Food Eng. Prog.
Vol. 23, No. 4. pp. 251~257 (2019.11)
DOI https://doi.org/10.13050/foodengprog.2019.23.4.251
ISSN 1226-4768 (print), ISSN 2288-1247 (online)

산업식품공학
Food Engineering Progress

발효뽕잎의 품질특성

한국환 · 정하열[1]*
한국전통발효식품협회, [1]한경대학교 식품생물공학과 및 전통식품글로벌센터

Quality Characteristics of the Fermented Mulberry Leaves

Kuk-Hwan Han and Ha-Yull Chung[1]*
Korea Traditional Fermented-foods Association
[1]*Department of Food Science and Biotechnology and Traditional Foods Global Center; Hankyong National University*

Abstract

Mulberry leaves have been used in oriental medicine for their anti-pyretic and anti-inflammatory benefits. However, their bitter taste and characteristic odor limit their use in food. Thus, mulberry leaves were fermented using three species of lactic acid bacteria prevalent in kimchi. MLp, MLm, and MLs were obtained by means of fermenting mulberry leaves, using *Lactobacillus plantarum, Leuconostoc mesenteroides*, and *Lactobacilllus sakei*. Their palatability and biochemical properties were measured to determine the feasibility of using each as a food ingredient. Overall acceptability of yoghurt supplemented with fermented mulberry leaves (MLp, MLm, or MLs) was greater than that for yoghurt supplemented with dried mulberry leaves, while fermentation produced no negative effect on yoghurt palatability. In addition, the total polyphenol levels and radical scavenging effects of mulberry leaf extracts increased with fermentation, but total flavonoid content was not significantly changed. One potentially detrimental effect of fermentation is that α- glucosidase inhibitory potency was slightly decreased, proportional to the decrease in the active component 1-deoxynojirimycin. Despite this minor loss, the improved flavor of fermented mulberry leaves, together with its other beneficial health effects, is expected to render them useful as a food ingredient without lowering the sensory appeal of their target foods.

Key words: mulberry leaves, taste, fermentation, lactic acid bacteria

서 론

뽕잎은 1998년 식품공전에 등재된 후 각종 가공식품 및 건강식품의 원료로 꾸준히 이용되고 있다. 뽕잎의 유용성분으로 알려진 플라보노이드계의 루틴은 모세혈관 강화작용과 수축작용을 나타내며, 혈압강하물질로 알려져 있는 GABA (γ-aminobutyric acid) 성분은 녹차 잎에 비해 약 10배 이상 많이 함유 되어있는 것으로 밝혀졌다(Chae *et al*., 2003). 또한 뽕잎에는 β-sitosterol, campesterol 등 식물성 스테롤이 다량으로 존재하여 혈중 콜레스테롤과 중성지질의 저하작용, HDL-cholesterol의 증가 및 항산화작용 등의 기능을 나타내는 것으로 알려지고 있다(Shin, 1998). 당뇨에 대한 뽕잎이나 상백피의 효용성에 관해서는 이미 오래 전부터 잘 알려져 왔으나 근래 뽕잎에 α-glucosidase에 대한 저해활성을 갖는 1-deoxynojirimycin (DNJ) 및 그 밖에 여러 종류의 알칼로이드가 함유되어 있어 이들 성분에 의해 혈당강하 효과가 나타나는 것으로 밝혀졌다(Asano *et al*., 1994). 이에 따라 뽕잎과 뽕으로 사육한 DNJ 함유 누에가루의 혼합물을 당뇨쥐에게 처리하여 혈당강하의 유의적인 증가를 보고한 사례가 있으며(Jang & Rhee, 2004), 또한 오디, 뽕잎 및 누에가루의 혼합물을 급여한 당뇨쥐에서 항산화작용을 비롯한 당뇨합병증의 뚜렷한 개선 효과가 인정된 바 있다(Kwon *et al*., 2006).

뽕잎에 존재하는 DNJ는 포유동물의 소장에 존재하는 α-glucosidase의 활성을 저해함으로써 소장에서 혈액으로의 포도당 유입을 억제하는 작용이 있으며, 이 점을 이용하여 식후 고혈당증을 유발하는 insulin 비의존형 당뇨병 환자들의 혈당강하제로 이용되고 있다(Yagi *et al*., 1976). 이러한 뽕잎을 이용하여 이미 우리나라에서도 뽕잎을 이용한 식품으로 국수, 차, 음료, 과자, 아이스크림, 빵, 떡, 우유두부, 계육 소세지 등과 뽕나무의 부산물인 오디를 이용한 술과

*Corresponding author: Ha-Yull Chung, Department of Food Science & Biotechnology, Hankyong National University, 327 Joongang-ro, Anseong, Gyeonggi 17579, Korea
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9226-4024
Tel: +82-31-670-5156; Fax: +82-31-670-5159
E-mail : chy@hknu.ac.kr
Received October 20, 2019; revised October 30, 2019; accepted October 31, 2019

