

발효인삼의 Ginsenoside 변화와 항산화 활성

도은수^{*†} · 장준복^{*} · 이건희^{*} · 성낙술^{**}

*중부대학교 한방제약과학과, **(재)금산국제인삼약초연구소

Ginsenoside Change and Antioxidation Activity of Fermented Ginseng

Eun Soo Doh^{*†}, Jun Pok Chang^{*}, Kun Hee Lee^{*} and Nak Sul Seong^{**}

*Department of Herbal Pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702, Korea.

**International Ginseng and Herb Research Institute, Geumsan 312-804, Korea.

ABSTRACT : The extent of growth *L. plantarum* (LP), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LD), *L. fermentum* (LF), *S. thermophilus* (ST), *B. longum* (BI) and *S. cerevisiae* (SA) was generally good with the lower concentration of the ginseng extract. Total sapogenin content was slightly different with kinds of a fermentation microorganism and the time of fermentation process, and generally reduced compare to before fermentation. The content of ginsenoside Rb1, Rb2, Rb3, Re and Rf were decreased with the fermentation but ginsenoside Rd was increased by the E, LF and SA fermented extract. The content of compound K increased in the order of not-fermented extract < enzyme fermented extract < enzyme and microorganism fermented extract, and as the fermented time get longer, the content of compound K was slightly increased. Especially, the content of compound K of the SA fermented extract was the most increased, also it of the BI, LD and LF fermented extract was increased, so these extract were considered a high valuable. Polyphenol content of the BI, LD, LP and ST fermented extract indicated 9.18 ± 0.39 ~ 15.68 ± 0.54 mg/10 g which was lower than it of a not-fermented extract (11.92 ± 0.26 ~ 28.41 ± 0.39 mg/10 g). Flavonoid content of a ginseng fermented extract indicated 26.93 ± 0.17 ~ 156.45 ± 1.29 mg/10 g, it was higher than a not-fermented extract (18.06 ± 0.90 mg/10 g). As the fermented time get longer, the flavonoid content tendency to increase. DPPH radical scavenging activity of a fermented ginseng extract was 24.11 ± 1.41 ~ 55.62 ± 0.33 %, it was slightly lower compared to a natural antioxidant, vitamin C. But it of the LF and ST fermented extract was similar to a natural antioxidant, vitamin C. It has not a concerned in a fermentation. Nitrite scavenging ability of a 24 hr fermented extract was above 80% at pH 2.5 and 4.2, it was similar to an artificial antioxidant, BHT (84.76 ± 0.13 %; pH 2.5, 84.98 ± 0.11 %; pH 4.2). It has not a concerned in a fermentation. SOD-like activity of a fermented extract was lower than that of a not-fermented extract (19.22 ± 0.51 %), but it of the E and LP-fermented extract was a very highly notable value. As the fermented time get longer, the SOD-like activity tendency to increase.

Key Words : Ginseng, Fermentation, Ginsenoside, Antioxidant, Compound K

서 론

인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 오가과 (*Araliaceae*) 인삼속 (*Panax*)에 속하는 식물로 뿌리를 약용으로 이용하며, 자연 건강식품으로 널리 이용되고 있고, 약리 효능의 과학적 입증과 전통의학을 임상을 근거로 인식과 신뢰가 높으며, 의약품 및 기능성 식품으로 그 수요가 증가하고 있다.

발효인삼은 살아있는 유용한 미생물을 프로바이오틱스 (probiotics)로 공급할 수 있는 장점과 배당체 구조인 ginsenoside의 당을 분해 ginsenoside의 구조를 전환하여 일반 수삼에서 섭취할 수 있는 사포닌 보다 고효율의 사포닌을 섭

취할 수 있는 장점이 있다. 또한 발효인삼은 미생물 혹은 효소를 이용한 발효를 통하여 특정 성분을 강화시키거나 소화흡수가 용이하도록 가공한 인삼으로서 최근 기능성 식품으로서 각광받고 있다.

유용한 미생물을 이용하여 수삼을 발효하고, 미생물의 당 분해효소 등을 이용하여 인삼사포닌을 전환하여 영양학적, 기능적 가치를 높이고자 하는 ginsenoside 전환이 가능한 인삼 발효 미생물의 선별에 관한 연구가 진행된 바 있으며 (Kim et al., 2007), 유산균을 이용한 발효인삼제조에 가장 적합한 유산균 주 및 최적공정을 확립하여 차후 건강기능성 식품소재로서의 유산균 발효 인삼제품화 가능성을 조사한 연구가 수행된 바

[†]Corresponding author: (Phone) +82-41-750-6721 (E-mail) esdoh@joongbu.ac.kr

Received 2010 July 30 / 1st Revised 2010 August 17 / 2nd Revised 2010 August 18 / Accepted 2010 August 19

있다 (Park *et al.*, 2006). 다양한 미생물이 존재하는 사람의 장내에서 우세균으로 분포하고 체내 유익균의 성장을 촉진하는 생균활성제 (probiotics)로서 당류를 발효하여 젖산을 생성하는 세균인 *Lactobacilli* 및 *Bifidobacterium*과 같은 유산균이 보고된 바 있고 (Goldin, 1998), 또한 백삼, 홍삼과 대비하여 발효인삼의 일반성분에 대한 성분 특성을 분석한 보고도 있으며 (Kong *et al.*, 2008), 인삼을 비롯한 다양한 소재들을 활용하여 발효하거나 또는 첨가하여 식품의 기능성 강화, 관능적 품질을 향상시켜 발효식품으로서 개발하려는 연구가 시도되고 있다 (Kim and Han, 2005).

인삼 유효성분의 인체내 최대흡수를 통하여 인삼의 효능을 극대화시킬 필요가 있고, 본 연구에서는 이를 위한 한 가지 방법으로 몇 가지 균주를 이용하여 인삼을 발효시켜 특성 조사 및 효능 검정을 실시하였고, 향후 인삼의 발효를 통하여 효능을 증진시키는 새로운 물질의 분리나 임상생화학적 효과를 토대로 한 기능성식품 개발의 기초 자료 제공하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용된 인삼은 4년근 피부직삼을 사용하였고, 발효균주는 *Lactobacillus plantarum* KCCM11322 (LP), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCCM35463 (LD), *L. fermentum*

KCCM 40401 (LF), *Streptococcus thermophilus* KCCM35496 (ST), *Bifidobacterium longum* KCCM11953 (BL) 및 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 50549 (SA) 등 6개 균주를 사용하였다.

2. 인삼 발효

피부직삼을 분밀화 한 다음 피부직삼 분밀과 용매인 70% EtOH의 회석비율을 1:10 (W/V)로 하여 75°C에서 15시간 동안 침출하였다. 이것을 거즈로 1차 여과 후 여과지 (Whatman No 2.)를 이용하여 2차 여과한 다음 45°C 수육상에서 rotary vacuum evaporator로 놓축 후 80°C에서 30분간 살균하여 액체발효 놓축액으로 사용하였다. 또한 α-Herbzyme 3 g에 중류수 100 mL를 가지고 50°C에서 2시간 침출한 다음 거즈로 1차 거른 후 여과지 (Whatman No 2.)로 여과시킨 여액을 조효소액으로 사용하였다.

