

*Lactobacillus acidophilus*을 이용한 홍경천과 홍삼 혼합 발효물의 이화학적 특성 및 항산화 활성

성수경 · 이영경 · 조장원 · 김영찬 · 이옥환* · †홍희도

한국식품연구원, *강원대학교 식품생명공학과

Physicochemical Properties and Antioxidative Activity of Fermented *Rhodiola sachalinensis* and Korean Red Ginseng Mixture by *Lactobacillus acidophilus*

Su-Kyung Sung, Young-Kyung Rhee, Chang-Won Cho, Young-Chan Kim,

OK-Hwan Lee* and †Hee-Do Hong

Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

*Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

The study was conducted to investigate the condition for mixed fermentation of *Rhodiola sachalinensis* with red ginseng using *Lactobacillus acidophilus* 128 and the changes of physicochemical properties and antioxidant activities before and after the lactic acid fermentation was examined. In the single fermentation of *Rhodiola sachalinensis* extract, the pH and titratable acidity rarely changed, and the number of lactic acid bacteria decreased greatly. On the other hand, in the lactic acid fermentation of *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixed extract of 50% red ginseng content, the pH decreased, whereas the titratable acidity and the number of lactic acid bacteria increased. The solid content of optimal mixed extract for lactic acid fermentation was 0.5%. Sugar content decreased during fermentation, but total phenolic compounds tended to increase during fermentation. The salidroside and *p*-tyrosol content of the initial *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixed extract was 419.5 mg% and 60.1 mg%, respectively; after fermentation, the salidroside content after lactic acid fermentation decreased greatly to 81.8 mg%, and the amount of *p*-tyrosol increased greatly to 324.9 mg%. The DPPH scavenging activity of *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixed fermentate was 78.1% at 0.1% concentration, showing a tendency to increase as compared to 50.3% of *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixed extract before the fermentation ($p < 0.05$); it was a higher antioxidant activity as compared to the single fermentation of *Rhodiola sachalinensis* or red ginseng.

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

서 론

오늘날 인류의 최대 관심은 건강이며, 그 개념은 육체적·정신적으로 모든 기능을 활발하게 발휘할 수 있는 상태로 건강을 증진시키는 것을 목적으로 한다. 따라서 유용 생리활성을 가지면서 부작용이 없는 천연물 유래의 활성물질 탐색에

관한 연구가 집중되고 있으며, 특히, 항노화, 면역 증강, 항산화 효과 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

홍경천(*Rhodiola sachalinensis* A. Bor.)은 고산지역에 주로 자생하는 돌나무과(Crassulaceae), 돌꽃(*Rhodiola*)속에 속하는 다년생 초본식물로서 고산지역에 주로 자생하며, 진정제, 해열제, 수렴제 및 고산병 치료를 위한 생약재로 민간에서 널리

† 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

이용되어 왔다(Ming 등 1988; Stancheva & Mosharrof 1987). 홍경천의 대표적인 생리활성 성분으로는 대부분의 들꽃속 식물에 함유되어 있는 salidroside와 salidroside의 비배당체인 *p*-tyrosol 등이 있으며, 산소 결핍증을 개선시키고 항피로와 노화억제 효능이 뛰어난 것으로 알려져 있다(Linch 등 2000; Darbinyan 등 2000). 또한 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (astragaloside), kaempferol-3-O- β -D-sophoroside, herbacetin-3-O- β -D-glucopyranoside 및 herbacetin-7-O- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranoside와 같은 다양한 플라보노이드 성분을 포함한 페놀성 화합물은 지방과 DNA 산화를 억제하고, 강한 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Lee 등 2002; Lee 등 2000). 홍경천에는 arginine과 같은 필수 아미노산, linolenic acid와 같은 불포화지방산, 칼슘, 칼륨, 마그네슘 같은 무기성분 등이 비교적 다량 함유되어 있어 식품학적 가치는 높은 생약재로 인정받고 있으며(Lee 등 2004), 항암(Ha 등 2009a), 면역력 증진(Ha 등 2009b), 간독성 보호작용(Lee 등 2005), 항균 활성(Sim 등 2004), 항돌연변이성(Cui 등 2003), 미백활성(Choi 등 2004), 항당뇨 활성(Choi 등 2005) 등의 다양한 효능 관련 연구 결과들도 보고되고 있다.

최근 들어 유산균, 효모, 고초균 등 인체에 유익한 미생물을 이용한 발효를 통해 천연물 함유 기능성 성분의 증가 또는 생물학적 전환을 유도하거나 면역기능, 장 기능 개선 등의 생리활성을 강화시킨 발효물의 제조를 목적으로 다양한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Kim 등 2010; Son & Lee 2011; Park 등 2012). 반면, 홍경천 추출물을 원료로 유산균 발효를 통한 기능성 및 주요 활성 성분의 함량을 증진시킨 연구는 그리 많지 않다. 홍경천 추출물은 그 자체로 유산균 발효가 어려워 흡착제를 이용한 전처리 공정을 거친 후 홍경천 유산균 발효물을 제조하였으며, 발효 홍경천의 높은 항산화 활성을 확인하였다(Sung 등 2013). 그러나 흡착 전처리 과정에서 많은 흡착제량과 흡착시간을 필요로 하기 때문에 발효물의 대량 생산으로는 어려운 문제점이 있다. 따라서 본 연구에서는 홍경천과 마찬가지로 항피로, 면역력 증진, 항스트레스 등의 효능을 나타내는 대표적인 adaptogen으로 알려져 있고(Park 등 2007; Panossian 등 2010), 비교적 유산균 발효가 잘 진행되는 것으로 알려져 있는(Park 등 2006) 홍삼을 홍경천과 함께 추출한 후 발효하였으며, 홍경천 성분의 생물학적 전환, 기능성 성분의 증가 및 관련된 활성의 증가 등 시너지 효과에 의한 기능성 증진 효과를 살펴보기 위하여 주요 활성 성분의 함량 변화와 총 페놀화합물 함량 및 항산화 활성 변화 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

