

## 자연발효 함초액의 이화학적 특성 및 생리활성

박선영<sup>1</sup> · 조정용<sup>1</sup> · 정동옥<sup>2</sup> · 함경식<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>목포대학교 식품공학과 및 천일염생명과학연구소

<sup>2</sup>초당대학교 조리과학부

### Physicochemical Characteristics and Physiological Activities of Naturally Fermented Glasswort (*Salicornia herbacea* L.) Juice

Sun-Young Park<sup>1</sup>, Jeong-Yong Cho<sup>1</sup>, Dong-Ok Chung<sup>2</sup>, and Kyung-Sik Ham<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Engineering and Solar Salt Biotechnology Research Center,  
Mokpo National University, Jeonnam 534-729, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Culinary Art, Chodang University, Jeonnam 534-701, Kroea

#### Abstract

We investigated the physicochemical properties and physiological activities of glasswort juice fermented naturally for different periods of time. Glasswort juice fermented for six years (LFGJ) showed higher crude fiber and lower NaCl content than glasswort juice fermented for two years (SFGJ). Fermented glasswort juice contained K, Mg, and Ca as the main minerals, and the mineral content in both SFGJ and LFGJ were similar. The main free amino acids of fermented glasswort juice were determined to be alanine, proline, aspartic acid, and lysine. The leucine and aspartic acid content in LFGJ was higher than that in SFGJ. SFGJ had higher 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS<sup>+</sup>) radical-scavenging activities than LFGJ. Fermented glasswort juice showed high ACE inhibition and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities regardless of how long it was fermented. An oral glucose tolerance test was carried out in rats fed diets containing 4% NaCl (control) or 4% NaCl+2% LFGJ (LFGJ). The LFGJ group showed enhanced glucose tolerance compared to the control group.

**Key words:** naturally fermented glasswort juice, total phenolic compound, radical-scavenging activity, ACE inhibition activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity

#### 서 론

함초(*Salicornia herbacea* L.)는 염스트레스에 내성을 갖는 염생식물로, 우리나라의 서해안과 남해안 바닷가에 자생하며 통통마디로도 불리어진다. 특히 이 식물은 일반 육상식물들과 달리 NaCl 함량이 높고 Ca, Mg, 그리고 K 등의 무기질도 다량 함유하고 있다고 알려져 있다(1). 예로부터 함초는 몸 안에 쌓인 독소와 숙변을 없애고, 암, 고혈압, 당뇨병, 피부병, 관절염 등을 치료하기 위해 민간요법으로 사용되어 왔다(2-4). 최근 함초의 생리활성으로는 항고혈압 및 항당뇨(4-6), 항산화(7-10), 항암(11,12), 그리고 면역조절 기능 향상(13,14) 등이 보고되고 있다. 또한 함초에 존재하는 생리활성 물질로는 sterol류(15), polysaccharide류(16), flavonoid 배당체 화합물들(16,17), 그리고 chlorogenic acid 유도체들(18) 등이 동정되었다. 최근 isoquercitrin 6''-O-methylxalate와 methyl 4-caffeoyl-3-dihydrocaffeoyl quinate 등의 신규물질 및 다수의 dicaffeoylquinic acid들이 1,1-di-

phenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical-scavenging 활성 뿐만 아니라 cholesteryl ester hydroperoxide 생성 저해 활성을 갖는 항산화 활성 물질로 구명되어진 바 있다(19). 또한 함초에 함유된 betaine과 choline은 간의 해독작용과 지방간 축적을 막고, 혈중 독성 농도를 줄여주며 신경전달물질인 아세틸콜린의 전구체로서 매우 중요한 작용을 한다고 알려져 있다(20,21).

이처럼 함초의 건강기능성에 대한 인식이 확산되면서 그에 대한 관심 또한 고조되고 있다. 함초는 보통 생식하거나 나물 등의 형태로 먹어 왔으나 최근 환, 소금, 발효액, 된장, 간장 등의 다양한 응용제품들이 개발되어 판매되고 있다. 이 중 발효액은 함초를 당과 혼합하여 1년 이상 자연 발효시켜 제조되어 시중에 판매되고 있다. 최근 단일균주를 이용하여 속성 함초발효액 제조에 대한 연구가 이루어진 바 있는데, *Bacillus subtilis* 균주를 이용하여 속성 발효시킨 함초발효액(22)은 angiotensin converting enzyme의 저해 활성이 높고, *Lactobacillus acidophilus*를 이용하여 속성 발효시킨

\*Corresponding author. E-mail: ksham@mokpo.ac.kr  
Phone: 82-61-450-2425, Fax: 82-61-454-1521

함초발효액은 발효과정 중 항산화 활성과 혈전용해 활성(fibrinolytic activity)이 증가된다고 보고한 바 있다(2). 최근 저자들은 함초를 당침한 후 6년간 자연 발효시킨 함초발효액이 높은 DPPH radical-scavenging 활성을 발휘하고 있음을 밝혔으며, 그 용매분획물들 중 높은 활성을 나타낸 chloroform 층으로부터 cirsiumaldehyde와 chrysoeriol 등의 2종의 항산화 활성 물질을 구명한 바 있다(23). 이와 같이 함초발효액은 식품학적 측면에 있어 응용 가치가 충분하다고 생각되나 자연 발효시킨 함초발효액의 품질 특성 및 생리활성에 관한 연구는 이루어진 바가 없으며, 시판되고 있는 자연 발효시킨 함초발효액에 대해서도 장기간 발효의 필요성에 대한 연구도 이루어진 적이 없다.

본 연구에서는 자연 발효된 함초발효액의 생리활성과 장기간 발효의 필요성을 조사하고자, 함초를 상온에서 1년간 자연 발효시킨 다음 여과하여 얻어진 여액을 상온에서 1년(최종발효 2년) 혹은 5년(최종발효 6년) 동안 발효시켜 만든 함초발효액들에 대한 이화학적 특성 및 생리활성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 함초발효액은 우리원식품(전남 보성군 별교읍)으로부터 구입하였다. 이 제품은 2002년과 2006년의 10월에 보성군 별교읍 갯벌지역에 자생하는 함초를 각각 채취하여 물로 세척한 다음, 함초, 올리고당, 그리고 설탕을 7:1.5:1.5(w/w)로 혼합하여 상온에서 1년 동안 발효시킨 다음 여과하여 얻어진 여액을 상온에서 1년(최종발효 2년) 또는 5년(최종발효 6년) 자연 발효시킨 것을 사용하였다.

