

산 · 학 · 연 논문

뽕나무 부위별 화학성분 및 생리활성

김 영 민

동의나라주식회사

Chemical Components and Physiological Activities of
Different Part from Mulberry (*Morus alba*)

Young Min Kim

DongUinara Co. Ltd., Jeonnam 520-330, Korea

서 론

과거 뽕나무는 누에사육을 위한 원료로서만 이용되어 양잠산업이 황폐화됨으로써 농업의 한 분야로서의 기능이 상실되었다. 그러나 현대에 들어 친환경, 웰빙수요의 급속한 증가로 뽕나무는 그 효능과 친환경적인 성격으로 누에 사육이외의 뽕잎 관련 기능성 식·의약품, 화장품 등의 원료로서의 이용 가능성이 높아지고 있다. 그리고 현대 기술의 발달에 따라 뽕잎의 다양한 가공이 가능해 다양한 소재로의 활용 가능성이 대단히 높고 또한 뽕잎이 가진 친환경, 친인체적인 특성으로 인해 고부가가치의 고급 화장품 및 관련 세제 개발이 가능해 적절한 홍보 및 마케팅이 병행될 경우 그 확산 가능성이 대단히 크다 할 수 있다. 이러한 다양한 제품의 개발로 뽕잎의 수요를 높여 뽕나무 재배가 하나의 농업 분야로 정착될 수 있고, 또한 농산물 가공을 통한 지역 관련 산업의 경쟁력 제고에도 기여할 수 있을 것이다.

뽕나무(*Morus alba* L., mulberry)는 우리나라 산지에 자생하고 재배도 하며 그 뽕잎은 옛부터 양잠사료와 식용으로 이용되어 왔다(1). 한방에서는 혈당을 떨어뜨리고 혈압을 낮추는 효능이 있다고 하여 생약으로 이용되어 왔으며 최근 건강차로도 음용되고 있다. 뽕잎은 Ca, Fe, K, Zn, Mg 등 무기질과 비타민 A, B, C 그리고 식물섬유를 풍부하게 함유하고 있으며(2), 혈압강하물질로서 신경전달물질로 작용하는 γ -GABA와 특수성분으로 DNJ(deoxynojirimycin)가 함유되어 있어 혈당상승을 억제하는 효능이 있다(3,4). 또한 뽕잎에는 flavonoid 성분으로서 rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin 뿐만 아니라(5), pectin, cellulose 등의 식이섬유나 아미노산, protein 등이 풍부하고, 항균, 광 보호, 항산화활성 등 생리활성물질이 다

량 함유되어 있다(6-9). 또 전통생약으로서 당뇨병을 예방 및 치료하고, 갈증을 해소시키는 것으로 알려져 있다(10,11). 잎의 채취도 봄부터 가을에 걸쳐 가능하다는 이점이 있어서 식품소재와 미용 소재로서 널리 이용될 가능성을 가지고 있지만 간편하게 이용할 수 있는 방법이 개발되어 있지 않아 그 수요는 많지 않은 실정이다. 그러므로 뽕잎의 가공 방법에 따른 성능 및 효율을 검정하여 통째로 소비자가 쉽게 활용할 수 있는 제품의 개발은 가능성이 높다고 할 수 있다.

재료 및 방법

시료

뽕나무는 전남 나주시 남평면 소재 뽕나무 재배포장에서 부위별로 채취하여 열풍건조기에서 건조한 것을 분말화하여 시료로 이용하였다.

추출 및 분획

건조방법에 따라 분말화한 시료와 부위별로 건조 분말화한 뽕나무 시료를 메탄올 상온에서 3일간 3회 반복 추출하였다. 추출하여 얻어진 용액을 감압 농축하여 회수된 추출물을 다음 시료로 사용하였고, 뽕나무의 부위별 추출물의 항산화력 부분을 보다 더 정제하기 위하여 증류수에 현탁시킨 다음 용매의 극성 차에 따라서 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올로 분획한 후 각각의 용매 혼합액을 감압 농축하였고, 그 방법은 Fig. 1에 나타내었다.

일반성분

뽕나무 부위별 추출물의 일반성분은 AOAC법(12)에 따라 수분은 상압가열건조법, 회분은 직접회화법, 조단백질

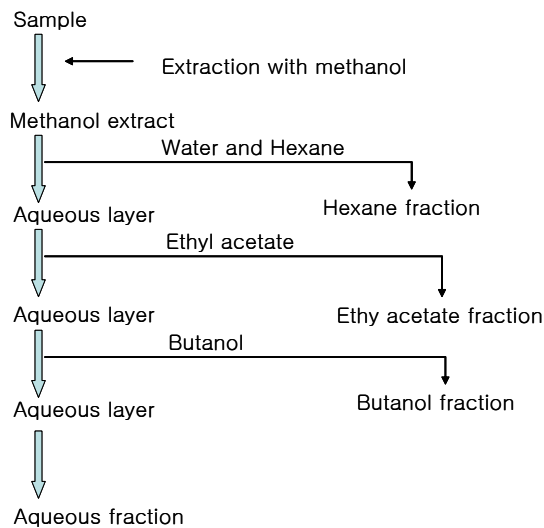


Fig. 1. 뽕나무 부위별 추출물의 분획 과정.

