

## *Lactobacillus plantarum* DK119로 발효한 약용식물 당침액의 특성

배수연<sup>1</sup> · 오준석<sup>2</sup> · 박민경<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>청운대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>(주)토비코

### Characteristics of sugar extracts of medicinal plants fermented with *Lactobacillus plantarum* DK119

Su-Yeon Bae<sup>1</sup>, Joon-Suk Oh<sup>2</sup>, and Min-Kyung Park<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Human Nutrition, Chungwoon University

<sup>2</sup>Tobico Inc.

**Abstract** In this study, the optimal fermenting conditions of sugar extracts of *Artemisia annua* L. (Aa), *Houttuynia cordata* Thunb (Hc), and *Saururus chinensis* Baill (Sc) were determined to develop fermented beverages. The sugar extracts (50±5°Bx) were diluted to 10, 15, and 20°Bx, and fermented with 2% (v/v) of *Lactobacillus plantarum* DK119 (5×10<sup>9</sup> CFU/mL) at 37°C for 4 days. According to the lactic acid bacteria population, pH, titratable acidity, and reducing sugar content, 20°Bx for Aa, 10°Bx for Hc and 15°Bx for Sc were the maximum concentrations for the fermentation. There were no changes in total polyphenol content in the extracts of Aa, Hc, and Sc, whereas the radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power were increased during the fermentation. Lactic acid fermentation resulted in improvement of sensory evaluation scores on unfavorable plant taste and overall acceptability of the sugar extracts of medicinal plants.

**Keywords:** sugar-extract, *Lactobacillus plantarum* DK119, *Artemisia annua* L., *Houttuynia cordata* Thunb, *Saururus chinensis* Baill

## 서 론

약초 및 과실의 유용한 성분을 손쉽게 추출하고 장기간 보관할 수 있는 단순 가공방법으로 다량의 설탕을 첨가하여 숙성하는 당침이 널리 이용되고 있다(Ahn 등, 2014; Cho 등, 2010; Kim과 Beik, 2007; Park 등 2011a). 당침으로 추출한 약초 및 과실 침은 과다한 당 함량이 문제점으로 제기되었지만 저비용으로 유용성분의 안전한 추출 및 장기간 저장이 가능한 장점이 있으며, 희석하여 음용하거나 타 가공식품의 기능성 향상 및 관능적 품질개선용 부재료로 이용할 수 있어 응용범위가 다양한 것으로 사료된다(Kim 등, 2012). 당침은 초기에는 원료와 함께 혼합된 야생 미생물의 생육이 가능하지만 높은 당도로 인해 지속적 발효는 기대할 수 없는데(Ahn 등, 2014) 최근 약초 당침액을 희석하여 유산균 발효하므로 항산화 활성 등 기능성이 증가한 것으로 보고되었다(Park, 2014). 발효에 이용되는 미생물 중 유산균은 대표적인 프로바이오틱스(probiotics)로 정장작용뿐만 아니라 항산화 효과, 항균 효과, 항바이러스 효과 및 면역조절 효과 등 과학

적 연구결과를 토대로 확인된 여러 기능성이 알려지고 있다(de Vrese과 Schrezenmeir, 2008; Martinez 등, 2015). 이에 따라 유산균을 이용한 발효식품은 전통적 유기농 식품뿐만 아니라 두유(Hwang 등, 2016), 과일(Gaanappriya 등, 2013) 및 토마토(Piasecka-Jozwiak 등, 2013) 발효 주스 등 다양한 재료로 확대되고 있으며 새로운 발효식품 군으로 발전하고 있다.

개똥쑥(*Artemisia annua*), 어성초(*Houttuynia cordata*) 및 삼백초(*Saururus chinensis*)는 각각 줄기와 잎, 지상부 및 전체부위가 식품원료로 허용된 약초로 다양한 생리활성이 보고되고 있다. 개똥쑥의 항말라리아 물질인 아르테미시닌(artemisinin) 및 그 유도체는 항암효과가 있는 것으로 알려졌으며(Slezakova과 Ruda-Kucerova, 2017), 어성초의 플라보노이드 성분은 항염증(Lee 등, 2015a) 및 항바이러스 효과(Chiw 등, 2016), 삼백초의 사우키논(sauchinone) 성분은 항염증(Meng 등, 2016) 및 항암(Kim 등, 2017) 효과 등이 보고되었다. 따라서 이들 약초는 기능성이 증대된 가공식품 개발 소재로 김치(Lee과 Kwon, 2015), 빵(Park, 2015) 및 국수(Park 등, 2011b) 등 다양한 식품형태에 자주 이용되며 당침액의 원료로도 선호되는데 식품에 첨가할 경우 약초 특유의 강한 향과 맛으로 인해 기호도가 떨어지는 문제점을 해결해야 하는 과제가 있다.

본 연구에서는 김치로부터 분리한 *Lactobacillus plantarum* DK119 (Park 등, 2013)를 이용하여 개똥쑥, 어성초 및 삼백초 당침 추출액을 발효하면서 각 약초의 발효특성을 비교하고 발효 가능한 당침액 농도, 발효에 의한 항산화 활성 변화 및 관능적 특성을 개선할 수 있는 조건을 도출하여 새로운 형태의 유산균 발효 약초음료 개발에 응용하고자 하였다.

\*Corresponding author: Min-Kyung Park, Dept. of Food Science and Human Nutrition, Chungwoon University, Hongseong, Chungnam 32244, Korea.  
Tel: +82-41-630-3241  
Fax: +82-41-634-8700  
E-mail: mkpark@chungwoon.ac.kr  
Received November 17, 2017; revised January 4, 2018;  
accepted January 23, 2018

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 시험에 사용한 개똥썩, 어성초 및 삼백초는 산수가죽영농조합(Hongseong, Korea)에서 재배한 것으로 수확 직후 당칩 추출재료를 사용하였다. 유산균은 김치에서 분리 동정한 *L. plantarum* DK119 (수탁번호 KACC91781P)를 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 아스코르브산(ascorbic acid), Folin-Ciocalteu reagent (FCR), 갈산(galic acid) 및 포도당은 Sigma (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며 기타 시약은 일반시약(Duksan Science, Seoul, Korea)을 사용하였다.

