Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society
Vol. 23, No. 11 pp. 484-491, 2022

https://doi.org/10.5762/KAIS.2022.23.11.484
ISSN 1975-4701 / eISSN 2288-4688

블랙베리 착즙액의 유산균 발효를 통한 항산화 활성에 관한 연구

김희종[1], 안용후[1], 오건[2], 권상철[1*]
[1]한국교통대학교 식품공학전공, [2]강원대학교 식품생명공학전공

A Study on the Antioxidant Activity of Blackberry Ferments by Lactobacillus

Hui-Jong Kim[1], Yong-Hu Ahn[1], Geon Oh[2], Sang-Chul Kwon[1*]
[1]Department of Food Science and Technology, Korea National University of Transportation
[2]Department of food biotechnology, Kangwon National University

요 약 본 연구는 블랙베리의 유산균 발효에 따른 항산화 활성의 차이를 연구하여 발효를 통한 항산화 활성 증가에 가장 적합한 유산균과 기능성 식품으로서의 활용 가능성을 알기 위한 목적으로 진행하였다. 냉동 블랙베리와 3종의 유산균 *Leuconostoc mesenteroides*(L. m), *Lactobacillus plantarum*(L. pl), *Lactobacillus paracasei*(L. pa)를 사용하여 진행하였고, 블랙베리를 착즙 한 뒤 살균하고 유산균 접종 후 시간 경과에 따른 당도, pH, 항산화 효능의 변화를 분석하였다. 연구결과 pH 측정 값은 큰 변화가 없었다. 당도는 발효시간에 따라 지속적으로 감소하였으며, L. pa가 13.4 °Brix에서 6.8 °Brix로 가장 많이 감소하였다. 총 폴리페놀 함량의 경우 3종의 유산균이 72시간에 각각 28.63 mg GAE/g, 46.75 mg GAE/g, 51.83 mg GAE/g로 L. pa가 가장 높은 값을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량에서도 L. pa가 90.53 mg CE/g로 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 나타내었다. DPPH, ABTS radical 소거능도 L. pa가 72시간에 각각 37.97 mg AEAC/g, 55.49 mg AEAC/g로 가장 높은 걸 확인하였다. 위 결과를 통해 L. pa가 블랙베리의 유산균 발효를 통한 항산화 활성 증가에 가장 적합한 유산균이라 판단되며, 이를 통해 다양한 식품 산업의 기능성 식품이나 천연물로서 활용 가치가 있다고 판단된다.

Abstract The purpose of this study was to evaluate the difference in the antioxidant activity of blackberries as a result of fermentation with lactic acid bacteria and to explore the possibility of using fermented blackberries as a functional food. The study also sought to identify the lactic acid bacteria that are most suitable for fermentation. The study was conducted using frozen blackberries fermented using three types of lactic acid bacteria, namely *Leuconostoc mesenteroids*(L. m), *Lactobacillus plantarum*(L. pl), and *Lactobacillus paracasei*(L. pa). The fermented product was then sterilized and the changes in sugar, pH, and antioxidant activities were analyzed over the time elapsed after inoculation. The results showed that there was no change in the pH of the fermented blackberries. The sugar content continued to decrease, with the product fermented with L. pa decreasing the most from 13.4°Brix to 6.8°Brix. The total polyphenol content was 28.63 mg GAE/g, 46.75 mg GAE/g, and 51.83 mg GAE/g, for fermentation by L. m, L. pl, and L. pa, respectively, at 72 hours, with L. pa showing the highest value. The product fermented with L. pa showed the highest value even in total flavonoid content, at 90.53 mg CE/g. The assessment of DPPH and ABTS radical scavenging capacity showed that L. pa was again the highest at 37.97 mg AEAC/g and 55.49 mg AEAC/g, respectively, at 72 hours. Thus, L. pa was judged to be the most suitable lactobacillus for the fermentation of lactic acid in blackberries. These results show that fermented blackberries could be worth using as a functional food or natural product in various food industries.

Keywords : Blackberry, Lactic Acid Bacteria, Fermentation, Antioxidant, DPPH

본 논문은 농촌진흥청에서 시행한 농업실용화기술R&D지원사업(과제번호: PJ016865012022)의 지원에 의해 이루어진 것임.
*Corresponding Author : Sang-Chul Kwon(Korea National University of Transportation)
email: ksc6969@ut.ac.kr
Received August 29, 2022 Revised October 6, 2022
Accepted November 4, 2022 Published November 30, 2022

1. 서론

생명현상유지에 필요한 에너지를 발생하는 과정에서 생성되는 자유라디칼(free radical)은 노화를 비롯한 인체의 다양한 질병을 유발하는 원인으로 알려져 있으며, 스트레스, 환경오염, 흡연 등에 의해서도 생성이 증가되는 것으로 보고되고 있다[1-3]. 이에 따라 최근 항산화 활성을 나타내는 과채류들에 대한 연구가 다수 진행되었으며, 그 중에서도 특히 베리류의 항산화 활성에 대한 연구결과가 지속적으로 보고되고 있다[4].

