



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2022年 8月  
碩士學位論文

김치 유래 유산균을  
이용한 발효미강의 최적 조건 및  
특성 분석

朝鮮大學校大學院

食品營養學科

文 裕 貞

# 김치 유래 유산균을 이용한 발효미강의 최적조건 및 특성 분석

Optimal conditions and characteristics analysis of fermented  
rice bran using lactic acid bacteria derived from Kimchi

2022年 8月 26日

朝鮮大學校大學院

食品營養學科

文 裕 貞

김치 유래 유산균을  
이용한 발효미강의 최적조건 및  
특성 분석

指導教授 張 海 春

이 논문을 理學碩士學位申請 論文으로 提出함

2022年 04月

朝鮮大學校大學院

食品營養學科

文 裕 貞

# 文裕貞의 碩士學位論文을 認准함

委員長 조선대학교 교수 이주민 

委員 조선대학교 교수 최지영 

委員 조선대학교 교수 장해준 

2022년 05월

朝鮮大學校 大學院

## 목 차

LIST OF TABLES .....	V
LIST OF FIGURES .....	IX
ABSTRACT .....	X
제 1장 서론 .....	1
제 2장 실험 재료 및 방법 .....	4
제 1절 미강발효물의 제조 및 최적 건조조건 .....	4
1. 재료 및 사용균주 준비 .....	4
2. 미강발효물의 제조 .....	4
3. 발효미강의 최적 건조조건 설정 .....	5
가. 최적 건조조건 설정 .....	5
나. 건조조건에 따른 유산균수 측정 .....	5
제 2절 발효미강의 특성 분석 .....	6
1. 이화학적 특성 .....	6
2. 미생물학적 특성 .....	6
3. 관능적 평가 .....	7
4. 기능성 평가 .....	7
가. 오르니틴 생성능 .....	8

나. 콜레스테롤 저하능 .....	9
다. 항산화능 .....	10
1) DPPH free radical 소거능 .....	10
2) SOD(Superoxide dismutase) activity .....	11
라. 항균활성 .....	12
제 3절 발효미강의 성분분석 .....	13
1. 일반성분 분석 .....	13
2. 영양성분 분석 .....	13
가. 시료의 전처리 .....	13
나. 유리당 분석 .....	13
다. 유기산 분석 .....	14
라. 유리아미노산 분석 .....	14
마. 지방산 분석 .....	14
제 4절 저장기간, 저장온도에 따른 안정성 평가 .....	15
1. 미생물학적 특성 .....	15
2. 기능성 평가 .....	15
3. 관능적 평가 .....	15
제 5절 통계학적 분석 .....	16
1. 통계처리 .....	16

제 3장 실험 결과 및 고찰 .....	17
제 1절 미강발효물의 제조 및 최적 건조조건 .....	17
1. 최적 건조조건 설정 .....	17
2. 건조조건에 따른 유산균수 측정 .....	17
제 2절 발효미강의 특성 분석 .....	19
1. 이화학적 특성 .....	19
2. 미생물학적 특성 .....	19
3. 관능적 평가 .....	21
4. 기능성 평가 .....	24
가. 오르니틴 생성능 .....	24
나. 콜레스테롤 저하능 .....	24
다. 항산화능 .....	27
1) DPPH free radical 소거능 .....	27
2) SOD(Superoxide dismutase) activity .....	29
라. 항균활성 .....	29
제 3절 발효미강의 성분분석 .....	33
1. 일반성분 분석 .....	33
2. 영양성분 분석 .....	35
가. 유리당 분석 .....	35
나. 유기산 분석 .....	35
다. 유리아미노산 분석 .....	40

라. 지방산 분석 .....	40
제 4절 저장기간, 저장온도에 따른 안정성 평가 .....	49
1. 미생물학적 특성 .....	49
2. 기능성 평가 .....	49
가. 오르니틴 생성능 .....	49
나. 콜레스테롤 저하능 .....	51
3. 관능적 평가 .....	54
제 4장 결론 .....	63
제 5장 참고문헌 .....	67

## LIST OF TABLES

Table 1. Chemical and microbiological properties of the fermented rice bran products.....	20
Table 2. Sensory evaluation of fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM.....	22
Table 3. Sensory evaluation of fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1.....	23
Table 4. Cholesterol removal by the fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	26
Table 5. Cholesterol removal by the fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 .....	26
Table 6. DPPH free radical scavenging activities of fermented rice bran.....	28
Table 7. SOD(Superoxide dismutase) activity of fermented rice bran.....	30
Table 8. Antimicrobial activity of the fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	31
Table 9. Antimicrobial activity of the fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1.....	32
Table 10. Approximate composition of fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM.....	34
Table 11. Approximate composition of fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1.....	34

Table 12. Free sugar contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	36
Table 13. Free sugar contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	36
Table 14. Free sugar contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 .....	37
Table 15. Free sugar contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 .....	37
Table 16. Free organic acid contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	38
Table 17. Free organic acid contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	38
Table 18. Free organic acid contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 .....	39
Table 19. Free organic acid contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 .....	39
Table 20. Free amino acid contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	41
Table 21. Free amino acid contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM .....	42

Table 22. Free amino acid contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1	43
Table 23. Free amino acid contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1	44
Table 24. Fatty acid contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM	45
Table 25. Fatty acid contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM	46
Table 26. Fatty acid contents of hot air-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1	47
Table 27. Fatty acid contents of freeze-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1	48
Table 28. Cholesterol removal ability of fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM stored at 4°C according to the storage period	52
Table 29. Cholesterol removal ability of fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM stored at room temperature according to the storage period	53
Table 30. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM stored at 4°C according to storage period	55
Table 31. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM stored at 4°C according to storage period	56

Table 32. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM stored at room temperature according to storage period.....	57
Table 33. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM stored at room temperature according to storage period.....	58
Table 34. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 stored at 4°C according to storage period.....	59
Table 35. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 stored at 4°C according to storage period.....	60
Table 36. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 stored at room temperature according to storage period.....	61
Table 37. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 stored at room temperature according to storage period.....	62

## LIST OF FIGURES

Figure 1. Hot air drying conditions of fermented rice bran.....	18
Figure 2. Freeze drying conditions of fermented rice bran.....	18
Figure 3. Ornithine production of fermented rice bran with <i>L. plantarum</i> EM, <i>W. koreensis</i> DB1.....	25
Figure 4. Ornithine production of fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 stored at 4°C according to storage period.....	50
Figure 5. Ornithine production of fermented rice bran with <i>W. koreensis</i> DB1 stored at room temperature according to storage period.....	50

## ABSTRACT

### Optimal conditions and characteristics analysis of fermented rice bran using lactic acid bacteria derived from Kimchi

Yu Jeong Mun

Advisor : Prof. Chang, Hae Choon, Ph. D.

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

Rice bran contains a variety of physiologically active substances, but most rice bran are used as animal feed and compost, and it is difficult to effectively utilize it. In this study, rice bran was fermented using *L. plantarum* EM and *W. koreensis* DB1, which are functional lactic acid bacteria separated from kimchi, and its characteristics were investigated. After preparing fermented rice bran according to the optimal fermentation conditions for each strain set in the previous study, the optimal drying conditions were set to 12 to 16 hours at 55°C during hot air drying and 3 to 4 days at -70°C during freeze drying. The number of viable cell of the rice bran fermentation product prepared under the optimization condition was detected to be about 10<sup>2</sup> CFU/g or less. As for the sensual characteristics, the preference of rice bran after fermentation was higher than before fermentation, and the freeze-dried product showed higher preference than hot-air drying. As a result of the functional evaluation, arginine was completely converted to ornithine in rice bran fermented with *W. koreensis* DB1, high cholesterol removal ability was confirmed in rice bran fermented with *L. plantarum* EM, and antibacterial activity of about 200 to 400 AU/mL was shown. In addition, both rice bran fermented with *L. plantarum* EM and *W. koreensis* DB1 exhibited high antioxidant activity. In the free sugar analysis, glucose and fructose were detected before fermentation, but after fermentation,

both were exhausted by sugar metabolism, and in the organic acid analysis, the content of lactic acid increased after fermentation. A total of 11 components of fatty acids were detected, and in the results of free amino acid, arginine was high before fermentation in rice bran fermented with *W. koreensis* DB1, but the contents of ornithine and citrulline increased after fermentation. The characteristics of the fermented rice bran prepared under optimal conditions according to the storage period at 4°C and room temperature were investigated. As a result, all viable cell were dead after 1 month of storage, no other bacteria were detected, and ornithine content and cholesterol removal ability were maintained high. In addition, in the sensory evaluation, rancid flavour was felt from 6 months in the hot air-dried sample of the rice bran fermented with *W. koreensis* DB1, but rancid flavour was not felt in the rest of the samples. It was confirmed that the fermented rice bran developed from the experiment has excellent functionality and preservation, and it is a promising functional food.

## 제 1장 서론

근래 경제의 발전으로 인해 서구식 식생활로 변해감에 따라 현대인들은 만성질환 및 영양 불균형이 증가 되어 비만, 당뇨병, 동맥경화 등 각종 성인병 발생비율이 증가하고 있기때문에 건강에대한 관심이 높아지고 있다[1]. 이처럼 건강을 챙기고자 하는 현대인들이 늘어나면서 식품업계에서도 맛과 건강을 모두 잡을 수 있는 발효식품에 주목하고 있다.

발효는 오랜 역사를 가진 생물학 기술로, 미생물이 고분자 화합물을 이용하여 저분자 화합물인 알코올, 유기산, CO<sub>2</sub> 등을 생성하는 것이다. 발효의 주된 역할을 하는 미생물로는 유산균, 고초균, 황국균 등이 있으며[2], 이들 중에는 프로바이오틱스 기능을 지닌 것들도 있어 설사, 고지혈증, 염증성 장 질환, 면역기능과 관련된 다양한 질병을 예방하는데 사용될 수도 있다[3, 4, 5, 6]. 프로바이오틱스 중 가장 대표적인 미생물인 유산균은 탄수화물을 발효시켜 젖산을 생성하는 균류를 말하며, 유제품, 전통발효식품 등에 다양하게 존재한다[7]. 유산균에 의한 발효는 식품에 다양한 맛과 조직감을 부여하고, 풍부한 영양 및 정장작용, 항콜레스테롤, 면역증강 효과, 유당불내증 완화 등의 기능성으로 식품의 가치를 증가시킬 뿐 아니라[8, 9, 10, 11, 12], 항균성 물질의 생합성으로 저장성 또한 향상시킨다[13].

한편, 김치는 우리나라의 대표적 젖산 발효 식품으로, 다양한 미생물들이 발효과정에 관여하는 것으로 알려져 있다. 김치 발효에 주된 역할을 하는 대표적인 김치 유산균으로는 *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella* 등이 있으며, 이들 중에서도 상기 나열된 우수한 건강 기능성을 가지고 있는 것들에 대한 다수의 보고가 있다. 그 예로 김치에서 분리한 유산균인 *Lactobacillus plantarum* AF1은 강한 항균활성을 가지고 있는 것으로 나타났다[48]. 또한, 김치에서 분리된 유산균인 *Lactiplantibacillus plantarum* EM은 높은 콜레스테롤 저하능과 항균활성을 가지는 것으로 보고되었다[14, 15]. 콜레스테롤 저하능은 담즙염 가수분해효소와 관련이 있으며, 타우린이나 글리신과 결합 된 담즙산은 소장의 콜레스테롤 흡수를 돕는다. 그러나 담즙산이 담즙염 가수분해효소에 의해 제거되면 담즙산이 배설되고 콜레스테롤이 새로운 담즙산의 합성을 위한 전구물질로 소비되어 혈청 콜레스테롤이 낮아진다. 이때, *L. plantarum* EM은 담즙염 가수분해효소 활성을 가지고 있는 것으로 보

고된바 있다[16]. *L. plantarum* EM은 세포벽 부분의 높은 콜레스테롤 흡착능을 바탕으로 성장 세포뿐만 아니라 휴식 세포, 죽은 세포까지 높은 콜레스테롤 제거능을 보여주었다[14]. 또한, 장내에서 생존하고 장내 부착능이 우수하며, 항생제에 대한 내성을 가지지 않는 안전한 GRAS 미생물이므로 생균활성제로 활용이 가능하고, 위해 미생물과 곰팡이 등 광범위한 항균활성을 가지므로 프로바이오틱 균주로서 활용될 수 있는 높은 가능성을 보여 주었다[16].

김치 유산균 중 하나인 *Weissella* 속은 *Leuconostoc* 속의 다른 종들과 차이를 보이는 *Leuconostoc paramesenteroides*와 *Lactobacillus* 속 5종을 모아서 6종으로 새로운 속을 제안함으로써 만들어졌다[37]. *Weissella* 속 균들은 김치와 같은 발효 소채류, 발효식품, 사람과 동물의 소화관, 소시지 등 다양한 자연환경에서 검출된다. 김치에서는 2002년 *Weissella koreensis*가 처음 분리, 보고되었고[38], 그 중 *Weissella koreensis* DB1은 높은 오르니틴 생성능을 가지는 것으로 보고되었다[36]. L-ornithine은 적절한 면역 체계와 간 기능을 위해 필요하며, 성장호르몬 분비를 증가시켜 탄수화물, 단백질, 지질의 대사를 활성화시켜 근육 합성을 강화하고, 기초대사를 촉진하여 비만을 예방하는 건강 보조 식품으로 사용되고 있다[39, 40]. 또한, L-ornithine-L-aspartate의 형태로 간 질환을 개선하기 위해 치료에 사용되며, L-ornithine- $\alpha$ -ketoglutaric acid의 형태로 근육 발달 및 면역 개선을 위한 동화물질로 사용되고[41], 요소회로의 구성요소로서 혈액에서 암모니아를 제거하는데 이용되고 있다[42]. 오르니틴의 투여는 스트레스 감소, 수면 질 향상, 신체적 피로 감소, 피부 미관 향상, 콜라겐 합성과 생산 촉진 등에 효과가 있는 것으로 보고되었다[43]. Arginine은 ornithine의 전구체이며, 김치, 포도 주스, 와인 등에 쉽게 검출된다. 또한, arginine deminase(ADI) 경로에 의해 arginine, citrulline,  $\text{NH}_3$ 로 변환되며, 생성된 citrulline은 ornithine carbamoyltransferase에 의해 ornithine과 carbamoyl phosphate으로 변환된다[34].

쌀은 세계적으로 중요한 식량 자원 중 하나로, 인체 활동에 필요한 다양한 영양분을 공급해 주는 작물이다. 이러한 쌀은 주로 백미로서 섭취하게 되는데, 최근 건강식으로서 현미가 떠오르고 있지만, 낮은 소화흡수율 등의 이유로 아직까지 백미를 선호하는 실정이다. 이때 현미를 백미로 도정하는 과정에서 생기는 과피, 종피, 호분층 등의 분쇄혼합물이 미강이다[17]. 미강은 단백질 12-16%, 지방 16-22% 및 섬유소 8-12%로 구성되어 있으며, 그 밖에도 vitamin A, vitamin B, B<sub>6</sub>, 철분, 인 등 다양한 영양소들이 함유되어 있다[18]. 뿐만 아니라 펙놀계 성분, 플라보노이드,

$\gamma$ -oryzanol, tocopherol, tocotrienol, ferulic acid, phytic acid, gamma-aminobutyric acid (GABA),  $\beta$ -sitosterol 등 다양한 생리활성 물질이 존재하며[19, 20], 이로 인하여 비만 방지 및 간장, 신장의 기능 개선[21]에 매우 효과적이고, 염증반응 억제 활성[22], 혈압상승 억제 작용[23, 24], 미백효과, 항산화 효과[25, 26, 27] 및 콜레스테롤 저하[28, 29] 등 다양한 생리적 기능을 나타내고 있다. 그러나 이러한 영양적 우수성을 지니고 있음에도 불구하고, 우리나라에서 생산되는 약 40~60만 톤 정도의 미강 중 약 20~30% 정도만이 유지 추출의 원료로 이용되고, 나머지는 유기질 퇴비나 사료로 이용되며, 식품의 식미를 떨어뜨리고 저장성이 매우 낮아 효과적인 활용에는 어려움을 겪고 있는 실정이다[30, 31]. 또한 미강의 생리활성효과에 대한 인식이 높아짐에 따라 미강이 첨가된 여러 제품이 제조되었으나 미생물을 이용한 미강 발효식품에 관한 연구는 미비하다[32]. 이에 높은 생리활성을 가진 미강을 다양한 고부가가치 기능성 식품소재로 활용하기 위한 방안이 필요하다.