### 일반성분 및 식염 함량 분석

함초발효액의 총당은 Phenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법(24), 조지방, 조단백질, 그리고 조섬유 함량은 식품공전(25)에 제시된 방법에 의해 분석하였다. NaCl 함량은 Mohr법(26)에 의해 측정하였다. 즉 시료 1 g을 취하여 100 mL로 정용한 다음 시료 용액 10 mL에 10% K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 시약 2~3 방울을 가하고 0.1 N AgNO<sub>3</sub> 용액으로 적정하여 NaCl 함량을 측정하였다. 수분 함량은 총당, 조지방, 조단백질, 식이섬유, 그리고 NaCl 함량을 뺀 값을 나타냈으며, 모든 실험은 3회 반복하여 수행하였다.

### 무기질 분석

함초발효액의 무기질 함량은 식품공전(25)에 제시된 시험법에 의해 측정하였다. 즉, Ca, K, Mg, Fe, Zn 그리고 Cu 등의 무기질 함량은 건식분해법에 의해 분해한 다음, 이 시험용액을 원자흡수분광광도계(Varian SpectrAA-800, Walnut Creek, CA, USA)에 의해 정량하였다. P의 경우 위와 동일한 방법으로 전처리한 시험용액에 모리브덴산암모늄용액, 하이드로퀴논용액, 그리고 아황산나트륨용액을 가하여 반응시킨 다음, 이 반응 용액을 분광광도계(Agilent 8453, Agi-

lent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 650 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 유리아미노산의 분석

함초발효액의 유리아미노산은 high speed amino acid analyzer(L-8800, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다. 즉 함초발효액 1.0 mL에 증류수 29 mL를 가하여 희석한 다음, 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 얻어진 여액을 high speed amino acid analyzer(L-8800, Hitachi)를 이용하여 측정하였다. 칼럼은 ion exchange column(#2622 SC, 4.6×60 mm, Hitachi)이었으며 칼럼 온도는 30~70°C로 하였다. 이동상 용매는 lithium citrate buffer를 이용하였고, 유속은 0.35 mL/min이었다. 이때 사용한 유도체 반응 용액으로는 ninhydrin reagent를 사용하였으며, 유속은 0.3 mL/min로, 반응온도는 135°C로, 그리고 검출 흡광도는 570 nm와 440 nm로 행하였다.

### 총페놀성 화합물 함량 분석

함초발효액의 총페놀성 화합물 함량은 Folin Ciocalteu의 방법(27)으로 측정하였다. 농도를 달리한 시료용액 1.0 mL에 2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.5 mL와 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2.5 mL를 가하여 25°C에서 20분간 반응시켰다. 이 반응용액을 UV/VIS spectrophotometer(HP-8452A, Hewlett Packard, Cheshire, UK)를 이용하여 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도 값은 작성된 caffeic acid의 표준곡선으로부터 총페놀성 화합물 함량(CAE mg/100 mL)으로 환산하였다.

### 항산화 활성

함초발효액의 DPPH radical-scavenging 활성 측정은 함초발효액을 대상으로, 농도를 달리한 시료용액 100 µL에 100 µM DPPH(Sigma-Aldrich Co.) ethanol 용액 900 µL를 가하여 가볍게 혼합한 다음, 암소에서 20분간 반응시켰다. 이 반응액의 흡광도는 517 nm에서 측정하였다. 또한 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS<sup>+</sup>) radical-scavenging 활성 측정은 1.0 mM의 2,3-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride(AAPH, Sigma-Aldrich Co.)를 150 mM NaCl이 용해된 100 mM phosphate-buffered saline 용액(pH 7.4)에 녹인 다음 2.5 mM의 ABTS(Bio Basic Inc., Markham, Ontario, Canada)를 가하여 70°C에서 30분간 반응시켜 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 용액을 만들었으며, 이때 반응용액의 흡광도가 734 nm에서 0.7±0.02가 되도록 조정하여 실험에 사용하였다. 제조된 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 용액 980 µL에 농도를 달리한 시료 용액 20 µL를 각각 혼합하여 37°C에서 10분 동안 반응시킨 다음 이 반응용액의 흡광도를 734 nm에서 측정하였다. 대조군은 시료를 용해한 용매를 첨가하여 반응시켰다. 함초발효액의 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성은 radical이 50% scavenging 되는 농도를 SC<sub>50</sub>

(50% scavenging concentration)으로 나타났다.

**Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해 활성**

함초발효액의 ACE 저해활성은 농도를 달리한 시료용액 50 μL에 300 mM NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL와 5 mM hyppuryl-histidyl-leucine (Sigma-Aldrich Co.) 용액 50 μL를 혼합한 다음, 여기에 ACE 조효소액(lung acetone powder from rabbit(Sigma-Aldrich Co.)) 100 μL를 가하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 이 반응용액에 1 N HCl용액 200 μL와 ethyl acetate(EtOAc) 2 mL을 넣고 분배한 다음 이를 2,000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 EtOAc층 1.5 mL를 취하였다. 얻어진 EtOAc층을 감압 농축한 다음 1 M NaCl 1 mL로 용해하여 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함초발효액 및 그 용매분획물들의 ACE 저해 활성은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$ACE \text{ 저해 활성}(\%) = [(1 - (A - B)/C)] \times 100$$

A: 시료를 첨가한 실험구의 흡광도

B: 시료를 첨가하고 1 M HCl로 반응을 초기에 정지시킨 흡광도

C: 시료 대신 증류수만을 첨가한 대조구의 흡광도

**α-Glucosidase 저해 활성**

함초발효액의 α-glucosidase 저해 활성은 *Saccharomyces cerevisiae* 유래 α-glucosidase(Sigma Chemical Co.)를 이용하여 측정하였다. 즉 시료용액 50 μL에 bovine serum albumin(2 g/L)과 NaN<sub>3</sub>(0.2 g/L)가 함유된 100 mM phosphate buffer(pH 7.0) 340 μL와 효소 용액(최종농도 0.7 U, 10 μL)을 혼합하였다. 이 혼합 용액에 5 mM p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside(Sigma Chemical Co.) 100 μL를 가하여 37°C의 incubator에서 5분간 반응시킨 다음 이 반응용액의 흡광도를 405 nm에서 측정하였다. α-Glucosidase 저해 활성은 시료를 넣지 않고 반응시킨 흡광도에 대한 감소율을 퍼센트로 나타냈다.

