

최 중
연구보고서

국내산 미나리, 들갯잎을 이용한 향신료등
식품신소재 개발

Development of Flavoring and New Food
Materials Using Domestic Water Dropwort and
Perilla Leaf

연구기관
단국대학교

농림부

주 의

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

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “국내산 미나리, 들깻잎을 이용한 향신료등 식품신소재 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002년 11 월 일

주관연구기관명 : 단 국 대
총괄연구책임자 : 백 형 희
협동연구기관명 : 한국스탕게
협동연구책임자 : 김 세 진
협동연구기관명 : 충 남 대
협동연구책임자 : 송 경 빈

요 약 문

I. 제 목

국내산 미나리, 들깨잎을 이용한 향신료등 식품신소재 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

미나리·들깨잎은 우리 식생활에서 다량 섭취되고있는 야채로서, 독특한 향미 및 약리작용으로 인해 기능성 식품소재나 향신료로 활용도가 높은 식품소재이지만, 향미 특성 및 기능성에 관한 연구는 전무한 실정이다. 최근 천연자원으로부터 생리활성 물질을 탐색하고 신 기능성 생물소재를 개발하려는 연구가 경쟁적으로 수행되고 있는 것을 고려하여 미나리·들깨잎을 이용한 생리활성 기능 탐색 및 향신료 개발은 많은 수요가 예상된다. 또한 생리활성 물질을 탐색하고 개발하려는 노력은 국민소비증대 따른 육류소비 증가함에 따라 성인병증가 추세에 비추어 볼 때 그 예방식품과 성인병 환자식 소재개발의 필요성이 대두되고 있다. 특히, 대표적 성인병인 고혈압은 대부분이 본태성 고혈압으로 본태성 고혈압계 조절인자인 ACE (angiotensin converting enzyme) inhibitor의 탐색 및 항고혈압제 개발이 활발하게 연구되고 있으며, 천연 농산자원으로부터 혈압강하제 생산에 관한 연구는 거의 없다. 따라서, ACE inhibitory peptide 개발과 관련하여 천연자원으로부터 혈압강하 소재 등 기능성 생물소재 생산에 관한 국내 연구가 절대적으로 필요하다.

III. 연구개발 내용 및 범위

국내산 미나리·들깨잎으로부터 향신료를 개발하기 위하여 국내산 미나리·들깨잎의 휘발성 향기성분을 분석하고 aroma-active compounds를 동정하였다. 또한 국내산 미나리·들깨잎으로부터 증류법, 진공증류법 및 초임계추출법에 의해 정유를 추출하였다.

개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 용도를 개발하기 위하여 국내산 미

나리·들깨잎으로부터 농축액, 분말 및 essence를 제조하고 이를 완제품에 적용하여, 원료화가능성 및 활용범위를 설정하였으며, 농축액, 분말 및 essence 및 적용완제품의 저장중 이화학적 성질 변화 및 저장성을 연구하였다. 또한 개발된 원료 및 완제품의 만족도 조사 및 소비자 기호도 조사를 실시하였다.

국내산 미나리·들깨잎으로부터 식품신소재를 개발하기 위하여 국내산 미나리·들깨잎으로부터 혈압조절물질을 추출하고 분리공정을 확립하였으며, 혈압조절물질을 정제하여 구조분석 및 동정을 실시하였다. 또한 국내산 미나리·들깨잎으로부터 추출된 생리활성 물질이 함유된 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재를 개발하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

Liquid-liquid continuous extraction (LLCE)법으로 미나리의 휘발성 성분을 추출하고 GC/MS로 동정한 결과 33개의 휘발성 성분이 확인되었다. 작용기별로 보면 alcohol류가 (Z)-3-hexenol을 포함하여 7종, aldehyde류가 (E)-2-hexenal을 포함하여 4종, hydrocarbon류가 limonene을 포함하여 19종, ether류가 2종, ester류가 1종이었다. 이 중 (E)-2-hexenal, β -pinene, limonene, ν -terpinene과 β -caryophyllene 등이 각각 1 ppm 이상으로 높은 함량을 보였다. 그 외 (Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexenol, α -pinene, *p*-cymene, α -humulene, germancrene-D, (Z,E)- α -farnesene, (E,E)- α -farnesene, δ -cadinene, germancrene-B 및 neophytadiene등이 높은 함량으로 미나리의 휘발성 향기성분을 이루고 있었다. Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction (V-SDE)법에 의해 추출된 미나리의 휘발성 성분은 44개가 동정되었으며, 작용기별로는 alcohol류가 9종, aldehyde류가 7종, hydrocarbon류가 24종, ester 2종, ether 2종이었다. 이 중 (Z)-3-hexenal, β -pinene, *p*-cymene, ν -terpinene과 α -terpinolene이 높은 함량을 나타내었다. V-SDE에서는 LLCE보다 limonene, ν -terpinene이 감소된 반면 α -terpinolene의 함량은 크게 높아 졌음을 알 수 있었다. Solid phase microextraction법에 의해서는 29개의 휘발성 성분이 확인되었으며 작용기별로 살펴보면 alcohol류가 2종, aldehyde류가 2종, hydrocarbon류가 22종, ester류가 1종, ether류가 2종이었다. 이 중 β -pinene, β -myrcene, *p*-cymene, limonene, ν -terpinene, α -terpinolene 및 (E)- β -caryophyllene 등이 높은 함량을 나타내었다. SPME로 추출한 경우 α -terpinolene

의 함량이 다른 추출방법 보다 많은 양을 나타냈으며 alcohol류나 aldehyde류는 이에 비해 양이 적었다.

미나리 향을 이루는 aroma-active compound는 LLCE에 의해 11종이 감지되었으며, 이 중 풀 냄새를 가진 (Z)-3-hexenal 이 가장 높은 \log_3FD 값을 나타내었다. 이 밖에 citrus 계열의 향을 가지는 limonene, (E)-2-hexenal, α -pinene, β -pinene, β -myrcene 및 ν -terpinene등이 높은 \log_3FD 값을 나타내었다. V-SDE에 의해 확인된 aroma-active compound는 21종이었는데, 가장 높은 \log_3FD 값을 가지는 aroma-active compound는 plastic, cucumber 냄새를 가지는 α -terpinolene이었으며, 그 다음으로는 풀냄새를 가지는 (E)-2-hexenal과 citrus 계열의 향을 가지는 ν -terpinene이었다. 이밖에 hexanal, *p*-cymene, phenylacetadehyde 및 bornyl acetate가 높은 \log_3FD 값을 나타내었는데, 특히 *p*-cymene의 경우 미나리 향과 동일한 향기특성을 가지는 aroma-active compound로 생각되어진다. SPME에 의해서는 4종의 aroma-active compound가 확인되었으며, α -terpinolene과 *p*-cymene이 높은 odor spectrum value를 나타내었다. 이 외 풀냄새를 나타내는 (Z)-3-hexenol, citrus류의 향을 가지는 ν -terpinene이 확인되었다. 이상의 결과로부터 미나리 향에 중요한 역할을 하는 aroma-active compound는 (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenol, *p*-cymene, limonene, ν -terpinene 및 α -terpinolene 등이었으며, 특히 *p*-cymene이 미나리 특유의 향기성분으로 밝혀졌다.

LLCE법을 이용하여 들깨잎의 휘발성 향기성분을 분석한 결과 21개의 휘발성 향기성분이 동정되었으며, 작용기 별로 보면 alcohol류가 (Z)-3-hexenol등 8종, aldehyde류가 (E,E)-hexadienal등 5종, ketone류가 perilla ketone등 2종, hydrocarbon류가 6종, 그리고 ester류가 1종이었다. 이 중 대부분은 총 peak면적의 84.34%를 차지하는 1-(3-furyl)-4-methyl-1-pentanone (perilla ketone)으로 밝혀졌다. Perilla ketone이외에도 1-(3-furyl)-4-methyl-3-penten-1-one (egoma ketone), 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one 및 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one 이 동정되었다.

들깨잎 향을 이루는 aroma-active compound는 (Z)-3-hexenal과 egoma ketone이 가장 높은 \log_3FD 값을 나타내었으며, 그 다음으로 perilla ketone과 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one이 높은 \log_3FD 값을 가지고 있었으며 모두 egoma ketone과 같은 들깨잎 특유의 향을 나타내었다. 또한 플라스틱 냄새를 가지는

1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one도 들깨잎 향에 중요한 aroma-active compounds로 생각되어진다. 그 외에 phenylacetaldehyde, (E)-2-hexenal, benzaldehyde 및 linalool이 들깨잎 향에 중요한 aroma-active compound로 밝혀졌다.

미나리·들깨잎으로부터 essential oil을 추출하기 위해 상압과 감압증류를 실시하였다. 미나리의 경우 감압증류시 essential oil의 수율이 아주 낮았으며, 상압증류시 0.06 g/kg의 수율로 essential oil이 추출되었다. 들깨잎의 경우 감압증류시 0.17 g/kg, 상압증류시 0.52 g/kg의 수율로 essential oil이 추출되었다.

들깨잎을 감압증류시 corn seed oil에 essential oil을 혼합시켜 flavor oil을 제조하였다. 들깨잎 flavor oil 제조시 증류시간 및 들깨잎과 corn seed oil의 비율을 최적화하여, flavor oil 향의 강도를 높여주면 향신료로서 충분히 이용이 가능하리라 판단되어진다.

미나리·들깨잎 초임계 추출의 최적조건은 각각 200 atm, 40℃와 300 atm, 50℃였으며, 추출시간은 5시간이었다. 초임계 추출시 상압과 감압증류보다 더 높은 수율로 essential oil이 추출되었으며 향특성도 좋아 향신료로 이용가능성이 높을 것으로 판단되었다.

국내산 미나리·들깨잎으로부터 농축액, 분말 및 essence를 제조하고 원료로서의 가능성을 알아본 결과 미나리는 농축액 형태로, 들깨잎은 essence형태로 가공했을 때 원료화할 수 있을 것으로 판단되었다.

미나리·들깨잎 농축액 분말을 pork topping spice seasoning, 페리카나 key mix seasoning, fried chicken marinade seasoning, 불고기 양념 sauce, spaghetti meat sauce 및 thousand ireland dressing에 각각 0.5% 첨가하여 대조구 (기존제품)와 비교한 결과, 모든 경우에 미나리·들깨잎 농축액 분말을 첨가했을 경우 전반적인 맛 및 풍미에서 높은 관능평가점수를 받았다. 미나리 분말보다는 들깨잎 분말의 경우 더 높은 관능평가점수를 받았는데 특히 pork topping spice seasoning과 thousand ireland dressing에 적용했을 때 높은 관능평가점수를 받았다. 미나리분말의 경우 spaghetti meat sauce에 적용시 높은 관능평가점수를 받았다. 이상의 결과는 미나리나 들깨잎향을 기존 seasoning이나 sauce에 이용가능성을 시사해 준다고 할 수 있겠다.

미나리·들깨잎 분말 향신료와 essence 및 이를 적용하여 개발한 제품의 소비자 기호도를 평가한 결과, essence 및 이를 적용한 제품들은 특유의 풍미로 인

해서 향신료로서 뿐만 아니라 masking agent로서의 활용이 가능한 것으로 나타났다.

대부분의 ACE 저해 펩타이드는 분자량이 2000 이하인 것으로 보고되어 돌미나리를 YM-3 membrane으로 한외여과하여 저분자의 ACE 저해물질을 얻고자 하였다. 구입한 돌미나리는 여러번의 수세과정을 거친후 3차 증류수와 함께 blender에 넣어 blending한 다음 원심분리하였다. 그 상등액은 상온에서 Whatman filter paper로 filtration한 후 그 여과액은 한번 더 원심분리 한 다음 Amicon사의 YM-10 membrane와 YM-3 membrane으로 한외여과하여 저분자 물질을 얻은 후 동결건조시킨 후 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 ACE inhibition을 측정한 결과 86.3%의 inhibition이 나왔다. 제조한 sample은 ependorf tube에 aliquots하여 deep freezer에 보관한 다음 분리 공정에 사용하였다. Deep freezer에 보관된 돌미나리 추출액은 녹인 후 ACE 저해 물질을 분리하기 위하여 gel permeation chromatography(GPC) column에 loading하여 size 별로 분리한 결과 분리된 6개의 peak 중 ACE 저해 효과가 가장 높은 fraction 6은 pool하여 다시 GPC에 reloading하여 단일 peak를 얻었다. 가장 ACE 저해효과가 큰 분획은 HPLC C₁₈ column을 이용하여 분리한 결과 5개의 peak가 분리되었으며 Fraction 4에서 가장 높은 저해효과가 나타났다. 정제된 ACE inhibitor는 IC₅₀가 120 µM로 측정되었으며 Tandem ESI mass spectrometry로 molecular mass를 구명한 결과 181 dalton 이었다. 또한 ACE inhibitor lead compound의 대량 분리 정제를 위하여 molecular weight를 1000이하로 cut off 한 시료를 이용하여 Resource RPC column을 사용하여 분리한 결과 3개의 peak를 얻었으며, 분리된 각각의 Fraction의 ACE 저해 효과를 측정한 결과 저해 효과가 가장 우수한 Fraction 3을 모아 FPLC (Mono Q column)를 이용하여 재분리 하였다. 이때 얻은 2개의 peak 중 첫 번째 peak의 저해 효과가 우수하여 이 peak를 모아 분리 정제의 마지막 단계로 HPLC (C₁₈ column)를 사용한 결과 2개의 peak가 분리되었으며, 저해효과가 있는 peak는 ESI mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과 204 dalton 이었다.

국내산 미나리·들깨잎으로부터 target ACE inhibitory substance 추출 및 대량 분리·정제를 완수하였기에 천연농산자원인 국내산 미나리·들깨잎으로부터 혈압강하 식품 신소재개발 및 drink 등 신제품 개발을 위하여 기능성 음료를 제조하고자 하였다. 신선한 원재료인 야생 돌미나리·들깨잎은 식품소재로 사용하기 적합하도록 구입 후 수세과정을 거쳐 정제수와 함께 상온에서 소규모로 blending한 후

100~ 200 mesh에서 여과하고 그 추출물은 4℃ cold chamber에서 정치시켜 상정액만을 모아 원액으로 사용하였으며, membrane filtration하여 각각 molecular weight 3000, 1000으로 cut off 하여 추출물을 제조하였다. 제조된 혈압 조절관련 물질 함유 돌미나리 추출물과 들깨잎은 일반적인 배합공정으로 음료를 제조하였다. 먼저 영양분의 효율성을 높이기 위해 비타민이 풍부한 과일 extract 및 puree 와 액상과당 등 감미제 5~ 10%, inositol 등 강화제, 혼합과일향 등 착향제 0.1%, 구연산 0.05 ~ 0.1%, 보존제를 배합하여 여러가지 조성, 함량으로 하여 만든 후 돌미나리 추출물 원액, membrane cut off 3000, 1000을 동일한 양을 첨가하여 제품으로 만들고, 색·향·맛을 관능평가자들에 의하여 점수를 매긴 후 관능 검사를 하였다. 기능성 음료수임을 고려하여 돌미나리 추출물의 양을 증가시키기 위한 것에 초점을 맞추었으며, 추출물을 동일한 양인 20%를 첨가하였을 색상의 경우 소비자의 선호도에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었으며, 향에서는 돌미나리 원액의 경우 돌미나리 고유의 향이 off-flavor로 작용하여 평가가 가장 낮았으며, 3K와 1K는 비슷한 결과를 얻었다. 맛의 경우 또한 Mw 3000 cut off 한 추출물과 Mw 1000 cut off한 것과는 유의적 차이가 없었으며, 원액을 첨가하였을 때의 선호도가 가장 낮았다. 즉, 돌미나리 추출 원액의 경우 미나리 고유의 향이 off-flavor로 작용하여 관능검사 결과 좋지 않게 평가 되었으며, membrane 3000 cut-off한 추출물의 경우 1000보다 기호도면에서 다소 낮게 평가되었다. 들깨잎의 경우 원액 자체로도 첨가하여도 충분하나 돌미나리는 membrane 3000 처리를 고려해야할 것으로 생각된다. 개발된 음료는 Membrane 1000으로 cut off한 추출물을 첨가하였을 때 가장 선호도가 좋은 것을 고려하여 혈압 상승작용을 유발하는 angiotensin I 전환효소에 대하여 가장 높은 활성저해율을 보이는 추출물을 식품에 첨가시킴으로써, 별도의 고혈압 예방 제제를 사용하지 않고 천연농산자원을 편하게 섭취함으로써 그 효과를 기대할 수 있다고 생각된다. 한편 들깨잎보다는 돌미나리 crude extract의 ACE inhibition이 월등히 높기에 제품화 가능성은 돌미나리가 보다 실용적으로 판단되었다.

SUMMARY

Aroma-active compounds from perilla leaf (*Perilla frutescens* Britton) and water dropwort (*Oenanthe javanica*) were extracted by several methods and analyzed by gas chromatography/mass spectrometry/olfactometry (GC/MS/O). Volatile compounds from water dropwort were extracted by liquid-liquid continuous extraction (LLCE), vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction (V-SDE), and solid phase microextraction (SPME), and then analyzed by GC/MS/O. Thirty three, 47, and 31 volatile compounds from water dropwort were identified by LLCE, V-SDE, and SPME, respectively. *p*-Cymene was considered to be characteristic aroma-active compound of water dropwort. (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexenol, and (*E,E*)-2,4-hexadienal were believed to play an important role in water dropwort aroma. Also, α -terpinene, *l*-limonene, ν -terpinene, and myrcene were identified from water dropwort. Yield of essential oil from water dropwort by water distillation was 0.06 g/kg. Seventeen aroma-active compounds from water dropwort essential oil were identified by GC/MS/O. α -Terpinene, (*E*)-caryophyllene, (*Z,E*)- α -farnesene, and *p*-cymene were thought to be important aroma-active compounds with high FD factors. Aroma-active compounds were changed as time elapsed. The most intense water dropwort flavor was achieved by enzyme inactivation for 5–10 min. Volatile compounds from perilla leaf were extracted by LLCE. Twenty one volatile compounds were detected by GC/MS and ten aroma-active compounds by GC/O. 1-(3-Furyl)-4-methyl-1-pentanone (perilla ketone), 1-(3-furyl)-4-methyl-3-penten-1-one (egoma ketone), and 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one, and 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one were considered characteristic aroma-active compounds of perilla leaf. Perilla ketone was the most abundant compound and egoma ketone had the highest FD factor. Other relatively intense odorants included (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, and linalool. Yields of essential oil from perilla leaf by water distillation and vacuum water distillation were 0.52 g/kg and 0.17 g/kg, respectively. Relative

peak area % of perilla ketone from essential oil were 95.65% at water distillation and 97.36% at vacuum water distillation. Perilla leaf flavor oil was produced by using corn seed oil as extraction fluid by vacuum distillation at 40°C for 40 min.

To evaluate the application of perilla leaf and water dropwort to flavoring agents, concentrates, powder, and essence were prepared. It was thought that water dropwort concentrate and perilla leaf essence, as flavoring agents, could be applied to final products such as seasoning and sauce.

Oenanthe javanica has been known as an oriental medicine for treatment of patients having hypertension in Korea. Our objective was to isolate ACE inhibitors from *Oenanthe javanica* and perilla leaf extracts and to develop a new functional food ingredient. Crude extracts of *Oenanthe javanica* and perilla leaf were obtained after disrupting the cells using a homogenizer. Crude extracts were filtered using PM-10 membrane. The membrane-filtered solution was loaded onto Sephadex G-15 column (1.8 cm x 75 cm) equilibrated with 20 mM phosphate buffer (pH 7.0). The eluate was monitored by measuring absorbance at 214 nm. Using the most ACE inhibitory fraction of gel filtration profile, reversed-phase HPLC using a C₁₈ column was performed on the condition of buffer A (0.1% trifluoroacetic acid, TFA) and buffer B (acetonitrile containing 0.1% TFA), having gradient of 0% of B to 80%. ACE activity was measured by the modified method of Cushman and Cheung. ACE inhibitors were isolated from crude extracts of *Oenanthe javanica* using membrane filtration, gel permeation chromatography, and reversed-phase HPLC. Among the six fractions of gel permeation chromatography, the sixth fraction had the highest inhibitory activity of 53%. Further purification of the fraction using reversed-phase HPLC produced an ACE inhibitor having 120 µM as IC₅₀, which was identified as a molecular mass of 181 by mass spectrometry. These results showed that crude extracts of *Oenanthe javanica* can be used as a functional food ingredient having anti-hypertensive property. Especially, it can be used as an additive in nutraceutical drink products. Using *Oenanthe javanica* and Perilla leaf crude extracts, and their 3000 and 1000 MW cut-off processing, various products such as drink products, rice cake,

caramel and candy, and noodle were prepared and their sensory evaluations were examined.

CONTENTS

Chapter 1. Outline of research	25
Section 1. Purpose of research	25
Section 2. Necessity of research	25
1. Technological aspects	25
2. Economical and industrial aspects	26
3. Social and cultural aspects	27
Section 3. Scope of research	27
Chapter 2. The present situation of technology development	29
Chapter 3. Results and discussion	37
Section 1. Development of flavoring agents from domestic water dropwort and perilla leaf	37
1. Materials and methods	37
A. Materials	37
B. Proximate analysis of water dropwort and perilla leaf	37
C. Extraction of volatile flavor compounds from water dropwort and perilla leaf	37
1) Extraction of volatile flavor compounds from water dropwort	37
A) Liquid-liquid continuous extraction	37
B) Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction	39
C) Solid phase microextraction	39
2) Extraction of volatile flavor compounds from perilla leaf	42
A) Liquid-liquid continuous extraction	42
D. Extraction of essential oil	42
E. Analysis of volatile flavor compounds from water dropwort and perilla leaf	43
1) Gas chromatography/mass spectrometry	43
2) Gas chromatography/olfactometry	43
3) Aroma extraction dilution analysis	44

F. Identification of volatile flavor compounds	44
G. Quantification of volatile flavor compounds	44
H. Extraction and analysis of flavor oil	45
1) Vacuum water distillation	45
2) Determination of experimental conditions during solid phase micro- extraction	45
3) Determination of distillation time	45
4) Determination of volume of corn seed oil	47
5) Absorption of perilla ketone onto oil by pretreatment	47
6) Gas chromatography	47
I. Changes of volatile flavor compounds in water dropwort by enzymatic reaction	48
1) Solvent extraction	48
2) Gas chromatography/mass spectrometry	48
3) Comparison of volatile flavor compounds by enzymatic reaction	49
J. Extraction of essential oils from water dropwort and perilla leaf by supercritical fluid extraction	49
1) Supercritical fluid extraction	49
2) Gas chromatography/mass spectrometry	49
2. Result and discussion	51
A. Proximate analysis of water dropwort and perilla leaf	51
B. Volatile flavor compounds from water dropwort and perilla leaf	51
1) Volatile flavor compounds from water dropwort	51
A) Liquid-liquid continuous extraction	51
B) Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction	57
C) Solid phase microextraction	59
D) Identification of aroma-active compound	59
2) Volatile flavor compounds from perilla leaf	67
A) Identification of aroma-active compound	68
C. Extraction and analysis of essential oils	78

1) Water dropwort essential oil	78
A) Volatile flavor compounds from water dropwort essential oil	78
B) Aroma-active compounds from water dropwort essential oil	78
2) Perilla leaf essential oil	79
A) Volatile flavor compounds from perilla leaf essential oil	88
B) Aroma-active compounds from perilla leaf essential oil	88
D. Flavor oil from perilla leaf	96
E. Changes of volatile flavor compounds in water dropwort by enzymatic reaction	102
F. Supercritical fluid extraction of water dropwort and perilla leaf	106
Section 2. Application of flavoring agents developed from domestic water dropwort and perilla leaf	111
1. Materials and Methods	111
A. Application of domestic water dropwort and perilla leaf to raw materials for flavoring agents	111
1) Materials	111
2) Preparation of flavor concentrates	111
3) Preparation of vacuum dried powder	111
4) Preparation of essence	111
5) Sensory evaluation	112
6) Application of flavoring agents to final products	112
7) Shelf-life and physicochemical changes	112
8) Comparison of economical efficiency	112
B. Study on preservative quality, improvement of acceptability, and processing technology of flavoring agents from water dropwort and perilla leaf	113
1) Study on optimum process via drying and extraction	113
A) Pretreatment	113
B) Vacuum drying	113
C) Spray drying	113
D) Extraction of essence	113

2) Preservative quality of flavoring agents from water dropwort and perilla leaf	114
3) Consumer test	114
4) Triangle test	114
2. Result and discussion	114
A. Preparation of flavor concentrates, powder, and essence from water dropwort and perilla leaf	114
B. Sensory evaluation of flavor concentrates, powder, and essence from water dropwort and perilla leaf	115
C. Comparison of other spices with flavor concentrates, powder, and essence from water dropwort and perilla leaf	119
D. Sensory evaluation of final products	119
E. Determination of shelf-life by accelerated experiment	127
F. Application of domestic water dropwort and perilla leaf to raw materials for flavoring agents	130
1) Application of flavor concentrates to raw materials for flavoring agents	130
2) Application of vacuum dried powder to raw materials for flavoring agents	130
3) Application of essence to raw materials for flavoring agents	131
G. Comparison of economical efficiency	131
H. Development of vacuum dried powder and essence	131
I. Physicochemical changes and shelf-life of vacuum dried powder and essence	133
1) Physicochemical changes	133
2) Sensory evaluation	133
3) Physicochemical changes during storage	134
J. Sensory evaluation and consumer test	140
1) Sensory evaluation of vacuum dried powder and essence	140
2) Sensory evaluation of products prepared with vacuum dried powder and essence	140

3) Consumer test	158
K. Extracts and manufacturing process	158
Section 3. Development of new food materials from domestic water dropwort and perilla leaf	161
1. Materials and methods	161
A. Isolation, purification, analysis, and identification of anti-hypertensive substance from water dropwort and perilla leaf	161
1) Extraction of ACE inhibitor	161
A) Extraction of ACE inhibitor from water dropwort	161
B) Extraction of ACE inhibitor from perilla leaf	161
2) Assay of ACE inhibitor activity	162
3) Purification of anti-hypertensive substance	162
A) Gel permeation chromatography	162
B) Reversed-phase high pressure liquid chromatography	163
C) Fast protein liquid chromatography	163
(1) Isolation using resource RPC column	163
(2) Isolation using ion exchange column	164
4) Mass spectrometry	164
B. Development of functional drink product and food additives containing bioactive substances isolated from water dropwort and perilla leaf	168
1) Preparation of extracts from water dropwort and perilla leaf	168
2) Assay of functionality	168
3) Development of anti-hypertensive substance containing new food materials from water dropwort and perilla leaf	168
A) Preparation of drink products	168
B) Preparation of noodle and rice cake	169
C) Preparation of caramel and candy	169
4) Application	169
2. Result and discussion	169
A. Isolation, purification, analysis, and identification of anti-hypertensive	

substance from water dropwort and perilla leaf	169
1) Isolation, purification, analysis, and identification of ACE inhibitor from water dropwort	169
2) Isolation, purification, analysis, and identification of ACE inhibitor from perilla leaf	171
B. Development of functional food materials containing extracts from water dropwort and perilla leaf	189
1) Preparation of extracts from water dropwort and perilla leaf	189
2) Development of functional drink product and food additives containing bioactive substances isolated from water dropwort and perilla leaf	189
A) Preparation of drink products	190
B) Preparation of noodle and rice cake	195
C) Preparation of caramel and candy	202
Chapter 4. Accomplishment and contribution to the related area	203
Chapter 5. Application plan	207
Chapter 6. Scientific and technological information obtained from abroad	209
Chapter 7. References	211

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	25
제 1 절 연구개발의 목적	25
제 2 절 연구개발의 필요성	25
1. 기술적 측면	25
2. 경제·산업적 측면	26
3. 사회·문화적 측면	27
제 3 절 연구개발의 범위	27
제 2 장 국내외 기술개발 현황	29
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	37
제 1 절 국내산 미나리·들깨잎으로부터 향신료 개발	37
1. 실험방법	37
가. 재료	37
나. 미나리와 들깨잎의 일반성분분석	37
다. 미나리와 들깨잎의 휘발성 향기성분 추출	37
1) 미나리의 휘발성 향기성분 추출	37
가) Liquid-liquid continuous extraction	37
나) Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction	39
다) Solid phase microextraction	39
2) 들깨잎의 휘발성 향기성분 추출	42
가) Liquid-liquid continuous extraction	42
라. Essential oil의 추출	42
마. 미나리와 들깨잎의 휘발성 향기성분 분석	43
1) Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)	43
2) Gas chromatography/olfactometry (GC/O)	43
3) Aroma extraction dilution analysis (AEDA)	44
바. 휘발성 향기성분의 동정	44
사. 휘발성 향기성분의 정량	44
아. Flavor oil의 추출 및 분석	45

1) Vacuum water distillation	45
2) Solid phase microextracton (SPME)의 실험조건의 결정	45
3) Distillation time의 결정	45
4) Corn seed oil 양의 결정	47
5) 시료 전처리에 따른 perilla ketone의 oil로의 흡착정도 비교	47
6) Gas chromatography	47
차. 효소작용에 의한 미나리 향기성분의 변화	48
1) Solvent extraction	48
2) Gas chromatography/mass spectrometry	48
3) 효소작용에 따른 휘발성 향기성분의 비교	49
차. 초임계 추출법을 이용한 미나리와 들깻잎의 정유 추출	49
1) 초임계추출	49
2) Gas chromatography/mass spectrometry	49
2. 결과 및 고찰	51
가. 미나리와 들깻잎의 일반성분	51
나. 미나리와 들깻잎의 휘발성 향기성분	51
1) 미나리의 휘발성 향기성분	51
가) Liquid-liquid continuous extraction	51
나) Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction	57
다) Solid phase microextraction	59
라) Aroma-active compound의 동정	59
2) 들깻잎의 휘발성 성분	67
가) Aroma-active compound의 동정	68
다. Essential oil의 추출 및 분석	78
1) 미나리 essential oil	78
가) 미나리의 essential oil의 휘발성 성분	78
나) 미나리 essential oil의 aroma-active compound	78
2) 들깻잎 essential oil	79
가) 들깻잎 essential oil의 휘발성 성분	88
나) 들깻잎 essential oil의 aroma-active compound	88

라. 들깨잎 flavor oil의 제조	96
마. 효소작용에 의한 미나리의 향기성분의 변화	102
바. 초임계 추출에 의한 미나리·들깨잎 정유 추출	106
제 2 절 국내산 미나리·들깨잎으로부터 개발된 향신료의 용도개발	111
1. 실험방법	111
가. 국내산 미나리 및 들깨잎의 원료화 가능성 및 활용 범위 선정	111
1) 재료	111
2) 농축액 제조	111
3) 분말 (vacuum dried powder) 제조	111
4) Essence 제조	111
5) 관능평가	112
6) 활용범위선정	112
7) Shelf-life 및 이화학적 성질 변화	112
8) 경제성비교	112
나. 개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 보존성 및 기호도 향상과 가공기술 연구	113
1) 건조 및 추출을 통한 최적 공정연구	113
가) 전처리	113
나) 진공건조	113
다) 분무건조	113
라) Essence 추출	113
2) 개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 보존성	114
3) 소비자 기호도 조사	114
4) 3점검사법	114
2. 결과 및 고찰	114
가. 국내산 미나리, 들깨잎으로부터 농축액, 분말 및 essence제조	114
나. 국내산 미나리, 들깨잎의 가공형태별 관능검사	115
다. 기존 spice와 미나리/ 들깨잎의 가공 형태별 비교	119
라. 완제품 관능검사	119
마. 가속실험을 통한 shelf-life 측정	127

바. 원료화 가능성 및 활용범위선정	130
1) 농축액의 원료화 가능성/활용범위	130
2) 농축액 분말 (vacuum dried extract powder)의 원료화 가능성/ 활용범위 · 130	
3) Essence로서의 원료화 가능성/ 활용범위	131
사. 경제성 비교	131
아. 국내산 미나리, 들깻잎 분말 향신료 및 essence 개발	131
자. 개발된 미나리, 들깻잎 분말 향신료 및 essence의 이화학적 성질 변화 및 저장성	133
1) 이화학적 성질변화	133
2) 미나리 · 들깻잎 분말 향신료 및 essence와 이를 적용한 제품의 관능평가 133	
3) 미나리 · 들깻잎 분말 향신료 및 essence와 이를 적용한 제품의 저장 중 이화학적 변화	134
차. 관능검사 및 소비자 기호도 조사	140
1) 미나리 · 들깻잎 분말 향신료 및 essence의 관능평가	140
2) 미나리 · 들깻잎 분말 향신료 및 essence를 적용한 제품의 관능평가	140
3) 소비자 기호도 평가	158
카. Extract 제품 및 생산공정	158
제 3 절 국내산 미나리 · 들깻잎으로부터 식품신소재 개발	161
1. 실험방법	161
가. 국내산 미나리 · 들깻잎으로부터 혈압조절물질 분리, 정제, 분석 및 동정 .. 161	
1) ACE 저해물질의 추출	161
가) 돌미나리로부터 ACE 저해물질 추출	161
나) 들깻잎으로부터 ACE 저해물질 추출	161
2) ACE 저해 활성 측정	162
3) 혈압조절 물질의 정제	162
가) Gel Permeation Chromatography	162
나) Reversed-phase High Pressure Liquid Chromatography	163
다) Fast protein liquid chromatography	163
(1) Resource RPC column을 이용한 분리	163
(2) Ion exchnage column을 이용한 분리	164

4) Mass spectrometry	164
나. 국내산 미나리·들깨잎으로부터 추출된 생리활성 물질 함유 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재 개발	168
1) 국내산 미나리·들깨잎의 추출물 제조	168
2) 기능성 검정	168
3) 혈압 조절관련 물질 함유 돌미나리 및 들깨잎 추출물로부터 식품신소재 개발	168
가) Drink products의 제조	168
나) 국수와 떡의 제조	169
다) 카라멜과 캔디의 제조	169
4) 원료화 가능성 및 활용범위 선정	169
2. 결과 및 고찰	169
가. 국내산 미나리·들깨잎으로부터 혈압조절물질 분리, 정제, 분석 및 동정	169
1) 돌미나리로부터 ACE 저해 물질 분리, 정제, 분석 및 동정	169
2) 들깨잎로부터 ACE 저해 물질 추출 및 분리	171
나. 돌미나리 및 들깨잎 추출물 함유 기능성 식품 소재 개발	189
1) 돌미나리 및 들깨잎 추출물 제조	189
2) 생리활성 물질 함유 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재 개발	189
가) 돌미나리 및 들깨잎 추출물 함유 기능성 음료의 제조	190
나) 돌미나리 및 들깨잎 추출물 함유 국수와 떡의 제조	195
다) 돌미나리 및 들깨잎추출물을 이용한 카라멜과 캔디의 제조	202
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	203
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	207
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	209
제 7 장 참고문헌	211

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

“국내산 미활용 미나리·들깨잎으로부터 고부가가치 상품소재화를 통한 미나리·들깨잎 재배농가의 소득증대 도모” 라는 최종목표를 추구하고자 다음과 같은 세부목적을 가지고 본과제를 수행하였다.

- 국내산 미나리·들깨잎으로부터 향신료 개발
- 개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 용도 개발
- 국내산 미나리·들깨잎으로부터 기능성물질 분리 및 식품 소재 개발

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

미나리·들깨잎은 우리 식생활에서 다량 섭취되어지는 야채로서 독특한 향미 및 약리작용으로 인해 기능성 식품소재나 향신료로 활용도가 높은 식품소재이지만, 거의 대부분 생식 또는 절임류, 나물류로 만들어져 소비되고 있다. 국내 향신료 개발에 관한 기술이 축적되어있지 않은 현실속에서 국내 향료나 spice업계는 가공식품제조에 필수적인 향신료를 대부분 수입에 의존하고 있는 실정이다. 현재 미나리과에 속하는 coriander, caraway, fennel, cumin, dill등의 잎 또는 종실의 정유성분은 현재 세계적으로 식품향신료로 널리 이용되고 있는 반면 국내산 미나리·들깨잎은 향신료로 개발될 경우 많은 용도가 예상됨에도 불구하고 아직 개발이 이루어지고 있지 않다.

최근 식품과학 진보에 따라 질병의 예방과 치료의 기능이 강조된 기능성 식품에 대한 관심이 높아지고 있으며, 식품에 함유되어 있는 각종 성분의 분석, 효능, 작용기작 등이 연구되면서 여러 성인병과 식품성분과의 관계가 밝혀지고 있고, 이를 이용한 각종 기능성 식품의 개발이 이루어지고 있다. 특히 식품성분이 가지는 생체조절기능을 밝힘으로서 식품의 기능을 새롭게 인식하려는 연구가 많이 진행되고 있다. 현대 성인병은 거의 대부분이 심장 순환기계의 질환들로 특히 고혈압은 모든

성인병, 특히 심장 순환기 계통의 근본적 원인이 되는 만성퇴행성 질환으로 알려져 있으며, 뇌졸중과 관련하여 암, 심장병과 함께 3대 사망원인 중의 하나이다. 우리나라에서는 뇌졸중이 이중에서도 사인의 제 1위를 차지하고 있으며 고혈압, 심장병, 중풍 등에 의한 성인 사망률은 약 30%에 이르고 있다. 한편 고혈압의 90%는 본태성 고혈압 (essential hypertension)으로서 그 발병원인이 정확히 밝혀져 있지 않으나 유전적인 요인과 비만, 스트레스, 흡연, 알코올, 커피 및 고식염 섭취 등의 환경적 요인에 의해 발병하는 것으로 알려져 있다. 고혈압의 치료는 약물요법과 비약물요법의 두 가지가 있으며 일반적으로 비약물요법을 권장하나 증상이 중등증 이상 일 때는 약물요법이 필수적이다. 이 때 약물요법은 혈압강하제를 사용하는 방법으로 원인치료보다는 증상요법에 치우치고 있으며 마른기침, 두통, 식욕부진, 미각 이상, 발진, 백혈구 감소 등 각종 부작용을 수반한다는 점이 제한점으로 지적되고 있어 보다 안전하고 원인치료에 가까운 고혈압치료제의 개발이 시급한 실정이다. 특히, 본태성 고혈압계 조절인자인 ACE (angiotensin converting enzyme) inhibitor의 탐색 및 항고혈압제 개발이 활발하게 연구되고 있다. 따라서, ACE inhibitory peptide 개발과 관련하여 천연자원으로부터 혈압강하 소재 등 기능성 생물소재 생산에 관한 국내 연구가 절대적으로 필요하다. 혈압강하에 관여하는 ACE inhibitor는 casein, gelatin, fish protein 등 식품소재 단백질의 가수분해로부터 많이 연구되어 왔으나 국내산 미나리 및 들깨잎 등 천연 농산자원으로부터 혈압강하제 생산에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 미나리는 예로부터 혈압을 낮추거나 혈액을 깨끗하게 하는 효능이 있어 민간요법으로도 많이 이용되어온 식품이지만, 동맥경화 억제효과에 관한 연구는 전무한 상태이다. 따라서 이의 체계적 연구가 절실히 필요하다.

2. 경제·산업적 측면

국내 향료 시장은 대부분이 식품, 의약품 등의 먹는 제품에 사용되는 조합식품향료 (compound flavor), 화장품, 세정제 등의 제품에 사용되는 조합향장향료 (compound fragrance), 식물, 동물등의 천연물에서 생산하는 원료향료물질인 천연향료, 화학반응에 의해 제조한 원료향료물질인 합성향료 등으로 크게 나누어지고 있는데 조합식품향료와 조합향장향료가 대부분의 시장을 차지하고 있는 것으로 분석되고 있다. 지난 1998년을 기준으로 약 1300억원에 이르는 향료시장을 가지고있으며 이중 55% 가량이 조합식품향료가 차지하고 있으며 35%가 조합향장향료, 나머지는

10% 정도가 천연향료와 합성향료가 시장을 차지하고 있다. 하지만 이 가운데 대부분은 외국향료가 시장을 점유하고 있으며 국내생산의 향료들은 기술적인 문제로 인해 경쟁력을 가지고 있지 못한 상태이다. 이러한 이유로 향료시장에서 경쟁력을 가지려면 기술연구와 더불어 국내고유의 향신료의 개발이 시급한 문제해결의 방안이라 생각된다. 따라서, 미나리·들깨잎의 spice화 및 페이스트, 추출물로 제품에 활용하여 생산한다면 국내최초의 spice로 식품산업에 널리 활용될 수 있고 세계화 또한 가능하리라 예측할 수 있다.

3. 사회·문화적 측면

한국토종작물을 활용한 최초의 향료 제품화로 타작물의 제품화 또한 가능할 것으로 보여지며, 대부분 서양음식에 사용되어지는 원료들은 외국에서 재배, 생산, 가공되는 것들이었으나 국내 원료를 개발 이를 사용하므로 한국적인 맛이 가미된 서양음식의 개발과 이에 따른 활용범위 또한 무궁무진하리라 생각된다. 노인인구, 성인병증가로 고혈압, 당뇨, 비만 등이 국민건강에 있어 매우 중요하게 인식되고 있으며, 생활수준 향상으로 건강관리에 대한 관심이 고조되고 있어, 생리활성 갖는 생체조절 식품소재 개발은 중요한 연구 대상이다. 현재 세계적인 추세는 예방의학적 기능 및 생체조절 갖는 기능성 식품 연구에 있으며, 고부가가치 식품소재 개발 및 성인병환자식품개발로 식품의약품 관련산업의 수출통한 산업발전에 기여할 수 있다.

제 3 절 연구개발의 범위

국내산 미나리·들깨잎으로부터 향신료를 개발하기 위하여 국내산 미나리·들깨잎으로부터 휘발성 향기성분을 추출, 분석하고 gas chromatography/olfactometry법을 이용하여 aroma-active compounds를 동정하였다. 또한 국내산 미나리·들깨잎으로부터 증류법(상압, 감압) 및 초임계추출법을 이용하여 정유를 추출하였다.

개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 용도를 개발하기 위하여 국내산 미나리·들깨잎으로부터 농축액, 분말 및 essence를 제조하고 이를 완제품에 적용하여, 원료화가능성 및 활용범위를 설정하였으며, 농축액, 분말 및 essence 및 적용완제품

의 저장중 이화학적 성질 변화 및 저장성을 연구하였다. 또한 개발된 원료 및 완제품의 만족도 조사 및 소비자 기호도 조사를 실시하였다.