본 연구에서는 항비만 기능을 가진 미강발효제품을 제조하기 위하여 선행 연구에서 발효 균주로 선정된 콜레스테롤 저하능을 가진 *L. plantarum* EM과 오르니틴 생성능을 가진 *W. koreensis* DB1을 활용하여 균주별 발효미강의 최적화 조건에 맞추어 미강발효물을 제조한 후[33, 34], 보존성과 운반성, 영양성분 및 기능성 성분 손실 최소화 등을 보완하고자 최적 건조조건을 선정하여 분말화 된 고기능성 미강발효제품을 개발하고, 기능성 평가, 관능평가, 성분분석, 저장 안정성 평가 등의 특성을 조사하여 미강발효제품의 기능성 및 부가가치 향상에 기여하고자 하였다.

## 제 2장 실험 재료 및 방법

### 제 1절 미강발효물의 제조 및 최적 건조조건

#### 1. 재료 및 사용균주 준비

본 실험에서 사용된 미강은 CJ제일제당(주) (Suwon, Korea)으로 부터 공급받아 사용하였으며, 미강을 발효시키기 위한 기능성 유산균으로는 김치로부터 분리된 콜레스테롤 저하능을 가지는 *Lactiplantibacillus plantarum* EM과[14] 오르니틴 생성능을 가지는 *Weissella koreensis* DB1을[44] 사용하였다. 두 종의 균주를 미강의 발효균주로 사용하기 위하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관한 25%(v/v) glycerol stock을 5 mL deMan Rogosa and Shape (MRS; Difco, Sparks, MD, USA) 액체 배지에 1%(v/v)씩 접종하여  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 정치배양 한 후, 다시 동일한 조건으로 계대배양 하여 본 배양에 사용하였다. 미강 배지에 본 배양하기 위하여 계대 배양액을 원심분리 ( $9,950 \times g$ , 15 min,  $4^{\circ}\text{C}$ ) 한 후, 배양 상정액은 제거하고 남은 균체를 동량의 멸균 3차 증류수로 수세하였으며, 다시 동일한 조건으로 원심분리하여 상정액을 제거하고 남은 균체를 동량의 멸균 3차 증류수에 현탁 시켜 미강 발효균주로 사용하였다.

#### 2. 미강발효물의 제조

본 배양에 사용하기 위한 미강 배지 제조과정은 다음과 같다. 먼저 250 mL 삼각플라스크에 식용성분 3%(w/v)와 멸균 3차 증류수 80 mL를 첨가하여 stirrer로 5분간 교반하였다. 그 후, *L. plantarum* EM을 발효할 배지에는 glucose 1%(w/v)와 미강 20 g을 첨가하였고, *W. koreensis* DB1을 발효할 배지에는 glucose 2%(w/v)와 arginine 1%(w/v), 미강 20 g을 첨가하여 멸균 spatula로 충분히 균질화한 후  $121^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 고압 멸균하였다. 고압멸균 된 미강호화물에 상기의 방법으로 준비된 균주를 1%(v/v) 접종한 후  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 동안 발효하여 미강발효물을 제조하였다.

### 3. 발효미강의 최적 건조조건 설정

#### 가) 최적 건조조건 설정

미강발효물의 저장성과 유통 시 수송성을 높이고, 우수한 식감과 풍미를 내고자 열풍건조와 동결건조 2가지 방법을 사용하여 각각의 최적 건조조건을 설정하였다.

열풍건조 조건으로는 상기 제조된 미강발효물의 약 50~80 g 정도를 트레이에 넓게 펼친 후 40~80℃의 범위에서 각 온도별로 12~16시간 동안 항온항습기 (HB-105SP, Hanbaek, Korea)를 사용하여 건조를 진행하였다(Figure 1).

동결건조 조건으로는 약 10~15 g 정도의 미강발효물을 50 mL 멸균 tube에 나누어 담아 -70℃ deep freezer (Sanyo, Osaka, Japan)에서 24시간 동안 냉각한 후, 동결건조기 (SFDSM12, Samwon, Busan, Korea)에서 -70℃의 온도로 1~4일 동안 건조를 진행하였다(Figure 2). 각 조건에 따라 건조가 완료된 건조물은 분쇄기 (BW-3000, Boowon, Daegu, Korea)를 사용하여 분말화하였다.

#### 나) 건조조건에 따른 유산균 수 측정

건조 직후 분말화 한 미강건조물의 유산균 수를 측정하였다. 미강 시료와 멸균 3차 증류수를 2 : 8 비율(w/v)로 혼합한 후 4℃에서 24시간 동안 방치하였다. 방치한 혼합액을 멸균 거즈로 여과하여 멸균 3차 증류수로 단계희석 하였고, MRS 고체 배지 (1.5% agar; Micro agar, Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands, w/v)에 도말하여 30℃에서 48시간 배양한 후 나타난 colony 수를 측정하였다.

## 제 2절 발효미강의 특성 분석

### 1. 이화학적 특성

미강호화물의 발효 전, 후에 따른 pH 및 산도, 당도를 측정하였다. 측정을 위하여 건조 전 시료를 사용하였으며, pH 측정에서는 여과하지 않은 고형물을 사용하였고, 산도, 당도 측정에서는 멸균 거즈로 여과한 여과액을 사용하였다. pH와 산도는 pH meter (510 pH meter, Fisher science, Singapore)를 사용하여 측정하였고, 산도는 A.O.A.C (Association of official analytical chemists) 방법에 의하여 여과액 10 mL 를 pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하였다. 총 산 함량(%)은 젖산 함량으로 환산하여 아래의 식으로 계산하였다[45].

$$\text{총 산(\%)} = a \times f \times F \times 10$$

a: 0.1 N NaOH 용액의 소비 mL 수

f: 0.1 N NaOH 용액의 factor (1.000)

F: 0.1 N NaOH 용액의 1 mL에 상당하는 유기산 계수 (젖산의 경우: 0.009)

미강호화물의 당도 측정은 디지털 당도계 (Digital probe refractometer WM-7, ATAGO, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 3회 이상 반복 측정된 값을 기록하였다.

### 2. 미생물학적 특성

건조 전인 미강발효물을 사용하여 생균수를 측정하였다. 먼저 미강발효물 5 g에 멸균 3차 증류수 15 mL를 첨가하여 희석한 후 멸균 거즈에 여과하였고, 이를 멸균 3차 증류수로 단계희석 하였다. 희석액은 MRS 고체 배지 (1.5% agar, w/v)에 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후 나타난 colony 수를 측정하였다.

### 3. 관능적 평가

관능평가는 조선대학교 기관심사위원회(IRB#2-1041055-AB-N-01)의 승인을 받았다. 균주 2종을 사용하여 열풍건조와 동결건조 방법으로 제조한 미강건조물의 발효 전, 후 시료와 생미강을 준비하여 훈련된 연구원 10명을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 각 시료는 5 g 씩 흰색 plate에 담겨 제공되었으며, 시료를 평가하기 전에 무색, 무미, 무취의 정수물로 입을 헹구고 1~2분이 지난 후 다음 시료를 평가하도록 하였다. 관능 항목으로는 신맛, 쓴맛, 고소한 맛, 지푸라기 냄새, 조직감, 산패취, 밝기, 기호도에 대하여 5점 척도로 평가하였는데, 신맛, 쓴맛, 짠맛, 고소한 맛, 지푸라기 냄새의 항목에서 1점은 매우 약함, 3점은 보통, 5점은 매우 강함으로 나타내었고, 조직감 항목에서 1점은 매우 거칠게 느껴진다, 3점은 보통, 5점은 매우 부드럽다로 나타내었다. 산패취 항목에서 1점은 매우 강하게 느껴진다, 3점은 보통, 5점은 전혀 느껴지지 않는다고 나타내었고, 밝기 항목에서 1점은 매우 어둡다, 3점은 보통, 5점은 매우 밝다고 나타내었으며, 기호도는 시료의 상대적인 기호도를 5점 척도로 평가하였다.

### 4. 기능성 평가

기능성 균주 2종을 사용하여 제조한 미강건조물의 발효 전, 후 시료와 생미강의 기능성 평가를 실시하였으며, 평가로는 각 균주가 가지고 있는 기능성인 오르니틴 생성능, 콜레스테롤 저하능, 항산화능, 항균활성을 시행하였다. 최적 건조조건으로 제조된 미강건조물과 멸균 3차 증류수를 2 : 8 비율(w/v)로 혼합하여 4℃에서 24시간 동안 방치한 후 멸균 거즈로 여과하였고, 이를 원심분리 (9,950 ×g, 15 min, 4℃) 하여 0.45μm membrane filter (Rephile Bioscience Ltd, Shanghai, China)로 다시 여과한 후 실험에 사용하였다.

## 가) 오르니틴 생성능

기능성 균주를 사용하여 제조한 미강건조물의 오르니틴 생성능을 확인하기 위하여 TLC (Thin-layer chromatography) 실험을 진행하였다. 전개 용매는 1-butanol : acetic acid : 멸균 3차 증류수를 12 : 3 : 5 비율(*v/v*)로 혼합한 혼합물을 사용하였고, 전개 용매 제조 후 전개조에서 30분~1시간 방치하여 포화시켰다. 0.45  $\mu$ m membrane filter (Rephile)로 여과한 미강 시료는 TLC plate (TLC silica gel 60 F254 plates)의 아래에서 1.5 cm 되는 높이에 1 cm 간격으로 표시한 후 2  $\mu$ L 씩 loading 하였다. Loading 한 시료가 모두 건조된 plate는 받침대에 꽂아 전개조에 넣고 1시간 30분 동안 1차 전개를 진행하였고, 상온에서 10~20분 동안 건조시킨 후 동일한 방법으로 2차 전개와 건조를 진행하였다. 전개 후 건조 시킨 plate를 염색하기 위하여 ethanol에 녹인 0.5% ninhydrin 용액(*w/v*)을 사용하여 5분 동안 염색한 후, desiccator에서 overnight 동안 건조하여 결과를 확인하였다.

## 나) 콜레스테롤 저하능

기능성 균주를 사용하여 제조한 미강건조물의 콜레스테롤 저하능을 확인하기 위해 Rudel and Morris[46]의 방법을 일부 변형하여 standard curve를 작성하였다. MRS 액체 배지에 0.5% oxgall (Sigma, Germany)과 0.5% sodium salt of taurodeoxycholic acid (TDCA, Sigma, Deisenhofen, Germany)를 각각 첨가한 후 water-soluble cholesterol (Sigma, Steinheim, Germany)을 0.0, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1 g/L에 해당하는 농도로 준비하여 550nm에서 흡광도 (Ultrospec 2100 pro, Amersham biosciences, Little chalfont, England)를 측정해 standard curve를 작성하였다.

건조 후 분쇄한 미강 시료를 0.5% oxgall(w/v)과 0.5% TDCA(w/v)를 각각 첨가한 0.1 g/L water-soluble cholesterol (Sigma) 및 MRS (Difco) 액체 배지에 2 : 8 비율(w/v)로 현탁한 후 GasPak EZ anaerobe container (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에 넣어 37°C에서 24시간 배양하였다. 그 후 멸균거즈로 배양액을 여과하여 원심분리 (9,950 ×g, 15 min, 4°C) 하였고, 이렇게 얻은 상정액을 취해 0.45 μm membrane filter (Rephile)로 여과한 후 그 여과액을 사용하였다. 1 mL의 여과액에 2 mL KOH (33%, 50%) 용액과 3 mL absolute EtOH (95%)를 첨가하고 1분 동안 vortex 한 후 60°C water bath에 10분 동안 반응시켰다. 반응 후 흐르는 물에서 1분 동안 식히고 hexane (Sigma) 5 mL를 첨가한 후 5~20초 동안 vortex 하고, 1 mL의 멸균수를 첨가하여 동일시간 vortex 하였다. 그 후 실온에서 10분 동안 방치하며 층이 분리되는 것을 확인하고 분리된 hexane층에서 3 mL를 취하여 멸균된 vial tube에 옮겨 담았다. Beaker에 60°C의 물을 담아 stirrer를 사용하여 온도가 유지될 수 있도록 하며 hexane이 담긴 vial tube를 반쯤 담긴 상태에서 질소가스를 이용하여 증발시켜 농축하였다. 농축한 hexane이 담긴 vial tube에 4 mL의 O-phthalaldehyde 용액 (0.5 mg/mL O-phthalaldehyde in glacial acetic acid, Sigma)을 첨가하고 5~20초 동안 vortex하여 실온에 10분간 방치하였다. O-phthalaldehyde 용액은 실험에 사용하기 직전에 제조하여 사용하였다. 실온에 방치한 시료에 2 mL의 sulfuric acid (95%)를 천천히 첨가하고 5~20초 동안 vortex하여 실온에 10분간 방치한 후 1 mL의 시료를 Y-cell에 분주하여 A<sub>550</sub>에서 흡광도 (Ultrospec 2100 pro, Amersham biosciences, Little chalfont, England)를 측정하였다.

## 다) 항산화능

### 1) DPPH free radical 소거능

미강건조물의 2,2-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH) free radical 소거능 측정을 위하여 실험을 진행하였다[47]. 활성 대조를 위하여 기존에 항산화제로 많이 사용되고 있는 BHA (Butylated hydroxyanisole) 1000 ppm, BHT (Butylated hydroxytoluene) 1000 ppm, Ascorbic acid 1000 ppm을 대조구로 준비하였다. 여과한 미강 시료와 100% EtOH을 사용하여 제조한 0.2 mM DPPH 시약을 1 : 9 비율(v/v)로 혼합한 후 vortex 하여 빛을 차단한 37°C water bath에 30분 동안 처리하였고, spectrophotometer (Ultrospec 2100 pro, England)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH를 이용한 항산화 활성은 첨가구와 대조구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{DPPH free radical scavenging activity(\%)} = 1 - (A/B) \times 100$$

A: 첨가구 흡광도, B: 대조구 흡광도

## 2) SOD(Superoxide dismutase) activity

미강건조물의 항산화능을 측정하기 위하여 실험을 진행하였다. SOD (Superoxide dismutase) 활성은 SOD assay kit (Dojindo Molecular Technologies, Rockville, USA)를 사용하여 manufacturer's instruction에 기술된 방법에 따라서 수행하였다. 미강 시료는 0.45 µm membrane filter (Rephile)로 여과한 여과액을 사용하였고, 대조구로는 BHT (Butylated hydroxytoluene) 100 ppm을 준비하였다. 실험 전 WST solution과 buffer solution을 혼합하여 실험에 필요한 WST working solution을 제조하였고, Enzyme solution tube에 들어있는 효소 용액을 5초간 centrifuge로 층 분리해준 후, pipetting하여 섞은 다음 Dilution buffer에 희석하여 Enzyme working solution을 제조하였다. SOD 활성 실험에서 sample과 blank 2에는 sample solution 20 µL를, blank 1과 blank 3에는 멸균수 20 µL를 넣어준 후, 각 WST working solution 200 µL를 넣고 혼합하였다. blank 2와 blank 3에는 dilution buffer 20 µL를 첨가하고, sample과 blank 1에는 Enzyme working solution 20 µL를 첨가하여 충분히 혼합한 후, 37°C incubator에서 20분 동안 처리하였다. 그 후, spectrophotometer (Ultrospec 2100 pro, England)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고, 아래의 식을 이용하여 SOD 활성을 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{SOD 활성(억제율 \%)} = \frac{(\text{blank}_1 - \text{blank}_3) - (\text{sample} - \text{blank}_2)}{(\text{blank}_1 - \text{blank}_3)} \times 100$$

sample: sample solution 20 µL+WST working solution 200 µL+Enzyme working solution 20 µL

blank<sub>1</sub>: distilled water 20 µL+WST working solution 200 µL+Enzyme working solution 20 µL

blank<sub>2</sub>: sample solution 20 µL+WST working solution 200 µL+dilution buffer 20 µL

blank<sub>3</sub>: distilled water 20 µL+WST working solution 200 µL+dilution buffer 20 µL

## 라) 향균활성

미강건조물의 향균 활성 측정은 spot on the lawn test 방법[48]을 사용하였다. 향세균 활성의 지시 균으로는 *Bacillus cereus* ATCC 14579와 *E. coli* O157:H7을 사용하였고, 향진균 활성의 지시 곰팡이는 *Aspergillus fumigatus* ATCC 96918과 *Aspergillus flavus* ATCC 22546을 사용하였다. 지시균으로 사용한 세균들은 LB (1% bacto-tryptone, 0.5% yeast extract, 1% NaCl) 액체 배지에 1%(v/v)를 접종하여 37°C에서 배양한 후, 고체 배지에  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL가 되게 도달하여 준비하였으며, 지시 곰팡이로 사용한 곰팡이들은 MEA (malt extract agar, Difco Laboratories, U.S.A.) 배지 20 mL를 제조하여 식힌 후 곰팡이 포자를  $5.0 \times 10^4$  CFU/mL로 첨가하여 petri dish에 부은 후 굳으면 실험에 사용하였다. 감수성 균주가 도달된 고체 배지 위에 여과한 미강시료를 각 10  $\mu$ L씩 spotting하여 건조시킨 후, 향세균 활성 배지는 감수성 균주의 최적온도인 37°C에서 배양하고, 향진균 활성 배지는 30°C에서 배양하여 배지 내 생성되는 생육저지환을 조사하였다. 역가는 향균 물질을 순차적으로 2배씩 희석하여 저해 환을 형성하는 최대 희석배수의 역을 취하고, 이 값에 1 mL에 해당하는 환산 계수를 곱하여 AU/mL로 나타내었다.

