

Leuconostoc mesenteroides SM을 이용한 천년초(*Opuntia humifusa*) 열매 발효물의 물리·화학적 특성

박민주¹ · 이삼빈^{1,2*}

¹계명대학교 식품가공학과, ²계명대학교 TMR센터

Physicochemical Characteristics of *Cheonnyuncho* Fruit (*Opuntia humifusa*) Fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM

Min-Ju Park¹ and Sam-Pin Lee^{1,2*}

¹Department of Food Science and Technology, Keimyung University

²The Center for Traditional Microorganism Resource (TMR), Keimyung University

Abstract Functional properties of *Cheonnyuncho* fruit paste (CFP) were enhanced by fermentation, using *Leuconostoc mesenteroides* SM. The stability of CFP pigment was maintained and microorganisms in crude CFP were sterilized by heating at 80°C for 30 min. The production of dextran in CFP was increased by increasing the fermentation time and sugar content, resulting in an increase of consistency. The CFP fermented with 20% sucrose contained 4.8% mucilage after fermentation for 2 days. In particular, the production of mucilage was greatly enhanced by fortification with 3% sodium citrate in CFP, resulting in mucilage production of 7%. In addition, the viscous modulus of fermented CFP showed a greater increase than that of the elastic modulus. Thus, it was concluded that CFP fermented by *L. mesenteroides* SM can be fortified with functional ingredients, such as mucilage and probiotics, with enhanced rheological properties. Therefore fermented CFP can be utilized as the functional ingredients for functional foods.

Keywords: *Cheonnyuncho*, dextran, *Leuconostoc mesenteroides*, viscoelastic properties

서 론

선인장은 건조한 기후에 적응력이 뛰어난 대표적인 식물로 예로부터 민간에서는 선인장의 줄기를 번비치료, 이노작용, 장운동의 활성화 및 식욕증진의 목적으로 사용하여 왔으며(1), 한방에서는 신경성 통증의 치료, 건위자양강장제, 해열진정제, 소염해독, 이질 치료 및 피를 맑게 하고 하혈을 치료하는 목적으로 이용되는 것으로 알려져 있다(2).

선인장 중 *Opuntia*속 선인장 열매는 마그네슘을 포함한 무기질 함량이 높으며, 특히 유리 아미노산 함량이 높아 다른 과일과 비교하여 볼 때, serine, γ -aminobutyric acid, glutamine, proline, arginine, histidine 등의 아미노산 함량이 높다고 보고되었다(3). 우리나라에서 일반적으로 재배되는 *Opuntia*속 선인장 중에는 백년초와 천년초가 있는데 길고 굵은 가시가 많고 높이가 약 1-2 m 까지 자라는 제주도의 백년초와 달리(4), 충남지역에서 생산되고 있는 천년초(*Opuntia humifusa*)는 솜털 가시를 가지며 토양에서 약 30 cm 정도로 자라는 특성이 있다(5). 또한 천년초는 영하 20°C 혹한과 척박한 땅에서도 생존이 가능하며, 농약 등 제초제나 화

학비료를 사용하지 않으며 자연 상태 그대로 재배한다(6).

천년초에 관한 연구로는 천년초 줄기 열수 추출물의 항산화 활성 및 사염화탄소로부터 간 손상 예방 효과(7), ethyl acetate 분획물의 항산화 활성(8), 항동맥경화 효과 및 유산소 운동 능력의 향상(9) 및 천년초 줄기와 열매 추출물의 항균활성(10) 등이 보고되었다. 또한 식품소재로의 응용에는 천년초 분말 첨가에 의한 식빵 노화 억제 효과에 대한 연구(11) 및 천년초 열매분말을 첨가한 전통 떡 개발 연구(12) 등이 보고되었다.

천년초 열매는 고점도의 점질물을 다량으로 함유하고 있는 것이 특징이며, 이 점질물의 조성은 arabinose, galactose, xylose, galacturonic acid, rhamnose로 구성되어 있는 고분자 식이섬유소인 펙틴이 주된 성분으로 보고되었다(11,13). 또한 선인장 열매로부터 추출된 점질물 추출액은 열에 비교적 안정하고, 산성조건에서 물성 및 적색색소의 안정성이 유지 되는 것으로 보고되고 있다(14). 그러나 천년초 열매는 고점도 점질물로 인해 열매 자체를 식품 소재로 활용이 어려워 대부분 건조한 분말로 사용하고 있으며, 앞으로 식품 가공 및 발효에 의한 제품의 기호성 증진과 식품학적 가치를 증진시키기 위해 많은 연구가 요구된다.

최근 식품소비는 영양의 개념을 뛰어넘어 건강을 증진시키고 궁극적으로 질병을 치료하는 데 기여할 수 있는 기능성 식품에 대한 수요가 급격히 증가하고 있다(15). 특히 발효식품에 대한 건강식품으로 인식이 확대되면서 전통발효미생물을 이용한 기능성 강화 및 품질향상을 위한 다양한 연구들이 진행되고 있다(16,17). 전통 발효식품인 김치발효에 관여하는 젖산균에 의해서 생산되는 dextran은 FDA (United states food and drug administration)

*Corresponding author: Sam-Pin Lee, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-5554
Fax: 82-53-580-6447
E-mail: splee@kmu.ac.kr
Received March 11, 2013; revised May 11, 2013;
accepted June 21, 2013

로부터 식품 첨가물로써의 사용이 허가된 바 있다(18). 이는 젖산균이 균체 밖에서 생산하는 다당류 중에서 구성 당인 glucose가 주로 α -(1→6)결합에 의해 연결되어 있는 다당류로서 sucrose 제품의 결정방지, 유체식품의 물성 조절 등 식품 공업에서 활발히 이용되고 있다(19,20). Dextran을 생산하는 대표적인 *Leuconostoc mesenteroides*는 이상젖산 발효균주로서 발효성 당인 sucrose를 기질로 하여 dextran을 생성하는 젖산균으로서 자연발효 식품에 널리 존재한다(21). 유산균 발효유 또는 유산균 자체의 지속적인 복용은 장내 정장효과뿐만 아니라 혈중 cholesterol의 저하, 면역증진, 피부병의 치료 등에 있어 임상효과가 밝혀짐에 따라서 연구가 활발히 진행되고 있다(22).

