

## 약용식물의 증류 추출물을 이용한 기능성 음료 개발에 관한 연구

박 영 숙<sup>†</sup>

대구대학교 식품영양학과

### Development of Functional Beverages using Distilled Extract of Korean Medicinal Herb

Young Sook Park<sup>†</sup>

Dep. of Food and Nutrition, Daegu University, Gyongbuk 712-714, Korea

#### Abstract

The primary objective of this study was to determine the effects of a water-distilled extract with 15 kinds of Korean medicinal herb on antioxidant activity, antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*, and lipid metabolism. The water-distilled extract (WE) and fermenting water-distilled extract (FE) of medicinal herbs were utilized in order to make functional beverages. The EDA (electron donating activity), SOD-like ability, and RAE (relative antioxidant efficacy) of WE averaged 24.47, 50.35, and 1.57%, respectively, but the EDA, SOD-like ability, and RAE of FE was retarded by 12.01, 35.72, and 1.55%, respectively. The antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* of WE averaged 12.84 mm as a diametric clear zone, and was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those measured in the WE and control. Serum triglyceride contents, total serum cholesterol contents, and serum LDL-cholesterol contents of the WE group were significantly ( $p < 0.05$ ) lower than those of the control group. The liver total-cholesterol contents and liver triglycerides of WE group were significantly ( $p < 0.05$ ) lower than those of the control group. The plasma TBARS value of the WE group was significantly ( $p < 0.05$ ) lower than that of the control group. The sensory evaluation, taste, and smell of FE were more desirable than those of WE, but the color of WE was more desirable. According to the above results, the water distilled extracts (WE) of 15 kinds of medicinal herb are supposed to be effective with regard to antioxidant activity and lipid metabolism, but the antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* was increased as the result of fermentation.

Key words : Functional beverage, antioxidant activity, *Helicobacter pylori*, total-cholesterol.

#### 서 론

최근 고혈압, 동맥경화, 뇌졸중 등 심혈관계 질환 및 암이 활성산소로 인한 생체 내의 산화적 스트레스에 기인함이 밝혀지고, 이러한 질병의 예방과 치료의 목적으로 활성산소종의 과잉 생성을 억제하고, 생성된 활성산소를 효율적으로 제거할 수 있는 항산화 방어 시스템이 필요하다. 특히, 항산화 작용을 가진 천연물의 역할은 매우 중요한데, 이러한 천연 성분들은 항산화 방어 시스템 구축에 있어서 항산화제와 chelating agent로서의 역할을 하여 체내에서 생성된 과잉의 활성산소를 감소시켜 질병을 예방할 수 있다(Cha *et al* 1998).

만성 위십이지장 질병과 밀접한 관련이 있으며, 위점막 상피 세포간 접합부에서 서식하면서 만성적인 위궤양을 유발하는 *Helicobacter pylori*는 Warren & Marshall(1983)에 의하

여 분리 보고된 후 많은 연구가 이루어졌다. *H. pylori*의 정확한 오염 경로나 점염원에 대하여서는 아직까지 정확히 증명된 바는 없지만 경구적 방법에 의하여 전달 감염되는 것으로 추정하고 있다(Rhee *et al* 1990). 우리나라 성인의 약 80% 정도가 이 균에 감염되었으나 임상증상을 나타내지 않고 있다. 어떠한 발병 촉진 인자의 영향으로 만성적인 위 십이지장 궤양을 유발한다(Cho *et al* 2005). *H. pylori*에 의한 감염을 치료하는 방법으로는 bismuth 제제, metronidazole, amoxicillin, tetracycline 등을 포함하는 3가지 항균제를 동시에 투여하는 방법이 유효한 것으로 보고되었다. 그러나 이러한 항균제 치료는 환자의 순응도를 필요로 하고, 항생제에 대한 내성, 재발 가능성의 내재, 고비용 등의 문제가 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 최근에 백리향(Tabak *et al* 1996) 등 여러 천연물의 *H. pylori*에 대한 항균 활성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

최근에는 약용 식물류에 들어 있는 생리 활성 성분에 대한 관심이 높아지고 있으며 이들의 생체 조절 기능 및 질병의 회복

<sup>†</sup> Corresponding author : Young Sook Park, Tel : +82-53-850-6834; Fax : +82-53-850-6839, E-mail : yspark@daegu.ac.kr

이나 예방 등에 관한 가능성이 제시되어 왔는데(Huang *et al* 1992), 특히 항산화성, 항균성, 항알레르기, 항종양, 항암, 심장 질환 및 당뇨병 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 민간요법이나 한방요법 등을 비롯한 전래 의학의 관점에서 생약이나 자연식품으로부터 추출된 물질을 이용한 기능성 신제품 생산에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나(Ham *et al* 1997), 가공 방법은 혼합 증탕의 전통적인 방법을 벗어나지 못하고 있는 상태이다(Nam & Kang 2000, Kim *et al* 1999). 그러나 약용 식물을 이용하여 혼합 증탕하여 만든 제품은 음료수로 장기간 복용하는데 무리가 있고, 특히 맛에 있어서 기호도가 낮다는 단점이 있으므로 본 연구에서는 기존의 혼합 증탕 방법대신 증류 냉각 추출하여 맑고 투명한 증류 추출물을 만들어 항산화성, *H pylori*에 대한 항균성, 흰쥐를 이용한 지질과 과산화물대사에 미치는 효과 및 기호성을 조사하여 약용 식물을 이용한 기능성 음료 개발의 가능성을 제시하고자 한다.

**재료 및 방법**

**1. 실험 재료**

본 실험에서 사용된 재료는 갈근(*Pueraria*), 감초(*Glycyrrhiza*), 황금(*Scutellaria*), 당귀(*Angelica root*), 다시마(*Laminaria*), 대추(*Jujube*), 동충하초(*Tochukaso*), 매실(*Ume*), 구기자(*Lycium*), 뽕잎(*Mulberry leaf*), 감잎(*Persimmon leaf*), 국화(*Chrysanthemum*), 오가피(*Acanthopanax*), 작약(*Paeonia*), 천궁(*Cnidium*) 등의 약용식물로 2005년 4월과 8월에 경상북도 경산시 한국생약협회로부터 구입하여 사용하였다. 사용된 재료의 분량은 물 100 L에 해당된다(Table 1.).