쨈 등의 식품이 개발되어 일부 시판하고 있으나 시장성이 매우 취약한 상황이다. 이러한 이유는 뽕잎을 이용한 식품이 각종 성인병의 예방 및 치료에 효과를 지닌 기능성 성분을 함유하고 있어 기능성 소재로는 우수하나 맛이 매력적이지 못하고 특유의 향으로 대중적이지 못하다는 것이다(Ye, 2009). 예를 들면 뽕잎차와 녹차의 맛을 비교할 때 뽕잎차가 녹차의 맛과 향에 뒤떨어져 상품의 가치가 낮다는 것인데, 이러한 점을 보완하여 제품을 개발한다면 뽕잎을 첨가한 유가공품(우유, 요쿠르트치즈, 버터 등), 유가공품 및 냉동식품, 제과 제빵, 김치류, 장류, 소스류, 과류, 음료 등 상품의 시장성이 클 것으로 사료된다(Kim & Yuh, 2004).

최근 프로바이오틱스로 주목받고 있는 유산균들은 내산성, 내담즙성, 내염성이 우수하여 위산 통과율이 좋고, 장에 도착해 장내 유익균을 늘리고 장의 균형을 유지시키는데 뛰어난 것으로 알려져 있다(Moon, 2019). 그동안 식물성 재료를 이용하여 발효음료를 제조하기 위한 연구는 당근에 bifidobacteria를 배양하여 발효음료를 제조하는 방법(Park *et al*., 1997), 과채류를 일정 비율로 섞어 배양하여 제조하는 방법(Kim *et al*., 1989) 등에서 시도되었으며 뽕잎에 유산발효를 하면 풍미가 개선되고 관능적 특성을 향상시킬 수 있을 것으로 예상된다. 이에 본 연구는 식용식물로서 만이 아니라 약용으로도 가치가 인정되는 뽕잎을 유산균으로 발효하여 제조한 발효 뽕잎추출물의 맛과 기능성 등의 품질특성을 조사하여 식품소재로서 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에서 사용한 뽕잎은 남양주시 조안군 조안면에서 직접 채취한 국내산 뽕잎을 수세한 후 사용하였다. MRS broth는 Becton Dickinson (Becton Dickinson Inc., Sparks, MD, USA), MRS Agar는 Yakuri (Yakuri Pure Chemicals Inc., Kyoto, Japan), HPLC 분석용 용매는 J.T Baker (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA), 탄닌산은 Samchun (Samchun Pure Chemical, Pyeongtaek, Korea), 여과지(Whatman No. 2)는 Whatman (Whatman Inc., Springfield Mill, UK), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)는 Sigma (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였다. 발효 뽕잎을 제조하기 위해 사용한 균주는 *Leuconostoc mesenteroides* (KCCM 40709) 및 *Lactobacillus plantarum* (KCCM 12116)과 *Lactobacillus sakei* (KCCM 40264)를 MRS배지에 접종하여 각각 26°C, 37°C 및 30°C에서 배양하며 생장곡선을 확인 후 사용하였다.

발효뽕잎 추출물의 제조

건뽕잎(dried mulberry leaves, DM) 및 발효뽕잎(fermented mulberry leaves)의 제조는 Fig. 1과 같이 행하였다. 먼저 뽕잎 및 말토덱스트린, 그리고 효모추출물을 배합하여 배지를 조제하고 121°C에서 15분간 가압 멸균을 한 후 무균상태에서 냉각하였다. 각각의 유산균 생장곡선 결과에 따라서 초기 균수로 2×10^7 cfu/mL을 넣기 위해 전체 배지에 대하여 각각 *Leu. mesenteroides*는 0.43%, *L. plantarum*은 0.90%, *L. sakei*는 0.50% 접종을 하였다. 배양기에서 *Leu. mesenteroides* 이 접종된 뽕잎배지를 생육 적온인 26°C에서 발효하여 MLm을 얻었으며, *L. plantarum*로 30°C에서 발효한 MLp 및 *L. sakei*로 37°C에서 발효한 MLs를 얻은 후 -80°C에서 24시간 동결시킨 뒤 동결건조기를 사용하여 건조 및 분쇄 후 실험에 사용하였다. DM은 수세가 끝난 뽕잎을 동결시키고 동결 건조기에서 건조한 후 분쇄하여 제조하였다. 이 후 건조중량의 10배수에 해당하는 80% 에

