



# Quality characteristics and biological activities of *Rosa multiflora* Thunberg fruit through lactic acid bacteria fermentation

EunYoung Yang · MyungHyun Kim · YoungSil Han

## 찹레나무 열매 젖산 발효물의 품질특성 및 생리활성

양은영 · 김명현 · 한영실

Received: 2 September 2022 / Accepted: 29 November 2022 / Published Online: 31 December 2022

© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

**Abstract** The purpose of this study was to evaluate the quality characteristics and biological activities of *Rosa multiflora* Thunberg fruit extracts fermented with *Lactobacillus plantarum* based on fermentation period of 0, 24, 48, and 72 h. The study showed the pH of *Rosa multiflora* Thunberg fruit fermentation extracts have decreased as fermentation time increased, but the sugar content remained the same. The total acid content increased as the fermentation time increased. The viable cell count was at highest at 24 h (8.59 log CFU/mL) of fermentation, and the viable cell count decreased as the fermentation time increased. The total polyphenol content (14.85 mg GAE/g), total flavonoid content (6.74 mg RE/g), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity, ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activity, reducing power,  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity were highest at 24 h of fermentation. Therefore, the study proved fermentation of *Rosa multiflora* Thunberg fruit with lactic acid increases physiological activity compared to nonfermented *Rosa multiflora* Thunberg fruit. Also the 24 h of fermentation had the highest activity, confirming the possibility of future use as a functional food material.

**Keywords**  $\alpha$ -Amylase inhibition · Antioxidant activity ·  $\alpha$ -Glucosidase inhibition · *Rosa multiflora* Thunberg fruit · Quality characteristic

YoungSil Han (✉)  
E-mail: yshan@sookmyung.ac.kr

Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 04310, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 서론

찹레나무(*Rosa multiflora* Thunberg)는 장미과에 속하는 낙엽관목으로 주로 한국과 일본, 동아시아 지역이 원산지이다[1,2]. 찹레나무는 줄기에 찢리는 가시가 있어 찹레꽃, 가시나무, 야장미라고 하며 열매는 영실(營實), 영실자, 색미자로 불린다[2,3]. 찹레나무 열매는 8 mm 정도의 둥근 모양으로 안쪽에 5-10개의 딱딱한 씨가 들어있고, 열매가 완숙하기 전 9-10월에 채취하여 건조한 것을 약용으로 사용한다[4]. 찹레나무 열매의 효능으로는 변비, 건망증, 콩팥염, 불면증에 사용되며, 체내에서 단백질과 지방대사를 개선시켜 죽상동맥 경화의 형성을 억제시킨다[4,5]. 찹레나무 열매는 홍색으로 lycopene이 들어있으며, 생리활성 물질로는 quercitrin, multinoside A, multinoside B, afzelin, multiflorin A, multiflorin B, astragalol 등을 함유하고 있다[4,6]. 찹레나무 열매의 선행연구로는 용매를 달리하여 추출한 항산화, 항균 활성, 피부노화 억제 효과와 항염 효과 등이 있다[7]. 천연소재를 통해 ROS를 제거하기 위한 항산화 물질에 대한 연구가 많이 이루어지고 있는데[8,9,10], 이러한 항산화 성분은 식물의 잎, 꽃, 열매, 줄기, 뿌리 및 수피 등의 모든 부분에 함유되어 있으며, 주로 페놀계 화합물에 의한 것이다[11]. 이중 식물의 열매를 소재로 항산화 효과에 대한 선행연구가 최근까지 활발하게 진행되고 있다[12,13,28].

발효는 미생물이 유기 화합물을 분해하여 유기산, 알코올류, 이산화탄소를 생산하는 과정으로 발효에 사용되는 유산균은 젖산균이라고 불리며, 당류를 발효하여 에너지를 얻고 다량의 젖산을 생성하는 균의 총칭이다[14]. 이러한 젖산균 등의 미생물을 이용한 발효 기술을 통해 인체에 유익한 여러 발효산물을 얻고, 천연물과 미생물 상호작용에 의해 생리활성도 증가하게 된다는 연구가 진행되었다[15,16]. 젖산균 중 *Lactobacillus plantarum*은 널리 알려진 프로바이오틱스로 다양한 발효 식품과 채소에서 분리 가능하고 높은 내담즙성과 내산성으로 위장

관에서 다른 유산균보다 선호된다[17]. 따라서 최근에는 유당불내증이나 채식을 선호하는 소비자들의 기대와 수요가 증가하면서 다양한 식물성 프로바이오틱스 식품으로 확대되고 있다 [18,19].

따라서 본 연구에서는 쥘레나무 열매가 기능성 식품 소재로서의 이용 가능성과 생리활성을 높이기 위해 젖산 발효를 통한 발효물을 제조하여 품질특성과 향산화 및 항당뇨 활성을 연구하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 전처리

본 연구에 사용된 쥘레나무(*Rosa multiflora* Thunberg) 열매는 충청북도 괴산에서 2019년에 생산된 것으로 청명약초(Chungju, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 쥘레나무 열매는 예비실험을 통해 최적의 온도와 시간을 선정하여 로스터기(MK-300, Foshan City Shunde District Miko Electrical Co., Ltd., China)로 180 °C로 10분간 볶은 뒤 분쇄(FM-700SS, HANIL ELECTRIC Co., Seoul, Korea)하고 30 mesh 표준망체로 체친 후 deep freezer (SF-53U, NIHON FREEZER Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 -40 °C에 저장하고 시료로 사용하였다.

