

항돌연변이원성 *Lactobacillus plantarum* KLAB21에 의한 복숭아 주스의 젖산발효 특성

이용호 · 최상원¹ · 박희동[†]

경북대학교 식품공학과, ¹대구가톨릭대학교 식품영양학과

Characteristics of Lactic Acid Fermentation of Peach Juice by *Lactobacillus plantarum* KLAB21 Possessing Antimutagenic Effects

Yong-Ho Lee, Sang-Won Choi¹ and Heui-Dong Park[†]

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

¹Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Abstract

Lactic acid fermentation of peach juice was carried out by using *Lactobacillus plantarum* KLAB21, a strain with a high level of antimutagenic activity. When the fermentation was carried out at 25, 30, 37 and 40 °C, the highest level in the viable counts and acid production was obtained at 37 °C. The sterilized peach juice showed a higher level of viable counts and acid production than the non-sterilized juice. And more viable counts and acid production were observed in the juice fermented by *L. plantarum* KLAB21 only than that obtained by a mixed culture of *L. plantarum* KLAB21 and *Leuconostoc mesenteroides* cells. When the lactic acid fermentation was performed for 5 days, the first 3 days of fermentation resulted in an increase of the viable counts from 8.2 to of 9.2 of log cfu/mL which is the highest level, as well as a decrease of the residual reducing sugar content from 5.6 to 0.1%. Decrease in the viable counts and no significant changes in the residual reducing sugar content were observed for further fermentation up to 5 days. However, the titratable acid content increased and the pH value decreased during the fermentation for 5 days to reach the highest titratable acid content (1.98%) and the lowest pH value (3.14) after 5 days of fermentation. HPLC analysis of the organic acids showed 1,236 mg% of lactic acid and 841 mg% of galacturonic acid contents in the fermented juice which were not detected in the fresh juice before fermentation. Antimutagenic effects of 100 µL of the fermented peach juice supernatant were shown to be 97.7% against MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine), and 58.3% against NPD(4-nitro-O-phenylenediamine) in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium TA100.

Key words : antimutagenic effect, functional fermented food, *L. plantarum* KLAB21, lactic acid fermentation, peach juice

서 론

식품 미생물 중 젖산균은 그 특성에 따라 다양한 종으로 나눌 수 있으며 예로부터 유제품과 김치 등의 발효에 널리 이용되어 왔다(1-2). 최근에는 프로바이오틱스로서 젖산균의 건강기능성이 밝혀지면서 이에 대한 관심이 높아지고

있다(1-3,4). 젖산균이 인간의 건강을 증진시킬 수 있다는 사실은 최초로 Metschnikoff(5)의 연구에 의해 밝혀진 바 있다. 그는 요쿠르트 제조에 관여하는 젖산균이 대장 내에서 혐기성 세균, 포자형성 세균, 포자형성 세균 및 독소 생성 세균들의 증식을 억제하기 때문에 장내에 *Lactobacillus bulgaricus*를 이식하여 줌으로써 장수에 매우 중요한 역할을 한다고 주장하였다(5). 젖산균을 이용한 발효식품의 개발에 관하여는 *Lactobacillus acidophilus*를 이용한 대두유의 발효 연구(6) 이후 젖산균을 이용한 다양한

[†]Corresponding author. E-mail : hpark@knu.ac.kr,
Phone : 82-53-950-5774, Fax : 82-53-950-6772

젖산발효 제품의 개발과 이의 상업화에 관한 연구가 진행되어 왔다(7-10).

젖산발효는 젖산, 향기성분, 다당류 등을 생산하여 식품의 외형, 풍미, 맛, 조직감 등을 향상시킬 뿐 아니라(1,2,11) 발효 결과로 생산된 젖산 등의 다양한 물질들은 병원성 미생물의 성장을 방지하고 식품의 안전성을 부여해 주며(12-14) 젖산균 균체는 다양한 생리활성을 가지고 있어 사람의 건강을 증진시켜 줄 수 있다(1,3). 현재까지 알려진 젖산균의 생리활성 기능으로는 장내 부패세균의 억제 및 장내 정상세균총의 유지를 통한 장내 이상발효의 개선(15,16), 우유 성분의 분해에 의한 소화흡수성 향상(17,18), 혈중 콜레스테롤 저하 작용 등이 있다(19,20). 또한 젖산균은 면역기능 부활 작용에 의한 인터페론의 유도, 항체 생성 및 세포성 면역 활성화 등에 의한 병원성 세균의 감염 방어 효과가 있다(21-23). 유제품 및 김치의 발효에 관여하는 다양한 젖산균들의 항암효과(24,25) 및 각종의 돌연변이원에 대한 항돌연변이 효과(26-29)가 보고된 바 있으며 이들의 항암성 및 항돌연변이원성 물질로는 다당류 및 glycopeptide, glycoprotein 등이 있다(30-33). 특히 우리나라 김치의 산패 시에 최고의 성장을 나타내는 homo형 젖산발효균의 하나인 *Lactobacillus plantarum*의 어떤 균주는 MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine), NPD(4-nitro-O-phenylenediamine), NQO(4-nitroquinoline-1-oxide) 및 aflatoxin B1에 대하여 발효 유제품의 제조에 사용되는 젖산균보다도 더욱 강력한 항돌연변이 효과를 가지고 있다(29). 또한 이 균주가 생산하는 항돌연변이원성 물질이 정제되어 이들이 3 종류의 당단백질로 구성되어 있다는 것이 보고된 바 있다(33).

