

연구노트

왕겨초액의 산화억제 활성 비교

남동윤¹·이시림¹·박철홍^{1,2}·박규식^{1,2}·남상현¹·허진철³·이상한^{3,†}
경북대학교 식품공학과, ¹경북대학교 생물산업기계공학과
²(주)진성산업기계, ³경북대학교 식품생물산업연구소

Comparison of Anti-Oxidant Activities of Chaff Vinegar Liquor

Dong-Yoon Nam, Si-Rim Lee, Chul-Hong Park, Kyu-Sik Park^{1,2}, Sang-Heon Nam¹,
Jin-Chul Heo³, and Sang-Han Lee^{3,†}

Departments of Food Science & Biotechnology, and ¹Bio-Industrial Machinery Engineering,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Jin Sung Industry Machine Co., Ltd, Daegu 704-801, Korea

³Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

This study was carried out to compare anti-oxidant activities of chaff vinegar liquors. We examined the effects of several kinds of chaff vinegar liquor (CA; CA1, chaff vinegar liquor; CA2, wood vinegar liquor; CA3, chaff vinegar liquor with red ginseng; and CA4, chaff vinegar liquor with rosemary) by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing activity of plasma (FRAP) assay, and Cu²⁺ reduction. The results showed that CA have potential in reducing DPPH, FRAP and Cu²⁺ activity. CA was increased its anti-oxidant activity by the fermentation of rosemary extract. The present results suggest that the chaff vinegar liquor could be used for anti-oxidant agents and/or be developed for anti-oxidative potentiation of prototypes.

Key words : chaff vinegar, DPPH, FRAP, anti-oxidant

서 론

산화물(oxidant)은 NOx와 SOx 계열의 화합물을 지칭하는 것으로, 이는 산업화와 더불어 그 발생량이 급격히 증가하고 있다. 이는 인간에 있어서 각종 질병을 유발하는 원인이 되는데, 가장 대표적인 질환으로 자가면역질환(auto-immune disease)인 천식(asthma), 아토피(atopy), 비염(rhinitis) 등이 있다(1,2). 이들 산화물이 신체 내에서 면역계통(immune system)에 과도한 이상반응을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 반면, 이에 대응하는 생체항상성(homeostasis) 물질로 체내 SOD (superoxide dismutase)는 체내에서 생성되는 산화물을 감소시키는 역할을 하고 있다(3,4). 산화물의 형성과 이의 상쇄(scavenging)가 균형을 이루지 못하고

산화물이 증가하게 되면, 여러 질환에 노출되게 되는데 이를 보완하는 개념으로 항산화제의 섭취가 권장되기도 하는데, 가장 널리 이용되고 있는 항산화제가 비타민C나 E를 열거할 수 있으며, 최근에는 건강보조식품으로 만든 여러 가지 제품들이 시판되고 있는 실정이다.

왕겨(chaff)는 대표적인 식량작물인 수도작의 부산물로써, 벼의 도정 과정에서 발생한다. 예전에는 왕겨를 주로 퇴비와 난방용으로 사용하였지만, 최근에는 이를 이용한 활용의 범위가 확대되고 있다(5,6). 왕겨초액(chaff vinegar liquor)은 목초액(wood vinegar liquor)에 기초하여 만드는 것으로, 나무를 쏘아 만들 때 발생하는 연기가 외부 공기와 접촉하면서 액화되어 응축되는 것을 채취한 것을 목초액이라 하는데, 여기에 사용되는 재료로서 왕겨를 이용하여 얻으면 이를 왕겨초액이라고 한다. 목초액은 오래 전부터 항균, 살균(sterilization), 보존성 향상(storage improvement) 등에 주로 활용이 되어 왔으며, 이에 대한 과학적 검증작업

[†]Corresponding author. E-mail : sang@knu.ac.kr,
Phone : 82-53-950-7754, Fax : 82-53-950-6772

