Urushiol이 제거된 발효옷 추출물의 제조와 특성

최한석* · 여수환 · 정석태 · 최지호 · 박효숙¹ · 김명곤²

농촌진흥청 국립농업과학원 발효이용과, ¹원광대학교 농화학과, ²전북대학교 식품공학과

Preparation and Characterization of Urushiol Free Fermented *Rhus verniciflua* Stem Bark (FRVSB) Extracts

Han-Seok Choi*, Soo-Hwan Yeo, Seok-Tae Jeong, Ji-Ho Choi, Hyo-Suk Park¹, and Myung-Kon Kim²

Fermentation and Food Processing Division, National Academy of Agricultural Science, RDA

¹Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University

²Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

Abstract The water extract of the fermented *Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB) was prepared by hot water extracting at 100°C for 8 h. The urushiol content of the FRVSB water extract was determined by HPLC. The urushiol was not contained in FRVSB water extract, whereas *Rhus verniciflua* stem bark (RVSB) water extract contained 3.4 mg%. At the lab scale size, suitable water extraction condition for a total solid, polyphenol and flavonoid from FRVSB was at over 100°C for 6-8 h. The total solid contents was reduced in pilot scale processing system, with 5.7% of the extraction yield. The proximate composition (%) of FRVSB water extract obtained from industrial installation was moisture 4.34, crude fat 1.69, crude protein 10.21, and crude ash 15.80. Gallic acid (1,090.5 mg%) was the most abundant compound in phenolic acids, while fisetin (135.7 mg%) was the predominant flavonoid. The free sugar content was mannitol of 3.48%, glycerol of 0.19%, and glucose of 0.19%. Alanine (244 ppm), serine (231 ppm), and leucine (218 ppm) were predominant amino acids.

Keywords: urushiol, *Rhus verniciflua*, FRVSB, preparation, physicochemical properties

서 론

옷은 수포, 가려움, 발진 등의 접촉성피부염을 유발하는 urushiol을 함유하고 있으나 당뇨병 및 위장증(1)을 개선하고자 전통적으로 닭 및 오리 등을 조리할 때 첨가하여 먹어왔다. 언제부터 옷을 섭취하여 왔는지 명확하지는 않지만 옷을 식품소재로 이용한 사례는 우리나라 이외에 찾아보기 어렵다. 일부에서는 옷닭의 효능이 사회적인 통념에 미치지 못하며, 접촉성피부염을 일으키는 부작용이 더욱 많다는 우려도 있다(2). 그러나 이러한 결론은 병원을 방문한 환자들의 면담을 통해 도출된 결과로 객관성을 확보한 주장으로 보기 어렵다. 옷에 함유된 폴리페놀 및 플라보노이드 성분은 항산화(3-5), 항돌연변이(6), 항염증(7,8) 및 항균과 α -glucosidase 억제효과(9)등이 있는 것으로 나타났다.

최근 옷이 고부가가치 산업으로 인식되면서 옷을 산업적으로 이용하려는 시도가 증가되고 있다. 충청북도 옥천군과 강원도 원주시에서는 지식경제부로부터 각각 2005년과 2006년에 옷 산업 특구로 지정받았으며, 지역관광과 연계시키면서 옷에 대한 국민적 관심도 커졌다. 옷나무 생산면적은 2002년 1,216천 m²에서

2007년 3,058천 m²으로 증가하였으며, 옷의 식용판매액 비중도 2002년 52.5%에서 2007년 75.8%로 증가하였다(10). 식품의약품안전청에서는 2004년 allergy 유발성분인 urushiol을 포함하지 않는 옷 추출물에 대해 옷닭 및 옷오리 조리용에 한하여 사용할 수 있도록 규제를 완화하였으며, 현재 온오프라인에서 다양한 형태로 판매되고 있다. 따라서 옷의 식품사용 비중이 2007년에 비하여 더욱 증가되었을 것으로 추정되나 옷에 함유된 urushiol을 제거하고 식품에 접목하려는 연구는 찾아보기 어려운 실정이다.