**2. 기능성 음료수 제조 방법**

**1) 물 추출물(Water Distilled Extract ; WE)**

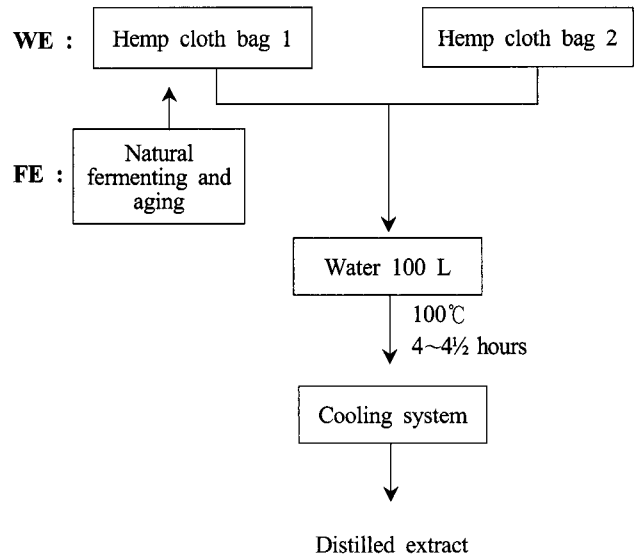
건조시킨 갈근, 감초, 황금, 당귀, 구기자, 뽕잎, 감잎, 오가피, 작약, 천궁을 각 분량만큼 삼베 주머니 1에 넣었다. 식초와 물(3:7)을 끓여 식힌 후 전통 용기에 담아 30일 이상 발효시킨 매실과 동충하초, 다시마, 대추, 국화를 삼베주머니 2에 넣었다. 준비된 두 약주머니를 가열 탱크에 넣고, 물 100 L를 주입한 후 모든 밸브를 잠그고, 100℃가 되도록 4시간~4시간 30분정도 증발에서 가열하였다. 냉각기에 수돗물을 넣어 냉각수를 저장한 후 냉각기에 물이 넘쳐흐르면 모든 밸브를 열고 이때부터 파이프를 통해 나오는 수증기를 응축시켜 음료를 제조하였다(Fig. 1).

**2) 발효 추출물(Fermenting Water Distilled Extract ; FE)**

건조시킨 갈근, 감초, 황금, 당귀, 구기자, 뽕잎, 감잎, 오가

**Table 1. Medicinal herb contents of functional beverage**

갈근( <i>Puerariae</i> )	200
감초( <i>Glycyrrhiza</i> )	200
황금( <i>Scutellaria</i> )	100
당귀( <i>Angelica</i> )	200
다시마( <i>Laminaria</i> )	100
대추( <i>Jujube</i> )	100
동충하초( <i>Tochukaso</i> )	30
매실( <i>Ume</i> )	200
구기자( <i>Lycium</i> )	200
뽕잎( <i>Mulberry leaf</i> )	400
감잎( <i>Persimmon leaf</i> )	400
국화( <i>Chrysanthemum</i> )	100
오가피( <i>Acanthopanax</i> )	200
작약( <i>Paeonia</i> )	200
천궁( <i>Cnidium</i> )	200



**Fig. 1. Method of water distilled extract(WE) and fermenting water distilled extract(FE).**

피, 작약, 천궁(을 전통 용기에 넣어 30일 숙성 발효시킨 후 약초 추출물을 약재가 담길 정도로 부어 37~38℃에서 12시간 발효시킨 후 삼베주머니 1에 넣었다. 식초와 물(3:7)을 끓여 식힌 후 전통용기에 담아 30일 이상 발효시킨 매실과 동충하초, 다시마, 대추, 국화를 전통 용기에 넣어 37~38℃에서 12시간 발효시킨 것을 삼베주머니 2에 넣어 준비한 후 가

열 탱크에 넣고, 100 L까지 물을 주입한 후 모든 밸브를 잠그고 100℃가 되도록 4시간~4시간 30분 정도 중불에서 가열하였다. 냉각기에 수돗물을 넣어 냉각수를 저장한 후 냉각기에 물이 넘쳐흐르면 모든 밸브를 열고 이때부터 파이프를 통해 나오는 수증기를 응축시켜 음료를 제조하였다(Fig. 1).

### 3. 항산화 활성 측정

#### 1) 전자 공여 작용(Electron Donating Ability ; EDA)의 측정

전자 공여능은 Blois(1958)의 방법에 따라  $4.0 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액(99.9% ethanol에 용해) 2.8 mL에 시료 0.2 mL를 넣고 30분 후 516 nm에서 Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 사용하여 흡광도를 측정하였으며, 아래 공식에 의해 전자공여능을 계산하였다.

이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 butyl hydroxy toluene(BHT)를 3.5 mg/mL 농도로 첨가하여 활성을 비교하였다.

전자 공여능(%) =

$$100 - \left[ \left( \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100 \right]$$

#### 2) SOD(Superoxide Dismutase Activity ; SOD)활성 측정

Superoxide anion radical 소거활성 측정은 Marklund & Marklund(1974)의 방법에 따라 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 Tris HCl buffer 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25℃에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응 정지시킨 후 420 nm에서 Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 사용하여 흡광도를 측정하였으며, 아래 공식에 의해 SOD 유사활성을 계산하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 butyl hydroxy toluene(BHT)를 3.5 mg/mL 농도로 첨가하여 활성을 비교하였다.

