

인삼 첨가 발효두유의 사포닌 조성 및 항산화 활성

이란숙¹ · 정경희¹ · 최웅규² · 홍희도¹ · 김영찬^{1*}

¹한국식품연구원

²한국교통대학교 식품공학과

Ginsenosides Composition and Antioxidant Activities of Fermented Ginseng Soymilk

Lan-Sook Lee¹, Kyung Hee Jung¹, Ung-Kyu Choi², Hee-Do Hong¹, and Young-Chan Kim^{1*}

¹Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

²Dept. of Food Science & Technology, Korea National University of Transportation, Chungbuk 368-701, Korea

ABSTRACT The objective of this study is to select an effective microbial strain to enhance the sensory qualities and functionalities of fermented ginseng soymilk. For this purpose, soybean were ground with water extracts of ginseng and fermented with five *Lactobacillus* strains. All strains grew well in ginseng soymilk, and viable cell counts reached greater than 8 log CFU/mL after 18 h of fermentation. The contents of total ginsenosides were higher in soymilk fermented with *L. casei* ATCC 393 than those in the other strains. The sensory qualities of the fermented soymilk were observed to increase with the intensity of sourness and showed the best sensory acceptability of soymilk fermented with *L. kefir* ATCC 35411. Moreover, the antioxidant activities, superoxide and hydroxyl radical scavenging activities were significantly enhanced by 2~4 and 4~5 times, respectively, compared to the non-fermented soymilk. In particular, the antioxidant activities of the fermented soymilk by *L. kefir* ATCC 35411 were the highest among the samples. This result suggests that soymilk fermented by *L. kefir* ATCC 35411 allowed obtaining a soymilk with enhanced sensory quality and antioxidant activity was able to contribute to the health benefit.

Key words: soymilk, ginseng, *Lactobacillus kefir*, fermentation, antioxidant activity

서 론

대두(soybean, *Glycine max.* L)는 양질의 단백질이 40% 이상 함유되어 있어 아시아 지역에서는 가장 중요한 단백질 공급원으로서의 역할을 하며 이외에도 철, 불포화지방산, niacin 등을 함유하고 있는 영양학적으로 우수한 식품이다. 또한 대두에는 isoflavone, phytic acid, phytosterol, saponin, 식이섬유 등 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있어 항암, 항균, 항산화 등의 효과를 갖는 것으로 알려져 있다(1,2). 그러나 대두에는 소화율을 떨어뜨리는 트립신 저해제나 콩비린내로 인해 두유의 이용성을 제한받기도 하지만(3-5), 트립신 저해제는 간단한 열처리를 통해 불활성화시킬 수 있으며, 콩 비린내는 비린내 유발인자를 제거하거나 다른 물질 첨가에 의해 masking이 가능하다(6-8).

두유(soy milk)는 대두로부터 수용성 물질인 고형분과 단백질을 추출한 것으로 필수아미노산과 필수지방산이 풍부하며 유당을 포함하고 있지 않아 유당불내증 대체식품으로

서 중요한 역할을 하고 있다. 또한 콜레스테롤도 거의 없으며, 체내의 콜레스테롤 함량을 낮추는 생리활성물질이 다량 함유되어 있어 기능성 영양 음료로서 인식이 더욱 확대되고 있다(9). 최근 식생활의 서구화와 비만인구 및 고령인구의 증가로 여러 가지 질환에 대한 위험성이 커지면서 식생활을 통해 질병발생을 예방하고 건강한 삶을 유지하려는 소비자가 늘고 있다. 또한 한 번의 섭취로 여러 가지 기능을 얻을 수 있는 복합적인 기능을 지닌 제품을 찾는 소비자가 늘고 있다. 따라서 두유는 그 자체로도 매우 우수한 식품이지만 다른 식품 첨가로 두유가 지니고 있지 않는 기능성을 나타낼 수 있게 하거나 기존의 두유 성분을 발효 등의 전처리에 의해 새롭게 생성된 물질인 isoflavone의 aglycone, 유리아미노산, 펩타이드 등을 함유하게 되어 체내 흡수를 증가시킬 수 있고 기능성을 증대시킬 수 있는 발효 두유에 대한 관심이 증대되고 있다.

현재 시판되고 있는 두유 제품들을 살펴보면, 전통적인 순수 두유 제품을 포함하여, 검은콩을 원료로 한 두유, 칼슘을 강화한 두유, 오트밀 두유, 검은깨를 첨가한 두유, 각종 견과류를 첨가한 다양한 두유 상품이 나오고 있으며, 기능성 식품 첨가 두유제조 관련 연구로는 머루로부터 추출한 안토시아닌을 첨가(10)하거나 자색고구마(11), 메밀썩(12) 또는

Received 12 July 2013; Accepted 9 August 2013

*Corresponding author.

