

## 고구마 소주 주박의 항균 및 항혈전 활성

김미선<sup>1</sup>, 이예슬<sup>1</sup>, 김종식<sup>2</sup>, 신우창<sup>3</sup>, 손호용<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>안동대학교 식품영양학과

<sup>2</sup>안동대학교 생명과학과

<sup>3</sup>(주)국순당

Received: May 29, 2014 / Revised: June 9, 2014 / Accepted: June 9, 2014

### Anti-microbial and Anti-thrombosis Activities of Lees of Sweet Potato Soju

Mi-Sun Kim<sup>1</sup>, Ye-Seul Lee<sup>1</sup>, Jong Sik Kim<sup>2</sup>, Woo-Chang Shin<sup>3</sup>, and Ho-Yong Sohn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, and <sup>2</sup>Department of Life Science, Andong National University, Andong 760-749, Republic of Korea

<sup>3</sup>Research Institute, Kooksoondang Brewery Co. Ltd., Seongnam 460-120, Republic of Korea

Sweet potato soju (SPS), a form of traditional distilled alcoholic liquor in Korea, is manufactured by the distillation of fermented broth under normal pressure, thus providing it for a uniquely smooth taste infused with the flavor of sweet potato. After distillation, the lees of SPS is produced as by-product and discarded. In this study, the ethanol and hot water extracts of lees of SPS, and their subsequent organic solvent fractions using hexane, ethylacetate (EA), butanol, and water residue were prepared in an effort at the efficient re-use of the lees of SPS. The ethanol extraction yield was 1.36-fold higher than that of the hot water extraction, and the EA fraction revealed the highest total polyphenol content among the solvent fractions. The various extracts and solvent fractions did not demonstrate hemolytic activity at up to 0.5 mg/ml concentrations against human red blood cells. In the bio-activity assay, only the EA fraction displayed a broad spectrum of anti-microbial activity against different pathogenic and food spoilage bacteria, and demonstrated significant anti-coagulation activity by inhibitions of thrombin, prothrombin and blood coagulation factors. Furthermore, only the EA fraction from the hot water extract of the lees of SPS showed anti-platelet aggregation activity, which is comparable to aspirin (a commercially available drug). Our results suggest that the EA fraction of the hot water extract prepared from the lees of SPS has a high potential as a novel resource for anti-microbial and anti-thrombosis agents.

**Keywords:** Anti-coagulation, anti-platelet aggregation, anti-microbial, lees of sweet potato soju

## 서 론

주박은 쌀, 물, 누룩, 효모, 곰팡이, 유산균 등을 이용하여 술을 제조한 후, 술을 걸러내는 과정에서 만들어지는 부산물로, 술지게미, 재강 또는 아레기 등으로 불린다. 주박은 다양한 영양성분과 유용 생리활성성분을 가지고 있는 것으로 알려져 있으며[10, 22], 사용 원료기질 및 첨가물, 사용 누룩, 발효방법에 따라 다양한 주박이 부생된다[6]. 최근 전통주에 대한 관심 증가로 주박 생산이 증가되면서 주박에 대한 연

구가 활발히 진행되고 있으며, 주박을 이용한 국수[16], 설기떡[6], 장아찌[11] 등의 가공식품 제조 연구 및 향당노[15], 비만 억제[33], 유해물질 흡착 제거[1], 고혈압[21], 항산화[10, 34], nitrite 제거 효과[19], 보습[31], 미백, 주름개선[19, 36] 및 알레르기 개선 효과[12] 등이 보고되면서 주박을 이용한 기능성 식품 및 화장품 소재로의 개발 가능성[27]에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

한편 고구마(*Ipomoea batatas* L.)는 메꽃과에 속하는 쌍떡잎 식물로 감저, 초저라고 불리는 여러해살이풀로서, 원산지는 중앙아메리카 멕시코 유카탄 반도 지역으로 알려져 있으며[2], 국내에서는 일본을 통해 1763년 들어온 것으로 알려져 있다[26]. 고구마는 구근 작물로 재배가 용이하며 풍수해에 강하고 단위 면적당 생산량이 높으며, 당질 함량이 높은

### \*Corresponding author

Tel: +82-54-820-5491, Fax: +82-54-820-7804

E-mail: hysohn@anu.ac.kr

© 2014, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

고칼로리 식품이며, 국내에서는 1906년 권업모범장이 설립된 이후 오랜 기간의 지속적인 육종연구를 통해 다양한 재래종 및 자색고구마, 호박고구마 등 신품종이 개발되어 있다 [35]. 고구마는 수분함량 70%, 당질 27.7%, 단백질 1.3%를 포함하여 영양적으로 우수하여 구황식품, 전분 제조 및 주정 가공용으로 주로 이용되어 왔으나, 최근에는 식이섬유, 미네랄, 베타 카로틴, 안토시아닌, 알라틴 등의 유용 기능성 물질이 다량 함유되어 있음이 알려지면서 무공해 건강식품으로 각광을 받고 있다 [2, 8]. 고구마와 관련된 연구로는 고구마 재배, 저장, 품종개량 [35], 갈변억제 [20], 탁주 및 소주 제조 [4, 5, 26] 등에 대한 연구가 주로 이루어져 왔으나, 최근에는 고구마 지하부의 항산화 [7, 23, 29], 항당뇨 [17] 및 미백 효과 [20]와 고구마 잎, 줄기, 끝순의 항산화 [24], 항균, 항돌연변이 [25], 항염증, 및 항알러지 [18] 효과 등의 생리활성에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.

