

발효생강 추출물이 RAW 264.7 매크로파지에서 NO 및 PGE₂ 생성에 미치는 영향

정하열* · 박승용¹

한경대학교 식품생물공학과 및 식품생물산업연구소

¹건국대학교 수의과대학

Effects of Fermented Ginger Extracts on the Production of NO and PGE₂ in RAW 264.7 Macrophages

Ha-Yull Chung* and Seung-Yong Park¹

Department of Food Science & Biotechnology and Food & Biotechnology Research Center,
Hankyong National University

¹College of Veterinary Medicine, Konkuk University

Abstract

Ginger is popular worldwide as a folk medicine with many claims of its biological effects. Nevertheless, there are some limitations for using it as a food ingredient due to the pungent odor that originates from gingerol and its derivatives. In this study, gingers were fermented with lactic acid bacteria such as *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, and *Lactobacillus acidophilus* to increase the sensory property of ginger. The prepared fermented ginger extracts showed electron donating ability and cyclooxygenase-2 inhibitory effect *in vitro*. The fermentation also inhibited the production of nitrogen oxide. Among the fermented ginger extracts GLpe and GLme which were obtained by fermentation with lactic acid bacteria from kimchi, showed an over 60% inhibitory effect on the production of prostaglandin-E₂ in RAW 264.7 macrophages. In addition, GLpe and GLme showed a slight inhibition on 15-lipoxygenase. We would expect that fermented ginger extracts like GLpe and GLme could be used as a health food ingredient for relieving uncomfortable symptoms caused by inflammation or allergy.

Key words: fermented ginger extracts, lactic acid bacteria, inflammation, Kimchi, health food

서 론

최근 산업발달의 가속화 및 환경오염 등에 따른 유해물질의 증가 그리고 스트레스 등에 의한 면역력 저하는 염증 반응 및 알레르기를 유발시키게 된다. 염증반응은 유해한 자극이나 감염에 의해 유도되어 세포 및 자극의 종류에 따라 프로스타그란딘(PG), 류코트리엔(LT) 등이 생성됨으로써 시작된다(Funk, 2001). 포스포라이페이스A₂(PLA₂)에 의해 유리된 아라키돈산(AA)을 이용하여 염증 매개물질을 생성하는 경로는 싸이클로옥시게네이스-1(COX-1)과 싸이클로옥시게네이스-2(COX-2)에 의해 프로스타그란딘 H₂(PGH₂)

가 생성되는데, PGH₂는 더 대사되어 프로스타그란딘 E₂(PGE₂), 프로스타사이크린, 트롬복산A₂(TxA₂)나 다른 PG으로 변환된다. COX-1과 COX-2는 거의 동일성을 갖는 이성체 형태로 COX-1은 대부분의 세포내에 존재하여, 위 점막보호기능, 혈소판 응고, 신장 내 혈액 흐름에 관여하는 정상적 생체기능에 작용하는 반면, COX-2는 염증성 자극에 의해 단시간에 유도되어 발현되며, 염증상황 아래에서 증폭되어 대식세포, 단핵세포 등에 존재하는 효소로 염증, 통증, 발열, 빈혈 등과의 관련이 깊은 것으로 알려져있다(Kim et al., 2007).

염증반응 및 알레르기 반응의 다른 증가자인 류코트리엔(LT)은 리폭시게네이스(LOX)에 의해 생성되는 물질로, LOX는 현재까지 type 5-, 8-, 9-, 11-, 12- 그리고 15-LOX 등 다양한 종류가 알려져 있으며, 특히 포유동물에서 LOX에 의해 생성된 류코트리엔류는 알레르기 증상 발현에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다(Nakatsuka & Osawa, 1983; Neichi et al., 1983; Kemal et al., 1987). 알

*Corresponding author: Ha-Yull Chung, Department of Food Science & Biotechnology, Hankyong National University, 327 Joongang-Ro, Anseong-si, Gyeonggi-do 456-749, Korea

Tel: +82-31-670-5156; Fax: +82-31-677-0990

E-mail: chy@hknu.ac.kr

Received December 18, 2012; revised February 16, 2013; accepted February 18, 2013

레르기 반응에 중요한 역할을 하는 비만세포(mast cell)는 피부, 호흡기, 림프관 주위, 혈관 주위, 위장관의 점막, 뇌 등 생체내 결합조직에 널리 분포되어 있다(Martin et al., 1993; Kim et al., 1994). 이 비만세포 표면에 존재하는 면역글로블린 E(IgE)의 수용체인 FcεRI에 항원이 결합되면 비만세포가 활성화되어, 탈과립이 유도되고 세포내 과립에 저장되어 있는 히스타민 등과 이후 프로스타그란딘류와 류코트리엔류 같은 지질 매개물질 및 싸이토카인 등의 여러 가지 화학적 매개물질이 유리된다. 그 결과 말초혈관에 대한 투과성 항진과 확장작용, 점막표면에 대한 분비 항진작용, 기관지 평활근에 대한 수축작용 등이 발생하여 알레르기 증상들이 나타난다(Ennis et al., 1980; Metcaife et al., 1981; Church & Levi-Schaffer, 1997; Miyajima et al., 1997). 그러므로 AA으로부터 염증 및 알레르기 반응에 중요한 역할을 하는 COX-2 및 LOX 효소를 저해하면 염증 및 알레르기 현상을 완화시킬 수 있을 것으로 예측되고 있다.

