

## 감과 가공식품의 항응고물질활성

이영철\* · 사유선 · 정춘수 · 서광기\*\* · 최혜선†

울산대학교 생명과학부

\*한국식품개발연구원

\*\*단감시험장

## Anticoagulating Activity of Persimmon and Its Processed Foods

Young-Chul Lee\*, You-Seon Sa, Choon-Soo Jeong, Kwang-Gi Suh\*\* and Hye-Seon Choi†

Dept. of Biological Sciences and Immunomodulation Research Center, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

\*Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

\*\*Sweet Persimmon Research Center, Jinyoung 616-113, Korea

### Abstract

Persimmon has been considered to have a therapeutic value for various diseases in Korea. Dried persimmon was applied to a wounded part for an anti-inflammatory and analgesic activities. Anti-coagulating activity has been detected in persimmon by a thrombin-induced clotting assay using human plasma. The anti-coagulating activity was detectable in stem, pulp, core, leaf, and seed of persimmon. The stem part of persimmon contains maximal anti-coagulating activity after size-fractionation. Both of an anticoagulant and its denaturing factor were present in persimmon pulp. The concentration of anti-coagulating activity was determined and compared in different harvesting time, species, and available processed foods. The level of anti-coagulating activity was highest in persimmon (Fuyu) harvested in November. The anti-coagulating activity was decreased significantly in its processed foods. Persimmon could be expected to be effective in prevention of diseases induced by excess coagulation.

**Key words:** persimmon, anticoagulant

### 서론

우리나라를 비롯한 일본, 중국 등의 동아시아에서는 감을 과일로 즐기고 뿐만 아니라 민간약으로도 사용해 왔다. 동의 보감이나 향약집성방에 의하면 감은 중기나 열증질환, 부스럼, 화상을 치료하고 고혈압을 예방하고 동맥경화, 숙취해소에 까지 효능이 있다고 알려져 있다. Uchida 등(1)에 의하면 tannin은 혈압강하에는 직접효과가 없으나 고혈압 쥐의 수명을 연장시키고 뇌졸중이 일어나는 빈도를 낮추었다. Kameda 등(2)은 잎의 flavonoid 성분들도 혈압강하에 작용하는 angiotensin converting enzyme(ACE) activity에 약간의 저해작용이 있는 것을 시사하고 있다. Okonogi 등(3)은 감의 tannin 성분이 뱀의 독과 박테리아의 toxin을 제거한다고 보고하였고 Hibashami 등(4)에 의하면 감추출물은 human lymphoid leukemia Molt 4B cell에 부여시 세포의 성장저해와 programmed cell death를 유도하는 것을 보여주고 있어 감추출물에 항암 효과를 가진 성분이 있을 것을 예시하고 있다. 감은 과일 중에 오랜 역사를 가지고 있지만 가공 이용면에서는 뒤떨어

졌고 구미에 일찍 소개되지 않은 결과로 최근 들어 기초적 영양학적 지식을 넘어선 생리적 효용성에 대해서는 과학적 연구가 거의 이루어지지 않았다. 단감의 생리적 유효성분이 구체적으로 어떠한 약리적 기능을 발휘하는가를 밝혀냄으로써 감의 소비확대의 전기를 마련할 수 있고 감을 일반기호식품에서 건강식품으로, 또 가능하다면 의약품의 원료물질로 이용하여 부가가치를 높일 수 있다.

현재 단감소비는 경제성장과 함께 급격히 증가하여 1975년을 기준으로 1995년 생산량은 약 26배의 증가를 보이고 있다. 단감이 경제과일로서 각광을 받으며 재배면적 및 생산량이 증가되었는데 87년을 기준으로 95년 전국재배면적은 220% 증가하였고 생산량도 237% 증가하였다. 재배 후 성목이 되는 10~15년 후 물량이 한꺼번에 출하되면 생과일의 소비량이 제한되어 있는 것을 고려 시 가격의 폭락이 예상되어진다. 단감품종별 재배면적 비율은 부유가 82%로 단일품종이 주류를 차지하고 있어 시기적으로 같은 시기에 홍수 출하되므로 이것 역시 가격하락의 원인이 되고 있으므로 적당한 가공품의 개발은 가격의 폭락을 막아줄 수 있다. 따라서 단감재배

†Corresponding author. E-mail: hschoi@mail.ulsan.ac.kr  
Phone: 82-52-259-2357. Fax: 82-52-259-1694

의 합리성을 높이기 위해서는 단감의 유용물질의 탐색 및 추출, 가공에 의한 부가가치 증대방안이 절실히 요구되고 있다.

