

## *Saccharomyces cerevisiae* C-2로 발효시킨 배-딸기 발효 농축물을 이용한 기능성 음료의 제조 및 특성

장정훈<sup>1</sup> · 나광출<sup>2</sup> · 김월수<sup>3</sup> · 이종수<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>배재대학교 생명유전공학과, <sup>2</sup>조선이공대학교 식품영양조리학과, <sup>3</sup>전남대학교 원예학과

## Manufacture and Characteristics of Functional Drink Using Pear-Strawberry Fermentative Concentrates from Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* C-2

Jeong-Hoon Jang<sup>1</sup>, Kwang-Chul Na<sup>2</sup>, Wal-Soo Kim<sup>3</sup> and Jong-Soo Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Life Science and Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Nutrient and Culinary, Chosun College University, Kwangju 501-744, Korea

<sup>3</sup>Department of Horticulture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

(Received October 13, 2010. Accepted November 1, 2010)

**ABSTRACT:** Mixed juice of pear and strawberry was fermented by commercial *Saccharomyces cerevisiae* C-2 at 25°C for 7 days and obtained the pear-strawberry fermentative concentrates (PSFC). The PSFC showed high ACE inhibitory activity of 70.8%. The PSFC drink was prepared by using PSFC and by-materials including amylopectide, and determined changes of quality and ACE inhibitory activity during storage of 20°C and 40°C. PSFC drink was very stable at storage of 20°C for 8 weeks without any quality and ACE inhibitory activity.

**KEYWORDS :** Commercial *Saccharomyces cerevisiae* C-2, Pear-strawberry fermentative concentrates (PSFC) drink

### 서 론

배 과실에는 다양한 유기산과 유리당 및 비타민 C 등을 많이 함유하고 있어 생식 외에도 주스 등의 음료로도 널리 이용되고 있다. 특히 배에는 플라보노이드류인 quercetin, leuteolin 등과 폴리페놀류로 chlorogenic acid, catechin, epicatechin, arbutin 등의 2차대사산물을 비교적 많이 함유하고 있어 항산화 활성, 손상된 DNA 회복작용, 면역기능 강화, 암세포 증식억제, 혈중 콜레스테롤 감소를 통한 동맥 경화 예방, 항고혈압 활성, 항염증 및 항혈전 작용 등이 우수한 것으로 알려져 있다(Amerine and Roessler, 1975).

이와 같이 우수한 생리기능성을 갖고 있음에도 배와 딸기의 생식을 통한 소비 확대는 크게 진전되지 못하였고 배 가공품도 일부 음료가 개발되었을 뿐 배의 다양한 생리기능성을 이용하는 건강 기능성 제품의 개발은 매우 미비한 실정이다. 따라서 기호도가 높고 생리기능성이 우수한 배 가공품을 개발하고자 전보(Song *et al.*, 2009)에서 맛과 향과 생리기능성이 우수한 딸기를 배와 혼합하여 시판 *Saccharomyces cerevisiae* C-2 효모로 알콜 발효시켰을 때 각각의 과일 주스에서 없던 항고혈압 활성이 우수함을 보

고하였다. 본 연구에서는 여성이나 비음주자들을 위해 이 배-딸기 알콜 발효액을 감압 농축하여 농축물을 제조한 후 이들을 이용하여 음료를 제조한 다음 품질과 생리기능성 및 저장성 등을 조사하였다.

본 실험에 사용한 배(신고)와 딸기(육보)는 2010년 8월에 생산된 것을 시중에서 구입하여 5°C의 저장고에 보관하면서 사용하였다. 발효 효모로 Fermivin (DSM Food Specialties, France, 본문에는 *Saccharomyces cerevisiae* C-2로 표기)을 시중에서 구입하여 0.5% 설탕용액으로 30°C에서 3시간 활성화 시켜 사용하였다.

기능성 측정용 시약으로 Hip-His-Leu와 rabbit lung powder, fibrin, pyrogallol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 등은 Sigma (St. Louis, MO, U.S.A)사 제품을 사용하였고 그 밖의 시약들은 분석용 특급을 사용하였다.

배-딸기 발효 농축물을 제조하기 위하여 먼저 배 300 g에 딸기 150 g과 증류수 900 ml를 첨가하여 파쇄시킨 후 파쇄액을 24 brix로 보당하고 K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>를 150 ppm 첨가하여 상온에서 2시간 방치시킨 후 *S. cerevisiae* C-2 효모를 2.5% 접종하여 25에서 7일간 발효시켰다. 발효액을 감압 건조기로 50 ml까지 농축시켜 농축물을 제조 하였다.

