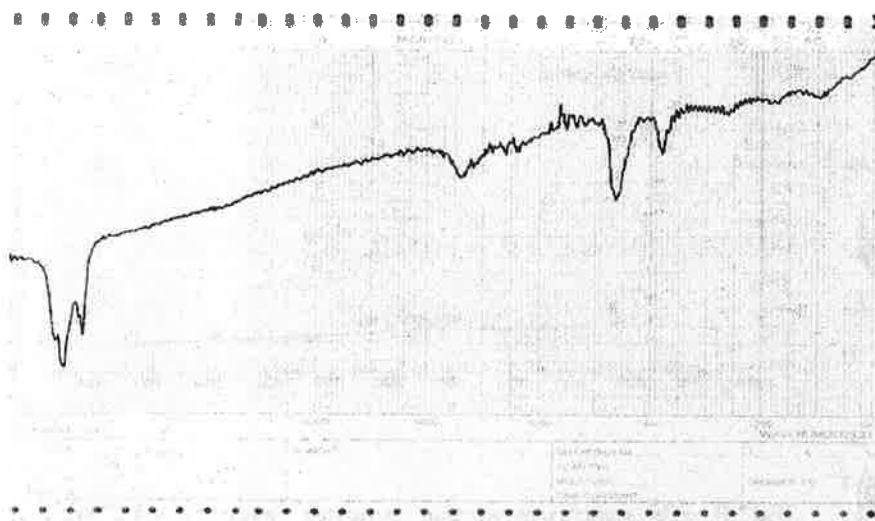
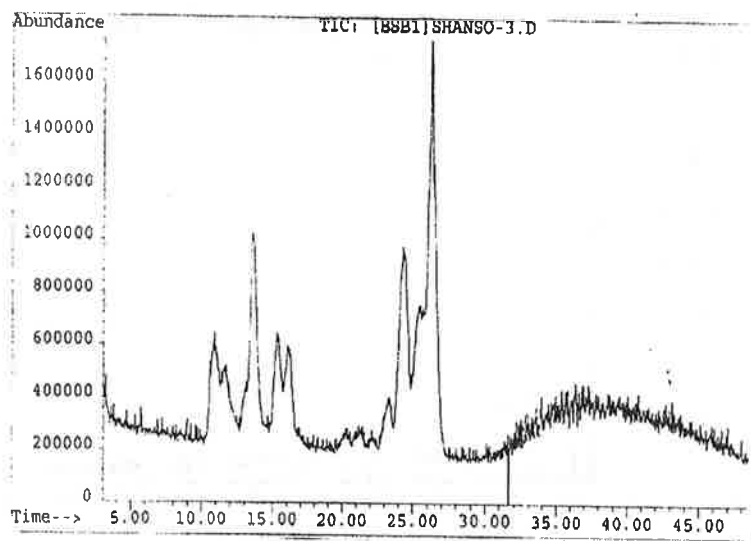


Fig. 8. UV spectrum of the pungent principle of Chopi



**Fig. 9.** Infrared spectrum of the pungent principle of Chopi.



**Fig. 10. LC-Mass total ion chromatogram of the pungent principle of Chopi**

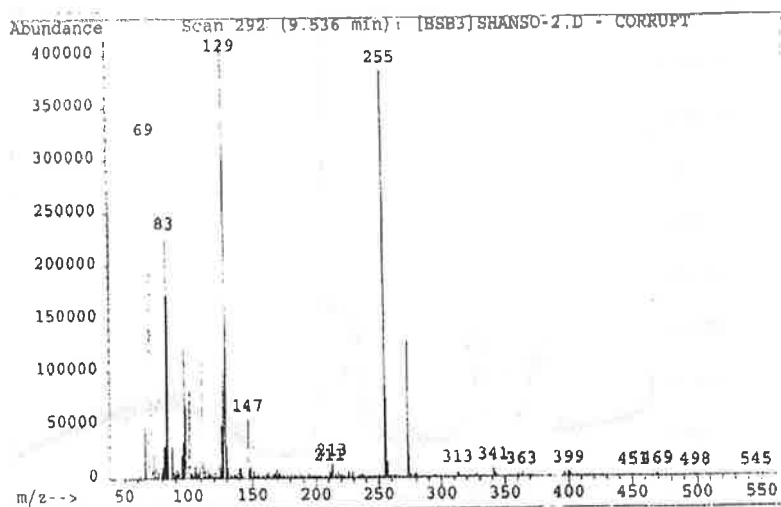


Fig. 11. Mass spectrum of the pungent principle of Chopi



#### 4. 참고문헌

1. 이서래 : 식품의 안전성 연구, 이화여대출판부, pp. 389-397 (1993)
2. 세종실록지리지 : 卷148·149·150·151·153.
3. 金洪善, 柳庚秀 : 왕초피나무 과피의 생약학적 연구(I), 生藥學會誌, 1(4), 125-132 (1970).
4. 權昌鎬, 洪南斗, 金昌政 : 산초류 생약의 성분 검색, 生藥學會誌, 4(4), 209-212 (1973)
5. 黃震聲, 金榮斗, 金是璟 : 초피나무의 成分利用 및 栽培方法에 관한 연구, 文教部 研究報告書 농학계 1, 1-9 (1979)
6. 임업시장 : 야생식용식물도감, 237
7. 李時珍 : 本草綱目, 807, 고문사 (1975)
8. 林基興 : 藥用植物學(각론), 160-161, 166, 동명사 (1975)
9. 武政三男 : 스파이스百科事典, 203, 三琇書房 (1981)
10. 육창수 : 한국약품자원식물도감, 234, 진로출판사 (1981)
11. 北村四郎, 村田源 : 原色日本植物圖鑑(木本篇(I)), 324, 保育社 (1983)
12. 李昌福 : 大韓 植物學圖鑑, 501-502, 향문사 (1982)
13. 李春寧, 金友政 : 天然 香辛料와 食用色素, 鄉文社, 29-30 (1988)
14. 이원호 : 약초재배법과 야생약초의 이용법, 獎學出版社, 241-242 (1976)
15. 李昌福 : 植物分類學, 183-184 (1969)
16. 木村康一, 木村孟淳 : 原色日本藥用植物圖鑑, 47-48 (1975)
17. 이기원, 정우규 : 가지없는 신품종 초피나무의 종말과 기내 대량생산 및 유용성분 분석, 제35회 전국과학전람회 특집, 37-50 (1989)
18. 宋柱澤 : 韓國資源植物, 美都文化社 (1984)
19. 任慶彬 : 特用樹栽培學, 200 (1973)
20. 윤한교, 김지문 : 민산초나무 종실의 油脂 및 蛋白質 組成에 관한 연구, 忠南大 農技研報, 3(2), 170-176, 1976. (Yoon, H.K. and Kim, C.M., Analytical Studies on the Composition of Oil and Protein in the Seed of Thornless Chinese Pepper *Zanthoxylum schinifolium* var. *inermis* Nakai, 충남대학교 농업기술연구보고, 3(2), 170-176 (1976)
21. 농림수산부 : 인터넷 홈페이지

22. 陸昌洙, 安德均 : 現代本草學, 256-257 (1972)
23. Asano, M. and Aihara, T. : Studies on the Components of Semen Xanthoxyli, Yakugaku Zasshi 69, 79-82 (1949).
24. 山崎峯次郎 : 香辛料 III, 에스비-食品株式會社, 223-274 (1976)
25. 田中嘉二 : サンショウの栽培と用途, 果實日本 3, 60-61 (1990)
26. 안동 장씨 : 황혜성 편(1985), 閨壺是議方(규곤시의방; 음식디미방)
27. 中宗實錄 : 5년 10월 乙酉條
28. 金昌玟, 許仁玉 : 왕초피나무의 성분研究, 생약학회지, 12(1), 5-11 (1981)
29. 李盛雨 : 고려 이전의 韓國食生活史 研究, 52·149·242·373, 鄉文社 (1978)
30. 李盛雨 : 한국식품문화사, 교문사, 60-61 (1997)
31. 李盛雨 : 調味 香辛料의 歷史, 한국 식문화 학회지 5(3), 373-379 (1990)
32. 李盛雨 : 古代 韓國食生活史 研究, 鄉文社, 54 (1992)
33. 송재철 : 식품재료학, 교문사, 414 (1994)
34. 김재길 : 원색 천연약물 대사전 상권, pp. 358-359, 남산당 (1984)
35. 충청남도농촌진흥원 : 약선요리, 10 (1996)
36. 윤서석 : 한국의 음식용어, 283, 민음사 (1991)
37. 김연식 : 한국사찰음식, 24·63·84·126, 우리출판사 (1997)
38. 相原傳, 鈴木猛 : 山椒の成分に就いて(第5報), 殺蟲及び成分, 藥學雜誌 71, 1323 (1951)
39. 정명현 : 식물약품화학, 37, 삼성출판사 (1980)
40. 김용두, 강성구, 오명록 : 한국산 초피의 어독성분에 관한 연구, 한국영양식량학회지 22(5), 617 (1993)
41. 제주 생약학연구회 : 현대생약학, 98-99 (1988)
42. 朴光禹, 金三植, 崔在植 : 초피나무屬의 엽과 엽침의 형태 및 해부학적 특징에 관한 연구, 경상대학교 농연보 22-2, 77-83 (1988)
43. 박명희 : 山椒의 지방산 조성에 관한 연구, 韓社전문대 논문집 6, 725-729 (1981)
44. 崔英姬 : Zanthoxyli Semen의 脂質成分에 關한 研究, 嶺南大學校 大學院 碩士學位論文 (1982)
45. 韓熙子 : 韓國産 초피와 山椒의 과피 및 種子의 成分에 關한 研究, 漢陽大學校 博士學位論文 (1988)

46. 정우규, 안중극, 성민웅 : 민초피나무(*Zanthoxylum piperitum* D.C. var. *inermis* Makino) 種子の 아미노산과 脂肪酸 組成의 分析, 경상대학교 과학교육연구소보 16, 89-96 (1996)
47. 정우규, 안중극, 성민웅 : 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* D.C.) 種子の 아미노산과 脂肪酸 組成의 分析, 경상대학교 과학교육연구소보 16, 97-104 (1996)
48. 정현숙 : 韓國産 초피(*Zanthoxylum piperitum* D.C.)의 辛味 및 精油成分에 關한 研究, 全南大學校 碩士學位論文 (1984)
49. 申秀澈, 徐在信, 鄭賢淑 : 초피나무 樹皮의 脂質成分에 關한 研究, 順天大學論文集 2, 223-228 (1983)
50. 이경석 : 한국산 초피(*Zanthoxylum piperitum* D.C.)의 휘발성 향기성분 분석에 관한 연구, 연세대학교 대학원 석사학위논문 (1989)
51. 권선진 : 초피나무의 휘발성 성분 및 항균력에 관한 연구, 부산대학교 대학원 석사학위논문(1992)
52. 韓·邊 : 食品腐敗微生物の増殖に及ぼすサンショウ(*Zanthoxylum piperitum* DC) の阻害効果と抗微生物化合物の同定, *Adv. Food Sci* 18(1/2) (1996)
53. 박필숙 : 수중 식물종자유의 급이가 흰쥐의 체지방조성에 미치는 영향, 경상대학교대학원 박사학위논문 (1990)
54. Murayama, Y. und Shinozaki, K. : Über den scharfen Bestandteil des *Xanthoxylum piperitum* D.C.(Vorläufige Mitteilung), *Yakugaku Zasshi*, 379-384 (1931)
55. Aihara, T. : On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. II. The Isolation of Sanshoöls and the Structure of Sanshoöl- I., *Yakugaku Zasshi* 70, 405-409 (1950)
56. Aihara, T. : On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. III. The Structure of Sanshoöl- II., *Yakugaku Zasshi* 70, 409-411 (1950)
57. Aihara, Tutou : On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. IV. The Structure of Sanshoamide., *藥學雜誌* 71, 1112-1115 (1951)
58. Crombie, L. and Shah, J.D. : Amides of Vegetable Origin. Part VII. Synthesis of N-isoButyldodeca-trans-2: trans-4: trans-8- and trans-2: trans-4: cis-8-trienamide and Their Relation to Sanshoöl I, *J. Chem. Soc.* 4244-4249 (1955)

59. Crombie, L. and Tayler, J.L. : Amides of Vegetable Origin. Part VIII. The Constitution and Configuration of the Sanshools, J. Chem. Soc. 2760-2766 (1957)
60. Katayama, T. : Chemical Significance of the Volatile Components of Spices in the Food Preservative Viewpoint I. On the Volatile Components of *Xanthoxylum piperitum*, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries No. 6·7, 511-514 (1958)
61. Abe, F. and Furukawa : Yakugaku Zasshi 93, 624 (1973)
62. Abe, F., Yahara, S., Kubo, K., Nonaka, G., Okabe, H. and Nishioka, I. : Studies on *Xanthoxylum* spp. II. Constituents of the bark of *Xanthoxylum piperitum* DC, Chem. Pharm. Bull., 22(11), 2650-2655 (1974)
63. Kurita, N. and Koike, S. : Synergistic Antimicrobial Effect of Sodium Chloride and Essential Oil Components, Agric. Biol. Chem., 46(1), 159-165 (1982)
64. Kusumoto, S., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : Constituents of Fruit Oil from Japanese Pepper, Chem. Soc. Bull. 41, 1945-1950 (1968)
65. Kusumoto, S., Ohsuka, A. and Kotake, M. : Constituents of Leaf Oil from Japanese Pepper, Chem. Soc. Bull., 41, 1950-1953 (1968)
66. Sakai, T., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : A Comparative Study of the Constituents of Volatile Oils of *Zanthoxylum*, Chem. Soc. Bull. 43, 484-487 (1970)
67. Yasuda, I., Takeya, K., and Itokawa, H. : Two New Pungent Principles isolated from the Pericarps of *Zanthoxylum ailanthoides*. Chem. Pharm. Bull. 29(6), 1791-1793 (1981)
68. 安田一郎, 竹谷孝一, 糸川秀治 : 辛味成分および精油成分による本邦市場の中國産山椒の品質評價, 藥學雜誌, 36(4), 301-306 (1982)
69. Yasuda, I., Takeya, K., and Itokawa, H. : Distribution of Unsaturated Aliphatic Acid Amides in Japanese *Zanthoxylum* Species. Phytochemistry, 21(6), 1295-1298 (1982)
70. 安田一郎 : 山椒の成分・化學, 現代東洋醫學 16(3), 422-428 (1995)
71. 有富正和 : 食用植物の化學的成分(第2報), サンショウ葉のフラボノイド, 家政學

雑誌 34(4), 236 (1983)

72. Fish, F., Gray, A. I. and Waterman, P. G. : Methanol-soluble quaternary alkaloids from African *Fagara* species, *Phytochemistry* 1(11), 3007-3014 (1972).
73. 川原一仁・木谷千穂・田中俊弘, 和歌山縣におけるブドウ山しょうの生産に関する報告, *Nat. Med.* 48(4), 317-321 (1994)
74. 吳垠, 下田満哉, 箴島豊 : 葉山椒及び青山椒の香氣成分の同定・定量と試料間變動, *日本農藝化學會誌* 70(9), 1001-1005 (1996)
75. 小池淳平, 塩田聡, 竹内秀達, 折橋正浩, 石黒幸男 : 山椒配合外用劑の薬理作用について, *家庭薬研究*, 15, 27-30 (1996)
76. 尾崎幸紘 : 山椒の薬効・薬理, *現代東洋醫學* 16(3), 429-431 (1995)
77. 阿部フミ子, 古川まゆみ, 野中源一郎, 岡部光, 西岡五夫 : *Xanthoxylum*屬植物の研究(第1報) サンショウの根の成分, *薬学雑誌* 93, 624-628 (1973)
78. 小松かつ子, 伊藤親, 劉玉萍, 難波恒雄 : 『花椒』及び『山椒』の生薬學的然究(第1報) 日本産*Zanthoxylum*屬及び*Fagara*屬の果實の形態,及び『山椒』の基源について, *Nat Med* 49(2), 137-147 (1995)
79. 米田該典 : 山椒の生産と資源, *現代東洋醫學* 16(3), 418-421 (1995)
80. AOAC : Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 31-361-126-127-814 (1980)
81. 禹順子, 柳時生 : 原子吸光分析을 위한 食品試料前處理方法, *한국식품과학회지*, 10(4), 225 (1983)
82. Perkin-Elmer Corporation : Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry, Norwak Com. (1986)
83. Snell, D. and Snell, C.T. : Colorimetric method of analysis, 3rd ed. Van Nostrand, N.Y., 3 (1963)
84. Instruction Manual for the L.K.B. 4150 Alpha Amino Acid Autoanalyzer (1975)
85. Ohara, I. and S. Ariyoshi : Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acid in plasma, *Agric. Biol. Chem.*, 43(7), 1473 (1979)
86. Schults, T.H., Flath, R.A., Mon, T.R., Enggel, S.B. and Teranishi, R. : Isolation of Volatile Components from a Model System, *J. Agric. Food*

Chem., 25, 446 (1977)

87. Teranishi, R., U. Keller, R.A. Flath and T.R. Mon : Comparison of Batchwise and Continuous Stream Distillation: Solvent Extraction Recovery of Volatiles from Oleoresin Capsicum, African Type, J. Agric. Food Chem. 28 (1980)
88. Vejaphan, W., C. Thomas, Y. Hsieh and S.S. Williams, Volatile Flavor Components from Boiled Crayfish Tail Meat : J. Food Sci., 53(6) (1988)
89. Kovats, E. : Gas-chromatographie charakterisierung organischer Verbindungen teil 1: Retentionindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone, Helv. Chem. Acta 41, 1915 (1958)
90. Philip, I. : Identification of Volatile Components: Mass Spectrometry for Flavor Research, Food Tech. 23, 103 (1969)
91. Anthony, A.W., Terry, A.H. and Owen, G.T. : The Gas Chromatographic Mass Spectrometric Examination of the Volatiles Produced by the Fermentation of a Sucrose Solution, Z. Lebensm. Unters. Forsch. 172, 377 (1981)
92. Johnson, E.L. and R. Stevenson : Basic Liquid Chromatography, Varian Associates Inc. (1978)
93. 伊藤親, 片桐仁史, 佐藤昭子, 施大文, 門田重利, 小松かつ子, 難波恒雄 : 『花椒』及び『山椒』の生薬學的研究(第5報)-Zanthoxylum亞屬植物の果皮及び市場品の精油及び辛味成分, Nat. Med. 51(3), 249-258 (1997)

## 제2절 초피의 항균성과 항균성물질에 관한 연구

### 1. 서론

오늘날 식품의 품질 저하를 방지하고 보존성을 유지하는 식품저장을 크게 두가지로 구분할 수가 있는데 인스턴트 식품이나 통조림 식품처럼 가공을 주체로 하는 방법과 저온이나 냉동법으로 천연의 식품을 그대로 저장하는 방법이다. 전자의 가공을 주체로 한 것은 품질의 저하를 피할수 있는 범위내에서 원형이나 원래성분의 변화를 허용하는 방법이며 후자는 원형이나 원성분을 되도록 변화시키지 않는 방법<sup>1)</sup>으로 후자의 경우가 훨씬 바람직한 저장방법이라 하겠다. 그러나 모든 식품을 원형이나 원성분을 최대한 유지할수있는 저온이나 냉동의 방법으로만 저장할 수가 없으므로 가공기술과 화학합성품인 보존료 등을 사용하여 저장의 효과를 가져오는 것이다. 식품저장 기술의 핵심은 미생물의 침입방지 및 침입한 미생물의 생육을 억제하는 것과 식품자체 성분의 상호작용이나 식품조직내에 내재하는 효소에 의한 생화학적 반응을 저지<sup>2)</sup>하는 것인데 이 경우에 사용되는 대부분의 보존료는 화학합성품으로 사용농도가 높을수록 보존효과 즉 저장효과가 높기 때문에 그 사용은 날로 증가하고 있는 실정이다. 그러나 식품첨가물로 허용된 보존료도 대부분의 화학물질과 같이 목적하는 기능 외에 부작용 및 독성을 나타냄으로서 그 안전성에 문제가 제기되고 있으며 특히 최근 소비자들의 식생활수준의 향상으로 식품에 대한 건강지향적 요구에 따라 이에 대한 관심이 고조되고 있고 화학합성품인 식품첨가물에 대한 기피현상이 강하게 일어나고 있다.<sup>3)</sup>

이러한 이유 때문에 인체에 무해한 대체 보존료가 필요하게 되었으며<sup>4)</sup>, 천연물질에 존재하는 항균성 물질을 식품의 보존에 이용하고자 하는 연구가 오래전부터 수행되어 왔다<sup>5-10)</sup>. 자연계에는 항균작용을 나타내는 물질이 많이 알려져 있고, 동식물 또는 미생물에 있어서도 여러 가지 형태의 자기 방어 수단으로서 항균 기능을 갖추고 있다<sup>2)</sup>. 그러나 항균작용을 나타내는 천연물이 식품보존료로서 이용되기 위해서는 반드시 안전성과 경제성이 확보되어야 하기 때문에 식품의 경우에는 인간이 계속해서 섭취해왔던 동식물의 조직으로부터 항균성분을 추출해서 이용하는 것이 바람직하다고 본다<sup>4)</sup>. 이러한 측면에서 현재까지 일상생활에서 많이 섭취해온 식품재료나 생약재에 대한 항균성 물질의 검색과 이용에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있는데, 주로 향신료와 그 정유성분 그리고 미생물이 생성하는 항균물질 등에 대해 이루어지고 있다

이러한 연구 결과 천연 항균성 물질과 그 기작이 서서히 밝혀지고 있는데 천연 항균성 물질은 식물이나 동물의 구성성분으로 존재하거나 외부의 자극에 의하여 생체내에서 대항물질로 만들어 지거나 발효과정 중 생성된 화학물질이 다른 미생물의 성장을 저지하기도 한다<sup>18)</sup>.

대부분의 천연 항균성 물질은 동식물 체내에 한 성분으로 함유된 경우가 많으며 단백질, 특정효소, 유기산, 식물의 정유 그리고 식물의 특정성분 등이 항균성을 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>19)</sup>.

단백질 성분으로 계란에 함유된 ovalbumin, avidin, lysozyme과 우유에 존재하는 lactoferrin 등이 항균성을 가지는 것으로 알려져 있고<sup>19-22)</sup>, 또 백혈구에 존재하는 cation protein이 *Escherichia coli*에 상당한 항균성을 나타내고 있다. Lactoperoxidase는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 결합하여 여러 가지 SCN-을 합성하는 중간 산화물을 만들어 이들이 항균성을 보이는 것으로 알려져 있다<sup>23)</sup>.

천연물에 함유된 산으로 succinic, malic, tartaric 및 benzoic acid 등은 미생물이 특정 아미노산의 이용을 저지함으로써 증식 억제효과를 나타내며<sup>24-27)</sup> 동식물의 조직에 함유된 탄소수가 12-18개의 지방산도 항균성 물질로 알려져 있다<sup>28-29)</sup>.

향신료들도 음식에 향미를 부여하는 기능과 동시에 항균작용을 나타낸다는 사실이 많은 연구로 보고되고 있다. Ueda 등<sup>30-31)</sup>은 각종 향신료들의 향미생물작용에 관하여, 山下<sup>32)</sup>는 향신료를 이용한 천연계 보존제를 보고하였고, Al-Delaimy 등<sup>33)</sup>과 Johnson 등<sup>34)</sup>, 그리고 Tansey<sup>35)</sup>는 마늘에서, Shama 등<sup>36)</sup>은 양파의 추출물로 부터 항균활성을 연구 보고하였다. Farag 등<sup>37)</sup>은 향신료 정유성분이, Batt 등<sup>38)</sup>은 당근의 종자 기름이 *Aspergillus parasiticus*에 의한 aflatoxin생성 저지효과가 있다고 보고하였고, Conner 등<sup>39)</sup>은 32종의 식물정유 중 일부 향신료들이 13종의 식품 부패균과 효모의 증식억제 효과가 있다고 보고하였다.

또한 강 등<sup>40)</sup>은 26종의 일반 식용야채 중 파, 마늘, 시금치 및 호박 등이 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*의 증식을 억제하는효과가 있으며, 정 등<sup>41)</sup>은 쭈쭈 중의 정유성분이 *Saccharomyces*

*cerevisiae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Aspergillus oryzae* 및 *Bacillus subtilis* 등에 항균효과가 있었다고 보고하였고, 강<sup>42)</sup>은 무화과의 추출물이 세균, 효모 및 곰팡이 등에 강<sup>43)</sup>은 갖의 추출물이 병원균과 식중독균, 식품과 관련이 있는 세균 및 효모에 강한 항균효과가 있다고 보고하였다.



현재 식품에 이용되고 있는 천연보존료로서는 에탄올 발효법으로 제조한 유기산, 향신료 추출물, pectin 분해물, 멜라노이딘 등이 있다. 또한 이것들의 천연물과 식품 위생법에 의해 지정된 식품 첨가물에 표시의무, 사용제한이 없는 glycine, 유기산, 저급지방산 에스테르, 중합인산염 등을 배합한 천연보존제가 보급되고 있다<sup>2)</sup>.

초피(*Zanthoxylum Piperitum* De Candolie)는 운향과(Rutaceae)의 Citrus 屬에 속하는 *Zanthoxylum* 종의 하나로 이들의 種實을 초피, 잼피, 제피, 川椒(천초), 巴椒(파초), 南椒(남초), 點椒(점초), 漢椒(한초), 蜀椒(촉초) 및 山椒(산초)라는 수많은 이름으로 부르며 예로부터 우리나라에 자생하고 있어 天然 香辛料로서뿐만 아니라 약용식물로서 많이 활용되어 왔다. 香辛 成分을 많이 함유하고 있는 초피나무는 중국, 일본, 우리나라 중부이남에 주로 자생하고 있는 낙엽활엽관목으로서, 2~3m 정도 자라며 托葉(탁엽)이 변한 가시가 약 1cm 크기로 對生하는데, 잎은 互生하고 奇數 1회 羽狀複葉이며 小葉은 9~19개 정도의 긴 달걀형으로 톱니를 가지고 있다. 4~6월에 雌雄異體의 녹색 작은 꽃이 復總狀花序로 많이 피며 9월 경에 광택 있는 조그마한 구형의 흑색 열매가 맺히는데, 이 열매의 과피와 잎을 비롯하여 樹皮나 뿌리 등에도 독특한 매운 맛 성분과 각종 精油成分 그리고 油脂가 함유되어 있다.<sup>44-45)</sup>

기본종인 초피나무(*Zanthoxylum Piperitum* De Candolie)에 대하여, 변종이라 볼 수 있는 민초피 나무(*Zanthoxylum Piperitum* D.C. var. *inerme*)는 가지에 가시가 없는데 이것 또한 덕유산 (거창군 북상면), 합천, 산청 등지에 자생하고 있으며 이것은 근래에 맨들쭈피라고도 불리고 있다.<sup>46-47-48)</sup>

초피나무는 辛味成分이나 香氣가 있는 精油成分을 함유하고 있기 때문에 예로부터 중국에서는 초피 [花椒] · 계피 · 회향 · 진피 · 정향 등의 五香중에서 초피를 으뜸가는 香辛料로 이용해 왔고, 일본에서도 일본요리에 특유한 풍미를 주는 천연 香辛料로서 또는 藥用식물로서 널리 이용하여 왔다.<sup>49-50)</sup>

우리나라에서는 조선시대 초기의 「閩壺是義方」(규곤시의방)에서 오이김치 등의 김치류 외에도 만두 · 개장국 · 자라탕 · 붕어찜 · 계젓 등 여러 가지 요리에 초피(천초)를 양념으로 많이 이용한다고 전하고 있고,<sup>51)</sup> 17세기 말엽의 「要錄」이라는 古食品書에도 오늘날의 고추 대신 초피가 香辛料로 이용되었다고 전해지고 있기 때문에 임진왜란 전후 일본에서 유입되었다는 고추<sup>50-52)</sup>를 사용하기 훨씬 전부터 초피를 이용하였음을 알 수 있다. 따라서 유사 이래 근세조선 초기 고추가 유입되기 전까지는 가장 일반적인 香辛料로 초피를 이용하여 온 것으로 추정된다.<sup>52-53)</sup>

전래의 천연 양념류 가운데 ‘椒’(초) 字를 가진 川椒(천초), 山椒(산초), 胡椒(후추),

苦椒(고추) 중 우리나라에서 自生해 온 초피와 山椒類가 전통적인 매운맛의 조미를 위한 固有의 天然 香辛料로 주로 이용되었고, 藥用이나 製油用으로도 이용되었는데, 동물성 먹이감을 많이 취하였던 석기시대에도 초피류의 天然 香辛料를 상상 이상으로 많이 이용하였을 것으로 추측되며,<sup>54-55)</sup> 산초보다 초피의 이용도가 매우 높아 高麗時代에는 초피가 참초(眞椒)라 불려지기도 하였다. 고추가 사용되기 전부터 초피를 김치류의 香辛料로 이용해 온 이래 현재까지도 중부 이남의 일부 지역에서는 고추로 담근 김치에 초피가루를 加味하거나 민물고기류의 매운탕 등에 첨가하고 있는데, 이는 초피가 짓갈이나 생선류의 비린내를 소거(消去)시키고 입맛을 돋구는 효과를 가지고 있어 중요한 天然香辛料로서 손색이 없음을 보여주는 것이다.<sup>56)</sup> 이와 같이 우리나라에서는 초피를 주로 香辛料로서 이용하여 왔으나, 초피의 樹皮를 川椒目, 종자를 椒目이라 하여 藥用으로도 이용하였는데 위장을 자극하여 식욕을 증진시키고 健胃·정장 작용을 하며 치통·신경통·저혈압증·냉증·감기·중풍의 치료에도 효과가 있다고 전한다. 또한 살충·해독 작용이 있어 樹皮 등을 건조시킨 분말을 이용하여 물고기를 잡거나, 벌레에 물린부위를 초피잎 다린물로 치료하기도 하였다.<sup>57-60)</sup>

초피의 연구는 다양하게 이루어져 식물형태학적·생약학적 연구재배에 관한 연구 그리고 지질·아미노산·플라보노이드 등의 成分 즉 香氣성분이나 辛味 成分의 分析과 그 成分에 의한 抗菌 작용에 대한 연구들이 있는데, 먼저 국내의 연구로는 김 등<sup>46)</sup>이 1970년에 왕초피나무 과피의 생약학적 연구의 하나로 산초와 초피의 과피를 형태학적인 면에서 비교 검토하였고, 권 등<sup>61)</sup>은 산초류 생약의 성분검색을 위해 약전품인 산초와 혼동될 우려가 있는 한국 특산 식물 왕초피나무와 국내에 널리 퍼져 있는 초피의 과피 성분들을 Thin layer chromatography(TLC)로 분석하여 감별하였다.

김 등<sup>62)</sup>은 혼용되고 있는 *Zanthoxylum*屬 중 왕초피나무의 成分을 밝힘으로써 형태분류학적으로 그 상관관계를 고찰하였고, 효용가치를 제시하였다. 박 등<sup>63)</sup> 초피나무屬의 葉과 葉針의 형태 및 해부학적 특성을 연구하여 초피나무屬의 다섯가지 種에 대한 검색표를 제시하였다. 윤 등<sup>64)</sup>은 민산초나무 種實의 油脂 및 蛋白質 組成에 관한 연구에서 민산초 종자는 비교적 다량의 유지(47.04%), 단백질(20.14%) 그리고 회분(3.10%)을 함유하고 있어 영양가가 높은 식품 및 식용유로 이용 가능하다고 보고하였으며, 박<sup>65)</sup>은 초피의 종실을 압착하여 얻은 초피유의 脂肪酸 組成이 oleic acid, linoleic acid, linolenic acid를 주성분으로 하고, 그 외에 palmitic acid, stearic acid, arachidonic acid 등을 함유하고 있다고 보고하였다. 최<sup>66)</sup>는 초피나무와 유사한 머귀나무의 脂質 成分에 관한 연구에서, 머귀종자와 초피 종자 및 과피의 지질 성분을

TLC, Gas chromatography(GC)등으로 분석한 결과를 중성 지질은 머귀종자, 초피종자, 초피 과피에서 각각 71.23%, 69.27%와 48.87%의 함량비를 보였고 조지질의 脂肪酸은 모두 oleic acid 와 palmitic acid의 함량이 높다고 보고하였다.

韓<sup>67)</sup>은 초피와 산초의 종자를 구분하여 당·유기산·지질·아미노산 및 정유성분 등을 계통적으로 분석·비교하였는데 4개의 시료중 공통적으로 함량이 높은 정유 성분은 limonene,  $\beta$ -phellandrene, citronellal, cineol 등의 순서였으며 isopulegol 및 linalool의 함량은 초피 과피에서 현저히 높았다. 정 등<sup>68-69)</sup>은 식용할 수 있는 蛋白質 및 油脂의 자원을 얻고자 초피 종자 및 민초피 종자에 대한 각각의 아미노산과 지방산 조성을 분석하였다.

鄭<sup>70)</sup>은 초피나무를 果皮 및 樹皮로 구분하여 精油 成分과 辛味 成分을 각각 GC와 High performance liquid chromatography(HPLC)로 분석한 연구에서, 果皮 및 椒皮의 精油 成分 함량은 수피에서보다 과피에서 더 높았는데, 과피에서는 cineol과 limonene 이 주된 성분이었고 수피에서는  $\alpha$ -terpineol과 pinene이 대부분이었으며, 辛味 成分은 과피 및 수피에서 sanshool-III 외에 3종의 sanshool이 분리되었는데 과피의 신미 성분 총함량이 수피의 약 12배 정도였다고 보고한 바 있다. 그리고 초피나무 수피의 지질 성분은 초피 종자와 과피의 중성 지질보다는 적은 양이 함유되어 있는데, 중성 지질 중 triglyceride 함량이 가장 많았고 GC에 의하여 palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid 의 不飽和 脂肪酸이 검출되었으며 myristic acid, palmitic acid, stearic acid 의 세 가지 飽和 脂肪酸이 소량 검출되었다고 신 등<sup>71)</sup>은 보고한 바 있다.

정<sup>72)</sup>은 초피 및 민초피의 과피와 잎을 대상으로 채취시기를 달리하여 아미노산, 향기 성분, 신미성분들의 어떠한 함량변화를 조사분석함으로써 전통 향신료로서 이용의 최적시기와 개발자료를 제시하였다.

이<sup>73)</sup>는 한국산 초피의 과피와 잎의 휘발성 향기성분의 분석방법에 중점을 두어 시료 채취 및 확인 과정에서 상호 보완적인 실험 방법을 통하여 천연 복합성분의 분석 능력 및 정확성을 높이고자 하였으며, 權<sup>74)</sup>은 초피나무의 휘발성 성분을 여러 방법으로 분리 및 동정하였는데 분리된 112종의 성분 중 limonene과  $\beta$ -phellandrene, citronellal, citronellol, citronellyl acetate가 주된 성분들이었고, 휘발성 성분의 향균성을 밝힌 결과 초피열매, 과피, 종실 등이 초피잎이나 수피보다 효과적인 향균성을 지녔다고 보고하였다. 또 한 등<sup>75)</sup>은 건조 초피의 食品腐敗微生物 增殖에 관한 沮害效果 등에 대한 연구에서, 초피에 대한 메타놀 추출액의 클로로포름 분획이 대장균·고초균 등의 균

증식을 최대한 억제했다고 보고했다.

일본에서 초피류에 대한 研究로는 1931년부터 村山 등<sup>76)</sup>이 초피의 辛味成分에 대하여 보고한 것을 필두로 하여 Asano 등<sup>50)</sup> Semen Xanthoxylii의 성분 에 대한 연구, 粗 sanshool의 분리를 시도한 Aihara(1949)<sup>77)</sup>, sanshool- I 과 sanshool- II를 분리하여 각각의 구조를 밝힌 Aihara(1950)<sup>78)</sup>, sanshoamide를 분리하여 그 구조를 밝힌 Aihara(1951)<sup>79)</sup> 등의 연구를 초기의 업적으로 들 수 있다.

精油 成分에 관한 연구는 片山<sup>80)</sup>가 초피의 과피에서 citronellal, d-limonene, terpenolene 등을 분리했으며, 阿部 등<sup>81)</sup>은 초피 과피에서 depentene, geraniol 등 정유 성분의 존재를 밝혔고 또한 초피나무의 수피에서 xanthoxylol 등의 다섯가지 새로운 lignans을 발견하였으며 L-asarinin, L-sesamin 등을 분리하여 그 구조식을 밝혔다.<sup>82)</sup> 최근 Kurita 등<sup>83)</sup>은 염분과 정유 성분의 향미생물 효과에 관한 연구에서 일본산 초피 잎에 함유되어 있는 정유 성분이 7% 이상의 염분에서 식품을 효과적으로 보존하는데 이용될 수 있다고 보고하였다.

이외 Kusumoto 등<sup>84-85)</sup> Sakai 등<sup>86)</sup> 安田 등<sup>87)</sup> 많은 학자들이 초피류의 식물 형태학, 생약학 식품분석 및 향기성분과 신미성분에 관한 연구도 다양하게 진행해 왔는데 이는 일본인의 식생활을 반영한 결과로 판단된다.

그러나 앞에서 살펴본바와 같이 국내에서 초피의 관한 연구는 식품분석 분야에서 초피의 지질이나 아미노산 그리고 향기성분, 신미성분 등이 연구되었을 뿐 항균성이나 항균성 물질에 관한 연구는 구체적으로 조사 보고된 것이 없는 미진한 실정이다. 따라서 초피를 식품보존료 또는 기존 보존료의 보조제로써 이용이 가능하리라 생각되어 이의 항균성과 항균물질을 과학적으로 규명하고자 하였다.

본 연구에서는 천연보존료 개발의 일환으로 항균효력이 있을 것으로 추정되는 초피와 민초피를 어린잎과 과피 및 종자로 나누어 물과 에탄올로 항균성 물질을 추출하여 몇종의 병원균과 식중독균, 식품과 관련이 있는 세균 및 효모 등 10균주에 대하여 항균성이 있는지의 여부와 추출물의 최소저해농도를 밝히고, 추출물 농도의 영향, 대수 증식기에 미치는 영향, 균체의 지방산과 아미노산 조성에 미치는 영향, 미생물의 형태변화, 균체성분의 누출변화 등으로 미생물의 증식에 미치는 영향과 추출물의 안정성을 살펴보았다. 또한 초피 에탄올추출물을 용매계통분획하여 각 분획별 항균성분 등을 밝히고, 항균활성이 가장 강하게 나타난 핵산 분획물 중의 주 항균활성 물질을 분리 및 정제하여 그 물질을 동정하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

#### 1) 실험재료

본 연구의 성분 및 항균성 조사에 사용한 초피(*Zanthoxylum Piperitum* DC. 가시있는 것, 이하 Chopi)와 민초피(*Zanthoxylum Piperitum* DC. var. *inerme*, 가시없는 것, 이하 Minchopi)는 전남 순천시 근교에서 1999년 5월 25일, 6월 25일, 7월 25일 등 1달 간격으로 3회에 걸쳐 각각 어린잎과 종실을 채취하였고, 초피의 저장성에 사용한 초피는 '98년산 종실을 순천시에서 구입하여 과피와 종자로 분리한 후 냉동보관(-4 0℃)하면서 시료로 사용하였다.

#### 2) 사용균주 및 시약

본 실험에 사용한 균주는 Table 1에 나타낸 바와 같이 그람 양성균 3종, 그람 음성균 3종, 젖산균 2종 및 효모 2종 등 10종을 선정하여 사용하였다. 시험균주의 생육배지는 Difco(U.S.A.)사 제품을 구입하여 사용하였으며, 추출 및 column chromatography용 용매 및 시약은 시중의 일급 또는 특급시약을 구입하여 사용하였다.

**Table 1. List of used microorganisms**

Gram positive bacteria	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 27348
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9372
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 13301
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 15489
	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028
	<i>Pseudomonas fluorescense</i>	ATCC 11250
Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014
	<i>Luconostoc mesenteroides</i>	IFO 12060
Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	IFO 1950
	<i>Hansenula anomala</i>	KCCM 11473

## 나. 실험방법

### 1) 항균성물질의 추출

#### 가) 물추출

초피 1kg에 3배량의 증류수를 첨가하고 homogenizer로 5분 동안 마쇄하여 24시간 동안 상온에서 교반 침출시킨 후 1차 추출하고, 다시 증류수 3ℓ를 가하여 동일한 방법으로 2차 추출한 후 추출액을 모두 여과(Whatman No.2)하였다. 이 추출여액을 rotary vacuum evaporator (Büchi RE 121, Switzerland)로 50℃ 수욕상에서 감압농축하여 얻은 점조성의 추출물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

#### 나) 에탄올추출

초피 에탄올추출액은 시료 1kg을 에탄올 3ℓ로 24시간 동안 상온에서 교반 침출시킨 후 1차 추출하고, 다시 에탄올 3ℓ를 가하여 동일한 방식으로 2차 추출한 후 추출액 모두를 여과(Whatman No.2)하였다. 추출여액을 evaporator로 50℃ 수욕상에서 약 100ml로 감압농축한 후 증류수 1ℓ를 가하여 잘 혼합하고 5℃ 냉장고에서 24시간 방치한 다음, 3500rpm으로 원심분리 하여 침전된 수지성분을 2회 반복하여 제거하였다. Evaporator로 수용액을 다시 농축하여 최종 에탄올 추출물을 얻은 다음 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 2) 항균력 측정

초피 추출물의 항균성 검색에 사용한 균주는 slant에 배양된 각 균주 1백금이를 취해 10ml broth의 균생육액체배지에 접종하고, 30℃에서 18~24시간씩 3회 계대배양하여 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 생육배지로 멸균된 기층용 배지를 petri dish에 15ml씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5ml 씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 45℃ 수욕상에서 보관하면서 각종 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균 농도를 660 nm에서 흡광도가 0.3이 되게한 균현탁액) 0.1ml를 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지위에 분주한 뒤 고르게 응고시켜 2중의 균점종 평판배지를 만들어 사용하였다.

추출된 항균성 물질의 항균력 검색은 한천배지 확산법(Disc plate method)으로 측정하였다. 즉 초피 추출물을 0.45 μm membrane filter(Millipore Co., U.S.A.)로 여과하

여 멸균된 filter paper disc (Toyo seisakusho, 8 mm)에 일정량씩 흡수시킨 후, 추출용매를 완전히 날려 보내고 시험용 평판배지 표면에 놓아 밀착시키고 냉장고(4℃)에서 1시간 동안 방치한 후, 30℃ incubator에서 24~48시간 동안 배양한 다음 disc 주변의 clear zone 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다(35, 36). 추출된 항균성 물질의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 액체배지희석법(broth dilution method)으로 추출물의 고형물 함량이 고체배지와 동일 농도 구간으로 조절한 액체배지를 준비하여 균현탁액을 각각 0.1ml씩 접종하고 30℃에서 24시간 배양한 후 흡광도(660 nm)를 측정하여 균 증식이 나타나지 않은 농도로 결정하였다(37, 38).

### 3) 추출물이 미생물 증식에 미치는 영향

#### 가) 추출물 농도의 영향

에탄올 추출물의 농도별 항균효과는 액체배지 희석법(broth dilution method)을 이용하여 측정하였다. 추출물의 첨가 농도가 세균 및 효모증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 초피 추출물의 고형분 함량을 각각 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/ml 농도가 되도록 조절하여 균증식을 측정하였다. 즉, 멸균된 배지 8.5ml에 3회 계대배양한 균 희석액 0.5ml와 추출물의 최종농도가 20배 농축된 검액 0.5ml를 가하고 멸균수로 10ml가 되도록 하여 30℃에서 배양하면서 경시적으로 미생물의 생육정도를 spectrophotometer (東京光電, Mode 1)를 사용하여 흡광도 (660 nm)를 측정하였다.

Blank는 추출물을 넣은 배지를 사용하였으며, 균 접종액은 계대배양한 시험균을 생리식염수에 현탁하여 흡광도가 0.3이 되도록 조절한 배양액을 0.1ml 사용하였다.

#### 나) 대수증식기에 미치는 영향

생육배지 8.5ml에 전배양한 균액 0.5ml를 가하여 30℃에서 8시간 진탕배양한 후, 추출액의 최종 첨가농도가 5, 10, 20 및 40 mg/ml가 되도록 초피 에탄올추출액 1ml를 가한 다음 660nm에서 흡광도를 경시적으로 측정하였다. 한편 대조구에는 멸균수 1ml를 첨가하여 같은 방법으로 실시하였다.

#### 다) 균체지방산 조성에 미치는 영향

30℃에서 대수증식기 중기까지 배양한 균을 원심분리(7,000 x g, 5분, 4℃)하여 균체를 회수한 다음 탈 이온수로 1회 세척한 후 0.05M phosphate buffer(pH 7.0)를 첨

가하여 흡광도(O.D, 660 nm)가 0.4 되도록 현탁하고, 이 현탁된 균액을 멸균된 원심관에 40ml씩 분주한 다음 초피에탄올 추출물을 소정의 농도가 되도록 가하여 30°C에서 서서히 1시간 진탕 배양하였다.

그 후 균체를 원심분리(10,000 x g, 10분, 4°C)하여 집균한 후, Bligh와 Dyer 방법<sup>105)</sup>에 따라 지질을 추출하였다. 이 지질분획을 50ml 둥근 바닥 flask에 넣은 다음 감압농축하여 용매를 완전히 제거한 후 Wungaarden의 방법<sup>106-107)</sup>에 따라 BF<sub>3</sub>-methanol을 이용하여 methyl ester로 조제한 후, gas liquid chromatography (GLC)에 의하여 분리 정량하였다. 즉 지방질 시료가 들어 있는 50ml 둥근 바닥 flask에 0.5N methanolic sodium hydroxide 2ml를 가하고 냉각관에 연결시켜 물중탕에서 지방구가 분산될 때까지 5분 정도 끓인다. 냉각관을 통해 BF<sub>3</sub>-methanol 2ml를 가해 2분간, 다시 n-hexane 4ml를 가해 2~3분간 더 끓이고, 여기에 sodium chloride 포화용액을 충분히 가하여 액체표면이 플라스크의 목부위에까지 오도록 한다. 이때 상층(hexane)에서 1ml를 취하여 cap test tube에 옮기고, 소량의 anhydrous sodium sulfate를 가하여 수분을 제거한 후, 하루 이내에 GLC 분석에 이용하였다. 분석조건은 Table 2와 같으며, 이때 지방산의 정량은 Sigma사의 methyl ester화된 표준지방산의 일정량과 함께 분석하여, 표준지방산의 retention time과 비교하여 각 지질의 구성 지방산의 종류를 확인하였다.