피의 응고는 fibrinogen이 thrombin 가수분해에 의해 일어나고 plasmin에 의해 효율적으로 제거되어진다. 정상적인 상태에서는 응고와 용해의 기작이 정교하게 조절되고 있으므로 체내의 항상성을 유지하고 있다. 그러나 노화, 질병에 의해 균형이 깨지면 혈관폐색 등에 의한 심혈관질환과 뇌혈관질환을 초래하게 된다. 현대에 이르러서는 균형이 응고과다쪽으로 기울어지면서 다양한 성인병의 원인을 제공하고 있다. Thrombin은 혈소판활성화(5), fibrin 생성(6), 응고인자의 활성화(7-9) 등에 관여하여 혈액의 응고뿐만 아니라 세포 내의 여러 가지 조절기능을 담당하고 있다(10-13). Antithrombotic agent는 응고과다로 인해 기인되는 심각한 심혈관질환과 뇌혈관질환 치료제 개발에 유망하다(14-16).

본 연구에서는 단감에서 고혈압, 동맥경화를 완화시키는 데 관여할 수 있는 항응고물질을 사람의 혈장을 thrombin에 의해 응고를 유도시키는 assay에 의해 검출하고 이것을 감의 계절별, 품종별, 가공식품에서 농도를 측정했다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

본 실험에 사용한 단감, 구연산, 당, 감식초, 꽃감, 양대, 한천은 시중의 슈퍼마켓에서 구입하여 사용하였다. Human plasma는 건강한 지원자의 것을 사용했고 YM10 membrane은 Amicon에서 thrombin, sodium borate, boric acid, activated partial thromboplastin time kit, CaCl<sub>2</sub>, fibrinogen, snake venom은 Sigma-Aldrich에서 구했다.

### 항응고활성 분석

단감의 유효성분 중 물에 녹는 분획을 추출하기 위해 단감의 각 해당 부위(꼭지부분, 과육, 껍질, 씨, 감잎)를 잘게 잘라 10 mM Tris-HCl, pH 7.5에 넣은 후 ice-chilled bead beater (Bio-Spec)를 이용하여 5분간 pulse를 주고 homogenization 시켰다. Homogenate는 A-8.24 rotor를 이용한 T-324 refrigerated centrifuge를 이용하여 10,000×g에서 40분간 원심분리시켜 상등액을 얻어낸다. 항응고물질을 저해하는 물질을 불활성화시키기 위해 상등액을 60°C에서 15분 열처리한다. 상등액을 분자량 10,000 dalton을 기준으로 가르기 위해 YM-10 membrane을 이용한 ultrafiltration을 시켜 10,000 dalton 이상의 물질을 농축하여 얻어냈다.

### 항응고활성

건강한 자원자의 피(54 mL)를 6 mL의 3.8% sodium citrate에 넣어 잘 섞어준다. Plasma는 초기의 피를 400×g에서 10분 동안 원심분리하고 800×g에서 20분 동안 두 번째 원심분리하여 나머지 혈소판을 제거한다. Activated partial thromboplastin time(APTT)과 thrombin time(TT)은 420 nm에서