### 당칩 추출액 및 유산균 발효액 제조

개똥썩, 어성초 및 삼백초를 세척 후 각각의 약초와 시판 백설당(Samyang Corp., Seongnam, Korea)을 1:1 (w/w)의 비율로 혼합하여 유리병에 임병하고 밀봉한 다음 상온에서 1년간 숙성시켜 제조한 당칩 추출액을 유산균 발효를 위한 당칩액 원료로 사용하였다. 유산균 발효액은 당칩액에 증류수를 첨가하여 간이 굴절계(N-50E, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 고형물 함량이 10, 15 및 20°Bx가 되도록 희석하고 65°C, 30분 살균한 후, MRS broth (Difco Laboratories Inc., Detroit, MI, USA)에 3차 계대 배양한 *L. plantarum* DK119 균주( $5 \times 10^9$  CFU/mL)를 2% (v/v) 접종하고 37°C에서 발효하여 제조하였다. 발효액은 접종 직후(D0)와 4일 동안(D1-D4) 발효 후 유산균 수 측정을 위해 시료를 채취한 후 원심분리기(Union 32R, Hanil Scientific Inc. Kimpo, Korea)를 이용하여 3000 rpm, 10분 원심분리하여 유산균을 침전시킨 상층액을 분석에 사용하였다.

### pH 및 적정산도

pH는 pH meter (Orion 3 star, Thermo Fisher Scientific Inc., Beverly, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 적정산도는 시료를 증류수로 희석하여 25 mL를 취하고 0.1% 페놀프탈레인을 지시약으로 사용하여 0.1 N NaOH로 적정하고 희석액을 중화하는데 소비된 0.1 N NaOH 용량을 %-lactic acid 함량으로 환산하여 표시하였다.

### 유산균 수 측정

발효액 1 mL을 취하여 생리식염수로 10배씩 단계별로 희석한 후 희석액 1 mL을 BCP 배지(Eiken Chemical Co., LTD, Tokyo, Japan)에 접종하고 37°C 항온기(HB-101L, Hanbaek Scientific Technology, Bucheon, Korea)에서 48시간 배양한 후 생성된 집락을 3회 반복계측하여 CFU (colony forming unit)/mL로 나타내었다.

### 환원당

희석한 발효액 0.1 mL을 1 mL의 다이나이트로살리실산(dinitrosalicylic acid, DNS) 시약과 혼합하여 100°C 물 수조에서 10분 반응시키고 냉각한 후 3 mL의 증류수를 혼합하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 취하여 546 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하여 측정하고 포도당 함량으로 환산하여 표시하였다 (Teixeira 등, 2012).

### 총 폴리페놀 함량

희석한 시료 1.8 mL과 2N FCR 0.15 mL을 혼합하고 실온에서 5분간 방치한 후 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 mL을 가하여 40°C에서 30분 반

응시키고 765 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하여 나타내었다 (Singleton 등, 1999).

### DPPH radical 제거 활성

희석한 시료액 0.1 mL을 0.25 mM DPPH 에탄올 용액 1 mL와 혼합하고 30분간 상온에서 방치한 후 분광광도계(Versamax Microplate reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하여 알아보았다. 결과는 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 비교하여 %-inhibition으로 표시하였다(Blois, 1958).

### FRAP (Ferric reducing antioxidant power) 측정

FRAP 측정은 300 mM 아세트산완충용액(pH 3.6), 40 mM 염산에 용해한 10 mM TPTZ 및 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 을 각각 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 혼합하여 제조한 FRAP 시약 3 mL와 희석한 시료액 0.2 mL를 혼합한 후 37°C에서 5분간 반응시키고 593 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였다. 결과는 vitamin C를 표준물질로 이용하여 환산하고 vit. C eqM/mL로 표시하였다(Benzie와 Strain, 1999).

### 관능검사

20-27세의 남녀 20명을 대상으로 단맛(sweetness), 신맛(sourness), 약초 맛(taste of medicinal plants), 발효 취(flavors of fermentation) 및 종합적 기호도(overall acceptability)에 대해 9점 채점법(1점; 대단히 약하다, 9점; 대단히 강하다)으로 조사하였다.

### 통계처리

결과는 평균±SD로 표시하였으며, 통계적 유의성은 t-test (Microsoft Office Excel) 또는 SPSS 23 프로그램을 이용하여 일원배치분산분석 실시 후 터키 분석(Tukey's test)으로 5% 수준에서 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 약초 당칩 추출액의 발효특성

개똥썩, 어성초 및 삼백초 당칩 추출액(50±5°Bx)에 증류수를 첨가하여 각각 10, 15 및 20°Bx로 희석하고 65°C, 30분 저온살균한 후 *L. plantarum* DK119 유산균을 2% (v/v) 접종하여 4일간 발효하며 유산균 수, pH, 적정산도 및 환원당 변화를 측정하여 당칩 희석액의 발효특성을 분석하였다. 개똥썩 10°Bx 액의 유산균 수는 발효 전(D0) 7.91±0.16 (log CFU/mL)에서 발효 1일(D1) 8.50±0.16 및 2일(D2) 8.38±0.18로 증가하고( $p < 0.05$ ) 이후 감소하였다. pH는 발효 전 5.23±0.05에서 발효 4일 3.93±0.12로 감소하고 적정산도는 발효 전 0.21±0.02 (%-lactic acid)에서 발효 4일 0.91±0.05로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 개똥썩 15°Bx 액의 유산균 수 변화는 발효 전 8.03±0.20에서 발효 1일 8.45±0.14로 증가하였으며( $p < 0.05$ ) 이후 감소하였다. 발효 전 pH는 5.12±0.11에서 발효 4일 4.15±0.11로 감소하였으며 적정산도는 발효 전 0.21±0.02에서 발효 4일 0.81±0.02로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 개똥썩 20°Bx 액의 유산균 수는 발효 1일 증가하는 경향은 보이지만 유의적 차이는 없었으며 pH 감소 및 적정산도의 증가는 여전히 유의성( $p < 0.05$ )이 있는 것으로 나타났다(Fig. 1). 즉, 개똥썩 당칩 희석액은 농도가 높아지면서 발효에 따른 유산균 수 증가, pH 감소 및 적정산도 증가폭이 감소하였으나 10, 15 및 20°Bx 희석액 모두에서 발효가 진행되는 것으로 나타났다. 어성초 당칩 추출액의 경우, 10°Bx