홍경천(*Rhodiola sachlinensis* A. Bor.)은 2011년 중국 연변 대학교에서 백두산 자생 홍경천을 제공받아 사용하였으며, 홍삼은 4년근 홍삼(2011년산, 금산)을 시중에서 구입하여 사용하였다. 발효를 위해 사용된 균주는 한국식품연구원에 보관 중인 *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128을 사용하였으며, 유산균 수 측정에 사용된 배지로 MRS agar(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였다. 항산화 활성 평가를 위해 사용된 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)는 Sigma(Louis, MO, USA) 제품을, 홍경천 활성 물질인 salidroside는 Tauto Biotech Co. Ltd. (Shanghai, P.R. China) 제품을, *p*-tyrosol은 Sigma(Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였다. 비교 시료로 사용된 비트아민 C는 Dae Heung(Gyeonggi-do, Korea) 제품을 사용하였다.

2. 추출물 조제

홍경천 및 홍삼 추출물은 각각의 시료 분말 100 g에 증류수 1 l를 가하여 90°C 열수에서 3시간 추출한 후 원심분리기(Mega 17R, Hanil Science Industrial Co. Ltd., Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 6,500×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 유산균 발효를 위한 시료 추출물로 사용하였으며, 일부는 동결건조기(Tokoyo Rikakikai Co. Ltd., FD-1000, Tokyo, Japan)로 건조하여 성분 분석 및 항산화 활성을 평가하기 위한 시료로 사용하였다. 홍경천과 홍삼 혼합 추출물들은 홍삼 분말을 홍경천 분말에 전체 중량의 0, 10, 20, 30, 40, 50%를 첨가한 후 홍경천 추출물 제조과정과 동일한 방법으로 조제하였다. 추출물들의 최종 수율은 건물기준으로 홍경천과 홍삼 추출물의 경우 각각 16.5%, 18.1%이었으며, 홍삼 분말을 전체 중량의 50% 첨가하여 조제한 홍경천과 홍삼 혼합 추출물의 최종 수율은 17.0%이었다.

3. 유산균 발효물 조제

유산균의 생육배지로 사용된 홍경천, 홍삼 및 홍경천과 홍삼 혼합 추출물들(최종 고형물 함량 0.5%)을 고압멸균기(Mega Science Co., MG-6845, Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 121°C, 15분간 멸균한 후 초기 pH를 6.5로 조정하고, 활성화된 유산균을 1%(1.0×10⁶ CFU/ml) 접종한 다음, 37°C에서 24, 48시간 동안 배양하였다. 발효를 종료하기 위해 100°C에서 10분간 살균공정을 거친 발효액을 동결건조기로 건조하여 얻은 홍경천, 홍삼 및 홍경천과 홍삼 혼합 발효물들의 최종 수율은 건물기준으로 각각 17.2%, 23.5%, 27.0%이었다.

4. 유산균 수 측정

홍경천 및 홍경천과 홍삼 혼합 발효물의 유산균 수는 균일하게 혼합된 유산균 발효액 시료 1 g에 멸균한 증류수 9 ml를

넣고 균질화 한 후, 단계별로 희석한 다음 0.1 ml를 취하였다. 그렇게 한 후 MRS agar 배지에 도말하여 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 형성된 colony를 계수하여 그 평균 집락 수에 희석배수를 곱하여 생균수를 추출물 ml당 colony forming unit(CFU/ml)로 나타내었다.

5. pH 및 적정산도

유산균의 산 생성을 조사하기 위해 시료를 골고루 섞어준 후, pH meter(pH meter 430, Corning, West chester, USA)를 이용하여 측정하였고, 발효액의 적정산도는 식품공전 방법(1999)에 준하여 측정된 후 lactic acid의 양으로 환산하여 나타내었다. 즉, 홍경천, 홍삼 및 홍경천과 홍삼 혼합 발효 추출물을 20 ml를 취하여 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 될 때까지 적정한 다음 lactic acid의 양으로 환산하여 표시하였다.

