

오미자 발효액의 항산화 및 항균 활성과 미용효과

조은경¹ · 조혜은 · 최영주*

신라대학교 식품영양학과, ¹신라대학교 바이오식품소재학과

Antioxidant and Antibacterial Activities, and Tyrosinase and Elastase Inhibitory Effect of Fermented Omija (*Schizandra chinensis* Baillon.) Beverage

Eun Kyung Cho¹, Hea Eun Cho, and Young Ju Choi*

Department of Food and Nutrition, College of Medical Life Sciences, Silla University, Busan 617-736, Korea
¹Department of Bio-Food Materials, College of Medical Life Sciences, Silla University, Busan 617-736, Korea

Received August 23, 2010; Accepted December 13, 2010

This study was aimed to investigate the contents of chemical components and the biological activity of fermented Omija (*Schizandra chinensis* Baillon.) beverage (FOB), which have not been well known up to now. General compositions and the contents of mineral and vitamin of FOB were lower than Omija before fermentation (OBF). In addition, most sucrose was digested into glucose and fructose in FOB. This suggests that the beneficial contents may be made from general compositions by fermentation, though more evidences are needed. Antioxidant activity of FOB was measured by using 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity and superoxide dismutase-like activity (SODA). DPPH radical scavenging activity and SODA were increased in a dose-dependent manner, and were about 79.7% and 60.8% at four times diluted FOB (25% of FOB), respectively. The FOB also showed strong antibacterial activity on *Escherichia coli*. Beauty effect of FOB was demonstrated by the analysis of tyrosinase and elastase inhibitory activities, and they were remarkably increased in a dose-dependent manner. Tyrosinase inhibitory activity was about 82% at two times diluted FOB (50% of FOB) and elastase inhibitory activity was 78.2% at five times diluted FOB (20% of FOB). These results suggest that FOB has a strong antioxidant activity, and tyrosinase and elastase inhibitory effects.

Key words: antibacterial activity, antioxidant activity, elastase inhibitory activity, *Schizandra chinensis* Baillon., tyrosinase inhibitory activity

서 론

최근 들어 식생활 변화에 따른 각종 성인병들이 사회적 문제로 대두되고 있으며 이에 수반하여 기능성 식품의 개발에 많은 관심을 가지게 되었다. 특히, 야생 식물자원들의 성분과 기능에 관한 연구가 활발히 진행되면서 이를 이용한 기능성 식품의 제조 및 사용이 늘어나고 있다[Min과 Oh, 2000; Kim 등, 2002]. 이중 오미자(*Schizandra chinensis*)가 약용 및 식용식물체로 고대부터 식품, 기호음료, 한방, 의학면에서 널리 통용되어 왔으며 음료, 차, 엑기스 등의 가공제품으로 생산되어 왔다[Hsu

등, 1986]. 이는 오미자의 독특한 색깔, 맛, 그리고 향에 기인한 것으로 식품제조에 유용하게 이용되어 질수 있다. 이 뿐만 아니라, 오미자는 폐와 신을 보하고 허로, 구갈, 번열, 해소를 고친다고 하였고, 진정, 진해, 해열 등의 효과가 있는 것으로 알려져 왔으며, 약리 작용으로는 중추신경의 기능 강화, 혈액순환 개선, 혈압 및 혈당 강하 작용, 알코올에 대한 해독작용이 있는 등 여러 가지 기능성이 있는 것으로 알려져 있으므로 그 이용 가치가 높다[Molokovskii 등, 1987; Ip 등, 1998; Zhu 등, 1999; Cho 등, 2007]. 하지만, 지금까지 오미자 추출물에 대한 생리활성 분석만 이루어져 있고 오미자 발효물질의 생리활성을 연구한 결과는 거의 없다. 이는 오미자의 경우 과실자체에 발효성 당이 거의 없고 효모영양이 적기 때문인데, 가정에서는 단순히 소주 등과 같은 술에 오미자 열매를 담근 상태에서 오미자를 침출시켜 많이 음용해 왔다. 이것을 오미자주라 하여 약용주로 활용되어 왔는데, 제조가 용이하고 색, 기호면에서 선호

*Corresponding author
Phone: +82-51-999-5459; Fax: +82-51-999-6959
E-mail: yjchoi@silla.ac.kr

되는 반면 오미자의 기능성을 충분히 이용하기에는 어려움이 있다. 반면 발효공정을 거치게 되면 미생물의 분해 작용을 통해 새로운 활성 성분의 생성, 독성의 감소, 풍미의 향상 및 저장성 향상, 식물섬유소의 활성 증진 등 많은 장점을 가지므로 오미자에 발효공정을 적용하고자 하는 시도가 이루어져야 할 것이다[Mok, 2005; Park 등, 2006].

따라서, 본 연구에서는 오미자 열매를 기존의 추출방법을 통한 일반 추출이 아닌 전통발효 공정을 통하여 발효시켜 생리활성에 대하여 연구하고자 하였으며, 잘 알려져 있지 않는 오미자 발효음료의 항산화 및 미용효과에 대해 분석함으로써 기능성 음료개발의 기초자료로 제시하고자 한다.