## 제 3절 발효미강의 성분분석

### 1. 일반성분 분석

일반성분으로는 수분, 조회분, 조지방을 분석하였으며, 모든 시험 항목은 식품공전법에 준하여 실시하였다[55]. 수분은 상압가열건조법, 조회분은 직접회화법, 조지방은 ether 추출법을 사용하여 각각의 성분을 분석하였다.

### 2. 영양성분 분석

#### 가) 시료의 전처리

미강건조물의 영양성분 분석을 위하여 전처리를 시행하였다. 유리당, 유기산, 유리아미노산 분석의 전처리는 초음파추출법을 실시하였는데, 준비된 미강 시료와 멸균 3차 증류수를 혼합하여 1시간 동안 초음파 추출 후 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 그 후 얻어진 상등액을 0.2 µm regenerated cellulose membrane filter (Sartorius, Germany)로 여과하여 분석에 사용하였다[54]. 지방산 분석의 전처리는 시료에 methanol : benzene : 2,2-dimethoxypropane : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 39 : 20 : 5 : 2의 비율(v/v)로 조제된 용액 340 µL와 heptane 200 µL를 첨가하여 혼합한 후 80℃에서 2시간 동안 추출하였다. 그 후 실온에서 냉각시키고, 상등액을 추출하여 분석에 사용하였다[49].

#### 나) 유리당 분석

불순물이 제거된 전처리 시료의 유리당은 고속 액체 크로마토그래피 (HPLC; High Performance Liquid Chromatography)로 분석하였다. 분석기기는 Dionex ultimate 3000 (Thermo Dionex, USA)을 사용하였고, column은 Sugar-pak column (300×6.5 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며, Oven temperature는 70℃로 유지하였다. 용출 용매는 멸균 3차 증류수를 사용하여 0.5 mL/min의 유속으로 진행하였고, detector는 Shodex RI-101 (Shodex, Japan)을 사용하였다[50].

### 다) 유기산 분석

유기산은 상기와 같은 Dionex ultimate 3000 (Thermo Dionex, USA)을 사용하여 분석하였고, column은 Aminex 87H column (300×10 mm, Bio-Rad, USA)을 사용하였으며, oven temperature는 40℃로 유지하였다. 용출 용매는 0.01 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 0.5 mL/min의 유속으로 진행하였고, detector는 굴절률 검출기(ERC, Refracto MAX520, Japan)를 사용하였다[51].

### 라) 유리아미노산 분석

전처리 된 시료의 유리아미노산은 상기와 같은 Dionex ultimate 3000 (Thermo Dionex, USA)을 사용하여 분석하였다. 사용 column은 Inno C18 column (4.6×150 nm, 5μm, Youngjin Biochrom, Korea)이며, oven temperature는 40℃로 하였다. 용매는 40 mM sodium phosphate(pH 7.0) 용액과 멸균 3차 증류수 : acetonitrile : methanol = 10 : 45 : 45 비율(v/v)로 혼합된 용액을 사용하여 1.5 mL/min의 유속으로 분석을 시행하였다. 구배 조건은 첫 번째 용액과 두 번째 용액을 0~24분에는 95 : 5에서 24~25분에 45 : 55로, 23~34.5분에 20 : 80으로, 34.5분부터 다시 95 : 5로 설정하여 시행하였다. detector는 자외선 검출기와 형광 검출기 (Agilent 1260 infinity FL detector, Agilent)를 사용하였다[51].

### 마) 지방산 분석

지방산 분석은 Agilent 7890A (Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 사용 column은 DB-23 (60 mm×0.25 mm×0.25 μm, Agilent)을 사용하였으며, oven temperature는 50℃에서 1분간 유지한 후 15 °C/min 속도로 130℃까지, 8 °C/min 속도로 170까지 올린 후, 2°C/min 속도로 215℃까지 올려 10분간 유지하였다. Carrier gas로 He를 4 mL/min으로 흘려주었으며, detector는 불꽃이온화검출기 (280℃, H<sub>2</sub> 35 mL/min, Air 350 mL/min, He 35 mL/min)를 사용하였다[49].

## 제 4절 저장 기간, 저장온도에 따른 안정성 평가

최적 건조조건에 의하여 제조된 미강발효물을 냉장 온도(4℃)와 상온에 저장하였다. 그 후 3개월 간격으로 12개월까지 미강발효물의 특성을 조사하여 냉장 온도(4℃)와 상온에서의 저장기간에 따른 기능성과 산패 여부를 확인하였다. 건조 후 분쇄하여 저장한 미강발효물을 멸균 3차 증류수에 2 : 8 비율(w/v)로 혼합하여 4℃에서 24시간 동안 방치한 후, 멸균거즈로 여과하여 나온 여과액을 시료로 사용하였다.

### 1. 미생물학적 특성

저장기간과 저장온도의 변화에 따라 유산균 수의 변화와 대장균군 등 다른 미생물의 생장이 있는지를 확인하기 위하여 상기 제시된 방법으로 실험을 진행하였다.

### 2. 기능성 평가

저장기간과 저장온도의 변화에 따라 기능성 유산균으로 발효한 미강발효물의 기능성이 유지되는지를 확인하기 위하여 상기 제시된 방법으로 오르니틴 생성능과 콜레스테롤 저하능 실험을 진행하였다. 오르니틴 생성능은 *W. koreensis* DB1으로 제조한 미강건조물을 사용하였고, 콜레스테롤 저하능은 *L. plantarum* EM으로 제조한 미강건조물을 사용하였다.

### 3. 관능적 평가

저장기간과 저장온도의 변화에 따라 미강발효물의 산패 여부가 진행되는지를 확인하기 위하여 상기 동일한 항목으로 진행하였으며, 5점 척도법으로 관능검사를 실시하였다.

## 제 5절 통계학적 분석

### 1. 통계처리

통계처리는 IBM SPSS statistics program 26 version(Chicago, IL, USA)을 사용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)으로 분석을 실시하였으며, 사후 검정으로 Duncan의 다중범위검정법(Duncan's multiple range test)을 통해 유의성을 검정하였다( $p < 0.05$ ).

## 제 3장 실험 결과 및 고찰

### 제 1절 미강발효물의 제조 및 최적 건조조건

#### 1. 최적 건조조건 설정

이전의 연구를 통하여 설정된 기능성 균주별 최적화 조건에 맞추어 미강발효물을 제조한 후[7,8] 이의 저장성과 유통 시 용이성을 높이기 위하여 열풍건조와 동결건조로 나누어 각각의 최적 건조조건을 설정하였다. 이때 미강발효물의 건조 완료 기준은 건조 전 미강 첨가 무게 대비 수율  $100 \pm 5\%$ 의 범위로 하였다.

각 온도별로 열풍건조를 진행한 결과  $50^\circ\text{C}$  이하의 조건에서는 건조 시료가 정해진 수율 범위 내에 들지 못하였고,  $60^\circ\text{C}$  이상의 조건에서는 탄 듯한 쓴맛이 나타나며, 색이 변하였다. 이에 최종 열풍건조 조건은  $55^\circ\text{C}$ 에서 12~16시간 건조로 선정하였다(Figure 1). 동결건조는  $-70^\circ\text{C}$ 에서 건조를 진행하였는데, 건조 기간이 3일 이하인 경우 미강건조물의 겉은 마른 듯 보였으나, 속이 완전히 건조되지 않아 고르게 분쇄되지 않았고, 건조 완료 수율의 범위와도 차이가 나타났으나, 건조 기간이 4일 이상일 경우에는 더 이상의 건조가 이루어지지 않고 동일 수율이 유지되는 것으로 나타났다. 이에 동결건조 조건은  $-70^\circ\text{C}$ 에서 3~4일 건조하는 것으로 최종 선정하였다(Figure 2).

#### 2. 건조조건에 따른 유산균 수 측정

최종 선정한 건조조건을 사용하여 미강발효물을 건조한 후, 유산균 수를 측정하였다. 그 결과, *L. plantarum* EM을 발효하여 제조한 열풍건조 시료에서는 약  $10^2$  CFU/g이 검출되었으며, 동결건조한 시료에서는 약  $10^3$  CFU/g 이하의 균이 검출되었다. 또한, *W. koreensis* DB1을 발효하여 제조한 열풍건조 시료는 미생물이 검출되지 않았으며, 동결건조 시료에서는 약  $10^2$  CFU/g 이하의 균이 검출되었다.



Figure 1. Hot air drying conditions of fermented rice bran



Figure 2. Freeze drying conditions of fermented rice bran

## 제 2절 발효미강의 특성 분석

### 1. 이화학적 특성

최적화 조건으로 제조한 미강호화물의 발효 전, 후 pH와 산도를 측정하였다 (Table 1). *L. plantarum* EM을 발효한 미강호화물에서의 발효 전 pH는 약 pH 5.96±0.18, 발효 후에는 약 pH 3.78±0.21로 발효 후에 pH가 더 낮아진 것을 확인하였고, 산도는 발효 전 약 0.76±0.11%, 발효 후 약 2.62±0.35%로 발효 후에 높아진 것을 확인하였다. *W. koreensis* DB1을 발효한 미강호화물의 결과도 마찬가지로 발효 전 pH 6.02±0.07보다 발효 후 pH 5.70±0.08로 더 낮은 pH가 나타났고, 산도는 높아진 것을 확인하였다. 이는 유산균 발효가 진행되면서 유산균 생육에 따른 젖산의 생성으로 인한 결과임을 나타내었으며, 이전 연구에서 설정한 최적화 조건과 유사한 결과 값이 나타난 것을 확인할 수 있었다[33, 34].

미강호화물의 당도는 발효 유무에 따라 크게 차이를 보이지 않았다. 측정 결과 *L. plantarum* EM의 발효 전 당도는 약 13.96 brix°, 발효 후 당도는 약 12.45 brix°로 측정되었고, *W. koreensis* DB1의 발효 전 당도는 약 16.40 brix°, 발효 후 당도는 약 15.84 brix°로 측정되었다.

### 2. 미생물학적 특성

최적화 조건으로 제조한 미강호화물의 발효 후 생균수를 확인하였다(Table 1). *L. plantarum* EM으로 발효한 미강호화물은 24시간 만에 9.70 log CFU/g으로 최대 생균수에 도달하였으며, 48시간까지 생균수가 유지되었다. *W. koreensis* DB1으로 발효한 미강호화물은 24시간에 8.41 log CFU/g으로 최대 생균수에 도달하였고, 48시간에는 7.21 log CFU/g으로 생균수가 감소하였다.

Table 1. Chemical and microbiological properties of the fermented rice bran products

	<i>L. plantarum</i> EM		<i>W. koreensis</i> DB1	
	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
pH	5.96 ± 0.18	3.78 ± 0.21	6.02 ± 0.07	5.70 ± 0.08
Acidity (%)	0.76 ± 0.11	2.62 ± 0.35	0.23 ± 0.05	0.29 ± 0.05
Sugar content (brix°)	13.96 ± 0.39	12.45 ± 0.32	16.40 ± 0.47	15.84 ± 0.34
LAB counts (log CFU/g)	n.d <sup>1)</sup>	9.70 ± 0.15	n.d	8.41 ± 0.32

<sup>1)</sup> n.d: not detected

### 3. 관능적 평가

균주별로 제조한 발효 전, 후 미강호화물을 상기 설정된 최적 건조조건에 맞춰 제조하여 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 훈련된 연구원 10명을 대상으로 실시하였고, 관능 항목으로는 신맛, 쓴맛, 고소한 맛, 지푸라기 냄새, 조직감, 산패취, 밝기, 기호도에 대하여 5점 척도로 평가하였다.

*L. plantarum* EM의 발효에 따른 미강 시료의 관능평가 결과 쓴맛, 고소한 맛, 지푸라기 냄새의 항목에 대하여 발효 전과 후의 점수는 크게 차이 나지 않았으나, 생미강과는 차이가 나는 것을 확인할 수 있었다. 생미강에서는 발효 전, 후 미강건조물 보다 쓴맛과 지푸라기 냄새가 강하게 나타났으나, 고소한 맛은 발효 전, 후 미강건조물이 더 높게 평가되었다. 산패취와 짠맛은 다섯 개의 시료 모두 거의 느껴지지 않았고, 생미강의 조직감은 거칠게 평가되었으며, 열풍건조물보다 동결건조물이 더 부드럽다는 것을 확인하였다. 또한, 쓴맛, 지푸라기 냄새, 거친 조직감은 발효를 통해 완화되었으며, 생미강과 발효 전 미강건조물에서는 신맛이 거의 없었으나, 발효 후 미강에서는 강하게 나타났다. 이것은 *L. plantarum* EM의 산 생성능에 의한 것으로 사료되었고, 강한 신맛으로 인해 기호도가 낮게 평가되었다. 신맛을 줄이기 위하여 발효 후 미강건조물에 식품첨가물인 스테비아를 소량(0.1%) 첨가하여 관능하였고, 이로 인해 신맛이 줄어들며 기호도가 증가하는 것을 확인하였다(Table 2).

*W. koreensis* DB1의 발효에 따른 미강시료의 관능 평가에서는 짠맛과 지푸라기 냄새의 항목에 대하여 발효 전과 후의 점수 차이가 크게 나타나지 않았고, 생미강에서 지푸라기 냄새와 쓴맛이 강하게 나타났으며, 발효 전 미강건조물에서도 아르기닌 첨가로 인하여 약간의 쓴맛이 느껴졌다. 발효 후 미강건조물에서는 약간의 신맛이 느껴진다고 평가되었으나, *L. plantarum* EM을 발효한 시료보다는 약하게 평가되었고, 부드러운 조직감과 고소한 맛으로 인하여 기호도가 높게 나타났다. 특히 발효 후 동결건조물에서 기호도가 가장 높게 평가되었다(Table 3).

