

Antimicrobial and Antioxidant Effects of Functional Healthy Drinks from Some Medicinal Herbs and Coffee Mixture

In Hae Kim¹, JinKyun Kim² and Jae Hwa Lee^{1*}

¹Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical & Life Science, Silla University, Busan 46958, Korea

²The Gil Wondu Coffee, Kyungnam 50595, Korea

Received December 11, 2015 / Revised August 5, 2016 / Accepted October 13, 2016

In this study, our investigated the antioxidant activities and compared other bioassay including antimicrobial, antifungal activities and total polyphenol contents of functional healthy drinks from some medicinal herbs and coffee mixture. The kind of medicinal herbs, chaga mushroom (*Inonatus obliquus*), moringa (*Moringa Oleifera*), gravila (*Anona muricata*), mulberry (*Morus alba*), Dioscoreaceae (*Dioscorea quinqueloba*), Berberidaceae (*Epimedii Herba*), Asteraceae (*Artemisia capillaries*) and siberian ginseng (*Acanthopanax senticosus*). The functional healthy drinks, named C1, C2, C3, C4, C5, C6 and C7 were summered in Table 1. The *in vitro* antimicrobial activity was examined against Gram positive bacteria, Gram negative bacteria and a fungus. The functional healthy drinks were broad spectrum of antimicrobial activity without antifungal activity against *Candida albicans* KCTC7965. In particularly, the C7 showed strong activity against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* CCARM3089, CCARM 3115 and CCARM3561. And, the C7 showed 88% of free radical scavenging effect on 0.5 mg/ml using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Functional healthy drink C7 was mulberry extracts from *Morus alba*, chaga mushroom from *Inonatus obliquus* and moringa from *Moringa olifera* in additionally coffee extracts. Its results confirm that the potential use of mulberry extracts as a good source of antibacterial compounds or as a health promoting food and health drinks.

Key words : Antifungal activity, antimicrobial activity, functional healthy drinks, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, total polyphenol contents

서 론

음료는 갈증해소나 기호 충족, 심리적 위안, 건강보조 기능 등 다양한 기능을 지니고 있는 식품군으로 기능성 음료는 건강에 도움이 되며 인체 내에서 특정한 역할을 해줌으로써 건강을 개선해 주는 "Medical Food" 개념의 음료로 섭취 시, 다이어트, 두뇌 활성화, 콜레스테롤 저하와 같은 체내 개선 효과를 지닌 음료를 말한다[5, 22]. 이러한 건강음료에 대한 소비자들의 관심과 요구가 증가함에 따라 기호식품으로만 인식되어 오던 커피의 기능성에 대한 연구도 활발히 진행되어 커피의 항균, 항암, 항산화 활성 등이 보고되고 있다. 커피는 다른 식품에 비해 폴리페놀 등의 항산화 성분 함량이 높아서 기호식품을 넘어서 약리적인 효과에도 많은 연구가 이루어지고 있는 실정이다[26].

차가 버섯(*Inonatus obliquus*)은 자작나무에 자생하는 버섯

으로 압, 위염, 궤양 및 결핵치료에 주로 이용하였다[1]. 최근 연구를 통해 polyphenolic 화합물, triterpenoide steroid와 betulin 등과 같은 생리활성 물질을 함유하는 것으로 알려졌다 [11, 13]. 박 등[29]은 차가 버섯 내 polyphenolic 화합물이 체내 림프구에서 DNA로의 산화적 손상 예방효과를 보고하였다. 모링가(*Moringa Oleifera*)는 9 가지의 필수아미노산과 비타민의 함량이 높으며 잎과 줄기 씨앗은 약재로 쓰인다[34]. 특히 모링가 잎은 다량의 항산화 물질을 함유하고 있어, 항산화 활성[17, 20], 피부개선효과[21], 유방암 억제작용[4] 및 항당뇨 활성[27] 등이 보고되어 있다. 가시여지라고 불리는 그라비올라(*Anona muricata*)는 주로 약용으로 사용되며, 다양한 생리활성 물질을 함유하는 것으로 알려져 있다. 원산지는 열대에 분포하며 국내에서는 재배하는 나무의 잎은 약용으로 끓여 먹고, 유럽과 미국, 남미에서는 과육을 상용하며, 섬유질과 단백질, 비타민, 무기질인 칼륨과 인이 풍부한 식물로 알려져 있으며, 활성은 항암, 항균 및 항바이러스 작용이 있는 것으로 보고되어 있다[12, 30]. 가시오가피(*Acanthopanax senticosus*)는 한반도와 중국에 자생하는 다년생 낙엽관목으로서 고전 한의서에서는 발산, 구풍 작용 등의 대사 촉진제와 강장제, 기관지 천식 치료, 근 골격 증진, 항암, 항노화에 효과적이며 약리 효능이 탁월한 것으로 기록되어 있다[3, 7, 25]. 뽕나무 열매인 오디(*Morus alba*)는 안토시아닌 계열의 색소를 다량 함유한 과실로