은 micro Kjeldahl법, 조지방은 Doxhlet법으로 측정하였다. 조섬유는 FiberCap 시스템을 이용한 시료의 조섬유 정량법(H₂SO₄-NaOH법)을 이용하였다.

유기산 함량

뽕나무 부위별 추출물의 유기산 함량분석은 다음과 같이 수행하였다. 시료를 0.02 µm membrane filter로 여과한 후 유기산 전용분석장치(LC10a Series, Shimadzu, Japan)를 이용하여 Table 1의 조건으로 분석하였고, 각각의 정량은 외부 표준물질에 의한 peak 면적비로 계산하였다.

총 페놀 화합물 함량

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법(13)에 따라 분석하였다. 추출물과 분획물을 1 mg/mL 농도로 조제한 후, 이 시료액 1 mL에 증류수 3 mL를 첨가하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 첨가한 후 27°C

Shaking bath에서 혼합하였다. 5분 후 NaCO₃ 포화용액 1 mL를 넣어 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 640 nm에서 분광광도계(UV-1650PC, SHIMADZU)로 흡광도를 측정하였다. 페놀화합물 함량은 표준물질 ferulic acid의 농도를 이용하여 검량선을 작성한 다음 정량하였다.

페놀화합물 정량분석

페놀산 함량은 각 시료로부터 추출물 및 분획물을 조제한 후 membrane filter(0.45 µm)로 여과하여 그 여액을 HPLC(Waters 2695, USA)에 주입하여 분석하였고, 분석 조건은 Table 2와 같다.

항산화 활성

수소전자공여능(14)에 의해 각 추출물의 항산화 활성을 측정하였다. 여러 농도의 시료를 메탄올(또는 DMSO) 용매로 용해하여, 900 µL의 DPPH 용액(100 µM)과 각 시료 100 µL를 혼합하여 교반한다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$A_n = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A_n: DPPH radical 소거능에 대한 항산화 활성(%)

A₀: 시료가 첨가되지 않은 DPPH 용액의 흡광도

A: 반응용액중의 DPPH와 시료의 반응한 흡광도

Mushroom tyrosinase 활성 저해 효과

Melanin 합성의 key 효소인 tyrosinase로 생긴 DOPA (dihydroxyphenylalanine) 또는 dopachrome 생성량을 비교하여 시험 물질의 효소활성 억제능(15)을 측정하였다.

Table 1. 유기산 분석 조건

Instruments: LC-10A series (Shimadzu, Toyko, Japan)
Column: Shim-pack SCR-102H (300 mm×8 mm I.D.) two columns in series (Shimadzu, Toyko, Japan)
Mobile phase: 4 mM p-Toluenesulfonic acid
Flow rate: 0.8 mL/min
Temperature: 43°C
Reagent (buffer): 4 mM p-Toluenesulfonic acid 16 mM Bis-Tris(Bis(2-hydroxyethyl) iminotris(hydroxymethyl)-methane) 100 µM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)
Reagent flow rate: 0.8 mL/min
Cell temperature: 46°C
Detection: Electrolytic conductivity
Injection volume: 20 µL

Table 2. 페놀산 정량분석 조건

HPLC: Waters 2695
Detector: Waters 2996, 280 nm
Column: SunFire C18 (4.6×150 mm)
Mobile Phase A: 98% water, 2% glacial acetic acid in 0.018 M ammonium acetate,
Mobile Phase B: 70% solvent A and 30% organic solution
Organic solution: 82% methanol, 16% n-butanol, 2% glacial acetic acid in 0.018 M ammonium acetate
Flow rate: 1 mL/min
Linear gradient condition:
– 0.0 to 1.0 min isocratic at 10% solvent B
– 1.0 to 71.0 min linear gradient from 10% to 90% solvent B
– 71.0 to 81.0 min linear gradient from 90% to 10% solvent B

시험방법은 시료를 농도별로 조제하여 0.03%의 tyrosine 을 기질로 사용하여 효소 반응액에 넣어 일정시간 반응시킨 후 반응생성물인 dopachrome의 흡수파장인 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응액은 450 μ L의 0.05 M sodium phosphate buffer(pH 6.8)와 400 μ L의 tyrosine, 50 μ L의 mushroom tyrosinase(100 unit)와 100 μ L의 시료를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 신속하게 ice에서 5분간 방치하여 반응을 중지시키고 spectrophotometer (Shimazu 1201)로 475 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 시료를 첨가하지 않은 반응액과 비교하여 저해율을 산출하였다.

