

# 매실의 생리활성

임재웅

보해양조(주)중앙연구소

매실나무(*Prunus mume* Siebold et Zuccarini)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽소교목(落葉小喬木)이며 높이가 5m 안팎이고 小枝는 녹색이며 털이 없거나 잔털이 있다<sup>(1,2)</sup>. 일본, 대만, 중국 및 우리나라 충청 이남에서 생산되는 果實로 1~3월경에 꽃이 피고 열매를 맺어 6월경 青梅로서 수확된다<sup>(1,2)</sup>. 梅實은 熟度에 따라 10분속으로 구분하여 果實의 핵이 硬化될 때 5분속, 果肉에 淸味가 있을 때를 6~7분속, 果肉의 淸味가 소실되고 果肉의 조직이 다소 軟化되기 시작할 때를 8분속, 果肉의 색이 담록색이고 果皮가 담황색으로 조직이 軟化되었을 때를 9분속, 완전히 軟化되고 섬유질이 없는 것을 10분속으로 구분하고 7~8분속을 青梅라고 하며 이를 수확한다<sup>(3)</sup>.

매실과 매실나무는 食用, 觀賞用, 藥用으로 쓰이고 漢方과 民間에서 青梅를 霍亂, 脚氣病, 健胃, 殺菌, 去痰, 嘔逆, 酒毒, 解熱, 鎮吐, 發汗, 痲痺에 藥材로 쓰이며 주로 우리나라에서는 梅實酒와 梅實丸, 梅實茶로 加工하여 이용한다<sup>(2,9-16)</sup>. 또한 일본에서는 오래전(약 1,500년 전후)에 중국에서 약용의 오매(烏梅) 형태로 전해진 것이 시초가 되고 있다고 하는데, 오매로 말하자면 완숙전의 청매를 燻煙乾燥한 것으로 현재에는 한방약으로 알려져 있다<sup>(139)</sup>. 오매(烏梅, Fructus mume)는 春季에 未成熟한 果實(青梅)을 채취하여 40℃ 내외의 低溫에 烘焙하는 것인데, 일반적으로는 2-3시간 烘焙하되 果肉이 황갈색을 띠면서 주름이 생길 때까지 하고, 焙後에 재차 2-3일간 방치하여서 黑色으로 변하면 되고, 또 다른 방법은 청매의 果皮를 제거하고 벗겨내어 왕겨를 태우는 煤煙속에서 훈증하여 黑色이 되도록 乾燥한다<sup>(12)</sup>.

이외에 매근(梅根, 매화나무 뿌리), 매경(梅梗, 매화나무의 잎이 달린 枝梗), 매엽(梅葉, 매화나무 잎), 백매화(白梅花, 매화나무의 꽃봉오리), 백매(白梅, 매화나무의 미성숙 과실을 따서 소금에 절인 것), 매핵인(梅核仁, 매화나무 과실의 種仁) 등이 한방약으로 쓰인다<sup>(5)</sup>.

梅實 수확철이 되면 남부지방에서는 각 가정마다 매실 엑기스를 만들고 매실주를 담그는 것이 보편화되어 있다. 이에 반해 지금까지 梅實 研究는 理化學的 特性, 成分의 變化, 加工方法 등으로 치중돼 있는 듯하며 실제로 生理活性에 대한 연구는 미미한 실정이다.

매실의 생리활성 확인과 효능성분의 체계적이고 과학적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

## 1. 고문헌상의 매실의 약용 역사

원산지는 중국의 사천성과 호북성의 산간지로 알려져 있으며 중국 고서 “詩經”(BC 6~5)에 梅란 글자가 처음 등장하며 또한 “西京雜記”에는 前漢시대(BC2)의 武帝는 上林苑을 설치하고 猴梅, 朱梅, 紫華梅, 同心梅, 紫葉梅, 躑躅梅, 燕梅의 7품종을 재배하였다는 기록이 있다. 神農本草經(502~556)에는 梅實을 약용으로 사용하였다는 기록이 있다. 중국 고서에 기록된 매실의 효능과 이용법은 “제민요술”(439~525)의 卷四 果樹類편에 白梅와 烏梅의 제조법이 기록되어 있고 명나라 때 李時珍의 “본초강목”에도 효능과 이용법이 기록되었다. 前漢시대(BC206~AD25)의 것으로 보이는 湖南省 長沙의 고분에서 烏梅가 발견된 것으로 보아 梅實의 약용의 역사는 깊다고 할 수 있다. 일본에서는 중국의 隋(581~618)와 교역이 행해지던 시대 사진으로 가 있던 小野妹子가 만능약으로 중시되고 있던 烏梅와 梅實나무를 가지고 건너갔다는 설이 있다. 平安시대(794~1185)에 편찬된 “療氏物語”와 “枕草子”에는 질병이 유행하였을 때 病者를 치료하는데 烏梅를 사용하였다는 기록이 있으며, 일본최고의 의학서인 “醫心方”은 梅實이 질병에 좋고 설사에 특효가 있다고 기록되어 있다. 室町시대(1338~1572)에 쓰여진 “食物服用之卷”과 “今川大双紙”에는 梅干의 출현으로 매년 만연하던 질병이 서서히 사라졌다는 기록이 있다. “雜兵物語”에는 매실이 “息습의 漿”으로 사용되었다고 했

다. "救民妙藥"(1693)에는 梅仁을 쥐에 물린 상처 치료에 사용하고, "堂中妙藥集"에는 구내염, 잇몸출혈, 충치등에 梅干을 사용한다고 했으며, "救民藥方錄"에는 편도선염에 梅干을, "經驗千方"에는 출혈에 梅干을 사용하고, "古方藥議"에는 烏梅의 효능으로 숨가쁨을 없애고 열을 제거하고 설사, 갈증을 막고,痰을 없애며 구토를 멈추게 한다고 기록되어 있다. 우리나라에서는 "世宗實錄地理地"에 전라, 경상도의 貢物 가운데 淸梅, 烏梅, 鹽梅가 있었다는 기록이 있고, 허준의 "東醫寶鑑"의 果部에는 梅實, 烏梅, 白梅등에 대한 효능과 제조법이 기록되어 있고, 그 內景편에 萬應丸, 烏梅丸, 戊己丸이 雜病편에는 烏梅湯, 醃梅湯, 烏梅木瓜湯등 주로 烏梅를 이용한 처방법과 치료법이 기록되어 있다.

## 2. 메실의 이화학적 특성

梅實은 citric acid와 malic acid를 비롯한 有機酸과 탄닌, 다량의 무기질 등을 함유하고 있는 果實로<sup>(4-9)</sup> 성숙이 진행됨에 따라 可溶性 고형분과 酸度는 증가하고 pH는 감소한다<sup>(7,17-22)</sup>. 主 有機酸중 citric acid는 成熟과 더불어 증가하는 반면 malic acid는 감소하며<sup>(7,17-26)</sup> 유리아미노산은 生育期에는 증가하다가 適熟期부터 完熟期에 이르면서 급격히 감소하는 경향을 보인다. 전체 아미노산중 50~92%가 asparagine이며 glutamic acid, aspartic acid, alanine, proline, glutamin등이 들어있다<sup>(24-26)</sup>. 品種別로는 小梅가 '南高'나 '白加賀'보다 유리아미노산의 함량이 3~5배 정도 많이 함유된 것으로 보고 되었다<sup>(27)</sup>. 遊離糖은 sucrose, fructose, sorbitol, glucose등이며 成熟 하면서 sucrose는 급격히 증가하는 반면 glucose와 fructose는 변화가 크지않다<sup>(25)</sup>. Kameoka등<sup>(28)</sup>에 의하면 신선한 梅實의 특징적인 휘발성분이 benzaldehyde, benzyl alcohol, 5-methyl-2-furfural, 2-3-dimethyl maleic anhydride 등 이라고 보고 되었다.

메실의 성숙 중 성분은 Table 1, Table 2, Table 3, Table 4와 같다.

Table 1 Changes in chemical compositions

*Prunus mume* (Namgo)

| Ripening time<br>(days after full bloom) |                     | Part constituents |      |      |      |      |      |
|--|---------------------|-------------------|------|------|------|------|------|
|  |                     | 65                | 75   | 85   | 90   | 95   | 105  |
| flesh part                               | moisture(%)         | 90.4              | 90.7 | 91.0 | 90.8 | 90.8 | 90.9 |
|  | ash(%)              | 0.55              | 0.59 | 0.56 | 0.54 | 0.57 | 0.51 |
|  | protein(%)          | 1.24              | 1.18 | 0.65 | 0.55 | 0.40 | 0.39 |
|  | lipid(%)            | 0.41              | 0.39 | 0.40 | 0.42 | 0.49 | 0.53 |
|  | soluble solid(Brix) | 5.55              | 6.31 | 6.45 | 6.80 | 7.26 | 8.30 |
|  | total acid(%)       | 3.40              | 4.58 | 4.92 | 4.98 | 4.99 | 5.32 |
|  | polyphenol(%)       | 0.12              | 0.17 | 0.18 | 0.19 | 0.22 | 0.10 |

Table 2 Changes in chemical compositions

*Prunus mume* (Baecgaha)

| Ripening time<br>(days after full bloom) |                     | Part constituents |      |      |      |      |      |
|--|---------------------|-------------------|------|------|------|------|------|
|  |                     | 65                | 75   | 85   | 90   | 95   | 105  |
| flesh part                               | moisture(%)         | 90.3              | 90.7 | 91.0 | 90.6 | 90.7 | 90.4 |
|  | ash(%)              | 0.53              | 0.58 | 0.51 | 0.51 | 0.54 | 0.56 |
|  | protein(%)          | 1.28              | 1.30 | 0.75 | 0.58 | 0.39 | 0.32 |
|  | lipid(%)            | 0.32              | 0.33 | 0.35 | 0.35 | 0.50 | 0.54 |
|  | soluble solid(Brix) | 5.00              | 5.75 | 6.10 | 6.40 | 7.35 | 8.35 |
|  | total acid(%)       | 2.98              | 3.69 | 4.41 | 4.70 | 5.05 | 5.5  |
|  | polyphenol(%)       | 0.05              | 0.08 | 0.13 | 0.15 | 0.17 | 0.10 |