### 쥘레나무 열매 발효물 제조

쥘레나무 열매 발효물을 제조하기 위하여 0, 24, 48, 72시간 동안 발효하여 쥘레나무 열매 발효물을 제조하였다. 쥘레나무 열매 발효물의 제조는 선행논문을 참고하여 여러 차례의 예비실험을 통해 제조 방법과 첨가량을 결정하였다[20]. 121 °C에서 15분간 멸균처리한 쥘레나무 열매 분말 10 g에 증류수 100 mL, 상업용 균주인 Harvest LB-1 젖산균(*Lactobacillus plantarum*, Chr. Hansen, Denmark) 0.02%를 첨가하였다. 그 후 37 °C incubator (IB-600M, JEIO TECH Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 0, 24, 48, 72시간 동안 발효하였고 발효시간에 따라 품질 특성 및 생리활성 분석을 진행하였다.

### pH, 총산도 및 당도 측정

쥘레나무 열매 발효물 1 mL에 증류수 9 mL을 넣고 섞은 후 여과하여 사용하였다. pH는 pH meter (F-51, HORIBA, Kyoto, Japan)를 사용하였고 총산도는 0.1 N NaOH로 적정하면서 pH가 8.3이 될 때까지의 NaOH 소모량을 lactic acid 환산계수로 산출하여 표시하였다. 당도는 디지털 당도계(PAL-1, ATAGO Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타냈다.

### 생균수 측정

생균수 측정은 각 시간별 발효물 1.0 mL을 채취하여 buffered peptone water (MB-B2220, Kisan Bio Co., Ltd., Seoul, Korea)에 단계별로 희석한 희석액을 3M petrifilm (Lactic acid bacteria count plate, 3M Health Care, MN, USA)에 접종하였다. 그 후 Incubator에서 37 °C, 48시간 동안 호기 배양하여 나타난 colony 수를 측정 후 log로 계산하여 colony forming unit (CFU/mL)으로 표시하였다. 각 실험은 3회 반복 측정하여

얻은 평균값과 표준편차로 나타내었다.

### 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법을 응용한 Swain과 Hillis [21]의 방법을 이용하여 측정하였다. 쥘레나무 열매 발효물 150 μL에 증류수 2400 μL와 0.25 N folin-ciocalteu phenol reagent 150 μL를 가한 후 3분간 반응시켰다. 이 용액에 1 N sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 300 μL를 가하여 암소에서 2시간 방치시킨 뒤 725 nm에서 흡광도(T60UV, PG Instruments, Wibtoft, UK)를 측정하였다. 표준물질은 gallic acid (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)를 사용하였고, 검량선을 구한 후 총 폴리페놀 함량은 mg gallic acid equivalents (mg GAE/g)으로 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타내었다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Davis법 [22]을 변형한 후 사용하였다. 표준물질은 rutin (Sigma Chemical Co.)을 사용하여 표준곡선을 구한 후, mg rutin equivalent (mg RE/g)로 나타냈다. 각 시간별로 발효한 쥘레나무 열매 발효물 1 mL에 90% diethylene glycol 10 mL와 1 N NaOH 1 mL을 가한 후 37 °C water bath에서 1시간 동안 반응시켜 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타내었다.

### DPPH 라디칼 소거능 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical에 대한 소거활성은 Blois [23] 방법에 준하여 측정하였다. 각 시간별로 발효한 쥘레나무 열매 발효물 900 μL에 DPPH solution (1.5×10<sup>-4</sup> M) 300 μL를 가하여 교반하고 실온의 암소에서 30분간 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 이용하여 백분율로 나타내었으며, 3회 반복 측정 후 얻은 결과를 평균값과 표준편차로 나타내었다.

DPPH free radical scavenging activity (%)

$$= (1 - \text{sample absorbance/control absorbance}) \times 100$$

### ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Re 등[24]의 선행연구를 참고하여 측정하였다. 각각 증류수에 용해한 7.0 mM ABTS<sup>+</sup> 용액과 2.4 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 ABTS 라디칼 생성을 위해 12-16시간 동안 암소에 반응시켰다. Radical이 생성된 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.70±0.02 되도록 PBS buffer로 희석하였다. ABTS<sup>+</sup> 용액 900 μL와 각 시간별 쥘레나무 열매 발효물 100 μL를 첨가한 후 30 °C에서 1분 간격으로 6분간 흡광도를 측정하여 6분 후 흡광도 값을 측정하였다. 실험은 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타내었다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= (1 - \text{sample absorbance/control absorbance}) \times 100$$

### 환원력 측정

환원력은 Oyaizu의 연구 방법[25]을 참고하여 측정하였다. 쥘레나무 열매 발효물 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide 2.5 mL를 가한

다음 50°C water bath에서 20분간 반응시켰다. 10% trichloroacetic acid 2.5 mL 첨가하여 혼합하고 상등액 5 mL와 증류수 5 mL를 혼합하여 vortexing 한 후 0.1% ferric chloride 1 mL를 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타내었다.

