

# 천년초의 융합발효를 통한 특성 연구

정영미<sup>1</sup>, 이동섭<sup>2</sup>, 권기상<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>(주)순자식품, <sup>2</sup>경운대학교 보건바이오학과, <sup>3</sup>경운대학교 임상병리학과

## The Characterization of *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa*

Young-Mi Jung<sup>1</sup>, Dong Sub Lee<sup>2</sup>, Kisang Kwon<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Soonja Food Co. Ltd.

<sup>2</sup>Dept. of Health Care & Biotechnology, Kyungwoon University

<sup>3</sup>Dept. of Biomedical Laboratory Science, Kyungwoon University

**요약** 본 연구는 생리활성이 우수한 천년초의 활용도를 높이기 위해 *L. plantarum*를 이용한 발효과정을 통해 얻은 추출물을 천년초의 열수추출물과 비교하여 특성을 확인하였다. 점성분식, 총폴리페놀, 아미노산 분석을 수행하였으며, 항박테리아 활성 및 사이토카인 분석, zymography 등을 통해 발효추출물의 특성을 연구하였다. 천년초 이용도를 절감시키는 점성도가 거의 절반 감소되고, 비타민 C의 양은 약간 감소하였으나 발효과정 동안 거의 유지되는 것으로 보이며, 총폴리페놀, 아미노산 총량 및 생리활성 주요 무기질 성분은 발효를 통해 증가함을 확인하였다. 또한 세포독성이 없음을 확인하고, 염증관련 사이토카인류와 MMP-9 활성도를 확인한 결과 천년초의 열수추출물에 비해 *L. plantarum*-발효 천년초에서 염증 억제 및 조직 파괴 억제 효과가 있는 것으로 확인되었다. 이러한 결과들은 유산균을 이용한 발효 천년초를 기능성을 부가한 소재로 활용하는데 있어 기초가 될 것으로 기대된다.

• **주제어** : 융합, 발효, 유산균, 천년초

**Abstract** To increase the bioavailability of *Opuntia humifusa*, *O. humifusa* was fermented using *L. plantarum*, and the characteristics of the fermented extract were confirmed. The characteristics of fermented extracts were investigated through viscosity, total polyphenol content, amino acid, antibacterial activity, cytokine analysis and zymography. The viscosity decreased by half and vitamin C remained almost unchanged during fermentation. Total polyphenols, most amino acids, total amino acids and major minerals were increased by fermentation. There was no cytotoxicity, and the activity of cytokines and MMP-9 in inflammation was inhibited. The inhibitory effect on inflammation and tissue destruction was found to be inhibited in *L. plantarum* fermentation extracts compared to hot water extracts. These results are expected to be the basis for the development of materials that enhance the functionality of *L. plantarum*-fermented *O. humifusa* extract.

• **Key Words** : Convergence, *Lactobacillus*, *Opuntia humifusa*, fermentation

\*Corresponding Author : 권기상(ppkisang@empas.com)

Received November 15, 2016

Revised December 8, 2016

Accepted January 20, 2017

Published January 28, 2017

## 1. 서론

천년초(*Opuntia humifusa*)는 손바닥 선인장과의 속하는 다육질의 여러해살이풀로 건조하고 추운 환경에서 자생하는 식물로, 농약이나 제초제 및 화학비료를 사용하지 않고 재배가 가능하다[1,2]. 식물도감과 본초강목에 의하면 기관지, 천식, 기침, 폐질환, 위염, 변비, 장염, 신장염, 고혈압, 당뇨, 심장병, 신경통, 관절염 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 또한 식욕을 증진시키고 풍부한 식이섬유를 함유하고 있어 장운동에 효능이 있다고 알려져 예로부터 식용으로 사용되어온 웰빙 식물이다[3,4]. 선인장 열매는 마그네슘과 칼슘을 포함한 무기질 함량이 높고, serine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, glutamine, proline, arginine, histidine 등의 유리 아미노산 함량이 높은 것으로 알려져 있으며, 항산화물질인 플라보노이드, 폴리페놀, 비타민 C 등을 함유하고 있다[5,6].