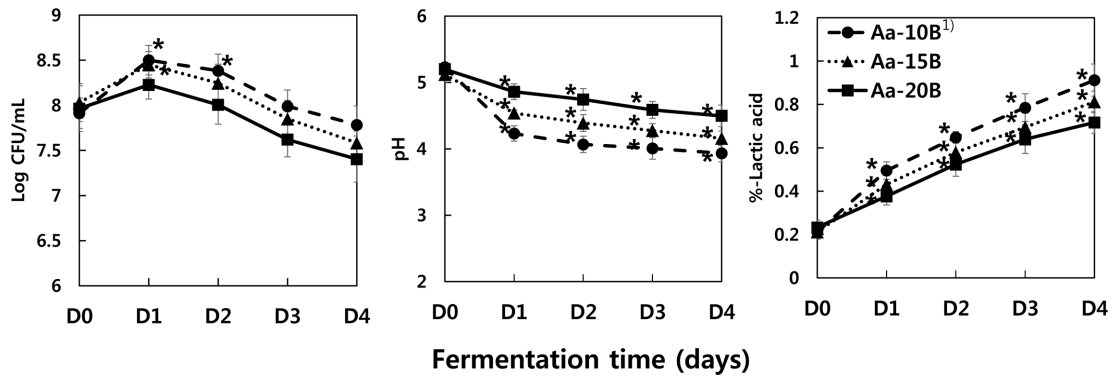


Fig. 1. The changes in number of lactic acid bacteria, pH and titratable acidity during the fermentation of sugar-extract of *Artemisia annua* L (Aa) with *L. plantarum* DK119. Values in the Fig. are mean±SD. <sup>1)</sup>B means °Bx. \* means that the value is significantly different from the value of D0 at  $p<0.05$ .

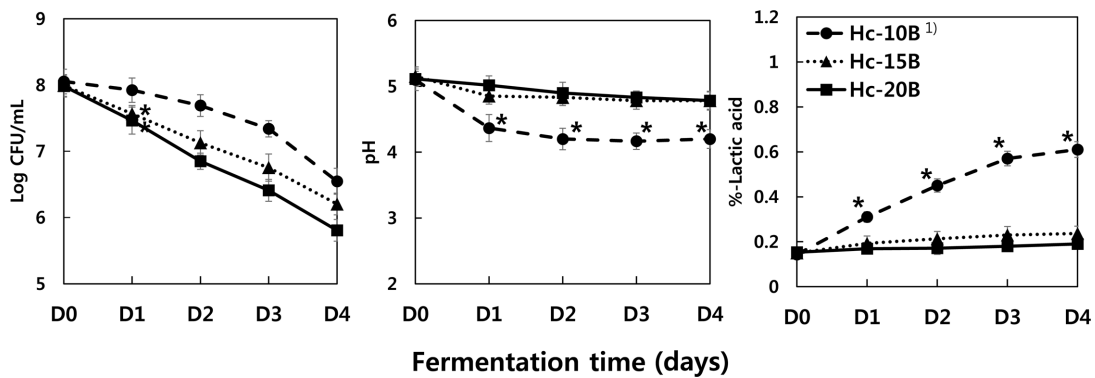


Fig. 2. The changes in number of lactic acid bacteria, pH and titratable acidity during the fermentation of sugar-extract of *Houttuynia cordata* Thunb (Hc) with *L. plantarum* DK119. Values in the Fig. are mean±SD. <sup>1)</sup>B means °Bx. \* means that the value is significantly different from the value of D0 at  $p<0.05$ .

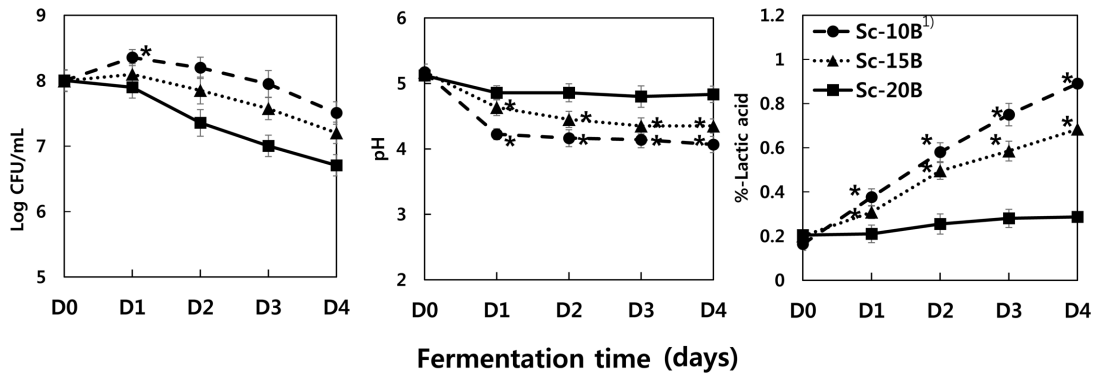


Fig. 3. The changes in number of lactic acid bacteria, pH and titratable acidity during the fermentation of sugar-extract of *Saururus chinensis* Baill (Sc) with *L. plantarum* DK119. Values in the Fig. are mean±SD. <sup>1)</sup>B means °Bx. \* means that the value is significantly different from the value of D0 at  $p<0.05$ .

