



Changes in physicochemical and functional properties of *Opuntia humifusa* by fermentation with *Citrus junos* flesh and peel

Sojin Yong¹, Beom-Gyun Jeong², Eui Cheol Shin³, Jiyeon Chun^{1,4*}

¹Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

²Suncheon Research Center for Natural Medicines, Suncheon 57922, Korea

³Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

⁴Kimchi Science and Industrialization Institute, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

유자(*Citrus junos*) 과육 및 과피 첨가 발효에 따른 천년초(*Opuntia humifusa*)의 이화학적 특성 및 기능성 변화

용소진¹ · 정범균² · 신의철³ · 천지연^{1,4*}

¹순천대학교 식품공학과, ²순천천연물약소재개발연구센터,

³경남과학기술대학교 식품과학부, ⁴순천대학교 김치연구소

Abstract

In this study, *Opuntia humifusa* was fermented with *Citrus junos* and its physicochemical and functional properties were investigated. *O. humifusa* (Oh) was combined with *C. junos* flesh (Oh-CF), peel (Oh-CP), or whole fruit (Oh-CFP) and fermented at 30°C for 14 d. The number of lactic acid bacteria rapidly increased to 7.1 log CFU/mL during the initial 10 d of fermentation, resulting in decreases in pH and soluble sugar contents of Oh samples. Total polyphenol content increased 4-5 folds in all samples during fermentation. Isorhamnetin content was highest in Oh after 14 d of fermentation whereas naringin and hesperidin contents were highest in Oh-CP after 6 d. Antioxidant activity of samples increased approximately 3-4 folds during fermentation. DPPH radical scavenging ability was highest in Oh-CFP after 10 d of fermentation whereas reducing power was highest in Oh after 14 d. α -Glucosidase inhibitory activity (GIA) of samples fermented with *C. junos* was higher than that of acarbose (0.85 μ g/mL), with the highest GIA observed for Oh-CFP fermented for 14 d (0.38 μ g/mL). Favorable essential oils such as limonene, pinene, linalool, terpinene and terpinolene were detected in samples with *C. junos*. The addition of *C. junos* flesh and peel would be useful for enhancement of physicochemical and functional properties (antioxidant and GIA activities) of *O. humifusa*, which could be effectively improved by modulating the fermentation period.

Key words : *Opuntia humifusa*, *Citrus junos*, fermentation, antioxidant activity

서 론

건강 100세 장수시대가 도래하면서 뇌졸중, 동맥경화증, 고혈압, 암, 당뇨병, 만성간질환, 만성 위장병 등 각종 만성 성인병 질환을 예방하기 위한 건강식품, 특히 발효식품과 같

은 자연식품에 관한 관심이 높아지면서 다양한 과채류 자원으로 부터의 기능성 개선과 관련된 연구가 확산하고 있다 (Jeon과 Choi, 2011; Kim, 2018; Meckes-Lozoya와 Ibáñez-Camacho, 1989). 발효는 오래전부터 장류를 비롯하여 식초, 젓갈류, 침채류, 발효유 등 다양한 식품의 제조 및 저장을 위

*Corresponding author. E-mail : cjyfall@scnu.ac.kr, Phone : +82-61-750-3258, Fax : +82-61-750-3250

Received 11 May 2021; Revised 29 June 2021; Accepted 30 June 2021.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

해 이용되어온 가공 방법이다. 발효는 미생물이 분비하는 효소 작용을 통해 식품 자원으로 부터 풍미 향상을 통한 관능성 개선 및 저장성 향상뿐만 아니라, 다양한 유용물질의 증감을 통한 건강 기능성 개선 효과를 얻을 수 있는 방법으로 알려져 있다(Cho 등, 2010; Kim 등, 1995; Park 등 2015). 발효식품의 건강 기능성 개선 효과에 관한 보고와 소비자들의 새로운 웰빙식품에 대한 요구의 증가에 따라 국내 기능성 자원에 대한 지속적인 탐색과 이에 적합한 발효 기술을 적용하여 기능성을 극대화하는 기술 개발 및 산업적으로 활용 가능성에 관한 연구가 필요하다.

전남 지역에 자생하는 특산 자원의 하나인 천년초(*Opuntia humifusa*)는 다년초 식물의 선인장과(*Opuntia*)의 식물로 부채선인장과(*Opuntioideae*)에 속하며, 줄기의 형태가 손바닥과 비슷하여 손바닥 선인장이라고도 불린다. 영하 20°C의 혹한에도 죽지 않고 강한 생명력을 유지하는 특성이 있는 한국 토종 식용 선인장이다(Cho 등, 2009). 천년초는 폴리페놀 화합물, 플라보노이드, 식이섬유, 비타민 C, 칼슘, 무기질, 아미노산, 복합 당류 등과 같은 인체에 중요한 유용성분을 함유하고 있고, 특히 식이섬유소와 칼슘이 다른 과채류에 비해 다량 함유된 것으로 보고되어 있다(Shin 등, 2015). 또한, 천년초는 항산화, 항당뇨, 간 손상 예방, 암세포 성장 억제 등에 효과를 나타내는 기능성 자원으로 알려져 있으며(Meckes-Lozoya와 Ibáñez-Camacho, 1989; Park 등, 2005; Yoon 등, 2009), 국내에서는 음료, 초콜릿, 스낵, 국수, 차, 비누, 화장품 등의 다양한 가공제품으로의 활용이 시도되고 있다. 천년초는 고분자 식이섬유인 펙틴이 주성분으로 arabinose, galactose, xylose, galacturonic acid, rhamnose 등의 당류로 구성되어 있어 점도가 높은 특성이 있다(Park 등, 2010). 천년초의 건강 기능성은 우수하나, 점성이 높은 원료 자체의 특성과 맛과 향에 있어서 낮은 관능적 기호도로 인하여 생식으로 섭취하기에는 적합하지 않기 때문에 주로 가공을 통해 첨가물의 형태로 이용되고 있다.

유자(*Citrus junos*)는 운향과에 속하는 감귤류의 일종으로 청유자, 황유자, 실유자 등이 있으며, 고흥, 완도, 장흥 등 전남 일대에서 생산되는 지역 특산 자원으로 독특한 향기 성분인 limonene으로 인해 관능적 기호성이 높은 것으로 평가되고 있다(Lee 등, 1987; Yoon과 Kim, 2003). 유자는 다른 감귤류와 달리 과육과 과피를 모두 식용으로 사용 가능한데, 특히 과피 부분에 정유 성분과 건강 기능성 성분이 풍부하여 유자 과피의 사용은 건강 기능성 개선 효과와 함께 천년초 선인장의 불쾌취를 개선에도 효과적일 것으로 기대된다. 유자에 존재하는 생리활성 성분으로 나린진(naringin)과 헤스페리딘(hesperidin)과 같은 플라보노이드류는 항균, 항산화, 항염증, 항고혈압, 혈중지질 저하 효과, 항알러지, 항암 등이 보

고되는 유용한 성분으로 과육보다 과피에 더 높은 함량이 있는 것으로 알려져 있다(Chae 등, 2008; Jeon과 Choi, 2011; Woo, 2000).

본 연구에서는 발효를 통한 천년초와 유자의 이화학적 특성 및 기능성 개선 효과를 조사하여 천년초 발효제품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

분석에 사용된 gallic acid, quercetin, naringin, hesperidin, oxalic acid, ascorbic acid, acetic acid, succinic acid, n-pentadecane 표준품은 Sigma-Aldrich(Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에서, isorhmanetin 표준품은 Extrasynthese 사(Lyon Nord, France)에서 구입하였다. Folin-Ciocalteu's phenol reagent와 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), bovin serum albumin(BSA), acarbose, α -glucosidase는 Sigma-Aldrich 사에서 구입하였다. 기타 사용된 시약 및 용매는 특급 및 HPLC 등급을 사용하였다.

