

## 잡곡발효물의 제조와 항산화 활성 비교

이재성<sup>1\*</sup> · 강윤환<sup>2\*</sup> · 김경곤<sup>1</sup> · 임준구<sup>2</sup> · 김태우<sup>2</sup> · 최 면<sup>1,2†</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 생명건강공학과

<sup>2</sup>강원대학교 강원웰빙특산물산업화지역혁신센터

### Characteristics and Antioxidative Activity of Fermented Mixed Grain Beverages Produced by Different Microbial Species

Jae Sung Lee<sup>1\*</sup>, Yun Hwan Kang<sup>2\*</sup>, Kyoung Kon Kim<sup>1</sup>, Jun Gu Lim<sup>2</sup>,  
Tae Woo Kim<sup>2</sup>, and Myeon Choe<sup>1,2†</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Bio-Health Technology and <sup>2</sup>Well-being Bioproducts RIC,  
Kangwon National University, Gangwon 200-701, Korea

**ABSTRACT** The purpose of this study was to evaluate the functional characteristics of fermented mixed grain beverages obtained using different microbial species and to evaluate their suitability for consumption. Various fermented mixed grain beverages were prepared through fermentation with *Aspergillus (A.) oryzae* CF1003 (A), *A. acidus* KACC46420 (B), *Rhizopus (R.) delemar* KACC46149 (C), *R. oryzae* KACC45714 (D), *R. oryzae* KACC46148 (E), A-E mixed strains (F), *A. oryzae* CF1001 (G), *A. acidus* CF1005 (H) and A+H mixed strains (I). The visual appearance, flavor, taste, and the antioxidant capacity of each fermented beverage were then assessed. The chromaticity and aesthetic quality of the fermented beverage was measured and all fermented beverages appeared yellow. The C-, G-, H- and I-fermented beverages received scores of 3.319, 3.206, 3.170 and 3.025 points, respectively, following a sensory evaluation, while the others received less than 3 points. The polyphenol content of the different beverages were similar, while the flavonoid content significantly differed. In particular, the flavonoid content of the C- and E-fermented beverages was significantly higher than other beverages. Although the electron donating ability and reducing power of the fermented beverages was very low, the superoxide dismutase (SOD)-like activity of all beverages (except the E-fermented beverage) increased in a concentration-dependent manner. Specifically, the SOD-like activity from the F-fermented beverage at 10,000 ppm was more than 50%. Interestingly, the antioxidant activities of the beverages were unrelated to their polyphenol or flavonoid levels. This study also found that the aesthetic qualities of G- and H-fermented beverages were the highest and that this was completely independent of their antioxidant capacity. Therefore, our results suggest that further studies are required to develop mixed grain-derived fermented beverages that can also fulfill a useful functional purpose.

**Key words:** fermented beverage, grain, antioxidant, polyphenol, flavonoid

## 서 론

경제성장과 생활수준의 향상은 인류의 평균 수명을 증가시켰으며 사람들에게 건강과 삶의 질을 향상시키는 well-being에 대한 관심을 높아지게 하고 있다. 이에 따라 건강기능성 식품과 전통적인 발효식품에 대한 관심과 수요가 증가하고 이를 바탕으로 관련 시장이 지속적으로 성장하고 있다 (1). 발효식품은 유용한 미생물인 probiotics에 의해 식품이 발효된 것으로, 저장 기간이 증가되고 맛과 조직감이 개선되며, 기능성을 향상시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다

(2,3).

근대의 서구화된 식생활과 외식산업의 발전은 전통적인 식사량을 감소시키고, 고열량 식사와 인공 감미료 사용을 증가시켜 현대인들의 고혈압, 당뇨 및 비만 등의 만성대사질환 발생을 지속적으로 증가시켰다(4,5). 이를 극복하기 위한 소비자의 욕구를 충족시키고 건강증진 효능물질을 포함한 천연식품의 개발과 연구가 진행되고 있다(6,7). 그중 발효식품은 발효가 진행되는 과정에서 일반 식품에 부족한 영양분과 효능이 증대된다고 알려져 있다. 중국, 동남아시아, 인도, 아프리카 등과 같은 지역에서는 곡류를 주원료로 하는 다양한 전통 발효식품과 음료가 꾸준히 생산 및 소비되고 있지만 (8,9), 국내에서는 주류와 증편 등 소수의 제품이 주를 이루고 있는 실정이고 그마저도 대부분이 쌀을 이용하여 생산한 제품들이다(10). 잡곡은 식량 작물 중 쌀을 제외한 보리, 울

Received 10 April 2013; Accepted 16 July 2013

\*These authors contributed equally to this work.

†Corresponding author.

E-mail: mchoe@kangwon.ac.kr, Phone: 82-33-250-8645

무, 콩, 조 등의 곡류를 말하며, 쌀과 비교해 열등작물로 인식되어 왔으나 무기질 및 식이섬유가 풍부하고 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다(11-13). 그러나 잡곡의 유익한 기능성에도 불구하고 이를 이용한 제품개발은 현재까지 부족한 실정이다.

