

발효명일엽의 품질특성

허민영 · 정하열*

한경대학교 식품생물공학과 및 한국전통식품글로벌센터

Quality Characteristics of the Fermented Angelica Leaves

Min-Young Heo and Ha-Yull Chung*

Department of Food Science & Biotechnology and Korean Traditional-food Global Center,
Hankyong National University

Abstract

Consumption of angelica leaves (*Angelica utilis*) juice as a health-improving drink faces some limitation due to its bitter taste. In this study, fermented angelica leaves was prepared using some lactic acid bacteria from kimchi with their sensory properties and biological activities examined. The addition of ALm (angelica leaves fermented by *Leuconostoc mesenteroides*) in plain yoghurt increased umami and preference compared to the yoghurt where dried angelica leaves were added. The ALm extract showed higher DPPH radical scavenging activity than other extracts and its flavonoid content was the highest. In case of A549 (lung cancer cell line) in CCK-8 assay, ALp (angelica fermented by *Lactobacillus plantarum*) extract exhibited inhibiting activity at 400 ppm level. When it comes to HT29 (colorectal cancer cell line), ALm, as well as ALp, depicted inhibition effects. In the fermented angelica leaves including ALm and ALp, the characteristic bitter taste of angelica leaves decreased through fermentation process so that both of them could be used as a health drink ingredient.

Key words: *Angelica utilis*, fermentation, lactic acid bacteria

서 론

명일엽(*Angelica keiskei* Koidz 또는 *Angelica utilis* Makino)은 미나리과에 속하는 다년생초로서 일본의 하찌쵸시마가 원산지로서 “아시다바”라고도 하며, 우리나라에는 1970년대 말에 처음 들어와 신선초, 선삼초, 신립초 등으로 불린다(Ok et al., 1992). 명일엽은 고혈압, 간장병, 신경통 등 각종 성인병에 대해 민간요법으로 사용되어 왔으며, 항고지혈, 혈압강하, 항암작용, 위산분비억제 등에 관한 생리활성들이 보고되고 있다(Tae et al., 2008). 생리적 활성을 나타내는 각종 유기산, flavonoid, coumarin, saponin 등과 각종 무기질 특히 유기 게르마늄이 들어 있다고 보고되어 있으며 현재 약 20 여종이 국내 여러 지역에서 재배되어 가공하여 건강기능식품 및 생채, 분말, 추출물, 생즙의 형태로 많이 이용되고 있다(Hee & Kum, 2010). 그러

나 명일엽은 여러 가지 성인병 질환에 효과가 크고 쉽게 구할 수 있기 때문에 선호하는 편이나 쓴맛과 독특한 냄새 등으로 인하여 일상의 식품 재료로는 인식되어 있지 않을 뿐만 아니라 이용 범위도 제한되어 있다.

김치는 *Leuconostoc*속, *Lactobacillus*속, *Streptococcus*속, *Pediococcus*속, *Weissella*속 등의 유산균을 비롯한 여러 미생물들에 의해 발효가 이루어지며, 이 과정을 통해 특유의 맛과 향미를 갖게 된다. 김치 발효 과정의 초기에 나타나는 유산균은 *Leuconostoc mesenteroides*가 우세균종으로 김치 내용물을 산성화시키며, 그 이후에는 *Lactobacillus plantarum* 균종이 나타나는 것으로 알려져 있다. 이들 유산균은 발효과정에 관여할 뿐 아니라, 혈장 지질 저하 효과 및 간 기능 보호작용, 정장작용, 면역기능 강화, 항돌연변이 효과, 항산화활성, 항암작용 등의 다양한 건강 기능성을 가지고 있는 것으로 보고되어 있다(Bong, 2014). 현재 우리나라는 높은 암 발생률과 사망률로 암에 대한 관심이 계속적으로 증가하고 있고 특히 서구화된 식생활로 인해 대장암과 같은 선진국형 암 발생이 증가하고 있어 이에 따른 대책 마련이 시급한 상황이다. 김치 유산균은 암의 발생기전을 차단하여 암의 발생을 예방하고 암세포 괴사를 유도하며, 암의 성장이나 진행을 억제시키는 기능이 알려져 있

*Corresponding author: Ha-Yull Chung, Department of Food Science & Biotechnology, Hankyong National University, 167 Joongang-Ro, Anseong-si, Gyeonggi-do 456-749, Korea
Tel: +82-31-670-5156; Fax: +82-31-670-5159
E-mail: chy@hknu.ac.kr

Received October 2, 2014; revised October 29, 2014; accepted October 30, 2014

다(Park & Kim, 2012; Shin et al., 1998; Park et al., 1998).