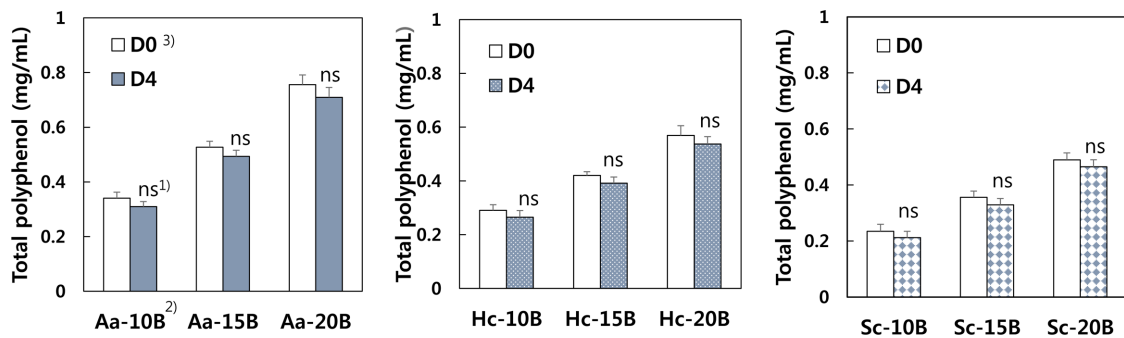
액의 유산균 수는 발효 전  $8.05 \pm 0.18$ 과 비교하여 발효 1일  $7.92 \pm 0.18$ 로 유의적 증가는 없으나 pH의 감소 및 적정산도의 증가는 유의적인 것으로 나타났다( $p<0.05$ ). 반면 어성초 15°Bx 및 20°Bx 희석액의 유산균 수는 발효 전  $7.99 \pm 0.16$ 에서 발효 1일 각각  $7.56 \pm 0.12$  및  $7.46 \pm 0.20$ 로 감소하였으며( $p<0.05$ ) pH 및 적정산도는 유의적 변화가 없는 것으로 나타났다(Fig. 2). 어성초 당침 추출액은 15°Bx 농도에서부터 발효가 일어나지 않아 개똥쭉과 비교하여 발효가 효율적이지 않음을 알 수 있었다. 삼백초 당침액의 경우, 10°Bx 농도에서 발효 전 유산균 수가  $8.00 \pm 0.16$ 에서 발

효 1일  $8.35 \pm 0.12$ 로 증가하였다( $p<0.05$ ). pH는 발효 전  $5.17 \pm 0.12$ 에서 발효 4일  $4.06 \pm 0.12$ 로 감소하였으며 적정산도는 발효 전  $0.16 \pm 0.01$ 에서 발효 4일  $0.89 \pm 0.05$ 로 증가하였다( $p<0.05$ ). 삼백초 15°Bx 액의 유산균 수는 발효 전  $7.99 \pm 0.16$ 에서 발효 1일  $8.09 \pm 0.16$ 으로 유의적 증가는 없으나 pH는 발효 전  $5.17 \pm 0.05$ 에서 발효 4일  $4.35 \pm 0.10$ 으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 적정산도는 발효 전  $0.20 \pm 0.03$ 에서 발효 4일  $0.68 \pm 0.04$ 로 증가하였다( $p<0.05$ ). 20°Bx 액의 유산균 수는 발효 전  $0.80 \pm 0.16$ 에서 발효 1일  $7.89 \pm 0.16$ 으로 감소하는 경향을 보이나 통계적 유의성은 보이지

**Table 1. The changes in reducing sugar contents of sugar-extracts of *Artemisia annua* L (Aa), *Houttuynia cordata* Thunb (Hc) and *Saururus chinensis* Baill (Sc) during the fermentation with *L. plantarum* DK119**

Brix	Reducing sugar contents (mg/mL)					
	Aa		Hc		Sc	
	D0 <sup>1)</sup>	D4	D0	D4	D0	D4
10 °Bx	85.99±7.65	56.59±1.76*	84.42±6.88	60.97±7.70*	83.95±5.88	57.45±7.48*
15 °Bx	132.29±7.47	97.25±8.58*	120.80±6.88	112.51±8.18	127.72±7.24	105.25±7.60*
20 °Bx	185.20±7.93	162.69±8.47*	174.25±7.53	164.06±8.45	179.23±7.46	164.75±8.29

<sup>1)</sup>D0 and D4 mean the fermentation time (day). Values are mean±SD. \* means that the value is significantly different from the value of D0 at  $p < 0.05$ .



**Fig. 4. The changes in total polyphenol contents of sugar-extracts of *Artemisia annua* L (Aa), *Houttuynia cordata* Thunb (Hc), and *Saururus chinensis* Baill (Sc) with *L. plantarum* DK119. Values in the Fig. are mean±SD. <sup>1)</sup>ns means 'not significant'. <sup>2)</sup>B means °Bx. <sup>3)</sup>D0 and D4 mean fermentation time (day).**

