

발효기간이 산야채 발효액의 품질과 기능성에 미치는 영향

김나미* · 이종원 · 도재호 · 양재원
 KT&G 중앙연구원 인삼연구소

Effects of the Fermentation Periods on the Qualities and Functionalities of the Fermentation Broth of Wild Vegetables

Na-Mi Kim*, Jong-Won Lee, Jae-Ho Do and Jae-Won Yang
 KT&G Central Research Institute, Ginseng Research Group

To determine optimal fermentation period of wild vegetables mixed with black sugar without microorganisms during plant extract fermentation food processing, changes in chemical components, quality characteristics of the fermented broth, and physiological functionality during fermentation period were investigated. pH and °Bx of fermented broths decreased gradually during fermentation period. Except persimmon leaf, viscosity of fermented broths of wild vegetables decreased after 3 months fermentation period. Amylase activity increased to 167~800% of its initial level after 6 months fermentation period, and invertase activity decreased by 60~170 units after 1 month fermentation. No significant level of cellulase activity was observed. In the sensory evaluation test, inherent flavors and tastes of the wild vegetable decreased during the fermentation period, while those of others gradually increased. Overall acceptability was the highest after 3 months fermentation. Content of total phenolic compounds and electron-donating ability were the highest after 3 to 4 months fermentation period, and decreased thereafter. Except Mugwort, tyrosinase inhibitory activity was found in all fermented broths. SOD-like activities were 23.0~25.1 and 27.0~29.2% in fermentation broths of acacia flower and persimmon leaf, respectively, and were maintained throughout the fermentation period. Based on these results, fermentation period of 3 to 4 months was determined to be appropriate for plant extract fermentation food processing.

Key words: fermentation, wild vegetables, qualities, functionalities

서 론

산업발달과 경제 성장으로 국민의 생활수준이 많이 향상되었으며 건강에 대한 관심이 고조되고 있다. 과학과 의학이 발전되고 사회적 환경이 개선됨에 따라 평균수명도 크게 높아져서 고령화 인구가 증가되고 있으며, 소득증대와 식생활의 변화로 인하여 질병의 양상도 크게 달라져, 전염성 질환보다는 성인병이라 불리는 뇌졸중, 동맥경화증, 고혈압, 암, 당뇨병, 만성 간질환, 만성위장병 등 만성퇴행성 질환의 발병률이 높으며, 주요 사망원인이 되고 있다. 이러한 만성 퇴행성 질환들은 병에 걸린 다음에 치료하기가 매우 어렵고 의료비의 부담도 크기 때문에 예방이 우선되어야 한다는 예방의학의 중요성이 인식되고 있다. 이들 질병은 생활환경의 변화 특히 식생활의 변화에 의해 크게 영향을 받게 되므로 생

활 습관병 또는 식원병이라 불리운다. 육류에 의한 열량과 지방의 과다섭취, 정제 가공식품, 식품첨가물의 과다섭취 등이 주요 원인이 되는 것으로 지적되고 있어서 식물성 식품을 선호하는 경향이 높아지고 있으며, 식물성 소재에서부터 여러 가지 생리기능성 성분을 찾아내는 연구가 활발히 진행되고 있다⁽¹⁻⁴⁾.

식물추출물 발효식품은 건강식품에 속하는 제품유형으로서 식품공전⁽⁵⁾ 상에 등재되어 있으며, 일반적으로 여러 가지 식물성원료에 당을 첨가하거나 유산균 등의 미생물을 첨가하여 발효시킨다. 현대인들이 많이 접하게 되는 가공식품은 제조과정에서 효소들이 파괴되기 쉽고, 식품첨가물이나 화학성분들도 효소기능을 약화시키게되므로 현대인의 식생활은 효소가 많이 부족해지기 쉽다. 식물체에는 여러 가지의 효소가 함유되어 있으며 식물추출액을 발효시키면 많은 효소들이 활성화되어 여러 가지 생화학반응을 일으킴으로써 식물체의 영양성분이 소화, 흡수되기 쉬운 형태로 변환될 수 있으며, 효소작용으로 생성된 성분들에 의해 새로운 생리조절기능을 발현할 수 있다. 또한 효소자체를 섭취함으로써 체내에서 신진대사 기능을 촉진하게 된다. 식물추출물 발효 식품은 이러한 기능을 발현할 수 있을 것으로 기대되어 몇 가지 제품이 제

*Corresponding author : Na-Mi Kim, KT&G Central Research Institute, Ginseng Research Group, 302 Shinseng-dong, Youseng-gu, Daejeon 305-345, Korea
 Tel: 82-42-866-5424
 Fax: 82-42-861-1949
 E-mail: nmkim@ktng.com

조, 시판되고 있으나 적절한 발효기간에 대한 근거가 미약한 실정이다.

