



ISSN 1229-8565 (print)

한국지역사회생활과학회지

Korean J Community Living Sci

<http://doi.org/10.7856/kjcls.2019.30.4.543>

ISSN 2287-5190 (on-line)

30(4): 543~551, 2019

30(4): 543~551, 2019

## 김치 유산균 *Weissella koreensis* DB1을 활용한 미강발효물의 특성 규명

문 송 희 · 문 소 영 · 장 해 춘<sup>†</sup>  
조선대학교 식품영양학과, 김치연구센터

### Characterization of Fermented Rice-Bran Using the Lactic Acid Bacteria *Weissella koreensis* DB1 Derived from Kimchi

Song Hee Moon · So Yeong Mun · Hae Choon Chang<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Kimchi Research Center, Chosun University, Gwangju, Korea

#### ABSTRACT

Rice-bran contains many useful bioactive substances, yet most rice-bran is used for animal feed or compost. In this study, rice-bran was fermented by using *Weissella koreensis* DB1, which was isolated from kimchi. Twenty percent of rice-bran supplemented with 1% glucose and 1% arginine was fermented at 30°C for 2 days. After fermentation,  $1.4 \times 10^8$  CFU/g of viable lactic acid bacteria (LAB) was detected. The pH and acidity of the fermented rice-bran were pH 6.6 and 0.40%, respectively. Thereafter, the fermented rice-bran was hot-air dried (55°C) for 12 hr. The hot-air dried fermented rice-bran was ground up using a miller. On the free sugar analysis, sucrose was only detected from the rice-bran and all the glucose content supplemented into the rice-bran for fermentation totally disappeared after fermentation. Lactic acid (22,918.65 mg/kg) and acetic acid (25,773.54 mg/kg) were produced during the rice-bran fermentation. Nine-kinds of fatty acids were detected from unprocessed rice-bran as well as the fermented rice-bran; oleic acid and linoleic acid were detected at the highest amount (63.21~69.90 mg/g each). However, any changes of the amounts and fatty acids' composition were not observed. On the free amino acid analysis, the supplemented arginine was converted into citrulline (3,199.46 mg/kg) and ornithine (8,446.78 mg/kg). The results of this study suggest that the fermented rice-bran containing a high content of ornithine can be a stellar candidate as high-value, tasty food for human consumption.

**Key words:** *Weissella koreensis* DB1, fermented rice-bran, characterization, arginine, ornithine

This research was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (IPET) through the Agricultural Microbiome R&D Program, and funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA) (918005-4).

Received: 30 September, 2019 Revised: 17 October, 2019 Accepted: 17 October, 2019

<sup>†</sup>**Corresponding Author:** Hae Choon Chang Tel: 82-62-230-7345 E-mail: hcchang@chosun.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## I. 서론

미강(rice-bran)이란 현미에서 정백미로 도정하는 과정에서 생기는 과피, 종피, 호분층 등의 분쇄 화합물을 말하며, 미강은 단백질 12~16%, 식이섬유 20~25%, 지질 16~22%로 구성되어있다(Gu et al. 2018). 전 세계적으로 쌀 생산량은 7억 7000만 톤에 이르며 밀과 더불어 주요 곡물에 해당한다. 쌀은 도정과정 중 쌀 중량의 10% 이상이 미강으로 생산되고 있으며 미강 생산량은 국내·외 연간 8,700만 톤에 달한다(Korean National Statistical Office 2019). 미강은 단백질, 무기질, 지방산, 식이섬유의 좋은 공급원으로 식품, 영양 및 약학 산업에 적용될 수 있는 좋은 소재이기는 하지만, 도정 중 미강 내 오일이 lipase와 접촉되면서 발생하는 산패(rancidity)와 미강 내 식이섬유의 난소화성 등의 특징으로 식품 산업에 적용되는데 한계가 있다(Barnes & Galliard 1991; Champagne et al. 1992).

식품산업 원료 소비실태 2015년 조사결과에 따르면 쌀의 원재료 이용률은 20.6%로 114개 식품 원재료 중에서 5번째로 높으며, 2013년 대비 1.1% 증가하였다. 원재료 이용률은 백설탕 (39.6%), 정제소금(33.8%), 천일염(25.6%), 소맥분(23.5%), 쌀(20.6%) 순으로 확인되었으며 쌀 이용 주요 가공품은 즉석섭취 편의식품류(29.2%), 떡류(21.9%), 일반 곡류 가공품류(15.8%), 주류(14.6%) 순으로 확인되었다(Ministry of Agriculture, 2015). 한편, 쌀을 이용한 즉석섭취·편의식품류에 포함된 즉석밥 소비시장의 경우 2014년 기준 소매시장 규모는 2011년에 비해 1.5배 이상 커졌으며, 2015년에는 2,000억 원을 넘어설 것으로 전망되었다. 제조사별 판매액을 살펴보면 2015년 상반기 기준으로 CJ제일제당(주)이 66.4%, 오뚜기 25.4%, 농심 7.6% 순으로 확인되었다(Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation 2015).

