



*Weissella cibaria*를 이용한 오디발효음료의 제조

김정순¹ · 황은영² · 최상원² · 박재용^{2*}

¹대구가톨릭대학교 교육대학원 영양교육전공, ²대구가톨릭대학교 식품영양학과

Preparation of Fermented Mulberry Beverage by *Weissella cibaria*

Jeong-Sun Kim¹, Eun-Young Hwang², Sang-Won Choi², and Jae-Yong Park^{2*}

¹Major in Nutrition Education, Graduate School of Education, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

²Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Abstract: For preparation of fermented mulberry beverage by lactic acid bacteria, one strain was isolated from mulberry fruit. The strain has high fructose utilization ability and was identified as *Weissella cibaria* by 16S rRNA sequence analysis with 99.8% identity. The strain was named as *W. cibaria* JP0080. *W. cibaria* JP0080 was inoculated in the diluted mulberry fruit juice (10, 20, 30, 40 and 50%) with final 1% sugar concentration. The strain reached the log phase within 2 hours and the stationary phase within eight hours with viable cell count of 2.21×10^{10} ~ 2.14×10^{11} CFU/mL. It showed the strain can be growth rapidly in diluted mulberry fruit juice. The pH was rapidly decreased during fermentation from 4.9 (before fermentation) to 4.03 (2 hour) and 3.59 (6 hour). Undiluted mulberry juice showed highest acidity level independently fructose addition and more diluted mulberry juice showed less acidity after fermentation. For sensory test, 9% fructose was added in fermented mulberry juice and performed filtration. The results of overall preference showed that no significant difference while fermented 10% juice showed significantly low. After 12 hour fermentation of diluted mulberry juice (20%) showed slightly decreasing of isoquercitrin concentration from 1.06 to 0.89 mg/L, while quercetin concentration was increased from 0.75 to 1.05 mg/L. To conclude, 20% mulberry juice is ideal material for development of mulberry fermented beverage.

Keywords: mulberry, *Weissella cibaria*, fermented mulberry beverage

서 론

오디(mulberry)는 뽕나무과(一科, *Moraceae*)의 뽕나무속(*Morus alba* L.)에 속하는 낙엽 활엽교목인 뽕나무의 열매로서 날것으로 먹거나 술을 담가 먹기도 하고 잎은 잠엽(蠶葉)이라 하여 누에를 기를 때 먹이로 사용되기도 하며, 기능성 신소재로 이용되기도 한다. 오디는 오월 초순인 입하(立夏) 즈음에 개화를 하고 6월 중순인 단오(端午) 전후에 검은색 또는 자홍색의 열매가 열리며, 당과 유기산을 비롯하여 신비의 black food의 대명사인 antocyanine 색소를 다량 함유하고 있다(Ishikura, 1975; Kim *et al.*, 2010; Park *et al.*, 1997). Antocyanine 색소 성분으로는 cyanidin-3-glucoside와 cyanidin-3-rutinoside가 대부분을 차지하는 것으로

알려져 있는데, anthocyanin은 flavonoid의 일종으로 소염제, 항알러지제, 면역증강제, 항바이러스제 등의 생리활성이 있는 것으로 보고되어 있다(Chae *et al.*, 2003; Havsteen, 1983; Ishikura, 1975; Kang *et al.*, 2003).

유산균은 유산발효에 의한 식품의 보존성의 향상, 유산을 비롯한 대사 생산물에 의한 풍미증진, 길항 물질 등의 생성으로 인체 유해 미생물의 억제에 의한 건강증진, 비타민과 같은 인체 유용 물질의 합성에 의한 영양 및 건강 증진 효과를 목적으로 이용하는 등의 probiotic의 기능을 수행하고 있다(Kim *et al.*, 2003). 효능으로는 정장 작용은 물론이고 면역증강 작용, 간경화 개선, 항암 작용, 혈청 cholesterol 저하기능, 피부미용 효과는 물론이고 영양학적 가치를 증진시킨다고 보고되어 있다(Kim *et al.*, 2003; Park and Chang, 2003).

기존에 복분자나 과채류 유산균 발효 음료 개발에 관한 연구가 진행된 바 있으나(Im *et al.*, 2013; Park and Chang, 2003), 오디를 이용한 발효음료에 대한 연구는 아직 전무한 상태이며, 오디와 유산균을 동시에 섭취하기 위한 연구는 오디를 첨가한 요구르트에 대한 연구가 진행된 바 있을 뿐이다(Kim *et al.*, 2003). 또한 복분자나 과채류 유산균 발효

*Corresponding author: Jae-Yong Park, Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea.