블랙베리(*Rubus fruticosus*)는 쌍떡잎 식물 장미목 장미과 딸기속에 속하는 다년생 식물로 비타민, 식이섬유, 필수 미량요소와 무기질 등이 풍부하고 탄닌성분, 안토시아닌, 트리테르펜 성분 등을 가지고 있어 항암, 항알레르기, 항산화, 항비만, 항균 등의 기능성을 나타낸다고 최근 많은 연구가 진행된 바 있다[5].

유산균은 당을 이용하여 유산을 생성하는 균으로 *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* 등이 있으며[6], 사람의 장내 pH를 낮추어 장내 부패세균의 증식을 억제하는 등의 효과를 가지는 미생물이다[7]. Probiotics는 유산균을 증식하는 균으로, 구체적 기작은 밝혀지지 않았으나 비병원성이고 안전한 균주이며, 장내에서 저해 물질의 생성 등 기능적으로 유용함이 보고되고 있다[8]. 유산균 발효는 유산균에 의해 유용한 물질을 생산하고 항바이러스, 항암, 항염증 및 항산화 등 건강상의 이점을 주는 전통 식품 발효법으로[9], 체내의 생리활성을 증대시킬 수 있는 매우 유익한 기술이다[10]. 또한 항비만, 항암, 항산화, 병원성 미생물에 대한 항균 등의 다양한 기능성 성분을 증진시키고 pH를 낮추어 식품의 저장성을 높이기 때문에 육류, 채소, 유제품 등에 많이 이용되고 있다[11].

블랙베리를 발효한 연구로 Kim 등의 연구[4]가 있으나, 베리의 유산균 발효를 *Lactobacillus plantarum* 균주만 단일로 발효를 진행하고 다른 균주는 모두 2개 이상 혼합하여 발효를 진행해 단일 종의 유산균으로 블랙베리를 발효한 것에 대한 연구는 부족한 실정이다. 연구를 통해 단일 종으로 발효 했을 때 항산화 효능이 가장 좋은 유산균을 찾는다면, 2개 이상의 균주로 발효하였을 때보다 공정이 단순해져 경제적 효과를 가져올 수 있다고 생각된다.

따라서 본 연구에서는 블랙베리 착즙액을 3종의 유산균으로 각각 발효하여 발효물을 제조하고 발효 기간에 따른 생화학적 변화와 항산화 효능을 평가하였으며 유산균 발효에 의한 블랙베리 발효물의 항산화 활성 증가를 확인하고, 이를 통해 3종의 유산균 중 항산화 활성 증가에 가장 적합한 유산균을 찾고 이를 이용한 블랙베리 발효물이 기능성 식품이나 천연물로서의 활용 가능성이 있는지 확인하기 위하여 연구를 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

실험재료인 블랙베리는 칠레산 냉동제품을 구입하여 -20℃에서 보관하면서 시료로 사용하였다. 전처리는 상온에서 해동한 블랙베리를 착즙기(H-300E, Hurom, korea)를 이용하여 착즙액을 만들어 발효에 사용하였다.

2.2 유산균 발효물 제조

유산균 발효물 제조를 위해 한국교통대학교 식품생명학부에서 분양받은 *Leuconostoc mesenteroides* MGE3138(L. m), *Lactobacillus plantarun* MGE3143(L. pl), *Lactobacillus paracasei* MGE3016(L. pa) 균주를 사용하였으며, 각각 백금이로 한 집락 채취해 MRS Broth(Difco Co., USA) 배지에 1차 접종 후 37℃, 24시간 배양하고 배양을 마친 배양액 100 ul를 10 mL MRS Broth에 2차 접종 후 37℃, 24시간 증균배양을 실시하였다. 착즙액 200 g을 autoclave(C-AC-1, chang shin science, korea)를 이용하여 65℃, 30분 살균을 하였다. 그 후 유산균 배양액 2 mL를 살균한 착즙액 200 g에 각각 접종 후 37℃, 72시간 발효를 진행하였다. 이는 항산화 활성이 발효 3일에 가장 큰 활성을 가진다는 Lim의 연구[12]에 따라 발효하였다. 발효 후 autoclave로 65℃, 30분 열을 가하여 유산균의 실활을 유도하였으며, 원심분리기(combi 514R, hanil science industrial, korea)를 이용해 원심분리(3000 rpm, 10 min) 후 상등액을 취하고 동결건조기(FD8508, ilshin biobased, korea)를 이용하여 동결건조를 통해 분말화하여 -70℃에 보관하면서 시료로 사용하였다.

