

오미자의 전통발효에 의한 면역활성 증진

김철희* · 권민철* · 김효성* · 안주희* · 최근표** · 최영범*** · 고정림*** · 이현용****†

*강원대학교 BT특성화학부대학, **강원도립대학 식품생명과학과, ***정우식품, ****강원대학교 생명공학연구소

Enhancement of Immune Activities of *Kadsura Japonica* Dunal. through Conventional Fermentation Process

Cheol Hee Kim*, Min Chul Kwon*, Hyo Sung Kim*, Geun Jung Bae*, Ju Hee Ahn*, Geun Pyo Chio**, Young Beom Choi***, Jung Rim Ko***, and Hyeon Young Lee****†

*School of Biotechnology & Bioengineering, Kangwon Natl. Univ., ChunCheon 200-701, Korea,

**Department of Food and Life Science, Gangwon Provincial Univ., Gangneung 210-804, Korea

***Jeong Woo Foods Co., Jeju special Self-Governing Province 690-804, Korea

****Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea.

ABSTRACT : Immune activities of two different extracts of *Kadsura japonica* Dunal. by typical extraction processes using water and ethanol at 60 °C and 100 °C were compared to them by ultrasofication system and through traditional fermentation process. The fermented broth of *Kadsura japonica* Dunal. definitely improved the growth of human B and T cell up to 30% and 22%, respectively, compared to the control. The secretion of TNF- α and IL-6 was also enhanced by the addition of the fermented broth, up to 35%. NK cell activation was significantly improved up to 1.4 times higher than the case of adding other extracts. It was also found that this broth could yield higher nitric oxide production from macrophage than Lipopolysaccharides (LPS). It can be concluded that *Kadsura japonica* has immune activities and, in general, the culture broth from a conventional fermentation has higher immune activities, possibly by yielding immuno-modulatory compounds, not existed in typical extraction systems as the result of HPLC analysis.

Key Words : *Kadsura japonica* Dunal., fermentation broth, immune activity

서 언

오미자는 목련과 식물로 우리나라에는 오미자속 (*Schizandra*)의 3종 및 남오미자속 (*Kadsura*)에 남오미자 (*Kadsura japonica*) 1종이 분포하고 있다 (이, 2003). 오미자 열매의 오미 즉 다섯가지 맛이란 단맛, 신맛, 매운맛, 쓴맛, 짠맛을 말하는데 (Hsu *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 1989a, b, c) 예부터 식용으로의 널리 사용되어 농가에서는 단기소득을 올릴 수 있는 임산물로 재배가 장려되고 있다 (산림청, 1993, 1995). 오미자는 한의학에서 거담, 자양, 강장제, 수렴제 및 기침약으로 사용되어 왔으며, 진정, 진해, 해열 그리고 중추억제작용, 혈압강화작용 및 알콜해독작용 등 약리작용이 있는 것으로 알려져 있다 (Hikino *et al.*, 1984; Mizoguchi *et al.*, 1991; 배기환, 2001). 오미자는 식품으로서 붉은색 추출물을 화제로 쓰거나 차, 주스 (Kang *et al.*, 1992), 술 (장, 1985)로도 가공하는 등 기호식품으로 이용되어 왔으며, 강한 항산화 성분을 가지고 있어 천연 항산화제로도 이용할 수 있다 (Toda *et al.*, 1988; Nakajima *et al.*,

1983). 오미자의 효능에 관한 연구로는 중추억제 작용, 혈압강화 작용, CCL₄ 독성에 대한 간 보호작용, 항당뇨작용 등의 보고가 있다 (Lee *et al.*, 1990; Sheo *et al.*, 1987).

발효는 미생물의 활동으로 유기화합물이 분해되면서 알코올, 유기산, 탄산가스 등 분해산물을 생성하는 작용으로 양조 및 식품의 저장·활용과 밀접하게 관련되어 있는 오랜 역사를 가진 가공 공정이다. 발효식품은 장류를 비롯하여 식초, 젓갈류, 발효유제품 등 종류가 다양할 뿐만 아니라 지역적 특성에 따라서도 다양한 양상을 띠어 그 수를 헤아릴 수 없을 정도로 많다. 최근 들어 식품의 발효를 통해 생성되는 유기산 및 분해산물들이 건강에 좋다는 연구 결과 등이 발표되면서 발효식품의 인기는 점점 높아지고 있는 실정이다 (Ahn *et al.*, 2000; Hong *et al.*, 2006). 과실 전통발효의 경우에는 오래전부터 주로 발효성 당이 다량 함유되어있는 과실을 발효시켜 술로 많이 이용되어 왔는데 (Bae *et al.*, 2002) 탄수화물원이 부족할 경우에는 발효원료에 설탕, 진분 등 탄수화물원을 첨가하여 발효해왔다.