Table 2. Sensory evaluation of fermented rice bran with *L. plantarum* EM

Items	RRB <sup>1)</sup>	HNRB <sup>2)</sup>	FNRB <sup>3)</sup>	HFRB <sup>4)</sup>	FFRB <sup>5)</sup>	HFRB-S <sup>6)</sup>	FFRB-S <sup>7)</sup>
Sourness	1.1±0.4 <sup>d</sup>	1.9±0.4 <sup>c</sup>	1.9±0.4 <sup>c</sup>	5.0±0.0 <sup>a</sup>	5.0±0.0 <sup>a</sup>	4.1±0.4 <sup>b</sup>	4.1±0.4 <sup>b</sup>
Bitterness	4.8±0.5 <sup>a</sup>	1.5±0.5 <sup>b</sup>	1.5±0.5 <sup>b</sup>	1.5±0.5 <sup>b</sup>	1.5±0.5 <sup>b</sup>	–	–
Saltiness	2.3±0.7 <sup>a</sup>	2.6±0.5 <sup>a</sup>	2.6±0.5 <sup>a</sup>	2.6±0.5 <sup>a</sup>	2.6±0.5 <sup>a</sup>	–	–
Savory flavor	1.1±0.4 <sup>b</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>	–	–
Hay smell	4.8±0.5 <sup>a</sup>	1.4±0.5 <sup>b</sup>	1.4±0.5 <sup>b</sup>	1.1±0.4 <sup>b</sup>	1.1±0.4 <sup>b</sup>	–	–
Mouthfeel texture	2.3±1.5 <sup>c</sup>	4.0±0.0 <sup>b</sup>	5.0±0.0 <sup>a</sup>	4.0±0.0 <sup>b</sup>	5.0±0.0 <sup>a</sup>	–	–
Rancid flavour	4.4±0.7 <sup>a</sup>	–	–				
Brightness	4.9±0.4 <sup>a</sup>	2.5±0.5 <sup>c</sup>	3.6±0.5 <sup>b</sup>	1.9±0.8 <sup>d</sup>	3.6±0.5 <sup>b</sup>	–	–
Overall acceptability	1.0±0.0 <sup>d</sup>	3.0±0.0 <sup>b</sup>	3.0±0.0 <sup>b</sup>	1.9±0.4 <sup>c</sup>	1.9±0.4 <sup>c</sup>	3.1±0.6 <sup>b</sup>	4.3±0.4 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> RRB: raw rice bran, <sup>2)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran

<sup>4)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>5)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

<sup>6)</sup> HFRB-S: hot air-dried fermented rice bran + 0.1% stevia

<sup>7)</sup> FFRB-S: freeze-dried fermented rice bran + 0.1% stevia

Different letters for sensory items indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

Table 3. Sensory evaluation of fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

Items	RRB <sup>1)</sup>	HNRB <sup>2)</sup>	FNRB <sup>3)</sup>	HFRB <sup>4)</sup>	FFRB <sup>5)</sup>
Sourness	1.1±0.4 <sup>b</sup>	2.9±0.6 <sup>a</sup>	2.8±0.7 <sup>a</sup>	3.0±0.8 <sup>a</sup>	3.0±0.8 <sup>a</sup>
Bitterness	4.8±0.5 <sup>a</sup>	2.5±0.9 <sup>b</sup>	2.4±0.9 <sup>b</sup>	1.9±0.6 <sup>b</sup>	1.9±0.6 <sup>b</sup>
Saltiness	2.1±0.8 <sup>a</sup>	2.8±0.5 <sup>a</sup>	2.8±0.5 <sup>a</sup>	2.8±0.5 <sup>a</sup>	2.8±0.5 <sup>a</sup>
Savory flavor	1.3±0.5 <sup>c</sup>	2.6±0.5 <sup>b</sup>	2.6±0.5 <sup>b</sup>	4.4±0.5 <sup>a</sup>	4.4±0.5 <sup>a</sup>
Hay smell	4.8±0.5 <sup>a</sup>	2.4±0.7 <sup>b</sup>	2.4±0.7 <sup>b</sup>	1.5±0.5 <sup>c</sup>	1.5±0.5 <sup>c</sup>
Mouthfeel texture	2.4±1.6 <sup>b</sup>	2.5±0.9 <sup>b</sup>	4.9±0.4 <sup>a</sup>	2.5±0.9 <sup>b</sup>	4.9±0.4 <sup>a</sup>
Rancid flavour	4.4±0.7 <sup>a</sup>				
Brightness	4.9±0.4 <sup>a</sup>	2.6±0.7 <sup>c</sup>	3.9±0.4 <sup>b</sup>	2.4±0.7 <sup>c</sup>	3.9±0.4 <sup>b</sup>
Overall acceptability	1.0±0.0 <sup>d</sup>	2.9±0.6 <sup>c</sup>	3.0±0.8 <sup>c</sup>	4.0±0.0 <sup>b</sup>	5.0±0.0 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> RRB: raw rice bran, <sup>2)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran

<sup>4)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>5)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Different letters for sensory items indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

## 4. 기능성 평가

### 가) 오르니틴 생성능

균주 2종으로 발효한 미강건조물의 ornithine 생성능을 확인하기 위하여 1% arginine이 첨가된 미강 배지에 균주를 배양하여 실험을 진행하였다(Figure 3).

*L. plantarum* EM의 경우 발효 전, 후 시료 모두 arginine standard spot과 같은 위치에 전개되어 나타났는데, 이는 *L. plantarum* EM이 ornithine 생성능을 가지고 있지 않아 arginine을 전환하지 못한 것으로 확인되었다. *W. koreensis* DB1의 경우 발효 전 열풍건조물과 동결건조물은 arginine standard spot과 같은 위치에 전개되었으나, 발효 후 열풍과 동결건조물은 ornithine standard spot과 같은 위치에 전개되었으며, 이는 *W. koreensis* DB1이 ornithine을 생성한 것으로 확인되었다.

### 나) 콜레스테롤 저하능

본 연구에서는 균주 2종으로 발효한 미강건조물의 콜레스테롤 저하능을 측정하여 기능성 여부를 확인하였다. 0.5% oxgall(w/v)과 0.5% TDCA(w/v)를 각각 첨가한 0.1 g/L water-soluble cholesterol과 MRS 조성물에 미강건조물을 24시간 동안 배양한 후 o-phthalaldehyde 방법으로 콜레스테롤 저하능을 측정하였다. 발효 전 미강건조물은 0.5% oxgall과 0.5% TDCA 배지 모두에서 약 9%의 콜레스테롤 저하능을 나타내었으나, *L. plantarum* EM으로 발효한 미강건조물의 경우 0.5% oxgall 배지에서 약 65%의 콜레스테롤 저하능을 나타내었고, 0.5% TDCA 배지에서는 약 27%의 콜레스테롤 저하능을 나타내었다(Table 4). 그러나 *W. koreensis* DB1으로 발효한 미강건조물의 0.5% oxgall과 0.5% TDCA 배지에서는 발효 전과 후 모두 약 10%의 콜레스테롤 저하능을 나타내었으며(Table 5), 이전 연구결과를 통하여 생미강의 콜레스테롤 저하능이 약 8%의 수치를 나타내는 것을 확인하였다. 이를 통해 생미강과 *W. koreensis* DB1의 발효 전, 후 미강건조물의 값이 유사한 것을 확인하였고, 미강의 콜레스테롤 저하능이 *L. plantarum* EM의 발효에 의하여 현저하게 향상되었음을 확인하였으며, 이는 *L. plantarum* EM의 강한 콜레스테롤 흡착능을 통해 콜레스테롤이 제거되는 것으로 사료된다[14. 33].

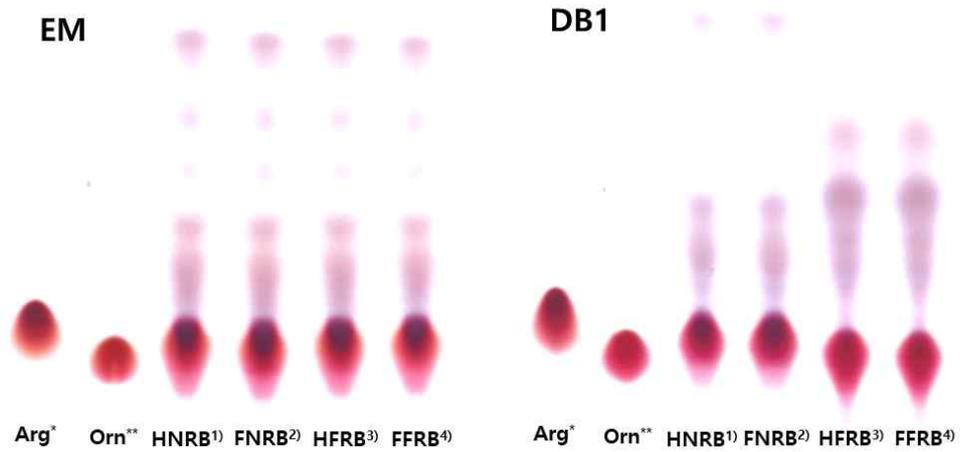


Figure 3. Ornithine production of fermented rice bran with *L. plantarum* EM, *W. koreensis* DB1

Arg\*: spot of standard arginine, Orn\*\*: spot of standard ornithine

<sup>1)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>2)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran

<sup>3)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>4)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Table 4. Cholesterol removal by the fermented rice bran with *L. plantarum* EM

Sample	Cholesterol Removal (%)	
	0.5% Oxgall	0.5% TDCA
HNRB <sup>1)</sup>	9.7±1.1	9.3±3.1
HFRB <sup>2)</sup>	69.4±0.3	30.0±4.5
FNRB <sup>3)</sup>	9.5±1.2	8.4±0.8
FFRB <sup>4)</sup>	60.5±2.5	23.8±3.8

<sup>1)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>2)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran

<sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran, <sup>4)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Each value is presented as mean±SD of 3 times.

Table 5. Cholesterol removal by the fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

Sample	Cholesterol Removal (%)	
	0.5% Oxgall	0.5% TDCA
HNRB <sup>1)</sup>	9.9±0.4	10.2±0.0
HFRB <sup>2)</sup>	9.8±0.4	10.0±0.3
FNRB <sup>3)</sup>	9.8±0.2	10.2±0.3
FFRB <sup>4)</sup>	10.3±0.2	9.7±0.6

<sup>1)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>2)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran

<sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran, <sup>4)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Each value is presented as mean±SD of 3 times.

## 다) 항산화능

### 1) DPPH free radical 소거능

DPPH는 짙은 보라색을 띠는 비교적 안정한 라디칼로 항산화물질로부터 전자 또는 수소를 제공받을 때 황색으로 탈색되는 원리를 이용하여 항산화능 측정에 이용되고 있다[9]. 다른 방법과 비교하여 상대적으로 빠르게 항산화 활성을 평가할 수 있으므로 가장 널리 이용되는 방법이다[52].

최적 건조조건으로 제조한 미강건조물의 DPPH radical 소거능 측정 결과를 Table 6에 나타내었다. *L. plantarum* EM의 발효 전 열풍건조물은 93.58%, 동결건조물은 92.13%를 나타내었고, 발효 후 열풍건조물은 93.84%, 동결건조물은 93.77%를 나타내었다. *W. koreensis* DB1의 발효 전 열풍건조물은 89.72%, 동결건조물은 88.97%를 나타내었고, 발효 후 열풍건조물은 90.42%, 동결건조물은 90.23%를 나타내었으며, 생미강은 70.93%를 나타내었다. 이를 통해, 두 균주 모두 건조방법에 의한 차이와 발효 유무에 의한 차이가 나지 않는다는 것을 확인하였고, 균주 2종을 사용한 발효 전, 후의 미강건조물이 생미강보다 더 높은 활성을 나타내었으며, *L. plantarum* EM의 활성이 *W. koreensis* DB1의 활성보다 약간 높게 나타나는 것을 확인하였다. 또한, 항산화제인 Ascorbic acid, BHT (Butylated hydroxytoluene), BHA (Butylated hydroxyanisole)의 DPPH radical 소거능은 각각 95.62%, 89.77%, 93.64%로 나타났는데, 이는 두 균주의 미강건조물이 항산화제와 유사한 활성을 나타냄을 확인하였다. 따라서, 이러한 미강건조물이 생미강보다 더 높은 항산화능을 가지고 있으므로 건강 식재료로서의 활용도가 높을 것으로 사료된다.

Table 6. DPPH free radical scavenging activities of fermented rice bran

Sample	inhibition (%)	
Control (1,000 ppm)	Ascorbic acid	95.62±0.54
	BHT	89.77±0.68
	BHA	93.64±0.52
RRB <sup>1)</sup>	70.93±0.75	
EM	HNRB <sup>2)</sup>	89.72±1.08
	FNRB <sup>3)</sup>	88.97±0.76
	HFRB <sup>4)</sup>	90.42±0.59
	FFRB <sup>5)</sup>	90.23±1.10
DB1	HNRB	89.72±1.08
	FNRB	88.97±0.76
	HFRB	90.42±0.59
	FFRB	90.23±1.10

<sup>1)</sup> RRB: raw rice bran, <sup>2)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran

<sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran, <sup>4)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran

<sup>5)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Each value is presented as mean±SD of 3 times.

## 2) SOD(Superoxide dismutase) activity

SOD(Superoxide dismutase)는 항산화 효소로서 세포에 유해한 oxygen radical을 과산화수소로 전환시키고, 다시 catalase에 의하여 무해한 물 분자와 산소분자로 전환시켜 활성산소로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다.

본 연구에서는 최적 건조조건으로 제조한 미강건조물의 SOD assay 측정 결과를 Table 7에 나타내었다. *L. plantarum* EM의 발효 전 열풍건조물은 95.68%, 동결건조물은 98.03%를 나타내었고, 발효 후 열풍건조물은 101.74%, 동결건조물은 106.65%를 나타내었다. *W. koreensis* DB1의 발효 전 열풍건조물은 97.79%, 동결건조물은 93.36%를 나타내었고, 발효 후 열풍건조물은 99.09%, 동결건조물은 96.90%를 나타내었으며, 생미강은 93.25%를 나타내었다. 이를 통해, 각 균주의 건조방법에 의한 차이와 발효 유무에 의한 차이가 나타났으나 유의차는 나타나지 않음을 확인하였고, 생미강의 수치와 미강건조물의 수치가 유사한 수준을 나타내는 것을 통하여 생미강 자체의 항산화력이 강한 것으로 사료 된다.

### 라) 항균활성

최적 건조조건으로 제조한 미강건조물의 항세균 및 항진균 활성을 확인하기 위하여 spot on the lawn을 이용하여 생육 저해 활성을 조사하였다(Table 8, 9). 생미강과 *Lb. plantarum* EM의 발효 전 미강건조물에서는 항세균과 항곰팡이 활성을 나타내지 않았으나, 발효 후 미강건조물에서는 항균활성을 나타내었다. 지시 곰팡이인 *Asp. fumigatus* ATCC 96918에 대한 활성 결과는 400 AU/mL을 나타내었고, *Asp. flavus* ATCC 22546은 200 AU/mL을 나타냈으며, 지시 균인 *Bacillus cereus* ATCC 14579, *E. coli* 0157:H7 ATCC 43895는 200 AU/mL의 항세균 활성을 나타냈다. 이는 MRS 배양액과 유사한 결과로 *L. plantarum* EM의 항균 활성 생성에 의한 것으로 사료 되며, *Asp. fumigatus*, *B. cereus*에 대한 MRS 배양액의 항균활성이 미강건조물보다 약간 높은 이유는 MRS 배지에 존재하는 아세트산나트륨에 의한 것으로 사료된다[53].

Table 7. SOD(Superoxide dismutase) activity of fermented rice bran

Sample		inhibition (%)
Control (100 ppm)	Ascorbic acid	28.37
	RRB <sup>1)</sup>	93.25±2.49
EM	HNRB <sup>2)</sup>	95.68±0.74
	FNRB <sup>3)</sup>	98.03±3.30
	HFRB <sup>4)</sup>	101.74±10.54
	FFRB <sup>5)</sup>	106.65±9.21
DB1	HNRB	97.79±1.65
	FNRB	93.36±1.04
	HFRB	99.09±1.61
	FFRB	96.90±3.80

<sup>1)</sup> RRB: raw rice bran, <sup>2)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran

<sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran, <sup>4)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran

<sup>5)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Each value is presented as mean±SD of 3 times.

Table 8. Antimicrobial activity of the fermented rice bran with *L. plantarum* EM

Indicator Strains	Antimicrobial Activity (AU/mL)						
	RRB <sup>1)</sup>	HNRB <sup>2)</sup>	FNRB <sup>3)</sup>	HFRB <sup>4)</sup>	FFRB <sup>5)</sup>	MRS Culture Filtrate*	
<b>Molds</b>	<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 96918	0	0	0	400	400	600
	<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 22546	0	0	0	200	200	200
<b>Bacteria</b>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0	0	0	200	200	300
	<i>E. coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	0	0	0	200	200	200

<sup>1)</sup> RRB: raw rice bran, <sup>2)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran

<sup>4)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>5)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

\* To prepare MRS culture filtrate, *L. plantarum* EM was cultivated in MRS broth at 30°C for 48 h, centrifuged, and filtered. The antifungal activity and antibacterial activity were measured by spot-on-the-lawn test.