따라서 본 연구는 명일엽의 자극적인 쓴맛을 완화시키기 위하여 김치 유산균을 이용한 발효를 통해 발효 명일엽을 제조하고 이들의 생리활성을 조사하여 새로운 건강식품 소재로서의 사용 가능성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

Quercetin, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)은 Sigma 사(Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO, USA), HPLC 용매는 J.T.BAKER사(Mallinckrodt Chemicals, Hazelwood, MO, USA), 여과지(No.2)는 Whatman(Springfield Mill, Huddersfield, UK)에서 구입하여 사용하였다. MRS Broth 와 MRS Agar는 Becton Dickinson 사(Sparks, MD 21152, Franklin Lakes, NJ, USA) 구입하여 사용하였다. 탄닌산은 삼천사(Samchun Pure Chemical, Pyeongtaek, Korea)에서 구입하였다.

발효명일엽의 제조

본 실험에 사용한 발효명일엽은 Fig. 1과 같이 제조하여 사용하였다. 먼저 Lm(*Leuconostoc mesenteroides* KCCM 40709), Lp(*Lactobacillus plantarum* KCCM 12116), Ls

(*Lactobacillus sakei* KCCM 40264)를 이용한 발효명일엽을 제조하기 위해서 명일엽 및 말토덱스트린, 그리고 효모추출물을 이용하여 배지를 제조하고 121°C에서 15분간 가압 멸균을 한 후 무균상에서 냉각 하였다. 초기 균수를 맞추기 위해 먼저 MRS 배지로 Lm, Lp, Ls를 배양하여 각 균주별 스타터를 전체 명일엽배지에 각각 0.43%(w/w), 0.90%(w/w), 0.50%(w/w) 접종한 뒤 배양기에서 균주별 생육적온(26°C, 30°C, 37°C)에서 배양하였다. 이 때 각 균주별 배양기는 생육적온(26°C, 30°C, 37°C)에서 24시간동안 배양시켰을 때 최대 균수를 나타내었다. 배양이 끝난 발효물은 pH 및 산도를 측정한 후 급속동결기에서 -80°C로 24시간 동결 시킨 뒤 동결건조기를 사용하여 건조 및 분쇄 후 실험에 사용하였다.

발효명일엽 추출물의 제조

건명일엽 및 발효명일엽 추출물은 시료인 각각의 건명일엽(dried angelica leaves), 공실험구(Blank), Lm 발효명일엽, Lp 발효명일엽, Ls 발효명일엽 각 20g에 80% EtOH 200 mL을 넣고 2시간 동안 환류추출 후 여과지(No. 2)로 여과하는 과정을 3 회 반복하여 추출한 추출물을 모아 농축기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 2 배로 진공압 농축하여 각각 DA, Blank, ALm, ALp 그리고 ALs로 하였다. 감압농축으로 에탄올을 증발시킨 후 은박도시막에 남은 추출액을 담아 급속동결기에서 -80°C로 동결시킨 후 동결건조기를 이용하여 추출건조물을 제조하였다.

일반성분 분석

AOAC법(AOAC, 1995)에 따라 수분은 105°C 상압건조법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조단백은 semi-micro kjeldahl 법(N×6.25), 조회분은 550°C 회화법, 조섬유는 H₂SO₄-KOH 법으로 정량 하였다. 탄수화물은 100에서 수분, 조지방, 조단백, 조회분, 조섬유를 뺀 값으로 하였다.

요구르트 제조

관능평가용 요구르트의 제조는 Choi(2009)와 같이 행하였다. 12% 탈지분유를 90°C에서 30분간 살균한 후 무균상에서 냉각을 시켰다. 냉각한 탈지분유 배지에 플레인 모닝 프로바이오틱스(Duolac, Cell Biotech Inc., Gimpo, Korea)를 별도의 배양없이 직접 스타터로 접종하여 37°C에서 24 시간 발효시켰다. 발효가 끝난 요구르트는 냉장고에서 4°C 보관하여 관능 평가에 사용하였다.

관능검사

관능평가용으로 제조한 요구르트에 DA, Blank, ALm, ALp 그리고 ALs를 각각 0.5% 첨가하여 homogenizer로 균질화 시킨 후 식품생물공학과 실험생 20 명을 예비실험을 통해 훈련시킨 후 검사원으로 하여 색(color), 맛(taste) 및 전체

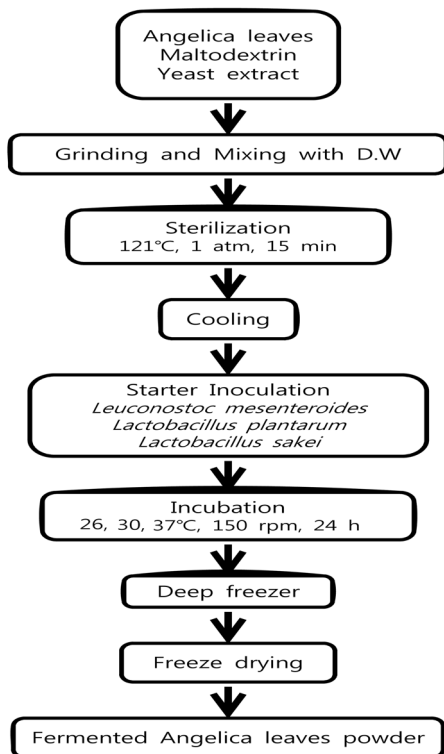


Fig. 1. Manufacturing process of fermented angelica leaves.

