

## 천년초 발효물의 라디칼 소거능

†김 주 성  
한국식품연구원

### Radical-Scavenging Activities of Fermented Cactus Cladodes (*Opuntia humifusa* Raf.)

†Joo-Sung Kim

Korea Food Research Institute, Seongnam 13539, Korea

#### Abstract

The aim of this work was to select suitable fermentation treatments for the efficient bioconversion of cactus (*Opuntia humifusa* Raf.) bioactive components with an improved radical scavenging activity for use as a nutraceutical. To obtain microorganisms for the microbial conversion of cactus, *Leuconostoc mesenteroides* ATCC8294, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, *Lactobacillus plantarum* KERI 236 and *Monascus pilosus* KCCM 60029 (ATCC 22080) were used for fermentation. Fermentation by *Lac. plantarum* KCTC 3099 was the most effective at scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) and 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radicals and reducing iron (III). In particular, uronic acid levels showed a remarkable increase in fermentation. The polyphenol and quercetin content of the fermented cactus showed large increases from 108.65 µg/mL and 2.71 µg/mL to 227.83 µg/mL and 9.73 µg/mL, respectively, showing a maximum level at 36 h of fermentation with *Lac. plantarum* KCTC 3099. Thus, cactus fermentation with *Lac. plantarum* is an useful process for the enhancement of antioxidant contents and activity of fresh cactus.

Key words: cactus cladodes (*Opuntia humifusa* Raf.), *Lactobacillus*, ABTS, DPPH

#### 서 론

선인장은 건조한 기후에 적응력이 뛰어난 식물로 예로부터 그 기능성을 인정받아 왔는데, 그 중에서도 *Opuntia* 속은 멕시코에서는 민간요법으로 사용되어 왔으며, 북아메리카의 병원 및 의료기관에서 임상적으로 활용되고 있다(Meckes-Lozoya & Ibáñez-Camacho 1989).

*Opuntia* 속 선인장 중 우리나라에서 일반적으로 알려진 것은 손바닥선인장(*Opuntia ficus-indica*)과 천년초선인장(*Opuntia humifusa*)이 있다. 전자는 우리나라의 제주도와 남해안 등지에서 자생하고 있는 귀화식물로 '백년초'라는 이름으로 널리 알려져 있으며, 후자는 한반도 중부지방에서 자생하며, 겨울에도 생존하는 다년생 선인장이다(Yoon & Son 2009). 천년초(Lee 등 2005a)는 충남지역에서 증소단위로 생산되고 있는 선

인장류로서, 길고 굵은 가시가 많고, 높이 약 1~2 m까지 자라는 제주도의 백년초(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*)(Lee 등 2005b)와 달리 솜털 가시를 가지며, 토양에서 약 30 cm 정도로 자라는 특성이 있다. 천년초는 여름에는 수분이 풍부한 지역에서 성장 번식하고, 휴면기인 겨울에는 비닐하우스가 없는 노지에서도 생존하며, 병충해에도 강한 특징을 갖는다고 알려져 있다.

천년초는 페놀성 물질과 플라보노이드, 식이섬유, 비타민 C, 칼슘, 무기질 및 아미노산, 복합 다당류 등과 인체에 중요한 각종 영양성분을 함유하고 있으며(Cho 등 2009), 그 중에서도 식이섬유소와 칼슘은 다른 식물에 비해 다량 함유되어 있다(Yoon 등 2009; Choi JH 2010; Lee & Lee 2010).

천년초의 유용생리활성 성분을 활용하는 방법으로 천연물 발효공정이 효과적일 수 있으며, 발효공정은 천연물의 생리

† Corresponding author: Joo-Sung Kim, Korea Food Research Institute, Seongnam 13539, Korea. Tel: +82-31-780-9266, Fax: +82-31-709-9876, E-mail: jskim@kfri.re.kr

