J East Asian Soc Dietary Life
25(1): 183~192 (2015)
http://dx.doi.org/10.17495/easdl.2015.2.25.1.183

젖산발효한 연근, 도라지 당추출 발효액의 항산화 활성과 음료기호성에 관한 연구

이경수 · 김주남 · 정현채†

영남이공대학교 관광외식학부 식음료조리계열

Study on Anti-oxidative Activities and Beverage Preferences Relating to Fermented Lotus Root and *Platycodon grandiflorum* Extracts with Sugar through Lactic Acid Fermentation

Kyung-Soo Lee, Ju-Nam Kim and Hyun-Chae Chung†

School of Tourism & Food Service, Division of Food, Beverage & Culinary Arts, Yeungnam University College, Daegu 705-703, Korea

ABSTRACT

This study aimed to produce fermented extracts with sugar made from lotus root (LR) and *Platycodon grandiflorum* (PG), using lactic acid fermentation, and confirmed their physiological and anti-oxidative activities as basic data for manufacturing functional drinks through sensory tests. For the final sugar concentrations, PG showed 48.1 °brix and LR showed 52.0 °brix. Sugar concentrations during lactic acid fermentation following dilution of sugar to 12 °brix, ranged from 11.5~12.1 °brix for PG and 11.9~12.4 °brix for LR. During lactic acid fermentation, lactic acid bacteria numbers tended to decrease in both fermented LR and PG extracts with sugar as the fermentation period increased. For DPPH radical scavenging ability, LR was three times higher in control without lactic acid fermentation while PG showed significant increases in *L. acidophilus* (77%), *L. brevis* (90%), and *L. delbrueckii* (177%) during lactic acid fermentation. For total polyphenol content, LR showed a higher concentration than PG, and except for fermented *L. delbrueckii* extract showing similarity with the control, contents of fermented extracts decreased. In the case of PG, CUPRAC, increased significantly in *L. brevis*, whereas FRAP, increased significantly in *L. delbrueckii* with lactic acid fermentation. For reducing power, except for fermentation with *L. brevis*, all PG showed lower reducing power activities. In the sensory test of fermented LR and PG extracts with sugar, both fermented extracts showed better results with *L. brevis* or *L. delbrueckii* than control or those with *L. acidophilus* in every item. Based on these results, it is highly possible to develop fermented extract drinks with sugar using LR or PG. In particular, lactic acid bacteria such as *L. delbrueckii* and *L. brevis* showed generally higher activities with potential as a functional drink.

Key words : Lotus root, *Platycodon grandiflorum*, lactic acid bacteria, lactic acid fermentation

서 론

산업 발달과 경제 성장으로 인하여 국민의 생활수준이 많이 향상됨에 따라 건강에 대한 관심이 고조되고, 과학과 의학의 발전으로 평균수명도 크게 높아지면서 인구의 고령화가 빠르게 진행되고 있다. 이와 더불어 식습관 역시 발효식품을 즐겨 먹던 전통적 형태에서 서구형으로 바뀌면서 육류에 의한 열량과 지방의 과다섭취, 가공식품 및 식품첨가물의 과다섭취 등이 질병을 일으키는 주요 원인이 되고 있다. 이로 인하여 성인병이라 불리는 고혈압, 뇌졸중, 당뇨병, 암, 동맥경화증, 만성 간질환 등 만성퇴행성 질환의 발병률이 점점 높아지게 되면서, 현대인들의 건강식품에 대한 관심이 향상되고 있다. 육류식이었던 생활 패턴이 점점 식물성 식품을 선호하는 경향으로 바뀌어가고, 또 식물성 소재에서 여러 가지 생리 성분이 추출된 식품을 섭취하고자 하는 경향이 나타나고 있다. 이러한 성격의 대표적인 것이 최근 몇 년 동안 민간에서 많이 만들어 섭취하고 있는 식물추출 발효액이다. 일반적으로 가공식품은 제조과정에서 여러 가지 영양성분뿐만 아니라, 효소 등이 파괴되기 쉬운데 비하여 이러한 식물에는 여러 가지의 효소나 기능성 성분들이 함유되어 있어서, 이를 추출하여 숙성 발효시키면 많은 성분들이 활성화되어 흡수되기 쉬운 형태로 변환될 수 있다. 이로 인하여 새로운 생리조절기능을 발현할 수 있을 것으로 알려지고 있는데, 이러한 식물추출물 발효액은 항산화성, 항비만, 항암 등의 기능성이 있는 것으로 보고되고 있다(Kim *et al* 2011; Lee *et al* 2012; Yang *et al* 2011). 식물 유래 소재로 발효액의 기능성은 밭미나리를 소재로 하여 간질환 효과가 좋아졌다는 보고(Whang

† **Corresponding author :** Hyun-Chae Chung, Tel : +82-53-650-9347, E-mail : chc@ync.ac.kr

et al 1999)와 버섯발효액을 이용하여 SOD활성이 좋아진 경우(Kim & Lee 2003), 산야채 발효액의 우수한 기능성 등에서 연구(Kim *et al* 2003)된 바 있으며, 당근, 브로컬리, 가지, 양배추, 치커리, 두릅, 무, 토마토 발효액의 항산화 활성도 보고된 바 있다.(Kim *et al* 2005). 이외 항고혈압성이 우수한 것으로 연구되어진 논문도 소수 발표되기도 하였다(Seo *et al* 2007; Jang *et al* 2010). 이와 같이 식물추출 발효액이 기능적으로 우수한 것으로 평가 보고되고 있으나, 이것에 관한 연구는 아직 미진한 상태이다. 현재 일반 가정이나 농가에서는 웰빙 영향으로 여러 가지 식물소재를 이용하여 많이 만들어 먹고 있는 실정이지만, 실제 어떠한 기능성과 생리적인 면이 좋은지에 대해선 깊이 알져진 것이 없으며, 오래전부터 경험적 혹은 구전으로 내려오는 단편적인 사실만 알고 있을 뿐이다. 최근에는 뿌리식물이 몸에 좋다는 것이 소문으로 퍼지면서 연근이나 도라지 같은 근채류가 인기 소재로 부각되기도 하였다. 연근이나 도라지는 가정에서 반찬으로 흔히 먹는 계절성 부식식품의 소재 중 하나로, 일부 가정에서 이것을 설탕으로 추출하여 발효액으로 음용하는 경우가 있다. 그러나 아직 연근이나 도라지로 제조한 당추출 발효액에 관한 연구 보고가 없으며, 일부 원재료 혹은 추출물의 기능성에 관한 논문만 연구 보고된 실정이다(Jeong & Shim 2006; Jang *et al* 2011; Lee *et al* 2006; Kim *et al* 2010; Park *et al* 2005). 또한, 다양한 생리활성물질을 가지고 있을 것으로 예상되는 연근과 도라지는 몇몇 건조 가공식품을 제외하고는 개발 가공되는 제품이 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 최근 국민들이 많은 관심을 가지고 가정에서 제조해서 즐겨 먹고 있는 식물 발효액 중 계절성 부식류이자 대표적인 근채류인 연근과 도라지의 당추출 발효액을 제조하고, 이를 젖산발효시켜 발효액을 제조한 후 당추출 발효액과 젖산발효액에 대한 생리활성과 항산화 활성을 확인하고, 관능검사를 통해 기능성 음료 제조 가능성에 대한 기초 자료로 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 당추출 발효액 제조