따라서 본 연구에서는 점질물 및 색소 등의 기능성 성분을 다량 함유한 천년초 선인장 열매를 발효식품소재로써의 응용범위를 높이기 위해 천년초 열매 추출물을 미생물 사멸 및 물리화학적 특성을 안정화시키는 열처리 조건을 확립하며, 이상 젖산 발효 균주를 이용하여 dextran 생성을 통한 물성개량 및 probiotic이 강화된 발효물에 대한 물리화학적 특성을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 천년초는 2011년 가을에 수확한 천년초 열매(*Cheonmyuncho* fruit, CF)를 히어로에미 천년초(Cheonan, Korea)에서 구입한 후 개별 포장하여 -18°C에서 냉동 보관하면서 사용하였다. 천년초 열매 paste (*Cheonmyuncho* fruit paste, CFP)를 젖산 발효 시 dextran 향상을 위해 첨가한 부 원료로 sucrose는 대한제당(KS H-2003, Incheon, Korea), sodium citrate tribasic dehydrate는 Duksan Co. (Ansan, Korea)으로부터 구입하여 사용하였다. 천년초의 씨와 껍질을 제거하는 원심력 음식물 탈수기는 한일(W-100T, Hanil Electric Co., Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

일반성분 분석

CF에 포함되어 있는 씨를 제거한 후 과육 부분을 취하여 식품공전(23)의 방법에 따라 일반성분 분석을 수행하였다. 수분 측정에는 상압가열건조법, 조회분은 직접회화법, 조단백질은 Kjeldahl 분석법, 조지방은 Soxhlet 추출법을 사용하였고, 탄수화물 함량은 이들 성분을 100에서 뺀 값으로 계산하였다.

천년초 전처리 방법

CF를 세척하여 homogenization 한 후 소형 음식물 탈수기를 3분간 사용하여 씨와 껍질을 분리한 뒤 CFP의 미생물을 사멸하기 위해 80°C 항온수조에서 0, 15, 30, 45, 60분간 중탕 열처리한 후 사용하였다.

Starter 제조 및 젖산 발효

당근주스로부터 분리된 *Leu. mesenteroides* SM (KCCM 43010)을 Difco™ Lactobacilli MRS agar (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지에 도말하여 30°C 항온배양기(IS-971R, Jeio Tech., Gimpo, Korea)에서 24시간 배양한 뒤, 균주의 단일 콜로니를 취하여 2회 계대 배양을 시행하였다. 배지는 121°C에서 15분간 살균한 MRS broth를 사용하였으며 24시간 배양한 starter를 CFP에 1%(v/w) 접종하여 30°C 항온배양기에서 72시간까지 젖산 발효를 행하였다. 이 때, *Leu. mesenteroides* SM의 생

육 및 dextran 생성을 돕기 위해 sucrose (20%)와 sodium citrate (3%)를 농도별로 첨가하여 발효하였다.

pH, 적정 산도 및 당도

pH는 pH meter (420A+, Thermo Orion, Beverly, MA, USA)를 이용하여 측정하였으며, 발효물 2g에 증류수 18 mL을 혼합한 후 측정하였다. 적정 산도는 시료 1g에 증류수 9 mL을 첨가하여 pH meter로 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1 N NaOH로 적정한 소비량을 lactic acid 함량(% w/v)으로 환산하였다. 당도는 전자굴절 당도계(ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하였다.

생균수 측정

생균수는 CFP발효물 1g에 멸균수 9 mL을 첨가하여 단계별 희석하여 MRS agar 배지에 20 μ L 도말한 후, 30°C 항온배양기에서 24시간 배양한 후의 생균수를 CFU (colony forming unit)/g으로 나타내었다.

점질물 함량 측정

시료 5g에 증류수 20 mL을 첨가하여 점질물을 용출한 후 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수된 상등액에 2배의 isopropanol을 첨가하여 혼합한 후 형성된 점질물은 95% ethyl alcohol에 세척하여 정제도를 높여 주었다. 회수된 점질물을 50°C에서 24시간 감압건조기를 이용하여 건조 후, 건조중량으로 측정하였다.

색도 및 상대적 흡광도

CFP 3g을 screw cap test tube의 cap (PYREX, diameter 13 mm)에 담아 colorimeter (Color Reader, CR-10, MINOLTA, Osaka, Japan)를 이용하여 L (lightness), a (redness), b (yellowness) 값을 측정하였다. 흡광도는 CFP 10g에 증류수를 20 mL 첨가하여 turbidity를 줄이기 위해 시료를 15,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 다당류를 침전시킨다. 상등액을 0.5 mL 취해 증류수 4.5 mL과 혼합한 후 spectrophotometer (UVICON 922, Kontron instruments, Milan, Italy)를 사용하여 528 nm에서 발효 전의 값을 100%로 하여 열처리 후 색의 변화를 상대적 흡광도(%)로 나타내었다.

점조도 및 점탄성 측정

점조도는 Rheometer System (RheoStress 1, HAAKE, Karlsruhe, Germany)에 cone plate device (Plate PP35Ti, 3.5 cm diameter)를 장착하여 측정하였다. 시료 1g을 plate에 올려 구간 당 10초 동안의 평균값이 측정되어 얻은 값을 shear rate (1/s)와 shear stress (Pa)로 나타내어 점조도를 측정하였다. 측정온도는 20°C에서 전단속도($\dot{\gamma}$)는 1-100 s⁻¹의 범위로 유동특성을 알아보았고, 점조도 지수는 Power law model로 측정하였다.

$$\text{Power law model: } \sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

σ 는 전단응력(shear stress, Pa), K는 점조도 지수(consistency index, Pa · sⁿ), $\dot{\gamma}$ 는 전단속도(shear rate, s⁻¹), n은 유동성 지수(flow behavior index, n)이다.