않았다. 또한, pH 변화도 발효 전 5.12±0.08에서 발효 4일 4.83±0.12이며 적정산도는 발효 전 0.20±0.02에서 발효 4일 0.28±0.04로 유의적 변화가 없는 것으로 나타나 삼백초 20°Bx 액은 발효가 진행되지 않음을 알 수 있었다(Fig. 3). 이상의 유산균, pH 및 적정산도 결과를 종합할 때 개똥쭉 당침액은 10-20°Bx 희석액 모두에서 유산균 발효가 가능하지만 어성초는 10°Bx 희석액이, 삼백초는 15°Bx 희석액이 발효 가능한 농도로 나타났다. 즉, 희석농도(°Bx)와 접종 유산균 수가 유사한 조건에서도 사용한 약초의 종류에 따라 발효특성에 차이가 있음을 알 수 있었다. 일반적으로 약초 및 과실 등의 당침조건은 설탕을 동량 혼합한 후 상온에서 숙성하는데 당침초기에는 세균, 효모 및 곰팡이 등 야생 미생물이 존재하여 자연발효가 있을 수 있으나 숙성기간이 경과하면 높은 당 농도로 인해 미생물이 생존하지 못한다(Kim과 Beik, 2007). 한편 오미자와 설탕을 1:1로 혼합한 당침액을 2배 희석하여 유산균 발효 시 유산균의 증식이 억제되고 5배 희석액은 발효가 효율적으로 진행된다고 보고되었다(Park, 2014). 그러나 본 연구 결과에서는 개똥쭉 당침액은 상대적으로 높은 당 농도에서도 발효가 진행되지만 어성초 당침액은 낮은 당 농도에서도 개똥쭉 또는 삼백초와 비교하여 발효 효율이 낮아지는 것으로 나타나 당침액 발효 시 단순히 당 농도뿐만 아니라 당침으로 추출된 약초성분도 유산균 증식에 영향을 미치는 것을 볼 수 있었다. 약용식물이 미생물 증식에 미치는 영향과 관련하여 개똥쭉(Ivarsen 등, 2014; Kim 등, 2015) 및 어성초(Hong과 Lee, 2015; Lu 등, 2006)의 유기용매 또는 물 추출물의 항균효과가 보고되었으나 유산균 증식에 미치는 직접적 기전에 관하여는 향후 연구가 필요하며 본 연구에 사용한 *L. plantarum* DK119는 어성초 당침추출 성분에 의해 증식억제가 큰 것으로 나타났다.

발효기간 중 환원당 함량변화는 발효 전과 발효 4일 후의 함량을 비교분석하여 알아보았다(Table 1). 개똥쭉 당침액의 경우

10, 15 및 20°Bx 희석액 모두에서 발효 전과 비교하여 발효 4일에 환원당이 감소한 반면 어성초 당침액은 10°Bx 희석액에서 감소하고 삼백초 당침액은 10 및 15°Bx 희석액에서 환원당이 감소하였다. 발효 중 환원당의 변화를 통해서도 당침 추출액의 발효가 사용한 약초에 따라 다르게 나타날 수 있음을 알 수 있었다. Lee 등(2015b)은 12°Bx로 희석한 도라지 당침 추출액을 6일 동안 유산균 발효한 결과 당농도가 감소하는 것으로 보고하였다.

#### 총폴리페놀 함량

개똥쭉, 어성초 및 삼백초 당침액을 10-20°Bx로 희석하고 유산균 발효하면서 발효 전과 발효 4일의 총폴리페놀 함량변화를 비교하였다(Fig. 4). 개똥쭉 당침 10, 15 및 20°Bx 액의 발효 전 총폴리페놀 함량(mg/mL)은 각각 0.34±0.02, 0.52±0.02 및 0.76±0.04이며 발효 4일에는 각각 0.31±0.02, 0.49±0.02 및 0.71±0.04로 발효 전 후 변화가 없는 것으로 나타났다. 어성초 10, 15 및 20°Bx 희석액은 발효 전 각각 0.29±0.02, 0.42±0.01 및 0.57±0.04이며 발효 4일에는 0.27±0.03, 0.39±0.02 및 0.54±0.03으로 변화가 없었다. 삼백초 10, 15 및 20°Bx 희석액도 각각 발효 전 0.23±0.01, 0.35±0.02 및 0.49±0.03이며 발효 4일 0.21±0.02, 0.33±0.02 및 0.47±0.02로 발효에 의한 함량변화는 없는 것으로 나타났다. Lee 등(2015b)은 도라지 당침 희석액의 유산균 발효 시 총폴리페놀 함량이 감소하는 것으로 보고하였으며, 건조 어성초 분쇄물을 증류수와 혼합하고 유산균 발효 시 총폴리페놀 함량이 증가하였으며(Kim 등, 2016), 불나무를 메탄올로 추출하여 농축하고 MRS에 첨가하여 *Lactobacillus* spp. 균주로 발효 후 측정된 폴리페놀 함량은 발효 전과 차이가 없는 것으로 보고되었다(Lee 등, 2013). 즉, 약초의 유산균 발효 시 실험조건에 따라 총폴리페놀 함량은 감소, 증가 또는 변화가 없을 수 있으며 본 연구 조건에서는 유산균 발효가 총폴리페놀 함량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

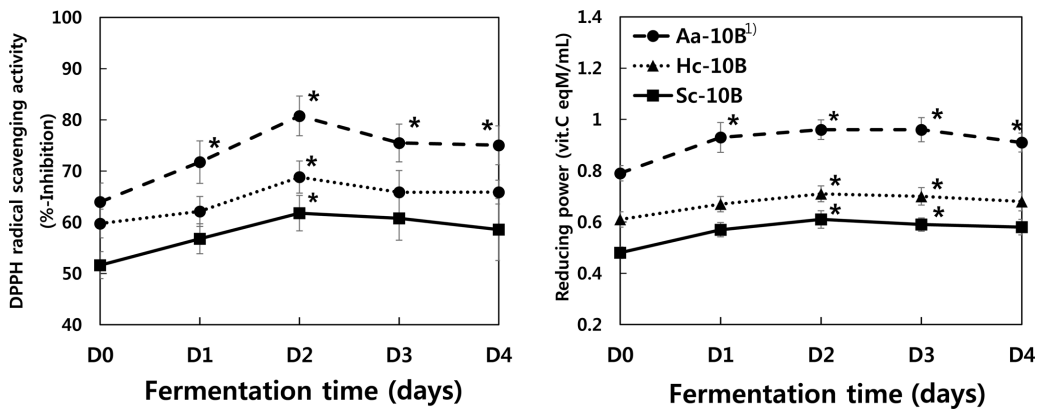


Fig. 5. The changes in DPPH radical scavenging ability and reducing power of sugar-extracts of *Artemisia annua* L (Aa), *Houttuynia cordata* Thunb (Hc) and *Saururus chinensis* Baill (Sc) during the fermentation with *L. plantarum* DK119. Values in the Fig. are mean±SD of triplicates. <sup>1)</sup>B means <sup>a</sup>Bx. \* means that the value is significantly different from the value of D0 at  $p < 0.05$ .