흡광도의 증가에 의해 측정되었다. APTT assay는 1 mL에 0.3 mL의 platelet poor plasma, 0.3 mL의 APTT reagent와 다양한 농도의 분획을 포함한다. 반응용액은 37°C에서 2분간 배양하고 반응은 8 μL의 1 M CaCl<sub>2</sub>를 첨가하여 시작한다. TT는 APTT 시약과 CaCl<sub>2</sub>를 빼고 반응이 thrombin(0.8 μg/mL)을 첨가하면서 시작한다. Clotting time은 흡광도의 증가가 급격히 일어나는 시간을 잡았다( $\Delta A_{420} > 0.010$ ). 같은 방법이 snake venom, reptilase activity를 측정하기 위해 사용되고 4 μg/mL의 reptilase가 thrombin 대신에 사용되었다. Fibrinogen clotting time을 위한 반응용액은 정해진 농도의 fibrinogen을 50 mM NaCl를 포함하는 0.2 M borate buffer, pH 7.8에 넣어주고 반응은 1 μg/mL의 thrombin을 넣어 준다.

### 단감을 이용한 가공식품의 제조

**감을 이용한 드링크** : 단감 음료로 사용할 base를 만들기 위해 단감을 초파로 파쇄(die 직경 0.4 cm)하여 단감 중량에 3배의 물을 넣은 후 3시간 가열하여 추출하였다. 카트리지형 필터를 사용하여 1차 여과하고 첨가 당농도는 12.5%였고, 산으로 사용한 구연산은 0.15%, 드링크 맛의 개선하기 위해서는 만다린 농축액 0.5%를 사용하였고 제품의 pH는 3.7이었다. 부재료를 용해 및 혼합후 2차 여과하고 용기에 담아 80°C에서 30분간 살균하여 냉각하여 보관하였다.

**감 건조과자** : Kim 등(17)의 방법을 따라 단감을 잘라 당에 침지시킨 후 동결건조하였다.

**휴대용(반유동성) 젤형** : 단감을 세척하고 이물질을 제거한 후 껍질을 벗기고 chopper를 이용하여 분쇄하였다. 원재료와 부재료를 감 60%, dextrin 30%, cinnamon cortex extract 10%, gellan gum 0.1%, vitamin C 0.1%, citric acid 0.15%로 섞어 homogenizer로 균질화하고 삼면포장 후 끓는 물에서 10분간 살균하였다.

**감양갱** : 단감을 껍질, 씨 등을 제거하고 얇게 썰어서 온도 70~75°C에서 건조한 후 곱게 갈아서 100 mesh 체로 쳐서 분말을 만들었고, 양대 분말은 양대의 껍질을 제거한 후 믹서기로 갈고 100 mesh 체로 쳐서 분말을 만들었다. 한천과 물을 넣고 가열하면서 물에 불린 단감과 양대 분말(백앙금)을 7:3으로 하고 분말을 30%, 설탕 68%, 펙틴 2%, 한천 2%를 일정 시간 가열하고 성형틀에 부어 성형한 뒤 상온에서 식힌 후 양갱을 제조하였다.

## 결과 및 고찰

### 감에서 항응고활성 분획의 존재

감을 부위별로 파쇄하여 원심분리 후 얻어진 상등액으로 human plasma를 이용하여 activated partial thromboplastin time(APTT), thrombin time(TT)을 측정하였다. 감분획 투여시 APTT보다 TT가 더 민감하여 이후 TT를 사용하여 항응고활성을 나타냈다. 용질 무게당 활성을 비교시 감씨를 제외한 모든 분획에서 항응고활성이 측정되었다. 항응고물질