점탄성 측정은 25°C로 설정된 원통형 점도계(HAAKE RheoStress 1)에 spindle (Plate PP35Ti, 3.5 cm diameter, 20)을 장착하여 measuring plate P61을 사용하여 측정하였다. 발효물의 저장탄성률(storage modulus, G')과 손실탄성률(loss modulus, G'')은 0-1 Hz 범위 내에서 frequency sweep에 의하여 측정하였다.

퍼짐성 측정

퍼짐성 값은 Park 등(24)의 방법에 의하여 측정하였다. CFP 발효물을 유리판 중심에 놓은 직경이 3 cm, 높이 6 cm인 상하부가 개방된 원통관에 부어 넣고 원통관을 빼는 순간부터 2분경과 후 퍼져 있는 상태를 중심으로 4군데에서 동시에 지름(cm)을 측정 한 것을 나누어 반지름의 평균값으로 하였다.

당 함량 측정

Sucrose 첨가량에 따른 발효물의 당 함량 측정은 HPLC (K-501 system, Knauer Co., Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였다. 시료 5 g에 증류수 45 mL을 가하여 상온에서 30분간 교반 추출하고 원심분리(15,000 rpm, 15 min)한 후 0.45 mm syringe filter로 여과 한 것을 분석 시료로 사용하였다. 당 분석 column은 Asahipak NH₂P50 (Shodex, Tokyo, Japan)를 이용하였고, 75% acetonitrile을 1.0 mL/min 유속으로 흘려주었으며, 당 농도는 RI detector (Knauer K-2310)을 이용하여 결정하였다. 기준 당으로 설탕, 과당, 포도당을 이용하여 작성된 표준곡선에 따라 농도를 결정하였다.

통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료를 반복적으로 측정하여 SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Statistics 20 (Version 20, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균과 표준오차 (mean±SE)를 구하였으며, 각 집단 간 평균치 차이를 검증하기 위하여 Turkey's test를 적용하였다. 결과에 대한 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

천년초의 일반성분 분석

CF의 가식부는 약 65%였으며, 일반성분 분석결과 수분 71.72%, 조회분 1.42%, 조단백 1.10%, 조지방 0.4%, 탄수화물 25.36%로 나타났다. CFP의 pH는 4.79, 점질물 함량 1.84%, 당도는 15.9°Bx였다. 반면에 선인장 열매의 과육은 14.5%의 고형분 함량을 가지고 있으며, 0.21%의 단백질(N×6.25), 0.12%의 지방, 0.02%의 조섬유, 0.44%의 회분, 0.19%의 펙틴 이외에 미량의 비타민 A와 C 그리고 여러 종류의 무기질을 포함하고 있다고 보고된 연구(25)와 비교할 때 각 성분의 함량은 본 연구 결과와 차이가 나는 것을 확인할 수 있었다. 이는 선인장 열매의 품종, 수확시기, 재배지역 등에 따라 일반 성분에 차이가 있기 때문인 것으로 사료된다.

천년초의 열처리 효과

천년초를 파쇄하여 씨와 껍질을 분리한 후 얻어진 CFP의 열처리에 따른 물리화학적 변화를 확인하였다. Table 1과 같이 80°C

항온수조에서 0, 15, 30, 45, 60분 동안 열처리 후 실온으로 냉각하여 점도를 측정 한 결과, 초기 4.57 Pa·s⁰으로부터 60분 열처리에 의해서 3.08 Pa·s⁰으로 감소되었으며, 동시에 퍼짐성은 증가하는 경향을 보이면서 점도가 감소하였다. 열처리에 따른 적색 변화를 흡광도로 측정하였을 때, 열처리 15분부터 흡광도 값이 낮아지며 열처리 시간이 증가할수록 계속 감소하는 경향을 보였으며 30분 열처리 하였을 때 흡광도 색의 변화 값이 약 76%를 유지하는 것으로 나타났다. 이는 백년초 열매 추출물을 열처리했을 때, 열처리 시간이 증가할수록 적색소 값이 감소한다고 보고한 연구(26)와 비슷한 경향을 나타내었으며 CFP의 적색소가 열처리에 의해 일부 파괴되고, 열처리 시간이 증가될수록 퇴색이 가속화됨을 알 수 있었다. 열처리 후 CFP에 잔존하는 생균수를 측정 한 결과, 초기 생균수 1.24×10⁴ CFU/g로부터 15분 열처리에 의해서 32 CFU/g로 감소하였으며, 30분 열처리 후 미생물이 검출되지 않는 것을 확인할 수 있었다.

점질물을 함유한 CFP의 점탄성 값은 점성 값(G'')이 탄성 값(G')보다 높은 값을 보였으며, 열처리 시간이 길어질수록 감소하는 경향을 보였다. 백년초 열매 추출물을 10분 열처리했을 때, 5분 열처리했을 때보다 점도가 2배 감소하였으며 열처리 시간이 증가할수록 비교 점도가 감소한다는 연구(27)와 비슷한 경향을 보였으며, 이는 점질물을 함유한 CFP의 고분자 다당류가 열에 의해 일부 구조적 변화에 따른 수화된 부피의 감소에 기인한 것으로 사료된다. 따라서 열처리에 의해서 일부 점도가 감소된 점질물은 가공적성을 높이는 효과를 제공하며, 동시에 CFP의 색소 안정성과 생균수의 사멸을 얻을 수 있는 열처리 조건으로 80°C에서 30분 열처리하는 것이 적합하다고 판단되었다.