생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 생강과에 속하는 아열대, 또는 열대 원산의 다년생 초본 식물의 하나이며, 그 근경은 특유의 맛과 향기를 지니고 있어 생생강(fresh ginger), 건생강(dried ginger), 울레오레진, 정유 등의 형태로 유통되며 식용, 약용, 또는 화장품용으로 널리 사용되고 있다(Lee, 1996; Lee, 1979). 생강의 80-90%는 수분이고, 전분이 전체 고형분의 40-60%를 차지하고 있으며(Kim et al., 1991; Shin, 1994), 생강의 주요성분으로는 탄화수소류, 케톤류, 알콜류를 비롯하여 zingiberene, γ -cardinen, 그리고 zingiberol 등의 정유성분이 보고되고 있는데 특히 생강의 매운맛을 내게 하는 주성분인 6-진저롤 및 6-쇼가올은 항산화, 항염증의 특성을 가지고 있어 건강식품소재로서 많은 주목을 받고 있다(Connell & Sutherland, 1969; Connell, 1970). 생강에 함유된 6-진저롤은 아스코르브산의 95% 정도에 해당하는 항산화 활성을 갖으며(Lee et al., 2006), 또한 리놀렌산- β -카로틴-물의 에멀존에 0.02%(w/v) 농도로 첨가되었을 때 대조구보다 β -카로틴을 안정시킨다고 하였다(Lee & Ahn, 1985). Hong(1989)은 생강으로부터 에테르로 추출한 진저롤이 BHA, 토코페롤보다 강한 항산화효과를 나타내었다고 하였으며 Fujio et al.(1969)도 생강으로부터 분리한 쇼가올과 zingerone도 유지의 산화를 억제하는 효과가 있다고 보고한 바 있다. 이외에도 항산화 효과(Kim & Ahn, 1993), 트롬복산 생성(Srivastava, 1989), 대식세포의 활성화(Ryu et al., 2004), NK세포의 활성화(Park et al., 2005), COX-1 효소 활성의 저해(Van & Colin, 2003), NF- κ B 활성화(Kim et al., 2008) 등과 같이 생강에 대한 많은 연구가 진행되어 생강의 다양한 생리활성이 입증되고 있다. 하지만 생강의 자극적인 향과 맛으로 인해 생강을 직접 섭취하거나 가공식품의 소재로 사용하기에는 제한적이거나 불편함이 있는 것이 사실이다. 따라서 본 연구는 이러한 생강의 자극적 향과 맛을 유산균 발효를 통해 완화시켜 제조한 발

효생강 소재의 생리활성을 조사하여 새로운 건강식품 소재로서의 적합성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

생강의 발효는 Fig. 1과 같이 행하였는데 *Streptococcus thermophilus*(KCTC 3779)와 *Lactobacillus acidophilus*(KCTC 3171)를 각각 D.W 75%(w/w), 전지분유 15%(w/w)와 마쇄된 생강 10%(w/w)이 혼합된 멸균배지(GM-1)에 접종한 후 배양(25°C, 24 시간)하여 GSt 및 GLa를 제조하였다. 최종 발효종료 시점의 GSt 발효물의 pH는 4.06±0.15, 산도는 0.52±0.12이었으며 GLa 발효물의 pH와 산도는 각각 3.54±0.20, 0.54±0.10이었다. 또한 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3108)과 *Leuconostoc mesenteroides*(KCTC 3100)를 각각 D.W. 79.5%(w/w), 말토텍스트린 9%(w/w)와 이스트 1.5%, 마쇄된 생강 10%(w/w)이 혼합된 멸균배지(GM-2)에 접종한 후 배양(37°C, 24 시간)하여 GLp와 GLm을 제조하였다. 최종 발효종료 시점의 GLp 발효물의 pH는 3.67±0.17, 산도는 0.53±0.14이었으며 GLm 발효물의 pH와 산도는 각각 3.94±0.14, 0.45±0.13이었다. 이때 건생강 0.1 g이 함유된 GSt와 GLa의 상당량은 1.06 g이었으며 GLp와 GLm은 0.73 g이었다. 또한 건생강 및 발효 생강 추출물은 각각의 생강 건조물을 80% 에탄올로 추출하여 제조하였으며, 건생강 0.1 g에 해당하는 GSt와 GLa의 상당량은 2.01 g이었으며 GLp와 GLm은 1.47 g이었다.

