

한방초공환의 제조단계에 따른 추출물의 생리활성 변화

김동한, 박찬성*

대구한의대학교 한방식품조리영양학부

Changes in Biological Activities of Extracts from Herbal *Chokong* Pills by Manufacturing Stages

Dong-Han Kim, Chan-Sung Park*

Faculty of Herbal Food Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objectives : This study was conducted to evaluate the antioxidative and anticancer activity of the water and ethanol extracts from pickled soybean products by manufacturing stage.

Methods : *Yakkong* (YK) was pickled for 15 days to prepare *Chokong* (CK) and *Chokong* pills (CKP) were mixed *Chokong* (CK) powder with vinegar. Herbal *Chokong* pills (HCKP) were made by addition five kinds of medicinal herbs to *Chokong*. Pickled soybean products by each manufacturing process were extracted with distilled water and 70% ethanol, and the extracts were tested for their antioxidative and anticancer activities.

Results : The highest electron donating abilities (EDA) of the water and ethanol extracts were from HCKP among pickled soybean products and those were 81.2% and 91.5% at 1,000 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The ethanol extracts of pickled soybean products had higher activities of EDA and superoxide dismutase (SOD) than water extracts. The highest anticancer activity was the water extracts of HCKP against both of MDA and A549 cells.

Conclusions : These results suggest that herbal *Chokong* pills (HCKP) can be used as natural antioxidant to prevent oxidative damage in normal cells probably because of their antioxidative characteristics.

Key words : herbal *Chokong* pills (HCKP), extracts, antioxidative activity, anticancer activity

서 론

콩의 성분 중 40% 이상을 차지하는 단백질은 필수아미노산이 고르게 균형잡힌 우수한 식품이며¹⁾, 불포화지방산 함량이 높은 지방, 탄수화물 및 비타민, 미네랄 등의 미량 영양성분을 고루 갖춘 식품일뿐 아니라 여러 가지 생리활성이 풍부한 식품이다²⁾. 콩은 다양한 생리활성 물질을 가진 건강 기능성식품의 소재로 널리 이용되고 있으며³⁾, 해독, 항염증, 혈행 개선을 위한 민간요법에 사용되고 있으며⁴⁾ 1조 엔이 넘는 것으로 추정되는 일본의 기능성식품 시장에서 가장 폭넓게 이용되는 것이 콩을 소

재로 하고 있다⁵⁾.

콩은 다량의 항산화물질과 isoflavone을 함유하고 있어 골다공증, 심장병, 암을 예방하는 작용이 있으며⁶⁻⁸⁾, 여성 호르몬과 유사한 기능을 하는 식물성 에스트로젠으로 폐경기에 유발되는 골다공증과 유방암, 자궁암, 난소암의 발생을 감소시키는 것으로 보고하였다⁹⁾. Kwon 등¹⁰⁾은 검은콩 안토시아닌을 첨가한 고지방식을 급여한 쥐에서 항비만 효과와 혈청콜레스테롤 저하 기능을 보고하였다. 콩 추출물의 항산화능은 콩의 폴리페놀 함량과 이소플라본 함량에 비례하고 있으며^{11,12)} 품종별로 볼 때 검은콩 추출물이 흰콩에 비해 약 2배의 항산화효과와 비만억

* 교신저자 : 박찬성, 경북 경산시 유곡동 290 대구한의대학교 한방식품조리영양학부

· Tel : 053-819-1426 · E-mail : parkcs@dhu.ac.kr

· 접수 : 2009년 8월 17일 · 수정 : 2009년 9월 16일 · 채택 : 2009년 9월 23일

제효과가 있는 것으로 보고되고 있다¹³⁾. 콩 제품은 발효에 의해 그 기능성이 증가되고 있으며¹⁴⁾ 콩 발효식품에 한약재를 첨가하여 그 기능성을 더욱 증대시키고자 하는 많은 보고들이 있다¹⁵⁻¹⁷⁾.

한방에서는 약콩, 쥐눈이콩이라고 불리는 서목태에 관한 연구가 활발하며^{9,18)}, 서목태는 해독성이 탁월하고 섬유질이 많아서 장의 활성화와 신장병을 다스리며 기를 내리고 모든 풍열을 억제하여 혈행을 활발히 하여 독을 푼다고 한다. 콩을 식초에 1~2주간 절인 초콩은 원료 콩에 비하여 isoflavone 함량이 증가하며^{19,20)}, 항산화작용²¹⁾, 혈행개선작용²²⁾, 혈당강화작용²³⁾, 항암작용⁴⁾, 간과 지방조직의 지질대사에 영향을 미쳐 비만억제효과를 나타내는 건강식품으로서 큰 관심을 끌고 있다^{20,24)}. 초콩의 효능에 관한 연구로서, 초콩에 5종류의 한약재를 첨가한 한방초공환을 제조하여 흰쥐의 고지방식이에 5% 첨가한 식이를 섭취한 흰쥐의 체중과 내장지방 및 혈중 지질농도가 감소하였으며¹⁶⁾ 간세포 조직의 미세구조를 관찰한 결과, 한방초공환 5% 첨가군은 고지방식이군에 비하여 지방세포의 수와 크기가 현저히 줄어든 현상을 보고하였다¹⁷⁾.