**Table 2. The condition of gas chromatography for analysis of fatty acids**

Instrument	Hewlett-Packard 5890A
Detector	Flame ionization detector(FID)
Column	15% DEGS on chromosorb W, glass column 3m x 4mm
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Oven temp.	130~190°C (7°C/min, after 2min)
Injection temp.	250°C
Detector temp.	250°C
Flow rate	35 ml/min
Chart speed	0.2 cm/min



라) 균체 아미노산성분에 미치는 영향

균체의 구성아미노산 분석은 지방산 정량과 같은 방법으로 균을 배양하여 균체를 집균한 후 6N HCl 10ml를 가하고 감압하에서 봉관하여 110℃에서 24시간동안 가수분해하고 여과하여 감압농축하였다. 여기에 sodium citrate buffer(pH 2.2)로 용해시킨 후 0.22  $\mu\text{m}$  수용성막 여과지로 여과하고 40 $\mu\text{l}$ 를 아미노산 자동분석기(LKB 4150, Alpha)에 주입하여 분석하고 함량은 LKB 2200 integrator를 사용하여 외부표준법으로 계산하였으며 분석조건은 제2장 제1절의 Table 1과 같다.

마) 누출된 미생물 균체성분의 영향

30℃에서 대수증식기 중기까지 배양한 균을 원심분리(7,000 x g, 5분, 4℃)하여 균체를 회수한 다음, 탈 이온수로 1회 세척한 후 0.05M phosphate buffer (pH 7.0)를 첨가하여 660 nm에서 흡광도가 0.4 되도록 현탁하고, 이 현탁된 균액을 멸균된 원심관에 40ml씩 분주한 다음 초피 추출물을 소정의 농도가 되도록 가하여 30℃에서 서서히 1시간 진탕 배양하였다. 그 후 균체를 원심분리(10,000 x g, 10분, 4℃)하여 제거시키고 상정액을 시료로 하였다. 대조구는 추출물을 넣지 않고 같은 방법으로 처리하여 비교 측정하였다<sup>108)</sup>.

(1) 단백질 정량

시료 5ml에 동량(同量)의 10% trichloroacetic acid (TCA)용액을 가하여 비등수욕 중에서 15분간 가열, 냉각시킨 다음 원심분리(1,400 x g, 5분)하여 그 침전물을 5% TCA 16ml로 2회 세척한 후 1N NaOH용액 1ml에 30분 동안 방치하여 용해시키고 탈 이온수를 가하여 5.0ml로 조제하였다. 이 액에서 1ml를 취하여 Lowry법<sup>109)</sup>에 의해 단백질을 정량하였다. 표준물질로는 牛血清 albumin을 사용하였다.

(2) 260 nm 흡수물질 정량

260 nm에서 최대흡광특성을 나타내는 물질의 측정은 Tatsuguchi 등<sup>108)</sup>의 방법에 따라 시료를 10배로 희석한 후 260 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 0.22를 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 해서 계산하였다.

(3) 균체 측정

균체 누출물질의 측정에 사용한 상정액은 버리고 균체를 탈이온수로 다시 현탁

하여 40ml로 만든 다음 이 현탁액의 1.0ml를 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>이 들어 있는 진공 데시케이터 속에서 건조시켜 항량이 될 때까지 중량을 측정하였다<sup>109)</sup>.

#### 4) 항균성 물질의 안정성 측정

##### 가) 열 안정성

초피 에탄올추출물 중 항균 활성을 나타내는 물질의 열 안정성을 측정하기 위하여 초피 에탄올추출물을 60℃~100℃까지 10℃간격으로 각각 1시간 동안, 121℃에서 15분 동안 열처리한 후 대조구와 같이 한천배지 확산법으로 생육저해환을 측정하여 비교하였다.

##### 나) pH 안정성

초피 에탄올추출물 중 항균 활성을 나타내는 물질의 pH 안정성을 측정하기 위하여 초피 에탄올추출물을 염산과 수산화나트륨으로 pH 1~13까지 조절한 후 상온에서 1시간 방치한 다음, 다시 각각 균주의 최적 pH로 중화시켜서 열 안정성과 동일한 방법으로 생육저해환을 측정하여 비교하였다.

#### 5) 항균성 물질의 분리 및 정제

##### 가) 에탄올 추출물의 용매분획

초피 1.0kg을 에탄올 9ℓ로 상기방법에 따라 추출한 후 여과 농축하여 에탄올추출물 얻고 Fig.1과 같은 방법으로 용매분획 하였다. 즉, 분획여두에서 hexan:에탄올:물 (10:1:9 v/v/v) 1ℓ씩 3회 추출, 농축하여 hexan추출분획을 얻고 계속해서 같은 방법으로 수층을 디에틸에테르, 에틸아세테이트 등으로 용매분획한 다음 농축하여 각각의 분획물을 얻고 최종적으로 물분획물을 얻어 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

##### 나) Silica gel column chromatography에 의한 분리

에탄올 추출물을 용매계통 분획하여 각 분획물을 얻고, 각 분획물들의 항균활성을 측정 비교한 후 활성이 강한 hexan분획물로 부터 유효성분을 추적할 목적으로 silica gel(ø3cm x 35cm, 70~270 mesh, Merck) column chromatography을 행하여 여러개의 subfraction으로 분리 후 각 subfraction에 대하여 항균활성을 비교하면서 항

균성 물질을 Fig. 2와 같이 분리하였다. 즉 유리 column( $\phi$ 3cm x 50cm) 에 시료의 약 10배의 활성화된 silica gel(70~270 mesh, Merck)을 클로로포름으로 slurry로 만들어 충전한 후, 시료를 클로로포름-메탄올( $\text{CHCl}_3$ -MeOH)용매계로 메탄올 농도를 0, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 100% 까지 단계적으로 증가시키면서 용출하였다. 유속은 1.0 ml/min.로 하였고 fraction collector를 사용하여 분획당 10ml씩 분취하였다. 이와 같이 얻은 각 분획물들을 감압농축하고 paper disc 방법에 준하여 항균성을 측정하여 활성이 나타나는 분획을 확인하여 항균활성 분획물을 얻었으며, 각 분획을 spectrophotometer (8453 Hewlett Packard Co. USA)로 200nm~1050nm까지 흡광도를 측정하여 항균력을 비교하였다.

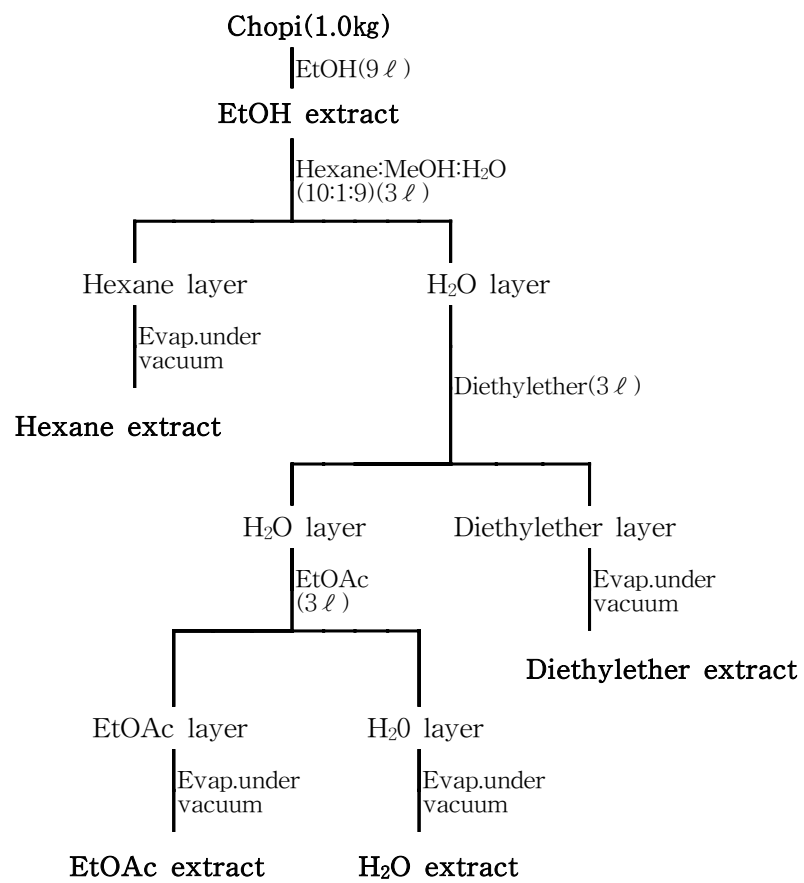
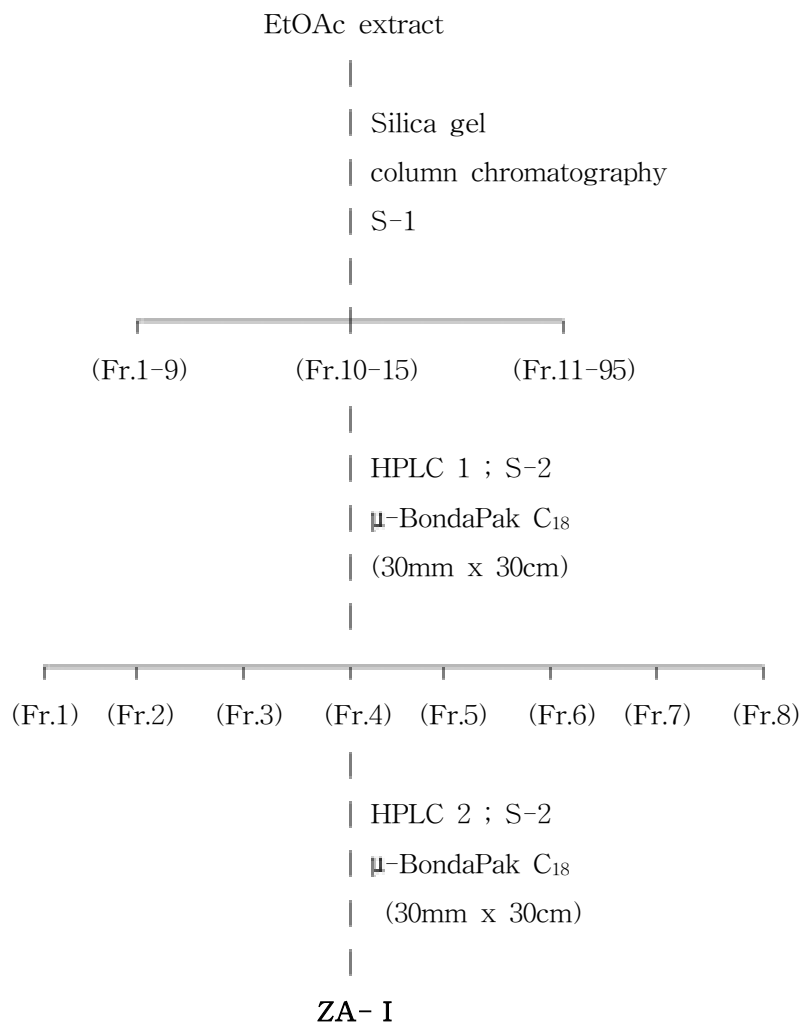


Fig. 1. Fractionation of ethanol extract from Chopi.



**Fig.2. Isolation procedure of antimicrobial substance from ethylacetate extract.**

Solvent systems are as follows :

S-1, CHCl<sub>3</sub>:MeOH step-wise(10:0, 9:1, 8:2 , 7:3, 6:4, 5:5, 3:7, 0:10)

S-2, 70% MeOH

다) HPLC에 의한 순수분리

Silica gel column chromatography에서 항균성이 확인된 subfraction을 모아서 감압농축하고, 이 농축액을 다시 HPLC(Waters Co., M224)를 사용하여 항균활성 물질을 최종 순수분리하였다. 즉, Fig.2에 나타낸 바와 같이 우선 1차적으로 항균활성이 확인된 분획을 분취용 C<sub>18</sub>(30mm x 30cm) column(waters)을 사용하여 순수분리를 행하였다. 이 때 사용된 용매는 70% 메탄올, 유속은 분당 20ml, 시료 주입량은 0.5ml, 275nm에서 검출하여 8개의 분획물을 분취하였다. 이와 같이 하여 얻은 8개의 분획물을 50°C 수욕상에서 감압농축하여 적당한 농도로 희석한 후 paper disc 방법<sup>11)</sup>으로 항균력을 측정하여 각각 항균활성을 확인한 다음 항균활성이 있는 분획물을 다시 2차 분리하였다. 즉 분취용 C<sub>18</sub> column에서 분리하여 항균활성이 확인된 분획물을  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> (30mm x 30cm) column을 사용하여 Table 3과 같은 분석조건으로 각각의 peak를 분취하고 peak별로 감압농축한후 항균활성을 확인하였다. 최종적으로 항균활성 물질을 단일 물질로 순수분리하였다.

**Table 3. The condition of HPLC for the analysis of antimicrobial substance**

Instrument	Waters M244
Column	$\mu$ -Bondapak C <sub>18</sub> (30mm x 30cm)
Solvent	MeOH : Water(70 : 30, v/v)
Flow rate	20 ml/min
Detector	UV 275 nm

6) 항균성 물질(ZA-I)의 동정

가) UV 분석

단일물질로 순수분리된 항균성 물질(ZA-I)을 순수 메탄올에 녹여 HP 8453 spectrometer를 사용하여 UV spectrum을 측정하였다.

나) IR 분석

항균성 물질(ZA- I) 3mg 정도의 고체시료와 건조한 KBr(약 100mg)을 함께 막자 사발에서 마쇄하여 이 혼합물을 감압하에 유압기로 압축시켜 pellet으로 만들어 IR(Perkin Elmer M-1330) spectrometer로 흡수 spectrum을 측정하였다.

다) LC-Mass 분석

항균성 물질(ZA- I)의 분자량은 LC-Mass(HP 5989)로 분석하였으며 분석조건은 Table 4와 같다.

**Table 4. Analytical condition LC-Mass for ZA- I**

Items	Conditions
Instrument	5989 Mass (Hewlett Packard Co. USA) 1090 HPLC (Hewlett Packard Co. USA) 59908B Particle Beam (Hewlett Packard Co. USA)
Interface	He 70psi Chamber temp. 55°C
Detector	5898B Mass Mass range 20~1000 m/z
Column Solvent	ODS Hypersil (Hewlett Packard Co. USA) 100mm×2.1mm 80% Methanol
Injection	50 $\mu$ l

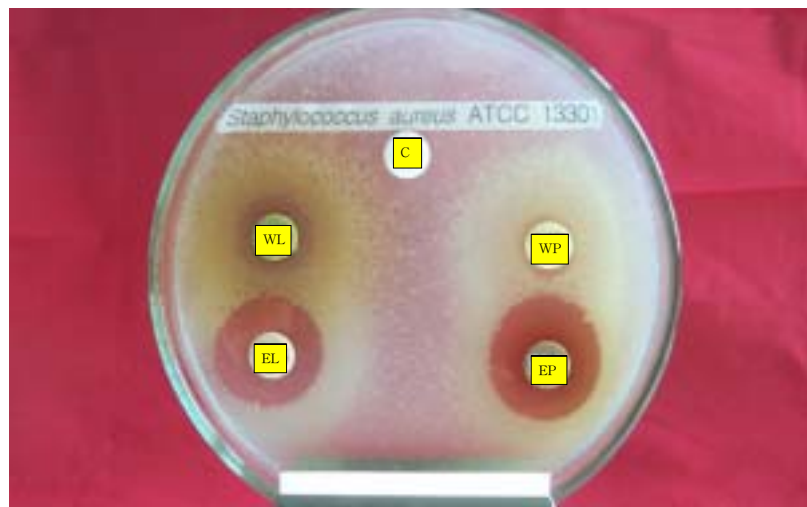
### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 항균활성 검색

초피와 민초피의 어린잎과 종실의 과피 및 종자를 한천배지 확산법으로 항균활성을 검색한 결과는 Fig. 3 및 Table 5와 같다. 즉, 항균성 검색에 사용된 대부분의 세균에서는 초피와 민초피의 물과 에탄올추출물 모두에서 종자를 제외한 잎과 과피에서 항균활성이 나타났으나 효모와 젖산균에서는 보이지 않았다. 또한 에탄올추출물이 물추출물보다 더 강한 활성을 보였으며, 과피보다는 잎에서 항균활성이 더 강하게 나타났다. 따라서 초피의 항균성 물질 추출에는 에탄올이 더 적절한 용매로 생각된다.

초피에서 추출된 항균성 물질이 대장균이나 살모넬라균에서도 항균력이 나타나므로 부패 및 식중독균의 생육억제에도 효과가 있을 것으로 생각된다. 따라서 김치 등 발효식품에 첨가하여 사용할 경우 초피특유의 향신료 기능 이외에도 김치내 식중독균 및 부패미생물 등의 microflora에 대하여 항균작용을 갖게 되어 김치발효에 유해한 미생물들의 생육을 억제시켜 김치의 조기산패를 방지하여 줄 것으로 생각되며, 또한 김치발효에 관여하는 젖산균에 대해서는 생육효과가 없으므로 김치숙성이 적당히 이루어지게 되어 풍미도 향상되고 저장성이 높아져 김치의 품질을 향상시켜 줄 것으로 예상된다.





**Fig 3. Antimicrobial activities of water and ethanol extract of Chopi against staphyococcus aureus.**

C, control ; EP, ethanol extract of peels ; EL, ethanol extract of leaves ;  
WP, water extract of peels ; WL, water extract of leaves

**Table 5. Antimicrobial activities of water and ethanol extracts of Chopi and Minchopi**

Strains	Clear zone on plate(mm) <sup>a)</sup>											
	Water extract (3.6mg/disc)						Ethanol extract (3.6mg/disc)					
	CL	CP	CS	ML	MP	MS	CL	CP	CS	ML	MP	MS
<i>B. cereus</i>	12	12	- <sup>b)</sup>	12	11	-	17	14	-	16	14	-
<i>B. subtilis</i>	12	13	-	12	12	-	18	15	-	15	13	-
<i>S. aureus</i>	12	12	-	13	12	-	20	14	-	17	14	-
<i>E. coli</i>	14	13	-	13	12	-	18	15	-	18	15	-
<i>S. typhimurium</i>	11	10	-	12	12	-	15	14	-	16	14	-
<i>P. fluorescens</i>	13	12	-	11	11	-	17	14	-	16	13	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. anomala</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a); in diameter(mm), b);not detected.

CL;leaves of Chopi, CP;peels of Chopi, CS;seeds of Chopi, ML;leaves of Minchopi, MP; Peels of Minchopi, MS;seeds of Minchopi

나. 초피 에탄올추출물의 최소저해농도

초피와 민초피의 에탄올추출물을 액체배지에서 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 6, Table 7과 같다. 초피의 경우 Table 6에 나타난 바와 같이 종자를 제외한 잎과 과피에서 항균활성을 나타냈으며, 균주별로 보면 그람 양성균인 *B. cereus*가 잎과 과피에서 첨가농도가 각각 0.25mg/ml로 가장 낮게 나타났고, *B. subtilis*가 0.5mg/ml, *S. aureus*가 0.5~1.0mg/ml 로 각각 나타났으며, 그람음성균인 *E. coli*, *S. typhimurium* 및 *P. fluorescens* 등 3균주는 모두 1.5mg/ml로 비교적 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 그람 음성균 보다 그람양성균에 항균활성이 더 높게 나타남을 알

수 있었다. 그러나 젖산균과 효모 등의 균주에서는 1.5mg/ml 이상의 농도에서도 항균 효과는 나타나지 않았다. 민초피의 경우 Table 7에 나타낸 바와 같이 초피에서와 마찬가지로 종자를 제외한 잎과 과피에서 항균활성을 나타냈으며, 균주별로 보면 그람 양성균인 *B. cereus*가 잎과 과피에서 첨가농도가 각각 0.25mg/ml로 가장 낮게 나타났고, 다른 균주에서도 초피의 최소저해농도와 비슷한 농도를 보여 역시 그람 양성균에 대해서 항균활성이 더 높게 나타남을 알 수 있었다. 그러나 젖산균과 효모 등의 균주에서는 초피에서와 마찬가지로 1.5mg/ml 이상의 농도에서도 항균 효과는 나타나지 않았다. 한편, 이 등(39)이 유백피의 추출물이 *B. subtilis* 등의 그람 양성균 5종과 *E. coli* 등 5종의 그람 음성균에 대한 최소 저해농도가 2.5~30mg/ml인 것과 비교해보면 초피 및 민초피의 에탄올추출물의 항균 효과가 상당히 강함을 보이고 있다.

다. 추출물이 미생물의 증식에 미치는 영향

#### 1) 추출물의 농도의 영향

항균력이 우수한 초피 에탄올추출물을 0.1~0.5mg/ml까지 농도별로 첨가한 배지에서 *B. cereus*균주의 균증식을 조사한 결과는 Fig.4에 나타난 바와 같다. 에탄올추출물 0.1mg/ml에서는 균증식 억제효과를 보이지 않았으나 0.25mg/ml 첨가구에서는 배양 24시간까지 균증식이 억제되다가 그 이후 서서히 증가를 하였으며, 0.5mg/ml 첨가구에서는 완전히 억제되었다.

#### 2) 대수증식기에 미치는 영향

대수증식기에 초피 에탄올추출물이 균생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 30°C에서 12시간 배양하여 대수증식기에 도달한 *B. cereus*의 균주에 에탄올추출물을 membrane filter(0.45µm)로 여과, 제균하여 농도별로 첨가, 진탕배양하면서 흡광도로 균체 증식량을 조사한 결과는 Fig. 5와 같이 나타났다. 에탄올추출물의 첨가 농도가 증가할 수록 균체의 성장속도가 지연됨을 볼 수 있으며, 0.5mg/ml 첨가구에서는 균체 증식이 서서히 억제되기 시작하여 약 6시간 후에는 완전히 억제되고 초기의 균체량보다 더 낮게 나타났다. 이와 같이 일정농도 이상에서 균체량의 감소현상은 에탄올추출물의 항균성 물질에 의하여 생육저해현상을 받고 있음을 암시하였다.

**Table 6. Minimum inhibitory concentration(MIC) of the ethanol extracts of Chopi against several microorganisms**

Strains	Samples	Growth at various concentration(mg/ml)					MIC (mg/ml)
		0	0.25	0.5	1	1.5	
<i>B. cereus</i>	CL	+	-	-	-	-	0.25
	CP	+	-	-	-	-	0.25
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>B. subtilis</i>	CL	+	+	-	-	-	0.5
	CP	+	±	-	-	-	0.5
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i>	CL	+	±	-	-	-	0.5
	CP	+	+	±	-	-	1.0
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	CL	+	+	+	+	-	1.5
	CP	+	+	+	+	-	1.5
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>S. typhimurium</i>	CL	+	+	+	+	-	1.5
	CP	+	+	+	±	-	1.5
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>P. fluorescens</i>	CL	+	+	+	+	-	1.5
	CP	+	+	+	+	-	1.5
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>L. plantarum</i>	CL	+	+	+	+	+	-
	CP	+	+	+	+	+	-
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>L. mesenteroides</i>	CL	+	+	+	+	+	-
	CP	+	+	+	+	+	-
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>S. cerevisiae</i>	CL	+	+	+	+	+	-
	CP	+	+	+	+	+	-
	CS	+	+	+	+	+	-
<i>H. anomala</i>	CL	+	+	+	+	+	-
	CP	+	+	+	+	+	-
	CS	+	+	+	+	+	-

+, growth ; ±, uncertain in growth ; -, no growth, a)

Samples shown in Table 2.

**Table 7. Minimum inhibitory concentration(MIC) of the ethanol extracts of Minchopi against several microorganisms**

Strains	Samples	Growth at various concentration(mg/ml)					MIC (mg/ml)
		0	0.25	0.5	1	1.5	
<i>B. cereus</i>	ML	+	-	-	-	-	0.25
	MP	+	-	-	-	-	0.25
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>B. subtilis</i>	ML	+	-	-	-	-	0.25
	MP	+	±	-	-	-	0.5
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i>	ML	+	±	-	-	-	0.5
	MP	+	+	±	-	-	1.0
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	ML	+	+	+	±	-	1.5
	MP	+	+	+	±	-	1.5
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>S. typhimurium</i>	ML	+	+	+	+	-	1.5
	MP	+	+	+	±	-	1.5
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>P. fluorescens</i>	ML	+	+	+	±	-	1.5
	MP	+	+	+	+	-	1.5
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>L. plantarum</i>	ML	+	+	+	+	+	-
	MP	+	+	+	+	+	-
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>L. mesenteroides</i>	ML	+	+	+	+	+	-
	MP	+	+	+	+	+	-
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>S. cerevisiae</i>	ML	+	+	+	+	+	-
	MP	+	+	+	+	+	-
	MS	+	+	+	+	+	-
<i>H. anomala</i>	ML	+	+	+	+	+	-
	MP	+	+	+	+	+	-
	MS	+	+	+	+	+	-

+, growth ; ±, uncertain in growth ; -, no growth,

Samples shown in Table 2.

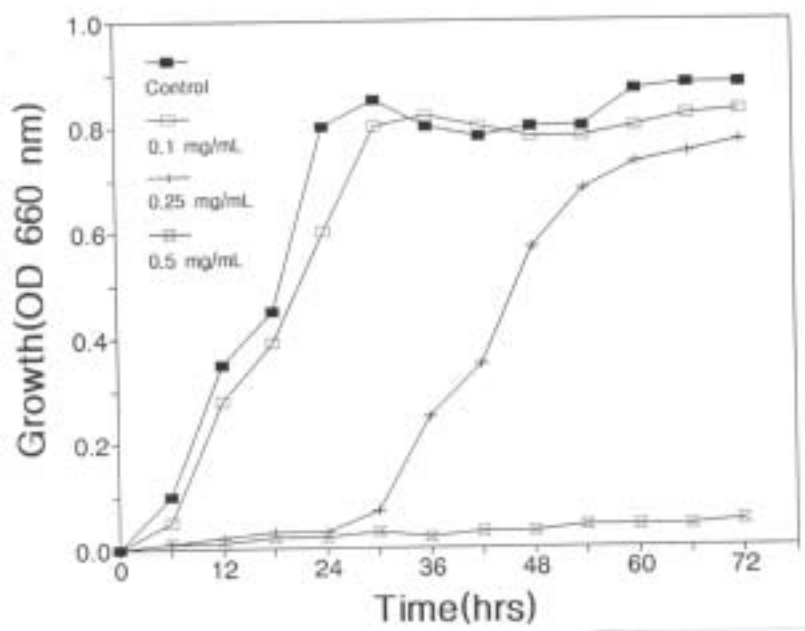


Fig. 4. Effect of ethanol extract of isolated Chopi on growth inhibition of *Bacillus cereus*.

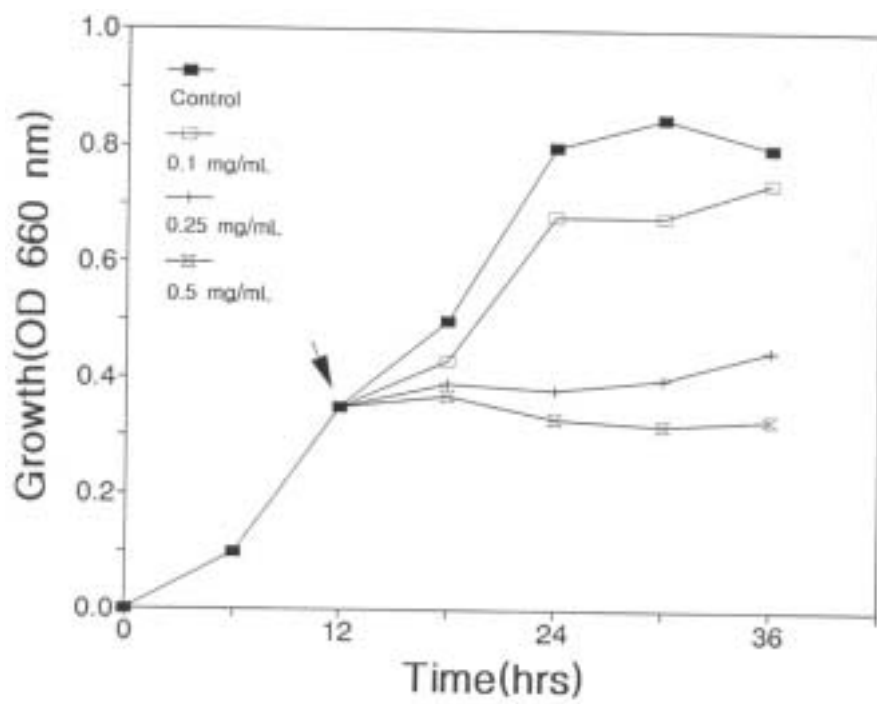


Fig. 5. Growth inhibition of *Bacillus cereus* by the ethanol extract added to log-phase.

### 3) 균체 지방산 조성에 미치는 영향

초피 추출물의 처리농도에 따른 균체 지방산의 변화를 살펴보기 위하여 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주에 대하여 지방산 조성비를 조사한 결과는 Table 8, 9와 같다.

*E. coli*의 경우 에탄올추출물의 처리농도에 따라 지방산 조성비가 약간의 증감의 차이를 보이고 있는데, 주 지방산인 palmitic acid(16:0), palmitoleic acid(16:1) 및 oleic acid(18:1)를 비교해 보면, 에탄올추출물의 처리농도가 높아질수록 대조구에 비해 포화 지방산인 palmitic acid(16:0)의 함량이 조금 증가하는 반면 불포화 지방산인 palmitoleic acid(16:1)의 함량이 감소하는 경향을 보였다. 그리고 myristic acid(14:0)은 비교적 적게 감소하는 경향을 보였으며, margaric acid(17:0), stearic acid(18:0) 및 oleic acid(18:1) 등은 거의 변동이 나타나지 않았다.

*S. aureus*의 경우는 *E. coli* 보다도 훨씬 변동의 폭이 작게 나타났는데 포화지방산인 palmitic acid(16:0)함량은 대조구 13.71(%)에서 에탄올추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 15.82(%)로 약 2% 이상 증가하고 그외 지방산은 별다른 변화가 없었다.

대부분의 세균은 외부로부터의 온도변화에 따라 막의 유동성을 일정하게 유지하기 위해서 막인지질의 지방산조성을 빠르게 변화시키는 것으로 알려져 있다<sup>112)</sup>. 일반적으로 환경온도가 낮은 경우에는 불포화 지방산은 증가하고 포화지방산은 감소하며, 온도가 높아지면 반대로 포화지방산을 증대해서 막의 유동성을 일정하게 유지한다. 이러한 변화가 동일 온도에서 일어나는 것은 불포화지방산이 많은 막은 부드럽고 포화지방산이 많은 막은 단단하기 때문이다<sup>113)</sup>.



Table 8. Major fatty acid composition of *E.coli* ATCC 15489 treated with ethanol extracts of Chopi

Added amount (mg/ml)	Fatty acid						
	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	Others
0.1	1.40	22.35	20.00	1.11	8.96	30.22	15.76
0.2	1.31	22.20	20.05	1.25	10.07	30.02	15.10
0.5	1.32	24.45	19.10	1.26	6.64	31.10	14.23
1.0	1.00	25.11	19.25	1.15	10.06	31.22	12.21
2.0	1.04	26.50	19.25	1.25	8.42	31.24	12.20

Results are represented as percentage of total fatty acid.

Each value is the average of three determinations.

14:0, Myristic acid ; 16:0, Palmitic acid ; 16:1, Palmitoleic acid ;

17:0, Margaric acid ; 18:0, Stearic acid ; 18:1, Oleic acid

Table 9. Major fatty acid composition of *S.aureus* ATCC 13301 treated with ethanol extracts of chopi

Added amount (mg/ml)	Fatty acid						
	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	Others
0.1	1.11	13.71	8.22	20.45	9.41	7.65	39.45
0.2	1.10	13.50	7.35	20.73	8.54	9.17	39.24
0.5	1.14	13.68	8.05	23.09	7.90	9.02	37.18
1.0	1.33	14.75	9.14	21.94	9.15	8.59	35.10
2.0	1.30	15.82	8.53	21.66	8.00	7.19	37.50

Results are represented as percentage of total fatty acid.

Each value is the average of three determinations.

14:0,Myristic acid ; 16:0,Palmitic acid ; 16:1, Palmitoleic acid ;

17:0,Margaric acid ; 18:0,Stearic acid ; 18:1,Oleic acid

Tatsuguchi 등<sup>113)</sup>은 글리신과 식염에 의한 대장균 인지질 조성의 변화에서 막지질의 지방산은 식염, 글리신 함유배지에서 증식 등 배지조건에 따라 변화 하지만 항균력 발현과의 관련은 적다고 보고한 바 있으며, 또한 Tatsuguchi 등<sup>114)</sup>은 butyl-*p*-hydroxybenzoate의 처리에 의한 대장균 세포막의 열손상에서 short chain fatty acid(14:0)의 조성비는 변화를 보였으나 다른 지방산의 조성비는 거의 변화가 관찰되지 않았다고 보고한 바 있다. 그러나 본 실험의 결과에서는 초피 추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 균체 지방산 조성의 변화가 조금 관찰되는 것으로 보아서 에탄올추출물 중의 항균성 물질이 지방산의 합성 등에 약간의 영향을 주는 것으로 추정되었다.

#### 4) 균체 아미노산 성분에 미치는 영향

초피 추출물의 처리농도에 따라 균체 아미노산 조성의 변화를 살펴보기 위하여 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주에 대하여 아미노산을 조사한 결과는 Table 10, 11과 같다. 균체 아미노산 조성의 변화는 *E. coli*의 경우 에탄올추출물의 처리농도에 따라 약간 증감이 되었으나 전반적으로 큰 변화는 없었으며 총아미노산 함량은 다소 감소하는 경향이였다. 처리농도가 높아짐에 따라 증가를 보인 아미노산은 proline, glycine, valine, histidine 등이였으며, 그 외 대부분의 아미노산은 감소하였다. *S. cereus*의 경우도 *E. coli*와 비슷한 경향으로 나타났는데 처리농도가 높아짐에 따라 proline, methionine 및 histidine 등이 증가를 보였으며 대부분의 아미노산은 감소를 하였는데, 특히 aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, tyrosine 및 lysine 등이 비교적 많이 감소하였다.

**Table 10. Amino acid composition of *E. coli* ATCC 15489 treated with ethanol extracts of Chopi**

Amino acid	Added amount(mg/ml)				
	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
Asp	33.31	31.67	32.58	32.95	30.42
Thr	25.53	24.88	24.48	24.81	26.49
Ser	19.84	19.30	19.11	19.21	19.64
Glx	58.09	50.28	48.32	38.80	28.28
Pro	22.28	26.62	29.11	39.76	43.73
Gly	29.99	34.90	32.43	32.76	34.97
Ala	33.96	30.52	31.49	33.54	33.31
Val	32.10	31.42	32.12	32.48	35.11
Met	5.96	5.14	5.27	5.71	5.32
Ile	26.60	26.49	26.56	26.58	27.23
Leu	38.68	38.30	38.69	38.51	40.22
Tyr	12.83	12.50	8.48	8.72	8.61
Phe	22.34	21.57	22.19	23.19	24.61
His	30.87	31.51	34.76	33.89	34.93
Lys	34.52	33.14	32.69	33.67	31.68
Arg	39.29	38.12	29.32	28.93	28.44
Total	466.19	456.36	447.60	453.51	452.99

Each value is the average of three determinations.

**Table 11. Amino acid composition of *S.aureus* ATCC 13301 treated with ethanol extracts of Chopi**

Amino acid	Added amount(mg/ml)				
	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
Asp	29.23	28.37	26.83	21.66	21.49
Thr	19.79	20.11	18.31	17.67	17.90
Ser	16.37	16.15	13.84	13.91	13.36
Glx	48.73	45.91	43.87	44.94	38.71
Pro	25.62	26.49	33.54	42.68	46.16
Gly	38.87	36.53	29.69	30.27	31.42
Ala	32.94	30.81	30.67	25.98	25.99
Val	25.35	24.83	22.86	25.25	23.44
Met	2.56	6.22	5.82	7.24	10.85
Ile	23.61	22.59	21.93	21.24	20.87
Leu	29.50	28.12	28.32	25.62	24.97
Tyr	12.59	12.48	5.88	3.79	4.49
Phe	19.18	18.24	15.11	14.62	15.33
His	24.09	23.23	36.04	38.29	36.25
Lys	33.71	33.13	30.96	30.01	28.73
Arg	22.50	19.19	17.71	19.09	22.24
Total	404.64	392.40	381.38	382.26	382.20

Each value is the average of three determinations.

또한 두 균주간의 아미노산 함량을 보면 다소 차이를 보이는데, 이는 그람 양성균과 그람 음성균의 균체 아미노산 성분의 구성비의 차이에서 오는 것으로 생각된다. 그람 양성균의 세포벽은 peptidoglycan 이외에 teichoic acid, 다당류 또는 teichuronic acid가 함유되어 있는데, mucopeptide를 가수분해시켜 얻어지는 아미노산은 alanine, glutamic acid, lysine, diaminopimelic acid, glycine 및 aspartic acid 등의 3~5종으로 대부분 D형으로 존재한다. 한편 그람 음성균의 세포벽은 그람 양성균에 비하여 복잡한 구조를 가지고 있는데, 지질, 단백질 및 다당류를 주성분으로 하고 있으며 peptidoglycan은 소량(5~10%)함유한다. 따라서 그람 음성균의 세포벽은 각종의 아미노산을 함유하고 있다<sup>115)</sup>.

#### 5) 균체성분의 누출

초피 추출물에 의한 균체성분의 누출정도를 알아보기 위하여 단백질과 세포중의 RNA, DNA를 구성하고 있는 각 염기가 존재하면 UV의 260 nm 부근의 파장을 흡수하는 것을 이용하여 260 nm의 흡광도에서 흡수물질량을 측정하였다.

*E. coli*와 *S. aureus*의 두 균주를 대상으로 하여 초피 에탄올 추출물을 농도별로 처리한 후 측정된 누출된 균체성분의 결과는 Table 12와 같다. 그람 음성균인 *E. coli*의 경우 대조구에 비해서 에탄올추출물 처리구가 처리농도가 높아짐에 따라 전반적으로 균체성분의 누출이 증가하는 경향을 보이고 있는데, 단백질은 40 mg/ml 에탄올추출물 첨가구가 대조구의 0.478 mg/g에 비해서 약 3배이상 많은 1.548 mg/g 누출량을 보이고 있다. 260 nm에서의 흡수물질은 대조구에서 0.002 mg/g의 누출을 보인 반면, 40 mg/ml의 에탄올추출물 첨가구에서는 0.128 mg/g의 누출을 보이고 있다.

그람 양성균인 *S.aureus*의 경우도 대장균과 마찬가지로 처리농도가 높아짐에 따라 균체성분의 누출량이 증가하고 있는데, 단백질과 260 nm 흡수물질이 대조구에서는 0.65, 0.001 mg/g의 누출을 보이고 있는 반면, 40 mg/ml의 에탄올추출물 첨가구에서는 0.884, 0.076 mg/g의 누출을 각각 보이고 있다.

따라서 에탄올추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 단백질과 260 nm 흡수물질 등 균체성분의 누출이 증대하고 있음은 에탄올추출물 중에 함유되어 있는 항균성 물질에 의해서 막구조의 손상을 초래하기 때문인 것으로 여겨진다. Tatsuguchi 등<sup>108)</sup>은 대장균을 NaCl 존재하에서 배양하여 glycine을 처리하였을 때 단백질, 260 nm 흡수물질 및 인지질 등의 균체성분의 누출이 증가한다고 보고하였는데 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 보였다.

Table 12. Leakage of cellular materials of *E.coli* and *S.aureus* by the treatment of ethanol extract of Chopi

Added amount (mg/ml)	Leakage of cellular materials			
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	A	B	A	B
0.1	0.478	0.002	0.640	0.001
0.2	0.499	0.003	0.665	0.003
0.5	0.501	0.023	0.690	0.043
1.0	1.234	0.087	0.870	0.068
2.0	1.548	0.128	0.884	0.076

A, Protein ; B, Absorbing materials at 260 nm

라. 초피 에탄올추출물의 안정성

1) 열안정성

초피 에탄올추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 열 안정성을 조사하기 위하여 추출물을 50℃-100℃까지는 1시간 동안, 121℃에서는 15분간 열처리한 후 그람 양성균인 *B. cereus*와 그람음성균인 *E. coli* 두 균주에 대한 생육저해환을 측정한 결과는 Table 13에서 보는 바와 같다. 즉 100℃에서 1시간, 121℃에서 15분간 열처리에 의해서도 두 균주의 생육저해환의 크기가 대조구와 비슷한 것으로 보아 초피 에탄올 추출물 중의 항균활성 물질은 열에 매우 안정하였다.

2) pH 안정성

앞의 두 균주에 대하여 초피 에탄올추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 pH 안정성을 조사한 결과는 Table 14와 같다. pH 1-13까지에서도 항균활성의 변화가 거의 없는 것으로 나타나 pH에도 별로 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.

**Table 13. Effect of heat treatment on the growth inhibitory activity of ethanol extract of Chopi for *B.cereus* and *E. coli*.**

Strains	Clear zone on plate(mm) <sup>a)</sup> (3.6mg/disc)							
	Control	Heating temperature(°C)						
		50	60	70	80	90	100	121
<i>B. cereus</i>	14.0	14.5	14.0	14.5	14.5	14.0	14.0	14.0
<i>E. coli</i>	13.0	13.0	13.5	13.5	13.0	13.5	13.5	13.0

a), diameter

Ethanol extract was heated for 60 min at 50~100°C and heated for 15 min at 121°C.

**Table 14. Effect of pH treatment on the growth inhibitory activity of ethanol extract of Chopi for *B. cereus* and *E. coli*.**

Strains	Clear zone on plate(mm) <sup>a)</sup> (3.6mg/disc)							
	Control	pH						
		1	3	5	7	9	11	13
<i>B. cereus</i>	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.5	14.0
<i>E. coli</i>	14.0	14.5	14.5	14.5	14.5	14.0	14.0	14.0

a), diameter

The ethanol extract was adjusted to pH 1~13 for 60 min at room temperature.



#### 마. 항균성물질의 분리 및 정제

##### 1) 초피 에탄올추출물 분획의 항균활성

초피 에탄올추출물 중의 항균성 물질을 분리할 목적으로 용매계통분획하여 얻은 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 물 분획물의 항균활성을 disc plate method에 의한 생육저지환을 측정하여 각 균주에 대한 억제효과를 검색한 결과는 Table 15와 같다.

세균의 경우에는 젖산균과 효모를 제외한 그람 양성균과 그람 음성균 모두 헥산분획물에서 현저한 생육억제효과가 나타났으며, 에테르와 에틸아세테이트 분획물에서도 헥산분획물보다는 낮지만 대부분의 균주에 대하여 항균활성을 보였다. 균주별로 보면 특히 헥산분획물에서 *S. cereus*와 *E. coli*가 22mm로 가장 높고, *S. typhimurium* 및 *P. fluorescens* 등의 균주에서도 18mm, 17mm로 상당한 항균효과를 보였다. 그러나 젖산균과 효모에서는 모든 분획물에서 항균효과가 거의 없었다.

홍 등(40)은 유백피의 메탄올추출물 중 부탄올분획물에서 그람 양성균인 *S. aureus*, *S. faecalis*, *P. aeruginosa* 및 *Bacillus* sp.에 대하여 발육억제효과가 나타났으며 그람 음성균인 *E. coli*, 진균인 *Candida albicans* 에 대해서는 발육저지효과가 관찰되지 않았다고 보고하였는데, 초피 추출물에서는 그람 음성균인 *E. coli*, *S. typhimurium* 및 *P. fluorescens* 등에서도 항균효과를 나타내었다.

이상의 결과로 볼 때 초피 에탄올추출물 중의 항균성 물질은 특정용매에만 용해되지 않고 일부 다른 용매에도 용해되는 성분으로서 한가지 성분이라기 보다는 여러 가지 성분이 서로 복합적으로 작용을 하고 있는 것을 알 수 있으며, 초피 에탄올추출물의 항균활성 물질이 헥산분획물로 많이 이행되었음을 알 수 있었다.

**Table 15. Antimicrobial activities of fractions from ethanol extracts of Chopi peels against several microorganisms**

Strains	Clear zone on plate(mm) <sup>a)</sup> (3.6mg/disc)			
	n-Hexane extract	Ether extract	Ethylacetate extract	Water extract
<i>B. cereus</i>	22	14	10	— <sup>b)</sup>
<i>B. subtilis</i>	20	12	9	—
<i>S. aureus</i>	19	11	9	—
<i>E. coli</i>	22	12	9	—
<i>S. typhimurium</i>	18	10	10	—
<i>P. fluorescens</i>	17	10	9	—
<i>L. plantarum</i>	—	—	—	—
<i>L. mesenteroides</i>	—	—	—	—
<i>S. cerevisiae</i>	—	—	—	—
<i>H. anomala</i>	—	—	—	—

a), diameter ; b), no inhibitory zone was formed

## 2) Silica gel column chromatography에 의한 항균활성 물질 분리

에탄올추출물을 용매계통분획하여 각 분획물을 얻고 각 분획물들의 항균활성을 측정 비교한 후 활성이 강한 hexan 분획물로부터 유효성분을 추적할 목적으로 분획물을 각각 silica gel(ø 3cm x 35cm, 70~270 mesh, Merck) column chromatography를 행하여 다시 여러개의 subfraction 으로 나눈 후 각 subfraction에 대하여 항균활성을 측정하였다. 즉 hexan분획물 2.2g을 silicagel column chromatography를 행하여 분획한 후 *E. coli*에 대한 항균력을 측정한 결과 Fig. 6에서 보는 바와 같이, column을 통과시키면서 flow cell을 이용하여 270nm에서 흡광도를 측정한 column chromatogram은 Fig. 7에서 보는바와 같이 fraction 11번부터 흡광도가 급속히 증가하여 18번에서 최대흡광도를 나타냈으나 항균력은 최대흡광대보다 적은 앞쪽 peak에서 항균활성을 나타냈다. 99개의 분획중에서 10번부터 16번까지의 분획에서 항균력이 나타났으며 12번부터 14번까지의 분획에서 강한 항균력이 확인되었다. column chromatogram 분획

중 항균활성이 강한 분획의 UV spectrum을 비교한 결과는 Fig. 8과 같으며 항균력이 강한 분획은 270nm에서 강한 흡수대를 갖고 있었다.