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr

Received January 31, 2007/ Accepted May 30, 2007

오미자의 경우 과실자체에 발효성 당이 거의 없고 효모영양원이 적기 때문에 단순히 소주 등과 같은 술에 오미자 열매를 담근 상태에서 오미를 침출시킨 것을 오미자주라 하여 가정 등에서 약용주로 많이 음용되었다. 하지만 침출주는 제조가 용이하고 색 기호면에서 선호되는 반면 오미자의 기능성을 충분히 이용하기에는 어려움이 있었다. 반면 발효공정을 거치게 되면 첨가물의 처리가 용이하지 못하고 색을 내는데 어려움이 있으나 미생물의 분해 작용을 통해 새로운 활성 성분의 생성, 독성의 감소, 풍미의 향상 및 저장성 향상, 식물섬유소의 활용성 증진 등 많은 장점을 가져 식품에 효과적으로 적용하고자 하는 시도가 꾸준히 이루어지고 있다 (Park *et al.*, 2006; Mok, 2005).

이런 까닭으로 본 연구에서는 오미자의 이용에 있어서 기존 추출방법을 통한 일반추출이 아닌 전통발효 공정을 이용함으로써 오미자의 생리활성 증진 및 가공적성 향상을 모색하고자 실험을 진행하였다. 따라서 민간요법을 통해 우수한 유효활성이 기대되는 오미자의 활성 및 전통발효에 따른 활성의 변화를 알아보고, 나아가 오미자를 이용한 신기능성 향토 발효제품을 개발하기 위한 다각적 연구의 선행 연구자료로 이용하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료의 추출 및 발효액 제조 방법

본 실험에 사용된 제주산 오미자 (*Kadsura japonica* Dunal.) 및 발효액은 2006년 10월 제주도 제주시에 위치한 정우식품에서 지원받아 사용하였다. 실험을 위해 각각 시료 10배수의 증류수와 에탄올을 용매로 하여 각각 100°C와 60°C에서 추출한 일반 열수추출물을 대조군으로 사용하였으며, 발효공정을 통한 생리활성의 증진 정도를 확인하고자 추출수율 및 생리활성 증진효과를 나타내는 것으로 알려진 초음파 병행 추출 공정 (Kim *et al.*, 2001, 2005a; Park *et al.*, 2004)과 비교하였다. 초음파 병행 추출물은 얻어진 열수추출물에 다시 초음파 추출기를 이용하여 각각의 추출온도인 100°C와 60°C에서 60 kHz의 초음파로 30분간 초음파 추출을 병행하여 함께 실험에 사용하였다. 발효액은 씻어 말린 오미자와 설탕을 약 1:1의 비율로 혼합하여 초발 당도를 약 3°Brix로 조정하고 25°C의 혐기조건에서 20일간 숙성하여 약 30% (v/v)의 알콜농도를 가진 발효액을 제조하였다. 다시 4일간의 후 숙성 과정을 거쳐 오미자 전통발효액을 얻었다. 각 시료들은 감압여과 및 농축 후 동결건조를 통해 분말을 얻어 실험에 사용하였다.

2. 세포주 및 세포 생육 배지

면역세포 생육 증진 효과는 인간 면역 세포인 T cell (Jurkat, ATTC, USA)과 B cell (Raji, ATTC, USA)을 이용하여 검증하

였다. 실험에 사용된 면역세포는 RPMI 1640배지에 10% heating-inactivated FBS를 첨가시켜 배양하였고, NK cell은 Alpha minimum essential medium (α -MEM)배지에 2 mM L-glutamine, 0.2 mM myoinositol, 20 mM folic acid, 10^{-4} M 2-mercaptoethanol, 12.5% fetal bovine serum (FBS)와 12.5% horse serum (Myelocult)을 첨가시켜 배양하였다.

세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 α -MEM은 Gibco (USA)사로부터 구입하였고, HEPES buffer는 Sigma (USA)사에서 구입하여 사용하였다. 혈청은 Gibco사의 FBS와 horse serum을 이용하였고 gentamycin sulfate, trypsin-EDTA는 Sigma사의 것을 사용하였다. 세포염색을 위한 sulforhodamine B (SRB)는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

3. 면역세포 생육 증진 효과

면역기능 증강 효과는 인간 면역 세포인 T cell (Jurkat)과 B cell (Raji)을 이용하여 검증하였다. 세포의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지를 이용하여 5% CO₂, 37°C에서 배양하였으며, 면역기능 증강 효과는 24 well plate에 세포를 1.0×10^4 cells/ml의 농도로 조절한 후 시료를 투여하여 8일 동안 배양하면서 매일 각 well의 cell을 hemacytometer로 세포 수를 측정하여 생육도를 측정하는 방법을 사용하였다 (Kim *et al.*, 2005b; Lee *et al.*, 2002).

4. Cytokine 분비량 측정

Cytokine은 IL-6와 TNF- α 의 정량을 Chemicon (USA)사의 IL-6와 TNF- α 정량 kit를 사용하여 측정하였다. 세포의 농도를 $1.0 \sim 2.0 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 900 μ l 씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)시킨 후 시료의 최종농도를 0.5 g/l 로 100 μ l 씩 첨가하여 다시 배양 (37°C, 5% CO₂)하였다. 원심분리기를 이용하여 배양배지의 상층액을 취한 다음 450 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하여 얻어진 O.D.값을 표준물질을 이용해 작성한 표준곡선과 비교하여 cytokine의 양을 측정하였다 (오, 1991; Han *et al.*, 1998).