따라서 본 연구에서는 다량의 폴리페놀 성분을 함유하고 있어 다양한 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려진(34) 복숭아를 원료로 하여 젖산발효 음료의 제조 적합성을 조사하는 한편 강력한 항돌연변이 활성을 함유하고 있는 것으로 보고된 바 있는 *L. plantarum* KLAB21 균주를 사용하여 기능성 발효 음료의 제조 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

원료 복숭아는 경북 영덕군에서 7월말 ~ 8월초에 수확한 만생종 황도를 -20°C에서 보관하면서 사용하였다. 복숭아의 일반성분은 수분 90.6%, 조단백 0.7%, 조지방 0.2%, 조섬유 0.1%, 조회분 0.4%, 무질소함유물 8.0%이었다.

사용균주 및 배지

젖산발효를 위한 세균 균주로는 김치에서 분리한 강력한 항돌연변이 활성을 가진 것으로 알려진 *Lactobacillus plantarum* KLAB21(29,33)과 한국생명공학연구원에서 분양받은 *Leuconostoc mesenteroides*를 사용하였다. 항돌연변이

이 활성 측정을 위하여 균주는 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium TA100(*hisG46*, *rfa*, Δ *uvrB*)(35,36)을 사용하였으며 배지와 각종 시약의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of media and reagents for the antimutagenic activity test

Media	
Minimal glucose agar	Concentration(%)
50×VB salts	5.0
40% glucose	2.0
Agar	1.5
Nutrient agar	Concentration(%)
Nutrient	0.8
NaCl	0.5
Agar	1.5
Top agar	Concentration(%)
NaCl	0.6
Agar	0.5
Reagent	
50×VB salts	Concentration(%)
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.0
K ₂ HPO ₄	50.0
NaH ₂ NH ₄ (PO ₄) · H ₂ O	17.5
Citric acid	10.0
Distilled water	670 mL
0.5 mM His/Bio solution	Concentration(%)
D-Biotin	0.0124
L-Histidine	0.0096
0.2 M sodium phosphate buffer	Concentration
0.2 M NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	120 mL
0.2 M Na ₂ HPO ₄	880 mL

젖산균의 배양

젖산발효 스타터의 제조를 위한 젖산균의 배양은 MRS broth (1% Bactopectone, 1% meat extract, 0.5% yeast extract, 2% dextrose, 0.1% Tween 80, 0.2% ammonium citrate, 0.5% sodium acetate, 0.02% K₂HPO₄, 0.02% MgSO₄ · 7H₂O, 0.005% MnSO₄ · 4H₂O)(37)를 사용하여 37°C에서 150 rpm으로 24시간 진탕 배양하였다.

복숭아 주스의 젖산발효

젖산발효를 위한 복숭아 주스는 복숭아를 흐르는 물로 세척한 후 homogenizer로 분쇄하고 400 ppm의 pectinase (Novozymes CH-4013, Bagsvaerd, Denmark)를 30°C에서 2시간 처리한 후 6,000 × g로 10분간 원심분리하여 얻은

상징액을 사용하였다. 복숭아 주스의 살균은 Gu 등(38)의 보고에 준하여 78.5°C에서 18분간 행하였다. 살균된 주스의 5%(v/v)에 상당하는 MRS 배지에서 배양한 젖산균 배양액을 6,000 × g로 10분간 원심분리하여 얻은 균체를 살균 복숭아주스로 세척한 다음 살균 복숭아 주스에 스타터로 접종하였다. 복숭아 주스의 젖산발효는 37°C에서 5일 동안 행하였다.

생균수의 측정

복숭아 주스의 젖산발효 중 생균수는 원심분리 이전의 발효액을 0.85% NaCl로 적당히 희석한 후 희석액 0.1 mL를 취하여 MRS 한천배지에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 colony 수를 측정하여 희석배수를 곱한 후 log cfu/mL로 환산하여 나타내었다.

일반성분의 분석

복숭아의 일반성분은 상법(39)에 따라 수분, 조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분 등을 분석하였다. 복숭아 주스의 발효 중 성분의 분석은 발효액을 6,000 × g로 10분간 원심분리하여 얻은 상징액을 사용하여 행하였다. pH의 측정은 pH meter (Metter Toledo Co. Model 340, Switzerland)로 측정하였다. 적정산도의 측정은 발효 상징액 10 mL를 검체하여 0.5% phenolphthalein 2~5방울 첨가한 다음 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 분홍빛으로 변할 때까지 중화적정하고 소비된 0.1 N NaOH의 mL 수로부터 다음 식을 이용하여 젖산으로 환산하였다(39,40). 환원당 함량은 dinitrosalicylic acid (DNS)(41) 방법을 사용하여 정량하였다. 발효 상징액 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 가하여 95°C 항온수조에서 5분간 반응시켰다. 여기에 증류수를 가하여 25 mL로 정용한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 포도당으로 환산하였다.

유기산 조성 및 정량

복숭아 발효액을 원심분리하여 상징액을 membrane filter(0.45 μm)로 여과한 후 φ 8.0 × 300 mm 크기의 Shdex RSpak KC-811 column (Showa Denko K.K., Japan)이 부착된 HPLC (Waters Co. Model 600E, U.S.A.)로 분석하였다. HPLC 분석 조건으로 column 온도는 40°C, mobile phase는 0.1% phosphoric acid, flow rate는 1 mL/min, injection volume 은 20 μL이었으며 검출기는 RI detector를 사용하였다.