또한 활발히 진행이 되고 있다(7-9). 왕겨초액 또한 항균, 항산화 활성 등이 최근에 알려지고 있는데, 왕겨의 성분으로는 전체 중량의 70% 이상이 불용성 식이섬유(insoluble dietary fiber)이므로 불용성 식이섬유의 좋은 공급원이 될 수 있을 뿐만 아니라, 왕겨의 isovitexin이 강력한 항산화 능력을 보이고, 또한 왕겨의 anisole, vanillin, syringaldehyde 등의 다양한 항산화 물질이 존재한다고 보고되어 있다(10, 11). 반면, 왕겨를 이용해서 얻은 왕겨초액의 생리활성적인 측면이나 영양학적 측면의 가치는 자세히 연구된 바가 없기에, 본 연구에서의 먼저 왕겨초액을 이용한 항산화 활성을 비교하여 보았다.

재료 및 방법

왕겨초액 제조

왕겨초액(chaff vinegar liquor)은 수도작 부산물인 왕겨를 김천RPC로부터 구입하여 원료로 사용하였고 약 500도에서 20시간 탄화처리시키면서 배출 처리과정 중 연기를 포집, 수냉 분무 방식으로 냉각 응축하여 조왕겨초액을 제조하였다(5). 제조된 조왕겨초액은 여러 종류의 정제과정과 숙성과정을 거쳤는데 왕겨초액(CV1), 목초액(CV2), 홍삼 농축액+왕겨초액(CV3) 숙성액, 로즈마리 농축액+왕겨초액(CV4) 숙성액으로 구분하여 실험에 사용하였다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl assay

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay는 radical 소거활성능 측정방법으로 매우 간단하면서도 강력한 측정 방법이다. 4종의 왕겨초액 및 숙성액 시료에 0.2 mM 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl을 왕겨초액 추출물 4종과 DPPH solution을 1/20의 비율로 해서 실온서 10분간 incubation한 후 517 nm (Victor3, PerkinElmer)에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성 비율(% inhibition)은 아래와 같이 계산하였다(12).

$$\text{Inhibition}(\%) = \left[A_{\text{control}} - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

(A : Absorbance O.D. 517 nm)

Ferric ion reducing antioxidant power assay

FRAP (Ferric ion reducing antioxidant power) assay를 이용하여 radical을 어느 정도 환원시킬 수 있는지의 능력을 알아보았다. 실험을 위한 반응액으로는 acetate buffer (pH 3.6, 300 mM) : 10 mM의 TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) : 20 mM의 FeCl₃·6H₂O를 10 : 1 : 1의 비율로 섞어 실험직전에 만들어 사용을 하였다. 반응액과 왕겨초액 및 숙성액을 각각의 비율로 혼합 한 후 10분간 상온에서 보관 후 590

nm에서 흡광도를 측정하였다(13).

Cu²⁺를 이용한 항산화 assay

Cu⁺는 neocuproine과 복합체를 이루는데 이를 흡광도 450 nm에서 측정을 할 수 있다. 본 실험은 Cu²⁺이온이 시료에 의해서 Cu⁺으로 변환되는 성질을 이용한 항산화 활성이다. 실험 방법은 96 well plate에 CuCl₂ 10 mM 2 μL, neocuproine 75 mM 2 μL, DW 194 μL를 넣은 후 시료를 2 μL를 넣어 37°C에서 30분 간 반응시킨 후 흡광도를 450 nm에서 측정하였다(14).

결과 및 고찰

현재 국내에서 이용이 되고 있는 목초액의 경우, 성분에 대한 신뢰도가 부족한 것이 현실인데, 이는 가장 고품질의 참나무 목초액이 사용량에 비해 수급이 원만하지 못하기 때문으로 추정된다. 이에 반해 왕겨는 퇴비 및 발열제로 사용되는 등, 활용 범위가 넓지는 않다. 본 연구는 목초액의 제조과정과 유사하게 얻어진 왕겨초액을 이용하여 이의 기능성 여부를 확인하기 위하여 DPPH와 FRAP를 이용한 항산화 활성 실험을 실시하였다. 항산화 활성은 목초액에서 또한 많은 연구가 되어 왔으며, 그 효능이 입증되어 있지만(15,16), 왕겨초액은 최근 이용 빈도가 목초액 만큼 증가하고 있으나, 이에 대한 체계적인 연구가 충분하지 않으므로 이에 대한 충분한 연구가 필요한 시점이다.