국내산 미나리·들깨잎으로부터 식품신소재를 개발하기 위하여 국내산 미나리·들깨잎으로부터 혈압조절물질을 추출하고 분리공정을 확립하였으며, 혈압조절물질을 정제하여 구조분석 및 동정을 실시하였다. 또한 국내산 미나리·들깨잎으로부터 추출된 생리활성 물질이 함유된 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재를 개발하였다.

제 2 장 국내 외 기술개발 현황

국내에서 소비되는 농산물 중 과 미나리와 들깻잎은 가장 대표적인 향채라 할 수 있다. 미나리는 독특한 향기로 인하여 강회, 나물, 생채, 생선찌개 등의 요리에 널리 이용되고 있으며 미나리과에 속하는 coriander, caraway, dill 등의 잎의 정유성분은 세계적으로도 널리 이용되고 있다 (Huopalathi and Linko, 1983; Kastingm et al. 1972). 들깻잎의 경우 아미노산, 비타민, 미네랄이 다량 함유되어 건강식품으로 이용되고 특유의 향기가 생선 및 육류의 비린내를 제거한다 하여 국내에서 신선채소로 생식하는 소비경향이 증가되고 있다 (정 등, 1995).

최 등 (1996)은 냉이의 정유추출시 15 % NaCl 용액 사용할 때 정유회수율이 가장 높다고 확인하였다. 박 등 (1997)은 신선초의 식용부위별 휘발성 성분에 관한 연구에서 γ -terpinene 과 germacrene B이 가장 많은 함량을 나타냈으며 terpene 류의 화합물과 (Z)-3-hexenol등이 많은 함량을 나타낸다고 보고하였다. 김 등³⁾은 온주밀감의 껍질로부터 정유성분을 분석하여 limonene이 가장 많은 함량을 보인다고 보고하였다. 이 등 (1999)은 참기름의 휘발성 향기성분을 분석한 결과 Maillard 반응에 의해 생성된 pyrazine 류가 참기름의 향기에 영향을 미친다고 보고하였다.

녹황색채소인 미나리는 미나리과에 속하는 다년생 초본으로서 길이는 30 cm 정도이며 밑에서 가지가 갈라져 옆으로 퍼진다. 학명은 *Oenanthe javanica* DC이며 7~8월에 흰꽃이 피고 열매는 작은 타원형으로 맺는다 (이, 1983). 미나리는 습지나 물가에서 자라며 생활 폐수가 유입되는 곳에서도 잘 자라서 소규모의 정화시설에 사용하거나 하는 보고가 있으며 또한 중금속 흡수에 대한 연구도 이루어져 있는 환경 친화성 작물로서 (박 등, 1990), 인체의 해독 기능에 도움을 주며 장기 섭취하면 건강 유지와 건강 증진에 좋고, 한방요법으로 지혈, 강장, 정력보강, 보혈, 이뇨, 주독, 폐렴, 황달이나 복수, 그 밖의 급·만성 간염 및 간경련 등에 많이 사용된다. 그 외에도 혈압강하, 해열, 진정, 변비예방, 일사병, 월경불순, 홍역, 설사, 하혈, 신경쇠약, 치질 등에 효과가 있다. 또한 미나리 잎은 류마티스를 치료하고 혈액을 보호하며 정신을 맑게 하고 여성의 대하에도 유효하다. 그리고 잎의 정유성분은 입맛을 돋워줄 뿐만 아니라 몸을 따뜻하게 해주는 보온작용과 함께 몸 속의 찬 기운을 내보내는 작용을 한다. 특히 돌미나리의 경우는 암에도 이용되고 있으며 돌미나리로부터의 추출물인 아플라톡신 B₁과 4-NQO와 같은 발암제에 의한 돌연변이 유발에서 아

주 유의하게 항돌연변이 효과를 나타냄이 보고되었다. 또한 박 등 (1996)은 돌미나리로부터의 추출물이 강한 항돌연변이 효과 및 위암세포의 성장을 크게 억제하였음을 보고한 바 있다.

미나리의 일반성분 중 조단백질은 잎이 2.85%, 줄기가 0.77%이고, 조지질은 잎이 0.42%, 줄기가 0.09%이다. 단백질 분획 중 가장 많이 함유된 것은 잎, 줄기 공통으로 albumin이고, 그 다음이 globulin, prolamin, glutelin 순이다. 총 아미노산은 잎의 경우 함량이 많은 아미노산은 aspartic acid, glutamic acid, leucine, lysine으로 이들 4종의 아미노산이 총 아미노산의 40.88%를 차지하며, 그 다음이 valine, cystine, cysteine, alanine, phenylalanine, isoleucine, arginine, tyrosine, histidine, threonine, methionine, serine 순이고 tryptophan은 함량이 적다. 줄기의 경우, 함량이 많은 아미노산은 alanine, threonine, aspartic acid, valine, glutamic acid로 이들 5종의 아미노산이 총 아미노산의 55.41%를 차지하며, 그 다음이 cystine, cysteine, leucine, isoleucine, phenylalanine, tyrosine, lysine, methionine, histidine, serine 순이고, glycine, tryptophan은 함량이 적다. 특히 돌미나리는 단백질, 지방, 당질, 섬유질, 비타민A, B₁, B₂, C, 칼슘, 철분 등의 영양소가 다량 함유되어 있는 알칼리성 식품으로서 비타민 B군과 A, C, 그리고 여러 가지 미네랄은 간에서 알코올대사를 돕는 영양소로서 숙취해소를 도우며, 결핍되기 쉬운 영양을 보충해준다. 돌미나리에 다량 함유된 칼슘은 체내의 과다한 수분과 혈액속의 노폐물이 신속하게 배설되도록 하여 건강에 좋다. 칼슘은 체내에서 나트륨의 작용을 견제하여, 수분과 노폐물이 소변으로 잘 배설되도록 하면서 혈압이 정상화되고 신장에 무리가 오지 않도록 해준다.

또한 미나리의 휘발성 성분에 대한 연구도 이루어 졌는데 이 등 (1995)은 추출방법, 부위별 및 열 처리에 의해 미나리의 휘발성성분을 분석한 결과 수증기 증류법에 의해 추출 시 가장 많은 종류의 휘발성 성분이 확인되었으며 휘발성 성분의 함량이 줄기보다 잎에서의 함량이 더 높았다고 보고하였다. 송과 권 (1990)은 미나리의 휘발성 성분을 분석하였는데 63가지의 성분이 확인되었고 limonene (12.12%), pulegone (9.28%), germacrene D (8.34%)등으로 미나리의 주된 휘발성 성분이라 보고하였다.

들깨는 1년생 초본으로 한문으로는 백소, 소마, 소자라고도 하며, 학명이 *Perilla frutescens* Britton으로 주로 착유하여 조미료로 사용되며 잎은 생으로 식용

하는 외에 장아찌나 밥에 찌서 밑반찬으로 이용하고 있다. 식용유지 자원으로서 뿐만 아니라 최근에는 건강식품으로서 그 가치가 높아지고 있는데 동의보감에 보면 들깻잎은 속을 고르게 하고 취기를 없애 상기해수(上氣咳嗽)를 치료하고 벌레 물린데, 또는 종기에도 찌어서 붙인다 하였다. 그 외에 혈관의 노화방지, 강당, 피부 미용 등에 효과가 있다고 하여 권장되고 있는 식품중의 하나이다. 들깻잎은 쇠고기에 적은 칼슘 등 무기질이 많고 비타민A와C가 많아 비타민과 칼슘의 좋은 공급원이며 녹색을 띠는 엽록소를 가지고 있다. 이 엽록소는 직접적인 영양소는 아니나 세포 부활작용, 지혈작용, 강심 말초혈관 확장작용, 상처치유 촉진작용, 항알레르기 작용등 특별한 생리작용을 가지고 있어 관심을 모으고 있다. 들깻잎의 정유성분인 1-perillaldehyde와 1-limonene의 독특한 냄새가 육류와 생선의 비릿한 냄새나 느끼한 맛을 없애준다고 알려져 있다. 또한 비타민A, C뿐만 아니라 K, Ca, Mg와 같은 무기물과 lysine, linolenic acid 등이 풍부하게 포함된 것으로 알려져 있다. 들깻잎에는 고기에 함량이 낮은 칼슘등의 무기질이 많고 비타민 A와 C가 많을 뿐 아니라 쇠고기에 많은 포화지방산과 콜레스테롤을 제거하는 효과를 나타내어 순환기계 질병을 예방해 주는 효과가 뛰어나다. 특히 들깻잎은 여러 녹황색 채소류 중에서 강한 항돌연변이 효과 및 사람의 위암세포 등에서도 암 세포 성장 억제 효과를 나타내었는데 메탄올 추출물에서 분리 동정된 phytol이 항돌연변이 물질로서 그 효과가 지대함이 밝혀졌다. 들깻잎은 주로 일본과 우리나라에서 식용하며 그 밖의 다른 나라에서는 식용으로 잘 이용하지 않는다. 들깻잎은 중국에서 처음으로 재배되기 시작하여 인도, 중국, 일본 그 밖의 동남아 지역에서 재배되었으며, 최근에는 소련, 미국, 남아프리카, 이집트 등지에서도 재배되고 우리나라에서는 통일 신라 때부터 재배해 왔다고 한다. 현재는 전국적으로 경작되고 있으며 신선한 채소로서 들깻잎 생산량은 얼마인지 정확히 알 수는 없으나 연간 생산량은 약 일천만 kg으로 추정된다. 들깻잎에는 anthocyanins, flavones 및 flavone glycosides와 같은 안토시아닌계 색소가 많이 함유되어 있어 일본에서는 식용착색료로 이용되고 있으며 (Tamura 등, 1989) 들깻잎에서 추출된 essential oil은 구강탈취제로 쓰인다 (채 등, 1988). 들깻잎의 연구는 국내에서도 최근 활발하게 진행되고 있는데 정 등 (1998)은 들깻잎 함유 자색색소를 검정하여 3-O-(6-O-cis-p-coumaryl)-β-D-glucopyranoside-5-O-β-D-glucopyranoside-5-O-(6-O-malonyl)-β-D-glucopyranoside을 포함한 6종의 안토시아닌을 분리하여 그 화학적 구조를 분광학적 방법으로 확인하였다. 또한 들깻잎의 휘발

성 성분을 분석하여 perilla ketone임을 확인하였고 광질에 따라 들깨잎의 휘발성 성분의 변화를 밝혀냈다. 들깨잎의 휘발성분의 관한 연구에서는 장 등 (1998)과 김 등 (1999)은 들깨잎의 가장 주된 휘발성 성분을 perilla ketone(87.4%)이라고 보고하였다.

이처럼 미나리와 들깨잎에 관한 연구는 활발하게 이루어져 있고 또한 휘발성 성분에 대한 연구도 많이 보고되고 있으나 미나리의 aroma-active compound에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이러한 aroma-active compound 동정은 기기적인 분석방법과 관능적인 분석방법이 혼합된 gas chromatography/olfactometry (GC/O)를 이용하여 분석할 수 있다 (백, 2000).

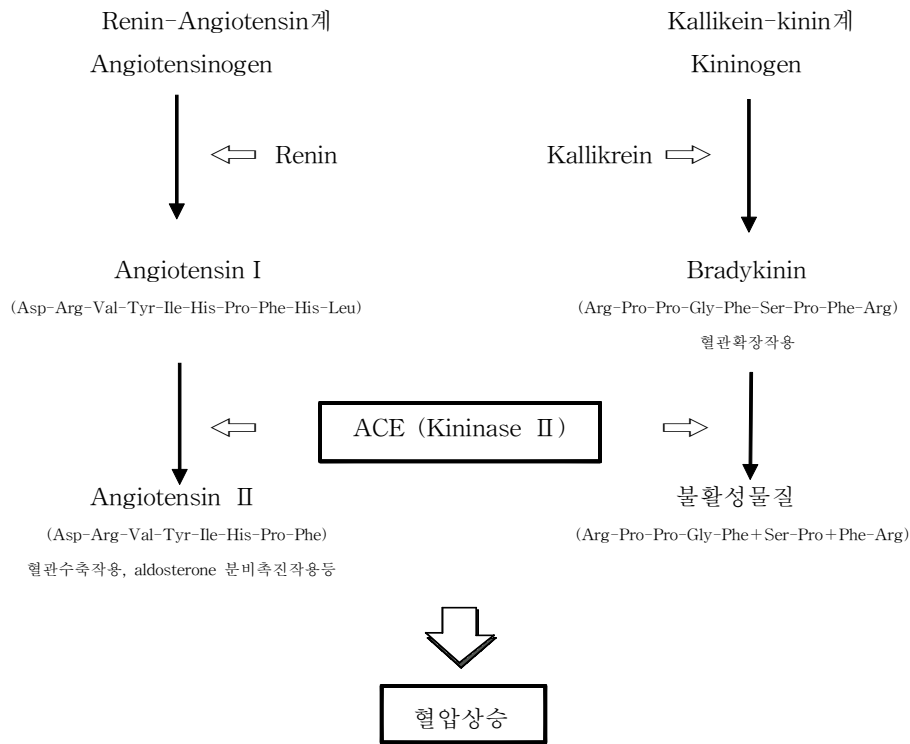
체내에 고혈압 발생원인은 여러 가지이며, 그중 압-Na이뇨 관계 (pressure-vastruresis)에 변화를 초래하는 기작에서 renin-angiotensin system의 활성도가 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다. 특히 angiotensin converting enzyme(ACE : peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1)는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I의 C-말단에서부터 dipeptide(His-leu)를 절단함으로써 강력한 혈관 수축작용을 갖는 octapeptide인 angiotensin II로 전환시키는 작용을 하는 효소이다. angiotensin II의 증가는 강한 혈압상승작용과 동시에 adrenal cortex에서 항이뇨 호르몬인 aldosterone의 분비를 촉진하여 물과 sodium의 배설을 억제하여 순환 혈액량을 증가시킴으로서 고혈압을 일으키는 원인이 된다. ACE는 또한 혈관 이완작용을 하는 nonapeptide인 bradykinin을 분해하여 불활성화 시킴으로써 결과적으로 혈압상승을 유발시키는 역할을 한다.

ACE는 pancreatic carboxypeptidase와 같이 zinc를 갖는 metalloprotein이며 효소상에 Zn^{2+} 를 함유하는 부위, 수소결합을 하는 H^+ 부위(carboxypeptidases는 비극성의 pocket형입) 및 양전하를 가지는 부위의 3군데 활성부위로 구성되어 있는 것으로 추정되고 있다. ACE의 기질인 angiotensin I과 경쟁적 inhibitor가 되기 위해서는 N말단에 amide 결합의 carbonyl group이 zinc이온과 결합할 수 있어야 하고 C말단에는 proline과 같은 방향족 아미노산으로 구성된 일정한 길이의 peptide가 제시되고 있다. 또한 Ondetti등은 N말단 부위의 carboxy group을 -SH로 치환할 경우에는 강력한 ACE 저해능을 나타냄을 확인한 바 있으며 이 물질이 바로 Captopril(2-D-mercaptopropanoyl-L-proline)이다.

따라서 ACE 저해물질은 ACE의 작용을 억제함으로써 혈관 수축을 막고 체

내 수분 저류를 막아 혈압강하효과를 나타낼 수 있으므로 ACE 저해 peptide의 탐색은 혈압상승억제 기능을 가진 새로운 물질의 개발이라는 면에서 중요한 의미를 가지고 있다.

ACE 저해 peptide는 snake venom으로부터 처음 발견되었고 이를 Model로 하여 합성한 captopril이 현재 고혈압 치료제로 사용되고 있으며, 또한 gelatin의 가수분해물로부터 ACE 저해 peptide가 발견됨에 따라 각종 단백질의 효소에 의한 가수분해물로부터 ACE 저해 peptide의 연구가 활발히 진행되고 있다. 지금까지의 ACE 저해 peptide에 대한 연구는 주로 식품에서 직접 용매 추출 및 column chromatography에 의해 정제하거나 pepsin, trypsin등의 단백질 분해효소로 분해한 후 정제하여 특성을 파악하는 방법으로 진행되어왔고 단백질과 같은 water-soluble substance는 물로 추출하는 것이 가장 ACE저해효과가 큰 것으로 나타났다.



Mechanism of ACE

ACE는 혈압상승 물질인 angiotensin II의 생성 및 혈압강하물질인 bradykinin의 분해를 촉매 하는 효소로서 이 효소에 대한 저해물질은 혈압강하작용을 나타내는데, ACE억제제는 지난 10여 년간 고혈압 치료에 획기적인 전기를 마련해 준 약물로서 치료에도 확고한 위치를 차지하게 되었으며 현재 임상적인 수요는 계속적으로 증가하고 있다. ACE억제제는 renin-angiotensin-aldosterone 경로를 차단하여 혈중 angiotensin II의 농도를 감소시키며 혈관확장작용이 증대되고 고혈압 및 심장기능부전에서 널리 이용되는 효과적인 약물로서 ACE억제제 개발은 미국 Squibb회사의 Cushman등에 의해서 최초로 시도되었는데 많은 종류의 di- 또는 tripeptide유도체를 합성하였다. 한편 ACE 작용 활성검색은 동물의 고혈압상태를 이용하는 ACE억제작용 검색법과 ACE와 특수 기질을 이용하는 in vitro 실험법이 다각적으로 개발되었고, 그 후 여러 연구팀들이 ACE억제제를 개발하고자 다양한 구조의 유도체들을 합성하였는데 대부분이 억제작용 검색을 rabbit lung acetone powder로부터 ACE를 추출하고 hippurylhistidyl-leucine(HHL)을 기질로 하여 반응결과 생기는 hippuric acid를 분석하여 ACE작용 억제 정도를 비교하는 방법을 주로 이용하고 있다.

또한 ACE억제제 개발은 주로 합성법으로 시도되어 왔으나 최근에 와서는 천연물에서 유래하는 ACE억제제 개발에 관한 연구가 대부분을 차지하고 있다. 현재 상업적으로는 1970년대 개발된 ACE억제제들이 심장질환 특히 고혈압 치료제로 널리 쓰여지고 있으며, 사용이 허가된 ACE억제제로는 captopril과 enalapril 및 lysinopril이 있으며 심혈관계 질환치료약이 세계의 전체 의약품 매출의 21%를 차지하고, 고혈압치료제로 ACE저해제인 Merck사의 Enalapril의 두 심혈관계약물은 단일 품목으로만 20억 달러 이상의 매출을 이루고 있다. 식품단백질의 가수분해로부터 얻어지는 기능성 펩타이드는 구조적, 기능적, 생리적 해석에 관련한 많은 논란에도 불구하고 성인병 발생의 증가에 따른 건강 지향적인 사회적 추세에 발맞추어 많은 연구가 진행되어 왔고 또한 많은 기능성 펩타이드들이 개발되어 왔으며 특히, 고혈압을 일으키는 ACE의 작용을 억제하여 혈압강하효과를 나타내는 ACE 저해물질은 뱀독으로부터 처음 분리되어 보고된 이래, milk protein인 casein의 trypsin hydrolysates로부터 ACE inhibitory peptide, 정어리의 pepsin, trypsin, α -chymotrypsin가수분해물로부터 ACE inhibitory peptide, 참치의 산 추출물로부터 ACE inhibitory peptide, 가다랭이의 효소 가수분해물로부터 ACE inhibitory peptide

분리, 옥수수 단백질인 α -zein의 thermolysin 가수분해물로부터 ACE inhibitory peptide 분리, collagen 또는 gelatin의 효소 가수분해물로부터 ACE inhibitory peptide, 무화과나무 수액으로부터 ACE inhibitory peptide 등 다양한 사례들이 보고되었다. 국내의 연구사례로는 egg albumin, casein 및 탈지대두박의 효소 가수분해물로부터 ACE inhibitory peptide, 참치통조림 제조공정의 자숙액으로부터 ACE inhibitory peptide, 미강 단백질 ACE inhibitory peptide, 된장으로부터 ACE inhibitory peptide, 오징어 단백질, 대두 가수분해물, 자리돔 근육 단백질로부터 ACE inhibitory peptide 등이 있다.

최근 생체조절기능 소재의 수요가 급증함에 따라서 생체조절기능 소재 개발에 관한 많은 연구들이 국내에서도 활발하게 추진되고 있지만, 생체조절기능 소재의 분리·정제 및 과학적 규명과 상품화보다는 단순한 효능확인에 그치는 실정과 국내에서의 신기능성 peptide의 탐색수준은 어느 정도 수준에 도달되어 있으나 아직 이들을 이용한 제품생산 기술 등 경제적이고 현실적인 측면에서의 연구가 미진한 점을 미루어볼 때 신기능성 생물소재 개발과 제품화는 기술적으로 단백질공학, 생물공학, 분자생물학 등 생물공학기술을 접목한 복합적 지식과 기술이 종합적으로 관련되어 이들 기술들의 축적이 선행되어야 하며, 또한 생물자원으로부터 분리·정제된 신기능 생물소재의 구조적, 기능적 특성과 더불어 생체조절기능을 검증하는 기술의 확립이 요구된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 국내산 미나리·들깨잎으로부터 향신료 개발

1. 실험방법

가. 재료

본 실험에 사용한 미나리는 경기도 부천에서 재배된 미나리를, 들깨잎은 충남 추부에서 재배된 들깨잎을 농수산도매시장에서 구입하여 실험에 사용하였다. 미나리와 들깨잎은 실험에 사용되기 전 까지 냉장상태로 보관하였다.

나. 미나리와 들깨잎의 일반성분분석

미나리와 들깨잎의 조단백, 조지방, 조회분은 각각 AOAC법 (AOAC, 1996)에 준하여 정량하였고, 수분은 infrared moisture determination balance (Kett. FD-230, Tokyo, Japan)를 이용하여 정량 하였으며 식염은 Mohr법에 의한 염소 (Cl) 정량법 (주 등, 1994)을 이용하여 정량하였다.

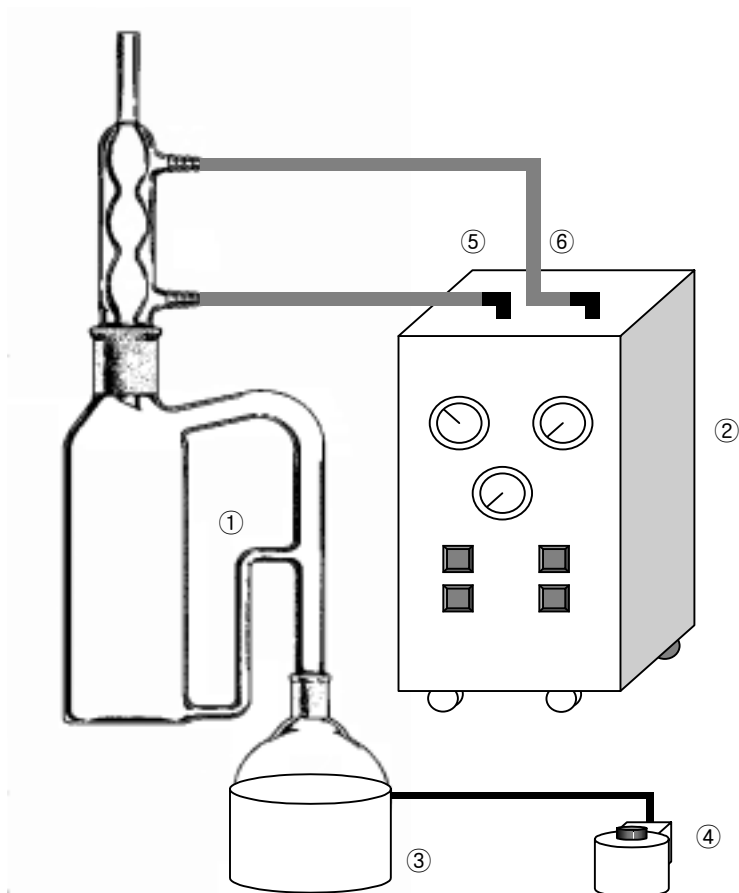
다. 미나리와 들깨잎의 휘발성 향기성분 추출

1) 미나리의 휘발성 향기성분 추출

추출방법에 따른 미나리의 향기성분을 알아보기 위해 liquid-liquid continuous extraction, vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction 및 solid phase microextraction을 이용하여 향기성분을 추출하였다.

가) Liquid-liquid continuous extraction (LLCE)

미나리의 휘발성 향기성분 추출은 가열에 의한 artifact의 생성을 최소화하기 위하여 liquid-liquid continuous extraction을 이용하였다 (Figure 1). 미나리 500 g을 수세 후 500 mL의 deodorized distilled water를 넣고 mixer를 이용하여 마쇄하



- | | |
|------------------|-----------------------------|
| ① LLCE apparatus | ④ transformer |
| ② aspirator | ⑤ circular pump valve (in) |
| ③ heating mantle | ⑥ circular pump valve (out) |

Figure 1. Schematic diagram of the liquid-liquid continuous extraction (LLCE) apparatus.

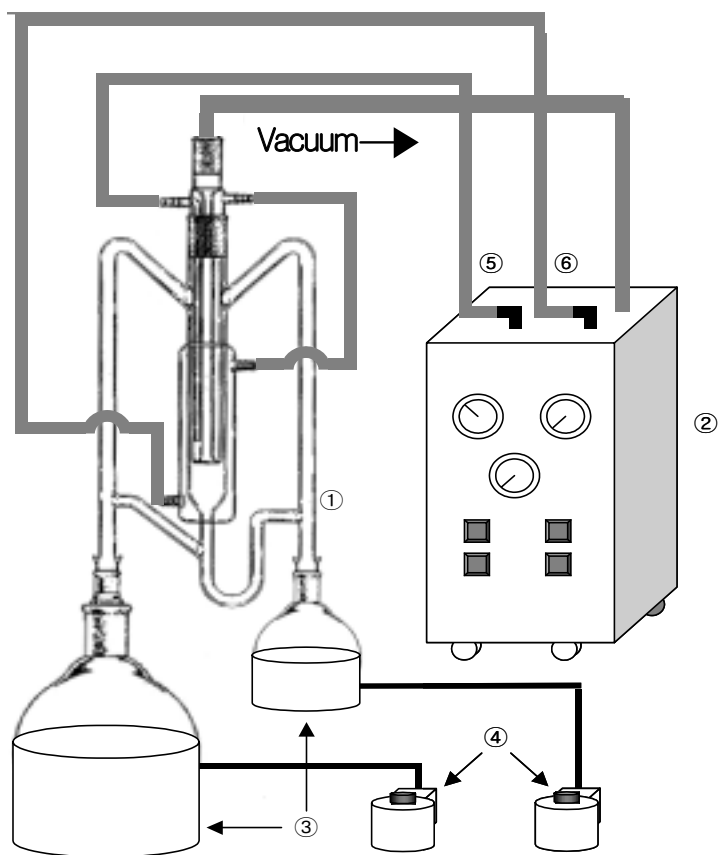
여 시료로 사용하였다. 또한 미나리 향을 최대한 발현시키기 위해 10분 후에 100 mL의 saturated CaCl_2 (Solubility : 74.5 g/100 g water, 25°C)을 첨가하여 효소작용을 억제한 후 착즙하였다 (Shure 와 Acree, 1994; Schreier 등, 1976). 착즙한 시료액과 내부표준물질로써 3-heptanol 194 μg (Baek 과 Cadwallader, 1999)을 liquid-liquid continuous extraction apparatus (1 L, cat. no. LG-6996-100, Lab Glass, Vineland, NJ, USA) 에 넣고 225 mL의 dichloromethane을 추출용매로 사용하여 상온에서 12시간동안 추출하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다. 추출액은 -20°C 냉동고에서 12시간 냉동 후 용매층을 3 g의 anhydrous sodium sulfate에 통과시켜 수분을 제거하였다. 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 200 μL 까지 농축한 뒤 GC/O 및 GC/MS의 분석시료로 이용하였다.

나) Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction (V-SDE)

Distillation 시 가열에 의한 artifact의 생성을 최소화하기 위해 vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction (V-SDE)을 이용하였다 (Figure 2). 미나리 1 kg을 수세 후 500 mL deodorized distilled water를 넣고 mixer를 이용하여 마쇄하여 시료로 사용하였다. 마쇄한 시료 1 kg을 5L round bottom flask에 넣고 내부표준물질로써 3-heptanol 38.88 μg 을 더하였다. 그리고 추출용매로 dichloromethane 200 mL을 250 mL round bottom flask에 넣었다. 시료 flask를 가열하기 전에 30분 동안 미리 진공을 걸어주어 평형상태에 도달하게 한 후 시료 flask와 용매 flask를 가열하여 $55\sim 60^\circ\text{C}$ 에서 물이 시료 flask로 넘어가는 시간을 기준으로 2시간 동안 추출하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다. 추출이 끝나면 추출용매를 분리하고 -20°C 냉동고에서 12시간 냉동 후 용매층을 3 g의 anhydrous sodium sulfate에 통과시켜 수분을 제거하였다. 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 200 μL 까지 농축한 뒤 GC/O 및 GC/MS의 분석시료로 이용하였다.

다) Solid phase microextraction (SPME)

SPME apparatus (Supelco co. Bellefonte, PA, USA)는 SPME fiber와 SPME holder로 구성되어 있으며 100 μm polydimethylsiloxane (PDMS)으로 coating된 fiber를 이용하였다 (Figure 3). 미나리 250 g에 deodorized distilled water 100 mL을 넣고 마쇄한 후 500 mL headspace flask에 넣고 teflon cap으로 밀



- ① Simultaneous distillation and solvent extraction apparatus
- ② Circular pump
- ③ Heating mantle
- ④ Controller
- ⑤ Circular pump valve (in)
- ⑥ Circular pump valve (out)

Figure 2. Schematic diagram of the vacuum simultaneous distillation and solvent extraction (V-SDE) apparatus.

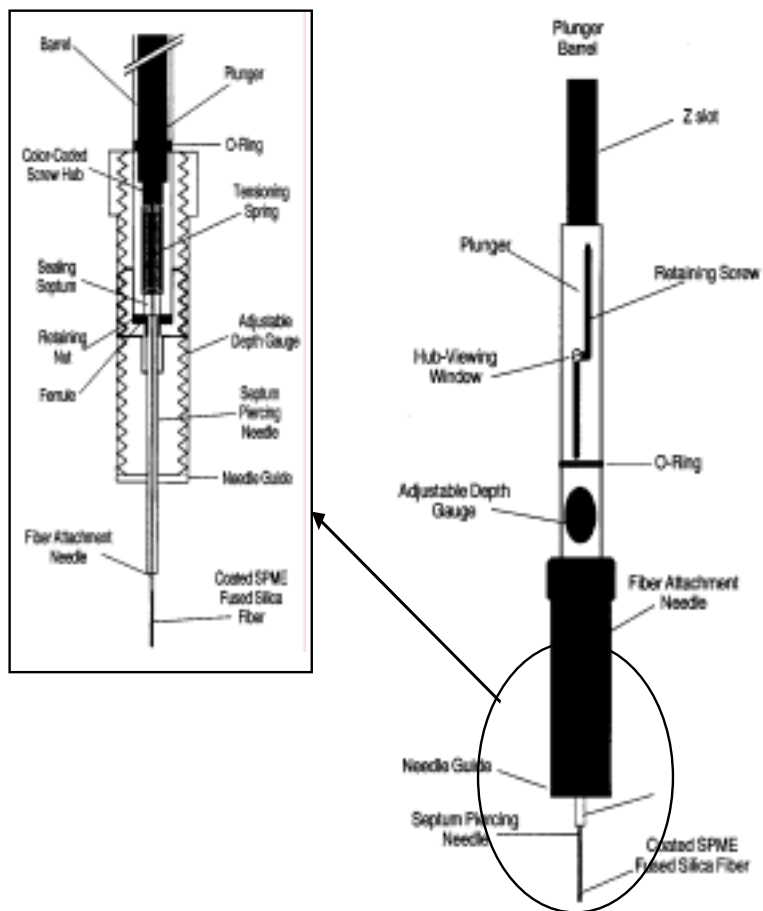


Figure 3. Schematic diagram of the solid phase microextraction apparatus.

봉하였다. 40°C에서 40 min간 방치하여 평형상태에 도달시켰다 (Pawliszyn, 1997). 평형상태에 도달한 sample에 SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30 min 동안 향을 추출하였다. GC injection을 위해 200°C injector port에서 fiber를 노출시켜 1 min동안 탈착시켰다. GC/O 및 GC/MS로 휘발성 향기성분을 분리하고 동정하였다.

2) 들깨잎의 휘발성 향기성분 추출

가) Liquid-liquid continuous extraction(LLCE)

들깨잎의 휘발성 향기성분의 추출은 가열에 의한 artifact의 생성을 최소화하기 위하여 liquid-liquid continuous extraction을 이용하였다. 들깨잎 500 g을 수세 후 500 mL의 deodorized distilled water를 넣고 mixer를 이용하여 마쇄하여 시료로 사용하였다. 또한 들깨잎 향의 변화를 최소화하기 위해 10분 후에 100 mL의 saturated CaCl_2 (Solubility : 74.5 g/100 g water, 25°C)을 첨가하여 효소작용을 억제한 후 착즙하였다. 착즙한 시료액과 내부표준물질로써 3-heptanol 194 μg 을 liquid-liquid continuous extraction apparatus (1 L, cat. no. LG-6996-100, Lab Glass, Vineland, NJ, USA) 에 넣고 225 mL의 dichloromethane을 추출용매로 사용하여 상온에서 12시간동안 추출하였다. 추출은 duplicate로 실시하였다. 추출액은 -20°C 냉동고에서 12시간 냉동 후 용매층을 3 g의 anhydrous sodium sulfate에 통과시켜 수분을 제거하였다. 수분이 제거된 추출액은 질소 gas를 이용하여 200 μL 까지 농축한 뒤 GC/O 및 GC/MS의 분석시료로 이용하였다.

라. Essential oil의 추출

들깨잎 300 g과 미나리 1 kg에 deodorized distilled water 500 mL을 넣고 마쇄한 후 5L round bottom flask에 넣고 각각 상압과 감압 (10^{-2} torr)하에서 1시간 동안 증류시킨 후 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 essential oil을 얻었다. 각각의 essential oil의 무게를 측정하여 시료 1 kg당 얻어지는 essential oil의 양을 계산하였고 각각의 essential oil을 GC/O 및 GC/MS의 분석시료로 사용하였다. 실험은 duplicate로 실시하였다.

마. 미나리와 들깻잎의 휘발성 향기성분 분석

1) Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

LLCE로 추출한 들깻잎과 미나리의 휘발성 향기성분 동정은 Hewlett-Packard 5890 Series II GC/ Hewlett-Packard 5972 mass selective detector (MSD) (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. Column은 DB-5ms (30 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)과 DB-WAX column을 사용하였고, oven 온도는 40°C 에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5 °C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C이었으며 carrier gas로는 helium을 사용하였고 유속은 0.8 mL/min 였다. Ionization voltage는 70 eV 그리고 분석할 분자량의 범위 (m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다. 미나리를 V-SDE 및 SPME를 이용하여 추출한 시료와 미나리와 들깻잎 essential oil의 휘발성 향기성분 동정은 Hewlett-Packard 6890N GC/Hewlett-Packard 5973 network mass selective detector (MSD) (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. Column은 DB-5ms (30 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)을 사용하였고, oven 온도는 40°C 에서 5분간 유지한 후 200°C까지 2°C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C였으며 carrier gas로는 helium을 사용하였고 유속은 0.8 mL/min 였다. Ionization voltage는 70 eV 그리고 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33~350으로 하여 분석하였다. Essential oil을 100배 희석한 후 1 μ L를 취하여 GC에 주입하였고 V-SDE의 경우 추출원액 1 μ L를 사용하였다. GC/MS 분석은 duplicate로 하였다.

2) Gas chromatography/olfactometry (GC/O)

GC/O는 Varian 3350 (Varian instrument Group, Walnut Creek, CA, USA)을 사용하였다. Detector는 FID (Flame ionization detector)를 사용하였고 column으로부터 분지시켜 nose cone을 이용하여 sniffing을 실시하였다. Column은 DB-5ms (30 m length * 0.25 mm i.d. * 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA)와 DB-WAX column을 사용하였다. Temperature program은 40°C에서

5분간 유지한 후 200℃까지 8℃/min 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200℃, Detector 온도는 250℃였으며 carrier gas로는 helium을 사용하였고 유속은 1.7 mL/min 였다. 시료는 1 µL를 취하여 GC에 주입하였다.

3) Aroma extraction dilution analysis (AEDA)

시료의 향기성분 중 향의 상대적인 강도를 확인하기 위해 실시하였다. 추출한 농축액 50 µL와 dichloromethane 100 µL을 섞어 3배수로 희석하여 GC에 1µL를 injection 시킨 후 sniffing port에서 감지되는 향기성분의 retention time을 기록하였고, 위의 과정을 냄새가 나지 않을 때까지 행하였고 flavor dilution chromatogram을 그려서 각 시료의 중요한 향기성분 (aroma-active compound)를 분석하였다. SPME의 경우 PDMS가 100, 30, 7 µm로 코팅된 SPME fiber의 노출길이를 각각 1, 0.75, 0.5, 0.25 cm로 달리하여 AEDA를 실시하였으며 상대적인 향의 강도를 odor spectrum value (OSV)로 나타내었다 (Deiber 등, 1999)

바. 휘발성 향기성분의 동정

휘발성 향기성분의 동정은 retention indices (RI) (van den Dool 과 Kratz, 1963)와 Wiley/7n mass spectral database (Hewlett- Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다 (positive identification). 또한 GC/O 상에서 향기 성분이 감지된 부분과 retention index를 비교하였고, 두 가지의 column을 사용하여 비교분석을 실시하였고 문헌상의 retention index와 spectrum을 비교하여 향기성분을 확인하였다.

사. 휘발성 향기성분의 정량

미나리와 들깨잎을 다양한 추출법을 이용하여 추출 후 GC/MS를 통하여 확인된 휘발성 향기성분의 농도는 추출 시 내부 표준물질로 사용한 3-heptanol의 peak area와 동정된 휘발성 향기성분의 peak area의 peak area ratio로 다음 식에 의해 정량하였다. 이때 peak area ratio와 amount ratio의 상관계수는 1 이라고 가정하였다.

$$\text{농도(ppm)} = \frac{\text{peak area ratio} \times \mu\text{g of 3-heptanol}}{\text{g of sample}}$$

아. Flavor oil의 추출 및 분석

들깨잎을 이용한 향신료로서 수율이 적은 essential oil 보다 다루기 쉬운 oil type의 flavor oil을 제조하기 위해 시중에 유통되고 있는 식용유 중 향의 강도가 적은 corn seed oil (Sindongbang Co., Korea)을 선택하여 들깨잎의 향기성분을 포집하는 material로 사용하였다. Corn seed oil은 solid phase microextraction (SPME)를 이용하여 휘발성 향기성분을 확인 결과 휘발성 향기성분을 발견할 수 없어 선정하였다. 또한 flavor oil의 추출조건을 최적화하기 위해 SPME를 이용하여 추출조건을 설정하였다.

1) Vacuum water distillation

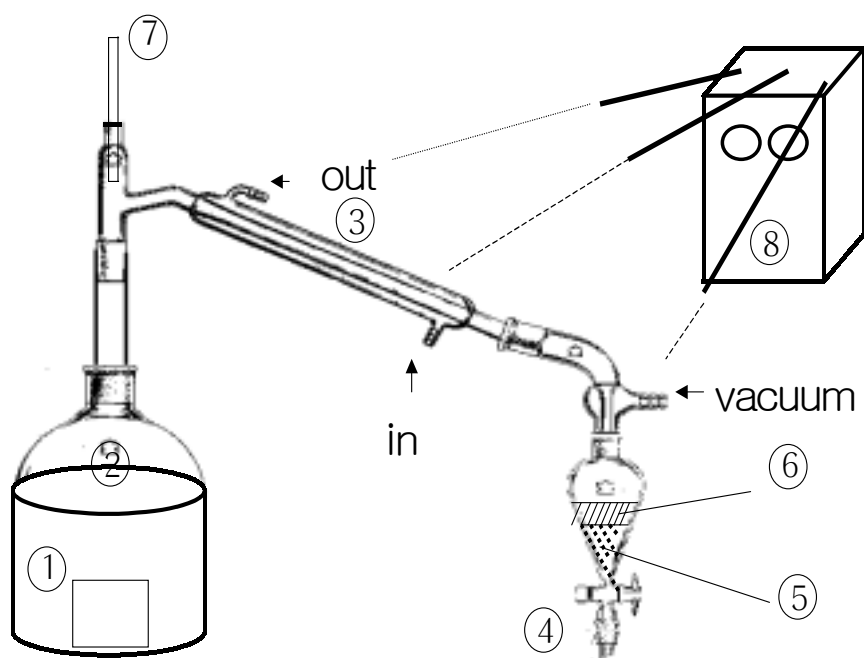
시료를 수세 후 300 g 취하고 1 L deodorized distilled water와 함께 mixer로 분쇄하였다. 마쇄한 들깨잎을 40°C 감압하에서 (10^{-2} torr) 4시간 동안 증류하였다 (Figure 4). 동시에 증류액은 separatory funnel에서 40mL corn seed oil을 통과하게 하여 향을 흡착시켰다. Vacuum distillation 시 distillation time과 corn seed oil 사용량의 최적화를 위해 solid phase microextraction (SPME)을 이용하였다.

2) Solid phase microextracton (SPME)의 실험조건의 결정

SPME apparatus (Supelco co. Bellefonte, PA, USA)는 SPME fiber와 SPME holder로 구성되어 있으며 100 μ m polydimethylsiloxane (PDMS)으로 coating된 fiber를 이용하였다. 향이 흡착된 corn seed oil 2 mL을 취하여 4 mL vial에 넣고 밀봉한 후 열에 의한 향의 변성을 막기 위해 증류온도와 같은 조건인 40°C에서 40 min간 방치하여 평형상태에 도달시켰다. 평형상태에 도달한 sample에 SPME fiber를 1cm 노출시켜 10min, 20min, 30min, 40min 동안 향을 추출하였다. GC injection을 위해 200°C injector port에서 fiber를 노출시켜 1 min동안 탈착시켰다. 들깨잎의 특징적인 향기성분인 perilla ketone의 peak area를 비교하여 추출시간을 결정하였다.