6. 이화학적 성분 함량

동결건조한 홍경천과 홍삼 추출물 또는 발효물 1 g을 100 ml 증류수에 녹이고 여과한 후, 여액을 중성당, 산성당, 단백질 및 폴리페놀화합물 등 주요 이화학적 성분함량을 측정하기 위한 시료로 사용하였다. 중성당 함량은 D-glucose를 표준물질로 하여 phenol sulfuric acid법(Dubois 등 1956)으로 측정하였다. 즉, 시료용액 1 ml에 5% phenol 용액 1 ml와 sulfuric acid 5 ml를 가하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선으로 부터 구해진 glucose의 함량으로 총당 함량을 계산하였다. 산성당 함량은 D-galacturonic acid를 표준물질로 하여 m-hydroxy diphenyl법(Blumenkronz & Asboe-Hansen 1973)을 사용하여 측정하였다. 즉, 시료 용액 0.5 ml에 sulfuric acid 3 ml를 가하여 100°C에서 5분간 반응시킨 후 실온에서 냉각시키고, m-hydroxybiphenol 시약 50 µl를 가하여 실온에서 5분간 반응시킨 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량선으로 부터 구해진 galacturonic acid의 함량으로 산성당 함량을 계산하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Bradford법(Bradford MM 1976)을 사용하여 측정하였다. 즉, 시료 용액 0.2 ml에 bradford dye 시약을 1 ml를 넣고 상온에서 5분간 반응시킨 후 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량선으로 부터 구해진 BSA의 함량으로 단백질의 함량을 계산하였다. 폴리페놀 화합물 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 것을 이용한 Folin Denis법(Swain & Hillis 1959)을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 용액 0.1 ml에 증류수 5 ml를 가한 후 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 ml와 20% sodium carbonate 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 표준검량선으로 부터 함량을 계산하였다.

7. 활성성분 분석

홍경천의 주요 활성성분인 salidroside와 *p*-tyrosol를 분석하기 위하여 표준물질과 동결건조된 홍경천 등의 추출물 및 발효물들을 각각 0.1 g씩 취해 메탄올 10 ml에 녹인 후 0.45 µm 막 필터로 여과하여 활성성분 분석을 위한 시료로 사용하였다. HPLC 분석을 위한 기기는 Jasco(Tokyo, Japan) HPLC 시스템을 사용하였으며, PU-2089plus Quaternary gradient pump, UV-2075plus UV/VIS detector, AS-2057plus Intelligent sampler 등으로 구성되었다. 컬럼은 Sunfire™ C18(4.6×250 mm i.d., 5 µl, Waters, Milford, MA, USA)을, 이동상으로는 20% 메탄올(v/v)을 사용하였으며, 시료 주입량은 20 µl, 유속은 1 ml/min로 하여 278 nm에서 검출하였다.

8. DPPH 라디칼 소거 활성 측정

항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 이용하여 시료의 자유라디칼 소거 활성을 측정하는 Blois의 방법(Blois MS 1958)을 일부 응용하여 측정하였다. 메탄올에 농도별(0.1, 1.0%)로 녹인 시료액 400 µl에 에탄올 280 µl와 0.4 mM DPPH 용액 800 µl를 가하여 실온에서 20분간 반응한 후 ELISA reader(Bio-Rad, Hercules, model 680, CA, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비교시료는 항산화 물질로 널리 알려져 있는 비타민 C를 사용하였으며, 발효액의 DPPH 라디칼 소거 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구(Ac)와 시료구(As)의 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = [1 - (\text{As}/\text{Ac})] \times 100$$

9. 통계 처리

본 실험 결과 얻어진 자료에 대한 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. 홍경천과 홍삼 적정 혼합 비율

유산균 발효를 위한 홍경천-홍삼의 적정 혼합 비율을 살펴보기 위하여 홍경천과 홍삼의 비율을 달리하여 혼합 추출물을 조제하고, *L. acidophilus* KFR1 128을 접종하여 37°C에서 24, 48시간 유산균 발효시키면서 발효액의 pH, 적정산도 및

유산균 수의 변화를 측정한 결과는 Table 1 및 Fig. 1과 같다.

홍경천 단독 발효물(대조구)의 pH는 24, 48시간 발효 후에 각각 6.04, 5.86으로 발효전의 6.50에 비해 차이가 거의 없어 발효가 잘 진행되지 않은 것으로 나타났다. 또한 홍삼을 10~30% 비율로 첨가한 혼합 추출물들의 24, 48시간 발효후의 pH 역시 각각 5.81~5.89, 5.73~5.86으로 대조구와 비슷한 경향을 나타내었다. 반면, 홍삼을 40% 및 50% 첨가한 시료의 pH는 각각 24시간 후 5.51, 4.60, 48시간 후 5.46, 4.55로 대조구에 비해 유의적으로 낮은 pH를 나타내었다. 일반적으로 유산균 발효 과정 중 pH가 급격히 감소하는 것은 발효가 진행됨에 따라 생성되는 젖산 및 여러 가지 유기산들의 증가에 의한 것으로 보고된 바 있으며(Lee & Park 2003), 실제 적정 산도를 측정해본 결과에서도 홍삼을 첨가하지 않은 대조구의 24, 48시간 발효 후 적정 산도는 0.036과 0.038%로 초기 0.040%에 비해 큰 차이를 나타내지 않은 반면, 홍삼을 40% 첨가한 혼합 발효물의 발효 24시간 후 적정산도는 0.051%로 대조구에 비해 약 1.5배 정도 증가하였고, 48시간 경과 후 0.056%로 2배 정도 증가함을 알 수 있었다. 홍삼을 50% 첨가한 혼합발효물 역시 24, 48시간 발효 후의 적정산도는 각각 0.068, 0.072%로 더 크게 증가하는 것으로 나타났다. 이상의 결과에 따라 홍삼 첨가량을 40~50%로 첨가하였을 때 홍경천-홍삼 혼합 추출물의 유산균 발효가 가능할 것으로 판단되었다.