폴리페놀화합물은 식물에 널리 존재하는 2차 대사 화합물로 다수의 히드록실기(-OH)를 가지고 있어 여러 화합물과 쉽게 결합하는 특성을 가진다. 또한 항암, 항고혈압, 항염증, 항당뇨, 항노화 및 항산화 효능이 있는 것으로 알려져 있고 주로 액포 및 세포막에서 유리형, 에스테르형 또는 결합형으로 존재하고 있다(14-18). 플라보노이드는 폴리페놀화합물의 한 종류로 C6-C3-C6의 기본 탄소 골격을 가지고 있으며 항바이러스, 항염증, 항암 효과 및 항산화 효능이 높은 것으로 알려져 있다(19-23). 세포내의 대사 과정의 결과로 생성되는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 심혈관계 질환, 암 노화 등을 유발한다(24). 생체 내에는 이러한 활성산소종으로부터 신체를 보호하기 위한 다양한 항산화 체계를 갖추고 있지만, 과도한 활성산소종의 증가는 항산화계의 활성을 감소시킨다(25). 감소된 체내 항산화활성을 높일 수 있는 기능성물질로 플라보노이드를 포함한 폴리페놀화합물이 잘 알려져 있다(26). 활성산소종의 작용에 의해 체내에 균형이 깨지게 되면, 과도한 산화적 스트레스에 의해 세포 상해 등을 유발해 노화, 심혈관질환, 암 등의 질환을 일으키게 되므로(27) 항산화활성이 있는 기능성 발효식품을 일상적으로 섭취함으로써 활성 산소에 의해 무너진 체내 생리활성의 균형을 개선 유지할 수 있는 다양한 제품의 개발과 연구가 필요하다.

이러한 관점에서 본 연구는 7가지 균주 및 혼합 균주로 잡곡을 발효시켜 잡곡발효음료를 개발하고, 균주에 따라 제조된 발효음료의 관능평가 및 항산화활성을 검토함으로써 기능성 음료개발의 기초자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료

실험에 이용된 5가지 잡곡 중 백미는 철원 친환경농조 합법인에서, 메밀은 봉평메밀, 조와 수수, 기장은 두보식품

**Table 1.** Candidate strains for the production of fermented mixed grain beverages

| No. | Strains                             |
|-----|-------------------------------------|
| A   | <i>Aspergillus oryzae</i> CF1003    |
| B   | <i>Aspergillus acidus</i> KACC46420 |
| C   | <i>Rhizopus delemar</i> KACC46149   |
| D   | <i>Rhizopus oryzae</i> KACC45714    |
| E   | <i>Rhizopus oryzae</i> KACC46148    |
| F   | A~E mixed strains                   |
| G   | <i>Aspergillus oryzae</i> CF1001    |
| H   | <i>Aspergillus acidus</i> CF1005    |
| I   | A+H mixed strains                   |

(Seoul, Korea)에서 공급받았으며, 발효균은 Table 1과 같으며 충무발효(Ulsan, Korea) 및 농촌진흥청에서 공급받았다.

### 잡곡발효물의 제조

잡곡발효물의 제조는 Fig. 1과 같이 진행하여 준비하였다. 즉 잡곡은 총 무게가 3 kg이 되도록 쌀 70%, 메밀과 조는 10%, 기장과 수수는 5%씩 계량하여 준비한 후, 수수를 1시간 30분간 증류수를 이용하여 침미하였고 차조와 기장, 메밀을 혼합하여 1시간을 더 침미시킨다. 이후 백미를 추가하여 1시간 더 침미하여 준비한다. 준비된 잡곡은 1시간 탈수시킨 후 115°C에서 45분간 증자하였고, 60°C로 냉각한 후 원료량 3배의 증류수와 원료량의 0.2% 발효균을 각각 첨가하여 53°C에서 20시간 동안 발효시켰다.

### 산도 및 색도 측정

제조된 잡곡발효물의 산도 측정은 pH meter(seven-easy, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA)를 사용하였으며, 색도는 color spectrophotometer(ColorMate, Scinco, Seoul, Korea)를 사용하여 L(명도, lightness), a(적색도, redness), b(황색도, yellowness) 값으로 나타내었다.

### 관능검사

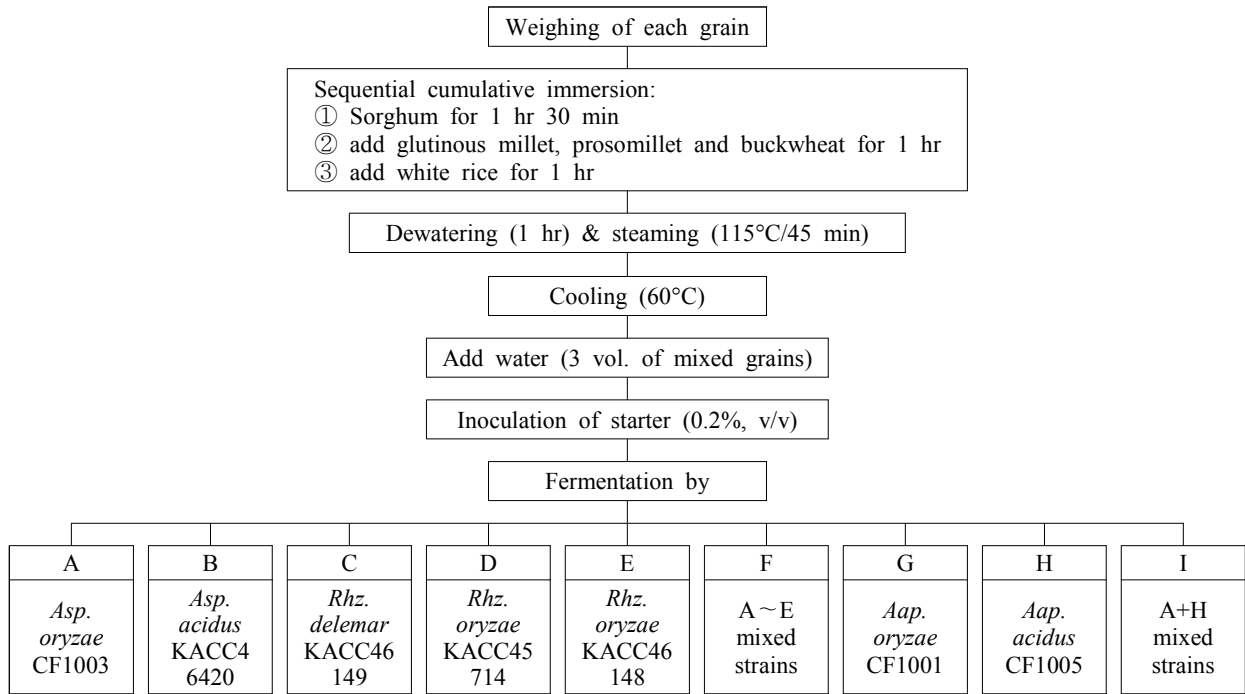
제조된 잡곡발효물에 대한 관능검사는 Choi 등(7)의 방법을 변형하여 이용하였다. 강원대학교 20~30대 대학생 및 대학원생 패널 25명을 대상으로 5점 기호척도법을 사용하여 매우 좋다 5점, 좋다 4점, 보통이다 3점, 나쁘다 2점, 매우 나쁘다 1점으로 평가해 색, 향, 맛, 전체적인 기호도 등의 항목에 대해 평가하였다. 평가는 각각의 샘플을 상대 비교하여 실시하였다.

