



Comprehensive comparison of the primary and secondary metabolites and antioxidant activity of *Polygoni multiflori* Radix by processing methods

Hee Yul Lee¹ · Chung Eun Hwang² · Kyung Pan Hwa³ · Du Yong Cho¹ · Jea Gack Jung¹ · Min Ju Kim¹ · Jong Bin Jeong¹ · Mu Yeun Jang¹ · Kye Man Cho^{1,3}

가공 방법에 따른 하수오의 영양성분 및 항산화 활성의 종합적인 비교

이희율¹ · 황정은² · 화경판³ · 조두용¹ · 정재각¹ · 김민주¹ · 정종빈¹ · 장무연³ · 조계만^{1,3}

Received: 27 June 2022 / Accepted: 26 October 2022 / Published Online: 31 December 2022
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

Abstract This study investigated the changes in the physicochemical property, phytochemical content, nutritional content and antioxidant activity of *Polygoni multiflori* Radix by steam, aging, and fermentation. After processing *Polygoni multiflori* Radix (PMR), pH slightly decreased, while acidity increased (pH 5.70 → 4.78, acidity 0.23 → 0.29%). The reducing sugar content increased after aging and fermentation from 1.19 mg/g (PMR) to 1.40 (fermented PMR, FPMR), 1.30 (red PMR, RPMR), 1.53 (fermented red PMR, FRPMR), 1.99 (black PMR, BPMR), and 2.33 mg/g (fermented black PMR, FBPMR). Total phenolic content was highest in PMR (6.05 mg/g) and total flavonoids and maillard product were increased after aging and fermentation of PMR, and were the highest in BPMR (1.60 mg/g) and FBPMR (2.76 O.D.), respectively. The major phytochemical was 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- α -glucoside, which were highest in PMR

(64.9 mg/g) with 46.47 mg/g at FPMR, 33.94 mg/g at RPMR, 48.76 mg/g at FRPMR, 36.68 mg/g at BPMR and 34.35 mg/g at FBPMR. The main fatty acids and free amino acids were detected as palmitic acid (C16:0) and proline, respectively. Generally, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt radical scavenging activities and FRAP reducing powers were shown high in PMR (39.06%, 98.32%, and 2.61 O.D. in extracts concentration 1.0 mg/mL), then were decreased after aging and fermentation.

Keywords Antioxidant · Fermentation · Food processing · Lactic acid bacteria · Phytochemicals · *Polygoni multiflori* Radix

Hee Yul Lee and Chung Eun Hwang are contributed equally to this work.

Kye Man Cho (✉)
E-mail: kmcho@gnu.ac.kr

¹Department of GreenBio Science and Agri-Food Bio Convergence Institute, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Republic of Korea

²Department of Research and Development, Jinju Bio Industry Foundation, Jinju 52839, Republic of Korea

³Department of Food Science, Gyeongsang National University, Naedongro 139-8, Jinju 52849, Gyeongnam, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

하수오(*Polygonum multiflorum* Thunb)는 마디풀과에 속하는 덩이뿌리로 네모뿔 또는 덩어리 모양이며 길이는 약 5-15 cm이고 지름은 약 3-10 cm이다[1]. 한방에서의 하수오는 간과 신장 그리고 피를 맑게 보하고 치질 등의 치료에 이용되어 왔으며 장기 복용 시에는 혈압강화와 동맥경화 방지 효과가 뛰어나 민간 요법에서 많이 사용돼 왔다[2]. 이 외에도 신경강화[3] 및 항산화[4]와 같은 효능이 있는 것으로 보고되었다.

Phytochemicals은 채소나 과일에 함유된 식물성 화학물질로 세포손상 억제 및 면역기능 향상에 도움을 주는 물질이며 현재 까지 밝혀진 종류는 1만여 종 이상에 이르며 종류별로 효능이 다양한 것으로 보고되었다[5]. 특히 phytochemicals 화합물은 채소나 과일뿐만 아니라 식용 및 약용작물에도 많이 함유되어 있다. 대표적으로는 안토시아닌 또는 카로티노이드 등이 있으며

하수오의 phytochemicals은 anthraquinone 화합물인 chrysophanol, rhein, physcion 및 emodin과 이들 화합물의 배당체 형태인 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-0- α -glucoside 등이 함유되어 있다. 특히 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-0- α -glucoside 화합물은 하수오의 성분 중 가장 많은 양이 함유되어 있다고 보고되어 있다 [6]. 또한 하수오의 항산화 활성 등과 같은 여러 효능 외에도 chrysophanol, rhein, physcion 및 emodin과 이들 화합물의 배당체 형태인 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-0- α -glucoside 등의 화합물로부터 기인하여 생성되는 효과는 콜레스테롤 감소[2], 혈당강하작용[2], 멜라닌 생성 억제에 의한 미백 개선효과[7], 산화 스트레스 개선효과[8], 식중독 미생물(황색포도상구균) 저해 효과[9] 등 여러 가지 유용한 활성을 지니고 있어 고부가가치 기능성 식품 소재로 잠재성이 높을 것으로 기대된다.

유산균은 당을 발효시켜 유산(젖산)을 생성하는 균주로 그람 양성을 나타내며 포자 비형성 균주로 유산균(*Lactobacillaceae*) 및 유산균속(*Lactobacillus*)으로 크게 구분 지을 수 있다. 현대사회에서는 이 균주를 보통 프로바이오틱스라고 부르며 발효유 제조에 가장 많이 사용되는 *Bifidus* 또는 *Bulgarius* 균주 등이 있다. 이들 미생물들은 장내 균총의 정상화와 혈중 콜레스테롤 감소 등 인간에게 유용한 건강기능을 가져다주는 것으로 보고되어 있다[10]. 한편 식품의 가공공정에는 증숙, 숙성과 발효가 가장 대표적으로 이 가공공정들은 식품의 저장성과 동시에 품질향상을 위해 많이 사용되고 있다[11]. 증숙 공정의 가장 대표적인 식품은 홍삼이며 증숙 공정을 통해 수삼에서는 발견되지 않는 특유 성분인 2-methyl-3,3-hydroxypyron이 생성됨을 Ku와 Choi [12]가 보고하였다. Kim 등[13]은 식품의 가공 공정 중 열처리 시 수박, 사과, 포도, 참외 등의 polyphenol성 화합물 증가와 함께 항산화 활성이 증가함을 보고하였다. 이렇듯 식품의 증숙, 숙성과 발효에 관한 연구는 많이 보고된 상태이다. 그러나 하수오를 여러 가공 공정을 거쳐 관련된 연구를 수행한 경우는 미흡한 상태이며 숙성과 유산발효 기술을 적용한 하수오의 제조 기술은 처음 보고하는 것이다. 그러므로 본 연구에서는 하수오의 증자, 숙성, 생물전환(발효) 공정에 따른 이화학적 변화와 phytochemicals 함량과 항산화 활성 변화를 비교 분석하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 및 미생물 배지

하수오(*Polygoni multiflora Radix*)는 경상남도 산청군 지리산 하수오영농조합법인(참들애)에서 재배와 생산된 것을 일부 제공받아 본 연구에 사용하였다. 발효 미생물은 여주 물김치로부터 분리한 *Lactiplantibacillus plantarum* 및 *Levilactobacillus brevis* 유산균을 하수오 발효에 사용하였고 균주 배양은 MRS (Difico, Becton Dickson Co., Sparks, MD, USA) 배지를 사용하였으며 상황에 따라 액체 또는 고체배양을 통해 균주를 생육시켜 발효에 사용하였다[14].

시약 및 분석 기기

Folin-Ciocalteu phenol, diethylene glycol, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-

sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 및 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 하수오 지표물질인 2,3,4,5'-tetrahydroxystilbene-2-0- α -glucoside (TSB-G), rhein emodin chrysophenol, catechin 또한 Sigma-Aldrich에서 구입하여 사용하였으며 이 외 high performance liquid chromatography (HPLC) 등급의 water, acetonitrile과 같은 유기용매와 기타 분석을 위한 모든 시약은 필요에 따라 1급 혹은 특급을 구입하여 사용하였다. 본 연구에서 사용한 분석기기 중 분광광도계는 UV-1800 240V (UV-1800 240V, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)로 total phenolic, total flavonoid, 환원당 함량과 항산화 활성을 측정하였으며 HPLC (1260 series, Agilent Co., Santa Clara, CA, USA)는 하수오 지표물질을 분석하는데 사용하였다. 지방산 분석은 gas chromatography (GC, 5960 series, Agilent, Co., Santa Clara, CA, USA), 유리아미노산 분석은 아미노산 자동 분석기(L-8900, Hitachi High-Technologies Corp., Tokyo, Japan)를 사용하였다.

숙성과 발효 하수오 제조

숙성과 발효 하수오 제조는 우선 절단 상태의 하수오를 증자기에 적당량 담은 후 100 °C에서 1시간 열처리하고 열풍 건조기 (55 °C)로 2일간 건조시켰으며, 이를 증자 하수오(*Polygoni multiflora Radix*, PMR)로 명명하였다. 또한, PMR을 스테인리스 통에 옮겨 담고 65 °C에서 3일간 개방한 상태에서 숙성 시키고, 이를 55 °C에서 2일간 건조하는 과정을 3회 반복하여 제조한 것을 숙성 하수오(red *Polygoni multiflora Radix*, RPMR)라 명명하였다. RPMR을 65 °C에서 9일간 밀폐된 상태로 숙성 시키고 55 °C에서 건조한 것을 흑하수오(black *Polygoni multiflora Radix*, BPMR)로 명명하였다. 한편, 발효 하수오는 연구실에서 보관 중이던 *Lactiplantibacillus plantarum* P1201과 *Levilactobacillus brevis* BMK184 균주를 MRS 액체 배지에 접종(10^9 - 10^{10}) 후 35 °C에서 2일간 배양하여 발효를 위한 종균으로 준비하였다. 가공공정에 따라 제조된 각각의 하수오에 미리 배양해둔 균주 P1201과 BMK184 유산균 배양액을 각각 2.5% (v/w) 접종하고 35 °C에서 5일간 반고체 발효시켜 최종적으로 발효 하수오(fermented *Polygoni multiflora Radix*; FPMR), 발효 숙성 하수오(fermented red *Polygoni multiflora Radix*; FRPMR) 및 발효 흑하수오(fermented black *Polygoni multiflora Radix*; FBPMR)를 제조하였다(Fig. S1과 S2).

