

Research Note

## 발효 및 효소 복합 처리에 의한 생강 추출물의 기능성분 및 항산화 효과

김미진 · 남동건 · 최정숙 · 최애진\*

농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과

### Effects of Antioxidative Activity and Functional Components of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Extract by Fermentation and Enzyme Treatment

Mi Jin Kim, Dong-Geon Nam, Jeong-sook Choe, and Ae-jin Choi\*

Functional Food & Nutrition Division, National Institute of Agricultural Science (NIAS),  
Rural Development Administration (RDA)

#### Abstract

The objectives of this study are to increase the contents of functional compounds and antioxidant activity obtained from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts using fermentation and enzyme. The optimal conditions (1%, *Aspergillus luchuensis*) for extraction methods were determined through fermentation treatment of ginger (concentrations of 0.5 and 1%; *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus luchuensis*). The quality characteristics of the ginger extract for each treatment method (HW, hot water treated; EZ, enzyme; AL, fermentation; ALEZ, fermentation and enzyme) were observed using the optimal conditions. The water-soluble index (WSI) and total sugar content of the ALEZ increased by 2.6 times and 6.5 times, respectively, compared with that of the HW. However, the sum of gingerol and shogaol contents of ALEZ were 73.9% in ratio compared with lower than that of the HW. Antioxidant contents were generally higher in ALEZ, similar to the WSI trend. Therefore, ALEZ was more effective in enhancing antioxidant activity than EZ and AL. The fermentation and enzymatic approach described in this study would be beneficial to food industries for developing ginger functional products and materials.

**Keywords:** fermentation, enzyme, *Zingiber officinale* Roscoe, antioxidant activity, functional components

## 서 론

생강과(Zingiberaceae)에 속하는 생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 아열대 및 열대 지역이 원산지이며 국내 주요 생산지는 경북 안동, 충남 서산, 전북 봉동 지역으로, 다년생 초본 식물 중의 하나로서 건조하지 않은 뿌리줄기를 말한다(Kim et al., 1991; Nam et al., 2018). 생강은 일반적으로 수분이 80-90%를 차지하며, 전분이 전체 고형분의 40-60%의 비율을 가진다. 기호성이 좋은 향신료로 알려진 생강의 근경은 특유의 맛과 향기를 지니고 있어 기원전 3세기경부터 세계적으로 널리 애용되고 있다. 마늘, 파, 고추 등과 함께 향신료로 많이 쓰이고 있으며, 건 생강, 날 생강, 정유 및 추출물 등의 형태로 유통되고 있다(Leung,

1980). 생강의 알려진 주요 기능 성분으로는 gingerol과 shogaol로 독특한 매운맛을 내며 항산화, 항염증의 특성을 가지고 있다(Connell, 1970). 또한, 일부 식욕증진, 요통, 복통, 설사, 소화 보조제 등의 치료제로 다양하게 이용되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1991; Bang et al., 2001).

발효란 미생물이 당질을 이용하여 유기물을 분해하는 현상을 말한다. 유용 미생물(probiotics)이 이산화탄소, 유기산 및 알코올 등의 발효 산물을 생성하며, 이에겐 진균, 유산균, 고초균 등이 있다(Park et al., 2009; Park, 2012). 발효된 식품은 유용한 향, 맛과 저장성을 증가시킨다. 발효 숙성 과정 중에는 유기 영양물로 분해되어 비타민, 단백질 및 필수아미노산, 필수지방산 등을 다량 함유한 식품을 제조할 수 있다. 이러한 유용 성분의 증진과 함께 영양소의 소화력 및 흡수율을 높이며, 건강을 유지하는데 큰 도움을 준다(Park, 2012). 이와 관련한 생강 연구로는 발효생강의 품질 특성(Chun & Chung, 2011), 발효 숙성생강의 생리활성 특성(Seo et al., 2017), 발효 숙성생강 추출물 활용 제품 개발(Kim et al., 2018)에 관한 보고가 있으며, 이러한 발효 숙성 연구에는 *Leuconostoc*속, *Lactobacillus*속,

\*Corresponding author: Ae-jin Choi, Department of Functional Food & Nutrition Division, Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea  
Tel: +82-63-238-3691; Fax: +82-63-238-3842  
E-mail: aejini77@korea.kr

Received February 7, 2022; revised March 18, 2022; accepted May 4, 2022

*Streptococcus*속과 같은 유산균이 사용되었다.

