

오미자(*Schizandra chinensis* B.) 추출물이 *Saccharomyces cerevisiae*의 알콜발효 및 효소 활성화에 미치는 영향

최재천 · 주현규* · 이시경

건국대학교 농화학과

초록 : 오미자 추출물이 *Saccharomyces cerevisiae*의 생리에 미치는 영향을 조사하기 위하여 포도당 기본배지에 오미자 추출물을 0, 0.01, 0.1, 0.5, 1%(w/v)씩 첨가하고 *S. cerevisiae* KTCC 1199를 접종하여 96시간 진탕배양하면서 균의 증식, 알콜생성, 발효율 등의 변화와 alcohol dehydrogenase, pyruvate decarboxylase 활성을 조사하였다. *S. cerevisiae*의 증식은 전 발효기간중 추출물 0.01% 및 0.1% 첨가구에서 대조구보다 증가하였으며, 각 시험구의 알콜생성은 추출물 0.1%, 0.01%, 0%, 0.5%, 1% 첨가순으로 0.1% 첨가구에서 가장 높았다. Alcohol dehydrogenase 효소활성은 0.1%구와 0.01%구에서 대조구보다 각각 1.25배, 1.18배 높은 활성을 보였다. pyruvate decarboxylase 활성의 경우도 ADH 활성과 유사하여 각각 대조구보다 1.31배, 1.26배 높은 활성을 보였으며, 0.5%구와 1%구는 대조구보다 각각 1.3배 및 1.4배 낮은 활성을 보였다(1995년 4월 3일 접수, 1995년 6월 15일 수리).

서 론

오미자(*Schizandra chinensis* Baill)는 오미자과(*Schizandraceae*)에 속하는 낙엽 활엽관목으로서, 산지에 따라 오미자, 북오미자, 흑오미자 등으로 나뉘고 있다.¹⁾ 오미자는 단맛, 신맛, 쓴맛, 매운맛, 짠맛의 다섯가지 맛이 난다고 해서 그 명칭이 유래된 것이라 하며, 과육의 신맛은 주로 사과산, 주석산 등의 유기산에 기인하는 것으로 알려져 있다.²⁾ 오미자는 한국산이 우수하다고 하여 약용으로서도 효용이 인정되었고, 고래로부터 오미자차, 오미자술, 강장제 등으로 널리 사용되어 왔다. 오미자의 색소는 anthocyanin 계통이며 그 유효성분은 lignan 화합물, 즉 schizandrin, schizandrol, deoxyschizandrin 등이 알려져 있다.³⁾ 오미자 성분에 관한 연구로는 lignan류인 gomisin의 구조를 확인 분류한 연구보고⁴⁾와 lignan 정량분석에 관한 연구,⁵⁾ 오 등⁶⁾의 유리당, 유리 아미노산, 탄닌의 조성에 대한 연구보고가 있다. 한편 오미자의 이용에 관한 연구로는 김⁷⁾의 오미자 추출액을 이용한 젤리 제조에 관한 연구와 장⁸⁾의 오미자주 제조에 관한 연구 등이 보고되었다. 또한 Maeda 등,⁹⁾ 竹田茂文 등¹⁰⁾의 흰쥐의 간장장애에 대한 오미자 성분의 영향, Suekawa 등¹¹⁾의 오미자 성분 gomisin-J 유사 lignan류 화합물이 적출 장기 평활근에 미치는 영향에 관한 연구보고와 Ikeya 등¹²⁾의 gomisin A의 대사에 관한 연구로 대부분이 주로 실험동물을 통한 임상학적인 결과로서, 오미자 성분의 효능과 특정성분에 대한 생리학 및 약리학적인 연구를 한 것이 대부분이었다. 이상에서 살펴본 바와 같이 오미자에 관하여는 오미자의 구성성분 및

유효성분에 관한 연구와 오미자 성분의 약리학적 연구가 주로 진행되었다. 한편 주 등,¹³⁾ 성 등¹⁴⁾의 미생물 생리활성에 미치는 인삼성분의 영향과 양 등,¹⁵⁾ 김 등¹⁶⁾의 미생물 생육 및 효소생산에 인삼성분이 미치는 영향 등 인삼을 비롯한 약용식물 성분을 이용하여 미생물의 생리적 특성을 규명하려는 연구가 있다. 그러나 약용식물로 이용되는 오미자의 추출물이나 유효성분이 미생물의 생리적 특성에 미치는 효과에 관한 보고는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 오미자 추출물이 미생물의 생육 및 효소력을 증가시킬 것으로 기대되어 효모의 생리적 특성에 미치는 영향을 조사하고자, 오미자 추출물의 첨가량을 달리한 포도당 배지에서 *Saccharomyces cerevisiae* KTCC 1199의 생육과 알콜생성, alcohol dehydrogenase, pyruvate decarboxylase 효소활성 등을 조사하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 시료