벼의 도정에 따른 도정 수율을 보면 조곡 비율을 100%로 하였을 때 백미 72.0%, 미강 8.0%가 발생하였으며 현재 발생하는 미강은 전 세계적으로 약 10% 정도만이 미강유 등 식품에 이용되고 90% 이상이 사료 등으

로 쓰이고 있다(Rural Development Administration 2012). 쌀의 소비와 함께 부산물로 발생하는 미강의 보다 다양한 미강가공품의 개발 및 그 활용방안이 요구되어진다.

국내·외에서 개발한 미강 활용제품은 미강에서 특정 기능 물질을 추출하여 활용한 제품, 미강을 그대로 또는 미강에 유산균을 혼합한 제품, 기타 빵·과자류 등에 미강을 그대로 첨가한 제품 등이 있다(Lee et al. 2006). 미강에는  $\gamma$ -oryzanol, tocopherol,  $\beta$ -sitosterol, ferulic acid, phytic acid, arabinoxylan 등의 생리활성 물질이 있으며, 이들 성분은 항비만능, 항산화능, 항고혈압능, 항균능, 면역강화능, 항암작용 등의 기능성이 있다고 보고되고 있다(Xu et al. 2001; Kikuzaki et al. 2002; Suzuki et al. 2002; Basker et al. 2010; Han et al. 2012; Kozuka et al. 2012; Son et al. 2012). 이와 같이 미강의 다양한 생리활성효과에 대한 인식이 높아짐에 따라 다양한 미강제품이 개발되고 있다. 그러나 미강을 주원료로 발효하는데 여러 가지 기술적 어려움이 있어 bioconversion 기술 정도가 이용되고 있는 실정이며 미생물을 이용한 미강발효식품에 대한 연구는 미비한 실정이다(Hong et al. 2015).

이에 본 연구에서는 미강의 단순 첨가나 미강추출물의 이용이 아닌 미강에 기능성 유산균을 적용하여 발효시킨 미강발효제품을 개발하고 그 특성을 조사하고자 하였다.

## II. 연구방법

### 1. 재료 및 균주

본 실험에서 사용된 미강은 CJ제일제당(주)(Suwon, Korea)으로부터 도정된 지 일주일 이내의 신선한 미강을 공급받아 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. 발효 균주는 김치로부터 분리된 오르니틴 생성능 *Weissella koreensis* DB1(Mun & Chang, 2019)을 deMan Rogosa and Sharpe(MRS; Difco, Sparks, MD, USA) 액체배지에 접종하여 30°C에서 24

시간 동안 배양하여 사용하였다.

## 2. 발효미강 제조

MRS(Difco) 액체배지에서 배양된 유산균 배양액은 원심 분리(10,000 × g, 4℃, 15 min)하여 균체를 회수한 후, 멸균증류수에 현탁시켜 미강 발효용 유산균을 준비하였다. 미강 20 g에 3차 증류수 80 mL를 첨가하고 1%(w/v) glucose와 1% arginine을 첨가한 후 121℃에서 15분간 고압 멸균하였다. 고압 멸균된 미강호화물에 준비된 유산균 *W. koreensis* DB1 균주를  $1.0 \times 10^6$  CFU/g으로 접종하여 30℃에서 2일간 발효하였다. 발효 후 미강발효물은 항온항습기(HB-105SP, Hanbaek, Korea)에서 55℃, 12시간 동안 열풍건조하였다. 열풍건조가 완료된 건조물은 분쇄기(BW-3000, Boowon, Korea)를 사용하여 분말화하였다.

## 3. 총균수, pH 및 산도의 측정

총균수 측정에서는 발효가 완료된 미강발효물의 열풍건조 전 시료를 사용하였다. 시료 5 g에 멸균증류수 15 mL를 가하여 희석하고 이를 멸균거즈에 여과하였다. 여과액을 멸균증류수로 단계 희석한 후 MRS 고체배지(1.5% agar, w/v)에 도말하여 30℃에서 24시간 배양 후 생육된 집락을 계수하여 총균수를 측정하였다(Chang & Chang 2010). pH, 산도의 측정을 위하여 미강발효물을 멸균거즈로 여과한 후 실험에 사용하였다. pH와 산도는 pH meter(54X002630, Fisher Science Education, Harnover Park, IL, USA)를 사용하여 측정하였다. 산도는 여과액 10 mL을 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 pH 8.3에 도달할 때까지 사용된 0.1 N NaOH 소비량(mL)을 구한 후 총 산도(total acidity, %(w/w))를 계산하였다(Moon et al. 2015).