재료 및 방법

시료. 본 실험에 사용한 오미자(*Schisandra chinensis* Baillon.)는 경상남도 거창 농가로부터 구입하여 깨끗이 씻어 자연건조시켰다. 이후 당의 농도가 50°Brix가 되도록 10 L의 설탕시럽을 조제한 다음 건조시킨 오미자 300 g에 첨가하였다. 25°C에서 약 6개월 동안 자연발효시켰으며 발효가 끝난 다음 Whatman No. 2 filter paper로 여과한 후 4°C에서 냉장 보관하여 시료로 사용하였다. 시료로 사용된 오미자 발효액은 pH 5.2로 약한 산성으로 나타났다.

일반성분 분석. 수분, 회분, 조단백질, 조지방, 탄수화물, 열량은 Korea Food and Drug Administration(KFDA)의 방법[KFDA, 2005]에 따라 분석하였다. 수분은 상압가열건조법에 따라 양을 측정하였으며, 조회분은 회화토(F6010, Thermolyne, USA)에 옮겨 550°C에서 8시간 가열하여 얻은 회화의 양을 측정하였다. 조단백질과 조지방은 세미마이크로칼달법을 적용한 분석기기인 auto kjeldahl system(K-370/424/414, Buchi, Switzerland)과 에테르 추출법을 적용한 분석기기, auto soxhlet system(B-811/B-411, Buchi, Switzerland)을 각각 이용하여 측정하였다. 탄수화물은 시료 100 mL에서 수분, 조단백질, 조지방, 식이섬유 및 회분의 양을 감하여 얻은 양으로서 표시하고 일반성분의 시험결과는 백분율로 표시하였다.

무기염류 및 비타민 성분 분석. 무기염류 중, Ca, Fe은 KFDA의 미량영양성분시험법의 건식분해법[KFDA, 2005]에 따라 시료 5 mL를 회화용기에 취하여 예비 탄화시킨 후 550°C의 온도에서 여러시간 가열하여 얻은 회백색의 회분을 시험용액으로 만들어 ICP(Optima 5300 DV, Perkin Elmer, England)를 사용하여 분석하였다.

비타민 중 vitamin B1(Vit B1), vitamin C(Vit C)는 KFDA의 미량성분시험법의 high performance liquid chromatography (HPLC)법[KFDA, 2005]에 따라 분석하였으며, 분석조건은 Table 1과 같다. 즉, 시료 5 mL를 1% acetic acid와 혼합하고 여과하여 시험용액으로 준비하고, 준비된 시험용액 중 10 µL를 HPLC에 주입하여 얻어진 수치를 계산하여 Vit B1, Vit C 함량을 산출하였다.

유리당 분석. 유리당 분석은 Lee등[1998]의 방법에 따라 시료 10 mL에 75% 에탄올 150 mL를 가하여 80°C에서 2시간 동안 환류냉각 추출하여 여과(Whatman No. 2)한 후 45°C에서

Table 1. The condition of HPLC for analysis of vitamin in fermented Omija beverage (FOB)

Content	Prep HPLC system
Column	High-performance carbohydrate column C18 (4.6 mm×250 mm)
Solvent system	Acetic acid/MeOH (5/95)
Flow rate	0.7 mL/min
Run time	35 min
Detector	UV 270 nm

Table 2. The condition of HPLC for analysis of free sugars in fermented Omija beverage (FOB)

Content	Prep HPLC system
Column	High-performance carbohydrate column (4.6 mm×250 mm)
Solvent system	Acetonitrile/H ₂ O (80/20)
Flow rate	1.4 mL/min
Run time	15 min
Detector	RI (Bischoff, Futechs)

회진식 감압농축기(Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Japan)로 감압농축하여 에탄올을 제거하였다. 농축액에 증류수를 가하여 전량을 100 mL로 보정하고 Sep-pak plus C18 cartridges(Waters, Ireland)로 처리한 후 HPLC로 분석하였으며, 분석조건은 Table 2와 같다.

DPPH 라디칼 소거능 측정. DPPH 라디칼 소거능은 Blois [1958]의 방법에 따라 DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. DPPH 용액은 100 mL 에탄올에 DPPH 1.5×10⁻⁴M을 녹인 후 증류수와 혼합하여 Whatman filter paper No. 2로 여과하여 만들었다. 96 well plate에 시료와 DPPH용액을 1:4비율로 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, ELISA reader(Molecular Device, VersaMax Microplate Reader, California, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능(Electron donating ability, EDA)은 EDA(%)=(대조구 흡광도-시료첨가구 흡광도)/대조구 흡광도×100으로 계산하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조그룹과 흡광도차를 비교하여 free radical의 제거활성을 백분율로 나타내었다.

SOD 유사활성 측정. SOD(Superoxide dismutase) 유사활성은 Marklund와 Marklund[1975]의 방법에 따라 활성 산소종을 과산화수소(H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 나타내었다. 시료를 농도별로 희석하여, 10 µL씩 96 well plate에 첨가한 후, Tris-HCl Buffer(50 mM Tris aminomethane, 10 mM EDTA, pH 8.0) 150 µL와 7.2 mM pyrogallol 10 µL을 첨가하여, 실온에서 10분간 반응시키고, 1 N HCl 50 µL을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA reader를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{SODA}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 시료 무첨가구의 흡광도

항균활성 측정. 항균활성 측정[Piddock, 1990]은 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* 각 균주를 24시간 전 배양하여 사용하였다. *V. parahaemolyticus* 균은 여패류에서 발견되는 균으로써 MB한천배지에 도말하여 paper disc에 시료를 농도별로 loading 한 후 25°C에 배양하고, 나머지 균은 LB한천배지에 도말하여 paper disc에 시료를 농도별로 loading한 후 37°C에 배양하였다. 항균활성은 24시간 배양하여 paper disc 주위의 투명한 생성 유무로 확인하였다.