한국 종균협회로부터 *Saccharomyces cerevisiae* KTCC 1199를 분양받아 사용하였으며 오미자는 경동시장에서 경기도 이천산을 구입, 정선 수세한 후 세절, 분쇄하여 사용하였다.

nicotinamide adenin dinucleotide(NAD⁺), nicotinamide adenin dinucleotide reduced(NADH), alcohol dehydrogenase(ADH), Sodium pyruvate는 Sigma제(Sigma Co., U.S.A)특급을 사용하였고, 분광 광도계용 표준용액은 Merck제(Merck Co., Germany)특급을 사용하였으며 기타

찾는말: *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizandra chinensis*, alcohol fermentation, alcohol dehydrogenase, pyruvate decarboxylase
*연락처자

시약은 Shinyo제(Shinyo Pure Chemicals Co.) 일급시약을 사용하였다. 알콜분석에는 분광광도계(Shimazu Co., Japan)를, 무기물 분석에는 TRIGA MK-III research reactor (USA), 그외 freezer dryer(Tokyo Pikakika Co.), sonicator (Cole Parmer Co., U.S.A)를 사용하였다.

오미자 추출물의 조제

시료 100~200 g을 round flask에 넣고 70% ethanol을 시료량에 대해 5배 가한 다음 80°C에서 환류 냉각관을 부착하여 2시간씩 3회 추출한 후 200 mesh로 여과한 여액을 감압농축하여 가용성 고형물이 30 Brix 되게 한 후 시료로 사용하였다.

일반성분 분석

수분, 조지방, 조단백, 조섬유, 회분 등을 A.O.A.C법¹⁷⁾에 따라 분석하였으며, 무기성분 분석은 방사화 분석법¹⁸⁾에 따라 시료의 표면 오염을 제거하기 위해 묽은질산(0.1N), 증류수, 아세트산으로 반복하여 세척한 후 건조 oven에서 완전히 건조시켜 사용하였다.

시험구의 제조 및 배양

포도당 기본배지(포도당 12%, yeast extract 0.3%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄ 0.3%, pH 5.5)에 오미자 추출물을 각각 0%(S₀), 0.01%(S₁), 0.1%(S₂), 0.5%(S₃), 1%(S₄)되게 첨가한 후 250 ml 삼각 플라스크에 100 ml씩을 분주하고 멸균 후 미리 포도당 기본배지에서 24시간 배양한 종균을 각각 1 ml씩을 접종하고 진탕 배양기(30°C)에서 96시간 동안 각각 배양하였다.

균의 증식도 및 알콜 측정

배양기간중 균의 증식은 분광 광도계를 이용하여 660 nm에서의 흡광도로 나타내었다. 또한 알콜 측정은 배양액 50 ml를 상압 증류법으로 증류하여 얻은 증류액을 50 ml로 정용한 후 2 ml를 취하여 증크롬산 용액 10 ml를 넣고 60°C의 수욕상에서 20분간 발색시킨 후 분광 광도계로 600 nm에서 알콜 표준용액을 사용하여 정량하였다.¹⁹⁾ 배양액 중의 환원당은 DNS법을 이용하여 측정하였다.²⁰⁾

당 소비율 및 발효율

배양액 중에 남아있는 환원당과 알콜 함량을 측정 한 후 다음식에 의하여 당 소비율과 발효율을 계산하였다.²¹⁾

$$\text{당 소비율(\%)} = \frac{\text{초기 배양액의 당함량} - \text{배양액중의 잔당}}{\text{초기 배양액의 당 함량}} \times 100$$

$$\text{발효율(\%)} = \frac{\text{배양액 중의 알콜 함량}}{\text{초기 배양액 중의 당함량} \times 0.5114} \times 100$$