본 연구에 사용된 식물소재 발효액은 일반 가정에서 만들어지는 방법에 준하여 재료를 구입하고, 설탕과 소재를 1:1로 혼합한 후 추출 발효액을 제조하였다. 실험에 사용된 재료는 근채류 중 가정에서 흔히 먹는 대표적인 식물인 도라지(PG, *Platycodon grandiflorum*)와 연근(LR, Lotus root)으로 하였으며, 모든 재료는 2013년 5~10월 사이에 대구 소재의 중앙 평화상사 식자재 도매업소를 통해 국내산으로 직접 구매한 후 흐르는 물에 수세하여 샘플로 사용하였다. 당침방법은 Kim *et al*(2011)의 방법을 변형하였는데 즉, 물기가 제거된 각 샘플(5 kg)을 올리고당 대신 동량의 설탕(5 kg)과 함께 살균된 유리병(20 L)에 넣고 그늘진 곳에서 당에 의해 자연적으로 추출되도록 하였으며, 4개월 동안 실온에서 저장하며 숙성 발효시켰다. 추출이 끝난 후 면포로 착즙하여 당추출 발효액을 제조하였으며, 완성된 샘플은 냉장보관하여 실험에 사용하였다.

2. 당추출 발효액의 젖산발효

당추출 발효액의 젖산발효는 Lee *et al*(2014)의 방법을 변형하여 제조하였다. 제조된 당추출 발효액의 당농도가 높아서 젖산발효가 일어나지 않는다는 Lee *et al*(2014)의 보고와 같이, 본 연구 역시 젖산균이 발효할 수 있도록 12 °brix 정도의 당 농도로 당추출 발효액을 증류수로 희석하였다. 젖산발효에 사용된 젖산균은 본 연구실에서 분리 동정한 *Lactobacillus brevis*와 한국미생물보존센터에서 분양받은 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 32820 및 *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 11842를 Lactobacilli MRS broth에 증균 배양한 후 4,000 rpm에서 30분간 원심분리(Centrifuge 5810R, eppendorf, Germany)하여 상징액을 제거하였다. 남은 균체는 생리식염수로 1회 세척하고, 재 원심분리하여 가라앉은 젖산균을 증류수로 희석한 후, 당추출 발효액과 혼합하여 최종 당농도가 12 °brix 정도가 되도록 조정하였으며, 37℃에서 6일간 젖산 발효 후 4,000 g에서 30분간 원심분리(Centrifuge 5810R, eppendorf, Germany)하여 상징액을 젖산발효액으로 사용하였다.

3. pH, 수분, 조회분, 당(°brix) 및 젖산균 측정

pH는 시료 10 mL를 pH meter(FE20, Mettler, Swiss)로 측정하였다. 수분과 조회분은 식품공전(Korean Food Standards Codex 2008)의 실험법에 준하여 분석하였는데, 수분은 105℃ 상압건조법에 의해 측정하였으며, 조회분은 탄화시킨 시료를 550℃ 회화로(VS-130FS, Vision Co., Korea)에 넣고 직접 회화법에 의해 분석하였다. 당(°brix) 측정은 굴절 당도계(0~90%)(Atago No.533023, Japan)를 이용하여 측정하였다. 젖산균은 Sung & Choi(2014)의 방법을 변형하여 측정하였는데, 시료 1 mL를 채취한 후 멸균된 생리식염수에 10단계 희석한 후, 각 단계 희석액 1 mL와 미리 멸균한 Lactobacilli MRS agar(Difco, Detroit, USA)와 혼합분주하여 37℃에서 48시간 배양한 후 나타난 집락을 계수한 후 colony forming unit로 나타내었다.

4. 생리활성 및 항산화 활성 분석

1) DPPH Radical Scavenging Ability

DPPH 라디칼 소거활성은 Blois MS(1958)의 방법에 따라

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(Sigma, St. Louis, USA) radical 소거능을 측정하였다. 즉, 각 농도의 시료 1 mL에 0.15 mM DPPH용액 1.5 mL를 가하고, 실온에서 30분간 반응 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여, 시료첨가구와 비첨가구의 차이를 백분율로 나타내었다.

2) Total Polyphenol Contents

총 폴리페놀 함량은 Folin & Denis(1912)의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 각각의 시료를 증류수와 혼합한 후 1 mg/mL로 농도를 조절한 후 사용하였으며, 시료 0.2 mL 주입 후 Folin-Ciocalteu's Reagent(Sigma, St. Louis, USA) 0.1 mL를 첨가하였다. 혼합하여 3분간 실온에서 방치하고, 여기에 10% Na_2CO_3 0.08 mL를 가하여 혼합한 뒤 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 gallic acid(Sigma, St. Louis, USA)를 이용한 표준곡선으로부터 함량을 산출하였다.

3) Cupric Reducing Antioxidant Capacity(CUPRAC)

CUPRAC은 Resat *et al*(2004) 및 Rhim TJ(2013)의 방법에 따라 측정하였는데, 즉, 추출물에 2.44 mM cupric chloride용액과 1.83 mM neocuprion 및 0.24 mM ammonium acetate 완충용액 pH 7.0 등을 첨가하고 혼합한 뒤, 실온에서 1시간 방치한 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 표준시약으로 사용하여 표준곡선을 작성하였고, CUPRAC 활성은 μg TE/mL로 표기하였다.

