

Korean Society for
Clinical Laboratory ScienceKorean Journal of
CLINICAL LABORATORY SCIENCE

ORIGINAL ARTICLE

Development of Dairy Products Using *Ficus carica* Vinegar and the Effects on the Caco-2 Cell Line

Ji Hye Heo

Department of Biomedical Laboratory Science, Donggang University, Gwangju, Korea

무화과식초를 이용한 유제품의 개발과 인간 대장세포주에 미치는 영향

허지혜

동강대학교 임상병리학과

ARTICLE INFO

Received June 28, 2022
Revised 1st July 19, 2022
Revised 2nd August 8, 2022
Accepted August 14, 2022

Key words

Ficus carica vinegar
Intestinal health
Leuconostoc lactis
Microbiome
Probiotics

ABSTRACT

Among various health functional foods, probiotics constitute the largest market. The interest in probiotics is increasing continuously according to the research results that gut health can control the immune function of the body, prevent diseases, and assist in treatment. In this study, dairy products and dressing sauces were developed using *Ficus carica* vinegar (FV), and their effects on colon cells were analyzed. When 5% FV was added to regular milk, the satisfaction with the resulting yogurt and ricotta cheese was high. The dairy product was *Leuconostoc lactis*, and the number of bacteria was more than $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/mL. The product satisfied the health food standards as probiotics. An examination of the cell viability of Caco-2 cells, which proliferate similarly to human intestinal epithelial cells, revealed an approximately 19% increase in the proliferation rate when treated with whey at 10%. An antioxidant activity of up to 58% was recorded when the cells were treated with whey at various concentrations. In addition, excellent adhesion was observed for *L. lactis* isolated from whey. This study confirmed that dairy products made using traditionally fermented FV assist intestinal health effectively as the microbiome.

Copyright © 2022 The Korean Society for Clinical Laboratory Science.

서론

냉장 보관 기술이 발달하기 오래 전, 식량을 저장하기 위한 방법으로 발효 기법을 사용하였다. 발효식품은 유기산, 젖산균이 풍부하므로 유해균을 억제시킬 수 있으며, 비타민, 식이섬유가 풍부하여 각종 질병 예방의 효과가 있다고 알려져 있다. 당류를 분해하여 젖산을 생산하는 *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* 등이 대표적인 유산균이며, 체내에서 장관 내 환경을 유익하게 해주는 프로바이오틱스(probiotics)이다. 세계

보건기구는 2001년 프로바이오틱스에 대해 “적절한 양을 투여했을 때 숙주를 건강하게 하는 이점을 가진 살아있는 미생물”라고 정의를 내렸다[1]. 국내에서는 식품의약품안전처 고시 제 2008-12호에 따라 2010년 이후부터 유산균 제품을 프로바이오틱스로 표기를 변경하도록 하였다[2].

프로바이오틱스는 소장의 정상세균총을 군집시키고 병을 유발할 수 있는 유해한 미생물은 제거하는 역할을 하여 장내 세균총이 적절한 균형상태를 유지하도록 한다. 뿐만 아니라 유산, 초산 등의 유기산과 nisin과 같은 단백질성 항균물질인 박테리오파지 생성함으로써 유해세균의 증식을 억제할 뿐만 아니라 장내 세균총의 안정화, 과민성 대장 증후군, 유당불내증 및 비특이적 면역증강의 완화, 항암 및 항종양 등의 다양한 기능을 나타내는 것으로 알려져 있다[3].

이러한 유산균은 주로 김치류, 된장, 요거트, 치즈와 같은 유

Corresponding author: Ji Hye Heo

Department of Biomedical Laboratory Science, Donggang University, 50 Dongmun-daero, Buk-gu, Gwangju 61200, Korea

E-mail: jhheo@donggang.ac.kr

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4788-2576>

pISSN 1738-3544 eISSN 2288-1662

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

제품 및 발효식품에서 풍부하게 생성되며 특히 유럽의 프로바이오틱 시장은 약 7조원 규모로 전 세계적으로 가장 방대한 시장을 이루고 있지만 최근에는 중국, 인도, 베트남, 인도네시아 등의 아시아 시장이 급성장을 하고 있는 추세이다[4]. 이러한 식, 음료 및 건강기능식품은 프로바이오틱스로 인정받기 위해서는 위산과 담즙산에 살아 남아 소장까지 도달하여 장에서 증식하고 정착하여야 하며, 장관 내에서 유효한 효과를 나타내어야 한다.