5. 대식세포에서의 nitric oxide 생성능 측정

사용된 세포주는 J774.1 대식세포 (mouse)이며, 세포는 10% heat-inactivated bovin serum과 RPMI 1640 배지를 이용하여 24 well plate에 $4.0 \sim 5.0 \times 10^4$ cells/well의 농도로 넣은 다음, 시료를 첨가하거나 첨가하지 않고 37°C humidified 5% CO₂ incubator안에서 48시간 동안 배양하여 실험에 사용하였다. 대식세포에서 발생하는 nitric oxide의 양은 활성화된 대식세포 배양액에 축적되어 있는 nitrite의 양을 microplate assay를 이용하여 정량함으로써 측정하였다. 먼저 시료를 처리하여 48시간 동안 세포를 배양하고 상등액 50 μ l를 취하여

동일부피의 Griess시약 (1% sulfanilamide/0.1% N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride/2.5% H₃PO₄)을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm의 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였으며 농도는 32 μM에서부터 0.25 μM까지 RPMI 1640 배지로 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다. NO-생성능의 양성대조구 물질로는 lipopolusaccharide (LPS)를 사용하였다 (Ding *et al.*, 1998)

6. Natural Killer cell(NK cell)의 면역증진 효과

ATCC로부터 분양 받은 NK-92MI cell을 α-MEM배지에 2 mM L-glutamine, 0.2 mM myoinositol, 20 mM folic acid, 10⁻⁴M 2-mercaptoethanol, 12.5% FBS와 12.5% horse serum (Myelocult)에 2 × 10⁷ cells/ml의 농도로 희석시켜 이용하였다.

인간 T세포와 B세포를 T-25 Flask에 배양하면서 시료를 투여한 후 증식정도를 관찰하면서 3~4번의 계대 배양 후 세포를 원심분리하여 상층액을 취하였다. NK-92MI cell을 24 well plate에 4~5 × 10⁴ cells/ml로 900 μl씩 분주하고 24시간 후 T 세포와 B세포의 상층액을 각 plate에 100 μl씩 투여하고 배양 48시간 후 6일 동안 NK-92MI cell의 활성도를 cell counter를 이용하여 측정할 생세포수를 이용하여 NK-92MI cell의 활성도를 측정하였다 (Yueran *et al.*, 2003; Cedilia, 2002).

7. 오미자의 HPLC 분석

각 추출공정을 통한 오미자 시료의 성분 차이를 알아보고자 천연물의 일반성분분석에 통상적으로 사용되는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC; High-Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 각 추출공정을 통한 오미자 추출물의 peak를 얻고 공정간 상호 비교 분석을 시도하였다.

시료의 분석을 위해 시료를 HPLC 분석용 water에 녹여 0.2 μm syringe filter로 여과하고 물 및 에탄올 추출물과 물 및 에탄올 추출 후 초음파를 병행한 추출물 그리고 발효액을 각각 100 ppm의 농도로 조제하여 Injection volume 20 μl로 측정하였다. HPLC 기기는 BIO-TEK instrument (Italy)사 HPLC 500 series의 BIO-TEK 522 controller Pump와 BIO-TEK HPLC 535 UV Detector (214 nm)를 사용하였고, Column은 Alltech사의 Prevail C18 (5 μm, 4.6 × 250 mm)을 사용하였다. 이동상은 물과 메탄올 (50 : 50, v/v)의 혼합용액을 사용하였고, 유속은 0.40 ml/min로 흘려주었다.

결과 및 고찰

1. 면역세포 생육 증진 효과

인간의 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포인 B

cell과 T cell에 대하여 면역증진 효과를 확인하기 위하여 면역세포의 생육 촉진 효과를 생육도를 통하여 측정하였다. Fig. 1은 오미자 발효액 및 추출물의 첨가를 통한 B cell의 생육도를 나타낸 것이다. B cell은 시료첨가 시점을 기준으로 하여 6일째 최고 생육도를 나타내는 생육곡선을 나타내었다. 시료를 첨가한 모든 조건에서 대조군과 비교하여 증가된 생육도를 확인할 수 있었다. 그중 가장 높은 활성을 나타낸 것은 오미자 발효액으로 6일에 13.9 × 10⁴ cells/ml를 나타냄으로서 시료를 첨가하지 않은 대조군의 9.5 × 10⁴ cells/ml에 비하여 약 30% 이상의 B cell 생육 증진을 나타내었다. 오미자 추출물 중에서는 100에서 초음파를 병행한 물 추출물이 6일째 13.8 × 10⁴ cells/ml로 발효액과 유사한 활성을 나타내었다.

Fig. 2는 시료첨가에 따른 T cell의 생육도를 나타낸 것으로 B cell의 생육도와 유사한 모습을 보여주었다. 최대 생육도를 나타내는 6일째 발효액의 생육도는 13.4 × 10⁴ cells/ml로 아무것도 첨가하지 않은 대조군의 10.2 × 10⁴ cells/ml과 비교하여 T cell의 생육을 약 22% 증가시키는 것으로 나타났다.