천년초 관련 연구는 천년초 선인장의 항산화효과[7,8], 천년초 줄기 열수 추출물의 항산화 활성 및 사염화탄소로부터 간 손상 예방 효과[9], 항동맥경화 효과 및 유산소 운동 능력의 향상[10], 천년초 줄기와 열매 추출물의 항균활성[11], 암세포 및 유방암 세포에 대한 성장 억제효과[12,13] 등이 보고되어 왔다. 그러나 천년초 열매는 고분자 식이섬유인 펙틴이 주성분이며, arabinose, galactose, xylose, galacturonic acid, rhamnose 등으로 구성된 점성도가 높은 식품으로 알려져 있다[14,15]. 이런 이유로 열매 자체를 식품 소재로 활용이 어려워 대부분 건조분말로 사용되고 있다. 따라서 발효를 통해 천연추출물의 약리활성 및 생리활성을 변환시키고자 여러 가지 연구개발이 이루어지고 있다. 홍삼의 경우 발효홍삼 제조 및 연구개발이 이루어지기도 하며, 특히 유산균, 효모, 고초균 등 우리에게 유익한 미생물을 활용한 발효기술로 천연추출물의 생리활성효능이 증가된 발효산물을 얻거나 서로의 시너지효과를 통해 생리활성 효능이 상승되는 제품들이 개발되고 있다[16,17] Bifido bacterium 속 유산균-발효 홍삼에서 고지혈증 및 고혈당을 개선시키는 효과가 보고된 바 있으며[18], Bacillus licheniformis 균주-발효 청국장 담금에 홍삼을 혼합하여 발효시킨 발효홍삼청국장에서도 고혈당과 고지혈증을 감소시키는 것으로 나타난다[19].

웰빙 식품이라 함은 식품의 영양으로서의 개념을 넘어서 건강을 증진시키고 질병을 예방하거나 궁극적으로 치료하는데 기여할 수 있다는 기대감으로 관심도가 높아

지고 있다[20]. 또한 발효식품에 대한 인식이 확대되면서 발효미생물을 이용한 기능성 강화 및 품질향상을 위한 다양한 연구들이 활발해지고 있다[21,22]. 따라서 본 연구는 유산균발효를 통한 천년초 열매와 미생물의 융합을 통해 기능성 향상을 유도하여 천년초 열매를 기능성 식품소재로써 활용범위를 높이기 위해 이화학적 특성 및 주요 성분 분석뿐 만 아니라 고지혈증 유발 사이토카인 발현 양상을 확인하여 유산균발효를 통한 천년초 추출물의 특성을 규명하고자 하였다.

## 2. 연구대상 및 방법

### 2.1 재료

경상북도 의성군에 소재한 천년초 전문업체에서 구입한 천년초 분말을 주요 원료로 사용하였으며, 이를 발효시키기 위해 사용한 유산균 후보 균주로는 경북대학교 농과대학으로부터 분양받은 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*과 시판되는 유제품으로부터 분리한 *Lactobacillus rhamnosus* GG 총 3종으로 MRS-Agar 배지를 이용하였다.

### 2.2 천년초 발효용 유산균 균주 선별 및 공정도

점성도가 높은 천년초 2%(w/v)를 단일 탄소원으로 하여 균체 생육 속도가 가장 빠르게 일어나는 유산균을 선별하기 위해 상기 3종의 유산균을 대상으로 단일균 또는 유산균 복합균 형태로 접종하여 35℃에서 7일간 배양하였다. 최종적으로 천년초 발효 균주를 선별하기 위해 pH, 점성도, 미생물 오염도 등의 생육 특성을 확인하였다. 발효천년초 추출물은 그림 1의 공정으로 제조하였다.

### 2.3 SOD 활성도 측정

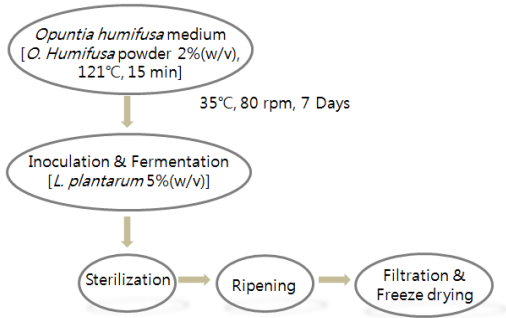
항산화 활성은 대표적인 항산화 효소인 SOD 활성을 SOD assay kit을 사용하여 측정하였다(Amplite(TM) Colorimetric Superoxide Dismutase (SOD) Assay Kit). 반응 후 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하여 아래와 같이 SOD 활성을 계산하였다.

$$\text{SOD}(\%) = (1 - (A - B) / C) \times 100$$

A: xanthine oxidase 시약 + 시료 첨가

B: xanthine oxidase 시약 대신 blank buffer 첨가

C: xanthine oxidase 시약 + 증류수 첨가



[Fig. 1] Schematic diagram for *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts

## 2.4 주요분석

객관적 분석을 위한 방법으로 공인된 분석센터를 이용하였다. 천년초의 점도분석은 AND 사의 SV-10 점도계를 이용하는 한국 고분자시험 연구소(주)를 통해 공인 시험성적서를 확보하였으며, 비타민 C 및 총 폴리페놀과 무기질 분석은 수원여자대학 식품분석센터에 의뢰하여 시험성적서를 확보하였다. 주요 아미노산 분석은 (주)엔텍분석연구원에 의뢰하여 수행하였으며 검사 성적서를 확보하였다.