**동물실험**

실험동물은 Sprague Dawley(SD) rat 수컷(9주령) 20마리를 다물사이언스(대전, 한국)로부터 구입하여 케이지당 2마리씩 넣어 사육하였으며, 사육환경은 온도 21~24°C, 습도 50~60%가 되도록 유지하였고, 명암은 12시간(day light 06:00~18:00)을 주기로 하여 2주일간 환경에 순화시킨 후 실험을 수행하였다. 난피법을 이용하여 대조군과 시료처리군으로 구분하여, 대조군은 일반식이인 AIN-93G에 인슐린 저항성 유발을 목적으로 4%의 NaCl이 첨가된 식이를 공급(28)했으며, 시료처리군은 4%(w/w)의 NaCl과 2%(v/w)의 6년 발효된 함초발효액(LFGJ)을 함유한 식이를 Table 1과 같이 제조하여 4주 동안 물과 함께 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 체중은 주 1회, 물과 식이 섭취량은 매일 측정하였으며, 식이효율(food efficiency ratio)은 1일 체중증가량에 대한 1일 식이 섭취량의 비를 백분율로 나타냈다.

**Table 1. Composition of control and experimental diets**

Components	(g/kg diet)	
	Control <sup>1)</sup>	FGJ <sup>2)</sup>
Casein	192.000	188.000
Cornstarch	381.587	373.637
Dextrose	126.720	124.080
Sucrose	96.000	94.000
Cellulose	48.000	47.000
Soybean oil	67.200	65.800
t-Butylhydroquinone	0.013	0.013
Salt mix	33.600	32.900
Vitamin mix	9.600	9.400
L-Cystine	2.880	2.820
Choline bitartrate	2.400	2.350
NaCl (4% w/w)	40.000	40.000
FGJ (2% v/w)	—	20.000

<sup>1)</sup>Control: AIN-93G diet containing 4% NaCl to induce insulin resistance.

<sup>2)</sup>FGJ: AIN-93G diet + 4% NaCl + 2% fermented glasswort juices.

**포도당 내성 조사(oral glucose tolerance test)**

함초발효액을 4주간 급여한 다음, 희생 1일전에 12시간 절식시킨 후, 혈당을 측정하고 곧바로 5% 포도당(2 g/kg)용액을 경구투여 하여 30, 60, 120, 180, 240분에 꼬리 정맥으로부터 채혈한 혈액을 자동혈당측정기(지닥터, 녹십자MS, 안양, 한국)를 이용해 혈당을 측정하였다.

**통계처리**

모든 자료는 Statistical Package for Social Sciences (SPSS, PASW Statistics 18, Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균과 표준편차를 구하였고, 조사항목에 따라 각 변인간의 통계의 유의성 검증은 p<0.05 수준에서 독립표본 t-test에 따라 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**일반성분 함량**

발효기간이 다른 두 함초발효액에 대한 일반성분을 분석한 결과, 함초발효액의 총당은 약 45%내외로 측정되었다. 발효액의 원료인 함초의 총당은 약 15% 정도(21)로 보고되고 있어 함초발효액은 이에 비해 매우 높은 함량을 나타냈다. 이는 발효액을 제조할 때 약 30% 이상의 당을 첨가함으로써 함초발효액은 높은 총당 함량을 나타낸 것으로 보인다. 그 외의 일반 성분은 Table 2에 제시한 바와 같다. 본 연구에 사용된 함초발효액은 제조 시, 원초를 파쇄하지 않고 당에 침출하여 발효를 시키므로 그 성분들의 용출이 낮았던 것으로 보인다. 또한 발효기간이 다른 두 시료 간의 일반성분 함량 차이도 거의 보이지 않았다. 다만 2년 동안 발효시킨 함초 발효액(SFGJ)과 6년 동안 발효시킨 함초발효액(LFGJ)의 NaCl 함량은 2.9%와 1.6%로 측정되어, 발효기간이 긴 함초 발효액이 발효기간이 짧은 함초발효액보다 낮은 염도를 나타냈다. 일반적으로 같은 지역에서 생육한 식물을 채취하였다 할지라도 토양, 기온, 강수량, 일조량 등의 생육환경에 따

Table 2. Proximate compositions of glasswort juices fermented for different periods

Components	Content (%)	
	SFGJ <sup>1)</sup>	LFGJ <sup>2)</sup>
Total sugar	45.6±0.4 <sup>3)ns4)</sup>	43.5±1.9
Crude lipid	1.4±0.3 <sup>ns</sup>	1.3±0.4
Crude protein	0.5±0.1 <sup>ns</sup>	0.5±0.4
Crude fiber	0.1±0.2 <sup>ns</sup>	0.3±0.2
Salinity	2.9±0.4*	1.6±0.1*
Moisture	49.5±0.5*	52.8±0.1*

<sup>1)</sup>SFGJ: glasswort juice fermented for two years.

<sup>2)</sup>LFGJ: glasswort juice fermented for six years.

<sup>3)</sup>Values are mean±SD of triplicate experiments.

<sup>4)</sup>NS: statistically no significant difference at p<0.05 by *t*-test.

\*Significant difference at p<0.05 by *t*-test.

라 체내 구성 성분들의 조성은 다르다(29). 발효기간이 다른 두 시료들 간의 미세한 성분 함량 차이를 보였던 것은 수확 년도가 다른 원료를 이용하여 함초발효액을 제조하였기에 그 원초의 성분 함량 차이에 의한 것으로 여겨진다.

#### 무기질 함량

함초발효액의 Na를 제외한 주요 무기질 성분을 분석한 결과는 Table 3에 나타낸 바와 같다. 함초발효액의 주요 무기질 성분으로는 K, Mg 그리고 Ca이었으며 이 중 K가 가장 높은 함량을 나타냈다. 무기질 성분의 조성 또한 시료의 원료인 함초와 매우 유사하였으며(1,24), 발효기간이 다른 두 시료 간의 무기질 함량은 K를 제외하고 대부분 거의 차이를 보이지 않았다. 함초는 다른 농산물에 비해 높은 무기질을 함유하고 있어 우수한 무기질 공급원으로 알려져 있으며, 이를 원료로 자연발효 시킨 함초발효액의 무기질과 시판되고 있는 이온음료 혹은 식물추출물을 이용한 음료들의 무기질 성분을 비교해 보면, Ca, K 그리고 Mg의 함량이 매우 높은 것으로 조사되었다(1,30). 따라서 함초발효액은 함초로부터 용출된 고농도의 무기질을 함유하고 있음이 확인되어 무기질이 풍부한 함초 발효 음료로도 활용이 기대된다.