Table 2. The changes in sensory scores of sugar-extracts (10<sup>9</sup>Bx) of *Artemisia annua* L (Aa), *Houttuynia cordata* Thunb (Hc) and *Saururus chinensis* BAIL (Sc) during the fermentation with *L. plantarum* DK119

	Fermentation time (days)	Aa	Hc	Sc
Sweetness	D0	5.60±1.09 <sup>a1)</sup>	5.65±1.13 <sup>a</sup>	5.55±1.14 <sup>a</sup>
	D1	4.70±0.92 <sup>b</sup>	5.35±1.26 <sup>ab</sup>	4.95±0.82 <sup>ab</sup>
	D2	4.05±1.05 <sup>bc</sup>	4.60±0.82 <sup>bc</sup>	4.35±0.87 <sup>b</sup>
	D3	3.30±0.80 <sup>cd</sup>	3.90±1.07 <sup>c</sup>	3.55±0.75 <sup>c</sup>
	D4	2.70±0.97 <sup>d</sup>	3.80±1.00 <sup>c</sup>	3.15±0.87 <sup>c</sup>
Sourness	D0	2.15±0.81 <sup>d</sup>	1.85±0.87 <sup>d</sup>	1.80±0.76 <sup>d</sup>
	D1	4.95±1.31 <sup>c</sup>	3.45±0.68 <sup>c</sup>	4.20±0.83 <sup>c</sup>
	D2	5.90±1.29 <sup>bc</sup>	4.75±0.91 <sup>b</sup>	5.55±0.99 <sup>b</sup>
	D3	6.65±0.93 <sup>ab</sup>	5.55±0.82 <sup>a</sup>	6.30±0.92 <sup>b</sup>
	D4	7.50±1.19 <sup>a</sup>	5.95±0.99 <sup>a</sup>	7.15±0.74 <sup>a</sup>
Taste of medicinal plants	D0	7.55±1.05 <sup>a</sup>	7.00±1.16 <sup>a</sup>	5.70±1.38 <sup>a</sup>
	D1	6.05±1.19 <sup>b</sup>	5.90±0.91 <sup>b</sup>	4.50±0.94 <sup>b</sup>
	D2	5.35±1.08 <sup>bc</sup>	5.15±0.87 <sup>bc</sup>	4.00±1.07 <sup>bc</sup>
	D3	4.80±1.05 <sup>c</sup>	4.55±0.82 <sup>cd</sup>	3.55±1.19 <sup>bc</sup>
	D4	4.65±1.49 <sup>c</sup>	4.25±0.71 <sup>d</sup>	3.15±0.98 <sup>c</sup>
Flavors of fermentation	D0	1.70±0.73 <sup>d</sup>	1.50±0.60 <sup>e</sup>	1.60±0.68 <sup>d</sup>
	D1	3.55±0.88 <sup>c</sup>	2.70±1.03 <sup>d</sup>	3.60±1.04 <sup>c</sup>
	D2	5.20±1.54 <sup>b</sup>	3.85±0.87 <sup>c</sup>	4.60±0.88 <sup>b</sup>
	D3	6.20±1.32 <sup>ab</sup>	5.05±0.94 <sup>b</sup>	6.10±1.20 <sup>a</sup>
	D4	7.15±1.26 <sup>a</sup>	6.05±0.82 <sup>a</sup>	6.55±1.27 <sup>a</sup>
Overall acceptability	D0	2.50±0.94 <sup>b</sup>	2.15±0.98 <sup>b</sup>	2.65±1.03 <sup>c</sup>
	D1	3.30±0.92 <sup>b</sup>	2.95±0.99 <sup>b</sup>	4.15±0.87 <sup>b</sup>
	D2	4.85±0.93 <sup>a</sup>	4.05±0.99 <sup>a</sup>	5.10±1.07 <sup>a</sup>
	D3	4.45±1.05 <sup>a</sup>	4.35±0.87 <sup>a</sup>	5.05±1.19 <sup>a</sup>
	D4	3.20±1.10 <sup>b</sup>	2.95±1.05 <sup>b</sup>	3.15±0.87 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Mean values with no common superscript in the same column within each sensory parameters are significantly different from each other at  $p < 0.05$ . Intensities with a higher number are stronger.

**항산화 활성**

개똥쑥, 어성초 및 삼백초 당침 추출액을 각각 10<sup>9</sup>Bx로 희석하고 발효하면서 DPPH radical 제거능과 Fe<sup>3+</sup> 환원력(FRAP)을 측정하여 항산화 활성 변화를 알아보았다(Fig. 5). 당침액의 발효 전 항산화 활성은 개똥쑥, 어성초 및 삼백초의 순으로 높았으며 이는 총폴리페놀 함량이 개똥쑥, 어성초 및 삼백초의 순으로 높은 것(Fig. 4)과 상관관계가 있는 것으로 추정된다. 발효에 의한 DPPH radical 제거능 변화는, 개똥쑥의 경우 발효 전과 비

