

*Bacillus subtilis*를 이용하여 발효시킨 통통마디(*Salicornia herbacea* L.)의 품질 특성

박인배 · 박정욱 · 이영재 · 신궁원 · 김해섭[†] · 조영철

전라남도해양바이오연구원

Quality Characteristic of Glasswort (*Salicornia herbacea* L.) Fermented by *Bacillus subtilis*

In-Bae Park, Jeong-Wook Park, Young-Jae Lee, Gung-Won Shin,
Hae-Seop Kim[†], and Yeong-Cheol Jo

Jeollanamdo Marine Bio Research Institute, Jeonnam 535-802, Korea

Abstract

In this study, we investigated the quality of glasswort (*Salicornia herbacea* L.) fermented by *Bacillus subtilis* at 37°C for 48 hours. We determined the changes in temperature, the contents of moisture, crude protein, crude fat, crude ash, carbohydrate, solid content, pH, Brix, salinity, free amino acid, Hunter's color value, electron donating ability (EDA) activities and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition. The contents of crude protein, crude fat, crude ash and carbohydrate after fermentation to mixing ratio of glasswort were 10.45~30.18%, 11.69~19.26%, 17.65~25.56% and 21.01~59.10% (dry basis), respectively. The solid content, pH, sugar and salinity of fermented glasswort were 39.56~52.25%, 6.01~6.71, 1.2~1.7 Brix and 0.3~0.6%, respectively. Total amino acid level of the fermented glasswort was 447.57~668.89 mg/100 g, and was the highest in glasswort mixed with rice bran at a ratio of 1 (w) : 1 (w). Moreover, aspartic acid, asparagine, glutamic acid, alanine, valine, β -aminoisobutyric acid, lysine and arginine were the main free amino acids. EDA activities and ACE inhibition after fermentation were $46.66 \pm 1.21 \sim 50.87 \pm 1.84\%$ and $96.77 \pm 1.23 \sim 97.56 \pm 1.23\%$, respectively.

Key words: glasswort, *Salicornia herbacea* L., *Bacillus subtilis*, ferment

서 론

우리나라 서해안에서 서식하는 통통마디는 최근 전남 신안, 영광, 전북 부안, 충남 태안 등을 중심으로 인공재배가 많이 이루어지고 있는 염생식물로서, 중국의 옛 의학책인 '신농본초경'에서는 맛이 몹시 짜다 하여 함초(鹹草), 또는 염초(鹽草)라고 하였고, 몹시 희귀하고 신령스러운 풀이라 하여 신초(神草)라고도 하였으며, 통통하고 마디마디 튀어나온 풀이라 하여 '통통마디'라고 하였다(1).

한편 통통마디는 해안가 염 농도가 높은 곳에서 자라기 때문에 삼투압을 견디기 위해 식물체 내에 육상식물보다 다량의 염분을 저장 및 축적하고 있으며(2), 고농도의 염스트레스에 내성을 가지기 위해 betaine과 같은 양쪽성 물질(zwitterionic compound)을 함유하여 높은 삼투압 환경에 적응하는 것으로 알려져 있다(3-5). 또한, 통통마디는 마그네슘, 칼슘, 철 그리고 칼륨 등의 미네랄과식이섬유를 다량 함유하고 있을 뿐만 아니라 아미노산과 지방산이 풍부하여 숙변, 변비, 소화불량, 위장병, 간염 및 신장병의 치료제로

한방 및 민간에서 널리 사용하여 왔다(6). 통통마디에 관한 연구로는 채취 시기 및 부위별 이화학적 특성에 관한 연구(7,8), 빨간 함초의 지질 과산화 및 라디칼 형성에 대한 항산화 활성(9), 생리활성기능 탐색 및 고콜레스테롤 식이에서 항산화방어계에 미치는 영향(10,11), 항산화 작용(12-14), 항당뇨(15,16), 항고지혈증(16), 효소적 가수분해물의 혈당 강하 및 혈청 지질 개선에 관한 연구(17)와 분말의 혼합비율 최적화를 통한 식품개발(18), 발효액의 기능성 연구(19) 및 약리효과에 관한 연구(20)가 이루어졌고, 최근에는 함초 분획물의 암세포 성장억제 및 암 예방물질 탐색에 사용되는 quinone reductase 활성 유도 효과(21)에 대한 연구 등이 보고되었다. 이상과 같이 최근 통통마디에 대한 관심이 고조되어 다양한 생리적 효능이 밝혀지면서 분말이나 추출물 등의 단순 가공품뿐만 아니라 부가가치를 높이기 위해서는 다양한 기술을 적용한 가공식품의 개발이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 통통마디의 이용성 증진과 건강기능성 식품으로 개발을 목적으로 통통마디에 부원료로 미강과 대두를 혼합비율에 따라 배합하고 *Bacillus subtilis*를 이

[†]Corresponding author. E-mail: khsfood@korea.kr
Phone: 82-61-275-1021, Fax: 82-61-275-1026

용하여 발효시켰으며, 발효 전후의 성분특성과 발효물의 품질특성을 분석하고 비교하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 통통마디는 2008년 9월 전남 영광군 염산면에서 채취하여 이물질 제거하고 깨끗한 물로 세척한 후, -80°C 로 동결한 후 진공동결건조기(FDU-2100, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압건조하고 100 mesh 이하로 분쇄하여 사용하였다. 미강과 대두는 원산지가 전남 무안산인 분말제품을 구입하여 사용하였으며, 통통마디 발효를 위하여 사용한 균주는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받은 *Bacillus subtilis* KCCM 12247을 이용하였다.