$$\% \text{ inhibition} = [(A - B) / A] \times 100$$

A: 시료가 들어가지 않은 반응액의 반응 후 흡광도

B: 시험시료가 들어가 있는 반응액의 반응 후 흡광도

항균 활성

항균활성 검정은 한천배지확산법(disk agar plate diffusion method)(16)으로 측정하였다. 한천배지확산법은 시료 용액을 10 μ g/disk 농도로 0.45 μ m membrane filter(Milipore, USA)로 여과하여 제균하고 멸균된 filter paper disk(Toyo, 8 mm, Japan)에 20 μ L씩 흡수시킨 후, 용매를 완전히 휘산시킨 다음 시험용 평판배지 위에 놓아 밀착시키고 4°C 냉장고에서 1시간 방치한 후, 32°C incubator에서 12~24시간 배양한 다음 disk 주변의 clear zone의 직경을 측정하였다.

항암 활성

종양세포 배양: 실험에 사용된 암세포주는 인체기원의 암세포주들로서, 폐암세포주인 Calu-6, 위암세포주인 SNU-601을 사용하였다. 세포배양은 RPMI 1640 배지에 56°C에서 30분간 열처리된 FBS 10%와 항생제(antibiotic-anti-mycotic)을 함유한 각각의 복합배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂의 습윤화된 배양기내에서 적응시켜 배양하였으며, 이때 배지는 2~3일에 한번씩 교환하였다.

MTT 분석에 의한 세포 생존율 측정: 종양세포 및 정상세포를 $2 \sim 4 \times 10^4$ cells/mL의 농도가 되도록 조절한 후 96 well microplate에 90 μ L/well씩 분주하고 이것을 37°C, 5% CO₂ 세포배양기에서 12시간 배양하여 세포를 부착시킨 다음 추출물을 50, 100, 200, 400, 800 μ g/mL 농도가 되도록 10 μ L씩 첨가하였다. 이것을 72시간 동안 배양시킨 후, MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 용액을 각 well당 10 μ L씩 넣고 세포 배양기에서 4시간 동안 반응시킨 후, MTT 용액을 제거하고 DMSO 150 μ L를 첨가하여 각 세포를 용해시켜 microplate reader(Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡

광도를 측정하였다. 각 세포의 시료 무첨가군을 100%로 하여 상대적인 세포 성장율을 측정하였다.

알코올 분해활성

ADH: ADH의 함량 측정은 Blandino의 방법(17)을 변형하여 측정하였으며, 흡광도 340 nm에서 NADH의 생성속도를 지표로 하였다. 반응액 조성은 증류수 1.4 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.8) 0.75 mL, 20 mM NAD(in 0.01 M HCl) 0.3 mL, 30% EtOH 0.3 mL, sample 0.15 mL 또는 효소원 0.15 mL)를 cuvette에 넣어 총 3 mL가 되도록 조절하여 30°C에서 5분간 preincubation 한 후, 5분간 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 시료의 ADH의 함량은 control에 대한 상대함량(mg/mL)으로 나타내었다.

ALDH: ALDH의 함량 측정은 Bostian의 방법을 변형하여 측정하였으며, 흡광도 340 nm에서 NADH의 생성속도를 지표로 하였다. 반응액 조성은 증류수 2.1 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 0.3 mL, 20 mM NAD(in 0.01 M HCl) 0.1 mL, 1.0 M acetaldehyde 0.1 mL, 3.0 M KCl 0.1 mL, 0.33 M mercaptoethanol 0.1 mL, sample 0.1 mL (또는 효소원 0.1 mL)를 cuvette에 넣어 총 3 mL가 되도록 조절하여 30°C에서 5분간 preincubation 한 후, 5분간 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 시료의 ALDH 함량은 control에 대한 상대함량(Unit)으로 나타내었다.

결과 및 고찰

일반성분

뽕나무의 부위별 일반성분 중 회분은 잎의 함량이 가장 높았고 뿌리와 가지, 그리고 열매의 회분 함량은 비슷한 수준이었다. 조단백질 함량은 역시 잎의 함량이 약 16%로 가장 높게 나타났고 뿌리, 열매, 그리고 가지 순으로 나타났다(Table 3). 조지방 함량은 뿌리와 가지의 함량이 약간 높게 나타났으나 부위별로 유의적인 차이는 없었다. 조섬유소 함량은 가지가 약 43.2%로 가장 높게 나타났고 다음이 뿌리(약 20.8%), 그리고 잎(10.8) 순으로 나타났고 열매의 함량은 약 3.5%로 낮게 나타났다. 비타민 C의 함량은 열매에서만 약 18 mg/100 g으로 나타났다.

