

흡착 공정을 활용한 홍경천(*Rhodiola sachalinensis*) 유산균 발효물의 이화학적 특성 및 항산화 활성

성수경 · 이영경 · 조장원 · 이영철 · 김영찬 · [†]홍희도
한국식품연구원

Physicochemical Properties and Antioxidative Activity of Lactic Acid Bacteria Fermented *Rhodiola sachalinensis* using Adsorption Process

Su-Kyung Sung, Young-Kyung Rhee, Chang-Won Cho, Young-Chul Lee, Young-Chan Kim and [†]Hee-Do Hong
Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

Abstract

Rhodiola sachalinensis fermentates by lactic acid bacteria were prepared using the adsorption process, and were investigated for changes of the main compounds and anti-oxidative activities during the adsorption and fermentation process. While the *R. sachalinensis* extract (RSE), which did not go through the adsorption process, showed little change in pH during fermentation and a significant reduction in the number of lactic acid bacteria, the pre-preparatory adsorption process was found to be helpful for promoting fermentation and for maintenance of bacterial numbers. The contents of total phenolic compounds mostly decreased during the adsorption process, but showed an increasing tendency to rebound during the fermentation process. The contents of salidroside and *p*-tyrosol in the RSE were 1153.3 mg% and 185.0 mg% respectively, and they did not significantly change after treatment with acid clay or bentonite as adsorbents, which were 1093.0 and 190.5 mg% by acid clay, and 882.2 and 157.3 mg% by bentonite. When the extract was fermented after treatment with acid clay or bentonite, the salidroside contents were decreased by 282.7 and 505.0 mg% respectively, but the *p*-tyrosol contents were increased by 714.0 and 522.4 mg% respectively. Compared to the DPPH radical scavenging activity of the RSE (66.8%) at the conc. of 0.1%, that of the fermented RSE, which went through adsorption process with acid clay or bentonite, was significantly increased to 79.4 and 72.7% respectively at the same concentration ($p < 0.05$). Though fermentation by lactic acid bacteria was suppressed in the RSE, the results suggested that the adsorption process may promote fermentation without any change in the content of major active compounds. It is expected that fermentation by lactic acid bacteria could improve the antioxidant activity and various associated functionalities of *R. sachalinensis*.

Key words: *Rhodiola sachalinensis* A. Bor., adsorbent, lactic acid bacteria, fermentation, antioxidant activity

서 론

홍경천(*Rhodiola sachalinensis* A. Bor.)은 고산지대에 주로 서식하는 들나물과(Crassulacace) 들꽃속(*Rhodilola*) 다년생 초본식물로 중국을 비롯한 동북아시아, 유럽, 북아메리카 일부 지역에서 자생하며, 주로 뿌리와 줄기를 약용으로 활용하여

왔다(Jiang 등 1994; Ranossian 등 2010). 특히 우리나라 백두산을 중심으로 한 고산지대에 서식하는 홍경천(*R. sachalinensis*)의 경우 일교차가 크고 건조하며, 산소가 희박하고, 자외선이 강한 고산지대의 환경에서도 생존할 수 있는 특수한 적응력을 가지고 있어 고산 경천 또는 고산 홍경천 등의 별명으로도 불리기도 하였다. 민간에서는 주로 진정제, 해열제, 수렴제

[†] Corresponding author: Hee-Do Hong, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea. Tel: +82-31-780-9285, Fax: +82-31-709-9876, E-mail: honghd@kfri.re.kr

등으로 활용되었으며, 그 밖에도 원기 회복, 수명 연장, 인체 내 대사촉진 등 다양한 효능을 지닌 생약제로 알려져 왔으며 (Han YK 1999; Choi 등 2004), 특히 중국에서는 신경계를 자극시켜 우울증을 개선시키고, 작업능률을 향상시키며, 고산병 예방 및 수면 개선 등의 효과가 있는 생약재로도 잘 알려져 있다(Stancheva & Mosharraf 1987; Ming 등 1988a). 홍경천의 주요 약리 성분으로 salidroside와 *p*-tyrosol를 함유하고 있으며, 이외에도 monoterpene hydrocarbon 등의 정유 성분, geraniol 등의 monoterpene류와 배당체, 유기산류, 탄닌 성분과 같은 폴리페놀화합물, 단백질 등이 있다(Ranossian 등 2010). 특히, salidroside는 무산소증, 피로를 개선시키고 노화 지연 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Saratikov AS 1968; Ming 등 1998b; Lee 등 2000). 홍경천의 또 다른 주요 성분인 *p*-tyrosol은 기능성과 체내 흡수성이 높으며, salidroside의 비배당체로 조직 내에서의 과산화지질의 생성을 현저하게 억제하여 성인병 및 노화를 방지한다고 알려져 있다(Giovannini 등 1999; Miró-Casas 등 2003). 국내에서도 2000년대 초부터 홍경천의 생육조건 등 재배기술 관련 연구(Hong 등 2003; Lee 등 2008) 홍경천의 성분(Lee 등 2002; Jeon 등 2004)과 항산화(Bae SJ 2005), 항암(Ha 등 2009a), 항피로(Jung 등 2008), 면역력 증진 활성(Ha 등 2009b), 간독성 보호작용(Lee 등 2005), 항균활성(Sim 등 2004), 항돌연변이성(Cui 등 2003), 미백활성(Choi 등 2004), 항당뇨활성(Choi 등 2005) 등의 다양한 연구가 진행되어 왔으며, 최근 들어 홍경천을 원료로 한 개별 인증형 식품이 등록되기도 하였다. 그러나 현재까지의 연구는 홍경천의 주요성분 및 메탄올 추출물 등 특정 성분의 생리활성(Park 등 2005)에 관한 내용이 주를 이루고 있으며, 홍경천을 이용한 다양한 제품 개발 및 기능성 향상을 위한 공정개발 연구는 미진한 편이다. 최근 들어 유산균 발효를 이용한 천연소재 추출물의 활성 성분 함량 및 생리활성의 증가를 위한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 인삼, 쌀, 알로에, 녹차, 복분자, 비타민 A와 C 등 다양한 식품소재를 유산균으로 발효시켜 기능성 강화는 물론이고, 관능적 품질을 향상시킨 발효 식품을 개발하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다(Lee & Park 2003; Park & Jang 2003; Ahn 등 2009; Kannan 등 2011). 유산균은 그 자체로 정장, 항암, 면역증진, 항균 등 다양한 생리활성이 알려져 있고, 다양한 발효식품 또는 생균제의 형태로 섭취되어 우리 몸에 유익한 작용을 하는 probiotics의 대표적인 미생물로 *Lactobacilli* 및 *Bifidobacterium*과 같은 유산균은 면역조절, 위장 기능 개선 등 다양한 질병 예방효과와 생리조절 작용을 하는 것으로 밝혀진 건강 기능성 식품소재이다(Baek YJ 1993; Goldin BR 1998; Park & Oh 2005; Park 등 2009).