은 체내의 prostaglandin 경로에 관여하므로 이것 자체가 좋거나 염증질환치료에 관여하고 있을 가능성이 있다. 분획을 나누기 위해 YM10을 이용한 ultrafiltration으로 분자량 10,000 dalton을 기준으로 나누었을 때 고분자분획에서만 활성이 발견되었다. Fig. 1에서와 같이 감속, 감잎, 감꼭지에서 용질 무게당 높은 항응고활성이 관찰되었다. 감과육과 감껍질에도 농도는 약간 낮지만 항응고활성이 존재하였다. 분자량에 의한 분획 후에는 감꼭지에서 가장 높은 항응고 활성을 보였다. 감꼭지에서 분자량 10,000 이상의 분획에서 항응고활성이 현저하게 증가되는 것은 저분자분획에 응고를 촉진시키는 물질이 존재할 것으로 추정되어진다. 감과육의 항응고물질은 세포과쇄추출물에서 활성이 급격하게 소실되어 37°C, 24시간 처리시 거의 활성이 없어졌고 -20°C, 10일 보관시도 활성이 50% 이상 소실되었다. 이는 감과육안에 감과육의 항응고물질을 불활성화시키는 물질이 포함되어 있다는 것을 의미하고 감과육에서 항응고물질의 정제를 어렵게 하고 있다. 감과육에서 항응고물질을 불활성화시키는 물질을 효율적으로 제거하기 위해 열처리를 하였다. 70°C, 15분 처리시까지는 약간의 활성이 소실되었으나 100°C, 15분 처리시에는 50% 정도의 활성이 소실되었다. 감과육의 항응고물질의 활성에 영향을 주지않고 불활성화시키는 물질을 제거하기 위해 감과육의 세포과쇄액을 60°C, 15분 처리시 열처리에 의한 약간의 활성 저하가 있으나 급격한 활성의 저하를 막았다.

감가공식품에서 항응고활성 분획의 존재

현재 시판되고 있는 감의 가공식품인 꽃감과 감식초에서 단감에서 발견된 항응고물질이 존재하는지, 한다면 양의 차이가 있는 지를 알아보기 위해 단감을 정제하는 초기단계에서 응고촉진물질을 제거한 후 항응고물질의 활성을 측정했다. 60°C 열처리 후 YM10 membrane을 이용한 ultrafiltration을

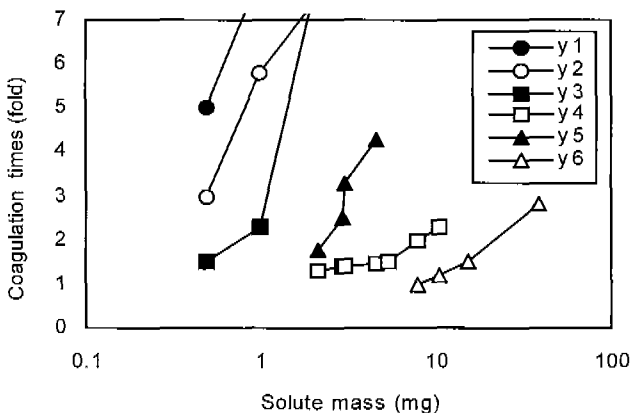


Fig. 1. Anticoagulant activity of each part of persimmon. The effect of each persimmon part on thrombin time was measured by adding the extract to 0.3 mL of citrated plasma 2 min before initiating activation and coagulation at 37°C using the increase the absorbance at 420 nm. Control time was TT, 25±2.0 sec. Each set of assay was performed in single subject. y1, persimmon core; y2, persimmon leaf; y3, persimmon stem; y4, persimmon peel; y5, persimmon pulp; y6, persimmon seed.

거친 후 농축하여 활성을 측정해서 무게 [g]당 활성을 비교했다. Fig. 2에서 보여주듯이 꽃감의 경우 항응고활성이 단감과 비교시 큰 차이가 있었다. 단감은 수확시기에 따라 활성에 큰 차이가 없었는데 꽃감의 경우 시장에서 구입을 했기 때문에 수확시기를 알 수 없지만 평균잡아 150배 가량 활성의 저하를 보였고 생과실보다 수분감소로 인한 무게감소를 감안하면 활성의 저하는 더욱 크다. 감식초는 산성분으로 인해 활성측정이 어려웠는데 활성을 측정할 수 있는 assay를 가능하게 하는 8 mg의 용질무게의 감까지는 전혀 항응고활성을 보이지 않았다.