## 4. 미강 및 발효미강의 일반성분 분석

일반성분 분석은 식품공전법(KFDA 2018)에 준하여 실시하였다. 수분은 상압가열건조법, 조단백은 킬달법(micro-kjeldahl법), 조지방은 ether 추출법, 조회분은

직접회화법, 조섬유는 효소-중량법을 이용하여 각각의 성분을 측정하였다.

## 5. 미강 및 발효미강의 영양성분 분석

### 1) 시료의 전처리

미강발효물의 영양성분 분석을 위하여 열풍건조된 발효미강에 다음과 같이 전처리를 실시하였다. 유리아미노산, 유리당, 유기산 분석을 위하여 초음파추출법을 수행하였다. 준비된 시료에 3차 증류수를 넣고 혼합한 후 1시간 동안 초음파 추출 후 1시간 동안 상온에서 교반하였다. 그 후 얻어진 상등액을 0.2 μm regenerated cellulose membrane filter(Sartorius, Germany)로 여과시켜 불순물 등을 제거하고 분석에 사용하였다(Kim et al. 2016). 지방산 분석을 위하여 시료에 methanol : benzene : 2,2-dimethoxypropane : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 39 : 20 : 5 : 2(v/v)로 조제된 용액 340 μL와 heptane 200 μL를 가하고 흔든 후 80℃에서 2시간 동안 추출하였다. 이 후 상온에서 냉각시킨 후 상등액을 추출하여 분석에 사용하였다(Garcés & Mancha 1993).

### 2) 유리당 및 유기산 분석

유리당 및 유기산 분석을 위하여 불순물이 제거된 전처리 시료를 HPLC(Ultimate 3000, Thermo Scientific Dionex, Sunnyvale, CA, USA)로 분석하였다. 유리당 분석 시 컬럼은 Sugar-pak column(300×6.5 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며 컬럼 오븐 온도는 70℃로 유지하였다. 용매는 증류수를 0.5 mL/min의 유속으로 흘려주었고 검출기는 굴절률 검출기(Shodex RI-101, Shodex, Japan)를 사용하였다. 유기산 분석은 Aminex 87H column(300×10 mm, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하였으며 컬럼 오븐 온도는 40℃로 설정하였다. 이동상은 0.01 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 유속 0.5 mL/min의 유속으로 사용하였고, 검출기는 굴절률 검출기(RefractoMAX520, ERC, Japan)를 사용하였다(Richmond et al. 1981; Moon et al. 2018).

### 3) 지방산 분석

지방산 분석은 Agilent 7890A(Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였으며 컬럼은 DB-23(60 mm×0.25 mm×0.25 μm, Agilent)를 사용하였다. 분석 조건은 오븐온도 50℃에서 1분간 유지한 후 130℃까지 15℃/min 속도로, 170℃까지 8℃/min의 속도로 올린 후 215℃까지 2℃/min 속도로 올려 215℃에서 10분간 유지하였다. Carrier gas로 He를 4 mL/min으로 흘려주었으며 검출기는 불꽃이온화검출기(280℃, H<sub>2</sub> 35 mL/min, Air 350 mL/min, He 35 mL/min)를 사용하였다 (Garcés & Mancha, 1993).

### 4) 유리아미노산 분석

전처리된 시료의 아미노산을 OPA(O-phthalaldehyde)-FMOF(fluorenylmethyl chloroformate) 유도체화하여 HPLC(Thermo Scientific Dionex)로 분석하였다. 사용 컬럼은 Inno C18 column(4.6×150 mm, 5 μm, Younglin Biochrom, Korea)이며 이 때 컬럼 오븐 온도는 40℃로 하였다. 이동상은 40 mM sodium phosphate(pH 7.0) A용액과 water : acetonitrile : methanol = 10 : 45 : 45로 혼합된 B용액을 사용하였다. 구배조건은 A용액 : B용액으로 0~24분에 95 : 5(v/v, %)에서 24~25분에 45 : 55, 23~34.5분에 20 : 80, 34.5분부터 95 : 5로 설정하여 1.5 mL/min의 유속으로 분석을 시행하였다. 검출기는 자외선 검출기와 형광 검출기(Agilent 1260 infinity FL detector, Agilent)를 사용하였다(Moon et al, 2018).

