

烏梅와 蒸熟 烏梅의 생리활성 연구

구가람^{1#}, 권오준^{2#}, 노성수³, 서영배^{1*}

1 : 대전대학교 한의과대학, 2 : 대전지역사업평가원 경북지역산업평가단,
3 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학 교실

Biological Activity Review of Mume Fructus and Processed Mume Fructus

Garam Ku^{1#}, OJun Kwon^{2#}, Seong-Soo Roh³, Young-Bae Seo^{1*}

1 : College of Korean Medicine, Daejeon University, Republic of Korea,
2 : Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation,
Republic of Korea,
3 : College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Presently Mume Fructus (MF) undergoes fumigation, which produces benzo[a]pyrene. As a primary analysis with the aims to minimize the production of benzo[a]pyrene and to suggest standards for processing the MF, the steaming method was chosen among the various processing methods, and reviewed through a series of experiments.

Methods : Pitted and un-pitted MF were steamed and processed into samples. After testing level of benzo[a]pyrene, the samples were analyzed for amount of polyphenol and flavonoids. Scavenging activities of the samples for the DPPH and ABTS radicals were tested. In order to measure anti-inflammatory effects of the samples, cell survival rate was investigated using CCK-8 Assay. Also, water extracts of dried and steamed MF were administered to the RAW 264.7 cells to compare expressions of NO, PGE₂, IL-1 β , and TNF- α . In addition, anti-diarrhea effects of the herbal medicine were tested on animal models with diarrhea induced by MgSO₄ and Castor oil.

Results : Regardless of pitting, processed MF contained no benzo[a]pyrene. Anti-oxidation effect increased in relation to the frequency of steaming process. However, extracts of dried and steamed MF suppressed different kinds of inflammation factors, and extract of dried MF showed superior anti-diarrhea effect than extract of steamed MF.

Conclusions : It is suggested that steaming method of MF is recommended for processing the herbal medicine without the production of benzo[a]pyrene. But regarding that dried and steamed MF showed differences in their anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-diarrhea effects, it is recommended to perform further researches on different efficacies of MF according to their processing methods.

Key words : Mume Fructus, benzo[a]pyrene, steaming process, anti-oxidation, anti-inflammation, anti-diarrhea.

*Corresponding author : Young-Bae Seo,

College of Korean Medicine, Daejeon University, 62, Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon, 34520, Republic of Korea
· Tel : +82-42-280-2625 · E-mail : genin@dju.ac.kr

#First author : Garam Ku,

College of Korean Medicine, Daejeon University, 62, Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon, 34520, Republic of Korea
· Tel : +82-42-280-2625 · E-mail : tin4ever@nate.com

OJun Kwon, Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, 27, Sampung-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38542, Republic of Korea

· Tel : +82-53-818-9504 · E-mail : gbria@hanmail.net

· Received : 26 April 2016 · Revised : 2 May 2016 · Accepted : 16 May 2016

I. 서론

매실은 장미과 (Rosaceae)에 속한 낙엽소교목인 매실나무 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)의 핵과이다¹⁾. 원산지는 中國의 四川省과 湖北省의 산간지로 알려져 있으며²⁾, 기원 전 6-5세기경 《詩經》³⁾에 '梅'란 글자가 처음 등장한다. 약 650년 전에 중국에서 한국으로 매실나무가 유입된 것으로 보고 있으며, 남부지방에서 매화가 자생한 것으로 나타난다. 특히 호남 5梅와 산청 3梅가 오래된 매실나무를 대표한다⁴⁾.

매실은 유기산과 당류 등의 성분을 다량 함유하는 알칼리성 식품으로서 항산화성, 항균활성, 피로회복, 식욕증진 및 해독 등의 효과가 있다. 예로부터 술, 차, 장아찌 등 다양한 방법으로 이용되어 왔으며, 스포츠음료⁵⁾나 식품첨가물^{6,7)}로서 각광받고 있다. 매년 매실의 재배 농가수, 재배면적 및 생산량이 증가하고 있으며, 관련 산업도 발전하는 추세이다^{5,8,9)}. 한의학에서는 《神農本草經》에 '主下氣 除熱煩滿 安心 肢體痛 偏枯不仁 死肌 去青黑痣 惡疾.'이라 기재된 이래¹⁰⁾ 收澁藥으로 분류되어 斂肺, 澁腸, 生津, 安蛔 하는 효능이 있어, 肺虛久咳, 虛熱消渴, 蛔厥嘔吐腹痛, 久痢滑腸, 膽道蛔蟲症 등의 치료에 사용된다¹⁾.

매실의 효능은 현재까지 인정되고 있는바 많은 연구들이 매실의 성분이나 효능, 그리고 식품가공 방법을 분석하고 있다. 예컨대 매실에 관한 대다수의 기존 연구들은 육종과 수확시기 및 매실의 성분^{2,11-14)}, 매실의 효능¹⁵⁻¹⁷⁾, 매실의 식품가공 방법^{6,18,19)}을 분석하고 있다. 한의학계의 연구 또한 대체로 烏梅의 효능에 초점을 맞추고 있다. 예를 들면 烏梅가 염증성 장질환에 미치는 영향²⁰⁾, 혈당강하효과²¹⁾에 관한 논문이 보고되어져있다. 그러나 烏梅의 포제법에 따른 효능에 관한 연구는 미비하다.

현재 한의원에 유통되는 매실은 대부분이 烏梅로서, 『대한약전』²²⁾에 '장미과 (Rosaceae) 매실나무 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)의 덜 익은 열매로서 연기를 쪄낸 것'으로 정의하고 있다. 따라서 유통 烏梅는 훈증을 하여 제조하고 있으나, 대한약전 외 한약 (생약) 규격집²³⁾에는 훈증법에 대한 별다른 규정이 없어 품질 기준이 미비하다. 2009년 식품의약품안전처에서 국내 유통 한약재에 대한 벤조피렌 함유량을 검사한 결과 烏梅 4개 시료에서 모두 벤조피렌이 숙지황과 지황의 기준치인 5 ppb 이상으로 검출된 바가 있다²⁴⁾. 벤조피렌은 국제암연구소 (IARC)에서 인체발암물질로 지정한 물질로서, 일반적으로 불완전 연소시 생성되는 화합물이다. 薰蒸은 연기를 피우는 과정에서 불완전 연소되기 쉬우며, 온도를 정확하게 설정하여 표준화된 포제 환경을 갖추기가 어렵다. 이에 비해 蒸法은 술, 식초 등의 보조 재료를 가하거나 가하지 않고 용기에 넣고 찌서 일정한 정도로 만드는 방법으로서¹⁾ 관련 변수가 적고 일정한 실험조건을 유지하기에 유리한 점이 있어 제조과정의 규격화가 용이할 것으로 생각된다.

따라서 벤조피렌으로부터 안전성과 유효성을 확보할 수 있는 烏梅의 포제 방법을 연구하고자, 초보적 연구로서 蒸法에 의해 제조된 烏梅에 대하여 벤조피렌 검출 시험, 항산화능 측정, *in vitro* 항염증 효능 측정, 동물모델을 이용한 약리효능연구를 시행하였고, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 시료

실험에 사용된 매실 (Mume Fructus : MF)은 경남 하동군에서 재배된 청매실을 수확시기인 2011년 6월 20일 경에 수집하였다. 황색 빛이 도는 것을 제외하고 푸른 매실만을 선별하여, 대전대학교 본초학교실에서 가공하였다.