Table 3 Changes in organic acids of flesh of *Prunus mume* during ripening (g/100g)

| Ripening time<br>(days after full bloom) |               | Organic acid |      |      |      |      |      |
|--|---------------|--------------|------|------|------|------|------|
|  |               | 65           | 75   | 85   | 90   | 95   | 105  |
| Namgo                                    | citric acid   | 1.61         | 2.35 | 3.25 | 3.72 | 4.08 | 5.12 |
|  | malic acid    | 2.35         | 2.90 | 2.30 | 1.93 | 1.82 | 1.52 |
|  | oxalic acid   | 0.04         | 0.06 | 0.05 | 0.02 | 0.01 | 0.01 |
|  | succinic acid | 0.09         | 0.18 | 0.10 | 0.07 | 0.05 | 0.04 |
| Baecgaha                                 | citric acid   | 1.15         | 1.59 | 2.45 | 3.61 | 4.05 | 5.10 |
|  | malic acid    | 2.64         | 3.04 | 2.62 | 1.93 | 1.90 | 1.49 |
|  | oxalic acid   | 0.15         | 0.12 | 0.08 | 0.04 | 0.04 | 0.03 |
|  | succinic acid | 0.06         | 0.18 | 0.13 | 0.09 | 0.08 | 0.08 |

Table 4 Changes in free sugars of flesh of *Prunus mume* during ripening. (g/100g)

| Ripening time<br>(days after full bloom) |          | Sugars |      |      |      |      |      |
|--|----------|--------|------|------|------|------|------|
|  |          | 65     | 75   | 85   | 90   | 95   | 105  |
| Namgo                                    | fructose | 0.05   | 0.07 | 0.08 | 0.18 | 0.20 | 0.21 |
|  | glucose  | 0.15   | 0.17 | 0.19 | 0.23 | 0.23 | 0.22 |
|  | sucrose  | 0.01   | 0.06 | 0.18 | 0.22 | 0.30 | 0.49 |
| Baecgaha                                 | fructose | 0.06   | 0.07 | 0.08 | 0.12 | 0.18 | 0.22 |
|  | glucose  | 0.15   | 0.17 | 0.20 | 0.23 | 0.24 | 0.23 |
|  | sucrose  | 0.02   | 0.07 | 0.26 | 0.35 | 0.43 | 0.51 |

### 3. 보고되고 있는 매실의 기능

매실의 기능성에 대한 연구는 일본을 중심으로 연구가 많이 이루어지고 있으며 다양한 효능으로 생체의 저항성 및 지속력을 향상시키고 疲勞回復을 促進시키며 生體機能 增進에 대한 보고가 나오고 있다<sup>(29-36)</sup>. 매실의 citric acid 등 有機酸과 無機成分이 體內에서 胃液 分泌를 促進시켜 食欲을 돋구어 주며 消化吸收에 도움을 주고 肝臟활동을 왕성하게 하며 新陳代謝를 원활히 하여 疲勞回復에 큰 효과가 있다는 보고도 있다<sup>(29-36)</sup>.

김동<sup>(41)</sup>은 매실의 종자가 *E.coli*와 *B.subtilus*에 대한 抗菌力을 가지고 있다고 보고하였다. 이등<sup>(37)</sup>은 매실抽出物이 人體 臟腑세포의 增殖을 抑制하는 효과가 있다고 보고하였고, 최<sup>(38)</sup>는 매실濃縮液이 All-Out 운동 후 回復 程度에 미치는 影響을 보고하였다. 또 윤<sup>(39)</sup>은 매실 엑기스 攝取가 血中 乳酸 濃度와 血清 脂質 成分에 미치는 影響을 보고하였고, 박 등<sup>(40)</sup>은 매실 엑기스의 有酸素性 運動能力에 대한 보고를 하였다.

### 4. 항산화 작용

지방질 및 지방질 함유 식품의 가공 또는 저장중에 일어나는 지방질의 산화는 악취를 내고 필수 지방산과 지용성 비타민의 손실을 일으켜 식품의 품질은 저하시킬 뿐만 아니라 식품의 저장 기간을 단축시키고, 산화에 의해서 생성되는 여러 종류의 alcohol류, aldehyde류, ketone류 등의 산화 생성물들이 생체 내에서 DNA를 손상시키거나 암을 유발하기도 하며, 세포의 노화와도 관련이 있는 것으로 알려지고 있다<sup>(141)</sup>. 이와 같이 식품의 가공, 저장중에 있어서 유지의 산화는 식품의 안정성과 밀접한 관련이 있으므로 이를 효과적으로 억제하지 않으면 안된다. 이와 같은 지방질의 산화를 억제하기 위해서 산소제거, 자외선 차단, 항산화제 첨가 등과 같은 방법을 이용할 수 있으나, 이중 널리 이용되고 있는 방법은 항산화제를 직접 유지에 첨가하는 것으로 이들 항산화제는 산소존재나 고온조건에서 기질의 유리 래디칼 생성을 지연시키거나 활성을 저해하므로써 지방질의 산화를 억제시켜 준다<sup>(142)</sup>.

그동안 유지의 산화를 방지하기 위하여 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)와 같은 합성 항산화제들이 탁월한 항산화 효과와 저렴한 가격 때문에 널리 사용되어져 왔다. 그러나 이들의 발암성이 논의되고 있으며, 인체에 대한 독성을 갖는다는 사실<sup>(143)</sup>이 보고된 이후로, 현재는 그 사용이 기피되고 있는 실정이다. 따라서 지금은 tocopherol<sup>(144)(145)</sup>, L-ascorbic acid<sup>(144)(146)(147)</sup>와 같은 안전한 천연 항산화제가 선호되고 있으나, tocopherol은 안전하기는 하나 단독으로는 산화·연쇄 반응 저지능력이 낮고<sup>(148)</sup>, 가격이 비싼 단점이 있기에 천연자원으로부터 이들 합성 항산화제를 대체 할 수 있는, 항산화 효과가 높으면서도 안전하고, 경제적인 여타의 천연 항산화제를 찾아내는 것이 절실히 요구된다. 특히 최근에 식용식물에 존재하는 항산화력이 있는 화합물들이 식품 첨가물로 허용되어, 천연물중에 존재하는 항산화 물질의 연구 개발에 대한 관심이 고조되고 있다. 또한 근래에는 신체의 노화나 성인병과 관련한 각종 질환에 생체내에서 생성된 유리 래디칼이 생체내 고분자 화합물들을 변화시켜 관여한다고 보고되고 있다. 유리 래디칼은 한개 이상의 짝짓지 않은 전자를 갖는 모든 분자 또는 분자단편을 말하는 것이며<sup>(149)</sup>, 생체내의 정상적인 대사반응에서 뿐만 아니라<sup>(150)(151)</sup>, 담배 연기, 공기 오염, 그외 여러 유기용매나 약물, 살충제의 대사 및 자외선 조사 등의 외적인 요인에 의해서도 생성될 수 있다. 이렇게 생성된 유리 래디칼은 세포막내의 불포화 지방산, nucleotides, sulfhydryl bond와 반응함으로써 세포의 생화학적 특성변화<sup>(150)</sup>를 포함한 조직의 손상<sup>(152)</sup>을 초래할 수 있다

#### 4.1 오매의 항산화력

烏梅 추출물 및 분획물들의 항산화력은 POV(peroxide value) 측정하여 얻은 결과(Table5, Table6, Table7)와 Rancimat 679 ( METHROHM AG, CH-9100 Herisau, Switzerland )를 사용한 결과(Table8) 모두 시험된 유지에 상관없이 유의한 항산화 활성을 나타내었다.

Table5 Induction periods(IP) and relative antioxidant effectiveness (RAE) of the substrates on palm oil<sup>(140)</sup>

| Substrates                | Palm oil |       |
|---------------------------|----------|-------|
|                           | IP       | RAE   |
| Control                   | 28.5     | 100   |
| Water Extract             | 34.2     | 120.0 |
| Methanol Extract          | 36.5     | 128.1 |
| Ethyl Acetate Fraction    | 51.0     | 178.9 |
| n-Butanol Fraction        | 37.8     | 132.6 |
| H <sub>2</sub> O Fraction | 36.1     | 126.7 |
| $\alpha$ -Tocoperol       | 23.7     | 83.2  |
| BHA                       | 30.6     | 107.4 |

Table6 Induction periods(IP) and relative antioxidant effectiveness (RAE) of the substrates on beef tallow<sup>(140)</sup>

| Substrates                | Beef Tallow |       |
|---------------------------|-------------|-------|
|                           | IP          | RAE   |
| Control                   | 13.5        | 100   |
| Water Extract             | 18.7        | 138.5 |
| Methanol Extract          | 22.9        | 169.6 |
| Ethyl Acetate Fraction    | 36.4        | 269.6 |
| n-Butanol Fraction        | 20.0        | 148.1 |
| H <sub>2</sub> O Fraction | 18.2        | 134.8 |
| $\alpha$ -Tocoperol       | 25.8        | 191.1 |
| BHA                       | 29.2        | 216.3 |

Table7 Induction periods(IP) and relative antioxidant effectiveness (RAE) of the substrates on Lard<sup>(140)</sup>

| Substrates                | Lard |       |
|---------------------------|------|-------|
|                           | IP   | RAE   |
| Control                   | 14.9 | 100   |
| Water Extract             | 16.2 | 108.7 |
| Methanol Extract          | 21.5 | 144.3 |
| Ethyl Acetate Fraction    | 26.4 | 177.2 |
| n-Butanol Fraction        | 19.4 | 130.2 |
| H <sub>2</sub> O Fraction | 15.3 | 102.7 |
| $\alpha$ -Tocoperol       | 11.8 | 79.2  |
| BHA                       | 7.4  | 49.7  |

Table8 Antioxidative effect of various solvent extracts and fractions of Fructus Mume on palm oil, beef tallow and lard ( by Rancimat 679 )<sup>(140)</sup>

| Extracts & Fractions<br>( 400 ppm ) | AI <sup>1)</sup> |             |      |
|-------------------------------------|------------------|-------------|------|
|                                     | Palm oil         | Beef tallow | Lard |
| Water Extract                       | 1.32             | 1.57        | 1.38 |
| Methanol Extract                    | 1.44             | 2.43        | 1.62 |
| Ethyl Acetate Fraction              | 1.44             | 4.39        | 1.74 |
| n-Butanol Fraction                  | 1.43             | 2.99        | 1.59 |
| H <sub>2</sub> O Fraction           | 1.36             | 1.58        | 1.32 |

1) Antioxidative index( AI, induction of oil containing of each extract / induction time of test oil )