### 6. 통계처리

SPSS 23.0 statistics 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 두 시료 간 유의성 검정은 독립 t-test(independent t-test)로 시행하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 일반성분

미강과 발효미강의 일반성분을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 미강의 수분함량은 10.84%, 조회분 8.96%, 조섬유 12.34%, 조단백 14.06%, 조지방은 20.28%로 나타났다. 발효미강은 수분함량 7.06%, 조회분 9.91%, 조섬유 14.37%, 조단백 22.73%, 조지방 18.73%로 나타났다. 발효미강의 수분함량이 미강보다 낮게 나타난 이유는 발효미강은 미강 발효 후 열풍건조 과정을 거침으로 미강보다 더 낮은 수분함량으로 건조된 결과로 사료된다. 이에 따라 조회분, 조섬유 함량도 발효미강이 다소 높은 함량으로 검출된 것으로 여겨진다. 즉, 총량의 변화는 거의 없지만 발효미강이 열풍건조에 의해 보다 더 건조되어 이와 같은 결과가 나타난 것으로 여겨진다. 발효미강에서 조단백은 미강에서보다 약 1.6배 높게 검출되었는데 이는 미강 발효 시 1% arginine 첨가에 따른 결과로 사료된다.

**Table 1.** Approximate composition of rice-bran and fermented rice-bran

Content	Rice-bran	Fermented rice-bran
Moisture (%)	10.84 ± 0.04 <sup>**1)</sup>	7.06 ± 0.02
Crude ash (%)	8.96 ± 0.09 <sup>**</sup>	9.91 ± 0.02
Crude fiber (%)	12.34 ± 0.62 <sup>*</sup>	14.37 ± 0.39
Crude protein (%)	14.06 ± 0.09 <sup>**</sup>	22.73 ± 0.11
Crude fat (%)	20.28 ± 0.40 <sup>*</sup>	18.73 ± 0.14

<sup>1)</sup> Significant at <sup>\*</sup>p<0.05 and <sup>\*\*</sup>p<0.001

### 2. 총균수, pH 및 산도

미강 발효 종료 후 유산균은 1.4×10<sup>8</sup> CFU/g의 생균수를 나타내었다. 이때의 pH는 6.61, 산도는 0.40%를 나타내었다. 원료 미강은 pH 6.74과 산도 0.18%를 나타내었다. 미강에 1% arginine을 첨가하면 혐기성 arginine의 특성에 의해 미강 발효 준비물의 pH는 다소 증가하여 pH 6.82을 나타내었다(data not shown). 그

라나 이들 동안의 유산균 발효가 진행된 후 유산균 생육에 따른 젖산 생성으로 최종 미강발효물의 pH는 6.61과 산도 0.40%를 나타내었다(Table 2).

**Table 2.** LAB counts, pH and acidity of rice-bran and fermented rice-bran

Content	Rice-bran	Fermented rice-bran
LAB counts (CFU/g)	n.d <sup>1)</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>
pH	6.74 ± 0.20	6.61 ± 0.12
Acidity (%)	0.18 ± 0.06 <sup>*2)</sup>	0.40 ± 0.04

<sup>1)</sup> n.d: not detected  
<sup>2)</sup> Significant at \*p<0.001

### 3. 유리당

유리당 표준품 5종(sucrose, glucose, fructose, mannitol, sorbitol)을 사용한 분석에서 미강에서는 sucrose만 검출되었다. 미강 발효를 위하여 본 연구에서는 1% glucose를 첨가하였다. 이에 Table 3에서 미강에서 검출된 glucose는 1% glucose 첨가 전에는 검출되지 않았고 1% glucose 첨가 후에는 42,205.30 mg/kg 검출되었다. 발효미강에서 sucrose는 미강과 거의 동일한 양이 검출되고 glucose는 검출되지 않았다(Table 3). 즉, *W. koreensis* DB1이 미강 내 sucrose는 거의 대사하지

**Table 3.** Free sugar contents of rice-bran and LAB-fermented rice-bran

Content	unit: mg/kg	
	Rice-bran	Fermented rice-bran
Sucrose	99,216.13 ± 3,153.12	97,082.31 ± 3,004.57
Glucose	n.d <sup>1)</sup> (42,205.30 ± 7,623.96) <sup>2)</sup>	n.d
Fructose	n.d	n.d
Mannitol	n.d	n.d
Sorbitol	n.d	n.d
Total	99,216.13 ± 3,153.12	97,082.31 ± 3,004.57

<sup>1)</sup> n.d: not detected  
<sup>2)</sup> Glucose was not detected from rice-bran. The detected glucose from the rice-bran came from the added 1% glucose.

못하고 첨가된 1% glucose는 모두 에너지 대사로 소진하였음을 알 수 있었다. 이는 미강 발효에 사용된 *W. koreensis*는 sucrose는 대사하지 못한다는 보고(Lee et al. 2002)와 일치하는 결과이다.

### 4. 유기산 및 지방산

발효 전 미강에서는 어떠한 유기산도 검출되지 않은 반면 발효미강에서는 lactic acid 22,918.65 mg/kg와 acetic acid 25,773.54 mg/kg가 검출되었다(Table 4). *W. koreensis*는 heterofermentative type 유산균이다(Lee et al. 2002). 이에 본 연구에서 *W. koreensis* DB1이 glucose를 대사하여 lactic acid와 acetic acid를 거의 1:1 비율로 생산한 것을 알 수 있다.

