

효소처리 병풀(*Centella asiatica*)의 이화학적 품질 변화 및 이를 이용한 잼의 제조

†이경행 · 주가영* · 김채영* · 한기정* · 장다빈* · 윤지혜** · 유광원 · 배윤정***

한국교통대학교 식품영양학 전공 교수, *한국교통대학교 식품영양학 전공 학부생,
한국교통대학교 산학협력단 연구원, *한국교통대학교 식품영양학 전공 부교수

Physicochemical Quality Change of Enzyme-Treated *Centella asiatica* and Preparation of Jam using Enzyme-Treated *Centella asiatica*

†Kyung-Haeng Lee, Ga-Young Joo*, Chae-Young Kim*, Ki-Jung Han*,
Da-Bin Jang*, Ji-Hye Yun**, Kwang-Won Yu and Yun-Jung Bae***

Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

*Student, Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

**Researcher, Industry-Academy Cooperation Foundation, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

***Associate Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

Abstract

To increase the utilization of *Centella asiatica* (CA), enzymes such as cellulase and pectinase were added and the physicochemical properties of the treated CA were analyzed. In addition, apple-CA jam was prepared using the enzyme-treated CA, which had the best antioxidant properties, and the physicochemical and sensory qualities of the jam were measured. There was a high content of ascorbic acid, polyphenols, flavonoids, reducing sugar, amino acid, minerals and DPPH radical scavenging activity in the enzyme-treated group. The antioxidant component and activity in the jam prepared by adding enzyme-treated CA increased with an increase in the amount of enzyme-treated CA. In the soluble solids, the higher the amount of enzyme-treated CA, the higher the value, but there was no significant difference in pH. The sensory evaluation of the jam, in particular the taste, showed that the highest preference was observed when the enzyme-treated CA was added in the range of 5.0~6.7%, and the control group showed the lowest preference. There was no significant difference in flavor and spreadability among the treatment groups, however, the control group showed the highest color preference. In the overall acceptability, when 5.0% of enzyme-treated CA was added, the highest acceptability was shown.

Key words: *Centella asiatica*, enzyme treatment, physicochemical properties, jam, sensory property

서 론

병풀(*Centella asiatica*, CA)은 산형화목 미나리과에 속하는 다년생 포복성 초본 덩굴식물로 상처치료에 이용되는 약용 식물로 오래전부터 인도 및 아시아 지역 등에서 이용되어 왔다(Brinkhaus 등 2000).

병풀에 함유되어있는 주요 생리적 기능성 성분으로는 macecassoside, asiaticoside와 madecassoside, asiaticoside, madecassic acid, asiatic acid, brahminoside, brahmoside 등이 있으며, 피부질병, 상처와 위궤양, 결핵, 항류마티스 관절염, 정신질환, 치매 등에 대해 치료 효과(Chassaud 등 1971; Booncong P 1989; Bonte 등 1994), 항암효과와 신경세포 보호효과(Orhan IE 2012), 면역

† Corresponding author: Kyung-Haeng Lee, Professor, Major in Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5334, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: leekh@ut.ac.kr

활성증진(Ha 등 2009), 항산화 활성도 알려져 있어(Zaidan 등 2005) 의약품 및 화장품의 원료로 각광받고 있다.

이처럼 의학용으로써의 활용과 연구는 점차 확대되고 있는 추세인 반면, 식용의 측면에서는 잘 알려지지 않아 단순히 샐러드나 차의 형태로 섭취하는 정도로 그 활용이 매우 국한적이므로 병풀을 정기적으로 섭취하게 되면 다양한 생리적 기능성을 상승시킬 수 있을 것으로 기대되어지므로 병풀의 활용 범위를 보다 확대시켜야 할 것으로 판단되어진다. 그러나, 병풀은 질기고 거친 식감을 가지고 있는데 이는 섬유소나 펙틴 물질을 많이 함유하고 있기 때문인 것으로 사료되어진다.

식품가공업에서의 효소처리는 식물 세포벽 성분인 cellulose, hemicellulose 및 pectin 물질 등을 가수분해하여 젖산 또는 에탄올 발효를 위한 당을 생산하거나(Weinberg 등 1995; Wilkins 등 2007) 과일 가공 산업에서 수율의 향상, 여과성 증진 또는 청징화 등을 목적으로 주로 사용되고 있다(Meyer 등 2001). Çınar İ(2005)는 오렌지 과피, 고구마 및 당근에 cellulase 및 pectinase를 처리하여 세포벽을 파괴시킴으로써 클로로플라스트 및 세포질의 카로티노이드를 추출할 수 있는 효소의 농도 및 반응시간의 관계 연구, Choudhari와 Ananthanarayan(2007)은 토마토 및 토마토가공 부산물로부터 라이코펜 추출수율을 증가시키기 위한 cellulase와 pectinase의 효율성이 비교 연구, Meyer 등(1998)은 포도주 제조 시 생기는 과피박에 pectinase를 전처리함으로써 폴리페놀 성분의 추출수율이 증가에 관한 연구 등이 이루어졌으나 병풀을 가공하기 위한 효소처리 연구는 찾아볼 수 없다.

