

복분자의 유산발효와 생리활성 평가

박영서* · 장학길

경원대학교 생명공학부

(2003년 6월 2일 접수, 2003년 8월 18일 수리)

복분자 과육의 농축액을 유산균을 이용하여 발효시킨 후 발효액의 생리활성을 평가하였다. 발효에는 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 32820, *L. casei* KCCM 12452, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KCCM 40104, *Streptococcus thermophilus* KCCM 40430을 단독 또는 혼합하여 사용하였으며 접종량은 대수증식기 말기의 배양액을 2%(v/v)가 되도록 첨가하였다. 단독발효의 경우 *L. casei*의 발효능이 가장 우수하였으며 혼합 starter를 사용하였을 경우에는 *L. casei*와 *L. lactis*를 1:1로 혼합하였을 때 가장 우수한 발효능을 나타내었으나 관능검사에 있어서 *L. acidophilus*와 *S. thermophilus*를 이용하였을 때 종합적 기호도가 가장 높았다. 발효는 올리고당을 1%(w/v) 첨가하고 pH를 4.0, 발효온도를 35~37°C로 하였을 때 72~96시간에서 가장 잘 이루어졌다. 발효액에는 glucose와 fructose가 주요 유리당으로 존재하였고 lactic acid 함량은 698.2 mg/100 g으로 발효전보다 9배 이상 증가하였다. 발효액의 생리활성을 측정된 결과 69%의 전자공여효과를 나타내었으며 아질산염 소거기능은 pH 1.2에서 38.3%, SOD 유사활성과 xanthine oxidase 저해활성은 각각 60.3%와 41.8%의 활성을 나타내었다. 발효액은 *Escherichia coli* O-157:H7에 대해서는 17.3%의 생육저해율을 나타내 사용한 검정균 중에서 가장 높은 항균력을 보였으며 *Salmonella typhimurium*과 *Bacillus cereus*에 대해서는 각각 8.9%, 9.7%의 생육저해효과를 나타내었고 *Staphylococcus aureus*에 대해서는 7.2%의 생육저해효과를 나타내었다.

Key words: 복분자, 유산발효, 생리활성

서 론

복분자(*Rubus coreanus* Miq.)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽 활엽성 관목으로 중국이 원산지이며 분포는 우리나라 제주도 및 남부지방, 중부지방과 일본, 미국, 유럽 등의 해발 50~1,000 m 지역의 산기슭 양지에서 자생한다. 복분자는 5~6월에 연한 홍색의 꽃이 피고, 7~8월에 열매가 성숙되며, 핵과는 둥글고 붉은색으로 익지만 나중에는 흑색으로 완숙된다. 한방에서는 복분자의 덩이 식은 열매, 즉 미성숙 과실을 사용하는데 약리 효과로는 피로로 인한 간 손상을 보호하여 눈을 밝게 할 뿐만 아니라 이뇨제의 효능이 있고, 양기, 신기 부족으로 인한 유정, 정액부족, 발기부전 및 성기능을 높이고 속을 덥게 하며, 기운을 세게 하고, 발모를 촉진함과 동시에 머리가 희게 세는 것을 방지한다고 알려져 있다.¹⁾ 원산지로 알려진 중국에서는 일반적으로 *Rubus* 속 식물의 약 20여종의 미성숙 과실을 증기로 찌서 햇볕에 말린 것을 복분자라고 정의하여 강장제 등과 같은 약용으로 쓰이고 있으며, 우리나라는 *Rubus coreanus* Miq.를 약용과 술에 사용하고 있다. 유럽과 미국 등에서도 *Rubus* 속 식물의 열매를 나무딸기류(raspberry)로 통칭하며 이 속에 속하는 식물은 400여종 이상이나 된다.

복분자의 생리활성 성분에 대한 연구로는 우리나라의 경우 복분자 열매, 줄기, 잎의 phenol성 화합물 및 terpenoids 화합물에 대한 몇 편의 연구가 이루어져 있을 뿐인데 열매의 80%

acetone 추출물에서는 가수분해성 tannin인 sanguin H-4와 H-6, gallic acid 등이 확인, 동정되었고,²⁾ 줄기에서는 축합형 tannin으로서 epicatechin, catechin과 procyanidin H-4가 분리된 바 있으며³⁾ 잎의 phenol성 화합물에 관한 연구에서는 4종의 가수분해성 tannin과 4종의 flavonoids를 분리 동정한 바 있다.⁴⁾ 그 밖에 terpenoids 성분으로는 coreanoside F1, suavissimoside, nigaichigoside F1과 F2 등이 보고되어 있다.^{4,5)} 복분자의 약리적인 연구로는 콜레라균(*Vibrio cholerae*), 결핵균(*Tubercle bacillus*), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)의 성장을 억제하는 작용이 있다는 것이 보고되었고⁶⁾ estrogen 유사작용, superoxide dismutase 유사작용 및 xanthine oxidase 억제작용이 있음이 보고된 바 있다.^{6,7)} 이와 같이 다양한 약리작용을 지니고 있는 복분자를 이용한 가공제품 개발에 관한 기술적 연구는 술을 제외하면 국내에서 거의 이루어지지 않고 있으며 제품화된 것은 최종 제품에 복분자 또는 그 추출물을 첨가하는 방법을 사용한 것으로, 복분자 자체를 이용하여 기능성 식품을 제조한 예는 아직 없다.

유산균은 유산발효를 하여 식품의 부패를 방지하고 bacteriocin과 같은 항균물질을 분비하여 식중독균을 억제하며 사람의 장내 pH를 낮추어 장내 부패세균의 증식을 억제하는 등의 효과를 가지는 미생물로 알려져 있다. 그러나 종래의 유산균 제품들은 우유를 주재료로 하여 발효시킨 제품으로 우유에 존재하는 유당을 잘 소화시키지 못하는 우리나라 사람들에게는 완전히 분해되지 않은 유당 때문에 이상적인 식품이라고 볼 수 없다. 이에 본 연구에서는 다양한 생리활성을 지니는 복분자 과육의 농축액에 유산균을 접종하여 발효시키는 과정에서의 최적발효조건을 확립하고 유산발효물의 생리활성을 확인하고자 하였다.