## 2.5 항박테리아 활성 분석

*Escherichia coli* 에 대한 항박테리아 활성분석은 액체 배지희석법(broth dilution method)을 이용하여 흡광도를 측정하였다.

## 2.6 Cytokines assay

천년초 열수추출물과 유산균발효 천년초는 3차 증류수에 각각 10, 30, 50, 100, 300, 500 µg/ml 농도로 녹인 후 사람의 단핵구인 THP-1 세포에 시료를 처리하였다. 염증 반응 억제능을 보기 위한 model로 LPS(lipopolysaccharide)를 처리하여 자극을 주었다. 처리 후 24시간째 배양 상층액을 분리한 후 ELISA를 실시하여 사이토카인 및 케모카인의 농도를 측정하였다.

## 2.7 Zymography

0.1% 젤라틴이 포함된 sodium dodecyl sulfate poly-acrylamide gel에서 염증반응과 관련된 MMP-9과 MMP-2를 전기영동 후 상기 단백질들의 효소작용을 통해 젤라틴의 분해정도를 측정하였다. 젤을 침지하여 12 시간동안 37°C에서 배양한 후 젤을 0.1% Coomassie

Brilliant Blue R-250로 염색 및 탈색을 통해 젤라틴의 분해를 확인하였다.

## 3. 연구결과

### 3.1 천년초 발효용 유산균 균주 선별

#### 3.1.1 기본 배양

천년초 분말을 주요 원료로 사용하여 이를 발효시키기 위해 사용한 유산균 후보 균주로는 경북대학교 농과대학으로부터 분양받은 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*과 시판되는 유제품으로부터 분리한 *Lactobacillus rhamnosus* GG 총3종으로 단일균 접종시에는 배양 7일 후 생균수 및 세포건조중량이 상기 3종의 유산균 중에서 김치 유래 *L. plantarum*이 가장 우수한 것으로 분석되었다. 단일균으로 천년초에서 가장 생육이 활발했던 *L. plantarum*과 *L. plantarum*과 LGG를 혼합하여 배양한 경우가 가장 높은 값을 나타내었다. 이를 바탕으로 천년초 발효 후보 균주로 1차적으로 *L. plantarum* 및 *L. plantarum*과 LGG를 혼합한 복합균을 선별하였다.

1차적으로 선별되어진 천년초 발효 후보균주를 대상으로 최종 발효균주를 선별하기 위하여 천년초 2%(w/v) 배지에서 항산화 활성을 비교하였다. 발효액의 배양 7일 후 얻어진 배양액을 고형분 제거 후 감압농축기로 5배 농축하여 측정된 SOD activity는 복합균 발효시 다소 높게 측정이 되었으나(42.9%), *L. plantarum* 단독 발효액과 큰 차이를 보이지는 않았다(38.2%).

최종적으로 천년초 발효 균주를 선별하기 위하여 *L. plantarum* 단일 유산균과 *L. plantarum*과 LGG 복합 유산균 발효액의 pH, 점성도, 미생물 오염도 및 관능평가를 실시하여 발효시키지 않은 천년초 열수추출액과 비교 분석하였으며, 그 결과 pH와 상층액 점도(centiPoise; cP)는 유사하나 발효시간이 *L. plantarum* 단일 유산균이 6~7일로 복합 유산균발효액보다 짧고(9~10일), 저장안정성 및 맛과 향 등의 관능평가에서도 우수하였다.

#### 3.1.2 천년초 발효액의 점성도 분석

천년초 발효액의 점성도의 경우, 한국 고분자시험연구소(주)의 공인기관 시험성적서를 확보하였다. 그 결과 발효시키지 않은 열수추출액의 경우 4.49 cP를 나타내었으나, *L. plantarum*과 LGG 유산균과의 복합 발효 또는 *L. plantarum* 단독 발효 후에는 각각 2.5, 2.6 cP 로 유산균

발효에 의해 천연초액의 점성도가 감소됨을 확인하였다.

