

젖산균으로 발효한 섬애쑥(*Artemisia argyi* H.) 추출물의 항산화 활성 연구

김지현^{1,2} · 김난경² · 이아영^{1,2} · 서원택^{2,3} · 김현영^{1,2}

¹경상국립대학교 식품영양학과, ²경상국립대학교 식품과학과, ³경상국립대학교 식품공학과

Antioxidant Activity Study of *Artemisia argyi* H. Extract Fermented with Lactic Acid Bacteria

Ji Hyun Kim^{1,2}, Nan Kyung Kim², Ah Young Lee^{1,2}, Weon Taek Seo^{2,3}, Hyun Young Kim^{1,2}

¹Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, ²Department of Food Science, Gyeongsang National University, ³Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University

Received: October 29, 2022
Revised: December 6, 2022
Accepted: December 9, 2022

Correspondence to: Weon Taek Seo
Department of Food Science and
Technology, Gyeongsang National
University, 33 Dongjin-ro, Jinju 52725,
Korea
Tel: +82-55-772-3276
Fax: +82-55-772-3279
E-mail: wtseo@gnu.ac.kr

Correspondence to: Hyun Young Kim
Department of Food Science and
Nutrition, Gyeongsang National
University, 33 Dongjin-ro, Jinju 52725,
Korea
Tel: +82-55-772-3277
Fax: +82-55-772-3279
E-mail: hyunyoung.kim@gnu.ac.kr

Copyright © 2022 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: In this study, we investigated physicochemical characteristics and antioxidant activity of *Artemisia argyi* H. fermented with lactic acid bacteria.

Methods: The *A. argyi* water extract was fermented using lactic acid bacteria isolated from kimchi at 30°C for 96 h. To evaluate the physicochemical characteristics, we investigated pH, total acidity, viable cells, free sugars, free organic acids, and free amino acids contents during fermentation. In addition, we examined antioxidant activity of fermented *Artemisia argyi* H. by measurement of 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)-hydrazinyl (DPPH) and 2,2'-azubi-bus-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS⁺) scavenging activities.

Results: During fermentation time, pH of fermented *A. argyi* was decreased from 4.57 to 3.22, and total acidity was increased from 0.39% to 1.63%. The number of lactic acid bacteria fermented *A. argyi* was increased from 1.28×10^7 CFU/ml to 3.75×10^8 CFU/ml during fermentation time. The free sugars of fermented *A. argyi* were confirmed glucose and sucrose. In addition, the organic acid content of fermented *A. argyi* was the highest in oxalic acid and lactic acid. In the composition of free amino acids, content of ornithine increased from 4.4 mg/100 g to 18.8 mg/100 g compared with non-fermented *A. argyi*. Furthermore, DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activities of fermented *A. argyi* increased in a dose-dependent manner.

Conclusions: In conclusion, our data suggest that lactic acid fermentation of *A. argyi* could be used as a functional food for antioxidants.

Key Words: *Artemisia argyi* H., Antioxidants, Free radicals, Fermentation, Lactic acid

서론

체내 에너지 대사를 위한 과정에서 hydrogen peroxide (H₂O₂), hydroxyl radical (·OH), singlet oxide (O₂) 등의 활성산소종(reactive oxygen species)이 생성된다¹⁾. 이들 활성산소종은 정상적인 상태에서 체내 에너지 생산, 세포신호 전달 등에 관여하는데 과량 생성될 경우 산화적 스트레스

(oxidative stress)가 발생된다^{1,2)}. 산화적 스트레스는 체내 단백질, 지질, DNA 등의 손상을 유도하며, 이는 비만, 당뇨, 신경퇴행성 질환 등 다양한 만성질환의 원인으로 알려져 있다^{3,4)}. 특히 비만인은 과다하게 축적된 지방세포에서 염증성 사이토카인, 유리지방산 등을 과생성시키며 이는 체내에서 산화적 스트레스를 유도하는 것으로 보고됨에 따라 산화적 스트레스는 비만의 병리생리학에서 중

요한 작용기전으로 보고되고 있다^{3,5,6}). 따라서 이들 작용기전을 바탕으로 항산화 활성을 나타내는 소재를 이용하여 비만을 예방 및 개선하고자 하는 접근으로서의 연구가 활발히 이루어지고 있다⁷⁻⁹).

젖산균은 *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* 속의 종류가 알려져 있으며, 이들은 포도당을 이용하여 젖산을 생성하는 발효대사를 한다¹⁰). 예로부터 젖산균으로 발효한 식품은 저장성을 향상시키는 목적으로 주로 이용되어 왔으나 최근 다양한 건강 기능성이 보고되면서 단순한 저장성 외에 부가가치를 향상시킬 수 있는 소재로서 각광받고 있다^{10,11}). 국내외 연구보고에 의하면 젖산균으로 발효한 양배추는 항산화, 항염증, 항알레르기 개선 효과를 나타내었으며 부추, 천마, 인삼 열매, 밤나무 등의 천연물 소재는 산화적 스트레스 개선을 통해 비만과 같은 만성질환 개선 효과를 나타내었다¹²⁻¹⁶). 이처럼 젖산균으로 발효한 천연물을 이용하여 항산화 활성을 조절함으로써 비만 등의 각종 만성질환의 예방 및 치료에 도움이 되는 소재 개발에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