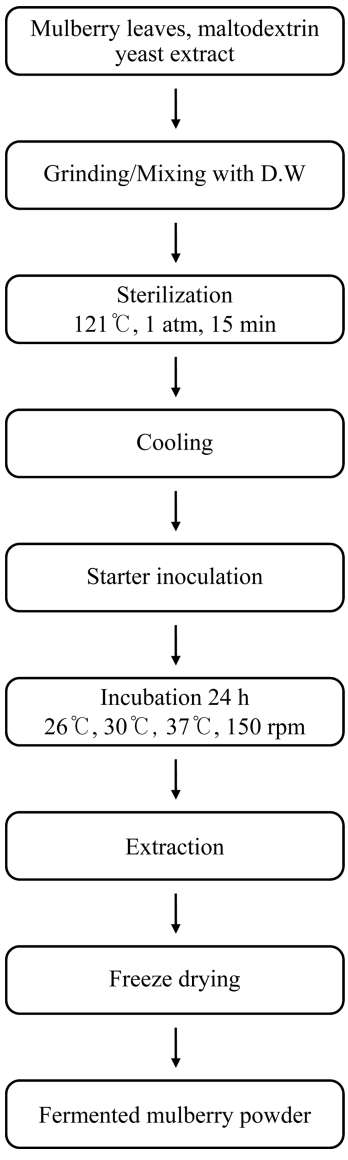

Fig. 1. Fermentation process of mulberry leaves.

탄올로 2시간 환류 추출 후 여과, 감압농축 및 동결건조하여 발효뽕잎 추출건조물을 제조하였다.

요쿠르트 제조 및 관능검사

관능 평가용 요쿠르트의 제조는 Fig. 2와 같이 행하였다. 12% 탈지분유를 90°C에서 30분간 살균하고 무균상에서 냉각한 후 플레인 모닝 프로바이오틱스(Duolac, Cell Biotech, Gimpo, Korea)를 별도의 배양 없이 직접 스타터로 접종하여 37°C에서 24시간 발효시켰다. 발효가 끝난 요쿠르트는 각각의 처리구에 DM, control(유산균을 접종하지 않은 뽕잎배지), MLm, MLp, MLs를 각각 0.5%(w/w) 첨가하고 균질화 시킨 후 4°C 냉장고에서 보관하며 관능 평가에 사용하였다. 관능평가는 식품생물공학 전공 실험생 30명을 검사원으로 하여 색(color), 신맛(sourness), 감칠맛(umami), 쓴맛(bitterness) 및 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 9점 척도법으로 평가하였다.

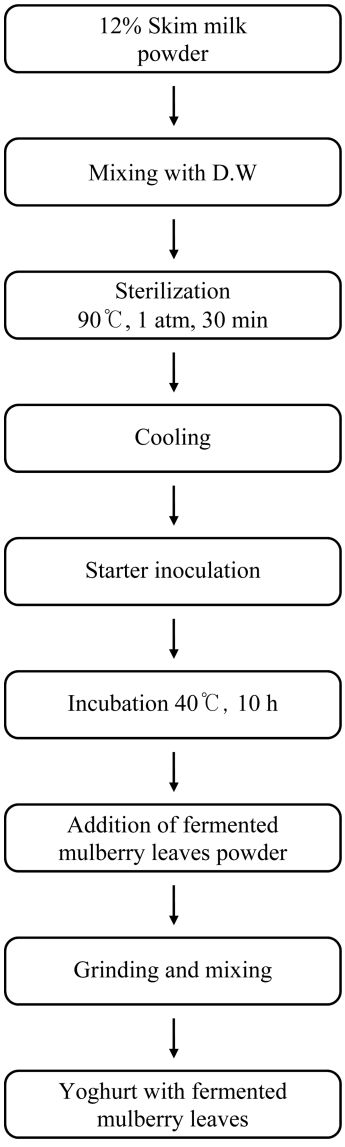

Fig. 2. Preparation process of yoghurt added with fermented mulberry leaves powder.

1-deoxynojirimycin 분석

뽕잎의 성분 중 DNJ의 함량을 분석하기 위한 HPLC의 조건은 Hwang (2002)의 방법을 응용하였으며 Table 1과 같았다. 발효 뽕잎의 DNJ 함량 측정은 뽕잎 1,000 mg을 HPLC용 80% 에탄올 100 mL에 넣어 2회 환류 냉각 추출 및 농축 후에 동결건조하여 얻은 건조물 10 mg을 증류수 1.0 mL로 녹여 사용하였다. 이 후 증류수에 용해시킨 추출물 용액(10 mg/mL) 0.2 mL에 200 mM 탄산수소나트륨 용액 0.2 mL을 첨가하고 아세톤에 용해시킨 5 mM 9-fluorenylmethyl chloroformate 0.4 mL을 첨가한 후, 30°C에서 30분간 반응시켰다. 그 후 혼합용액을 아세트산에틸:헥산(20:80, v/v)으로 추출하여, 상등액은 제거하고 잔류액을 0.45 μm 여과지로 여과하여 시료로 사용하였다. 시료는 10 μL씩 취해 HPLC에 주입하여 분석하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdate와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 Folin-Denis법을 일부 변형시켜 측정하였다(Swain *et al*., 1959). 즉, Control, MLm, MLp, MLs 각각의 80% 에탄올 추출물을 1 mg/mL의 농도로 용해 후 0.2 mL을 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 만든 후에 Folin-Ciocalteau phenol reagent를 0.2 mL 첨가하여 잘 혼합하고 3분간 실온에서 방치하였다. 이어서 탄산나트륨 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 후, 실온에서 1시간 방치하여 얻은 상층액의 흡광도를 725 nm에서 측정하였다. 이 때 총 폴리페놀 화합물의 표준정량곡선은 탄닌산 1 g을 50% 에탄올 1 mL에 녹이고 최종농도가 0, 31.125, 62.25, 125, 250 및 500 μg/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