### 세포주 배양

간암 세포주인 HepG2 세포(hepatocellular carcinoma)는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양 받아 사용하였다. HepG2 세포는 10% fetal bovine serum(FBS, Welgene, Daegu, Korea)과 1% penicillin-streptomycin(PE-ST, Welgene)이 첨가된 minimum essential medium(MEM, Welgene) 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.

### 세포 생존율

배양이 끝난 세포의 생존율은 CCK-8 kit(Dojindo, Kumamoto, Japan)를 이용하여 측정하였다. 즉 96 well plate에 1×10<sup>6</sup> cells/mL의 농도로 0.1 mL씩 분주한 뒤 24시간 동안 배양한 후 FBS와 PE-ST가 첨가되지 않은 배지에 각 시료를 농도별(3,000, 5,000, 10,000 ppm)로 제조한 후 세포에 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 plate의 각 well에 10 μL의



**Fig. 1.** Preparation and fermentation procedures of mixed grains. All strains cultured in YM agar media at 30°C for 1 week were inoculated with 0.2% against total sample weight.

CCK-8 reagent를 첨가하였다. 3시간 동안 반응을 시킨 후 ELISA microplate reader(EL808, BioTek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다 (28).

**총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정**

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용하여 측정하였다(29). 각 시료 0.2 mL에 증류수 4.8 mL를 넣은 후 50% Folin-Ciocalteu's phenol(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 0.5 mL를 첨가하고 잘 혼합하여 3분간 방치한 후 1 mL의 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(Sigma-Aldrich)를 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 방치한 다음 UV/vis spectrophotometer(Optizen 2120UV, Mecasys, Daejeon, Korea)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 화합물의 함량은 caffeic acid(Sigma-Aldrich)를 이용하여 검량선을 작성한 다음 CAE(caffeic acid equivalents)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(30)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 0.5 mL에 10% aluminum nitrate(Sigma-Aldrich) 0.1 mL, 1 M potassium acetate(Sigma-Aldrich) 0.1 mL와 80% ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 안정화시킨 다음 spectrophotometer를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Wako, Osaka, Japan)을 표준물질로 이용하여 검량선을 작성한 다음 QE(quercetin equivalents)로 나타내었다.

**전자공여능(EDA) 활성 측정**

전자공여능은 Blois 등(31)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 물에 희석한 시료 0.2 mL에 0.15 mM 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl(DPPH, Sigma-Aldrich) 0.6 mL를 첨가하여 암조건에서 30분간 반응시킨 후 ELISA microplate reader를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군(control)은 물을 넣어 측정하고, 다음 계산식에 의거하여 소거활성을 측정하였다.

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbance value of sample}}{\text{Absorbance value of control}}\right) \times 100$$

**환원력 측정**

환원력은 Oyaizu의 방법(32)을 변형하여 측정하였다. 시료 용액 0.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 0.5 mL, 1% potassium ferricyanide 0.5 mL를 각각 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 가하였다. 위 반응액을 650 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상층액 0.5 mL에 증류수 0.5 mL, 1% ferric chloride 0.1 mL를 가하여 혼합한 반응액의 흡광도를 700 nm에서 측정하였다.

**Superoxide dismutase(SOD) 유사활성**

SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund(33)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 용액 2 mL에 tris-HCl buffer(50 mM tris+ 10 mM EDTA, pH 8.5, Sigma-Aldrich) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol(Sigma-Aldrich) 0.2 mL를 가

하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가구와 무 첨가구의 흡광도 감소율을 %로 나타내었다.