고구마는 높은 전분 함유로 주정 발효원료로 사용되어 왔으며, 특히 고구마 소주는 고구마를 발효시켜 알코올을 얻고, 이를 증류하여 소주를 얻어 제조한다. 일반적인 곡류와 달리 고구마는 섬유질이 많기 때문에, 고구마 소주는 상압증류로 제조되며 [37], 특유의 부드러운 맛과 향미로 인해 기호도가 매우 높다 [26]. 본 연구에서는 탁주 주박과 유사하게 별도의 용도를 찾지 못하여 대부분 폐기되고 있는 고구마 소주 주박의 효율적인 이용을 위해 상업적 시설에서 생산된 고구마 소주 주박의 ethanol 및 열수 추출물과 이들의 순차적 유기용매 분획물을 조제하고 각각의 항균 및 항혈전 활성을 평가하였으며, 그 결과 고구마 소주 주박의 ethylacetate (EA) 분획에서 매우 강력한 항세균 및 항혈전 활성을 확인하였기에 이에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 주박은 2012년 (주)국순당에서 생산된 고구마 소주 주박을 공급받아 사용하였으며, 주박의 ethanol 추출물 제조를 위해서는 주박 시료 무게에 대해 10배의 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals, Korea)을 가한 후 상온에서 24시간, 3회 반복 추출하였으며, 추출액은 filter paper (Whatsman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai, Japan)하여 분말로 조제하였다. 열수 추출물 제조를 위해서는 주박 시료 무게에 대해 5배의 증류수를 가한 후 100°C에서 30분간 고온 추출하였으며, 이후 추출액은 상기와 동일한 방법으로 분말로 조제하였다. 조제된 분말시료들은 DMSO에 적당한 농도로 녹여, 항균, 항혈전 활성 및 적혈구 용혈활성 평가에 사용하였다. 사용시약은 시약급 이상으로 Sigma (MO, USA)

의 제품을 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 주박 시료는 안동대학교 식품영양학과에서 보관하고 있다 (voucher specimen 2012-KSD-8).

### 항균 활성

고구마 소주 주박시료의 항균 활성은 기존의 보고된 방법과 동일하게 평가하였다 [13]. 항균 활성평가를 위한 그람 양성세균으로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Listeria monocytogenes* KACC 10550, *Bacillus subtilis* KCTC 1924를, 그람 음성세균으로 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Pseudomonas aeruginosa* KACC 10186, *Proteus vulgaris* KCTC 2433, *Salmonella Typhimurium* KCTC 1926, 진균으로는 *Candida albicans* KCTC 1940 및 *Saccharomyces cerevisiae* IF0 0233를 사용하였다. 항세균 활성 평가의 경우, Nutrient broth (Difco, USA)에 각각의 세균을 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 각 균주를 OD<sub>600</sub> 0.1로 조정하여 Nutrient agar (Difco, USA) 배지를 포함하는 멸균 petri dish (90 × 15 mm, Green Cross, Korea)에 100 µl 도말하고, 각각의 시료 5 µl를 멸균 disc-paper (지름 6.5 mm, Whatman No.2)에 가하여, 37°C에서 24시간 동안 배양하였으며, 진균 경우에는 Sabouraud dextrose (Difco, USA)를 이용하여 동일한 방법으로 30°C에서 24시간 동안 배양 후, 생육저지환의 크기를 측정하여 항균활성을 평가하였다 [13]. 대조구로는 항세균제인 ampicillin과 항진균제인 miconazole (Sigma, MO, USA)을 각각 1 µg/disc 농도로 사용하였으며, 생육저지환의 크기는 육안으로 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다.

### 혈액응고 저해활성

혈액응고 저해활성은 시료의 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 측정하여 평가하였다 [14]. 혈액 응고에서 중추적 역할을 수행하는 thrombin의 활성을 평가하는 TT는 37°C에서 0.5 U thrombin (Sigma, MO, USA) 50 µl와 20 mM CaCl<sub>2</sub> 50 µl, 다양한 농도의 시료 10 µl를 Amelung coagulometer KC-1A (Amelung, Lemgo, Germany)의 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 표준혈장(MD Pacific Technology, China) 100 µl를 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였으며, 시료 대조군으로는 아스피린 (Sigma, MO, USA)을, 용매 대조군으로는 DMSO를 사용하였다. Thrombin 저해 활성은 3회 이상 반복한 시료 TT 실험의 평균치를 용매 대조구인 DMSO의 TT 평균치의 비로 나타내었다 [14]. 한편 PT는 외인성 응고계(II, V, VII 및 X 인