Starter 배양액 제조

원료로 사용한 통통마디와 부원료로 사용한 미강과 대두를 혼합(2:1:1)하여 20 g에 대하여 1,000 mL의 증류수를 가한 후 실온에서 2시간 동안 진탕 추출한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액에 nutrient broth를 가하고 염 농도를 5%(w/v)로 조절하여 *B. subtilis* KCCM 12247을 접종하고 37°C 에서 일주일간 배양하여 starter액으로 사용하였다.

통통마디의 발효

본 실험에서는 통통마디의 부족한 단백질과 당을 보충하기 위하여 발효에 미강과 대두를 혼합하여 사용하였다. 통통마디, 미강 및 대두 혼합비에 따라 3개의 실험구로 나누어 실시하였는데, 즉 1:1:0(통통마디와 미강만 사용, 이하 실험구 A), 2:1:1(통통마디 2에 미강과 대두를 각각 1씩 사용, 이하 실험구 B) 및 1:0:1(통통마디와 대두만 사용, 이하 실험구 C)의 실험구로 하였다. 앞의 비율대로 혼합한 원료에 대하여 앞에서 제조한 *B. subtilis* KCCM 12247로 제조한 starter액을 1%(v/w) 접종하고, 멸균수를 실험구에 따라 적절하게 첨가하여 수분을 조절하였다. 즉 원료에 대하여 멸균수를 A는 6:6, B는 6:5 및 C는 6:4로 첨가하였는데, 이는 예비실험을 통하여 설정하였다. 이것을 37°C 항온기에서 48시간 동안 발효시켰다.

일반성분 분석

수분은 105°C 상압가열건조법, 회분은 550°C 직접회화법, 조단백질은 자동질소증류장치(KJELTEC 2200 SYSTEM, Foss, Höganäs, Sweden)를 이용한 Kjeldahl법, 조지방은 자동지방추출장치(SOXTEC AVANTI 2055 SYSTEM, Foss)를 이용한 Soxhlet 추출법을 사용하였다. 탄수화물은 시료의 총 중량에서 수분, 단백질, 지방 그리고 회분 함량을 제외한 함량으로 표시하였다.

발효물 특성 분석

발효 균주를 이용하여 발효시킨 통통마디 발효물의 고형

분 함량은 앞의 수분 측정법과 동일방법으로 실시하여 시료 무게에서 수분의 무게를 제외하여 구하였으며, pH, 당도 및 염도는 발효물 10 g을 90 mL의 증류수로 희석한 후 pH는 pH meter(D-52, Horiba, Kyoto, Japan), 당도(Brix)는 digital refractometer(GMK-701AC, G-WON Co., Seoul, Korea), 염도는 digital salt meter(TS-391, AS-ONE Co., Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다.

발효 중 품온의 측정

통통마디 발효 과정 중 품온의 측정은 온도기록계(GL200, GRAPHTEC Corp., Shanghai, China)를 이용하여, 발효용기 중심부에 센서를 장착하여 온도 변화를 10분 간격으로 측정하였다.

유리아미노산 분석

통통마디 발효물의 유리아미노산 분석은 발효물 3 g 가량을 취하고 loading buffer(lithium citrate buffer pH 2.2, Amersham Biosciences Ltd., Cambridge, UK) 25 mL 혼합하고 5'-sulfosalicylic acid 0.25 g 첨가하여 균질화 한 후 4°C 에서 1시간 방치하고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액을 0.2 μm membrane filter로 여과한 후 아미노산 자동분석기(Biochrom 30, Amersham Biosciences Ltd.)로 분석하였다.

