

황기 효소분해물 열수추출액의 이화학적 특성 및 항산화 활성

권상철¹ · 최구희² · 황종현² · 이경행^{2*}

¹㈜참선진종합식품

²충주대학교 식품공학과

Physicochemical Property and Antioxidative Activity of Hot-Water Extracts from Enzyme Hydrolysate of *Astragalus membranaceus*

Sang-Chul Kwon¹, Goo-Hee Choi², Jong-Hyun Hwang², and Kyung-Haeng Lee^{2*}

¹Chamsunjin Food Co. Ltd., Chungbuk 365-801, Korea

²Dept. of Food Science and Technology, Chungju National University, Chungbuk 368-701, Korea

Abstract

To enhance the yield and bioactivity of hot-water extract from herbal medicine, *Astragalus membranaceus* was hydrolyzed with carbohydrases, such as ClariSEB and Fungamyl. After hot-water extracts were prepared from each hydrolysate (HW-C/F), physicochemical property, antioxidant activity and sensory property were evaluated. The solid content (^oBrix) of HW-C/F was higher than hot-water extract from *A. membranaceus* no treated enzyme (control). Although pH of HW-C/F was lower than that of the control, the acidity was higher. Lightness of Hunter's color values was increased in HW-C/F whereas redness and yellowness were decreased. The contents of reducing sugar, flavonoid and polyphenol of HW-C/F were higher than the control but the content of ascorbic acid was not different from control. The inhibitory activity of HW-C/F against lipid peroxidation was slightly higher than control, but DPPH radical scavenging, ABTS reducing, metal chelating activities were significantly increased by HW-C/F. The sensory evaluation also revealed that the sensory panelists preferred HW-C/F to that of control. Therefore, hydrolysis by carbohydrases for preparation of hot-water extract from *A. membranaceus* is one of the good methods to improve antioxidative activity and sensory property of hot-water extract.

Key words: *Astragalus membranaceus*, enzyme treatment, antioxidative activity, physicochemical and sensory property

서 론

최근 국민들의 소득수준 향상과 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 섭취하는 식품의 기능이 영양적 및 기호적 기능뿐만 아니라 노화방지, 만성질환 및 성인병 등을 예방할 수 있는 생리적 기능성을 가진 식품을 선호하게 되었고 이에 따라 학계 및 산업계에서는 기능성식품 및 기능성식품 소재 가공기술개발 연구가 활발히 진행되고 있다(1-3).

황기(Astragali Radix; *Astragalus membranaceus* Bunge)는 콩과에 속하는 다년생의 초본식물로 2~5년생의 뿌리를 캐서 겉껍질을 벗기고 건조하여 약용으로 사용되는 식물(4,5)로 주로 한국, 중국 등 아시아지역뿐만 아니라 러시아, 불가리아 등 유럽까지 분포하여 다양한 용도의 민간 치료용으로 사용되어지고 있다(6). 황기는 주로 식품보다는 한방에서 주로 사용되어지는데 지산, 이뇨, 강장, 혈압강하 등의 목적으로 사용되며 약리실험에서도 이뇨작용, 강장작용, 혈

압강하작용, 혈당강하작용, 면역증강작용, 항종양작용, 항바이러스 작용 등(7)의 다양한 생리적 기능성이 확인되고 있으며 황기에 존재하는 생리활성 물질로는 isoflavone 배당체 중의 하나인 formononetin과 triterpenoide glycoside 및 β -sitosterol, stigmast-4-en-6 β -ol-3-one 등의 물질(8-10)과 saponin류로서 astragaloside류 및 당이 주성분으로 알려져 있다(11).

이와 같이 다양한 기능성을 가진 황기를 식품소재로 이용하고자 하는 연구로 황기를 첨가한 청국장(12) 또는 황기가루를 첨가하여 식빵을 제조하고자 하는 연구(5) 정도로 황기를 이용하여 식품소재 및 가공하기 위한 연구는 미미한 편이라 할 수 있다. 본 연구에서는 GAP(Good Agricultural Practice) 기준에 맞게 재배된 제천산 황기를 이용하여 황기가 지니는 다양한 생리적 기능성을 함유한 음료 개발 및 추출물의 수율 향상을 위한 기초 연구로서 황기 추출 시 상업적으로 많이 사용하고 있는 효소를 처리한 효소분해물로부터

*Corresponding author. E-mail: leekh@cjnu.ac.kr
Phone: 82-43-820-5334, Fax: 82-43-820-5272

터 열수추출액을 조제하여 이화학적 및 항산화 활성 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

재료

황기는 2008년도 11월에 수확한 제천산으로 GAP 기준에 맞게 재배된 것을 구입하여 수세 후 55°C에서 열풍 건조하고 chopper(HM-1800, Hanil Electric Co., Seoul, Korea)로 마쇄한 후 실험에 사용하였다. 황기 추출물의 수율 향상과 생리적 기능성 향상을 위하여 사용한 효소는 polygalacturonase(PG), pectin-transeliminase(PTC) 및 pectin esterase(PE)가 혼합된 ClariSEB(Specialty Enzymes and Biochemicals Co., Chino, CA, USA)과 1,4- α -D-glucan gluconohydrolase(Fungamyl[®], 800 FAU/g, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark)를 사용하였다.