Sucrose 첨가량에 따른 천년초 발효물의 생균수 및 이화학적 특성

김치의 숙성에 관여하는 것으로 알려진 *Leuconostoc* sp에 속하는 젖산균들이 생산하는 dextran은 식품의 물성에 중요한 역할을 하여 점착성 및 흡습성의 특징을 가지며, 낮은 pH에서도 높은 점도 유지 및 열처리에도 안전성을 갖는다(27-29). 따라서 CFP의 물성 및 기능성을 증진시키고자 sucrose를 각각 0, 5, 10, 15, 20% 농도별로 첨가하여 발효 중의 pH, 적정산도 및 생균수 변화를 알아보았다(Table 2). Sucrose를 첨가하지 않고 발효 시킨 천년초의 pH와 적정 산도는 각각 4.30, 0.63%이었고, 3일 발효 후 4.19, 1.69%로 pH는 감소하고 적정 산도는 1% 증가하는 것을 확인하였다. Sucrose를 20% 첨가하여 1일 발효한 발효물의 pH와 적정 산도는 4.48, 0.96%로 sucrose를 첨가하지 않은 발효물보다 높은 경향을 보였으며, 3일 발효 시 pH는 4.17, 적정 산도는 1.67%로 발효 시간이 길어질수록 pH는 감소하고 적정 산도는 증가하는 경향을 보였다. 생균수 측정결과, 젖산균 starter (2.10×10⁹ CFU/mL)를 1% 접종하여 발효하지 않은 경우 모든 조건에서 1.25×10⁷

Table 1. Changes in consistency index, spreadability, pigment stability, viable cell counts and viscoelastic modulus in heat treated CFP at 80°C

Heating time (min)	Consistency index (Pa·s ⁰)	Spreadability (cm)	Absorbance (528 nm)	Viable cell counts (CFU/g)	Elastic modulus (G', Pa)	Viscous modulus (G'', Pa)
0	4.57±0.04	3.35±0.18	100	1.24×10 ⁴	13.19±0.4	17.24±0.1
15	4.19±0.06	3.66±0.05	83.84±1.60	32	11.18±0.5	16.80±0.2
30	3.78±0.16	3.60±0.00	76.72±0.15	ND ¹⁾	10.57±0.1	15.21±0.7
45	3.40±0.10	3.61±0.09	67.37±0.39	ND	9.88±0.6	15.00±1.0
60	3.08±0.09	3.65±0.04	60.72±0.34	ND	9.11±0.9	14.88±0.0

¹⁾ND: Not detected

Table 2. pH, total acidity and viable cell counts of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sucrose

	Sucrose concentration (%)	Fermentation time (days)		
		1	2	3
pH	0	4.30	4.15	4.19
	5	4.32	4.11	4.15
	10	4.36	4.16	4.15
	15	4.40	4.16	4.15
	20	4.48	4.20	4.17
Total acidity (%)	0	0.63	1.23	1.69
	5	0.92	1.35	1.74
	10	0.89	1.34	1.76
	15	0.93	1.29	1.82
	20	0.96	1.37	1.67
Viable cell counts (CFU/g)	0	1.70×10^9	7.08×10^8	4.21×10^8
	5	1.43×10^9	9.18×10^8	6.72×10^8
	10	1.88×10^9	1.03×10^9	7.52×10^8
	15	2.63×10^9	9.80×10^8	3.04×10^8
	20	2.95×10^9	9.88×10^8	5.96×10^8

-3.60×10^7 CFU/g으로 확인되었다. 발효 1일째 sucrose를 첨가하지 않은 발효물과 20% 첨가한 발효물의 생균수는 각각 1.70×10^9 , 2.95×10^9 CFU/g으로 발효 하지 않았을 때보다 약간 증가하여, 3일 발효 후 4.21×10^8 , 5.96×10^8 CFU/g 수준으로 젖산균 생균수에 큰 차이가 없었다. 그러나 sucrose 농도에 관계없이 2일 발효 후에는 전체적으로 생균수가 약간 감소하는 경향을 나타내었으며, 이는 젖산균 생육이 발효 1일에 최대 생육을 보이면서 2일 부터는 정지기 단계에 도달하여 생균수가 감소하는 것으로 사료된다.

발효물의 점성과 탄성 값은 설탕 첨가 농도증가에 따라 증가하였으며, 특히 20% 설탕 첨가시에 탄성 값은 증가하는 경향을 나타냈다. 또한 발효시간이 길어질수록 점성과 탄성은 모두 증가하는 경향을 보였으며, 20% sucrose 첨가시에 탄성 값은 1일과 3일에서 각각 11.46, 16.01 Pa으로 증가하였으며, 점성 값은 각각 17.49, 30.57 Pa으로 증가하는 경향을 보였다. 이는 sucrose 첨가량이 증가할수록, 발효 시간이 길어질수록 dextran 생성에 기인한 점질물 함량이 증가되는데 기인한다고 사료된다.

Sucrose 첨가량에 따른 천년초 발효물의 점질물과 당 함량 분석

Sucrose 첨가량에 따라 1-3일까지 발효 후 점질물 및 당 함량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 점질물 함량은 sucrose 첨가량 0, 20%에서 1일 발효 결과 각각 2, 2.7%로 나타났고, 발효 2일째 3.6, 4.3%로 증가하였다. 또한 3일 발효한 발효물에서 3.7, 4.8%로 나타나 sucrose를 20% 첨가한 발효물의 점질물 함량이 계속 증가하는 경향을 보였다. 따라서 sucrose 첨가량이 증가할수록, 발효시간이 길어질수록 CFP 발효물의 점질물 함량은 증가되는 것으로 확인되었다. 이는 Sarwat 등(30)이 보고한 *Leu. mesenteroides* CMG713 균주가 30°C에서 dextran을 가장 많이 생성하였으며, sucrose 첨가량 20%에서 가장 많은 양의 dextran을 생성한다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 발효음료에 젖산균과 당을 첨가하므로 발효음료의 풍미 향상에 도움을 준다 고 Jang 등(31)이 보고한 바와 같이, 본 연구에서도 sucrose 20%를 탄소원으로 사용한 경우에 얻어진 발효물이 초기 CFP의 풋풋한 냄새가 감소되면서 풍미가 개선되는 것을 확인할 수 있었다.