Table 1. HPLC operating conditions of 1-deoxynojirimycin in various mulberry leaves extracts

Items	Condition
Instrument	Younglin Acme 9000 (Younglin Instrument Co., Ltd, Anyang, Korea)
Column	Zorbax SB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
Column oven	30°C
Detector	UV detector
Absorbance	264 nm
Flow rate	1.2 mL/min
Mobile phase	Buffer A: 100% acetonitrile Buffer B: 75 mM trisodium citrate, pH 4.8 Gradient : Buffer A 30% → 40% (0 - 20 min)
Injection volume	10 μL

플라보노이드 함량

각 시료 추출물의 플라보노이드 함량은 diethylene glycol 비색 방법을 응용하여 측정하였다(Nfri, 1990). 1 mg/mL 농도로 methanol에 용해시킨 각 추출시료 100 μL를 diethylene glycol 1 mL과 혼합하여 5분간 반응시키고 다시 1 N NaOH 100 μL와 섞어 37°C에서 30분간 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 플라보노이드 함량은 퀘르세틴을 이용하여 검량선을 작성하여 추출시료의 플라보노이드 함량을 시료 1 g 중의 mg 퀘르세틴으로 계산하였다. 퀘르세틴을 이용한 검량선은 최종농도가 0, 31.125, 62.25, 125, 250 및 500 μg/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 420 nm에서 흡광도를 평가하여 작성하였다.

DPPH 라디칼 소거능

각 시료의 전자공여능(Electron Donating Ability, EDA)은 DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 Choi *et al*. (2003)의 방법을 응용하여 측정하였다. 여러 발효뽕잎 추출물 시료를 80% 에탄올로 용해하여, 1.8 mL의 DPPH용액(100 μM)과 각 시료 0.2 mL을 혼합하고 암소에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 아스코르브산(Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. 전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

EDA (%)
= (1 - Sample absorbance/Control absorbance) × 100

α-glucosidase 저해

각 시료 추출물의 α-glucosidase 저해효과는 Sa *et al*. (2010)의 방법을 응용하여 측정하였다. 각 추출시료 2 mL를 α-glucosidase 효소액(0.05 U/mL) 50 μL, 200 mM 인산칼륨 완충액(pH 6.8) 750 μL와 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 2 mM pNPG(p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside) 100 μL를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 이후 0.1 M 탄산나트륨 750 μL로 반응을 정지시키고 405 nm에서 측정한 흡광도에 따라 아래와 같이 α-glucosidase 저해활성을 계산하였다.

Inhibition rate (%)
= (1 – (Sample absorbance – Blank absorbance) / Control absorbance) × 100

통계처리

실험결과의 통계처리는 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Sciences, Version 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였고, 3회 반복실험의 결과를 평균과 표준편차를 산출하여 표시하였으며, 통계적 유의성은 $p<0.05$ 유의수준에서 시료 간 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 및 던컨의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

관능적 특성

식품소재로서 발효뽕잎의 관능적 특성을 조사하기 위하여 플레인 요쿠르트에 건뽕잎과 발효뽕잎을 각각 0.5% (w/w)씩 첨가하여 색(color), 신맛(sourness), 감칠맛(umami), 쓴맛(bitterness) 및 전체적인 기호도(overall acceptability)등을 9점 척도법으로 비교 한 결과는 Table 2와 같았다. 건뽕잎을 첨가한 요쿠르트는 전체적인 기호도에서 4점대의 점수를 받았는데 이는 건뽕잎을 첨가한 요쿠르트의 기호도가 무첨가구(6점)에 비하여 낮다는 것을 의미하므로 이를 보완하기 위한 방안으로 본 연구에서는 유산균으로 발효시킨 뽕잎을 첨가하였다. 그 결과 요쿠르트들의 색은 건뽕잎 첨가구(4.25점)에 비하여 발효뽕잎인 MLm 첨가구(5.50점)가 유의적으로 높았으며 그 외 다른 첨가구에서는 유의적인 차이가 없었다. 또한 신맛은 건뽕잎 첨가구(5.0점)에 비하여 MLp 첨가구(5.5점)가 높아 신맛이 상대적으로 강한 것으로 나타났고, 다른 첨가구에서는 유의적인 차이가 없었