황기 효소처리 및 열수추출액 제조

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 마쇄한 황기 100 g에 증류수를 2,000 mL를 넣고 3%의 농도가 되도록 ClariSEB을 첨가한 후 50°C에서 30~120분 동안 30분 단위로 효소처리 하여 효소 분해액을 제조하였다. 효소처리 한 분해액은 효소의 불활성화와 추출을 향상을 위하여 100°C에서 8시간 동안 열수추출 하였으며 여과한 후 7,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 얻은 상등액(열수추출액)을 냉장 보관하면서 분석용 시료로 사용하였다. 또한 Fungamyl 처리는 위의 방법과 동일한 방법에 의하여 수행하였다.

황기 효소분해물 열수추출액의 이화학적 분석

황기를 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 수율 측정은 brix 당도계(DR-A1, Atago, Tokyo, Japan)를 활용하여 고형분 함량을 °Brix로 측정하였다. 효소처리 황기 추출액의 pH 측정은 pH meter(Orion 520A, Thermo Electron Co., Beverly, MA, USA)로 측정하였으며, 산도의 측정은 추출액 10 mL에 0.1% phenolphthalein 지시약을 첨가하고 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 이때 소비된 NaOH 용액의 양을 citric acid(%) 양으로 환산하였다. 열수추출액의 색도 측정은 각각의 시료 5 mL를 petri dish (5×5 cm)에 넣고 색도색차계(model CR-300, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 L*(lightness), a*(redness) 및 b*(yellowness)값을 측정하였으며 시료 간 편차를 줄이기 위하여 시료 당 5회 이상의 반복 시험을 하여 색도의 변화 정도를 측정하였다.

황기 효소분해물 열수추출액의 화학성분 변화

황기를 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 환원당의 정량에는 DNS(dinitrosalicylic acid) 방법(13)을 이용하여 측정하였다. 효소처리 황기 추출액의 ascorbic acid 함량을 Park 등(14)의 방법에 따라 시료 0.2 mL에 10%

TCA 용액 0.8 mL를 넣고 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액 0.5 mL, 증류수 1.5 mL 및 10% folic phenol reagent 0.2 mL를 넣고 혼합한 후 실온에서 10분간 방치하고 760 nm에서 흡광도를 측정하여 ascorbic acid의 함량을 측정하였다. 효소처리 황기 추출액의 효소처리 시간별 flavonoid 함량은 Moreno 등의 방법(15)에 의해 측정하였다. 즉 시료 0.1 mL에 80% ethanol 0.9 mL를 가하여 이 혼합액 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 80% ethanol 4.3 mL를 각각 가하였다. 위 반응액을 상온에서 40분간 방치한 후 415 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로는 quercetin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 0.03%로 희석하여 함량을 검량선에 대입하여 계산하였다. 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 polyphenol 화합물의 함량은 AOAC법(16)에 따라 시료 1 mL에 0.5 mL의 Folin-Denis 시약과 1 mL의 포화 Na₂CO₃용액, 7.5 mL의 증류수를 차례로 혼합하여 30분 경과한 뒤 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 gallic acid(Sigma)를 사용하였다.

황기 효소분해물 열수추출액의 항산화 활성 변화

황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 과산화물 생성 억제효과를 Kikuzak와 Nakatani의 방법(17)에 따라 측정하였다. 먼저 linoleic acid 유화물을 제조하는 방법으로는 linoleic acid 2.51 g을 99.5% ethanol 100 mL에 용해시킨 후 2.05 mL씩 취하여 falcon tube에 넣고 시료 2 mL를 첨가한 후, 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 4 mL, 증류수 1.95 mL를 가하여 40°C 항온기에 저장하면서 일정시간 동안 생성된 지질과산화 정도를 thiocyanate 법에 의해서 측정하였다. 측정방법으로는 24시간마다 75% ethanol 4.7 mL에 각 시료 0.1 mL와 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 넣고, 정확히 3분 후 0.02 M ferrous chloride를 함유한 3.5% HCl 용액 0.1 mL를 첨가하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 항산화 활성의 변화를 DPPH radical 소거능, ABTS radical cation decolorization, 환원력, 금속이온 제거능 및 지질과산화 억제능 시험을 통하여 측정하였다. DPPH radical 소거능(18)은 효소처리 황기 추출액 시료 2 mL를 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 2 mL와 혼합한 후, 실온에서 약 30분 방치시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 DPPH radical scavenging activity는 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

효소처리 황기 추출액의 ABTS radical cation decolorization 측정(19)은 7.4 mM ABTS(2,2'-azino-bis-

(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))와 2.6 mM potassium persulphate를 제조한 후, 암소에 하루 동안 방치하여 양이온($ABTS \cdot ^+$)을 형성시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 O.D. 값이 1.5 이하가 나오도록 희석하고 희석된 $ABTS \cdot ^+$ 용액 1 mL에 효소처리 황기 추출액 50 μ L를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 90분 후에 측정하였다. 0.1 mM ascorbic acid를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화력(AEAC, ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)을 구하였다. 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 환원력 측정은 Mau 등의 방법(20)에 따라 효소처리 황기 추출액 250 μ L에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6, Wako Pure Chemical Co., Osaka, Japan) 250 μ L, 1% potassium ferricyanide($K_3Fe(CN)_6$, Sigma) 250 μ L를 각각 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 1% trichloroacetic acid(CCl_3COOH , w/v)를 가하였다. 위 반응액을 1000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상등액 500 μ L에 증류수 500 μ L를 혼합하고, 0.1% ferric chloride($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, Wako) 100 μ L를 가하여 반응액의 흡광도 값을 700 nm에서 측정하였으며 흡광도 값이 높은 것은 환원력이 높음을 의미한다. 효소처리 황기 추출액의 효소처리 및 처리시간에 따른 금속이온 제거능의 변화는 Yena 등의 방법(21)에 따라 효소처리 황기 추출액 1 mL에 2 mM ferrous chloride와 5 mM ferrozine을 각각 100 μ L씩 가하고 10분간 상온에서 방치한 후 12,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하여 상등액을 562 nm에서 흡광도를 측정하였다.