적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 최저 1 점, 최고 9 점의 9 단계 기호척도법으로 평가하였다(Kang, 2007).

맛 분석

건명일엽과 발효명일엽의 맛의 차이를 객관적으로 확인하기 위해 미각 센서(taste sensor)를 이용한 맛 분석기(Insent, 5-1-1 Onna, Atsugishi, Kanagawa-Pref., Japan)를 사용하여 측정하였다. 건명일엽과 발효명일엽을 관능검사와 같은 방법으로 제조한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 상등액을 시료로 사용하였다. 맛 분석기에 시료를 35 mL씩 넣어 4 회 맛을 측정 한 후 1 회차에 측정한 값을 제외한 나머지 값의 평균을 이용하여 나타내었다. 측정 항목으로는 감칠맛(umami), 쓴맛(bitterness), 떫은맛(astringency), 짠맛(saltiness), 신맛(sourness)을 분석하였는데 센서의 전극으로 측정된 전위차 값을 다시 맛의 수치로 변환시켜 결과로 나타내었으며 맛의 수치의 차이는 사람이 맛의 차이를 인지할 수 있는 맛 성분의 농도 변화를 나타낸다.

DPPH radical 소거능 측정

전자공여능(Electron Donating Ability, EDA)은 시료에 대한 DPPH(2,2-Diphenyl -1-picrylhydrazyl)의 전자공여 효과로 시료의 환원력을 측정하는 방법으로 Su(2011)의 방법을 변형하여 측정하였다. 농도별 희석한 시료추출물을 1.4 mL씩 분주하고, 다시 여기에 150 µM DPPH(59.145 mg/mL in MeOH) 용액 2.1 mL를 첨가하여 섞은 다음 실온에서 30분간 반응시키고 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 518 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 Ascorbic acid(Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

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

SA : sample absorbance

CA : control absorbance

플라보노이드

페놀성 화합물중 특히 여러 가지 기능성을 나타내는 것

으로 알려진 flavonoid 함량을 알아보기 위해 Kwak(2008)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 1 mg/mL 농도로 methanol에 용해시킨 시료에 50 µL와 1 N-NaOH 50 µL, diethylene glycol 1 mL를 혼합하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 화합물의 양은 루틴의 최종 농도가 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05 mg/mL이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 반응시키고 420 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준정량선을 작성하여 구하였다.

게르마늄 분석

건명일엽과 발효명일엽의 게르마늄 분석을 위해 시료 2g을 테프론 비이커에 취해 perchloric acid 7 mL과 질산 10 mL을 넣어준 후 150°C에서 분해하였다. 분해 중 흰 연기가 나면 질산 10 mL을 넣어준 후 계속 분해하였다. 시료가 무색이 될 때까지 가열한 후, 1 mL이 될 때까지 농축을 시킨 후, 3 차 증류수로 20 mL로 정용하고 여과한 후 ICP-OES(Optima 8300, Perkinelmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분석하였다.

Cell viability test(CCK-8 assay)

세포 생존율 분석을 위해 대장암세포주인 HT-29와 폐암 세포주인 A549를 5×10^3 cells/well로 96 well plate에 24시간 배양하여 plate에 부착시킨 후, 발효명일엽 추출물을 각각의 농도로 희석하여 첨가한 후 24~48시간동안 더 배양하였다. 여기에 cck-8(Dojindo) 용액 10 µL를 첨가한 후 1~4 시간동안 CO₂ incubator에서 더 반응시켰다. 반응이 끝난 후 ELISA reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정 하였다(Dong, 2006).

통계 처리

실험결과는 SPSS package(release 8.01, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 mean±SEM로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 SAS system(2002)을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

Table 1. Approximate composition of angelica leaves and fermented angelica leaves(%).

Approximate composition	Moisture	Crude fat	Crude protein	Crude ash	Crude fiber	Carbohydrate
DA ¹⁾	4.69	2.71	9.83	8.47	13.49	60.81
Blank ²⁾	3.5	0.94	14.51	5.56	6.46	69.03
ALm ³⁾	3.58	1.35	15.46	5.66	6.23	67.72
ALp ⁴⁾	3.63	1.38	15.15	5.64	6.43	67.77
ALs ⁵⁾	3.82	1.44	15.17	5.45	6.37	67.75

¹⁾Dried angelica leaves

²⁾Angelica leaves without inoculation

³⁾Angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

⁴⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*

⁵⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

Table 2. Sensory evaluation scores of yoghurt added with the extracts of angelica leaves(0.5%) and fermented angelica leaves(0.5%).