더불어 각종 열매, 과일, 버섯 등과 같은 다양한 식재료를 기반으로 한 발효식품의 항산화효과와 항염효과 등이 입증됨에 따라 발효식품에 대한 관심과 활용도가 높아지고 있다[5-7]. 본 연구에서는 무화과발효식품의 대장균, 포도알균, 녹농균에 대한 항균 효과를 바탕으로[8] 이를 활용한 다양한 형태의 유제품과 드레싱 소스를 개발하여 인체의 소장 상피세포와 흡사하게 증식되는 인체 유래 대장세포를 대상으로 세포생존율, 항산화능, 장내세포의 부착능을 분석하여 대장세포에 미치는 영향을 분석하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

유제품 제조에 사용된 주재료인 일반우유(original milk, Samyang Co., Seoul, Korea)와 멸균우유(Jeju premium milk, Samyang Co., Seoul, Korea)는 삼양식품에서 제공받아 사용하였다. 무화과식초(*Ficus carica* vinegar, Newuto Local Herb Farming Association, Yeongam-gun, Jeonnam)는 신유평토트종양조영농조합에서 제공받았다. 무화과는 전남 소재 삼호중앙농장에서 구입하였으며 생과는 껍질을 제거한 후 과육을 -20°C에 보관하였고 건조 무화과는 50°C에서 31시간 동안 건조한 후 껍질을 제거하여 4°C에 보관하여 사용하였다.

2. 마시는 요거트 제조

일반우유와 멸균우유에 각각 무화과식초를 1%, 3%, 5% 농도가 되도록 첨가하고 소금(Salt, CJ Cheiljedang, Incheon, Korea) 1%와 설탕(Sucrose, CJ Cheiljedang, Incheon, Korea) 1%를 추가하여 37°C 30시간 발효하였다.

3. 리코타 치즈 제조

일반우유와 멸균우유 멸균우유를 60°C에서 10분간 가열 후 각각 무화과식초를 1%, 3%, 5% 농도가 되도록 첨가하고 소금 1%와 설탕 1%를 추가하여 37°C에서 30시간 발효하였다. 그 후, 면보를 2겹으로 하여 9시간 동안 유청과 분리하여 리코타 치즈를 제조하였다.

를 제조하였다.

4. 드레싱소스 제조

5% 무화과식초를 일반우유 또는 멸균우유에 첨가하여 만든 유제품에서 리코타 치즈를 제조한 뒤 분리된 각각의 유청에 동량의 무화과 발효소를 첨가한 후, 10%, 20% 무화과 식초를 추가로 첨가하였다.

5. 유산균 생균 수 측정

일반우유와 멸균우유에 각각 무화과 식초를 1%, 3%, 5% 농도로 첨가한 마시는 요거트 5 mL, 무화과 식초를 1%, 3%, 5% 농도로 첨가한 리코타 치즈 5 g, 그리고 리코타 치즈 제조시 분리된 유청에 무화과 식초를 10%와 20% 농도로 첨가하여 만든 드레싱 소스 5 mL를 채취하여 한 플레이트에 집락의 수가 최소 30개에서 최대 300개를 넘지 않도록 멸균생리식염수에 희석한 후 Lactobacilli MRS (deMan, Rogosa and Sharpe) agar 배지 (BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA)와 plate count agar (BD Difco, Franklin Lakes, NJ, USA)에 bromocresol purple (BCP, Sigma-Aldrich, MO, USA)를 첨가한 배지에 100 µL를 도말하여 평판 배양법으로 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양 후, 노란색 집락(colony) 수를 3회 반복하여 측정하여 log CFU (colony forming unit)/mL로 평균값을 나타내었다.

