P - 301

가시오가피 추출물이 마크로파지 활성과 발효 중 젖산균 성장에 미치는 영향

임상동* · 김기성 · 이혜원 · 양현주

한국식품연구원

서 론

가시오가피는 주로 소련의 시베리아와 중국 만주 벌판 등 추운 지역에서 자라며, 우리나라에서도 강원도 오대산, 치악산 1,000m 이상의 고산지대와 평남, 평북, 함남, 함북에 야생하고 있다(육, 1993). 예로부터 우리나라의 한방에서 사용되어져 왔던 약재로서 약효로 근피나 수피의 추출물은 운동성 증진(Dowling *et al.*, 1996), 항산화(Lin and Huang, 2000), 항피로(Davydov and Krikorian, 2000), 항스트레스(Gaffiney *et al.*, 2001), 항알러지(Umeyama *et al.*, 1992) 및 독성에 의한 항암작용(Hibasami *et al.*, 2000) 등의 약리활성을 가지고 있다고 보고되어 있다. 신(1997)에 따르면 가시오가피의 줄기껍질은 중추신경을 흥분시키는 작용을 해서 피로를 푸는데 도움이 되고 쇠약해진 면역 능력을 되살리기도 하며, 방사선으로부터 인체를 방어하고 백혈구를 증가시키는 작용도 뛰어나다고 하였다. 현재 가시오가피는 현재 식약청에서 식품원료로 고시한 바 있으며, 다른 한약재와 함께 혼입되어 건강 보조식품으로 시중에 많이 유통되고 있으나, 보다 검증된 면역 활성 여부를 확인하고, 기능성 식품 소재로서 가공 식품 개발에 관한 연구가 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 가시오가피를 이용한 발효유에 응용 가능성을 검토하기 위하여 가시오가피의 면역 활성과 젖산균 성장에 미치는 영향에 대하여 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 중국산 가시오가피는 서울 경동시장에서 구입하여 사용하였고, 세포 배양 실험에 이용된 cell line인 RAW264.7(monocyte; macrophage, mouse)은 한국 세포주 은행에서 분양받아 사용하였다. 젖산균주는 시중 유업체에서 발효유에 사용하는 상업용 균주로서 *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium longum, Streptococcus thermophilus*로 구성된 혼합균주인 ABT-L, ABT-C와 혼합 균주에 사용된 단일 균주 3종 등 5종의 냉동 건조된 균주를 Rhone-poulence사로부터 구입하여 사용하였다. 가시오가피 추출물이 마크로파지 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해서 96-well plate에 가시오가피 추출물 및 RAW264.7(2×10^5)을 넣고 NO 분비능, Interleukin-1α, Tumor necrosis factor-α의 분비능을 측정하였다. 또한 가시오가피 추출물이 젖산균 생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 MRS 배지에 가시오가피 추출물을 건물량 기준으로 0%, 0.1%, 0.5%. 1.0%, 2% 수준으로 첨가하여 멸균한 다음 상업용 젖산균 5

종을 희석하여 각각 배지에 10^4 cfu/mL되게 접종하였다. 37℃에서 3시간 간격으로 배양하면서 O.D값(620 nm)과 pH를 측정하였다. 저장 중의 젖산균 변화는 가시오가피 추출액을 10% (W/W) 첨가하여 호상 발효유를 제조한 다음 5℃와 10℃에서 18일간 저장하면서 BCP 평판 측정용 배지를 이용하여 35℃에서 48시간 배양한 다음 측정하였다.

결과 및 고찰

1. NO 분비능

가시오가피 추출물에 의한 대식세포의 NO 분비능을 실험한 결과는 Table 1과 같다. 대식세포가 생성하는 NO의 농도는 대조구인 PBS가 12.58μM이었으며, 가시오가피 열수 추출물이 1 μg/mL에서는 검출되지 않았지만 10μg/mL이상에서는 유의하게($p<0.05$) 증가하였다. 반면 70% 알콜 추출물에서는 열수 추출물과 달리 1 μg/mL에서 검출되었지만 첨가 농도가 증가할 수록 열수추출물보다 분비능이 약간 낮은 결과를 보였다.