E-mail: yckim@kfri.re.kr, Phone: 82-31-780-9145

홍삼 추출물(13)을 첨가한 두유의 이화학적 특성과 유효성분 분석 등이 있다. 두유 발효관련 연구로는 유산균이나 *Bacillus* 등을 이용하여 발효특성을 연구(4,14-16)하거나 발효를 위해 사용한 미생물의 생육 증식을 위해 lactulose, D-glucose, L-cysteine, lactose 등을 첨가한 실험(17-21)이 대부분이며 인삼 등 두유의 기능성 증진을 위해 기능성 물질을 첨가하여 발효시킨 두유에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 신경계, 심혈관계, 내분비계, 면역계 등 다양한 조직에 작용하는 여러 가지 생리활성 물질들이 함유되어 있는 것으로 알려져 있는(22) 인삼 추출물을 용수로 사용하여 제조한 두유를 GRAS(generally regarded as safe) 미생물로 알려진 젖산균을 이용하여 발효 인삼두유를 제조하였으며, 발효균주를 달리하여 제조한 두유의 미생물학적 및 이화학적 특성과 항산화 효과를 비교 분석하고 관능검사를 통해 기호도를 비교 검토함으로써 기능성 음료로서의 활용 가능성을 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

인삼 추출물 제조

실험에 사용된 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 금산 소재 인삼 조합(Gumsan, Korea)에서 구입한 6년근 인삼을 사용하였다. 인삼 물 추출물은 인삼 무게 5배의 물(ratio 1:5 w/v)을 가하여 95°C에서 72시간 추출 후 부직포로 여과하여 인삼 추출물로 하였으며, 두유 제조를 위한 용수로 사용하였다.

두유의 발효

두유는 콩(*Glycine max.* L.)을 5°C에서 24시간 불려 껍질을 제거하고 물기를 제거한 후 콩 무게 5배의 인삼 추출물(ratio 1:5 w/v)을 가하여 마쇄 후 부직포로 여과하였으며 여액은 80°C에서 30분간 살균하여 두유 원액으로 하였다.

두유 발효는 *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3168 (LA3168), *Lactobacillus brevis* ATCC 8287(LB8287), *Lactobacillus bulgaricus* IFO 3533(LB3533), *Lactobacillus casei* ATCC 393(LC393) 및 *Lactobacillus kefir* ATCC 35411(LK35411) 등 5종의 젖산균을 전배양 후 두유에 1% 접종하여 30°C 또는 37°C에서 24시간 동안 정지 배양 하였다.

생균수 및 pH 측정

생균수는 시료를 멸균수로 단계희석 후 MRS agar 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 생균수를 측정하여 log CFU/mL로 나타내었으며, pH는 pH meter(model 420+, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 모든 시료는 6시간 간격으로 채취하여 분석하였다.

관능검사

각 균주로 18시간 발효시킨 발효 두유는 4°C에서 24시간 숙성시킨 후 관능검사용 시료로 사용하였다. 관능검사는 식품을 전공하는 대학생 10명을 대상으로 쓴맛, 신맛, 쓴내, 쿵 비린내 및 종합적인 기호도에 대해 9점 척도법으로 '1은 매우 약하다 또는 매우 싫어한다' 그리고 '9는 매우 강하다 또는 매우 좋아한다'로 평가하였다.

진세노사이드 함량 측정

발효 인삼두유의 진세노사이드 함량 분석은 protopanaxadiol계에 속하는 Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Rg3와 protopanaxatriol계에 속하는 Re, Rg1, Rg2, Rh1, Rf 등 11종을 분석하였다. 진세노사이드 정량을 위해 두유시료 100 mL를 10,000 rpm에서 15분 동안 원심분리 하고 하층에 메탄올 50 mL를 가하여 교반 추출 후 다시 원심분리하여 앞의 상층액과 합하여 감압건조 후 동결건조 하였다. 동결건조물에 메탄올을 가하여 완전 용해 후 0.45 µm로 membrane filter로 여과 후 진세노사이드 분석용 시료로 사용하였다. 이때 HPLC 분석조건은 Lau 등의 방법(23)을 변형하여 multiwavelength detector(MD-2010 Plus)를 장착한 HPLC system(JASCO Inc., Easton, MD, USA)을 이용하여 µBondapak C18 column(3.9×300 mm, Waters Corp., Milford, MA, USA)을 사용하여 분리하였다. 이때 이동상은 water와 acetonitrile의 농도구배에 의해 80 min 동안 유속 1.0 mL/min으로 하여 203 nm에서 검출하였다.