최근 부작용이 적고 지금까지 섭취해 오던 천연물 유래 기능성 식품소재의 중요성과 더불어 항비만, 항산화 등의 효능에 관한 많은 연구 결과들이 보고되고 있다^{25,26)}. 본 연구는 여러 가지 기능성이 우수한 것으로 알려진 약콩(서목태)을 15일간 식초에 절인 초콩, 초콩을 감식초로 반죽하여 제조한 초공환 및 초콩에 5종류의 한약재를 첨가하여 감식초로 반죽하여 제조한 한방초공환을, 물과 에탄올로 추출한 후, 초공환의 제조단계별로 항산화능 및 암세포 증식억제능을 조사하여 건강 기능성 식품으로 활용하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

1. 한방초공환의 배합비율

본 실험에서 사용한 약콩(서목태)은 영주시 문수면의 우가네농장에서 재배한 것을 구입하였으며, 한방초공환의 제조를 위한 5종류의 한약재는 Kim 등²⁷⁾이 비만치료 및 예방을 위하여 사용한 처방에서 사용한 한약재 중, 식품으로 사용 가능한 것을 선정하였으며 이 한약재 중에서 Park 등¹⁶⁾이 항산화능과 항암활성이 우수한 것으로 보고한 5종류의 한약재(감초, 산조인, 산수유, 백출, 황기)를 경북 영천시의 한약재 건재상에서 구입하여 사용하였다. 한방초공환은 Park 등¹⁶⁾의 방법에 따라 서목태를 15일 동안 현미식초에 절여 초콩을 제조한 후 건조하여 분말화 한 후, 현미식초로 반죽하여 초공환을 제조하였다. 한방초공환은 분말에 5종류의 약재(감초, 산조인, 산수유, 백출, 황기) 분말을 각각 2%씩 첨가하여 현미식초로 반죽한 후 환으로 제조하였다.

2. 추출물 제조

본 실험에 사용한 시료는 한방초공환의 제조단계에 따라 서목태, 초콩, 초공환 및 한방초공환으로 구분하여 증류수 1,000 mL에 100 g의 시료를 가하여 80°C에서 3시간 동안 3회 반복 추출, 여과하였다. 에탄올추출물은 70%의 에탄올 1,000 mL에 100 g의 시료를 가하여 70°C에서 3시간 동안 3회 반복 추출, 여과하였다. 각 추출물은 회전식 증발농축기(EYELA, Japan)로 농축하여 동결건조한 후, 기능성 실험 시료로 사용하였으며, 시료의 추출 수율은 추출전 시료의 중량에 대한 각 추출물의 동결건조 후 중량 백분율로 나타내었다.

3. 추출물의 항산화능 측정

1) 전자공여능

전자공여능(electron donating ability; EDA)은 Blois MS의 방법²⁸⁾에 준하여 각 시료 2 mL에 0.2 mM DPPH (1-1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 1.0 mL를 넣고 혼합하여 30분 동안 반응시킨 다음 분광광도계로 517 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하고, 시료 첨가 전·후의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

2) SOD 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund S와 Marklund G의 방법²⁹⁾에 따라 각 시료 0.2 mL에 Tris-HCl buffer (pH 8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

3) 아질산염 소거능

아질산염 소거작용(nitrite scavenging ability; NSA) 측정은 Kato 등의 방법³⁰⁾에 준하였다. 즉 1 mM NaNO₂ 용액 2 mL에 각 시료 추출물 1 mL를 가하고, 0.2 M 구연산 완충액으로 반응용액의 pH를 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 조정하고 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 Griess 시약(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1:1) 0.4 mL를 가한 후 혼합하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 백분율로 나타내었으며 공시험은 Griess 시약 대신 증류수를 가하여 동일하게 행하였다.

4. 추출물의 암세포 증식 억제능 측정

Mosman의 방법³¹⁾에 따라 10% fetal bovine serum (FBS)을 함유한 RPMI 1640 배지에 배양한 A549 cell(폐암세포)과 MDA cell(유방암 세포)을 5×10⁴ cells/mL 되

게 희석하여 각각의 well에 180 µL씩 첨가한 후 4시간 동안 항온기(37°C, 5% CO₂)에서 배양시켰다. 그 후 각각의 추출물을 최종농도가 100, 300, 500, 1,000 µg/mL가 되도록 20 µL씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양시켰다. 대조구에는 동일한 양의 phosphate buffered saline (PBS)을 첨가하였으며 시료 당 각각의 실험군은 3개의 well을 동일 조건으로 사용하였다. 여기에 5 mg/mL의 methylthiazol tetrazolium (MTT)을 20 µL씩 첨가하여 4시간 동안 배양시켜 formazan을 형성시킨 후 dimethyl sulfoxide (DMSO) 150 µL를 첨가하여 formazan을 녹인 다음 Microplate reader (Molecular Device, Emax)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{증식억제율(\%)} = (1 - \text{시료 처리군의 흡광도} / \text{대조군의 흡광도}) \times 100$$

5. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SPSS 통계분석 프로그램 (version 12.0)을 이용하여 평균치와 표준오차를 산출하였으며, one way ANOVA test 및 Duncan's multiple range test를 통하여 각 데이터 구간에 유의적인 차이를 분석하였다.

