

전략 체계	안정 - 7 - 2		구 분	세부완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	S02	작목구분코드	FR-03-FR31
과 제 종 류	기관고유		과제번호	LP004573	
과 제 명	지역 농특산자원 우수소재 개발 및 산업화				
과 제 책임자	성 명		직 급	소속기관 및 부서	
	이 재 희		농업연구사	강원도원 농업환경연구과	
연 구 기 간	2021 ~ 2024		참여연구기관	-	
세부과제명			부 서	세부책임자	연구기간
2) 음나무를 활용한 기능성 향상 중간소재화 기술 개발			농업환경연구과	김경대	'22~'22
색 인 용 어	고품질, 내재해, 기능성, 특수미, 품종육성				

ABSTRACT

In order to develop a materialization technology for *Kalopanax septemlobus*, we analyzed the change in active ingredients by roasting and microbial fermentation of Kalopanax. In the results of the roasting treatment, it was confirmed that Eleurotheroside E among the active ingredients increased. As a result of inoculation with 20% of water by weight and 10% of yeast (AFY-13, *Zygosaccharomyces rouxii*) culture medium, Kalopanaxsaponin increased by 37% compared to dry storage powder at 2-day fermentation and 53% at 5-day fermentation. As a result of inoculation with 20% of moisture and 10% of *Monascus purpureus* culture medium, compared to the weight of the trees, Kalopanaxsaponin decreased on the 2nd day of fermentation, but increased by 21% on the 5th day of fermentation.

1 연구목표

음나무(*Kalopanax pictus* Nakai)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 식물로 엄나무, 개두릅 나무라고도 하며, 중국, 일본 및 한국에 널리 분포하고 있다. 우리나라에서는 음나무의 새순을 개두릅이라 하여 식용하고 있으며, 음나무의 줄기껍질을 해동피라 하여 한방에서 진통, 류머티즘에 의한 근육마비, 근육통, 관절염 등에 약용하였으며, 다른 약재와 배합하여 신선퇴풍단, 해동피산 등의 약제로 사용되었다. 또한, 음나무의 효능은 항균(Kim 등 1998), 항염증(Li 등 2002), 항산화(Choi 등 2002), 항종양(Park 등 2001) 등으로 다수의 논문을 통해 보고되었으며, 성분은 Triterpenoid Saponin인 Kalopanaxsaponin A-G(Lee 등 1989; Shao 등 1989; Sun 등 1990;

Sano 등 1991) Lignan인 Eleutheroside E, Acanthoside B, Pinoresinol, Pinoresinol O- β -D-glucopyranoside, Pinoresinol di-O- β -D-glucopyranoside 등(Quang 등 2011) 및 Phenol성 화합물이 분리되었다고 보고되었다.

생물전환(Bioconversion)이란 생체전환(Biotransformation), 생물공정(Bioprocessing)과 유사 의미로 사용되며(Cho 등 2011), 미생물발효 및 효소처리 등의 생물학적 방법을 통해 천연물 중 생리활성물질의 구조적 변화를 이끌어 배당체를 비배당체로 전환하여 흡수율 개선, 신규 기능성 생성, 유효성분의 함량 증가에 의한 기존 기능성 증진을 유도하는 기술을 말한다. 천연물 중 생리활성물질은 대부분 배당체로 존재하며, 소장이나 대장 내 미생물에 의해 비배당체로 분해되어 흡수되지만, 분해되지 못한 성분들은 흡수되지 못하고 체외로 배출된다. 배당체의 체내흡수율은 결합 당의 종류, 결합위치에 따라 다르며, 배당체에 비해 비배당체가 체내흡수에 용이하고 효과적인 생리활성을 보인다(Ko & Ahn 2007).

이중 발효는 미생물의 효소작용을 이용하여 식품 내 성분을 분해 또는 변화시켜 특유의 최종 산물을 만들어내는 현상을 이용한 가공기술로 식품에 널리 이용되고 있고[13], 발효 과정을 통해 독성물질 파괴, 소화 증진 효과 및 필수 비타민 등이 생성되어 영양학적 가치가 높아질 뿐만 아니라 식용이 가능한 유용한 균으로 탄수화물, 지질, 단백질 등을 가수분해하는 가수분해효소 및 기타 효소를 생성한다[32]. 경제 수준의 향상과 식생활의 서구화에 의해 제품의 기능성, 기호성 등의 질적 소비를 추구하는 건강지향적 소비패턴으로 인하여 소비자들은 발효를 이용한 기능성 소재가 첨가된 제품을 선호하고 있다[28].