숙성과 발효에 따른 하수오의 pH, 산도, 환원당 함량 측정

pH 측정은 PMR, FPMR, RPMR, FRPMR, BPMR, FBPMR 분말 1g에 증류수 50 mL를 첨가하여 혼합시킨 뒤 pH 미터기 (MP 220, London, UK)를 사용하여 측정하였다. 산도는 pH 측정 후 0.1 N NaOH 용액으로 중화적정하여 pH 범위가 8.3±0.1 부근까지 중화하는 데 소비된 mL수를 구하고 젖산양으로 환산하였다.

환원당은 Cho 등[5] 연구에 따라 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)법으로 측정하였다. 각 하수오 시료의 당 농도가 1.0 g/L 이하가 되도록 단계별로 희석 후 시료 0.1 mL에 DNS 시약 1.0 mL를 첨가하고 100 °C에서 10분간 발색 및 냉각하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 표준물질로써 glucose

(GE)를 이용하여 작성한 검량곡선에 의해 mg/g으로 계산하여 나타내었다.

속성과 발효 하수오 추출물 제조

하수오 분말 5 g에 80% 발효주정 50 mL를 첨가하여 상온에서 12시간 추출하고 0.45 µm membrane filter (Dismic-25CS, Toyoroshikaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과 후 상등액을 회수하여 조추출물을 제조하였으며 total phenolic, flavonoid 및 maillard 함량 측정에 사용하였다. 한편, 제조한 조추출물은 60 °C에서 감압농축 후 동결건조 하였다. 동결 건조물을 얻은 후 추출용매(80% 발효주정)에 용해시켜 1.0, 0.75, 0.50, 0.25 mg/mL 농도로 제조하여 항산화 활성을 측정하였다.

속성과 발효 하수오 추출물의 total phenolic, flavonoid, maillard product 함량 측정

Total phenolic 함량 측정은 Cho 등[5]에 따라 측정하였다. 각각의 추출물 0.5 mL를 시험관에 분주하고 25% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL를 첨가하여 3분간 정치시킨 후 2 N Folin-Ciocalteu phenol 발색 시약 0.25 mL를 첨가 및 혼합한 다음 30 °C에서 1시간 동안 발색 시켰다. 발색된 시료는 750 nm에서 분광광도계를 사용하여 흡광도를 측정하였으며 gallic acid (GAE)를 이용하여 작성한 표준 검량곡선으로부터 mg/g으로 함량을 계산하였다.

Total flavonoid 함량은 Cho 등[5]의 방법에 따라 측정하였다. 각각의 하수오 추출물 0.5 mL를 시험관에 취하고 여기에 diethylene glycol 1.0 mL와 1 N NaOH 0.01 mL를 가하여 37 °C의 항온수조에서 1시간 방치 후 420 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. Total flavonoid 함량은 rutin (RE)을 이용하여 작성한 표준 검량곡선으로부터 mg/g으로 함량을 계산하여 나타내었다.

Maillard product 함량은 각 하수오 시료 1 g에 3차 증류수 10배를 가하여 1시간 동안 추출한 후 여과하여 비효소적 갈변법으로 420 nm에서 분광광도계를 사용하여 측정된 흡광도 (Optical density, O.D.) 수치를 그대로 반영하여 나타내었다.

속성과 발효 하수오 추출물의 phytochemicals 측정

일반적으로 알려진 하수오의 phytochemicals 중 2,3,4,5'-tetrahydroxystilbene-2-O- α -glucoside (TSB-G), rhein, emodin, chrysophenol 및 catechin 분석은 Kim 등[8]의 방법에 따라 HPLC로 분석하였다. 이동상 용매는 0.5% glacial acetic acid in water (A)와 0.5% glacial acetic acid in acetonitrile (B)로 분석하였고, 이동상 조건은 용매 B를 기준으로 0분-0%, 3분-3%, 5분-5%, 8분-10%, 10분-15%, 13분-15%, 14분-3%, 15분-5%, 17분-8%, 19분-10%, 20분-15%, 22분-20%, 24분-20%, 25분-5%, 26분-15%, 27분-20%, 28분-30%, 30분-10%, 32분-40%, 35분-50%, 36분-60%, 37분-30%, 38분 40%, 40분-50%, 45분-60%, 55분-80%, 60분-90%, 60분-90% 및 65분-100%로 유지하였다. 이때 분석 컬럼은 XTerra™ RP C18 (4.6×250 mm, 5 µm, Waters Corp., Milford, MA, USA)을 사용하여 시료를 20 µL 주입하였고 이동상의 속도는 30 °C에서 분당 1 mL를 유지하여 280 nm (diode array detector)에서 정량하였고 표준물질의 화학구조와 HPLC 크로마토그램은 Fig. S3과 같았다.

속성과 발효 하수오 추출물의 지방산 분석

지방산 분석은 Joo 등[15]이 보고한 방법에 따라 수행하였다. 지방산 전처리에는 추출물 1 mL를 시험관에 정확히 칭량하고 여기에 0.5 N 메탄올성 NaOH 3 mL를 첨가하여 100 °C에서 10분간 열처리하여 지방산과 글리세롤 가수분해 과정을 수행하였다. 이후 삼불화붕소(BF₃) 2 mL를 첨가하고 교반한 후 30분간 다시 열처리하여 지방산의 메틸에스테르화를 진행하였다. 메틸에스테르화 반응 종료 후 이소옥탄 1 mL를 첨가하고 격렬히 혼합 및 방치시켜 이소옥탄층만을 회수하여 무수아황산나트륨과 함께 탈수한 뒤 0.45 µm-membrane filter로 여과하여 GC로 분석하였다. 이동상은 질소 가스를 사용하였으며 이동상의 속도는 분당 1 mL로 유지하였다. 오븐 온도는 최초 140 °C까지 상승시켜 5분간 유지 후, 180 °C까지 1분당 20 °C만큼 상승시켜 2분간 유지하였고 230 °C까지 5 °C만큼 상승시키고 최종 35분간 유지하였다. Injector와 flame ionization detector의 온도는 각각 220 °C와 240 °C로 하였다.

속성과 발효 하수오 추출물의 유리아미노산 분석

유리아미노산 분석은 Joo 등[15]이 기술한 방법으로 측정하였다. 각각의 하수오 추출물 1 mL에 증류수 4 mL를 가하고 60 °C에서 1시간 가수분해 하였다. 가수분해 후 10% 5-sulfosalicylic acid 1 mL를 첨가하여 4 °C에서 2시간 방치시켜 단백질을 침전시킨 후 3분간 원심분리하여 얻은 상등액을 0.45 µm membrane filter로 1차 여과시켜 60 °C에서 감압 농축하였다. 최종 농축물은 lithium buffer (pH 2.2) 2 mL를 첨가하여 용해시키고 0.45 µm membrane filter로 여과해 아미노산 자동분석기로 분석하였다.

속성과 발효 하수오 추출물의 항산화 활성 측정

DPPH 라디칼 소거활성은 Hwang 등[10]의 방법에 따라 측정하였다. 1×10⁻⁴ mM DPPH 용액 0.8 mL와 각각의 하수오 추출물 0.2 mL를 가하여 암실에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조구 실험은 시료 대신에 추출용매(80% 발효주정) 0.2 mL를 취하여 실험하였다.

ABTS 라디칼 소거활성은 Cho 등[5]의 방법에 따라 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate을 1:1 (v/v)로 섞고, 암실에서 12-16시간을 방치시켜 ABTS 라디칼(ABTS^{•+})을 형성시켰다. 이후 732 nm에서 흡광도 값이 0.7±0.03이 되도록 메탄올로 희석하여 사용하였다. 적당히 희석된 ABTS 용액 0.9 mL와 추출물 0.1 mL를 섞고 3분 후 분광광도계를 이용하여 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조구 실험은 시료 대신에 추출용매를 0.1 mL를 취하여 실험하였으며, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 다음과 같은 식에 의하여 백분율(%)로 나타내었다.

라디칼 소거활성(%)

$$= [1 - (\text{실험구 흡광도} / \text{음성 대조구 흡광도})] \times 100$$

FRAP 환원력 측정은 acetate buffer (30 mM, pH 3.6), TPTZ 시약(10 mM in 40 mM HCl), 및 FeCl₃ 용액(20 mM in DW)을 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 혼합하여 FRAP 측정 시약을 조제하였다. 37 °C 항온기에서 15분 예비반응 후 시료 50 µL와

FRAP 시약 950 μL 를 시험관에 분주하여 37 °C에서 15분 반응시키고 분광광도계를 사용하여 593 nm에서 측정된 흡광도 값을 그대로 적용하여 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복 수행하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 시료 분석 결과에 대한 유의성 검정은 분산 분석 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

pH, 산도, 환원당 함량

가공 방법에 따른 하수오의 이화학적 특성 변화는 Fig. S4에 나타내었다. PMR의 pH는 5.70, FPMR은 5.23, RPMR은 5.37, FRPMR은 5.05, BPMR은 4.90, FBPMR은 4.78의 수치를 나타내었고 이는 발효에 따라 pH가 조금씩 감소하는 경향이었다. 산도는 PMR에서 0.23%, FPMR은 0.27%, BPMR은 0.25%, FRPMR은 0.27%, BPMR은 0.27%, FBPMR은 0.29%를 나타내었다. 환원당 함량은 PMR이 1.19 mg/g, FPMR은 1.40 mg/g, RPMR은 1.30 mg/g, FRPMR은 1.53 mg/g으로 좀 더 증가하였다. 한편 BPMR은 FRPMR에 비해 좀 더 증가하여 1.99 mg/g이었고 FBPMR에서는 2.33 mg/g으로 발효에 따라 크게 증가하였다.