3) Distillation time의 결정

수세한 들깨잎 300g과 1 L deodorized distilled water를 mixer로 마쇄한 후 5 L round bottom flask에 넣고 10^{-2} torr, 40°C에서 40mL corn seed oil을 사용하여



- ① heating mantle ② round bottom flask ③ cylinder
 ④ separatory funnel ⑤ aqueous phase ⑥ oil phase
 ⑦ thermometer ⑧ aspirator

Figure 4. Schematic diagram of the vacuum water distillation apparatus.

vacuum distillation을 실시하였다. 증류가 시작된 후 1시간 간격으로 corn seed oil를 2 mL 취하고, SPME를 이용하여 perilla ketone의 peak area를 비교하여 distillation time을 결정하였다.

4) Corn seed oil 양의 결정

5, 10, 20, 30, 40 mL corn seed oil을 각각 사용하여 위와 동일 조건에서 4 시간동안 vacuum distillation을 실시하였다. Distillation 실시한 후 corn seed oil 2 mL을 취하고, SPME를 이용하여 perilla ketone의 peak area를 비교하여 corn seed oil의 양을 결정하였다.

5) 시료 전처리에 따른 perilla ketone의 oil로의 흡착정도 비교

시료를 수세 후 300 g을 취하고 1 L deodorized distilled water와 함께 mixer로 분쇄하였다. Flavor oil 추출 시 들깨잎의 characteristic aroma-active compound인 perilla ketone의 시료 전처리에 따른 추출효율의 차이를 알아보기 위해 포화 sodium chloride 용액과 1 M ethanol 용액으로 들깨잎을 마쇄하여 증류하였고, cellulase인 celluclast 1.5L FG (Novo Nordisk Korea Ltd.)을 사용하여 기질에 대한 효소의 양을 1%로 하고 40°C에서 3시간동안 효소 반응을 실시한 후 증류하였다. 각각의 시료를 40°C 10⁻² torr하에서 4시간 동안 증류하였다. 동시에 증류액은 separatory funnel에서 5 mL corn seed oil을 통과하게 하여 향을 흡착시켰다. 위에서 얻어진 flavor oil 중 2 mL과 aqueous phase 중 2 mL을 취하여 solid phase microextraction (SPME)을 이용하여 GC로 분석하였다. Flavor oil 2 mL과 aqueous phase 2 mL을 각각 4 mL의 amber vial에 넣고 teflon-faced septa로 밀봉한 후 증류온도와 같은 조건인 40°C에서 40분간 방치하여 평형상태에 도달시켰다. 평형상태에 도달한 sample에 SPME fiber를 1 cm 노출시켜 30분 동안 향을 흡착하였다. GC injection을 위해 200°C injector port에서 fiber를 노출시켜 1분동안 탈착시켰다. 들깨잎의 중요한 characteristic aroma-active compound인 perilla ketone의 peak area를 비교하여 추출효율을 구하였으며, 실험은 duplicate로 실시하였다.

6) Gas chromatography(GC)

GC는 Varian 3350 (Varian instrument Group, Walnut Creek, CA, USA)을

사용하였으며 detector는 FID (Flame ionization detector)를 사용하였다. Column은 DB-5ms (30 m length * 0.25 mm i. d. * 0.25 µm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA)를 사용하였다. Temperature program은 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 8°C/min 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C이며 carrier gas로는 helium을 사용하였고 유속은 1.7 mL/min 였다.

자. 효소작용에 의한 미나리 향기성분의 변화

1) Solvent extraction

효소작용에 의한 미나리 향기성분의 변화를 알아보기 위해 solvent extraction을 이용하였다. 미나리와 deodorized distilled water를 1:1로 첨가하여 마쇄 후 착즙하여 0min, 5min, 10min, 15min, 30min, 1hr 간격으로 착즙액 30 mL과 효소 작용을 억제하기 위한 saturated CaCl₂ (Solubility : 74.5 g/100 g water, 25°C) 3 mL, 내부표준물질로써 3-heptanol 9.72 µg과 dichloromethane 5mL을 50 mL test tube에 첨가하여 상온에서 3시간동안 shaker에서 200 rpm으로 교반하여 추출한 후 앞에서 언급한 방법과 동일하게 수분을 제거하고 100 µL까지 농축하여 분석시료로 사용하였다.

2) Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

미나리의 효소작용에 의한 휘발성 향기성분의 변화를 알아보기 위해 Hewlett-Packard 5890 Series II GC/Hewlett-Packard 5972 mass selective detector (MSD) (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며 column은 DB-5ms (30 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)와 DB-WAX를 사용하였다. Oven 온도는 40°C 에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5°C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C이었으며 carrier gas는 helium을 유속은 0.8 mL/min로 사용하였다. Ionization voltage는 70 eV, 분석할 분자량의 범위(m/z)는 33 ~500로 하여 분석하였다. GC/MS분석은 duplicate로 하였다.

3) 효소작용에 따른 휘발성 향기성분의 비교

미나리의 효소작용에 의한 향의 변화는 내부 표준물질로 사용한 3-heptanol의 peak area와 동정된 휘발성 향기성분의 peak area의 peak area ratio로 나타내어 양을 비교하였다.

차. 초임계 추출법을 이용한 미나리와 들깨잎의 정유 추출

1) 초임계추출

미나리와 들깨잎을 잘게 세절한 후 400 g을 1 L의 추출조에 채우고 초임계 추출장치 (Figure 5)를 이용하여 추출하였다. 추출된 향기성분을 포집하기 위해 dichloromethane 60 mL을 sampling tube에 넣고 얼음으로 cold trapping을 행하였다. 초임계 추출시간을 설정하기 위해 미나리와 들깨잎 400 g에 대해 300 atm, 40°C에서 시간별로 추출 후 포집된 용매를 채취하여 정량을 위해 사용한 gas chromatography/mass spectrometry의 분석시료로 사용하였다. 또한 추출시 압력과 온도조건의 설정을 위해 각각의 시료를 200 atm과 300 atm의 압력조건과 40°C와 50°C의 온도조건에서 추출을 실시하여 향기성분을 포집한 용매를 GC/MS의 분석시료로 사용하였다.

2) Gas chromatography/mass spectrometry

초임계추출장치로 추출한 들깨잎과 미나리의 휘발성 향기성분 동정은 Hewlett-Packard 6890N GC/Hewlett-Packard 5973 network mass selective detector (MSD) (Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. Column은 DB-5ms (60 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m film thickness : J & W Scientific, Folsom, CA, USA)을 사용하였고, oven 온도는 40°C에서 5분간 유지한 후 200°C까지 5 °C/min의 속도로 승온시켜 20분간 유지하였다. Injector 온도는 200°C, detector 온도는 250°C이었으며 carrier gas로는 helium을 사용하였고 유속은 0.8 mL/min 였다. Ionization voltage는 70 eV 그리고 분석할 분자량의 범위 (m/z)는 33~500으로 하여 분석하였다. 각각의 조건에서 추출한 추출액 1 μ L를 취하여 GC에 주입하여 들깨잎의 경우 total peak area와 들깨잎의 특징적인 향기성분인 perilla ketone의 peak area를 비교하였고 미나리의 경우 total peak area과 미나리의

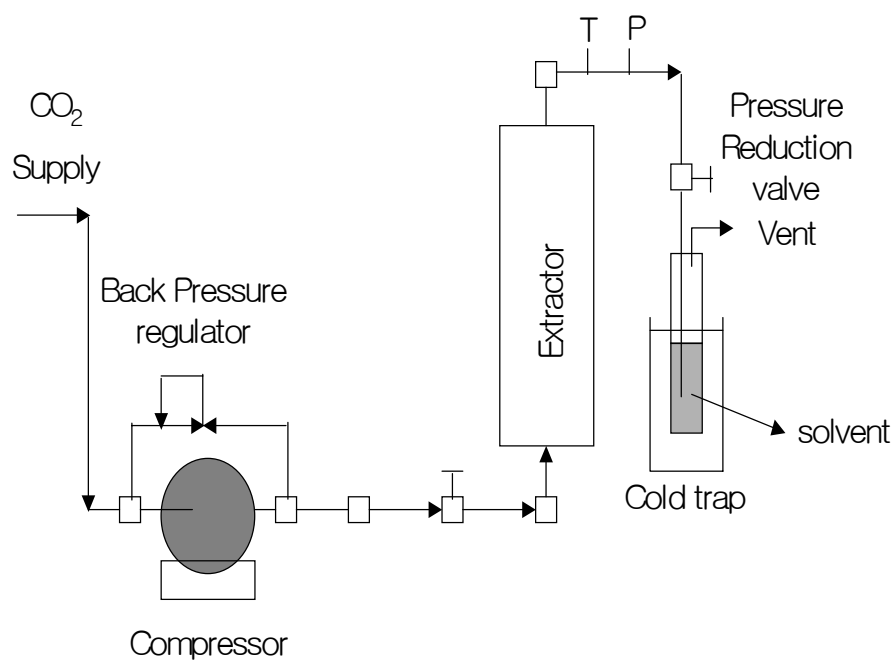


Figure 5. Schematic diagram of supercritical fluid extractor.

특징적인 냄새성분인 *p*-cymene과 휘발성분 중 함량이 높은 *r*-terpinene, limonene의 peak area를 비교하여 초임계추출조건의 최적화를 결정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 미나리와 들깨잎의 일반성분

미나리의 일반성분 조성은 Table 1에 나타내었다. 수분 95.2%, 조단백 1.2%, 조지방 0.24%, 회분 0.8%, 탄수화물 2.56% 이었다. 이 수치는 문 등 (1990)이 국내 미나리의 성분을 분석한 결과인 수분 92.78%, 단백질 1.81%, 지방 0.26%, 탄수화물 4.46%, 회분 0.69%와 차이가 나타나지 않았다.

들깨잎의 일반성분 조성은 Table 2에 나타내었다. 수분 88.2%, 조단백 3.3%, 조지방 0.6%, 회분 1.9% 탄수화물 6.0% 이었는데, 이 수치는 농촌생활연구소의 식품성분표(1996)에 나타나 있는 국내 들깨잎 일반성분 조성인 수분 87.6%, 단백질 3.9%, 지방 0.5%, 탄수화물 4.2%, 회분 1.6%와 차이가 나타나지 않았다.

나. 미나리와 들깨잎의 휘발성 향기성분

1) 미나리의 휘발성 향기성분

미나리의 휘발성 향기성분을 liquid-liquid continuous extraction, vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction, solid phase microextraction 및 water distillation을 사용하여 추출하고 GC/MS로 및 GC/O로 분석하였다.

가) Liquid-liquid continuous extraction(LLCE)

Liquid-liquid continuous extraction법으로 미나리의 휘발성 성분을 추출하고 GC/MS로 동정한 결과 33개의 휘발 성분이 확인되었다 (Table 3). Total ion chromatogram은 Figure 6에 나타냈다. 미나리의 휘발성 성분을 작용기별로 보면 alcohol류가 (Z)-3-hexenol을 포함하여 7종, aldehyde류가 (E)-2-hexenal을 포함하여 4종, hydrocarbon류가 limonene을 포함하여 19종, ether류가 2종, ester류가 1종이었다. 이 중 (E)-2-hexenal, β -pinene, limonene, ν -terpinene과 β -caryophyllene등이 각각 1 ppm 이상으로 높은 함량을 보였다. 그 외 (Z)-3-hexenal, (Z)-3-hexenol, α

Table 1. Proximate composition of water dropwort

Composition ^a	Amount(%) ^b
Moisture	95.2
Crude protein	1.2
Crude lipid	0.24
Carbohydrate	2.56
Ash	0.8

^a wet weight basis ^b values are means of duplicate measurements.

Table 2. Proximate composition of perilla leaf

Composition ^a	Amount(%) ^b
Moisture	88.2
Crude protein	3.3
Crude lipid	0.6
Carbohydrate	6.0
Ash	1.9

^a wet weight basis ^b values are means of duplicate measurements.

Table 3. Volatile compounds identified from water dropwort according to several extraction methods

No ^a	Compound name	RI ^b	Concentration(ppm)		
			LLCE	V-SDE	SPME
1	(Z)-2-pentenol	746	0.038	0.017	
2	hexanal	802		0.014	
3	(Z)-3-hexenal	806	0.968	0.065	
4	2-hexenal	867	4.714	0.173	
5	(Z)-3-hexenol	875	2.729	6.071	0.032
6	(E)-2-hexenol	879	0.058	0.565	0.010
7	1-hexenol	881	0.113	0.130	
I.S ^c	3-heptanol	903	-	-	-
8	(E,E)-2,4-hexadienal	915	0.246	0.055	
9	α -pinene	932	1.686	0.859	1.487
10	camphene	944		0.015	
11	2-heptanol	965		0.010	
12	β -pinene	975	4.427	2.730	4.957
13	β -myrcene	995	0.375	1.177	2.028
14	<i>l</i> -phellandrene	1003		0.077	0.172
15	octanal	1010		0.029	
16	α -terpinene	1015		0.024	0.086
17	<i>p</i> -cymene	1029	2.136	1.859	1.436
18	<i>l</i> -limonene	1031	7.768	0.886	3.194
19	(Z)- β -ocimene	1043	0.350		0.218
20	phenylacetadehyde	1051	0.092	0.160	
21	(E)- β -ocimene	1059	0.246		
22	γ -terpinene	1093	6.100	1.324	3.500
23	α -terpinolene	1095		4.543	10.702
24	linalool	1102	0.100	0.039	
25	1,3,8- <i>p</i> -menthatriene	1110		0.089	0.071
26	limonene oxide	1138	0.107	0.019	0.025
27	epoxyterpine	1147		0.221	0.039

Table 3. Continued

No ^a	Compound name	RI ^b	Concentration		
			LLCE	V-SDE	SPME
28	methyl phenylacetate	1148		0.029	
29	2,6-nonadienal	1157		0.014	0.016
30	(E)-2-nonenal	1164		0.021	0.039
31	4-terpineol	1178		0.042	
32	1-(4-methylphenyl)-ethanone	1190		0.285	
33	<i>p</i> -cymen-8-ol	1199		0.729	
34	(E)-carveol	1218	0.054		
35	carvacrol methyl ether	1229	0.159		0.017
36	thymyl methyl ether	1233	0.134		0.024
37	bornyl acetate	1283	0.067	0.054	0.015
38	bicycloelemene	1345			0.415
39	α -copaene	1368	0.254	0.113	0.839
40	β -elemene	1388	0.242	0.104	
41	(E)-caryophyllene	1412	1.406	0.399	2.772
42	α -humulene	1446	0.446	0.328	
43	(E)- β -farnesene	1456		0.328	1.720
44	germancrene-D	1475	0.613	0.328	1.603
45	(Z,E)- α -farnesene	1494	0.755	0.208	0.913
46	(E,E)- α -farnesene	1507	0.688	0.081	0.569
47	δ -cadinene	1519	0.851	0.162	1.229
48	germancrene-B	1548	0.442		
49	nerolidol	1568	0.246	0.291	
50	1-hexadecane	1589		0.075	
51	neophytadiene	1836	3.046	0.259	0.984

^a : Numbers correspond to those in Tables 4 ~ 6 and Figures 6 ~ 11.

^b : Retention indices were determined using C₇~C₂₂ as external reference.

^c : Internal standard.

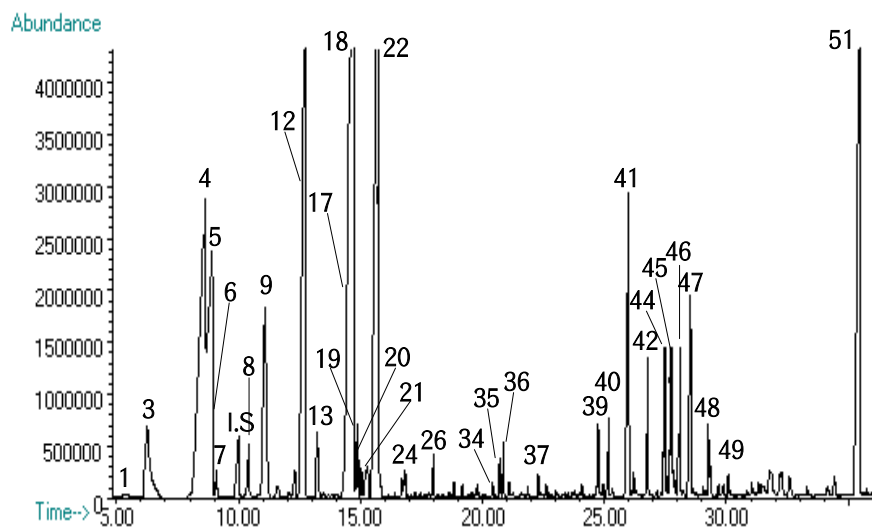


Figure 6. Total ion chromatogram of volatile compounds from water dropwort by LLCE (column DB-5ms).

-pinene, *p*-cymene, α -humulene, germanene-D, (Z,E)- α -farnesene, (E,E)- α -farnesene, δ -cadinene, germanene-B 및 neophytadiene 등이 높은 함량으로 미나리의 휘발성 향기성분을 이루고 있었다. 이 등 (1995)은 미나리의 향기성분에 관한 연구에서 용매추출시 limonene, ν -terpinene 및 α -pinene 등의 정유성분들이 높은 함량을 차지한다는 보고하였다. 이러한 휘발성 향기성분 중 (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenal 및 (Z)-3-hexenol 등은 기존의 미나리 휘발성 향기성분 연구에서는 보고가 되지 않은 성분들로 주로 풀 냄새에 기여하며 식물체의 세포벽을 구성하는 linoleic acid 및 linolenic acid로부터 lipoxygenase에 작용으로 인해 생성되는 성분으로 알려져 있으며 또한 어유에서는 off-flavor에 영향을 미치는 성분으로 알려져 있다 (Hsieh 등, 1989) 또한 *p*-cymene 역시 terpene 계통의 화합물 중 기존의 연구에서는 보고되어지지 않은 물질이다. 그 외 대부분의 성분들은 terpene 계통의 화합물로 미나리를 비롯한 많은 식물체의 정유성분에서 발견되는 화합물들이다.

나) Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction (V-SDE)

Vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction법에 의해 추출된 미나리의 휘발 성분은 44개가 동정되었으며 (Table 3) total ion chromatogram은 Figure 7에 나타냈다. LLCE로 추출한 결과와 비교해 보면 V-SDE에 의해 보다 많은 휘발성분이 추출되었고 중요한 대부분의 휘발 성분은 약간의 차이를 제외하고는 동일하였다. V-SDE에 의해 동정된 미나리의 휘발성분을 작용기별로 살펴보면 alcohol류가 9종, aldehyde류가 7종, hydrocarbon류가 24종, ester 2종, ether 2종이었다. 이 중 (Z)-3-hexenal, β -pinene, *p*-cymene, ν -terpinene과 α -terpinolene이 높은 함량을 나타내었다. V-SDE에서는 LLCE보다 limonene, ν -terpinene이 감소된 반면 α -terpinolene의 함량은 크게 높아 졌음을 알 수 있었다. 송 등 (1990)은 증류법으로 추출한 미나리의 향기성분은 limonene, germanene-D, β -pinene, (E)- β -caryophyllene 및 α -terpinolene 등이 주된 휘발 성분이라고 보고하였는데 본 연구에서도 비슷한 경향을 나타내었다. 이 밖에 여러 가지 정유 성분들이 보다 많이 확인되었는데 이는 distillation에 의한 방법이 terpene 계통의 화합물을 추출하는데 보다 효과적인 방법이기 때문이라 생각된다.

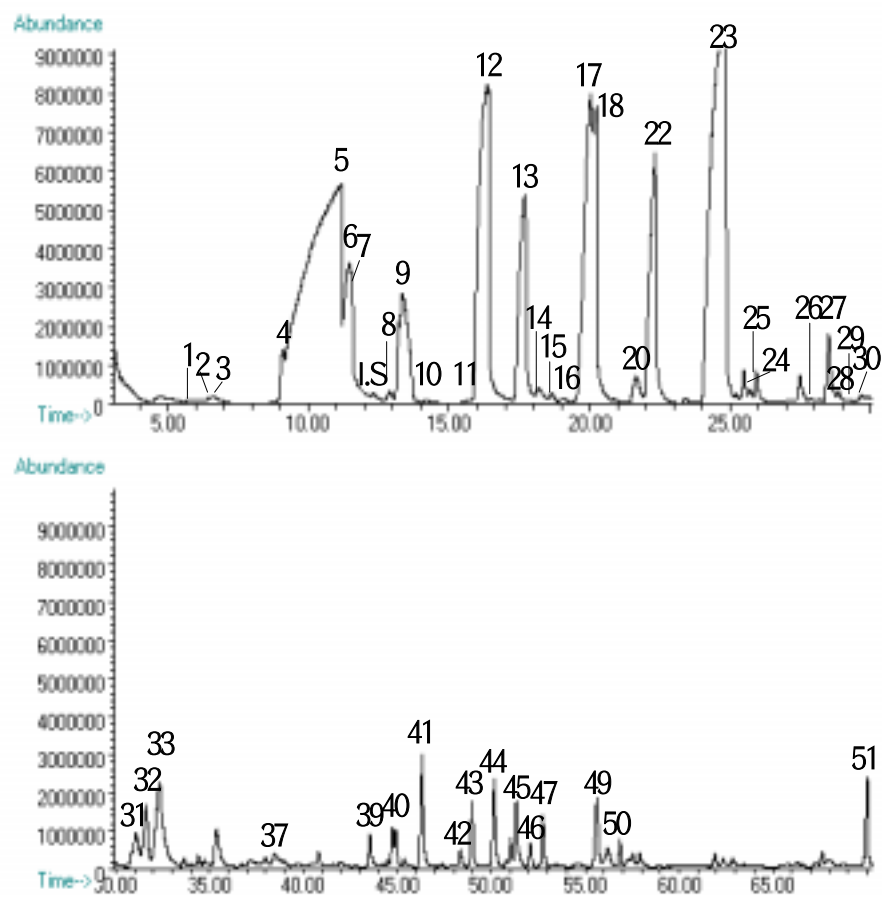


Figure 7. Total ion chromatogram of volatile compounds from water dropwort by V-SDE (column DB-5ms).

다) Solid phase microextraction (SPME)

Solid phase microextraction법에 의해서는 미나리로부터 29개의 휘발 성분이 확인되었다 (Table 3). Total ion chromatogram은 Figure 8에 나타냈다. SPME로 추출한 휘발성분을 작용기별로 살펴보면 alcohol류가 2종, aldehyde류가 2종, hydrocarbon류가 22종, ester류가 1종, ether류가 2종이었다. 이 중 β -pinene, β -myrcene, *p*-cymene, limonene, ν -terpinene, α -terpinolene 및 (E)- β -caryophyllene 등이 높은 함량을 나타내었다. SPME로 추출한 경우 α -terpinolene의 함량이 다른 추출방법 보다 많은 양을 나타냈으며 alcohol류나 aldehyde류는 이에 비해 양이 적었다.

라) Aroma-active compound의 동정

미나리 향에 중요한 역할을 하는 aroma-active compound를 동정하기 위해 GC/O를 행하였고, aroma-active compound의 상대적 강도를 해 aroma extract dilution analysis (AEDA)를 행하여 flavor dilution chromatogram과 odor spectrum (Grosch, 1993)을 그렸다. 추출방법에 따른 aroma-active compound는 각각 Table 4~6에 나타내었으며 LLCE와 V-SDE에 의한 FD chromatogram의 결과는 Figure 9와 10에, SPME에 의한 odor spectrum은 Figure 11에 나타내었다. LLCE에서 확인된 aroma-active compound는 11종이 감지되었으며 이 중 풀 냄새를 가진 (Z)-3-hexenal (no. 3)이 가장 큰 \log_3 FD 값을 나타내었다. 이 다음으로 citrus 계열의 향을 가지는 limonene (no. 18)이 큰 \log_3 FD 값을 가지고 있었다. 이밖에 (E)-2-hexenal (no. 4, green, cucumber), α -pinene (no. 9, plastic, cucumber), β -pinene (no. 12, plastic), β -myrcene (no. 13, green), ν -terpinene (no. 22, citrus)등이 큰 \log_3 FD 값을 나타내었다. 그러나 미나리의 독특한 향기성분인 *p*-cymene은 확인되지 못하였다. V-SDE에서 확인된 aroma-active compound는 21종이 감지되었는데 가장 큰 \log_3 FD 값을 가지는 물질은 plastic, cucumber 냄새를 가지는 α -terpinolene (no. 23)으로 확인되었다. 그 다음으로는 풀냄새를 가지는 (E)-2-hexenal과 citrus 계열의 향을 가지는 ν -terpinene이 확인되었다. 이밖에 hexanal, *p*-cymene, phenylacetadehyde, bornyl acetate가 높은 \log_3 FD 값을 가지는 물질로 확인되었는데 이 중 *p*-cymene의 경우 미나리 향과 동일한 향기특성을 가지는 화합물로 확인되었다.

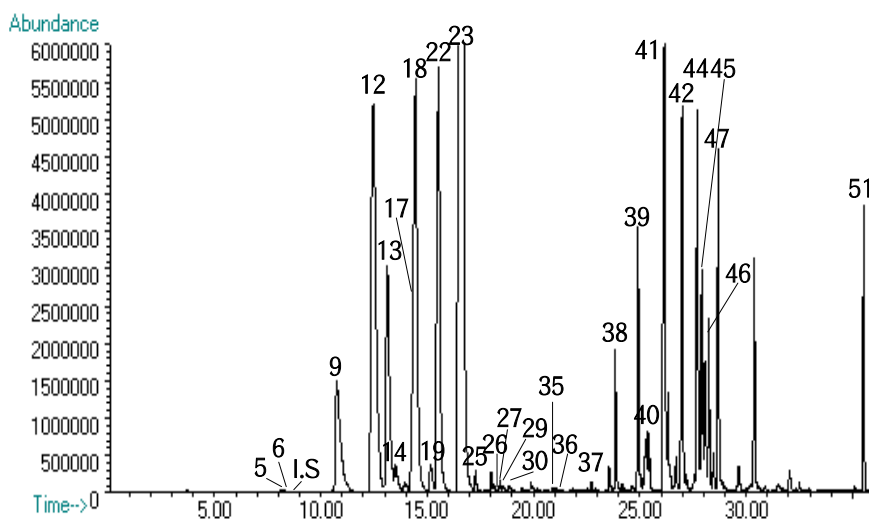


Figure 8. Total ion chromatogram of volatile compounds from water dropwort by SPME (column DB-5ms).

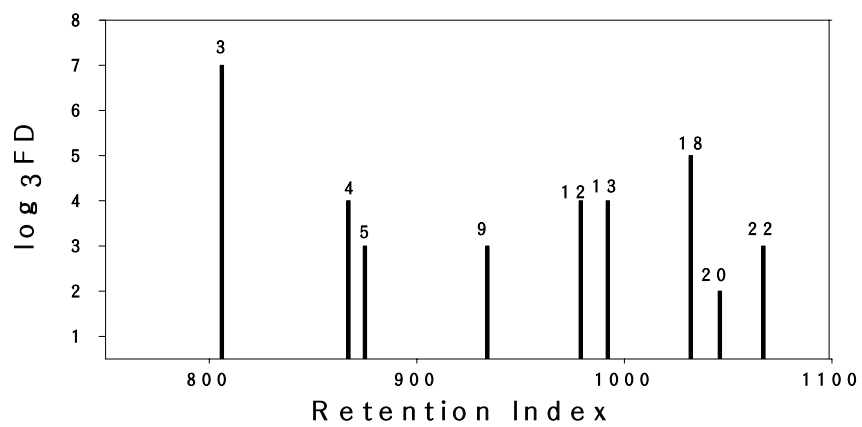


Figure 9. Flavor dilution chromatogram of volatiles isolated from water dropwort by LLCE.

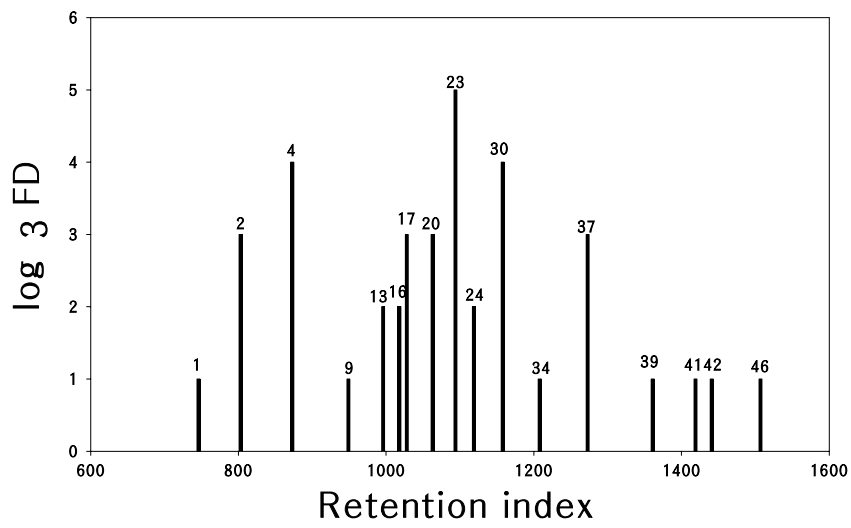


Figure 10. Flavor dilution chromatogram of volatiles isolated from water dropwort by V-SDE.

Table 4. Aroma-active compounds from water dropwort by LLCE

No	Compound name	RI	Aroma description
3	(Z)-3-hexenal	806	green
4	(E)-2-hexenal	867	green + cucumber
5	(Z)-3-hexenol	875	green
8	(E,E)-2,4-hexadienal	915	green, flowery
9	α -pinene	934	plastic + cucumber
12	β -pinene	979	plastic
13	myrcene	992	green
18	limonene	1032	orange
20	phenylacetaldehyde	1046	honeysuckle
22	γ -terpinene	1067	citrus
26	(E)-limonene oxide	1139	lemon

Table 5. Aroma-active compounds from water dropwort by V-SDE

No	RI	Compound name	Aroma description
1	746	(Z)-2-penten-1-ol	plastic
2	803	hexanal	herb
4	873	(E)-2-hexenal	cutted green
5	896	(Z)-3-hexenol	herb
8	921	2,4-hexadienal	herb
9	949	α -pinene	pine
13	996	β -myrcene	pine, metallic
16	1018	α -terpinene	lemon
17	1028	<i>p</i> -cymene	dropwort
20	1063	phenylacetaldehyde	horny
22	1067	γ -terpinene	lemon
23	1094	α -terpinolene	plastic, cucumber
24	1119	linalool	lemon
30	1158	(E)-2-nonenal	cucumber
33	1208	<i>p</i> -cymen-8-ol	cucumber+plastic
37	1273	bornyl acetate	boiled green
39	1361	α -copaene	woody
41	1419	(E)-caryophyllene	woody
42	1441	α -humulene	woody
46	1507	(E,E)- α -farnesene	woody

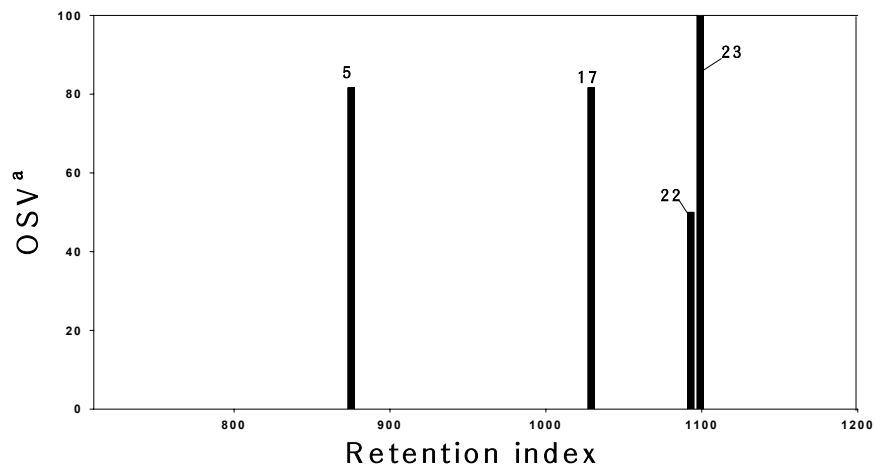


Figure 11. Odor spectrum of volatiles isolated from water dropwort by SPME.

^a Odor spectrum value = (Potency / Max potency)^{0.5} × 100²⁹⁾

Table 6. Aroma-active compounds from water dropwort by SPME

No	RI	Compound name	Aroma description
5	875	(Z)-3-hexanol	cutted green
17	1029	<i>p</i> -cymene	dropwort
22	1093	γ -terpinene	dropwort+citrus
23	1095	α -terpinolene	plastic, cucumber

SPME로 추출 후 GC/O로 분석한 결과 4종의 aroma-active compound가 확인되었다. 여기서 각각의 향기 성분이 노출 면적에 따라 얼마나 회석되었는지를 계산하고 이를 odor spectrum value로 환산하여 odor spectrum을 나타냈다 (Acree, 1997). 이 중 α -terpinolene이 가장 큰 odor spectrum 값을 나타내었고 미나리의 특징적인 향기성분인 *p*-cymene도 높은 값을 나타내었다. 이 외 풀냄새를 나타내는 (Z)-3-hexenol, citrus류의 향을 가지는 ν -terpinene이 확인되었다. 위의 결과를 비교하여 볼 때 aroma-active compound의 경우 추출방법에 따라 약간의 차이는 있었으나 대부분이 유사하였으며 이러한 결과로 미나리 향에 중요한 역할을 하는 aroma-active compound는 (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenol, *p*-cymene, limonene, ν -terpinene 및 α -terpinolene 등이었으며 특히 이 중 *p*-cymene이 미나리의 독특한 향기성분임을 알 수 있었다.

2) 들깨잎의 휘발성 성분

Liquid-liquid continuous extraction을 이용하여 들깨잎의 휘발성 향기성분을 추출하고 gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)로 동정·정량한 결과 21개의 휘발 성분이 동정되었다 (Figure 12 와 Table 7). 휘발 성분을 작용기 별로 보면 alcohol류가 (Z)-3-hexenol 등 8종, aldehyde류가 (E,E)-hexadienal 등 5종, ketone류가 perilla ketone 등 2종, hydrocarbon 류가 6종, 그리고 ester류가 1종이었다. 이 중 대부분은 총 peak면적의 84.34%를 차지하는 1-(3-furyl)-4-methyl-1-pentanone (perilla ketone)으로 밝혀졌다. Perilla ketone의 분자식은 $C_{10}H_{14}O_2$ 이며 mass spectrum은 Figure 13에 나타내었으며, library 및 기존의 보고를 참조로 하여 동정하였다.

Perilla ketone은 들깨잎의 중요한 정유성분으로 정 등 (1998)이 SDE로 추출·분석한 결과에 의하면 72.024%가 들깨잎의 향기성분에 함유되어 있다고 보고하였고, 또한 김 등 (1999)은 92.33%로 보고하였는데 이는 본 연구에서 얻은 결과와 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 장 등 (1998)은 SDE로 휘발성 성분의 경우 perilla ketone의 함량이 전체의 5.20%라 보고하였다. 이는 Koezuk (1984, 1986) 등의 연구에서 chemotype에 의해 들깨잎을 5개 형태로 분류하였고 각각의 chemotype은 다른 휘발성분의 함량을 나타낸다 보고하였는데 본 연구에서 사용한 들깨잎의 chemotype은 장 등 (1998)의 연구에서 사용한 들깨잎과 달리 perilla ketone 함량이

많은 perilla ketone type임을 알 수 있었다. Alcohol류는 (Z)-2-pentenol, (Z)-3-hexenol, (E)-2-hexenol, 1-octen-3-ol, 3-octanol, linalool 및 eugenol을 확인하였다. 이중 linalool과 eugenol을 제외한 나머지 화합물의 경우 식물체의 세포벽을 구성하는 linoleic acid와 linolenic acid으로 부터 lipoxygenase에 의한 효소적 산화반응에 의해 생성되는 화합물로서 이 중 (Z)-3-hexenol과 (E)-2-hexenol은 풀냄새를 내는 화합물로 보고되어 있다 (Ho 와 Hartman, 1994). 또한 1-octen-3-ol의 경우 버섯의 주된 향기성분으로 알려져 있다 (Cronin 과 Ward, 1971). Aldehyde류는 (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (E,E)-hexadienal, benzaldehyde 및 phenylacetaldehyde등이 확인되었다. 여기서 (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (E,E)-hexadienal은 lipoxygenase의 작용에 의해 생성된 화합물로 알려져 있다. 장 등 (1998)과 김 등 (1999)에 의하면 이러한 효소적 산화작용에 의해 생성된 화합물의 함량은 매우 적다고 보고하였는데 이러한 이유는 추출방법의 차이로 보여진다. Ketone류는 perilla ketone과 1-(3-furyl)-4-methyl-3-penten-1-one (egoma ketone)을 확인하였다. Egoma ketone은 분자의 구조식이 perilla ketone과 거의 동일하나 pentanone의 3번 탄소에 이중결합이 하나 존재하는 화합물로 Nishizawa 등 (1989)은 perillene의 산화로 인해 생성된다고 보고하였다. Egoma ketone의 분자식은 C₁₀H₁₂O₂이며 mass spectrum은 Figure 14에 나타내었다. Hydrocarbon류는 dodecane, β -caryophyllene, α -humulene, germacren-D, (Z,E)- α -farnesene, neophytadiene을 확인하였다. 이 중 (E)-caryophyllene은 *Copaifera sp.*의 주된 휘발성 향기성분으로 알려져 있다 (Swift, 1997). Dodecane을 제외한 모든 화합물은 terpine 계통의 화합물로 알려져 있다.

가) Aroma-active compound의 동정

위에서 동정된 휘발성 성분 중 관능적으로 들쭉날쭉 향에 중요한 역할을 하는 향기성분을 알아보기 위하여 gas chromatography/olfactometry (GC/O)를 행하였다. 들쭉날쭉 향에 중요한 역할을 하는 향기성분의 상대적 강도를 알아보기 위해 aroma extract dilution analysis (AEDA)를 행한 후 flavor dilution chromatogram을 그렸으며 결과는 Figure 15와 같다. 중요한 역할을 하는 aroma-active compound는 Table 8에 나타내었다. (Z)-3-Hexenal (no.2)와 egoma ketone (no. 14)이 가장 높은 log₃FD값을 보여 들쭉날쭉에서 가장 중요하게 작용하는 향기성분으로 판단되었다.

(Z)-3-Hexenal은 풀냄새를 가지고 있었으며 위에서 언급한 바와 같이 lipoxygenase의 작용에 의해 생성된 화합물이며, egoma ketone는 들깨잎 특유의 향을 가지고 있었다. 그 다음으로 perilla ketone (no. 13)과 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one (B)가 높은 \log_3 FD값을 가지고 있었으며 모두 egoma ketone과 같은 들깨잎 특유의 향을 나타내었다. Perilla ketone의 경우 egoma ketone 보다 낮은 \log_3 FD값을 나타내었으나 함량이 많아 중요한 화합물로 생각되어 진다. 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one (B)은 GC/MS에서 동정되지 못하여 mass spectrum으로 추정하였다 (Figure 16). Carbonyl 화합물의 특징적인 spectra peak는 carbonyl기 다음에서 major spectra를 나타내는데 perilla ketone 및 egoma ketone과 같이 furyl ktone의 m/z 95가 가장 큰 spectra peak로 나타났다. 또한 이중결합은 hydrocarbone에서 이중결합이 있을 때 이중결합과 인접한 위치에서 결합이 끊어지지 않고 이웃하지 않은 단일결합이 끊어지게 되는데 egoma ketone은 3번 탄소에서 이중결합이 위치하여 m/z 95, 164가 주된 spectra peak를 나타내었고 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one은 2번 탄소에서 이중결합이 위치하여 m/z 95, 135, 164가 주된 spectra peak로 나타내었다 (McClafferty, 1980). 또한 플라스틱 냄새를 가지는 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one (A)도 위와 같은 방법으로 구조를 추정하였다 (Figure 17). Perilla ketone, egoma ketone 그리고 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one은 furyl ketone의 화합물로 들깨잎 특유의 향을 나타낸다고 생각된다. 이 중 egoma ketone과 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one는 들깨잎의 특징적인 향기성분으로 이와 같은 보고는 현재까지 알려진 바가 없다. Phenylacetaldehyde (no. 10)가 그 다음으로 높은 \log_3 FD값을 나타내었다. Phenylacetaldehyde는 phenylalanine이 효소적 Strecker degradation에 의해 생성된 물질로 과일, chocolate, honey한 냄새를 지나고 있다고 알려져 있다 (Acree 와 Teranishi, 1993). 또한 (E)-2-hexenal, benzaldehyde, linalool과 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one도 aroma-active compound로 들깨잎 향에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

Table 7. Volatile compounds identified from perilla leaf by LLCE

No ^a	Compounds	RI ^b	Concentration (ppm)
1	(Z)-2-pentenol	746	0.10
2	(Z)-3-hexenal	806	0.50
3	(E)-2-hexenal	867	0.278
4	(Z)-3-hexenol	875	0.298
5	(E)-2-hexenol	879	0.19
IS ^c	3-heptanol	903	-
6	(E,E)-2,4-hexadienal	915	1.63
7	benzaldehyde	960	0.13
8	1-octen-3-ol	992	6.06
9	3-octanol	999	0.28
10	phenylacetaldehyde	1051	0.30
11	linalool	1102	0.87
A	1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one	1146	0.35
12	dodecane	1200	0.14
13	perilla ketone	1289	120.09
14	egoma ketone	1316	0.24
B	1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one	1321	0.74
15	eugenol	1368	0.84
16	β -caryophyllene	1412	0.35
17	α -humulene	1446	0.12
18	germacrene-D	1475	0.04
19	(Z,E)- α -farnesene	1494	0.25
20	neroidol	1568	0.02
21	dimethyl phthalate	1592	0.04
22	neophytadiene	1836	0.05

^a : Numbers correspond to those in Table 8 and Figures 12 and 15.

^b : Retention indices were determined using C₇~C₂₂ as external reference.

^c : Internal standard.