### 통계처리

실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, Version 10.0, Chicago, IL, USA) program을 이용하여 평균±표준편차로 표시하였고, one-way ANOVA test 후에 Duncan's multiple range test에 의해  $P < 0.05$  수준에서 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 산도 및 색도 측정

잡곡발효물의 산도 및 색도를 측정하여 Table 2와 같이 정리하였다. I 샘플의 pH가 5.79로 가장 높았으며, 그 다음으로 G와 H가 각각 5.74와 5.43을 나타냈다. D, E, 그리고 F에서는 4.93, 4.69 및 4.14로 비교적 낮은 pH를 나타내었다. 색도를 측정할 결과, 잡곡발효물의 밝은 정도를 나타내는 L값은 B 샘플에서 71.96±0.02로 가장 높은 값을 나타냈

**Table 2.** pH and Hunter color values of fermented mixed grain beverages

| Sample <sup>1)</sup> | pH        | Chromaticity              |                        |                         |
|----------------------|-----------|---------------------------|------------------------|-------------------------|
|                      |           | L                         | a                      | b                       |
| A                    | 5.31±0.14 | 70.88±0.03 <sup>e2)</sup> | 0.83±0.01 <sup>d</sup> | 8.92±0.01 <sup>d</sup>  |
| B                    | 5.14±0.01 | 71.96±0.02 <sup>h</sup>   | 0.56±0.01 <sup>c</sup> | 8.66±0.01 <sup>c</sup>  |
| C                    | 5.31±0.01 | 67.50±0.03 <sup>c</sup>   | 0.91±0.03 <sup>e</sup> | 10.40±0.02 <sup>f</sup> |
| D                    | 4.93±0.01 | 67.78±0.10 <sup>b</sup>   | 0.38±0.07 <sup>b</sup> | 8.25±0.08 <sup>b</sup>  |
| E                    | 4.69±0.02 | 71.61±0.04 <sup>g</sup>   | 0.86±0.02 <sup>d</sup> | 9.00±0.03 <sup>e</sup>  |
| F                    | 4.14±0.03 | 71.44±0.04 <sup>f</sup>   | 0.36±0.01 <sup>b</sup> | 6.96±0.01 <sup>a</sup>  |
| G                    | 5.74±0.01 | 63.79±0.01 <sup>a</sup>   | 0.40±0.01 <sup>b</sup> | 12.18±0.04 <sup>h</sup> |
| H                    | 5.43±0.02 | 68.76±0.01 <sup>d</sup>   | 0.83±0.02 <sup>d</sup> | 10.83±0.03 <sup>g</sup> |
| I                    | 5.79±0.01 | 67.73±0.03 <sup>b</sup>   | 0.21±0.00 <sup>a</sup> | 8.88±0.04 <sup>d</sup>  |

<sup>1)</sup>Same as the Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±standard deviation of triplicate determination. Different superscripts in the same column (a-h) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

으며, 그 다음으로 E와 F가 각각 71.61±0.04, 71.44±0.04를 나타내었다. 적색도를 나타내는 a값은 모든 샘플에서 1 이하의 값을 나타내었는데, C 샘플에서 0.91±0.03으로 가장 높았다. 황색도를 나타내는 b값은 G 샘플에서 12.18±0.04로 가장 높았으며 H와 C가 각각 10.83±0.03, 10.4±0.02를 나타냈다. 이를 통해 잡곡발효물은 발효과정에서 생성되는 유기산에 의해 약산성의 특성을 보이는 황색음료임을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Kim과 Yi(34)가 팽화차조를 이용하여 발효시킨 조 막걸리의 산도 및 색도 결과와 유사하다.

### 관능검사

발효균을 달리하여 제조한 잡곡발효물의 관능검사는 각각의 잡곡발효물을 상대 비교하여 실시하였으며, 그 결과는 Table 3과 같다. 색 선호도에서는 F 샘플이 3.800으로 가장 높았으며, E와 D 샘플이 3.750으로 그 다음을 기록하였고, I는 2.100으로 가장 낮은 수치를 나타내었다. 맛 선호도에서는 G 샘플이 3.625로 가장 높았고, E 샘플이 1.250으로 가장 낮았다. 향 선호도에서는 G 샘플이 3.600으로 가장 높은 수치를 나타냈으며, 그 다음으로 C와 H가 각각 3.429, 3.400을 나타냈다. 전체적인 기호도 평가에서는 G 샘플이 3.750으로 가장 높은 수치를 나타냈으며, C와 H가 3.625로 그 다음 순위를 나타냈다. 전체 평가점수를 평균한 결과 G 샘플이 3.319로 가장 선호도가 높았으며, H와 C가 각각 3.206, 3.170으로 다음으로 높은 평가점수를 받은 것으로 조사되었다. 본 관능검사의 결과 제품화의 가장 중요한 평가요소인 색, 맛, 향의 품질평가에서 *Aspergillus oryzae* CF1001이 가장 우수한 잡곡발효물 생산균주로 평가되었다.

### 세포생존율

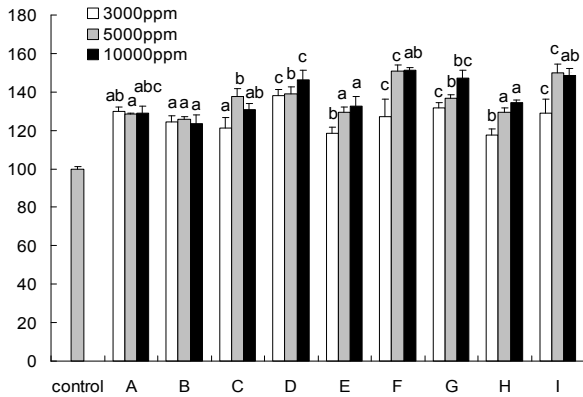
CCK-8 assay는 살아있는 세포에서 탈수소효소 작용에 의하여 분홍색의 수용성 기질인 WST-8 tetrazolium salt를 오렌지색 WST-8 formazan으로 환원시키는 세포 내 dehydrogenase의 능력을 이용하는 검사 방법(28)으로 잡곡발효물의 세포독성이 세포생존율에 미치는 영향을 확인하기 위하여 본 실험을 수행한 결과 Fig. 2와 같이 나타났다. 9종의 잡곡발효물을 10,000 ppm, 5,000 ppm, 3,000 ppm