Park 등(5)이 개발한 왕겨초액 제조 장치를 사용하여 왕겨초액을 제조하였으며 이를 이용하여 DPPH 항산화 활성을 알아본 결과, CV1, 2, 4의 3종에서 농도에 따른 활성의 증가를 확인할 수 있었다. CV3의 경우 고농도로 올라갈 경우, 활성이 정체되는 현상을 나타내었다. 시료별 활성의 정도는 CA2가 가장 좋은 활성을 나타내었으며, CA1과 CA4가 비슷한 활성을 보였다. CA3은 고농도에서 활성이 감소하는 것으로 나타나는데, 이는 아마도 시료 자체가 보유한 색깔로 인한 것으로 판단되어진다. FRAP 활성의 경우, 농도에 따라 활성이 증가하는 패턴을 보이는 것을 볼 때, 아마도 시료 특유의 색깔이 실험 데이터에 영향을 준 것으로 판단된다(Fig. 1).

목초액의 경우 DPPH 활성에서 원액을 20 μL/mL에서 약 95%의 항산화 활성을 가지는데(16), 왕겨초액의 경우 50 μL/mL에서 약 80%의 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 본 실험에서 또한 목초액과 왕겨초액의 DPPH 활성을 비교해 본 결과, 목초액에서 다소 우수한 항산화 활성을 가지는 것을 알 수 있었다. 왕겨초액과 홍삼 농축액 및 로즈마리 농축액의 숙성액의 경우 홍삼 농축액을 첨가한 결과는 반대로 나타났는데, 홍삼농축액은 기존의 왕겨초액 보다 활성이 감소하는 것을 알 수 있었으며, 로즈마리와 숙성한

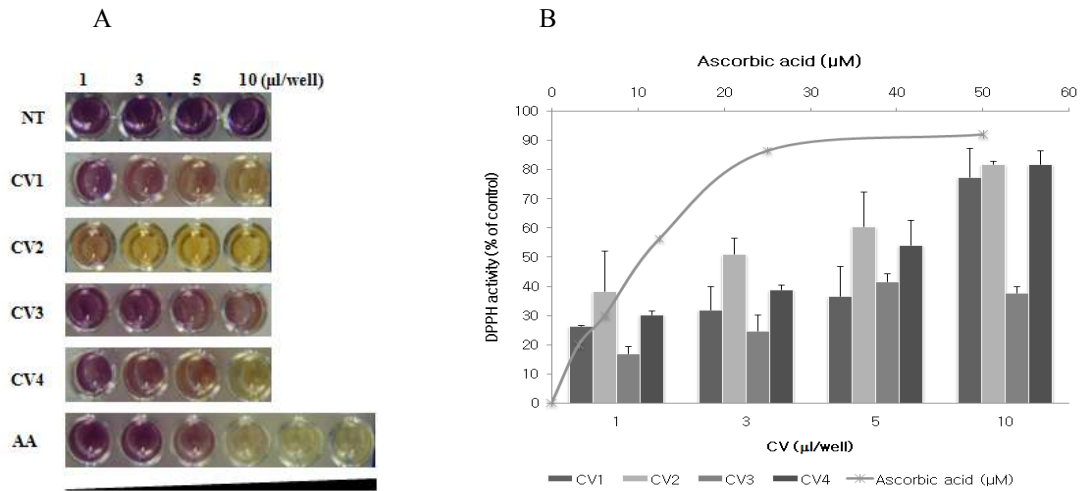


Fig. 1. The free radical scavenging activity of chaff vinegar (CA; CA1, chaff vinegar; CA2, wood vinegar; CA3, red ginseng + chaff vinegar; CA4, rosemary + chaff vinegar) against DPPH radical.

CA with a DPPH solution (A) and measurement of DPPH activity (B). Error bars represent standard deviation (n=3).