따라서, 본 연구에서는 병풀을 식품으로써의 활용도를 높이기 위하여 cellulase와 pectinase 등의 효소를 처리하고 이들의 이화학적 및 항산화 활성을 분석하였다. 또한 병풀을 이용한 가공식품을 개발하기 위한 일환으로 항산화 성분과 활성이 가장 우수하였던 cellulase와 pectinase를 병용 처리한 병풀잎 효소분해물을 이용하여 잼을 제조하였으며 이에 대한 이화학적 및 관능적 품질을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용한 병풀은 2021년도 2월에서 5월에 충청북도 충주시 병풀농원에서 구입하여 시료로 사용하였으며 관능검사용의 병풀은 2021년 10월에 구입, 사과는 증평균 하나로마트에서 2021년 10월에 구매하여 사용하였다.

2. 효소처리 병풀 제조

다양한 생리적 기능성을 함유한 병풀을 식용으로서의 활용도를 보다 높이기 위하여 Lee 등(2015)의 방법을 참조하여

병풀에 가수분해효소를 첨가하여 효소처리 병풀을 제조하였다. 즉 마쇄한 병풀 100 g에 효소 20 mL를 첨가한 후 물 500 mL를 가하고 50°C, 80 rpm의 조건에서 2시간 동안 교반하면서 효소처리를 한 다음 90°C에서 15분간 실할 후 냉각시켰다. 이때의 처리균은 무처리균, cellulase 처리균(Viscozyme, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark), pectinase 처리균(Pectinex, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark) 및 cellulase와 pectinase 병용 처리균으로 하였다.

3. 효소처리 병풀의 항산화 성분 및 DPPH 라디칼 소거능 측정

효소처리균에 대한 ascorbic acid, polyphenol 화합물, flavonoid 화합물 등의 항산화 성분의 함량, 환원당 함량 그리고 DPPH 라디칼 소거능을 이용한 항산화 활성을 측정하였다.

우선 각 효소처리균 10 g에 물을 첨가하여 sonicator에서 30분동안 추출을 시킨 후 4,000 rpm에서 20분간 원심분리하고 여과를 3회 반복하여 100 mL로 정용하여 추출물을 제조하였다.

Ascorbic acid의 함량은 Park 등(2008)의 방법에 따라 각 효소처리 추출물 시료 0.2 mL에 10% trichloroacetic acid 0.8 mL를 첨가하여 원심분리기로 3,000 rpm으로 5분 동안 원심분리시킨 후 여과하고 여액 0.5 mL를 추출하여 2% metaphosphoric acid와 10% phenol reagent를 혼합하여 상온에서 10분간 방치하고 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Polyphenol 화합물은 AOAC 법(1995)에 따라 각 효소처리 추출물 1 mL에 phenol reagent 0.5 mL와 10% Na₂CO₃ 1 mL, 7.5 mL의 증류수를 차례대로 혼합하여 30분 경과한 뒤 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질로는 tannic acid (Sigma-Aldrich, St, Louis, MO, USA)를 사용하였다.

Flavonoid 화합물의 함량은 Moreno 등(2000)의 방법에 따라 효소처리 추출물 시료 0.1 mL에 80% ethanol 0.9 mL를 가하여 이 혼합액 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 80% ethanol 4.3 mL를 각각 가하고 상온에서 40분간 방치한 후 415 nm에서 흡광도 값을 측정하였으며 표준물질로는 quercetin(Sigma-Aldrich)을 사용하였다.

효소처리에 의한 환원당 함량의 변화는 Dinitrosalicylic acid(DNS)에 의한 비색법(Chae 등 2000)에 의해 측정하였다.

DPPH 라디칼 소거능은 Blois MS(1958)의 방법에 따라 각각의 효소처리 추출물 시료 2 mL에 0.2 mM DPPH 2 mL 첨가 및 혼합 후 상온에서 30분 반응하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. 효소처리 병풀의 구성아미노산 함량

효소처리한 병풀 추출물의 구성 아미노산 조성 및 함량을 측정하기 위하여 추출물에 6 N HCl 30 mL를 넣고 130°C에서

24시간 가수분해시키고 초순수로 희석시킨 후 0.45 μm 수용성 syringe filter로 여과시킨 후 HPLC(Ultimate3000, Thermo dionex, USA)로 분석하였다. Injector에서는 5 μL 의 borate buffer(Agilent 5061-3339, USA), 1 μL 의 시료, 1 μL 의 OPA reagent(Agilent 5061-3335), 1 μL 의 FMOC solution(Agilent 5061-3337), 32 μL 의 3차 증류수를 단계적으로 혼합한 후 1 μL 를 주입하였다. Detector는 fluorescent detector(1260FLD, Agilent)로 emission 450 nm, excitation 340 nm(OPA)와 emission 305 nm, excitation 266 nm(FMOC)로 하였으며 UV detector-(Thermo dionex, USA)는 338 nm에서 측정하였다. 이때 사용한 column은 Inno C₁₈ column(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm , YoungJin biochrom, Korea)을 사용하였으며 column 온도는 40 $^{\circ}\text{C}$, 시료 온도는 20 $^{\circ}\text{C}$ 로 하였다. 이동상은 pH 7.0의 40 mM Sodium phosphate(이동상 A)와 water:acetonitrile:methanol(10:45:45, v/v/v%, 이동상 B)을 gradient법으로 분석하였으며 용매 gradient 조건은 Table 1과 같다.

