

Cell Growth and Antioxidant Activity on Onion Juice Fermentation by Using *Lactobacillus plantarum* as Animal Probiotics

Woo-Kyung Chang¹, Sang-Buem Cho^{1,2*}, Dong-Woon Kim³, Sang-Suk Lee⁴ and Soo-Ki Kim^{1,2*}

¹Department of Animal Science and Environment, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

²Animal Resources and Research Center, Konkuk University, Seoul, 143-701, Korea

³Swine Science Division, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan, 331-801, Korea

⁴Department of Animal Science and Technology, Suncheon University, Jeollanam-do 540-742, Korea

Received November 4, 2010 / Accepted November 18, 2010

This study was conducted to establish the optimal medium condition for the animal probiotic *Lactobacillus plantarum* by using onion juice. Cell yield and antioxidant activity increased in proportion to high additive levels of onion juice in medium. Onion juice, sucrose and yeast extract were selected as media ingredient factors and the effects of their mixed ratio in medium were evaluated. The full factorial design consisted of 24 experimental runs and was employed to estimate the main effects of the factors and their interactions. Significant positive effects on cell yield and antioxidant activity was shown with yeast extract and onion juice, respectively. Significant interaction was found only between sucrose and yeast extract in antioxidant activity. Finally, we selected an optimal medium that was composed of (g/l) onion juice, 600; sucrose, 15; yeast extract, 5. The efficiency of this optimum medium was estimated by using a 5 l jar fermenter. As a result, the maximum cell yield was 9.7 log₁₀ (CFU/ml) at 12 hr. Cell yield at the end of incubation (20 hr) was 8.9 log₁₀ (CFU/ml) and it was very similar with the predicted value, 9.0 log₁₀ (CFU/ml). Antioxidant activity of culture was maintained at about 60~65% during all incubation time, resulting in a higher-than-predicted activity of 47.1%.

Key words : Animal probiotics, *Lactobacillus plantarum*, onion juice, cell yield, antioxidant activity

서 론

가축사양에서 항생제는 질병치료의 목적뿐만 아니라 성장 촉진의 목적으로 널리 사용되어 왔다. 그러나 식품에 있어서 항생제 잔류와 인체의 내성 문제로 인하여 그 사용규제가 점차적으로 강화되고 있고, 항생제 대체제로서 생균제가 널리 이용되고 있다[10]. 생균제란 가축에게 직접 미생물을 급여하는 것을 의미하며, 가축의 장내 유익 세균 균총의 유지, 반추동물의 산독증 예방 및 면역력과 저항성 증강 등의 효과를 나타내는 것으로 보고되었다[19,26]. 세균, 효모 및 곰팡이 등 다양한 미생물들이 생균제로 사용되고 있으며[1,3,4], 특히 젖산을 생성하는 유산균들이 많이 이용되고 있다[9,11,14,17]. 또한 항산화 활성이 우수한 물질의 급여가 가축의 질병 저항력 증강과 축산물의 품질향상 등 생산성에 있어 중요한 것으로 보고되고 있다[18,22,27]. 항산화 활성은 유산균 배양물의 특징 중 하나로 보고된바 있으며[12], 항산화 물질이 많이 포함된 식물들이 기질로 많이 이용된다[16,23]. 그리고 식물 발효에 널리 사용되는 유산균으로는 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides*,

Leuconostoc citreum 등이 있다[2,6]. 항산화 활성이 우수한 양파 (*Allium cepa* L.)는 생태학적으로 백합과에 속하는 다년생 식물로서 유럽, 아시아, 북아메리카 그리고 아프리카 등 다양한 지역에서 재배되고 있다[7]. 국내에서는 연작이 가능하여 1990년 이후 꾸준히 재배되고 있는 식용채소 중 하나이다[8]. 양파에는 어육류의 좋지 못한 냄새를 제거하는 특징을 가진 다양한 향기성분을 함유하고 있으며, 고추와 마늘 등과 함께 세계적으로 널리 이용되는 채소 중 하나이다[20,24]. 양파는 항산화, 항균, 항종양 그리고 돌연변이억제 효과 등이 우수한 것으로 알려지면서 성인병 예방을 위한 기능성 식품 원료로서 관심을 받고 있다[7,15,21,25]. 따라서 항산화 활성이 우수한 양파와 기능성이 높은 유산균을 이용한 발효산물은 가축의 생산성 향상에 크게 기여할 수 있다. 그러나 사료첨가제 개발을 위하여 유산균과 양파를 이용한 발효에 관한 체계적인 연구는 매우 미흡한 실정이다. 이에 본 연구는 발효양파에서 분리된 *Lactobacillus plantarum*과 양파즙을 이용하여 균체성장과 항산화 활성을 지표로, 가축 사료첨가용 발효물을 생산하는 최적 배지 및 배양 조건을 조사하기 위하여 수행되었다.

*Corresponding author

Tel : +82-2-450-3728, Fax : +82-2-458-3728

E-mail : E-mail: sookikim@konkuk.ac.kr

[†]Sang-Buem Cho is equally contributed.

재료 및 방법

사용균주 및 배양조건

본 실험에서는 자연적으로 발효된 양파에서 분리·동정된 *Lactobacillus plantarum* SK1990을 사용하였고, 실험을 위한 종균 배양은 MRS (Difco, USA) 배지를 이용하여 30°C 진탕 배양기에서 20시간 동안 배양한 후에 사용하였다.

양파즙의 제조

시중에 유통되는 국내산 양파(경북 울진군)를 수분첨가 없이 분쇄기(Philips HR2860, Netherlands)로 곱게 갈아서 양파즙을 제조하였다.

균체 생산 분석

발효 후 배양액에 존재하는 균체의 농도는 멸균된 0.8% NaCl 용액에 10⁷까지 희석한 후에 MRS 평판배지에 도말하였고, 30°C 항온기에서 20시간 이상 배양한 후에 형성된 집락의 개수를 CFU/ml로 표기하였다.