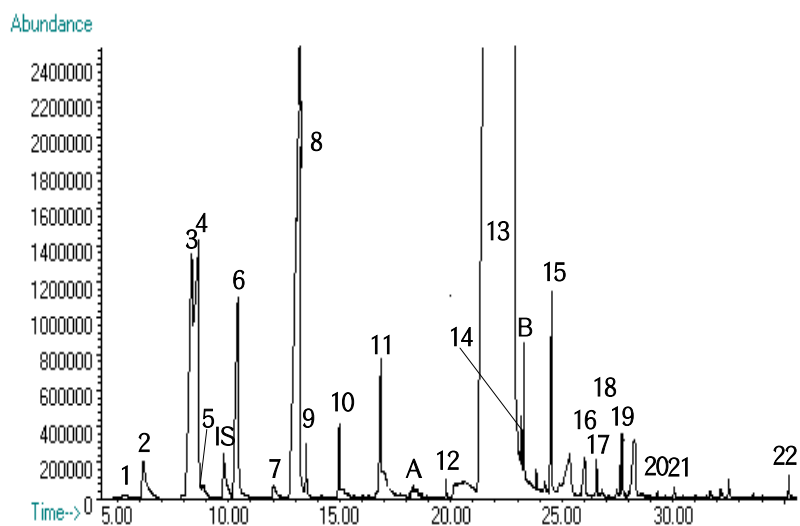


Figure 12. Total ion chromatogram of volatile compounds from perilla leaf by LLCE (column: DB-5ms).

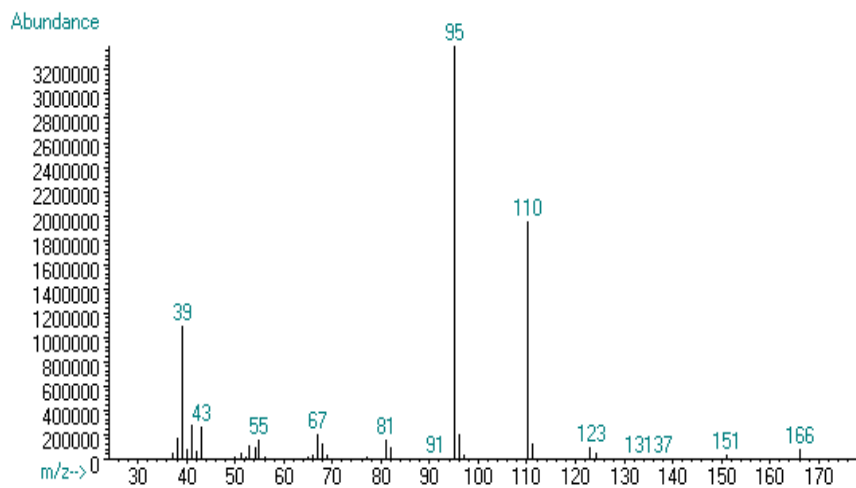


Figure 13. Mass spectrum of perilla ketone with perilla leaf-like aroma from perilla leaf.

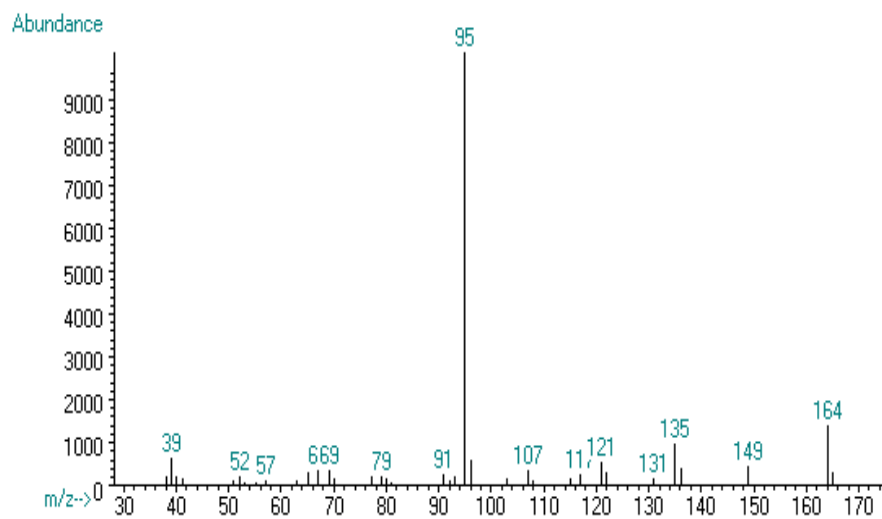


Figure 14. Mass spectrum of egoma ketone with perilla leaf-like aroma from perilla leaf.

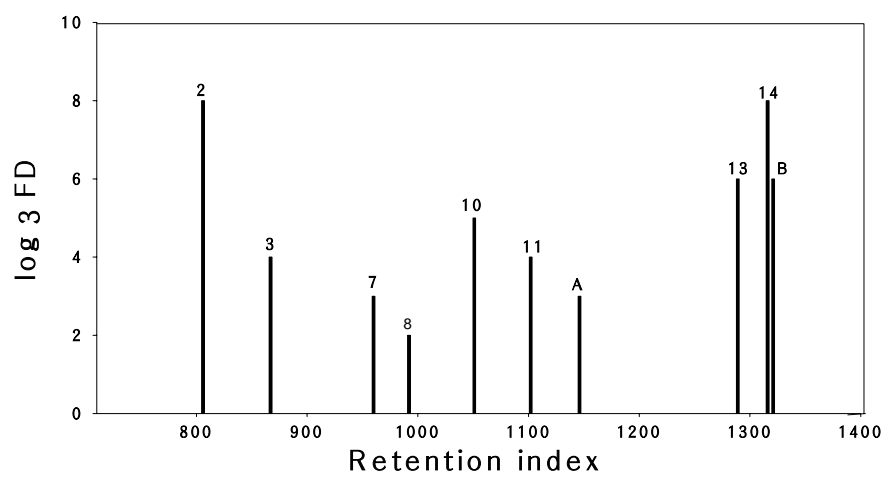


Figure 15. Flavor dilution chromatogram of volatiles isolated from perilla leaf.

Table 8. Aroma-active compounds from perilla leaf

No	compound name	RI	Aroma description
2	(Z)-3-hexenal	806	green
3	(E)-2-hexenal	867	green + cucumber
7	benzaldehyde	960	bitter almond
8	1-octen-3-ol	992	mushroom
10	phenylacetaldehyde	1051	honeysuckle
11	linalool	1102	lemon
A	1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one	1146	plastic
13	perilla ketone	1289	perilla leaf
14	egoma ketone	1316	perilla leaf
B	1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one	1321	perilla leaf

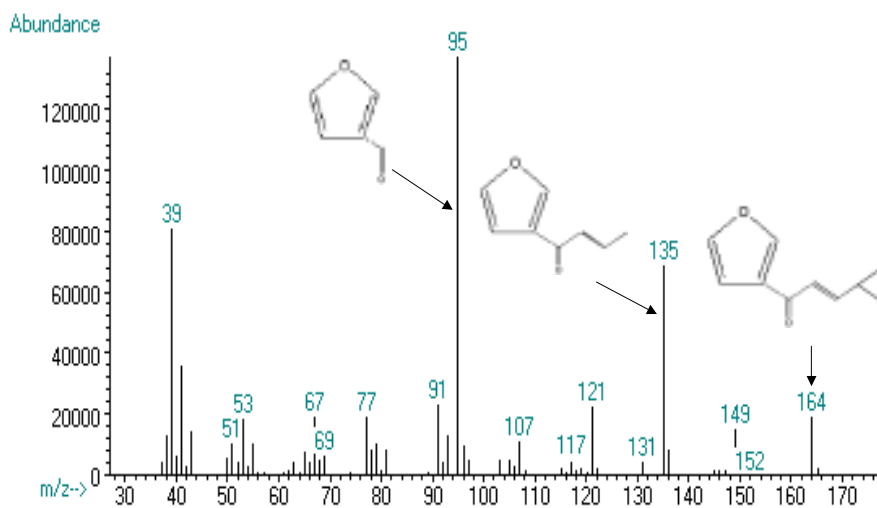


Figure 16. Mass spectrum of 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one with perilla leaf-like aroma from perilla leaf.

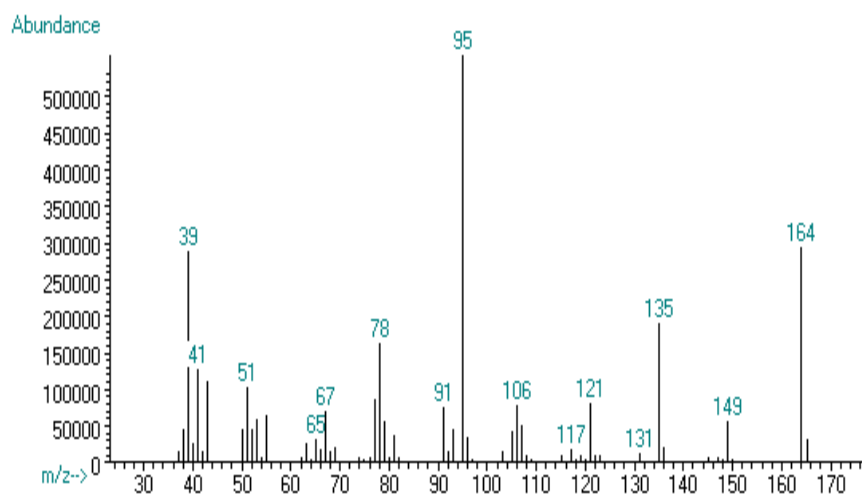


Figure 17. Mass spectrum of 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one with plastic-like aroma from perilla leaf.

다. Essential oil의 추출 및 분석

1) 미나리 essential oil

미나리의 essential oil을 추출하기 위해 상압과 감압에서 distillation 한 essential oil의 수율은 Table 9에 나타내었다. 감압에서 실시한 essential oil의 경우 essential oil을 얻을 수가 없었으며 상압의 경우에는 0.06 g/kg이 획득되었다.

가) 미나리의 essential oil의 휘발성 성분

미나리를 water distillation을 이용하여 essential oil을 추출하고 GC/MS로 분석한 결과 41개의 휘발성분이 확인되었고 Table 10과 Figure 18에 나타냈다. 동정된 essential oil의 휘발성분을 작용기별로 살펴보면 alcohol류가 10종, aldehyde류가 1종, hydrocarbon류가 24종, ester류가 3종, ether류가 2종 및 확인되지 않은 1종의 물질이 동정되었다. 이 중 대부분의 휘발성분은 2-hexanol, octanol, nonanal을 제외한 나머지 모든 화합물은 terpene 계통의 화합물이나 terpene류에서 유래된 화합물이었다. 이 중 γ -terpinene이 가장 큰 peak area를 나타내었고 이밖에 β -pinene, *p*-cymene, limonene, α -terpinolene, (E)-caryophyllene 등이 많은 함량을 나타내었다. 이러한 화합물들은 앞에서 언급한 바와 마찬가지로 대부분의 식물의 essential oil에 많이 나타나는 화합물이다.

나) 미나리 essential oil의 aroma-active compound

미나리 essential oil을 추출하여 GC/MS로 분석한 후 미나리 essential oil에서 관능적으로 감지되어 지는 aroma active compound를 알아보기 위해 GC/O를 행하였다. 41개의 휘발성분 중 17개의 aroma-active compound를 알아보기 위해 GC/O를 행하였다. 41개의 휘발성분 중 17개의 aroma-active compound가 확인되었다. 또한 aroma-active compound의 상대적인 강도를 알아보기 위하여 AEDA를 실시하였고 flavor dilution chromatogram으로 나타내었는데 결과는 Figure 19와 Table 11에 나타내었다. 이 중 α -terpinolene이 가장 큰 \log_3 FD 값을 나타내 미나리에서 중요하게 작용하는 향기성분이라 생각되며 또한 이 결과는 SPME로 향기성분을 dilution method로 분석한 결과와 일치하였다. α -Terpinolene은 초기에는 강한 플라 스틱 냄새를 냈으나 희석을 할수록 오이냄새로 감지되었다. 그 다음으로 α

-terpinene, (E)-caryophyllene, (Z,E)- α -farnesene이 높은 \log_3 FD값을 나타내었다. α -Terpinene은 citrus 계통의 냄새를 가지고 있었다. (E)-Caryophyllene, (Z,E)- α -farnesene은 woody한 향으로 확인되었으며 이 향은 미나리가 가지는 풀죽냄새에 관여한다 생각된다. 이밖에 2-hexanol, β -myrcene, p-cymene, limonene, ν -terpinene, borneol, α -copaene 및 (E)- β -farnesene등이 동정되었는데 이중 p-cymene은 kerosene과 citrus 계통의 냄새를 내는 물질로 알려져 있으나 농도를 약하게 희석해 본 결과 미나리 향과 일치하여 미나리 특유의 향으로 결론지었다. 2-Hexanol, β -myrcene은 풀 냄새, limonene, ν -terpinene은 citrus 계열의 향을, borneol은 오이, 그리고 α -copaene, (E)- β -farnesene은 woody 및 burnt한 냄새를 가지고 있었고, 이 중 α -copaene, (E)- β -farnesene을 제외한 나머지 물질들은 미나리와 비슷한 향을 가지고 있었으나 확실히 일치하지는 않았다. 그러나 비교적 높은 \log_3 FD 값을 가지고 있었고 함량도 많아 중요한 향기성분이라 생각되어 진다. 이 밖에 α -pinene, 4-terpineol, thymyl methyl ether, carvacrol methyl ether, bornyl acetate등도 미나리의 aroma-active compound로 확인되었다.

2) 들깨잎 essential oil

마쇄한 들깨잎을 시료를 상압과 감압 조건에서 distillation을 하여 얻은 essential oil의 수율은 Table 12에 나타내었다. 수율은 상압하에서 실시한 경우가 높았으나 다른 향신료 (clove oil, 2% leaf oil by steam distillation, cassia oil, 0.3% leaf oil by water distillation) (Ashurst, 1991) 에 비해 낮은 수율을 나타냈다.

추출방법에 따라서 들깨잎 essential oil의 수율의 차이가 나타나 상압에서 추출한 essential oil의 양이 감압에서 보다 5배 정도 높은 수율을 나타내었다. 그러나 essential oil에 함유되어 있는 perilla ketone의 양은 감압에서 증류한 essential oil이 상압에서 증류한 essential oil 보다 많은 양이 존재하였다 (Figure 20).

Table 9. Yield of essential oils from water dropwort by water distillation and vacuum water distillation

	WD	VWD
Yield (g/kg)	0.06	0.00

W.D. : water distillation. V.W.D. : vacuum water distillation.

Table 10. Volatile compounds identified from essential oil of water dropwort by water distillation

No ^a	RI ^b	Compound name	rel % ^c
1	813	2-hexanol	0.045
2	932	α -pinene	0.652
3	975	β -pinene	3.435
4	995	β -myrcene	1.009
5	1003	<i>l</i> -phellandrene	0.303
6	1010	octanol	0.025
7	1015	α -terpinene	0.057
8	1029	<i>p</i> -cymene	3.765
9	1031	<i>l</i> -limonene	8.588
10	1043	(<i>Z</i>)- β -ocimene	0.188
11	1059	(<i>E</i>)- β -ocimene	0.714
12	1093	γ -terpinene	21.695
13	1095	α -terpinolene	2.561
14	1104	nonanal	0.010
15	1119	1-octen-3-yl acetate	0.065
16	1131	3-octanyl acetate	0.070
17	1147	epoxyterpine	0.015
18	1160	borneol	0.221
19	1178	4-terpineol	0.081
20	1198	α -terpineol	0.118
21	1208	unknown I	0.020
22	1229	carvacrol methyl ether	0.684
23	1233	thymyl methyl ether	0.445
24	1283	bornyl acetate	0.095
25	1368	α -copaene	0.743
26	1388	β -elemene	0.593
27	1412	(<i>E</i>)-caryophyllene	6.097

Table 10. Continued

No ^b	RI ^b	Compound name	rel % ^c
28	1446	α -humulene	1.360
29	1456	(E)- β -farnesene	2.292
30	1471	α -amorphene	0.162
31	1481	β -selinene	4.231
32	1589	α -selinene	3.748
33	1494	(Z,E)- β -farnesene	5.910
34	1507	(E,E)- β -farnesene	3.909
35	1519	δ -cadinene	4.650
36	1571	(E)-farnesol	2.440
37	1581	sphathulenol	1.069
38	1599	guaiol	0.608
39	1659	α -cadinol	1.501
40	1836	neophytadiene	0.924
41	2056	falcarinol	2.118

Numbers correspond to those in Table 11 and Figures 18 and 19.

^b : Retention indices were determined using C₇~C₂₂ as external reference.

^c : Average of relative percentage of total peak area.

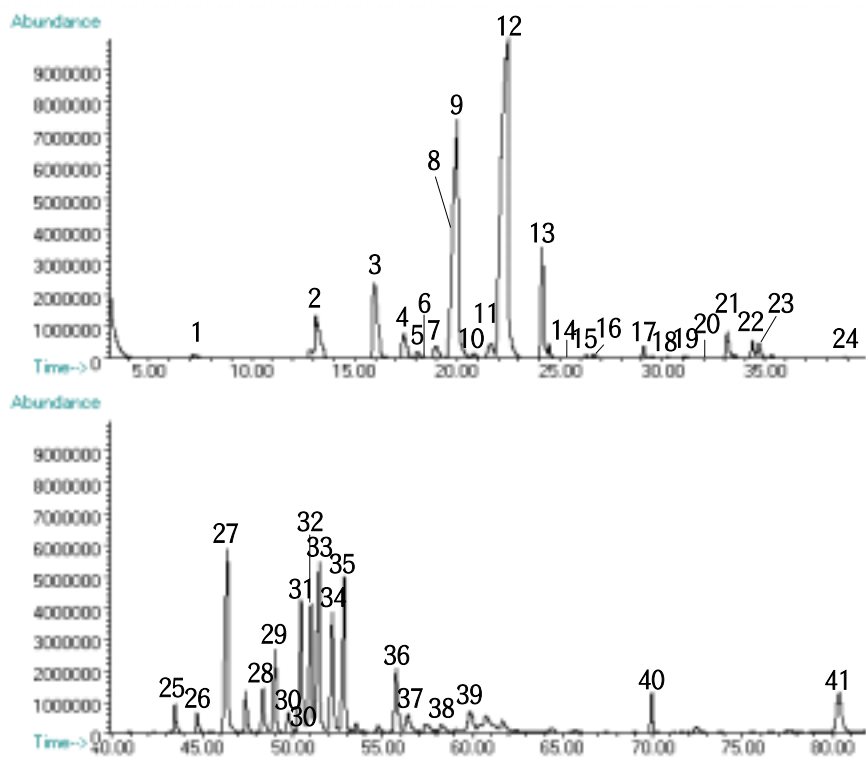


Figure 18. Total ion chromatogram of volatile compounds from essential oil of water dropwort by water distillation (column: DB-5ms).

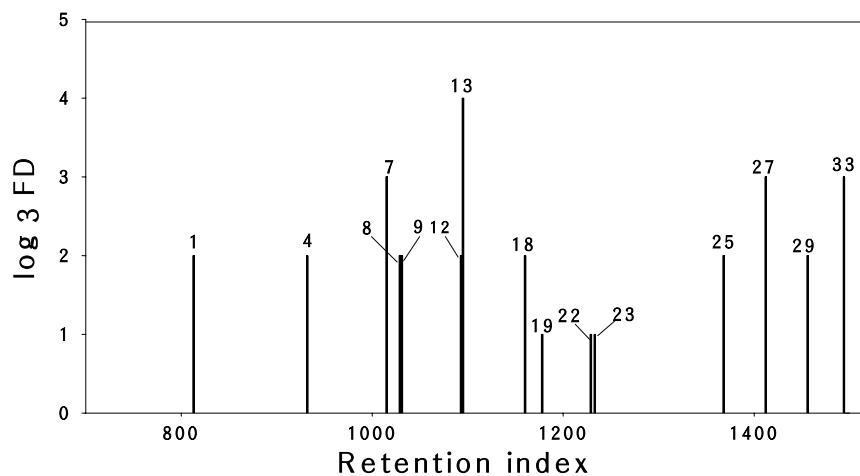


Figure 19. Flavor dilution chromatogram of volatiles isolated from essential oil of water dropwort by water distillation

Table 11. Aroma active compounds from essential oil of water dropwort by water distillation

No	RI	Compound name	Aroma description
1	813	2-hexanol	cutted green
2	932	α -pinene	herb
4	995	β -myrcene	pine like
7	1015	α -terpinene	lemon
8	1029	<i>p</i> -cymene	dropwort
9	1031	limonene	lemon
12	1093	γ -terpinene	drop+citrus
13	1095	α -terpinolene	plastic, cucumber
18	1160	borneol	cucumber
19	1178	4-terpineol	cucumber
22	1229	thymyl methyl ether	smoky woody
23	1233	carvacrol methyl ether	woody
24	1283	bornyl acetate	boiled green
25	1368	α -copeane	woody
27	1412	(E)-caryophyllene	woody
29	1456	(E)- β -farnesene	burnt
33	1494	(Z,E)- α -farnesene	woody

Table 12. Yield of essential oils from perilla leaves by water distillation and vacuum water distillation

	WD	VWD
Yield (g/kg)	0.52	0.17

W.D. : water distillation. V.W.D. : vacuum water distillation.

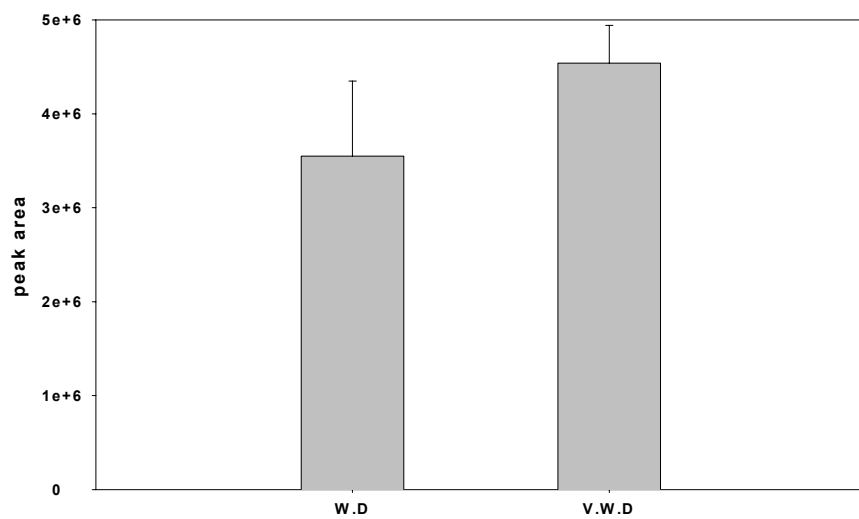


Figure 20. Comparison of peak area of perilla ketone from essential oil by water distillation and vacuum water distillation.

Error bar : standard deviation.

W.D : water distillation.

V.W.D : vacuum water distillation.

가) 들깨잎 essential oil의 휘발성 성분

들깨잎으로부터 water distillation 및 vacuum water distillation에 의해 추출한 essential oil의 향기성분을 비교한 결과는 Table 13과 Figure 21과 22에 나타냈다. Vacuum water distillation법으로 추출한 essential oil에서는 12가지의 휘발성 향기성분이 동정되었고 water distillation법에 의해서는 16가지의 휘발성 향기성분이 동정되었다. 위의 결과는 LLCE에서 동정된 휘발성분과는 차이를 나타냈는데 distillation법으로 추출한 휘발성분에서는 (Z)-3-hexenal 과 2,4 -hexadienal 등의 휘발성분은 나타나지 않았으며 perilla ketone을 제외한 모든 휘발성분의 양이 매우 적게 존재하였다. 또한 perilla ketone의 전체적인 함량이 증가하여 distillation법에 의해 perilla ketone의 함량이 높은 essential oil을 추출할 수 있음을 알 수 있었다. 추출된 성분을 살펴보면 2-hexenol, (E)-2-hexenal 및 (Z)-3-hexenol을 제외한 나머지 화합물은 terpene류의 화합물이었다. 이 중 perilla ketone, linalool, eugenol과 (E,E)- α -farnesene 등은 water distillation 및 vacuum water distillation에 의해 모두 추출되었으며, (E)-caryophyllene, α -humulene, (Z)-3-hexenol 및 germacrene-D는 water distillation법에 의해 추출된 essential oil에서만 동정되었다. 이처럼 추출방법에 따라 휘발성분이 차이를 나타내는 이유는 열에 의한 artifact의 형성 뿐 아니라 감압으로 인해 추출된 향기성분이 추출액 중에서 휘발되어 손실되었다고 생각되어진다.

나) 들깨잎 essential oil의 aroma-active compound

추출방법에 따른 essential oil의 aroma-active compound의 차이를 알아보기 위해 water distillation 및 vacuum water distillation에 의해 추출한 essential oil의 AEDA를 행한 결과는 Table 14 와 15 그리고 Figure 23 과 24에 나타내었다. 각각의 essential oil에서 동일한 경향의 결과가 나타났다. 들깨잎의 독특한 향인 perilla ketone이 가장 큰 \log_3 FD 값을 나타내었으며 egoma ketone도 감지되었다. 이 밖에 metallic odor를 가지는 1-octen-3-ol, lemon 향을 지닌 linalool 및 linalool oxide가 감지되었다. 그러나 추출방법에 따른 차이도 나타났는데 water distillation의 경우 woody odor를 가지는 (E)-caryophyllene이 큰 \log_3 FD 값을 나타내었다. 따라서 전체적으로는 각각의 essential oil에서 들깨잎 향은 존재하였으나 water distillation에서는 woody 향을 나타내어 신선한 들깨잎 향과는 차이를 나타내었다. 이러한 이유는

Table 13. Volatile compounds identified from essential oil of perilla leaf by water distillation and vacuum water distillation

No ^a	compound name	RI ^b	rel % ^c	
			WD	VWD
1	2-hexenol	813	0.06	0.26
2	(E)-2-hexenal	867	0.03	0.04
3	(Z)-3-hexenol	875	0.04	-
4	benzaldehyde	960	0.03	0.03
5	1-octen-3-ol	992	0.21	0.29
6	perillen	1099	0.03	0.03
7	<i>l</i> -linalool	1102	0.15	0.02
8	unknown	1219	0.10	0.13
9	perilla ketone	1289	95.05	97.36
10	egoma ketone	1316	0.07	0.05
11	unknown	1321	0.28	0.18
12	eugenol	1368	0.17	0.09
13	(E)-caryophyllene	1412	1.43	-
14	α -humulene	1446	0.16	-
15	germacrene-D	1475	0.17	-
16	(E,E)- α -fanesene	1494	1.08	0.13

^a : Numbers correspond to those in Tables 14 and 15 and Figures 21 ~ 24.

^b : Retention indices were determined using C₇~C₂₂ as external reference.

^c : Average of relative percentage of total peak area.

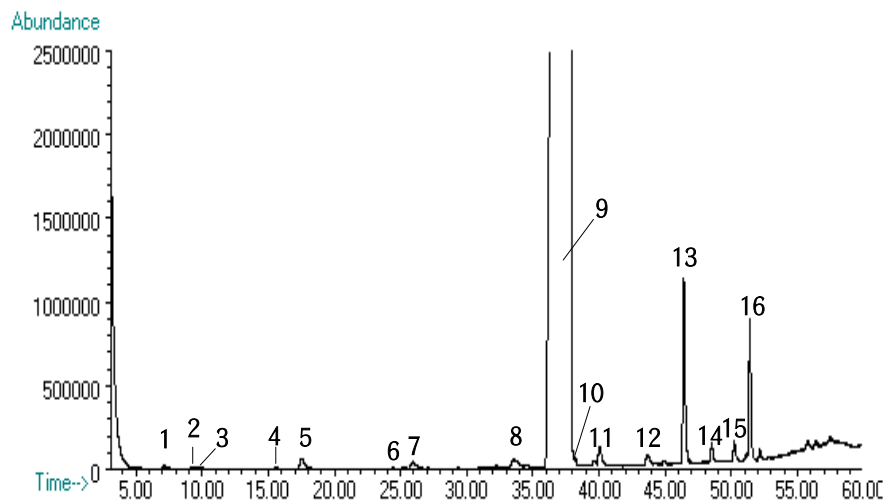


Figure 21. Total ion chromatogram of volatile compounds from essential oil of perilla leaf by water distillation (column: DB-5ms).

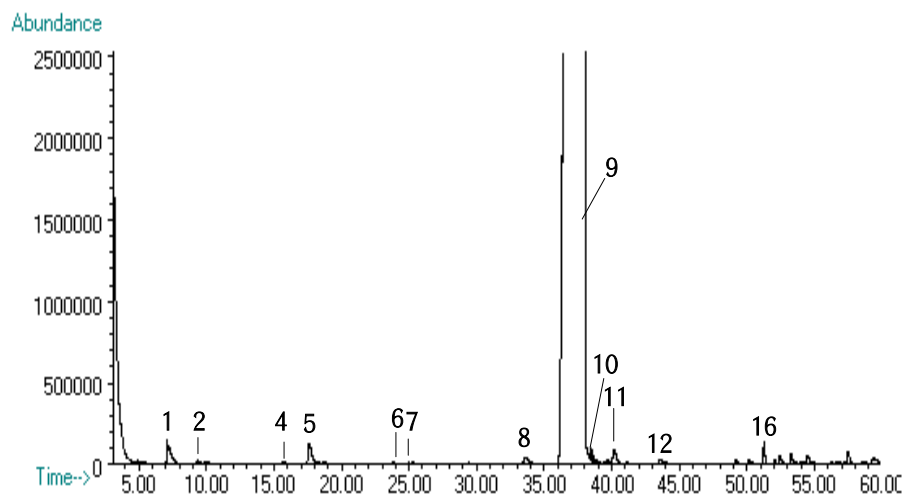


Figure 22. Total ion chromatogram of volatile compounds from essential oil of perilla leaf by vacuum water distillation (column: DB-5ms).

Table 14. Aroma-active compounds from essential oil of perilla leaf by water distillation

No	compound name	RI	Aroma description
2	(Z)-2-hexenal	867	herb
5	1-octen-3-ol	992	metallic
7	linalool	1102	lemon
9	perilla ketone	1289	perilla leaf
10	egoma ketone	1316	perilla leaf
13	(E)-beta-caryophyllene	1412	woody

Table 15. Aroma-active compounds from essential oil of perilla leaf by vacuum water distillation

No	compound name	RI	Aroma description
2	(E)-2-hexenal	867	herb
5	1-octen-3-ol	992	metallic
7	linalool	1102	lemon
9	perilla ketone	1289	perilla leaf
10	egoma ketone	1321	perilla leaf

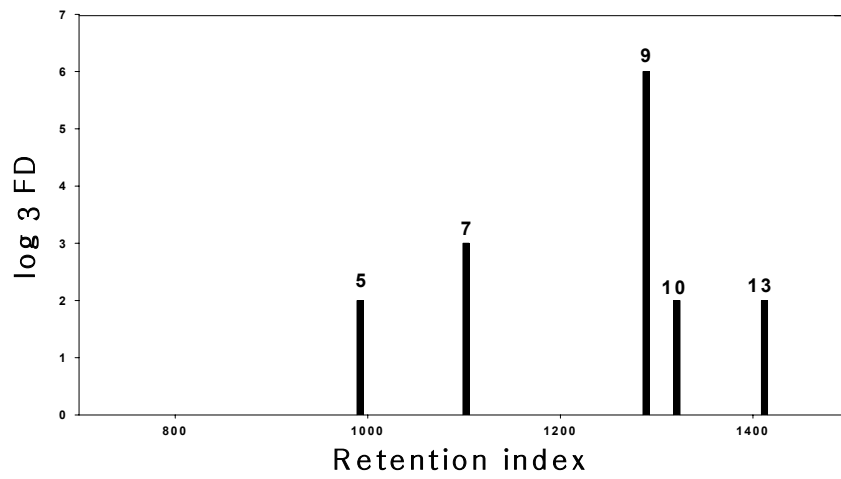


Figure 23. Flavor dilution chromatogram of volatiles isolated from essential oil of perilla leaf by water distillation.

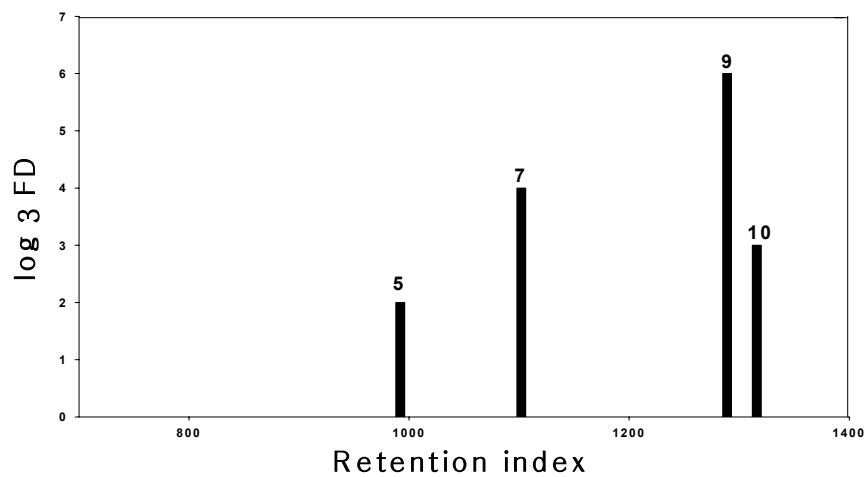


Figure 24. Flavor dilution chromatogram of volatiles isolated from essential oil of perilla leaf by vacuum water distillation.

위에서 언급한 바와 같이 감압으로 인해 essential oil 성분들이 휘발되어 손실되고 이에 따라 essential oil 중 각각의 화합물이 향을 감지할 수 있는 한계치 이하로 농도가 감소되어 감지가 되지 않아 신선한 들깨잎 향만이 나타났다고 생각되어 진다. 따라서 들깨잎의 경우 감압으로 인해 (E)-caryophyllene이 감소되어 보다 신선한 향만이 추출되어 졌다고 생각된다.

라. 들깨잎 flavor oil의 제조

들깨잎의 신선한 향기성분을 함유한 flavor oil의 제조를 위한 vacuum distillation의 최적조건을 결정하기 위해 사용된 SPME 조건을 결정하였다. 이 때 SPME로 추출시 시료의 양이 아닌 headspace 내의 농도에 비례하여 추출되는 향기성분의 양이 증가된다고 보고되어 있어서 (Eisert 와 Pawliszyn, 1997) 2 mL로 시료의 양을 결정하였다. 추출시간에 따른 향기성분의 변화량은 Figure 25에 나타내었다. 시간이 지남에 따라 SPME fiber에 흡착되는 perilla ketone의 양이 증가하였으나 30분 이후 SPME fiber에 흡착되는 perilla ketone의 양이 평형에 도달하여 향의 흡착시간을 30분으로 결정하였다.

들깨잎으로부터 vacuum water distillation에 의한 corn seed oil로의 향기성분의 추출시 추출시간에 따른 corn seed oil에 흡착된 perilla ketone의 peak area의 변화는 Figure 26에 나타내었다. 추출시간에 따른 perilla ketone의 변화는 증류액으로부터 corn seed oil로 추출시간이 증가함에 따라 점차적으로 급격히 증가하다가 4시간 이후에는 perilla ketone이 corn seed oil로의 추출이 평형상태에 도달하여 변화를 나타내지 않았다. 이러한 이유는 추출시 corn seed oil에 추출되는 양이 평형상태에 도달하였을 뿐 아니라 시간이 지남에 따라 vacuum으로 인한 perilla ketone이 손실됨이 발생하여 이러한 결과를 나타내었다 생각되어 진다. 따라서 vacuum water distillation에서 flavor oil 제조 시 최적추출시간을 4시간으로 결정하였다.

Vacuum water distillation으로 flavor oil 제조 시 corn seed oil 양에 따라 흡착된 perilla ketone의 peak area의 변화는 Table 16에 나타내었다. 시료 2 mL 당 corn seed oil에 흡착된 perilla ketone peak area는 5 mL을 사용했을 때 가장 컸으며 용매의 양이 증가할수록 점차적으로 감소하였으나 사용된 전체의 corn seed oil에서 향의 흡착정도를 계산해본 결과 40 mL이 가장 큰 값을 나타내었다. 그러나 향의 강도를 강하게 하기 위해서는 corn seed oil 중의 perilla ketone의 농도가 높은 결과

인 corn seed oil의 양을 5 mL 사용하는 것이 바람직하다 생각된다

Vacuum distillation을 이용하여 flavor oil을 제조 시 시료 전처리에 의한 flavor oil의 흡착정도의 차이 및 농도가 높은 flavor oil의 제조를 위하여 saturated sodium chloride 용액, 1 M ethanol 용액을 첨가한 것과 cellulase인 celluclast 1.5L FG을 사용하여 효소 반응을 실시한 후 증류하고 corn seed oil로 추출한 것과 흡착되지 않고 aqueous phase에 남은 perilla ketone peak area를 비교한 결과는 Figure 27에 나타내었다. 처리하지 않은 들깨잎을 vacuum distillation을 실시한 것이 다른 처리구 보다 oil phase에서 가장 많은 perilla ketone이 흡착된 결과를 나타내었다. Sodium chloride나 alcohol을 첨가한 것은 oil phase 보다는 aqueous phase에 많이 나타나 oil 쪽으로의 흡착을 방해하는 결과로 작용하였는고 cellulase로 처리한 깻잎을 distillation 한 것은 향의 흡착정도는 sodium chloride나 alcohol을 첨가한 것보다 높게 나타났으나 처리하지 않은 들깨잎보다는 낮게 나타났다.

결과적으로 들깨잎으로부터 vacuum distillation을 통한 정유성분의 획득을 실시하기 위한 최적조건은 들깨잎에 deodorized distilled water을 첨가하여 분쇄한 후 40℃ 감압 (10^{-2} torr)하에서 4시간 동안 증류하고 정유성분을 획득하기 위해 사용된 corn seed oil의 양은 5mL로 위의 조건으로 추출 시 들깨잎의 중요한 향기성분인 perilla ketone의 추출효율이 높았으며 가장 신선한 들깨잎에 가까운 flavor oil이 생산됨을 알 수 있다.

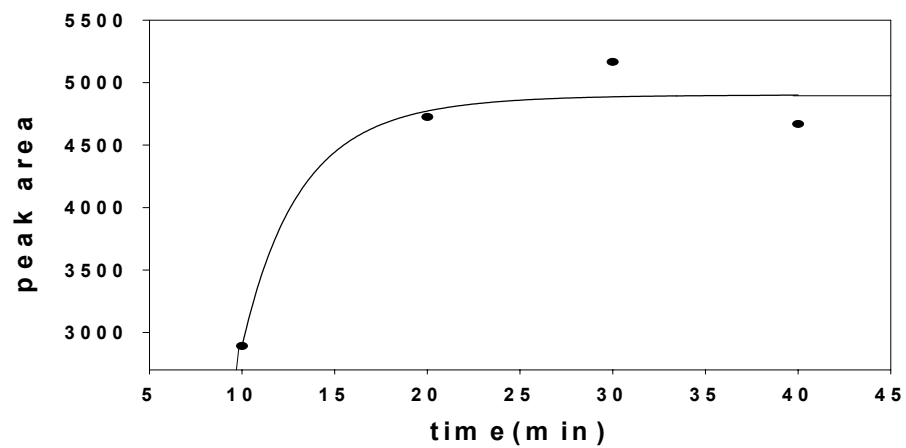


Figure 25. Peak area change of perilla ketone according to absorption time.

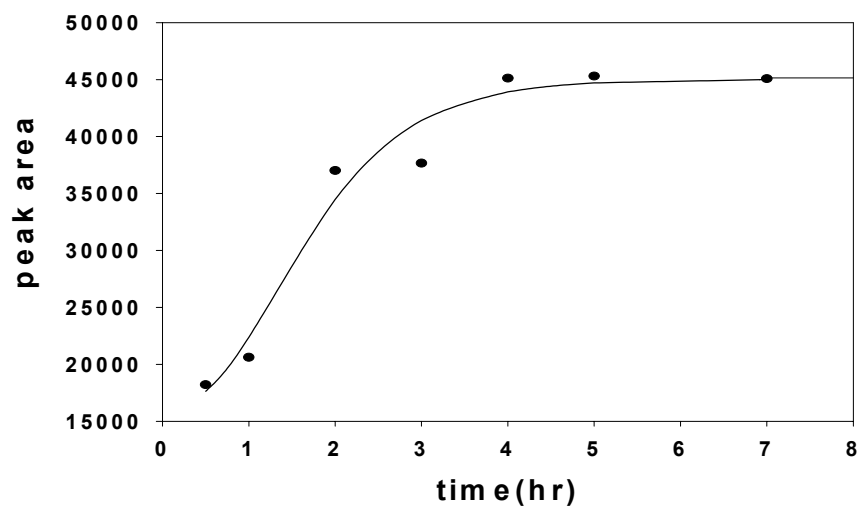


Figure 26. Peak area change of perilla ketone according to distillation time.

Table 16. Peak area change of perilla ketone according to amount of corn seed oil

Sample	Peak area			
	1	2	Means(2mL)	Total
5mL	459884	476595	468239.5	1170598.75
10mL	214073	205669	209871.0	1049355.00
20mL	71673	68908	70290.5	702905.00
30mL	73327	76048	74687.5	1120312.50
40mL	71076	71076	75246.0	1504920.00

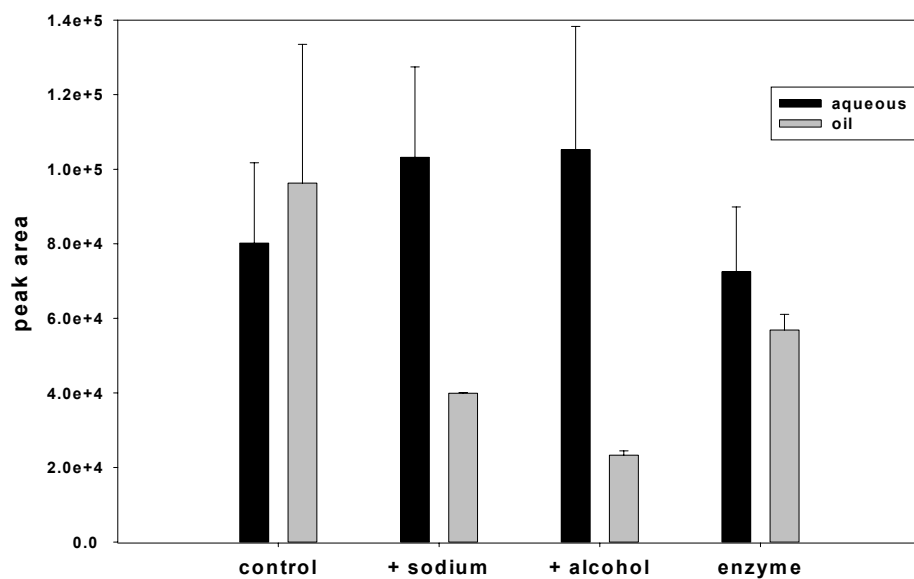


Figure 27. Peak area change of perilla ketone according to treated perilla leaves.

control : not treated. +sodium : added sodium chloride.
 + alcohol : added alcohol. enzyme : treated enzyme.