2. Interleukin-1α 분비능

In vitro 조건하에서 가시오가피 추출물의 대식 세포 활성화 능력을 실험하기 위해서 1~1,000μg/mL 농도로 처리한 다음 나타난 결과는 Table 1과 같다. 대조구에서는 IL-1α가 검출되지 않았고, 열수 추출에 의한 가시오가피 추출액은 각각 1과 10μg/ mL에서도 역시 검출되지 않았다. 그러나 가시오가피 추출액 100과 1,000μg/mL에서는 각각 32.49pg/mL과 39.69pg/mL로서 유의하게($p<0.05$) 증가하였다. 70% 알콜 가시오가피 추출물은 가시오가피 추출액 농도 100μ

Table 1. Macrophage activity of extracts of Acanthopanax senticosus with hot water or 70% ethanol

Solvent	Concentration (μg/mL)	IL-1α (pg/mL)	NO (uM/2×10^5cell)	TNF-α (pg/mL)
	0	ND[1)]	12.58±3.72[d]	32.42±3.75[d]
Water	1	ND	ND	ND
	10	ND	20.06± 1.34[d]	ND
	100	32.49±13.38[2)b]	91.93± 3.17[b]	257.1±18.19[c]
	1,000	39.69±13.88[b]	143.13±40.16[a]	478.8±72.72[b]
70% ethanol	1	ND	17.82± 0.27[d]	ND
	10	ND	19.28± 0.16[d]	ND
	100	ND	56.95± 5.18[c]	290.66±25.90[c]
	1,000	48.66± 0.92[a]	94.25±15.24[b]	798.02±62.32[a]

[1)] N.D : Not Detected.

[2)] Values are mean±S.D., n=3.

[a~c] Means with different superscript in the same column are significantly different ($p<0.05$).

g/mL 이하에서 검출되지 않았으며, 1,000μg/mL에서만 48.66pg/mL로 나타났다. 이러한 결과는 IL-1α는 아니지만 Ha 등(2003)이 가시오가피 줄기에서 추출한 시료 농도 5μg/mL에서의 IL-1β 값이 7.3pg/mL이라고 한 발표에 비해 낮은 결과를 얻었다.

3. Tumor Necrosis Factor-α 분비능

In vitro 조건하에서 가시오가피 추출물의 대식 세포 활성 능력에 관한 시험 결과는 Table 1과 같다. 대조구의 TNF 농도는 32.42 pg/mL이었으나 열수 추출물의 시료 농도가 1과 10μg/mL인 경우는 검출되지 않았다. 그러나 시료 농도가 100과 1,000μg/mL에서는 각각 257.1과 478.8pg/mL으로서 유의하게($p<0.05$) 증가하였다. 70% 알콜로 추출하였을 경우 역시 열수 추출물과 비슷한 경향으로 증가하였으며, 열수 추출물보다 TNF 분비능이 약간 높은 증가를 보였다. 이러한 결과는 Ha 등(2003)이 가시오가피 줄기에서 추출한 시료농도 5μg/mL에서의 TNF 값이 1,716pg/mL이라고 한 결과에 비해 낮은 값을 얻었다.

4. 가시오가피 추출물이 젖산균 성장에 미치는 영향

가시오가피 추출물이 젖산균 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 가시오가피 추출물을 건물 기준으로 0%, 0.5%, 1%, 2%의 수준으로 MRS 배지에 첨가하여, 5종의 젖산균을 접종한 후 O.D 값과 pH를 측정한 결과는 Fig. 1 및 Table 2와 같다.