6. 유산균종 동정

개발한 유제품에서 분리된 균주의 정확한 동정을 위하여 분리균주를 Lactobacilli MRS 액체배지에서 20시간 배양하고 genomic DNA를 추출(AccuPrep, Bioneer, Daejeon, Korea)하였다. 16S rRNA 증폭을 위해 각각 0.4 µM로 최종농도가 되도록 forward primer 27F (5'-aga gtt tga tcc ctc ag-3')와 reverse primer 1492R (5'-ggg tac ctt gtt acg act t-3') [9]를 2X EzWay Direct Master Mix (Komabiotec, Seoul, Korea)와 혼합하여 total volume이 20 µL가 되도록 하였다. 처음 사이클은 95°C에서 10분 반응 후, 30 사이클을 95°C에서 30초, 50°C에서 40초, 72°C에서 30초씩 반복하였다. 최종 연장 사이클은 72°C에서 15분 조건으로 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. PCR 반응산물을 0.8% agarose gel에서 100V로 35분간 전기영동을 실시하고 GreenStar™ Nucleic Acid Staining Solution (Bioneer Co, Daejeon, Korea)으로 염색하여 Gel document system (Kodak Gel Logic 100 image system, Easrman Kodak Co, NY, USA)으로 확인하였다. 염기서열분석은 Bioneer사

에 sequencing을 의뢰하였으며, 염기서열 분석과 상동성 비교는 GenBank (NIH, MD, USA)를 이용하였다.

7. 세포생존율 분석

5% 무화과식초를 일반우유에 첨가하여 제조한 리코타치즈에서 흡광도 측정을 용이하게 하기 위해 맑은 유청만을 분리하여 대장세포(Caco-2 cell)에 미치는 영향을 측정하였다. Caco-2 human colon cell line은 한국세포주은행에서 구매하였다. 10% fetal bovine serum (FBS, Thermo Fisher Scientific Inc, MA, USA), 1% streptomycin/penicillin (10,000 IU/mL, Thermo Fisher Scientific Inc), 1% non-essential amino acid, 10 mM HEPES, 1 mM L-glutamate, 1 mM sodium pyruvate가 첨가된 minimum essential medium (MEM, Gibco, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂, 95% O₂ (MCO-18AC, Panasonic Healthcare Co., Ltd, Japan) 조건에서 배양하여 32번째 분열기의 세포를 사용하였다. 1×10^4 개의 세포를 flat-bottom 96-well plate에 분주하고 5% CO₂가 공급되는 37°C의 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 배지를 제거하고 유청을 1%, 5%, 10% 농도로 새로운 배지에 첨가하여 24시간 동안 다시 배양하였다. 각각의 well에 있는 배지를 제거한 후 10 µL cell counting kit-8 시약(CCK-8, Dojindo Molecular Technologies, Inc., Kumamoto, Japan)과 100 µL 배지를 첨가하여 2시간 동안 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다. 450 nm에서 microplate reader (SynergyTM HT Multidetecation Microplate Reader, Agilent Technologies Inc., CA, USA)로 흡광도 측정을 통해 농도별 유청 시료를 첨가한 세포와 첨가하지 않은 세포의 세포생존율을 계산하였다.

8. 항산화능 측정

32번째 분열기의 Caco-2 세포를 1×10^4 개의 농도로 black 96-well plate에 분주한 후 superoxide dismutase (SOD) assay kit-WST (WST-1; (2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt)) (Dojindo Molecular Technologies, Inc)에서 제시하는 방법으로 WST working solution, enzyme working solution, sample solution을 준비하여 20분 동안 5% CO₂, 37°C에서 반응시켰다[10]. 그 후 450 nm에서 microplate로 흡광도 측정을 하여 농도별 유청 1%, 5%, 10%의 농도로 첨가한 세포의 SOD 효소 활성능을 arbutin 100 µg/mL에서의 항산화 활성과 비교하였다.