유자 첨가 천년초 발효

천년초 줄기와 열매는 순천만천년초(Suncheon, Korea)에서 구입하였으며, 유자는 전남 고흥군 농가에서 구입하여 사용하였다. 천년초와 유자는 수세 후 물기를 제거하여 건조 후 -70°C에 보관하여 사용하였다. 유자는 과육과 과피를 분리하여 따로 보관하여 사용하였다. 천년초 줄기는 가로 2 cm×세로 2 cm 정육면체로 얇게 썰었고, 천년초 열매는 그대로 사용하였다. 유자 과육과 과피는 모두 0.5 cm 두께로 얇게 썰어 사용하였다. 천년초 줄기와 열매를 1:1로 혼합한 시료에 유자 과육, 과피, 그리고 과육과 과피 혼합물을 이용한 총 4종류의 혼합 시료를 Table 1과 같이 되도록 준비하여 3 L 용량의 뚜껑이 있는 플라스틱 용기에 담고 멸균수 700 mL에 설탕 600 g을 녹인 당용액을 가하여 총 중량이 2,000 g이 되도록 하였다. 통유자(*C. junos* fruit and peel, CFP), 유자과육(*C. junos* fruit, CF), 그리고 유자 과피(*C. junos* peel, CP) 첨가량은 각각 천년초 중량의 10% 수준(70 g)이었다. 유자, 유자과육, 유자과피의 첨가량은 예비 실험을 통해 발효 가능 여부와 기호도를 고려하여 첨가수준을 결정하였다. 모든 재료는 잘 혼합한 후 30°C incubator에서 14일간 발효를 진행시키며, 2주 동안 발효액을 채취하여 분석 시료로 사용하였다.

pH와 당도 분석

천년초 발효액의 pH와 당도는 각각 pH meter(Mettler-Toledo AG 8603, Schwerzenbach, Switzerland)와 당도계

Table 1. Formulation for fermentation of *C. junos*-added *O. humifusa*

| Sample ¹⁾ | <i>O. humifusa</i> fruit (g) | <i>O. humifusa</i> stem (g) | <i>C. junos</i> (g) | Sugar (g) | Water (mL) | Total (g) |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------|------------|-----------|
| Oh | 350 | 350 | 0 | 600 | 700 | 2,000 |
| Oh-CF | 315 | 315 | 70 (fruit) | 600 | 700 | 2,000 |
| Oh-CP | 315 | 315 | 70 (peel) | 600 | 700 | 2,000 |
| Oh-CFP | 315 | 315 | 70 (whole) | 600 | 700 | 2,000 |

¹⁾Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

(PR-101, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. pH meter는 분석 전에 보정하여 측정하였다.

젖산균 생육도 측정

유자 첨가 천연초의 발효 중 젖산균 생육속도 측정은 발효액 시료 0.1 mL를 멸균증류수로 단계로 희석하여 주입평판법을 사용하여 계수하였다(Case와 Johnson, 1984). 희석액에 MRS agar를 분주한 후 잘 혼합한 다음 응고시킨 다음 37°C incubator에서 24시간 젖산균 집락 수를 계수하여 colony forming units(CFU)/mL로 나타내었다.

향기성분 분석

유자 첨가 천연초 발효액의 휘발성 향기 성분 포집은 Schultz 등(1977)의 방법에 따라 SPME(solid phase microextraction)를 이용하였다. 발효액 3 g과 시료 3 g과 내부표준물질로 0.05 µL의 n-pentadecane(1 mg/mL)을 첨가하여 교반기에서 60°C, 100 rpm 교반속도에서 10분간 SPME에 향기를 포집하였다. 포집된 SPME는 gas chromatography-mass spectrometry (GC/MSD; Agilent 7890A & 5975C, Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였다. 향기 성분의 분석은 HP-5MS column(30 m×0.25 mm, 0.25 µm, Agilent)을 사용하였다. 이때 분석조건으로 오븐 온도는 40°C에서 5분 머무른 후 200°C까지 분당 5°C의 속도로 승온시켰으며, injector 온도는 220°C, carrier gas인 helium의 유속은 1.0 mL/min, split ratio는 1:10이었다. Total ionization chromatogram(TIC)에서 분리된 각 성분은 mass spectrum library(NIST 12)를 이용하여 동정하였으며, 각 시료의 향기 성분은 피크 면적과 이를 기준으로 하여 내부표준물질을 이용하여 정량하였다.

총폴리페놀 분석

총폴리페놀 함량은 Folin과 Denis(1912)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96-Well microplate에 시료 40 µL와 증류수 200 µL를 잘 혼합한 후 50% Folin-Ciocalteu's phenol reagent

20 µL와 5% sodium carbonate 용액 40 µL를 차례로 가하여 잘 혼합한 다음 1시간 동안 암실에 방치하였다. Microplate reader(Eon, Biotek, St. Winooski, VT, USA)를 이용하여 반응액의 흡광도를 750 nm에서 측정하여 총폴리페놀 함량을 gallic acid를 표준물질로 하여 µg gallic acid equivalents (GAE)/mL로 나타내었다.

이소람네티, 나린진 및 헤스페리딘 분석

발효액의 이소람네티, 나린진 및 헤스페리딘 함량은 Moussa-Ayoub 등(2011)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. Eppendorf tube에 시료 1 mL와 80% MeOH을 1 mL 가하여 5분간 초음파 처리 후 5분 동안 finemixer(SH2000, FINEPCR, Seoul, Korea)로 교반시킨 후 15,000 ×g에서 5분간 원심분리한 후 0.45 µm Syringe filter(SF13-HLB45-GM, Futecs Co., Daejeon, Korea)로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 발효액의 나린진과 헤스페리딘의 추출은 Xu 등(2008)의 방법을 사용하였다. 시료 2 mL에 methanol과 dimethylsulphoxide를 1:1 혼합한(v/v) 용액 6 mL를 가하여 1시간마다 격렬히 흔들어주며 실온에서 12시간 동안 추출한 다음 0.45 µm Syringe filter로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC 분석은 Agilent 1200 system(Agilent, Santa Clara, CA, USA)을 이용하여 YMC-PACK ODS-AM(C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 µm, YMC, Kyoto, Japan) 컬럼과 photodiodearray detector(Agilent)를 연결하여 이소람네티는 365 nm, 나린진과 헤스페리딘은 283 nm에서 검출하였다. HPLC 이동상 분리조건은 Table 2와 같으며, flow rate 1 mL/min, column temperature 40°C, injection volume은 20 µL로 동일하였다.

항산화능 측정

시료 발효액의 DPPH 라디칼 소거능은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 암실에서 30분간 방치하였다. Microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를

Table 2. HPLC gradient conditions of mobile phases for isorhamnetin, naringin and hesperidin analyses

| | Time (min) | Mobile phase A (%) ¹⁾ | Mobile phase B (%) ²⁾ |
|-----------------------------|------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Isorhamnetin | 0 | 100 | 0 |
| | 5 | 90 | 10 |
| | 35 | 60 | 40 |
| | 50 | 100 | 0 |
| | 55 | 100 | 0 |
| | 65 | 100 | 0 |
| | Time (min) | Mobile phase A (%) ³⁾ | Mobile phase B (%) ⁴⁾ |
| Naringin & hesperidin | 0 | 85 | 15 |
| | 35 | 35 | 65 |
| | 45 | 0 | 100 |
| | 50 | 0 | 100 |
| | 55 | 85 | 15 |

¹⁾Water:acetic acid:acetonitrile=94.5:0.5:5(v/v/v).

²⁾Acetonitrile.

³⁾Water (1% acetic acid).

⁴⁾Acetonitrile (1% acetic acid).

측정한 후 gallic acid를 표준물질로 사용하여 검량선을 작성하여, DPPH 라디칼 소거능을 $\mu\text{g GAE/mL}$ 로 계산하였다. 환원력은 Oyaizu(1986)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 200 μL , 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 200 μL , 1% potassium ferricyanide 용액 200 μL 를 차례로 가하여 잘 혼합한 후 50°C 진탕항온수조에서 20분간 반응시킨 다음 10% trichloroacetic acid 200 μL 를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액은 15,000 $\times g$ 에서 10분간 원심분리한 후 상등액 100 μL 를 96-well microplate에 취한 다음 증류수 100 μL 와 0.1% ferric chloride 20 μL 를 차례로 가하여 잘 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하고 $\mu\text{g GAE/mL}$ 로 환원력을 나타내었다.