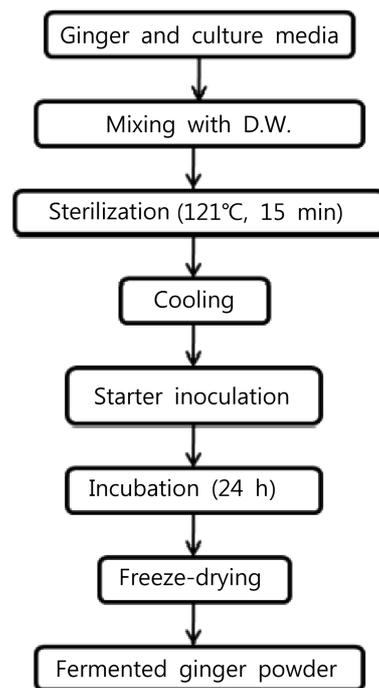


Fig. 1. Manufacturing process of the fermented ginger extracts.

전자공여능

건생강 및 발효생강의 80% 에탄올 추출물(이하 추출물)에 대한 비효소계 시스템에서의 라디칼 소거능을 측정하고자 전자공여능을 조사하였는데 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Biois(1958)의 방법을 응용하여 각 시료의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 측정하였다. 시험관에 0.0035% DPPH 용액 3 mL과 시료 0.15 mL을 넣고 잘 혼합한 후 실온에서 20분간 방치한 다음 516 nm에서 흡광도를 측정하였으며 공시험으로 대조구의 흡광도를 같은 조건에서 측정하였다. 이들 측정값을 다음 식에 대입하여 DPPH 라디칼 소거능을 계산하였다.

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{SA}{CA}\right) \times 100$$

SA : sample absorbance
CA : control absorbance

싸이클로옥시게네이즈-2 저해능

싸이클로옥시게네이즈-2(COX-2) 효소저해능 측정실험에 사용할 시료인 생강 추출물은 DMSO 용액에 녹여 사용하였다. COX-2 효소 저해 활성은 COX inhibitor screening assay KIT(Cayman Chemical Co., Ann Arbor, USA)를 사용하였으며 매뉴얼에 따라 실험하였다. 먼저 반응용 완충액을 넣은 시험관에 COX-2 효소, heme, 저해시료를 넣은 후(대조구는 저해시료 대신 DMSO를 동량 넣는다) 37°C에서 10분간 반응시켰다. 10분간 반응이 끝나면 기질(아라키돈산) 10 µL를 가하고 2분간 더 반응시켰다. 반응이 끝나면 1M HCl 용액 50 µL를 가하여 반응을 종결시킨 후 주석산을 가해서 환원반응을 일으켰다. 각 시험관 반응액을 2000배, 4000배 희석 후 96 well plate에 각각 50 µL 씩 넣었다. Tracer와 antiserum을 각각 50 µL 넣은 후 25°C에서 18시간 반응시킨다. 반응이 종결된 후 well을 비우고 세척용 완충액을 이용하여 5회 헹구어 낸 뒤 발색시약을 가하고 1시간 30분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 ELISA reader (Molecular device Co., Sunnyvale, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

15-리폭시게네이즈 저해능

15-리폭시게네이즈 효소 저해 활성은 LOX inhibitor screening assay KIT(Cayman Chemical Co., Ann Arbor, USA)를 사용하였으며 매뉴얼에 따라 실험하였다. 먼저 96 well plate 에 15-리폭시게네이즈 90 µL씩 분주한 후 각 실험 시료 10 µL을 넣었다(대조구는 DMSO를 넣어주었다). 기질(아라키돈산)을 10 µL 넣어주고 5분간 반응시켰다. 반응이 종료되면 chromogen 시약을 100 µL씩 각 well에 분주하였다. 정색반응이 끝난 후 ELISA reader(Molecular device Co., Sunnyvale, USA)에 위치시켜 490 nm에서 흡광도를 측

정하였다.