*연락처

Phone: 82-31-750-5378; Fax: 82-31-750-5273

E-mail: ypark@kyungwon.ac.kr

재료 및 방법

재료. 본 연구에 사용된 복분자 농축액은 (주)바산에서 구입하여 사용하였으며 발효에 사용된 유산균은 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 32820, *L. casei* KCCM 12452, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KCCM 40104, *Streptococcus thermophilus* KCCM 40430으로 한국종균협회 부설 한국미생물보존센터에서 분양 받아 사용하였다.

복분자 농축액의 살균. 유산발효를 위한 starter를 접종하기 전에 복분자 농축액에 존재하는 오염균을 제거하기 위하여 복분자 농축액에 동량의 증류수를 첨가하여 희석한 다음 고온단시간 살균법(high temperature short time, HTST)에 의하여 75°C에서 30초간 가열살균을 실시하였다.

Starter의 배양과 접종. 복분자 농축액의 유산발효에 starter로 사용된 유산균은 MRS 배지(Difco Co., MI, USA)에서 2회 이상 계대배양한 후 다시 1회 더 계대배양하여 550 nm에서의 흡광도가 정확히 1.0이 될 때까지 증식시킨 다음 복분자 농축액에 단독배양할 경우에는 접종량이 2.0%(v/v)가 되도록, 혼합배양할 경우에는 각 배양액을 일정비율이 되도록 하여 전체 접종량이 2.0%(v/v)가 되도록 하였다.

미생물수 측정. 총균수는 Plate count agar(PCA) 배지(Difco Co., MI, USA), 효모는 Yeast extract malt extract agar(YM agar) 배지(Difco Co., MI, USA), 곰팡이는 Potato dextrose agar(PDA) 배지(Difco Co., MI, USA)를 사용하였으며 10⁰~10⁹까지 희석한 시료를 PCA 배지와 YM agar 배지에는 1 ml를 분주하여 표준한천배양법⁸⁾으로 실시하였고, PDA 배지에는 0.1 ml씩 분주한 후 평판도말하였다. PCA 배지는 37°C에서 하룻밤, YM agar 배지는 25°C에서 1~2일, PDA 배지는 25°C에서 3~4일 배양한 후 계수하였다. 유산균은 0.133%의 초산을 가하여 최종 pH를 5.5로 조정된 Rogosa SL agar(Difco Co., MI, USA) 배지를 사용하여 37°C에서 24~72시간 배양한 후 계수하였다.

pH 측정. 복분자 농축액 시료의 pH는 pH meter(740p, Itek Inc., Korea)를 사용하여 측정하였다.

산도 측정. 산도는 복분자 농축액 시료 10 ml에 증류수 20 ml를 가하여 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 이때 소비된 0.1 N NaOH의 양으로부터 % lactic acid로 나타내었다.

$$\text{산도}(\%) = \frac{0.1 \text{ N NaOH 소비량} \times \text{NaOH 역가}}{\text{시료의 부피}} \times \text{acid factor}$$

여기서 acid factor: 0.0090 (lactic acid)

유기산 함량 측정. 복분자 시료에 존재하는 유기산 함량은 AOAC법⁹⁾에 의하여 분석하였다.

유리당 함량 측정. 복분자 시료에 존재하는 유리당 함량을 측정하기 위하여 시료를 MWCO가 10,000인 filter로 여과한 후 Bio-LC-DX-300(Dionex, Sunnyvale, CA, USA)로 분석하였다. 유리당의 분석 조건은 Table 1과 같다.

관능검사. 관능검사는 훈련된 패널을 선정하여 9점 채점법

Table 1. Operating condition of Bio-LC for the analysis of free sugars in raspberry puree

Instrument: Bio-LC-DX-300 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA)
Column: CarboPac MA1 cartridge (4.5×250 mm)
Mobile phase: 0.48 M NaOH
Flow rate: 0.3 ml/min
Detector: PED2 with integrated amperometry
Sample load: 10 µl/injection

으로 실시하였다.¹⁰⁾ 이 때 채점기준은 아주 강하다(아주 좋다): 9점, 보통으로 강하다(좋다): 7점, 적당하다(좋지도 나쁘지도 않다): 5점, 보통으로 약하다(나쁘다): 3점, 아주 약하다(매우 나쁘다): 1점이었다. 관능검사 결과는 Excel software(Microsoft Corp., Redmond, USA)를 사용한 표시방법과 SAS로 Duncan의 중범위검정을 실시하여 유의차를 분석하였다.¹¹⁾

전자공여작용. 복분자의 전자공여작용(electron donating ability)은 Blois의 방법¹²⁾을 변형하여 측정하였다. 복분자 시료 0.5 ml에 4×10⁻⁴ M DPPH(α, α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl) 용액(99.9% ethanol로 조제) 0.8 ml를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕한 다음 10분 후에 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 전자공여능은 시료 첨가구와 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 이용하여 다음 식에 의해 구하였다.

$$\text{전자공여능}(\%) = \frac{\text{시료의 흡광도}}{(1 - \text{대조구의 흡광도})} \times 100$$

아질산염 소거작용. 아질산염 소거작용은 Gray 등의 방법¹³⁾을 사용하여 측정하였다. 1 mM NaNO₂ 용액 2 ml에 소정 농도의 복분자 시료를 1 ml 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2 조정에 사용) 완충용액과 0.2 M citric acid(pH 3.0, 4.2, 6.0 조정에 사용)를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정한 다음, 반응용액의 부피를 10 ml로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응용액을 각각 1 ml씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 ml를 첨가한 다음 Griess 시약(30% acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% α-naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것으로 사용 직전에 조제) 0.4 ml를 가하여 잘 혼합시킨 다음, 실온에서 15분간 방치시킨 후, 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 아질산염 소거율은 다음 식을 이용하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{아질산염 소거율}(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

여기서

A: 1 mM NaNO₂ 용액과 1시간 반응한 시료의 흡광도

B: 1 mM NaNO₂ 용액과 1시간 반응한 증류수의 흡광도

C: 시료 자체의 흡광도

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성. 복분자 시료의

SOD 유사활성은 Marklund의 방법¹⁴⁾에 따라 측정하였다. 즉, 1 회용 cuvette에 복분자 시료를 0.9 ml를 취하고 여기에 10 mM HCl을 용매로 하여 제조한 20 mM pyrogallol 용액을 0.1 ml 가하여 1 ml pipette으로 3회 혼합한 후 실온을 유지하면서 420 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하였다. SOD 유사활성은 증류수를 사용하여 동일한 방법으로 측정한 흡광도 변화를 대조구로 하여 pyrogallol의 자동산화 억제 정도를 아래의 식에 따라 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성 (\%)} = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100$$