#### 유리아미노산 함량

함초발효액의 유리아미노산 함량은 Table 4와 같다. 함초

Table 3. Mineral contents of glasswort juices fermented for the different periods

Minerals	Content (mg/kg)	
	SFGJ <sup>1)</sup>	LFGJ <sup>1)</sup>
Ca	156.8±1.9 <sup>2)*</sup>	144.9±1.4*
P	60.9±0.8*	45.8±5.1*
K	722.9±2.7*	624.0±5.5*
Mg	253.7±0.4*	263.8±1.6*
Fe	44.8±0.3*	32.9±0.3*
Zn	1.7±0.1*	2.3±0.2*
Cu	0.3±0.5 <sup>ns3)</sup>	0.1±0.3

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD of triplicate experiments.

<sup>3)</sup>NS: statistically no significant difference at p<0.05 by *t*-test.

\*Significant difference at p<0.05 by *t*-test.

Table 4. Free amino acid contents of glasswort juices fermented for the different periods

Amino acids	Content (mg/100 mL)	
	SFGJ <sup>1)</sup>	LFGJ <sup>1)</sup>
Threonine	17.3	15.9
Valine	37.2	55.3
Methionine	9.3	12.8
Leucine	23.4	41.3
Phenylalanine	17.4	19.3
Lysine	40.3	29.4
Isoleucine	19.7	27.4
Aspartic acid	42.8	89.4
Serine	19.8	26.0
Glutamic acid	33.4	23.7
Glycine	21.2	26.0
Alanine	61.0	79.2
Tyrosine	16.4	22.4
Histidine	8.4	7.3
Arginine	21.7	13.4
Proline	49.4	64.8
Total	438.7	553.6

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

발효액의 주요 유리아미노산으로는 alanine, proline, aspartic acid 그리고 lysine이었다. 함초에는 proline, asparagine, leucine, glutamic acid 그리고 lysine이 주요 아미노산으로 보고되었다(10). 또한 최근 *B. subtilis*를 이용하여 속성 발효시킨 함초발효액의 주요 유리아미노산으로는 asparagine, leucine, arginine, alanine 등이었다(22). 본 실험에 사용한 장시간 동안 자연 발효시킨 함초발효액은 함초뿐만 아니라 *B. subtilis*를 이용하여 제조된 속성 함초발효액과도 아미노산 조성의 차이를 보였다. 이는 장시간 자연 발효시킨 함초발효액의 발효과정 중 다양한 미생물들이 관여하므로 그 조성 차이를 보인 것으로 시사된다. 또한 그들은 *B. subtilis*를 이용하여 제조된 속성 함초발효액이 발효 전보다 총 유리아미노산 함량이 크게 증가한다고 보고하였다(22). 본 실험에 사용한 장시간 동안 자연 발효시킨 함초발효액의 총 유리아미노산 함량 또한 LFGJ(553.6 mg/100 mL)가 SFGJ(438.7 mg/100 mL)보다 높은 함량을 나타내 발효기간 동안 총 유리아미노산 함량이 증가하는 경향을 나타냈다. 특히 아미노산들 중 leucine과 aspartic acid는 LFGJ가 SFGJ보다 약 2배 정도 높은 함량을 나타냈다. 그러므로 함초발효액은 발효과정 중 미생물이 분비하는 단백질 분해효소의 작용에 의해 단백질이 분해되어 유리아미노산 함량이 증가하는데, 특히 장시간 발효시킬 경우 leucine과 aspartic acid가 특이적으로 증가한 것으로 보인다.

#### 총페놀성 화합물 함량

식물 유래의 총페놀성 화합물들은 대부분 항산화 활성을 갖으며, 체내에서 활성산소를 제거하고 LDL의 산화 및 지질 과산화를 방지, 혈중 콜레스테롤 수치를 낮게 하는 효과가 있다고 알려져 왔다(31). 그래서 함초발효액을 대상으로 Folin-Ciocalteu's 방법에 의해 총페놀성 화합물 함량을 측정할 결

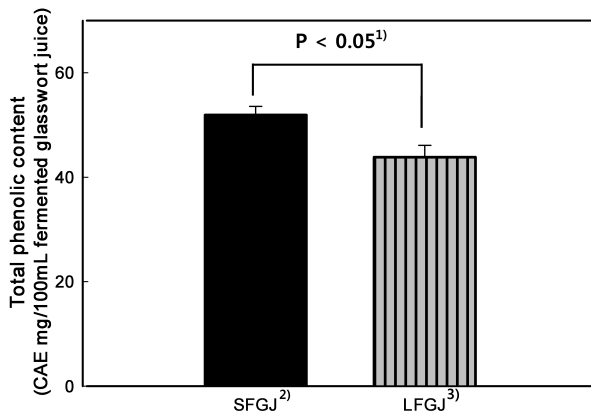


Fig. 1. Total phenolic contents of glasswort juices fermented for the different periods. Values are mean±SD of triplicate experiments. <sup>1)</sup>Statistically significant difference at  $p < 0.05$  by  $t$ -test. <sup>2)</sup>Glasswort juice fermented for two years. <sup>3)</sup>Glasswort juice fermented for six years.

과(Fig. 1), LFGJ의 총페놀성 화합물 함량(43.8 CAE mg/100 mL)은 SFGJ(51.9 CAE mg/100 mL)에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 발효식품의 경우 페놀성 화합물들은 보통 자동 산화될 뿐만 아니라 미생물들의 작용에 의해 산화되거나 분해되어 발효 전에 비해 낮아진다고 보고되었다(32). 발효기간이 다른 두 시료간의 총페놀성 화합물의 함량 차이는 수확년도가 다른 원초를 사용하여 제조된 발효액이므로 원초에 존재하는 그 함량의 차이일 가능성도 있으나, 발효하는 동안 미생물들의 작용에 의해 페놀성 화합물들이 분해되어 낮은 함량을 나타낸 것으로 판단되었다.