따라서 본 연구에서는 그 자체로는 발효되지 않는 홍경천 추출물의 유산균 발효를 촉진시키기 위한 전처리 공정으로

흡착처리 공정을 적용하여 보았으며, 유산균 발효 전후 생물 전환을 통한 기능성 증진 효과를 주요 활성성분 함량 분석 및 항산화활성 변화를 살펴봄으로써 검토해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

홍경천은 2011년 중국 연변대학교에서 백두산 자생 홍경천을 제공받아 실험실용 분쇄기(Cyclotec™ 1093, FOSS Co., Denmark)로 미분쇄하여 사용하였다. 홍경천 발효를 위한 흡착제는 활성탄(Shin Ki Chemical Industries Co., Ltd., Seoul, Korea), 활성백토(Yakuri Pure Chemical Co., Ltd., Kyoto, Japan), 산성백토(Yakuri Pure Chemical Co., Ltd., Kyoto, Japan), Dowex MWA-1(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 산화알루미늄(Wako Pure Chemical Industries, Ltd, Japan), Diaion HP-2MG (Mitsubishi Chemical, USA), 제올라이트(Wako Pure Chemical Industries, Ltd, 75 μm(200 mesh), Japan), Amberlite IRC-50(Fluka A.G., CH-9470 Buchs, 32~45 mesh, Switzerland), 규조토(Dae Jung Chemical & Metals Co., Ltd, 32~45 mesh, Gyonggi-do, Korea), 벤토나이트(Dae Jung Chemical & Metals Co., Ltd., Gyonggi-do, Korea), Amberlite XAD-4(Sigma Chemical Co., 20~60 mesh, St. Louis, MO, USA), Amberlite XAD-7(Sigma Chemical Co., 20~60 mesh, St. Louis, MO, USA) 등 총 12종을 시중에서 구입하여 사용하였다. 홍경천 발효를 위한 균주는 한국식품연구원 균주은행에 보관 중인 *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128을 분양받아 사용하였으며, 미생물 배양 및 보존에 사용된 배지는 모두 Difco(Detroit, MI, USA)의 제품을 사용하였다. 항산화 활성 평가를 위해 사용된 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)는 Sigma(Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, 비교 시료로 사용된 비타민 C는 Dae Heung(Gyonggi-do, Korea)으로부터 구입하여 사용하였다.

2. 홍경천 추출물 조제

홍경천 분말 100 g에 증류수 1 l를 가하여 90°C에서 3시간 동안 추출 후 상온에서 냉각시키고, 원심분리기(Mega 17R, Hanil Science Industrial Co. Ltd., Gyonggi-do, Korea)를 이용하여 6,500×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 홍경천 추출물로 하여 흡착 공정 및 홍경천 발효에 이용하였다.

3. 홍경천 흡착 처리 공정

홍경천 추출물 100 ml에 0~35%의 흡착제를 넣고 상온에서 16~24시간 교반시킨 후 6,500×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 여과한 다음 홍경천 발효를 위한 배양액으로 사용하였다.

4. 유산균 발효

흡착 공정을 거친 홍경천 추출물을 고압멸균기(Mega Science Co., MG-6845, Gyonggi-do, Korea)를 이용하여 121°C, 15분간 멸균한 후 활성화된 유산균을 1%(1.0×10^6 CFU/ml) 접종한 다음 37°C에서 24~48시간 동안 배양하였다. 발효 종료 후 101°C에서 10분간 살균과정을 거친 발효액을 동결건조기(Tokoyo Rikakikai Co. Ltd., FD-1000, Tokyo, Japan)로 건조한 후 얻은 홍경천 발효물을 성분 분석 및 항산화 활성을 평가하기 위한 시료로 사용하였다. 이때 홍경천 발효물의 최종수율은 원시료 대비 건물 기준으로 2.18%이었다.