섬애쭉(*Artemisia argyi* H.)은 주로 경상남도 남해 지역에서 재배되는 황해쭉(*Astermisia argyi*)의 변종으로 jaceosidin, eupatilin, apigenin, kaempferol 등 다양한 폴리페놀 성분을 함유하고 있으며¹⁷), 항산화, 항염증, 미백 활성 등의 생리활성이 보고되었다¹⁷⁻¹⁹). 또한 섬애쭉 발효물을 이용한 지질대사 개선 및 인지능 개선 등의 건강기능 개선 효능에 대한 연구도 보고된 바 있다²⁰⁻²²). 홍국균(*Monascus purpureus*)으로 발효한 섬애쭉은 산화적 스트레스 개선을 통해 인지능 향상 효과가 보고되었으며²⁰), 알코올 및 초산균 발효를 통해 제조한 섬애쭉 식초는 항산화 및 혈중 지질 개선 효능이 있는 것으로 보고되었다²¹). 반면 젖산균으로 발효한 섬애쭉 연구는 섬애쭉 식체의 젖산균 발효에 대한 이화학적 분석 연구만 보고되었으며²²), 항산화 활성이나 비만 개선에 관한 연구는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 젖산균(*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*)으로 발효한 섬애쭉의 비만 개선을 위한 건강기능성 소재로서의 이용 가능성을 확인하고자 이화학적 분석 및 항산화 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 섬애쭉(*Artemisia argyi* H.)은 경남 남해지역에서 재배 중인 황해쭉의 변종으로 산림청 품종보호등록이 된 자원 중 하나이다(산림청 품종보호 제 42호, 2013.09.27). 2021년에 얻은 섬애쭉의 전초를 흐르는 물에 이물질을 세척한 다음 건조시킨 뒤 100°C에서 4시간 열수추출한 후 추출물이 30 °brix가 되도록 감압농축하여 열수추출물을 제조하여 발효에 사용하였다.

2. 젖산균 발효균주 배양

섬애쭉의 발효에 사용한 젖산균 발효균주는 일반 가정에서 수거한 김치 시료를 멸균수로 희석하여 젖산균 분리용 배지인 De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Difco™, Becton, Dickinson & Co., Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 도말하고, 30°C에서 5일간 배양하여 단일 집락을 형성시킨 뒤 젖산균 특유의 집락을 순수 분리하였다. 분리된 젖산균은 멸균한 10% 맥아즙에 접종하여 30°C에서 4일간 정치 발효한 후 pH 2.0으로 조정된 MRS broth에 접종하여 30°C에서 2시간 정치한 후 MRS agar 배지에 도말하여 SBLAB4 (*Lactobacillus brevis*) 및 SBLAB11 (*Lactobacillus plantarum*) 균주를 선별하였다. 이들 균주의 내산성과 내담즙산성을 평가하여 잠재적인 생균제로서의 가능성을 확인하였고, 16S rRNA sequencing 염기서열 분석에 의한 계통발생학적 연구에 의해 동정하였다^{23,24}).

3. 발효 섬애쭉 추출물 제조

섬애쭉 추출물에 맥아배지를 1:5의 비율로 혼합한 뒤 sucrose를 L당 40 g씩 첨가하여 발효 기질로 이용하였다. 이후 분리 동정한 젖산균을 1% 접종하여 30°C에서 4일간 발효시킨 뒤 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

4. pH 및 총 산도 측정

발효 시간별 시료 원액의 pH를 pH meter (Thermo Orion; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 총 산도는 10배 희석된 시료 원액 10 ml을 pH 8.2±1까지 중화시키는 데 소요된 0.1 N NaOH 소비량을 구하여 유산 함량 환산계수(0.009)를 이용하여 젖산 양으로 환산하였다.

5. 젖산균 수 측정

젖산균 수를 측정하기 위해서 1 ml의 시료를 채취한 뒤 멸균 인산완충용액 9 ml로 희석하고, 멸균 생리식염수로 10^6 ~ 10^7 농도까지 단계별로 희석한 후 MRS agar 배지에 도말하여 37°C에서 96시간 동안 배양하였다. 젖산균 수는 colony를 계수하여 CFU/ml값으로 나타내었다²⁵⁾.

6. 유리당 함량 측정

동결 건조한 시료에 함유되어있는 유리당(glucose, sucrose, fructose)은 high-performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 분석하였다. 먼저 시료 원액을 13,000 rpm으로 10분 간 원심 분리하여 상등액을 0.2 µm membrane filter (Dismic-25CS; Toyo Roshi Kaisha Ltd., Niigata, Japan)로 여과시킨 후 sep-pak NH₂ column (Waters Co., Milford, MA, USA)을 통과시켜 당 분석을 위한 시료를 준비하였으며, 이를 HPLC 시스템(Shimadzu CLASS-VP; Shimadzu, Kyoto, Japan)으로 분석하였다. 분석용 컬럼은 Kromasil 100-5NH₂ (250×4.6 mm; Eka Chemical Inc., Marietta, GA, USA)를 사용하였고, 이동상 용매는 acetonitrile : H₂O를 7 : 3의 비로 주입하였으며, 이동상의 속도는 1.5 ml/min로 유지하였고, 시료 주입량은 10 µL, 검출기는reflective index detector를 사용하였으며, 컬럼 온도는 35°C를 유지하였다.

7. 유기산 함량 측정

동결 건조한 시료에 함유되어 있는 유기산(oxalic acid, citric acid, succinic acid, lactic acid, acetic acid) 함량을 HPLC를 이용하여 분석하였다. 원심 분리한 시료 상등액을 0.2 µm membrane filter (Dismic-25CS)로 여과하여 유기산 분석을 위한 시료를 준비하여 HPLC 시스템(Shimadzu CLASS-VP)으로 분석하였다. 분석용 컬럼은 Aminex HPX-87H column, 300×7.8 mm을 사용하였으며, 이동상 용매는 0.005 N H₂SO₄를 주입하였으며, 이동상 속도는 0.6 ml/min로 유지하였고, 시료 주입량 10 µL, 검출기 210 nm의 ultraviolet detector를 사용하였으며, 컬럼 온도는 35°C로 유지하였다.