왕겨초액은 활성이 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 숙성 기간 중 홍삼과 로즈마리의 성분에 따른 것으로 보이는데 이는 첨가 후에 동시발효 또는 혼입에 의한 물질의 결합 또는 축중합이 항산화 활성에 영향을 줄 수 있음을 나타낸 것으로 효능 증가연구에 도움을 주리라 판단된다. FRAP 항산화 활성을 알아본 결과, CV1, 2, 3, 4 모두에서 시료의 농도에 따른 항산화 활성이 증가되는 양상을 나타내는 것을 알 수 있었다. 시료별 항산화 활성은 CV2에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, CV1, 3, 4는 큰 차이를 보이지 않았다 (Fig. 2). FRAP 활성 또한 왕겨초액에 비해 목초액의 항산화 활성이 우수한 것으로 나타났다. 반면 홍삼과 로즈마리를

첨가해 발효한 샘플은 왕겨초액 만을 사용한 시료에 비해 감소하거나 비슷한 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. Cu²⁺의 억제활성은 DPPH, FRAP 활성 결과와 마찬가지로 농도에 따른 항산화 활성을 확인 할 수 있었으며, 다만 로즈마리를 첨가해 발효한 시료(CV4)에서의 항산화 활성이 첨가하지 않은 군(CV1)에 비해 크게 증가하는 양상은 나타나지 않았다(Fig. 3).

목초액은 예로부터 항균, 살균, 보존성 향상 및 가공식품의 향취 개선에 사용되어져 왔다(15,16). 이와 함께 왕겨초액 또한 목초액 보다는 다소 항산화 활성이 떨어지지만 우수한 항산화 활성을 확인할 수 있었다. 또한 여러 추출물

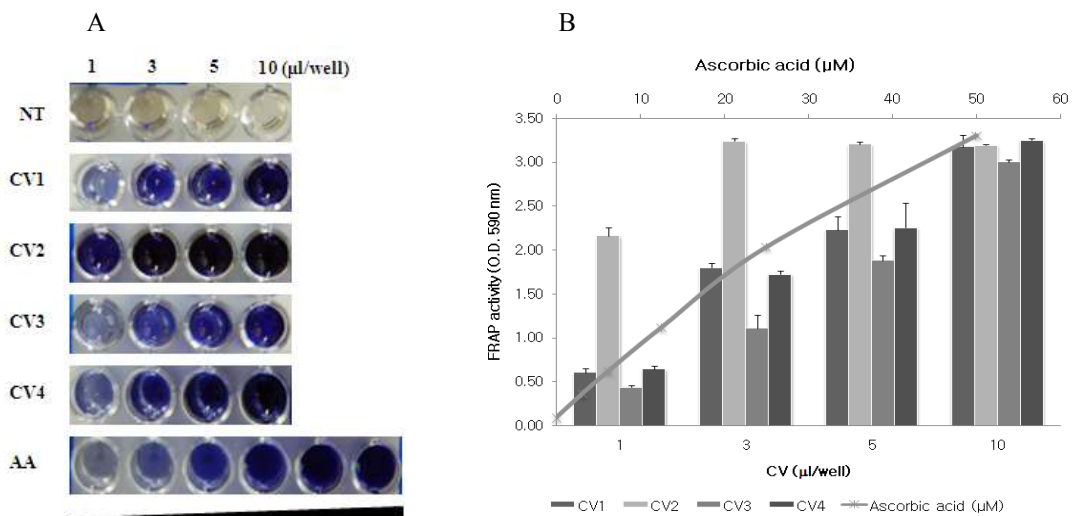


Fig. 2. Antioxidant activities of chaff vinegar (CA; CA1, chaff vinegar; CA2, wood vinegar; CA3, red ginseng + chaff vinegar; CA4, rosemary + chaff vinegar) by FRAP assay.

CA with a FRAP solution (A) and measurement of FRAP activity (B). Error bars represent standard deviation (n=3).