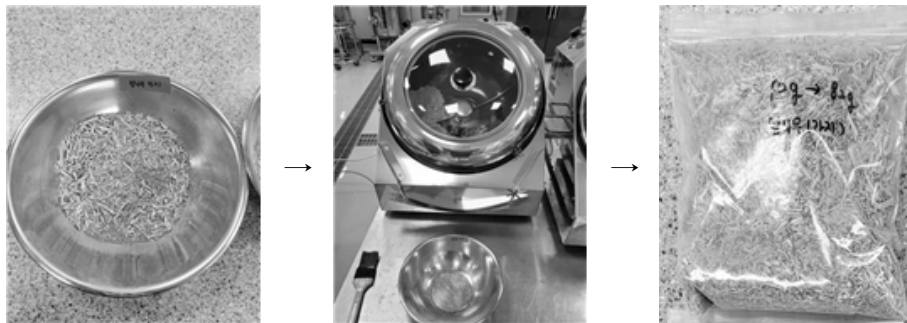
홍국 균주인 *Monascus* 속 곰팡이는 쌀에 번식시켜 홍국 (Red yeast rice, Red koji)이라는 붉은 누룩으로 오래전부터 발효 식품으로 사용되어 왔고, 천연의 적색계 색소를 함유하고 있어 착색료로 활용되고 있다[17]. 이의 α -amylase, β -amylase, glucoamylase 및 lipase 등의 가수분해효소를 생성하는 것으로 알려져 있고[15], 홍국의 monacolin A, J, K와 이의 유도체, GABA (γ -aminobutyric acid), dimerumic acid 색소와 미지의 성분 등을 유도할 수 있으며, 혈당 및 혈압 강하, 항혈전, 항산화 및 방부 작용 등의 역할을 한다[37]. 이러한 홍국균을 이용한 발효를 통해 참당귀의 기능적 효능 증대가 기대된다.

현재 농업은 먹거리 생산 사업에서 다양한 기능성 소재발굴이 산업화로 연계되어 고부가가치 소재산업으로 전환을 모색하고 있으며, 특히 농생명 기능성 소재 연구개발 지원 강화가 이루어지고 있다. 지역 특화품목으로서의 음나무를 개발하고자 스토리텔링, 관광소재 활용 및 6차산업 활성화를 위한 다양한 노력을 하고 있으며, 그 일환으로 음나무에 대한 발효미생물에 의한 유효성분의 변화 특성을 구명하여 지역특화작목의 소재화 기술을 개발하고, 고 가공품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

〈제2세부과제: 음나무를 활용한 기능성 향상 중간소재화 기술 개발〉

본 연구는 2021년 태백시 삼수동 소재 음나무 가지를 구입하여 2022년 4월경 분쇄하여 시료로 사용하였다.

전처리는 덩음처리와 발효미생물을 처리하였으며, 덩음처리는 덩음기를 이용하여 200℃에서 10분간 덩음처리하여 유효성분을 분석하였으며, 분쇄된 음나무 시료와 덩음처리 과정은 (그림 1)과 같이 수행하였으며, 발효미생물로는 홍국균(*Monascus purpureus*)과 효모(*AFY-13, Zygosaccharomyces rouxii*)를 접종하여 발효처리하였다. 발효처리 및 시료채취 순서는 분쇄된 음나무 시료에 종균(홍국, 효모)을 접종(시료 중량대비 10%의 배양액 처리)하여 30℃에서 고체발효(30℃) 후 시료를 채취하여 유효성분을 분석하였다.



(그림 1) 음나무 덩음처리 과정

고체발효를 위한 접종시 분쇄 시료 중량대비 10% 미생물 배양액 처리(이하, 수분 10% 처리)와 시료 중량대비 20%의 수분과 10%의 미생물배양액 처리(이하, 수분 30% 처리)로 수분 함량별 2처리하였으며, 수분 10%처리시 접종후 30일과 60일에, 수분 30% 처리시 접종후 2일(48시간)과 5일(120시간)에 시료를 채취하여 60℃에서 12시간 이상 건조하여 유효성분을 분석하였다.