8. 유리아미노산 함량 측정

동결 건조한 시료에 함유되어 있는 유리아미노산(L-phenylalalanine, 4-aminobutyric acid, 2-aminoethanol, L-ornithine, O-phosphoserine, L-threonine, L-serine, L-2-amino-adipic acid, L-alanine, L-valine, L-isoleucine 등) 총 37종을

한국식품연구원에 의뢰하여 ninhydrin HPLC 분석방법으로 확인하였다.

9. 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)-hydrazinyl (DPPH) radical 소거능 측정

Blois의 방법²⁶⁾을 변형하여 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 즉, 동결 건조한 시료를 100, 250, 500, 1,000 µg/ml의 농도로 희석한 시료 100 µL과 600 µM DPPH 100 µL을 각각 혼합하여 암실에서 30분간 방치 후 micro plate reader (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

10. 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid) (ABTS⁺) radical 소거능 측정

ABTS⁺ radical 소거능은 ABTS cation decolorization assay를 변형하여 측정하였다²⁷⁾. ABTS stock solution은 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium을 혼합하여 암실에서 16시간 동안 반응시켰으며, 본 실험에서는 이를 10배 희석하여 사용하였다. 이후 100, 250, 500, 1,000 µg/ml의 농도 별로 희석한 시료 100 µL와 희석한 ABTS⁺ stock solution 100 µL를 혼합하여 암실에서 30분간 방치 후 micro plate reader 기기를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

11. 통계 분석

실험은 평균(mean)과 표준편차(standard deviation)로 나타내었다. 각 데이터의 평균 유의성은 SPSS program (ver. 20; IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하여 분산분석 (analysis of variance)을 통해 제시하였으며, 모든 군 간 유의성을 확인하기 위해 Duncan's multiple range test를 통해 P<0.05 수준으로 유의성을 검정하였다.

결과

1. pH 및 총 산도 변화에 미치는 영향

발효시간 동안 섬애쑥 발효물의 pH 및 총 산도 변화를 Table 1에 나타내었다. 발효 전 섬애쑥은 pH가 4.57인 반면, 총 발효 시간인 96시간이 경과할수록 pH가 감소하였다. 특히 12-24시간에서 pH 4.31에서 3.53으로 급격한 감소를 보였으며 이후 96시간의 발효가 끝난 뒤 pH 3.22로 감소되었다. 총 산도(%) 측정 결과, 발효 전 섬애쑥은 0.39%

에서 발효 시간이 경과할수록 산도가 증가함을 알 수 있었다. 특히 발효 종료시점인 96시간 쯤 총 산도는 1.63%의 수치로 증가하였다.

2. 젖산균 수 변화에 미치는 영향

섬애쑥 발효물의 발효 시간 동안 젖산균 수 변화를 Table 2에 나타내었다. 발효 전 섬애쑥은 1.28×10^7 CFU/ml의 수치를, 발효 12시간에서는 2.4×10^8 CFU/ml의 수치를, 발효 24시간에서는 3.0×10^8 CFU/ml의 수치를 나타내어 발효 시작부터 24시간까지 급격한 젖산균 수 상승을 나타내었다. 이후 계속하여 시간이 증가할수록 젖산균 수도 함께 증가하여 발효 72시간에서는 3.8×10^8 CFU/ml의 수치를 나타내어 최고 수치를 나타내었다. 이후 발효 종료시점인 96시간에는 3.75×10^8 CFU/ml의 수치를 나타내어 72시간 발효시점에 비해 젖산균 수가 감소됨을 알 수 있었다.

3. 유리당 함량 분석

섬애쑥 발효물의 96시간 발효 후 유리당 함량을 Table 3에 나타내었다. 발효 처리를 하지 않은 섬애쑥 대조군(control)의 경우 포도당(glucose)이 검출되지 않았으며, 자당(sucrose) 함량이 5.72 mg/g, 과당(fructose) 함량이 4.02 mg/g으로 측정되었다. 반면 섬애쑥을 96시간 동안 젖산 발효

했을 때 fructose는 검출되지 않았으며, glucose 함량이 1.34 mg/g, sucrose 함량이 16.55 mg/g으로 측정되었다. 따라서 발효 전에는 glucose가 검출되지 않는 반면 발효가 끝난 뒤에는 glucose가 검출되었으며, 발효 전 검출되었던 fructose는 검출되지 않음을 알 수 있었다.

4. 유기산 함량 분석

섬애쑥의 발효 전후 유기산 함량을 Table 4에 나타내었다. 발효 전 섬애쑥은 oxalic acid 함량이 53.20 mg/g으로 가장 높은 수치를 나타내었고, 이 외에도 citric acid, succinic acid, lactic acid, acetic acid가 검출되었다. 또한, 젖산 발효한 섬애쑥 발효물의 유기산 함량 측정 결과, oxalic acid 함량이 28.17 mg/g, lactic acid가 11.53 mg/g의 수치를 나타내어 이들이 주요 유기산임을 알 수 있었다. 이 외에도, acetic acid, citric acid가 소량 검출되었으며, 발효 전 검출되었던 succinic acid는 검출되지 않았다. 따라서 섬애쑥은 발효 전에 비해 발효 후 oxalic acid, citric acid, acetic acid의 함량은 감소하고, lactic acid의 함량은 증가하며 succinic acid는 검출되지 않음을 알 수 있었다.