Superoxide radical 소거활성 측정

Superoxide radical 소거활성 측정은 Robak과 Gryglewski(24)의 방법을 변형하여 xanthine-xanthine oxidase cytochrome c 환원법으로 측정하였다. 즉 시료 0.2 mL, 50 mM phosphate buffer(pH 7.8) 1.2 mL, 1 mM xanthine 0.2 mL와 0.05 mM cytochrome C 0.2 mL를 혼합하였다. 여기에 550 nm에서 분당 흡광도의 변화가 0.02가 되도록 희석한 xanthine oxidase 0.2 mL를 가하여 3분간의 흡광도의 변화를 측정하였다. Superoxide radical 소거활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거활성 측정

Hydroxy radical 소거활성 측정은 Chung 등(25)의 방법을 변형하여 2-deoxyribose oxidation법으로 측정하였다. 0.1 mM FeSO₄/0.1 mM EDTA-2Na 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 10 mM H₂O₂ 0.2 mL를 혼합하고 최종 용량이 2 mL가 되도록 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)를 가한 후 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid와 1% thiobarbituric acid/50 mM NaOH를 각각 1 mL를 가하여 100°C에서 10분간 가열하고 냉각시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hy-

droxyl radical 소거활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

통계처리

모든 분석결과는 SPSS program(version 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 통계처리 하였으며 분산분석(ANOVA)을 이용하여 5% 수준에서 Duncan의 다중범위검정을 실시하여 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

발효두유의 미생물학적 특성

젖산균 종류가 인삼 추출물을 용수로 하여 제조한 두유의 성장률과 발효능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 일반적인 유제품 제조에 사용되는 *Lactobacillus* 5가지 균주를 이용하여 각 균주의 최적온도에서 24시간 발효하면서 생균수 및 pH 변화를 관찰하였다. Fig. 1에 나타낸 바와 같이 생균수는 발효 전 6.51~7.38 log CFU/mL에서 발효 12시간 후 7.67~8.35 log CFU/mL로 증가하였으며, 특히 LA3168은 발효 전 생균수가 6.51 log CFU/mL로 다른 균주에 비해 상대적으로 가장 적었으나 발효 24시간 8.53 log CFU/mL 수준까지 도달하여 인삼두유에서 가장 생육이 우수한 것으로 나타났다. 또한 인삼두유 발효 중 대부분의 실험구가 발

효 12시간을 전후로 해서 커드가 형성되었으며 이 같은 현상은 젖산균에 의한 산의 생성 때문인 것으로 판단되었다. 인삼두유 발효 중 pH 변화는 발효초기 pH가 5.99~6.20에서 발효 12시간 후 4.40~5.21로 젖산균의 생육 증가와 함께 pH 또한 급격히 감소됨을 알 수 있었으며 LA3168과 LK35411의 경우 발효 24시간까지 pH가 감소되어 최종 pH는 각각 4.27 및 3.73을 나타내었다. 발효제품은 적절한 pH를 가져야 풍미가 향상되는 것으로 알려져 있으며, 특히 *Lactobacillus*는 장내에서 산도를 증가시키고 pH를 감소시켜 유해세균을 비롯한 다른 장내균들의 증식을 억제한 것으로 알려져 있다(26). 대두 요구르트를 생성하는 젖산균의 특성에 대한 Kim(17)의 보고에 따르면 젖산균으로 발효한 대두 요구르트의 pH는 일정 수준으로 감소하게 되면 정체기가 되어 더 이상 pH나 산도가 증가하지 않았다고 보고하여 본 연구결과와 유사함을 알 수 있었다.

발효두유 관능검사

젖산균주 5종류를 이용하여 16시간 배양 후 4°C에서 24시간 숙성시킨 발효 인삼두유의 쓴맛, 신맛, 씀내, 콩 비린내에 대한 강도와 종합적 기호도에 대한 관능검사 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 콩 비린내와 쓴맛은 신맛이 가장 강하게 평가된 LK35411에서 강도가 가장 낮은 것으로 평가되었으며 씀내는 LB8287에서 가장 약했고 LB3533 균주 발효물에서 가장 강하게 평가되었다. 전반적 기호도는 신맛이 강하면서 쓴맛, 콩비린내, 씀내 등이 비교적 약하게 평가된 LK35411이 가장 높게 선호되었다. Ko(7)와 Wang 등(8)의 하다면 일반적으로 두유를 이용한 발효제품은 두유 특유의 콩 비린내로 인하여 기호도가 낮으나 발효에 의하여 생성된 유기산에 의해 콩 비린내가 masking되는 효과를 볼 수 있음을 보고하였다. 본 연구에서도 신맛이 강하게 느껴지는 실험구에서 콩 비린내가 가장 약하게 느껴지는 것으로 나타났으