Lee와 Park [1]의 하수오를 첨가한 증편의 이화학적 특성 결과에서 pH는 5.66으로 본 연구에서 제조한 PMR의 pH와 유사하였다. 특히 Lee와 Park [1]은 하수오 첨가량이 증가할수록 pH가 높아졌고 이를 발효시켰을 시 모든 시료군에서 pH가 감소함을 나타내 본 연구 결과와도 유사한 경향을 나타내었다. 하수오와 유사한 뿌리 작물인 인삼의 경우 malonyl-ginsenoside 성분이 열처리에 의해 분해되어 malonic acid와 acetic acid가 유리되는 것으로 보고되고 있으며, 하수오 또한 열처리에 의해 이와 유사한 과정에 의해서 acids 성분이 유리되어 pH와 산도에 영향을 줄 것으로 판단된다[16]. 또한 유산 발효의 경우 유산균이 생성하는 대사산물에 의해 유리아미노산, 유기산 등 다양한 물질을 생성하여 발효물의 pH 감소 및 산도 증가에 영향을 주는 것으로 판단된다[17].

Total phenolic, total flavonoid, maillard product 함량

가공 방법에 따른 하수오의 total phenolic, total flavonoid, 및 maillard product 함량은 Fig. 1에 나타내었다. 가공 방법에 따른 하수오의 total phenolic 함량은 PMR의 경우 6.05 mg/g이었고 PMR을 발효한 FPMR은 4.10 mg/g, RPMR에서는 4.94 mg/g, FRPMR은 3.26 mg/g으로 약간 낮은 함량을 나타내었다. BPMR은 4.03 mg/g, FBPMR에서는 4.51 mg/g으로 약간 증가하였다(Fig. 1A).

PMR의 total flavonoid 함량은 1.34 mg/g이었고 FPMR에서는 1.39 mg/g으로 약간 증가하였다. RPMR에서는 1.21 mg/g, FRPMR에서는 1.47 mg/g으로 좀 더 증가하였다. BPMR에서는 1.60 mg/g, FBPMR에서는 1.49 mg/g으로 함량에 큰 차이는 없었다. 결과적으로 PMR보다는 FPMR, RPMR과 BPMR에서 total flavonoid 함량은 증가하였고 PMR과 RPMR를 발효한 FPMR과 FRPMR에서 total flavonoid 함량이 좀 더 증가하는

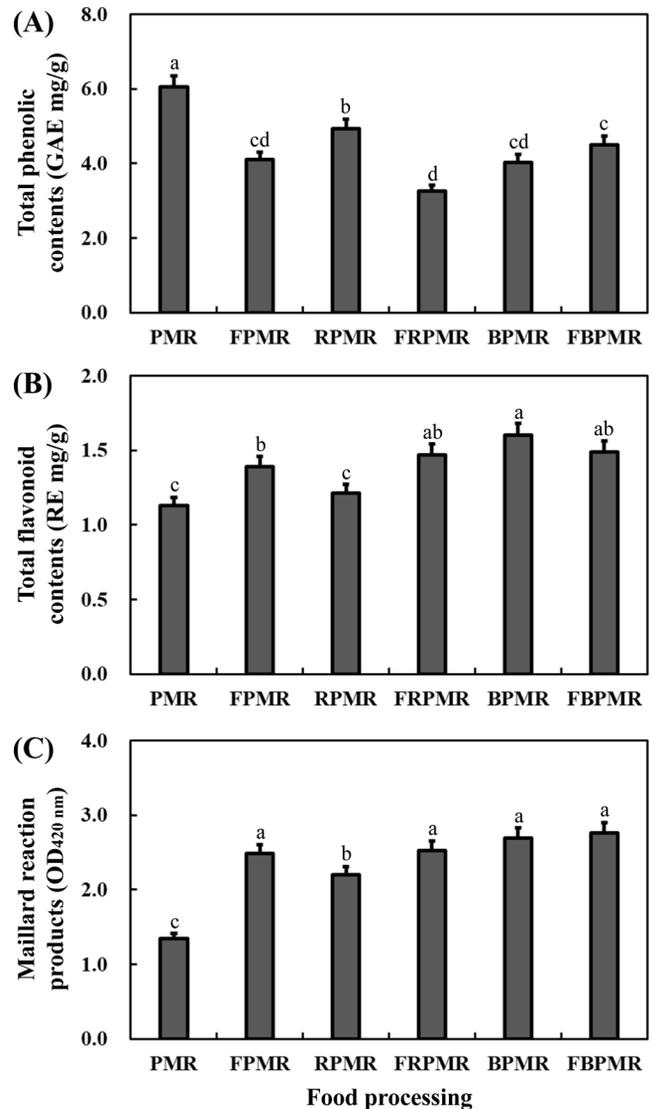


Fig. 1 Comparison of the total phenolic and flavonoid contents and maillard reaction products of *Polygoni multiflori* Radix by food processing. (A) Total phenolic contents; (B) total flavonoid contents; and (C) maillard reaction products. Food processing steps: PMR, *Polygoni multiflori* Radix; FPMR, fermented *Polygoni multiflori* Radix; RPMR, red *Polygoni multiflori* Radix; FRPMR, fermented red *Polygoni multiflori* Radix; BPMR, black *Polygoni multiflori* Radix; and FBPMR, fermented black *Polygoni multiflori* Radix. All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

것으로 나타났다(Fig. 1B).

가공 방법에 따른 하수오의 maillard product는 PMR은 1.34의 흡광도 수치를 나타내었다. PMR을 발효시킨 후에는 2.48 (O.D.)로 증가하였으며 RPMR에서는 2.20 (O.D.), FRPMR에서는 이보다 좀 더 증가하여 2.53 (O.D.)을 나타내었다. BPMR 역시 2.69 (O.D.), FBPMR에서는 2.76 (O.D.)으로 maillard product를 가장 많이 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이 결과로 볼 때, PMR 보다는 RPMR이 좀 더 많은 maillard product를 함유하

고 있었고 RPMR보다는 BPMR에서 maillard product 함량이 높았고 발효 후 역시 maillard product 함량이 조금씩 증가하였다(Fig. 1C).

식물계에 광범위하게 분포되어 있는 polyphenol 화합물들은 일반적으로 hydroxyl과 결합되어 있는 화학 구조로 인해 단백질이나 여러 효소 그리고 기타 고분자 화합물과 결합하려는 작용이 강하여 라디칼 소거활성과 환원력 등의 항산화 활성이 우수한 것으로 알려져 있다[18]. Seo 등[7]의 하수오와 백하수오의 에탄올 추출물에 따른 2차 대사체 함량 변화에 대한 연구 결과에서는 하수오 추출물에서 total phenolic 함량이 17.31 mg/g이었고 백하수오 추출물에서는 2.75 mg/g이 함유되어 있음을 보고하였다. 본 연구의 하수오 추출물과 비교하였을 시 함량 차이가 크게 낮으며 이는 추출물 제조에 사용된 용매의 종류 또는 비율 등에 따른 차이로 판단된다. 한편, 하수오와 같은 약용작물인 더덕을 식품 가공 공정을 통해 발효 더덕차 연구를 진행한 Lee 등[19]에 따르면 볶음 온도와 처리 시간에 따라 phenolic 화합물의 증가가 이루어짐을 보고하였다. 이는 본 연구에서 제조한 PMR의 phenolic 함량과 유사하였으며 발효 시 약간 감소하였으나 일반적으로 열처리에 따라 화합물의 증가 현상은 Lee 등[19]의 연구와 유사한 것으로 판단된다. 이 밖에도 치커리[20], 둥굴레[21], 흑마늘[22]과 같은 작물 역시 숙성 및 열처리 가공 공정에 따라 total phenolic 화합물이 증가한다고 보고되어 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. Flavonoid 유도체들은 일반적으로 자연계에서 식용이나 약용으로 사용이 가능한 식물체에 함유되어 있고 항산화 활성이 우수한 것으로 보고되었다[5,23]. Seo 등[7]의 연구에서는 하수오와 백하수오 에탄올 추출물에 대한 flavonoid 함량은 각각 3.68 mg/g과 1.34 mg/g으로 보고하였고 이는 본 연구에서 제조한 하수오 추출물들의 함량과 유사하였다. 한편 이러한 total flavonoid 함량 증가 현상은 Cho와 Joo [24]의 볶음 처리에 따른 자색고구마 연구에서 total phenolic 화합물 증가와 마찬가지로 숙성이나 열에 의해 고분자 화합물이 분해되고 결과적으로 2차 대사체 함량이 증가한다고 보고하였다. Yang 등[25] 역시 인삼에서 열처리 조건에 따라 total flavonoid 함량이 0.39 mg/g에서 0.42 mg/g으로 증가함을 보고하여 본 연구 결과와도 유사하였다. 따라서 지금까지의 여러 연구 결과에 따르면 하수오와 같은 약용작물들은 일반적으로 숙성과 같은 열에 의해 고분자 화합물이 분해되어

저분자 화합물로 변하고 결과적으로는 2차 대사체 함량이 증가하는 것으로 판단된다. Maillard 반응은 일반적으로 아미노산의 아미노기와 환원당의 카보닐기가 서로 축합하여 초기, 중간, 최종 단계를 거쳐 새로운 물질이 형성되는 현상이다. 특히 본 연구에서는 BPMR을 발효시킨 형태의 FBPMR의 pH가 가장 낮았으며 이는 마이야르 반응 중 갈색화 반응이 촉진됨에 따라 pH 값이 저하된다는 보고[26]와 함께 중간생성물로 여러 산성 물질이 생성된다는 보고[27]와 상관성이 높은 것으로 판단된다.