2) 실험 세포

마우스 대식 세포주인 RAW 264.7은 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, U.S.A.)로 부터 구입하여 사용하였다. Raw 264.7 세포는 10% fetal bovine serum (FBS)를 첨가한 DMEM을 이용하여 5% CO₂, 37℃에서 배양하였다.

3) 실험 동물

Sprague-Dawley 웅성쥐 7주령을 효창 사이언스에서 66마리 구입하였다. 사육실 온도는 23±2℃, 상대습도는 50±10%, 사료와 물은 자유급여를 하였다.

4) 시약

Phosphoric acid (Duksan, Korea), benzo[a]pyrene, castor oil, DMSO, gallic acid, rutin, picric acid (Sigma, U.S.A), diethylene glycol, Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS; Gibco, U.S.A), Griss reaction (Sigma, U.S.A), NO colorimetric assay kit (R&D System Inc., Minneapolis, M.N., U.S.A), PGE₂ ELISA kit (R&D System Inc., Minneapolis, M.N., U.S.A), TNF- α , IL-1 β cytokine ELISA kit (R&D System Inc., Minneapolis, M.N., U.S.A), acetonitrile, ethanol, water, hexan, CH₂Cl₂는 HPLC grade용으로 J.T.Baker제품 (U.S.A), 기타 일반시약은 잔류농약시험용 또는 특급으로 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 추출

실험에 사용된 시료는 去核을 하고 蒸熟한 후 건조한 것 (MF I), 去核을 하고 건조한 후 蒸熟한 것 (MF II), 去核을 하지 않고 蒸熟한 후 건조한 것 (MF III), 去核을 하지 않고 건조한 후 蒸熟한 것 (MF IV) 등 총 4그룹으로 나누어서 각 그룹 별로 生乾과 蒸熟 횟수에 따라 1증부터 6증까지 세부그룹을 나누었으며, 벤조피렌 검출실험에는 핵 유무 및 蒸熟 여부에 따른 26가지의 烏梅 시료를 사용하였다. (Table 1.)

In vitro 및 *in vivo* 효능평가실험에서는 MF IV (去核을 하지 않고 건조한 후 蒸熟한 것) 중에서 生乾과 2蒸, 4蒸, 6蒸 烏梅 시료만을 사용하였다. (Table 2.)

매실의 去核은 매실 껍질가게 (산마늘농장, 영천)를 이용하여 매실을 눌러 과육과 씨를 분리하였다. 건조는 제습식 건조기

Table 1. The group of benzo[a]pyrene detection test

group steaming times	Pitted		un-Pitted	
	steaming and dring process	dring and steaming process	steaming and dring process	dring and steaming process
0		MF II -0		MFIV-0
1	MF I -1	MF II -1	MF III -1	MFIV -1
2	MF I -2	MF II -2	MF III -2	MFIV -2
3	MF I -3	MF II -3	MF III -3	MFIV -3
4	MF I -4	MF II -4	MF III -4	MFIV -4
5	MF I -5	MF II -5	MF III -5	MFIV -5
6	MF I -6	MF II -6	MF III -6	MFIV -6

Table 2. The group of antioxidant activity, *in vitro* anti-inflammatory efficacy measurements, and *in vivo* anti-diarrhea efficacy tests.

steaming times	0	2	4	6
group	MFIV-0	MFIV-2	MFIV-4	MFIV-6

(에이스 기공, 서울)를 이용하여 50℃에서 수분함량 15% 이내로 건조하였으며, X 무압식 스팀증숙기(에이스 기공, 서울)를 이용하여 스팀기 하부의 수조에 물을 채우고 예비가열 (30분) 후 90℃에서 5분간 蒸熟하였다.

항산화능 측정, *in vitro* 항염증 효능 측정, 그리고 *in vivo* 止瀉 효능 실험에는 MFIV 중에서 生乾과 2蒸, 4蒸, 6蒸 시료만 사용하였다.

蒸熟 시료들의 추출은 분쇄기로 분쇄 한 다음 시료 5 g에 distilled water 50 ml를 넣고, 100℃에서 3시간씩 2회 반복 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지 (Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 미리 항량된 수기에 넣어 45-50℃의 수온에서 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축 후 동결건조하였다. 이 분획물을 DMSO에 녹여 200 mg/ml의 stock 용액으로 제조한 뒤 -20℃에 보관하여 사용하였다.

2) 벤조피렌 검출 시험

벤조피렌 검출 시험은 『식품의약품안전청 고시 제2012-17호』²⁵⁾의 '식품유지의 벤조피렌 시험법'에 의거, HPLC/FLD를 이용하여 시행하였다. 숙지황 및 초탄한약재 500-600 g을 분쇄한 후 균질하게 혼합하여 약 5.0g을 정밀하게 달아 물 100 ml를 넣어 90분간 초음파 추출하였다. 여기에 hexan 100 ml 및 내부표준용액 1 ml를 넣어 homogenizer로 5분간 균질하게 섞었다. 이 용액을 실온에서 30분간 초음파로 추출한 다음 정치하여 hexan층을 분액깔대기에 옮겼다. 다시 물층에 hexan 약 50 ml씩을 넣고 2회 반복하여 진탕 추출한 후 hexan층을 취하여 분액깔대기에 합하였다. 합한 hexan층에 물 약 50 ml을 넣어 세척하고, 이 hexan층을 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과한 다음 45℃의 수욕상에서 감압 (약 700 mbar)하여 hexan의 양이 약 2 ml가 될 때까지 농축하였다.

후로리실 카트리지는 미리 dichloromethane (DCM) 10 ml

및 hexan 20 ml을 순서대로 초당 2-3방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 후 사용하였다. 활성화된 카트리지에 위의 추출용액을 넣어 hexan : DCM (3 : 1) 20 ml을 초당 2-3 방울의 속도로 용출시켰다. 이 용출된 용액을 35℃의 수욕상에서 질소 가스 하에 날려 보낸 후 잔류물을 acetonitrile 1 ml에 녹인 다음 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 검액으로 하였다.

따로 벤조피렌 표준품을 acetonitrile에 녹여 100 μg/ml로 하여 표준원액으로 하였다. 이 표준원액에 acetonitrile을 사용하여 적당한 농도로 희석하여 표준용액으로 하였다. 또한 3-methylcholantrene 표준품을 acetonitrile에 녹여 100 μg/ml로 하여 내부표준원액으로 하였다. 이 내부표준원액에 acetonitrile을 사용하여 적당한 농도로 희석한 것을 내부표준용액으로 하였다.

검액 및 표준액 10 μl씩을 가지고 다음 조건으로 고속액체 크로마토그래프법 (high performance liquid chromatography :HPLC)에 따라 시험하였다. 형광검출기 (fluorescence detector, FLD)의 여기파장 (excitation) 294 nm, 형광파장 (emission)은 404 nm로 했고, Supelcosil LC-PAH (4.6×250 mm, 5 μm)를 이용하여 35℃에서 이동상 (80% acetonitrile과 20% water)은 1.0 ml/min의 유속으로 흘러주었다 (Table 3).