4) Ferric Reducing Antioxidant Power(FRAP)

FRAP에 의한 환원력 실험은 Benzie & Strain(1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. FRAP regent는 sodium acetate buffer(pH 3.5, 300 mM)와 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ(2,4,6,-tris(2-pyridyl)-s-triazine) 및 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37℃에서 10분 가온한 후 FRAP regent로 사용하였다. 각 농도별 시료 100 μL에 FRAP regent 900 μL를 혼합하여 암소에 30분 반응시킨 다음 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 ascorbic acid(Sigma, St. Louis, USA)를 표준물질로 하여 얻은 표준검량선으로 부터 계산하였다.

5) Reducing Power

환원력은 Mau *et al*(2002) 및 Seo *et al*(2008)의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 각 추출조건에 따른 추출물 2.5 mL에 0.175 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide 2.5 mL를 각각 혼합하여 50℃에서 20분간 반응시킨 후 1% TCA(Trichloroacetic acid) 2.5 mL를 가하였다. 이 반응액을 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상징액 5 mL에 증류수 5 mL를 혼합하고, 0.1% ferric chloride 1 mL를 가하여 700 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 대조구는 시료대신 증류수 2.5 mL를 가하였고, 양성 대조구는 ascorbic acid(Sigma, St. Louis, USA)를 사용하였으며, reducing power는 흡광도 값으로 비교하였다.

5. 관능검사

발효액의 관능검사는 7점 기호척도법을 이용하여 향, 단맛, 신맛, 종합적 기호도로 12명의 훈련된 관능요원에 의하여 시행하였다. 즉, 매우 좋다(7점), 보통이다(4점), 매우 싫다(1점)로 하였으며, 관능검사 결과의 통계처리는 SPSS 프로그램(ver 19.0)을 이용하였으며, Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다.

6. 통계처리

모든 실험구는 3회 반복 실험하였으며, 얻은 실험 결과는 SPSS 통계 프로그램(ver 19.0)을 이용하여 실험군의 평균과 표준오차를 계산하였으며, 일원배치 분산분석을 한 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군의 평균값간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. pH, 수분, 조회분 및 당(°brix) 측정

연근과 도라지 당추출 발효액의 pH를 조사한 결과(Table 1), 도라지 당추출 발효액은 pH 2.77, 연근이 2.97로 연근의 pH가 더 높게 나타났다($p<0.001$). Kim *et al*(2011)의 연구에서 미나리를 올리고당으로 3년 동안 침출 발효시킨 결과, pH가 3.43에서 3.74 범위로 나타난 것에 비해 본 실험 결과가 좀 더 낮게 나타났지만, 이는 당 종류와 식물 소재 차이에 의해 나타난 결과라 판단된다. 각 당추출 발효액의 수분 함량과 조회분 함량을 조사한 결과(Table 1), 수분은 47.20%(연근)과 50.90%(도라지)로 도라지의 수분함량이 높았으며($p<0.001$), 조회분은 0.16%(연근)와 0.18%(도라지)로 나타났다. Korean Food Composition Table(1996)에 나타난 연근, 도라지의 조회분 함량보다 8~9배 정도 낮은 결과가 나타났는데, 이는 설탕에 의한 삼투작용으로 추출되는 성분이 일부분에 지나지 않아서 이러한 결과가 나타난 것으로 판단되었다. 당추출 발효액의 당농도를 °brix 함량으로 확인한 결과, 도라지가 48.1 °brix이고, 연근이 52.0 °brix로 연근의 당 함량이 높게 나타났다($p<0.001$). 일반 가정에서 이러한 당추출 발효액을 만들어 오랫동안 저장해서 먹을 수 있는 것이 제조 시 첨가한 당 농도가 높아서 나타난 결과도 있지만, 본 연구의

Table 1. pH value, moisture, crude ash and sugar contents of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar

	pH	Moisture(%)	Crude ash(%)	Sugar(°brix)
LR[1)]	2.97±0.02	47.20±0.20	0.16±0.01	52.00±0.29
PG[2)]	2.77±0.02	50.90±0.30	0.18±0.01	48.10±0.06
t-value	12.247***	−17.774***	−2.449	22.810***

[1)] LR: Lotus root, [2)] PG: *Platycodon grandiflorum.*
All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.
*** Means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.001).

결과에서 보듯이 pH가 낮음에 따른 저장효과 역시 병행되었다고 생각되었다.

2. 당추출 발효액의 젖산발효 중 당농도(°brix) 및 젖산균의 변화

연근과 도라지 당추출 발효액을 12 °brix 정도로 조절한 후, 젖산균으로 6일 동안 젖산발효하면서 변화된 당도를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 도라지인 경우, 세 종류의 젖산균 모두 발효하는 기간 동안 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으나(p<0.001), 발효 전후의 당 농도 차이를 보았을 때 가장 큰 차이를 보인 *L. delbrueckii*가 0.5 °brix 수준으로 그 차이는 크지 않았다. 각 발효 일에 따른 젖산균 간의 당 함량은 *L. delbrueckii*가 유의적으로 가장 많이 감소하는 것으로 나타났다. 연근인 경우, *L. acidophilus*로 발효시 발효 기간 동안 유의적으로 감소하는 것으로 나타난 반면, *L. brevis*와 *L. delbrueckii*는 발효 4일째를 기준으로 당 함량이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 각 발효 일에 따른 젖산균 간의 당 함량의 감소 경향은 *L. acidophilus*가 유의적으로 좀 더 많이 감소하는 것으로 나타났으나, 그 차이가 가장 큰 발효 2일째를 기준으로 0.3 °brix 수준이어서 도라지와 마찬가지로 크지 않았다. Lee *et al*(2014)이 부추 당침액을 이용하여 젖산발효시 7일간의 발효기간 동안 4~5 °brix 정도 감소된다고 보고한 것과는 상이한 결과였다.