3.1.3 유산균 발효 천연초의 항박테리아 활성 분석

유산균 발효 천연초를 상온에서 보관시 단순 추출 천연초에 비해 미생물 오염도가 줄어드는 양상을 보였으며, 특히 *L. plantarum* 단독 발효시킨 천연초 발효액의 경우 복합 발효액에 비해 그 효과가 현저히 높음을 확인할 수 있었다. 이를 면밀히 확인하기 위하여 항박테리아 활성을 분석한 결과 *L. plantarum* 단독 발효시킨 천연초 발효액이 17.9±0.4 mg/ml, *L. plantarum*과 LGG 유산균과의 복합 발효액의 경우 23.2±0.8 mg/ml, 열수추출물의 경우 132±0.2 mg/ml 로 나타났으며, *L. plantarum* 단독 발효시킨 천연초 발효액의 항박테리아 활성이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다.

상기 여러 특성들과 맛과 향을 고려하여 최종적으로 사용할 균주를 *L. plantarum* 로 선별하였고, 최적 발효 조건에 따라 제조된 발효액을 최소한의 영양과피를 위하여 100℃에서 5분간 살균한 후, 풍미개선을 목적으로 10~15℃온도에서 10일간 숙성시켰다. 이후 제품화를 위한 용해도 증대를 위해 일반 필터 여과체를 거쳐 나온 액상의 여액을 동결건조하여 시료를 제조하였다(*Lactobacillus plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts; fOH). 대조군으로는 기존의 천연초 분말을 발효하지 않고 사용하였다(*Opuntia humifusa* hot-water extracts; OH).

3.2 fOH의 이화학적 특성 및 주요성분 분석

fOH(유산균 발효 천연초)와 OH(기존 천연초 분말)의 이화학적 특성을 비교한 결과, 표 1과 같이 fOH는 OH에 비해 용해도가 탁월하게 증가하고 산도는 약산성을 나타내었으며, 점성도가 거의 50%이하로 낮아지고, 색이 갈색인 특성을 나타내었다.

<Table 1> General characteristics

classification	fOH	OH
solubility	+++++	+
pH	5.3	6.2
viscosity(cP)	2.6	4.49
color	light brown	green

† fOH: *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts, OH: *Opuntia humifusa* hot-water extracts

<Table 2> Comparison of Biological Activities of fOH and OH

classification (mg/100g)	fOH	OH
vitamin C	696.32	709.53
total polyphenol	28.58	19.60
P	6.50	3.11
Mg	22.30	19.73
Ca	87.70	75.06
K	47.38	33.08
Zn	0.07	0.04
Mn	0.38	0.30
Threonine	125.632	6.617
Valine	14.413	8.345
Methionine	2.500	1.462
Isoleucine	10.951	5.729
Leucine	18.705	10.335
Phenylalanine	11.151	6.522
Histidine	5.398	2.981
Lysine	19.181	8.508
Total	373.758	145.069

† fOH: *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts, OH: *Opuntia humifusa* hot-water extracts

fOH와 OH의 항산화 활성을 확인하기 위해 SOD activity를 측정된 결과, OH 19.3%에 비해 fOH는 39.9%로 약 2.1배 증가되어 발효 후 항산화 활성이 강화됨을 기초적으로 확인할 수 있었다. 천연초 발효에 따른 항산화 활성 및 생리활성에 영향을 줄 수 있는 주요 미네랄 성분 및 아미노산 성분 분석을 수행한 결과, 비타민 C 함량은 fOH에서 696.32 mg/100g으로 OH 709.53 mg/100g에 비해 약 2% 정도 감소는 하였으나, 유산균 발효 후에도 거의 유사한 함량을 지니고 있음을 확인할 수 있었다. 총폴리페놀의 함량은 fOH의 경우 28.58 mg/100g으로 OH의 19.60 mg/100g에 비해 약 45.8% 정도 현저하게 증가하는 양상을 확인할 수 있었으며, 이에 따른 *L. plantarum*발효 천연초의 항산화 활성 증대 효과를 기대할 수 있었다. fOH에 포함된 주요 생리활성 미네랄 성분 중 인, 마그네슘, 칼슘, 칼륨, 아연, 망간, 구리 성분을 분석한 결과 OH에 비해 함량이 증가하는 양상을 확인하였으며, 특히 칼슘의 경우 87.70 mg/100g 으로 OH의 75.06 mg/100g 보다 16.8% 증가한 것을 확인하였다(표 2).

fOH와 OH의 주요 아미노산 함량에 관한 성분분석을 수행한 결과, 표2에서 보는 바와 같이 fOH의 경우 총 아미노산 함량이 약 373.758 mg/100g으로 OH의 145.069 mg/100g에 비해 거의 2.5배 증가된 것으로 분석되었으며, 전반적으로 20종의 아미노산들이 전반적으로 유산균 발효에 의해 함량이 증가되는 양상을 나타내었다.