활성을 극대화시킬 수 있는 공정으로 많이 알려져 있다(Kong 등 2008). 발효공정은 최종 대사산물의 성분의 변환 혹은 천연물의 생리활성 효과를 극대화시킬 수 있고, 천연물과 미생물 상호 간의 상승효과에 의한 생리활성 효능이 증가될 수 있다(Jeon 등 2005). 발효공정에서 주로 사용되는 유산균은 항산화 효능, 면역 증진 및 항암효과 등의 다양한 예방 효능을 가지고 있다고 보고되었으며(Sekine 등 1985; Kim & Ham 2003), 발효공정과 에탄올-열수추출의 병행 추출은 미생물에 의한 대사활동을 통해 기존의 천연물이 가지고 있는 유효성분 및 생리활성물질의 수율을 극대화시킬 수 있으며, 새롭게 생성되는 물질을 기대할 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 발효를 이용하여 라디칼 소거능 증진 목적으로 제조한 천년초 발효물 제조에 적합 균주 선정에 위해 성분 변화, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정하였으며 이를 기반으로 발효물 생산에 적합한 균주선별 및 발효 특성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용한 천년초는 2013년 가을에 수확한 천년초 열매(*Cheonmyuncho* fruit, CF)를 네오크레마(Neo Crema Co. Ltd., Sungnam, Korea)에서 제공받았으며, 개별 포장하여  $-18^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하면서 사용하였다. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate), ABTS[2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], Folin-Ciocalteu's reagent는 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입 사용하였으며, 그 외의 분석에는 일급 이상의 시약을 사용하였다.

### 2. Starter 제조 및 젖산 발효

*Leuconostoc mesenteroides* ATCC8294, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, *Lactobacillus plantarum* KERI 236 및 *Monascus pilosus* KCCM 60029(ATCC 22080)는 공시균주를 분양받아 실험에 사용하였다. *Leu. mesenteroides*, *Lac. plantarum*을 Difco™ Lactobacilli MRS agar(Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지에 도말하여  $30^{\circ}\text{C}$  항온배양기(IS-971R, Jeio Tech., Gimpo, Korea)에서 24시간 배양한 뒤, 균주의 단일 콜로니를 취하여 2회 계대 배양을 시행하였다. 이때 MRS broth를 사용하여  $30^{\circ}\text{C}$  항온배양기에서 24시간 배양한 starter를 사용하였다. *M. pilosus*는 PDB(potato dextrose broth, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 배지를 사용하여  $30^{\circ}\text{C}$  항온배양기에서 3일간 배양한 starter를 사용하였다.

천년초(100 g)는 500 mL의 물을 가하여 가정용 믹서로 마쇄하였으며, 마쇄물을 100 mL씩 나누어 실험에 사용하였다. 마쇄물은  $121^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 살균한 후 *Leu. mesenteroides* 및

*Lac. plantarum* starter를 2% 접종하여  $30^{\circ}\text{C}$  항온배양기에서 배양하였으며, *M. pilosus* starter를 2% 접종하여  $25^{\circ}\text{C}$  항온배양기에서 배양하여 천년초 발효물을 제조하였다.

### 3. Jar fermenter를 이용한 천년초 발효물의 대량조제

*Lac. plantarum* KCTC 3099에 의한 천년초 발효물 대량조제를 위해 8 L fermenter(Fermentec, Cheongwon, Korea)에서 scale-up을 실시하였다. 1 kg의 천년초에 5 L 물을 가하여 마쇄한 후  $121^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 살균한 후 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099를 2% 접종하여  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 50 rpm으로 교반하면서 48시간 배양하였다.

### 4. 발효성분 변화 측정

최적생육온도 및 최적생육 pH에서의 균사체 배양에 따른 당의 경시적인 변화는 phenol-sulfuric acid법(Dubois 등 1956)을 이용하여 490 nm에서 흡광도(UV-2450, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 측정하여 정량하였으며, 표준물질로는 glucose를 사용하였다. 산성당 함량은 m-hydroxydiphenyl법(Blumenkrantz & Asboe-hansen 1973)을 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였으며, 표준물질로는 galacturonic acid를 사용하였다.

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu의 방법을 변형하여 분석하였다(Singleton 등 1999). 시료 1 mL에 2% sodium carbonate 용액 1 mL와 10% Folin-Ciocalteu's reagent 1 mL를 혼합하여 1시간 방치 후 microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