연근과 도라지의 당추출 발효액을 *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. delbrueckii*로 젖산발효하면서 6일 동안 나타나는 젖산균의 수를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 당추출 발효액의 초기

Table 2. Changes in sugar content of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar during lactic acid fermentation (unit : °brix)

	Platycodon grandiflorum (day)				
	0	2	4	6	*F*-value
La[1)]	[5)A]12.1±0.01[a4)]	[A]12.0±0.00[b]	[A]11.8±0.01[c]	[A]11.7±0.01[d]	3,013.449***
Lb[2)]	[A]12.1±0.01[a]	[B]11.9±0.01[b]	[A]11.8±0.01c	[A]11.7±0.01[d]	1,643.018***
Ld[3)]	[B]12.0±0.00[a]	[C]11.8±0.00[b]	[B]11.6±0.01c	[B]11.5±0.01[d]	3,028.806***
F-value	349.504***	2,694.051***	1,011.501***	397.144***	
	Lotus root (day)				
	0	2	4	6	*F*-value
La[1)]	[C]12.2±0.01[a]	[C]12.1±0.01[b]	12.0±0.00[c]	[B]11.9±0.01[d]	893.868***
Lb[2)]	[B]12.3±0.01[a]	[B]12.3±0.01[a]	12.2±0.00[b]	[A]12.2±0.00[b]	77.672***
Ld[3)]	[A]12.4±0.01[a]	[A]12.4±0.00[a]	12.2±0.00[b]	[A]12.2±0.01[b]	570.008***
F-value	204.491***	713.161***	0	1,063.950***	

[1)] La: *Lactobacillus acidophilus*, [2)] Lb: *Lactobacillus brevis*, [3)] Ld: *Lactobacillus delbrueckii,* [4)] [a~d] Means with different superscripts in the same row differ significantly. [5)] [A~C] Means with different superscripts in the same column differ significantly.
All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.
*** Means in the same row and column with different superscripts are significantly different (p<0.001).

균수는 $10^{9\sim10}$ CFU/mL 수준이었으나, 연근 및 도라지 당추출 발효액의 발효기간이 늘어나면서 전반적으로 점점 감소하는 경향이었다. 젖산발효 2일에서 4일차 동안은 서서히 감소하였으나, 4일차 이후에는 젖산균의 수가 급격히 감소함을 나타냈는데, 특히 *L. delbrueckii*에 비해 *L. acidophilus*와 *L. brevis*의 감소가 현저하게 나타남을 알 수 있었다.

3. 생리활성 및 항산화 활성 분석

1) DPPH Radical Scavenging Ability

DPPH radical scavenging ability는 항산화활성 측정방법 중 하나로 안정한 DPPH radical을 소거시키는 항산화물질의 활성을 측정하는 것으로(Ancerewicz *et al* 1998), 연근과 도라지 당추출 발효액을 젖산발효하여 DPPH radical 소거능을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 당추출 발효액을 증류수로 희석하여 12 °brix로 만든, 즉 젖산발효하지 않은 연근과 도라지 대조구(control)의 DPPH radical 소거능은 연근이 도라지보다 3배 이상 우수한 것으로 나타났다. Lee *et al*(2007)이 연근을 용매 추출하여 항산화 효과를 측정한 결과, ethylacetate 분획물에서 합성항산화제인 BHT와 유사한 전자공여능이 나타난 것으로 보고한 바와 같이 연근의 전자공여능이 우수할 것으로 판단되었다. 대조구인 발효액에 세 종류의 다른 젖산균으로 젖산발효시킨 결과, 연근인 경우는 *Lactobacillus delbrueckii*로 발효시 원래의 대조구 활성보다 8% 정도 유의적으로 높아지는 것으로 나타났으며, 도라지인 경우는 *L. acidophilus*일 때 77%, *L. brevis*일 때 90%, *L. delbrueckii*일 때 177% 정도로 대조구의 활성보다 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. Lee *et al*(2014)의 연구에서 부추 당침액에 젖산균을 발효시켜 DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과, 젖산균의 종류에 따라 증감이 다르게 나타났는데, 본 연구 역시 젖산균에 따라 각각의 활성이 다르게 나타났다. Park & Chang (2003)은 복분자의 유산발효로 생리 활성을 평가한 결과, DPPH 라디칼 소거능에서 복분자 원액보다 오히려 젖산발효 후 소폭 감소한 것으로 나타났는데, 본 연구 역시 일부 젖산균은 DPPH 라디칼 소거능이 감소한 것과 같은 결과이었다.

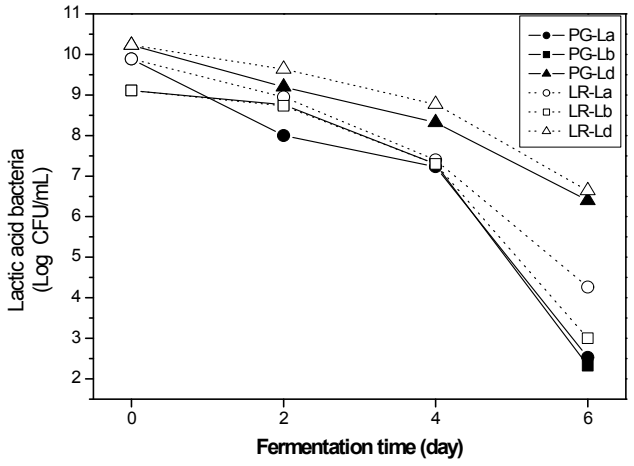

Fig. 1. Changes in lactic acid bacteria of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar during lactic acid fermentation.

LR: Lotus root, PG: *Platycodon grandiflorum*, La: *Lactobacillus acidophilus*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Ld: *Lactobacillus delbrueckii*.

All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.

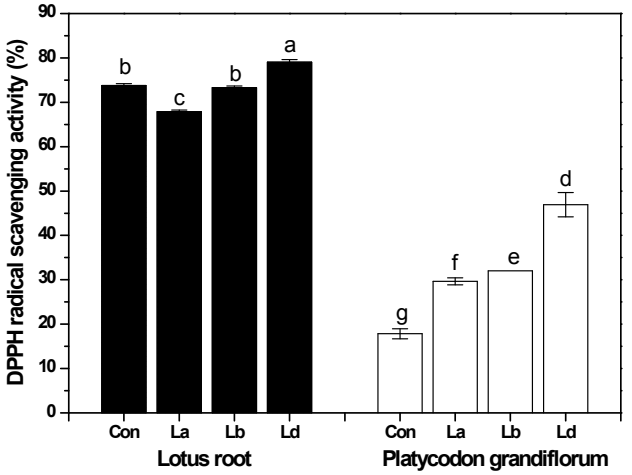

Fig. 2. DPPH radical scavenging ability of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar after lactic acid fermentation.

