

## Biological Activities of Ethanol Extracts from Monascus-Fermented Chinese Yam

Chun-Pyo Jeon<sup>1</sup>, Jung-Bok Lee<sup>2</sup>, Chung-Sig Choi<sup>3</sup> and Gi-Seok Kwon<sup>4</sup>\*

<sup>1</sup>Department of Medicine Quality Analysis, Andong Science College, Andong 760-709, Korea

<sup>2</sup>Department of Optometry, Kandong University, Andong 760-833, Korea

<sup>3</sup>Bio Industry Institute, HansBio Co., Ltd Andong 760-883, Korea

<sup>4</sup>School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Received May 4, 2011 / Revised June 21, 2011 / Accepted June 27, 2011

This study was conducted to investigate antioxidative and physiological activities of ethanol extracts concentration from Monascus-Fermented Chinese Yam (MFCY). The ethanol extracts from MFCY were measured to examine pigment, monacolin K content, total polyphenol content, DPPH radical scavenging activity and angiotensin converting enzyme inhibitory effects. In this study, the results show that *Monascus* sp. MK2, with *Dioscorea batatas* Dence. as the substrate, can produce pigments (red, orange, and yellow), monacolin K content, total polyphenol content and DPPH radical scavenging activity at 13.48 (red), 11.66 (orange), 12.77 (yellow), 462.78 (mg/kg), 658.8 (mg/kg) and 92.8% in EtOH extract, respectively. In addition, ACE inhibitory activity was shown to be 74.55% in EtOH extract. Therefore, it can be concluded that *Dioscorea batatas* Dence is the best fermentative substrate for *Monascus* species to produce secondary metabolites as biomedicinal substances.

**Key words** : Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity, biological activities, *Dioscorea batatas* Dence, *Monascus* sp., Monascus-Fermented Chinese Yam

### 서 론

홍국균은 *Monascus* 속의 곰팡이로서 분류학상 *Ascomycotina* 강, *Plectomycetes* 아강, *Plectrasciales* 목, *Hemiascomycetaceae*과(반자낭균과), *Aspergillaceae*과, *Monascaceae* 족에 속하며, 자용동체(hemothallic)이고, 무성 생식기간에는 분생포자를 형성하고 유성생식기간에는 폐자기를 만들며, 격벽을 가지고 있는 *Monascus* sp.로써 현재 약 20종, 균주로는 약 70여 종이 분리·동정되어 있다[1,38].

홍국균은  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, glucoamylase 및 lipase 등의 가수분해효소를 생성하는 것으로 알려져 있으며[16], 이 균은 항균력이 있어서 소화불량, 타상, 이질 및 탄저 등의 치료에 효과가 있다고 본초강목에 기록되어 있고, 한국, 중국, 대만, 일본, 및 말레이시아 등 벼 재배 지역에서 오래 전부터 착색, 양조, 방부 등을 목적으로 주류, 두부, 육류 등 식품 뿐 만이 아니라 한약재로도 사용되어 온 국(*koji*)으로 붉은색을 띄는 곰팡이다[10]. 홍국에서 monacolin A, J, K 및 그 유도체, GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid), dimerumic acid, 색소와 미지의 성분 등을 유도할 수 있으며, 이들은 혈당 강하, 혈압 강하, 항산화, 항생, 항혈전, 착색 및 방부작용이 있다. 이 같은 항생 물질에 대한 저항성을 이용하여 육류의 저장시 냉장하기 전에

사용하였으며 근래에는 햄, 소시지 및 어묵의 가공시에 방부 목적으로 이용되며, 토마토케첩 등의 제조시에 식품의 착색 목적으로도 쓰이고 있다[40].

마(*Dioscorea* sp.)는 다년생 덩굴성 초본으로 전세계의 열대 및 아열대지방에서 널리 분포하는 식량 작물로서[37], 우리나라에서는 주로 경북 북부지역에서 약 70% 정도가 생산되고 있다. 마는 예로부터 한방에서는 자양, 강장, 폐결핵 등에 유효하고 소염, 해독, 진해, 거담, 이뇨, 신경통, 류마티즘에 효과가 있는 것으로 알려져 있다[20]. 마(*Dioscorea batatas* Dence)의 성분은 전분이 생체중의 8~24%, 점질물이 0.6~2.4%를 차지하며, 약용성분으로는 amylose, cholin, saponin 등이 포함되어 있다[22]. 한편 마의 주요 약용성분으로 알려진 steroidal saponin은 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 세포의 DNA 돌연변이를 방지하는 항 돌연변이성작용, 항암 및 항염증 작용[2] 등이 알려져 있다.