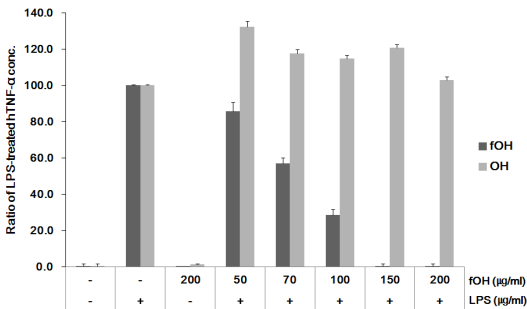
### 3.3 fOH의 염증억제 효과

#### 3.3.1 기초 세포 독성 평가

hTHP-1과 마우스 spleen 세포 2종에 대한 세포 생존율 분석법(cell viability assay)을 이용하여 세포독성을 확인하였다. fOH와 OH를 500µg/ml 농도까지 처리한 후 24시간 배양 후에 세포수를 측정된 결과, fOH와 OH 모두 사람의 대식세포주인 THP-1 세포와 마우스 비장세포에 처리시 500µg/ml 농도까지 세포 생존율에는 크게 영향을 주지 않음을 확인하였다(85% 이상 생존율 보임).

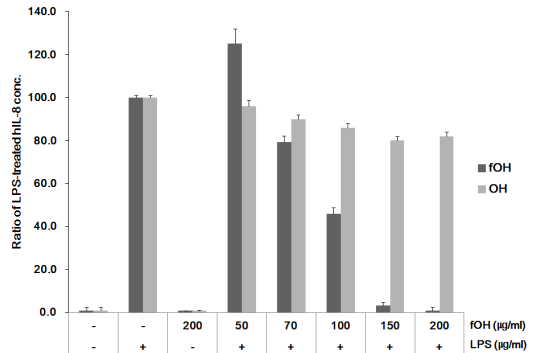
#### 3.3.2 염증관련 사이토카인 생성에 미치는 영향 (in vitro)

fOH가 고지혈증에 수반되는 염증을 억제시키는 경향이 있는지를 알아보기 위하여 사람의 단핵구 세포인 THP-1 세포주를 이용하여 염증반응과 관련되는 사이토카인 중 hTNF-alpha와 hIL-8 발현에 미치는 영향을 분석하였다. fOH와 OH를 3차 증류수에 각각 50, 70, 100, 150, 200µg/ml 농도로 녹인 후 사람의 단핵구인 THP-1 세포에 시료를 처리하였고, 염증 반응 억제 효능을 보기 위한 model로 LPS (lipopolysaccharide)를 처리하여 자극을 주었다. 처리 후 24시간째 배양 상층액을 분리한 후 ELISA를 실시하여 각 사이토카인 농도를 측정하였다. 우선 hTNF-alpha 생성 억제를 확인한 결과, 주된 염증 유발물질인 LPS로 자극을 줄 경우, OH는 크게 영향을 주지 않는 반면, fOH는 hTNF-alpha 생성을 농도 유의적으로 억제하는 경향성이 확인되었다. 특히 낮은 농도부터 효과가 나타나며 150µg/ml 정도에서 완전히 감소시키는 것을 확인 할 수 있었다[Fig. 2].



[Fig. 2] The hTNF-alpha ELISA assay of fOH and OH in THP-1 cells. fOH; *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts, OH; *Opuntia humifusa* hot-water extracts

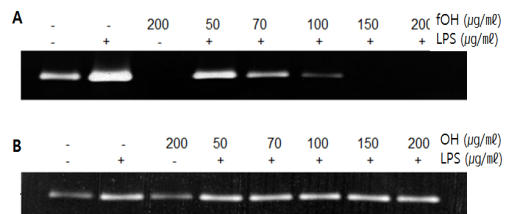
염증반응시 생성되는 사이토카인 중 hIL-8의 경우에도 거의 유사한 양상을 나타내었다. fOH는 LPS로 자극을 주어 처리할 경우, hIL-8 발현도가 처리농도가 증가함에 따라 유의적으로 억제되는 경향성을 확인할 수 있었다. 하지만, OH는 거의 영향을 주지 않는 것으로 나타났[Fig. 3].