5. 적정산도(Titrable acidity, TA)와 pH

발효 중 유산균의 산 생성을 조사하기 위해 pH meter(pH meter 430, Corning, West chester, USA)를 사용하였고, 발효액의 적정산도는 식품공전 방법(1999)에 준하여 측정된 후 lactic acid의 양으로 환산하여 나타내었다.

6. 이화학적 특성

총당 함량은 D-glucose를 표준물질로 하여 phenol sulfuric acid법(Dubois M 등 1956)으로 측정하였다. 즉, 홍경천 추출물, 흡착 처리한 홍경천 추출물, 홍경천 발효물 및 표준물질을 1%(w/v)로 증류수에 녹인 시료 용액 1 ml에 5% phenol 1 ml를 가하였다. 여기에 sulfuric acid 5 ml를 가하여 실온에서 30분간 반응한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선으로부터 구해진 glucose의 비율로 총당 함량을 계산하였다.

산성당 함량은 D-galacturonic acid를 표준물질로 하여 m-hydroxydiphenyl법(Blumenkronz N & Asboe-Hansen 1973)으로 측정하였다. 즉, 홍경천 추출물, 흡착 후 홍경천 추출물, 홍경천 발효물 및 표준물질을 1%(w/v)로 증류수에 녹인 시료 용액 0.5 ml에 sulfuric acid 3 ml를 가하여 100°C water bath(Daihan Pharm Co. Ltd., WB 000111, Seoul, Korea)에서 5분간 반응한 후 실온에서 냉각시킨 다음 m-HBP 시약 50 μ l를 가한 후, 실온에서 5분간 반응시켜 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 검량선으로부터 구해진 galacturonic acid의 비율로 산성당 함량을 계산하였다.

폴리페놀 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 것을 이용한 Folin Denis법(Swain & Hillis 1959)을 일부 변형시켜 측정하였다. 즉, 홍경천 추출물, 흡착 후 홍경천 추출물, 홍경천 발효물 및 표준물질을 1%(w/v)로 증류수에 녹인 시료 용액 0.1 ml에 증류수 5 ml를 가한 다음 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 ml를 첨가하여 혼합하였다. 여기에 20% Na_2CO_3 1.5 ml를 가한 다음 증류수 2.9 ml를 첨가한 후 실온에서 2시간 반응시켜 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 폴리페놀 화합물은 gallic acid를 이

용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

7. 활성성분 분석

홍경천의 주요 성분인 salidroside와 *p*-tyrosol를 분석하기 위하여 표준물질과 동결 건조된 각각의 시료 0.1 g을 메탄올 10 ml에 녹인 후, 막여과지(PP, 0.45 μ m, Whatman International Ltd., Maidstone, England)로 여과하여 HPLC(Jasco Co., Japan) 분석에 사용하였다. 컬럼은 Waters SunfireTM C₁₈(4.6×250 mm i.d., 5 μ l, MA, USA)을, 이동상으로는 20% 메탄올(v/v)을 사용하였으며, 시료 주입량은 20 μ l, 유속은 1 ml/min로 하고, 자외선 검출기 흡광파장은 278 nm로 설정하여 분석하였다.

8. DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거능 측정은 Blois의 방법(1958)을 일부 변형하여 다음과 같이 측정하였고, 비교시료는 항산화 물질로 널리 알려져 있는 비타민 C를 사용하였다. 메탄올에 농도별(0.1, 1.0%)로 녹인 시료액 400 μ l에 에탄올 280 μ l와 0.4 mM DPPH 용액 800 μ l를 가하여 실온에서 20분간 반응한 후 ELISA reader(Bio-Rad, Hercules, model 680, CA, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 발효액의 DPPH 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조군(Control)과 시료 첨가구의 흡광도 차이를 비교하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = (\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}) / \text{Control O.D.} \times 100$$

9. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 시행하였으며, 통계 처리는 Statistical Analysis System(SAS, version 8.12) program(SAS Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며, Duncan's multiple range test로 각 시료 간의 유의차를 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 흡착 처리 공정에 의한 홍경천 추출물 발효시 pH 및 산도에 미치는 영향

홍경천의 유산균 발효 중 pH 변화를 살펴보기 위하여 홍경천 추출물에 *L. acidophilus* KFRI 128을 접종하고, 37°C에서 24~48시간 배양한 후 pH 및 산도를 측정하였다. 발효 전 홍경천의 pH는 6.5, 산도는 0.04%였고, 유산균에 의해 발효된 홍경천의 pH는 24시간 후 6.0, 48시간 후 5.9, 적정산도는 0.04%로 발효 전과 후의 pH 차이가 거의 없어 발효가 일어나지 않은 것으로 나타났다. 인삼, 홍삼, 감귤, 한약재 등의 식품 소재들은 유산균이 영양분으로서 효과적으로 이용할 수 있

어 발효 제품에 적용할 수 있는 pH 및 적정 산도를 나타내고 있지만(Park & Jang 2003; Kannan N 등 2011), 홍경천은 다른 천연 생약재와 같이 우수한 생리활성성분을 가지고 있음에도 불구하고, 발효가 거의 진행되지 않는 것은 홍경천에 유산균 생육을 억제하는 물질을 함유하고 있거나, 미생물이 영양분으로서 효과적인 이용이 되지 못하기 때문이라 판단하여 식품가공에 이미, 이취 및 탈색 제거에 많이 활용되고 있는 흡착제를 이용하여 홍경천 발효를 시도해 보았다(Chue 등 1995; Kwak 등 2001). 본 연구에 사용된 흡착제는 활성탄, 백토류, 점토류 및 이온교환 수지 등으로, 그 중 활성탄은 다양한 종류의 유기화합물을 흡착하므로 냄새, 색깔을 유발하는 화합물을 제거하기 위한 용도로 사용된다(Chue 등 1995). 점토에 산을 처리하여 흡착, 탈색하여 촉매작용 등의 능력을 높인 활성점토는 주로 방향족 탄화수소 제거용으로, 산성백토는 식품의 탈색 용도로 활용되고 있으며, 이온교환수지는 (+), (-)의 극성을 이용하여 불순물의 이온의 제거, 경수 연화, 유지, 가스 등의 정제, 각종 이온의 분리 추출 외에 이온의 치환 또는 촉매 등에 활용되고 있다(Kwak 등 2001).