예로부터 마는 한약재로 사용되고 있을 뿐 아니라 최근에는 중요한 기능성 식품소재로 인식되어 건강식품 또는 기능성 식품 제조에 첨가되면서 그 사용량이 증가하고 있다. 마의 기능성에 관한 연구로 마 점질물이 중금속 제거능과 Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해효과를 나타낸다는 보고[14]와, 콜레스테롤 저하효과, 지질 분해효소 저해활성 및 항돌연변이 활성 등이 보고되어 있다[27,26,30]. 그러나 마를 이용한 발효식품에 관한 연구는 미미한 실정으로, 더욱이 *Monascus* sp. 균주를 활용한 마 발효에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았으며 특정 발효식품에서 마의 활용적인 측면

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5909, Fax : +82-54-820-6252

E-mail : gskwon@andong.ac.kr

에 관한 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 뛰어난 약리적인 효과가 인정되고 있는 홍국균(*Monascus* sp.)을 이용하여 마의 발효를 유도함으로써 마 자체로의 기능성 뿐만 아니라 홍국균 발효를 통한 기능성 마 발효물의 에탄올 추출물이 *in vitro*에서 우수한 ACE 저해활성과 항산화활성 등의 생리활성 효과를 확인하였기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용 균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 한국식품연구원과 한국미생물보존센터에서 분양받은 표준균주 및 본 연구실에서 신규 분리한 균주들 중에서, 홍국색소 생산능이 우수한 것으로 조사된 *Monascus* sp. MK2 균주[18]를 발효 홍국마 제조에 실험균주로 선발하여 본 실험에 사용하였다. 그리고 발효 홍국마의 제조를 위해 *Monascus* sp. MK2의 전배양 기본배지로 3% rice powder, 0.15% NaNO<sub>3</sub>, 0.1% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 및 0.25% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 6.0로 구성된 Lin's 배지[32]를 사용하였으며, 본 배양은 전 배양과 동일한 Lin's 배지에 *Monascus* sp. MK2 전 배양액을 2% (v/v)로 접종한 후 초기 pH 6.0, 배양온도 30°C에서 130 rpm으로 5일간 진탕 배양하여, 발효 홍국마의 제조를 위한 종균으로 사용하였다.

### 발효 홍국마의 제조

본 실험에 사용한 마 시료는 2009년 경북 안동에서 재배한 병마(*Dioscorea batatas* Dence.)를 구입하였으며, 구입 직후 4°C에 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다. 발효 홍국마를 제조하기 위하여 마는 흐르는 물에 세척하여 뿌리 표면에 부착된 이물질을 없애고 말단 부분과 껍질을 제거한 후, 약 3 mm 정도로 절단하고 60°C에서 향량 건조하여 냉동보관 하면서 사용하였다. 발효 홍국마의 제조는 건조된 마를 물에 침지한 후 불림을 행하였으며, 침지 후 물빼기를 실시한 다음 100 g씩 배양통에 분취하였다. 이후 121°C에서 15분간 가압 멸균하고 실온으로 냉각시킨 다음 *Monascus* sp. MK2 배양액을 4% (v/w)로 접종 한 후 30°C에서 7일간 발효를 하였으며, 배양체의 덩어리 형성을 방지하고자 하루에 3회 규칙적으로 흔들어 주었다. 발효가 완료된 후에는 60°C에서 수분함량 10% 이하로 건조한 후 분쇄하여 냉동보관 하면서 실험에 필요한 시료로 사용하였다.

### 발효 홍국마 색소 측정

발효 홍국마로부터 색소의 측정은 에탄올을 농도별로 하여 각각 추출한 후 추출액을 6,000x g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 적정배수까지 희석하여 UV-VIS spectrophotometer (Hewlett Packard 8453, Germany)를 사용하여 yellow

색소는 400 nm, orange 색소는 470 nm 및 red 색소는 500 nm에서 측정된 흡광도 값을 각각의 홍국색소 값으로 나타내었다. 또한 red 색소와 yellow 색소의 생성량을 500 nm/400 nm의 비율로서 상대적으로 비교하였고, 1.0을 기준으로 하여 그 이상은 red 색소의 생성 비율이 높은 것으로 그 이하는 yellow 색소의 생성 비율이 높은 것으로 나타내었으며, 이때 흡광도(OD) 1.0을 1 unit로 나타내었다.

### HPLC를 이용한 Monacolin K의 정량

발효 홍국마로부터 monacolin K의 정량은 에탄올을 농도별(0, 25, 50, 75 및 95%)로 하여 각각 추출한 후 추출액을 6,000x g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 사용하였다. 즉, monacolin K의 추출은 홍국쌀 1 g에 0~95% 에탄올 20 ml을 첨가하여 30°C, 150 rpm으로 3시간 동안 교반하고 정지시킨 후 6,000x g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 membrane filter (0.45 μm, Millipore)로 여과하여 시료로 사용하였으며, 이때 사용한 HPLC 분석조건은 다음과 같다.