결 과

1. 추출물의 수율

한방초공환의 제조 단계에 따른 약콩(서목태), 초콩, 초공환 및 한방초공환의 물과 에탄올 추출물의 수율은 Table 1과 같다. 약콩의 추출수율은 물과 에탄올 추출물이 각각 25.59, 13.11%로서 물추출물이 에탄올 추출물보다 2배 이상 높았다. 그러나 15일간 식초에 절인 초콩은 물과 에탄올 추출물이 각각 23.12, 22.01%로서 두 추출물의 수율이 비슷한 수준이었었다. 초콩분말을 식초로 반죽한 초공환의 수율은 물과 에탄올 추출물이 각각 24.18, 22.42%로서 큰 차이가 없었으며 초콩분말의 수율보다 약간 증가한 편이었다. 5종류의 한약재를 각각 2%씩 첨가하여 제조한 한방초공환의 수율은 물과 에탄올 추출물이 각각 29.50, 25.30%로서 물추출물의 수율이 약간 높았고 초공환에 비하여 물과 에탄올 추출물

Table 1. Yields of Water and Ethanol Extracts from Pickled Soybean Products (%)

Manufacturing Stage	Yield	
	Water	Ethanol
Yakkong (YK)	25.59	13.11
Chokong (CK)	23.12	22.01
Chokong pill (CKP)	24.18	22.42
Herbal Chokong pill (HCKP)	29.50	25.30

모두 약간 증가하였다.

2. 추출물의 항산화능

1) 전자공여능

Fig. 1은 약콩, 초콩, 초공환 및 한방초공환 물추출물의 전자공여능으로서, 1,000 µg/mL에서 약콩과 초콩 추출물이 모두 69.0%였으며, 초공환은 73.2%, 한방초공환은 81.2%로 제조단계에 따라 전자공여능이 증가하였으며 한방초공환 물추출물은 약콩과 초콩에 비하여 유의적으로 높은 전자공여능을 나타내었다($p < 0.05$).

약콩, 초콩, 초공환 및 한방초공환 에탄올추출물의 전자공여능은 Fig. 2와 같으며, 1,000 µg/mL에서 각각 75.3%, 72.5%, 81.2% 및 91.5%로서 한방초공환 추출물은 약콩, 초콩, 초공환에 비하여 유의적으로 전자공여능이 높았으며($p < 0.05$) Fig. 1의 물추출물에 비하여 전체 시료

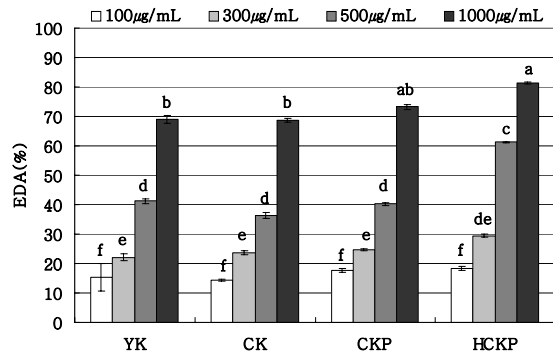


Fig. 1. Electron donating ability of water extracts from pickled soybean products

YK : Yakkong. CK : Chokong. CKP : Chokong pills. HCKP : Herbal Chokong pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

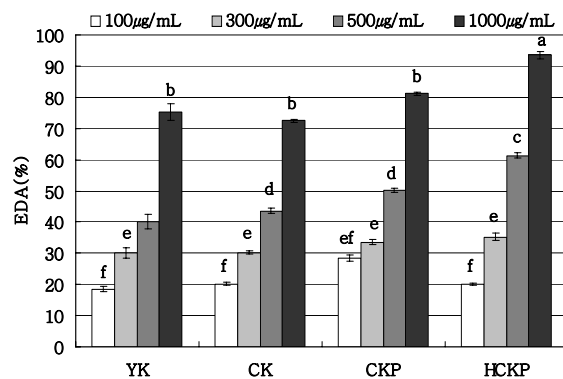


Fig. 2. Electron donating ability of ethanol extracts from pickled soybean products

YK : Yakkong. CK : Chokong. CKP : Chokong pills. HCKP : Herbal Chokong pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

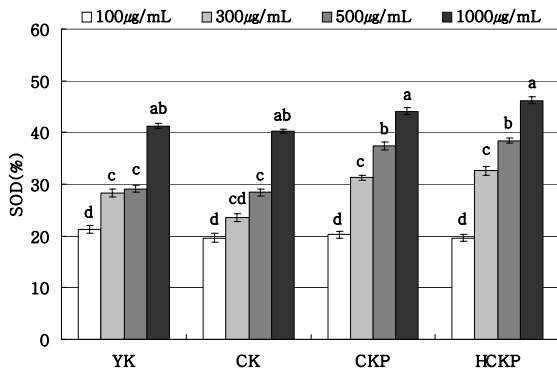


Fig. 3. SOD-like activity of water extract from pickled soybean products

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

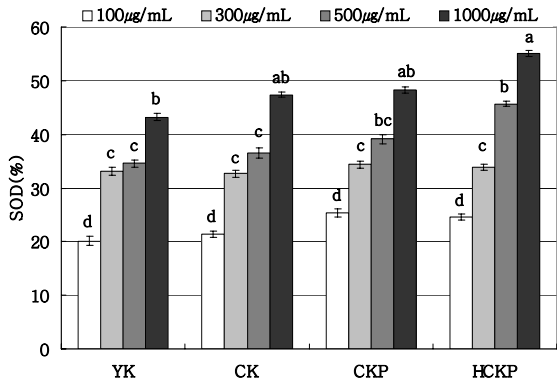


Fig. 4. SOD-like activity of ethanol extract from pickled soybean products

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

에서 3.5~10.3% 높은 전자공여능을 나타내었다.