단백질, 다당류 및 다양한 화합물의 복합체로 이루어진 생강은 복잡한 결합 형태를 가진 세포벽으로 인해 미생물학적, 물리적, 화학적 작용에도 쉽게 분해되기 어렵고, 수용화되기 쉽지 않은 것으로 보고되었다(Nam et al., 2018). 일반적으로 식재료에 포함된 다당류 성분은 전분, 섬유소, 단백질 및 펙틴 등으로 이루어져 있으며, 주로 식품 생산에 이용되고 있는 효소처리 수용화 기술로 이들의 분해를 용이하게 한다. 식물 세포벽 분해 효소인 pectinase 및 전분 분해 효소인 amylase을 통해 기능 성분의 추출 증진 및 수율 확대 효과를 가져올 수 있다고 하였다(Nam et al., 2019). 효소처리에 관련한 생강 연구로는 고압효소처리 생강 추출물의 수용화 특성(Nam et al., 2018), 주정 효소 복합처리 생강 추출물의 기능성분 수용화(Nam et al., 2019)가 있으며, 생강의 복잡한 구조를 가수분해하기 위해 Pectinase와 Alpha-amylase가 복합으로 사용되었다. 반면에, 진균만 단일로 활용하여 가수분해하거나 발효와 효소처리를 복합으로 진행한 생강 연구는 거의 이뤄지지 않은 상태이다.

따라서 본 연구에서는 발효 미생물 중에서도 전분 및 단백질 분해력이 우수한 균주로 선발된 황국균(*Aspergillus oryzae*)과 백국균(*Aspergillus luchuensis*)으로 생강을 발효하여 제조된 발효물의 기능성분 변화를 확인하였고, 이를 통해 생강에 적합한 균주와 첨가량을 선정하였다. 선정된 균주를 활용하여 발효 및 효소 복합 처리한 생강 추출물의 항산화 성분 및 활성을 비교 분석함으로써 생강의 기능성 최적화 및 산업화를 위한 가능성을 제시하고 기초 자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 생강은 2019년 완주봉동생강조합에서 구입한 국내산 생강 열풍 건조 분말을 -20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 발효시 사용한 균주는 상업용으로 제조 판매되는 황국균(*Aspergillus oryzae*, CF1003)과 백국균(*Aspergillus luchuensis*, CF1005)을 (주)충무발효(Ulsan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 효소는 Pectinase (Pectinex Ultra SP-L)와 Alpha-amylase (Termamyl 2X)를

Novozymes (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)사에서 구입하여 사용하였다. 분석에 사용된 시약은 dinitrosalicylic acid (DNS), Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, glucose, catechin, sulfuric-acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonia acid), potassium persulfate (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. 지표성분 표준물질 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol, 8-shogaol, 10-shogaol (Chromadex, Laguna Hills, CA, USA)을 사용하였다. 그 외 시약 및 용매는 분석용 특급시약(Sigma-Aldrich Co.)을 사용하였다.

### 발효 균주 및 첨가량 선정

최적의 발효 균주 및 첨가량 선정을 위한 생강 분말 20 g에 가수하여 수분 함량을 40%로 조정한 후 멸균하였고, 균주 종류는 황국균(*A. oryzae*)과 백국균(*A. luchuensis*)을 사용하였다. 황국 및 백국균의 균수는  $2.0 \times 10^9$ /포자수/g,  $4.0 \times 10^9$ /포자수/g으로 이에 접종된 균과 첨가량에 따라 황국균 0.5% (A), 황국균 1% (B), 백국균 0.5% (C), 백국균 1% (D)로 접종하였으며, 배양기(VS-1203PFHLN, Vision Scientific, Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 온도 37°C, 습도 70%의 조건으로 7일 동안 배양하였다. 배양된 시료 전량을 유리병에 담아 70% ethanol 400 mL를 넣고 6시간 동안 300 rpm 속도로 교반하면서 추출한 후 감압여과한 것을 동결 건조하여 총 폴리페놀(TP) 및 총 플라보노이드(TF) 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 실험에 사용하였다. 대조구(CON)는 균주를 접종하지 않고 동일한 조건으로 진행하였다.

### 발효 및 효소 복합 처리

본 연구에서 사용된 처리 방법의 과정은 Table 1에 나타내었다. 발효 및 효소 복합 처리(ALEZ)는 열풍 건조 생강 분말에 발효 균주로 선정된 백국균(기질 대비 1%)을 접종하여 배양(온도 37°C, 습도 70%, 7일)하였다. 이 배양물에는 Nam et al. (2018)의 효소 처리 방법을 활용하여 세포벽 분해 효소인 Pectinase (기질 대비 1%, 0.2 g, 660 Unit)를 넣어 반응(50°C, 2시간, 200 rpm)하였고, 전분 분해 효소인 Alpha-amylase (기질 대비 1%, 0.2 g, 48 Unit)를 넣고 반응(93°C, 1시간, 200 rpm)하였다. 이 후, 처리물 내의 효소 불활성화를 위하여 교반기에서 추가로

Table 1. Treatment condition from ginger extract by fermentation and enzyme treatment

Treatment	Incubation (temp. 37°C, humid 70%, 7 days)	First extraction (50°C, 2 h, 200 rpm)	Second extraction (93°C, 1 h, 200 rpm)
HW <sup>1)</sup>	-	-	-
EZ	-	Pectinase 1%	Alpha-amylase 1%
AL	<i>A. luchuensis</i> 1%	-	-
ALEZ	<i>A. luchuensis</i> 1%	Pectinase 1%	Alpha-amylase 1%

<sup>1)</sup>HW, hot-water treated; EZ, enzyme treated; AL, fermentation treated; ALEZ, fermentation and enzyme treated.