홍삼 분말을 40 및 50%로 첨가하여 발효한 혼합 발효물의 유산균 수 변화를 살펴본 결과(Fig. 1), 홍경천 단독 발효물(대조구)의 유산균 수는 전보(Sung 등 2012)와 같이 발효가 진행됨에 따라 급격하게 감소하여 초기 6.85 log CFU/ml에서 발효 3일째 2.39 log CFU/ml 수준까지 현저히 낮아진 것으로

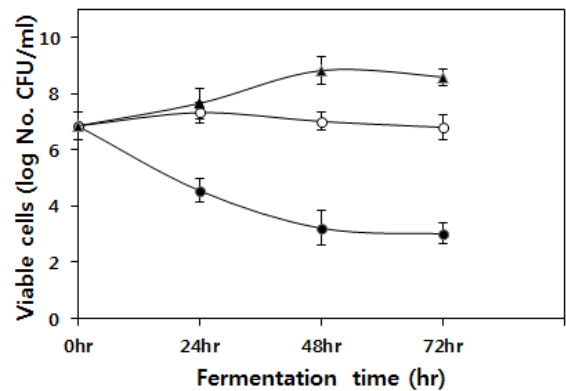


Fig. 1. Changes on microbial cell counts of *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture fermentation by *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128. -●-: red ginseng ratio 0%, -○-: red ginseng ratio 40%, -▲-: red ginseng ratio 50%

나타났다. 반면, 홍삼을 40% 첨가하여 발효한 혼합 발효물의 유산균 수는 24시간 후 7.32 log CFU/ml로 10배 정도 증가하다가 발효 48시간 후 7.01 log CFU/ml로 감소하였으며, 발효 72시간 후 6.70 log CFU/ml로 점점 감소하여 초기와 비슷한 균수를 나타내었다. 반면, 홍삼을 50% 첨가한 홍경천과 홍삼 혼합발효물의 유산균 수는 24시간 후 7.65 log CFU/ml, 48시간 후 8.82 log CFU/ml, 72시간 후 8.59 log CFU/ml로 발효가 진행됨에 따라 유산균 수는 점차 증가하는 경향을 보여 전체적으로 홍삼의 첨가비율이 전체 중량의 50%일 때, 유산균 증식이 가장 원활하게 일어난 것으로 나타났다. 따라서 pH와 적정산도 변화 및 발효 중의 유산균 수 측정 결과 등을 고려하여, 이후 이화학적 성분 특성 분석과 항산화 활성 평가시에는 홍삼의 첨가 비율이 전체 중량의 50%인 홍경천과 홍삼 혼합 추출물 또는 발효물을 사용하였다.

Table 1. Changes on pH and titrable acidity of *Rhodiola sachalinensis* by fermentation with different red ginseng ratio using *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128

Ratio (%)	pH		Acidity(%)	
	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr
100:0 ¹⁾	6.04±0.03 ^{2)a3)}	5.86±0.03 ^a	0.036±0.001 ^d	0.038±0.002 ^d
90:10	5.81±0.02 ^a	5.68±0.03 ^a	0.037±0.003 ^d	0.040±0.002 ^d
80:20	5.90±0.02 ^a	5.75±0.04 ^a	0.034±0.002 ^d	0.036±0.004 ^d
70:30	5.89±0.04 ^a	5.73±0.02 ^a	0.030±0.001 ^d	0.033±0.002 ^d
60:40	5.51±0.06 ^b	5.46±0.03 ^b	0.051±0.001 ^c	0.056±0.001 ^c
50:50	4.60±0.02 ^b	4.55±0.02 ^b	0.068±0.002 ^b	0.072±0.001 ^b
0:100	4.02±0.03 ^c	3.93±0.05 ^c	0.162±0.004 ^a	0.167±0.003 ^a

¹⁾ *Rhodiola sachalinensis* : Red ginseng ratio(% , w/w)

²⁾ Values are mean±S.D.(n=3)

³⁾ Means with the different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test($p < 0.05$)

2. 홍경천과 홍삼 혼합 추출물의 적정 농도

홍경천과 홍삼 혼합 추출물을 제조한 후 *L. acidophilus* KFRI 128가 증식할 수 있는 적정 농도를 살펴보기 위해 고형물 함량 기준으로 0.5와 1.0%로 농도를 조정한 후 유산균 발효에 따른 pH, 산도 및 유산균 수의 변화를 측정하였다(Fig. 2). 농도가 1.0% 수준일 때, 발효 48시간 이후 pH값은 5.65로 발효가 일어나지 않았으며, 산도는 초기 0.035%에서 48시간 후 0.047%로 다소 높아지는 경향을 나타내었다. 유산균 수의 경우 발효가 진행됨에 따라 1/100 정도 급격하게 감소하여 72시간 후에는 3.80 log CFU/ml로 현저히 낮아졌다. 반면, 0.5% 수준의 농도일 때 발효 초기 pH값은 6.50에서 24시간 후 4.55로 크게 낮아졌으며, 48시간 후에는 4.21, 72시간 후 4.11로 지속적으로 감소하였다. 적정산도는 발효가 진행됨에 따라 초기 0.030%에서 24시간 이후 0.065%로 크게 증가하였으며,

