

몇 가지 천연식물 발효액의 제조 및 생리기능성

서동수 · 이은나 · 조창호¹ · 이종수*
배재대학교 과학기술학부¹, 생명유전공학과*

Manufacture and Physiological Functionalities of Some Natural Plant Fermentation Broths and Liquor

Dong-Soo Seo, Eun-Na Lee, Chang-Ho Cho¹ and Jong-Soo Lee*
Department of Life Science and Genetic Engineering, Pai Chai University

요 약

고부가가치를 가진 천연식물 발효음료를 개발하기 위하여 감과 보리, 백야초와 느릅나무 등을 이용하여 3종류의 발효액과 1종류의 침출주를 제조한 후 이들의 생리기능성을 조사하였다. 노화관련 생리기능성으로 항산화활성은 느릅나무 침출주에서 99%로 제일 높았고 감으로 제조한 감식초에서도 68.3%를 보였다. 또한 SOD 유사활성은 느릅나무 침출주에서 80.6%로 제일 높았으나 여타의 발효액에서는 25% 미만의 낮은 활성을 보였다. 심혈관질환관련 생리기능성으로 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해활성과 혈전용해활성은 모두 11% 이하의 낮은 활성을 나타내었고 항치매성 아세틸콜린 에스터레이즈(AChE) 저해활성은 느릅나무 침출주에서 54.7% 높았으나 여타의 시료에서는 10% 미만의 낮은 활성을 보였다. 이상의 결과들을 종합하여 볼 때 대체로 느릅나무 침출주가 강력한 항산화활성을 갖고 있고 SOD 유사활성과 AChE 저해활성도 우수하였으므로 고부가가치의 건강 주류로 산업화가 가능한 것으로 사료된다.

Abstract

Three kinds of plant fermentation broths and one liquor were prepared using persimmon,

Corresponding Author : Jong-Soo Lee, Dept. of Life Science and Genetic Engineering, Pai Chai, Daejeon, Korea, 302-735, Tel : +82-42-520-5388, E-mail : biotech8@pcu.ac.kr

Ulmus davidiana var. japonica and barley, and investigated its physiological functionality. Anti-aging antioxidants activity was the highest of 99% in *Ulmus dacidiana bar. japonica* liquor and also was high in the *persimmon vinegar*(68.3 %). SOD-like activity show also 80.6% in the *Ulmus davidiana var japonica* liquor however the other fermentation broths were less 25%. Antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and fibrinolytic activity were weak or not detected in all the fermentation broths. Anti-dementia acetylcholinesterase inhibitory activity were showed 54.7% in the *Ulmus davidiana var. japonica liquor*. Our results showed that the *Ulmus davidana var. japonica* liquor has the potential to become a new functional liquor because of high antioxidant activity and anti-dementia activity.

I. 서 론

최근 국민들의 건강에 대한 관심이 고조되는 가운데 우리나라 사람의 평균 수명이 80세에 근접하였고 따라서 만성질환인 동맥경화, 고혈압, 암, 당뇨병, 만성 간질환 등이 증가하고 있다. 이에 따라 대체의약과 건강기능성 식품에 관한 연구가 다양하게 진행되어 많은 제품들이 속속 개발되어 상품화 되고 있다. 특히 종래 식용으로만 주로 이용되어온 과일과 일부 식물에서 우수한 약리효능이 계속해서 밝혀짐에 따라 이들의 소비 역시 꾸준히 증가하고 있다(Kim *et al.*, 1999, ; Kim *et al.*, 2001). 그러나 이들 식물발효제품들의 기능성이 과학적으로 분석되지 않았고 영양학적 특성도 규명되지 않아 매우 혼란스러운 실정이므로 보다 체계적인 이들의 분석이 절실히 요구되고 있다.

천연식물 발효제품은 일반적으로 여러 가지 식물성 원료에 당을 첨가하거나 효모, 초산균, 유산균 등의 미생물을 첨가하여 발효시켜 제조된다. 식물체에는 여러 가지의 효소가 함유되어 있으며 식물추출액을 발효시키면 많은 효소들이 활성화되어 식물자체에 함유되어 있는 여러 가지 성분들과 생화학반응을 일으킴으로써 새로운 생리기능성이 만들어지고 식물체의 영양성분이 소화, 흡수되기 쉬운 형태로 변환될 수 있다(Lee *et al.*, 2007). 이러한 특성에 근거하여 근래에 전통 발효식품에 대한 생리기능성 물질의 탐색과 이들을 이용한 기능성 제품개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 알코올 해독과 건강 보조 및 질병예방 등의 생리기능성을 가진 전통 민속주들이 속속 개발되어 80종 이상이 시판되고 있고 인삼, 구기자, 두충, 감초, 오미자, 산수유, 숙지황, 매실, 탕자, 사삼, 질경, 작약, 당귀, 천금 및 동충하초 등의 약용 침출주들이 개발되었으며 이들의 생리 효능이

부분적으로 보고되어 있다(Kim *et al.*, 2000, ; Lee *et al.*, 2002, ; Seo *et al.*, 2000).