Monacolin K의 정량은 Luna 5 μ Phenyl-Hexyl column (250×4.6 mm, Phenomenex Inc., USA)이 장착된 HPLC (Sykam, Germany)를 이용하여 flow rate : 1.0 ml/min, UV 237 nm에서 검출하면서 injection volume 20 μl로 하여 acetonitrile:0.1% Phosphoric acid=55:45의 비율로 용출시킨 후 표준 monacolin K (Sigma co., USA)를 이용하여 peak의 면적비로써 비교 정량분석 하였다.

### DPPH radical 소거활성

발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거활성은 Blois 등[4]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 농도별 시료 200 μl에 DPPH 용액을 800 μl를 가하여 혼합한 다음 실온에서 10분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 DPPH radical 소거활성은 시료침가구와 무침가구의 흡광도 차이를 비교하여 나타내었으며, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

### 총 폴리페놀 함량

발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법[39]을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 농도별 시료 50 μl에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 ml을 가하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagents 50 μl를 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 tannic acid (Sigma co., USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 작성한 검량선 으로부터 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

### ACE 저해활성

발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 ACE 저해활성의 측

정은 Cushman과 Cheung의 방법[9]을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 100 µl에 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 100 µl를 가한 후, 37°C에서 5분간 전배양 시켰다. 여기에 기질로서 hippuril-L-histidine-L-leucine (HLL, Sigma, U.S.A) 용액 50 µl를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 µl를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1 ml를 가하여 30초간 vortexing한 다음 1,500x g으로 15분간 원심분리 한 후 상등액 800 µl를 취하였다. 이 상등액을 120°C에서 40분간 완전히 건조시킨 후 동일조건으로 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 1 ml를 가하여 완전히 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 계산하였다.

결과 및 고찰

발효 홍국마의 색소 측정

식품에 사용되는 색소는 식품산업에서의 제품의 가치를 높이고, 소비자의 구매욕구와 식욕을 향상시키는 역할을 하고 있다. 현재까지 식품공업에서 가장 많이 사용되어 온 색소는 대부분 타르계 합성색소로 그 발암성 등 안전성에 문제가 발생함에 따라 천연색소에 대한 소비자의 요구가 증대됨으로서 식품에서의 천연색소 사용량이 계속적으로 증가되고 있는 실정이다[19,24]. 그 중에서 미생물 유래의 천연색소는 배양기간이 타 천연색소 공급원과 달리 짧고 그 생산이 비교적 저비용으로 가능하다는 점에서 많은 장점을 가지고 있으며[33], 역사상 오래 전부터 주목받아 온 것은 홍주, 육류가공, 홍두부, 기타 음식물의 착색에 이용되어온 홍국(Ang-khak)이 있다[23].

본 연구에서는 홍국 색소 생산능에 대하여 보고한 바 있는 *Monascus* sp. MK2 균주를 이용하여 마의 발효를 실시하였으며, 발효 홍국마의 에탄올 농도에 따른 추출물의 색소 생산량은 Table 1과 같다.

Table 1과 같이 에탄올 농도에 따른 발효 홍국마 추출물의 색소 생산능을 보면 에탄올 농도가 50%일 때 yellow, orange 및 red 색소는 각각 12.77, 11.66 및 13.48 unit으로 가장 높은 색소의 추출효율을 보였으며, 증류수만을 추출에 사용하였을 경우에는 yellow, orange 및 red 색소가 각각 3.38, 3.28 및

3.38 unit으로 낮은 색소의 추출효율을 나타내었다. 또한 에탄올 농도가 95%일 경우에도 yellow, orange 및 red 색소가 각각 4.09, 3.14 및 3.74 unit으로 낮은 색소의 추출효율을 나타내었다. 이것은 대부분의 홍국색소는 수용성 색소와 지용성 색소의 형태로 존재하는데[41] 50%의 에탄올 농도에서 수용성 색소와 지용성 색소가 대부분 추출됨으로서 가장 높은 추출효율을 나타낸 것으로 사료된다. 이러한 결과는 홍국색소의 추출용매로서 에탄올을 사용하였을 때 색소 추출에 미치는 에탄올 농도의 영향이 80%에서 최대의 색소 추출 효율을 보였다는 Lee 등[31]과 Jeon 등[17]의 연구와는 달랐으나, 본 실험에서도 에탄올 농도가 75%일 경우에 yellow, orange 및 red 색소는 각각 12.54, 10.80 및 12.74 unit으로 높은 색소의 추출효율을 보임으로서 비슷한 결과를 보였으며, 40% 이하의 에탄올 농도에서는 색소의 추출 효율이 감소하였다는 결과와는 일치하였다.