항돌연변이 활성 측정

항돌연변이 활성 측정에 앞서 시료의 독성실험(35)을 행하여 독성이 나타나지 않는 범위 내에서 시료의 농도를 다음과 같이 결정하였다. 살균된 glass cap tube에 top agar 배지 3 mL를 분주한 후 균주 TA100 배양액 100 μL와 시료 일정량을 첨가하여 혼합한 후 영양 한천 배지에 분주하고 고화시켜서 37°C에서 24시간 배양한 후 생성된 colony수를

계수하여 독성유무를 관찰하였다.

항돌연변이 활성은 Maron과 Ames(35)의 방법 및 Yahagi(36)등의 방법을 이용하여 preincubation method로 조사하였다. 항돌연변이 시험균의 돌연변이 유발을 위한 변이원으로는 0.5 μg/plate의 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)와 15 μg/plate의 NPD(4-nitro-O-phenylenediamine)를 사용하였다. 멸균된 각 glass cap tube를 ice bath에 보관하면서 phosphate buffer 0.5 mL, 시험균 배양액 0.1 mL, 시료 0.1 mL 및 변이원 0.05 mL를 첨가한 다음 vortex로 혼합하고 37°C에서 30분간 incubation하였다. 여기에 45°C의 top agar 2 mL를 각 cap tube에 분주한 후 3초간 vortex하고 minimal glucose agar에 중층하여 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 colony 수를 계수하였다. 항돌연변이 활성은 다음 식으로 환산하여 His- 돌연변이 억제효과의 정도(inhibition ratio)로 나타내었다.

$$\text{Antimutagenic activity(\%)} = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

a : mutagen만에 의해 유도된 revertant 수

b : mutagen 및 시료 처리 시 유도된 revertant 수

c : mutagen과 시료 무처리 시 유도된 spontaneous revertant 수

결과 및 고찰

복숭아 주스의 젖산발효 조건

복숭아 주스의 젖산 발효에 미치는 온도의 영향을 조사하기 위하여 복숭아 주스를 25, 30, 37 및 40°C의 온도에서 24시간 발효한 다음 생균수와 적정산도를 측정하였다 (Table 2). 그 결과 25°C와 40°C에서는 상대적으로 낮은 생균수와 산 생성을 나타내었으며 30°C와 37°C에서 높은 생균수와 산 생성을 나타내었다. 특히 37°C에서 생균수는 8.04 log cfu/mL이었으며 정정 산도는 1.17%로서 가장 높게 나타났다. 본 연구에서 사용한 *L. plantarum* KLAB21 균주가 중온균으로서 생육적온이 37°C인 것으로 알려져 있다 (29,33). 따라서 37°C의 경우가 생균수와 산 생성에 있어서 가장 유리한 조건으로 생각된다.

젖산발효에 미치는 살균처리의 효과를 조사하기 위하여 복숭아 주스를 제조한 후 78.5°C에서 18분간 저온살균 처리

Table 2. Effects of temperature on the fermentation of peach juice by *L. plantarum* KLAB21 for 24 hr

Temp.(°C)	Viable counts (log cfu/mL)	Titrateable acid (%)
25	7.71	0.95
30	7.90	1.04
37	8.05	1.17
40	7.61	0.72

한 것과 처리하지 않은 것을 3일간 젖산발효한 후 생균수와 적정산도를 비교하였다(Table 3). 그 결과 살균처리를 하지 않은 경우에는 생균수가 8.23 log cfu/mL이었으나 살균한 경우에는 9.23 log cfu/mL로서 생균수가 약 10배 높게 나타났으며 적정산도 역시 살균하지 않은 경우 0.86%보다 살균한 경우 1.80%로서 살균한 복숭아 주스를 발효한 경우가 생균수와 적정산도의 합량이 더욱 높은 것으로 나타났다. 이러한 현상은 복숭아에 상당량 존재하는 것으로 알려져 있는 효모, 세균 등 야생미생물(17)의 증식에 따라 젖산균에 의한 젖산발효가 정상적으로 진행하지 못한 때문으로 추정된다. 따라서 복숭아 주스의 젖산발효 제품을 목적으로 하는 경우에는 저온살균을 통하여 복숭아 과일에 존재하는 야생미생물들을 제어하는 것이 유리한 것으로 생각된다.

Table 3. Effects of sterilization on the fermentation of peach juice by *L. plantarum* KLAB21 for 3 days

Sterilization	Viable counts (log cfu/mL)	Titrateable acid (%)
Non-sterilized	8.23	0.86
Sterilized	9.23	1.80

혼합발효의 효과

복숭아 주스의 젖산발효를 위하여 *L. plantarum* KLAB21과 *Leuconostoc mesenteroides*를 혼합하여 3일간 발효한 후 *L. plantarum* KLAB21 단독 균주에 의한 발효주스의 생균수와 적정산도를 조사하였다(Table 4). 그 결과 혼합발효 주스의 경우 생균수가 9.01 log cfu/mL, 적정산도가 1.76%이었다. 그에 비하여 단독발효의 경우에는 9.23 log cfu/mL, 적정산도 1.80%로서 큰 차이는 없었으나 *L. plantarum* KLAB21 단독 균주에 의한 발효 주스가 혼합발효 경우보다 다소 높은 생균수와 적정산도를 나타내었다. 젖산균은 6탄당으로부터 부산물의 생성 여부에 따라 Homo형과 hetero형 젖산발효 균주 두 가지로 나눌 수 있다(1). 젖산발효균주인 *L. plantarum*은 부산물의 생성 없이 젖산만을 생성하는 hetero형 젖산발효 균주이고 hetero형 젖산발효균의 대표적 균주의 하나인 *L. mesenteroides*는 젖산이외에 에탄올과 CO₂를 부산물로 생산하는 균주이다. 따라서 *L. plantarum* 단독발효의 경우가 혼합발효 경우보다 높은 산의 생성을 나타낸 것으로 추정된다.