Table 1. Changes in pH and Total Acidity of Fermented *Artemisia argyi* H. during Lactic Fermentation

| Treatment time (h) | pH | Total acidity (%) |
|--------------------|------|-------------------|
| 0 | 4.57 | 0.39 |
| 12 | 4.31 | 0.78 |
| 24 | 3.53 | 0.95 |
| 48 | 3.38 | 1.30 |
| 72 | 3.24 | 1.60 |
| 96 | 3.22 | 1.63 |

Table 2. Changes in Viable Cells of Fermented *Artemisia argyi* H. during Lactic Fermentation

| Treatment time (h) | Viability (CFU/ml) |
|--------------------|--------------------|
| 0 | 1.28×10^7 |
| 12 | 2.4×10^8 |
| 24 | 3.0×10^8 |
| 48 | 3.2×10^8 |
| 72 | 3.8×10^8 |
| 96 | 3.75×10^8 |

Table 3. The Free Sugars Content of Fermented *Artemisia argyi* H.

| Free sugar | Contents (mg/g) | |
|------------|-----------------|------------|
| | Control | FAA |
| Glucose | ND | 1.34±0.05 |
| Sucrose | 5.72±0.01 | 16.55±0.41 |
| Fructose | 4.02±0.08 | ND |

Values are expressed as means±standard deviation. Control: unfermented *Artemisia argyi* H., FAA: fermented *Artemisia argyi* H., ND: not detected.

Table 4. The Organic Acids Content of Fermented *Artemisia argyi* H.

| Free organic acid | Contents (mg/g) | |
|-------------------|-----------------|------------|
| | Control | FAA |
| Oxalic acid | 53.20±2.00 | 28.17±0.69 |
| Citric acid | 1.48±0.01 | 0.83±0.03 |
| Succinic acid | 0.47±0.02 | ND |
| Lactic acid | 2.71±0.23 | 11.53±0.31 |
| Acetic acid | 0.37±0.01 | 0.05±0.01 |

Values are expressed as means±standard deviation. Control: unfermented *Artemisia argyi* H., FAA: fermented *Artemisia argyi* H., ND: not detected.

5. 유리아미노산 함량 분석

섬애쭉의 발효 전후 유리아미노산 함량을 Table 5에 나타내었다. 발효 전 섬애쭉은 총 24종의 유리아미노산이 모두 검출되었으며, L-proline 함량이 137.2 mg/100 g, L-aspartic acid 함량이 113.6 mg/100 g의 수치를 나타내어 주요 유리아미노산임을 알 수 있었다. 반면 젖산 발효한 섬애쭉은 총 19종의 유리아미노산이 검출되었으며, L-proline 함량이 65.9 mg/100 g, L-aspartic acid 함량이 33.6 mg/100 g으로 주요 유리아미노산임을 알 수 있었다. L-ornithine 함량 측정 결과, 발효 전 섬애쭉은 4.4 mg/100 g인 반면 발효한 뒤에는 18.8 mg/100 g으로 증가하였다. 대부분의 유리아미노산이 발효 전에 비해 발효 후 감소하였으나 L-ornithine 함량은 발효에 의해 증가함을 알 수 있었다.

Table 5. The Free Amino Acids Content of Fermented *Artemisia argyi* H.

| Free amino acids | Contents (mg/100 g) | |
|---------------------------|---------------------|------|
| | Control | FAA |
| O-phosphoserine | 25.5 | 11.7 |
| O-phosphoethanolamine | 37.9 | ND |
| L-aspartic acid | 113.6 | 33.6 |
| L-threonine | 39.6 | 12.1 |
| L-serine | 45.2 | 4.4 |
| L-glutamic acid | 45.8 | 5.2 |
| L-2-aminoadipic acid | 4.4 | 1.9 |
| L-proline | 137.2 | 65.9 |
| Glycine | 25.4 | 17.0 |
| L-alanine | 69.1 | 12.5 |
| L-valine | 74.7 | 31.4 |
| L-methionine | 15.3 | 6.2 |
| L-isoleucine | 45.0 | 15.5 |
| L-leucine | 77.8 | 28.4 |
| L-tyrosine | 51.4 | ND |
| L-phenylalanine | 70.8 | 21.0 |
| β -alanine | 11.9 | ND |
| DL-3-aminoisobutyric acid | 19.9 | ND |
| 4-aminobutyric acid | 66.4 | 34.9 |
| 2-aminoethanol | 7.1 | 2.5 |
| L-ornithine | 4.4 | 18.8 |
| L-lysine | 54.8 | 18.9 |
| L-histidine | 34.1 | 17.0 |
| L-arginine | 60.5 | ND |

Control: unfermented *Artemisia argyi* H., FAA: fermented *Artemisia argyi* H., ND: not detected.

6. DPPH radical 소거능에 미치는 효과

젖산균으로 96시간 동안 발효한 섬애쭉 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 섬애쭉 발효추출물의 DPPH radical 소거능은 100, 250, 500, 1,000 μ g/ml의 농도에서 각각 9.29%, 17.37%, 31.21%, 47.21%의 수치를 나타내었다(Fig. 1). 따라서 섬애쭉 젖산 발효추출물은 농도 의존적으로 DPPH radical 소거능을 증가시킴을 알 수 있었다.

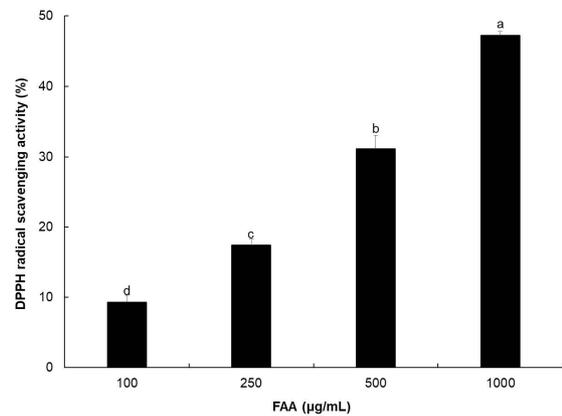


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of FAA. Values are expressed as means \pm standard deviation. ^{a-d}Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$) determined by Duncan's multiple range test. FAA: fermented *Artemisia argyi* H., DPPH: 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)-hydrazinyl.