SOD 유사활성(%) =

$$100 - \left[ \left( \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100 \right]$$

#### 3) Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 측정

지방산의 산화 생성물인 malondialdehyde는 thiobarbituric acid와 반응하여 붉은 색소를 형성한다. 이 발색의 정도를 비색 정량하여 지방에 대한 시료의 항산화성을 측정하였다.

Buege & Aust(1978)의 수정 방법에 따라 한약재 추출물 1 mL를 콩 식용유((주)오뚜기) 3.0 g에 첨가하여 40℃에서 24시간 동안 과산화물 유도시킨 후 3M trichloroacetic acid와 2.5N-HCl의 혼합용액 1 mL와 증류수 1 mL를 가하고 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상정액 1 mL를 취하여 0.67% TBA 1 mL를 가하여 혼합하고 끓는 물속에서 30분간 가열하여 발색시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정한 후 시료의 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS)값을 대조군의 값과 비교하여 상대적 항산화 효과값(relative antioxidant effectiveness, RAE)으로 항산화 효과를 비교하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 butyl hydroxy toluene(BHT)을 3.5 mg/mL 농도로 첨가하여 활성을 비교하였다.

$$\text{상대적 항산화 효과값} = \frac{\text{무첨가군의 흡광도}}{\text{첨가군의 흡광도}}$$

#### 4. *Helicobacter pylori*의 생육 저해 효과

실험에 사용한 균주는 *H. pylori*로서 표준균주인 KCTC 2948을 유전자 은행으로부터 분양받아 사용하였다. 배양은 10% (v/v)의 calf serum을 함유하는 brucella broth(Difco, USA)를 사용하여 10% CO<sub>2</sub> incubator에서 microaerobic condition을 유지시켜 주며 배양하였다. *H. pylori*를  $1.7 \times 10^7$  (CFU/mL)의 농도의 것을 사용하였으며 한약재 추출물과 발효 추출물의 항균활성은 disc 방법에 의해 확인하였다. Brucella agar 배지(Difco, USA)에 *H. pylori*를 접종하고 멸균한 10 mm paper disc를 놓은 후 시료를 50 μL씩 paper disc에 흡수시켰다. 37℃의 미 호기성 조건에서 24시간 배양 후 disc 주위에 생긴 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 항균 활성을 비교하였다. 대조군으로 WE와 FE 대신에 증류수를 흡수시켰다.

### 5. 생화학적 분석

#### 1) 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley(SD)계 웅성 rat로서 생후 5주된 흰쥐 30마리를 구입하여 1주간 적응시킨 후 난피법(completely randomized design)을 이용하여, 10마리씩 3군(대조군, 물추출물(WE)군, 발효추출물(FE)군)으로 분류하여 사육하였으며, 사육기간 중 온도는 23±3℃, 습도는 40~70%, lighting cycle은 12시간을 유지하였고 5주간의 실험기간 동안 사료와 물 추출물, 발효 추출물과 물은 자유롭게 섭취할 수 있게 하였으며, 이때 물은 2차 이온 교환수를 사용하였다.

#### 2) 혈액과 간 채취

실험 기간이 종료된 실험 동물은 12시간 절식시킨 후 di-

ethyl ether로 마취시켜 개복한 후 심장에서부터 혈액을 채취하여 혈액의 지질 분석에 사용하였으며, 혈액을 채취한 후 ice bath 위에서 즉시 간을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고  $-70^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 보관하여 지방과 과산화물 함량 측정에 사용하였다.

### 3) 혈액과 간 지질 분석

혈장의 중성 지방 농도와 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도는 효소법(Richmond W 1973)을 이용한 분석 kit(아산제약, 한국)을 사용하여 각각 550 nm와 500 nm에서 비색정량하였으며, LDL-콜레스테롤 농도는 지질 측정치를 Friedwald(1972) 공식을 이용하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{LDL-콜레스테롤} = \text{총 콜레스테롤} - [\text{HDL-콜레스테롤} + (\text{중성지방}/5)]$$

간 조직 0.1 g에 생리식염수 2 mL를 넣어 균질기로 균질화 한 후 Folch & Lee(1957)의 방법에 의해 지질을 추출하였고, Sale *et al* (1984)의 방법에 의해 효소 kit(아산제약, 한국)를 사용하여 간 조직의 총 콜레스테롤과 중성지방을 측정하였다.

### 4) 혈액과 간의 Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TRARS)

혈장과 간의 지질 과산화물 함량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하여 생성된 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)으로 측정하는 Yagi(1994)의 방법에 따라 측정하였다. 표준시액은 TEP(1,1,3,3-tetraethoxy propane)을 이용하여 흡광도를 측정하였다.

간의 지질 과산화물 함량은 0.1 g의 간 조직을 4배의 0.1 M  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  buffer(pH 7.4)를 가해 1분간 균질화한 후 원심분리(3,000rpm, 10분)하여 상층액을 시료로 사용하였다.

### 6. 관능 평가

음료에 대한 관능검사요원은 대구대학교 식품영양학과 4학년 학생 20명을 선정하여 사전 교육을 시킨 후 검사에 응하도록 하였다. 음료는 흰색 컵(지름 7 cm)에 50 mL씩 담아 제공하였다. 평가 내용은 음료의 향, 색(탁도), 맛, 신선함, 전반적인 기호도이며, 5점 hedonic scale(Moskowitz & Jacobs 1988)에 의하여 평가하였다. 각 검사 항목을 ‘매우 좋다 5점’ ‘보통이다 3점’ ‘매우 나쁘다 1점’으로 평가하여, 기호도가 좋을수록 높은 점수를 주도록 하였다.