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5748 Fax : +82-51-999-5748

E-mail : jhalee@silla.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

항암, 항염증 및 항바이러스 효과를 지닌 것으로 알려져 있다 [10, 28]. 단풍마(*Dioscorea quinquelaba*)는 마과(*Dioscoreaceae*), 마속(*Dioscorea* Linne)에 속하는 다년생 덩굴식물로 그 뿌리는 진해작용, 거담작용, 천식억제작용, 혈압강화작용 등이 있다고 알려져 있다[15]. 그 외에도 본 연구에서 사용한 재료로는 음양곽(*Epimedium Herba*)은 삼지구엽초(*Epimedium koreanum*) 혹은 기타 동속 근연식물(*Berberidaceae*)의 지상부를 건조한 생약으로써 한방에서는 정장제로 사용되고 있고[9], 그 외의 재료들로는 인진쑥(*Artemisia capillaries*)도 첨가하여 기능성 건강음료의 재료로 사용하였는데 알려진 대로 쑥은 항암치료와 관련된 식용작물로서 많이 섭취되고 있으며, 쑥의 성분 및 약리 작용은 널리 알려져 있다[14].

본 연구에서는 여러 종류의 약용 식물을 이용하여 일곱 종류의 기능성 음료를 제조 하였으며 항균활성을 조사하였다. Gram positive bacteria와 Gram negative bacteria 및 항생제 내성균주에 대한 항균활성도 수행하였다. 항생제 내성균주로는 Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)를 사용하였고. 특히 MRSA는 1940년 penicillin이 발견되어 광범위한 살균력과 *Staphylococcus aureus*에 높은 살균력을 보여 왔으나 1950년대에 penicillin에 대한 내성이 야기되고, 1950년대 중반 이후에는 효력을 상실하였다. 이러한 Penicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (PRSA)에 새로운 항생제로 methicillin이 널리 사용되었으나 1961년에 영국에서 MRSA가 처음 보고되었다. 이후 MRSA에 대한 병원 내 감염이 미국을 비롯한 여러 나라에서 보고되었고, 1980년대에 우리나라에서도 MRSA 발생을 보고하고 있으며 대표적인 병원 내 감염증의 사례로 알려져 있다. 또한 항생제를 많이 사용할수록 항생제에 대한 내성 및 내성균주의 출현 빈도가 증가하여 문제시되고 있다[19, 23]. MRSA가 일반 *Staphylococcus aureus*와 다른 점은 일반 *Staphylococcus aureus*가 methicillin에 감수성을 보이는 반면 MRSA는 methicillin에 내성을 지닐 뿐 아니라, 베타락탐(β -lactam) 계열 항생제인 cephalosporin, ampicillin, nafcillin 및 거의 모든 항생제에 내성을 지니고 있기 때문에 감염 시 환자의 치료에 많은 어려움을 보고하고 있다[16].

따라서 본 연구에서는 여러 종류의 약용 식물을 이용하여 일곱 종류의 기능성 음료를 제조 하였으며 원두커피를 첨가하여 음용에 도움을 주었고 더불어 커피의 약리적인 시너지 효과를 첨가하였다. 제조한 기능성 음료의 항균 활성 및 항곰팡이 활성 및 항산화 활성 분석을 통해 식의약품 소재로서의 이용 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 기능성음료 제조

본 연구에 사용된 기능성 건강음료의 재료로는 차가 버섯(*Inonotus obliquus*, Russia), 모링가(*Moringa Oleifera*, Philip-

pines)와 그라비올라(*Anona muricata*, Philippines) 등을 각각 러시아와 필리핀에서 수입하여 사용하였고, 그 외에 단풍마(*Dioscorea quinquelaba*), 음양곽(*Epimedium Herba*), 가시오가피(*Acanthopanax senticosus*), 인진쑥(*Artemisia Capillaris*), 오디(*Morus alba*) 등은 국내에 자생하는 원료를 사용하였다. 위에 열거한 시료들은 60°C, 24시간 열수 추출하여 맛과 향을 첨가하기 위하여 커피를 첨가하였으며, 커피는 더치 커피(Dutch coffee, cold brew)를 방식을 사용하여 추출하였으며, 각각의 음료들은 농축 후, 동결 건조하여 -20°C에 보관하였다. 기능성 건강음료의 구성성분은 Table 1에 나타내었다.

기기 및 시약

본 연구에 사용한 UV-visible Spectrophotometer는 Mecasys (Korea), ELISA Multiscan Reader는 Thermo scientific (Finland), Fluorescence Spectrophotometer는 Infinite F200 Pro(TECAN/Austria) 제품을 사용하였다.