Tel: 82-53-850-3521, Fax: 82-53-850-3516

E-mail: jaepark@cu.ac.kr

Received December 20, 2013; Revised January 8, 2014;

Accepted January 10, 2014

음료 개발에 관한 연구들은 해당 식물체로부터 유산균을 분리하지 않고 기존에 분리되어 있던 유산균을 활용하여 발효음료를 개발하였다(Im *et al.*, 2013; Park and Chang, 2003). 본 연구에서는 오디에서 직접 유산균을 분리하여 유산발효 음료를 제조함으로써, 오디 과즙에서 빠르게 유산발효가 일어날 수 있는 조건을 확립하고, 제조된 유산균 발효음료의 기호도 조사를 실시하여 선호도를 예측함으로써 생리활성 효과를 기대한 기능성 음료로서의 오디발효음료의 제조 가능성을 검토해 보고자 하였다.

재료 및 방법

오디 및 오디주스의 제조

실험에 사용된 뽕나무(*Morus alba* L.) 열매 오디는 2012년 5월말에서 6월 중순까지 경북 영천에서 수확한 익수뽕 품종의 오디를 사용하였다. 수확한 생오디는 -20°C에 급속 냉동하였으며, 실험을 위해 냉장고에서 12시간 해동한 후 다시 실온에서 해동하여 사용하였다. 오디주스는 해동한 오디를 착즙한 후 필터하여 착즙원액으로 준비하여 사용하였다.

유산균 분리 및 동정

멸균된 eppendorf tube에 PBS(phosphate buffered saline)를 900 μ L씩 넣고 막자사발에 마쇄한 오디액 100 μ L를 가한 후, 10배 단계 희석하고 fructose가 첨가된 BCP(bromocresol purple) 배지에 각 100 μ L씩 도말을 한 후, 30°C 항온기에 배양하면서 12시간부터 24시간까지 증식을 확인하였다. 배양 후 생성된 colony를 MRS 고체 평판배지(Difco, USA)에 streaking하였으며, 30°C 항온 배양기에서 24시간 배양하였다. Fructose가 첨가된 BCP 배지에서 노란색 환이 가장 큰 균주를 최종 선발하였다. 분리한 균주는 16S rDNA sequencing을 통해 동정하였다. MRS 액체배지에 12시간 배양한 분리균주에서 Chromosomal DNA를 분리한 후, 16S rRNA 유전자를 PCR(T100™ Thermal Cycler, BIO-RAD, Singapore) 증폭하였다. Primer는 27f(5'-AGAGTTTGATCTGGCTCAG-3')와 1525r(5'-AAGGAGGTGTCCARCC-3')을 이용하였으며, PCR 조건은 Denaturation 94°C 30초, Annealing 54°C 30초, Extension 72°C 60초로 실시하였다. 증폭된 16S rRNA 유전자는 정제(PCR purification kit, Roche, Germany)를 거쳐, pGEM-T easy vector(Promega, USA)로 클로닝하여 염기서열 분석을 하였다. 염기서열 분석은 코스모진텍(COSMO GENETECH, Korea)에 의뢰하였고, 확인된 염기서열을 NCBI site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 Blast program으로 검색하여 최종적으로 동정하였다.

오디 주스에서 유산균 생육 측정

오디 착즙원액을 40%, 30%, 20%, 10%로 희석하고 최종

1%가 되도록 fructose를 첨가하였으며, MRS배지에서 하루 밤 배양한 분리 유산균을 2.5%씩 각각 접종하였으며, 12시간 발효시킨 뒤 진공 여과장치(KMT 200 G6, 금성단상 유도전동기, Korea)와 0.45 μ m membrane filter(ADVANTEC MFS, Ins. Japan)로 제균하여 음료를 제조하였다. 50 mL conical test tube에 각각의 시료를 준비하고, MRS 액체배지에서 12시간 배양하여 선택된 유산균을 2.5% 접종한 후 30°C에서 배양하면서 OD 600 nm에서 흡광도를 UV spectrophotometer(V-530, JASCO, JAPAN)를 사용하여 유산균의 생육 정도를 측정하였다. 이와 동시에 유산균 생균수를 네가지의 오디 희석액을 주입 평판법(pour plate method)을 적용하여 시료를 계수하였다. 0.1%의 peptone수를 900 μ L씩 멸균된 eppendorf tube에 넣고 유산균이 접종된 오디 희석액 시료 100 μ L를 가한 후, 10배 희석하였다. 각각의 시료 100 μ L를 plate에 분주한 후 MRS(Difco, U.S.A) 배지를 부어 굳힌 후 30°C 항온기에서 24시간 배양하였다. 계수는 30°C에서 300개 대의 생균을 기준으로 colony를 계수하여 CFU/mL를 구하였다. CFU/mL 최종 생균수는 시료당 3개의 plate 평균값과 오차범위를 구하였다.

pH 및 산도 측정

생육 측정 과정에서 시료를 일부 취하여 pH meter(pH210, HANNA, Korea)를 사용하여 pH를 측정하였으며, 측정 시 실내 온도는 23.7°C였다. 산도는 생육측정의 시료를 2 mL 취하여 증류수 18 mL를 가하여 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고 이때 소비된 0.1 N NaOH 양으로부터 % lactic acid로 나타내었다(lactic acid factor: 0.0090).

