

Lactobacillus plantarum MKHA15와 *Leuconostoc mesenteroides* MKSR을 첨가한 발효 채소 주스의 특성

장현아 · 김미숙[†]
단국대학교 식품영양학과

Characteristics of Vegetable Juice Fermented with *Lactobacillus plantarum* MKHA15 and *Leuconostoc mesenteroides* MKSR

Hyunah Jang · Misook Kim[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

ABSTRACT

The objective of this study was to develop fermented vegetable juices that possess antidiabetic and antioxidant activities. *Lactobacillus plantarum* MKHA15 (MKHA15) and *Leuconostoc mesenteroides* MKSR (MKSR) were applied to ferment onion, cabbage, and tomato juices at 37°C and 30°C for 72 h, respectively, and their functionality was tested using the 12 h hour-fermented juice by MKHA15, and 48 h hour-fermented juice by MKSR. Inhibition of α -glucosidase activity was observed in all fermented juices. The onion juice fermented by MKHA15 showed significantly higher α -glucosidase inhibition activity compared to other juices. All juices showed more than 70% inhibition of α -amylase activity. The DPPH radical scavenging activity of onion juice fermented by MKSR showed significantly lower activity than cabbage and tomato juices; however, no difference was observed between the types of starter cultures. The SOD-like activity of cabbage juice fermented by MKSR was the highest among the fermented juices. The juices fermented by MKHA15 showed higher reducing power than those by MKSR. Therefore, we believe that cabbage, onion and tomato juice fermented by MKHA15 and MKSR would be useful in probiotic juices, as they possess antidiabetic and antioxidant activities.

Key words : onion, cabbage, tomato, fermented juice, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*

This research was supported by The Korean Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, and Forestry (IPET, 119019-02-1-HD020).

접수일 : 2019년 9월 16일, 수정일 : 2019년 10월 14일,

채택일 : 2019년 10월 23일

[†] Corresponding author : Misook Kim, Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, 119 Dandae-ro, Dongnam-gu, Cheonan 31116, Korea

Tel : 82-41-550-3494, Fax : 82-50-7085-7919

E-mail : mkim5@dankook.ac.kr

ORCID : <https://orcid.org/0000-0002-9091-8776>

서론

농업기술실용화재단의 ‘발효 음료’ 관련 산업 동향 보고서에 따르면 최근 건강에 대한 소비자들의 관심이 증대되면서 ‘발효 음료’에 대한 수요가 늘어나고 있으며, 새로운 형태의 제품들이 다수 등장하고 있다. 또한 ‘발효 음료’의 시장 규모는 전체 음료 시장의

40.6%를 차지하며, 2011년 기준 약 1조 6,163억 원에 달해 전망이 매우 밝다. 우리나라의 기능성 음료 시장은 2015년 1조 9,500억 원에서 2016년 2조 1,000억 원으로 기능성 음료 시장 규모가 지속적으로 확대되고 있다(Choi 등 2017). 더불어 현대인들의 식생활 변화와 생활 양식의 변화, 질병 형태의 다양화 등 여러 사회적 여건이 변화하고 있으며, 이에 따라 유산균 시장이 확대되고 건강을 강조한 기능성 음료 소비가 점차적으로 증가하고 있는 추세이다(Lee 등 2017). 특히, 암이나 심혈관계 질환, 다양한 질병에 대한 예방과 관련있는 과일과 채소에 대한 소비는 증가하고 있으며(Kusznierewicz 등 2008), 당뇨병 예방, 위·장 기능 개선 등 건강 강화 성분을 첨가한 리뉴얼 음료 출시가 증가하는 등 건강기능음료 시장이 확대되고 있는 추세이다(Choi 등 2017).

양파(*Onion, Allium cepa L.*)는 한국인의 식사에서 식재료 및 조미료로 가장 많이 사용되는 식품 중 하나로, 퀘르세틴(querctetin), 루틴(rutin)과 같은 플라보노이드와 황 화합물인 알릴 프로필 디설파이드(allyl propyl disulfide), 디알릴 디설파이드(diallyl disulfide)와 같은 피토케미컬(phytochemical)이 다량 함유되어 있어 다양한 생리적 기능성을 지니는 것으로 알려져 있다. 또한 양파는 항균 및 항산화 작용, 혈중 지질 개선 효과 및 혈당 저하 효과 등이 보고되어 있다(Jung & Park 2013).

양배추(*Brassica oleracea L.*)는 무기질, 비타민 C, 식이섬유, 특히 피토케미컬이 풍부하여(Yoon 등 2006), 쌀을 주식으로 하는 식생활에서 부족하기 쉬운 리신이 식물성 단백질로 많이 포함되어 있다(Seo 등 2012).

토마토(*Lycopersicon esculentum Mill.*)는 라이코펜(lycopene), 비타민 A 전구체, 비타민 E, 플라보노이드 등 항산화 화합물이 풍부하게 함유되어 있으며(El-Sayed 등 2018), 토마토 주스는 건강 음료 중 하나로 잘 알려져 있다(Kaur 등 2016).

프로바이오틱(probiotics)이란 ‘숙주의 장내 균총 능력을 개선시킴으로써 숙주의 건강에 유익한 효과를

주는 살아있는 미생물’이라 정의하고 있다(Fuller 1989). 젖산균(lactic acid bacteria)은 발효 식품 제조에 사용되는 대표적인 프로바이오틱 균주로 산화 방지, 혈중 콜레스테롤 저하, 항암, 면역체계 증진 등의 건강 증진 효과를 갖는 것으로 보고되어 있고, 다양한 대사산물을 생산하여 향미를 증진시키는 등의 작용을 한다(Heo 등 2016). 또한 probiotic 균주는 정장작용과 유당불내증의 격감 및 식품영양학적 가치의 증진 효과를 가진다(Kim & Yoon 2013). 그중 *Lactobacillus plantarum*은 포도당을 분해하여 젖산을 생성하는 homofermentative 젖산균으로 제품의 pH를 낮추고 풍미를 부여하는 등 긍정적인 역할을 하고 있으며(Cho 등 2007), *Leuconostoc mesenteroides*는 포도당을 분해하여 젖산뿐만 아니라 초산, CO₂ 등을 생성하는 heterofermentative 젖산균으로 유해 미생물을 억제하는 bacteriocin을 생산하는 등 탁월한 항균작용을 가진다(Bourel 등 2003, Kang 등 2012). 이와 관련하여 현재 *Lactobacillus sp.*와 *Leuconostoc sp.* 등을 이용하여 감자(Kim & Yoon 2013), 양배추(Yoon 등 2006), 여주(Park 등 2017) 발효 음료에 대한 연구가 보고된 바 있다.