마. 효소작용에 의한 미나리의 향기성분의 변화

일반적으로 양파나 마늘 같은 *allium*속 식물은 마쇄에 의해 세포가 파괴됨으로서 효소와 향생성 전구물질이 접촉하게 되어 향기성분을 생성한다 (Teranishi 등, 1993). 또한 오렌지나 레몬 같은 과일의 향기성분은 추출 후 저장기간이 경과할수록 향기성분이 변화한다고 알려져 있다 (Teranishi 등, 1993). 따라서 미나리 추출과정 중 효소작용이 향생성에 미치는 영향을 알아보기 위해 포화 CaCl_2 를 첨가한 후 미나리를 마쇄하여 효소작용을 억제시켰다. 또한 대조구로 포화 CaCl_2 를 첨가하지 않고 미나리를 마쇄하여 시간에 따라 효소작용을 확인해 본 결과는 Table 17과 Figure 28 과 29에 나타내었다. 시간에 따른 효소작용으로 인한 미나리의 향기성분의 변화의 결과는 초기에는 함량이 높았으나 시간이 지남에 따라 감소하는 형태의 경향과 초기에는 적었으나 시간이 지남에 따라 증가하다가 다시 감소하는 두 가지의 경향으로 나타났다. 전자의 경우는 essential oil 추출 시 나타나는 terpene류의 화합물들이었고 후자의 경우는 효소적 산화과정에 의해 생성되는 물질들로 알려진 aldehyde 및 alcohol류였다. Terpene 계통의 물질들은 식물체가 생육하면서 생합성기작을 통해 내부에서 발생되어 지는 물질로서 생육 중 식물체 내부에서 생산하고 저장한 후 식물체가 마쇄 등으로 조직이 파괴되었을 때 식물체 외부로 드러나 오게 된다. 이러한 terpene류의 경우 시간이 지남에 따라 급격한 감소를 보이다가 시간이 30분 이 후 감소가 완만하였다. Terpene 류 중 미나리 향을 내는 *p*-cymene의 경우도 이와 일치하였다 (Figure 28). 이에 반해 (Z)-3-hexenal, 3-hexenol등의 경우 초기에서 10분까지 증가하다가 10분 이후 감소를 나타내었고 30분 이후 완만한 상태를 나타냈는데 증가한 이유는 지방산들이 lipoxygenase의 작용에 의해 향기성분을 생성시키다가 일정시간 이 후 산화작용에 의해 파괴된다고 생각되어 진다. 대표적인 물질로 풀냄새를 가지는 (Z)-3-hexenal의 경우도 위와 일치하였다 (Figure 29). 두 계통의 물질은 시간이 지남에 따라 양이 감소함을 나타냈는데 이러한 이유는 생성된 휘발성 향기성분들이 식물체 내의 효소의 산화작용이나 이 밖의 작용에 의해 파괴되어 감소했다고 생각되어 진다. 따라서 미나리의 향을 유지시키기 위해서는 5분에서 10분 사이에 효소작용을 억제시키는 것이 바람직하다 생각되어 진다.

Table 17. Relative peak area change of volatile compounds according to time

No	compound name	%rel ^a					
		0	5	10	15	30	1
1	(Z)-3-hexenal	0.4	0.45	0.96	0.72	0.34	0.3
2	2-hexenal	1.6	1.22	1.58	1.15	1.2	1.07
3	3-hexenol	9.31	8	10.52	7.04	7.7	7.46
4	α -pinene	13.63	7.05	5.7	2.21	3.35	1.75
5	β -pinene	50.32	26.86	23.05	9.1	12.99	7.34
6	β -myrcene	5.28	2.64	2.08	0.81	1.21	0.65
7	<i>l</i> -phellandrene	1.07	0.53	0.42	0.15	0.22	0.11
8	<i>p</i> -cymene	18.48	11.01	3.74	4.41	5.86	3.65
9	<i>l</i> -limonene	65.74	33.85	28.56	11.31	16.09	9.1
10	phenylacetadehyde	1.17	0.94	1.2	0.79	0.71	0.58
11	(E)-ocimene	3.54	1.71	1.4	0.57	0.8	0.42
12	ν -terpinene	167.2	84.2	70.52	28.01	39.68	22.12
13	β -terpinene	0.5	0.27	0.24	0.1	0.15	0.07
14	limonene oxide	0.33	0.25	0.26	0.22	0.22	0.19
15	thymyl methyl ether	1.79	0.86	0.69	0.37	0.47	0.35
16	carvacrol methyl ether	1.47	0.66	0.05	0.23	0.32	0.17
17	α -copaene	4.08	1.74	1.18	0.39	0.69	0.33
18	β -elemene	23.95	10.07	7.1	2.27	4.08	1.9
19	(E)-caryophyllene	39.72	17.09	11.91	3.9	6.85	3.33
20	(E)- β -farnesene	33.33	13.97	9.51	3.09	5.64	2.61
21	germacrene-D	7.51	3.26	2.16	0.71	1.33	0.57
22	(Z,E)- α -farnesene	21.86	9.28	6.36	2.07	3.7	1.76
23	bicyclogermacrene	7.41	3.06	2.02	0.64	1.16	0.54
24	(E,E)- α -farnesene	25.63	10.9	7.52	2.45	4.43	2.09
25	δ -cadinene	21.68	9.75	7.14	2.73	4.28	2.25
26	neophytadiene	119.56	49.09	33.17	10.33	19.9	8.41

^a Average of relative percentage of total peak area.

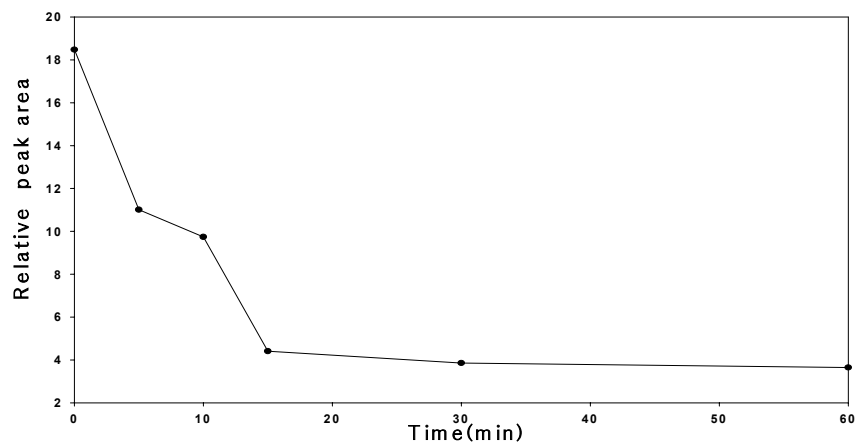


Figure 28. Relative peak area change of *p*-cymene according to reaction time.

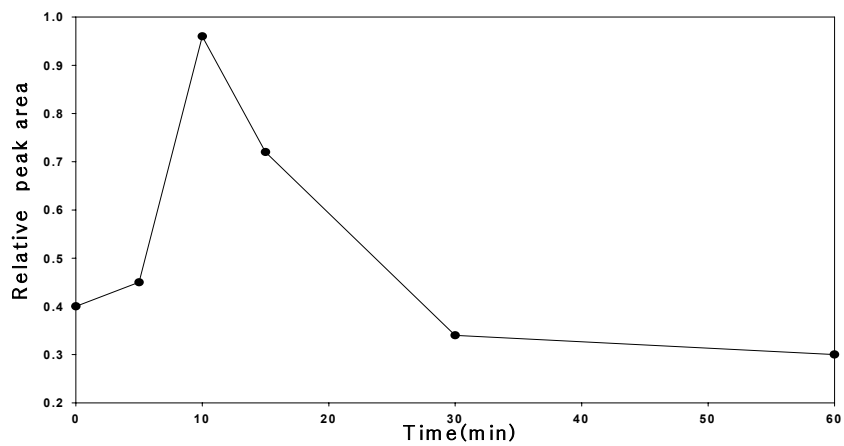


Figure 29. Relative peak area change of (Z)-3-hexenal according to reaction time.

바. 초임계 추출에 의한 미나리·들깨잎 정유 추출

초임계 추출장치를 이용하여 들깨잎과 미나리의 향기성분의 추출 최적조건 확립을 위해 추출시간, 추출압력, 추출온도에 따라 추출하고 GC/MS로 분석하여 최적조건을 결정하였다.

들깨잎으로 향기성분의 추출시 시간에 따라 계속적으로 total peak area의 증가를 나타내다가 5시간이 지난 이후 평형상태에 도달하였다 (Figure 30). 또한 추출압력과 추출온도에 따른 추출효과는 Figure 31에 나타내었다. 들깨잎의 특징적인 향기성분인 perilla ketone의 peak area는 300 atm, 50℃ 조건에서 가장 큰 peak area를 나타내었다. 들깨잎의 경우 온도가 증가함에 따라 증가함을 나타냈으며 압력의 증가에 따라서는 큰 차이를 나타내지 않았다.

미나리의 경우 시간에 따라 계속적인 증가를 나타내다가 5시간 이후 급격한 감소를 나타내었다 (Figure 32). 추출압력과 온도의 최적조건을 알아보기 위해 *p*-cymene, limonene과 *r*-terpinene의 peak area를 비교하였다 (Figure 33). 모든 화합물이 200 atm, 40℃에서 동일하게 큰 peak area를 나타내었다.

들깨잎과 미나리의 초임계 추출의 최적조건은 들깨잎은 300 atm, 50℃였고 미나리는 200 atm, 40℃으로 결정하였으며 추출시간은 두가지 시료 모두 5시간으로 결정하였다.

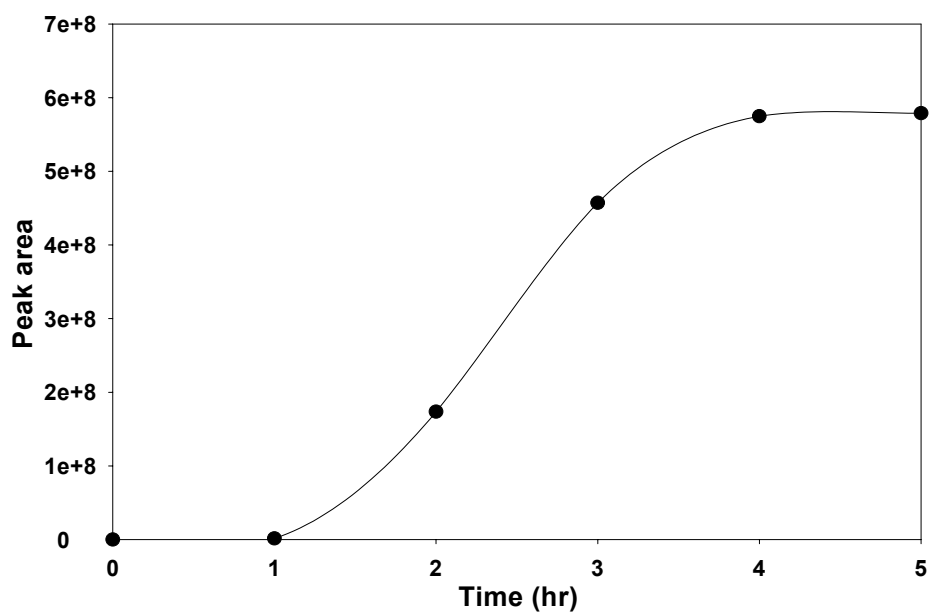


Figure 30. Effect of extraction time on the extraction efficiency expressed by total peak area of perilla leaf volatiles.

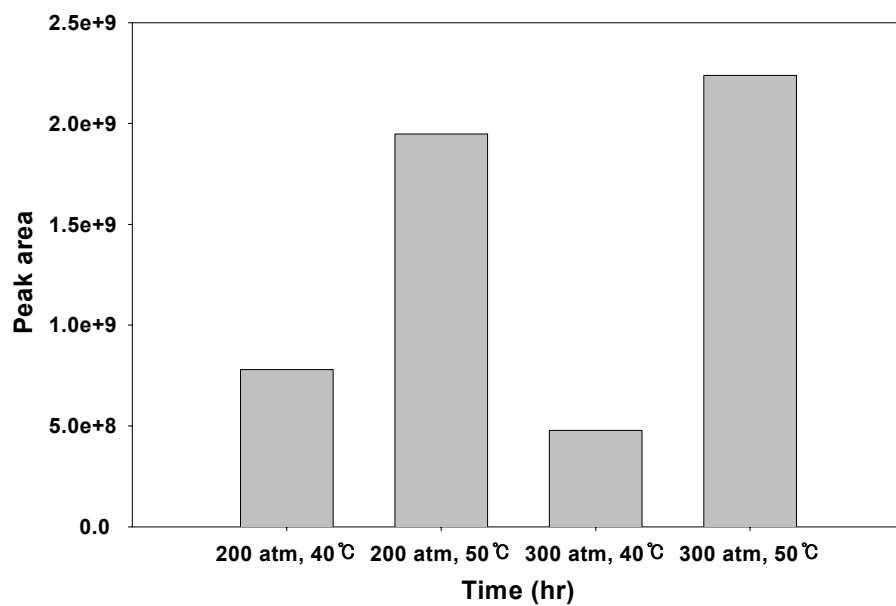


Figure 31. Effects of pressure and temperature on peak area of perilla ketone extracted during supercritical fluid extraction of perilla leaf.

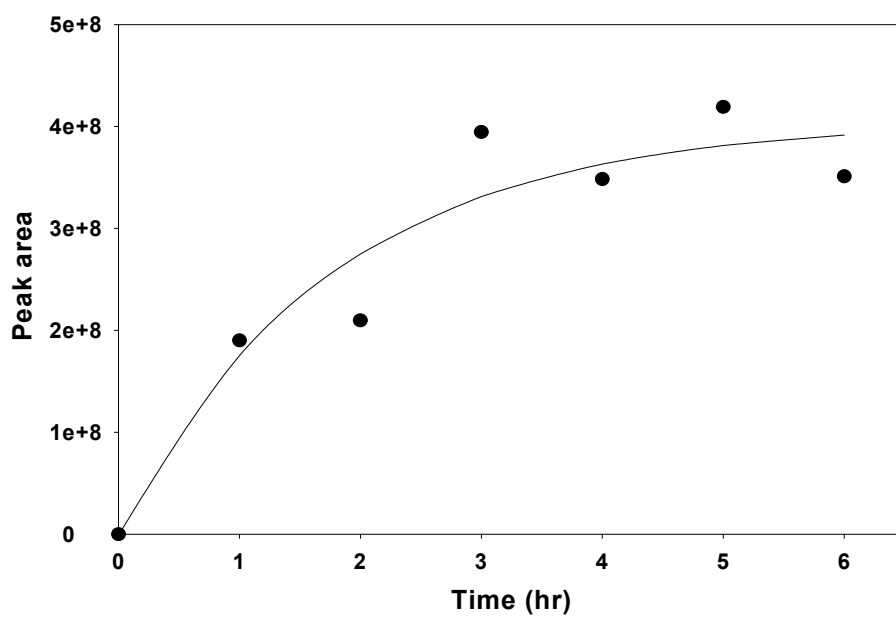


Figure 32. Effect of extraction time on the extraction efficiency expressed by total peak area of water dropwort volatiles.

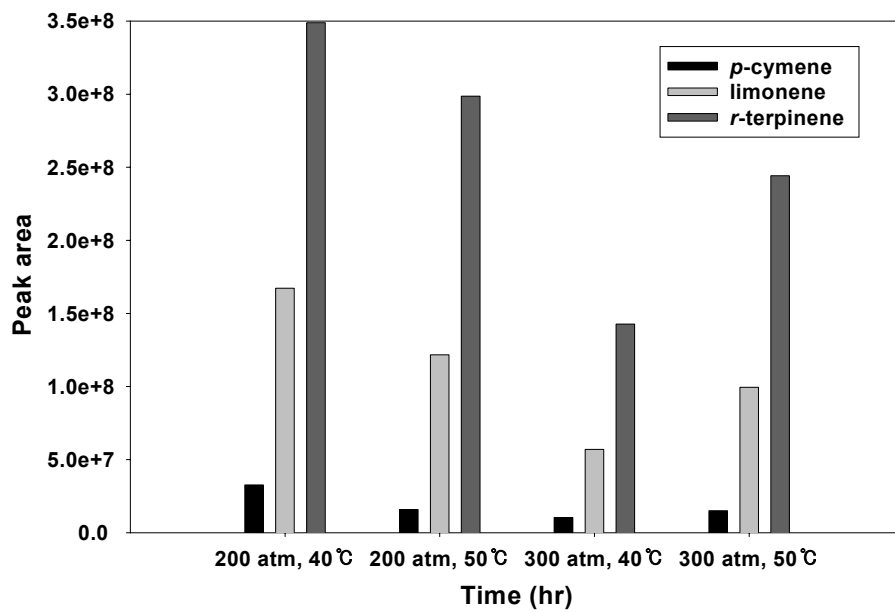


Figure 33. Effects of pressure and temperature on peak areas of *p*-cymene, limonene, and *r*-terpinene extracted during supercritical fluid extraction of water dropwort.

제 2 절 국내산 미나리·들깨잎으로부터 개발된 향신료의 용도개발

1. 실험방법

가. 국내산 미나리 및 들깨잎의 원료화 가능성 및 활용 범위 선정

1) 재료

미나리는 돌미나리와 민미나리로 구별되는데 시중에서 유통되는 돌미나리를 구입하여 시료로 사용하였으며, 들깨잎은 GPL(Green Perilla Leaves)와 VPL(Violet Perilla Leaves)로 구별되는데 시중에서 유통되는 VPL류의 들깨잎 구입하여 시료로 사용하였다. 미나리·들깨잎을 수회에 걸쳐 세척한 후, 상온(20℃)에서 물기를 완전히 탈수(일반가정용 탈수기, 3000 rpm/min.)한 후 착즙기를 이용하여 착즙하였으며, 이때 수율은 미나리 착즙액의 경우 88.1%, 들깨잎 착즙액의 경우 94.5%였다.

2) 농축액 제조

미나리 및 들깨잎을 위의 조건으로 착즙 한 후 100mesh에 여과하였다. 착즙액에 Dextrin 5%첨가 혼합하여 감압 농축기 (Buchi Rotavapor moder: R-114)에서 55℃온도로 농축하였다.

3) 분말 (vacuum dried powder) 제조

Brix 31로 농축된 미나리 및 들깨잎 농축액을 진공 건조기에서 (Heraeus model ; VT 6025, 진공온도 55℃) 8시간 건조 후 분쇄하여 분말시료를 얻었다.

4) Essence 제조

미나리 및 들깨잎 착즙액을 감압 농축기에서 농축시 증발되어 빠져 나오는 정유액을 essence 시료로 사용하였다.

5) 관능평가

기호도 검사법과 차이식별 검사법을 기준으로 대조구와 비교하여 대조구보다 기호도가 좋은 평가치는 5보다 높은 쪽으로, 기호도가 좋지 못한 평가치를 5이하로 평가하고 각 단계별 점수는 1점 단위로 관능 평가를 실시하였으며, 평가표는 다음과 같았다. 기존 spice와의 비교 관능평가는 다년간 본사에 근무한 panelist들이 spice화의 가능성에 주안점을 두어 실시하였다.

구분 관능항목	대조구	실험구 (가공형태별 시료)
전반적인맛	5	0 ~10점으로 평가
고유의 들깨잎 향	5	0 ~10점으로 평가
색깔	5	0 ~10점으로 평가
풍미 (신선/ 개운한 맛, 청량감)	5	0 ~10점으로 평가
종합평점	위 4항목의 평균치	

6) 활용범위선정

가공형태별 소재를 이용하여 seasoning/coating system (marinade & batter, breader) 및 sauce/ 기타양념류등에 적용실험을 수행하였다. Dosage는 기본적으로 특정 타 spice원료의 dosage를 기준으로 하여 사용하였다.

7) Shelf-life 및 이화학적 성질 변화

국내산 미나리 / 들깨잎 향신료의 가속실험 (30~40 °C incubation)을 통한 개략적인 shelf-life를 측정하였고, 이에 따라 저장한 후 일정기간별 이화학적 성질변화 (pH)와 관능평가도 더불어 실시하였다.

8) 경제성비교

사용된 원료의 Dosage 및 가공비용 등의 파악을 통하여 기존 spice와 경제

성을 비교 (가공완제품의 량, 제조원가 등)하였다.

나. 개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 보존성 및 기호도 향상과 가공기술연구

1) 건조 및 추출을 통한 최적 공정연구

가) 전처리

미나리, 들깨잎 착즙액을 100 mesh로 여과한 후, 착즙액에 dextrin 5%를 첨가, 혼합하여 감압 농축기 (Buchi Rotavator R-114)를 이용하여 55℃에서, 미나리 농축액의 경우 35°Brix로, 들깨잎 농축액의 경우 32°Brix로 농축하였다.

나) 진공건조

진공건조기 (Heraeus VT6025)를 이용하여 미나리 및 들깨잎 농축액을 진공 건조하였다. 미나리의 경우 위 농축액에 10%의 β -Cyclodextrin을 첨가한 후 tray에 아주 얇게 깔아 55℃, 65℃하에서 각각 9시간, 6시간동안 건조하였다. 들깨잎의 경우 위 농축액에 8%의 β -cyclodextrin을 혼합하여 tray에 아주 얇게 깔아 55℃, 65℃하에서 각각 10시간, 7시간동안 건조하였다. 건조된 block은 분쇄기(Cutter Mill)를 마쇄하여 분말화 하였다.

다) 분무건조

분무건조기(L8)를 이용하여 미나리 및 들깨잎 농축액을 각각 분무건조하였다. 즉 미나리 및 들깨잎 농축액에 5%의 β -Cyclodextrin을 혼합한 후 feed speed 40kg/h, 송풍온도 150℃ 또는 180℃, 배풍온도 85℃ 또는 90℃조건으로 분무건조하여 분말을 얻었다.

라) Essence 추출

진공 증류장치를 이용하여 미나리 및 들깨잎 농축액을 50℃, 55℃ 및 60℃에서 미나리의 경우 4시간, 들깨잎의 경우 5시간 추출하여 essence를 얻었다.

2) 개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료의 보존성

개발된 국내산 미나리·들깨잎 향신료를 상온에서 6개월 이상 보관하면서 일정한 기간별로 이화학적 성질 및 미생물 검사를 실시하여 보존성을 알아보았다. 또한, 37℃에서 5개월 이상 보관하면서 월1회 이화학적 성질 및 미생물 검사를 실시하였으며, 이때 control로는 냉장상태에서 저장하는 미나리·들깨잎 향신료로 하였다.

3) 소비자 기호도 조사

전문 panel을 선정하여 각 공정에서 생산된 제품 (Vacuum Dried Powder, Spray Dried Powder, Essence)을 대상으로 관능비교 후 우수한 제품을 선정하여, 기존 거래업체의 신제품에 일부 원료를 대체하도록 실험을 의뢰하였다. 즉 개발된 미나리·들깨잎 향신료를 찌개류 및 가정용 요리류에 첨가하여 기호도 및 masking 효과를 비교하였으며, 씨즈닝 및 소스류에 첨가하여 스파이스로서의 대체 가능성을 비교하였다. 관능검사는 전반적인 맛, 전반적인 향, 색깔, 이미 및 이취 4가지 항목에 대하여 10점법으로 평가하였으며, 종합평점은 이 4항목의 평균치로 나타내었다.

4) 3점검사법

기호도 검사법과 차이식별 검사법을 기준으로 대조구와 비교하여 대조구보다 기호도가 좋은 평가치는 5보다 높은 쪽으로, 기호도가 좋지 못한 평가치를 5이하로 평가하고 각 단계별 점수는 1점 단위로 관능평가를 실시하였다. 평가항목은 전반적인 향, 맛, 색깔, 이미, 이취 등에 대한 기존 착즙액과의 비교 평가를 하고 평가결과를 토대로 적용가능여부를 판단하였고, 이중 기호도가 우수한 제품을 원료로 하여 완제품에 원료로 활용하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 국내산 미나리, 들깨잎으로부터 농축액, 분말 및 essence제조

국내산 미나리, 들깨잎의 착즙시 수율은 미나리 88.1%, 들깨잎 94.5%을 나타내었다. 착즙한 미나리, 들깨잎으로부터 농축액을 제조하기위해 미나리는 약 2시간 농축하여 Brix 31정도의 농축액을 얻었으며, 이때 수율은 21%였다. 들깨잎은 약 3시간 농축하여 Brix 32의 농축액을 얻었으며 수율은 22%였다. 분말 (vacuum dry

powder)를 제조하기 위해 Brix 31로 농축된 미나리 농축액을 진공 건조기 (온도 55℃)에서 8시간 건조 후 분쇄하여 분말시료를 얻었으며 이때 수율은 30%였다. Brix 32로 농축된 들깨잎 농축액을 진공건조기 (진공온도 55℃) 10시간 건조 후 분쇄하여 분말 시료를 얻었으며 수율은 30%였다. 미나리, 들깨잎 착즙액을 감압 농축기에서 농축시 증발되어 빠져 나오는 정유액을 Essence 시료로 얻었으며, 착즙액을 100%으로 보았을 때 미나리 72%, 들깨잎 70%정도의 수율을 나타내었다.

나. 국내산 미나리, 들깨잎의 가공형태별 관능검사

미나리/들깨잎을 파쇄하여 얻은 시료 (대조구)와 미나리/ 들깨잎 농축액, 분말 (vacuum dried powder) 및 essence의 향미특성을 비교하기 위하여 관능평가를 실시한 결과는 각각 Table 18에서부터 Table 20까지 나타내었다. 미나리 및 들깨잎 농축액, 분말 및 essence 모두 대조구에 비해 맛, 풍미 및 색등 모든 관능평가항목에서 높은 관능평가점수를 얻었다. 미나리는 농축액의 관능평가 점수가 가장 높았으며, 분말형태로 가공했을 때 가장 낮은 관능평가점수를 받았다. 특히 들깨잎의 경우 essence형태로 가공했을 때 가장 높은 관능평가점수를 얻었다.

Table 18. Sensory evaluation of flavor concentrates from water dropwort and perilla leaf

관능 항목	미나리		들깨잎	
	대조 구	농축 액	대조 구	농축 액
전반적인 맛	5	7.5	5	6.6
고유의 풍미	5	6.2	5	6.0
색깔	5	7.1	5	7.6
종합 평점	5	6.93	5	6.73

Table 19. Sensory evaluation of vacuum dried powder from water dropwort and perilla leaf

관능 항목	미나리		들깨잎	
	대조 구	분 말	대조 구	분 말
진반적인 맛	5	6.5	5	6.6
고유의 풍미	5	5.8	5	6.4
색깔	5	5.6	5	7.6
종합 평점	5	5.97	5	6.87

Table 20. Sensory evaluation of essence from water dropwort and perilla leaf

관능 항목	미나리		들깨잎	
	대조 구	Essence	대조 구	Essence
전반적인 맛	5	6.4	5	7.2
고유의 풍미	5	6.5	5	8.0
색깔	-	-	-	-
종합 평점	5	6.45	5	7.6

다. 기존 spice와 미나리/ 들깨잎의 가공 형태별 비교

기존 spice(coriander, cumin, caraway, sage)와 미나리/들깨잎의 가공형태를 관능검사하여 비교한 결과를 Table 21에 나타내었다. 기존 spice에 비해 낮은 관능평가점수를 받았으나, 들깨잎 essence의 경우엔 비슷한 관능평가점수를 얻었다.

라. 완제품 관능검사

미나리/들깨잎 농축액 분말을 pork topping spice seasoning, 페리카나 key mix seasoning, fried chicken marinade seasoning, 불고기 양념 sauce, spaghetti meat sauce 및 thousand ireland dressing에 각각 0.5% 첨가하여 대조구 (기존제품)와 비교한 결과는 Table22에서 Table 27까지 각각 나타내었다. 모든 경우에 미나리/들깨잎 농축액 분말을 첨가했을 경우 전반적인 맛 및 풍미에서 높은 관능평가점수를 받았다. 미나리 분말보다는 들깨잎 분말의 경우 더 높은 관능평가점수를 받았는데 특히 pork topping spice seasoning과 thousand ireland dressing에 적용했을 때 높은 관능평가점수를 받았다. 미나리분말의 경우 spaghetti meat sauce에 적용시 높은 관능평가점수를 받았다. 이상의 결과는 미나리나 들깨잎향을 기존 seasoning이나 sauce에 이용가능성을 시사해 준다고 할 수 있겠다.

Table 21. Comparison of other spices with flavor concentrates, vacuum dried powder, and essence from water dropwort and perilla leaf

관능 항목	대조구	미나리			들깨잎		
		농축액	분말	Essence	농축액	분말	Essence
전반적인 맛	5	4.0	3.8	4.4	4.3	4.1	4.9
고유의 향	5	4.1	4.0	4.6	4.2	4.1	5.2
spice 특유의 강한 맛	5	4.1	4.1	4.6	4.3	4.2	5.0
종합평점	5	4.07	3.97	4.53	4.27	4.13	5.03

Table 22. Application of vacuum dried powders from water dropwort and perilla leaf to pork topping spice seasoning

관능항목	대조구	미나리분말 첨가	들깻잎분말 첨가
전반적인 맛	5	6.5	6.7
풍미	5	5.7	6.3
색깔	5	6.3	6.3
종합평점	5	6.16	6.43

Table 23. Application of vacuum dried powders from water dropwort and perilla leaf to pelicana key mix seasoning

관능항목	대조구	미나리분말 첨가	들깨잎분말 첨가
전반적인 맛	5	6.0	6.4
풍미	5	6.0	6.2
색깔	5	6.2	6.2
종합평점	5	6.07	6.27

Table 24. Application of vacuum dried powders from water dropwort and perilla leaf to fried chicken marinade seasoning

관능항목	대조구	미나리분말 첨가	들깨잎분말 첨가
전반적인 맛	5	5.8	6.4
풍미	5	5.2	6.2
색깔	5	5.2	5.8
종합평점	5	5.4	6.13

Table 25. Application of vacuum dried powders from water dropwort and perilla leaf to *bulgogi* seasoning sauce

관능항목	대조구	미나리분말 첨가	들깨잎분말 첨가
전반적인 맛	5	6.4	6.8
풍미	5	6.2	6.2
색깔	5	5.6	6.0
종합평점	5	6.07	6.33

Table 26. Application of vacuum dried powders from water dropwort and perilla leaf to spaghetti meat sauce

관능항목	대조구	미나리분말 첨가	들깨잎분말 첨가
전반적인 맛	5	6.6	5.6
풍미	5	6.6	6.2
색깔	5	6.0	5.6
종합평점	5	6.4	5.8

Table 27. Application of vacuum dried powders from water dropwort and perilla leaf to thousand Ireland dressing

관능항목	대조구	미나리분말 첨가	들깻잎분말 첨가
전반적인 맛	5	6.8	7.4
풍미	5	6.2	7.0
색깔	5	5.8	6.0
종합평점	5	6.27	6.8

마. 가속실험을 통한 shelf-life 측정

개략적인 shelf-life의 확인하기 위하여 적당량의 미나리, 들깨잎의 농축액과 분말, essence을 상온, incubator(40℃)에 보관하면서 15일 간격으로 관능검사를 실시하여 개략적인 저장성 실험을 실시하였다.

대조구 (가공형태별)는 냉장 보관한 시료로 하고 맛과 향의 변화를 1~5단계로 표현하여 (1 단계: 맛의 변화가 없다, 2단계: 약간의 맛 차이를 느낀다, 3단계: 맛과 향의 약해지기 시작한다, 4단계: 이미, 이취가 나고 전반적으로 맛변화가 큰 편이다, 5단계: 맛 변화가 심해 상품성이 없다) 저장기간동안 가공형태별 원료들의 관능평가 및 pH의 변화를 Table 28과 Table 29에 나타내었다.

가공된 형태별로 기존 원료 (spice류)와 Shelf-life의 차이가 있는지를 알기 위하여 60여일간의 상온과 incubation (30℃/40℃)을 통하여 가속실험을 실시하여 개략적인 저장성의 차이를 측정한 결과 상온 및 incubation 가공원료에서 관능 및 pH의 변화가 적은 것으로 보아 기존원료와의 shelf-life의 차이는 크지 않은 것 판단되었다.

Table 28. Sensory evaluation and pH changes of flavor concentrates, vacuum dried powder, and essence from water dropwort during storage

시료종류	형태/ Profile	저 장 기 간 (일)					
		0	15	30	45	60	
농축액	상온	전반적인맛	-	1	1	1	1
		향	-	1	1	1	1
	Incubation	전반적인맛	-	1	1	2	2
		향	-	1	1	2	2
	pH	5.57	5.68	5.70	5.68	5.60	
농축액 분말	상온	전반적인맛	-	1	1	1	1
		향	-	1	1	1	1
	Incubation	전반적인맛	-	1	1	1	2
		향	-	1	1	1	2
	pH	-	-	-	-	-	
Essence	상온	전반적인맛	-	1	1	1	1
		향	-	1	1	1	1
	Incubation	전반적인맛	-	1	1	2	2
		향	-	1	1	2	2
	pH	4.34	4.29	4.33	4.39	4.33	

Table 29. Sensory evaluation and pH changes of flavor concentrates, vacuum dried powder, and essence from perilla leaf during storage

시료종류	형태/ Profile	저 장 기 간 (일)					
		0	15	30	45	60	
농축액	상온	전반적인맛	-	1	1	1	2
		향	-	1	1	2	2
	Incubation	전반적인맛	-	1	1	2	2
		향	-	1	2	2	2
	pH	6.33	6.22	6.20	6.35	6.51	
농축액 분말	상온	전반적인맛	-	1	1	1	1
		향	-	1	1	1	1
	Incubation	전반적인맛	-	1	1	2	2
		향	-	1	1	2	2
	pH	-	-	-	-	-	
Essence	상온	전반적인맛	-	1	1	1	2
		향	-	1	1	1	2
	Incubation	전반적인맛	-	1	1	2	2
		향	-	1	1	2	2
	pH	3.95	3.90	3.88	3.82	3.98	

바. 원료화 가능성 및 활용범위선정

1) 농축액의 원료화 가능성/활용범위

미나리를 착즙하여 농축하면 Brix 31, 착즙액의 21%정도(생체에서의 수율: 19.48%)의 수율을 나타내었다. 같은 강도로서 생미나리와 농축액을 관능평가요원들의 관능검사에 의하여 평가한 결과 농축액이 맛과 color에서 약간의 우위를 보였고 전체적인 풍미는 큰 차이를 보이지 않았다. 관능요원들의 주관적인 의견으로 이취가 나고 맛에 비해 향의 fresh하지 못하다는 평가결과를 보였다. Spice로 활용가치가 일부제품에 부분적으로 가능할 것으로 판단되며, sauce류에 주로 쓰여질 수 있을 것으로 보여진다.

들깨잎을 착즙하여 농축하면 Brix 32, 착즙액의 22%(생체에서의 수율: 21.88%)의 수율을 나타내었다. 같은 강도로서 생 들깨잎과 농축액을 관능평가 한 결과 맛과 color에서 우위를 보였는데 특히 color는 들깨잎 특유의 색상이 선명하였고, 전체적인 풍미는 미나리와 마찬가지로 큰 차이를 보이지 않았다. 관능요원의 주관적인 의견은 생취가나고 Fresh한 맛은 우수하다는 평가결과를 보였다. Spice적인 기능으로서 소스류에 이용이 가능하다는 결과가 나왔다.

2) 농축액 분말 (vacuum dried extract powder)의 원료화 가능성/ 활용범위

Brix 31의 미나리농축액을 진공건조기에서 8시간 건조한 분말은 농축액의 30%(생체에서의 수율: 5.84%)의 수율을 얻었다. 같은 농도로서 생 미나리와 농축분말을 관능 평가 한 결과 전반적인 맛에서 다소 좋은평가 결과를 나타내었으며, 향이나 color에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 관능요원의 주관적인 의견은 약간의 생체 삶은 (냉냉한) 맛 (boiled tallow grassy)과 단향이 난다는 관능평가를 보였다. Seasoning 류에 적용한 결과 전반적 맛과 향에서 육류 및 기타 특정제품의 masking을 위한 제품으로 활용 할 수 있을 것으로 판단된다. Sauce 및 dressing류 (액상복합조미식품)에 적용한 결과 맛과 향에서 좋은 결과를 보인것으로 보아 제품에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

Brix 32의 들깨잎농축액을 진공건조기에서 10시간 건조한 분말은 농축액의 30% (생체에서의 수율: 6.56%)을 얻었으며, 같은 농도로서 생 들깨잎과 분말을 관능 평가 한 결과 전반적인 맛과 풍미는 다소 좋은 편으로 평가되었으며, color는 들깨잎

특유의 색을 보였다. 관능요원의 주관적인 의견은 약간의 생체 삶은 (냉냉한)맛 (boiled tallow grassy)과 풀취가 난다는 평가를 보였다. Seasoning류에 적용한 결과 전반적인 맛에서 기존제품보다 다소 좋은 평가를 받았으며, 특히 육 가공용 Seasoning에 활용이 가능할 것으로 판단된다. Sauce 및 Dressing류에 적용한 결과 dressing 류에 전반적인 맛과 풍미에서 독특한 소재로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

3) Essence로서의 원료화 가능성/ 활용범위

미나리 농축액 제조과정 상에서 환류(증발)되어 나오는 정유액(Essence)을 얻었으며, 착즙액의 72%(생체에서의 수율: 63.4%)의 수율을 얻었다. 생 미나리와 Essence를 관능평가 한 결과 전반적인 맛과 향이 Fresh하며, 좋은 평가결과를 얻었다. 관능요원의 주관적인 평가결과는 fresh한 향과 맛은 좋은 편이나, 향과 맛의 강도가 다소 약한 것으로 평가되었으며, flavor로써 chemical를 부분적으로 첨가하여 활용 할 수 있을 것으로 판단된다. 들깨잎 농축액 제조과정 상에서 환류(증발)되어 나오는 정유액(Essence)을 얻었으며, 착즙액의 70%(생체에서의 수율: 66.15%)의 수율을 얻었다. 생 들깨잎과 essence를 관능평가한 결과 전반적인 맛과 풍미가 우수하며, 특히 Fresh한 들깨잎 향이 강한 평가결과를 얻었다. Panel들의 주관적인 평가결과는 fresh한 들깨잎 향이 매우 좋은 것으로 판단되었으며, beverage 및 액상복합조미식품(sauce, 양념장, dressing 등)에 폭넓은 활용이 가능할 것으로 판단되어진다.

사. 경제성 비교

미나리/들깨잎을 가공하면 농축액 (수율: 18~20%)과 vacuum dry extract powder (수율: 5~7%)을 얻을 수 있었으며, essence수율 까지 포함한다면 생체의 70~80%정도가 된다. 대량생산 및 essence의 활용할 수 있는 공정조건만 갖춘다면, 기존spice가공품들보다, 더욱 저렴한 가격으로 효과를 볼 수 있을 것으로 예측된다.

아. 국내산 미나리, 들깨잎 분말 향신료 및 essence 개발

미나리 및 들깨잎을 착즙한 후 각각 35°Brix 및 32°Brix로 농축하여 진공 건조 및 분무건조 하여 분말 향신료를 개발하였으며 이때 수율은 Table 30과 같았다. 미나리 및 들깨잎의 경우 진공건조에 의해서 분무건조에 비해 더 높은 수율로

Table 30. Yields of powders and essence developed from water dropwort and perilla leaf

제품유형	수율 (%)	
	미나리	들깨잎
진공건조	38	40
분무건조	35	34
essence (50℃)	66	60
essence (55℃)	71	65
essence (60℃)	74	68

분말화 할 수 있었다. Essence의 경우 증류온도가 추출수율에 영향을 미쳤으며, 추출온도가 높을수록 수율이 증가하였다.

자. 개발된 미나리, 들깨잎 분말 향신료 및 essence의 이화학적 성질 변화 및 저장성

1) 이화학적 성질변화

미나리· 들깨잎 분말 향신료 및 essence와 이를 적용한 완제품들의 shelf-life을 알아보기 위해 냉장(대조구), 상온, Incubation(37℃) 조건 하에서 각각 저장하면서 30일 간격으로 시료를 채취하여 실험하였으며, 150일 동안 저장 실험하였다. 단, 완제품의 경우는 제품유형에 따른 차이로 sampling 시기를 달리하였으며 이렇게 채취된 시료는 관능검사와 이화학적 실험을 통해 저장성을 알아보았다. 맛과 향의 변화를 1 ~ 5 단계로 표현하는 방식으로 그 변화를 나타냈는데, 그 단계별 차이는 다음과 같은 기준(1단계 : 맛의 변화가 없다, 2단계 : 약간의 맛 차이를 느낀다, 3단계: 맛과 향이 약해지기 시작한다. 4단계: 이미, 이취가 나고 전반적으로 맛 변화가 큰 편이다, 5단계: 맛 변화가 심해 상품성이 없다.)으로 표현하였다. 또한 미나리· 들깨잎 분말 향신료 및 essence의 저장실험 중 이화학적 변화는 일반적인 성분변화(수분함량, pH, 미생물)와 완제품 특성에 부합된 규격(수분함량, 미생물, 기타)을 각각 설정하여 실험하였다.