효소활성 측정

각 처리구에서 배양 회수한 균체를 건조 시킨 후 1g씩

취하여 0.1 M phosphate buffer(pH 6.8) 10 ml에 현탁 시키고 sonicator로 20분간 파쇄하여 원심분리한 후 그 상등액을 조효소액으로 사용하였다. Alcohol dehydrogenase(ADH, E.C 1.1.1.1) 활성²²⁾은 ethanol 0.1 ml, NAD 수용액(2 mg/ml) 0.5 ml, 0.01 M glycine-NaOH buffer(pH 9.6) 1.8 ml, 효소액 0.25 ml를 가하여 반응후 340 nm에서의 흡광도의 변화값을 측정하여 비교하였다. Pyruvate decarboxylase(PyDc E.C.4.1.1.4)의 효소활성은 Utter 등²³⁾의 방법에 따라 측정하였다. 이때 1분간에 효소 단백질 1 mg에 의한 흡광도 0.01의 증가를 1 unit로 하였다.

결과 및 고찰

오미자 추출물이 효모증식에 미치는 영향

본 실험에 사용한 오미자의 일반성분과 무기물 함량은 표 1, 2와 같으며, 이는 오 등⁶⁾의 보고와 매우 유사하였으며 무기질 함량은 K, Mg, Ca순으로 높은 결과를 보였다. 오미자 추출물의 첨가량을 달리한 배지에서 배양한 *S. cerevisiae*의 배양시간 경과에 따른 균의 증식도는 그림 1과 같다. 이때 본 배지조성을 이용시 전반적인 효모의 생육은 낮았다. 이는 포도당 기초배지에서 배양한 것에 기인하는 것으로 생각된다. 오미자 추출물을 0.01% 및 0.1% 첨가한 시험구에서는 대조구보다 균의 증식이 촉진 되었으나 0.5%와 1% 첨가구에서는 대조구보다 현저한 억제 를 나타냈다. 배양시간에 따른 증식도의 변화는 오미자 추출물 첨가구와 대조구가 발효 6 시간 까지는 유사하였으나 배양 12시간 후 부터는 0.01%와 0.1% 첨가구에서 대조구의 균체 증식보다 증가하였다. 그러나 추출물 1%첨가구의 증식율은 대조구보다 감소하였고, 특히 배양 24시간에 현저하게 감소하였다. 한편 주 등²⁴⁾은 영지 추출물이 효모의 생육을 증가시킨다고 하였고, 김 등²⁵⁾은 적정농도의 인삼 추출물이 효모의 균체량을 증가시키기를 보고하였는데, 본 실험의 오미자 추출물의 첨가에서도 유사한 경향을 보여 오미자가 효모의 증식을 증가시키는 효과를 보였다. 또한 적정농도의 인삼 추출물이 효모의 균체생산을 촉진시키나, 일정농도 이상에서는 생육을 억제하는 효과가 있다는 주 등¹³⁾의 보고와 같이 오미자 추출물의 경우 0.5%

Table 1. The composition of Schizandrae Fructus (Unit: %)

Moisture	Crude Fat	Crude Protein	Crude Ash	Crude Fiber
12.33	16.33	4.42	5.6	2.53

Table 2. The composition of minerals in Schizandrae Fructus (Unit: mg/100 g, dry base)

Mg	Al	Ca	Mn	Cl	Na	K	Br
1637.33	211.03	738	71.05	52.1	82.04	16767.33	18.50
Au	Cr	As	La	Rb	Cs	Sb	Cu
0.22	70.85	0.42	2.39	44.62	9.54	0.17	8.17

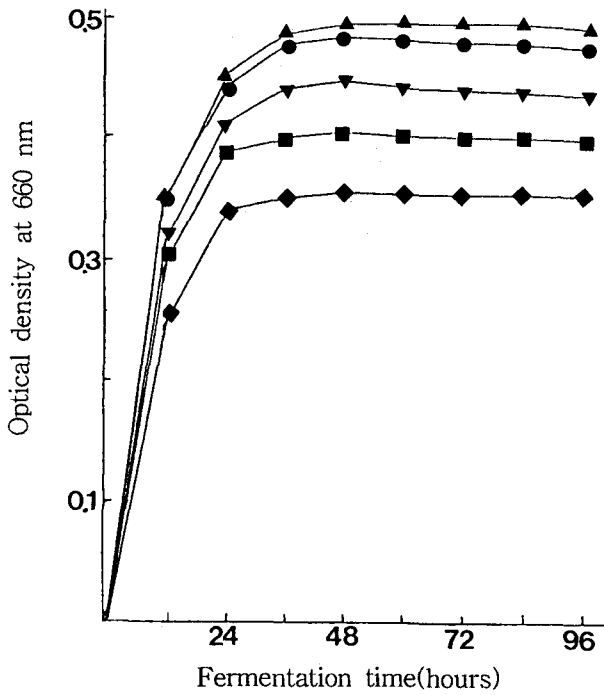


Fig. 1. Effect of Schizandrae Fructus extracts on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. ●—●, group with 0.01% Schizandrae fructus extract; ▲—▲, group with 0.1% Schizandra fructus extract; ■—■, group with 0.5% Schizandra fructus extract; ◆—◆, group with 1.0% Schizandra fructus extract; ▼—▼, control group.