한편 느릅나무는 껍질을 벗겨서 입으로 씹어보면 끈적끈적한 점액이 많이 나오는데 이 점액이 종기나 종창을 치료하는 좋은 약이 되는 것으로 알려져 있다(Choi *et al.*, 2005). 또한 감식초에는 초산, 구연산, 사과산 등 60여 가지의 유기산이 풍부하고, 탄닌 성분과 비타민C를 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 특히 감식초의 초산은 체내의 신진대사를 원활하게 하며 몸의 노폐물을 분해, 배출시키는 작용을 하고, 체내에서 생성된 각종 산성물질을 제외로 배출시켜 우리 몸을 중화 또는 약 알칼리성 체질로 개선시켜 주며, 피로회복이나 피로예방에 좋고 혈액 중 헤모글로빈과 산소의 친화력을 높여주는 성질이 있어 가스 중독의 해독제로 이용되어 왔고, 몸을 유연하고 탄력있게 해주며, 비만 및 노화방지에도 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 1997).

본 연구에서는 천연식물자원을 이용한 고부가가치의 생리기능성 제품을 개발하기 위하여 먼저 몇 가지 천연식물자원을 이용하여 3종류의 천연식물 발효액과 1종의 침출주를 제조한 후 이들의 생리 기능성을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

감(*Diospyros Kaki*)은 2003년 충남 계룡산에서 수확한 것을 사용하였고, 보리(*Hordeum vulgare var. hexastichon*)와 백야초 제조에 사용한 100종류의 식물들은 2006년도 4월과 7월에 충남 계룡산에서 채취하여 시료로 사용하였으며 느릅나무(유근피, *Ulmus davidiana var. japonica*)는 2002년도 강원도에서 5년생 나무의 뿌리를 채취하여 세척, 풍건한 후 사용하였다.

설탕은 시판되고 있는 S사 제품의 황설탕(15kg/포)을 사용하였다. 생리기능성 측정용 시약으로 Hip-His-Leu과 rabbit lung acetone powder, fibrin, 1,1-diphenyl-2-picryl-drazyl (DPPH) 등은 Sigma(St, Louis, Mo, USA) 제품을 사용하였고 그 밖의 시약은 특급을 사용하였다.

2. 천연식물 발효액과 침출주의 제조

보리 발효액은 먼저 보리와 황설탕을 동량 혼합한 후 항아리에 넣고 1년간 상온에서 자연 발효시켜 제조하였다. 감식초는 잘 익은 감을 항아리에 넣고 상온에서 1년간 방치한

후 여과하여 다시 3년간 저온실에서 숙성시켜 제조하였다. 백야초는 100종류의 야생풀과 황설탕을 동량 혼합하여 상온에서 1년간 자연 발효시켜 제조하였다. 느릅나무 침출주는 느릅나무 뿌리를 세척하여 풍건한 후 알콜함량 45%의 소주 500mL에 50g을 넣어 1년간 상온에서 방치시켜 제조하였다.

3. 생리기능성 측정

항고혈압성 Angiotensin I-converting Enzyme(ACE) 저해활성은 Cushman 등의 방법(Cushman, D. W. and Cheung, H. S., 1971)에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉, 시료액에 동일 용량의 ethylacetate를 처리하여 얻은 추출액 50 μ l를 rabbit lung powder에서 추출한 ACE용액 150 μ l와 기질 용액(pH8.3의 100 mM sodium borate 완충용액 2.5mL에 300mM NaCl과 25mg Hip-His-Leu을 용해) 50 μ l와 섞은 후 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 다음 1N HCl로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 유리되어 나오는 hippuric acid의 양을 228nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였고 시료 무 첨가구를 대조구로 하여 저해율을 구하였다.

혈전용해활성은 Haverkate-Trass의 fibrin 법(Haverkate, F. and Traas, D. W., 1974)을 일부 변형시켜 측정하였는데 먼저 μ 당 0.1unit의 thrombin을 함유한 평판배지에 pH7.0의 인산 완충용액에 용해시킨 0.6%의 fibrinogen을 주입하여 고형화시켰다. 여기에 시료 25 μ l를 함유한 paper disc를 놓고 37 $^{\circ}$ C에서 6시간 반응시킨 후 투명한의 크기를 측정하여 혈전용해 활성을 mm로 표시하였다.