여기서

- A: 대조구의 pyrogallol의 자동산화 속도
- B: 시료구의 pyrogallol의 자동산화 속도

Xanthine oxidase 저해작용. Xanthine oxidase 저해작용을 측정하기 위하여 소정농도의 시료 1 ml에 40 mU의 xanthine oxidase 0.1 ml 및 1/15 M phosphate buffer (pH 7.5) 2.9 ml를 가한 후, 25°C에서 15분간 예비반응시켰다. 여기에 기질로써 0.15 mM xanthine 2 ml를 가하고 다시 25°C에서 30분간 반응시킨 후, 1 N HCl 1 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 이들 반응 용액을 290 nm에서 흡광도를 측정하여 uric acid의 생성량을 백분율로 계산하여 xanthine oxidase 저해율을 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해율 (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

항균활성. 복분자 시료의 항균활성을 측정하기 위해서 *Escherichia coli* O-157:H7, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus*를 검정균주로 사용하였다. 항균성 검정은 검정균 1 백균이를 5 ml의 액체배지에 접종하여 1~2일간 배양한 후 신선한 배지 5 ml를 함유한 시험관에 복분자 시료와 상기 검정균의 배양액 0.1 ml를 각각 넣고 37°C에서 24시간 배양한 후 표준평판배양법에 의하여 생균수를 측정하였다. 복분자 시료를 첨가하지 않은 검정균의 배양액을 대조액으로 하여 아래 식에 의하여 항균효과를 확인하였다.

$$\text{항균력 (\%)} = \left(1 - \frac{\log \text{시험액의 생균수}}{\log \text{대조액의 생균수}}\right) \times 100$$

결과 및 고찰

유산균의 생육특성. 유산균은 유산발효를 하여 식품의 부패를 방지하고 bacteriocin과 같은 항균물질을 분비하여 식중독균을 억제하고 사람의 장내 pH를 낮추어 장내 부패세균의 증식을 억제하는 등 인체에 기능성을 부여하는 미생물이다. 본 연구에서는 복분자 농축액을 유산발효시키기 위하여 여러 유산균들 중에서 발효능이 우수하다고 알려진 4종류의 유산균, 즉 간균으로서 *L. acidophilus*와 *L. casei*를, 구균으로서 *L. lactis*, *S. thermophilus*를 선정하여 각각의 균주를 MRS 배지에 접종하여

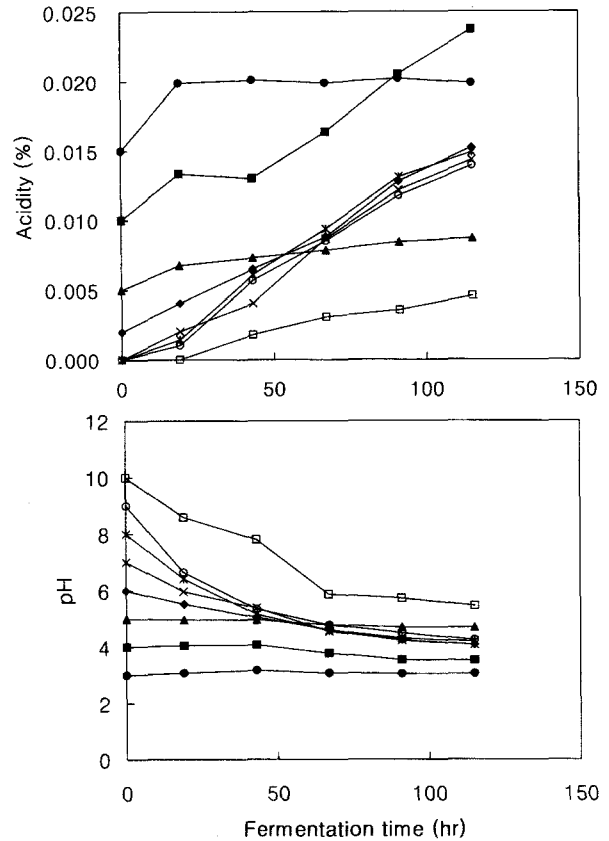


Fig. 1. Effect of pH on lactic acid fermentation by *L. casei* in raspberry puree at 37°C. ●: pH 3, ■: pH 4, ▲: pH 5, ◆: pH 6, ×: pH 7, ×: pH 8, ○: pH 9, □: pH 10.

배양하면서 균의 생육을 경시적으로 검토하였다. 그 결과, 사용한 유산균들 중에서 *L. acidophilus*, *L. casei*와 *S. thermophilus*는 접종 후 3 시간부터, *L. lactis*는 접종 후 5 시간부터 대수증식기가 시작되어 10~12시간 후에 종료되었다(자료 미제시). 대수증식기가 종료되는 시점에서의 550 nm에서의 흡광도는 약 1.0이며 이 때의 생균수는 4 균주 모두 1.5×10^9 CFU/ml로 측정되었다. 배양 24시간 후에는 *L. casei*가 가장 높은 흡광도를 나타내었으나 다른 균주들과 비교하여 큰 차이를 나타내지는 않았다. 이 결과로부터 복분자 농축액을 발효시키기 위하여 첨가하는 starter는 대수증식기가 종료되는 시점 즉, 흡광도가 1.0인 배양액을 사용하여 복분자 농축액에 2%(v/v)가 되도록 첨가함으로써 복분자 농축액에 3×10^7 CFU/ml의 유산균수가 되도록 접종량을 결정하였다.

유산발효에 미치는 pH의 영향. 복분자 농축액은 pH가 3.5 이하로 낮은 편이기 때문에 유산균의 증식과 발효가 잘 이루어지지 않으리라 판단되어 복분자 농축액의 pH에 따른 유산발효능을 조사하였다. 복분자 농축액의 pH를 달리한 후 *L. casei*를 이용하여 유산발효능을 측정한 결과 Fig. 1에서와 같이 발효 120시간 후 pH 4에서 가장 좋은 산생성을 나타내었다. pH 3에서 발효시켰을 경우에는 발효 20시간까지는 발효가 진행되었으나 그 이후 더 이상 발효가 진행되지 않았으며 pH 6~9에서는 pH 4에서와 유사한 발효속도를 나타내었으나 초기 산도가 낮기 때문에 pH 4와 비교하여 낮은 산도를 나타내었다.