Phytochemicals 함량 변화

가공 방법에 따른 하수오 추출물의 phytochemicals 분석 결과 Table 1과 Fig. 2에 나타내었으며, catechin, TSB-G, rhein, emodin, chrysophenol이 검출되었고 TSB-G가 주요 화합물로 확인되었다(Fig. 2). Catechin 함량 변화는 PMR 및 FPMR에서는 2.25→1.93 mg/g으로 약간 감소하였다. RPMR과 FRPMR에서는 2.22→1.67 mg/g, BPMR 및 FBPMR에서는 1.51→1.48 mg/g의 감소 변화를 보였다(Table 1). 본 연구에서는 PMR을 숙성과 발효함에 따라 TSB-G가 감소하는 것을 확인하였다.

Kim 등[8]은 국내산 법제 하수오에서 TSB-G 화합물이 검출되었고 이는 본 연구와도 일치하였다. 특히 TSB-G 화합물이 115.02 mg/kg이 검출되어 하수오에서 주요 생리활성 물질이라고 보고하였고 이 결과 역시 본 연구와 일치하였다. 그러나 주요 생리활성 물질 함량은 본 연구와는 약간 상이하였고 이는 같은 지역에서 재배된 것이어도 재배 환경(토양, 기후 등)과 법제 처리과정 또는 추출물 제조 시 사용되는 추출용매 혹은 비율 등의 다양한 방법 차이 등에 기인하는 것으로 판단되었다. 한편 하수오의 주요 생리활성 물질인 TSB-G 화합물은 항산화[28-30], 항염증[31]과 머리카락의 성장 효과가 있음을 Jiang 등[32], Park 등[33]이 보고하였다. Oh 등[34]은 표고버섯 균사체를 사용하여 하수오를 발효시켰을 시 아미노산 및 무기성분 등의 영양학적 성분이 증가한다고 보고하였다. 이는 발효 중 미생물이 생성하는 β-glucosidase의 활성에 의해 생리활성 물질이 생성되는 것으로 판단된다. 따라서 이러한 여러 연구 결과들을 토대로 본 연구 역시 하수오 발효 시 유산균이 생성하는 효소의 활성과 숙성 시 열처리에 과정에 의해 PMR에서는 검출되지 않았던 화합물이 생성된 것으로 추측하였고 향후 이 화합물에 대한 추가 검증이 필요할 것으로 사료된다.

Table 1 Comparison of the phytochemical contents of *Polygoni multiflori Radix* by food processing

Content ¹⁾ (mg/g)	Food processing steps ²⁾					
	PMR	FPMR	RPMR	FRPMR	BPMR	FBPMR
Catechin	2.25±0.11 ^{a3)}	1.93±0.10 ^{ab}	2.22±0.11 ^a	1.67±0.08 ^c	1.51±0.07 ^{cd}	1.48±0.07 ^d
2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-α-glucoside	64.90±3.25 ^a	46.47±2.32 ^b	33.94±1.70 ^c	48.76±2.44 ^b	36.68±1.83 ^c	34.35±1.72 ^c
Rhein	0.30±0.02 ^b	0.52±0.03 ^a	0.36±0.02 ^b	0.73±0.04 ^a	0.30±0.02 ^b	0.44±0.02 ^a
Emodin	0.27±0.01 ^a	0.16±0.01 ^a	0.06±0.00 ^b	0.10±0.01 ^b	0.05±0.00 ^b	0.07±0.00 ^b
Chrysophenol	nd ⁴⁾	nd	nd	nd	nd	nd
Total	67.79±3.39 ^a	49.08±2.45 ^b	36.58±1.83 ^c	51.26±2.56 ^b	38.54±1.93 ^c	36.34±1.82 ^c

¹⁾All values are presented as the mean ± SD of triplicate determination

²⁾Food processing steps: PMR, *Polygoni multiflori Radix*; FPMR, fermented *Polygoni multiflori Radix*; RPMR, red *Polygoni multiflori Radix*; FRPMR, fermented red *Polygoni multiflori Radix*; BPMR, black *Polygoni multiflori Radix*; and FBPMR, fermented black *Polygoni multiflori Radix*

³⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

⁴⁾nd: not detected

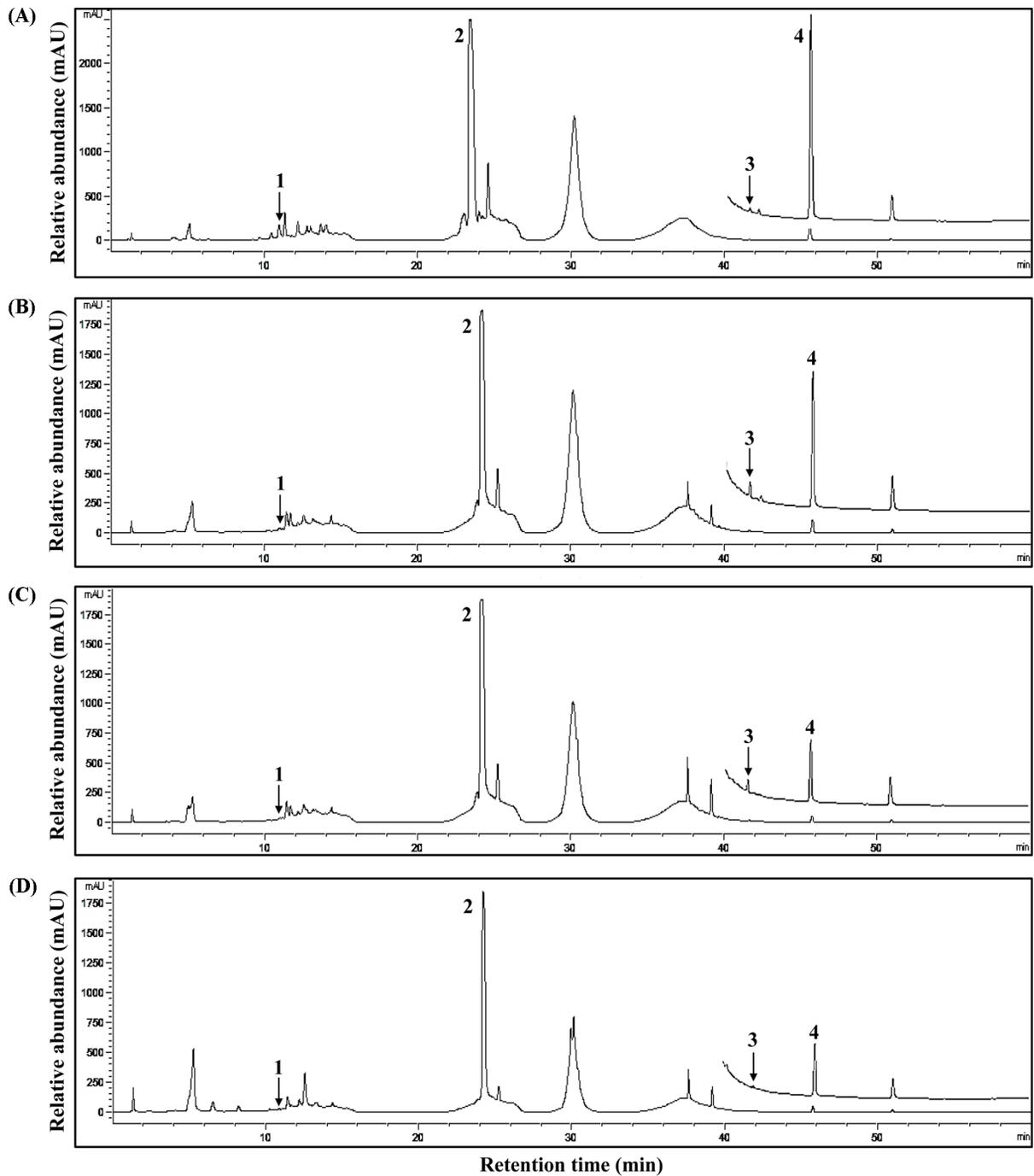


Fig. 2 The typical HPLC chromatogram with five phytochemicals of *Polygoni multiflori* Radix by food processing. (A) *Polygoni multiflori* Radix; (B) fermented *Polygoni multiflori* Radix (C) fermented red *Polygoni multiflori* Radix; and (D) fermented black *Polygoni multiflori* Radix. 1: catechin; 2: 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- α -glucoside; 3: rhein; 4: emodin; and 5: chrysofenol

지방산 함량

포화 지방산 중 lauric acid (C12:0)는 PMR에서 검출되지 않았고 arachidic acid (C20:0)는 BPMR에서만 검출되지 않았다. 이외 포화지방산 중 myristic acid (C14:0), palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), behenic acid (C22:0), lignoceric acid (C24:0)는 모두 검출되었다. 특히 palmitic acid (C16:0)가

RPMR에서 126.9 mg/100 g으로 가장 많은 양이 검출되어 주요 포화 지방산으로 나타났다. PMR을 발효시킨 FPMR에서는 palmitic acid (C16:0) 함량이 101.6→112.5 mg/100 g으로 증가하였고 RPMR을 발효시킨 FRPMR에서는 126.9→84.1 mg/100 g으로 감소하였다. BPMR과 FBPMR에서는 91.1→93.3 mg/100 g으로 약간 증가하는 것으로 나타났다. 또한 lauric acid

Table 2 Comparison of the fatty acid contents of *Polygoni multiflori* Radix by food processing