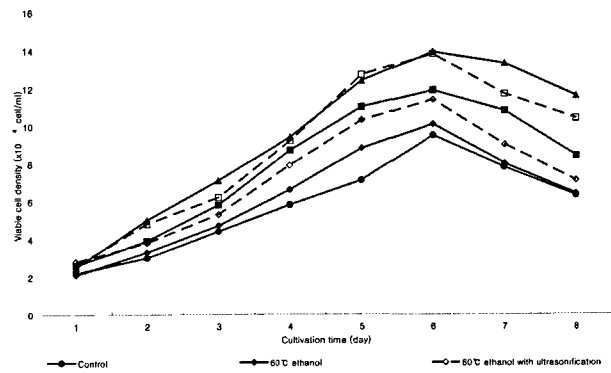


Fig. 1. The growth of human B cell (Raji) in adding the extracts under several extract conditions and fermented extract from *K. japonica* Dunal.

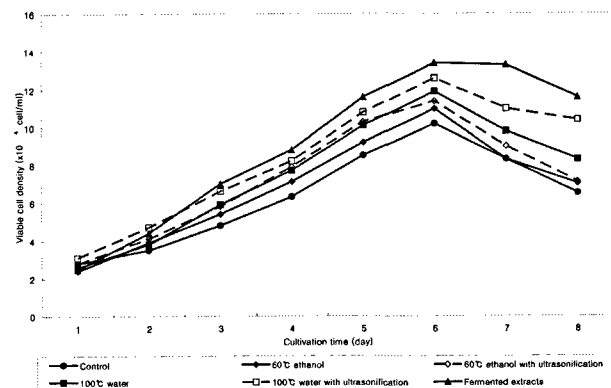


Fig. 2. The growth of human T cell (Jurkat) in adding the extracts under several extract conditions and fermented extract from *K. japonica* Dunal.

100°C 초음파병행 물 추출물과 초음파병행 60°C 에탄올 추출물이 각각 12.6×10^4 cells/ml와 11.9×10^4 cells/ml를 나타내었다.

B cell과 T cell의 생육도 측정을 통해 오미자에는 면역세포의 생육을 증진시키는 성분이 함유되어 있음을 확인하였으며, 전통발효 공정을 통해 면역활성을 증진시킬 수 있는 것으로 사료된다. 이는 발효과정에서의 유효성분 생성 및 증가에 따른 세포 활용성 증가 및 세포독성 감소에 기인하는 것으로 사료된다.

2. Cytokine 분비 증진 효과

Table 1은 인간면역 세포의 생육 증강도를 뒷받침할 수 있는 자료로서 면역 세포들이 분비하는 cytokine (IL-6와 TNF- α)의 분비량을 B, T cell에서 측정한 결과를 나타낸 것이다. 각 시료에 따른 cytokine 분비량은 면역세포 생육도와 유의적인 값을 나타내었다. 각 시료에 대한 세포 당 IL-6와 TNF- α 의 분비량을 살펴보면, 오미자 발효액의 경우 6일째 T cell에서 각각 3.08×10^{-4} pg/cell, 3.21×10^{-4} pg/cell로 가장 많은

Table 1. Comparison of IL-6, TNF- α secretion through cell growth in adding the extracts from *K. japonica* Dunal. under several extract conditions.

Sample	Cultivation time (DAY)	Quantity of secretion from B cell (10^{-4} pg/cell)		Quantity of secretion from T cell (10^{-4} pg/cell)	
		IL-6	TNF- α	IL-6	TNF- α
Control	1	0.61	0.71	0.62	0.21
	2	0.76	0.65	1.08	0.43
	3	1.05	0.99	1.34	1.00
	4	1.36	1.41	1.52	0.95
	5	1.26	1.43	1.54	1.46
	6	1.14	1.08	1.32	1.44
60°C Ethanol Ex.	1	0.61	0.96	0.62	0.58
	2	0.76	0.61	1.08	1.00
	3	1.21	1.19	1.59	1.48
	4	1.52	1.70	1.66	1.55
	5	1.26	1.70	1.78	1.66
	6	1.66	1.80	1.78	1.66
100°C Water Ex.	1	0.51	0.72	0.58	0.42
	2	0.74	0.71	1.07	0.84
	3	0.99	1.31	1.38	1.27
	4	1.17	1.50	1.42	1.73
	5	1.5	1.58	1.78	1.92
	6	1.53	1.60	2.23	2.39
60°C Ethanol Ex. with U.S.*	1	0.44	0.51	0.63	0.47
	2	0.76	0.64	1.00	0.84
	3	1.22	1.44	1.42	1.29
	4	1.63	1.89	1.98	1.56
	5	1.95	2.14	2.04	2.59
	6	2.02	2.26	2.02	3.04
100°C Water Ex. with U.S.	1	0.52	0.54	0.65	0.27
	2	0.88	0.84	1.19	0.87
	3	1.38	1.61	1.87	1.47
	4	1.91	2.02	2.19	1.74
	5	2.20	2.45	2.34	2.89
	6	2.11	2.67	2.35	3.21
Fermented Extracts	1	0.56	0.82	0.66	0.72
	2	0.93	1.01	0.75	0.92
	3	0.92	1.00	1.18	1.17
	4	1.20	1.30	1.50	2.05
	5	2.22	2.91	2.38	3.20
	6	2.95	2.80	3.08	3.32

