

전략체계	혁신 - 3 - 3		수행시기	전반기(완결)	
기술분야코드	V3	기술유형코드	H03	작목구분코드	FR-02-FR24
과제종류	기관고유		과제번호	LP004861	
과제명	도라지 활용 발효가공상품 개발				
과제책임자	성명		직급	소속기관 및 부서	
	임재길		농업연구사	강원특별자치도원 농식품연구소	
연구기간	2022 ~ 2023		참여연구기관	-	
세부과제명			부서	세부책임자	연구기간
1) 도라지 활용 기능성 향상 발효가공상품 개발			농식품연구소	임재길	'22 ~ '23
키워드	도라지, 플라티코딘, 유산균				

ABSTRACT

Platycodon grandiflorum belongs to the genus *Campanula*, which is part of the order *Chrysanthemum*. Its English name is bellflower, balloonflower, or Chinese bellflower, and its herbal medicine name is Gilgyeong. The root of *Platycodon grandiflorum* contains glycosylated saponins. Deglycosylated saponins, which exhibit higher biological activity than glycosylated saponins, have been converted from glycosylated saponins by enzymes. In order to obtain glucosylated saponin, we attempted to select strains with excellent enzyme activity such as beta-glycosidase. Among the 372 strains established in the fermentation microorganism bank, 6 strains with excellent beta-glucosidase enzyme activity, 9 strains with excellent cellulase enzyme activity, and 6 strains with excellent amylase activity were selected. The fermented *Platycodon grandiflorum* manufacturing process was established using the selected strains and various fermented processed products were made using it. In the future, we plan to improve the manufacturing process so that there is a significant difference in the antioxidant and glycosylated saponin production of fermented *Platycodon grandiflorum* root using selected strains.

1 연구목표

도라지(*Platycodon grandiflorum* A. DC.)는 국화목에 해당하는 초롱꽃속에 속하며, 영명은 bell flower, balloon flower 또는 Chinese bell flower 등으로 부르고, 한약명은 길경(桔梗)이다. 도라지에는 단백질, 지질, 당류, 철, 무기질 등이 많이 함유되어 있으며, 용혈, 진해, 거담 등

에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 도라지 추출물(2013-26호)은 생리활성기능 2급 인정 물질로 기능(지표)성분 Platycodin D이며, 도라지 추출물(DRJ-AD) 기능성 원료는 간 건강 및 인지능력 개선에 도움이 된다고 보고되었다. 도라지에 함유된 주요 사포닌은 platycodin A, C, D와 platycoside A, B, C, D, E 등이며, phytosterin, inulin 등도 함유되어 있다. 도라지 가공품은 소규모 건강기능성 농식품의 전형적인 대표적 사례이다. 일반적으로 도라지 환, 청, 추출액 등 단순 가공품 제조에서 기능성 및 차별화된 프리미엄 제품 개발을 통한 부가가치 향상된 가공품을 개발하고자 하였다. 또한 농산물 생산농가가 가공시설을 이용하여 제품을 직접 생산-가공-판매하는 형태의 위생적이고 간소화된 발효 가공 공정을 확립하고자 하였다.

2 재료 및 방법

<제1세부과제 : 도라지 활용 기능성 향상 발효가공상품 개발>

(시험 1) 도라지 추출물 발효 적합 종균 선발

도라지 추출물 발효에 적합한 종균 선발을 위해 발효미생물 은행 기 구축 균주 672주를 대상으로 당류 효소활성을 분석하였다. 전분을 가수분해 하는지 조사하기 위해 starch agar배지에 세균을 배양한 후, 집락주변에 요오드액을 떨어뜨려 흑청색이 나타나는지 관찰한다. 요오드액은 전분과 결합하면 흑청색이 되고 미생물에 의해 전분이 분해된 곳은 투명해진다. Stock 해놓은 균주를 각각의 액체배지(broth)에 약 4%정도로 접종한 후 2~3일간 30°C에서 배양을 해둔다. 1%의 agar와 0.5%의 soluble starch를 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C에서 15분간 멸균하여 약 20mℓ씩 petridish에 부어 준비한 plate에 broth culture한 균주를 streaking 한다. 이때 대조구(Control)는 300U/mℓ의 α-amylase를 사용하고 30°C에서 72시간 배양한다. 배양후, I2/KI (5mM I2 in 3% KI) 2mℓ를 가하여 15분간 발색시키고 활성율을 계산하였고, 각 시료는 3회 반복하여 평균한다. Cellulase 효소 활성의 정성 분석은 carboxymethyl cellulose (CMC, Sigma, St. Louis, MO, U.S.A)을 기질로 선택하여 1% CMC를 함유한 CMC agar 배지를 제조하여 측정하였다. 효소 분비능 측정 배지에 각 균주의 배양 상등액을 0.45 μm membrane filter(Sartorius, Frankfurt, Germany)로 제균 한 후 100 μℓ씩을 직경 8mm의 준비한 well에 분주하여 25°C에서 24시간 동안 반응시킨 후 cellulase 분비능을 투명한 직경으로 조사하였다.

(시험 2) 유산균 최적배지 조성 및 조건 설정

생장 최적 조건(온도) 설정을 위해, 바이오리액터를 이용하여 MRS 액상배지에 배양하여 30°C~45°C에서 24시간 생육활성 OD(600nm)을 측정하였다.

(시험 3) 종균 이용 발효도라지 가공 공정 확립

도라지의 항산화 성분, 플리티코딘, 사포닌 함량의 증진을 위해 발효조건을 달리하여 발효 도라지를 제조하였다. 첫째 시판효소 1% 셀룰라아제를 이용하여 30°C에서 48시간 발효하였다. 발

효한 도라지를 3시간마다 증숙 및 건조처리를 1~9회까지 반복 처리하여 건조도라지를 제조하였다. 두번째 효소활성 및 도라지 추출물에 생육활성 우수 균주 *Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19, *Bacillus subtilis* AFY-20 3종 복합균을 접종하여 30°C에서 48시간 발효하였다. 발효한 도라지를 3시간마다 증숙 및 건조처리를 1~9회까지 반복 처리하여 건조도라지를 제조하였다. 마지막으로 온도별(60°C, 120°C) 건조한 도라지를 분말 후 중량의 10배를 가수하여, 유산균 2종 *Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19 5%로 접종하여, 24~48시간 발효하였다. 이와 같이 제조한 시료를 바탕으로 품질분석을 하였다. 사포닌 분석방법은 시료 0.1g 1.5 microtube 1.5mL에 담고 assay buffer 1mL 넣고 멀티 믹서로(2500rpm, 10min) 균질화 하였다. 인큐베이터에 50°C, 60분 배양 후 원심분리(10,000g, 10min)하여 상층액을 분리하여 시료 추출액을 제조하였다. saponin assay kit를 이용하여 시료를 처리 후 흡광도(550nm)를 측정하였다.

(시험 4) 발효도라지 제조 공정 및 품질분석

발효도라지 농축액 25%를 기준으로 농축액(배, 대추), 농축액, 당농도(10~30%), 검류(푸드겔, 카라기난, 곤약) 등의 배합비를 설정하였다. 일반성분분석은 AOAC(1984)법에 따라 수분함량은 105°C에서 건조한 상압건조법을 이용하였고, 조단백질은 킬달법으로 자동단백질분석기(kjeltecTM8400, Foss, Hoganas, Sweden)을 이용하여 분석하였다. 조지방은 Soxhlet법으로 조지방 추출기(SoxtecTM8000, Foss, Hoganas, Sweden)를 이용하여 ether로 추출하여 측정하였고, 조회분은 600°C의 직접회화법으로 정량하였으며, 탄수화물 함량은 100%(회분+조단백+조지방+수분)으로 계산하였다. 물성측정기(Texture analyzer, model CT3-10K, Brookfield, Middleboro, USA)로 측정하였고, 20mm의 두께로 자른후, Pre-test speed: 1.0 mm/s, Test speed: 1.0 mm/s, Post-test speed: 5.0 mm/s, Distance: 50%, Calibrate probe: P/36로 측정하였다. 측정 후 얻어진 force-distance curve로부터 경도 hardness(g), 응집성 cohesiveness, 탄력성 springiness(mm), 점착성 gumminess(g), 씹힘성 chewiness(mJ)를 측정하였다. 색차계(Spectrophotometer, CR-400, Minolta Co, Osaka, Japan)를 사용하여 시료의 일정한 부분을 10회 반복 측정하였다. 측정 전 표준백판 (L=97.75, a=0.49, b=1.96)으로 보정한 후 사용하였으며, L(Lightness: 명도), a(Redness: 적색도), b(Yellowness: 황색도)값으로 나타내었다.