5. 효소처리 병풀의 무기질 함량

효소처리한 병풀 추출물의 무기질 함량을 측정하기 위하여 Santos 등(2014)의 방법에 따라 Multiwave(Multiwave 3000, Anton Paar GmbH, Graz, Austria)를 이용하여 유기물질을 분해시키고 이 분해액에 대하여 시료로 사용하였다. 무기질 분석은 inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES, Optima 5300 DV, PerkinElmer, MA, USA)를 사용하여 총 9종의 무기질을 분석하였다.(K, Mg, Ca, Fe, Na, Cu, Mn, Zn, P). 표준시료는 100 ppm의 표준 용액(AnApex Co., Korea)을 사용하였으며 고순도의 argon gas를 사용하였으며 측정 기기조건은 Table 2와 같다.

6. 사과 · 병풀잼 제조

효소처리한 병풀 중 항산화 성분과 활성이 가장 우수하였던 cellulase와 pectinase 병용 처리군을 이용하여 사과와 함께

Table 1. HPLC gradient conditions for the measurement of amino acid in enzyme-treated *Centella asiatica* extract

Time	Flow rate	Mobile phase A	Mobile phase B
0.0	1.5	95	5
3.0	1.5	95	5
24.0	1.5	45	55
25.0	1.5	20	80
31.0	1.5	20	80
34.5	1.5	95	5
35.0	1.5	95	5

Table 2. Operation conditions of ICP-OES for the measurement of amino acid in enzyme-treated *Centella asiatica* extract

Parameter	Value
RF power (W)	1,500
Plasma gas flow (L/min)	15
Auxiliary gas flow (L/min)	0.2
Nebulizer gas flow (L/min)	0.80
Pump flow rate (mL/min)	1.5

잼을 제조하였다. 국내에서 꽃과 줄기는 식품원재료로 등록되어 있지 않고 잎만 식품원재료로 등록되어 있기 때문에 (MFDS 1998) 잼 제조시에는 병풀의 잎만 이용하여 효소처리하였다. 또한 잼 제조시 병풀만을 이용하지 않은 이유는 소비자들의 기호도 등을 고려하여 사과와 함께 제조하였다. 잼의 재료로는 프락토올리고당(Beksul, Seoul, Korea), 펙틴(Cp kelco, Atlanta, GA, USA)과 citric acid 및 해조칼슘(Microferm Ltd., Malvern, UK)을 구입하여 사용하였다. 설탕대신 프락토올리고당을 활용한 이유는 설탕으로 인한 질환들을 최소화하기 위해 사용하였고 칼슘은 펙틴 분자의 carboxyl기 사이에 금속이 가교를 형성하여 gel의 망상구조를 만들어 당을 적게 넣어도 젤리화하기 위하여 첨가하였다.

수 차례의 예비실험 결과를 토대로 주원료인 사과는 세척한 후 과피를 제거하고, 병풀잎은 세척하여 가정용 믹서기로 마쇄한 후 병풀잎 80%에 정제수 20%를 첨가하여 잘 혼합하고 cellulase와 pectinase를 각각 1%의 농도가 되도록 첨가하여 50 $^{\circ}\text{C}$ 에서 80 rpm의 조건에서 2시간 동안 교반하면서 효소처리를 하였다.

사과와 효소처리 병풀을 이용한 잼(사과 · 병풀잼) 제조는 Table 3의 구성에 따라 마쇄한 원료를 나무주걱으로 저으면서 가열하였으며, 설탕대신 첨가해야 할 올리고당 양의 2/3를 넣고, 계속적으로 가열하고 다시 끓기 시작하였을 때 남은 올리고당 1/3에 펙틴과 칼슘을 혼합한 것을 첨가하여 낮은 불에서 가열하면서 citric acid를 첨가한 후 30분간 농축시켰다. 완성된 잼은 살균한 유리병 용기에 담아, 20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 저장한 후 시료로 사용하였다.

7. 사과 · 병풀잼의 추출물 제조

사과와 효소처리한 병풀의 양을 달리하여 제조한 잼의 이화학적 분석은 10배량의 증류수를 가하여 1분 동안 균질화한 후 4,000 rpm에서 20분 동안 원심분리(VS-50, Vision Co., Daejeon, Korea)한 후 정용하였다.

Table 3. Formula for apple-*Centella asiatica* (CA) jam containing calcium and fructo-oligosaccharide

Sample	Ingredients (%)					
	Apple	Enzyme-treated CA	Oligo-saccharide	Acid	Pectin	Calcium
ACJ 1	84.0	4.2	7.1	3.4	0.7	0.7
ACJ 2	84.0	5.0	7.1	3.4	0.7	0.7
ACJ 3	84.0	5.9	7.1	3.4	0.7	0.7
ACJ 4	84.0	6.7	7.1	3.4	0.7	0.7
ACJ 5	84.0	7.6	7.1	3.4	0.7	0.7
ACJ 6	84.0	8.4	7.1	3.4	0.7	0.7

8. 사과·병풍잼의 항산화 성분과 항산화 활성

사과·병풍잼의 ascorbic acid, polyphenol 화합물, flavonoid 화합물 등의 항산화 성분의 함량과 DPPH 라디칼 소거능을 이용한 항산화 활성은 사과·병풍 잼 추출물을 위와 동일한 방법으로 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능의 경우, Re 등 (1999)의 방법에 따라 ABTS 시약(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) 7.4 mM와 Potassium persulfate 2.6 mM를 제조하고 하루 동안 암소에서 방치한 시약을 흡광도값이 1.5 이하가 되도록 희석 후 희석된 ABTS 시약 1 mL에 사과·병풍잼 추출물 0.05 mL 첨가하고 상온에서 90분 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

9. 사과·병풍잼의 고형분함량 및 pH

사과·병풍잼의 고형분함량은 굴절 당도계(PAL-2, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며 pH는 사과·병풍잼 추출물을 pH meter(Orion 520A, Thermo Electron Co., MA, USA)로 측정하였다.