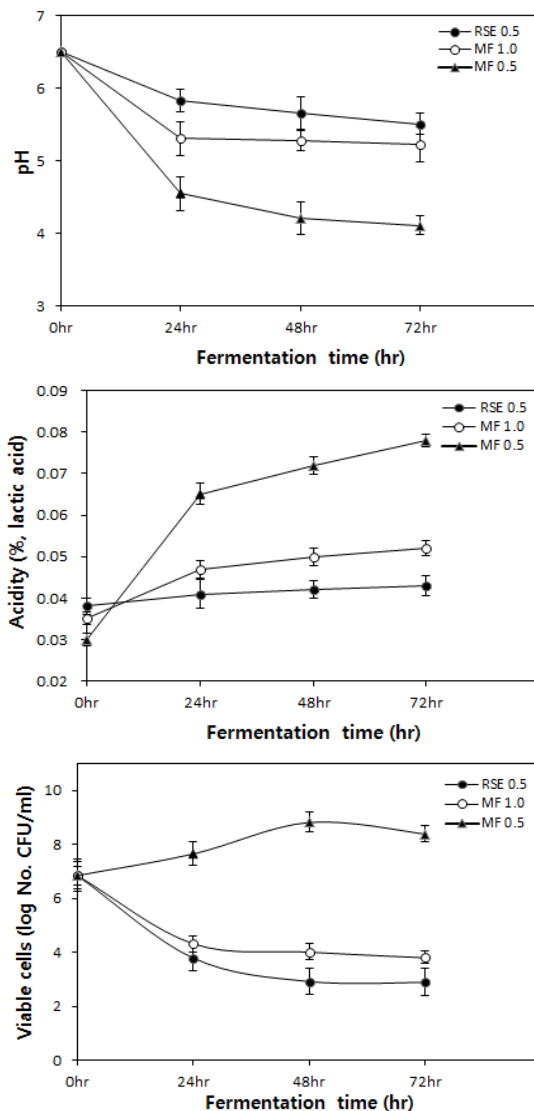


Fig. 2. Changes on pH, acidity and microbial cell counts of fermentation by *L. acidophilus* 128. -●- RSE 0.5: *Rhodiola sachalinensis* fermentation (concentration, 0.5%), -○- MF 1.0: *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture fermentation (concentration, 1.0%), -▲- MF 0.5: *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture fermentation (concentration, 0.5%)

72시간 후 0.078%의 산도를 나타내었다. 생균수는 초기 6.85 log CFU/ml에서 48시간까지 8.82 log CFU/ml로 증가하다가 발효 72시간 이후 약간 감소하는 경향을 나타내었다. Song 등(2011)이 보고한 톳 추출액에서의 미생물 생육에서도 발효 2일째 이후 유산균 수가 급격히 감소한다는 결과와 유사하며, 이는 생균수 감소는 혼합 추출액 중의 유산균 증식에 필요한 영양분의 고갈 및 독성 대사산물의 축적에 의한 것으로 사료된다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 홍경천-홍삼 혼합물의

유산균 발효의 적정 발효 조건은 혼합 추출물의 농도는 0.5%, 발효시간은 24-48시간 정도이었다.

3. 이화학적 성분 특성

적정 발효 조건으로 발효시킨 홍경천과 홍삼 혼합 발효물의 이화학적 특성을 분석한 결과는 Table 2와 같았다. 홍경천과 홍삼 추출물의 유산균 발효 시 총당 함량은 초기 68.0%에서 발효 후 63.0%로 감소하였으며, 산성다당체 함량도 21.8%에서 20.8%로 감소하는 경향을 나타낸 반면, 단백질 함량은 5.3%에서 8.8%로 증가하였다. 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가지고 있다고 알려져 있다(Lee 등 2008). *L. acidophilus* KFRI 128 균주를 이용한 홍경천-홍삼 혼합 발효물의 페놀성 물질 함량은 7.3%로 발효전 추출물의 함량(4.9%)보다 50% 이상 증가한 것을 확인 할 수 있었다. Park 등(2012)이 보고한 발효 천마의 페놀성 물질 함량은 400 mg/ml로 비발효 천마의 109 mg/ml보다 3배 정도 높은 결과를 나타내고 있으며, Ha 등(2010)에 의하면 유산균을 이용하여 매자나무 수피를 발효한 결과, 페놀성 물질 함량이 21~22 mg/g으로 이는 일반 매자나무 수피 추출물보다 30~40% 증가한 연구 결과와 같은 경향을 보였다.