(시험 5) 다양한 제형의 발효도라지 가공품 개발

발효도라지청 제조 배합비는 분말액 40.8%, 대추농축액 10.2%, 쌀조청 49%로 설정하였다. 이를 바탕으로 발효도라지 젤리стик, 젤리포, 도라지청을 제조하였다. 20명으로 구성된 focus group에 의해 시료의 색(appearance-color), 향미(flavor), 맛(taste), 조직감(texture)등의 항목에 대하여 9점 척도법(매우 좋다 9점, 좋다 7점, 보통이다 5점, 좋지 않다 3점, 매우 좋지 않다 1점)으로 평가하였다.

3 결과 및 고찰

<제1세부과제 : 도라지 활용 기능성 향상 발효가공상품 개발>

(시험 1) 도라지 추출물 발효 적합 종균 선발

도라지의 사포닌 성분 중 플라티코딘 D(platycodin D) 함량을 높일 수 있는 글루코시다아제 (glucosidase) 효소 활성 및 도라지의 유효성분 추출을 위한 당분해 효소 알파아밀라아제(α -amylase), 셀룰라아제(cellulase) 효소활성이 우수한 종균을 선발하고자 하였다. 그림 1과 같이 농식품연구소 발효미생물은행에 기 구축한 균주 672주를 대상으로 효소활성이 우수한 균주 중에 글루코시다아제 우수활성 종균 6주, 알파아밀라아제 우수활성 종균 6주, 셀룰라아제 우수활성 종균 8주를 선발하였다.

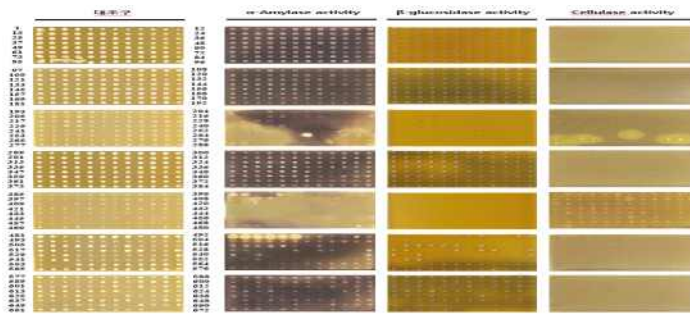


그림 1. 효소활성 특성 검정

표 1. 1차 선발균주(20주) 분리원 및 염기서열 분석

NO	PLATE NO	효소활성	동정	분리원	균주명
1	159	glucosidase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	김치	저온김치7
2	161	glucosidase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	김치	상온김치4
3	162	glucosidase	<i>Lactobacillus plantarum</i>	김치	상온김치5
4	174	glucosidase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	생선(아가미)	생선1-13
5	175	glucosidase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	생선(아가미)	생선1-14
6	187	glucosidase	<i>Lactococcus lactis</i>	생선(아가미)	생선1-27
7	259	cellulase	-	장아찌	J3-13
8	265	cellulase	-	장아찌	J3-22
9	267	cellulase	<i>Bacillus subtilis</i>	장아찌	J3-24
10	268	cellulase	-	장아찌	J4-1
11	274	cellulase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	장아찌	J4-12
12	275	cellulase	-	장아찌	J4-13
13	277	cellulase	-	장아찌	J4-16
14	278	cellulase	-	장아찌	J4-17

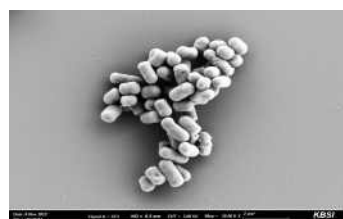
15	481	amylase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	된장	D74M16-3
16	482	amylase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	된장	D74M16-4
17	483	amylase	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	된장	D74M16-5
18	484	amylase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	김치	KCGW29-1
19	485	amylase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	김치	KCGW29-2
20	486	amylase	<i>Lactobacillus pentosus</i>	김치	KCGW29-3

1차 선발한 효소활성 우수 균주 20주의 분리 미생물 16S rRNA등의 염기서열분석 결과 표 1과같이 *Lactobacillus pentosus*(락토바실러스 펜토서스), *Lactococcus lactis*(락토바실러스 펜토서스), *Leuconostoc mesenteroides*(류코노스톡 메센테로이데스), *Bacillus subtilis*(바실러스 서브틸리스)로 동정되었다.

표 2. 도라지 추출물 생육활성 검정

NO	PLATE NO	OD(600nm)	NO	PLATE NO	OD(600nm)
1	159	2.15	11	274	0.57
2	161	2.17	12	275	0.66
3	162	2.18	13	277	0.70
4	174	2.24	14	278	0.65
5	175	2.08	15	481	1.24
6	187	0.95	16	482	1.35
7	259	0.67	17	483	1.36
8	265	0.60	18	484	1.40
9	267	0.49	19	485	2.01
10	268	0.69	20	486	1.37

1차 선발한 균주 20주를 대상으로 도라지 추출물 생육활성이 우수한 균주를 선발하기 위해, 35℃, 40시간 동안 배양 후 흡광도(600nm)를 측정한 결과 표 2와 같다. 효소활성이 우수하고, 도라지 추출물에 활성이 높은 균주를 각각 1종씩 2차 선발하였다.



Lactobacillus pentosus AFY-18



Leuconostoc mesenteroides AFY-19

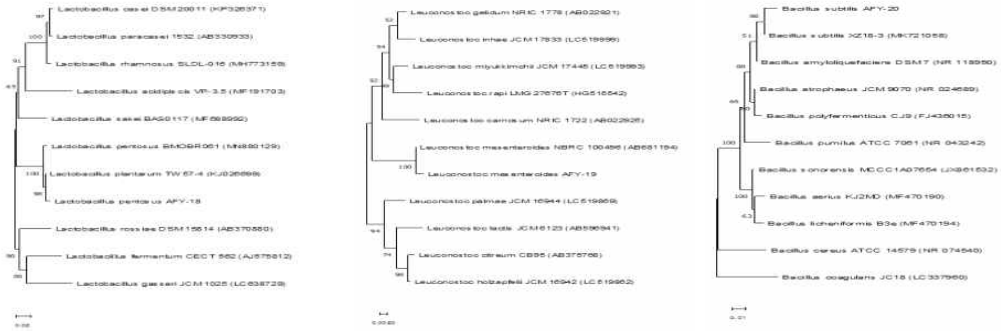


Bacillus subtilis AFY-20

그림 2. 균주 형태학적 특성(SEM)

선발 균주 3종의 형태학적 특성을 조사하기 위해, UHR-SEM(Ultra high resolution-scanning electron microscope) 촬영을 실시하였다. 고체배지 위에 세포를 고정시키기 위하여 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.2-7.4)로 제조한 glutaraldehyde 용액으로 3시간 고정 시킨 후, 0.1

M sodium phosphate buffer로 2회 세척 후, 1% osmium tetroxide 용액으로 30분간 최종 고정하여, 50~100% 농도 구배 알코올로 각각 단계적으로 5분씩 탈수시킨 후에 100% hexamethyldisilazane으로 완전히 탈수시키고 건조한 후 SEM S2500C(Hitachi, Japan)을 이용하여 그림 2와 같이 관찰되었다. 또한 계통수 분석 결과는 그림 3과 같다.