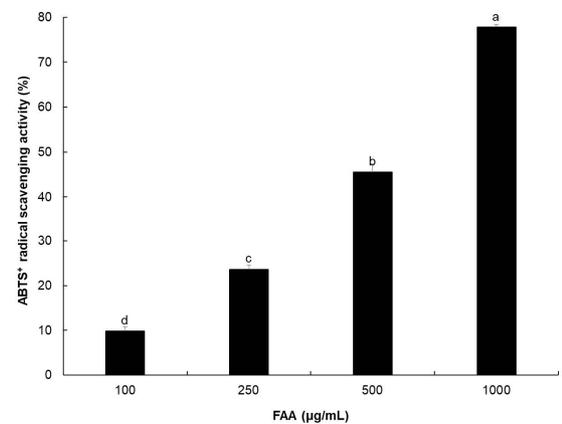


Fig. 2. ABTS⁺ radical scavenging activity of FAA. Values are expressed as means \pm standard deviation. ^{a-d}Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$) determined by Duncan's multiple range test. ABTS⁺: 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid), FAA: fermented *Artemisia argyi* H.

7. ABTS⁺ radical 소거능에 미치는 효과

섬애쭉 젖산 발효추출물의 ABTS⁺ radical 소거 활성은 Fig. 2에 나타내었다. 섬애쭉 발효추출물은 100, 250, 500, 1,000 µg/ml의 농도에서 각각 9.78%, 23.64%, 45.50%, 77.85%의 ABTS⁺ radical 소거능 수치를 나타내었으며, 추출물의 농도에 의존적으로 ABTS⁺ radical 소거능이 증가하였다. 특히 섬애쭉 발효물 1,000 µg/ml 농도에 77.85%의 ABTS⁺ radical 소거능을 나타내어 우수한 항산화 활성이 있음을 확인할 수 있었다.

고찰

쭉은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 아시아, 유럽, 멕시코 등 전 세계적으로 생육 및 재배되고 있다²⁸⁾. 우리나라에서는 인진쭉(*Artemisia campestris*), 개똥쭉(*Artemisia annua*), 사자발쭉(*Artemisia princeps*), 황해쭉(*Artemisia argyi*) 등 약 300여 종의 쭉이 자생하고 있는데, 예로부터 한방에서 많이 이용되어왔다^{28,29)}. 인진쭉은 황달, 간염, 간경화 등의 치료에, 사자발쭉은 당뇨, 동맥경화, 염증 등의 치료에, 개똥쭉은 해열, 이담, 악창 등의 질병 치료를 위해 이용되어 왔다^{29,30)}. 특히 고지방식이 유도 비만 동물모델에서 쭉 추출물 투여 시 지질대사, 인슐린 저항성, 아디포카인 분비 조절 등을 통해 항비만 효과가 보고됨에 따라 비만 개선용 소재로서 연구가 활발히 이루어지고 있다^{31,32)}.

쭉은 각 지역적 특성과 환경적인 영향을 받아 생리활성 또는 성분의 차이를 나타내는데, 본 연구대상인 섬애쭉은 경상남도 남해지역에서 재배된 황해쭉의 변종으로 국내에서 처음으로 산림청 품종 보호로 등록된 자원이다³³⁾. 특히 섬애쭉은 다른 약쭉에 비해 eupatilin 및 jaceosidin 등과 같은 생리활성물질 함량이 높은 것으로 보고되었으며³³⁾, 항산화¹⁷⁾, 항염증¹⁸⁾, 미백¹⁹⁾ 등의 생리활성이 보고되었다.

발효는 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용해 유기물을 저분자 물질 구조로 분해시키는 것을 말하는데 식품산업에서 가장 오래된 역사를 가진 기술 중 하나이다^{10,34)}. 발효는 천연물 소재의 체내 흡수율 및 생체 이용률을 높일 뿐 아니라 식품 자체의 저장성 향상이나 풍미 개선 등에 영향을 미쳐 식품 산업에서 널리 이용되고 있다³⁴⁾. 또한 발효식품이 항산화, 항염증, 항균, 항당뇨, 항동맥경화 등 건강기능성을 나타내는 것으로 보고됨에 따라 이에 대

한 관심이 더욱 높다^{34,35)}. 연잎, 연근, 밤나무 등의 천연물 유래 식품 소재에 젖산균을 이용하여 발효시켰을 때 항비만 개선 효과가 보고됨에 따라 각종 천연물 유래 소재를 이용한 젖산 발효물의 항비만 소재로서의 이용 가능성에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다^{16,36)}.

이전 연구에 의하면 섬애쭉을 홍국균의 일종인 *Monascus purpureus* 균주를 이용하여 발효한 발효추출물이 산화적 스트레스에 대한 신경세포 보호 효과를 나타내었으며²⁰⁾, 인지능 손상 동물 모델에서 뇌 내 항산화 효소 활성 증가 및 지질과산화 억제를 통해 인지능 개선 효과를 나타냄이 보고되었다²⁰⁾. 또한 고지방-고콜레스테롤 급여를 한 Sprague-Dawley rats 동물모델에 섬애쭉을 첨가한 발효식초를 투여했을 때 혈청 및 간 조직에서 지질과산화 함량 개선 및 항산화 활성 증가를 통해 지질대사 개선 효과를 나타낸다고 보고된 바 있다²¹⁾. 그러나 프로바이오틱스로 각광을 받고 있는 젖산균을 이용한 섬애쭉 발효추출물의 비만 개선에 미치는 효능 연구는 부족한 실정이다. 본 연구에서는 젖산균으로 발효시킨 섬애쭉 추출물의 항비만 소재로서 이용 가능성에 대해 조사하고자 이화학적 특성 변화와 항산화 활성을 확인하였다.