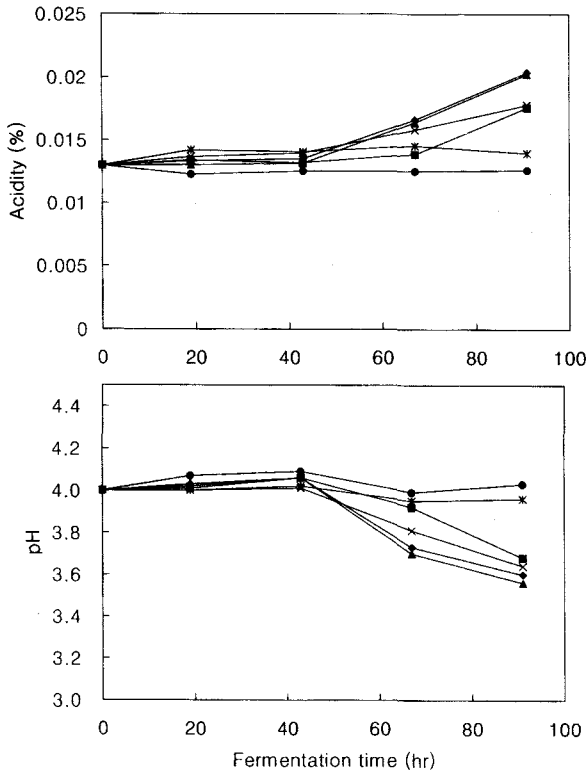


Fig. 2. Effect of temperature on lactic acid fermentation by *L. casei* in raspberry puree. ●: 25°C, ■: 30°C, ▲: 35°C, ◆: 37°C, ×: 40°C, ×: 45°C.

유산발효에 미치는 발효온도의 영향. pH를 4.0으로 조정된 복분자 농축액을 *L. casei*를 이용하여 발효온도를 달리하여 유산발효능을 측정된 결과 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 35°C와 37°C에서 발효하였을 때 산 생성이 가장 높았고 그 다음으로 30°C와 40°C에서 발효하였을 때 좋은 발효능을 보여주었다. 25°C와 45°C에서는 발효가 거의 진행되지 않음을 알 수 있었다. 37°C에서 발효하였을 경우 발효는 초기 40시간까지는 발효가 거의 이루어지지 않다가 그 이후부터 발효가 진행되어 96시간까지 발효가 직선적으로 이루어졌다. 96시간 이후에도 발효는 지속적으로 진행되었으나 불쾌취가 발생하고 거품이 발생하는 등 관능적으로 품질이 저하되어 발견되어 유산발효는 72시간에서 96시간 사이에서 종료하는 것이 바람직하다고 판단되었다.

혼합배양에 의한 유산발효. 일반적으로 유산균을 이용하여 유산발효식품을 제조할 경우에는 유산균을 단독으로 사용하기

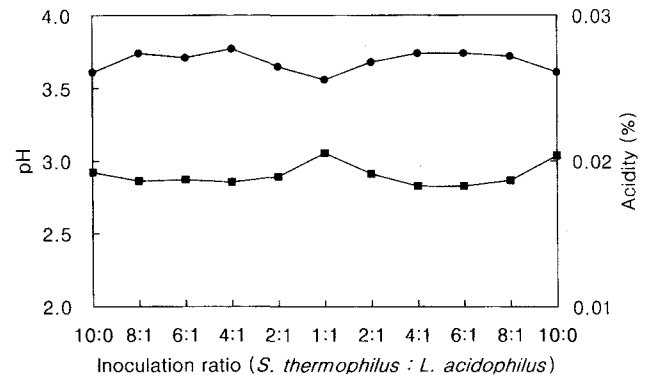


Fig. 3. Effect of inoculation ratio of *S. thermophilus* and *L. acidophilus* on lactic acid fermentation in raspberry puree at 37°C. ●: pH, ■: acidity.

보다는 간균과 구균을 혼합한 starter를 사용함으로써 유산균간의 상호작용을 통해 발효식품의 산생성과 풍미를 향상시킨다. 복분자 농축액의 유산발효시 starter로 사용되는 유산균을 단독으로 사용하는 것보다 2종류 이상의 균주를 혼합배양함으로써 발효능과 기호성을 높일 수 있을 것으로 기대하여 본 연구에 사용한 4종류의 유산균 중 가능한 모든 조합으로 2가지 균주를 혼합하여 스타터로 사용한 후 발효능을 조사하였다. 그 결과 *L. casei*와 *L. lactis*를 혼합한 스타터가 가장 우수한 발효능을 나타내었으며 *L. casei*와 *S. thermophilus*를 혼합한 스타터가 그 다음으로 우수한 발효능을 나타내었다(자료 미제시). 한편 혼합스타터로 발효시킨 복분자 농축액의 색상, 향기, 단맛, 신맛, 종합적 기호도에 관한 관능검사를 실시한 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 색상과 단맛은 *L. acidophilus*와 *L. lactis*를 이용하여 발효한 것이 가장 좋았으며 향기는 *L. lactis*와 *S. thermophilus*를 이용하여 발효한 제품의 점수가 높았다. 신맛의 경우에는 *L. acidophilus*와 *S. thermophilus*를 이용하여 발효한 제품의 점수가 가장 높았으며 종합적 기호도는 신맛이 가장 높았던 *L. acidophilus*와 *S. thermophilus*를 이용하여 발효한 제품이 가장 높아 본 유산발효제품은 신맛이 종합적 기호도에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

관능검사 결과 종합적 기호도가 가장 높았던 *L. acidophilus*와 *S. thermophilus*를 혼합배양의 starter로 선정하여 균주의 혼합비율에 따른 발효능을 조사하였다. 그 결과 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 *L. acidophilus*와 *S. thermophilus*의 접종비율을 1:1로 하였을 때 산 생성량이 가장 높았으며 한 균주의 접종비율을 늘릴 경우에는 산 생성량이 감소함을 알 수 있었다.