2.3 pH 및 당도 측정

pH 측정은 pH METER(FP20, METTER TOLEDO, Switzerland)를 이용하여 발효물을 3회 반복 측정하였다. 당도는 당도계(PAL-1, ATAGO, tokyo)를 사용해 3회 반복 측정하여 °Brix%로 나타내었다.

2.4 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀은 페놀성 물질이 인몰리브덴산과 반응하여 청색을 나타내는 원리를 적용한 Folin-Denis법을 응용하여 측정하였다[13]. 시료 2 mL에 증류수 8 mL를 가하고 2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 시약(Sigma-aldrich, USA)을 1 mL 가한 뒤 5분간 반응시킨 후, 7% Na_2CO_3 용액 10 mL 가하고 실온 암소에서 2시간 반응시켰다. 반응 후 spectrophotometer(Optizen POP, Mecasys Co., Korea)를 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Gallic acid (Sigma-aldrich, USA)를 농도별로 희석하고 표준곡선을 작성하여 시료 중의 총 폴리페놀 함량을 정량하여 gallic acid equivalents(mg GAE/g)로 환산하여 나타냈다.

2.5 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Lee 등[14]의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 5 mL에 5% sodium nitrite 0.75 mL를 혼합하여 실온에서 6분간 반응시킨 후 10% aluminium chloride 1.5 mL를 첨가하고 실온에서 5분간 반응시킨 다음 1 N NaOH 5 mL와 혼합한 후 spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 (+)-Catechin hydrate (Sigma-aldrich, USA)를 농도별로 희석하고 표준곡선을 작성하여 catechin equivalents(mg CE/g)로 환산하여 나타냈다.

2.6 DPPH radical 소거능

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)에 대한 radical 소거능은 DPPH의 환원력을 이용하여 측정하였다[15]. 시료 1 mL에 0.2 mM DPPH용액(99.9% ethyl alcohol에 용해) 9 mL를 가하고 10초간 혼합한 후 실온 암소에서 10분간 반응시키고 spectrophotometer를 이용하여 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 Ascorbic acid를 이용하였으며, 농도별로 희석하고 표준곡선을 작성하여 Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity(mg AEAC/g)로 환산하여 나타냈다.

2.7 ABTS radical 소거능

ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]에 대한 radical 소거능은 Ku 등[16]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 최종 농도로 혼합하여 실온인 암소에서 12~16시간 동안 방치하여 $ABTS^+$를 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.800±0.20이 되게 증류수를 사용하여 희석하였다. 시료 0.1 mL에 ABTS reaction 혼합물 2.9 mL를 첨가하여 혼합 후 실온에서 10분간 반응시킨 다음 spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거활성은 양성대조군으로 Ascorbic acid를 이용하였으며, 농도별로 희석하고 표준곡선을 작성하여 Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity(mg AEAC/g)로 환산하여 나타냈다.

2.8 통계처리

pH와 당도, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, DPPH radical, ABTS radical 실험은 3회 이상을 반복 실험을 시행하였으며, 얻어진 결과는 SPSS (Statistical package for the social science 18.0) program을 사용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였다. 통계적 유의성 검증은 $p<0.05$ 수준에서 유의적 차이를 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 pH 및 당도

블랙베리 유산균 발효물의 유산균 발효 기간 내 pH와 당도의 변화는 Table 1, Table 2와 같다. 유산균 접종 직후 L. m, L. pl의 pH는 비슷한 경향을 보였으나, L. pa는 위의 유산균들과는 다른 경향을 보였다. L. m, L. pl은 48시간 까지 pH가 감소하였다가 이후에는 증가하였고, L. pa는 48시간 까지는 유의한 차이를 나타내지 않았고 72시간에 조금 증가하였다. L. m과 L. pl은 48시간에 각각 3.30±0.00, 3.31±0.01의 pH를 나타냈고, L. pa는 0시간과 48시간에 3.32±0.01를 나타냈으며, 72시간에 3.34±0.01를 나타내었으나 3종의 유산균 모두 pH가 변하였다고 보기는 어렵다고 판단된다.

당도는 3종의 유산균 모두 동일한 경향을 보였다. 0시간부터 지속적으로 감소하기 시작하여 72시간에 가장 낮은 당도를 나타냈다. 3종 모두 0시간 13.4 °Brix에서 시작하여 72시간에는 각각 9.8±0.1 °Brix, 7.1±0.05 °Brix, 6.8±0.15 °Brix로 L. pa가 72시간에 가장 당도가 낮은 것을 확인하였다. pH 변화는 미생물이 당을 이

용해 유기산을 생성하고, 효소 가수분해에 의한 펩타이드, 아미노산, 유리지방산 등의 증가 차이로 수소이온농도가 증가하는 정도가 다르기 때문인 것으로 보고된 바 있다. 당도의 변화도 이러한 과정에서 변화가 나타난다고 판단된다[17]. 발효 전과 비교하였을 때 발효 후 pH가 감소한 결과를 나타내어 유산균 발효 기간이 경과함에 따라 pH가 감소한다고 보고한 Lim 등의 연구[12]만큼의 pH 감소폭을 보이지는 않았는데 블랙베리의 경우 기존의 pH가 매우 낮은 상태였기 때문에 발효를 진행하더라도 기존 연구보다 낮은 pH 변화를 나타낸 것으로 판단되며 72시간의 pH는 다시 소폭 증가한 결과를 통해 유산균 발효가 72시간 이후로는 진행되지 않을 것으로 판단된다.