2) SOD 유사활성

약콩으로 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 물추출물의 SOD 유사활성은 Fig. 3과 같으며 1,000 µg/mL에서 약콩과 모든 제품에서 40% 이상으로 활성이 높았으며, 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환이 각각 41.2, 40.2, 44.1, 46.2%로서 초공환과 한방초공환은 약콩이나 초콩에 비하여 활성이 높았다. 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 물추출물의 SOD 유사활성은 Fig. 1의 전자공여능 측정 결과와 유사한 경향이였다.

Fig. 4는 한방초공환을 제조하는 각 단계의 제품 에탄올추출물의 SOD 유사활성으로서 1,000 µg/mL의 활성은 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환이 각각 43.2, 47.4, 48.3, 55.1%로서 Fig. 3의 물추출물에 비하여 2~9% 높았다. 특히 한방초공환 추출물 1,000 µg/mL의 활성은 약콩 추

출물보다 12% 높은 활성으로 유의적인 차이를 나타내었으며($p < 0.05$), 500 µg/mL에서도 45.7%의 활성으로 약콩 추출물 1,000 µg/mL의 활성보다 높아서 우수한 항산화능을 나타내었다. 전체적으로 한방초공환 제조단계의 각 제품 에탄올추출물의 SOD 유사활성은 Fig. 2의 전자공여능 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

3) 아질산염 소거능

Fig. 5는 약콩으로 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 물추출물의 pH 1.2에서의 아질산염 소거능을 나타낸 것으로서 1,000 µg/mL에서 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환 물추출물의 아질산염소거능은 각각 53.8, 43.1, 48.5, 52.1%로서 약콩과 한방초공환이 초콩에 비하여 유의적으로 높은 소거능을 나타내었다($p < 0.05$).

한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 에탄올추출물의 pH 1.2에서의 아질산염 소거능은 Fig. 6과 같으며

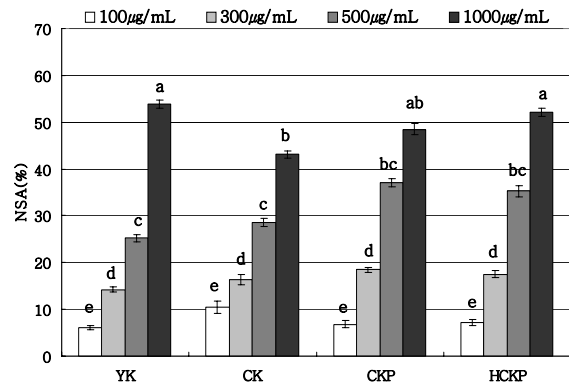


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of water extract from pickled soybean products

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

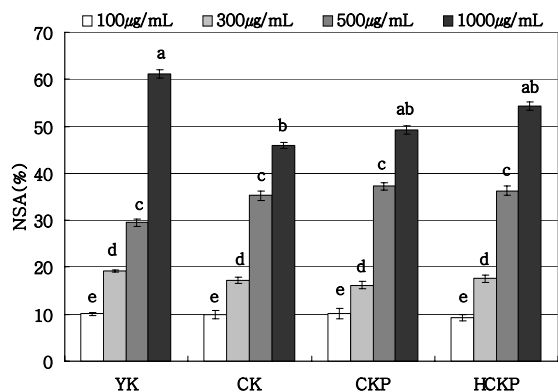


Fig. 6. Nitrite scavenging ability of ethanol extract from pickled soybean products

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

1,000 µg/mL에서 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환 에탄올 추출물의 아질산염소거능은 각각 61.2, 46.5, 49.2, 54.3%로서 약콩 추출물의 활성이 가장 높았으며 다음은 한방초공환, 초공환, 초콩의 순으로 활성이 높았고 초콩추출물은 활성이 가장 낮아서 약콩추출물에 비하여 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

3. 추출물의 암세포 증식억제능

1) 유방암세포(MDA cell)에 대한 증식억제능

Fig. 7은 유방암세포(MDA cell)에 대한 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 물추출물의 암세포 증식억제능을 나타내었다. 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 한방초공환(52.3%), 초콩(50.2%), 약콩(48.7%), 초공환(46.2%)의 순으로 높은 증식억제능을 나타내었으나 각 제품 추출물간의 활성에 유의적인 차이는 없었다.