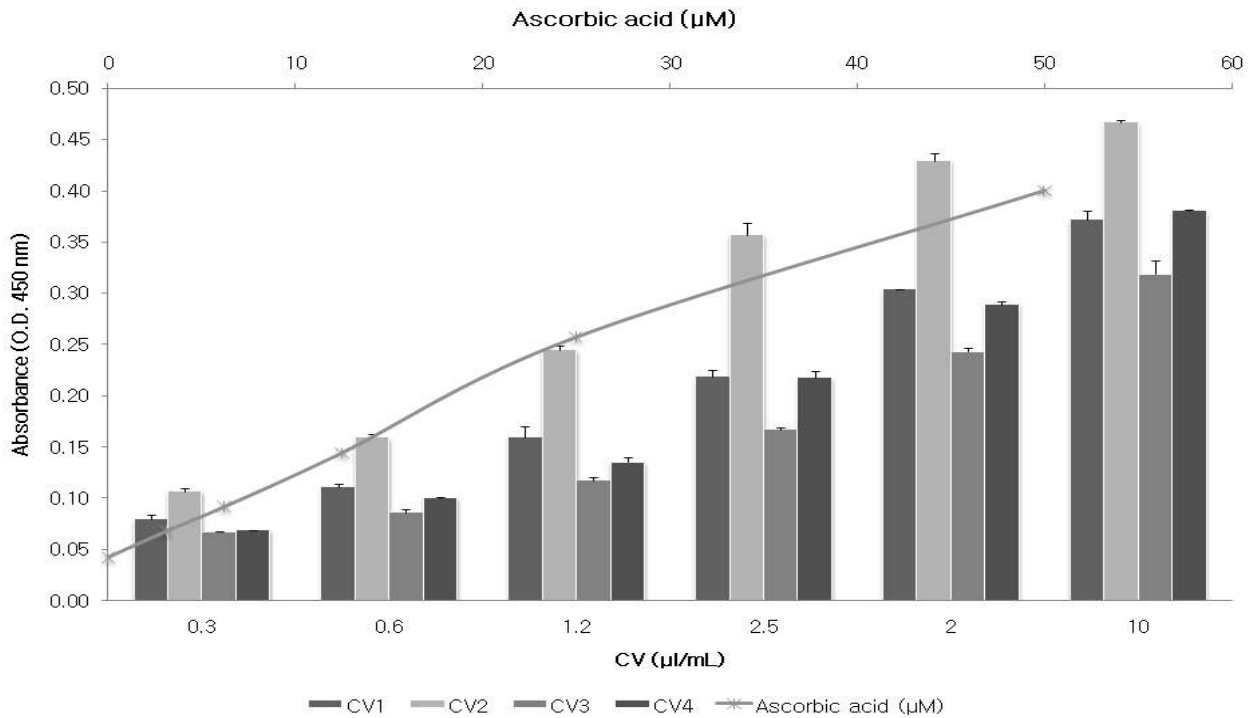


Fig. 3. Reduction of Cu²⁺ by chaff vinegar (CA; CA1, chaff vinegar; CA2, wood vinegar; CA3, red ginseng + chaff vinegar; CA4, rosemary + chaff vinegar).

과의 혼합발효를 통해 활성의 증가를 확인할 수 있었다. 이에 본 연구는 왕겨초액의 항산화 활성을 확인하였으며, 이의 활성증가를 위한 왕겨초액의 다양한 발효방법으로 인하여 본래 목초액이나 왕겨초액의 결점인 이취의 제거 가능성을 홍삼이나 로즈마리 첨가로 인하여 억제 또는 저감할 수 있다면 이는 상당한 장점으로 부각되리라 판단된다. 또한 목초액에 비하여 생산단가가 저렴하다는 장점이 있으며 이의 부산물 자원이 매우 풍부하다. 왕겨초액은 이러한 점에서는 향후 식품용 기능성 소재, 향장소재, 의약부외품의 소재로써 가능성이 풍부하다고 판단된다.

