

나) (천연식품소재)

전북권에서 재배되고 있는 천연식품소재로는 복분자, 블루베리, 꾸지뽕, 도라지, 더덕, 천마, 매실, 인삼 등이 있다. 그 중 꾸지뽕 열매와 복분자는 항당뇨 물질인 α-glucosidase inhibitor(AGI), 블루베리는 anthocyanin계 색소, 매실 및 복분자는 phenol류 화합물, 도라지는 saponin이 다량 함유되어 있다고 알려져 있다. 다양한 문헌을 참조한 천연식품소재에 대

한 효능을 요약한 결과는 Table 1과 같다. 소득수준의 향상과 건강의식의 확산으로 고기능 유용 바이오식품소재의 잠재수요는 매우 커지고 있다. 그러나 이러한 식품 소재의 경우 단순가공 수준을 크게 벗어나지 못하고 있기 때문에 발효를 통한 발효대사작용에 의한 다양한 기능성 소재의 발굴과 응용에 관심이 필요하다.

Table 1. 천연식품소재의 학명(성분) 및 효능

소재명	학명(성분)	효능
복분자	<i>Rubus coreanus</i> Miquel (Phenol 류)	항산화, 항당뇨
블루베리	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. (anthocyanin)	항산화효과, 항콜레스테롤, 항노화
꾸지뽕	<i>Cudrania tricuspidata</i> (flavonoides 등)	항산화, 항당뇨, 항암, 항고혈압
더덕	<i>Codonopsis lanceolata</i> (S. et Z.) TRAUTV (saponin)	천식, 자양가장, 항고혈압, 기관지 개선
삼채	<i>Allium hookeri</i> (유황, 칼슘)	콜레스테롤저하, 현진분해(혈행)개선, 당뇨 및 혈압저하, 항산화, 항염증
천년초	<i>Opuntia humifusa</i> (다당류)	항당뇨, 골다공증, 항아토피, 항염증
토마토	<i>Lycopersicon seculentum</i> miller	강경변증, 고혈압, 당뇨, 야맹증 예방
도라지	<i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.)A.DC. (saponin)	항콜린, 항암, 이뇨작용, 해독작용, 해열, 항고지혈증
인삼	<i>Panax ginseng</i> (Ginsenosides)	항콜레스테롤, 자양강장, 항암, 항당뇨, 항노화
천마	<i>Gastrodia elata</i> Blume (gastrodin)	항당뇨, 항고혈압, 두통, 마비, 신경성질환
뽕잎	<i>Morus species</i> (flavone, steroid)	항당뇨, 동맥경화예방, 중금속 흡착억제, 해독작용
오미자	<i>Schisandra chinensis</i>	항고혈압, 면역력강화, 폐기능 강화, 거담작용
매실	<i>Prunus mume</i> (Phenol 류)	항산화, 항암, 숙취, 항고지혈

Table 2. 천연추출물과 발효추출물 소재의 차이점

	천연추출물	발효천연추출물
공정	- 재료 및 성분에 따른 최적의 추출공정	- 천연물 추출공정을 시작으로 발효 관련 공정 - 발효 후 균체 제거 - 추출 또는 후 정제공정 등 약 5~10여개 공정으로 구성
성분	- 천연물에 이미 함유되어 있는 각종의 성분들	- 각종 천연물성분 + 전환효소의 작용에 의한 이들 성분들의 활성화 + 발효 균주에 의한 새로운 성분들의 생성
효능	- 식물에 존재하는 기능물질의 추출과 정제에 의한 효능 극대화(의약품)	- 분해효소의 작용에 의한 배당체물질에서 당을 제거하여 기능 향상 - 유해성분의 감소 (예: 알러지 성분 감소: 우 유와 콩 단백질의 알러지 성분이 요구르트와 청국장인 경우 없어짐) - 중금속, 농약 잔유물의 미생물 흡착에 의한 감소

다) (발효식품소재)

기존에 연구되었던 천연 식품천연추출물과 발효를 통한 발효천연추출물 소재의 차이점을 아래 Table 2에 나타내었다.

라) (발효미생물)

순창군 재단법인발효미생물산업진흥원에는 전통 발효식품으로 분리한 5,000여종의 발효미생물을 보유하고 있다. 이러한 발효미생물은 발효산업 적용을 위해 효소활성, 항균활성, 유용성분 생성, AGI활성, GABA 생성능, ornithine 생성능, 알콜 생성능, CLA 생성능, glutamine 생성능 등 다양한 유용물질을 생성하고 발효하는 균주들이다. 이러한 유용한 다양한 기능을 가지고 있는 발효미생물 자원을 이용하여 농특산물과 융합한 생물전환(발효)기술을 적용하면 다양한 기능성 물질을 생산할 수 있으며, 이러한 우수한 기능성 소재들은 식품산업의 반도체 역할을 수행할 수 있을 것이다.

마) (기능성 식품 개발)

복합만성질환이환자는 여러 가지 처방약을 복용하기 때문에 의약품 부작용의 발생 위험이 높아 안전한 식품 소재를 통한 노인의 만성질환 예방 및 완화가 필요하며 이의 예방 및 치료에 대한 맞춤형 기능성 식품의 수요가 증가하고 있음

- 미국의 기능성식품 연구는 의약품 대체 효과를 기대하는 소비자 맞춤형 제품개발로, 예를 들어 남성용 · 여성용 phytoestrogen 제품, 에너지바, 음료 등 특정 소비자층을 겨냥하고 있으며 일본의 경우 기능성식품이 식생활에 있어서 특정의 보건목적에 기대할 수 있다는 뜻의 특정보건용식품이라는 용어를 써서 개발되고 있다.
- 소비자 Needs의 진화와 다양화로 건강 유지 및 치료를 위한 방법으로 약보다 보조제 형식의 건강기능식품, 기능성 강화식품 또는 기능성식품 자체에 대한 요구도가 증가하고 있다.

- 국내의 노인성 만성질환의 예방 및 개선을 위한 건강기능식품이 계속 연구 개발되고 있으나 현재 건강기능식품 원료의 95%이상이 수입 원료로 생산되고 있어 국내산 원료 개발을 통해 Global marketing을 추진할 기능성 식품의 신소재 개발과 더불어 원료 제형화 원천기술 확보가 필요하다.

나. 본 투고에서는 전통발효식품으로부터 종균으로 활용가능한 유산균, 초산균, 바실러스, 효모 균주의 선발결과와 선발된 균주를 이용하여 기능성이 밝혀진 농특산물을 이용한 발효를 통하여 초절임 식품의 천연조미액을 개발하기 위해 발효액의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 항산화 활성, AGI(항당뇨)활성의 변화를 살펴보았다. 결론적으로 발효를 통한 고부가가치화 소재와 각종 화학적 첨가물을 대체할 수 있는 천연발효소재의 산업적 활용가능성에 대해 소개하고자 하였다.