* U.S. : Ultrasonification (60 kHz)

분비량을 나타내었다. 마찬가지로 B cell에서도 2.95×10^{-4} pg/cell, 2.80×10^{-4} pg/cell를 나타내며 다른 시료와 비교하여 많은 cytokine 분비량을 나타내었다. 또한 초음파를 병행하여 추출한 추출물들이 면역세포 생육증진 활성 측정에서의와 마찬가지로 발효액 다음으로 많은 cytokine 분비를 나타내었다. 발효액 및 추출물에 따른 면역세포의 생육도와 cytokine 분비량의 증가를 통하여 오미자가 면역활성과 관련하여 활용 가능성이 있으며 전통발효를 통해 초음파와 병행 추출보다 높은 면역활성의 증진이 있음을 확인할 수 있었다.

3. 대식세포에서의 nitric oxide 생성능 측정

대식세포를 이용하여 NO⁻ 생성능을 확인한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 대식세포의 NOS (nitric oxide syntase)는 항상 존재하는 것이 아니라 TNF- α 와 같은 여러 가지 cytokine과 LPS (*E. coli*에서 유래한 lipopolysaccharide)와 같은 세균내 독소의 영향을 받아 NOS 유전자의 발현이 유도되기 때문에 (Barna *et al*, 1984; Miyagawa *et al*, 1988) 이번 실험에서는 시료를 LPS와 같이 투여하여 NO의 생성능을 확인하였다. 결과에서도 확인할 수 있는 것처럼 대식세포 생성능에 있어서도 면역세포 및 cytokine 분비와 유의적인 결과를 나타내었다. 시료만을 첨가한 결과에서 발효액이 9.1 μ M로 가장 높은 대식세포 생성능을 보였으며, 60 $^{\circ}$ C 에탄올 추출물이 5.8 μ M로 가장 낮은 생성능을 나타내었다. 모든 조건에서 아무것도 첨가하지 않은 대조군에 비해 높은 활성을 나타내었으며, 60 $^{\circ}$ C 에탄올 추출물을 제외한 나머지 시료들에서 모두 LPS만을 첨가한 7.1 μ M보다 높은 활성을 나타내었다. 또한 시료와 LPS를 함께 첨가한 결과에서 각각의 조건이 시료만을 첨가했을 때의 5.8~9.1 μ M 보다 높은 11.0~14.3 μ M의 결과를 나타냄에 따라 오미자 발효액 및 추출물이 LPS와 비교하여 높은 NO-생성능을 가지며, LPS와 함께 사용되어 상승작용을 나타내는 것으로 사료된다.

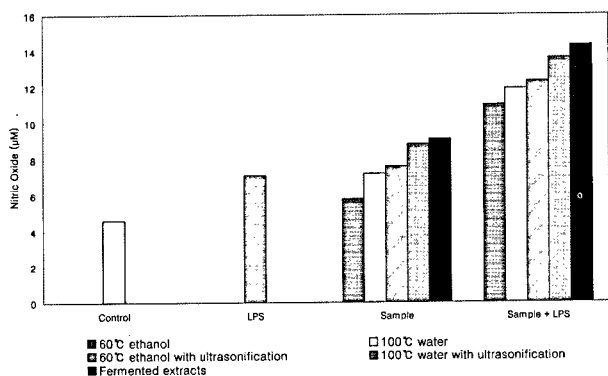


Fig. 3. Nitric oxide production from J774.1 cell lines in adding the extracts under several extract conditions and fermented extract from *K. japonica* Dunal. (0.5 g/L).

4. NK cell(natural killer cell)의 면역증진 효과

NK cell의 활성 측정은 B cell과 T cell에 추출물을 첨가한 후 그의 배양액을 NK cell에 첨가하여 나타나는 생육도의 변화를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 활성을 측정하였다. Fig. 4는 B cell에 각 시료를 첨가하여 배양한 후 그 배양액을 NK cell에 첨가하였을 때 NK cell의 활성도를 나타낸 그림이다. 6일 동안 생육도를 관찰하였을 때 모든 시료에 대한 생육도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 오미자 발효액으로 6일째 13.9×10^4 cells/ml를 나타내어 9.9×10^4 cells/ml를 나타낸 무첨가 대조군에 비해 약 1.4배의 활성 증가를 확인할 수 있었다. 이는 무첨가 대조군 및 100 $^{\circ}$ C에서 초음파를 병행하여 추출한 물 추출물의 12.8×10^4 cells/ml 과 초음파병행 60 $^{\circ}$ C 에탄올 추출물의 12.0×10^4 cells/ml 보다 높은 활성을 나타낸 것이다. Fig. 5는 T cell에 각 시료를 첨가하여 배양한 후 그 배양액을 NK cell에 첨가하였을 때 NK cell의 활성도를 나타낸 것이다. B cell에서와 마찬가지로 6일까지 모든 조건에서 NK cell의 생육도가 계속적으로 증가하는 것을 확인할 수가 있었다. 그 중

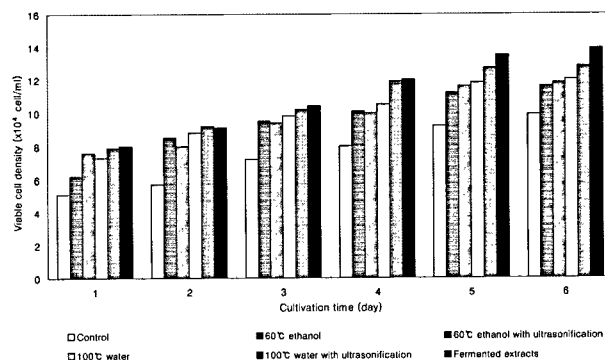


Fig. 4. Effect of growth on the NK cells by added the secretions of B cell in adding the extracts under several extract conditions and fermented extract from *K. japonica* Dunal.