Contents ¹⁾ (mg/100 g)	Food processing steps ²⁾					
	PMR	FPMR	RPMR	FRPMR	BPMR	FBPMR
Saturated fatty acids						
Lauric acid (C12:0)	nd ³⁾	2.70±0.14 ^a	2.70±0.14 ^a	2.00±0.10 ^b	2.30±0.12 ^{ab}	2.40±0.12 ^{ab}
Myristic acid (C14:0)	3.60±0.18 ^{a4)}	3.00±0.15 ^{ab}	3.20±0.16 ^{ab}	2.40±0.12 ^c	2.70±0.14 ^b	2.70±0.14 ^b
Palmitic acid (C16:0)	101.60±5.08 ^a	112.50±5.63 ^a	126.90±6.35 ^a	84.10±4.21 ^b	91.10±4.56 ^b	93.30±4.67 ^b
Stearic acid (C18:0)	42.70±2.14 ^b	60.80±3.04 ^a	66.80±3.34 ^a	42.60±2.13 ^b	46.80±2.34 ^b	47.70±2.39 ^b
Arachidic acid (C20:0)	4.30±0.22 ^a	2.10±0.11 ^b	3.10±0.16 ^b	1.40±0.07 ^c	nd	1.60±0.08 ^c
Behenic acid (C22:0)	4.00±0.20 ^a	2.90±0.15 ^{ab}	3.30±0.17 ^{ab}	2.30±0.12 ^b	2.40±0.12 ^b	2.40±0.12 ^b
Lignoceric acid (C24:0)	2.30±0.12 ^a	nd	nd	nd	nd	nd
Total	158.50±7.93 ^a	194.10±9.71	206.00±10.30	134.80±6.74	145.30±7.27	150.10±7.51
Unsaturated fatty acids						
Palmitoleic acid (C16:1)	1.70±0.09 ^a	nd	nd	nd	nd	nd
Elaidic acid (C18:1 <i>t</i>)	17.60±0.88 ^a	nd	7.10±0.36 ^b	nd	nd	nd
Oleic acid (C18:1 <i>c</i>)	144.50±7.23 ^a	41.40±2.07 ^c	80.10±4.01 ^b	28.70±1.44 ^d	34.00±1.70 ^d	32.10±1.61 ^d
Linoleic acid (C18:2 <i>c</i>)	88.00±4.40 ^a	75.70±3.79 ^b	85.10±4.26 ^a	70.10±3.51 ^b	71.90±3.60 ^b	74.30±3.72 ^b
α-Linolenic acid (C18:3 <i>n</i> 3)	10.10±0.51 ^a	9.00±0.45 ^{ab}	9.80±0.49 ^a	8.60±0.43 ^{ab}	8.40±0.42 ^b	8.40±0.42 ^b
Eicosenic acid (C20:1)	2.60±0.13 ^a	nd	nd	nd	nd	nd
Total	267.20±13.36 ^a	128.80±6.44 ^c	182.10±9.11 ^b	109.50±5.48 ^d	114.30±5.72 ^d	117.00±5.85 ^d
Total fatty acids	425.70±21.29^a	322.90±16.15^c	388.10±19.41^b	244.30±12.22^d	259.60±12.98^d	267.10±13.36^d

¹⁾All values are presented as the mean ± SD of triplicate determination

²⁾Food processing steps: PMR, *Polygoni multiflori* Radix; FPMR, fermented *Polygoni multiflori* Radix; RPMR, red *Polygoni multiflori* Radix; FRPMR, fermented red *Polygoni multiflori* Radix; BPMR, black *Polygoni multiflori* Radix; and FBPMR, fermented black *Polygoni multiflori* Radix

³⁾nd: not detected

⁴⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

(C12:0) 함량은 숙성과 발효 공정에 따른 차이는 크게 없어 함량은 유사한 수준으로 나타났다. 한편 arachidic acid (C20:0), behenic acid (C22:0), lignoceric acid (C24:0)는 숙성과 발효 가공 공정에 따라 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 불포화 지방산 중에서는 palmitoleic acid (C16:1)가 PMR에서만 1.7 mg/100 g으로 검출되었다. Elaidic acid (C18:1*t*)는 PMR에서 17.6 mg/100 g이 검출되었으나 FPMR에서는 검출되지 않았다. RPMR 역시 7.1 mg/100 g으로 검출되었으나 FRPMR에서는 검출되지 않았고 BPMR과 FBPMR에서는 모두 검출되지 않았다. 한편 주요 불포화 지방산은 oleic acid (C18:1*c*)로써 PMR에서 144.5 mg/100 g으로 가장 많은 양이 검출되었다. 이 외 linoleic acid (C18:2*c*), α-linolenic acid (C18:3*n*3), eicosenic acid (C20:1) 함량은 모두 숙성과 발효 시 조금씩 감소하는 경향을 나타내었다(Table 2).

Oh 등[35]의 건조방법에 따른 적하수오의 성분변화 연구에서는 포화지방산인 palmitic acid와 linoleic acid 함량이 높다고 보고하였고 본 연구 결과와도 유사한 경향을 나타내었다. 또한 palmitic acid를 포함하는 포화지방산은 열에 비교적 안정하고 불포화지방산은 열에 불안정하여 열풍 건조 시 함량이 감소되고[35] 이 역시 본 연구 결과와 일치하였다.

유리아미노산 함량

PMR에서는 citrulline과 phosphoserine이 검출되지 않았으나 FPMR에서는 citrulline 함량이 22.84 mg/100 g으로 증가하였다.

또한 α-aminobutyric acid 및 β-aminobutyric acid 함량이 PMR에서는 각각 7.86 및 2.49 mg/100 g이었으나 FPMR에서는 각각 15.21 및 2.94 mg/100 g으로 약간 증가하였다. 그러나 이들 아미노산을 제외한 대부분의 비필수 아미노산들은 발효 가공에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 한편 숙성시킨 RPMR를 발효시킨 결과 FRPMR에서 대부분의 아미노산이 증가하는 경향을 나타내었다. 특히 proline이 주요 아미노산으로 검출되었고 349.09→426.77 mg/100 g으로 가장 크게 증가하였다. 이 외 비필수 아미노산인 aspartic acid (5.76→7.45 mg/100 g), serine (5.67→8.66 mg/100 g), glutamic acid (15.30→16.69 mg/100 g), glycine (1.37→3.03 mg/100 g), alanine (4.64→10.59 mg/100 g), cystine (9.61→12.64 mg/100 g) 등이 크게 증가하였다. BPMR 및 FBPMR 역시 phosphoetanolamine (49.90→63.69 mg/100 g), aspartic acid (8.14→8.53 mg/100 g), cystine (11.35→11.45 mg/100 g), β-alanine (1.35→2.94 mg/100 g), β-aminobutyric acid (0.23→2.41 mg/100 g)가 크게 증가하였다. 필수아미노산 역시 숙성보다는 발효 공정 후에 크게 증가하는 경향을 나타내었다(Table 3).

Oh 등[35]은 열풍건조 적하수오에서는 arginine 함량이 586.67 mg/100 g로 가장 높게 나타났으며 다음으로 glutamic acid, proline, aspartic acid 순임을 보고하였으나 본 연구에서는 proline 함량이 가장 많아 조금은 상이한 결과를 나타내었다. 또한 Oh 등[35]은 열풍건조, 습건 및 동결건조 적하수오의 아미노산 총 함량은 동결건조 적하수오가 6,256.54 mg/100 g로 가장

Table 3 Comparison of the free amino acid contents of *Polygoni multiflori* Radix by food processing