**α-Glucosidase 저해 활성 측정**

α-Glucosidase 저해 활성은 Zhu 등[26]의 방법을 응용하였으며, 효소는 효모로부터 얻어진 α-glucosidase를 사용하였고, 기질은 p-nitro phenyl-α-glucopyranoside (pNPG)를 사용하여 p-nitrophenol 생성량을 측정하였다. α-Glucosidase 10 μL에 각 시간 별로 발효한 찢레나무 열매 발효물 200 μL를 가하여 37°C에서 5분 incubation한 후 0.5 mM pNPG를 200 μL를 가하여 격렬하게 혼합한 다음 20분 동안 다시 incubation하였다. 1 N NaOH 500 μL를 넣어 반응을 중지시키고 50 mM phosphate buffer (pH 6.8)로 최종 부피를 1,500 μL가 되도록 가하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타내었다.

α-Glucosidase inhibition activity (%)

$$= (1 - \text{반응구의 PNP 생성량} / \text{대조구의 PNP 생성량}) * 100$$

**α-Amylase 저해 활성 측정**

α-Amylase 저해 활성은 Bhandari 등[27]의 선행연구를 참고하여 측정하였다. Pancreatin 유래의 α-amylase에 대한 저해 활성은 starch를 기질로 하여 측정하였다. 0.01 M CaCl<sub>2</sub>를 함유하는 0.5 M tris-HCl buffer에 starch azure를 현탁 시킨 후 5분 동안 끓여 제조한 기질 용액을 37°C에서 5분간 incubation하여 실험에 사용하였다. 증류수에 용해한 각 시간별로 발효한 찢레나무 열매 발효물 0.2 mL와 α-amylase 0.2 mL를 가한 후 starch azure 용액 0.3 mL를 가하여 반응을 종결시킨 후 4°C, 3000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 595 nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회 반복 측정 후 평균값과 표준편차로 나타내었다.

α-Amylase inhibition activity (%)

$$= (1 - (\text{대조구의 O.D} - \text{시료액의 O.D}) / \text{대조구의 O.D}) * 100$$

**통계처리**

자료의 통계 분석에는 SPSS (Statistic Package for the Social Science, version 25.0, Armonk, NY, USA)를 이용하여 평균 (Mean)과 표준편차(S.D)로 나타내었다. 각 실험군 간의 유의성 검증을 위하여 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하였고, 시료 간의 유의적 차이가 있으면 사후검증으로 Duncan’s multiple range test를 실시하였다(p < 0.05).

**결과 및 고찰**

**pH, 총산도 및 당도**

발효 시간에 따른 찢레나무 열매 발효물의 pH와 총산도는 Table 1과 같다. 0시간부터 72시간까지 발효한 찢레나무 열매 발효물의 pH는 4.13-3.20이었다(p < 0.001). 발효 24시간까지 pH

**Table 1** pH, total acidity and sugar contents of *Rosa multiflora* Thunberg fruit extracts fermented by *L. plantarum*

Fermentation time (h)	pH	Total acidity (%)	Sugar contents (°Brix)
0	4.13±0.01 <sup>a</sup>	0.10±0.00 <sup>d</sup>	4.33±0.58
24	3.41±0.01 <sup>b</sup>	0.13±0.00 <sup>c</sup>	4.33±0.58
48	3.26±0.01 <sup>c</sup>	0.16±0.00 <sup>b</sup>	4.00±0.00
72	3.20±0.01 <sup>d</sup>	0.18±0.03 <sup>a</sup>	4.00±0.00

Each value is mean ± SD (n=3)

<sup>a-d</sup>Values with different small letters within a column differ significantly (p < 0.05)

변화가 가장 크고, 발효 시간이 길어질수록 pH는 낮아졌고 발효 72시간 이후부터 pH의 변화는 없었다. 유산균 발효 아사이베리 추출물의 pH 결과는 0시간부터 72시간 측정하였으며 발효 시간이 길어질수록 pH가 낮아져 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다[28]. 블루베리 유산균 발효물 연구에서도 발효 시간이 길어질수록 pH가 낮아져 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다[29]. 따라서, 이러한 pH의 결과로 볼 때 발효 전보다 발효 후에 pH가 감소하여 정상적으로 발효가 진행된 것으로 판단된다.

발효 시간에 따른 찢레나무 열매 발효물의 총산도는 발효 0시간에서 0.10%, 발효 24시간 0.13%, 48시간 0.16%, 72시간 0.18%로 발효 시간이 길어질수록 총 산도는 증가하였다 (p < 0.001). *Lactobacillus plantarum*으로 발효한 망고주스[31]와 황기잎 연구[32]에서도 총산도는 발효 시간이 길어질수록 총산도가 증가하여 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다. 이러한 결과는 젖산균의 대사 활동으로 인해 생성된 유기산과 미생물들이 유기물을 분해하면서 발생하는 젖산, 옥살산, 아세트산 등이 생성되어 pH는 감소하고 총 산도가 증가하는 것으로 판단된다[33]. 또한 본 실험에서 사용한 *Lactobacillus plantarum*의 경우 1 mole 발효성 당으로부터 2 mole의 lactic acid를 생성하여 발효물의 산도를 높이는 대표적인 미생물로 알려져 있다[34]. 따라서 이러한 젖산균의 대사 활동으로 생성된 젖산 및 유기산들로 인해 잡균의 생성이나 생육을 저해시키고 오염을 방지하여 찢레나무 열매 발효물의 저장성에도 도움이 될 것으로 판단된다[35].