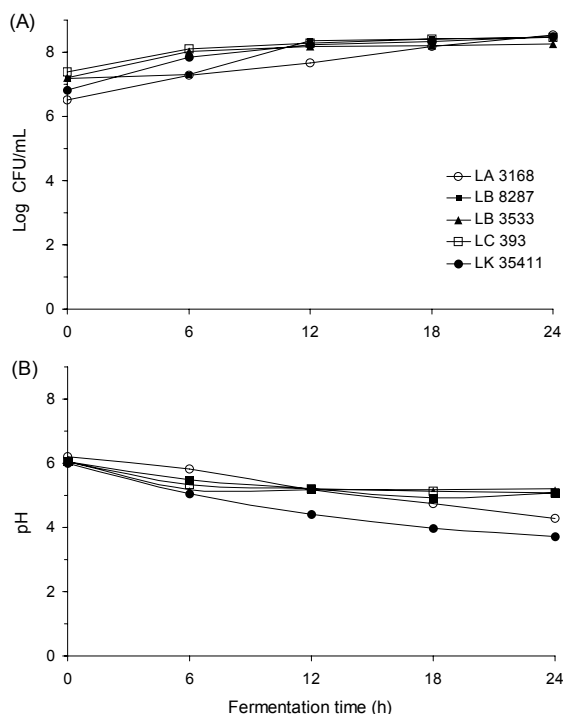


Fig. 1. Changes in viable cell counts (A) and pH (B) of ginseng soymilk fermented with different lactic acid bacteria. LA3168, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3168; LB8287, *Lactobacillus brevis* ATCC 8287; LB3533, *Lactobacillus bulgaricus* IFO 3533; LC393, *Lactobacillus casei* ATCC 393; LK35411, *Lactobacillus kefir* ATCC 35411.

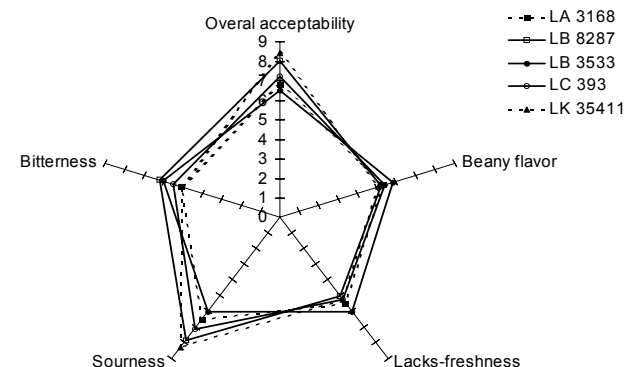


Fig. 2. Sensory evaluation of ginseng soymilk fermented with different lactic acid bacteria. The sensory evaluation of fermented ginseng soymilk was assigned scores between 1 and 9 with 1 being “weak or extremely disliked” and 9 being “strong or extremely liked.” LA3168, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3168; LB8287, *Lactobacillus brevis* ATCC 8287; LB3533, *Lactobacillus bulgaricus* IFO 3533; LC393, *Lactobacillus casei* ATCC 393; LK35411, *Lactobacillus kefir* ATCC 35411.

Table 1. Changes in ginsenoside contents of ginseng soymilk fermented with different lactic acid bacteria