지금까지의 옷에 대한 연구는 옷에서 유용성분을 분리동정하고 이들 성분의 기능성을 밝히는데 주력하였다. Urushiol을 제거하려는 시도는 용매를 이용한 urushiol의 제거 방법과(11) 전자선과 방사선 등 전자이온화 에너지를 사용하는 방법(12) 및 버섯균 발효를 이용한 방법(13) 등이 있다. 본 연구에서는 버섯균 발효에 의해서 urushiol 함량이 저감화된 발효옷(13)을 식품소재로 사용하고자 pilot scale로 추출을 시도하였으며, 식품학적 관점에서 추출물의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 시험에 사용된 발효옷은 4월에 채취한 충북 옥천산 옷나무 껍질 300 kg을 2×2 cm 크기로 자른 다음 수분이 통할 수 있는 포대에 나누어 담았다. 옷나무 껍질에 수분을 흡수시키기 위해 1일 동안 수침시키고 1일 동안 물빼기를 하였으며 이때 옷나무 껍질의 수분함량은 63%이었다. 옷나무 껍질을 꺼내 5 L 버섯재배 부투에 옮겨 담은 후 필터를 달아 121°C에서 100분 동안 살균하

*Corresponding author: Han-Seok Choi, Fermentation and Food Processing Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon, Gyeonggi 441-853, Korea

Tel: 82-31-299-0568

Fax: 82-31-299-0554

E-mail: coldstone@korea.kr

Received November 14, 2011; revised January 5, 2012;

accepted January 26, 2012

였다. Choi 등(13)의 방법을 따라 제조된 장수버섯균사체를 접종하고 21°C에서 30일간 배양한 후 50°C에서 열풍 건조시켜 발효 옷을 제조하였다.

Urushiol 함량 변화

믹서로 잘게 갈은 생옷껍질 및 발효옷 100 g에 10배 증류수를 첨가하고 환류냉각 장치를 부착하여 100°C에서 8시간 동안 추출한 다음 원심분리(4°C, 12,000×g, 30 min)하고 여과(filter paper No. 2, Whatman™, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK)한 후 동결건조 하였으며 수 회 반복하여 건조된 추출물을 모았다.

발효옷 추출물 제조조건

믹서로 잘게 갈은 발효옷 100 g에 10배 증류수를 첨가한 후 무게를 측정하고 고압살균기에 넣어 80-120°C까지 1시간 간격으로 8시간 동안 추출한 다음 증발된 수분량을 보정하기 위하여 물을 첨가하여 동일무게로 맞추었다. 조추출물을 원심분리(4°C, 12,000×g, 30 min)하고 여과(Filter paper No. 2, Whatman™, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK)하였으며, 200 mL 취하여 105°C 건조법으로 고형분 함량을 구하고 발효옷 100 g에 대한 고형분 함량으로 계산하여 표현하였다.

Pilot scale 추출물 제조

Pilot scale 추출물 제조는 발효옷 220 kg에 대하여 (주)성일바이오텍스(Hwaseong, Korea)에서 물추출한 후 동결건조 수행하였으며 제조공정은 제조사의 매뉴얼을 따랐다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 발색법으로 측정하였다. 즉, 추출물 0.5 mL에 2% Na₂CO₃ 5 mL을 넣고 충분히 혼합한 후 2분간 방치하였다. 이 후 50% Folin-Ciocalteu's reagent 0.5 mL을 넣고 30분간 방치한 다음 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총폴리페놀 함량은 gallic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 한 직선식에 의하여 환산하였다.

총 플라보노이드 함량 측정은 Moreno의 방법(14)을 이용하였다. 시료 100 µL를 취하여 80% ethanol 900 µL를 첨가하였다. 희석된 시료 500 µL를 취하여 10% aluminum nitrate 100 µL와 1 M potassium acetate 100 µL, 80% ethanol 4.3 mL를 차례로 첨가한 후 상온에 40분 반응시키고 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 quercetin을 사용하여 표준검량 곡선을 작성 후 플라보노이드 함량을 정량하였다.

Urushiol 분석

울나무 껍질, 발효옷과 동결건조된 울나무 껍질 물추출물 및 발효옷 물추출물 10 g에 대하여 3회 추출하였다. 매 추출시마다 깨끗한 *n*-hexane 100 mL를 시료에 붓고 100 rpm으로 교반하면서 상온에서 4시간 동안 추출한 후 여과물(Filter paper No. 2, Whatman™, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK) 모았다. 조추출물(hexane 층)을 수분이 모두 증발될 때까지 감압농축하고 85% MeOH로 녹인 후 여과(0.2 µm)하여 분석용 시료로 사용하였다. 분석은 HPLC(Alliance e2695, Waters Co., Milford, MA, USA)를 이용하였다. Column은 YMC-Pack Pro C18 RS(4.6×250 mm, i.d. 5 µm, YMC Co., Tyoto, Japan)를 사용하였고 column oven의 온도는 30°C, flow rate는 1.0 mL/min으로 하였다. 이동상은 85% MeOH를 사용하였으며, 검출파장은 254 nm로 하였다. 추출물은 100°C에서 8시간 동안 추출된 것을 동결건조하여 사용하

였다. Urushiol standard는 전북대학교 식품공학과에서 Choi 등(13) 방법에 따라 분리·보관 중이던 것을 사용하였다.