세포독성

마우스의 대식세포 세포주인 RAW 264.7 cells을 10%의 FBS 및 1% antibiotic-antimycotic(×100)가 함유된 DMEM 배지에 넣고 5% CO₂, 37°C 조건에서 배양하였다. 세포독성 검사를 하기 위한 시료의 전처리는 다음과 같았다. 각각의 GDe, GSte, GLae, GLpe 그리고 GLme를 100 mg/mL의 농도가 되도록 DMSO로 용해한 뒤 배지로 희석하여 세포 배양액에 첨가하였다. 세포독성 검사는 Roche사의 cytotoxicity detection kit(LDH)를 이용하여, 제조사의 매뉴얼대로 실험하였다. 즉, 96 well plate의 각 well에 4×10⁴개의 RAW cells을 분주하고 1 mg/mL, 0.1 mg/mL의 농도로 각 시료를 첨가하여 24 시간 배양 후 상층액상의 LDH(lactate dehydrogenase)의 활성을 측정하였다. 세포독성(%)은 아래와 같은 공식에 의해 산출하였다.

$$Cytotoxicity(\%) = \frac{\text{exp. value} - \text{low control}}{\text{high control} - \text{low control}} \times 100$$

NO 및 PG-E₂ 생성저해능

마우스의 대식세포 세포주인 RAW 264.7을 10%의 FBS 및 항생제가 함유된 DMEM 배지에 넣고 5% CO₂, 37°C 조건에서 배양하였다. 1×10⁶개의 RAW 264.7 cells을 96 well plate에 분주하여 24 시간 정치한 후, lipopolysaccharide (LPS, *Escherichia coli* O11:B4, 1 µg/mL)와 Interferon-gamma(INF-γ, 50 ng/mL)로 세포를 자극하였다. 이 때 시료도 같이 첨가하였는데, 최종농도가 1 mg/mL, 0.1 mg/mL의 농도가 되도록 하였다. 24 시간을 더 배양한 후 상층액으로 분비된 nitric oxide(NO)의 양을 griess reagent(Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO, USA) 시약을 가하여 발색정도를 ELISA reader(570 nm)에서 측정하였다. 또한 상층액으로 분비된 프로스타그란딘 E2를 프로스타그란딘 E2 EIA Kit-monoclonal(Cayman Chemical Co., Ann Arbor, USA)를 사용하여 PG-E₂를 측정하였다.

통계 처리

실험결과는 SAS package(release 8.01)를 이용하여 mean±SD로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

전자공여능

DPPH 라디칼은 반응계에서 전자를 공여받으면 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있고, 이 색차를 비색 정량하여 시료의 전자공여능을 측정하는데 이용할 수 있다(Yen &

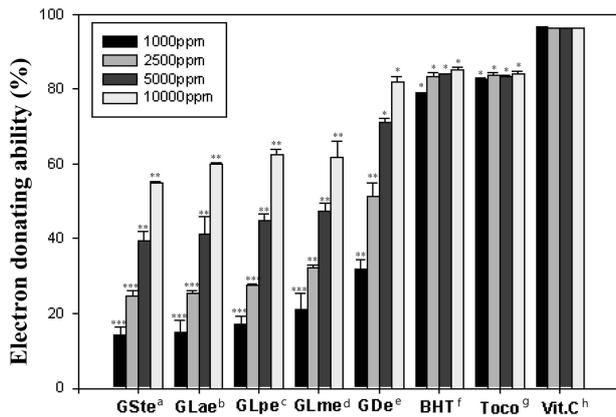


Fig. 2. Electron donating abilities of the fermented ginger extracts. (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)

^aExtract of ginger fermented with *Streptococcus thermophilus*

^bExtract of ginger fermented with *Lactobacillus acidophilus*

^cExtract of ginger fermented with *Lactobacillus plantarum*

^dExtract of ginger fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

^eExtract of dried ginger

^fBHT : butylated hydroxy toluene

^gToco. : α -tocopherol

^hVit.C : ascorbic acid

Chen, 1995). 이 방법에 의해 건생강 추출물과 발효생강 추출물의 전자공여능을 측정 한 결과는 Fig. 2와 같았다.

10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 건생강 추출물(GDe)은 81.9%의 활성을 나타낸 반면, 발효생강 추출물인 GSte, GLae, GLpe, GLme은 각각 54.9%, 59.87%, 62.55%, 61.89%으로 GDe보다는 활성이 감소하는 결과를 보여주었다. HPLC를 이용한 6-진저롤과 6-쇼가올의 분석 결과에서 보면 생강추출물의 6-진저롤 함량이 줄어들면서 항산화 효과도 감소하는 것을 볼 수 있었는데 생강에 함유된 진저롤이 항산화효과를 나타내는데 관여한다는 연구결과와도 일치하는 경향을 나타내었다(Lee & Ahn, 1985; Yang et al., 1990). 또한 GDe는 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 아스콜빈산의 96.2% 보다는 낮은 활성을 보였지만, 강력한 항산화제의 일종인 BHT 및 토코페롤과는 유의적 차이가 없는 비슷한 활성을 나타내었다.