앞서 언급한 것처럼 미생물이 프로바이오틱으로 유용한 기능을 나타내기 위해서는 섭취한 균이 사람의 소화기관을 통과해 장내에 정착해야 하므로, 젖산균이 프로바이오틱으로 사용되기 위해서는 기본적으로 위산과 담즙산에 대한 안정성이 요구된다(Seo & Lee 2007). 또한 활성산소로부터 자신을 보호할 수 있는 항산화 활성(Shin 등 2017), 그람 음성, 양성 세균을 저해할 수 있는 항균력을 가져야 한다(Jang 등 2013). 본 연구에서 사용한 *Lactobacillus plantarum* MKHA15와 *Leuconostoc mesenteroides*는 김치에서 분리한 젖산균으로 0.1% pepsin solution에서 각각 96%, 98%의, 0.1%, 0.3% bile salt에서 각각 54%, 93%의 생존력으로 내산성, 내담즙성을 가지며, DPPH 라디칼 소거능(MKHA15: 100.53%, MKSR: 82.95%), SOD 유사 활성(MKHA15: 56.62%, MKSR: 29.78%), 환원력(MKHA15: 2.65) 등의 항산화 활성을 갖는 probiotic

균주이다. 또한 *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Klebsiella pneumoniae* 등의 병원성균에 대해 항균력을 가지며, β -glucosidase 활성이 없는 안정성이 확보된 우수한 프로바이오틱 균주이다(Lee & Kim 2019, Kim 등 2019). 특히, MKHA15는 α -amylase 저해 활성 69.68%, α -glucosidase 저해 활성 102.60%로 높은 소화효소 억제 활성을 가지며, MKSR 또한 α -glucosidase 저해 활성 88.51%로 두 균주 모두 섭취한 당질을 포도당으로 전환하는 당질 분해 효소의 작용을 억제하여 체내 혈당 상승을 억제하는 항당뇨 가능성을 가진다(Lee & Kim 2019, Kim 등 2019). 이와 같은 기능이 식품에 적용하였을 때도 유지된다면 프로바이오틱 식품으로 무궁무진한 가능성을 확인할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 항당뇨, 항산화 가능성을 갖는 신규 젖산균주인 *Lac. plantarum* MKHA15와 *Leu. mesenteroides* MKSR로 양과, 양배추, 토마토 발효 주스를 제조하여 발효 특성과 기능을 평가하는 것에 목적을 두었다.

연구방법

1. 실험재료

양과, 양배추, 토마토는 시중에서 구입하여 4°C에 저장하며 실험에 사용하였다. 또한 김치에서 분리한 *Lac. plantarum* MKHA15(KCTC13928BP)와 *Leu. mesenteroides* MKSR(KCTC18665P)을 사용하였고, 실험 전에 MRS(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 배지에 배양하여 사용하였다.

2. 발효 주스 제조

양과, 양배추, 토마토는 흐르는 물에 깨끗이 세척한 후 비가식 부위를 제거하여 사용하였다. 양배추 300 g, 양과 500 g, 토마토 500 g에 각각 증류수 200 mL,

500 mL, 300 mL을 첨가하여 믹서(Juicer mixer-HR 2067, Philips, Brasil)를 사용해 주스를 제조한 후 121°C에서 15분간 멸균하였다. 제조한 주스에 MKHA15와 MKSR 배양액(9 log CFU/mL)을 5%가 되도록 접종하여 shaking incubator를 이용해 MKSR을 접종한 주스는 30°C, MKHA15를 접종한 주스는 37°C에서 100 rpm으로 72시간 동안 진탕 발효하여 주스를 제조하였다.

3. 발효 시간에 따른 특성 변화 측정

양과, 양배추, 토마토 주스를 발효 0, 4, 8, 12, 18, 24, 48, 72시간 마다 채취하여 생존균 수, pH를 측정하였다.

1) 균 수 측정

발효 주스 0.1 mL를 0.1% 펩톤수 0.9 mL에 단계적으로 희석하였다. 희석된 시료액 0.1 mL를 MRS 배지에 도말하고, MKSR을 접종한 시료는 30°C, MKHA15를 접종한 시료는 37°C에서 배양 후 colony를 계수하였다. 이후 MKHA15는 12시간, MKSR은 48시간으로 생존 균 수가 최대가 되는 발효 시간을 결정하여 α -glucosidase 저해 활성, 항산화 실험 등을 수행하였다.

2) pH 측정

채취한 발효 주스 1 mL에 멸균 3차 증류수 9 mL를 첨가하여 10배 희석액을 제조하고, pH meter(Fisher Science Education, Pittsburgh, USA)를 이용하여 측정하였다.

4. 소화 효소 저해 활성 측정

1) α -glucosidase 저해 활성

발효 주스의 α -glucosidase 저해 활성은 Chen 등(2014)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.02M SPB(Sodium Phosphate Buffer, pH 6.8) 50 μ L와 발효 주스 원심분

리(10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 50 μ L, 2 mM pNPG (p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside: Sigma Aldrich Co., LLC., Saint Louis, USA) 200 μ L, α -glucosidase enzyme from *B. stearothermophilus*(Sigma Aldrich Co., LLC., Saint Louis, USA) 50 μ L를 혼합하여 37°C water bath에서 40분간 반응 후, 0.1 M Na₂CO₃ 1.5 mL를 첨가하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로 Acarbose(mg/mL)를 사용하였고, 저해 활성 계산식은 아래와 같다.

$$\alpha\text{-glucosidase inhibition rate (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs blank}}{\text{Abs control}} \right) \right] * 100$$

2) α -amylase 저해 활성 측정

α -amylase 저해 활성은 Dilna 등(2015)의 방법을 변형하여 측정하였다. 발효 주스 원심분리(10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 50 μ L와 0.02 M SPB(pH 7.0) 50 μ L, 1% soluble starch solution 200 μ L, α -amylase enzyme solution(Sigma Aldrich Co., LLC., Saint Louis, USA) 50 μ L를 혼합하여 37°C water bath에서 40분간 반응하였다. 이후 DNS solution 1 mL를 첨가하여 95°C water bath에서 5분간 반응 후 멸균 3차 증류수를 10 mL 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Control은 발효 주스 상등액 대신 SPB를 100 μ L 첨가하고, blank는 α -amylase enzyme solution과 1% starch solution을 넣지 않고 SPB를 300 μ L를 첨가하여 측정하였다. 저해 활성 계산식은 아래와 같다.

$$\alpha\text{-amylase inhibition rate (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs blank}}{\text{Abs control}} \right) \right] * 100$$

5. 항산화 활성 측정

1) DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Lin & Chang(2000)의 방법을

변형하여 측정하였다. 발효 주스 원심분리(10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 100 μ L와 0.2 mM DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl: Sigma Aldrich Co., LLC., Saint Louis, USA) 1.2 mL를 혼합하여 암실에서 30분간 반응한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Control은 발효 주스 상등액 대신 methanol을 100 μ L 첨가하고, blank는 DPPH 대신 methanol을 1.2 mL 첨가하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid(mg/mL)를 사용하였고, 저해 활성 계산식은 아래와 같다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs blank}}{\text{Abs control}} \right) \right] * 100$$

2) SOD 유사 활성

SOD(Superoxide dismutase) 유사 활성은 Marklund & Marklund(1974)의 방법을 변형하여 측정하였다. 발효 주스 원심분리(10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 100 μ L와 0.05 M Tris-HCl buffer 1.5 mL, 7.2 mM Pyrogallol 100 μ L를 혼합하여 10분간 실온에 방치 후 1 N HCl 200 μ L를 첨가하여 반응을 정지시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Control은 발효 주스 상등액을 넣지 않고 0.05 M Tris-HCl buffer 1.6 mL를 첨가하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid(mg/mL)를 사용하였고, SOD 유사 활성 계산식은 아래와 같다.

$$\text{SOD like activity (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \right) * 100 \right]$$

3) 환원력

환원력은 Lin & Yen(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 발효 주스 원심분리(10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 250 μ L와 0.2 M SPB(pH 6.6) 250 μ L, 1% potassium ferricyanide 250 μ L를 혼합하여 50°C water

bath에서 20분간 반응하였다. 반응 후 10% trichloroacetic acid 250 μ L를 첨가하여 10,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상등액 500 μ L를 채취하여 멸균 3차 증류수 500 μ L와 0.1% ferric chloride 100 μ L를 넣고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Control은 발효 주스 상등액을 넣지 않고 0.2 M SPB를 500 μ L 첨가하여 측정하였고, 양성 대조군으로는 ascorbic acid (mg/mL)를 사용하였다. 환원력은 700 nm에서의 흡광도 값으로 나타냈다.

6. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis'법을 이용하여 측정하였다(Teresa 등 1995). 발효 주스 원심분리 (10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 100 μ L와 folin-ciocalteu 500 μ L, 7.5% Na₂CO₃ 400 μ L를 혼합하여 실온에서 60분간 반응한 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank는 folin-ciocalteu를 넣지 않고 7.5% Na₂CO₃

900 μ L를 첨가하여 측정하였고, 표준 물질로 갈산 (gallic acid)을 사용하여 검량선($y=5.8157x-0.2114$, $R^2=0.9806$)을 작성하였으며, 시료 1 mL 당 gallic acid의 mg 함량으로 나타냈다.

7. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Mello 등(2010)의 방법을 변형하여 측정하였다. 발효 주스 원심분리(10,000 rpm, 20분, 4°C) 상등액 250 μ L와 ethanol 750 μ L, 10% aluminum 50 μ L, 1 M potassium acetate 50 μ L, 멸균 3차 증류수 1.4 mL를 혼합하여 실온에서 40분간 방치 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 물질로는 quercetin을 이용하여 검량선($y=5.886x-0.0191$, $R^2=0.9988$)을 작성하였으며, 시료 1 mL당 퀘르세틴의 mg 함량으로 나타냈다.

Table 1. Viable cell counts and pH values during fermentation of onion, cabbage and tomato juice by lactic acid bacteria.

Vegetable	Starter	0 h	4 h	8 h	12 h	18 h	24 h	48 h	72 h
<i>Viable cell counts (log CFU/mL)</i>									
Onion	MKHA15 ¹⁾	8.05±0.11 ^{Aa2)}	8.27±0.14 ^{Aa}	8.59±0.10 ^{Aa}	8.85±0.12 ^{Aa}	8.78±0.24 ^{Aa}	8.91±0.12 ^{Aa}	8.82±0.07 ^{Aa}	8.18±0.52 ^{Aa}
	MKSR ³⁾	8.01±0.24 ^{CDa}	8.26±0.01 ^{BCa}	8.18±0.08 ^{BCb}	8.43±0.04 ^{Bb}	8.40±0.01 ^{Ba}	8.93±0.04 ^{Aa}	8.89±0.15 ^{Aa}	7.81±0.10 ^{Da}
Cabbage	MKHA15	8.20±0.16 ^{Ba}	8.30±0.06 ^{Ba}	8.85±0.03 ^{Aa}	9.17±0.09 ^{Aa}	8.97±0.04 ^{Aa}	8.88±0.10 ^{Aa}	8.95±0.09 ^{Aa}	8.32±0.10 ^{Ba}
	MKSR	8.05±0.11 ^{Ba}	8.41±0.14 ^{ABa}	8.43±0.05 ^{ABb}	8.48±0.09 ^{ABb}	8.68±0.08 ^{ABb}	9.06±0.35 ^{Aa}	9.01±0.28 ^{Aa}	8.00±0.39 ^{Ba}
Tomato	MKHA15	8.19±0.17 ^{Ca}	8.42±0.01 ^{BCa}	8.79±0.07 ^{ABa}	9.05±0.07 ^{Aa}	8.81±0.02 ^{ABa}	8.76±0.21 ^{ABa}	8.81±0.20 ^{ABa}	8.10±0.24 ^{Ca}
	MKSR	8.13±0.30 ^{BCa}	8.18±0.09 ^{BCa}	7.96±0.03 ^{Ca}	8.52±0.02 ^{ABCb}	8.62±0.08 ^{ABCb}	8.80±0.14 ^{ABa}	9.13±0.02 ^{Aa}	8.68±0.52 ^{ABCa}
<i>pH</i>									
Onion	MKHA15	4.72±0.09 ^{Aa}	4.29±0.04 ^{Bb}	3.98±0.06 ^{Ca}	3.82±0.02 ^{Da}	3.66±0.04 ^{Da}	3.29±0.02 ^{Eb}	3.26±0.01 ^{Ea}	2.96±0.04 ^{Fb}
	MKSR	4.55±0.12 ^{Aa}	4.43±0.01 ^{Aa}	4.00±0.01 ^{Ba}	3.78±0.10 ^{BCa}	3.68±0.02 ^{Ca}	3.55±0.04 ^{CDa}	3.20±0.00 ^{DEb}	3.35±0.01 ^{Ea}
Cabbage	MKHA15	4.79±0.09 ^{Aa}	4.25±0.01 ^{Bb}	3.95±0.01 ^{Ca}	3.80±0.02 ^{Ca}	3.54±0.06 ^{Da}	3.37±0.02 ^{DEb}	3.29±0.01 ^{Ea}	3.06±0.06 ^{Fa}
	MKSR	4.79±0.07 ^{Aa}	4.44±0.03 ^{Ba}	4.02±0.04 ^{Ca}	3.77±0.01 ^{Da}	3.69±0.01 ^{Da}	3.67±0.06 ^{Da}	3.17±0.06 ^{Ea}	3.31±0.10 ^{Ea}
Tomato	MKHA15	4.19±0.15 ^{Aa}	4.02±0.04 ^{ABb}	3.80±0.01 ^{BCb}	3.65±0.01 ^{Cb}	3.34±0.03 ^{Da}	3.29±0.05 ^{Da}	3.22±0.01 ^{Db}	2.94±0.01 ^{Eb}
	MKSR	4.24±0.13 ^{Aa}	4.29±0.02 ^{Aa}	4.10±0.01 ^{Aa}	3.77±0.02 ^{Ba}	3.59±0.08 ^{BCa}	3.45±0.08 ^{Ca}	3.43±0.06 ^{Ca}	3.14±0.00 ^{Da}

¹⁾ MKHA15: *Lactobacillus plantarum* MKHA15

²⁾ The mean values with different capital letter within the fermentation time indicate significant differences (P<0.05). And the mean values with different small letter within starter indicate significant differences (P<0.05)

³⁾ MKSR: *Leuconostoc mesenteroides* MKSR

8. 통계분석

실험은 2회의 발효를 수행하였으며, 각각의 분석실험은 3회 반복하여 수행한 결과를 평균값과 표준편차로 나타냈으며, 각 실험결과에 대한 통계분석은 Minitab 16(Minitab Inc., State College, Pennsylvania, USA)을 이용하여 실험군 간의 유의성을 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후 $P < 0.05$ 수준에서 Tukey test로 검정하였다.