II. 본 론

가. 유용균주의 선발

1) 초산균주의 선발

막걸리 26종, 전통발효식초 6종로부터 acetobacter의 선택배지인 GYEC 배지(3% 에탄올 함유)를 이용하여 초산 생성균주로 추정되는 48개의 집락을 1차로 선발하였다(Fig. 1). 선발 48균주들을 16S rRNA 유전자 염기 서열 분석에 의한 동정 결과, 모두 acetobacter 속으로 동정되었다(Fig. 2) 선발된 48개 균주를 16S-rRNA 유전자 염기서열 분석 방법에 따라 동정 결과 *Acetobacter indonesiensis*가 19종으로 가장 많았으며, *A. cerevisiae* 9종, *A. orientalis* 7종, *A. tropicalis* 7종, *A. fabarum* 3종, *A. pasteurianus* 2종 및 *A. syzygii* 1종으로 동정되었다.



Fig. 1. Clear zone of colonies in the GYEC medium with 20% ethanol. Blue circle, strain without 20% ethanol tolerance; red circle, strain with 20% ethanol tolerance.

양조식초 발효에 실질적으로 적용할 수 있는 에탄올 내성균을 선발하기 위하여 48 균주들 중 2차로 총산도가 높았던 13 균주를 골라 GYE 고체 배지에 에탄올을 각각 10%, 12%, 15%, 20% 첨가한 뒤 배양하여 투명한 비율을 정량하였다. 이들 중 20% 에탄올에 내성을 지닌 균주는 배양 결과 SCMA05, SCMA06, SCMA17, SCMA39, SCMA40의 5종이었다 (Fig. 1). 그러나 선발 균주들의 액체 배양에서는 에탄올이 15% 이상이 함유된 배지에서 증식이 저해되었기 때문에, 10% 에탄올이 첨가된 GYE 액체 배양액에서 초산 생성능을 비교하였다. 이들 중 초산 생성능은 SCMA05와 SCMA06 균주가 6.18% 및 6.83%로 다른 균주들에 비해 약 1.5-6배 더 높았으며, 에탄올로부터 초산 전환율(에탄올 1 mol에서 초산 1 mol이 생성될 때 이론적 전환율은 100%)은 각각 47.4%와 52.4%였다. 상업적 과일주 제조는 일반적으로 과육 껍질에 존재하는 효모나 잡균을 아황산염($K_2S_2O_5$ 또는 $Na_2S_2O_5$)으로 제거한 뒤 스타터를 첨가하여 발효하며, 이 아황산염은 최종 숙성 제품에서도 잔류한다. 과일주로 제조하는 식초 제조의 경우 아황산염에 내성이 있는 초산균주가 필요하여 13 균주를 대상으로 potassium metabisulfite를 350 mg/L를 첨가한 GYE 고체 배지에 배양하였다. 그 결과 13 균주 모두 아황산염에 저항을 보여 아황산염

첨가된 과일주에서도 이들 초산균은 생존할 수 있을 것으로 보인다(Fig. 2).

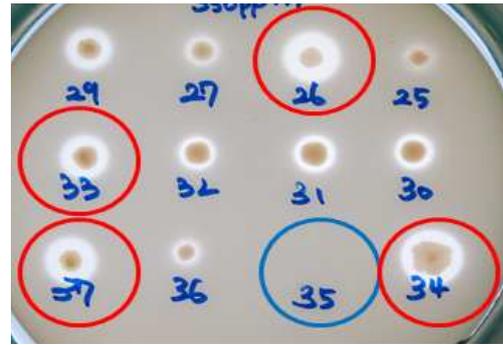


Fig. 2. Clear zone of colonies in the GYEC medium with 350 ppm potassium metabisulfite. Blue circle, strain without 350 ppm potassium metabisulfite tolerance; red circle, strain with 350 ppm potassium metabisulfite tolerance.

양조식초 제조에 적합한 초산균의 선발기준은 초산 생산량이 많고, ethanol에 내성이 강하고, 아황산염에 내성이 강한 균주를 기본으로 하여, SCMA3 (*Acetobacter tropicalis*), SCMA5 (*Acetobacter pasteurianus*), SCMA6 (*Acetobacter pasteurianus*), SCMA16 (*Acetobacter tropicalis*), SCMA18 (*Acetobacter tropicalis*), SCMA19 (*Acetobacter tropicalis*) 균주, 총 6종의 균주를 선발할 수 있었다(Table 1).

2) AGI활성 균주의 선발

각각의 균주들의 AGI (α -glucosidase inhibitory) 저해능을 측정한 결과는 표 3과 같았다. AGI 저해능이 20% 이상인 균주는 총 33종이 선발되었으며, *Bacillus licheniformis* 10종, *Aspergillus oryzae* 4종, 효모 6종, 유산균 13종으로 확인되었다. 선발된 유산균은 추가 실험을 시행하여 향후 기능성 발효액 제조에 사용하고자 하였다.

3) Protease활성 균주의 선발

각각의 균주들을 skim milk가 첨가된 배지에 접종

Table 1. Experimental data on the ethanol tolerance, acetic acid content, total acidity, and potassium metabisulfite tolerance of the acetic acid bacteria isolated from traditional fermented food

No.	Ethanol tolerance (halo size/colony size, cm)				Acetic acid content(%)	Total acidity(%)	Potassium metabisulfite tolerance (halo size/colony size, cm)
	10%	12%	15%	20%			
SCMA01	1.65	1.50	1.20	1.70	1.40	1.58	1.89
SCMA02	1.55	1.80	1.70	1.95	2.00	2.21	1.60
SCMA03	1.73	2.00	2.05	1.95	3.95	5.10	1.47
SCMA05	1.46	1.78	2.00	2.29	6.18	7.56	1.72
SCMA06	1.50	2.30	2.05	2.70	6.83	8.88	2.08
SCMA16	1.52	2.00	1.74	2.00	4.55	5.92	1.88
SCMA17	1.45	1.50	2.00	2.15	3.90	5.04	1.51
SCMA18	1.56	1.74	1.74	1.72	4.12	5.36	2.23
SCMA19	1.40	1.57	1.95	2.00	4.28	4.98	1.93
SCMA23	1.12	2.15	1.96	1.95	3.57	4.79	1.73
SCMA38	1.33	1.50	1.27	1.20	1.13	1.45	2.09
SCMA39	2.74	2.40	2.11	2.48	2.05	2.84	2.07
SCMA40	2.37	2.20	2.25	2.73	1.92	2.77	1.51
SCMA47	2.69	2.17	2.00	2.80	-	0.88	1.81
SCMA53	2.86	2.14	2.43	2.67	-	0.19	

하여 배양한 후 콜로니 주변의 투명환의 형성으로 효소활성 여부를 확인한 결과, 총 80 종의 세균과, 44 종의 효모에서 protease활성을 확인하였다