색도의 측정

통통마디 발효물의 색도는 발효가 완료된 통통마디 발효물을 진공 동결건조 한 후 100 mesh 이하로 분쇄하여 색차계(CM-3600D, Minolta Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b)를 3회 반복 측정하여 평균값으로 하였으며, 다음 식에 의하여 색차(ΔE)를 계산하여 나타내었다.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성의 측정

통통마디 발효물의 ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(22)을 변형하여 다음의 방법으로 측정하였다. 우선 통통마디 발효물 10 g에 증류수 90 mL를 혼합하여 진탕추출하고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 상층액을 시료액으로 사용하였다. 반응구는 시료액 50 μL 에 ACE 조효소액 50 μL 및 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL 를 가하여 37°C 에서 5분간 전 배양시켰다. 여기에 기질용액 50 μL 를 가하여 다시 37°C 에서 30분 반응시킨 후 1 N HCl 250 μL 를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기서 공시험은 시료 대신 증류수 50 μL 를 가하였으며, 대조구는 시료와 기질을 모두 포함하나 1 N HCl 250 μL 를 가하여 반응을 정지시킨 다음 시료 50 μL 를 가하였다. 이상에 ethyl acetate 1 mL를 가하여 15초간 교반한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 시켜 상층액 1 mL를 취하였다. 이 상층액을 120°C 에서

30분간 완전히 건조시킨 다음 1 M NaCl 3 mL을 가하여 15초간 교반하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정 한 후 다음 식에 의해서 ACE 활성 저해율을 계산하고 평균에 표준편차로 나타내었다.

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

A: 시료 대신 증류수를 첨가한 반응액의 흡광도

B: 시료 첨가한 반응액의 흡광도

C: 반응초기에 1 M HCl을 첨가하여 반응을 정지시킨 반응액의 흡광도

전자공여능의 측정

통통마디 발효물의 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Kang 등의 방법(23)을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 추출물에 의한 환원력을 측정하였다. 즉, 통통마디 발효물 10 g에 증류수 90 mL를 혼합하여 진탕추출하고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 상층액 0.2 mL에 99.9% methanol로 용해한 0.1 mM DPPH용액 3 mL를 가한 후 10 초간 진탕한 다음 10분간 실온에 방치하여 반응시킨 후, 분광광도계(UV-1700, Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하여 추출물을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것의 흡광도 차이를 백분율(%)로 하여 측정값의 평균에 표준편차로 표시하였다.

결과 및 고찰

*Bacillus subtilis*를 이용하여 통통마디 발효 및 품온의 변화

본 실험에서 사용한 통통마디 분말은 수분 3.25%, 조단백질 5.57%, 조지방 4.53%, 조회분 26.19% 및 탄수화물 60.46% 이고, 식염 함량은 21.65%이었다. 한편 통통마디를 이용하여 효소함유제품 제조를 위하여 통통마디에 부족한 단백질과 당을 보충하기 위하여 부원료로 사용한 미강 분말은 수분 8.31%, 조단백질 14.07%, 조지방 22.10%, 조회분 9.66% 및 탄수화물 45.86%이었으며, 대두분말은 수분 6.45%, 조단백질 36.57%, 조지방 19.69%, 조회분 4.91% 및 탄수화물 33.39%이었다. 한편 본 실험에서 통통마디 발효를 위하여 사용한 균주는 예비실험을 통하여 5% 식염을 함유한 영양배지에서 생육이 가능하며, 통통마디를 발효하는데 효과가 있는 것으로 판단한 *B. subtilis* KCCM 12247을 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받아 nutrient agar(Difco)를 이용하여 재배시키고, nutrient broth(Difco)를 이용하여 증균 배양하여 starter로 제조하여 사용하였다. 통통마디, 미강 및 대두 혼합비에 따라 3개의 실험구로 나누어 실시하였는데, 즉 1:1:0(이하, 실험구 A), 2:1:1(이하, 실험구 B) 및 1:0:1(이하, 실험구 C)의 실험구로 하였다. 앞의 비율대로 혼합한 원료에 대

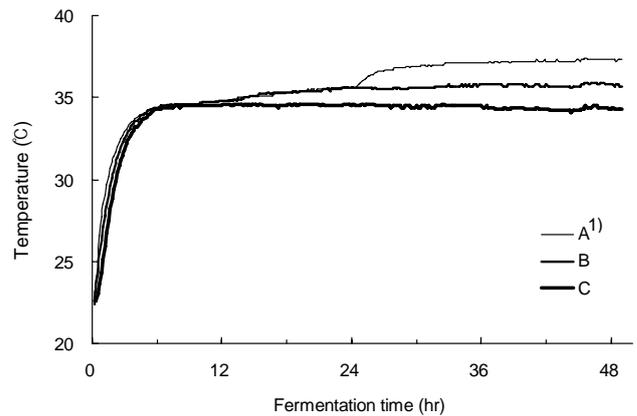


Fig. 1. Changes of temperature during ferment by *B. subtilis* KCCM 12247.

¹⁾A: glasswort : rice bran : soybean=1 (w) : 1 (w) : 0 (w).

B: glasswort : rice bran : soybean=2 (w) : 1 (w) : 1 (w).

C: glasswort : rice bran : soybean=1 (w) : 0 (w) : 1 (w).