결 과

1. 발효 시간에 따른 균 수 및 pH 변화

발효 시간에 따른 주스의 균 수는 Table 1과 같다. MKHA15로 발효한 양배추 주스는 발효 12시간에 $9.17 \log \text{CFU/mL}$, 토마토 주스는 발효 12시간에 $9.05 \log \text{CFU/mL}$ 로 최대 균 수에 도달하였고, 발효 72시간에 유의적으로 감소하였다. 양파 주스는 발효 시간에 따른 유의적 차이를 보이지 않았다. MKSR로 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스는 각 $8.89 \log \text{CFU/mL}$, $9.01 \log \text{CFU/mL}$, $9.13 \log \text{CFU/mL}$ 로 발효 48시간까지 증가하다가 발효 72시간에 유의적으로 감소하였다. 따라서 MKHA15의 균 수가 최대가 되는 12시간, MKSR

의 경우 48시간을 적정 발효 시간으로 설정하여 이하 기능성 실험을 수행하였다. Starter에 따라서는 발효 8시간과 12시간에 MKHA15로 발효한 양파 주스에서 MKSR 발효군에 비해 유의적으로 높게 증식하였고, 발효 18시간 이후에는 유의적 차이가 없었다. 양배추 주스 역시 발효 8, 12, 18시간에 MKHA15 발효군이 MKSR 발효군에 비해 유의적으로 높게 증식하였고, 발효 24시간 이후에는 유의적 차이가 없었다. 토마토 주스는 발효 12, 18시간에 MKHA15 발효군이 MKSR 발효군에 비해 유의적으로 높게 증식하였고, 발효 24시간 이후에는 유의적 차이가 없었다.

발효하는 동안 pH 값은 모든 주스에서 감소하였다. Starter에 따른 차이는 양파 주스에서 발효 4, 24, 72시간, 양배추 주스에서 발효 4, 24시간, 토마토 주스는 발효 4, 8, 12, 48, 72시간에 MKHA15 발효군이 MKSR 발효군에 비해 유의적으로 낮은 pH를 나타냈다.

2. 소화효소 저해 활성

MKHA15와 MKSR을 이용하여 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 α -glucosidase 저해 활성 및 α -amylase 저해 활성 실험결과는 Table 2에 나타났다.

α -glucosidase 저해 활성 측정 결과 MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파 주스가 100.01%, 양배추 주스가 98.75%, 토마토 주스가 99.85%로 모든 주스에

Table 2. α -glucosidase inhibition and α -amylase inhibition rate of fermented onion, cabbage and tomato juice.

Vegetable	Starter	α -glucosidase inhibition (%)	α -amylase inhibition (%)
Onion	MKHA15 ¹⁾	100.01±0.28 ^{Aa2)}	74.61±0.84 ^{Aa}
	MKSR ³⁾	99.87±0.04 ^{Aa}	72.17±14.54 ^{Aa}
Cabbage	MKHA15	98.75±0.33 ^{Ba}	72.17±14.54 ^{Aa}
	MKSR	99.98±1.16 ^{Aa}	71.62±1.43 ^{Aa}
Tomato	MKHA15	99.85±0.19 ^{ABa}	69.74±1.79 ^{Aa}
	MKSR	100.43±0.33 ^{Aa}	74.04±0.17 ^{Aa}

¹⁾ MKHA15: *Lactobacillus plantarum* MKHA15

²⁾ The mean values with different capital letter within the fermentation time indicate significant differences ($P < 0.05$). And the mean values with different small letter within starter indicate significant differences ($P < 0.05$)

³⁾ MKSR: *Leuconostoc mesenteroides* MKSR

서 100%에 가까운 높은 저해 활성을 나타냈다. 그중 MKHA15를 이용해 발효한 양파 주스가 양배추 주스에 비해 유의적으로 높은 α-glucosidase 저해 활성을 나타내었다. 또한 MKSR를 이용해 48시간 발효한 양파 주스가 99.87%, 양배추 주스가 99.98%, 토마토 주스가 100.43%로 모든 주스에서 100%에 가까운 높은 저해 활성을 가지며, 세 시료 간의 유의적 차이는 없었다. 또한 MKHA15와 MKSR로 제조한 각 주스 간의 유의적 차이는 나타나지 않았다.

α-amylase 저해 활성 측정 결과 MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파 주스가 74.61%, 양배추 주스가 72.17%, 토마토 주스가 69.74%로 모든 주스에서 높은 저해 활성을 나타냈으며, 세 시료 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 MKSR를 이용해 48시간 발효한 양파 주스가 72.17%, 양배추 주스가 71.62%, 토마토 주스가 74.04%로 모든 주스에서 높은 저해 활성을 가졌다. 그러나 원물 재료별, 균주별 유의적 차이는 나타나지 않았다.

3. 항산화 활성

MKHA15와 MKSR을 이용하여 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 항산화 활성 실험결과는 Table 3에 나타냈다.

MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 DPPH 라디칼 소거능은 각 25.41%, 26.02%, 30.70%이고, 세 시료 간의 유의적 차이는 없었다. MKSR을 이용하여 48시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 경우 각 18.05%, 29.49%, 28.28%로 양배추 주스와 토마토 주스가 양파 주스에 비해 유의적으로 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈다. MKHA15와 MKSR로 제조한 각 주스 간의 유의적 차이는 나타나지 않았다.

MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 SOD 유사 활성은 각 17.57%, 27.94%, 10.51%로 세 시료 중 양배추 주스가 유의적으로 가장 높은 활성을 나타냈고, 토마토 주스가 유의적으로 가장 낮은 활성을 나타냈다. MKSR을 이용하여 48시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 경우 각 27.53%, 37.65%, 24.03%로 세 시료 간의 유의적 차이는 없었다. Starter에 따른 차이를 살펴보면, 양파 주스와 토마토 주스에서는 MKHA15 발효균과 MKSR 발효균의 유의적 차이가 없었고, 양배추 주스에서는 MKSR 발효균이 MKHA15 발효균에 비해 유의적으로 높은 SOD 유사 활성을 나타냈다.

MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 환원력은 반응액의 700 nm에서 흡광도로 나타내었으며, 각 1.99, 1.96, 1.59로 세 시료 간

Table 3. Antioxidant activity of fermented onion, cabbage and tomato juice.

Vegetable	Starter	DPPH radical scavenging activity (%)	SOD like activity (%)	Reducing power (Abs at 700 nm)
Onion	MKHA15 ¹⁾	25.41±3.07 ^{Aa2)}	17.57±0.55 ^{Ba}	1.99±0.08 ^{Aa}
	MKSR ³⁾	18.05±1.12 ^{Ba}	27.53±11.08 ^{Aa}	1.12±0.01 ^{Bb}
Cabbage	MKHA15	26.02±1.48 ^{Aa}	27.94±0.62 ^{Ab}	1.96±0.20 ^{Aa}
	MKSR	29.49±0.55 ^{Aa}	37.65±3.04 ^{Aa}	1.73±0.03 ^{Aa}
Tomato	MKHA15	30.70±2.53 ^{Aa}	10.51±0.88 ^{Ca}	1.59±0.001 ^{Aa}
	MKSR	28.28±2.15 ^{Aa}	24.03±6.24 ^{Aa}	1.13±0.03 ^{Bb}
Ascorbic acid (mg/mL)		96.47±0.51	80.49±3.79	2.95±0.27

¹⁾ MKHA15: *Lactobacillus plantarum* MKHA15

²⁾ The mean values with different capital letter within the fermentation time indicate significant differences (P<0.05). And the mean values with different small letter within starter indicate significant differences (P<0.05)

³⁾ MKSR: *Leuconostoc mesenteroides* MKSR

의 유의적 차이는 없었다. MKSR을 이용하여 48시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 경우 각 1.12, 1.73, 1.13으로 양배추 주스가 양파, 토마토 주스에 비해 유의적으로 높은 환원력을 나타냈다. Starter에 따른 차이를 살펴보면, 양배추 주스에서는 MKHA15 발효균과 MKSR 발효균의 유의적 차이가 없었고, 양파 주스와 토마토 주스에서는 MKHA15 발효균이 MKSR 발효균에 비해 유의적으로 높은 환원력을 나타냈다.

4. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

MKHA15와 MKSR을 이용하여 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량 측정 결과는 Table 4에 나타냈다.

MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 총 폴리페놀 함량은 각 0.41 mg GAE/mL, 0.38 mg GAE/mL, 0.35 mg GAE/mL로 세 시료 간의 유의적 차이는 없었다. MKSR을 이용하여 48시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 경우 각 0.29 mg GAE/mL, 0.51 mg GAE/mL, 0.39 mg GAE/mL로 세 시료 간의 유의적 차이는 없었다. 또한 유의적으로 양파 주스는 MKHA15 발효균이 MKSR 발효균에 비해 유의적으로 높은 폴리페놀 함량을 보였으나, 양배추 주스와 토마토 주스는 Starter에 따른 유의적 차이가 없었다.

MKHA15를 이용하여 12시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 총 플라보노이드 함량은 각 0.15 mg quercetin/mL, 0.002 mg quercetin/mL, 0.04 mg quercetin/mL로 발효 양파 주스가 양배추, 토마토 주스에 비해 유의적으로 높은 플라보노이드 함량을 보였다. MKSR을 이용하여 48시간 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 경우 각 0.04 mg quercetin/mL, 0.01 mg quercetin/mL, 0.02 mg quercetin/mL로 세 시료 간의 유의적 차이는 없었다. Starter에 따른 차이를 살펴보면 양파 주스에서 MKHA15 발효균이 MKSR 발효균에 비해 유의적으로 높은 플라보노이드 함량을 나타냈으나, 양배추 주스와 토마토 주스의 경우 MKHA15 발효균과 MKSR 발효균 간의 유의적 차이는 없었다.

고 찰

양파, 양배추, 토마토 즙에 MKHA15와 MKSR을 각각 접종하여 발효 주스를 제조하고 발효 시간에 따라 균 수를 측정한 결과, MKHA15를 이용하여 발효한 양파 주스를 제외하고 모든 발효 주스에서 발효 시간에 따라 균 수가 증가하다가 이후 감소하는 경향을 보였고, pH 또한 모든 발효 주스에서 발효 시간에 따라 유의적으로 감소하였다. 이는 양파, 양배추, 토마토에서 starter인 MKHA15와 MKSR이 성장하였음을

Table 4. Total polyphenol and flavonoid contents of fermented onion, cabbage and tomato juice.

Vegetable	Starter	Total polyphenol contents (mg GAE/mL)	Total flavonoid contents (mg quercetin/mL)
Onion	MKHA15 ¹⁾	0.41±0.03 ^{Aa2)}	0.15±0.01 ^{Aa}
	MKSR ³⁾	0.29±0.02 ^{Ab}	0.04±0.01 ^{Ab}
Cabbage	MKHA15	0.38±0.02 ^{Aa}	0.002±0.003 ^{Ba}
	MKSR	0.51±0.09 ^{Aa}	0.01±0.005 ^{Aa}
Tomato	MKHA15	0.35±0.09 ^{Aa}	0.04±0.02 ^{Ba}
	MKSR	0.39±0.03 ^{Aa}	0.02±0.01 ^{Aa}

¹⁾ MKHA15: *Lactobacillus plantarum* MKHA15

²⁾ The mean values with different capital letter within the fermentation time indicate significant differences ($P < 0.05$). And the mean values with different small letter within starter indicate significant differences ($P < 0.05$)

³⁾ MKSR: *Leuconostoc mesenteroides* MKSR

의미하며, 프로바이오틱 주스 원료로서의 가능성을 나타내는 결과이다. 양파, 양배추, 토마토가 함유하고 있는 자당, 포도당, 과당, 맥아당 등의 다양한 당을 당질원으로 사용하여 starter가 성장하였을 것으로 사료된다(Jeong 등 2006; Seo 등 2012). 균이 성장함에 따라, pH가 유의적으로 감소하는 경향은 MKHA15와 MKSR이 위와 같은 당질원으로부터 젖산 등 다양한 유기산을 생성하였기 때문인 것으로 생각되며, 이는 *Lac. plantarum*을 이용한 발효 비트 주스에서 pH가 발효 전 6.3에서 발효 후 4.1로 감소한 Yoon 등(2005)의 연구, *Leu. mesenteroides*를 이용한 발효 증편에서 젖산 등의 유기산에 의해 pH가 감소한 Oh 등(2018)의 연구와 일치하는 결과이다. 또한 대부분의 발효 주스에서 MKHA15 발효균이 MKSR 발효균에 비해 대체적으로 낮은 pH를 보였는데, 이는 상대적으로 초기에 급격하게 성장한 MKHA15가 유기산을 생산하여 pH를 낮춘 것으로 사료된다. 또한 MKHA15는 homofermentation의 특성을 갖는 *Lactobacillus* 속에 속하며, MKSR은 heterofermentation의 특성을 갖는 *Leuconostoc* 속에 속한다(Cho 등 2007, Bourel 등 2003). 따라서 homofermentation을 통해 MKSR보다 더 많은 양의 젖산을 생산하는 MKHA15 발효균이 대체적으로 MKSR보다 pH가 낮은 것을 알 수 있다. 일반적으로 *Lactobacillus* sp.는 내산성을 가져 pH 4.6~4.8까지 생육이 가능하며, *Leu. mesenteroides*는 *Lac. plantarum*보다 산성 환경에 대한 내성이 약해 pH 5.4~5.7 부근에서 생육이 저하된다(Mcdonald 등 1990). MKHA15를 이용해 발효한 양파 주스의 균 수는 발효 시간에 따라 유의적 차이가 나타나지 않았는데, 이는 균이 성장하며 생성한 유기산으로 인한 pH 저하가 MKHA15의 성장을 억제했을 수 있고, 또는 항균 작용을 가지는 플라보노이드 함량이 가장 높은 균이기 때문에 균의 성장이 억제되었을 수 있다고 사료된다. 이러한 결과는 발효 원물의 종류에 따라서도 변화할 수 있을 것으로 사료된다(Kim 등 2011). 반면, MKHA15를 이용한 발효 양배추, 토마토 주스의 균 수는 8.85~9.17 log CFU/mL로 모두 발효 12시간에서

유의적으로 높았으며, MKSR을 이용한 발효 양파, 양배추, 토마토 주스의 균 수는 8.89~9.13 log CFU/mL로 모두 발효 48시간에 유의적으로 높았다. 데이터를 제시하지는 않았지만 Starter로 사용한 MKHA15와 MKSR을 MRS broth medium에 배양하며 생육 곡선을 비교하였을 때, MKSR보다 MKHA15가 더 빨리 대수기에 도달하였다. 양파, 양배추, 토마토 주스에서도 MKHA15가 더 빨리 대수기에 도달하여 MKHA15는 발효 12시간에, MKSR은 발효 48시간에 최대 균수에 도달하는 차이가 발생한 것으로 사료된다.

식품공전에 따르면 젖산균 수를 10^6 CFU/mL 이상 포함한 경우 발효 음료로 정의하고 있다. 본 연구에서는 MKHA15와 MKSR을 이용해 발효한 모든 양파, 양배추, 토마토 주스의 균 수는 7.81 log CFU/mL 이상으로 프로바이오틱 제품의 starter로서 적합하다고 사료된다.