Tyrosinase 저해활성 측정. 시료의 tyrosinase 활성 저해능은 Yagi 등[1987]의 방법에 따라 측정하였다. 37°C 수조에서 온도를 미리 조정한 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.5), 기질인 2 mM L-tyrosine solution 및 시료 용액의 혼합액에 mushroom tyrosinase(1000 unit/mL, Sigma, St. Louis, Missouri, USA), degassed 증류수를 첨가하여 25°C에서 30분간 반응시킨 다음 490 nm에서 흡광도 값(S_{Abs})을 측정하였다. 이때 효소액 대신에 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.5) 20 μL 를 첨가하여 흡광도를 측정한 값 (B_{Abs}), 시료 용액 대신에 증류수를 10 μL 를 첨가하여 흡광도를 측정한 값 (C_{Abs})을 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = [1 - (S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}}) / C_{\text{Abs}}] \times 100$$

S_{Abs} : Sample absorbance

B_{Abs} : Blank absorbance

C_{Abs} : Control absorbance

Elastase 저해활성 측정. 시료의 elastase 저해활성은 James 등[1996]의 방법에 따라 측정하였다. 피부노화, 특히 주름생성에 있어 주된 역할을 하는 matrix metallo proteinases(MMPs)인 elastase의 활성 저해능의 측정 방법은 다음과 같다. 0.05 M Tris-HCl buffer(pH 8.2)에 기질인 0.5 mM N-succinyl-ala-ala- ρ -nitroanilide를 용해시킨 후 시료와 효소인 elastase(1 unit/mL, Sigma, St. Louis, Missouri, USA) 용액을 첨가하였다. 이 혼합액을 25°C에서 10분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Elastase 저해활성은 다음식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibitory activity}(\%) = [1 - S/C] \times 100$$

S: 시료 첨가구의 흡광도

C: 시료 무첨가구의 흡광도

통계분석. 본 실험에서 각 시료마다 세 번씩 반복 실험을 통해 얻은 결과는 SAS program(Statistical analysis system program version 9.0)을 사용하여 각 시료의 평균과 표준편차를 계산하였고, t-test를 실행하였으며 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다범위 검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 5% 유의수준에서 시료간의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 함량. 실험에 사용한 오미자 발효액의 일반성분을 발효 전 오미자와 비교분석한 결과 오미자 발효액의 경우 수분 53.1 \pm 1.7%, 조단백질 0.1 \pm 0.08%, 조지방 0.2 \pm 0.01%, 회분 0.1 \pm 0.02%, 탄수화물 2.1 \pm 1.3%(유리당 미포함), 식이섬유 2.0 \pm 0.03%로 나타났으며, 발효 전 오미자는 수분 57.5 \pm 1.03%, 조단백질 11.1 \pm 0.07%, 조지방 18.8 \pm 0.12%, 회분 4.9 \pm 0.03%, 탄수화물 12.6 \pm 0.04%, 식이섬유 5.4 \pm 0.03%였다(Table 3). 이는 오미자 성분이 발효 후 감소하였음을 의미한다. Jeong 등[2006]의 보고에 의하면 오미자의 성분이 수분 79.6 \pm 0.8%, 조단백질 1.7 \pm 0.5%, 조지방 1.2 \pm 0.1%, 회분 0.6 \pm 0.0%, 탄수화물 16.9 \pm 0.5%, 식이섬유 12.1 \pm 0.45%로 본 실험의 오미자 발효액 보다 높게 나타났다. 이들 보고와 본 실험의 결과로 발효 전의 오미자 일반성분이 발효 후 감소된 것을 볼 수 있는데, 이는 오미자의 발효로 인하여 일반성분이 분해되어 다른 부산물들이 생성된 것으로 사료된다.

무기염류 및 비타민 함량. 오미자 발효액의 무기염류 및 비타민의 농도를 발효 전 오미자와 비교분석하여 Table 3에 나타내었는데 오미자 발효액의 경우 Ca은 15.2 \pm 0.8 mg, Fe은 0.02 \pm 0.01 mg, Vit B1은 0.01 \pm 0.005 mg, Vit C는 2.5 \pm 0.04 mg으로 보였으며, 발효 전 오미자는 Ca은 613.8 \pm 3.4 mg, Fe은 16.7 \pm 0.7 mg, Vit B1은 0.4 \pm 0.002 mg, Vit C는 131.9 \pm 2.9 mg으로 나타났다. Lee 등[1989]에 의하면 오미자의 무기질 및 비타민 함량은 Ca 766 mg, P 204 mg, Fe 10.5 mg, Vit B1 0.3 mg, 니아신 15.5 mg으로 보고하였는데, 본 실험의 오미자 발효액보다 또한 높았다[Lee 등, 1989]. 이들 결과로 발효 후 오미자의 비타민과 무기질이 감소하였음을 볼 수 있었다.