Phenolic acid

시료 0.1 g에 70% MeOH 20 mL씩 사용하여 3회 추출하였다. 매 추출시마다 sonicator(40°C)에서 2시간 동안 추출한 다음 원심 분리(4°C, 12,000×g, 20 min)하여 상등액을 회수하고 여과(Filter paper No. 2, Whatman™, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK) 하였다. 얻어진 조추출물을 40°C에서 감압농축하여 MeOH를 제거시키고 100 mL 분액여두에 옮겨 담은 후 ethylacetate (EtOAc) 20 mL씩 첨가하여 3회 분배하였다. EtOAc층을 합쳐 40°C에서 건조 될 때까지 감압 농축한 후 85% MeOH 20 mL로 정용하여 분석시료로 사용하였다.

기기 및 column은 urushiol 분석과 동일하며, column oven의 온도는 40°C, flow rate는 0.8 mL/min, 검출파장은 254 nm로 하였다. 이동상은 water:formic acid(200:0.4)와 acetonitrile:MeOH:THF:water:formic acid (43.5:43.5:13:100:0.4)를 사용하였다. Phenolic acid standard는 다음 회사의 제품을 사용하였다. Gallic, protocatechuic, syringic, caffeic, *p*-coumaric, salicylic acid 및 4-hydroxy benzoic acid는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사의 제품을 사용하였고 mandelic, vanillic, ferulic acid는 Fluka(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다.

Flavonoid

시료 0.1 g에 10 mL의 80% MeOH를 첨가하여 15분간 균질화하고 20분 동안 지속적인 질소 충전 하에 초음파 처리한 후 여과하여 시료로 사용하였다. Flavonoid 분석은 HPLC(LC-20A, Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 사용하였으며 분석칼럼은 Symmetry C18(4.6×250 mm, 5 µm, Waters Co., Milford, MA, USA)을 이용하였다. Flow rate는 1.0 mL/min, 검출은 280 nm와 370 nm에서 하였다. 이동상으로는 0.1% formic acid가 함유된 물과 0.1% formic acid가 함유된 acetonitrile 용액을 gradient하여 사용하였다. Flavonoid standard(fustin, fisetin, sulfuretin, butein)는 Extrasynthese 사(Lyon Nord, France)의 제품을 구매하여 사용하였다.

유리당 및 유리아미노산

유리당 분석은 시료 1 g에 70% MeOH 20 mL씩 첨가하여 3회 추출한 다음 100 mL로 정용하여 분석용 시료로 사용하였다. 추출조건은 sonicator(40°C)에서 2시간 추출한 다음 원심분리(4°C, 12,000×g, 20 min)하여 상등액을 회수하였다. 분석은 HPLC(Alliance e2695, Waters Co., Milford, MA, USA)를 사용하였다. 이때 column은 Supelcosil LC-NH2(4.6×250 mm, i.d. 5 µm)를 사용하였으며, 이동상은 75% acetonitrile, flow rate는 1.0 mL/min, column oven의 온도는 30°C, 검출기(RI)의 온도는 40°C이었다.

유리아미노산은 아미노산분석기(L-8900, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다. 시료 1 g에 물 5 mL를 가한 다음 2분 동안 균질화하고 물을 첨가하여 20 mL로 맞추었다. 원심분리(4°C, 5,000×g, 10 min)하여 상등을 1 mL를 취하고 여기에 5% trichloroacetic acid 1 mL를 첨가한 다음 원심분리(4°C, 12,000×g, 10 min)하였다. 상등액을 회수하고 0.02N HCl로 5배(v/v) 희석한 다음 여과(0.2 µm)한 것을 분석하였으며, 분석조건은 제조사의 매뉴얼을 따랐다. 유리당 분석에 사용한 mannitol, glycerol, glucose, sucrose, maltose는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사의 제품을 구입하여 사용하였다.

일반성분

발효옷 추출물에 함유된 수분, 조지방, 조단백질 및 회분함량은 식품공전(15)에 준하여 실시하였다.