관능검사

제조한 유산발효 오디음료의 기호도 조사는 대구 가톨릭대학교 식품영양학과 학생 50명을 대상으로 실시하였다. 소비자 기호도 조사방법은 제조한 오디 유산균 발효음료를 1회용 컵에 담아 물과 함께 소비자에게 제시하였다. 소비자들은 시음 후, 소비자 기호도 설문지에 직접 기입하고, 물로 입안을 헹군 후에 다음 시료를 평가하도록 지도하였다. 평가 항목을 4가지 항목인 색(color), 향(flavor), 맛(taste), 종합적인 기호도로 구성하였으며, 기호도 조사의 척도는 1점(아주 싫다)~5점(아주 좋다)를 이용하였다.

통계분석

실험 결과는 SPSS(SPSS, ver 12.0 for Window, SPSS Inc., USA) 통계 program을 이용하여 평균과 표준 편차를 구하고, 기호도의 평가 결과는 일원배치 분산분석(one way ANOVA analysis of variance)을 실시한 후 $p < 0.05$ 수준에서 유의성이 있는 시료에 대해서는 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검정을 실시하였다.

Table 1. HPLC conditions for quantitative analysis of functional constituents in non-fermented and fermented mulberry beverage

Item	Operating condition
HPLC system	Waters e2690/5 HPLC system equipped with 2998 photodiode array detector and autosampler
Column	YMC-Pack Pro C ₁₈ (5 μ m, 4.6 \times 250 mm, YMC Inc., USA)
Solvent	Sol A: 0.05% H ₃ PO ₄ in H ₂ O Sol B: ACN:MeOH:H ₂ O=1:1:1.15 a linear gradient elution from C to B for 65 min
Detector	UV 350 nm
Flow rate	0.8 mL/min

오디 유산균 발효음료의 폴리페놀화합물 분석

오디 유산균 발효음료의 품질 지표성분으로 폴리페놀화합물의 존재 여부를 확인하기 위해 진보(Kim *et al.*, 2010)의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 오디의 지표성분인 폴리페놀화합물의 함량을 측정하였다. 먼저 오디착즙 회석액(오디착즙액:물=1:1)을 발효전과 12시간 발효 후에 얻어진 각 50 mL를 ethyl acetate(100 mL)로 1회 분획한 후 상층액을 감압 농축한 다음 다시 2 mL ethanol에 용해하였다. 이것을 적절히 희석한 후 membrane filter(0.45 μ m, 13 mm, chrom disc, USA)를 통과시킨 다음 Table 1의 조건에서 HPLC로 폴리페놀 화합물의 함량을 측정하였다. 이 때 각각의 폴리페놀 화합물은 retention time을 비교하여 확인하였으며, photo diode array detector를 사용하여 350 nm에서 최대흡수 스펙트럼을 측정한 후 각 화합물의 calibration curve를 이용하여 각각의 폴리페놀 화합물의 함량을 계산하였다.

결과 및 고찰

Fructose 이용능이 우수한 유산균주 선발 및 동정

오디의 유리당 조성은 품종에 따라 차이가 있으나, fructose와 glucose가 함량이 가장 높은것으로 보고되어 있어(Lee *et al.*, 1998), fructose 이용능이 우수한 유산균주가 오디주스에서 빠르게 생육할 것으로 판단되어 재료 및 방법에서 언급한 방법으로 fructose가 포함된 BCP 배지에서 산 생성능이 우수한 균주를 최종 선발하였다. 16S rDNA 분석을 통해 동정한 결과, *Weissella cibaria*와 99.8% 일치하였고 *W. cibaria* JP0080으로 최종 명명하였다.

오디 회석액에서 *W. cibaria* JP0080의 생육특성

40%, 30%, 20%, 10%로 3차 증류수에 희석 후 최종환원당 농도가 1%가 되도록 fructose를 첨가한 오디 착즙액(원액의 환원당: 0.26 g/mL)에서 *W. cibaria* JP0080의 생육은 2시간대부터 급격하게 증가하는 것을 알 수 있다(Fig. 1). 가장 큰 변동 폭을 나타낸 시간대는 2시간부터 6시간대에

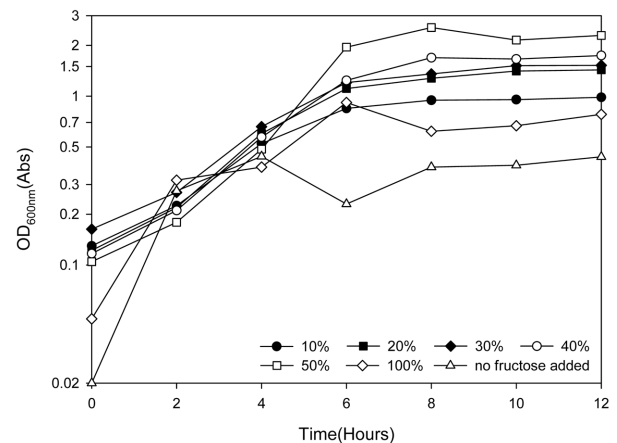


Fig. 1. Growth curve of *W. cibaria* JP0080 in mulberry fruit juice at 30°C. closed circle: 10% mulberry fruit juice, closed square: 20% mulberry fruit juice, closed diamond: 30% mulberry fruit juice, open circle: 40% mulberry fruit juice, open square: 50% mulberry fruit juice, open diamond: 100% mulberry juice, each mulberry juice were added fructose final 1%, open triangle: no fructose added 100% mulberry juice.