100°C, 5분간 처리하였다. 효소 처리(EZ)는 ALEZ의 방법에서 효소 처리 방법만 진행하였고, 발효 처리(AL)는 ALEZ의 방법에서 발효만 진행하여 얻은 배양물에 항온수조(Water Bath Shaking, MaXturdy-18, Daihan sci., Wonju-si, Korea)에서 처리(1차: 50°C, 2시간, 200 rpm; 2차: 93°C, 1시간, 200 rpm)하였다. 열수추출물(HW)은 EZ 방법에서 효소첨가를 제외한 처리 방법으로 진행하였다. 처리된 모든 추출물은 여과지를 사용하여 감압여과하였다. 상등액은 수분용해지수(WSI), 총 당(TS), 환원당(RS), TP, TF, DPPH 및 ABTS 실험에 사용하였다.

#### 수분용해지수 측정

생강 추출물의 수분용해지수(Water Solubility Index, WSI)는 Anderson et al. (1970)의 방법에 따라 생강 추출물을 aluminium 접시에 담아 열풍건조기(Ovens, Thermo-Stable OF-305, Daihan Sci.)에서 50°C, 24시간 동안 건조한 뒤 상등액의 고형분 함량을 측정하였으며 산출식은 아래와 같다.

$$\text{WSI (\%)} = [(\text{soluble solids g} / 5 \text{ mL}) \times \text{supernatant total vol. (mL)}] / 5 \times 100$$

#### 총 당 및 환원당 함량 측정

생강 추출물의 총 당(Total Sugar, TS)은 Dubois et al. (1956)의 phenol sulfuric acid법을 이용하였으며, 감압여과한 상등액을 50-200배로 희석한 후 사용하였다. 희석된 시료 0.5 mL에 5% phenol 용액 0.5 mL를 넣고 혼합한 후 sulfuric acid 2.5 mL를 가하여 발열시켰다. 이 혼합액을 30분간 실온에 방치한 후 Microplate Reader (Infinite 200 PRO, TECAN, Grodig, Austria)를 이용하여 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 당 정량은 glucose를 표준물질로 사용하여 표준곡선으로부터 환산하였다. 환원당(Reducing Sugar, RS)은 Miller (1959)의 DNS 방법에 의해 측정하였다. 감압여과한 상등액을 1-5배로 희석한 시료 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 넣고 혼합한 후 끓는 물에서 5분간 증탕한 다음 냉각하여 25 mL volumetric flask에 넣고 증류수로 정용하였다. 흡광도 550 nm에서 측정하여 포도당 함량에 상당하는 값(glucose equivalent, GE, g%)으로 나타내었다.

#### Gingerol 및 shogaol 함량 측정

생강 추출물의 기능성분 분석은 추출물을 동결 건조한 후, 1 mL의 80% methanol에 용해시켜 0.2 µm syringe filter (Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과하여 UPLC로 분석하였다. 분석에 이용된 UPLC 조건은 Nexera X2 system (Shimadzu, Kyoto, Japan)을 사용하였고 column으로는 Kintex XB.C18 100 Å column (1.7 µm, 150×2.1

mm, phenomenex, CA, USA)을 이용하였다. 0.1% acetic acid를 함유한 acetonitrile 및 증류수를 이동상으로 사용하였고 유속은 0.3 mL/min, 분석 주입량은 2 µL, Diode Array Detector (DAD, UV)의 검출기를 이용하여 280 nm로 분석을 진행하였다. 생강의 지표성분은 6-gingerol (6-G), 8-gingerol (8-G), 10-gingerol (10-G), 6-shogaol (6-S), 8-shogaol (8-S), 10-shogaol (10-S)을 측정하였는데 이 때, 각 성분들의 표준곡선은 10, 50, 100, 500, 1,000 ppm으로 제조하여 분석하였다.

#### 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

생강 추출물의 총 폴리페놀(total polyphenol: TP) 함량은 Dewanto et al. (2002)의 방법에 준하여 비색 정량하였다. 각 추출시료 100 µL에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 2 mL를 가하고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약(Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 100 µL를 가한 후 혼합하여 30분간 실온에서 정치한 다음 750 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 이용하여 표준곡선으로부터 환산하여 정량하였다. 총 플라보노이드(total flavonoid: TF) 함량은 Jang et al. (2012)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 250 µL에 증류수 1 mL와 5% NaNO<sub>2</sub> 75 µL를 가한 후 5분 동안 실온에서 방치하였다. 이후 10% AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 150 µL를 가하고 6분간 방치한 후 1 M NaOH 0.5 mL를 넣고 혼합한 후 11분간 정치시켰다. 반응액의 흡광도 값은 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로는 (+)-catechin을 사용하여 표준곡선으로부터 환산하였다.