본 연구에서는 식물성원료를 이용하여 식물추출물 발효식품을 제조하는데 있어서 발효기간의 경과에 따른 발효액의 성분과 품질특성, 효소활성과 몇 가지 생리기능성의 변화를 조사하여 적합한 발효기간을 설정하고, 제품의 신뢰도를 높일 수 있는 과학적인 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

산야채로 쪽, 민들레, 아카시아, 솔밭, 쇠뜨기, 감잎 등을 2001년도 3~5월에 대전근교의 산과 들에서 채취하여 시료로 사용하였고, 흑설탕은 시판되고 있는 S사 제품(15 kg/포)을 사용하였다.

산야채 원료의 발효 및 숙성

산야채 원료들을 세척하고 물기를 제거한 후 waring blender로 파쇄(medium, 5분)하여 수분함량을 측정하였다. 각 원료의 수분함량에 따라서 전체 수분함량이 40%를 유지하도록 흑설탕을 첨가하여 유리용기에 담았다. 20±2°C로 유지된 항온실에서 주 3회씩 뒤적여 호기적 상태를 유지하면서 6개월 동안 자연발효시켰다.

이와 같이 6개월 발효시킨 발효액을 5,000×g에서 20분간 원심분리, 여과한 후 상정액을 유리용기에 담아 20±2°C에서 1~2개월 간 숙성시켰다.

물리화학적 특성 조사

산야채 추출물 발효액을 원심분리, 여과한 후 상정액을 시료로 하여 pH는 pH meter(Metrohm, 691 pH meter, Metrohm, Switzerland)로 측정하였고 °Bx와 점도는 각각 굴절당도계 (Atago N-3)와 점도계 (Brookfield, spindle No. 5, 25°C, 100 rpm)로 측정하였다. 색도는 산야채 추출물 발효액을 50%에탄올 2배량으로 희석하여 원심분리한 후 그 상정액을 시료로 하여 색도계 (Minolta CT-20, Japan)로 L, a, b 값을 측정하였다.

효소활성 및 생균수

산야채 추출물 발효액의 원심분리 상정액 2 mL에 차가운 메탄올 8 mL을 가하여 다시 원심분리하였다. 침전물에 10 mL의 정제수를 가하여 침전물을 용해시킨 다음 원심분리여과한 상정액을 효소활성 측정용 시료로 사용하였다. Amylase는 기질로서 1% soluble starch를 사용하여 40°C에서 3분간 반응시켰고, invertase와 cellulase는 기질로서 1% sucrose와 0.5% carboxy methyl cellulose(CMC)를 각각 사용하여 40°C에서 30분간 반응시켰으며, 반응액의 glucose 함량을 측정하여 단위 시간 당 생성된 glucose 함량으로 효소활성을 나타내었다⁶⁾.

또한 식품공전⁵⁾의 미생물 시험법에 준하여 각 발효액 중의 생균수를 측정하였다.

항산화활성과 총 페놀화합물 함량

산야채 추출물 발효액에 동량의 에탄올을 가하여 원심분

리 여과한 상정액을 분석용 시료로 사용하였다. 항산화활성은 Blois의 방법⁷⁾으로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 1 mL가 1분 동안에 흡광도 값이 0.01 감소시키는 것을 1 unit로 나타내었다.

총 페놀화합물은 표준용액으로 caffeic acid를 사용하여 Folin-Denis colorimetric method⁸⁾로 측정하였다.

Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 저해활성은 Sung 등의 방법⁹⁾에 따라 측정하였다. 시료용액은 증류수로 8배 희석하여 원심분리하였고, 상정액 0.5 mL에 5 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA) 0.2 mL, 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.0) 0.2 mL를 혼합한 후 tyrosinase 1 unit를 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 무첨가구와 비교하였다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund 등의 방법¹⁰⁾에 따라 시료액 20 mL에 55 mM tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.2)를 가하여 균질화하고 원심분리하여 얻은 상정액을 pH 8.2로 조정된 후 TCB를 사용하여 50 mL로 정용한 후 시료액으로 사용하였다. 시료액 950 µL에 50 µL의 24 mM pyrogallol 용액을 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하고 시료액 무첨가 대조구와 비교하여 활성을 계산하였다.