조효소 및 발효균주 처리에 의한 발효공정은 Fig. 1과 같으며, 피부직삼 놓축액 9 mL와 조효소 21 mL를 중류수 3,000 mL에 넣은 후 50°C에서 2시간 효소 반응 시켰다. 이것을 95°C에서 10분간 살균 후 실온에서 서서히 식힌 다음 미리 활성화 시킨 6종의 발효 균주를 각각 4%씩 넣은 후 LP와 SA는 30°C에서, LD, LF, ST 및 BI는 37°C에서 각각 24, 48, 72시간 동안 배양하였다. 그 후 배양액을 45°C 수육상에서 rotary vacuum evaporator로 놓축한 다음 -45°C deep freezer에 12시간 두었다가 freeze dryer에 넣고 동결건조 하였다.

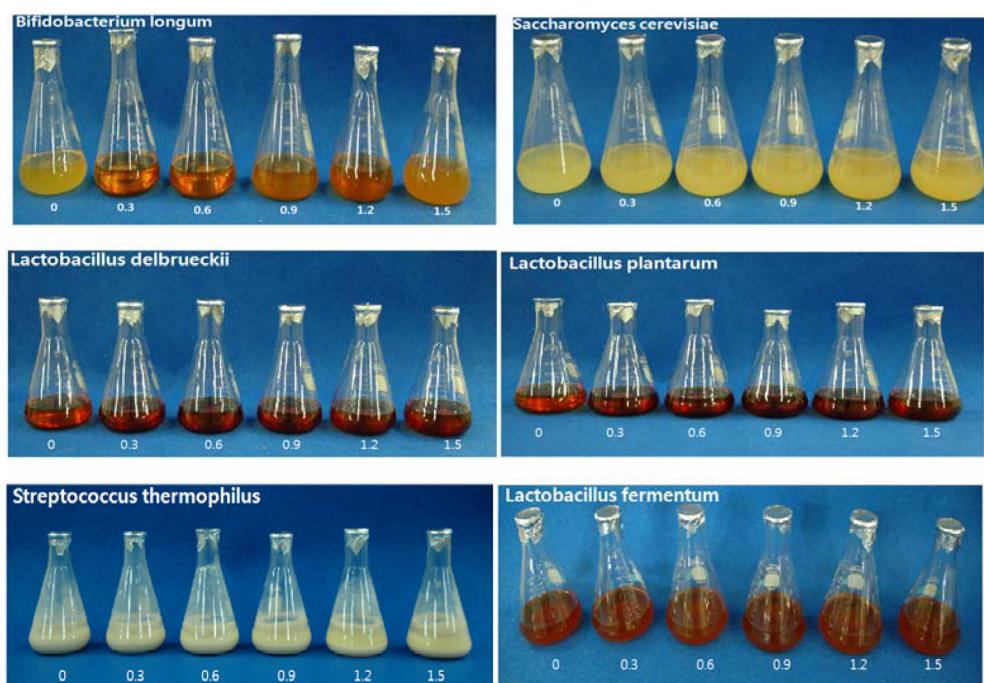


Photo. 1. Activity of fermentation microorganisms with concentration of ginseng extract. *Numerical values are a concentration (%) of fermented ginseng extract in broth medium.

발효인삼의 Ginsenoside 변화와 항산화 활성

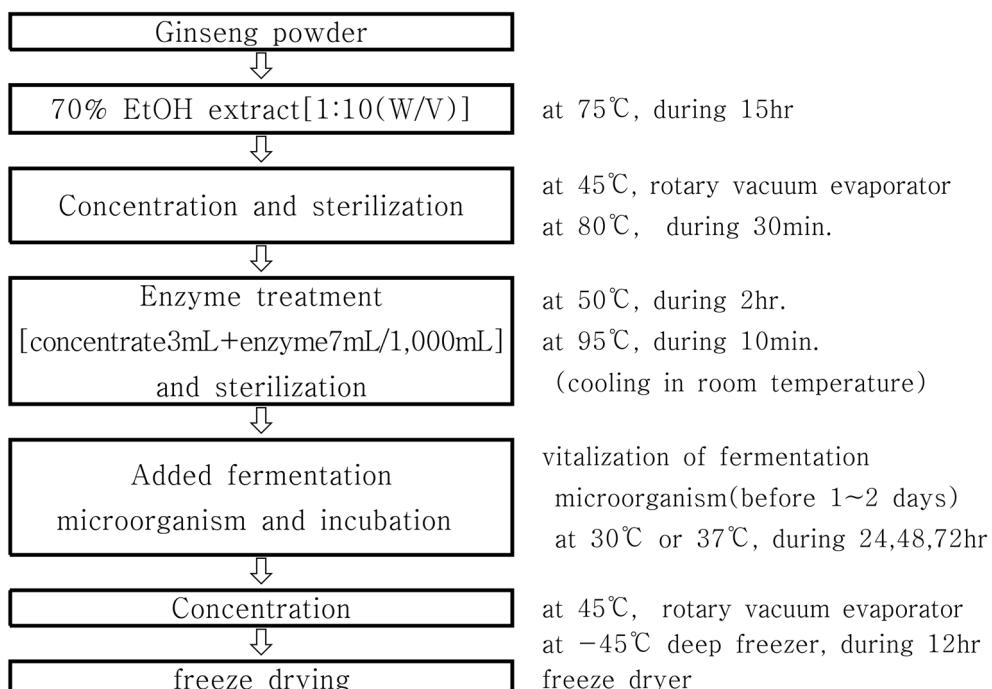


Fig. 1. Procedure of enzyme and fermentation microorganism treatment.

3. 인삼추출액의 농도별 발효균주의 활성능 평가

기본배지에 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 및 1.5%의 농도로 조제된 인삼추출액을 처리하여 *L. plantarum*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. fermentum*, *S. thermophilus*, *B. longum* 및 *S. cerevisiae*의 생장정도를 조사하였다.

4. 발효전후 인삼의 성분분석

발효전후에 Protopanaxadiol (PPD)계에 속하는 Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, Rg₃, Rh₂, Compound K와 Protopanaxatriol (PPT)계에 속하는 Re, Rg₁, Rg₂, Rh₁, Rf 등 13종의 ginsenoside 함량을 분석하였다. 우선 추출 후 동결건조 한 sample 0.2 g을 20 mL Vial에 넣고 MeOH 10 mL를 첨가하여 10분간 Ultrasonication을 실시한 다음 0.45 μm filter로 filtering하여 HPLC로 분석하였으며, 분석조건은 Table 1과 같다.

5. 항산화활성

1) Total polyphenol 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법 (Folin and Denis, 1912)을 응용하여 측정하였다. 즉, 시료 추출물 1 mg을 95% 에탄올 1 mL에 용해시키고 Folin-Ciocalteau 1 mL를 첨가하여 27°C 수욕조에서 혼합하였다. 5분 정도 경과 후 Na₂CO₃ 포화 용액 1 mL를 가하여 혼합하고 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 UV/VIS spectrophotometer (UV-1250, Shimadzu, Japan)

Table 1. HPLC condition for ginsenoside analysis.