α -Glucosidase 저해능 분석

α -Glucosidase 저해능 분석은 Vinholes 등(2011)의 방법을 변형하여 측정하였다. 기질 용액 2 mM 4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(ρ -NPG)와 0.06 U/mL α -glucosidase는 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)를 이용하여 제조하였다. 96-Well microplate에 농도별(31, 63, 125, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$) 시료 20 μL 에 효소 용액 100 μL 를 넣고 잘 혼합하여 균질화시킨 후 5분간 실온에 방치하였다. 다음으로 2 mM ρ -NPG 용액 100 μL 를 가하여 잘 혼합한 후 실온에서 10분간 반응시킨 다음 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 시료를 넣지 않고 buffer에 효소 용액과 기질 용액을 넣어 반응시

킨 것을 control로 사용하였으며, α -glucosidase 저해능은 다음 식에 따라 계산한 다음 IC_{50} 으로 나타내었다. 대조구로 acarbose 용액을 사용하였다.

α -Glucosidase inhibition(%) =

$$[(\text{Abs}_{\text{rec}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{rec}}] \times 100$$

Abs_{rec} : Absorbance of the control

$\text{Abs}_{\text{sample}}$: Absorbance of the test sample

통계분석

모든 분석은 3 반복으로 진행되었으며, 실험결과는 SPSS Statistics(19, IBM Corp., Armonk, NY, USA) 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 계산하고, 시료 간의 유의적인 평균의 차이를 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

유자첨가 천연초 발효 중 pH, 당도 및 젖산균 생육

Table 1과 같이 천연초(Oh), 천연초-유자과육(Oh-CF), 천연초-유자과피(Oh-CP), 천연초-통유자(OH-CFP) 혼합물을 30°C에서 발효시킬 때 변화되는 pH, 당도 및 젖산균은 각각

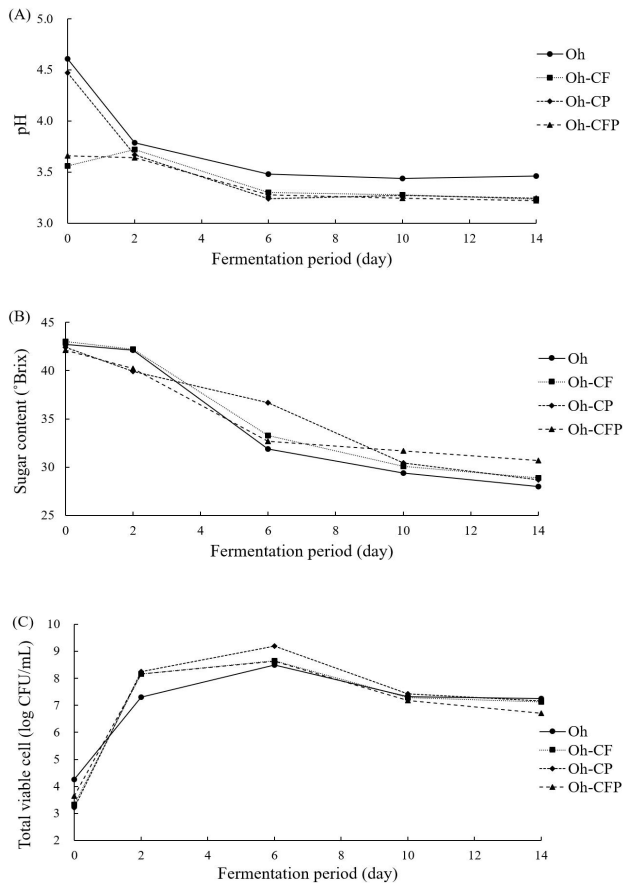


Fig. 1. Changes in pH (A), sugar content (B), and viable cell growth (C) of *O. humifusa* added with *C. junos* during fermentation.

Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

Fig. 1A-C과 같다. 발효 초기(0일) 시료의 pH는 유자 과육이 첨가된 Oh-CF(3.56)와 Oh-CFP(3.66) 시료가 유자 과육이 없는 Oh(4.61)와 Oh-CP(4.47) 시료보다 낮았는데, 이는 천년초에 비하여 유자 과육 자체의 pH(2.98)가 낮기 때문으로 보여진다. 유자 과육과 과피가 각각 첨가된 천년초 발효액 Oh-CF와 Oh-CFP는 발효 2일 동안 pH에 큰 변화를 보이지 않았으나, 2일 이후부터 pH가 약 3.2 수준으로 낮아졌으며, Oh(대조구)와 Oh-CP는 발효 2일 동안 급격한 감소를 보인 이후 발효 6일까지 차츰 감소된 pH가 발효 14일까지 유지되는 것으로 나타났다. 발효 14일 동안 전반적으로 유자가 첨가되지 않은 천년초 Oh(대조구)가 유자 첨가 시료군보다 유의적으로 높은 pH를 나타냈다.

한편, 유자 첨가 천년초 발효액 당도의 변화는 Fig. 1B와 같다. 발효 전 모든 시료액의 당도는 42.1-43.0 °Brix였으며, 발효가 진행됨에 따라 빠르게 감소하여 발효 14일에는 28.0-30.7

°Brix를 나타내었다. 발효 6일에서 14일까지 Oh의 당도가 다른 발효액에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였다($p < 0.05$). 발효 0일에서 14일 동안 발효액 당도의 감소율은 30% 수준이었으며, 특히 발효 6일에서 14일까지 대조구 Oh의 당도는 다른 발효액에 비해 낮은 수치를 보였다.

천년초-유자 발효 중 젖산균 생육 변화는 Fig. 1C와 같다. 천년초만 발효시킨 Oh보다 유자를 첨가한 Oh-CF, Oh-CP, Oh-CFP의 젖산균 생육이 초기 3.2-3.6 log CFU/mL에서 발효 6일 후에 8.6-9.2 log CFU/mL로 증가하였고, 시료군 중에서 Oh-CP가 발효 6일까지 젖산균수가 가장 높게 나타났으며, 이후부터 젖산균 수가 점차 감소하여 발효 10일 이후에는 7.1 log CFU/mL 수준을 나타냈다. 전체적으로 모든 시료에서 발효 6일까지 젖산균의 생육이 증가하고, 이후 점차 감소하는 경향을 나타냈는데, 이는 발효 초기 6일 동안 pH와 당도의 감소가 빠르게 나타난(Fig. 1A, B) 이유라 할 수 있다. 발효 중 생성되는 젖산균이 생성하는 젖산에 의해 산도가 높아지면서 내산성이 약한 젖산균의 생육이 저해되고, 내산성이 있는 젖산균만 일부 생존할 수 있으므로 전체적으로 젖산균 생육이 둔화하고 그 수가 감소하는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2014; Moon 등, 2003). 본 연구에서는 발효 6일까지 pH가 급격히 감소한 후 유지되었는데 이는 초기 발효 pH가 3.5-4.5 범위로 낮은 pH에서 시작되었기 때문에 내산성이 있는 젖산균들이 주로 생육 가능했을 것으로 보이며, 이들의 생육에 따른 젖산 생성으로 pH가 3.2까지 저하되었으나, 그 이후는 낮은 산성 조건이 젖산균의 생육에 필요한 효소 활성을 낮추고 이로 인해 젖산균 생육이 점차 저해되며 생육이 둔화하였을 것으로 보여진다. 본 연구에서 14일간 발효된 천년초 발효액의 젖산균수는 7.1 log CFU/mL 수준을 보였는데, 이는 식품공전에서 규정하는 발효음료의 젖산균 수(10^6 log CFU/mL)보다 높은 수준으로, 천년초 발효액을 건강 지향형 유산균 음료 제품 개발에 활용 가능할 것으로 사료된다.