2) 미나리· 들깨잎 분말 향신료 및 essence와 이를 적용한 제품의 관능평가

미나리· 들깨잎 분말 향신료 및 essence를 저장 조건을 달리하여 150일간 보관하면서 30일 간격으로 sampling하고 혼련된 패널로 하여금 전반적인 맛과 향을 평가하도록 하였다. 그 결과는 Table 31과 32에 나타낸 것과 같다. 결과에서 보듯이 미나리· 들깨잎 분말 향신료의 경우는 저장기간 중 전반적인 맛이나 향에서 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. Essence의 경우는 상온에서 보관할 때는 미나리 분말 향신료의 경우는 45일 이후에, 들깨잎 향신료의 경우는 30일 이후에 향이 약해지는 것으로 나타났고, incubation조건에서는 상온보다 향 손실이 큰 것으로 나타났다. 또한 분말 향신료 제조시 가공온도는 저장성에 유의적인 차이를 보이지 않아 가공온도를 잘 선택하면 제품에 영향을 주지 않으면서도 수율은 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다.

미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence를 기존의 소스 및 씨즈닝 제품에 적용한 처리구와 무처리구(대조구)의 저장성을 비교한 결과는 Table 33에 나타내었다. 향신료 첨가량은 분말 향신료의 경우 제품의 0.5 %로 하였고, 적용제품으로는 염지제와 스낵용 씨즈닝이었다. Essence의 경우는 매운탕소스와 우동소스에 적용하였으며, 첨가량은 0.3%이었다. 미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence를 적용한 제품의 경우는 대조구에 비해 저장성이 증가하였다. 그 이유는 향신료의 경우 특정성분들이 항균성을 나타내 미생물 생육을 저해하는 특징을 보이는데 이에 따른 결과라 사료된다. 매운탕소스의 경우 상온이나 Incubation시 보통 3주 내지 4주에서 이미·이취가 발생하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 우동소스의 경우 제품 특성상 매운탕소스에 비해 상당기간 저장이 가능하였다. 또한 처리구와 무처리구를 비교할 때는 보통 2주 내지 3주 정도의 저장성증가를 보였다. 미나리·들깨잎 분말 향신료를 사용한 염지제, 스낵 씨즈닝의 경우 수분함량이 상당히 낮은 편이기 때문에 장기간 저장이 가능하였다. 그러나 향의 손실은 어느 정도 있는 것으로 관능 검사 결과 확인할 수 있었다.

3) 미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence와 이를 적용한 제품의 저장 중 이화학적 변화

미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence의 저장 중 이화학적 변화를 알아보기 위해 미나리·들깨잎 분말 향신료는 수분함량, 입도, 미생물 검사, 에센스 및 착즙액을 농축한 농축액은 pH 변화 및 미생물검사를 실시하였으며 그 결과는 Table 34와 35에 나타내었다. 미나리 농축액의 경우 저장기간이 경과할수록 pH가 감소하는 경향을 보여 주었다 (Table 34). 이와 같은 현상은 미나리 농축액 중의 일 반성분들이 분해되어 산을 생성하게 되어 pH가 떨어지는 것으로 사료된다. 미나리 essence의 경우는 pH가 농축액에 비해 낮은 편인데 이와 같은 결과는 증류과정에서 휘발성 유기산들이 essence에 용해된 결과라 생각되며 저장 중 pH변화는 크게 없는 것으로 나타났다. 미나리 분말 향신료의 경우 수분함량에서 차이가 있었는데 진공건조(V/D)한 것은 5.8%이었고 분무건조(S/D)한 것은 3.5%로 나타났다. 분말제품의 입도는 분무건조처리 시에는 크게 문제되지 않았으며 진공건조의 경우는 분쇄과정에서 주의하여 처리하면 크게 문제되지 않는 것으로 나타났다. 들깨잎 농축액의 경우 초기 pH가 미나리 농축액에 비해 높았고 미나리 농축액과 유사하게 저장기간이 경과

Table 31. Shelf-life of vacuum dried powder and essence from water dropwort

시료종류	가공 온도	저장조건/Profile	저장기간 (일)						
			0	30	60	90	120	150	
진공건조 분말	55℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	2	2
	65℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	2	2
분무건조 분말	150℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	2	2
	180℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	2	2
Essence	50℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	2	2	2
	55℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	2	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	2	2	2
	60℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2
			향	-	1	1	2	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2
			향	-	1	1	2	2	2

Table 32. Shelf-life of vacuum dried powder and essence from perilla leaf

시료종류	가공 온도	저장조건 / Profile	저장기간 (일)						
			0	30	60	90	120	150	
진공건조 분말	55℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
	65℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
분무건조 분말	150℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
	180℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
Essence	50℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	2	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2
			향	-	1	2	2	2	2
	55℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	2	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2
			향	-	1	2	2	2	2
	60℃	상온	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2
			향	-	1	2	2	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	2	2	2	2
			향	-	1	2	2	2	2

Table 33. Shelf-life of final products prepared with vacuum dried powder and essence from water dropwort and perilla leaf

제품 유형	구분	저장조건/Profile	저장기간 (주)									
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	
매운탕 소스 (신제품)	미나리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2	2	3	3
			향	-	1	1	2	2	2	3	3	3
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2	2	3	4	
		향	-	1	1	2	2	3	3	3	4	
	들깨잎	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2	2	3	3
			향	-	1	1	2	2	2	3	3	3
Incubation	전반적인 맛	-	1	1	2	2	2	2	3	4		
	향	-	1	1	2	2	2	2	3	4		
우동 소스	미나리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	2	2	3
			향	-	1	1	1	1	2	2	3	3
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	2	2	2	3	
		향	-	1	1	1	2	2	2	3	3	
	들깨잎	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	1	1	2	2	3
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	2	2	3	3	
		향	-	1	1	1	1	2	2	2	3	
	무처리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2	2	3	3
			향	-	1	1	1	2	2	2	3	3
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	2	2	3	3	3	
		향	-	1	1	1	2	2	2	3	3	
치킨 엽지제	미나리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	2	2
			향	-	1	1	1	1	1	2	2	2
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	2	2	
		향	-	1	1	1	1	1	2	2	2	
	들깨잎	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	2
			향	-	1	1	1	1	1	1	2	2
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	2	2	
		향	-	1	1	1	1	1	1	2	2	
	무처리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	2	2	2
			향	-	1	1	1	1	1	2	2	2
	Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	2	2	2
		향	-	1	1	1	1	1	1	2	2	2

Table 33. Continued

스내용 씨즈닝	미나리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	1	
			향	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
	들깨잎	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			향	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
			향	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
	무처리	상온	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
			향	-	1	1	1	1	1	1	1	2	2
		Incubation	전반적인 맛	-	1	1	1	1	1	1	1	1	2
			향	-	1	1	1	1	1	1	1	2	2

Table 34. Physicochemical changes of vacuum dried powder and essence from water dropwort during storage

구분	가공 조건	저장조건/Profile	저장기간 (일)						
			0	30	60	90	120	150	
농축액	-	상온	pH	5.56	5.53	5.47	5.41	5.30	5.21
			일반세균	4.2×10^3	2.2×10^5	6.3×10^5	1.1×10^4	5.3×10^4	2.3×10^4
		Incubation	pH	5.54	5.37	5.23	5.12	5.06	5.02
			일반세균	4.6×10^3	3.1×10^5	6.7×10^5	1.9×10^5	6.2×10^4	1.8×10^4
진공건조	55℃	상온	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.3×10^4	5.1×10^4	1.2×10^5	5.1×10^4	7.3×10^4	2.8×10^4
		Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.5×10^4	5.8×10^4	1.4×10^5	5.3×10^5	7.6×10^4	2.6×10^4
	65℃	상온	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.1×10^4	4.9×10^4	1.0×10^5	4.8×10^4	2.5×10^4	8.3×10^3
		Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.4×10^4	5.3×10^4	1.3×10^5	5.0×10^4	2.8×10^4	7.9×10^3
분무건조	150℃	상온	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	1.8×10^4	4.1×10^4	9.8×10^4	2.3×10^4	8.2×10^3	2.7×10^3
		Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.0×10^4	4.6×10^4	1.4×10^5	2.6×10^4	8.6×10^3	3.2×10^3
	180℃	상온	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	1.4×10^4	3.6×10^4	8.9×10^4	1.4×10^4	7.5×10^3	1.4×10^3
		Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	1.7×10^4	3.7×10^4	9.3×10^4	1.5×10^4	7.8×10^3	1.7×10^3
Essence	50℃	상온	pH	4.37	4.26	4.23	4.17	4.10	4.12
			일반세균	1.6×10^2	6.1×10^2	2.1×10^3	7.5×10^3	3.0×10^2	2.0×10^2
		Incubation	pH	4.35	4.28	4.24	4.16	4.09	4.01
			일반세균	1.6×10^2	6.4×10^2	2.6×10^3	8.1×10^3	3.8×10^2	2.8×10^2
	55℃	상온	pH	4.38	4.36	4.30	4.27	4.25	4.26
			일반세균	1.5×10^2	5.9×10^2	1.9×10^3	7.3×10^3	3.9×10^2	1.9×10^2
		Incubation	pH	4.38	4.36	4.29	4.28	4.20	4.16
			일반세균	1.7×10^2	6.1×10^2	2.1×10^3	7.7×10^3	3.2×10^2	2.2×10^2
	60℃	상온	pH	4.42	4.38	4.31	4.29	4.26	4.22
			일반세균	1.2×10^2	4.9×10^2	1.8×10^3	7.2×10^3	3.3×10^2	1.3×10^2
		Incubation	pH	4.38	4.32	4.27	4.22	4.17	4.12
			일반세균	1.4×10^2	5.5×10^2	2.0×10^3	7.4×10^3	3.5×10^2	1.5×10^2

할수록 감소하는 경향을 보여주었다 (Table 35). 들깨잎 essence의 경우 미나리 essence와 유사하게 저장 중 pH 변화는 크게 없었다. 들깨잎 분말 향신료의 경우 진공건조(V/D)한 것의 수분함량은 5.2%이었고 분무건조(S/D)한 것은 3.2 %로 나타났다.

미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence를 매운탕소스(신제품), 우동소스, 치킨 염지제, 스낵용 씨즈닝등에 적용한 제품의 저장 중 이화학적 변화는 Table 36에 나타내었다. 소스제품은 65℃에서 30분간 살균한 후 1주 간격으로 8주간 일반세균수 변화를 체크하였으며, 분말제품의 경우 초기 미생물 (일반세균) 검사와 수분함량을 측정하였다.

차. 관능검사 및 소비자 기호도 조사

1) 미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence의 관능평가

미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence에 대해 관능평가를 실시한 결과는 Table 37과 38에 나타내었다. 착즙액 (대조구)과 비교하여 대조구보다 기호도가 좋은 평가치는 5보다 높은 쪽으로, 기호도가 좋지 못한 평가치는 5이하로 평가하고, 각 단계별 점수는 1점 단위로 관능평가를 실시하였다. 미나리 분말 향신료는 대조구에 비해 낮게 평가되었으며 미나리 essence의 경우는 대조구에 비해 높은 평가를 받았다. 특히 낮은 온도에서 증류한 미나리 essence가 높은 평가를 받았다 (Table 37). 들깨잎 분말 향신료도 대조구에 비해 낮은 평가 점수를 받았으며, 들깨잎 essence는 전반적인 맛 및 고유의 풍미가 대조구에 비해 월등히 우수하였으며, 55℃에서 증류한 들깨잎 essence가 가장 높은 평가 점수를 받았다 (Table 38).

2) 미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence를 적용한 제품의 관능평가

미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence를 생선 매운탕에 적용한 후 대조구(착즙액)와 비교하여 관능평가를 실시한 결과는 Table 39와 40에 나타내었다. 미나리·들깨잎 모두 essence를 생선매운탕소스로 적용시 대조구에 비해 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

미나리·들깨잎 분말 향신료 및 essence를 우동소스에 적용한 후 대조구(착즙액)와 비교하여 관능평가를 실시한 결과는 Table 41과 42에 나타내었다. 미나

리· 들깨잎 모두 essence를 우동소스로 적용시 대조구에 비해 좋은 관능평가 점수를 얻을 수 있었다.

미나리· 들깨잎 분말 향신료 및 essence를 fried chicken marinade seasoning, 스낵용 씨즈닝, spaghetti meat sauce 및 thousand Ireland dressing에 적용한 후 대조구(착즙액)와 비교하여 관능평가를 실시한 결과는 Table 43부터 50 까지 나타내었다. 모든 적용제품에 있어서 미나리· 들깨잎 모두 essence를 위제품에 적용하였을 때 대조구에 비해 좋은 관능평가 점수를 얻을 수 있었다.

Table 35. Physicochemical changes of vacuum dried powder and essence from perilla leaf during storage

구분	가공 조건	저장조건/Profile	저장기간 (일)						
			0	30	60	90	120	150	
농축액	-	상온 Incubation	pH	6.34	6.25	6.01	5.87	5.62	5.45
			일반세균	5.1×10^3	1.4×10^4	5.7×10^4	5.1×10^4	3.7×10^5	5.6×10^4
		상온 Incubation	pH	6.32	6.14	5.98	5.77	5.51	5.50
			일반세균	5.7×10^3	1.9×10^4	6.2×10^4	5.6×10^4	4.3×10^5	5.8×10^4
진공건조	55°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.7×10^4	4.6×10^4	8.9×10^4	1.1×10^4	4.3×10^4	4.2×10^3
	65°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	3.2×10^4	4.9×10^4	9.6×10^4	1.7×10^4	5.8×10^4	4.3×10^3
	150°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.5×10^4	4.3×10^4	5.1×10^4	1.0×10^4	3.8×10^4	8.9×10^3
180°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-	
		일반세균	2.8×10^4	4.5×10^4	6.7×10^4	1.4×10^4	3.0×10^4	7.8×10^3	
분무건조	50°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.1×10^4	3.5×10^4	1.7×10^5	3.6×10^4	3.2×10^4	1.7×10^4
	60°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.3×10^4	4.0×10^4	2.0×10^5	3.9×10^4	3.8×10^4	1.5×10^4
	70°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-
			일반세균	2.0×10^4	3.3×10^4	1.5×10^5	2.9×10^4	3.0×10^4	1.2×10^4
80°C	상온 Incubation	pH	-	-	-	-	-	-	
		일반세균	2.2×10^4	3.4×10^4	1.9×10^5	3.1×10^4	2.5×10^4	1.3×10^4	
Essence	50°C	상온 Incubation	pH	3.98	3.97	3.95	3.96	3.89	-
			일반세균	1.3×10^2	5.8×10^2	2.6×10^3	7.3×10^3	5.6×10^2	1.2×10^2
	55°C	상온 Incubation	pH	3.99	3.96	3.96	3.92	3.88	-
			일반세균	1.8×10^2	6.7×10^2	3.7×10^3	2.1×10^4	8.5×10^3	9.1×10^2
	60°C	상온 Incubation	pH	3.97	3.95	3.96	3.90	3.89	3.82
			일반세균	1.4×10^2	6.1×10^2	2.5×10^3	8.0×10^3	5.7×10^2	2.6×10^2
	65°C	상온 Incubation	pH	3.98	3.94	3.92	3.89	3.86	3.78
			일반세균	2.0×10^2	1.1×10^3	4.3×10^3	3.2×10^3	9.1×10^2	6.1×10^2
	70°C	상온 Incubation	pH	4.04	4.02	3.98	3.99	3.96	3.95
			일반세균	2.5×10^2	3.3×10^3	7.6×10^3	3.5×10^3	6.6×10^2	3.2×10^2
	75°C	상온 Incubation	pH	4.02	4.01	3.96	3.92	3.89	3.88
			일반세균	2.7×10^2	3.7×10^3	8.1×10^3	4.4×10^3	1.2×10^2	7.6×10^2

Table 36. Physicochemical changes of final products prepared with vacuum dried powder and essence from water dropwort and perilla leaf during storage

제품유형	저장조건 /		저장기간 (주)								
	Profile		0	1	2	3	4	5	6	7	8
매운탕소스 (신제품)	A	일반세균	2.2×10^2	3.4×10^3	3.2×10^3	4.1×10^4	3.7×10^5	1.7×10^5	7.2×10^4	3.2×10^4	8.4×10^3
	B	"	2.3×10^2	4.2×10^3	4.4×10^3	2.1×10^5	5.6×10^5	3.1×10^6	1.2×10^5	5.4×10^4	4.4×10^4
우동소스	A	"	1.5×10^2	2.4×10^2	1.4×10^3	6.1×10^3	5.6×10^3	1.1×10^4	6.1×10^3	5.2×10^3	6.8×10^2
	B	"	1.4×10^2	3.4×10^2	1.7×10^3	3.8×10^3	7.3×10^3	2.4×10^4	1.4×10^4	6.4×10^3	2.0×10^3
	C	"	1.4×10^2	4.5×10^2	3.4×10^3	5.4×10^3	1.0×10^4	3.6×10^4	2.7×10^4	8.4×10^3	2.4×10^3
치킨 염지제	A	"	8.0×10^3	4.0×10^4	6.5×10^4	8.9×10^3	2.5×10^4	6.8×10^4	9.2×10^3	6.0×10^3	2.2×10^3
	B	"	7.3×10^3	4.5×10^4	7.3×10^4	7.2×10^4	2.1×10^5	7.2×10^4	9.9×10^3	6.7×10^3	3.0×10^3
스낵용 씨즈닝	C	"	7.7×10^3	4.1×10^4	7.8×10^4	8.0×10^4	2.4×10^5	3.2×10^5	1.5×10^4	1.0×10^4	5.4×10^3
	A	"	7.6×10^4	4.3×10^5	5.5×10^5	7.5×10^5	1.2×10^6	3.2×10^6	5.2×10^6	6.8×10^5	1.2×10^5
	B	수분함량	6.2 %	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	일반세균	8.1×10^4	4.4×10^5	6.4×10^5	7.0×10^5	2.2×10^6	4.1×10^6	5.5×10^6	7.7×10^5	2.3×10^5

A: 상온, B: incubation, C: 무처리

Table 37. Sensory evaluation of vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (n=12)

구분		전반적인 맛	고유의 풍미	이미/이취	종합 평점
Vacuum Dried Powder	55℃	4.6	4.8	3.8	4.20
	65℃	4.4	4.7	3.7	4.13
Spray Dried Powder	150℃	3.9	3.7	3.7	3.77
	180℃	3.6	3.5	3.6	3.57
Essence	50℃	7.4	8.1	7.7	7.73
	55℃	7.2	7.5	7.6	7.43
	60℃	6.4	6.6	7.2	6.73

Table 38. Sensory evaluation of vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (n=12)

구분		전반적인 맛	고유의 풍미	이미/이취	종합평점
Vacuum Dried	55℃	4.8	4.2	3.8	4.27
Powder	65℃	4.2	4.0	3.6	3.93
Spray Dried	150℃	4.1	3.6	3.6	3.77
Powder	180℃	3.8	3.1	3.4	3.43
	50℃	7.9	8.8	8.3	8.33
Essence	55℃	8.2	9.1	8.3	8.53
	60℃	7.7	8.2	8.0	7.97

Table 39. Sensory evaluation of hot fish stew prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	3.7	3.2	3.8	3.5	7.1
풍미	5	3.6	3.0	3.3	3.1	7.0	6.7	5.8
색깔	5	3.8	3.7	4.1	4.0	4.9	5.1	4.9
종합평점	5	3.70	3.30	3.73	3.53	6.33	6.10	5.60

Table 40. Sensory evaluation of hot fish stew prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	3.9	3.2	3.6	3.3	7.8
풍미	5	3.7	3.1	3.0	3.1	8.1	8.5	7.8
색깔	5	3.6	3.7	3.8	3.7	4.9	5.0	5.1
종합평점	5	3.73	3.33	3.47	3.37	6.93	7.27	6.83

Table 41. Sensory evaluation of *udong* sauce prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	3.4	3.3	3.7	3.6	7.3
풍미	5	3.3	3.0	3.3	3.2	7.1	6.8	6.8
색깔	5	3.1	3.2	3.2	3.0	4.8	4.9	4.9
종합평점	5	3.27	3.17	3.40	3.27	6.40	6.23	6.20

Table 42. Sensory evaluation of *udong* sauce prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	3.8	3.6	4.0	3.9	7.5
풍미	5	3.7	3.4	4.1	4.0	7.5	7.8	7.2
색깔	5	3.9	3.7	3.7	3.8	4.8	4.8	4.9
종합평점	5	3.80	3.57	3.93	3.90	6.60	6.77	6.47

Table 43. Sensory evaluation of fried chicken marinade seasoning prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
전반적인 맛	5	3.2	3.0	3.5	3.3	5.8	5.5	5.6
풍미	5	3.2	2.9	3.4	3.3	6.0	5.6	5.4
색깔	5	3.9	3.8	3.7	3.7	4.7	4.8	4.7
종합평점	5	3.43	3.23	3.53	3.43	5.50	5.30	5.23

Table 44. Sensory evaluation of fried chicken marinade seasoning prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
전반적인 맛	5	3.3	3.0	3.8	3.7	7.0	7.4	7.1
풍미	5	3.2	3.0	3.6	3.4	7.2	7.5	7.1
색깔	5	3.8	3.9	3.8	3.8	4.9	4.8	4.9
종합평점	5	3.43	3.30	3.73	3.63	6.37	6.57	6.37

Table 45. Sensory evaluation of snack seasoning prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	4.6	4.2	4.7	4.5	6.6
풍미	5	4.6	4.3	4.6	4.4	6.5	6.4	4.3
색깔	5	3.7	3.7	3.8	3.9	5.0	4.9	4.8
종합평점	5	4.30	4.07	4.37	4.27	6.03	5.90	5.17

Table 46. Sensory evaluation of snack seasoning prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	4.7	4.5	4.8	4.4	6.6
풍미	5	4.6	4.5	4.8	4.3	6.8	7.1	6.7
색갈	5	3.7	3.8	3.7	3.9	4.9	4.8	4.8
종합평점	5	4.33	4.27	4.43	4.20	6.10	6.30	6.07

Table 47. Sensory evaluation of spaghetti meat sauce prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
전반적인 맛	5	3.6	3.4	3.7	3.6	6.3	6.1	6.1
풍미	5	3.7	3.4	3.5	3.5	6.4	6.3	6.1
색깔	5	3.8	3.8	3.9	3.8	4.7	4.8	4.7
종합평점	5	3.70	3.53	3.70	3.63	5.80	5.73	5.63

Table 48. Sensory evaluation of spaghetti meat sauce prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	3.4	3.1	3.7	3.4	6.5
풍미	5	3.4	3.2	3.6	3.5	6.6	6.9	6.7
색깔	5	3.7	3.8	3.7	3.7	4.3	4.5	4.6
종합평점	5	3.50	3.37	3.67	3.53	5.80	6.07	5.93

Table 49. Sensory evaluation of thousand Ireland dressing prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from water dropwort (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	4.0	3.6	4.2	4.0	6.8
풍미	5	4.1	3.4	3.9	3.9	6.7	6.6	6.3
색깔	5	3.6	3.6	3.7	3.7	5.0	5.0	5.0
종합평점	5	3.90	3.53	3.93	3.87	6.17	6.03	5.87

Table 50. Sensory evaluation of thousand Ireland dressing prepared with vacuum dried powder, spray dried powder, and essence from perilla leaf (0.5% addition)

관능항목	대조구	Spray dried powder		Vacuum dried powder		Essence		
		150℃	180℃	55℃	65℃	50℃	55℃	60℃
		전반적인 맛	5	4.0	3.6	4.4	4.3	7.1
풍미	5	4.0	3.6	4.3	4.3	7.2	7.4	7.3
색깔	5	3.7	3.6	3.8	3.8	5.0	4.9	4.9
종합평점	5	3.90	3.60	4.17	4.13	6.43	6.53	6.43

3) 소비자 기호도 평가

미나리· 들깨잎 분말 향신료 와 essence 및 이를 적용하여 개발한 제품의 소비자 기호도 평가는 Table 51에 나타내었다.

진공 건조에 의한 미나리· 들깨잎 분말 향신료 및 이를 적용한 제품은 전반적으로 원료자체의 특성이 약하여 기대한 만큼의 만족도는 얻지 못했으나, essence 및 이를 적용한 제품들은 특유의 풍미로 인해서 향신료로서 뿐만 아니라 masking agent로서의 활용에 있어서 만족도가 높은 것으로 나타났다

카. Extract 제품 및 생산공정

미나리· 들깨잎으로부터 extract를 제조하고, 이 extract로부터 진공건조, 분무건조에 의해 powder를 생산하는 공정을 다음과 같이 확립하였다.

A. 미나리 Extract

- a.. 세척/건조 : 정제수로 수회에 걸쳐 세척한 후 건조한다.
- b.. 착즙 : 진공 농축기에 투입하여 착즙한다. (수율 66~68%)
- c.. 농축 : 진공 농축기에 투입하여(55℃) 4~6시간동안 농축하여 32 Brix 정도의 농축액을 생산한다.
- d. 품질관리 : 32 Brix의 농축액을 미생물 및 이화학적 검사를 한다.
- e. 포장 : 일정한 포장단위로 용기에 포장한다.

B. 들깨잎 Extract

- a.. 세척/건조 : 정제수로 세척후 건조한다.
- b. 착즙 : 착즙기를 이용하여 착즙한다. (수율 63~65%)
- c. 농축 : 진공 농축기에 투입하여(60℃) 4~6시간 농축하여 30~32 Brix 정도의 농축액을 생산한다.
- d. 품질관리 : 농축액을 미생물 및 이화학적 검사를 한다.
- e. 포장 : 일정한 포장단위로 용기에 포장한다.

C. 진공건조에 의한 생산 공정

C-1. 미나리 extract powder

- a. 혼합 : 32 Brix의 농축액에 5~10%의 maltodextrin을 혼합한다.
- b. 건조 : 진공건조기 60℃에서 8~10시간 건조한다.
- c. 분쇄 : 분쇄기를 이용하여 일정한 입도의 크기로 분쇄한다.

Table 51. Consumer test of vacuum dried powder and essence from water dropwort and perilla leaf and applied products

제품명	국내 업체 수	해외 업체 수	만족도	결 과		
가공형태 별 원료	Vacuum dried powder	미나리	4	3	전반적으로 낮음	원료로서의 활용이 어려움
		들깨잎	4	3	전반적으로 낮음	원료로서의 활용이 어려움
	Essence	미나리	5	5	국내는 반응이 좋은 편이나 해외에서는 낮음	원료로서의 활용 가능성 있음
		들깨잎	5	5	전반적으로 양호	원료로서의 활용 가능성 있음
완제품	Spaghetti sauce	미나리	5	4	전반적으로 양호	향신료로서의 효과 있음
		들깨잎	6	4	전반적으로 양호	향신료로서의 효과 있음
	Marinade	미나리	7	5	전반적으로 양호	Masking agent로 활용가능
		들깨잎	7	5	전반적으로 양호	Masking agent로 활용가능
	Snack seasoning	미나리	3	4	전반적으로 양호	향신료로서의 효과있음
		들깨잎	3	4	전반적으로 양호	향신료로서의 효과있음

C-2. 들깨잎 extract powder

- a. 혼합 : 30 Brix 의 농축액에 5~10%의 maltodextrin을 혼합한다.
- b. 건조 : 진공건조기 60℃에서 10~12시간 건조한다.
- c. 분쇄 : 분쇄기를 이용하여 분쇄한다.

D. 분무건조에 의한 생산 공정

D-1. 미나리 분말

- a. 혼합 : 32 Brix의 농축액에 β -cyclodextrin 10~12%를 혼합하여 45 Brix 정도의 액을 만든 후 homo-mixer에서 충분히 혼합한다.
- b. 분무건조 : 송풍온도 180℃, 배풍온도 90℃의 조건하에서 분무건조한다.
- c. 포장 : 분무건조에 나온 분말을 일정한 품질을 위해서 리본 믹서기에서 혼합한 후 포장한다.

D-2. 들깨잎 분말

- a. 혼합 : 30 Brix의 농축액에 β -cyclodextrin 10~12%를 혼합하여 45 Brix 정도의 액을 만든 후 homo-mixer에서 약15분 동안 균질화하면서 혼합한다.
- b. 분무 건조 : 송풍온도 180℃, 배풍 온도 90℃에서 분무건조 한다.
- c. 포장 : 리본 믹서기에서 일정하게 혼합한 후 포장한다.

E. 정유장치에 의한 생산 공정

- a. 진공 정유장치에 착즙액을 투입한다.
- b. 정유장치의 온도를 55℃로 setting하고 진공압을 서서히 낮춘다.
- c. 진공 하에서 55℃까지 서서히 가열하면서 증발되는 증기로 냉각콘덴서를 통해 다시 액으로 환원되면서 포집기에서 포집을 한다.
- d. 포집된 액을 원심분리기를 통해 원심분리하면 수분층과 오일층이 분리가 일어난다.
- e. Oil 층을 회수하면 이것이 바로 essential oil이다.
- f. 수분 층은 향미가 강한 essence로서 활용이 가능하다.

제 3 절 국내산 미나리 · 들깻잎으로부터 식품신소재 개발

1. 실험방법

가. 국내산 미나리 · 들깻잎으로부터 혈압조절물질 분리, 정제, 분석 및 동정

1) ACE 저해물질의 추출

가) 돌미나리로부터 ACE 저해물질 추출

대부분의 ACE 저해 펩타이드는 수용성으로 알려져 있으며, 기능성 식품 소재로서의 안전성을 위하여 본 연구에서는 돌미나리를 상온에서 물로 추출하였다. 돌미나리는 대전 소재 시장에서 신선한 상태로 구입하여 물로 1차 세척한 후 3차 증류수로 한번 더 세척하였다. 세척을 끝낸 시료는 3번에 걸쳐 시료 500g과 3차 증류수 300ml을 blender에 넣어 blending한 다음 분쇄되지 않은 시료를 제거하기 위해 12,000rpm으로 20분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액만 취해서 Whatman filter paper로 상온에서 filtration하였다. 여과액은 3000rpm에서 10분 동안 한번 더 원심분리 한 다음 Amicon사의 YM-10 membrane이 장착되어 있는 concentrator를 이용하여 1차 한외여과 하였다. 1차 여과액은 YM-3 membrane으로 다시 한번 더 한외여과 한 다음 동결건조 시켜 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 eppendorf tube에 aliquots하여 deep freezer에 보관하여 다음 분리 공정에 사용하였다.

나) 들깻잎으로부터 ACE 저해물질 추출

들깻잎은 대전 지역에서 신선한 상태로 구입하였다. 이 중 200g을 세척 한 후 blender에 3차 증류수 200ml를 넣어 blending한 다음 1,2000rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액만 취해서 Whatman filter paper로 상온에서 filtration하였다. 여과액은 3000rpm에서 10분 동안 한번 더 원심분리 한 다음 Amicon사의 YM-10 membrane이 장착되어 있는 concentrator를 이용하여 1차 한외여과 하였다. 1차 여과액은 YM-3 membrane으로 다시 한번 더 한외여과 한 다음

동결건조시켜 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 ependorf tube에 aliquots 하여 deep freezer에 보관하여 다음 분리 공정에 사용하였다.

2) ACE 저해 활성 측정

ACE 저해 활성은 Cushman Cheung 등의 방법과 그것을 개량한 방법에 따라 spectrophotometer를 이용하여 측정하였다. Rabbit lung ACE와 효소반응 기질 hippuryl-L-histidyl-L-leucine은 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였고 반응은 eppendorff tube에서 실시하였다. 300mM NaCl, 50mM sodium borate buffer (pH 8.3)을 함유한 5mM HHL용액을 사용하였다. 기질용액 150 μ l에 시료 50 μ l를 넣고 rabbit lung 50 μ l(5mU)를 첨가한 반응액을 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 다음 1N HCl 250 μ l를 가하여 반응을 중지 시켰다. 반응액에 1ml ethylacetate를 넣어 30초 동안 vortexing한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리 한 다음 상등액인 ethylacetate 900 μ l를 취하여 100 $^{\circ}$ C에서 약 1시간정도 건조시켰다. 건조 후 시험구에 남은 hippuric acid에 3차 증류수를 가하여 완전히 녹인 다음 228nm에서 흡광도를 측정하였다. Control은 시료 대신 buffer를 HHL blank는 buffer와 enzyme을 넣어 위와 같은 조건으로 실행하였다.

효소 활성의 1unit는 37 $^{\circ}$ C에서 1분 동안에 1 μ mol의 hippuric acid를 HHL로부터 생성시키는 효소의 양으로 정의하였다. ACE저해정도는 다음 식으로부터 구하였다.

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

C : control

S : sample

B : HHL blank

IC₅₀값은 반응액의 저해율이 50%가 될 때의 peptide 농도로 나타내었다.

3) 혈압조절 물질의 정제

가) Gel Permeation Chromatography

Deep freezer에 보관되어있는 시료를 상온에서 녹인 다음 12000rpm으로 10분간 상온에서 원심분리 하였다. 원심분리 한 시료 2ml은 Sephadex G-15 column (1.8×75cm)에 loading하여 sodium phosphate buffer (pH7.0)를 22ml/h의 유속으로 흘려 분획하였다. 분리된 peak를 각각 모아 동결건조한 다음 ACE 저해 효과를 측정하였다. 여기서 얻은 여러 분획 중 ACE 저해활성이 가장 높은 분획을 동일한 Sephadex G-15 column을 수행하여 22ml/h의 유속으로 재분획을 실시하였다. 각 분획의 peptide 성분은 214nm에서의 흡광도를 측정하여 검출하였다. 분리된 단일 peak는 동결건조 후 deep freezer에 보관하였다.

나) Reversed-phase High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

GPC에 의해 분리된 돌미나리 시료의 경우 reversed-phase C₁₈ column (Waters, 5 μ m ODS2 4.6×250mm)를 사용하여 분리하였다. 시료는 0.1% TFA를 함유한 물에 녹여 200 μ l를 loading하였고 용매로는 0.1% TFA를 함유한 LC용 water와 0.1% TFA를 함유한 acetonitrile (ACN)을 사용하였으며 용매의 공급은 0.5ml/min의 유속으로 처음 5분간은 물만 100% 흘려보내고 40분까지는 ACN의 농도를 45%까지, 그리고 45분까지는 ACN의 농도를 100%까지 직선적으로 상승시켰다.

FPLC (Reversed-phase column, Anion exchange column)를 이용해 분획된 시료를 Reversed-phase C₁₈ column (Waters Spherisorb 5 μ m ODS2 4.6×250mm)으로 재분리한 경우 시료는 0.1% TFA를 함유한 Water에 녹여 100 μ l를 loading하였고 용매로는 0.1% TFA를 함유한 LC용 water와 0.1% TFA를 함유한 Acetonitrile(ACN)을 사용하였으며 용매의 공급은 0.4ml/min의 유속으로 처음 5분간은 water만 100% 흘려보내고 25분까지는 ACN의 농도를 25%까지, 그리고 37분까지는 ACN의 농도를 100%까지 상승시켰다.

다) Fast protein liquid chromatography (FPLC)

(1) Resource RPC column을 이용한 분리

Buffer는 HPLC와 같은 용매를 사용하였으며, 유속은 압력이 HPLC에 비해 낮은 이유로 약간 빠르게 하여 사용하였다. GPC를 이용하여 2차 분획한 들깨잎 시

료의 경우 0.1% TFA를 함유한 물에 녹여 100 μ l를 Resource RPC로 분리하였다. Buffer는 0.1% TFA를 함유한 물과 0.1% TFA를 함유한 ACN을 사용하여 유속 0.7 ml/min으로 5분까지는 물만 100% 흘려보내고 60분까지는 ACN을 80%까지 흘려보냈으며 그 후 ACN을 100%로 상승시켰다.

(2) Ion exchange column을 이용한 분리

Reversed-phase column을 이용해 분획된 돌미나리 1000 cut-off한 시료를 보다 정밀한 분석을 위해 anion exchange column (Mono Q column)을 이용하여 재분획 하였다. 용매로는 0.01M Tris buffer (pH 8.0)와 1M NaCl 함유한 Tris buffer (pH 8.0)로 1분당 0.5 ml의 유속으로 분리하였다.

4) Mass spectrometry

분리 정제된 ACE inhibitor는 Tandem ESI mass spectrometer에 의해 그 mass가 동정되었다.

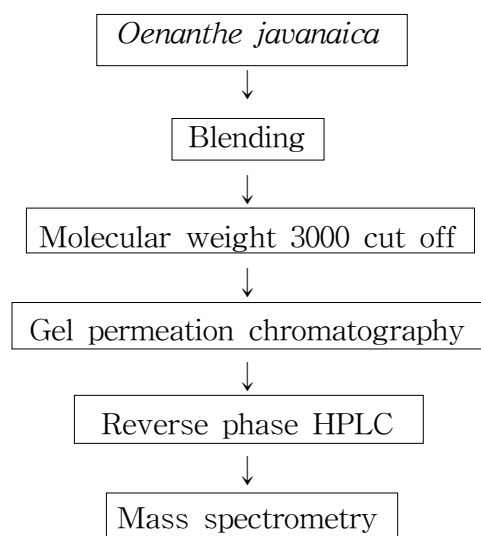


Figure 34. Purification scheme of ACE inhibitors from *Oenanthe javanaica* Mw 3000 cut-off.

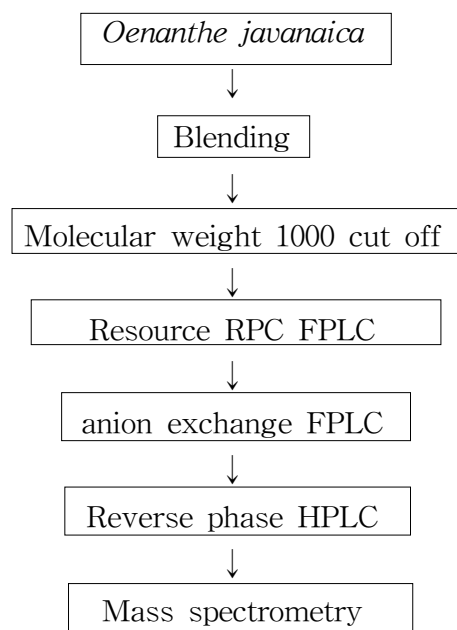


Figure 35. Purification scheme of ACE inhibitors from *Oenanthe javanaica* Mw 1000 cut-off.

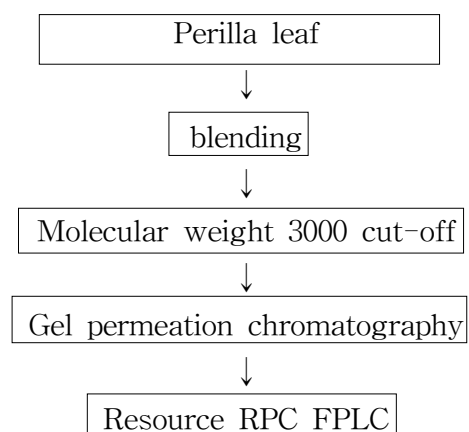


Figure 36. Purification scheme of ACE inhibitors from Perilla leaf Mw 3000 cut-off.

나. 국내산 미나리·들깨잎으로부터 추출된 생리활성 물질 함유 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재 개발

1) 국내산 미나리·들깨잎의 추출물 제조

고부가가치 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재 개발을 위해 돌미나리 및 들깨잎을 fresh harvested 한 것을 구입하여 수세과정을 거친 후 정제수와 함께 blending 하고 100~200 mesh로 여과하여 4℃에서 정치시키고 원심분리한 후 그 상정액은 ultrafiltration하여 molecular weight 3000, 1000으로 cut-off하여 돌미나리 및 들깨잎 추출물을 제조하였다. 제조된 추출물은 1차년도 및 2차년도에서 정립된 방법에 의해 ACE inhibition을 측정하여 그 기능성이 있음을 확인하고 다음 공정을 수행했다. 돌미나리의 경우 3000 cut-off 보다는 1000 cut-off가 정제된 ACE inhibitory substance의 분자량을 고려할 때 보다 적합한 것으로 평가되었다.

2) 기능성 검정

항고혈압제는 ACE가 angiotensin I의 C-term을 cleave하여 angiotensin II로 변화시키고 혈압저하시키는 bradykinin을 불활성화하는 까닭에 ACE inhibitor 정도를 검색한다. ACE inhibition은 Cushman and Cheung 방법에 따라 ACE 기질인 Hippuryl-histidyl-leucine 이용하여 측정했다. 50 μ l의 sample에 3 mM HHL, 30 mM NaCl, 50 ml sodium borate (pH 8.3) solution 가한후 ACE 첨가하여 37 °C에 30 분간 반응시킨후 ACE에 의해 생성된 hippuric acid를 ethyl acetate로 추출한 다음 228 nm에서 absorbance를 측정했다.

3) 혈압 조절관련 물질 함유 돌미나리 및 들깨잎 추출물로부터 식품신소재 개발

가) Drink products의 제조

혈압 조절관련 물질 함유 돌미나리와 들깨잎의 추출물을 이용한 음료제조는 일반적인 배합공정에 의거하여 비타민이 풍부한 과일 extract 및 puree 와 액상과당 등 감미제 5~ 10%, inositol 등 강화제, 혼합과일향 등 착향제 0.1%, 구연산 0.05 ~ 0.1%, 보존제와 함께 배합하여 전체적인 용량을 맞추었으며 관능검사 및 기능성물질의 processing 및 저장 유통 중 stability 등을 고려하여 제조하였다.

나) 국수와 떡의 제조

돌미나리와 들깨잎 추출물을 첨가한 국수와 떡의 제조는 일반적인 방법에 의거하여 제조하였다. 국수 제조시 밀가루는 시판 중력분을 사용하였으며, 소금은 시판정제염을 사용하였다. 떡의 제조는 적량의 찹쌀가루와 각 추출물을 첨가하여 제조하였다.

다) 카라멜과 캔디의 제조

돌미나리와 들깨잎을 식품소재로의 이용 중 다양한 층이 섭취할 수 있도록 카라멜과 캔디를 제조하였다. 카라멜은 비결정형 캔디로 그 배합은 돌미나리 추출물과 들깨잎 추출물, 설탕, 우유, 물엿을 용기에 넣고 잘 저어주면서 가열하였으며, 캔디 제조를 위한 배합은 물엿, 설탕을 용기에 넣어 서서히 가열하면서 녹인 후 돌미나리와 들깨잎 추출물을 첨가하여 캔디를 제조하였다.