함초발효액의 radical-scavenging 활성

함초발효액의 항산화 활성을 알아보기로자 DPPH와 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성을 조사한 결과, 함초발효액은 농도 의존적으로 DPPH radical-scavenging 활성을 나타냈다(data not shown). 이어 시료의 농도에 따른 DPPH(최종농도, 100 μM) radical-scavenging 곡선으로부터 50%의 DPPH

radical-scavenging 농도(SC<sub>50</sub>)값을 구한 결과(Fig. 2), SFGJ은 4.7 μL로 높은 활성을 보였으며 ascorbic acid(3.4 μg)와 거의 유사한 활성을 나타냈다. LFGJ(SC<sub>50</sub>, 13.1 μL)는 SFGJ에 비해 낮은 radical-scavenging 활성을 나타냈다.

ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성의 경우 DPPH radical-scavenging 활성과 달리 발효기간에 관계없이 SFGJ와 LFGJ의 활성은 거의 유사하였다. DPPH 혹은 ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging 활성은 보통 식물체에 존재하는 flavonoid류나 phenolic acid류 등과 같은 페놀성 화합물들의 함량과 비례적 상관관계가 있다고 보고되고 있다(33). 본 연구 결과에서 나타난 함초발효액의 항산화 활성도 페놀성 화합물 함량과 비교적 유사한 경향을 보였다. 함초발효액의 원료가 되는 함초는 강한 항산화 활성을 가지며, 그 원인 물질로는 flavonoid류 및 다수의 chlorogenic acid 유도체 화합물들(18,19)이 동정되었으며 이 화합물들은 강한 항산화 활성을 나타냈다고 보고하였다. 그리고 5년간 자연 발효시켜 제조한 함초발효액(LFGJ)으로부터 2종의 항산화 활성 물질로 cirsiumaldehyde와 chrysoeriol이 동정되었으나 강한 항산화 활성은 발휘하지는 않는다고 보고하였다(23). 함초발효액의 강한 radical-scavenging 활성을 나타냈던 점을 고려해 보면 함초로부터 동정된 상기의 강한 항산화 활성물질들이 함초발효액으로부터 분리되어지는 않았으나 미량으로 존재하여 그 활성에 기여하고 있을 것으로 추정되며 또한 함초발효액의 제조과정 중 생성된 활성물질들에 의한 것으로 판단된다.

함초발효액의 ACE 저해 활성

함초발효액을 대상으로 ACE 저해 활성을 검정한 결과(Fig. 3), 발효기간이 다른 함초발효액들의 ACE 저해 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며 LFGJ가 SFGJ보다 약간 높은 저해 활성을 보여, 발효가 진행됨에 따라 ACE 저해 활성이 크지는 않지만 증가되는 것으로 판단된다. 이 결과는 *B. subtilis*를 이용하여 속성 발효시킨 함초발효액의 경우 발효

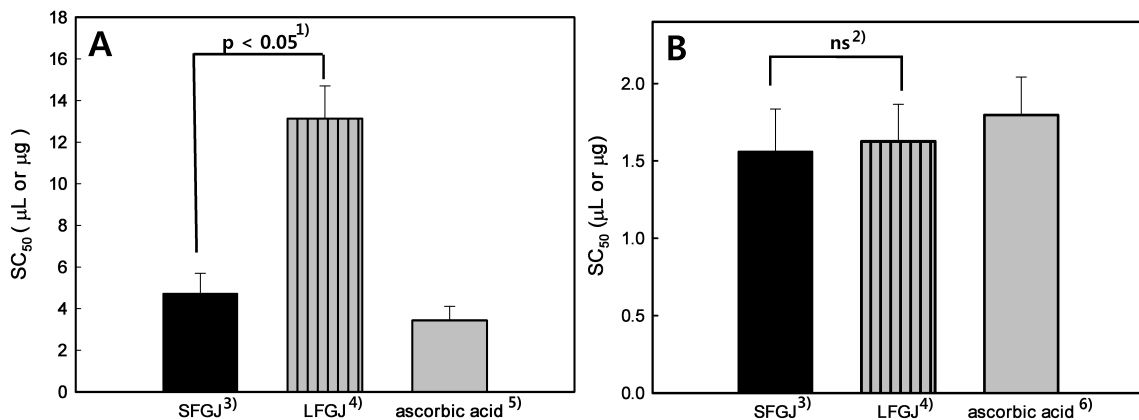


Fig. 2. DPPH (A), and ABTS<sup>+</sup> (B) radical-scavenging activities of glasswort juices fermented for the different periods. Values are mean±SD of triplicate experiments. <sup>1)</sup>Statistically significant difference at  $p < 0.05$  by  $t$ -test. <sup>2)</sup>ns: statistically no significant difference at  $p < 0.05$  by  $t$ -test. <sup>3)</sup>Glasswort juice fermented for two years. <sup>4)</sup>Glasswort juice fermented for six years. <sup>5)</sup>SC<sub>50</sub> of ascorbic acid was 3.4 μg in (A). <sup>6)</sup>SC<sub>50</sub> of ascorbic acid was 1.8 μg in (B).

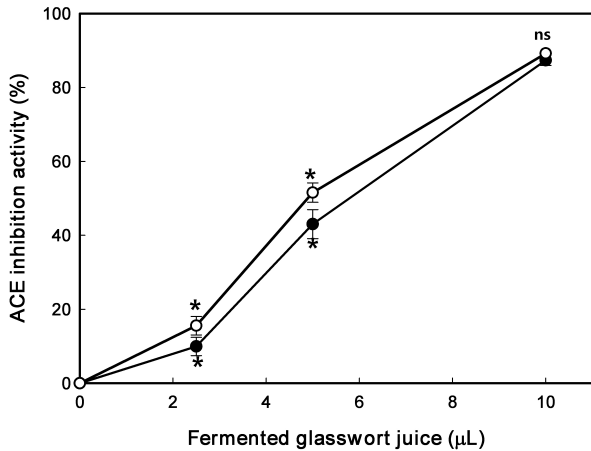


Fig. 3. ACE inhibition activities of glasswort juices fermented for the different periods. Values are mean±SD of triplicate experiments. ns: not significant. \*Significant difference at p<0.05 by t-test. ●: SFGJ, ○: LFGJ.