10. 사과·병풍잼의 관능검사

효소처리한 병풍의 함량을 달리하여 제조한 사과·병풍잼의 관능평가를 위하여 관능검사 요원 20명을 선정하여 평가항목들에 대하여 교육을 실시한 후, 시료의 맛, 향, 색, 발림성 및 종합적 기호도에 대하여 대단히 싫다(dislike extremely) 1점, 보통이다(neither like nor dislike)를 4점, 대단히 좋다(like

extremely)를 7점으로 하는 Likert 7점 척도법에 따라 측정하였다(IRB 승인번호: KNUT IRB 2021-37). 관능검사 요원에게 제시한 시료로는 ACJ 2, ACJ 4, ACJ 6과 효소처리대신 마쇄한 병풍로 하여 ACJ 2와 동일한 recipe로 제조한 대조군으로 하여 제시하였다.

11. 통계처리

구성 아미노산 분석을 제외한 모든 연구 결과의 자료는 실험을 3회 이상 반복 측정된 후 SPSS 26.0(IBM Corporation, Armonk, NY, USA)을 이용하여 평균 및 표준편차로 나타내었으며, 실험군 간의 유의성($p < 0.05$)을 ANOVA로 분석한 후, Duncan's multiple range test에 의해 실험군 간의 차이를 분석하였다. 또한, 제조한 사과·병풍잼의 항산화 성분과 항산화 활성들 간의 상관관계를 알아보기 위하여 Pearson의 상관분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 효소처리한 병풍의 항산화 활성과 항산화 활성 물질 함량

다양한 생리적 기능성을 함유한 병풍을 식용으로서의 활용도를 보다 높이기 위하여 효소처리를 하고 추출물의 항산화 성분, 환원당의 함량 및 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 4와 같다.

Ascorbic acid의 함량은 무처리군의 경우, 1.23 mg% 였으나

Table 4. Antioxidants content, reducing sugar content and antioxidant activity of enzyme-treated *Centella asiatica* (CA)

	Ascorbic acid (mg%)	Polyphenol (mg%)	Flavonoid (mg%)	Reducing sugar (mg%)	DPPH radical scavenging activity (%)
Control	1.23±1.93 ^{c1}	29.47±0.84 ^d	6.12±1.14 ^c	0.20±0.02 ^d	40.13±2.88 ^c
Pectinase	9.44±1.04 ^b	96.31±1.34 ^b	20.54±1.48 ^b	1.78±0.01 ^c	53.28±2.11 ^{ab}
Cellulase	12.82±1.89 ^b	76.70±1.01 ^c	35.17±1.43 ^a	1.99±0.02 ^b	57.01±2.36 ^a
Cellulase+pectinase	27.26±2.90 ^a	109.19±1.43 ^a	32.52±4.80 ^a	5.55±0.09 ^a	50.21±1.32 ^b

¹⁾ Values with different superscripts within a column (^{a-d}) were significantly different ($p < 0.05$).

효소처리한 경우에는 9.44~27.26 mg%로 대조군에 비하여 매우 높은 함량을 나타내었으며 특히 cellulase와 pectinase 병용 처리군이 가장 높은 함량을 보였다. Polyphenol 화합물의 함량에서는 대조군이 29.47 mg%였으나 pectinase, cellulase 및 이들 효소 병용처리군은 각각 96.31, 76.70 및 109.19 mg%로 효소처리군이 약 2.6배 이상의 높은 함량을 보였고 그중에서도 효소 병용처리군이 가장 높은 함량을 나타내었다. Flavonoid 화합물의 함량에서도 대조군이 6.12 mg%로 가장 낮은 함량을 보였고 cellulase 처리군과 효소 병용처리군이 각각 35.17, 32.52 mg%로 그 함량이 높아짐을 알 수 있었다. 이들 항산화 활성을 나타내는 화합물들의 함량은 효소처리에 의하여 조직이 연화되면서 추출율이 높아져 증가하는 것으로 판단되었다.

Kim 등(2007)은 인삼 추출물 제조시 물로만 추출하였을 때보다 효소처리시 polyphenol 화합물의 함량이 증가하였다고 하였고 pectinase 처리가 가장 많은 함량을 보인다고 하여 본 결과와 유사한 경향이였다. Park & Kim(2009)은 사과껍질에 cellulase와 pectinase를 처리하였을 때가 단독 처리시보다 폴리페놀 화합물의 함량이 증가한다고 하여 본 결과와 일치하였다.

환원당 함량의 경우에서도 대조군은 0.20 mg%로 매우 적었지만 가수분해 효소 처리에 의해 1.75~5.55 mg%로 섬유소 또는 pectin 물질이 가수분해되면서 환원당의 함량이 높아지

는 것을 확인할 수 있었으며 가수분해 효소 처리시 조직 연화와 더불어 추출 수율 등이 높아질 것으로 사료되었다.