3.2 총 폴리페놀 함량

식물유래 항산화제인 폴리페놀은 한 개 이상의 수산기를 가지고 있는 물질로 단백질과 효소, DNA 및 세포막 등의 활성산소에 의한 손상을 예방하는 중요한 항산화 물질이다[17]. 유산균 발효한 블랙베리의 총 폴리페놀 함량은 Table 3과 같다. 폴리페놀 함량은 L. m과 L. pl은 0시간에서 24시간 사이 조금 감소하였다가 증가하였고, L. pa는 지속적으로 증가하였다. 유산균 L. m, L. pl는 24시간에 24.22 mg GAE/g, 23.99 mg GAE/g, L. pa는 0시간에 25.50 mg GAE/g를 나타내었고 점차 증가하여 72시간에 28.63 mg GAE/g, 46.75 mg GAE/g, 51.83 mg GAE/g를 나타내었다. 유산균 발효 후 폴리페놀 증가 값은 가장 낮은 값 대비 L. m은 4.41(18.0%) mg GAE/g, L. pl은 22.76(94.8%) mg GAE/g, L. pa는 26.33(103.3%) mg GAE/g정도 증가하였다. 블랙베리를 L .m으로 발효한 경우는 0시간보다 24시간에 감소하였다가 48시간부터 다시 증가하였고, L. pl과 L. pa는 0시간과 24시간에는 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았으나, 48시간 이후로 유의미한 차이를 보이며 증가하였다. 유산균 발효에 의한 폴리페놀 함량의 증가는 유산균 발효로 생산되는 protease, amylase, lipase 등의 효소의 대사로 인한 것으로 판단한 Park 등의 연구[18]를 참고했으며, Yoon 등의 연구[19]를 참고하여 유산균 발효에 의해 발효 전후의 폴리페놀 함량이 더욱 증가한 것과 유산균 종류에 따라 총 폴리페놀 함량의 차이가 발생한 것이 유사한 경향을 나타내었다.

Table 1. Changes in pH of fermented black berry extraction liquid with lactic acid bacteria.

	Changes in pH			
Sample	0 h	24 h	48 h	72 h
L. m	3.41 ± 0.07^{a}	3.31 ± 0.01^{b}	3.3 ± 0.00^{b}	3.37 ± 0.05^{ab}
L. pl	3.39 ± 0.07^{a}	3.4 ± 0.01^{ab}	3.32 ± 0.05^{b}	3.38 ± 0.03^{ab}
L. pa	3.32 ± 0.00^{a}	3.32 ± 0.01^{a}	3.32 ± 0.01^{a}	3.34 ± 0.01^{b}

Results are expressed as the means±SD, pH. In each sample, a-b superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test; L. m, *Leuconostoc. mesenteroides*; L. pl, *Lactobacillus. plantarun*; L. pa, *Lactobacillus. paracasei*.

Table 2. Changes in Sugar concentration(°Brix) of fermented black berry extraction liquid with lactic acid bacteria.

	Changes in Sugar concentration(Brix%)			
Sample	0 h	24 h	48 h	72 h
L. m	13.4 ± 0.15^{a}	12.5 ± 0.15^{b}	10.2 ± 0.06^{c}	9.8 ± 0.10^{d}
L. pl	3.4 ± 0.10^{a}	12.4 ± 0.10^{b}	9.4 ± 0.10^{c}	7.1 ± 0.06^{d}
L. pa	13.4 ± 0.06^{a}	12.4 ± 0.10^{b}	9.6 ± 0.15^{c}	6.8 ± 0.15^{d}

Results are expressed as the means±SD, Sugar concentration(°Brix). In each sample, a-d superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test; L. m, *Leuconostoc. mesenteroides*; L. pl, *Lactobacillus. plantarun*; L. pa, *Lactobacillus. paracasei*.