Table 4. Effects of mixed culture on the fermentation of peach juice

Culture type	Viable counts (log cfu/mL)	Titrateable acid (%)
<i>L. plantarum</i> only	9.23	1.80
Mixed culture	9.01	1.76

In the mixed fermentation, *L. plantarum* KLAB21 and *L. mesenteroides* were used for the fermentation of peach wine for 3 days.

복숭아 주스의 젖산발효 특성

복숭아 주스의 젖산발효의 조건을 검토한 결과 온도는 37°C가 가장 적합하였으며 복숭아 주스를 살균하지 않고 발효한 경우보다 저온살균을 행하여 발효한 경우가 더욱 적합하였다. 또한 *L. plantarum* KLAB21과 *L. mesenteroides* 두 균주의 혼합발효보다는 *L. plantarum* KLAB21 단독균주에 의한 젖산발효가 더욱 적합하게 나타났다. 따라서 복숭아 주스를 78.5°C에서 18분간 저온살균한 후 *L. plantarum* KLAB21 단독균주에 의한 젖산발효를 37°C에서 5일간 진행하면서 발효특성을 조사하였다(Fig. 1). 발효과정 중의 생균수는 초기 생균수는 8.2 log cfu/mL이었으며 발효 3일 동안 증가하여 최고 9.2 log cfu/mL의 생균수를 나타내었다. 그러나 발효가 계속되면서 생균수는 오히려 감소하여 발효 5일 후에는 8.4 log cfu/mL를 나타내었다. 복숭아 주스의 환원당 함량은 발효가 진행되면서 균의 생육과 더불어 계속 감소하였으며 발효가 진행되면서 그 감소율은 증가하다가 특히 발효 2일과 3일 사이에 가장 급격한 감소현상을 나타내었다. 발효초기의 환원당 함량은 5.6%이었으나 발효 3일 후 0.1%까지 감소하였고 균의 증식이 없는 그 이후에는 거의 유사한 함량을 나타내었다. 적정산도는 젖산발효가 진행되면서 젖산균의 증식에 따라 계속 증가하여 초기 0.59%로부터 발효 3일 후에는 1.8%까지 증가하였으며 발효 5일 후에는 2.0%의 적정산도를 나타내었다. 그 증가폭은 발효초기 1일 동안에 0.61%로서 가장 크게 나타났으며 발효가 진행되면서 그 증가폭은 감소하였으며 발효 4일과 5일 사이에는 0.1%의 증가폭을 나타내었다. 발효 중 pH의 변화는 발효초기 3.9로부터 계속 감소하였으며 발효 3일 후에는 3.2까지 감소한 후 발효 5일 후에는 3.1의 pH를 나타내었다.