Table 2. Sensory evaluation scores of yoghurt added with mulberry leaves or the fermented mulberry leaves

	Color	Sourness	Umami	Bitterness	Overall acceptability
Yoghurt	6.75±1.36^{c}	4.25±1.36^{a}	4.00±2.75^{a}	3.50±2.38^{a}	6.00±1.45^{b}
Yoghurt+DM[1)]	4.25±2.63^{a}	5.00±1.59^{ab}	4.25±2.54^{ab}	5.50±2.71^{b}	4.00±2.34^{a}
Yoghurt+Control[2)]	4.75±1.19^{ab}	4.50±0.79^{a}	5.50±1.52^{b}	4.75±1.00^{b}	5.75±1.99^{b}
Yoghurt+MLm[3)]	5.50±1.03^{b}	4.9±0.64^{ab}	4.50±1.52^{ab}	5.25±1.64^{b}	5.50±1.89^{b}
Yoghurt+MLp[4)]	5.00±1.12^{ab}	5.50±1.38^{c}	4.75±1.19^{ab}	4.50±0.79^{ab}	5.75±1.64^{b}
Yoghurt+MLs[5)]	5.25±0.76^{ab}	5.00±1.12^{ab}	4.50±1.03^{ab}	5.00±1.12^{b}	5.00±1.72^{ab}

[a-c]Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test
[1)]Dried mulberry leaves
[2)] Mulberry leaves media without inoculation
[3)]Mulberry leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
[4)] Mulberry leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
[5)] Mulberry leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

다. 감칠맛과 쓴맛에 있어서는 건뽕잎 첨가구와 다른 발효뽕잎 첨가구 간에 유의적 차이가 없었으나 전체적인 선호도는 MLm 및 MLp 첨가구가 각각 5.5 및 5.75점으로 건뽕잎 첨가구(4.0점)에 비하여 유의적으로 높았다. 하지만 스타터를 접종하지 않았던 공실험구도 동시에 유의적으로 높아 전체적 선호도에는 발효된 뽕잎과 함께 첨가된 배지의 영향도 있는 것으로 예측되었지만 건뽕잎 대신 MLm, MLp 및 MLs와 같은 발효뽕잎을 식품소재로 사용하게 되면 뽕잎을 첨가하지 않은 무첨가구 수준의 관능적 특성을 유지할 수 있을 것으로 예상되었다.

1-deoxynojirimycin(DNJ) 함량

식물유래 유산균 스타터에 의한 발효뽕잎의 DNJ 함량의 변화를 알아보기 위해 80% 에탄올로 각 시료를 추출한 후 HPLC로 분석을 하였다. 우선 DNJ 표준품으로 체류시간을 측정한 후(Fig. 3), DM과 Control, MLm, MLp, MLs의 추출물의 DNJ 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같았다. 그 결과 뽕잎이 포함된 배지에 스타터를 접종하지 않은 control에 비하여 유산균으로 발효하여 얻은 발효뽕잎인 MLm, MLp, MLs에는 DNJ의 양이 약 10%까지 감소되었음을 알 수 있었는데 이는 유산균 발효 중 생성되는 일부 효소 및 유기산에 의한 영향인 것으로 예상되었다.