자)의 응고 활성을 종합적으로 측정하는 방법으로, 혈장 70  $\mu$ l와 다양한 농도의 시료 10  $\mu$ l를 coagulometer의 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온 후, 130  $\mu$ l의 PT reagent (MD Pacific Technology, China)를 첨가하고 혈장이 응고될 때까지의 시간을 3회 반복한 실험의 평균치로 나타내었으며, prothrombin 저해 활성은 3회 이상 반복한 시료 PT 실험의 평균치를 DMSO의 PT 평균치의 비로 나타내었다[14]. 내인성 경로에 의한 혈액응고활성을 평가하는 aPTT 측정의 경우에는, 표준혈장 70  $\mu$ l와 다양한 농도의 시료 10  $\mu$ l를 coagulometer 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온 후, 65  $\mu$ l의 aPTT reagent (MD Pacific Technology, China)를 첨가하고 다시 37°C에서 3분간 반응하였다. 이후 65  $\mu$ l CaCl<sub>2</sub> (35 mM)을 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 3회 반복한 실험의 평균치로 나타내었으며, aPTT 연장 활성은 3회 이상 반복한 시료 aPTT 실험의 평균치를 DMSO의 aPTT 평균치의 비로 나타내었다[14].

#### 혈소판 응집 저해 활성

혈소판은 다양한 혈구세포와 함께 내피세포의 손상으로 노출된 collagen 등과 결합하여 1차 지혈 플러그(primary hemostatic plug)를 형성하여 혈전생성을 개시하는 중요한 세포이다[3]. 고구마 소주 주박 시료의 혈소판 응집저해 활성은, 미세전극에 혈소판이 부착되어 응집됨에 따라 발생하는 전기 저항값의 변화를 측정하는 impedance 법을 사용하여 평가하였다[30]. 인간 농축 혈소판(platelet rich plasma: PRP)은 적십자로부터 공급받았으며 PRP의 전처리 및 수세 과정은 기존의 보고[14]와 동일하게 하였으며, 수세된 혈소판은 suspending buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.36 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5.5 mM glucose, 0.49 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.25% gelatin, pH 7.4)에 현탁하여 최종 혈소판 농도가 5 × 10<sup>8</sup>/ml이 되도록 조정하였다. 혈소판 응집은 Whole Blood Aggregometer (Chrono-log, USA)를 사용해 37°C에서 측정하였으며, 10 mM CaCl<sub>2</sub> 50  $\mu$ l, suspending buffer 147.5  $\mu$ l, 시료 5  $\mu$ l가 포함된 반응 cuvette에 혈소판 50  $\mu$ l을 넣은 후 3분 동안 37°C로 가온 후 응집유도제로 collagen (1 mg/ml)을 2.5  $\mu$ l를 넣고 혈소판 응집을 측정하였다. 응집반응은 collagen 첨가 후 12분간 측정하였으며 amplitude, slope, area under를 측정하여 평가하였다[30]. 이때, amplitude (ohm)는 혈소판에 응집유도제를 첨가하였을 때 일어나는 최대 응집정도를 나타내며, slope는 응집유도제를 첨가한 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 나타내며, area under는 전체적인 혈소판 응집 정도를 표시하는 것으로 전기저항 증가에 따른 slope 곡선의 하강면적을 나타낸다. 시료의 혈소판 응집 저해 활성은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조구와의 상대적인 area under 값의 비를 백분

율로 나타내었다[14, 30].

#### 기타 분석

고구마 소주 주박 시료의 색차는 색차계(Super color SP-80 Colormeter, Tokyo Denshoku, Japan)로 분석하였으며, 명도(lightness, *L*), 적색도(redness, *a*), 황색도(yellowness, *b*)를 3회 반복 측정하여 색차( $\Delta E$ )를 계산하였다[29]. 표준 백색판은 *L* 값이 92.49, *a* 값이 -0.12, *b* 값이 1.37이었으며, 색차는 다음의 식을 이용하여 계산하였다 [ $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ ]. Total flavonoid의 함량은 기존의 보고된 방법[28]에 따라 측정하였으며, 각각의 시료를 18시간 methanol 교반 추출하고 여과한 추출액 400  $\mu$ l에 90% diethylene glycol 4 ml를 첨가하고 다시 1 N NaOH 40  $\mu$ l를 넣고 37°C에서 1시간 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin을 사용하였다. Total polyphenol 함량은 시료 400  $\mu$ l에 50  $\mu$ l의 folin-ciocalteau, 100  $\mu$ l의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액을 넣고 실온에서 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다[28]. 표준시약으로는 tannic acid를 사용하였다. 총 당 정량의 경우에는 phenol-sulfuric acid 법을, 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였다[32]. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다.

#### 통계분석

실험 결과는 SPSS 21.0 버전을 사용하여 mean  $\pm$  SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Duncan 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였다. 유의수준은 *p* < 0.05로 하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 고구마 소주 주박의 이화학적 특성 및 추출물 제조

고구마 소주 주박은 pH 4.22, brix 3.4, 수분함량 92.9%를 나타내어 수용성 고형분을 상당량 포함한 약산성의 유동성 고형물로(Table 1), 잔존 ethanol 함량이 3.4%로 기타 주박보다 높게 나타났다[6, 11]. 이는 고구마 소주 특유의 높은 점성으로 인한 상압증류 결과로 이해되며, 고구마 소주 주박을 기질로 이용한 2차 발효(예, 식초 발효)가 가능함을 제시하고 있다. 한편 고구마 주박은 고구마 특유의 색깔로 인해 낮은 명도와 높은 황색도를 나타내어, 기타의 탁주 및 약주 주박과는 색차면에서 큰 차이를 나타내었다[10, 11]. 주박의 ethanol 추출 수율은 2.2%로 열수 추출 수율보다 1.36배 높았으며(Table 2 및 3), 유기용매 순차적 분획결과 지용성 hexane 분획물이 ethanol 추출물의 18.74%를 차지한 반면 수용성 물 잔류물은 56.03%를 차지하였다. 주박 ethanol 추