이르며 가장 크게 성장한 것으로 보이는 것은 40% 회석액으로 4시간에서 6시간에 변동 폭이 1.4690이라는 값을 나타냈다. 가장 작은 변화를 보이는 것은 10% 회석액으로 확인이 되어 두 시료간에 유의적인 차이가 있음을 알 수 있다. 전반적으로 희석 농도가 높은 시료가 성장이 빠르고 희석 농도가 낮을수록 성장 속도가 느리게 조사되었다. Growth curve 측정 초기부터 빠른 증식을 확인할 수 있으며, 2시간대부터 대수증식기가 시작이 되고 6시간 이후부터 성장 변화의 폭이 작아지는 것으로 보아 8시간대부터는 정지기에 진입한 것으로 조사되었다.

복분자 발효음료 유산균의 성장도를 살펴보면 3~5시간대부터 대수 증식기가 시작이 되고 10~12시간에 대수 증식기가 끝난다고 보고되어있다(Park and Chang, 2003). 이에 비해 희석된 오디 착즙액에서 *W. cibaria* JP0080은 더 빨리 대수증식기가 도달하는 것으로 보아 fructose의 보당이 fructose 이용능이 우수한 *W. cibaria* JP0080의 빠른 증식을 가능하게 했을 것으로 추정된다.

생균수 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 각각의 오디 회석액에서 6시간대까지 급격히 증가하다가 8시간대에 감소하였으며 다시 증가하였다. 전체적으로 0시간부터 6시간까지 높은 증가율을 보였는데 오디첨가 요구르트의 발효특성의 보고에 의하면 오디 첨가량이 많을수록 유산균수가 증가한다고 하였고, 유산균이 이용할 수 있는 glucose와 fructose의 함량이 높아져 유산균의 생육이 촉진되는 것으로 보고하였다(Kim *et al.*, 2003). 혼합과채음료의 유산 발효를 살펴보면 발효 초기 $8.40\sim 9.98\times 10^5$ CFU/mL이던 것이 24시간 후 10^8 CFU/mL에 도달하였다고 하였고(Kim and Choi, 2002),

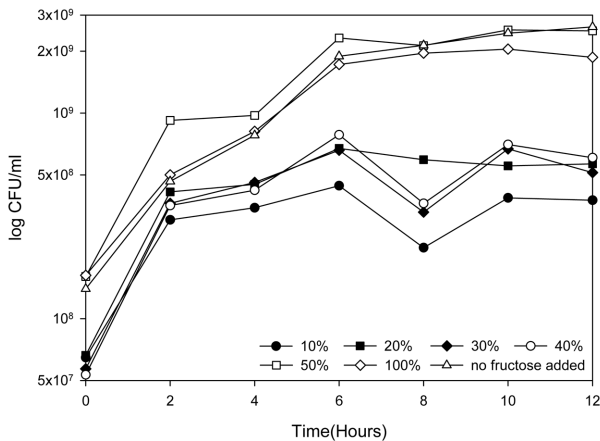


Fig. 2. Changes of total cell number in mulberry juice during fermentation at 30°C. closed circle: 10% mulberry fruit juice, closed square: 20% mulberry fruit juice, closed diamond: 30% mulberry fruit juice, open circle: 40% mulberry fruit juice, open square: 50% mulberry fruit juice, open diamond: 100% mulberry juice, each mulberry juice were added fructose final 1%, open triangle: no fructose added 100% mulberry juice.

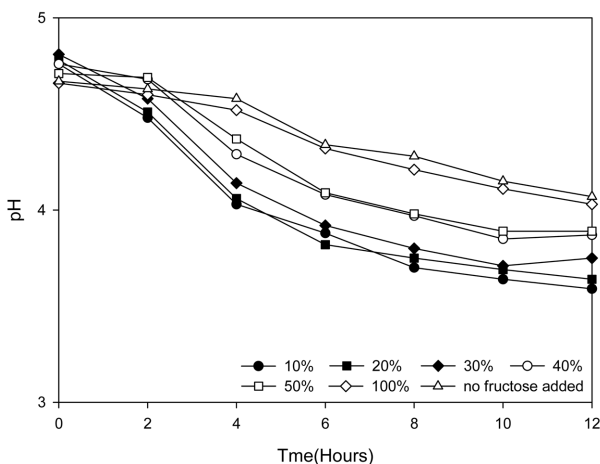


Fig. 3. Changes of pH in mulberry juice during fermentation at 30°C. closed circle: 10% mulberry fruit juice, closed square: 20% mulberry fruit juice, closed diamond: 30% mulberry fruit juice, open circle: 40% mulberry fruit juice, open square: 50% mulberry fruit juice, open diamond: 100% mulberry juice, each mulberry juice were added fructose final 1%, open triangle: no fructose added 100% mulberry juice.