### 5. HPLC를 이용한 flavonoid의 정량

Flavonoid 분석을 위해 50 mL의 천년초 발효물에 200 mL의 methanol을 가하여  $90^{\circ}\text{C}$ , 2시간 환류추출하였으며, 추출액은  $8,000\times\text{g}$ 으로 10분간 원심분리하여 상등액만을 분리한 후 분석시료로 사용하였다. HPLC 분석은 Chen 등(2001)의 방법에 따라 flavonoids 중 quercetin, apigenin, myricetin, taxifolin, isorhamnetin, kampferol을 분석하였다. HPLC 분석은 Agilent 1200 series(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였으며, Phenomenex Luna C18 column(4.6×250 mm, 5  $\mu\text{L}$ ; Phenomenex Inc., Torrance, CA), diode array detector를 사용하여 유속 1.0 mL/min, 주입부피 10  $\mu\text{L}$ 로 분석하였다. 이동상은 3.0% phosphoric acid(A)와 methanol(B)로 0 min, 70% A and 30% B; 40 min, 100% B; 50 min, 70% A and 30% B, gradient 조건으로 분석하였다. Detection wavelength는 365, 325, 280 nm에서 검출하였다. Quercetin, apigenin, myricetin, taxifolin, isorhamnetin, kampferol 표준품으로 사용하여 검량선으로부

터 결과를 얻었다.

## 6. 항산화 활성 측정

천년초 발효물의 항산화 활성을 알아보기 위하여 ABTS, DPPH 자유라디칼 소거 활성 및 ferric reducing ability of plasma (FRAP) 활성을 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 Quang 등(2003)의 방법을 변형하여 시료 0.2 mL에 ethanol을 사용하여 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL를 첨가하여 혼합한 뒤 10분 동안 반응시킨 후 microplate reader(Molecular Devices)를 사용하여 517 nm에서 흡광도의 값을 측정하였다. 다음 식에 의하여 DPPH free radical 소거능을 나타내었다.

$$\text{소거능(\%)} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

A: 흡광도

또한, 라디칼을 50% 저하시키는 농도를 half maximal inhibitory concentration(IC<sub>50</sub>) 값으로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능 측정은 Wang & Xiong(2005)의 방법으로 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate 용액을 빛을 차단한 상태로 16시간 동안 상온에서 반응시켜 ABTS 양이온을 형성시킨 후 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 에탄올을 사용하여 조절하여 시료 10 µL에 첨가하고, 6분 동안 반응시켜 microplate reader(Molecular Devices)를 사용하여 750 nm에서 흡광도의 값을 측정하였다. 항산화 활성은 시료를 녹인 용매인 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 대조군으로 사용하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

FRAP 활성은 Benzie & Strain(1996) 방법으로 측정하였다. 즉, FRAP reagent 0.9 mL에 시료 0.05 mL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. FRAP reagent는 25 mL acetate buffer(300 mM, pH 3.6)를 37°C에서 가온한 후, 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ(2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine, Sigma-Aldrich) 2.5 mL와 20 mM ferric sulfate(FeSO<sub>4</sub>) 2.5 mL를 가하여 제조하였다. 환원력은 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O를 표준용액으로 사용하여 검량곡선을 작성 후 환산하여 계산하였다.

## 7. 통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복적으로 측정하여 SPSS(Statistical Package for the Social Sciences) Statistics 20 (Version 20, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균과 표준편차(mean±SD)를 구하였으며, 각 집단 간 평균치 차이를 검증하기 위하여 Tukey's test를 적용하였다. 결과에 대한 검증은  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

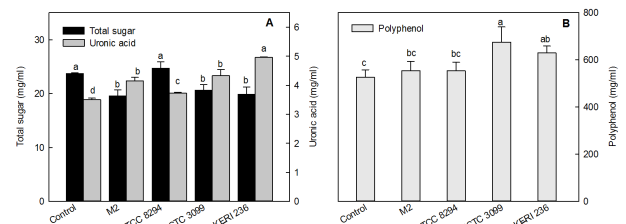
## 결과 및 고찰

### 1. 천년초 발효물의 성분 변화

천년초 발효물 제조에 적합한 유산균주를 선정하기 위해 *Leuconostoc mesenteroides* ATCC8294, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, *Lactobacillus plantarum* KERI 236 및 *Monascus pilosus* KCCM 60029(ATCC 22080)에 의한 발효물의 성분 변화를 측정하였다. 천년초 발효물의 환원당 및 총당 함량을 측정된 결과(Fig. 1A), 총당(total sugar) 함량은 *Leu. mesenteroides* ATCC8294 발효물이 가장 높은 함량을 보였으나, 발효 전 천년초 추출물(control)과 유사한 함량을 보였다. 산성당(uronic acid) 함량은 *Lac. plantarum* KERI 236 발효물이 4.96 mg/mL 함량으로 다른 발효물에 비하여 높은 함량을 보였다. 특히 M2 천년초 발효물(*Monascus pilosus* KCCM 60029 천년초 발효물)은 선행연구(Choi 등 2014) *Cordyceps sinensis*, *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, *Inonotus obliquus*, *Grifola frondosa* 천년초 발효물에 비하여 높은 산성당 함량을 보였던 발효물이었으나, 유산균 발효물과 비교 시 낮은 산성당 함량을 보였다.