하여 위에서 제조한 *B. subtilis* KCCM 12247 starter액을 1%(v/w) 접종하고, 멸균수를 실험구에 따라 적절하게 첨가하여 수분을 조절하였다. 즉, 원료에 대하여 멸균수를 A는 6:6, B는 6:5 및 C는 6:4로 첨가하였는데, 이는 예비실험을 통하여 원료의 발효가 원활히 일어날 수 있도록 적절한 수분 함량을 가지며, 서로 영기지 않고 공기의 공급이 용이한 상태로 조절하였다. 한편 통통마디의 식염은 21%정도로 이 자체만으로는 발효가 일어나기 어렵다. 따라서 부원료인 미강, 대두의 혼합과 멸균수의 첨가는 원료의 식염 함량을 5% 정도로 조절하는 효과도 가진다. 이것을 발효용기에 나누어 담고 중심부에 온도기록계를 장착하여 37°C의 항온기에서 48시간 발효시키며 10분 간격으로 온도를 기록하여 Fig. 1에 나타내었다.

실험구 모두 발효시작 6시간 경과 후에 35°C까지 온도가 상승하였으며, 실험구 A는 상승속도가 가장 빨랐으며, 실험구 C가 가장 천천히 상승하였다. 실험구 C는 발효 48시간까지 큰 변화를 보이지 않았으나 실험구 B는 12시간 경과 후에 48시간까지 서서히 상승하는 경향을 보였다. 한편 실험구 A는 12시간 경과 후 서서히 상승하다 24시간 경과 후 급속히 상승하여 48시간 후에는 37.3°C까지 상승하였다. 이는 통통마디와 미강을 1:1로 혼합한 실험구 A의 발효에 의해서 더 높은 품온을 보였던 것으로 추정되며, 상대적으로 대두가 혼합비율이 높아질수록 발효 초기와 후기의 품온 변화는 적은 것으로 나타났다.

통통마디 발효물의 일반성분 및 특성 비교

세 가지 방법으로 제조한 통통마디 발효물의 일반성분을 분석하여 Table 1에 나타내었다. 발효 시 물의 첨가량은 실험구 A가 가장 많았고(6:6), 실험구 C가 가장 적었으나(6:4), 48시간 발효를 완료한 실험구 A의 수분 함량이 47.75%로 가장 적었으며, 실험구 B가 49.11%이고, 실험구 C가 60.44%로 가장 많은 함량을 나타내었는데, 이는 앞의 온도 측정결

Table 1. Proximate compositions in glasswort fermented by *B. subtilis* KCCM 12247 (unit: %, wet basis (dry basis))

Items	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude ash	Carbohydrate
A ¹⁾	47.75	5.46 (10.45)	6.69 (12.80)	9.22 (17.65)	30.88 (59.10)
B	49.11	8.69 (17.08)	5.95 (11.69)	9.33 (18.33)	26.92 (52.90)
C	60.44	13.52 (30.18)	7.62 (19.26)	10.11 (25.56)	8.31 (21.01)

¹⁾See footnotes in Fig. 1.

Table 2. Comparison of solid contents, pH, Brix, and salinity in glasswort fermented by *B. subtilis* KCCM 12247

Items	Solid content (%)	pH	Brix	Salinity (%)
A ¹⁾	52.25	6.71 (6.63) ²⁾	1.5	0.4
B	50.89	6.39 (6.36)	1.2	0.3
C	39.56	6.01 (6.04)	1.7	0.6

¹⁾See footnotes in Fig. 1.

²⁾pH of before fermentation.

과와 비교하여 보면 상대적으로 품온이 높았던 실험구가 품온에 의해서 수분이 증발함으로 인하여 낮게 나타난 것으로 추정된다. 한편 조단백질, 조지방 및 조회분은 실험구 C가 각각 30.18%(건중량), 19.26%(건중량) 및 25.56%(건중량)로 가장 높았으며, 탄수화물은 실험구 A가 59.10%(건중량)로 가장 높은 함량을 나타내었는데, 이는 원료의 배합비에 따른 것이지 발효에 의해서는 크게 영향을 미치지 않은 것으로 보인다.

Table 2에는 발효물의 고형분, pH, 당도 및 염도를 나타내었다. 실험구 A는 고형분 52.25%, pH 6.71로 세 실험구 중 가장 높았으며, 당도는 1.5 Brix이고, 염도는 0.4%이었다. 실험구 C는 당도 1.7 Brix와 염도 0.6%로 가장 높았으며, 고형분과 pH는 각각 39.56%와 6.01로 가장 낮았다. 실험구 B는 고형분 50.89%, pH 6.39, 당도 1.2 Brix 및 염도 0.3%이었다. 한편 실험구 A, B 및 C의 발효전 pH가 각각 6.63, 6.36 및 6.04이었는데 비하여 발효 48시간 후에는 실험구 A와 B는 다소 증가한 결과를 나타내었다. Choi 등(24)은 *B. subtilis*를 이용한 대두 및 황기첨가대두 발효에서 발효가 진행될수록 pH가 다소 증가하는 경향을 보고하였으며, Choi 등(25)도 *B. subtilis* DC-2를 이용한 발효과정에서 84시간까지 pH가 증가한다는 결과와 유사하였는데, 이는 발효할 때 생성되는 암모니아 때문이라고 생각된다.