복분자의 경우 12시간에 1.5×10^9 CFU/mL이라고 보고(Park and Chang, 2003)한 것에 비해 오디 착즙액의 발효에서는 8시간에 $2.21 \times 10^{10} \sim 2.14 \times 10^{11}$ CFU/mL로 나타나 더 많은 수의 유산균이 생육 가능하며, 빠르게 발효가 일어나는 것으로 보여진다.

발효 시간대별 pH 측정 결과는 Fig. 3과 같다. 희석하지 않은 오디 착즙 원액의 pH는 4.9로 측정되었고, 오디 유산

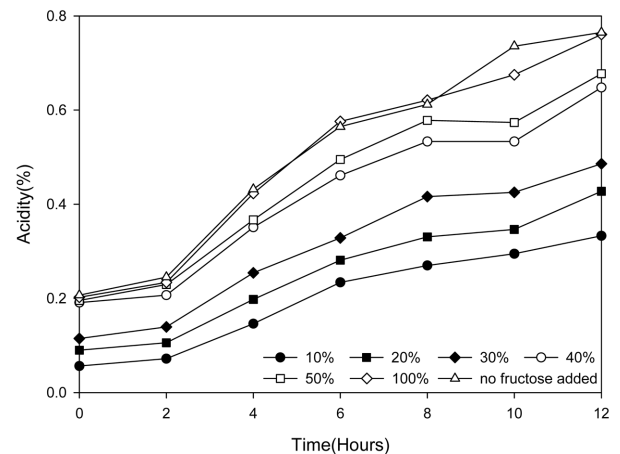


Fig. 4. Changes of titratable acidity in mulberry juice during fermentation at 30°C. closed circle: 10% mulberry fruit juice, closed square: 20% mulberry fruit juice, closed diamond: 30% mulberry fruit juice, open circle: 40% mulberry fruit juice, open square: 50% mulberry fruit juice, open diamond: 100% mulberry juice, each mulberry juice were added fructose final 1%, open triangle: no fructose added 100% mulberry juice.

균 발효 시료 중에서의 pH는 30% 희석액이 4.81에서부터 40% 희석액에서 가장 낮은 4.41로 시작했는데 2시간 뒤에는 10% 희석액에서 4.48로 가장 낮은 pH를 나타내었다. 4시간째에는 10% 희석액과 20% 희석액이 큰 변화를 나타내었다. 6시간째는 pH가 4 이하로 조사되었고 20% 희석액이 가장 낮은 3.82를 나타내면서 가장 큰 변화를 보였다. 8시간째는 4가지 희석액 모두 4 이하로 떨어졌으며 변화 폭이 작아졌고, 10시간째는 30%, 40% 희석액에서 pH가 소폭 증가하였고, 12시간째는 희석액 모두 소폭 증가하였다. 전체를 보면 2시간대부터 6시간대가 가장 변화가 크고, 다음으로는 8시간에서 10시간대에서 큰 변화의 폭이 조사되었다. 희석액 중에서 pH 변화가 가장 크게 내려간 것은 10% 희석액이며 약간의 차이로 20% 희석액이 변화를 나타내었다.

혼합과채 발효음료의 경우 발효 전 pH 4.70이던 것이 발효 3일째 pH가 3.58로 보고되었다(Kim and Choi, 2002). 이는 오디 희석액인 20% 희석액이 6시간째 3.82, 10% 희석액이 12시간째 3.59로 실험 시간대 영역에서는 가장 낮은 pH로 조사되었는데, 생산을 목적으로 음료를 제조할 경우 빠른 pH 변화로 경제성에 기여할 것으로 보였다. 또한, 복분자 발효음료에서 희석배수가 증가 하여도 pH는 크게 변화가 없다는 것과 일치하는 것을 알 수 있었다(Park and Chang, 2003). 발효하지 않은 일반 오디음료 선행연구에서의 pH는 4.08~4.80 범위로 보고되었는데 이는 발효 오디음료 3.59~3.89와는 확실한 차이를 나타내었다(Yang and Rho, 2012).

오디착즙 원액의 처음 산도는 0.45%로 측정이 되었다(Fig.

4). 특이점으로는 희석액 농도가 낮을수록 산도가 낮았으며 10배의 희석액인 10% 오디 희석액에서는 가장 낮은 산도로 시작하여 변동 폭도 가장 낮게 조사되었고, 희석액 중에서는 40% 희석액에서 높은 산도와 변동의 폭도 크게 조사되었다. 가장 변동 폭이 큰 시간대는 2시간대부터 6시간대로 이는 유산균의 산 생성 속도가 2시간대부터 6시간대에 가장 많이 생성되는 것으로 추정된다.