미강 및 발효미강에서 myristic acid, palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, arachidic acid, eicosenoic acid, behenic acid 등 총 9종의 지방산이 검출되었다. 검출된 지방산 중 oleic acid와 linoleic acid가 가장 높게(63.21~69.90 mg/g) 검출되었으며 그 다음 순으로 palmitic acid가 검출되었으며 myristic acid와 behenic acid가 가장 낮은 함량(0.51~0.91 mg/g)으로 검출되었다. 발효에 의해 oleic acid만이 약간 감소되었고 다른 8종의 지방산의 함량은 발효에 따라 유의미한 차이가 나타나지 않았다. 즉, 발효에 의해 지방산 조성의 차이는 발생하지 않음을 알 수 있었다.

**Table 4.** Free organic acid contents of rice-bran and LAB-fermented rice-bran

Content	unit: mg/kg	
	Rice-bran	Fermented rice-bran
Lactic acid	n.d <sup>1)</sup>	22,918.65 ± 1,054.67
Acetic acid	n.d	25,773.54 ± 929.88
Total	n.d	48,692.19 ± 1,976.36

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

**Table 5.** Fatty acid contents of rice-bran and LAB-fermented rice-bran

Content	unit: mg/g	
	Rice-bran	Fermented rice-bran
Myristic acid	0.54 ± 0.02	0.51 ± 0.03
Palmitic acid	29.92 ± 3.32	29.43 ± 0.43
Stearic acid	2.83 ± 0.24	2.75 ± 0.07
Oleic acid	69.90 ± 0.66 <sup>**1)</sup>	65.92 ± 1.02
Linoleic acid	66.49 ± 4.47	63.21 ± 1.60
$\alpha$ -Linolenic acid	2.42 ± 0.36	2.40 ± 0.11
Arachidic acid	1.07 ± 0.02 <sup>*</sup>	1.02 ± 0.02
Eicosenoic acid	1.04 ± 0.01	1.01 ± 0.03
Behenic acid	0.91 ± 0.06	0.87 ± 0.05
Lignoceric acid	1.86 ± 0.08	1.75 ± 0.08
Total	176.98 ± 8.42	168.87 ± 2.77

<sup>1)</sup> Significant at <sup>\*</sup>p<0.05 and <sup>\*\*</sup>p<0.01

## 5. 유리아미노산

미강과 발효미강의 유리아미노산 함량을 분석하였다(Table 6). 미강에서는 총 4,981.67 mg/kg의 유리아미노산이 검출되었다. 원료 미강 내에서는 ornithine은 7.19 mg/kg, citrulline은 17.01 mg/kg, arginine은 257.46 mg/kg 검출되었다. 원료 미강에 1% arginine 첨가 후 발효 전 미강에서는 39,394.44 mg/kg의 arginine이 검출되었다.

발효미강에서는 arginine이 31,427.92 mg/kg, citrulline은 3,199.46 mg/kg, ornithine은 8,446.78 mg/kg으로 검출되었다. *W. koreensis* DB1을 비롯한 *W. koreensis* 유산균은 균주에 따라 차이는 있지만 거의 대부분의 균주가 ornithine 생산을 할 수 있다(Mun & Chang 2017). 이는 *W. koreensis* 유산균주들의 유

**Table 6.** Free amino acid contents of rice-bran and LAB-fermented rice-bran

Content	unit: mg/kg					
	Rice-bran			Fermented rice-bran		
Aspartic acid	864.51	±	80.44	1,058.06	±	65.25
Glutamic acid	1,629.00	±	251.05	1,740.97	±	135.98
Asparagine	551.39	±	73.18	582.18	±	15.70
Serine	150.70	±	32.43	209.09	±	7.62
Glutamine	57.87	±	19.70		n.d <sup>2)</sup>	
Histidine	93.03	±	44.67	138.21	±	17.58
Glycine	80.80	±	18.99 <sup>**1)</sup>	208.04	±	0.06
Threonine	75.54	±	25.04	89.17	±	1.04
Citrulline	17.01	±	19.90	3,199.46	±	542.27
Arginine	257.46 ± 71.27 <sup>**</sup> (39,394.44 ± 1,296.04 <sup>*)<sup>3)</sup></sup>			31,427.92	±	588.85
Alanine	325.02	±	38.13 <sup>*</sup>	471.18	±	11.13
GABA	190.32	±	120.92 <sup>*</sup>	562.47	±	16.85
Tyrosine	59.39	±	20.93	66.29	±	4.99
Valine	66.51	±	25.96	89.40	±	2.21
Methionine	15.86	±	11.48	11.70	±	3.59
Tryptophane	95.45	±	12.80	203.72	±	288.10
Phenylalanine	21.83	±	24.16	36.24	±	23.62
Isoleucine	29.98	±	14.28	23.87	±	2.87
Ornithine	7.19	±	5.40 <sup>*</sup>	8,446.78	±	420.47
Leucine	36.26	±	27.25	19.09	±	0.91
Lysine	69.29	±	22.01	84.17	±	7.17
Proline	304.27	±	109.79	402.66	±	176.39
Total	4,981.67	±	774.72 <sup>***</sup>	49,070.63	±	2,175.36