항산화 활성의 평가

항산화 활성은 배양 상등액의 free radical scavenging 활성을 DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl, Sigma) 용액을 이용하여 평가하였다. 배양액을 10,000 rpm에서 5 분간 원심 분리한 후에 그 상등액을 취하여 사용하였다. 반응액은 배양 상등액과 멸균증류수, 99.9% 에탄올 그리고 4×10⁻⁴ M DPPH를 0.1:0.4:1:1의 비율로 혼합한 후에 상온에서 15 분간 반응시킨 후 분광광도계(SHIMADZU, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 배양 상등액 대신 멸균 증류수를 사용하여 반응 시킨 후 흡광도를 측정하였다. 상대적인 free radical scavenging 활성은 다음 수식을 통하여 계산하였고, 모든 실험은 3반복으로 수행하였다.

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{blank}}}\right) \times 100$$

양파즙의 농도가 *L. plantarum*의 성장과 배양액의 항산화 활성에 미치는 영향 조사

배지에 첨가되는 양파즙의 농도가 *L. plantarum*의 성장과 배양액의 항산화 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 총 5개의 실험(run)을 구성하였다. 실험 1은 MRS 배지를 100%로 제조하였고, 실험 2는 MRS 배지 20%, 실험 3은 MRS 배지 20%와 양파즙 20%, 실험 4는 MRS 배지 20%와 양파즙 40%, 실험 5는 MRS 배지 20%와 양파즙 60%로 제조하였다. 각 실험들의 배지조성에서 MRS 배지와 양파즙을 제외한 나머지 부분들은 증류수를 사용하여 총 100%가 되도록 하였다. 준비된 각 실험들의 배지들은 121°C에서 15 분간 멸균한 후에 사용하였고, *L. plantarum* 종균을 배양액의 1%로 접종한 후에 30°C

진탕배양기에서 150 rpm으로 교반하며 20 시간 동안 배양하였다.

양파즙, 설탕 그리고 yeast extract의 첨가비율이 *L. plantarum*의 성장과 배양액의 항산화활성에 미치는 영향의 조사

배지 성분 요인으로서 양파즙은 2가지 수준, 설탕은 3가지 수준, yeast extract는 2가지 수준으로 하여 완전요인 배치법으로 실험을 설계하였다. 실험설계에 있어 요인들의 수준별 실험을 2반복으로 하여 총 24개의 실험들을 구성하였고, 동일한 실험을 2회 반복하여 평균값들을 요인분석에 사용하였다. 각 실험들에 포함된 요인들의 농도수준은 Table 1에서 보는 것과 같다. 모든 실험들에 있어 무기물원으로는 K₂HPO₄, MgCl₂ 그리고 NaCl을 각각 0.1 g/l, 0.01 g/l 그리고 0.1 g/l를 사용하였으며, 초기 pH는 10 N NaOH를 이용하여 6.5로 조정하였다.

5 l jar fermenter를 이용한 발효성상의 조사

실험을 통하여 얻어진 배지조성을 이용하여, 5 l jar fermenter (Celltech Co. Ltd, Korea) 에서의 발효성상을 알아보기 위하여, pH를 비롯한 배양액의 탁도, 용존산소량, 생균수 및 항산화 활성을 조사하였다. 사용된 발효조건으로 working volume은 3 l, 교반 속도는 200 rpm, 공기공급량은 0.6 vvm (aeration volume/medium volume/minute)으로 하였다. 모든 배지성분들을 혼합한 후에 10 N NaOH를 이용하여 초기 pH를 6.5로 조정한 후에 121°C에서 15 분간 멸균하였다. 종균은 MRS 배지에서 20 시간 동안 배양한 후에 1% 접종하였다. 발효과정 중 pH는 4.0 이하로 떨어지지 않도록 조절하였다.

통계분석

실험설계, 요인들의 효과분석(주효과, 상호효과), 1차 방정식을 이용한 회귀모델의 설정, 모델의 계수 측정 그리고 모든 분석에 대한 분산분석은 MINITAB® (version 14, Minitab Inc., USA) 프로그램을 이용하여 산출하였다.

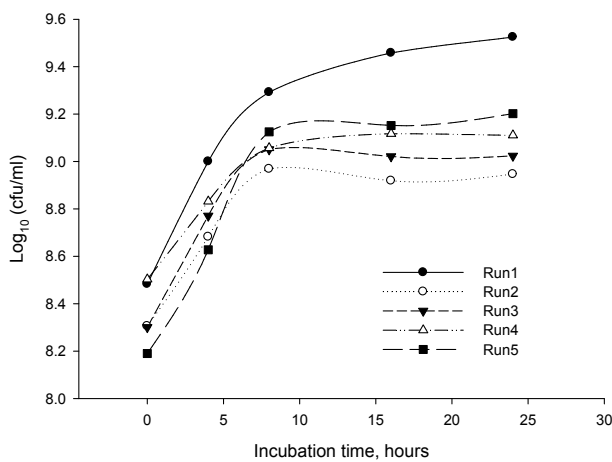
결과 및 고찰

배지내 양파즙의 첨가 농도가 *L. plantarum*의 균체 생산량에 미치는 영향

양파즙의 첨가농도를 20%에서 60%까지 증가시키고 MRS 배지의 농도를 20%로 고정하였을 경우, 양파즙의 첨가 농도가 높을수록 최종 배양액의 생균수는 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 1). 그러나 MRS 배지를 100% 사용한 실험 1(run 1)과 비교하였을 경우, 모든 실험들에서 실험 1에 비하여 낮은 생균수 농도를 나타내었다. 몇몇 연구에 의하면, 양파의 수용성 추출물이나 essential oil 등은 다양한 미생물에 대하여 항균효과가 있으며 주로 그람 양성세균에 대하여 효과가 높은 것으로 보고되었다[5,7]. 특히 이러한 효과는 주로 농축된 추출물에