SOD 유사활성은 Marklund 등의 방법(Marklund, S. and Marklund, G., 1974)에 따라 시료액 20mL를 가한 후 균질화하고 원심분리하여 얻은 상등액을 pH8.2로 조정한 후 TCB를 사용하여 50mL로 정용한 후 시료액으로 사용하였다. 시료액 950 μ l에 50 μ l의 24mM pyrogallol을 첨가하여 420nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액 무 첨가구와 비교하였다.

항산화활성(전자공여능)은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 이용하는 Blois의 방법(Blois, M. S., 1958)으로 측정하였다. 시료 200 μ l에 DPPH 용액(DPPH 12.5mg을 EtOH 100mL에 용해) 800 μ l를 가한 후 10분간 반응시키고 525nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무 첨가 대조구와 활성을 비교하였다.

Acetylcholinesterase(AChE)은 Ellman법(Ellman *et al.*, 1961)을 사용하여 측정하였다. 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.3) 110 μ l를 넣고 효소인 acetylthiocholinesterase (0.8U/ml)를 30 μ l를 넣은 후 발색시약인 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB)를 20 μ l를 가하여 섞어준

후 기질인 Acetylthiocholine chloride를 30 μ l 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 60분 동안 반응생성물인 5-thio-2-nitrobenzoate의 생성값을 415nm에서 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 천연식물 발효액과 침출주의 노화억제 생리기능성

노화억제관련 생리기능성으로 항산화활성과 SOD 유사활성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 항산화활성은 느릅나무 침출주에서 99%로 제일 높았고 감식초도 68.3%로 비교적 높은 활성을 보였다. 또한 SOD 유사활성 역시 느릅나무 침출주에서 80.6%로 높았으나 여타의 발효액에서는 25% 미만의 낮은 활성을 나타내었다.

항산화활성은 노화방지에 중요한 생리기능성으로 현재 비타민C나 토코페롤 등과 같은 다양한 천연 항산화제가 개발되고 있다. 그러나 우리가 일상 식품에서 섭취할 수 있는 항산화물질은 많지 않은 것을 감안해 볼 때 90% 이상의 높은 항산화활성을 가진 느릅나무 침출주와 감식초는 앞으로 고부가가치의 노화방지와 건강 보호용 제품으로 산업화 가치가 있는 것으로 사료된다. 느릅나무는 옛날부터 이뇨약이나 중기 치료약으로 써 왔으며 식용으로 이용되기도 하였다. 느릅나무껍질에는 플라보노이드, 사포닌, 탄닌질 등이 함유되어 있는데 특히 플라보노이드 물질이 본 실험의 느릅나무 침출주의 높은 항산화활성을 나타내는 것으로 추정된다.

Table 1. Anti-aging functionalities of natural plant fermentation broths and liquor

Natural products	Antioxidant activity(%)	SOD-like activity (%)
Persimmon vinegar	68.3	23.3
Baekyacho ¹⁾	1.3	20.4
Barley-fermented broth	2.5	23.7
<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i> -liquor	99.0	80.6

¹⁾Baekyacho was prepared by using one hundred plants as Materials and Methods

2. 심혈관질환 예방 생리기능성

4종류의 천연식물 발효액과 침출주의 심혈관질환 예방관련 생리기능성으로 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해활성과 혈전용해활성을 측정한 결과 ACE 저해활성은 감식초가 11.3%로 시료중에서는 제일 높았으나 여타의 발효액에서는 대체로 4%이하의 낮은 활성을 보였다(Table 2).

혈전용해활성은 감식초에서 비교적 높은 5.0mm(항균 투명환)을 보였으나 여타의 발효액에서는 활성이 없었다. 혈전은 인체에 상처가 났을 때 혈액을 응고시켜 출혈을 방지하고 상처를 복구하지만 상처 발생 시 생긴 fibrin이 분해되지 않고 뇌혈관 등에 축적되어 혈액 순환이 차단되므로 뇌혈관 질환을 일으킨다. 따라서 이러한 혈전에 의한 뇌혈관 질환을 치료 또는 예방의 일환으로 부작용이 없으면서 효력이 우수한 새로운 항 혈전제제(혈전용해제제)의 개발이 시급한 시점에서 비록 활성은 높지 않지만 감식초에서 이러한 혈전용해활성이 확인된 것은 앞으로 새로운 항 혈전 신제품 개발에 귀중한 자료로 활용될 수 있음을 제시하였다.