Chun 등(1997)의 연구에 따르면 감주스에 cellulase를 처리하였을 때, 효소 처리를 하지 않은 대조군에 비해 효소처리군의 환원당 함량이 증가한다고 하여 본 결과와 일치하는 경향이였다.

효소처리한 병풀에 대한 DPPH 라디칼 소거능의 경우 대조군은 40.13%였으나 효소처리군은 50.21~57.01%로 항산화 활성 또한 증가함을 확인할 수 있었다. Kim 등(2007)은 효소처리시 물 추출보다 DPPH 라디칼 소거능이 증가한다고 하여 본 결과와 일치하는 경향으로 나타났다.

2. 효소처리한 병풀의 구성 아미노산 및 함량

효소처리한 병풀 추출물의 구성 아미노산 조성 및 함량을 측정한 결과는 Table 5와 같다.

총 16종의 아미노산으로 구성되어 있었으며 대조군의 경우, aspartic acid가 가장 많은 함량을 보였으며 총 아미노산의 함량은 331.09 mg%를 나타내었다. Cellulase와 pectinase를 각각 처리한 병풀 추출물에서도 aspartic acid의 함량이 가장 많았지만 대조군에 비하여 더 높은 함량을 나타내었으며 총 아미노산의 함량도 각각 1,929.88, 1,712.69 mg%로 대조군에 비하여 매우 높은 함량인 것으로 나타났다. 한편 cellulase와 pectinase를 병용처리한 경우에는 모든 아미노산들이 다른 처

Table 5. Amino acid contents of enzyme-treated *Centella asiatica*

(unit: mg%)

	Control	Cellulase	Pectinase	Cellulase+pectinase
Aspartic acid	80.05±1.17	322.53±13.66	343.36±59.42	386.67±48.73
Glutamic acid	59.34±1.42	247.08±7.29	265.69±50.14	311.17±40.77
Serine	13.75±0.14	110.82±1.93	100.87±14.45	124.79±12.80
Histidine	5.44±0.13	38.65±0.86	34.24±3.22	45.07±3.38
Glycine	11.88±0.08	101.85±3.08	76.72±10.82	108.07±10.14
Threonine	14.66±0.27	144.86±7.17	115.29±10.34	148.98±8.56
Arginine	10.36±0.33	84.29±2.90	64.87±11.74	95.22±9.98
Alanine	20.07±0.21	123.80±3.79	93.05±12.92	132.39±13.70
GABA	21.09±0.35	43.90±0.17	40.76±4.74	44.43±3.02
Tyrosine	2.33±0.29	75.20±7.43	37.62±4.98	68.31±4.22
Valine	15.86±0.51	114.55±5.36	105.34±13.38	135.83±13.30
Phenylalanine	13.89±0.06	100.35±2.93	81.79±11.59	113.99±11.35
Isoleucine	8.75±0.46	84.48±2.73	73.37±8.29	97.93±8.94
Leucine	10.40±0.33	130.33±3.42	93.00±13.57	140.35±13.49
Lysine	13.95±0.11	97.28±0.99	70.98±6.02	101.11±3.75
Proline	29.29±0.44	109.91±4.00	115.74±3.26	138.54±7.92
Total	331.09±0.70	1,929.88±45.05	1,712.69±238.88	2,192.84±214.04

리군보다 높은 함량을 보였고 총 아미노산의 함량도 2,192.84 mg%로 가장 많은 함량을 보이는 것으로 확인되었다. 이는 가수분해 효소처리로 인하여 조직이 연화되어 추출 수율이 높았기 때문에 아미노산의 함량 또한 증가하는 것으로 판단되었다.

3. 효소처리한 병풍의 무기질 함량

효소처리한 병풍 추출물의 무기질의 종류와 함량을 측정 한 결과는 Table 6과 같다. 9종의 무기질 분석 중 7종 또는 8종의 무기질이 검출되었고 분석한 무기질 중 P이 다른 무기질에 비하여 가장 많은 함량으로 전체 무기질의 약 50% 내외를 함유하였으며 다음으로는 Na, Ca, K, Mg, Fe, Mn 순이었으며 Cu와 Zn은 검출되지 않았다. 총 무기질 함량으로 보면 cellulase와 pectinase를 병용처리하였을 때가 73.72 mg%로 유의적으로 많은 함량을 보였고 다음으로는 pectinase, cellulase의 순이었으며 가장 무기질의 함량이 적은 실험군은 효소처리를 하지 않은 대조군으로 나타나 효소처리에 의해 무기질의 함량도 증가하는 것으로 판단되었다.

4. 사과·병풍잼의 항산화 성분과 항산화 활성

효소처리한 병풍을 첨가하여 제조한 사과·병풍잼에서의

ascorbic acid, polyphenol 화합물, flavonoid 화합물의 함량과 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 7과 같다.

Ascorbic acid, polyphenol 화합물, flavonoid 화합물의 함량은 사과·병풍잼에서 효소처리한 병풍의 첨가량이 많을수록 높은 함량을 보이는 것으로 나타나 이들 성분들이 많이 존재함을 알 수 있었다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 경우도 항산화 성분들의 함량이 많았던 병풍함량이 높은 잼에서 더 높은 활성을 보이는 것으로 나타나 항산화 성분들과 라디칼 소거능과의 상관관계가 높음을 확인할 수 있었다.