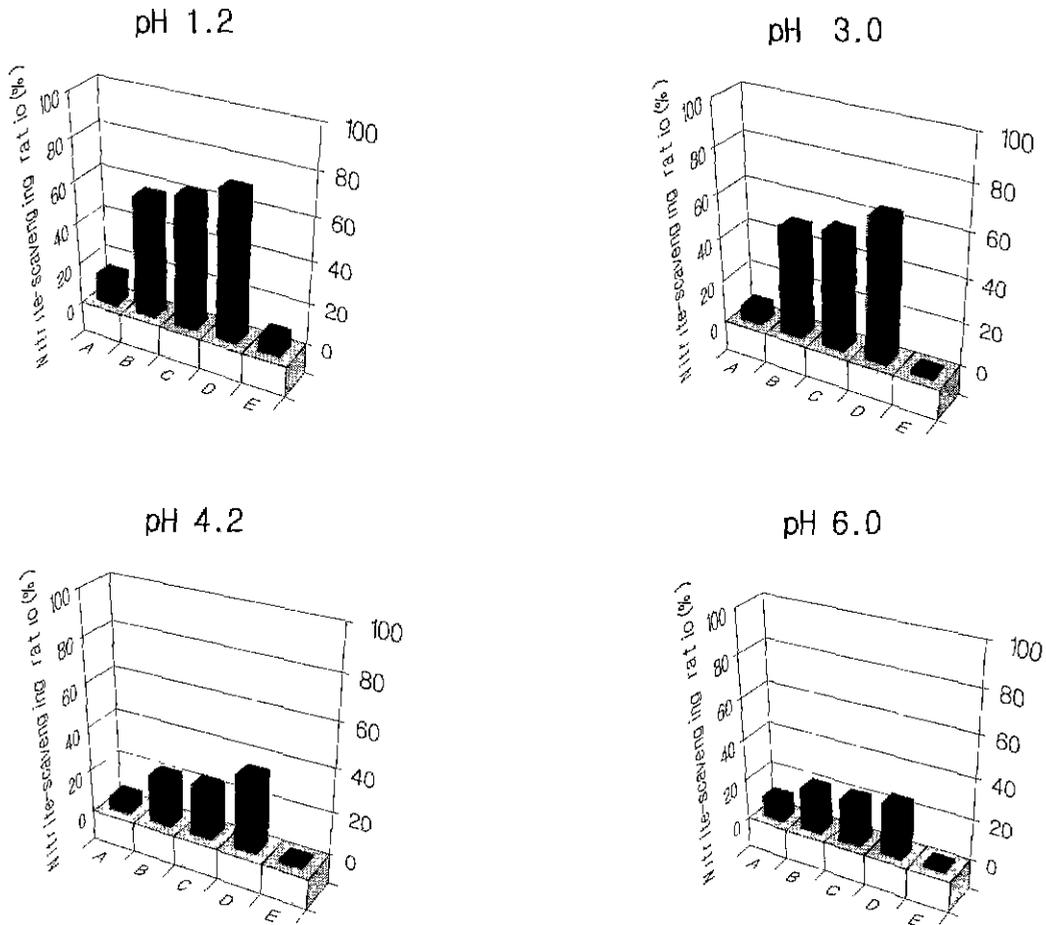
## 5. 아질산염 소거작용

수산물이나 식육제품 가공시 식품 첨가물로 사용되고 있는 아질산염은 Clostridium botulinum의 생육 및 독소의 생성을 억제하여 식중독 예방에 기여할 뿐만 아니라<sup>(153)</sup>, 원료육의 색소인 myoglobin과 결합하여 nitrosomyoglobin을 생성함으로써 육제품의 발색을 양호하게 하고<sup>(154)</sup>, 아울러 육제품의 독특한 풍미를 향상시키고 지방의 산패를 억제함으로써 저장중 산패취 발생을 지연시키는 것으로 알려져 있다<sup>(155)</sup>. 아질산염은 이와같이 식품 첨가물로써 뿐만 아니라 야채와 과일류<sup>(156)</sup>, 음료수와 타액 등에도 널리 존재하고 있는 것으로 알려져 있다. 식품의 가공 및 저장에 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 가지는 것으로, 섭취된 아질산염은 위나 장에서 쉽게 흡수되어서 혈류에서 소실하지만 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 hemoglobin과 결합하여 methemoglobin을 생성하여 methemoglobin症 등 각종 중독 증상을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>(157)</sup>. 또한, 아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 2급 및 3급 아민류와 반응하여 식육제품 자체내에서, 혹은 위내의 산성조건하에서 nitrosamine을 생성하는 것으로 보고되고 있는데, 이들 nitrosamine은 동물실험결과 대부분이 발암성을 나타내는 물질로 밝혀짐으로써 주목을 끌게 되었다<sup>(158)</sup>. 니트로소 화합물에 대한 발암 기구는 대부분의 nitrosamine은 체내에서 diazoalkane (C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>N<sub>2</sub>)으로 전환되어 핵산이나 단백질 또는 생체내의 성분을 alkyl화함으로써 암을 유발한다고 보고되고 있다<sup>(159)(160)</sup>. Yamazaki 등<sup>(161)</sup>은 N-nitrosodimethylamine 으로부터 diazonium ion의 생성과

정에 있어서 N-nitrosodimethylamine은 cytochrome P 450의 isozyme인 cytochrome P 450 2E1에 의해 활성화되며 또한 acetyl transferase는 diazonium ion의 생성을 촉진시킨다고 보고하였다. Nitrosamine 생성의 최적 pH는 3-4이고, 반응속도는 아민의 농도보다는 아질산염의 농도에 의해 더 큰 영향을 받으며, 또한 미생물이 공존하는 등의 경우에는 중성이나 알칼리 조건하에서도 생성반응이 진행된다는 보고도 있다<sup>(162)(163)</sup>. 우리가 이러한 nitrosamine에 관심을 가지는 것은 이들이 식품 성분과 식품 첨가물간의 상호반응으로 식품자체 내에서 생성될 수 있을 뿐만 아니라, 니트로소화 반응이 인체내 위의 pH와 유사한 범위에서 최적 조건을 가지기 때문이다. 그리고, 이들 전구물질인 아질산염과 아민이 식품내의 상재성분으로 널리 존재하고 있으므로 이들을 함유하고 있는 음식을 동시에 섭취했을 때 위내에서 nitrosamine이 생성될 가능성이 더욱 높아지기 때문이다.

### 5.1 오매의 아질산염 소거력

오매의 아질산염 소거력은 Fig.1과 같이 확인 되었다.



\* Nitrite was incubated with each solvent extracts(2mg) at 37°C for 1hr under pH 1.2, 3.0, 4.2 and 6.0

Fig.1 Nitrite-scavenging effect of each solvent extracts from the Fructus Mume under different pH conditions ; Water ex.(A), MeOH ex.(B), EtOAc fr.(C), n-BuOH fr.(D), H<sub>2</sub>O fr.(E)<sup>(164)</sup>

## 6. 항균 활성

腐敗 및 病原性 微生物에 의한 피해는 여러 분야에서 직면하는 심각한 문제이다. 健康에 대한 관심도가 높아짐에 따라 人工 合成品의 忌避現狀이 사회전반에서 일어나고 있으며 안전성에 문제가 없는 天然의 抗微生物 活性物質의 개발이 절실히 요구되는 실정이다<sup>(42)</sup>. 이에 食品貯藏中 일어나는 微生物에 의한 變質防止를 위하여 天然物에 존재하는 抗菌性 물질을 이용하고자 하는 研究는 이미 오래 전부터 수행되어 왔다<sup>(43)</sup>.

일반적으로 사람이 오랜 동안 攝取해 왔던 天然物 그 자체 또는 이들의 抽出物에 존재하는 天然 抗菌性 물질로 蛋白質<sup>(44)</sup>, 有機酸<sup>(45,46)</sup>, 탄소수가 12~18개인 脂肪酸<sup>(47)</sup>, 香辛料<sup>(48)</sup>, 生藥材類<sup>(49-51)</sup> 등이 있다. 식물 抽出物이 抗微生物 活性를 갖고 있다는 것은 오래 전부터 알려 졌고 대표적인 것으로는 우리가 예전부터 많이 사용해 왔던 香辛料를 들 수 있다. 근래에 들어와서 마늘의 allicin은 -SH group효소의 阻害因子로 작용하는 活性 物質이고, 양파추출물은 aflatoxin생성균인 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus*의 増殖을 阻害하며<sup>(52)</sup> 이외에도 많은 식물 추출물이 抗菌活性를 가지고 있음이 보고되고 있다<sup>(41,53-62)</sup>.

### 6.1 항균 활성도 측정

抗菌性 확인은 확산법(diffusion method)중 paper disc법을 이용 하였다<sup>(78)</sup>.

細菌類와 酵母는 액체배지에 18시간 증식시킨후 각 균주에 맞는 agar 배지를 15ml씩 분주한 Ø9cm petri dish에 0.3ml씩 도말하고 주 배양온도 보다 5℃낮은 온도에서 1시간 정도 예비배양한 후 일정량의 시료가 주입된 paper disc(Ø8mm, Toyo)를 올려놓고 20µl의 멸균수로 확산시키고 1시간을 예비배양 하고 적운에서 24시간 배양 후 生育 阻止圓의 크기를 측정하였다.

곰팡이류는 멸균수 10ml에 곰팡이 균층을 긁어내어 현탁 시킨 후 0.1ml씩 준비된 Ø9cm petri dish에 분주 한다. 이를 24시간 예비 배양한 후 일정량의 시료가 주입된 paper disc(Ø 8mm, Toyo)를 올려놓고 20µl의 멸균수로 확산시키고 적운에서 24시간 배양한 후 生育 阻止圓의 크기를 측정하였다.

또한 각 抽出物의 阻害濃度는 비탁법을 이용 하였다. 확산법을 통해 抗菌活性이 확인된 분획을 일정농도 별로 액체배지에 첨가하여 적운에서 72시간 배양 하면서 spectrophotometer로 660nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>(78)</sup>.

微生物의 生育程度를 spectrophotometer로 측정하여 판단 하였고 抽出物을 넣은 broth를 blank로 사용하였다.

### 6.2 매실의 항균 활성

梅實을 물과 MeOH로 抽出한 extracts의 抗菌 活性 檢索을 위하여 Gram(+)細菌과 Gram(-)細菌, 酵母, 곰팡이에 抽出物 0.5mg/disc을 滴下하여 檢索한 결과는 Table 9와 같다.

시험된 Gram(+)細菌에서는 특히 쌀밥의 主 變敗菌이고 어류의 어육을 變色 시키며 두부를 汚染시켜 팽창을 일으키는 *Micrococcus luteus*에 대해서 water ex.과 MeOH ex. 모두 특이적으로 강한 活性를 나타내었다. 녹말을 함유한 식품의 主 變敗菌이면서 쌀밥에 시큼한 냄새를 주며 산성화 시키는 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*와 *Staphylococcus epidrimidis*에서도 저해활성이 나타났다. 이는 日本人들이 쌀밥 도시락에 梅實 가공품인 우메보시를 넣어 가지고 다니는 習慣과 관련지어 생각해 볼 수 있는 결과로 보인다.