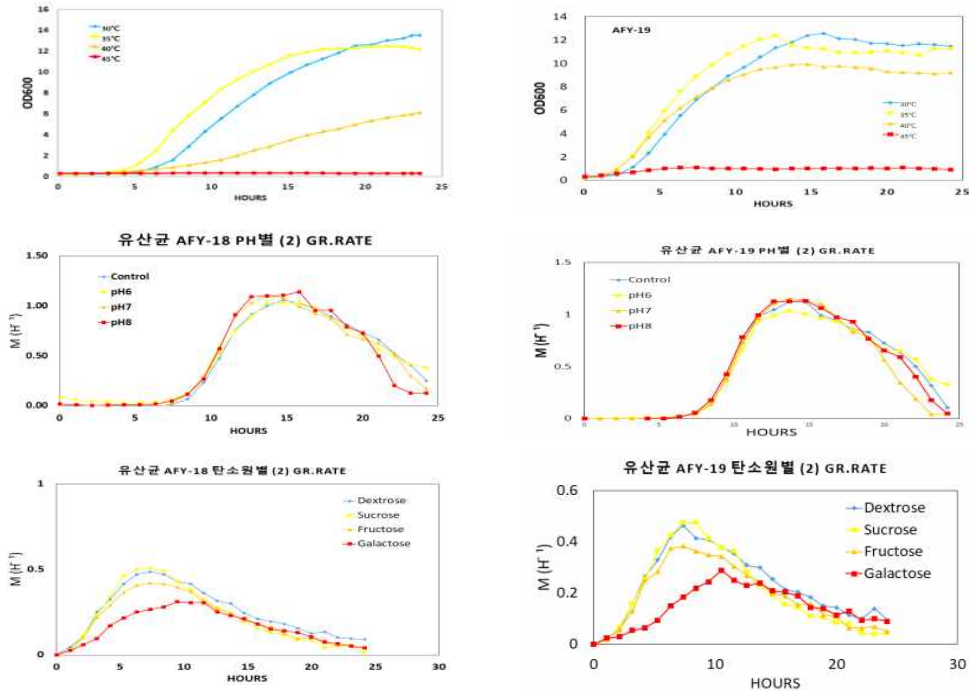


【*Lactobacillus pentosus* AFY-18】 【*Leuconostoc mesenteroides* AFY-19】 【*Bacillus subtilis* AFY-20】

그림 3. 균주 계통수

(시험 2) 유산균 최적배지 조성 및 조건 설정

유산균 AFY-18, AFY-19 생장 최적 배지 조건을 설정 분석한 결과, 30℃~45℃, pH 7~8, 탄소원은 sucrose, 유기질소는 Beef extract, 무기질소원 KNO₃ 등 조건에서 그림 4와 같이 생육활성이 우수한 것으로 확인 되었다.



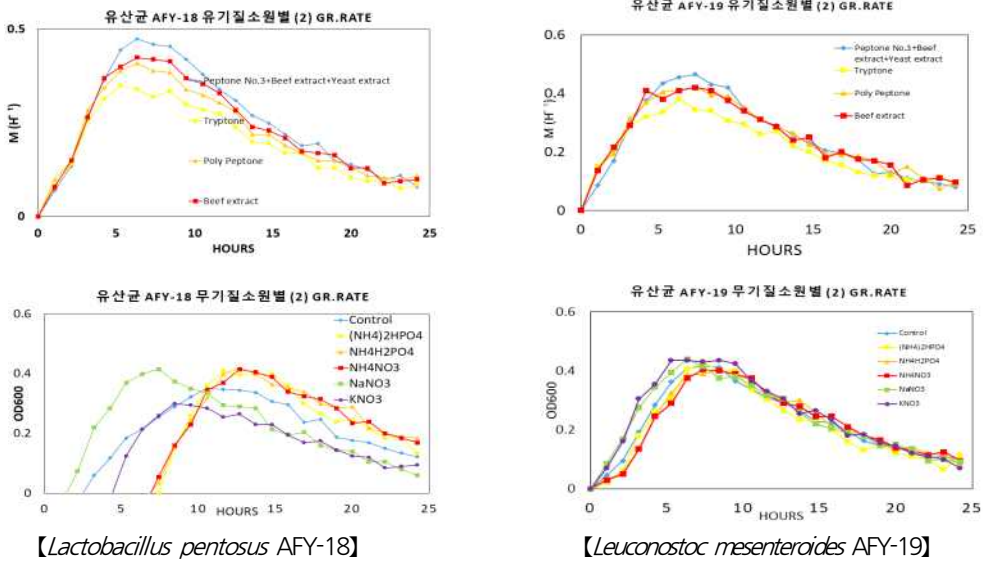


그림 4. Lab scale(flask)에서의 유산균 생육 증진용 조건 확립

(시험 3) 종균 이용 발효도라지 가공 공정 확립

발효도라지를 제조하기 위해 그림 5와 같이 시판효소 1% 셀룰라아제를 이용하여 30℃에서 48시간 발효하였다. 발효한 도라지를 3시간마다 증숙 및 건조처리를 1~9회까지 반복하여 건도라지를 그림 6과 같이 제조하였다.

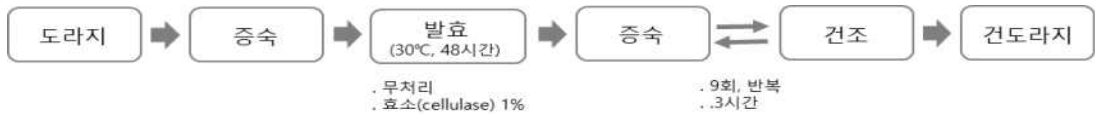


그림 5. 효소 처리 도라지 제조 공정



그림 6. 효소 처리 발효 건도라지

P1: 증숙-건조 1회, P3: 증숙-건조 3회, P6: 증숙-건조 6회, P9: 증숙-건조 9회

E1P1: 셀룰라아제 1%*증숙-건조 1회, E1P3: 셀룰라아제 1%*증숙-건조 3회, E1P6: 셀룰라아제 1%*증숙-건조 6회, E1P9: 셀룰라아제 1%*증숙-건조 9회

효소 처리 발효 도라지의 일반성분 분석결과는 표 3과 같다. 효소 처리시 조섬유 함유량이 9회 증숙 건조를 거치면서 9.91%로 무처리 11.38%에 비해 감소되었고, 증숙, 건조 과정을 통해 수분은 감소되었고 상대적으로 단백질, 지방, 회분, 탄수화물은 증가하는 것으로 나타났다. 특히 탄수화물이 처리 전 13.8에서 72.71~77.41%로 증가하였다.

표 3. 효소 처리별 발효도라지 일반성분

No ²	일반성분(g/100g)					
	수분	단백질	지방	회분	탄수화물	조섬유
control	83.24±0.21 ^g	1.95±0.06 ^a	0.17±0.05 ^a	0.84±0.01 ^a	13.80±0.14 ^a	2.30±0.10 ^a
P1	42.74±0.39 ^f	4.91±0.17 ^b	0.34±0.07 ^b	2.37±0.03 ^b	49.65±0.62 ^b	7.83±0.12 ^c
P3	30.09±0.50 ^d	6.61±0.22 ^d	0.41±0.05 ^b	3.15±0.03 ^d	59.74±0.50 ^d	8.75±0.15 ^d
P6	13.37±0.31 ^c	9.35±0.29 ^e	0.74±0.09 ^{cd}	3.83±0.05 ^e	72.71±0.45 ^e	10.91±0.26 ^f
P9	9.31±0.14 ^b	9.13±0.19 ^e	0.63±0.04 ^c	3.92±0.04 ^f	77.00±0.19 ^g	11.38±0.23 ^g
E1P1	43.21±1.03 ^f	5.46±0.25 ^c	0.16±0.04 ^a	2.54±0.04 ^c	48.63±0.94 ^b	6.52±0.44 ^b
E1P3	31.50±0.79 ^e	6.80±0.14 ^d	0.39±0.04 ^b	3.12±0.03 ^d	58.20±0.81 ^c	7.53±0.04 ^c
E1P6	9.96±0.03 ^b	10.21±0.11 ^f	1.00±0.05 ^e	4.25±0.02 ^g	74.59±0.15 ^f	9.88±0.22 ^e
E1P9	8.23±0.04 ^a	9.25±0.41 ^e	0.85±0.06 ^d	4.26±0.02 ^g	77.41±0.45 ^g	9.91±0.04 ^e