발효 홍국마의 Monacolin K 생산

Monacolin K (Lovastatin, Mevinolin)는 고지혈증 치료제로 사용되고 있는 것으로 1979년 일본의 Endo 교수가 처음 발견한 물질로서 monacolin J, L 등 홍국에 함유된 전체 monacolin계의 약 80%를 차지하며 cholesterol 생합성 경로에서 HMG-CoA reductase를 특이적으로 억제함으로써 강력한 cholesterol 생합성 저해작용을 하는 것으로 보고되었다[3,11]. Monacolin K의 작용기작은 monacolin K의 구조가 콜레스테롤 합성을 저해하는 가장 중요한 효소인 HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) 환원효소(EC 1.1.1.34) 저해제의 하나로, 결합하는 HMG-CoA 대신 HMG-CoA 환원효소와 미리 결합하여 mevalonate의 합성을 저해하고, 그 결과 콜레스테롤 생합성을 제한하여 혈관속의 콜레스테롤 수치를 효과적으로 감소시킨다고 알려져 있다. 특히 중증의 고콜레스테롤혈증 환자에서도 매우 유효한 것으로 보고되었으며, 동맥경화에서 가장 좋지 않은 것으로 알려져 있는 LDL cholesterol을 우선적으로 낮춰주는 작용이 있는 것이 특징이다 [7,12].

Fig. 1에 나타난 바와 같이, 30°C에서 7일간 발효하였을 때 monacolin K 생성량은 에탄올 농도가 높아질수록 monacolin

Table 1. Effect of ethanol concentration on *Monascus* pigments content from *Monascus*-Fermented Chinese Yam

EtOH concentration (%)	Production of <i>Monascus</i> Pigment (units)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
0	3.38 <sup>1</sup> ±0.16 <sup>2</sup>	3.28±0.17	3.38±0.13	1.00
25	5.85±0.09	6.00±0.06	7.01±0.03	1.20
50	12.77±0.19	11.66±0.19	13.48±0.18	1.06
75	12.54±0.18	10.80±0.07	12.74±0.06	1.02
95	4.09±0.20	3.14±0.21	3.74±0.18	0.91

<sup>1</sup>Means are three replication.

<sup>2</sup>Data are expressed as mean±SE.

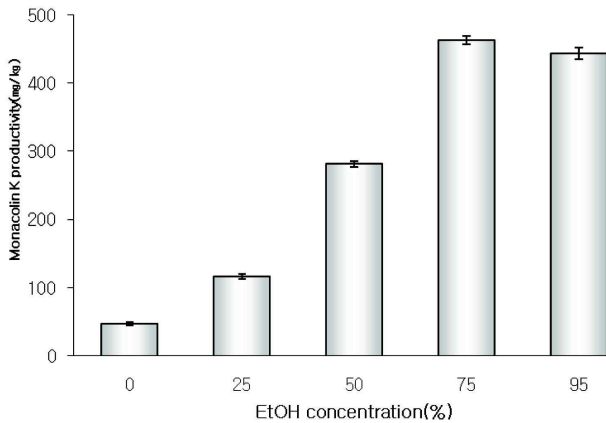


Fig. 1. Effect of ethanol concentration on monacolin K contents from Monascus-Fermented Chinese Yam. Data are expressed as mean±SE.

K함량이 점차 높아지다가 에탄올 농도 75% 일 때 462.78 mg/kg으로 가장 높은 monacolin K의 함량을 나타내었으며, 에탄올 농도가 95% 일 때는 추출량에 큰 차이를 볼 수 없었으나 443.52 mg/kg로 monacolin K의 함량이 다소 낮게 추출되는 것을 알 수 있었다. 이처럼 monacolin K가 물에서는 거의 추출되지 않고 유기용매인 에탄올에 잘 추출되는 것으로 보았을 때 유기용매에 가용성인 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 에탄올 농도가 80% 일 때 monacolin K의 추출효율이 높은 결과[25]와 유사하였으며, Lee 등[29]의 결과에서 *Monascus purpureus* NTU 301 균주를 이용하여 30℃에서 10일간 배양하였을 때 monacolin K 생성량이 2,584 mg/kg 이었다는 보고와 비교하면 약 5.5배 낮은 결과를 나타내었다. 하지만 Lee 등[29]의 결과에서도 6일간 배양 했을 경우에는 monacolin K 함량이 약 500 mg/kg으로 나타났으며, 7일째부터 monacolin K 함량이 증가하는 것으로 보고하였다. 따라서 본 실험에서 사용한 균주 역시 배양기간을 길게 해줄 경우 monacolin K 함량을 증가시킬 수 있으리라 생각되며, *Monascus* sp. 균주의 발효를 통한 이차대사산물의 생산은 균주의 개량, 최적 기질의 선택 및 배양조건의 최적화 등을 통하여 대량생산이 가능하리라 사료된다.