Millex-LCR13 (0.5 μ m), Ultra free-MC (0.45 μ m)와 Syringe filter (0.45 μ m)는 Water사(Miliford, MA, USA)에서 구입하였고 Tryptic Soy Broth (TSB)와 Lactose-Boullin (LB), Muller-Hinton Broth (MHB) 및 Potato Dextrose Broth (PDB)는 Merk 사(Darmstadt, Germany)에서 L-ascorbic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 및 Folin-Ciocalteu phenol Reagent는 Sigma (St. Louis MO, USA)로 부터 구입하여 사용하였다. HPLC-grade의 EtOH, H₂O는 TEDIA (Ohio, USA)에서 구입하였고, 그 외에 모든 특급 시약을 사용하였다.

항균활성

제조된 기능성 음료의 항균활성을 측정하기 위하여 Radial diffusion assay법을 사용하였고 방법은 다음과 같다[24]. *Escherichia coli* D31을 37°C로 TSB에서 mid-logarithmic phase 까지 배양한 후 1.0 M phosphate buffer solution (pH 6.7)으로 세 번 세정한 균배양액 1.0 ml(OD₅₇₀=0.1, 5×10⁷ CEU/ml)을 LB와 혼합하여 사용하였다. 준비된 LB 배지에 시료를 분주하여 37°C, 18시간 배양 후 clear zone의 크기로 활성을 측정하였다.

최소저해농도

각 기능성 음료의 MIC (Minimal Inhibitory Concentrations)를 조사하기 위해 Gram positive bacteria로는 *Bacillus subtilis* PM125, *Micrococcus luteus* KCTC1056 및 *Staphylococcus aureus* KCTC1946을 항생제내성 균주로는 Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) CCARM3561, CCARM3115, CCARM3089 등을 사용하였고, 균주는 항생제내성 균주은행(Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes, CCARM)에서 분양 받아 사용하였다. Gram negative bacteria로는 *Escherichia coli* D31, *Escherichia coli* KCTC1184, *Enterobacter areogense* KCTC2190, *Klebsiella pneumonia* KCTC2208,

Table 1. Preparation of functional health drinks by mixing rate of materials (g/l)

Sample name	Sample	Concentrations (g/l)
Healthy drink C1	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l
Healthy drink C2	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	Graviola (<i>Anona muricata</i>)	1.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l
Healthy drink C3	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	<i>Dioscorea quinqueloba</i>	2.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l
Healthy drink C4	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	Siberian ginseng (<i>Acanthopanax senticosus</i>)	1.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l
Healthy drink C5	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	<i>Epimedium herba</i>	1.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l
Healthy drink C6	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	<i>Artemisia capillaris</i>	1.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l
Healthy drink C7	Chaga mushroom (<i>Inonatus obliquus</i>)	5.0 g/l
	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>)	1.0 g/l
	Mulberry (<i>Morus alba</i>)	1.0 g/l
	Coffee	10.0 g/l

Pseudomonas aeruginosa KCTC2004, *Salmonella typhimurim* KCTC1925, 그리고 어병세균으로는 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC2471를 사용하였다. 이 균주들은 한국미생물자원센터 (Korean Collection for Type Culture, KCTC)에서 분양 받아 본 연구에 사용하였다.

MIC 측정은 broth dilution method를 사용하였다[24]. 각각의 균주는 농도를 Muller-Hinton broth에 흡광도 1.0 ml(OD₅₇₀ = 0.1, 5×10⁷ CEU/ml)로 조절한 후 실험에 사용하였고 96 well plate에 균 배양액 Muller-Hinton broth 100 µl와 시료인 기능성 건강음료를 농도별로 희석한 용액 100 µl를 차례대로 첨가하여 37°C, 18시간 배양 후, ELISA Multiscan Reader (Thermo scientific, Finland)를 이용하여 630 nm에서 측정하였다. 어병세균인 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC2471는 30°C에서 배양하여 실험에 적용하였다.

항곰팡이 활성

항곰팡이 활성 측정은 liquid growth assay method로 측정하였다[8]. *Candida albicans* KCTC7965는 Potato Dextrose Broth를 이용하여 30°C에서 48시간 배양하였다. 곰팡이의 농

도는 1×10⁶ CFU/ml이 되도록 희석하여 96 well plate에 곰팡이 배양액과 각 시료를 혼합한 후 30°C에서 48시간 배양 후, ELISA Multiscan Reader (Thermo scientific, Finland)를 이용하여 630 nm에서 측정하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

각 기능성 음료의 총 폴리페놀 함량은 AOAC의 Folin-Denis법을 일부 변형하여 비색하였다[31]. 그 방법을 살펴보면 시료 100 µl에 2% sodium carbonate (Na₂CO₃) 2.0 ml을 혼합 후, 3분간 실온에 정치한 다음, 1.0 N Folin-Ciocalteu phenol Reagent (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 2.0 ml, 첨가하여 25°C에서 30분간 반응하였다. 그 후, ELISA Multiscan Reader (Thermo scientific, Finland)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 표준시약으로 이용하여 정량하였다.