<sup>1)</sup> Significant at <sup>\*</sup>p<0.05, <sup>\*\*</sup>p<0.01 and <sup>\*\*\*</sup>p<0.001

<sup>2)</sup> n.d: not detected

<sup>3)</sup> Rice-bran fermentation condition: 20% rice-bran + 1% arginine + 1% glucose; 257.46 mg/kg and 39,394.44 mg/kg of arginine were detected from rice-bran and the rice-bran supplemented with 1% arginine, respectively

전체분석에서 arginine에서 citrulline으로 분해되는 arginine deiminase와 citrulline에서 ornithine으로 전환되는 ornithine carbamoyltransferase가 존재함이 규명된 바 있다(Lee et al. 2012). 본 연구에서 *W. koreensis* DB1도 발효 전 첨가된 arginine을 대사하여 citrulline과 ornithine으로 전환시킴을 알 수 있었다(Table 6). Ornithine은 성장호르몬 분비를 촉진하여 항비만, 근육합성의 기능이 있으며(Elam 1988; Zajac et al. 2010) 간 기능 개선(Müting et al. 1992), 피부미용(Shi et al. 2002)에 도움을 주는 기능이 있음이 알려지고 있다. Citrulline은 항비만(Kudo et al. 2017), 근육합성(Osowska et al. 2006), 이노작용(Sohn et al. 1996), 혈행 개선(Morita et al. 2014) 등의 생리활성이 보고되고 있다.

본 연구에서는 미강의 단순 첨가나 특정 미강추출물을 첨가한 것이 아닌, 미강을 기능성 유산균으로 발효시켜 ornithine과 citrulline이 함유된 기능성 미강발효제품을 개발하였다. 현재 우리나라에서는 연간 미강 생산량이 40~60톤 가량 발생하는데, 이 중에서 약 20~30% 정도만이 유지 추출의 원료로 이용되고, 나머지는 사료나 유기질 퇴비로 이용되고 있어 활용도가 매우 낮은 실정이다(Kim et al. 2011). 또한 다양한 미강 첨가 제품이 제조되었으나 미강만을 주원료로 하여 미생물 발효를 한 연구는 미미한 실정이다. 본 연구결과는 미강의 부가가치를 높일 수 있는 방법으로 궁극적으로 우리나라 쌀 산업 발전에도 기여할 수 있을 것으로 기대한다. 이와 더불어 추후의 연구에서 본 미강발효물의 대사체 분석 연구를 시행하여 *W. koreensis* DB1 발효에 의하여 미강 내 다양한 기능성 물질들이 어떻게 변화하였는지를 규명함이 요구되어진다. 이와 같은 추후의 연구는 본 미강발효물을 건강기능식품 등으로 활용하고자할 때 유효성분 및 지표성분 등에 대한 보다 정확한 과학적 근거의 자료를 제공할 수 있을 것이다.

#### IV. 요약 및 결론

전 세계적으로 쌀 도정 시 부산물로 생산되는 미강은 90% 이상이 사료나 퇴비로 사용되고 있어 활용도가 매우 낮은 실정이다. 미강에는 다양한 생리활성물질 등 유용 성분이 함유되어있어 그 유용 물질 추출 등을 시도하고 있으나 현재까지도 미강의 실제 활용도는 낮아 그 부가가치도 낮은 실정이다.