9. 분리균의 장내부착능 분석

동일 분열기의 세포를 사용하되 5×10^4 /mL 농도로 12-well plate에 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하여 단일세포층을 형성하게 하였다. *Lactobacillus rhamnosus* (KCCM 42756, Korean Culture Center of Microorganisms, Seoul, Korea) 균주를 대조균으로 사용하여 개발한 유제품에서 분리한 균에 대한 상대적 부착능을 분석하였다[11]. 각각의 균주는 MRS 액체배지에서 37°C 18시간 배양 후 358 g에서 4분, 4°C로 원심분리 하였다. 균체는 PBS (pH 7.2)로 3회 세척한 후 serum free MEM에 1×10^6 CFU/mL로 현탁하여 단일세포를 형성한 Caco-2 세포가 있는 12-well plate에 각각 0.3 mL씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 환경에서 2시간을 배양하였다. 그 후 단일 세포층을 PBS로 2회 세척한 후 0.2% Trypsin-EDTA (Thermo Fisher Scientific Inc)를 이용하여 부착 세포를 떼어낸 후, 0.4% trypan blue (Thermo Fisher Scientific Inc)로 염색하여 생균수를 계수하여 대조 유산균과 부착 정도를 비교하였다.

10. 통계분석

실험결과는 SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균값과 표준편차를 계산하고, one-way ANOVA를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 유의적인 차이를 검증하였다[12].

결 과

1. 무화과식초가 포함된 유제품의 유산균 생균 수

일반우유 또는 멸균우유에 무화과 식초를 1, 3, 5%의 농도별로 혼합하여 제조한 마시는 요거트, 리코타 치즈, 드레싱소스의 생균수는 MRS배지와 BCP가 포함된 PCA 배지에서 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/mL 이상으로 건강기능식품의 기준 및 규격의 기준치[13]를 만족하였다(Tables 1-3).

2. 무화과식초가 포함된 유제품의 유산균종 동정

분리된 유산균의 16S rRNA 유전자 염기서열 정보를 미국 국립생물정보센터(NCBI) GenBank 데이터베이스에 등록되어 있는 염기서열과 비교하여 제조된 유제품에서 분리된 유산균의 종을 동정한 결과, *Leuconostoc lactis*로 확인되었다(Table 4).

3. 무화과식초가 포함된 유제품에서 분리한 유청으로 인한

인간 대장세포주의 세포 생존율

인간 대장세포주인 Caco-2 cell에 아무런 처리를 하지 않았을 때의 세포수를 기준으로 하여 일반우유에 5% 무화과식초를 혼합하여 만든 리코타치즈에서 흡광도 측정을 용이하게 하기 위해 맑은 유청을 분리하여 농도별로 처리한 후 세포수를 비교하였다. 유청을 첨가하였을 때 생존율이 증가하는 경향을 보였고, 특히 10% 농도로 처리하였을 때 19% 가량 세포생존율이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 이는 유청이 세포에 독성으

로 작용하지 않는다는 의미로도 볼 수 있다($P<0.05$, Figure 1).

4. 무화과식초가 포함된 유제품에서 분리한 유청으로 인한

인간 대장세포주의 항산화능

농도별 유청이 SOD 효소 활성에 미치는 영향을 평가한 결과 Figure 2에 나타내었다. 항산화 활성능의 양성대조군으로 100 µg/mL arbutin을 처리한 경우, 약 93%의 항산화능을 보였으며, 유청을 1%, 5%, 10% 농도로 처리한 경우, 각각 25%, 30%, 58%의 항산화능을 가지는것으로 분석되었다(Figure 2).

Table 1. Viable cells (log CFU/mL) counts on drink yogurt from regular milk or sterilized milk with concentration of FV

Media	Viable cells (log CFU/mL)					
	DYM			DYSM		
	1% FV	3% FV	5% FV	1% FV	3% FV	5% FV
PCA with BCP	7.10±0.09*	7.23±0.09	8.31±0.05	7.23±0.07	7.27±0.03	8.16±0.03
MRS	7.78±0.03	7.14±0.12	8.4±0.07	7.29±0.04	7.39±0.04	8.26±0.08

*Mean±SD (N=3).

Abbreviations: DYM, drink yogurt from milk; DYSM, drink yogurt from sterilized milk; FV, *Ficus carica* vinegar; PCA, plate count agar; BCP, bromocresol purple; MRS, Lactobacilli MRS agar.

Table 2. Viable cells (log CFU/mL) counts on ricotta cheese from regular milk or sterilized milk with concentration of FV

Media	Viable cells (log CFU/mL)					
	RCM			RCSM		
	1% FV	3% FV	5% FV	1% FV	3% FV	5% FV
PCA with BCP	7.31±0.11*	7.36±0.09	7.92±0.14	7.45±0.07	7.61±0.06	7.64±0.01
MRS	7.75±0.03	8.02±0.05	8.38±0.05	7.55±0.18	7.64±0.03	8.22±0.01

*Mean±SD (N=3).