싸이클로옥시게네이즈-2 저해능

건생강 및 발효생강 추출물들의 COX-2에 대한 저해능은 Table 1과 같았다. 각 시료에 동일한 수준(1 mg/mL)의 생강 추출물이 포함되어 있을 때 GDe는 35.75%의 COX-2 효소 저해활성을 나타낸 반면 GSte, GLae, GLpe 및 GLme는 각각 60.97%, 58.57%, 62.47%, 60.38%의 저해활성을 나타내었다. 발효생강 추출물은 건생강 추출물인 GDe에 비해 약 1.7 배 이상의 저해활성을 보여주었으며 발효생강 추출물간에 유의적 차이는 없었다. COX-2 효소 저해활성과 농도에 따른 그래프를 이용하여 IC_{50} 를 구한 결과 GDe가 1428.6 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 나타났으며, GSte, GLae, GLpe 그리고 GLme 추출물의 경우 각각 820.1 $\mu\text{g/mL}$, 880.1 $\mu\text{g/mL}$, 800.38 $\mu\text{g/mL}$, 830.27 $\mu\text{g/mL}$ 으로 나타났다. Kiuchi et al.(1992)은 생강에 함유되어있는 진저롤과 진저롤의 가수분해 산물인 쇼가올이 프로스타그란딘(PG)과 류코트리엔 합성 효소의 효과적인 억제제로 보고하였는데, 본 실험에서도 생강 추출물이 PG의 합성 효소인 COX-2 효소를 저해하는 결과를 나타내었으며 동일 농도에서 발효생강 추출물이 건생강 추출물에 비하여 저해 효과가 우수하였다.

Table 1. Inhibitory effects on cyclooxygenase-2 by the fermented ginger extracts.

Sample	Inhibition		
	COX-2(%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
		Relative value	Absolute value
GDe ^a (1 mg/mL)	35.75±2.45 ¹	1428.6	1428.6
GSte ^b (21 mg/mL)	60.97±9.06 ²	17221.6	820.1
GLae ^c (21 mg/mL)	58.57±8.08 ²	18221.6	880.1
GLpe ^d (14.7 mg/mL)	62.47±2.41 ²	11765.6	800.38
GLme ^e (14.7 mg/mL)	60.38±5.41 ²	12765.6	830.27

¹⁻²Means in the same column not sharing a common number are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

^aExtract of dried ginger

^bExtract of ginger fermented with *Streptococcus thermophilus*

^cExtract of ginger fermented with *Lactobacillus acidophilus*

^dExtract of ginger fermented with *Lactobacillus plantarum*

^eExtract of ginger fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

15-리폭시게네이즈 저해능

알레르기 반응의 중개자인 류코트리엔(LT)은 리폭시게네이즈(LOX)에 의해 생성되는 물질로, LOX는 현재까지 type 5-, 8-, 9-, 11-, 12- 그리고 15-LOX 등 다양한 종류

Table 2. Inhibitory effects on 15-lipoxygenase by the fermented ginger extracts.

Sample	15-LOX
	% Inhibition
GDe ^a (1 mg/mL)	7.5±5.23 ¹
GSte ^b (21 mg/mL)	n.i.*
GLae ^c (21 mg/mL)	n.i.*
GLpe ^d (14.7 mg/mL)	6.4±0.71 ¹
GLme ^e (14.7 mg/mL)	5.4±0.81 ¹

*n.i means "no inhibition"

¹Means in the same column not sharing a common number are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

^aExtract of dried ginger

^bExtract of ginger fermented with *Streptococcus thermophilus*

^cExtract of ginger fermented with *Lactobacillus acidophilus*

^dExtract of ginger fermented with *Lactobacillus plantarum*

^eExtract of ginger fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

가 알려져 있다. AA로부터 알레르기 반응에 중요한 역할을 하는 LOX 효소를 저해하면 알레르기 현상을 완화시킬 수 있을 것으로 예상하고 건생강과 발효생강 추출물에 의한 LOX의 저해능을 측정 한 결과는 Table 2와 같다. GDe 기준 1 mg/mL의 농도에서 GDe, GLpe 그리고 GLme의 경우 각각 7.5, 6.4, 5.4%의 저해도를 나타내었으며 GSte와 GLae의 경우 저해효과를 보이지 않았다. 전체적인 저해 수준은 높지 않았지만 낙농제품 유래 유산균으로 발효한 생강추출물인 GSte와 GLae가 저해 효과를 나타내지 않은 반면에 김치유래 유산균 발효생강 추출물인 GLpe와 GLme는 미약하나마 저해효과를 나타내어 향후 추가적인 연구가 필요할 것 같았다.

세포독성

세포주 실험의 진행을 위해 세포독성 실험의 결과는 Fig. 3과 같았다. GSte, GLae, GLpe는 각각 3.8, 0.3, 2.8%로 5% 미만의 세포독성을 나타냈다. 반면에 GDe와 GLme는 각각 67.8, 15.3%의 세포독성을 나타내었다.