4) Cellulase활성 균주의 선발

각각의 균주들을 carboxymethylcellulose(CMC)와 0.02% trypane blue가 첨가된 배지에 접종하여 배양한 후 콜로니 주변의 투명환의 형성으로 효소활성 여부를 확인한 결과, 총 110 종의 세균과, 10종의 유산균, 48종의 효모에서 cellulase활성을 확인하였다

5) 알콜 생성효모의 선발

복분자 과실 발효 와인으로부터 토종과실의 효과적인 발효를 위한 토종 발효 효모 약 200균주를 분리하였다. 분리된 약 200균주의 토종 발효 효모에 대한 알콜을 생성능을 GC/FID로 분석한 결과, 약

200여개의 균주 중 79개 균주에서 15%이상의 알콜을 생성량을 보였으며 31개의 균주는 알콜 발효 후에 20% 이상의 알콜을 생산하는 것으로 분석되었다. 그 결과 최종적으로 약 20%이상의 고알콜을 생산하는 17개의 균주를 선별하여 16s rRNA 염기서열 분석을 통해 동정하였다

나. 향토자원을 이용한 발효 조미 소재의 개발

가) 균주 종류별 발효 조건

(가) 초산 세균

사엽 1차년도에 꾸지뽕 열매, 도라지, 복분자, 매실, 블루베리 열매로 선발된 초산 세균인 *Acetobacter pasteurianus* SCMA5 균주와 *Acetobacter pasteurianus* SCMA6 균주를 배양조건을 각각 다르게 하여 배양한 후 pH를 측정하여 배양조건을 확인하였다.

(1) (영양원의 영향) 최종선발된 두 균주 모두 배지농도를 달리한 배양액은 도라지와 꾸지뽕의 경우 1~10% 배지에서 pH 감소변화가 거의 없었고 복분자는 10%배지가 1%배지에 비해 pH가 조금 더 감소했음을 확인하였다. 도라지와 꾸지뽕은 1%의 농도로도 초산 세균 증식에 충분한 영양분을 공급할 수 있는 것에 비해 복분자는 10%의 농도에서 pH의 감소가 가장 컸다. 매실에서는 초산균이 잘 증식하지 않았고, 산 생성능 역시 현저히 낮았다. 블루베리는 블루베리 40%와 50%를 첨가하였을때 초산균도 잘 증식하고 산도도 높게 나타났다.

(2) (배양온도의 영향) 배양온도를 달리한 배양액은 도라지, 꾸지뽕, 복분자 모두 25℃에서 배양한 배양액이 pH가 가장 크게 감소하여 적정 배양온도가 25℃임을 알 수 있었다

(3) (ethanol의 영향) 초산 생성에 영향을 미치는 ethanol의 첨가농도에 따른 배양액의 변화를 확인한 결과, 3가지 향토자원에서 사용한 3종의 초산균 모두 5%농도의 ethanol을 첨가하였을 때 가장 pH감소폭이 컸으며, ethanol농도가 높아질수록 pH감소폭 역시 작아 높은 농도의 ethanol로 인하여 균의 성장이 저해 받았음을 추측할 수 있었다. 블루베리에서는 에탄올의 농도를 5%, 10%, 20%로 달리하여 산 생성능을 살펴본 결과, 5% 첨가에서 가장 높게 나타났다. 오히려 에탄올의 농도가 높으면 초산균이 증식 저해를 받는 것으로 사료된다.

(4) (발효시간의 영향) 확립된 최적발효조건으로 향토자원을 배양하여, 발효시간별(0, 24, 48, 72시간)로 pH 변화를 확인하였다. 통상적으로 72시간을 배양하는 초산균의 특성상 꾸지뽕, 도라지, 복분자 모두 발효 24시간 후에도 pH의 감소가 크지는 않았으나, 발효 48시간 후에는 도라지 발효액에서는 pH가 3.6~3.7 까지 감소하여 배양이 완료된 발효 72시간 후에는 pH가 3.2~3.3까지 감소하였음을 확인하였다. 꾸지뽕과 복분자도 발효 24시간에는 pH감소가 크지 않으나, 발효 48시간에 pH가 4.0까지 감소하고 발효

72시간에는 꾸지뽕은 도라지와 비슷한 pH 3.3~3.4, 복분자는 다소 높은 pH 3.6정도까지 감소함을 알 수 있었다. 위의 발효조건을 기준으로 144시간 까지 블루베리를 이용하여 초산균 배양을 실시한 결과, 초산균을 배양하여 접종함과 동시에 0시간에서 산도가 조금 증가하지만 발효초반인 24, 48시간에는 산도가 2를 넘지 못하였고, 72시간에 크게 증가하여 96시간부터 산도가 3을 넘었고 144시간까지도 산도 값이 조금씩 더 증가함을 확인하였다(Fig 3).

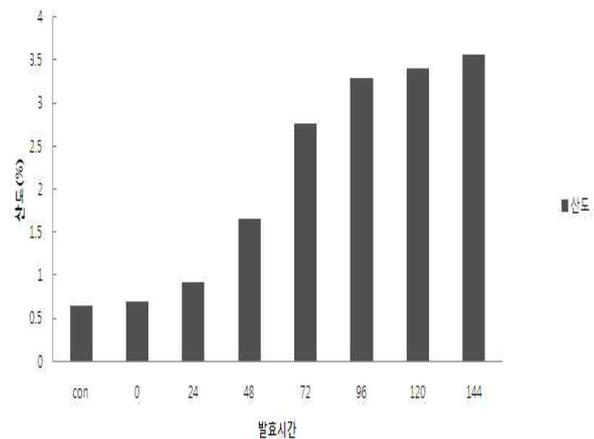


Fig 3. 발효시간에 따른 블루베리 초산 발효액의 산도 변화

(나) 유산균

(균주의 선발) 10% 도라지, 꾸지뽕, 복분자 배지에 유산균을 배양하여 배양액의 pH를 측정하여 pH 감소값을 확인한 결과, 복분자에서는 다른 향토자원에 비해 배양액의 pH크게 감소하지는 않았으나 그 중에서 *Lactobacillus plantarum* SRCM100320균주 배양액이 가장 낮은 pH를 나타내었고, 꾸지뽕과 도라지에서는 *Lactobacillus plantarum* SRCM100309번에 비해 다른 두 균주의 배양액이 pH가 많이 감소하였다. 또한 배양 24시간과 48시간의 pH차이가 크지 않았다. 위의 결과를 토대로 향후 조미소재 발효액 제조에 사용할 균주를 *Lactobacillus plantarum* SRCM 100320으로 확정하였다.

선발된 유산균 *Lactobacillus plantarum* SRCM 100320은 배양조건을 각각 다르게 하여 배양한 후 pH를 측정하여 최적배양조건을 확인하고자 하였다.

(1) (영양원의 영향) 향토자원별로 첨가농도를 달리한 배양액은 모든 향토자원 배지에서 1~10%에서 배양액의 pH 차이가 거의 없는 것으로 보아 1%의 첨가농도에서도 충분한 유산균의 배양이 가능함을 알 수 있었다. 블루베리는 50%를 첨가할 경우에 산 생성능이 가장 좋았다.