[Fig. 3] The hIL-8 ELISA assay of fOH and OH in THP-1 cells. fOH; *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts, OH; *Opuntia humifusa* hot-water extracts

#### 3.3.3 fOH의 MMP-9 생성에 미치는 영향(in vitro)

고지혈증 발생시 동반될 수 있는 염증에 따라 일어날 수 있는 조직 파괴 억제효능에 대한 기초적 분석을 위하여 MMP-9(Matrix metallo peptidase-9) 활성도를 THP-1 세포주를 이용하여 zymography로 분석하였다. 젤을 0.1% Coomassie Brilliant Blue R-250로 염색 및 탈색을 통해 젤라틴의 분해를 확인하였다. 그 결과, fOH의 경우 100µg/ml 농도부터 MMP-9 생성을 억제시켰으며, 특히 200µg/ml 농도 처리시에는 LPS 자극 유무와 상관없이 MMP-9 생성을 억제시키는 경향성이 확인되었다. 반면 OH의 경우, MMP-9 활성에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 확인되었다[Fig. 4].



[Fig. 4] The MMP-9 expression of fOH and OH in THP-1 cells. fOH; *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* extracts, OH; *Opuntia humifusa* hot-water extracts

#### 4. 고찰

본격적인 고령화 사회가 되면서 노화로 인한 만성적인 질병에 대한 관심과 더불어 식품이나 한약재를 통한 질병 예방효과에 대한 기대가 더욱 상승하고 있다. 본 연구는 뛰어난 생리활성이 보고되고 있음에도 불구하고 접성이 높아 식품으로서의 활용가치가 낮은 천연초를 경북대학교 농과대학으로부터 분양받은 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*과 시판되는 유제품으로부터 분리한 *Lactobacillus rhamnosus* GG 총3종을 이용하여 발효를 수행하였다. 발효는 유산균, 효모, 고초균 등 우리에게 유익한 미생물을 활용한 발효기술로 천연추출물의 생리활성효능이 증가된 발효산물을 얻거나 서로의 시너지 효과를 통해 생리활성 효능이 상승된다[16,17]. 기본적으로 천연초 분말을 이용하여 균주를 접종한 후 단일 균주 또는 복합균주 발효를 수행하였고, 맛과 풍미, 항산화 활성, 항박테리아 활성, 생균수, 세포건조량 등을 고려하여 *Lactobacillus plantarum*를 선별하였다. 최적의 배양 조건을 찾아서 배양한 후 멸균과 정제를 수행하여 동결건조한 분말상태로 연구에 사용하였다.

천년초의 점성도가 식품으로서의 활용도를 떨어뜨리는 원인으로 보아 fOH의 점성도를 분석한 결과 발효시키지 않은 열수추출액의 경우 4.49 cP를 나타내었으나, *L. plantarum*과 LGG 유산균과의 복합 발효 또는 *L. plantarum* 단독 발효(fOH) 후에는 각각 2.5, 2.6 cP로 유산균 발효에 의해 천연초액의 점성도가 감소되어 천연초의 점성질 다당류들의 저분자화가 일어남을 확인하였다. 점성도가 거의 50% 이하로 낮아져 천연초 이용의 한계성을 극복하여, 음료 및 각종 식품 첨가물 등의 제형화를 위해서도 상당히 유리한 특성을 가지는 것으로 판단되어진다.

기존 천연초 원료의 주요 항산화 성분으로 알려지고 있는 비타민 C와 총폴리페놀 함량이 *L. plantarum* 유산균 발효에 따라 변화하는 양상을 정량 분석하였다. 또한 천연초 발효에 따른 생리활성에 영향을 줄 수 있는 주요 미네랄 성분 및 아미노산 성분 분석을 수행하여 발효 전후를 비교 분석하였다. 분석은 최종적으로 공인시험기관인 수원여자대학교 식품분석연구센터 및 (주)엔텍분석연구원에 의뢰하여 진행한 후, 각각의 시험성적서를 확보하였다.

비타민 C 함량은 fOH가 OH에 비해 약 2% 정도 감소는 하였으나, 유산균 발효 후에도 거의 유사한 함량을 지

니고 있음을 확인 할 수 있었다. 총폴리페놀의 함량은 fOH이 OH에 비해 약 45.8% 정도 현저하게 증가하는 양상을 확인 할 수 있었으며, 이에 따른 *L. plantarum* 발효 천연초의 항산화 활성 증대 효과를 기대할 수 있었다. fOH에 포함된 주요 생리활성 미네랄 과 아미노산 분석 결과도 유산균 발효에 의해 주요 미네랄 성분 증대 및 아미노산 함량 증가에 따른 생리활성 강화를 기대할 수 있었다.