항산화 활성(DPPH 라디칼 소거능)

가장 일반적이고 대표적인 항산화 측정 실험은 DPPH (1,1-

diphenyl-2-picrylhydrazyl) 방법으로 free radical scavenging activity를 측정하였다[18]. 에탄올에 용해한 0.2 mM DPPH 용액 60 µl와 농도별로 조제한 시료용액 120 µl를 96 well plate에 넣어 실온에서 15분간 반응시킨 후, ELISA Multiscan Reader (Thermo scientific, Finland)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다. 표준시료로는 Sigma (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 L-ascorbic acid (Vit. C)를 사용하였고, 시료의 최종농도는 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.12 및 0.06 mg/ml이 되도록 제조하였다. 이때 유효농도 50(EC₅₀) 값은 free radical 소거가 50% 감소하는데 필요한 시료의 농도(Effect concentration, EC₅₀, mg/ml)로 표기하였다. DPPH radical scavenger activity (%)는 시료 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$RSA(\%) = \frac{1 - \text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \times 100$$

결과 및 고찰

항균활성 및 항곰팡이 활성

각 기능성 음료의 항균활성 측정을 위해 시료를 동결건조 후 각각의 농도에 맞추어 실험을 진행하였다. 항균 및 항곰팡이에 대한 활성인 최소저해농도(MIC, Minimal Inhibitory Concentration)를 살펴보면 Gram positive bacteria인 *B. subtilis* PM125와 *M. luteus* KCTC1056에 대하여는 기능성 음료 C1에서 C7까지 활성을 나타내지 않았다. 반면에 황색포도상구균인 *Staphylococcus aureus* KCTC1916에 대한 활성은 C4, C5, C6 및 C7까지 활성을 나타내었다(Table 2). 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)은 자연계에 널리 분포되어 있는 병원성 세균의 하나로서 식중독뿐만 아니라 피부의 화농, 중이염, 방광염 등 화농성질환을 일으키는 원인균으로 알려져 있으며, C4에서 C7의 활성 농도는 0.25 mg/ml임을 확인 할 수 있었다. 하지만 C3의 단풍마(*Dioscorea quinquelaba*)와 C2(*Anona muricata*)의 그라비올라에서는 항균활성을 확인하지 못하였다. C4, C5, C6 및 C7의 시험군에서 항균활성을 보이는 것으로 미루어 볼 때, 차가 버섯과 모링가에 약용식물을 첨가하여 음료를 만들 경우 강한 활성을 나타내는 것으로 생각된다. 특히, C7인 경우 *Staphylococcus aureus*에서 뿐만 아니라 항생제 내성균주인 MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) CCARM3089에서 0.06 mg/ml, MRSA CCARM 3115 0.06 mg/ml, MRSA CCARM3561 0.06 mg/ml의 활성을 나타내었다. 항생제 내성균주인 MRSA에 대하여 낮은 농도에서 높은 활성을 나타내는 것으로 보아 면역기능 활성에 많은 시너지 효과를 나타내며, 기능성 음료로서 좋은 장점이 될 것으로 생각된다.

다음으로 Gram negative bacteria를 살펴보면 *Escherichia coli* D31에서 1.0 mg/ml의 농도에서 C1에서 C7의 모두 활성을 나타내었고, 다른 Gram negative bacteria인 *Escherichia coli*

KCTC1184, *Enterobacter areogense* KCTC2190, *Klebsiella pneumonia* KCTC2208, *Pseudomonas aeruginosa* KCTC2004, *Salmonella typhimurim* KCTC1925에는 활성을 보이지 않았고, 또한, 어병세균인 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC2471에 대한 활성도 관찰 할 수 없었다.

항곰팡이 활성은 *Candida albicans* KCTC7965에 대한 활성을 보이지 않았다. 따라서 항균활성은 Gram negative bacteria보다 Gram positive bacteria들에게 더 강한 활성을 나타내었고, 특히 *Staphylococcus aureus*와 MRSA에 대한 활성을 나타내는 특성을 보여 주고 있다. 오디 추출물인 C7은 항생제 내성균주에 낮은 농도에서 높은 활성을 나타내는 장점을 보여 주었으며 기능성 음료의 좋은 재료임을 확인 할 수 있었다.