흡착제를 이용하여 홍경천 추출물의 유산균 발효에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 1과 같다. 활성탄, 활성백토, 산성백토, Dowex MWA-1, 산화알루미늄, Diaion HP-2MG, 제올라이트, Amberlite IRC-50, 규조토, 벤토나이트, Amberlite

Table 1. Changes on pH and titrable acidity of *Rhodiola sachalinensis* extracts by adsorption process and *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128 fermentation

Absorbent	pH		Acidity (%)	
	24hr	48hr	24hr	48hr
RSE ¹⁾	6.04±0.03 ²⁾	5.86±0.01	0.04±0.001	0.04±0.002
Active carbon	5.31±0.02	4.90±0.02	0.05±0.001	0.05±0.002
Clay activated	6.02±0.01	5.71±0.01	0.03±0.001	0.05±0.002
Acid clay	4.92±0.01	4.52±0.01	0.08±0.001	0.19±0.001
Dowex MWA-1	4.14±0.01	3.41±0.02	0.15±0.001	0.35±0.003
Aluminum oxide	5.67±0.01	5.34±0.01	0.03±0.001	0.04±0.002
Diaion HP-2MG	3.90±0.01	3.72±0.03	0.18±0.001	0.29±0.002
Zeolite	5.51±0.01	5.24±0.01	0.05±0.001	0.07±0.001
Amberlite IRC-50	5.20±0.01	5.23±0.01	0.05±0.001	0.06±0.001
Diatom earth	5.22±0.02	4.89±0.03	0.05±0.002	0.08±0.001
Bentonite	4.68±0.01	4.28±0.01	0.10±0.001	0.23±0.001
Amberlite XAD-7	5.44±0.01	5.06±0.02	0.03±0.002	0.06±0.002
Amberlite XAD-4	7.00±0.01	7.07±0.01	0.02±0.001	0.03±0.002

¹⁾ RSE: Water extract of *Rhodiola sachalinensis*, which did not go through adsorption process.

²⁾ Values are mean±S.D. (n=3).

XAD-4, Amberlite XAD-7 등의 흡착제를 처리한 홍경천 추출물의 pH를 유산균 발효를 위한 초기 pH인 6.5로 조정한 다음 발효하였다. Amberlite XAD-7 흡착제를 제외하고는 대체로 흡착 공정을 거친 홍경천 추출물의 경우, 유산균 발효에 의해 pH가 낮아지는 것을 볼 수 있었으며, 특히 산성백토로 흡착 처리시 48시간 발효 후의 pH는 4.52, 벤토나이트 흡착 처리시 48시간 발효 후의 pH는 4.28로 낮아졌다. 특히 이온교환 수지인 Dowex MWA-1 및 Diaion HP-2MG 흡착 처리시 48시간 발효 후의 pH는 각각 3.41, 3.72로 가장 낮아졌음을 알 수 있었다. 일반적으로 유산균 발효과정 중 pH 감소 현상은 발효가 진행됨에 따라 생성되는 acetic acid, propionic acid, butyric acid, citric acid 등 유기산들의 증가에 의한 것으로 알려져 있으며(Lee & Park 2003), 실제 적정산도를 측정된 결과, 초기 산도 0.04%에서 산성백토, 벤토나이트, Dowex MWA-1 및 Diaion HP-2MG으로 흡착 처리 후 발효물의 산도는 각각 0.19, 0.23, 0.35, 0.29%로 증가하는 것으로 나타났다.

2. 흡착 처리 공정에 의한 홍경천 추출물 발효시 유산균 생육에 미치는 영향

산성백토, 벤토나이트, Dowex MWA-1 및 Diaion HP-2MG를 이용하여 흡착 공정을 거친 홍경천 추출물의 발효 중 유산균수 변화를 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. 유산균 최초 접종량 3.1×10^6 CFU/ml에서 흡착 처리하지 않은 홍경천 추출물(대조군)의 유산균 발효시 1일째부터 생균수가 7.31×10^3 CFU/ml로 감소하기 시작하여 발효 2일째 6.10×10^2 CFU/ml 수준

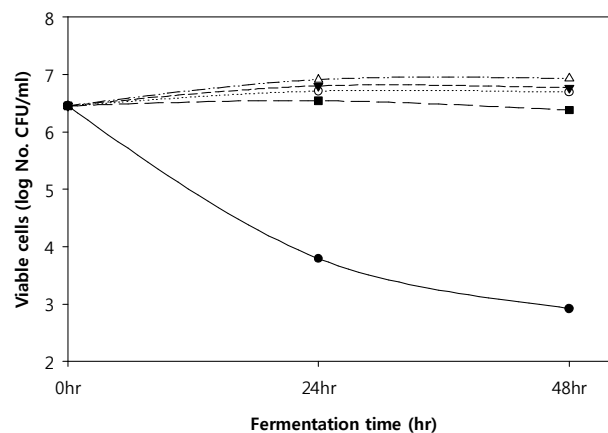


Fig. 1. Changes on viable cell counts of fermented *Rhodiola sachalinensis* extract by adsorption process and *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128 fermentation. -●-; RSE (Water extract of *Rhodiola sachalinensis*, which did not go through adsorption process), -○-; Acid clay adsorption treatment, -▼-; Dowex MWA-1 adsorption treatment, -△-; Bentonite adsorption treatment, -■-; Diaion HP-2MG adsorption treatment.