관능검사

황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액에 대한 관능검사는 맛, 향, 색 및 종합적 기호도에 대하여 식별능력에 대한 교육을 실시한 (주)참선진종합식품 품질관리원 직원 7명을 대상으로 7점 척도법으로 하여 실시하였다.

통계처리

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS 14.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program

을 사용하여 각 실험구간의 유의성을 검증한 후 Duncan's multiple range test에 의해 실험구간의 차이를 분석하였다.

결과 및 고찰

황기 효소분해물 열수추출액의 이화학적 변화

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 열수추출액의 °Brix, pH 및 산도를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 효소처리 황기 추출액의 °Brix의 변화는 효소처리를 하지 않은 대조군의 경우에는 2.17%를 나타내었다. 그러나 ClariSEB을 처리한 경우에는 2.47~2.53%로 대조군보다 높았으며 유의적인 차이를 보였다. 그러나 효소 처리시간에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. Fungamyl을 처리한 경우에서의 °Brix는 2.67~2.73%로 다른 실험군에 비하여 유의적으로 가장 높게 나타났으며 ClariSEB과 마찬가지로 효소처리 시간에 따른 차이는 없는 것으로 확인되었다. 이와 같이 황기 추출물 제조 시 효소를 처리하게 되면 수율 면에서 상승효과가 있을 것으로 사료되었다.

효소처리한 황기 추출액의 효소처리 시간에 따른 pH의 변화는 효소처리를 하지 않은 대조군의 경우, pH가 5.64 정도였으며 ClariSEB을 처리한 경우에는 pH가 5.62~5.56으로 효소처리 시간이 증가할수록 약간씩 감소하는 경향을 보였다. Fungamyl을 처리한 경우에는 5.66~5.57로 효소처리 30분까지는 대조군과 유의적인 차이는 없었으나 60분 이후부터는 대조군에 비하여 낮은 pH를 보이는 것으로 나타나 효소처리 시 가수분해에 의하여 유기산들이 유리되어 효소처리 시간이 증가할수록 추출액의 pH가 다소 낮아지는 것으로 사료되었다. 또한 황기 추출액 제조 시 사용한 ClariSEB과 Fungamyl 간의 pH 변화는 크게 없는 것으로 판단되었다. Park과 Jeong(22)은 추출시간에 따른 표고버섯 추출물의 pH를 측정된 결과, pH는 효소처리 시간이 증가할수록 조금씩 낮아졌고 10시간에서는 약간 높아졌다고 하여 본 실험에서 측정된 시간까지와 비교하면 효소처리 시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내어 본 결과와 유사한 결과를 나타

Table 1. Physicochemical properties of hot-water extracts from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus* on enzyme treatments

Enzyme	Reaction time	°Brix (%)	pH	Total acidity (%)
	Control	2.17±0.06 ^c	5.64±0.04 ^a	0.064±0.004 ^b
ClariSEB	30 min	2.50±0.10 ^b	5.62±0.03 ^a	0.064±0.005 ^b
	60 min	2.53±0.06 ^b	5.57±0.03 ^{bc}	0.070±0.002 ^a
	90 min	2.47±0.06 ^b	5.56±0.02 ^c	0.070±0.002 ^a
	120 min	2.53±0.06 ^b	5.56±0.03 ^c	0.070±0.006 ^a
Fungamyl	30 min	2.73±0.06 ^a	5.66±0.03 ^a	0.057±0.005 ^c
	60 min	2.67±0.06 ^a	5.61±0.03 ^{ab}	0.064±0.003 ^b
	90 min	2.73±0.12 ^a	5.57±0.03 ^{bc}	0.065±0.004 ^b
	120 min	2.73±0.06 ^a	5.57±0.01 ^{bc}	0.070±0.003 ^{ab}

^{a-c}Means with different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

Table 2. Hunter's color values of hot-water extract from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus* on enzyme treatments

Enzyme	Reaction time	L ¹⁾	a ²⁾	b ³⁾
	Control	51.42±0.28 ^b	0.01±0.03 ^a	4.22±0.17 ^a
ClariSEB	30 min	56.37±0.31 ^a	-0.17±0.03 ^b	2.59±0.12 ^{bc}
	60 min	56.15±0.19 ^a	-0.23±0.05 ^{cd}	2.59±0.21 ^{bc}
	90 min	55.77±0.12 ^a	-0.26±0.04 ^{cd}	2.26±0.31 ^d
	120 min	56.51±0.05 ^a	-0.27±0.09 ^{cd}	2.18±0.05 ^d
Fungamyl	30 min	56.36±0.12 ^a	-0.23±0.02 ^{cd}	2.78±0.11 ^b
	60 min	55.68±0.18 ^a	-0.24±0.02 ^{cd}	2.65±0.09 ^{bc}
	90 min	56.55±0.13 ^a	-0.30±0.04 ^d	2.66±0.05 ^{bc}
	120 min	56.56±0.20 ^a	-0.27±0.05 ^{cd}	2.54±0.04 ^c

¹⁾L* value; 0 black, 100 white.