이상 첨가시 균의 생육에 저해가 있는 것으로 생각된다.

발효과정중 알콜함량의 변화

포도당 기본배지에 오미자 추출물을 달리 첨가한 각 시험구의 발효과정중 알콜 생산량은 표 3에서와 같다. 발효과정중 알콜 함량은 각 시험구 모두 72시간 까지 증가하고 그 이후 더이상의 알콜 생성이 없었으며, 특히 발효 24시간에서 48시간에 비교적 급증하였다. 한편 추출물 함량에 따른 알콜 생성은 발효 72시간을 기준으로 할 때 0.1% > 0.01% > 0% > 0.5% > 1% 첨가구 순으로 0.1% 첨가구에서 높은 알콜 생성을 보였다. 이상의 결과와 같이 발효 24시간에서 48시간에 알콜 함량이 급증한 것은 균의 증식과 밀접한 관계가 있으며, 이는 주 등¹⁴⁾이 인삼 추출물의 경우 효모의 알콜 생성은 추출물 0.1% 첨가까지는 증가하였으나 0.5% 첨가시에는 감소하였다는 보고와 유사한 경향이였다. 한편 발효과정중 각 시험구의 당소비율과 발효율은 표 4와 같다. 당소비율은 대조구, 추출물 0.01% 및 0.1% 첨가구에서는 발효 초기부터 72시간까지 큰폭으로 증가하였고, 0.5%와 1% 첨가구는 처음 발효 24시간 까지 완만히 증가하다가 48시간 사이에서 급증하여 알콜 생성의 경향과 유사하였다. 전체 발효 과정중에서 0.1%구와 0.01%구는 대조구보다 당 소비율이 증가하였으며, 0.5% 및 1% 첨가구는 대조구보다 낮았다. 발효율의 경우도 0.5%와 1% 구를 제외한 각 시험구에서 발효 초기부터 큰 폭으로 증가

Table 3. Changes in alcohol content of liquid broth treated with Schizandrae Fructus extracts during fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* (Unit: w/v%)

Treatments (extract concentration, w/v %)	Fermentation time (hours)						
	12	24	36	48	60	72	84
S ₀ (0%)	0.80	2.47	4.01	5.36	5.64	5.68	5.68
S ₁ (0.01%)	0.89	2.85	4.21	5.41	5.67	5.76	5.76
S ₂ (0.1%)	0.93	2.98	4.28	5.52	5.79	5.83	5.83
S ₃ (0.5%)	0.74	2.34	3.87	5.18	5.52	5.60	5.60
S ₄ (1%)	0.73	2.22	3.74	5.11	5.46	5.53	5.53

Table 4. Comparison of sugar conversion efficiency (SCE) and fermentation efficiency (FE) in liquid media treated with Schizandrae Fructus extracts during fermentation (unit: %)

Treatments (extract concentration, w/v%)	Fermentation time (hours)							
	24		48		72		96	
	SCE	FE	SCE	FE	SCE	FE	SCE	FE
S ₀ (0%)	51.10	40.27	87.14	87.39	97.86	92.64	97.80	92.60
S ₁ (0.01%)	54.88	46.44	89.48	88.24	98.22	93.83	98.05	93.80
S ₂ (0.1%)	56.49	48.51	90.53	90.00	98.74	94.98	98.71	94.93
S ₃ (0.5%)	38.01	38.13	84.36	84.35	91.31	91.21	91.20	91.18
S ₄ (1%)	35.69	36.21	83.27	83.21	90.21	91.18	90.18	90.12

하여 알콜 함량이 가장 높은 72시간에서의 발효율은 0.1% 첨가구에서 95%로 가장 높았으며, 0.01%구에서는 93.8%를 나타내어 당 소비율과 유사한 경향을 보였다. 이상에서 알콜 생성이 많은 시험구의 당 소비율이 높았고 이에 비례하여 발효율도 높았는데 이러한 경향은 주 등,¹³⁾ 양 등¹⁵⁾의 보고와 유사하였다.