	Color	Taste	Acceptability
Yoghurt	6.47±2.41 ^a	4.11±1.20 ^b	4.37±1.26 ^{cd}
Yoghurt+DA ¹⁾	5.45±2.63 ^a	2.75±0.85 ^a	2.55±1.10 ^a
Yoghurt+Blank ²⁾	6.50±1.54 ^a	3.75±0.85 ^b	4.75±1.33 ^d
Yoghurt+ALm ³⁾	6.50±1.54 ^a	3.25±1.97 ^{ab}	3.00±1.92 ^{ab}
Yoghurt+ALp ⁴⁾	6.50±1.54 ^a	3.70±1.84 ^b	3.65±2.11 ^{bc}
Yoghurt+ALS ⁵⁾	6.40±1.70 ^a	3.45±0.60 ^{ab}	3.80±0.95 ^{cd}

^{a-d}Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

¹⁾Dried angelica leaves

²⁾Angelica leaves without inoculation

³⁾Angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

⁴⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*

⁵⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

결과 및 고찰

일반성분

발효명일엽의 일반성분을 측정된 결과는 Table 1과 같았다. 수분함량, 조지방, 조단백질, 조회분, 조섬유, 탄수화물의 함량들이 대부분 유산균 비접종 시료(Blank)와 발효명일엽 시료들 간에 큰 차이가 없어서 발효에 의해서 명일엽에 함유된 영양성분의 함량이 변화하지는 않았음을 알 수 있었다.

관능평가

식품소재로서의 관능적 적합성을 보기 위해 호상요구르트에 발효명일엽을 0.5%씩 각각 첨가하여 색(color), 맛(taste) 및 전체적인 기호도(overall acceptability)등을 비교 한 결과 Table 2와 같았다.

0.5%의 발효명일엽을 첨가했을 경우 Table 2에서 보는 바와 같이 색에서는 유의적으로 차이가 없었으며, 맛에서는 ALp가 3.70으로 ALm과 ALS과 유의적인 차이는 없었

다. 전체적인 기호도도 맛과 마찬가지로 유의상으로 차이가 없다고 나타났다. 발효명일엽 첨가구들은 건명일엽 첨가구에 비하여 맛이나 선호도에 있어서 유의적으로 우위에 있어서 적용이 보다 수월할 것으로 예상되었다.

맛 분석

객관적으로 발효명일엽들의 맛을 비교 측정하기 위하여 맛분석기(taste sensing system)로 건명일엽과 비교하여 분석하였다. 0.5% 농도로 각 시료를 분석한 결과는 Table 3와 같았다. 건명일엽에 비해 ALp 및 ALS 발효명일엽들은 쓴맛이 유의적으로 줄어들었으며, 신맛이 좀 더 강하였다. 감칠맛은 ALm 첨가구의 경우 6.06으로 ALp, ALS 첨가구보다 높았으며, 무첨가구인 요쿠르트와 유의적으로 차이가 없는 결과를 나타내었다. Table 2의 관능평가의 결과와 연계해 볼 때 발효명일엽 첨가구들은 감칠맛이 증가하지는 않았지만 신맛의 증가와 쓴맛의 감소로 전체적인 기호도가 상승하였음을 알 수 있었다.

전자공여능

DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼은 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있는데 건명일엽 추출물과 발효명일엽 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 4와 같았다. Table 4에서 명일엽의 DPPH 라디칼 소거능 측정 결과를 보면 명일엽의 농도가 높을수록 항산화 효과는 강하다는 것을 알 수 있었다. 발효명일엽 추출물인 ALm, ALp, ALm은 1000 ppm 수준에서 대조군인 ascorbic acid 12.5 ppm보다는 좀 더 낮은 수준의 라디칼 소거능을 보여주었으나, ALm의 경우 1000 ppm의 농도에서 건명일엽 추출물보다 높은 라디칼 소거능을 보여주었고, 500 ppm의 농도에서는 ALp가 더 높은 활성을 보여주었다. 그러나 250 ppm이하에서는 발효명일엽 추출물과 건명일엽 추출물의 활성이 유의적으로 차이가 없는 것으로 나타났다. 유기농 케일과 일반 케일은 100 ppm농도에서 각 51.5%, 46.8%의 라디칼 소거능을 보여

Table 3. Taste sensing system result(interpolation difference) of 0.5% angelica leaves samples (point).