당 함량

산야채 추출물 발효액의 당 함량 변화는 HPLC로 분석하였다. 기종은 Waters Associate Model 244(USA)를 사용하였고, Lichrosorb-NH₂ column에 이동상으로 acetonitrile과 H₂O를 80:20으로 혼합한 용매를 분당 1 mL의 속도로 통과시키면서 RI detector로 분석하였다.

관능적 특성 변화

산야채 추출물의 발효에 의한 향미 변화는 KT&G 중앙연구원의 관능평가 요원 중 숙달된 5명을 선발하여 QDA방법¹¹⁾으로 평가하였다. 발효기간별 산야채 추출물 발효액에 대하여 향과 맛에 대한 묘사를 하게 하고, 공통적으로 묘사된 특성에 대하여 0~9의 강도를 표시하게 한 후 그 강도의 평균 값을 다각형 그림으로 나타내었다. 전체적인 기호도는 각각의 산야채 추출물에 대하여 발효기간별로 제조된 시료의 향과 맛, 선택 등의 여러 가지 관능특성을 종합하여 1~9의 점수로 나타내게 하였고, 분산분석과 Duncan의 다범위검정을 행하여 시료간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

산야채 추출물 발효액의 물리화학적 특성

산야채 추출물을 20±2°C에서 6개월간 발효시키면서 발효기간의 경과에 따른 물리화학적 특성과 색도의 변화를 조사한 결과는 Table 1 및 2와 같다. pH는 발효기간이 경과함에 따라 낮아져서 산성의 pH를 나타냈으며, 아카시아꽃 추출물 발효액이 pH의 감소가 가장 커서 발효 전의 pH 5.56에서 발

Table 1. Changes of physiochemical properties of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Fermentation ¹⁾ period (months)	pH	°Bx	Viscosity (cps)
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	0	5.62	59.0	72
	3	5.08	56.0	30
	6	4.48	55.0	26
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	0	5.58	63.0	108
	3	4.92	62.0	32
	6	3.08	61.4	40
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	0	5.56	62.0	80
	3	3.82	61.0	56
	6	3.08	59.0	68
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	0	4.13	64.0	146
	3	4.09	63.0	52
	6	3.74	63.4	16
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	0	5.13	68.0	208
	3	4.91	64.0	72
	6	4.26	63.6	112
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	0	5.12	51.0	20
	3	4.86	46.0	80
	6	4.20	45.2	120

¹⁾Wild vegetables was crushed and adjusted with black sugar to 40% water content, then fermented for 6 months at 20±2°C.

Table 2. Changes of color of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Fermentation period (months)	L (lightness)	a (redness)	b (yellowness)
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	0	76.00	-9.11	62.70
	3	77.33	-4.82	49.84
	6	83.63	-1.12	42.74
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	0	82.47	-1.12	39.96
	3	82.88	-0.86	37.72
	6	83.96	-0.71	32.34
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	0	78.63	1.45	39.85
	3	86.01	0.10	35.54
	6	93.58	-1.66	20.07
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	0	88.29	-4.03	38.28
	3	88.84	-2.86	27.01
	6	89.18	-2.32	21.76
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	0	78.52	0.92	52.41
	3	79.14	0.86	50.69
	6	82.53	0.79	43.24
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	0	89.64	-2.89	38.37
	3	90.03	-1.65	35.03
	6	90.16	-0.71	30.21

효 6개월 경과 시에는 3.08로 낮아졌다. 당도(°Bx)는 발효 기간에 따라 다소 낮아지는 경향이었는데 이는 삼투압에 의하여 식물체 중의 수분이 발효액 중으로 이행되었기 때문일 것으로 생각된다.