Abbreviations: RCM, ricotta cheese from milk; RCSM, ricotta cheese from sterilized milk; See Table 1.

Table 3. Viable cells (log CFU/mL) counts on dressing sauce with concentration of FV

Media	Viable cells (log CFU/mL)			
	Whey from RCM with 5% FV		Whey from RCSM with 5% FV	
	10% FV	20% FV	10% FV	20% FV
PCA with BCP	7.53±0.04*	7.35±0.03	6.82±0.07	6.49±0.05
MRS	7.35±0.10	7.12±0.09	6.61±0.01	6.38±0.08

*Mean±SD (N=3).

Abbreviation: See Table 1.

Table 4. Sequence similarity of bacteria from drink yogurt from regular milk with 5% FV

Identity GenBank	Accession No.
<i>Leuconostoc lactis</i> strain CBA3625 chromoseom	NZ_CP042387.1

5. 무화과식초가 포함된 유제품에서 분리한 유청 내 유산균의 장내 세포 부착능

프로바이오틱스는 위와 십이지장을 지나 장에 안정적으로 부착해야만 그 기능을 발휘할 수 있는 것으로 판정한다. 그러므로 이를 확인하기 위해 인체의 소장 상피세포와 흡사하게 증식되는

Caco-2 cell line을 사용하였고, 일반적으로 사용되는 상업균 주로서 *L. rhamnosus*를 대조군으로 하여 상대적 부착능을 확인하였다. 그 결과 *L. rhamnosus*의 부착력을 100%로 하였을 때 유청에서 분리한 *Leuconostoc lactis*는 14% 가량 부착능이 더 우수한 것으로 분석되었다(Figure 3). 이로써 제조한 유제품에서 분리한 균이 프로바이오틱스의 소재로서의 기본 요건을 충

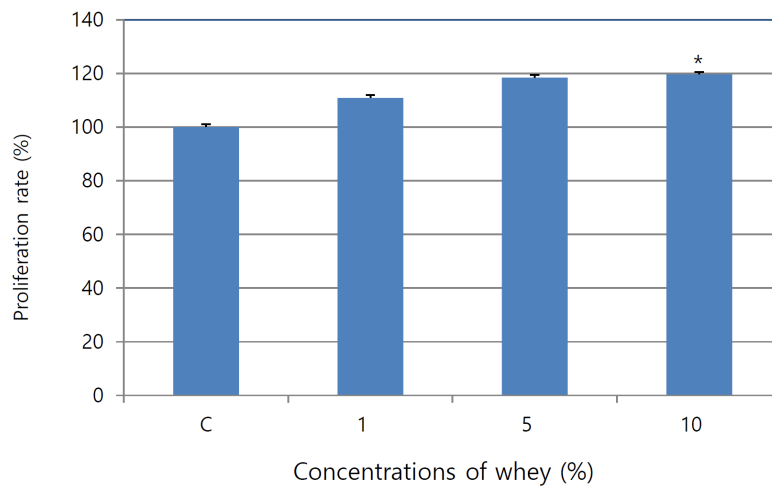


Figure 1. Percent of proliferation rate by concentration of whey from separated with ricotta cheese at Caco-2 cell line. Data are presented as mean±SD (N=3). * $P<0.05$; P -values were calculated by paired Student t test. Abbreviation: C, control.