Table 3. Analytical conditions of HPLC/FLD

Detector	Fluorescence Detector (FLD)
Column type	Supelcosil LC-PAH (4.6 × 250 mm, 5 μm)
Column temperature	35℃
Mobile phase	Acetonitrile : Water (8 : 2)
Wave length	Excitation 294 nm, Emission 404 nm
Column flow rate	1.0 ml/min
Injection volume	10 μl

각 표준액에서 얻은 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 [AS/AIS]를 Y축으로 하고 벤조피렌 표준액의 농도를 X축으로 하여 만든 검량곡선을 작성하고, 검액의 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 [ASAM/ASAMIS]를 Y축에 대입하여 벤조피렌의 농도를 구하였다.

AS : 검량곡선표준용액의 표준물질 피크면적

AIS : 검량곡선표준용액의 내부표준물질 피크면적

ASAM : 시험용액의 벤조피렌 피크면적

ASAMIS : 시험용액의 내부표준물질 피크면적

3) polyphenol 및 flavonoid 함량 측정.

총 polyphenol 함량은 Folin-Denis법²⁶⁾을 이용하였다. 각 시료 25 μl (1 mg/ml)과 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 500 μl를 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨다. 그 후 10% sodium carbonate 500 μl를 더하여 30℃ incubator에서 90분 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도 (Multiscan spectrum, Thermo Scientific)를 측정하였다. 이때 총 polyphenol

함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

총 flavonoid의 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법²⁷⁾에 따라 측정하였다. 추출한 시료 300 μ l에 diethylene glycol 600 μ l를 잘 섞어준 후, 이 혼합물에 1 N NaOH 6 μ l를 가하여 37°C에서 1시간 동안 방치한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 flavonoid 함량은 rutin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

4) DPPH free radical 및 ABTS radical 소거능

추출한 시료의 free radical 소거능 측정을 위해 DPPH²⁸⁾을 이용하였다. 각 시료를 농도별로 희석한 용액 100 μ l와 0.2 mM DPPH 용액 100 μ l를 혼합하여 37°C에서 30분간 암소 상태에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 시료 첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 Re 등²⁹⁾의 방법을 이용하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.4 mM의 potassium persulphate을 혼합하여 실온의 암소 상태에서 약 16시간 이상 방치하여 ABTS⁺을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70(\pm 0.02)이 되게 100% ethanol로 희석하였다. 희석된 용액 900 μ l에 시료 100 μ l를 가하여 1분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 free radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 1/2로 환원시키는 데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀ 값으로 나타내었다.

5) 세포독성 시험

RAW 264.7 세포는 10% fetal bovine serum (FBS)를 첨가한 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)을 이용하여 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다. 시료의 세포독성을 측정하기 위해 cell counting kit-8 (CCK-8 assay)을 이용하였다. 96 well plate에 세포를 seeding 한 후 시료를 정해진 농도로 처리한 후 24시간 동안 배양하여 CCK-8 용액을 처리하고 37°C incubator에서 30분 동안 반응시켰다. CCK-8 측정은 ELISA를 이용하여 분석하였다.

6) NO 및 PGE₂, IL-1 β , TNF- α 분석.

RAW 264.7 세포를 96 well plate에 2.5×10^5 cells/well 분주한 후 5% CO₂, 37°C에서 배양하여 사용하였다. 분주한 세포에 LPS를 1 μ g/ml 처리 한 후 정해진 농도의 시료를 처리한 후 24시간 동안 배양한 후 배지에서 분비된 nitric oxide를 Griess reaction에 기초한 NO colorimetric assay로 분석하였으며 PGE₂, IL-1 β , TNF- α 는 kit를 이용하여 ELISA microplate 리더기로 540 nm에서 측정하였다.

7) MgSO₄ 유발 설사 실험

동물 모델을 활용하여 蒸熟 烏梅의 止瀉효능을 평가하고자 하였다. 실험군은 다음과 같이 분류하였다.

(가) 정상군 : 증류수를 투여한 그룹 [10마리].

(나) 대조군 : 증류수 투여 후 한 시간 뒤 10% MgSO₄을 2 g/kg로 투여한 그룹 [10마리].

(다) MFIV-0 : 烏梅 生乾 시료 (MFIV-0) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 10% MgSO₄을 2 g/kg로 투여한 그룹 [10마리].

(라) MFIV-2 : 烏梅 2蒸 시료 (MFIV-2) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 10% MgSO₄을 2 g/kg로 투여한 그룹 [10마리].

(마) MFIV-4 : 烏梅 4蒸 시료 (MFIV-4) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 10% MgSO₄을 2 g/kg로 투여한 그룹 [10마리].

(바) MFIV-6 : 烏梅 6蒸 시료 (MFIV-6) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 10% MgSO₄을 2 g/kg로 투여한 그룹 [10마리].

Sprague-Dawley 웅성쥐 7주령을 1주일 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 시료 투여 1시간 전부터 여지 위에 방치하여 하리를 하지 않는 동물만을 선별하여 각 군당 10마리씩 총 6 그룹으로 분류하였다(Table 4). 烏梅 시료를 각각 1 g/kg 용량으로 녹인 후 sonde를 이용하여 경구 투여한 후, 1시간 경과한 후 10% MgSO₄ 2 g/kg를 경구 투여하였다. 정상군은 시료 대신 증류수를 투여하였고, 2시간, 4시간, 6시간 후에 수양변의 횡수를 관찰하였다.

8) Castor oil 유발 설사 실험

Castor oil 유발 설사 실험 모델을 활용하여 蒸熟 烏梅의 止瀉효능을 평가하고자 하였다. 실험군은 다음과 같이 분류하였다.

(가) 정상군 : 증류수를 투여한 그룹 [10마리].

(나) 대조군 : 증류수 투여 후 한 시간 뒤 50% castor oil을 0.12 ml/10 g로 투여한 그룹 [10마리].

(다) MFIV-0 : 烏梅 生乾 시료 (MFIV-0) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 50% castor oil을 0.12 ml/10 g로 투여한 그룹 [10마리].

(라) MFIV-2 : 烏梅 2蒸 시료 (MFIV-2) 1g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 50% castor oil을 0.12 ml/10 g로 투여한 그룹 [10마리].

(마) MFIV-4 : 烏梅 4蒸 시료 (MFIV-4) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 50% castor oil을 0.12 ml/10 g로 투여한 그룹 [10마리].

(바) MFIV-6 : 烏梅 6蒸 시료 (MFIV-6) 1 g/kg을 투여 후 한 시간 뒤 50% castor oil을 0.12 ml/10 g로 투여한 그룹 [10마리].

증류수 500 cc에 각 시료 50 g을 넣고 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 추출 여과액을 감압농축 (45°C)을 한 후 동결 건조기를 이용하여 얻은 분말을 deep freeze (-84°C)에 보관하였으며 실험에 사용하기 직전 distilled water에 희석하여 사용하였다. MgSO₄ 설사 실험 종료 후 동일 개체로 1주일간의 안정기를 가진 후에 castor oil 유발 설사 실험을

하였다. 실험 2시간 30분 전에 절식시킨 흰쥐를 시료 투여 1시간 전부터 여지 위에 방치하여 하리를 하지 않는 동물만을 선별하여 각 군당 9마리씩 총 6그룹으로 분류하였다 (Table 5). 烏梅 시료를 각각 1 g/kg/5 ml로 녹인 후 sonde를 이용하여 경구 투여하고 1시간 경과한 후 50% castor oil (용매: corn oil) 0.12 ml/10g 씩을 경구 투여하였다. 2시간, 4시간, 6시간 후에 수양변의 횡수를 관찰하였다.