²control: 원물, P1:증숙·건조 1회, P3: 증숙·건조 3회, P6: 증숙·건조 6회, P9: 증숙·건조 9회

E1P1: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 1회, E1P3: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 3회, E1P6: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 6회, E1P9: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 9회

효소 처리 발효 도라지의 Platycoside E, Platycodin D3, Platycodin D 분석결과는 그림 7과 같다. Platycoside E 성분은 효소 무처리시 313mg, 3회 증숙 건조시 100g당 1,004mg로 최대 증가하였고, 무처리 대비 효소 처리시 187.2~461.3mg 로 전체적으로 낮았다. Platycodin D3 성분은 효소 무처리시 30.3~46.15mg, 효소 처리시 45.3~72.7mg 로 무처리 보다 높았다. Platycodin D 성분은 효소 무처리시 17.9~39.5mg, 효소 처리시 187.2~61.3mg 로 무처리 보다 높았다. 효소 처리시 당분해가 잘되어 Platycoside E에서 Platycodin D3, Platycodin D로 분해되는 것으로 나타났다.

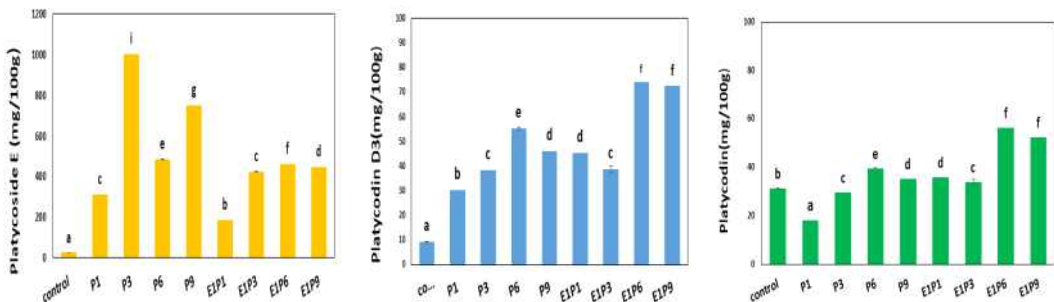


그림 7. 효소처리별 플라티코딘 분석

²control: 원물, P1:증숙·건조 1회, P3: 증숙·건조 3회, P6: 증숙·건조 6회, P9: 증숙·건조 9회

E1P1: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 1회, E1P3: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 3회, E1P6: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 6회, E1P9: 셀룰라아제 1%*증숙·건조 9회

효소처리별 조사포닌은 그림 8과 같이 원물 도라지를 9회 증속시 5배 정도 조사포닌 함량이 증가하였다.

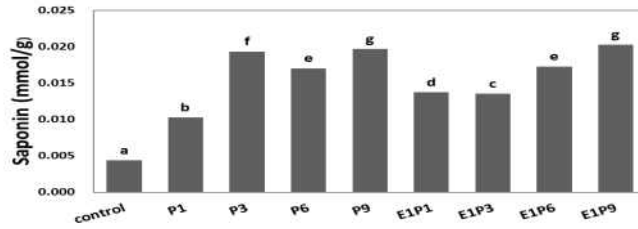


그림 8. 효소처리별 조사포닌 분석

²control: 원물, P1:증속·건조 1회, P3: 증속·건조 3회, P6: 증속·건조 6회, P9: 증속·건조 9회
E1P1: 셀룰라아제 1%*증속 건조 1회, E1P3: 셀룰라아제 1%*증속 건조 3회, E1P6: 셀룰라아제 1%*증속 건조 6회,
E1P9: 셀룰라아제 1%*증속 건조 9회

효소활성 및 도라지 추출물에 생육활성 우수 균주 3종(*Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19, *Bacillus subtilis* AFY-20)의 복합발효 도라지를 제조하기 위해 30°C에서 48 시간 발효하였다. 발효한 도라지를 3시간마다 증속과 건조처리를 1~9회 반복하여 건조도라지를 그림 10과 같이 제조하였다.

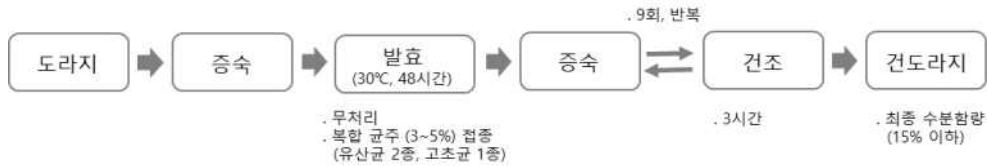


그림 9. 복합균주 처리 도라지 제조 공정



그림 10. 복합균주 농도 처리별 발효도라지 제조

SOP1:증속·건조 1회, SOP3: 증속·건조 3회, SOP6: 증속·건조 6회, SOP9: 증속·건조 9회
S3P1: 복합균주 3%*증속 건조 1회, S3P3: 복합균주 3%*증속 건조 3회, S3P6: 복합균주 3%*증속 건조 6회, S3P9: 복합균주 3%*증속 건조 9회
S5P1: 복합균주 5%*증속 건조 1회, S5P3: 복합균주 5%*증속 건조 3회, S5P6: 복합균주 5%*증속 건조 6회, S5P9: 복합균주 5%*증속 건조 9회
S10P1: 복합균주 10%*증속 건조 1회, S10P3: 복합균주 10%*증속 건조 3회, S10P6: 복합균주 10%*증속 건조 6회, S10P9: 복합균주 10%*증속 건조 9회

표 4. 복합균주 처리 도라지 일반성분

No ²	일반성분(g/100g)					
	수분	단백질	지방	회분	탄수화물	조성유
무처리	78.83±0.28 ^l	1.60±0.05 ^a	0.23±0.02 ^a	1.05±0.02 ^a	18.29±0.24 ^a	2.21±0.04 ^a
SOP1	16.12±0.13 ^g	6.03±0.14 ^c	0.90±0.01 ^c	3.53±0.00 ^c	73.43±0.24 ^d	6.75±0.07 ^c
SOP3	9.92±0.19 ^c	6.75±0.08 ^e	1.07±0.04 ^d	3.96±0.04 ^{ghi}	78.30±0.27 ^{gh}	8.05±0.12 ^{gh}
SOP6	9.21±0.13 ^{ab}	6.06±0.01 ^c	1.17±0.05 ^{ef}	3.90±0.03 ^g	79.66±0.14 ^k	8.17±0.16 ^f
SOP9	9.36±0.09 ^b	7.22±0.07 ^{gh}	1.15±0.06 ^{de}	4.04±0.02 ^{ij}	78.23±0.16 ^{gh}	8.52±0.08 ^j
S3P1	15.09±0.06 ^f	6.29±0.02 ^d	0.87±0.02 ^c	3.76±0.02 ^e	73.99±0.03 ^e	7.32±0.04 ^d
S3P3	9.92±0.29 ^c	6.46±0.16 ^d	1.32±0.04 ^h	4.02±0.05 ^{hij}	78.28±0.26 ^{gh}	8.52±0.24 ⁱ
S3P6	8.93±0.03 ^a	6.99±0.05 ^f	1.22±0.05 ^{ef}	4.09±0.01 ^j	78.76±0.09 ^{ij}	8.39±0.10 ^{hi}
S3P9	8.94±0.05 ^a	6.94±0.07 ^{ef}	1.21±0.04 ^{ef}	3.78±0.04 ^e	79.13±0.09 ^j	8.32±0.11 ^{gh}
S5P1	18.17±0.14 ^h	6.40±0.13 ^d	0.87±0.04 ^c	3.76±0.08 ^e	70.80±0.21 ^c	6.67±0.22 ^c
S5P3	12.33±0.04 ^d	7.04±0.14 ^f	1.32±0.06 ^h	3.86±0.02 ^f	75.45±0.21 ^f	8.19±0.28 ^f
S5P6	9.46±0.03 ^b	7.11±0.05 ^f	1.32±0.03 ^h	4.01±0.01 ^{ghi}	78.10±0.09 ^{gh}	7.94±0.07 ^{ef}
S5P9	9.77±0.12 ^c	7.06±0.05 ^f	1.26±0.03 ^{gh}	3.96±0.03 ^{gh}	77.95±0.17 ^g	8.00±0.26 ^{efg}
S10P1	24.72±0.19 ^j	5.71±0.21 ^b	0.61±0.04 ^b	3.38±0.06 ^b	65.58±0.13 ^b	5.93±0.17 ^b
S10P3	13.89±0.24 ^e	5.80±0.01 ^b	1.14±0.01 ^{de}	3.62±0.03 ^d	75.55±0.27 ^f	7.35±0.19 ^d
S10P6	9.97±0.09 ^c	6.33±0.02 ^d	1.26±0.07 ^{gh}	4.04±0.04 ^{ij}	78.40±0.21 ^{hi}	7.79±0.17 ^e
S10P9	9.13±0.01 ^{ab}	7.41±0.03 ^h	1.29±0.06 ^{gh}	4.04±0.01 ^{ij}	78.13±0.10 ^{gh}	7.91±0.09 ^{ef}