발효 시간에 따른 찢레나무 열매 발효물의 당도 측정 결과는 Table 1에 나타내었다. 발효 0-72시간 동안 4.00-4.33 °Brix로 나타났다. 발효 시간에 따른 당도는 유의적인 차이가 없어 당도의 변화에는 직접적인 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

**생균수**

발효 시간에 따른 찢레나무 열매 발효물의 생균수는 48시간 동안 배양하여 24시간마다 측정된 결과는 Table 2와 같다. 발효 0시간 생균수는 8.35 log CFU/mL, 발효 24시간 8.59 log CFU/mL, 발효 48시간 8.45 log CFU/mL, 발효 72시간에서 8.02 log CFU/mL으로 나타났다(p < 0.001). 발효 초기부터 발효 24시간까지의 생균수가 가장 높았고, 발효 시간이 길어질수록 생균수는 점점 감소하였다. 오디 유산균 발효물의 이화학적 특성 및 항산화 활성 연구에서 *Lactobacillus plantarum*을 이용하여 발효하였을 때, 발효 0시간에서 4.75 log CFU/mL을 나타내

**Table 2** Color values and Viable cell count of *Rosa multiflora* Thunberg fruit extracts fermented by *L.plantarum*

Fermentation time (h)	Viable cell count (log CFU/mL)
0	8.35±0.01 <sup>c</sup>
24	8.59±0.01 <sup>a</sup>
48	8.45±0.02 <sup>b</sup>
72	8.02±0.03 <sup>d</sup>

Each value is mean ± SD (n=3)

<sup>a-d</sup>Values with different small letters within a column differ significantly ( $p < 0.05$ )

어 생균수가 가장 낮았고, 발효 24시간에서 8.31 log CFU/mL로 가장 높은 생균수를 보이다가 발효 48시간 이후 생균수가 점점 감소하여 본 실험과 유사한 경향을 보였다[37]. 아시아베리 발효추출물의 생균수는 발효 시간이 길어질수록 발효 초기보다 생균수가 증가하여 발효 48시간에서 7.38 log CFU/mL로 가장 높았고, 그 이후부터는 감소하였다[28]. 본 연구에서는 발효 초기부터 생균수가 높았는데, 본 연구에 사용한 젖산균인 Harvest LB-1 (*Lactobacillus plantarum*)은 시료에 첨가하기 전 실온에 15분 정도 둬으로써 배양이 필요 없는 상업용 균주로, 발효 시점이 다른 균주에 비해 빨라 이러한 결과가 나온 것으로 판단된다. 본 실험에서 발효가 종료되는 72시간까지 10<sup>7</sup> CFU/mL 수준을 유지하는 것을 확인할 수 있었는데, 프로바이오틱 미생물이 인체에 유익한 물질들을 생성하기 위해서는 최소 10<sup>5</sup> CFU/mL 이상의 수치여야 한다고 보고하였다[38]. 따라서 본 연구에서는 높은 생균수를 유지하고 있어 인체에 유익한 식품 개발 가능성을 기대할 수 있다.

### 총 폴리페놀 함량

발효 시간에 따른 쥘레나무 열매 발효물의 총 폴리페놀 함량 결과는 Table 3과 같다. 쥘레나무 열매 발효 0시간에서는 9.04 mg GAE/g, 발효 24시간 14.85 mg GAE/g, 발효 48시간 14.04 mg GAE/g, 발효 72시간 13.09 mg GAE/g이었다( $p < 0.001$ ). 발효 24시간 이후 총 폴리페놀 함량은 감소하여 72시간 발효물에서 가장 낮은 함량을 보였다. 블루베리를 *Lactobacillus plantarum*으로 발효한 유산균 발효물의 이화학적 특성에 관한 연구에서도 발효 전보다 발효 후에 총 폴리페놀 함량이 1.13 g/100 g에서 2.21 g/100 g으로 발효를 통해 총 폴리페놀 함량은 증가하여 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다[29]. 토마토를 *Lactobacillus plantarum* PMO 08을 이용해 발효한 결과, 발효하기 전보다 발효 후에 폴리페놀 함량이 154.7%가 증가하였다[39]. 천궁[40]과 꾸지뽕[41]열매를 발효하였을 때도 발효 전보다 발효 후에 총 폴리페놀 함량이 증가하여 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다. 따라서 본 실험 결과에서 발효 전보다 발효 후에 폴리페놀 함량이 증가하여 항산화 효과도 증가한 것을 알 수 있다.