Table 2. Sensory evaluation of raspberry puree fermented with mixed cultures of lactic acid bacteria

	Non-fermented	AT	LT	CT	AL	AC	CL
Color	6.3±1.65 ^{b*}	7.0±1.52 ^c	7.3±1.40 ^a	6.7±1.27 ^{ab}	7.5±1.22 ^a	6.9±1.56 ^{ab}	6.9±1.44 ^{ab}
Flavor	6.7±1.65 ^a	7.0±1.81 ^a	7.3±1.62 ^a	6.7±1.31 ^a	7.1±1.65 ^a	6.8±1.31 ^a	7.0±1.08 ^a
Sweetness	7.1±1.68 ^a	7.6±1.56 ^a	7.6±1.44 ^a	6.9±1.00 ^a	7.9±1.24 ^a	7.2±1.59 ^a	7.0±1.04 ^a
Sour	6.2±1.83 ^c	8.1±1.51 ^a	7.5±1.62 ^{ab}	7.4±1.38 ^{ab}	7.5±1.44 ^{ab}	7.0±1.49 ^b	7.2±1.14 ^{ab}
Overall	6.6±1.82 ^b	7.7±1.61 ^a	7.5±1.38 ^{ab}	7.3±1.26 ^{ab}	7.4±1.35 ^{ab}	7.1±1.41 ^{ab}	7.1±0.97 ^{ab}

*Mean scores in a low with the same superscript are not significantly different at 5% level using Duncan's multiple range test.

AT: *L. acidophilus* and *S. thermophilus*, LT: *L. lactis* and *S. thermophilus*, CT: *L. casei* and *S. thermophilus*, AL: *L. acidophilus* and *L. lactis*, AC: *L. acidophilus* and *L. casei*, CL: *L. casei* and *L. lactis*.

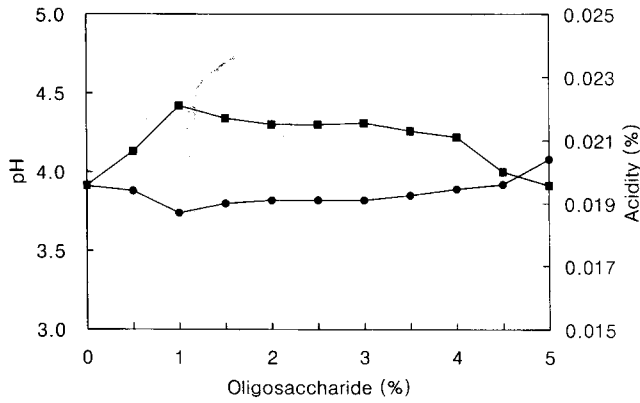


Fig. 4. Effect of the addition of oligosaccharide on lactic acid fermentation by *S. thermophilus* and *L. acidophilus*. ●: pH, ■: acidity.

한편 상기 유산균들을 가능한 모든 조합으로 3가지 균주 또는 4가지 균주 모두를 혼합하여 스타터로 사용한 경우에는 산도와 pH가 모두 동일하여 3가지 이상의 균주를 혼합하는 경우에는 균주의 혼합 방법이 발효능에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다(자료 미제시).

올리고당 첨가에 의한 유산발효. 복분자 농축액의 유산발효 시 첨가되는 유산균의 증식과 제품 음용시 정장작용을 증가시키기 위하여 복분자 농축액에 올리고당을 일정량 첨가한 다음 이에 따른 발효능을 조사하였다. 그 결과 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 올리고당의 첨가량이 1%(w/v)일 때 산도가 0.022%로 가장 높아 발효능이 가장 좋았고, 첨가량을 1%(w/v) 이상으로 높이면 산도가 점차 감소하였다. pH는 올리고당의 첨가량이 1%(w/v)일 때 3.74로 가장 낮았으며 그 이외의 올리고당 첨가량에서는 이보다 높은 pH 값을 나타내었다.

이상의 결과로부터 복분자 농축액을 유산발효할 경우 발효능이 가장 우수하면서 관능적 기호도가 높은 제품을 제조하기 위한 발효조건을 다음과 같이 확립하였다. 즉, 복분자 농축액에 올리고당을 1%(w/v) 첨가한 후 pH를 4.0으로 조정한 다음 75°C에서 30초간 가열살균하고 불용성물질을 제거하기 위하여 여과지로 여과한다. 여과액에 550 nm에서의 흡광도가 1.0이 되도록 배양한 *L. acidophilus*와 *S. thermophilus*의 배양액을 각각 1%(v/v)가 되도록 접종하여 두 균주의 첨가량이 3.0×10^7 CFU/ml가 되도록 한 후 35~37°C에서 72~96시간동안 발효한다.

Table 3. Free mono- and disaccharides concentration in the non-fermented and fermented raspberry puree

Saccharide	Concentration (M)	
	Non-fermented raspberry puree	Fermented raspberry puree
Glucose	0.42	0.64
Fructose	0.35	0.76
Sucrose	0.13	0.11
Maltose	ND*	ND
Lactose	ND	ND
Sorbitol	ND	ND

*ND: Not detected.

유리당 함량. 복분자 농축액과 이를 유산발효시킨 발효액의 유리당 조성과 함량을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 복분자 농축액의 주요 유리당으로는 0.42 M로 존재하는 glucose와 0.35 M로 존재하는 fructose로 나타났으며 sucrose는 0.13 M 존재하는 것으로 확인되었다. 조사한 유리당 중에서 maltose, lactose와 sorbitol은 검출되지 않았다. 유산발효제품에는 glucose와 fructose의 함량이 발효전과 비교하여 증가하였는데 fructose의 경우에는 0.76 M로 발효전보다 2배 이상 증가함을 알 수 있었다. 이는 복분자 농축액에 존재하는 다당류가 유산발효과정에서 분해되어 생성되기 때문인 것으로 판단되었다.

유기산 함량. 발효 전 복분자 농축액에 존재하는 유기산 함량과 유산발효 후의 유기산 함량을 비교한 결과를 Table 4에 나타내었다. 발효 전 복분자 농축액에는 citric acid의 함량이 가장 높아서 100 g당 1050.22 mg이 존재하여 전체 유기산의 92.6%를 차지하였다. 그 다음으로는 lactic acid가 74.83 mg의 함량을 지니고 있었으며 acetic acid, fumaric acid, malic acid는 소량 존재하였다. 유산균을 이용하여 복분자 농축액을 발효시켰을 때 lactic acid의 함량은 698.20 mg으로 발효전보다 9배 이상이 증가하였으나, 구연산은 오히려 감소함을 알 수 있었다.