(2) (배양 온도의 영향) 배양 온도에서는 30°C에서 배양 후 배양액의 pH가 가장 많이 감소하였다.

(3) (당의 영향) 유산균의 생육에 필요한 당을 달리하여 배양조건을 확인한 실험에서는 향토자원 10%배지 보당 무처리구, 향토자원 10%배지를 glucose를 사용하여 MRS 배지의 당도와 같은 6 brix와 10 brix로 보당한 구간 등으로 나누어 실험한 결과, 배양 후 배양액의 pH차이가 크지 않은 것으로 보아 별도의 당을 첨가하지 않고 향토자원(꾸지뽕, 도라지, 블루베리) 10%만 첨가한 당만으로도 충분한 배양이 가능함을 확인하였다. 블루베리는 당도가 7 brix일때 산 생성능이 가장 좋았다. 블루베리를 이용한 초산발효액의 경우는 당의 농도 7 brix 정도가 유산균이 가장 잘 생육하였으며 그 이상의 당 농도의 증가는 산 생성에 유의적 차이를 보이지 않았다.

(4) (종균의 접종량의 영향) 블루베리를 첨가한 배지에 종균을 1%, 5%, 10% 접종하였을 때 5%와 10%를 접종한 발효구가 1% 접종한 발효구보다 산 생성능이 유의적 차이로 좋았다.

(5) 결론적으로 3가지 향토자원 자원인 꾸지뽕 열매, 도라지, 블루베리 열매를 1% 이상만 첨가하고 별도의 당을 첨가하지 않더라도 유산균의 증식이 가능하였고, 배양 온도는 30°C가 최적임을 확인하였다.

(6) (발효시간의 영향) 위 확립된 발효조건으로 1% 향토자원을 첨가한 배지를 제조하여 멸균한 뒤 균주를 접종하고 30°C에서 24시간 배양하여, 발효시

간별(0, 12, 24시간)로 pH 변화를 확인하였다. 도라지의 경우 배양 12시간에 pH가 3.8까지 감소하였고 24시간에도 큰 차이를 보이지 않았다. 꾸지뽕과 복분자 배지 역시 12시간에서 pH 3.8, pH 4.0까지 감소하였고, 배양 24시간에는 pH 3.7, pH 3.8로 감소하였다. 3종의 향토자원 모두에서 12시간 배양만으로도 유산균이 성장하여 산을 생성하였고, 24시간에는 pH가 더 낮아짐을 확인하였다. 위의 발효조건을 기준으로 48시간 까지 블루베리를 이용하여 유산균 배양을 실시한 결과, 24시간에서 산도가 가장 높게 증가하였고 그 이후 48시간까지 유지되었다(Fig 4).

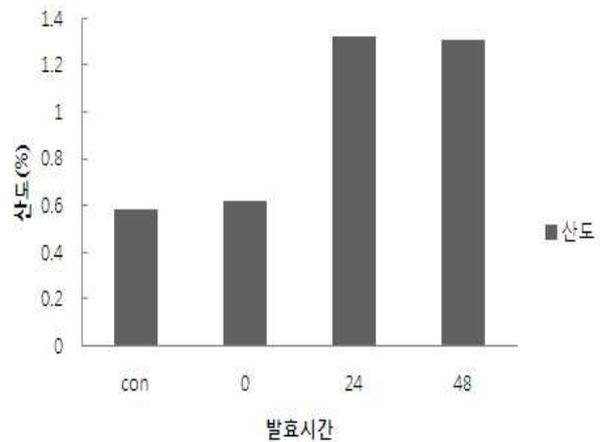


Fig. 4. 발효시간에 따른 블루베리 유산 발효액의 산도 변화

나) 초절임 식품의 천연발효조미액 개발

(1) (향토자원의 종류) 상기 선발한 초산균, 유산균과 확립한 발효조건을 이용하여 꾸지뽕 열매, 도라지, 복분자, 블루베리 열매의 발효액을 제조한 후 관능평가 및 물성평가를 실시한 결과, 꾸지뽕과 도라지가 가장 높은 점수를 획득하여 초절임 식품 천연조미액으로 가장 적절함을 확인하였다.

(2) (종균의 선정) 또한 초절임 식품의 조미액 개발에 사용할 균주로는 꾸지뽕발효액의 경우 *Acetobacter pasteurianus* SCMA6 균주, 도라지 발효액의 경우 *Lactobacillus plantarum* SRCM100320 가 각각 적절

함을 확인하였다.

(3) (영양원의 농도) 도라지는 물성 측정결과, 10%의 함량이 가장 적합하였고, 꾸지뽕 열매는 도라지에 비해 물성의 영향을 크게 받지 않아 균주를 접종하였을 때 균주의 생육이 저해 받지 않을 정도의 농도인 40%로 최종 설정하였다.

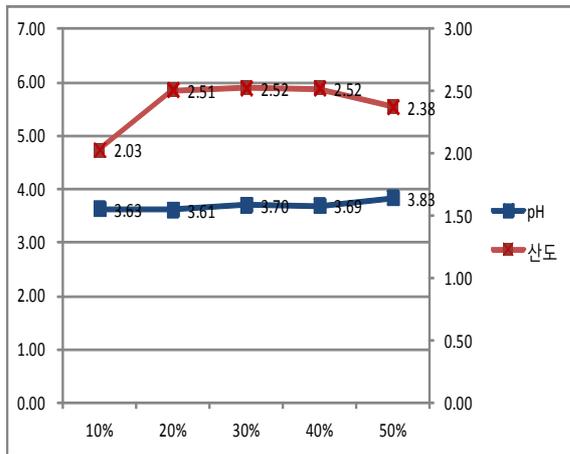


Fig 5. 꾸지뽕 열매 첨가농도에 따른 발효액의 pH, 산도의 변화

다) 개발제품(발효액)의 특성 분석

(1) 총 폴리페놀의 함량

페놀화합물은 식물계에서 널리 분포되어 있는 대표적인 식물체 유래의 대사산물 중 하나임. 이들 물질은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 세포에 산화를 유발시키는 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 효과를 부여하는 등의 생리활성을 가지는 주요 기능성 물질이다 본 연구에서는 대표적인 polyphenol성 물질인 gallic acid를 기준으로 하여 추출물 중의 polyphenol성 물질의 총 함량을 알아보려고 하였다.

복분자, 꾸지뽕, 도라지를 1% 함유하고 유산균을 접종한 발효액의 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 배양 12시간 후 복분자와 도라지 발효액은 균을 접종하지 않은 대조구의 폴리페놀 함량(12.59, 16.17 mg/L)보다 유산균을 접종한 발효구(19, 19.92 mg/L)

가 조금 높은 함량을 나타내었으며, 3가지 향토자원 중에서는 복분자 발효액과 도라지 발효액이 각각 17.12~20.72 mg/L와 16.88~19.92 mg/L의 함량을 나타내었다(Table 2).