점도는 쑥, 민들레, 아카시아, 솔잎의 경우에는 발효 기간이 경과함에 따라 낮아졌으며, 특히 솔잎추출물 발효액은 감소 경향이 뚜렷하였다. 이와는 대조적으로 감잎의 경우에는

발효 기간이 경과함에 따라 점도가 상당히 높아지는 것으로 나타났다. 시료에 따라 점도 변화의 차이가 있는 것은 함유되어있는 내용 성분과 효소 등이 각기 다르며, 이들에 의한 상호작용 등이 점도에 영향을 미치기 때문인 것으로 생각된다⁽¹²⁾. 색도는 대체로 발효기간이 증가됨에 따라 명도를 나타내는 L값과 적색도인 a값은 증가되고 황색도인 b값은 감소되는 경향을 보여 발효기간이 증가되면서 명도는 높아지고,

Table 3. Changes of enzyme activities of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Fermentation period (months)	Amylase activity (units ¹⁾)	Invertase activity (units ¹⁾)	Cellulase activity (units ¹⁾)
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	0	70	-	60
	1	85	170	-
	3	70	-	100
	6	560	-	140
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	0	40	-	-
	1	110	105	50
	3	-	-	-
	6	140	-	-
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	0	60	50	50
	1	50	110	90
	3	-	70	-
	6	100	120	50
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	0	145	-	90
	1	-	60	110
	3	130	-	70
	6	770	-	70
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	0	145	70	-
	1	110	-	-
	3	270	-	-
	6	560	-	40
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	0	30	10	10
	1	70	-	70
	3	90	-	80
	6	90	-	45

¹⁾1 Unit defines the amounts of enzyme that releases 1 μ g of glucose/min/mL of fermentation broth from each substrate.

Table 4. Changes of viable cell counts of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Viable cell counts (unit: CFU/mL)						
	Fermentation period (month)						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	3.0×10^6	3.5×10^6	7.0×10^4	2.5×10^4	1.8×10^4	1.7×10^4	6.0×10^3
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	3.5×10^4	3.7×10^4	2.0×10^4	8.0×10^3	5.0×10^3	4.0×10^3	1.0×10^3
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	4.5×10^7	8.0×10^6	4.2×10^5	9.0×10^3	5.0×10^3	4.0×10^3	8.0×10^2
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	1.0×10^3	1.4×10^3	1.1×10^3	9.0×10^2	4.0×10^2	3.0×10^2	2.0×10
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	8.0×10^3	5.0×10^3	10.0×10^3	4.0×10^3	1.2×10^3	8.0×10^2	5.0×10^2
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	6.0×10^4	5.0×10^4	5.0×10^3	2.0×10^3	1.1×10^4	8.0×10^3	1.2×10^3

녹색이 점차 감소하여 적색을 나타내며, 황색이 연해짐을 알 수 있었다.

효소활성 및 생균수 변화

발효기간의 증가에 따른 산야채 추출물 발효액의 효소활성을 조사한 결과는 Table 3과 같다. Amylase 활성은 쑥, 솔순, 민들레의 경우에 발효기간이 길어짐에 따라 증가하여 6개월 경과 후에는 발효전에 비하여 각각 800, 531, 386%의 수준으로 증가하였다. Invertase의 경우에는 발효 전에 효소의 활성이 거의 없었으나 1개월이 경과했을 때 약한 활성을 보여서 산야채 추출물에 첨가된 설탕을 분해시키기 위해 유도된 것으로 생각된다. Cellulase 효소활성은 거의 없었다. 식

물 자체에는 여러 가지 효소가 존재하고 있을 것으로 판단되나, 첨가된 설탕에 의한 삼투압의 증가로 효소작용이 저해되어 활성이 대체로 낮게 나타난 것으로 생각된다. 산야채 추출물 발효액 중의 생균수를 조사한 결과는 발효 전에 민들레, 쑥, 쇠뜨기, 아카시아 등에서는 10^3 ~ 10^5 CFU/mL 정도의 생균이 검출되었으나, 발효기간이 증가함에 따라 대체로 감소하는 것으로 나타났다(Table 4). 이는 발효액 중의 삼투압이 높아 발효기간이 증가함에 따라 미생물의 생육이 억제되었기 때문인 것으로 생각된다. 쑥의 경우에는 자체내에 항균작용이 있는 것으로 알려져 있어서⁽¹³⁾ 생균수의 감소에 영향을 미친 것으로 생각된다.