Gram(-)細菌에서는 蛋白質 分解力이 강하여 畜肉과 鷄卵을 腐敗시키며 설사 원인균인 *Proteus vulgaris*와 魚貝類등을 통해 인간에 感染되면 致命的인 *Vibrio parahaemolyticus*, 여름철에 많은 食中毒을 일으키는 *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*등 시험된 모든 균주에 water ex.과 MeOH ex. 모두 抗菌活性를 보였다. 酵母는 높은 산도에서도 뛰어난 生育을 보이는 균주를 선택하여 活性를 본 결과 두가지 抽出物 모두가 강한 抗酵母 活性를 나타냈다. 그러나 곰팡이에서는 *Aspergillus niger*에서 만이 두 抽出物 모두 약

한 活性을 보였을 뿐 그외의 곰팡이에서는 活性을 나타내지 못했다.

주로 生育이 抑制된 균주들에서 MeOH ex.의 活性이 강하였으며, *P. vulgaris*, *M. leteus*에 대해서는 두 抽出物間의 抗菌活性 정도가 비슷한 정도로 Water ex.이 약간 높았다.

Table 9 Antimicrobial activities of water extract and methanol extracts of *Prunus mume*

| Strains                                      | Clear zone on plate(mm) |          |
|--|-------------------------|----------|
|  | Water ex.               | MeOH ex. |
| <i>Vibrio parahaemol-yticus</i> ATCC 17802   | 9.2                     | 12.0     |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 29629     | 11.0                    | 13.2     |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 31030           | 11.1                    | 10.0     |
| <i>Staphylococcus epidrimidis</i> ATCC 12228 | 11.0                    | 13.3     |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6059            | 14.0                    | 10.3     |
| <i>Micrococcus leteus</i> ATCC 21550         | 21.0                    | 19.4     |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 11950            | 9.2                     | 12.2     |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633           | 10.0                    | 12.1     |
| <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404          | 8.2                     | 8.3      |
| <i>Penicillum citrinum</i> IFO 6352          | -                       | -        |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4105    | 10.1                    | 16.0     |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1950     | 9.1                     | 14.2     |

위의 결과를 바탕으로 MeOH ex.을 용매별로 分割한 分割別 結果는 Table 10, Table 11 와 같다.

Table 10 Antimicrobial activities of different solvent fractions from methanol extract of *prunus mume* against several microorganisms (bacteria)

| Strains                                      | Clear zone on plate(mm) |                       |           |          |                      |
|--|-------------------------|-----------------------|-----------|----------|----------------------|
|  | Hexane fr.              | CHCl <sub>3</sub> fr. | EtOAc fr. | BuOH fr. | H <sub>2</sub> O fr. |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802    | 8.2                     | 8.6                   | 18.2      | 15.3     | 9.1                  |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 29629     | -                       | 9.8                   | 21.0      | 15.2     | 10.1                 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 31030           | 9.0                     | 8.2                   | 11.1      | 10.2     | 11.0                 |
| <i>Staphylococcus epidrimidis</i> ATCC 12228 | -                       | 10.0                  | 21.2      | 11.2     | 10.1                 |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6059            | 10.0                    | -                     | 17.3      | 19.2     | 10.2                 |
| <i>Micrococcus leteus</i> ATCC 21550         | 8.7                     | 13.0                  | 22.1      | 19.2     | 16.0                 |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 11950            | 9.0                     | 9.0                   | 12.3      | 15.0     | 10.0                 |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633           | -                       | 8.8                   | 17.2      | 15.1     | 12.0                 |

Table 11 Antimicrobial activities of different solvent fractions from methanol extract of *prunus mume* against several microorganisms(fungi, yeast)

| Strains                                   | Clear zone on plate (mm) |                       |           |          |           |
|---|--------------------------|-----------------------|-----------|----------|-----------|
|   | Hexane fr.               | CHCl <sub>3</sub> fr. | EtOAc fr. | BuOH fr. | water fr. |
| <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404       | -                        | 8.1                   | -         | 8.1      | 8.1       |
| <i>Penicillum citrinum</i> IFO 6352       | -                        | 9.0                   | -         | -        | -         |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4105 | 17.0                     | 13.0                  | 17.3      | 12.2     | 10.0      |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1950  | 8.3                      | 11.0                  | 17.0      | 11.3     | 10.1      |

Gram(-)細菌에서는 *V. parahaemolyticus*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*에서 EtOAc fr.과 BuOH fr.이 강

한 抗菌活性을 보였고 *E. coli* 에서는 모든 획분이 비슷한 抗菌活性을 보였다.

시험된 Gram(+)細菌 모두에 대해서도 EtOAc fr.과 BuOH fr.이 강한 抗菌活性을 보였고 *M. luteus*에서는 H<sub>2</sub>O fr.과 CHCl<sub>3</sub> fr.도 높은 活性을 보였다.

酵母에 대한 抗菌活性은 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4105에서 Hexane fr.과 EtOAc fr.이 강한 活性을 나타냈으며 다른 fr.들도 높은 活性을 나타냈다. *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950에서는 EtOAc fr.가 강한 活性을 보였다.

곰팡이에서는 *Aspergillus niger*에서 CHCl<sub>3</sub> fr., BuOH fr., H<sub>2</sub>O fr.이 아주 微弱한 活性을 보였고 water ex.과 MeOH ex.에 阻害를 받지 않았던 *Penicillium citrinum*에서 CHCl<sub>3</sub> fr.이 약한 活性을 나타내었다.

본 실험에 선택적으로 사용된 食品의 主 腐敗菌들에 대한 梅實의 抗微生物 活性은 곰팡이類를 제외한 Gram(+)細菌, Gram(-)細菌, 酵母에 강한 抗微生物 活性을 나타내었다. 특히, 여름철 致命的인 中毒을 일으키는 *V. parahaemolyticus*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*와 살균의 主 變敗菌인 *M. luteus*에 강한 活性을 보인것은 특이적인 결과로 볼 수 있다.

Paper disc법에서 비교적 큰 阻害力을 보인 EtOAc fr.과 BuOH fr.을 이용하여 梅實 抽出物에 의해 크게 阻害를 받지 않는 곰팡이類를 제외한 나머지 시험 균주에 대하여 濃度別로 阻害活性 정도를 실험하였다.

그 결과 G(+)細菌에 대한 濃度別 阻害活性을 보면 *Bacillus cereus*의 경우 EtOAc fr.500ppm이상이 生育을 阻止.하였으나 BuOH fr.은 100ppm에서도 강한 阻害活性을 보였다. *Bacillus subtilis*는 100ppm의 EtOAc fr.에서 전혀 生育하지 못하였고 예서는 500ppm BuOH fr.에서 강한 阻害를 받아 生育을 하지 못하는 것으로 나타났다. *Micrococcus luteus*는 BuOH fr. 100ppm에서 전혀 生育하지 못하였고 500ppm의 EtOAc fr.에서 阻害를 받았다. *Staphylococcus epidermidis*는 BuOH fr. 100ppm에서 48시간 후 급격한 生育을 보였고 EtOAc fr. 100ppm에서도 약간 生育을 하였으나 그 이상의 濃度에서는 전혀 生育을 하지 못하였다.

한편 G(-)細菌은 대체적으로 G(+)細菌에 비해 항균 활성이 낮았다. *Escherichia coli*는 시험된 모든 획분이 100ppm에서 阻害를 받지 않았고 EtOAc fr. 500ppm에서는 미약한 生育을 보였으며 BuOH fr. 500ppm에서는 60시간 이후에 生育을 시작하였다. *Salmonella typhimurium* 는 EtOAc fr. 500ppm에서는 약간 生育을 하나 EtOAc fr., BuOH fr. 1000ppm에서는 生育을 하지 못했다. *Proteus vulgaris*는 시험된 다른 G(-)細菌들에 비해 강한 阻害를 받는 것으로 나타났다. Paper disc법에서 강한 阻害를 받았던 *Vibrio parahaemolyticus*는 시험된 매질 분획 100ppm이상에서 전혀 生育을 하지 못했다.

酵母의 경우는, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950에 대해 EtOAc fr.은 500ppm에서 50%정도의 낮은 阻害活性을 나타냈으며 BuOH fr.은 500ppm이상의 濃度에서 50%저해 활성을 나타내었다. ATCC4105에 대해서는 EtOAc fr., BuOH fr.모두 1000ppm에서 50%저해 활성을 나타내었다.

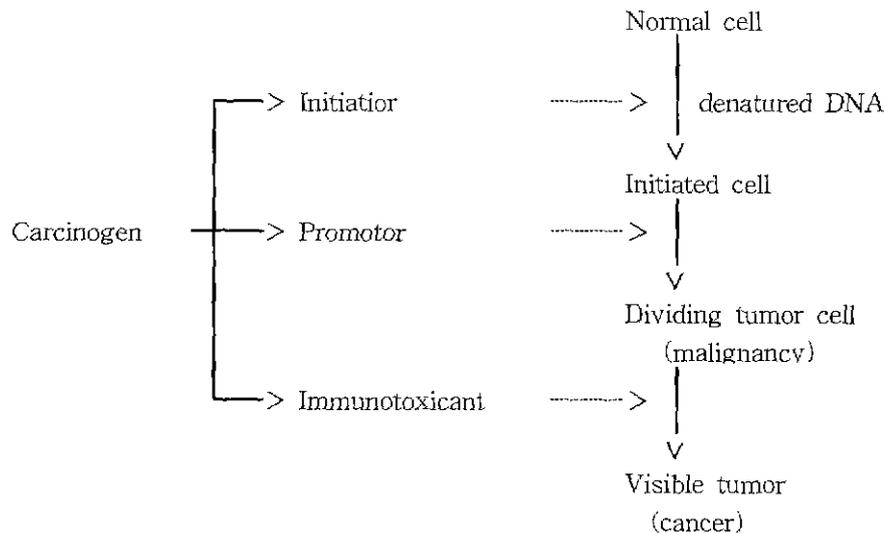
## 7. 항암 효과

광범위한 역학적 조사에 의하면 發癌의 대부분은 環境因子에 基因하는 것으로 나타나 있다. 그 중에서도 식품이 차지하는 비중이 크다. Doll과 Peto<sup>(63)</sup>의 조사에 의하면 전체 發癌因子의 35%가 食物이라고 지적하고 있다. 우리 나라의 경우 癌 死亡者 중 胃癌으로 인한 死亡率이 가장 높은데 이는 식이 및 영양소와 無關하지 않다는 것을 보여주는 단편적인 예이다<sup>(64)</sup>.