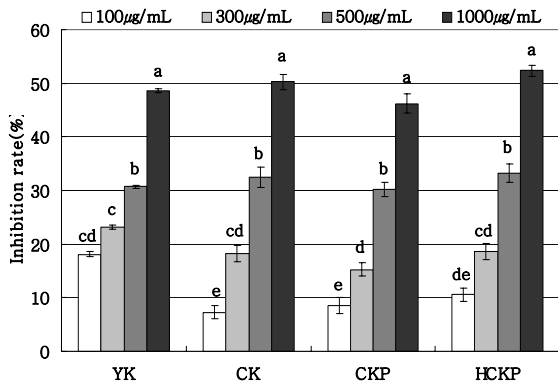


Fig. 7. Inhibition of the water extract from pickled soybean products on the growth of MDA cells

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

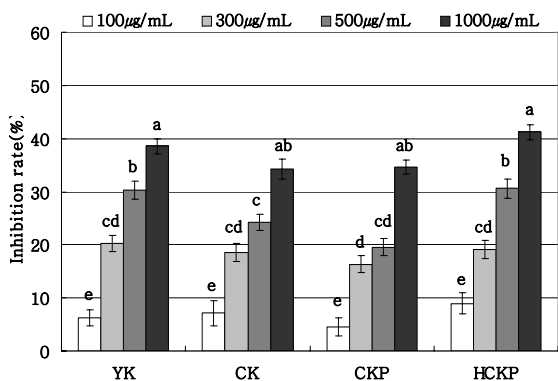


Fig. 8. Inhibition of the ethanol extract from pickled soybean products on the growth of MDA cells

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 8은 유방암세포(MDA cell)에 대한 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 에탄올추출물의 암세포 증식억제능을 나타내었으며 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환 물추출물의능은 각각 38.5, 34.2, 34.7, 41.2%로서 한방초공환의 활성이 가장 높았다. 그러나 각 단계의 에탄올추출물의 유방암세포 증식억제능은 각각의 물추출물에 비하여 약 11~16% 낮은 수준이었다.

2) 폐암세포(A549 cell)에 대한 증식억제능

Fig. 9는 폐암세포(A549 cell)에 대한 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 물추출물의 암세포 증식억제능으로 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환 물추출물의 증식억제능은 각각 35.2, 32.1, 38.5, 43.1%로서 한방초공환 추출물은 약콩과 초콩 추출물보다 유의적으로 높은 암세포 증식억제능을 나타내었다($p < 0.05$).

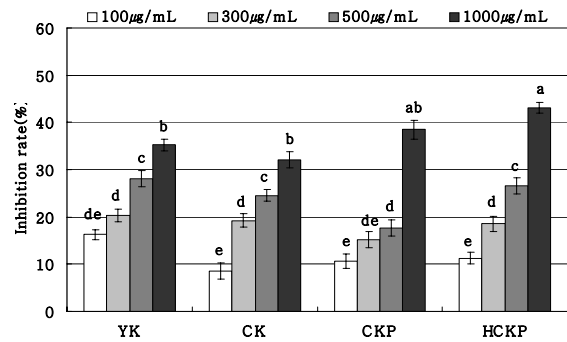


Fig. 9. Inhibition of the water extract from pickled soybean products on the growth of A549 cells

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

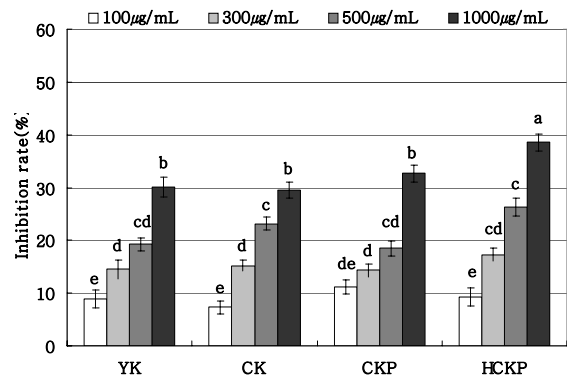


Fig. 10. Inhibition of the ethanol extract from pickled soybean products on the growth of A549 cells

YK : *Yakkong*. CK : *Chokong*. CKP : *Chokong* pills. HCKP : Herbal *Chokong* pills. The values represent the Mean±SD for triplicate experiments and those with different alphabetical letters are significantly different at $p < 0.05$.

Fig. 10은 폐암세포(A549 cell)에 대한 한방초공환을 제조하는 단계의 각 제품 에탄올추출물의 암세포 증식억제능으로 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 약콩, 초콩, 초공환, 한방초공환 물추출물의 증식억제능은 각각 30.1, 29.5, 32.7, 38.5%로서 한방초공환은 약콩, 초콩 및 초공환 추출물에 비하여 유의적으로 높은 암세포 증식억제능을 나타내었다($p < 0.05$). 전체적인 에탄올 추출물의 폐암세포에 대한 증식억제능은 Fig. 9의 물추출물보다 각각 2.6~5.7% 낮은 편이었다.

고찰

산업화 사회의 발달로 고열량과 고지방식품의 과다섭취에 의한 식생활의 변화로 만성질환이 증가되고 있으며 우리나라의 2007년 사망 및 사망원인 통계결과에 의하면 3대 사망원인은 악성신생물(암), 뇌혈관질환, 심장질환으로 총 사망자의 48.3%를 차지하고 있다³². 노화와 관련된 각종 퇴행성 질환과 심혈관계 질환의 원인으로는 세포 내의 대사과정에서 생성된 활성산소가 축적되어 세포의 기능 저하에 의한 것으로 보고되고 있다³³.