유자 첨가 천년초 발효액의 향기성분

천년초-유자 발효액의 향기성분을 GC/MS를 이용하여 측정한 결과는 Table 3과 같다. 유자에서 가장 많은 향기성분으로 보고되는 limonene은 향긋한 냄새를 주는 감귤류의 주요 향기물질로 알려져 있다(Lee 등, 1987). 대조구 Oh의 휘발성 향기 성분으로는 alcohol 류 4종, ester 류 6종 등 총 14종의 화합물이 검출되었으며, 비교적 decanoic acid ethyl ester가 많은 함량을 나타내었다. Oh-CF의 향기 성분 중 methyl-tis-silane이 1.44 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ (33.72%)으로 가장 높은 함량을 보였다. Oh-CF는 총 18종의 향기 성분 중 1-pentanol, 3-methyl-1-butanol, formic acid pentyl ester, benzene ethanol, decanoic acid ethyl ester는 Oh와 동일하게 검출되었으며, 3-methyl-1-

Table 3. Volatile compounds of fermented *O. humifusa* with *C. junos*

| Sample ¹⁾ | No. | Compounds | Content (µg/100 g) | Percent (%) |
|----------------------|-----|--|--------------------|-------------|
| Oh | 1 | Decanoic acid ethyl ester | 0.69 | 33.99 |
| | 2 | Isoamyl alcohol | 0.27 | 13.30 |
| | 3 | 1-Pentanol | 0.22 | 10.84 |
| | 4 | 1-13-Methyl-1-oxotetradecyl-pyrrolidine | 0.15 | 7.39 |
| | 5 | 3,5-1,1-Dimethyl ethyl phenol | 0.14 | 6.90 |
| | 6 | 3-Methyl-1-butanol | 0.13 | 6.40 |
| | 7 | Benzene ethanol | 0.11 | 5.42 |
| | 8 | 3-Methyl-formate-1-butanol | 0.09 | 4.43 |
| | 9 | Formic acid pentyl ester | 0.08 | 3.94 |
| | 10 | Undecanoic acid ethyl ester | 0.04 | 1.97 |
| | 11 | Dimethy-1,1'-biphenyl-2-carboxamide | 0.03 | 1.48 |
| | 12 | Heptanoic acid ethyl ester | 0.03 | 1.48 |
| | 13 | Propanoic acid 2-methyl hexyl ester | 0.03 | 1.48 |
| | 14 | Dimethyl malonic acid 2-ethyl hexyl isohexyl ester | 0.02 | 0.99 |
| Oh-CF | 15 | Methyl-tris-silane | 1.44 | 33.72 |
| | 16 | Decanoic acid ethyl ester | 1.28 | 29.98 |
| | 17 | Ethyl-1,3-dithioisindoline | 0.76 | 17.80 |
| | 18 | Benzene ethanol | 0.10 | 2.34 |
| | 19 | 3-Methyl-1-butanol | 0.09 | 2.11 |
| | 20 | Nonanoic acid ethyl ester | 0.09 | 2.11 |
| | 21 | 2-Methylazetidine | 0.08 | 1.87 |
| | 22 | 2,4-1,1-Dimethyl ethyl phenol | 0.08 | 1.87 |
| | 23 | Octanoic acid ethyl ester | 0.07 | 1.64 |
| | 24 | Phenyl ethyl acetate | 0.06 | 1.41 |
| | 25 | 1-Pentanol | 0.05 | 1.17 |
| | 26 | 2,6,10-Trimethyl dodecane | 0.03 | 0.70 |
| | 27 | 2-Allyl-4-tert butyl phenol | 0.03 | 0.70 |
| | 28 | Geranylacetone | 0.03 | 0.70 |
| | 29 | Decahydro naphthalene | 0.03 | 0.70 |
| | 30 | Formic acid pentyl ester | 0.02 | 0.47 |
| | 31 | Triallyl ethoxysilane | 0.02 | 0.47 |
| | 32 | Benzoic acid ethyl ester | 0.01 | 0.23 |
| Oh-CP | 33 | D-Limonene | 8.16 | 27.46 |
| | 34 | Linalool | 5.48 | 18.44 |

(continued)

| Sample ¹⁾ | No. | Compounds | Content ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) | Percent (%) |
|----------------------|-----|---|---|----------------|
| Oh-CP | 35 | α -Terpineol | 3.03 | 10.20 |
| | 36 | Ethyl ester decanoic acid | 2.35 | 7.91 |
| | 37 | Terpinen-4-ol | 1.53 | 5.15 |
| | 38 | β -Farnesene | 1.01 | 3.40 |
| | 39 | 5-Methyl-2-1-methyl ethyl phenol | 0.79 | 2.66 |
| | 40 | β -Guaiene | 0.79 | 2.66 |
| | 41 | γ -Terpinene | 0.77 | 2.59 |
| | 42 | β -a-Cadinene | 0.77 | 2.59 |
| | 43 | 1,1-Dimethyl ethyl phenol | 0.57 | 1.92 |
| | 44 | Caryophyllene | 0.55 | 1.85 |
| | 45 | Phenylethyl Alcohol | 0.39 | 1.31 |
| | 46 | <i>o</i> -Cymene | 0.38 | 1.28 |
| | 47 | Methyl ester-12,15-octadecadienoic acid | 0.31 | 1.04 |
| | 48 | β -Elemene | 0.30 | 1.01 |
| | 49 | 3-Hexene-1,6-dialdehyde | 0.21 | 0.71 |
| | 50 | 2-Phenyl ethyl ester-2-propenoic acid | 0.20 | 0.67 |
| | 51 | Germacrene | 0.20 | 0.67 |
| | 52 | Humulene | 0.19 | 0.64 |
| | 53 | Formic acid pentyl ester | 0.18 | 0.61 |
| | 54 | 1,3-1,1-Dimethyl ethyl benzene | 0.16 | 0.54 |
| | 55 | α -Copaene | 0.15 | 0.50 |
| | 56 | 2-Propenoic acid 2-ethyl hexyl ester | 0.14 | 0.47 |
| | 57 | 6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-one | 0.13 | 0.44 |
| | 58 | Geraniol formate | 0.12 | 0.40 |
| | 59 | Benzoic acid ethyl ester | 0.09 | 0.30 |
| | 60 | 1-Undecanol | 0.09 | 0.30 |
| | 61 | Ethyl ester nonanoic acid | 0.09 | 0.30 |
| | 62 | α -Pinene | 0.08 | 0.27 |
| | 63 | 4-Carene | 0.08 | 0.27 |
| | 64 | 2,4-Difluoro-1-isocyanato benzene | 0.08 | 0.27 |
| | 65 | Thymoquinone | 0.06 | 0.20 |
| | 66 | Torreyol | 0.06 | 0.20 |
| | 67 | Carbonochloridic acid decyl ester | 0.04 | 0.13 |
| | 68 | 8-Epi-alamaridine | 0.03 | 0.10 |

(continued)

| Sample ¹⁾ | No. | Compounds | Content (µg/100 g) | Percent (%) |
|----------------------|-------------|---------------------------------------|-----------------------|----------------|
| Oh-CP | 69 | 1-(4'-pentenyl)-1,2-epoxycyclopentane | 0.03 | 0.10 |
| | 70 | γ-ä-Cadinene | 0.03 | 0.10 |
| | 71 | Fumaric acid 2-heptyl tridecyl ester | 0.02 | 0.07 |
| | 72 | δ-3-Carene | 0.02 | 0.07 |
| | 73 | δ-Gurjunene | 0.02 | 0.07 |
| | 74 | γ-Elemene | 0.02 | 0.07 |
| | 75 | Aromadendrene | 0.01 | 0.03 |
| | 76 | Arachidonic acid trimethylsilyl ester | 0.01 | 0.03 |
| Oh-CFP | 77 | Decanoic acid ethyl ester | 1.01 | 22.25 |
| | 78 | γ-Terpinene | 0.88 | 19.38 |
| | 79 | N-Ethyl-1,3-dithioisindoline | 0.54 | 11.89 |
| | 80 | Limonene | 0.39 | 8.59 |
| | 81 | Terpinen-4-ol | 0.28 | 6.17 |
| | 82 | 5-Methyl-2-1-methyl ethyl phenol | 0.26 | 5.73 |
| | 83 | 1-Allyl-2-methyl cyclohexanol | 0.25 | 5.51 |
| | 84 | 2,4-1,1-Dimethyl ethyl phenol | 0.25 | 5.51 |
| | 85 | Phenyl ethyl alcohol | 0.15 | 3.30 |
| | 86 | 2-2-Butoxy ethoxy acetate ethanol | 0.05 | 1.10 |
| | 87 | δ-Cadinene | 0.05 | 1.10 |
| | 88 | 2-Propenoic acid 2-ethyl hexyl ester | 0.04 | 0.88 |
| | 89 | 7-Octadecanone | 0.04 | 0.88 |
| | 90 | 6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-one | 0.04 | 0.88 |
| | 91 | Methyl-1-methyl ethyl benzene | 0.03 | 0.66 |
| | 92 | 2-Methyl-1-hexadecanol | 0.03 | 0.66 |
| | 93 | α-Terpinolene | 0.03 | 0.66 |
| | 94 | 2-Methyl-2-isopropenyl damantane | 0.03 | 0.66 |
| | 95 | Junipene | 0.03 | 0.66 |
| | 96 | 4-Prop-2-enoyloxyoctane | 0.02 | 0.44 |
| | 97 | Isoamylalcohol | 0.02 | 0.44 |
| | 98 | 4-2-Methyl-2-propenoxy butanoic acid | 0.02 | 0.44 |
| | 99 | Benzene ethanol | 0.02 | 0.44 |
| | 100 | 2,4-Dimethyl-2,4-pentadien-1-ol | 0.02 | 0.44 |
| | 101 | 5,4,0-Undec-1-en-3-one | 0.02 | 0.44 |
| 102 | α-Amorphene | 0.02 | 0.44 | |
| 103 | 2-Tridecyne | 0.02 | 0.44 | |