**Table 1. Physicochemical properties of the lees of sweet potato soju.**

Parameters	Lees of sweet potato soju	
pH	4.22 ± 0.2	
brix	3.4 ± 0.04	
Water content (%)	92.9 ± 0.8	
Ethanol (% v/v)	3.4 ± 0.1	
Color differences	$L^{a)}$	33.99 ± 0.67
	$a^{b)}$	1.69 ± 0.05
	$b^{c)}$	15.36 ± 0.34
	$\Delta E^{d)}$	54.37 ± 0.56

<sup>a)</sup> $L$ : degree of lightness (white +100-0 black).

<sup>b)</sup> $a$ : degree of redness (red +100--80 green).

<sup>c)</sup> $b$ : degree of yellowness (yellow +70--80 black).

<sup>d)</sup> $\Delta E$ : overall color difference ( $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ ).

Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

출물의 polyphenol 함량은 38.09 mg/g으로 열수 추출물보다 1.88배 높았으며, 분획물들의 polyphenol 및 flavonoid 함량 분석 결과 EA 분획 > butanol 분획 > 물 잔류물 > hexane 분획 순으로, flavonoid 함량은 butanol 분획 > 물 잔류물 >

hexane 분획 > EA 분획 순으로 나타났다(Table 2). 반면 주박의 열수 추출물은 61.54%가 물 잔류물로, 33.26%가 butanol 분획으로 이행되었으며, 지용성 hexane 분획은 ethanol 추출물의 18.4%와 대조적으로 아주 낮은 0.52%를 나타내었다(Table 3). 또한 열수 추출물의 분획물들의 polyphenol 함량은 EA 분획 > butanol 및 hexane 분획 > 물 잔류물 순으로, flavonoid 함량은 hexane 분획 > butanol 분획 > 물 잔류물 > EA 분획 순으로 나타났다. 총 당 및 환원당 함량 평가결과 ethanol 추출물에서는 EA 분획 및 물 잔류물에서 높은 함량을 나타낸 반면, 열수 추출물에서는 물 잔류물 및 hexane 분획물에서 높은 함량을 나타내었다(Table 2 및 3). 따라서 다양한 유용활성은 주박 추출물의 EA 분획에서 나타나리라 예상되었다.

#### 고구마 소주 주박의 항균활성

고구마 소주 주박의 ethanol 추출물 및 열수 추출물과 이들의 순차적 유기용매 분획물을 대상으로 항균 활성을 평가하였다. 먼저 대조구로 사용된 ampicillin과 miconazole은 각각 강력한 항세균 및 항진균 활성을 나타내었다(Table 4). 고구마 소주 주박의 경우 에탄올 추출물 및 열수 추출물의 EA 분획에서만 실험에 사용된 그람양성 및 그람음성 세균에 대

**Table 2. Component analysis of the ethanol extract and its solvent fractions of the lees of sweet potato soju.**

Extract/ Fraction	Extraction/ Fraction yield (%)	Content (mg/g)			
		Total flavonoid	Total polyphenol	Total sugar	Reducing sugar
Ethanol ex <sup>a)</sup>	2.2	3.4 ± 0.14	38.09 ± 0.73	64.44 ± 0.55	23.26 ± 0.42
Hexane fr <sup>b)</sup>	18.74	1.48 ± 0.03	7.99 ± 0.00	30.29 ± 0.14	6.26 ± 0.10
Ethylacetate fr	4.91	1.21 ± 0.24	116.66 ± 1.08	75.38 ± 0.48	16.63 ± 0.30
Butanol fr	20.18	1.98 ± 0.03	39.18 ± 0.75	59.18 ± 0.55	16.21 ± 0.30
Water residue	56.03	1.52 ± 0.23	19.91 ± 0.05	75.53 ± 0.41	24.75 ± 0.12

<sup>a)</sup>ex: extract.

<sup>b)</sup>fr: fraction.

Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

**Table 3. Component analysis of the hot water extract and its solvent fractions of the lees of sweet potato soju .**

Extract/ Fraction	Extraction/ Fraction yield (%)	Content (mg/g)			
		Total flavonoid	Total polyphenol	Total sugar	Reducing sugar
Hot water ex <sup>a)</sup>	1.62	1.92 ± 0.10	20.23 ± 0.11	149.70 ± 1.10	30.40 ± 0.30
Hexane fr <sup>b)</sup>	0.52	4.09 ± 0.00	20.48 ± 0.01	141.23 ± 2.89	29.60 ± 0.36
Ethylacetate fr	4.08	0.72 ± 0.00	22.51 ± 0.01	65.41 ± 0.41	12.00 ± 0.96
Butanol fr	33.26	1.69 ± 0.04	20.58 ± 0.30	70.57 ± 0.83	20.37 ± 0.18
Water residue	61.54	1.29 ± 0.00	16.19 ± 0.11	123.82 ± 1.38	34.4 ± 0.66

<sup>a)</sup>ex: extract.