효소활성 및 도라지 추출물에 생육활성 우수 균주 3종(*Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19, *Bacillus subtilis* AFY-20)의 복합발효 균주를 3~10% 처리한 결과 도라지의 Platycoside E, Platycodin D3, Platycodin D 분석 결과 그림 11과 같이 복합균주 3% 사용하여 9회 증속시 Platycoside E 성분은 1728.82mg, Platycodin D3 22.7mg으로 나타났다.

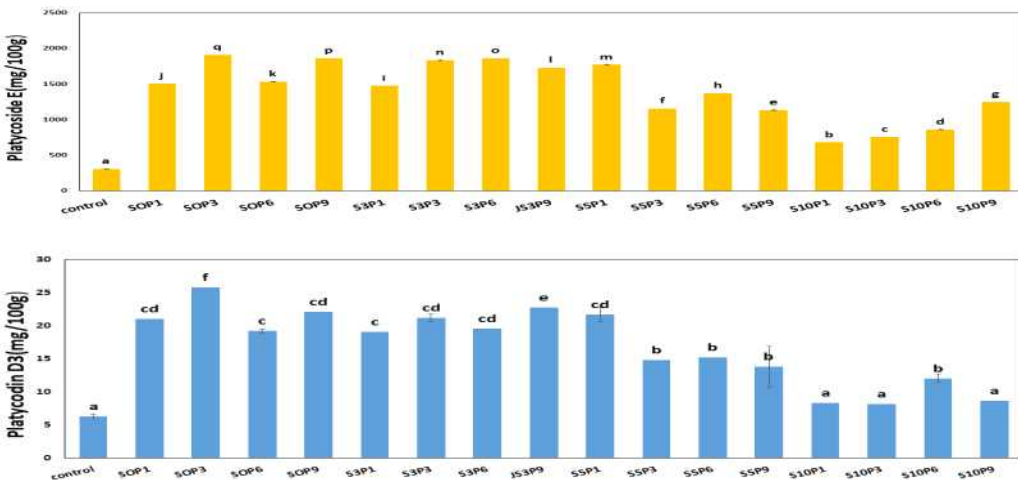


그림 11. 복합 균주 처리 도라지의 Platycoside E, Platycodin D

^lcontrol: 원물 SOP1: 증속-건조 1회 SOP3: 증속-건조 3회 SOP6: 증속-건조 6회 SOP9: 증속-건조 9회
 S1P1: 복합균주 3%*증속-건조 1회 S3P3: 복합균주 3%*증속-건조 3회 S3P6: 복합균주 3%*증속-건조 6회 S3P9: 복합균주 3%*증속-건조 9회 S5P1: 복합균주 5%*증속-건조 1회
 S5P3: 복합균주 5%*증속-건조 3회 S5P6: 복합균주 5%*증속-건조 6회 S5P9: 복합균주 5%*증속-건조 9회 S10P1: 복합균주 10%*증속-건조 1회 S10P3: 셀룰라아제 10%*증속-건조 3회
 S10P6: 복합균주 10%*증속-건조 6회 S10P9: 복합균주 10%*증속-건조 9회

효소활성 및 도라지 추출물에 생육활성 우수 균주 3종(*Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19, *Bacillus subtilis* AFY-20)의 복합발효 균주를 3~10% 처리한 도라지의 증숙, 건조 과정 후 분석한 조사포닌 함량은 복합균주 3%, 증숙-건조 9회 반복한 처리구가 대조구 대비 약 4배 증가하였다.

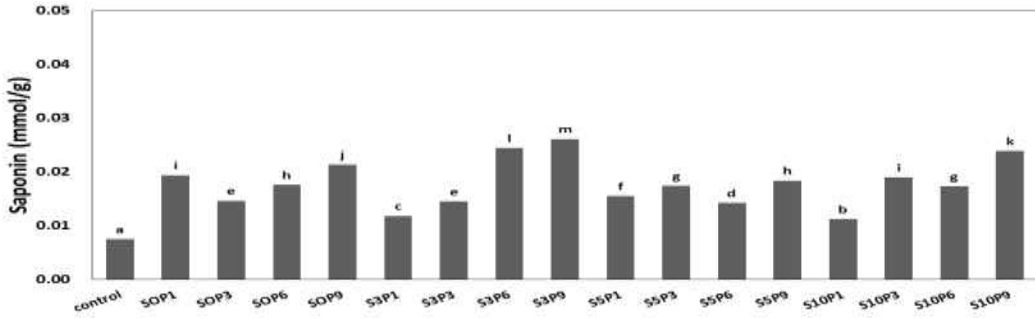


그림 12. 복합균주 처리 도라지의 사포닌

도라지 분말 발효액을 제조하기 위해 그림 14와 같이 도라지를 60℃, 120℃ 온도에서 건조하였다. 건조한 도라지를 분말 후 중량의 10배 가수하여, 유산균 2종(*Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19)을 5%로 접종하여, 24~48시간 발효하였다.

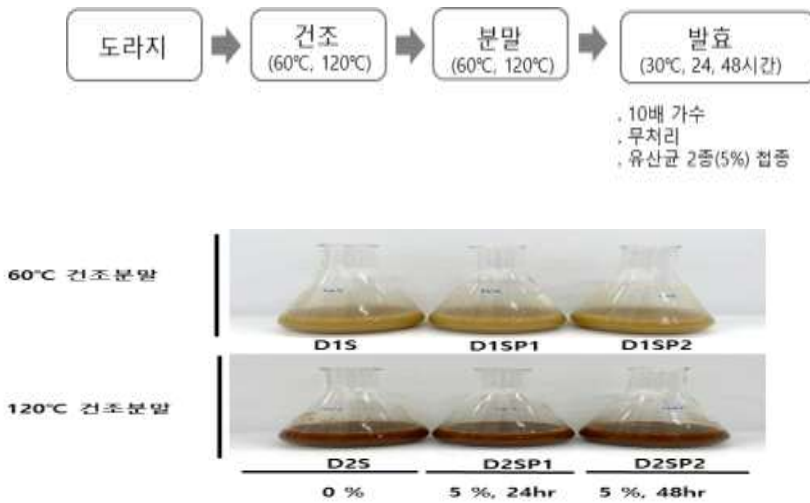


그림 13. 도라지 분말 발효액 제조 공정

그림 13과 같은 공정을 통한 발효액 항산화 실험 결과는 그림 14와 같다. 120℃ 건조 분말에 10배의 증류수를 첨가, 복합균주 5%를 접종하여 48시간 배양시 DPPH 라디칼 소거능은 42.51%로 높게 나타났다.