Table 3. 뽕나무 부위별 일반성분

성분(%)	잎	뿌리	가지	열매
조회분	8.9 \pm 0.1	3.6 \pm 0.2	3.1 \pm 0.2	3.8 \pm 0.2
조단백	16.3 \pm 0.0	11.9 \pm 0.2	4.5 \pm 0.3	6.8 \pm 0.7
조지방	1.4 \pm 0.1	1.6 \pm 0.1	1.5 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1
식이섬유	10.8 \pm 1.4	20.8 \pm 0.9	43.2 \pm 0.7	3.5 \pm 0.3
Vitamin C (mg/100 g)	미량	미량	미량	18

Table 4. 뽕나무 부위별 유기산 함량 (mg/100 g)

유기산	잎	뿌리	가지	열매
Phosphoric	460.6	121.9	230.2	1,628.4
Citric	7.1	394.2	39.2	3,529.4
Tartaric	84.0	12.4	44.9	95.1
Malic	33.8	56.0	11.1	44.3
Succinic	972.4	623.6	275.8	494.6
Lactic	55.4	24.5	130.4	18.4
Formic	10.9	6.8	16.9	6.3
Acetic	88.0	68.7	58.7	26.9
Pyroglutamic	ND*	35.6	ND	ND
Propionic	ND	ND	ND	ND
Butyric	13.2	ND	ND	ND

*Not detected.

유기산 함량

뽕나무의 부위별 유기산 함량은 Table 4에서 보는 바와 같이 구연산은 열매에서 100 g중 약 3500 mg으로 함량이 대단히 높게 나타났고 뿌리에서도 394 mg으로 비교적 높게 나타났으며, 타르타르산은 열매와 잎에서 높게 나타났고 말산은 뿌리, 열매, 잎의 순으로, 숙신산은 잎에 가장 높게 들어있고 뿌리와 열매 그리고 가지에도 비교적 높게 함유되어 있는 것으로 나타났다. 락트산과 포믹산은 가지에 가장 높게 함유되어 있고 아세트산은 잎 뿌리, 가지 그리고 열매 순으로 나타났다.

총페놀화합물 및 페놀산 함량

뽕나무의 부위별 총페놀화합물 함량은 Table 5에서 보는 바와 같이 뽕나무 뿌리에서 가장 높은 함량을 보였고

Table 5. 뽕나무 부위별 추출물의 용매 분획에 따른 총페놀화합물 함량 변화 (ppm)

부위	분획					Total
	MeOH	Hexane	EtOAc	BuOH	Water	
열매	11.2	81.3	102.6	25.1	4.5	224.7
가지	49.0	107.8	77.9	87.6	4.5	326.7
잎	71.4	154.3	152.2	121.8	28.4	528.2
뿌리	117.7	97.4	160.8	166.2	32.2	574.3

잎, 줄기, 열매의 순으로 나타났다. 분획별로 보면 열매의 경우 EtOAc 분획에서 가장 높았고 hexane, BuOH, 물 분획의 순으로 나타났다. 뽕나무 작은 가지의 함량은 hexane, BuOH, EtOAc, 물 분획의 순으로 나타났고, 잎에서는 EtOAc, hexane, BuOH, 물 분획의 순으로, 그리고 부위중 함량이 가장 높은 뿌리는 BuOH과 EtOAc 분획의 함량이 높았고 물 분획이 낮게 나타났다.

페놀산은 잎에서는 chlorogenic acid의 함량이 가장 많았고 naringin과 p-coumaric acid, ferulic acid 등의 함량이 비교적 높게 함유되어 있었다. 가지는 chlorogenic acid가 가장 많았고 ferulic acid, naringin, p-coumaric acid caffeic acid 등의 순으로 화합물들이 함유되어 있었고 뿌리는 naringin이 가장 많이 함유되어 있고 chlorogenic acid, syringic acid, caffeic acid, coumarin 등의 순으로 페놀산이 함유되어 있는 것으로 나타났다. 그러나 열매는 페놀산 중 chlorogenic acid와 naringin만이 소량 함유된 것으로 조사되었다(Table 6).

Table 6. 페놀산 정량분석

(ppm)

Part	Solvent	Chlorogenic acid	Caffeic acid	Syringic acid	p-Coumaric acid	Ferulic acid	Naringin	Coumarin
Leaf	MeOH	—	—	—	—	—	—	—
	Hexane	3.669	—	—	10.344	0.844	28.817	—
	EtOAc	2.003	—	—	1.005	1.567	—	—
	BuOH	44.150	2.391	—	1.009	3.215	6.061	—
	Water	14.254	—	—	—	—	—	—
Branch	MeOH	—	—	—	—	—	—	—
	Hexane	2.727	—	—	3.641	11.282	4.096	—
	EtOAc	66.342	3.939	—	1.035	3.667	—	—
	BuOH	12.162	—	—	—	—	—	—
	Water	27.668	0.352	—	0.37	—	5.26	—
Root	MeOH	—	4.366	—	—	—	3.625	—
	Hexane	—	—	—	—	—	—	—
	EtOAc	—	0.734	1.267	—	0.105	15.297	4.293
	BuOH	9.01	—	5.358	—	—	—	—
	Water	5.487	1.596	—	—	—	—	—
Fruit	MeOH	—	—	—	—	—	—	—
	Hexane	—	—	—	—	—	—	—
	EtOAc	4.032	—	—	—	—	0.927	—
	BuOH	5.265	—	—	—	—	—	—
	Water	—	—	—	—	—	—	—