요 약

왕겨초액은 최근 목초액을 대신할 수 있는 소재로 많은 연구가 이루어지고 있다. 본 연구는 왕겨초액과 목초액의 항산화 활성을 비교하고, 왕겨초액과 홍삼 및 로즈마리 농축액과의 발효를 통한 시료의 항산화 활성을 비교하여 보았다. DPPH와 FRAP 활성 실험을 통해 항산화 활성을 알아본 결과, 왕겨초액의 항산화 활성은 목초액 보다는 다소 미흡하나, 로즈마리와 동시 발효를 통해 왕겨초액의 항산화 활성을 높일 수 있으므로, 이취 제거로 인한 기능성 소재로서의 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구결과는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 연구비 지원(친환경 기능성 물질의 성분 및 효용성 분석; 108118-03-1-WT011)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Heo, J.C., Woo, S.U., Kweon, M.A., Park, J.Y., Lee, H.K., Son, M., Rho, J.R., Lee, S.H. (2008) Aqueous extract of the *Helianthus annuus* seed alleviates asthmatic symptoms in vivo. *Int. J. Mol. Med.*, 21, 57-61
2. Frischer, T., Studnicka, M., Halmerbauer, G., Horak, F. Jr, Gartner, C., Tauber, E., Koller, D.Y. (2001) Ambient ozone exposure is associated with eosinophil activation in healthy children. *Clin. Exp. Allergy*, 31, 1213-1219
3. Favier, A. (2006) Oxidative stress in human diseases. *Ann. Pharm. Fr.*, 64, 390-396
4. Srinivasan, V. (2002) Melatonin oxidative stress and neurodegenerative diseases. *Indian J. Exp. Biol.*, 40, 668-679
5. Park, K.S., Lee, K.M., Myung, b.S., Choi, J.S., Kim,

- T.U. (2003) Development of chaff-vinegar distiller. *J. Korean Soc. Agric. Machinery*, 28, 389-394
6. Lim, H.K., Kim, Y.H., Cho, K.Y., Yu, J.H. (2004) Effect of oxidizing agents on the burning characteristics of smoke rod of pesticides using rice chaff as a combustible carrier. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 47, 332-338
 7. Kim, S.K., Kim, K.S., Lee, Y.H., Kim, Y.H. (2001) Composition of constituents of commercial wood vinegar liquor in Korea. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 44, 262-268
 8. Kim, J.S., Park, S.W., Ham, Y.S., Jung, S.K., Lee, S.H., Chung, S.K. (2005) Antimicrobial activities and phenolic compounds of pyroligneous liquor. *Korean J. Food Preserv.*, 12, 470-475
 9. Cho, W.K., Choi, J.H. (2007) Effect of pyroligneous liquor on lipid metabolism in serum of CD rats. *Korean J. Nutr.*, 40, 24-30
 10. Park, S.J., Kim, M.H., Shin, H.M. (2005) Chemical compositions and thermal characteristics of rice husk and rice husk ash in Korea. *J. Biosystems Eng.*, 30, 235-241
 11. Chung, Y.M., Lee, J.C., Kim, K.S., Eun, J.B. (1998) Chemical compositions in rice hulls of 26 varieties. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 376-380
 12. Ryu, H.Y., Heo, J.C., Hwang, J.S., Kang, S.W., Yun, C.Y., Lee, S.H., Sohn, H.Y. (2008) Screening of thrombin inhibitor and its DPPH radical scavenging activity from wild insects. *J. Life Sci.*, 18, 363-368
 13. Heo, J.C., Nam, S.H., Kang, S.W., Hong, I.P., Lee, K.K., Park, J.Y., Kim, K.T., Han, S.Y., Lee, S.H. (2007) Comparison of antioxidant, anticancer and immunomodulating activities of extracts from DongChongXiaCao. *Korean J. Food Preserv.*, 14, 681-687
 14. Schnitzer, E., Pinchuk, I., Bor, A., Fainaru, M., Lichtenberg, D. (1997) The effect of albumin on copper-induced LDL oxidation. *Biochim. Biophys. Acta.* 1344, 300-311
 15. Jeong, C.H., Shim, K.H. (2002) Nitrite-scavenging and antioxidant activities of wood vinegar. *Korean J. Food Preserv.*, 9, 351-355
 16. Jung, I.S., Kim, Y.J., Gal, S.W., Choi, Y.J. (2007) Antimicrobial and antioxidant activities and inhibition of nitric oxide synthesis of oak wood vinegar. *J. Life Sci.*, 17, 105-109

(접수 2010년 2월 10일, 수정 2010년 6월 1일, 채택 2010년 6월 11일)