#### 라디칼 소거능을 통한 항산화 활성 측정

생강 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Hwang et al. (2011)의 방법에 준하여 측정하였다. Methanol에 DPPH를 넣고 60분간 충분히 용해하여 제조하였다. 추출물 50 µL에 0.2 mM DPPH 용액 1 mL를 넣고 30분 동안 상온에서 방치한다. 520 nm에서 흡광도의 감소치를 측정하여 AEAC (L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)로 나타내었다. ABTS 라디칼 소거 활성은 Hwang et al. (2013)의 방법을 응용하여 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 암소에서 12-16시간 동안 방치하여 ABTS radical 양이온을 형성시킨 후, 734 nm에서 흡광도 값이 1.0-1.1이 되도록 희석하였다. 희석한 ABTS<sup>+</sup>용액 1 mL에 추출물 50 µL를 넣고 30분간 상온에서 방치하였다. 이후 흡광도의 감소치를 측정하여 AEAC로 나타내었다.

#### 통계 분석

자료의 통계분석 처리는 SPSS (Statistical package for the social science, Ver 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 이용하여 평균과 표준편차를 산출하였고, 모든 분석 결과는 3회 반복 측정하여 나타냈다. 대조구와 각 처

리구는 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의수준 5%에서 통계적 유의성을 검증하였다.

### 결과 및 고찰

#### 발효 균주 및 첨가량 선정

발효에 필요한 균주 및 첨가량을 선정하기 위한 총 폴리페놀(TP), 총 플라보노이드(TF) 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정 결과는 Table 2에 나타내었다. 발효 균주 선정에서는 황국균(*A. oryzae*) 및 백국균(*A. luchuensis*)을 각 첨가량별로 집중하여 제조한 발효물을 대조구(CON)와 비교하였다. TP는 4.14-9.34 mg GAE/g 범위였으며 백국균 1% (D)가 9.34 mg GAE/g으로 가장 높게 나타났고 CON (4.14 mg GAE/g)에 비해 약 2.3배 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. TF도 TP와 유사한 경향이었으며, 황국균 0.5% (A) 2.28 mg CE/g, 황국균 1% (B) 3.75 mg CE/g, 백국균 0.5% (C) 3.96 mg CE/g, 백국균 1% (D) 5.01 mg CE/g으로 D가 가장 높았다. Kayath et al. (2020)의 연구에서 생강 주스를 발효하는 동안 발효 16일까지 총 폴리페놀 함량이 높아졌다고 했는데, 발효 중에 생산되는 미생물이 세포벽 분해 효소를 분비하여 페놀 화합물의 양을 증가시키므로써 폴리페놀 함량이 증대되는 것으로 보고되었다. 이상의 결과로 보아 생강 추출에 적합한 발효 균주는 백국균으로 판단되었고, 첨가량 선정은 항산화 활성 비교를 통해 결정하고자 하였다.

백국균이 각각 0.5, 1%로 첨가된 C와 D의 DPPH 라디칼 소거 활성은 각각 5.78, 7.34 mg AA eq/g으로 나타났고, ABTS 라디칼 소거 활성은 각각 8.87, 11.63 mg AA eq/g로 나타났다. DPPH 라디칼 소거 활성에서는 D (7.34 mg AA eq/g)가 유의적으로 가장 높았으며, CON (3.60 mg AA eq/g)에 비해 약 2배 증가하였다. ABTS 라디칼 소거 활성은 CON이 7.08 mg AA eq/g으로 나타났고, 발효에 의해 활성이 최대 1.6배 증가하였다. 백국균과 같은 사상균은 주로 쌀, 보리, 고구마 등을 당화하는데 쓰이는 균주이다. 백국균에 의한 전처리는 lignocellulose 기질에서 식물체의 거의 모든 부분을 동시 분해하면서 균주와 효소가 접근 용이한 상태로 만들며, 유용 성분 및 항산화 물질

추출에 직접적인 영향을 미친다(Taniguchi et al., 2005). 이러한 결과들로, 생강 발효에 효과적인 균주는 백국균이며, 첨가량은 1%로 선정하였다.

#### 수분용해지수

생강 추출물의 수분용해지수(WSI)를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. WSI는 열수추출물(HW)이 16.50%로 가장 낮았으며, 순차적으로 발효 처리(AL) 30.11%, 효소 처리(EZ) 40.31%, 발효 및 효소 복합 처리(ALEZ) 42.22%로 나타났다. 각 처리구들은 HW에 비해 1.8-2.6배 높게 나타났다. Pectinase를 이용하여 효소 처리한 생강의 WSI는 고압 조건(100 MPa, 50°C, 2시간)에서는 무처리구에 비해 4.4배 증가하였으며, 열수 조건(50°C, 100 rpm, 2시간)에서는 3.5배 증가하였다고 보고되었다(Nam et al., 2018). 생강에는 약 3% 가량의 복합 섬유질과 60% 이상의 전분질을 함유하고 있어 단순한 수용성 처리로는 추출 수율이 낮고 다른 작물에 비해 가공 적성이 낮다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 발효를 접목한 연구가 다양하게 진행되어 왔다. 균주를 활용한 발효 과정은 glycoside 가수분해효소, cellulose 또는 xylan 분해 효소와 같은 다양한 유형의 효소를 생산하며, 이는 세포벽을 파괴하고 에스테르화된 불용성 결합 물질에 영향을 준다(Yokoyama et al., 2002). 또한, polygalacturonase와 같은 효소는 식물 세포벽의 pectic-acid를 분해하며, β-glucosidase가 탄수화물 잔기를 포함하는 glycoside, alkyl 또는 aryl β-D-glucosidase의 glycoside 결합의 가수분해를 촉매하는 것으로 알려져 있다(Yan et al., 1998). 이러한 결과로, 식물체 성장에 적합한 발효 및 효소 복합 처리는 식물체의 가수분해 효율을 증가시키는 요인으로 생각된다.