오디음료의 산도는 0.77~0.31%로 품종별 유의적인 차이를 보였다고 보고하였고(Yang and Rho, 2012), 본 연구에서 나타나는 산도는 40%, 30%, 20%, 10%로 순서로 낮게 조사되었으며 희석액 중 40%가 12시간에 0.67로 조사되었는데 이는 착즙원액 본래의 당과 보당한 양의 결과로 당을 충분히 활용하여 산의 생성이 원활하다고 추정된다.

오디 발효음료의 기호도

제조된 오디 유산균 발효음료의 소비자 기호도 조사 결과는 Table 2와 같다. 오디 유산균 발효음료의 기호도 조사 항목 전체적 평균 점수를 살펴본 결과, 40%(3.51점), 30%(3.64점), 20%(3.41점), 10%(2.68점)으로 나타나 다른 음료에 비해 유의적($p<0.001$)으로 낮은 점수를 보인 10% 음료를 제외한 모든 시료에서 3.00/5.00점 이상의 점수를 보여 높은 기호도를 나타냈다. 기호도 조사 항목별로 살펴본 결과, 색상에서는 30% 음료가 3.55점으로 가장 높은 점수를 보였으며 40~20%의 음료 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 10% 음료가 다른 음료에 비해 유의적($p<0.001$)으로 낮은 점수를 보였다. 향기에서는 다른 기호도 조사 항목에 비해 전반적으로 낮은 기호도를 보였는데, 이는 여대생들이 오디에 대해 생소한 것이 영향을 미친 것으로 여겨진다. 향기에 대한 기호도 점수는 30% 음료가 3.20점으로 가장 높게 나타났으나 시료 간에 유의적인 차이를 보이지

않았다. 맛에서는 40%(3.92점), 30%(3.94점), 20%(3.70점), 10%(2.92점) 순으로 나타났으며, 40% 음료가 10%에 비해 유의적($p<0.001$)으로 높은 점수를 보였고 10% 음료는 다른 모든 시료에 비해 유의적($p<0.001$)으로 낮은 점수를 보여 원액의 농도가 높을수록 맛있다고 평가하는 것으로 조사되었다. 전반적인 기호도는 30% 음료가 3.88점, 20%(3.78점), 40%(3.67점), 10%(2.82점) 순으로 나타났으며 10% 음료가 다른 시료에 비해 유의적($p<0.001$)으로 낮게 나타났다. 당을 첨가한 오디 유산균 발효음료 제조를 위한 예비실험에서 원액의 당 함량을 1%로 제조한 음료의 소비자 기호도 검사결과, 평균 2.38점/5.00점으로 매우 낮은 기호도를 나타냈다(date not shown). 그러나, 당 함량을 9%로 증가한 후 제조한 음료의 소비자 기호도 조사에서는 10% 음료를 제외한 모든 음료에서 3.00점/5.00점 이상의 높은 기호도를 나타내어 당과 산의 비율 조정이 소비자 기호도에 많은 영향을 끼치는 것을 알 수 있었다. 젖산발효에 의한 혼합과 채 음료 제조의 최적화 유산발효 음료에 관한 선행 연구에서도 단맛을 선호하는 경우 20%의 당첨가구에 좋은 점수를 주었고 단맛 선호도가 낮은 사람들은 15%의 당첨가구에 좋은 점수를 주어 당과 산의 비율 조정이 중요하다고 보고하였다(Kim and Choi, 2002).

이상의 결과를 살펴보면, 맛과 전체적 평균점수에서 40% 음료가 높은 점수를 보였고 색상, 향기, 전반적인 수용도에서 30% 음료가 높은 점수를 보였으나 40~20% 음료 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았으므로, 향후 기호도면에서 뒤지지 않으면서 경제성면에서도 우수한 20%의 오디 유산균 발효음료의 개발 가능성을 엿볼 수 있었다. 더불어 당의 농도가 기호도에 많은 영향을 미치는 것으로 나타나 기호도 높은 오디 유산균 발효음료 제조를 위해서는 제조 공정에서의 당 농도에 대한 최적 배합비에 관한 지속적인

Table 2. Preference investigation of fermented mulberry fruitjuice (Mean±S.D.)

Characteristics	Samples				F-Value
	40%	30%	20%	10%	
Color	3.43±0.94 ^{b2)}	3.55±0.82 ^b	3.22±1.07 ^b	2.24±1.11 ^a	17.666*** ³⁾
Flavor	3.02±0.92	3.20±0.91	2.96±1.14	2.73±1.15	1.709
Taste	3.92±0.89 ^b	3.94±1.07 ^b	3.69±1.12 ^b	2.92±0.93 ^a	11.095***
Overall	3.67±0.85 ^b	3.88±0.93 ^b	3.78±0.92 ^b	2.82±0.91 ^a	14.297***
Average	3.51±0.71 ^b	3.64±0.75 ^b	3.41±0.85 ^b	2.68±0.78 ^a	15.203***

¹⁾Samples: Fermented mulberry fruit juice by dilution

^{2)a-c}Mean in row followed by different superscripts are significantly different at $p<0.05$

^{3)***} $p<0.001$

Table 3. Levels of two flavonoids in mulberry beverage before and after fermentation

Squeezed mulberry Juice	Fermentation	Flavonoid (mg/L, fermented mulberry beverage)	
		Isoquercitrin	Quercetin
20%	Before fermentation	1.06	0.89
	After fermentation	0.75	1.05

Data were mean of duplicate determination. Standard deviations and statistical analysis were omitted for simplicity.