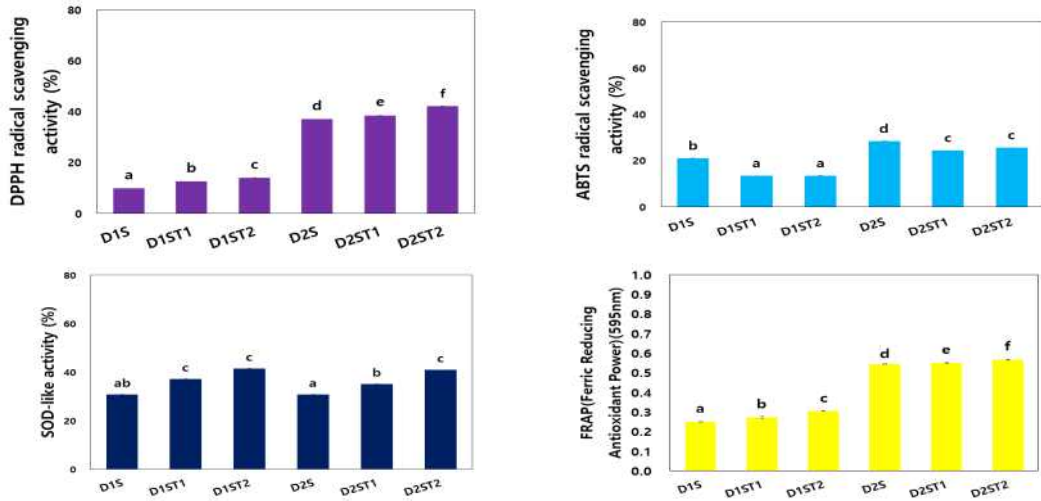


그림 14. 복합균주 처리 발효액의 항산화 분석

D1S: 60°C건조, D1SP1: 60°C+복합유산균 5%+24시간발효, D1SP2: 60°C+복합유산균 5%+48시간발효
 D2S: 120°C건조, D2SP1: 120°C+복합유산균 5%+24시간발효, D2SP2: 120°C+복합유산균 5%+48시간발효

(시험 4) 종균 이용 발효도라지 가공 공정 확립

발효도라지 제조를 위하여 그림 15와 같이 공정 I은 도라지를 세척 후 믹서기로 분쇄하였다. 원물의 10배의 물을 가수 후 유산균 2종(*Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19)을 3%로 접종하여 35°C, 48시간 동안 발효하였다. 공정 II에서는 도라지를 세척 후 증숙하여 건조 후 분말하였다. 분말의 10배 물을 가수하여 종균을 3%로 접종하여 35°C, 48시간 동안 발효하였다. 도라지 발효공정 I, II에서 종균 접종시에 유산균 무처리, 단독처리, 복합처리 품질 특성을 비교하기 위해 시료를 제조하였다.

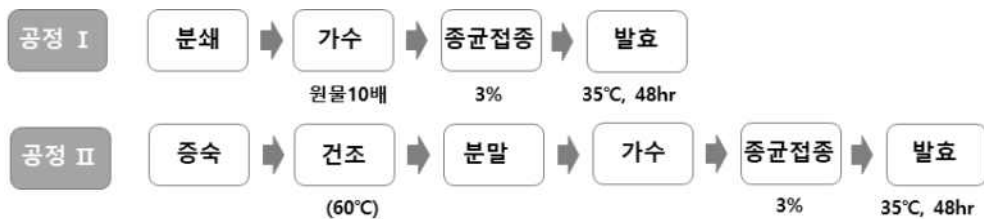


그림 15. 발효도라지 제조 공정

그림 15와 같이 제조한 발효도라지의 사포닌 함량 분석결과 원물을 직접 분쇄하여 발효한 공정 I 보다는 공정 II와 같이 건조 분말하였을 경우 약간 사포닌이 높게 나타났고, 유산균 무처리 보다 처리구인 PGB1, PGB2, PGB3에서 더 높은 것으로 나타났다.

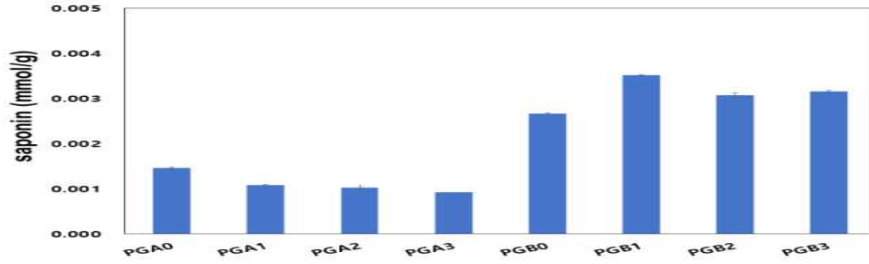


그림 16. 발효공정별 사포닌 함량 분석

PGA0: 공정 I *종균무처리, PGA1: 공정 I *AFY-18 3%, PGA2: 공정 I *AFY-19 3%, PGA3: 공정 I *AFY-18 3% AFY-19 3% PGB0: 공정 II *종균무처리, PGB1: 공정 II *AFY-18 3%, PGB2: 공정 II *AFY-19 3%, PGB3: 공정 II *AFY-18 3% AFY-19 3%

그림 15와 같이 제조한 발효도라지의 일반성분 분석 결과는 표 5와 같다. 공정 I로 제조한 발효한 도라지의 수분함량은 97.56~98.19%로 공정 II 수분함량 91.13~93.63%보다 높았고, 탄수화물 함량은 공정 I은 1.48~2.09%로 공정 II의 4.78~7.33% 보다 낮게 나타났다. 공정 II는 원물을 분말화 형태로 처리 후 발효하므로 원물을 발효한 공정 I보다 상대적으로 수분함량이 낮고, 반면에 탄수화물, 단백질, 지방 등 성분이 높았다.

표 5. 복합균주 처리 도라지 일반성분

시료명	일반성분(g/100g)				
	수분	단백질	지방	회분	탄수화물
PGA0	97.56±0.01	0.17±0.02	0.12±0.01	0.08±0.03	2.07±0.03
PGA1	98.19±0.31	0.17±0.01	0.10±0.02	0.06±0.01	1.48±0.34
PGA2	97.66±0.32	0.19±0.02	0.02±0.01	0.03±0.01	2.09±0.29
PAG3	97.61±0.14	0.22±0.01	0.04±0.00	0.05±0.02	2.08±0.16
PGB0	93.63±0.12	1.01±0.02	0.23±0.01	0.35±0.03	4.78±0.04
PGB1	91.43±0.14	0.94±0.02	0.18±0.03	0.37±0.01	7.08±0.16
PGB2	91.13±0.07	0.97±0.01	0.20±0.05	0.37±0.04	7.33±0.02
PAB3	91.65±0.24	0.94±0.04	0.17±0.03	0.36±0.04	6.88±0.25

PGA0: 공정 I *종균무처리, PGA1: 공정 I *AFY-18 3%, PGA2: 공정 I *AFY-19 3%, PGA3: 공정 I *AFY-18 3% AFY-19 3%

PGB0: 공정 II *종균무처리, PGB1: 공정 II *AFY-18 3%, PGB2: 공정 II *AFY-19 3%, PGB3: 공정 II *AFY-18 3% AFY-19 3%

발효도라지 공정과정 및 유산균 처리에 따른 항산화 활성을 비교한 결과는 표6과 같이 공정 I보다 공정 II에서 대부분 항산화 활성지표가 높은 것으로 나타났다.