	Umami	Bitterness	Astringency	Saltiness	Sourness
Yoghurt	6.10±0.03 ^b	8.42±0.17 ^b	1.44±0.14 ^a	-13.66±0.03 ^a	-17.16±0.13 ^b
Yoghurt+DA ¹⁾	6.21±0.02 ^c	8.36±0.17 ^b	1.68±0.18 ^a	-13.26±0.10 ^c	-17.59±0.08 ^a
Yoghurt+Blank ²⁾	6.22±0.02 ^c	8.35±0.14 ^b	1.50±0.15 ^a	-13.48±0.09 ^b	-17.53±0.08 ^a
Yoghurt+ALm ³⁾	6.06±0.07 ^b	8.25±0.13 ^{ab}	1.45±0.15 ^a	-13.41±0.11 ^b	-16.80±0.11 ^c
Yoghurt+ALp ⁴⁾	5.88±0.06 ^a	8.10±0.11 ^a	1.47±0.10 ^a	-13.46±0.08 ^b	-15.79±0.10 ^d
Yoghurt+ALS ⁵⁾	5.89±0.06 ^a	8.04±0.07 ^a	1.45±0.07 ^a	-13.50±0.07 ^b	-15.67±0.09 ^d

^{a-d}Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

¹⁾Dried angelica leaves

²⁾Angelica leaves without inoculation

³⁾Angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

⁴⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*

⁵⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

Table 4. Electron donating ability of the extracts of dried angelica leaves and fermented angelica leaves (%).

Sample	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm
Ascorbic acid	47.33±3.56	88.85±2.36	95.56±0.09	96.19±0.00

Sample	125 ppm	250 ppm	500 ppm	1000 ppm
Blank ¹⁾	4.50±1.66 ^a	10.00±2.16 ^a	19.22±0.33 ^a	32.64±1.51 ^a
ALm ²⁾	5.62±1.55 ^a	12.57±1.70 ^a	21.37±1.38 ^{ab}	39.44±1.37 ^b
ALp ³⁾	6.35±1.46 ^a	12.42±1.09 ^a	22.33±2.00 ^b	34.00±0.18 ^a
ALs ⁴⁾	6.32±1.00 ^a	10.09±1.92 ^a	19.61±0.23 ^a	32.52±2.78 ^a

^{a-b}Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

¹⁾The extract of angelica leaves without inoculation

²⁾The extract of angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

³⁾The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*

⁴⁾The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

준다는 다른 논문결과(Lee, 2011)를 보았을 때 명일엽의 라디칼 소거능 활성은 케일에 비해 낮은 것으로 보여진다.

플라보노이드 함량측정

총 플라보노이드의 함량 분석방법으로는 질산알루미늄법, 염화알루미늄법, 2,4 dinitrophenylhydrazine법, diethylene glycol법 등 플라보노이드의 기본 구조에서 C-ring의 작용기와 반응하여 색을 띠는 특성을 이용하는 비색 방법이 있다. 최근 개발된 diethylene glycol법은 총 플라보노이드 함량을 분석하는 방법으로 단순하고 플라보노이드 기본구조를 갖는 화합물이 반응하여 노랑색을 띠는 특성을 이용하여 분석한다(Kwak, 2008). 각 시료 추출물에 대하여 mg당 총 플라보노이드 함량을 diethylene glycol 비색 방법을 응용하여 평가한 결과는 Table 5와 같다. 각 추출물별 Blank, ALm, ALp, ALs의 플라보노이드 함량과 항산화 활성과의 관련성을 검토하기 위해 추출액의 총 플라보노이드 함량을 평가한 결과 Blank에 비하여 발효명일엽 모두 플라보노이드 함량이 높은 것으로 조사되었다. 따라서 발효명일엽의 생리활성은 유산균 발효산물에 의한 영향일 가능성이 높을 것으로 예측되었다. 국내산 식용식물중의 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과를 살펴보면 국내 시판되는 일부 다류의 경우 홍차, 인삼차, 녹차, 한차의 플라보노이드 함량은 각각 16.75, 3.29, 6.72, 6.06 µg/mg이며, 섬고사리 잎, 눈개승마 잎, 물영경귀 잎 추출물은 각각 16.75, 16.47, 13.30 µg/mg으로 보고되었다(Lee et al., 2005). 이들 결과들과 비교해 볼때 발효명일엽은 상당히 많은 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 나타났다.

게르마늄 분석

게르마늄은 주기율표에서 C, Si, Sn, Pb와 함께 4B족에 속하는 원자번호 32번인 원소로서 1886년 독일의 Winkler가 argyrodite라는 광석에서 최초로 발견하였으며, 무기물인 GeO₂에서 합성되어 Ge-132로 불리게 되었다. 게르마늄은 항암효과, virus 감염치료와 rheumatics성 질환 및 노인

Table 5. Amounts of total flavonoid compounds in the extracts of fermented angelica leaves.