섬애쭉 추출물은 발효 시간이 지남에 따라 pH는 감소하고, 총 산도와 젖산균 수는 증가하였다. 일반적으로 젖산균은 발효과정에서 당을 이용하여 유기산이나 아미노산, 유리지방산과 같은 저분자 물질을 생성하는데 이 과정에서 수소이온 농도를 증가시켜 pH를 감소시키며, 생성된 유기산은 총 산도를 증가시키는 것으로 알려져 있다^{37,38)}. 따라서 본 연구에서 젖산균 수가 증가함에 따라 젖산균이 생성하는 유기산 또는 저분자 물질이 증가됨에 따라 pH 및 산도 변화가 나타남을 알 수 있었다.

발효 전 섬애쭉은 sucrose 및 fructose가 주요 유리당으로 검출된 반면, 섬애쭉 발효추출물은 glucose 및 sucrose가 주요 유리당으로 검출되었다. 이전 연구에서 젖산균으로 발효시킨 황기잎 추출물이 발효 전에 비해 glucose, sucrose, fructose 등 유리당 함량이 감소하는 것으로 보고되었는데, 이는 발효 과정 중에 젖산균이 당을 발효 기질로 사용하기 때문인 것으로 보고되었다^{37,39)}. 본 연구에서 유리당 함량 측정 결과, fructose 함량이 검출되지 않는 것을 확인하였으며, 이는 fructose가 젖산균의 영양원으로 사용되어 감소되었거나 검출되지 않았을 것으로 생각한다. 이외에 sucrose 및 glucose 등의 유리당 함량은 쭉에 발효 기

질로 sucrose와 같은 당 성분을 첨가하였기 때문에 검출된 것으로 생각한다.

젓산균은 발효과정에서 당을 분해하여 lactic acid와 같은 유기산을 생성하며, 기타 유기물을 분해하여 oxalic acid, acetic acid 등의 유기산을 생성함으로써 잡균의 생육 저해를 통해 저장성 향상에 영향을 미친다^{37,40}. 본 연구에서 발효 전 섬애쑥에는 oxalic acid가 유기산의 대부분 함량을 차지하여 주요 유기산으로 검출된 반면, 발효시킨 섬애쑥은 oxalic acid 함량은 발효 전에 비해 감소하였고, lactic acid 함량은 증가하여 주요 유기산으로서 젓산균 발효로 인해 lactic acid 함량이 증가함을 알 수 있었다.

발효 전 섬애쑥은 총 24종의 유리아미노산이 검출되었으며, proline과 aspartic acid가 주요 유리아미노산임을 알 수 있었다. 이전 연구에서 섬애쑥의 부위별 성분을 분석한 결과, 주요 유리아미노산이 proline, aspartic acid 임이 보고되어 본 연구와 유사함을 확인할 수 있었다³³. 반면 섬애쑥을 젓산 발효시켰을 때 발효 전에 비해 ornithine을 제외한 모든 유리아미노산 함량이 감소되는 것으로 나타났다. 이는 천연물 소재를 젓산균을 이용하여 발효시켰을 때 발효 전에 비해 발효 후에 유리아미노산 함량이 감소된 이전 연구논문들과 유사한 경향을 나타내었는데, 이는 유산균 대사 과정에서 유리아미노산을 소비한 것으로 보고되었다^{41,42}. 또한 유리아미노산 중 ornithine은 발효한 후 증가하였는데 김치에서 분리한 젓산균은 발효 전 천연물에 존재하는 arginine을 ornithine으로 전환시키는 이화작용을 하는 것으로 알려져 있다⁴³. 본 연구에서 arginine은 섬애쑥 추출물 발효 후 검출되지 않아 이러한 대사 경로에 의해 ornithine 함량이 증가하였을 것으로 생각한다. Ornithine은 비필수아미노산의 일종으로 간경변 개선, 항비만 효능 등의 생리활성 효능을 나타내는 것으로 보고되고 있다^{44,45}. 따라서 섬애쑥 발효물은 발효 전에 비해 ornithine 함량은 증가시켰으므로써 비만 개선을 위한 건강기능성 소재로서의 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.

DPPH는 비교적 안정한 free radical로 항산화 물질과 반응 시 보라색이 탈색되는 원리를 이용하여 각종 천연물 유래 시료의 항산화 활성을 평가하는 데 널리 이용되고 있다²⁶. 본 연구에서 섬애쑥 발효추출물은 농도의존적으로 DPPH radical 소거능이 증가하여 항산화 활성을 확인할 수 있었다. 한편 ABTS⁺ radical 소거능은 항산화 물질이 ABTS⁺ 라디칼과 반응하여 ABTS⁺ 고유의 색인 청록색

을 무색으로 환원시키면서 변화되는 색 변화를 측정함으로써 항산화 활성을 평가하는 방법이다²⁷. 또한 ABTS⁺ radical 소거능은 DPPH radical 소거능 측정법에 비해 hydrogen-donating antioxidant와 chain breaking antioxidant를 모두 측정할 수 있는 항산화 활성 평가방법이다⁴⁶. 본 연구에서 섬애쑥 발효추출물은 농도 의존적으로 ABTS⁺ radical 소거능을 증가시켰으며 특히 1,000 µg/ml 농도에서 가장 우수한 소거능을 나타내었다.