**발효 홍국마의 총 폴리페놀 함량**

식물계에 널리 분포되어 있는 총 페놀성 화합물은 다양한 구조와 분자량을 가진 이차대사산물로 free radical을 제거함으로써 산화를 억제하여 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막아 항암, 항균, 노화방지 및 심장질환을 예방하는 등의 생리활성 물질로 알려져 있으며 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에 활용되고 있다[13,15]. 이러한 페놀성 물질은 식물체의 고유한 색을 부여할 뿐만 아니라, 떫은맛과 쓴맛을 나타내는 대표적인 물질로서 식물성 식품의 고유한 식미감에도 깊이 관여할 수 있다.

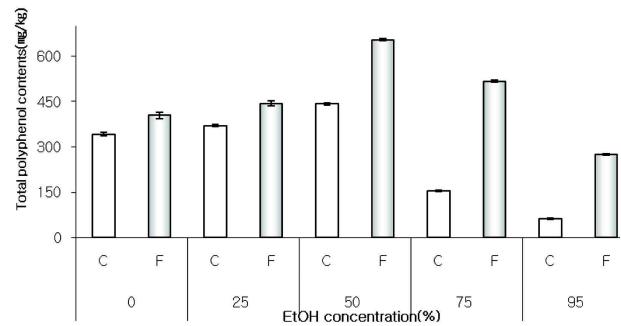


Fig. 2. Effect of ethanol concentration on total polyphenol contents from Chinese Yam and Monascus-Fermented Chinese Yam. C: Not Fermented Chinese Yam, F: Monascus-Fermented Chinese Yam, Data are expressed as mean±SE.

본 실험에서 사용한 발효 홍국마의 에탄올 농도별 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 대조구의 경우 에탄올 농도가 50% 일 때 442.5 mg/kg으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질 수록 총 폴리페놀 함량은 낮아지는 것으로 조사되었다. 발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 경우 대조구와 마찬가지로 에탄올 농도가 높아질수록 총 폴리페놀 함량 또한 높아지다가 에탄올 농도가 50% 일 때 655.6 mg/kg으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 총 폴리페놀 함량 역시 낮아지는 것으로 조사되었다. 이로써 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 나타낸 50% 에탄올 추출물의 경우 총 폴리페놀 함량이 대조구와 비교시 약 32.5% 증가한 것으로 발효를 통한 총 폴리페놀 함량의 증대효과가 있는 것으로 조사됨으로써 향후 관련물질의 분리 및 정제를 통한 특성 규명과 함께, 천연 항산화제로의 사용 가능성과 노화관련 건강 기능식품 소재 개발 가능성 또한 있을 것으로 사료된다.

이러한 결과는 Park 등[36]이 보고한 홍삼 및 홍국발효 홍삼 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과 홍국발효홍삼 추출물에서 높았으며, 물 추출물 보다는 70% 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량이 높았다는 결과와 유사한 것을 알 수 있었다. 또한 함초의 채취 시기별 총 폴리페놀 함량을 조사하였을 때 8월에 채취한 함초의 50% 에탄올 추출물에서 그 함량이 가장 높았다는 Cha 등[6]의 보고와 일치하였으며, Cha 등[5]이 보고한 두릅 잎의 경우, 물 추출물 보다 70% 에탄올 및 70% 메탄올 추출물에서 높은 함량을 보였다고 보고하였다.

**발효 홍국마의 DPPH radical 소거활성**

DPPH는 화학적으로 안정화 된 free radical을 가지고 있는 수용성 물질로서 515~525 nm 부근에서 최대 흡광도를 가지는 보라색의 화합물로 ascorbic acid, BHA, 토코페롤, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 짙은 보라색이 탈색됨으로서 항산화

물질의 전자공여능을 측정할 때 사용된다[4].

본 실험에서 사용한 발효 홍국마의 에탄올 농도별 추출물의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 대조구로서 발효를 하지 않은 마와 비교하여 측정한 결과, 대조구의 경우 에탄올 농도가 25% 일 때 80.8%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성은 낮아지는 것으로 조사되었다. 발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 경우 대조구와 마찬가지로 에탄올 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성 또한 높아지다가 에탄올 농도가 50% 일 때 92.8%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성 역시 낮아지는 것으로 조사되었다.