²⁾a* value; + red, - green.

³⁾b* value; + yellow, - blue.

^{a-d}Means with different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

내었다.

산도의 경우, 효소처리를 하지 않은 대조군은 0.064%였으나 ClariSEB을 처리한 경우에는 0.064%에서 60분 효소처리 시 산도가 약간 증가하여 0.070%였으며 120분 처리하는 동안까지 산도 차이가 없었다. Fungamyl 처리의 경우에는 30분 처리 시에는 0.057%로 대조군보다 다소 낮은 산도로 시작하였으나 효소처리 시간이 증가할수록 산도는 높아져 120분 처리 시에는 0.070%의 산도를 보였다. 이와 같은 결과로 보아 ClariSEB 및 Fungamyl 처리 시 유기산들이 유리되기 때문에 산도가 높아지는 것으로 판단되었다.

황기 효소분해물 열수추출액의 색상변화

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 색상변화를 측정된 결과는 Table 2와 같다. Lightness의 경우, 효소처리를 하지 않은 대조군은 51.42였으나 ClariSEB 및 Fungamyl 효소를 처리한 경우에는 55.68~56.56으로 대조군보다 효소처리 시 lightness가 증가하였으며 효소별 및 가수분해 시간에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 효소처리 황기 추출액의 redness의 경우, 대조군은 0.01이었으나 ClariSEB 및 Fungamyl 효소를 처리한 경우에는 -0.30~-0.17로 대조군에 비하여 redness가 감소하는 것으로 나타났으며 효소처리 시간이 증가할수록 redness는 감소하는 경향이였다. 또한 실험에 사용한 효소 간에는 약간의 값의 차이가 있기는 하지만 큰 차이는 아닌 것으로 사료되었다. 황기 추출액의 yellowness를 살펴보면 대조군은 4.22이었으나 ClariSEB 및 Fungamyl 효소를 처리한 경우에는 2.18~2.78로 redness와 마찬가지로 yellowness도 감소하는 경향이였으며 효소 처리시간에 따른 차이를 보면 처리시간이 증가할수록 서서히 yellowness가 감소하는 것을 알 수 있었으며 ClariSEB 효소가 Fungamyl 효소보다 redness 변화가 약간 빠른 것으로 사료되었다.

황기 열수추출액의 제조에서 효소처리에 따른 추출정도

의 차이 때문에 약간의 색상이 변화되는 것으로 판단되며 이에 대해서는 차후 연구가 더 필요할 것으로 판단되었다.

황기 효소분해물 열수추출액의 성분분석

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 환원당, ascorbic acid, flavonoid 및 polyphenol 화합물의 함량 변화를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 효소처리를 하지 않은 대조군의 환원당 함량은 20.93 mg%였으나 pectin 가수분해 효소 혼합물인 ClariSEB을 처리한 경우에는 56.00~76.55 mg%로 효소분해 시간이 증가할수록 환원당 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 120분 처리하였을 때의 환원당 함량과 대조군과 비교하면 약 3.6배 정도 높은 것으로 나타나 효소처리에 의하여 환원당 함량이 증가함을 알 수 있었다. Amylose 가수분해 효소인 Fungamyl을 처리한 경우, 환원당의 함량이 72.02~93.79 mg%로 효소분해 시간이 증가할수록 함량이 증가하였으며 ClariSEB을 처리하였을 때보다 높은 환원당 함량을 나타내었다.

효소처리를 하지 않은 대조군의 ascorbic acid의 함량은 3.02 mg%였으나 pectin 가수분해 효소 혼합물인 ClariSEB을 시간별로 처리한 경우에는 2.83~3.23 mg%로 처리시간이 90분까지는 어느 정도 증가하였으나 120분 처리 시에는 오히려 ascorbic acid의 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 또한 Fungamyl을 처리한 경우에도 ascorbic acid의 함량은 2.92~3.35 mg%로 90분까지는 ascorbic acid의 함량이 증가한 후 감소하는 경향이였으나 함량 면에서 많은 차이를 보이지는 않는 것으로 사료되었다. 이와 같이 처리군 간의 ascorbic acid의 함량 차이가 적은 이유는 대조군 및 효소처리군 모두 효소 불활성화 및 수율향상을 위하여 가열처리를 하였기 때문에 ascorbic acid가 파괴되어 그 함량이 낮게 나타나는 것으로 판단되었다.