새로 제작된 단감 가공식품인 감전조과자, 휴대용젤형, 양갱, 감음료에 단감의 과육과 꼭지에서 발견되는 항응고물질이 존재하는지, 한다면 양의 차이가 있는지를 알아보기 위해 각 가공품을 응고촉진물질을 제거한 후 항응고물질의 활성을 측정했다. 60°C 열처리 후 YM10 membrane을 이용한 ultrafiltration을 거친후 농축하여 활성을 측정해서 용질 g 당 활성을 비교했다. Fig. 2에서 보여주듯이 가공식품의 경우 생과실에 비해 항응고활성이 56~260배 정도로 크게 저하되어 있었다. 생과일의 경우 1 mg 수준에서도 활성이 검출되는 반면 휴대용젤형과 감음료은 각각 400 mg, 2 mg까지도 활성을 보이지 않았다. 기존의 가공식품과 비교시 비슷한 수준의 활성을 보여 항응고활성을 이용한 가공식품은 공정에 대한 영향이 조사되어야 하고 항응고활성을 저해하는 인자를 초기에 제거하거나 불활성화시키는 작업이 필요한 것으로 보인다.

감의 계절별, 품종별 항응고활성의 농도 변화

수확시기에 따라 단감의 항응고물질 활성에 차이가 있는지를 알아보기 위해 수확시기별로 감을 구입하여 응고촉진물질을 제거한 후 항응고물질의 활성을 측정했다. 위와 같은 방법으로 ultrafiltration을 거친 후 농축하여 활성을 측정해서 무게 g당 활성을 비교했다(Fig. 3). 또 감과육의 항응고물질

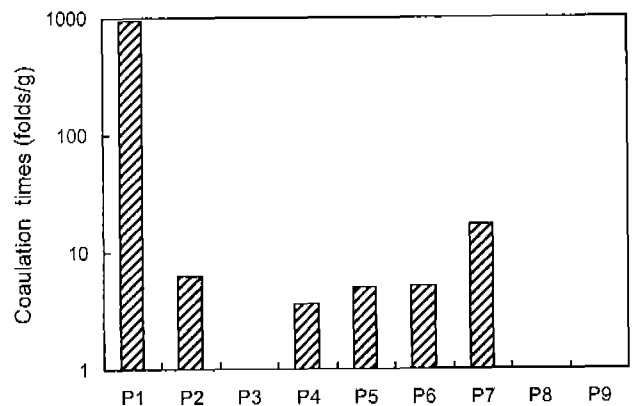


Fig. 2. Level of anticoagulant activities in processed foods of persimmon.

P1, fresh persimmon pulp; P2, dried persimmon; P3, persimmon vinegar; P4, dried persimmon snack1; P5, dried persimmon snack 2; P6, dried persimmon snack3; P7, sweetend persimmon stick; P8, homogenized persimmon extract; P9, persimmon drink.

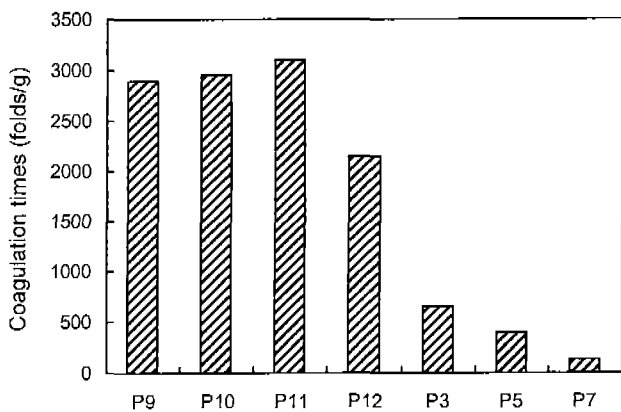


Fig. 3. Level of anticoagulant activities in stem of persimmon harvested in different periods.

P9, persimmon harvested at September; P10, persimmon harvested at October; P11, persimmon harvested at November; P12, persimmon harvested at December; P3, persimmon harvested at March; P5, persimmon harvested at May; P7, persimmon harvested at July.

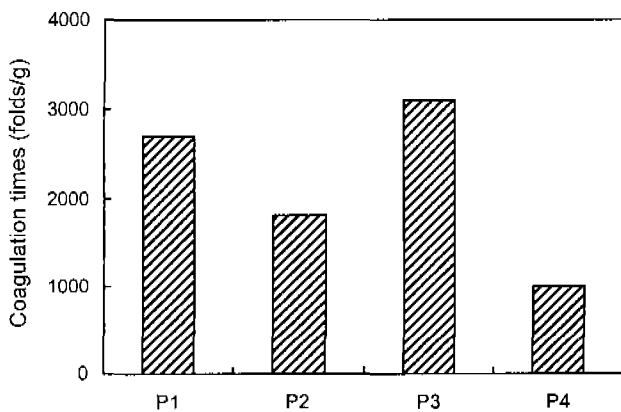


Fig. 4. Level of anticoagulant activities in different species of persimmon stem.