다당류를 포함하는 탄수화물은 지금까지 식물체의 구조 성분 및 에너지원으로써의 역할만이 강조되어 왔으나, 최근 세포 표면의 당단백질이나 당지질에 결합해 있는 당쇄(sugar chain)가 세포 간의 인식과 접착을 통해서 세포의 분화, 정보 전달, 감염 및 암전이 등의 약리적인 효능을 갖는 것으로 알려져 있다(Kim 등 2015). 산성다당은 galacturonic acid, glucuronic acid 및 mannuronic acid가 결합된 분자량이 15,000 Da 이상의 다당체이며, 중성다당체에 비해 면역체계에 미치는 영향이 크다(Srivastava & Kulshreshtha 1989).

식물의 폴리페놀성 화합물들은 단순한 phenol류, phenolic acid, phenylpropanoid류 및 flavonoid류 등이 대부분으로서, 항균, 항알러지, 항산화, 항암, 충치 예방, 심장질환 및 당뇨병 예

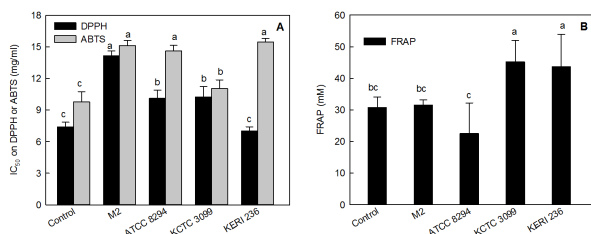


**Fig. 1. (A) Total sugar and uronic acid and (B) polyphenol contents in fermented cactus.** Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ . Values are mean±S.D. (n=3). Control: extract from non-fermented cactus, M2: *Monascus pilosus* KCCM 60029, ATCC 8294: *Leuconostoc mesenteroides* ATCC8294, KCTC 3099: *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, KERI 236: *Lactobacillus plantarum* KERI 236.

방 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(Azuma 등 1999), 페놀성 항산화제들은 연쇄반응에서 알킬 라디칼이나 알킬퍼옥시 라디칼에 수소를 공여하여 그 라디칼을 제거함으로써 산화를 억제하는 작용을 가진 물질로 알려져 있다(Labuza & Dugan 1971). 천년초 발효물 중의 폴리페놀 함량은 *Lac. plantarum* KCTC 3099, *Lac. plantarum* KERI 236 발효물이 다른 발효물에 비해 높은 함량을 보였고, 특히 M2 발효물보다 높은 함량을 보였다(Fig. 1B).

## 2. 천년초 발효물의 항산화 활성

천년초 발효물의 성분 변화를 확인한 후 항산화 활성을 측정하였다. 하나의 항산화 활성 측정 방법으로 모든 라디칼의 생성 원인이나 복잡한 생물계에서의 항산화 활성을 설명할 수 없기 때문에 본 연구에서는 ABTS radical과 DPPH radical scavenging activity, FRAP assay 등을 이용하여 각 발효물에 대한 항산화 활성을 측정하였다(Fig. 2). DPPH, ABTS 라디칼을 50% 저하시키는 IC<sub>50</sub>을 측정할 결과(Fig. 2A), *Lac. plantarum* KCTC 3099 발효물이 발효물중 가장 낮은 수치를 보였다. 반면, FRAP 활성의 결과에서는 *Lac. plantarum* KCTC 3099 및 *Lac. plantarum* KERI 236 발효물이 가장 높은 활성을 보였다.



**Fig. 2. (A) Scavenging activity of DPPH and ABTS radicals, and (B) Ferric reducing ability of plasma in fermented cactus.** Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ . Values are mean  $\pm$  S.D. (n=3). Control: extract from non-fermented cactus, M2: *Monascus pilosus* KCCM 60029, ATCC 8294: *Leuconostoc mesenteroides* ATCC8294, KCTC 3099: *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, KERI 236: *Lactobacillus plantarum* KERI 236.