¹⁾Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

butanol과 decanoic acid ethyl ester를 제외하고 Oh가 더 높은 함량을 나타내었다. Oh-CP는 총 44종의 향기 성분이 분리되었으며, 유자 향기의 주요 성분인 D-limonene이 8.16 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 으로 전체 향기 성분 중 27.5%로 가장 높은 함량을 나타냈고, 다음으로 과일에 존재하며 상쾌한 과실 향을 부여하는 향기물질로 알려진(Choi 등, 2006; Flath와 Takahashi, 1978) linalool(5.48 $\mu\text{g}/100\text{ g}$)이 18.4%를 차지하였다. 다음으로 α -terpineol(3.03 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) > ethyl ester decanoic acid(2.35 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) > terpinen-4-ol(1.53 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) > β -farnesene(1.01 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) 순으로 높게 나타났다. Oh-CFP의 경우, 총 27종의 향기 성분이 검출되었으며, decanoic acid ethyl ester가 1.01 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 으로 전체에서 22.3%로 가장 많은 것으로 나타났다. Lee 등(1987)은 유자의 독특한 향을 내는 주요 성분은 limonene, pinene, terpinene, terpinolene, linalool과 caryophyllene으로 보고하였는데, 이러한 성분들은 본 연구에서 Oh 시료에서는 검출되지 않았으나, 유자 첨가 천연초 발효액에서 모두 검출되었다.

유자 첨가 천연초 발효 중 총폴리페놀 함량 변화

유자 첨가 천연초의 발효 중 총폴리페놀 함량 변화는 각각 Fig. 2와 같다. 발효 전 총폴리페놀 함량은 83.28-99.75 $\mu\text{g GAE}/\text{mL}$ 였으며, Oh, Oh-CF, Oh-CFP는 발효 6일까지 총 폴리페놀 함량이 증가한 후 유지되었으며, Oh-CP는 발효 10일까지 계속 증가하여 478.18 $\mu\text{g GAE}/\text{mL}$ 로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다. 발효 10일 후의 총폴리페놀 함량은 발효 전보다 약 4-5배 정도 증가한 수준(405.31-459.57 $\mu\text{g}/\text{mL}$)이었으며, 유자 과피를 첨가한 천연초 발효 시료(Oh-CP)가 발효 14일 이후 가장 높은 폴리페놀 함량을 보였으며, 이는 대조구 Oh에 비하여 약 11% 높은 수준이었다.

페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl기를 가지며, 식물에 많이 분포된 물질로 자유 라디칼에 의한 산화적 손상을 보호

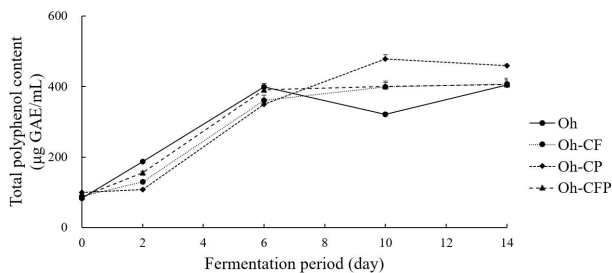


Fig. 2. Changes in total phenolics contents of *O. humifusa* added with *C. junos* during fermentation.

Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

하여 항산화와 항암 작용 등의 다양한 생리활성을 나타내는 물질로 알려져 있다(Nijveldt 등, 2001). 식물체 폴리페놀 성분들이 발효에 의해 증가하는 현상은 여러 연구에서 보고되고 있는데, Srihari와 Satyanarayana(2012)는 30°C에서 18일 동안 발효한 콤포차 발효액의 폴리페놀 함량이 발효 18일 동안 증가하였다고 보고하였고, Kim과 Yoon(2013)도 감자 착즙액 발효 시 폴리페놀 함량이 발효 전에 비하여 1.04배 증가하였다고 보고하였다. 이 외에도 Son 등(2008)은 비트 첨가 당근 착즙액을 24시간 동안 젖산 발효한 폴리페놀 함량이 71.67- 114.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 증가했다고 보고하였다. 본 연구에서도 젖산균 생육이 빠르게 증가한 초기 발효 6일 동안 폴리페놀 함량의 증가가 두드러지게 나타나, 천연초와 유자의 폴리페놀 함량을 추출시키는데 젖산 발효가 효과적임을 확인할 수 있었다.

유자 첨가 천연초 발효 중 기능성 성분 변화

발효 중 천연초와 유자에서 발견되는 이소람네티닌(isorhamnetin), 나린진(naringin)과 헤스페리딘(hesperidin)과 같은 기능성 성분들의 변화를 조사한 결과는 각각 Fig. 3A-C와 같다. 이소람네티닌은 비배당체 페놀화합물로 천연초를 포함한 다양한 식물에 함유되어 있으며, 항당뇨, 항산화, 항염증, 항암 효과를 가지는 기능성 물질로 알려져 있다(Galati 등, 2003; Lee 등, 2005). 나린진과 헤스페리딘은 감귤류에 특징적으로 발견되는 플라보노이드 성분으로 항산화, 항암 작용 및 혈중 콜레스테롤 저하 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Demonty 등, 2010; Tong 등, 2012). 본 연구에서 발효 전 모든 시료에서 이소람네티닌이 검출되지 않았으나, 발효가 진행됨에 따라 점차 증가하여 발효 14일 후에 15-27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 수준으로 증가한 것으로 나타났으며, Oh > Oh-CF > Oh-CP > Oh-CFP 순으로 높은 함량을 보였다(Fig. 3A). 이러한 발효에 의한 페놀류의 배당체 감소는 Chun 등(2008)의 두유 발효에서 이소플라본 배당체 함량은 감소하고, 비배당체 함량이 증가하였다는 연구에서도 관찰된다.