복분자, 꾸지뽕 도라지를 1% 함유하고 초산균을 접종한 발효액의 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 초산균을 접종한 발효액은 발효 전 대조구와 함량면에서 유의적 차이를 보이지 않았으며, 발효가 진행됨에 따라 총 폴리페놀 함량의 변화는 보이지 않았다(Table 2).

본 연구개발에서는 참여기업의 전반적인 상황과 관능 등 분석결과를 반영하여 도라지와 꾸지뽕 열매는 유산균 발효를 통한 천연 조미소재를 제조하는 것으로 결정하였다. 도라지 유산균 발효액은 대조구에 비하여 유산균을 접종한 발효구에서 더 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으며, 발효시간에 따라 12시간까지는 142.38 mg/L로 높아지다가 24시간에는 128.19 mg/L로 소량 낮아지는 경향을 보였다. 꾸지뽕 열매 유산균 발효액은 대조구에 비해 총 폴리페놀 함량이 낮게 나타났으며, 발효가 진행될수록 낮아지는 경향을 나타내었다. 그러나 발효전과 발효후에 값의 차이는 유의적 차이를 보이지 않았다 (Fig. 6).

블루베리 초산균 발효액(A)과 유산균 발효액(B)은 발효전에 비해 발효후에 총 폴리페놀 함량이 증가하였다(Fig. 7). 그러나 positive control에 비해서는 매우 낮은 함량을 나타내었다. 유산균 발효액이 초산균 발효액에 비해 활성이 높게 나타났다.

이러한 결과는 추가적인 연구를 통하여 대사산물 규명과 대사경로를 탐구할 필요성이 있다.

(2) 총 플라보노이드의 함량

예비시험에서 꾸지뽕 열매, 도라지, 복분자, 블루베리 유산균발효액은 유산균을 접종하지 않은 대조구에 비해 플라보이드 함량이 높아지는 결과를 보였다. 특히 4가지 자원 중 도라지 발효물이 가장 높

Table 2. 천연조미 소재 발효액의 시간에 따른 폴리페놀 함량

발효시간	도라지		발효시간	꾸지뽕	
	control	유산균 발효액		control	초산균 발효액
0hr	118.54	140.54	0hr	132.62	130.24
12hr	89.28	142.38	24hr	327.89	128.72
24hr	90.87	128.19	48hr	322.67	123.86
			72hr	289.89	112.12

unit : mg/L

토코페롤(1%) : 155.77 mg/L

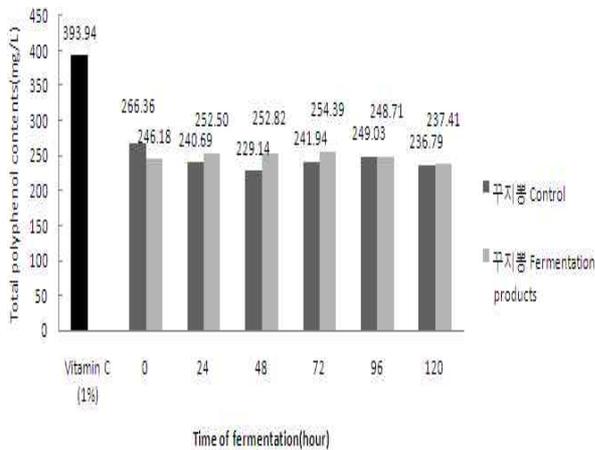


Fig. 6. 꾸지뽕 열매 유산균 발효액의 총 폴리페놀 함량의 변화

은 함량을 나타내었다.

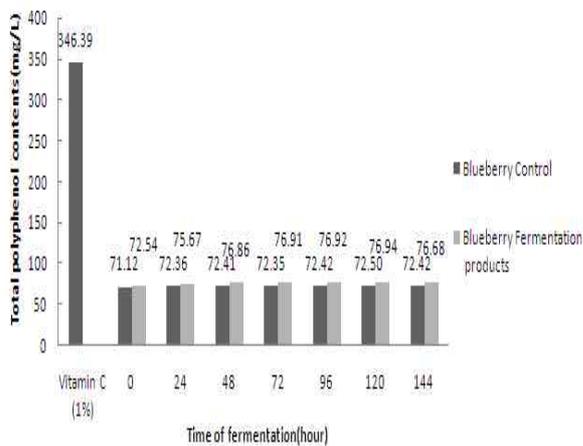
초산균을 접종한 발효액의 플라보노이드 함량을 측정된 결과도 역시 도라지 발효물이 가장 높은 함량을 나타내었다.

블루베리 초산균 발효액(A)과 유산균 발효액(B)은 발효전에 비해 발효후에 총 플라보노이드 함량이 증가하였다(Fig. 8). 그러나 positive control에 비해서는 매우 낮은 함량을 나타내었다. 유산균 발효액이 초산균 발효액에 비해 활성이 높게 나타났다.