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시

Table 3. Chemical contents of hot-water extract from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus* on enzyme treatments

Enzyme	Reaction time	Reducing sugar (mg%)	Ascorbic acid (mg%)	Flavonoid (mg%)	Polyphenol compound ($\mu\text{g/mL}$)
	Control	20.93 \pm 0.51 ^g	3.02 \pm 0.05 ^{cd}	0.42 \pm 0.01 ^{fg}	627.98 \pm 9.20 ^{cd}
ClariSEB	30 min	56.00 \pm 0.48 ^f	2.83 \pm 0.04 ^e	0.45 \pm 0.11 ^{ef}	636.77 \pm 4.66 ^{bc}
	60 min	56.73 \pm 0.26 ^f	3.16 \pm 0.02 ^{bc}	0.56 \pm 0.07 ^{de}	632.09 \pm 7.90 ^{bcd}
	90 min	68.26 \pm 0.04 ^e	3.23 \pm 0.15 ^{ab}	0.67 \pm 0.08 ^{bc}	645.11 \pm 1.57 ^{abc}
	120 min	76.55 \pm 0.27 ^b	2.94 \pm 0.06 ^{de}	1.02 \pm 0.04 ^a	663.95 \pm 11.27 ^a
Fungamyl	30 min	72.02 \pm 0.69 ^d	2.92 \pm 0.11 ^{de}	0.27 \pm 0.01 ^h	615.07 \pm 23.60 ^d
	60 min	75.54 \pm 0.29 ^c	3.23 \pm 0.11 ^{ab}	0.34 \pm 0.06 ^{gh}	638.83 \pm 4.12 ^{bc}
	90 min	76.94 \pm 0.31 ^b	3.35 \pm 0.07 ^a	0.57 \pm 0.03 ^{cd}	646.70 \pm 6.93 ^{abc}
	120 min	93.79 \pm 0.86 ^a	3.28 \pm 0.10 ^{ab}	0.69 \pm 0.04 ^b	649.45 \pm 8.61 ^{ab}

^{a-h}Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

킨 추출액의 flavonoid의 함량을 측정된 결과, 효소처리를 하지 않은 대조군은 0.42 mg%로 비교적 낮은 함량을 보였다. 그러나 ClariSEB을 시간별로 처리한 실험군은 flavonoid 함량이 0.45~1.02 mg%로 효소처리 시간이 증가할수록 증가하는 것으로 나타났고 Fungamyl도 마찬가지였다. Kim 등(23)은 황기를 수종의 가수분해 효소를 처리하였을 때 flavonoid 화합물의 추출수율이 효소처리를 하지 않은 대조군에 비하여 함량이 증가한다고 하여 본 실험결과와 동일한 것으로 나타났다.

황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하여 여과시킨 추출액의 polyphenol 화합물의 함량은 대조군의 경우, 627.98 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났으나 ClariSEB을 시간별로 처리한 경우에는 632.09~663.95 $\mu\text{g/mL}$ 로 대조군보다 다소 높은 함량을 보였고 효소처리 시간이 증가할수록 polyphenol 화합물의 함량이 증가하는 경향이 있었다. Amylose 가수분해 효소인 Fungamyl을 처리하였을 때의 polyphenol 화합물 함량은 615.07~649.45 $\mu\text{g/mL}$ 로 ClariSEB 처리 시와 마찬가지로 효소처리 시간이 증가할수록 polyphenol 화합물의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Kim 등(24)은 효소처리에 의한 인삼의 polyphenol 화합물의 함량을 측정된 결과 물 추출물의 경우에는 0.34%, 12시간 α -amylase를 처리한 경우에는 0.69%, pectinase를 처리하였을 때에는 2.21%로 효

소처리 하였을 때 polyphenol 화합물의 함량이 증가한다고 하여 본 결과와 비교할 때 효소 종류 및 처리 시간이 다르긴 하지만 본 실험에 사용한 ClariSEB 및 Fungamyl 모두 비슷한 경향으로 황기 추출 시 효소처리를 하면 항산화 활성을 가진 화합물들의 함량이 증가할 수 있는 것으로 판단되었다.

황기 효소분해물 열수추출액의 지질과산화 억제능 변화 황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 효소를 이용하여 시간별로 가수분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 지질과산화 억제능을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 어떠한 시료도 첨가하지 않은 linoleic acid 유화물 blank의 경우에는 저장 1일부터 급격히 산화를 일으켜 O.D.값이 0.2247로 높았으며 꾸준히 증가하여 저장 5일에는 2.6707로 지질 산화가 빠르게 진행되는 것으로 나타났다. 그러나 효소처리를 하지 않은 황기 열수추출액 대조군의 지질과산화는 5일 동안 저장하는 동안 서서히 증가하여 0.1394의 O.D.값을 나타내어 blank test 결과와 비교할 때 황기 추출물이 지질과산화 억제능이 있음을 알 수 있었다.

한편 ClariSEB을 시간별로 처리한 경우에는 저장 5일째의 O.D.값이 0.1130~0.1295로 대조군과 마찬가지로 지질과산화 억제능이 있었으며 대조군보다는 약간 높은 지질과산화

Table 4. Lipid peroxidation inhibitory effect of hot-water extract from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus* on enzyme treatments (unit: O.D, at 500 nm)