Con: Fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar without lactic acid fermentation, La: *Lactobacillus acidophilus*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Ld: *Lactobacillus delbrueckii*, *F*-value: 1,340.997***. (*** p<0.001).

Values with same letter are not significantly different (p<0.05).

All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.

2) 총 폴리페놀 함량

식물이 함유한 폴리페놀성 물질(phenolic compound)은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에, 단백질 및 기타 거대한 분자들과 결합하는 성질과 항산화 기능이 있는데(Nakatani N 1990; Nozaki K 1986), 연근과 도라지의 당추출 발효액을 젖산발효하여 이러한 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 젖산발효 전 연근(181 μg GAE/mL)과 도라지(126 μg GAE/mL)의 당추출 발효액(control)의 총 polyphenol 함량은 연근에서 좀 더 많은 함량이 나타났다. 두 샘플을 젖산발효시킨 후의 함량을 비교해 보면, 연근인 경우 *L. delbrueckii*를 제외하고는 대조구보다 낮게 나타났으며, *L. delbrueckii*로 발효시 유의적으로 차이가 없는 것으로 나타났다. 도라지 발

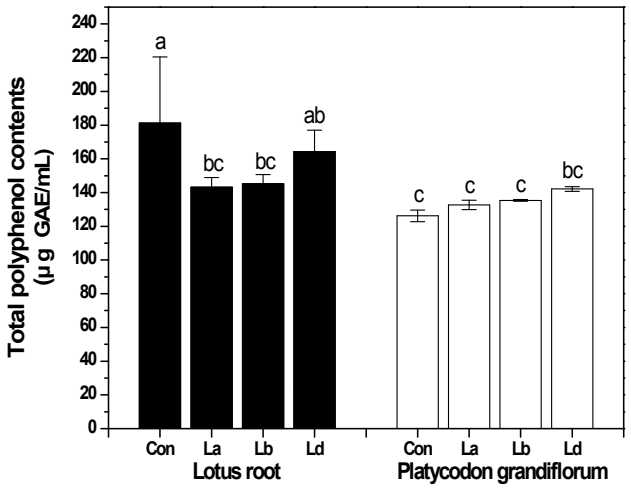

Fig. 3. Total phenolic contents of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar after lactic acid fermentation.

Con: Fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar without lactic acid fermentation, La: *Lactobacillus acidophilus*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Ld: *Lactobacillus delbrueckii*, *F*-value : 4.401**.(** p<0.01).

Values with same letter are not significantly different (p<0.05). All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.

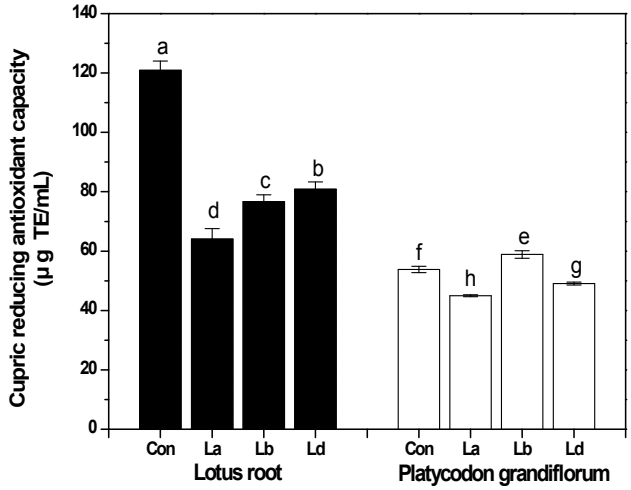

Fig. 4. Cupric reducing antioxidant capacity assay of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar after lactic acid fermentation.

Con: Fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar without lactic acid fermentation, La: *Lactobacillus acidophilus*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Ld: *Lactobacillus delbrueckii*, *F*-value : 394.097***. (*** p<0.001).

Values with same letter are not significantly different (p<0.05). All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.

효액 역시 젖산발효 후 총 폴리페놀 함량의 증가가 거의 없이 대조구와 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 즉, 당추출 발효액을 젖산발효를 하였을 때 총 폴리페놀 함량은 증가하지 않고 오히려 감소하는 것으로 나타났다. Lee *et al*(2014)의 연구에서 부추 당침액에 젖산균을 발효시켜 total polyphenol 함량과 flavonoid 함량을 조사한 결과, 부추의 당침액 원액의 함량보다 오히려 줄어드는 현상이 나타났는데, 본 연구의 결과와 일치하였다. 또, Sung & Choi(2014) 연구에서 요구르트에 오디분말을 첨가한 후 총 폴리페놀의 함량을 측정한 결과, 발효시간이 경과함에 따라 감소한 부분과도 일치하는 결과이었다.

3) Cupric Reducing Antioxidant Capacity(CUPRAC)

CUPRAC assay는 추출물의 Cu^{2+} 환원되는 능력을 확인하는 것으로 이용되고 있는데(Chen *et al* 2005), 연근과 도라지의 당추출 발효액을 젖산발효하여 이러한 CUPRAC을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. CUPRAC 역시 도라지(53 μg TE/mL)보다 연근(121 μg TE/mL) 당추출 발효액의 활성이 약 130% 정도 더 우수한 것으로 나타났다. 젖산균을 이용하여 젖산발효를 진행한 결과, 연근의 경우 *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. acidophilus* 순으로 CUPRAC 활성이 감소하는 것으로 나타났으며, 도라지 역시 *L. brevis* 발효액을 제외하고는 대조구보다 감소하는 것으로 나타났으나, *L. brevis*로 발효한 발효액은 대조구보다 12% 정도 활성이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다.