MKHA15를 접종한 발효 주스의 균 수가 최대가 되는 12시간, MKSR을 접종한 발효 주스의 균 수가 최대가 되는 48시간을 최적 발효 시간으로 선정하여 소화효소 저해 활성, 항산화 활성, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였다.

α -amylase는 체내에서 당질을 올리고당 또는 맥아당 단위로 가수분해하며, 이후 α -glucosidase의 가수분해 작용에 의해 포도당 단위로 분해되어 혈당을 상승시킨다. 따라서 α -amylase와 α -glucosidase 효소에 대한 저해 활성을 가질 경우, 당질의 흡수를 지연시키기 때문에 혈당 감소 효과를 나타내어 항당뇨 효과를 기대할 수 있다(Park 등 2017). MKSR을 이용한 양파, 양배추, 토마토 주스 간 α -glucosidase 저해 활성의 유의적 차이가 없었으며, MKHA15를 이용한 양파 발효 주스가 동일한 starter를 사용한 양배추 주스에 비해 유의적으로 저해 활성이 높았다. 하지만 MKHA15와 MKSR을 이용한 양파, 양배추, 토마토 주스에서 모두 98% 이상의 α -glucosidase 저해 활성을 나타내어 모든 주스에 높은 항당뇨 활성이 있음을 알 수 있었고, 이는 본래 MKHA15와 MKSR이 갖는 α -glucosidase 저해 활성이 주스에서 활발히 증식하며

나타난 것으로 사료된다(Lee & Kim 2019, Kim 등 2019). α -amylase 역시 MKHA15와 MKSR을 이용해 발효한 모든 양파, 양배추, 토마토 주스에서 69.74~74.61%의 저해 활성을 나타내었고, starter 간 그리고 원재료 간의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 역시 KMHA15이 본래 가지는 α -amylase 저해 활성이 주스에서 활발히 증식하며 나타난 것으로 생각된다. 반면, 데이터를 제시하지는 않았지만 합성배지에서 MKSR이 갖는 α -amylase 저해 활성은 0%인 것에 비해 양파, 토마토, 양배추 주스에 적용하여 발효한 후에는 모든 주스에서 71.62~74.04%의 높은 저해 활성을 나타내었다. 이는 starter가 갖고 있지 않은 기능이 발효 후 발현된 것이기 때문에 발효 기질인 양파와 양배추, 토마토의 소화 효소 저해 활성이 나타난 것으로 사료된다.

당뇨병 환자의 고혈당은 여러 생화학적 신호전달 경로를 통하여 ROS(reactive oxygen species)의 생성을 불러일으키고, 이로 인하여 여러 조직에서 산화적 스트레스가 증가한다. 따라서 생체 내 적절한 항산화 기전이 없다면 증가된 산화적 스트레스에 의해 세포 손상이 일어나며, 당뇨병성 혈관합병증 발생 등의 위험이 따르기 때문에 당뇨병 환자에게 항산화성 물질의 섭취는 중요하다(Kim & Son 2006). 일반적으로 양파는 퀘르세틴, 토마토는 라이코펜, 양배추는 β -카로틴 등이 풍부하게 함유되어 있어 항산화 활성을 갖는 식품으로 잘 알려져 있다. 따라서 항산화 활성을 갖는 원물에 MKHA15와 MKSR과 같은 젖산균을 starter로 접종하여 발효하였을 때 DPPH 라디칼 소거능, SOD 유사 활성, 환원력을 통해 항산화 활성을 측정하였다. 먼저, DPPH 라디칼은 H_2O_2 가 Fe나 Cu와 같은 금속과 반응하여 분해되며 생성되는 것으로, 열화학적 반응성이 크고 전자친화성이 높기 때문에 DNA를 손상시키거나 염기를 변형시켜 단백질의 기능을 손상시킬 수 있다(Kim & Yoon 2013). 즉, DPPH 라디칼 소거능이 높다는 것은 자유 라디칼을 환원시키거나 상쇄시켜 항산화 활성이 있다는 것을 의미하고, 따라서 항산화능의 중요 척도로 발효 주스의

DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 그 결과, MKSR로 발효한 양배추, 토마토 주스는 양파 주스에 비해 유의적으로 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈다. 이를 총 폴리페놀 함량 측정 결과와 연관하여 생각해 보면, MKSR로 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스의 총 폴리페놀 함량은 유의적 차이는 없지만, 양배추 주스가 가장 높고, 양파 주스가 가장 낮은 함량을 나타내었다. 폴리페놀 화합물은 항산화 작용의 지표로 알려져 있고, Sa 등(2010)의 연구에서도 총 페놀 함량이 많을수록 항산화성이 높게 나타난다고 하였으며, 항산화 실험 중에서도 DPPH 라디칼 소거능과 밀접한 관계를 가지고 있다고 보고하였다. 따라서 폴리페놀 화합물이 가장 적은 MKSR로 발효한 양파 주스 시료에서 DPPH 라디칼 소거능도 유의적으로 낮게 나온 것으로 사료된다.

SOD는 활성 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소로, 이 반응을 통해 생성된 과산화수소는 페록시다아제(peroxidase)나 가탈라아제(catalase)에 의해 물과 산소 분자로 전환되어 결국 산화적 스트레스로부터 생체를 보호하는 기능을 한다(Kim & Yoon 2013). 실험결과 MKSR로 발효한 양파, 양배추, 토마토 주스 간에는 유의적 차이가 없는 반면, MKHA15로 발효한 주스는 양배추 주스, 양파 주스, 토마토 주스 순으로 유의적으로 높은 SOD 유사 활성을 나타냈다.

마지막으로 환원력은 페리시안화칼륨(potassium ferricyanide) 혼합물이 수소를 공여하여 자유 라디칼을 안정화시켜 ferrous로 전환하는 환원력을 700 nm에서의 흡광도 값으로 나타낸 것이다(Sa 등 2010). MKHA15와 MKSR 간의 결과를 살펴보면, MKHA15로 발효한 양파, 토마토 주스가 MKSR로 발효한 양파, 토마토 주스보다 유의적으로 높은 환원력을 나타냈다. 그리고 MKSR로 발효한 양배추 주스가 양파, 토마토 주스에 비해 유의적으로 높은 환원력을 나타냈다. 역시 총 폴리페놀 함량 결과와 연관하여 생각해 보면 MKHA15로 발효한 양파 주스가 MKSR로 발효한 양파 주스에 비해 유의적으로 높은 폴리페놀 화

합물을 함유하였다. Sa 등(2010)에 따르면 총 폴리페놀 함량은 환원력과 밀접한 관계를 가지고 있어 총 페놀의 함량이 높을수록 항산화 활성이 좋다고 보고하였다. 즉, 항산화 실험 결과를 종합해보면 총 폴리페놀 함량이 높은 MKSR로 발효한 양배추 주스와 MKHA15로 발효한 양과 주스가 각각 DPPH 라디칼 소거능, 환원력도 높게 나타났다.