이러한 결과는 Chung 등[8]의 보고에서 항산화 성분 함량과 free radical 소거작용과의 상관관계에서 폴리페놀 함량에 비례하여 활성이 증가한다고 보고하였으며, Kwon 등[28]은 산겨릅나무 추출 분획물 중에 총 페놀함량이 가장 높았던 추출 분획물에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내었다는 보고와 일치하였다. 또한 Kang 등[21]은 phenolic acid의 일종인 caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid 등과 flavonoids의 일종인 catechin, quercetin과 catechol, chlorogenic acid를 포함한 기타 페놀성 물질이 전자공여능에 관여하는 것으로 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서 발효 홍국마 에탄올 50% 추출물이 DPPH radical 소거활성이 높은 것은 높은 총 폴리페놀 화합물의 함량에 기인하는 것으로 사료된다.

### 발효 홍국마의 angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성

ACE는 renin-angiotensin-aldosterone system의 중요한 효소물질로서 불활성형의 angiotensin-I으로부터 C-terminal에서 dipeptide인 His-Leu를 분리시켜 가수분해 함으로서 강력

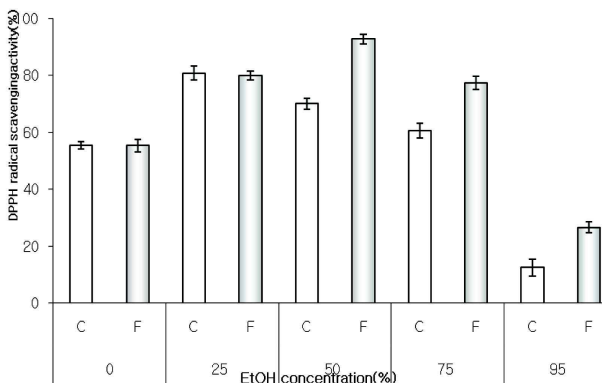


Fig. 3. Effect of ethanol concentration on DPPH radical scavenging activity from Chinese Yam and Monascus-Fermented Chinese Yam. C: Not fermented Chinese yam, F: Monascus-fermented Chinese yam, Data are expressed as mean±SE.

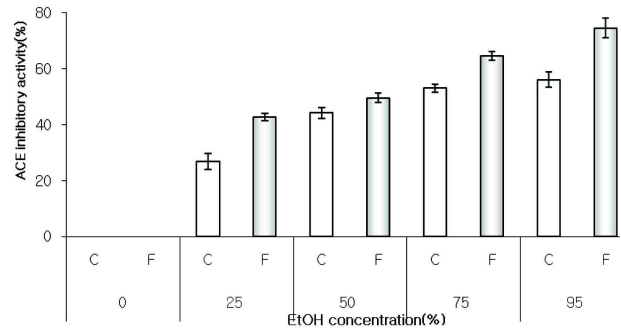


Fig. 4. Effect of ethanol concentration on ACE inhibitory activity from Chinese Yam and Monascus-Fermented Chinese Yam. C: Not Fermented Chinese Yam, F: Monascus-Fermented Chinese Yam, Data are expressed as mean±SE.

한 혈관수축작용을 하는 angiotensin-II를 생성하는데, 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화 시키는 효소로서 결국 본태성 고혈압의 원인이 되고 있다[34]. 따라서 ACE 저해제는 ACE 활성을 저해함으로써 angiotensin-II의 생성 저해, aldosterone의 분비 감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통하여 신장혈관을 확장시켜 나트륨의 배설을 촉진 시킴으로서 혈압을 낮추어 줄 수 있으며, 이로 인해 심혈관질환 및 뇌혈관질환 등 고혈압과 관련이 깊은 질환을 치료하는데 사용될 수 있다[35].

본 실험에서 사용한 발효 홍국마의 에탄올 농도별 추출물의 ACE 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 대조구로서 발효를 하지 않은 마와 비교하여 측정한 결과, 대조구와 발효 홍국마 에탄올 추출물 모두 물로만 추출하였을 경우에는 ACE 저해활성이 전혀 없었으나, 에탄올 농도가 높아질수록 ACE 저해활성이 높아지는 것으로 조사되었다. 이로써 가장 높은 ACE 저해활성을 나타낸 95% 에탄올 추출물의 경우 ACE 저해활성이 대조구와 비교 시 약 33.1% 증가한 것으로 발효를 통한 ACE 저해활성의 증대 효과가 있는 것으로 조사되었다. 또한 물 추출에서는 ACE 저해활성이 전혀 없었고 에탄올 농도가 95% 일 때 가장 높은 ACE 저해활성을 나타내는 것으로 보아 항산화활성과 관련된 물질이 아닌 또 다른 물질이 ACE 저해활성을 나타내는데 관여했다고 사료되며, 본 연구에서 개발된 발효 홍국마는 고혈압을 예방하는데 있어서 기능성식품 또는 기능성 yogurt 제조의 원료로의 이용가능성이 크다고 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 ARPC과제 “마의 부가가치 증대 및 산업화를 위한 가공기술의 개발”(2010-0202)의 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