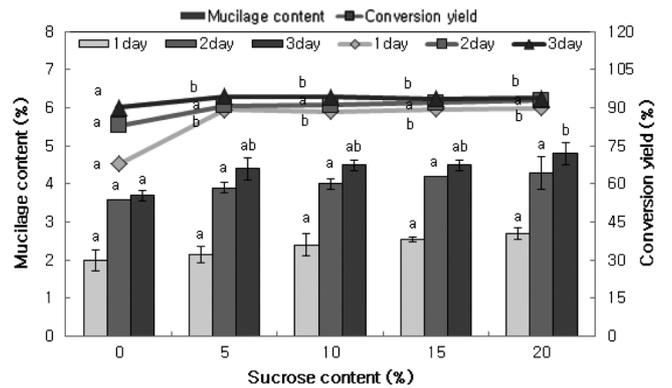


Fig. 1. Mucilage content and Conversion yield of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sucrose. Each value is the mean±SD (n=3). Mean with the different letters in each row are significantly different (p<0.05) by Turkey's test

Sucrose 첨가량에 따른 당 함량 분석을 위한 기본 당류로는 선인장 열매의 주요 당류로서 sucrose, fructose, glucose가 각각 68.7, 18.0, 12.8%를 차지한다고 보고된 연구 결과에 따라(32), sucrose, fructose, glucose 세 가지를 이용하였다. 발효 1일째 sucrose를 첨가하지 않은 발효물의 당 잔존율은 31.13%, sucrose 5% 첨가 시 당의 잔존율이 20%로 당전환율이 약 90%로 증가하는 경향을 보였다. 2일 발효 후 sucrose를 첨가한 모든 발효물이 90% 이상의 당전환율을 보이는 것을 확인하였으며 이는 sucrose가 dextran 고분자로 전환되는 현상에 따른 것으로 생각된다. 또한 최종 CFP 발효물은 포도당과 과당을 각각 7.13, 2.7% 함유하는 것으로 나타났다. 따라서 sucrose를 20% 첨가하여 3일 발효시키는 것이 고 점조도를 나타내는 발효물 생성에 가장 적합하다고 사료된다.

Sucrose 첨가량에 따른 천년초 발효물의 점조도 및 퍼짐성 변화

Sucrose 첨가량에 따라 3일까지 발효하여 분석한 점조도 및 퍼짐성 결과는 Fig. 2에서 나타내는 것처럼 sucrose를 0-20% 수준으로 첨가하여 1일 발효하는 경우 무 첨가 및 sucrose 20% 첨가 경우에 점조도 값은 각각 0.57, 1.16 Pa·sⁿ이었고, 2일째 3.46, 10.74 Pa·sⁿ으로 증가하였다. 3일 발효 시 7.05, 16.55 Pa·sⁿ으로 sucrose 20% 첨가한 경우 발효 시간이 길어질수록 점조도 값이 증가하는 경향을 나타내었다.

퍼짐성은 sucrose 0, 20% 첨가에 따라 각각 발효 1일째 3.11, 3.2 cm, 2일째 3.06, 3.04 cm, 3일째 3.04, 2.44 cm로 발효 시간이 길어질수록 감소하는 경향을 보였다. 발효 3일째 sucrose 0, 5, 10, 15, 20% 첨가량에 따른 발효물의 퍼짐성은 각각 3.04, 2.79, 2.36, 2.44, 2.44 cm로 발효 3일째 sucrose 10% 농도에서 퍼짐성이 급격히 감소하는 것을 확인하였으며, 10% 첨가 이후에는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. CFP 발효물의 퍼짐성은 sucrose 첨가량이 증가할수록, 발효 시간이 길어질수록 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 *Leu. mesenteroides* SM 균주가 세포외로 분비하는 dextransucrase를 이용하여 sucrose를 분해시키면서 동시에 fructose는 에너지원과 탄소원으로 사용하고 glucose를 기질로 하여 dextran을 생성함으로써 김치액의 점도를 높게 한다는 Hwang 등(33)의 연구와 유사한 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

Sodium citrate 첨가량에 따른 천년초 발효물의 생균수 및 이화학적 특성

Leuconostoc citrovorum 균주가 sodium citrate를 대사하여

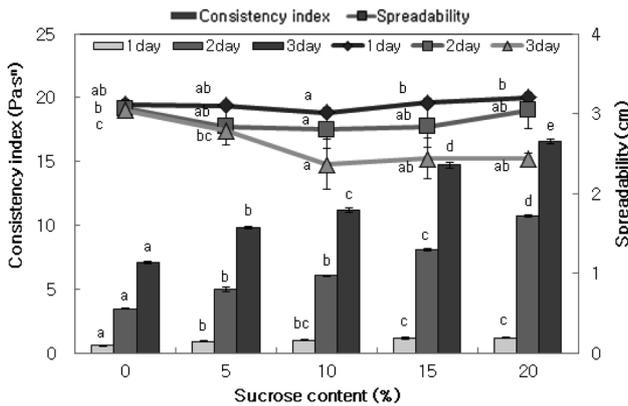


Fig. 2. Consistency index and spreadability of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sucrose. Each value is the mean±SD ($n=3$). Mean with the different letters in each row are significantly different ($p<0.05$) by Tukey's test

Table 3. Physicochemical properties of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sodium citrate

Fermentation time (days)	Sodium citrate (%)	pH	Total acidity (%)	Viable cell counts (CFU/g)
1	0	4.36	0.94	1.31×10^9
	0.5	4.53	0.92	2.13×10^9
	1.0	4.69	0.86	2.90×10^9
	3.0	5.04	0.97	1.46×10^9
	5.0	5.38	1.30	2.23×10^9
2	0	4.27	1.48	6.83×10^8
	0.5	4.37	1.39	2.83×10^8
	1.0	4.51	1.39	7.53×10^8
	3.0	4.97	1.04	5.22×10^9
	5.0	5.11	1.37	8.35×10^8
3	0	4.22	1.30	3.20×10^8
	0.5	4.36	1.53	1.07×10^8
	1.0	4.50	1.55	5.49×10^8
	3.0	4.72	1.42	2.60×10^8
	5.0	4.94	1.38	6.41×10^8

diacetyl과 acetate를 생성하며 향기성분을 만들고, 균의 활성에 도움을 준다는 보고에 따라(34) sodium citrate를 각각 0, 0.5, 1, 3, 5% 첨가하여 3일 동안 *Leu. mesenteroides* SM 균주를 이용하여 발효하였으며, CFP 발효물의 pH, 적정산도 및 생균수를 분석하였다(Table 3).