<sup>b)</sup>fr: fraction.

Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

**Table 4. Anti-microbial activities of the ethanol and hot water extracts, and their solvent fractions of lees of sweet potato soju against pathogenic and food-spoilage bacteria and fungi.**

Samples/Chemicals	Growth inhibition zone (mm)									
	Gram positive bacteria				Gram negative bacteria				Fungi	
	SA <sup>a)</sup>	SE	LM	BS	EC	PA	PV	ST	CA	SC
Ampicillin	18.0	19.5	21.0	20.0	9.0	10.0	26.0	12.5	-	-
Miconazole	- <sup>b)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	15.0	21.0
Ethanol extract	Extract	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hexane fr <sup>c)</sup>	-	-	-	8.0	-	-	-	-	-
	Ethylacetate fr	9.5	9.0	10.0	10.0	7.5	11.0	14.5	7.0	-
	Butanol fr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Water residue	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hot water extract	Extract	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hexane fr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ethylacetate fr	11.0	11.5	16.0	14.0	10.0	13.0	18.0	12.0	-
	Butanol fr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Water residue	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a)</sup>SA: *Staphylococcus aureus*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, LM: *Listeria monocytogenes*, BS: *Bacillus subtilis*, EC: *Escherichia coli*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, PV: *Proteus vulgaris*, ST: *Salmonella Typhimurium*, CA: *Candida albicans*, SC: *Saccharomyces cerevisiae*.

<sup>b)</sup>-: No inhibition.

<sup>c)</sup>fr: fraction.

The concentrations of the lees samples and antibiotics used were 500 µg/disc and 1 µg/disc, respectively. The growth inhibition zone expressed was included size of disc-paper (6.5 mm of diameter). The data represent a classical result of three independent determinations.

**Table 5. Anti-coagulation activities of the different extracts and their solvent fractions of lees of sweet potato soju.**

Samples	Conc. (mg/ml)	Anti-coagulation activity <sup>a)</sup>					
		Ethanol extract			Hot water extract		
		TT	PT	aPTT	TT	PT	aPTT
DMSO	-	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>
Aspirin	1.5	2.6 ± 0.1 <sup>d</sup>	1.7 ± 0.0 <sup>d</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.7 ± 0.0 <sup>e</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>
Extract	5	1.1 ± 0.0 <sup>ab</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>
Hexane fr <sup>b)</sup>	5	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.0 <sup>c</sup>	1.3 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>b</sup>
Ethylacetate fr	5	>15.0 <sup>e</sup>	>15.0 <sup>f</sup>	>15.0 <sup>f</sup>	>15.0 <sup>d</sup>	>15.0 <sup>f</sup>	>15.0 <sup>d</sup>
	2.5	1.5 ± 0.1 <sup>c</sup>	3.8 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>d</sup>	1.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.7 ± 0.0 <sup>e</sup>	2.3 ± 0.2 <sup>c</sup>
	1.25	1.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.0 <sup>c</sup>	1.4 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>
Butanol fr	5	1.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.0 <sup>c</sup>	1.6 ± 0.0 <sup>c</sup>	1.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>d</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>b</sup>
Water residue	5	1.1 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>b</sup>

<sup>a)</sup>Anti-coagulation activity is calculated on the clotting time of sample divided by the clotting time of solvent control in blood coagulation assay. Data are presented as the mean ± SD of three determinations. The thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) of solvent control (dimethylsulfoximide) were 24.0 sec, 18.6 sec and 40.5 sec, respectively. Different letters within a column differ significantly ( $p < 0.05$ ).

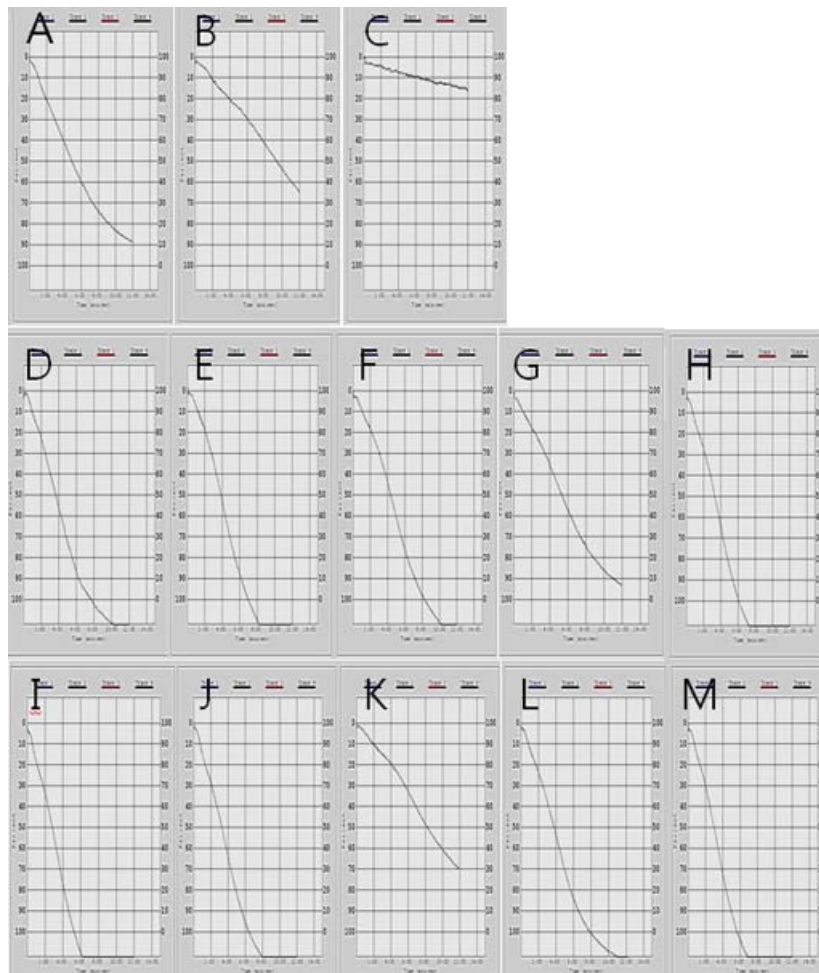
<sup>b)</sup>fr: fraction.