통통마디 발효에 따른 유리아미노산 함량 비교

발효 전후의 유리아미노산 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 총 유리아미노산은 모든 실험구에서 발효 전보다 발효 후에 증가하였는데, 실험구 A는 발효 전에 459.11 mg/100 g에서 발효 후에 668.89 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 보였으며 다음으로 실험구 B가 각각 358.00 mg/100 g과 561.34 mg/100 g이었고, 실험구 C는 304.02 mg/100 g과 447.57 mg/100 g으로 나타났다. 이는 발효균주의 protease 활성에 의하여 원료에 포함되어 있는 단백질이 아미노산으로 분해되었기 때문(26)인 것으로 보인다. Kim 등(27)의 *B.*

subtilis NUC1을 이용한 발효에서도 발효에 의해서 유리아미노산이 증가하는 경향이었던 결과와 일치하였다. 한편 원료에서는 대두가 단백질 함량이 가장 높기 때문에 실험구 C의 유리아미노산 함량이 가장 높을 것으로 추정되었으나, 미강이 포함되어 있는 실험구 A와 C가 더 높게 나온 것은 원료 미강 자체의 유리아미노산 함량이 높은 이유(실제로 원료의 총 유리아미노산은 미강 759.27 mg/100 g, 대두 391.43 mg/100 g이었음)와 미강이 포함된 실험구들이 다양한 영양원을 공급함으로 발효가 더 잘 일어난 것으로 추정된다. 주요 유리아미노산으로는 aspartic acid, asparagine, glutamic acid, alanine, valine, β -aminoisobutyric acid, lysine 및 arginine 등이었으며, 구수한 맛을 내는 glutamic acid, aspartic acid, 쓴맛을 지닌 valine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine 및 단맛을 내는 alanine, glycine, lysine 등도 다량 증가하여 Kim 등(28)의 보고에 *B. subtilis*의 작용에 의하여 유리아미노산의 생성과 유사한 결과를 얻었다.

통통마디 발효에 따른 색도 비교

Table 4에는 각 실험구의 발효 전후의 색(L, a, b), 색차(ΔE) 및 적색도(a/b)를 나타내었다. 모든 값이 큰 차이를 보이지는 않았지만, L(명도)값과 b(+: 황색, 0: 회색, -: 청색)값의 경우 모든 실험구에서 발효 전보다 발효 후에 약간 감소하는 경향을 보였으며, a값(+: 적색, 0: 회색, -: 녹색)은 약간 증가하였다. 발효물의 색은 L값이 약 62, a값이 약 4.5, b값이 약 18로서 황갈색 계통이었다. 한편 적색도는 발효 전보다 발효 후에 모든 실험구에서 높아졌는데, 이는 당과 아미노산이 열에 의해 반응하여 마이알반응(Maillard reaction)이 일어났고, 발효열 온도에 의한 수분증발에 영향을 주어 발효 초기에 비해 a/b가 증가한다는 결과(24,25)와 일치하였다.

통통마디 발효에 따른 ACE 저해활성과 전자공여능 비교

통통마디를 주원료로 하여 미강과 대두 첨가 비율에 따른 발효 전후의 ACE 저해활성 분석 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 모든 실험구에서 발효 전(84.91 \pm 1.12~88.33 \pm 1.34%)에 비해 발효 후(96.77 \pm 1.23~97.56 \pm 1.23%)에 크게 증가하는 경향을 보였는데, 발효 후의 경우 실험구 C가 97.56 \pm 1.23%로 가장 높은 저해활성을 보였으며 다음으로 실험구 A(97.22 \pm 2.10%)와 B(96.77 \pm 1.23%)이었으나 실험구간의 유의적인 차이는 없었다. Choi 등(24)은 *B. subtilis* KCCM 12148을 이용하여 대두와 황기 발효 시 ACE 저해활성은 발효 24시간까지 증가하고 그 후 감소한다고 하였으며, 대두

Table 3. Composition of free amino acids in glasswort fermented by *Bacillus subtilis* KCCM 12247

(unit: mg/100 g, dry basis)