	Ginsenosides contents (mg/g)					
	Control ¹⁾	LA3168	LB8287	LB3533	LC393	LK35411
Rg1	0.216±0.003 ^{b2)}	0.218±0.009 ^b	0.214±0.006 ^b	0.289±0.004 ^a	0.214±0.003 ^b	0.211±0.005 ^b
Re	0.812±0.004 ^b	0.812±0.013 ^b	0.750±0.010 ^c	1.209±0.011 ^a	0.828±0.003 ^b	0.721±0.002 ^d
Rf	0.014±0.005 ^c	0.098±0.008 ^d	0.116±0.006 ^c	0.124±0.004 ^c	0.989±0.002 ^a	0.332±0.006 ^b
Rg2+Rh1	ND ³⁾	ND	0.016±0.005 ^c	0.101±0.006 ^b	0.130±0.001 ^a	ND
Rb1	0.407±0.007 ^c	0.453±0.006 ^b	0.409±0.009 ^c	0.422±0.005 ^c	0.414±0.004 ^c	0.478±0.013 ^a
Rc	0.680±0.002 ^a	0.339±0.004 ^c	0.279±0.023 ^d	0.316±0.005 ^c	0.379±0.004 ^b	0.334±0.010 ^c
Rb2+Rb3	0.316±0.005 ^{de}	0.424±0.006 ^a	0.307±0.008 ^c	0.338±0.008 ^c	0.330±0.008 ^{cd}	0.391±0.010 ^b
Rd	0.123±0.003 ^a	0.128±0.004 ^a	0.124±0.004 ^a	0.121±0.003 ^a	0.128±0.002 ^a	0.035±0.006 ^b
Rg3	0.026±0.003 ^c	0.202±0.006 ^a	0.188±0.006 ^b	0.188±0.004 ^b	0.209±0.005 ^a	0.190±0.005 ^b
Total	2.593±0.002 ^d	2.672±0.043 ^c	2.401±0.038 ^e	3.105±0.016 ^b	3.620±0.023 ^a	2.691±0.046 ^c

¹⁾Control, non fermented ginseng soymilk; LA3168, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3168; LB8287, *Lactobacillus brevis* ATCC 8287; LB3533, *Lactobacillus bulgaricus* IFO 3533; LC393, *Lactobacillus casei* ATCC 393; LK35411, *Lactobacillus kefir* ATCC 35411.

²⁾Means with each row followed by different letters are significantly different (Duncan's multiple range test, $P < 0.05$).

³⁾ND: not detected.

며 발효 인삼두유는 LK35411 균주를 이용하여 발효하는 것이 관능적 측면에서는 가장 우수할 것으로 사료되었다.

발효두유의 진세노사이드 함량

젖산균 5종류를 이용하여 제조한 발효 인삼두유 중의 진세노사이드 함량 변화를 분석한 결과는 Table 1에 나타내었다. 총 진세노사이드 함량은 LC393 실험구에서 3.62 mg/g으로 유의적으로 가장 높게 함유되어 있었고, 발효홍삼에 주로 존재하며 발효가 진행됨에 따라 함량이 증가하는 것으로 알려진(27) Rg2, Rg3 및 Rh1 분석결과, Rg2와 Rh1은 대조구 및 LA3168에서 검출한계 이하로 존재하였으며 Rg2, Rh1 및 Rg3의 합은 LC393 실험구에서 가장 높게 정량되었다.

인삼 진세노사이드는 구조적으로 triterpenoid dammarane 골격에 당이 결합되어 있는 배당체 형태로서 자연계에 존재하는 많은 배당체 화합물들은 그 자체의 활성보다 당을 분해하여야만 더 많은 생리활성을 나타낸다(28). 진세노사이드 또한 생체 내로의 흡수율이 매우 낮은 것으로 보고(29,30)되고 있다. 인삼 진세노사이드의 생체이용률 및 생리활성을 높이기 위해서는 비배당체 형태 또는 발암 억제, 암전이 억제, 면역증강, 기억력개선 등 우수한 생리활성을 나타내는 것으로 밝혀진 rare 진세노사이드인 Rh2, Rg3, compound K 등 생리활성이 높은 진세노사이드 구조로 전환시키는 것이 필수적이다. Chi 등(29)은 인삼을 *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus*를 이용하여 발효시키는 경우 Rb2와 Rc가 Rd 또는 Rh2로 전환되었다고 보고하였다. 또한 Choi 등(31)도 *B. Longum* B6 균주를 통한 발효 인삼 중의 진세노사이드 조성 분석결과 고분자 진세노사이드인 Rb1 및 Re의 함량은 발효기간에 비례하여 감소하고 저분자 진세노사이드 Rg3, Rh2 및 Rg2의 함량은 발효시간에 따라 증가하였음을 보고하였다. Lee 등(32)도 *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*, *Leuconostoc* 및 yeasts가 생산하는 당분해

효소에 의해 인삼에 존재하는 진세노사이드가 비배당체 형태로 전환되었음을 보고하였다.

본 연구결과 생리활성이 가장 우수하다고 알려진 진세노사이드 최종 대사체인 compound K는 정량하지 못했으나 홍삼특유의 성분으로 생리활성이 우수한 rare 진세노사이드인 Rg3를 정량함으로써 인삼두유를 발효시킴에 의해 생리활성이 우수한 특정 진세노사이드 함량을 증진시킬 수 있을 것으로 사료되었다.