### 총 플라보노이드 함량

발효 시간에 따른 쥘레나무 열매 발효물의 총 플라보노이드 함량 결과는 Table 3과 같다. 쥘레나무 열매 발효 0시간에서는 3.39 mg RE/g, 발효시간에 따라 6.16-6.74 mg RE/g의 함량을

**Table 3** The total polyphenol and flavonoid contents of *Rosa multiflora* Thunberg fruit extract fermented by *L.plantarum*

Fermentation time (h)	Total polyphenol contents (mg GAE <sup>1)</sup> /g)	Flavonoid contents (mg RE <sup>2)</sup> /g)
0	9.04±0.27 <sup>d</sup>	3.39±0.24 <sup>c</sup>
24	14.85±0.27 <sup>a</sup>	6.74±0.26 <sup>a</sup>
48	14.04±0.10 <sup>b</sup>	6.34±0.33 <sup>ab</sup>
72	13.09±0.31 <sup>c</sup>	6.16±0.11 <sup>b</sup>

Each value is mean ± SD (n=3)

<sup>1)</sup>GAE: gallic acid equivalent

<sup>2)</sup>RE: rutin equivalent

<sup>a-d</sup>Values with different small letters within a column differ significantly ( $p < 0.05$ )

보였으며 발효 24시간에서 총 플라보노이드 함량이 가장 높았다( $p < 0.001$ ). 유산균 발효한 흑무 연구에서도 총 플라보노이드 함량이 발효 전보다 발효 후에 증가하는 것으로 나타나 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다[42]. 본 연구에서 발효 전 세포벽과 세포 구성물질에 결합되어 있던 페놀류 및 생리활성물질들이 미생물 대사 작용으로 분리되어 젖산균 발효 전보다 대사 과정을 통해 발효 후에 폴리페놀 계열 화합물과 플라보노이드 계열 화합물이 증가하였음을 알 수 있다[44].

### DPPH 라디칼 소거 활성

발효 시간에 따른 쥘레나무 열매 발효물의 DPPH 라디칼 소거 활성 결과는 Table 4와 같다. 쥘레나무 열매 발효 0시간에서는 34.89%, 발효 24시간 60.01%, 발효 48시간 56.09%, 발효 72시간 53.73%로 발효 24시간에서 DPPH 라디칼 소거 활성이 가장 높았다( $p < 0.001$ ). 발효 24시간 이후 DPPH 라디칼 소거 활성은 감소하여 72시간 발효물에서 가장 낮은 결과를 보였다. *Lactobacillus plantarum* 균주를 이용하여 발효한 다시마 효소 추출물은 발효 전 70.6%에서 발효 후에 88.6%로 발효할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하여 본 연구와 유사한 경향을 보였다[45]. 쥘레나무 열매를 *Lactobacillus plantarum*으로 발효하기 전보다 발효 후에 1.5-1.7배 정도 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 본 실험 결과의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량도 발효하기 전보다 발효 후에 함량이 증가하여 DPPH 라디칼 소거 활성 결과와 일치하는 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 총 폴리페놀과 총 플라보노이드의 함량, DPPH 라디칼 소거 활성은 서로 비례관계에 있다는 Kim 등[46]의 연구 결과와 일치하였다.

### ABTS 라디칼 소거 활성

발효 시간에 따른 쥘레나무 열매 발효물의 ABTS 라디칼 소거 활성 결과는 Table 4와 같다. 쥘레나무 열매 발효 0시간에서는 22.37%, 발효 24시간 38.38%, 발효 48시간 35.68%, 발효 72시간 33.98%로 나타났다( $p < 0.001$ ). 발효 24시간에서 ABTS 라디칼 소거 활성이 가장 높았고, 발효 24시간 이후 ABTS 라디칼 소거 활성은 감소하여 72시간 발효물에서 가장 낮은 결과를 보였다. 금속화 추출물을 이용한 미생물 발효 생성물의 항산화 특성에 관한 연구에서도 발효 전보다 발효 후에 약 50% 정도 ABTS<sup>+</sup> 소거 활성이 증가하여 본 연구 결과와 유사한 경향을

**Table 4** DPPH and ABTS radical scavenging activity and reducing power of *Rosa multiflora* Thunberg fruit extract fermented by *L.plantarum*

Fermentation time (h)	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	Reducing power (O.D)
0	34.89±0.00 <sup>d</sup>	22.37±0.90 <sup>d</sup>	0.24±0.01 <sup>d</sup>
24	60.01±1.03 <sup>a</sup>	38.38±0.49 <sup>a</sup>	0.34±0.00 <sup>a</sup>
48	56.09±0.60 <sup>b</sup>	35.68±0.57 <sup>b</sup>	0.29±0.00 <sup>b</sup>
72	53.73±1.63 <sup>c</sup>	33.98±0.93 <sup>c</sup>	0.27±0.01 <sup>c</sup>

Each value is mean ± SD (n=3)

<sup>a-d</sup>Values with different small letters within a column differ significantly (*p* <0.05)

보였다[47]. 따라서, 본 연구 결과에서 쥘레나무 열매를 젓산균으로 발효하기 전보다 발효 후에 1.50-1.72배 정도 ABTS 라디칼 소거 활성이 증가하는 것으로 나타나 DPPH 라디칼 소거 활성과 유사한 결과를 나타내었다.