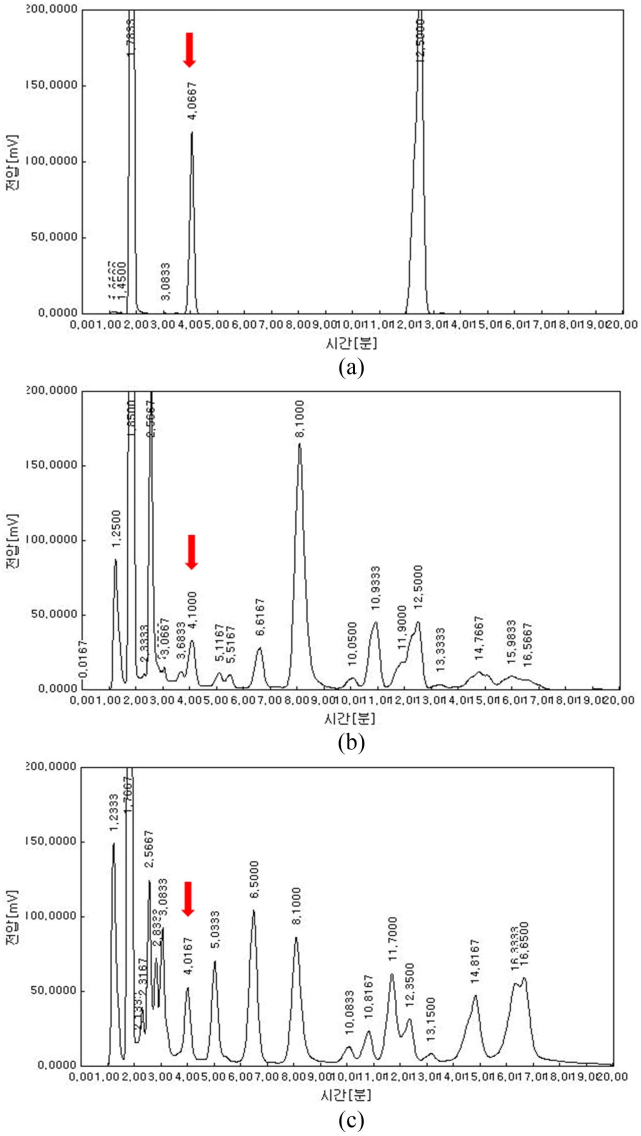

Fig. 3. HPLC chromatograms of 1-deoxynojirimycin standard (a), the dried mulberry leaves extract (b), and the mulberry leaves media extract without inoculation (c).

총 폴리페놀 함량

발효뽕잎 추출물에 존재하는 총 폴리페놀 함량을 탄닌산을 기준물질로 정량한 결과는 Table 4와 같았는데 총 폴리페놀은 모든 발효뽕잎 추출물이 control에 비해 높은 함량을 나타내었다. 이와 같이 발효뽕잎의 페놀성 화합물이 유의적으로 증가한 것으로 나타나 뽕잎의 유산균 발효과정을 통하여 페놀성 화합물이 증가한 것으로 예측된다.

플라보노이드 함량

발효뽕잎 추출물의 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 5와 같았다. 각 발효뽕잎 추출물의 플라보노이드 함량은 control과 크게 차이가 없었다. Kwak (2007)은 시중에 판매되는 뽕잎차 제품의 열수(80°C) 추출물의 플라보노이드 함량은 20.95 mg/g라고 보고하였는데, 본 연구의 발

Table 3. Amounts of 1-deoxynojirimycin in the extracts of fermented mulberry leaves

Sample	1-deoxynojirimycin (μg/g)
Control[1)]	0.58±0.01[c]
MLme[2)]	0.56±0.00[bc]
MLpe[3)]	0.52±0.02[a]
MLse[4)]	0.54±0.00[b]

[a-c] Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test
[1)] The extract of mulberry leaves media without inoculation
[2)] The extract of mulberry leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
[3)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
[4)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

Table 4. Amounts of total phenolic compounds in the extracts of fermented mulberry leaves

Sample	Phenolic compounds (μg/mg)
Control[1)]	25.29±1.38[a]
MLme[2)]	28.10±1.44[ab]
MLpe[3)]	29.93±1.88[b]
MLse[4)]	29.03±1.35[b]

[a-b] Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test
[1)] The extract of mulberry leaves media without inoculation
[2)] The extract of mulberry leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
[3)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
[4)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

효뽕잎 추출물은 60 mg/g 수준으로 농축 정도에 따라 플라보노이드 함량이 변화하므로 뽕잎차 제품 추출물에 비하여 약 2-3배 정도 플라보노이드가 농축되었음을 알 수 있었다.

DPPH radical 소거능

건뽕잎 추출물과 발효뽕잎 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 6과 같았다. 발효뽕잎 추출물인 MLme, MLpe 및 MLse는 1,250 ppm 수준에서 아스코브산 15.6 ppm과 비슷한 수준의 라디칼 소거능을 보여주었으며 control에 비하여 근소하게 라디칼 소거능이 높은 것을 볼 수 있었다. 뽕잎의 유산균 발효에 의해 라디칼 소거능이 소폭 증가한 것을 볼 수 있었는데 이는 유산균 발효 생성물인 유기산 등에 의해 라디칼 소거능이 증가한 것으로 예측된다. Kim (2000)은 뽕나무 및 꾸지뽕나무 잎의 증류수 추출물이 높은 항산화 활성을 나타내는 것을 보고하여 뽕잎 추출물에 이미 항산화 성분이 존재하는 것을 예견할 수 있었다.

Table 5. Amounts of total flavonoids in the extracts of fermented mulberry leaves

Sample	Flavonoids (μg/mg)
Control[1)]	59.11±1.09[a]
MLme[2)]	60.31±0.97[ab]
MLpe[3)]	60.82±0.26[b]
MLse[4)]	60.31±0.56[ab]

[a-d] Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test
[1)] The extract of mulberry leaves media without inoculation
[2)] The extract of mulberry leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
[3)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
[4)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

Table 6. Electron donating abilities of the fermented mulberry leaves extracts. (%)

	Electron donating abilities (%)			
Sample	15.6 ppm	31.3 ppm	62.5 ppm	125 ppm
Ascorbic acid	24.68±0.63	45.65±0.79	89.66±0.78	96.30±0.17
Sample	156 ppm	313 ppm	625 ppm	1,250 ppm
Control[1)]	1.14±0.30[a]	5.45±0.48[a]	10.18±0.40[a]	20.79±0.29[a]
MLme[2)]	3.32±0.70[b]	7.93±0.58[b]	11.59±0.40[b]	21.40±0.61[a]
MLpe[3)]	4.50±0.67[c]	8.24±0.86[b]	12.17±0.53[b]	21.47±0.29[a]
MLse[4)]	3.36±0.07[b]	7.40±0.52[b]	11.86±0.63[b]	20.48±0.80[a]

[a-c] Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test
[1)] The extract of mulberry leaves media without inoculation
[2)] The extract of mulberry leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
[3)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
[4)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

Table 7. Inhibitory effect of the fermented mulberry leaves extracts on *α*-Glucosidase.