발효두유의 항산화 활성

Superoxide(O_2^-)는 체내 대사과정 중 가장 먼저 생성되는 활성산소로 H_2O_2 나 $\cdot OH$ 에 비해 반응성은 약하나 공격성이 있어 생체 내에서 제거할 수 있는 효소시스템보다 과잉 생성되면 다른 활성산소로 전환되기 때문에 중요하다. 다양한 젖산균주로 발효된 인삼두유의 superoxide anion 라디칼 소거활성 측정 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 모든 발효 실험군에서 발효하지 않은 인삼두유(control)에 비해 유의적으로 활성이 증진되었음을 알 수 있었으며, 특히 LK35411 실험구에서 84.6%로 가장 높은 활성을 보였다.

자유 라디칼 중에서도 가장 강한 독성을 나타내며 반응성이 매우 크고 반응속도가 빠르며 지질의 산화 및 DNA에 손상을 일으켜 돌연변이를 유발함으로써 다양한 질환에 관여하는 것으로 알려져 있는 hydroxyl 라디칼 소거활성 측정 결과는 Fig. 3에 나타내었다. LK35411에서 80.1%로 유의적으로 가장 활성이 높았으며 발효에 의해 hydroxyl 라디칼 소거능이 발효 전 인삼두유에 비해 4~5배 정도 증진되는 것으로 나타났다. Marazza 등(33)의 보고에 의하면 *L. rhamnosus*로 발효한 두유를 β -carotene bleaching 및 DPPH 라디칼 소거능으로 항산화능을 측정한 결과 발효전 두유에 비해 항산화 활성이 매우 높게 나타났음을 보고한 바 있으며, Wang 등(34)은 lactic acid bacteria와 bifidobacteria로 발효시킨 두유의 환원력(reducing activity)은

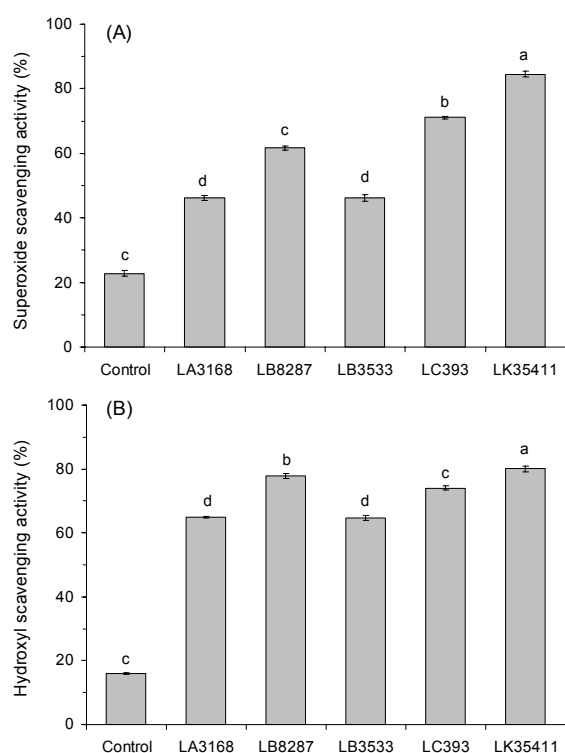


Fig. 3. Superoxide (A) and hydroxyl radical scavenging activity (B) of ginseng soymilk fermented with different lactic acid bacteria. Bars with different letters for each treatment represent significant different among the sample (Duncan's multiple range test, $P < 0.05$). Control, non fermented ginseng soymilk; LA3168, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3168; LB8287, *Lactobacillus brevis* ATCC 8287; LB3533, *Lactobacillus bulgaricus* IFO 3533; LC393, *Lactobacillus casei* ATCC 393; LK35411, *Lactobacillus kefir* ATCC 35411.

발효시간이 경과함에 따라 최고 2.5배 정도 증진되었고 superoxide radical 소거능 또한 발효 두유에서 활성이 더 높음을 보고하였다. 또한 Jeong 등(35)은 *B. subtilis* KC-3를 발효균주로 이용하여 제조한 두유의 DPPH 및 hydroxy radical 소거활성은 발효가 진행됨에 따라 증가하였음을 보고한 바 있다.