**Table 3.** Sensory evaluation of fermented mixed grain beverages by various microorganisms

|                       | Sample <sup>1)</sup>  |                      |                     |                     |                    |                      |                    |                      |                      |
|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
|                       | A                     | B                    | C                   | D                   | E                  | F                    | G                  | H                    | I                    |
| Color                 | 3.625 <sup>b2)</sup>  | 3.600 <sup>b</sup>   | 2.125 <sup>a</sup>  | 3.750 <sup>b</sup>  | 3.750 <sup>b</sup> | 3.800 <sup>b</sup>   | 2.300 <sup>a</sup> | 2.500 <sup>a</sup>   | 2.100 <sup>a</sup>   |
| Taste                 | 2.500 <sup>b</sup>    | 2.800 <sup>bcd</sup> | 3.500 <sup>cd</sup> | 1.500 <sup>a</sup>  | 1.250 <sup>a</sup> | 2.700 <sup>bc</sup>  | 3.625 <sup>d</sup> | 3.300 <sup>bcd</sup> | 3.300 <sup>bcd</sup> |
| Flavor                | 2.571 <sup>a</sup>    | 2.500 <sup>a</sup>   | 3.429 <sup>ab</sup> | 2.571 <sup>a</sup>  | 2.571 <sup>a</sup> | 2.714 <sup>ab</sup>  | 3.600 <sup>b</sup> | 3.400 <sup>ab</sup>  | 3.300 <sup>ab</sup>  |
| Overall acceptability | 2.750 <sup>abcd</sup> | 2.500 <sup>bcd</sup> | 3.625 <sup>de</sup> | 1.500 <sup>ab</sup> | 1.250 <sup>a</sup> | 2.375 <sup>abc</sup> | 3.750 <sup>e</sup> | 3.625 <sup>de</sup>  | 3.400 <sup>cde</sup> |
| Average               | 2.862                 | 2.850                | 3.170               | 2.330               | 2.205              | 2.897                | 3.319              | 3.206                | 3.025                |
| Ranking               | 6                     | 7                    | 3                   | 8                   | 9                  | 5                    | 1                  | 2                    | 4                    |

<sup>1)</sup>Same as the Table 1.

<sup>2)</sup>Values are averages of 25 panels evaluated from very poor (1 point) to very good (5 points). Different superscripts in the same row (a-e) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.



**Fig. 2.** Percentage of HepG2 cell viability at various concentration of fermented mixed grain beverages. Each bar is the mean  $\pm$  standard deviation from three independent experiment, different letters on the bars (a-c) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Abbreviations: See Table 1.

의 농도로 처리한 후 HepG2 세포의 생존율을 무 처리군 (control)과 비교한 결과, 모든 실험군에서 100% 이상의 세포생존율이 확인되어 세포독성이 없는 것을 확인하였다. 이 실험 결과를 바탕으로 이후 실험에서는 10,000 ppm, 5,000 ppm, 3,000 ppm 농도 범위에서 진행하였다.

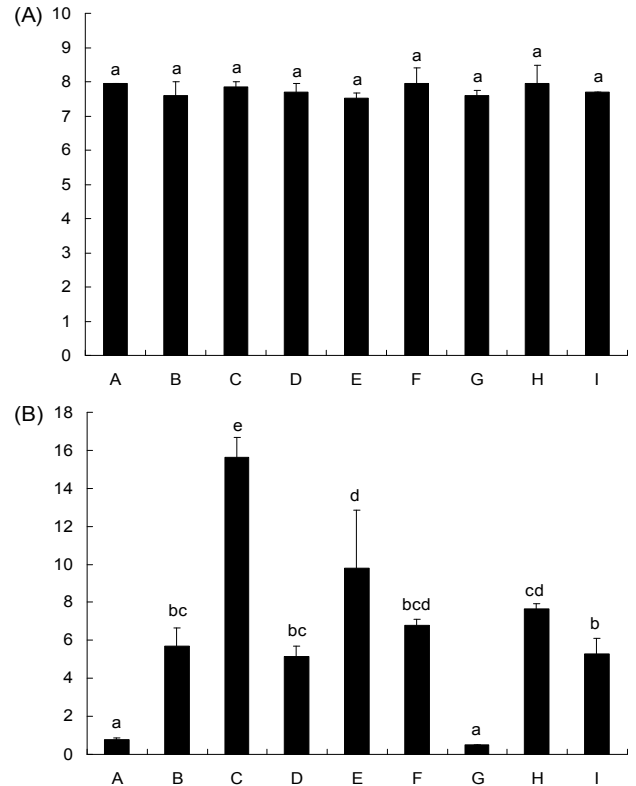
**총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석**

식물에 많이 분포되어 있는 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물은 다양한 기능성과 함께 강한 항산화 활성을 가지고 있어 체내 항산화 활성을 증가시켜 만성질환의 발병을 예방하는 것으로 알려져 있다(18). 그러므로 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정함으로써 항산화력과 기능성 유효물질 함유가능성을 예측할 수 있다.

잡곡발효물의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 폴리페놀 함량은 A와 H 샘플에서 가장 높은 함량(7.94 mg/g)을 나타냈으며 E 샘플에서 가장 낮은 함량(7.51 mg/g)을 나타냈으나, 샘플 간의 유의한 차이를 보이지는 않았다.