전자공여작용. 인체 내에서 특히 지방질의 산화과정에서 생성되는 free radical들은 세포의 노화를 촉진시키고 생체세포의 방어기전을 저하시키는 것을 비롯하여 세포활성을 저해하므로 이들 free radical의 생성을 근본적으로 억제하거나 이미 생성된 free radical들의 안정화를 통해 생체세포를 보호할 필요가 있는데 전자공여작용은 이러한 생물활성 free radical에 전자를 공여하여 세포 성분의 산화를 억제하게 된다. 복분자 농축액과

Table 4. Organic acids content in the non-fermented and fermented raspberry puree

Organic acid	Non-fermented raspberry puree		Fermented raspberry puree	
	Amount (mg/100 g)	Percentage (%)	Amount (mg/100 g)	Percentage (%)
Acetic acid	1.51	0.1	18.62	1.1
Citric acid	1050.22	92.6	1039.71	59.2
Fumaric acid	0.20	trace	ND	-
Lactic acid	74.83	6.6	698.20	39.7
Malic acid	7.85	0.7	ND	-
Tartaric acid	ND*	-	ND	-
Total	1,134.61	100	1,756.53	100

*ND: Not detected.

Table 5. Biological activities of the non-fermented and fermented raspberry puree

Biological activity	Non-fermented raspberry puree	Fermented raspberry puree
Electron donating ability (%)	71.10±1.17*	69.00±2.10
Nitrite scavenging ability (%)		
pH 1.2	37.61±1.54	38.30±2.31
pH 3.0	10.22±2.09	13.10±1.76
pH 4.2	4.21±1.47	4.56±1.35
pH 6.0	1.09±0.41	1.34±0.78
SOD-like activity (%)	80.01±0.71	60.30±2.14
Inhibitory activity on xanthine oxidase (%)	43.26±2.45	41.76±3.07

*Mean values± standard deviations (3 replicates)

Table 6. Antimicrobial activities of the non-fermented and fermented raspberry puree

Microorganism	Number of viable cells (CFU/ml)		
	distilled water	Non-fermented raspberry puree	Fermented raspberry puree
<i>E. coli</i> O-157:H7	6.20×10 ⁸	7.50×10 ⁶ (21.8%*)	1.85×10 ⁷ (17.3%)
<i>B. cereus</i>	1.00×10 ⁹	4.60×10 ⁸ (3.7%)	1.35×10 ⁸ (9.7%)
<i>S. aureus</i>	9.90×10 ⁸	1.55×10 ⁸ (9.0%)	2.25×10 ⁸ (7.2%)
<i>S. typhimurium</i>	7.10×10 ⁸	1.10×10 ⁸ (9.1%)	1.17×10 ⁸ (8.8%)
<i>S. cerevisiae</i>	1.10×10 ⁷	1.00×10 ⁷ (0.6%)	4.70×10 ⁷ (-9.0%)

*Antimicrobial activity was expressed as percentage in parenthesis

이를 유산발효시킨 발효액의 전자공여능을 측정된 결과 Table 5와 같이 복분자 농축액은 71.1%의 높은 전자공여능을 나타내었으며 발효액의 경우에는 69.0%의 전자공여능을 나타내 발효 전과 유사한 값을 나타내었다. Cha 등¹⁵⁾은 복분자를 80% methanol과 75% acetone으로 추출한 유기용매 추출물에서는 미숙과에서 92.59~92.61%, 완숙과에서 82.31~82.64%, 잎에서 84.46~88.36%의 전자공여효과를 나타내었으며 열수 추출물에서는 미숙과 91.90%, 완숙과 88.93%, 잎 85.60% 순으로 전자공여효과를 나타내 미숙과가 완숙과에 비해 효과가 높다고 보고한 바 있다. 이 결과는 본 연구결과보다 높은 전자공여효과를 보여주고 있는데 이는 복분자 추출물의 제조방법에 따른 차이인 것으로 사료된다.

아질산염 소거작용. 발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite는 식품첨가물로서 뿐만 아니라 음료수, 타액 등에도 소량 존재하고 있다고 알려져 있으며,^{16,17)} 야채류나 과일에 다량 존재하고 있는 nitrate도 타액이나 위 내 또는 식품의 저장 중에 nitrate reductase 등에 의해 nitrite로 환원되어진다고 알려져 있다.^{19,20)} Nitrite는 그 자체가 독성을 나타내어 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성함으로써 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다.²¹⁾ 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 amine류와 반응하여 nitrosamine을 생성하는 것으로 보고되고 있는데^{22,23)} 대부분의 nitrosamine은 핵산이나 단백질 또는 세포 내 성분을 alkylation으로써 암을 유발한다고 보고된 바 있다.^{24,25)} 이와 같이 nitrosamine은 식품성분과의 상호반응으로 식품 자체 내에서 생성될 수 있을 뿐만 아니라, nitroso화 반응이 인체 위장 내의 pH와 유사한 범위에서 최적조건을 가지기 때문에 많은 관심이 모아지고 있다.

복분자 농축액과 발효액의 아질산염 소거능을 측정된 결과

Table 5와 같이 복분자 농축액은 pH 1.2의 조건에서 37.61%로 가장 높은 소거율을 나타내었고 pH 3.0에서는 10.22%, pH 4.2에서는 4.21%, pH 6.0에서는 1.09%의 아질산염 소거능을 나타내었다. 발효액의 경우에도 pH 1.2의 조건에서 38.3%로 가장 높은 소거율을 나타내었고 pH 3.0에서는 13.1%, pH 4.2에서는 4.56%, pH 6.0에서는 1.34%로 pH가 증가할수록 소거율이 크게 감소하여 pH 의존적인 경향을 나타내었다. 이는 복분자의 미숙과 및 완숙과 잎 추출물이 pH 1.2의 조건에서 가장 높은 아질산염 소거율을 나타내었다는 결과¹⁵⁾나 솔잎, 쑥, 결명자²⁶⁾에서 pH가 낮을수록 아질산염 소거작용이 높았다는 결과와 일치하였다. 또한 nitrosamine 생성의 최적 pH는 2.5~3.0으로 pH 의존적이어서 강산성에서 아질산염 소거율이 높고 pH가 높아질수록 소거율이 감소한다는 보고와도 일치하였다.²⁷⁾