Enzyme	Reaction time	Storage period (day)				
		0	1	2	4	5
	Blank	0.0639 \pm 0.0008 ^g	0.2247 \pm 0.0039 ^a	1.0072 \pm 0.0087 ^a	2.5362 \pm 0.0086 ^a	2.6707 \pm 0.0080 ^a
	Control	0.0943 \pm 0.0013 ^a	0.1071 \pm 0.0045 ^b	0.1130 \pm 0.0004 ^b	0.1228 \pm 0.0048 ^b	0.1394 \pm 0.0069 ^b
ClariSEB	30 min	0.0760 \pm 0.0045 ^{bc}	0.0885 \pm 0.0015 ^c	0.0938 \pm 0.0054 ^{cde}	0.1177 \pm 0.0057 ^{bc}	0.1264 \pm 0.0021 ^{bcd}
	60 min	0.0727 \pm 0.0012 ^{cd}	0.0867 \pm 0.0026 ^{cd}	0.0925 \pm 0.0028 ^{cde}	0.0932 \pm 0.0040 ^e	0.1196 \pm 0.0025 ^{cde}
	90 min	0.0804 \pm 0.0017 ^b	0.0911 \pm 0.0011 ^c	0.0992 \pm 0.0013 ^c	0.1044 \pm 0.0016 ^{de}	0.1295 \pm 0.0082 ^{bc}
	120 min	0.0719 \pm 0.0028 ^{cde}	0.0791 \pm 0.0023 ^e	0.0961 \pm 0.0022 ^{cd}	0.1032 \pm 0.0081 ^{de}	0.1130 \pm 0.0024 ^{de}
Fungamyl	30 min	0.0666 \pm 0.0008 ^{fg}	0.0811 \pm 0.0022 ^{de}	0.0840 \pm 0.0057 ^e	0.0912 \pm 0.0058 ^e	0.1079 \pm 0.0084 ^e
	60 min	0.0791 \pm 0.0027 ^b	0.0795 \pm 0.0018 ^e	0.0873 \pm 0.0005 ^{de}	0.0986 \pm 0.0081 ^{de}	0.1215 \pm 0.0079 ^{cde}
	90 min	0.0672 \pm 0.0018 ^{efg}	0.0811 \pm 0.0031 ^{de}	0.0894 \pm 0.0055 ^{cde}	0.0970 \pm 0.0028 ^{de}	0.1185 \pm 0.0028 ^{bcd}
	120 min	0.0702 \pm 0.0009 ^{def}	0.0852 \pm 0.0013 ^{cde}	0.0958 \pm 0.0001 ^{cd}	0.1095 \pm 0.0018 ^{cd}	0.1301 \pm 0.0085 ^{bc}

^{a-g}Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

화 억제능이 있는 것으로 사료되었다. 또한 효소처리 시간에 따른 지질과산화 억제 경향은 없는 것으로 나타났다. 가수분해 효소로 Fungamyl을 사용한 경우에는 5일 동안 저장하는 동안 서서히 O.D.값이 증가하여 저장 5일째에는 0.1079~0.1301로 대조군보다는 낮은 값을 나타내어 효소처리 시 지질과산화 억제능이 증가함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로 보아 ClariSEB 또는 Fungamyl과 같은 가수분해 효소를 이용하여 황기를 가수분해 시킬 경우 황기가 갖는 지질과산화 억제능을 증가시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

황기 효소분해물 열수추출액의 항산화 활성 변화

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기를 시간별로 효소분해 시킨 후 가열처리하고 여과시킨 추출액의 항산화 활성을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 항산화 활성 중 DPPH 항산화 활성의 경우, 효소를 처리하지 않은 대조군은 39.77%의 항산화 활성을 나타내었다. 그러나 황기에 ClariSEB를 처리한 경우에는 30분 및 60분 처리하였을 때는 항산화 활성이 대조군보다 다소 낮았으나 90분 이상에서는 항산화 활성이 증가하여 41.26과 41.07%로 증가하는 것으로 나타났으며 대조군보다 약간 높은 활성을 보였다. 또한 Fungamyl을 처리한 경우에는 30분 효소처리 시에는 대조군보다는 낮은 활성을 보였으나 효소처리 시간이 증가할수록 활성이 증가하는 경향이었으며 항산화 활성이 크게 높아지는 경향은 아닌 것으로 사료되었다. Kim 등(23)은 75% ethanol로 황기를 추출한 후 여러 가지의 가수분해 효소처리하고 농축하여 DPPH 항산화 활성을 측정된 결과, 효소처리를 하였을 경우 자유라디칼 소거능이 증가한다고 하여 본 결과와 비교해보면 추출방식 및 효소의 차이는 있지만 DPPH 소거능이 증가하는 결과는 동일한 것으로 판단되었다. 또한 Kim 등(24)은 인삼을 효소처리 하여 추출할 경우 일반 용매 추출보다 페놀성 화합물의 함량이 높아져 강한 라디칼 소거능이 있다고 하여 본 결과와 비슷한 경향으로 사료되었다.

항산화 활성 중 ABTS 항산화 활성은 대조군의 경우 31.67 AEAC이었으며 pectinase 복합효소로 된 ClariSEB을

시간별로 처리한 경우에는 33.23~35.40 AEAC로 효소처리 시간이 증가할수록 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 amylase 계열의 효소인 Fungamyl을 처리하였을 때 시간이 경과함에 따라 ABTS의 항산화 활성이 증가하는 것으로 나타나 황기 추출물 제조 시 효소처리를 하게 되면 항산화 활성이 증가함을 알 수 있었다. 또한 ClariSEB에 비하여 Fungamyl이 좀 더 높은 ABTS 항산화 활성을 나타내었다. Kim 등(24)은 효소처리한 인삼 추출물의 ABTS 항산화 활성을 측정된 결과, pectinase를 처리하였을 때 라디칼 소거 활성이 가장 높았다고 하였는데 본 실험에서는 pectinase 복합효소인 ClariSEB보다 amylase 계열의 효소인 Fungamyl이 좀 더 높게 나타났는데 이와 같은 이유는 원료의 차이에 의한 것으로 판단되며 이에 관한 계속적인 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

항산화 활성 중 황기의 환원력을 측정된 결과 대조군의 경우 O.D.값이 0.6498이었으며 ClariSEB를 사용하였을 경우에는 0.5996~0.6693으로 30분 효소처리를 하였을 때를 제외하고는 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 Fungamyl을 사용하였을 때의 O.D.값은 0.5851~0.6645로 대조군과 비교할 때 큰 차이는 없는 것으로 나타나 ClariSEB 및 Fungamyl을 처리하여도 환원력에는 큰 변화가 없는 것으로 사료되었다.