Agilent 1200 :	Scanning UV detector (203 nm)
Solvent :	ACN : H ₂ O gradient elution
Column :	GRACE Gracemart RP 18 5 μm L: 250 mm × ID 4.6 mm
Column Temperature :	40°C

를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때, tannic acid를 이용한 표준곡선은 최종농도가 0, 12.25, 25, 50, 100 μg/mL이 되도록 작성하였다.

2) DPPH free radical 소거활성 측정

시료 추출물을 수소전자공여능에 의해 항산화활성을 측정하였다 (Boo *et al.*, 2009). 여러 농도의 시료를 에탄올에 용해하여, 900 μL의 DPPH 용액 (100 μM)과 각 시료 100 μL를 혼합하여 교반하였다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$A_n = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A_n: DPPH radical 소거능에 대한 항산화 활성 (%)

A₀: 시료가 첨가되지 않은 DPPH 용액의 흡광도

A: 반응용액 중의 DPPH와 시료의 반응 흡광도

3) Total flavonoid

시료 중 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등 (1999)이 개발한 분광분석법을 이용하여 측정하였다. 즉, 중류수 4 mL이 들어있는 시험관에 시료 1 mL를 가하고 5분이 경과한 다음 5% NaNO₂ 0.3 mL과 10% AlCl₃, 0.3 mL를 차례로 가하였다. 대조군은 시료 대신 중류수 1 mL를 가하였다. 시작 시간으로부터 6분이 경과한 시간에 1 M NaOH 2 mL를 가하고 중류수를 추가로 가하여 10 mL으로 만든 다음 골고루 섞었다. 분홍색을 띠는 시료를 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 L_d catechin equivalent (CE) mg으로 환산하여 플라보노이드 함량을 표시하였다.

4) SOD 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund (1974)의 방법에 따라 과산화수소 (H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 즉 일정농도의 시료 0.2 mL에 pH8.5로 보정한 tris HCl buffer [50 mM tris (hydroxymethyl) amino-methane + 10 mM EDTA] 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 250°C에서 10분간 방치 후, 1N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율 (%)로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 인삼추출액의 농도별 발효균주의 활성능 평가

기본배지에 인삼추출액을 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 및 1.5%의 농도로 처리하여 배지 내에서 LP, LD, LF, ST, BI 및 SA 등 6개 균주의 생장정도를 조사하였다. 추출물의 농도가 낮을 수록 세균수가 많고 추출물의 농도가 높아질수록 세균수가 적어지는 경향이었으며, 추출물의 농도가 0.3~0.6%일 때 가장 생장이 좋았다. 따라서 본 연구에서는 인삼추출액의 농도를 0.3%로 조정한 다음 발효시험을 실시하였다.

2. Ginsenoside 함량

Total sapogenin 함량은 발효하기 전 (64.45 mg/g)에 비하여 발효균주의 종류나 시간에 따라 약간의 차이는 있으나 10.87~40.66 mg/g으로 대체적으로 줄어드는 것으로 나타났는데, 이것은 발효처리에 의해 조사대상이 된 13종의 sapogenin 이외의 성분으로 전환 된 것이 아닌가 추정되나 추후 이에 대한 자세한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

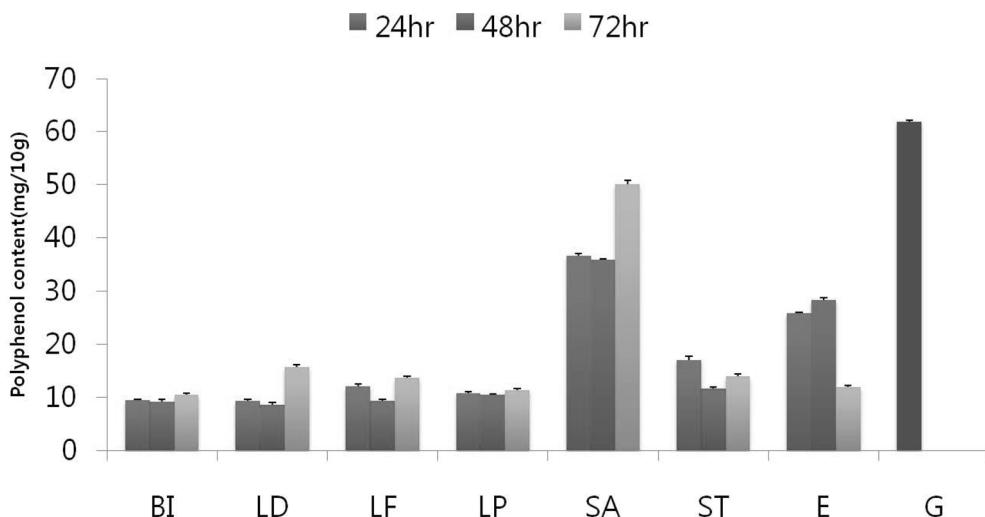
무발효처리나 효소단독 발효의 경우에 비하여 BI, LD, LF, LP, ST 및 SA 발효에 의해 Rb₁, Rb₂, Rb₃, Re 및 Rf의 함량은 상당량 감소하였다. Rg₁은 BI, LD, LF, LP 및 ST발효

에 의해서는 상당량 감소하였으나 SA와 E 발효에 의한 감소는 매우 적었다. Rd의 함량은 BI, LD, LP 및 ST 발효에 의해 감소하는 경향이나 E, LF 및 SA에 의한 발효시에는 오히려 증가되었다. Rg₃는 모든 처리구에서 함량이 비슷하게 나타나 발효의 유무에 관계없었으나 LD발효에 의해서만 약간 증가하였다. Compound K의 함량은 LP발효추출물을 제외하고는 무발효 < 효소발효 < 효소 + 발효균주 처리구의 순이었으며, 또한 발효시간의 경과와 함께 증가하는 경향이었다. 특히 SA 발효추출물의 Compound K의 함량이 가장 많이 증가하였으며, BI, LD 및 LF 등의 발효추출물이 Compound K의 함량이 증가하는 것으로 나타나 이들은 인삼발효균주로서의 이용가치가 높은 것으로 판단되었다. 한편 무발효 처리구에서도 홍삼에서 많이 검출되는 Rg₃, Rh₂ 및 Compound K 등이 검출되었는데, 이는 발효과정의 추출물 살균과정에서 온도 (80°C 및 95°C) 처리에 따른 결과인 것으로 추론되나 추후 좀 더 자세한 검토가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

3. Total polyphenol 함량

페놀 화합물은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사물질로 수산기를 가지는 방향성 화합물을 총칭하는 것으로 대부분의 폴리페놀 화합물은 세포벽 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합을 이루고 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀 고리구조의 공명 안정화에 의하여 항산화능을 나타낸다. 즉, polyphenol류는 체내의 항산화 체계와 함께 자유기로부터 조직을 보호해 주는 역할을 한다 (Hyon et al., 2010) 특히 항산화작용과 관련하여 최근 생체내에서의 산소 free radical 반응이 생체조직의 노화나 질병과 관련이 있고, 페놀성 물질의 hydroxyl 기는 유리기 수용체로서 유지 산폐의 초기단계에 생성된 유리기들이 안정된 화합물을 형성하도록 하여 산화 억제작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Choi et al., 2006; Lee et al., 2005). Lee 등 (2009)은 만형자의 물추출물이 에탄올 추출물 보다 폴리페놀 함량이 약 1.8배가 높게 나타난다고 보고한 바 있으며, Seo et al., (2008)은 짚신나풀 잎의 물추출물에서 총폴리페놀 함량이 높게 나타난다고 하였고, Lee 등 (2008)은 돌소리쟁이 (*Rumex obtusifolius*) 꽃이 높은 함량을 가진다고 하였다.