### 7. 통계 처리

SPSS 10.0을 사용하여, 평균과 표준오차를 구하였으며, one way ANOVA에 의해  $p < 0.05$ 에서 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 군간 유의차를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 항산화 효과

#### 1) 전자공여 작용(Electron Donating Ability, EDA)의 측정

DPPH는 화합물 내 질소 중심의 라디칼 전자의 안정화된 구조의 화합물로서 항산화 물질 존재 하에서 환원된다. 기능성 음료로서의 항산화성을 평가하기 위해 전자공여능을 측정할 결과는 Table 2에 나타내었다. WE에서 24.47%의 전자공여능을 나타내었으며, FE에서는 12.01%의 전자공여능을 가지는 것으로 나타났으며, 인공 항산화제인 BHT의 전자공여능 32.17%보다 유의적으로 낮게 나타났( $p < 0.05$ ). 한약재 추출물의 재료로 사용된 한약재에 대한 전자공여능에 대한 실험(Park 2002, Park & Kim 2006)에서 사용된 한약재 각각은 높은 전자공여능을 갖고 있는 것으로 나타났으며 Kim *et al*(1995)의 생약 추출물의 전자 공여능에 관한 연구에서도 목단, 황금, 작약, 구기자 등의 100 ppm의 농도에서 전자 공여능이 36.7%에서 65%로 나타난 결과는 본 연구에서 음료의 전자 공여능보다 높게 나타났고, Kim *et al*(2004)은 갈근, 감초, 당귀의 열수 추출물이 각각 16.3%, 13.3%, 15.8%의 활성을 나타냈다고 보고한 결과는 본 연구에 비해 낮은 경향을 보였다.

#### 2) SOD(Superoxide Dismutase Activity ; SOD) 활성 측정

Hydroxy 라디칼은 활성 산소 라디칼 중에서 화학적으로 가장 반응성이 크며 기질을 산화시킬 수 있는 라디칼로, 특히 superoxide anion 라디칼을 생성하여 체내에서 산화적 장애를 초래하게 된다. SOD(superoxide dismutase)는 생체 내에서 superoxide anion 라디칼 소거에 관여하는 효소이다. Superoxide anion 라디칼을 제거하는 SOD의 유사 활성을 측정할 결과는 Table 2에 나타내었다. WE의 SOD는 50.35%로 합성 항산화제인 BHT의 SOD 활성도 35.68%에 비해 유의적인 차이를 보였으며( $p < 0.05$ ), FE의 SOD는 35.72%로 합성항산화제인 BHT의 SOD 활성도 35.68%와 유사한 효과를 나타내고 있었다. 본 연구에서 제조된 WE는 DPPH 라디칼에 대한 소거능은 상대적으로 낮았으나 hydroxyl 라디칼에 대하여 50% 정도의 소거능을 나타내어 실제로 체내에서 생성된 hydroxyl

**Table 2. Antioxidant activities of water extract or fermenting extract from medicinal herb**

Group <sup>1)</sup>	EDA(%)	SOD-like ability (%)	RAE
WE	24.47±5.68 <sup>a</sup>	50.35±6.82 <sup>a</sup>	1.57±0.08 <sup>a</sup>
FE	12.01±2.68 <sup>b</sup>	35.72±5.89 <sup>b</sup>	1.55±0.07 <sup>a</sup>
BHT	32.17±4.84 <sup>c</sup>	35.68±6.12 <sup>b</sup>	1.37±0.05 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> WE: Water distilled extract, FE: Fermenting water distilled extract

Values are mean±SE.

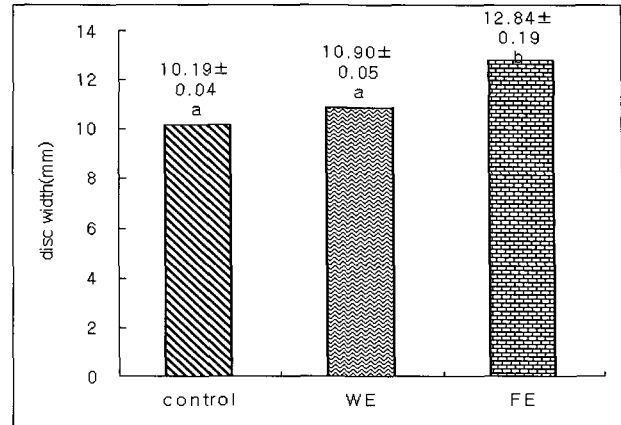
Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

라디칼에 대해서 매우 유용할 것으로 사료된다. Lim *et al* (2004)의 연구에 따르면 오가피, 구기자, 갈근, 황금의 활성능이 각각 13.50%, 21.27%, 17.13% 23.10%로 본 실험결과보다 낮은 값을 보였고, Nam & Kang(2000)은 석곡, 두충, 목단 작약, 복분자 등 추출물의 80%의 높은 SOD 활성을 보고하여 생약재 성분 자체가 hydroxyl 라디칼에 비교적 안정하며 매우 효과적인 소거제로서 작용함을 보여주었다.

**3) 지방에 대한 항산화성 측정(Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TRARS) 측정**

유리기에 의한 지질 손상의 지표로 가장 많이 이용되고 있는 TBARS 값에 의하여 상대적 항산화 효과를 측정된 결과는 Table 2와 같다. WE의 RAE(1.57)과 FE의 RAE(1.55)는 인공 항산화제인 BHT의 RAE 값 1.37 보다 유의한 차이를 보여( $p < 0.05$ ) 높은 지질 과산화 억제 활성을 나타내었다. 한약재에 대한 실험(Park 2002, Park & Kim 2006)에서 구기자를 제외하고 BHT의 RAE 값 1.32보다 대부분 높은 값을 보여 본 연구보다 높은 활성을 나타냈다.