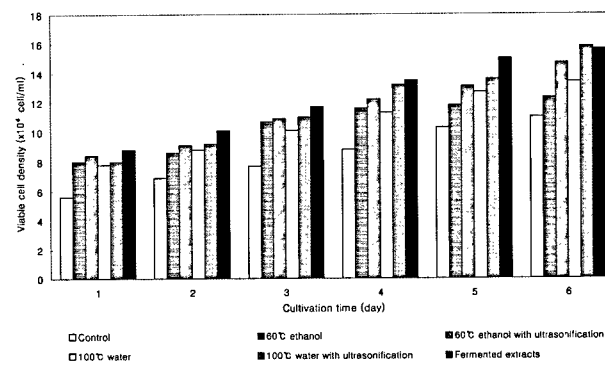


Fig. 5. Effect of growth on the NK cells by added the secretions of T cell in adding the extracts under several extract conditions and fermented extract from *K. japonica* Dunal.

6일째 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 초음파를 병행한 100°C 물 추출물로 15.8×10^4 cells/ml 을 나타냄으로서 역시 대조군과 비교하여 약 1.4배의 활성 증가를 보여주었으며, 다음으로 발효액이 15.6×10^4 cells/ml로 100°C 물 추출물과 비슷한 수치를 나타내며 6일 동안 대체로 높은 수치를 나타내었다. 따라서 앞에서 살펴본 면역세포의 증식에서와 마찬가지로 오미자 발효액 및 초음파를 병행한 추출액이 높은 면역활성 성분을 가질 것으로 사료된다. 또한 오미자의 전통발효 공정을 통해 초음파 병행 추출과 비슷한 정도의 면역활성 증진 효과도 확인할 수 있었다.

5. 오미자의 HPLC 분석

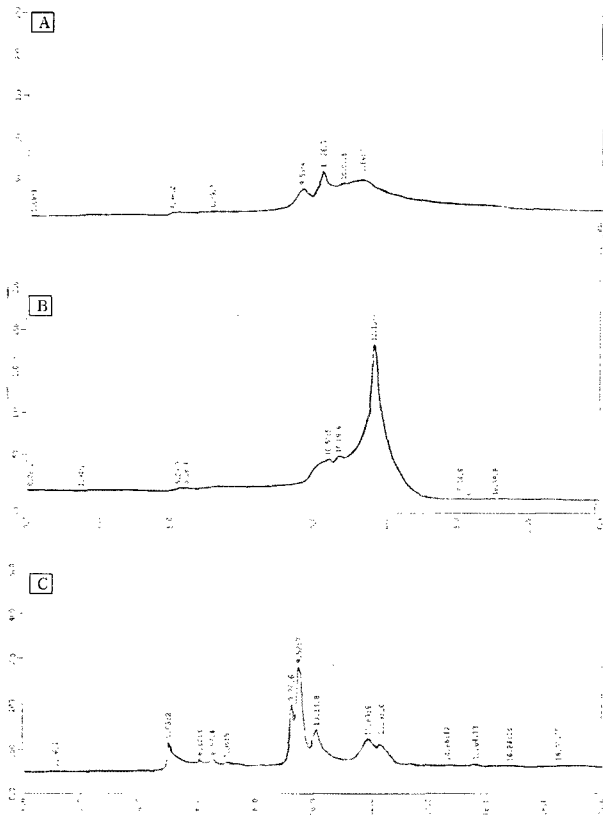
Fig. 6은 HPLC를 사용하여 측정한 결과를 나타낸 것이다. 측정결과와 비교를 통해 추출공정 및 발효공정에 따른 오미자 성분의 차이를 알아보고자 하였다. HPLC 측정결과를 살펴보면 에탄올 추출물과 물 추출물 모두 9~13분 사이에서 주요 peak를 나타내는 것을 확인할 수 있다. 물 추출물의 경우 성분의 분리가 확실히 되지는 않았지만 12분대에서 높은 peak를 나타내는 것을 볼 수 있다. 이는 12분대에 검출된 물