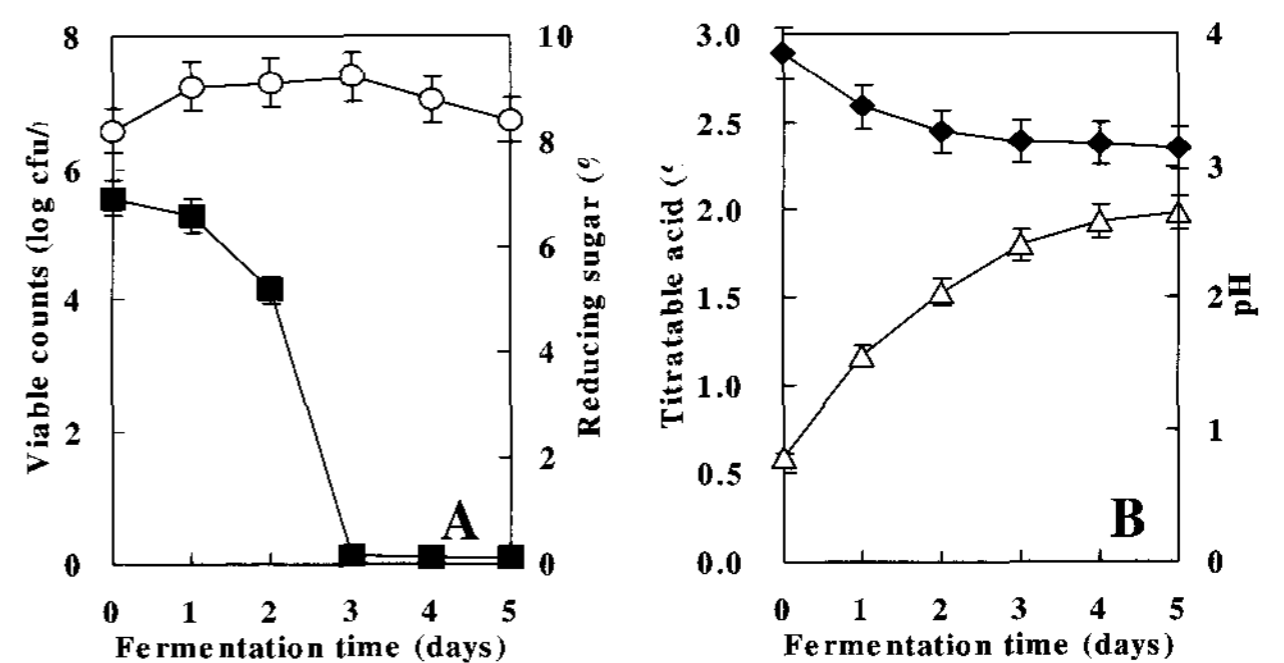


Fig. 1. Time course of lactic acid fermentation of the peach juice by *L. plantarum* KLAB21.

The peach juice was fermented at 37°C for 5 days by *L. plantarum* KLAB21. During the fermentation, changes in the viable counts (○) and residual reducing sugar content (■) (A) as well as changes in the titratable acid content (△) and pH (◆) (B) were monitored everyday.

복숭아 젖산발효 주스의 유기산 조성

복숭아 주스의 젖산발효 이전과 발효 후 유기산 조성을 HPLC로 분석한 결과는 Table 5와 같다. 발효 전 복숭아

주스의 유기산 함량은 총 478.6 mg%로서 사과산의 함량이 381.7 mg%로서 가장 높게 나타났고 구연산의 함량은 95.0 mg%이었으며 이 두 종류의 유기산이 전체 유기산의 99.6를 차지하였으며 이 외 소량의 호박산과 푸마르산이 검출되었다. 초산, 갈락투론산, 젖산, 주석산 등은 검출되지 않았다. 젖산발효 주스의 경우 총 유기산 함량은 2,183.0 mg%이었으며 그 중 젖산의 함량은 1,236.1 mg%로서 전체 유기산의 56.6%를 차지하였다. 발효 전 갈락투론산은 전혀 검출되지 않았으나 발효 후에는 840.5 mg%로서 전체 유기산의 38.5%를 차지하여 젖산에 이어 가장 많은 유기산 함량을 나타내었다. 사과산의 함량은 발효 전 381.7 mg%에서 발효 후에는 92.3 mg%로, 구연산의 함량은 발효 전 95.0 mg%에서 발효 후 7.3 mg%로 감소하였다. 발효 전 복숭아 주스에 소량이 존재하던 호박산과 푸마르산은 발효 후에는 검출되지 않았고 발효에 의해 상당량의 초산이 생성되는 현상을 나타내었다. 복숭아 발효에 의한 젖산의 증가는 본 발효에 사용된 균주 *L. plantarum* KLAB21이 젖산균의 일종으로서 발효 중 이 균에 의해 젖산이 생성되었기 때문으로 생각된다. 갈락투론산은 펙틴(42), 식물의 점질물(43,44) 및 세균의 다당류(45,46) 등을 구성하는 성분으로 알려져 있다. 특히 복숭아는 갈락투론산을 함유하는 상당량의 다당류를 생산하는 것으로 보고(43)된 바 있어 본 연구의 젖산발효에 의한 갈락투론산의 생성은 복숭아 다당류가 발효에 의해 분해되어 생성되기 때문으로 추정된다. 현재까지 *L. plantarum*에 의한 복숭아 주스의 젖산발효 중 갈락투론산의 생성에 관한 연구보고는 거의 없는 실정으로서 이에 관한 연구가 현재 진행 중에 있다. 발효에 의한 사과산과 구연산 함량의 감소 현상은 이 두 종류의 유기산이 TCA 회로의 중간산물로서 젖산균의 생육에 이용되었기 때문으로 생각된다. 이는 발효 전 복숭아 주스에 존재하였던 소량의 푸마르산과 호박산 역시 발효 후에는 거의 검출되지 않은 것으로도 잘 알 수 있다. 특히 *L. plantarum*은 사과산의 분해력이 강한 균주의 하나로서 포도주에 존재하는 사과산

의 감소를 목적으로 말로락틱 발효(malolactic fermentation)에도 그 이용성이 보고된 바 있다(47,48).