#### 총 당 및 환원당

생강 추출물의 총 당(TS) 및 환원당(RS)을 측정 한 결과는 Table 3과 같다. TS는 HW가 5.24%로 나타났고, AL 19.03%, EZ 32.91%, ALEZ 34.23% 순으로 나타났다. ALEZ는 HW에 비해 유의적으로 6.5배 더 높게 나타났다. 발효 처리 과정은 식물 세포벽 내의 기공 크기를 증가시키면서 lignin을 감소시키고 분해 효소가 cellulose나 hemi-

**Table 2. Antioxidant activity of ginger extracts by selection of fermentation strain type and concentration**

	CON <sup>1)</sup>	A	B	C	D
TP (mg GAE/g) <sup>2)</sup>	4.14±0.01 <sup>c3),4)</sup>	7.63±0.15	8.24±0.09	8.55±0.23 <sup>b</sup>	9.34±0.22 <sup>a</sup>
TF (mg CE/g)	1.43±0.06 <sup>c</sup>	2.28±0.06	3.75±0.09	3.96±0.10 <sup>b</sup>	5.01±0.15 <sup>a</sup>
DPPH (mg AA eq/g)	3.60±0.07 <sup>c</sup>	ND	ND	5.78±0.11 <sup>b</sup>	7.34±0.20 <sup>a</sup>
ABTS (mg AA eq/g)	7.08±0.17 <sup>c</sup>	ND	ND	8.87±0.30 <sup>b</sup>	11.63±0.27 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>CON, control; A, added *A. oryzae* 0.5%; B, added *A. oryzae* 1%; C, added *A. luchuensis* 0.5%; D, added *A. luchuensis* 1%.

<sup>2)</sup>TP, total polyphenol; TF, total flavonoids; DPPH, dpph radical scavenging activity; ABTS, abts radical scavenging activity.

<sup>3)</sup>All values are Mean±SD (n=3); ND, no data.

<sup>4)</sup>Means with different letters within the same row are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

**Table 3. Water solubilization and functional components of ginger extracts by fermentation and enzyme treatment**

	HW <sup>1)</sup>	EZ	AL	ALEZ
WSI (%) <sup>2)</sup>	16.50±0.09 <sup>3),4)</sup>	40.31±0.10 <sup>b</sup>	30.11±0.14 <sup>c</sup>	42.22±0.12 <sup>a</sup>
TS (%)	5.24±0.03 <sup>d</sup>	32.91±0.07 <sup>b</sup>	19.03±0.71 <sup>c</sup>	34.23±0.44 <sup>a</sup>
RS (%)	2.60±0.03 <sup>d</sup>	15.86±0.21 <sup>a</sup>	2.91±0.08 <sup>c</sup>	9.66±0.22 <sup>b</sup>
6-G (%)	0.98±0.04 <sup>b</sup>	1.10±0.01 <sup>a</sup>	0.69±0.02 <sup>d</sup>	0.75±0.01 <sup>c</sup>
8-G (%)	0.08±0.00 <sup>b</sup>	0.12±0.00 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>d</sup>	0.04±0.00 <sup>c</sup>
10-G (%)	0.10±0.00 <sup>b</sup>	0.21±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>d</sup>	0.04±0.00 <sup>c</sup>
6-S (%)	0.05±0.00 <sup>c</sup>	0.07±0.00 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>d</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>
8-S (%)	0.01±0.00 <sup>b</sup>	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
10-S (%)	0.02±0.00 <sup>b</sup>	0.03±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>c</sup>	0.02±0.00 <sup>b</sup>
Total (%)	1.23±0.04 <sup>b</sup>	1.56±0.02 <sup>a</sup>	0.79±0.02 <sup>d</sup>	0.91±0.01 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Abbreviations are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>WSI, water solubility index; TS, total sugar; RS, reducing sugar; 6-G, 6-gingerol; 8-G, 8-gingerol; 10-G, 10-gingerol; 6-S, 6-shogaol; 8-S, 8-shogaol; 10-S, 10-shogaol; Total, sum of the 6, 8, 10 gingerol and 6, 8, 10 shogaol.

<sup>3)</sup>All values are Mean±SD (n=3).