Sample	Flavonoid (µg/mg)
Blank ¹⁾	65.24±0.39 ^a
ALm ²⁾	99.23±0.64 ^d
ALp ³⁾	90.15±3.57 ^c
ALs ⁴⁾	77.56±3.70 ^b

^{a-d}Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple test.

¹⁾The extract of angelica leaves without inoculation

²⁾The extract of angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

³⁾The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*

⁴⁾The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

성 골다공증 치료효과, 박테리아 살균효과, 중금속 해독작용(Park, 2003), 항종양효과, 항돌연변이 효과, natural killer 세포 및 대식세포의 활성화를 포함하는 면역강화 작용, 해열 및 진통 등의 다양한 약리효과가 있는 것으로 밝혀졌다(Lee et al., 2005).

건명일엽과 발효명일엽의 게르마늄 함량에 대한 결과는 Table 5와 같다. 명일엽에는 0.3 mg/kg의 게르마늄이 함유되어 있다고 다른 논문에서 나타나고 있는데(Kim et al., 1992), 실험결과 건명일엽에 게르마늄은 0.012 mg/kg이 포함되어 있었으나, Blank와 발효명일엽에 대해서는 게르마

Table 6. Germanium contents of fermented angelica leaves.

Sample	Germanium contents (mg/kg)
DA ¹⁾	0.012
Blank ²⁾	N.D
ALm ³⁾	N.D
ALp ⁴⁾	N.D
ALs ⁵⁾	N.D

* N.D : Not Detected.

¹⁾Dried angelica leaves

²⁾Angelica leaves without inoculation

³⁾Angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*

⁴⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*

⁵⁾Angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

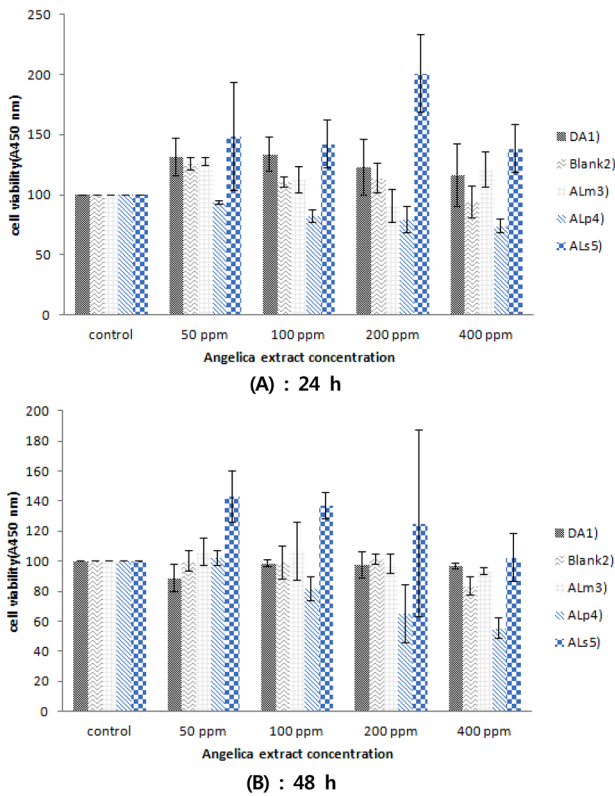


Fig. 2. Inhibitory effects of the fermented angelica leaves extracts on lung cancer cell line (A549).

- 1) Dried angelica leaves extract
- 2) The extract of angelica leaves without inoculation
- 3) The extract of angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
- 4) The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
- 5) The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

높이 검출되지 않았다. 그 이유는 명일엽이 자란 토양의 게르마늄 함량이 달라 그에 영향을 받은 것으로 판단되며, 발효명일엽의 경우 명일엽 배지를 만드는 과정에서 건명일엽의 함량이 적었기 때문이라고 판단된다. 즉 게르마늄은 발효명일엽의 생리활성과는 관련이 적은 것으로 나타났다.

Cell viability test

세포증식 및 생존능력을 측정하는 CCK-8 assay 실험의 결과는 Fig. 2 & Fig. 3과 같았다. Fig. 2는 폐암세포주인 A549에 건명일엽 추출물과 발효명일엽 추출물을 넣고 24 시간 배양한 결과인 (A)와 48시간이 지난 후 결과인 (B)를 나타내었다. (A)를 보면, DA와 ALs는 전 농도 구간에서 전혀 암세포 증식억제 효과를 보이지 않았으며, ALm은 200 ppm의 수준에서만 암세포 증식억제 효과를 나타내었으며, ALp의 경우 농도의존적으로 증식억제 효과를 나타내었다. (B)를 보면, DA와 Blank, ALm, ALs는 모두 폐암세포에 대한 성장억제 효과를 나타내지 않았으나, ALp는