Table 1. Configuration of full factorial design for the evaluation of the effect of variables on the growth and free radical scavenging activity of *Lactobacillus plantarum* SK1990

Runs	Variables, g/l			Cell yield, log ₁₀ (CFU/ml)		Free radical scavenging activity, %	
	Onion juice	Sucrose	Yeast extract	Observed	Predicted	Observed	Predicted
1	400	5	1	8.82	8.80	38.1	38.3
2	400	5	5	8.95	8.92	40.7	39.9
3	400	15	1	8.78	8.85	39.2	38.0
4	400	15	5	9.15	8.97	38.8	39.6
5	400	30	1	9.05	8.90	36.6	37.7
6	400	30	5	8.99	9.02	39.7	39.2
7	600	5	1	8.82	8.84	47.0	45.9
8	600	5	5	8.97	8.96	47.2	47.5
9	600	15	1	9.09	8.89	47.5	45.6
10	600	15	5	8.94	9.01	42.7	47.1
11	600	30	1	8.73	8.94	44.9	45.2
12	600	30	5	9.15	9.05	47.9	46.8
13	400	5	1	8.90	8.80	37.7	38.3
14	400	5	5	8.88	8.92	40.3	39.9
15	400	15	1	8.64	8.85	38.2	38.0
16	400	15	5	8.98	8.97	36.6	39.6
17	400	30	1	8.90	8.90	35.3	37.7
18	400	30	5	8.88	9.02	38.9	39.2
19	600	5	1	8.78	8.84	44.2	45.9
20	600	5	5	8.82	8.96	44.8	47.5
21	600	15	1	8.94	8.89	50.5	45.6
22	600	15	5	9.05	9.01	45.7	47.1
23	600	30	1	9.00	8.94	44.8	45.2
24	600	30	5	9.02	9.05	49.5	46.8

Fig. 1. Effect of onion juice on the growth of *Lactobacillus plantarum* SK1990. Run 1, MRS 100%; Run 2, MRS 20%; Run 3, MRS 20%-onion 20%; Run 4, MRS 20%-onion 40%; Run 5, MRS 20%-onion 60%.

서 발견되었다[13,28]. 그러나 양파즙 자체의 항균력은 미생물 발효의 저해없이 양파 자체를 발효시킨 결과들이 보고되었다 [6,20]. Fig. 1의 성장곡선에서 run 2 (MRS 20%, onion juice 0%)와 비교하여 run 3 (MRS 20%, onion juice 20%), run 4 (MRS 20%, onion 40%), run 5 (MRS 20%, onion juice 60%)에

서 배지 내 양파즙의 첨가로 인한 생육저해 효과는 발견되지 않았으며, *L. plantarum*이 성장을 위하여 영양원으로 이용할 수 있었다. 양파는 생체중의 80 ~ 90%가 수분이며, 건물의 65% 정도는 비구조탄수화물(non-structural carbohydrate)로 구성되어 있으며, 이들 탄수화물들은 주로 fructan, fructose, glucose 및 sucrose 등의 당을 기본 단위로 하는 중합체로 구성되어 있다[7]. 따라서 미생물의 성장에 좋은 탄소원을 제공할 수 있다[7]. 채소의 발효에는 주로 lactic acid bacteria (LAB)들이 관여하며 양파를 포함한 다양한 채소의 발효에 있어 starter 균주로 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici* 및 *Leuconostoc mesenteroides* 등이 우수하다고 보고되었다[6].

배지 내 양파즙의 첨가 농도가 *L. plantarum* 배양액의 항산화 활성에 미치는 영향

배지 내 양파즙 첨가농도 수준과 배양 시간에 따른 배양액의 항산화 활성은 Fig. 2에서 보는 것과 같다. 각 실험구간에서 초기 배양 동안 항산화 활성이 감소하는 경향을 보였는데, 이는 양파즙이 함유하고 있는 항산화 물질이 접촉된 미생물에 의하여 초기에 분해 이용된 결과로 사료된다. MRS 배지를 100% 사용한 run 1에서는 배양 시간이 지나면서 항

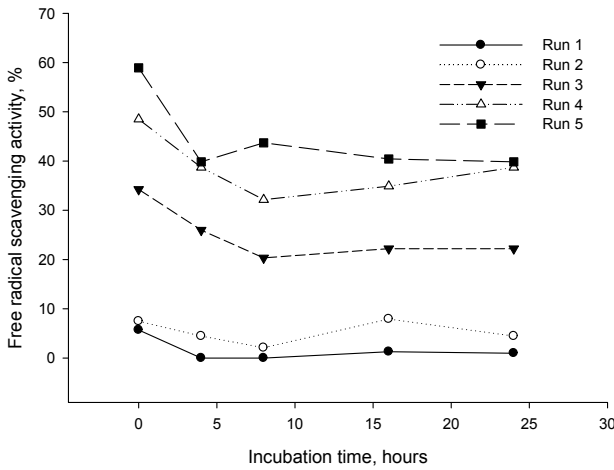


Fig. 2. Effect of onion juice on the free radical scavenging activity of *Lactobacillus plantarum* SK1990. Run 1, MRS 100%; Run 2, MRS 20%; Run 3, MRS 20%-onion 20%; Run 4, MRS 20%-onion 40%; Run 5, MRS 20%-onion 60%.

산화 활성이 거의 발견되지 않았다. 양파즙 첨가시 그 수준이 증가할수록 비례적으로 항산화 활성이 증가하는 결과를 나타내었다. 그러나 배양 24시간째에는 양파즙이 60% 포함된 run 5와 40% 포함된 run 4에서 서로 유사한 수준의 항산화 활성이 나타났다.