플라보노이드 함량에서는 C 샘플에서 15.62 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타냈으며, 다음으로는 E 샘플에서 9.80 mg/g으로 나타났고, A와 G에서는 각각 거의 측정되지 않았다.

Kim 등(18)은 자생식물과 생약자원 추출물의 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정해 본 결과, 참나무 겨우살이에서 폴리페놀은 46.76 mg/g, 플라보노이드는 57.02 mg/g으로 나타났으며, 포공영, 익모초는 각각 193.82, 191.62 mg/g의 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으나, 플라보노이드 함량은 13.96, 20.35 mg/g의 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 각 시료에 대한 폴리페놀 함량이 플라보노이드 함량보다 대부분 큰 값을 가지기는 하지만 폴리페놀과 플라보노이드의 함량을 비교하였을 때 반드시 폴리페놀이 높은 것은 아니라

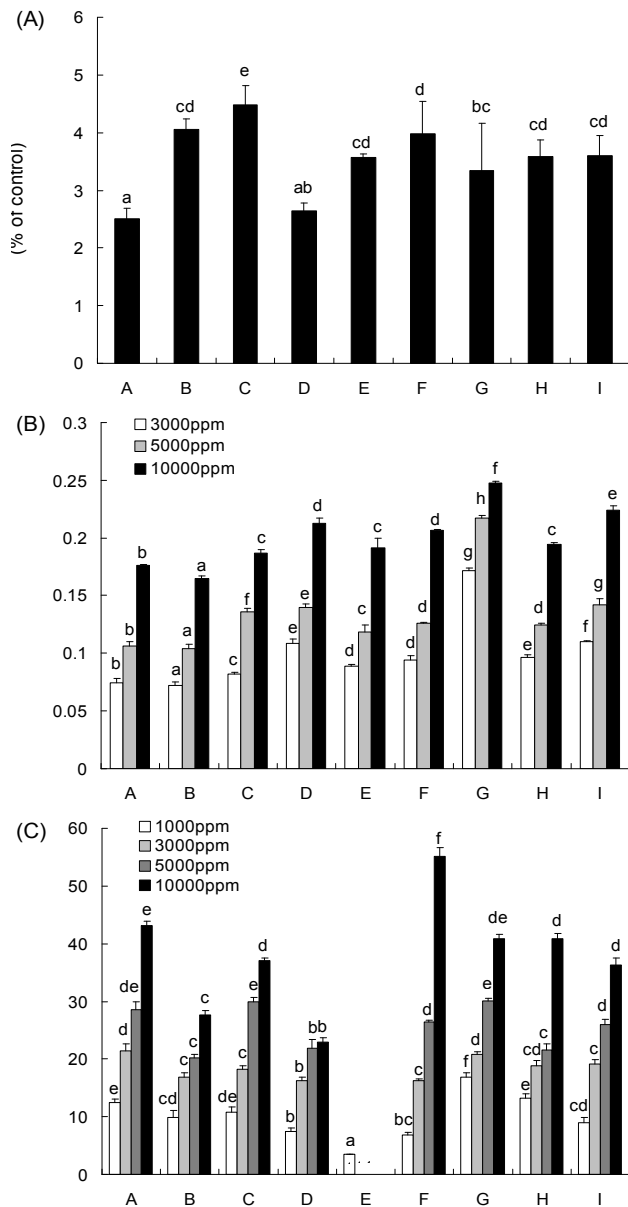


**Fig. 3.** Content of total polyphenol (A) and total flavonoid (B) of mixed grain beverages fermented by various microorganisms. Values are mean  $\pm$  standard deviation of triplicate determination, different letters on the bars (a-e) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Abbreviations: See Table 1.

는 것으로 보고한 바 있다. 또한 Kim 등(35)은 발효과정에서 발생하는 플라보노이드의 감소는 불안정한 플라보노이드계 화합물의 변성과 함께 단백질, 철분, 알칼로이드 및 피리딘 등과 결합하여 침전을 형성하기 때문이라 예측했다. 그러나 Hyon 등(36)의 연구에서 몇몇 플라보노이드계 화합물은 발효과정 중 감소하여 알지 못하는 친수성 성분으로 전환되며 이를 통해 항산화 활성이 크게 증가된다는 보고를 하였다. 본 실험에서의 플라보노이드 감소 또한 이와 무관하지는 않을 것으로 판단되며 발효를 통해 다양한 유효 성분으로의 전환이 이루어졌을 것으로 판단된다.

**항산화 활성**

ROS는 산소의 체내 대사산물로서 또는 흡연, 환경오염 등의 외부 인자로 인해 생성되고 소멸되며, 정상적인 상태에서는 3~5% 정도 존재한다(26). 이러한 ROS는 자유 라디칼의 형태로 존재하거나 과산화수소처럼 쌍을 이룬 전자를 가진 화합물의 형태로 존재하며, 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)나 catalase 등에 의해 제거된다(37). ROS는 일반적으로 세포의 노화, 흡연, 자외선, 환경오염 등에 의해 생성 속도가 높아지는 것으로 알려져 있으며, 암이나 동맥경화증, 심혈관계 질환, 노화 등의 성인병질환에 관련되



**Fig. 4.** Measurement of antioxidant activity. (A) Percentage of electron donating ability of fermented mixed grain beverages. (B) Reducing power of fermented mixed grain beverages. (C) Percentage of superoxide dismutase-like activity at various concentration of fermented mixed grain beverages. Values are mean  $\pm$  standard deviation of triplicate determination. Different letters on the bars (a-h) indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Abbreviations: See Table 1.