연구와 다양한 소비자들의 기호도 분석이 필요할 것으로 여겨진다.

구가 필요한 것으로 사료된다.

요 약

오디 발효음료의 폴리페놀화합물의 변화

오디 착즙액 20% 희석액을 유산균 발효 전과 12시간 발효 후 기능성물질의 함량을 HPLC를 이용하여 측정한 결과는 Table 3과 Fig. 5와 같다. 먼저 발효 전후 오디 착즙액의 HPLC 크로마토그램을 보면 4가지 성분이 존재함을 알 수 있었으며, 그 중 Isoquercitrin(Rt = 27)과 Quercetin(Rt = 46)를 전보의 연구결과로부터 확인할 수 있었다(Lee and Choi, 2012). 다음 20% 희석 오디 착즙액의 두 가지 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 발효 전 Isoquercitrin 1.06 mg/L, Quercetin은 0.89 mg/L로 Quercetin glycoside인 Isoquercitrin 함량이 Quercetin aglycone 함량보다 높았으나, 발효 후에는 Isoquercitrin 0.75 mg/L, Quercetin 1.05 mg/L로 Quercetin aglycone이 Isoquercitrin glycoside 함량보다 높았다. 이와 같이 유산균 발효가 진행됨에 따라 오디의 항고혈압 및 항산화 기능성물질인 Quercetin glycoside가 Quercetin aglycone으로 전환됨을 알 수 있었으나 그 외 기능성물질의 조성 및 함량 변화는 나타나지 않았다. 이러한 결과를 미루어보아 유산균 발효에 따른 오디의 새로운 기능성 물질의 생성은 확인할 수 없었으나 조성에는 다소 변화가 있었음을 알 수 있었다. 향후 이에 관한 좀 더 많은 연

오디 유산균 발효음료를 제조하기 위해서 fructose 이용 능이 우수한 유산균 JS1을 선발하였고, 16S rDNA 염기서열 분석 결과 *Weissella cibaria*와 99.8% 일치하여 *W. cibaria* JP0080이라고 명명하였다. 오디 착즙액은 40%, 30%, 20%, 10%로 희석하였고 fructose로 보당하여 1%로 당 농도를 맞추었다. 4가지의 오디용액에 선별한 균주인 *W. cibaria* JP0080을 접종하여 생육특성을 측정하였다. 오디유산균 발효음료의 생육특성으로는 2시간대부터 대수증식기로 들어가 6시간에 이르기까지 급격히 성장하다가 8시간 이후부터 정지기에 들어서고, 생균수는 2시간대부터 급격히 증가하는 것으로 나타났으며, 8시간에 $2.21 \times 10^{10} \sim 2.14 \times 10^{11}$ CFU/mL로 조사된 것으로 보아 증식이 빠른 것을 알 수 있었다. pH는 발효 전 4.9에서 2시간대부터 급격히 내려가 6시간대에 4.03, 12시간대에 3.59까지 내려갔으며 산도는 희석 배율에 따라서 다르지만 기존의 유산발효 음료의 보고보다 상 위하는 결과를 나타내었다. 제조된 오디 유산균 발효음료의 소비자 조사 결과는 맛과 전체적인 평균점수에서 40% 음료가 높은 점수를 보였고, 색상, 향기, 전반적인 수용도에서 30% 음료가 높은 점수를 보였으나 40~20% 음료간에