체내에서 생성된 hydroxyl 라디칼은 불포화지방산과 탈수소 반응을 통해 유리 라디칼을 형성하는 반응이 진행되고 특



**Fig. 2. Growth inhibition of *Helicobacter pylori* KCTC 2948 by medicinal herb water extract and fermenting water extract**  
WE : Water distilled extract, FE : Fermenting water distilled extract

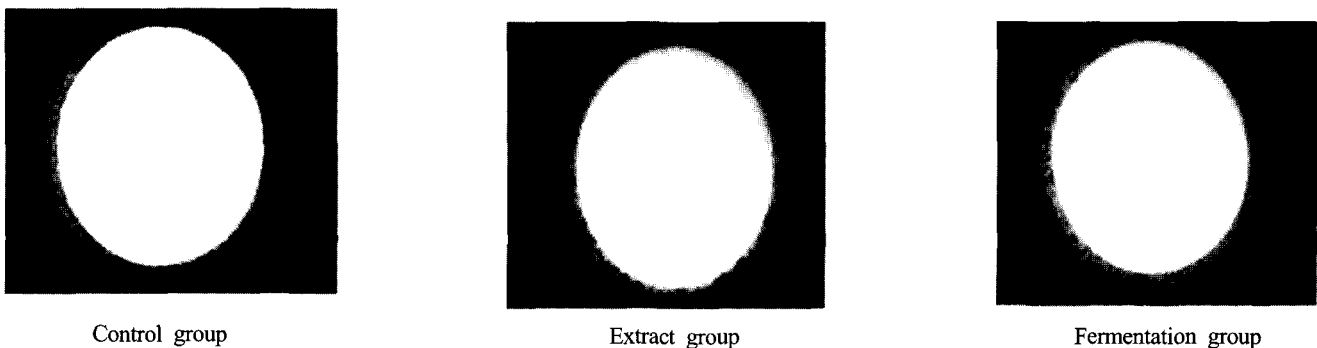
Values are mean±SE.

Values not sharing common superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

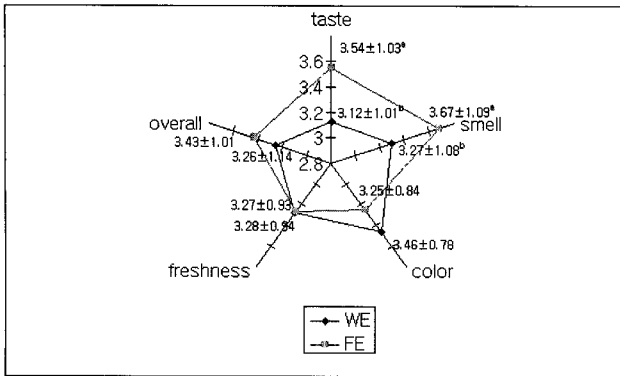
히 유리 라디칼에 의하여 세포막 지질 과산화 반응이 촉진되어 생체 DNA의 초기 손상까지 일으키게 되어 여러 가지 질병을 일으키게 된다(Markland & Markland 1974). 위의 결과 합성 항산화제인 BHT와 비교하여 볼 때 WE과 FE의 항산화 효과가 BHT의 항산화 효과보다 더 높은 것으로 나타나 WE과 FE이 항산화제로 이용 가능성을 보여주었다.

**2. Helicobacter pylori의 생육 저해 효과**

*H. pylori* 균에 대한 항균성을 disc 방법에 의해 확인해 본 결과는 Fig. 3, 4와 같다. FE의 clear zone의 직경은 12.84 mm로 대조군 10.19 mm보다 통계적으로 유의적인 차이( $p < 0.05$ )를 보여 가장 큰 항균 활성을 나타냈으며, WE도 10.90 mm로 대조군 10.19 mm에 비해 높은 항균성을 가지는 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 천연물을 이용한 *H. pylori*



**Fig. 3. Micrographs of *Helicobacter pylori* treated with medicinal herb water extract and fermenting water extract**



**Fig. 4. The quantitative descriptive analysis profile for sensory evaluation of water distilled extract(WE) and fermenting water distilled extract(FE)**

5 scale : 1 = very dislike, 2 = dislike, 3 = normal, 4 = like, 5 = very like.

에 대한 항균 활성 실험은 *in vitro*를 벗어나지 못했으나, herb 추출물 (phenol 함량 50~200 µg/100 µL) 100 µL를 disc paper에 흡수시켜 실험한 결과 로즈마리 등 10여종의 herb가 항균 활성이 강한 것으로 나타났으며(Cho *et al* 2005), 10종류의 한약재 중 황금, 감초, 어성초, 차조, 구기자 등의 열수 추출물이 *H. pylori*에 대한 항균 활성이 강한 것으로 나타났고, 감초, 갈근, 당귀, 차조의 에탄올 추출물에서 강한 항균 활성이 나타났다(Park & Kim 2006). 본 연구에서는 WE의 *H. pylori* 균에 대한 항균 효과는 FE에 비해 약하게 나타났으나 FE의 *H. pylori* 균에 대한 항균 효과는 유의적인 차이가 나타났다. 한약재를 발효하였을 때 우리나라 사람에게 위염의 중요 인자로 알려진 *H. pylori* 균의 생육을 억제할 수 있는 항균 기능이 활성화되는 것으로 나타나 한약재 및 herb 등을 이용하여 *H. pylori* 균에 항균 효과가 있는 물질 개발이 가능할 것으로 생각되며 앞으로 더 많은 연구가 필요하겠다.

**3. 혈장과 간의 지질 함량에 미치는 영향**

추출물 투여가 혈중 지질 농도에 미치는 효과를 Table 3에 나타내었다. 혈중 총 콜레스테롤 농도는 WE군이 71.31±7.75 mg/100 mL로 대조군 87.58±6.98 mg/100 mL에 비해 통계적으로 유의하게(*p*<0.05) 낮게 나타났으며, FE군은 81.60±7.12 mg/100 mL로 대조군에 비해 낮은 경향을 보였으나 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. 동물을 대상으로 한 연구를 살펴보면 Cho & Kim(1995)은 수컷 흰쥐에 고지방식이와 차전자수액 병행 투여시 총 콜레스테롤의 증가가 유의적으로 억제된다고 보고하여 본 연구와 비슷한 결과가 나타났으나, 반면 Kang *et al*(1996)은 흰쥐에 술 잎추출물을 투여한 실험군과 대조군간의 혈중 총 콜레스테롤 농도에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

**Table 3. Plasma lipid concentration of rats fed water extract or fermenting extract from medicinal herb**

Group <sup>1)</sup>	Cholesterol(mg/100 mL)			Triglyceride (mg/100 mL)
	Total	HDL	LDL	
Control	87.58±6.98 <sup>a</sup>	31.45±3.43 <sup>NS</sup>	39.82±3.43 <sup>a</sup>	81.54±6.82 <sup>a</sup>
WE	71.31±7.75 <sup>b</sup>	35.95±2.79 <sup>NS</sup>	21.76±2.35 <sup>b</sup>	68.03±5.88 <sup>b</sup>
FE	81.60±7.12 <sup>a,b</sup>	34.69±2.33 <sup>NS</sup>	31.14±3.71 <sup>a,c</sup>	78.83±7.14 <sup>a,b</sup>

<sup>1)</sup> See legends in Table 2.