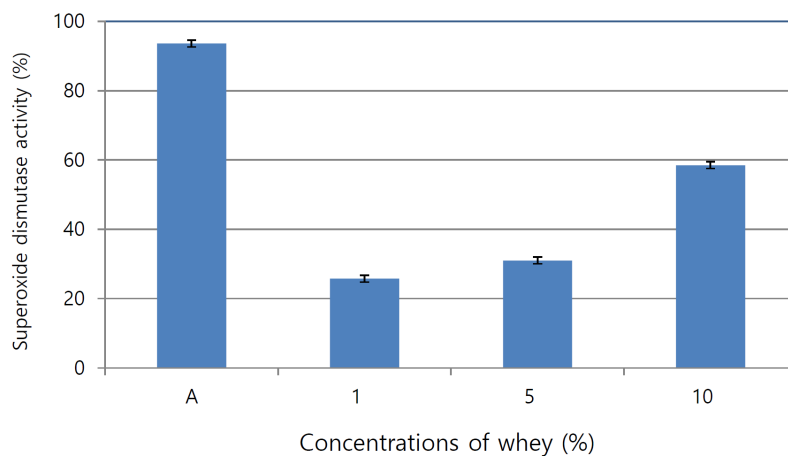


Figure 2. Superoxide dismutase activity by concentration of whey from separated with ricotta cheese at Caco-2 cell line. Each bar showed the mean±SD (N=3). P -values were calculated by paired Student t test. $P=NS$. Abbreviation: A, 100 µg/mL arbutin.

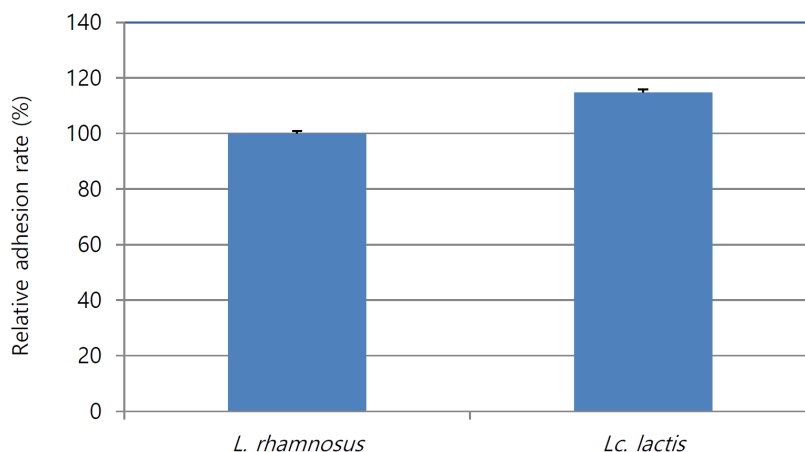


Figure 3. Adhesion ability of *Leuconostoc lactis* from whey from separated with ricotta cheese at Caco-2 cell line. Each bar showed the mean±SD (N=3). P -values were calculated by paired Student t test. $P=NS$.

속한 결과로 판단할 수 있다.

고 찰

사람의 장관은 수백 종 이상의 매우 다양한 미생물이 서식하고 있는 복잡한 환경이다. 연구결과들에 따르면 염증성 장염(inflammatory bowel disease, IBD), 과민성장증후군(irritable bowel syndrome, IBS) 등과 같은 장관 질환을 자주 겪는 사람의 장내 미생물은 건강한 사람의 장내세균총과 상당히 다를 수 있다[13, 14]. 유산균이 대표적으로 장내세균총을 건강하게 변화시킬 수 있는 것으로 많은 보고가 있으며, *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*과 같은 생균을 프로바이오틱스(Probiotics)라고 부른다. 프로바이오틱스로 인정받기 위해서는 위산과 담즙산이 있는 환경에서도 살아남아 소장까지 도달하여 장에서 증식하고 정착할 수 있어야 하며, 장관 내에서 효과가 입증되어야 한다. 대표적으로 과민성 대장증후군과 같은 위장관 질환의 개선 효과가 뛰어나며 알리지 반응을 개선시키는 효과를 바탕으로 대체의학에서 프로바이오틱스 유산균을 이용한 치료를 장려하고 있다. 뿐만 아니라 면역체계를 조절하고 혈중 콜레스테롤 저하, 항암 작용, 혈압조절, 체중감소 등 다양한 효능에 관한 연구결과가 있다[15-18]. 또한 인간을 포함해 동식물과 토양, 바다, 대기 등에 공존하고 있는 미생물의 군집, 즉 미생물(micobe)과 생태계(biome)의 합성어로 “마이크로바이옴”이라고 부른다. 마이크로바이옴의 상용화는 유산균 음료를 판매하는 식음료 시장에서부터 시작되었다[19, 20].