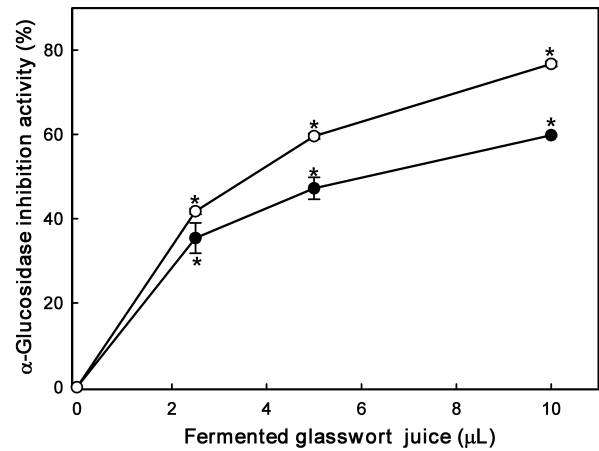


Fig. 4. α-Glucosidase inhibition activity of glasswort juices fermented for the different periods. Values are mean±SD of triplicate experiments. \*Significant difference at p<0.05 by t-test. ●: SFGJ, ○: LFGJ.

시키기 전과 후의 ACE 저해 활성을 비교한 결과, 발효 후 ACE 저해 활성이 증가한다는 결과(22)와 유사하였다.

함초발효액의 α-glucosidase 저해 활성

α-Glucosidase 저해제는 체내에서 탄수화물의 소화를 억제함으로써 포도당의 흡수를 지연시켜, 식후 혈당 상승을 억제시킬 수 있어 제2형 당뇨병 환자에게 일반적으로 사용되고 있는 치료제 중 하나이다. 이에 함초발효액을 대상으로 α-glucosidase 저해 활성을 검정한 결과(Fig. 4), 함초발효액은 농도 의존적으로 저해 활성이 증가하였으며, LFGJ가 SFGJ에 비해 높은 저해 활성을 나타내 발효기간이 다른 두 시료 간의 저해 활성은 다소 차이를 보였다. 최근 함초는 혈당 상승 억제 효과뿐만 아니라 항당뇨 효과를 갖는다고 밝혀지고 있다(4,5,34). 천연에 존재하는 α-glucosidase 저해 물질들은 flavonoid류, phenylpropanoid류 등과 같은 phenolic 화합물들이 보고되고 있는데(35-37), 앞서 언급한 바와 같이 함초에는 flavonoid류와 chlorogenic acid 유도체들을 포함한 다양한 페놀성 화합물이 존재하고 있다. 따라서 이러한 화합물들이 함초 혹은 함초발효액의 α-glucosidase 저해 활성에 영향을 줄 것으로 시사된다. 그러나 본 실험 결과에서는 총페놀함량이 높았던 SFGJ보다 LFGJ가 더 높은 α-glucosidase 저해활성을 나타냈다. 이러한 점을 고려해 볼 때,

LFGJ와 SFGJ의 페놀성 화합물의 종류를 비교하지는 않았으나, 함초발효액의 α-glucosidase 저해 활성의 원인 물질은 LFGJ에 함유된 다양한 페놀성 화합물중, 특정 화합물에 의한 저해 활성 가능성과 페놀성 화합물이 아닌 다른 α-glucosidase 저해 활성 물질들의 존재 가능성이 시사되었다. 따라서 앞으로 함초발효액에 존재하는 α-glucosidase 저해 원인 물질들에 대한 연구의 필요성이 요구된다.

실험동물의 성장 상태

실험 기간 동안 체중의 변화와 식이섭취량, 물 섭취량, 그리고 식이효율은 Table 5와 같다. 실험 4주 동안 체중 증가량은 대조군(4% NaCl 함유)이 약 80 g, FGJ(4% NaCl+2% LFGJ)군 55 g 정도로, 대조군에 비해 FGJ군의 체중 증가량이 통계적으로 유의성은 없지만 더 낮은 경향이 나타났다. 하루 평균 식이 섭취량과 물 섭취량은 그룹간의 유의적인 차이는 없었다. 그러나 식이효율에서 FGJ군의 효율이 대조군에 비하여 통계적 유의성은 없으나 약 30% 정도 낮은 경향을 보였다. 그러나 이 결과만으로는 함초발효액이 체중증가를 억제하는 효과가 있다고 볼 수 없으며, 이에 대한 상세한 연구는 추후 진행되어야 할 것이다.

포도당 내성

소금의 과량 섭취는 인슐린 신호전달이 저해되고, 인슐린

Table 5. Effects of supplementation of fermented glasswort juice on the body weight, food intake, water intake, and FER in SD rats

Groups <sup>1)</sup>	Body weight (g)		Food intake (g/day)	Water intake (mL/day)	FER <sup>2)</sup>
	Initial	Final			
Control	412.6±12.4 <sup>3)ns4)</sup>	491.2±22.7 <sup>ns</sup>	21.5±4.1 <sup>ns</sup>	53.6±2.5 <sup>ns</sup>	13.0±2.0 <sup>ns</sup>
FGJ	416.9±18.2	471.9±28.8	19.9±1.8	58.4±2.6	9.7±7.5

<sup>1)</sup>Control: Sprague Dawley rats supplemented with 4% NaCl, FGJ: Sprague Dawley rats supplemented with 4% NaCl and 2% fermented glasswort juice.

<sup>2)</sup>Food efficiency ratio=body weight gain (g/day)/ food intake (g/day)×100.

<sup>3)</sup>Values are mean±SD (n=9).

<sup>4)</sup>NS: statistically no significant difference at p<0.05 by t-test.

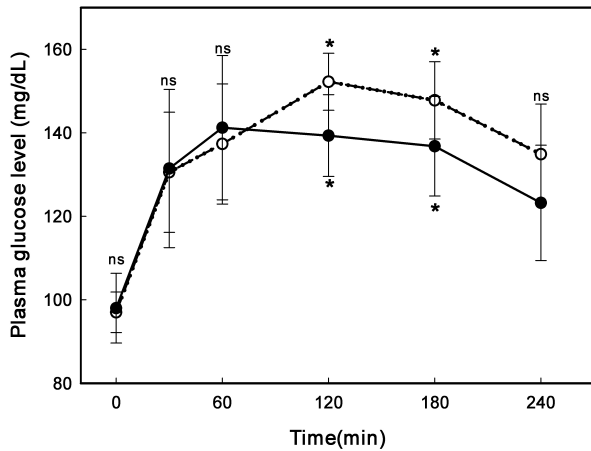


Fig. 5. Oral glucose tolerance test of SD rats fed diets containing fermented glasswort juice for four weeks. Values are mean±SD (n=9). ns: statistically no significant difference at p<0.05 by t-test. \*Significant difference at p<0.05 by t-test. ...○...: control, ●...: FGJ.