9) 통계처리

모든 측정 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± S.D.)로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 ANOVA와 Student's t-test를 사용하여 p<0.05 값인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 벤조피렌 검출 시험

벤조피렌 검출 시험 결과, 모든 烏梅 시료에서 벤조피렌은 검출되지 않았다 (Table 4).

Table 4. The Contents of Benzo[a]pyrene in Mume Fructus

Group	Content of benzo[a]pyrene	Group	Content of benzo[a]pyrene
		MF II -0	N.D.
MF I -1	N.D.	MF II -1	N.D.
MF I -2	N.D.	MF II -2	N.D.
MF I -3	N.D.	MF II -3	N.D.
MF I -4	N.D.	MF II -4	N.D.
MF I -5	N.D.	MF II -5	N.D.
MF I -6	N.D.	MF II -6	N.D.
Group	Content of benzo[a]pyrene	Group	Content of benzo[a]pyrene
		MF IV -0	N.D.
MF III -1	N.D.	MF IV -1	N.D.
MF III -2	N.D.	MF IV -2	N.D.
MF III -3	N.D.	MF IV -3	N.D.
MF III -4	N.D.	MF IV -4	N.D.
MF III -5	N.D.	MF IV -5	N.D.
MF III -6	N.D.	MF IV -6	N.D.

2. Polyphenol 및 flavonoid 함량

총 polyphenol 함량을 측정한 결과, 生乾 烏梅에 비해 2蒸은 0.1% 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 4蒸은 3.5%, 6蒸은 4.8%로 유의성 있게 (p<0,01) 증가하였으며, 蒸熟 횡수가 증가함에 따라 polyphenol 함량이 증가하였다 (Fig. 1).

총 flavonoid 함량을 측정한 결과, 生乾 烏梅에 비해 2蒸, 4蒸, 6蒸 烏梅는 각각 1.0% (p<0.001), 2.0% (p<0.001), 2.0% (p<0.001)로 유의성 있게 증가하였으며, 蒸熟 횡수가 증가함에 따라 flavonoid 함량이 증가하였다 (Fig. 2).

3. DPPH radical 및 ABTS radical 소거능

DPPH radical 소거능 측정 결과, 生乾 烏梅에 비해 2蒸 烏梅와 (p<0,01) 4蒸, 6蒸 烏梅 (p<0.001) 모두에서 유의성 있게 증가하였다 (Fig. 3).

ABTS radical 소거능 측정 결과, 生乾 烏梅와 2蒸 烏梅는 ABTS radical 소거능이 차이를 보이지 않았다. 4蒸 烏梅는 生乾 烏梅에 비해 0.2% 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 6蒸 烏梅는 生乾 烏梅에 비해 1.0%가 유의성 있게 증가하였다(p<0.001) (Fig 4).

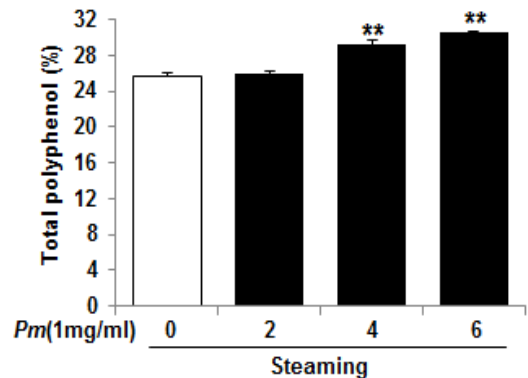


Fig. 1. Total polyphenol contents of Mume Fructus water extracts depending on steaming process. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean ± S.D. of triplicate, significantly different from control ; ** p<0,01.

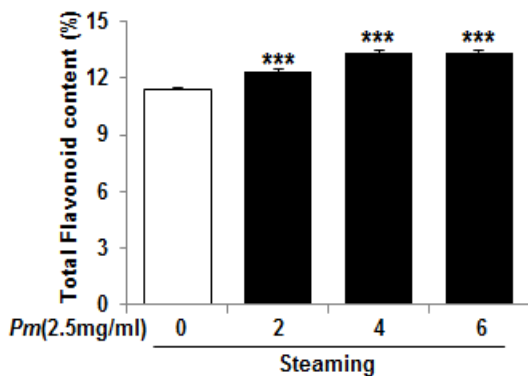


Fig. 2. Total flavonoid contents of Mume Fructus water extracts depending on steaming process. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean ± S.D. of triplicate, significantly different from control ; *** p<0.001.

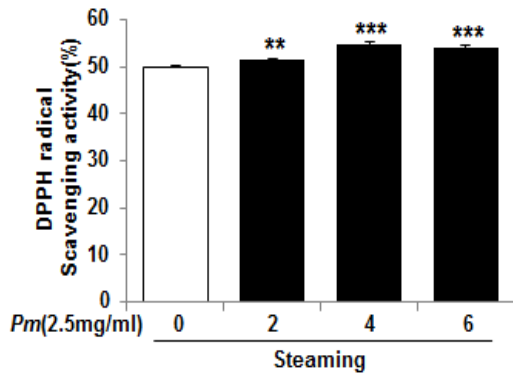


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of Mume Fructus water extracts depending on steaming process. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; *** p<0.001, ** p<0.01.

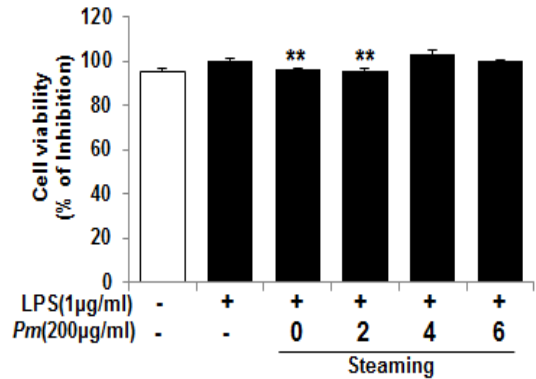


Fig. 5. Cytotoxicity of water extracts from Mume Fructus in RAW 264.7 cells. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; ** p<0.01.

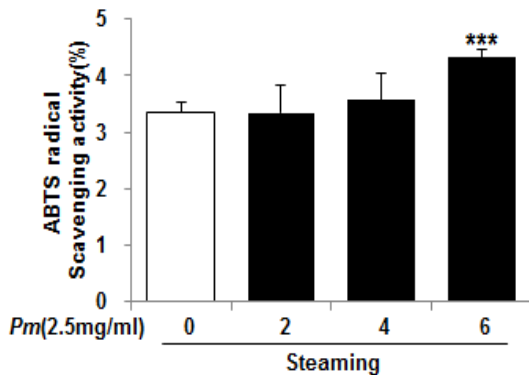


Fig. 4. ABTS radical scavenging activity of Mume Fructus water extracts depending on steaming process. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; *** p<0.001.

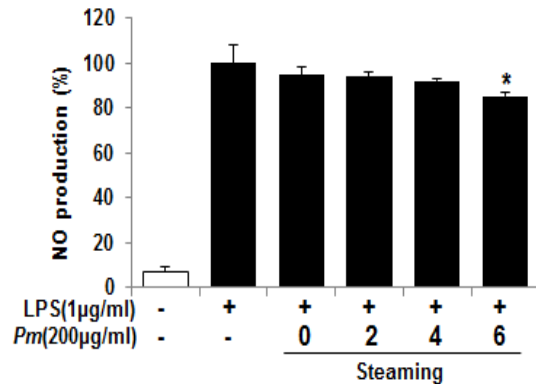


Fig. 6. Inhibitory effects of the Mume Fructus on the release of NO in RAW 264.7 cells. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; * p<0.05.