젖산발효 1일째, sodium citrate를 첨가하지 않은 발효물의 pH와 적정 산도는 4.36, 0.94%였고, 5% 첨가한 발효물은 5.38, 1.30%로 나타났다. 발효 3일째는 sodium citrate를 첨가하지 않았을 때 4.22, 1.30%였고, 5% 첨가 시 4.94, 1.38%로 sodium citrate를 첨가할수록 pH와 적정산도는 높았다. 이는 sodium citrate 염을 첨가함에 따라 젖산 발효물이 pH 4.0-4.4에 도달하는 시간이 현저히 길어져 pH 4.2에 도달하는 시간이 대조구에 비해 약 2배 정도 지연되는 결과를 보여준 연구(35)와 유사한 결과라 생각되며, 발효 시간이 길어질수록 pH는 낮아지고 적정 산도는 증가되어 신맛이 더 증가되는 경향을 보였다.

생균수는 sodium citrate 첨가량에 따른 변화는 나타나지 않았지만 sodium citrate를 5% 첨가하여 starter 접종 후 발효 하지 않

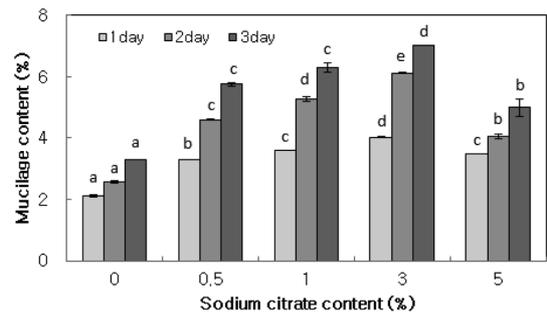


Fig. 3. Mucilage content of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sodium citrate. Each value is the mean±SD ($n=3$). Mean with the different letters in each row are significantly different ($p<0.05$) by Tukey's test

은 천연초의 생균수가 3.41×10^7 CFU/mL로 확인되었고, 1일 발효한 발효물의 젖산균 수가 2.23×10^9 CFU/g, 발효 3일째 6.41×10^8 CFU/g으로 나타나 발효 24시간 후 생균수는 증가하였지만, 발효 2일째부터 발효시간이 길어질수록 생균수가 10^8 CFU/g으로 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 이는 Kim 등(35)의 연구에서 *Leu. mesenteroides* SM균주로 발효한 발효물의 생균수가 발효 42시간부터 현저한 감소를 보인 것과 비슷한 결과를 나타냈다. 이는 젖산균의 생육특성으로 정지기 기간 이후에 영양성분의 감소와 생성된 대사산물에 기인한 균의 viability가 감소하면서 생균수가 감소하는 현상으로 사료된다.

Sodium citrate 첨가량에 따른 천연초 발효물의 점질물 및 물성적 특징

점질물 함량을 측정해 본 결과 Fig. 3에서 보여주는 것처럼 sodium citrate를 0, 1, 3% 첨가하여 1일 발효하였을 때 2.1, 3.6, 4.0%로 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였지만, 5% 첨가하였을 때 3.5%로 오히려 감소하는 경향을 보였다. 또한 3일 발효하였을 때 점질물 함량이 3.3, 6.3, 7%로 증가한 것으로 보아 발효 시간이 증가할수록, sodium citrate 첨가량이 많아질수록 점질물 함량은 증가하였지만 5% 농도에서는 발효물의 점질물 함량이 5%로 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 이는 *Leu. mesenteroides* 균주를 배양 했을 때 배양시간이 길어질수록 점도가 증가하는 경향을 보인 연구(32)와 같은 결과를 나타냈으며 Li 등(36)이 보고한 20% sucrose를 포함하는 배지에 0.3% sodium citrate의 첨가는 *Leuconostoc* 균주의 생육 증진을 통한 dextran 생산을 증진시켰다는 연구 결과와 유사한 경향을 나타냈다. *Leu. mesenteroides* 균주는 5% sodium citrate첨가 경우에 비교적 생균수가 높음에도 불구하고 점질물 함량이 감소하는 경향을 보였으며, 이는 *Leu. mesenteroides* 균주를 이용하여 설탕으로부터 점질물을 생산하는 경우에 sodium citrate의 첨가 농도에 대한 검토가 필요하다고 사료된다.

젖산 발효물의 점조도 및 퍼짐성 측정 결과는 Fig. 4에서 보여주는 것처럼 점조도 발효 1일째 sodium citrate를 0, 1, 3% 첨가하였을 때 점조도는 각각 4.3, 5.02, 6.48 Pa·s⁰로 sodium citrate 농도에 따라 증가하는 경향을 보였지만, 5% 농도에서는 3.29 Pa·s⁰로 감소하는 경향을 보였다. 또한 발효 3일째 5.48, 10.82, 14.86 Pa·s⁰로 발효 시간이 길어질수록 점조도가 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 5% 농도에서 10.49 Pa·s⁰로 감소하는 결과를 얻었다. 발효물의 퍼짐성 측정 결과는 sodium citrate를 첨가하지 않은 발효물의 퍼짐성이 발효 1, 2, 3일째 각각 3.6, 3.4, 3.1 cm

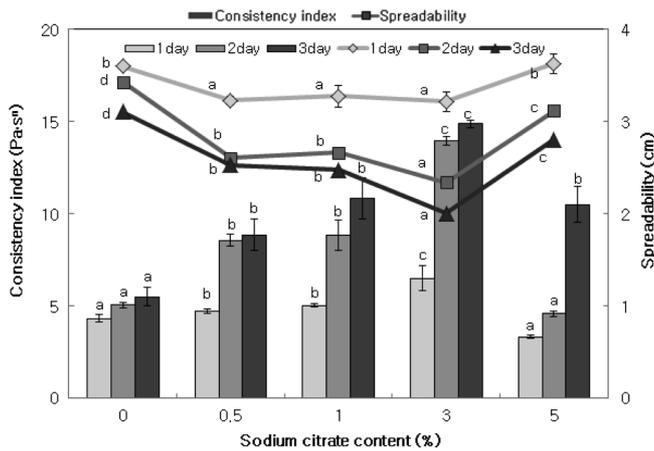


Fig. 4. Consistency index and spreadability of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sodium citrate. Each value is the mean±SD ($n=3$). Mean with the different letters in each row are significantly different ($p<0.05$) by Tukey's test