(3) DPPH radical 소거능 활성화

DPPH radical은 아스코르브산 및 토코페롤,

(A) 초산균 발효액



(B) 유산균 발효액

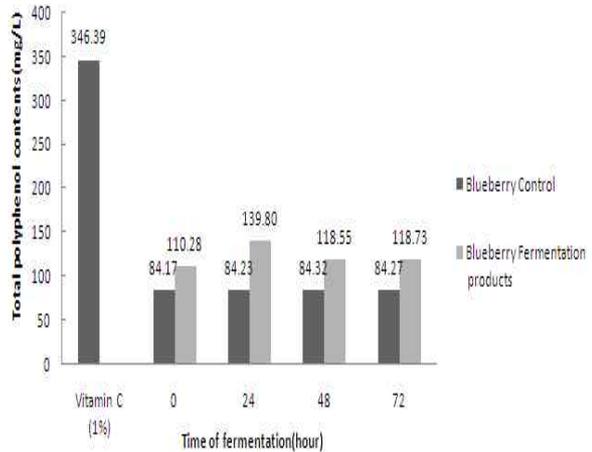


Fig. 7. 블루베리 발효액의 총 폴리페놀 함량의 변화

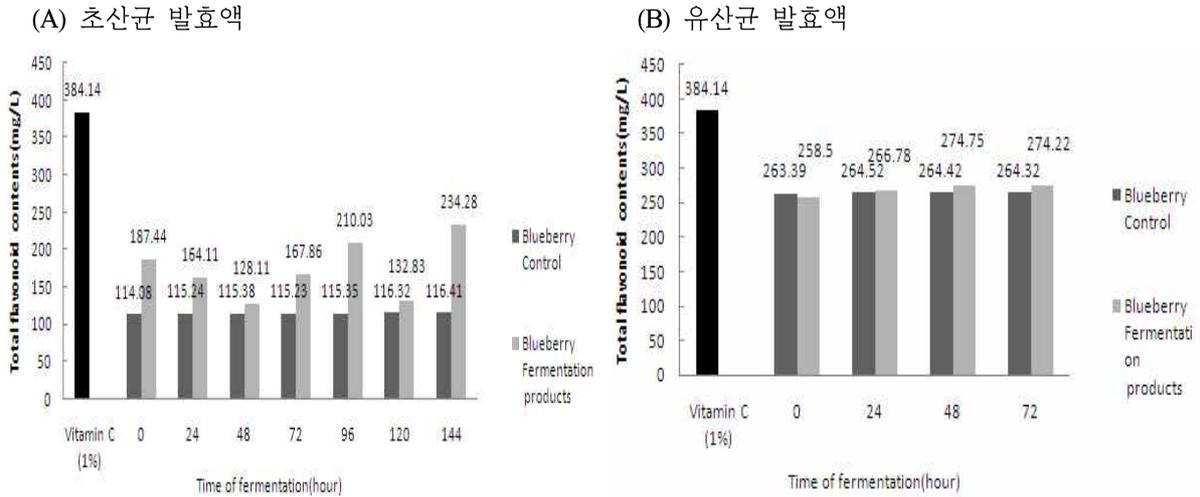


Fig. 8. 블루베리 발효액의 총 플라보노이드 함량의 변화

polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 환원되어 안정한 분자를 형성하게 될 때, 보라색이 탈색되어지는 원리를 이용하여 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 탐색하기 위해 많이 이용되고 있으며, 비교적 짧은 시간 내에 간단하게 항산화능을 측정할 수 있어 널리 사용되고 있는 방법이다.

최종 선정된 도라지 유산균 발효액은 발효시간이 지남에 따라 증가되는 경향을 보이긴 했지만 균주를 접종하지 않은 대조구에 비해 낮은 활성을 나타내었다(Fig 9). 그러나 꾸지뽕 열매 유산균 발효액은

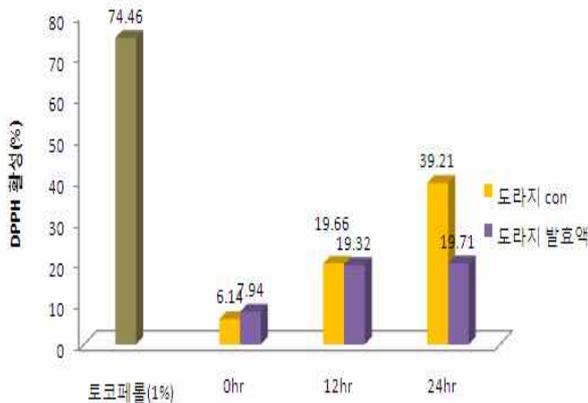


Fig 9. 도라지 발효액의 DPPH 라디칼 소거활성

시간의 경과와 함께 높은 활성을 나타냈었다. 40%(v/v) 꾸지뽕 유산균 발효액의 DPPH 라디칼 소거활성은 Fig. 10에 나타내었다. 유산균 발효액은 시간이 지남에 따라 DPPH radical 활성이 증가하였다. 유산균주를 접종하지 않은 대조구에 비해 높은 활성(53.02±0.78%)을 나타내었다. 블루베리를 초산균과 유산균으로 발효한 발효액의 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 11과 같다.

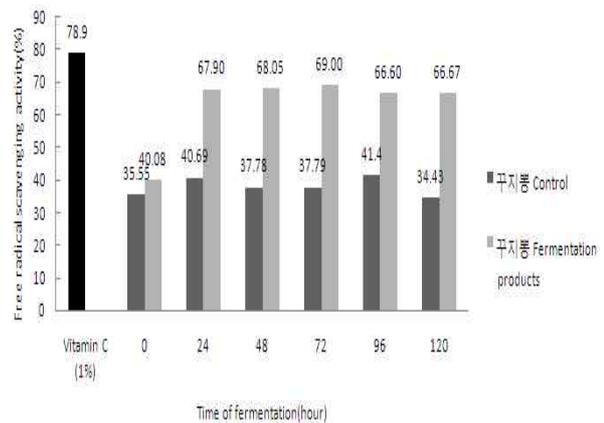


Fig. 10. 꾸지뽕 유산균 발효액의 DPPH 라디칼 소거활성

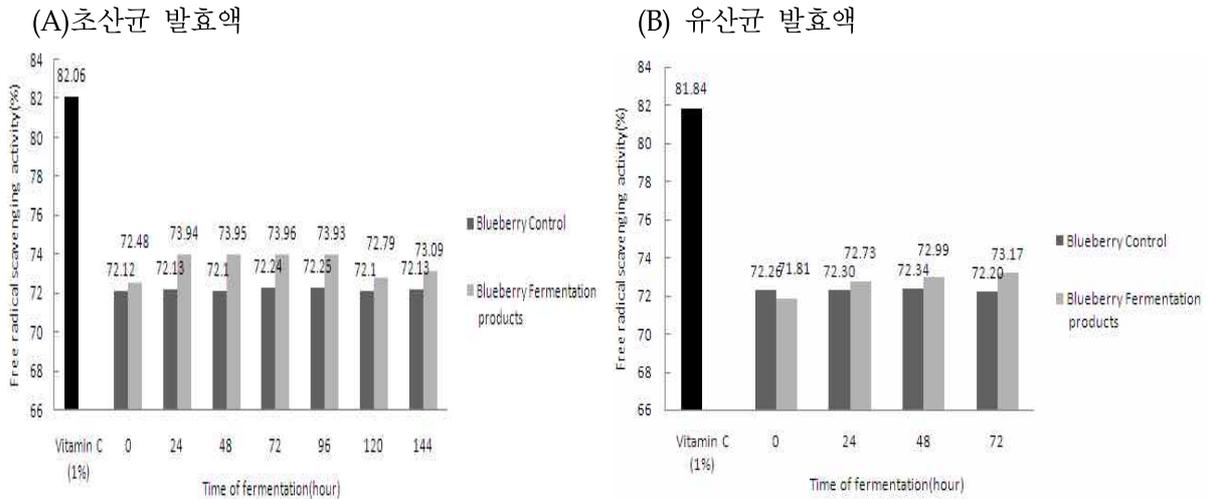


Fig. 11. 블루베리 발효액의 항산화 활성의 변화

(2) α -Glucosidase inhibition (AGI) 활성

α -Glucosidase는 α -amylase에 의해 분해된 당질을 최종적인 단당류로 전환시킨다. 이러한 효소의 활성 저해는 당질 가수분해와 흡수과정을 지연시킴으로 식후 당 농도를 제한한다고 보고되고 있다. 또한 α -glucosidase 저해제는 제2형 당뇨와 같은 당질 관련 질병을 위한 치료제 개발에 유용하다고 제시하고 있다.

최종 선정된 도라지 유산균 발효액의 α -Glucosidase 저해활성은 Fig 12와 같다. 도라지 발효액의 AGI활

성은 발효시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 나타내었고, 균주를 접종하지 않은 대조구에 비해 균주를 접종한 발효액이 더 높은 활성을 나타내었다.