복숭아 젖산발효 주스의 항돌연변이 활성

복숭아 젖산발효 주스의 *S. enterica* serovar Typhimurium TA100에 대한 독성검사를 행한 결과 100 µL까지는 독성을 보이지 않았으나 그 이상의 농도에서는 세균의 콜로니 수가 다소 감소하였다. 이러한 이유는 젖산균주가 생성하는 항미생물성 물질인 bacteriocin에 의한 것으로 추측되며 항돌연변이 활성 실험은 독성이 나타나지 않는 범위 내에서 실험을 행하였다. 항돌연변이 활성 실험을 행하기 전에 변이원의 농도에 따른 복귀돌연변이 정도를 조사한 결과 5.0 µg/plate의 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)와 15.0 µg/plate의 NPD(4-nitro-O-phenylenediamine)가 가장 적합하게 나타나 이 농도에서 항돌연변이 실험을 행하였다. 복숭아 젖산발효 주스를 원심분리하여 얻은 상징액 100 µL를 사용하여 항돌연변이 효과를 조사한 결과는 Table 6과 같다. 변이원과 시료를 첨가하지 않고 행한 자연상태에서의 복귀 돌연변이 수는 100±10이었으며 plate에 시료를 첨가하지 않고 MNNG와 NPD를 각각 100 µL 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 수는 각각 550±10와 700±50이었다. 발효 이전 신선 복숭아 주스 100 µL를 사용한 경우에는 MNNG에 대하여 61.8%, NPD에 대하여는 45.6%의 항돌연변이 효과를 나타내었다. 동일한 양을 사용한 복숭아 젖산발효 주스의 항돌연변이 효과는 MNNG에 대하여는 약 97.7%, NPD에 대하여는 약 58.3%로 나타나 젖산발효에 의해 항돌연변이 효과가 크게 증가하는 현상을 나타내었다. 발효에 의한 항돌연변이원성의 증가 효과는 NPD에 비해 MNNG에 대하여 더욱 크게 나타났다. 젖산균과 젖산발효 유제품의 항돌연변이원성에 관하여는 이미 많은 보고가 있다(26-29). 특히 김치에서 분리한 *L. plantarum* KLAB21의 경우 다른 발효 유제품에서 분리한 젖산균보다 더욱

Table 5. Organic acid contents in the peach juice before and after lactic acid fermentation

Organic acid	Content (mg%)	
	Fresh juice	Fermented juice
Acetic acid	-	6.5
Citric acid	95.0	7.3
Fumaric acid	0.3	-
Galacturonic acid	-	840.8
Lactic acid	-	1,236.1
Malic acid	381.7	92.3
Succinic acid	1.6	-
Tartaric acid	-	-
Total	478.6	2,183.0

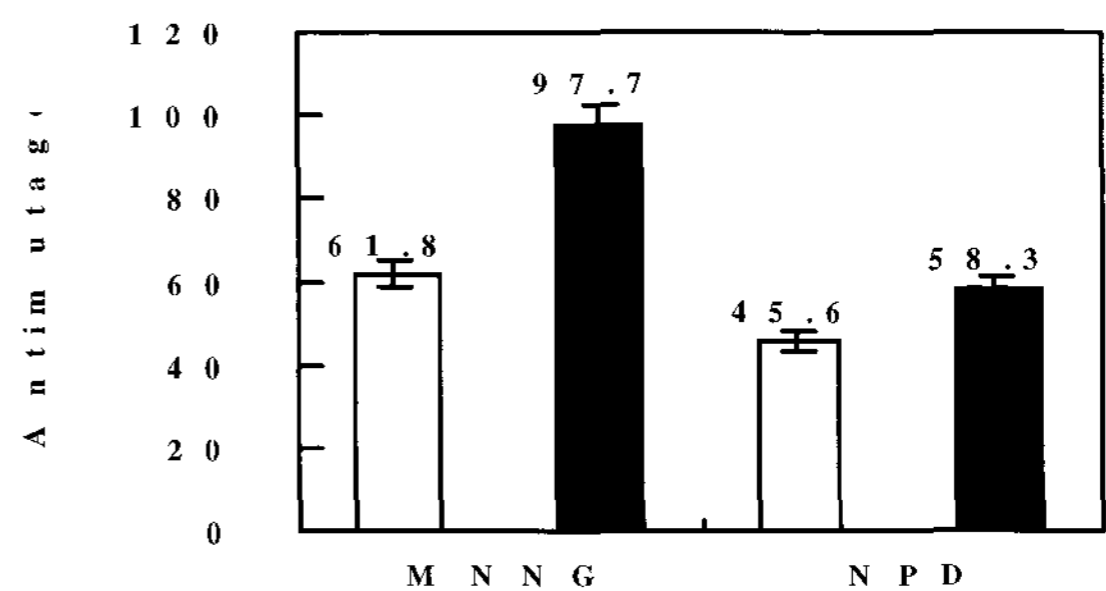


Fig. 2. Antimutagenic effects of the supernatant of the fermented peach juice by *L. plantarum* KLAB21.

Open (□) and closed rods (■) represent antimutagenic effects obtained with fresh peach juice and the juice fermented by *L. plantarum* KLAB21, respectively. The peach juice was fermented at 37°C for 5 days by *L. plantarum* KLAB21. After the fermentation, antimutagenic activities of the supernatant of the fermented peach juice were assayed against MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine) and NPD(4-nitro-O-phenylenediamine) in *S. enterica* serovar Typhimurium TA100.

강한 항돌연변이 활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (29). 또한 이 균주가 생산하는 항돌연변이원성 물질은 정제되어 분자량이 5,000~6,000 Da 사이인 3종류의 당단백질임이 이미 보고된 바 있다(33). 그러나 현재까지 이 균주를 이용한 과실류의 발효에 관하여는 보고된 바 없으며 본 연구에서 얻은 복숭아 젓산발효 제품이 *S. enterica* serovar Typhimurium TA100에서 MNNG와 NPD에 대하여 강한 항돌연변이 효과를 가지고 있다는 사실은 매우 흥미로운 결과이다.