이러한 결과들은 fOH의 기능에도 영향을 줄 것으로 생각되었다. 염증은 여러 가지 형태의 감염이나 생체 내 대사산물 중의 자극적 물질에 대한 생체반응이며, NO, free radicals, cytokines, PGE2, lysosomal enzyme 등 다양한 매개 물질이 관여하고 있다. 염증억제 효과를 확인하기 위해 우선 기초 세포독성 평가를 수행하였고, 그 결과 hTHP-1과 마우스 spleen 세포 등에서 fOH 및 OH 처리시 500 µg/ml 농도까지 세포 생존율에는 크게 영향을 주지 않음을 확인하였다(85% 이상 생존율 보임). 이를 바탕으로 fOH가 고지혈증에 수반되는 염증을 억제시키는 경향이 있는지를 알아보기 위하여 사람의 단핵구 세포인 THP-1 세포주를 이용하여 염증반응과 관련되는 사이토카인 중 hTNF-alpha와 hIL-8 발현에 미치는 영향을 분석하였다. hTNF-alpha는 tumor cell 에서 세포독성을 나타내고 만성염증과 관련 있으며, IL-8 등의 cytokines의 유도인자이다. hIL-8는 염증질환에서 많이 발견되며, 호중구, B림프구, 호산구 등 염증관련 세포에 영향을 미친다고 알려져 있다[23,24].

fOH와 OH를 3차 증류수에 각각 50, 70, 100, 150, 200 µg/ml 농도로 녹인 후 사람의 단핵구인 THP-1 세포에 시료를 처리하였고, 주된 염증 유발물질인 LPS로 자극을 줄 경우, OH는 크게 영향을 주지 않는 반면, fOH는 hTNF-alpha 생성을 농도 유의적으로 억제하는 경향성이 확인되었다. 특히 낮은 농도부터 효과가 나타나며 150 µg/ml 정도에서 완전히 감소시키는 것을 확인 할 수 있었다. 염증반응시 생성되는 사이토카인 중 hIL-8의 경우에도 거의 유사한 양상을 나타내었다.

고지혈증 발병 시 동반될 수 있는 염증에 따라 일어날 수 있는 조직 파괴 억제효능에 대한 기초적 분석을 위하여 MMP-9(Matrix metallo peptidase-9) 활성도를 THP-1 세포주를 이용하여 zymography로 분석하였다. fOH의 경우 100 µg/ml 농도부터 MMP-9 생성을 억제시켰으며, 특히 200 µg/ml 농도처리시에는 LPS 자극 유무

와 상관없이 MMP-9 생성을 억제시키는 경향성이 확인되었다. 반면 OH의 경우, MMP-9 활성에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 확인되었다.

본 연구는 유용한 생리활성을 지닌 천년초의 활용 한계를 벗어나고자 맛과 식감이 향상되는 발효를 수행하였으며, 발효과정을 통해 항산화 활성 및 아미노산과 무기질이 증가하면서 기능성이 향상되는 결과를 얻었다. 또한 항균활성 및 염증억제 효과가 증가하는 것을 확인함으로써 기능성을 향상시킨 식품소재 개발의 기초가 될 것으로 기대한다.