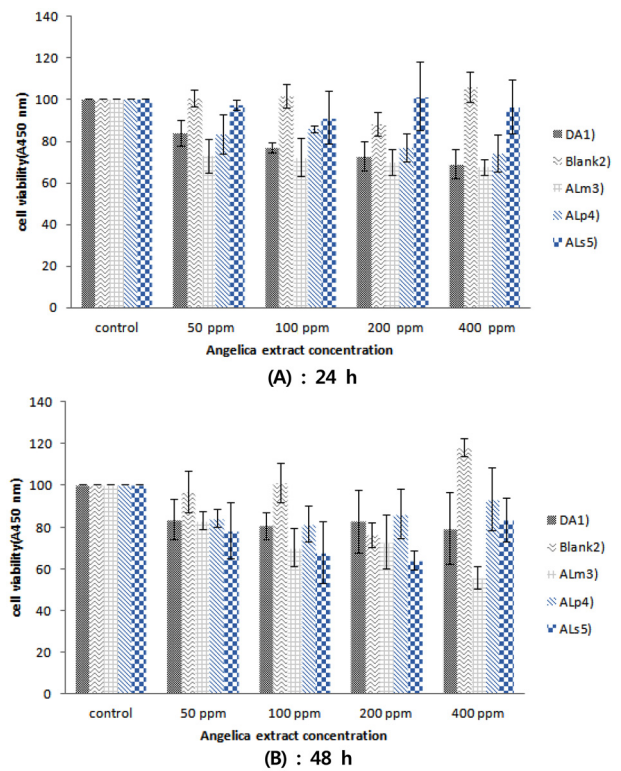


Fig. 3. Inhibitory effects of the fermented angelica leaves extracts on colorectal cancer cell line (HT-29).

- 1) Dried angelica leaves extract
- 2) The extract of angelica leaves without inoculation
- 3) The extract of angelica leaves fermented with *Leuconostoc mesenteroides*
- 4) The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus plantarum*
- 5) The extract of angelica leaves fermented with *Lactobacillus sakei*

48시간에서 24시간에서보다 더 강하게 농도의존적으로 폐암세포 억제효과를 나타내었으며 특히 400 ppm에서는 45%의 강한 억제효과를 나타내었다. 신선초와 신선초박은 A549 암세포에 대해 항암효과가 전혀 나타나지 않았다는 선행연구 결과로 볼 때(Kwon, 2004), 이번 실험과 유사한 결과를 나타내었다고 보여지며 다만 ALp의 경우는 명일엽 때문이 아니라 균 자체의 발효 생성물 때문에 폐암세포에 대한 억제효과를 보인 것으로 판단된다.

Fig. 3은 대장암세포주인 HT-29에 대한 실험결과로, (A)를 보면 Blank와 ALs는 대장암세포 성장억제효과를 나타내지 않았으나, DA와 ALm, ALp의 경우 대장암세포 성장억제효과를 나타내었다. Fig. 3의 (B)를 보면, DA와 ALm은 농도의존적으로 대장암세포 성장억제효과를 나타냈다. Blank의 경우 200 ppm이하에서는 농도의존적으로 암세포 억제를 하였으나 400 ppm에서는 오히려 암세포를 성장시켰으며, ALp는 24시간에서 성장이 억제되었던 대장암세포가 조금 더 성장이 되었고, ALs는 400 ppm을 제외하고 200 ppm까지는 농도의존적으로 암세포성장을 억제시켰다.

명일엽이 대장암세포의 성장을 억제시킨다는 결과는 신선 초즙을 이용해 대장암세포의 성장을 억제시켰다는 논문 (Jung, 2008)과 같았다.

즉 폐암세포주인 A549의 경우 ALp로 발효시킨 명일엽이 폐암세포 성장억제효과가 400 ppm일 때 48시간에서 45%로 강한 억제효과를 나타냈으며, 대장암세포주인 HT-29의 경우는 DA가 22%의 암세포 성장억제 효과가 있긴 했으나 발효명일엽 추출물인 ALm(45%)과 ALs(37%)가 더 강한 대장암세포 성장억제 효과를 나타내었다.