교하여 발효 1일부터 증가하여 발효 2일에 가장 높았으며 이후에도 유의성이 있는 것으로 나타났다. 어성초 및 삼백초 당침액도 발효 2일 증가하였으며 이후에는 유의적 변화는 보이지 않았다. 발효에 의한 환원력 변화는, 개똥쑥은 발효 1일부터 증가하여 발효 4일 까지 유의적 증가를 보였으며, 어성초 및 삼백초는 발효 2-3일 유의적 증가를 보였다. 당침 희석액의 총폴리페놀 함량이 발효기간 중 변화가 없음에도 불구하고 항산화 활성이 증가한 것은 *L. plantarum* DK119 발효에 의해 항산화 활성

에 영향을 미치는 발효 산물이 생성되는 것으로 추정된다. 약초 등의 유산균 발효 후 항산화 활성은 변화가 없거나(Lee 등, 2013), 증가(Kim 등, 2016; Park, 2014) 또는 발효액의 소재 및 유산균의 종류에 따라 다르게 나타나는(Lee 등, 2015b) 등 다양한 연구결과가 보고되었다.

### 관능검사

세 약초 당침액 모두에서 발효가 가장 잘되는 10°Bx 희석액을 유산균 발효하면서 단맛, 신맛, 약초 맛, 발효취 및 종합적 기호도에 대한 관능적 변화를 알아보았다(Table 2). 단맛의 경우 개똥썩은 발효 1일에 어성초와 삼백초는 발효 2일에 감소하였고, 신맛은 세 약초 모두 발효 1일부터 증가하였으며 개똥썩은 당침액에서 변화가 가장 큰 것으로 나타났다. 특유의 약초 맛은 발효 2일부터 감소하였으며 발효 취는 1일부터 증가하였다. 종합적인 기호도는 개똥썩은과 어성초는 발효 2-3일에 삼백초는 발효 1일부터 높아지고 발효 4일에는 세 당침액 모두에서 다시 낮아지는 것으로 나타났다. 발효전의 개똥썩은, 어성초 및 삼백초 당침액의 종합적 기호도는 대단히 낮으며 이는 특유의 약초 냄새 및 맛으로 인한 것으로 사료되는데 발효를 통해 이러한 단점이 개선됨을 알 수 있었다. 그러나 발효 후기(D4)에는 신맛이 과도하게 증가하고 발효 취도 증가하여 오히려 기호도가 낮아지는 것으로 보인다. 이상의 관능검사 결과는 유산균 발효를 통해 개똥썩은, 어성초 및 삼백초 당침액의 기호도를 높일 수 있으며 2-3일이 발효적정 기간임을 보여주고 있다. 유산균 발효는 불쾌 취가 있는 식물의 관능적 특성을 개선시키는 것으로 보고되었는데(Kim 등, 2010; Song 등, 2016) 젓산 등 발효산물의 증가가 맛 개선에 기여하는 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 약초 당침 추출액의 발효특성을 분석하고 관능적 특성을 개선할 수 있는 적정 발효조건을 도출하여 유산균 발효 약초음료 개발에 응용하고자 하였다. 설탕을 이용하여 1년 숙성, 추출한 개똥썩은, 어성초 및 삼백초 당침액(50±5°Bx)을 10, 15 및 20°Bx로 희석한 후 김치로부터 분리한 *L. plantarum* DK119 (5×10<sup>9</sup> CFU/mL)를 2% (v/v) 접종하고 37°C에서 4일 동안 발효하면서 유산균 수, pH, 적정산도 및 환원당 함량 변화를 분석한 결과 개똥썩은은 20°Bx, 어성초는 10°Bx, 그리고 삼백초는 15°Bx가 발효 가능한 농도로 나타났다. 즉, 희석농도와 접종 유산균 수가 유사한 조건에서도 사용한 약초 종류에 따라 발효특성에 차이가 있음을 알 수 있다. 발효 기간 중 개똥썩은, 어성초 및 삼백초 희석액의 총폴리페놀 함량은 모든 희석액에서 변화가 없는 반면 DPPH radical 제거능과 환원력(FRAP)은 발효 2일에 유의적 증가를 보여 발효 중 항산화 활성에 영향을 미치는 발효 산물이 생성되는 것으로 추정된다. 관능검사 결과, 발효 전 당침액에서 나는 특유의 불쾌한 약초 맛이 발효 1일부터 감소하고 종합적 기호도가 발효 2-3일에 높아져 *L. plantarum* DK119를 이용한 유산균 발효는 약초 당침액의 항산화 활성을 증가시키고 관능적 품질특성을 개선시켜 약초 추출물을 이용한 건강 음료 개발에 응용 가능한 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 중소기업청(CO250235) 및 청운대학교 2016년 학술연구조성비 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## References