유효성분은 Eleutheroside B, E 와 Kalopanaxsaponin A에 대하여 분석하였다. 음나무 가지에 함유된 유효성분을 분석하기 위해 건조 시료 20g을 추출용기에 넣고 50% 에탄올, 그리고 덩음 시료 20g을 추출용기에 넣고 100% 증류수로 추출하여 동결건조한 시료를 각각 100mg을 칭량하여 10mL의 50% 에탄올에 녹이고, 이를 0.45 μ m 실린지필터로 여과하여 분석시료로 사용하였다. 표준품을 50% 에탄올로 용해시킨 후 10mg/50mL의 농도가 되도록 표준원액으로 제조하고, 표준원액을 단계적으로 50% EtOH로 희석하여 검량선용 표준용액을 제조하였다.

Eleutheroside B와 E의 분석에 사용한 기기는 Agilent 1290 Infinity II LC system 이며, 분석용 column은 Gemini C18 column 250mm \times 4.6 mm, 110 Å, 3 μ m (Phenomenex,

Torrance, CA, USA), 컬럼온도는 25℃, 이동상은 Eluent(용리제) A: Water, Eluent B: 100% Acetonitrile, Flow rate는 1mL/min, 검출기 파장은 210 nm, 런타임 25분, 시료투입용량은 10 μ l,이며 이동상의 혼합 조건은 (표 1)과 같다.

<표 1> Eleutheroside B 분석용 이동상의 Gradient table

Time (min)	%B	%A
initial	15	85
5	15	85
8	20	80
15	20	80
20	15	85
25	15	85

Kalopanaxsaponin A의 분석에 사용한 기기는 Agilent 1290 Infinity II LC system이며, 분석용 column은 Gemini C18 column 250mm \times 4.6mm, 110 Å, 3 μ m (Phenomenex, Torrance, CA, USA), 컬럼온도는 35℃, 이동상은 Eluent(용리제) A: 0.01% Formic acid/water, Eluent B: 0.001% acid/90% Acetonitrile /Water, Flow rate는 1mL/min, 검출기 파장은 210nm, 런타임 55분, 시료투입용량은 20 μ l,이며 이동상의 혼합 조건은 (표 2.) 와 같다.

<표 2> 음나무 분석용 이동상의 Gradient table

Time (min)	%B	%A
initial	29	71
3	29	71
14	38	62
15	38	62
30	57	43
37	57	43
38	70	30
43	70	30
44	29	71
55	29	71

<제2세부과제: 음나무를 활용한 기능성 향상 중간소재화 기술 개발>

분쇄 음나무의 튀음 처리에 대한 유효성분 분석 결과는 (표 3.)과 같다. 튀음 처리하지 않은 음나무와 튀음 처리한 음나무의 유효성분은 튀음처리 하였을 때 kalopanaxsaponin A와 eleutheroside B는 오히려 낮아지는 것을 확인할 수 있었으며, 추출용매의 경우 에탄올 50%를 사용하여 추출하는 것이 수율이 높은 것을 확인 할 수 있었다.

이에 따라 유효성분 분석을 위한 추출시 에탄올 50% 용매로 추출하고, 특정성분 즉 eleutherosid E를 추출할 경우 튀음 처리하는 것이 유리할 것으로 판단되었다.

<표 3> 음나무 가지 추출물의 유효성분

(단위: %)

구분	추출 용매	Kalopanaxsaponin A		Eleutheroside B		Eleutheroside E	
		avg.	S.D	avg.	S.D	avg.	S.D
음나무	E50%	1,501	0.003	0,102	0.002	0,923	0.011
	W100%	0,251	0.001	0,043	0.002	0,366	0.002
음나무 튀음	W100%	0,076	0.001	0,035	0.000	0,408	0.001

발효 미생물을 접종하고, 수분함량과 수분활성도를 조사하였다. 조사한 결과는 (표 4.)와 같았으며, 분쇄된 음나무 분말의 중량대비 10%의 부피로 미생물 배양액을 접종하였을 때의 수분활성도는 0.69 ~ 0.74, 수분함량은 15.9%로 나타났으며, 중량대비 20%의 증류수와, 10%의 미생물 배양액을 접종하였을 때의 수분활성도는 0.77 ~ 0.78, 수분함량은 23.1%로 나타났으며, 곰팡이균의 일종인 *Monascus(Xeromyces) bisporus*는 6.1 이상에서, 효모균인 *Zygosaccharomyces rouxii*는 6.2 이상에서 생장이 가능하였다.