화학인자에 의한 발암과정은 복잡하지만 현재 유전자의 손상과정인 initiation과 그 후의 이상증식을 동반한 종양의 현재화(顯在化)과정인 promotion등 2단계로 정리·단순화 하고 있다<sup>(65)</sup>. 각각의 단계에는 화학적으로 다른 물질이 작용하며, 前者에 작용하는 물질은 initiator(發癌劑 및 變異原性 物質), 또 後者에 작용하는 물질은 promotor라 부르며 서로 구별하고 있다. 생쥐 피부 발암실험으로 증명된 이 2단계 가설은 최근 각종 臟器癌에도 적용된다는 것이 밝혀져 小清水 등<sup>(67,68)</sup>에 의해 상세히 정리되었다. 발암억제의 측면에서 이 2단계 가설을 보면 initiation과 promotion의 두 과정을 동시에 또는 각각 독립적으로 저해하면 되는 셈이다. Initiator의 화학적 저해에 관해서는 이미 많은 연구가 되어 있다<sup>(68,69)</sup>. 그러나 initiation 과정은 불가역적이므로 이미 initiator의 작용을 받은 세포에는 효과가 없는 것으로 여겨진다. 한편 promotion은 가역적 과정이며 promoter의 장기간에 걸친 연속적 작용이 요구된다. 이것은 promotion은 도중에 차단할 수 있다는 것을 의미한다. 이상과 같이 현재 발암의 예방적 차원으로 특히 식품성분에 의한 promotion의 억제가

주목받고 있다.(Fig.2)

Fig. 2 Flow sheet of cancer-causing mechanism<sup>(70)</sup>



한편, 녹황색 야채의攝取가 각종 癌에 있어 그 危險을 減少시키는 사실도 밝혀졌다<sup>(71~73)</sup>. 우리가 현재 攝取하고 있는 식품 중에는 發癌 物質, 突然變異 誘發 物質 뿐만 아니라 抗癌 物質, 腫瘍 促進 物質, 抗腫瘍 促進 物質, 抗突然變異 物質등과 같은 여러 가지 조절소가 포함되어 있다<sup>(72~75)</sup>.

식품 중에는 phenols, indoles, aromatic isothiocyanates, methylated flavones, coumarines, plant sterols, selenium salts, protease inhibitors, ascorbic acid, tocopherols, retinol 및 carotenes 등의 여러가지 發癌 阻害劑가 포함되어 있으며 이러한 阻害劑들이 發癌過程에서 이들이 作用하는 時期에 따라 最終 發癌物質로 의 形成을 막거나 發癌物質이 target sites에 도달하는 것을 막는 blocking agents로, 또는 發癌物質 뒤에 投與했을 때 效果적인 것으로 initiator가 DNA에 作用한 후 發癌의 課程을 막는 suppressing agents로서 作用한다<sup>(68)</sup>.

이와 같이 식품은 단순히 發癌과 깊은 관련을 맺고 있을 뿐만 아니라 그 抑制에도 중요한 열쇠를 쥐고 있는 것이다. 식품의 抗腫瘍性은 生體防禦 機能의 하나로서 이 機能을 가진食品成分을 癌細胞에 직접 作用시켜 그의 致死效果를 보는 것으로 癌細胞 致死作用을 가지는 食品成分을 screening 할 수 있다<sup>(78)</sup>.

## 7.1 항암성 측정

본 실험은 MTT 檢索法<sup>(111)</sup>을 사용 하였으며 胃癌細胞는 본 실험은 MTT 檢索法<sup>(111)</sup>을 사용 하였으며, 胃癌細胞는 성장속도가 빠른 SNU-1 胃癌細胞株를 서울대 의대에서 분양받아 사용 하였다.

이 실험은 生存細胞(viable cell)의 酵素作用에 의해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5diphenyltetrazolium bromide(MTT)가 환원되어 formazan crystal로 집진되는 정도를 흡광도를 측정하여 이로부터 細胞增殖 抑制劑에 의해 細胞가 死滅 또는 增殖抑制되는 정도를 파악 하였다.

## 7.2 매실의 항암 활성

Gastric cancer cell line에 대한 물추출구의  $IC_{50}(\mu g/ml)$ 는  $153\mu g/ml$ 이었다. 일반적으로  $IC_{50}$ 가  $300\mu g/ml$ 이하 일때 抗癌活性을 가지고 있는 것으로 볼 때<sup>(108)</sup>  $153\mu g/ml$ 의 수치는 活性을 가지고 있다고 볼수 있다.

이는 抗癌 治療劑로 많이 쓰이는 Vp-16 (etoposide)의  $0.1\mu g/ml$ 에는 미치지 못 하지만 이 실험의 시료가 가정에서 梅實 수확철에 만드는 방식을 취한 단순한 물추출구로서 일반 식품(茶類)으로 보면 梅實의 꾸준한 常食은 癌細胞의 發生과 增殖의 抑制에 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

많은 식물이 抗癌活性을 가지고 있는 것으로 보고된 바는<sup>(116~126)</sup> 있지만 인간이 식품으로서 항시 접할 수 있고 常食 할 수 있는 식물들 중에서는 지금까지 오미자( gastric cancercell에 활성 )가 抗癌活性( 有效成分 : gomisin A )을 가지고 있는 것으로 보고된 바 있다<sup>(116)</sup>.

## 8. Angiotensin I 전환효소(ACE) 저해 활성

Angiotensin I 전환효소( angiotensin I - converting enzyme ; ACE, EC 3.4.15.1 )는 不活性인 angiotensin I 의 C단말 histidine-leucin을 절단하여 血管收縮 등의 강한 血壓上昇 作用을 하는 angiotensin II를 생성시키며, 한편으로는 강한 血管擴張 作用을 갖는 bradykinin을 分解하는 作用을 하는 昇壓係 酵素이다<sup>(78)</sup>. 이 ACE의 作用을 阻害 함으로써 高血壓症의 治療가 가능하다<sup>(79,80)</sup>

당초 ACE 阻害物質은 bradykinin이 나타내는 平滑筋 收縮作用을 增強시키는 peptide로써 蠅 毒 中에서 발견되어 bradykinin potentiator로 불려졌으나 Ondetti등<sup>(81)</sup> 은 蠅 毒 中에서 peptide를 model로 하여 강력한 ACE 阻害物質인 captopril(D-3-mercapto2-methylpropanoyl-L-proline)을 合成하여 高血壓 治療藥으로서의 實用化에 成功 하였다. 이후 enalapril등 많은 ACE 阻害物質이 化學合成 되었으며<sup>(82)</sup> 또한 微生物 培養液으로 부터도 screening 되었다.

Gelatin의 微生物 collagenase 加水分解液<sup>(83)</sup>이나 우유 casein의 trypsin 加水分解液<sup>(84)</sup>에서 ACE 阻害活性을 갖는 것이 보고 되었다<sup>(85)</sup>. 그후 옥수수, 대두, 쌀, 오끼아미, 정어리, 가다랭이 등의 蛋白質의 酵素 加水分解物로 부터도 다종의 ACE 阻害 peptide가 보고 되었다<sup>(85~88)</sup>.

한편, peptide성 阻害物質 이외에 녹차성분인 catechin류, theaflavin류 등에도 ACE 阻害活性이 보고 되고 있다<sup>(78)</sup>.

### 8.1 Angiotensin I 전환효소(ACE) 저해 활성도 측정

ACE 阻害活性 측정은 Cushman등<sup>(79)</sup>의 방법을 변형한 川岸舜朗등<sup>(73)</sup>의 방법과 또한 과정을 변형하여 川岸舜朗등<sup>(78)</sup>의 방법의 결과와 비교하여 阻害物質이 competitive inhibitor인지 noncompetitive inhibitor인지를 推定 하였다. 완충액은 sodium borate 완충액(pH 8.3)<sup>(114)</sup>를 만들어 ACE(토끼의 폐에서 추출, sigma)를 활성이 60mU/ml가 되도록 조절하고 기질은 7.6mM hippuryl-histidyl-leucine(sigma) 및 608mM NaCl을 완충용액에 용해시켜 pH 8.3으로 맞춘다( 반응액 중에서 최종농도를 각각 5mM, 400mM이 되게 함) 시험관에 30 $\mu$ l의 시료용액, 250 $\mu$ l의 기질(hip-his-leu)용액을 넣고 37 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 5분간 보온한다. 100 $\mu$ l의 ACE 용액(6mU)을 첨가하여 바로 교반한 후 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응 시킨다. 1N HCl 250 $\mu$ l를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 1.5ml의 ethylacetate를 첨가하여 충분히 교반시켜 유리된 hippuric acid를 추출한다. 3000rpm에서 10분간 원심분리 후, 상층의 ethylacetate를 0.5ml 회수하여 데시케이터 안에 넣고 水流 aspirator로 ethylacetate를 흡입 제거한다. 제거 확인 후 4ml의 증류수를 가하여 교반하여 hippuric acid를 용해한다. 용해액을 spectrophotometer로 228nm에서 흡광도를 잰다.

실험 순서를 변형한 방법은 試料 30 $\mu$ l에 100 $\mu$ l의 ACE 용액(6mU)을 첨가한 후 250 $\mu$ l의 기질(hip-his-leu)용액을 넣고 반응을 시킨 후 川岸舜朗등<sup>(78)</sup>의 방법에 따른다.(Fig.3)

試料용액을 첨가한 때의 흡광도를 Es, 시료 대신 증류수를 첨가한 때의 흡광도를 Ec, 미리 1N 염산을 첨가한 구를 Eb로 하여 다음과 같은 식으로 阻害率을 구하였다.

$$\text{Inhibition ratio(\%)} = \frac{E_c - E_s}{E_c - E_b} \times 100$$

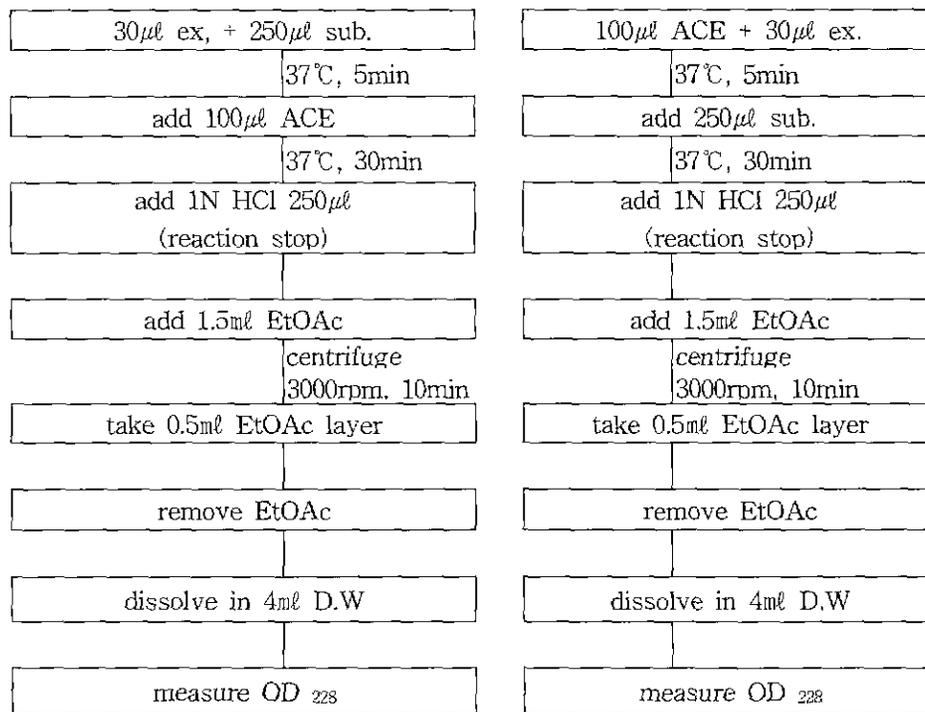


Fig. 3 Flow diagram for ACE inhibition test by *Prunus mume* extracts

## 8.2 매실의 angiotensin I converting enzyme(ACE) 저해활성

기질( Hip-His-Leu )과 시료를 test tube에 넣은 후 시간 간격을 두고 ACE를 첨가하여 반응 시킨 실험에서는 阻害率이 H<sub>2</sub>O fr.에서 85.2%로 가장 높게 나왔으며 물추출구에서도 76.5%, MeOH층은 31.3%의 阻害率이 나왔다. 그외의 추출구에서는 거의 유의한 활성을 나타내지 않았다.