저항성을 유발한다는 여러 보고가 있다(38,39). 본 연구팀의 다른 연구 결과에서도 8% NaCl 또는 3% NaCl을 함유한 식이를 약 4주간 급여했을 시, 인슐린 저항성이 나타나는 결과를 얻었다(40). 이에 근거하여 본 실험에서는 실험쥐로부터 인슐린 저항성을 유도하기 위하여 4% NaCl을 함유한 식이를 4주간 실시하였고, 인슐린 저항성을 나타내는 지표(41)로 포도당 내성 검사를 수행하였다. 시험물질 4주 투여 후, 희생 1일 전에 glucose tolerance test를 수행한 결과는 Fig. 5와 같다. 대조군은 포도당 투여 후, 120분까지 지속적으로 혈당이 상승하는 반면, FGJ군은 포도당 투여 60분에 최고 혈당치를 나타냈으며, 최고 혈당치도 대조군이 152 mg/dL, FGJ군이 141 mg/dL로 차이를 보였다. 대조군은 포도당 투여 2시간 후부터, FGJ군은 포도당 투여 1시간 후부터 그룹 간의 혈당의 차이를 보이며 감소하였다. 함초발효액군의 최고혈당치, 최고혈당치에 도달하는 시간, 그리고 최종 혈당 저하치를 볼 때, 함초발효액군의 인슐린 민감도가 대조군에 비하여 더 개선되어 있다고 판단할 수 있었다.

### 요 약

본 연구는 함초를 이용한 응용제품의 하나로 자연발효된 함초발효액에 대한 기초자료를 제공하고자, 함초와 당을 혼합하여 2년 혹은 6년간 발효시킨 다음 여과하여 얻어진 여액을 상온에서 자연 발효시키며 함초발효액의 이화학적 특성 및 생리활성을 조사하였다. 함초발효액의 당 함량은 45%내외로 이는 당침출에 의한 제조 방법 때문이며, Na를 제외한 주요 무기질은 K, Mg 그리고 Ca으로, 그중 K 함량이 가장 높게 나타났다. 주요 유리아미노산은 alanine, proline, aspartic acid 그리고 lysine으로, 이들 일반성분들의 발효기간에 따른 차이는 거의 없었다. 총페놀성 화합물 함량은 약 50 CAE mg/100 mL이고, DPPH와 ABTS<sup>+</sup> radical-scav-

enging 활성은 ascorbic acid와 거의 유사할 정도의 활성을 보였다. 또한 함초발효액은 ACE 및 α-glucosidase에 대해서도 저해 활성을 보였으며, 특히 α-glucosidase 저해 활성은 장기 발효된 함초발효액(LFGJ)에서 좀 더 높은 활성을 나타냈다. 이에 장기 발효된 함초발효액(LFGJ)을 4%의 고염식이군 실험쥐(SD rat)에 급여한 결과, 일반적인 특성은 대조군(4% 고염식이군)과 차이가 없었으나, 함초발효액군(FGJ; 4% 고염식이+2% LFGJ)의 체중증가량이 통계적 유의성은 없었으나 더 낮은 경향을 보였고, 포도당 내성 실험 결과, 함초발효액군(FGJ)에서 포도당 내성이 더 개선되는 것으로 조사되었다.

### 감사의 글

본 연구는 신안군에서 지원된 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

### 문 헌

1. Min JG, Lee DS, Kim TJ, Park JH, Cho TY, Park DI. 2002. Chemical composition of *Salicornia herbacea* L. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 7: 105-107.
2. Song TC, Lee CH, Kim YE, Kim IH, Han DS, Yang DH. 2007. The functionality of the saltwort (*Salicornia herbacea* L.) extract fermented juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 395-399.
3. Cho YS, Kim SI, Han YS. 2008. Effects of slender glasswort (*Salicornia herbacea* L.) extract on improvements in bowel function and constipation relief. *Korean J Food Sci Technol* 40: 326-331.
4. Kim SH, Ryu DS, Lee MY, Kim KH, Kim YH, Lee DS. 2008. Anti-diabetic activity of polysaccharide from *Salicornia herbacea*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 36: 43-48.
5. Kim MW. 2007. Effect of *Salicornia herbacea* L. supplementation on blood glucose and lipid metabolites in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 40: 5-13.
6. Cha JY, Jeon BS, Park JW, Kim BK, Jeong CY, Ryu JS, Choi CK, Cho YS. 2004. Hypocholesterolemic effect of yogurt supplemented *Salicornia herbacea* extract in cholesterol-fed rats. *Korean J Life Sci* 14: 747-751.
7. Lee JT, An BJ. 2002. Detection of physical activity of *Salicornia herbacea*. *Kor J Herb* 17: 61-69.
8. Han SK, Kim SM. 2003. Antioxidative effect of *Salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 207-210.
9. Song HS, Kim DP, Jung YH, Lee MK. 2007. Antioxidant activities of red hamcho (*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. *Korean J Food & Nutr* 20: 150-157.
10. Kim HS, Park JW, Lee YJ, Shin GW, Park IB, Jo YC. 2009. The amino acid content and antioxidant activities of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Korean J Food Preserv* 16: 427-434.
11. Jung BM, Park JA, Bae SJ. 2008. Growth inhibitory and quinone reductase induction activities of *Salicornia herbacea* L. fraction on human cancer cell lines *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 148-153.
12. Ryu DS, Kim SH, Lee DS. 2009. Anti-proliferative effect