<sup>4)</sup>Means with different letters within the same row are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

cellulose에 침투에 용이한 상태를 만든다고 알려져 있다 (Taniguchi et al., 2005). 이러한 발효 작용에 효소 처리의 병행을 통해 생강의 당 성분 수용화를 증진시킴으로써 총 당 함량이 증가한 것으로 생각된다. RS는 HW 2.60%, AL 2.91%, ALEZ 9.66%, EZ 15.86% 순으로 유의적으로 높게 나타났다. EZ의 경우 HW에 비해 6.1배, AL에 비해 5.5배 높았다. Lee et al. (1996)은 탁주 술덧의 발효가 진행되는 동안 환원당 함량이 낮아졌다고 보고하였는데 본 연구에서도 EZ보다 AL의 환원당 함량 값이 더 낮았으며 이는 선행연구 결과와 유사한 경향이였다. 발효가 진행되는 동안 전분 함량이 높은 생강이 분해되면서 미생물의 영양원으로 작용함으로써 환원당 함량이 감소하였다고 생각된다.

#### Gingerol 및 shogaol

Gingerol 및 shogaol 측정 결과는 Table 3과 같다. 6-G는 AL 0.69%, ALEZ 0.75%, HW 0.98%, EZ 1.10% 순으로 나타났으며, EZ가 유의적으로 가장 높게 나타났다. 또한 8-G, 10-G, 6-S, 8-S, 10-S의 함량도 EZ가 높았다. Gingerol과 shogaol 총 합인 Total 함량의 결과도 유사한 경향으로 나타났다. 발효가 진행된 AL과 ALEZ의 경우에는 HW함량보다 각각 64.2%, 73.9% 비율로 낮게 나타

났다. Nam et al. (2018)은 생강 분말을 고압처리 했을 때 지표성분 함량이 6-G 0.49%, 8-G 0.03%, 10-G 0.00%, 6-S 0.01%, 8-S 0.00%, 10-S 0.02%, Total 0.56%로 보고하였으며, 그 값은 본 연구의 대조구 및 처리구보다 낮거나 같은 함량을 나타냈다. 이러한 결과값의 차이는 시료의 처리 방법에 의한 것으로 생각되며 효소처리를 통해 함량을 증진시킬 수 있는 방법이라고 사료된다. Vergara-Salinas et al. (2015)의 포도 찌꺼기의 열수추출 연구에 의하면 처리 온도는 페놀성 화합물의 안정성에 영향을 미친다고 보고하였다. 이러한 결과로, 생강 추출물의 기능 성분 함량 차이는 생강 내의 세포벽을 분해하는데 작용할 수 있는 발효, 효소 처리 등의 처리 종류와 온도, 시간 등의 요인이 영향을 미치는 것으로 판단된다.

#### 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드

생강 추출물의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 측정 결과는 Table 4에 나타내었다. TP는 4.79-5.83 mg GAE/g의 범위로 HW (4.79 mg GAE/g)에 비해 각 처리구들은 1.0-1.2배 가량 증가함을 확인하였고, ALEZ (5.83 mg GAE/g)가 가장 높게 나타났다. TF는 HW 1.30 mg CE/g으로 나타났으며, EZ 1.43, AL 1.56, ALEZ 1.74 mg CE/g 순으

**Table 4. Antioxidant activity of ginger extracts by fermentation and enzyme treatment**

	<sup>1)</sup> HW	EZ	AL	ALEZ
<sup>2)</sup> TP (mg GAE/g)	4.79±0.04 <sup>3),4)</sup>	4.90±0.07 <sup>c</sup>	5.31±0.10 <sup>b</sup>	5.83±0.05 <sup>a</sup>
TF (mg CE/g)	1.30±0.10 <sup>c</sup>	1.43±0.03 <sup>bc</sup>	1.56±0.03 <sup>b</sup>	1.74±0.04 <sup>a</sup>
DPPH (mg AA eq/g)	2.33±0.02 <sup>c</sup>	2.45±0.03 <sup>b</sup>	2.47±0.06 <sup>b</sup>	3.01±0.04 <sup>a</sup>
ABTS (mg AA eq/g)	0.93±0.02 <sup>c</sup>	1.00±0.01 <sup>b</sup>	1.01±0.02 <sup>b</sup>	1.15±0.01 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Abbreviations are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>TP, total polyphenol; TF, total flavonoids; DPPH, dpph radical scavenging activity; ABTS, abts radical scavenging activity.

<sup>3)</sup>All values are Mean±SD (n=3).

<sup>4)</sup>Means with different letters within the same row are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

로 ALEZ가 높게 나타났다. 그리고 HW에 비해 각 처리구들은 1.1-1.3배 증가하였다. Kang et al. (2011)은 꾸지뽕 열매 발효 추출물 연구에 의하면 꾸지뽕 열매는 발효 후에 TP 함량이 약 1.3-1.5배 증가한다고 보고하여 본 연구의 발효 경향과 유사하였다. 발효과정에서 전분질 등의 분해와 기능 성분의 함량 증진의 특성에 관한 기존의 보고를 통해 본 연구에서 생강 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량의 증가에도 이러한 발효균주의 특성들이 영향을 미치는 것으로 생각된다(Kwon et al., 2004).