한편, 효소처리 병풍의 양을 달리하여 제조한 사과병풍잼에서의 각 성분들과 항산화 활성에 대한 상관분석(Table 8)에서는 DPPH 라디칼 소거능과 ascorbic acid 함량간의 r 값이 0.7767로 가장 높은 것으로 나타났으며 polyphenol 화합물에서도 0.7388로 높은 상관관계를 보이는 것으로 나타났다.

5. 사과·병풍잼의 가용성고형분 및 pH

효소처리한 병풍의 양을 달리하여 제조한 사과·병풍잼

Table 6. Mineral contents of enzyme-treated *Centella asiatica*

(unit: mg%)

	K	Mg	Ca	Fe	Na	Cu	Mn	Zn	P	Total
Control	1.84±0.01 ^{d1)}	1.60±0.01 ^d	3.07±0.01 ^d	0.04±0.00 ^b	12.45±0.07 ^d	ND ²⁾	-	-	32.60±0.46 ^b	51.59±0.49 ^d
Cellulase	2.05±0.05 ^e	1.67±0.04 ^c	4.06±0.10 ^c	0.03±0.00 ^c	22.64±0.22 ^a	-	-	-	33.01±0.70 ^b	63.46±0.91 ^c
Pectinase	11.74±0.13 ^a	3.28±0.05 ^a	6.90±0.09 ^a	0.03±0.00 ^{bc}	15.19±0.17 ^c	-	0.02±0.00 ^a	-	33.27±0.05 ^b	70.43±0.22 ^b
Cellulase+ pectinase	7.55±0.14 ^b	2.89±0.03 ^b	6.51±0.05 ^b	0.04±0.00 ^a	21.48±0.52 ^b	-	0.01±0.00 ^b	-	35.25±0.88 ^a	73.72±1.29 ^a

¹⁾ Values with different superscripts within a column (^{a-d}) were significantly different ($p<0.05$).

²⁾ ND: Not detected.

Table 7. Antioxidant activities and of antioxidants content in apple-*Centella asiatica* jam with different contents of *Centella asiatica*

	Ascorbic acid (mg%)	Polyphenol (mg%)	Flavonoid (mg%)	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)
ACJ 1 ¹⁾	2.97±0.79 ^{e2)}	61.00±1.57 ^c	38.18±18.11 ^b	80.30±0.50 ^f	46.44±2.02 ^{bc}
ACJ 2	2.58±1.12 ^c	60.78±0.65 ^c	35.76±5.17 ^b	82.13±0.30 ^e	50.06±3.39 ^{ab}
ACJ 3	3.84±1.97 ^{bc}	63.85±1.57 ^c	36.97±3.44 ^b	82.85±0.04 ^d	47.44±1.92 ^{bc}
ACJ 4	7.13±1.57 ^a	62.02±1.41 ^c	56.97±18.86 ^{ab}	84.77±0.33 ^b	45.13±1.53 ^c
ACJ 5	6.38±2.34 ^{ab}	73.87±1.84 ^b	43.64±4.72 ^{ab}	84.16±0.13 ^c	52.69±2.96 ^a
ACJ 6	8.03±0.43 ^a	82.57±2.33 ^a	63.94±12.34 ^a	86.36±0.40 ^a	52.16±0.57 ^a

¹⁾ ACJ 1: Apple jam added with 4.2% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 2: Apple jam added with 5.0% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 3: Apple jam added with 5.9% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 4: Apple jam added with 6.7% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 5: Apple jam added with 7.6% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 6: Apple jam added with 8.4% enzyme-treated *Centella asiatica*.

²⁾ Values with different superscripts within a column (^{a-f}) were significantly different ($p<0.05$).

Table 8. Correlation coefficients among antioxidant compounds and antioxidant activity in apple-Centella asiatica jam with different contents of Centella asiatica

	Polyphenol	Flavonoid	Ascorbic acid	DPPH radical scavenging	ABTS radical scavenging
Polyphenol	1.0000				
Flavonoid	0.5067	1.0000			
Ascorbic acid	0.5994	0.6747	1.0000		
DPPH radical scavenging	0.7388	0.5740	0.7767	1.0000	
ABTS radical scavenging	0.6469	0.1902	0.3466	0.3147	1.0000

의 당도와 pH를 측정된 결과는 Table 9와 같다. 가용성고형분은 효소처리 병풀의 함량이 증가할수록 높게 나타났다. 이와 같은 이유는 Table 4에서 볼 수 있듯이 효소처리로 인하여 환원당의 함량이 증가하였기 때문에 가용성고형분이 높게 나타났으며 이 결과로 보아 효소처리한 시료를 사용할 때에는 잼 제조시 당의 함량을 줄여서 제조하여도 될 수 있을 것으로 판단되었다.

Lee 등(2015)은 고추에 효소처리를 하고 가용성 고형분 함량을 측정된 결과, 무처리군에 비하여 높은 함량을, 그리고 효소 단독처리보다는 병용처리 시 가용성 고형분의 함량이 높다고 하여 본 연구결과와 유사한 경향이였다.

pH의 경우, 6.51~6.83 정도였으며 효소처리한 병풀의 함량에는 크게 관계가 없는 것으로 나타났다. Lee 등(2015)은 사과·케일잼 제조시 사과-케일의 양과는 상관없이 전반적으로 유의적인 차이를 보이지는 않는다고 하여 본 결과와 유사한 경향이였다.