- of polysaccharides from *Salicornia herbacea* on induction of G2/M arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *Korean J Microbiol Biotechnol* 19: 1482-1489.
13. Im SA, Lee YR, Lee YH, Oh ST, Gerelchuluun T, Kim BH, Kim YS, Yun YP, Song SG, Lee CK. 2007. Synergistic activation of monocytes by polysaccharides isolated from *Salicornia herbacea* and interferon- $\gamma$ . *J Ethnopharmacol* 111: 365-370.
  14. Im SA, Kim KJ, Lee CK. 2006. Immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Salicornia herbacea*. *Int Immunopharmacol* 6: 1451-1458.
  15. Lee YS, Lee HS, Shin KH, Kim BK, Lee SH. 2004. Constituents of the halophyte *Salicornia herbacea*. *Arch Pharm Res* 27: 1034-1036.
  16. Lee KY, Lee MH, Chang IY, Yoon SP, Lim DY, Jeon YJ. 2006. Macrophage activation by polysaccharide fraction isolated from *Salicornia herbacea*. *J Ethnopharmacol* 103: 372-378.
  17. Park SH, Kim KS. 2004. Isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Salicornia herbacea* L. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 120-123.
  18. Chung YC, Chun HK, Yang JY, Kim JY, Han EH, Kho YH, Jeong HG. 2005. Tungtungmadic acid, a novel antioxidant, from *Salicornia herbacea*. *Arch Pharm Res* 28: 1122-1126.
  19. Kim JY, Cho JY, Ma YK, Park KY, Lee SH, Ham KS, Lee HJ, Park KH, Moon JH. 2011. Dicafeoylquinic acid derivative and flavonoid glucosides from glasswort (*Salicornia herbacea* L.) and their antioxidative activity. *Food Chem* 125: 55-62.
  20. Lee CH, Kim IH, Kim YE, Oh SW, Lee HJ. 2004. Determination of betaine from *Salicornia herbacea* L. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1584-1587.
  21. Shin KS, Boo HO, Jeon MW, Ko JY. 2002. Chemical components of native plant, *Salicornia herbacea* L. *Korean J Plant Res* 15: 216-220.
  22. Park IB, Park JW, Lee YJ, Shin GW, Kim HS, Jo YC. 2009. Quality characteristic of glasswort (*Salicornia herbacea* L.) fermented by *Bacillus subtilis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 902-908.
  23. Cho JY, Park SY, Sin MJ, Gao TC, Moon JH, Ham KS. 2010. Isolation, identification, and antioxidative activity of antioxidative compounds in fermented glasswort (*Salicornia herbacea* L.) juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1137-1142.
  24. Kim YS, Park GS. 2010. Quality characteristics of *Gochujang* sauce with concentrated *Salicornia herbacea* L. extract. *J East Asian Soc Diet Life* 20: 939-946.
  25. KFDA. 2008. *Korean Food Code*. Munyoungsa, Seoul, Korea. 10-1-27-28.
  26. Lee KD, Park JW, Choi CR, Song HW, Yun SK, Yang HC, Ham KS. 2007. Salinity and heavy metal contents of solar salts produced in Jeollanamdo province of Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 753-758.
  27. Lee SJ, An KW, Choi TS, Jung HS, Moon JH, Park KH. 2010. Component analysis and antioxidative activity of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* nut. *Korean J Food Preserv* 17: 139-144.
  28. Toshihisa H, Kenji O, Yasuhiro N, Takanori S, Ryuichiro M, Ryotaro T, Toru A, Hisashi M, Yasushi N, Hideo M, Toyooki M. 2006. Upregulation of renal eNOS by high-sodium diet facilitates hypertension in doxorubicin-treated rats through enhanced oxidative stress. *Toxicology* 225: 81-89.
  29. Moretti CL, Mattos LM, Calbo AG, Sargent SA. 2010. Climate changes and potential impacts on postharvest quality of fruit and vegetable crops: A review. *Food Res Int* 43: 1824-1832.
  30. RDA. 2006. *Food composition table*. National academy of agricultural science. Suwon, Korea. p 354-355.
  31. Sa JH, Lee W, Shin IC, Jeong KJ, Shim TH, Oh HS, Kim YJ, Cheung EH, Kim GG, Choi DS. 2004. Antioxidant effect of *Rosa davurica* pall extract on oxidation of human low density lipoprotein. *Korean J Food Sci Technol* 36: 311-316.
  32. Nada BO, Dominique R, Nadia C, Philippe T, Moktar H. 2009. Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of chétoui olives. *Food Chem* 116: 662-669.
  33. Kim GD, Lee YS, Cho JY, Lee YH, Choi KJ, Lee Y, Han TH, Lee SH, Park KH, Moon JH. 2010. Comparison of the content of bioactive substances and the inhibitory effects against rat plasma oxidation of conventional and organic hot peppers (*Capsicum annum* L.). *J Agric Food Chem* 58: 12300-12306.
  34. Bang MA, Kim HA, Cho YJ. 2002. Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamecho in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 840-846.
  35. Shobana S, Sreerama YN, Malleshi NG. 2009. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chem* 115: 1268-1273.
  36. Lee SS, Lin HC, Chen CK. 2008. Acylated flavonol monorhamnosides,  $\alpha$ -glucosidase inhibitors, from *Machilus philippinensis*. *Phytochemistry* 69: 2347-2353.
  37. Toshiro M, Takashi T, Satomi T, Asami T, Kei T, Yuji M, Kasunari T, Kiyoshi M. 2007.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory profile of catechins and theaflavins. *J Agric Food Chem* 55: 99-105.
  38. Takehide O, Tomoichiro A, Toshiro F. 2003. Contribution of salt intake to insulin resistance associate with hypertension. *Life Sciences* 73: 509-523.
  39. Myrtle TP, Teclemicael KT, Camille F, Min W, Mohamed AB, Nerimiah LE, Jolanda W, Keri G. 2002. Plasma 24,25-dihydroxyvitamin D concentration of Dahl salt-sensitive rats decreases during high salt intake. *J Steroid Biochem Mol Biol* 80: 315-321.
  40. Ekkapon L, Gao TC, Jung ST, Park SY, Cho JY, Ham KS. 2008. Effect of mineral-rich solar salt on insulin resistance and insulin signaling in high-salt diet-fed rats. Abstract NO TS25-37 presented 14th Annual Meeting of the World Congress of Food Science & Technology. Shanghai, China.
  41. Rhee SY, Chon S, Oh SJ, Kim SW, Kim JW, Kim YS, Woo JT. 2006. Insulin secretion and insulin resistance in newly diagnosed, drug naive prediabetes and type 2 diabetes patients with/without metabolic syndrome. *Diabet Metabol J* 30: 198-206.

(2011년 7월 4일 접수; 2011년 9월 30일 채택)