이와 같은 결과는 최 등<sup>117)</sup>의 야생 식용식물의 약물대사 활성성분에 관한 연구에서 부추를 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올로 각각 처리하여 얻은분획에서 활성성분을 비교한 결과, 에틸아세테이트분획물의 활성성분이 다른 분획물에 비해 월등히 컸다고 보고하였는데 이는 본 실험의 결과가 다른 경향을 나타내었다.



Fig. 6. Antimicrobial activities of the Chopi of hexane fraction of against *E. coli*.

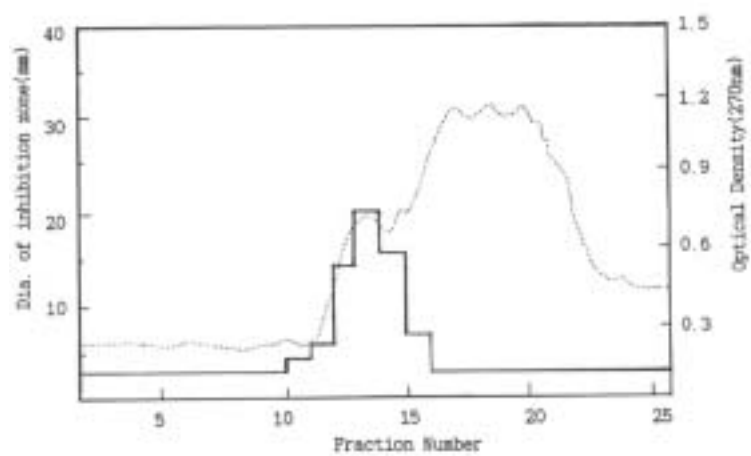


Fig. 7. Antimicrobial activities of the fraction of the hexane extract fractionated by the silicagel column chromatography against *E. coli*

—, inhibition zone ; ---, OD(270 nm)

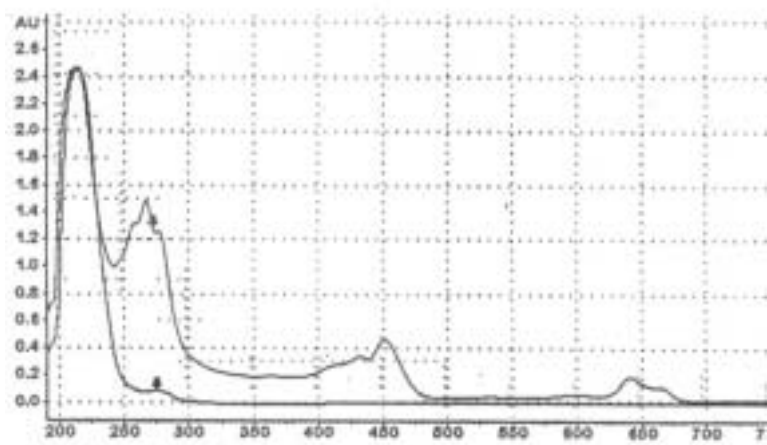


Fig. 8. UV spectrum column chromatogram of fraction NO 5, 13

### 3) HPLC에 의한 항균성 물질의 순수분리

Column chromatography의 분획중 항균력이 강한 분획 13을 HPLC에서 분리한 결과는 Fig. 9과 같으며 각 peak의 항균력은 Fig. 10과 같다. 총 12개의 항균력이 있는 peak가 검출되었으며 12개 peak중에서 8번 peak에서(RT. 5. 713M)에서 가장 강하게 항균력이 나타났다.

### 바. 항균성물질의 동정

#### 1) UV 흡수 spectrum에 의한 구조분석

HPLC에서 순수분리된 항균성물질(ZA-I)를 메탄올에 녹여 190~1100nm에서 UV비색계에서 scanning한 흡광 spectrum은 Fig. 11과 같다. 항균성물질은 210nm와 260~270nm에서 흡수피크를 나타내어 이중결합(conjugation)의 발색단에 조색단이 결합된 환상구조인 것으로 추정되었다.

#### 2) IR spectrum에 의한 구조분석

HPLC에서 분리된 항균성 물질(ZA-I)의 적외선분광광도계에서 흡수 spectrum은 Fig. 12에 나타낸 바와 같다.  $3000\text{cm}^{-1}$ 에서 흡광은 CH와 aromatic ring의 존재를 시사하고 있으며,  $2400\text{cm}^{-1}$  흡광은  $\text{-C=C-}$ 구조의 존재를 시사하고 있고,  $1600\text{cm}^{-1}\sim 1350\text{cm}^{-1}$ 에서 흡광은 isopropyl과  $\text{CH}_3\text{-C}$ 의 구조를 갖고 있으며,  $750\text{cm}^{-1}\sim 600\text{cm}^{-1}$ 의 흡광도 isopropyl구조와 aromatic ring의 존재를 예상할 수 있었다.

#### 3) LC - Mass에 의한 구조분석

HPLC에서 순수분리된 항균성 물질(ZA-I)을 PB interface를 통하여 Mass에서 분석한 결과는 Fig. 13에서 보는 바와 같다.

Mass spectrum으로 볼 때 항균성물질의 분자량은 324와 382로 추정할 수 있다. 이 물질의 주된 fragment는 121, 137, 191, 324 m/z 등 이었다. 이 결과는 LC-Mass에 내장된 Wiley Database와 비교한 결과 1-(Biphenyl-2'-yl)-5-isopropyl-3,4-dihydronaphthalen으로, 구조식은  $\text{C}_{25}\text{H}_{24}$ 로 추정되었다. 그러나 상기 구조식은 IR과 비교하여 상당히 일치하고 있으나 일부 IR spectrum과 약간의 차이를 보이고 있어 앞으로 NMR과 CI-Mass 등을 이용하여 좀더 확실한 구조식을 결정할 것이다.

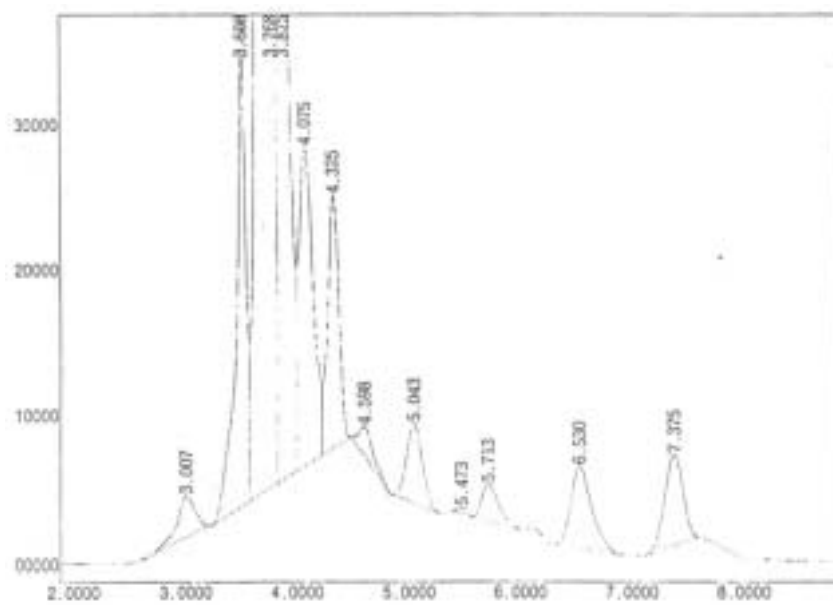


Fig. 9. HPLC chromatogram of fraction NO. 13 monitored by U.V(270nm)





Fig.10. Antimicrobial activities of the HPLC of peak from column chromatography fraction NO. 13 of against *E. coli*.

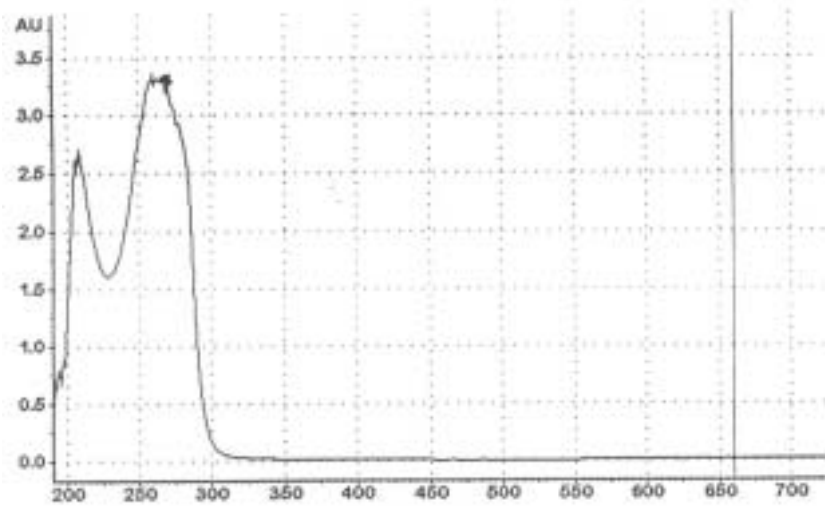


Fig. 11. Ultraviolet spectrum of ZA- I

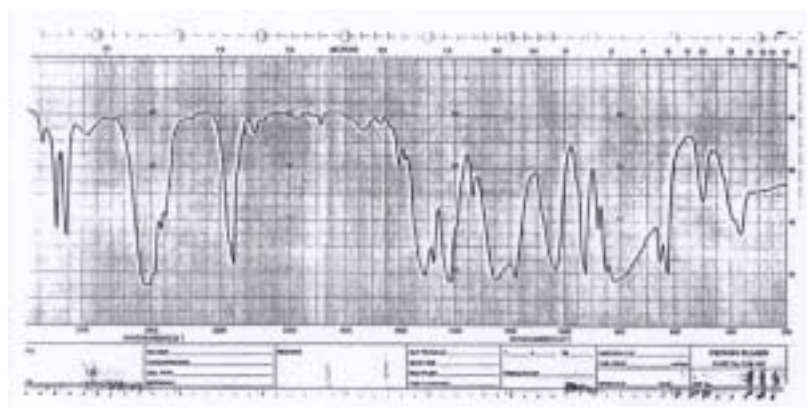


Fig. 12. Infrared spectrum of ZA- I

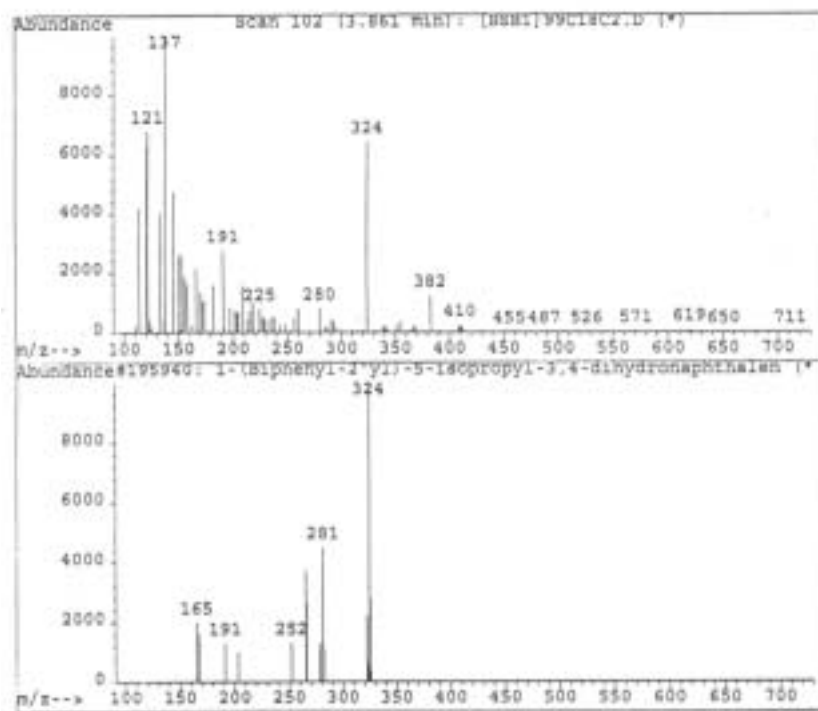


Fig. 13. LC-Mass spectrum of ZA- I .

#### 4. 참고문헌

1. 김상순, 이한창 : 식품저장학, 수확사 16-17 (1987)
2. 野崎一彦 : 天然物による食品の保存の現状と効果, 月刊フ-ドケミカル 2: 45-53 (1986)
3. 芝崎勲 : 抗菌性天然添加物開發の現状と使用上の問題點, *New Food Industry* 25: 28-34 (1983)
4. 成瀬治己, 庄司 禎 : 現状における抗菌性物質とその應用, 月刊 フ-ドケミカル 4: 53-99 (1984)
5. Bullerman, L.B., F.Y. Lieu and S.A. Seier : Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol, *J. Food Sci.* 42: 1107-1109 (1977)
6. Arun Sharma, G.M., A.J. Tewari, S.R. Shrikhande, Padwal-Desai and C. Bandyopadhyay : Inhibition of aflatoxin-producing fungi by onion extracts, *J. Food Sci.* 44: 1545-1547 (1978)
7. Laura, L.Z. and C.K. John : Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*, *J. Food Sci.* 46: 1205-1210 (1981)
8. Conner, D.E. and L.R. Beuchat : Effects of essential oils from plants on food spoilage yeasts, *J. Food Sci.* 49: 429-434 (1984)
9. Kanzo Okazaki, Hiroshi Kato and Takeo Wakatabe : Antibacterial activity of higher plants. VI. Antibacterial activity of drugs. II, *Yakugaku Zasshi* 71: 9-11 (1951)
10. Kanzo Okazaki, and Takeo Wakatabe : Antibacterial activity of higher plants. XIV. Antibacterial activity of crude drugs, (4)*Yakugaku Zasshi* 71: 481-483 (1951)
11. Alkiko Sato, Michinori Terao and Yukari Honma : Antibacterial action of garlic extract on food poisoning bacteria, *J. Food Hyg. Soc. Japan* 31: 328-332 (1990)
12. Jun Kawamura and Tadakazu Takeo : Antibacterial activity of tea catechin to *Streptococcus mutans*, *J. Japanese Soc. Food Sci. and Tech.* 36: 463-467

(1989)

13. 仁科淳良 : 孟宗竹抽出物の抗菌活性, 月刊フードケミカル 4: 53-99 (1990)
14. 太田静行 : 抗菌抗酸化物質の検索と應用, 月刊 フードケミカル 2: 48-61 (1990)
15. Kurita N. and S. Koike : Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oil components, *Agric.Biol.Chem.* 46: 159-165 (1982)
16. 이홍용, 김치경, 성태경, 문택규, 임치주 : 유백피 추출물의 항세균작용, 산업미생물학회지 20: 1-5 (1992)
17. 이병완, 신동화 : 식품부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지 23: 200-204 (1991)
18. Ames, B.N., Magaw, R., and Gold, L.S : Ranking possible carcinogenic hazards, *Science.* 236: 271 (1987)
19. Beuchat, L.R. and D.A. Golden : Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.* 43: 134-142 (1989)
20. 신동화 : 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용, 식품과학과 산업 23: 68-77 (1990)
21. Oram J.D. and B. Reiter : Inhibition of bacteria by lactoferrin and other ironchelating agents, *Biochem. Biophys. Acta.* 170: 351-365 (1968)
22. Ashton D.H., Busta F.F. and J.A. Warren : Relief of casein inhibition of *Bacillus strarothermophilus* by iron, calcium and magnesium, *Appl. Microbiol.* 16: 628-635 (1968)
23. Reiter, B. and G.Harnulv : Lactoperoxidase antimicrobial system : National occurrence, biological functions and practical applications, *J. Food Protect.* 8: 165 (1984)
24. Frees, E., C.W. Sheu, and S.E. Gallier : Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives, *Nature.* 241: 321 (1973)
25. Fabian, F.W. and H.T. Graham : Viability of thermophilic bacteria in the presence of varying concentrations of acids, sodium chloride and sugars, *Food Technol.* 7: 772 (1953)
26. Yamamodto, Y., K. Hiashi and H. Yoshi : Inhibitory activity of acetic acid on yeast, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 31: 772 (1984)
27. Cox, N.A., A.J. Mercuric, B.J. Juven, J.E. Thomson and V. Chew :

- Evaluation of succinic acid and heat to improve the microbiological quality of poultry meat, *J. Food Sci.* 39: 985 (1974)
28. Neiman C. : Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganism, *Bacteriol. Rev.*18: 147 (1985)
  29. Shen, C.W. and E. Freese : Effects of fatty acids on growth and envelope proteins of *Bacillus subtilis*, *J. Bacteriol.* 111: 516 (1985)
  30. Ueda, S., H. Yamashita, M. Nakajima and Y. Kuwabara : Inhibition of microorganisms by spice extracts and flavouring compounds, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 29: 111-116 (1982)
  31. Ueda, S., H. Yamashita and Y. Kuwabara : Inhibition of *Clostridium boydii* and *Bacillus* sp. by spices and flavouring compounds, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 29: 389-392 (1982)
  32. 山下晴美 : 香辛料を利用した天然保存剤, *New Food Industry* 27: 35-41 (1985)
  33. Al-Delaimy, K.S. and S.H. Ali : Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria, *J. Food Agric.* 21: 110 (1970)
  34. Johnson, M.G. and R.H. Vaughn : Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion, *Appl. Microbiol.* 17: 903 (1969)
  35. Tansey, M.R. : Inhibition of fungal growth by garlic extract, *Mycologia.* 67: 409-413 (1975)
  36. Sharma, A., G.M. Tewari, A.J. Shrikhande, S.R. Padwal-Desai and C. Ban-dyopadhyay : Inhibition of aflatoxin-producing fungi by onion extracts, *J. Food Sci.* 44: 1545-1547 (1979)
  37. Farag, R.S., Z.Y. Daw, F.M. Hewedii and G.S.A. El-Baroty : Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils, *J. Food Prot* 52: 665-667 (1989)
  38. Batt, C., M. Solberg and Ceponis : Effect of volatile components of carrot seed oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*, *J. Food Sci.* 48: 762-768 (1983)
  39. Conner, D.E. and L.R. Beuchat : Effect of essential oils from plants on

- growth of food spoilage yeasts, *J. Food Sci.* 49: 429 (1984)
40. 강신주, 이해성 : 식용 야채류의 항균작용에 관한 연구, 경북대학교 사범대학 교육연구집 19: 129 (1977)
  41. 정병선, 이병구, 심선택, 이정근 : 쑥씨 중의 정유성분이 미생물의 생육에 미치는 영향, 한국식문화학회지 4: 417 (1989)
  42. 강성구 : 무화과 잎중의 향미생물 물질, 전남대학교 박사학위논문 (1994)
  43. 강성구 : 갓(*Brassica Juncea* Coss.)추출물의 항균성과 향균 물질의 분리 및 동정, 경상대학교 대학원 박사학위 논문 (1994)
  44. 이창복 : 식물분류학, 183-184 (1969)
  45. 木村康一, 木村孟淳 : 原色日本藥用植物圖鑑, 47-48 (1975)
  46. 김홍선, 유경수 : 나무 과피의 생약학적 연구(I), 생약학회지, 1(4): 125-132 (1970)
  47. 이기원, 정우규 : 가시없는 신품종 초피나무의 종발과 기내 대량생산 및 유용성분 분석, 제35회 전국과학전람회 특집, 37-50 (1989)
  48. 송주택 : 한국자원식물, 미도문화사 (1984)
  49. 육창수, 안덕균 : 현대본초학, 256-257 (1972)
  50. Asano, M. and Aihara, T. : Studies on the Components of Semen *Xanthoxylii*, *Yakugaku Zasshi* 69: 79-82 (1949)
  51. 안동 장씨, 황혜성 편 : 규곤시의방;음식디미방(1985)
  52. 이성우 : 고려 이전의 한국식생활사 연구, 향문사, 52 · 149 · 242 · 373 (1978)
  53. 이성우 : 한국식품문화사, 교문사, 60-61 (1997)
  54. 이성우 : 조미 향신료의 역사, 한국 식문화 학회지, 5(3): 373-379 (1990)
  55. 이성우 : 고대 한국식생활사 연구, 향문사, 54 (1992)
  56. 송재철 : 식품재료학, 교문사, 414 (1994)
  57. 相原傳, 鈴木猛 : 山椒の成分に就いて(第5報), 殺蟲び成分, 藥學雜誌 71: 1323 (1951)
  58. 정명현 : 식물약품화학, 삼성출판사, 37 (1980)
  59. 김용두, 강성구, 오명록 : 한국산 초피의 어독성분에 관한 연구, 한국영양식량학회지 22(5): 617 (1993)
  60. 제주 생약학연구회 : 현대생약학, 98-99 (1988)
  61. 권창호, 홍남두, 김창민 : 산초류 생약의 성분검색, 약학회지4(4): 209-212.



(1973)

62. 황진성, 김영두, 김제경 : 초피나무의 성분이용 및 재배방법에 관한 연구, 문교부 연구보고서 농학계 1: 1-9 (1979)
63. 박광우, 김삼식, 최재식 : 초피나무屬의 엽과 엽침의 형태 및 해부학적 특징에 관한 연구, 경상대학교 농연보 22-2, 77-83 (1988)
64. 윤한교, 김지문 : 민산초나무 종실의 유지 및 단백질 조성에 관한 연구, 충남대 농기연보 3(2): 170-176 (1976)
65. 박명희 : 山椒의 지방산 조성에 관한 연구, 한사전문대 논문집 6: 725-729 (1981)
66. 최영희 : *Zanthoxyli Semen*의 지질성분에 관한 연구, 영남대학교 대학원 석사학위논문 (1982)
67. 한희자 : 한국산 초피와 산초의 과피 및 종자의 성분에 관한 연구, 한양대학교 박사학위논문 (1988)
68. 정우규, 안주옥, 성민웅 : 민초피나무(*Znathoxylum piperitum* D.C var. *inerm* Makino) 종자의 아미노산과 지방산 조성의 분석, 경상대학교 과학교육연구소보 16: 89-96 (1996)
69. 정우규, 안중극, 성민웅 : 초피나무(*Znathoxylum piperitum* D.C)종자의 아미노산과 지방산 조성의 분석, 경상대학교 과학교육연구소보 16: 97-104 (1996)
70. 정현숙 : 한국산 초피(*Znathoxylum piperitum* D.C)의 신미 및 정유성분에 관한 연구, 전남대학교 석사학위논문 (1984)
71. 신수철, 서재신, 정현숙 : 초피나무 수피의 지질성분에 관한 연구, 순천대학교논문집 2: 223-228 (1983)
72. 정현숙 : 한국산 초피 및 민초피의 과피와 잎의 성분에 관한 연구, 전남대학교 대학원 박사학위 논문 (1998)
73. 이경석 : 한국산 초피(*Znathoxylum piperitum* D.C)의 휘발성 향기성분 분석에 관한 연구, 연세대학교 대학원 석사학위논문 (1989)
74. 권선진 : 초피나무의 휘발성 성분 및 항균력에 관한 연구, 부산대학교대학원 석사학위논문 (1992)
75. 韓·邊 : 食品腐敗微生物の増殖に及ぼすサンショウ(*Znathoxylum piperitum* D.C)の沮害效果と抗微生物化合物の同定, *Adv. Food Sci.* 18(1/2) (1996)
76. Murayama, Y. und Shinozaki, K. : Uber den scharfen Bestandteil des

- Xanthoxylum piperitum D.C(Vorlaufige Mitteilung), Yakugaku Zasshi, 379-384 (1931)
77. Aihara, T. : On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. II. The Isolation of Sanshools and the Structure of Sanshool- I., Yakugaku Zasshi 70: 405-409 (1950)
  78. Aihara, T. : On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. III. The Structure of Sanshool-II., Yakugaku Zasshi 409-411 (1950)
  79. Aihara, Tutou : On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. IV. The Structure of Sanshoamide., 藥學雜誌 71: 1112-1115 (1951)
  80. Katayama, T. : Chemical Significance of the Volatile Components of Spices in the Food Preservative Viewpoint I. On the Volatile Components of *Xanthoxylum piperitum*, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries No. 6・7: 511-514 (1958)
  81. Abe, F. and Furukawa : Yakugaku Zasshi 93: 624 1973 (1973)
  82. Abe, F., Yahara, S., Kubo, K., Nonaka, G., Okabe, H. and Nishioka, I. : Studies on *Xanthoxylum* spp. II. Constituents of the bark of *Xanthoxylum piperitum* DC, Chem. Pharm. Bull., 22(11): 2650-2655 (1974)
  83. Kurita, N and Koeke, S. : Synergistic Antimicrobial Effect of Sodium Chloride and Essentiak Oil Components, Agric. Biol. Chem., 46(1): 159-165 (1982)
  84. Kusumoto, S., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : Constituents of Fruit Oil from Japanese Pepper, Chem. Soc. Bull. 41: 1945-1950 (1968)
  85. Kusumoto, S., Ohsuka, A. and Kotake, M. : Constituents of Leaf Oil from Japanese Pepper, Chem. Soc. Bull., 41: 1950-1953 (1968)
  86. Sakai, T., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : A Comparative Study of the Constituents of Volatile Oils of *Zanthoxylum*, Chem. Soc. Bull. 43: 484-487 (1970)
  87. Yasuda, I., Yakeya, K., and Itokawa, H. : Two New Pungent Principles isolated from the Pericarps of *Zanthoxylum ailanthoides*. Chem. Pharm. Bull. 29(6): 1791-1793 (1981)
  88. AOAC : Official methods of analysis of the association of official analytical

- chemists, 31: 361 · 126 · -127 · 814 (1980)
89. Instruction Manual for the L.K.B. 4150 Alpha Amino Acid Autoanalyzer
  90. Ohara, I. and S. Ariyoshi : Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acid in plasma, *Agric. Biol. Chem.*,43(7): 1473 (1979)
  91. 우순자, 류시생 : 원자흡광분석을 위한 식품시료전처리방법, *한국식품과학회지*, 10(4): 225 (1983)
  92. Perkin-Elmer Corporation : Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry, Norwak Com. (1986)
  93. Shell, D. and Snell, C.T. : Clolrimetric method of analysis, 3rd ed. Van Nostrand, N.Y., 3 (1963)
  94. Schults, T.H., Flath, F.A., Mon, T.R., Enggel, S.B. and Teranishi, R. : Isolation of Volatile Components from a Model System, *J. Agric. Food Chem.*, 25: 446 (1977)
  95. Philip, I. : Identification of Volatile Components, *Mass Spectrometry for Flavor Fesearch, Food Tech.* 23: 103 (1969)
  96. Anthony, A.W., Terry, A.H. and Owen, G.T. : The Gas Chromatographic Mass Spectrometric Examination of the Voaltiles Produced by the Fermentation of a Sucrose Solution, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 172, 377 (1981)
  97. Piddock, L.J.V : Techniques used for the determination of antim-icrobial resistance and sensitivity in bacteria, *J. Appl. Bacteriol* 68: 307-318 (1990)
  98. Bauer, A.W., M.M. Kibby, J.C. Sherris and M. Turck : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493-496 (1966)
  99. 李在根, 龍口和惠, 提將和, 渡邊忠雄 : グリシンと二,三の藥劑の抗菌力併用效果, *日本食品衛生學雜誌* 26: 279-284 (1985)
  100. Branch, A., D.H. Starkey and E.E. Power : Diversifications in the tube dilution test for antibiotic sensitivity of microorganisms, *Appl. Micrbiol.* 13: 469-472 (1965)
  101. MacLowry, J.D., M.J. Jaqua : Detailed methodology and implementa-tion

- semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing, *Appl. Microbiol.* 20: 46-53 (1970)
102. Barry, A.L. and R.A. Lasner : In-vitro methods for determining minimal lethal concentrations of antimicrobial agents, *Am. J. Clin. Pathol.* 71: 88-92 (1979)
  103. Pearson, R.D., R.T. Steigbigel, H.T. Davis and S.W. Chapman : Method for reliable determination of minimal lethal antibiotic concentrations, *Antimicrob. Agents Chemother.* 18: 699-708 (1980)
  104. Murray, P.R. and J.H. Jorgensen : Quantitative susceptibility test methods in major United States medical centers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20: 66-70 (1981)
  105. Bligh, E.G. and W.J. Dyer : *Can J. Biochem., Physiol.*, 37: 911 (1959)
  106. Metcalfe L.D. : Rapid preparation fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis, *Analytical chem.*, 38: 514-515 (1966)
  107. Wungaarden D.V. : Modified rapid preparation fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis, *Analytical chem.* 39: 848-850 (1967)
  108. Tatsuguchi K., J. Sakamoto, J.K. Lee and M. Tsutsumi : Leakage of cellular materials and damage to the cellular surface of *Escherichia coli* by glycine and/or sodium chloride, *J. Food Hyg. Soc. Japan* 30: 506-511 (1989)
  109. Lowry, O. H., N.J. Rosbrough, A.L. Farr and R.J. Radall : *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)
  110. Olatsdottir, G., J.A. Steinke and R.C. Lindsay : Quantitative performance of a simple Tenax-GC absorption method for use in the analysis of aroma volatiles, *J. Food Sci.* 50: 1431-1436 (1985)
  111. Kameoda, H. and S. Hashimoto : Constituents of steam volatile oils from seeds of various varieties of Brassica of various districts, *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 54: 535-539 (1980)
  112. De Siervo, A.J. : Alterations in the phospholipid composition of *Escherichia coli* during growth at different temperatures, *J. Bacteriol.* 100: 1342-1349 (1969)

113. Tatsuguchi K., S. Kuwamoto and T. watanabe : Membran degradation of heat-injured *Escherichia coli* stimulated by butylm-*p*-hydroxybenzoate, *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 32: 278-283 (1991)
114. Tatsuguchi K., J. Sakamodto, J.K. Lee and M. Tsutumi : Effects of treatments with glycine and/or sodium chloride on phospholipid composition of *Escherichia coli*, *J. Food Hyg. Soc. Japan* 30: 513-517 (1989)
115. 정동호 : 식품미생물학, 선진문화사 281-285 (1980)
116. 홍남두, 노영수, 김남재, 김진식 : 유백피의 약효연구, 생약학회지 21: 217-222 (1990)
117. 최재수, 박시향, 김일성 : 야생 식용식물의 약물대사 활성성분에 관한 연구, 생약학회지 20: 117-122 (1989)



# 제3장 제2세부과제

## 초피의 향신료 가공 및 조리법 연구 분야

### 제1절 서론

초피는 산초나무속(*Zanthoxylum piperitum* A. P. De Candolle) 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽관목으로 2-3m 정도 자라며 낙엽이 변한 가지가 대생한다. 주산지는 우리 나라 중부 이남, 일본, 중국 등이다. 4-5월에 녹색의 꽃이 집계화서로 피고, 9월경 적갈색의 열매에 흑색의 광택이 있는 종자가 맺게 된다. 수피를 천초목, 종자를 초목이라 하여 약용으로 쓰고 어린잎은 식용, 열매는 향미료로 쓰인다. 초피에는 신미, 정유성분, 유지가 함유되어 있어 향신료, 약용으로서 동북아시아 지역에서 오래전부터 널리 사용되어 왔다. 특히 초피는 따뜻하고 매우며, 얼얼한 맛과 강한 향이 있어, 육류의 냄새 제거 뿐만 아니라 체내의 습을 제거하고, 건위, 해독 및 통증을 방지하는 작용을 한다.

향신료에 관한 연구가 최근에 다각적으로 되고 있는 상황에서 전남 동부 시군과 경남 서부 시군 일대에는 초피나무를 집단으로 대량 재배하여 일본으로 90년 초반부터 수출을 시작하여 수출량이 계속증가하고 있어, 순천시에서는 초피 재배단지 조성지원 사업을 실시하여 재배확대를 시도하고 있으며, 승주읍 초피의 식재면적은 100,000평에 이르며 해마다 수십만주의 묘목을 생산하여 식재하고 있는 중이다.

따라서 본 연구에서는 현재 우리나라에서 초피의 이용 실태를 파악하고, 그 제조방법을 조사 연구하여 초피를 이용한 식품의 실험 결과를 보고하고자 한다.

#### 1. 우리 나라의 초피를 이용한 식품의 현황

우리 나라의 초피를 이용한 식품의 현황을 살펴보면, 경상도와 전남동부지역에서 주로 초피김치와 민물고기의 향신료로 이용되고 있는데, 김치를 담글 때 고춧가루와 같이 넣어서 이용하며, 초피의 첨가로 향신료의 기능과 함께 김치의 시어짐이 지연되는 것으로 알려져 있고, 추어탕, 민물고기탕 및 장어탕 등에 첨가하여 비린 냄새를 없애는데 사용되고 있으며, 전남지역의 일부 사찰에서는 초피열매를 소금물과 식초액에 절여서 장아찌를 만들어 이용하고 있다. 제주도와 전남 일부지역에서는 초피가루를

간장에 첨가하여, 초피잎이나 어린 초피열매를 된장제조시에 첨가하여 향신료로 이용하고 있으며, 어린잎을 돛회에 첨가한 자리돛회 등이 있다. 경상도에서는 초피잎을 밀가루, 된장 및 고춧가루와 섞어서 전을 부쳐 이용하고 있는 것으로 조사되었다. 우리나라의 초피를 이용한 식품의 현황은 개략적으로 표 1에 나타낸 바와 같다.

## 2. 앞으로 개발 가능한 식품

본 연구에서 초피의 식품학적 가공적성 등의 연구자료를 토대로 앞으로 개발 가능한 식품을 조사한 결과는 표 2와 같다. 즉 초피의 어린잎은 무침 및 김치 등의 향신료로 이용, 어린잎의 부각제조 및 된장절임 등에 적절할 것으로 생각되며, 과피는 인스턴트식품으로의 개발(라면 스프, 카레 스프 등에 첨가), 건조 분말 형태의 가공 및 각종 이용식품 개발이 가능할 것으로 생각된다. 한편, 종자는 종실에 함유된 정유성분 및 지질과 엑기스의 이용식품 개발이 가능할 것으로 본다. 따라서 앞으로 본 연구과제의 향신료 가공방법 및 조리법연구는 위의 내용을 중심으로 하여 이용식품을 개발하고 활용방안을 모색하고자 한다.

표 1. 우리나라 초피를 이용한 식품현황

이용식품	이용 방법	이용지역	비고
초피김치	김치를 담글 때 고춧가루와 같이 넣어서 이용하며, 초피의 첨가로 김치의 시어짐이 지연되는 효과	경상도 전 남	과피가루
민물고기의 향신료	추어탕, 민물고기탕 및 장어탕 등에 첨가하여 비린냄새를 없애는데 사용	경상도, 전남동부지역	과피가루
초피간장	초피가루를 간장에 탄 것	제주도	과피가루
초피된장	된장제조시에 초피잎이나 어린 초피 열매를 첨가	제주도	어린 초피잎 및 열매
자리돛회	어린잎을 돛회에 첨가	제주도	어린 초피잎
초피장떡	초피잎을 밀가루, 된장 및 고춧가루와 섞어서 전을 부침	경상도	어린 초피잎
초피장아찌	초피열매를 소금물과 식초액에 절여서 장아찌를 만듦	전남사찰	초피열매



표 2. 앞으로 개발 가능한 초피 이용식품

초피의 부위	개발가능 식품
잎	무침 및 김치 등의 향신료로 이용 어린잎의 부각제조 된장절임
과 피	인스턴트식품 개발 : 라면 스프, 카레 스프 등에 첨가 건조 분말 형태의 가공 및 각종 이용식품 개발 -이용식품 용도별 입자크기 결정 -다른 향신료 및 양념류와 초피가루의 혼합비율 결정 초피 조미유 제조
종 자	종실에 함유된 정유성분 및 지질성분을 추출 엑기스 활용방안 모색

3. 초피를 이용한 중국의 향신조미료

초피는 중국의 사천(四川), 협서(陝西), 하남(河南), 하북(河北), 산서(山西) 등지에 주로 생산된다. 그 중 사천에서 생산된 것이 가장 품질이 우수하며, 하북(河北), 산서(山西) 지방은 초피생산량이 가장 많다. 초피는 씨가 작고 껍질이 얇으며 자주 빛이 나는 것이 좋다. 초피는 향과 맵고 얼얼한 맛(麻辣味)이 나서 인체내의 여러 가지 기능을 촉진시키고 항균력등 식품의 방부효과가 크기 때문에 향신료 중에서 이용도가 가장 높다. 기후가 높은 지역에서는 음식의 보존과 잘 변하는 음식의 나쁜 냄새를 가리기 위하여, 습하고 한냉한 지역에서는 한기를 발산하고 혈행을 좋게 하기 위하여 많이 사용한다. 조리할 때 얼얼한 맛(麻味)만 취하는 수도 있지만, 볶은 뒤 소금과 혼합하여 초피염(椒鹽)을 만들어 소스재료나 여러 가지 재료와 배합하여 조리할 때 사용한다. 중국에서 흔히 사용되는 초피를 이용한 향신조미료는 다음과 같다.

가. 오향분(五香粉)

오향분(五香粉)은 다섯가지 향료를 배합하여 만든 조미료로, 계피(桂皮), 대료(大料, 八角, 大茴香), 소회향(小茴香), 정향(丁香), 초피(山椒, 花椒)를 일반적으로 오향분(五香粉)이라고 한다. 그러나 지역에 따라서 서로 배합방법이 다르며, 회향(茴香), 계피(桂皮), 생강(生薑), 사인(砂仁), 두구(荳蔻), 초피(山椒, 花椒)등의 향신료를 배합하여

가공하기도 한다. 오향분은 짙은 노란색이며, 향이 강하여 조리시 어떤 단일 향료보다 사용하기가 편리하고 주로 노채(鹵菜), 냉채(冷菜) 등에 많이 사용한다.

#### 나. 향랄분(香辣粉)

향랄분은 주로 방향성 향신료를 배합하여 만든 것으로 초피(花椒), 대료(大料, 八角, 大茴香), 고추(辣椒), 후추(胡椒), 생강(生薑), 겨자가루(芥末) 등을 사용한다.

#### 다. 랄장유(辣醬油)

랄장유는 일종의 특수한 간장으로서 설탕(砂糖), 정염(精鹽), 양파(洋蔥頭), 초초(醋椒:식초와 초피), 도마토피레(番茄醬), 생강(生薑), 고추씨(辣椒), 사과(苹果), 근채(芹菜), 소회향(小茴香)등 25종의 천연조미료를 배합하여 만든다. 색이 간장보다 약간 옅고, 맛이 달고, 시고, 맵고, 짜면서 향이 좋다. 조리에는 잠즙(蘸汁: 냉채소스), 숙즙(熟汁: 재료를 익히기 위해 끓이는 국물), 소채(燒菜), 초채(炒菜)에 사용한다.

#### 라. 맵고 짠맛(辣咸味) 조미료

맵고 짠맛은 짠맛, 매운맛 그리고 지미와 향이 조화된 것으로 고추, 초피, 소금 등을 가공하여 만든다.

#### 마. 얼얼하고 매운맛(麻辣味) 조미료

얼얼하고 매운맛은 초피의 얼얼한 맛과 고추의 매운맛을 함유하고 있는 자극성이 강한 일종의 복합맛이다. 사천지방에서 가장 많이 쓰는 조미료중의 하나이다. 고추, 초피 등을 식용유에 넣어 가열하면, 유효성분이 추출되고, 여기에 소금을 배합하여 만든다.

#### 바. 초염(椒鹽)

소금과 초피를 솥에서 볶은 뒤 분말로 만들어 혼합한 것이다. 만약 대량 초염을 제조하려면 먼저 소금 500g, 초피 1500g을 준비하여 초피를 약한 불에서 볶은 후 꺼낸다. 다시 소금을 솥 안에서 수분이 없을 정도로 볶은 다음 각각 고운 분말로 만들어 혼합하면 초염이 된다. 튀긴 음식에 사용한다.

#### 사. 어향즙(魚香汁)

어향즙을 만들 때 사용하는 조미료는 비교적 많다. 신선한 생선을 골라 마른 면수건으로 물기를 깨끗하게 닦은 다음에 토막을 낸다. 다음에 생강, 마늘, 파는 미리 기름에 살짝 볶은 다음 간장, 초(醋), 설탕, 고추장(辣醬) 또는 불린 마른고추, 후춧가루, 초피가루, 술(紹酒)을 같이 넣고 잘 섞어 항아리에 담고, 위에 대나무 잎을 덮어서 20여일 발효시키면 어향즙(魚香汁)이 된다. 사용할 때 전분을 넣고 끓여 사용한다.

#### 아. 화초수(花椒水)

화초수는 신선하고 시원한 선미(鮮味)와 짠맛(鹹味)이 배합된 노즙(鹵汁)이다. 초피 50g을 사기그릇에 담고 생강 50g, 파 50g, 끓는 물 500g을 넣어 뚜껑을 덮고 일정한 시간 띄운 다음 건더기는 꺼낸다. 북경지방에서 특히 많이 사용하는 조미료이며, 오향(五香)을 넣어 만드는 경우가 많다.

#### 자. 마랄즙(麻辣汁)

마른고추, 고추기름, 초피가루, 소금, 간장, 설탕, 마늘, 생강, 파 등을 잘게 다진 후 그릇에 담고, 다시마를 넣고 끓인 물을 넣어 잘 섞어 놓으면 마랄즙이 된다. 마랄즙을 사용하여 조리하는 경우에 주재료와 부재료를 먼저 살짝 볶은 후에 다시 마랄즙을 넣고 볶아 음식을 조리한다. 얼얼하고 매운 정도는 개인의 입맛과 지역에 따라 차이가 있으며, 사천지방의 특징적인 맛이다.

#### 아. 궁보즙(宮保汁)

사용하는 재료는 간장, 초(醋), 설탕, 마른고추, 초피, 생강, 파, 마늘 등이다. 일반적으로 마른고추와 초피를 끓는 식용유에 넣고 약한 불로 유효성분을 추출한 후에 고추와 초피는 건져 낸다. 여기에 다시 생강, 파, 마늘을 넣고, 그 다음에 간장, 초(醋), 설탕을 넣고 걸죽하게 끓여 즙을 만든다. 매운 것을 좋아하는 사람은 고춧가루를 넣어 도 된다. 궁보즙의 맛은 시고, 달고, 맵다.

#### 자. 호랄미(糊辣味)

마른고추, 초피, 간장, 설탕, 초(醋), 파, 생강을 사용한다. 식용유를 가열하여 온도를 높인 후에 고추, 초피, 생강을 넣고 유효성분이 추출되면 건져낸다. 여기에 소량의 물을 붓고, 간장, 설탕, 초, 파를 넣고 약한 불로 걸죽하게 끓인다. 주로 음식을 데치거

나, 볶을 때 사용한다. 매우면서 적당한 기름에 강한 향기를 갖고 있다.

#### 카. 초마즙(椒麻汁)

초마즙은 주로 냉채(冷菜)에 사용한다. 초피(花椒), 파 흰부분(蔥頭), 술, 참기름, 설탕(鮮湯)이 주재료이다. 황주에 초피를 담근 뒤 초피가 부드러워지면 칼로 잘게 다지고, 파의 흰부분도 아주 잘게 다져넣어 걸쭉하게 되면, 참기름, 설탕을 넣고 잘 섞는다. 참기름의 향기와 설탕의 간간하고 시원한 맛과 술 향기가 어우러져 개운한 느낌을 준다.

#### 타. 괴미즙(怪味汁)

괴미즙은 주로 냉채에 사용한다. 고추기름, 참기름, 참깨잼(芝麻醬), 간장, 설탕, 초(醋), 초피가루, 볶은 참깨 등을 함께 잘 섞는다. 맛은 짠맛, 단맛, 얼얼한 맛, 매운맛, 신맛에 참기름의 향이 잘 어울려 괴미즙의 맛을 낸다.

#### 차. 진피미(陳皮味)

진피맛은 주로 냉채에 사용한다. 진피, 마른고추, 초피, 간장, 소금, 설탕, 파, 생강, 술이 주재료이다. 진피의 맛을 내기 위해서 불에서 사각사각하게 볶은 후에 분말로 곱게 만들어, 마지막에 진피를 넣는다. 소량의 식용유를 가열한 후 고추, 초피, 생강을 넣어 향을 추출한 후에 건더기는 건져내고, 다시 물을 조금 붓고 여기에 간장, 소금, 설탕, 파를 넣고 약한 불로 잘 졸여서 걸쭉하게 만든 후에 진피가루와 술을 넣어 살짝 끓인다. 향이 짙고 얼얼하면서 맵고 달다.

## 제2절 재료 및 방법

### 1. 실험재료

예비실험 결과 가지있는 초피(이하 초피)가 가지없는 초피(이하 민초피) 보다 향신료로서 더 적합하였기에 향신료 실험은 주로 가지있는 초피를 선택하여 실험하였다. 초피는 과피와 종자를 분리하여 마쇄한 후 30mesh로 한 시료를 사용하였다. 초피 잎은 5월 하순에 채취한 어린잎을, 초피과피는 종자가 완전히 성숙되었을 때(9월 20일 무렵) 채취하여 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 가. 초피의 수율실험

초피가루 수율은 향신료로서 가장 기호도가 높은 성숙한 초피 1,000g을 과피와 종자로 분리하여 무게비로 측정하였고, 10mesh, 30mesh, 50mesh로 마쇄하여 과피가루와 종자가루의 수율을 측정하였다.