Amino acids	A ¹⁾		B		C	
	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr	0 hr	48 hr
Proline	15.31	21.44	12.51	16.66	10.34	13.73
Phosphoserine	4.12	6.38	6.06	9.59	3.22	5.81
Taurine	0.77	1.32	0.69	0.65	0.61	0.77
Phosphoethanolamine	1.89	2.79	1.13	0.77	1.75	2.29
Urea	5.43	8.97	2.53	5.37	5.91	6.22
Aspartic acid	28.94	43.50	21.69	31.39	19.08	29.30
Threonine	6.51	9.81	4.74	6.31	4.47	6.14
Serine	15.96	24.21	9.76	14.04	9.03	14.44
Asparagine	99.92	151.33	29.82	42.79	46.52	74.40
Glutamic acid	58.76	85.96	29.15	42.62	34.32	51.75
Sarcosine	2.69	2.41	2.69	4.93	2.12	1.89
α -Amino adipic acid	5.98	0.78	1.33	7.80	0.63	3.31
Glycine	6.11	8.47	5.56	8.92	4.68	6.40
Alanine	26.12	39.20	17.05	25.60	15.95	24.07
Citrulline	2.93	3.83	4.73	8.60	3.39	3.32
α -Aminobutyric acid	1.26	1.80	1.16	2.82	1.61	0.82
Valine	16.44	25.66	21.09	34.03	14.98	22.57
Cystine	1.50	1.25	0.97	5.49	1.70	2.32
Methionine	0.18	4.69	2.38	1.96	0.91	3.88
DL + Allocystathionine	0.37	4.43	3.99	16.40	3.39	3.83
Isoleucine	6.44	9.16	6.23	8.40	5.07	6.77
Leucine	15.27	23.01	8.33	11.09	8.22	12.03
Tyrosine	9.43	9.05	9.83	15.53	7.34	9.96
β -alanine	2.94	1.18	4.54	6.89	3.42	3.24
Phenylalanine	10.07	14.54	9.68	16.05	6.69	9.05
γ -Aminobutyric acid	1.06	3.60	2.21	0.32	0.50	0.42
Homocystine	1.58	1.10	2.25	4.56	1.42	1.55
β -Aminoisobutyric acid	25.03	37.03	8.90	12.06	9.39	14.04
Ethanolamine	6.71	8.39	9.15	9.17	5.08	7.77
Ammonia	23.87	33.14	46.13	64.46	27.43	39.21
DL + Alhydroxylysine	1.44	0.39	2.99	5.66	1.65	2.94
Ornithine	0.44	0.44	1.85	2.07	0.91	1.24
Lysine	14.89	22.43	10.65	16.30	8.37	13.74
1-Methylhistidine	0.39	0.99	3.27	4.56	1.26	2.52
Histidine	3.83	5.45	3.79	5.04	2.34	3.76
3-Methylhistidine	2.37	2.83	4.72	9.51	2.15	3.26
Anserine	0.48	2.27	1.02	16.27	2.13	0.57
Carnosine	0.80	0.68	0.49	0.97	0.48	0.22
Arginine	30.88	45.00	42.93	65.72	25.57	38.00
Total	459.11	668.89	358.00	561.34	304.02	447.57

¹⁾See footnotes in Fig. 1.Table 4. Comparison of Hunter's color value in glasswort fermented by *B. subtilis* KCCM 12247

Fermentation time		L	a	b	ΔE	a/b
		0 hr	A ¹⁾ 62.64	4.30	19.41	41.48
	B	64.59	4.29	18.98	39.58	0.23
	C	64.54	4.53	19.55	39.93	0.23
48 hr	A	62.62	4.35	19.01	41.31	0.23
	B	63.42	4.58	18.89	40.58	0.24
	C	61.44	4.53	17.57	41.72	0.26

¹⁾See footnotes in Fig. 1.

만 발효 시에는 48시간까지 증가한다고 하여 본 연구의 48시간 발효 후 크게 증가한 결과와 유사하였다. 한편 Cho 등(29)은 ACE 저해활성이 발효시간에 따라 차이를 보이며, 발효

중에 단백질의 분해로 생성되는 peptide가 관련이 있다고 보고하였고, Suh 등(30)은 ACE 저해활성을 지닌 peptide는 histidine을 풍부하게 지니며 이들 peptide의 아미노산 조성은 서로 다르다고 하였다. 또한, Yeum 등(31)은 ACE 저해활성은 peptide-nitrogen 생성량과도 관련이 있지만 peptide의 사슬 길이나 구조 및 그 아미노산의 배열의 차이에 더 큰 영향을 받는다고 하였다.

Fig. 3에는 통통마디를 주원료 하여 미강과 대두 첨가 비율에 따른 발효 전후의 전자공여능을 나타내었다. 대체로 발효 전보다 발효 후에 약간 증가하는 경향을 보였으나, 큰 차이는 확인할 수 없었다. 하지만 실험구 C가 가장 높은 값으로 발효 전에 $49.54 \pm 1.77\%$ 와 발효 후에 $50.87 \pm 1.84\%$ 를 나타내었고, 다음으로 실험구 B와 A의 순이었다. Moon 등

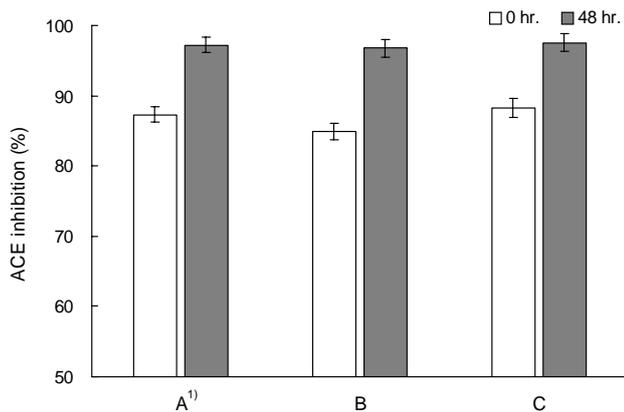


Fig. 2. Comparison of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitions in glasswort fermented by *B. subtilis* KCCM 12247. ¹⁾See footnotes in Fig. 1.