요 약

건강음료로서 명일엽즙의 소비는 특유의 쓴맛으로 인하여 제한적이므로 본 연구에서는 김치 유래 유산균 발효를 통하여 제조한 발효명일엽의 맛과 생리활성을 조사하여 건강식품 소재로서의 이용가능성을 검토하였다. *Leuconostoc mesenteroides*로 발효한 명일엽인 ALm을 요쿠르트에 첨가한 처리구는 건 명일엽 첨가구에 비하여 감칠맛이 높았으며 선호도가 좋았다. 또한 ALm 추출물은 250 ppm이하에서는 건명일엽 추출물의 활성과 차이가 없었으나, 500 ppm, 1000 ppm에서는 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며 이 때 이들의 플라보노이드 함량이 가장 높았다. 암세포 성장억제실험인 CCK-8 assay에서 *Lactobacillus plantarum*로 발효시킨 ALp는 폐암세포주인 A549에 대하여 400 ppm 수준에서 강한 억제효과를 나타냈으며, 대장암세포주인 HT-29에 대하여서는 ALm과 ALs가 성장억제효과를 나타내었다. 따라서 ALm, ALp, ALs 와 같은 발효 명일엽은 쓴맛이 감소하여 관능평가에서 선호도가 높고 대장암세포 혹은 폐암세포 성장억제에 효과가 확인됨에 따라 건강식품의 소재로서 사용이 가능할 것으로 예상된다.

References

- AOAC. 1995. Official methods analysis. Association of analytic chemistry. 39.
- Biois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 181: 1198-1200.
- Bong YJ. 2014. Probiotic effects of kimchi lactic acid bacteria (LAB) and increased health functionality of baechu kimchi by LAB starters. thesis, Pusan National Univ., Pusan, Korea.
- Choi HY. 2009. Antimicrobial activity of Uigeum (*Curcuma longa* L.) extract and its microbiological and sensory characteristic effects in processed foods. Korean J. Food Cookery Sci. 25: 350-356.
- Dong GS. 2006. The effect of anti-cancer and inducing apoptosis of Mistletoe extract mixed with 5-Fluorouracil(5FU) in gastric cancer cells. Kangwon National Univ., Kangwon, Korea.
- Hee SA, Kum HH. 2010. By HPLC, Quantitative comparison of three major components in each samples extracted from *Angelica keiskei* Koidzumi in three other conditions. Nat. Resour. J. 9: 125-137.
- Jung HY. 2008. Contents of nitrite and nitrosamine in organically cultivated vegetable juices and their chemopreventive effects. thesis, Pusan National Univ., Pusan, Korea.
- Kang SK. 2007. Changes in organic acid, mineral, color, curcumin and bitter substance of *Curcuma longa* L. and *Curcuma atomatica* Salib according to picking time. Korean J. Food Preserv. 14: 633-638.
- Kim OK, Kung SS, Park WB, Lee MW, Ham SS. 1992. The nutritional components of aerial whole plant and juice of *Angelica keiskei* Koidz. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 592-596.
- Kwak IS. 2008. Comparison of different assays for evaluating antioxidant activity of polyphenols and tea extracts. Chonbuk National Univ., Jeonju, Korea.
- Kwon SC. 2004. Studies on physiological activities of the extracts from cultivated *Hericium erinaceus*. thesis, Sung Kyun Kwan Univ., Seoul, Korea.
- Lee KY. 2011. Studies of vegetable juices (Nokjeup) on antioxidative effects and safety against nitrite and nitrosamine. thesis, Kangwon National Univ., Chuncheon, Korea.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 233-240.
- Lee ST, Lee YH, Lee HJ, Cho JS, Heo JS. 2005. Germanium contents of soil and crops in gyeongnam province. Korean J. Environ. Agric. 24: 34-39.
- Lee TB, Illustrated flora of Korea. 1979. Hyangmoon Publishing Co., Seoul, Korea. 511.
- Ok KK, Sung SK, Won BP, Myung WL, Seung SH. 1992. The nutritional components of aerial whole plant and juice of *Angelica keiskei* Koidz. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 592-596.
- Park CH. 2003. Studies on the absorption of Ge-132 in soybean sprout and *Oenanthe javanica* D.C. thesis, Chinju National Univ., Jinju, Korea.
- Park KY, Kim BK. 2012. Lactic acid bacteria in vegetable fermentations. In lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects. Lathinen S, Ouwehand A, Salminen S, Wright A eds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 195-202.
- Park KY, Kim SH, Son TJ. 1998. Antimutagenic activities of cell wall and cytosol fractions of lactic acid bacteria isolated from kimchi. J. Food Sci. Nutr. 3: 329-333.
- Shin KS, Chae OH, Pack IC, Hong SI, Choe TB. 1998. Antitumor effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 13: 357-363.
- Su JJ. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of dried *Raphanus sativus* L. and *Angelica keiskei* L. Dankook Univ., Seoul, Korea.
- Syng OL. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 233-240.
- Tae HK, Yeon KS, Keum HH, Mi HK. 2008. Effects of *Angelica keiskei* Koidzumi and turmeric extract supplementation on serum lipid parameters in hypercholesterolemic diet or P-407-induced hyperlipidemic rats. J. Korean Food Sci. Nutr. 37: 708-713.