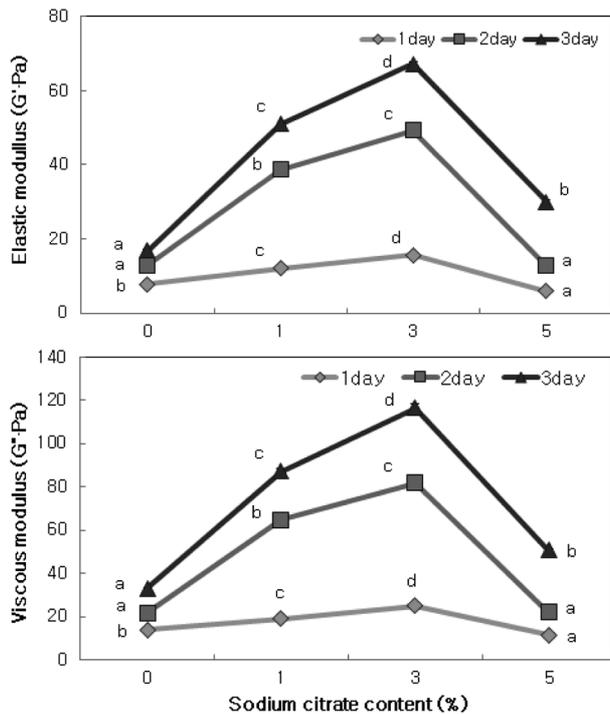


Fig. 5. Elastic and viscous modulus of CFP fermented by *Leu. mesenteroides* SM with various concentration of sodium citrate and 20% sucrose. Each value is the mean±SD ($n=3$). Mean with the different letters in each row are significantly different ($p<0.05$) by Tukey's test

로 발효 시간이 길어질수록 감소하는 경향을 보였으며, 발효 3일째 sodium citrate의 농도가 0.5, 1, 3, 5%일 때 2.5, 2.5, 2, 2.8 cm로 sodium citrate 농도가 증가할수록 퍼짐성은 감소하였으며, 5% 농도에서는 퍼짐성이 다시 증가하는 경향을 보였다.

Sodium citrate 첨가량에 따른 점성과 탄성 측정 결과는 Fig. 5에서 나타내는 것처럼 발효시간이 길어질수록, sodium citrate의 첨가량이 증가할수록 CFP 발효물의 점성과 탄성은 모두 급격히 증가하는 경향을 보였으며, sodium citrate 5% 첨가 시 점성과 탄

성 값이 모두 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 sodium citrate 첨가 농도가 증가하면서 CFP 발효물의 점성 값이 탄성 값보다 높은 값을 보이면서, 3% sodium citrate 첨가시에 3일 동안 발효과정에서 초기 CFP 발효물은 점성 값 25.10 Pa에서 116.21 Pa로 급격히 증가되었으며, 탄성 값도 초기 15.66 Pa에서 67.1 Pa로 크게 증가되었다. 따라서 점질물 함량, 점조도 및 퍼짐성 결과에 따라 CFP 젤산 발효 시에 sodium citrate 첨가량이 증가할수록 dextran 생성능이 증가에 따라 점조도 값이 크게 증가되며, 퍼짐성은 크게 감소하는 물성변화를 나타내었다. 그러나 sodium citrate가 5% 수준으로 첨가되는 경우에 점조도가 비례적으로 증가되지 않으면서 감소하는 것으로 보아 *Leu. mesenteroides*에 의한 점질물 생산과정에서 sodium citrate 농도가 크게 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 특히, 20% sucrose 및 3% sodium citrate 존재하에서 생산된 CFP 발효물의 점조도 값이 크게 증가되는 것을 확인할 수 있었으며, 동시에 점성 값이 탄성 값에 비해서 크게 증가함으로써 원료 CFP의 부적합하게 높은 탄성적 성질이 감소하면서 발효 CFP의 가공적성 및 물성이 개선되는 결과를 얻었다.

요 약

천년초 열매의 기능성 및 물성을 개선하기 위해서 *Leuconostoc mesenteroides* SM을 이용하여 천년초 열매 추출액의 젤산 발효를 수행하였다. 천년초 열매의 수분함량은 71.7%, 가식부 65%로 나타났다. 점질물 함량은 1.8%로 측정되었다. 천년초 열매 추출액은 열처리 시간이 증가함에 따라 점조도와 점탄성이 감소하였고, 퍼짐성은 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 잔존하는 미생물은 80°C에서 30분 열처리에 의해 사멸 되었으며, 천년초 열매 색소는 비교적 안정한 값을 유지하였다. 고분자 dextran 생성을 위해 sucrose 함량을 20%까지 첨가하여 발효한 결과, sucrose 첨가량과 발효 시간이 증가할수록 점질물 함량 및 점조도는 증가하였으며 퍼짐성은 감소하였다. Sucrose를 20% 첨가하여 3일 동안 발효한 발효물의 점질물 함량이 4.8%로 가장 높게 나타났으며, sucrose 전환율은 90%를 보였다. 특히 sodium citrate 3% 첨가 시 발효 3일째 발효물의 점질물은 7%까지 증가하였고, 점조도 역시 가장 높은 값을 나타내었다. 발효된 천년초 열매 추출액은 생성된 고분자 dextran에 의한 높은 점성 성질을 나타내면서, 가공적성 증진과 probiotics가 강화된 기능성 발효물로 전환될 수 있었다. 또한 기능성이 강화된 천년초 발효 소재는 기능성식품 및 가공식품의 소재로서의 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국연구재단의 지역혁신인력양성사업과 지식경제부 지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화 연구센터에 의해 수행된 연구결과로 이에 감사드립니다.

References

- Kim TJ. Korean Resources Plants. Seoul National University Press, Seoul, Korea. pp. 140-141 (1996)
- Cha MN, Jun HI, Lee WJ, Kim MJ, Kim MK, Kim YS. Chemical composition and antioxidant activity of Korean cactus (*Opuntia humifusa*) fruit. Food Sci. Biotechnol. 22(2): 523-529 (2013)
- Askar A, El-Smamhy SK. Chemical composition of prickly pear fruit. Dtsch. Lebensm-Rundsch. 77: 279-281 (1981)
- Lee YC, Pyo YH, Ahn CK, Kim SH. Food functionality of *Opuntia ficus-indica* var. cultivated in Jeju island. J. Food Sci.