Table 7. 뽕잎 발효차의 총페놀화합물 함량

(ppm)

수분함량(%)	발효온도(°C)	발효일			
		초기	3일차	9일차	17일차
100	25	118.4±0.4	78.2±2.9	104.4±1.1	96.2±2.8
	35	118.4±0.4	95.6±2.2	104.7±1.4	92.6±1.4
	45	118.4±0.4	96.2±1.3	101.2±1.2	116.2±0.7
75	25	118.4±0.4	102.1±0.2	80.9±1.0	88.9±2.0
	35	118.4±0.4	113.2±0.7	84.8±1.9	104.9±1.5
	45	118.4±0.4	93.2±1.4	98.9±2.8	106.8±1.1
50	25	118.4±0.4	101.5±2.3	84.2±1.7	110.8±0.3
	35	118.4±0.4	103.3±2.3	83.8±0.5	136.5±1.6
	45	118.4±0.4	98.7±3.7	104.8±2.6	109.5±1.3

Table 8. 뽕잎 발효차의 플라보노이드 함량

(ppm)

수분함량(%)	발효온도(°C)	발효일			
		초기	3일차	9일차	17일차
100	25	92.1±0.4	56.7±2.0	52.2±3.7	44.6±1.2
	35	92.1±0.4	60.7±1.9	56.3±2.8	45.5±2.0
	45	92.1±0.4	59.7±3.3	47.9±3.4	55.6±1.8
75	25	92.1±0.4	74.0±2.3	46.1±2.0	50.5±1.3
	35	92.1±0.4	77.2±1.6	53.5±1.6	57.5±1.4
	45	92.1±0.4	58.0±1.0	57.5±0.9	56.6±0.7
50	25	92.1±0.4	65.3±1.6	59.2±2.6	71.4±2.3
	35	92.1±0.4	75.2±2.4	45.4±1.3	93.0±2.4
	45	92.1±0.4	63.2±1.7	61.4±2.7	60.3±1.5

발효차의 페놀화합물 함량 및 플라보노이드 함량

발효과정에서의 총페놀화합물(Table 7)과 플라보노이드(Table 8) 함량은 발효 시간의 경과에 따라 일반적으로 감소되는 경향이었으나 일반 증제차(64.7±0.2 ppm, 47.4±1.8 ppm)보다는 높은 함량을 보였다. 시료의 수분함량과 발효 온도의 변화에 대해서는 일정한 경향을 보이지 않았다(Table 7).

항산화 활성

뽕나무 부위중 항산화 활성이 가장 높게 나타난 잎의 경우 분획별로 ethyl acetate, BuOH, MeOH, hexane, 물 분획의 순으로 항산화 활성이 높게 나타났다(Table 9).

뽕나무의 부위별 분획별 항산화 활성을 비교한 결과 무처리에 대비해 50% 활성을 보인 추출물 및 분획물의 함량은 부위중 잎의 농도가 가장 낮았고, 다음으로 뿌리가 낮

게 나타났고 가지와 열매는 활성이 낮았다(Fig. 2). 분획별로 보면 열매의 경우 EtOAc 분획의 RC₅₀ 값이 751.9 µg으로 가장 낮았으나 다른 부위에 비해서는 높아 활성이 가장 낮게 나타났다. 가지는 EtOAc와 BuOH 분획의 RC₅₀ 값이 각각 399.4와 432.4 µg으로 낮았고 MeOH, hexane, 물 분획의 순으로 높은 농도에서 활성을 보였다. 잎은 BuOH과 EtOAc 분획의 RC₅₀ 값이 각각 103.7과 122.5 µg으로 낮은 농도에서 높은 활성을 보여 전체 부위와 분획 중 가장 활성이 높았고 MeOH 분획도 비교적 낮은 농도에서 활성을 보였다. 뿌리는 EtOAc 266.9 µg, BuOH 347.2 µg, MeOH 386.9 µg 그리고 hexane 479.2 µg의 농도에서 무처리 대비 50%의 활성을 보였고, 물 분획은 1500 µg 이상의 고농도에서만 활성을 보였다.