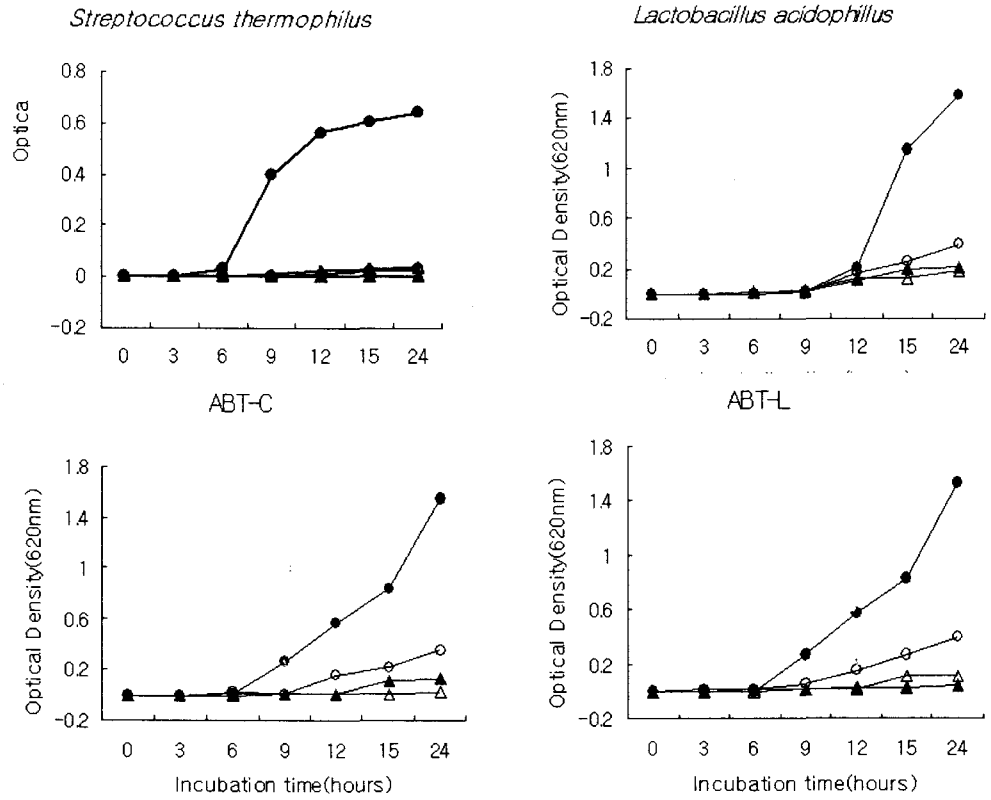

Fig. 1. Effect of *Acanthopenax senticosus* extract on the growth of lactic acid bacteria in MRS medium.

-●-; 0%, -○-; 0.5%, -▲-;1.0%, -△-; 2.0% *Acanthopenax senticosus*

Table 2. Changes in pH by lactic acid bacteria in MRS medium with *Acanthopanax senticosus* extract

Strains	*Acanthopanax senticosus* extract(%)	Fermentation time(hours)						
		0	3	6	9	12	15	24
		pH						
Streptococcus thermophilus	0	6.41	6.37	6.27	5.23	4.79	4.63	4.37
	0.5	6.38	6.37	6.31	6.29	6.22	6.19	5.57
	1.0	6.28	6.25	6.21	6.19	6.18	6.17	6.16
	2.0	6.09	6.06	6.03	6.03	6.02	6.01	5.99
Lactobacillus acidophilus	0	6.41	6.39	6.39	6.33	5.74	4.66	3.93
	0.5	6.33	6.30	6.28	6.28	6.10	6.07	4.40
	1.0	6.17	6.16	6.14	6.12	6.08	6.05	5.01
	2.0	6.05	6.02	5.99	5.98	5.96	5.94	5.00
Bifidobacterium longum	0	6.39	6.37	6.36	6.33	6.29	6.20	4.70
	0.5	6.34	6.32	6.29	6.29	6.29	6.28	6.15
	1.0	6.20	6.19	6.17	6.17	6.16	6.15	6.00
	2.0	6.05	6.04	6.03	6.02	6.00	5.99	5.92
ABT-L	0	6.41	6.39	6.37	5.54	4.86	4.56	3.99
	0.5	6.36	6.31	6.29	6.29	6.18	6.15	4.46
	1.0	6.20	6.18	6.16	6.15	6.13	6.11	5.76
	2.0	6.04	6.01	5.98	5.98	5.97	5.96	5.38
ABT-C	0	6.39	6.37	6.34	5.64	5.03	4.66	4.00
	0.5	6.36	6.35	6.33	6.33	6.27	6.23	4.55
	1.0	6.23	6.23	6.23	6.21	6.19	6.17	5.34
	2.0	6.07	6.07	6.06	6.05	6.04	6.02	5.85

가시오가피는 첨가량이 증가할수록 성장이 억제되었고 특히 *Streptococcus thermophilus*와 *Bifidobacterium longum*은 거의 성장이 이루어지지 않았다. 혼합균주 간에는 ABT-L이 ABT-C보다 약간 성장이 빠른 편이었으나 큰 차이는 없었다. pH는 완만히 감소됨에 따라 발효유에 가시오가피 열수추출물을 첨가할 경우 Set type보다는 Stirrd type이나 Drink type으로 해야 발효유 제조에 적합할 것으로 보인다.