#### 나. 초피 향신료 실용화를 위한 최적조건 실험

초피의 이용개발을 위하여 제품특성에 가장 좋은 초피추출액의 온도, 추출시간, 농도, 배합물의 종류 및 비율을 찾기위하여 70℃, 80℃, 90℃에서 1분~10분 동안 각각 추출하였고 초피농도는 0~1% 범위에서 실시하였다. 이와 같은 조건으로 추출한 추출액은 침전물의 중량, 탁도, 색도, 관능검사 등의 실험을 통하여 용도에 따른 최적 조건을 선택하였다

#### 1) 침전물의 중량

각 조건에서 가열한 초피추출액을 3000 rpm에서 20분 원심분리하여 상등액을 제거한 후 무게비(원심분리 후 침전된 중량/시료의 량×100)로 측정하였다

#### 2) 탁도

각 조건에서 가열한 초피추출액을 잘 혼합한 후 660nm에서 흡광도를 측정하였다,

### 3) 색도 측정

각 조건에서 가열한 초피추출액을 원심분리한 후 상등액을 색도계(Hunter Color/Super color SP-80)를 이용하여 Hunter의 L, a, b 값을 측정하였다.

### 4) 관능검사

각 조건에서 가열한 초피추출액의 관능검사는 <별첨 1> 자료에 의하여 평가하였다. 초피에 대한 거부감이 없고, 건강, 성격, 실험에 대한 관심도를 고려하여 10명을 선정하여 model system과 시료를 이용하여 훈련시킨 뒤 실험에 응하도록 하였다. 초피 추출액의 색(Color), 냄새(Flavor), 맛(Taste), 전체적인 선호도(Overall preference)에 대하여 10단계로 구분하여 최고 5점, 최저 1점으로 점수화 하였고, 오전 11시, 오후 3시에 각각 1회씩 평가하였다. 시료는 같은 그릇에 담아 평가하였고 시식하는 순서는 초피 첨가량이 적은 시료부터 관능평가를 하였으며, 시식을 한 뒤 반듯이 물로 입안을 헹구고 다른 시료를 시식하여 평가하도록 하였다.

### 다. 초피저장 중 향기성분 분석

초피 저장 중 향기성분의 변화를 측정하기 위하여 초피를 과피와 종실로 구분하고 실온, 냉장(4℃) 및 질소충진(실온) 등 3가지 방법으로 저장하면서 1개월 간격으로 향기성분 변화를 측정하였다. 향기성분의 측정은 Puge & Trap 분석법을 사용하였고 기기는 Tekmar(Tekmar co. USA)의 Puge & Trap을 이용하여 분석하였다. 향기성분 분석을 위한 시료 1ml를 시료병에 넣고 purge flow는 분당 50ml로 10분간 시키고, traps은 tenax TA에 흡착하여 분리는 180℃에서 4분간 시켜서 GC-Mas의 capillary injector에 직접 연결하였다. 이때 분석에 사용된 GC는 Hewlett Packard 5890 series-II 기종이었으며, GC의 분석조건으로는 column은 Ultra-2(5% diphenyl and 95% dimethylpolysiloxane) id 2.2mm X length 25m, injection port와 dedector port의 온도는 각각 250℃와 280℃, column의 온도는 70℃에서 5분간 유지한 다음 분당 2.5℃ 씩 200℃까지 승온분석, 운반기체는 He gas, 유속은 분당 1ml, 분할 비율은 60 :1이 었고, mass는 Hewlett Packard GC-Mass( HP 5970 MSD)로 하였으며 성분의 확인은 컴퓨터에 내장된 Willy library를 사용하였다. 초피주에 함유된 fusel oil과 정유성분의 측정은 표준품에 의한 외부 표준법에 의하여 계산하였다.

#### 라. 초피소스 개발을 위한 특성 실험

제2절 2. 나.의 실험결과 최적조건으로 조미료로는 0.1% 농도가 선호도가 높았고, 추출온도는 90℃에서 추출시간은 5분이 적절하다고 판단되어, 이와 같은 조건에서 다음과 같은 변수로, 침전물의 중량, 탁도, 색도, 관능검사를 측정하였다.

##### 1) 과피가루와 종자가루의 혼합 비율

과피와 종자를 30 mesh로 마쇄하여 과피가루와 종자가루의 배합비율에 따른 초피추출액의 특성을 실험하였다.

##### 2) 과피가루와 과립의 혼합 비율

30 mesh로 마쇄한 과피가루와 마쇄하지 않은 초피 과립의 혼합비율에 따른 초피추출액의 특성을 실험을 하였다.

##### 3) 과피가루의 크기에 따른 특성

10, 30, 50 mesh로 한 초피과피 가루 크기에 따른 초피추출액의 특성을 실험하였다.

##### 4) 초피과피의 가공방법에 따른 특성

초피과립을 100℃에서 10분 볶은 시료, 100℃에서 10분 증기로 찜시료를 각각 마쇄하여 30 mesh로 한 다음 각각의 초피추출액에 대한 특성실험을 하였다.

##### 5) 다시다 종류에 따른 초피추출물의 최적조건 실험

예비실험을 통하여 최적의 다시다액 농도를 멸치다시다(C사) 0.30%, 쇠고기다시다(C사) 0.25%, 조개다시다(C사) 0.40%, 다시마(시중 구입) 1.0% 농도로 정하였고 여기에 초피 0.1%를 첨가하여 특성 실험을 하였다.

##### 6) 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때의 맛의 효과 실험

예비실험 결과 각 조미료의 최적농도를 각각 설정하여 다음과 같이 실험하였다. 소금(꽃소금) 0.5%, 간장(샘표양조간장 500s, 샘표식품주식회사) 2.5%, 설탕(제일제당) 2.0%, 식초(화영 양조식초, 총산 함량 6.5~7.0 w/v%) 2.0%, 파 0.6%, 마늘

1.0%, 마른고추 3.5%, 생강 1.5%와 초피가루 0.1%를 조류별로 다양하게 혼합하여 위의 조건으로 가열한 초피추출액에 대한 맛의 특성을 실험하였다.

#### 마. 초피를 이용한 식품의 조리

##### 1) 초피잎의 조리방법에 따른 관능검사

###### 가) 초피부각

초피 부각은 찹쌀을 불려서 50 mesh로 마쇄한 가루 600g, 소금 8g, 물 700ml을 혼합하여 약한 불에서 호화시킨 다음 어린 초피잎(5월 채취) 300g을 제조한 찹쌀풀로 입혀서 50℃에서 1일 건조하였다. 튀김온도는 160℃에서 30초 튀긴 후 기름을 제거하여 관능평가를 하였다

###### 나) 초피나물

어린 초피잎 500g을 3배의 끓는 물에 넣고 1분간 blanching하여 물기를 제거한 후 소금, 참기름을 넣고 무친다음 관능평가를 실시하였다.

###### 다) 초피절임

어린 초피잎을 2.0% 소금물에 5시간 침지한 다음 물기를 제거하여 고춧가루, 짓갈, 깨, 파, 마늘을 넣고 담가서 관능평가를 실시하였다.

##### 2) 초피 추어탕의 관능검사

###### 가) 재료

미꾸라지 600g, 마늘 10개, 고추 50g, 실가리 300g, 된장 2Ts, 들깨 30g, 고춧가루 1/2Ts, 소금 약간, 물 1L, 초피 과피가루(30 mesh)

###### 나) 만드는 방법

- (1) 실가리에 고추와 마늘 갈아놓은 것과 된장을 잘 섞어서 무친다
- (2) 미꾸라지를 잘 씻어 삶은 다음 마쇄하여 체에 내려서 물을 넣고 끓인다
- (3) 들깨를 갈아서 체에 걸러서 넣은 다음 (2)에 넣고 마늘 다진 것, 고춧가루,



소금을 넣고 끓인다.

다) 초피가루 첨가시기와 함량

초피가루 첨가는 음식을 완성하기 1분전에 첨가한 가열 중 첨가구와 음식을 완성한 후 첨가한 가열 후 첨가구로 구분하여 실험하였고, 첨가량은 0~1%를 첨가하여 각각 실험하였다.

라) 관능검사

제2절 2. 나. 4)와 동일하게 평가하였다.

3) 초피를 첨가한 라면의 관능검사

초피가루를 라면의 스프에 0~0.2%를 중량비로 첨가하여 섞은 뒤 라면을 끓일 때 첨가하여 관능검사를 실시하였다.

4) 초피 장아찌

가) 실험재료

초피와 민초피를 1999년 5월 27일 잎과 열매를 채취하여 시료로 하였다

나) 장아찌 제조

소금물 침지군은 초피잎과 열매를 소금물 0.2%에 1일 침지하여 물기를 제거한 뒤 된장에 담그고, 대조군은 깨끗이 씻어 물기를 제거한 다음 된장에 담가서 저장하였다. 이때 초피와 된장의 비율은 1:5 비율로 하였으며, 저장 6개월 후에 장아찌의 일반성분, 염도, 산도, 색도, 관능검사 및 신미성분을 실험하였다.

다) 실험방법

(1) 일반성분의 분석

일반성분은 상법에 의하여 분석하였다

(2) 염도의 측정

염도는 argentometric method 에 따라 측정하였다. 즉 시료 50g을 증류수 100ml와 함께 마쇄하고 Watman No. 2 여과지를 깐 Buchner funnel로 흡인 여과하여 250ml로 정용한 후 10ml를 취하여 1N K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 지시약 1ml를 첨가한 후 0.1N AgNO<sub>3</sub> 용액으로 미적색이 될 때 까지 적정하였다.

$$\text{염도}(\%) = \frac{0.00585 \times A \times F \times D}{\text{시료의 무게}(g)} \times 100$$

0.1N AgNO<sub>3</sub> 1ml = 0.00585 NaCl

A : 0.1N AgNO<sub>3</sub> 용액의 소비 ml

F : 0.1N AgNO<sub>3</sub> 용액의 역가

D : 공시액의 채취 배수

(3) pH 및 적정산도 측정

pH 및 적정산도는 한국식품공업협회 식품공전의 방법에 따라 측정하였다. 즉 시료 50g을 증류수 100ml 와 함께 마쇄하고 Watman No. 2를 깐 Buchner funnel로 흡인 여과하여 200ml로 정용한 후 pH meter(CG 836, schott gerate, Germany)를 사용하여 25℃에서 측정하였다. 적정산도는 시료 50g을 80% 에탄올 100ml와 함께 마쇄한 후 Watman No. 2 여과지를 깐 Buchner funnel로 흡인 여과하여 250ml로 정용한 후 냉장고에서 하루 방치하였다가 상징액 10ml를 취하여 같은 방법으로 적정하여 이에 소요된 NaOH용액을 다음 식에 따라 계산하였다

$$\text{적정산도}(\%) = \frac{0.009 \times A \times F \times D}{\text{시료의 무게}(g)} \times 100$$

0.1N NaOH 1ml = 0.009 lactic acid

A : 0.1N NaOH 용액의 소비 ml

F : 0.1N NaOH 용액의 역가

D : 공시액의 채취 배수

#### (4) 색도 측정

색도계(Hunter Color/Super color SP-80)를 이용하여 Hunter의 L, a, b 값을 측정하였다.

#### (5) 관능검사

초피에 대한 거부감이 없고, 건강, 성격, 실험에 대한 관심도를 고려하여 10명을 선정하여 model system과 시료를 이용하여 훈련시킨 뒤 실험에 응하도록 하였다. 초피 장아찌의 색(Color), 냄새(Flavor), 맛(Taste), 질감(Texture), 전체적인 선호도(Overall preference)에 대하여 10단계로 구분하여 최고 5점, 최저 1점으로 점수화하였고, 오전 11시, 오후 3시에 각각 1회씩 평가하였다. 시료는 같은 그릇에 담아 평가하였고, 시식을 한 뒤 반듯이 물로 입안을 헹구고 다른 시료를 시식하여 평가하도록 하였다.

#### (6) 신미성분의 분석

##### (가) 신미성분의 추출

초피장아찌 10g을 chloroform 50ml씩 넣고 3회 추출하여 여과하고 여액을 모아 감압농축기로 농축하여 hexane 10ml에 용해한 후 HPLC 시료로 사용하였다.

##### (나) 신미성분의 HPLC에 의한 정량

신미성분의 HPLC에 의한 분리는 Yasuda법에 준하였다. 즉 silica gel column chromatography에서 신미성분이 확인된 fraction을 모아서 감압농축하고, 0.45  $\mu$ m의 막여과기로 여과하여 활성화시킨 florsil sep-pak(Waters Co. USA)에 통과시킨 액을 다시 HPLC(Waters Co., M224)를 사용하여 물질을 최종 순수분리하였다. 즉 porasil(8mm x 30cm) column(Waters Co. USA)을 사용하여 순수분리 하였으며, 이 때 사용된 용매는 hexane : iso-propanol = 15 : 1의 비율로 하여, 유속은 분당 20ml, 시료 주입량은 0.1ml, 270nm에서 검출하였다. 계산은 신미성분의 분리동에서 순수분리한 hydroxy $\gamma$ -sanshool 1mg을 hexane 10ml에 용해하여 사용하였으며, 표준물질의 순도는 면적 백분율법으로 분석한 결과 95%이었고 분석조건은 표 3과 같다.

표 3. 신미성분 분석을 위한 HPLC 조건

Instrument	Waters M244
Column	Porasil(4mm × 30cm)
Solvent	Hexane : iso-propanol=15:1(V/V)
Flow rate	20 ml/min
Detector	UV 270 nm

#### 5) 초피첨가 침채류의 미생물의 변화

##### 가) 시료김치의 제조

전남 순천농협 남도김치공장에서 2000년 7월 12일에 제조한 배추김치를 제조 직후 냉장상태로 실험실로 운반하여 시료로 사용하였다. 즉 시료김치는 100g 단위로 초피를 첨가하지 않은 대조군과 초피를 첨가한 김치군으로 나누어 제조하였다. 초피 첨가 김치군의 초피첨가는 플라스틱 용기에 김치시료 넣고 초피첨가량을 중량비로 0.05%, 0.1%, 0.5% 및 2.0%씩을 각각 첨가하여 잘 혼합한 후 100g 단위로 비닐봉지에 담고 잘 밀봉하여 4℃에 숙성 발효시키면서 24시간 간격으로 취하여 미생물의 변화 측정 시료로 사용하였다.

##### 나) 김치발효 중 관련 미생물수 측정

각 시료를 5g씩 취해 0.85% 생리식염수로 10배 희석한 후 일반세균은 PCA, 대장균은 DA, 유산균은 BCP 배지를 각각 이용하여 희석액 1mL씩을 pouring culture method로 접종한 다음 30℃에서 2일 배양후 계수하였다.

#### 바. 초피를 이용한 가공식품개발

##### 1) 초피 음료

초피음료로서의 최적조건은 초피 첨가량 0.05%, 30 mesh로 나타난 바, 물에 초피 0.05%(30 mesh), 비타민 C, 구연산, 구연산 나트륨, 설탕 등을 종류별로 첨가하여 10분 교반한 뒤 여과하여 관능 특성을 실험하였다. 비타민 C, 구연산, 구연산 나트륨,

설탕 등의 농도는 예비실험을 통하여 최적농도를 구하였고, 첨가된 양은 비타민 C 0.2%, 구연산 0.1%, 구연산 나트륨 0.05%, 설탕 3.0% 이다.

### 2) 초피조미유 조제

초피과피를 건조하여 분쇄한 후 시료량의 4배의 ethanol을 넣어 50℃에서 2시간 환류추출하였으며, 매회 새로운 ethanol을 넣어 3회 반복 추출한 후 상등액을 합하여 vacuum rotary evaporator로 용매를 증발시켜 정유성분을 얻었다. 초피정유의 이화학적 성질을 조사하였고, 초피정유를 0-5% 농도로 식용유와 혼합하여 초피조미유의 특성을 실험하였다.

### 3) 혼합향신료 가공

초피가 함유된 한약재료를 예비실험과 여러 가지 자료를 통하여 표 4와 같은 비율로 혼합하여 마쇄한 후 어육류의 조림과 편육을 쉽게 만들 수 있는 혼합조미료를 티백으로 만들었다. 어육류 1kg과 파 1대, 생강 1쪽, 소금 10g, 간장 60g, 술 30g, 물 3ℓ을 넣고 혼합조미료 티백 1포를 넣고 끓여서 끓면 약한 불로 하여 어육류는 30분, 육류는 1시간 가열한 다음 관능검사를 실시하였다.

표 4. 혼합향신료의 비율

재료	(g)			
	생선	쇠고기	돼지고기	닭고기
초피	0.20	0.15	0.23	0.15
팔각회향	0.20	0.20	0.20	0.25
소회향	0.20	0.20	0.15	0.15
진피	0.20	0.15	0.25	0.25
계피	0.20	0.10	0.15	0.15
육두구		0.10	0.07	
백두구		0.10	0.15	
정향		0.10	0.07	0.15
백지		0.10	0.08	
산사		0.20		
사인			0.15	
총량	1.00	2.50	1.50	1.10

#### 4) 가정에서 쉽게 만들 수 있는 초피조미료

##### 가) 초피 고추씨염 제조

초피, 마른 고추씨, 소금을 솥에서 각각 볶은 뒤 분말로 만들어 혼합한다. 즉 소금 100g, 초피 300g, 마른 고추씨 50g을 준비하여 초피와 마른 고추씨를 약한 불에서 약간 노릇노릇할 때 까지 볶은 후 꺼낸다. 다시 소금을 수분이 없을 정도로 볶은 후 각각 30 mesh로 마쇄하여 혼합하여 제조한다.

##### 나) 초피종자유

초피 종자를 120℃ 가열한 후 착유하여 셀러드용 기름이나 볶음용 기름으로 사용한다.

#### 5) 초피주 개발

##### 가) 실험재료

###### (1) 실험재료 및 사용 균주

약주 제조를 위한 원료인 쌀은 순천시 농협에서 생산한 20kg 포장미를 사용하였으며, 소주는 (주)보해 골드(주정 25%)를 이용하였고, 초피는 98년 7월에 채취하여 건조시켜서 씨를 제거한 과피를 사용하였다. 사용 균주로는 koji균은 백곡균 (*Aspergillus kawachii*)을 사용하였고, 효모는 순천대학교 식품공학과 식품미생물실에 알코올과 향기 생성력이 우수한 균주를 분리동정하여 보관하고 있는 *Saccharomyces cerevisea* S-3 균주를 사용하였다.

###### (2) 시약

당화효소는 탁주용(태평양사)을 사용하였으며, 분석시약은 특급시약을 사용하였다.

##### 나) 초피주 제조

###### (1) 소주를 이용한 재재주

원료인 소주는 (주)보해 골드(주정 25%)에 건조 과피를 0.01%, 0.05%, 0.1% 및 0.2%(W/V%)을 첨가하여 30일, 60일 및 90일간 실온에서 추출하여 분석을 실시하였다.

## (2) 초피 약주제조

주모의 배합 비율은 쌀 600g, 코지 300g, 물 900ml에 전배양시킨 효모액 100ml를 첨가하고 20℃에서 발효를 시켰다. 초피 첨가는 제조과정 중 4 단계별로, 즉 원료쌀의 증자, 사입시, 주발효 및 후발효 등으로 구분하여 첨가시기를 설정하였으며, 초피 첨가량은 첨가시기가 결정된 후발효시 원료 쌀에 대하여 0.01%, 0.05%, 0.1% 및 0.2%(W/V%)을 첨가 후 발효시킨 후 원심분리하여 시료로 사용하였다. 대조구는 초피를 첨가하지 않고 발효시킨 것을 사용하였다. 첨가시기 및 첨가량의 결정은 관능 검사로 결정하였다.

## 다) 성분 분석

### (1) 산도 측정

초피약주의 산도변화는 초피를 본 사입 후 3일 후에 원료의 0.05%를 첨가가 하고 첨가 다음날부터 1일 간격으로 약주를 원심분리하여 상등액 10ml를 0.1N NaOH 액으로 적정하여 소비량(ml)을 산도로 하였다.

### (2) 알코올 및 향기성분 분석

알코올 측정은 비중 측정법에 의해 측정하였다. 비중 측정법은 시료 100ml를 취하여 증류기에 넣고 증류액이 70ml가 될때 까지 증류하여 이 증류액에 증류수를 가하여 100ml이 되도록 하였다. 이 혼합액을 잘 혼합하여 주정계를 사용하여 알코올 함량을 측정하였다.

향기성분의 분석은 gas chromatography mass(GC-Mass)을 이용하였으며 향기성분 포집방법은 Puge & Trap 분석법을 사용하였고 기기는 Tekmar(Tekmar co. USA)의 Puge & Trap을 이용하여 분석하였다. 향기성분 분석을 위한 시료 1ml를 시료병에 넣고 purge flow는 분당 50ml로 10분간 시키고, traps은 tenax TA에 흡착하여 분리는 180℃에서 4분간 시켜서 GC-Mas의 capillary injector에 직접 연결하였다. 이때 분석에 사용된 GC는 Hewlett Packard 5890 series-II 기종이었으며, GC의 분석조건으로

는 column은 Ultra-2(5% diphenyl and 95% dimethylpolysiloxane) id 2.2mm X lenght 25m, injection port와 dedector port의 온도는 각각 250℃와 280℃, column의 온도는 70℃에서 5분간 유지한 다음 분당 2.5℃ 씩 200℃까지 승온분석, 운반기체는 He gas, 유속은 분당 1ml, 분할 비율은 60:1이 였고, mass는 Hewlett Packard GC-Mass( HP 5970 MSD)로 하였으며 성분의 확인은 컴퓨터에 내장된 Willy library 를 사용하였다. 초피주에 함유된 fusel oil과 정유성분의 측정은 표준품에 의한 외부 표준법에 의하여 계산하였다.

### (3) 초피주에 함유된 신미성분 분석

초피주에 함유된 신미(아린맛)성분을 분석은 Yasuda법에 준하였으며 추출방법은 시료 1000ml을 1/10로 농축하여 chloroform 100ml로 3회 추출하여 농축한 후 ether로 용해시켜 0.45 $\mu$ m 막여과기로 여과한 후 high performance liquid chromatography (HPLC) 시료로 사용하여 이 때 silica column을 사용하였으며 이동상은 hexane : iso propanol(15 : 1 V/V)을 사용하였으며 분석조건은 표 3과 같다. 표준품은 제1장 신미성분에서 분리정제한 것을 이용하였다.

### (4) 초피주의 색도측정

색도 측정은 초피약주와 초피재재주를 원심분리하여 상등액을 색차계(Super color SP-80 Tokyo Denshoku Techenical Center Japan)로 L값(lightness), a값(redness/ greenness) 및 b값(yellowness/blueness)을 측정하였다.

### (5) 관능검사

관능검사 방법은 5점 순위법으로 평가를 실시하였다. 즉 맛과 향기에 대하여 아주 좋다 5점, 좋다 4점, 보통이다 3점, 좋지 않다 2점, 아주 좋지 않다 1점으로, 검사요원은 순천대학교 식품공학과 교수 및 대학원생 10명으로 하여금 관능검사를 실시하여 그 점수를 산술평균으로 구하였다.

### 사. 대량생산을 위한 초피의 가공과 이용 방안

초피의 조가공, 초피가루의 가공, 초피향유 가공 및 초피향 정유가공 등의 이용 방안 및 제조방법을 확립한다.



### 제3절 결과 및 고찰

#### 가. 초피의 수율

수확 직후 초피 과피와 종자를 각각 분리하여 무게비로 수율을 측정한 결과는 표 5와 같다. 무게 비율로 측정하였을 때 초피의 과피는 35.53%, 종자는 64.47%로서 종자의 수율이 1.8배 더 높았다. 민초피는 초피에 비하여 과피의 수율은 약간 높았다. 중국 鄭州 糧食學院學報의 보고에 의하면 건조시킨 초피의 과피와 종자의 수율이 약 1 : 1이라고 하였는데 본 실험 결과와 차이가 있는 것은 초피와 종자를 분리할 때 초피의 건조정도와 산지의 차이라고 생각된다.

표 5. 초피 과피와 종자의 수율

	과피 (%)	종자 (%)	총합량(%)	과피:종자 비율
초 피	35.53	64.47	100	1 : 1.8
민초피	37.01	62.99	100	1 : 1.7

초피의 과피가루, 종자가루 크기에 따른 수율은 표 6과 같다. 초피 총량에 대한 초피 가루의 수율 중 과피는 약 31~33%, 종자는 약 63~64%로 과피의 수율이 종자의 수율보다 더 낮았다. 가루의 크기에 따른 수율은 가루의 크기가 작을수록 수율은 저하되는 경향을 보였으며, 50mesh인 경우 수율의 저하가 컸다.

표 6. 초피 과피가루 및 종자가루의 수율

초피부위	가루의 크기 (mesh)	입자 총량에 대한 가루의 수율(%)	초피 총량에 대한 가루의 수율 (%)
과피	10	91.67	32.57
	30	90.78	32.25
	50	88.04	31.28
종자	10	99.89	64.40
	30	99.78	64.33
	50	98.54	63.53

나. 초피 향신료 실용화를 위한 최적조건

초피는 사람들이 가장 선호하는 향신료 중의 하나로 “향신료 중의 왕”이라고 하며, 약용가치가 매우 높기 때문에 광범위하게 사용되고 있다. 초피 향신료 실용화를 위한 초피 추출액의 최적온도, 추출시간, 농도, 첨가물 종류 및 비율을 찾기 위하여 초피 과피가루의 크기 30mesh를 시료로 하여, 농도 0~1%, 추출온도 70℃~90℃에서 추출시간 1~10분 동안 각각 추출하여 침전물의 중량, 탁도, 색도, 관능검사를 실시하였다. 일반적으로 향신료를 음식에 첨가하였을 때 음식의 색깔과 광택, 음식물에 가라앉는 침전물 및 국물의 탁도는 맛을 평가하는데 중요한 요소가 되므로 이러한 요소를 중심으로 실험한 결과는 표 7~10과 같다.

1) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 침전물 중량

초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 침전물 중량은 표 7과 같다. 초피 과피가루 첨가량이 증가함에 따라 침전물의 중량은 비례적으로 증가되었고, 가열시간이 길수록, 가열온도가 높을수록 초피 침전물의 중량은 약간 증가되는 경향을 보였다.

표 7. 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 침전물 중량

추출온도 (℃)	추출시간 (분)	첨가량(%)			
		0.025	0.050	0.075	0.100
70	1	13.22	16.88	19.85	21.03
	5	13.29	16.24	19.23	21.11
	10	13.65	17.13	19.53	21.88
80	1	13.32	16.26	20.90	22.97
	5	13.55	18.04	21.38	22.31
	10	14.12	18.11	21.45	23.04
90	1	13.34	16.72	21.76	23.32
	5	13.51	18.79	20.57	23.52
	10	14.00	19.58	21.86	24.74

2) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 탁도

초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 탁도는 표 8과 같다. 첨가량이 높아짐에 따라 추출액의 탁도는 비례적으로 증가하였다. 동일온도에서는 추출시간이 길수록 탁도가 약간 증가되었고, 추출온도가 높을수록 탁도는 증가하였다. 추출액의 탁도는 농

도에 따른 영향이 가장 크게 나타났으며, 추출온도, 추출시간 순으로 영향이 있었다.

표 8. 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 탁도

추출온도 (°C)	추출시간 (분)	첨가량 (%)			
		0.025 (%)	0.050(%)	0.075(%)	0.100 (%)
70°C	1 분	0.028	0.064	0.089	0.103
	5 분	0.028	0.066	0.094	0.106
	10 분	0.030	0.074	0.093	0.105
80°C	1 분	0.028	0.073	0.092	0.113
	5 분	0.029	0.073	0.093	0.119
	10 분	0.030	0.074	0.094	0.121
90°C	1 분	0.037	0.069	0.095	0.114
	5 분	0.039	0.076	0.095	0.118
	10 분	0.043	0.083	0.106	0.123

### 3) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 색도

초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 색도는 표 9와 같다.

초피 과피가루의 첨가농도가 높아짐에 따라 명도(L)는 약간 감소되었으나, 적색도를 나타내는 a값과 황색도를 나타내는 b값은 증가되었다. 추출온도가 높아짐에 따라 명도(L)는 거의 차이가 없었으나, 황색도(a), 적색도(b)는 약간 증가되었다. 동일온도에 서 추출시간에 따른 L, a, b 값은 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

표 9. 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 색도

농도 (%)	추출시간 (분)	추출온도(°C)								
		70			80			90		
		L	a	b	L	a	b	L	a	b
0.025	1	87.51	0.59	5.50	87.12	0.60	5.88	87.42	0.65	5.95
	5	87.38	0.54	5.60	87.55	0.58	5.87	87.26	0.74	5.96
	10	87.41	0.55	5.80	87.50	0.58	6.13	87.95	0.80	6.14
0.050	1	87.43	0.59	6.58	86.76	0.63	6.58	87.68	0.63	6.63
	5	87.40	0.61	6.81	86.57	0.64	6.85	87.49	0.70	6.92
	10	86.04	0.62	7.50	87.38	0.67	7.51	87.35	0.80	7.18
0.075	1	86.27	0.71	7.19	86.13	0.71	7.45	87.06	0.71	8.14
	5	86.22	0.71	7.37	87.37	0.74	7.56	86.97	0.77	8.55
	10	86.20	0.73	7.47	87.38	0.75	7.94	86.84	0.74	9.04
0.100	1	86.66	0.75	7.99	86.28	0.79	8.03	86.67	0.70	9.15
	5	86.51	0.75	8.16	86.58	0.79	8.79	86.70	0.82	9.28
	10	86.69	0.77	8.70	86.73	0.83	9.23	86.50	0.91	9.93

4) 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 관능검사 특성

초피 과피가루 첨가량에 따른 추출물의 관능검사 결과는 표 10과 같다. 초피 추출액의 색깔은 첨가량이 증가함에 따라 옅은 노랑색으로 부터 진한 노랑색을 나타냈다. 0.025%에서는 아주 옅은 노랑색을, 0.075%에서는 옅은 노랑색을, 0.1%에서는 노랑색을 0.15%에서는 진노랑색을 1.0%에서는 갈색 빛을 띤 노랑색을 나타냈다. 이와 같이 초피추출물의 색깔은 초피의 농도가 높아짐에 따라 색깔이 짙어져 기호도는 낮았다. 동일온도에서 추출시간에 따른 색에 대한 기호도는 거의 차이가 없었다. 그러나 추출온도가 높아질수록 색이 짙어져 약간 기호도가 감소하는 경향을 보였다.

냄새와 맛은 0.025% 농도에서 냄새와 맛이 약간 감지되었고, 0.05%에서는 초피의 냄새와 맛이 나며 자극적인 느낌은 거의 없었다. 0.75% 농도에서는 초피의 향은 좋으나 맛이 자극적으로 느껴져 맛을 본 후 혀가 얼얼하였다. 0.1% 농도는 초피의 향과 맛이 비교적 강하여 조미료로서의 특성이 적합하다고 하였으며, 90℃로 가열한 경우 기호도가 가장 높았다.

초피추출액의 색, 냄새, 맛, 종합적인 선호도에 미치는 영향은 초피 첨가농도의 영향이 가장 컸고, 그 다음으로 추출온도의 영향이 컸으며, 추출시간에 따른 차이는 추출시간이 길어짐에 따라 증가하는 경향이었으나 큰 차이는 없었다. 그러나 90℃의 고온으로 가열하였을 때는 추출시간이 길어짐에 따라 초피 냄새는 감소하고, 초피 맛은 증가하는 경향이 나타났다.

표 10. 초피 과피가루 첨가량에 따른 추출액의 관능검사

농도 (%)	추출시간 (분)	추출온도(℃)											
		70				80				90			
		색깔	냄새	맛	종합	색깔	냄새	맛	종합	색깔	냄새	맛	종합
0.025	1	4.5	1.2	1.4	1.8	4.2	1.8	1.7	1.9	3.8	2.1	1.8	2.1
	5	4.5	1.2	1.5	1.8	4.2	1.9	1.7	2.0	3.7	2.0	1.7	2.1
	10	4.5	1.2	1.5	1.8	4.1	1.8	1.7	2.0	3.8	2.0	1.8	2.2
0.050	1	4.0	2.8	2.0	2.6	3.5	3.1	2.3	2.8	3.1	3.2	2.5	3.0
	5	4.0	2.8	2.0	2.8	3.5	3.0	2.3	2.8	3.1	3.2	2.5	3.0
	10	4.0	2.8	2.0	2.7	3.5	3.1	2.4	3.8	3.1	3.1	2.7	3.1
0.075	1	3.5	3.4	2.8	2.8	3.3	3.5	3.1	3.1	3.3	3.6	3.8	3.3
	5	3.5	3.4	2.9	2.8	3.3	3.5	3.2	3.1	3.3	3.6	3.8	3.3
	10	3.4	3.3	3.0	2.9	3.2	3.4	3.2	3.0	3.3	3.5	4.0	3.2
0.100	1	3.3	3.7	3.3	3.4	3.0	3.9	3.5	3.4	2.6	4.1	4.0	3.5
	5	3.2	3.8	3.4	3.6	3.1	4.0	3.6	3.6	2.6	4.0	4.2	3.7
	10	3.1	3.8	3.5	3.6	2.9	3.9	3.6	3.5	2.6	4.0	4.3	3.6

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 선호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

5) 90℃에서 5분 추출하였을 때 초피추출액의 침전물 중량, 탁도, 색도 및 관능검사 초피 추출액의 최적조건을 90℃, 5분으로 설정하여, 초피 음료와 초피 향신료 개발을 위한 기초자료로서 초피 첨가량에 따른 침전물 중량, 탁도, 색도, 관능검사를 한 결과는 표 11과 같다.

초피 추출액의 침전물 중량과 탁도는 초피 첨가량에 비례하여 증가되었다. 추출물의 색도는 농도가 높아짐에 따라 명도(L)는 현저하게 감소하였고, 적색도(a), 황색도(b)는 증가하였다. 관능검사 결과 초피 첨가량이 증가함에 따라 색깔이 짙어져 색깔에 대한 기호도는 감소한 반면 냄새에 대한 선호도는 증가되었다. 맛은 0.1% 이상에서는 강한 초피맛을 나타냈다. 전체적인 선호도로 음료로는 0.05%가 선호도가 높았고, 향신료 및 조미료로서는 0.075~0.25% 농도를 선호하였다.

표 11. 90℃에서 5분 추출하였을 때 초피추출액의 침전물 중량, 탁도, 색도 및 관능 특성

첨가 농도 (%)	중량 (%)	탁도	색도			관능검사				
			L	a	b	색깔	냄새	맛	종합선호도	
									음료	조미료
0.025	13.51	0.039	87.26	0.74	5.96	3.7	2.0	1.7	2.3	2.1
0.050	18.79	0.076	87.49	0.70	6.92	3.1	3.2	2.5	3.4	3.0
0.075	20.57	0.095	86.97	0.77	8.55	3.3	3.6	3.8	2.5	3.3
0.100	23.52	0.118	86.70	0.82	9.28	2.6	4.0	4.2	2.1	3.7
0.25	129.12	0.473	80.98	1.32	15.89	2.9	4.2	4.4	1.5	3.4
0.50	178.16	0.553	76.55	2.46	21.85	2.8	4.2	4.5	1.0	3.0
0.75	201.34	0.830	68.81	3.38	26.65	2.4	4.3	4.9	1.0	2.3
1.00	243.55	1.232	57.48	4.30	29.56	2.2	4.5	5.0	1.0	2.0

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 선호도 : 향신료(음료)로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

#### 다. 초피저장 중 향기성분의 변화

초피의 저장 중 향기성분을 조사하기 위하여 초피를 과피와 종자로 구분하고 실온, 냉장 및 질소충진하여 실온 등 3방법으로 저장하면서 향기성분의 변화를 Puge & Trap법에 의하여 분석한 결과는 표 12, 표 13과 같으며 함량 계산은 1-limonene을 이용한 외부표준법에 준하였다.

초피의 과피와 종실의 향기성분은 저장 기간이 경과함에 따라 과피는 14종으로, 종실은 7종으로 향기성분의 종류가 크게 감소됨을 볼 수 있으나 초피의 주 향기성분은 대부분 존재하였다. 또한 그 성분의 함량도 시간이 경과 될수록 감소하는 경향이 과피와 종자 모든 시료구에서 뚜렷하게 나타났다. 그리고 저장조건별로 비교해 보면 상온보다는 냉장온도에서 향기성분의 감소가 더 적었으나 질소충진하여 상온에서 저장한 시료구와는 크게 차이를 보이지 않았다.

#### 라. 소스 개발을 위한 특성

##### 1) 과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따른 초피 추출액의 특성

###### 가) 침전물의 중량과 탁도

과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따라 0.1% 농도로 90℃에서 5분 추출하였을 때 초피 추출액의 침전물 중량과 탁도는 표 14와 같다. 침전물의 중량은 종자의 혼합 비율이 증가함에 따라 감소되었다. 탁도는 과피가루 100%일 때 0.118인데 비하여 종자가루 100% 일 때 0.263을 보여 종자가루는 과피가루에 비하여 약 2배 정도의 탁도가 증가되었다. 이는 종자에 함유된 색소와 지질의 영향이라고 생각된다.

표 12. 초피과피의 저장방법에 따른 향기성분의 변화

Compounds	Storage time(month)								
	Room temp.			Cold(4℃)			N <sub>2</sub>		
	2	3	5	2	3	5	2	3	5
Hexanal	0.11	0.20	0.34	0.16	1.33	0.77	0.01	0.56	0.20
1-pirllan-drene	0.03	0.06	0.55	0.03	0.10	0.14	0.02	0.13	0.08
Bicyclo[3,1,1]hept-2ene, 3,6,6-trim	0.06	0.01	0.43	0.08	0.10	0.27	0.14	0.26	0.10
♣-3-Carene	18.94	6.22	8.09	19.48	15.04	10.25	19.18	6.97	8.95
♠-Terpinene	0.10	0.13	0.03	0.21	0.10	0.09	0.12	0.09	0.10
♣-Myrcene	88.15	49.4	7.99	92.16	10.54	10.45	93.14	19.21	8.35
Citronella	0.02	0.01	0.24	0.13	0.23	0.31	0.13	0.23	0.26
1-Limonene	121.20	110.68	110.25	120.59	116.14	114.21	124.7	110.20	110.05
Cyclopropane	0.06	0.13	0.24	0.10	0.20	0.27	0.17	0.61	0.33
Linalool	32.13	8.30	6.50	41.18	30.23	24.53	31.0	9.03	8.33
(-)-Isopulegol	6.69	12.44	11.93	13.39	6.43	3.43	8.21	12.56	10.36
2-Cyclohexane-1-one,3,4,4- trimetyl	0.06	0.16	0.52	0.10	0.13	0.25	0.03	0.20	0.20
2-Cyclohexane-1-one, 3-metyl	0.17	0.13	0.41	0.03	0.06	0.24	0.28	0.21	0.23
Unknow	0.20	0.06	0.03	0.60	0.40	0.49	0.39	0.19	0.10
Total	269.72	190.87	152.52	289.64	183.63	170.21	279.13	162.29	152.54

(mg%)



표 13. 초피종자의 저장방법에 따른 향기성분의 변화

Compounds	Storage time(month)								
	Room temp.			Cold(4℃)			N <sub>2</sub>		
	2	3	5	2	3	5	2	3	5
Hexanal	3.63	2.50	1.48	3.81	3.70	3.12	3.65	2.24	1.46
1,8-Cineole	0.33	0.25	0.20	0.44	0.32	0.32	0.34	0.27	0.12
β-Myrcyne	5.05	4.41	3.82	6.01	6.43	4.75	5.11	4.07	3.46
Citronella	24.20	19.68	16.62	24.79	17.12	18.43	21.65	15.08	14.88
1-Limonene	155.55	118.73	105.25	167.79	155.18	130.88	164.13	118.20	107.53
Cyclopropane	0.86	0.79	0.16	0.18	0.03	0.02	0.81	0.55	0.22
Allocimene	0.82	0.65	0.71	0.83	0.58	0.75	0.89	0.75	0.44
Cyclopentane	1.02	0.95	0.54	1.86	1.05	0.86	1.01	0.99	0.68
(-)-Isopuregol	1.67	0.78	0.38	2.34	1.30	0.96	2.07	1.10	1.04
2-cyclohexane-1-one, 3,4,4-trimethyl	0.81	0.75	0.41	0.02	0.21	0.18	0.91	0.86	0.08
Unknown	0.18	0.14	0.08	0.46	0.33	0.22	0.23	0.20	0.03
Total	195.94	152.49	134.57	210.07	188.92	165.27	202.57	232.25	134.91

표 14. 과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따른 초피 추출액 중의 침전물의 중량과 탁도

과피가루 : 종자가루의 비율(%)	침전물의 중량	탁도
100 : 0	23.52	0.118
70 : 30	18.37	0.133
50 : 50	16.01	0.185
30 : 70	15.18	0.205
0 : 100	13.39	0.263

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

나) 색도

과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따라 0.1% 농도로 90℃에서 5분 추출하였을 때 초피 추출액의 색도는 표 15와 같다.

색도는 종자가루의 혼합비율이 증가됨에 따라 명도(L)는 점점 감소되었고 적색도(a), 황색도(b)는 점점 증가되었는데 이는 종자의 색이 흑색에 기인하는 결과로 생각된다.

표 15. 과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따른 초피 추출액의 색도

과피가루 : 종자가루의 비율(%)	L	a	b
100 : 0	86.70	0.82	9.28
70 : 30	80.51	1.93	12.55
50 : 50	75.28	2.51	13.08
30 : 70	73.75	2.59	13.87
0 : 100	63.11	2.72	13.99

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

다) 관능검사

종자는 지질의 함량이 높기 때문에 향과 맛이 강한 초피과피의 맵고 얼얼한 맛을 감소시키고 조화된 맛을 이루는가를 조사하기 위하여, 과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따라 0.1% 농도로 90℃에서 5분간 추출하여 초피 추출액의 관능검사를 한 결과는 표 16과 같다.

종자가루의 비율이 높아짐에 따라 색깔이 짙어지면서 뿌옇게 탁해져서 색깔에 대한 선호도는 감소하였다. 이는 과피의 색이 갈색인데 비하여 종자의 색은 흑색이면서 지질이 함유되어 있기 때문이다. 냄새는 종자에는 초피향이 없어 종자가루의 비율이 높아질수록 냄새에 대한 기호도는 현저하게 감소하였다. 맛은 종자가루의 비율이 높아질수록 초피의 독특한 맛이 감소되었고, 종자의 함량이 증가할수록 종합적인 선호도는 감소하였다.

표 16. 과피가루와 종자가루의 혼합 비율에 따른 초피 추출액의 관능특성

과피가루 : 종자가루의 비율(%)	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
100 : 0	2.6	4.0	4.2	3.7
70 : 30	2.4	3.1	3.4	2.9
50 : 50	2.1	2.3	2.3	2.6
30 : 70	2.0	1.7	1.7	1.9
0 : 100	1.8	1.0	1.1	1.1

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 선호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

## 2) 과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 특성

초피의 과피는 과립 혹은 가루로 사용한다. 과립은 장시간 식품을 가열할 때 사용하나, 먹을 때는 과립이 있어 좋지 않다. 가루는 국물에 찌거기가 남고 음식에 광택과 깨끗한 맛에 영향을 준다. 과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 침전물 중량과 탁도, 색도, 관능검사를 한 결과는 다음과 같다.

### 가) 침전물의 중량과 탁도

과피가루와 과립의 배합비율에 따른 침전물의 중량과 탁도는 표 17과 같다. 과립의 혼합비율이 높아짐에 따라 추출액의 침전물 중량은 증가하였고, 탁도는 현저하게 감소되었다.

표 17. 과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 추출액의 침전물 중량과 탁도

과피가루 : 과립의 비율(%)	침전물의 중량	탁도
100 : 0	23.52	0.118
70 : 30	24.40	0.093
50 : 50	24.69	0.077
30 : 70	26.93	0.050
0 : 100	31.64	0.007

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

나) 색도

과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 추출액의 색도는 표 18과 같다. 과립의 혼합율이 증가함에 따라서 종자가루를 혼합하였을 때와는 반대로 명도(L) 값은 증가하여 색깔은 밝아졌으나, 적색도(a), 황색도(b)는 감소하였다.

표 18. 과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 추출액의 색도

과피가루 : 과립의 비율(%)	L	a	b
100 : 0	86.70	0.82	9.28
70 : 30	86.46	0.85	9.27
50 : 50	86.95	0.82	9.12
30 : 70	87.78	0.73	8.39
0 : 100	88.33	0.69	8.47

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

다) 관능검사

과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 추출액의 관능검사 결과는 표 19와 같다. 과립의 혼합율이 증가함에 따라 색깔은 맑아져 색깔에 대한 기호도는 점점 증가되었고, 향기는 감소되었다. 과립의 혼합율이 높아질수록 초피과피의 얼얼하고 매운 맛이 감소되었으며 종합적인 선호도도 감소되었다. 따라서 과립보다 가루가 초피의 특징을

잘 발휘한다고 할수 있으며, 향신료로 사용할 경우 입자보다는 가루화 하였을 때 효과  
 과가 크다고 할 수 있다.

표 19. 과피가루와 과립의 혼합 비율에 따른 추출액의 관능검사 특성

과피가루 : 과립의 비율(%)	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
100 : 0	2.6	4.0	4.2	3.7
70 : 30	3.5	3.2	4.0	3.1
50 : 50	3.5	2.3	3.1	3.0
30 : 70	3.7	2.0	2.8	3.0
0 : 100	3.6	2.3	2.0	2.8

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

### 3) 초피의 가루의 크기에 따른 특성

초피가루를 향신료로 사용하였을 때 가루의 크기는 국물에 남는 침전물, 국물의  
 탁도, 음식의 광택과 색깔, 맛에 영향을 줄 것이라고 생각된다. 초피의 가루크기에 따  
 른 초피 추출액의 침전물 중량, 탁도, 색도 및 관능검사를 실시한 결과는 다음과 같다

#### 가) 침전물의 중량과 탁도

과피가루 입자의 크기에 따른 침전물의 중량과 탁도는 표 20과 같다. 과피가루  
 의 크기가 작아짐에 따라 추출액의 침전물 중량은 감소하였고 탁도는 증가하였다. 가  
 루의 크기가 적으면 표면적이 넓어져 수분과 접하는 면이 넓어지기 때문에 추출액 탁  
 도는 증가된다고 생각된다.