결과 및 고찰

Urushiol 함량

Urushiol은 catechol ring의 C3위치에 탄소 15-17개가 직쇄상으로 연결된 구조로 물에 난용성인 특징(16)에 착안하여 옷나무 껍질을 100°C에서 8시간 동안 물추출하고 추출물에 urushiol의 존재 여부를 조사하였다. Fig. 1과 같이 생옷나무 껍질(RVSB)에 함유된 urushiol의 함량은 1,045.3 mg%이었으나 여기에 장수버섯 균사체를 증식시킨 발효옷(FRVSB)의 urushiol 함량은 11.0 mg%로 장수버섯균 발효에 의해서 98.9% 제거되었다. 이전의 연구결과에서 생옷나무 껍질에 함유된 urushiol 함량은 154.2 mg%이었으며, 발효에 의하여 10.7 mg%로 낮아져(13) 원료인 옷나무껍질에 함유된 urushiol 함량은 6.8배 차이 났으나 버섯균 발효 후 옷나무껍질에 잔류하는 urushiol 함량은 유사하였다. 옷나무 껍질에 존재하는 urushiol 함량은 나무의 연령이나 계절에 따라서 변하는 것으로 여겨지고 있으나 구체적인 자료는 찾아보기 어렵다. 버섯균 발효방법은 원료인 옷나무 껍질의 urushiol 함량이 높아도 일정 농도까지 urushiol을 제거시킬 수 있었으나 100%제거되지는 못하였다. 이는 옷나무 껍질내부에 장수버섯 균사체가 증식하기 어려운 부위가 있어 버섯균 발효에 의해서 urushiol이 완벽하게 제거되지 못하는 것으로 추정되나 명확하지 않다.

한편, 옷나무 껍질(생옷)을 물추출할 경우 그 추출물(RVSB-W)에서도 3.4 mg%/dry base의 urushiol이 용출되는 것으로 나타났다. 이는, 생옷나무 껍질에는 고무질, 합질소화합물 등이 존재하고 있으며(17), 이들 성분 외에 수지성분 및 유화성분 등도 들어있어(18) 지용성 화합물인 urushiol의 용출을 도왔을 것으로 추정된다. 그러나 장수버섯균사체가 배양된 발효옷의 물추출물에는 urushiol이 함유되어 있지 않았다. 발효옷의 경우 생옷나무 껍질에 비하여 조지방 및 조단백질의 함량이 생옷에 비하여 2배 가량 낮아졌다는 Choi 등(19)의 연구결과로 미루어 urushiol 용출에 기여했던 성분들이 발효과정동안 균체의 영양원으로 사용되거나 산화 등(20)에 의해서 제거되었기 때문에 물추출물에 의해서 urushiol이 용출되지 않는 것으로 판단된다.

근래에 옷 수요가 증가하면서 충북 옥천 등에서는 임야가 아닌 밭에서 옷나무를 재배하고 있으나 재배방법이나 토질변화에 따른 urushiol의 함량변화 연구는 없는 실정이다. 따라서 재배적인 환경에 따른 urushiol 함량변화 조사가 필요할 것으로 생각된다.

발효옷 물추출물 제조조건

Urushiol이 함유되어 있지 않은 발효옷 물추출물을 제조하기 위하여 추출온도 및 추출시간변화에 따른 고형분, 폴리페놀, 플라보노이드함량 변화를 조사하여 Fig. 2에 나타내었다.

추출물의 가용성 고형분(soluble solid, Fig. 2A)과 이를 건조시킨 총 고형분(total solid Fig. 2B)의 함량변화는 추출온도에 의존적으로 증가하였으며, 추출시간에 따른 변화도 서로 유사하였다. 추출 8시간 후 추출물의 총 고형분 함량은 발효옷 100 g당 7.5 g(80°C) < 8.4 g(90°C) < 9.3 g(100°C) < 11.0 g(110°C) < 13.5 g(120°C) 순으로 추출온도가 10°C 증가됨에 따라 총 고형분 함량은 각각 12.0, 10.7, 18.2, 22.7%씩 증가하는 것으로 나타났으며, 100°C 이상의 온도에서 온도증가에 따른 고형분량의 증가가 큰 것으로 조사되었다. 추출시간 변화에 따라서는 추출 1시간 까지는 고형

Fig. 1. Comparison of urushiol chromatogram between RVSB and FRVSB water extract. Figures in parenthesis refer to urushiol concentration of each sample. RVSB, *Rhus verniciflua* stem bark; FRVSB, fermented RVSB; RVSB-W, RVSB water extract; FRVSB-W, FRVSB water extract.

분 함량이 급격하게 증가다가 추출 2시간 이후부터 변화가 둔화되었으며 추출 4-6시간 이후에서는 시간이 증가하여도 고형분 함량이 거의 증가하지 않았다. 일반 상업적 추출에 사용되는 추출 온도인 100°C에서의 시간변화에 따른 추출수율은 각각 7.0%(1 h), 7.6%(2 h), 8.4%(3 h), 약 9.2%(4-8 h)이었다.