요 약

복숭아를 원료로 하여 항돌연변이원성이 강한 것으로 알려진 *L. plantarum* KLAB21 균주에 의한 젓산발효 주스의 제조 가능성과 젓산발효 특성을 조사하였다. 젓산발효에 미치는 온도의 효과를 조사한 결과 37°C에서 25, 30, 40°C에서 보다 더욱 높은 생균수의 증가와 적정산도를 나타내었다. 살균하지 않은 복숭아 주스보다는 저온에서 살균한 주스가 젓산발효에 더욱 적합한 것으로 나타났다. 또한 *L. plantarum* KLAB21 균주 단독발효의 경우가 *L. plantarum* KLAB21 및 *L. mesenteroides* 두 균주의 혼합발효 경우보다 젓산발효가 큰 차이는 없었으나 다소 양호하였다. 발효시간에 따른 젓산발효 특성을 조사한 결과 발효 3일 동안에 대부분의 환원당이 소모되었으며 발효 3일 후 9.2 log cfu/mL로서 가장 높은 생균수를 나타낸 후 발효가 진행되면서 생균수는 오히려 감소하여 5일 후에는 8.4 log cfu/mL을 나타내었다. 발효 중 적정산도는 초기에 급격히 증가하였으나 점차 증가폭이 둔해졌으며 발효 5일 후의 적정산도는 1.98%이었다. pH는 발효가 진행되면서 초기 3.9에서부터 발효 5일 후에는 3.1까지 감소하였다. 발효 주스의 유기산 조성은 발효 전 복숭아 주스에서는 전혀 검출되지 않았던 젓산이 1.236.1mg%로 전체 유기산의 약 56.6%를 차지하여 가장 높았으며 발효 전 검출되지 않았던 갈락투론산은 발효 후 840.5mg%로서 전체 유기산의 38.5%를 차지하였다. 또한 92.3mg%의 사과산과 소량의 구연산 및 초산이 검출되었다. *S. enterica* serovar Typhimurium TA100을 사용하여 발효 주스 원심분리 상징액 100 µL의 항돌연변이 활성을 조사한 결과 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)에 대하여 97.7%, NPD(4-nitro-O-phenylenediamine)에 대하여는 58.3%의 활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. (2004) Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- Ingram, M. (1975) The lactic acid bacteria: a broad view. In: Lactic acid bacteria in beverages and food. Carr, J.C., Cutting, C.V., Whiting, G.C.(Editor), Academic Press, London, UK
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr., 125, 1401-1412
- Sanders, M.A. (1998) Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. Int. Dairy J., 8, 341-347
- Metchnikoff, E. (1908) The prolongation of life. Putnam's Sons, New York. U.S.A.
- Kellog, J.H. (1934) Method of making acidophilus milk. U.S. Patent 1982, 9941
- Yoon, T.j., Yoo, Y.C., Kang, T.B., Lee, K.H., Kwak, J.H., Baek, Y.J., Huh, C.S. and Kim, J.B., (1999) Fermented extracts of Korean mistletoe with *Lactobacillus* FKM-110 stimulate macrophage and inhibit tumor metastasis, Korean J. Food Sci. Technol, 31, 838-847
- Kim, J.H. and Kim, J.I. (1999) Processing of radish juice by mixed culture with lactic acid bacteria. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 6, 448-455
- Bae, H.C., Paik, S.H. and Nam, M.S. (2004) Animal products and processing: fermentation properties of rice added yogurt made with various lactic acid bacteria. Korean J. Food Sci. Anim. Resour., 46, 677-686
- Jin, H.S., Choi, Y.S. and Lee, K.J. (2001) Development of a fermented food product using chestnut broth and mixed cultures of lactic acid bacteria. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 14, 217-221
- Cerning, J. (1990) Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol., 87, 113-130
- Sandine, W.E., Muralidhara, K.S., Elliker, P.R. and England, D.C. (1972) Lactic acid bacteria in food and health: a review with special reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. J. Milk Food Technol., 35, 691-702
- Eijsink, V.G.H., Skeie, M., Middelhoven, P. H., Brurberg, M.B. and Nes, I.F. (1998) Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 64, 3275-3281