5. 가시오가피 추출물 첨가 발효유의 저장 중 젖산균 변화

원유에 탈지 분유를 첨가한 원료유에 ABT-C 혼합 스타터를 첨가하여 배양이 완료된 후 더덕 추출액을 첨가하고 발효유를 제조함으로써 배양 중의 소재에 의한 젖산균의 성장에 미치는 영향이 배제된 상태에서 저장 중 소재에 의한 젖산균의 성장에 미치는 영향을 5℃와 10℃ 별로 소재 무첨가구인 대조구와 비교한 결과는 다음 Table 3과 같다.

Table 3. Counts of lactic acid bacteria of ABT-C culture in fermented milk containing water extract of Acanthopanax senticosus during storage

Storage Temp. \ Storage period		2 days	4 days	6 days	10 days	14 days	18 days
Control	5℃	1.5×10^9	1.5×10^9	1.0×10^9	9.8×10^8	8.6×10^8	1.1×10^9
	10℃	1.1×10^9	1.7×10^9	1.8×10^9	8.0×10^8	8.8×10^8	2.5×10^9
Acanthopanax senticosus	5℃	1.0×10^9	1.3×10^9	1.3×10^9	1.3×10^9	7.8×10^8	9.8×10^8
	10℃	8.5×10^8	8.8×10^9	1.3×10^9	7.3×10^8	1.1×10^9	1.8×10^9

0 day : Control, 1.7×10^9cfu/mL ; *Acanthopanax senticosus*, 1.5×10^9cfu/mL

표의 결과를 보면 18일간 5℃에서는 무첨가군이 1.1×10^9 CFU/mL, 가시오가피추출물 첨가군이 9.8×10^8 CFU/mL 이었고, 10℃에서는 무첨가군이 2.5×10^9 CFU/mL, 가시오가피추출물 첨가군이 1.8×10^9 CFU/mL으로 나타나 각 저장온도에서 유통기한 내에 축산물의 가공기준 및 성분 규격(2005)에서 정한 젖산균 수 이상으로 안정하게 유지할 수 있는 것으로 나타났다.

요 약

본 연구는 가시오가피의 마크로파지 활성 효과를 평가하고, 발효유에 첨가할 경우 젖산균 성장에 미치는 영향에 대하여 실시하였다. 가시오가피 열수 추출물이 NO 분비능이 높은 반면, 알콜 추출물은 IL-1α와 TNF-α 분비능이 높았다. 첨가 농도 간에는 열수 추출물 및 알콜 추출물 공히 1,000 μg/mL 첨가하였을 때 유의성 있게 증가하였다. 가시오가피 열수추출물이 젖산균에 미치는 영향을 조사한 결과, 가시오가피 첨가량이 증가할수록 젖산균 성장이 억제되었고, pH는 완만히 감소됨에 따라 발효유에 가시오가피 열수 추출물을 첨가할 경우 set type보다는 stirred type이나 drink type으로 해야 발효유 제조에 적합할 것으로 보인다.

참고문헌

1. Davydov, M. *et al.* (2000) *J. Ethnopharmacol.* 72, 345-393.
2. Dowling, E. A. *et al.* (1996) *Med. Sci. Sports Exerc.* 28, 482-489.
3. Gaffiney, B. T. *et al.* (2001) *Med. Hypotheses.* 56, 567-572.
4. Ha, E. S. *et al.* (2003) *Korean J. Food Sci. Technol.* 35(6), 1209-1215.
5. Hibasami, H. *et al.* (2000) *Oncol. Rep.* 7, 1213-1216.
6. Umeyama, A. *et al.* (1992) *J. Pharm. Sci.* 81, 661-662.
7. 신재용 (1997) 내마음대로 달여 마시는 건강약재. 삶과 꿈, pp. 139.
8. 육창수 (1993) 원색 한국약용식물도감. 아카데미서적, pp. 377.
9. 축산물의 가공기준 및 성분규격(2005) 국립수의과학검역원 고시 제 2005-2호. pp. 21.