양파, 설탕 그리고 yeast extract가 *L. plantarum*의 균체성장과 배양액의 항산화 활성에 대한 효과분석

분산분석 및 예측모델의 설정

본 실험에서는 *L. plantarum*의 배양에 있어 균체 성장에 미치는 배지성분 요인으로 3가지 요인을 설정하였다. 요인들에 있어 탄소원으로는 양파즙과 설탕을 사용하였고, 질소원으로는 yeast extract를 사용하였다. 양파즙은 2가지 수준, 설탕은 3가지 수준, 그리고 yeast extract는 2가지 수준으로 배치하여 실험을 구성하였다. 각 실험들에 포함된 배지성분들의 농도수준과 그 결과로 나타난 균체 성장과 항산화 활성은 Table 1에서

보는 것과 같다. 각 실험들에서 최저 8.64에서 최고 9.15 log₁₀ (CFU/ml)의 균체 성장을 나타내었고, 항산화 활성은 최소 35.3%에서 최대 50.5%까지 다양하게 나타났다. 각 요인들의 수준, 균체 성장 및 항산화 활성 반응 결과에 대한 분산분석을 수행한 결과는 Table 2에서 보는 것과 같다. 균체 성장에 있어 yeast extract의 주효과와 3가지 요인들에 대한 상호작용 (onion juice x sucrose x yeast extract)에서 유의성이 나타났다 ($p < 0.05$). 즉 항산화 활성에 있어서는 양파즙의 주효과에서 나타났으며, 또한 sucrose와 yeast extract 간의 상호효과에서도 유의성이 나타났다 ($p < 0.001$). 균체 성장과 항산화 활성에 대하여 요인들의 수준별 회귀분석을 실시하였다. 균체 성장의 경우 잔차가 상대적으로 높은 Table 1의 run 10의 결과를 결측치로 설정하고 회귀분석을 수행한 결과, 다음과 같은 모델을 얻을 수 있었다.

$$Y_C = 8.6 + 0.038X_1 + 0.049X_2 + 0.116X_3$$

위 식에서 Y_C 는 균체 성장(Log₁₀(CFU/ml))에 대한 예측치이며 독립변수 X_1, X_2, X_3 는 각각 양파즙, 설탕, yeast extract의 수준값이다. 항산화 활성에 대한 회귀분석은 잔차가 2 이상으로 높게 나타난 Table 1의 runs 10, 16, 17, 20, 21, 24의 반응들을 결측치로 설정하고 회귀분석을 수행한 결과, 다음과 같은 모델을 얻을 수 있었다.

$$Y_D = 29.6 + 7.56X_1 - 0.338X_2 + 1.56X_3$$

위 식에서 Y_D 는 항산화 활성(%)에 대한 예측치이며 독립변수 X_1, X_2, X_3 는 각각 양파즙, 설탕, yeast extract의 수준값이다. 균체 성장에 대한 회귀분석의 분산분석을 수행한 결과, 예측변수 yeast extract의 계수에서만 유의성이 나타났고 ($p = 0.029$), 회귀방정식과 적합성결여에 대한 p value는 각각 0.06과 0.191로 나타났다. 항산화 활성의 회귀분석에 대한 분산분석결과 예측변수 양파즙 ($p < 0.001$)과 yeast extract ($p = 0.009$)에서 유의성이 나타났다. 회귀분석과 적합성결여의 p value는 각각 < 0.001 과 0.259로 나타났다. 설정된 모델에 의하여 얻어진 균

Table 2. ANOVA (Analysis of variance)¹⁾ for the effects of variables on the cell yield and antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* SK1990

Variables	Cell yield					Free radical scavenging activity				
	DF	SS	MS	F	P	DF	SS	MS	F	P
Onion juice	1	0.006	0.006	0.59	0.458	1	0.039	0.039	224.30	<0.001
Sucrose	2	0.041	0.020	2.01	0.177	2	0.001	0.001	0.10	0.908
Yeast extract	1	0.075	0.075	7.38	0.019	1	0.001	0.001	1.92	0.192
Onion juice x Sucrose	2	0.026	0.013	1.30	0.309	2	0.001	0.001	1.97	0.182
Onion juice x Yeast extract	1	0.001	0.001	0.08	0.786	1	0.001	0.001	2.83	0.118
Sucrose x Yeast extract	2	0.010	0.005	0.50	0.616	2	0.004	0.002	12.62	0.001
Onion juice x Sucrose x Yeast extract	2	0.107	0.053	5.24	0.023	2	0.001	0.001	1.26	0.319
Error	12	0.122	0.010			12	0.002	0.001		
Total	23	0.389				23	0.047			

¹⁾DF, degree of freedom; SS, sum of square; MS, mean of square

체 성장과 항산화 활성에 대한 예측값은 Table 1에서 보는 것과 같다.

성분요인들의 주효과

양파즙, 설탕 및 yeast extract가 *L. plantarum*의 균체 성장과 배양액의 항산화 활성에 미치는 주효과 경향은 Fig. 3에서 보는 것과 같다. 양파즙은 농도가 400 g/l에서 600 g/l로 증가할수록 균체 성장이 증가하였고, 설탕은 첨가농도가 15 g/l에서 30 g/l에서는 증가폭이 다소 감소하였다. 질소원인 yeast extract는 첨가농도가 증가할수록 균체 성장이 증가하였다. 이에 모든 요인들이 균체 성장에 긍정적인 효과를 미치는 것으로 나타났다. 항산화 활성에 대한 성분요인들의 주효과에서는 설탕을 제외하고 모든 요인에서 배지 내 첨가 농도가 증가할수록 항산화 활성이 높아지는 결과를 나타내었고, 설탕의 경우 첨가 수준에 따른 배양액의 항산화 활성 효과는 관찰되지 않

았다.