Table 9. Antimicrobial activity of the fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

Indicator Strains	Antimicrobial Activity (AU/mL)						
	RRB <sup>1)</sup>	HNRB <sup>2)</sup>	FNRB <sup>3)</sup>	HFRB <sup>4)</sup>	FFRB <sup>5)</sup>	MRS Culture Filtrate*	
<b>Molds</b>	<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 96918	0	0	0	0	0	0
	<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 22546	0	0	0	0	0	0
<b>Bacteria</b>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0	0	0	0	0	0
	<i>E. coli</i> 0157:H7 ATCC 43895	0	0	0	0	0	0

<sup>1)</sup> RRB: raw rice bran, <sup>2)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran

<sup>4)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>5)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

\* To prepare MRS culture filtrate, *W. koreensis* DB1 was cultivated in MRS broth at 30°C for 48 h, centrifuged, and filtered.

The antifungal activity and antibacterial activity were measured by spot-on-the-lawn test.

## 제 3절 발효미강의 성분분석

### 1. 일반성분 분석

최적 건조조건에 맞추어 제조한 발효 전, 후 미강건조물의 특성을 조사하기 위하여 일반성분을 분석하였다. 분석 항목으로는 수분, 조회분, 조지방을 조사하였다. *L. plantarum* EM을 사용한 발효 전, 후 열풍건조물의 수분함량은 4%로 나타났고, 조회분 9%, 조지방 16%로 나타났으며, 발효 전, 후 동결건조물의 수분함량은 2%, 조회분 9%, 조지방은 18%로 나타났다(Table 10). 또한, *W. koreensis* DB1을 사용한 발효 전, 후 열풍건조물의 수분함량은 4%로 나타났고, 조회분 8%, 조지방 16%로 나타났으며, 발효 전, 후 동결건조물의 수분함량은 1%, 조회분 8%, 조지방은 17%로 나타났다(Table 11). 이를 통해, 각각의 균주를 이용하여 제조한 미강건조물이 각 분석 항목에서 유사한 값을 나타내는 것을 확인하였고, 또한, 열풍건조물의 수분함량이 동결건조물보다 높은 것을 확인하였는데, 이는 건조방식의 차이에 따른 결과로 사료되며, 이전 연구결과와 비교하였을 때 수분함량의 차이는 최적 건조조건에 의한 결과로 사료된다[36].

Table 10. Approximate composition of fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: %

Content	HNRB <sup>1)</sup>	HFRB <sup>2)</sup>	FNRB <sup>3)</sup>	FFRB <sup>4)</sup>
Moisture	4.86±0.93	4.94±0.76	2.01±1.18	1.86±0.58
Crude ash	9.13±0.24	9.61±0.91	9.67±0.30	9.74±0.74
Crude fat	16.84±0.23	16.82±0.54	17.88±1.50	18.25±1.43

\*  $p = NS$  (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>2)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran

<sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran, <sup>4)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Each value is presented as mean±SD of 3 times.

Table 11. Approximate composition of fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: %

Content	HNRB <sup>1)</sup>	HFRB <sup>2)</sup>	FNRB <sup>3)</sup>	FFRB <sup>4)</sup>
Moisture	5.41±0.54 <sup>a</sup>	3.99±0.43 <sup>b</sup>	1.87±1.06	1.41±0.80
Crude ash	8.30±0.18 <sup>b</sup>	8.72±0.12 <sup>a</sup>	8.57±0.08	9.22±0.56
Crude fat	15.89±0.46	16.48±1.21	17.82±0.86	18.38±0.67

\*  $p = NS$  (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> HNRB: hot air-dried non-fermented rice bran, <sup>2)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran

<sup>3)</sup> FNRB: freeze-dried non-fermented rice bran, <sup>4)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Each value is presented as mean±SD of 3 times.

## 2. 영양성분 분석

### 가) 유리당 분석

표준품 5종(sucrose, glucose, fructose, mannitol, sorbitol)의 유리당을 사용하여 분석한 결과, *L. plantarum* EM의 발효 전 미강건조물에서 sucrose (56,266–60,073 mg/kg)와 glucose(48,569–59,150 mg/kg)의 함량이 가장 높게 나타났고, 발효 후 미강건조물에서 sucrose는 발효 전 시료와 비슷한 양이 검출되었으며, glucose와 fructose는 검출되지 않았다(Table 12, 13). *W. koreensis* DB1의 발효 전 미강건조물에서도 sucrose(61,269–75,557 mg/kg)와 glucose(56,605–80,531 mg/kg) 함량이 가장 높게 나타났고, 발효 후에는 glucose와 fructose가 검출되지 않았다(Table 14, 15). 이에 sucrose는 원료인 미강에 함유된 당이며, 발효 균주가 sucrose를 대사하지 못하였음을 알 수 있었고, glucose는 유산균 발효의 최적화를 위하여 미강배지 제조 시 첨가한 당이며, *L. plantarum* EM의 발효 전 시료보다 *W. koreensis* DB1의 발효 전 시료에서 더 높은 함량을 나타내었는데, 이는 미강배지 제조 시 첨가한 glucose 함량 차이 때문으로 사료된다. 또한, 균주 2종의 당대사능에 의해 glucose와 fructose가 모두 소진되었음을 알 수 있었다.

### 나) 유기산 분석

최적 건조조건에 맞추어 제조한 미강건조물의 유기산을 분석한 결과, *L. plantarum* EM의 발효 전 미강건조물에서는 lactic acid가 약 17,472 mg/kg로 가장 높게 검출되었고, acetic acid는 검출되지 않았다. 발효 후 미강건조물에서는 lactic acid 함량이 약 92,931 mg/kg으로 발효 전보다 크게 증가하였다(Table 16, 17). *W. koreensis* DB1의 발효 전 미강건조물에서도 lactic acid가 약 17,983 mg/kg로 가장 높게 검출되었고, *L. plantarum* EM의 발효 전 시료와는 다르게 acetic acid도 검출되었으며, 발효 후 미강건조물에서 lactic acid와 acetic acid가 약 56,254 mg/kg, 2,428 mg/kg로 유기산 함량이 크게 증가하였다(Table 18, 19). 이는 homo type인 *L. plantarum* EM과 hetero type인 *W. koreensis* DB1이 발효를 통한 산생성능에 의하여 발효 후에 유기산 함량이 더 높게 나타나는 것으로 사료 된다.

Table 12. Free sugar contents of hot air-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Sucrose	56,266±9,557	42,998±9,616
Glucose	48,569±11,346 <sup>a</sup>	n.d <sup>1)b</sup>
Fructose	8,112±2,468 <sup>a</sup>	n.d <sup>b</sup>
Mannitol	8,306±405	6,608±3,703
Sorbitol	4,648±153	3,449±1,750
<b>Total</b>	<b>125,903±23,625</b>	<b>53,056±6,614</b>

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 13. Free sugar contents of freeze-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Sucrose	60,073±11,419	47,954±6,960
Glucose	59,150±4,318 <sup>a</sup>	n.d <sup>1)b</sup>
Fructose	12,322±4,699 <sup>a</sup>	n.d <sup>b</sup>
Mannitol	5,983±4,329	6,555±3,056
Sorbitol	3,225±2,637	2,900±616
<b>Total</b>	<b>140,754±14,653</b>	<b>57,410±7,144</b>

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 14. Free sugar contents of hot air-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Sucrose	75,557±28,323	62,224±1,141
Glucose	56,605±8,703 <sup>a</sup>	n.d <sup>1)b</sup>
Fructose	3,067±210 <sup>a</sup>	n.d <sup>b</sup>
Mannitol	7,587±1,084 <sup>b</sup>	14,296±3,337 <sup>a</sup>
Sorbitol	2,817±3,630	5,348±163
<b>Total</b>	<b>145,632±50,949<sup>a</sup></b>	<b>81,869±4,642<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 15. Free sugar contents of freeze-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Sucrose	61,269±355	62,362±778
Glucose	80,531±696 <sup>a</sup>	n.d <sup>1)b</sup>
Fructose	4,270±41 <sup>a</sup>	n.d <sup>b</sup>
Mannitol	8,773±140	14,642±3,731
Sorbitol	2,658±119	5,473±415
<b>Total</b>	<b>158,201±1,351<sup>a</sup></b>	<b>82,477±4,926<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 16. Free organic acid contents of hot air-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Citric acid	1,332±2,119 <sup>a</sup>	n.d <sup>1)</sup> <sup>b</sup>
Fumaric acid	41±67	35±57
Lactic acid	17,199±1,044 <sup>b</sup>	91,944±3,065 <sup>a</sup>
Acetic acid	n.d	n.d
<b>Total</b>	<b>18,573±2,325<sup>a</sup></b>	<b>91,979±3,008<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 17. Free organic acid contents of freeze-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Citric acid	1,470±2,369	1,284±1,119
Fumaric acid	43±71	57±95
Lactic acid	17,745±2,136 <sup>b</sup>	93,918±8,015 <sup>a</sup>
Acetic acid	n.d <sup>1)</sup>	n.d
<b>Total</b>	<b>19,258±3,793<sup>a</sup></b>	<b>95,259±9,028<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 18. Free organic acid contents of hot air-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Citric acid	4,167.72±276.04	4,677.25±463.12
Fumaric acid	149.08±0.85	161.28±0.23
Lactic acid	17,980.78±127.40 <sup>b</sup>	56,845.35±566.35 <sup>a</sup>
Acetic acid	888.56±89.45 <sup>b</sup>	2,591.87±322.71 <sup>a</sup>
<b>Total</b>	<b>23,186±493.74<sup>a</sup></b>	<b>64,275.75±1,352.41<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 19. Free organic acid contents of freeze-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Citric acid	4,112.31±268.17	5,036.64±884.29
Fumaric acid	165.50±3.57	150.27±1.35
Lactic acid	17,986.51±405.21 <sup>b</sup>	55,663.99±1,585.98 <sup>a</sup>
Acetic acid	905.20±41.85	2,265.39±840.68
<b>Total</b>	<b>23,169.52±718.80<sup>a</sup></b>	<b>63,116.29±3,312.30<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

## 다) 유리아미노산 분석

미강건조물의 유리아미노산을 분석한 결과, *L. plantarum* EM의 발효 전과 후의 미강건조물에서는 총 21종의 유리아미노산이 검출되었고, 발효 여부나, 건조방법에 따른 함량의 차이는 나타나지 않았다(Table 20, 21). 그러나 *W. koreensis* DB1의 발효 전 미강건조물에서는 arginine의 함량이 34,290 mg/kg로 ornithine 생성을 위해 첨가하여 높은 함량을 나타내었고, ornithine은 검출되지 않았으나, 발효 후에는 arginine의 함량이 290 mg/kg로 감소되었고, ornithine 함량이 21,110 mg/kg로 증가됨을 나타내었다(Table 22, 23). 이는 *W. koreensis* DB1의 아미노산 대사를 통해 발효 전 첨가된 arginine이 ornithine과 citrulline으로 전환되었음을 알 수 있었다.

## 라) 지방산 분석

최적 건조조건에 맞추어 제조한 미강건조물의 지방산은 *L. plantarum* EM의 발효 전과 후 미강에서 총 11종의 지방산이 검출되었고, 이 중 oleic acid가 62 mg/g, linoleic acid가 54mg/g으로 가장 높은 함량을 차지하였다(Table 24, 25). *W. koreensis* DB1의 미강건조물도 총 11종의 지방산이 검출되었으며, oleic acid가 53 mg/g, linoleic acid가 46 mg/g으로 *L. plantarum* EM의 미강시료와 유사한 값을 나타냈다(Table 26, 27). 또한, 두 균주 모두 발효 여부나 건조방법에 따른 함량 차이는 나타나지 않았다. 이는 발효에 의한 지방산 조성의 차이는 나타나지 않음을 알 수 있었다.

Table 20. Free amino acid contents of hot air-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Aspartic acid	952±52 <sup>a</sup>	893±119 <sup>b</sup>
Glutamic acid	1,080±64	788±246
Asparagine	1,335±170	1,235±105
Serine	760±150	41±8
Glutamine	10±17	10±18
Histidine	279±68	359±73
Glycine	373±69 <sup>b</sup>	577±103 <sup>a</sup>
Threonine	616±145	501±116
Citrulline	33±29	34±30
Arginine	1,436±129	1,584±106
Alanine	2,241±691	2,250±807
GABA	779±210	1,089±192
Tyrosine	656±53	475±87
Valine	795±143	1,105±170
Methionine	267±41	313±36
Tryptophane	231±172	169±160
Phenylalanine	719±57	584±90
Isoleucine	444±81	538±105
Ornithine	185±186	96±106
Leucine	1,741±214	1,955±151
Lysine	542±194	603±237
Proline	1,828±135	1,934±190
<b>Total</b>	<b>16,951±2,842<sup>a</sup></b>	<b>17,143±2,142<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 21. Free amino acid contents of freeze-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Aspartic acid	1,158±40	1,137±317
Glutamic acid	1,019±372	862±241
Asparagine	1,640±74 <sup>a</sup>	1,201±257 <sup>b</sup>
Serine	952±135	328±488
Glutamine	11±19	24±41
Histidine	424±57	419±17
Glycine	470±69	616±111
Threonine	723±110	585±101
Citrulline	38±33	38±33
Arginine	1,722±29	1,648±92
Alanine	2,586±590	2,082±1,031
GABA	1,315±363	1,237±56
Tyrosine	855±66	591±185
Valine	1,142±122	1,196±146
Methionine	504±46 <sup>a</sup>	304±87 <sup>b</sup>
Tryptophane	259±157	129±50
Phenylalanine	999±77 <sup>a</sup>	509±235 <sup>b</sup>
Isoleucine	624±92	611±77
Ornithine	83±84	94±106
Leucine	2,393±102	1,642±967
Lysine	848±274	680±229
Proline	1,975±169	2,057±148
<b>Total</b>	<b>21,751±1,339<sup>a</sup></b>	<b>18,000±2,202<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 22. Free amino acid contents of hot air-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Aspartic acid	929.76±19.82 <sup>b</sup>	1,407.62±86.06 <sup>a</sup>
Glutamic acid	1,543.38±700.40	1,498.29±449.35
Asparagine	1,423.42±639.41	1,344.63±459.22
Serine	679.12±102.04	917.13±122.66
Glutamine	n.d <sup>1)</sup>	n.d
Histidine	253.16±50.91	353.88±66.36
Glycine	501.11±271.07	647.90±316.83
Threonine	519.84±16.20	562.90±42.87
Citrulline	117.40±10.71 <sup>b</sup>	7,955.49±645.38 <sup>a</sup>
Arginine	33,409.77±502.30 <sup>a</sup>	413.47±29.97 <sup>b</sup>
Alanine	1,922.46±307.24 <sup>b</sup>	4,487.18±647.49 <sup>a</sup>
GABA	579.35±46.67 <sup>b</sup>	1,036.69±121.91 <sup>a</sup>
Tyrosine	656.81±28.36 <sup>b</sup>	745.54±27.18 <sup>a</sup>
Valine	865.79±409.81	1,458.30±660.30
Methionine	304.26±142.86	257.36±108.80
Tryptophane	235.59±115.76	1,716.43±1,060.59
Phenylalanine	660.61±91.53	615.42±468.62
Isoleucine	477.47±217.83	731.99±338.27
Ornithine	n.d <sup>b</sup>	19,911.77±242.35 <sup>a</sup>
Leucine	1,434.69±67.83 <sup>a</sup>	651.03±80.99 <sup>b</sup>
Lysine	570.08±349.16	849.97±374.47
Proline	1,570.06±714.95	1,964.02±689.60
<b>Total</b>	<b>48,654.13±4,804.86<sup>a</sup></b>	<b>49,527.01±7,039.27<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 23. Free amino acid contents of freeze-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/kg