4. LC 분석을 통한 지표성분 분석

홍경천과 홍삼 혼합 발효물 중에 존재하는 홍경천의 유효 성분 변화를 살펴보기 위하여 홍경천 추출물, 홍경천과 홍삼 혼합 추출물, 홍경천 발효물 및 홍경천과 홍삼 혼합 발효물의 salidroside 및 *p*-tyrosol 함량 변화를 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 홍경천 추출물의 salidroside와 그 비배당체 형태인 *p*-tyrosol 함량은 각각 996 mg%, 174 mg%이었으며, 홍경천 발효물의 salidroside 및 *p*-tyrosol 함량은 888 mg%, 192 mg%로 일부 비배

Table 2. Changes of neutral sugar, acidic polysaccharide and total phenolics of *Rhodiola sachalinensis* and red ginseng mixture extract and *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128 fermentation

Chemical components(%)	ME ¹⁾	MF ²⁾
Neutral sugar	68.0±1.6 ^{3)a}	63.0±0.6 ^a
Acidic polysaccharide	21.8±3.8 ^a	20.8±1.6 ^a
Protein	5.3±1.2 ^b	8.8±0.8 ^a
Total phenolics	4.9±0.8 ^b	7.3±0.2 ^a

¹⁾ *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture extract(1:1)

²⁾ *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture fermentation(1:1)

³⁾ See the legend of Table 1

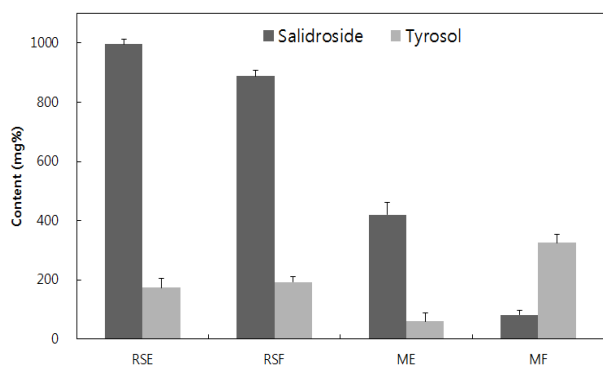


Fig. 3. Change on salidroside and *p*-tyrosol contents of *Rhodiola sachalinensis* and red ginseng mixture fermented by *Lactobacillus acidophilus* KFRI 128. Each bar represents the mean±S.D.(n=3). RSE: water extract of *Rhodiola sachalinensis*, RSF; *Rhodiola cvsachalinensis* fermentation, ME: *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture extract, MF: *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture fermentation

당체인 *p*-tyrosol로 전환되었지만, 홍경천 추출물과 비교하였을 때 큰 차이가 없었다. 반면, 홍경천과 홍삼 혼합 추출물의 salidroside 및 *p*-tyrosol 함량은 420 mg%, 60 mg%로 혼합에 따른 희석효과로 홍경천 추출물에 비해 약 50% 정도 감소한 함량을 나타내었다. 홍경천과 홍삼 혼합 발효물의 경우, salidroside의 함량은 82 mg%로 약 1/4배로 현저히 감소한 반면, *p*-tyrosol 함량은 325 mg%로 약 5배 정도로 증가하여 배당체 형태로 존재하는 활성물질들이 유산균 발효에 의해 가수분해 됨에 따라 비배당체 형태로 전환되는 것으로 판단되며, 이러한 생물학적 전환은 체내 흡수성을 높여 기능성을 증가시켜주는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Akao T 1992). 인삼 사포닌은 체내에 직접 흡수되는 것이 아니라 *Bifidobacterium* 속 및 *Lactobacillus* 속 등의 장내 미생물들에 의해 인체가 흡수할 수 있도록 ginsenoside Rh2, compound K(20-O- β -D-glucopyranosyl-20 (S)-protopanaxadiol) 등의 화학성분으로 전환되며(Zhou 등 2006; Trinh 등 2007), 높은 항암활성을 나타내는 compound K는 *Aspergillus oryzae* KCTC 6292의 발효에 의해 증가하였으며, 발효 5일째에 최대로 생성됨이 보고된 바 있다(Trinh 등 2007). 또한 비배당체 형태의 대두 isoflavone의 생물학적 활성은 estrogen과 유사하여 체내에 배당체 형태보다 빠르게 흡수되어 다양한 생리기능성을 나타내는데 특히, genistein의 생리활성이 가장 높은 것으로 알려져 있다(Peterson & Barnes 1991). Kim 등(2010)에 의하면 *Lactobacillus plantarum* KTCT 3108을 이용하여 대두 추출분말을 24시간 발효한 결과, isoflavone의 배당체 형태인 daidzin, genistin 등의 함량이 감소한 반면, 이들의 비배당체 형태인 daidzein, genistein 등의 함량이 급격히 증가한 연구 결과와 비슷한 경향을 보였다.