발효인삼의 폴리페놀류 함량 측정 결과, 무발효 추출물은 61.92 ± 0.26 mg/10 g로 나타났고, BI, LD, LF, LP 및 ST발효 추출물은 9.18 ± 0.39 ~ 17.05 ± 0.77 mg/10 g으로 나타나 E발효추출물의 11.92 ± 0.26 ~ 28.41 ± 0.39 mg/10 g보다 낮게 나타났지만 SA발효추출물에서는 E발효추출물보다 오히려 높게 나타냈다. 전체적으로는 발효시에 무발효추출물의 폴리페놀 함량보다는 낮았다. 발효시간 변화에 따른 폴리페놀 함량은 BI, LD, LP, LF 및 SA 발효추출물에서는 발효시간이 길어지면 증가하는 경향을 나타냈으며, ST발효추출물에서는 감소하였다. E발효추

**Fig. 2.** Polyphenol content of ginseng and fermented ginseng.

BI : *B.longum*-fermented ginseng, LD : *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*-fermented ginseng, LF : *L. fermentum*-fermented ginseng, LP : *L. plantarum*-fermented ginseng, SA : *S.cerevisiae*-fermented ginseng, ST : *S. thermophilus*-fermented ginseng, E : Enzyme-fermented ginseng and G:ginseng. Each bar is the mean \pm S.E., from three independent experiment.

출물의 경우는 48시간 발효까지는 폴리페놀 함량이 증가하였으나 72시간 발효에서는 오히려 함량이 감소하였다 (Fig. 2).

백삼의 경우 폴리페놀 함량이 445.5 mg/100 g으로 보고 (Park *et al.*, 2009)되어 있는 것과 비교하면 SA발효추출물을 제외하고는 발효인삼의 경우 백삼보다 함량이 낮았으나 피부직삼의 경우에는 오히려 높게 나타났다. 또한 인삼은 구지뽕나무 뿌리 물추출물 13.1 mg/g (Cha *et al.*, 1999), 율피 57.6 mg/g, 칡뿌리 21.0 mg/g 및 호두 26.0 mg/g (Lee and Lee, 1994)에 비해 총 폴리페놀 함량이 낮았으며, 유자씨 4.22 mg/g (Woo *et al.*, 2009), 인진쑥 60 mg/g (Jung *et al.*, 2008), 머위 잎 223 mg/g (Seo *et al.*, 2008), 연근 0.306 mg/ml (Lee *et al.*, 2007), 쥐엄나무 (*Gleditsia japonica*) 958.5 mg% (Lee *et al.*, 2008) 등에 비해서도 매우 낮게 나타났다.

4. 총 플라보노이드 함량

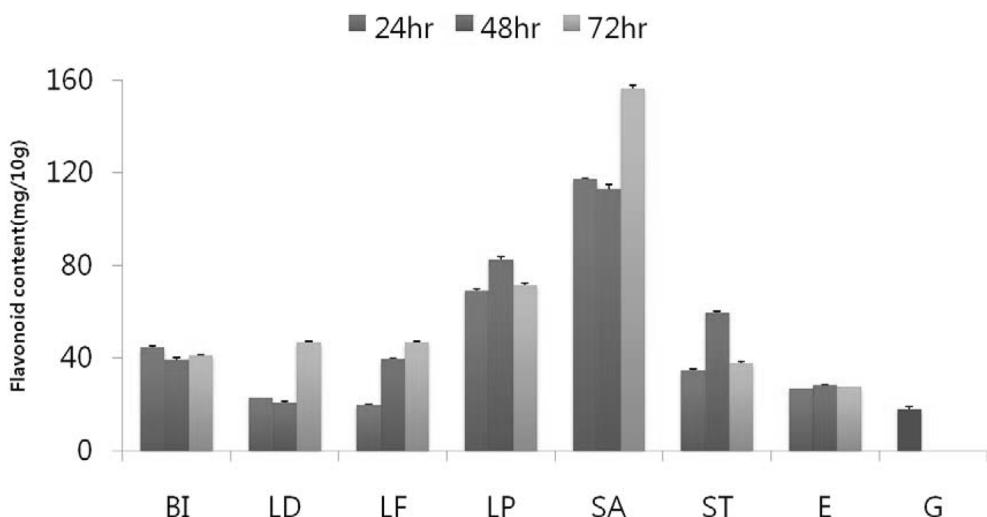
플라보노이드는 주로 anthocyanidins, flavonols, flavones, catechins 및 flavanones 등으로 구성되어 있으며, 그 구조에 따라 특정 플라보노이드는 항산화 및 항균성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다 (Middleton and Kandaswami, 1994; Nakagawa and Amano, 1974). 식물에 다량 존재하는 플라보노이드는 항산화작용, 순화기 질환 예방, 항염, 항알러지, 항균, 항 바이러스, 면역증강, 모세혈관 강 등 다양한 기능성 생리활성 효과를 보인다 (Kawaguchi *et al.*, 1997). 발효 인삼 추출물의 플라보노이드 함량을 측정한 결과 무발효추출물 (18.06 ± 0.90 mg/10 g)보다 높게 나타났다. E발효추출물의 경우 26.93 ± 0.17 ~ 28.33 ± 0.27 mg/10 g으로 발효시간에 따른 플라보

노이드 함량의 변화가 거의 없었으나, 대부분의 경우 발효시간의 경과에 따라 그 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. SA 발효추출물의 경우 24시간 발효에서 117.08 ± 0.34 mg/10 g 나타났으며, 72시간 발효시에는 156.45 ± 1.29 mg/10 g으로 가장 높게 나타나 공시발효균주 중에서 가장 좋은 결과를 나타냈으며 그 다음으로는 LP발효추출물이 높은 것으로 조사되었다 (Fig. 3). Kim 등 (2004)은 국내자생 약용식물의 총플라보노이드 함량 분석 결과 감초 55.35 mg/g, 오갈피나무 44.04 mg/g, 음양곽 38.00 mg/g, 갈근 15.20 mg/g, 당귀 7.20 mg/g 임을 보고하고 있으며, 또한 약용식물의 항산화활성에 관한 보고에서 인삼 물 추출물의 플라보노이드 함량은 5.91 ± 0.48 mg/g이라고 하였으나, 본 연구결과 발효 인삼 중의 플라보노이드 함량은 SA발효추출물의 경우 인삼 물 추출물의 플라보노이드 함량보다 2 배 이상의 매우 높은 함량인 것으로 조사되었다.