각 제품에서 생균수를 측정한 결과 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/mL 이상으로 식품의 기준 및 규격의 기준치를 만족하였으며, 분리된 유산균은 *Leuconostoc lactis*로 확인되었다. *Leuconostoc*은 주로 유제품과 채소가 발효될 때 이용되는 유산균이며[21], 또한 우리나라의 대표적인 전통 발효음식인 김치에서 주로 분리되는데 김치에 존재하는 *Leuconostoc* spp.의 가장 큰 특징은 dextran 식이섬유를 스스로 만들어낸다는 것이다[22, 23]. 그러므로 본 연구에서 제조한 유제품은 김치에서 주로 생성되는 유산균을 생성하며, 이에 상응하는 효과로 장 건강에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

또한 프로바이오틱스는 위와 십이지장을 지나 장에 안정적으로 부착해야만 그 기능을 발휘할 수 있는 것으로 판정한다. 그러므로 이를 확인하기 위해 인체의 소장 상피세포와 흡사하게 증식되는 Caco-2 세포주를 사용하여 세포생존율을 관찰한 결과, 유청을 10% 농도로 처리하였을 때 19% 가량 세포생존율이 증

가함에 따라 유청이 대장세포에 유해하지 않으며, 세포증식을 돕는다고 볼 수 있다. 더불어 유청을 1%, 5%, 10% 농도로 처리한 경우, 각각 약 25%, 30%, 58%의 항산화능을 보였다. 대장세포로의 부착능을 분석한 결과, 유청에서 분리된 *Leuconostoc lactis*가 우수한 부착능을 보여줌에 따라 유청이 마이크로바이옴으로써 기본 요건을 충족한 결과로 판단할 수 있으며, 나아가 무화과발효식초만으로도 대장세포에 미치는 영향이 있는지 비교 연구할 필요가 있는 것으로 사료된다.

요 약

다양한 건강기능식품 중 프로바이오틱스는 전 세계적으로 가장 방대한 시장을 이루고 있으며, 장 건강이 우리 몸의 전반적인 면역작용을 조절하며 질병을 예방하고, 나아가 치료에 도움을 줄 수 있다는 연구결과에 따라 지속적으로 프로바이오틱스에 대한 관심이 증가하고 있다. 본 연구에서는 무화과식초가 가진 항균능을 이용하여 유제품과 드레싱 소스를 개발하여 그 선호도를 조사하고 대장세포에 미치는 영향을 분석하고자 하였다. 일반 우유에 5% 무화과식초를 첨가하였을 때 마시는 요거트와 리코타치즈에 대한 가장 만족도가 높았다. 제조된 유제품에서 분리한 균은 *Leuconostoc lactis*이며 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$ CFU/mL 이상의 세균수가 측정되어 식품의 기준 및 규격의 기준치를 만족하였다. 인체의 소장 상피세포와 흡사하게 증식되는 Caco-2 세포주에서 세포생존율을 관찰한 결과, 유청을 10% 농도로 처리하였을 때 세포생존율이 19% 가량 유의적으로 증가하였다. 농도별로 유청을 처리하였을 때 최대 58%의 항산화능을 보였다. 또한 유청에서 분리된 *Leuconostoc lactis*는 우수한 부착능이 관찰됨에 따라 장건강에 도움을 주는 유제품임을 확인하였다.

Acknowledgements: This work was supported by the Samyang Igeon Scholarship Foundation Research Grant in 2021.

Conflict of interest: None

Author's information (Position): Heo JH, Professor.

REFERENCES

1. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation, Geneva and Rome: World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2006 [cited 2022 June 1].