질이 수용성 물질이며, 에탄올 추출물에 비해 물 추출물이 보다 높은 활성을 나타낸 결과를 통해 면역 증진활성을 나타내는 성분일 것으로 사료된다. 발효액의 측정결과에서 12분대 peak 외에도 여러 시간대의 여러 peak가 높게 나타난 것은 발효공정을 통해 용매를 통한 단순추출공정에서 확인할 수 없었던 새로운 물질들이 생성되었다는 것을 보여준다. 본 연구에서는 214 nm의 흡광도에서 측정하였지만, UV흡광도를 달리하였을 때도 대체로 유사한 결과를 나타냈다. 따라서 발효액의 높은 면역증진 활성은 기존 추출 물질 및 새롭게 생성된 물질의 상호작용을 통해 나타나는 것으로 사료된다. 이상의 결과를 통해 오미자 추출물 및 발효액은 면역증진 활성 성분을 함유하고 있으며 발효공정은 신물질의 생성 및 기존 성분의 용출량 증가를 통해 면역활성의 증진을 나타냄을 확인할 수 있었다. 따라서 앞으로 오미자를 통한 생리활성 연구 및 면역활성을 나타내는 유효성분의 기작과 이 활성물질에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 실험을 통한 결과에서 오미자는 면역활성을 나타내는 성분을 함유하고 있으며 발효공정을 통해 유효성분의 활성 증진 효과를 확인할 수 있었다. 또한 전통발효 공정을 통해 초음파 병행 공정 이상의 면역활성 증진 효과를 얻을 수 있음을 확인하였다. 이는 발효공정을 통해 생성된 대사산물이 유효성분으로 작용하거나 성분 변성을 통해 활성의 증진을 가져온 것으로 사료된다. 또한 초음파 공동현상에 의한 초음파 병행 추출 공정 역시 좋은 활성을 나타냄에 따라 전통발효 공정의 기작 연구 및 초음파병행 공정에 대한 연구가 다각적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

적 요

여러 가지 추출조건을 통해 얻은 오미자 추출물과 전통발효공정을 통해 얻은 오미자 발효액의 면역증진 활성을 비교하였다. 오미자 발효액이 B cell과 T cell에서 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 각각 30%와 22% 이상의 수치를 나타내며 가장 좋은 활성을 나타내었다. B, T cell의 cytokine 분비량 측정을 통한 실험에서도 오미자의 전통발효액이 생육 증진과 유의적으로 가장 많은 분비량을 나타내었다. 대식세포를 이용한 NO 생성능 측정에서 오미자 발효액 및 추출물의 활성이 LPS와 비교해 비슷하거나 높은 것을 확인하였다. 또한 시료를 LPS와 같이 첨가하였을 때 시료만을 첨가했을 때보다 높은 활성을 나타내어 농도에 따른 유의적 활성 증가가 이루어질 것으로 사료된다. NK cell의 활성측정에서 모든 시료 조건에서 6일 동안 생육이 증가하였으며 오미자 발효액을 첨가한 것이 아무것도 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 약 1.4배의 생육도 증진을 나타내어 1.2배의 생육도 증진을 보인 100°C에서 초음파를 병행한 물 추출물보다 높은 활성을 나타



내었다. HPLC를 이용한 추출물들의 성분 분석에서 전통발효 공정을 통해 추출과정에서 확인할 수 없었던 특정 성분의 생성 및 기존 성분의 용출 증진이 이루어지는 것을 확인하였고, 이에 따라 면역활성의 증진이 이루어지는 것으로 추정할 수 있었다.