산화적 스트레스는 동맥경화, 당뇨병, 관절염 및 치매 등 성인병의 원인으로 알려져 있으며³⁴, 비만과 만성퇴행성 질환의 발병 기전 역시 산화스트레스 측면에서 연구가 이루어 지고 있다³⁵. 인체는 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) 등의 항산화 효소로 활성산소의 유리기를 제거함으로써 산화적 스트레스로부터 인체를 보호하고 있다³⁶.

최근 대체의학에 대한 관심이 고조되면서 항산화능이 우수한 식품을 섭취함으로써 인체 내의 지질과산화물을 억제하고 질병을 예방하려는 목적으로 한약재나 식품에 함유된 항산화물질을 항산화제로 개발하여 부작용이 없는 '항산화제 치료(antioxidant therapy)'라는 새로운 약물학적, 의학적 치료가능성을 제시하였다³⁷. 항산화물질을 많이 함유한 식품의 소비는 동맥경화, 암, 간경변 등의 질병이나 노화와 관련된 산화적 손상을 줄일 수 있으며 BHA나 BHT와 같은 합성 항산화제의 사용은 안전성에 문제가 있어 산화적 손상의 예방을 위하여 천연항산화제에 대한 관심이 집중되고 있으며¹¹, 항산화 식품을 이용한 기능성 식품의 개발이 활기를 띠고 있다¹³.

식생활이 원인이 되는 만성질환의 사회적 문제화에 따라 식물성 식품의 섭취에 의한 생체조절 기능에 대한 관심이 높아지고 있으며³⁸, 식물성 식품 중에는 콩과에 속하는 두류가 여러 가지 생리활성 물질이 풍부하여 기능성 식품소재로서 각광을 받고 있다. 콩에 포함된 성분으로서 phytic acid, triterpene, flavonoid, lignan, pinitol, 식이섬유, 올리고당 등의 phytochemical이 항산화 작용이 크고^{13,39}, 암 예방⁶, 혈당개선^{15,18}, 골다공증예방^{9,40}, 비만억제^{20,24} 혈중콜레스테롤 저하^{6,41}시키는 효과도 보고되어 있다.

이러한 관점에서 본 연구는 항산화능이 우수한 검은콩 중에서 약콩(서목태)을 식초에 절여 초공을 제조하였으며 초공분말을 식초로 반죽하여 초공환을 제조하였고, 한방초공환은 초공분말에 항산화능이 우수한 5종류의 한약재(감초, 산조인, 산수유, 백출, 황기) 분말을 각각 2%씩 첨가하여 식초로 반죽한 한방초공환을 제조하였다. 본 실험에서 사용한 약콩의 추출수율은 물추출물(25.6%)이 에탄올추출물(13.1%)보다 약 2배의 수율을 보였으나 초공과 초공환 추출물에서는 물과 에탄올 추출물이 거의 비슷한 수율로서 약콩을 식초에 절이는 과정에서 에탄올에 추출되는 성분이 증가한 것으로 보인다. 한방초공환은 물과 에탄올 추출물 모두 각 제조단계의 제품 중 가장 추출수율이 컸는데 그 원인으로는 첨가된 산수유, 백출 등의 한약재 추출수율이 특히 높았던 결과^{41,42}와 한약재와 초공분말의 환 제조과정에서 첨가된 식초가 각 제품의 추출수율을 높이는 것으로 추정된다.

한방초공환의 제조단계별 각 제품 추출물의 항산화능을 측정한 전자공여능과 SOD 유사활성에서, 물과 에탄올 추출물 모두 한방초공환에서 가장 높은 항산화 활성을 보였으며 특히 주 재료인 약콩 추출물에 비하여 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 한방초공환의 물과 에탄올 추출물의 전자공여능은 약콩의 각 추출물보다 12~16% 증가하였으며 SOD 유사활성은 약콩의 각 추출물보다 5~12% 증가하였다. 한방초공환의 항산화능은 한약재 중 항산화능이 우수했던 감초, 산조인, 백출과 거의 비슷한 수준이었으며, 초공에 소량의 한약재를 첨가함으로써 항산화능이 크게 증가된 효과로서 이는 콩과 한약재의 혼합으로 기능성이 상승되는 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

한방초공환의 제조단계별 각 제품 추출물의 지방암 세포(MDA cell)에 대한 증식억제능을 측정할 결과, 물과 에탄올 추출물 모두 한방초공환 추출물의 증식억제능이 약콩, 초콩, 및 초공 추출물에 비하여 가장 컸으며 각 제품 추출물의 폐암세포(A549 cell)에 대한 증식억제능 역시 한방초공환 추출물의 증식억제능이 가장 컸다. 콩 제품의 이러한 항암활성에 대하여 Kim과 Kim⁹은 황금콩, 약콩 등의 isoflavone이 폐경기에 유발되는 골다공증과 지방암, 자궁암, 난소암의 발생을 감소시키는 것으로 보고하여 다양한 암세포에 대한 증식억제작용을 하는 식품으로서의 가치를 인정하였다. 특히 한방초공환 추출물의 지방암 세포와 폐암세포에 대한 증식억제능은 한약재로서 높은 암세포 증식억제능을 나타내었던 백출과 감초³⁸⁻⁴²보다도 증식억제능이 증가된 효과로서, 앞의 항산화능과 마찬가지로 콩과 한약재의 혼합으로 항암활성이 상승되는 효과를 나타낸 것으로 판단된다.