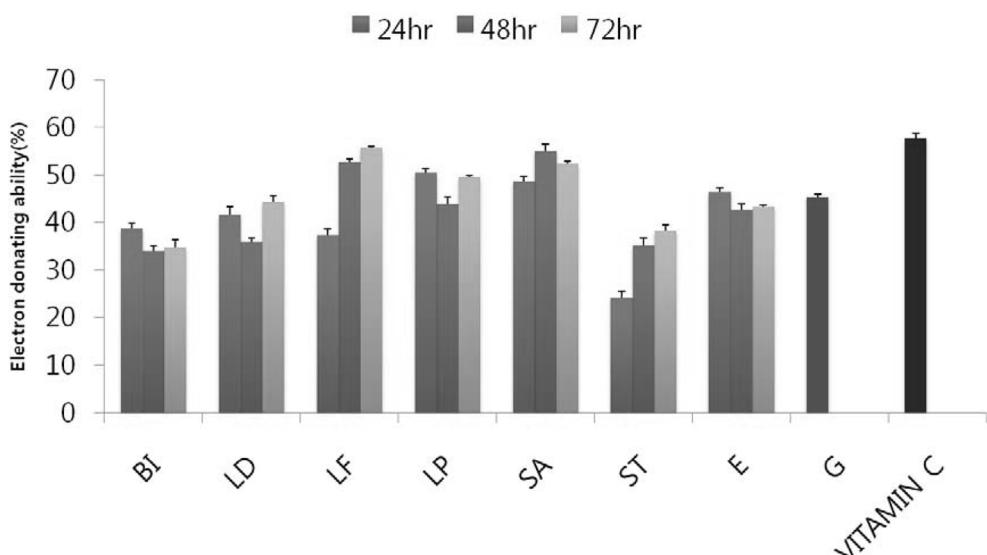
Lee 등 (2009)은 만형자의 에탄올추출물에서 가장 많은 플라보노이드가 함유되었음을 보고한 바 있으며, Choi *et al.* (2008)은 사철쑥의 총플라보노이드와 폐놀함량은 잎 > 종실 > 줄기 순으로 낮아진다고 하였고, Jung 등 (2008)은 인진쑥에 상당량의 플라보노이드가 함유되어 있음을 보고하였다.

5. 전자 공여능 (Electron donating activity, EDA)

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거능은 항산화질의 전자공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색되는 정도를 나타내는 정도를 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법으로 다양한 추출물로부터 항산화활성을 측정하는데 유용하다. 인삼발효물을 1,000 ppm

**Fig. 3.** Flavonoid content of ginseng and fermented ginseng.

BI : *B.longum*-fermented ginseng, LD : *L.delbreuckii* subsp. *bulgaricus*-fermented ginseng, LF : *L. fermentum*-fermented ginseng, LP : *L. plantarum*-fermented ginseng, SA : *S. cerevisiae*-fermented ginseng, ST : *S. thermophilus*-fermented ginseng, E : Enzyme-fermented ginseng and G : ginseng. Each bar is the mean \pm S.E., from three independent experiment.

**Fig. 4.** Electron donating ability of ginseng and fermented ginseng.

BI : *B.longum*-fermented ginseng, LD : *L.delbreuckii* subsp. *bulgaricus*-fermented ginseng, LF : *L. fermentum*-fermented ginseng, LP : *L. plantarum*-fermented ginseng, SA : *S. cerevisiae*-fermented ginseng, ST : *S. thermophilus*-fermented ginseng, E : Enzyme-fermented ginseng and G : ginseng. Each bar is the mean \pm S.E., from three independent experiment.

의 농도로 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과 같은 농도에서 측정한 천연항산화제인 비타민 C의 $57.66 \pm 0.98\%$ 와 비교할 때, 무발효추출물은 $45.37 \pm 0.62\%$, E발효추출물은 $42.68 \pm 1.27 \sim 46.36 \pm 0.77\%$, BI발효추출물은 $33.98 \pm 1.17 \sim 38.77 \pm 1.01\%$, LD발효추출물은 $35.89 \pm 0.84 \sim 44.41 \pm 1.20\%$, LP발효추출물은 $43.85 \pm 1.44 \sim 50.51 \pm 0.77\%$, LF발효추출물은 $37.33 \pm 1.37 \sim 55.62 \pm 0.33\%$, SA발효추출물은 $48.68 \pm 1.05 \sim 54.90 \pm$

1.59% 그리고 ST발효추출물은 $24.11 \pm 1.41 \sim 38.30 \pm 1.21\%$ 로 천연항산화제인 비타민C와 유사하거나 약간 낮은 값을 나타내어 발효인삼의 DPPH radical 소거활성이 우수함을 알 수 있었다 (Fig. 4).

You 등 (2009)은 목단피 추출액이 높은 DPPH radical 소거작용이 있다고 하였고, 약용식물 수용성 추출물의 전자공여 능은 1.0 mg/mL (0.1%)농도에서 당귀 15.8% , 감초 13.3% ,

발효인삼의 Ginsenoside 변화와 항산화 활성

Table 2. Ginsenoside content of ginseng and fermented ginseng.