총 폴리페놀 함량 및 항산화 측정

폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사물의 하나로 항산화 작용, 항혈전, 고지혈증 및 지방간 억제작용 등의 활성을 지니고 있다. 페놀의 함량은 ROS에 의한 세포 수준이나 DNA 등의 손상을 억제하기 위해 방어 메커니즘을 제공한다고 알려져 있다[2, 35]. 일곱 종류의 기능성 음료의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타내었고, gallic acid로 정량 시 좋은 직선성을 나타내었다. 그 결과를 보면 C1; 6.20 mg/g, C2; 5.93 mg/g, C3; 5.09 mg/g, C4; 5.00 mg/g, C5; 3.79 mg/g, C6; 7.37 mg/g 및 C7; 6.88 mg/g의 결과를 확인 할 수 있었다. Fig. 1을 보면 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 나타내는 기능성 음료로는 인진쑥을 첨가한 C6을 확인할 수 있었고, 가장 낮은 함량을 지닌 기능성 음료인 C4보다 2배 정도 높은 총 폴리페놀 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 항산화 활성에도 영향을 미치며 항균활성에 있어서 박테리아의 세균막과 반응함에 있어서 페놀 화합물이 많은 역할을 하는 것으로 추정된다. 특히, Gram positive bacteria인 *Staphylococcus aureus*와 MRSA에 특이적인 활성이 있는 것으로 보아 세포막 구성인 LPS (Lipopolysaccharide)에 상호작용하여 항균활

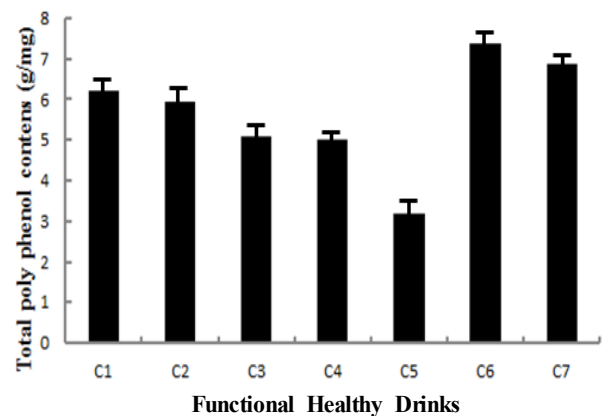


Fig. 1. Total polyphenol contents expressed gallic acid equivalents in functional healthy drinks.

성을 나타내는 것으로 생각되며, 앞으로 이러한 메커니즘을 규명하기 위해 심도 있는 실험적 기법을 추가하여야 할 것으로 생각된다.

각 기능성 건강음료는 전자 공여를 통한 free radical 소거능을 알아보는 방법으로 DPPH 방법을 이용하여 활성을 측정하였다. DPPH는 안정한 유리기를 갖는 물질로 유헴족 아미노산과 방향족 아민 등의 물질과 만나면 유리기가 소거되어 탈색되고, 산화적 스트레스를 유발하는 free radical은 살아있는 조직과 세포에 단백질 산화, DNA 손상과 더불어 지질 과산화의 원인이 되며, 암, 종양 및 성인병 등 각종 질병을 발생케 하는 원인이 되고 있다[33, 36].

본 연구에서 각 기능성 음료를 동결 건조하여 건조중량으로 단계별 농도에 맞추어 실험을 진행하였고, 그 결과를 Fig. 2에 표현하였으며, 먼저 C1의 결과인 Fig. 2A를 보면 2.0 mg/ml

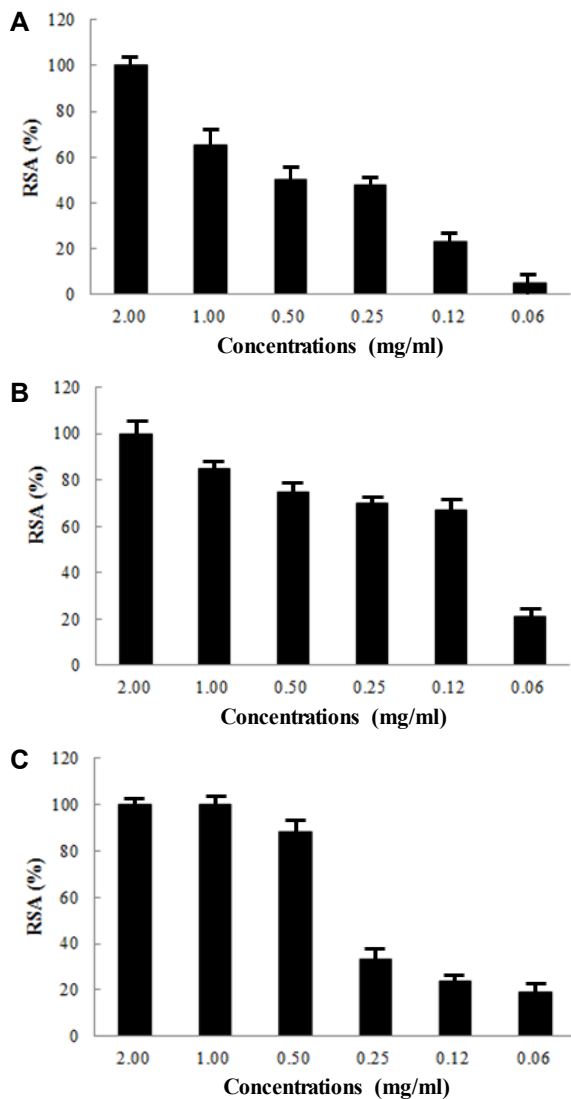


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activities of different functional healthy drinks in C1 (A), C3 (B) and C7 (C).