해 광범위한 항균력을 나타내었으며, 항진균 활성은 나타나지 않았다(Table 4).

#### 고구마 소주 주박의 적혈구 용혈활성 및 항혈전 활성

먼저 인간 적혈구를 이용한 고구마 소주 주박 추출물의 용혈활성을 평가한 결과, ethanol 및 열수 추출물과 이들의 분획물들은 0.5 mg/ml 농도에서 10% 이하의 미약한 용혈활성을 나타내어 적혈구 용혈에 따른 급성독성은 나타나지 않으리라 판단되었다(results not shown). 고구마 소주 주박의 항혈전 활성평가를 위해 주박 시료의 항응고 활성을 TT, PT, aPTT를 각각 측정하여 평가하였다. 먼저 대조구로 사용된 aspirin (1.5 mg/ml)은 무처리구에 비해 TT는 2.6배, PT는

1.7배, aPTT는 1.3배 연장시켜 우수한 혈액응고저해 활성을 나타내었으며[14], 고구마 소주 주박 시료(5 mg/ml)의 경우 ethanol 및 열수 추출물의 EA 및 butanol 분획에서 유의적인 TT 연장이 나타났으며, PT 측정의 경우에는 ethanol 추출물의 물 잔류물, 열수 추출물의 hexane 분획을 제외한 모든 분획물에서 PT 연장효과가 나타났고, aPTT 측정의 경우 고구마 소주 주박의 모든 시료에서 용매대조구인 DMSO 보다 연장된 혈액응고시간을 나타내었다(Table 5). 가장 강력한 활성은 추출물의 EA 분획에서 나타난 바, 5 mg/ml 농도에서 TT, PT 및 aPTT를 모두 15배 이상 연장시켰으며, 2.5 mg/ml 농도에서도 아스피린에 필적하는 혈액응고 저해 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 폐기되고 있는 고구마 소



**Fig. 1.** Diagrams of impedance changes during platelet aggregation after addition of aspirin and the extracts and solvent fractions of lees of sweet potato soju in whole blood aggregometer. (A) DMSO, (B) aspirin (0.25 mg/ml), (C) aspirin (0.5 mg/ml), (D) ethanol extract, (E)–(H) hexane fraction, ethylacetate fraction, butanol fraction and water residue of the ethanol extract prepared from lees of sweet potato soju, (I) hot water extract, and (J)–(M) hexane fraction, ethylacetate fraction, butanol fraction and water residue of the hot water extract prepared from lees of sweet potato soju, respectively. Platelet aggregation was induced by addition of 2.5  $\mu$ l of collagen (1 mg/ml) into cuvette containing 50  $\mu$ l of washed PRP and measured the impedance changes for 12 min.

Table 6. Platelet aggregation activities of the extracts and their solvent fractions of lees of sweet potato soju.

Chemicals/Samples (mg/ml)	Ethanol extract					Hot water extract				
	Amplitude ( $\Omega$ )	Slope ( $\Omega$ /min)	Lag time (sec)	Area under	PAR <sup>a)</sup> (%)	Amplitude ( $\Omega$ )	Slope ( $\Omega$ /min)	Lag time (sec)	Area under	PAR (%)
DMSO	22	3	16	154.3	100.0	22	3	16	154.3	100.0
Aspirin (0.25)	16	2	31	87.1	56.4	16	2	31	87.1	56.4
Aspirin (0.50)	4	0	122	26.7	17.3	4	0	122	26.7	17.3
Extract	28	4	20	213.9	138.6	27	6	16	238.4	154.5
Hexane fr <sup>b)</sup>	28	5	28	214.5	139.0	28	5	14	227.8	147.6
Ethylacetate fr	28	4	25	193.6	125.5	17	2	31	99.1	64.2
Butanol fr	22	3	22	148.1	96.0	28	4	18	206.4	133.8
Water residue	28	5	12	228.4	148.0	27	6	15	234.8	152.2

<sup>a)</sup>PAR: Platelet Aggregation Ratio.

<sup>b)</sup>fr: fraction. Data are presented as a representative result relative of independent three determinations. Amplitude is expressed as ohms by maximum extent of platelet aggregation, and slope (rate of reaction) is determined by drawing a tangent through the steepest part of curve. Area under is a calculated area in descent drawing during platelet aggregation.