성분요인들간의 상호효과

각 배지성분의 각 요인들인 양파즙, 설탕 및 yeast extract들이 *L. plantarum*의 균체 성장과 배양액의 항산화 활성에 미치는 영향의 상호효과는 Fig. 4에서 보는 것과 같다. 균체 성장에 대한 양파즙과 설탕 농도 간의 상호효과에서는 양파즙이 낮은 수준(400 g/l)에서는 설탕이 15 g/l 이상 30 g/l 까지 첨가되어야 현격한 균체 성장 증가를 나타내었고, 반면에 양파즙의 첨가농도가 600 g/l일 경우에는 설탕의 첨가수준이 15 g/l 이상일 경우에는 균체 성장이 억제되는 것으로 나타났다(Fig. 4A). 양파즙과 yeast extract에 있어서는 양파즙의 농도가 증가할수록, 그리고 yeast extract가 증가할수록 균체 성장이 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 4B). 설탕과 yeast extract 간의 상호작용에서는 두 가지 요인 모두 배지 내 첨가수준이 증가할수록

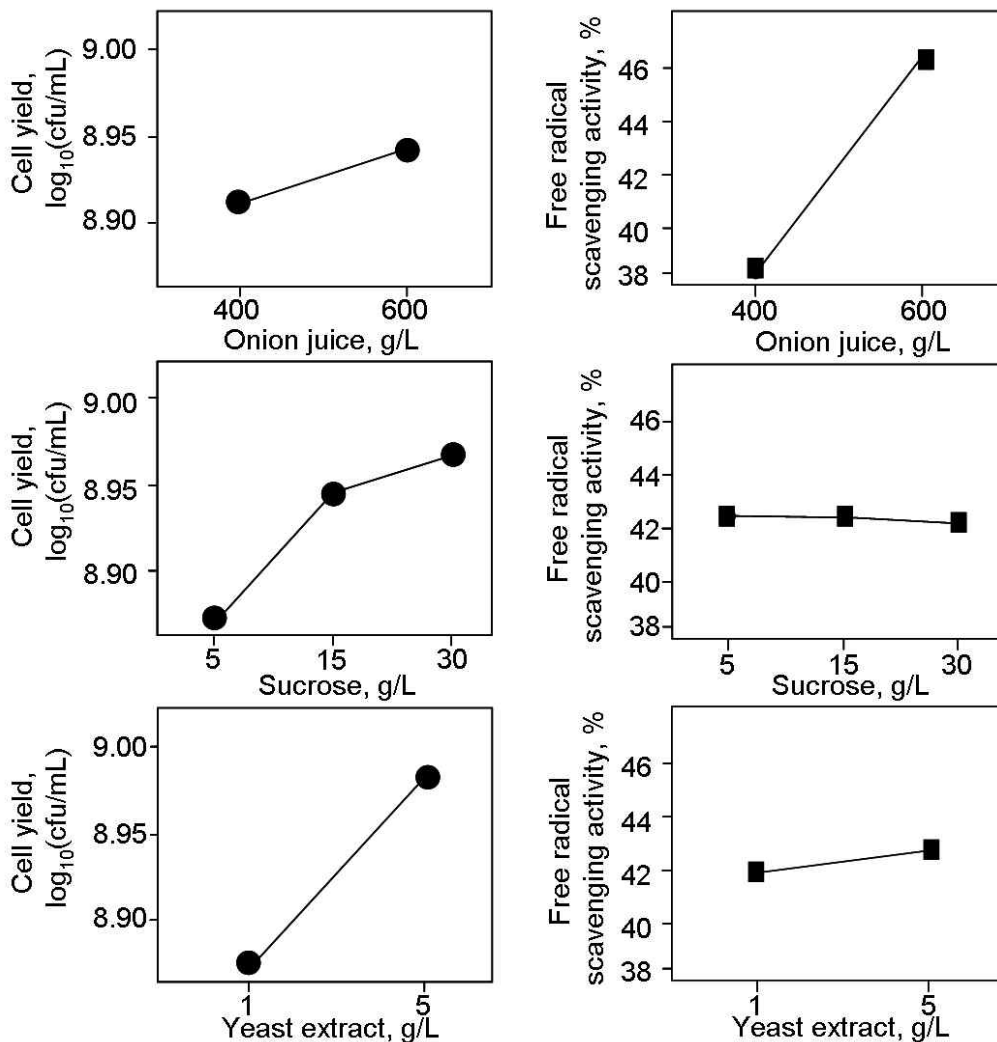


Fig. 3. Main effect evaluation of variables on the growth and free radical scavenging activity of *Lactobacillus plantarum* SK1990. Circle and square symbols mean the effect of variables on cell yield and free radical scavenging activity, respectively.