4) Ferric Reducing Power(FRAP)

FRAP은 반응 혼합 추출물 속에 존재하는 전자를 공여하는 항산화제의 환원능력 또는 결합능력과 관련이 있는 항산화 측정방법으로(Benzie & Strain 1996; Griffin & Bhagooli 2004; Ku *et al* 2009), 연근과 도라지의 당추출 발효액을 젖산발효하여 ferric reducing power를 분석한 결과는 Fig. 5와 같다. FRAP도 CUPRAC 실험 결과와 유사한 경향으로 연근(113 μg AAE/mL)이 도라지(92 μg AAE/mL)보다 높은 활성을 나타내었다. 연근 추출물은 젖산발효하지 않은 대조구에 비해 젖산발효하였을 때 오히려 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으며, *L. delbrueckii, L. brevis, L. acidophilus* 순으로 감소하였다. 도라지인 경우 *L. brevis*와 *L. acidophilus*로 발효하였을 때는 대조구보다 감소하였으나, *L. delbrueckii*로 발효시는 약 10% 정도 활성이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. Park & Chang(2003)는 복분자 농축액에 유산 발효하여 생리활성을 평가하였을 때, 전자공여능이나 SOD 유사활성 및 xanthine oxidase 억제활성이 감소한 몇 가지 이유 중 유산균에 의해 일부 대사되었기 때문이라고 추측하였는데, 본 연구 역시 CUPRAC이나 FRAP으로 항산화효과 측정시 일부 젖산균이 대조구보다 감소하는 것으로 나타난 부분은 이러

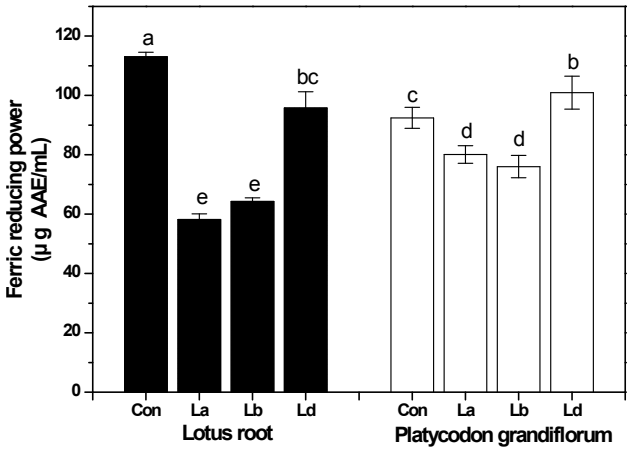

Fig. 5. Ferric reducing power of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar after lactic acid fermentation.
Con: Fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar without lactic acid fermentation, La: *Lactobacillus acidophilus*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Ld: *Lactobacillus delbrueckii*, *F*-value : 81.387***. (*** p<0.001).
Values with same letter are not significantly different (p<0.05). All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.

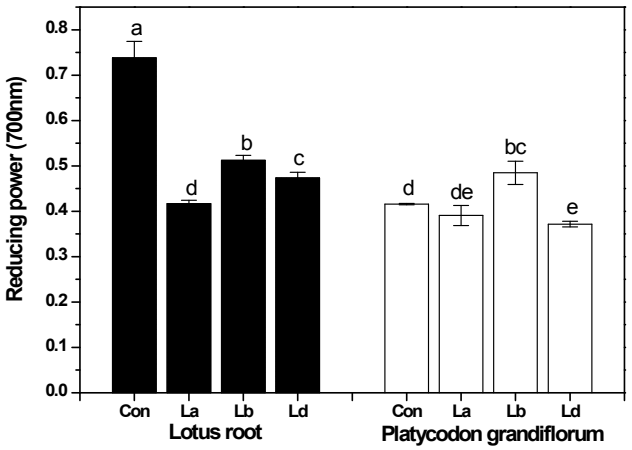

Fig. 6. Reducing power of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar after lactic acid fermentation.
Con: Fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar without lactic acid fermentation, La: *Lactobacillus acidophilus*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Ld: *Lactobacillus delbrueckii*, *F*-value : 116.137***. (*** p<0.001).
Values with same letter are not significantly different (p<0.05). All data are expresses as means±S.D. in triplicate determination.

한 이유도 작용하였을 것으로 생각되었다.

5) 환원력(Reducing Power)

환원력은 항산화 작용의 여러 기작 중에서 활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력을 뜻하는 것으로(Sa *et al* 2010), 흡광도 수치가 높게 나타날수록 환원력이 높다고 하는데(Jeong & Shim 2006), 연근과 도라지의 당추출 발효액을 젖산발효하여 이러한 환원력(reducing power)을 분석한 결과는 Fig. 6과 같다. 도라지보다 연근 당추출 발효액의 환원력 활성이 76% 이상 더 우수한 것으로 나타나, 연근의 기능성이 좀 더 우수한 것으로 나타났다. 도라지인 경우, *L. brevis*를 제외하고는 대조구의 능력보다 떨어지는 것으로 나타났으나, *L. brevis*인 경우는 발효를 통해 대조구보다 약 23% 가량 유의적으로 증가한 것을 볼 수 있었다. Lee *et al*(2013)에 의하면 발효차의 발효기간별 환원력을 측정한 결과, 발효 초기에 환원력이 급격히 감소한다고 보고하였는데, 본 연구에서 일부 젖산균의 발효시 환원력이 감소된 부분과 유사한 경향이라고 할 수 있었다.

이상의 몇몇 생리활성 및 항산화 활성을 분석해서 나타난 결과를 종합해 보면, 전반적으로 도라지보다 연근 당추출 발효액의 생리활성이 좀 더 우수한 것으로 나타났으며, 젖산발효시는 DPPH radical 소거능을 제외하고 총 polyphenol성 함량, cupric reducing antioxidant capacity, ferric reducing power, reducing power의 결과에서 연근인 경우 젖산발효시 오히려 당추출 발효액의 활성이 감소하는 경향으로 나타났다. 그러나 도라지 같은 경우, 젖산균의 종류에 따라 젖산발효에 의해서 함량이나 활성이 증가하는 경우가 나타났다. 즉, 젖산발효를 통해 생리활성이 좋아진다 혹은 나빠진다고 단정하기 어려우며, 발효액의 소재에 따라 또 젖산균의 종류에 따라 다르게 나타나기 때문에, 각 당 추출물과 젖산발효액을 제조하여 서로 비교 실험을 통해 소재별로 연구되어져야 할 필요성이 있을 것으로 판단되었다.