본 연구자들은 산수유, 황기 감초와 백출, 산조인을 첨가한 한방초공환을 개발하여 고지방식사와 함께 한방초공환을 급여한 흰쥐에서, 비만억제 및 혈중 지질농도 감소 등의 효과^{16,17}를 나타내어 비만으로 인한 고지혈증이나 동맥경화증 등의 심혈관계 질환 예방에 효과가 있을

것으로 보고하였다. 본 실험 결과에서 한방초공환 추출물이 원재료(약콩) 추출물에 비하여 높은 항산화능과 암세포 증식억제능을 나타낸 결과로 볼때 산화적 손상을 억제함으로써 성인병 예방에 효과를 나타낼 것으로 추정된다. 앞으로 더 많은 종류의 한약재와 두류의 혼합에 의한 천연식품의 적정 혼합제품의 항산화작용에 관한 연구가 이루어지게 되면, 부작용이 없는 건강식품의 개발에 큰 도움이 될 것으로 생각된다.

결 론

본 연구의 목적은 항산화활성을 가진 건강식품소재를 개발하기 위하여 약콩(서목태)을 식초에 15일 동안 절여 초공을 제조하였으며 초공분말을 식초로 반죽하여 초공환을 제조하였고, 한방초공환은 초공분말에 항산화능이 우수한 5종류의 한약재(감초, 산조인, 산수유, 백출, 황기) 분말을 각각 2%씩 첨가하여 식초로 반죽한 한방초공환을 제조하였다. 각 제조단계에 따른 제품을 물과 70% 에탄올로 추출한 후, 각 추출물의 수율, 항산화능 및 항암활성을 측정하였다. 한방초공환 추출물 1,000 µg/mL 농도의 전자공여능은 물과 에탄올 추출물에서 각각 81.2, 91.5%로서 약콩, 초공, 초공환에 비하여 가장 높았다. 한방초공환 추출물의 1,000 µg/mL 농도에서 물과 에탄올 추출물은 유방암세포(MDA cell)에 대하여 각각 52.3, 41.2%였으며, 폐암세포(A549 cell)에 대한 항암활성은 각각 43.1, 38.5%로서 다른 제품보다 가장 큰 활성을 나타내었으며 물추출물의 활성이 에탄올추출물보다 높았다. 본 실험결과로 볼때, 한약재를 첨가한 한방초공환은 약콩이나 초공, 초공환에 비하여 항산화활성과 암세포 증식억제능이 증가하여 부작용이 없는 천연식품으로서 유용한 건강식품소재로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 본 실험결과로 볼때, 한약재를 첨가한 한방초공환은 약콩이나 초공, 초공환에 비하여 항산화활성과 암세포 증식억제능이 증가하여 부작용이 없는 천연식품으로서 유용한 건강식품소재로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- Kim YH. Market trends of soy based products - Soy based beverages in the market of USA and Euroup - Kor. J Food Sci Technol. 2006 ; 39(1) : 11-6.
- Hendrich SK, Lee W, Xu X, Wang HJ, Murphy PA. Defining food components as a new nutrient. J Nutr. 1994 ; 124 : 1789S-92S.
- Kim SO. Research and industrial trend of the functional components of soybean. Kor J Food Sci Technol. 2006 ; 39(1) : 2-10.
- Liao HF, Chen YJ, Yang YC. A novel polysaccharide of black soybean promotes myelopoiesis and reconstitutes bone marrow after 5-fluouracil- and irradiation-induced myelosuppression. Life Sci. 2005 ; 77 : 400-13.
- 유용환. 건강 기능성 식품으로 부상하는 콩. 한국콩 연구회소식. 2006 ; 231 : 1.
- Messina M, Persky V, Serchell KDR, Branea S. Soy intake and cancer risk: A review of the *in vitro* and *in vivo* data. Nutr Cancer. 1994 ; 21 : 113-31.
- Tikkanen MJ, Aldercneutz H. Dietary soy-derived isoflavone phytoestrogen. Could they have a role in coronary heart disease prevention?. Biochem Pharmacol. 2000 ; 60 : 1-5.
- Fonseca D, Ward W. Daidzein together with high calcium preserve bone mass and biochemical strength at multiple sites in ovariectomized mice. Bone. 2004 ; 35 : 489-97.
- Kim MJ, Kim KS. Functional and chemical composition of Hwanggumkong, Yakong and Huktae. Kor J Food Cookery Sci. 2005 ; 21(6) : 844-50.
- Kwon SH, Ahn IS, Kim SO, Kong CS, Chung SY, Do MS, Park KY. Anty-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins. J Med Food. 2007 ; 10(3) ; 552-6.
- Akitha MK, Gondi M, Sakthivelu G, Giridhar P, Rajasekaran T, Ravishankar GA. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. Food Chem. 2009 ; 114(3) : 771-6.
- Lee YW, Kim JD, Zheng J, Row KH. Comparisons of isoflavones from Korean and Chinese soybean and processed products. Biochem Eng J. 2007 ; 36(1) : 49-53.
- Myung JE, Hwang IK. Functional components and antioxidative activities of soybean extracts. Korea Soybean Digest. 2008 ; 25(1) : 23-9.
- Bang HP, Choi OK, Cho GS, Son JY, Ryu GH. The change of compositions and antioxidant effect in soybean cultivars pickled in persimmon vinegar. Kor J Soc Food Sci Nutr. 2006 ; 19(4) : 398-409.
- Kim HW, Cho SJ, Kim BY, Jung S, Park JS, Lee SY, Cho SI. Effects of herbal-cheonggukjang on serum composition and urine in rats. Kor J Herbology. 2008 ; 23(2) : 137-43.
- Park CS, Kim DH, Kim ML, Suk JM, Kim MR. Effects of mixed pills of *Chokong* (pickled black soybeans) with medicinal herbs on body weight