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Aspartic acid	1,079.93±32.54	1,488.06±25.18
Glutamic acid	1,941.98±693.51	1,604.87±463.55
Asparagine	1,958.14±713.87	1,302.43±542.63
Serine	898.31±75.30	929.87±123.51
Glutamine	n.d <sup>1)b</sup>	56.61±4.37 <sup>a</sup>
Histidine	420.94±15.24	383.52±43.97
Glycine	587.62±247.35	672.36±342.44
Threonine	634.44±18.98	614.09±14.00
Citrulline	115.71±1.01 <sup>b</sup>	7,090.05±617.06 <sup>a</sup>
Arginine	35,170.40±59.04 <sup>a</sup>	167.37±92.72 <sup>b</sup>
Alanine	2,294.93±232.18	4,573.38±543.14
GABA	977.98±14.66	1,008.09±103.03
Tyrosine	878.75±17.02	762.63±14.92
Valine	1,385.84±573.28	1,503.97±679.35
Methionine	612.86±267.17	315.12±162.91
Tryptophane	253.28±155.54	1,729.41±995.85
Phenylalanine	771.94±372.51	318.18±53.41
Isoleucine	772.86±329.64	755.75±354.41
Ornithine	n.d <sup>b</sup>	22,309.02±298.16 <sup>a</sup>
Leucine	2,215.14±34.15 <sup>a</sup>	578.88±44.67 <sup>b</sup>
Lysine	1,018.86±475.47	888.62±440.87
Proline	1,482.98±416.66	2,160.33±88.99
<b>Total</b>	<b>55,472.89±4,745.12<sup>a</sup></b>	<b>51,212.61±6,049.14<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

<sup>1)</sup> n.d: not detected

Table 24. Fatty acid contents of hot air-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/g

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Myristic acid	0.44±0.02	0.46±0.03
Palmitic acid	26.93±1.88	26.20±1.44
Palmitoleic acid	0.25±0.01	0.24±0.01
Stearic acid	2.25±0.24	2.27±0.24
Oleic acid†	60.91±6.37	60.41±6.72
Linoleic acid	53.53±5.72	50.96±5.39
Alpha-linolenic acid	1.92±0.18	1.81±0.14
Arachidic acid	0.81±0.11	0.85±0.15
Eicosenoic acid†	0.80±0.10	0.84±0.14
Behenic acid	0.66±0.07	0.66±0.09
Lignoceric acid	1.49±0.20	1.50±0.23
<b>Total</b>	<b>149.97±14.86<sup>a</sup></b>	<b>146.20±13.75<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 25. Fatty acid contents of freeze-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM

unit: mg/g

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Myristic acid	0.48±0.05	0.55±0.18
Palmitic acid	26.58±1.50	26.56±2.05
Palmitoleic acid	0.26±0.01	0.25±0.02
Stearic acid	2.34±0.19	2.30±0.33
Oleic acid†	63.43±4.93	61.70±8.18
Linoleic acid	54.69±3.55	51.82±5.37
Alpha-linolenic acid	1.90±0.11	1.81±0.12
Arachidic acid	0.89±0.15	0.87±0.19
Eicosenoic acid†	0.87±0.11	0.86±0.17
Behenic acid	0.67±0.08	0.69±0.11
Lignoceric acid	1.54±0.19	1.57±0.29
<b>Total</b>	<b>153.65±8.98<sup>a</sup></b>	<b>148.98±16.19<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 26. Fatty acid contents of hot air-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/g

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Myristic acid	0.43±0.01 <sup>b</sup>	0.73±0.05 <sup>a</sup>
Palmitic acid	23.46±0.70 <sup>b</sup>	24.74±0.58 <sup>a</sup>
Palmitoleic acid	0.22±0.01	0.23±0.01
Stearic acid	1.93±0.19	2.04±0.09
Oleic acid <sup>†</sup>	52.46±4.94	54.58±2.51
Linoleic acid	45.85±3.88	47.74±2.45
Alpha-linolenic acid	1.64±0.09	1.72±0.07
Arachidic acid	0.69±0.11	0.72±0.04
Eicosenoic acid <sup>†</sup>	0.69±0.10	0.71±0.04
Behenic acid	0.53±0.07	0.61±0.10
Lignoceric acid	1.24±0.18	1.30±0.09
<b>Total</b>	<b>129.18±10.28<sup>a</sup></b>	<b>135.18±6.03<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 27. Fatty acid contents of freeze-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1

unit: mg/g

Content	Non-fermented rice bran	Fermented rice-bran
Myristic acid	0.42±0.02 <sup>b</sup>	0.78±0.05 <sup>a</sup>
Palmitic acid	24.18±1.65	24.69±1.31
Palmitoleic acid	0.22±0.02	0.23±0.00
Stearic acid	1.96±0.21	2.03±0.15
Oleic acid <sup>†</sup>	53.44±5.28	54.39±4.54
Linoleic acid	46.94±4.81	47.64±4.18
Alpha-linolenic acid	1.69±0.15	1.72±0.13
Arachidic acid	0.69±0.08	0.71±0.07
Eicosenoic acid <sup>†</sup>	0.69±0.08	0.71±0.07
Behenic acid	0.59±0.11	0.61±0.13
Lignoceric acid	1.24±0.16	1.29±0.15
<b>Total</b>	<b>132.11±12.57<sup>a</sup></b>	<b>134.85±10.78<sup>a</sup></b>

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

## 제 4절 저장 기간, 저장온도에 따른 안정성 평가

### 1. 미생물학적 특성

최적 건조조건에 맞추어 제조한 미강건조물의 유산균 수를 확인하였다. *L. plantarum* EM으로 발효하여 건조한 미강건조물의 제조 직후 유산균 수는 열풍건조 시료에서  $10^2$  CFU/g, 동결건조 시료에서  $10^3$  CFU/g 이하로 나타났으나, 저장 1개월 이후 모두 사멸되어 검출되지 않았다. *W. koreensis* DB1으로 발효하여 건조한 미강건조물의 제조 직후 유산균 수는 열풍건조 시료에서는 검출되지 않았고, 동결건조 시료에서  $10^2$  CFU/g 이하로 나타났으나, 저장 1개월 이후 모두 사멸되어 검출되지 않았다. 또한 두 균주 모두 냉장온도(4℃)와 상온에서 저장 12개월까지 대장균군 등 다른 균이 검출되지 않았다.

### 2. 기능성 평가

#### 가) 오르니틴 생성능

저장기간과 저장온도의 변화에 따른 미강건조물의 오르니틴 생성능을 확인하기 위하여 실시하였다. 상기 제시된 TLC 방법을 이용하여 실험을 진행하였으며, ornithine 생성능을 가지는 균주인 *W. koreensis* DB1으로 제조한 시료로만 실험하였다. 실험 결과 열풍건조 후 4℃, 상온에 저장한 시료와 동결건조 후 4℃, 상온에 저장한 시료 모두 12개월까지 ornithine standard spot과 같은 위치에 전개되었으며, 이는 저장 기간과 온도의 변화에도 ornithine의 함량이 유지된다는 것을 나타내었다(Figure 4, 5).

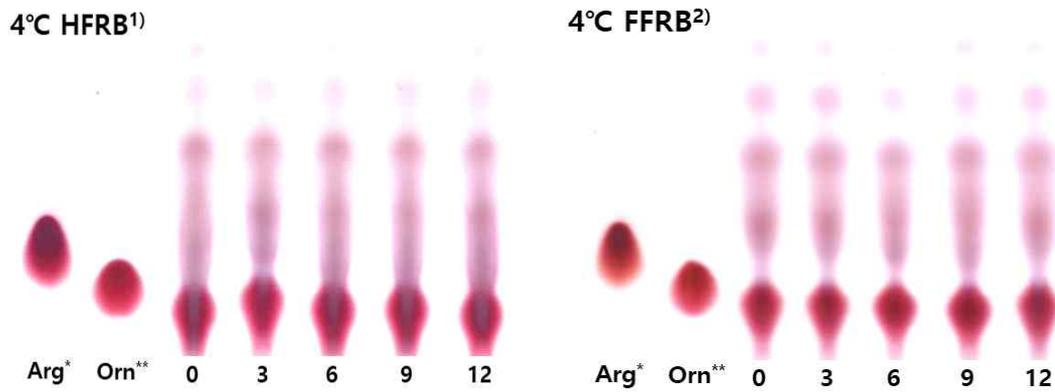


Figure 4. Ornithine production of fermented rice bran with *W. koreensis* DB1 stored at 4°C according to storage period

Arg\*: spot of standard arginine, Orn\*\*: spot of standard ornithine

<sup>1)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>2)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

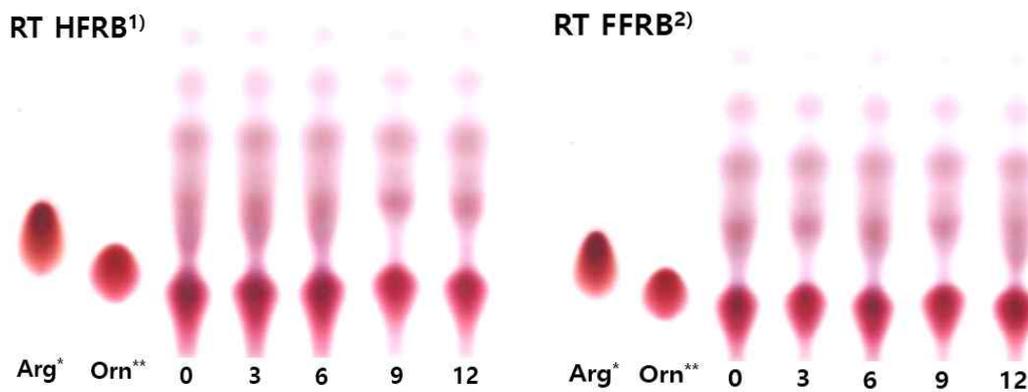


Figure 5. Ornithine production of fermented rice bran with *W. koreensis* DB1 stored at room temperature according to storage period

Arg\*: spot of standard arginine, Orn\*\*: spot of standard ornithine

<sup>1)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>2)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

## 나) 콜레스테롤 저하능

저장기간과 저장온도의 변화에 따른 미강건조물의 콜레스테롤 저하능을 확인하기 위하여 실시하였다. 상기 제시된 O-phthalaldehyde 방법을 이용하여 실험을 진행하였으며, 콜레스테롤 저하능을 가지는 균주인 *L. plantarum* EM으로 제조한 시료로만 실험하였다. 실험 결과 열풍건조 후 4℃, 상온에 저장한 시료와, 동결건조 후 4℃, 상온에 저장한 시료 모두 12개월까지 콜레스테롤 저하능을 나타내었는데, 0.5% oxgall 배지에서 약 60%, 0.5% TDCA 배지에서 약 27%로 미강건조물의 제조 직후 콜레스테롤 저하능과 유사한 값이 나타난 것을 확인하였고, 담즙염의 종류에 따라 콜레스테롤 제거능이 차이가 나는 것을 확인하였다(Table 28, 29). 또한, 상기의 저장기간과 저장온도에 따른 유산균 수 측정 시 저장 1개월 만에 모두 사멸하는 것을 확인하였는데, 그럼에도 콜레스테롤 저하능이 나타나는 이유는 *L. plantarum* EM이 사균 상태에서도 콜레스테롤을 흡착할 수 있는 특성을 지닌 것으로 사료 된다[14, 33].

Table 28. Cholesterol removal ability of fermented rice bran with *L. plantarum* EM stored at 4°C according to the storage period

		0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
<b>HFRB<sup>1)</sup></b>	0.5% oxgall	67.1±3.9	67.2±5.6	63.6±5.0	62.4±1.4	63.4±2.5
	0.5% TDCA	30.2±5.0	32.6±1.6	32.8±4.8	30.2±5.9	30.3±1.1
<b>FFRB<sup>2)</sup></b>	0.5% oxgall	60.5±7.4	60.3±7.9	60.7±1.1	60.0±4.8	60.5±0.9
	0.5% TDCA	24.6±2.1	25.1±0.4	24.6±2.0	25.1±1.3	23.6±3.3

<sup>1)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>2)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

Table 29. Cholesterol removal ability of fermented rice bran with *L. plantarum* EM stored at room temperature according to the storage period

		0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
<b>HFRB<sup>1)</sup></b>	0.5% oxgall	67.1±3.9	64.4±3.9	61.6±1.9	61.6±0.8	60.0±0.8
	0.5% TDCA	30.2±5.0	30.2±1.4	28.9±0.8	31.2±5.5	30.5±1.4
<b>FFRB<sup>2)</sup></b>	0.5% oxgall	64.2±5.2	62.2±4.2	60.9±0.6	60.9±3.9	60.9±0.8
	0.5% TDCA	23.6±2.4	23.5±2.1	23.1±2.8	23.6±11.9	22.8±5.0

<sup>1)</sup> HFRB: hot air-dried fermented rice bran, <sup>2)</sup> FFRB: freeze-dried fermented rice bran

### 3. 관능적 평가

최적 건조조건에 의하여 제조된 미강건조물을 기간과 온도를 달리하여 저장한 후 상기 동일한 항목과 방법으로 관능평가를 실시하였다.

*L. plantarum* EM의 첨가에 따른 미강시료 중 4℃에 저장한 미강건조물의 관능평가 결과 신맛, 쓴맛, 짠맛, 고소한 맛, 냄새, 조직감, 밝기 항목에서 저장기간의 변화에 따라 큰 차이가 나타나지 않았고, 신맛은 강하게 나타났으며, 강한 신맛에 의해 12개월까지 산패취가 느껴지지 않았다. 이것은 상기에 나타난 결과와 동일하게 *L. plantarum* EM의 산 생성능에 의한 것으로 사료 된다(Table 30, 31). 상온에 저장한 미강건조물의 관능평가 결과도 4℃에 저장한 시료와 크게 차이가 없었으며, 건조방식에 따른 시료의 차이도 나타나지 않았다(Table 32, 33).

*W. koreensis* DB1의 첨가에 따른 미강시료 중 4℃에 저장한 미강건조물의 관능평가 결과 신맛, 쓴맛, 짠맛, 고소한 맛, 냄새, 조직감, 밝기 항목에서는 저장기간의 변화에 따라 큰 차이가 나타나지 않았으나, 열풍건조 시료에서는 6개월부터 산패취가 느껴졌으며, 동결건조 시료의 경우에는 12개월까지 산패취가 느껴지지 않았다(Table 34, 35). 상온에 저장한 미강건조물의 관능평가 결과 또한 4℃ 저장 미강건조물과 크게 차이가 없었으나, 열풍건조 시료에서는 9개월부터 산패취가 느껴졌으며, 동결건조 시료의 경우에는 12개월까지 느껴지지 않았다(Table 36, 37). 전체적인 기호도를 보면 상기 관능결과와 유사하게 두 균주 모두 동결건조물에서 고소한 맛과 부드러운 조직감으로 인해 높은 기호도를 나타내었다.

Table 30. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM stored at 4°C according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0
Bitterness	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4
Saltiness	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Savory flavor	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Hay smell	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
Mouthfeel texture	4.2±0.4	4.4±0.5	4.4±0.5	4.4±0.5	4.4±0.5
Rancid flavour	4.6±0.5	4.6±0.5	4.6±0.5	4.2±0.4	4.0±0.7
Brightness	2.0±0.7	2.2±0.8	2.2±0.8	2.2±0.8	2.2±0.8
Overall acceptability	3.0±1.0	3.0±0.7	3.0±0.7	3.0±0.7	3.0±0.7

\* *p* = NS (NS=Not Significant).