Ginseno -side	BI			LD			LF			LP		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72*
PPT												
Re	2.69	2.64	2.66	2.46	2.35	2.62	2.43	2.60	2.90	2.00	2.93	2.23
Rf	1.14	0.98	0.93	0.90	0.77	0.72	1.02	5.77	4.85	0.62	0.06	0.95
Rg1	5.29	5.13	5.17	4.66	4.58	4.82	4.54	5.02	5.78	2.72	2.52	2.56
Rg2	0.23	0.22	0.22	0.16	0.18	0.20	0.21	1.44	1.43	0.08	0.13	0.12
Rh1	0.41	0.46	0.56	0.38	0.51	0.63	0.42	1.14	0.39	0.35	0.40	0.48
subtotal	9.76	9.43	9.54	8.56	8.39	8.99	8.2	14.83	14.96	5.42	5.64	5.86
PPD												
Rb1	1.11	ND	ND	ND	ND	ND	0.24	ND	1.96	ND	0.10	ND**
Rb2	1.06	0.67	0.60	0.40	0.07	ND	1.29	2.61	3.27	0.63	0.75	0.29
Rb3	0.25	1.15	0.15	ND	ND	ND	0.34	0.22	1.06	0.11	0.12	0.00
Rc	1.86	1.32	1.27	0.60	0.18	ND	2.00	0.96	0.99	1.12	1.32	0.49
Rd	2.83	1.78	1.82	0.89	0.27	0.14	3.52	2.41	2.81	3.67	2.21	1.03
Rg3	0.07	0.07	0.10	0.36	0.42	0.40	0.47	0.07	0.05	0.09	0.16	0.10
Rh2	0.67	0.58	0.51	0.28	0.34	0.33	0.62	0.54	0.51	0.22	0.12	0.09
C-K	0.99	1.57	2.41	0.98	1.83	2.28	0.62	1.28	2.26	0.21	0.35	0.59
subtotal	8.84	7.14	6.86	3.51	3.11	3.15	9.1	8.09	12.91	6.05	5.13	2.59
Total	17.60	15.57	16.40	12.08	11.50	12.13	17.65	25.05	28.26	11.82	11.76	8.92
ST												
Ginseno -side	ST			SA			E			G		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
PPT												
Re	1.60	1.74	1.84	5.06	4.29	4.33	4.51	4.67	5.50	5.65		
Rf	0.72	0.75	0.85	2.42	1.88	2.04	1.29	1.83	1.38	2.78		
Rg1	3.05	3.42	3.92	13.20	11.17	11.51	9.40	9.86	12.70	12.58		
Rg2	0.13	0.19	0.26	0.64	0.54	0.53	0.35	0.53	0.70	0.83		
Rh1	0.34	0.42	0.72	0.33	0.33	0.29	1.09	0.76	2.74	0.32		
subtotal	5.5	6.1	6.87	21.32	17.88	18.41	16.64	17.65	23.02	22.16		
PPD												
Rb1	0.26	ND	ND	0.29	1.18	0.65	2.02	ND	ND	14.11		
Rb2	0.90	0.57	1.61	3.16	1.67	2.73	0.74	2.99	0.31	7.12		
Rb3	0.20	0.09	ND	3.00	0.26	0.44	0.22	0.71	0.11	6.75		
Rc	1.47	0.77	1.31	3.34	1.12	2.96	1.10	5.38	0.65	8.81		
Rd	2.39	1.36	1.89	5.36	2.59	4.48	3.25	6.89	9.42	2.27		
Rg3	ND	0.06	0.05	0.13	0.24	0.19	0.60	1.60	0.27	0.15		
Rh2	0.45	0.40	0.35	1.54	1.32	1.14	1.60	1.56	1.46	2.71		
C-K	0.34	1.09	2.01	2.19	2.89	2.60	1.19	0.53	1.92	0.36		
subtotal	6.01	4.34	7.22	19.01	11.27	15.19	10.72	19.66	14.14	42.28		
Total	11.86	10.87	14.82	40.66	28.99	33.42	27.36	37.31	37.16	64.45		

*Fermentation period(hr), **ND : Not detected, BI : *B.longum*-fermented ginseng LD : *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*-fermented ginseng, LF : *L. fermentum*-fermented ginseng, LP : *L. plantarum*-fermented ginseng, SA : *S. cerevisiae* fermented ginseng, ST: *S. thermophilus*-fermented ginseng, E:Enzyme-fermented ginseng and G:ginseng

오주 5.4% (Park *et al.*, 2009)로, 종자류 추출물의 1.0 mg/mL 농도에서 사인 42.12%, 백두구42.27%, 팔각향 26.45%, 흑두 12.75%, 초과 34.9%, 진피 10.2%, 결명자 6.7%, 오매

5.6% 및 감초 39.26%, 갈근 18.36%, 과향 34.47%, 박하 26.27% 등 (Moon *et al.*, 2004), 머위 잎 에탄올 추출물 34.9% (Seo *et al.*, 2008) 등과 비교해 보면 발효인삼추출물

의 DPPH radical 소거활성이 다른 약용식물 추출물 보다 우수하게 나타났으나, 유자씨 49.54% (Woo et al., 2009)나 머위 뿌리 물추출물 61.5% (Seo et al., 2008)보다는 낮았다.

6. 아질산염 소거능

아질산염은 식품의 가공 및 저장, 특히 수산물이나 식육제품에 첨가하여 독소 생성억제와 발색, 산폐방지제로 널리 이용되지만, 그 자체가 독성을 나타내어 과량 섭취시 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 아민류와 아질산염이 반응하면 발암성물질인 nitrosamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져있다 (Greenblatt, et al., 1971; Hotchkiss, 1998; Lim et al., 2007).

Lee et al. (2007)은 연근의 ethylacetate 분획물이 BHT와 유사한 강한 아질산염소거능이 있으며, 만형자의 경우 pH 1.2에서는 에탄올추출물, pH 3.0에서는 물추출물이 더 우수한 아질산염소거능을 나타내어 pH의 변화와 추출용매에 따라 효과는 달라지는 것으로 보고된 바 있다 (Lee et al., 2009).

인삼발효추출물을 1,000 ppm의 농도로 아질산염 소거능을 측정한 결과, pH 2.5 및 pH 4.2에서 무발효추출물은 각각 $81.78 \pm 0.06\%$ 및 $81.28 \pm 0.66\%$ 로 나타났으며, BI, SA 및 ST 24시간 발효추출물 및 BI발효추출물을 제외하고는 LD, LP, LF, SA, ST 및 E 48시간 이상 발효추출물에서 모두 80% 이상의 높은 아질산염 소거능을 나타냈다. pH에 따른 아질산염 소거능의 유의차는 나타나지 않았으며, 발효 미생물간에도 유의차는 거의 없었다. 또한 합성 항산화제인 BHT의 아질산염 소거능은 pH 2.5 및 pH 4.2에서 각각 $84.76 \pm 0.13\%$ 과 $84.98 \pm 0.11\%$ 로 나타나고 있어 인삼 발효물이 합성항산화제인 BHT와 같은 정도로 나타냈다 (Fig. 5). 이러한 결과는 한약재 열수추출물의 1 mg/mL 농도, pH 4.2에서 아질산염 소거능은 산수유 52.98%, 결명자 22.3%, 감국 41.33%, 배초향 32.15%, 뽕나무 잎 48.32%, 두충 27.36%, 오가피 66.19%,

당귀 23.11%, 울금 50.73% 등의 보고 (Ju et al., 2006)나 유자씨 44.3% (Woo et al., 2009)와 비교하면 매우 높은 값을 나타내고 있어 발효 인삼의 경우 매우 높은 아질산염 소거능을 가지고 있음을 알 수 있었다.

7. Superoxide dismutase (SOD) 활성

생체내 항산화 효소중의 하나인 SOD는 세포내 활성산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이며 SOD에 의해 생성된 과산화수소는 catalase 또는 peroxidase에 의해 물 분자와 산소분자로 전환되는 중요한 효소 중의 하나이다. SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 주로 phytochemical에 속하는 저분자물질이 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide의 반응성을 억제하며 superoxide로부터 생체를 보호한다고 알려져 있다. 따라서 SOD 유사활성을 갖는 물질은 인체내의 superoxide를 제거함으로써 노화억제와 더불어 산화적 장애의 방어효과를 가진다 (Salim, 1990; Song et al., 2003).