**환원력**

발효 시간에 따른 쥘레나무 열매 발효물의 환원력 결과는 Table 4와 같다. 쥘레나무 열매 발효물 1000 µg/mL의 농도에서 발효 0시간에서 0.24, 발효 24시간 0.34, 발효 48시간 0.29, 발효 72시간 0.27의 흡광도 수치를 나타내 발효 24시간에서 환원력이 가장 높았다(*p* <0.001). 환원력이 높은 물질은 흡광도 수치가 높게 나타나는데, 발효 24시간 이후 환원력은 감소하여 72시간 발효물에서 가장 낮은 결과를 보였다. *Lactobacillus plantarum* CM에 의해 발효한 황백 추출물의 항산화 연구에서도 발효 전보다 발효 후에 환원력이 증가하는 것으로 나타나 본 연구 결과와 유사한 경향을 보였다[43]. 유산균 발효 아사이베리 추출물의 연구에서 1,000 µg/mL 농도로 환원력을 측정 한 결과, 0시간 발효 시 0.98에서 발효 48시간에서 1.10으로 가장 높아 24시간이 가장 높았던 본 연구 결과와는 차이가 있었지만, 발효 전보다 발효 후에 환원력이 증가하는 것은 유사한 경향을 보였다[28].

**α-Glucosidase 및 α-amylase 저해 활성**

발효 시간에 따른 쥘레나무 열매 발효물의 α-glucosidase와 α-amylase 저해 활성의 결과는 Table 5와 같다. 소장의 α-glucosidase와 α-amylase의 활성 저해는 포도당의 흡수를 지연시킬 수 있으며, 혈당수치 상승 억제에 지표로 사용된다[30]. α-Glucosidase 저해 활성은 발효 0시간에서 46.97%, 발효 24시간 88.53%, 발효 48시간 85.54%, 발효 72시간 81.60%로 발효 24시간에서 α-glucosidase 저해 활성이 가장 높았다(*p* <0.001). α-Amylase 저해 활성은 발효 0시간에서 43.12%, 발효 24시간 71.50%, 발효 48시간 64.44%, 발효 72시간 58.97%로 발효 24시간에서 α-amylase 저해 활성이 가장 높았다(*p* <0.001). 실험 결과 모두 발효 24시간에서 α-glucosidase 및 α-amylase 저해 활성이 가장 높았고, 그 후 감소하여 발효 72시간에서 활성이 가장 낮았다. 항당뇨 활성이 알려진 여주를 *Lactobacillus plantarum*으로 발효한 음료의 연구에서 α-glucosidase 저해 활성의 경우 발효 전보다 발효 48시간에서 가장 높은 항당뇨 활성을 보여 약 1.53 배 정도 활성이 증가하는 것으로 나타났으며, 발효 72시간에서는 항당뇨 활성이 감소하였고 α-amylase 저해 활성도 발효 전

**Table 5** α-Glucosidase and α-amylase inhibitory activity of *Rosa multiflora* Thunberg fruit extract fermented by *L.plantarum*

Fermentation time (h)	α-Glucosidase inhibitory activity (%)	α-Amylase inhibitory activity (%)
0	46.97±0.58 <sup>c</sup>	43.12±0.81 <sup>d</sup>
24	88.53±0.75 <sup>a</sup>	71.50±0.32 <sup>a</sup>
48	85.54±2.47 <sup>a</sup>	64.44±0.32 <sup>b</sup>
72	81.60±1.23 <sup>b</sup>	58.97±0.32 <sup>c</sup>

Each value is mean ± SD (n=3)

<sup>a-d</sup>Values with different small letters within a column differ significantly (*p* <0.05)

보다 발효 48시간에서 가장 높은 활성을 보였고, 발효 72시간에서는 활성이 감소하였다[20]. 본 연구에서는 발효 24시간에서 가장 높은 항당뇨 활성을 보여 여주 발효음료와 발효 시점은 달랐지만 발효 72시간에서 항당뇨 활성이 감소하는 것은 유사한 경향을 보였다. 따라서, 본 연구 결과에서 젓산균으로 발효했을 때 발효 전보다 발효 후에 항당뇨 활성이 높아지는 것을 확인할 수 있었다.

**초 록**

본 연구는 *Lactobacillus plantarum*을 이용한 발효물을 제조하여 0, 24, 48, 72시간 동안 품질특성과 생리활성을 분석하였다. 쥘레나무 열매 발효물은 발효시간이 길어질수록 pH는 낮아졌고, 당도는 차이가 없었고 총산도는 증가하였다. 생균수는 발효 24시간이 8.59 log CFU/mL로 가장 높았고, 발효시간이 길어질수록 감소하였다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 14.85 mg GAE/g, 6.74 mg RE/g로 발효 24시간이 가장 높았다. DPPH 및 ABTS radical 소거 활성, 환원력 모두 발효 24시간이 가장 높았다. α-Glucosidase와 α-amylase 저해 활성의 결과, 발효 24시간에서 가장 높게 나타났다. 따라서, 쥘레나무 열매를 젓산 발효하면 발효전보다 생리 활성이 높아짐을 확인하였고, 특히 24시간 발효할 경우 활성이 가장 높아 향후 기능성 식품 소재로서 활용가능성을 확인할 수 있었다.