Contents ¹⁾ (mg/100 g)	Food processing steps ²⁾					
	PMR	FPMR	RPMR	FRPMR	BPMR	FBPMR
Non-essential amino acids						
Phosphoserine	nd ³⁾	22.84±1.14 ^a	nd	nd	nd	nd
Phosphoethanolamine	65.98±3.30 ^{a4)}	50.48±2.52 ^b	58.73±2.94 ^{ab}	56.48±2.82 ^{ab}	49.90±2.50 ^b	63.69±3.18 ^a
Proline	790.24±39.51 ^a	515.28±25.76 ^b	349.09±17.45 ^d	426.77±21.84 ^c	464.34±23.22 ^c	347.69±17.38 ^d
Aspartic acid	8.25±0.41 ^a	7.90±0.40 ^b	5.76±0.29 ^c	7.45±0.37 ^b	8.14±0.41 ^a	8.53±0.43 ^a
Serine	11.50±0.58 ^a	8.86±0.44 ^b	5.67±0.28 ^c	8.66±0.43 ^b	6.96±0.35 ^{bc}	nd
Aspartic acid - NH ₂	2.80±0.14 ^a	nd	nd	nd	nd	nd
Glutamic acid	26.24±1.31 ^a	12.24±0.61 ^c	15.30±0.77 ^b	16.69±0.83 ^b	27.33±1.37 ^a	12.14±0.61 ^c
Glycine	5.37±0.27 ^a	3.28±0.16 ^d	1.37±0.07 ^c	3.03±0.15 ^b	2.38±0.12 ^c	2.14±0.11 ^c
Alanine	22.05±1.10 ^a	16.51±0.83 ^b	4.64±0.23 ^e	10.59±0.53 ^c	10.63±0.53 ^c	8.29±0.41 ^d
Citrulline	nd	nd	nd	7.19±0.36 ^a	nd	nd
α-aminobutyric acid	7.86±0.39 ^d	15.21±0.76 ^b	7.12±0.36 ^d	10.81±0.54 ^c	21.00±1.05 ^a	19.72±0.99 ^a
Cystine	13.64±0.68 ^a	13.44±0.67 ^a	9.61±0.48 ^c	12.64±0.63 ^{ab}	11.35±0.57 ^b	11.45±0.57 ^b
Cystathionine	1.76±0.09 ^a	nd	nd	nd	nd	nd
Tyrosine	15.21±0.76 ^a	7.93±0.40 ^b	8.56±0.43 ^b	9.37±0.47 ^b	4.66±0.23 ^c	4.53±0.23 ^c
β-alanine	7.55±0.38 ^a	5.62±0.28 ^b	2.16±0.11 ^{cd}	4.59±0.23 ^b	1.35±0.07 ^d	2.94±0.15 ^c
β-aminoisobutyric acid	2.49±0.12 ^b	2.94±0.15 ^{ab}	nd	3.68±0.18 ^a	0.23±0.01 ^c	2.41±0.12 ^b
γ-aminobutyric acid	48.18±2.41 ^a	30.11±1.51 ^b	19.43±0.97 ^c	22.87±1.14 ^c	29.17±1.46 ^b	20.10±1.01 ^c
Aminoethanol	4.83±0.24 ^a	1.55±0.08 ^b	0.55±0.03 ^c	0.75±0.04 ^c	0.72±0.04 ^c	0.36±0.02 ^d
Hydroxylysine	1.19±0.06 ^a	1.05±0.05 ^{ab}	0.92±0.05 ^b	1.10±0.06 ^a	nd	1.07±0.05 ^{ab}
Ornithine	nd	0.49±0.02 ^b	nd	1.22±0.06 ^a	nd	0.19±0.01 ^c
Arginine	107.16±5.36 ^a	45.43±2.27 ^c	55.34±2.77 ^b	47.15±2.36 ^{bc}	36.57±1.83 ^d	16.02±0.80 ^e
Total	1142.3±57.12 ^a	761.16±38.06 ^b	544.25±27.21 ^d	651.04±32.55 ^c	674.73±33.74 ^c	521.27±26.06 ^d
Essential amino acids						
Threonine	51.38±2.57 ^a	19.65±0.98 ^b	16.51±0.83 ^{bc}	18.28±0.91 ^b	13.09±0.65 ^c	8.03±0.40 ^d
Valine	8.11±0.41 ^{ab}	9.77±0.49 ^a	5.90±0.30 ^c	9.11±0.46 ^a	9.69±0.48 ^a	7.90±0.40 ^b
Methionine	1.66±0.08 ^a	1.05±0.05 ^b	1.35±0.07 ^{ab}	1.33±0.07 ^{ab}	nd	nd
Isoleucine	4.89±0.24 ^d	10.13±0.51 ^b	7.18±0.36 ^c	11.94±0.60 ^b	12.67±0.63 ^b	17.09±0.85 ^a
Leucine	2.91±0.15 ^c	8.18±0.41 ^a	1.38±0.07 ^c	3.73±0.19 ^b	nd	1.99±0.10 ^d
Phenylalanine	2.59±0.13 ^{bc}	2.34±0.12 ^c	3.21±0.16 ^b	3.89±0.19 ^a	0.44±0.02 ^d	3.22±0.16 ^b
Lysine	2.86±0.14 ^a	1.12±0.06 ^b	nd	0.95±0.05 ^b	0.33±0.02 ^c	0.34±0.02 ^c
Histidine	5.82±0.29 ^a	1.64±0.08 ^b	nd	1.59±0.08 ^b	nd	nd
Total	80.22±4.01 ^a	53.88±2.69 ^b	35.53±1.78 ^c	50.82±2.54 ^b	36.22±1.81 ^c	38.57±1.93 ^c
Total amino acids	1222.52±61.13^a	815.04±40.75^b	579.78±28.99^d	701.86±35.09^c	512.65±25.63^d	559.84±27.99^d
Ammonia	5.49±0.27 ^d	5.34±0.27 ^d	3.63±0.18 ^c	6.44±0.32 ^c	12.35±0.62 ^a	8.14±0.41 ^b

¹⁾All values are presented as the mean ± SD of triplicate determination

²⁾Food processing steps: PMR, *Polygoni multiflori* Radix; FPMR, fermented *Polygoni multiflori* Radix; RPMR, red *Polygoni multiflori* Radix; FRPMR, fermented red *Polygoni multiflori* Radix; BPMR, black *Polygoni multiflori* Radix; and FBPMR, fermented black *Polygoni multiflori* Radix

³⁾nd: not detected

⁴⁾All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

높음을 보고하였다. 본 연구와 비교 시 검출되는 아미노산의 종류는 대부분 일치하였으나 함량의 차이가 있는 것으로 나타났다. 일반적으로 아미노산은 단백질 등 성분의 분해나 발효 과정을 통해 증가되는 경우를 제외하고 열처리와 같은 조건에 노출될 경우 다양한 화학적 반응에 관여하여 감소하는 경향을 나타낸다고 보고되고 있다[36]. 또한 유리아미노산 함량은 amino-

carbonyl 반응에 의해 감소하는 것으로 보고되고 있다[37]. 따라서 본 연구 결과에서 원료에 숙성 처리 시 아미노산들이 열변성과 amino-carbonyl 반응에 영향을 받아 감소한 것으로 추정되며, 이는 또다시 발효에 의해 일부 단백질이 분해되어 아미노산들이 생합성된 것으로 판단되었다. Song 등[38]은 백수오 발효 후 아미노산 함량이 감소하는 것으로 보고하였다. 이는 미

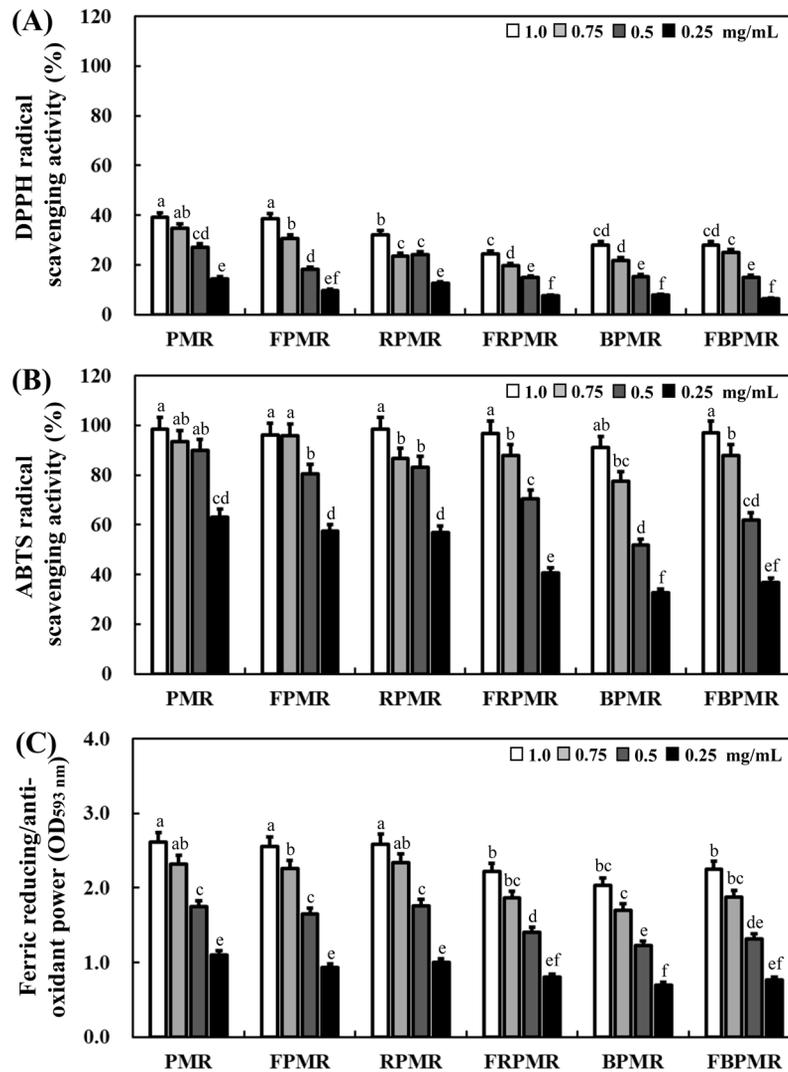


Fig. 3 Comparison of the antioxidant activity of *Polygoni multiflori* Radix by food processing. (A) DPPH radical scavenging activity; (B) ABTS radical scavenging activity; and (C) ferric reducing/antioxidant power. Food processing steps: PMR, *Polygoni multiflori* Radix; FPMR, fermented *Polygoni multiflori* Radix; RPMR, red *Polygoni multiflori* Radix; FRPMPR, fermented red *Polygoni multiflori* Radix; BPMPR, black *Polygoni multiflori* Radix; and FBPMR, fermented black *Polygoni multiflori* Radix. All values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

생물 증식에 의해서 아미노산의 생성에 비해 소비가 증가하여 아미노산 함량이 감소한 것으로 판단된다[39]. 여러 결과를 바탕으로 식품의 가공 공정(숙성, 열풍건조, 동결건조 등)에 따라 아미노산과 같은 영양성분의 변화가 다양한 것으로 판단된다.

항산화 활성

가공 방법에 따른 하수오 추출물의 농도를 1.0, 0.75, 0.5 및 0.25 mg/mL로 처리하여 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 3과 같았다. DPPH 라디칼 소거활성은 1.0 mg/mL 농도에서는 PMR-39.06%, FPMR-38.66%, RPMR-32.10%, FRPMPR-24.36%, BPMPR-28.02%, FBPMR-28.05%를 나타내었다(Fig. 3A). 특히 PMR은 39%에서 발효 공정 적용 후 38%로 떨어졌으며 이는 숙성과 발효 시 모든 시료에서 DPPH 라디칼 소거활성이 조금씩 감소하는 경향을 나타내었다. 추출물의 농도가 0.75 mg/mL

에서 역시 PMR (34%)를 숙성과 발효 후 FPMR (30%), RPMR (23%), FRPMPR (19%), BPMPR (21%) 및 FBPMR (24%)로 감소하였다. 0.5와 0.25 mg/mL 농도에서 또한 숙성과 발효 후 모두 조금씩 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3A). ABTS 라디칼 소거활성 측정 결과는 Fig. 3B와 같았다. 추출물의 농도를 1.0 mg/mL로 처리하였을 시 각각 98, 96, 98, 96, 90, 96로 유사하였다. 0.75, 0.5 및 0.25 mg/mL 처리 시에도 PMR→FPMR, RPMR→FRPMPR로 발효 시 ABTS 라디칼 소거활성이 조금씩 감소하였다. 그러나 BPMPR에서 FBPMR로 발효됨에 따라 증가하는 경향을 나타내었고, 0.75, 0.5 및 0.25 mg/mL 농도로 처리하였을 시 각각 77%→87%, 51%→61%, 32%→36%로 조금씩 증가하였다(Fig. 3B). FRAP 환원력의 경우 1.0 mg/mL 농도에서 PMR은 2.61의 흡광도 값이 측정되어졌고 FPMR에서는 2.55로 약간 감소하였다. RPMR 역시 2.59에서 FRPMPR에서는

2.22로 감소하였다. 그러나 ABTS 라디칼 소거활성과 마찬가지로 BPMR (2.03)에서 FBPMR (2.25)로 발효 시 약간 증가하는 경향을 보였다. 이러한 환원력의 패턴은 농도 의존적으로 나타났고 낮은 농도에서도 비교적 우수한 FRAP 환원력을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3C).