본 연구에서는 최종 선정된 40%(v/v) 꾸지뽕 열매 초산 발효액의 α -Glucosidase 저해능을 Fig. 12-1에 나타내었다. Positive control로 사용된 acarbose는 $75.31 \pm 1.22\%$ 의 저해능을 나타냈으며, 꾸지뽕 초산 발효액은 발효시간이 지남에 따라 저해능은 높아져 72시간 발효 후엔 $91.40 \pm 2.43\%$ 의 저해능을 나타내

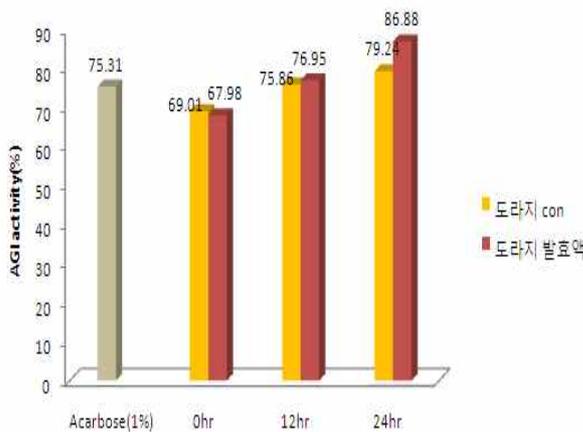


Fig 12. 도라지 발효액의 α -Glucosidase 저해활성

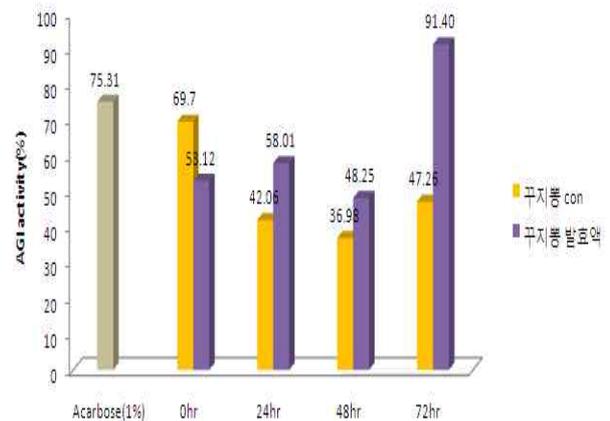


Fig 12-1. 꾸지뽕 초산균 발효액의 α -Glucosidase 저해활성

었다. 꾸지뽕 열매 유산균 발효액의 AGI활성은 Fig. 12-2에 나타내었다. 유산균 발효액은 발효시간이 증가함에 따라 활성이 증가하였으며, 20시간 후에 positive control(arcabose 0.5%)에 근접한 수준으로 활성이 증가하였다. 블루베리를 초산균과 유산균으로 발효한 발효액의 AGI활성을 측정한 결과는 Fig. 13과 같다. 블루베리 발효액의 경우 positive control (arcabose 0.5%)과 비슷한 수준의 활성을 보였다.

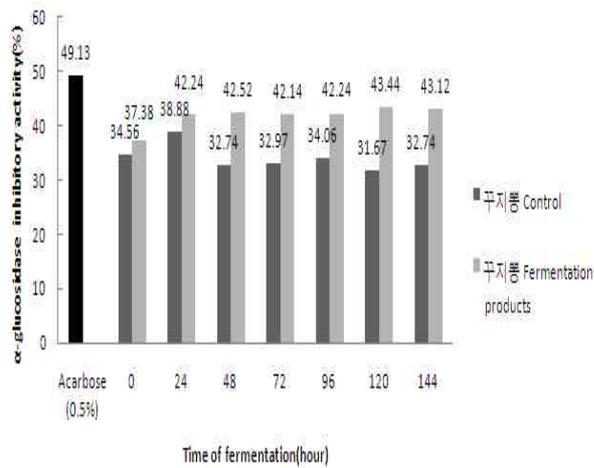


Fig 12-2. 꾸지뽕 유산균 발효액의 α -Glucosidase 저해활성

라) 제품 개발(쌈무)

- 발효를 통하여 천연조미소재를 개발하여 이를 합성보존료를 대체한 고부가가치 절임제품(쌈무)의 시작품 개발

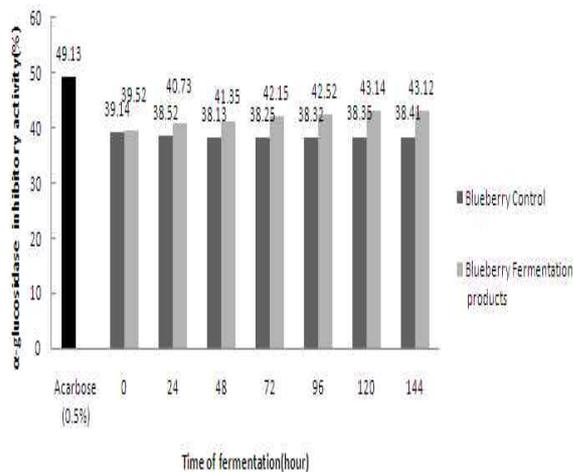


<레몬, 블루베리, 비트, 꾸지뽕 조미 쌈무 전시>



<비트 조미 쌈무>

(A) 초산균 발효액



(B) 유산균 발효액

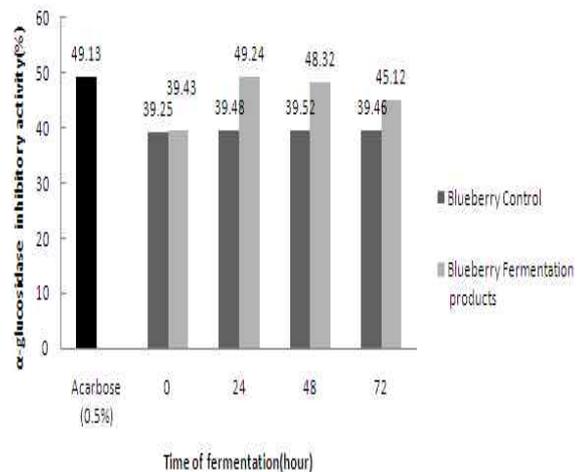


Fig. 13. 블루베리 발효액의 AGI 활성의 변화



<도라지 발효액 조미 쌈무>



<꾸지뽕열매 발효액 조미 쌈무>

I. 결 론

향토자원(꾸지뽕 열매, 도라지, 복분자, 매실, 블루베리)의 부가가치를 증대하기 위해 초절임 식품 조미액을 개발하기 위해 유산균과 초산균으로 발효한 발효액의 pH, 산생성능, 향상화 활성, AGI활성을 분석한 결과, 초절임 식품의 천연조미액으로 사용가능함을 검증하였다. 그러나 천연조미액을 상품화하기 위해서는 기술개발 외에 제조원가의 상승이라는 걸림돌이 존재하기 때문에 이를 극복하기 위한 추가적인 방안 연구뿐만 아니라, 발효과정 동안에 어떠한 대사작용에 의해 향산화, AGI활성능 등이 상승하는지에 대한 보다 명확한 규명이 필요하다.