이상의 결과에 의하면 *Lac. plantarum*에 의한 발효과정을 통해 천년초의 항산화 활성 향상은 폴리페놀 함량의 증가에 의한 결과로 생각되고 있다. 증가된 항산화 활성은 각 폴리페놀의 화학적 구조, 금속 킬레이트에 대한 활성 등이 관여한 결과로 생각되고 있다(Record & Lane 2001).

## 3. 천년초 발효물의 quercetin, quercitrin 함량

Table 1은 천년초 발효물의 flavonol인 quercetin, quercitrin의 함량 측정 결과이다. 발효 전 천년초 추출물(Control)의 quercitrin, quercetin의 함량은 각각 7.89, 3.01  $\mu$ g/mL 함량을 보인 반면, 발효물은 quercitrin 함량이 2.01~5.33  $\mu$ g/mL, quercetin의 함량은 7.11~10.12  $\mu$ g/mL의 함량을 보였다. 발효과정을 통해 quercitrin (flavonoid glycoside)의 함량은 감소하고, 그 분해산물인 quercetin(flavonoid)의 함량은 증가하는 경향을 보였다. Moussa-Ayoub 등(2011)은 손바닥 선인장의 열매를 시판 cellulase와 pectinase로 처리하여 flavonol glycoside의 가수분해를 통한 flavonoid의 함량증가를 보고했는데, 본 연구결과에서도 이와 같이 발효에 관여하는 다양한 효소의 작용을 통해 quercitrin이 분해되어 quercetin으로 전환되었을 것으로 사료되었다. 따라서 *Lac. plantarum*의 glucosidase 효소활성에 의해 quercitrin이 quercetin으로 전환된 듯하다.

천년초에는 플라보노이드 계열의 isorhamnetin, kaempferol, quercetin, taxifolin 등이 존재하며(Kim & Park 2009), 특히 천년초에서 분리한 taxifolin이  $\alpha$ -tocopherol보다 항산화능이 더 우수하다고 보고되었다(Lee & Lee 2010). 그러나 발효 전 추출물이나 발효 추출물에서 Taxifolin과 isorhamnetin은 측정되지 않았다.

## 4. Jar fermenter을 이용한 천년초 발효물의 대량조제

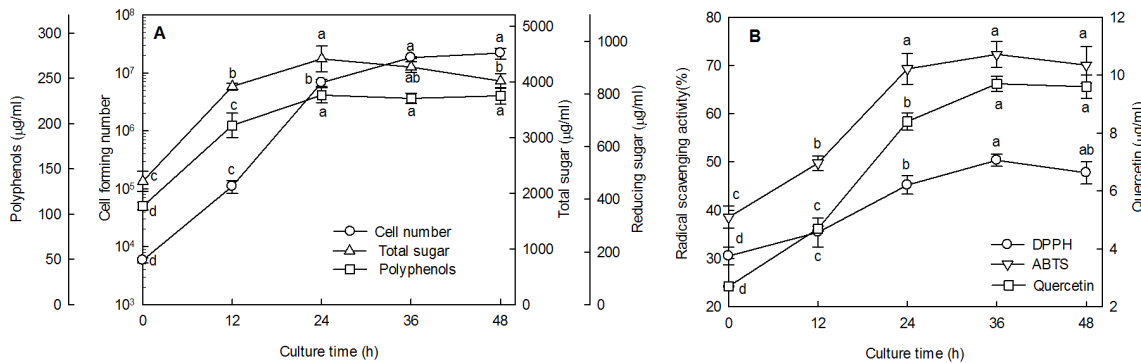
지금까지의 항산화 활성 결과를 토대로, 천년초 발효물 제조에 가장 적합한 균주로 사료되는 *Lac. plantarum* KCTC 3099에 의한 발효물 생산을 위해 8 L jar fermenter에서 scale-up을 진행하였다. 8 L jar fermenter에서 천년초 발효물을 제조하는 동안의 성분의 변화를 측정할 결과(Fig. 3), 총당(total sugar)과 폴리페놀 함량의 발효시간에 따른 변화는 서로 유사한 경향

**Table 1. Quercitrin and quercetin contents of fermented cactus**

Flavonol ( $\mu$ g/mL)	Control	M2	ATCC 8294	KCTC 3099	KERI 236
Quercitrin	7.89 $\pm$ 0.12 <sup>a1)</sup>	3.01 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	5.33 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	2.01 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	2.31 $\pm$ 0.33 <sup>d</sup>
Quercetin	3.01 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>	7.11 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	8.90 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>	10.12 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	9.06 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Values with different letters in the same row indicate significant differences at  $P < 0.05$ . Values are mean  $\pm$  S.D. (n=3).