Table 31. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM stored at 4°C according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0
Bitterness	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4
Saltiness	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Savory flavor	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Hay smell	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
Mouthfeel texture	4.6±0.5	4.6±0.5	4.6±0.5	4.6±0.5	4.6±0.5
Rancid flavour	4.6±0.5	4.6±0.5	4.4±0.5	4.2±0.4	4.2±0.4
Brightness	3.6±0.5	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9
Overall acceptability	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.2±0.8

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

Table 32. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM stored at room temperature according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0
Bitterness	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4
Saltiness	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Savory flavor	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Hay smell	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
Mouthfeel texture	4.2±0.4	4.2±0.4	4.2±0.4	4.2±0.4	4.2±0.4
Rancid flavour	4.6±0.5	4.6±0.5	4.4±0.5	4.0±0.7	3.8±0.8
Brightness	2.2±0.8	2.2±0.8	2.0±1.0	2.2±0.8	2.2±0.8
Overall acceptability	3.0±1.0	3.0±1.0	3.0±1.0	3.0±1.0	3.0±1.0

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

Table 33. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with *L. plantarum* EM stored at room temperature according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0
Bitterness	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4	1.2±0.4
Saltiness	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Savory flavor	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4	2.2±0.4
Hay smell	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
Mouthfeel texture	4.2±0.4	4.2±0.4	4.2±0.4	4.2±0.4	4.2±0.4
Rancid flavour	4.6±0.5	4.2±0.8	4.2±0.8	3.8±0.8	3.6±0.5
Brightness	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9
Overall acceptability	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9	3.4±0.9

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

Table 34. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1 stored at 4°C according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	2.1±0.7 <sup>a</sup>	2.3±0.8 <sup>a</sup>	2.3±0.8 <sup>a</sup>	2.3±0.8 <sup>a</sup>	2.3±0.8 <sup>a</sup>
Bitterness	2.6±1.1 <sup>a</sup>	2.7±1.3 <sup>a</sup>	2.9±1.2 <sup>a</sup>	3.0±1.3 <sup>a</sup>	3.0±1.3 <sup>a</sup>
Saltiness	2.1±0.7 <sup>a</sup>	2.1±0.7 <sup>a</sup>	2.1±0.7 <sup>a</sup>	2.1±0.7 <sup>a</sup>	2.1±0.7 <sup>a</sup>
Savory flavor	4.0±1.0 <sup>a</sup>	4.0±1.0 <sup>a</sup>	4.0±1.0 <sup>a</sup>	4.0±1.0 <sup>a</sup>	4.0±1.0 <sup>a</sup>
Hay smell	1.6±0.8 <sup>a</sup>	1.6±0.8 <sup>a</sup>	1.6±0.8 <sup>a</sup>	1.6±0.8 <sup>a</sup>	1.6±0.8 <sup>a</sup>
Mouthfeel texture	3.4±0.5 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>
Rancid flavour	3.9±0.9 <sup>a</sup>	3.7±1.0 <sup>a</sup>	3.0±0.6 <sup>ab</sup>	2.7±0.8 <sup>b</sup>	2.7±0.8 <sup>b</sup>
Brightness	2.7±0.5 <sup>a</sup>	2.7±0.5 <sup>a</sup>	2.7±0.5 <sup>a</sup>	2.7±0.5 <sup>a</sup>	2.7±0.5 <sup>a</sup>
Overall acceptability	3.6±0.8 <sup>a</sup>	3.6±0.8 <sup>a</sup>	3.0±0.6 <sup>a</sup>	2.7±0.8 <sup>a</sup>	2.7±0.8 <sup>a</sup>

Different letters for sensory items indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

Table 35. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1 stored at 4°C according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4
Bitterness	1.7±0.5	1.7±0.5	1.7±0.5	1.7±0.5	2.0±0.8
Saltiness	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4
Savory flavor	4.3±0.8	4.3±0.8	4.3±0.8	4.3±0.8	4.3±0.8
Hay smell	1.6±0.8	1.6±0.8	1.6±0.8	1.6±0.8	1.6±0.8
Mouthfeel texture	4.1±0.9	4.1±0.9	4.1±0.9	4.1±0.9	4.1±0.9
Rancid flavour	4.3±0.5	4.3±0.5	4.3±0.5	4.3±0.5	4.1±0.7
Brightness	3.3±0.5	3.3±0.5	3.3±0.5	3.3±0.5	3.3±0.5
Overall acceptability	4.4±0.5	4.4±0.5	4.4±0.5	4.4±0.5	4.0±1.2

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

Table 36. Sensory evaluation of hot air-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1 stored at room temperature according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	2.3±1.0 <sup>a</sup>	2.3±1.0 <sup>a</sup>	2.6±1.2 <sup>a</sup>	2.4±1.0 <sup>a</sup>	2.4±1.0 <sup>a</sup>
Bitterness	2.0±0.8 <sup>a</sup>	2.0±0.8 <sup>a</sup>	2.0±0.8 <sup>a</sup>	2.4±1.0 <sup>a</sup>	2.6±1.1 <sup>a</sup>
Saltiness	2.1±0.7 <sup>a</sup>				
Savory flavor	4.0±1.0 <sup>a</sup>	4.0±1.2 <sup>a</sup>	3.7±1.3 <sup>a</sup>	3.6±1.4 <sup>a</sup>	3.6±1.4 <sup>a</sup>
Hay smell	1.6±0.8 <sup>a</sup>				
Mouthfeel texture	3.3±0.8 <sup>a</sup>				
Rancid flavour	4.3±0.5 <sup>a</sup>	4.3±0.5 <sup>a</sup>	3.7±0.8 <sup>a</sup>	2.5±0.8 <sup>b</sup>	2.6±0.8 <sup>b</sup>
Brightness	2.7±0.5 <sup>a</sup>				
Overall acceptability	3.6±0.8 <sup>a</sup>	3.6±0.8 <sup>a</sup>	3.0±0.8 <sup>a</sup>	2.4±0.8 <sup>b</sup>	2.3±1.0 <sup>b</sup>

Different letters for sensory items indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

Table 37. Sensory evaluation of freeze-dried fermented rice bran with *W. koreensis* DB1 stored at room temperature according to storage period

Items	0 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Sourness	1.7±0.5	1.7±0.5	2.0±1.0	1.9±0.7	1.9±0.7
Bitterness	1.6±0.5	1.6±0.5	1.9±1.1	1.7±0.8	1.7±0.8
Saltiness	1.9±0.7	1.9±0.7	2.0±1.0	1.9±0.7	1.9±0.7
Savory flavor	4.4±0.5	4.4±0.5	3.7±1.3	3.7±1.3	3.7±1.3
Hay smell	1.4±0.8	1.4±0.8	1.7±1.3	1.7±1.3	1.7±1.3
Mouthfeel texture	4.4±0.8	4.4±0.8	4.4±0.8	4.4±0.8	4.4±0.8
Rancid flavour	4.4±0.5	4.4±0.5	3.4±1.3	3.6±1.1	3.6±1.1
Brightness	3.1±0.4	3.1±0.4	3.1±0.4	3.1±0.4	3.1±0.4
Overall acceptability	4.4±0.5	4.4±0.5	3.4±1.5	3.6±1.4	3.6±1.4

\*  $p$  = NS (NS=Not Significant).

## 제 4장 결 론

쌀의 도정과정 중 부산물로 발생하는 미강은 단백질, 지방, 섬유소뿐만 아니라 다양한 영양소, 생리활성물질 등을 함유하고 있어 영양적 우수성을 지니고 있으나, 식품의 소화성이 떨어지고 식미가 나쁘며 저장성이 매우 낮아 식용으로 활용하는데 어려움을 겪고 있는 실정이며[30, 31], 근래에는 미강의 생리활성 효과에 대한 인식이 높아짐에 따라 미강이 첨가된 여러 제품이 제조되었으나 미생물을 이용한 미강발효식품에 관한 연구는 미비하다[32].

이에 따라 본 연구에서는 이러한 미강의 부가가치를 향상시키기 위하여 이전의 연구를 통해 설정된 기능성 균주인 *Lactiplantibacillus plantarum* EM과 *Weissella koreensis* DB1의 각 균주별 최적화 조건에 맞추어 미강발효물을 제조한 후[33, 34], 보존성과 운반성, 기능성 성분 손실 최소화 등을 보완하고자 최적 건조조건을 선정하여 고기능성 미강발효제품을 개발하고자 하였다. 미강에서 두 균주의 최적 발효를 위하여 20% 미강에 3% 식용성분을 첨가한 후 *L. plantarum* EM을 접종할 배지에는 1% glucose를 첨가하고, *W. koreensis* DB1을 접종할 배지에는 2% glucose와 ornithine의 전구체인 arginine 1%를 첨가하여 미강 배지를 제조하였다. 그 후 미강 발효 유산균인 *L. plantarum* EM과 *W. koreensis* DB1를 각 배지에 접종하여 30℃에서 2일간 발효하였다. *L. plantarum* EM으로 발효가 끝난 미강은 발효 전 pH 5.96, 발효 후 pH 3.78을 나타냈고, *W. koreensis* DB1으로 발효가 끝난 미강은 발효 전 pH 6.02, 발효 후 pH 5.70을 나타냈으며, 각 균주의 생균수는 9.70 log CFU/g과 8.41 log CFU/g로 두 균주 모두 최대 생균수에 도달하였다.

발효가 끝난 미강은 저장성과 유통 시 용이성 등을 높이기 위하여 수율 100±5%의 범위에서 최적 건조조건을 선정하였다. 열풍건조는 탄 듯한 쓴맛이 나지 않을 정도의 온도인 55℃에서 12~16시간으로 선정하였고, 동결건조는 -70℃에서 수율 범위에 맞게 제조되는 최단기간인 3~4일 건조하는 것으로 최종 선정하였으며, 건조조건에 맞추어 건조한 미강시료는 분쇄하여 최종 미강건조물을 완성하였다.

최적화된 미강건조물의 관능평가에서 *L. plantarum* EM의 미강시료는 생미강에 비해 발효 후 미강에서 조직감이 부드러워지고 지푸라기 냄새가 느껴지지 않았으나, 발효균주의 산생성능으로 인해 강한 신맛이 느껴져 기호도가 낮게 평가되었다. 이에 따라 식품첨가물인 스테비아를 소량 첨가하여 신맛을 줄이고 단맛을 증가시켰다. *W. koreensis* DB1의 미강시료는 생미강과 발효 전 미강에

비해 발효 후 미강에서 부드럽고 고소한 맛이 증가하여 기호도가 더 높게 나타났으며, 건조방식에 의한 조직감으로 인하여 동결건조에서 더 높은 기호도를 나타냈다.

미강발효제품의 기능성 중 ornithine 생성능을 확인한 결과 이 기능성을 가진 균주인 *W. koreensis* DB1으로 발효 한 미강시료에서 arginine이 ornithine으로 전부 전환 된 것을 확인할 수 있었고[34], 콜레스테롤 저하능과 항균활성은 이 기능성을 가진 균주인 *L. plantarum* EM으로 발효 한 미강시료에서 확인되었는데, 생미강에 존재하는  $\beta$ -sitosterol 등의 성분이 콜레스테롤 수치를 낮춰주는 기능을 가지고 있어 생미강에서도 약간의 콜레스테롤 저하능이 보이나, 생미강일 때 보다 발효 후 미강에서 크게 증가하였다. 이는 앞선 연구에서 보고된 *L. plantarum* EM의 강한 콜레스테롤 흡착능에 의한 결과로 사료된다[14]. 또한, 항균활성은 항진균 2종, 항세균 2종 모두 200~400 AU/mL를 나타냈으며, 이는 MRS 배양액과 유사한 결과로 *L. plantarum* EM의 항균활성 생성에 의한 것으로 사료 된다[16]. 항산화능에서 DPPH radical 소거능은 2종의 균주 모두 발효 전, 후 시료에서 약 91%로 높은 수준을 나타내었고, 대표적 항산화 물질인 BHT, BHA, ascorbic acid와 유사한 수준을 나타내었으며, SOD activity도 약 98%로 상기 결과와 비슷하게 나타났고, 생미강도 약 93%로 높게 나타났다. 이는 생미강에 존재하는 tocopherol, phytic acid 등의 성분으로 인하여 생미강 자체에 항산화력이 강한 것으로 사료 된다[19, 20].

두 균주를 이용한 미강건조물의 성분분석 결과, 일반성분 분석에서 2종의 균주 모두 발효 전과 후의 수분, 조회분, 조지방의 결과가 비슷하게 나타났으나, 열풍건조물의 수분함량이 동결건조물 보다 조금 높은 수분함량을 나타내었는데, 이는 건조방식에 따른 차이로 사료 된다. 발효미강의 유리당 분석에서는 2종의 균주 모두 발효 전 미강에서 glucose와 sucrose가 가장 높게 나타났으나, 발효 후에는 glucose와 fructose가 모두 소진되었으며, sucrose는 거의 대사하지 못하였는데, 이는 발효 균주의 당대사능에 의한 결과임을 나타내었다. 유기산 분석에서는 2종의 균주 모두 발효 전보다 발효 후에 lactic acid의 함량이 크게 증가하였는데, 이는 두 균주가 발효를 통한 산생성능에 의한 것이며, 두 균주의 유기산 함량 차이는 homo-fermentative type인 *L. plantarum* EM과 hetero-fermentative type인 *W. koreensis* DB1의 발효에 의한 차이로 사료 된다. 유리아미노산 분석에서 *L. plantarum* EM의 미강시료는 발효 여부나, 건조방법에

따른 함량 차이가 나타나지 않았으나, *W. koreensis* DB1의 발효 전 미강시료에서는 ornithine 생성을 위해 arginine을 첨가하여 arginine 함량이 34,290 mg/kg로 높게 나타났고, ornithine은 검출되지 않았으나, 발효 후에는 arginine 함량이 290 mg/kg으로 감소되었고, ornithine 함량이 21,110 mg/kg으로 증가하였다. 또한 citrulline의 함량도 발효 전 117 mg/kg에서 발효 후 7,523 mg/kg으로 증가하였다. 이는 아미노산 대사를 통해 arginine이 ornithine과 citrulline으로 전환되었음을 나타냈다[36]. 지방산 분석에서는 생미강의 성분 중 하나인 oleic acid가 가장 높게 검출되었으며, 두 균주 모두 발효 여부나 건조방법에 따른 함량 차이는 나타나지 않아 발효에 의한 조성의 차이는 나타나지 않음을 확인하였다.

최적화 조건으로 제조한 미강건조물을 제조 직후부터 3개월 간격으로 12개월까지, 냉장온도인 4°C와 상온에 저장하여 안정성 평가를 진행하였다. 저장기간과 온도에 따른 미강건조물의 미생물학적 특성에서 *L. plantarum* EM으로 발효한 미강건조물의 제조 직후 유산균 수는  $10^2$  CFU/g에서  $10^3$  CFU/g 이하로 나타났고, *W. koreensis* DB1으로 발효한 미강건조물의 제조 직후 유산균 수는  $10^2$  CFU/g 이하로 나타났으나, 두 균주의 시료 모두 저장 1개월 이후 모두 사멸되어 검출되지 않았으며, 4°C와 상온에서 저장 12개월까지 대장균군, 일반세균 등 다른 균이 검출되지 않았다.

저장 기간과 온도에 따른 기능성 평가 중 오르니틴 생성능을 가지고 있는 *W. koreensis* DB1으로 발효한 미강건조물은 열풍건조 후 4°C, 상온에 저장한 시료와 동결건조 후 4°C, 상온에 저장한 시료 모두 12개월까지 ornithine standard spot과 같은 위치에 전개되었으며, 이는 저장 기간과 온도의 변화에도 ornithine의 함량이 유지된다는 것을 나타냈다. 콜레스테롤 제거능을 가지고 있는 *L. plantarum* EM으로 발효한 미강건조물은 4°C, 상온에 저장한 시료 모두 12개월까지 제조 직후의 콜레스테롤 저하능 수치와 유사였으며, 이는 상기 결과와 동일하게 저장기간과 온도의 변화에도 콜레스테롤 저하능이 유지되는 것을 나타냈다. 또한, 상기 미생물학적 특성 결과를 보면 저장 1개월 만에 모두 사멸하는 것을 알 수 있는데, 그럼에도 콜레스테롤 제거능이 나타나는 이유는 *L. plantarum* EM이 사균 상태에서도 콜레스테롤을 흡착할 수 있는 특성을 지닌 것으로 사료 된다[14, 33].

저장 기간과 온도에 따른 미강건조물의 관능적 평가에서 *L. plantarum* EM으로 발효한 미강건조물 중 4°C에 저장한 미강건조물의 경우 저장 기간의 변화에 따라 큰 차이가 나타나지 않았으나, 신맛이 강하게 나타났으며, 이로 인해 12개월까지

산패취가 느껴지지 않았는데, 이는 *L. plantarum* EM의 산생성능에 의한 것으로 사료 된다. 또한, 상온에 저장한 미강건조물의 경우에도 4℃에 저장한 시료와 크게 차이가 나타나지 않았으며, 건조방식에 따른 차이도 나타나지 않았다. *W. koreensis* DB1으로 발효한 미강건조물 중 4℃에 저장한 미강건조물의 경우 저장 기간의 변화에 따라 대부분의 항목에서 차이가 나타나지 않았으나, 열풍건조 시료에서 6개월부터 산패취가 느껴졌으며, 동결건조 시료에서는 12개월까지 산패취가 느껴지지 않았다. 상온에 저장한 미강건조물의 경우에도 4℃에 저장한 시료와 크게 차이가 나타나지 않았으나, 열풍건조 시료에서는 9개월부터 산패취가 느껴졌으며, 동결건조 시료에서는 12개월까지 느껴지지 않았다. 또한 전체적인 기호도는 두 균주 모두 동결건조물에서 고소한 맛과 부드러운 조직감으로 인해 높은 기호도를 나타냈다.