P1, Kapjubakmok; P2, Chungdobansi; P3, Fuyu (November); P4, Suchonjosang.

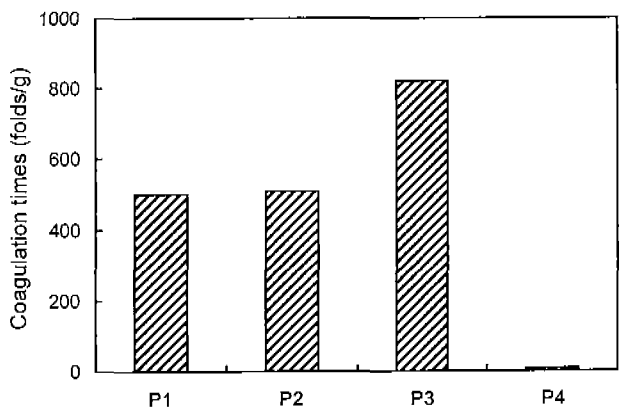


Fig. 5. Level of anticoagulant activities in different species of persimmon pulp.

P1, Kapjubakmok; P2, Chungdobansi; P3, Fuyu (November); P4, Suchonjosang.

은 같이 존재하는 단백질로 추정되는 항응고활성을 파괴하는 물질의 함량이 높아 계절별 정확한 비교가 어려워 감꼭지의 항응고물질을 계절별로 비교하였다. 12월이후는 11월말에 저장창고에서 보관되다가 시중에 나온 것들로, 개월의 표시는 저장창고에서 꺼낸 시기에 해당한다. 항응고활성은 11월에 수확한 것이 가장 높고 저장이 길어지면서 급격한 감소를 보이고 있다. 품종별 항응고활성을 비교하기 위해 홍시품종 중 갑주백목과 청도반시를 구입하여 11월 단감과 활성을 비교 시 갑주백목은 활성이 큰 차이를 보이지 않았으나 청도반시와 9월에 수확하는 서촌조생은 다소 활성이 낮았다(Fig. 4). 각 감과육의 경우에도 부유가 가장 높고 서촌조생이 가장 낮았다(Fig. 5).

요 약

감은 과일로 식용될 뿐만 아니라 민간약으로 종기나 염증 질환, 치질에 곱감을 이겨 붙였고 부스럼이나 화상에는 불에 말린 감을 바르면 통증을 멎게 하고 새살을 돋게 하는 효능이 있고 고혈압을 예방하고 동맥경화에 효과가 있는 성분이 있다고 알려져 있다. 사람의 plasma에서 thrombin time(TT)을 사용한 항응고활성을 측정하면 감속, 감열, 감꼭지에서 높은 농도로, 감과육과 감껍질에도 농도는 약간 낮지만 항응고활성이 발견되었다. 감과육의 항응고활성을 계절과 품종별로 측정 시 부유의 경우는 11월 수확한 것이 가장 높고 저장이 길어지면서 급격한 감소를 보이고 있다. 갑주백목은 부유와 유사하고 청도반시, 서촌조생은 다소 활성이 낮았다. 감을 이용한 가공식품의 경우 생과실에 비해 항응고활성이 56~260 배 정도로 크게 저하되어 있었다. 이는 감과육에 존재하는 항응고활성을 저해하는 인자에 의한 영향이라 생각되고 가공식품제조 시 항응고활성을 저해하는 인자를 초기에 제거하거나 불활성화시키는 작업이 필요한 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구의 수행은 1998~2000년 농림부 연구비에 의해 행해졌다.