SOD 유사활성. 노화와 관련되어 생체 대사과정 중 생성되는 superoxide radical(O₂⁻)은 전자 환원에 의한 반응성이 매우 크며 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 질병을 유발시키는 것으로 알려져 있는데 중양을 촉진하며, 암을 유발할 수 있고 피부의 노화 등을 일으킬 수 있다.^{28,29)} 인체 내에서는 O₂⁻를 제거하기 위하여 superoxide dismutase(SOD)가 분비되어 superoxide radical을 과산화수소와 정상상태의 산소로 전환시켜 주는 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하는 것으로 보고되어 있다.^{30,31)}

복분자 농축액과 발효액의 SOD 유사활성을 측정된 결과 Table 5와 같이 복분자 농축액은 80.01%의 높은 SOD 유사활성을 나타내었으며 발효액의 경우에는 60.3%의 SOD 유사활성을 나타내 발효 전보다 활성이 감소함을 알 수 있었다. 발효액의 활성이 감소한 것은 복분자 농축액을 발효시키기 전 가열살균하는 과정에서 활성 성분이 일부 파괴되어 비활성화되었거나

발효과정에서 유산균에 의해 일부 대사되었기 때문인 것으로 추측된다.

Xanthine oxidase 억제활성. Xanthine oxidase는 생체 내 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하게 된다. Urate가 혈장 내에 증가되면 낮은 용해성으로 인하여 골절에 축적되어 통증을 일으키는 통풍을 유발할 뿐만 아니라 신장에 침착되어 신장질환을 일으키기도 한다.³²⁾ 통풍의 치료에 사용되는 약물로는 hypoxanthine의 유사체인 allopurinol과 alloxanthine이 있는데 allopurinol은 xanthine oxidase에 의하여 alloxanthine으로 산화된 다음, 이것이 xanthine oxidase에 그대로 단단하게 결합하여 요산의 생성 최종단계에 관여하는 xanthine oxidase의 효소활성을 저해함으로써 요산의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 그 외에 효소활성을 저해할 목적으로 천연물을 대상으로 하여 많은 연구가 진행되어 왔는데 Hayashi 등³³⁾은 식물계에 널리 존재하는 flavonoid류를 분리하고 xanthine oxidase 저해효과를 관찰한 결과, hydroxy기의 위치에 따라 저해효과가 다른 것을 보고한 바 있으며, Hatano 등³⁴⁾은 galloyl기를 함유한 flavonoid 화합물이 xanthine oxidase 저해효과가 우수하였으며 경쟁적으로 저해한다는 사실을 보고하였다. 또한 Noro 등³⁵⁾은 거담제와 이수제의 원료로 사용하고 있는 팔꽃나무의 꽃과 눈으로부터 분리된 genkwanin, luteolin 7-methylether, luteolin이 xanthine oxidase에 강한 저해효과가 있었다고 보고한 바 있다.

복분자 농축액과 발효액의 xanthine oxidase 저해효과를 측정 한 결과 Table 5와 같이 복분자 농축액은 43.26%의 저해활성을 나타내었으며 발효제품의 경우에는 41.76%의 저해활성을 나타내 발효 전과 유사한 값을 보여주었다.

항균활성. 복분자 농축액과 발효액의 항균활성을 측정하기 위하여 검정균으로서 식중독 원인균주와 효모를 사용하여 액체 배지 상에서의 생육저해현상을 관찰하였다. 그 결과 Table 6과 같이 복분자 농축액은 *E. coli* O-157:H7에 대해서는 21.8%의 생육저해율을 나타내 사용한 검정균 중에서 가장 높은 항균력을 나타냈으며 *S. aureus*와 *S. typhimurium*에 대해서는 각각 9.0%, 9.1%의 생육저해효과를 나타내 유사한 항균력을 보여주었다. *B. cereus*에 대해서는 3.7%의 낮은 생육저해효과를 나타내었으며 *S. cerevisiae*에 대해서는 항균활성을 나타내지 않았다. 발효액의 경우에는 *E. coli* O-157:H7에 대해서는 17.3%의 생육저해율을 나타내 가장 높은 항균력을 보였으며 *S. typhimurium*과 *B. cereus*에 대해서는 각각 8.9%, 9.7%의 생육저해효과를 나타내었고 *S. aureus*에 대해서는 7.2%의 생육저해효과를 나타내 가장 낮은 저해효과를 보여주었다. Kim 등³⁶⁾은 복분자 추출물이 *P. aeruginosa*와 *S. typhimurium*에 대한 항균활성을 지니고 있다고 보고하였고 Ryan 등³⁷⁾은 *Rubus idaeus*로 제조한 복분자 주스가 *Salmonella*, *Shigella*와 *E. coli*에 대하여 생육저해효과가 있으며 곰팡이에 대해서는 효과가 없다고 보고하였으나 Cha 등¹⁵⁾은 복분자 추출물이 *B. cereus*에 대해서만 높은 항균활성을 나타내었다고 보고한 바 있어 본 연구결과와 상이하였다. 이는 사용한 복분자의 종류와 수확시기가 다르고 추출방법 또한 다르기 때문에 항균물질의 활성이 차이가 나는 것으로 생각된다. 이상의 결과로부터 복분자 농축액과 유산

발효액은 전자공여능, 아질산염 소거능, SOD 유사활성 및 xanthine oxidase 저해능 등과 같은 항산화활성을 지니고 있으며 식중독 세균에 대한 항균활성도 어느 정도 지니고 있음을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 10차 경기도 산학연 지역컨소시엄사업의 일환으로 수행된 연구의 일부이며, 연구비를 지원해준 경기 지방 중소기업청과 국제식품에 감사드립니다.

참고문헌

- Bae, G. H. (2000) In *The Medical Plants of Korea*. Kyohak Publishing Co., Ltd., Seoul.
- Bang, G. C. (1996) Tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. M. S. Thesis, Chungang University, Ansong.
- Lee, Y. A. (1995) Tannins from *Rubus coreanus*. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**, 27-35.
- Chou, W. H., Oinaka, T., Kanamaru, F., Mizutani, K., Chen, F. H. and Tanaka, O. (1987) Diterpene glycoside from leaves of chinese *Rubus chingii* and fruits of *R. suavissimus* and identification of the source plant of the chinese folk medicine Fu-pen-zi. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 3021-3024.
- Hattori, M., Kuo, K. P., Shu, Y. Z., Tezuka, Y., Kikuchi, T. and Namba, T. A. (1988) Triterpenes from the fruits of *Rubus chingii*. *Phytochemistry* **27**, 3975-3976.
- Kim, H. C. and Lee, S. I. (1991) Comparison of functional effects of geni *Rubus*. *J. Herb.* **6**, 3-11.
- Costantino, L., Albasini, A., Rasteli, G. and Benvenuti, S. (1992) Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. *Planta Med.* **58**, 342-345.
- Park, H. J., Min, Y. K., Kim, K. Y. and Kang, S. W. (1998) Sterilization effect of hydrostatic pressure and low temperature treatments on the jujube wine. *Food Eng. Prog.* **2**, 163-170.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis, (15th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Lee, Y. C. and Kim, K. O. (1994) In *Sensory Evaluation of Foods*. Hakyonsa, Seoul.
- SAS Institute Inc. (1996) SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199.
- Gray, J. I. and Dugan Jr, L. R. (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* **40**, 981-984.
- Marklund, S. and Gudrun, M. (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.
- Cha, H. S., Park, M. S. and Park, K. M. (2001) Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 409-415.