폴리페놀(Fig. 2C)과 플라보노이드(Fig. 2D) 함량 역시 추출온도에 의해서 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. 추출 8시간 후 추출물의 폴리페놀 함량은 발효옷 100 g당 gallic acid 함량으로 각각 664.9 mg(80°C), 677.7 mg(90°C), 990.5 mg(100°C), 1393.8 mg(110°C), 1255.4 mg(120°C)이었다. 발효옷의 폴리페놀 용출량은 100 미만에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 그 이상의 온도에서는 상당한 증가가 관찰되다가 110°C 이상에서는 오히려 감소되었다. 총 고형분 함량(Fig. 2B)에 대한 폴리페놀의 증량비는 80-120°C 까지 온도별로 각각 8.9, 8.1, 10.7, 12.7, 9.3%로 90-110°C 사이에서는 온도증가에 따라 그 비율도 증가하였다. 플라보노이드의 용출량은 추출 8시간 후에 온도별로 각각 303.6, 320.7, 343.2, 349.8, 398.9 mg%로 온도증가에 따라 소폭 증가하였다. 이는 추출물 증량의 각각 4.0, 3.8, 3.7, 3.2, 3.0%에 해당하는 양으로 온도 증가에 따라 플라보노이드의 함량비율은 오히려 감소하였다.

옷에 함유되어 있는 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물은 앞서 언급한 기능성 이외에 암세포의 증식억제(21,22), 지방축적 억제(23) 및 항혈전(24) 활성 등을 가지고 있어 추출물 제조에 중요한 요소로 생각된다. 발효옷을 상온에서 물추출 할 경우 추출수율은 3.4%, 용매 추출하여도 최고 5.2%를 넘지 못하였으며, 물추출물(건조물)에 함유된 폴리페놀 함량은 152.1 mg gallic acid, 플라보노이드 함량은 53.1 mg quercetin으로(25) 발효옷 추출물을 제조하기 위해서는 일정온도 이상의 열을 가해주는 것이 좋았다. 따라서 고형분, 폴리페놀, 플라보노이드 함량 및 상업성 등을 감안하면 100°C 이상에서 6-8시간이 적절할 것으로 판단된다.

Pilot scale 생산 발효옷 추출물의 이화학적 특성

비록 발효옷을 100°C 이상에서 추출하는 것이 좋으나 산업적인 측면에서 100°C 이상 추출방법은 압력을 견딜 수 있는 설비가 필요하기 때문에 상당한 비용이 들어간다. 따라서 산업적인 생산을

Fig. 2. Effect of extraction temperature and time on soluble solid (A), total solid (B), polyphenol (C) and flavonoid (D) elution in FRVSB.

Fig. 3. Pilot scale production of FRVSB extract.

고려하여 Fig. 3과 같이 발효물을 pilot 규모로 추출하고 추출물의 이화학적 특성을 조사하였다. 발효물 220 kg을 95°C에서 2회 물 추출한 결과 건조물 12.5 kg을 얻어 5.7%의 추출수율을 보였다. 실험실 조건(Fig. 2A)의 추출수율과 비교한다면 8.4%(90°C)와 9.3%(100°C) 사이의 추출수율을 나타내어야 하나 이에 상당히 미치지 못했다. 이는 상업적인 추출과정에서는 추출후 여과의 용이성을 위해서 원료를 잘게 부수지 않고 부직포 등의 포에 담아 추출하기 때문에 추출효율이 다소 떨어지는 것으로 추측된다.

발효물 추출물(건조분말)의 일반성분 및 이화학적 특성은 Table 1에 나타내었다. 발효물 추출물은 수분 4.34%, 조지방 1.69%, 조단백 10.21%, 조회분 15.80%를 함유하고 있어 단백질과 회분함량이 비교적 많은 비중을 차지하고 있는 것으로 조사되었다. 원료인 발효물의 조지방(3.86%), 조단백질(3.59%), 조회분(6.30%) 함량(19)과 비교하면 지방함량이 매우 낮아졌는데 물

에 녹을 수 있는 유화성분이 대부분 제거되었기 때문에 추정된다. 또한 이러한 이유 때문에 urushiol도 용출되지 않은 것으로 분석된다. 발효물 추출물에 함유된 폴리페놀 함량은 12,985.9 mg% gallic acid이었으며 플라보노이드 함량은 537.2 mg% quercetin이었다. 이는 추출물 중량에 대하여 각각 13.00, 0.54%에 상당한다. 폴리페놀 함량은 실험실 조건에서 추출한 결과와 유사하였으나 플라보노이드 함량은 상당한 차이를 보였으며, 이러한 이유는 명확하지 않다.