- gain and lipid profiles in rats fed high-fat diet. Kor J Herbology. 2007 ; 22(4) : 127-36.
17. Park CS, Kim DH, Kim ML. Effects of herbal *Chokong* pill on the microstructure of liver cell in rats fed high fat diet. Kor J Life Sci. 2008 ; 18(2) : 200-5.
 18. Kim JI, Kim JC, Joo HJ, Jung SH, Kim JJ. Determination of total chiro-inositol content in selected natural materials and evaluation of the antihyperglycemic effect of pinitol isolated from soybean and carob. Food Sci Biotechnol. 2005 ; 14(4) : 441-5.
 19. Han JS, Hong HD, Kim SR. Changes in isoflavone content and mass balance during soybean processing. Food Sci and Biotech. 2007 ; 16(3) : 426-33.
 20. Kim JS, Kim JG, Kim WJ. Changes of isoflavone contents in soybean cultivars pickled in persimmon vinegar. Kor J Food Sci Technol. 2004 ; 36(5) : 833-6.
 21. Kim SJ, Shin JY, Cho MH, Oh YS, Park NY, Lee SH. Antioxidant activity and isoflavone profile of *Rhynchosia nolubilis* seeds pickled in vinegar (*Chokong*). Food Sci and Biotechnol. 2007 ; 16(3) : 444-50.
 22. Oh CH, Kim EJ, Lee KH, Moon MK, Cho MG, Kim JH, Oh SH, Lee TK, Shin TY and Kim DK. Antiproliferative constituents from vinegar treated small black soybean (*Glycine max Merr*). Natural Product Sci. 2006 ; 12(2) : 109-12.
 23. Lee DH, Kwak DH, Kim SM, Ju EJ, Choi HG, Kim OH, Hwang JB, Bae NG, Jung KY, Han JC, Park HD, Choo YK. Effect of small black soybean powder on blood glucose and insulin sensitivity in streptozotocin - Induced diabetic rats. Kor Soc Food Sci Nutr. 2004 ; 33(6) : 1618-25.
 24. Manzoni MSJ, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini RC, Duarte ACGO, Damaso AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. Nutr. 2005 ; 21 : 1018-24.
 25. Kishino E, Ito T, Fujita K, Kiuchi Y. A mixture of the *Salacia reticulata* (Kotala himbuta) aqueous extract and cyclodextrin reduces the accumulation of visceral fat mass in mice and rats with high-fat diet-induced obesity. J Nutr. 2006 ; 136 : 433-9.
 26. Lee JS, Lee MK, Ha TY, Bok SH, Park HM, Jeong KS, Woo MN, Do GM, Yeo JY, Choi MS. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. Food Chem Tox. 2006 ; 44(11) : 1875-83.
 27. Kim YS, Byeon SH, Seo BI, Kim SC, Gug M, Jo EH. The Oriental medicines effects on cure and prevention of an obesity(2). Kor J Herbology. 2000 ; 15(1) : 73-82.
 28. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 26 : 1198.
 29. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 1974 ; 47 : 469-74.
 30. Kato H, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric Biol Chem. 1987 ; 51 : 1333.
 31. Mosman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assay. J Immunol Methods. 1983 ; 65 : 55-63.
 32. 통계청. www.nso.go.kr. 2007년 사망 및 사망원인결과통계. 2008.
 33. Kang IH, Cha JH, Lee SW, Kim HJ, Kwon SH, Ham IH, Hwang BS, Whang WK. Isolation of anti-oxidant from domestic *Crataegus pinnatifida* bunge leaves. Kor J Pharmacogn. 2005 ; 36(2) : 121-8.
 34. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature. 2002 ; 408 : 239-47.
 35. Lee DH. A study on SOD activity and serum antioxidant mineral concentrations in obese adolescents. Kor J Nutr. 2007 ; 40(1) : 41-8.
 36. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sport Exercise. 1993 ; 25(2) : 225-31.
 37. Burton GW, Taber MG. Vitamin E. antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. Annu Rev. 1990 ; 10 : 357-82.
 38. Lin RIS. In functional foods: Phytochemicals and antioxidants. New York : Chapman & Hall. 1994.
 39. Choi HK, Lim YS, Kim YS, Park SY, Lee CH, Hwang KW and Kwon DY. Free-radicalscavenging and tyrosinase-inhibition activities of Cheonggulgjang samples fermented for various times. Food Chem. 2008 ; 106 : 564-8.
 40. Park CS, Kim ML, Kim DH. Biological activities of extracts from *Corni fructus*, *Astragalus membranaceus* and *Glycyrrhiza uralensis*. Kor J Herbology. 2008 ; 23(1) : 93-101.