유리당 함량. 본 실험에서 주요 유리당으로써 fructose, glucose, 그리고 sucrose를 대상으로 측정하였는데 발효 전 오미자와 발효 후 오미자의 유리당 함량 비교분석 결과는 Table 3과 같다. 오미자 발효액의 유리당 함량은 fructose 21.5 \pm 0.2%, glucose 22.9 \pm 0.4%로 나타내었으며, sucrose는 발효 시 첨가되었음에도 불구하고 거의 검출되지 않았다. 이에 반해, 발효 전 오미자의 유리당 함량은 fructose 0.9 \pm 0.06%, glucose 1.3 \pm 0.04%, sucrose 50.3 \pm 1.4%로 관찰되었다. 이로써, 오미자 발효액의 주요 맛 성분인 유리당은 glucose와 fructose였음을 알 수 있었다. Hyun 등[2002]과 Jeong 등[2006]의 보고에 의하면 오미자의 fructose, sucrose, 그리고 glucose가 각각 1.11~1.83%, 0.96~1.13%, 0.87~1.05% 함유되어 있었다. 이들 함량은 오미자의 숙성에 따라 변하는데 sucrose 함량은 점점 줄어드는 반면에 glucose와 fructose 함량은 점점 증가한 것으로 나타나 sucrose가 fructose와 glucose로 분해된 것으로 추정하였다. 이는 본 연구에서도 나타났는데 오미자에 sucrose를 첨가하여 발효했음에도 불구하고 전혀 검출되지 않는 반면 glucose와 fructose 함량이 많이 증가하였다. 특히, 오미자의 glucose와 fructose함량보다 오미자 발효액에서 많이 검출되는데 이는 발효 시 첨가된 sucrose가 발효 동안 분해된 것으로 판단된다.

DPPH 라디칼 소거능. Free radical은 노화와 질병의 원인 중의 하나이며, 생체 내에서 활성 산소종을 생성하게 된다. 이들

Table 3. General compositions and mineral, vitamin, and free sugars contents of fermented Omija beverage (FOB) and Omija before fermentation (BOB)

Contents	Levels								
	BOB		FOB		t-value	p-value			
Calorie (kcal)	474.0±7.52		188.2±2.7				61.955***	<0.0001	
Carbohydrate (%)	12.6±0.04		2.1±1.3		13.983***	0.0002			
Free sugars (%)	Glucose (%)	1.3±0.04		22.9±0.4		-93.067***	<0.0001		
	Fructose (%)	52.5±1.5	0.9±0.06	44.4±0.8	21.5±0.2	8.253**	-170.877***	0.0012	<0.0001
	Sucrose (%)	50.3±1.4		0.0±0.2		61.656***		<0.0001	
Crude protein (%)	11.1±0.07		0.1±0.08		179.231***	<0.0001			
Crude fat (%)	18.8±0.12		0.2±0.01		267.541***	<0.0001			
Dietary fiber (%)	5.4±0.03		2.0±0.03		138.804***	<0.0001			
Ash (%)	4.9±0.03		0.1±0.02		230.585***	<0.0001			
Moisture (%)	57.5±1.03		53.1±1.7		3.834*	0.0186			
Vitamin B1 (mg)	0.4±0.002		0.01±0.005		3.376*	0.0279			
Vitamin C (mg)	131.9±2.9		2.5±0.04		77.278***	<0.0001			
Ca (mg)	613.8±3.4		15.2±0.8		296.837***	<0.0001			
Fe (mg)	16.7±0.7		0.02±0.01		41.268***	<0.0001			

All values are mean±SD (n=3).
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

활성 산소종은 각종 성인병과 노화, 특히 피부노화의 원인으로 큰 관심을 끌고 있으며, 피부 면역 기능을 억제시켜 피부 염증을 유발시키고, 탄력감소, 주름살 및 기미, 주근깨 등의 피부노화를 가속화 시킨다. 인체내의 free radical은 지질, 단백질등과 반응하여 생체의 노화를 촉진할 수 있는 물질로, 이러한 free radical을 제거할 수 있는 천연물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거법은 항산화물질의 전자공여능을 이용한 항산화 측정법으로 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법이다.

오미자 발효액의 항산화 효과를 DPPH radical 제거 정도를 측정하여 전자공여능으로 나타낸 결과 4배로 희석한 발효액(25%)에서 79.7%의 항산화활성을 나타내었다(Fig. 1). 이는 positive control로 사용한 butylated hydroxy anisole BHA의 농도 0.01%의 항산화 활성과 비슷한 수준으로 오미자 발효액의 높은 항산화 활성을 기대할 수 있다. 오미자 발효액의 높은 활성은 Cho 등[2010]이 보고한 오미자 추출물의 활성과 비교해 볼 때 더욱 두드러지게 나타났다. 즉, 추출물 농도 2.5 mg/mL에서 49%의 활성을 보고하였는데 본 연구에서는 오미자 발효액을 10배로 희석하였을 때 유사한 항산화능이 관찰되었다. 이는 발효과정 중 약효성분의 추출량이 지극히 높게 나타났기 때문이며 이는 Kim 등[2007]과 Doh 등[2010]의 발효인삼 연구에서도 확인되었다. 지금까지 약용식물 발효액에 대한 DPPH radical 소거능은 Kim 등[2003]이 보고한 쑥, 민들레, 아카시아, 솔잎, 쉼뜨기, 감잎 발효액에 대한 것으로 각각 16.4, 17.1, 10.7, 18.5, 19.2, 22.6%의 낮은 항산화력을 나타내었다. 이들 보고와 본 연구 결과를 비교해 볼 때 오미자 발효액의 높은 DPPH radical 소거능을 예상 할 수 있으며 오미자 발효액의 항산화능에 대해서는 지금까지 보고되어 있지 않은 것으로 본 연구결과의 높은 활용 가치를 시사하고 있다.