발효 추출물에 함유된 phenolic acid 및 플라보노이드 성분을 Table 2와 3에 나타내었다. 발효물 추출물을 구성하고 있는 phenolic acid는 수용성 성분들이었으며, gallic acid가 1,090.5 mg%로 전체 phenolic acid 함량의 82.7%를 차지하였고, protocatechuic acid와 4-hydroxy benzoic acid가 뒤를 이었다. 그러나 발효물에 함유되어 있는 지용성 성분인 syringic acid, mandelic acid, vanil-

Table 1. Proximate compositions, total polyphenol and flavonoid in FRVSB extract

Moisture (%)	Crude composition (%)			Total phenol (mg%, gallic acid)	Flavonoid (mg%, quercetin)
	Fat	Protein	Ash		
4.34±0.98	1.69±0.72	10.21±0.01	15.80±0.37	12,985.9±89.2	537.2±13.5

Each value represents mean±SD (n=3)

Table 2. Contents of phenolic acids in FRVSB extract

Compounds	Phenolic acid content (mg%)
Gallic acid	1090.5±0.84
Protocatechuic acid	199.2±0.22
Mandelic acid	nd
4-Hydroxy benzoic acid	28.9±0.04
Syringic acid	trace
Vanillic acid	trace
Caffeic acid	nd
<i>p</i> -Coumaric acid	trace
Ferulic acid	nd
Salicylic acid	nd
Total	1318.6±0.97

Each value represents mean±SD (n=3)

nd: not detected

Table 3. Concentrations of individual flavonoid in FRVSB extract

Compounds	Flavonoid content (mg%)
Fustin	27.94±5.02
Fisetin	135.67±4.21
Sulfuretin	38.67±0.68
Butein	21.40±0.83
Total	223.68±4.36

Each value represents mean±SD (n=3)

Table 4. Free sugar concentrations of FRVSB extract

Free sugar(%)				
Mannitol	Glycerol	Glucose	Sucrose	Maltose
3.48±0.12	0.19±0.01	0.19±0.01	-	-

Each value represents mean±SD (n=3)

lic acid 등은(19) 용출 되지 않았다. 발효물 추출물에 함유된 플라보노이드는 fisetin이 135.7 mg%로 가장 많이 함유되어 있었으며, sulfuretin, fustin, butein이 뒤를 이었다(Table 3). Gallic acid, fustin 및 fisetin은 발효물 추출물의 중요한 항산화 물질(3,9,19)이며, 일부 유해 bacteria 및 yeast strain에 대하여 항균활성(9)을 가지고 있을 뿐만 아니라 항암활성(21)도 있다. 이외에 율나무 껍질에서 추출한 sulfuretin은 항염증에(8) 효과적이다.

유리당 및 유리아미노산

발효물 추출물의 유리당 함량은 Table 4와 같이 mannitol 3.48%, glycerol 0.19%, glucose 0.19%이었으며, sucrose와 maltose는 검출되지 않았다. 이러한 현상은 예측 가능한 것으로 베타글루사제는 증식하면서 특징적으로 균당으로 일컬어지는 mannitol을 생성하는 것이 일반적이다. 이외에 추출과정동안 세포벽이 분해되면서 glycerol과 glucose가 추출된 것으로 추정된다.

Table 5. Contents of free amino acids in the FRVSB extract

Component	Concentration (ppm)
Alanine	243.6±3.2
Ammonia	592.9±12.8
Anserine	nd
Arginine	108.7±5.5
Aspartic acid	nd
α -Aminoadipic acid	nd
α -Aminobutyric acid	104.3±3.1
β -Alanine	66.8±2.6
β -Aminoisobutyric acid	42.9±2.7
γ -Aminobutyric acid	122.5±11.3
Carnosine	nd
Citrulline	nd
Cystathionine	44.6±3.4
Cystine	41.7±0.6
Ethanolamine	18.9±4.7
Glutamic acid	nd
Glycine	149.2±9.1
Histidine	6.8±0.4
Hydroxylysine	20.4±1.2
Hydroxyproline	nd
Isoleucine	154.5±2.2
Leucine	218.1±6.8
Lysine	61.9±1.7
Methionine	6.1±0.2
1-Methylhistidine	nd
3-Methylhistidine	nd
Ornithine	16.1±0.9
Phenylalanine	183.3±3.1
Phosphoethanolamine	nd
Phosphoserine	nd
Proline	132.8±1.6
Sarcosine	nd
Serine	231.2±9.9
Taurine	nd
Threonine	167.2±6
Tyrosine	122.7±2.9
Tryptophan	nd
Urea	nd
Valine	176.8±1.7
Total	3033.8±97.4