Table 5. Changes of content of total phenolic compounds of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Content of total phenolic compounds (unit : %, w/v)						
	Fermentation period (month)						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	0.19	0.34	0.34	0.34	0.30	0.29	0.27
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	0.15	0.22	0.22	0.23	0.24	0.24	0.22
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	0.16	0.21	0.19	0.19	0.20	0.18	0.12
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	0.31	0.42	0.38	0.30	0.28	0.26	0.23
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	0.24	0.27	0.29	0.31	0.28	0.26	0.21
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	0.38	0.39	0.42	0.46	0.49	0.31	0.25

Table 6. Changes of electron donating ability of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Electron donating ability ¹⁾ (%)						
	Fermentation period (month)						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	780	1343	1290	1304	1643	1552	1464
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	790	960	998	1265	1711	1678	1499
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	719	701	486	767	1073	865	494
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	1491	1587	1148	1523	1851	1763	1361
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	1057	934	1056	1600	1918	1257	1074
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	1785	1830	1777	1909	2258	1876	1085

¹⁾1%: 0.01 decrease of absorbance at 517 nm/min/mL.

Table 7. Changes of tyrosinase inhibitory activity of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods

Samples	Tyrosinase inhibitory activity (%)						
	Fermentation period (month)						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Artemisia var. orientails</i> (PAMPAN.) HARA	-	-	-	-	-	16.5	16.5
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	73.9	73.7	75.5	76.3	72.8	66.5	65.3
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	88.1	88.3	86.2	84.5	80.5	74.3	72.0
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	83.2	88.0	85.6	82.2	85.2	87.2	83.2
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	91.0	88.7	85.2	79.6	76.2	75.3	74.6
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	83.6	83.6	85.3	85.4	85.0	86.1	82.4

총 페놀함량과 항산화활성

산야채 추출물 발효액 중의 총 페놀함량의 변화는 Table 5 와 같다. 총 페놀함량은 술순, 민들레, 감잎에서 높은 것으로 나타났고 발효기간이 증가함에 따라서 총 페놀함량도 증가하여 발효 4개월에서 가장 높았으며, 그 이후부터는 오히려 감소하는 경향을 보였다.

페놀 성분은 단백질^(14,15)이나, 철분, 알칼로이드, 피리딘 등의 성분과 결합하여⁽¹⁶⁾ 침전을 형성하는 것으로 알려져 있다. 발효가 진행됨에 따라 산야채 중의 페놀성분이 발효액 중으로 유출되어 함량이 증가하다가 발효기간이 4개월 이상되면 발효액 중의 다른 성분과 결합하여 원심분리과정에서 침전물로 제거됨으로써 함량이 감소한 것으로 생각된다. 한편, Kim 등⁽²⁾은 쑥과 감잎의 총 페놀 함량이 각각 3.8%와 2.1%, Lee 등⁽¹⁷⁾은 각각 1.1%와 5.8%이었다고 보고하였다. 항산화활성은 Table 6과 같이 총 페놀함량의 변화 양상과 유사한 결과를 나타내어 발효기간이 경과함에 따라 발효 4개월까지는 증가하는 경향이었으나 발효 6개월에서는 다소 감소하는

것으로 나타났다. Kang 등⁽¹⁸⁾은 전자공여능이 페놀화합물에 대한 항산화 작용의 지표이며, 이러한 물질은 환원력이 클수록 전자공여능이 높다고 하였는데 본 실험에서도 총페놀 함량이 항산화 활성과 연관이 있음을 보여주었다. Kim 등⁽¹⁾도 솔잎의 항산화 활성이 매우 높았다고 보고하였다.

Tyrosinase 저해활성과 SOD 유사활성

Tyrosinase는 피부의 표피 기저층에 존재하는 멜라노사이트에서 tyrosine을 산화시켜서 멜라닌의 생성을 촉진시키는 역할을 한다. 생성된 멜라닌은 피부의 색을 검게하므로 tyrosinase의 활성을 저해하여 미백효과를 나타내는 물질을 천연물에서부터 찾아내려고 하는 연구가 활발히 진행되고 있다^(19,20). 지금까지 천궁, 당귀, 방풍, 독활, 강황, 감초, 시호, 산겨울, 박태기나무, 고삼, 굴피나무, 강황, 목단피 등과 울무, 현울무 등⁽²¹⁾에서 tyrosinase 저해활성이 있는 것으로 조사되었고, flavonoid 화합물, tannin, phenol carboxylic acid, stiben 유도체, sesquiterpene 등이 주요 성분인 것으로 알려져있다⁽²²⁾.