## References

1. Ainsworth, G. C., F. K. Sparrow, and A. S. Sussman. The fungi. 1973. *Academic press, New York* **35**.
2. Baek, S. H., S. H. Kim, K. H. Son, K. C. Chung, and H. W. Chang. 1994. Inactivation of human pleural fluid phospholipase A2 by dioscin. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 218-222.
3. Bilheimer, D. W., S. M. Grundy, M. S. Brown, and J. L. Goldstein. 1983. Mevinolin and colestipol stimulate receptor mediated clearance of low density lipoprotein from plasma in familial hypercholesterolemia heterozygotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**, 4124-4128.
4. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
5. Cha, J. Y., H. Y. Ahn, K. E. Eom, B. K. Park, B. S. Jun, and Y. S. Cho. 2009. Antioxidative activity of *Aralia elata* shoot and leaf extracts. *J. Life Sci.* **19**, 652-658.
6. Cha, J. Y., J. J. Jeong, Y. T. Kim, W. S. Seo, H. J. Yang, J. S. Kim, and Y. S. Lee. 2006. Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea* L.) according to harvest periods. *J. Life Sci.* **16**, 683-690.
7. Choi, C. S. and C. P. Jeon. 2009. Red yeast rice industry and green growth. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. (Food Industry and Nutrition)*. **14**, 25-32.
8. Chung, H. J. 1999. Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1316-1320.
9. Cushman, D. W. and H. S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637-1648.
10. Editorial, D. Useful microbe as health food material. 2000. *Food and development* **35**, 44-48.
11. Endo, A. 1979. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. *J. Antibiotics.* **32**, 852-854.
12. Endo, A., M. Kuroda, and Y. Tsujita. 1976. ML- 236A, ML-236B, and ML- 236C, new inhibitors of cholesterol synthesis produced by *Penicillium citrinum*. *J. Antibiot.* **29**, 1346-1348.
13. Ferreres, F., D. Gomes, P. Valentão, R. Gonçalves, R. Pio, E. A. Chagas, R. M. Seabra, and P. B. Andrade. 2009. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem* **114**, 1019-1027.
14. Ha, Y. D., S. P. Lee, and Y. G. Kwak. 1998. Removal of Heavy metal and ACE inhibition of yam mucilage. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 751-755.
15. Hertog, M. G. L., P. C. H. Hollman, and M. B. Katan. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem* **40**, 2379-2383.
16. Hwang, J. and T. H. Hseu. 1980. Specificity of the acid protease from *Monascus kaoliang* toward the-B-chain of oxidized insulin. *Biochimica et Biophysica Acta.* **614**, 607-612.
17. Jeon, C. P., C. S. Kim, J. B. Lee, J. W. Shin, S. Y. Choi, C. S. Choi, O. S. Lee, and G. S. Kwon. 2007. Characteristics of monascus natural pigments produced by *Monascus* sp. MK2-2. *J. Life Sci.* **17**, 137-142.
18. Jeon, C. P., J. B. Lee, S. Y. Choi, O. S. Lee, C. S. Choi, and G. S. Kwon. 2006. Optimal conditions for production of water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 250- 256.
19. Judie, D. D. 1987. Applications and colorants, *Food Technol* **23**, 78-88.
20. Jung, D. H. 2007. In: Encyclopedia of health and functional foods. *Shinil Books Publishing Co, Seoul, Korea. Ma*, 191-192.
21. Kang, Y. H., Y. K. Park, and G. D. Lee. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 232-239.
22. Kim, C. M., K. H. Son, S. H. Kim, and H. P. Kim. 1991. Steroidal saponin contents in some domestic plants. *Arch. Pharm.* **14**, 305-310.
23. Kim, C. S., S. H. Rhee, and I. Kim. 1977. Studies on production and characteristics of edible red color pigment produced by mold (*Monascus* sp.). *Korean J. Food Sci. Technol.* **9**, 277-283.
24. Kim, J. Y. and K. H. Kim. 1997. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. PY123 producing water-soluble yellow pigment. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 454-458.
25. Kwak, E. J., S. K. Cha, and S. I. Lim. 2003. The optimal condition for the production and extraction of monacolin K from red-koji. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 830-834.
26. Kwon, C. S., H. Y. Shon, S. H. Kim, J. H. Kim, G. H. Son, J. S. Lee, J. K. Lim, and J. S. Kim. 2003. Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1451-1456.
27. Kwon, C. S., I. S. Son, H. Y. Shim, I. S. Kwon, and K. M. Chung. 1999. Effects of yam on lowering cholesterol level and its mechanism. *Korean J. Food Nutr.* **32**, 637-643.
28. Kwon, H. N., J. R. Park, and J. R. Jeon. 2008. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Acer tegmentosum* M. Extracts. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1389-1394.
29. Lee, C. L., J. J. Wang, S. L. Kuo, and T. M. Pan. 2006. *Monascus* fermentation of dioscorea for increasing the production of cholesterol-lowering agent—monacolin K and antiinflammation agent—monascin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **72**, 1254-1262.
30. Lee, I. S., S. Y. Chung, C. S. Shim, and S. J. Koo. 1995. Inhibitory effects of yam (*Dioscorea batatas* Dence) extracts on the mutagenicity. *Korean J. Soc. Food Sci.* **11**, 351-355.
31. Lee, S. M., H. S. Kim, and T. S. Yu. 2003. The optimal condition for production of red pigment by *Monascus anka* on solid culture. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 155-160.
32. Lin, C. F. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. *J. Ferment. Technol.* **51**, 107-114.
33. Lin, C. F. and H. Iizuka. 1982. Production of extracellular pigments by mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 671-676.
34. Noh, H. and K. B. Song. 2001. Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenanthe javanica*. *Agric.*