뽕잎의 발효 과정에서 잎의 수분 상태, 발효 시기와 온도에 따른 항산화 활성을 비교해 보면 발효시키지 않은

Table 9. 뽕잎 추출물의 용매 분획에 따른 항산화 활성 변화

농도 (ppm)	DPPH 라디칼 소거능(% of control)				
	MeOH	Hexane	Ethyl acetate	BuOH	Water
2000	63.2±1.0	25.3±1.6	67.5±0.3	82.1±0.4	59.8±0.3
1000	76.7±0.3	38.2±0.2	80.2±0.2	87.5±0.1	46.4±1.1
500	70.7±1.1	27.3±1.4	82.8±0.2	88.9±0.1	31.0±1.4
250	47.9±0.9	17.7±0.8	81.3±0.5	86.5±0.3	15.9±1.4
125	27.0±1.0	10.6±1.6	63.1±1.2	58.7±0.6	9.9±1.5
63	12.7±0.9	4.9±1.4	39.7±1.0	34.3±1.6	6.3±1.4

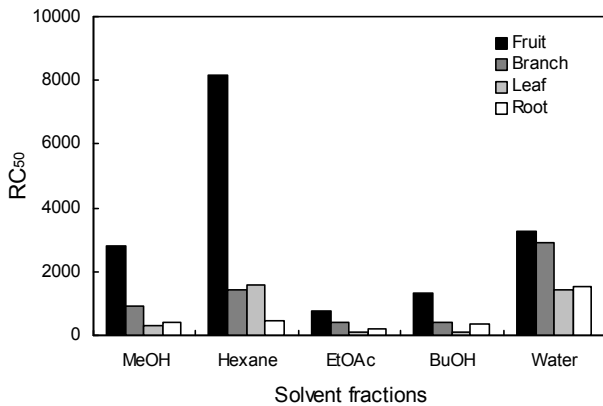


Fig. 2. 뽕나무 부위별 추출물의 용매 분획에 따른 항산화 활성 비교.

잎의 추출물(865 μg)에 비해서 발효시킨 경우의 항산화 활성은 대체적으로 낮아지는 경향이였다(Table 10). 그러나 일반 제다 과정을 거친 증제차(2078 μg)와 비교해보면 잎의 45°C의 비교적 높은 온도에서 9일 이상 발효시킨 시료에서 증제차보다 높은 유리산소 소거능을 보였으나, 아질산염 소거능은 일정한 경향을 보이지 않았다(Table 11).

미백 효과

뽕나무 추출물의 tyrosinase 활성억제 효과를 통한 미백활성을 분석한 결과 항산화 활성과 같이 과실(오디)을 제외한 뿌리 추출물의 활성이 가장 높게 나타났고 다음으로 잎추출물과 가지 추출물 모두에서 비교적 높은 활성을 보였다(Fig. 3). 따라서 미백 효능을 갖는 미용팩 개발에 뽕은 상당히 좋은 소재이고 부위별로 볼 때는 뿌리 추출물의 활성이 가장 높았고 잎 추출물의 활성이 뿌리보다 다소 낮게 나타나 원료 확보와 그 기능성을 고려해 보면 잎의 사용 비율이 높은 것이 경제적인 것으로 판단된다.

항균 활성

뽕나무 부위별 추출물의 항균활성을 보면 잎, 줄기, 열매의 물과 MeOH 추출물에서는 시험한 4종의 균에 대해

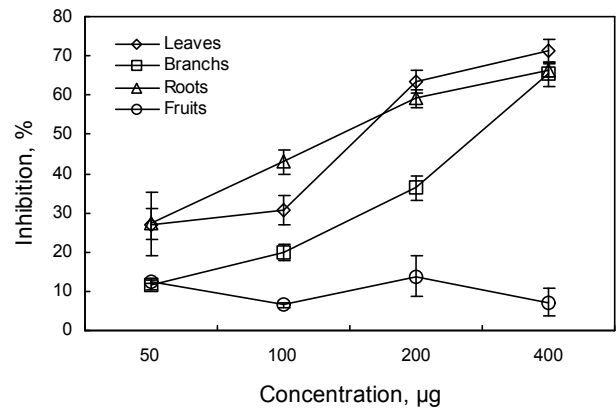


Fig. 3. 뽕나무 부위별 추출물의 tyrosinase의 활성 억제 효과.

살균효과를 보이지 않았고 단지 뿌리 메탄올 추출물에서만 포도상구균(*Staphylococcus*)에 대해서만 활성을 보였다(Fig. 4).

항암 활성

뽕잎 추출물과 부위별 추출물을 농도별로 폐암(Calu-6), 유방암(MCF-7), 직장암세포(HCT-116), 위암세포(SNU-601) 등 암세포에 처리하여 세포의 생존율을 조사하였다. 뽕잎 추출물은 250~300 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 폐암,

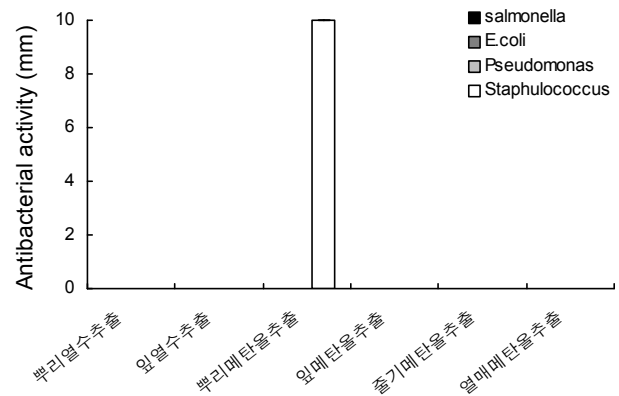


Fig. 4. 뽕나무 부위별 추출물의 항균활성.