4. 세포독성 시험

RAW 264.7 세포에 生乾, 2蒸, 4蒸 및 6蒸 烏梅 열수 추출물을 200 $\mu\text{g/ml}$ 로 24시간동안 처리한 후 세포사멸을 확인한 결과, 生乾과 2蒸 烏梅 ($p<0.01$) 처리군 등에서 유의성 있게 세포가 증가되었으며, 모든 처리군에서 세포독성이 없는 것으로 나타났다(Fig. 5).

5. NO 및 PGE2, IL-1 β , TNF- α 분석

NO의 생성량은 烏梅 열수 추출물에 의하여 어느 정도 소거되는지 알아보았다. 그 결과, LPS만 처리한 대조군에 비해 NO 생성량이 生乾 烏梅는 5.2%, 2蒸은 6.3%, 4蒸은 8.0% 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 6蒸 烏梅는 14.7% 감소하여 유의성 있는 감소를 보였다 ($p<0.05$) (Fig. 6).

RAW 264.7 세포에 LPS 처리 후 배지 중의 PGE2 농도를 측정된 결과, LPS만 처리한 대조군에 비해 生乾 烏梅는 81.8% ($p<0.01$), 2蒸은 45.9% ($p<0.01$), 4蒸은 44.1% ($p<0.05$) 감소하여 유의성 있는 감소를 보였다. 그러나 6蒸 烏梅는 PGE2 생성량이 대조군에 비해 오히려 14.1% 증가하였다 (Fig. 7).

배지 중의 IL-1 β 농도를 측정된 결과, LPS만 처리한 대조군에 비해 IL-1 β 분비량이 生乾 烏梅는 39.0%, 2蒸은 35.3%, 4蒸은 27.4% 감소하여 유의성 있는 감소를 보였다 ($p<0.05$). 특히 6蒸은 40.5%로 유의성 있게 감소했다 ($p<0.001$) (Fig. 8).

TNF- α 의 농도를 측정된 결과, LPS만 처리한 대조군에 비해 生乾 烏梅와 2蒸, 4蒸, 6蒸 烏梅는 TNF- α 생성량을 유의성 있게 억제하지 못하였다 (Fig. 9).

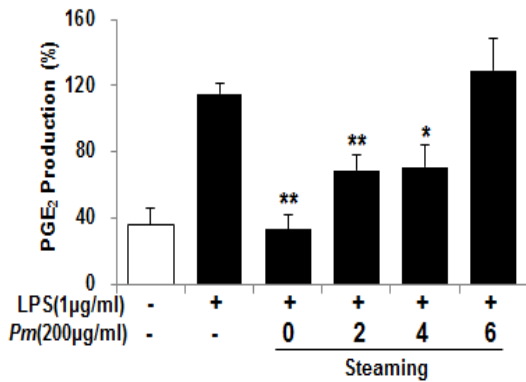


Fig. 7. Inhibitory effects of the Mume Fructus on the release of PGE₂ in RAW 264.7 cells. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; ** p<0.01, * p<0.05.

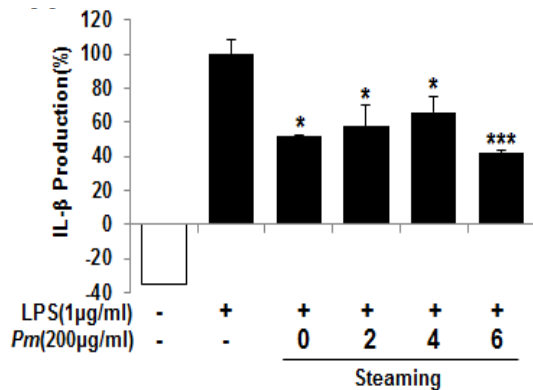


Fig. 8. Inhibitory effects of Mume Fructus extracts on IL-1 β expression in RAW 264.7 cells. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; *** p<0.001, * p<0.05.

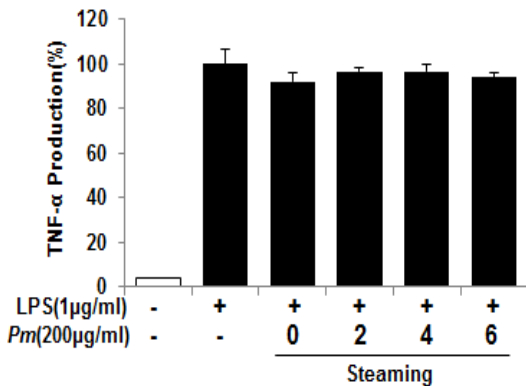


Fig. 9. Inhibitory effects of Mume fructus extracts on TNF- α expression in RAW 264.7 cells. 0: Mume Fructus without steaming process; 2: Mume Fructus with twice steaming process; 4: Mume Fructus with four steaming process; 6: Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D.

6. MgSO₄ 유발 설사 실험

蒸熟 烏梅의 지사 효능을 평가하기 위하여 MgSO₄ 유발 설사 실험을 수행한 결과, 정상군의 분변은 2시간 경과 후, 모두 정상적인 상태로 판단되었다. 그러나 MgSO₄로 설사를 유발한 대조군에 비해 生乾 烏梅와 2蒸 烏梅 시료 투여군은 2시간, 4시간, 6시간 시점에서 수양변의 빈도가 유의성 있게 감소되었다 (p<0.001). 4蒸 烏梅 시료 투여군은 2시간과 4시간 시점에서는 유의성 있게 감소하였으나 (p<0.001), 6시간 시점에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 보이지 않았다. 6蒸 烏梅 시료 투여군은 2시간과 4시간 시점에서는 유의성 있게 감소하였으나 (p<0.001), 6시간 시점에서는 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 보이지 않았다 (Fig. 10).

7. Castor oil 유발 설사 실험

정상군의 분변은 2시간 경과 후, 모두 정상적인 상태로 판단되었다. 대조군은 수양변의 수가 정상군에 비해 2시간, 6시간 시점에서 증가하였으며, 4시간 시점에서 유의성 있게 증가하였다 (p<0.001). 生乾 烏梅 시료 투여군은 2시간, 4시간, 6시간 시점에서 모두 수양변의 수가 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다 (p<0.001). 2蒸 烏梅 시료 투여군은 2시간, 4시간 시점에서 수양변의 수가 유의성 있게 감소하였고 (p<0.05), 4蒸 烏梅 투여군은 4시간 시점에서만 수양변의 수가 유의성 있게 감소하였다 (p<0.05). 6蒸 烏梅 투여군은 2시간 시점과 (p<0.05) 4시간, 6시간 시점에서 (p<0.001) 모두 수양변의 수가 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 11).

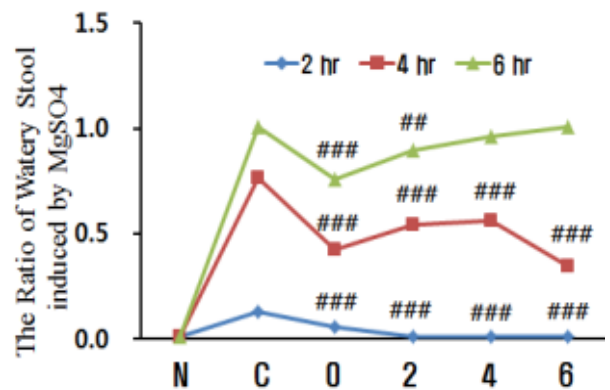


Fig. 10. The change of watery stool in the MgSO₄ induced diarrhea. N : normal rats, C : control rats treated with the castor oil, 0 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus without steaming process, 2 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus with twice steaming process, 4 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus with four steaming process, 6 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus with six steaming process. Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from control ; ### p<0.001, ## p<0.01.