본 연구에서는 미강에 ornithine 생성능 김치유산균 *W. koreensis* DB1을 적용하여 기능성 미강발효제품을 개발하고자 하였다. 미강 발효를 위하여 20% 미강에 1% glucose와 ornithine 전구체인 arginine을 1% 첨가한 후 미강 발효 유산균 *W. koreensis* DB1을 접종하여 30℃에서 2일간 발효하였다. 발효가 끝난 미강은 pH 6.61, 산도 0.40%를 나타내었고, 이 때 총 유산균수는  $1.4 \times 10^8$  CFU/g를 나타내었다. 발효가 끝난 미강은 55℃에서 12시간 열풍건조 후 분쇄하여 미강발효제품을 완성하였다. 미강의 유리당 분석에서는 sucrose만이 검출되었으며, 발효미강의 유리당 분석에서는 미강 발효 시 첨가된 1% glucose(42,205 mg/kg)가 *W. koreensis* DB1의 대사에 의해 완전히 소진되었음을 알 수 있었다. *W. koreensis* DB1의 sucrose 대사능은 음성이므로 미강 내 존재하는 sucrose는 발효 후에도 발효 전과 같은 함량으로 검출됨을 알 수 있었다. 미강에서는 유기산 검출이 없었으나, 발효미강에서는 lactic acid와 acetic acid가 각각 22,919 mg/kg, 25,774 mg/kg 검출되었다. 지방산 분석에서 미강과 발효미강에서 9종의 지방산이 분석되었으며 그중 oleic acid와 linoleic acid가 가장 높게 검출되었다. 발효 전·후에 따른 지방산 조성 및 함량에는 별다른 차이가 나타나지 않았다. 미강 발효 시 1% 첨가된 arginine(39,394.44 mg/kg)은 citrulline(3,199.46 mg/kg)과 ornithine(8,446.78 mg/kg)으로 전환됨을 유리아미노산 분석으로 확인 할 수 있었다. 특히 이중 ornithine의 생산량은 시간당 175.97 mg/kg이 생산된 양으로, 현재 수행중인 ornithine 생산 최적화 조건 연구가 완료되면 보다 더 높은 ornithine 생산이 가능할 것이다.

이상과 같은 본 연구결과는 *W. koreensis* DB1에 의한 미강발효물이 향후 고부가가치 기능성식품으로 활용이 가능할 수 있음을 시사한다.

## References

- Barnes P, Galliard T(1991) Rancidity in cereal products. *Lipid Technol* 3, 23-28
- Baskar AA, Ignacimuthu S, Paulraj GM, Al Numair KS(2010) Chemopreventive potential of  $\beta$ -sitosterol in experimental colon cancer model-an *in vitro* and *in vivo* study. *BMC Complement Altern Med* 10, 24. doi:10.1186/1472-6882-10-24
- Champagne ET, Hron RJ, Abraham G(1992) Utilizing ethanol to produce stabilized brown rice products. *J Am Oil Chem Soc* 69(3), 205-208. doi:10.1007/BF02635887
- Chang JY, Chang HC(2010) Improvements in the quality and shelf life of kimchi by fermentation with the induced bacteriocin-producing strain, *Leuconostoc citreum* GJ7 as a starter. *J Food Sci* 75(2) M103-M110. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01486.x
- Elam RP(1988) Morphological changes in adult males from resistance exercise and amino acid supplementation. *J Sports Med Phys Fitness* 28(1), 35-39
- Garcés R, Mancha M(1993) One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Anal biochem* 211(1), 139-143. doi:10.1006/abio.1993.1244
- Gu YR, Kim JH, Cho JH, Seo WD, Hong JH, Youn KS(2018) Physicochemical characteristics and antioxidant activities of rice bran extracts according to extraction solvent and cultivar. *Korean J Food Preserv* 25(6), 668-675. doi:10.11002/kjfp.2018.25.6.668
- Han BK, Choi HJ, Park YS(2012) Antimicrobial and antioxidative activities of phytic acid in meats. *Food Eng prog* 16(2), 145-150
- Hong SM, Gu MS, Chung EC, Kang PG, Kim CH(2015) Quality characteristics of yogurt prepared with rice bran *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus casei*. *J Milk Sci Biotechnol* 33(1), 17-25
- KFDA(2018) Food code. Korean Food & Drug Administration, Cheongju, Korea
- Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H(2002) Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *J Agric Food Chem* 50(7), 2161-2168. doi:10.1021/jf011348w
- Kim DJ, Ryu SN, Han SJ, Kim HY, Kim JH, Hong SG(2011) *In vivo* immunological activity in fermentation with black rice bran. *Korean J Food Nutr* 24(3), 273-281
- Kim HJ, Kim MH, Lim TG, Hong HD, Rhee YK, Kim KT, Cho CW(2016) The seasonal appearance and chemical composition characteristics of cladode of *Opuntia humifusa*. *Korean J Food Preserv* 23(4), 502-509. doi:10.11002/kjfp.2016.23.4.502
- Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation(2015) Status of 2015 processed food market by category: Instant rice. pp3-37
- Korean National Statistical Office(2019) Agricultural products (rice). Available from <http://kosis.kr> [cited 2019.07]
- Kozuka C, Yabiku K, Sunagawa S, Ueda R, Taira SI, Ohshiro H, Ikema T, Yamakawa K, Higa M, Tanaka H, Takayama C, Matsushita M, Oyadomari S, Shimabukuro M, Masuzaki H(2012) Brown rice and its component,  $\gamma$ -oryzanol, attenuate the preference for high-fat diet by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. *Diabetes* 61(12), 3084-3093. doi:10.2337/db11-1767
- Kudo M, Yoshitomi H, Momoo M, Suguro S, Yamagishi Y, Gao M(2017) Evaluation of the effects and mechanism of L-citrulline on anti-obesity by appetite suppression in obese/diabetic KK-ay mice and high-fat diet fed SD rats. *Biol Pharm Bull* 40(4), 524-530. doi:10.1248/bpb.b16-01002
- Lee HJ, Pak HO, Lee JM(2006) Fermentation properties of yogurt added with rice bran. *Korean J Food Cookery Sci* 22(4), 488-494
- Lee JH, Bae JW, Chun JS(2012) Draft genome sequence of *Weissella koreensis* KCTC 3621<sup>T</sup>. *Genome Announc* 194(20), 5711-5712. doi:10.1128/JB.01356-12
- Lee JS, Lee KC, Ahn JS, Mheen TI, Pyun YR, Park YH(2002) *Weissella koreensis* sp. nov., isolated from kimchi. *Int J Syst Evol Microbiol* 52(4), 1257-1261. doi:10.1099/ijs.0.02074-0
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs(2015) Investigation about consumption realities of food for food industry. pp49-92
- Moon SH, Kim IC, Chang HC(2018) Soysauce production using bacterial-koji mixed with seed-soysauce starter and the effects of salts on the characteristics of the soysauce. *Korean J Community Living Sci* 29(3), 333-345. doi:10.7856/kjcls.2018.29.3.333
- Moon SH, Moon JS, Chang HC(2015) Rapid manufacture and quality evaluation of long-term fermented kimchi (*mukeunji*) using *Lactobacillus sakei* SC1. *Food Sci Biotechnol* 24(5), 1797-1804. doi:10.1007/s10068-015-0234-5
- Morita M, Hayashi T, Ochiai M, Maeda M, Yamaguchi T, Ina K, Kuzuya M(2014) Oral supplementation with a combination of L-citrulline and L-arginine rapidly increases plasma L-arginine concentration and enhances NO bioavailability. *Biochem Biophys Res Commun* 454(1), 53-57. doi:10.1016/j.bbrc.2014.10.029
- Mun SY, Chang HC(2017) Diversity analysis of *Weissella* sp. isolated from kimchi. *Proceedings of the Korean Society of Microbiology and Biotechnology*, p347
- Mun SY, Chang HC(2019) Characterization of Kimchi lactic