Sample	Inhibition rate (%)
Acarbose	54.58±0.70[d]
Control[1)]	40.35±0.89[c]
MLme[2)]	32.07±1.76[a]
MLpe[3)]	35.25±1.09[b]
MLse[4)]	29.96±1.63[a]

[a-d] Means in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test
[1)] The extract of mulberry leaves media without inoculation
[2)] The extract of mulberry leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
[3)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
[4)] The extract of mulberry leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

발효뽕잎 추출물의 α-Glucosidase 억제

발효뽕잎 추출물을 1 mg/mL의 수준으로 사용하여 α-glucosidase에 대한 저해활성을 검토한 결과를 Table 7에

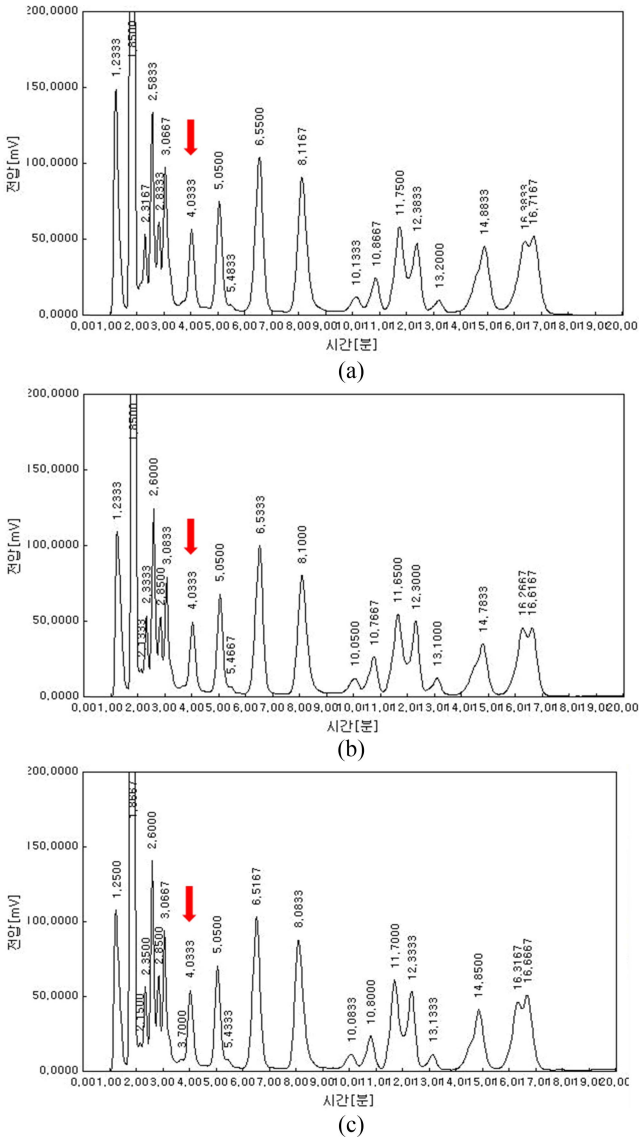

Fig. 4. HPLC chromatograms of the extracts of mulberry leaves fermented by *Leuconostoc mesenteroides* (a), *Lactobacillus plantarum* (b), and *Lactobacillus sakei* (c).

나타내었다. 모든 추출물이 활성을 보였으며, 그 중에서도 MLp 추출물이 35.25%로 가장 높은 억제효과를 보였으며, MLm, MLs 추출물들도 각각 32.07, 29.96%의 저해활성을 나타내었다. 양성 대조구로 사용한 acarbose는 0.1 mg/mL 수준에서 54.58%로 발효뽕잎 추출물보다 높은 저해활성을 나타내었다. 이 결과는 페놀성 화합물 함량이 높을수록 항산화 활성이 좋았던 결과와는 달리 α-glucosidase 저해활성은 페놀성 화합물의 함량과 연관이 적음을 알 수 있었다. Ranilla *et al*. (2010)는 약용식물과 약초의 페놀함량과 항산화활성의 상관관계(R^2 = 0.81)와는 달리, 항당뇨 활성(R^2 = 0.39)과는 낮은 상관관계가 나타나 페놀성분이 직접적으로 혈당 저하에 관여하지는 않는 것임을 시사하였다. 모든 발효뽕잎 추출물은 control에 비하여 α-glucosidase 저해활성이 낮았는데 이는 발효뽕잎 추출물의 DNJ 함량이 모두 control에 비하여 낮은 것과 관련이 있는 것으로 예측되며 발효과정에서 DNJ가 생성되기 보다는 일부 분해되는 것으로 예측된다.