4. 연근과 도라지 젖산발효액의 관능검사

연근과 도라지의 당추출 발효액에 *L. acidophilus, L. brevis, L. delbrueckii*로 젖산발효한 발효액을 7점 기호척도법으로 관능검사를 실시한 결과는 Table 3과 같다.

연근인 경우, 단맛과 신맛에서 p<0.001, 종합적 기호도에서 p<0.01의 유의수준에서 유의적인 차가 나타났는데, 젖산발효하지 않은 액(control)과 젖산발효액을 비교해 보았을 때 단맛은 대조구가 가장 높은 점수가 나타났고, 신맛은 *L. brevis, L. delbrueckii*로 젖산발효한 발효액이 좋은 것으로 나타났다. 이러한 결과로 종합적으로 *L. brevis, L. delbrueckii*로 젖산발효한 발효액이 대조구나 *L. acidophilus* 발효액보다 높게 평가되었다.

도라지인 경우, 발효향과 신맛 및 종합적기호도에서 p< 0.001의 유의수준에서 유의적인 차가 나타났는데, 젖산발효하지 않은 액 control)과 젖산발효액을 비교해 보았을 때, *L.*

Table 3. Sensory evaluation of fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar after lactic acid fermentation

	Lotus root(LR)				
	Con[1)]	La[2)]	Lb[3)]	Ld[4)]	*F*-value
Flavor	4.92±0.67[a5)]	4.75±0.75[a]	5.17±0.83[a]	4.92±0.79[a]	0.605
Sweet	6.17±0.72[a]	4.83±0.72[b]	5.00±0.60[b]	4.67±0.65[b]	12.222***
Sour	4.25±0.62[c]	5.17±0.72[b]	5.75±0.75[ab]	5.83±0.83[a]	11.795***
Overall-acceptability	5.00±0.43[b]	4.83±0.58[b]	5.75±0.87[a]	5.75±0.75[a]	6.182**
	Platycodon grandiflorum(PG)				
	Con[1)]	La[2)]	Lb[3)]	Ld[4)]	*F*-value
Flavor	4.92±0.67[b]	6.00±0.74[a]	4.08±0.51[c]	4.92±0.29[b]	22.104***
Sweet	4.67±0.78[ab]	4.42±0.51[b]	5.08±0.67[a]	4.67±0.49[ab]	2.350
Sour	5.25±0.75[b]	4.92±0.51[b]	6.00±0.43[a]	5.92±0.29[a]	12.011***
Overall-acceptability	4.92±0.79[b]	4.67±0.65[b]	6.08±0.67[a]	5.83±0.72[a]	11.303***

[1)] Con : Fermented lotus root and *Platycodon grandiflorum* extracts with sugar without lactic acid fermentation, [2)] La: *Lactobacillus acidophilus*, [3)] Lb: *Lactobacillus brevis*, [4)] Ld: *Lactobacillus delbrueckii*. [5)] [a~c] Means with different superscripts in the same row differ significantly. Values with same letter are not significantly different ($p<0.05$).
*** $p<0.001$, ** $p<0.01$.

acidophilus 발효액의 향이 가장 좋게 나타났으며, 신맛은 오히려 *L. brevis*, *L. delbrueckii*로 젖산발효한 발효액이 가장 좋게 나타났다. 도라지의 종합적 기호도 역시 연근과 같이 *L. brevis, L. delbrueckii*로 젖산발효한 발효액이 대조구나 *L. acidophilus* 발효액보다 높게 평가되었다. 이러한 관능검사의 평가를 보면, 단순한 단맛을 가진 당추출 발효액보다 젖산발효시 기호성이 좀 더 높아짐을 알 수 있었으며, 이를 통해 식물 당추출 젖산발효 음료로써의 개발 가능성이 높을 것으로 판단되었다. Lee *et al*(2014)의 연구에서 부추 당침액으로 젖산발효시 기능성 음료소재로서의 활용성이 높다고 하였는데, 본 연구 역시 동일한 의견이었다. 나아가 일부 젖산균과 생리활성 및 항산화 실험에서 낮은 결과 값이 나타났지만, *L. delbrueckii*와 같은 일부 젖산균은 전반적으로 우수하게 나타나 기능성 젖산발효 음료로 제조하는데 우수할 것으로 판단되었다.

요 약

본 연구는 가정에서 즐겨 먹는 대표적인 근채류인 연근과 도라지의 당추출 발효액을 제조하고, 이를 젖산발효시켜 발효액을 제조한 후 생리활성과 항산화 활성을 확인하고, 관능검사를 통해 기능성 음료 제조 가능성을 대한 기초 자료로 조사하고자 하였다. 최종 당 농도는 도라지가 48.1 °brix, 연근이 52.0 °brix로 나타났다. 당추출 발효액을 12 °brix로 희석한 후 젖산발효하는 동안 변화하는 당 농도는 도라지가 11.5~12.1 °brix, 연근이 11.9~12.4 °brix 범위로 나타났다. 젖산발효기간 동안 초기 젖산균은 $10^{9\sim10}$ CFU/mL 수준이었으나, 연근 및 도라지 젖산발효액 둘 다 발효기간이 늘어날수록 감소하는 경향이었다. DPPH radical scavenging ability을 조사한 결과, 젖산발효하지 않은 control인 경우 연근이 도라지보다 3배 이상 우수한 것으로 나타났고, 젖산발효시 도라지인 경우 control보다 각각 *L. acidophilus*(77%), *L. brevis*(90%), *L. delbrueckii*(177%) 정도 유의적으로 증가한 것으로 나타났다. 총 폴리페놀함량 역시 연근이 도라지보다 함량이 많았으며, control과 비슷하게 나타난 *L. delbrueckii* 발효액을 제외하고는 젖산발효시 감소하는 것으로 나타났다.