Values are mean±SE.

Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at *p*<.05.

NS : Not significant.

HDL-콜레스테롤 농도는 FE 군과 WE 군이 대조군에 비해 높아지는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의적인 차이는 없었는데, Sung *et al*(1992)의 고지방 식이와 오갈피 병행 투여 시 HDL-콜레스테롤은 오갈피를 투여하지 않은 대조군에 비하여 다소 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다고 보고하여 본 연구와 비슷한 결과를 보였으나 Kang *et al*(1996)의 연구에서는 고지방 식이와 술잎 추출액을 병행 투여 시 HDL-콜레스테롤이 술잎을 투여하지 않은 대조군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. LDL-콜레스테롤 농도는 WE 군이 21.76±2.53 mg/100 mL로 대조군 39.82±3.43 mg/100 mL에 비해 통계적으로 유의하게(*p*<0.05) 낮게 나타났으며, FE군은 31.14±3.71 mg/100 mL로 대조군에 비해 낮은 경향을 보였으나 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. Kim & Park (2006)은 가시오가피 열수 추출물의 경구 투여에 의해 HDL-콜레스테롤 농도 변화는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 가시오가피 열수 추출물을 투여하지 않은 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였다고 보고하여 본 연구와 비슷한 결과를 나타내었다.

혈중 중성지방 농도는 WE군이 68.03±5.88 mg/100 mL로 대조군의 81.54±6.82 mg/100 mL에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며 FE군은 78.83±7.14 mg/100 mL로 대조군보다 낮은 경향을 보였으나 유의적 차이는 없었다. 이는 흰쥐를 고지방 식이로 6주간 사육하면서 오갈피의 열수 추출액을 경구 투여한 결과 혈청 중 총 콜레스테롤과 중성 지방 함량이 고지방식이로만 사육한 대조군에 비해 낮았으며, HDL-콜레스테롤의 농도는 다소 높아 오갈피 투여군이 지방 합성을 억제함으로써 고지방 식이에 의한 비만 유발성 개선 효과를 나타낸다고 한 Sung *et al*(1992)의 결과와 유사하였다.

사람을 대상으로 한 연구를 살펴보면 Lim *et al*(2005)은 상업, 구기자, 국화, 대추, 참깨가 사용된 기능성 차를 섭취한 그룹에서 혈청 중성지방과 총 콜레스테롤 농도의 감소가 현

저하였으나, placebo 군에서는 유의적인 감소를 보이지 않았다. Cho & Kim(1995), Sung *et al*(1992), Kim & Park(2006) 등의 보고로 미루어 볼 때 천연물의 추출액에는 혈중 콜레스테롤 상승 억제 효과가 있는 물질이 함유되어 있다고 사료되나 어떤 성분에 의한 어떤 작용 기작에 의한 것인지에 대한 자세한 연구가 요구되어진다.

WE와 FE 투여가 간의 지방 함량에 미치는 효과를 Table 4에 나타내었다. 간의 총 콜레스테롤 함량은 WE군이 31.24±3.21 mg/g liver로 대조군 42.44±4.69 mg/g liver보다 유의적인 감소를 보였으며( $p<0.05$ ), FE군은 40.18±5.21 mg/g liver로 대조군보다 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. Kang *et al*(1996)이 흰쥐에 3% 솔잎 추출액을 경구 투여하였을 때 간의 총 콜레스테롤 함량을 유의적으로 감소되었으며, 고 콜레스테롤 혈증 흰쥐에 영지 추출액, 케일녹즙 등을 급여한 Chung *et al*(1991)의 연구에서 영지 추출액의 섭취군이 다른 실험군에 비해 간장 중성지방의 농도가 유의적으로 저하되었으며, 반면 케일 녹즙의 섭취가 총 콜레스테롤의 농도를 현저하게 낮춘다고 보고되어 있다. 이외에도 식물체의 phenolic compounds(Igarashi & Ohmuma 1995)가 간의 총 콜레스테롤을 저하시킨다고 보고되어 있다.

간의 중성 지방 함량은 WE군이 45.34±3.98 mg/g liver로 대조군의 58.72±5.21 mg/g liver 과 FE의 57.98±4.44 mg/g liver보다 유의하게( $p<0.05$ ) 낮았으며, 대조군과 FE군은 유의적인 차이가 없었다. 고지방 식이와 차전자수액(Cho & Kim 1995)을 급여한 결과 총 콜레스테롤 과 중성 지방을 감소시켰다고 보고되어 본 연구와 같은 결과를 보였다.

Kang *et al*(1996)은 솔잎 추출물을 4주간 투여한 결과, 혈중에서 보다 오히려 간장 중성 지방과 콜레스테롤의 억제 효과가 더욱 뚜렷하였으며 솔잎 추출물에는 간장에서의 지질 상승을 억제할 수 있는 성분으로 솔잎의 phenolic compounds 화합물 중 catechin과 leucoanthocyan이 가장 큰 영향을 미친다고 보고하였다.