NO 생성저해능

NO는 reactive nitrogen species의 일종으로 일반적으로 이들의 생성은 박테리아를 죽이거나 종양을 제거시키는데 필요한 역할을 하지만(Weis et al., 1996), 염증상태에서 iNOS에 의해 생성된 NO는 혈관 투과성, 부종 등의 염증 반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 염증매개체의 생합성을 촉진하여 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다(Mu et al., 2001; Ryu et al., 2003). 본 연구에서는 생강 추출물의 NO 생성 저해능을 측정 한 결과는 Fig. 4와 같았다. Fig. 4에 제시된 바와 같이 대부분의 샘플들이 NO 생성 저해능을 나타내었다. GSte는 1 mg/mL 또는 0.1 mg/mL의 농도

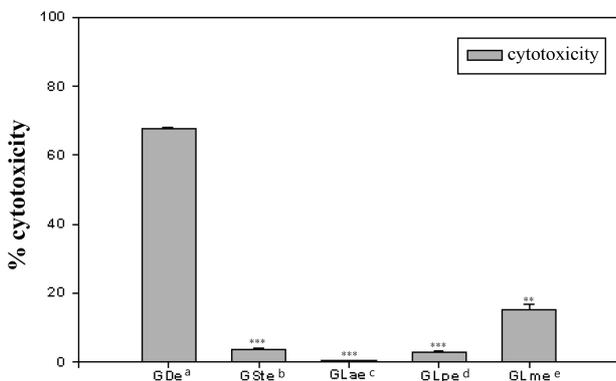


Fig. 3. Cytotoxicities of the fermented ginger extracts against RAW 264.7 macrophages. (, p<0.01; ***, p<0.001)**

- ^aExtract of dried ginger
- ^bExtract of ginger fermented with *Streptococcus thermophilus*
- ^cExtract of ginger fermented with *Lactobacillus acidophilus*
- ^dExtract of ginger fermented with *Lactobacillus plantarum*
- ^eExtract of ginger fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

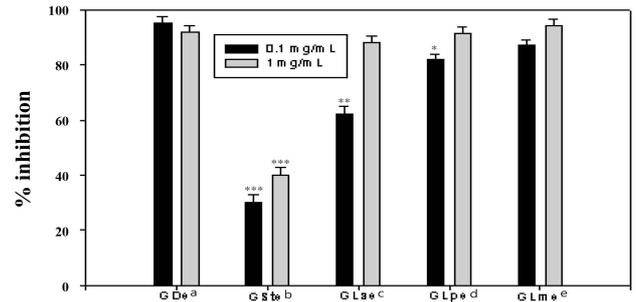


Fig. 4. Inhibitory effects of the fermented ginger extracts on the production of NO in RAW 264.7 macrophages. (*, p<0.05; **, p<0.01; *, p<0.001)**

- ^aExtract of dried ginger
- ^bExtract of ginger fermented with *Streptococcus thermophilus*
- ^cExtract of ginger fermented with *Lactobacillus acidophilus*
- ^dExtract of ginger fermented with *Lactobacillus plantarum*
- ^eExtract of ginger fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

에서 50% 미만의 저해활성을 나타내었으며, 그 외의 시료들은 그 이상의 저해활성을 나타내었으나 GDe의 경우는 세포독성의 영향을 받았을 것으로 판단된다. GDe를 제외한 0.1 mg/mL의 농도를 기준으로 하였을 때 그 저해능이 우수한 정도를 순서로 나타내면 다음과 같다. 즉, GLme > GLpe > GLae > GSte 순으로 나타나 김치유래 유산균 발효생강 추출물이 낙농제품 유래 유산균 발효생강 추출물에 비하여 저해능이 높은 것을 알 수 있었다. NO는 주요한 염증 매개물질이므로 이에 대한 저해능이 있다는 것은 발효생강 추출물들의 항염증활성을 입증하는 중요한 결과라고 생각 된다.