인삼발효추출물을 10mg/mL의 농도로 SOD 유사활성을 측정한 결과 무발효 추출물은 $19.22 \pm 0.51\%$ 의 소거능을 나타냈으며, E발효추출물의 경우 48시간 발효에서 $21.08 \pm 0.28\%$ 로 증가한 후 72시간 발효에서는 감소하였다. 발효미생물에 따라서는 BI, LD, SA 및 ST발효추출물은 10% 이하의 낮은 SOD 유사 활성을 나타낸 반면, LF발효추출물은 $12.85 \pm 0.57\%$ 로 나타났으며, 발효시간에 따른 차이는 나타나지 않았다. LP발효추출물의 경우 $19.48 \pm 0.28\%$ 에서 $30.72 \pm 0.85\%$ 로 매우 높은 값을 나타냈고 발효시간이 길어질수록 함량이 높아지는 유의성 있는 결과를 나타내어 LP발효추출물이 가장 좋은 결과를 나타냈다 (Fig. 6). Seo 등 (2008)은 짚신나물 잎의 에탄올 추출물이 가장 높은 SOD유사활성을 나타낸다고 하였고, 백삼 물추출물의 5 mg/mL 농도에서 음양과 물추출물 42.4%, 오가피 24.2%, 갈근 12.4%, 당귀 11.6% (Kim et al., 2004), 천연 항산화제로 알려진 ascorbic acid의 함량이 높은 과채류를 대상으로 한 연구에서 사과, 브로콜리,

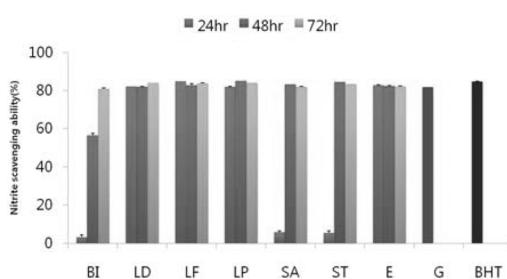
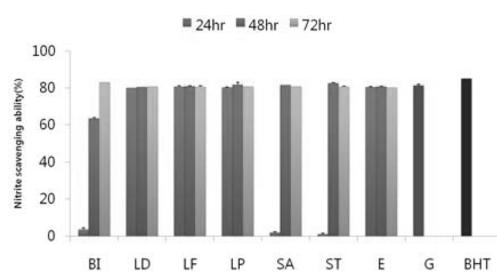
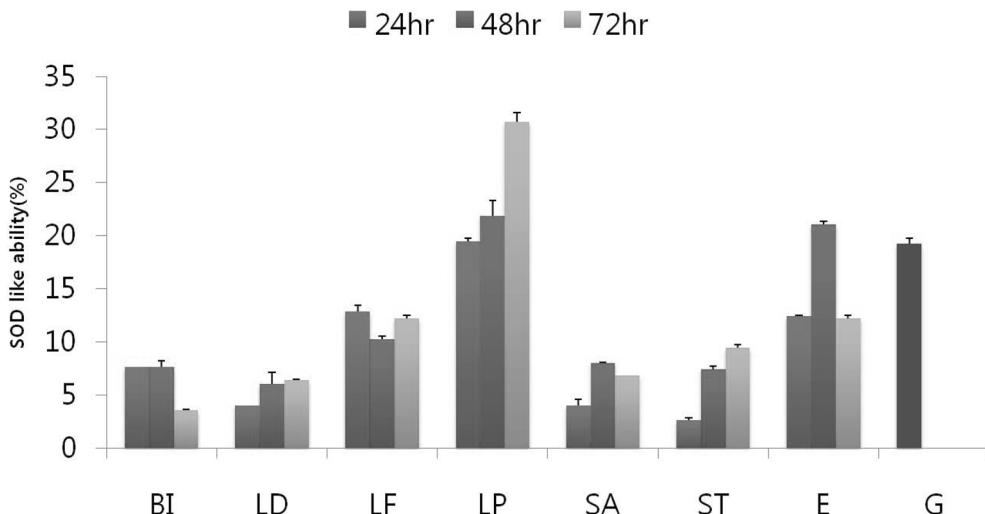


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of ginseng and fermented ginseng.

BI : *B.longum*-fermented ginseng, LD : *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*-fermented ginseng, LF : *L. fermentum*-fermented ginseng, LP : *L. plantarum*-fermented ginseng, SA : *S. cerevisiae*-fermented ginseng, ST : *S. thermophilus*-fermented ginseng, E : Enzyme-fermented ginseng and G : ginseng. Each bar is the mean \pm S.E., from three independent experiment.



**Fig. 6.** Superoxide dismutase like ability of ginseng and fermented ginseng.

BI : *B.longum*-fermented ginseng, LD : *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*-fermented ginseng, LF : *L. fermentum*-fermented ginseng, LP : *L. plantarum*-fermented ginseng, SA : *S. cerevisiae*-fermented ginseng, ST : *S. thermophilus*-fermented ginseng, E : Enzyme-fermented ginseng and G : ginseng. Each bar is the mean \pm S.E., from three independent experiment.

키위, 딸기의 SOD 유사활성이 각각 14.6%, 41.7%, 27.6% 및 30.2% (Hong *et al.*, 1998) 및 과실류 약용식물 중 구기자 21.27%, 오메 15.63%, 모과 14.17%, 복분자 13.20%, 산사 6.70% (Lim *et al.*, 2004)나 오배자 70.33% (Han *et al.*, 2006), 각시기린초 (*Sedum middendorffianum*) 53.8% (Lee *et al.*, 2008) 등과 비교하면 SOD 유사활성을 비교적 낮은 것으로 조사되었다.

감사의 글

본 연구는 재)금산국제인삼약초연구센터의 연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사를 표합니다.

LITERATURE CITED

- Blois MS.** (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 26:1199-1200.
- Boo HO, Lee HH, Lee JW, Hwang SJ and Park SU.** (2009). Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:1520.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH and Cho YU.** (1999). Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 28:1310-1315.
- Cho HO, Lee JH, Cho SH and Choi YH.** (1976). Approach to the extraction method on minerals of ginseng extract. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 8:95-106.
- Choi HJ, Lee WS, Hwang YJ, Lee IJ, D. Shin H, Kim HY and Kim KU.** (2000). Changes in chemical compositions of green tea (*Camellia sinensis* L.) under the different extraction conditions. *Journal of Life Science*. 10:202-209.
- Choi JS, Jung JH, Lee HJ and Kang SS.** (1995). A naphthalene glycoside from *Cassia tora*. *Phytochemistry*. 40:997-999.
- Choi SR, You DH, Kim JY, Park CB, Ryu J, Kim DH and Eun JS.** (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of *Artemisia capillaris* Thunberg. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 16:112-117.
- Folin O and Denis W.** (1912). On phosphotungastic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry*. 12:239-249.
- Goldin BR.** (1998). Health benefits of probiotics. *British Journal of Nutrition*. 80:203-207.
- Greenblatt M, Mirvish S and So BT.** (1971). Nitrosamine studies: induction of lung adenomas by concurrent administration of sodium nitrite and secondary amines in Swiss mice. *Journal of National Cancer Institute*. 46:1029-1034.
- Han SH, Woo NRY, Lee SD and Kang MH.** (2006). Antioxidative and antibacterial activities of endemic plants extracts in korea. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 14:49-55.
- Heo SI and Wang MH.** (2008). Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 39:255-259.
- Hong HD, Kang NK and Kim SS.** (1998). Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Journal of Food Science Technology*. 30:1484-1487.
- Hotchkiss JH.** (1998). A review of current literature on N-nitroso compounds in foods. *Advanced of Food Research*. 31:54-115.
- Hyon JS, Kang SM, Senevirathne M, Koh WJ, Yang TS, Oh MC, Oh CK, Jeon YJ and Kim SH.** (2010). Antioxidative

- activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *C. unshiu* Peels. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 39:1-7.
- Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS and Sung NJ.** (2006). Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 35:7-14.
- Jung MJ, Yu Yin, Heo SI and Wang MH.** (2008). Antioxidant and anticancer activities of extract from *Artemisia capillaries*. Korean Journal of Pharmacognosy. 39:194-198.
- Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE and Baek NI.** (2004). Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 47:135-140.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB and Hayase F.** (1987). Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. Agricultural and Biological Chemistry. 51:1333-1338.
- Kawaguchi, K., Mizuno T, Aida K, and Uchino K.** (1997). Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 61:102-104
- Kim DY.** (1973). Studies on the browning of red ginseng. Journal of the Korean Society of Agricultural Chemistry and Biotechnology. 16:60-77.
- Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR and Rhyu MR.** (2004). Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. Korean Journal of Food Science and Technology. 36:333-338.
- Kim HG, Kim KY and Chang JC.** (2007). Screening for ginseng fermenting microorganism capable of biotransforming ginsenosides. The Korean Journal of Microbiology. 43:142-146.
- Kim NY and Han MJ.** (2005). Development of ginseng yoghurt fermented by *Bifidobacterium* spp. Korean Journal of Food Cookery Science. 21:575-584.
- Kim JY, Maeng YS and Lee KY.** (1995). Antioxidative effects of soybean extracts by using various solvents. Korean Journal of Food Science and Technology. 27:635-637.
- Kim JY, Yi YS and Lim YH.** (2009). Biological and antifungal activity of herbal plant extracts against *Candida* species. Korean Journal of Microbiology and Biotechnology. 37:42-48.
- Kim YC, Cho CW, Rhee YK, Yoo KM and Rho JH.** (2007). Antioxidant activity of ginseng extracts prepared by enzyme and heat treatment. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 36:1482-1485.
- Kong BM, Park JW, Kim HB, Kim SH, Kim SY and Yang DC.** (2008). Physico-chemical characteristics of white, fermented and red ginseng extracts. Journal of Ginseng Research. 32:238-243.
- Lee JJ, Ha JO and Lee MY.** (2007). Antioxidative activity of lotus root (*Nelumbo nucifera* L.) extracts. Journal of Life Science. 17:1237-1243.
- Lee SE, Lee SW, Bang JK, Yu YJ and Seong NS.** (2004). Antioxidant activity of leaf, stem and root of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 12:237-242.
- Lee SE, Sung JS, Jang IB, Kim GS, Ahn TJ, Han HS, Kim JE, Kim YO and Park CB.** (2008). Investigation on antioxidant activity in plant resources. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16:356-370.
- Lee SH, Kang JL and Lee SY.** (2008). Saponin composition and physico-chemical properties of Korean red ginseng extract as affected by extracting conditions. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 37:256-260.
- Lee SO, Lee Hj, Yu MH, Im HG and Lee IS.** (2005). Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean Journal of Food Science and Technology. 37:233-240.
- Lee YS.** (2006). Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea*) according to harvest periods. Journal of Life Science. 16:683-690.
- Lee, YS, Choi BD, Joo EY, Shin SR and Kim NW.** (2009). Antioxidative activities and tyrosinase inhibition ability in various extracts of the *Vitex rotundifolia* seeds. Korean Journal of food preservation. 16:101-108.
- Lee YS, Jang SM and Kim NW.** (2007). Antioxidative activity and physiological function of the *Angelica dahurica* Roots. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 36:20-26.
- Lee JH, and Lee SR.** (1994). Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. Korean Journal of Food Science and Technology. 26 : 310-316.
- Lim JA, Yun BW and Beak SH.** (2007). Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeia* R. Br. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 15:183-188.
- Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY and Chung IM.** (2004). Comparision of SOD activity and phenolic compound contents in various korean medicinal plants. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 12:191-202.
- Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR and Rhyu MR.** (2004). Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. Journal of Food Science Technology. 36:333-338.
- Kim SY, Kim JH, Ki SK, Oh MJ and Jung MY.** (1994). Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. Journal of the American Oil Chemists' Society. 71: 633-640.
- Marklund S and Marklund G.** (1974). Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry. 47:469-474.
- Middleton E and Kandaswami C.** (1994). Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. Food Technology. 48:115-119.
- Moon JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH and Park JW.** (2004). Activities of antioxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. Korean Journal of Food Preservation. 11:201-206.
- Moon JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH and Park JW.** (2004). Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and the content of phenolic compounds. Korean Journal of Food Preservation. 11:207-213.
- Nakagawa M and Amano I.** (1974). Evaluation method of green tea grade by nitrogen analysis. Journal of Japanese Food Science and Technology. 21:57-63.
- Park CS.** (2005). Antioxidative and nitrite scavenging abilities of

- medicinal plant extracts. Korean Journal of food preservation. 12(6):631-636.
- Park JC, Cha JY, Lee CH, Doh ES, Kang IH and Cho YS.** (2009). Biological activities and chemical characteristics of *Monascus*-fermented korean red ginseng. Journal of Life Science. 19:1553-1561.
- Park SJ, Kim DH, Paek NS and Kim SS.** (2006). Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). Journal of Ginseng Research. 30:88-94.
- Salim AS.** (1990). Oxygen-derived free radicals and the prevention of duodenal ulcer relapse. American Journal of the Medical Sciences. 300:1-6.
- Seo HS, Chung BH and Cho YG.** (2008). Antioxidant and anticancer effects of agrimony (*Agrimonia pilosa* L.) and chinese lizardtail (*Saururus chinensis* Baill). Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16:139-143.
- Seo HS, Chung BH and Cho YG** (2008). The antioxidant and anticancer effects of butterbur (*Petasites japonicus*) extracts. Korean Journal of Plant Resources. 21:265-269.
- Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR and Park KM.** (2003). Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. Korean Journal of Food Science and Technology. 35:690-695.
- Woo KS, Jeong JY, Hwang IG, Lee YJ, Lee YR, Park HJ, Park ES and Jeong HS.** (2009). Antioxidant activity of ethanol extraction on citron seed by response surface methodology. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 38:384-390.
- You JK, Chung MJ, Kim DJ, Seo DJ, Park JH, Kim TW and Choe M.** (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *Paeonia suffruticosa* water extract. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 38:292-296.
- Zhishen J, Mengcheng T and Jianming W.** (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64:555-559.