3.3 총 플라보노이드함량

유산균을 달리한 블랙베리 착즙액 발효물의 총 플라보노이드를 분석한 결과 Table 4와 같은 결과를 보였다. 72시간 발효한 L. pa가 90.53 mg CE/g 로 가장 높았고, 다음으로 L. pl 83.87 mg CE/g , L. m 62.53 mg CE/g 순으로 플라보노이드 함량을 확인하였다. L. m, L. pl, L. pa가 각각 0시간에 46.53 mg CE/g, 47.87 mg CE/g, 47.20 mg CE/g으로 나타난 것과 비교하여 유산균 발효 72시간 동안 증가한 증가 값은 L. m 16(34.4%) mg CE/g, L. pl 36(75.2%) mg CE/g, L. pa 43.33(91.8%) mg CE/g로 증가한 증가 값을 비교하여도 L. pa가 가장 높은 증가 값을 나타내었다. 통계적으로 L. m은 0, 24, 48, 72시간에 대한 플라보노이드 함량이 수치상으로는 증가하였으나 통계적으로 유의미한 증가를 나타내지는 못했고, L. pl은 48시간 까지는 통계적으로 유의미한 차이를 나타내지 않았으나 72시간에 유의하게 증가한 결과를 보였다. L. pa는 48시간부터 통계적으로 유의한 증가를 보이기 시작하였으며 72시간에 가장 높은 플라보노이드 함량을 보였다. 이러한 플라보노이드 함량의 증가는 유산균 발효에 의해 총 플라보노이드 함

량이 증가하였다는 Lee 등의 연구[14]와 유사한 결과를 나타내었다.

3.4 DPPH radical 소거능

DPPH는 화학적으로 안정화된 free radical을 지닌 수용성 물질이며 이를 항산화 활성이 있는 물질에 의해 수소나 전자를 받게 되면 불가역적으로 안정한 분자를 형성하고 환원됨에 따라 짙은 보라색이 탈색되는 원리를 이용해 천연물로부터의 항산화 활성을 나타내는데 많이 사용되는 방법이다[20]. 블랙베리 착즙액 유산균 발효물의 DPPH radical 소거능(mg AEAC/g) 은 Fig. 1과 같다. 0시간에서의 L. m과 L. pl, L. pa의 DPPH radical 소거능은 각각 18.42±0.23 mg AEAC/g, 18.52±0.23 mg AEAC/g, 19.48±0.41 mg AEAC/g를 나타내었고, 72시간에는 20.34±0.58 mg AEAC/g, 32.68±0.23 mg AEAC/g, 37.97±0.09 mg AEAC/g로 DPPH radical 소거능이 증가한 결과를 보였다. 0시간과 72시간을 비교한 각각의 DPPH radical 소거능 증가 값은 1.92(10.4%) mg AEAC/g, 14.16(76.5%) mg AEAC/g, 18.49(94.9%) mg AEAC/g 로 L. pa가 가장 높은 증가 값을 나타낸 것을 확인 하였다. 다음으로는 L. pl, L. m의 순서로 DPPH radical 소거능이 증가한 결과를 보였다. 3종의 유산균 모두 0시간과 24시간에는 DPPH radical 소거능 이 유의미한 차이를 나타내지 않았고, L .m의 경우는 48시간과 72시간에도 증가하였으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다. DPPH radical 소거능의 증가는 블루베리를 유산균 발효한 Lee 등의 연구[14]와 동일하게 발효 후의 DPPH radical 소거능이 발효 전보다 증가한 것을 확인하였다. 추가적으로 유산균주에 따라서도 DPPH radical 소거능이 유의미한 차이를 보이는 것 또한 확인하였다.

Table 3. Changes in Total Polyphenol content of fermented black berry extraction liquid with lactic acid bacteria.

Changes in Total polyphenol content (mg GAE/mL)				
Sample	0 h	24 h	48 h	72 h
L. m	25.10±0.23^{b}	24.22±0.10^{a}	27.15±0.46^{c}	28.63±0.35^{d}
L. pl	24.36±0.15^{a}	23.99±0.15^{a}	31.73±0.56^{b}	46.75±0.91^{c}
L. pa	25.50±0.52^{a}	26.61±1.07^{a}	33.28±0.35^{b}	51.83±0.38^{c}

Results are expressed as the means±SD, mg GAE/mL. In each sample, a-d superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test; L. m, *Leuconostoc. mesenteroides*; L. pl, *Lactobacillus. plantarun*; L. pa, *Lactobacillus. paracasei*.

Table 4. Changes in Total Flavonoid content of fermented black berry extraction liquid with lactic acid bacteria.

Changes in Total Flavonoid content (mg CE/g. In)				
Sample	0 h	24 h	48 h	72 h
L. m	46.53±6.43^{a}	53.20±23.58^{a}	53.20±2.00^{a}	62.53±5.77^{a}
L pl	47.87±2.31^{a}	47.87±9.45^{a}	54.53±4.62^{a}	83.87±6.43^{b}
L. pa	47.20±5.29^{a}	41.87±1.15^{a}	63.87±11.02^{b}	90.53±4.16^{c}

Results are expressed as the means±SD, mg CE/g. In each sample, a-d superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test; L. m, *Leuconostoc. mesenteroides*; L. pl, *Lactobacillus. plantarun*; L. pa, *Lactobacillus. paracasei*.