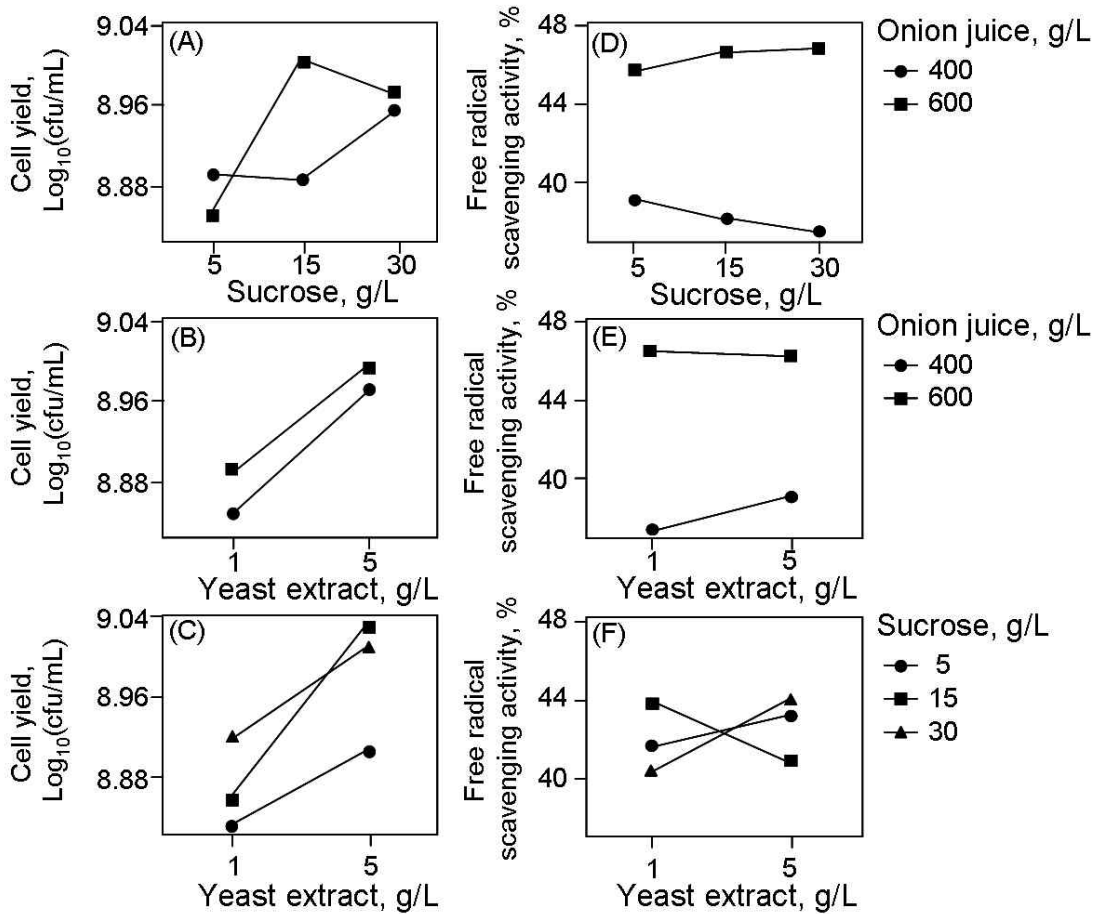


Fig. 4. Interaction evaluation of variables on the growth and free radical scavenging activity of *Lactobacillus plantarum* SK1990. (A), (B) and (C) show the interaction on the cell yield between onion juice x sucrose, onion juice x yeast extract and sucrose x yeast extract, respectively. For free radical scavenging activity, (D), (E) and (F) show the interaction between onion juice x sucrose, onion juice x yeast extract and sucrose x yeast extract, respectively.

균체성장이 증가하는 것으로 나타났으며, 설탕이 15 g/l 이상 그리고 yeast extract가 5 g/l 일 때에 가장 높은 균체성장을 나타내었다(Fig. 4C). 항산화 활성에 대한 양파즙과 설탕간의 상호효과는 양파즙의 첨가 수준에 크게 의존적으로 나타났으며, 특히 양파즙이 400 g/l일 경우 오히려 설탕의 첨가 수준이 높을수록 항산화 활성이 낮아지는 결과를 나타내었다(Fig. 4D). 양파즙과 yeast extract의 상호작용에 있어서는 양파즙이 400 g/l일 때, yeast extract 첨가수준이 증가할수록 항산화 활성이 증가하였으나, 양파즙이 600 g/l일 때에 나타난 항산화 활성 보다는 현저히 낮은 수준이었다(Fig. 4E). 설탕과 yeast extract의 수준별 상호효과에서는 yeast extract 수준에 따라서 설탕의 효과수준이 상반되는 결과를 나타내었다. Yeast extract가 낮은 수준인 1 g/l일 경우 설탕 15 g/l, 5 g/l, 30 g/l 순으로 항산화 활성이 높은 반면, yeast extract가 5 g/l 수준일 경우 설탕이 30 g/l, 5 g/l, 15 g/l 순으로 항산화 활성이 높게 나타났었다(Fig. 4F).

5 l jar fermenter를 이용한 발효성상 조사
 배지성분 요인들의 주효과와 상호효과에 대한 실험 결과들을 바탕으로, MRS 배지가 아닌 양파즙 600 g/l, 설탕 15 g/l 및 yeast extract 5 g/l로 구성되는 새로운 배지조성을 도출하였다. 그리고 무기물 성분으로는 K₂HPO₄, MgCl₂ 및 CH₃COONa를 각각 0.1 g/l, 0.01 g/l, 1 g/l를 사용하였다. 5 l jar fermenter에서 working volume을 3 l로 발효과정 중 *L. plantarum*의 균체 성장과 용존산소량, 배양액의 탁도 및 pH는 Fig. 5에서 보는 것과 같다. 발효 개시 후 5 시간까지는 균체성장이 lag phase의 형태를 나타내었으며, 이후 6시간부터 12시간까지는 exponential phase를 나타내었다. 균체성장이 최고에 이른 배양 12시간에는 균체 생산량이 9.7 log₁₀ (CFU/ml)으로 나타났으며, 이는 Fig. 1에서 상업용 MRS 배지를 100%로 사용한 실험 1(run 1)의 균체성장보다 우수하였다. 그리고 배양 12시간 이후부터는 균체 생산량이 감소하였고, 최종적으로 배양 20시간째에는 8.9 log₁₀ (CFU/ml)의 균체 생산량이 나타나 예측된 균체 생성량, 9.01 log₁₀ (CFU/ml) (Table 1, run 10)과 매우

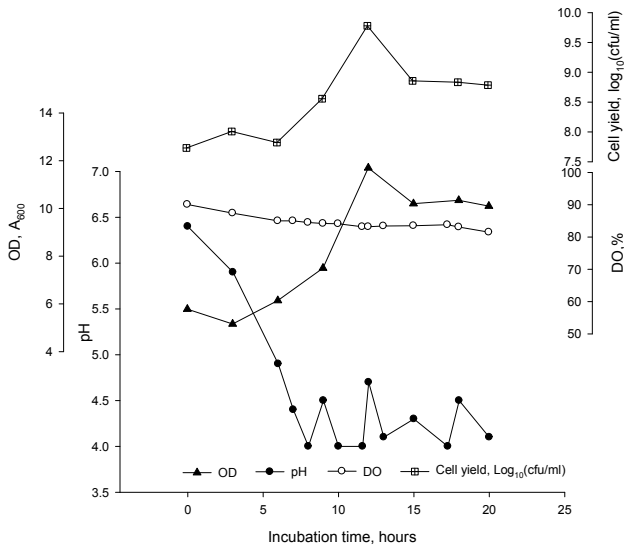


Fig. 5. Fermentation profiles of *Lactobacillus plantarum* SK1990 with 60% onion juice medium.