PGE₂ 생성저해능

본 실험에서는 LPS와 IFN- γ 에 의해 자극을 받은 RAW cells에서 시료들이 PG-E₂의 생성을 저해하는 활성을 Fig. 5에 나타내었다. 자극물질이 없는 조건에서 RAW cells로부터 자연적으로 생산되는 PG-E₂의 양은 평균 16.8 pg/mL이었으며 LPS와 IFN- γ 에 의해 평균 873.1 pg/mL이 생산되었다. COX 저해제인 이부프로펜을 100 μ M의 농도로 첨가하였을 때는 PG-E₂의 생성이 평균 41.3 pg/mL로 감소하여 약 95.3%의 저해율을 나타내었다. 발효생강 추출물중 GLme은 0.1 mg/mL의 농도에서 26.5%, 1 mg/mL의 농도에서는 약 69.8%로 농도의존적인 방법으로 저해 활성을 나타내었다. GLpe는 1 mg/mL의 농도에서 가장 높은 82.0%의 저해활성을 나타내었다. GDe의 경우 1 mg/mL에서 세포독성을 나타내었는데 이번 실험에서는 그 현상이 관찰되지 않았고 또 0.1 mg/mL의 농도에서 59.3% 저해 활성을 나타내어 농도 변화에 따른 추가적인 확인이 필요할 것으로 판단되었다. 세포실험 조건에서 염증 유발 매개체인 PGE₂의 생성 저해 활성을 본 결과 낙농제품 유래 유산균 발효생강 추출물들은 PGE₂의 생성을 저해하지 못하는 결

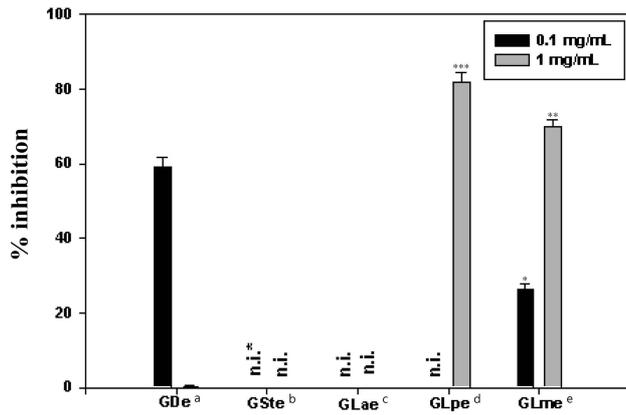


Fig. 5. Inhibitory effects of the fermented ginger extracts on the production of PG-E₂ in RAW 264.7 macrophages. *n.i. means "no inhibition". (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)

^aExtract of dried ginger

^bExtract of ginger fermented with *Streptococcus thermophilus*

^cExtract of ginger fermented with *Lactobacillus acidophilus*

^dExtract of ginger fermented with *Lactobacillus plantarum*

^eExtract of ginger fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

과를 보였으나, 김치유래 유산균 발효생강 추출물들은 높은 저해 활성을 나타내었으며 그 중에서도 GLPe가 가장 높은 82%의 저해도를 나타내었다.

요 약

생강은 다양한 생리활성이 확인됨에 따라 여러나라에서 전통의약재로서 폭넓게 사용되고 있다. 하지만 진저롤 및 그 유도체에서 유래되는 자극적인 향미로 인하여 식품소재로서의 사용에는 다소 어려움이 있는 실정이다. 본 연구에서는 생강을 *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, 및 *Lactobacillus acidophilus* 등과 같은 유산균에 의한 발효를 통하여 생강의 관능특성을 증진시키려 하였다. 발효된 생강은 *in vitro*에서 전자공여능 및 cyclooxygenase-2 저해활성을 나타내었으며 또한 산화질소의 생성도 억제하였다. 특히 김치유래 유산균으로 발효한 생강추출물인 GLPe와 GLMe는 Raw 264.7 macrophages에서 prostaglandin-E₂의 생성을 60% 이상 저해하였으며 15-lipoxygenase에 대한 저해 활성도 나타내었다. 따라서 GLPe나 GLMe와 같은 발효생강 추출물은 섭취할 때 자극적인 향미로 인한 거부감이 적으며 염증이나 알러지 등에 의해 야기되는 바람직하지 않은 증상을 일부 완화시킬 수 있는 건강식품소재로서 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

Biois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.

Church MK, Levi-Schaffer F. 1997. The human mast cell. *J Allergy Clin. Immunol.* 99: 155-160.

Connell DW, Sutherland MD. 1969. A re-examination of gingerol, shogaol, and zingerone the pungent principles of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Aus. J. Chem.* 22(5): 1033-1043.

Connell DW. 1970. The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Flavour Ind.* 1: 677-693.

Ennis M, Pearce FL, Weston PM. 1980. Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine. *Br. J. Pharmacol.* 70: 329-334.

Fujio H, Hiyoshi A, Asari T, Suminoe K. 1969. Studies on the preventive method of lipid oxidation in freeze dried foods. *Nippon shokuhin kogyo Gakkaishi* 16: 241-246.

Funk, CD. 2001. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 294: 1871-1875.

Hong JH. 1989. Studies on the antioxidant activity of natural spices. MS thesis. Korea University, Seoul, Korea.

Kemal C, Lousi-Flamberg P, Krupinski-Olsen R, Shorter AL. 1987. Reductive inactivation of soybean lipoxygenase 1 by catechols: a possible mechanism for regulation of lipoxygenase activity. *Biochem.* 26: 7064-7072.