한편, 유자에서만 발견되는 나린진과 헤스페리딘은 유자가 첨가되지 않은 대조구 Oh에서는 검출되지 않았으나, 유자 첨가된 천연초 발효액 시료에서 나린진과 헤스페리딘 함량이 발효 0일에서 각각 0.75-1.15 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ 와 0.81-2.06 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ 의 범위를 나타냈으며, 두 성분 모두 유자 과피가 첨가된 Oh-CP에서 가장 높은 함량이 검출되었는데, 발효 6일 동안 지속적으로 증가하여 최대값을 보인 후 점차 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3B, C). Hyon 등(2009)은 당유자 과피 분말에 효모를 가하여 37°C에서 48시간 동안 발효한 발효액의 플라보노이드를 분석한 결과, 나린진과 헤스페리딘이 발효 중 높은 함량을 보이다가 감소하였는데, 이는 발효 중 다른 형태

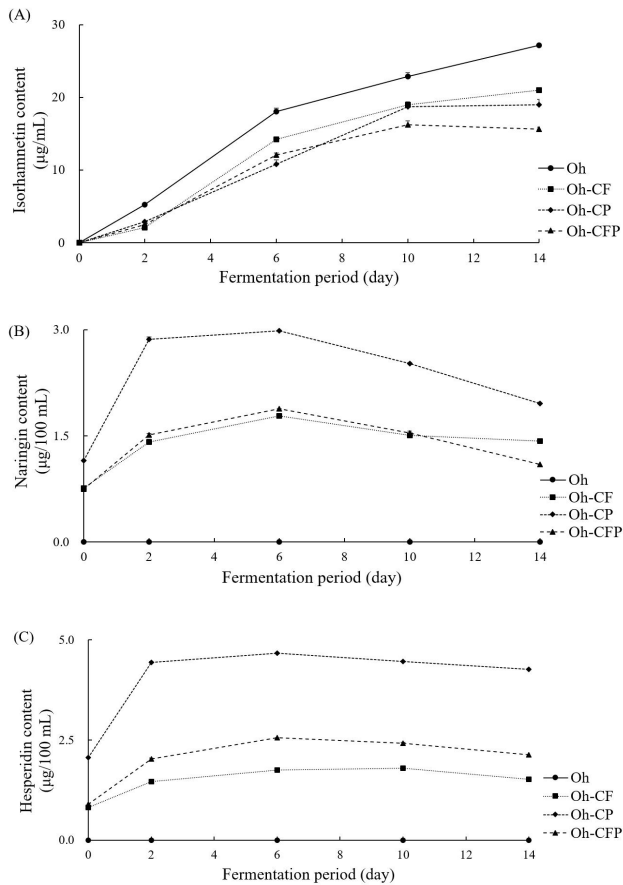


Fig. 3. Changes in isorhamnetin (A), naringin (B) and hesperidin (C) contents of *O. humifusa* added with *C. junos* during fermentation.

Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

의 화합물로 전환되기 때문이라고 보고하였다. 또한, 이 화합물들은 나린진과 헤스페리딘에 비하여 친수성 인자인 하이드록실기를 많이 함유하고 있을 것이라 예상되어지며, 전환되어진 화합물들은 생리활성 증강에 도움이 될 것이라 보고하여 본 연구에서 나린진과 헤스페리딘 함량 자체는 감소하였으나, 생리활성 증강에는 도움이 될 수 있을 것으로 기대된다. Yang 등(2011)의 연구에서도 건조 유자 과피의 첨가량을 달리하여 제조한 막걸리의 나린진과 헤스페리딘 함량이 발효술덧에 건조 유자 과피를 첨가한 시점부터 4일까지 증가하였고 이후 7일까지 감소하였다고 보고하여 나린진과 헤스페리딘 성분의 경우 발효에 의해 증가하지만, 발효 기간이 길어지는 경우 다른 물질로 전환되거나 분해되어 함량이 점차 감소하는 것으로 보여진다. 전환되어 생성된 물질에 대해서는 후속연구가 필요하다고 판단된다. 본 연구에서는 발효 6일 후 천연초 발효 시료의 나린진과 헤스페리딘 함량은 각각 1.78-

2.86 µg/100 mL와 1.75-4.67 µg/100 mL 수준으로 발효 기간 중 가장 높은 수준을 나타냈으며, 이후부터 점차 감소하여 발효 14일 후에는 각각 1.10-1.96 µg/100 mL와 1.52-4.26 µg/100 mL의 수준을 나타냈다. Eun 등(1996)에 따르면 감귤류 부위에서 과피(나린진 10.77 mg/100 g과 헤스페리딘 38.90 mg/100 g) 부분이 과육(나린진 2.95 mg/100 g과 헤스페리딘 6.53 mg/100 g)에 비하여 나린진과 헤스페리딘 함량이 높은 수준으로 존재한다고 보고하였다. 이러한 특성으로 인하여 본 연구에서 모든 발효 기간 중 유자 껍질을 첨가한 Oh-CP 시료가 가장 높은 나린진과 헤스페리딘 함량을 보였으며, 이는 유자 과육만을 첨가한 Oh-CF에 비해 약 3배 높은 수준이었다.

유자 첨가 천연초 발효 중 항산화능 변화

천연초-유자 발효 중의 항산화능 변화는 DPPH 라디칼 소거능과 환원력(reducing power)로 측정하였으며 그 결과는 각각 Fig. 4A, B와 같다. 모든 발효액의 DPPH 라디칼 소거능은 발효 0일에 10.33-26.67 µg GAE/mL 범위에서 발효 14일 동안 지속적으로 증가하여 64.29-77.36 µg GAE/mL 범위를 나타내어 총 발효 기간 동안 3-4배 정도 증가한 것으로 나타났다. 최종 발효 14일 후 유자첨가 천연초 발효액의 DPPH 라디칼 소거능은 Oh-CFP > Oh-CF = Oh-CP > Oh의 순으로 높게 나타나 유자 과육 및 과피의 사용이 항산화능 개선에 효과적인 것으로 확인되었다. 한편, 유자첨가 천연초 발효 중 환원력의 변화는 Fig. 4B와 같이 발효 0일 26.67-41.11 µg GAE/mL에서 발효 10일까지 증가하여 최대값을 나타냈다 (122.24- 192.48 µg GAE/mL). 발효 14일 후 가장 높은 환원력은 보인 시료는 대조구 Oh였으며, 다음으로 Oh-CF > Oh-CP > Oh-CFP 순으로 높은 값은 보였다. 이는 대조구 Oh가 발효 14일 후 DPPH 라디칼 소거능에서는 가장 낮은 함량을 나타낸 것과는 상반되는 결과라 하겠다. DPPH 라디칼 소거능은 DPPH 물질이 산화방지 물질로부터 수소를 제공받아 비라디칼로 전환되어 흡광도가 변하는 원리이며, 환원력은 Fe³⁺가 수소를 공여하여 유리라디칼을 안정화되어 Fe²⁺형태로 환원되는 원리를 이용한 것으로 다른 메커니즘의 항산화 측정법이다(Yoo 등, 2007). 자연계에는 다양한 항산화물질이 존재하며, 시료에 따라 함유하고 있는 항산화물질이 다르기에 나타난 결과로 판단된다. 또한 Heo 등(2010)은 분말 입자의 크기에 따라서도 DPPH 라디칼 소거능과 환원력의 결과가 다르게 나타난다고 보고하였다.

식물체의 항산화능이 발효 중 증가하는 현상은 선행 연구(Kang 등, 1993; Kim 등, 1995; Lee 등, 1993)에서도 관찰되는데 대부분 페놀 함량이 높을수록 항산화활성이 높게 나타나며 발효 기간과 함께 증가되는 경향을 보이지만 일정 기간 이후에 감소되는 것으로 보고되어 있다. Heo 등(2016)은 사과

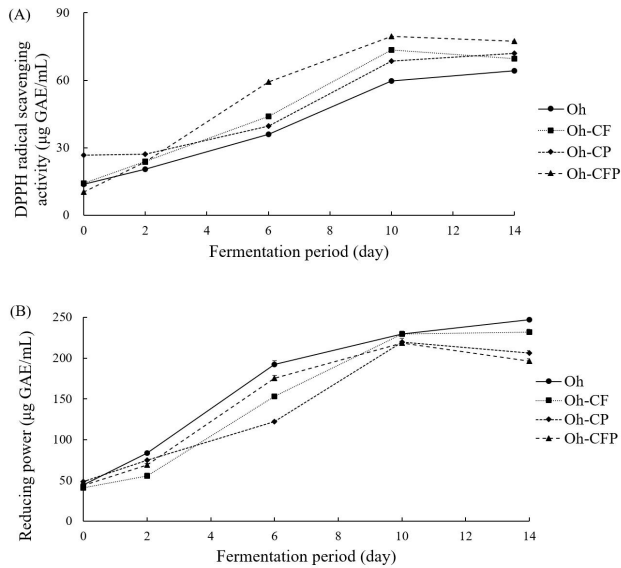


Fig. 4. Changes in DPPH radical scavenging activity (A) and reducing power (B) of *O. humifusa* added with *C. junos* during fermentation.

Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

발효음료의 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과, 발효 0시간 43.5%가 30시간 발효 후 52.0%로 증가하였고 이후 72시간 까지 감소하였다고 보고하였으며, Park과 Chang(2003)은 복분자 발효액의 DPPH 라디칼 소거능은 발효 전에는 71.1%에서 5일 동안 발효한 후 69.0%로 낮아졌다고 보고하여 식물자원의 항산화능 극대화를 위해서는 자원의 특성에 따라 적절한 발효조건의 설정이 필요하다고 하겠다. 본 연구에서 천년초-유자 발효의 경우 30°C에서 약 10일 정도의 발효 기간 후 항산화능이 최대 수준에 도달할 수 있는 것으로 보여진다.

유자첨가 천년초 발효 중 α -glucosidase 저해능 변화

α -Glucosidase는 장내에 존재하는 효소로서 탄수화물이 amylase에 의해 분해된 올리고당을 포도당으로 분해시키며, 소장 점막에서 소화흡수를 돕는 역할을 한다. 따라서, α -glucosidase를 저해하는 물질은 α -glucosidase와 결합하여 포도당의 분해 및 흡수를 방해하기 때문에 식후 혈당 조절에 도움을 줄 수 있는 것으로 보고되어 있다(Choi 등, 2008). 본 연구에서 유자첨가 천년초 발효액의 α -glucosidase 저해능의 변화를 IC_{50} 으로 표시한 결과는 Fig. 5와 같다. 발효 0일 시료의 α -glucosidase 저해능은 IC_{50} 0.97-1.31 μ g/mL 범위를 보였고, 발효 2일에도 유자 과피를 첨가한 Oh-CP를 제외한 모든 발효액의 IC_{50} 수치가 acarbose(0.85 μ g/mL)보다 높게 나타나 α -glucosidase 저해능이 낮은 것으로 확인되었다. 하지

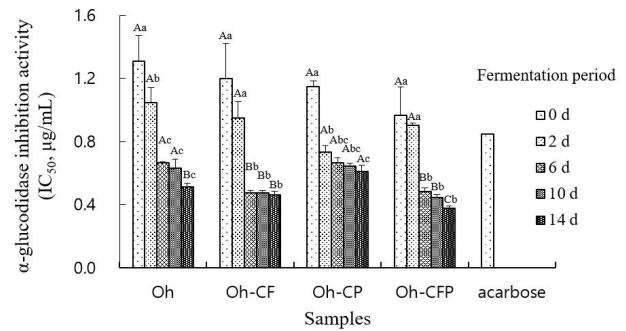


Fig. 5. Changes in α -glucosidase inhibition activity of *O. humifusa* added with *C. junos* during fermentation.

Oh, *O. humifusa*; Oh-CF, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh; Oh-CP, *O. humifusa* added with *C. junos* peel; Oh-CFP, *O. humifusa* added with *C. junos* flesh and peel.

Values with different capital letters are significantly different within the same fermentation period by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Values with different small letters are significantly different among the same samples by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

만, 발효 6일 이후부터 모든 유자첨가 천년초 발효액의 α -glucosidase 저해능 IC_{50} 값이 점차 감소하여 발효 14일 이후에는 0.378- 0.613 μ g/mL로 발효 전부 다 2배 이상 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, acarbose(0.85 μ g/mL)보다도 α -glucosidase 저해능이 우수함을 확인할 수 있었다. Park 등 (2016)은 삼채부리의 항당뇨 활성을 분석한 연구에서 총 폴리페놀 함량이 높은 삼채부리에서 저해활성이 더 높게 나타나 페놀성 화합물이 α -glucosidase 저해작용에 관여하는 것으로 보여진다고 보고하였으며, Jeong 등(2010)은 약용식물 추출물의 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 α -glucosidase의 상호적 관계를 분석한 결과 유의적인 상관관계를 나타낸다고 보고하였다. 본 연구결과에서도 유자 첨가 천년초의 발효기간 동안 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 증가하는 것이 확인되었으며, 이는 α -glucosidase 저해능이 높아지는 경향과도 일치하는 것으로 보인다. 특히, 발효 14일에서 Oh-CF의 IC_{50} 은 0.46 μ g/mL로 시료 중 가장 높은 α -glucosidase 저해능을 보였고, 이는 acarbose보다 약 2배 높은 수치이다.

요 약

본 연구는 천년초(Oh)에 유자 과육(*C. junos* fruit, CF), 과피(*C. junos* peel, CP) 및 통유자(*C. junos* fruit and peel, CFP)를 첨가하여 발효시키면서 발효에 의한 이화학적 특성 및 기능성 변화를 조사하였다. 유자 과육이 첨가된 천년초를 30°C에서 발효한 결과, 발효 6일 동안 젖산균이 빠르게 증가하였으며(발효 6일 후 8.6-9.2 log CFU/mL, 발효 10일 7.1 log CFU/mL), 이와 함께 당도는 빠르게 감소(발효 초기

42.1- 43.0 °Brix, 발효 14일 후 28.0-30.7 °Brix)되었고 이후 14일까지 천천히 감소하는 것으로 나타났다. 발효 중 유자 첨가 천년초의 총 폴리페놀 함량은 발효 10일까지 증가하였으며, Oh-CP가 가장 높은 함량을 나타냈다(478.18 µg GAE/mL). 이 소람네티는 발효 2일 후부터 검출(2.1-5.2 µg/mL)되기 시작하였으며, 발효 14일 후에는 Oh(27.1 µg/mL) > Oh-CF(21.0 µg/mL) > Oh-CP(19.0 µg/mL) > Oh-CFP(15.7 µg/mL) 순으로 높게 나타났다. 나린진과 헤스페리딘은 유자가 첨가된 시료에서만 검출되었으며 초기 나린진과 헤스페리딘 함량(0.75-1.15 µg/100 mL, 0.81-2.06 µg/100 mL)은 발효 6일 동안 증가한 이후에 점차 감소하였으며 두 성분 모두 Oh-CP 시료에서 가장 높게 나타났다. 유자 첨가 천년초 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 발효 14일 이후 64.29-77.36 µg GAE/mL로 약 3-4배 증가하였으며 전 발효 기간 동안 유자를 첨가한 천년초 시료군이 대조군보다 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 천년초 발효 시료의 환원력은 발효 6일 후 122.24-192.48 µg GAE/mL로 약 5배 증가되었으며, Oh > Oh-CFP > Oh-CF > Oh-CP 순으로 높게 나타났다. 유자 첨가 천년초 발효액의 α-glucosidase 저해능은 IC₅₀ 0.97-1.31 µg/mL에서 발효 기간이 지남에 따라 점차 증가하여 발효 6일 후 acarbose(0.85 µg/mL)보다 높은 저해능을 보였고, 발효 14일 후에는 Oh-CF의 경우 IC₅₀ 0.46 µg/mL로 acarbose보다 약 2배 높은 수준의 α-glucosidase 저해능을 보였다. 향기성분은 Oh(14종), Oh-CF(18종), Oh-CP(44종), Oh-CFP(27종)이 검출되었으며, 유자 첨가군에서 바람직한 향기 성분들이 다양하게 검출되었다. 천년초에 유자를 첨가하는 것은 발효 특성에는 영향을 미치지 않으나, 기능성 성분(나린진, 헤스페리딘), 기능성(DPPH, α-glucosidase 저해능) 및 향기성분을 개선시키는데 효과적인 것으로 나타나 산업적으로 활용가능할 것으로 기대된다.