**Keywords** 쥘레나무열매 · 품질특성 · 항산화 활성 · α-Amylase 저해활성 · α-Glucosidase 저해활성

## References

- Han JT (2006) Development of functional material using the root of *Rosa multiflora*. *Food Ind Nutr* 11: 59–65
- Park GH, Lee JY, Kim DH, Cho YJ, An BJ (2011) Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Rosa multiflora* root. *J Life Sci* 1: 1120–1126. doi: 10.5352/JLS.2011.21.8.1120
- Doh EJ, Shin SM, Lee GS (2019) DNA barcoding analysis of *Rosaceae* Multiflorae Fructus and its adulterants. *Korea J Herbol* 34: 1–8. doi: 10.6116/kjh.2019.34.4.1
- Aritomi M (1962) On the components of the flower petals of *Rosa multiflora* Thunb. and *Rubus hirsutus* Thunb. *Yakugaku Zasshi* 82: 771–773
- Seto T, Yasuda I, Akiyama K (1992) Purgative activity and principals of the fruits of *Rosa multiflora* and *R. wichuraiana*. *Chem Pharm Bull* 40: 2080–2082. doi: 10.1248/cpb.40.2080
- Park JH (2002) Encyclopedia of Chinese crude drugs, Shin-II Co, Seoul, pp 557
- Cho YJ (2013) Antioxidant and antimicrobial activity of *Rosa multiflora* Thunberg fruits extracts. *Curr Res Agri Life Sci* 31: 170–176
- Choi CS, Song ES, Kim JS, Kang MH (2003) Antioxidative activities of *Castanea Crenata* Flos. ethanol extracts. *Kor J Food Sci Technol* 35: 1216–1220
- Muthaiyah B, Essa MM, Chauhan V, Chauhan A (2011) Protective effects of walnut extract against amyloid beta peptide-induced cell death and oxidative stress in PC12 cells. *Neurochem Res* 36: 2096–2103. doi: 10.1007/s11064-011-0533-z
- Nobuyuki I, Shoji F, Akihiro H, Michiko S, Tadashi O (1983) Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 Rats. *J Natl Cancer Inst* 70: 343–352. doi: 10.1093/jnci/70.2.343
- Cha JY, Cho YS (2001) Antioxidative activity of extracts from fruit of *Cudrania tricuspidata*. *J Life Sci* 30: 547–551
- Choi CY, Degrandi IH, Cho SH (2011) Antioxidant effect of assai palm methanolic extract. *Kor J Food Preserv* 18: 967–972. doi: 10.11002/kjfp.2011.18.6.967
- Jin DH, Seong JH, Lee YG, Kim DS, Chung HS, Kim HS (2016) Antioxidant activity and effective compounds of black raspberry (*Rubus coreanus* Miquel) extracted by different solvents. *J Korea Appl Sci Technol* 33: 474–482. doi: 10.12925/jkocs.2016.33.3.474
- Teuber M (1993) Lactic acid bacteria. biotechnology, Second Edition, Weinheim., Zurich, Switzerland, pp. 325–366
- Ahn HY, Park KR, Kim YR, Cha JY, Cho YS (2013) Chemical characteristics in fermented cordycepin-enriched *Cordyceps militaris*. *J Life Sci* 23: 1032–1040. doi: 10.5352/JLS.2013.23.8.1032
- Kong BM, Park JW, Min HB, Kim SH, Kim SY, Yang DC (2008) Physicochemical characteristics of white, fermented and red ginseng extracts. *J Ginseng Res* 32: 238–243. doi: 10.5142/JGR.2008.32.3.238
- Cho HS, Lee SH, Park YS (2018) Process optimization of solid-phase fermentation of *Cordyceps militaris* with germinated soybean using *Lactobacillus plantarum* KCB001. *Food Eng Prog* 22: 256–263
- Champagne CP, Raymond Y (2008) Viability of *Lactobacillus Rhamnosus* R0011 in an apple-based fruit juice under simulated storage conditions at the consumer level. *J Food Sci* 73: 221–226. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00775.x
- Pereira ALF, Maciel TC, Rodrigues S (2011) Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Res Int* 44: 1276–1283. doi: 10.1016/j.foodres.2010.11.035
- 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 Korea Soc Food Sci Nutr* 46: 1308–1315. doi: 10.3746/jkfn.2017.46.11.1308
- Swain T, Hillis WE (1959) The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. the quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agri* 10: 63–68. doi: 10.1002/jsfa.2740100110
- Davis WB (1947) Determination of flavanones in citrus fruits. *Anal Chem* 19: 476–478. doi: 10.1021/ac60007a016
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by use of a stable free radical. *Nature* 81: 1199–1200
- Re R, Pellegrini N, Protegente A, Panala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radic Biol Med* 26: 1231–1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction. antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307–315. doi: 10.5264/eiyogakuzashi.44.307
- Zhu YP, Yin LJ, Cheng YQ, Yamaki K, Mori Y, Su YC, Li LT (2008) Effect of sources of carbon and nitrogen on production of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor by a newly isolated strain of *Bacillus subtilis* B2. *Food Chem* 109: 737–742. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.006
- Bhandari MR, Jong-Anurakkun N, Hong G, Kawabata J (2008)  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb *Pakhanbhed*(*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chem* 106: 247–252. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.05.077
- Kim JW, Hong JH (2020) Physicochemical properties and physiological activities of acai berry extract fermented by lactic acid bacteria. *Korea J Food Preserv* 27: 363–373. doi: 10.11002/kjfp.2020.27.3.363
- Lee DH, Hong JH (2015) Physicochemical properties and storage stability of blueberry fermented by lactic acid bacteria. *Korea J Food Preserv* 22: 796–803. doi: 10.11002/kjfp.2015.22.6.796
- Puls W, Keup U (1973) Influence of an  $\alpha$ -amylase inhibitor (BAY d 7791) on blood glucose, serum insulin and nefa in starch loading tests in rats, dogs and man. *Diabetologia* 9: 97–101. doi: 10.1007/BF01230687
- Reddy LV, Min JH, Wee YJ (2015) Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. *Microbiol Biotechnol Lett* 43: 120–125. doi: 10.4014/mbl.1504.04007
- Song BN, Lee DB, Lee SH, Park BR, Choi JH, Kim YS, Park SY (2020) Physicochemical properties and antioxidant activity of extract from *Astragalus membranaceus* Bunge leaf fermented with lactic acid bacteria. *Korea J Med Crop Sci* 28: 428–434. doi: 10.7783/KJMCS.2020.28.6.428
- Sung JM, Choi HY (2014) Effect of mulberry powder on antioxidant activities and quality characteristics of yogurt. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 43: 690–697. doi: 10.3746/jkfn.2014.43.5.690
- Lee HS, Kwon SY, Lee SO, Lee SP (2016) Production of fermented *Omija* (*Schizandra chinensis*) beverage fortified with high content of gamma-amino butyric acid using *Lactobacillus plantarum*. *Korea J Food Preserv* 23: 326–334. doi: 10.11002/kjfp.2016.23.3.326
- Kim GH, Bae EK (1999) Lactic acid bacteria for the preservation of fruit and vegetables. *Korea J Food Preserv* 6: 245–254
- 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 Korea Soc Food Sci Nutr* 46: 1308–1315
- Lee DH, Hong JH (2016) Physicochemical properties and antioxidant activities of fermented mulberry by lactic acid bacteria. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 45: 202–208. doi: 10.3746/jkfn.2016.45.2.202
- Kurmann JA, Rasic JL (1991) The health potential of products containing bifidobacteria, therapeutic properties of fermented milk. *Agricultural Institute Grangeneuve, Posieux, Switzerland*, pp 117–157
- Oh YJ, Kim TS, Moon HW, Lee SY, Ji GE, Hwang KT (2020) *Lactobacillus plantarum* PMO 08 as a probiotic starter culture for plant-based fermented beverages. *Molecules* 25: 5056. doi: 10.3390/molecules25215056
- Jeong SJ, Kim BH, Lee JH, Park YE, Kim JG, Kwon GS, Lee JB (2019) Increased antioxidant activity of the fermented *Cnidium officinale* extract by *Lactobacillus plantarum* BHN-LAB 33. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 48: 1053–1060
- Seo MJ, Kang BW, Park JU, Kim MJ, Lee HH, Kim NH, Kim KH, Rhu EJ, Jeong YK (2013) Effect of fermented *Cudrania tricuspidata* fruit