Kim EJ, Ahn MS. 1993. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J. Food Soc. Technol.* 9: 37-42.

Kim HM, Hirota S, Chung HT, Ohno S, Osada S, Shin T, Ko KI, Kim JB, Kitamura Y, Nomura S. 1994. Differential expression of protein kinase C genes in cultured mast cells derived from normal and mast cell-deficient mice and mast cell lines. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 105: 258-263.

Kim JJ, Ahn SI, Lee JS, Yun SM, Lee MY, Youn HS. 2008. Suppression of the expression of cyclooxygenase-2 induced by toll-like receptor 2, 3, and 4 agonists by 6-shogaol. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 332-336.

Kim JS, Koh MS, Kim MK, Hong JS. 1991. Volatile flavor components of Korean ginger. *Korean J. Food Sci. Technol.* 23: 141-149.

Kim KB, Lee EG, Chai OH, Song CH, Jeong JM. 2007. Inhibitory effects of Phyto-Extract mixture (PEM381) on Type I Allergic Reaction. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 155-162.

Kiuchi F, Iwakami S, Shibuya M, Hanaoka F, Sankawa U. 1992. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chem. Pharm. Bull.* 40: 387-391.

Lee BS, Ko MS, Kim HJ, Kwak IS, Kim DH, Chung BW. 2006. Separation of 6-gingerol from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidative activity. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 21: 484-488.

Lee CB. *Illustrated Flora of Korea*. 1979. Hyangmoon Publish Co., Seoul, Korea, p. 231.

Lee IK, Ahn SY. 1985. The antioxidant activity of gingerol. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17: 55-59.

Lee YN. *Flora of Korea*. 1996. Kyohaksa, Seoul, Korea, pp. 1107-1109.

Martin TR, Ando A, Takeishi T, Katona IM, Drazen JM, Galli SJ. 1993. Mast cell contribute to the changes in heart rate, but not hypotension or death. associated with active anaphylaxis in mice. *J. Immunol.* 151: 367-376.

Metcalfe DD, Kaliner M, Donlon MA. 1981. The mast cell. *Crit Rev. Immunol.* 3: 23-74.

- Miyajima I, Dombrowicz D, Martin TR, Ravetch JV, Kinet JP, Galli SJ. 1997. Systemic anaphylaxis in the mouse can be mediated largely through IgG1 and Fc gammaRIII. Assessment of the cardiopulmonary changes, mast cell degranulation, and death associated with active or IgE- or IgG1-dependent passive anaphylaxis. *J. Clin. Invest.* 99: 901-914.
- Mu MM, Chakravorty D, Sugiyama, Koide N, Takahashi K, Mori I, Yoshida T and Yokochi T. 2001. The inhibitory action of quercetin on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells. *J. Endotoxin Res.* 7: 431-438.
- Nakatsuka M, Osawa Y. 1983. Selective inhibition of the 12-lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism by L-arginine or sodium nitroprusside in intact human platelets. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 200: 1630-1640.
- Neichi T, Koshihara Y, Murota S. 1983. Inhibitory effect of esculetin on 5-lipoxygenase and leukotriene biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta.* 753: 130-132.
- Park KY, Lee SJ, Lee KI, Rhee SH. 2005. The antitumor effect in sarcoma-180 tumor cell of mice administered with Japanese apricot, garlic or ginger *Doenjang*. *Korean J. Food Cookery Sci.* 21: 599-606.
- Ryu HS, Kim J, Park SC, Kim HS. 2004. Enhancing effect of *Zingiber officinale* Roscoe extracts on mouse spleen and macrophage cells activation. *Korean J. Nutr.* 37: 780-785.
- Ryu JH, Ahn H, Kim, JY, Kim YK. 2003. Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophage. *Phytother. Res.* 17: 485-489.
- SAS Institute Inc. 1987. SAS/STAT guide for personal computer. 6th ed., Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA, p. 60.
- Shin DH. 1994. Survey on consumer concept and acceptability of convenient ginger product. *Korea J. Dietary Culture* 9: 323-327.
- Srivastava KC. 1989. Effect of onion and ginger consumption on platelet thromboxane production in humans. *Prostag. Leukotr. Ess.* 35: 183-185.
- Van HT, Colin CD. 2003. Effective anti-platelet and COX-1 enzyme inhibitors from pungent constituents of ginger. *Thromb. Res.* 111: 259-265.
- Weisz A, Cicatiello L, Esumi H. 1996. Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon-gamma, bacterial lipopolysaccharide and N^G-monomethyl-L-arginine. *Biochem. J.* 316: 209-215.
- Yang HC, Hong JH, Lee TK. 1990. Crude gingerol extraction and its antioxidant effect. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 33(2): 143-146.
- Yen GC, Chen HY. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-32.