표 20. 과피가루의 크기에 따른 추출액의 침전물 중량과 탁도

과피가루 입자의 크기 (mesh)	침전물의 중량 (%)	탁도
과립	31.64	0.007
10	26.47	0.093
30	23.52	0.118
50	21.16	0.159

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

나) 색도

과피가루 입자의 크기에 따른 추출액의 색도는 표 21과 같다. 과피가루 크기가 작아짐에 따라 명도(L) 값은 감소하여 추출액 색깔은 짙어진 반면, 적색도(a), 황색도(b)는 증가하였다.

표 21. 과피가루의 크기에 따른 초피 추출물의 색도

과피가루의 크기 (mesh)	L	a	b
과립	88.33	0.69	8.47
10	87.46	0.80	9.15
30	86.70	0.82	9.28
50	84.78	0.99	11.12

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

다) 관능검사

과피가루 크기에 따른 초피 추출액의 관능검사 결과는 표 22와 같다. 초피가루의 크기가 작아짐에 따라 색깔은 짙어져서 색깔에 대한 선호도는 감소되었고 냄새와 맛은 점점 증가되었다. 향신료로서 색깔 등을 고려한 전체적인 선호도는 30mesh인

것이 가장 높게 나타났다.

표 22. 과피가루의 크기에 따른 추출액의 관능검사 특성

과피가루의 크기 (mesh)	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
과립	3.6	2.3	2.0	2.8
10	3.5	3.2	3.3	2.7
30	2.6	4.0	4.2	3.7
50	2.3	4.3	4.4	3.4

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

#### 4) 초피과피의 가공방법에 따른 특성

초피는 가열처리하면 냄새의 강도와 향에 차이가 있다. 초피과피를 볶을 때와 찢을 때의 침전물의 중량, 탁도, 색도 및 관능검사를 실시한 결과는 다음과 같다.

##### 가) 침전물의 중량 및 탁도

초피과립을 100℃에서 10분 볶은시료, 100℃에서 10분 증기로 찢은시료를 각각 건조하여 30 mesh로 마쇄한 후 첨가한 추출액의 침전물 중량 및 탁도는 표 23과 같다. 초피를 볶거나 찢어서 가열처리 할 경우 무처리군에 비하여 침전물의 중량은 더 증가되었고, 탁도는 볶음을 한 경우 현저하게 증가되었으며, 찢 경우는 대조군 보다 약간 증가하였다.

표 23. 초피 가공방법에 따른 추출액의 침전물 중량과 탁도

가공 방법	침전물의 중량	탁도
무처리	23.52	0.118
볶음	60.70	0.162
찜	78.75	0.125

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

나) 색도

초피의 가공방법에 따른 색도는 표 24와 같다. 초피를 볶거나 찌서 열처리하였을 때 무처리군에 비하여 명도(L)는 감소되었다. 적색도(a), 황색도(b)는 볶았을 경우 무처리군에 비하여 증가하였고, 찌는 경우는 무처리군에 비하여 적색도(a), 황색도(b)는 감소하였다. 이와 같은 이유는 볶는 경우 고열에 의하여 초피의 겉껍질이 착색이 되었기 때문이며, 찌는 경우는 찌는 과정에서 증기에 의해 초피의 수용성 색소가 감소되었기 때문이라고 생각된다.

표 24. 초피 가공방법에 따른 추출액의 색도

가공방법	색도		
	L	a	b
무처리	86.70	0.82	9.28
볶음	81.63	1.02	11.68
찜	81.68	0.79	8.54

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

다) 관능검사

초피의 가공방법에 따른 초피 추출물의 관능검사 결과는 표 25과 같다. 색깔에 있어서 볶은 것은 색깔이 짙어져 선호도가 가장 낮게 나타났고, 찌것은 무처리한 시



료는 보다 선호도가 약간 높게 나타났다. 냄새는 볶음의 경우 구수한 향이 낮고 초피 특유한 냄새는 무처리군과 찢 것보다는 약하였으며, 찢 경우 초피의 냄새가 가장 강하였다. 맛은 볶은 것이 강한 초피맛을 나타냈고, 무처리, 찢 것 순으로 강하였다. 종합적인 선호도는 무처리 하였을 때 3.7로 열처리한 것보다 약간 더 높았으나, 향, 냄새를 강조하는 음식종류에 따라 열처리를 한 초피를 선택하는 것도 바람직하다고 생각된다.

표 25. 초피 가공방법에 따른 추출액의 관능검사

가공방법	관능검사			
	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
무처리	2.6	4.0	4.2	3.7
볶음	2.1	3.6	4.4	3.5
찢	2.8	4.1	4.0	3.5

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

#### 5) 다시다 종류에 따른 초피 추출액의 특성

##### 가) 침전물의 중량 및 탁도

예비실험을 통하여 다시다 종류에 따른 다시다의 최적농도를 멸치육수(C사) 0.30%, 쇠고기육수(C사) 0.25%, 조개육수(C사) 0.40%, 다시마 1.0%로 설정하였다. 각각의 다시다액에 초피가루 0.1%를 첨가하여 90℃에서 5분 가열하여 침전물 중량과 탁도를 측정된 결과는 표 26와 같다. 침전물의 중량은 다시마, 쇠고기, 조개, 멸치 순으로 높았다. 탁도는 다시마 추출물은 대조군과 유사하게 맑았고, 쇠고기 육수는 다시다 첨가량이 적은 데도 탁도와 침전물의 중량이 높았다.

표 26. 다시다 종류에 따른 초피 추출액의 침전물 중량과 탁도

다시다 종류	침전물의 중량(%)	탁도
대조군(초피)	23.52	0.118
멸치(0.30 %), 초피	23.19	0.247
쇠고기(0.25 %), 초피	35.63	0.544
조개(0.40 %), 초피	24.17	0.204
다시마(1.00 %), 초피	113.54	0.117

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

나) 색도

다시다 종류에 따른 초피 추출액의 색도는 표 27와 같다. 최적의 농도의 멸치와 쇠고기 다시다에 초피를 첨가하여 가열한 추출액은 대조군에 비하여 명도(L)는 대체로 낮았고, 적색도(a), 황색도(b)는 높았다. 조개 다시다에 초피를 넣은 추출액은 대조군에 비하여 명도(L) 값이 가장 낮았으나, 적색도(a), 황색도(b)는 가장 높았다. 다시마에 초피를 넣은 추출물은 명도(L), 적색도(a)는 대조군과 유사하였으나 황색도(b)는 훨씬 더 높았다.

표 27. 다시다 종류에 따른 초피추출액의 색도

다시다 종류	L	a	b
대조군(초피)	86.70	0.82	9.28
멸치(0.30 %), 초피	82.76	1.68	13.46
쇠고기(0.25 %), 초피	83.15	1.52	13.55
조개(0.40 %), 초피	72.63	3.03	17.64
다시마(1.00 %), 초피	86.67	0.72	13.18

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

다) 관능검사

다시다 종류에 따른 초피 추출액의 관능검사 결과는 표 28과 같다. 초피는 맵고 화하고 얼얼한 맛을 가지고 있는 향신료로서, 차가운 성질을 가지고 있는 식품, 기름지고 수분이 많은 음식, 비린내 등 냄새가 나는 음식과 잘 어울리며, 계절적으로는 겨울철에 적합한 향신료이다. 초피의 뜨거운 성질로 인하여 열을 발산하고, 비위, 위가 허할 때 배속을 편안하게 하며 세포내의 수분을 제거하여 체내의 습을 없애주며, 통증 방지에도 도움을 주는 식품으로 알려져 있다.

여러 가지 다시다 액에 초피를 넣고 가열한 추출액의 색깔은 다시다 액의 색깔로 인하여 대조군보다 색이 짙어 색에 대한 선호도는 낮았으며, 그 중 쇠고기 다시다 액의 선호도가 가장 낮았다. 다시다 액에 초피를 넣고 가열하였을 때 초피 냄새는 대조군 보다 모두 감소되었고, 다시다 추출물은 현저하게 감소하였다. 맛은 냄새와 마찬가지로 다시다 액에 의하여 초피의 특유한 맛이 감소하였는데 다시다 액에서 가장 큰 효과가 있었다. 특히 쇠고기 등에서 느껴지는 느끼한 맛은 초피에 의하여 감소되었다고 하였다. 종합적인 선호도는 다시다, 조개, 쇠고기, 멸치 순으로 높았다.

표 28. 다시다 종류에 따른 초피 추출물의 관능검사

	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
대조군	2.6	4.0	4.2	3.6
멸치(0.30 %), 초피	2.4	3.5	3.7	3.7
쇠고기(0.25 %), 초피	1.9	3.0	3.6	3.8
조개(0.40 %), 초피	2.6	3.7	3.8	3.9
다시다(1.00 %), 초피	2.5	1.8	3.1	4.1

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

6) 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때 초피 추출액의 특성

예비 실험을 통하여 최적의 조미료 첨가농도를 소금 0.5%, 간장 2.5% 설탕 2.0%, 식초 2.0%, 파 0.6%, 마늘 1.0%, 고추 3.5%, 생강 1.5% 등으로 설정한 뒤 각각의 조미료에 초피가루를 0.1% 혼합하여 90℃에서 5분 가열한 초피 추출액의 특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

가) 침전물의 중량과 탁도

소금, 간장, 설탕, 식초, 파, 마늘, 고추, 생강등 여러 가지 조미료와 초피가루를 혼합하여 가열 하였을 때 추출액의 침전물 중량과 탁도는 표 29와 같다. 소금, 간장, 설탕, 식초와 같이 물에 녹는 조미료의 경우 초피만 첨가한 추출액의 침전물 중량과 거의 차이가 없었다. 파, 마늘 생강, 고추를 첨가한 조미료 추출액의 경우 첨가량에 비례하여 중량은 증가되었으나, 소금을 첨가한 군은 간장을 첨가한 군보다 침전물의 중량이 약간 증가되는 경향을 보였다.

탁도는 간장, 소금, 설탕, 식초 순으로 탁도가 높게 나타났다. 파, 마늘, 생강을 넣은 경우 첨가량에 비례하지 않고, 모두 유사한 탁도 값을 나타냈으며 고추를 첨가한 초피추출액의 흡광도는 1.56으로 높았다. 파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 설탕, 식초 및 초피를 함께 넣어 추출하였을 때 흡광도가 가장 높았다.

표 29. 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때 초피추출액의 침전물 중량과 탁도

혼합조미료	침전물의 중량	탁도
대조군(초피)	23.52	0.118
소금, 초피	24.10	0.124
간장, 초피	23.93	0.163
설탕, 초피	24.46	0.105
식초, 초피	23.31	0.101
파, 초피	98.94	0.131
마늘, 초피	166.08	0.134
생강, 초피	241.13	0.131
고추, 초피	516.25	0.156
파, 마늘, 생강, 고추, 소금, 초피	1048.51	0.171
파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 초피	1010.26	0.202
파, 마늘, 생강, 고추, 소금, 설탕, 식초, 초피	1061.44	0.198
파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 설탕, 식초, 초피	1042.43	0.241

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

나) 색도

소금, 간장, 설탕, 식초, 파, 마늘, 고추, 생강등 여러 가지 조미료와 초피가루를 혼합하여 가열하였을 때 추출액의 색도는 표 30과 같다. 초피만 첨가한 대조군의 색도는 명도(L), 적색도(a) 및 황색도(b)가 각각 86.70, 0.82, 9.28인데 비하여 소금, 간장, 설탕, 식초 등과 같이 물에 녹는 조미료를 혼합하였을 경우 명도(L)는 대조군 보다 낮게 나타났으며, 설탕, 식초, 소금, 간장 순으로 명도(L)는 점점 낮게 나타났고, 적색도(a), 황색도(b)는 간장이 가장 높았다. 파, 마늘, 생강, 고추를 각각 넣은 추출액의 경우 고추를 넣었을 때 명도(L), 적색도(a) 및 황색도(b)는 각각 69.23, 7.14 및 38.14으로 명도(L)는 가장 낮고 적색도(a)와 황색도(b)는 가장 높았다. 짠맛 조미료로서 소금과 간장을 각각 넣었을 때 간장을 첨가한 군은 소금을 첨가한 군보다 명도(L)는 낮았고, 적색도(a), 황색도(b)는 증가하였다. 파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 초피를 넣은 군에 비하여 파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 초피에 설탕과 식초를 더 첨가한 군은 L, a 및 b 값이 모두 감소되었다. 또한 초피만 첨가한 대조군에 비하여 설탕, 식초를 각각 더 첨가한 추출액의 경우도 L, a 및 b 값이 모두 감소되었다. 이 결과로 미루어 설탕과 식초는 L(명도), a(적색도) 및 b(황색도)를 감소시킨다고 생각된다.

표 30. 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때 초피 추출액의 색도

혼합조미료	L	a	b
대조군(초피)	86.70	0.82	9.28
소금, 초피	81.49	0.89	9.70
간장, 초피	73.05	3.40	28.56
설탕, 초피	83.97	0.80	7.84
식초, 초피	83.66	0.62	7.46
파, 초피	84.72	1.03	9.40
마늘, 초피	82.73	1.95	13.39
생강, 초피	83.75	2.02	13.95
고추, 초피	69.23	7.14	38.14
파, 마늘, 생강, 고추, 소금, 초피	68.51	6.74	38.82
파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 초피	66.57	9.52	49.36
파, 마늘, 생강, 고추, 소금, 설탕, 식초, 초피	74.49	4.89	35.77
파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 설탕, 식초, 초피	60.85	9.41	46.41

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

다) 관능검사

소금, 간장, 설탕, 식초, 파, 마늘, 고추, 생강등 여러 가지 조미료와 초피가루를 혼합하여 가열하였을 때 추출액의 관능검사 결과는 표 31와 같다. 색깔은 설탕과 식초를 각각 넣은 경우 대조군에 비하여 색깔이 밝고 맑아 색깔에 대한 선호도가 높았다. 파, 마늘, 생강을 각각 넣은 경우 거의 유사하였으며 고추를 넣은 군은 1.8로 색깔에 대한 선호도가 낮았다. 간장과 고추가 같이 들어간 경우 가장 색깔에 대한 선호도가 매우 낮았다.

냄새는 소금, 간장, 설탕, 식초 중 간장을 첨가한 경우 초피의 향이 잘 느껴지지 않았고, 소금을 첨가한 경우 대조군 보다 초피의 독특한 향이 강하게 나타났다. 파, 마늘, 생강, 고추와 같이 냄새가 강한 조미료는 초피의 향이 대조군 보다 훨씬 감소하였으며, 생강과 고추에서 효과가 크게 나타났다. 맛은 간장을 넣었을 경우 대조군에 비하여 초피의 맛이 감소하였고 식초의 경우 증가되었다. 파는 초피의 맛을 많이 감소

시켜 대조군 보다 낮았고, 고추는 초피의 매운맛이 현저하게 증가하였다. 종합적인 선호도는 초피에 파만 넣은 경우가 가장 높았다. 짠맛 조미료 중 단독으로 초피에 넣을 때는 간장보다 소금이 선호되었지만 설탕, 식초등의 단맛과 신맛이 들어간 경우는 소금 보다는 간장을 넣은 군이 더 선호도가 높았다.

표 31. 여러 가지 조미료와 혼합하였을 때 초피 추출물의 관능검사

혼합조미료	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
대조군(초피)	2.6	4.0	4.2	3.7
소금, 초피	3.6	4.2	3.6	3.8
간장, 초피	2.2	2.7	2.6	3.6
설탕, 초피	3.9	4.0	3.4	4.0
식초, 초피	4.1	3.6	4.8	3.5
파, 초피	3.6	3.0	3.0	4.3
마늘, 초피	3.4	2.7	3.9	3.9
생강, 초피	3.5	2.3	3.6	4.0
고추, 초피	1.8	2.5	4.9	3.6
파, 마늘, 생강, 고추, 소금, 초피	1.8	3.0	3.3	3.8
파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 초피	1.5	2.6	2.9	3.6
파, 마늘, 생강, 고추, 소금, 설탕, 식초, 초피	1.9	2.7	4.4	3.7
파, 마늘, 생강, 고추, 간장, 설탕, 식초, 초피	1.3	2.2	3.5	3.9

(90℃에서 5분 추출, 0.1%)

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 향신료로서 적합하다(5), 부적합 하다(1)

#### 마. 초피를 이용한 식품의 조리

##### 1) 초피잎의 조리방법에 따른 관능검사

초피의 어린잎은 질감이 비교적 부드러우며, 맵고 얼얼한 맛이 적기 때문에

나물로 무치거나 부각, 절임 등의 재료로 이용이 가능하다. 조리방법에 따른 초피잎의 관능검사 결과는 표 32와 같다. 색깔은 무침(나물)> 절임(김치)> 튀김(부각) 순으로 녹색이 선명하였다. 부각의 경우 고온의 기름에서 조리하기 때문에 색깔은 녹갈색으로 변하여 선호도가 낮았다. 냄새는 무침> 절임> 튀김 순으로 초피의 향이 강하였다. 무침의 경우 blanching 과정에서 세포조직이 연화되고 노출되어서 향이 강하다고 생각된다. 반면에 튀긴 부각은 거의 향을 느낄 수가 없었고, 부각을 튀기기 전 찹쌀풀을 묻혀 건조하였을 때도 역시 초피의 향이 많이 감소하였다. 맛은 튀김을 하였을 때 초피의 맵고 얼얼한 맛이 가장 적었고, 절임의 경우 2% 소금물에 침지하는 동안 초피의 특유한 맛이 많이 제거 되었다. 그러나 나물의 경우 blanching 과정에서 맵고 얼얼한 맛(麻辣味)이 제거 될 것으로 생각되었으나 오히려 대조군 보다 강한 맛이 나타났다.

질감의 경우 튀김은 대조군에 비하여 손으로 만졌을 때나, 입으로 씹었을 때 바삭거리는 정도가 매우 컸다. 무침은 대조구에 비하여 질감이 더 부드러워 선호도가 더 높았다. 절임의 경우 손으로 만졌을 때는 대조구보다 더 부드러웠으나 입안에서 씹었을 때의 느낌은 더 질긴 느낌을 나타냈다. 조리방법에 따른 종합적인 선호도는 초피의 마라한 맛(麻辣味)이 약간 있으면서 바삭거리는 느낌을 주는 부각이 가장 선호도가 높았으며, 무침의 경우 대조구 보다 맛과 향이 더 강하여 선호도가 낮았다. 또한 부각의 전처리 단계에서 찹쌀 풀을 묻혀서 건조한 초피 잎은 찹쌀 풀인 전분의 건조에 의해서도 초피의 마라한 맛(麻辣味)이 많이 제거되었고, 질감은 딱딱하지만 바삭거리며 부각의 튀김재료로서의 이용뿐만 아니라, 찜, 볶음 등의 다른 조리방법으로도 이용할 수 있는 좋은 식품재료라고 생각된다.



표 32. 어린 초피잎의 조리방법에 따른 관능검사

조리방법	색깔	냄새	맛	질감		종합적인 선호도
				촉감	씹힘성	
대조군(초피 어린잎)	4.2	3.9	3.0	2.8	3.1	3.3
무침(나물)	4.2	4.7	3.5	4.3	3.5	2.4
절임(김치)	4.1	3.0	2.2	3.3	2.6	3.6
부각(튀긴 후)	1.3	1.1	1.0	4.7	4.8	4.4
부각(튀기기 전)	2.3	1.7	1.5	3.0	2.9	3.5

- 색 : 선명한 녹색 (5), 어두운 녹색(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 질감 (촉감 및 씹힘성) : 나물, 절임- 부드럽다 (5), 질기고 뻣뻣하다(1), 부각 - 바삭거린다 (5), 딱딱하다(1)
- 종합적인 기호도 : 색, 맛, 향기, 질감 등이 음식으로 적합하다(5), 부적합 하다(1)

## 2) 초피 추어탕의 관능검사

초피를 첨가한 추어탕의 관능검사 결과는 표 33과 같다. 초피를 추어탕에 첨가하였을 때, 초피의 향은 가열 후 첨가구가 가열된 첨가구에 비하여 향은 더 강하다고 평가되었으며, 0.05% 첨가하였을 때 초피의 향이 비교적 강하게 난다고 하였다. 초피의 맛은 가열 중 첨가구가 가열 후 첨가구 보다 강하다고 평가되었고, 냄새의 경우와 같이 0.05% 이상 첨가하였을 때 초피 맛이 강하다고 하였다. 종합적인 선호도는 0.05% 첨가구가 선호도가 가장 높았고 0.025% 첨가구도 대조군 보다 종합적인 기호도가 더 높았으며, 가열 중 첨가구 보다 가열 후 첨가구가 선호도는 더 높은 경향을 나타냈다. 0.075% 이상 첨가구는 초피의 맛과 향이 매우 강하여 선호도가 대조군 낮았다.

표 33. 초피 과피가루를 첨가한 추어탕의 관능검사

초피첨가방법	첨가량 (%)	냄새	맛	전체적인 선호도
	대조군(추어탕)	1.0	1.0	4.0
가열전 첨가	0.025	2.7	2.5	4.1
	0.050	3.9	3.7	4.2
	0.075	4.5	4.5	3.3
	0.100	4.8	5.0	2.4
가열후 첨가	0.025	2.9	2.4	4.1
	0.050	4.0	3.5	4.4
	0.075	4.7	4.4	3.4
	0.100	4.9	5.0	2.7

- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 적합하다(5), 부적합하다(1)

### 3) 초피를 첨가한 라면의 관능검사

라면에 초피가루를 첨가하여 관능검사를 한 결과는 표 34와 같다. 라면스프에 초피가루를 첨가하여 끓였을 때 라면의 색깔은 0.2% 첨가구에서도 변화가 없었다. 냄새는 0.075% 이상에서 초피 냄새를 강하게 감지하였는데 초피 추어탕에서 느낀 농도(0.05%) 보다 초피의 첨가 농도가 더 높다. 이는 라면의 느끼한 냄새와 맛이 초피의 향과 잘 조화된 결과라고 생각된다. 종합적인 선호도는 맛은 0.05%~0.075% 첨가구에서 좋은 기호도를 보였으며, 이 때 라면 맛이 개운하고 시원하다고 하였다. 그러나 0.1% 이상의 첨가구에서는 먹고난 다음 얼얼하고 매운맛(麻辣味)가 강하여 기호도가 낮아졌다.

표 34. 초피 과피가루를 첨가한 라면의 관능검사

첨가량 (%)	색	냄새	맛	전체적인 선호도
대조군(라면)	3.3	1.0	1.0	4.0
0.050	3.4	3.4	3.5	4.5
0.075	3.3	4.0	4.0	4.3
0.100	3.3	4.5	4.2	3.6
0.125	3.2	4.7	4.5	2.9
0.150	3.4	5.0	5.0	1.2
0.175	3.2	5.0	5.0	1.0
0.200	3.3	5.0	5.0	1.0

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 색이 짙고 탁하다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 초피의 얼얼하고 매운맛이 강하다(5), 초피의 얼얼하고 매운맛이 없다(1)
- 종합적인 기호도 : 적합하다(5), 부적합하다(1)

### 3) 초피장아찌 성분함량 및 관능검사

#### 가) 일반성분

6개월 저장한 초피 장아찌의 일반성분은 표 35과 같다. 초피 잎과 민초피 잎 장아찌의 일반성분 중 수분 함량은 초피잎이 민초피 잎보다 약간 높으며 그외 성분은 거의 차이가 없었다. 부위에 따른 초피 장아찌의 일반성분은 잎의 경우 회분의 함량이 높는데 비하여, 열매는 수분, 지질, 탄수화물의 함량이 높았다. 초피 장아찌의 수분 함량은 잎, 열매 모두 소금물에 침지하여 담근 것이 무처리구에 비하여 수분함량이 더 높게 나타났고, 조단백질의 함량은 더 낮았다.

#### 나) 염도

초피장아찌의 염도는 표 36과 같다. 초피 장아찌의 염도는 초피잎과 민초피 잎의 경우 각각 5.07, 5.10으로 거의 유사하였고, 초피열매는 잎보다 염도가 더 낮았다. 소금물에 침지하여 담근 장아찌는 무처리구에 비하여 잎, 열매 모두 염도가 높은 경향을 보였다.

표 35. 초피 장아찌의 일반성분

초피부위	전처리	수분	조단백질	조지방	탄수화물	회분
초피 잎	무처리	60.79	15.70	1.18	14.36	12.68
	소금물 침지	62.27	11.63	1.88	16.03	12.30
민초피 잎	무처리	59.63	15.25	0.83	14.58	12.41
	소금물 침지	59.67	10.25	1.59	13.49	12.83
초피 열매	무처리	64.37	15.65	3.21	15.59	9.68
	소금물 침지	64.93	11.82	2.05	16.53	8.92
된장		59.56	15.60	8.30	15.08	18.00

표 36. 초피 장아찌의 염도

초피부위	전처리	염도
초피 잎	무처리	5.07
	소금물 침지	5.49
민초피 잎	무처리	5.10
	소금물 침지	5.18
초피 열매	무처리	4.70
	소금물 침지	4.82
된장		5.77

다) 산도와 pH

초피 장아찌의 산도와 pH는 표 37과 같다. 초피 장아찌의 산도는 초피 잎과 민초피 잎의 경우 각각 1.79, 1.78으로 차이가 없었으나, 초피 열매는 1.67로 잎에 비하여 낮게 나타났다. 소금물 침지하여 장아찌를 담근 경우 잎은 거의 차이가 없었고 열매는 소금물에 침지하였 때 감소되는 경향을 보였다. pH도 산도와 유사한 결과를 나타냈다.

표 37. 초피 장아찌의 산도와 pH

초피부위	전처리	산도	pH
초피 잎	무처리	1.79	4.4
	소금물 침지	1.78	4.1
민초피 잎	무처리	1.78	3.8
	소금물 침지	1.79	4.5
초피 열매	무처리	1.67	4.0
	소금물 침지	1.60	3.5
된 장		1.96	4.2

라) 색도

초피 장아찌의 색도는 표 38과 같다. 민초피 잎은 초피 잎에 비하여 명도(L), a(적색도), b(황색도)가 높았다. 초피열매는 초피 잎보다 명도(L)는 낮으나, a(적색도), b(황색도) 값은 약간 높은 값을 나타냈다. 소금물에 침지하여 장아찌를 담근 경우 잎, 열매 모두 명도(L)와 a(적색도) 값은 증가되었으나, b(황색도)값은 감소되었다.

표 38. 초피 장아찌의 색도

초피부위	전처리	L	a	b
초피 잎	무처리	15.99	1.18	5.03
	소금물 침지	16.07	1.24	4.76
민초피 잎	무처리	24.07	2.78	9.09
	소금물 침지	25.58	3.62	6.77
초피 열매	무처리	13.23	2.06	5.70
	소금물 침지	13.65	2.35	5.47
된 장		18.46	4.54	6.50

#### 바) 관능검사

초피 장아찌의 관능검사는 표 39와 같다. 초피 장아찌의 색도는 대부분 어두운 녹색색을 띠었고, 민초피 잎의 장아찌는 초피 잎 보다 색이 밝아 색깔에 대한 선호도가 높았다. 초피열매는 초피잎 보다 색깔이 더 어두워 초피열매가 색에 대한 기호도가 가장 낮았다. 소금물에 침지하여 담은 장아찌는 무처리구에 비하여 더 어두운 녹색색으로 변하여 선호도는 무처리구 보다 낮게 나타났다.

냄새는 초피잎 장아찌가 민초피잎에 비하여 초피 냄새가 더 강하였고, 초피열매장아찌는 초피잎 보다 냄새가 더 강하였다. 소금물에 침지하여 담은 장아찌는 무처리구에 비해서 초피의 향이 많이 감소하였다.

짠맛은 초피잎, 민초피 잎, 열매의 경우 거의 차이가 없었고, 소금물에 담가서 장아찌를 담았을 때 짠맛이 약간 높게 나타났다. 매운맛은 초피 열매가 가장 강하였고, 다음으로 초피잎, 민초피 잎 순이었다. 소금물에 침지하여 담은 장아찌는 잎, 열매 모두 매운맛이 무처리구 보다 낮게 나타났다. 따라서 소금물에 침지하여 초피장아찌를 담그면 짠맛은 약간 증가되고 매운 맛은 감소된다고 할 수 있다.

질감은 초피잎장아찌에 비하여 민초피 잎이 경도와 씹힘성이 더 낮았고, 초피열매는 초피잎보다 경도와 씹힘성이 더 높게 나타났다. 종합적인 선호도는 초피잎 > 민초피잎 > 초피열매 순으로 높았으나, 된장에 담은 초피장아찌는 색, 냄새, 맛 등이 비교적으로 좋지 않아 선호도는 낮았다.

#### 마) 초피장아찌의 신미성분

초피 장아찌의 신미성분 함량은 표 40과 같다. 초피장아찌의 신미성분은 초피잎이 민초피 보다 함량이 높았고, 초피열매는 초피잎에 비하여 함량이 약 2배 정도 높았다. 소금물에 침지하여 장아찌를 담은 경우 잎, 열매 모두 신미성분은 감소 하였으며, 이 결과는 관능검사의 결과와 일치한다.

표 39. 초피 장아찌의 관능검사

초피부위	전처리방법	색	깔	냄새	맛		질감		종합적인 선호도
					짠맛	매운맛	경도	씹힘성	
초피 잎	무처리	2.93	2.79	3.17	2.91	3.06	2.87	2.07	
	소금물 침지	2.15	2.35	3.24	2.23	2.64	2.01	2.31	
민초피 잎	무처리	3.36	2.47	3.19	2.30	2.11	2.18	1.56	
	소금물 침지	2.53	2.19	3.26	1.98	1.92	1.77	2.00	
초피 열매	무처리	2.71	2.90	3.22	3.65	3.48	3.54	1.09	
	소금물 침지	1.99	2.43	3.20	3.26	3.38	3.17	1.21	

- 색 : 색이 녹색이고 밝다(5), 녹색이고 어둡다(1)
- 냄새 : 초피의 향이 강하다(5), 초피의 향이 없다(1)
- 맛 : 짠맛: 강하다(5), 없다(1), 매운맛 : 얼얼하고 매운맛이 강하다(5) 없다(1)
- 질감 : 경도: 질기다(5), 없다(1) 씹힘성 : 강하다(5), 없다(1)
- 종합적선호도 : 좋다(5) 좋지않다(1)

표 40. 초피 장아찌의 신미성분 함량

초피부위	전처리방법	신미
초피 잎	무처리	3.2
	소금물 침지	2.1
민초피 잎	무처리	2.3
	소금물 침지	1.7
초피 열매	무처리	5.7
	소금물 침지	2.4

##### 5) 초피 첨가 침체류의 미생물 증식 변화

시료김치를 100g 단위로 초피를 첨가하지 않은 대조군과 초피를 중량비로 0.05%, 0.1%, 0.5% 및 2.0%씩을 각각 첨가한 초피첨가 김치군을 100g 단위로 비닐봉지에 담고 잘 밀봉하여 4℃에 4일동안 숙성 발효시키면서 24시간 간격으로 취하여 시료 중의 일반세균, 대장균 및 젖산균의 변화를 측정 한 결과는 그림1, 그림2, 및 그림3과 같다.

일반세균의 경우는 그림 1에서 보는바와 같이 초피가 첨가되지 않은 대조군에 비하여 초피첨가구에서 생육억제 현상이 나타났으나, 0.1%첨가구는 시간이 경과됨에 따라서 생육이 증가함을 보여 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었고, 1.5% 이상의 첨가구에서부터는 시간이 경과 됨에 관계없이 현저하게 억제됨을 보였다.

대장균의 경우에도 일반세균과 마찬가지로 초피첨가구에서 생육이 억제되는 경향은 같았으며, 특히 2.0% 첨가구에서는 숙성 1일 이후에는 초기 대장균수보다 현저하게 감소하는 경향을 보였다.

한편, 젖산균의 경우는 김치의 숙성과정 중 증식곡선에 따른 감소 현상이 나타나고 있으나 초피 첨가에 의한 감소현상은 볼 수 없었으며, 숙성 4일째에는 오히려 초피첨가구에서는 초피가 첨가되지 않은 대조구보다 생육이 촉진되는 현상을 보였다.

이와 같은 결과로 볼 때 초피에 의해 일반세균과 대장균은 초피의 농도가 증가할수록 생육이 억제를 받는 반면 젖산균은 영향을 받지 않고 있음을 알 수 있다. 따라서 초피에서 추출된 항균성 물질이 대장균이나 일반세균에 항균력이 나타나므로 부패 및 식중독균의 생육억제에도 효과가 있을 것으로 생각된다. 또한 김치 등 발효식품에 첨가하여 사용할 경우 초피특유의 향신료 기능 이외에도 김치내 식중독균 및 부패미생물 등의 microflora에 대하여 항균작용을 갖게 되어 김치발효에 유해한 미생물들의 생육을 억제시켜 김치의 초기산패를 방지하여 줄 것으로 생각되며, 또한 김치발효에 관여하는 젖산균에 대해서는 생육효과가 없으므로 김치숙성이 적당히 이루어지게 되어 풍미도 향상되고 저장성이 높아져 김치의 품질을 향상시켜 줄 것으로 예상된다.

그러나 이와 같은 항균력에 대한 연구결과를 뒷받침해줄 수 있는 보다 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다



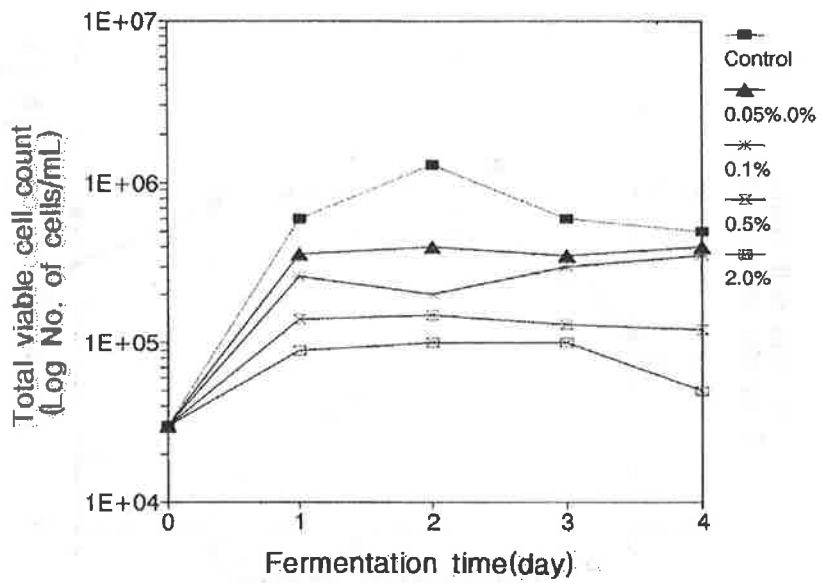


그림 1. 초퍼침가 김치숙성 중 일반세균수의 변화.

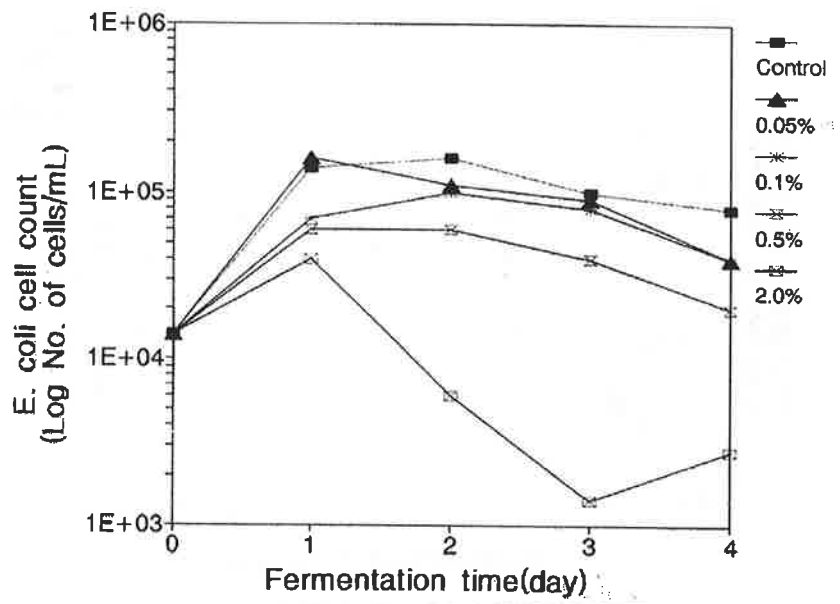


그림 2. 초피첨가 김치숙성 중 대장균수의 변화.

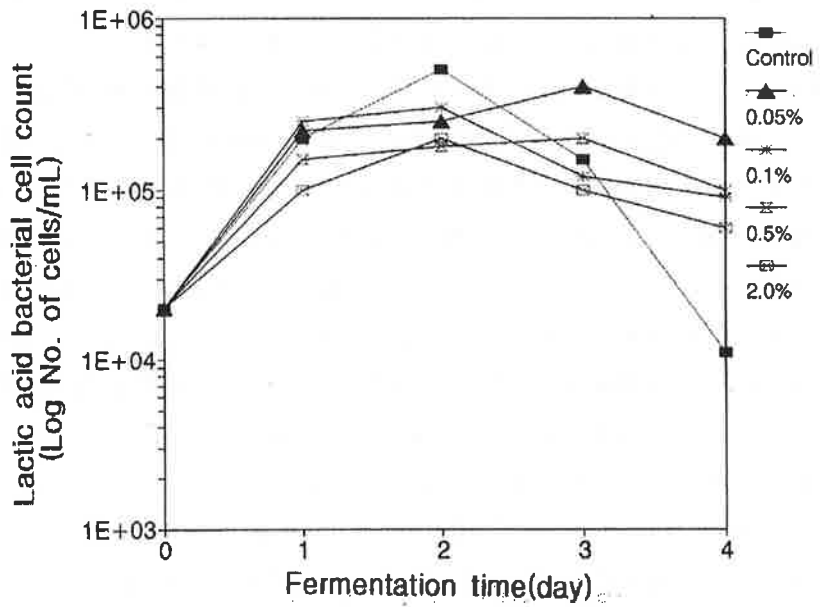


그림 3. 초피첨가 김치숙성 중 젖산균수의 변화

바. 초피과피를 이용한 가공식품 개발

## 바. 초피과피를 이용한 가공식품 개발

### 1) 초피음료 개발

초피는 향과 맵고 얼얼한 맛(麻辣味)으로 향신료 중의 이용도가 매우 높으며, 중국, 일본 우리나라를 비롯하여 특히 기후가 높은 지역에서는 음식의 보존과 잘 변하는 음식의 나쁜 냄새를 가리기 위하여, 습하고 한냉한 지역에서는 한기를 발산하고 혈행을 좋게 하기 위하여 많이 사용하는 향신료이다. 하루생활 중 섭취량이 많고, 식사 외 시간에 쉽게 접할 수 있는 초피음료의 개발은 유용하다고 생각된다.

현재 시중에 유통되고 있는 음료는 탄산음료수, 과일, 주스류, 당근 등의 야채음료, 매실, 대추, 구기자 등을 이용한 약이성 음료, 전분질을 이용한 쌀 음료, 식혜음료, 전해질물질을 넣은 스포츠 음료, 과일향 음료 등이 시판되고 있다. 그 중 천연수와 같은 순수한 물에 인공 과일향과 과즙을 첨가하여 만든 음료의 선호도가 매우 높은 실정으로 매출이 증가되고 있는데 이는 초피과피를 이용하여 만든 초피음료와 맛과 향이 매우 유사하다. 초피는 향이 무척 강하고 항균작용, 방부작용이 크기 때문에 음료가공에 첨가되는 인공향과 방부제 대용으로로서 천연음료수 개발이 가능하다. 그러나 초피 특유의 맵고 얼얼한 맛(麻辣味)이 문제가 되나 소량 첨가하여 완전 여과하기 때문에 큰 문제는 되지 않는다. 시판되고 있는 음료 중 초피음료와 색깔, 향, 맛이 비슷한 음료를 선택하여 관능검사를 한 결과는 표 41과 같다.

초피 음료에 적합한 초피가루의 입자의 크기, 가공처리 유무, 가열 유무, 추출시간, 초피 첨가량 등의 예비실험을 한 결과, 음료에 적합한 초피가루 함량과 첨가물의 종류 및 농도는 열처리 하지 않은 초피가루 0.05%, 30mesh, 설탕 3.0%, 구연산 0.1%, 구연산나트륨 0.05%, 비타민 C 0.2%로 설정하였다. 초피 음료에 첨가되는 위의 성분들을 각각 조합하여 물에 넣은 후 10분 교반하여 원심분리한 상등액으로 실험하였다.

초피음료에서 첨가물로 구연산을 넣으면 색깔이 약간 짙어져 색에 대한 선호도가 떨어졌으나, 비타민 C를 넣은 경우 가장 색깔이 맑았다. 구연산과 비타민 C를 같이 첨가하면 구연산의 색깔의 보완효과가 있었다. 구연산과 같이 산뜻한 신맛을 부여하는 구연산나트륨은 초피음료의 색깔에 영향을 주지 않았고, 구연산에 비타민 C를 넣은 시료보다 맑아 선호도가 높았다. 초피를 넣은 음료는 시판되고 있는 음료보다는 색깔을 약간 띄기 때문에 색깔에 대한 선호도는 시판음료 보다는 더 낮게 나타났다.

냄새는 구연산과 비타민 C를 넣었을 때 초피 향이 가장 강하여 선호도가 높았고, 다음으로 구연산을 첨가한 경우 선호도가 높았다. 그러나 인공향을 첨가한 시판음료

는 초피음료 보다 향이 강하여 선호도가 더 높았다. 맛은 초피에 설탕, 구연산 및 비타민 C를 첨가한 음료군이 가장 선호도가 높았고, 초피에 설탕과 구연산나트륨을 넣은 군이 맛에 대한 선호도는 낮았다. 종합적인 선호도는 설탕, 구연산, 비타민C를 모두 넣은 군이 가장 선호도가 높았다. 시판음료는 강한 인공 과일향과 과즙, 과당을 첨가하여 초피음료보다는 자극적이고 강한 향과 맛을 내므로 종합적인 선호도는 더 높게 나타났으나 초피음료도 양호하다고 평가되었다.

## 2) 초피조미유의 특성

### 가) 초피정유의 이화학적 특성

정유성분의 수율은 약 0.7% 정도였으며 정유성분의 이화학적 특성은 표 40과 같다. 비중과 굴절율은 각각 0.86, 1.47로 일반 식용유와 비슷하고 산도는 5.58로 식용유에 비하여 높은 편이며 비누화값은 143.67로 비교적 낮은 경향을 보였다.

표 41. 초피음료의 관능검사

첨가물		색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
초피음료	초피, 설탕, 구연산	2.1	3.9	4.0	3.7
	초피, 설탕, 구연산나트륨	4.0	3.8	3.5	3.9
	초피, 설탕, 비타민 C	4.5	3.6	3.6	3.0
	초피, 설탕, 구연산, 비타민 C	3.4	4.1	4.2	4.3
시판음료	복숭아과즙 1%, 복숭아향, 액상과당, 설탕, 구연산 (C사)	4.9	4.9	4.8	4.8
	복숭아과즙2%, 복숭아향, 결정과당, polydextrose(H사)	4.8	4.9	4.8	4.8
	포도과즙3%, 포도향, 액상과당, 구연산, 구연산나트륨, 산소 40ppm (N사)	4.8	4.9	4.8	4.8
	레몬과즙 3%, 레몬향, 액상과당, 설탕, 구연산 (L사)	4.4	4.5	4.7	4.3

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하다(1)
- 냄새 : 향이 강하다(5), 향이 없다(1)
- 맛 : 음료로서 상쾌하고 좋은 맛이다(5), 좋지 않다(1)
- 종합적인 기호도 : 음료로서 적합하다(5), 부적합하다(1)

표 42. 초피정유의 이화학적 성질

색깔	비중 (d <sup>20</sup> / <sub>20</sub> )	굴절율 (ND <sup>20</sup> )	산도	요드가	비누화가
Brown yellow	0.86	1.47	5.58	101.58	143.67

나) 초피정유를 첨가한 초피조미유

초피정유를 식용유에 일정 비율로 섞어 농도별 초피 조미유를 만든 결과는 표 43과 같다. 식용유의 색깔과 산도는 식용유의 맛과 신선도에 영향을 주는 중요한 지표가 된다. 초피정유의 첨가량이 많을수록 색깔은 약간 짙어지고 산도는 더 높게 나타났으나, 초피정유 3% 이하 첨가시에는 산도가 1이하로 향신 조미유로서 좋은 상태라고 하겠다.

표 43. 초피정유를 첨가한 식용유의 색도 및 산도

초피정유 농도(%)	색깔	산도
0	레몬색	0.59
1	연노랑	0.67
2	노랑	0.81
3	짙은 노랑	0.98
5	갈색빛 노랑	1.25

3) 혼합향신료의 가공

예비실험을 통하여 초피와 팔각회향, 소회향, 진피, 계피, 육두구, 정향, 백지, 산사, 사인 등 여러 가지 한약재료를 혼합한 향신료를 만들어 티백으로 만든 다음 물, 혼합향신료 티백, 어육류, 파, 생강, 소금, 간장, 술을 분량대로 넣고 가열한 뒤 육질에 대한 관능검사를 한 결과는 표44와 같다.

생선, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 등의 어육류를 재료로 하여 초피가 함유된 혼합향신료의 관능검사를 한 결과 색깔은 돼지고기가 선호도가 가장 높았고, 육질이 연한 생선과 닭고기는 돼지고기와 쇠고기에 비하여 선호도가 낮았다. 냄새는 돼지고기>생선>쇠고기>닭고기 순으로 기호도가 높았고, 맛은 돼지고기에 대한 선호도가 높았으며 그 외의 재료는 거의 차이가 없었다. 전체적인 선호도는 돼지고기, 생선 순으로 높았는데 한약재료의 향에는 익숙하지 않아 선호도는 아주 높은 편은 아니었다.