상기의 연구에서는 우리나라의 대표적 발효식품인 김치로부터 분리된 기능성 유산균을 식품에 적용하여 최적화된 미강발효제품을 제조하고 그 특성을 조사하였다. 그 결과, 4℃와 상온에서 모두 12개월까지 위해 미생물들이 검출되지 않았고, 각 균주들의 기능성인 오르니틴 생성능과 콜레스테롤 저하능이 유지되었으며, 위해 미생물에 대하여 항균 활성을 가짐으로써 보존성과 항균력이 우수함을 확인하였다. 또한, 열풍건조 시료와 동결건조 시료의 특성 차이가 크게 나타나지 않아 각각의 건조방법이 가지고 있는 장점을 살려 산업적으로 다양하게 이용할 수 있을 것으로 사료된다. 현재 미강은 영양에 관해서 우수한 재료로 알려져 있으나, 효과적인 활용에는 어려움을 겪고 있으며, 특히 미생물을 이용한 발효미강에 관한 연구는 미비하다. 이에 다양한 기능성과 강한 생존력을 가진 유산균을 활용한 발효미강은 고기능성 발효미강제품 개발에 기여할 것이며, 미강의 부가가치를 높일 수 있는 하나의 방법으로, 우리나라 쌀 산업 발전에도 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

## 제 5장 참고문헌

1. Popkin, B. M., Adair, L. S., & Ng, S. W. (2012). Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutrition Reviews*, 70(1), 3-21
2. Park, K. Y. (2012). Increased health functionality of fermented foods. *Food Industry and Nutrition*, 17(1), 1-8.
3. McFarland, L. V. (2006). Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(4), 812-822.
4. Sanders, M. E. (2000). Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *The Journal of nutrition*, 130(2), 384S-390S.
5. Reid, G., Jass, J., Sebuly, M. T., & McCormick, J. K. (2003). Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(4), 658-672.
6. Saez-Lara, M. J., & Gomez-Llorent, C. (2015). The Role of Probiotic Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease and Other Related Diseases: A Systematic Review of Randomized Human Clinical Trials. *BioMed Research international*, 2015, 1-15.
7. Yoon, J. A., & Shin, K. O. (2017). Studies on the Function of Lactic Acid Bacteria and Related Yeasts in Probiotics: A Review. *The Korean Society of Food and Nutrition*, 30(3), 395-404.
8. Lee, K. E., Choi, U. H., & Ji, G. E. (1996). Effect of Kimchi Intake on the Composition of Human Large Intestinal Bacteria. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 28(5), 981-986.

9. Ann, Y. G., Jang, B. C., & Park, S. J. (2013). Biological Activity and Improvement Effect on Irritable Bowel Syndrome of Wax Gourd Extract and Probiotic Lactic Acid Bacteria. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 26(1), 137-145.
10. Ko, K. H., Liu, W., Lee, H. H., Yin, J., & Kim, I. C. (2013). Biological and Functional Characteristics of Lactic Acid Bacteria in Different Kimchi. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 42(1), 89-95.
11. Ham, J. S., Kim, H. S., Noh, Y. B., Chae, H. S., Ahn, C. N., Han, G. S., & Jeong, S. G. (2007). Anti-Allergy Effect of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science and Biotechnology*, 25(1), 21-25.
12. Seo, J. H., & Lee, H. (2007). Characteristics and Immunomodulating Activity of Lactic Acid Bacteria for the Potential Probiotics. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 39(6), 681-687.
13. Leroy, F., & Vuyst, L. D. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
14. Choi, E. A., & Chang, H. C. (2015). Cholesterol-lowering effects of a putative probiotic strain *Lactobacillus plantarum* EM isolated from kimchi. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 210-217.
15. Jeon, Y. B., & Chang, H. C. (2019). Characterization of juice fermented with *Lactobacillus plantarum* EM and its cholesterol-lowering effects on rats fed a high-fat and high-cholesterol diet. *Food Science & Nutrition*, 7(11), 3622-3634.
16. Mun, S. Y., Kim, S. K., Woo, E. R., & Chang, H. C. (2019). Purification and characterization of an antimicrobial compound produced by *Lactobacillus plantarum* EM showing both antifungal and antibacterial activities. *LWT - Food Science and Technology*, 114, 108403.

17. Lee, J. H., Oh, S. K., Kim, D. J., & Yoon, M. R. (2013). Comparison of Antioxidant Activities by Different Extraction Temperatures of Some Commercially Available Cultivars of Rice Bran in Korea. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 26(1), 1-7.
18. Chae, G. Y., Kwon, R. H., Jang, M. W., Kim, M. J., Ha, B. J. (2011). Whitening and Antioxidative Effect of Rice Bran Fermented by *Bacillus subtilis*. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 37(2), 153-159
19. Bhat, F. M., & Riar, C. S. (2017). Extraction, identification and assessment of antioxidative compounds of bran extracts of traditional rice cultivars: An analytical approach. *Food Chemistry*, 237, 264-274.
20. Chung, H. J., Cho, A., & Lim, S. T. (2014). Utilization of germinated and heat-moisture treated brown rices in sugar-snap cookies. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 260-266.
21. Bae, S. M., Kim, J. H., & Cho, C. W. (2002). Effect of  $\gamma$ -Irradiation on the Antioxidant Activity of Rice Hull, Rice Bran and Barley Bran. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 31(2), 1226-3311.
22. Choi, S. P., Kang, M. Y., & Nam, S. H. (2004). Inhibitory Activity of the Extracts from the Pigmented Rice Brans on Inflammatory Reactions. *The Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 47(2), 222-227.
23. Lee, K. Y., Kim, J. H., Son, J. R., & Lee, J. S. (2001). Detection and extraction condition of physiological functional compounds from bran of Heugjinju rice (*Oryza sativa* L.). *Korean Journal of Food Preservation*, 8(3), 296-301.
24. Muramoto, G., & Kawamura, S. (1991). Rice protein and anti-hypertensive peptide (angiotensin converting enzyme inhibitor) from rice. *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*.

25. Kim, E., Chang, H. C., & Kim, H. Y. (2020). Complete Genome Sequence of *Lactobacillus plantarum* EM, A Putative Probiotic Strain with the Cholesterol Lowering Effect and Antimicrobial Activity. *Current Microbiology*, 77(8), 1871-1882.
26. Osawa, T., Narasimhan, R., Kawakishi, S., Namdci, M., & Tashiro, T. (1985). Antioxidative Defense Systems in Rice Hull against Damage Caused by Oxygen Radicals. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(10), 3085-3087.
27. Lai, P., Li, K. Y., Lu, S. & Chen, H. H. (2009). Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran. *Food Chemistry*, 117(3), 538-544.
28. Kahlon, T. S., Chow, F. I., Sayre, R. N., & Betschart, A. A. (1992). Cholesterol-Lowering in Hamsters Fed Rice Bran at Various Levels, Defatted Rice Bran and Rice Bran Oil. *The Journal of Nutrition*, 122(3), 513-519.
29. Ha, T. Y., Han, S., Kim, S. R., Kim, I. H., Lee, H. Y., & Kim, H. K. (2005). Bioactive components in rice bran oil improve lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet. *Nutrition Research*, 25(6), 597-606.
30. Kim, Y. S., Ha, T. Y., Lee, S. H., & Lee, H. Y. (1997). Properties of Dietary Fiber Extract from Rice Bran and Application in Bread-making. *Korean Society of Food Science and Technology*, 29(3), 502-508.
31. Kim, C. W., Kim, H. S., Kim, B. Y., & Baik, M. Y. (2011). Proteolysis of Defatted Rice Bran Using Commercial Proteases and Characterization of Its Hydrolysates. *Food Engineering Progress*, 15(1), 41-47.
32. Hong, S. M., Gu, M. S., Chung, E. C., Kang, P. G., & Kim, C. H. (2015). Quality Characteristics of Yogurt prepared with Rice Bran *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus casei*. *Journal of Dairy Science and Biotechnology*, 33(1), 17-25.

33. Moon, S. H., & Chang, H. C. (2021). Rice Bran Fermentation Using *Lactiplantibacillus plantarum* EM as a Starter and the Potential of the Fermented Rice Bran as a Functional Food. *Foods*, 10(5), 978.
34. Mun, S. Y., Moon, S. H., & Chang, H. C. (2020). Characterization of High-Ornithine-Producing *Weissella koreensis* DB1 Isolated from Kimchi and Its Application in Rice Bran Fermentation as a Starter Culture. *Foods*, 9(11), 1545.
35. Yu, J. J., Park, H. J., Kim, S. G., & Oh, S. H. (2009). Isolation, Identification, and Characterization of Weissella Strains with High Ornithine Producing Capacity from Kimchi. *Korean Journal of Microbiology*, 45(4), 339-345.
36. Moon, S. H., Mun, S. Y., & Chang, H. C. (2019). Characterization of fermented rice-bran using the lactic acid bacteria *Weissella koreensis* DB1 derived from kimchi. *The Korean Society Of Community Living Science*, 30(4), 543-551.
37. Collins, M. D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., & Walbanks, S. (1993). Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(6), 595-603.
38. Lee, J. S., Lee, K. C., Ahn, J. S., Mheen, T. I., Pyun, Y. R. & Park, Y. H. (2002). *Weissella koreensis* sp. nov., isolated from kimchi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(4), 1257-1261.
39. Evain-Brion, D., Donnadieu, M., Roger, M., & Job, J. C. (1982). Simultaneous study of somatotrophic and corticotrophic pituitary secretions during ornithine infusion test. *Clinical Endocrinology*, 17(2), 119-122.
40. Jeevanandam, M., Holaday, N. J., & Petersen, S. R. (1996). Ornithine- $\alpha$ -Ketoglutarate (OKG) Supplementation Is More Effective than Its Component Salts in Traumatized Rats. *The Journal of Nutrition*, 126(9), 2141-2150.

41. Yook, J. S., Oh, S. H., Kim, S. G., Lee, J. S., Mun, E. G., & Cha, Y. S. (2015). Isolation of *Pediococcus* Strain from Nuruk and Anti-Lipid Accumulation Effect of Ornithine-Containing Makgeolli on 3T3-L1 Cells *The Korean Society of Food Science and Nutrition*, 44(9), 1264-1269.
42. Gu, Y. R., Kim, J. H., Cho, J. H., Sea, W. D., Hong, J. H., & Youn, K. S. (2018). Physicochemical characteristics and antioxidant activities of rice bran extracts according to extraction solvent and cultivar. *Korean Journal of Food Preservation*, 25(6), 668-675.
43. Miyake, M., Kirisako, T., Kokubo, T., Miura, Y., Morishita, K., Okamura, H., & Tsuda, A. (2014). Randomised controlled trial of the effects of L-ornithine on stress markers and sleep quality in healthy workers. *Nutrition Journal*, 13(1), 53.
44. Mun, S. Y., & Chang, H. C. (2020). Characterization of *Weissella koreensis* SK Isolated from Kimchi Fermented at Low Temperature (around 0 °C) Based on Complete Genome Sequence and Corresponding Phenotype. *Microorganisms*, 8(8), 1147.
45. Baur, F. J., & Emsminger, L. G. (1977). The association of official analytical chemists (AOAC). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 54(4), 171-172.
46. Rudel, L. L., & Morris, M. D. (1973). Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde, Notes on methodology. 14(3), 364-366.
47. Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Cite this article*.
48. Yang, E. J., & Chang, H. C. (2010). Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2), 56-63.

49. Garces, R., & Manch, Mancha, M. One-Step Lipid Extraction and Fatty Acid Methyl Esters Preparation from Fresh Plant Tissues. *Analytical Biochemistry*, 211(1), 139-142.
50. Richmond, M. L., Brandao, C. C., Gray, J. I., Markakis, P., & Stine, C. M. Analysis of simple sugars and sorbitol in fruit by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(1), 4-7.
51. Moon, S. H. (2018). Journal Article Soysauce Production Using Bacterial-Koji Mixed with Seed-soysauce Starter and the Effects of Salts on the Characteristics of the Soysauce. *The Korean Journal of Community Living Science*, 29(3), 330-345.
52. Musialik, M., & Litwinienko, G. (2005). Scavenging of dpph• Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer. *American Chemical Society*, 7(22), 4951-4954.
53. Stiles, J., Penkar, S., Plockova, M., Chumchalova, J., & Bullerman, L. B. (2002). Antifungal Activity of Sodium Acetate and *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Food Protection*, 65(7), 1188-1191.
54. Kim, H. J., Kim, M. H., Jang, M., Lim, T. G., Hong, H. D., ... Cho, C. W. (2016). The seasonal appearance and chemical composition characteristics of cladode of *Opuntia humifusa*. *The Korean Society of Food Preservation*, 23(4), 502-509.
55. 식품의약품안전처 식품공전, 식품성분시험법.

## 감사의 글

길고도 짧았던 대학원 생활을 마무리하고 졸업에 가까워지니 아쉬운 마음이 듭니다. 지난 대학원 생활을 돌아보면 모든 시간들이 저에게는 소중한 추억으로 남은 시간들이었습니다. 감사의 말씀을 전하기엔 턱없이 부족한 글이지만 제가 여기에 오기까지 늘 제 옆에서 응원해주시고, 다독여주셨던 모든 분들에게 이 자리를 빌어 감사의 인사를 드립니다.

먼저 대학원 생활을 무사히 마칠 수 있도록 관심과 열정으로 이끌어주시고 아낌없이 지도해주신 장해춘 지도교수님께 진심으로 감사드립니다. 교수님의 가르침을 통해 한층 더 성장할 수 있었습니다. 또한, 바쁘신 가운데에도 부족한 저의 학위논문 심사위원을 맡아주시고 좋은 조언을 해주신 이주민 교수님과 최지영 교수님께도 다시 한번 감사드립니다. 그리고 학부 시절 학문에 대한 넓은 지식과 많은 가르침을 주신 김경수 교수님, 이재준 교수님, 김복희 교수님께도 감사의 마음을 전합니다.

학부생 때부터 지금까지 함께 생활하며 저를 여기까지 올 수 있게 도와준 실험실 식구들에게도 정말 감사합니다. 항상 저희를 먼저 생각해주며, 늘 잘하고 있다고 다독여주셨던 송희 박사님, 제가 고민이 있을 때마다 함께 해결해주시고, 늘 옆에서 저희를 지켜주시는 소영언니, 매일 아침마다 밝게 웃으며 인사해 주었던 소정언니, 동기들보다도 실험실에 늦게 들어와 함께한 시간이 너무 짧아 아쉬웠던 예진언니, 한번 이야기 시작하면 시간가는 줄 모를 정도로 재밌는 수영언니, 말 안 듣는 우리다 받아주고, 늘 챙겨주느라 고생한 민경언니, 대학원 들어와서 처음 만났는데 너무 잘 맞아 운명인줄 알았던 친언니 같은 지우언니, 학부생 때부터 지금까지 붙어있으면서 서로에게 항상 힘이 되어주는 다운이, 매일 아침마다 하루를 행복하게 만들어주는 민주까지 정말 모두 모두 감사합니다.

그리고 바쁘다는 핑계로 연락도 잘 안하고, 자주 만나지도 못하고, 내가 서운하게 해도 항상 옆에서 걱정해주고 응원해주고 힘이 되어주는 소중한 친구들에게도 고마운 마음을 전합니다.

마지막으로, 그 누구보다 저를 믿어주고 사랑해주며, 저에게 힘이 되어주는 우리가족, 엄마, 아빠, 동생에게도 너무 너무 감사드리며 사랑합니다. 지금까지 받기만 했던 딸이었는데, 이제 기댈 수 있는 딸이 될게요.

저에게 응원과 용기를 주셨던 모든 분들에게 감사드리며, 앞으로 더 멋진 사람이 될 수 있도록 노력하겠습니다.

2022년 6월, 유정 올림