SOD 유사활성. Superoxide dismutase(SOD)는 항산화 효소로

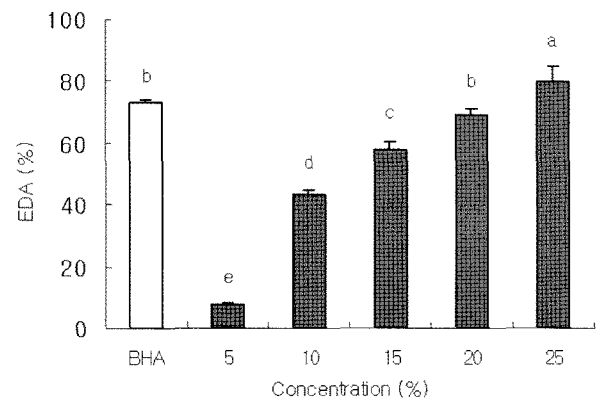


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activities of fermented Omija beverage (FOB) depending on concentration. Results are mean±SD of triplicate data. BHA (butylated hydroxy anisole, 0.01%) was used as positive control. Different letters on the bars of same items indicate a significant difference (p<0.05).

서 세포에 유해한 oxygen radical을 과산화수소로 전환시키고 다시 catalase에 의하여 무해한 물 분자와 산소분자로 전환시켜 활성산소로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다. SOD는 분자량이 비교적 큰 단백질로서 열이나 알칼리에 약하므로 이러한 단점을 보완할 수 있는 저분자물질로 체내에서 역할이 유사한 SOD 유사활성 물질에 대한 연구가 진행되고 있다. SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하며 superoxide의 반응성을 억제하여 항산화력을 나타내는 것으로 밝혀져 있다.

본 연구에서 오미자 발효액의 SOD 활성은 농도 의존적으로 증가하였는데, 4배로 희석한 발효액(25%)에서 60.8%로 나타났으며 발효원액에서 94.7%의 활성을 보였다(Fig. 2). 대조구인 Vit C의 경우 농도 0.1%일 때 98.1%로 보고되어 있는데, 오미자 발효원액(100%)과 유사한 항산화능을 나타내고 있다. 이를 Cho 등[2010]이 보고한 오미자 추출물의 활성과 비교해 볼 때

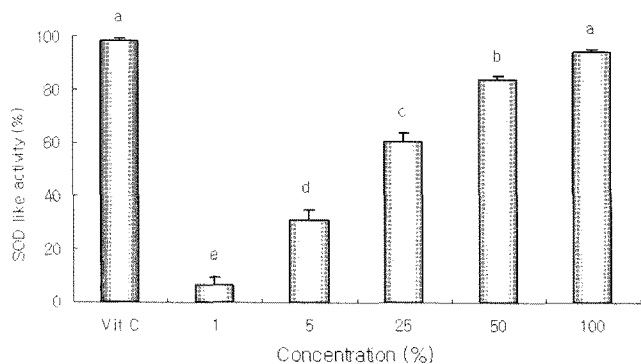


Fig. 2. Superoxide dismutase (SOD)-like activity of fermented Omija beverage (FOB) depending on concentration. Results are represented as mean \pm SD of three independent experiments. Vit C, vitamin C (0.1%). Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p < 0.05$).

오미자 발효액의 높은 활성이 더욱 두드러지게 나타났다. 즉, 추출물 농도 10 mg/mL에서 80%의 활성을 보고한데 반해 오미자 발효액은 94.7%의 항산화능을 나타내었는데 이 또한 발효에 의한 약효성분의 상승효과에 의한 것으로 판단된다. 약용식물 발효액의 SOD 활성에 대한 Kim 등[2003]의 보고에 의하면, 아카시아, 감잎 발효액의 SOD 유사활성은 25.1, 29.2%로 나타났지만, 쑥, 민들레, 솔밭, 쉼뜨기 발효액의 경우는 그 활성이 없었다. Lim 등[2004]의 연구에서는 오미자와 같이 식물의 열매로써 기능이 알려져 있는 결명자, 구기자, 복분자의 추출물에 대한 SOD 유사활성을 보고하였는데 17.7, 21.3, 13.2%로 오미자 발효액보다 낮은 수치를 나타냈다. 따라서, 오미자 발효액을 항산화능을 가진 기능성 음료로 개발하는데 있어서 그 기대치가 높을 것으로 예상된다.