표 6. 발효공정별 항산화 활성 비교

시료명	Total polyphenol (mg GAE/ml)	DPPH radical scavenging activity	ABTS+ radical scavenging activity	SOD-like activity	FRAP
		(µg BHE/ml)	(µg BHE/ml)	(µg AAE/ml)	(µg TXE/ml)
PGA0	89.36±2.14	47.91±3.65	41.36±4.45	596.10±54.88	13.13±1.23

PGA1	98.00±12.99	45.35±4.72	35.21±4.21	558.81±47.03	12.39±0.98
PGA2	98.91±1.62	44.15±0.33	32.68±6.11	570.28±35.55	13.34±0.96
PAG3	107.02±1.67	43.82±2.06	33.84±6.69	555.94±65.09	17.24±1.42
PGB0	393.68±4.83	80.40±2.69	194.10±1.45	779.69±40.37	74.03±5.01
PGB1	344.44±13.57	83.62±0.82	148.99±4.82	667.81±46.18	70.14±3.50
PGB2	307.47±10.70	78.87±4.08	130.88±3.93	664.95±53.79	57.60±3.32
PAB3	299.44±11.66	74.57±3.07	135.19±4.22	647.73±42.74	62.44±1.35

PGA0: 공정 I *중균무처리, PGA1: 공정 I *AFY-18 3%, PGA2: 공정 I *AFY-19 3%, PGA3: 공정 I *AFY-18 3% AFY-19 3%

PGB0: 공정 II *중균무처리, PGB1: 공정 II *AFY-18 3%, PGB2: 공정 II *AFY-19 3%, PGB3: 공정 II *AFY-18 3% AFY-19 3%

공정 I, II로 제조한 발효도라지를 진공농축기를 이용하여 80℃, 6시간 열수 추출물을 제조하여 항산화 활성 분석결과 총폴리페놀 함량은 무처리시 18.56~54.47µg GAE/ml, 유산균 처리시 22.15~61.16µg GAE/ml로 증가하였다(표 7). DPPH 라디칼 소거능은 무처리시 35.62~44.37µg BHE/ml, 유산균 처리시 74.25~84.71µg BHE/ml 증가하였다. ABTS+ 라디칼 소거능은 무처리시 61.07~152.16µg BHE/ml, 유산균 처리시 54.45~167.61µg BHE/ml, FRAP는 무처리시 17.15~81.24µg TXE/ml, 유산균 처리시 26.82~84.78로 증가하는 것으로 나타났다. 또한 공정 I 보다 공정 II가 모든 지표에서 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다.

표 7. 복합유산균 처리시 발효도라지 항산화 활성 비교

시료명	Total polyphenol (µg GAE/ml)	DPPH radical scavenging activity	ABTS+ radical scavenging activity	SOD-like activity	FRAP
		(µg BHE/ml)	(µg BHE/ml)	(µg AAE/ml)	(µg TXE/ml)
PGA0	18.56±0.06	35.62±2.45	61.07±1.33	551.79±56.59	17.15±0.34
PAG3	22.15±0.05	74.25±1.48	84.45±3.76	679.67±67.16	26.82±0.92
PGB0	54.47±0.14	44.37±2.75	152.16±1.91	577.37±19.18	81.24±0.90
PAB3	61.16±0.42	84.71±2.36	167.61±1.33	705.24±48.27	84.78±2.00

PGA0: 공정 I *중균무처리, PGA3: 공정 I *AFY-18 3% AFY-19 3%, PGB0: 공정 II *중균무처리, PGB3: 공정 II *AFY-18 3% AFY-19 3%

공정 I, II로 제조한 발효도라지를 진공농축기로 80℃, 6시간 열수 추출물을 제조하여 사포닌 분석결과 그림 17과 같이 유산균처리, 공정 II에서 사포닌이 상대적으로 높게 나왔다.



그림 17. 발효공정별 사포닌 함량 분석

(시험 5) 다양한 제형의 발효도라지 가공품 개발

발효공정 II으로 제조한 발효도라지 농축액 25%를 기준으로 농축액(배, 대추), 당농도 (10~30%), 검류(푸드겔, 카라기난, 곤약) 등의 배합비에 따라 그림 18공정으로 표 8과 같이 젤리를 제조하였다.



그림 18. 공정 II 발효농축액 이용 젤리 9종 제조

표 8. 발효도라지 젤리 제조비율(%)

시료명	재료 및 함량 (%)						계
	발효도라지 농축액	겔	정백당	안식향산 나트륨	농축액	정제수	
A	25	1.5(푸드겔)	25	0.05	10(대추)	38.45	100
B	25	1.5(푸드겔)	25	0.05	10(배)	38.45	100
C	25	1.5(푸드겔)	25	0.05	5(대추)	43.45	100
D	25	1.5(푸드겔)	25	0.05	15(대추)	33.50	100
E	25	1.5(푸드겔)	10	0.05	10(대추)	53.45	100
F	25	1.5(푸드겔)	25	0.05	10(대추)	38.45	100
G	25	1.5(푸드겔)	30	0.05	10(대추)	33.45	100
H	25	1.5(푸드겔)	30	0.05	10(대추)	33.45	100
I	25	1.5(푸드겔), 0.3(카라기난)	30	0.05	10(대추)	33.15	100
J	25	1(푸드겔), 0.8(곤약)	30	0.05	10(대추)	33.15	100

표 8과 같이 제조한 발효도라지 액상젤리 품질분석 결과는 표 9와 같다. H~J 최종 3종의 당도는 39.47~53.43brix°, 명도(L) 값은 25.97~26.44, 적색도(a) 1.69 ~ 3.21, 황색도(b) 1.59~5.06 이었다.

표 9. 발효도라지 젤리 품질분석

시료명	당도(°brix)	궤색도		
		L	a	b
A	39.40±0.00	26.13±0.45	3.37±0.11	4.60±0.43
B	37.37±0.06	39.00±2.76	1.51±0.19	8.24±0.76

C	39.40±0.00	25.66±0.20	3.37±0.29	4.65±0.58
D	49.37±0.06	27.22±0.10	3.00±0.19	4.86±0.22
E	26.23±0.06	27.27±0.46	4.00±0.18	7.35±0.19
F	39.40±0.00	26.61±0.47	3.09±0.28	4.31±1.01
G	45.70±0.00	26.85±0.31	3.03±0.59	3.60±0.16
H	39.47±0.06	26.44±0.27	2.98±0.16	4.08±0.28
I	51.10±0.00	26.35±0.69	3.21±0.17	5.06±0.38
J	53.43±0.06	25.97±0.85	1.69±0.34	1.59±0.72

^z L(+white ~ -black), a(+red ~ -green), b(+yellow ~ -blue)

표 10과 같이 제조한 발효도라지 액상젤리의 물성 측정결과 J 경도값은 102.33, 탄력성 16.20, 점착성 96.33, 씹힘성 14.08로 값이 높았다.

표 10. 발효도라지 농축액 이용 젤리 스틱 품질분석

시료명	물성				
	Hardness	Cohesiveness	Springiness	Gumminess	Chewiness
A	31.00±4.06	0.92±0.14	1.98±0.10	28.67±5.89	0.56±0.15
B	34.67±2.00	0.84±0.17	1.86±0.21	28.33±6.38	0.53±0.20
D	28.44±4.56	0.97±0.05	2.06±0.28	28.56±4.69	0.62±0.18
E	27.78±3.23	0.92±0.23	1.82±0.26	27.89±9.18	0.96±0.77
G	46.44±4.95	0.76±0.18	2.17±0.34	31.78±9.23	0.76±0.37
I	69.00±5.63	0.86±0.08	2.04±0.19	56.78±7.68	1.28±0.45
J	102.33±9.62	0.94±0.08	16.20±2.77	96.33±10.52	14.08±2.75

관능분석결과 J가 식감, 색 등 전체적 기호도가 높게 나타났다.