또한 섬애쑥 젓산 발효물은 DPPH radical 소거능에 비해 ABTS⁺ radical 소거 활성이 우수한 것을 확인할 수 있었다. 섬애쑥 젓산 발효물은 DPPH radical 소거능에 비해 ABTS⁺ radical 소거 활성이 우수하여 hydrogen-donating antioxidant와 chain breaking antioxidant의 항산화 활성이 우수한 것으로 생각한다. 섬애쑥에는 jaceosidin, eupatilin, apigenin, kaempferol 등 폴리페놀화합물 같은 항산화 물질을 함유하는 것으로 보고되었다⁷. 섬애쑥 젓산 발효추출물의 항산화 활성은 섬애쑥에 함유되어 있는 폴리페놀 성분들과 발효로 인한 대사산물 생성 등이 항산화 활성을 나타낸 것으로 생각되며, 추후 이러한 생리활성을 나타내는 성분 분석, 세포 및 동물실험에서의 산화적 스트레스 개선에 대한 생리활성 연구가 필요할 것으로 생각한다. 본 연구를 통해 섬애쑥 젓산 발효물이 비만과 밀접한 연관이 있는 항산화 활성을 나타내는 것을 확인함으로써 비만 개선용 소재로서 가능성을 확인할 수 있었으며, 추후 세포 및 동물모델 등에서 비만 및 지질대사 개선 효능과 관련 메커니즘 작용기작 규명에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론

본 연구에서는 김치에서 분리한 젓산균을 이용한 섬애쑥 젓산 발효추출물을 제조하여 이화학적 특성 변화 분석 및 산화물질 소거능을 확인하였다. 그 결과 섬애쑥 젓산 발효추출물은 발효가 진행됨에 따라 pH가 감소하였으며 총 산도 및 젓산균 수는 증가하여 젓산 발효가 진행됨을 알 수 있었다. 또한 발효한 뒤 주요 유리당은 glucose 및 sucrose로 검출되었으며, 주요 유기산으로는 oxalic acid 및 lactic acid가 검출되었다. 유리아미노산 측정 결과, 발효 전에 비해 발효 섬애쑥은 ornithine 유리아미노산 함량이 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 발효 섬애쑥은 DPPH와

ABTS⁺ radical 소거능을 농도의존적으로 증가시켜 항산화 활성을 나타내었다. 따라서 젖산균으로 발효한 섬애쭉 발효추출물은 항산화 활성을 나타내어 향후 비만 개선을 위한 기능성 식품 소재로 활용가치가 있는 것으로 기대된다.

감사의 글

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2021R1F1A1061542).

References

- Brieger K, Schiavone S, Miller FJ Jr, Krause KH. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly.* 2012 ; 142 : w13659.
- Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol.* 2004 ; 55 : 373-99.
- Rani V, Deep G, Singh RK, Palle K, Yadav UC. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sci.* 2016 ; 148 : 183-93.
- Tönnies E, Trushina E. Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2017 ; 57(4) : 1105-21.
- Pérez-Torres I, Castrejón-Téllez V, Soto ME, Rubio-Ruiz ME, Manzano-Pech L, Guarner-Lans V. Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2021 ; 22(4) : 1786.
- Karam BS, Chavez-Moreno A, Koh W, Akar JG, Akar FG. Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2017 ; 16(1) : 120.
- Serafini M, Peluso I. Functional foods for health: the interrelated antioxidant and anti-inflammatory role of fruits, vegetables, herbs, spices and cocoa in humans. *Curr Pharm Des.* 2016 ; 22(44) : 6701-15.
- Zhou DD, Luo M, Shang A, Mao QQ, Li BY, Gan RY, et al. Antioxidant food components for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: effects, mechanisms, and clinical studies. *Oxid Med Cell Longev.* 2021 ; 2021 : 6627355.
- Mangge H, Ciardi C, Becker K, Strasser B, Fuchs D, Gostner JM. Influence of antioxidants on leptin metabolism and its role in the pathogenesis of obesity. *Adv Exp Med Biol.* 2017 ; 960 : 399-413.
- Mokoena MP. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules.* 2017 ; 22(8) : 1255.
- Mathur H, Beresford TP, Cotter PD. Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients.* 2020 ; 12(6) : 1679.
- Lee HJ, Park SE, Choi JH, Kim KM. Biological activity of *Brassica oleracea* var. *capitata* fermented with *Lactobacillus plantarum*. *Korean J Food Preserv.* 2022 ; 29 : 241-53.
- Jeon JM, Choi SK, Kim YJ, Jang SJ, Cheon JW, Lee HS. Antioxidant and antiaging effect of ginseng berry extract fermented by lactic acid bacteria. *J Soc Cosmet Scientists Korea.* 2011 ; 37(1) : 75-81.
- Lee JB, Bae JS, Son IK, Jeon CP, Lee EH, Joo WH, et al. Antioxidant and ACE inhibiting activities of sugared-buchu (*Allium ampeloprasum* L. var. *porum* J. Gay) fermented with lactic acid bacteria. *J Life Sci.* 2014 ; 24(6) : 671-6.
- Park JP, Kang SA. Antioxidant effect and blood pressure control ability of *Lactobacillus* fermented *Gastrodia elata* BI. In hypertension model rats (SHR). *Korean J Food Nutr.* 2020 ; 33(5) : 493-504.
- Hwang YJ, Pan JH, Hwang HJ, Lee SJ, Choi DH, Kim JK, et al. Fermentation of Chestnut (*Catanea crenata* Sieb) Inner shell enhances anti-obesity effects in 3T3-L1 and C3H10T1/2 adipocytes. *J Med Food.* 2021 ; 24(5) : 441-51.
- Kim DG, Kang JR, Shin JH, Kang MJ. Biological activities of various solvent extracts of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.). *J Life Sci.* 2019 ; 29(11) : 1241-50.
- Kim DG, Kang MJ, Shin JH. Hepatoprotective effect of Sumaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.) extract on LPS-mediated inflammatory response. *J Life Sci.* 2016 ; 26(11) : 1282-8.
- Lee HJ, Lim MH. Whitening activities of extracts of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.) *J Korean Appl Sci*