도라지인 경우 CUPRAC 측정시 *L. brevis*에서, FRAP 측정시는 *L. delbrueckii*로 젖산발효시 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 환원력은 도라지에서 *L. brevis*로 젖산발효한 경우를 제외하고 모두 감소하는 것으로 나타났다. 연근과 도라지 젖산발효액의 관능검사 결과, 두 발효액 모두 control이나 *L. acidophilus* 보다 *L. brevis, L. delbrueckii*로 젖산발효한 액의 관능검사 결과가 모든 면에서 좋게 나타났다. 이상의 관능검사 결과, 연근이나 도라지를 이용한 당추출 젖산발효 음료로써의 개발 가능성이 높을 것으로 판단되었으며, 특히 *L. delbrueckii*와 *L. brevis* 같은 일부 젖산균은 전반적으로 활성이 좋게 나타나, 기능성 젖산발효 음료로 제조하는데 우수할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 논문은 2013학년도 영남이공대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Ancerewicz J, Migliavacca E, Carrupt PA, Testa B, Bree F, Zini R, Tillement JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet-Monges AM, Frevat A, Le Ridant A (1998) Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radical Bio Med* 25: 113-120.

Benzie IF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.

Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.

Chen J, Small-Haward A, Yin A, Berry MJ (2005) The responses of HT-22 cells to oxidative stress induced by buthionine sulfoximine(BSO). *BMC Neurosci* 6: 1-8.

Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.

Griffin SP, Bhagooli R (2004) Measuring antioxidant potential in coral using the Frap assay. *J Exp Mar Biol Ecol* 302: 201-211.

Jang JH, Na KC, Kim WS, Lee JS (2010) Manufacture and characteristics of functional drink using pear-strawberry fermentative concentrates from fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* C-2. *The Korean Journal of Mycology* 38: 189-191.

Jang JR, Hwang SY, Lim SY (2011) Inhibitory effect of extracts of *Platycodon grandiflorum*(the Ballon flower) on oxidation and nitric oxide production. *Korean J Food Preserv* 18: 65-71.

Jeong CH, Shim KH (2006) Chemical composition and antioxidative activites of *Platycodon grandiflorum* leaves and stems. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 511-515.

Kim CH, Jung BY, Jung SK, Lee CH, Lee HS, Kim BH, Kim SK (2010) Evaluation of antioxidant activity of *Platycodon grandiflorum*. *J Environ Toxicol* 25: 85-94.

Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP (2011) Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with fructooligosaccarides on HepG2 cells. *Korean J Food Sci Technol* 43: 432-437.

Kim NM, Lee JS(2003) Effect of fermentation periods on the qualities and physiological functionalities of the mushroom fermentation broth. *The Korean Journal of Mycology* 31: 28-33.

Kim NM, Lee JW, Do JH, Park CK, Yang JW (2005) Effects of the fermentation periods on the qualities and functionality of the vegetable fermentation broths. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 293-299.

Kim NM, Lee JW, Do JH, Yang JW (2003) Effects of the fermentation periods on the qualities and functionalities of the fermentation broth of wild vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 35: 272-279.

Korean Food Composition Table (1996) Ministry of Food & Drug Safety. Korea. p 88.

Korean Food Standards Codex (2008) Korean Food & Drug Administration, Korea. 10-1-1, 10-1-6.

Ku KM, Kim BS, Kang YH (2009) Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J Appl Biol Chem* 52: 70-76.

Lee JB, Bae JS, Son IK, Jeon CP, Lee EH, Joo WH, Kwon GS (2014) Antioxidant and ACE inhibiting activities of sugared-buchu(*Allium ampeloprasum* L. var. *porum* J. Gay) fermented with lactic acid bacteria. *J Life Science* 24: 671-676.

Lee JJ, Ha JW, Lee MY (2007) Antioxidative activity of lotus root(*Nelumbo nucifera* G.) extracts. *J Life Science* 17: 1237-1243.

Lee JJ, Park SY, Lee YM, Lee MY (2006) Protective effects of lotus root(*Nelumbo nucifera* G.) extract on hepatic injury induced by alcohol in rats. *Korean J Food Preserv* 13: 774-782.

Lee KH, Kim YS, Lee JY (2013) Changes of nutrient composition and antioxidative activities of fermented tea during fermentation. *Korean J Food & Nutr* 26: 398-403.

Lee YJ, Yoon BR, Kim DB, Kim MD, Lee DW (2012) Antioxidant activity of fermented wild grass extracts. *Korean J Food & Nutr* 25: 407-412.

Mau JL, Lin HC, Song SF (2002) Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Int* 35: 519-526.

Nakatani N (1990) Recent advances in the study on natural antioxidants. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 37: 569-576.

Nozaki K (1986) Current aspect and future condition of phytogenic antioxidants. *Fragrance* J 6: 99-106.

Park SH, Sihn EH, Koo JG, Lee TH, Han JH (2005) Effects of *Nelumbo nucifera* on the regional cerebral blood flow and blood pressure in rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 15: 49-56.

Park YS, Chang HG (2003) Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. *J Korean Soc Agricultural Chem Biotech* 46: 367-375.

Resat A, Kubilay G, Mustafa O, Saliha EK (2004) Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of necuproine method. *J Agric Food Chem* 52: 7970-7981.

Rhim TJ (2013) *In vitro* antioxidant activity of sanguisorbae radix ethanol extracts. *Korean J Plant Res* 2: 149-158.

Sa YJ, Kim MO, Jeong HJ, Yu CY, Park DS, Kim MJ (2010) Comparative study of eletron donating ability, reducing power, antimicrobial activity and inhibition of α-glucosidase by soghum bicolor extracts. *Korean J Food Sci Technol* 42: 598-604.

Seo DS, Lee EN, Cho CH, Lee JS (2007) Manufacture and physiological functionalities of some natural plant fermentation broths and liquor. *J Natural Sci Pai Chai University, Korea* 18: 39-46.

Seo SJ, Choi YM, Lee SM, Kong SY, Lee JS (2008) Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 129-135.

Sung JM, Choi HY (2014) Effect of mulberry powder on antioxidant activities and quality characteristics of yogurt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 690-697.

Whang TE, Lim HO, Lee JW (1999) Effect of fermented *Oenanthe stolonifera* DC extract on the activity of enzymes related to liver function of alcohol-administered rats and mice. *Korean J Medicinal Crop Sci* 7: 107-114.

Yang CY, Cho MJ, Lee CH (2011) Effects of fermented turmeric extracts on the obesity in rats fed a high-fat diet. *J Animal Sci Technol* 53: 75-81.

Date Received Jan. 26, 2015
Date Revised Feb. 27, 2015
Date Accepted Feb. 28, 2015