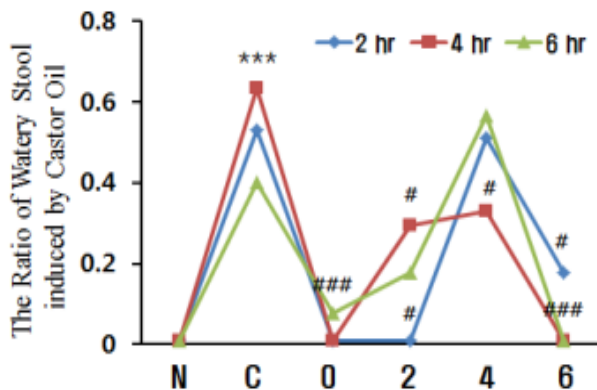


Fig. 11. The change of watery stool in the castor oil induced diarrhea.

N : normal rats,

C : control rats treated with the castor oil,

O : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus without steaming process,

2 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus with twice steaming process,

4 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus with four steaming process,

6 : Rats induced diarrhea by the castor oil and treated with Mume Fructus with six steaming process.

Each value is mean \pm S.D. of triplicate, significantly different from normal ; *** p(0.001, ; significantly different from control ; ### p(0.001, # p(0.05.

IV. 고찰

烏梅는 장미과 (Rosaceae) 매실나무(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)의 덜익은 열매로서 연기를 쪄낸 것이다²². 매실은 겉껍질과 단단한 씨로 이루어져 있는데 과육이 약 80% 씨가 20% 정도이다. 과육의 성분은 수분 85%, 다당류 10%, 그리고 citric acid, malic acid, oxalic acid 및 살균작용과 간 기능 강화 작용이 있는 picric acid 등의 유기산 (5%)으로 구성된다^{1,30}. 또한 비교적 높은 활성을 가진 SOD (superoxide dismutase)가 함유되어 있다. 종자에는 해열 진통 작용을 나타내는 amygdalin이 함유되어 있다³¹. 烏梅의 약리작용에는 회충구제작용 평활근이완작용 항균작용 항피로, 항방사능, 항노화 작용등이 있으며³¹, 항균작용¹⁵, 염증성 장 질환 개선효과²⁰, 항산화능^{16,17}, 항피로효과¹⁹, 혈당강하효과²¹, 간암 및 자궁암의 효과³² 등이 연구되어 보고된 바 있다.

벤조피렌은 국제암연구소 (IARC)에서 인체발암물질로 지정한 물질이다. 일반적으로 PAHs (polynuclear aromatic hydrocarbons)는 400-1,000°C에서 불완전연소 시 생성되는 화합물로 한약재중에는 熟地黃과 地黃에 5 ppb이하³³로 그 기준이 설정되어 있다. 벤조피렌은 적절한 온도에서 건조할 경우에는 생성되지 않는 것으로 알려져 있어 대한약전 외 한약생약규격집 총칙은 60°C 이하에서의 건조를 규정하고 있다²³. 따라서 한약재의 건조과정중에 시간과 비용을 절감하기 위해 불을 직접 쪄거나 고온에서 급격하게 처리하는 경우 벤조피렌이 생성될 가능성이 높을 것으로 생각된다.

이상과 같은 내용을 토대로 하여 烏梅 포제품에 대한 벤조피렌으로부터의 안전성을 확보할 수 있는 방법을 제안하고 포

제품의 규격화 기준을 마련하는 것이 필요하다고 생각되었다. 이를 위해 우선적으로 여러 포제품 중 蒸法을 이용하여 연구를 하였다.

벤조피렌 실험 결과, 모든 시료에서 벤조피렌은 검출되지 않았다. 이는 육안적으로 관찰해보건데 烏梅를 炒炭한 시료보다 탄 흔적이나 향이 없는 것과 유사한 결과이다. 이를 바탕으로 蒸法을 이용한 烏梅의 포제품이 벤조피렌으로부터 안전성을 확보할 수 있을 것으로 생각된다.

烏梅의 성분은 대부분 유기산으로 이루어져 있으며 烏梅의 과육에는 비교적 높은 활성도를 보이는 SOD (superoxide dismutase)가 함유되어 있다³¹. 최근 연구에서 polyphenol을 함유한 천연물은 질병과 노화의 원인인 ROS (reactive oxygen species)와 RNS (reactive nitrogen species)를 감소시키는 것과 연관이 있다고 밝혀진 바 있다. Polyphenol은 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (-OH)기를 가진 방향족화합물로 flavonoid와 tannin이 주 성분으로 총치예방, 고혈압억제, 항에이즈, 항산화, 항암 등의 다양한 활성을 가진다³⁴.

항산화물질의 가장 특징적인 기작은 유리기와 반응하는 것으로 유리기 소거 작용은 활성 radical에 전자공여하여 식물 중의 항산화효과나 인체에 노화를 억제하는 척도로 이용된다³⁵. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 안전한 유리기로 cysteine, glutathione과 같은 함유황아미노산과 ascorbic acid, aromatic amine (*p*-phenylenediamine, *p*-aminophenol) 등에 의해 환원되어 탈색되므로²⁸ 항산화제의 radical 소거능을 평가하기 위해 가장 많이 사용된다³⁶. 또한 ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radical 소거능 측정 역시 항산화제의 유무를 확인하는 것으로 ABTS radical 존재시 hydrogen peroxide와 metmyoglobin의 활성을 토대로 보다 빠른 항산화반응을 일으켜 myoglobin radical을 감소시킨다²⁹. 따라서 본 연구에서는 蒸熟烏梅의 항산화 효능검증을 위하여 polyphenol과 flavonoid의 함량을 측정하였으며 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능 측정을 통하여 生乾烏梅와 蒸熟烏梅수에 따른 烏梅시료간의 항산화능을 비교분석하였다.

실험결과 烏梅는 蒸熟횟수가 증가할수록 총 polyphenol 함량이 증가하는 것을 확인 할 수 있었으며, 총 flavonoid 함량 역시 증가하는 것을 확인할 수 있었다. DPPH radical 소거능을 측정한 결과 生乾烏梅에 비해 蒸熟烏梅에서 DPPH 소거능이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 蒸熟횟수에 따른 경향성은 보이지 않았다. ABTS radical 소거능을 측정할 결과 生乾烏梅에 비해 烏梅의 蒸熟횟수가 높을수록 높은 ABTS radical 소거능을 보였으며 특히 6蒸 烏梅에서 유의한 증가를 보이는 것을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 烏梅의 蒸熟횟수가 증가할수록 항산화능이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 烏梅를 蒸熟하는 것이 烏梅의 항산화 효능 활성에 기여할 것으로 생각된다.