Table 8. Changes of SOD-like activity of the fermented broth of the wild vegetables during fermentation periods

Samples	SOD-like activity (%)						
	Fermentation period (month)						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Artemisia var. orientalis</i> (PAMPAN.) HARA	-	-	-	-	-	-	-
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	-	-	-	-	-	-	-
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	25.1	23.0	24.3	22.8	23.6	23.2	22.8
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	-	-	-	-	-	-	-
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	-	-	-	-	-	-	-
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	28.7	29.2	28.6	27.6	26.8	27.4	27.0

Table 9. Changes of free sugar contents of the fermented broth of wild vegetables during fermentation periods (unit : %, w/v)

Sample	Fermentation Period (month)	Glucose		Fructose	
<i>Artemisia var. orientalis</i> (PAMPAN.) HARA	0	25.7	21.0		
	3	27.8	22.0		
	6	27.1	18.1		
<i>Equisetum arvense</i> LINNAEUS	0	25.9	23.0		
	3	28.2	22.8		
	6	30.1	21.5		
Flowers of <i>Robinia pseudoacacia</i> LINNE	0	28.4	25.9		
	3	29.7	25.2		
	6	14.9	25.1		
Needles of <i>Pinus densiflora</i> SIEBOLD	0	30.4	27.0		
	3	25.9	23.1		
	6	29.1	21.0		
<i>Taraxacum officinale</i> WEBER	0	30.6	24.2		
	3	28.9	25.0		
	6	33.5	19.4		
Leaves of <i>Diospyros kaki</i> THUNBERG	0	24.0	21.7		
	3	22.8	20.4		
	6	19.9	13.1		

Table 7에서와 같이 산야채 추출물을 발효시킨 발효액 중에는 솔순, 아카시아, 쇠뜨기, 감잎 등에서 tyrosinase 저해활성 활성이 보였으나, 발효기간에 따라서는 커다란 차이를 나타내지 않았다. Superoxide dismutase(SOD)는 생체내에서 superoxide radical을 과산화수소로 환원시켜주는 천연 항산화효소로 알려져 있다. 인체내에서 산화방지와 노화억제와도 밀접한 관련이 있으므로 식물체 중에서 SOD와 유사한 활성을 나타내는 소재를 찾고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다^(23,24). 산야채 추출물을 발효시킨 발효액 중에는 아카시아와 감잎 등에서 SOD유사 활성을 나타내었으며, 발효기간에 따라서는 큰 변화가 없었다(Table 8). Kim 등⁽¹⁾은 솔잎의 열수 추출물에서는 SOD 유사활성이 있는 것으로 보고하였고, Park 등⁽²⁵⁾은 감잎의 건조와 발효방법에 따라 이들의 활성이 변화함을 보고하였다. 또한 Kim 등⁽²⁶⁾은 솔잎의 건조방법에 의한 SOD 유사활성을 조사하였을 때 열풍건조한 것이 활성이 높은 것으로 보고하였다.

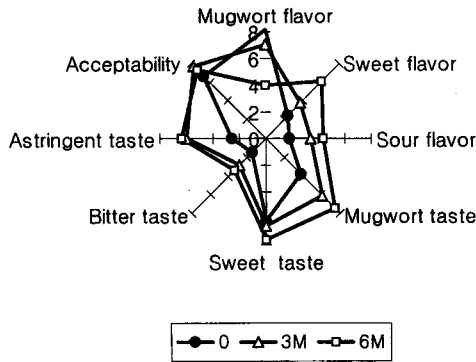
당 함량

산야채 추출물 발효액의 발효에 의한 당 함량의 변화를 조

사한 결과 Table 9와 같이 발효 기간에 따라 큰 변화는 없었으나 fructose는 약간 감소하고 glucose는 증가하는 경향이 었다. 본 실험의 발효에 사용된 흑설탕의 당 함량을 측정해 본 결과 sucrose는 검출되지 않았고, glucose가 50.1%, fructose가 44.4% 함유되어 있는 것으로 조사되어 발효되기 전부터 sucrose가 분해되었던 것을 알 수 있었고, 흑설탕 자체의 이러한 특성 때문에 발효 중 효소 작용에 의한 당의 변화가 거의 없었던 것으로 생각된다. 감잎의 경우⁽²⁷⁾에는 sucrose, glucose, fructose, raffinose가 각각 8.33, 0.94, 1.46, 0.04% 함유되어 있었으며, 민들레 김치의 환원당 함량은 발효기간에 따라 발효 30일까지 함량이 증가하다가 그 이후부터는 낮아지는 것으로 알려져 있다⁽²⁸⁾. 본 실험에서는 설탕을 직접 첨가하였기 때문에 발효액의 당 함량이 매우 높은 것으로 추정된다.