효소처리한 황기 추출액의 금속이온 제거능을 측정된 결과, 효소처리를 하지 않은 대조군은 35.78%이었으며 ClariSEB를 시간별로 처리한 경우에는 34.00~42.05%로 효소처리 시간이 증가할수록 금속이온 제거능이 증가하는 것으로 나타났다. 황기 추출액 제조 시 Fungamyl을 시간별로 처리한 경우에는 27.93~37.14%로 효소처리 시간이 증가할수록 금속이온 제거능이 증가하는 것으로 나타났으나 ClariSEB보다는 낮은 것으로 확인되었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 효소처리를 하게 되면 flavonoid 및 polyphenol 화합물의 함량 등이 증가하여 항산화 활성이 높아지는 것으로 판단되었다.

Table 5. Antioxidant activities of hot-water extract from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus* on enzyme treatments

Enzyme	Reaction time	DPPH (%)	ABTS (AEAC)	Reducing power (O.D. at 700 nm)	Chelating activity on Fe ²⁺ (%)
	Control	39.77±0.57 ^{abc}	31.67±1.19 ^e	0.6498±0.0068 ^a	35.78±1.65 ^{bcd}
ClariSEB	30 min	38.91±0.68 ^c	33.23±1.16 ^{de}	0.5996±0.0109 ^b	34.00±4.36 ^{cd}
	60 min	38.87±0.87 ^c	33.59±1.30 ^d	0.6492±0.0049 ^a	34.00±2.85 ^{cd}
	90 min	41.26±0.62 ^a	34.61±0.89 ^{cd}	0.6693±0.0116 ^a	40.45±2.53 ^{ab}
	120 min	41.07±0.53 ^a	35.40±0.41 ^c	0.6621±0.0084 ^a	42.05±3.43 ^a
Fungamyl	30 min	35.27±1.63 ^d	39.60±1.10 ^b	0.5851±0.0284 ^b	27.93±1.39 ^e
	60 min	39.54±0.11 ^{bc}	41.67±0.43 ^a	0.5874±0.0196 ^b	28.19±3.41 ^e
	90 min	39.88±0.72 ^{abc}	42.85±1.30 ^a	0.6465±0.0094 ^a	30.83±1.08 ^{de}
	120 min	40.93±0.67 ^{ab}	43.00±0.36 ^a	0.6645±0.0047 ^a	37.14±1.26 ^{bc}

^{a-e}Means with different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

Table 6. Sensory properties of hot-water extract from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus* on enzyme treatments

Enzyme	Property	Enzyme treatment time (min)				
		0	30	60	90	120
Control	Taste	4.00±0.00 ^a	—	—	—	—
ClariSEB		—	4.67±1.03 ^a	5.00±1.10 ^a	4.83±0.98 ^a	4.67±1.03 ^a
Fungamyl		—	4.50±0.84 ^a	4.67±0.82 ^a	4.50±1.05 ^a	4.33±1.03 ^a
Control	Flavor	4.00±0.00 ^a	—	—	—	—
ClariSEB		—	4.67±1.03 ^a	5.17±0.75 ^a	4.67±1.51 ^a	4.83±0.75 ^a
Fungamyl		—	4.83±1.17 ^a	5.00±0.89 ^a	5.00±0.63 ^a	4.50±1.38 ^a
Control	Color	4.00±0.00 ^b	—	—	—	—
ClariSEB		—	4.50±0.84 ^{ab}	5.50±0.55 ^a	5.17±0.75 ^{ab}	5.17±0.98 ^{ab}
Fungamyl		—	4.83±0.75 ^{ab}	5.50±1.38 ^a	5.33±1.37 ^a	4.83±0.75 ^{ab}
Control	Overall acceptance	4.00±0.00 ^b	—	—	—	—
ClariSEB		—	4.50±0.84 ^{ab}	5.33±0.82 ^a	5.00±0.89 ^{ab}	4.67±0.82 ^{ab}
Fungamyl		—	4.83±0.75 ^{ab}	5.17±1.17 ^{ab}	5.00±1.41 ^{ab}	4.33±0.82 ^{ab}

^{a,b}Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

관능검사

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기에 효소를 첨가하여 시간별로 가수분해 시킨 후 가열 처리하고 여과시킨 추출액에 대하여 7점 척도법으로 맛, 향, 색 및 종합적 기호도에 대하여 관능평가를 측정된 결과는 Table 6과 같다. 효소처리를 하지 않은 황기 열수추출액 대조군의 값은 7점 척도법 중 중간 값인 4.0으로 하여 효소처리를 한 것들과의 비교평가를 해본 결과, 맛과 향의 경우 ClariSEB 및 Fungamyl로 가수분해 시켰을 때의 관능평가 점수가 높게 나타났으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 이와 같이 점수 차이가 나지만 유의적인 차이가 없게 나타난 이유는 관능평가 시 개인별로 선호도 차이가 크기 때문인 것으로 사료되었다. 색의 경우에 있어서는 ClariSEB 60분 처리 및 Fungamyl 60, 90분 처리 시에 가장 높은 기호도를 보이는 것으로 확인되었으며 종합적 기호도 면에서 살펴보면 ClariSEB를 60분 처리하였을 때가 가장 높은 기호도를 보였으며 전반적으로 효소처리를 하지 않은 대조군에 비하여 효소처리 시 기호도 면에서 우수한 것으로 나타나 수율 향상 및 생리적 기능성 향상뿐만 아니라 기호도도 증가하므로 이를 활용하여 음료 개발 및 새로운 제품 개발이 가능할 것으로 사료되었다.