어 있는 것으로 알려져 있다(26). DPPH radical 소거능은 미지의 특정물질이 생체의 생리작용 혹은 산화작용에 발생하는  $\text{HO}^\cdot$  혹은  $\text{O}_2^\cdot$  등을 제거하는 항산화 능력을 평가할 때 사용되는 지표로 높은 값을 나타낼수록 항산화능이 우수한 것으로 판단한다(38,39).

잡곡발효물의 전자공여능을 측정된 결과는 Fig. 4A와 같다. 대조군과 비교하여 계산한 결과, C 샘플에서 4.48%로 가장 높은 radical 소거능을 나타냈으며, 그 다음으로 B와

F가 각각 4.01%, 3.97%를 나타내었다.

환원력은 700 nm에서 ferric-ferricyanide( $\text{Fe}^{3+}$ ) 혼합물이 수소를 공여하여 유리라디칼을 안정화시켜 ferrous( $\text{Fe}^{2+}$ ) 형태로 환원시키는 활성을 알아보는 실험으로 흡광도 값이 높을수록 환원력이 우수한 것으로 판단한다. 잡곡발효물의 환원력은 Fig. 4B와 같이 관찰되었다. 모든 샘플에서 농도에 비례하여 환원력이 증가하는 경향을 보였으며, G 샘플 10,000 ppm에서 0.247로 가장 높게 측정되었으며, I(0.224), F(0.206) 등에서도 높은 활성을 나타내었다.

잡곡발효물에 대한 SOD 유사활성능을 1,000 ppm~10,000 ppm의 농도에서 측정된 결과는 Fig. 4C와 같다. E를 제외한 모든 샘플에서 농도에 비례하여 활성이 증가한 것으로 나타났으며, F 샘플 10,000 ppm에서 55.15%로 가장 높은 활성을 나타내었고 A(43.18%), G(40.9%), H(40.9%) 등에서도 높은 활성을 나타내었다.

Kim 등(18)은 폴리페놀 화합물과 항산화능에 대해 일관된 상관관계를 찾기 어렵다고 보고하였으며, 일반적으로 총 폴리페놀의 함량이 항산화 활성과 밀접한 관계가 있지만 폴리페놀 화합물 중 특정 성분에 의해 활성이 다를 것이라고 해석하였다. 또한 Park(2)은 발효가 진행됨에 따라 항산화효과나 항암효과 등 생리활성이 증가하는 것으로 보고하였으며, 이는 발효에 참여하는 probiotics가 식품의 당부위를 제거하여 aglycone을 형성하는 등 발효과정에서 기능성 물질을 생성시켰기 때문이라고 보고하였다. 이를 통해 본 실험에서 발효를 통해 생성된 기능성 저분자 성분에 의해 비교적 낮은 폴리페놀 함량에도 불구하고 높은 SOD 유사활성을 나타낼 수 있다는 추측이 가능하다.

이러한 연구 결과들을 바탕으로, 본 연구결과 제조된 잡곡발효물에는 발효과정을 통해 다양한 생리활성물질이 생성된 것으로 판단되며, 잡곡발효물에 일반성분 분석 및 생리활성측정에 관한 다양한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

다양한 발효 균주를 이용한 잡곡발효음료 개발의 가능성을 확인하고자 7종의 균주와 2가지의 혼합균주를 이용하여 잡곡발효물을 제조하여 분석한 결과, 색도가 비교적 밝으며 붉은색보다는 노란색이 더 많이 측정되었다. 관능검사 결과, 종합적으로 C와 G, H가 상대적으로 높은 평가를 받았으며, 제조된 잡곡발효물의 세포독성은 10,000 ppm까지 관찰되지 않았다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량에서 총 폴리페놀은 7.51~7.94 mg/g으로 모든 잡곡발효물에서 유사한 함량을 나타냈으나, 플라보노이드 함량은 C 샘플에서 15.62 mg/g으로 가장 많은 것으로 나타났다. 또한 잡곡발효물의 항산화 활성을 조사한 결과, 전자공여능에서는 C 샘플에서 4.48%로, 환원력에서는 G 샘플이 0.247로 가장 높았으며, SOD 유사활성 측정에서는 E를 제외한 모든 샘플에서 농도 비례적으로 활성이 증가하였고, F 샘플 10,000 ppm에서

55.15%로 가장 높은 활성을 나타내었다. 이와 같이 다양한 균주를 이용한 발효물의 관능적 특성과 기능성을 검토함으로써 잡곡을 이용한 기능성 발효식품의 개발가능성을 제시하였다.

### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청(PJ009129) 및 강원웰빙특산물산업화지역혁신센터(B0009702)의 일부지원으로 수행한 연구 결과로 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