Control: extract from non-fermented cactus, M2: *Monascus pilosus* KCCM 60029, ATCC 8294: *Leuconostoc mesenteroides* ATCC8294, KCTC 3099: *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, KERI 236: *Lactobacillus plantarum* KERI 236.



**Fig. 3. (A) Changes of total sugar, polyphenols and cell numbers and (B) radical-scavenging activities and quercetin content during fermentation periods of cactus fermented with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099.** Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$ . Values are mean  $\pm$  S.D. (n=3).

을 나타내었는데, 발효 시작 후부터 24시간까지는 유의적으로 증가하다가 24시간 이후에는 더 이상 증가되지 않고 함량이 유지되는 결과를 보였다(Fig. 3A). 균체 증식량 역시 24시간까지 급격히 증가하다가 그 이후에는 서서히 증가하는 경향을 보였다. 또한 발효시간에 따른 라디칼 소거능과 quercetin 변화를 측정된 결과(Fig. 3B), quercetin 함량변화는 36시간까지 증가하다가 그 이후 약간 감소하였으며, DPPH, ABTS 라디칼 소거능은 quercetin 함량 변화와 유사한 경향을 보였다. 따라서 *Lac. plantarum* KCTC 3099에 의한 천연초 발효물을 제조하기 위해서는 36시간이 가장 적합한 듯하다. 천연초 발효물은 기존의 천연초와는 달리 항산화 활성이 증진되는 효과를 기대할 수 있으며, 이는 발효과정 중에 생성된 폴리페놀에 기인된 듯 하며, 폴리페놀 성분 중 quercetin 증가가 커다란 영향을 미친 듯하다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 발효를 이용하여 라디칼 소거능 증진 목적으로 제조한 천연초 발효물 제조에 적합 균주 선정을 위해 성분 변화, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정하였으며, 이를 기반으로 발효물 생산에 적합한 균주선별 및 발효 특성을 측정하였다. 천연초 발효물 제조에 적합한 유산균주를 선정하기 위해 *Leu. mesenteroides* ATCC8294, *Lac. plantarum* KCTC 3099, *Lac. plantarum* KERI 236 및 *Mona. pilosus* KCCM 60029(ATCC 22080)에 의한 발효물의 성분 변화를 측정하였다. 천연초 발효물의 총당(total sugar) 함량은 *Leu. mesenteroides* ATCC8294 발효물이 가장 높은 함량을 보였으며, 산성당(uronic acid) 함량은 *Lac. plantarum* KERI 236 발효물이 4.96 mg/mL로 높은 함량을 보였다. 폴리페놀 함량은 *Lac. plantarum* KCTC 3099, *Lac. plantarum* KERI 236 발효물이 다른 발효물에 비해

높은 함량을 보였다. *Lac. plantarum* KCTC 3099 발효물이 DPPH, ABTS 라디칼에 대한 가장 낮은 IC<sub>50</sub>값을 보였다. FRAP 값은 *Lac. plantarum* KCTC 3099, *Lac. plantarum* KERI 236 발효물이 가장 높은 활성을 보였다. 발효물은 quercitrin 함량이 2.01~5.33 µg/mL, quercetin의 함량은 7.11~10.12 µg/mL의 함량을 보였다. 8 L jar fermenter에서 *Lac. plantarum* KCTC 3099에 의한 천연초 발효물을 제조하는 동안의 총당(total sugar)와 폴리페놀 함량의 변화는 유사한 경향을 보였으며, 균의 증식량 역시 24시간까지 급격히 증가하다가 그 이후에는 서서히 증가하는 경향을 보였다. Quercetin 함량변화는 36시간까지 증가하다가 그 이후 약간 감소하였으며, DPPH, ABTS 라디칼 소거능은 quercetin 함량 변화와 유사한 경향을 보였다. 이러한 결과를 통해 *Lac. plantarum* KCTC 3099에 의한 천연초 발효물은 기존 천연초보다 높은 항산화 활성을 보였으므로 항산화 활성이 강화된 기능성 식품 소재로서의 이용이 가능할 것이며, 천연초에 새로운 부가가치를 창출할 수 있을 것으로 기대된다.