Acknowledgement

This work was supported by a Research promotion program of SCNU.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Sojin Yong <https://orcid.org/0000-0002-5273-6939>
 Jiyeon Chun <https://orcid.org/0000-0002-0093-0203>

References

- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200 (1958)
- Case CL, Johnson TR. *Laboratory Experiments in Microbiology*. Benjamin/Cummings Publishing Co., San Francisco, California, USA, p 45-46 (1984)
- Chae SC, Kho EG, Choi SH, Ryu GC. Protective effect naringin on carbon tetrachloride induced hepatic injury in mice. *J Environ Toxicol*, 23, 325-335 (2008)
- Cho EK, Song HJ, Cho HE, Choi IS, Choi YJ. Development of functional beverage (SanYa) from fermented medical plants and evaluation of its physiological activities. *J Life Sci*, 20, 82-89 (2010)
- Cho IK, Jin SW, Kim YD. Analysis of components in the parts of *Opuntia ficus indica* from Shinan Korea. *Korean J Food Preserv*, 16, 742-746 (2009)
- Choi HJ, Jeong YK, Kang DO, Joo WH. Inhibitory effects of four solvent fractions of *Alnus firma* on α-amylase and α-glucosidase. *J Life Sci*, 18, 1005-1010 (2008)
- Choi HS, Kang EJ, Kim KH. Analyses of essential oil and headspace compositions of *Capsella bursa-pastoris* medicus by SDE and SPME methods. *Korean J Food Preserv*, 13, 108-114 (2006)
- Chun J, Kim JS, Kim JH. Enrichment of isoflavone aglycones in soymilk by fermentation with single and mixed cultures of *Streptococcus infantarius* 12 and *Weissella* sp. 4. *Food Chem*, 109, 278-284 (2008)
- Demonty I, Lin Y, Zebregs YEMP, Vermeer MA, van der Knaap HCM, Jakel M, Trautwein, EA. The citrus flavonoids hesperidin and naringin do not affect serum cholesterol in moderately hypercholesterolemic men and women. *J Nutr*, 140, 1615-1620 (2010)
- Eun JB, Jung YM, Woo GJ. Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium* var.). *Korean J Food Sci Technol*, 28, 371-377 (1996)
- Flath RA, Takahashi JM. Volatile constituents of prickly pear (*Opuntia ficus indica* Mill., *de Castilla* variety). *J Agric Food Chem*, 26, 835-837 (1978)
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*, 12, 239-243 (1912)
- Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N,

- Pergolizzi S, Taviano MF. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *J Agric Food Chem*, 51, 4903-4908 (2003)
- Heo J, Park HS, Uhm TB. Production of fermented apple juice using *Lactobacillus plantarum* JBE245 isolated from Korean traditional Meju. *Korean J Food Sci Technol*, 48, 445-453 (2016)
- Heo JC, Lee KY, Lee BG, Choi SY, Lee SH, Lee SH. Anti-allergic activities of ultra-fine powder from persimmon. *Korean J Food Preserv*, 17, 145-150 (2010)
- Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented *Citrus grandis* Osbeck peel. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 1310-1316 (2009)
- Jeon JY, Choi SH. Aroma characteristics of dried citrus fruits-blended green tea. *J Life Sci*, 21, 739-745 (2011)
- Jeong HJ, Lee SG, Lee EJ, Park WD, Kim JB, Kim HJ. Antioxidant activity and anti-hyperglycemic activity of medicinal herbal extracts according to extraction methods. *Korean J Food Sci Technol*, 42, 571-577 (2010)
- Kang JH. Studies on the antioxidative effect and the inhibitory effect on the DNA damage of bioflavonoid extracted from *Citrus sinensis*. *Kosin J Health Sci*, 3, 74-81 (1993)
- Kim HK. The effects of fruit and vegetable bark extract on learning ability and memory improvement. *J Convergence Cult Technol*, 4, 261-267 (2018)
- Kim JY, Maeng YS, Lee GY. Antioxidative effects of soybean extracts by using various solvents. *Korean J Food Sci Technol*, 27, 635-639 (1995)
- Kim NJ, Yoon KY. Qualities and antioxidant activity of lactic acid fermented-potato juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 42, 542-549 (2013)
- Kim SH, Kim AN, An BK, Choi SK. Studies on the fermentation characteristics of yogurt added with pregelatinized rice flour. *Culi Sci Hos Res*, 20, 37-48 (2014)
- Lee HY, Kim YM, Shin DH, Sun BK. Aroma components in Korean citron (*Citrus medica*). *Korean J Food Sci Technol*, 19, 361-365 (1987)
- Lee YJ, Shin DH, Chang YS, Kang WS. Antioxidative effect of *us javanica* Linne extract by various solvents. *Korean J Food Sci Technol*, 25, 677-682 (1993)
- Lee YS, Lee S, Lee HS, Kim BK, Ohuchi K, Shin KH. Inhibitory effects of isorhamnetin-3-O- β -D-glucoside from *Salicornia herbacea* on rat lens aldose reductase and sorbitol accumulation in streptozotocin-induced diabetic rat tissues. *Biol Pharm Bull*, 28, 916-918 (2005)
- Meckes-Lozoya M, Ibanez-Camacho R. Hypoglycaemic activity of *Opuntia streptacantha* throughout its annual cycle. *Am J Chin Med*, 17, 221-224 (1989)
- Moon SW, Shin HK, Gi GE. Effects of xylitol and grapefruit seed extract on sensory value and fermentation of baechu kimchi. *Korean J Food Sci Technol*, 35, 246-253 (2003)
- Moussa-Ayoub TE, El-Samahy SK, Kroh LW, Rohn S. Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulase preparation. *Food Chem*, 124, 1177-1184 (2011)
- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PAM. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 74, 418-425 (2001)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction. *Jpn J Nutr*, 44, 307-315 (1986)
- Park JB, Sim HS, Ha SJ, Kim MD. Enhancement of antioxidative activities of berry or vegetable juices through fermentation by lactic acid bacteria. *Microbiol Biotechnol Lett*, 43, 291-295 (2015)
- Park JY, Yoon KY. Evaluation of antioxidant, α -glucosidase inhibition and acetylcholinesterase inhibition activities of *Allium hookeri* root grown in Korea and Myanmar. *Korean J Food Preserv*, 23, 239-245 (2016)
- Park MK, Lee YJ, Kang ES. Hepatoprotective effect of *Cheonnyuncho* (*Opuntia humifusa*) extract in rats treated carbon tetrachloride. *Korean J Food Sci Technol*, 37, 822-826 (2005)
- Park SM, Ahn IS, Hong SM, Kim DS, Kwon DY, Yang HJ. The effects of the supplementation of *Opuntia humifusa* water extracts and methyl sulfonyl methane on the laying productivity, egg quality and sensory characteristics. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 294-300 (2010)
- Park YS, Chang HG. Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*, 46, 367-375 (2003)

- Schultz TH, Flath RA, Mon TR, Egging SB, Teranishi R. Isolation of volatile components from a model system. *J Agric Food Chem*, 25, 446-449 (1977)
- Shin DS, Han GJ, Oh SG, Park HY. Functional component analysis and physical property of *Cheonmyuncho* (*Opuntia humifusa*) powder. *Korean J Food Preserv*, 22, 838-844 (2015)
- Son MJ, Son SJ, Lee SP. Physicochemical properties of carrot juice containing *Phellinus linteus* extract and beet extract fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 37, 798-804 (2008)
- Srihari T, Satyanarayana U. Changes in free radical scavenging activity of Kombucha during fermentation. *J Pharm Sci Res*, 4, 1978-1981 (2012)
- Tong L, Zhou D, Gao J, Zhu Y, Sun H, Bi K. Simultaneous determination of naringin, hesperidin, neohesperidin, naringenin and hesperetin of *Fractus aurantii* extract in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 58, 58-64 (2012)
- Vinholes J, Grosso C, Andrade PB, Gil-Izquierdo A, Valentao P, de Pinho PG, Ferreres F. *In vitro* studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. *Food Chem*, 129, 454-462 (2011)
- Woo DH. Stabilization to sunlight of natural coloring matter by soluble methyl-hesperidin. *Korean J Food Sci Technol*, 32, 50-55 (2000)
- Xu GH, Chen JC, Liu DH, Zhang YH, Jiang P, Ye XQ. Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of citrus peel extract by hot water. *J Food Sci*, 73, C11-C18 (2008)
- Yang HS, Hwang SJ, Lee SH, Eun JB. Fermentation characteristics and sensory characteristics of Makgeolli with dried citron (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peel. *Korean J Food Sci Technol*, 43, 603-610 (2011)
- Yoo KM, Kim DO, Lee CY. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci Biotechnol*, 16, 177-182 (2007)
- Yoon JA, Hahm SW, Park JE, Son YS. Total polyphenol and flavonoid of fruit extract of *Opuntia humifusa* and its inhibitory effect on the growth of MCF-7 human breast cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 38, 1679-1684 (2009)
- Yoon JY, Kim HS. Effect of xylitol and erythritol on the quality characteristics of Yuza tea. *Korean J Soc Food Cookery Sci*, 19, 737-744 (2003)