Table 9. °Brix and pH in apple-Centella asiatica jam with different contents of Centella asiatica

	°Brix	pH
ACJ 1 ¹⁾	65.07±0.47 ^{d2)}	6.57±0.23 ^b
ACJ 2	62.07±0.35 ^c	6.83±0.06 ^a
ACJ 3	66.23±0.95 ^c	6.81±0.04 ^a
ACJ 4	64.30±1.01 ^d	6.66±0.02 ^{ab}
ACJ 5	69.40±0.30 ^b	6.57±0.03 ^b
ACJ 6	70.57±0.45 ^a	6.51±0.02 ^b

¹⁾ ACJ 1: Apple jam added with 4.2% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 2: Apple jam added with 5.0% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 3: Apple jam added with 5.9% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 4: Apple jam added with 6.7% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 5: Apple jam added with 7.6% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 6: Apple jam added with 8.4% enzyme-treated *Centella asiatica*.

²⁾ Values with different superscripts within a column (^{a-c}) were significantly different ($p < 0.05$).

6. 사과·병풀잼의 관능검사

효소처리한 병풀의 양을 달리하여 제조한 사과·병풀잼의 관능검사를 측정된 결과는 Table 10과 같다.

맛의 경우, 효소처리 병풀을 5.0~6.7% 범위로 첨가하였을 때가 가장 높은 기호도를 보였고 효소처리를 하지 않고 마쇄한 병풀을 첨가하여 제조한 대조군이 가장 낮은 기호도를 나타내었으며 효소처리 병풀의 양이 증가할수록 맛에 대한 평가는 감소하는 경향이였다. 이와 같은 경향은 병풀을 마쇄하였기 때문에 조직들이 분해가 되되어 입에서 거친 식감을 나타내기 때문인 것으로 사료되었다. 향과 발림성의 경우, 모든 처리군이 유의적인 차이를 보이지는 않는 것으로 나타났다. 한편, 색에 대한 평가에서는 맛과는 달리 대조군에서가 가장 높은 기호도를 보였고 효소처리 병풀의 첨가량이 많아 질수록 더욱 낮아지는 경향을 보였다. 이는 병풀을 효소처리 시에 열처리과정이 있어 색상의 차이를 보이기 때문인 것으로 판단되었다. 종합적 기호도에서는 효소처리 병풀을 5.0% 첨가하였을 때가 가장 높은 기호도를 보였고 대조군이 가장 낮은 기호도를 보이는 것으로 나타났다. 이는 맛이 가장 영향을 많이 끼친 것으로 판단되었다. Lee 등(2015)은 과일채소잼 제조시 케일의 농도를 높이면 기호도가 감소한다고 하여 본 결과와 유사한 경향이였다.

이상의 결과로 보아 다양한 생리적 기능성을 보다 증진시키기 위하여 가수분해 효소처리가 효과적임을 확인할 수 있었고 효소처리는 단독보다는 병용처리가 효과적인 것으로 사료되었다. 또한 cellulase와 pectinase 병용 처리한 병풀일 효소분해물을 이용하여 잼을 제조할 때 약 5% 내외의 효소처리물을 이용하는 것이 바람직할 것으로 사료되었다.

요약 및 결론

병풀의 활용도를 높이기 위하여 cellulase와 pectinase 등의 효소를 처리하고 이들의 이화학적 성질을 분석하고 병풀을 이용한 가공식품을 개발하기 위한 일환으로 항산화 성분과 활성이 가장 우수하였던 cellulase와 pectinase 병용 처리한 병

Table 10. Sensory properties of apple-*Centella asiatica* jam with different contents of *Centella asiatica*

	Taste	Flavor	Color	Spreadability	Overall acceptance
Control ¹⁾	3.75±1.52 ^{b2)}	3.60±1.64	4.65±1.79 ^a	3.95±1.50	3.90±1.45 ^b
ACJ 2	5.20±1.77 ^a	4.50±1.67	4.00±1.03 ^{ab}	4.75±0.97	5.05±1.28 ^a
ACJ 4	5.05±1.67 ^a	4.45±1.36	3.90±1.45 ^{ab}	4.40±1.39	4.45±1.79 ^{ab}
ACJ 6	4.50±1.36 ^{ab}	4.10±1.62	3.40±1.27 ^b	4.60±1.27	4.50±1.40 ^{ab}

¹⁾ Control: Apple jam added with 5.0% crushed *Centella asiatica*, ACJ 2: Apple jam added with 5.0% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 4: Apple jam added with 6.7% enzyme-treated *Centella asiatica*, ACJ 6: Apple jam added with 8.4% enzyme-treated *Centella asiatica*.

²⁾ Values with different superscripts within a column (^{a,b}) were significantly different ($p < 0.05$).