(100%), 1.0 mg/ml(65%), 0.5 mg/ml(50%), 0.25 mg/ml(48%), 0.12 mg/ml(20%), 0.06 mg/ml(5%)를 나타내었고, Fig. 2B인 단풍마(*Dioscorea quinquelaba*)를 첨가한 기능성 음료인 C3의 경우 비교적 높은 활성을 나타내었으며, 특히 EC₅₀의 농도가 가장 낮게 나타내었다. 차가 버섯(*Inonotus obliquus*)과 모링가(*Moringa oleifera*) 오디 추출물(*Morus alba*)을 첨가한 C7의 경우 본 실험에서 항산화 활성이 가장 높게 나타났(Fig. 2C). 오디 추출물을 첨가한 시료가 활성이 높은 것으로 보아 오디 추출물이 free radical 소거능력이 뛰어나며, 항산화 활성이 항균 능력과도 연결되어 박테리아 생체막과의 상호작용에 유리하게 작용하여 항균능력을 나타내는 것으로 생각된다. 차가 버섯, 모링가, 오디 추출물 및 커피는 기존에 많이 알려진 대표적인 항산화 물질을 많이 함유하고 있는 시료들이며[6, 32], 특히 오디는 안토시아닌이 풍부한 과즙으로 알려져 있고 이러한 결과가 C7의 항산화 활성으로 나타내었다. 또한, Fig. 3을 보면 EC₅₀인 0.5 mg/ml에서의 항산화 활성은 C7 (88%)가 가장 높게 나타내었고 C5 (41%)가 제일 낮게 활성을 보였다. 같은 농도에서 활성의 크기를 보면 C7 > C3 ≥ C4 > C1 > C5 ≥ C6 > C2의 순으로 나타내었다. 최근에는 유해 활성산소가 세포가 미치는 악영향을 방어해주는 항산화 식품이 글로벌 건강기능식품 시장의 대체를 이루고 있는데 C7은 항산화 활성과 더불어 항균활성에서도 두각을 나타내었으며 항생제 내성 균주인 MRSA에도 활성을 나타내는 것으로 보아 기능성 음료로서 좋은 재료임을 확인 할 수 있었다.

따라서 본 연구에서는 기존의 약리 활성이 있는 약용식물들을 조합하여 마시기 어려운 맛과 향을 원두커피를 첨가함으로써 마시고 쉽고 현대인에게 좀 더 친숙한 일곱 가지의 기능성 음료를 제조하였다. 그 각각의 기능성 음료를 C1에서 C7으로 명명하였으며, C1에서 C7의 항균활성과 항산화 및 총 폴리페놀 함량을 측정하여 기능성 음료로서의 기본적인 데이터를 조사하였다. 이러한 결과를 바탕으로 각 기능성 음료의 생리

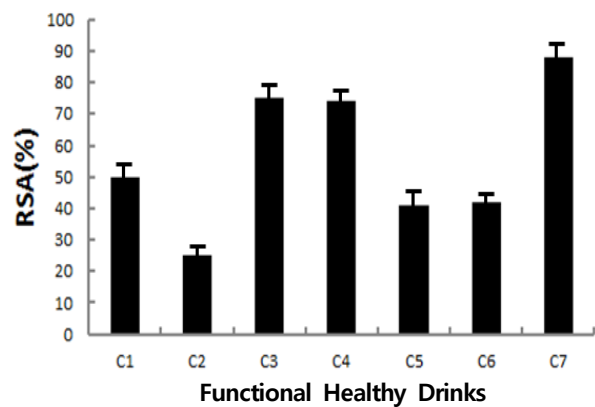


Fig. 3. DPPH free radical scavenging activities of different functional healthy drinks. EC₅₀ values (0.5 mg/ml) were defined as the sample concentrations required for 50% the radical to be scavenged.

활성의 기초자료를 제공하고, 다양한 기능성 음료뿐 만 아니라 고부가가치 기능성 건강 제품을 창출 할 수 있는 것으로 생각 된다.

감사의 글

이 논문은 2015년도 부산광역시의 재원으로 지원을 받아 수행된 Brain Busan 21 (BB21, 과제번호 2016-04-002) 사업의 연구비로 수행되었습니다.