<표 4> 미생물 접종 및 수분 추가에 따른 수분활성도(Aw)와 수분함량

구분	수분활성도	수분함량 (water/dry/weight)
음나무 분말	0.55	8.5%
수분 10% 추가 (중량대비)	AFY-13 접종	0.69
	홍국균접종	0.74
수분 30% 추가 (중량대비)	AFY-13 접종	0.78
	홍국균접종	0.77

분쇄된 으나무 분말에 농식품연구소 보유 효모 AFY-13과 홍국균 배양액을 중량대비 10% 처리하고 발효기간별로 유효성분변화를 분석한 결과는 (표 5)와 같다. 효모와 홍국균을 중량 대비 10% 접종하고 발효기간 별로 유효성분인 Kalopanaxsaponin과 Eleutheroside E 를 분석한 결과 발효기간이 길어질수록 유효성분이 낮아지는 것을 확인되었으며, 발효기간이 길어진 것은 수분함량이 낮아 발효가 천천히 진행된 것을 확인할 수 있었다.

<표 5> 수분함량 10%(중량대비) 추가 후 발효에 따른 유효성분 변화 (단위: ppm)

구분	AFY-13		홍국균		수분함량
	Kalopanax saponin	Eleutheroside E	Kalopanax saponin	Eleutheroside E	
무처리 (건조보관)	119.85 ^a	125.27 ^a	125.27 ^a	125.27 ^a	8.5%
30일 발효	83.88 ^b	58.95 ^b	76.51 ^b	60.27 ^b	
60일 발효	76.23 ^b	44.70 ^b	71.71 ^b	52.26 ^b	

※ Eleutheroside B는 검출되지 않았음.

분쇄된 으나무 분말에 AFY-13과 홍국균 배양액을 중량대비 수분 20%와 배양액 10%를 처리하고 발효기간별로 유효성분변화를 분석한 결과는 (표 6)과 같다.

<표 6> 수분함량 30%(중량대비) 추가 후 발효에 따른 유효성분 변화 (단위: ppm)

구분	AFY-13		홍국균		수분함량
	Kalopanax saponin	Eleutheroside E	Kalopanax saponin	Eleutheroside E	
무처리 (건조보관)	119.85 ^b	125.27	125.27 ^b	125.27	8.5%
2일 발효 (48 시간)	164.42 ^a	30.2	118.24 ^b	39.7	
5일 발효 (120 시간)	184.08 ^a	21.2	152.11 ^a	22.2	

으나무의 소재화 기술을 개발하고자 분쇄된 으나무를 볶음처리와 미생물 발효 처리에 의한 유효성분 변화를 분석한 결과, 볶음 처리에서는 유효성분 중 Eleurotheroside E가 증가한 것을 확인하였으며, 효모와 홍국균을 중량대비 수분 20%와 배양액 10% 접종하고 발효기간 별로 유효성분을 분석한 결과 Kalopanaxsaponin은 발효기간이 길어질수록 증가하였으며, AFY-13 발효처리에서는 2일 발효시 건조보관 분말 대비 37%, 5일 발효시 53% 증가하였고, 홍국균 발효 처리에서는 2일 발효시 감소하였으나, 5일 발효시 21% 증가하였다. 그러나 Eleutheroside E를 분석한 결과 발효기간이 길어질수록 낮아지는 것을 확인하였다.

〈제2세부과제: 음나무를 활용한 기능성 향상 중간소재화 기술 개발〉

- 가. 음나무 분말을 볶음처리한 결과 Eleurotheroside E가 증가하였음.
- 나. 음나무 분말을 증량대비 수분 20%와 효모 (AFY-13, *Zygosaccharomyces rouxii*) 배양액 10% 접종 결과, Kalopanaxsaponin은 2일 발효시 건조보관 분말 대비 37%, 5일 발효시 53% 증가하였음.
- 다. 음나무 분말을 증량대비 수분 20%와 홍국균(*Monascus purpureus*) 배양액 10% 접종결과, Kalopanaxsaponin은 2일 발효시 감소하였으나, 5일 발효시 21% 증가하였음.