표 44. 혼합조미료를 사용한 어육류의 관능검사

종류	색깔	냄새	맛	종합적인 선호도
생선	3.4	3.8	3.2	3.5
쇠고기	4.0	3.7	3.3	3.2
돼지고기	4.2	3.9	3.9	3.6
닭고기	3.5	3.6	3.0	3.3

- 색 : 색이 맑고 깨끗하다(5), 노랑색이 진하다(1)
- 냄새 : 향이 강하다(5), 향이 없다(1)
- 맛 : 음료로서 상쾌하고 좋은 맛이다(5), 좋지 않다(1)
- 종합적인 기호도 : 음료로서 적합하다(5), 부적합하다(1)

#### 4) 가정에서 쉽게 만드는 초피조미료

##### 가) 초피 고추씨염

초피, 마른 고추씨, 소금을 솥에서 각각 볶은 뒤 분말로 만들어 혼합한 초피 고추씨염은 중국의 초피염에 고추씨를 볶아서 더 혼합한 것으로 우리 입맛에 익숙하고 고소하면서 麻辣味가 나는 향신조미료이다.

추어탕의 양념, 생선찌개 등에 편리하게 첨가할 수 있으며, 생선 튀김에 곁들일 수도 있다. 일반적으로 맵고 짠맛은 느끼한 맛을 없애주고 속을 편안하게 하므로 초피고추씨염은 느끼한 맛을 갖고 있는 식품에 사용하면 좋을 것으로 생각된다.

##### 나) 초피종자유

초피 종자를 120℃ 가열한 후 착유하여 셀러드용기름이나 볶음용 기름으로 사용한다. 초피는 기름을 짤 수 있으며 추출율은 25% 이상이다. 초피유는 짙은 향미를 갖고 있어 아주 좋은 식용기름이다.

#### 5) 초피주 개발

##### 가) 초피 재제주(소주)의 첨가량과 침출 기간 결정

초피를 농도별, 침출일수에 따라 재제주의 종합적인 기호도를 검사한 결과는



표 45에서 보는 바와 같다. 초피의 첨가농도는 0.05%첨가가 기호도에서 좋은 결과를 보였으며 0.01%첨가는 대조구와 기호도가 유사하였다. 반면 0.1% 첨가는 초피의 신미 성분이 나타나 기호도가 대조구에 비하여 감소하였다.

초피를 소주에 침출 기간을 30일, 60일 및 90일간 추출하였을 때 60일간 침출 한 것이 기호도가 좋은 것으로 판단되었다.

표 45. 초피의 첨가량과 침출시간에 따른 초피재제주의 기호도

침출시간(일)	초피 첨가량(W/V%)				
	대조구	0.01	0.05	0.1	0.2
30	3.2	3.2	3.3	3.2	2.4
60	3.2	3.3	3.7	3.1	2.4
90	3.2	3.3	3.7	2.9	2.2

#### 나) 초피약주 제조시 초피 첨가시기 및 첨가량의 영향

약주의 제조과정에서 초피의 첨가시기 및 첨가량을 결정하기 위하여 초피를 원료인 쌀에 대해 0.01%~0.05%를 첨가하여 발효 후 기호도검사 결과는 표 46에서 보는 바와 같다. 전반적으로 주발효시기에 0.05%첨가구가 기호도가 가장 좋게 나타났다. 쌀 증자 시기와 사입 시기에 첨가한 것은 향기는 없고 신미만 남아서 기호도가 대조구의 3.2 보다 낮은 3.1인 반면 주발효와 후발효 시기에 첨가하는 것이 기호도가 3.5와 3.3으로 증자시와 사입시기에 첨가하는 것에 비하여 기호도가 좋은 것으로 나타났다. 따라서 일부지역에서 약술로 만들어 먹는 경우가 아니면 약주 제조시 초피 첨가량은 0.05%가 적당한 양으로 판단된다.

표 46. 초피약주의 초피 첨가시기 및 첨가량에 따른 기호도

첨가량(%)	초피 첨가시기				
	대조구	쌀 증자시	사입시	주발효	후발효
대조구	3.0	3.1	3.0	3.2	3.1
0.01	3.0	3.0	2.9	3.2	3.2
0.05	3.2	3.1	3.1	3.5	3.3
0.1	2.9	2.8	2.9	3.1	3.1
0.2	2.6	2.6	2.4	2.5	2.4

다) 초피 약주의 발효 과정중 산도 변화

초피를 첨가하여 발효시킨 약주의 발효과정 중 산도의 변화는 표 47에서 보는 바와 같다. 약주발효 4일째에 초피를 0.05% 첨가한 시료구와 대조구를 비교해보면, 초피첨가구는 발효 6일 즉 초피를 첨가한 2일 이후부터 약간씩 감소하였으나 그 변화량은 발효가 끝난 7일에 대조구에 비하여 0.4의 차이를 보였다. 이는 초피에 의한 항균 작용이 있는 것으로 추정할 수 있었다. 약주의 발효가 진행중 산도의 증가는 잡균의 오염과 효모의 사멸에서 오는 것으로 추정된다.

표 47. 초피약주의 발효과정중 산도 변화

첨가량(%)	발효시간(일)							
	1	2	3	4 <sup>*)</sup>	5	6	7	8
0(대조구)	4.5	4.5	5.0	5.5	6.0	6.7	7.2	7.5
0.05	4.5	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	6.8	6.9

\*) : 초피 첨가시기

라) 초피 약주의 초피 첨가량에 따른 알코올과 향기성분 함량

발효 7일 된 초피의 알코올과 향기성분의 분석은 GC-Mass를 이용하였으며 향기성분 포집방법은 Puge & Trap 분석법을 사용하였고 그 결과는 표 48과 표 49에서 보는 바와 같다. 알코올 함량은 대조구와 초피 첨가량에 따른 변화는 없었으며 그 함량은 17.3%~17.7%로 변화가 별 없었다. 이는 초피의 성분이 발효에 관여한 효모 등에 영향이 없는 것과 같은 결과를 보였다.

초피 약주의 fusel oil의 함량은 65.6mg%~67.3mg%로 초피의 첨가량에 따른 변화는 거의 없었다. 반면 향기성분은  $\beta$ -myrcene, 1-phellandrene, citronella,  $\alpha$ -terpinolene, isopulegol, citronellyl acetate 및 geranyl acetate 등이 검출되었으며 함량은 0.01% 첨가구에서  $\beta$ -myrcene 0.01mg%와 citronella 0.11mg%, 0.05% 첨가구에서  $\beta$ -myrcene 0.06mg%와 citronella 0.45mg% 검출되었고 나머지 성분은 흔적정도 검출되었다. 0.1%첨가구에서  $\beta$ -myrcene 0.09mg%, citronella 0.91mg% 및  $\alpha$ -terpinolene 0.01mg%가 검출되었으며 나머지 성분은 흔적정도 검출되었다, 0.2% 첨가구에서는  $\beta$ -myrcene 0.12mg%, 1-phellandrene 0.01mg%, citronella 1.23mg%,  $\alpha$ -terpinolene 0.02mg%, isopulegol 0.01mg%, citronellyl acetate 0.01mg% 및 geranyl acetate 0.01mg%가 검출되었다. 초피의 첨가량이 증가하면 향기성분 함량이 증가되었으나, 초피 약주의 기호성은 증가하지 않고 0.05% 첨가구가 관능검사 결과 기호도가 가장 좋았다.

표 48. 초피 첨가량에 따른 초피 약주의 알코올 함량

(%)

성분(%)	첨가량(W/V%)				
	대조구	0.01	0.05	0.1	0.2
알코올	17.5	17.3	17.6	17.7	17.3

표 49. 초피 첨가량에 따른 초피 약주의 fusel oil과 향기성분 함량

(mg/100ml)

화합물명	첨가량(W/V, %)				
	대조구	0.01	0.05	0.1	0.2
Methyl alcohol	2.4	2.3	2.8	2.6	2.8
Iso propyl alcohol	12.9	12.3	11.8	14.5	12.0
Ethyl acetate	0.8	0.9	0.8	0.3	0.4
2-Methyl 2 propyl alcohol	2.1	3.2	2.3	2.3	3.3
Propyl acetate	3.9	4.2	5.1	4.6	4.3
2 Buthyl alcohol	19.9	21.1	20.3	18.0	19.3
2 Methyl propyl alcohol	12.2	9.8	10.6	10.3	11.0
2 Pentanol	6.7	7.0	6.8	7.2	7.4
2 Methyl 1 buthanol	6.3	6.5	5.9	5.8	6.5
β-Myrcene	0	0.01	0.06	0.09	0.12
1-Phellandrene	0	t	t	t	0.01
Citronella	0	0.11	0.45	0.91	1.23
α-Terpinnolene	0	t	t	0.01	0.02
Isopulegol	0	t	t	t	0.01
Citronellyl acetate	0	t	t	t	0.01
Geranyl acetate	0	t	t	t	0.01
합 계	67.2	67.43	66.96	66.71	68.59

마) 초피 약주에 함유된 신미성분

초피 약주의 신미성분의 함량을 측정한 결과는 표 50에서 보는 바와 같다. 0.01% 첨가구에서 1.2 $\mu\text{g}\%$ , 0.05% 첨가구에서 6.8 $\mu\text{g}\%$ , 0.1% 첨가구에서 11.2 $\mu\text{g}\%$  및 0.2% 첨가구에서 18.2 $\mu\text{g}\%$ 이었으며 관능검사로 0.01% 첨가구에서 신미성분을 감지하기가 어려웠나 0.05% 첨가구에서 아주 약하게 느낄 수 있었고 0.1% 첨가구에서 신미성분을 강하게 느낄 수 있었으며 이와 같은 결과가 0.05% 첨가가 한 약주의 기호도가 높게 나타난 것으로 판단되어 졌다.

표 50. 초피 약주의 신미성분의 함량

	초피첨가량(%)				
	대조구	0.01	0.05	0.1	0.2
신미성분	0	1.2	6.8	11.2	18.2

바) 초피 약주의 색도

초피 약주에 농도별로 초피를 첨가하여 제조한 것을 색도를 측정한 결과는 표 51에서 보는 바와 같다.

초피의 첨가량이 증가에 의하여 L값의 변화는 대조구에 비하여 89.95에서 86.47로 명도가 감소하였으나 그 차이는 크지 않았고, a값의 변화는 0.01에서 0.29로 증가하였으며, b값의 변화는 9.21에서 10.41로 변화하였다. 약주의 색은 대조구에 비하여 약간 붉은색을 띄었으며 이 색은 약주의 색으로는 좋은 것으로 판단되었다.

표 51. 초피 약주의 색도

색도	초피첨가량(%)				
	대조구	0.01	0.05	0.1	0.2
L	89.95	89.12	88.47	87.09	86.47
a	0.01	0.02	0.05	0.19	0.29
b	9.21	9.78	9.91	10.18	10.41

사. 대량생산을 위한 초피의 가공과 이용 방안

초피는 재배관리 중 비료, 농약 등을 사용하므로 재배자에 따라 초피의 오염정도가 다르고, 수확 후 판매하는 과정에서 포장을 해서 판매하기도 하나 포장하지 않은 상태로 판매되기도 한다. 따라서 운송과 판매 중에 유효성분이 점점 휘발되어 품질이 저하되어 성분의 손실이 있고, 부피가 크기 때문에 가공 및 이용에 문제점이 따른다. 그러나 최근 생활 수준이 높아지면서 여러 가지 기능성, 기호성을 갖고있는 식품에 관심을 갖게 됨에 따라 초피의 오염을 줄이고 품질을 높이는 가공법과 이를 이용한 향신 조미료를 개발하는 것이 필요하다고 생각된다.

1) 초피의 조가공

가) 초피 포장가공

수확한 초피를 햇볕에서 건조한 후 종자, 잎, 잎자루 등 잡질을 제거하여 포장한다.

(1) 과피정선

초피 과피를 용기에 넣고 나무 봉 또는 나무판으로 인공적으로 갈고 민다. 잎자루, 종자 및 과피가 분리되면 규격 그릇에 넣고 진동기, 선풍기, 전기 등으로 구성된 기계에 넣고 구멍으로 떨어지게 한다. 1, 2, 3 단계로 분리하여 잡질을 제거하고,

종자와 작은 잡질은 4단계에서 완전히 제저한다.

(2) 과피 분급 : 진동기와 분급망으로 구성되어 있는 기계에 넣어 대소에 따라 분리한다.

(3) 과피 포장 : 분급 후 과피용 비닐 봉지에 넣어서 입구를 봉하여 밀봉한다.

나) 상품화 과정

초피→건조→밀대 등으로 민다→정선 —┐ 잡질  
                                          ├─ 과피 → 분급 → 포장 → 밀봉 → 상품  
                                          └─ 종자

2) 초피가루의 가공

깨끗한 초피과피를 분쇄하여 분말상으로하여 비닐 혹은 용기에 넣어 밀봉하여 상품화 한다.

가) 과정

                                  ┌ 잡질  
초피과피 - 정선├─ 과피 - 건조 - 분쇄 - 포장 - 밀봉 - 상품  
                                  └─ 종자

나) 주요설비

건조기, 분쇄기, 포장대, 밀봉기

3) 초피 향유 가공

초피 향유는 식용유를 가열하여 초피과피를 넣고 끓인다음 초피 과피 중의 향기 성분을 식용유로 침출시킨 식용 조미유이다.

가) 과정

식용유→가열(120℃)→냉각(30~40℃)→초피 과피를 넣음→침지 30분→ 열(100℃)  
↔ 냉각(30℃) → 여과 ┌과피→ 분쇄 → 초피가루  
(2-3회 반복)           └향유→냉각(실온)→정치→병에 넣음→밀봉→상품

나) 주의 사항

(1) 식용유를 솥에 넣고 120℃까지 가열한 다음 30~40℃로 냉각하여 초피과피를 넣는다.

(2) 초피과피 : 식용유 = 1.5 : 100 의 비율로 하여 30분 침지한 후 초피와 기름을 함께 100℃ 가열하여 냉각하고, 다시 100℃로 가열하여 30℃로 냉각하는 것을 2~3회 반복한다.

(3) 여과한다.

다) 주요설비 : 솥, 망, 세척기, 포장, 마쇄기

4) 초피향 정유 가공

초피향 정유는 초피과피 중의 초피 정유를 추출하여 다른 재료를 혼합하여 만든 것이다.

가) 초피 정유 추출 방법

(1) 추출법 :

(가) 초피 과피→건조 →분쇄 →용제에 침지 →원심분리 또는 여과 →상등액→ 증류┐정유원액→저장  
└용제

(나) 주의사항

- 추출온도는 50 ~ 55 ℃, 추출시간은 일반적으로 90분 정도로 한다.
- 사용용제는 반드시 비점이 낮고 기화 잠재열이 적은 알콜 또는 에테르를 사용한다.

(2) 증류법

초피과피 중에 있는 비지질성 물질과 지질은 물에 대한 친화력과 기화점이 다르고, 비중이 다르기 때문에 이것으로부터 초피정유를 분리한다.

(가) 과정

초피 과피 → 분쇄 → 수분첨가 → 증류관에 넣음 → 증류 → 냉각 → 혼합액 → 정지 → 분액 → 초피 정유 원액 → 저장



(나) 증류법 조작시 주의점

잡질 제거후 초피과피 분쇄하여 가루로 한 후 수분을 첨가하여 증류관 내에 넣는다. 이때 수분함량은 만졌을 때 뭉쳐지지 않을 정도로 한다. 증기의 압력 40.53 mmHg, 증류관 내부 온도 95~100℃에서 3~4시간 증류한 다음 냉각하여 혼합액을 정지한 후 30분 정도 지나면 분리하여 초피 정유 원액을 회수한다.

나) 초피정유와 혼합된 조미유 제조

초피 정유 원액, 식용주정, 각종 식용유(참기름, 샐러드유, 겨자유, 고추기름, 마늘정유)를 1:100~200 배로 혼합하여 만든다.

초피 정유 원액 → 겨자유 혼합 → 초피향 겨자유  
고추기름 혼합 → 초피향 고추기름  
마늘정유 혼합 → 초피향 마늘기름  
참기름 혼합 → 초피향 참기름  
샐러드기름 혼합 → 초피향 샐러드유

4. 참고문헌

1. 李桂華, 付매교: 초피종자의 화학성분분석연구, 鄭州 糧食學院學報 15(4) 21, 1994
2. 郭愛蓮, 오重華: 여러가지 향신료 방부작용의 기초적연구, 食品科學16(5), 7,1995
3. 劉敬賢, 邵建華: 新編 鬪師 培訓教材, 遼寧科學技術出版社, 213 (1998)
4. 張培茵외 6인: 香辛料精油噴霧干燥法微胶囊化的 研究, 食品科學, 19(12) 27(1998)
5. 張德純외 6인: 花椒芽的圃植栽培, 中國菜蔬, 6, 43-45(1998)
6. 王世吉: 花椒銅色跳甲的放治, 花椒芽的圃植栽培, 中國菜蔬, 6, 42(1998)
7. 劉병: 苦瓜消暑飲料的研制, 食品科學, 18(10) 59(1997)
8. 李中仁: 菜蔬飲料的 研制, 食品科學, 12, 21(1988)
9. 황진성, 김영두, 김시경: 초피나무의 성분이용 및 재배방법에 관한 연구, 교육부 연구보고서, 농학계, 1, 1-9(1979)
10. 田中嘉二: 日本のかくし味サンショウの 栽培と用途 果實日本, 3, 60(1990)
11. 육창수: 한국약품자원 식물도감, 진로출판사, 234(1981)
12. 윤숙자: 한국의 저장 발효음식, 신광출판사, 341(1998)

13. 이기원, 정우규 : 가시없는 신품종 초피나무의 개발과 기내대량생산 및 유용성분 분석, 제 35회 전국과학전람회특집, 37-50(1989)
14. Association of Official Analytical Chemists : Official Methods of Analysis 14thed. Wachington D.C., 999 (1990)
15. 한국공업협회 : 식품공전 81, 1990
16. 신효선: 식품분석(이론과 실험) 신광출판사, 77 (1983)
17. 金洪善, 柳庚秀 : 왕초피나무 과피의 생약학적 연구(I), 生藥學會誌, 1(4), 125-132 (1970)
18. 權昌鎬, 洪南斗, 金昌玟 : 산초류 생약의 성분 검색, 生藥學會誌, 4(4), 209-212 (1973)
19. 林基興 : 藥用植物學(각론), 160-161, 166, 동명사 (1975)
20. 武政三男 : 스파이스百科事典, 203, 三琇書房 (1981)
21. 李昌福 : 大韓 植物學圖鑑, 501-502, 향문사 (1982)
22. 李春寧, 金友政 : 天然 香辛料와 食用色素, 鄉文社, 29-30 (1988)
23. 이원호 : 약초재배법과 야생약초의 이용법, 獎學出版社, 241-242 (1976)
24. 山崎峯次郎 : 香辛料 III, 에스비-食品株式會社, 223-274 (1976)
25. 田中嘉二 : サンショウ의 栽培と用途, 果實日本 3, 60-61 (1990)
26. 金昌玟, 許仁玉 : 왕초피나무의 성분연구, 생약학회지, 12(1), 5-11 (1981)
27. 충청남도농촌진흥원 : 약선요리, 10 (1996)
28. 윤서석 : 한국의 음식용어, 283, 민음사 (1991)
29. 김연식 : 한국사찰음식, 24·63·84·126, 우리출판사 (1997)
30. 相原傳, 鈴木猛 : 山椒의 成分に就いて(第5報), 殺蟲及び成分, 藥學雜誌 71, 1323 (1951)
31. 정명현 : 식물약품화학, 37, 삼성출판사 (1980)
32. 韓熙子 : 韓國産 초피와 山椒의 과피 및 種子의 成分에 關한 研究, 漢陽大學校 博士學位論文 (1988).
33. 권선진 : 초피나무의 휘발성 성분 및 항균력에 관한 연구, 부산대학교 대학원 석사학위논문 (1992).
34. Abe, F., Yahara, S., Kubo, K., Nonaka, G., Okabe, H. and Nishioka, I. : Studies on Xanthoxylum spp. II. Constituents of the bark of Xanthoxylum piperitum DC, Chem. Pharm. Bull., 22(11), 2650-2655 (1974)

35. Kurita, N. and Koike, S. : Synergistic Antimicrobial Effect of Sodium Chloride and Essential Oil Components, *Agric. Biol. Chem.*, 46(1), 159-165 (1982)
36. Kusumoto, S., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : Constituents of Fruit Oil from Japanese Pepper, *Chem. Soc. Bull.* 41, 1945-1950 (1968)
37. Kusumoto, S., Ohsuka, A. and Kotake, M. : Constituents of Leaf Oil from Japanese Pepper, *Chem. Soc. Bull.*, 41, 1950-1953 (1968)
38. Sakai, T., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : A Comparative Study of the Constituents of Volatile Oils of *Zanthoxylum*, *Chem. Soc. Bull.* 43, 484-487 (1970)
39. Yasuda, I., Takeya, K., and Itokawa, H. : Two New Pungent Principles isolated from the Pericarps of *Zanthoxylum ailanthoides*. *Chem. Pharm. Bull.* 29(6), 1791-1793 (1981)
40. 安田一郎 : 山椒の成分・化学, *現代東洋医学* 16(3), 422-428 (1995)
41. 有富正和 : 食用植物の化学的成分(第2報), *サンショウ葉のフラボノイド*, *家政学雑誌* 34(4), 236 (1983)
42. 川原一仁, 木谷千穂, 田中俊弘 : 和歌山県におけるブドウ山しょうの生産に関する報告, *Nat. Med.* 48(4), 317-321 (1994)
43. 吳垠, 下田満哉, 箆島豊 : 葉山椒及び青山椒の香氣成分の同定・定量と試料間変動, *日本農藝化学会誌* 70(9), 1001-1005 (1996)
44. 小池淳平, 塩田聡, 竹内秀達, 折橋正浩, 石黒幸男 : 山椒配合外用剤の薬理作用について, *家庭薬研究*, 15, 27-30 (1996)
45. 尾崎幸紘 : 山椒の薬効・薬理, *現代東洋医学* 16(3), 429-431 (1995)
46. 阿部フミ子, 古川まゆみ, 野中源一郎, 岡部光, 西岡五夫 : *Xanthoxylum*属植物の研究(第1報) サンショウの根の成分, *薬学雑誌* 93, 624-628 (1973)
47. 小松かつ子, 伊藤親, 劉玉萍, 難波恒雄 : 『花椒』及び『山椒』の生薬学的研究(第1報) 日本産 *Zanthoxylum*属及び *Fagara*属の果実の形態, 及び『山椒』の基源について, *Nat Med* 49(2), 137-147 (1995)
48. 米田該典 : 山椒の生産と資源, *現代東洋医学* 16(3), 418-421 (1995)
49. 安田一郎, 竹谷孝一, 糸川秀治 : 辛味成分および精油成分による本邦市場の中國産山椒の品質評価, *薬学雑誌*, 36(4), 301-306 (1982)
50. Yasuda, I., Takeya, K., and Itokawa, H. : Distribution of Unsaturated

- Aliphatic Acid Amides in Japanese Zanthoxylum Species. *Phytochemistry*, 21(6), 1295-1298 (1982)
51. Teranishi, R., U. Keller, R.A. Flath and T.R. Mon : Comparison of Batchwise and Continuous Stream Distillation: Solvent Extraction Recovery of Volatiles from Oleoresin Capsicum, African Type, *J. Agric. Food Chem.* 28 (1980).
  52. Vejaphan, W., C. Thomas, Y. Hsieh and S.S. Williams : Volatile Flavor Components from Boiled Crayfish Tail Meat, *J. Food Sci.*, 53(6) (1988).
  53. Johnson, E.L. and R. Stevenson : Basic Liquid Chromatography, Varian Associates Inc. (1978)

<부록1>

관 능 검 사

2000년 월 일

다음은 초피 추출물의 맛과 향기를 알아보기 위한 것입니다. 다음 사항을 참고하여 관능 평가지에 느낀 강도를 정확하게 항목별로 표시하여 주십시오.

Score Factor	5점	4점	3점	2점	1점
Color (색깔)	물처럼 투명하고 맑다	물처럼 투명하고 맑은 편이다.	보통이다	노랑색이 진하고 탁한 편이다	노랑색이 진하고 탁하다
Flavor (냄새)	초피의 향이 매우 강하다.	초피 향이 강한 편이다.	보통이다.	초피 향이 약간 느껴진다.	초피 향이 전혀 느껴지지 않는다.
Taste (맛)	초피의 얼얼하고 매운맛이 매우 강하다.	초피의 얼얼하고 매운맛이 강한 편이다	보통이다.	초피의 얼얼하고 매운맛이 약간 느껴진다	초피의 얼얼하고 매운맛이 전혀 느껴지지 않는다
Overall Preference (전체적인 선호도)	색, 맛, 향기가 좋아 음료(향신료) 로 아주 적합하다	색, 맛, 향기가 좋아 음료(향신료) 로 적합한 편이다.	보통이다.	색, 맛, 향이 좋지 않아 음료(향신료) 로 적합하지 않다.	색, 맛, 향이 좋지 않아 음료(향신료) 로 아주 적합하지 않다.

초피 추출물 관능검사지

Name \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_ Code \_\_\_\_\_

온도( )℃, 추출 시간( )분

	Sample 1 ( )%										Sample 2 ( )%									
	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1		
color(색깔) <-----> 양호 불량																				
Flavor(냄새) <-----> 양호 불량																				
Taste(맛) <-----> 양 불량																				
Overall Preference (전체적인 선호도) <-----> 양호 불량																				
비 고																				
	Sample 3 ( )%										Sample 4 ( )%									
	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1	5	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1		
Clolr(색깔) <-----> 양호 불량																				
Flavor(냄새) <-----> 양 불량																				
Taste(맛) <-----> 양호 불량																				
Overall Preference (전체적인 선호도) <-----> 양호 불량																				
비 고																				

# 제4장 위탁과제

## 신개념 향신료 개발을 위한 초피의 신미 성분 및 유용성분 특성 분야

### 제1절 서론

신미성분과 향기성분을 많이 함유하고 있는 초피(*Zanthoxylum piperitum* De Candolle)는 Citrus 속 운향과(Rutaceae)에 속하여 다른 *Zanthoxylum*종 들과 혼용되어 왔다. 특히 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)와는 그 형태가 비슷하여 학명마저 혼동되어 왔으나 그 방향성분은 특이하여 뚜렷이 구분할 수 있으며 Citrus 계 방향성분을 많이 함유한 것으로 알려졌다. 초피는 예로부터 중국, 일본에서 chinese pepper, Japanese pepper로 불리면서 향신료로 사용되어 왔고 특히 일본에서는 근래에 야사쿠라 산초(*Zanthoxylum piperitum*. var. *inermis* Makino)라는 결실량이 많고 정유성분의 함량이 높은 우량 품종을 재배육성할 정도로 인기있는 향신료로 널리 사용되고 있다. 우리나라에서는 조선시대 초부터 김치에 고추대신 초피를 사요하였다는 기록이 있으며 현재에서 중부 이남의 민간에서 김치에 넣거나 민물고기의 비린내를 제거하는데 사용하고 있으며 전국적으로는 하약제, 추어탕등에 넣어 널리 사용하고 있다. 초피의 과피는 특유의 향기성분을 갖고 있어 생선류의 비릿한 냄새를 제거하는데 효과적이다. 이러한 초피의 향과 맛 성분에 대한 연구는 많이 있지만 초피 과피의 신미성분에 대한 연구는 드문형편이다. 일본에서 나온 보고로는  $\alpha$ -Sansol,  $\beta$ -Sansol, hydroxy  $\alpha$ -Sansol, hydroxy  $\beta$ -Sansol,  $\gamma$ -Sansol, 그리고 hydroxy  $\gamma$ -Sansol 등 6가지 신미성분을 밝혔는데 한국산 초피의 신미성분에 관한 연구는 전무하고, 특히 신미성분의 추출에 있어서 지금까지 사용해왔던 스증기 증류법이나 용매추출법대신 초임계 유체추출(SFE)를 사용하여 신미성분을 추출하고 이의 구조를 밝혀 새로운 향신료로서의 개발에 기여하여 초피를 경제적으로 가치가 있는 자원으로 확보하여 농가소득 증대로 경제적으로 효과를 보고자한다.

따라서 본 연구에서는 본 연구에서는 초피에서 유용성분을 다양한 용매 (MeOH, EtOAc, CHCl<sub>3</sub>, Hexane)별로 추출, 분리하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

에 의한 전자공여능과 thiocyanatedp 에 의한 항산화 활성을 탐색함과 더불어 GC, GC-MS 등을 이용하여 초피의 생육 시기별, 부위별, 그리고 품종별로 지방산과 정유 성분을 분석 조사한다. 또한, mouse에 대한 독성실험을 실시하여 안정성을 조사 구명하고 SFE (Supercritical fluid extractor)를 이용하여 초피 과피에서 역치가 성분을 추출하는 최적조건을 확립하기 위하여 SFE에서 시간, 온도, 압력 및 Modifier양별로 조사분석하여 초피 역치가 성분 최적추출 조건과 HPLC등에 의한 초피 역치가 성분 분석의 최적조건을 확립함과 아울러  $^1\text{H-NMR}$   $^{13}\text{C-NMR}$ , FT-IR 분석에 의한 역치가 성분의 규명 및 성분규명후 항산화능 검증과 안정성을 조사 구명하여 초피를 이용한 향신료의 개발연구에 이용하고자 한다.

## 제2절 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 가. 시료

초피 시료는 순천대학교 식품공학과(김용두 교수)에서 분양 받아 냉장보관하여 사용하였다.

#### 나. 시약

palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, behenic acid, lignocelic acid, oleic acid, linoleic acid, arachidonic acid 등 지방산 Standard는 Aldrich (U.S.A)에서 구입을 하였고,  $\alpha$ -Pinene, Myrcene, Limonene, Linalool, Terpineol,  $\alpha$ -Terpineol등 정유 성분 Standard는 Sigma (U.S.A)에서 구입을하였으며 그 외 solvents와 시약은 모두 특급으로 사용하였다.

#### 다. Mouse

Mouse 는 인천 삼육동물 실험실에서 구입한 체중이 23~24g balb C를 동물사육실에서 사육하면서 사용하였다.



## 라. 사용 기기

- 1) SFE : Supercritical fluid extractor, JASCO, JAPAN
- 2) HPLC : High performance liquid chromatograph, KONTRON, ITALIA
- 3) GC : Gas chromatograph, HEWLETPACKARD, HP4890A, USA
- 4) GC-MS : Gas chromatography Mass spectrometer, HEWLETPACKARD, HP... A, USA.
- 5)  $^1\text{H}$  - NMR : Hydrogen 1, Nuclear magnetic resonance absorption, Unity plus - 300 ( 300 MHz), Varian, USA.
- 6)  $^{13}\text{C}$  -NMR : Carbon 13, Nuclear magnetic resonance absorption, Unity inova-500(500 MHz), Varian, USA.
- 7) FT-IR : Fourier Transform Infrared spectrometer, FTS 175 C Biorad, USA

## 2. 방법

### 가. 시료 조제

시료는 5. 6. 7월 3개 시기별로 채취한 종자로서 냉장보관하면서 일부를 취하여 실온에서 음건한후 건조하여 믹서로 분쇄하여 사용하였으며 과피도 실온에서 음건한 종자에서 과피만 분쇄하여 사용하였다.

### 나. 초피의 유용성분의 분석

#### 1) 초피의 지방산 함량조사

초피 시료 0.1g을 test tube에 넣은 후 Chloroform : MeOH = 2:1 용매 5ml를 넣고 internal standard(Behenic acid) 1ml(100ppm)를 실온에서 넣는다. Sonicator에서 20분간 sonication 한 후 20분 쉬 다음 다시 20분간 sonication한다. 여기에 4ml 0.58% NaCl를 sample에 넣고 10분간 sonication한다. 이 시료를 1500rpm에서 원심분리를 한 후, pasteur pipet으로 상등액을 제거한 다음 상등액 밑층의 cellulose등 고형물은 시약스푼으로 떼내서 버린다. 아래층인 chloroform 층은 고형물이 들어가지 않도록 여과를 하여 이것을 crude extract(CE)로 사용하였다. CE를 질소가스를 이용하여 농축을 하고, 이 때 heating block 온도는 40℃로 하였다. 이 시료에 0.5ml toluene과 2.0ml의 0.5N NaOH in MeOH를 첨가한다. sample을 90℃의 water bath에서 5분간

가열한 후 실온에서 식힌다. 2.0ml의 BF<sub>3</sub> MeOH를 sample에 넣어서 모든 고체를 다 녹인 후 80°C water bath에서 3분간 가열한 후 식힌다. 이 sample을 30ml test tube에 옮기고 10ml의 석유 에테르로 시험관(전시험관)을 씻은 후 30ml의 test tube에 옮긴다. 여기에 증류수 10ml를 넣어주는데, 작은 시험관에 다 녹지 않은 고형물이 있으면 증류수로 모두 녹인 후 30ml test tube에 넣어준다. 이 sample을 Vortex mixer에서 잘 섞고 10분간 sonication 한 다음 5분간 정치시켜놓는다. 여기서 분리된 상등액은 약 1g의 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣은 Whatman #6 filter paper를 이용하여 여과하고, 질소농축을 한다. 이 sample에 석유 에테르 1ml를 넣어서 녹인 후 저장용 micro vial에 옮겨서 밀봉하고 이 sample을 GC 분석에 이용하였다.

초피 종자를 생장시기별, 부위별, 품종별로 여러 가지 지방산중에서 포화지방산인 palmitic, palmitoleic, stearic, behenic, lignoceric acid와 불포화지방산인 oleic, linoleic, linolenic, arachidonic acid의 함량을 GC에서 아래 Table 1과 같은 조건에서 분석조사하였다.

**Table 1. Conditions of Gas chromatography analysis**

Integrator	Hewlett Packard 3395
Columns	HP-1(Crosslinked methyl siloxane), length 30m, ID 0.53mm
Detector	FID
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Injector temp.	200°C, oven temp : 180°C for 2min, rate 2°C/min to 200°C
Detector temp.	230°C, final time : 10min

## 2) 초피의 정유성분 분석

한국산 종자를 5, 6, 7월 3개 시기별로 중성과 약산성 정유 성분에 대해 아래와 같은 6가지 정유성분  $\alpha$ -Pinene, Myrcene, Limonene, Linalool, Terpeneol, 그리고  $\alpha$ -Terpeneol에 대해 조사해보았다. 시료를 수증기 증류법으로 100 ml 추출액을 얻어 Ethyl Ether 100 ml로 정유성분 분획을 얻었다. 농축한 다음 Silica gel chromatography에서 중성분획과 약산성분획을 각기 100 ml를 얻어 농축하여 최종 2ml 정유성분을 수집하여 GC와 GC/MS 분석을 하였다, 정유성분 분석 조건은 Table 2에 표시하였다.

**Table 2. Conditions of Gas chromatography analysis of Oil from Zanthoxylum**

Integrator	Hewlett Packread 3395
Columns	HP-1(Crosslinked methl siloxane ), length 30m, ID 0.53mm
Detector	FID
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Injector temp.	200°C, oven temp : 180°C for 2min, rate 2°C/min to 200°C
Detector temp.	230°C, final time : 10min

다. 항산화물질 추출 및 항산화활성 측정

1) DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 의한 전자공여능 측정

초피 종자의 건조 분말을 극성이 다른 각 용매별 (MeOH, EtOAC, CHCl<sub>3</sub>, Hexane)로 2시간 동안 환류 추출을 하여 여과한 후 40°C에서 rotary evaporator를 사용하여 감압 농축하였다. 얻어진 추출물을 각 용매 2ml로 용해하여 항산화 활성 검정용 시료로 사용하였다. DPPH 1.9ml(80µg/ml)에 각 시료 100µl를 첨가하고 실온에서 5분간 반응시킨 후 그 탈색 정도를 525nm에서 UV spectrophotometer로 측정하였다. 각 시료의 전자공여능력(Electron Donating Ability, EDA%)은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율로 표시하였다.

2) Thiocyanate에 의한 항산화력 측정

초피 추출물과 합성 항산화제인 BHT와의 항산화 활성을 비교하기 위하여 Thiocyanate 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 각 sample solution( 200µl in EtOH )을 sample tube( 1.5×4.3cm )에 넣고 linoleic acid(200µl)를 함께 가하며 pH 7.4, 0.2M phosphate buffer(400µl), 그리고 distilled water(200µl)를 가하여 이 tube를 24시간, 37°C 압조건에서 반응시킨다. 각 sample solution(100µl)에 75% EtOH(3mL), NH<sub>4</sub>SCN(100µl) Ferrous chloride reagent(100µl described)를 가한 후 3분후 분광광도계의 500nm에서 흡광도를 측정함으로써 항산화력을 조사하였다.

#### 라. Mouse에 대한 독성실험

초피에는 신미, 정유성분, 유지가 함유되어있어 향신료, 약용으로서 동북아시아 지역에서 오래전부터 사용되어왔다. 또한 초피는 여러 가지 생리활성 물질을 함유하고 있기에 의약품으로서 방향성 건위, 소염, 이뇨, 구충제, 위하수증, 식욕증진, 신경통, 냉증, 저혈압, 지사제, 진해제, 중풍치료에 이르기까지 널리 사용되어 왔다. 아직 까지 초피 수피의 어독성에 관한 보도는 있지만 초피 과피의 mouse에 대한 독성에 관한 보도는 거의 없었다. 초피를 이용한 향신료 개발에서 가공후 안정성 검토를 위하여 초피 과피의 추출물이 mouse 간 microsome 과 cytosol 의 해독작용에 관여하는 Glutathione-S-transferase (GSH-T)활성에 대한 영향을 조사하였다. 정상사람이 일반적으로 하루 섭취하는 초피의 양 1~2g( 30mg/Kg체중)양을 고려하여 mouse에게는 그 7배양 (200mg/Kg 체중)에 상당한 초피 과피의 SFE추출물, SFE잔사 용매추출물 및 과피의 용매추출물의 농축물을 옥수수 기름에 녹여 체중이 23-24g mouse에게 이주간 경구투여하였고 대조구로는 옥수수 기름과 사료를 먹인조, 사료만 먹인조 두 조로 나누어 실험조와 대비하여 실험하였다. 다음 경추탈골법으로 mouse를 사살후 간을 1.15 % KCl용액에 30분간 세척한후 0.25M sucrose용액으로 균질화시키고 3,500 g에서 10분, 12,000 g에서 40분, 105,000 g에서 60분 간 원심분리하여 microsome (-74°C에서 보관)과 cytosol 분획을 얻었다.

1) Microsome 분획 : 2 % triton X-100 0.15 ml, 0.25M phosphate buffer (PH 6.5) 0.2 ml, 0.05 M glutathione(reduced) 0.1 ml의 혼합용액에 microsome(10mg/ml)을 0.1 ml 씩 첨가하여 가용화MS로 하였다.

2) Cytosol 분획 : 2 % triton X-100 0.15 ml, 0.25 M phosphate buffer (PH 6.5) 0.2 ml, 0.05 M glutathione(reduced) 0.1 ml의 혼합용액에 microsome(10mg/ml)을 0.1 ml 씩 첨가하여 가용화 MS로 하였다. Cytosol분획도 위와 같은 방법으로 만들었다. Glutathione-S-transferase(GSH-T)활성 측정은 Habig등의 방법에 따라 0.25 M phosphate buffer (PH 6.5) 0.4 ml, 증류수 0.45 ml , 가용화 MS를 0.05 ml, 20 m M CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene)용액 0.05 ml씩 넣고 잘 혼합한후 UV 340 nm에서 1분씩 5분간 흡광도 변화를 측정하였다.

#### 마. 초피 과피의 역치가 성분 분석

기존의 천연물 추출방법은 유기용매를 주로 추출용매로 사용하여왔는데 이는 유기용매의 보건환경의 위해성, 용매의 가격, 사용상의 주의 등 여러 가지 제약을 받기 때문에 최근에는 유기용매를 최대한 적게 사용하고 환경친화적인 Supercritical Fluid Extractor(SFE)에 의한 추출방법이 여러 분야에서 다양하게 이용되고 있는 실정이다.

초피에서 역치가성분을 추출하여 최적분석조건을 확립하기위하여 압력 300 kg/cm<sup>2</sup>, modifier는 MeOH 20 %, 온도는 60℃의 SFE 기본 조거에서 초피 신미성분을 추출하여 여러 가지 mobile phase ratio 조건(n-Hexane : isopropanol 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 19:1)하에서 HPLC로 역치가 성분을 분석하였다. Column은 Waters  $\mu$ porasil<sup>TM</sup> 을 사용하고, Detector는 UV 275nm에서, Flow rate는 1ml/min 으로 분석하였다. 역치가 성분의 결정은 식품의 관능검사 실시로 역치가 성분(뽕은 맛)의 추출여부를 확인하였다.

#### 바. SFE에 의한 초피 과피의 역치가 성분의 추출

SFE에서 초피 과피의 역치가 성분의 최적추출조건을 확립하기 위하여 SFE에서 온도별, 압력별, modifier 양별 그리고 추출시간별로 역치가 성분을 추출하여 HPLC 분석조건에서 역치가 성분을 분석조사하였다.

##### 1) SFE 온도별 분석

기본조건인 압력 300kg/cm<sup>2</sup>, 보조용매로 MeOH 20 % , 그리고 추출시간 20분으로 온도를 달리하여 60℃, 50℃, 40℃ 그리고 30℃에서 각기 초피 과피중 역치가 성분을 SFE로 추출하여 HPLC에서 분석하였다.

##### 2) SFE Pressure 별 분석

SFE의 최적 추출압력을 확정하기 위하여 온도, modifier 양, flow rate 그리고 추출시간이 일정한 조건에서 압력을 달리하여 320, 300, 그리고 280 kg/cm<sup>2</sup> 압력조건 하에서 식용부분인 초피 과피중 역치가 성분을 분석조사 하였다.

##### 3) SFE modifier 양별 분석

SFE의 최적 modifier ratio를 확정하기 위하여 온도, 압력 그리고 추출시간이 일정한 조건하에서 CO<sub>2</sub> : MeOH ratio를 90:10, 80:20 그리고 73:30 (V/V %)으로 달리 하여 역치가 성분의 함량을 분석조사하였다.

#### 4) SFE 추출시간에 대한 분석

SFE 최적추출시간을 확정하기 위하여 기본 조건인 압력 320 Kg/cm<sup>2</sup>, 온도 60℃ 그리고 modifier 양(CO<sub>2</sub> : MeOH(V/V %) 80:20으로 한 조건하에서 추출시간을 달리하여 처음 20분, 다음 20분 그리고 나중 40분의 추출분획을 각기 따로 취하여 역치가 성분 함량을 비교 분석하였다.

#### 사. SFE 추출결과와 용매 추출결과의 비교분석

초피 과피에서 역치가 성분을 SFE와 일반 용매추출 두 가지 방법으로 추출하여 역치가성분의 추출효과를 HPLC에서 비교 조사였다. SFE추출조건은 위에서 조사분석한 결과들에서 얻은 조건 즉, 온도 60℃, 압력 300 Kg/cm<sup>2</sup>, modifier 양(CO<sub>2</sub> : MeOH(V/V %) 80:20, 그리고 추출시간은 20분으로 하여 추출하고, 농축한다음 5ml CHCl<sub>3</sub>로 용해하여 GC분석을 행하였으며 용매추출은 같은양(1g)의 시료를 취하여 50 ml MeOH를 가하고 60℃에서 2시간동안 ,Shaking 한다음 여과, 농축하여 같은양의 CHCl<sub>3</sub> 로 용해하여 GC분석을 행하여 역치가 성분의 추출결과를 HPLC Peak area 로 비교 분석하였다.

#### 아. 역치가 성분 제거후 항산화성 검증

초피 과피에서 역치가 성분을 추출, 제거한 후 항산화성을 조사해보기 위하여 초피 과피와 SFE로 역치가 성분을 제거한 잔사를 동일한 양(1.0g)을 취하여 Shake 에서 온도 60℃로 2시간동안 shaking 추출한 다음 여과, 농축하고 일정양의 메탄올로 다시 녹여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용한 항산화활성을 측정하였다. 시료의 전자 공여능력(Electron Donating Ability, EDA)은 두 시료의 흡광도를 측정 한 다음 EDA% 값을 비교분석하였다.

#### 자. 초피 과피의 역치가 성분 규명

SFE를 사용하여 초피 과피에서 역치가 성분을 추출, 제거하여 초피를 이용한 식품조미료 개발에 이용하고자 하였다. 초피의 역치가 성분 즉 신미성분의 연구결과는 초피의 과피에 신미성분의 대부분이 함유되어 있는 것으로 알려졌다. 화학적 구조가 밝혀진 신미성분은  $\alpha$ -Sansol,  $\beta$ -Sansol, hydroxy  $\alpha$ -Sansol, hydroxy  $\beta$ -Sansol,  $\gamma$ -Sansol, 그리고 hydroxy  $\delta$ -Sansol 등 6 가지 성분만 알려졌으며 아직도 그 보다 더 많은 미지의 신미성분이 약 20종 가까이있는 것으로 보고되어있다.