생리기능성을 측정하기 위하여 먼저 배 딸기 발효액 50 ml를 감압 건조하여 알콜 성분을 모두 제거하고 증류수를 사

\*Corresponding author <E-mail : biotech8@pcu.ac.kr>

용하여 50 ml로 정용한 후 다음과 같이 생리기능성을 측정하였다(Kim *et al.*, 2000). 먼저 안지오텐신 전환효소(Angiotensin I-converting enzyme, ACE)저해 활성은 Cushman 등(Cushman and Cheung, 1971)의 방법을 일부 변형시켜 50  $\mu$ l의 배-딸기 농축액을 rabbit lung acetone powder에서 추출한 ACE용액 150  $\mu$ l(약 2.8~3 unit)와 기질 용액(pH 8.3의 100 mM borate 완충용액에 300 mM NaCl과 23 mM Hip-His-Leu를 녹인 것) 50  $\mu$ l를 섞은 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 유리되어 나온 hippuric acid 양을 측정하여 무첨가 대조구와 비교하여 저해 활성을 계산하였다. 여기서 ACE 효소활성의 1 unit은 37°C에서 1분 동안 1  $\mu$ M의 hippuric acid를 Hip-His-Leu로부터 생성시키는데 필요한 효소의 양으로 정의하였다. 혈전용해 활성은 Seo 등(Seo *et al.*, 2008)의 fibrin 법을 일부 변형시켜 측정하였는데 먼저  $\mu$ 당 0.1 unit의 thrombin을 함유한 평판배지에 pH 7.0의 인산완충용액에 용해시킨 0.6%의 fibrinogen을 주입하여 고형화 시켰다. 여기에 시료 20  $\mu$ l를 함유한 paper disc를 넣고 37°C에서 6시간 반응시킨 후 투명 환의 크기를 측정하여 혈전용해 활성을 mm로 표시하였다. SOD-유사 활성은 Marklund 등(Marklund and Marklund, 1974)의 방법에 따라 시료액 20 ml에 55 mM Tris-cacodylic acid buffer (TCB, pH 8.2)를 가하여 균질화하고 원심 분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정한 후 TCB를 사용하여 50 ml로 적용하여 시료액으로 사용하였다. 시료액 950  $\mu$ l에 50  $\mu$ l의 24 mM pyrogallol을 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액 무첨가 대조구와 비교하여 활성을 계산하였다. 항산화 활성(전자공여능)은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)의 환원력을 이용하는 Blois (Blois, 1958)와 Lee 등(Lee *et al.*, 1997)의 방법으로 측정하였다. 시료 0.2 ml에 DPPH 용액(DPPH 12.5 mg을 EtOH 100 ml에 용해) 0.8 ml를 가한 후 10분간 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가 대조구의 흡광도와 백분율로 나타내었다. 항치매성 아세틸콜린에스테라아제(AChE)저해 활성은 Ellman법(Ellman *et al.*, 1961)을 사용하여 측정하였다. 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.3) 110  $\mu$ l를 넣고 AChE (0.8 U/ml)를 30  $\mu$ l를 넣은 후 발색시약인 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB)를 20  $\mu$ l를 가하여 섞어준 후 기질인 아세틸콜린클로라이드(acetylcholine chloride)를 30  $\mu$ l 가하여 37°C에서 60분 동안 반응시킨 후 반응 생성물인

5-thio-2-nitrobenzoate의 양을 415 nm에서 측정하여 대조구와 비교하여 저해율을 계산하였다.

### 배-딸기 발효 농축물의 생리기능성

위와 같이 알콜 발효 효모인 *S. cerevisiae* C-2로 발효시켜 제조한 배-딸기 발효 농축물의 생리기능성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 항고혈압 활성을 나타내는 ACE저해 활성은 70.8%를 보여 필자 등이 보고한 자두 발효주(Seo *et al.*, 2001)와 머루 와인(미검출)(Lee *et al.*, 2004), 세레단 적포도주(58.8%)(No *et al.*, 2008), 모과 와인의 36.7%(Lee *et al.*, 2002) 보다 높은 결과를 나타내었다. 그리고 항산화 활성은 29.4%를 보였는데 이는 적포도주들의 항산화 활성(33.2~88.9%)보다(No *et al.*, 2008) 낮은 결과이었다. 한편, SOD유사 활성과 혈전용해 활성 및 항치매성 AChE저해 활성은 5% 미만으로 매우 낮거나 검출되지 않았다.

### 배-딸기 발효 농축물을 이용한 기능성 음료의 제조 및 특성

위와 같이 *S. cerevisiae* C-2로 발효시켜 제조한 배-딸기 발효 농축물(5%)과 아밀펙타이드, 오미자 엑기스 등의 부원료를 첨가하여 전살균(70°C, 10분), 여과, 충전, 후살균(80°C, 10분) 공정을 거쳐 100 ml 용량의 파우치 형태의 음료를 제조한 후 저장 온도에 따른 품질변화를 조사 하였다(Table 2).

pH는 20°C에서 8주까지 거의 변화가 없었으나 40°C 저장 음료는 pH 3.90에서 3.61로 낮아졌다. 당도와 항고혈압성 ACE 저해활성도 큰 변화가 없었으나 40°C 저장 음료의 생균수가 저장 8주에 4.5 CFU/ml로 증가하였다. 그러나 20°C 저장 시 생균수가 8주에서도 1.5 CFU/ml로 품질 기준(10 CFU/ml)