5. 항산화 활성

전자공여능 측정에 사용된 DPPH은 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 자유 라디칼로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 탈색되는데, 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다(Lee 등 2004). 홍경천 추출물, 홍경천 발효물 및 홍경천과 홍삼 혼합 발효물의 DPPH 라디칼 소거능을 농도별(0.1, 1.0%)로 측정된 결과는 Fig. 4와 같았다. 홍경천-홍삼 혼합 발효물의 농도를 0.1%로 처리했을 때 DPPH 라디칼 소거능은 78.1%로 발효 전 50.3%보다도 높은 소거능을 나타내었으며, 홍경천 추출물(66.1%)과 홍삼 추출물(40.3%)을 각각 발효하였을 때 DPPH 라디칼 소거능보다도 비교적 높은 활성을 나타내는 것으로 나타났다. 특히, 홍경천과 홍삼 혼합 발효물을 1.0% 수준으로 처리했을 때 DPPH 라디칼 소거능은 85.9%이며, 일반적으로 널리 알려져 있는 항산화제인 비타민 C(88.5%)와 비교하였을 때에도 비슷한 수준이었으며, 홍경천(73.2%)과 홍삼(45.8%)을 각각 발효하였을 때보다도 높은 활성을 나타내었다. 이는 홍삼의 단독 발효보다는 항산화 효과가 있는 상엽, 상백피, 당귀 등을 첨가한 홍삼-생약재 혼합 발효물의 항산화 효소 활성이 유의적으로 증가한다는 연구와 유사한 결과를 나타내었다(Kim 등 2012). 또한 Doh 등(2010)은 1.0%의 농도에서 인삼 추출물의 DPPH 소거 활성이 45.4%인 반면, *Lactobacillus plantarum* 및 *Lactobacillus fermentum* 발효에 의한 인삼의 DPPH 소거 활성은 각각 50.5%, 55.6%로 DPPH 소거 활성이 발효 후 증가한 연구 결과와 같은 경향을 보였다. 이러한 결과는 천연물에서

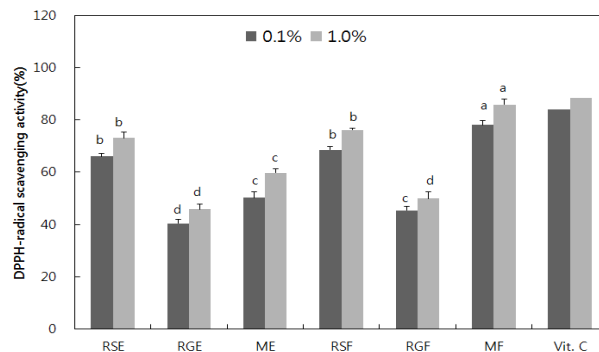


Fig. 4. Radical scavenging activities of RSE, RGE, ME, RSF, RGF and MF. Each bar represents the mean±S.D. (n=3). RSE: Water extract of *Rhodiola sachalinensis*, RGE: Water extract of red ginseng, ME: *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture extract(1:1), RSF: *Rhodiola sachalinensis* fermentation, RGF: red ginseng fermentation, MF: *Rhodiola sachalinensis*-red ginseng mixture fermentation.

^{a-d} Means with the different letters in the same concentration are significantly different by Duncan's multiple range test($p < 0.05$)

얻어지는 항산화성 물질이 주로 phenolic compound와 flavonoid 류의 화합물로서 유산균 발효 중 amylase, protease 등의 효소가 분비되어 가용성 페놀성 물질들이 증가하여 활성이 증가하는 것으로 판단되었다(Park 등 2012).

요약 및 결론

항산화 활성이 우수하지만 유산균 발효가 잘 진행되지 않는 홍경천을 발효시키기 위하여 홍경천과 유사한 기능을 가지고 있고 비교적 유산균 발효가 잘 일어나는 것으로 보고된 홍삼을 이용하여 혼합 발효를 시도해 보았다. 홍경천과 홍삼의 비율을 1:1로 하여 혼합 추출물을 제조하고 유산균 발효하였을 때 가장 효과적인 pH 감소 및 적정산도의 증가가 나타났으며, 유산균 수는 배양시간 48시간까지 증가하였다. 홍경천과 홍삼 혼합 추출물의 유산균 발효시 당류 함량은 감소하였고, 총 페놀 및 단백질 함량은 증가하였다. 홍경천을 단독으로 발효하였을 때에는 salidroside 및 *p*-tyrosol의 함량 변화가 거의 없었던 반면, 홍경천과 홍삼 혼합 추출물의 유산균 발효시 salidroside 함량은 크게 감소하였고, 비배당체형태인 *p*-tyrosol의 함량은 증가하는 경향을 나타내었다. DPPH 소거 활성 역시 홍경천 또는 홍삼 단독 발효물에 비해 홍경천-홍삼 혼합 발효물에서 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 홍경천과 홍삼의 혼합 발효는 홍경천의 원활한 유산균 발효를 촉진하고 항산화 활성을 증가시킬 뿐만 아니라, 기타 관련된 다양한 기능성을 증진 효과가 있을 것으로 기대되었다.