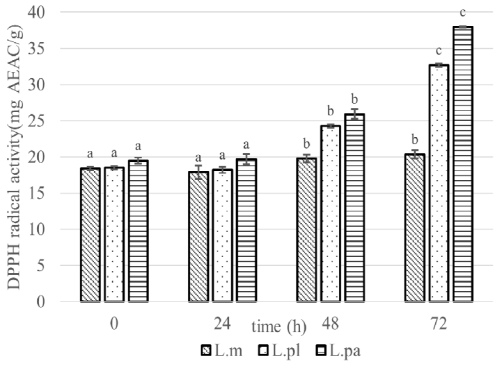

Fig. 1. Changes in DPPH radical activity of fermented black berry extraction liquid with lactic acid bacteria. In each sample, a-c superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test; L. m, *Leuconostoc. mesenteroides*; L. pl, *Lactobacillus. plantarun*; L. pa, *Lactobacillus. paracasei*.

3.5 ABTS radical 소거능

ABTS radical 소거능(mg AEAC/g)을 분석한 결과를 Fig. 2로 나타내었다. 발효를 시작한 0시간에는 L. m, L. pl, L. pa 각각 23.93±1.02 mg AEAC/g, 24.37±0.60 mg AEAC/g, 25.29±0.61 mg AEAC/g의 ABTS radical 소거능을 나타내었고 72시간에는 3종의 발효물 모두 ABTS radical 소거능이 증가하여 각각 30.35±0.71 mg AEAC/g, 50.20±0.99 mg AEAC/g, 55.49±1.52 mg AEAC/g의 ABTS radical 소거능을 보였다. 72시간에 L. pa가 가장 ABTS radical 소거능이 높은 결과를 나타내었고 그 뒤로는 L. pl, L .m의 순서로 ABTS radical 소거능이 높은 것을 확인 하였다. 각각의 ABTS 증가 값은 0시간을 기준으로 72시간에 6.42(26.8%) mg AEAC/g, 25.83(106.0%) mg AEAC/g, 30.2(119.4%) mg AEAC/g 만큼 ABTS radical 소거능이 증가한 결과

를 나타내며 L. pa가 가장 적은 시간에 가장 높은 ABTS radical 소거능을 보였다. 3종의 유산균 모두 통계적으로 DPPH radical 소거능과 비슷한 경향을 보여 0시간과 24시간에는 유의적인 차이를 보이지 않고 48시간 이후로 유의적인 ABTS radical 소거능의 증가를 보였다. ABTS와 DPPH는 동일하게 라디칼 소거능을 측정하는 방법이지만 항산화 물질에 따라서 라디칼에 결합하는 능력이 차이가 발생한다는 Ku 등의 연구[16]를 참고하여 블랙베리는 DPPH보다 ABTS의 소거능이 비교적 높은 수치를 내는 것이 이러한 이유인 것으로 판단된다.

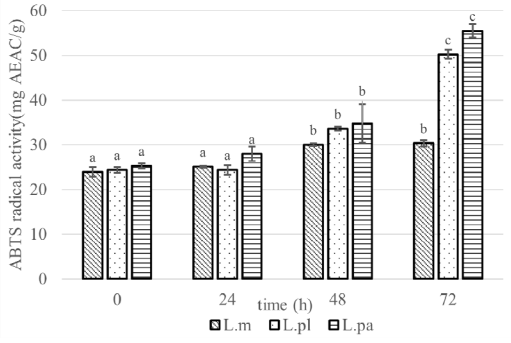

Fig. 2. Changes in ABTS radical activity of fermented black berry extraction liquid with lactic acid bacteria. In each sample, a-c superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test; L. m, *Leuconostoc. mesenteroides*; L. pl, *Lactobacillus. plantarun*; L. pa, *Lactobacillus. paracasei*.

4. 결론

본 연구에서는 블랙베리의 유산균 발효에 따른 항산화 활성에 대한 연구를 통해 항산화 활성 증가에 가장 적합하다고 판단되는 유산균과 기능성 식품으로서의 활용 가능성이 있는지 판단하기 위해 발효물의 pH와 당도, 항산화 물질 및 효능을 분석하였다. pH는 발효가 진행됨에 따라 감소하였으나 매우 소폭 감소하였는데 기존 0시간 pH가 약 3.37로 매우 낮은 상태였기 때문에 매우 소폭으로 감소한 것으로 판단되며, 당도는 L. m, L. pl, L. pa 모두 0시간에 13.4 °Brix%를 나타내었고, 시간이 지남에 따라 감소해 72시간에는 각각 9.8 °Brix%, 7.1 °Brix%, 6.83 °Brix%까지 감소하였다. 이는 유산균 생육에 당이 사용되기 때문에 나타난 결과라고 판단이 되어 유산균 발효가 정상적으로 진행되었다고 볼 수 있다.