- acid bacteria harboring ornithine producing capability. Proceedings of the Korean Society of Microbiology and Biotechnology, p34
- Müting D, Kalk JF, Klein CP(1992) Long-term effectiveness of high-dosed ornithine-aspartate on urea synthesis rate and portal hypertension in human liver cirrhosis. *Amino Acids* 3(2), 147-153. doi:10.1007/BF00806780
- Osowska S, Duchemann T, Walrand S, Paillard A, Boirie Y, Cynober L, Moinard C(2006) Citrulline modulates muscle protein metabolism in old malnourished rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291(3), E582-E586. doi:10.1152/ajpendo.00398.2005
- Richmond ML, Brandao SC, Gray JI, Markakis P, Stine CM(1981) Analysis of simple sugars and sorbitol in fruit by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 29(1), 4-7. doi:10.1021/jf00103a002
- Rural Development Administration(2012) Make over rice by-products: Use as various new materials. p3
- Shi HP, Fishel RS, Efron DT, Williams JZ, Fishel MH, Barbul A(2002) Effect of supplemental ornithine on wound healing. *J Surg Res* 106(2), 299-302. doi:10.1006/jsre.2002.6471
- Sohn JY, Ban SC, Shin JS, Hong SH(1996) Distribution of Free Sugars in the Various Portions of Watermelon (*Citrullus vulgaris* L.) and Muskmelon (*Cucumis melo* var. *reticulatus* Naud.). *Appl Biol Chem* 39(3), 200-205
- Son HJ, Kim HJ, Chae JH, Kwon HT, Yeo HS, Eo SJ, Leem YH, Kim HJ, Kim CK(2012) Effects of arabinoxylan rice bran and exercise training on immune function and inflammation response in lipopolysaccharide-stimulated rats. *J Appl Biol Chem* 55(1), 41-46. doi:10.3839/jabc.2011.057
- Suzuki A, Kagawa D, Fujii A, Ochiai R, Tokimitsu I, Saito I(2002) Short-and long-term effects of ferulic acid on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 15(4), 351-357. doi:10.1016/S0895-7061(01)02337-8
- Xu Z, Hua N, Godber JS(2001) Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and  $\gamma$ -Oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-Azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *J Agric Food Chem* 49(4), 2077-2081. doi:10.1021/jf0012852
- Zajac A, Poprzęcki S, Żebrowska A, Chalimoniuk M, Langfort J(2010) Arginine and ornithine supplementation increases growth hormone and insulin-like growth factor-1 serum levels after heavy-resistance exercise in strength-trained athletes. *J Strength Cond Res* 24(4), 1082-1090. doi:10.1519/JSC.0b013e3181d321ff