### 항산화 활성

DPPH 라디칼 소거 활성은 2.33-3.01 mg AA eq/g의 범위로 나타났으며, ALEZ (3.01 mg AA eq/g)는 HW (2.33 mg AA eq/g)에 비해 약 1.3배 가량 가장 높은 활성을 나타냈다(Table 4). 명월초 발효물은 *L. casei* KCTC 2180 균주로 발효시 대조군보다 1.4배 항산화 활성이 증가하였으며(Bae et al., 2019), 이러한 결과는 미생물의 가수분해 작용으로 인해 DPPH 라디칼 소거 활성이 높은 대사산물을 생성하고 추출하는데 영향을 미친 것으로 생각된다. ABTS 라디칼 소거 활성은 HW 0.93, EZ 1.00, AL 1.01, ALEZ 1.15 mg AA eq/g의 순서로 나타났으며, HW보다 ALEZ가 약 1.2배 가량 높았다. Seo (2017)의 발효 숙성생강 연구에 의하면 각 균주(*L. mesenteroides*, *S. thermophilus*, *L. brevis*, *L. acidophilus*)간의 유의차는 나타나지 않았으나 대조군에 비해 DPPH는 1.3배, ABTS는 1.5배 가량 증가하였다고 보고하였다. 이러한 결과는 ALEZ에서 발효와 효소의 시너지 작용이 일어나 생강 내의 페놀성 화합물의 용출을 효과적으로 증대시킨 결과로 생각되며, ALEZ는 항산화 물질과 활성을 효과적으로 증가시킬 수 있는 유용한 방법으로 판단된다. Lee 등(2020)은 숙성한 흑생강의 항산화 활성과 6-shogaol의 함량이 증가하는 것은 서로 연관성이 있었다고 보고하였는데, 본 연구결과와는 다소 차이가 있었다. 그 이유로는 발효균주 및 효소의 복합작용으로 인한 여러 요인에 의한 것으로 사료된다. 또한 Lee 등(2014)은 생강의 높은 항산화 활성의 이유로 phenol 화합물과의 관련성을 보고하였다.

### 요 약

본 연구는 황국균과 백국균으로 발효 처리한 생강 발효물의 품질 특성을 확인하여 생강 발효에 적합한 최적 균주를 선정하였고, 발효 및 효소 복합 처리 기술을 적용하여 제조한 생강 추출물의 기능성분 변화를 알아보고자 하였다. 생강 발효에 사용할 균주를 선정하기 위해 황국균과 백국균을 이용하였고, 각 첨가량별로 추출하여 CON과 비교하였다. TP와 TF 측정 결과, D가 CON에 비해 각각 2.3배, 3.5배 높게 나타났다. 생강 발효에 적합한 발효 균

주에는 백국균을 선정하였다. 백국균의 첨가량을 결정하기 위한 DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성 측정 결과 D는 각각 7.34, 11.63 mg AA eq/g으로 C보다 유의적으로 가장 높게 나타나 백국균의 첨가량은 1%로 최종 결정하였다. 선정된 균주와 첨가량을 활용하여 제조한 생강 추출물(HW, EZ, AL, ALEZ)의 기능성분 변화를 확인하였다. WSI와 TS는 ALEZ이 HW에 비해 값이 증가하는 경향을 보였으나, RS에서는 HW 2.60%, AL 2.91%, ALEZ 9.66%, EZ 15.86% 순으로 높았으며 EZ가 ALEZ보다 유의적으로 높게 나타났다. 6-G는 AL 0.69%, ALEZ 0.75%, HW 0.98%, EZ 1.10% 순으로 높아졌으며, 이 외 8-G, 10-G, 6-S, 8-S, 10-S의 함량 또한 EZ가 유의적으로 높게 나타났다. TP와 TF는 EZ에 비해 ALEZ가 1.2배 정도 가장 높았으며, DPPH와 ABTS의 경우 AL에 비해 1.1-1.2배 정도 가장 높은 활성을 나타냈다. 이상의 결과로 볼 때, 생강의 고유 성분인 gingerol 및 shogaol을 효과적으로 용출하는 방법은 EZ로 나타났으나 수용화 및 항산화 활성 물질은 ALEZ가 단일 처리인 EZ나 AL보다 효과적임을 확인할 수 있었다. 결과적으로 발효 및 효소 복합 처리를 통해 식품소재의 기능성 향상을 위한 가공기술 개발의 기초 연구자료 및 산업적으로 광범위하게 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호 PJ01511503)에 의해 이루어진 것으로 감사드립니다.