References

- Akao T. 1992. Metabolic activation of crude drug components by intestinal bacterial enzymes. *Med Pharm Soc* 9:1-13
- 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
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254
- 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 *Rodiola sachalinensis*. *J Korean Biotech 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 Diet Life* 15:158-164
- Cui CB, Lee DS, Ham SS. 2003. Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of *Rhodiola sachalinensis* extract. *J Korean Soc Sci Nutr* 32:211-216
- Darbinyan V, Kteyan A, Panossian E, Wkiman G, Wagner H. 2000. *Rhodiola rosea* in stress induced fatigue- a double blind cross-over study of a standardized extract SHR-5 with a repeated low dose regimen on the mental performance of healthy physicians during night duty. *Phytomedicine* 7:365-371
- Doh ES, Chang JP, Lee KH, Seong NS. 2010. Ginsenoside change and antioxidation active of fermented ginseng. *J Medicinal Crop Sci* 18:255-265
- 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
- Ha JH, Jeong HS, Jeong MH, Kim SS, Jin L, Nam JH, Hwang B, Ma CJ, Lee HY. 2009. 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 MH, Seo YC, Yong CW, Kim JS, Kim HH, Ahn JH, Lee HY. 2010. Enhancement of antioxidant activities of bark of *Berberis koreana* Paliban by lactic acid bacteria. *Korean J Medicinal Crop Sci* 18:421-428
- Ha JH, Kim CH, Jeong HS, Jin L, Oh SH, Kim SS, Jeong MH, Ma CJ, Nam JH, Hwang B, Choi GP, Park UY, Lee HY. 2009. Improvement of immune activities of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. by serial solvent fractionization. *J Korean Medicinal Crop Sci* 17:210-216
- Kim BH, Kang JH, Lee SY, Cho HJ, Kim YJ, Kim YJ, Ahn SC. 2006. Biotransformation of ginseng to compound K by *Aspergillus oryzae*. *J Life Sci* 16:136-140
- Kim HJ, Lee SG, Park SJ, Yu MH, Lee EJ, Lee SP, Lee IS. 2012. Antioxidant effects of extracts from fermented red ginseng added with medicinal herbs in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol* 44:367-372
- Kim IB, Shin S, Lim BL, Seong GS, Lee YE. 2010. Bioconversion of soybean isoflavone by *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum*. *J Korean Food Cookery Sci* 26:214-219
- Korea Food and Drug Administration. 1999. Official Book of Food. Munyoungsa, pp169, Seoul
- Lee EJ, Im JS, Park CK, Jeon BS, Kim SC. 2004. Food components and volatile flavors in *Rhodiola sachalinensis* roots.

- Food Industry and Nutrition* 9:53-57
- 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 HB, Kim HJ, Chong MS, Cho HE, Choi YH, Lim KS, Lee KN. 2008. Physiological activity of extracts from mixed culture of medical herbs and mycelia of *Tricholoma matsutake* and *Cordyceps militaris* by fermentation. *Korean J Herbol* 23:1-8
- Lee IS, Park KY. 2003. Preparation and quality characteristics of yoghurt added with cultured ginseng. *J Korean Food Sci Technol* 35:235-241
- Lee MW, Lee YH, Park HM, Toh SH, Lee EJ, Jang HD, Kim YH. 2000. Antioxidant 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 the roots of *Rhodiola sachalinensis*. *Kor J Pharmacogn* 33:116-119
- Linch PT, Kim YH, Hong SP, Jian JJ, Kang JS. 2000. Quantitative determination of salidroside and tyrosol from the underground part of *Rhodiola rosea* by high performance liquid chromatography. *Arch Pharm Res* 23:349-352
- Ming HQ, Xia GC, Zhang RD. 1988. Progress in *Rhodiola rosea* L. *Clin Traditional Herbal Drugs* 19:37-42
- Panossian A, Wikman G, Sarris J. 2010. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy. *Phytomedicine* 17:481-493
- Park CD, Jung HK, Park CH, Jung YS, Hong JH, Ko HS, Kang DH, Kim HS. 2012. Isolation of citrus peel flavonoid bioconversion microorganism and inhibitory effect on the oxidative damage in pancreatic beta cells. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J* 27:67-74
- Park KK, Oh SH, Chung WY. 2000. Inhibitory effects of red ginseng on skin tumor formation induces by ethyl carbamate metabolites. *J Toxicol Pub Health* 16:9-16
- Park MR, Yoo C, Chang YN, Ahn BY. 2012. Change of total polyphenol content of fermented *Gastrodia elata* Blume and radical scavenging. *Korean J Plant Res* 25:379-386
- Park SJ, Kim HK, Paek NS, Kim SS. 2006. Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). *J Ginseng Res* 30:88-94
- Peterson G, Barnes S. 1991. Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cell: Independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene. *Biochem Biophys Res Comm* 179:661-667
- 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 Preserv* 11:63-70
- Son SJ, Lee SP. 2011. Evaluation of rheological and functional properties of roasted soybean flour and mixed cereals fermented by *Bacillus* sp.. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:450-470
- Song HS, Hong KK, Min HO, Choi JD, Kim YM. 2011. Changes in physicochemical and sensory properties of *Hizikia fusiforme* water extract by fermentation of lactic acid bacteria. *Kor J Fish Aquat Sci* 44:104-110
- Stancheva SL, Mosharrof A. 1987 Effects of the extract of *Rhodiola rosea* L. on the content of the brain biogenic monoamines. *Med Physiol* 40:85-87
- Sung SK, Rhee YK, Cho CW, Lee YC, Kim YC, Hong HD. 2012. Physicochemical properties and antioxidative activity of lactic acid bacteria fermented *Rhodiola sachalinensis* using adsorption process. *J Korean Food & Nutr* 25:779-786
- Swain T, Hillis WE. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.-The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Korean Sci Food Agric* 10:83-88
- Trinh HT, Han SJ, Kim SW, Lee YC, Kim DH. 2007. Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng. *J Microbiol Biotechnol* 17:1127-1133
- Zhou W, Feng MQ, Li JY, Zhou P. 2006. Studies on the preparation, crystal structure and bioactivity of ginsenoside compound K. *J Asian Nat Prod Res* 8:519-527

접 수 : 2013년 6월 19일
 최종수정 : 2013년 8월 1일
 채 택 : 2013년 8월 6일