1. Korea Food & Drug Administration. 2011. *Food & drug statistical yearbook*. Available at <http://www.mfds.go.kr/index.do?pageNo=1&seq=13890&mid=97&cmd=v>.
2. Park KY. 2012. Increased health functionality of fermented foods. *Food Industry and Nutrition* 17(1): 1-8.
3. Jung YM, Lee HS, Lee DS, You MJ, Chung IK, Cheon WH, Kwon YS, Lee YJ, Ku SK. 2011. Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. *Nutr Res* 31: 387-396.
4. Lee YJ, Yoon BR, Choi HS, Lee BY. 2012. Effect of *Sargassum micracanthum* extract on lipid accumulation and reactive oxygen species (ROS) production during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Korean J Food Preserv* 19: 455-461.
5. Kim YE, Kwon EK, Han DS, Kim IH, Lee CH. 2007. Effects of green tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] extract on lipid metabolism in F1B golden syrian hamsters fed with the atherogenic diet. *Korean J Food Sci Technol* 39: 181-188.
6. Cho EK, Cho HE, Choi YJ. 2010. Inhibitory effects of angiotensin converting enzyme and  $\alpha$ -glucosidase, and alcohol metabolizing activity of fermented omija (*Schizandra chinensis* Baillon) beverage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 655-661.
7. Choi YJ, Kim, SW, Jang JK, Choi YJ, Park YS, Park H, Shim KS, Lee HS, Chung MS. 2009. Development of fermented functional onion juice using lactic acid bacteria. *Food Eng Prog* 13: 1-7.
8. Blandino A, Al-Aseeri ME, Pandiella SS, Cantero D, Webb C. 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res Int* 36: 527-543.
9. NoutMJ. 2009. Rich nutrition from the poorest—cereal fermentations in Africa and Asia. *Food Microbiol* 26: 685-692.
10. Kim DC, Choi JW, In MJ. 2011. Utilization of *Leuconostoc mesenteroides* 310-12 strain in the fermentation of a traditional Korean rice-based beverage. *J Appl Biol Chem* 54: 21-25.
11. Ko JY, Song SB, Lee JS, Kang JR, Seo MC, Oh BG, Kwak DY, Nam MH, Jeong HS, Woo KS. 2011. Changes in chemical components of foxtail millet, proso millet, and sorghum with germination. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1128-1135.
12. Sa YJ, Kim JS, Kim MO, Jeong HJ, Yu CY, Park DS, Kim MJ. 2010. Comparative study of electron donating ability, reducing power, antimicrobial activity and inhibition of  $\alpha$ -glucosidase by *Sorghum bicolor* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 42: 598-604.
13. Park SM, Choi YM, Kim YH, Ham HM, Jeong HS, Lee JS. 2011. Antioxidant content and activity in methanolic extracts from colored barley. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1043-1047.
14. Naczki M, Shahidi F. 2003. Phenolic compounds in plant foods: chemistry and health benefits. *Nutraceuticals & Food* 8: 200-218.
15. Lee YJ, Kim EO, Choi SW. 2011. Isolation and identification of antioxidant polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) seeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 517-524.
16. Lu Y, Foo LY. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem* 68: 81-85.
17. Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1310-1315.
18. Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44: 337-342.
19. Chung MS, Um HJ, Kim CK, Kim GH. 2007. Development of functional tea product using *Cirsium japonicum*. *Korean J Food Culture* 22: 261-265.
20. Tsao R. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2: 1231-1246.
21. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13: 572-584.
22. Williams RJ, Spencer JPE, Rice-Evans C. 2004. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? *Free Radical Biol Med* 36: 838-849.
23. Sohn HY, Ryu HY, Jang YJ, Jang HS, Park YM, Kim SY. 2008. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 36: 195-200.
24. Jeong CH, Jeong HR, Choi SG, Shim KH, Heo HJ. 2011. Neuronal cell protection and antioxidant activities of hot water extract from commercial buckwheat tea. *Korean J Food Preserv* 18: 358-365.
25. Jung HS, Noh KH, Cho HY, Park JY, Choi CY, Kwon TW, Song YS. 2003. Effect of buchu (*Allium tuberosum*) on lipid peroxidation and antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Life Sci* 13: 333-342.
26. Park YK, Lee WY, Ahn JK. 2006. Current review on the study of antioxidants development from forest resource. *Trends in Agriculture & Life Sciences* 4(1): 1-13.
27. Choi MJ, Kim HK, Lee MS. 2012. Vitamin E *in vivo* studies on the activity of antioxidant enzymes and CYP2E1 expression in high PUFA-treated brains. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1106-1111.
28. Seo CH, Lee MY, Kim JH, Lee JA, Shin HK. 2010. Simultaneous determination of seven compounds by HPLC-PDA and cytotoxicity of Samchulkunbi-tang. *Kor J Herbology* 25: 65-71.
29. Kim JM, Baek JM, Kim HS, Choe M. 2010. Antioxidative and anti-asthma effect of *Morus* bark water extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1263-1269.
30. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
31. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of

- a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
32. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
  33. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 16: 469-474.
  34. Kim JY, Yi YH. 2010. pH, acidity, color, amino acids, reducing sugar, total sugars, and alcohol in puffed millet powder containing millet *Takju* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 42: 727-732.
  35. Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP. 2011. Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with fructooligosaccharides on HepG2 cell. *Korean J Food Sci Technol* 43: 432-437.
  36. Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented *Citrus grandis* Osbeck peel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1310-1316.
  37. Bae MO, Kim HJ, Cha YS, Lee MK, Oh SH. 2009. Effects of kimchi lactic acid bacteria *Lactobacillus* sp. OPK2-59 with high GABA producing capacity on liver function improvement. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1499-1505.
  38. Canadanovic-Brunet JM, Djilas SM, Cetkovic GS, Tumbas VT. 2005. Free-radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) extracts. *J Sci Food Agric* 85: 265-272.
  39. Lee JH, Park AR, Choi DW, Kim JD, Kim JC, Ahn JH, Lee HY, Choe M, Choi KP, Shin IC, Park HJ. 2011. Analysis of chemical compositions and electron-donating ability of 4 Korean wild sannamuls. *Korean J Medicinal Crop* 19: 111-116.