### References

- Anderson RA, Conway HF and Peplinski AJ. 1970. Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming, *Starch-Starke*. 22: 130-135.
- Bae DB, Kim KH, Yook HS. 2019. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of fermented *Gynura procumbens*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 48: 1214-1222.
- Bang MH, Song JC, Kim SL, Hur HS, Baek NI. 2001. Isolation of natural antioxidants from the root of *Zingiber officinale* R. J. *Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 44: 202-205.
- Chun YG, Chung HY. 2011. Quality properties of fermented gingers. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 249-254.
- Connell DW. 1970. The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Flavour Ind.* 1: 677-693.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3010-3014.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PT, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 28: 350-356.

- Hwang IG, Hwang Y, Kim HY, Lee J, Jeong HS, Yoo SM. 2011. Quality characteristics of tofu (soybean curd) added with Cheongyang hot pepper (*Capsicum annuum* L.) juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 999-1005.
- Hwang IG, Kim HY, Park BR, Han HM, Yoo SM. 2013. Effect of heat treatment on the antioxidant properties of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Korean J. Food Nutr. 26: 857-864.
- Jang GY, Kim HY, Lee SH, Kang Y, Hwang IG, Woo KS, Lee JS, Jeong HS. 2012. Effects of heat treatment and extraction method on antioxidant activity of several medicinal plants. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 914-920.
- Kang DH, Kim JW, Youn KS. 2011. Antioxidant activities of extracts from fermented mulberry (*codrania tricuspidata*) fruit, and inhibitory actions on elastase and tyrosinase. Korean J. Food Preserv. 18: 236-243.
- Kayath CA, Zamba AI, Mokemiabeka SN, Opa-Iloy M, Wilson PSE, Kaya-Ongoto MD, Maboulou JM, Nguimbi E. 2020. Synergic involvements of microorganisms in the biomedical increase of polyphenols and flavonoids during the fermentation of ginger juice. Int. J. Microbiol. 8417693: 1-12.
- Kim HH, Lee SJ, Chung YH, Kim SH, Sung NJ. 2018. Physicochemical properties and antioxidant activities from hot-air and freeze dried aged black ginger (*Zingiber officinale*). J. Life Sci. 28: 153-161.
- Kim JS, Koh MS, Kim YH, Kim MK, Hong JS. 1991. Volatile flavor components of korean ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Korean J. Food Sci. Technol. 23: 141-149.
- Kwon HY, Kim YS, Kwon GS, Kwon CS, Sohn HY. 2004. Isolation of immuno-stimulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from chungkook-jang and fermentational characteristics of JB-1. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 32: 291-296.
- Lee HR, Lee JH, Park CS, Ra KR, Ha JS, Cha MH, Kim SN, Choi YM, Hwang JB, Nam JS. 2014. Physicochemical properties and antioxidant capacities of different parts of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 43: 1369-1379.
- Lee JS, Lee TS, Noh BS, Park SO. 1996. Quality characteristics of mash of *Takju* prepared by different raw materials. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 330-336.
- Lee SJ, Ryu JH, Nam SJ, Koo OK. 2020. A study on the physicochemical properties and antioxidant activities of aged ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) during the aging process. Korean J. Food Sci. Technol. 52:573-579.
- Leung AY. 1980. Encyclopedia of common natural ingredients. John Willey & Sons, Inc., New York, NY, USA. 241: 166-167.
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal Chem. 31: 426-428.
- Nam DG, Kim MA, Im PR, Choe JS, Choi AJ. 2019. Solubilization of polysaccharides and functional components of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) using ethanol and enzyme. Korean J. Food Preserv. 26: 545-554.
- Nam DG, Kim MA, Im PR, Kim SB, Choe JS, Choi AJ. 2018. Solubilization of polysaccharide and functional components by high-pressure enzyme treatment from ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Food Eng. Prog. 22: 173-185.
- Park KY. 2012. Increased health functionality of fermented foods. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 17: 1-8.
- Park SJ, Seong DH, Park DS, Kim SS, Gou JY, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. 2009. Chemical compositions of fermented *Codonopsis lanceolata*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38: 396-400.
- Seo YH. 2017. Antioxidant and antimicrobial activities of ginger with aging and fermentation. Korean J. Food Preserv. 24: 1180-1187.
- Taniguchi M, Suzuki H, Watanabe D, Sakai K, Hoshino K, Tanaka T. 2005. Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw. J. Biosci Bioeng. 100: 637-643.
- Vergara-Salinas JR, Vergara M, Altamirano C, Gonzalez Á, Pérez-Correa JR. 2015. Characterization of pressurized hot water extracts of grape pomace: Chemical and biological antioxidant activity. Food Chem. 171: 62-69.
- Yan TR, Lin YH, Lin CL. 1998. Purification and characterization of an extracellular  $\beta$ -glucosidase II with high hydrolysis and transglucosylation activities from *Aspergillus niger*. J. Agric. Food Chem. 46: 431-437.
- Yokoyama S, Hiramatsu JI, Hayakawa K. 2002. Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO-12005. J. Biosci Bioeng. 93: 95-97.

## Author information

- 김미진: 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 연구원
- 남동건: 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 연구원
- 최정숙: 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 농업연구관
- 최애진: 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 농업연구사