## REFERENCES

- [1] Lee KS, et al., "Antimicrobial effect of the extracts of cactus Chounnyuncho (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens", *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33, 1268-1272, 2004.
- [2] Kim MJ, "Physicochemical characteristics of Jeungpyun by different addition ratios of prickly pear powder during storage" MS thesis, Sungshin Women's University, Seoul, Korea, 2008.
- [3] Kwon DK, Song YJ, "Effect of *Opuntia humifusa* supplementation on endurance exercise performance in rats fed a high-fat diet" *J Exer Nutr Biochem* 9, 183-188, 2005.
- [4] Kim TJ, "Illustrated guide to Korean flora" Seoul National University Press, Seoul, Korea. 140-141, 1996.
- [5] Askar A, El-Smamhy SK, "Chemical composition of prickly pear fruit", *Dtsch. Lebensm-Rundsch.* 77: 279-281, 1981.
- [6] Cho IK, et al., "Analysis of components in the parts of *Opuntia ficus indica* from Shinan Korea", *Korean J Food Preserv* 16, 742-746, 2009.
- [7] Lee KS, et al., "Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Sci Technol* 37: 474-478, 2005.
- [8] Yoon BR, et al., "Antioxidant effect of hot water and ethanol extracts from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) on reactive oxygen species (ROS) production in 3T3-L1 adipocytes", *Korean J Food Preserv* 19, 443-450, 2012.
- [9] Park MK, et al., "Hepatoprotective effect of Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) extract in rats treated carbon tetrachloride", *Korean J. Food Sci. Technol.* 37, 822-826, 2005.
- [11] Kwon DK, Song YJ, "Effect of *Opuntia humifusa* supplementation on endurance exercise performance in rats fed a high-fat diet", *Korean J. Exer. Nutr.* 9, 183-188, 2005.
- [13] Kim SY, "Studies on the separation of antioxidative and antimicrobial compounds of Korean perennial cactus *Opuntia ficus-indica* var, MS thesis, Hoseo University, Asan, Korea, 2003.
- [12] Yoon JA, et al., "Nutrients contents in different parts of prickly pear (*Opuntia humifusa*) and possible anti-breast cancer effect", *Korean J Food & Nutr* 22, 485-491, 2009.
- [13] Yoon JA, et al., "Total polyphenol and flavonoid of fruit extract of *Opuntia humifusa* and its inhibitory effect on the growth of MCF-7 human breast cancer cells", *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1679-1684, 2009.
- [14] Kim KT, et al., "Quality characteristics of bread made from domestic Korean wheat flour containing cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) powder", *Korean J. Food Cookery Sci.* 23, 461-468, 2007.
- [15] Park SM, et al., "The effects of the supplementation of *Opuntia humifusa* water extracts and methyl sulfonyl methane on the laying productivity, egg quality and sensory characteristics", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39, 294-300, 2010.
- [16] Jeon BS, et al., "Fermented mushroom milk supplemented dietary fiber prevents the onset of obesity and hypertriglyceridemia in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats", *Diabetes Obes Metab.* 7, 709-715, 2005.
- [17] Jung YM, et al., "Anti-inflammatory effects of Fusion-fermented *Aralia continentalis Radix*(fACR) on THP-1 cells", *J Digital Convergence* Vol.14, No.1, pp.353-361, 2015.
- [18] Trinh TH, et al., "Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng",

J Microbiol Biotechnol, 17(7), 1127-1133, 2007.

[19] S. I. Lee, et al., "Effect of ginsengchungkukjang effects on lipid profiles of serum in alcohol administered diabetic-induced rats", J. Korean Soc Food Sci Nutr, 34, 1362-1366, 2005.

[20] Hasler CM, "Functional Foods: the western perspective", Nutr. Rev. 54, S6-10, 1996

[21] Kim JW, "Quality improvement of traditional doenjang prepared from meju fermented with pure microbes", MS thesis, Chonbuk National University, Jeonju, Korea, 2007

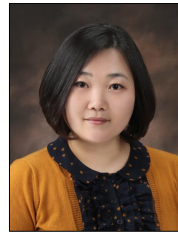
[22] Baek LM, et al., "Effect of Starter Cultures on the Fermentative Characteristics of Cheonggukjang", Korean J Food Sci Technol, 40(4), 400-405, 2008.

[23] Buckley ML, Ranji DP, "The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis", Biochim Biophys Acta, 1852(7), 1498-1510, 2015.

[24] Andrew CN, "Metalloproteinases expression in monocytes and macrophages and its relationship to atherosclerotic plaque instability", Arterioscler Thromb Vasc Biol, 28, 2108 -2114, 2008.

권기상(Kwon, Kisang)

[정회원]



- 2011년 8월 : 충남대학교 의학과 (의학박사)
- 2013년 3월 ~ 현재 : 경운대학교 임상병리학과 조교수
- 관심분야 : 세포생물, 분자의학
- E-Mail : ppkisang@empas.com

저자소개

정영미(Jung, Young-Mi)

[정회원]



- 2000년 8월 : 경북대학교 유전공학(이학박사)
- 2013년 3월 ~ 현재 : 경북대학교 생명과학부 외래강사
- 관심분야 : 미생물, 분자생물
- E-Mail : jymicon@daum.net

이동섭(Lee, Dong Sub)

[정회원]



- 2008년 8월 : 아주대학교 환경공학(공학박사)
- 2000년 3월 ~ 현재 : 경운대학교 보건바이오학과 교수
- 관심분야 : 환경미생물, 환경독성
- E-Mail : dslee@ikw.ac.kr