요 약

한방에서 해열, 소염 효능이 있는 소재로 알려져 있으나 쓴맛과 특이한 냄새로 사용이 제한적이었던 뽕잎을 3종의 김치유래 유산균으로 각각 발효한 후 식품소재로서 사용을 검토하였다. 그 결과 MLp (by *L. plantarum*), MLm (by *Leu. mesenteroides*), 및 MLs (by *L. sakei*)와 같은 발효뽕잎을 얻었으며, 이들의 품질특성을 조사하였다. MLp 및 MLm 혹은 MLs와 같은 발효뽕잎을 첨가한 요쿠르트의 전체적인 선호도는 건뽕잎을 넣은 요쿠르트에 비하여 높았으며 발효뽕잎의 첨가가 요쿠르트의 기호도를 낮추지 않았다. 또한 발효뽕잎의 추출물은 대조구에 비하여 총 폴리페놀 함량, 자유 라디칼 소거능은 증가하였으나 플라보노이드 함량에서는 큰 변화가 없었다. 반면에 α-glucosidase 저해능은 대조구에 비해 감소하였는데 이와 관련된 1-deoxynojirimycin 함량도 감소하는 경향을 보였다. 그럼에도 발효뽕잎은 뽕잎의 특이한 풍미가 개선됨과 동시에 α-glucosidase 저해능 및 항산화성과 같은 건강지향적 품질특성을 유지함에 따라 식품소재로서 사용이 가능할 것으로 기대되었다.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

Asano N, Oseki K, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. 1994. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. Carbohydr. Res. 259: 243-255.

Chae JY, Lee JY, Hoang IS, Whangbo D, Choi PW, Lee WC, Kim JW, Kim SY, Choi SW, Rhee SJ. 2003. Analysis of functional components of leaves of different mulberry cultivars. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 15-21.

Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of some commercial teas. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 723-727.

Hwang HY. 2002. The effect of NAA on 1-deoxynojirimycin and 1-deoxymannojirimycin contents by tissue culture of *Morus alba* L. Master's Thesis, Yonsei Univ. of Korea.

Jang MJ, Rhee SJ. 2004. Hypoglycemic effects of polls made of mulberry leaves and silkworm powder in streptozotocin induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1611-1617.

Kim Aj, Yuh CS. 2004. The development of functional food products manufactured with mulberry leaf. Food Science and Industry 37: 22-35.

Kim HJ. 2000. Antioxidative activities by extracts of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata*. Master's Thesis, Donga Univ. of Korea.

Kim KH, Yeo IH, Gu YJ, Yoo JY. 1989. Process for preparing vegetable fermentation beverage. Korea patent NO. 1653.

Kwak IS. 2007. Comparison of different assays for evaluating antioxidant activity of polyphenols and tea extracts. Doctor's Thesis, Chonbuk Univ. of Korea.

Kwon EH, Jung MA, Rhee SJ, Choi SW, Cho SH. 2006. Antioxidant effects of improvement of lipid metabolism of mulberry fruit, mulberry leaves and silkworm powder with different mixing ratios in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean Nutr. Sci. 39: 91-99.

Moon GS. 2019. Trends in studies on probiotics, prebiotics, and synbiotics. Food Science and Industry 52: 208-219.

Nfri. 1990. Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation. National Food Research Institute, Skuba, Japan. p. 61.

Park SY, Ko YT, Lee JY, Mok CG, Park JH, Ji GE. 1997. Fermentation of carrot juice by *Bifidobacterium*. Food Sci. Biotechnol. 29: 571-575.

Ranilla LG, Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K. 2010. Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. Bioresource Technol. 101: 4676-4689.

Sa YJ, Kim JS, Kim MO, Jeong HJ, Yu CY, Park DS, Kim MJ. 2010. Comparative study of electron donating ability, reducing power, antimicrobial activity and inhibition of α-glucosidase by sorghum bicolor extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 598-604.

Shin DH. 1998. Antioxidation substances in mulberry leaf. J. Korean Oil Chemists. Soc. 16: 27-31.

Swain T, Hillis WE, Oritega M. 1959. The phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric. 10: 63-68.

Yagi M, Kouno T, Aoyagi Y, Murai H. 1976. The structure of moranoline. a piperidine alkaloid from *Morus* species. Nippon Nogeikagaku Kaishi. 50: 571-572.

Ye EJ. 2009. Analyzation and assessment of physiological activity on active ingredient in manufacturing fermented mulberry leaf tea. Master's Thesis, Daegu Haany Univ. of Korea.