까지 현저히 낮아진 것으로 나타났다. 반면, 흡착제로 산성박토를 처리한 홍경천의 유산균 발효시 생균수는 24시간 후 5.14×10^5 CFU/ml, 48시간 후 5.01×10^5 CFU/ml이었으며, Dowex MWA-1 처리시 24시간 후 5.01×10^5 CFU/ml, 48시간 후 5.85×10^5 CFU/ml, Diaion HP-2MG 처리시 24시간 후 8.53×10^5 CFU/ml, 48시간 후 9.61×10^5 CFU/ml, 벤토나이트로 처리시 24시간 후 8.41×10^5 CFU/ml, 48시간 후 8.52×10^5 CFU/ml의 유산균수를 나타내어 발효가 진행되면서 초기 균수가 다소 낮아지기는 하였으나, 흡착 처리전의 홍경천 추출물과 비교해 볼 때 흡착 처리가 홍경천 추출물의 유산균 증식과 발효를 촉진시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

3. 흡착제의 적정 처리량

흡착 공정을 통한 홍경천 추출물의 최적 발효조건을 확립하고자 이를 위하여 앞선 연구에서 가장 우수한 흡착제 처리 효과를 나타낸 산성박토와 벤토나이트를 대상으로 검토해 보았다. 산성박토 및 벤토나이트의 처리량이 홍경천 추출물의 유산균 발효에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 홍경천 추출물 100 ml 당 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 g씩 처리하여 하루 동안 흡착 처리시킨 후 여과한 배양액에 유산균을 접종하고 48시간 동안 발효시키면서 발효물의 pH 변화를 살펴본 결과는 Fig. 2와 같다. 그 결과 홍경천 추출물 대비 산성박토 흡착 처리량을 0~25%까지 증가시킬수록 유산균 발효로 인한 pH 값은 낮아지는 경향을 나타내었으며 25% 이상에서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 벤토나이트도 산성박토와 유사한 경향을 나타내어 전체적으로 최적 흡착제 처리량은 홍경천 추출물 100 ml 당 25 g 정도가 가장 적합한 것으로 판단되었다.

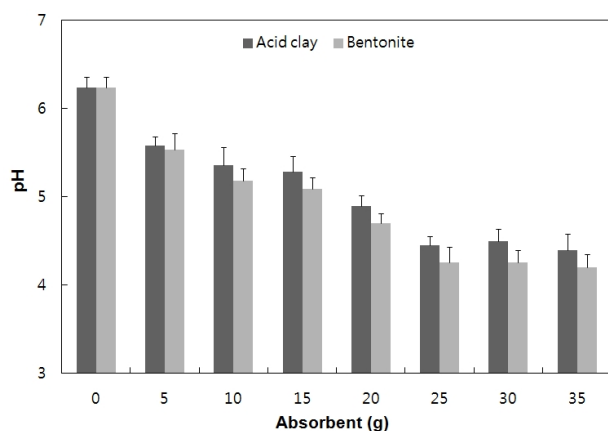


Fig. 2. Change on pH of *Rhodiola sachalinensis* extracts (1% solid content) 100 ml with different amount of adsorbents. Data values are mean±standard deviation (n=3).

4. 이화학적 분석

흡착 공정 후 홍경천 추출물 및 발효물의 이화학적 성분들을 홍경천 추출물과 비교하여 나타낸 결과는 Table 2와 같다. 초기 홍경천 추출물의 총당 함량은 75.97%, 산성다당체 함량은 26.16%, 총 페놀 함량은 20.12% 수준이었으나, 흡착 공정을 거친 홍경천 추출물의 총당과 산성당은 크게 변하지 않는 반면, 총 페놀 화합물량은 다소 감소하는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 흡착 처리 시 색소 등 총 페놀 화합물 함량에 영향을 미치는 성분이나 일부 저분자 페놀성 화합물이 흡착 처리시 제거된 것에 기인하는 것으로 판단되었다.

반면, 유산균 발효 후 총당과 산성 다당체 함량은 감소하고, 총 페놀 함량은 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 당류의 감소는 당류가 유산균 증식을 위한 영양원으로 소비된 반면 페놀 화합물의 경우 발효에 의해 가용성 페놀 화합물 함량이 증가하였다. Park 등(2009)에 의하면 홍국균으로 발효한 홍삼의 페놀 함량이 1.58%로 홍삼 추출물(1.09%)보다 증가하였음을 확인하였고, Song 등(2009)이 보고한 생더덕 추출물의 초기 페놀 함량이 0.54 mg/100 g이었으나, 유산균 발효 후 2.79 mg/100 g으로 약 5배 정도 높은 함량을 나타내고 있는 것으로 보고된 바 있다.