본 연구결과 기존 보고와 발효균주 및 항산화능 측정방법은 다르나 *Lactobacillus* 발효에 의해 제조된 인삼두유의 항산화 증진효과를 확인할 수 있었다. 이러한 효과가 두유 중의 isoflavon류의 생물전환에 의한 것인지 아니면 두유 제조시 용수로 사용된 인삼 추출물의 생물전환에 의한 것인지에 대한 연구가 더 필요하나 발효 인삼두유 제조 시 젖산균 중 *L. kefir* ATCC 35411을 이용한다면 항산화능이 뛰어난 인삼두유를 제조할 수 있을 것으로 사료되었다.

요 약

본 연구에서는 인삼 추출물이 용수로 사용된 두유를 *Lactobacillus* 5가지 균주를 이용하여 발효 인삼두유를 제조하였으며, 발효 균주에 따른 두유의 미생물학적 및 이화학

적 특성과 항산화 활성에 대해 알아보았다. 인삼두유에서의 젖산균 생장은 *L. acidophilus* KCTC 3168이 가장 우수한 것으로 나타났으며 젖산균의 산 생성에 따른 pH 변화는 *L. kefir* ATCC 35411에서 가장 낮게 측정되었다. 관능검사 결과는 신맛이 강하면서 쓴맛, 콩비린내 및 쓴내 등이 비교적 약하게 평가된 *L. kefir* ATCC 35411이 가장 높게 선호되었다. 두유제조에 사용된 인삼의 기능성 성분인 진세노사이드 함량과 항산화 활성에 대해 분석한 결과 총 진세노사이드는 *L. casei* ATCC 393에서 유의적으로 가장 높게 함유되어 있었으며, 발효홍삼에 주로 존재하며 발효가 진행됨에 따라 함량이 증가하는 것으로 알려진 Rg2, Rg3 및 Rh1 함량 또한 *L. casei* ATCC 393에서 가장 높게 정량되었다. 인삼두유의 superoxide anion 라디칼 소거활성과 hydroxyl 라디칼 소거활성을 측정된 결과 발효두유에서 발효하지 않은 인삼두유에 비해 각각 2~4배 및 4~5배 정도 항산화 활성이 증진되었음을 알 수 있었으며, 특히 *L. kefir* ATCC 35411에서 가장 높은 활성을 보이는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 인삼두유는 젖산균 발효에 의해 관능적, 기능적 측면에서 우수한 두유를 제조할 수 있을 것으로 사료되며, 발효균주로서 *L. kefir* ATCC 35411이 가장 적합할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 수출전략기술개발사업에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Kim EH, Ro HM, Kim SL, Kim HS, Chung IM. 2012. Analysis of isoflavone, phenolic, soyasapogenol, and tocopherol compounds in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasm of different seed weights and origins. *J Agric Food Chem* 60: 6045-6055.
- Orhan I, Özcelik B, Kartal M, Aslan S, Sener B, Özgüven M. 2007. Quantification of daidzein, genistein and fatty acids in soybeans and soy sprouts, and some bioactive studies. *Acta Biol Cracov Ser Bot* 49: 61-68.
- Blagden T, Gilliland SE. 2005. Reduction of levels of volatile components associated with the "Beany" flavor in soymilk by *Lactobacilli* and *Streptococci*. *J Food Sci* 70: M186-M189.
- Yang H, Zhang L. 2009. Changes in some components of soymilk during fermentation with the basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Food Chem* 112: 1-5.
- Kim MS, Sung MK, Seo SB, Kim KR, Lee KJ, Park MS, Chung JI. 2008. Breeding of lipoxygenase and Kunitz trypsin inhibitor-free soybean line. *Korean Soybean Digest* 25: 1-6.
- Lenis JM, Gillman JD, Lee JD, Shannon JG, Bilyeu KD. 2010. Soybean seed lipoxygenase genes: molecular characterization and development of molecular marker assays. *Theor Appl Genet* 120: 1139-1149.
- Ko YT. 1989. Acid production by lactic acid bacteria in