- Ahn YB, Kang KM, Kim JH, Park LY, Lee SH. Quality characteristics of fermented wild grass juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 1731-1736 (2014)
- Benzie IFF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol.* 299: 15-27 (1999)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
- Chiow KH, Phoon MC, Putti T, Tan BK, Chow VT. Evaluation of antiviral activities of *Houttuynia cordata* Thunb. extract, quercetin, quercetrin and cinanserin on murine coronavirus and dengue virus infection. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 9: 1-7 (2016)
- Cho EK, Song HJ, Cho HE, Choi IS, Choi YJ. Development of functional beverage (SanYa) from fermented medical plants and evaluation of its physiological activities. *J. Life Sci.* 20: 82-89 (2010)
- de Vrese M, Schrezenmeier J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 111: 1-66 (2008)
- Gaanappriya M, Guhankumar P, Kiruththica V, Santhiya N, Anita S. Probiotication of fruit juices by *Lactobacillus acidophilus*. *Int. J. Adv. Biotechnol. Res.* 4: 72-77 (2013)
- Hong SB, Lee CH. Antimicrobial activity of *Houttuynia cordata* ethanol extract against major clinical resistant microorganisms. *Korean J. Clin. Lab. Sci.* 47: 140-146 (2015)
- Hwang CE, Haque MA, Lee JH, Ahn MJ, Lee HY, Lee BW, Lee YY, Lee C, Kim BJ, Park JY, Sim EY, Lee DH, Ko JM, Kim HT, Cho KM. Changes in phytoestrogen contents and antioxidant activities during fermentation of soybean-powder milks prepared from different soybean cultivars by *Lactobacillus plantarum* P1201. *Korean J. Microbiol.* 52: 202-211 (2016)
- Ivarsen E, Frette XC, Christensen KB, Christensen LP, Engberg RM, Grevsen K, Kjaer A. Bioassay-guided chromatographic isolation and identification of antibacterial compounds from *Artemisia annua* L. that inhibit *Clostridium perfringens* growth. *J. AOAC Int.* 97: 1282-1290 (2014)
- Kim DH, Beik KY. The qualities and functionalities of the fermentation broth of fruits, vegetables and medicinal herbs. *Korean J. Food Nutr.* 20: 195-201 (2007)
- Kim WS, Choi WJ, Lee S, Kim WJ, Lee DC, Sohn UD, Shin HS, Kim W. Anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial effects of artemisinin extracts from *Artemisia annua* L. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 19: 21-27 (2015)
- Kim YW, Jang EJ, Kim CH, Lee JH. Sauchinone exerts anticancer effects by targeting AMPK signaling in hepatocellular carcinoma cells. *Chem. Biol. Interact.* 261: 108-117 (2017)
- Kim YM, Jeong HJ, Chung HS, Seong JH, Kim HS, Kim DS, Lee YG. Anti-oxidative activity of the extracts from *Houttuynia cordata* Thunb. fermented by lactic acid bacteria. *J. Life Sci.* 26: 468-474 (2016)
- Kim JM, Moon YS, Yoon KY, Suh SG. Quality properties and preference of fermented *Gastrodia elata* Blume. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 28: 507-514 (2010)
- Kim HD, Yim SB, Oh HL, Jeon HL, Kim CR, Kim NY, Hong YP, Lee JH, Kim MR. The quality characteristics and antioxidant activity of extracts of *Schisandra chinensis* Baillon salad dressing prepared with yam juice and mulberry. *Korean J. Food Cook. Sci.* 28: 531-540 (2012)
- Lee JH, Ahn J, Kim JW, Lee SG, Kim HP. Flavonoids from the aerial parts of *Houttuynia cordata* attenuate lung inflammation in mice. *Arch. Pharm. Res.* 38: 1304-1311 (2015a)
- Lee DS, Kang MS, Kim YC, Im NK, Kim HS, Jeong GS. Functionality analysis of *Rhus javanica* fermented by *Lactobacillus* spp. *J. Life Sci.* 23: 44-54 (2013)
- Lee KS, Kim JN, Chung HC. Study on anti-oxidative activities and beverage preferences relating to fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar through lactic acid fermentation. *J. East Asian Soc. Diet. Life* 25: 183-192 (2015b)
- Lee SS, Kwon DJ. Quality characteristics of kimchi with *Artemisia*

- annua* extracts. Korean J. Food Preserv. 22: 666-673 (2015)
- Lu H, Wu X, Liang Y, Zhang J. Variation in chemical composition and antibacterial activities of essential oils from two species of *Houttuynia* THUNB. Chem. Pharm. Bull.(Tokyo) 54: 936-40 (2006)
- Martinez RC, Bedani R, Saad SM. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. Br. J. Nutr. 28: 1993-2015 (2015)
- Meng X, Kim IH, Jeong YJ, Cho YM, Kang SC. Anti-inflammatory effects of *Saururus chinensis* aerial parts in murine macrophages via induction of heme oxygenase-1. Exp. Bio. Med. 241: 396-408 (2016)
- Park LY. Effect of *Houttuynia cordata* Thunb. powder on the quality characteristics of bread. Korean J. Food Sci. Technol. 47: 75-80 (2015)
- Park SY, Cho JY, Chung DO, Ham KS. Physicochemical characteristics and physiological activities of naturally fermented glasswort (*Salicornia herbacea* L.) juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 1493-1500 (2011a)
- Park SC. Characteristics of fermented omija (*Schizandra chinensis* Baillon) sugar treatment extracts by *Lactobacillus* sp. Korean J. Microbiol. 50: 60-66 (2014)
- Park JE, Kim MJ, Park SH, Lee HS. Quality characteristics of noodle added with dried *Saururus chinensis* Baill. root powder. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 1764-1768 (2011b)
- Park MK, Ngo V, Kwon YM, Lee YT, Yoo S, Cho YH, Hong SM, Hwang HS, Ko EJ, Jung YJ, Moon DW, Jeong EJ, Kim MC, Lee YN, Jang JH, Oh JS, Kim CH, Kang SM. *Lactobacillus plantarum* DK119 as a probiotic confers protection against influenza virus by modulating innate immunity. PLOS One 8: 1-10 (2013)
- Piasecka-Jozwiak K, Rozmierska J, Chablowska B, Stecka K, Skapska S, Kliszcz M, Szkudzinska-Rzeszowiak E. Starter cultures for lactic acid fermentation of sweet pepper, pattypan squash and tomatoes. Pol. J. Food Nutr. Sci. 63: 95-102 (2013)
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 299: 152-178 (1999)
- Slezakova S, Ruda-Kucerova J. Anticancer activity of artemisinin and its derivatives. Anticancer Res. 37: 5995-6003 (2017)
- Song YE, Choi SR, Song EJ, Seo SY, Lee IS, Han HA, Lee KK, Song YJ, Kim YH, Kim MK, Park SY. Quality characteristics of fermentation *Gastrodia elata* Blume by saccharifying methods. Korean J. Food Nutr. 29: 698-705 (2016)
- Teixeira RS, da Silva AS, Ferreira-Leitao VS, da Silva Bon EP. Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity measurements. Carbohydr. Res. 363: 33-37 (2012)