5. HPLC 분석을 통한 지표성분 함량 분석

홍경천 추출물의 유효성분 변화를 살펴보기 위하여 산성박토, Dowex MWA-1, Diaion HP-2MG 및 벤토나이트를 이용하여 흡착 공정을 거친 홍경천 추출물 및 발효물의 salidoside 및 *p*-tyrosol 함량 변화를 HPLC를 통해 분석해 본 결과는 Fig. 3과 같다. 홍경천 추출물의 salidoside 및 *p*-tyrosol의 함량을 정량한 결과, salidoside 함량은 1,153.3 mg%, *p*-tyrosol 은 185.0 mg%이었으며, 산성박토 및 벤토나이트를 이용하여 흡착 공정을 거친 홍경천 추출물의 salidoside 함량은 각각 1,093.0, 882.2 mg%이었으며, *p*-tyrosol 은 각각 190.5, 157.3 mg%로 홍경

Table 2. Changes of total sugar, acidic polysaccharide and total phenolics of *Rhodiola sachalinensis* extracts by adsorption process and *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128 fermentation (%)

Absorbent	Total sugar	Acidic polysaccharide	Total phenolics
RSE ¹⁾	75.97±0.92 ²⁾	26.16±1.29	20.12±0.81
Acid clay	58.30±3.10	18.10±0.19	15.74±0.74
Dowex MWA-1	51.11±5.79	10.46±0.18	4.57±0.11
Diaion HP-2MG	60.93±1.78	21.48±0.98	5.06±0.07
Bentonite	59.40±2.31	19.02±0.32	13.02±0.30

¹⁾ See the legend of Table 1.

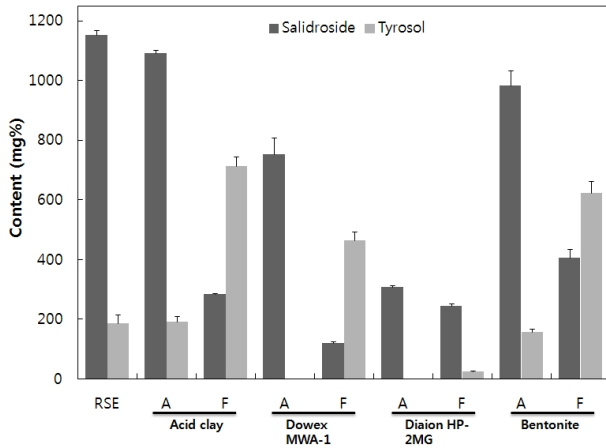


Fig. 3 Change on salidroside and *p*-tyrosol contents of *Rhodiola sachalinensis* fermented by *Lactobacillus acidophilus* KFR1 128. Each bar represents the mean±S.D. (n=3). RSE: Water extract of *Rhodiola sachalinensis*, which did not go through adsorption process (Control), A: Adsorption treatment process of RSE, AF: Fermented RSE by adsorption treatment process.

천의 지표성분인 salidroside와 *p*-tyrosol 함량의 경우 흡착 공정을 거친 후에도 초기 홍경천 추출물과 유사하였다. 유산균 발효 후 salidroside 함량은 282.7, 505.0 mg%로 감소한 반면, salidroside의 비배당체 형태인 *p*-tyrosol의 함량은 714.0, 522.4 mg%로 증가하여 발효에 따른 생물학적 전환이 일어난 것으로 판단되었다. 반면, Dowex MWA-1 및 Diaion HP-2MG 흡착제를 이용한 흡착공정 후의 salidroside 함량은 각각 752.1 mg%, 306.9 mg%였으며, *p*-tyrosol 함량은 0.01 mg%, 0.04 mg%로 홍경천 추출물에 비해 현저히 감소하였다. 이는 흡착공정 시 홍경천의 주요활성 성분인 salidroside와 *p*-tyrosol도 함께 일부 흡착되거나 제거되었기 때문이라 사료되었으며, 따라서 흡착제로서의 사용에 제한이 있을 것으로 판단되었다.

6. DPPH 라디칼 소거능

인체 내의 자유 라디칼은 지질, 단백질 등과 반응 생체의 노화를 촉진할 수 있는 물질로 자유 라디칼을 제거할 수 있는 천연물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성산소를 비롯한 다른 라디칼에 대하여 소거 활성을 기대할 수 있다(Bae SJ 2005). 홍경천 추출물, 흡착공정을 거친 홍경천 추출물 및 홍경천 발효물의 DPPH 라디칼 소거능을 농도별(0.1, 1.0%)로 측정하여 비교한 결과는 Fig. 4와 같다. 홍경천 추출물을 0.1% 수준으로 처리했을 때의 DPPH 소거활성은 66.8%였으며, 산성백토 및 벤토나이트 처리공정

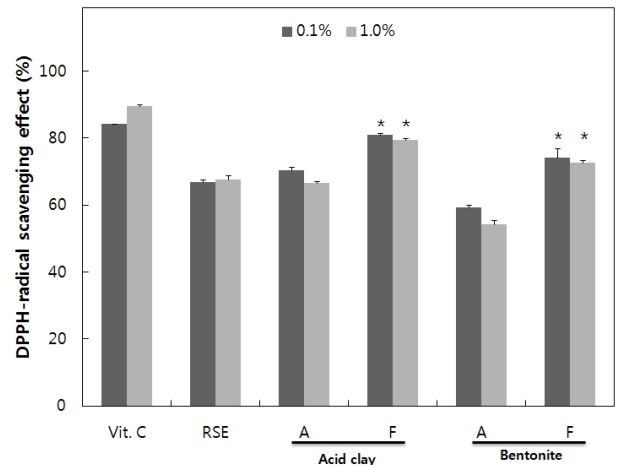


Fig. 4. Radical scavenging activities of RSE, A and AF. See the legend of Fig. 3. *Statistically significantly different from RSE ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test).