관능적 특성

산야채 원료 중 비교적 향미가 강한 쪽, 솔순을 선정하여 발효기간의 증가에 따른 향미 변화를 조사하였다. 쪽의 경우 (Fig. 1)에는 발효기간이 증가함에 따라 쪽냄새가 감소되었고



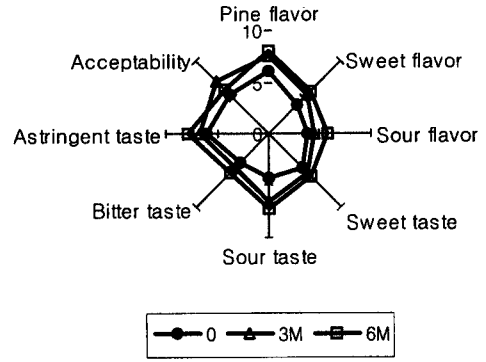
3M: 3 months, 6M: 6 months

Fig. 1. Effects of fermentation periods on sensory evaluation of fermented Mugwort [*Artemisia var. orientalis* (PAMPAN.) HARA].

단념새와 새콤한 냄새는 증가하였다. 맛은 발효 3개월 경과 시에 썩맛, 쓴맛, 떫은맛이 증가되다가 6개월에는 오히려 감소하였고 단맛은 증가하였다. 이러한 변화는 전체적인 기호도에 영향을 주어 3개월 발효했을 때 기호도가 가장 높았다. 전체적인 기호도를 분산분석하였을 때 F값이 3.63으로 나타나 5%수준에서 유의성이 인정되지 않았으므로 발효기간에 의해서 전체적인 기호도는 통계적인 차이를 나타내지 않는 것을 알 수 있었다. 솔순의 경우 Fig. 2에 나타난 바와 같이 여러 관능 지표 중에서 솔냄새와 떫은맛이 가장 강하게 느껴졌으며 발효가 진행됨에 따라 냄새와 맛 성분이 모두 증가하여 고유의 맛과 향이 서서히 용출되는 것을 알 수 있었다. 전체적인 기호도는 발효 3개월이 가장 좋은 것으로 조사되었고 분산분석의 결과 F값이 8.19로 나타나 1%수준에서 유의성이 인정되었으며, Duncan의 다범위검정을 하였을 때 발효 3개월 시료는 발효전이나 6개월 경과 시료와 비교시 5% 수준에서 유의적인 차이가 있었고 발효전과 발효 6개월 경과 시료간에는 차이가 없는 것으로 나타났다.

요 약

산야채를 이용하여 추출물 발효식품을 제조하는데 있어서 적합한 발효기간을 설정하기 위하여 발효기간의 경과에 따른 발효액의 성분과 품질특성, 효소활성과 생리기능성의 변화를 조사하였다. 발효기간이 경과함에 따라 pH와 °Bx는 점차 낮아졌으며, 점도는 감잎 추출물 발효액을 제외하고는 3개월 경과시 현저히 낮아졌다. 색도는 발효기간이 증가함에 따라 L값과 a값은 증가되고, b값은 감소되는 경향이었다. 발효액 중의 amylase 효소활성은 발효 6개월이 경과하면서 발효 전에 비하여 167~800% 수준으로 증가하였고, invertase는 발효 초기에는 활성이 거의 없었으나 1개월 경과시에 60~170 units의 약한 활성을 나타내었으며, cellulase는 거의 활성을 나타내지 않았다. 총 페놀함량과 항산화활성도는 발효가 진행됨에 따라 증가하여 3~4개월시 가장 높았고, 그 이후에는 감소하는 경향이었다. Tyrosinase 저해활성은 썩을 제외한 모든 발효액에서 활성을 나타내었으며, 발효기간에 따라 큰 변화가 없었다. SOD 유사활성은 아카시아와 감잎 발효액에



3M: 3 months, 6M: 6 months

Fig. 2. Effects of fermentation periods on sensory evaluation of fermented pine (*Pinus densiflora* SIEBOLD) needle.