**Table 4. Liver lipid concentration of rats fed water extract or fermenting extract from medicinal herb**

Group <sup>1)</sup>	Total cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
Control	42.44±4.69 <sup>a</sup>	58.72±5.21 <sup>a</sup>
WE	31.24±3.21 <sup>b</sup>	45.34±3.98 <sup>b</sup>
FE	40.18±5.21 <sup>a</sup>	57.98±4.44 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> See legends in Table 2.

Values are mean±SE.

Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$ .

**Table 5. Plasma and liver TBARS of rats**

Group <sup>1)</sup>	Plasma TBARS (nmole/mL)	Liver TBARS (nmole/mg protein)
Control	84.56±4.82 <sup>a</sup>	3.20±0.45 <sup>NS</sup>
WE	66.72±6.48 <sup>b</sup>	2.98±0.32 <sup>NS</sup>
FE	78.08±8.71 <sup>a</sup>	3.12±0.37 <sup>NS</sup>

<sup>1)</sup> See legends in Table 2.

Values are mean±SE.

Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$ .

NS : Not significant.

#### 4. 혈장 및 간 조직의 지질 과산화물 함량에 미치는 영향

혈장과 간 조직의 과산화 정도를 알아보기 위해 지질 과산화물 함량(thiobarbituric acid reactive substances: TBARS values)을 측정 한 결과는 Table 5와 같았다. 혈장의 지질 과산화물 함량은 대조군, WE군, FE군에서 각각 84.56±4.82, 66.72±6.48, 78.08±8.71(nmol/mL)로 물을 섭취한 대조군에 비해 WE 군의 지질 과산화물 함량이 유의적인 차이를 보였으며( $p<0.05$ ), E군은 낮은 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. 간조직의 과산화물 함량은 대조군, WE군, FE군에서 각각 3.20±0.45, 2.98±0.32, 3.12±0.37(nmole/mg protein)로 실험군간에 유의적인 차이는 없었으나 WE군이 다소 낮은 경향을 보였다. Kim & Park(2006)의 연구에 의하면 혈장과 간의 지질과산화물 함량은 알레르기성 접촉 피부염 유발군에서 혈장과 간의 과산화물 함량이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며 오가피 추출물의 투여에 의해 감소하는 경향으로 나타났다. Kim & Kim(2004)은 양파즙 및 양파 건분이 노령 흰쥐의 지질 과산화물 생성에 미치는 영향 연구에서 양파 건분 투여군의 TBARS 수준은 감소하는 경향이 나타났으며, 이는 껍질 건분 식이 내에 free radical scavenger로서 작용하는 것으로 알려져 있는 quercetin 함량이 높기 때문이라고 하였다. 인체를 대상으로 한 연구를 보면 Shin & Lee(2004)이 성인 남자를 대상으로 12주간 오가피 추출물을 1일 3회(30 mL/1회)씩 공급한 결과, 안정시의 TBARS 값은 오가피 섭취 12주후부터 유의적으로 감소하였고 운동 후 회복기 TBARS 값은 6주 후부터 유의적으로 감소하였다. 본 연구 결과 혈액내의 과산화 지질 함량은 TBARS에 의한 상대적 항산화물 값인 높은 WE를 먹인 군에서 혈액 및 간의 과산화지질의 생성 정도가 낮은 것으로 나타나 *in vitro*에서 지질 과산화 억제 활성을 나타낸 추출물이 생체 내에서 지질 과산화물의 생성을 억제시키는 경향으로 나타났다.

## 5. 관능 평가

Fig. 5는 WE과 FE에 대하여 기호도를 측정한 결과를 나타내었다. 향기와 맛의 기호도는 FE이 WE에 비해 높게 평가되었으나, 신선함의 기호도는 FE와 WE 간에 차이가 없었으며, 오히려 색의 기호도에서 WE가 FE보다 높았으나 유의적인 차이는 없었다. WE와 FE의 전반적인 기호도가 hedonic score에서 각각 3.26, 3.43으로 FE가 WE보다 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 특히 FE는 WE에 비해 맛과 냄새에 대한 기호가 높게 나타났는데, 이는 본 실험에서 한약재를 전통 옹기에서 자연 발효 숙성시켰을 때 맛과 향을 향상시킬 수 있는 것으로 사려된다.

## 요약 및 결론

15종류의 한약재를 기존의 혼합 중탕 방법이 아니고 증류 냉각 추출하여 맑고 투명한 음료를 만들어 이들의 기능성과 기호성을 조사하기 위하여 증류 냉각 추출하여 만든 물추출물과 발효 숙성시킨 후 증류 냉각 추출하여 발효 추출물을 만들어 항산화성, *H. pylori*에 대한 항균성 및 흰쥐에게 5주간 경구 투여한 후 혈청과 간장의 지질 조성 및 과산화 지질에 미치는 영향에 대한 결과를 요약하면 아래와 같다.

1. 항산화성의 전자공여능 활성은 WE이 FE보다 유의적( $p < 0.05$ )으로 높았으며 인공적인 항산화제 BHT보다 낮게 나타났다. SOD 활성도는 추출물이 합성 항산화제인 BHT보다 유의적( $p < 0.05$ )으로 높은 활성을 보였으며, FE과 합성 항산화제인 BHT는 유의적인 차이는 없었다. WE의 RAE와 FE의 RAE는 인공 항산화제인 BHT의 RAE보다 유의하게( $p < 0.05$ ) 높은 항산화력을 나타내었다.
2. FE의 clear zone의 직경은 대조군과 WE의 직경보다 유의적으로 크게 나타나 *H. pylori*에 대한 높은 항균성을 나타내었다.
3. 혈중 총 콜레스테롤, 혈중 중성 지질과 혈중 LDL-콜레스테롤은 대조군에 비하여 WE군에서 유의적( $p < 0.05$ )으로 낮았다. 혈중 HDL-콜레스테롤은 WE군, FE군과 대조군에서 유의적인 차이는 없었다.
4. 간의 중성지방과 총 콜레스테롤 함량은 대조군과 FE군에 비해 WE군에서 유의적( $p < 0.05$ )으로 낮은 함량을 보였다.
5. 혈중 지질 과산화물 함량은 WE군이 대조군과 FE군에 비하여 유의적으로( $p < 0.05$ ) 낮은 경향을 보였으며 간의 지질 과산화물 함량은 군 간에 유의적인 차이는 없었다.
6. 맛과 냄새의 기호도는 WE에 비해 FE가 높았으며, 색(탁도)의 기호도와 청량감의 기호도는 유의적인 차이가 없었다.