한편, ACE와 시료를 넣은 후 시간적 간격을 두고 기질( Hip-His-Leu )을 첨가하여 반응시킨 실험에서는 물추출구가 79.7%로 가장 높았고, H<sub>2</sub>O fr.이 55.3%, MeOH fr.이 48.2%, BuOH fr.이 19.05%, hexan fr.은 13.1%의 결과를 보였다.(Table 12)

Table 12 Inhibitory effect of *Prunus mume* extracts against angiotensin I-converting enzyme(ACE) activity : 1 ; add ACE to a mixture of ex. and sub.(Hip-His-Leu) after an interval , 2 ; add sub.(Hip-His-Leu) to a mixture of ex. and ACE after an interval

|                       | ACE inhibition ratio(%) |      |
|-----------------------|-------------------------|------|
|                       | 1                       | 2    |
| Water ex.             | 79.7                    | 76.5 |
| MeOH ex.              | 48.2                    | 31.3 |
| Hexane fr.            | 13.1                    | -    |
| CHCl <sub>3</sub> fr. | -                       | -    |
| EtOAc fr.             | -                       | -    |
| BuOH fr.              | 19.0                    | -    |
| H <sub>2</sub> O fr.  | 55.3                    | 85.2 |

\* The amount of sample used was 500 $\mu$ g

이러한 결과는 도등<sup>(127)</sup>과 강등<sup>(128)</sup>이 보고한 결명자, 대추, 들깨, 모과, 오미자, 오갈피, 생강, 솔잎, 쪽의 阻害率 보다 높은 수치이다. Water ex.와 H<sub>2</sub>O fr.이 높은 阻害能을 보인 것은 솔잎과 쪽에서 열수추출물이 높은 阻害率을 보인 것<sup>(128)</sup>과 일맥상통한다.

이 결과로 볼때 梅實은 ACE의 阻害活性이 있다고 판단 되어지며 梅實 抽出物의 ACE阻害作用은 Km, Vmax등 완전한 酵素的 반응 결과를 보아야 하겠지만 위 결과를 토대로 推論해볼때 noncompetitive inhibitor로서 작용하는 물질을 가지고 있다고 생각된다.

실험결과 梅實의 ACE 阻害活性 정도는 梅實을 茶類나 다른 식품으로 꾸준히 먹었을때 血壓上昇 豫防에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다

## 9. Trypsin 저해 활성

Trypsin 阻害物質은 消炎作用, 變異誘發 阻止 및 發癌에 따른 癌轉移 阻止등 많은 疾病에 대한 效果가 보고 되고 있다<sup>(106)</sup>. 體液중의 蛋白質 分解酵素의 식별, affinity chromatography의 활성기 또는 복잡한 生體反應에 관한 蛋白質 分解酵素의 기능을 해석하는 시약으로 이용되는 등<sup>(107,108)</sup> 그 활용 범위가 넓어지고 있어<sup>(109)</sup> 이에 대한 깊이 있는 연구가 필요 할 것으로 사료된다.

### 9.1 Trypsin 저해 활성도 측정

Trypsin 阻害活性은 AACC의 방법<sup>(115)</sup>을 변형하여 다음과 같은 2가지 방법으로 실험 하였다. pH8.2에 맞춘 tris-HCl buffer<sup>(114)</sup>를 만들고 trypsin(sigma)용액 1ml와 각 추출물 1ml를 혼합한 후, 37°C에서 30분간 전처리 한 후 기질로 N-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide HCl(BAPA, sigma) 2.5ml를 가하여 37°C에서 정확히 20분간 반응시킨 후 30% 초산으로 반응을 정지시키고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 후 spectrophotometer로 410 nm 에서 흡광도를 측정한다. 또 다른 방법은 시료와 기질(BAPP, sigma)을 먼저 반응 시키고 효소(trypsin, sigma)를 넣고 위방법에 따라 실험을 수행 했다.(Fig.4)

위 방법의 결과를 비교하여 阻害物質의 阻害 方法을 推論 하였다.

阻害率은 ACE 阻害率의 환산법과 같이 하였다.

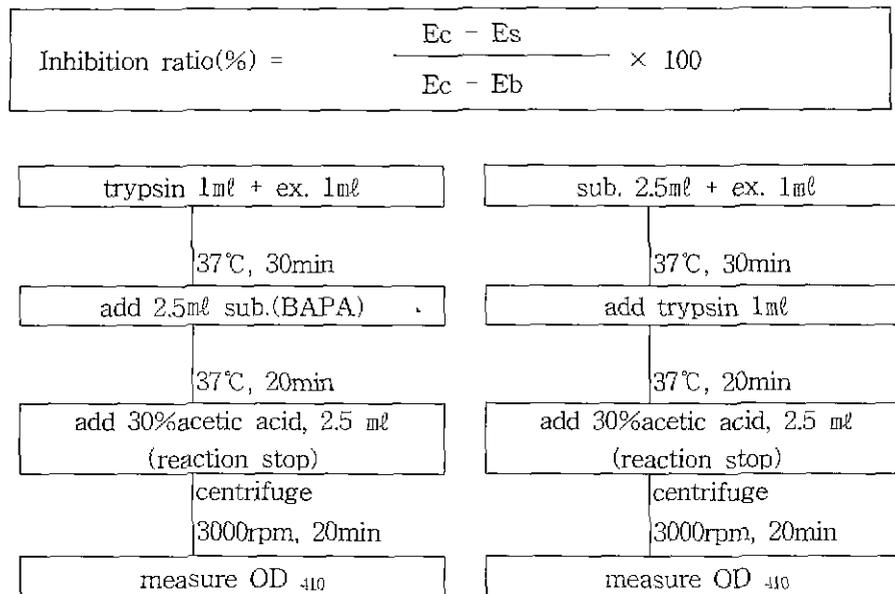


Fig. 4 Flow diagram for trypsin inhibition test by extracts of *Prunus mume*

## 9.2 매실 성분의 trypsin 저해활성

검색시료와 trypsin을 반응시킨 후 기질( BAPA )을 첨가한 실험에서 trypsin 阻害活性 결과는 H<sub>2</sub>O fr. 이 88.5%로 가장 높은 活性을 나타냈고, MeOH fr., 물추출구, EtOA fr., BuOH fr., CHCl<sub>3</sub> fr., hexane fr. 이 모두 50%이상의 강한 活性을 나타냈다. 이는 박등<sup>(129)</sup>이 보고한 환삼덩굴, 김<sup>(130)</sup>의 꾸지뽕나무잎 추출물의 阻害率 보다 강한 阻害力을 보여주는 것이다.(Table12)

그러나 시료와 기질( BAPA )을 반응시킨 후 trypsin을 첨가한 실험에서는 모든 추출구가 전혀 活性을 나타내지 않았다.

이는 추출물의 trypsin 阻害活性 성분이 trypsin의 active site와 반응하여 trypsin을 不活性化 하는 것으로 생각된다. 이를 볼때 梅實 추출물의 trypsin 阻害作用은 competitive inhibition으로 推論해 볼 수 있다.

Trypsin 阻害活性은 消炎作用, 變異誘發 阻止 및 發癌에 따른 癌轉移 阻止 등 疾病에 效果를 가지고 있다고 보고된 바 있다<sup>(101,102)</sup>. 梅實 물추출물이 抗癌活性 결과와 trypsin 阻害活性의 결과를 볼 때 梅實은 機能性 식품으로서 役割을 수행 할 수 있는 可能性을 가지고 있는 것으로 생각된다.

Table 13 Inhibitory effect of *Prunus mume* extracts against trypsin activity :  
1 ; add trypsin to a mixture of ex. and sub.(BAPA) after an interval ,  
2 , add sub.(BAPA) to a mixture of ex. and trypsin after an interval

|                       | Trypsin inhibition ratio (%) |      |
|-----------------------|------------------------------|------|
|                       | 1                            | 2    |
| Water ex.             | -                            | 73.1 |
| MeOH ex.              | -                            | 83.1 |
| Hexane fr.            | -                            | 51.2 |
| CHCl <sub>3</sub> fr. | -                            | 76.0 |
| EtOAc fr.             | -                            | 80.3 |
| BuOH fr.              | -                            | 81.1 |
| H <sub>2</sub> O fr.  | -                            | 88.5 |

\* sample : 500 $\mu$ g, trypsin solution 12 $\mu$ g/ml, BAPA solution 400 $\mu$ g/ml

### 참고문헌

1. 문관심 : 약초의 성분과 이용, 일월서각, 299 (1994)
2. 김태정 : 한국의 자원식물, 서울대학교 출판부, II, 160 (1996)
3. 日本果汁協會 : 果汁果實飲料事典, 朝倉書店, 315(1983)
4. 兒嶋佳世子 : 八木孝夫 奥田拓男, 日本生化學會誌, **36(4)**, 196(1982)
5. 川野郁夫 : 食品의 試驗と研究, **16**, 14-16(1978)
6. 森健, 村岡信雄, 花雄, 日本食品工業學會誌, **14(5)**, 187 (1967)
7. 심기환, 성낙계, 최진상의 1 : 매실의 성숙중 주요성분의 변화, 한국 영양식량학회지, **18(1)**, 101(1989)
8. 송보현 : 매실의 풍미향상에 관한 연구, 농업진흥청(1993)
9. 약품식물학회 : 약품식물학 각론, 학창사, 200 (1980)
10. 神農本草經, 文光圖書有限公司, 193 (1971)
11. 李時珍 : 圖解本草綱目, 高文社, 992 (1983)
12. 辛民教 : 臨床本草學, 南山堂, 581 (1986)
13. 許浚 : 東醫寶鑑, 南山堂, 1161 (1967)
14. 李文宰 : 漢方養生, 경원문화사, 133, 252 (1976)
15. 東醫學事典, 과학백과사전종합출판사, 290 (1990)