오미자 추출물이 효모의 ADH 및 PyDc 활성에 미치는 영향

포도당 기본배지에 오미자 추출물의 첨가량을 달리 하여 48시간 배양한 효모의 alcohol dehydrogenase(ADH) 및 pyruvate decarboxylase(PyDc) 효소 활성을 비교한 결과는 표 5, 6과 같다. 오미자 추출물이 첨가된 배지에서 배양된 효모의 ADH 활성은 대조구보다 추출물 0.01%와 0.1% 첨가구의 경우 각각 18%, 25%의 높은 활성을 보였고, 반면 0.5%와 1%첨가구의 경우는 대조구에 비해 낮은 활성을 보였다. ADH 활성 변화는 오미자 추출물 첨가량에 따른 알콜의 함량 변화 경향과 관련이 있는 것으로 생각된다.

또한 PyDc 활성도 추출물 0.01%와 0.1% 첨가구의 경우 대조구보다 각각 26%, 31%의 높은 활성을 나타내었으며, 0.5%와 1% 첨가구의 경우는 대조구보다 각각 23% 및 31% 낮은 효소활성을 보여 ADH 활성과 유사한 경향을 나타내었다. 이상에서 오미자 추출물의 저농도 첨가구에서는 PyDc 활성이 증가하였으나 그 이상의 첨가 농도에서는 효소 활성이 감소하였다. 이와같은 결

Table 5. Alcohol dehydrogenase activity of *Saccharomyces cerevisiae* cultured in liquid media treated with Schizandrae Fructus extracts (*Unit/min/mg, protein)

Treatments (extract concentration, w/v%)	Activity*	Relative activity (%)
S ₀ (0%)	3.46	100
S ₁ (0.01%)	4.10	118
S ₂ (0.1%)	4.34	125
S ₃ (0.5%)	2.86	83
S ₄ (1%)	2.58	75

Table 6. Pyruvate decarboxylase activity of *Sacchromyces cerevisiae* cultured in liquid media treated with Schizandrae Fructus extracts (*Unit/min/mg, protein)

Treatments (extract concentration, w/v%)	Activity*	Relative activity (%)
S ₀ (0%)	3.26	100
S ₁ (0.01%)	4.11	126
S ₂ (0.1%)	4.28	131
S ₃ (0.5%)	2.52	77
S ₄ (1%)	2.26	69

과는 ADH 활성과 알콜 함량의 변화는 서로 상관관계를 보였다는 최²⁶⁾의 보고와 ADH활성과 PyDc 활성이 또한 서로 상관관계를 지닌다는 김²⁷⁾의 보고로 미루어 볼 때 오미자 추출물의 첨가가 효모의 생육과 주요 효소활성에 영향을 미치고 있으며 이는 또한 알콜생성에 영향을 주고 있는 것으로 생각된다. 그러나 오미자 추출물의 성분중 어느 물질이 이에 관여하는지는 밝히지 못하였다. 향후 추출물을 분획하여 이에 관한 좀더 자세한 생화학적 반응기구를 규명하여야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 정동규 (1965) 분류적 생약학, pp 336-337, 장문사.
- 유태중 (1988) 식품보감, pp 268-269, 문운당.
- 농촌진흥청 작물시험장 농업기술 연구소 (1990) 작물생산과 연구의 국내외 동향, pp 447.
- Ikeya Y., H. Taguchi and I. Yoshioka (1982) The constituents of *Schizandra chinensis* Baill(X). *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 132-139.
- 中島薫, 田口平入郎, 池浴幸信, 吉岡一郎 (1983) The constituents of *Schizandra chinensis* Baill. Quantitative analysis of lignan in the fruits of *Schizandra chinensis* by high performance liquid chromatography. *Yakugaku Zasshi* **103**,

743-749.