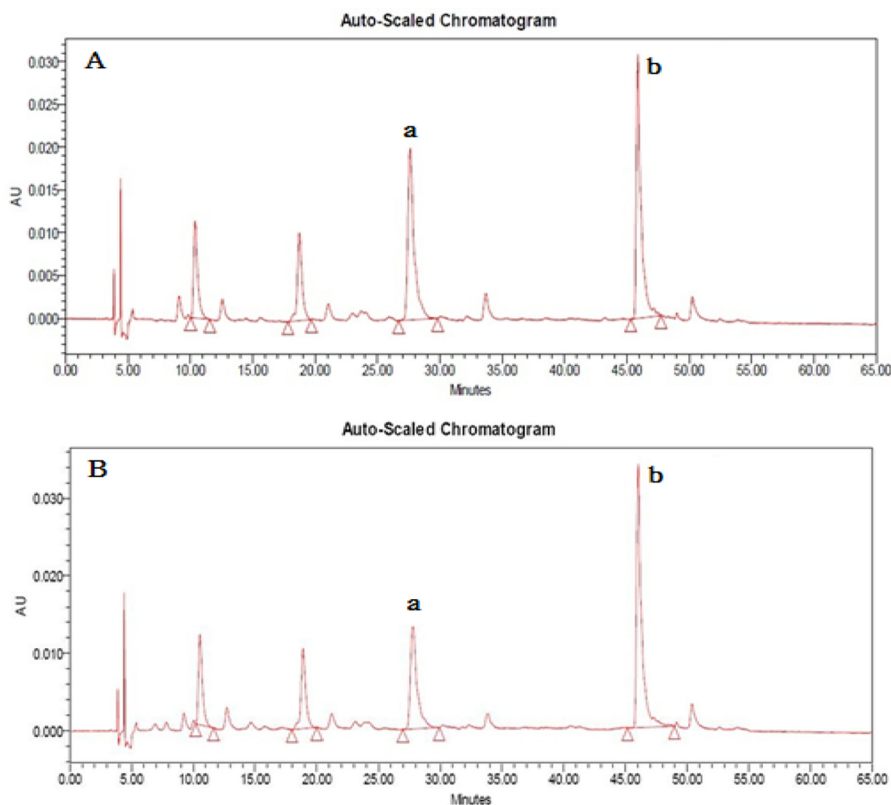


Fig. 5. HPLC profiles of non-fermented (A) and fermented (B) mulberry juice. HPLC chromatograms were detected at 350 nm. a: Isoquercitrin, b: quercetin

는 유의적인 차이를 보이지 않았으므로, 향후 기호도면에서 뒤지지 않으면서 경제성 면에서도 우수한 20%의 오디 유산균 발효음료의 개발 가능성을 엿볼 수 있었다. 이에 기호도와 경제면에서 우수한 것으로 나타난 20% 오디 유산균 발효 음료의 기능면에서의 우수성을 알아보하고자 HPLC를 이용하여 기능성 물질을 분석하였다. 그 결과 오디착즙 원액을 20%로 희석하여 12시간 발효한 각 50 mL에 대하여 HPLC를 이용하여 기능성 물질을 분석한 결과 Isoquercitrin 함량은 발효 후 0.75 mg/L로 발효 전보다 함량이 감소하였으며, Quercetin은 0.89 mg/L에서 1.05 mg/L로 증가하였다. 이러한 결과를 미루어 볼 때 20% 오디즙을 희석하여 제조한 오디 유산균 발효음료가 가장 양호한 생육과 기호도를 나타내었으며, 아울러 기능성 또한 발효 후에 감소하지 않았기 때문에 향후 오디 유산균 발효음료의 개발 가능성을 확인할 수 있었다.

참고문헌

- Chae JY, Lee JY, Hoang IS, Whangbo D, Choi PW, Lee WC, Kim JW, Kim SY, Choi SW, and Rhee SJ (2003) Analysis of functional components of leaves of different mulberry cultivars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 15-21.
- Havsteen B (1983) Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141-1148.
- Im HE, Oh YR, Kim NY, and Han MJ (2013) Characteristics of cabbage juice fermented by lactic acid bacteria from kimchi. *Korean J. Food Culture.* **28**, 401-408.
- Ishikura N (1975) A survey of anthocyanins in fruits of some angiosperms, I. *Bot. Mag. Tokyo.* **88**, 41-45.
- Kang CS, Ma SJ, Cho WD, and Kim JM (2003) Stability of anthocyanin pigment extracted from mulberry fruit. *J. Food Sci. Nutri* **32**, 960-964.
- Kim EO, Lee YJ, Leem HH, Seo IH, Yu MH, Kang DH, and Choi SW (2010) Comparison of nutritional and functional constituents, and physicochemical characteristics of mulberries from seven different *Morus alba* L. cultivars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 1467-1475.
- Kim EO, Yu MH, Lee YJ, Leem HH, Kim SA, Kang DH, and Choi SW (2010) Comparison of functional constituents and biological activity of the seed extracts from two mulberry fruits. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **15**, 98-104.
- Kim HK, Bae HC, and Nam MS (2003) Fermentation properties of mulberry yogurt. *J. Agric. sci.* **30**, 66-75.
- Kim SY and Choi EH (2002) Optimization for the lactic acid fermentation of mixed fruit and vegetable juices. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 303-310.
- Lee HW, Sin DH, and Lee WJ (1998) Morphological and chemical characteristics of mulberry (*Morus*) fruit with varieties *Korean J. Agric. Sci.* **40**, 1-7.
- Lee WJ and Choi SW (2012) Quantitative changes of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves in relation to varieties, harvest period, and heat processing. *Prev. Nutr. Food Sci.* **17**, 280-285.
- Park SW, Jung YS, and Ko KC (1997) Quantitative analysis of anthocyanins among mulberry cultivars and their pharmacological screening. *J. Korean Soc. Hortic. Sci.* **38**, 722-724.
- Park YS and Chang HG (2003) Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **46**, 367-375.
- Yang HS and Rho JO (2012) Physicochemical characteristics and sensory evaluation of mulberry fruit beverages for rural food process. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **22**, 246-254.