16. 佐藤公一, 森英男外 三人 : 日本果樹園藝大事典, 養賢堂, 720 (1972)
17. 차환수 : 한국산 매실의 성숙중 이화학적 특성과 저장중 포장조건에 따른 품질특성 변화, 경희대 박사 논문(1998)
18. 정지훈 : 매실의 시기별 화학적 성분, 전남대학교 농어촌 개발 연구, 20,61(1985)
19. 신수철 : 매실의 수확시기별 성분의 변화, *J. Oriental Bot. Res.*, 8,259(1995)
20. 송보현, 최장전, 이광열외 3인 : 매실의 풍미향상에 관한 연구, 순천대학교 농과대학 (농촌진흥청 연구 과제) 1차년도 보고서(1993)
21. 乙黒親男, 金子憲太郎 : 小ウメ果實の生育における成分の變化について, 日本食品低溫寶藏學會誌, 20,13(1994)
22. 문재식 : 성숙과정중 매실의 이화학적 특성변화, 경희대학교 석사학위 논문(1994)
23. 송보현, 최갑성, 김용두 : 매실품종과 수확시기에 따른 이화학적 특성과 향기성분의 변화, 한국저온저장학회지, 4,77(1997)
24. 垣内典夫, 石川和子外 三人 : うめ果實の有機酸と遊離アミノ酸の熟度及び品種別變化, 日本食品工業學會誌, 32,669(1985)
25. 乙黒親男, 小宮山美弘外 二人 : 收護熟度別中ウメ'白加賀'果實の追熟に伴う成分の變化, 日本食品低溫寶藏學會誌, 20, 92(1994)
26. 乙黒親男, 金子憲太郎, 小宮山美弘 : 小ウメ'甲州小梅'果實の生理特性と成分に及ぼす收護時期および貯藏溫度の影響, 日本食品低溫寶藏學會誌, 20,73(1994)
27. 乙黒親男, 通川芳仁 : ウメ果實の品種別成分の比較, 日本食品低溫寶藏學會誌, 20,29(1994)
28. Kameoka, H. and Kitagawa, C. : 梅の果實の成分について, 日本農化學會誌, 50,389(1976)
29. 松本紘齋 : 梅ばし健康法, 潮出版社(1975)
30. 牛尾盛保 : 梅干の秘密, 新評社(1975)
31. 長谷部秀明 : ウメの品種と栽培, 農産漁村文化社(1980)
32. 横田昌典 : 梅效能과 療法, 日東書院. 14-53(1983)
33. 松本紘齋 : 梅は效く, 主婦の友社(1985)
34. 三橋一夫 : 梅干健康法, エール
35. 谷津三雄 : 健心健康法, 陰陽脈診(1996)
36. 松本紘齋 : 梅實の神秘, 自然醫學社(1995)
37. 이태훈, 백정미, 황우익 : 암세포 증식에 미치는 *Prunus mume* extract의 영향 연구, 고려대학교 논집, 25,365(1988)
38. 최건우, 이강평 : 매실 농축액 복용이 All-Out 운동 후 회복정도에 미치는 영향, 한양대학교 박사논문 (1991)
39. 윤미숙, 이인재 : 매실 엑기스 섭취가 혈중 유산소농도와 혈청지질 성분에 미치는 영향, 경남대학교 석사논문(1988)
40. 박성희, 이청무 : 매실 엑기스 구강투여에 따른 유산소성 운동능력의 변화, 숙명여대 석사 논문(1993)
41. 김경숙, 이인환 : Prunus屬 식물(종자)의 항균력과 활성물질에 관한 연구, 이화여대 석사논문(1986)
42. 신동화 : 천연 항균성 물질의 연구 현황과 식품가공에의 이용, 식품과학과 산업, 23,68(1990)
43. Beauchat, L.R. and Golden, D.A. : Antimicrobials occurring naturally in food, *FoodTechnology*, 43,134(1989)
44. Ashton, D. H. and Busta, F.F. : Milk components inhibitory to *Bacillus stearothermophilus* by iron, calcium and magnesium. *Appl. Microbiol.*, 16,628(1968)
45. Freese, E., Sheu, C.W. and Gallier, S.E. : Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives, *Nature*, 241,321(1973)
46. Cox, N.A., Mercuri, A.J., Juven, B.J., Thomson, J.E. and Chew, V. : Evaluation of succinic acid and heat to improve the microbiological quality of poultry meat, *J. Food. Sci.*, 39,985(1974)
47. Neiman, C. : Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganism, *Bacterial. Rev.*, 18,147(1985)
48. Sahika, E. A. and Mehmet, K. : Sensitivity of some common food poisoning bacteria to thyme, mint and bay leaves, *Inter. J. Food Microbiol.*, 3,349(1986)
49. 이병완, 신동화 : 식품 부패 미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지, 23(2),200(1991)
50. 이병완, 신동화 : 식품 부패 미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균특성, 한국식품과학회지, 23(2),205(1991)
51. 박옥연, 장동석, 조화래 : 한약재 추출물의 항균효과 검색, 한국영양식량학회지, 21(1),91(1992)
52. Briozzo, J., Nunez, L., Churife, J., Herszage, L. and D'Aquino, M. : Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution, *J. Appl. Bacteriol.*, 66,69(1989)
53. 김근영, 정동욱, 정희중 : 여성초의 화학성분 및 항미생물활성, 한국식품과학회지, 29,400(1997)
54. 백수봉, 오연선 : 토양병원균 *Pythium ultimum* 방제를 위한 항균성 약용식물의 탐색, 한국균학회지, 18,102(1990)
55. 강성국 : 무화과 잎중의 항미생물 물질, 전남대학교 박사 학위논문(1994)
56. 양민석, 하영래, 남상해외 2 : 국내 자생식물의 항균활성, 한국농화학회지, 38,584(1995)

57. 김선재, 박근형 : 부추의 향미생물 활성물질, 한국식품과학회지, 28,604(1996)
58. 한지숙, 신동화, 윤세익, 김문숙 : *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용가능한 식물 추출물의 검색, 한국식품과학회지, 26,545 (1994)
59. 신동화, 한지숙, 김문숙 : 방기 및 감초의 에탄올 추출물이 *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 26,627(1994)
60. 조순영, 유병진, 장미화, 이수정의 2인 : 수산 미이용 자원중에 존재하는 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지, 26,261(1994)
61. 김옥경, 이은방 : 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구, 생약학회지, 24,213(1993)
62. 김미정, 변명우, 장명숙 : 대나무잎의 생리활성 및 항균성 효과, 한국영양식량학회지, 25,135(1996)
63. Doll, R. and Peto, R. J., The cause of cancer, *Natl. Cancer Inst.*, 66,1191(1981)
64. 96년도 한국 종양 암 등록 사업보고서, 보건복지부(1998)
65. Berenblum, I., *Cancer Res.*, 1, 44 (1941)
66. 小清水弘 -, *Health Digest*, 7(4), 1(1992a)
67. 小清水弘 -, *Health Digest*, 7(5), 1(1992b)
68. 小清水弘 -, *Health Digest*, 7(6), 1(1992c)
69. Wattenberg, L. W. : Chemoprevention of cancer, *Cancer Res.*, 45,1(1985)
70. 조재선, 황성연, 식품학, 광일문화사, 313(1997)
71. Hirayama, T., *Nutr. Cancer*, 1,67-81(1979)
72. 平山雄, 糖の臨床, 36,233-242(1990)
73. 廣畑富雄, *CRC*, 1,155-161(1992)
74. Sugimura, T. : Mutagens, carcinogens and tumor promoters in our dairy food, *Cancer*, 49,1970(1982)
75. Ames, B. N. : Dietary carcinogens and anticarcinogens : Oxygen radicals and degenerative disease. *Science*, 221, 1256(1983)
76. Sugimura, T. and Sato, S., *Cancer Res.*, 43,2415(1983)
77. Wattenberg, L. W. : Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents, *Cancer Res.*, 43,2448(1983)
78. 川岸舜朗外 十七人 : 식품중의 생체기능조절물질 연구법, 송현문화사, 121-134(1996)
79. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. : Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung, *Biochem. Pharmacol.*, 20,1637(1971)
80. 池木文彦, 岩尾 洋, 山本研二郎 : 高血壓の生化学, 化学と生物, 19(8),482(1981)
81. Ondetti, M. A., Rubin, B. and Cushman, D. W., *Science*, 196,44(1977)
82. Wyvratt, M. J., Patchett, A. A., *Med. Res. Rev.*, 5,483(1985)
83. Oshima, G., Shimabukuro, H. and Nagasawa, K., *Biochim. Biophys. Acta.*, 566,128(1979)
84. Maruyama, S. and Suzuki, H., *Agric. Biol. Chem.*, 46,1393(1982)
85. 鈴木建夫, 石川宣子, 日黒 照, 農化誌, 57,1143(1983)
86. 河村幸雄, 食品工業, 33,20(1990)
87. 千葉英雄, 吉川正明, 化学の生物, 29,454(1991)
88. 丸山 進, *Biomedica*, 8,40(1993)
89. Maruyama, S. and Suzuki, H. : A peptide inhibitor of angiotensin I converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein, *Agric. Biol. Chem.*, 46(5),1393(1982)
90. Maruyama, S., Mitachi, H., Awaya, J., Kurono, M., Tomizuka, N. and Suzuki, H. : Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of C-terminal hexapeptide of  $\alpha_{s1}$ -casein, *Agric. Biol. Chem.*, 51(9),2557(1987)
91. Kohmura, M., Nio, N. and Ariyoshi, Y. : Inhibition of angiotensin I converting enzyme by synthetic peptide fragments of human  $\kappa$ -casein, *Agric. Biol. Chem.*, 54(3),835(1990a)
92. Kohmura, M., Nio, N. and Ariyoshi, Y. : Inhibition of angiotensin I converting enzyme by synthetic peptide fragments of various  $\beta$ -caseins, *Agric. Biol. Chem.*, 54(4),1101(1990b)
93. Maruyama, S., Miyoshi, S. and Tanaka, H. : Angiotensin I converting enzyme inhibitors derived from *Ficus carica*, *Agric. Biol. Chem.*, 53(10),2763(1989)
94. Kassell, B. : Naturally occurring inhibitors of proteolytic enzymes, *Methods in Enzymology*, vol.19, 389(1971)
95. Yoda, K. : Instability of potato proteinase inhibitor I against pepsin, *Agric. Biol. Chem.*, 46(2),541(1982)
96. Yoshikawa, M. K. Yokota and K. Hiraki : Purification and some properties of a subtilisin inhibitor from adzuki beans, *Agric. Biol. Chem.*, 49(2),367(1985)