16. Harada, M., Ishiwata, H., Nakamura, Y., Tanimura, A. and Ishidate, M. (1974) Studies on *in vivo* formation of nitroso compounds nitrite and nitrate contained in human saliva. *J. Japan Soc. Food Nutr.* **15**, 206-207.
17. Tannenbaum, S. R., Sinskey, A. J. and Weisman, M. (1974) Nitrite in human saliva: Its possible relation to nitrosamine formation. *J. Nat. Cancer Inst.* **53**, 79-84.
18. Leonard, B. (1976) In *Nitrogen Metabolism in Plants*, Edward Arnold, New York.
19. Hayashi, N. and Watanabe, K. (1978) Fate of nitrate and nitrite in saliva and blood of monkey administered orally sodium nitrate solution and microflora of oral cavity of the monkey. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **19**, 392-400.
20. Takagi, S. and Nakao, Y. (1971) Effect of nitrate during curing. *J. Japan Soc. Food Sci. Tech.* **18**, 1-7.
21. Peter, F. S. (1975) The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.* **26**, 1761-1770.
22. Crosby, N. T. and Sawyer, R. (1976) N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. *Adv. Food Res.* **21**, 1-56.
23. Fiddler, W., Pensabene, J. W., Kushnir, I. and Piotrowski, E. G. (1973) Effect of frankfurter cure ingredients on N-nitrosodimethylamine formation in a model system. *J. Food Sci.* **38**, 714-717.
24. Dutton, A. and Health, D. F. (1958) The detection of metabolic products from dimethyl nitrosamine in rats and mice. *Biochem. J.* **70**, 619-625.
25. Mugee, P. N. and Hultin, J. (1962) Toxic liver injury and carcinogenesis: Methylation of proteins of rat liver slice by dimethylnitrosamine *in vitro*. *Biochem. J.* **83**, 108-117.
26. Park, Y. B., Lee, T. G., Kim, O. K., Do, J. R., Yeo, S. G., Park, Y. H. and Kim, S. B. (1995) Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tora* L. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 124-128.
27. Kytopoulos, S.A. (1987) Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds; possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* **45**, 1344-1350.
28. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1989) In *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford.
29. Salim, A. S. (1990) Oxygen-derived free radicals and the prevention of duodenal ulcer relapse. *Am. J. Med. Sci.* **300**, 1-8.
30. Devy, C. and Gautier, R. (1990) New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem. Pharmacol.* **39**, 399-405.
31. Kuramoto, T. (1992) Development and application of food materials from plant extract such as SOD up to date. *Food Process.* **27**, 22-23.
32. Storch, J. and Ferber, E. (1988) Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.* **169**, 262-267.
33. Hayashi, T., Sawa, K. and Morita, M. (1988) Inhibition of Cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J. Nat. Prod.* **51**, 345-348.
34. Hatano, T., Yasuhara, T., Yoshihara, R. and Okuda, T. (1991) Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Med.* **57**, 83-84.
35. Noro, T., Yabushi, O., Toshio, M., Akira, U. and Seigo, F. (1983) Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of daphne genkwa. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 3984-3987.
36. Kim, H. Y., Lee, Y. J., Hong, K. H., Kwon, Y. K., Lee, J. Y., Kim, S. H., Ha, S. C., Cho, H. Y., Jang, E. S., Lee, C. E. and Kim, G. S. (1999) Studies on the development of natural preservatives from natural products. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 1667-1678.
37. Ryan, T., Wilkinson, J. M. and Cavanagh, H. M. A. (2001) Antibacteria activity of raspberry cordial *in vitro*. *Res. Vet. Sci.* **71**, 155-159.

Lactic Acid Fermentation and Biological Activities of *Rubus coreanus*

Young Seo Park* and Hak-Gil Chang (Division of Biotechnology, Kyungwon University, Seongnam 461-701, Korea)

Abstract: The puree of *Rubus coreanus* was fermented using lactic acid bacteria and its biological activities were examined. *Lactobacillus acidophilus* KCCM 32820, *L. casei* KCCM 12452, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KCCM 40104, and *Streptococcus thermophilus* KCCM 40430 were used as a single or mixed starter for the lactic acid fermentation, and their cultures at the late logarithmic growth phase were inoculated to final concentration of 2% (v/v). *L. casei* fermented the puree of *Rubus coreanus* best when used as a single starter, and the culture of *L. casei* and *L. lactis* with the inoculation ratio of one to one showed the highest fermentation activity when used as a mixed starter. However, the fermented broth of the puree of *Rubus coreanus* using *L. acidophilus* and *S. thermophilus* showed the best results in the sensory evaluation. The optimal lactic acid fermentation conditions were as follows; the concentration of oligosaccharide added was 1% (w/v), pH of puree and fermentation temperature were 4.0 and 37°C, respectively, and fermentation time was 72~96 hours. Glucose and fructose were major free sugars, and the content of lactic acid was 698.2 mg/100 g in the fermented broth. The fermented broth of the puree of *Rubus coreanus* showed the electron donating ability and nitrite scavenging ability with the value of 69% and 38.3% at pH 1.2, respectively. SOD-like activity and inhibitory activity on xanthine oxidase were also found in the fermented broth with the value of 60.3% and 41.8%, respectively. When the antimicrobial activities of the fermented broth were examined, it showed the highest growth inhibitory activity against *Escherichia coli* O-157:H7, and also contained antimicrobial activities against *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Rubus coreanus*, lactic acid fermentation, biological activities

*Corresponding author