**Table 2.** Changes of quality of pear-strawberry fermentation drink during storage at 20°C and 40°C

| Storage temp.                            | 20°C |      |      |      | 40°C |      |      |
|------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Periods (weeks)                          | 0    | 2    | 4    | 8    | 2    | 4    | 8    |
| pH                                       | 3.90 | 3.90 | 3.85 | 3.79 | 3.90 | 3.78 | 3.61 |
| brix (°)                                 | 13.4 | 13.0 | 13.3 | 13.0 | 13.1 | 13.0 | 13.0 |
| Vialle cell count (CFU/ml)               | 0    | 0    | 1.2  | 1.5  | 3.5  | 3.4  | 4.5  |
| ACE <sup>a</sup> inhibitory activity (%) | 78.9 | 78.5 | 79.1 | 78.0 | 77.2 | 78.0 | 77.9 |

<sup>a</sup>ACE; angiotensin I-converting enzyme

**Table 1.** Physiological functionalities of pear-strawberry fermentative concentrates<sup>a</sup>

| Antioxidant activity (%) | SOD-like activity (%) | ACE inhibitory activity (%) | AChE <sup>b</sup> inhibitory activity (%) | Fibrinolytic activity (clear zone: mm) |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|
| 29.4 ± 0.5               | 4.0 ± 0.2             | 70.8 ± 0.4                  | 1.7 ± 0.1                                 | n.d <sup>c</sup>                       |

<sup>a</sup>Fermentative concentrates was made by freeze-drying of fermentation broth which pear-strawberry juice was fermented by *Saccharomyces cerevisiae* C-2 at 25°C for 7 days.

<sup>b</sup>ACE and AChE are angiotensin I-converting enzyme (ACE) and acetylcholinesterase (AChE), respectively.

<sup>c</sup>n.d; not detected.

보다 매우 낮았으므로 상품화가 가능한 것으로 추정된다. 현재 배-딸기 증류주와 리쿠르트주 개발 연구를 진행하고 있다.

## 적 요

기호도가 높으면서 생리기능성이 우수한 배 음료를 개발하고자 배와 딸기를 혼합하여 시판 알콜 발효 효모인 *Saccharomyces cerevisiae* C-2로 발효시켰다. 이 발효액을 감압 농축하여 얻은 농축물로 음료를 제조한 후 20°C와 40°C에서 8주까지 저장하면서 품질과 생리 기능성변화를 조사하였다. 발효 농축물은 항고혈압활성인 엔지오텐신전환효소(ACE) 저해 활성이 70.8%로 우수하였고 이를 이용하여 제조한 배 음료는 20°C에서 8주까지 pH와 생균수 및 항고혈압성 ACE저해 활성 등이 큰 변화가 없이 안정하였다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(2008년도 배수출사업단)의 지원에 의하여 수행된 연구 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Amerine, M. A. and Roessler, E. B. 1975. *Wines, their sensory evaluation*, pp. 121. W. H. Freeman, Co., San Francisco.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*, 191:1199-1200.
- Cushman, D. W. and Cheung, H. S. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharm.* 20:1637-1648.
- Ellman, G. I., Courtney, K. D., Andres, V. and Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7:68-75.
- Kim, J. H., Kim, N. M., Choi, S. Y. and Lee, J. S. 2000. Manufacture of Korean traditional liquors by using Dandelion (*Taraxacum platycarpum*). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28:342-346.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Kim, N. M., Choi, J. S. and Lee, J. S. 2002. Physiological functionality of Chinese quince wines and liquors. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 17:266-270.
- Lee, D. H., Yu, H. E. and Lee, J. S. 2004. Quality characteristics and physiological functionality of wild grape wine. *J. Natural Sci. Paichai Univ.* 15:69-78.
- Lee, J. S., Yi, S. H., Kwon, S. J., Ahnm, C. and Yoo, J. Y. 1997. Enzymatic activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25:448-452.
- Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47:469-474.
- No, J. D., Lee, D. H., Hwang, Y. S., Lee, S. H., Lee, D. H. and Lee, J. S. 2008. Changes of physicochemical properties and antioxidant activities of red wines during fermentation and post-fermentation. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 36:67-71.
- No, J. D., Lee, E. N., Seo, D. S., Chun, J. P., Choi, S. Y. and Lee, J. S. 2008. Changes of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity, fibrinolytic activity and  $\beta$ -secretase inhibitory activity of red wines during fermentation and post-fermentation. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 36:291-298.
- Seo, D. S., Kim, J. H., Ahn, B. H. and Lee, J. S. 2008. Characterization of anti-dementia, cardiovascular and antioxidant functionalities in Korean traditional alcoholic beverage. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 36:320-325.
- Seo, S. B., Han, S. M., Kim, J. H., Kim, N. H. and Lee, J. S. 2001. Manufacture and physiological functionality of wines and liquors by using plum (*Prunus salicina*). *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 16:153-157.
- Song, J. H., Chun, J. P., Na, K. C., Moon, J. H., Kim, W. S. and Lee, J. S. 2009. Optimal fermentation condition for development of high quality pear wine and characteristics of pear wines. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 37:213-218.