14. Adams, M.R. and Hall, C.J. (1988) Growth inhibition of food borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 23, 287-292
15. Sandine, W.E. (1979) Roles of *Lactobacillus* in the intestinal tract. *J. Food Prot.*, 42, 259-264
16. Guarner, F. and Malagelada, J.R. (2003) Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361, 512-519
17. Alm, L. (1982) Effect of fermentation of lactose, glucose and lactose content milk and suitability of fermented milk products for lactose intolerant individuals. *J. Dairy Sci.*, 63, 346-351
18. Kunji, E.R.S., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B. and Konings, W.N. (1996) The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 217-246
19. Shun, Y.L., Ayres, J.A., Winkler, W. and Sandine, W.E. (1989) *Lactobacillus* effect on cholesterol: in vitro and in vivo results. *J. Dairy Sci.*, 72, 2884-2889
20. Agerholm-Larsen, L., Bell, M.L., Grunwald, G.K. and Astrup, A. (2000) The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short term intervention studies. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 54, 856-860
21. Perdigon, G., de Macias, M.E., Alvarez, S., Oliver, G. and de Ruiz-Holgado, A.P. (1988) Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Immunol.*, 63, 17-23
22. Fernandes, C.F. and Shahani, K.M. (1990) Anti-carcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. *J. Food Prot.*, 53, 704-710
23. Shimizu, T., Nomoto, K., Yokokawa, T. and Mutai, M. (1987) Role of colony stimulating activity in anti-tumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. *J. Leukoc. Biol.*, 42, 204-212
24. Adachi, S. (1992) Lactic acid bacteria and the control of tumors. In: *The lactic acid bacteria*, Vol I, Wood, B.J.B.(Editor), Elsevier Applied Science, London, England, p.233-261
25. Kelkar, S.M., Shenoy, M.A. and Kaklij, G.S. (1988) Anti-tumor activity of lactic acid bacteria on solid fibrosarcoma, sarcoma-180 and Ehrlich ascites carcinoma. *Cancer Lett.*, 42, 73-77
26. Hosono, A., Wardojo, R. and Otani, H. (1990) Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1639-1643
27. Hosono, A., Shashikanth, K.N. and Otani, H. (1988) Des-mutagenic property of cell wall of *Streptococcus faecalis* on the mutagenicities induced by amino acid pyrolyzates. *J. Dairy Res.*, 55, 435-442
28. Nishioka, K., Miyamoto, T., Kataoka, K. and Nakae, T. (1989) Preliminary studies on antimutagenic activities of lactic acid bacteria. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 60, 491-494
29. Park, H.D. and Rhee, C.H. (2001) Antimutagenic activity of *Lactobacillus plantarum* KLAB21 isolated from Korean fermented vegetables kimchi. *Biotechnol. Lett.*, 23, 1583-1589
30. Bogdanov, I.G., Dalev, P.G., Gurevich, L.A., Kolosov, M.N., Malkove, V.P., Plemyannikova, L.A. and Sorokina, I.B. (1975) Anti-tumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. *FEBS Lett.*, 57, 259-261
31. Mukai, T., Toba, T., Itoh, T. and Adachi, S. (1990) Structural investigation of the capsular polysaccharide from *Lactobacillus kefiranoformis* K1. *Carbohydr. Res.*, 204, 227-232
32. Nakajima, H., Toyoda, S., Toba, T., Itoh, T., Mukai, T., Kitazawa, H. and Adachi, S. (1990) A novel phosphopolysaccharide from slime-forming *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SBT0495. *J. Dairy Sci.*, 73, 1472-1477
33. Rhee, C.H. and Park, H.D. (2001) Three glycoproteins with antimutagenic activity identified in *Lactobacillus plantarum* KLAB21. *Appl. Environm. Microbiol.*, 67, 3445-3449
34. Lee, J.Y., Park, H.D. and Choi, S.W. (2001) Physicochemical characteristics of various peach cultivars. *J. Food Sci. Nutr.* 6, 107-111
35. Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113, 173-219
36. Yagahi, T., Nagao, M., Sugimura, T., Fuya, A. and Matusushima, T. (1979) Mutagenicity of purrlizidine alkaloids in the Salmonella/mammalian-microsome test. *Mutat. Res.*, 68, 211-216
37. Deman, J.C., Rogasa, M. and Sharp, M.E. (1960) A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, 23, 130-134
38. Koo, Y.J., Lee, D.S., Shin, D.H. and Yu, T.J. : Studies on thermal resistance of selected yeast strain for pasteurization of solid packed peach. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 13, 43-85, 1981
39. AOAC (1990) Official methods of analysis, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., U.S.A.

40. Amerine, M.A. and Ough, C.S. (1980) Methods for analysis of musts and wine. John Wiley & Sons, New York, U.S.A.
41. Dubois, M., Gills, K.A., Hamilton, J.N., Rebers, P.A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28, 350-352
42. Ohashi, T., Ishimizu, T., Akita, K. and Hase, S. (2007) In vitro stabilization and minimum active component of polygalacturonic acid synthase involved in pectin biosynthesis. Biosci. Biotechnol. Biochem., 71, 2291-2299
43. Jin, C.H., Suo, B., Kan, J., Wang, H.M. and Wang, Z.J. (2006) Changes in cell wall polysaccharide of harvested peach fruit during storage. Zhi Wu Sheng Li Yu Fen Zi Sheng Wu Xue Xue Bao, 32, 657-664
44. McConaughy, S.D., Stroud, P.A., Boudreaux, B., Hester, R.D. and McCormick, C.L. (2008) Structural characterization and solution properties of a galacturonate polysaccharide derived from Aloe vera capable of in situ gelation. Biomacromolecules, 9, 472-480
45. Abbott, D.W., Hrynuik, S. and Boraston, A.B. (2007) Identification and characterization of a novel periplasmic polygalacturonic acid binding protein from *Yersinia enterocolitica*. J. Mol. Biol., 367, 1023-1033
46. Mata, J.A., Bejar, V., Llamas, I., Arias, S., Bressollier, P., Tallon, R., Urdaci, M.C. and Quesada, E. (2006) Exopolysaccharides produced by the recently described halophilic bacteria *Halomonas ventosae* and *Halomonas anticariensis*. Res. Microbiol. 157, 827-835
47. Kolb, S., Otte, H., Nagel, B. and Schink, B. (1992) Energy conservation in malolactic fermentation by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus sake*. Arch. Microbiol., 157, 457-463
48. Pozo-Bayon, M.A., G-Alegria, E., Polo, M.C., Tenorio, C., Martin-Alvarez, P.J., Calvo de la Banda, M.T., Ruiz-Larrea, F. and Moreno-Arribas, M.V. (2005) Wine volatile and amino acid composition after malolactic fermentation: effect of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* starter cultures. J. Agric. Food Chem., 53, 8729-8735

(접수 2008년 2월 22일, 채택 2008년 5월 23일)