Table 2. Cardiovascular functionalities of natural plant fermentation broths and liquor

Natural products	ACE inhibitory activity (%)	Fibrinolytic activity (clear zone : mm)
Persimmon vinegar	11.4	5.0
Baekyacho ¹⁾	4.0	n.d
Barley-fermented broth	4.3	n.d
<i>Ulmus davidiana var. japonica</i> -liquor	n.d	n.d

¹⁾Baekyacho was prepared by using one hundred plants as Materials and Methods

3. 항치매성 acetylcholinesterase 저해활성

천연식물 발효액과 침출주의 항치매성 acetylcholinesterase 저해활성을 측정한 결과 표 3과 같이 느릅나무 침출주에서 54.7%의 높은 활성을 보였으나 여타의 발효액에서는 10% 미만의 낮은 활성을 보였다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 느릅나무 뿌리 침출주가 항산화 활성과 항 치매 활성이 비교적 우수하고 감식초도 항산화활성과 항고혈압활성 등이 우수하여 기능성 음료로 산업화가 가능할 것으로 사료된다.

Table 3. Acetylcholinesterase inhibitory activity of natural plant fermentation broths and liquor

Natural products	Acetylcholinesterase inhibitory activity (%)
Persimmon vinegar	9.8
Baekyacho ¹⁾	1.6
Barley-fermented broth	0.7
<i>Ulmus davidiana var. japonica</i> -liquor	54.7

¹⁾Baekyacho was prepared by using one hundred plants as Materials and Methods

사 사

본 실험을 위해 느릅나무 뿌리를 제공해 준 한창봉씨에게 감사함을 전합니다.

IV. 참고문헌

- Blois, M. S., 1958, Antioxidant determination by the use of stable free radical, *Nature.*, 191, 1199-1200.
- Choi, W. H., Oh, Y. S., Ahn, J. Y., Kim, S. R. and Ha, T. Y., 2005, Antioxidative and Protective Effects of *Ulmus davidiana var. japonica* Extracts on Glutamate-Induced Cytotoxicity in PC 12 Cells, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 37, 479-483.
- Cushman, D. W. and Cheung, H. S., 1971, Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung, *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1637-1648.
- Ellman, G. L., Andres, V., Courthey, K. D. and Featherstone, R. M., 1961., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. Pharmacol.*, 7, 68-75.

- Haverkate, F. and Traas, D. W., 1974, Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of protease, *Thromb Haemost.*, 59, 155-157.
- Kim, J. H., Lee, S. H., Kim, N. M., Choi, S. Y., Yoo, J. Y. and Lee, J. S., 2000, Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquors by using dandelion (*Taraxacum platycarpum*), *Korean J. Biotech. Bioeng.*, 28, 367-371.
- Kim, M. H., Kim, M. C., Park, J. S., Park, E. J and Lee, J. O., 1999, Determination of antioxidants contents in various plants used as tea materials, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31, 273-279.
- Kim, N. M., Lee, J. W., Do, J. H., Park, C. K. and Yang, J. W., 2005, Effects of the fermentation periods on the qualities and functionality of the vegetable fermentation broths, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, 13, 293-299.
- Kim, S. M., Cho, Y. S. and Sung, S. K., 2001, The antioxidant ability and nitrate scavenging ability of plant extracts., *Korean J. Food Sci. Technol.*, 33, 26-32.
- Kim, S. Y., Jeong, H. J. and Lee, K. H., 1997, Physico-chemical properties and biological functionalities of commercially available persimmon vinegars, *J. Agri. Sci. Chungnam Natl univ. Korea.*, 24, 242-256.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Kim, N. M., Choi, J. S. and Lee, J. S., 2002, Manufacture and physiological functionality of wines and liquors by using *Paecilomyces japonica*, *Korean J. Mycol.*, 30, 142-146.
- Lee, E. N., Lee, D. H., Kim, S. B., Lee, S. W., Kim, N. M. and Lee, J. S., 2007, Effects of medicinal plants on the quality and physiological functionalities of traditional ginseng wine, *J. Ginseng Res.*, 31, 102-108
- Marklund, S. and Marklund, G., 1974, Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474.
- Seo, S. B., Jan, S. M., Kim, J. H., Kim, N. M. and Lee, J. S., 2000, Manufacture and physiological functionality of wines and liquors by using plum(*Prunns salicina*), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 16, 153-157.