97. Laskowski, M., JR and R. W. Sealock : Proteinase inhibitors in the enzymes vol.3, Academic Press N. Y., 375(1971)
98. Vogel, R., I. Trautschold and E. Werle : *Naturliche Proteinase Inhibitoren* Thieme, Stuttgart(1966)
99. Umezawa, H. : *Enzyme Inhibitors of Microbial Origin*, Univ. of Tokyo Press (1972)
100. Aoyagi, T. : *Bioactive peptides by Microorganisms*(ed) by Umezawa, H., T. Shiba and T. Takita, Kodansha Scientific Press (1987)
101. Aoyagi, J. : Biological activity of pepstatins peopstanone and partial peptides on pepsin, cathepsin D and reanin, *J. Antibiot*, **25**(12),689-694(1972)
102. Ichishima, E. : The structure and activity of acid proteinase, *J. Antibiot*, **25**, 269-279(1972)
103. Morishma, H. : The structure of pepstatin. *J. Antibiot*, **23**(5), 263-265(1970)
104. Rich, D. H. and E. T. O. Sun : Mechanism of inhibition of pepsin by pepstatin. II.Effect of inhibitor structure on dissociation constant and time-dependent inhibition, *Biochem. pharmacol.*, **29**,2205-2212(1980)
105. Umezawa, H., T. and J. Aoyagi : Pepstatin a new pepsin inhibitor produced by Actinomycetes, *J. Antibiot.*, **23**(5),259-262(1970)
106. 류병호, 이주화외2 : Streptomyces S-217 에 의한 Trypsin 저해물질의 생산및 정제, 산업미생물학회지, **20**(5), 534(1992)
107. 류병호, 이주화, 신동분, 김동석 : Streptomycetes S-217에 의한 trypsin 저해물질의 생산 및 정제, 산업미생물학회지, **20**,534(1992)
108. Umezawa, H. : *Enzyme Inhibitors of Microbial Origin.*, Univ. of Tokyo Press, 1(1972)
109. Clyde, E. S. : Trypsin inhibitor measurement : Effect of order of reagent addition, *Cereal Chem.*, **70**,111(1993)
110. 양용만, 현진원, 임경화의 9 : 전통 약용식물 및 각종 식물의 항암효과에 대한 연구, 생약학회지, **20**(2),105(1996)
111. K. Shinohara, *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2225(1986)
112. Frazier, W. C., Westhoff, D. C. : *Food microbiology 3rd.* McGraw-Hill(1977)
113. 鄭東孝 : *食品微生物學*, 先進文化社(1980)
114. D. D. Perrin, Boyd Dempsey : *Buffers for pH and Metal Ion control*, Chapman and Hall (1979)
115. AACC : *Aproved methods of the AACC*, Method71-10, American Association of Cereal Chemists, Inc. st. Paul. Minnesota, (1982)
116. 서울대학교 천연물과학연구소 . 신동의약 개발사업 연구기획 최종보고서,226(1992)
117. Koshimizu, K., Ohigashi, H., Tokuda, H., Kondo, A. and Yamaguchi, K., *Cancer Lett.*, **39**, 247-257(1988)
118. Ishii, R., Yoshikawa, K., Mihakata, H. and Kata, T. : Specificities of bio-antimutagens in plant kingdom, *Agric. Biol. Chem.*, **48**,2587(1984)
119. Meng, Z. M., Sakai, Y., Ose, Y., Sato, T., Nagase, H., Kito, H., Sato, M., Mizuno, M., Ono, K. and Nakane, H. : Antimutagenic activity by the medicinal plants in traditional Chinese medicines, *Shoyakaku Zasshi.*, **44**,225(1990)
120. 박희준 : 와송의 화학성분 및 항돌연변이 활성에 관한 연구, 부산대학교 박사학위논문 (1991)
121. 박수완 : 비파엽의 triterpenoid 성분과 약리작용에 관한 연구, 경성대학교 석사학위논문(1991)
122. 김민선 : 개오동나무 수피의 화학성분 및 생리활성에 관한 연구, 부산대학교 석사학위논문(1992)
123. 황우익, 이성용, 손홍수, 백나경, 지유환 : 마늘성분에 의한 면역증강 및 항암효과, 한국 영양식량학회지, **19**(5), 494(1990)
124. 이영숙, 김동석, 류병호, 이성호 : 파래와 곤피에서 추출한 당단백질의 Sarcoma-180 cell 에 대한 항암효과 및 면역활성, 한국영양식량학회지, **21**(5),544(1992)
125. 이정규, 박수완, 정해영, 양한석, 서석주, 박진영 : 비파의 Ursolic acid성분의 항암작용기전, 대한암학회지, **23**(2), 206(1991)
126. 김교식, 백정미, 황우익 : 국산 항암성 생약제로 부터 항암성분의 추출 및 그의 항암활성측정, 고대의대 논문집, **25**,759(1988)
127. Zvi Bohak , Nathansharon : *Biotechnological applications of proteins and enzymes*, Academic Press(1977)
128. 강운환, 박용곤, 오상룡, 문광덕 : 솔잎과 쑥 추출물의 기능성 검토, 한국식품과학회지, **27**(6),978(1995)
129. 박승우, 우철주, 정신교, 정기택 : 환삼덩굴의 용매 분획별 항균성 및 항산화성. 한국식품과학회지, **26**(4),464 (1994)
130. 김성환 : 꾸지뽕나무잎의 생리활성 및 HPLC에 의한 성분의 정량, 경상북도 보건환경연구원보, **5**, 37(1992)
131. 菊崎泰崎, *Aromatopia*, **2**,40-42(1993)
132. AOAC : *Official method of analysis*. 14th ed., Association of Official Analytical Chemist, Washington.(1984)

133. 原 征彦, 松崎妙子, 鈴木建夫, 農化誌, **61**,803(1987)
134. Nicholas C. Price., Lewis Stevens : Fundamentals of Enzymology 2nd, Oxford Science Press (1980)
135. Hans Ulrich Bergmeyer : Methods of Enzymatic Analysis 3rd, Verlag chemie (1981)
136. Malcolm Dixon and Edwin C. Webb : Enzymes 3rd, Longman(1979)
137. Thomas E. Barman : Enzyme Handbook, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York (1969)
138. Lehninger : Principles of Biochemistry, Worth
139. 松木紘齋 : 梅白科, 保育社, p100 (1980)
140. 황현주, 안은미, 백남인, 조재선, 김해영 : 오매(Fructus Mume)의 항산화 물질의 분리 및 특성연구, 경희대 식량자원개발연구소논문집, **19**, 21(1998)
141. Barnen, A. L. : Toxicological and biochemistry of BHA, BHT. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 59(1975)
142. Farag, R. S., Ali, M. N. and Taha, S. H. : Use of some essential oils as natural preservatives for butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**, 188 (1990)
143. Maeura, Y., Weisburger, J. H. and Williams, G. : Dose-dependent reduction of N-2-fluorenylacetamide-induced liver cancer and enhancement of bladder cancer in rats by BHT. *Cancer Res.*, **44**, 1604-1610 (1984)
144. Cort, W. M. : Antioxidant activity of tocopherols and ascorbyl palmitate and ascorbic acid and the mode of action. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 321-325 (1974)
145. Koskas, J. P., Cillard, J. and Cillard, P. : Antioxidation of linoleic acid and behavior of its hydroxides with and without tocopherols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1466-1469 (1984)
146. Nishima, A. : Antioxidant effects of tocopherols and L-ascorbic acid on ethyl eicosapentaenoate and methyl linolate. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1665-1668 (1991)
147. Han, D., Yi, O. S. and Shin, H. K. : Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micells. *J. Food. Sci.*, **55**, 247-249 (1990)
148. Halliwell, B., Hoult, R. J. and Blake, D. R. : Oxidants, inflammation, and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, **2**, 2867-2870 (1988)
149. Freeman, B. A., and Crapo, J. D. : Biology of disease Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, **47**, 412-418 (1982)
150. Granger, D. N. and Parks, D. A. : Role of oxygen radical in the pathogenesis of intestinal ischemia. *The Physiologist*, **26**, 159-163 (1983)
151. Nohl, H. and Jordan, W. : the metabolic fate of mitochondrial hydrogen peroxide. *Eur. J. Biochem.*, **11**, 203-205 (1980)
152. Asada, K. : Damage of protein by active oxygen. *Nippon Nokeijagaku Kaishi*, **62**, 1100-1103 (1988)
153. Pivnick, H., Ribin, L. J. and Al-Dabbagh, S. A. : The estimation of nitrite and nitrate in saliva and urine. *Analytical Biochemistry*, **131**, 242-245 (1983)
154. Fox, J. B. : The chemistry of meat pigments. *J. Agric. Food Chem.* **14**, 207-210 (1966)
155. Phizackerley, P. J. R. and Al-Dabbagh, S. A. : The estimation of nitrite and nitrate in saliva and urine. *Analytical Biochemistry*, **131**, 242-245 (1983)
156. 박영호, 장동석, 김선봉 : 수산가공이용학, 형설출판사, p580 (1994)
157. Peter, F. S. : The toxicology of nitrate and N-nitrosocompound. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1761 (1975)
158. Corsby, N. T. and Sawyer, R. : N-nitrosamine ; A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. "Advances in food research", Academic press, **21**, 1-56 (1976)
159. Dutton, A. and Health, D. F. : The detection of metabolic products from dimethyl nitrosamine in rats and mice. *Biochem. J.*, **70**, 619 (1958)
160. Magee, P. N. and Hultin, J. : Toxic liver injury and carcinogenesis ; Methylation of proteins of rats liver slice by dimethylnitrosoamine *in vitro*. *Biochem. J.*, **83**, 108 (1962)
161. Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. and Sato, T. : Electrochemical method for estimating the autoxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chem. Pharm. Bull.*, **42**(8), 1663-1665 (1994)
162. Scanlan, R. A., Lohsen, S. M., Bill, D. D. and Libbey, L. M. : Formation of dimethylnitrosamine from dimethylamine and trimethylamine at elevated temperatures. *J. Agric. Food Chem.*, **22**(10), 149-151 (1974)
163. Oshima, H. and Kawabata, T. : Mechanism of N-nitrosomethylamine formation from trimethylamine and trimethylamineoxide. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish*, **44**(1), 77-81 (1978)
164. 황현주 : 오매 추출물의 항산화 효과 및 아질산염 소거작용, 경희대석사논문(1998)