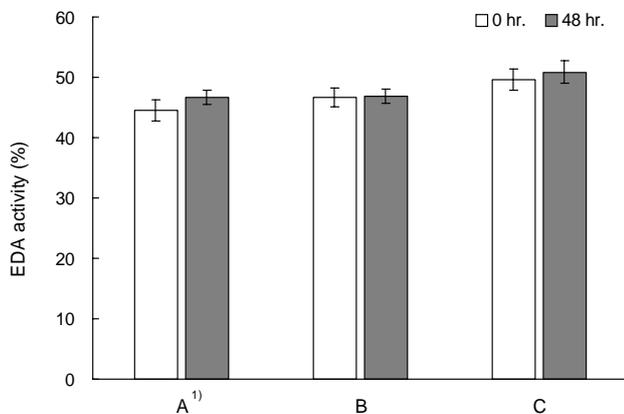


Fig. 3. Comparison of electron donating ability (EDA) activities in glasswort fermented by *B. subtilis* KCCM 12247. ¹⁾See footnotes in Fig. 1.

(32)은 *B. subtilis*를 이용하여 발효시킨 감귤 가공부산물 추출물에서 전자공여능이 그렇지 않은 것보다 높다고 보고하였다.

이상의 결과를 통하여 통통마디를 발효시켜 제조한 발효물을 건조, 분쇄하여 과립이나 정제의 형태로 제조가 가능하고, 이외에도 건강기능성 식품 및 식품가공용 원료와 다양한 제품 개발에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 통통마디를 주원료로 사용하고, 부원료로 미강 및 대두 혼합비에 따라 3개의 실험구, 즉 1:1:0(이하, 실험구 A), 2:1:1(이하, 실험구 B) 및 1:0:1(이하, 실험구 C)의 실험구로 하고 *B. subtilis* KCCM 12247을 접종하여, 멸균수를 가하여 수분을 조절하여 37°C의 항온기에서 48시간 발효시켰으며, 발효 전후의 성분특성과 발효물의 품질특성을 분석하고 비교하였다. 발효 후의 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분은 실험구 C가 각각 60.44%, 30.18%(건중량), 19.26%(건중량) 및 25.56%(건중량)로 가장 높았으며, 탄수화물은

실험구 A가 59.10%(건중량)로 가장 높은 함량을 나타내었다. 총 유리아미노산은 모든 실험구에서 발효 전보다 발효 후에 증가하였는데, 실험구 A는 발효 전에 459.11 mg/100 g에서 발효 후에 668.89 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 보였으며 다음으로 실험구 B가 각각 358.00 mg/100 g과 561.34 mg/100 g이었고, 실험구 C는 304.02 mg/100 g과 447.57 mg/100 g으로 나타났으며, 주요 유리아미노산으로는 aspartic acid, asparagine, glutamic acid, alanine, valine, β-aminoisobutyric acid, lysine 및 arginine 등이었다. 발효물의 색은 L값이 약 62, a값이 약 4.5, b값이 약 18로서 황갈색 계통이었다. 한편 적색도는 발효 전보다 발효 후에 모든 실험구에서 높아졌다. ACE 저해활성은 모든 실험구에서 발효 전(84.91±1.12~88.33±1.34%)에 비해 발효 후(96.77±1.23~97.56±1.23%)에 크게 증가하는 경향을 보였는데, 발효 후의 경우 실험구 C가 97.56±1.23%로 가장 높은 저해활성을 보였으며 다음으로 실험구 A(97.22±2.10%)와 B(96.77±1.23%)이었으나 실험구간의 유의적인 차이는 없었다. 전자공여능은 대체로 발효 전보다 발효 후에 약간 증가하는 경향을 보였으나, 큰 차이는 확인할 수 없었다. 하지만 실험구 C가 가장 높은 값으로 발효 전에 49.54±1.77%와 발효 후에 50.87±1.84%로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신 사업에 의한 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Choi JK. 2001. *Korean herbs, flowers, and trees as traditional medicine I*. Hanmunhwa, Seoul, Korea. p 63-74.
- Kim CS, Song TG. 1993. Ecological studies on the halophyte communities at western and southern coasts in Korea. *Korean J Ecol* 6: 167-176.
- Park S. 1995. Effects of glycine betaine and related osmolytes on growth of osmotically stressed *Yersinia enterocolitica*. *Agric Chem Biochem* 38: 218-223.
- Graham J, Wilkinson B. 1992. *Staphylococcus aureus* osmoregulation: Roles for choline, glycine betaine, proline, and taurine. *J Bacteriol* 174: 2711-2716.
- Lee CH, Kim IH, Kim YE, Oh SW, Lee HJ. 2004. Determination of betaine from *Salicornia herbacea* L. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1584-1587.
- Lee YS, Lee HS, Shin KH, Kim BK, Lee BK. 2004. Constituents of the halophyte *Salicornia herbacea*. *Arch Pharm Res* 27: 1034-1036.
- Cha JY, Jeong JJ, Kim YT, Seo WS, Yang HJ, Kim JS, Lee YS. 2006. Detection of chemical characteristics in hamcho (*Salicornia herbacea* L.) according to harvest periods. *J Life Sci* 16: 683-690.
- Shin KS, Boo HO, Jeon MW, Ko JY. 2002. Chemical components of native plant, *Salicornia herbacea* L. *Korean J Plant Res* 15: 216-220.