염증은 활성화된 면역세포에 의해 일어나는 일련의 면역반응으로 생체나 조직에 기질적인 변화를 가져오는 침습이 가해질 때 그 손상 부위를 수복재생하려는 기전이다. 그러나 염증반응이 만성화되면 류마티스관절염, 동맥 경화증, 위염, 천식

등의 염증성질환을 유발할 수 있다³⁷⁾. 우리 몸에 있는 대표적인 면역세포로 대식세포 및 단핵구가 있는데 이는 외부에서 침입한 세균 유래의 특정물질이나 체내 다른 면역세포에서 분비되는 cytokine에 의해 활성화된다. 대식세포는 lipopolysaccharide (LPS) 감염초기에 반응하고 숙주의 방어와 항상성 유지에 중요한 역할을 하지만 고농도의 LPS의 자극은 대식세포에서 pro-inflammatory cytokine인 tumornecrosisfactor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β)와 염증매개물질인 nitricoxide(NO), prostaglandin E2 (PGE₂)를 분비시켜 염증반응을 지속적으로 유발한다.

이에 본 연구는 마우스대식세포인 RAW 264.7에 LPS를 처리하여 염증반응을 유도시켜 염증매개인자들의 분비에 대한 生乾 및 蒸熟 烏梅추출물의 억제효과를 조사하여 이들이 염증반응에 미치는 영향을 비교하였다. 먼저 生乾 및 蒸熟 烏梅추출물이 세포독성을 갖고 있는지 알아보기 위해 RAW 264.7 세포에 生乾과 蒸熟 烏梅추출물을 200 μ g/ml로 처리하여 24시간 배양한 후 CCK-8 assay를 이용하여 세포생존율을 조사하였다. 그 결과 대조군에 비하여 모든 烏梅시료에서 독성은 보이지 않았다. 이에 같은 농도로 RAW 264.7세포에 LPS와 生乾 및 蒸熟 烏梅의 열수추출물을 처리한 후 NO, PGE₂, IL-1 β , TNF- α 의 발현량을 비교분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

NO 생성량은 蒸熟횟수가 증가할수록 감소하였으며 6蒸 烏梅에서 유의성있는 감소를 보여 蒸熟횟수가 증가 할수록 항염증효능이 증가하는 것으로 나타났다. 반면에 PGE₂는 生乾과 2蒸, 4蒸, 烏梅에서 유의성있는 감소를 보였으나 生乾 烏梅가 가장 뛰어난 억제능을 보였다. IL-1 β 는 6蒸 烏梅에서 유의성있는 감소를 보였으며, 4蒸, 2蒸, 生乾 순으로감소를보였다. 반면에 TNF- α 의 생성량은 烏梅시료에서 효과적으로 억제하지 못하는 것으로 나타났다.

烏梅는 收瀉藥으로 분류되어있어¹⁾ 止瀉작용이 대표적인 효능임을 짐작할 수 있으며, 古典에서도 蒸法을 적용한 烏梅를 止瀉藥으로 사용하고 있다³⁸⁻⁴⁰⁾. MgSO₄는 간수의 주성분으로 의약품으로는 下劑로 사용되는 물질이며 castor oil은 피마자씨를 용매추출 및 압착하여 얻는 지방유로서 의약품으로는 역시 下劑로 사용된다. 이에 응성귀에 MgSO₄와 castor oil을 이용한 설사유발을 통하여 生乾 및 蒸熟 烏梅의 止瀉효능실험을 시행하였다. MgSO₄ 유발설사실험에서는 生乾과 2蒸 烏梅는 약물투여 후 2시간, 4시간, 6시간에서 모두 유의성있는 지사효능을 보였으며 4蒸과 6蒸 烏梅의 경우 2시간과 4시간에서는 유의성있는 수양변 빈도의 감소를 보였으나, 6시간 시점에서는 지사작용이 현저히 떨어졌다. 이로서 초중반의 설사는 2蒸, 4蒸, 6蒸 烏梅 모두 止瀉작용을 나타내지만 6시간이 경과하면 4蒸과 6蒸 烏梅의 지사작용이 현저히 떨어지는 것을 알 수 있었다.

Castoroil유발 설사실험결과 生乾 烏梅와 2蒸, 6蒸 烏梅는 2시간, 4시간, 6시간에서 모두 유의성있는 수양변의 감소를 나타내었다. 특히 生乾 烏梅는 모든 시간에서 뛰어난 수양변 억제효능을 나타내었다. 그러나 4蒸 烏梅는 4시간시점에서만 유의성있는 감소를 보였고, 6시간시점에서는 수양변의 수가

대조군에 비해 오히려 증가하였다.

이상의 결과를 보면 烏梅의 止瀉효능은 蒸熟횟수에 따른 유의성있는 경향성은 보이지 않으며 生乾 烏梅가 전 시간에 걸쳐 유의성있는 수양변감소를 나타내었다. 따라서 설사에 사용할 때에는 蒸熟 烏梅에 비하여 生乾 烏梅를 사용하는 것이 유리할 것으로 판단된다.

실험결과를 모두 종합하여 보면 蒸法을 이용한 烏梅의 포제품은벤조피렌이 검출되지않았으며 항산화효능에 烏梅를 사용할 때에는 蒸熟 烏梅를 사용하는 것이 유리하고 항염증효능에 사용할 때에는 NO와 IL-1 β 의 억제에는 蒸熟 烏梅를 PGE₂의 억제에는 生乾 烏梅를 사용하는 것이 유리할 것으로 판단되며 烏梅는 TNF- α 는 효과적으로 억제하지 못하는 것으로 생각된다. 또한 止瀉효능에 사용할 때에는 生乾 烏梅를 사용하는 것이 더 유효하다는 결론을 내릴 수 있었다. 본 연구는 벤조피렌에 대한 안전성을 확보하고 유효성이 높은 烏梅의 가공품질 기준설정을 위한 초보적인 연구로서 蒸熟 烏梅가 벤조피렌의 발생 우려없이 안전하게 사용가능한 烏梅의 포제품이 될 수 있을 것으로 생각된다.

결과적으로 본 연구는 生乾 烏梅와 蒸熟 烏梅간의 비교연구만을 한 것으로서 항산화, 항염증, 止瀉효능간 에 生乾과 蒸熟 烏梅의 효능차이가 보이며 포제는 그 방법에 따라서 약성을 변화시키거나 치료효과를 증가시킬 수 있으므로⁴¹⁾ 烏梅의 蒸熟과 蒸熟, 生乾 및 기타포제 유형 간의 각 효능 별 유효성에 관한 추가적인 연구가 향후 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

蒸熟 烏梅의 생리활성을 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 烏梅를 蒸熟하는 경우에는 核仁의 제거 여부나 蒸熟 횟수와 상관없이 벤조피렌은 검출되지 않는 것으로 나타났다.
2. DPPH, ABTS radical 소거능 측정결과 烏梅의 항산화효능은 蒸熟 횟수의 증가에 따라 증가하는 것으로 나타났다. Polyphenol 함량 및 flavonoid 함량 또한 radical 소거능 결과와 일치하게 蒸熟 횟수에 비례하게 함량이 증가하였다.
3. NO와 IL-1 β 는 烏梅의 蒸熟횟수가 증가할수록 효과적으로 항염증 효과를보이나 PGE₂의 억제는 蒸熟 烏梅보다 生乾 烏梅가 탁월한 것으로 판단되며 烏梅는 TNF- α 의 분비억제에 별다른 영향을 미치지 못하는 것으로 판단된다.
4. 止瀉 효능에는 生乾 烏梅를 이용하는 것이 더 유효한 것으로 나타났다.