## References

- Azuma K, Nakayama M, Koshioka M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamauchi Y, Ito H, Higashio H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J Agric Food Chem* 47:3963-3966
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76
- Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem* 54: 484-489

- Chen H, Zuo Y, Deng Y. 2001. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 913:387-395
- Cho IK, Jin SW, Kim YD. 2009. Analysis of components in the parts of *Opuntia ficus indica* from Shinan Korea. *Korean J Food Preserv* 16:742-746
- Choi HS, Kim JH, Park YE, Ra KS, Imm JY, Suh HJ. 2014. Radical-scavenging activities of cactus cladodes (*Opuntia humifusa* Raf.) in a submerged culture. *J Food Biochem* 38:491-497
- Choi JH. 2010. Structural analysis and immuno-stimulating characteristics of *Opuntia humifusa*. MS Thesis, Kyonggi Univ. Seoul. Korea
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28:350-356
- Jeon BS, Park JW, Kim BK, Kim HK, Jung TS, Hahm JR, Kim DR, Cho YS, Cha JY. 2005. Fermented mushroom milk-supplemented dietary fiber prevents the onset of obesity and hypertriglyceridemia in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Diabetes Obes Metab* 7:709-715
- Kim DS, Hurh BS, Shin KS. 2015. Chemical characteristics and immuno-stimulatory activity of polysaccharides from fermented vinegars manufactured with different raw materials. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:191-199
- Kim H, Park SH. 2009. Metabolic profiling and discrimination of two cacti cultivated in Korea using HPLC-ESI-MS and multivariate statistical analysis. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 52:346-352
- Kim HS, Ham JS. 2003. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23:186-192
- Kong BM, Park MJ, Min JW, Kim HB, Kim SH, Kim SY, Yang DC. 2008. Physico-chemical characteristics of white, fermented and red ginseng extracts. *J Ginseng Res* 32:238-243
- Labuza TP, Dugan LR. 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2:355-405
- Lee KS, Lee KY. 2010. Biological activity of phenol compound from a cactus *cheonnyuncho* (*Opuntia humifusa*) in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:1132-1136
- Lee KS, Oh CS, Lee KY. 2005a. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus *Cheonnyuncho* (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Sci Technol* 37:474-478
- Lee YC, Pyo YH, Ahn CK, Kim SH. 2005b. Food functionality of *Opuntia ficus-indica* var. cultivated in Jeju Island. *J Food Sci Nutr* 10:103-110
- Meckes-Lozoya M, Ibáñez-Camacho R. 1989. Hypoglycaemic activity of *Opuntia streptacantha* throughout its annual cycle. *Am J Chin Med* 17:221-224
- Moussa-Ayoub TE, El-Samahy SK, Kroh LW, Rohn S. 2011. Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulase preparation. *Food Chem* 124:1177-1184
- Quang DN, Hashimoto T, Nukada M, Yamamoto I, Tanaka M, Asakawa Y. 2003. Antioxidant activity of curtisians I-L from the inedible mushroom *Paxillus curtisii*. *Planta Med* 69:1063-1066
- Record IR, Lane JM. 2001. Simulated intestinal digestion of green and black teas. *Food Chem* 73:481-486
- Sekine K, Toida T, Saito M, Kuboyama M, Kawashima T, Hashimoto Y. 1985. A new morphologically characterized cell wall preparation (whole peptidoglycan) from *Bifidobacterium infantis* with a higher efficacy on the regression of an established tumor in mice. *Cancer Res* 45:1300-1307
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152-178
- Srivastava R, Kulshreshtha DK. 1989. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry* 28:2877-2883
- Wang LL, Xiong YL. 2005. Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability. *J Agric Food Chem* 53:9186-9192
- Yoon JA, Hahm SW, Park JE, Son YS. 2009. Total polyphenol and flavonoid of fruit extract of *Opuntia humifusa* and its inhibitory effect on the growth of MCF-7 human breast cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:1679-1684
- Yoon JA, Son YS. 2009. Effects of fruits and stems of *Opuntia ficus-indica* on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:146-153

---

Received 28 March, 2016

Revised 4 April, 2016

Accepted 12 April, 2016