- Technol. 2020 ; 37(2) : 241-9.
20. Kang JY, Lee DS, Park SK, Ha JS, Kim JM, Ha GJ, et al. Cognitive function of *Artemisia argyi* H. fermented by *Monascus purpureus* under TMT-induced learning and memory deficits in ICR mice. Evid-Based Complement Alternat Med. 2017 ; 2017 : 5809370.
 21. Shin JY, Kang JR, Shin JH, Seo WT, Byun HU, Choi JS, et al. Effects of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.) vinegar on lipid metabolism in rats fed a high-fat and high-cholesterol diet. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2017 ; 46(7) : 779-89.
 22. Shin JY, Shin JH, Kang MJ, Choi MH, Park HR, Choi JS, et al. Physicochemical characteristics of lactic acid fermented Seomaeyaksuk (*Artemisia argyi* H.) sikhye added with different addition ratio of MSG. Korean J Food Preserv. 2017 ; 24(2) : 254-65.
 23. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Mol Biol Evol. 2021 ; 38(7) : 3022-7.
 24. Yoon JH, Seo WT, Shin YK, Kho YH, Kang KH, Park YH. *Paenibacillus chinjuensis* sp. nov., a novel exopolysaccharide-producing bacterium. Int J Syst Evol Microbiol. 2002 ; 52(Pt 2) : 415-21.
 25. Lee CW, Ko CY, Ha DM. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during kimchi fermentation and identification of the isolates. Kor J Appl Microbiol Biotechnol. 1992 ; 20 : 102-9.
 26. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181(4617) : 1199-200.
 27. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio Med. 1999 ; 26(9-10) : 1231-7.
 28. Hwang IW, Lee SD, Hwang WI. A study on the nutritional effects in rats by feeding basal diet supplemented with mug-wort powder. J Korean Soc Food Nutr. 1985 ; 14 : 123-30.
 29. Hong M, Kim M, Kim S. Biological activities of sweet wormwood (*Artemisia annua* L.). Weed Turf Sci. 2021 ; 10(3) : 243-63.
 30. Bisht D, Kumar D, Kumar D, Dua K, Chellappan DK. Phytochemistry and pharmacological activity of the genus *Artemisia*. Arch Pharm Res. 2021 ; 44(5) : 439-74.
 31. Lim DW, Kim YT, Jang YJ, Kim YE, Han D. Anti-obesity effect of *Artemisia capillaris* extracts in high-fat diet-induced obese rats. Molecules. 2013 ; 18(8) : 9241-52.
 32. Kim YH, Park CM, Yoon GA. Amelioration of metabolic disturbances and adipokine dysregulation by mugwort (*Artemisia princeps* P.) extract in high-fat diet-induced obese rats. J Nutr Health. 2016 ; 49(6) : 411-9.
 33. Ha GJ, Lee YH, Kim NK, Shon GM, Rho CW, Jeong HR, et al. Nutritional chemical composition in the different parts of *Artemisia argyi* H. J Agric Life Sci. 2012 ; 46 : 155-64.
 34. Terefe NS, Augustin MA. Fermentation for tailoring the technological and health related functionality of food products. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020 ; 60(17) : 2887-913.
 35. Şanlıer N, Gökçen BB, Sezgin AC. Health benefits of fermented foods. Crit Rev Food Sci Nutr. 2019 ; 59(3) : 506-27.
 36. Lee SJ, Bose S, Lee SJ, Jeong JE, Koo BS, Kim DI, et al. Effects of fermented lotus extracts on the differentiation in 3T3-L1 preadipocytes. J Korean Med Obes Res. 2013 ; 13(2) : 74-83.
 37. Kim GH, Bae EK. Lactic acid bacteria for the preservation of fruit and vegetables. Korean J Food Preserv. 1999 ; 6 : 245-54.
 38. Chang JH, Shim YY, Cha SK, Chee KM. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. J Appl Microbiol. 2010 ; 109(1) : 220-30.
 39. Song BN, Lee DB, Lee SH, Park BR, Choi JH, Kim YS, et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of extract from *Astragalus membranaceus* Bunge leaf fermented with lactic acid bacteria. Korean J Medicinal Crop Sci. 2020 ; 28(6) : 428-34.
 40. Andersson R, Hedlund B. HPLC analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. Z Lebensm Unters Forsch. 1983 ; 176(6) : 440-3.
 41. Tavaría FK, Dahl S, Carballo FJ, Malcata FX. Amino acid catabolism and generation of volatiles by lactic acid bacteria. J Dairy Sci. 2002 ; 85 : 2462-70.
 42. Na Y, Park SH. Fermentation of wheat bran through lactic acid bacteria: changes in flavor components and free amino acids and potential applications in baking.

- Korean J Food Sci Technol. 2020 ; 52(5) : 524-8.
43. Hwang H, Lee JH. Characterization of arginine catabolism by lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Molecules*. 2018 ; 23(11) : 3049.
44. Goh ET, Stokes CS, Sidhu SS, Vilstrup H, Gluud LL, Morgan MY. L-ornithine L-aspartate for prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 ; 5(5) : CD012410.
45. Canbay A, Sowa JP. L-Ornithine L-aspartate (LOLA) as a novel approach for therapy of non-alcoholic fatty liver disease. *Drugs*. 2019 ; 79(Suppl 1) : 39-44.
46. Lee CY, Kim KM, Son HS. Optimal extraction conditions to produce rosemary extracts with higher phenolic content and antioxidant activity. *Korean J Food Sci Technol*. 2013 ; 45 : 501-7.