향토 농특산자원은 매우 다양하고 이러한 자원들의 유용물질을 찾아내는 기술로 발효는 매우 유용하지만 시간과 비용이 많이 소요되기 때문에 이를 극복하기 위한 보다 효율적인 연구방법에 대한 프로토콜의 개발도 절실하다. 향후에도 기능성이 밝혀진 다양한 향토 농특산자원의 발효를 통하여 다양한 기능성 물질(소재)을 발굴하여 이를 다양한 산업분야에 활용한다면 고부가가치 산업 창출에 크게 기여할 수 있을 것이다.

IV. 참 고 문 헌

1. Sengun IY, Karabiyikli S (2011) Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control, 22, 647-656
2. Raspor P, Goranovic D (2008) Biotechnological applications of acetic acid bacteria. Crit Rev Biotechnol, 28, 101-124
3. González Á, Mas A (2011) Differentiation of acetic acid bacteria based on sequence analysis of 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences. Int J Food Microbiol, 147, 217-222
4. Park MH, Lee JO, Lee JY, Yu SJ, Ko YJ Kim YH, Ryu CH (2005) Isolation and characteristics of acetic acid bacteria for persimmon vinegar fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr, 34, 1251-1257
5. Kang SK, Jang MJ, Kim YD (2006) Isolation and culture conditions of Acetobacter sp. for the production of citron (citrus junos) vinegar. Korean J Food Preserv, 13, 357-362
6. Han WC, Ji SH, Surh J, Kim MH, Lee JC, Jang KH (2010) Characterization of vinegar using rubus crataegifolius and rosa rugosa thunb. J East Asian

- Soc Dietary Life, 20, 582-588
7. Kang BH, Shin EJ, Lee SH, Lee DS, Hur SS, Shin KS, Kim SH, Son SM, Lee JM (2011) Optimization of the acetic acid fermentation condition of apple juice. Korean J Food Preserv, 18, 980-985
 8. Mo HW, Jung YH, Jeong JS, Choi KH, Choi SW, Park CS, Choi MA, Kim ML, Kim MS (2013) Quality characteristics of vinegar fermented using omija (*Schizandra chinensis* Baillon). J Korean Soc Food Sci Nutr, 42, 441-449
 9. Yi MR, Hwang JH, Oh YS, Oh HJ, Lim SB (2014) Quality characteristics and antioxidant activity of immature citrus unshiu vinegar. J Korean Soc Food Sci Nutr, 43, 250-257
 10. Matsutani M, Hirakawa H, Yakushi T, Matsushita K (2010) Genome-wide phylogenetic analysis of *Gluconobacter*, *Acetobacter*, and *Gluconacetobacter*. FEMS Microbiol Lett, 315, 122-128
 11. Son HU, Lee SH (2013) Comparison of α -glucosidase inhibition by *Cudrania tricuspidata* according to harvesting time. Biomed Rep, 1, 624-628
 12. Lee EG, Yun HJ, Lee SI, Yoo WH (2010) Ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* inhibits IL-1 β -stimulated osteoclast differentiation through downregulation of MAPKs, c-Fos and NFATc1. Korean J Intern Med, 25, 93-100
 13. Kim MS, Kim IA, Ko YJ, Jeong JA, Kim JE, Song BJ, Lim WB, Lim HS, Park JI, Kim SY, Choi HR, Kim OJ (2009) Methanol extract of leaves from *Cudrania tricuspidata* effects in HT-29 colorectal adenocarcinoma. Korean J Oral maxillofac Pathol, 33, 19-26
 14. Yang GB, Lee KJ, Lee MH, Ham IH, Choi HY (2012) Inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide and prostaglandin E2 production by chloroform fraction of *Cudrania tricuspidata* in RAW 264.7 macrophages. BMC Complement Altern Med, 12, 250
 15. Zhang, Z, Schwarz, S, Wagner, L, Miller, W (2000) A greedy algorithm for aligning DNA sequences. J Comput Biol, 7, 203-214
 16. Thomson, JD, Higgins, DG, Gibson, TJ (1994) CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res, 22, 4673-4680
 17. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5 : Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol, 28, 2731-2739
 18. Blois MS (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1990-1200
 19. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R (1997) Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from tochucha (*Eucommia ulmoides*). Biosci Biotech Biochem, 61, 177-178
 20. Park SY, Chae KS, Son RH, Jung HY, Im YR, Kwon JW (2012) Quality characteristics and antioxidant activity of Bokbunja (Black raspberry) vinegars. Food Eng Prog, 16, 340-346
 21. Keun JH (1999) Studies on garlic and pumpkin vinegar. Korean J Food and Nutr, 12, 518-522
 22. Kim SD, Jang KS, Kim MK (1994) Fermentation of apple vinegar in the farmhouse. J East Asian Soc Dietary life, 4, 79-90
 23. Kim YT, Seo Ki, Jung YJ, Lee YS, Shim KH (1997) The production of vinegar using citron

- (*Citrus junos* Seib) juice. J East Asian Soc Dietary life. 7, 301-307
24. Lee GD, Kwon SH, Lee MH, Kim SK, Kwon JH (2002) Monitoring on alcohol and acetic acid fermentation properties of muskmelon. Korean J Food Sci Technol 24, 30-36
 25. Lee GD, Jeong YJ, Seo JH, Lee JM (2000) Monitoring on alcohol and acetic acid fermentation of potatoes using response surface methodology. J Korean Soc Food Sci Nutr. 29, 1062-1067
 26. Shin JH, Ryu CH, Cho SH (2002) Development of vinegar and vinegar-containing beverage from carrots. J Agr and Life Sci, 36, 39-46
 27. Que F, Mao L, Zhu C, Xie G (2006) Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. LWT Food Sci Technol, 39, 111-117
 28. Jung KA, Park CS (2012) Physiological activities of fermented garlic broth during fermentation. Korean J Food Preserv, 19, 406-412
 29. Shinde J, Taldone T, Barletta M, Kunaparaju N, Hu B, Kumar S, Placido J, William ZS (2008) α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. Carbohydr Res 343, 1278-1281
 30. Baron AD (1998) Postprandial hyperglycemia and α -glucosidase inhibitors. Diabetes Res Clin Pr, 40, 51-55
 31. Park BH (2008) Studies on quality characteristics and anti-diabetic effect of fermented mulberry (*Cudrania tricuspidata*) leaves. MS Thesis, Catholic University of Deagu, Korea, p 41-43
 32. Woo SM, Jang SY, Kim OM, Youn KS, Jeong YJ (2004) Antimicrobial effects of vinegar on the harmful food-born organisms. Korean J Food Preserv, 11, 117-121