이상의 결과에서 오미자는 면역활성을 가지는 성분을 함유하고 있으며 전통발효 공정을 통해 생성되는 대사산물이 면역실험에서 유효활성 증진을 나타내는 것을 확인하였다. 이는 전통발효 공정을 통해 생성된 성분의 활성으로 세포독성이 감소하고 세포활성이 증가하기 때문인 것으로 생각된다. 이상의 결과는 기존에 면역활성 증진 효과를 나타내는 초음파병행 공정 보다 높은 증진 효과로 전통발효 공정 및 활성성분에 대한 다각적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구논문은 2006년도 중소기업청에서 시행한 중소기업 기술혁신개발사업의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- Ahn SW, Kim MH, Chung WT, Hwang B, Seong NS, Lee HY (2000) Enhancement of alcohol fermentation yield by adding the extract of dried *Rehmannia glutinosa* Liboschitz, Kor. J. Medicinal Crop Sci., 8(4):351-361.
- Bae IY, Yoon EJ, Woo JM, Kim JS, Lee HG, Yang CB (2002) The development of Korean traditional wine using the fruits of *Opuntia ficus - indica* var, saboten - I, Characteristics of Mash and Sojues, J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 45(1):11-17.
- Barna BP, Deodhar SD, Gautam S, Yen-Lieberman B, Roberts D (1984) Macrophage activation and generation of tumoricidal activity by liposome-associated human C-reactive protein, Cancer Res., 44(1):305-310.
- Cedilia KL (2002) IL-2 receptor signaling through the Shb adapter protein in T and NK cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, 296:929-936.
- Ding AH, Nathan CF, Stuhr DJ (1998) Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages, J. Immunol., 141:2407-2412
- Han BH, Park MH, Cho JY, Park JS, Yoo ES, Baik KU (1998) Effect of ginsenosides from *Panax ginseng* on TNF- α production and T cell proliferation, Yakhak Hoeji, 42(3):296-301.
- Hikino H, Kiso Y, Taguchi H, Ikeya Y (1984) Antihepatotoxic actions of lignoids from *Schizandra Chinensis* Fruits, Planta Med., 50:213-218.
- Hong SW, Kim JY, Lee BK, Chung KS (2006) The bacterial biological response modifier Enriched Chungkookjang fermentation, Korean J. Food Sci. Technol., 38(4):548-553.
- Hsu HY, Shen SJ, Hsu CS, Chen CC, Chang HC (1986) In oriental materia Medica, Oriental Healing Arts Institute.
- Kang KC, Park JH, Baek SB, Jhin HS, Rhee KS (1992) Optimization of beverage preparation from *Schizandra chinensis* Baillon by response surface methodology, Korean J. Food Sci. Technol., 24(1):74-81.
- Kim DH, Park JH, Kim JH, Kim JH, Kim CH, You JH, Kwon MC, Lee HY (2005a) Enhancement of Immune Activities of Ephedrae Herba and Rubi Fructus at Low Temperature Extraction, Korean J. Medicinal Crop. Sci. 13(3):81-86.
- Kim JH, Kim DH, You JH, Kwon MC, Lee HJ, Lee HJ, Lee HY (2005b) Anticancer and Immune Activities of the Extracts from *Amorpha fruticosa* L., Korean J. Medicinal Crop. Sci. 13(1):41-47.
- Kim WI, Chung KW, Lee SB, Hong IK, Park KA (2001) Ultrasound energy effects on solvent extraction of amaranth seed oil. J. Korean Ind. Eng. Chem. 12(3):307-311.
- Lee JS, Lee MG, Lee SW (1989a) A study on the compositions of the total amino acids and free amino acids in parts of Omija (*Schizandra Chinensis* Baillon), Korean J. Dietary Culture, 4(2): 181-184.
- Lee JS, Lee MG, Lee SW (1989b) A study on the compositions of free sugars, lipids, and nonvolatile organic acids in parts of Omija (*Schizandra Chinensis* Baillon), Korean J. Dietary Culture, 4(2):177-179.
- Lee JS, Lee MG, Lee SW (1989c) A study on the general components and minerals in parts of Omija(*Schizandra Chinensis* Baillon), Korean J. Dietary Culture 4(2):173-176.
- Lee JS, Lee MG, Lee SW (1990) Effect of water extract in fruits of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) on CCl₄, Toxicity, Korean J. Dietary Culture, 5(2); 253-257.
- Lee SH, Lee HS, Park YS, Hwang B, Kim JH, Lee HY (2002) Screening of immune activation activities in the leaves of *Dendropanax moribifera* Lev., Kor. J. Medicinal Crop Sci., 10:109-115.
- Miyagawa N, Okamoto Y, Nakano H (1988) Effect of c-reactive protein on peritoneal macrophages. II. Human C-reactive protein activates peritoneal macrophages of guinea pigs to release superoxide anion in vitro, microbiol Immunol., 32(7):721-731.
- Mizoguchi Y, Kawada N, Ichikawa Y, Tsutsui H (1991) Effects of gomisin a in the prevention of acute hepatic failure induction, Planta Med., 57:320-324.
- Mok CK (2005) Quality characteristics of instant tea prepared from spray-dried Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extract/ grape juice mixture, Food Engineering Progress, 9(3):226-230.
- Nakajima K, Taguchi H, Ikeya Y, Endo T, Yoshioka I (1983) Quantitative analysis of lignans in the fruits of *Schizandra chinensis* B. by high performance liquid chromatography, Japan Yakugaku Zasshi, 103:743-749.
- Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK, Lee HY (2004) Improvement of Anticancer Activation of Ultrasonicated Extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* stapf, *Rubus coreanus* miq. and *Artemisia capillaris* Thunb. Korean J. Medicinal Crop. Sci. 12(4):273-278.
- Park MS, Rim YS, Shin SC (2006) Comparison of the properties and extracting conditions of juice preparation from *Schizandra nigra*, Journal of Korean Forestry Society, 95(4):453-458.
- Sheo HJ, Lee MY, Hwang GS (1987) The effect of *Schizandrae*

- fructus extract on blood constituents of alloxan induced diabetic rabbits, J. Korean Soc. Food Nutr., 16(4):262-267.
- Toda S, Kimura M, Ohnishi M, Nakashima K, Mitsuhashi H** (1988) Antioxidative components isolated from *Schisandra* fruit, Japan Shoyakugaku Zasshi, 42:156-159.
- Yueran Z., Rui S, You L, Chunyi G, Zhigang T** (2003) Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines, Biochemical and Biophysical Research Communications, 300:247-252.
- 배기환** (2001) 한국의 약용식물, 교학사, p. 654.
- 산림청** (1993) 단기소득임산물 특성과 재배법, 산림청, p. 335-344.
- 산림청** (1995) 산주를 위한 새로운 임업기술, 산림청, p. 238-239.
- 오오진** (1991) 쇠비름이 세포성 및 체액성 면역반응계에 끼치는 영향, 숙명여자대학교 대학원 석사학위논문.
- 이창복** (2003) 원색대한식물도감 상권, 향문사, p. 914.
- 장은재** (1985) 오미자 과실주 제조에 관한 연구, 고려대학교 석사학위논문, p. 56.