- Chem. Biotechnol.* **44**, 98-99.
35. Oh, S. J., S. H. Kim, S. K. Kim, Y. J. Baek, and K. H. Cho. 1997. Angiotensin I - converting enzyme inhibitory activity of the K-casein fragments hydrolysed by chymosin, pepsin, and trypsin. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1316-1318.
36. Park, J. C., J. Y. Cha, C. H. Lee, E. S. Doh, I. H. Kang, and Y. S. Cho. 2009. Biological activities and chemical characteristics of *Monascus*-fermented Korean red ginseng. *J. Life Sci.* **19**, 1553-1561.
37. Purseglove, J. W. 1972. Dioscoreaceae. Tropical crops monocotyledons. In Longman, I. (ed.), London. **97**.
38. Su, Y. C. Properties of *Monascus anka* and its utilization. 1975. *J. Ferment. Assoc.* **33**, 28-34.
39. Swain, T., W. E. Hillis, and M. Oritega. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. 1. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
40. Sweny, J. G., M. C. Estrada-Valdes, G. A. Iacobucci, H. Sato, and S. Sakamura. 1981. Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxynaphthalene. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 1189-1193.
41. Wong, H. C. and P. E. Koehler. 1983. Production of red water-soluble *Monascus* pigments. *J. Food Sci.* **48**, 1200-1203.

---

초록 : 발효 홍국마 에탄올 추출물의 생리활성 효과

전춘표<sup>1</sup> · 이중복<sup>2</sup> · 최충식<sup>3</sup> · 권기석<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>안동과학대학 의약품질분석과, <sup>2</sup>건동대학교 환경광학과, <sup>3</sup>(주)한스바이오, <sup>4</sup>안동대학교 생명자원과학부)

본 실험에서는 발효 홍국마를 기능성식품 소재로의 활용 가능성을 알아보기 위하여 발효 홍국마 분말을 에탄올 용매로 하여 농도별로 추출하고 색소 함량, monacolin K 함량, 총 폴리페놀 함량, DPPH radical 소거활성 및 ACE 저해활성 등을 측정하여 생리활성 효과와 더불어 에탄올을 추출용매로 한 최적의 추출조건을 확립하고자 하였다. 그 결과, 에탄올 농도에 따른 천연색소의 추출량은 에탄올 농도가 50% 일 때 red, orange 및 yellow 색소는 각각 13.48, 11.66 및 12.77 units으로 가장 높게 나타났으며, monacolin K 함량은 에탄올 농도가 75% 일 때 462.78 mg/kg으로 가장 높게 나타났다. 또한, 총 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거활성은 에탄올 농도가 50% 일 때 각각 655.63 mg/kg 및 92.8%로 가장 높게 나타났으며, ACE 저해활성의 경우 에탄올 농도 95% 일 때 74.55%로서 가장 높게 나타났다. 이상의 결과를 종합하였을 때 사용목적에 따라서 에탄올 농도를 50% 이상으로 하여 추출하는 것이 각각의 생리활성 효과를 증대 시키는데 있어서 좋을 것으로 사료되며, 특정 생리활성 물질의 생산증대를 위한 방안으로서 발효조건을 최적화를 통하여 수율 증대를 하고자 추가 실험을 진행하고 있다.