References

- Baek, G. H., Jeong H. S., Kim, H., Yoon, T. J., Suh, H. J. and Yu, K. W. 2012. Pharmacological activity of chaga mushroom on extraction conduction and immunostimulating polysaccharide. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1378-1384.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Bohn, B., Nebe, C. T. and Birr, C. 1987. Flow-cytometric studies with *Eleutheroacoccus senticosus* extract as an immunomodulatory agent. *Arzneimittel-Forschung* **37**, 1193-1197.
- Cho, H. J. and Chang, Y. C. 2014. Extract of moringa root inhibits PMA-induced invasion of breast cancer cells. *J. Life Sci.* **24**, 8-13.
- Choi, W., Choi, J. Y. and Yon, H. S. 2013. A study on purchasing characteristics on health functional beverage according to food-related lifestyle. *J. Hotel Resort* **12**, 179-196.
- Chu, Y. F., Brown, P. H., Lyle, B. J., Chen, Y., Black, R. M., William, C. E., Lin, Y. C., Hsu, C. W. and Cheng, I. H. 2009. Roasted coffees high in lipophilic antioxidant and chlorogenic acid lactones are more neuroprotective than green coffees. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 9801-9808.
- Fujikawa, T., Yanaguchi, A., Mortia, I., Takeda, H. and Nishibe, S. 1996. Protective effects of *Acanthopanax senticosus* harms from hokkaido and its components on gastric ulcer in restrained cold water stressed rats. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 1227-1230.
- Gibson, B. W., Tang, D., Mandrell, R., Kelly, M. and Spindel, E. R. 1991. Bombinin-like peptides with antimicrobial activity from skin secretions of asian toad, *Bombina orientalis*. *J. Biol. Chem.* **266**, 23103-23111.
- Ha, B. J., Kim, H. J., Lee, S. H., Ha, J. M., Lee, S. H., Lee, J. H., Lee, D. G., Park, E. K. and Nam, C. S. 2005. The hepatoprotective effects of *Epimedii herba* through the anti-oxidation. *J. Life Sci.* **15**, 572-577.
- Havsteen, B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141-1145.
- Huang, N. L. 2002. A mysterious medicinal fungus in russia: *Innotus obliquus*. *Chinse J. Edible Mushroom* **21**, 7-8.
- Jaramillo, M. C., Arango, G. J., González, M. C., Robledo, S. M. and Velez, I. D. 2000. Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* precarp. *Fitoterapia* **71**, 183-186.
- Ju, H. K., Chung, H. W., Hong, S. S., Park J. H., Lee, J. M. and Kwon, S. W. 2010. Effect of steam treatment of soluble phenolic content and antioxidant activity of the chaga mushroom (*Innotus obliquus*). *Food Chem.* **119**, 619-325.
- Jung, M. J., Yin, Y., Heo, S. I. and Wang, M. H. 2008. Antioxidant and anticancer activities of extract from *Artemisia capillaries*. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**, 194-198.
- Kim, H. B., Kim, S. Y., Ryu, K. S., Lee, W. C. and Moon, J. Y. 2001. Effect of methanol extract from mulberry fruit on the lipid metabolism and liver function in cholesterol-induced hyperlipidemia rat. *Kor. J. Seric. Sci.* **43**, 104-108.
- Kim, I. H., Lee, D. G., Lee, S. H., Ha, J. M., Ha B. J., Kim, S. G. and Lee, J. H. 2007. Antibacterial activity of *Ulva lactuca* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Biotechnol. Bioprocess. Eng.* **12**, 579-582.
- Kim, K. W., Jung, S. H., Hwang, Y. J. and Park, J. K. 2015. Effect of medium molecular weight chitosan on antioxidant activity of *Moringa oleifera*. *J. Chinin. Chitosan* **20**, 27-33.
- Kitagaki, H. and Tsugama, M. 1999. 1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) scavenging ability of sake during storage. *J. Biosci. Bioeng.* **87**, 328-332.
- Klimek, J., Marsik, F., Bartlett, M., Weir, B., Shea, P. and Quintiliani, R. 1976. Clinical, epidemiological and bacteriologic observations of an outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* at a large community hospital. *Am. J. Med.* **61**, 340-345.
- Kwon, Y. R. and Youn, K. S. 2014. Antioxidant activity and physiological properties (*Moringa oleifera* Lam) leaves extracts with different solvents. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 831-837.
- Lee, H. J. and Chang, Y. C. 2012. Suppression of TNF- α -induced inflammation by extract from different parts of moringa in HaCaT cells. *J. Life Sci.* **22**, 1254-1260.
- Lee, J. H., Yang, J. E. and Chung, L. N. 2012. Sensory characteristic and drivers of liking for functional beverages. *Kor. J. Food Cookery Sci.* **28**, 741-751.
- Lee, J. W., Ji, Y. J., Yu, M. H., Im, H. G., Hwangbo, M. H. and Lee, I. S. 2005. Antimicrobial effect of extract of *Glycyrrhiza uralensis* on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **37**, 456-464.
- Lehrer, R. I., Rosenmen, M., Harwig, S., Jackson, R. and Eisenhauer, P. 1991. Ultrasensitive assays for endogenous antimicrobial polypeptides. *J. Immuno. Methods* **137**, 167-173.
- Lim, S. Y., Leem, J. Y., Lee, C. S., Jang, Y. J., Park, J. W. and Yoon, S. 2007. Antioxidant and cell proliferation effect of *Acanthopanax senticosus* extract in human osteoblast-like MG-63 cell line. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **39**, 694-700.
- Lim, Y. G., Shin, J. Y., Kim, H., Baek, G. H., Yu, K. W., Jeong, H. S. and Lee, J. S. 2014. Anti-adipogenic effect of fermented coffee with *Monascus ruber* mycelium by solid state culture of green coffee beans. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 624-629.
- Park, S. H. and Chung, Y. C. 2012. Anti-fibrotic effects by moringa root extract in rat kidney fibroblast. *J. Life Sci.* **22**, 1371-1377.
- Park, S. W., Jung, Y. S. and Ko, K. C. 1997. Quantitative analysis of anthocyanins among mulberry cultivars and their pharmacological screening. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **38**,