Table 10. 발효일에 따른 뽕잎차의 항산화 활성(DPPH)

수분함량(%)	발효온도(°C)	DPPH 라디칼 소거능, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)				
		비발효	3일차	9일차	17일차	증제차
100	25		3047	1180	2860	
	35	865	2896	1293	3516	2078
	45		1290	1017	1163	
75	25		3241	2500	5132	
	35	865	1475	2096	4036	2078
	45		3018	1918	2500	
50	25		2735	2155	2072	
	35	865	3025	2072	993	2078
	45		2968	1195	1141	

Table 11. 발효일에 따른 뽕잎차의 항산화 활성(아질산염소거능)

수분함량(%)	발효온도(°C)	아질산염소거능(% of control)				
		비발효잎	3일차	9일차	17일차	증제차
100	25		27.9±1.8	38.4±1.7	32.3±2.6	25.9±5.2
	35	38.7±1.9	34.4±2.0	27.6±1.0	25.4±1.4	
	45		31.1±1.4	36.5±2.8	33.8±2.8	
75	25		30.2±0.2	27.1±1.1	33.2±1.1	25.9±5.2
	35	38.7±1.9	30.4±1.9	28.0±2.5	32.7±2.5	
	45		29.6±2.4	32.3±3.7	36.9±3.7	
50	25		32.5±1.6	30.6±1.4	37.6±1.4	25.9±5.2
	35	38.7±1.9	30.5±2.6	31.4±1.7	40.7±1.7	
	45		33.6±1.9	39.4±3.6	37.3±3.6	

유방암, 직장암 세포를 무처리제에 비해 50% 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 5). 뽕나무의 부위별로 보면 뽕나무 뿌리의 활성이 가장 높게 나타났고 다음이 뽕잎, 발효 뽕잎, 그리고 뽕나무 가지의 순으로 나타났으며 열매인 오디는 처리 농도 내에서 활성이 거의 나타나지 않았다(Fig. 6, 7). 이와 같이 뽕나무는 일반적으로 식용이 가능한 식물 시료 가운데서 상당한 항암효과를 보여 다양한 제품 생산에 응용하여 경쟁력을 갖출 만하다 하겠다.

뽕의 알콜분해 활성 검정

뽕나무의 부위별로 본 알콜 분해 활성은 뿌리의 활성이 가장 높게 나타났고 다음이 잎이 비교적 높게 나타났다(Table 12). 그러나 열매인 오디와 가지에서는 그 활성이 거의 나타나지 않았고 뽕잎을 발효시킨 시료에서도 발효시키지 않은 잎에 비해 활성이 크게 저하된 것으로 나타났다.

Table 12. 뽕나무 부위별 추출물의 알코올 분해 활성

	알코올 분해 활성(mg/mL)				
	잎	열매	뿌리	가지	발효잎
ADH	11.5±1.0	1.7±0.7	56.4±3.8	2.5±0.5	3.0±0.4
ALDH	15.8±1.1	1.2±0.8	55.0±3.6	3.3±0.4	3.0±0.4

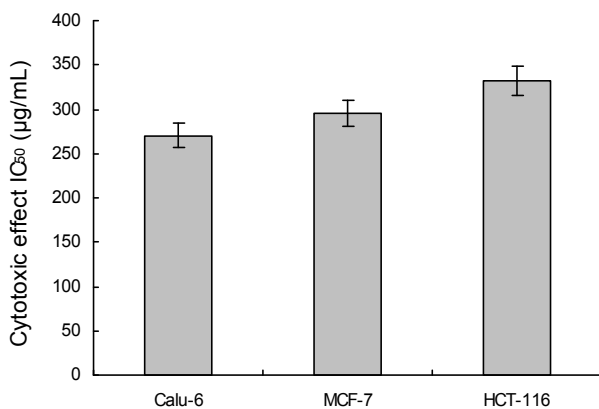


Fig. 5. 뽕나무 MeOH 분획이 암세포의 세포 생존율에 미치는 영향. Calu-6: 폐암세포, MCF-7: 유방암세포, HCT-116: 직장암세포.