총 폴리페놀 함량은 발효 양과, 양배추, 토마토 주스 간의 유의적 차이는 나타나지 않았고, 양과 주스에서는 MKHA15 발효군이 MKSR 발효군에 비해 유의적으로 높은 폴리페놀 함량을 보였다. 원재료에 함유된 폴리페놀 함량은 양과에 0.195 mg GAE/mL (Faller & Fialho 2009), 양배추에 0.345 mg GAE/g (Hwang 등 2012), 토마토에 0.33 mg TAE/g(Kim 등 2008)이다. 이와 비교하여 본 실험결과를 살펴보면 모든 군에서 폴리페놀 함량이 증가하였다. Heo 등(2016)에 따르면 고분자 폴리페놀 성분은 발효를 통해 저분자 폴리페놀로 전환되거나 세포벽에 결합되어 있는 글리코사이드 형태의 폴리페놀류가 가수분해되며, 활성을 가지는 구조로 전환되어 총 폴리페놀의 양이 증가할 수 있다고 하였고, 본 실험결과도 이와 같은 이유로 폴리페놀 함량이 증가한 것으로 사료된다.

플라보노이드 함량은 전체적으로 폴리페놀 함량보다 낮게 나타났다. 이는 폴리페놀이 플라보노이드를 포함하는 큰 범주이기 때문에 해당 시료 안에 비플라보노이드계 폴리페놀이 높기 때문인 것으로 사료된다(Kim 등 2012). 본 실험결과를 살펴보면 MKHA15를 이용한 양과 발효 주스가 양배추, 토마토 주스에 비해 유의적으로 높은 플라보노이드 함량을 보였고, MKSR을 이용한 발효 주스는 양과, 양배추, 토마토 주스 모두 유의적 차이가 없었다. Starter에 따른 차이를 살펴보면 양과 주스에서 MKHA15 발효군이 MKSR 발효군에 비해 유의적으로 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다. 2016 농촌진흥청 국립농업과학원(National Institute of Agricultural Sciences Rural Development Administration 2016)의 플라보노이드 데

이터베이스에 따르면 양과, 양배추, 토마토 원물에 함유된 플라보노이드 함량은 각 9.3, 0.071, 0.313 mg/g dry weight이다. 본 실험결과에서 MKHA15를 이용한 발효 양과 주스에서 플라보노이드 함량이 가장 높은 이유는 원래 양과 원물의 플라보노이드 함량이 높기 때문인 것으로 사료되고, 발효 양과, 토마토, 양배추 주스 순으로 플라보노이드 함량이 높게 나타난 것은 원재료의 플라보노이드 함량 경향과 일치하는 것을 알 수 있다. 데이터를 제시하지는 않았으나 전반적으로 원재료의 플라보노이드 함량보다 주스로 제조하여 발효한 후 함량이 감소하였는데, 이는 Kim 등(2011)에 따르면 발효과정에서 불안정한 플라보노이드계 화합물의 변성과 함께 철분, 단백질, 피리딘 및 알칼로이드 등과 결합하여 침전물을 형성하기 때문에 발효과정에서 플라보노이드의 감소가 발생했을 가능성이 있다.

MKHA15와 MKSR 균주 자체의 기능성이 식품에 적용하여 발효 한 후에도 유지되는 지 여부를 확인해보면 데이터를 제시하지는 않았지만 균을 발효 주스에 적용한 후 α -glucosidase 저해 활성은 동일하거나 약간 높은 수준이고, α -amylase 저해 활성은 MKHA15는 균 자체가 가지는 저해 활성이 69.78%인 것과 비교하여 발효 주스에 적용 후에도 모든 주스에서 약 70% 부근으로 유지된 반면, 데이터를 제시하지는 않았지만 MKSR은 균 자체가 가지는 저해 활성은 0%인데 비해 모든 주스에서 역시 약 70% 부근의 저해 활성을 나타내었다. 이를 종합하여 생각해보면 α -amylase 저해활성을 갖는 MKHA15와 저해활성을 갖지 않는 MKSR로 발효한 모든 주스에서 저해 활성이 나타났기 때문에, 이는 균과 상관 없이 원재료에서 오는 소화효소 저해 활성으로 사료되고, 균의 기능성이 유지되었는지 여부는 알 수 없다. Wu & Xu(2014)의 연구에 따르면 양과가 가지는 α -glucosidase 저해 활성이 약 74%로, 본 연구에서도 원재료가 가지는 소화효소 저해 활성이 나타난 것으로 사료된다. 데이터를 제시하지는 않았지만 DPPH 라디칼 소거능, SOD 유사 활성, 환원력의 항산화 활성은 원래 MKHA15와 MKSR

이 가지는 활성보다 발효 주스에 적용 후 전체적으로 감소하였다. 이러한 결과는 MKHA15와 MKSR이 본래 가지는 기능성은 최적의 합성배지에서 생장하며 나타난 결과이기 때문에 양파나 양배추, 토마토와 같은 원물에서는 활성이 저하되었을 수 있고, 또한 발효 기질에 따라 그리고 기질과 균의 상호작용에 따라 달라질 수 있다고 사료된다.

종합하자면 MKHA15와 MKSR이 합성배지에서 나타내던 높은 기능성이 양파, 양배추, 토마토의 식품에 적용하였을 때 그대로 유지되지 않았고, 약간 감소하는 경향을 보였다. 하지만 발효 주스 자체가 높은 수준의 소화효소 저해 활성, 환원력 등을 나타내어 항당뇨, 항산화 활성을 갖는 발효 주스에 대한 활용 가능성을 확인하였다.

요약 및 결론

본 연구에서는 소화효소 저해 활성, 항산화 활성을 가지는 *Lactobacillus plantarum* MKHA15와 *Leuconostoc mesenteroides* MKSR을 이용하여 발효 양파, 양배추, 토마토 주스를 제조하여 발효 시간에 따른 특성과 발효 후 소화효소 저해 활성, 항산화 활성을 평가하였다.

1. 발효 양파, 양배추, 토마토 주스에서 *Lac. plantarum* MKHA15를 사용한 발효균은 발효 12시간에, *Leu. mesenteroides* MKSR을 사용한 발효균은 발효 48시간에 최대 균 수에 도달하여 이를 최적 발효 시간으로 설정하였고, 이 때 모든 균의 균수가 10^6 CFU/mL 이상으로 '발효 음료'로서의 기준을 충족하였다.
2. 발효 주스의 소화효소 저해 활성은 MKHA15와 MKSR을 사용한 모든 발효 주스에서 약 100%에 가까운 높은 α -glucosidase 저해 활성, 약 70%의 α -amylase 저해 활성을 나타내었다.
3. 발효 주스의 항산화 활성은 MKHA15와 MKSR이 본래 합성배지 상에서 가지는 활성보다는 낮았지

만 발효 후에도 모든 주스에서 DPPH 라디칼 소거능, SOD 유사 활성, 환원력을 나타냈고, 원물로는 양배추가 모든 항목에서 유의적으로 높은 활성을 나타냈다. Starter에 따라서 일정한 경향은 나타나지 않았으며, 발효 원물과 스타터의 복합적인 상호작용에 의한 결과로 사료된다.

4. 발효 주스의 플라보노이드 함량은 MKHA15로 발효한 양파 주스에서 가장 높았으며, MKHA15로 발효한 양파 주스가 MKSR에 비해 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 모두 유의적으로 높았다. 또한 폴리페놀 함량에 따라서 DPPH 라디칼 소거능, 환원력 등 항산화 활성이 변화하는 것을 확인하였다.

이에 따라 젯산 세균을 이용한 양파, 양배추, 토마토 발효 주스의 우수한 소화효소 저해 활성과 항산화 활성을 확인하였고, 본 논문에서 사용한 MKHA15와 MKSR은 향후 다양한 원물에 적용 가능하며, 본 연구의 양파, 양배추, 토마토 발효 주스는 기능성 음료로서 이용가능성이 높을 것으로 기대된다.