항균활성. 오미자 발효액의 항균활성을 조사하기 위하여 주요 식중독세균에 대한 생육저해환을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 즉, *E. coli*, *S. aureus*, *V. parahaemoliticus* 균에 대한 오미자 발효액의 항균활성을 paper disk(8 mm)방법(Piddock, 1990)으로 관찰한 결과 *E. coli*에 대해서만 항균효과가 나타났다. 4배 희석한 오미자 발효액(25%)에서는 항균활성이 나타나지 않았지만 오미자 발효원액(100%)에서는 *E. coli* 식중독균에 대해 1.8 \pm 0.17 cm의 투명환을 나타내어 뚜렷한 항균효과를 볼 수 있었다. 지금까지 오미자 추출물의 항균 활성에 대한 연구는 많이 이루어져 왔으나 본 실험과 같이 오미자 발효액에 대한 식중독 유발균 *E. coli*, *S. aureus*, *V. parahaemoliticus*의 항균능에 대해서는 보고되어 있지 않으므로 본 연구결과는 오미자 발효액의 항균능에 대한 기초자료로 큰 의미를 둘 수 있다. 하지만, 오미자 발효액의 항균효과는 *E. coli*에서만 볼 수 있었는데, Choi 등[2002]과 Cho 등[2010]의 보고에 따르면 오미자 추출물의 경우 *E. coli*, *S. aureus*, *V. parahaemoliticus*에 대해서 항균활성을 나타내지 않았으며, 복분자는 *E. coli*에 대해 1.5 cm의 항균효과를 나타냈다. 이로 미루어 볼 때 오미자 발효액(100%)은 높은 항균활성을 나타내고 있으므로 식품 저장 중 식중독 예방이나 품질 저하 현상을 방지할 수 있는 천연 식품 보존제로서 활용 가치가 있음을 알 수 있다.

Tyrosinase 저해효과. Tyrosinase는 멜라닌 합성의 초기단계인

Table 4. Antibacterial activities of fermented Omija beverage (FOB) against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Vibrio parahaemoliticus* by disc method (Unit: cm)

Sample	Species		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>V. parahaemoliticus</i>
Control ¹⁾	ND ²⁾ d ³⁾	ND	ND
25% of FOB	ND ^d	ND	ND
50% of FOB	1.0 \pm 0.1 ^c	ND	ND
75% of FOB	1.5 \pm 0.2 ^b	ND	ND
100% of FOB	1.8 \pm 0.17 ^a	ND	ND

Each value represents the mean \pm SD (n=3).

¹⁾Distilled water.

²⁾Not detected.

³⁾Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

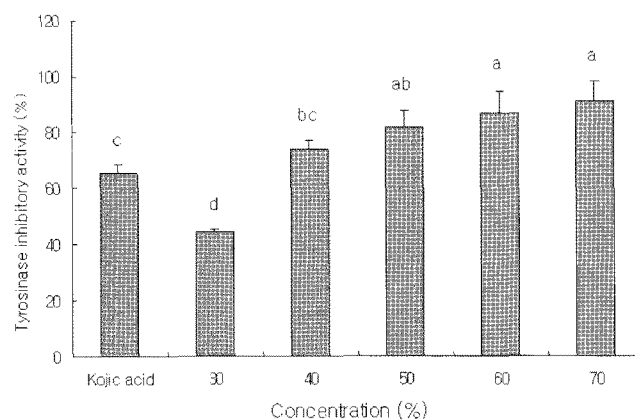


Fig. 3. Inhibitory effect of fermented Omija beverage (FOB) depending on concentration. Results are mean \pm SD of triplicate data. Concentration of kojic acid as positive control is 0.01%. Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p < 0.05$).

L-tyrosine에서 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)를 거쳐 L-dopaquinone으로 전환에 관여하며 최종적으로 melanin 색소 생성에 관여하는 효소이다. 특히 피부는 자외선에 노출되면서 tyrosinase의 작용으로 melanosome에서 멜라닌이 합성되어 피부 노화가 촉진되며, 색소침착과 피부 흑화 현상의 원인이 된다. 따라서 tyrosinase 활성저해제는 의약품, 화장품 등에 널리 적용되며, 인체에 부작용이 적은 천연소재를 확보하기 위한 연구가 집중되고 있다[Kim 등, 2009].

본 연구에서는 melanin 색소 생성에 관여하는 tyrosinase에 대한 오미자 발효액의 농도별 저해효과를 나타내었다(Fig. 3). Positive control로 사용한 kojic acid는 0.01%의 농도에서 65%의 tyrosinase 억제효과를 나타냈으며, 오미자 발효액의 농도가 증가함에 따라서 tyrosinase 저해활성이 증가하였다. 즉, 오미자 발효원액을 100% 농도라고 하였을 때, 50% 농도의 오미자 발효액의 tyrosinase 저해활성은 82%로 높은 수치를 나타내었다. 하지만, Jung 등[1995]의 보고에 의하면 오미자 열수 추출물의 경우 tyrosinase 저해율은 21%라고 보고하였는데, 이는 오미자 발효액의 tyrosinase 활성보다 낮은 것으로 나타났다. 또한 쑥, 민들레, 아카시아, 솔밭, 쉼뜨기, 감잎 발효액에서 각각 76.3, 88.3, 88.0, 91.0, 86.1%의 tyrosinase 활성 저해율이 보고되었는