- soy milk treated by microbial protease or papain and preparation of soy yogurt. *Korean J Food Sci Technol* 21: 379-386.
8. Wang HL, Kraiej L, Hesselstine CW. 1974. Lactic acid fermentation of soybean milk. *J Milk Food Technol* 37: 71-73.
 9. Shin HC, Seong HS, Sohn HS. 2004. The industrial development and health benefits of the soymilk. *Korean Soybean Digest* 21: 15-27.
 10. Roh S. 2012. Effect of anthocyanin obtained from wild grapes on the photooxidation stability of soymilk. *MS Thesis*. Dankook University, Yongin, Korea.
 11. Liu Q. 2011. Quality characteristics and antioxidant activity of blackbean soy sikhye yogurt added with purple sweet potato powder. *MS Thesis*. Chung-Ang University, Anseong, Korea.
 12. Jeong DH. 2013. Physicochemical and functional properties of soymilk with buckwheat sprout addition. *MS Thesis*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea.
 13. Lee KJ. 2012. Characteristics of physico-chemical properties and analysis of functional components in soy milk with red ginseng extraction. *PhD Dissertation*. Chosun University, Gwangju, Korea.
 14. Tsangalis D, Ashton JF, McGill AEJ, Shah NP. 2002. Enzymic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by β -glucosidase-producing bifidobacteria. *J Food Sci* 67: 3104-3113.
 15. Chun J, Kim JS, Kim JH. 2008. Enrichment of isoflavones aglycones in soymilk by fermentation with single and mixed cultures of *Streptococcus infantarius* 12 and *Weissella* sp. 4. *Food Chem* 109: 278-284.
 16. Kwon Y, Apostolidis E, Shetty K. 2007. Anti-diabetes functionality of Kefir culture-mediated fermented soymilk supplemented with *Rhodiola* extracts. *Food Biotechnol* 20: 13-19.
 17. Kim RU. 2010. Identification and characterization of soy yogurt-forming lactic acid bacteria. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
 18. Pham TT, Shah NP. 2008. Effect of lactulose on biotransformation of isoflavone glucosides to aglycones in soymilk by lactobacilli. *J Food Sci* 73: M158-M165.
 19. Pham TT, Shah NP. 2008. Skim milk powder supplementation affects lactose utilization, microbial survival and biotransformation of isoflavone glycosides to isoflavone aglycones in soymilk by *Lactobacillus*. *Food Microbiol* 25: 653-661.
 20. Tsangalis D, Ashton JF, McGill AEJ, Shah NP. 2003. Biotransformation of isoflavone by bifidobacteria in fermented soymilk supplemented with D-glucose and L-cysteine. *J Food Sci* 68: 623-631.
 21. Dubey UK, Mistry VV. 1996. Effect of bifidogenic factors on growth characteristics of bifidobacteria in infant formulas. *J Dairy Sci* 79: 1156-1163.
 22. Attele AS, Wu JA, Yuan CS. 1999. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem Pharmacol* 58: 1685-1693.
 23. Lau AJ, Woo SO, Koh HL. 2003. Analysis of saponins in raw and steamed *Panax notoginseng* using high-performance liquid chromatography with diode array detection. *J Chromatogr A* 1011: 77-87.
 24. Robak J, Gryglewski RJ. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 37: 837-841.
 25. Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci Biotech Biochem* 61: 118-123.
 26. Lee SK, Son HS, Ji GE. 1993. Comparison of cultured soymilk by *Bifidobacterium* and various human intestinal bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 25: 694-697.
 27. Kim BG, Choi SY, Kim MR, Suh HJ, Park HJ. 2010. Changes of ginsenosides in Korean red ginseng (*Panax ginseng*) fermented by *Lactobacillus plantarum* M1. *Process Biochem* 45: 1319-1324.
 28. Akao T. 1992. Metabolic activation of crude drug components by intestinal bacterial enzymes. *Med Pharm Soc* 9: 1-13.
 29. Chi H, Ji GE. 2005. Transformation of ginsenosides Rb1 and Re from *Panax ginseng* by food microorganisms. *Biotechnol Lett* 27: 765-771.
 30. Wang BX, Cui JC, Liu AJ, Wu SK. 1983. Studies on the anti-fatigue effect of the saponins of stems and leaves of panax ginseng (SSLG). *J Tradit Chin Med* 3: 89-94.
 31. Choi WY, Lee CG, Song CH, Seo YC, Kim JS, Kim BH, Shin DH, Yoon CS, Lim HW, Lee HY. 2012. Enhancement of low molecular ginsenoside contents in low quality fresh ginseng by fermentation process. *Korean J Medicinal Crop Sci* 20: 117-123.
 32. Lee BH, You HJ, Park MS, Kwon B, Ji GE. 2006. Transformation of the glycosides from food materials by probiotics and food microorganisms. *J Microbiol Biotechnol* 16: 497-504.
 33. Marazza JA, Nazareno MA, de Giori GS, Garro MS. 2012. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus*. *J Funct Foods* 4: 594-601.
 34. Wang YC, Yu RC, Chou CC. 2006. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiol* 23: 128-135.
 35. Jeong EJ, Kim JY, Moon SH, Park KY. 2010. Characteristics, antioxidative activities and growth inhibitory effects in AGS human gastric adenocarcinoma cells of soymilk fermented by *Bacillus subtilis* KC-3 during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1113-1118.