을 거친 홍경천의 DPPH 소거활성은 각각 67.5%, 60.2%로 비슷하거나 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, 홍경천 발효물의 DPPH 소거활성은 각각 80.9, 74.2%로 비교적 높은 항산화 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 일반적으로 널리 알려져 있는 항산화제인 비타민 C(84.1%)와 비교하였을 때에도 비슷한 수준을 나타내었으며, 자연 항산화제로서 항산화 효소를 강화함으로써 지질과 산화물의 형성을 억제한다고 알려진 마늘의 DPPH 소거활성이 1.0% 농도에서 약 69.4%의 활성을 나타낸 것과 비교하였을 때 높은 항산화 활성인 것으로 판단되었다(Shin 등 2008).

요약 및 결론

최근 다양한 식품 소재를 유산균으로 발효시켜 기능성 강화는 물론 관능적 품질을 향상시킨 발효 식품을 개발하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다. 따라서 본 연구에서는 홍경천을 대상 소재로 하여 유산균 발효 촉진을 위한 흡착 공정 확립, 이화학적 특성, 유산균 발효 전후의 활성 성분 변화 및 항산화 활성 등을 평가하였다. 홍경천은 우수한 생리활성 성분을 가지고 있음에도 불구하고, 유산균이 발효에 이용하지 못하는 것으로 나타나, 식품가공에 활용되는 다양한 흡착제를 처리하여 홍경천 발효를 시도해 보았다. 시중에서 구입한 12종의 흡착제를 전처리로서의 흡착 공정에 이용하여 홍경천 추출물을 발효시켜 본 결과, 산성백토와 벤토나이트를 처리시 pH 감소 및 적정산도의 증가를 나타내었으며, 유산균수 유지에도 도움을 주는 것으로 나타났다. 당류 함량은 흡착공정 후 큰 차이가 없었으나 발효시 감소하는 경향을 나타내었

고 총 페놀 함량은 흡착 처리시 대체로 감소한 후 유산균 발효시 다시 증가하는 경향을 나타내었다. 홍경천 추출물의 salidroside 및 *p*-tyrosol의 함량은 산성백토와 벤토나이트 처리 후에도 큰 차이를 나타내지 않았으나, 유산균 발효 후에는 초기 홍경천 추출물에 비해 salidroside 함량은 크게 감소한 반면, *p*-tyrosol의 함량은 증가하는 경향을 나타내었다. 따라서 홍경천 추출물의 유산균 발효를 촉진시키기 위해서는 산성백토와 벤토나이트 등 점토질 계열의 흡착제를 활용한 전처리로서의 흡착공정이 바람직한 것으로 판단되었다. DPPH 소거활성 역시 홍경천 추출물 추출물에 비해 산성백토와 벤토나이트 흡착공정을 거친 홍경천 발효물에서 유의적으로 높아지는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 홍경천은 추출물 상태에서 유산균 발효가 억제되는 경향을 나타내었으나, 흡착처리 공정은 주요 활성성분의 함량 변화 없이 유산균 발효가 촉진시키는 것으로 판단되었으며, 유산균 발효는 홍경천의 항산화 활성 및 관련된 다양한 기능성을 증진시키는 효과가 있을 것으로 판단되었다.