SFE를 사용하여 초피 과피의 신미성분을 추출하여 식품학적 관능 검사에 의해 SFE추출물에 확실히 역치가성분이 있음을 확인하였으며 SFE추출물에서 역치가 성분을 규명하기 위하여 column chromatography 를 사용하여 역치가 성분을 분리하여  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , IR 분석을 실시하였다. 초피 과피중 신미성분을 분리하기 위하여 SFE 추출을 행한 추출물의 비극성 부분(  $\text{CHCl}_3$ 에 녹는 분획 )을 Column chromatography(ID 2.5cm, L 50cm)에 silica gel (70-230 mesh)30g을 n-Hexane : Ethylacetate 14:1로 습식충진하여 10g의 초피 과피의 추출물을 농축하여 column에 loading 하였다. 이동상은 n-Hexane : Ethylacetate 14:1을 사용하여 용출시켜 TLC를 행하였다. 동일한 용매조건하에서 TLC를 행한 물질 분리는 3개 분획으로 압축시켜 그 중 비교적 순수하다고 생각되는 3 번 분획에 대하여  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , FT-IR 분석을 행하였다.  $^1\text{H-NMR}$ 분석 용매는  $\text{CDCl}_3$ 를 사용하였으며  $^{13}\text{C-NMR}$  분석 용매로는  $\text{D}_2\text{O}$ 를 사용하였다, 그리고 FT-IR분석시 Sample을 KBR Windows (25×4, KRS-5)에 도포하여 측정하였다.

### 제3절 결과 및 고찰

#### 1. 초피의 지방산과 정유성분의 함량

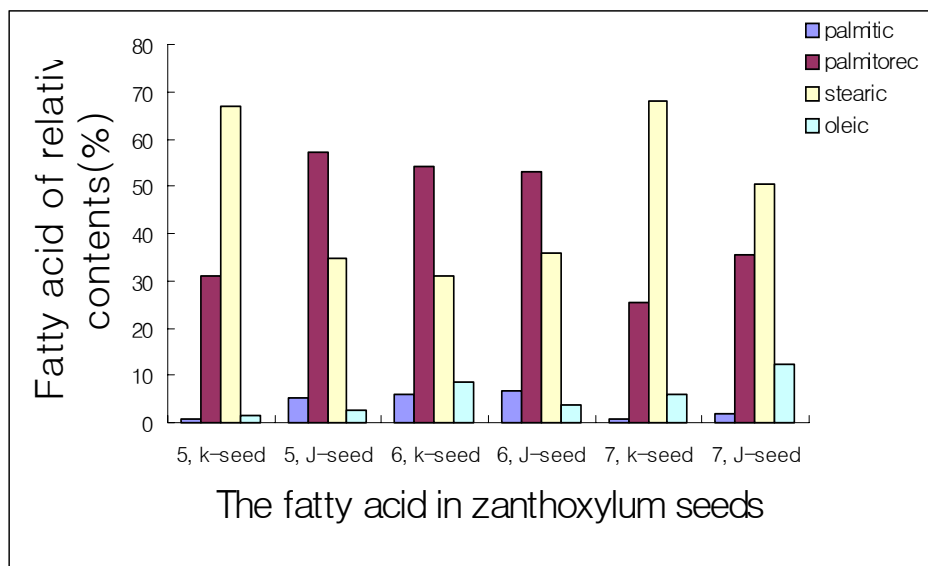
초피 종자를 생장시기별, 부위별, 품종별로 포화지방산인 palmitic, palmitoleic, stearic, behenic, lignoceric acid와 불포화지방산인 oleic, linoleic, linolenic, arachidonic acid의 함량에 대하여 GC에서 Table 1과 같은 조건으로 분석조사한 결

과는 아래의 Table 3, Fig. 1 그리고 Fig. 2와 같다.

**Table 3. Relative contents of fatty acids in *zanthoxylum piperitum* DC**

Time	Fatty acid	Seeds (Korean)		Seeds (Japanese)		Leaves (Korean)		Leaves (Japanese)	
		content (ng)	(%)	content (ng)	(%)	content (ng)	(%)	content (ng)	(%)
May	Palmitic acid	1.18	0.74	3.33	5.37	2.10	4.06	2.59	3.64
	Palmitoreic	49.59	31.15	35.47	57.15	32.13	32.16	35.13	49.45
	Stearic acid	106.36	66.80	21.69	34.95	15.00	29.02	30.91	43.51
	Oleic acid	2.08	1.31	1.57	2.53	2.46	4.76	2.41	3.39
	Total	159.21		62.06		51.69		71.04	
June	Palmitic acid	4.43	6.08	7.11	6.59	1.70	2.43	1.38	1.31
	Palmitoreic	39.56	54.33	57.33	53.11	33.49	47.92	32.06	31.91
	Stearic acid	22.58	31.11	38.72	35.87	32.74	46.85	39.37	39.19
	Oleic acid	6.24	8.51	4.19	3.88	1.96	2.80	27.65	27.52
	Total	72.81		107.95		69.89		100.46	
July	Palmitic acid	8.76	0.79	10.93	1.70	5.48	7.28	1.18	2.13
	Palmitoreic	278.65	25.40	226.84	35.36	32.79	43.58	24.72	44.61
	Stearic acid	745.25	67.93	324.07	50.51	28.78	38.25	27.12	48.94
	Oleic acid	64.35	5.87	79.73	12.43	8.19	10.89	2.39	4.31
	Total	1097.01		641.57		75.24		55.41	





**Fig. 1.** Relative contents of Fatty acid from Zanthoxylum seeds of Korean and Japan in various period

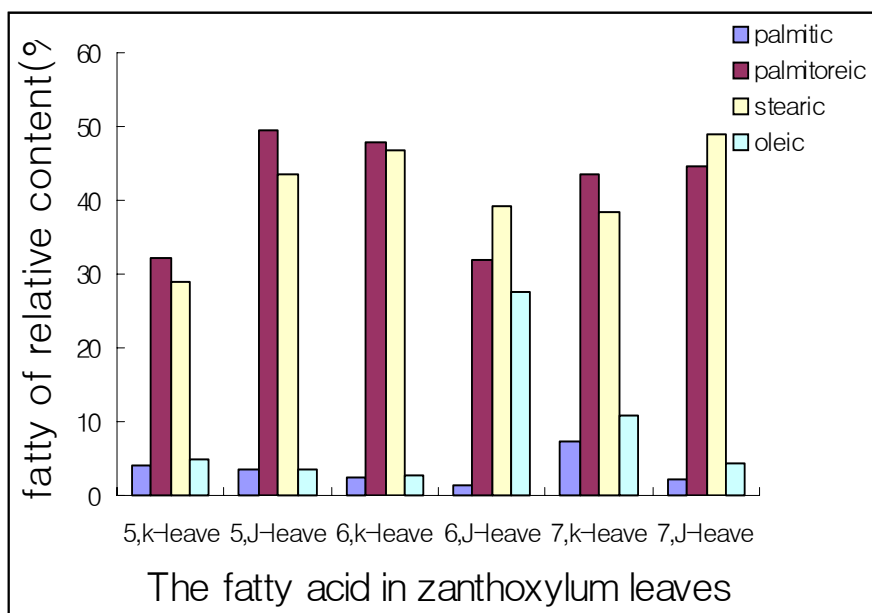


Fig. 2. Relative contents of Fatty acid from Zanthoxylum leaves of Korean and Japan in various period

한국산과 일본산 초피의 종자와 잎의 지방산 함량을 시기별로 조사 분석한 결과 종자에서는 총체적으로 palmitoleic, stearic acid의 함량이 높고 palmitic, oleic acid의 함량이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다. 시기별로는 6월에서 네 가지 지방산 함량이 상대적으로 높으나 5, 7월에는 낮게 나타났다. 품종별로는 한국산 종자의 총 지방산 함량이 일본산에 비해 상대적으로 높게 나타났고 특히는 5월과 7월에 stearic acid가 68.8와 67.9 %로 가장 많았다. 한편 일본산은 6월에 네 가지 지방산 총합량이 한국산 보다 상대적으로 높게 나타났고 5월과 6월에 palmitoleic acid가 57.2와 53.1 %로 가장 많았다. 불포화 지방산의 함량은 일본산이 총 체적으로 한국산 보다 많고 시기별로 보면 한국산은 6월에 8.5 %, 일본산은 7월에 12.4 %로 가장 많았다. 잎에서도 총체적으로 palmitoleic, stearic acid의 함량이 높게 나타나 한국산은 6월에 palmitoleic, stearic acid가 47.9와 46.9 %로 가장 많았고 일본산은 5월과 7월에 각기 49.5, 43.5 %와 44.6, 48.9 %로 가장 많았다. 시기별 총 지방산 함량은 한국산은 6월과 7월에 많았고 일본산은 6월에 가장 많았다.

**Table 4. Relative contents of essential oil in *Zanthoxylum* seeds of korean from May and July**

Oils	May seeds(%)	July seeds (%)
$\alpha$ -Pinene	14.04	4.43
Myrcene	2.43	1.78
Limonene	0.75	27.74
Linalool	12.93	10.75
Terpineol	21.48	24.18
$\alpha$ -Terpineol	48.37	31.12

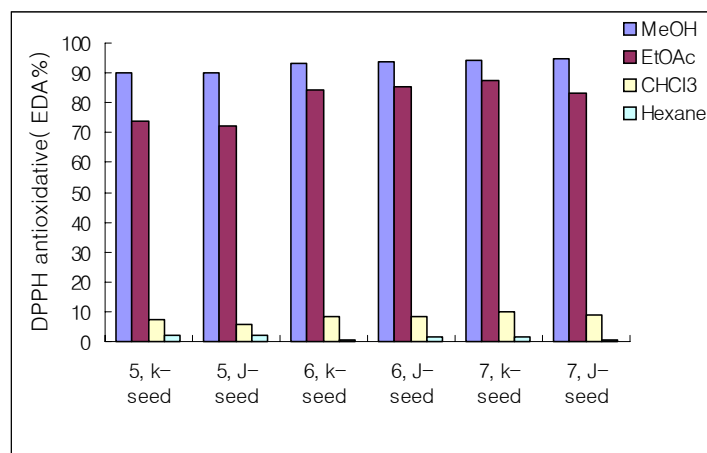
Table 4에 서술한 6가지 정유성분을 목적으로 상대 함량을 조사해본 결과 5월과 7월의 종자에서 Ethyl Ether분획에 상대적으로 많은 정유성분을 갖고 있음을 나타냈는데 그 중에서도  $\alpha$ -Terpinen, Terpinen,  $\alpha$ -Pinene, Limolool 이 5월 종자에서 48.4, 21.5, 14.0, 12.9%로 함량이 상대적으로 많았고 반면에 7월에는  $\alpha$ -Terpineol, Linalool,  $\alpha$ -Pinene 의 함량이 각기 31.12, 10.75, 4.43%로 낮아졌으나 Terpineol과 Limonene 은 오히려 24.2 %, 27.7 %로 함량이 높아졌다.

2. 초피의 항산화능

초피 종자에서 시기별, 부위별, 품종별로 여러 가지 용매(MeOH, EtOAc, CHCl<sub>3</sub>, Hexane)로 추출하여 DPPH에 의한 전자공여능과 합성 항산화제인 BHT에 의한 항산화능을 측정하여 Table 5와 같은 결과를 얻었다.

**Table 5. DPPH antioxidative (EDA%) of Extract from Zanthoxylum in various solvents**

Collecting Time	Sample		DPPH antioxidative activity ( EDA% )			
			MeOH	EtOAc	CHCl <sub>3</sub>	Hexane
May.25th	Seeds	k	90.2	73.7	7.5	2.3
		J	85.9	72.2	5.7	1.8
	Leaves	k	91.9	86.0	5.8	2.5
		J	84.9	89.8	6.0	2.6
June.25th	Seeds	k	93.4	84.5	8.6	0.4
		J	93.9	85.4	8.1	1.4
	Leaves	k	87.9	86.6	4.9	1.3
		J	85.5	91.9	7.2	2.0
July. 25th	Seeds	k	94.3	87.5	10.0	1.4
		J	94.9	83.9	9.1	0.6
	Leaves	k	90.6	88.7	6.3	1.1
		J	90.2	89.2	10.3	2.1



**Fig. 3.** DPPH antioxidative activity (EDA%) of Extract from *Zanthoxylum* seeds in Korea and Japan by various time.

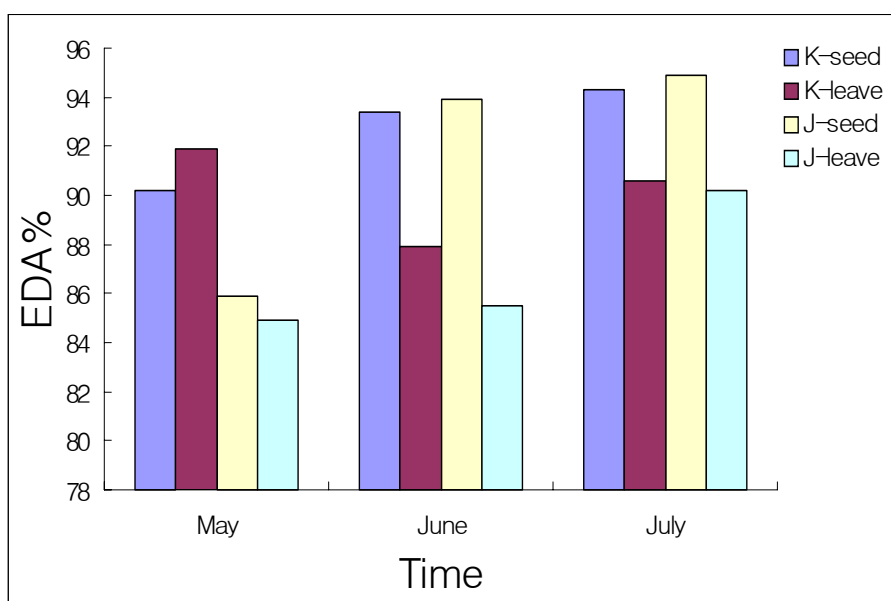


Fig. 4. DPPH antioxidative activity (EDA%) of MeOH Extract from *Zanthoxylum* seeds and leaves in Korean and Japan by various time.

Table 5, Fig. 3과 4의 결과로부터 초피종자의 DPPH소거활성은 MeOH추출물에서 제일 높은 활성(약 95 %EDA값)을 나타내고 다음으로 EtOAc, CHCl<sub>3</sub>, Hexane 순위로 각기 약 90 %, 10 %, 2 %로 낮아지는 것으로 나타났으며 시기별로 볼 때 총체적으로는 성숙기에 가까울수록 활성이 점차 높아지는 추세를 보여주었으나 6월과 7월 사이는 거의 차이가 없었다. 활성이 가장 높은 MeOH추출물에서 보면 5월에는 한국산이나 일본산이나 모두 6월과 7월에 비해 활성이 약간 낮으며 역시 성숙기에 가까워지면서 활성이 높아지는 추세를 보였으며 종자에서 앞에서 보다 한국산은 6월에 5.5 %, 7월에 3.7 % 높고, 일본산은 6월에 8.4 %, 7월에 4.7 % 높게 나타났으며 또한 한국산보다 좀더 높은 활성을 보여주었다.

Thiocynate 방법으로 합성 항산화제인 BHT와의 항산화력 비교실험으로 측정된 결과 역시 DPPH에 의한 측정결과와 같이 MeOH추출물에서 OD값이 2.4의 가장 높은 활성을 나타내었다.

### 3. Mouse에 대한 독성

초피 과피의 mouse에 대한 독성을 검토하기 위하여 실험군과 대조군 mouse 간에 분리한 microsome과 cytosol에서 Glutathione-S-transferase(GSH-T)활성 측정을 Habig등의 방법에 따라 UV 340 nm에서 측정된 결과 SFE추출물, SFE 잔사 추출물, 용매추출물, 옥수수 oil ,그리고 사료를 먹인 5개 실험군 mouse 간의 microsom 분획에서는 GSH-T 활성( $\Delta A/min$ )이 각기 0.040, 0.034, 0.035, 0.045, 그리고 0.036으로 나타났고 cytosol 분획에서는 각시 0.10, 0.11, 0.11, 0.12, 그리고 0.11로 나타나 초피 과피의 추출물을 먹인 실험군과 대조군 mouse 간의 GSH-T 활성은 거의 차이가 없으며 결국 초피 과피의 추출물은 mouse 간의 해독작용에 관여하는 GSH-T 효소 활성에 아무런 영향을 미치지 않았음을 알수있다. 만약 초피 과피의 추출물에 독성성분을 함유하여 실험 mouse 간에 작용을 하였다면 mouse 간의 정상 해독시스템의 작용으로 초피 과피 추출물을 먹인 실험군 mouse에서 GSH-T 활성이 대조군에 비해 어느 수준 높아질 것이다.

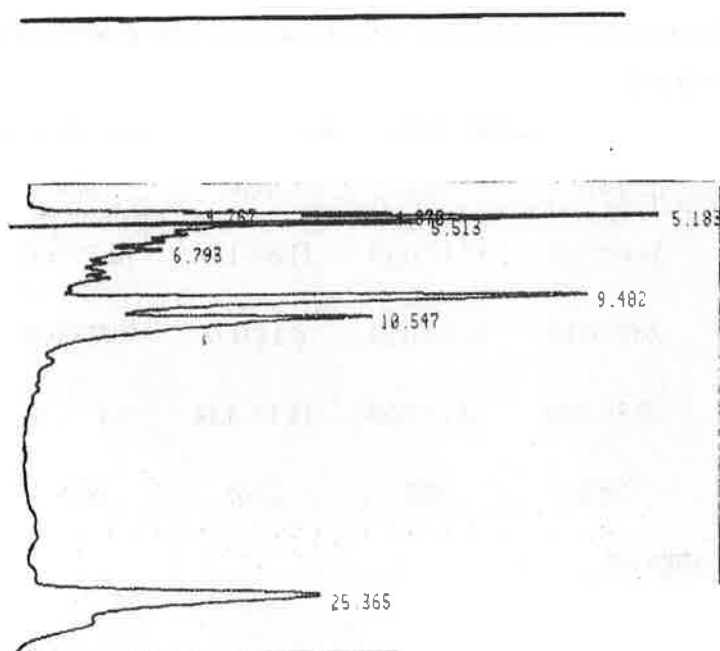
### 4. 초피 과피의 역치가 성분의 최적분석 조건

초피에서 역치가성분을 추출하여 최적분석조건을 확립하기 위하여 압력 300 kg/cm<sup>2</sup>, modifier는 MeOH 20 %,온도는 60°C의 SFE 기본 조건에서 초피 신미성분을

추출하여 여러 가지 mobile phase 조건하( n-Hexane ; isopropanole ratio, 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 그리고19:1)에서 HPLC로 역치가 성분을 분석하여 Fig. 5에서 보여준 바와 같은 역치가 성분으로 추정이 되는 세개의 성분 peak를 얻었다.

HPLC chromatogram에서 보여주다 싶이 UV 275 nm에서 Rt 9.48, 10.55 그리고 25.36분에서 각기 세 개의 초피 과피의 역치가 성분으로 추정되는 선명한 peak가 나타났으며 이들의 면적별 분포는 peak 별로 각기 38%, 32% 그리고 30% 였다.





**Fig. 5 Chromatogram of HPLC analysis of SFE extract from *Zanthoxylum pericarps***

**Table 6. Result of HPLC analysis by various mobile phase(n-Hexane ; Isopropanol) from pericaps of Zathoxylum piperitum in SFE extract**

peak NO	mobile plhase ratio			peak area* x10 <sup>5</sup>	
	14:1	15:1	16:1	17:1	19:1
1	11.6±1.13	15.4±0.10	11.8±1.64	10.7±0.33	10.4±0.79
2	8.6±0.18	13.5±0.10	8.3±0.73	7.97±0.38	7.5±0.65
3	12.8±2.69	12.1±0.39	11.1±3.14	6.1±1.46	6.6±0.91
Σ	24.4	41.0	31.2	24.8	24.5

\* means of triplicate

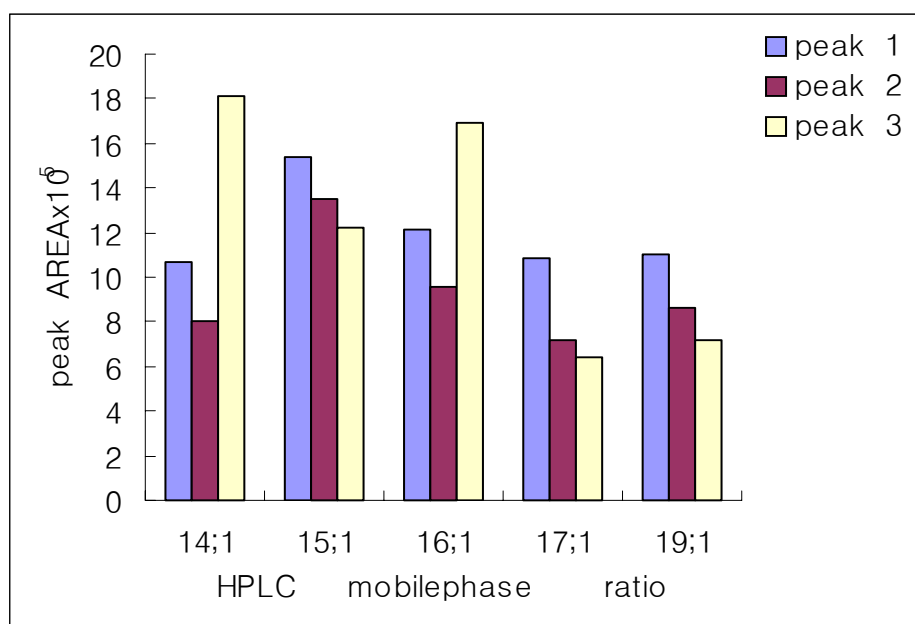


Fig. 6 Result of HPLC analysis by various mobile phase from pungent compound of *Zanthoxylum piperitum*

위의 결과(Table 6)에서 보여주다 싶이 n-Hexane-Isopropanol 의 mobile phase 의 여러 가지 ratio에서 HPLC로 세 가지 성분의 peak area를 분석 비교한 결과 peak 1, 2 및 3의 area 는 각기 mobile phase ratio 14:1에서는 11.6±1.13, 8.6±0.18 그리고 12.8±2.69이고, 15:1에서는 15.4±0.10, 13.5±0.10 그리고 12.1±0.39, 16:1에서는 11.8±1.64, 8.3±0.73, 11.1±3.14, 17:1에서는 10.7±0.33, 7.97±0.38, 6.1±1.46, 19:1에서는 10.4±0.79, 7.5±0.65 그리고 6.6±0.91로 나타났다. 그 중에서도 mobile phase ratio 15:1에서 세 가지 성분의 함량이 상대적으로 제일 높아 이 mobile phase ratio가 가장 낮은 19:1의 24.4 보다 약 40 %정도 높은 것으로 나타나 15:1의 비율이 가장 적합한 것으로 결정하였다.

#### 5. SFE를 이용한 초피 과피의 역치가 성분의 최적추출 조건

SFE에서 초피 과피의 역치가 성분의 최적추출조건을 확립하기 위하여 초피 SFE추출을 하는데 있어서 온도별, 압력별, modifier 양별 그리고 추출시간별로 역치가 성분을 추출하여 HPLC 최적분석조건에서 역치가 성분으로 추정되는 세 가지 성분을 분석조사하였다.

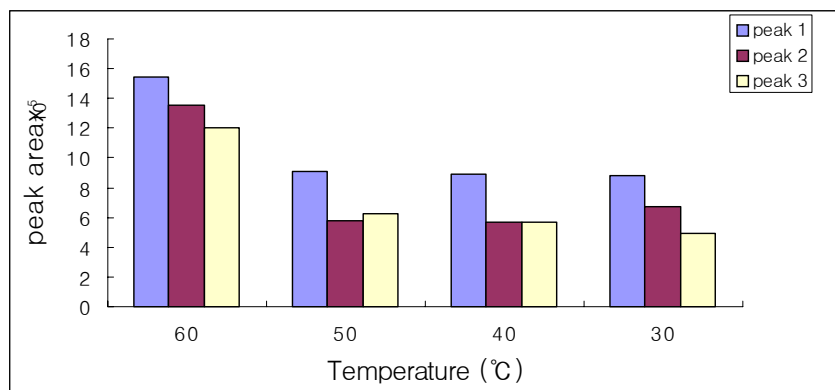
##### 가. SFE 온도별 분석

기본조건인 압력 300 kg/cm<sup>2</sup>, 보조용매로 MeOH 20%, 그리고 추출시간 20분으로 온도를 달리하여 60℃, 50℃, 40℃ 그리고 30℃에서 각기 초피 과피중 역치가 성분을 SFE로 추출하여 HPLC에서 세 가지 성분을 분석하였다

**Table 7 . Result of HPLC analysis from SFE extract by various temperature**

Peak No.	SFE Temp			
	60℃	50℃	40℃	30℃
1	15.4±0.10	9.1±0.49	8.9±0.06	8.8±0.21
2	13.5±0.10	5.7±0.30	5.7±1.39	6.7±1.56
3	12.1±0.39	6.3±0.92	5.7±0.27	5.0±1.56
Σ	41.0	21.1	20.3	20.5

\* means of triplicate



**Fig. 7. Result of HPLC analysis from SFE extract by various temperature**

나. SFE Pressure별 분석

SFE의 최적 추출압력을 확정하기 위하여 온도, modifier 양, flow rate 그리고 추출시간이 일정한 조건에서 압력을 달리하여 320, 300, 그리고 280 kg/cm<sup>2</sup> 압력조건하에서 식용부분인 초피 과피중 역치가 성분을 분석조사 하였다.

**Table 8. Result of HPLC analysis from SFE extract by various pressure**

Peak NO	SFE Pressure			peak area* x 10 <sup>5</sup>
	320 kg/cm <sup>2</sup>	300 kg/cm <sup>2</sup>	280 kg/cm <sup>2</sup>	
1	10.5±0.12	15.4±0.10	10.0±0.55	
2	9.8±0.31	13.5±0.10	4.4±0.73	
3	9.7±0.49	12.1±0.39	7.1±1.05	
Σ	30.0	41.0	21.5	

\* means of triplicate

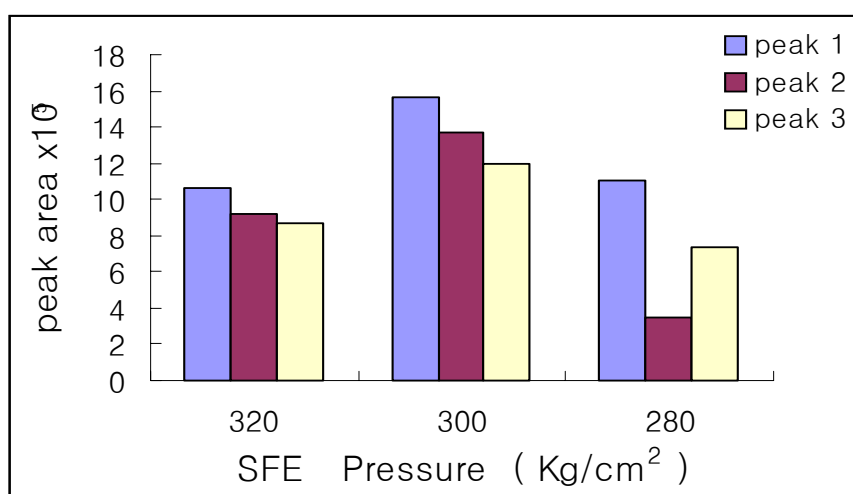


Fig. 8. Result of HPLC analysis from SFE extract by various pressure

다. SFE modifier 양별 분석

SFE의 최적 modifier ratio를 확정하기 위하여 온도, 압력 그리고 추출시간이 일정한 조건하에서 CO<sub>2</sub> : MeOH ratio를 90:10, 80:20 그리고 73:30 (V/V %)으로 달리 하여 역치가 성분의 함량을 분석조사한 결과는 Table 9와 Fig 9 와 같다.

**Table 9. Result of HPLC analysis from SFE extract by modifier ratio**

Peak No.	CO <sub>2</sub> : MeOH(V/V %)			peak area* x10 <sup>5</sup>
	90:10	80:20	70:30	
1	13.5±0.79	15.4±0.10	10.5±1.68	
2	10.4±1.85	13.5±0.10	9.5±2.29	
3	15.8±2.08	12.1±0.39	12.5±2.08	
Σ	39.7	41.0	32.5	

\* means of triplicate



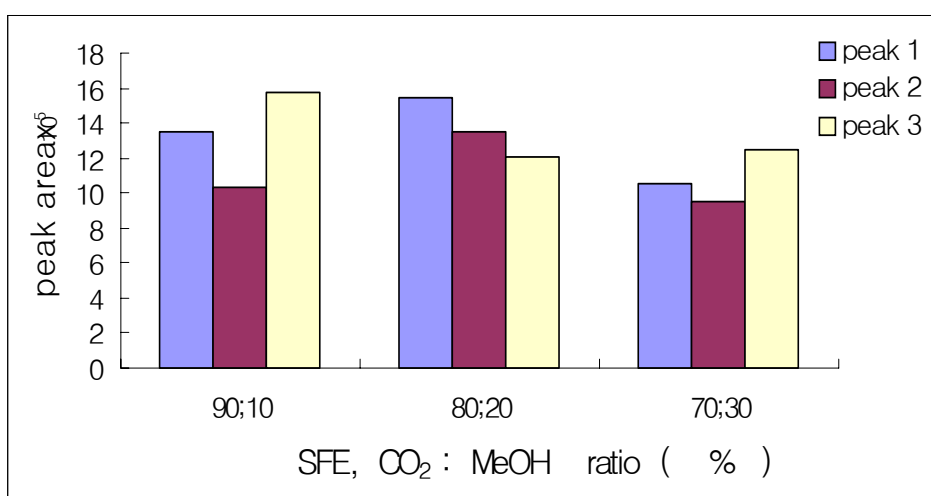


Fig. 9. Result of HPLC analysis from SFE extract by modifier ratio.

라. SFE 추출시간에 대한 분석

SFE 최적추출시간을 확정하기 위하여 기본 조건인 압력 300 Kg/cm<sup>2</sup>, 온도 60℃ 그리고 modifier 양(CO<sub>2</sub> : MeOH(V/V %) 80:20으로 한 조건하에서 추출시간을 달리 하여 처음 20분, 다음 20분 그리고 나중 40분의 추출분획을 각기 따로 취하여 역치가 성분 함량을 비교 분석하여 그 결과를 Table 10과 Fig. 10에서 보여주었다.

**Table 10. Result of HPLC analysis from SFE extraction in various time**

Peak No.	SFE extraction time			peak area* x10 <sup>5</sup>
	first 20min	second 20min	final 40min	
1	15.4±0.01	1.4±0.56	0.4±0.10	
2	13.5±0.01	0.5±0.12	0.2±0.07	
3	12.1±0.39	0.1±0.09	0.1±0.06	
Σ	41.0	2.0	0.7	

\* means of triplicate

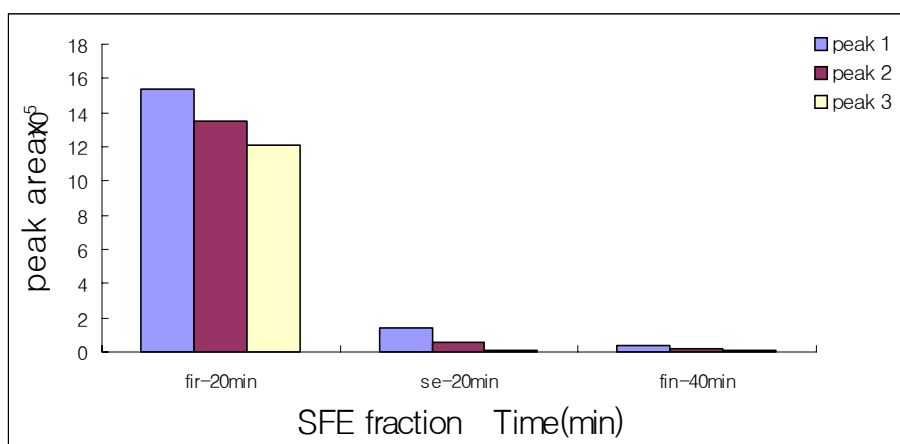


Fig. 10 Result of HPLC analysis from SFE extract in various time

이상의 분석결과에서 보여준바와 같이 SFE의 온도별 분석결과에는 60℃ 추출물에서  $\times 10^5$  을 기준으로 세 가지 성분의 peak area 합이 41.0, 50℃에서는 21.1, 40℃에서는 20.3 그리고 30℃에서는 20.5를 나타내어 60℃에서 50℃에서의 peak 보다 48.5%, 40℃에서의 50.5%, 그리고 30℃에서의 50%나 높아 60℃온도 조건이 가장 적합한 것으로 나타났고, SFE의 압력별 분석결과에서는 300 Kg/cm<sup>2</sup> 압력조건에서는 세가지성분의 peak area가 41.0으로서 320 Kg/cm<sup>2</sup> 에서의 30.0보다 27 %높고 280 Kg/cm<sup>2</sup>에서의 21.5 보다 48% 높은 것으로 나타나 300 Kg/cm<sup>2</sup> 압력조건에서 세 가지 성분의 추출효과가 상대적으로 가장 적합한 것으로 보여주었으며 SFE에서 modifier 양 (CO<sub>2</sub> : MeOH(V/V %))을 달리하여 90:10, 80:20 그리고 70:30으로 하여 분석한 결과에서는 modifier ratio 80:20에서 peak area 41.0으로 가장 높이 나타나 91:10에서의 39.7보다 3.2%, 70:30에서의 20.7% 높게 나타난 것으로 보아 modifier ratio 가 80:20이 가장 적합한 조건으로 생각된다.

그리고 SFE extraction time별 분석결과에서는 SFE 추출 조건하에서 처음 20분에 추출가능한 세가지 성분의 peak area는 각기 전체의 89.5, 95.1 그리고 98.2%를 차지하고 다음 20분에 추출가능한 세 가지 성분 peak area는 각기 총 추출된 성분의 8.1, 3.8 그리고 1.1 %이며 나중 40분에 추출가능한 세 가지 성분 peak area는 각기 총 추출된 성분의 2.4, 1.1 그리고 0.7 %밖에 되지 않은 것으로 나타나 처음 20분에 거의 대부분의 성분이 충분히 추출가능하며 그 이상의 오랜 추출시간과 추출용매 등을 소모하면서 진행할 필요는 없는 것으로 생각되어 추출 시간을 20분 행하는 것이 가장 적합하다고 사료되었다.

이상의 결과를 종합하여 초과 과피중 신미성분의 추출에 사용되는 SFE 최적조건은 Table 11과 같이 최종적으로 온도 60℃, 압력 300kg/cm<sup>2</sup>, modifier의 종류는 MeOH 로 하였고 이때 modifier 양은 80:20%(V/V)으로 하고 back pressure regulator의 조절에 의해 추출시간을 20분으로 하는 것이 가장 적합한 것으로 판단이 되고, 역치가성분의 HPLC 분석조건은 mobile phase는 Hexane-Isopropanol 15:1에서 최상의 분석결과를 나타낸 것으로 판단된다. 사용한 SFE 는 Jasco 제품으로 이 모델을 Fig. 11에 나타냈고 사용한 sampl cell 역시 Jasco (V. 10 ml)제품이었다.

**Table 11. Optimal conditions of SFE extraction**

---

---

Temperature	60 °C
pressure	300kg/cm <sup>2</sup>
Modifier ratio CO <sub>2</sub>	MeOH: 80:20 % (V/V)
Extraction Time	20 min
Flow rate	3 ml/min

---

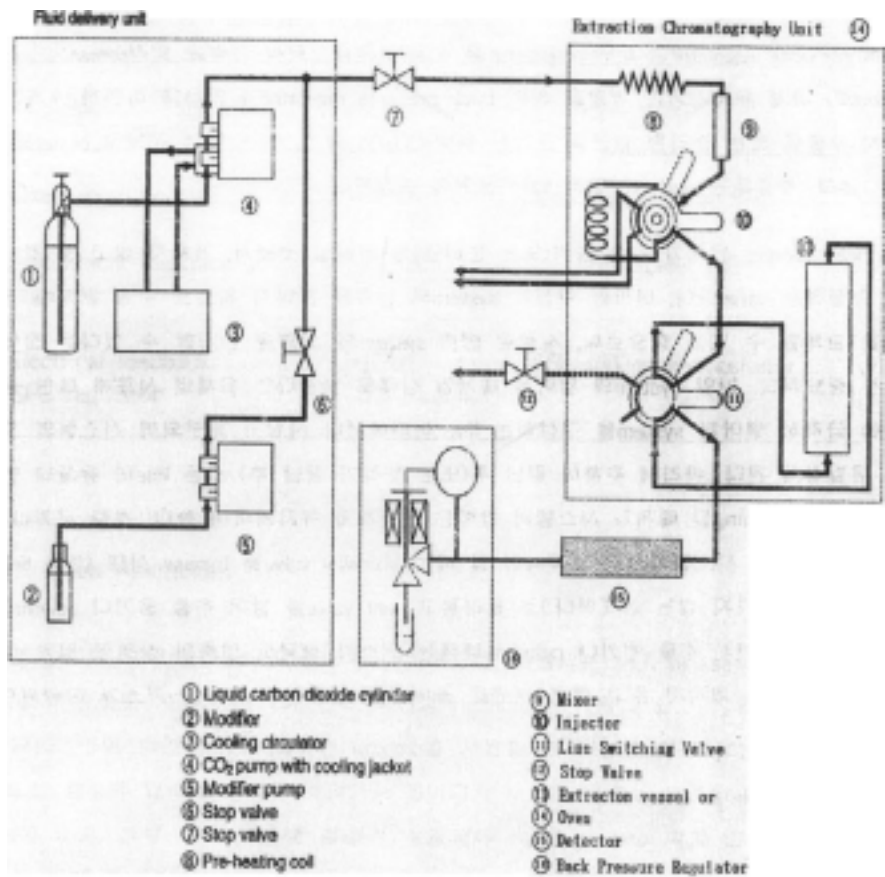


Fig. 11 Schematic flow diagram of SFE/SFC modular system.

## 6. SFE 추출결과와 용매추출결과의 비교결과

초피 과피에서 역치가 성분을 SFE와 일반 용매추출 두 가지 방법으로 추출하여 역치가성분의 추출효과를 HPLC에서 비교 조사한 결과를 Table 12와 Fig. 12에서 보여주었다. SFE추출조건은 위에서 조사분석한 결과들에서 얻은 최적추출조건에서 실행하였다.

**Table 12. Result of HPLC analysis comparison from two methods that SFE and Solvent extract**

Peak No.	SFE extract peak area* x 10 <sup>5</sup>	Solvent extract area* x10 <sup>5</sup>	peak
1	15.41±0.10	10.2±0.92	
2	13.52±0.10	7.9±0.52	
3	12.1±0.39	11.2±1.95	
Σ	41.0	29.3	

\* means of triplicate



Fig. 12. Result of HPLC analysis comparison from two methods that SFE and Solvent extract



SFE 추출과 Solvent 추출 두 가지 방법으로 초피 과피에서 역치가성분을 추출하여 세가지 성분의 함량을 비교분석한 결과 SFE를 이용한 추출물의 세 가지 성분의 peak area는 41.0으로 solvent 추출물의 peak area 29.3에 비하여 약 29 % 정도 높게 나타났다. 또한 SFE추출은 조작 시간이 20분밖에 소요되지 않고 용매도 MeOH로 10 ml(1g sample) 정도가 사용되는 반면 Solvent 추출은 적어도 2시간 이상 혹은 십여 시간 이상이 소요고 용매도 50 ml-100 ml의 MeOH이 수요되는 것으로 보아 SFE 추출은 이에 비해 환경친화적이고 시간과 유기용매를 최소한 사용하는 등 여러 가지 면에서 상당히 우월함을 나타냈다.

#### 7. 역치가 성분 제거후 항산화활성

초피 과피에서 역치가 성분을 추출, 제거한후 시료와 SFE 미추출 시료의 항산화성을 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용하여 측정하고 시료의 전자 공여 능력(Electron Donating Ability, EDA)은 두 시료의 흡광도를 측정한 다음 EDA% 값을 구하여 표시하였다. 조사결과 초피 과피의 항산화활성은 SFE 추출전에는 75.3 %의 EDA%값을 나타내었는데 SFE 추출후 잔사에서는 항산화력이 79.3%의 EDA%값으로 약간 높게 나타났다. 1년차 연구중 초피 종자의 메탄올 추출물에서 항산화력이 94.9%의 EDA%값에 이르는 DPPH 소거활성을 보여준데 비해서는 많은 활성이 저하되는 것을 관찰할 수 있었지만 SFE 추출을 행하여 신미성분이라고 추정되는 물질이 제거된후의 초피 과피에서도 여전히 항산화활성에 있어서는 높은 것을 간접적으로나마 입증할수 있었다. 항산화성에 관한 연구는 가능한 세포활성이나 또 다른 생화학적 인 방법을 통하여 심도 있게 검토해볼 필요가 있을 것으로 사료된다.

#### 8. 역치가 성분의 구조

SFE추출물에서 역치가 성분을 규명하기 위하여 column chromatography 와 TLC 를 사용하여 3개 분획으로 압축시켜 그 중 비교적 순수하다고 생각되는 3번 분획을  $^1\text{H}$  - NMR,  $^{13}\text{C}$  -NMR, FT-IR 분석을 실시하여 그 결과를 Fig. 13, 14, 그리고 15, 에 보여주었다.

SP6 → silica column → fraction 7-15 HPLC 4/09

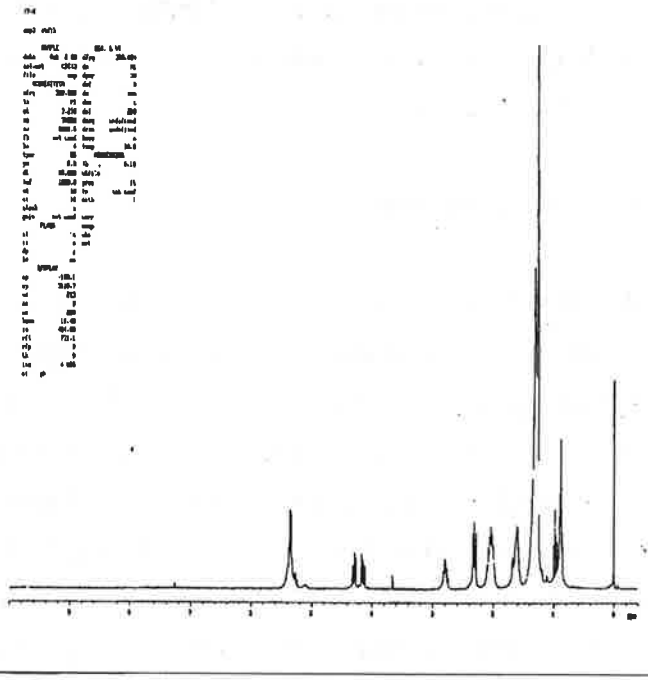
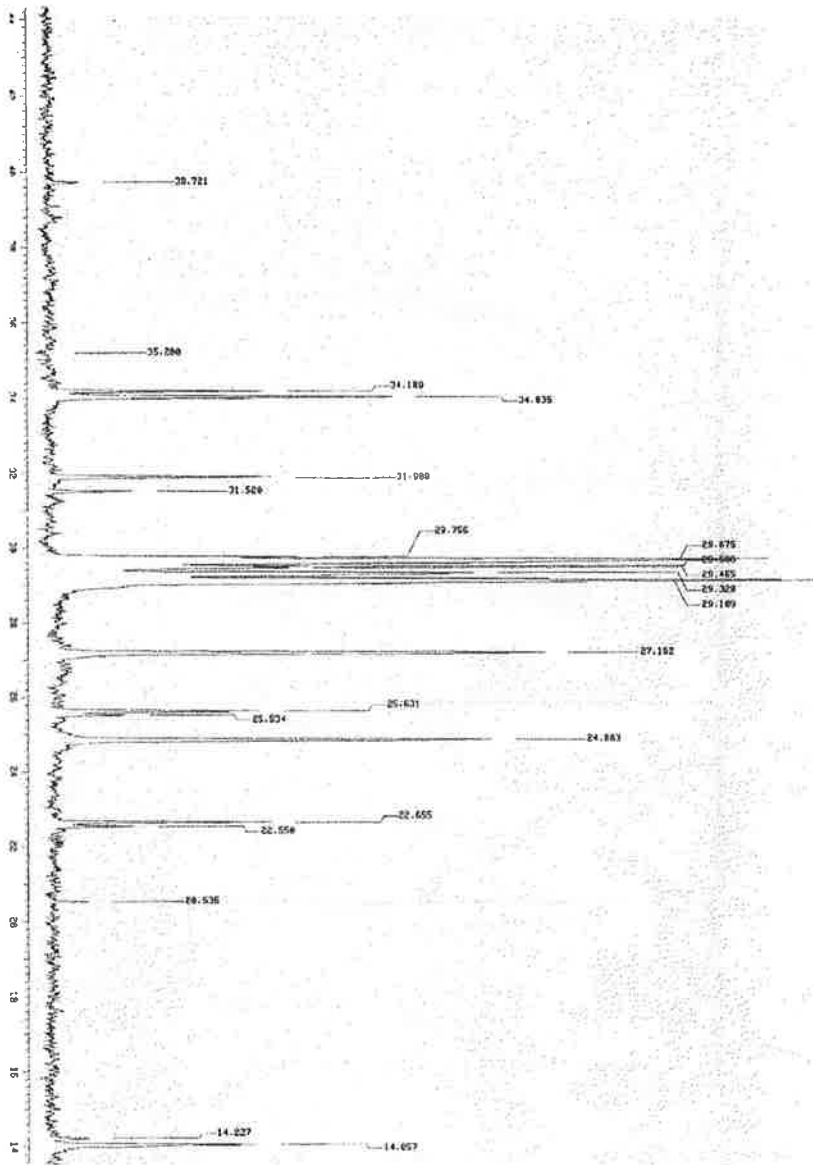
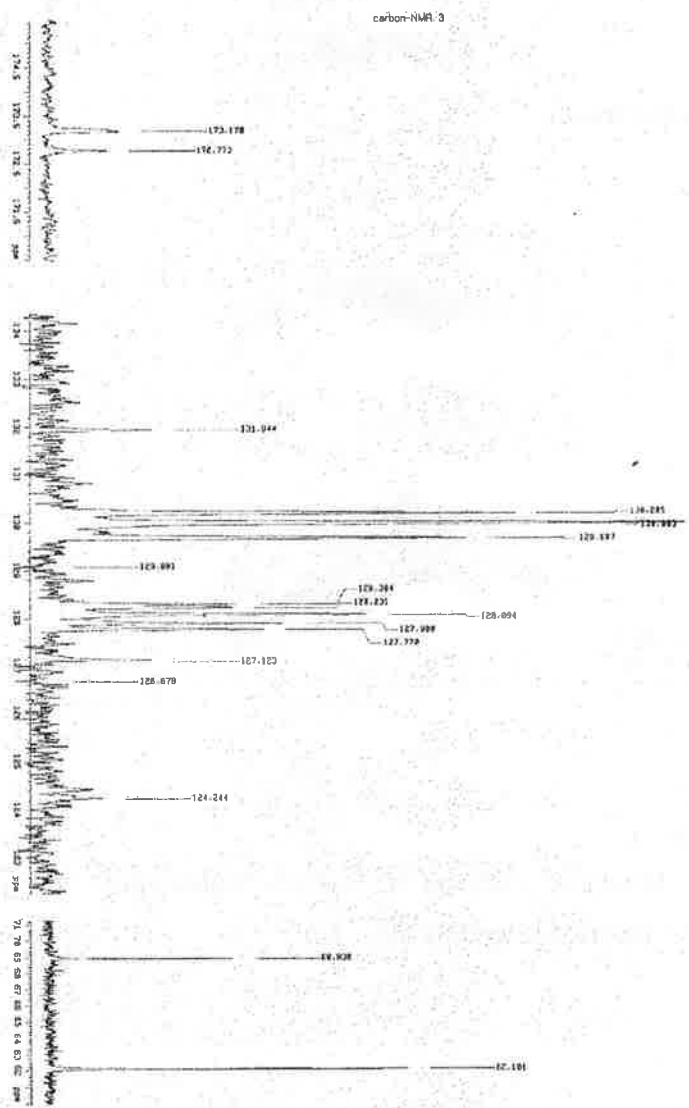


Fig. 13. Result of analysis of pungent compounds from *Zanthoxylum piperitum* by  $^1\text{H}$  - NMR



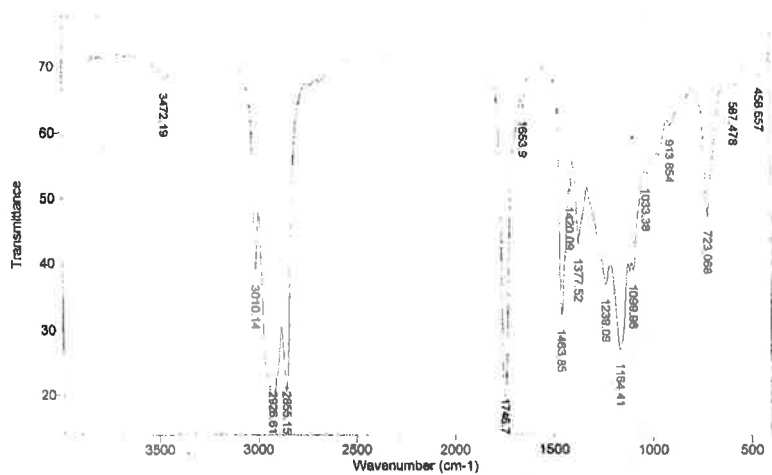


To be continued



To be continued

Bio-Rad Win-IR



File # 1 = SIM00102  
Number of Scans: 32  
Comment: Bjo-Rad FTS

View Mode: Peaks  
9/27/00 9:21 PM Res=8cm-1

Fig. 15. Result of analysis of pungent compounds from *Zanthoxylum piperitum* by FT-IR

초피 과피의 역치가 성분의 구조 동정을 위한 기기분석을 행한 결과  $^1\text{H}$  - NMR 분석 결과에서는 5.0-5.5 ppm에서 2중결합수소가 8개 있음을 밝혔고  $^{13}\text{C}$ - NMR분석 결과에서는 172.77 ppm과 173.18 ppm에서 두 개의  $[\text{C}=\text{O}]$ group이 확인되었다. FT-IR 분석으로 현재  $3010,14\text{ cm}^{-1}$  에서  $[\text{=CH}]$  group,  $1746,7\text{ cm}^{-1}$  에서 $[\text{=CO}]$  group을 갖고 있는 화합물로 추정이 되었고 그외 127 ppm에서 132 ppm 사이에 8개의 methyl, methylene 탄소가 14개 있는 것으로 추정된다. 기존의 역치가 성분이 한 개의  $[\text{C}=\text{O}]$ group을 갖고있는 것으로 보고되었으므로 Fraction 3 물질은 두 가지 성분이 혼합되어 있는 것으로 사료된다.