- Available from: <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>
2. Ministry of Food and Drug Safety. Announcement of standards and specifications of health functional food Notification 2008-12 [Internet]. Seoul: Ministry of Food and Drug Safety; 2008 [cited 2022 June 2]. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_824/view.do?seq=41221&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=55
 3. Kang CH, Han SH, Kim YG, Jeong Y, Paek NS. Antibacterial activity and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods. *KSBBJ*. 2017;32:199-205. <http://doi.org/10.7841/ksbbj.2017.32.3.199>
 4. Seo JG, Lee GS, Kim JE, Chung MJ. Development of probiotic products and challenges. *KSBBJ*. 2010;25:303-310.
 5. Yi MR, Kang CH, Bu HJ. Acetic acid fermentation properties and antioxidant activity of lemongrass vinegar. *Korean J Food Preserv*. 2017;24:680-687. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.5.680>
 6. Chung BH, Seo HS, Kim HS, Woo SH, Cho YG. Antioxidant and anticancer effects of fermentation vinegars with *Phellinus linteus*, *Inonotus obliquus*, and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Medicinal Crop Sci*. 2010;18:113-117.
 7. Bang SI, Gwon GH, Cho EJ, Lee AY, Seo WT. Characteristics of fermented vinegar using mulberry and its antioxidant activity. *Korean J Food Preserv*. 2020;27:651-662. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2020.27.5.651>
 8. Heo JH. Antibacterial effect of various fermentation products and identification of differentially expressed genes of *E. coli*. *Korean J Clin Lab Sci*. 2022;54:119-124. <http://doi.org/10.15324/kjcls.2022.54.2.119>
 9. Galkiewicz JP, Kellogg CA. Cross-kingdom amplification using bacteria-specific primers: complications for studies of coral microbial ecology. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74:7828-7831. <http://doi.org/10.1128/AEM.01303-08>
 10. Park MH, Choi YJ, Kim M, Kang HJ, Kam MY, Jung KI. Antioxidant and anti-inflammatory effects of mulberry (*Morus alba*) juice prepared using slow-speed masticating household juicer. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2020;49:444-453. <http://doi.org/10.3746/jkfn.2020.49.5.444>
 11. Lim YS, Kim J, Kang H. Isolation and identification of lactic acid bacteria with probiotic activities from Kimchi and their fermentation properties in milk. *J Milk Sci Biotechnol*. 2019;37:115-128. <http://doi.org/10.22424/jmsb.2019.37.2.115>
 12. Oh, HS, Kang ST. Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt added with acanthopanax powder. *Korean J Food Sci Technol*. 2015;47:765-771. <http://doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.6.765>
 13. Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Mäkituokko H, Rinttilä T, Paulin L, Corander J, et al. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*. 2007;133:24-33. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.04.005>
 14. Young VB, Schmidt TM. Antibiotic associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota. *J Clin Microbiol*. 2004;42:1203-1206. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1203-1206.2004>
 15. Aihara K, Kajimoto O, Hirata H, Takahashi R, Nakamura Y. Effect of powdered fermented milk with *Lactobacillus helveticus* on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. *J Am Coll Nutr*. 2005;24:257-265. <https://doi.org/10.1080/07315724.2005.10719473>
 16. Park SY, Seong KS, Lim SD. Anti-obesity effect of yogurt fermented by *Lactobacillus plantarum* Q180 in diet-induced obese rats. *Korean J Food Sci An*. 2016;36:77-83. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.1.77>
 17. Puebla-Barragan S, Reid G. Probiotics in cosmetic and personal care products: trends and challenges. *Molecules*. 2021;26:1249. <https://doi.org/10.3390/molecules26051249>
 18. Amara AA, Shibl A. Role of probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharm J*. 2015;23:107-114. <https://doi.org/10.1016/j.sjps.2013.07.001>
 19. Ogunrinola GA, Oyewale JO, Oshamika OO, Olasehinde GI. The human microbiome and its impacts on health. *Int J Microbiol*. 2020;2020:8045646. <https://doi.org/10.1155/2020/8045646>
 20. Pasternak S, Khlebopros R. Scientometric analysis of human microbiome project. *J Sib Fed Univ-Humanit Soc Sci*. 2017;10:1076-1082. <https://doi.org/10.17516/1997-1370-0116>
 21. De Santis D, Giacinti G, Chemello G, Frangipane MT. Improvement of the sensory characteristics of goat milk yogurt. *J Food Sci*. 2019;84:2289-2296. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14692>
 22. Son MJ, Lee SP. Effects of various polysaccharides on the physicochemical properties of the dextran culture containing carrot juice residue obtained from submerged culture using *Leuconostoc citreum* S5. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2009;38:352-358. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.3.352>
 23. Kim YM, Yeon MJ, Choi NS, Chang YH, Jung MY, Song JJ, et al. Purification and characterization of a novel glucansucrase from *Leuconostoc lactis* EG001. *Microbiol Res*. 2010;165:384-391. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.005>