참고문헌

- Ahn CS, Yuh CS, Bang IS. 2009. Physicochemical characteristics of fermented milk containing mulberry leaf extract. *J Korean Food & Nutr* 22:272-278
- Bae SJ. 2005. Anticarcinogenic and antioxidant effects of *Rhodiola sachalinensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:1302-1307
- Baek YJ. 1993. Lactic acid bacteria and human health. *J Korean Food & Nutr* 6:53-65
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Blumenkronz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem* 54:484-489
- Choi DY, Ahn YA, Lee SG, Han JS, Kim EC, Lee HB, Shin JH, Kim EK, Row KH. 2004. Separation and performance test of whitening agent in *Hodiola sachalinensis*. *J Korean Biote Bioeng* 19:169-173
- Choi HT, Cui CB, Kim SH, Ham YA, Lee DS, Ham SS. 2005. Effects of *Rhodiola sachalinensis* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 15:158-164
- Chue KT, Kim JN, Yoo YJ, Cho SH, Yang RT. 1995. Comparison of activated carbone and zeolite 13x for CO₂ recovery from flue gas by pressure swing adsorption. *Ind Eng Chem Res* 34:591-598
- Cui CB, Lee DS, Ham SS. 2003. Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of *Rhodiola sachalinensis* extract. *J Korean Soc Sci Nutr* 32:211-216
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Robers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28:350-356
- Giovannini C, Straface E, Modesti D, Coni E, Cantafora A, De Vincenzi M, Malorni W, Masella R. 1999. Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL-induced injury in Caco-2 cells. *J Nutr* 129:1269-1277
- Goldin BR. 1998. Health benefits of probiotics. *J British Nutr* 80:203-207
- Ha JH, Jeong HS, Jeong MH, Kim SS, Jin L, Nam JH, Hwang B, Ma CJ, Lee HY. 2009a. Comparison of anticancer activities of ultrasonification extracts of callus and roots from *Rhodiola sachalinensis* A Bor. *J Korean Food Sci Technol* 41:552-559
- Ha JH, Jeong HS, Jeong MH, Kim SS, Jin L, Nam JH, Hwang B, Ma CJ, Lee HY, Kim CH, Oh SH, Choi GP, Park UY. 2009b. Improvement of immune activities of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. by serial solvent fractionization. *J Korean Medicinal Crop Sci* 17:210-216
- Han YK. 1999. Chemical composition of *Rhodiola sachalinensis* and its phamacological action. MS Thesis, Dept. of Agriculture & Lifesciences, Seoul National Uni. Seoul
- Hong EY, Kim IH, Yun JS, Yun T, Lee CH. 2003. Growth characteristics and search for eligible cultivation area of *Rhodiola sachalinensis* A. Boriss. *J Korean Plant Res* 16:212-217
- Jeon BS, Lee EJ, Im JS, Park CK, Kim SC. 2004. Food components and volatile flavors in *Rhodiola sachalinensis* roots. *Food Industry and Nutrition* 9:53-57
- Jiang M, Zhong W, Han H. 1994. Studies on producing effective medicinal ingredients of *Rhodiola sachalinensis* by tissue culture I. Callus induction and culture of *Rhodiola sachalinensis*. *J Chin Shen Agri Univ* 25:355-359
- Jung HS, Kin EY, Shim ES, Lee HS, Moon EJ, Jin ZH, Kim SY, Sohn YJ, Shon NW. 2008. Effects of *Rhodiola rosea* (KH101) on anti-fatigue in forced swimming rats. *J Korean Orient Int Med* 29:922-938
- Kannan N, Aravindan R, Viruthagiri T. 2011. Effects of culture conditions and kinetic on extracellular tannase production by *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407. *J Indian Biotechnology* 10:321-328
- Korea Food and Drug Administration. 1999. Official Book of

- Food. Munyoungsa, p.169, Seoul
- Kwak YS, Kyung JS, Kim SK, Wee JJ. 2001. An isolation of crude saponin from red-ginseng efflux by Diaion HP-20 resin adsorption method. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:1-5
- Lee EJ, Im JS, Park CK, Jeon BS, Kyung JS. 2005. Anti-hepatotoxic activity of *Rhodiola sachalinensis* roots. *Food Industry and Nutrition* 10:37-42
- Lee IS, Park KY. 2003. Preparation and quality characteristics of yoghurt added with cultured ginseng. *J Korean Food Sci Technol* 35:235-241
- Lee JS, Kim MY, Kim JH, Nam JH, Lee HY, Hwang B. 2008. Production of salidroside in *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. callus by the elicitation and precursor. *J Korean Medicinal Crop Sci* 16:268-272
- Lee MW, Lee YA, Park HM, Toh SH, Lee EJ, Jang HD. 2000. Antioxidative phenolic compounds from the roots of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. *Arch Pharm Res* 23:455-458
- Lee YA, Cho SM, Lee MW. 2002. Flavonoids from roots of *Rhodiola sachalinensis*. *J Korean Pharmacogn* 33:116-119
- Ming HQ, Xia GC, Zhang RD. 1988a. Progress in *Rhodiloa rosea* L. Chin. *Traditional Herbal Drugs* 19:37-42
- Ming HQ, Xia GC, Zhang RD. 1988b. Advanced research on *Rhodiola*. *Chin Traditional Herbal Drugs* 19:229-2234
- Miró-Casas E, Covas M, Fitó M, Farré-Albadalejo M, Marrugat J, de la Torre R. 2003. Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *J European Clinical Nutrition* 57:186-190
- Park CP, Cha JY, Lee CH, Doh ES, Kang IH, Cho YS. 2009. Biological activities and chemical characteristics of *Monascus*-fermented Korean red ginseng. *J Life Sci* 19:1553-1561
- Park KB, Oh SH. 2005. Production and characterization of GABA rice yogurt. *J Korean Food Sci Biotechnol* 14:518-522
- Park KU, Yoon JH, Kim JY, Weong CH, Park CK, Song WS, Song KI. 2005. Biological activity of the fraction extracted from *Rhodiola dumulosa*. *J Korean Food Preservation* 12: 496-500
- Park YS, Jang HG. 2003. Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46:367-375
- Ranossian A, Wikman G, Sarris J. 2010. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy. *Phytomedicine* 17:481-493
- Saratikov AS. 1968. Rhodioloside, a new glycoside from *Rhodiola rosea* and its pharmacological properties. *Die Pharmazie* 69: 394-398
- Sim CJ, Lee GH, Jung JH, Yi SD, Kim YH, Oh MJ. 2004. Isolation and identification of antimicrobial active substances from *Rhodiola sachalinensis*. *J Korean Food Preservation* 11:63-70
- Stancheva SL, Mosharrof A. 1987. Effects of the extract of *Rhodiloa rosea* L. on the content of the brain biogenic monamines. *Med Physiol* 40:85-87
- Swain T, Hillis WE. 1959. The phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Korean Sci Food Agric* 10:83-88
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:965-971
- Song SW, Park SJ, Seong DH, Park DS, Kim SS, Dou JY, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. 2009. Biological activities in the extract of fermented *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:983-988

접 수 : 2012년 9월 9일
 최종수정 : 2012년 10월 22일
 채 택 : 2012년 10월 24일