- 오상용, 김성수, 민병룡, 정동효 (1990) 구기자, 당귀, 오미자, 오갈피 추출물의 유리당, 유리아미노산, 유기산 및 탄닌의 조성. *한국식품과학회지* **22**, 76-81.
- 김정은 (1989) 오미자 추출액을 이용한 젤리제조에 관한 연구. 숙명여대 석사학위논문.
- 장은재 (1985) 오미자 과실주 제조에 관한 연구. 고려대학교 석사학위논문.
- Maeda S., S. Takeda, M. Aburada and M. Haradha (1985) Effect of Gomisin A on liver function in hepatotoxic chemicals-treated rats. *Japan J. Pharmacol.* **38**, 347-353.
- 竹田茂文, 前村俊一 (1986) 實驗的肝障害および 肝藥物代謝酵素系に及ぼ五味子リワナン成分 Gomisin A 作用. *Folia Pharmacol. Japan* **87**, 169-187.
- Suekawa M., T. Shiga, Y. Ikeya and E. Hosoya (1987) The effects of Gomisin J and analogous lignan compounds in Schisandra fruits on isolated smooth muscles. *Yakugaku Zasshi.* **107**, 720-726.
- Ikeya Y., H. Taguchi, H. Mitsuhashi and E. Hosoya (1988) Studies on metabolism of Gomisin A. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 2061-2069.
- 주현규, 이교철 (1979) 인삼추출물이 *Saccharomyces cerevisiae*의 생리에 미치는 영향. *한국인삼학회지* **13**, 67-72.
- 성구순, 남상열, 김기철 (1980) 홍삼성분이 주정효모의 생리에 미치는 영향. *한국농화학회지* **23**, 89-93.
- 양희천, 이태규 (1981) 인삼엽에서 추출한 crude saponin이 미생물의 생리에 미치는 영향. *한국산업미생물학회지* **9**, 123-128.
- 김상달, 도재호, 이광선, 성현순 (1986) 효모생육에 미치는 홍삼박의 영향. *한국인삼학회지* **10**, 48-54.
- A. O. A. C. Fifteenth Edition (1990), pp 910-917.
- 한국 원자력 연구소 (1989) 방사화분석연구법. pp 89.
- Crowell E. A. and C. S. Ough (1979) A modified procedure for alcohol determination by dichromate oxidation. *Am. J. Enol. Vitic.* **30**, 61-63.
- 정동효, 장현기 (1980) 식품분석 pp 179, 진로연구사.
- 김종협, 이배함, 이지열 (1980) 미생물학 실험서 pp 103, 삼일각.
- Racker, E. (1955) Alcohol dehydrogenase from bakers yeast. *Methods in Enzymology* pp 500.
- Utter M. F., P. D. Boyer, H. A. Lardy and K. Myrback (1961) *The Enzymes* Vol. V, pp 320.
- 주현규, 김성조 (1987) 영지추출물이 효모의 증식과 생리에 미치는 영향. *한국 균학회지* **15**, 250-267.
- 김태봉, 이희성, 이강석, 장성길 (1975) 인삼의 유효성분에 관한 생화학적 연구(VII). 연세논총 12-17.
- 최낙성 (1990) 커피가 *S. cerevisiae*의 증식과 알콜 탈수소 효소에 미치는 영향. 건국대학교 석사학위 논문.
- 김요승 (1991) Caffein이 *S. cerevisiae*의 생리와 효소활성에 미치는 영향. 건국대학교 석사학위 논문.

The Effect of *Schizandrae* Fructus Extract on Alcohol Fermentation and Enzyme Activities of *Saccharomyce cerevisiae*

Jae-Thun Choi, Hyun-Kyu Joo* and Si-Kyung Lee (*Department of Agricultural Chemistry, KonKuk University, Seoul 133-701, Korea*)

Abstract: The effect of *Schizandrae* fructus extract on the physiological properties of *Saccharomyces cerevisiae* was investigated. *S. cerevisiae* was inoculated into glucose broth, added with *Schizandrae* fructus extract, 0, 0.01, 0.1, 0.5 and 1%(w/v), respectively. And a 96 hours incubation was followed to investigate the changes in the growth, alcohol production, alcohol dehydrogenase and pyruvate decarboxylase activities of *S. cerevisiae*. The growth of *S. cerevisiae* was more pronounced in the broth containing 0.1 and 0.01% *Schizandrae* fructus extract than in the control. The growth was, however, inhibited in the broth containing 0.5 and 1% of the extract. The content of alcohol produced by *S. cerevisiae* also showed very similar results with those of the yeast growth by addition of *Schizandrae* fructus extract. Alcohol dehydrogenase activities of *S. cerevisiae* cultured in broth treated with the extract of 0.1% and 0.01% increased by 25% and 18% than those in control group. Pyruvate decarboxylase activities in 0.1% and 0.01% treatments increased to 1.32 and 1.26 times. The activities in 0.5% and 1% treatments, however, decreased by 30% and 44%.

*Corresponding author