ORCID

장현아: <https://orcid.org/0000-0002-5968-4166>

김미숙: <https://orcid.org/0000-0002-9091-8776>

REFERENCES

- Bourel G, Henini S, Diviès C, Garmyn D (2003): The response of *Leuconostoc mesenteroides* to low external oxidoreduction potential generated by hydrogen gas. *J Appl Microbiol* 94(2):280-288
- Chen P, Zhang Q, Dang H, Liu X, Tian F, Zhao J, Chen Y, Zhang H, Chen W (2014): Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α -glucosidase inhibitory activity. *Food Control* 35(1):65-72
- Cho JK, Li GH, Cho SJ, Yoon YC, Hwang SG, Heo GC, Choe IS

- (2007): The identification and physiological properties of *Lactobacillus plantarum* JK-01 isolated from Kimchi. Korean J Food Sci Anim Resour 27(3):363-370
- Choi HR, Kim JS, Lee JS, Hong WS (2017): Study on consumer interests in functional drinks and preferences related to materials to develop functional natural carbonated drinks. Korean J Food Cook Sci 33(5):575-587
- Dilna SV, Surya H, Aswathy RG, Varsha KK, Sakthikumar DN, Pandey A, Nampoothiri KM (2015): Characterization of an exopolysaccharide with potential health-benefit properties from a probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4. Food Sci Technol 64(2):1179-1186
- El-Sayed AA, Rabie MA, El-Maaty SMA, El-Nemr SEA (2018): Fermented tomato juice (*Lycopersicon esculentum* Mill.) produced via Lactic acid bacteria during cold storage. Carpathian J Food Sci Technol 10(1):5-18
- Faller ALK, Fialho E (2009): The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. Food Res Int 42(1): 210-215
- Fuller R (1989): Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 66(5):365-378
- Heo J, Park HS, Uhm TB (2016): Production of fermented apple juice using *Lactobacillus plantarum* JBE245 isolated from Korean traditional Meju. Korean J Food Sci Technol 48(5):445-453
- Hwang ES, Hong EY, Kim GH (2012): Determination of bioactive compounds and anti-cancer effect from extracts of Korean cabbage and cabbage. Korean J Food Nutr 25(2): 259-265
- Jang IS, Kim DH, Heo MS (2013): Dietary administration of probiotics, *Bacillus* sp. IS-2, enhance the innate immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against *Streptococcus iniae*. J Microbiol. 49(2):172-178
- Jeong CH, Kim JH, Shim KH (2006): Chemical components of yellow and red onion. J. Korean Soc Food Sci Nutr 35(6): 708-712
- Jung KA, Park CS (2013): Antioxidative and antimicrobial activities of juice from garlic, ginger, and onion. Korean J Food Preserv 20(1):134-139
- Kang SM, Kim TS, Song YH, Kwon IK, Cho SH, Park BY, Lee SK (2012): Effect of addition level of green tea extract on the Lactic acid bacteria, oxidative stability, and aroma in Kimchi-fermented sausage. Korean J Food Sci Anim Resour 32(4):467-475
- Kaur S, Kaur HP, Grover J (2016): Fermentation of Tomato juice by Probiotic Lactic acid bacteria. Int J Adv Pharm Biol Chem 5(2):212-219
- Kim BH, Son SM (2006): Mechanism of developing diabetic vascular complication by oxidative stress. Endocrinol Metab 21(6):448-459
- Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH (2012): Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. Korean J Food Sci Technol 44(3):337-342
- Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Jeong HS (2008): Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. Korean J Food Sci Technol 40(2): 166-170
- Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP (2011): Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with Fructooligosaccharides on HepG2 cells. Korean J Food Sci Technol 43(4):432-437
- Kim MS, Seong HY, Jang HA, Jeong Y, Choi JA, inventor; Industry-Academic Cooperation Foundation of Dankook University Cheonan Campus, assignee. Novel *Lactobacillus plantarum* MKHA15 and uses thereof. Korea patent pending. application number. Korea 1020190112122. 2019 September 10
- Kim NJ, Yoon KY (2013): Qualities and antioxidant activity of lactic acid fermented-potato juice. J. Korean Soc Food Sci Nutr 42(4):542-549
- Kusznierewicz B, Śmiechowska A, Bartoszek A, Namieśnik J (2008): The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage. Food Chem 108(3):853-861
- Lee JH, Park HY, Won JI, Park HI, Choi ID, Lee SK, Park JY, Joe DH, Jeon YH, Oh SK, Han SI, Choi HS (2017): Quality characteristics of commercial liquid type yogurt in Korea. Korean J Food Preserv 24(6):865-870
- Lee S, Kim M (2019): *Leuconostoc mesenteroides* MKSR isolated from kimchi possesses α -glucosidase inhibitory activity, antioxidant activity, and cholesterol-lowering effects. Food Sci Technol doi: 10.1016/j.lwt.2019.108570. [in press]
- Lin MY, Chang FJ (2000): Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Dig Dis Sci 45(8):1617-1622

- Lin MY, Yen CL (1999): Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *J Agric Food Chem* 47(4):1460-1466
- Marklund S, Marklund G (1974): Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47(3):469-474
- McDonald LC, Fleming HP, Hassan HM (1990): Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol* 56(7):2120-2124
- Mello BCBS, Petrus JCC, Hubinger MD (2010): Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *J Food Eng* 96(4):533-539
- National Institute of Agricultural Sciences Rural Development Administration (2016). Flavonoid data base 1.0. Wanju NASRDA. Available from: http://www.rda.go.kr/download_file/act/bookcafe099.PDF. Accessed October 31, 2019
- Oh SJ, Lim HJ, Lee YS, Kim MS (2018): Comparison of quality characteristics of Jeungpyeon fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Leuconostoc mesenteroides* by potato addition. *J. Korean Soc Food Sci Nutr* 47(8):828-837
- Park SI, Yeo SS, Lee YS, Jeong YH, Kim MS (2017): Inhibitory activities of digestive enzymes and antioxidant activities of fermented beverages using *momordica charantia* L. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46(11):1308-1315
- Sa YJ, Kim JS, Kim MO, Jeong HJ, Yu CY, Park DS, Kim MJ (2010): Comparative study of electron donating ability, reducing power, antimicrobial activity and inhibition of α -glucosidase by *Sorghum bicolor* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 42(5):598-604
- Seo HJ, Han SY, Choi HS, Han GJ, Park HY (2012): Quality characteristics of cabbage Kimchi by different packaging materials. *Korean J Food Cook Sci* 28(2):207-214
- Seo JH, Lee H (2007): Characteristics and immunomodulating activity of Lactic acid bacteria for the potential probiotics. *Korean J Food Sci Technol* 39(6):681-687
- Shin HS, Yoo SH, Jang JA, Won JY, Kim CH (2017): Probiotic properties of Lactic acid bacteria isolated from feces and Kimchi. *J Korean Dairy Technol Sci Assoc* 35(4):255-261
- Teresa SM, Huang SW, Frankel EN (1995): Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached, and deodorized olive oil. *JAOCS* 72(10):1131-1137
- Wu H, Xu B (2014): Inhibitory Effects of onion against α -glucosidase activity and its correlation with phenolic antioxidants. *Int J Food Prop* 17(3):599-609
- Yoon KY, Woodams EE, Hang YD (2006): Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresour Technol* 97(12):1427-1430
- Yoon KY, Woodams EE, Woodams, Hang HD (2005): Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *Food Sci Technol* 38(1):73-75