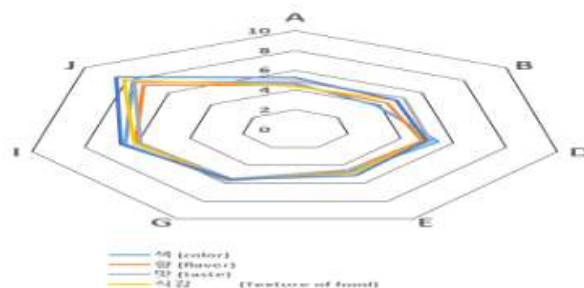


그림 19. 발효도라지 농축액 이용 젤리스틱 관능평가

^z 1 매우나쁨, 9 매우 좋음(9점 척도법)

관능분석과, 식감 등을 고려하여 J 배합으로 표 11과 같이 젤리를 제조하였다.

표 11. 발효도라지 젤리 배합비율(%)

구분	재료 및 함량(%)					
	발효도라지농축액	젤	정백당	대추 농축액	정제수	계
발효도라지 젤리	25	푸드젤 1 곤약 0.8	30	10	33.15	100

발효도라지 분말을 이용하여, 표 12와 같이 부드러운 발효도라지청 I 과, 생도라지 분쇄물을 첨가하여 씹힘성을 강조한 II 를 개발하였다.

표 12. 발효도라지청 배합비율(%)

구분	재료 및 함량(%)			
	발효도라지 분말 발효액	생도라지 분쇄	대추농축액	쌀조청
발효도라지청 I	40.8		10.2	49
발효도라지청 II	30.6	10.2	10.2	49



그림 20. 발효도라지 가공품

4 적 요

<제1세부과제 : 도라지 활용 발효가공상품 개발>

(시험 1) 도라지 추출물 발효 적합한 종균 선발

가. 당분해 효소활성 및 도라지 추출물 생육 우수한 종균 20주 1차 선발, glucosidase 효소 활성 우수 균주 6주, cellulase 효소활성 균주 9주, amylase 활성 우수 균주 6주를 선발하였다.

(시험 2) 유산균 최적배지 조성 및 조건 설정

가. 유산균 AFY-18, AFY-19 생장 최적 배지 조건을 설정 분석결과, 30℃~45℃, pH 7~8, 탄소원은 sucrose, 유기질소는 Beef extract, 무기질소원 KNO3 등 조건에서 생육활성이 우수한 것으로 확인 되었다.

(시험 3) 발효도라지 가공 공정 확립

가. 발효도라지 가공공정 확립을 위하여 시판효소 1% 셀룰라아제 및 우수 균주 3종에 대한 단복 및 복합 균주 처리 결과 복합균주 3% 사용하여 9회 증숙 및 건조처리시 Platycoside E 성분은 1728.82mg, Platycodin D3 22.7mg으로 나타났다.

나. 효소활성 및 도라지 추출물에 생육활성 우수 균주 3종(*Lactobacillus pentosus* AFY-18, *Leuconostoc mesenteroides* AFY-19, *Bacillus subtilis* AFY-20)의 복합발효 균주를 3~10% 처리한 도라지의 증숙, 건조 과정 후 분석한 조사포닌 함량은 복합균주 3%, 증숙-건조 9회 반복한 처리구가 대조구 대비 약 4배 증가하였다.

(시험 4) 발효도라지 제조 공정 및 품질분석

가. 제조한 발효도라지의 사포닌 함량 분석결과 원물을 직접 분쇄하여 발효한 공정 I 보다는 공정 II와 같이 건조 분말하였을 경우 약간 사포닌이 높게 나타났고, 유산균 무처리 보다 처리구에서 더 높은 것으로 나타났다.

(시험 5) 다양한 제형의 발효도라지 가공품 개발

가. 도라지젤리의 제조 배합비는 발효도라지 농축액 25%를 기준으로 대추농축액 10, 당농도(20%), 검류(푸드겔 1, 곤약 0.8), 정제수 33.15% 등의 배합비를 설정하였다.
 나. 발효도라지청 제조 배합비는 분말액 40.8%, 대추농축액 10.2%, 쌀조청 49%로 설정함, 이를 바탕으로 발효도라지 젤리스틱, 젤리포, 도라지청을 제조하였다.

5 인용문헌

- 김유미, 윤광섭. 2022. 도라지 농축액을 첨가한 젤리의 이화학적 품질 특성. p739-748. 한국식품저장유통학회
- 김영수, 박창구, 나채선. 2022. 효율적인 도라지 추출물 제조를 위한 복합 효소 처리 방법 연구. P132-136. 한국키티닌토산학회
- 김시현, 이성현, 이은별, 최지혜, 정환희. 2021. Platycodin D 함량이 증가된 도라지 추출물의 면역력 증진 효과. P116. 한국지역사회생활과학회.
- 최예은, 최선일, 한우호, 문효, 장길웅. 2020. 발효된 도라지 추출물의 지표성분(Platycoside E 및 Platycodin D) 분석법 검증. 116-126. 농업생명환경연구.
- 유현희, 주웨이위, 김선호, 오종철. 2020. 도라지 분말 첨가량에 따른 생면의 품질 특성. 37-48. 한국식품영양학회
- 송명섭, 김민영, 장귀영, 이윤정. 2018. 열처리에 따른 일반도라지와 으뜸도라지의 품질 특성. 462-467. 한국식품영양과학회.
- 김창국, 이동준, 배선화, 오재현. 2017. 특허분석을 통한 도라지의 기술 동향 연구. P289-295. 농업생명환경연구. 한국국제농업개발학회
- 이지현, 김진숙, 이보배, 장여은, 김경미. 2014. 도라지의 냉동전처리에 의한 도라지착즙액의 품질특성. P239. 동아시아식생활학회.
- 장윤제, 김은미, 최윤상, 전기홍, 김영봉. 2015. 도라지 쓴맛 개선을 위한 공정개발. P1550-1557. 한국식품영양과학회지.
- AOAC. 2000. Official method of analysis of AOAC. 17th. ed. Intl. association of official analytical communities, gaithersburg, MD, USA. p1-26.
- Singleton VL, Orthofer R, Amuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenol and

other oxidation substrates and antioxidants by means Folin-ciocalteu reagent. Method. Enzynol. 299: 12-178.

Jia Z, Tang M, Wu J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulbbery and they scavenging effect on super-oxide radicals. p555-559. Food Chem.

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature p181: 1198-1201.

6 연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목
2022(1년)	생물자원기탁	효소활성 우수 유산균 및 고초균 등 3종 기탁
	현장컨설팅	효소 및 종균 이용 발효도라지 제조방법
2023(2년)	기술이전	유산균을 이용한 발효도라지 제조 방법
	현장컨설팅	발효도라지 가공품 개발
	시제품제작	발효도라지 젤리, 스틱젤리

성과지표	연도	1년차 (2022)		2년차 (2023)		계	
		목표	실적	목표	실적	목표	실적
기술이전				1	1	1	1
현장컨설팅				1	1	1	1
생물자원 기탁		1	3			3	3
시제품제작		1		2	2	2	2
계		2	3	4	4	7	7

7 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도	
					'22	'23
과제책임자	농식품연구소	농업연구사	임재길	과제 총괄	○	○
세부책임자	농식품연구소	농업연구사	임재길	세부주관 수행	○	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구관	장은하	평가분석 지원	○	-
	농식품연구소	농업연구관	권혜정	평가분석 지원	-	○
	농식품연구소	농업연구사	박지선	시험수행 및 평가	○	○
	농식품연구소	운전주사	유창구	현장조사 지원	○	○
	농식품연구소	공업주사보	김담비	현장조사 지원	-	○
	농식품연구소	농업연구관	함진관	평가분석 지원	○	-
	농식품연구소	농업연구관	엄남용	평가분석 지원	-	○
	농식품연구소	공무직	윤서현	시험수행 및 평가	○	○
	농식품연구소	공무직	고윤미	시험수행 및 평가	○	○
	농식품연구소	공무직	고윤지	시험수행 및 평가	○	○
농식품연구소	공무직	염은경	시험수행 및 평가	○	○	