- extracts on the generation of the cytokines in mouse spleen cells. *J Life Sci* 23: 682–688. doi: 10.5352/JLS.2013.23.5.682
42. Kim SE, Baek S, Lee HS, Kim HK (2018) Inhibitory effects of black radish fermented with probiotics on antioxidant and lipid accumulation. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 47: 710–716
43. Jang GW, Choi SI, Han X, Men X, Kwon HY, Choi YE, Kang NY, Park BW, Kim JJ, Lee OH (2021) Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Phellodendron amurense* extract fermented with *Lactobacillus plantarum* CM. *J Food Saf Hyg* 36: 196–203. doi: 10.13103/JFHS.2021.36.2.196
44. Hung P.V, Maeda T, Miyatake K, Morita N (2009) Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. *Food Res Int* 42: 185–190. doi: 10.1016/j.foodres.2008.10.005
45. Han EJ, Um JH, Park SY, Lim JS, Lim DH, Ahn CB, Ahn GN (2015) Antioxidant effects of the enzymatic extracts from *Lactobacillus plantarum*-fermented *Saccharina japonica*. *J Chitin Chitosan Res* 20: 202–209
46. Kim EJ, Choi YC, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH (2012) Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korea J Food Sci Technol* 44: 337–342. doi: 10.9721/KJFST.2012.44.3.337
47. Shin JH, Yoo SK (2012) Antioxidant properties in microbial fermentation products of *Lonicera japonica* Thunb. extract. *J East Asian Soc Dietary Life* 22: 95–102