결론적으로 약용식물의 증류 추출물은 전자공여능, SOD에서 높은 항산화성을 보였으며, 흰쥐의 동물실험에서 혈중 총 콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤과 지질 과산화물 생성 억제 효과뿐만 아니라 발효 숙성함으로써 우리나라 사람들에게 많은 위염의 인자로 알려진 *H. pylori* 균의 발육에 대한 저해 효과 및 맛과 냄새(향기)의 개선 효과를 고려해 볼 때 약용 식물의 증류 추출물과 발효 증류 추출물을 이용하여 맑고 투명한 기능성 음료로서의 이용 가능성을 확인하였다.

## 감사의 글

이 논문은 2005학년 대구대학교 연구비 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

## 문헌

- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1198-1199.
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 105: 302-310.
- Cha BC, Lee BW, Choi MY (1998) Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Kor J Pharmacogn* 29: 28-32.
- Cho YJ, Chun SS, Yoon SJ, Kim JH, Kim TW, Cuoi UK (2005) Screening of the antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* from herb plants. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 161-165.
- Cho SY, Kim MJ (1995) The effect of plantaginisin semen on serum and hepatic lipid metabolism in fed high and low fat diets. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 517-522.
- Chung SY, Kim SH, Kim HS, Cheong HS, Kim HJ, Kang JS (1991) Effect of water soluble extract of *Ganoderma lucidum*, Kale juice and sodium dextrothyroxine on hormone and lipid. *J Korean Soc Food Nutri* 20: 59-64.
- Folch F, Lee GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biochem* 226: 497-509.
- Friedwald WT, Levy RI, Fedricson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-506.
- Huang MT, Ho CT, Lee CY (1992) Phenolic compounds in food. In phenolic compounds in food and their effects on health II. Maple Press, New york, USA. pp 2-7.
- Igarashi K, Ohmuma M (1995) Effects of isorhamnetin, rham-



- netin and quercetin on the concentrations of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats. *Biosci Biotech Biochem* 59: 595-599.
- Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD (1996) Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 367-373.
- Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR (2004) Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
- Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J Food Sci Technol* 27:80-85.
- Kim NJ, Jung EA, Kim DH, Lee SI (1999) Studies on development of antihyperlipidemic drugs from oriental herbal medicines-antihyperlipidemia activities of oriental herbal medicines. *Kor J Pharmacogn* 30: 368-376.
- Kim SK, Kim MK (2004) Effect of dried powders or ethanol extract of onion flesh and peel on lipid metabolism, antioxidative and antithrombogenic capacities in 16-month old rats. *Korean J Nutrition* 37:623-632.
- Kim YH, Park YS (2006) Effect of *Acanthopanax cortex* water extract on antioxidative activity, lipid profile and epidermal thick in DNCB-induced allergic contact dermatitis animal model. *Korean J Food Sci Technol* 38: 1-6.
- Lee YS, Jung SH, Lim SS, Ji J, Lee SH, Shin KH (2001) Effects of the water extract from the stem bark of *Acanthopanax senticosus* on hyperlipidemia in rats. *J Korean Pham* 32: 103-107.
- Lim HJ, Cho KH, Choue RW (2005) The effect of functional tea(*Mori folium*, *Lycii fructus*, *Chrysanthemi flos*, *Zizyphi fructus*, *Sesamum semen*, *Raphani semen*) supplement with medical nutrition therapy on the blood lipid levels and antioxidant status in subjects with hyperlipidemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:42-56.
- Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
- Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Moskowitz HR, Jacobs BE (1988) Magnitude estimation: Scientific background and use in sensory analysis. In *Applied Sensory Analysis of Food* ed. Moskowitz H, CRC Press, NewYork, USA. pp 193-199.
- Park YS (2002) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of medicinal herb extracts. *J East Asian Soc Dietary Life* 12: 23-31.
- Park YS, Kim YH (2006) The effect of medicinal herb extract on antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* and antioxidant activity. *J East Asian Soc Dietary Life* 16: 199-206.
- Rhee KH, Youn HS, Baik SC, Lee WK, Cho MJ, Choi HJ, Maeng KY, Ko KW (1990) Prevalence of *Helocobacter pylori* infection in Korea(in Korean). *J Korean Soc Microbiol* 25: 475-490.
- Richmond W (1973) Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 19: 1350-1356.
- Sale FO, Marchesimi SPH, Berra BA (1984) Sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. *Anal Biochem* 142: 347-350.
- Shin HJ (1996) Development and trends in functional foods. *Korean J Food Sci Technol* 30: 2-31.
- Shin WT, Lee KS (2004) The effect of Ogapi's exercise performance and SOD, MDA for 12 weeks. *Korean Sport Res* 15:1309-1320.
- Sung TS, Son GM, Bae MJ, Choi C (1992) Effect of *Acanthopanax cortex* boiling extract solutions on fat accumulation in the obese rats induced by high fat dietary. *J Korean Soc Food Nutri* 21: 9-16.
- Tabak M, Artmom R, Potasman I, Neeman I (1996) *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J Apply Bacteriol* 80: 667-672.
- Warren JR, Marshall BJ (1983) Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1: 1273-1275
- Yagi K (1994) Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine In: Free Radicals in Diagnostic Medicine. Armstrong DE (ed) Plenum Press, New York, USA. pp 1-15.

(2007년 4월 3일 접수, 2007년 5월 23일 채택)