- Nutr. 10: 103-110 (2005)
5. Lee KS, Oh CS, Lee KY. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus *Chonmyuncho* (*Opuntia humifusa*). Korean J. Food Sci. Technol. 37: 474-478 (2005)
 6. Kim MJ. Physicochemical characteristics of Jeungpyun by different addition ratios of prickly pear powder during storage. MS thesis, Sungshin Women's University, Seoul, Korea (2008)
 7. Park MK, Lee YJ, Kang ES. Hepatoprotective effect of *Cheonmyuncho* (*Opuntia humifusa*) extract in rats treated carbon tetrachloride. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 822-826 (2005)
 8. Lee KS, Kim MG, Lee KY. Antimicrobial effect of the extracts of cactus *Chonmyuncho* (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1268-1272 (2004)
 9. Kwon DK, Song YJ. Effect of *Opuntia humifusa* supplementation on endurance exercise performance in rats fed a high-fat diet. Korean J. Exer. Nutr. 9: 183-188 (2005)
 10. Kim SY. Studies on the separation of antioxidative and antimicrobial compounds of Korean perennial cactus *Opuntia ficus-indica* var. (*Cheonmyuncho*). MS thesis, Hoseo University, Asan, Korea (2003)
 11. Kim KT, Choi AR, Lee KS, Joung YM, Lee KY. Quality characteristics of bread made from domestic Korean wheat flour containing cactus *Cheonmyuncho* (*Opuntia humifusa*) powder. Korean J. Food Cookery Sci. 23: 461-468 (2007)
 12. Jang SY. A study of the development of traditional rice cake with *Cheonmyuncho* fruit powder. MS thesis, Kyunggi University, Suwon, Korea (2010)
 13. Park SM, Ahn IS, Hong SM, Kim DS, Kwon DY, Yang HJ. The effects of the supplementation of *Opuntia humifusa* water extracts and methyl sulfonyl methane on the laying productivity, egg quality and sensory characteristics. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 294-300 (2010)
 14. Lee SP, Whang K, Ha YD. Functional properties of mucilage and pigment extracted from *Opuntia ficus-indica*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 821-826 (1998)
 15. Hasler CM. Functional Foods: the western perspective. Nutr. Rev. 54: S6-10 (1996)
 16. Kim JW. Quality improvement of traditional doenjang prepared from meju fermented with pure microbes. MS thesis, Chonbuk National University, Jeonju, Korea (2007)
 17. Lee WK. Functional soy yogurt production by Kimchi lactic acid bacteria. MS thesis, Mokpo National University, Mokpo, Korea (2009)
 18. Dziezak JD. Phosphates improve many food. J. Food Tech. 44: 80-86 (1990)
 19. Jeanes A. Dextran in encyclopedia of polymer science and technology. Wiley press, New York, NY, USA. pp. 805-824 (1966)
 20. Debelder AN. Dextran. pp. 513-542. In: Industrial Gums, Polysaccharides and Their Derivatives. Whistler RL, Bemiller JN (eds). Academic Press, Inc., New York, NY, USA (1973)
 21. Kwon KY. Studies on the mixed fermentation of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus bulgaricus*. MS thesis, Dankook University, Yongin, Korea (1993)
 22. Hepner G, Fried R, St. Jeor S, Fusetti L, Morin R. Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. Am. J. Clin. Nutr. 32: 19-24 (1979)
 23. KFDA. Korea Food & Drug Administration. Available from: <http://fse.foodnara.go.kr/origin>. Accessed May 21, 2009.
 24. Park SJ, Lee JH, Rhim JH, Kwon KS, Jang HG, Yu MY. The change of anthocyanin and spreadmeter value of strawberry jam by heating and preservation. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 365-369 (1994)
 25. Sawaya WN, Khatchadourian HA, Safi WM, Al-Muhammad HM. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica* and the manufacturing of prickly pear jam. Int. J. Food Sci. Tech. 18: 183-193 (1983)
 26. Son MJ. Optimization of lactic acid fermentation of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) extract and its application for jelly. MS thesis, Keimyung University, Deagu, Korea (2004)
 27. Shamala TR, Prasad MS. Preliminary studies on the production of high and low viscosity dextran by *Leuconostoc* spp. Process Biochem. 30: 237-241 (1995)
 28. Santos M, Teixeira J, Rodrigues A. Production of dextransucrase, dextran and fructose from sucrose using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B412(f). Biochem. Eng. J. 4: 177-188 (2000)
 29. Kim DS, Thomas S, Fogler HS. Effects of pH and trace minerals on long-term starvation of *Leuconostoc mesenteroides*. Appl. Environ. Microb. 66: 976-981 (2000)
 30. Sarwat F, Qader SAU, Aman A, Ahmed N. Production & Characterization of a unique dextran from an indigenous *Leuconostoc mesenteroides* CMG713. Int. J. Biol. Sci. 4: 379-386 (2008)
 31. Jang KH, Choi JH, Lee JM, Lee JH, Jang SY, Jeong YJ. Fermentation characteristic of kefir beverage added fruit juice. Food Sci. Nutr. 7(3): 35-38 (2002)
 32. Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 847-853 (1997)
 33. Hwang SG. Isolation of bacteria producing dextran from fermented kimchi and optimization of dextran production. MS thesis, Joongbu University, Geumsan, Korea (2007)
 34. Gilliland SE, Anna ED, Speck ML. Concentrated cultures of *Leuconostoc citrovorum*. Appl. Microbiol. 19: 890-893 (1970)
 35. Kim WJ, Kang KO, Kyung KH, Shin JI. Addition of salts and their mixtures for improvement of storage stability of kimchi. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 188-191 (1991)
 36. Li L, Wei XY, Zhang YB, Du XH, Ren JP, Bilige M. Effect of medium composition on dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*. China Dairy Industry 37(6): 16-19 (2009)