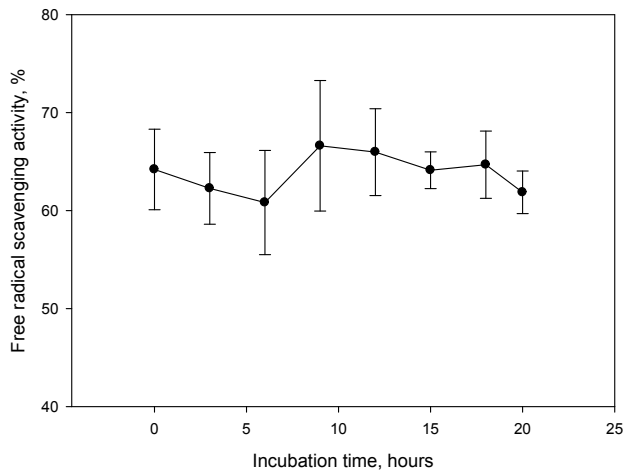


Fig. 6. Free radical scavenging activity profiles during the fermentation of *L. plantarum* SK1990 with 60% onion juice medium.

유사하였다. 배양액의 pH는 5시간째부터 급격하게 하강하였고, 9시간째부터 pH를 조절하였다. 용존산소량은 배양 기간 동안 큰 차이가 나타나지 않아, 산소의 소모량이 극히 미비한 것을 알 수 있었다. 배양액의 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 6에서 보는 것과 같다. 배양 시간 별에 따라서 약간의 차이는 있었으나 전체적으로 평균 60~65 %의 항산화 활성이 유지되었고, 이는 예측된 항산화 활성인 47.1% (Table 1, run 10)보다도 우수하였다. 배양 시작으로부터 10시간 전후에서 항산화 활성이 상대적으로 약간 높은 경향을 보여 주었다. 본 연구결과를 통하여 가축용 생균제 *Lactobacillus plantarum*의 생산에 있어 양파즙은 우수한 배지원으로 사용될 수 있음을 확인하였다. 또한 배양 동안 양파즙의 우수한 항산화 효과가 비교적

유지 됨을 배양액으로부터 확인할 수 있었다. *L. plantarum*의 균체성장과 양파의 항산화 효과를 고려하여 12시간 정도 배양하면, 경제적인 배지를 이용한 생균제와 항산화 기능이 부가된 사료첨가제 생산을 가능하게 할 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호:PJ006395)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Beharka, A. A. and T. G. Nagaraja. 1998. Effect of *Aspergillus oryzae* extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. *J. Dairy Sci.* **81**, 1591-1598.
- Chang, J. Y. and H. C. Chang. 2010. Improvements in the quality and shelf life of kimchi by fermentation with the induced bacteriocin-producing strain, *Leuconostoc citreum* GJ7 as a starter. *J. Food Sci.* **75**, M103-M110.
- Davis, M. E., T. Parrott, D. C. Brown, B. Z. de Rodas, Z. B. Johnson, C. V. Maxwell, and T. Rehberger. 2008. Effect of a *Bacillus*-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* **86**, 1459-1467.
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* **92**, 1620-1632.
- Elnima, E. I., S. A. Ahmed, A. G. Mekkawi, and J. S. Mossa. 1983. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie* **38**, 747-748.
- Gardner, N. J., T. Savard, P. Obermeier, G. Caldwell, and C. P. Champagne. 2001. Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *Int. J. Food Microbiol.* **64**, 261-275.
- Griffiths, G., L. Trueman, T. Crowther, B. Thomas, and B. Smith. 2002. Onions - a global benefit to health. *Phytother. Res.* **16**, 603-615.
- Jang, J. R., K. K. Kim, and S. Y. Lim. 2008. Anticancer and antioxidant effects of solvent extracts from dried onion with different drying methods. *J. Life Sci.* **18**, 1271-1277.
- Jang, Y. D., H. K. Oh, L. G. Piao, H. D. Choi, J. H. Yun, and Y. Y. Kim. 2009. Evaluation of probiotics as an alternative to antibiotic on growth performance, nutrient digestibility, occurrence of diarrhea and immune response in weaning pigs. *J. Anim. Sci. Technol.* **51**, 25-32.
- Jung, J. H., S. M. Hong, H. J. Kim, Q. W. Meng, and I. H. Kim. 2010. Effect of probiotics in diet on growth performance, nutrient digestibility, fecal microbial count, noxious gases emission from the feces, and blood profile in early-finishing pigs. *J. Anim. Sci. Technol.* **52**, 23-28.