한편 Choi 등[9]은 적하수오와 백하수오 추출물에 대한 항산화 활성 연구에서 추출물의 농도가 20 mg/mL일 때 89% (적하수오)와 88% (백하수오)의 DPPH 라디칼을 소거한다고 보고하였고 이는 본 연구와도 유사한 경향을 나타내었다. Kim 등[8]의 연구 결과 역시 범제 하수오 메탄올 추출물의 처리 농도가 증가할수록 라디칼 소거활성은 유의적으로 증가하였고 50 µL 농도에서 48.4%를 나타내어 본 연구와도 유사하였다. 한편 하수오와 유사한 약용작물인 더덕은 발효 후 열처리에 따라 DPPH 라디칼 소거활성이 증가함을 Lee 등[19]이 보고하였다. 발효 시 항산화 활성이 증가하는 이유는 polyphenol 또는 flavonoid 함량과 상관관계가 있으며, 이는 이미 오래전부터 보고되어 왔다[10]. 이 외 다른 요인으로서는 Hong 등[20]의 결과에 따르면 일반적으로 식품에 열에너지를 가하여 숙성 가공 시 생성되는 갈변물질 역시 항산화 활성에 크게 기여하는 것으로 보고되었다. 따라서 본 연구에서 숙성과 발효 하수오는 가공 과정 중 DPPH 라디칼 소거활성의 감소는 일부 감소하는 생리활성 물질에 영향을 받은 것으로 보이며, 한편 가공 중 증가했던 갈변물질은 이에 기여하지 않는 것으로 판단된다.

Kim 등[8]은 범제 하수오 메탄올 추출물의 라디칼 소거활성은 농도 의존적으로 우수한 효과를 나타내었으며 이는 본 연구 결과와 일치하였다. 특히 ABTS 라디칼 소거활성은 수용성과 유기상 물질 모두 적용 가능한 점에 따라 추출물의 농도를 동일하게 처리 시 DPPH보다 ABTS 라디칼 소거활성이 높게 나타난다는 Kim 등[8]의 보고와 정확히 일치하는 경향을 보였다. 한편 Cho와 Joo [40]는 작물을 열처리할 경우 조직과 강하게 결합되어있는 폴리페놀 화합물이 유리됨에 따라 항산화 활성이 증가한다고 보고하였다. 이러한 연구 결과는 본 연구 결과와도 유사한 경향을 나타내었고 Jeon 등[41]의 보고에 따르면 더덕을 숙성한 후 이를 다시 발효시켰을 때 ABTS 라디칼 소거활성이 증가함을 나타내었다. 그러나 본 연구에서는 추출물의 농도를 0.25 mg/mL로 처리하였을 시 PMR→FPMR, RPMR→FRPMR로 가공됨에 따라 조금씩 감소하는 경향을 보였으나 추출물의 농도가 1.0 mg/mL일 때에는 큰 유의적 차이는 없었고 BPMR에서 FBPMR로 가공 시 약간 증가하였고 이러한 결과는 개방 숙성 보다 밀폐 숙성 시 열전달이 좀 더 원활하여 활성이 증가한 것으로 추측된다[20].

최근 연구에 의하면, 항산화 활성은 polyphenol성 화합물 함량과 관계가 밀접한 것으로 보고되었다[42]. 특히 Joo 등[15]의 연구에서는 시료 종류에 따른 차이는 있으나 전체적으로는 추출 용매에 따라 용출되는 polyphenol 화합물 종류가 다르며 일반적으로 물 보다는 에탄올 혹은 메탄올과 같은 유기용매 추출 시 용출되는 생리활성 물질이 많아 생리활성이 우수한 것으로 보고되었다. 상기 언급된 polyphenol성 화합물 외 다른 화합물 역시 항산화 활성에 관여한다고 알려져 있으며 본 연구에서 가장 많이 검출된 화합물인 TSB-G 화합물이 항산화 활성과 상관관계가 크다고 Kim 등[8]의 연구에서 제시되었다. 이 외에도 Lv 등[28], Liu 등[29], Chiang 등[30]과 같은 많은 연구자들이

하수오 추출물에서 검출된 TSB-G와 같은 알과 형태 또는 베타 형태의 화합물이 직접적으로 항산화 활성에 관여한다고 보고하였으며, 본 연구 또한 유사한 결과를 보였다. Lee 등[19]은 발효 후에 더덕의 환원력이 증가한다고 보고하였고, Hwang 등[11]과 Kim 등[43]의 연구에서도 더덕과 버섯의 열처리 시간과 온도가 증가할수록 환원력 또한 증가한다고 보고해 본 연구와는 상이한 결과를 나타내었다. 끝으로, 본 연구에서 식품가공(숙성과 발효)에 따라 제조된 하수오는 1차와 2차 대사체 함량 변화와 함께 항산화 활성 변화를 확인하였으며 이를 통해 새로운 형태의 하수오 가공품의 영양성분 및 항산화 활성을 비교할 수 있었다. 총 flavonoid와 maillard 반응 물질을 제외한 활성 물질은 대부분 감소하는 결과를 확인하였으며 따라서 본 연구결과를 토대로 다양한 활성물질을 증가시킬 수 있는 가공 기술에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

초 록

본 연구는 증자, 숙성 및 발효에 따른 *Polygoni multiflori* Radix의 이화학적 특성, phytochemical 함량, 영양성분 및 항산화 활성 변화를 확인하였다. *Polygoni multiflori* Radix (PMR)은 가공 후 pH는 약간 감소하고 산도는 증가하였다(pH 5.70 → 4.78, 산도 0.23 → 0.29%). 환원당 함량은 숙성과 발효 후 PMR (1.19 mg/g)에서 1.40 (FPMR), 1.30 (RPMR), 1.53 (FRPMR), 1.99 (BPMR) 및 2.33 mg/g (FBPMR)으로 증가하였다. Total phenolic 함량은 PMR (6.05 mg/g)에서 가장 높았으며, total flavonoid 함량과 maillard product는 PMR을 숙성과 발효 후 증가하였으며 각각 BPMR (1.60 mg/g)과 FBPMR (2.76 O.D.)에서 가장 높았다. 주요 phytochemical은 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- α -glucoside로 PMR (64.9 mg/g)에서 가장 높았으며, FPMR에서 46.47 mg/g, RPMR에서 33.94 mg/g, FRPMR에서 48.76 mg/g, BPMR에서 36.68 mg/g, FBPMR에서 34.35 mg/g이 검출되었다. 주요 지방산과 유리아미노산은 palmitic acid (C16:0)과 proline이었다. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt 라디칼 소거활성 및 FRAP 환원력은 대체로 PMR (39.06%, 98.32%, 및 2.61 O.D. - 추출물 농도 1.0 mg/mL)에 가장 높은 활성을 보였으며 숙성과 발효 후에 감소하는 경향을 보였다.

Keywords 발효 · 식품가공 · 유산균 · 하수오 · 항산화 · Phytochemicals

감사의 글 본 연구는 2016년도 교육부와 한국연구재단의 기초연구사업 (Grant number 2016R1D1A1B01009898)의 지원 및 2020년 과학기술정보통신부와 한국연구재단의 바이오·의료기술개발사업 (Grant number 2020M3A9I3038560)의 지원에 의해 이루어진 결과입니다.

References

1. Lee GS, Park GS (2011) Quality characteristics of *Jeungpyun* prepared with different ratios of *Polygonum multiflorum* Thunb powder. Korean J Food Cookery Sci 27: 35–46. doi: 10.9724/kfcs.2011.27.4.035