요 약

황기 추출액의 수율 및 생리적 기능성을 향상시키기 위하여 황기에 효소를 첨가하여 시간별로 가수분해 시킨 후 가열 처리하고 여과시킨 추출액에 대하여 이화학적, 항산화 활성 및 관능적 평가를 측정하였다. 효소처리 황기 추출액의 °Brix의 변화는 대조군보다 ClariSEB 및 Fungamyl 처리 시 증가하였으며 pH 및 산도는 효소처리에 의하여 약간 낮은 pH와 높은 산도를 보였다. 색상변화에서는 ClariSEB 및 Fungamyl 처리 시 lightness가 증가하였으며 redness와 yellowness는 감소하였다. 환원당, flavonoid 및 polyphenol

화합물 함량은 효소처리에 의하여 함량이 증가하였으나 ascorbic acid는 대조군과 유사하였다. 황기 추출액의 지질과산화 억제능은 효소처리 시 억제능이 약간 증가하는 것으로 나타났고 DPPH 항산화 활성, ABTS 항산화 활성 및 금속이온 제거능에서는 ClariSEB 및 Fungamyl 처리 시 증가하였으나 환원력은 대조군과 유사하였다. 또한 황기 추출액에 대한 관능검사 결과 전반적으로 효소처리를 하지 않은 대조군에 비하여 효소처리 시 기호도 면에서 우수한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 논문은 2009년 향토산업육성사업으로 제천시와 충북 테크노파크 전통의약산업센터의 지원으로 수행된 연구결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Kwon YS, Jeon IS, Hwang JH, Lim DM, Kang YS, Chung HJ. 2009. Biological activities of Maca (*Lepidium meyenii*) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 817-823.
2. Miquel J, Quintaniha AT, Weber IL. 1989. *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. CRC Press, Boca Raton, USA. Vol 1, p 223.
3. Kwon SC, Jo C, Lee KH. 2009. Gamma irradiation for sanitation of vegetable fresh juice containing non-thermal process materials. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 964-969.
4. Kim JS, Kim CS. 1997. A study on the constituents from the roots of *Astragalus membranaceus* (II). *Kor J Pharmacogn* 28: 75-79.
5. Min SH, Lee BR. 2008. Effect of *Astragalus membranaceus* powder on yeast bread baking quality. *Korean J Food Culture* 23: 228-234.
6. Yin Y, Heo SI, Jung MJ, Wang MH. 2009. Antioxidant and antidiabetic effects of various sections of *Astragalus membranaceus*. *Kor J Pharmacogn* 40: 1-5.
7. 대한한의과대학 교재편찬위원회. 2005. 본초학. 연림사, 서울.
8. Cui B, Jnoue J, Takeshita T, Kinjo J, Nohara T. 1992.

- Triterpene glycoside from the seeds of *Astragalus sinicus* L. *Chem Pharm Bull* 40: 3330-3333.
9. Kitagawa I, Wang HK, Saito M, Takagi A, Yoshikawa H. 1983. Astragalosides I, II and IV, acetyastragaloside I and isoastragalosides I and II. *Chem Pharm Bull* 31: 698-708.
 10. Ionkova I, Alfermann W. 1990. Transformation of *Astragalus* species by *Agrobacterium rhizogenes* and their saponin production. *Planta Med* 56: 634-635.
 11. Guo JK. 1996. *International collation of traditional and folk medicine*. Kumura T, ed. World Scientific Publisher, Singapore. p 1-16.
 12. 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.
 13. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31: 426-428.
 14. Park YK, Kim SH, Choi SH, Han JG, Chung HG. 2008. Changes of antioxidant capacity, total phenolics and vitamin C contents during *Rubus coreanus* fruit ripening. *Food Sci Biotechnol* 17: 251-256.
 15. Moreno MN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
 16. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA.
 17. Kikuzak H, Nakatani N. 1993. Antioxidant effect of some ginger constituents. *J Food Sci* 58: 1407-1410.
 18. Blois MS. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 19. Robert R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
 20. Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Int* 35: 519-526.
 21. Yena GC, Duhb PD, Tsaia L. 2002. Antioxidant and prooxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem* 79: 307-313.
 22. Park NY, Jeong YJ. 2006. Quality properties of oak mushroom (*Lentinus edodes*) based on extraction conditions and enzyme treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1273-1279.
 23. Kim MJ, Lim KR, Jung TK, Yoon KS. 2007. Anti-aging effects of *Astragalus membranaceus* root extract. *J Soc Cosmet Korea* 33: 33-40.
 24. Kim YC, Cho CW, Rhee YK, Yoo KM, Rho JH. 2007. Antioxidant activity of ginseng extracts prepared by enzyme and heat treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1482-1485.

(2009년 11월 25일 접수; 2009년 12월 14일 채택)