Each value represents mean±SD (n=3)

nd: not detected

발효물 추출물의 유리아미노산(Table 5)은 24종이 검출되었으며, 유리아미노산의 총량은 3,033.79 ppm이었으며 ammonia를 제외하면, alanine(243.6 ppm), serine(231.2 ppm), leucine(218.6 ppm)이 주요 유리아미노산 이었다. 필수아미노산의 함량은 967.2 ppm으

로 전체 함량의 31.9%에 해당하는 상당히 많은 비중을 차지하고 있었으며, 방향족아미노산의 함량은 312.7 ppm, γ -aminobutyric acid 함량은 122.5 ppm인 것으로 나타났다. 생울을 버섯균체로 발효시키면서 유리아미노산 함량은 35% 증가되었으나(19) 발효물 추출물에는 phosphoserine 등 인산기를 함유한 아미노산이 감소되어 urushiol의 용출을 제어했을 것으로도 생각된다.

발효물 추출물은 urushiol이 제거 되었을 뿐 아니라 폴리페놀과 플라보노이드 성분 등의 다양한 기능성분을 함유하고 있으며, 필수 아미노산 및 다양한 유리아미노산을 함유하고 있어 광범위한 식품에 적용할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 울의 식품사용을 위해서 urushiol의 제거된 추출물을 제조하고 이의 특징을 살펴보았다. 생울은 물추출에서 3.4 mg%의 urushiol이 용출되는 반면 발효물에서는 용출되지 않았다. 발효물의 물추출조건은 고형분, 폴리페놀, 플라보노이드 함량이 고려되었으며, 100°C에서 6-8시간 추출하는 것이 적절하였다. 발효물 추출물의 pilot scale 생산에서 추출수율은 5.7%이었다. 추출물은 수분 4.34%, 조지방 1.69%, 조단백질 10.21%, 조회분 15.80%의 일반성분으로 이루어져 있었으며, 3종류의 phenolic acid와 4종류의 flavonoid가 검출되었다. Phenolic acid중에서는 gallic acid(1,090.5 mg%)가 가장 많이 함유되어 있었으며, flavonoid중에서는 fisetin(135.7 mg%)의 함량이 가장 높았다. 발효물 추출물에 존재하는 유리당은 mannitol 3.48%, glycerol 0.19%, glucose 0.19%이었으며, 3,034 ppm의 유리아미노산을 함유하고 있었다. Alanine(244 ppm), serine(231 ppm), leucine(218 ppm)이 주요 유리아미노산 이었으며, 필수아미노산의 함량은 31.9%이었고 γ -aminobutyric acid 함량은 122 ppm이었다.

감사의 글

본 연구는 농진청 공동연구사업(과제번호: PJ007663) 및 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ007396)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