2. Choi JW, Lee HS, Kim YE, Kim BM, Kim IH, Lee CH (2012) Effect of *Polygoni multiflori* Thunberg extract on lipid metabolism in rats fed high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 957–962. doi: 10.3746/jkfn.2012.41.7.957
3. Wang W, Cao CY, Wang DQ, Zhao DZ (2006) Effect of prepared *Polygonum multiflorum* on striatum extracellular acetylcholine and choline in rat of intracerebral perfusion with sodium azide. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 31: 751–753
4. Chiu PY, Mak DHF, Poon MK, Ko KM (2002) *In vivo* antioxidant action of a lignan- enriched extract of *Schisandra* fruit and an anthraquinone-containing extract of *Polygonum* root in comparison with schisandrins B and emodin. *Planta Med* 68: 951–956. doi: 10.1055/s-2002-35661
5. Cho KM, Hwang CE, Joo OS (2017) Change of physicochemical properties, phytochemical contents and biological activities during the vinegar fermentation of *Elaeagnus multiflora* fruit. *J Food Preserv* 24: 125–133
6. Kim IC (2008) Antioxidative properties and whitening effects of the *Polygoni multiflori* radix, *Polygonati rhizoma* and ephedrae herba. *J Korean Oil Chem Soc* 24: 533–538. doi: 10.12925/jkocs.2008.25.4.15
7. Seo H, Seo GY, Ko SZ, Park YH (2011) Inhibitory effects of ethanol extracts from *Polygoni multiflori* radix and *Cynanchi wilfordii* radrix on melanogenesis in melanoma cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1086–1091. doi: 10.3746/jkfn.2011.40.8.1086
8. Kim HY, Kim JY, Cho EJ, Choi JM, Hwang CE, Lee HY, Ahn MJ, Lee JH, Kim YG, Ko KH, Goo YM, Oh KY, Cho KM (2015) Free radical scavenging effect and oxidative stress protective activity of domestic processed *Polygoni multiflori* radix. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 809–815. doi: 10.3746/jkfn.2015.44.6.809
9. Choi HK, Jang YY, Oh JH (2016) Antioxidant and antimicrobial activities of Jeok Hasuo (*Polygoni multiflori* Thunb) and Baek Haso (*Cynanchi wilfordii* Radix) root extracts. *J Food Preserv* 23: 432–437. doi: 10.11002/kjfp.2016.23.3.432
10. Hwang CE, Cho KM, Kim SC, Joo OS (2018) Change of physicochemical properties, phytoestrogen content, and antioxidant activity during lactic acid fermentation of soy powder milk obtained from colored small soybean. *Korean J Food Preserv* 25: 696–705. doi: 10.11002/kjfp.2018.25.6.696
11. Hwang CR, Oh SH, Kim HY, Lee SH, Hwang IG, Shin YS, Lee JS, Jeong HS (2011) Chemical composition and antioxidant activity of *Deoduk* (*Codonopsis lanceolata*) and Doraji (*Platycodon grandiflorum*) according to temperature. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 798–803. doi: 10.3746/jkfn.2011.40.6.798
12. Ku SK, Choi HY (2009) Antioxidant activity and quality characteristics of red ginseng sweet jelly (*Yanggaeng*). *Korean J Food Cookery Sci* 25: 219–226
13. Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Jeong HS (2008) Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 40: 166–170
14. Lee JH, Kim SC, Lee HY, Cho DY, Jung JG, Kang DW, Kang SS, Cho KM (2021) Changes in nutritional compositions of processed mountain-cultivated ginseng sprouts (*Panax ginseng*) and screening for their antioxidant and anti-inflammatory properties. *J Funct Foods* 86: 104668. doi: 10.1016/j.jff.2021.104668
15. Joo OS, Hwang CE, Hong SY, Shin EC, Nam SH, Cho KM (2018) Antioxidative and digestion enzyme inhibitory activity of *Ganoderma lucidum* depends on the extraction solvent. *Korean J Food Preserv* 25: 124–135. doi: 10.11002/kjfp.2018.25.1.124
16. Liu Z, Xia J, Wang CZ, Zhang JQ, Ruan CC, Sun GZ, Yuan CS (2016) Remarkable impact of acidic ginsenoside and organic acid on ginsenoside transformation from fresh ginseng to red ginseng. *J Agric Food Chem* 64: 5389–5399. doi: 10.1021/acs.jafc.6b00963
17. Kwak YS, Choi KH, Kyung JS, Won JY, Rhee MH, Lee JG, Hwang MS, Kim SC, Park CK, Song KB, Han GH (2008) Effects of high temperature heating on the some physicochemical properties of korean red ginseng (*Panax ginseng* C.A Meyer) water extract. *J Ginseng Res* 32: 120–126. doi: 10.5142/JGR.2008.32.2.120
18. Lee SH, Kang KM, Park HJ, Baek LM (2009) Physiological characteristics of medicinal plant extracts for use as functional material in seasoning sauce for pork meat. *Korean J Food Sci Technol* 41: 100–105
19. Lee JY, Kim BK, Park HJ (2013) Quality characteristics and antioxidant activities of fermented deodeok tea with *Pleurotus eryngii* mycelium. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 637–644
20. Hong MJ, Lee GD, Kim HK, Kwon JH (1998) Changes in functional and sensory properties of chicory roots induced by roasting processes. *Korean J Food Sci Technol* 30: 413–418
21. Ryu KC, Chung HW, Kim KT, Kwon JH (1997) Optimization of roasting conditions for high-quality *Polygonatum odoratum* tea (in Korean). *Korean J Food Sci Technol* 29: 776–783
22. Jang EK, Seo JH, Lee SP (2008) Physiological activity and antioxidative effects of aged black garlic (*Allium sativum* L.) extract. *Korean J Food Sci Technol* 40: 443–448
23. Lee JH, Seo WT, Cho KM (2011) Determination of phytochemical contents and biological activity from the fruits of *Elaeagnus multiflora*. *J Food Sci Nutr* 16: 29–36. doi: 10.3746/jfn.2011.16.1.029
24. Cho KM, Joo OS (2012) Enhances antioxidant effect of purple sweet potato by roasting. *Korean J Food Preserv* 19: 735–743. doi: 10.11002/kjfp.2012.19.5.735
25. Yang SJ, Woo KS, Yoo JS, Kang TS, Noh YH, Lee JS, Jeong HS (2006) Change of korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 38: 521–525
26. Lee KS, Choi KJ, Ko SR, Jang JG, Yang CB (1988) Maillard browning reaction and antioxidant activity of red ginseng stored for long periods. *Korean J Ginseng Sci* 12: 121–127
27. Lee KS, Choi KJ, Kim MW, Yang CB (1990) Effects of amino acids and sugar on the maillard browning reactions during extraction and concentrations of red ginseng. *J Ginseng Sci* 14: 117–121
28. Lv LS, Gu XH, Tang J, Ho CT (2007) Antioxidant activity of stilbene glycoside from *Polygoni multiflori* Thunb *in vivo*. *Food Chem* 104: 1678–1681. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.03.022
29. Liu QL, Xiao JH, Ma R, Ban Y, Wang JL (2007) Effect of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside on lipoprotein oxidation and proliferation of coronary arterial smooth cells. *J Asian Nat Prod Res* 9: 689–697. doi: 10.1080/17415990500209064
30. Chiang YC, Huang GH, Ho YL, Hsieh PC, Chung HP, Chou FI, Chang YS (2011) Influence of gamma irradiation on microbial load and antioxidative characteristics of *Polygoni multiflori* Radix. *Process Biochem* 46: 777–782. doi: 10.1016/j.procbio.2010.12.004
31. Wang X, Zhao L, Han T, Chen S, Wang J (2008) Protective effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside, an active component of *Polygoni multiflori* Thunb, on experimental colitis in mice. *Eur J Pharmacol* 578: 339–349
32. Jiang Z, Xu J, Long MH, Tu Z, Yang G, He GY (2009) 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside (THSG) induces melanogenesis in B16 cells by MAP kinase activation and tyrosinase upregulation. *Life Sci* 85: 345–350. doi: 10.1016/j.lfs.2009.05.022
33. Park HJ, Zhang N, Park DK (2011) Topical application of *Polygonum multiflorum* extract induces hair growth of resting hair follicles through upregulating shh and β -catenin expression in C57BL/6 mice. *J Ethnopharmacol* 135: 369–375. doi: 10.1016/j.jep.2011.03.028
34. Oh JS, Hong JH, Park TY, Kim KJ, Jin SW, Ban SE, Koh YW, Jeong SW, Im SB, Seo KS (2016) Chemical compositions of fermented *Polygonum multiflorum* Thunberg. root by *Lentinula deodes* (Berk.) Pegler mycelials cultivation. *J Mushr* 14: 184–190. doi: 10.14480/JM.2016.14.4.184
35. Oh JS, Hong JH, Park TY, Yun KW, Kang KY, Jin SW, Kim KJ, Ban SE, Im SB, Koh YW, Seo KS (2018) Chemical constituents in *Polygonum multiflorum* Thunberg root based on various dry methods. *Korean J Plant Res* 31: 283–293. doi: 10.7732/kjpr.2018.31.4.283
36. Im DY, Lee KI (2019) Changes to the Anti-oxidative Activity and

- Amino Acid Content of Arctium lappa Tea by Heat Treatment. J Life Sci 29: 1358–1363. doi: 10.5352/JLS.2019.29.12.1358
37. van Boekel MAJS (2006) Formation of flavour compounds in the maillard reaction. Biotechnol. Adv 24: 230–233. doi: 10.1016/j.biotechadv.2005.11.004
 38. Song BN, Kim EJ, Jeong DS, Kim SY, Cho YS, Park SY (2017) Physicochemical components of *Cynanchi wilfordii* Radix fermented with *Rhizopus delemar*. Korean J Food Preserv 24: 813–819. doi: 10.11002/kjfp.2017.24.6.813
 39. Lew ID, Park CK, Yu JY (1988) Interaction between *Lactobacillus acidophilus* and *Kluyveromyces fragilis* on the metabolism of amino acids in soymilk. J Microbiol Biotechnol 16: 287–292
 40. Cho KM, Joo OS (2014) Quality and antioxidant characteristics of *Elaeagnus multiflora* wine through the thermal processing of juice. J Food Preserv 21: 206–214. doi: 10.11002/kjfp.2014.21.2.206
 41. Jeon SM, Kim SY, Kim IH, Go JS, Kim HR, Jeong JY, Lee HY, Park DS (2013) Antioxidant activities of processed deoduck (*Codonopsis lanceolata*) extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr 42: 924–932. doi: 10.3746/jkfn.2013.42.6.924
 42. Lee SY, Kim JH, Park JM, Lee IC, Lee JY (2014) Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Smilax China* L. Korean J Food Preserv 21: 254–263. doi: 10.11002/kjfp.2014.21.2.254
 43. Kim JH, Lee SC, Ju YC (2007) Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity of extracts from *Phellinus igniarius* and *Ganoderma lucidum*. Korean J Food Sci Technol 39: 386–389