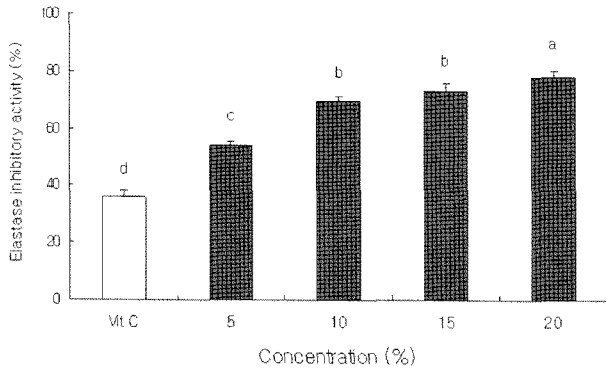


Fig. 4. Elastase inhibitory effect of fermented Omija beverage (FOB) depending on concentration. Results are mean±SD of triplicate data. Concentration of Vit C as positive control is 0.1%. Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p<0.05$).

데[Kim 등, 2003], 이들 보고와 비교한 결과 본 연구에서 개발한 오미자 발효액이 미백에 있어서 그 효능이 높음을 시사하고 있다.

Elastase 저해활성. Elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는 기질 단백질인 elastin의 분해에 관여하며[DeWitt 등, 1981], collagen을 분해할 수 있는 비 특이적 가수분해 효소이다. 또한 체내의 elastin을 분해하는 백혈구 과립 효소 중의 하나로 이상 조직에서는 활성이 높아져 조직파괴의 직접적인 원인이 되며, 피부의 주름 및 탄력성 소실 등을 유발한다[DeWitt 등, 1981]. 따라서 elastase 저해제는 피부의 주름을 개선하는 효과가 있다[Tsuji 등, 2001].

본 연구에서 오미자 발효액의 elastase 저해활성을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 전반적으로 농도가 높아짐에 따라 비례적으로 저해활성이 증가하였는데, 5배 희석한 오미자 발효액(20%)에서는 78%의 저해활성이 나타났다. Positive control로 elastase 저해 활성 효과가 알려진 Vit C는 0.1%의 농도에서 36%의 저해활성이 나타났다. 또한 elastase 활성저해제인 oleanolic acid는 농도 0.05%에서 elastase를 31.7%정도 저해하는 것으로 알려져 있다. 이들 대조군과 오미자 발효액을 비교해 볼 때 다소 낮은 저해활성을 보이는 듯하나 오미자 발효액의 농도가 증가할수록 그 저해활성이 높아지므로 오미자 발효액에서 주름예방 미용 소재로서의 활용 가치를 예상 할 수 있다. 또한, 지금까지 오미자의 elastase 저해효능에 대해 보고되어 있지 않으므로[Ying 등, 1991; Kim 등, 2004; Nam, 2007], 본 연구결과는 오미자 발효액의 주름예방효능에 대한 기초자료로 큰 의미를 둘 수 있다.

요 약

본 연구는 전통발효공정에 따라 오미자를 발효시켜 제조한 오미자 발효액의 여러 가지 생리활성에 대하여 조사하였다. 우선, 오미자 발효액의 일반성분, 무기질 및 비타민 분석을 시행한 결과에서 발효전의 오미자보다 탄수화물과 비타민 C 함량이 높게 나타났다. 또한, 주요 맛 성분인 유리당 함량을 측정 한 결과, 오미자 발효액에서 glucose와 fructose 함량이 발효 전

의 오미자 보다 높게 나타났다. 이에 반해, 발효 전 오미자에서 검출되는 sucrose가 오미자 발효액에서는 나타나지 않았다. 오미자 발효액의 항산화 효과를 분석하기 위해 DPPH radical 소거능을 측정 한 결과, 4배 희석한 오미자 발효액(25%)에서 79.7%의 DPPH radical 소거능을 나타내었는데, 0.01%의 BHA와 유사한 항산화력이 측정되었다. 또한 오미자 발효액의 SOD 활성은 발효원액에서 94.7%의 활성을 보였는데 대조구인 Vit C의 경우 농도 0.1%일 때 98.1%로 보고되어 있어 오미자 발효원액(100%)과 유사한 항산화능을 나타내고 있다. 이것으로 볼 때 오미자 발효액의 항산화 활성이 아주 높은 것으로 항산화력에 관한 높은 이용가치를 의미한다. 또한, 오미자 발효액의 항균활성을 관찰한 결과 오미자 발효원액(100%)에서 *E. coli*에 대한 항균효과가 나타났다. Tyrosinase의 저해효과는 시료의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었는데 50% 농도의 오미자 발효액에서 82%의 높은 tyrosinase 억제효과를 나타내었다. 오미자 발효액의 피부 주름 예방효과를 측정하기 위하여 elastase 저해효과 실험을 실시한 결과 전반적으로 농도가 높아짐에 따라 비례적으로 저해활성이 증가하였다. 이상의 결과는 오미자 발효액의 우수한 생리활성을 증명하고 있고, 항산화능, 항균력, 피부미용 효과가 높은 것으로 나타나 기능성 음료의 소재로서 그 활용도가 높을 것으로 판단된다.