항산화 물질 및 효능을 분석하기 위해 총 폴리페놀 함량과 총 폴라보노이드 함량, DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능 실험을 진행하였으며, 위의 4종의 실험결과는 약간의 차이가 있으나, 공통적으로는 L. pa가 발효시간이 증가됨에 따라 72시간에 가장 높은 항산화 물질 및 효능이 가장 높은 결과를 보였다. 자세히 보면 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 72시간에 L. m, L. pl, L. pa가 각각 28.63 mg GAE/g, 46.75 mg GAE/g, 51.83 mg GAE/g 과 62.53 mg CE/g, 83.87 mg CE/g, 90.53 mg CE/g로 L. pa가 가장 높은 값을 나타내었다. 이는 유산균 발효에 의해 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 증가한 것으로 판단되고, 각각의 유산균 마다 발효에 의한 항산화 물질 생성의 차이가 크게 발생하는 것을 확인하였다.

DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능 또한 72시간 발효한 발효물이 각각 20.34±0.58 mg AEAC/g, 32.68±0.23 mg AEAC/g, 37.97±0.09 mg AEAC/g과 30.35±0.71 mg AEAC/g, 50.20±0.99 mg AEAC/g, 55.49±1.52 mg AEAC/g로 L. pa가 가장 높은 활성을 나타내었으며, 같은 발효시간에도 두 실험에서 소거능의 차이를 나타낸 것은 항산화 물질에 따른 라디칼의 결합이 차이가 발생하기 때문으로 사료된다.

본 연구의 결과를 토대로 블랙베리 착즙액의 유산균 발효가 다양한 항산화 물질과 항산화 활성을 증가시키며 발효시간은 72시간이 가장 적합하다고 판단된다. 또한 L. m, L .pl, L. pa중 L. pa가 가장 항산화 물질 및 활성이 높기 때문에 1종의 유산균만으로 발효를 진행할 경우 가장 적합한 유산균으로 보인다. 이렇게 항산화 활성을 높인 발효물은 다양한 식품 산업의 기능성 식품 또는 천연물로 사용하면 건강에 도움이 될 것이라 판단된다.

References

[1] S. J. Park, E. S. Kim, Y. S. Choi, J. D. Kim, "Effects of sophorae fructus on antioxidative activities and lipid levels in rat.", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 37, No. 9, pp.1120-1125, 2008.
DOI: https://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.9.1120

[2] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. Cronin, M. Mazur, J. Telser, "Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease.", *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Vol.39, No.1, pp.44-84, 2007.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001

[3] H. S. Yang, Y. J. Choi, H. H. Oh, J. S. Moon, H. K.

Jung, K. J. Kim, , "Antioxidative activiti of mushroom water extracts fermented by lactic acid bacteria.", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 43, No. 1, pp.80-85, 2014.
DOI: https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.1.080

[4] J. B. Kim, H. S. Sim, S. J. Ha, M. D. Kim, "Enhancement of Antioxidative Activities of Berry or Vegetable Juices through Fermentation by Lactic Acid Bacteria.", *Microbiology and Biotechnology Letters*. Vol.43, pp.291-295, 2015.
DOI: https://doi.org/10.4014/mbl.1505.05007

[5] H. W. Kim, D. S. Kim, N. Y. Sung, I. J. Han, B. S. Lee, S. Y. Park, J. Eom, J. Y. Suh, J. H. Park, A. R. Yu, J. S. Kim, "Development of functional cosmetic material using a combination of *Hippophae rhamnoides* fruit, *Rubus fruticosus* leaf and *Perillae folium* leaf extracts.", *Asian Journal of Beauty & Cosmetology*, Vol.17, No.4, pp.477-488, 2019.
DOI: https://doi.org/10.20402/ajbc.2019.0319

[6] Y. T. Ahn, K. S. Lim, C. S. Huh, "Current state of functional yogurt in Korea", *Korean Journal of Dairy Science and Technology*, Vol.24, No.1, pp.29-42, 2006.

[7] P. R. Marteau, M. de Vrese, C. J. Cellier, J. Schrezenmeir, "Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics.", *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol.73, No.2, pp.430-436, 2001.
DOI: http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/73.2.430s

[8] J. H. Ha, Y. C. Seo, W. Y. Choi, J. S. Kim, H. H. Kim, J. H. Ahn, H. Y. Lee, "Enhancement of antioxidant activities of bark of Berberis Koreana palibin by lactic acid fermentation.", *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, Vol.18, No.6, pp.421-428, 2010.