4) 원료화 가능성 및 활용범위 선정

개발된 음료는 관능검사에 의해 전반적인 맛, 색깔, 향미를 최고 10점, 최저 1점으로 하여 평가하여 적용 가능 제품을 선정하였다. 들깨잎보다는 돌미나리 crude extract의 ACE inhibition이 월등히 높기에 제품화 가능성은 돌미나리가 보다 실용적으로 판단되었다. 한편 돌미나리 원액의 함량을 달리하여 제조된 국수와 떡은 관능검사에 의해 5점평법으로 측정하였으며 최고를 5점, 최저 1점으로 맛과 향 그리고 전체적인 기호도를 평가하였으며, 관능 검사를 통해 얻은 자료는 SAS (Statistical Analysis System)를 통해 분석하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 국내산 미나리·들깨잎으로부터 혈압조절물질 분리, 정제, 분석 및 동정

1) 돌미나리로부터 ACE 저해 물질 분리, 정제, 분석 및 동정

대부분의 ACE 저해 펩타이드는 분자량이 2000 이하인 것으로 보고되어 돌미나리를 Amicon사의 YM-3 membrane으로 한외여과하여 저분자의 ACE 저해물질

을 얻고자 하였다. 돌미나리는 구입한 직후 물로 1차 세척한 후 3차 증류수로 한번 더 세척하였다. 세척을 끝낸 시료는 3번에 걸쳐 시료 500g과 3차 증류수 300ml을 blender에 넣어 blending한 다음 분쇄되지 않은 시료를 제거하기 위해 12,000rpm으로 20분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액만 취해서 Whatman filter paper로 상온에서 filtration하였다. 여과액은 3000rpm에서 10분 동안 한번 더 원심분리 한 다음 Amicon사의 YM-10 membrane이 장착되어 있는 concentrator를 이용하여 1차 한외여과 하였다. 1차 여과액은 YM-3 membrane으로 다시 한번 더 한외여과 한 다음 동결건조 시켜 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 ACE inhibition을 측정하였을 때, 86.3%으로 높게 나와서 ependorf tube에 aliquots하여 deep freezer에 보관한 다음 분리 공정에 사용하였다. Deep freezer에 보관된 돌미나리 추출액은 녹인 후 ACE 저해 물질을 분리하기 위하여 gel permeation chromatography (GPC) column에 loading하여 size 별로 분리하였으며, 그 결과 6개의 peak가 분리되었다.(Figure 37). 분리된 각각의 fraction의 ACE 저해 효과를 측정한 결과 fraction 6에서 53.28%의 가장 높은 저해 효과를 나타내었다.(Table 52) Fraction 6은 pool하여 농축한 후 다시 GPC에 reloading하여 단일 peak를 얻도록 하였다(Figure 38). 가장 ACE 저해효과가 큰 분획을 HPLC C₁₈ column을 이용하여 분리하였다. 용매 A (0.1% trifluoroacetic acid, TFA)와 용매 B (acetonitrile containing 0.1% TFA)를 사용하여 gradient(B : 0에서 80%) 한 결과 5개의 peak가 분리되었으며 (Figure 39), 각각의 peak를 모아 저해 효과를 측정한 결과 Fraction 4에서 저해효과가 나타났다. 정제된 ACE inhibitor는 IC₅₀가 120 µM로 측정되었으며 Tandem ESI mass spectrometry로 molecular mass를 구명한 결과 181 dalton 이었다 (Figure 40).

한편 보다 정밀하고 ACE inhibitor lead compound의 대량 분리 정제를 위하여 보다 효율적인 공정인 FPLC를 이용하는 체계적인 정제공정을 또한 개발하였는바, molecular weight를 1000이하로 cut off 한 시료를 이용하여 Resource RPC column을 사용하였는데 elution solvent는 HPLC와 같게 하였으며 얻어진 peak는 3개였다 (Figure 41). 분리된 각각의 Fraction의 ACE 저해 효과를 측정한 결과 Fraction 3이 45.41%로 저해 효과가 가장 우수하였으며 이 peak를 모아 FPLC (Mono Q column)를 이용하여 재분리 하였다(Figure 42). 이때 얻은 2개의 peak 중 F31의 저해 효과가 43.2%로 우수하였으며 이 peak를 모아 분리 정제의 마지막 단계로 HPLC (C₁₈ column)를 사용한 결과 2개의 peak가 분리되었으며(Figure 43), 두

번째 peak인 F312에 저해효과가 있어 ESI mass spectrometer로 분자량을 측정한 결과 204 dalton 이었다(Figure 44).

2) 들깨잎로부터 ACE 저해 물질 추출 및 분리

들깨잎 역시 Amicon사의 YM-3 membrane으로 한외여과하여 저분자의 ACE 저해물질을 얻었다. 들깨잎을 구입한 직후 물로 1차 세척한 후 3차 증류수로 한번 더 세척하였다. 세척을 끝낸 시료는 3번에 걸쳐 시료 500g과 3차 증류수 300ml을 blender에 넣어 blending한 다음 분쇄되지 않은 시료를 제거하기 위해 12,000rpm으로 20분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상등액만 취해서 Whatman filter paper로 상온에서 filtration하였다. 여과액은 3000rpm에서 10분 동안 한번 더 원심분리한 다음 Amicon사의 YM-10 membrane이 장착되어 있는 concentrator를 이용하여 1차 한외여과 하였다. 1차 여과액은 YM-3 membrane으로 다시 한번 더 한외여과한 다음 동결건조 시켜 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 ependorf tube에 aliquots하여 deep freezer에 보관하여 다음 분리 공정에 사용하였다. Deep freezer에 보관된 들깨잎은 sodium phosphate buffer (pH 7.0)에 녹여 ACE 저해 물질을 분리하기 위해 GPC를 통과시킨 결과 6개의 peak가 분리되었다 (Figure 45). 분리된 각각의 fraction의 ACE 저해 효과를 측정한 결과는 Table 53에 나타내었다. Fraction 1, 3, 그리고 4에서 저해효과가 나타났으며 각각의 저해율은 28.57%, 37.69%, 23.08%로 나타났다. 저해효과가 있는 3개의 fraction은 pool하여 농축한 후 다시 GPC에 reloading하여 단일 peak를 얻었다(Figures 46~48). 저해효과가 있는 3개의 Fraction은 FPLC로 Resource RPC에서 분리한 결과 Figures 49~51과 같이 분리되었다. FPLC로 분리된 peak는 돌미나리의 HPLC에서 분리된 것보다 homogeneous 하지 않은 것으로 나타났다. 따라서 돌미나리에 비해 inhibition이 현저하게 낮아 활성 물질로서의 target lead compound로서 부적합하였다. 따라서 미나리 추출물을 이용한 혈압조절 기능성 물질을 여러 chromatographic method를 이용하여 대량추출, 분리, 정제를 위한 최적 공정 수립을 하고 본 연구에서는 target ACE inhibitor로서의 lead compound를 돌미나리에서 정제된 물질에 보다 더 집중을 하였다.

그러므로 본 연구 결과 가장 기능성 식품 신소재로서의 가능성 있는 target compound로는 돌미나리의 물추출물의 MW 1000 cut-off한 농축액의 FPLC와 HPLC를 이용한 분리 정제된 mass 181, 204의 두 물질로서 결론지을 수 있다.

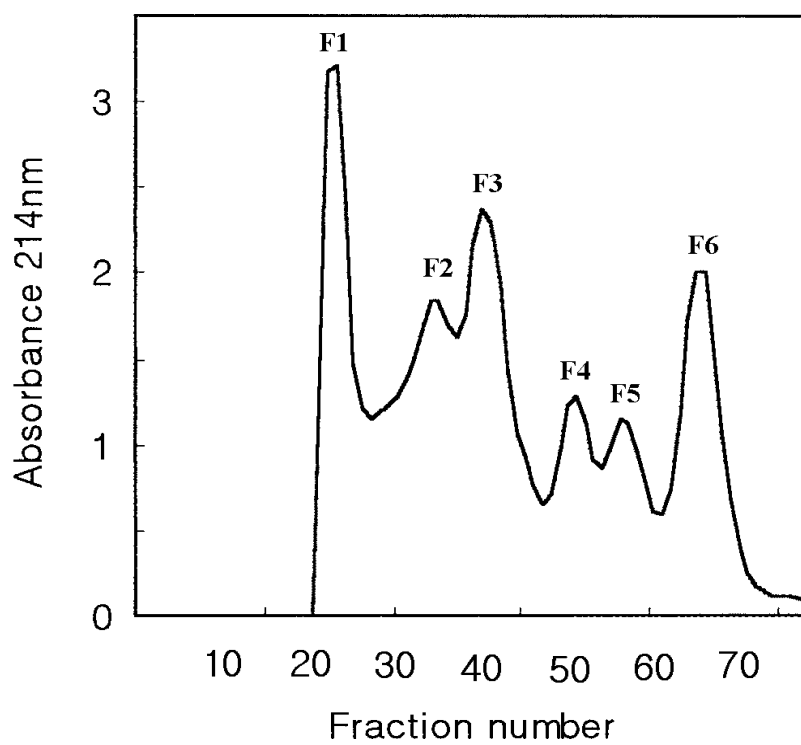


Figure 37. GPC chromatogram of *Oenothera javanaica* extracted.

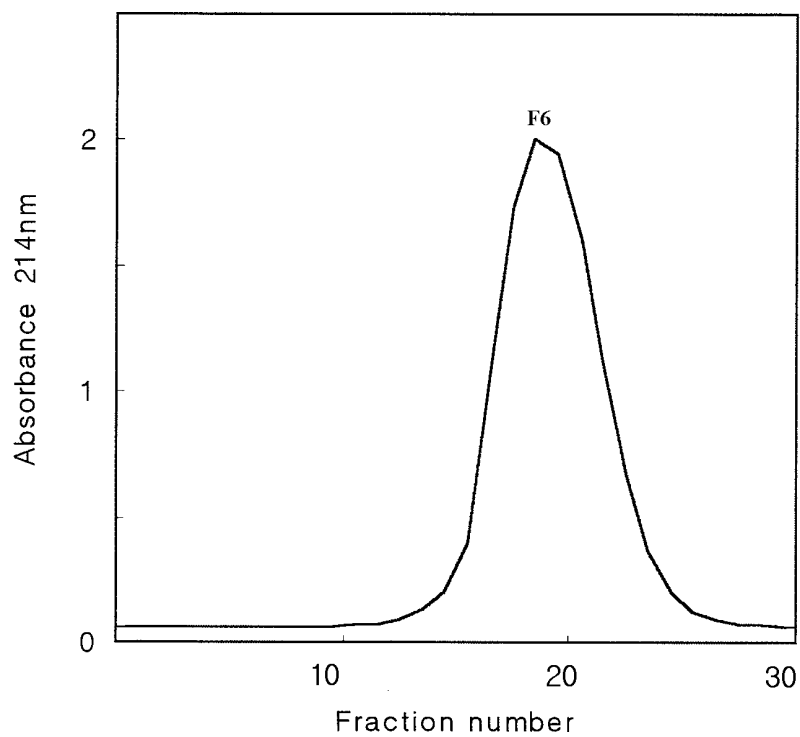


Figure 38. The second GPC chromatogram of *Oenothera javanica*.

Table 52. ACE inhibition of *Oenanthe javanica*

Fraction No.	ACE inhibition
	%
F1	—
F2	—
F3	—
F4	24.58
F5	7.85
F6	53.28

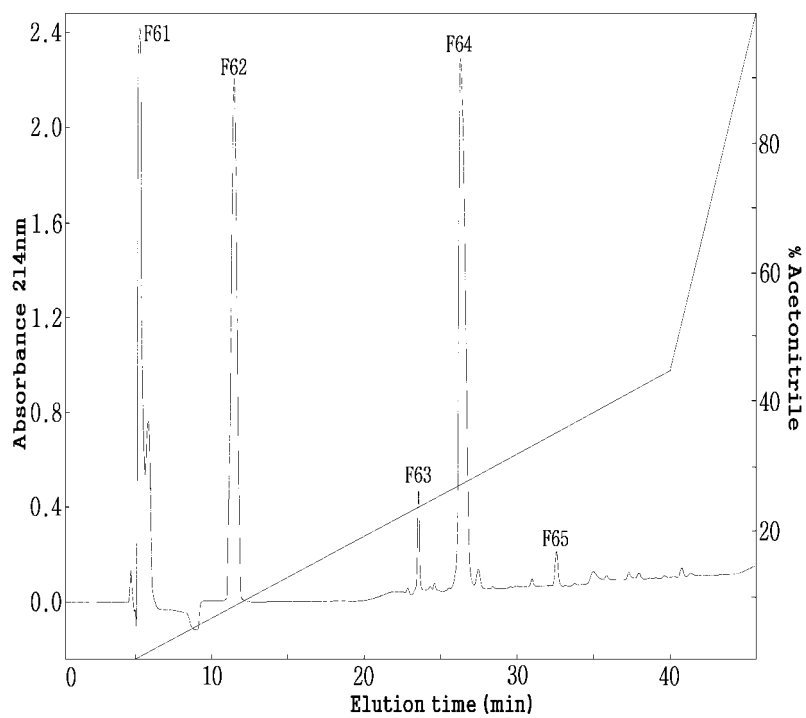


Figure 39. Reversed-phase HPLC profile of *Oenanthe javanica*.

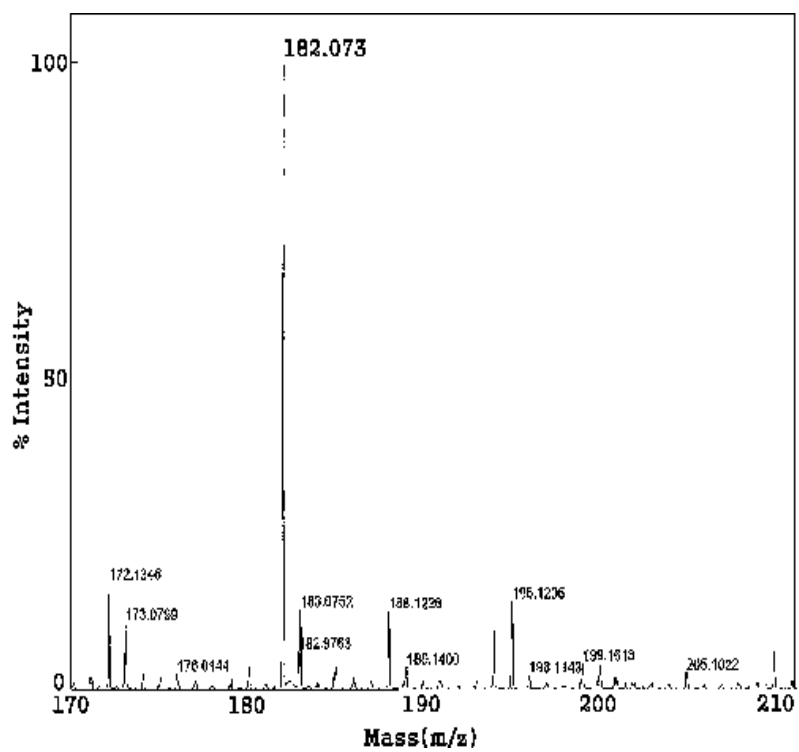


Figure 40. Mass spectrum of the purified ACE inhibitor from *Oenanthe javanica*.

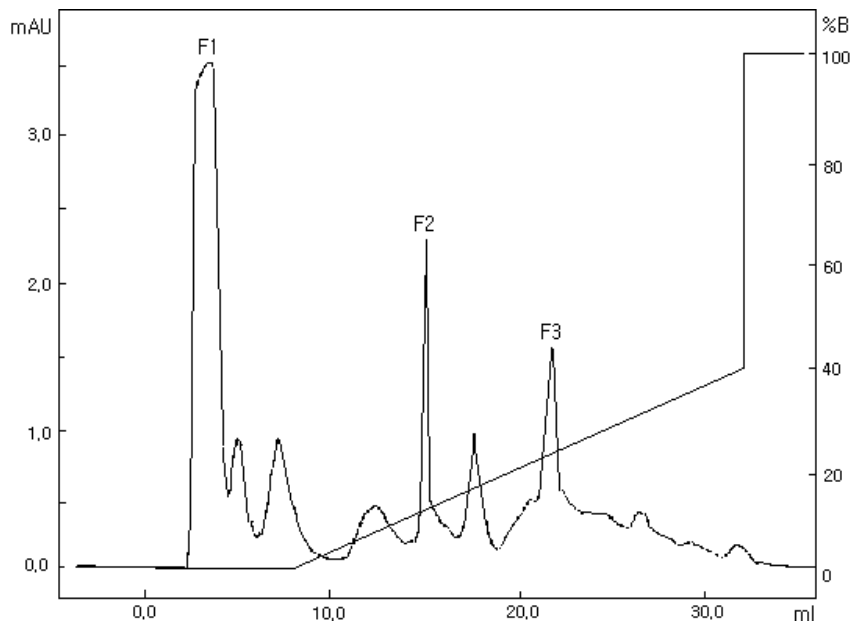


Figure 41. FPLC profile of *Oenanthe javanica*.

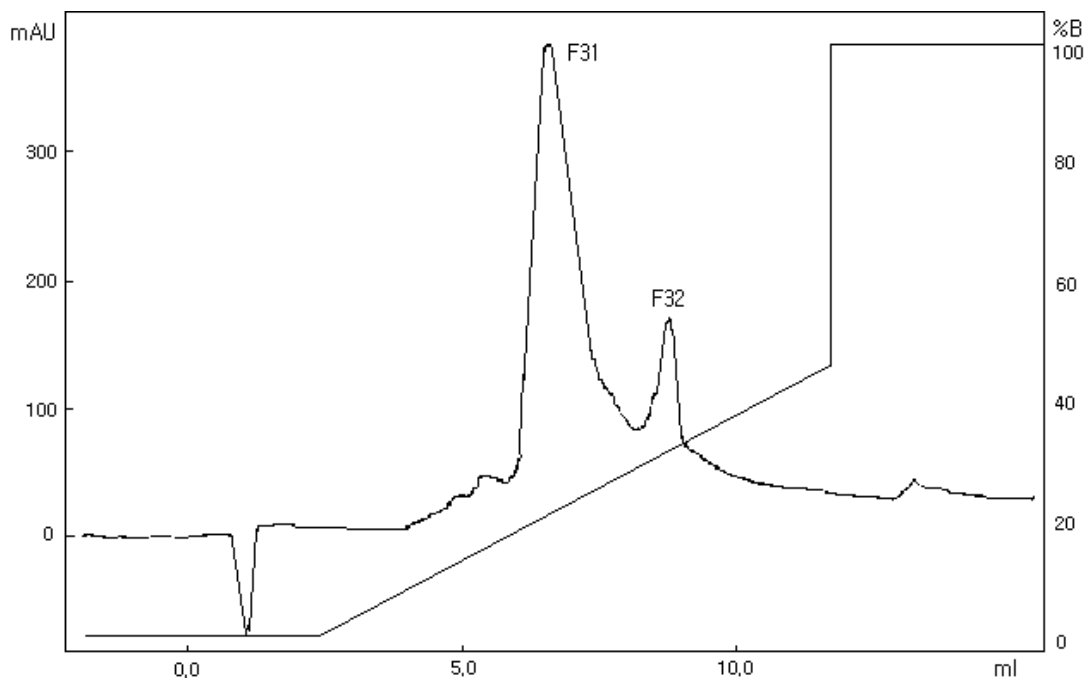


Figure 42. FPLC(Mono Q column) profile of *Oenanthe javanica*.

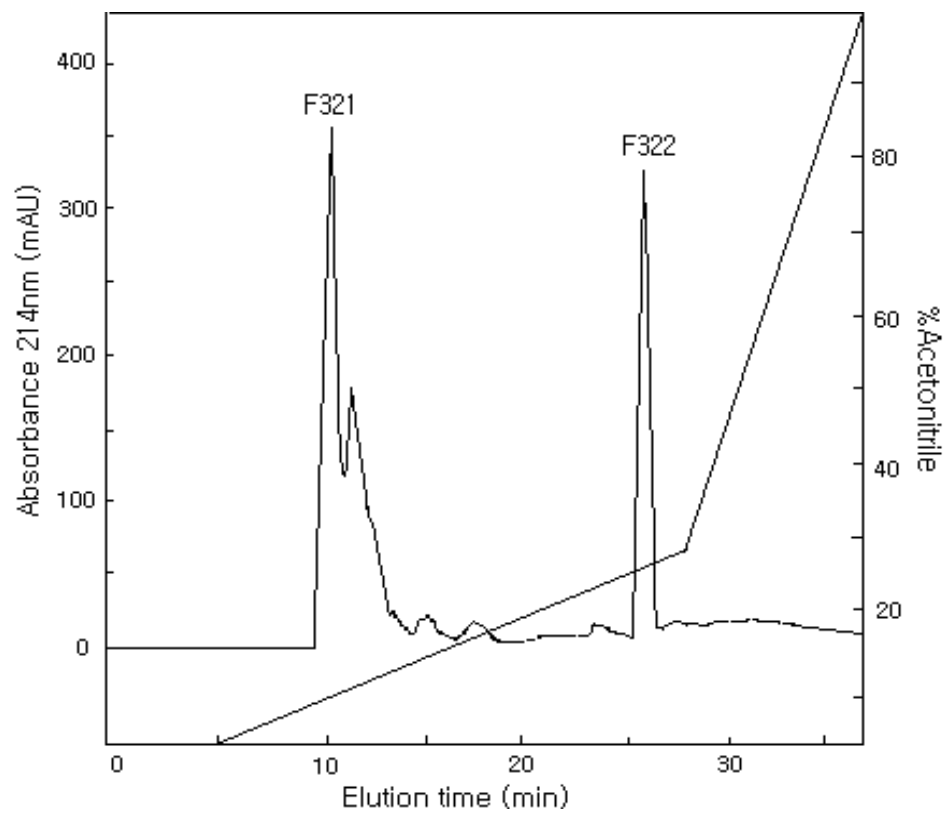


Figure 43. Reversed-phase HPLC profile of *Oenanthe javanica*

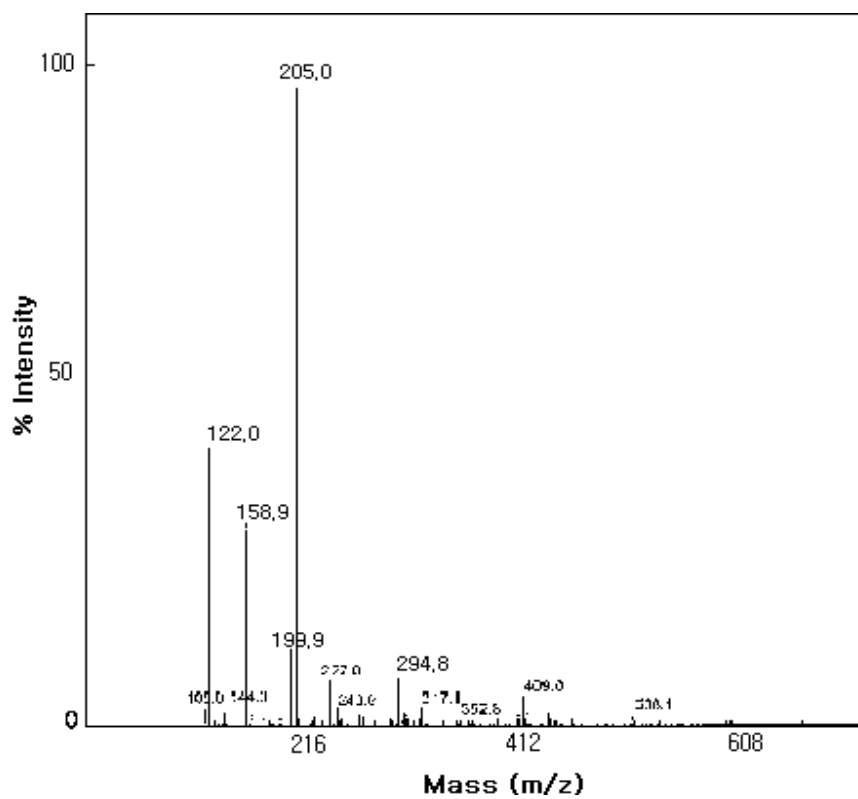


Figure 44. Mass spectrum of the purified ACE inhibitor from *Oenanthe javanica*.

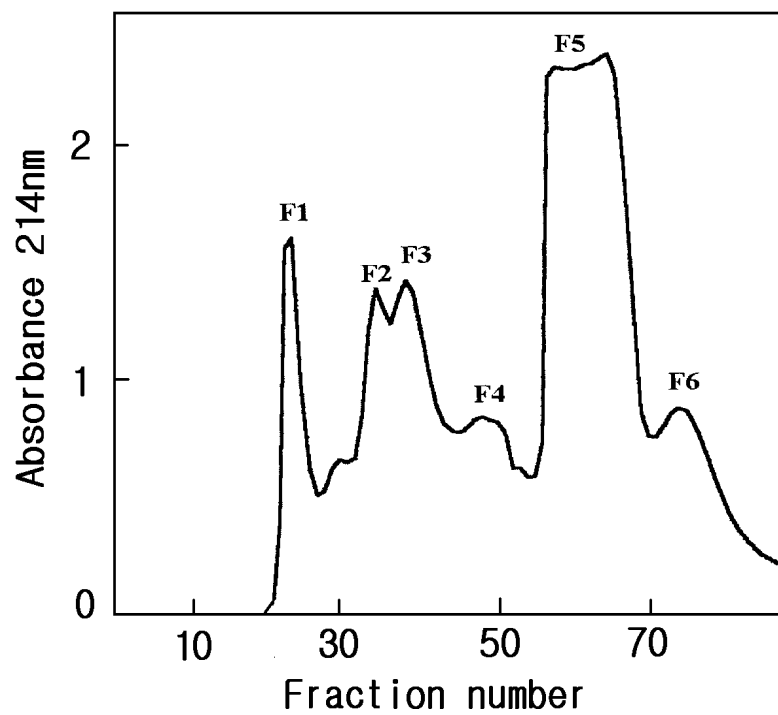


Figure 45. GPC chromatogram of perilla leaf extracted.

Table 53. ACE inhibition of perilla leaf GPC fractions

ACE inhibition	
Fraction No.	%
F1	28.57
F2	—
F3	37.69
F4	23.08
F5	—
F6	—

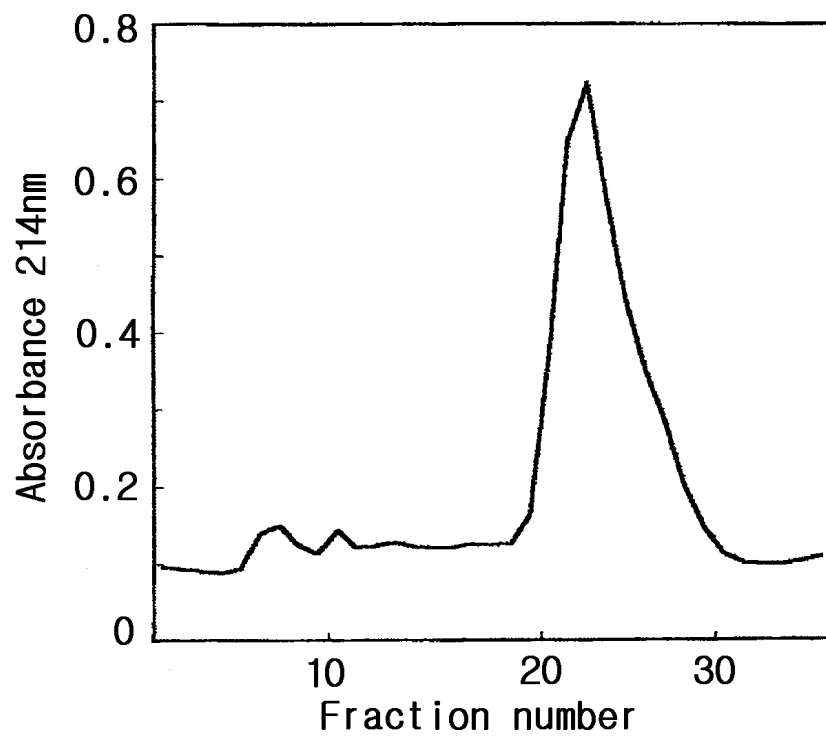


Figure 46. The second GPC chromatogram of perilla leaf fraction 1.

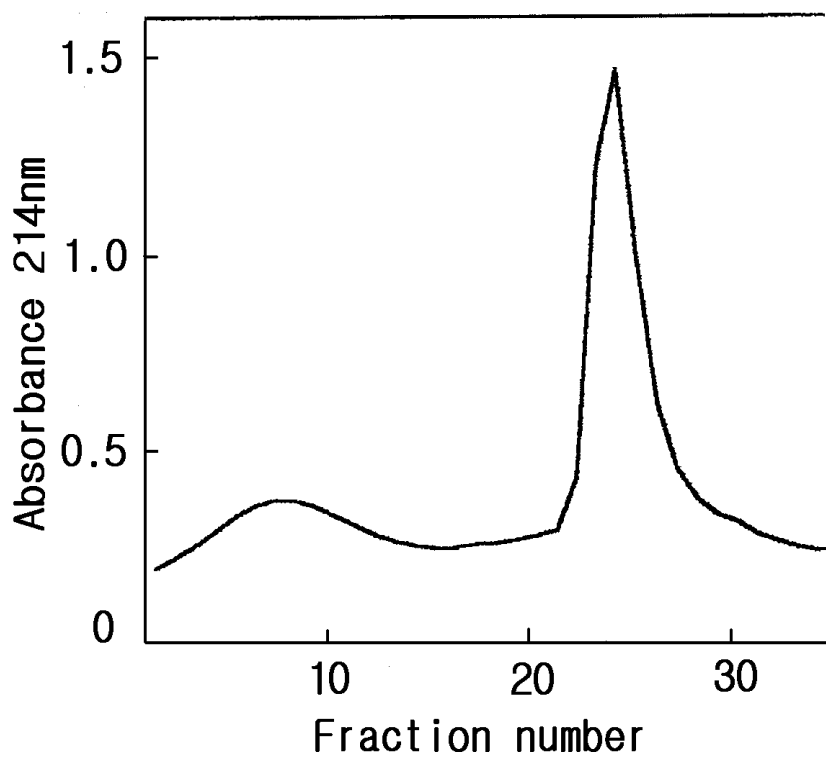


Figure 47. The second GPC chromatogram of perilla leaf fraction 3.

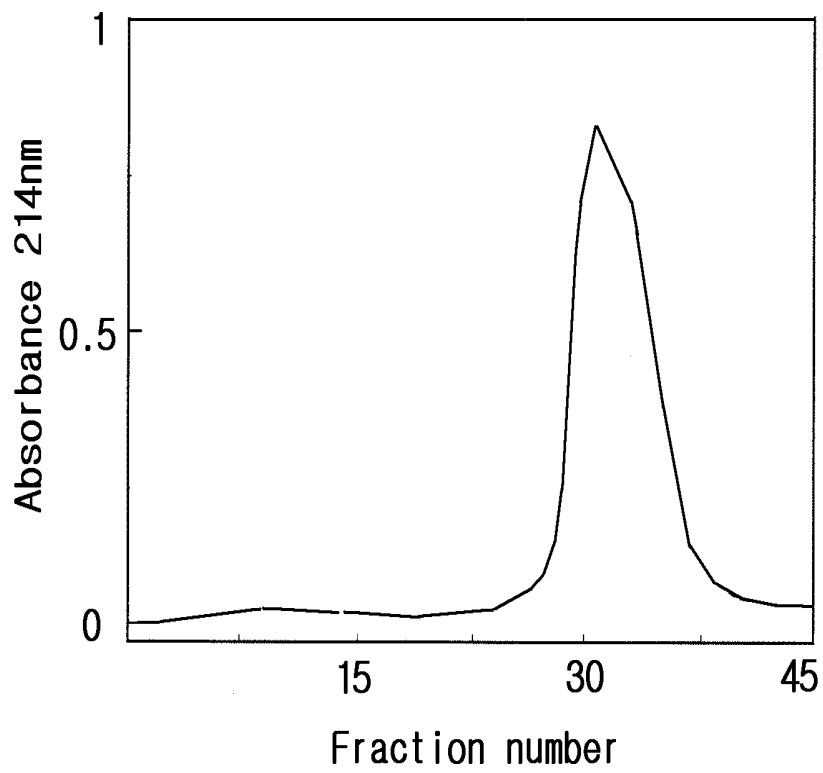


Figure 48. The second GPC chromatogram of perilla leaf fraction 4.

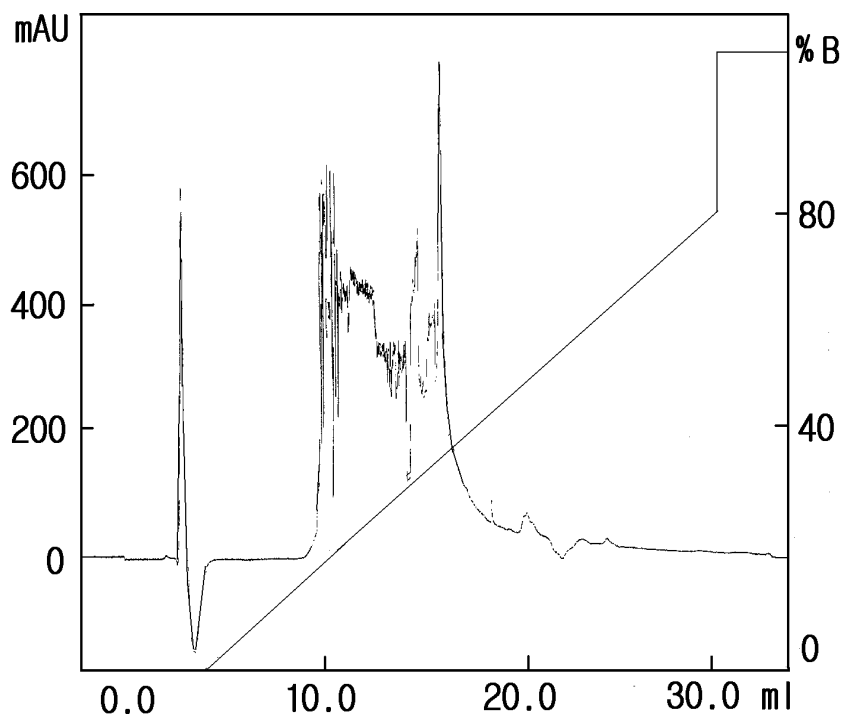


Figure 49. FPLC profile of perilla leaf fraction 1.

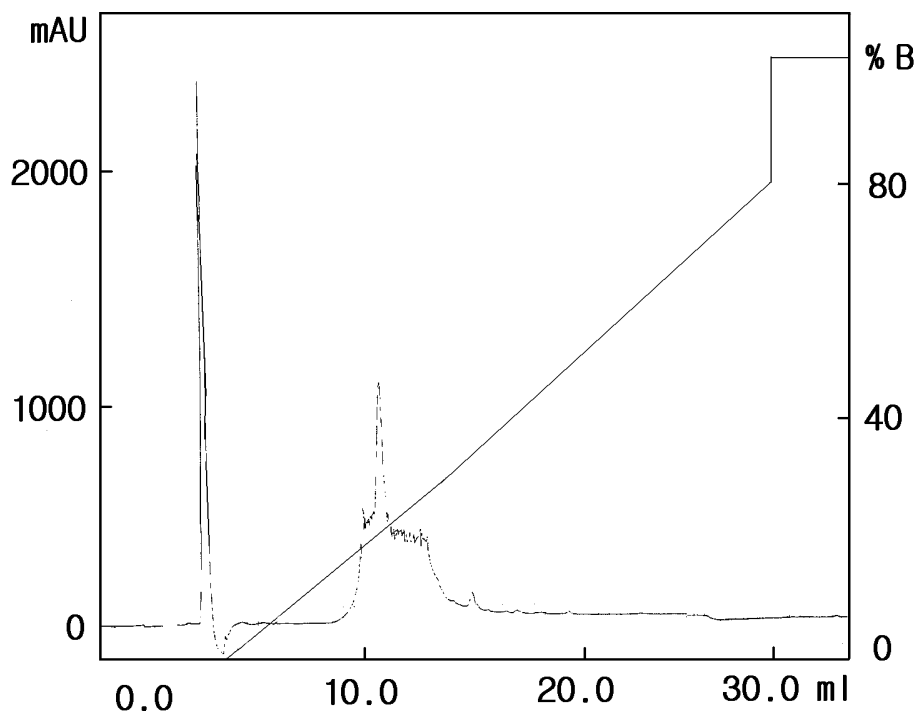


Figure 50. FPLC profile of perilla leaf fraction 3.

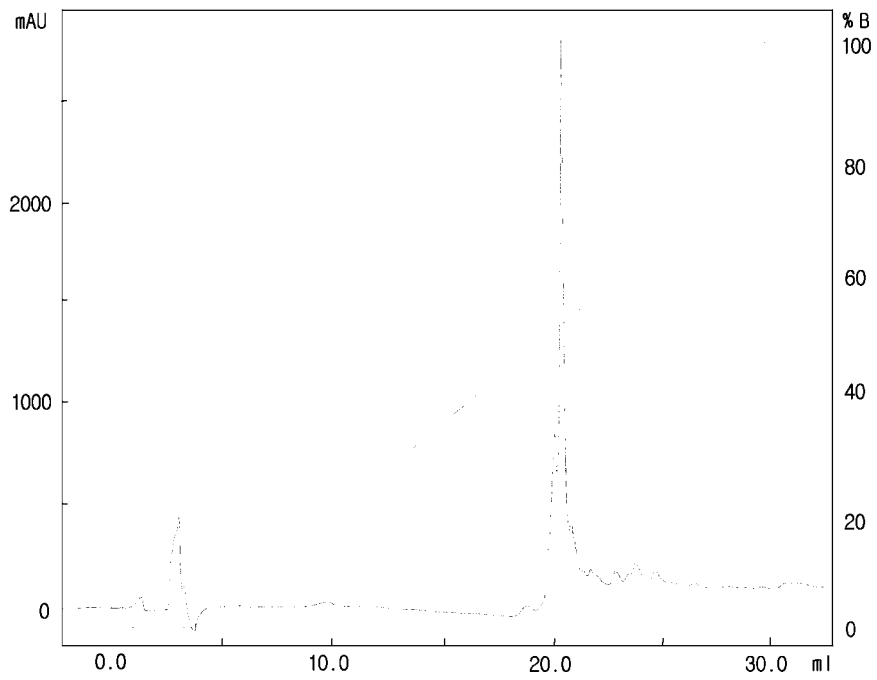


Figure 51. FPLC profile of perilla leaf fraction 4.

나. 돌미나리 및 들깻잎 추출물 함유 기능성 식품 소재 개발

1) 돌미나리 및 들깻잎 추출물 제조

국내산 미나리·들깻잎으로부터 target ACE inhibitory substance 추출 및 대량 분리·정제를 완수하였기에 천연 농산 자원인 국내산 미나리·들깻잎으로부터 혈압강하 식품 신소재개발 및 drink 등 신제품 개발을 위하여 기능성 음료를 제조하고자 하였다. 신선한 원재료인 야생 돌미나리 및 들깻잎을 구입하여 수세과정을 거친 후 식품소재(음료 등)로 사용하기 적합하도록 각각 600g을 정제수 0.1 liter와 함께 상온에서 소규모로 blender에 넣어 blending한 후 100 ~ 200 mesh에서 여과하여 추출물을 제조하였다. 여과된 crude extract는 4°C cold chamber에서 정치시켜 분쇄되지 않은 시료를 제거하였다. 그 다음 상정액만을 모아 원액으로 사용하여 돌미나리의 경우 membrane filtration하여 각각 molecular weight 3000, 1000으로 cut off 하였으며 원액, 3000 cut off, 1000 cut off를 제조하여 ACE assay를 통하여 혈압 조절 기능성 여부를 확인하여 각 추출물을 원재료로 사용하였다. 들깻잎의 경우에는 원액만을 사용하였다. 돌미나리 추출물의 경우 ACE inhibition은 Cushman and Cheung 방법에 따라 ACE 기질인 Hippuryl-histidyl-leucine 이용하여 측정했다. 50 μ l의 sample에 3 mM HHL, 30 mM NaCl, 50 ml sodium borate (pH 8.3) solution 가한후 ACE 첨가하여 37 °C에 30 분간 반응 시킨후 ACE에 의해 생성된 hippuric acid를 ethyl acetate로 추출한 다음 228 nm에서 absorbance를 측정하여 inhibition을 확인 하였다. 연구 1, 2차년도에서 분리 정제한 ACE inhibitory substance의 분자량이 작은 것이었기에 membrane filtration 공정이 기능성을 함유하는 식품첨가물 소재 개발을 위한 key processing이라 여겨진다.

2) 생리활성 물질 함유 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재 개발

돌미나리의 일반성분은 수분이 85%이고, 단백질 2.1%, 지방 0.9%, 당질 0.8%, 섬유 0.7%, 회분 0.6%, 칼슘 0.8, 인 18mg%, 철분 4.1mg%, 비타민 A 2,300IU, 비타민 B1 0.08mg%, 비타민 B2 0.16mg% 그리고 비타민 C를 60mg% 함유하고 있다. 돌미나리는 비타민(A, Carotene, B, C, K), 엽록소, 섬유소가 풍부하며 유허을 비롯한 칼슘, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 철, 인 등의 각종 미네랄이 풍부하게 함유되어 있는 알칼리성 식품으로, 특히 칼슘이 풍부하게 함유되어 있다. 들깻잎은 100g당 수

분이 86.4%. 단백질이 3.7g, 지질 0.4g, 당질 5.8g, 섬유소 1.9g, 회분 1.8g으로 구성되어 있으며, 비타민A 20000 IU, B₁ 0.16mg, B₂ 0.34mg, 나이아신 1.3mg, 비타민C 46mg, 칼슘 215mg, 철분 2.0mg을 함유하고 있어, 비타민과 칼슘의 좋은 공급원이며 엽록소를 많이 함유하여 신체에 여러 생리활성기능을 갖게 하고 있다. 또한 비타민 A, C뿐만 아니라 K, Ca, Mg와 같은 무기물과 lysine, linolenic acid 등이 풍부하게 포함된 것으로 알려져 있어 권장되는 채소중의 하나이다.