주 주박의 EA 분획을 이용한 혈액응고 저해물질 개발이 가능함을 시사하고 있다.

#### 주박 추출물의 혈소판 응집저해 활성

먼저 용매 대조구로 사용된 DMSO의 혈소판 응집능을 평가하였으며, 그 결과 amplitude 22  $\Omega$ , area under 154.3을 나타내었다. 현재 상업용으로 이용되고 있는 혈소판 응집저해제인 아스피린(0.25 mg/ml)은 amplitude 16  $\Omega$ , area under 87.1을 나타내어 DMSO의 56.4% 혈소판 응집능을 나타내었으며, 농도의존적인 혈소판 응집저해를 나타내었다 (Fig. 1, Table 6). 고구마 소주 주박 ethanol 및 열수 추출물과 이들의 분획물을 대상으로 혈소판 응집능을 평가한 결과, 열수 추출물의 EA 분획물에서만 amplitude 17, area under 99.1의 값을 나타내어 아스피린과 유사한 64.2%의 혈소판 응집을 나타내었다. 상기의 연구결과는 폐기되고 있는 고구마 소주 주박의 효율적 재이용이 가능함을 제시하고 있으며, 고구마 소주 주박의 열수 추출물의 EA 분획이 항세균 및 항혈전제로 개발될 수 있음을 제시하고 있다.

#### 요약

고구마 소주는 전분과 섬유질이 많은 고구마를 발효시킨 후 상압증류하여 제조되어 특유의 부드러운 맛과 향미를 가진다. 본 연구에서는 별도의 용도가 없어 폐기되고 있는 고구마 소주 주박의 효율적인 이용을 위해, 주박의 ethanol 및 열수 추출물을 조제하고 이들을 순차적 유기용매 분획하여 각각의 hexane, ethylacetate (EA), butanol 분획물과 물 잔

류물을 조제하여 각 시료의 항균 및 항혈전 활성을 평가하였다. 그 결과, 주박의 ethanol 추출 효율이 열수 추출 효율보다 1.36배 높았으며, 분획물 중에서는 EA 분획물이 가장 높은 total polyphenol 함량을 나타냄을 확인하였다. 고구마 소주 주박의 추출물 및 분획물(0.5 mg/ml)은 인간 적혈구에 대한 용혈활성을 나타내지 않았으며, 열수 및 ethanol 추출물의 EA 분획물에서만 광범위 항세균 활성과 강력한 혈액응고 저해 활성이 나타났다. 또한 혈소판 응집저해 활성의 경우 열수 추출물의 EA 분획물에서만 아스피린과 유사한 응집저해를 나타내었다. 본 연구결과는 폐기되고 있는 고구마 소주 주박의 열수 추출물의 EA 분획이 신규의 항세균 및 항혈전제로 개발될 수 있음을 제시하고 있다.

#### Acknowledgments

This research was supported by High Value-added Food Technology Development Program (No. 112073-3), Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.

#### References

- Adachi A, Hamamoto H, Okano T. 2005. Use of lees materials as an adsorbent for removal of organochlorine compounds or benzene from wastewater. *Chemosphere* **58**: 817-822.
- Barnes SL, Sanders SA. 2012. Advances in functional use of sweet potato, [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* **4**: 148-154.
- Chen H, Qi X, He C, Yin Z, Fan D, Han G. 2013. Coagulation imbalance may not contribute to the development of portal