9. Song HS, Kim DP, Jung YH, Lee MK. 2007. Antioxidant activities of red hamcho (*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. *Korean J Food & Nutr* 20: 150-157.
10. Lee JT, An BJ. 2002. Detection of physical activity of *Salicornia herbacea*. *Kor J Herbology* 17: 61-69.
11. Kim KR, Choi JH, Lee SK, Woo NH, Choi SW. 2006. Effect of enzymatic hydrolysate of hamcho (*Salicornia herbacea*) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1356-1362.
12. Han SK, Kim SM. 2003. Antioxidative effect of *Salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 207-210.
13. Kim JB, Choe SM, Choe KH, Lim SH, Chai SJ. 2007. Functional components of halophyte: antioxidant substances in *Salicornia herbacea* L. *J Fish Mar Sci Edu* 19: 197-205.
14. Jeon SM, Kim SI, Ahn JY, Park SM. 2007. Antioxidative properties of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I). *J Soc Cosmet Scientists Korea* 33: 145-152.
15. Bang MA, Kim HA, Cho YJ. 2002. Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamcho powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 840-846.
16. Park SH, Ko SK, Choi JG, Chung SH. 2006. *Salicornia herbacea* prevents high fat diet-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in ICR mice. *Arch Pharm Res* 29: 256-264.
17. Kim KR, Choi JH, Woo MH, Kim YH, Choi SW. 2008. Effects of enzymatic hydrolysates from hamcho (*Salicornia herbacea* L.) on blood glucose and serum lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 170-176.
18. Jang MS, Park JE. 2006. Optimization of ingredient mixing ratio for preparation of sulgidduk with saltwort (*Salicornia herbacea* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 641-648.
19. Song TC, Lee CH, Kim YE, Kim IH, Han DS, Yang DH. 2007. The functionality of the saltwort (*Salicornia herbacea* L.) extract fermented juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 395-399.
20. Jo YC, Ahn JH, Chon SM, Lee KS, Bae TJ, Kang DS. 2002. Studies of pharmacological effects of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Korean J Medicinal Crop Sci* 10: 93-99.
21. Jung BM, Park JA, Bae SJ. 2008. Growth inhibitory and quinone reductase induction activities of *Salicornia herbacea* L. fractions on human cancer cell lines *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 148-153.
22. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
23. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
24. Choi HS, Joo SJ, Yoon HS, Kim KS, Song IG, Min KB. 2007. Quality characteristic of *Hwangki* (*Astragalus membranaceus*) *Chungkukjang* during fermentation. *Korean J Food Preserv* 14: 356-363.
25. Choi UK, Ji WD, Chung YG. 1998. Characteristics of *Chunggugjang* produced by *Bacillus subtilis* DC-2. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 846-851.
26. Ryu MJ, Kim HI, Lee SP. 2007. Quality characteristics of cookies fortified with soymilk cake fermented by *Bacillus subtilis* GT-D. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1070-1076.
27. Kim HJ, Lee SG, Ji YJ, Hwangbo MH, Lee EJ, Lee SP, Lee IS. 2008. Quality characteristics of defatted soybean grits fermented by *Bacillus subtilis* NUC1. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1479-1484.
28. Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP, Hang CM. 1998. Physicochemical properties of traditional *Chunggugjang* produced in different regions. *Agric Chem Biotechnol* 41: 377-383.
29. Cho YJ, Cha WS, Bok SK, Kim MU, Chun SS, Choi UK. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during chungkukjang fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 247-252.
30. Suh HJ, Suh DB, Chung SH, Whang JH, Sung HJ, Yang HC. 1994. Purification of ACE inhibitor from soybean paste. *Agric Chem Biotechnol* 37: 441-446.
31. Yeum DM, Lee TG, Byum HS, Kim SB, Park TH. 1992. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackedrel muscle protein. *J Korean Fish Soc* 25: 229-235.
32. Moon YG, Lee KJ, Heo MS. 2007. Characteristics of citrus by-product ferment using *Bacillus subtilis* as starter extracts. *Kor J Microbiol Biotechnol* 35: 142-149.

(2009년 4월 20일 접수; 2009년 6월 2일 채택)