문 헌

1. Uchida, S., Ozaki, M., Akashi, T., Yamashita, K., Niwa, M. and Taniyama, K.: Effects of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate (green tea tannin) on the life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **22**, 302-323 (1995)
2. Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H., Kimura, Y., Okuda, T., Haitian, T., Agata, I. and Arichi, S.: Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J. Natl. Prod.*, **50**, 680-683 (1987)
3. Okonogi, T., Hattori, Z., Ogiso, A. and Mitsui, S.: Detoxification by persimmon tannin of snake venoms and bacterial

- toxins. *Toxicon*, **17**, 524-527 (1979)
4. Hibashami, H., Achiwa, Y., Fujikawa, T. and Komiya, T. : Induction of programmed cell death (apoptosis) in human lymphoid leukemia cells by catechin compounds. *Anticancer Res.*, **16**, 1943-1946 (1996)
  5. Stubbs, M.T., Oschkinat, H., Mayr, I., Huber, R., Anglikler, H., Stone, S.R. and Bode, W. : The interaction of thrombin with fibrinogen. A structural basis for its specificity. *Eur. J. Biochem.*, **206**, 187-195 (1992)
  6. Tsiang, M., Lentz, S.R. and Sadler, J.E. : Functional domains of membrane-bound human thrombomodulin. EGF-like domains four to six and the serine/threonine-rich domain are required for cofactor activity. *J. Biol. Chem.*, **267**, 6164-6170 (1992)
  7. Dahlback, B. : Blood coagulation. *Lancet*, **355**, 1627-1632 (2000)
  8. Yao, S.K., McNatt, J., Anderson, H.V., Eidt, J., Cui, K.X., Golino, P., Glas-Greenwalt, P., Maraganore, J., Buja, L.M. and Willerson, J.T. : Thrombin inhibition enhances tissue-type plasminogen activator-induced thrombolysis and delays reocclusion. *Am. J. Physiol.*, **262**, H374-379 (1992)
  9. Weksler, B.B., Ley, C.W. and Jaffe, E.A. : Stimulation of endothelial cell prostacyclin production by thrombin, trypsin, and the ionophore A 23187. *J. Clin. Invest.*, **62**, 923-930 (1978)
  10. Cunningham, D.D., Wagner, S.L. and Farrell, D.H. : Regulation of protease nexin-1 activity by heparin and heparan sulfate. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **313**, 297-306 (1992)
  11. Olson, S.T.I., Bjork, R., Sheffer, P.A., Craig, J., Shore, D. and Choay, J. : Role of the antithrombin-binding pentasaccharide in heparin acceleration of antithrombin-proteinase reactions. Resolution of the antithrombin conformational change contribution to heparin rate enhancement. *J. Biol. Chem.*, **267**, 12528-12538 (1992)
  12. Orbe, J., Montes, R., Zabalegui, N., Peruz-Ruiz, A. and Paramo, J.A. : Evidence that heparin but not hirudin reduces PAI-1 expression in cultured human endothelial cells. *Thromb. Res.*, **94**, 137-142 (1999)
  13. Trunen, P., Mikkola, T., Ylikorkala, O. and Viinikka, L. : Hirudin stimulates prostacyclin but not endothelin-1 production in cultured human vascular endothelial cells. *Thromb. Res.*, **81**, 635-639 (1996)
  14. Fisher, M. : Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke. *J. Thromb. Thrombolysis*, **7**, 165-169 (1999)
  15. Horisawa, S., Kuneko, M., Ikeda, Y., Ueki, Y. and Sakurama, T. : Antithrombotic effect of SM-20302, a nonpeptide GPIIb/IIIa antagonist, in a photochemically induced thrombosis model in a guinea pigs. *Thromb. Res.*, **94**, 227-232 (1999)
  16. Elg, M., Gustafsson, D. and Carlsson, S. : Antithrombotic effects and bleeding time of thrombin inhibitors and warfarin in the rat. *Thromb. Res.*, **94**, 187-193 (1999)
  17. Kim, S.G., Lee, Y.C. and Choi, H.S. : Effects of dried persimmon snacks on alcohol metabolism in men. *J. Food Sci. Nutr.*, **6**, 62-65 (2001)

(2001년 6월 28일 접수)