11. Kim, D. W., J. H. Kim, G. H. Kang, H. K. Kang, S. J. Lee, W. J. Lee, and S. H. Kim. 2008. Study on intestinal viability and optimum feeding method of *Lactobacillus* in broiler chickens. *J. Anim. Sci. Technol.* **50**, 807-818.
12. Kim, H. S., S. G. Jeong, H. S. Chae, J. S. Ham, C. N. Ahn, and J. M. Lee. 2004. Antioxidant activity and tolerance to reactive oxygen species of *Lactobacillus* spp. *J. Anim. Sci. Technol.* **46**, 1007-1012.
13. Kim, J. W., Y. S. Kim, and K. H. Kyung. 2004. Inhibitory activity of essential oils of garlic and onion against bacteria and yeasts. *J. Food Prot.* **67**, 499-504.
14. Kim, S. H., D. W. Kim, S. Y. Park, J. H. Kim, G. H. Kang, H. K. Kang, D. J. Yu, J. C. Na, and S. J. Lee. 2008. Effect of dietary *Lactobacillus* on growth performance, intestinal microflora, development of ileal villi, and intestinal mucosa in broiler chickens. *J. Anim. Sci. Technol.* **50**, 667-676.
15. Kim, Y. H., M. Y. Shon, and N. J. Sung. 2004. Antioxidant and antimutagenic activities of hot water extract from white and yellow onions after simulated gastric digestion. *J. Life Sci.* **14**, 925-930.
16. Kim, Y. J., S. J. Jang, J. M. Park, C. U. Kim, and Y. S. Park. 2010. Culture conditions of garlic resistant lactic acid bacteria for feed additives. *Food Eng. Prog.* **14**, 65-74.
17. Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang, and S. E. Gilliland. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* **81**(E.Suppl.2), E120-E132.
18. Lee, S. M., W. Y. Park, and Y. J. Kim. 2010. Effect of dietary supplementation with Rosemary and α -tocopherol acetate on performance and meat quality of chicken meat during refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **30**, 472-478.
19. Lessard, M., M. Dupuis, N. Gagnon, E. Nadeau, J. J. Matte, J. Goulet, and J. M. Fairbrother. 2009. Administration of *Pediococcus acidilactici* or *Saccharomyces cerevisiae boulardii* modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia coli* challenge. *J. Anim. Sci.* **87**, 922-934.
20. Park, Y. S., J. K. Jang, Y. J. Choi, M. Chung, H. Park, and K.-S. Shim. 2009. Lactic acid fermentation of onion juice supplemented with puffed red ginseng extract. *Food Eng. Prog.* **13**, 16-23.
21. Ramos, F. A., Y. Takaishi, M. Shirotori, Y. Kawaguchi, K. Tsuchiya, H. Shibata, T. Higuti, T. Tadokoro, and M. Takeuchi. 2006. Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products from yellow onion (*Allium cepa*) skin. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 3551-3557.
22. Rentfrow, G., M. L. Linville, C. A. Stahl, K. C. Olson, and E. P. Berg. 2004. The effects of the antioxidant lipoic acid on beef longissimus bloom time. *J. Anim. Sci.* **82**, 3034-3037.
23. Rodríguez, H., J. A. Curiel, J. M. Landete, B. de las Rivas, F. L. de Felipe, C. Góez-Cordovés, J. M. Mancheño, and R. Muñoz. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **132**, 79-90.
24. Shin, J. S., O. S. Lee, and Y. J. Jeong. 2002. Changes in the components of onion viegars by two stages fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 1079-1084.
25. Shon, M. Y., S. D. Choi, G. G. Kahng, S. H. Nam, and N. J. Sung. 2004. Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food Chem. Toxicol.* **42**, 659-666.
26. Swyers, K. L., A. O. Burk, T. G. Hartsock, E. M. Ungerfeld, and J. L. Shelton. 2008. Effects of direct-fed microbial supplementation on digestibility and fermentation end-products in horses fed low- and high-starch concentrates. *J. Anim. Sci.* **86**, 2596-2608.
27. Toepfer-Berg, T. L., J. Escobar, W. G. Van Alstine, D. H. Baker, J. Salak-Johnson, and R. W. Johnson. 2004. Vitamin E supplementation does not mitigate the acute morbidity effects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nursery pigs. *J. Anim. Sci.* **82**, 1942-1951.
28. Zohri, A. N., K. Abdel-Gawad, and S. Saber. 1995. Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil. *Microbiol. Res.* **150**, 167-172.

초록 : 가축용 생균제 *Lactobacillus plantarum*을 이용한 양파즙 발효의 균체성장과 향산화 활성

장우경¹ · 조상범^{1,2*} · 김동운³ · 이상석⁴ · 김수기^{1,2,*}

(¹건국대학교 동물생산환경학전공, ²건국대학교 동물자원연구센터, ³국립축산과학원, ⁴순천대학교 동물자원과학과)

본 연구는 양파즙을 이용하여 가축 사료첨가제용 *Lactobacillus plantarum*의 배양 최적화를 위하여 수행되었다. 양파즙의 첨가수준이 균체성장과 향산화 활성에 미치는 영향을 평가하였을 때, 그 첨가수준이 증가할수록 모두 높아졌다. 양파즙, 설탕 그리고 yeast extract를 배지성분요인으로 선택하였고, 배지 내 성분요인들의 혼합비율에 의한 효과를 평가하였다. 24 개의 실험들로 구성된 완전 요인 배치법을 이용하여 요인들의 주효과와 상호작용을 조사하였다. 균체성장과 향산화 활성에 대한 유의성 있는 긍정적 주효과는 각각 yeast extract와 양파즙에서 나타났다. 유의적인 상호작용으로는 향산화 활성에 대하여 설탕과 yeast extract 사이에서 나타났다. 최종적으로 양파 600 g/l, 설탕 15 g/l 및 효모추출물 5 g/l의 최적 배지조성을 선발하였다. 얻어진 최적배지의 효율을 분석하기 위하여 5 l 발효기를 이용하여 평가한 결과 최대 균체 성장량은 배양 12시간째에 9.7 log₁₀ (CFU/ml)로 나타났다. 배양 마지막인 20시간 때에는 8.9 log₁₀ (CFU/ml)의 균체 성장량을 보였으며 이는 예측된 9.01 log₁₀ (CFU/ml)과 매우 유사한 결과였다. 배양액의 향산화 활성은 모든 배양 시간대에서 약 60~65%로 유지되었으며, 이것은 예측된 값(47.1%)보다 훨씬 우수하였다.