- vein thrombosis in patients with cirrhosis. *Thrombosis Res.* **131**: 173-177.
4. Cheon JE, Baik MY, Choi SW, Nam CN, Kim BY. 2013. Optimization of makgeolli manufacture using several sweet potatoes. *Korean J. Food Nutr.* **26**: 29-34.
  5. Cho HK, Lee JY, Seo WT, Kim MK, Cho KM. 2012. Quality characteristics and antioxidant effects during makgeolli fermentation by purple sweet potato-rcie nuruk. *Korean J. Food Sci. Technol.* **42**: 468-474.
  6. Cho YH, Cho JS, Kim JY, Kim US, Choi JH, Park JH. 2013. Quality characteristics of sulgidduk with makgeolli lees. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **23**: 227-233.
  7. Choi JH, Kim JS, Jo BS, Kim JH, Park HJ, An BJ, et al. 2011. Biological activity in functional cosmetic purple sweet potato extract. *Korean J. Food Presev.* **18**: 414-422.
  8. Cordeiro N, Freitas N, Faria M, Gouveia M. 2013. *Ipomoea batatas* (L.) Lam : a rich source of lipophilic phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* **61**: 12380-12384.
  9. Ferrari MD, Guigou M, Lareo C. 2013. Energy consumption evaluation of fuel bioethanol production from sweet potato. *Bioresour. Technol.* **136**: 377-384.
  10. Jeon HJ, Noda M, Murayama M, Matoba Y, Kumagai T, Sugiyama M. 2006. Identification and kinetic study of tyrosinase inhibitors found in sake lees. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 9827-9833.
  11. Jung HN, Kim HO, Shim HH, Jung HS, Choi OJ. 2012. Quality characteristics of low-salt yacon jangachi using rice wine lees during storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 383-389.
  12. Kang YJ, Park SJ, Bae K, Yoo JM, Pyo HB, Choi JH, et al. 2011. Ethyl acetate extract of Korean rice wine lees inhibits IgE-Mediated degranulation in rat basophile leukemia RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis in mice. *J. Life Sci.* **21**: 1364-1369.
  13. Kim JI, Jang HS, Kim JS, Sohn HY. 2009. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Decne. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 133-139.
  14. Kim MS, Sohn HY. 2014. Anti-thrombosis activity of the aerial parts of *Aruncus dioicus* var *kamtschaticus*. *J. Life Sci.* **24**: 515-521.
  15. Kim SM, Cho WK. 2006. Effect of takju (Korean turbid rice wine) lees on the serum glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J. Food Culture* **21**: 638-643.
  16. Kim, SM, Yoon CH, Cho WK. 2007. Quality characteristics of noodle added with Takju (Korean turbid rice wine) lees. *Korean J. Food Culture* **22**: 359-364.
  17. Kusano S, Abe H, Tamura H. 2001. Isolation of antidiabetic components from white-skinned sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **65**: 109-114.
  18. Kwak CS, Lee KJ, Chang JH, Park JH, Cho JH, Park JH, et al. 2013. In vitro antioxidant, anti-allergic and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from Korean sweet potato leaves and stalks. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **42**: 369-377.
  19. Kwon SC, Jeon TW, Park JS, Kwak JS, Kim TY. 2012. Inhibitory effect on tyrosinase, ACE, and xanthine oxidase and nitrite scavenging activities of Jubak (alcohol filter cake) extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 1191-1196.
  20. Lee HJ, Lee MK, Park I. 2006. Characterization of mushroom tyrosinase inhibitor in sweet potato. *J. Life Sci.* **16**: 396-399.
  21. Lee HS, Hong KH, Kim JY, Kim DH, Yoon CH, Kim SM. 2009. Blood pressure lowering effect of Korean turbid rice wine (Takju) lees extracts in spontaneously hypertensive rat (SHR). *Korean J. Food Culture* **24**: 338-343.
  22. Lee JH, Park SM, Park CD, Jung HJ, Kim HS, Yu TS. 2007. Characteristics of ju-bak and effect of ju-bak fertilizer on growth of crop plants. *J. Life Sci.* **17**: 1562-1570.
  23. Lee JS, Ahn YS, Chung MN, Kim HS. 2007. Biological activity of varieties, isolation and purification of antioxidants components in sweet potato. *Korean J. Breed Sci.* **39**: 296-301.
  24. Lee JS, Park YK, Ahn YS, Kim HS, Chung MN, Jeong BC, et al. 2007. Antioxidative and biological activities of extracts of sweet potato tips. *Korean J. Crop Sci.* **52**: 411-420.
  25. Lee JS, Shin MJ, Park YK, Ahn YS, Chung MN, Kim HS, et al. 2007. Antibacterial and antimutagenic effects of sweet potato tips. *Korean J. Crop Sci.* **52**: 303-310.
  26. Park JS, Chung BW, Bae JO, Lee JH, Jung MY, Choi DS. 2010. Effect of sweet potato cultivars and koji types on general properties and volatile flavor compounds in sweet potato soju. *Korean J. Food Sci. Technol.* **42**: 468-474.
  27. Seo GU, Choi SY, Kim TW, Ryu SG, Park JH, Lee SC. 2013. Functional activities of makgeolli by-products as cosmetic materials. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 505-511.
  28. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalcau reagent. *Methods Enzymol.* **299**: 152-178.
  29. Song J, Chung MN, Kim JT, Chi HY, Son JR. 2005. Quality characteristics and antioxidative activities in various cultivars of sweet potato. *Korean J. Crop Sci.* **50**: 141-146.
  30. Sweeney JD, Hoerning LA, Behrens AN, Novak E, Swank RT. 1990. Thrombocytopenia after desmopressin but absence of *in-vitro* hypersensitivity to ristocetin. *Am. J. Clin. Path.* **93**: 522-525.
  31. Takahashi K, Izumi K, Nakahata E, Hirata M, Sawada K, Tsuge K, et al. 2014. Quantification and structural determination of glucosylceramides contained in sake lees. *J. Oleo. Sci.* **63**: 15-23.
  32. Valentina U, Fabcic J, Stampar F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**: 185-192.
  33. Wanatanabe T, Yamamoto A. 2009. Anti-obesity effect of sake lees indigestive products. *Food Style* **21** **13**: 80-83.
  34. Wang SJ, Lee HJ, Cho JY, Jang MY, Park KH, Moon HH. 2012. Inhibition effect against the rat blood plasma oxidation of the makgeolli (Takju) Korean rice wine. *Korean J. Food Preserv.* **19**: 116-122.
  35. Woo KS, Ko JY, Kim HY, Lee YH, Jeong HS. 2013. Changes



- in quality characteristics and chemical components of sweet potatoes cultivated using different methods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **45**: 305-311.
36. Yoo JM, Kang YJ, Pyo HB, Choung ES, Park SY, Choi JH, *et al.* 2010. Anti-wrinkle effects of Korean rice wine cake on human fibroblast. *J. Life Sci.* **20**: 1838-1843.
37. Zhang L, Zhao H, Gan M, Jin Y, Gao X, Chen Q, *et al.* 2011. Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales. *Biore-sour. Technol.* **102**: 4573-4579.