이 물질은 기존 역치가 성분과는 다른 chemical shift 값을 보이므로 같은 물질은 아니고 형태는 유사한 것으로 생각되어 분리과정을 거친후 2D-NMR, Mass spec으로 화학구조를 밝혀려 한다.

#### 제4절 참고문헌

1. Evaluation of Chinese Zanthoxyli Fructus Commercial Available in Japan by Pungent Principles and Essential Oil Constituents. I. Yasuda, K. Takeya and H. Itokawa, 生藥學雜誌 36(4).301~306 (1982)
2. Amides from Huajio, Pericarps of Zanthoxylum bungeanum MAXIM. K. Mizutani, Y. Fukunaga, O. Tanaka, N. Takasugi, Y. Ichirou, T. Fuwa, T. Yamauchi, J. Wang, Ming-Ru Jia, F. Yaoli and Yi-Kui Ling Chem. Pharm. Bull. 36(7) 2362~2365 (1988)
3. Two New Pungent Principles isolated from the Pericarps of Zanthoxylum dilanthoides, I. Yasuda, K. Takeya, H. Itokawa, Chem. Pharm. Bull. 29(6) 1791~1793 (1981)
4. Studies on Xanthoxylum spp. II. Constituents of the Bark of Xanthoxylum piperitum DC. F. Abe. S. Yahara, K. Kubo, G. Nonaka, H. Okabe, and I. Nishioka. Chem. Pharm. Bull. 22(11)2650~2655 (1974)
5. Constituents of the Essential Oil of the Fruits of Zanthoxylum bungeanum, B. Tirillini, A. Manunta, and A. M. Stoppini. Planta Med. 57, 90~91 (1991)
6. Chemical Constituents of Zanthoxyli Fructus, 安田一浪. 現大東洋醫學, 生藥特集

(山椒), 76~84 (1995-7)

7. Tutou aihara: On the Principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. II. The Isolation of Sanshools and the Structure of Sanshool- I. 藥誌 第 70 編, 405 ~ 411 (1950)
8. Amides of Vegetable Origin. Part VIII. The Constitution and Configuration of the Sanshools. By L. Crombie and J. L. Tayler. Department of Chemistry, Imperial College of Science and Technology, 2760~2766 (1956)
9. 中藥大辭典(上冊), 1061, 1057~1058
10. Studies on the Evaluation of Crude Drugs (VI) Quality of *Zanthoxyli Fructus* on the Market. I. Yasuda, T. Seto, A. Shimohira and E. Takubo. 東京衛年報, Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P. H. 31-1. 82-85 (1980)
11. 한국산 초피의 어독성분에 관한 연구, 김용두. 강성구. 오명록. 한국영양식량학회지. 제22권 제5호 (1993)
12. 한국산 초피(*Zanthoxylum PiPeritum* D.C.) 및 민초피 (*Zanthoxylum PiPeritum* D.C.Var. *inerme*)의果皮와 잎의 成分에 관한 研究, 전남대학교 대학원 가정학과 鄭賢淑 박사학위 논문 (1998)
13. 한국산 초피(*Zanthoxylum PiPeritum* D.C.)의 휘발성 향기성분 분석에 관한 연구. 연세대학교 대학원 식품공학과 이 경석 석사학위 논문 (1989)
14. 소 쓸개즙 에탄올 抽出物의 天然 抗酸化成分, 전남대학교 대학원 석사학위 논문, 朴明宇 (1999)



[별지 제9호 서식]

### 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 초피를 이용한 향신료 개발				
	(영문) Development of Spices from Chopi				
주관연구기관	순천대학교		총 관 연 구 책 임 자	(소속) 식품과학부	
참 여 기 업	한솔영농조합			(성명) 김 용 두	
총연구개발비  (125,000천원)	계	125,000	총 연 구 기 간	98.10.~2000.10.(2년0월)	
	정부출연금	100,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	15
	기업부담금	25,000		내부인원	9
	기 타	0		외부인원	6
<p>▣ 연구개발 목표 및 내용</p>  <p>▣ 연구결과</p>  <p>▣ 연구성과 활용실적 및 계획</p>					

## ○ 연구개발의 목표 및 내용

### 1. 연구개발의 목적

식물체는 예로부터 식품으로서 뿐만 아니라 의약품, 풍미료, 농약, 색소, 향료 등 여러 가지 유용물질의 원료로 사용되어 왔다. UR협상과 선진국들의 물질특허 강화, 환경과파에 따른 식품자원의 감소 등으로 식물자원의 확보가 큰 과제로 부상되었다. 특히 IMF 체제 하에서 우리나라가 나아가야 할 방향은 우리가 사용하는 여러 가지 농업자재 및 식품자재원료물질들에서 외화의 유출을 막고, 점진적으로 생각하여 외화를 벌어들일 수 있는 수단과 방법을 찾아보는 것이 필요할 것이다. 그러나 지금까지 국내의 자원식물이나 전통식품으로 쓰일 수 있는 식품으로부터 기능성의 탐색과 이의 이용개발에 관한 연구는 미진한 형편으로 이에 대한 연구가 시급히 요구되고 있다.

농수산물 수입개방화 이후 농산촌 인구의 감소 및 농업 채산성의 약화로 농한지, 유휴지의 면적이 늘어남에 따라 농가에서는 다양한 대체작목을 찾아 재배하는 등 자구의 노력을 시도하고 있고, 중앙정부 및 지방자치기관 모두, 농산촌 경제활성화 방안을 모색하고자 노력 중이며, 유관 정부기관 및 연구기관에서 이를 제시하는 방안을 입안하고 효율적인 시행을 위해 노력하고 있다. 이러한 목적을 위한 방법 중, 가장 중요한 분야의 하나는 자생하고 있는 우리 고유의 특산작물을 활용하는 것이라고 할 수 있을 것이다. 특히, 우리 자생수종 중에는 식품으로써 품질의 우수성이 뛰어난 것은 물론, 세계적인 희귀성과 함께 개발 가능성이 높은 식물들이 많다. 따라서 이용 가능한 유용식물자원을 검색하고 그 용도개발을 위하여 그 식물이 갖는 다양한 가치, 식용, 약용, 공업, 각종 기호식품으로서의 가치를 구명하고 개발하는 것은 자원의 합리적인 관리 및 이용이라는 측면에서 매우 중요한 일이라고 할 수 있다. 최근, 우리 전통음식에 대한 관심 소홀로 외국에서 들어온 “fast food”나 음료의 과다 섭취로 인하여 성장기 어린이들의 식생활에 있어서의 영양 불균형이나 지금까지 문제가 되지 않았던 병질의 출현은 우리의 음식문화에 대한 재인식을 해야 하는 중요한 시점에 온 것으로 생각된다. 특히 기능성을 갖춘 향미료를 계속 이용해 왔던 전통음식의 고찰 및 개선에 의한 신개념의 향신료로서의 개발이 시급한 실정이다.

한편, 초피는 산초나무속(*Zanthoxylum piperitum* A.P. De Candolle)는 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽관목으로 2-3m 정도 자라며 낙엽이 변한 가지가 대생한다.

주산지는 우리나라 중부 이남, 일본, 중국 등이다. 4-5월에 녹색의 꽃이 집계화서로 피고, 9월경 적갈색의 열매에 흑색종자가 맺게된다. 수피를 천초목, 종자를 초목이라 하여 약용으로 쓰고 어린잎은 식용, 열매는 향미료로 쓰인다. 초피에는 신미, 정유성분, 유지가 함유되어있어 향신료, 약용로서 동북아시아 지역에서 오래전 부터 널리 사용되어왔다. 우리나라의 요록(要錄), 음식지미방(飲食知味方), 주방문(酒方文), 산림경제(山林經濟)에 따르면 고추가 사용되기 전 초피를 김치류의 향신료로서 사용하였고, 고추장에 고추 대신 초피를 사용하였으며, 산초의 잎은 국에 넣어먹고, 종실은 빵아서 추어탕에, 산초의 성숙한 종자는 기름을 짜서 이용하였다. 일본에서는 장어구의 향신료, 장아찌, 일본된장의 첨가물로 이용하였다. 중국에서는 초피를 화초염(花椒鹽), 화초유(花椒油), 초마(椒麻)로 가공하여 혼합조미료로서 사용하였다. 또한 초피는 여러 가지 생리활성 물질을 함유하고 있기 때문에 의약품으로서 방향성 건위, 소염, 이뇨, 구충제, 위하수증, 식욕증진, 신경통, 냉증, 저혈압, 지사제, 진해제, 중풍치료에 이르기까지 다양하게 이용되어왔다. 이와 같이 초피나무가 유용성이 많은 자원임에도 불구하고, 집단재배가 되지 못한 것은 나무가 자웅이주(雌雄異株)로 과종시 발아율이 나쁘며 접목 활착율이 낮아 증식이 곤란하고, 그동안 초피에 대한 인식 부족으로 우수한 품종이 육성되지 않았기 때문이다. 그러나 초피나무는 산에도 식재가 가능하여 병충해에 강하고 환경 적응력이 좋기 때문에 산림자원으로 유용한 수종으로 알려져 있다. 최근 식생활이 건강 중심으로 변화되고 있어 음식에 사용되는 인공조미료 대신 때문에 천연향신료를 선호하며, 다양성 있는 음식의 맛과 멋을 추구하고, 특히 천연향신료의 향균, 항산화성으로 인하여 가공식품의 저장성 향상으로 인하여 각종 소스류, 통조림류, 레토르트 식품 같은 가공식품의 식품첨가물로서 천연향신료가 새롭게 인식되고 있어 매년 향신료의 소비량은 급격히 증가하고 있다. 이에 따라 향신료에 관한 연구가 최근에 다각적으로 되고 있는 상황에서 전남 동부 시군과 경남 서부 시군에 일대에는 초피나무를 집단으로 대량 재배하여 일본으로 90년 초반부터 수출을 시작하여 수출량이 계속증가하고 있어, 순천시에서는 초피 재배단지 조성지원 사업을 실시하여 재배확대를 시도하고 있으며, 승주읍 초피의 식재면적은 100,000평에 이르며 해마다 수십만주의 묘목을 생산하여 식재하고 있는 중이다.

그 동안 초피에 관한 연구로 신미성분인 Sosanshool-I, II의 분리 및 구조결정, 정유의 성분확인 및 향미생물효과, 향균효과, 정미성분 분석, 방향성분의 확인, flavonoid성분, ssterol 조성, 지질성분 및 지방산, 아미노산 함량, 어육의 비린내제거 효과, alkaloid 존재 확인 등 많은 연구보고가 되었으나, 초피를 이용한 향신료의 개발은 전

혀 연구 되어있지 않다.

따라서 본 연구의 목적은 한국산 초피의 잎, 과피 및 종자로 구분하여 화학성분을 밝히고, 그 생리활성 및 항균성물질을 규명하여 민간요법이나 한약에서 알려진 임상 결과를 뒷받침하고자 하며, 또한 mouse에 대한 독성실험, 역치가 성분의 규명 후 항산화능 검증과 안정성 등을 조사 규명하고 이들의 기초자료를 바탕으로 기능성 향신료의 생산 및 제품공정을 개발하여 국민건강과 생산 농가소득에 기여하고자 한다.

## 2. 연구개발의 중요성

### 가. 기술적 측면

- 기능성 식품으로서의 초피의 가치를 규명하여 식생활에 실용화
- 야생식물의 재배를 특용작물화하여 수입대체 효과 및 수출효과
- 초피가공 기술 개발 및 보급으로 특산품과 관련된 주산지 가공기술 기반조성
- SFE 기술의 이용으로 타 식품산업에 기술이전 기반 조성
- 초피 가공법에 대한 과학적, 종합적 자료 확보 및 개량방법 제시로 주산지 특산품 관련 가공기술 기반조성과 기업 활성화 기대.
- 초피 향신료의 기업화에 따른 기술적 뒷받침으로 제품 개선 및 다양화 기능
- 초피 가공기술 개발 및 보급으로 특산품과 관련된 주산지 가공기술 기반 조성
- 증산 및 재배기술 농업에 가공제품 개발을 부가하여 고부가 가치의 새로운 2, 3차산업으로 전환 가능
- 특산식물로 지역특수성을 가진 상품 개발
- 초피의 성분분석 및 기능성물질에 대한 분석으로 가공 시도업체 및 관련산업체의 가공공정 확립에 정확하고 총괄적인 data 제공
- 초피의 성분분석 및 기능성물질에 대한 분석으로 신제품 개발 가능성 향상
- 기능성 식품으로서의 초피의 가치를 규명하여 식생활에 실용화함으로써 각종 질병에 노출된 현대인의 식생활에 도움되고자 하며 더 나아가 이 지역주민의 소득향상에 이바지
- 고역가 균일품 대량생산 기술개발
- 초피 가공 방법에 대한 과학적, 종합적, 자료 확보
- 초피의 기업화에 따른 기술적 뒷받침
- 초피 가공기술 개발 및 보급으로 특산품과 관련된 주산지 가공기술 기반조성

- 초피 가공식품의 개발로 식품저장과 유통산업, 그리고 포장재료 산업에 파급효과 기대
- 초피 가공식품 산업체의 고품질 제품생산과 효율적인 가공공정의 확립 및 know-how 축적에 일익

나. 경제·산업적 측면

- 전통식품의 기능성확인으로 현대인의 식생활에 도움을 주고 지역주민의 소득향상에 이바지
- 제품의 다양화로 인한 대일수출의 확대
- 순수 고유의 전통음료로서 시장성 증대효과
- 우리 자원의 효율적, 활용성 증진으로 생산농가 소득증대
- 수요증가에 따른 농가소득의 증대
- 농산촌의 농가 소득작물로서 확대 보급가능
- 임산자원을 이용한 가공식품의 개발로 자원활용 및 신자원 개발
- 임산물 가공제품의 개발로 해외 농수산물 수요억제와 국제경쟁력 강화로 수출산업의 기회 확대
- 임산물 가공에 대한 고부가가치 창출로 농가소득 증대에 기여하여 농촌사회 안정화
- 복합 가공산업화로 해외 농수산물 수요에 대응할 수 있는 기회 증대
- 순수 고유의 전통적 향신료로서 시장성 증대 효과 유발
- 고품질 생산에 의한 판매량 증가 - 산업체의 경제적 안정 및 고용기회 창출
- 수요증가에 따른 재배면적의 증가와 판매 route의 확보로 농가소득 증대 - UR 협상 및 농수산물 수입 자유화로 인한 국내 문제점 해결에 일익
- 순수한 우리의 전통적 천연향신료로서 시장성 증대 효과 유발
- 지역 특수성을 가진 상품으로서의 역할
- 초피 발효식품의 성분분석 및 기능성 물질에 대한 분석으로 신제품 개발 가능성 및 관련산업체의 가공공정 확립에 정확하고 총괄적인 data 제공
- 우리 농산물의 효율적, 활용성 증진으로 생산농가 소득 증대
- 발효식품산업에 새로운 고부가가치성 이윤을 창출하여 산업 경쟁력을 제고

### 3. 연구개발 내용

본 연구의 주요내용은 기능성 향신료 개발을 위하여 초피로부터 화학성분, 항균성 물질 등의 조사를 통한 식품학적 특성 규명, 기능성 초피의 향신료가공 및 조리법 연구 및 초피의 독성 및 신미성분 특성 연구 등 세가지 연구분야로 구성하였으며 각 연구 분야별 연구개발 내용 및 범위는 다음과 같다.

제1세부과제 : 초피의 향신료 개발을 위한 식품학적 특성 규명

1. 초피의 생산과 이용 현황 및 자료 정밀조사
2. 초피를 품종별, 채취시기별 및 부위별로 구별하여 영양성분 분석과 기호성분 등을 최신 정밀분석기기 등을 통하여 함량을 분석
3. 초피의 항균활성 검색 및 활용방안 모색

제2세부과제 : 초피의 향신료가공 및 조리법 연구

1. 초피의 이용 가능한 적용식품의 기초 조사
2. 초피의 저장방법 및 저장 중 성분변화 관찰
3. 초피향신료 실용화 조건 검토
4. 초피 향신료 가공방법 연구
5. 초피 응용식품 개발

제3세부과제: 초피의 독성 및 유용성분 특성 연구

1. 초피의 신미성분 및 유용성분의 분리
2. 초피의 지방산 함량 조사
3. 초피 항산화능의 탐색
4. Mouse에 대한 독성 실험
5. 가공후 역치가 성분 규명
6. 가공품에서의 역치가 성분의 제거가 기능성에 미치는 영향 규명

## ○ 연구결과

### 1. 초피의 향신료 개발을 위한 식품학적 특성 규명

우리나라를 위시하여 중국과 일본에서도 천연 향신료로 널리 이용되어 온 초피 및 민초피 나무에서 과피와 어린잎을 시기별로 3회에 걸쳐 채취하여, 전통 향신료로서 이용의 최적 시기를 결정하고 한국인의 식습관에 맞는 새로운 향신료 등을 개발하는데 기초자료를 제공하고자, 이들의 일반성분, 무기질, 아미노산 그리고 향기성분과 신미성분 등의 함량 변화를 분석·검토하였으며, 새로운 식품개발에 필요한 기초자료를 얻고 천연보존료 개발의 일환으로 전통적인 향신료로 다양하게 사용되어온 초피 및 민초피를 물과 에탄올로 향균성 물질을 추출하여 몇 종의 병원균과 식중독균 식품과 관련이 있는 세균 및 효모 등 10균주에 대하여 향균성 여부와 추출물의 최소저해농도를 밝히고 미생물의 증식에 미치는 영향, 균체의 지방산 조성과 아미노산 성분변화 등에 미치는 영향을 살펴보았다. 또한 초피추출물을 용매 계통 분획하여 각분획별 향균성분을 밝히고 향균활성이 가장 강하게 나타난 hexan 분획물 중의 주 향균활성 물질을 정제 및 순수 분리하여 그 물질을 동정한 연구 결과는 다음과 같다.

#### 가. 초피의 품종과 수확시기별 성분 변화

1) 일반성분의 변화를 조사한 결과 모든 시료에서 채취 시기가 경과할수록 수분 함량과 조단백질 함량은 공통적으로 감소하였으나, 섬유질 및 회분 함량은 증가하는 경향을 나타냈다. 무기질은 채취 시기가 경과할수록 모든 시료에서 공통적으로 증가하는 경향이었으며, K와 P의 함량이 Ca, Na, Mg의 함량보다 높았다.

2) 15~16종의 성분이 검출된 총 아미노산은 모든 시료에서 공통적으로 채취 초기에 가장 높았고 그 후 점차 감소하였다. 채취 초기를 기준으로, 모든 시료에서 aspartic acid의 함량이 가장 높았고 methionine의 함량이 가장 낮았으며 cysteine은 흔적으로 나타났다. 9~15종이 검출된 유리 아미노산은 총 아미노산보다 종류가 적고 함량도 평균 1/30 정도이다. 유리 아미노산 총량은 초피 및 민초피에서 공통적으로 채취 시기가 경과함에 따라 과피에서는 상당히 감소하였고 잎에서는 반대로 증가

하였다.

3) 수증기 증류법을 비롯하여 methanol, diethyl ether, hexane 등의 용매 추출법으로 향기성분을 분석·검토한 결과, 과피의 향기 성분 함량은 채취 시기가 경과할수록 높았고, 잎의 향기 성분 함량은 채취 시기가 빠를수록 향기성분의 함량이 높았는데 이는 초피 및 민초피에 공통적인 경향이였다.

4) 향기성분 분석 중 수증기 증류법에 의한 분석 결과, 채취 말기의 민초피 과피에서 가장 많은 61가지의 향기 성분이 분리되었고 향기 성분의 총량도 258mg%로 가장 높았다. 채취 말기의 민초피 과피에 함유된 향기 성분 중에서는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene이 함께 분리되어 가장 높은 함량을 나타냈고 그 다음이 citronellal,  $\beta$ -citronellol의 순이었다. 잎에서의 향기 성분 총량은 채취 초기의 민초피 잎에서 가장 높았고, 향기 성분 중에서는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았으며 그 다음이 geranyl acetate, citronellal의 순이었다.

5) methanol 추출법으로 향기성분을 분석한 결과, 채취 말기의 초피 과피에서 가장 많은 37가지의 향기 성분을 검출하였고, 향기 성분의 총량도 5042mg%로 가장 높았다. 이 시료에서는 수증기증류법에 의한 분석 결과에서와 같이 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았으며 그 다음이 1,8-cineol, citronellal,  $\beta$ -citronellol의 순이었다. 잎의 향기 성분 총량도 수증기증류법에 의한 분석 결과와 같이, 채취 초기의 민초피 잎에서 가장 높았고, 향기 성분으로는 1,8-cineol의 함량이 가장 높았으며 그 다음이 2-tridecanol,  $\beta$ -citronellol, limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 순이었다.

6) diethyl ether 추출법으로 향기성분을 분석한 결과, methanol 추출법에 의한 분석 결과에서와 같이 채취 말기의 초피 과피에서 가장 많은 42가지의 향기 성분을 검출하였고, 향기 성분의 총량도 9566mg%로 가장 높았다. 이 시료에서는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았고 그 다음이 1,8-cineol,  $\beta$ -myrcene, citronellal,  $\beta$ -citronellol의 순이었다. 잎의 향기 성분 총량은 채취 초기의 초피 잎에서 가장 높았고, 향기 성분으로는 limonene 및  $\beta$ -phellandrene의 함량이 가장 높았으며, 그 다음이  $\alpha$ -terpineol, citronellyl acetate,  $\beta$ -citronellol의 순이었다.



7) hexane 추출법으로 향기성분을 분석한 결과, 검출된 향기 성분의 종류나 함량이 다른 용매 추출법에 의한 분석 결과에 비해 가장 적었다. methanol 추출법 및 diethyl ether 추출법에 의한 분석 결과와 같이 모든 시료 가운데 채취 말기의 초피 과피에서 가장 많은 15가지의 향기 성분이 검출되었고 향기 성분의 총량도 177mg%로 가장 높았다. 이 시료에서는 cymene의 함량이 가장 높았고, 채취 말기의 민초피 과피에서는  $\beta$ -citronellol의 함량이 가장 높았다. 잎에서의 향기 성분 총량은 수증기증류법 및 methanol 추출법에 의한 분석 결과와 같이 채취 초기의 민초피 잎에서 가장 높았고, 이 시료에서는  $\beta$ -citronellol의 함량이 가장 높았으며 그 다음으로 trans-geraniol의 함량이 높았다.

8) 채취 시기별 초피 및 민초피의 과피에 함유된 신미성분을 분석한 결과, 검출된 13~16종의 성분 중에서 6~8종의 신미성분이 확인되었다. 전체 신미 성분의 37~60% 정도를 차지하고 있는 tricyclo[3.2.1.0(2,4)] octan-8-one,3,3-dimethyl-과 10~23% 정도를 차지하고 있는 isosorbide dinitrate가 과피의 주된 신미물질로 추정되었는데 채취 시기의 경과에 따라 과피에서는 일반적으로 감소하는 경향이였다. 채취 시기별 초피 및 민초피의 잎에 함유된 신미성분을 분석한 결과, 검출된 8~12종의 성분 중에서 5~7종의 신미 성분이 확인되었다. 그 중에서 전체 신미 성분의 48~56% 정도를 차지하고 있는 isosorbide dinitrate를 비롯하여 diethyl propion hydrochloride 등이 잎의 주된 신미물질로 추정되었는데 어떤 시료에서도 채취 시기의 경과에 따라 신미 성분의 함량에 의미 있는 변화는 나타나지 않았다.

#### 나. 초피의 항균활성 및 항균성물질 동정

1) 항균성 검색에 사용된 대부분의 세균에서는 물과 에탄올 추출물 모두에서 종자를 제외한 잎과 과피에서 항균활성이 나타났으나 효모와 젖산균에서는 나타나지 않았다. 또한 에탄올 추출물이 물추출물보다 더 강한 활성을 보였으며 과피보다는 잎에서 항균활성이 강하게 나타났다.

2) 초피의 종자를 제외한 잎과 과피에서 항균활성을 타났었으며 균주별로 보면 그람 양성균인 *B. cereus*가 잎과 과피에서 첨가농도가 각각 0.25mg/ml로 가장 낮게 나타났다. 따라서 그람 음성균보다 그람 양성균에 항균활성이 높게 나타났으며 젖산균과 효

모 등의 균주에서는 1.5mg/ml 이상의 농도에서도 항균효과는 나타나지 않았다.

3) 초피 에탄올추출물이 미생물의 대수증식기에 미치는 영향은 *E.coli*와 *S.aureus* 두 균주 모두 20 mg/ml 이상의 첨가시는 5시간 후부터 균의 생육이 완전히 억제되었다.

4) 대수증식기에 초피 에탄올추출물 첨가에 의한 균체 지방산 조성비의 변화는 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주 모두 큰 변화는 없었으나 에탄올추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 *E. coli*의 경우 대조구에 비해 palmitic acid(16:0)의 함량이 조금 증가하는 반면 palmitoleic acid (16:1)의 함량이 적게 감소하는 경향을 보였으며, *S. aureus* 경우는 palmitic acid(16:0)의 함량이 조금 증가하였으나 그 외 지방산은 별다른 변화가 없었다.

5) 대수증식기에 초피 에탄올추출물 첨가에 의한 균체 아미노산 성분은 전반적으로 큰 변화는 없었으나 *E. coli*의 경우 proline, glycine, valine 및 histidine 등이 증가하였으며, aspartic acid, glutamic acid, tyrosine 및 arginine 등의 아미노산이 약간 감소하는 경향을 보였다. *S. aureus* 경우는 proline, methionine 및 histidine 등의 아미노산이 증가하였으며, aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, tyrosine 및 lysine 등이 감소하는 경향을 보였다.

6) 초피 에탄올추출물에 의해서 균체성분인 단백질과 260 nm 흡수물질(RNA, DNA를 구성하고 있는 염기성 물질 등)의 누출은 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주 모두 40 mg/ml의 첨가구에서 대조구에 비하여 단백질은 1.07, 0.24 mg/g, 260 nm 흡수물질은 0.12, 0.07 mg/g으로 누출량이 증가하였다. 이와 같이 에탄올추출물의 첨가구에서 누출량이 증가함은 항균성 물질에 의해서 막구조의 손상이 초래되는 것으로 생각된다.

7) 초피에탄올 추출물 중의 항균활성 물질은 121℃에서 15분간 가열한 후에도 활성이 유지되었으며 pH의 변화에도 영향을 받지 않았다.

8) 초피에탄올 추출물을 hexan, 에테르, 에틸아세테이트 및 물로 용매 계통 분획하여 얻은 각 분획물의 항균활성은 세균의 경우 젖산균을 제외한 그람 양성균과 그람 음성균 모두 hexan 분획물에서 현저한 생육 억제효과가 나타났으며 에테르와 에틸 아세테

이트 분획물에서도 헥산 분획물 보다는 낮지만 대부분의 균주에 대하여 항균활성을 보였다. 그러나 젖산균과 효모에서는 모든 분획물에서 항균효과가 거의 없었다.

9) 초피 에탄올추출물 분획중 항균활성이 가장 높았던 헥산분획물을 silicagel column chromatography, HPLC등을 이용해서 분리, 정제하여 항균성이 높게 나타나는 화합물ZA-I 을 순수분리하였다.

10) 순수 분리한 항균물질(ZA-I)은 UV Spectrum 260~270nm에서 흡수 peak를 나타내어 발색단과 조색단이 존재하고, RI Spectrum에서 aromatic ring, -C=C-, isopropyl 및 CH<sub>3</sub>-C의 구조가 존재하며, LC-Mass에서 1-(Biphenyl-2'yl)-5-isopropyl-3, 4-dihydronaphthalen으로 동정되었고 구조식은 C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>로 추정되었다.

## 2. 초피의 향신료 가공 및 조리법 연구

초피향신료의 가공 및 조리법에 대한 연구결과는 다음과 같다.

1) 초피 과피가루를 0~1% 농도로 첨가하여 90℃에서 5분간 가열하였을 때 초피추출액의 침전물 중량과 탁도는 초피가루 첨가량에 비례하여 증가하였다. 초피추출액의 색도는 초피가루 첨가농도가 증가함에 따라 명도(L)는 현저하게 감소한 반면, 적색도(a), 황색도(b)는 증가하였다. 관능검사 결과 초피가루 첨가량이 증가함에 따라 색이 짙어져 색깔에 대한 기호도는 감소하였으나, 냄새에 대한 기호도는 증가하였다. 음료로는 0.05% 초피가루 첨가가, 향신료 및 조미료로는 0.075%~0.25% 첨가가 선호되었다.

2) 초피저장 중 향기성분을 분석한 결과 저장기간이 경과함에 따라 향기성분의 종류 및 함량이 감소되었으나, 초피의 주된 향기성분은 존재하였다. 저장조건에 따라서는 냉장저장 하였을 때 향기성분의 감소는 적었고, 질소를 충전하여 저장한 시료는 상온 저장의 경우와 차이가 없었다.

3) 초피추출액의 종합적인 선호도는 초피과립 보다는 초피가루를 첨가하였을 때 더 높았고, 초피가루의 크기는 30mesh가 적절하다고 평가되었다.

4) 초피를 볶거나 찌서 열처리한 초피가루를 첨가하였을 때 보다 열처리하지 않은 초피가루를 첨가한 초피추출액의 선호도가 더 높았다.

5) 초피에 다시마를 넣고 같이 가열한 초피추출액은 초피 고유한 맛과 냄새는 현저하게 감소하였고, 쇠고기 다시마를 넣은 초피추출액은 쇠고기의 느끼한 맛이 초피에 의하여 감소되었다. 종합적인 선호도는 다시마 >조개> 쇠고기> 멸치 순으로 선호도가 높았다.

6) 초피에 소금, 간장, 설탕, 식초, 파, 마늘, 생강, 고추 등을 각각 넣고 가열한 초피추출액 중에서 간장, 고추를 넣은 초피추출액은 색깔이 짙어 색에 대한 선호도가 낮았다. 생강, 고추, 마늘, 간장을 넣은 초피추출액은 초피의 고유한 향이 상쇄되어 감소하였고, 소금을 넣은 경우 초피의 향이 증가되었다. 간장, 파를 넣은 초피추출액은 초피 고유한 맛이 감소된 반면, 고추, 식초를 넣었을 때는 초피의 맛이 상승되었다.

7) 초피잎을 이용하여 조리하였을 때 튀겨서 조리한 초피 잎 부각은 선호도가 매우 높은 반면, 데쳐서 조리한 초피나물은 초피의 매운맛과 향이 더욱 증가하여 선호도가 매우 낮았다.

8) 추어탕에 초피가루를 첨가하였을 때 0.05% 첨가시에 선호도가 높았고, 가열 중에 초피를 첨가하였을 때는 가열 후 첨가에 비하여 초피 맛이 더 증가된 반면, 가열 후 초피를 첨가하였을 때는 가열 중 첨가에 비하여 초피향이 증가되었다. 라면에 초피가루를 첨가한 경우 0.075~0.05%에서 좋은 기호도를 나타냈으며 라면의 맛이 개운하고 시원하다고 하였다.

9) 초피장아찌를 만들었을 때 초피잎은 초피열매 보다 매운맛이 덜하고 부드러운 선호도가 더 높았다. 소금물에 먼저 침지하여 장아찌를 담은 경우 무처리한 장아찌에 비하여 염도가 증가되었고 산도는 감소되었다.

10) 초피가루를 첨가한 침채류에서 초피가루 첨가량이 증가할수록 일반세균과 대장균은 생육이 억제되었으나, 젖산균은 변화가 없었다.

11) 초피음료는 초피가루 0.05%, 설탕 3.0%, 구연산 0.1%, 비타민C 0.2%를 첨가하여 만든 음료가 종합적인 선호도가 가장 높았다.

12) 초피정유의 성분은 0.7%이며 비중은 0.86, 굴절율은 1.47, 산도는 5.58, 요드가는 101.58, 비누화값은 143.67로 나타났다.

13) 초피정유를 3% 이하로 식용유에 첨가한 초피조미유는 산도가 1이하로 상태가 양호하였다.

14) 초피에 회향등 한약재료 5~10 가지 섞어서 제조한 혼합향신료를 쇠고기, 돼지고기, 닭고기, 생선에 첨가하여 조리한 후 관능검사를 한 결과 돼지고기의 선호도가 가장 높았다.

15) 소주에 초피가루를 첨가하여 초피 첨가농도 및 침출 일수에 따라 분석한 결과 0.05%, 60일 침출하였을 때 기호도가 가장 높게 나타났다. 초피약주 제조시 초피 첨가 시기는 주발효시기에 0.05% 첨가한 것이 양호하였고, 산도는 초피를 첨가한 뒤 2일째 부터 약간 감소하였다.

### 3. 초피의 독성 및 유용성분 특성 연구

초피의 유용성분의 특성연구과제에서 생산시기별, 부위별 그리고 품종별로 palmitic acid 등 6 가지 지방산의 함량을 조사분석한 결과 종자나 잎에서 모두 총체적으로 palmitoleic, stearic acid 함량이 높고 palmitic, oleic acid의 함량이 상대적으로 낮은 것으로 나타났고 종자에서는 시기별로 6월에 4가지 지방산 함량이 높았고 품종별로는 한국산이 일본산보다 총 지방산 함량이 상대적으로 높았으며, 불포화지방산의 함량은 일본산이 상대적으로 높게 나타났다. 부위별로는 종자에서 상대적으로 총 지방산 함량이 높았고 잎에서는 한국산은 6월에 4가지 지방산 함량이 높고 일본산은 5월과 7월에 높게 나타났다. 초피 종자의 정유성분을 분석해본 결과로는 5월과 7월의 중성과 약산성 성분의 Ethyl Ether분획에서 상대적으로 많은 함량을 나타냈다.

초피 종자를 MeOH, EtOAc, CHCl<sub>3</sub> 및 Hexane 등 여러 가지 용매로 추출한 추출

물에서 MeOH추출물에서 DPPH에 의한 전자공여능이 제일 높게 나타났고 종자에서 잎보다 활성이 높게 보여주었으며 Thiocyanate에 의한 항산화력 측정에서도 MeOH추출물에서 가장 높은 활성을 보여주었다. Mouse에 초피의 추출물을 경구투여하여 mouse 간의 해독작용에 관여하는 Glutathione-S-transferase(GSH-T)활성에 대하여 측정하여 그 독성을 조사해본 결과 Microsome과 Cytosol 에서 모두 대조구와 투여구 사이에 GSH-T활성은 거의 차이를 보이지 않았다.

SFE를 이용하여 초피의 과피에서 역치가 성분을 추출하여 HPLC에서 분석하여 Rt 9.48, 10.55 그리고 25.36분에서 세 개의 역치가 성분으로 추정되는 peak를 분석하였으며 SFE에서 온도, 압력, modifier양, 그리고 시간별로 조사한 결과 역치가 성분의 최적추출조건을 온도는 60°C, 압력은 300 Kg/cm<sup>2</sup>, modifier ratio(CO<sub>2</sub>:MeOH(V/V%))는 80:20으로, 그리고 추출시간은 20분이 가장 적합한 것으로 확립이 되었고 추출된 역치가성분의 HPLC 분석조건은 mobile phase는 Hexane-Isopropanol 15:1에서 최상의 분석결과를 나타낸 것으로 판단되었다. 또한 SFE를 이용한 역치가 성분의 추출 결과는 일반 용매 추출법으로 추출한 결과보다 연구결과의 정확성이나 환경측면에서나 경제성 등 여러 가지로 우월한 분석 방법임을 확인할 수 있었다. 아울러 역치가성분을 제거한 후에 초피의 과피에서는 종자에서보다(94.9 % EDA% 값)는 상당히 낮은 79.3 % (EDA% 값)의 DPPH에 의한 전자공여능을 보여주었다. 초피 과피의 역치가성분을 SFE로 추출하여 그 성분을 규명하기 위하여 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, FT-IR 등 기기를 사용하여 분석한 결과 현재는 [=CH] group, [=CO] group, [C=O] group을 갖고있음을 확인하였으며 또 2중결합 수소가 8개 있음을 밝혔다. 기존의 역치가성분이 한 개의 [C=O]group을 갖고있는 것으로 보고되었으므로 두 가지 성분이 혼합되어있는 것으로 사료된다. 그 외 127 ppm에서 132 ppm 사이에 8개의 methyl, methylene 탄소가 14개 있는 것으로 추정된다.

이 물질은 기존 역치가 성분과는 다른 chemical shift 값을 보이므로 기존에 알려진 물질과 같은 물질은 아니고 형태는 유사한 것으로 생각되어 분리과정을 거친 후 2D-NMR, Mass spec으로 화학구조를 밝히려 한다.

초임계 유체추출(SFE)에 대한 초피 과피 신미성분의 제거는 비록 실험실 조건에서 이루어진 수준이었지만 용매추출에 의한 방법보다 훨씬 더 시간, 경비, 및 노력이 절감되는 방법으로 신세대 및 새 천년의 새로운 향신료로서의 개발에 있어서 산업적인 용도로의 접근도 시도해 볼만한 것으로 생각한다.

## ○ 연구성과 활용실적 및 계획

본 연구를 통하여 고부가가치의 초피 향신료를 개발 생산함으로써 국민의 식생활 개선과 보건향상 및 농산자원의 가공에 의한 효율적인 측면에 기여할 수 있을 뿐만 아니라, 다른 전통식품에도 확대 적용하여 개발할 수 있는 기폭제로 작용할 수 있을 것으로 예상된다. 따라서 여기에서 개발된 기술 및 산물들은 특허출원하여 산업재산권을 확보할 계획이며, 타 식품업체나 영농조합 등에 기술을 이전하고 홍보활동을 활발히 하여 더욱 생산성 있는 사업으로 확대해야 할 것이다.

이를 위해서는 초피를 고소득작목으로 농산촌에 집단재배단지 조성을 해야할 필요가 있으며, 초피 향신료의 우수성을 재인식시키고 가공기술 및 이용에 관한 홍보가 요구된다.

연구의 결과로 활용가능한 범위는 다음과 같다.

- 가. 신개념 초피 향신료 이용
- 나. 임산물 가공 현지 산업체와 직접 연결하여 실용화된 기술 보급
- 다. 초피가 다량 생산되는 현지에 가공공장 설립으로 농민에 직접 혜택
- 라. 초피의 합리적 제조방법을 기업에 적용, 고품질의 제품 생산에 활용
- 마. 개발된 관련기술을 활용하여 초피를 이용한 새로운 제품개발에 이용
- 바. 가공 시도업체 및 관련업체에 과학적 정보 제공으로 제품의 보완 및 신제품 개발 가능성 증진
- 사. 소비자에게 올바른 인식을 주어 국민 건강 향상에 일익
- 아. 연구 결과 얻어진 과학적 사실들을 유인물 또는 책자로 발간하여 홍보

< 양식 6 >

## 자체평가 의견서

연구개발분야	가 공	과제관리번호			
연구과제명	초피를 이용한 향신료 개발				
주관연구기관	순천대학교				
연구담당자	총괄책임자	김 용 두			
	협동·위탁 ·세부 연구책임자	기관(부서)	순천대학교 식품공학과	성 명	김 용 두
		"	순천대학교 조리과학과	"	최 옥 자
		"	전남대학교 농화학과	"	심 재 한
연구 기간	총 기 간	1998.10 - 2000.10(2년)	당해년도기간		
연구비(천원)	총 규 모	125,000	당해년도규모		

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행    계획대로 진행    계획대로 진행되지 못함

**계획대로 수행되지 않은 원인은?**

---



---



---



2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?  
 예상외 성과얻음       어느 정도 얻음       얻지 못함
3. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?  
 공헌했음       현재로서 불투명함       그렇지 않음
4. 경제적인 측면에서 농림어가의 소득증대에 공헌했다고 보는가?  
 공헌했음       현재로서 불투명함       그렇지 않음
5. 얻어진 성과와 발표상황
- 5-1 경제적 효과       기술료 등 수익      수 익 :  
 기업등에의 기술이전      기업명 : 한솔영농조합  
 기술지도 등      기업명 : 한솔영농조합
- 5-2 산업·지적재산권 등       국내출원/등록      출원 건,      등록 건  
 해외출원/등록      출원 건,      등록 건
- 5-3 논문게재·발표 등       국내학술지 게재      2 건  
 해외학술지게재      건  
 국내학·협회발표      건  
 국내세미나 발표      건  
 기      타      건
- 5-4 인력양성효과       석 사  
 박 사      1      명  
 기 타      명
- 5-5 수상 등       있 다      상 명칭 및 일시 :  
 없 다
- 5-6 매스콤등의 PR       있 다      건  
 없 다
6. 연구개발착수이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?  
 없다       약간 감소되었다       크게 감소되었다

감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오?

해당없음

---

---

---

---

7. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

없다

약간 조정필요

전반적인 조정필요

8. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

해당없음

---

---

---

---

**(아래사항은 기업참여시 기업대표가 기측하십시오)**

1. 연구개발 목표의 달성도는?  
 만족                       보통                       미흡  
 (근거 : 상품등록 중 )
2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견
- 가. 연구성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?  
 충분                       보통                       불충분
- 나. 연구성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?  
 충분                       보통                       불충분
3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?
- 가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?  
 충분                       보통                       불충분
- 나. 향후 계속 참여 의사는?  
 충분                       고려 중                       중단
- 다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는?  
 확대                       동일                       축소
4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?  
 즉시 기업화 가능     수년내 기업화 가능     기업화 불가능
5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?  
 해당없음

---



---



---



---

작성 자

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
총괄연구책임자	순천대학교	교 수	김 용 두 (인)
참여기업대표	한솔영농조합	대표이사	조 영 식 (인)

## 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 아니 됩니다.