참고문헌

- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1198-1200.
- Cho HE, Choi YJ, and Cho EK (2010) Antioxidant and nitrite scavenging activity, and α -glucosidase inhibitory effect of water extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **39**, 481-486.
- Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, and Kim MJ (2007) Biological activity of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *Korean J Appl Biol Chem* **50**, 198-203.
- Choi OK, Kim YS, Cho GS, and Sung CK (2002) Screening of antimicrobial activity from Korean plants. *Korean J Food Nutr* **15**, 300-306.
- DeWitt DL, Rollins T, Day JS, Gauger JA, and Smith WL (1981) Orientation of the active site, and antigenic determinants of prostaglandin endoperoxide synthase in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* **256**, 10375-10382.
- Doh ES, Chang JP, Lee KH, and Seong NS (2010) Ginsenoside change and antioxidation activity of fermented ginseng. *Korean J Medicinal Crop Sci* **18**, 255-265.
- Hsu HY, Chen YP, Shen SJ, Hsu CS, Chen CC, and Chang HC (1986) *Oriental materia Medica*. Oriental Healing Arts Institute, pp. 624. California, USA.
- Hyun KH, Kim HJ, and Jeong HC (2002) A study on determining chemical compositions of *Schizandra chinensis*. *Korean J Plant Res* **15**, 1-7.
- Ip SP, Che CT, and Ko KM (1998) Structure activity relationship of *Schizandrins* in enhancing liver mitochondrial glutathione status in CCl₄-poisoned mice. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* **19**, 313-316.
- James AEK, Timothy DW, and Gorden L (1996) Inhibition of

- human leucocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic tyrosinase inhibitors. *Biochemistry* **35**, 9090-9096.
- Jeong PH, Kim YS, and Shin DH (2006) Changes of physicochemical characteristics of *Schizandra chinensis* during postharvest ripening at various temperatures. *Korean J Food Sci Technol* **38**, 469-474.
- Jung SW, Lee NY, Kim SJ, and Han DS (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* **27**, 891-896.
- Kim JH, Park JH, Park SD, Choi SY, Seong JH, and Hoon KD (2002) Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from *Carthamus tinctorius* L. seed. *Korean J Food Sci Technol* **34**, 617-624.
- Kim JW, Kim DK, Park JS, Lee YK, Beik KY, and Kim SD (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of shark collagens, and inhibitory actions on elastase and tyrosinase. *Korean J Food Preserv* **16**, 419-426.
- Kim MJ, Kim JY, Choi SW, Hong JT, and Yoon KS (2004) Anti-wrinkle effect of Safflower (*Cathamustinctorius*) seed extract. *J Soc Cosmet Sci Korea* **30**, 15-22.
- Kim NM, Lee JW, Do JH, and Yang JW (2003) Effects of the fermentation periods on the qualities and functionalities of the fermentation broth of wild vegetables. *Kor J Food Sci Technol* **35**, 272-279.
- Kim YC, Cho CW, Rhee YK, Yoo KM, and Rho JH (2007) Antioxidant activity of ginseng extracts prepared by enzyme and heat treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **36**, 1482-1485.
- Korea Food and Drug Administration (2005) Food Standards Codex. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea.
- Lee HW, Shin DH, and Lee WC (1998) Morphological and chemical characteristics of Mulberry (*Morus*) fruit with varieties. *Korean J Seric Sci* **40**, 1-7.
- Lee JS, Lee MG, and Lee SW (1989) A study on the general components and minerals in parts of Omija. *Korean J Dietary Culture* **4**, 173-176.
- Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, and Chung IM (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* **12**, 191-202.
- Marklund S and Marklund G (1975) Involvement of superoxide aminoradical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* **47**, 468-474.
- Min SH and Oh HS (2000) A study on the properties of hot water extracts of Korean dried tangerine peel and development of beverage by using it. *Korean J Soc Food Cookery* **18**, 51-56.
- Mok CK (2005) Quality characteristics of instant tea prepared from spray-dried Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extract grape juice mixture. *Food Engineer Prog* **9**, 226-230.
- Molokovskii DS, Davydov VV, and Tiulenev VV (1987) The action of adaptogenic plant preparations in experimental alloxan diabetes. *Probi Endokrinol* **35**, 82-87.
- Nam KA (2007) Characterization of squid skin collagens and functionality of their enzymatic hydrolysates. MS Thesis, Gangneung National University, Gangwon, Korea.
- Park MS, Rim YS, and Shin SC (2006) Comparison of the properties and extracting conditions of juice preparation from *Schizandra nigar*. *J Korean Forestry Soc* **95**, 453-485.
- Piddock LJV (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* **68**, 307-310.
- Tsuji N, Moriwaki S, Suzuki Y, Takema Y, and Imokawa G (2001) The role of elastase secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem Photobiol* **74**, 283-290.
- Yagi A, Kanbara T, and Morinobu N (1987) Inhibition of mushroom tyrosinase by aloe extract. *Planta Medica* **53**, 517-519.
- Ying QL, Rinehart AR, Simon SR, and Cheronis JC (1991) Inhibition of human leucocyte elastase by ursolic acid; evidence for a binding site for pentacyclic. *Biochem J* **277**, 521-526.
- Zhu M, Lin KF, Yeung RY, and Li RC (1999) Evaluation of the protective effects of *Schizandra chinensis* on Phase I drug metabolism using a CCl₄ intoxication model. *J Ethnopharmacol* **67**, 61-68.