[9] S. Parvez, K. A. Malik, S. A. Kang, H. Y. Kim, "Probiotics and their fermented food products are beneficial for health.", *Journal of Applied Microbiology*, Vol.100, No.6, pp.1171-1185, 2006.
DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x

[10] J. H. Lee, B. H. Kim, Y. C. Yoon, J. G. Kim, Y. E. Park, "Anti-obesity and Anti-diabetes Effects of the Fermented White Jelly Fungus (Tremella fuciformis Berk).", *Journal of Life Science*, Vol.29, No.4, pp.470-477, 2019.
DOI: https://doi.org/10.5352/JLS.2019.29.4.470

[11] M. J. Rob Nout, "Rich nutrition from the poorest – Cereal fermentations in Africa and Asia,", *Food Microbiology*, Vol.26, No.7, pp.685-692, 2009.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.002

[12] M. J. Lim, Y. R. Gu, J. H. Hong, "Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Safflower (Carthamus tinctorius L.) Extracts according to Fermentation of Lactic Acid Bacteria.", *Journal of Chitin and Chitosan*, 24(1), 24-32 (2019).
DOI: https://dx.doi.org/10.17642/jcc.24.1.4

[13] O. Folin, W. Denis, "A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine.", *Journal of Biological Chemistry*, 22: 305-308, 1915.
DOI: https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)87648-7

[14] D. H. Lee, J. H. Hong, "Physicochemical properties and storage stability of blueberry fermented by lactic acid bacteria" *Korean Journal of Food Preservation*, Vol. 22, No. 6, pp.796-803, 2015.
DOI: https://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2015.22.6.796

[15] M. S. Blois, "Antioxidant determinations by use of a stable free radical.", *Nature*, 1199-1200, 1958.
DOI: http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0

[16] H. Y. Ku, K. Y. Lee, "Comparison of Antioxidant Activity of Vegetable Oil by Using Adsorbents", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 19, No. 4, pp.57-62, 2017.
DOI: https://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2018.19.4.57

[17] S. J. Yang, J. H. Hong, "Physicochemical Characteristics and Biological Activities of Fermented Quinoa according to Fermentation Times", *Journal of Chitin and Chitosan*, 21(3), 188-196, 2016.
DOI: http://dx.doi.org/10.17642/jcc.21.3.6

[18] M. R. Park, C. Yoo, Y. N. Chang, B. Y. Ahn, "Change of total polyphenol content of fermented Gastrodia elata Blume and radical scavenging.", *Korean Journal of Plant Resources*, 25, 379-386.
DOI: https://doi.org/10.7732/kjpr.2012.25.4.379

[19] Y. C. Yoon, B. H. Kim, J. K. Kim, J. H. Lee, Y. E. Park, G. S. Kwon, H. S. Hwang, J. B. Lee, "Verification of Biological Activities and Tyrosinase Inhibition of Ethanol Extracts from Hemp Seed (Cannabis sativa L.) Fermented with Lactic Acid Bacteria", *Korean Society of Life Science*, 28(6), 688-696.
DOI: https://doi.org/10.5352/JLS.2018.28.6.688

[20] Y. T. Doo, "Quality Evaluation and Comparison of Antioxidant and Antibacterial Effects of Green Tea and Red Clay Fermented Green Tea", *Journal of Business Convergence*, Vol.7, No.3, pp.29-33, 2022.
DOI: http://dx.doi.org/10.31152/JB.2022.08.7.3.29

김 희 종(Hui-Jong Kim) [준회원]

• 2017년 3월 ~ 현재 : 한국교통대학교 식품공학전공 학부

〈관심분야〉
HACCP, 식품위생, 식품미생물, 식품가공, 식품분석

안 용 후(Yong-Hu Ahn) [준회원]

• 2016년 3월 ~ 2022년 2월 : 한국교통대학교 식품공학전공 학부
• 2022년 3월 ~ 현재 : 한국교통대학교 식품공학전공 석사 과정

〈관심분야〉
HACCP, 식품위생, 식품미생물, 식품가공, 식품분석

오 건(Geon Oh) [준회원]

• 2016년 3월 ~ 2022년 2월 : 한국교통대학교 식품공학전공 학부
• 2022년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 식품환경융합학과 식품생명공학전공 석사 과정

〈관심분야〉
HACCP, 식품위생, 식품미생물, 식품가공, 식품분석

권 상 철(Sang-Chul Kwon) [정회원]

• 1999년 2월 : 성균관대학교 생명자원과학과 (농학석사)
• 2002년 2월 : 성균관대학교 식품생명공학과 (이학박사)
• 1995년 10월 ~ 2011년 2월 : ㈜ 참선진종합식품 (R&D 부장)
• 1995년 10월 ~ 2013년 2월 : 한국식품산업협회 식품안전지원단
• 2013년 3월 ~ 현재 : 한국교통대학교 식품공학전공 교수

〈관심분야〉
HACCP, 식품위생, 식품미생물, 식품가공, 식품분석