서 각각 23.1~25.1%, 26.8~29.2%의 약한 활성을 나타내었으며, 발효 기간에 따라 큰 변화가 없었다. 관능적인 특성을 조사하였을 때 썩은 발효 기간에 따라 큰 차이가 없었고, 솔잎은 발효기간이 증가되면서 맛과 냄새의 강도가 높아졌으며, 전체적인 기호도가 발효 3개월에서 가장 좋은 것으로 평가되었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 산야채 추출물의 발효기간은 3~4개월 정도가 적합할 것으로 판단된다.

문 헌

- Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. The antioxidant ability and nitrate scavenging ability of plant extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 26-32 (2001)
- Kim, M.H., Kim, M.C., Park, J.S., Park E.J. and Lee, J.O. Determination of antioxidants contents in various plants used as tea materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 273-279 (1999)
- Jung, S.S., Lee, N.K., Kim, S.J. and Han, D.S. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 891-896 (1995)
- Moon, S.J. Nutritional problems in Korea. *Korean J. Nutr.* 29: 381-383 (1996)
- Korea Food Codex. Food and Drug Administration, pp. 94-104, Seoul (2000)
- Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. *Methods in Enzymology*, Vol. 1, p.149. Academic Press, New York, USA (1995)
- Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-2000 (1958)
- AOAC. *Official Methods of Analysis*. 8th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1980)
- Sung, C.K. and Cho, S.H. Studies on the purification and characteristics of tyrosinase from *Diospyros kaki* Thunb. *Korean Biochem.* 5: 79-87 (1992)
- Marklund, S. and Marklund, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474 (1974)
- Moskowitz, H. *Applied Sensory Analysis of Food*. Vol. 1, pp. 43-71. CRC press, Florida, USA (1988)
- Joslyn, M.A. *Methods in Food Analysis*, pp. 375-385. Academic Press, New York, USA (1970)
- Kim, T.S., Kim, M.N., Kim, J.O. and Lee, J.H. The effect of hot water-extract and flavor compounds of mugwort on microbial growth. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23: 994-1000 (1994)
- Van, B.J. and Robinson, W.B. Formation of complexes between

- protein and tannic acid. *J. Agric. Food Chem.* 17: 772-775 (1969)
15. Oh, H.I. and Hoff, J.E. pH dependence of complex formation between condensed tannins and proteins. *J. Food Sci.* 52: 1276-1272 (1987)
 16. Joslyn, M.A. *Methods in Food Analysis*, pp.701-708. Academic Press, New York, USA (1970)
 17. Lee, J. and Lee, S.R. Analysis of phenolic substances contents in Korea plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 310-316 (1994)
 18. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 232-239 (1996)
 19. Lee, K.T., Kim, J.H., Heo, M.Y. and Kim, H.P. Inhibitory activities of tyrosinase and DOPA auto-oxidation. *Int. J. Cosmetic Sci.* 19: 291-298 (1997)
 20. Okano, Y. Evaluation of plant extracts as active agent for skin whitening. *Fragrance J.* 25: 56-62 (1997)
 21. Kim, J.K. and Lee, H.S. Tyrosinase-inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* [Roman] *Stapf.* 32: 1409-1413 (2000)
 22. Kim, J.J. Screening and isolation of tyrosinase inhibitory compounds from higher plants. Ph.D. Dissertation, Yeungnam Univ., Daegu (2001)
 23. Kim, S. J., Han, D.S., Park, M.H. and Rhee, J. S. Screening for superoxide dismutase-like compounds and its activators in extracts of fruits and vegetables. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 2263-2265 (1994)
 24. Hong, H.D., Kang, N.K. and Kim, S.S. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1484-1487 (1998)
 25. Park, Y.J., Kang, M.H. Kim, J.I., Park, O.J., Lee, M.S. and Jang, H.D. Changes of vitamin C and superoxide dismutase(SOD)-like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 281-285 (1995)
 26. Kim, S.M., Kim, E.J., Cho, Y.S. and Sung, S.K. Antioxidants of pine needle extracts according to preparation method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 527-534 (1999)
 27. Bae, D.K., Choi, H.J., Son, J.H., Park, M.K., Bae, J.H., An, B.J., Bae, M.J. and Choi, C. The studies of developing and stability of functional beverage from Korean persimmon (*Diospyros kaki* L. *folium*) leaf. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 860-866 (2000)
 28. Kim, M.H., Kim, S.D. and Kim, K.S. Effect of salting conditions on the fermentation and quality of dandelion (*Taraxacum Platycarpum* D.) *kimchi*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1142-1148 (2000)

(2002년 11월 28일 접수; 2003년 4월 16일 채택)