가) 돌미나리 및 들깻잎 추출물 함유 기능성 음료의 제조

상기 과정을 통하여 제조된 혈압 조절관련 물질을 함유한 돌미나리와 들깻잎 추출물은 일반적인 배합공정으로 음료를 제조하였다.

실시예1) 사과 extract 5g, 과일 puree 7.5g, HFCS 5g, 구연산 50mg, 혼합과일향 100mg, 추출물 2 ~ 20g, inositol 10mg

실시예2) 사과 extract 3.5g, 배 extract 5g, 설탕 5.5g, 구연산 0.05mg, 착향료 100mg, 추출물 1 ~ 20g, 보존제 10mg

실시예3) 대추 extract 5g, HFCS 10g, 허브향료 100mg, 추출물, 구연산 20mg, 보존제 10mg

실시예4) 배 extract 10g, 대추 extract 3g, 혼합과일향 50mg, 추출물 2~20g, 보존제 10mg

상기 실시예는 추출물을 첨가하지 않고 먼저 돌미나리와 들깻잎의 영양분 효율성을 높이기 위해 비타민이 풍부한 과일 extract 및 puree 와 액상과당 등 감미제 5~ 10%, inositol 등 강화제, 혼합과일향 등 착향제 0.1%, 구연산 0.05 ~ 0.1%, 보존제와 함께 배합하여 여러가지 조성, 함량으로 만든 후 돌미나리 3가지 추출물인 원액, Mw 3000, Mw 1000, 들깻잎 추출물의 사용량이 전체 조성물 중 10 ~ 20 중량% 함유되도록 제조한 후 전체적인 용량을 맞추었다. 그 사용량은 기능성 음료임을 고려하여 각 추출물 첨가량의 증가에 초점을 맞추었다. 몇가지로 제조한 sample 중 Table 54의 조성으로 제조된 음료의 경우 가장 높은 선호도를 얻었으며 따라서 이 제품을 이용하여 3가지 추출물을 동일한 양인 20%로 첨가하였을 경우 색·향·맛에 대한 관능검사를 하였다. 각 평가항목은 5명의 관능평가자들에 의하여 점수를

매긴 후 관능 검사를 통해 얻은 자료는 SAS(Statistical Analysis System)을 통해 분석하였다(Table 55).

그 결과 돌미나리 추출물 원액을 첨가한 경우 제조된 음료의 색은 연녹색을 띠었으며, membrane으로 cut off한 제품은 색소가 제거되어 육안으로 미황색을 띠었다. 관능평가 결과 3가지 추출물로 제조된 음료의 색은 모두 투명하여 색상의 경우 소비자의 선호도에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다. 향에서는 돌미나리 원액을 첨가한 경우 돌미나리 고유의 향이 off-flavor로 작용하여 평가가 가장 낮았으며, Mw 3000와 Mw 1000은 비슷한 결과를 얻었다. 맛의 경우 또한 Mw 3000와 Mw 1000은 유의적 차이가 없었으며, 원액을 첨가하였을 때 선호도가 가장 낮았다. 따라서 전체적으로 볼 때 돌미나리 추출 원액의 경우는 미나리 고유의 향이 off-flavor로 작용하여 관능검사 결과 좋지 않게 평가되었으며, molecular weight 3000 cut-off한 추출물의 경우 1000 cut off한 경우보다 기호도면에서 다소 낮게 평가되었다.

개발된 음료는 Membrane 1000으로 cut off한 추출물을 첨가하였을 때 가장 선호도가 좋은 것을 고려하여 혈압 상승작용을 유발하는 angiotensin I 전환효소에 대하여 가장 높은 활성저해율을 보이는 추출물을 식품에 첨가시킴으로써, 별도의 고혈압 예방 제제를 사용하지 않고 천연농산자원을 편하게 섭취함으로써 그 효과를 기대할 수 있다고 생각된다. 한편 들깨잎보다는 돌미나리 crude extract의 ACE inhibition이 월등히 높기에 제품화 가능성은 돌미나리가 보다 실용적으로 판단되었으나, 들깨잎의 경우 원액 자체로도 첨가하여도 충분하나 돌미나리는 membrane 처리를 고려해야할 것으로 생각된다.

한편 기능성 음료제조에 경제성을 고려하여 ultra-filtration처리를 통하지 않고 돌미나리 원액을 음료에 첨가하였을 경우 기호도를 향상시키기 위하여 cyclodextrin을 첨가하여 맛에 관한 기호도 향상에 대한 효과를 관찰하였다. Cyclodextrin은 식품, 의약품, 화장품 등에 많은 분야에서 안정성 개선, 반응성, 변화, 물성바와 같이 cyclodextrin 첨가량에 따라 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, 전체적인 평점이 cyclodextrin 3.0%를 첨가한 경우 가장 높은 것으로 그 효과를 알 수 있었다 (Table 56).

Table 54. Preparation of *Oenanthe javanaica* drink products

Ingredients	Amount (in 100ml)
fruit extract	5g
fruit puree	7.5g
HFCS	5g
citric acid	50mg
fruit flavor mixture	100mg
water dropwort extract	2-10g
inositol	13mg

Table 55. Sensory evaluation of various *Oenanthe javanaica* drink products

	Taste	Color	Flavor
Crude extract	1.20 ^b	5.20 ^a	1.20 ^b
Mw 3000	6.20 ^a	6.00 ^a	5.80 ^a
Mw 1000	7.00 ^a	6.00 ^a	5.80 ^a
F-value	10.29 ^{**}	0.76 ^{ns}	29.39 ^{***}

** significant $p < 0.01$, *** significant $p < 0.001$

^{ns} not significant

Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

Table 56. Effect of cyclodextrin syrup level on functional drink products

Cyclodextrin	Taste
1.0%	2.0 ^a
1.5%	2.4 ^a
2.0%	3.0 ^a
2.5%	3.2 ^a
3.0%	3.4 ^a
F value	2.58 ^{ns}

** significant $p < 0.01$, *** significant $p < 0.001$

^{ns} not significant

Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

나) 돌미나리 및 들깨잎 추출물 함유 국수와 떡의 제조

국수와 떡은 우리 나라의 전통식품으로서 그 영양성을 향상시키고자 돌미나리와 들깨잎 추출물을 첨가하여 제조하였다. 들깨잎 추출물을 함유한 국수의 제조는 박력분 200g에 추출물 30ml를 첨가하였으며, 돌미나리 추출물을 함유한 국수는 Table 57과 같이 추출물 함량에 따라 Figure 52와 같은 방법으로 제조되었다. 밀가루 반죽 만들기는 우선 들깨잎 추출물 30ml, 돌미나리 추출물을 10ml, 20ml, 30ml로 달리하여 여기에 소금을 녹여 반죽이 부드럽고 탄력이 생길 때까지 반죽하였다. 준비된 반죽은 동글게 뭉쳐 틀러에 밀어 매끈하게 펴지게 한 후 일정한 너비로 잘랐다. 이것을 비닐봉지에 담아 냉장고에 10시간 정도 넣어 둔 후 조리하였다. 조리방법은 일반 정제수 500ml에 생면을 넣어 강한 불로 적당하게 끓인 후 제조하였다.

떡은 Table 58과 같은 조성으로 Figure 53과 같은 방법으로 제조되었다. 우선 준비된 찹쌀가루와 쌀가루 250g에 들깨잎 추출물은 50ml 첨가하였으며, 돌미나리 추출물의 경우는 돌미나리추출물과 물의 비율을 달리하여 탄력이 생길 때까지 반죽한 후 일정한 크기로 만들어 30분동아 쪄 후 제조하였다. 돌미나리 추출물을 첨가한 국수와 떡이 관능적 특성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 선정된 5명의 관능평가자들에 의해 맛, 향 그리고 전체적인 기호도에 대하여 5점법으로 평가하였다. 관능검사를 통해 얻은 자료는 SAS(Statistical Analysis System)을 통해 분석하였다 (Table 59, 60). 돌미나리 추출물로 제조한 국수의 경우 전체적인 기호도 측면에서 Control과 추출물 10%를 함유한 국수에서는 유의적인 차이가 보이지 않았으며, 20%와 30%를 첨가한 것과 비교하여 control과 차이를 보였다. 떡의 경우는 Control과 10%를 첨가한 경우 그 차이가 나타나지 않았으나 30%를 첨가한 경우 기호도가 가장 낮았다. 전체적으로 국수와 떡의 경우 추출물을 20%까지 첨가하여도 전체적인 기호도가 양호한 것으로 판단되며, 아울러 돌미나리 국수나 돌미나리 떡의 개발도 시도해 볼 가치가 있다고 생각한다.

Table 57. Manufacture of noodle

Ingredient	crude extract (%)		
	30%	20%	10%
Flours (g)	210	210	210
Crude extract (ml)	90	60	30
Salt (g)	10	10	10
Water (ml)	0	30	60

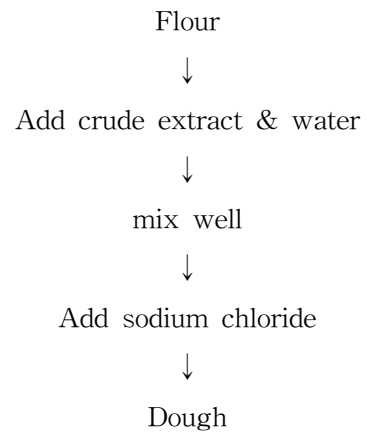


Figure 52. Preparation of noodle.

Table 58. Manufacture of rice cake

Ingredient	Crude extract (%)		
	30%	20%	10%
glutinous rice(g)	250	250	250
Crude extract(ml)	100	70	35
Sugar (g)	10	10	10
Salt (g)	5	5	5
water (ml)	0	30	65

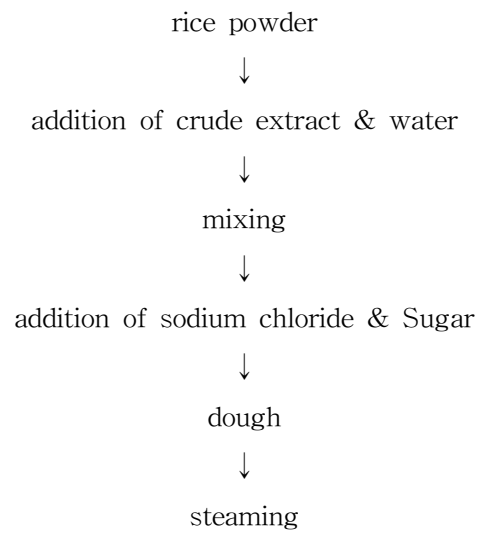


Figure 53. Preparation of rice cake.

Table 59. Sensory evaluation of noodle

	Taste	Flavor	overall accetability
Control	5.0 ^a	5.0 ^a	5.0 ^a
10%	4.2 ^{ab}	4.2 ^b	4.6 ^a
20%	3.8 ^b	3.7 ^{bc}	3.8 ^b
30%	3.6 ^b	3.0 ^c	2.6 ^c
F value	4.51 [*]	14.60 ^{****}	28.0 ^{****}

* significant $p < 5$, **** significant $p < 0.0001$

Table 60. Sensory evaluation of rice cake

	Taste	Flavor	overall acceptability
Control	5.0 ^a	5.0 ^a	5.0 ^a
10%	4.6 ^a	4.2 ^{ab}	4.6 ^a
20%	4.4 ^a	3.8 ^b	3.6 ^b
30%	3.6 ^b	3.2 ^b	3.4 ^b
F value	7.70 ^{**}	5.43 ^{**}	13.26 ^{****}

* significant $p < 5$, **** significant $p < 0.0001$

다) 돌미나리 및 들깨잎추출물을 이용한 카라멜과 캔디의 제조

돌미나리와 들깨잎을 식품소재로의 이용 중 다양하게 노인부터 아이들까지 섭취할 수 있도록 카라멜과 캔디를 제조하였다. 카라멜은 비결정형 캔디로 그 배합은 돌미나리 추출물과 들깨잎 추출물 30ml, 설탕 500g, 우유 250ml, 물엿200g을 용기에 넣고 잘 저어주면서 끓인다. 가열 후 미리 마아가린을 발라놓은 판에 부어서 얼음 냉수 중에 식혀서 굳혀 제조하였다. 캔디 제조를 위한 배합은 물엿 200g, 설탕 200g을 용기에 넣어 서서히 가열하면서 녹인 후 돌미나리와 들깨잎 원액 10%를 첨가하여 캔디를 제조하였다. 카라멜과 캔디는 부재료의 단맛에 의해 전체적으로 기호도가 좋은 것으로 판단되었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

주관연구기관에서는 국내산 미나리·들깨잎으로부터 향신료 개발에 관한 연구를 수행하였다. 미나리·들깨잎의 휘발성 향기성분 및 aroma-active compound를 동정하고 증류법 및 초임계추출법을 이용하여 정유를 추출하는 목표를 달성하였다. Liquid-liquid continuous extraction (LLCE)법, vacuum simultaneous steam distillation and solvent extraction (V-SDE)법 및 solid phase microextraction법을 이용하여 미나리의 휘발성 성분을 추출하고 GC/MS로 동정한 결과 각각 33개, 44개 그리고 29개의 휘발성 성분을 동정하였다. Gas chromatography/olfactometry법에 의해 미나리의 aroma-active compound를 동정하였는데, *p*-cymene을 미나리 향과 동일한 향기특성을 가지는 aroma-active compound로 최초로 밝혔다. 이외에도 미나리 향에는 (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenol, *p*-cymene, limonene, ν -terpinene 및 α -terpinolene 등이 중요하게 작용한다고 결론 지었다. 들깨잎의 휘발성 향기성분을 분석한 결과 21개의 휘발성 향기성분이 동정되었으며, 이 중 기존에 잘 알려진 총 peak면적의 84.34%를 차지하는 1-(3-furyl)-4-methyl-1-pentanone (perilla ketone) 이외에도 1-(3-furyl)-4-methyl-3-penten-1-one (egoma ketone), 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one 및 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one이 동정되었는데, 이 3개의 휘발성 향기성분은 들깨잎에서 최초로 발견된 휘발성 성분들이다. 들깨잎 향을 이루는 aroma-active compound는 (Z)-3-hexenal과 egoma ketone이 가장 높은 \log_3 FD값을 나타내었으며, 그 다음으로 perilla ketone과 1-(3-furyl)-4-methyl-2-penten-1-one이 높은 \log_3 FD값을 가지고 있었으며 모두 egoma ketone과 같은 들깨잎 특유의 향을 나타내었다. 또한 플라스틱 냄새를 가지는 1-(3-furyl)-4-methyl-4-penten-1-one도 들깨잎 향에 중요한 aroma-active compounds로 생각되어진다. 그 외에 phenylacetaldehyde, (E)-2-hexenal, benzaldehyde 및 linalool이 들깨잎 향에 중요한 aroma-active compound로 밝혀졌다. 이러한 결과는 미나리 및 들깨잎의 향미화학적 특성 연구 및 미아리 및 들깨잎 향신료 개발시 유용한 품질 평가 지표로 사용될 수 있을 것이다. 또한 미나리·들깨잎으로부터 essential oil을 추출하기 위해 상압과 감압증류를 실시하였다. 미나리의 경우 감압증류시 essential oil의 수율이 아주 낮았으며, 상압증류시 0.06 g/kg의 수율로 essential oil이 추출되었

다. 들깨잎의 경우 감압증류시 0.17 g/kg, 상압증류시 0.52 g/kg의 수율로 essential oil이 추출되었다. 들깨잎을 감압증류시 corn seed oil에 essential oil을 혼합시켜 flavor oil을 제조하였다. 들깨잎 flavor oil 제조시 증류시간 및 들깨잎과 corn seed oil의 비율을 최적화하여, flavor oil 향의 강도를 높여주면 향신료로서 충분히 이용이 가능하리라 판단되어진다. 미나리·들깨잎 초임계 추출의 최적조건은 각각 200 atm, 40℃와 300 atm, 50℃였으며, 추출시간은 5시간이었다. 초임계 추출시 상압과 감압증류보다 더 높은 수율로 essential oil이 추출되었으며 향특성도 좋아 향신료로 이용가능성이 높을 것으로 판단되었다.

제 1 협동과제는 국내산 미나리·들깨잎으로부터 개발된 향신료의 용도개발에 관한 연구로서 국내산 미나리·들깨잎으로부터 농축액, 분말 및 essence를 제조하고 원료로서의 가능성을 알아본 결과 미나리는 농축액 형태로, 들깨잎은 essence 형태로 가공했을 때 원료화 할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한 미나리·들깨잎 농축액 분말을 pork topping spice seasoning, 페리카나 key mix seasoning, fried chicken marinade seasoning, 불고기 양념 sauce, spaghetti meat sauce 및 thousand ireland dressing에 각각 0.5% 첨가하여 대조구 (기존제품)와 비교한 결과, 모든 경우에 미나리·들깨잎 농축액 분말을 첨가했을 경우 전반적인 맛 및 풍미에서 높은 관능평가점수를 받았다. 미나리 분말보다는 들깨잎 분말의 경우 더 높은 관능평가점수를 받았는데 특히 pork topping spice seasoning과 thousand ireland dressing에 적용했을 때 높은 관능평가점수를 받았다. 미나리분말의 경우 spaghetti meat sauce에 적용시 높은 관능평가점수를 받았다. 이상의 결과는 미나리나 들깨잎 향을 기존 seasoning이나 sauce에 이용가능성을 시사해 준다고 할 수 있겠다. 미나리·들깨잎 분말 향신료와 essence 및 이를 적용하여 개발한 제품의 소비자 기호도를 평가한 결과, essence 및 이를 적용한 제품들은 특유의 풍미로 인해서 향신료로서 뿐만 아니라 masking agent로서의 활용이 가능한 것으로 나타났다.

제 2 협동과제는 국내산 미나리·들깨잎으로부터 식품신소재 개발에 관한 연구로서 1차 년도에는 미 활용 국내산 미나리·들깨잎은 식품의 안정성을 위하여 상온에서 물로 혈압조절물질을 추출한 후 확립된 ACE inhibition assay system을 이용하여 그 inhibition을 측정하여 혈압강하물질을 함유하고 있음을 확인하였다. 한편 대부분의 ACE 저해 peptide는 분자량이 2,000 이하의 저분자 peptide임을 고려하여 Amicon사의 YM-3 membrane으로 한외 여과하여 저분자의 물질을 얻은 후

ACE inhibition assay를 한 결과 ACE 저해효과가 향상되었음을 확인하였다. 준비된 돌미나리는 동결건조 시켜 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 ependorf tube에 aliquots하여 deep freezer에 보관하여 다음 분리 공정에 사용하였다. ACE 저해 물질을 분리하기 위해 Sephadex G-15 column(1.8×75cm)를 통과시킨 결과 6개의 peak중 fraction 6의 ACE 저해 효과가 가장 높게 나타났으며 fraction 6은 pool하여 농축한 후 다시 GPC에 reloading하여 단일 peak를 얻었다. 가장 ACE 저해효과가 큰 분획을 HPLC C₁₈ column을 이용하여 분리한 결과 5개의 peak가 분리되었으며 fraction 4에서 저해효과가 가장 높았다. 들깻잎 역시 Amicon사의 YM-3 membran으로 한외여과한 후 동결건조 시켜 sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 녹여 ependorf tube에 aliquots하여 deep freezer에 보관하여 다음 분리 공정에 사용하였다. Deep freezer에 보관된 들깻잎은 ACE 저해 물질을 분리하기 위해 GPC를 통과시킨 결과 6개의 peak 중 저해 효과가 있는 3개의 fraction은 FPLC로 Resource RPC에서 분리한 결과 FPLC로 분리된 peak는 돌미나리의 HPLC에서 분리된 것보다 homogeneous 하지 않았으며 돌미나리에 비해 inhibition이 현저하게 낮아 활성 물질로서의 target lead compound로서 부적합하였다. 따라서 미나리 추출물을 이용한 혈압조절 기능성 물질을 여러 chromatographic method를 이용하여 대량추출, 분리, 정제를 위한 최적 공정 수립을 하고본 연구에서는 target ACE inhibitor로서의 lead compound를 돌미나리에서 정제된 물질에 보다 더 집중을 하였다. 2차 년도에는 국내산 미나리·들깻잎으로부터 혈압조절물질 분리, 정제, 분석 및 동정을 달성하였다. 1차년도 molecular weight 3000이하로 cut off한 시료는 각종 chromatography를 이용하여 분리하였으며 최종 peak를 모아 Tandem ESI mass spectrometer로 분자량을 측정된 결과 181 dalton임을 확인하였다. 한편 들깻잎보다는 돌미나리 crude extract의 ACE inhibition이 월등히 높기에 제품화 가능성은 돌미나리가 보다 실용적으로 판단되어 보다 정밀하고 ACE inhibitor lead compound의 대량 분리 정제를 위하여 보다 효율적인 공정인 FPLC를 이용하는 체계적인 정제공정을 또한 개발하였는바, molecular weight을 1000이하로 cut off 한 시료를 이용하여 분리한 후 FPLC column (resource-RPC)를 이용하여 1차 분리하였다. 그 결과 3개의 peak로 분리되었는데 그 중 inhibition 이 가장 높은 peak 3를 모아 FPLC Mono Q anion exchange column을 사용하여 2차 분리하였다. 2차 분리 후 얻은 2개의 peak중 저해 효과가 우수한 peak 2를 모아 다시 최종 단계로 HPLC (C₁₈ column)를 이용해 다시

2개의 peak로 분리하였으며 이중 저해효과가 있는 ACE inhibitor를 정제하여 ESI Tandem mass spectrometer로 분자량을 측정된 결과 204 dalton 이었다. 들깨잎의 경우 분자량 1000이하로 cut off한 추출물의 GPC 분리 결과 3개의 peak에서 저해효과가 나타났는데 fraction 1은 28.57%, fraction 3은 37.69%, 그리고 fraction 4는 23.08%로 저해효과가 있는 것이 밝혀졌다. 저해효과가 있는 fraction은 FPLC를 사용하여 분리하였는데 분리된 peak는 돌미나리에 비해 inhibition이 현저하게 낮아 활성 물질로서의 target lead compound로서 부적합하다고 판단하였다. 따라서 본 연구 결과 가장 기능성 식품 신소재로서의 가능성 있는 target compound로는 돌미나리의 물추출물의 MW 1000 cut-off한 농축액의 FPLC와 HPLC를 이용한 분리 정제된 mass 181. 204의 두 물질로서 결론지을 수 있다. 3차년도에는 국내산 미나리· 들깨잎으로부터 추출된 생리활성 물질 함유 기능성 음료 및 식품 첨가물 소재 개발을 위하여 미나리와 들깨잎은 식품첨가물로서의 안정성을 위하여 상온에서 물로 혈압조절 물질을 추출한 후 다시 ACE inhibition assay system을 이용하여 그 inhibition을 측정하여 혈압강화물질을 함유하고 있음을 확인하였다. 먼저 미나리와 들깨잎 추출물을 함유한 기능성 drink products는 일반적인 배합공정에 의거하여 비타민이 풍부한 과일 extract 및 puree 와 액상과당 등 감미제 5~ 10%, inositol 등 강화제, 혼합과일 향 등 착향제 0.1%, 구연산 0.05 ~ 0.1%, 보존제와 함께 배합하여 전체적인 용량을 맞추어 다양하게 제조하였으며, 개발된 음료는 관능검사에 의해 전반적인 맛, 색깔, 향미를 평가하여 적용 가능 제품을 선정하였다. 제조된 음료 중 돌미나리 추출물을 Mw 1000으로 cut-off한 추출물을 첨가한 경우가 가장 기호도가 높은 것을 고려하여 혈압 상승작용을 유발하는 angiotensin I 전환효소에 대하여 가장 높은 활성 저해율을 보이는 추출물을 식품에 첨가시킴으로써, 별도의 고혈압 예방 제제를 사용하지 않고 천연 농산자원을 편하게 섭취함으로써 그 효과를 기대할 수 있다고 생각된다. 한편 들깨잎보다는 돌미나리 crude extract의 ACE inhibition이 월등히 높기에 제품화 가능성은 돌미나리가 보다 실용적으로 판단되었다. 국수와 떡은 우리 나라의 전통식품으로서 그 영양성을 향상시키고자 돌미나리 추출물을 첨가하여 제조하였다. 돌미나리 추출물을 함유한 국수와 떡은 추출물 함량을 달리하여 제조한 후 관능적 특성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 관능검사하여 그 가능성이 있음을 확인하였다. 또한 식품소재로서 어린아이들도 섭취할 수 있도록 카라멜과 캔디를 제조하여 식품의 신소재로서의 가능성을 확인하였다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 고부가가치의 미나리·들깨잎 추출물을 이용한 새로운 가공식품개발
- 스낵용 조미료에 이용: 독특한 향과 맛을 이용하여 분말 조미료에 원료로서 사용할 경우 부담이 없는 맛의 새로운 스낵의 개발이 가능
- 라면스프와 인스턴트제품의 원료로 이용 : 가열공정이 있으므로 내열성실험 통하여 안전성 여부를 판단하여 적용
- 기타 외식업체(일반음식점포항)양념으로 시장개척 및 활용: 스파게티및 피자소스류 등의 원료화 가능
- 가공공정이 가능하다면 신제품화가능: 미나리·들깨잎 페이스트개발, 타제품과 혼합한 향료개발
- 건강기능성 가공식품의 소재로 활용
- 영양강화 식품 및 의약품소재로 활용

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

없음

제 7 장 참고문헌

- Choi, H.S. and Lee, M.S. The effect of dispersion medium on intensity of volatile flavor components and recovery of essential oil from *Capsella bursa-pastoris* by stean distillation. Korean J. Food Sci. Technol., 28 (5), 827-833 (1996)
- Park, E.R., Lee, H.J., Lee, M.Y. and Kim, K.S. Volatile flavor components in various ebidle potions of *Angelica keiskei* Koidz. Korean J. Food Sci. Technol., 29 (4), 641-647 (1997)
- Kim, Y.K., Hyun, S.W. and Ko, Y.H. Analysis of essential oils from the peel of Mandarine. Korean J. Food Sci. Technol., 31 (5), 1178-1183 (1999)
- Lee, S.H. and Joo, K.J. Analysis of volatile flavor compounds in sesame oil extracted by purge-and-trap method. Korean J. Food Sci. Technol., 30 (2), 260-265 (1998)
- 정일민, 윤성중, 김정태, 광재준, 성재덕, 서형수, 들깨잎에 함유된 superoxide dismutase의 특성 및 항산화 활성 검정, 40 (4), 504-511 (1995)
- Huopalahti, R. and Linko, R.R. Composition and content of aroma compounds in dill, J. Agric. Food Chem., 31, 331-334 (1983)
- Kastingm, R., Andersson, J. and Sydow, E.V. Volatile constituents in leaves of larsley. Phytochemistry, 11, 721-727 (1972)
- 식물대보감(자원편). 도서출판 일흥, 164 (1989)
- Tamura, H., Fujiwara, M. and Sugisawa, H. Production of phenyl-propanoids from cultured callus tissue of leaves of Akacirimen-Shiso. Agric. Biol. Chem., 53(7), 1971-1978 (1989).
- 채영복, 김완주, 지옥표, 안미자, 노영주, 한국유용식물자원연구총람, 화학 (1988)
- Choung, M.G., Kwak, Y.H. and Kwon, Y.C. Test of components related to Quality in perilla leaves : I. Test of purple pigment in perilla leaves. J. Agri. Sci., 40, 119-126 (1998)
- Choung, M.G., Kwak, Y.H. and Kwon, Y.C. Test of components related to Quality in perilla leaves : II. Test of volatile flavor components in perilla leaves. J. Agri. Sci., 40, 127-132 (1998)

- Choung, M.G., Kwak, Y.H. and Kwon, Y.C. Test of components related to Quality in perilla leaves : III. Changes of anthocyanin and flavor components at different light quality. J. Agri. Sci., 40, 133-139 (1998)
- Jang, H.J., Park, J.Y. and Kim, Y.T. Volatile components of *Perillae folium*. Korean J. Food. Sci. Technol., 23, 129-132(1998)
- Kim, K.S., Ryu, S.N., Song, J.S., Bang, J.K. and Lee, B.H. Comparison of analytical methods for volatile flavor compounds in leaf of *Perilla frutescens*. Korean J. Crop Sci., 44(2), 154-158(1999).
- 이창복, 대한 식물도감, 향문사, 581 (1983)
- 박영일, 김희근, 김유영, 김인수, 미나리의 중금속 흡수량 측정 및 중금속 결합 단백질의 동정. Chem. Biotechnol., 39 (6), 494 -500 (1990)
- Park, J.C., Ha, J.O. and Park, K.Y. Antimutagenic effect of flavonoids isolation from *Oenanthe javanica*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 25 (4), 588-592 (1996)
- Rhee, H.J., Koh, M.S. and Choi, O.J. A study on the Volatile constituents of the water dropwort, Korean J. Soc. Food Sci., 11, 386-395 (1995)
- Song, G.S. and Kwon, Y.J. Analysis of the volatile constituents of *Oenanthe stolonifera* DC. J. Korean Soc. Food Nutr., 19(4), 311-314 (1990)
- 백형희, Gas chromatography/olfactometry (GC/O)의 최신경향. 한국식품과학회 제 64차 학술발표회 논문 초록집. pp 177-184 (2000)
- AOAC. Official method of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA (1996)
- 주현규, 조황연, 박충균, 조규성, 채수규, 마상조, 식품분석법, 학문사, 350 - 353 (1994)
- Shure, K.B. and Acree, T.E. Changes in the odor-active compounds in *Vitis labruscana* Cv. concord during growth and development. J. Agric. Food Chem., 42, 350-353 (1994)
- Schreier, P., Drawert, F. and Junker, A. Identification of volatile constituents form grapes. J. Agric. Food Chem., 24(2), 331-336(1976)
- Baek, H.H. and Cadwallader, K.R. Contribution of free and glycosidically bound volatile compounds to the aroma of muscadine grape juice. J. Food Sci., 64(3),

- 441-444 (1999)
- Pawliszyn, J. Solid-phase microextraction : Theory and practice, Wiley-VCH, Inc., New York (1997)
- Miller, M.E. and Stuart, J.D. Comparison of gas-sampled and SPME-sampled static headspace for the determination of volatile flavor components. *Anal. Chem.*, 71, 23-27 (1999)
- Deiber, K.D., Acree, T.E. and Lavin, E.H. Solid phase microextraction application in gas chromatography/olfactometry dilution analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 47 (4), 1616-1618 (1999)
- van den Dool, H. and Kratz, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.*, 11, 463-471(1963)
- 문임숙, 조용계, 류홍수, 미나리의 단백질 및 아미노산 조성. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 19(2), 133-142 (1990)
- Koezuk, Y., Honda, G. and Tabata, M. Essential oil types of the local varieties and their F₁ hybrids of *Perilla frutescens*. *Shoyagakuzashshi*, 39, 228-231 (1984)
- Koezuk, Y., Honda, G. and Tabata, M. Genetic control of the chemical composition of volatiles in *Perilla frutescens*. *Phytochemistry*, 25, 859-963 (1986)
- Ho, C.T. and Hartman, T.G. *Lipids in food flavors*. ACS, Washington, D.C. (1994)
- Cronin, D.A. and Ward, M.K. The characterization of some mushroom volatiles. *J. Sci. Food Agric.*, 22, 477-479 (1971)
- Nishizawa, A., Honda, G. and Tabata, M. Genetic control of perillene accumulation in *Perilla frutescens*. *Phytochemistry*, 22(2), 423-425 (1989)
- Swift, K.A.D. *Flavors and fragrances*, The Royal Society of Chemistry, Warwick. U.K.(1997)
- Mclafferty, F.W. *Interpretation of mass spectra*, University Sciebcce Books, Mill Valley, California (1980)
- Acree, T.E. and Teranishi, R. *Flavor science : Sensible principles and techniques*, ACS, Washington, D.C. (1993)
- Hsieh, T.C., Williams, S.S., Vejaphan, W. and Meyers, S.P. Characterization of

- Volatile components of Menhaden fish oil. *JAOCS*, 66(1), 114-117 (1989)
- Grosch, W. Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Sci. Tech.*, 4, 68-73 (1993)
- Acree, T.E. GC/Olfactometry. *Anal. Chem.*, 69, 170A-175(A) (1997)
- Roberts, D.D. and Acree, T.E. Effects of heating and cream addition on fresh raspberry aroma using a retronasal aroma simulation and gas chromatography olfactometry. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3919-3925 (1996)
- Ashurst, P.R. Food flavorings, AVI, USA (1991)
- Eisert, R. and Pawliszyn, J. New trends in solid phase microextraction, *Anal. Chem.*, 27(2), 103-135 (1997)
- Teranishi, R., Wick, E.L., Hornstein, I. Flavor chemistry, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (1991)
- Teranishi, R., Buttery, R.G., Sugisawa, H. Bioactive volatile compounds for plants, ACS, Washington, DC (1993)
- 손동화. 식품단백질 유래의 생리활성 펩타이드. *식품기술*, 7(3), 25 (1994)
- 양한철. 식품신소재학 (한림원) 제 4장, 130 (1996)
- 金赤松. 芳新訂漢藥 (醫齒藥出版), 198 (1974)
- 유태중. 식품카르테 (박영사), 28 (1982)
- Mun, S. I., Joh, Y. G., and Ryu, H. S. Protein and amino acid composition of water cress, *Oenanthe stolonifera* DC. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 19(2), 133-142 (1990)
- Park, K. Y., Lee, K. I., and Rhee, S. H. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21(2), 149-153 (1992)
- Park, K. Y., Lee, K. I., and Rhee, S. H. Antimutagenic effect of green-yellow vegetables toward aflatoxin B1 and 4-nitroquinoline-1-oxide. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21(2), 143-148 (1992)
- Kim, K. H., Chang, M. W., Park, K. Y., Rhee, S. H., Rhew, T. H., and Sunwoo, Y. I. Effects of phytol and small water dropwort extract on the T subset

- in the sarcoma 180-transplanted mice. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22(4), 405-411 (1993)
- Cushman, D. W. and Cheung, H. S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1637-1928 (1971)
- Oshima, G., Shimabukuro, H and Nagasawa, K. Peptide inhibitors of angiotensin I -converting enzyme in digests of gelatin by bacterial collagenase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 566, 128-137 (1979)
- Cheung, H. S., Wang, F. L., Ondetti, M. A., Sabo, E. F. and Cushman, D. W. Binding of peptides substrates and inhibitors of angiotensin converting enzyme. *J. Biol. Chem.*, 255(2), 401-407 (1980)
- Maruyama, S. and Suzuki, H. A Peptide inhibitor of angiotensin I -converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.*, 46(5), 1393-1394 (1982)
- Maruyama, S., Nakagomi, K., Tomizuka, N. and Suzuki, H. Angiotensin I -converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein II. Isolation and bradykin-potentiating activity on the uterus and the ileum of rats. *Agric. Biol. Chem.*, 49(5), 1405-1409 (1985)
- O'Connor, S. and Somers, P. Methods for the detection and quantitation of angiotensin converting enzyme inhibitors in fermentation broths. *J. Antibiotics.*, 38(8), 993-996 (1985)
- Hazato, T. and Kase, R. Isolation of angiotensin -converting enzyme inhibitor from porcine plasma. *Biochemical Communications*, 139(1), 52-55 (1986)
- Maruyama, S., Mitachi, H., Tanaka, H., Tomizuka, N. and Suzuki, H. Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin I -converting enzyme inhibitors derived from casein. *Agric. Biol. Chem.*, 51(6), 1581-1586 (1987)
- Kohama, Y., Matsumoto, S., Oka, H., Teramoto, T., Okabe, K. and Mimura, T. Isolation of angiotensin-converting enzyme inhibitor from tuna muscle. *Biochem. and Biophysical Research Communications*, 155(1), 332-337 (1988)

- Maruyama, S., Miyoshi, S. and Tanaka, H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from *Ficus Carica*. *Agric. Biol. Chem.*, 53(10), 2763-2767 (1989)
- Kohmura, M., Nio, N. and Ariyoshi, Y. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by synthetic peptide fragments of various β -caseins. *Agric. Biol. Chem.*, 54(4), 1101-1102 (1990)
- Miyoshi, S., Ishikawa, H., Kaneko, T., Fukui, F., Tanaka, H. and Maruyama, S. Structures and activity of angiotensin-converting enzyme inhibitors in an α -zein hydrolysate. *Agric. Biol. Chem.*, 55(5), 1313-1318 (1991)
- Yokoyama, K., Chiba, H. and Yoshikawa, M. Peptide inhibitors for angiotensin I-converting enzyme from thermolysin digest of dried bonito. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56(10), 1541-1545 (1992)
- Ariyoshi, Y. Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 4, 139-144 (1993)
- Matsui, T., Matsufuji, H., Seki, E., Osajima, K., Nakashima, M. and Osajima, Y. Inhibition of angiotensin I-converting enzyme by *Bacillus licheniformis* alkaline protease hydrolyzates derived from sardine muscle. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57(6), 922-925 (1993)
- Yeum, D. M., Roh, S. B., Lee, T. G., Kim, S. B. and Park, Y. H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolyzates of food proteins. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23(2), 226-233 (1993)
- Do, J. R., Kim, S. B., Park, Y. H. and Kim, D. S. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity by the component of traditional tea materials. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25(5), 456-460 (1993)
- Cho, Y. J., An, B. J. and Choi, C. Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25(3), 238-242 (1993)
- Yeum, D. M., Kim, S. B., Lee, T. G., Park, Y. B., Kim, O. K., Do, J. R. and Park, Y. H. Isolation and characteristics of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of peptic hydrolyzates of anchovy muscle protein. *Bull.*

- Korean Fish. Soc., 27(1), 1-6 (1994)
- Saito, Y., Wanezaki, K., Kawato, A. and Imayasu, S. Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sake and sake lees. Biosci. Biotech. Biochem., 58(10), 1767-1771 (1994)
- Moon, S. H., Ha, S. C., Lee, D. S., Kim, J. K. and Hong, S. D. Identification and culture condition of an actinomycetes strain producing an angiotensin converting enzyme inhibitor. Korean J. Appl. Microbiol. biotechnol., 23(4), 439-445 (1995)
- Shin, J. I., Ahn, C. W., Nam, H. S., Lee, H. J. and Moon, T. H. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. Korean J. Food Sci. Technol., 27(2), 230-234 (1995)
- Han, C. K., Lee, B. H., Song, K. S., Lee, N. H., and Yoon, C. S. Effects of antihypertensive diets mainly consisting of buckwheat, potato, and perilla seed on blood pressures and plasma lipids in normotensive and spontaneously hypertensive rats. J. Korean Nutr., 29(10), 1087-1095 (1996)
- Ryu, I. W. and Shin, Y. S. Inhibition effect of ACE angiotensin converting enzyme and kinetics of aloe acethylmannan. Korean J. Food Sci. Technol., 29(1), 1269-1274 (1997)
- 박은희. 도축혈액으로부터 ACE 저해 펩타이드의 분리·정제 및 특성 규명. 충남대학교 석사학위논문 (1997)
- Suetsuna, K. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitor dipeptides derived from *Allium sativum* L (garlic). J. Nutr. Biochem., 9, 415-419 (1998)
- 이만중, 장영렬, 임무현. Cacao bean으로부터 분리된 polyphenol 성분의 화학적구조 분석과 ACE 저해효과. 한국농화학회지, 41(1), 110-117 (1998)
- Hong, S. P., Kim, M. H., Oh, S. W., Han, C. K. and Kim, Y. H. ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosin oligosaccharides in SHR. Korean J. Food Sci. Technol., 30(6), 1476-1479 (1998)
- Lee, H. O., Kim, D. S., Do, J. R., and Ko, Y. S. Angiotensin- I converting enzyme inhibitory activity of algae. J. Korean Fish. Soc., 32(4), 427-431 (1999)

- Suh, H. J., Whang, J. H. and Lee, H. A peptide from corn gluten hydrolysate that is inhibitory toward angiotensin I converting enzyme. *Biotech. Letters*, 21, 1055-1058 (1999)
- Kim, Y. K. and Chung, B. H. A novel angiotensin- I -converting enzyme inhibitory peptide from human α_{s1} -casein. *Biotechnology Letters*, 21, 575-578 (1999)
- Lee, J. R., Kwon, D. Y., Shin, H. K. and Yang, C. B. Purification and identification of angiotensin- I converting enzyme inhibitory peptide from kidney bean protein hydrolyzate. *Food Sci. Biotechnol.*, 3, 172-178 (1999)
- Ma, S. J. Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(3), 395-400 (2000)
- Park, E. J., Lee, H. G., Park, H. H., Kim, I. B., Shin, H. K. and Yang, C. B. Purification and identification of angiotensin- I converting enzyme inhibitory compounds from watercress (*Nasturtium officinale*). *Food Sci. Biotechnol.*, 9(3), 163-167 (2000)
- Fields, R. The measurement of amino groups in proteins and peptides. *Biochem. J.*, 124, 581-59 (1971)
- Eklund, A. On the determination of available lysine in casein and rapeseed protein concentrates using 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid (TNBS) as a reagent for free epsilon amino group of lysine. *Anal. Biochem.*, 70, 434-439 (1975)
- Spadaro, A. C. C., Draghetta, W., Lama, S. N. D., Camargo, A. C. M. and Greene, L. J. A convenient manual trinitrobenzenesulfonic acid method for monitoring amino acids and peptides in chromatographic column effluents. *Anal. Biochem.*, 96, 317-321 (1979)
- Chung, D. O., Park, Y. K. The study of soft drinks production and functional food in onions. *Korean J. Soc. Food Sci.*, 15(2), 158-162 (1999)
- Kee, H. J. and Hong, Y. H. Ginseng-whey beverage production and sensory properties. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22(2), 202-207 (1993)
- Kang, Y. J., Ryu, K. T., Kim, H. S. Preparation of cellular liquid from brown

seaweeds for functional tonic products. J. Korean Soc. Food Nutr., 2(1), 94-103
(1996)