문 헌

- Jung NC. Biological activity of urushiol and flavonoids from Lac tree (*Rhus verniciflua* Stokes). PhD thesis, Chonnam National University, Gwangju, Korea (1998)
- Yun SK, Ko KB, Song IM, Choi SP, Ihm CW. Epidemiologic study on systemic contact dermatitis due to ingestion of *Rhus*. Korean J. Dermatol. 40: 253-257 (2002)
- Kim JB. Identification of antioxidative component from stem bark of *Rhus verniciflua*. Korean J. Food Nutr. 16: 60-65 (2003)
- Lee JC, Kim J, Lim, KT, Jang YS. Identification of *Rhus verniciflua* Stokes compounds that exhibit free radical scavenging and anti-apoptotic properties. Biochim. Biophys. Acta 1570: 181-191 (2002)
- Son YO, Lee KY, Lee JC, Jang HS, Kim JG, Jeon YM, Jang YS. Selective antiproliferative and apoptotic effects of flavonoids purified from *Rhus verniciflua* Stokes on normal versus transformed hepatic cell lines. Toxicol. Lett. 135: 115-125 (2005)
- Park KY, Jung GO, Lee KT, Choi JW, Choi MY, Kim GT, Jung JJ, Park HJ. Antimutagenic activity of flavonoids from the heartwood of *Rhus verniciflua*. J. Ethnopharmacol. 90: 73-79 (2004)
- Lee JD, Huh JE, Jeon GS, Yang HR, Woo HS, Choi DY, Park DS. Flavonol-rich RVHxR from *Rhus verniciflua* Stokes and its major compound fisetin inhibits inflammation-related cytokines and angiogenic factor in rheumatoid arthritic fibroblast-like synovial cells and *in vivo* models. Int. Immunopharmacol. 9: 268-276 (2009)
- Lee DS, Jeong GS, Li B, Park H, Kim YC. Anti-inflammatory effects of sulfuretin from *Rhus verniciflua* Stokes via the induction of heme oxygenase-1 expression in murine macrophages. Int. Immunopharmacol. 10: 850-858 (2010)
- Kim JS, Kwon YS, Chun WJ, Kim TY, Sun J, Yu CY, Kim MJ. *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, antimicrobial and α -glucosidase inhibitory effect. Food Chem. 120: 539-543 (2010)
- KFS. 2007 the investigation of forestry management of Korea. Korea Forest Service, Daejeon, Korea (2008)
- Choi WC, Park SJ, Kwon SP. Process for the preparation of *Rhus verniciflua* extract having excellent anti-cancer activity and anticancer pharmaceutical composition containing same. Int. Patent WO/2007/049846 (2007)
- Kim BH. The effect of irradiation and peroxyacetic acid treatment on the reduction of urushiol of *Rhus verniciflua* Stokes and the physiological activities. MS thesis, Chonbuk National University, Gwangju, Korea (2010)
- Choi HS, Kim MK, Park HS, Yun SE, Mun SP, Kim JS, Sapkota K, Kim S, Kim TY, Kim SJ. Biological detoxification of lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes) stem bark by mushroom species. Food Sci. Biotechnol. 16: 935-942 (2007)
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
- KFDA. Analytical Methods of Korean Food Code. Korea Food & Drug Administration, Cheongwon, Korea (2010)
- Draper WM, Wijekoon D, Makinney M, Behniwal P, Perera SK, Flessel CP. Atmospheric pressure ionization LC-MS-MS determination of urushiol congeners. J. Agr. Food Chem. 50: 1852-1858 (2002)
- Kim MJ, Hyun JO. Genetic variation in urushiol components of *Rhus verniciflua* Stokes. Korean J. Breed. 29: 115-123 (1997)
- Korea Forest Service. Information of forest. Available from: <http://www.forest.go.kr/kfswb/search2/index.jsp?kwd=%EC%98%BB&pageNum=1&category=KNOWLEDGE&reSearchFlg=false&sub-category=&sortName=&tagFlg=&sitepageNum=1&preKwd=%EC%98%BB>. Accessed Nov. 11, 2011.
- Choi HS, Kim BH, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Park HS, Kim MK. Physicochemical properties and physiological activities of *Rhus verniciflua* Stem Bark Cultured with *Fomitella fraxinea*. Korean J. Mycol. 38: 172-178 (2010)
- Buswell JA, Cai YJ, Chang ST. Fungal and substrate associated factors affecting the ability of individual mushroom species to utilize different lignocellulosic growth substrates. pp. 141-150. In: Mushroom Biology and Mushroom Products. Chang ST, John AB, Chiu SW (eds). The Chinese University Press, Hong Kong, China (1993)
- Jang HS, Kook SH, Son YO, Kim JG, Jeon YM, Jang YS, Choi KC, Kim J, Han SK, Lee KY, Park BK, Cho NP, Lee JC. Flavonoids purified from *Rhus verniciflua* Stokes actively inhibit cell growth and induce apoptosis in human osteosarcoma cells. Biochim. Biophys. Acta 1726: 309-316 (2005)
- Lee JC, Lee KY, Kim J, Na CS, Jung NC, Chung GH, Jang YS. Extract from *Rhus verniciflua* Stokes is capable of inhibiting the growth of human lymphoma cells. Food Chem. Toxicol. 42: 1383-1388 (2004)
- Kim SG, Rhyu DY, Kim DK, Ko DH, Kim YK, Lee YM, Jung HJ. Inhibitory effect of heartwood of *Rhus verniciflua* Stokes on lipid accumulation in 3T3-L1 cells. Korean J. Pharmacogn. 41: 21-25 (2010)
- Jeon WK, Lee JH, Kim HK, Lee AY, Lee SO, Kim YS, Ryu SY, Kim SY, Lee YJ, Ko BS. Anti-platelet effects of bioactive compounds isolated from the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. J. Ethnopharmacol. 106: 62-69 (2006)
- Kim MO, Kim JS, Sa YJ, Jeong HJ, Chun WJ, Kwon YS, Kim TY, Choi HS, Yu CY, Kim MJ. Screening of extraction solvent condition of fermented *Rhus verniciflua* stem bark by antioxidant activities. Korean J. Medicinal Crop Sci. 18: 217-223 (2010)