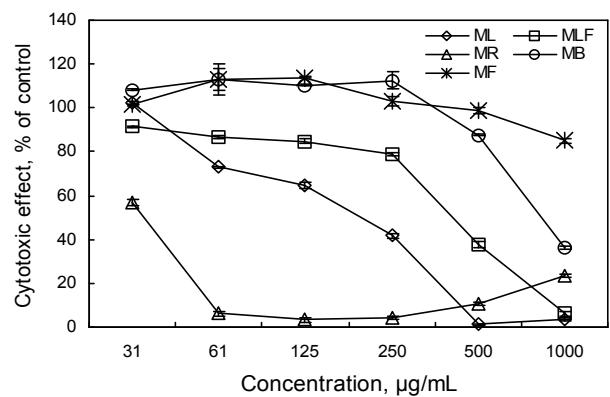


Fig. 6. 뽕나무 MeOH 분획이 직장암세포의 세포 생존율에 미치는 영향. ML: mulberry leaves, MLF: fermented mulberry leaves, MR: mulberry roots, MB: mulberry branches, MF: mulberry fruits.

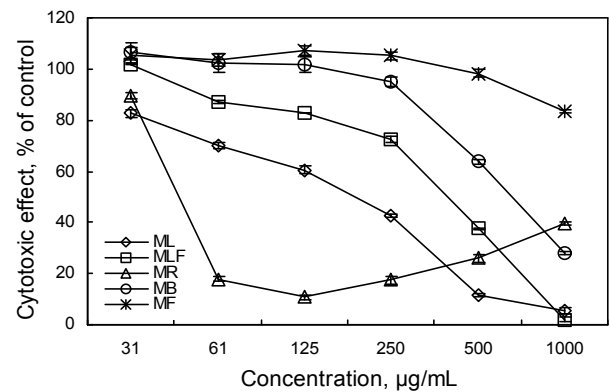
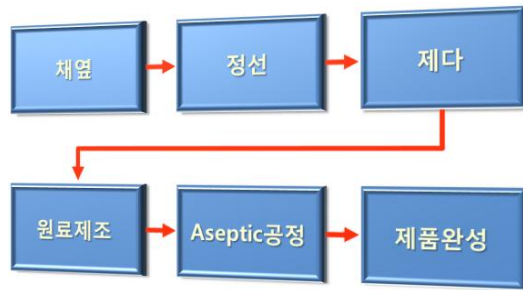


Fig. 7. 뽕나무 MeOH 분획이 유방암세포의 세포 생존율에 미치는 영향. ML: mulberry leaves, MLF: fermented mulberry leaves, MR: mulberry roots, MB: mulberry branches, MF: mulberry fruits.

제품 제조 과정

1. 채엽 및 정선: 원료 채취 및 정선
2. 원료의 제다 과정: 녹차의 제조 공정과 같이 증열, 조유, 유념, 중유, 건조 및 가향 단계를 통해 유효성분의 추출을 용이하게 하고 맛을 내는 가공 단계



3. 원료 제조: 가공된 원료를 적정 비율로 혼합하여 양을 조절하는 단계
4. Aseptic 공정: 원료로부터 차를 추출하여 병에 담아 포장하는 단계
5. 제품 완성



참고문헌

1. 안학주, 이춘녕, 박수현. 1982. 한국농식물자원명감, 一潮閣. p 25.
2. Bose PC. 1989. *Genetic resources of mulberry and utilization*. CSR and TI, Mysore, India. p 183-190.
3. Sastri BN. 1962. *The wealth of India, raw materials*. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi, India. p 429-439.
4. Kelkar SM, Bapat VA, Ganapathi TR, Kaklig GS, Rao PS, Heble MR. 1996. Determination of hypoglycemic activity in *Morus indica* L. (mulberry) shoot cultures. *Cur*

Sci 71: 71-72.

5. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
6. Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Ha HS, Jeong HS, Kim JH. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci* 73: 167-179.
7. Russo GL. 2007. Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. *Biochem Pharmacol* 74: 533-544.
8. Canter PH, Thomas H, Ernst E. 2005. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *Trends Biotechnol* 23: 180-185.
9. Estomba D, Ladio A, Lozada M. 2006. Medicinal wild plant knowledge and gathering patterns in a Mapuche community from North-western Patagonia. *J Ethnopharmacol* 103: 109-119.
10. Sa JH, Jin YS, Shin IC, Shin TH, Wang MH. 2004. Photoprotective effect and antioxidative activity from different organs of *Morus bombycis* Koidzumi. *Korean J Pharmacogn* 35: 207-214.
11. 이완주. 2003. 성인병을 예방하는 뽕잎건강법. 중앙생활사. p 44.
12. AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. Chapter 32, p 5.
13. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
14. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Technol* 28: 25-30.
15. Vanni A, Gastaldi D, Giunata G. 1990. Kinetic investigations on the double enzymatic activity of the tyrosinase mushroom. *Annali di Chimica* 80: 35-60.
16. Conner DE, Beuchat LR. 1984. Effect of essential oil from plants on growth of food spoilage yeasts. *J Food Sci* 49: 429-434.
17. Blandino A, Caro I, Cantero D. 1997. Comparative study of alcohol dehydrogenase activity in flor yeast extracts. *Biotechnol Letters* 19: 651-654.