폴잎 효소분해물을 이용하여 잼을 제조하고 이화학적 및 관능적 품질을 측정하였다. Ascorbic acid, polyphenol 화합물, flavonoid 화합물, 환원당 및 아미노산의 함량 모두 효소처리 군에서 높은 함량을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능에서도 효소처리군이 높은 활성을 보였다. 효소처리한 병풍을 첨가하여 제조한 사과·병풍잼에서의 항산화 성분과 항산화 활성은 효소처리한 병풍의 첨가량이 많을수록 높은 함량과 활성을 보였다. 가용성고형분에서는 효소처리 병풍의 첨가량이 많을수록 높은 값을 나타내었지만 pH에서는 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 사과·병풍잼의 관능검사 결과, 맛에서는 효소처리 병풍을 5.0~6.7% 범위로 첨가하였을 때가 가장 높은 기호도를 보였고 대조군이 가장 낮은 기호도를 보였다. 향과 발림성의 경우, 모든 처리군이 유의적인 차이를 보이지 않았으나 색에서는 대조군이 가장 기호도가 높은 것으로 나타났고 종합적 기호도에서는 효소처리 병풍을 5.0% 첨가하였을 때가 가장 높은 기호도를 보여 다양한 생리적 기능성을 보다 증진시키기 위하여 가수분해 효소처리가 효과적인임을 확인할 수 있었고 효소처리하는 단독보다는 병용처리가 효과적인 것으로 사료되었다. 또한 cellulase와 pectinase 병용 처리한 병풍잎 효소분해물을 이용하여 잼을 제조할 때 약 5% 내외의 효소처리물을 이용하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2021년 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ015285042021)의 지원과 2021년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업입니다 (No. 2021R1A6A1A03046418).

References

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists

- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Bonte F, Dumas M, Chaudagne C, Meybeck A. 1994. Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis. *Planta Med* 60:133-135
- Booncong P. 1989. A pharmacognostic and taxonomic study of *Centella asiatica* (Apiaceae). Ph.D. Thesis, Miami Univ. OH. USA
- Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D, Hahn EG. 2000. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine* 7:427-448
- Chae SK, Kang KS, Ma SJ, Bang GW, Oh MH, Oh SH. 2000. Standard Food Analysis. pp. 299-301, 403-404. Gigumunhwasa
- Chassaud LF, Fry BJ, Hawkins DR, Lewis JD, Sword IP, Taylor T, Hathway DE. 1971. The metabolism of asiatic acid, madecassic acid and asiaticoside in the rat. *Arzneimittelforschung* 21:1379-1384
- Choudhari SM, Ananthanarayan L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chem* 102:77-81
- Chun YK, Choi HS, Cha BS, Oh HI, Kim WJ. 1997. Effect on enzymatic hydrolysis on the physicochemical properties of persimmon juice. *Korean J Food Sci Technol* 29:198-203
- Çinar İ. 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. *Process Biochem* 40:945-949
- Ha JH, Kwon MC, Kim Y, Jeong SS, Jeong MH, Hwang B, Lee HY. 2009. Enhancement of immuno-modulatory of *Centella asiatica* L. urban with edible polymer through nano-encapsulation process. *Korean J Med Crop Sci* 17:257-265
- Kim YC, Cho CW, Rhee YK, Yoo KM, Rho J. 2007. Antioxidant activity of ginseng extracts prepared by enzyme and heat treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1482-1485

- Lee JY, Choi GH, Lee KH. 2015. Physicochemical and sensory properties of red pepper extract treated with enzyme complex. *Korean J Food Nutr* 28:628-634
- Lee KH, Kim HY, Jang SJ. 2015. Quality characteristics of sugar free fruit-vegetable jam containing calcium. *Korean J Food Nutr* 28:829-834
- Meyer AS, Jepsen SM, Sørensen NS. 1998. Enzymatic release of antioxidants for human low-density lipoprotein from grape pomace. *J Agric Food Chem* 46:2439-2446
- Meyer AS, Köser C, Adler-Nissen J. 2001. Efficiency of enzymatic and other alternative clarification and fining treatments on turbidity and haze in cherry juice. *J Agric Food Chem* 49:3644-3650
- Ministry of Food and Drug Safety [MFDS]. 1998. List of food ingredients. Available from <http://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/safefoodlife/foodMaterial/foodMaterialDB.do> [cited 11 November 2021]
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71:109-114
- Orhan IE. 2012. *Centella asiatica* (L.) urban: From traditional medicine to modern medicine with neuroprotective potential. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012:946259
- Park MK, Kim CH. 2009. Extraction of polyphenols from apple peel using cellulase and pectinase and estimation of antioxidant activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:535-540
- Park YK, Kim SH, Choi SH, Han JG, Chung HG. 2008. Changes of antioxidant capacity, total phenolics, and vitamin C contents during *Rubus coreanus* fruit ripening. *Food Sci Biotechnol* 17:251-256
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- Santos D, Carvalho L, Lima DC, Leao DJ, Teixeira L, Korn MG. 2014. Determination of micronutrient minerals in coconut milk by ICP OES after ultrasound-assisted extraction procedure. *J Food Composition and Analysis* 34:75-80
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A. 1995. The effect of cellulase and hemicellulase plus pectinase on the aerobic stability and fibre analysis of peas and wheat silages. *Anim Feed Sci Technol* 55:287-293
- Wilkins MR, Widmer WW, Grohmann K, Cameron RG. 2007. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. *Bioresour Technol* 98:1596-1601
- Zaidan MRS, Noor Rain A, Badrul AR, Adlin A, Norazah A, Zakiah I. 2005. *In vitro* screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method. *Trop Biomed* 22:165-170

Received 12 November, 2021

Revised 22 November, 2021

Accepted 29 November, 2021