- 722-724.
29. Park, Y. K., Lee, H. B., Jeon, E. J., Jung, H. S. and Kang, M. H. 2004. Chaga mushroom extract inhibition oxidative DNA damage in human lymphocytes as assessed by comet assay. *Biofactors* **21**, 109-112.
 30. Santos, A. F. and Sant'Ana, A. E. G. 2001. Molluscicidal properties of some species of *Annona*. *Phytomedicine* **8**, 115-120.
 31. Shingleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagents. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
 32. Shin, J. Y., Kim, H., Kim, D. G., Baek, G. H., Jeong, H. S. and Yu, K. W. 2013. Pharmacological activities of coffee roasted from fermented green coffee bean with fungal mycelia in solid-state culture. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 487-496.
 33. Shon, M. Y., Seo, J. K., Kim, H. J. and Sung, N. J. 2001. Chemical compositions and physiological activities of doraji (*Platycodon grandiflorum*). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 717-720.
 34. Taha, N. R., Amin, H. A. and Sultan, A. A. 2015. The protective effect on *Moringa oleifera* leaves against cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity in rats. *Tissue Cell* **47**, 94-105.
 35. Voya, J., Belinky, P. A. and Aviram, M. 1997. Antioxidant constituents from licorice roots: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Radic. Biol. Med.* **23**, 241-251.
 36. Wei, C. C., Yu, C. W., Yen, P. L., Lin, H. Y., Chang, S. T., Hsu, F. L. and Liao, V. H. 2014. Antioxidant activity, delayed aging, and reduced amyloid- β toxicity of methanol extracts of tea seed pomace from *Camellia tenuifolia*. *J. Agric. Food. Chem.* **62**, 10701-10707.

초록 : 약용식물과 커피 혼합물로부터 기능성 건강음료의 항균 및 항산화 효과

김인혜¹ · 김진균² · 이재화^{1*}

(¹신라대학교 의생명과학대학 제약공학과, ²더 길 원두커피)

본 연구에서 기존의 생리활성이 알려진 차가 버섯(*Inonatus obliquus*), 모링가(*Moringa oleifera*), 그라비올라(*Annona muricata*), 단풍마(*Dioscorea quinqueloba*), 가시오가피(*Acanthopanax senticosus*), 음양곽(*Epimedium herba*), 인진쑥(*Artemisia capillaris*), 그리고 오디(*Morus alba*) 추출물과 원두커피를 혼합하여 기능성 음료를 제조하였으며, 각각의 음료를 C1에서 C7으로 명명하였다. 각 음료의 항균, 항곰팡이, 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량을 조사하였다. 항균 및 항곰팡이에 대한 활성은 Gram positive bacteria인 *Staphylococcus aureus*에 대하여 C4, C5, C6 및 C7이 활성을 나타내었고, 특히 C7인 경우 항생제 내성균주인 MRSA에 대하여 강한 활성을 나타내었다. Gram negative bacteria에 대한 결과는 *E. coli* D31에 대하여 1.0 mg/ml의 농도에서 C1에서 C7 모든 음료가 활성을 나타내었고, 반면에 곰팡이인 *Candida albicans*에 대하여는 활성을 나타내지 않았다. 총 폴리페놀 함량은 C6의 경우가 7.37 mg/g으로 가장 높은 결과를 나타내었고, C5의 경우는 3.78 mg/g으로 가장 낮은 함량을 나타내었다. DPPH로 항산화 능력을 측정된 결과, C1에서 C7 모두 강한 활성을 나타내었고, 특히 C7인 경우 0.5 mg/ml의 농도에서 88%라는 높은 free radical 소거능력을 나타내었다. 이러한 결과를 바탕으로 각 기능성 음료의 생리활성의 기초자료를 제공하고 다양한 기능성 건강음료뿐 만 아니라 고부가가치 기능성 제품을 창출 할 수 있는 근거를 마련한 것으로 생각된다.