- Cho YH, Cho JS, Lee GW. 2011. Antioxidant activity of wood vinegar by bioconversion, J Korea Academia-Industrial Coop Soc 12:4434-4442
- Choi J, Huh K, Kim SH, Lee KT, Lee HK, Park HJ. 2002. Kalopanaxsaponin A from *Kalopanax pictus*, a potent anti-oxidant in the rheumatoid rat treated with Freund's complete adjuvant reagent, J Ethnopharmacol 79:113-118
- Hwang, J. and Hseu, T. H. 1980. Specificity of the acid protease from *Monascus kaoliang* towards the B-chain of oxidized insulin, Biochim Biophys Acta, 614, 607-612.
- Kim DW, Bang KH, Rhee YH, Lee KT, Park HJ. 1998. Growth inhibitory activities of kalopanaxsaponins A and I against human pathogenic fungi, Arch Pharm Res 21:688-691.
- Ko HR, Ahn SC. 2007. Microbial mimic metabolism of natural products, J Mar Biosci Biotechnol 2:11-22
- Lee MW, Hwang WK, Hahn DR. 1989. Phytochemical studies on the constituents of the bark of *Kalopanax pictum* var. *maximowiczii*, Chung-Ang J Pharm Sci 3:13-19.
- Li DW, Lee EB, Kang SS, Hyun JE, Whang WK. 2002. Activity-guided isolation of saponins from *Kalopanax pictus* with anti-inflammatory activity, Chem Pharm Bull 50:900-903.
- Park HJ, Kwon SH, Lee JH, Lee KH, Miyamoto Ki, Lee KT. 2001. Kalopanaxsaponin A is a basic saponin structure for the anti-tumor activity of Hederagenin

monodesmosides. Plant Med 67:118-121

- Quang TH, Ngan NTT, Minh CV, Kiem PV, Nhiem NX, Tai BH, Thao NP, Luyen BTT, Song SB, Kim YH. 2011. Anti-inflammatory and PPAR subtypes transactivational activities of phenolics and lignans from the stem bark of *Kalopanax pictus*. Bull Korean Chem Soc 32:4049-4054
- Sano K, Sanada S, Ida Y, Shoji J. 1991. Studies on the constituents of the bark of *Kalopanax pictus* Nakai. Chem Pharm Bull 39:865-870
- Shao CJ, Kasai R, Xu JD, Tanaka O. 1989. Saponins from roots of *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz., Ciqui: Structures of *Kalopanax*-saponins C, D, E and F. Chem Pharm Bull 37:311-314
- Sun WJ, Zhang DK, Sha ZF, Zhang HL, Zhang XL. 1990. Studies on the saponin constituents of *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. Yao Xue Xue Bao 25:29-34
- Sweeny, J. G., Estrada-Valdes, M. C., Lacobucci, G. A., Sato, H. and Sakamura, S. 1981. Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxynaphthalene. J. Agric. Food. Chem. 29, 1189-1193.
- 국립축산과학원. 2017. 알기쉬운 발효사료 제조 기술. 농촌진흥청 국립축산과학원
- 박건영. 2012. 발효식품의 건강기능성 증진효과. 식품산업화 영양 17(1), 1-8.
- 이재훈, 곽은정, 김지상, 이광석, 이영순. 2007. 홍국(Red Yeast Rice)을 이용한 Sourdough Bread의 품질특성 연구. 한국식품영양과학회지. 36(6), 785-793.
- 진유정, 표영희. 2015. 홍국발효가 백태와 서리태의 생리활성 성분에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 47(3), 409-412.
- 한승관. 2005. 유용미생물(Effective Microorganisms; EM)로 사양한 EM Pork의 육질 개선 효과. 한국식품영양과학회지. 34(5), 734~737.

6

연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목			
2022(1년)	영농활용	홍국균 발효를 이용한 으나무 유효성분 강화			
성과지표	연도	1년차(2022)		계	
		목표	실적	목표	실적
영농 활용	기술				
	정보	1	1	1	1
계		1	1	1	1

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도
					'22
과제책임자	농업환경연구과	농업연구사	이재희	과제 총괄	○
세부책임자	농업환경연구과	농업연구사	김경대	세부주관 수행	○
공동연구자	농업환경연구과	농업연구사	이재희	조사분석지원	○
	농업환경연구과	농업연구사	이기연	조사분석지원	○
	농식품연구소	농업연구사	박지선	조사분석지원	○
	농식품연구소	농업연구사	임재길	조사분석지원	○
	원예연구과	농업연구관	장은하	조사분석지원	○
	농식품연구소	농업연구관	권혜정	조사분석지원	○
	연구협력과	농업연구관	함진관	조사분석지원	○
	농식품연구소	농업연구관	엄남용	조사분석지원	○
	작물연구과	공업주사보	최병철	조사분석지원	○
	강원도립대학교	공업서기	김주경	조사분석지원	○
농식품연구소	운전주사	유창구	조사분석지원	○	