따라서 蒸熟 烏梅가 벤조피렌의 발생 우려 없이 안전하게 사용할 수 있는 烏梅의 포제 모델이 될 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 항산화, 항염증, 止瀉효능간에 生乾과 蒸熟 烏梅의 효능 차이가 보이는 바, 烏梅의 훈증과 蒸熟, 生乾 및 기타 포제 유형간의 각 효능별 유효성에 관한 추가적인 연구가 필요 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. The National College of Oriental Medicine, herbalism common materials Compilation Committee, Herbal medicine, Seoul : Yeonglim publisher, 2005 : 678-9.
2. Cha HS, Hwang JB, Park JS, Park YK, Jo JS, Changes in Chemical Composition of Mume Prunus mume Sieb. et Zucc Fruits during Maturation, Korean J. Postharvest SCI, Technol, 1999 ; 6(4) : 481-7.
3. Lee KD, Sikyungkangsul, Seoul : Sungkyunkwan university publishing department, 2011 : 72.
4. Yeo HK, A Study on Ways to Activate Tourism through Gwangyang Maesil, Food Science and industry, 2012 ; 45 : 10-19.
5. Min BI, Cu B, Effect of Ion beverage substitution to Maesil-beverage on the Exercise Performance, Korea Sport Reserch, 2003 ; 14 : 868-78.
6. Ha MH, Cho SH, Preservative effect of agricultural and marine products treated with Prunus mume extract, J. Agriculture & Life Science, 2005 ; 39(4) : 55-60.
7. Ko YH, Yang HY, Kang SY, Kim ES, Jang IS, Effects of a blend of Prunus mume extract as an alternative to antibiotics on growth performance, activity of digestive enzymes and microflora population in broiler chickens, Journal of Animal Science and Technology, 2007 ; 49(5) : 611-20.
8. Lim SJ, Eun JB, Processing and Distribution of Maesil, Japanese Apricot in Korea, Food Science and industry, 2012, ; 45 : 2-9.
9. Kim NC, Present Condition of Maesil drink Industry, The Korean Society of Food Preservation, 2005 : 42-51.
10. Son SY, Son PI, Sinnongbonchokyung, Taipei : Oju publishing house, 1986 : 34.
11. Kim YD, Kang SK, Hyun KH, Contents of Cyanogenic Glucosides in Processed Foods and during Ripening of Ume According to Varieties and Picking Date, Korean Journal of Food Preservation, 2002 ; 9(1) : 42-5.
12. No CW, Chong BM, Kang SD, Seo KK, Effects of Fruit Thinning Time on Fruit Growth and Quality in Japanese Apricot, Korean journal of horticultural science & technology, 2004 ; 10 : 52.
13. Seo KS, Huh CK, Kim YD, Comparison of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Prunus mume Fruit in Different Cultivars, Korean Journal of Food Preservation, 2008 ; 15(2) : 288-92.
14. Lee OK, Lee HJ, Shin YS, Ahn YG, Jo HJ, Shin HC, Kang HY, Quantitative Analysis of The Fruit Flesh of Prunus mume Siebold & Zuccarni, Korean J. Medicinal Crop Sci, 2007 ; 15(3) : 143-47.
15. Ha MH, Park WP, Lee SC, Choi SG, Cho SH, Antimicrobial Characteristic of Prunus mume extract, Korean J. Food Preserv, 2004 ; 13(2) : 198-203.
16. Hwang JY, Ham JW, Nam SH, The Antioxidant Activity of Maesil (Prunus mume), Korean J. Food SCI Technol, 2004 ; 36(3) : 461-64.
17. Bae YK, Choe TB, Antioxidant and Cell Activity Using Extracts of Mume Fructus, Korean Journal of Medicinal Crop Science, 2011 ; 19(5) : 388-94.
18. Eun JB, Kim CA, Cha HS, Processing storage and packaging methods for a variety of applications of maesil, Korean Journal of Food Preservation, 2004 ; 3(1) : 68-80.
19. Min BI, Bae CW, Choi YS, Effect of Ion beverage substitution to Maesil-beverage on the Exercise Performance, Korea sport research, 2003 ; 14(2) : 868-78.
20. Jin HL, Lee BR, Lim KJ, Debnath T, Shin HM, Lim BO, Anti-Inflammatory effects of Prunus mume Mixture in Colitis Induced by Dextran Sodium Sulfate, Korean Journal of Medical Crop Science, 2011 ; 19(1) : 16-23.
21. Ko BS, Park SK, Choi SB, Jun DW, Hypoglycemic Effects of Crude Extracts of Prunus mume, Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition, 2004 : 951-7.
22. 『Republic of Korea Pharmacopeia』 10th revision (KP X) : 1172-3
23. 『Herbal Pharmacopoeia for other (herbal) Alimentarius (KHP)』, I.General Provisions, Article No, 2013-235 : 3.
24. Baek WS The monitoring of benzo(a)pyrenes content on the herbal medicines, Korea pharmaceutical test & research institute, 2009.
25. 『Notice the Food and Drug Administration』 Article No, 2012-17.
26. Velioglu YS, Mazza G, Gao L & Oomah BD, Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products, Journal of agricultural and food chemistry, 1998 ; 46(10) :

- 4113-7.
27. Che SG. Standard Food Analysis. Paju : Jigu publisher, 2002 : 381-2.
 28. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 1958 ; 26 : 1199-1200.
 29. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med, 1999 ; 26(9) : 1231-7.
 30. Kang MY, Jeong YH, Eun JB. Physical and Chemical Characteristics of Flesh and Pomace of Japanese Apricots (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). Korean J. Food SCI Technol, 1999 ; 31(6) : 1434.
 31. Kim HC. Herbal Pharmacology. Seoul : Jipmoon publisher, 2004 : 490-2.
 32. Jung SE, Bae JH. The Effect of *Prunus Mume* Extracts on the Growth of HepG2 and HeLa Cell Lines. The Korean Nutrition Society, 2002 ; 35 : 439-45.
 33. 『Notice the Food and Drug Administration』 Article No. 2009-13.
 34. Yoshizawa S, Horiuchi T, Yoshida T, Okuda T. Antitumor promoting activity of (-) epigallocatechin gallate, the main constituent of tannin in green tea. Phytotherapy Research, 1987 ; 1(1) : 44-7.
 35. Kim JH, Yoo JS, Lee CH, Kim SoY, Lee SK. Quality properties of soybean pastes made from meju with mold production pretease, 2006 ; 49(1) : 7-14.
 36. Kim SI, Sim KH, Ju SY, Han YS. A study of Antioxidantive and Hypoglycemic Activities of Omija(*Schizandra chinensis* Baillon) Extract under variable Extract Conditions. The Korean Journal of Food And Nutrition, 2009 ; 22(1) : 41-7.
 37. Kaplanski G, Marin V, Nontero-Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. Trends in immunology, 2003 ; 24(1) : 25-9.
 38. You GW, Jung L. Taepyunghyeminhwajaegookbang. Beijing : People's health publisher, 2007 : 74.
 39. Joe G. Sungjaechonglok. Seoul : Esdang publisher, 1993 : 684, 710, 832, 833, 2341, 2359.
 40. Joo S. Bojaebang. Seoul : Esdang publisher, 1993 : 944, 974, 975.
 41. Jung KH. Pojaehak. Daejeon : Munjin publisher, 2012 : 3-12.