

오미자 발효음료의 알코올 분해능과 Angiotensin Converting Enzyme 및 α -Glucosidase 저해효과

조은경^{1*} · 조혜은^{2*} · 최영주^{2†}

¹신라대학교 바이오식품소재학과

²신라대학교 식품영양학과

Inhibitory Effects of Angiotensin Converting Enzyme and α -Glucosidase, and Alcohol Metabolizing Activity of Fermented Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) Beverage

Eun Kyung Cho^{1*}, Hea Eun Cho^{2*}, and Young Ju Choi^{2†}

¹Dept. of Bio-Food Materials, Silla University, Busan 617-736, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Silla University, Busan 617-736, Korea

Abstract

The nutraceutical role of fermented omija (*Schizandra chinensis*) beverage (FOB) was determined through the analysis of fibrinolytic and alcohol metabolizing activities, nitrite scavenging activity, and angiotensin converting enzyme and α -glucosidase inhibitory effects. Firstly, FOB increased fibrinolytic activity in a dose-dependent manner and indicated angiotensin converting enzyme inhibitory activity of 94.8% at 20% FOB (0.6 mg/mL). In addition, the inhibitory activities of FOB on α -amylase and α -glucosidase were determined to be 100% at 100% FOB (3 mg/mL) and 49% at 60% FOB (1.8 mg/mL), respectively. Nitrite scavenging activity of FOB was about 96.1%, 72.3%, and 68.3% on pH 1.2, 3.0, and 6.0 at 100% FOB, respectively. To determine influence of FOB on alcohol metabolism, the generating activities of reduced-nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) by alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) were measured. Facilitating rate of ADH activity was 70.3% at 50% FOB, but ALDH activity was not affected. These results revealed that FOB has a strong alcohol metabolizing activity, and fibrinolytic and nitrite scavenging activities and exhibits the angiotensin converting enzyme, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory activities.

Key words: *Schizandra chinensis* Baillon, fibrinolytic and alcohol metabolizing activities, nitrite scavenging activity, angiotensin converting enzyme and α -glucosidase inhibitory effects

서 론

오미자의 효능으로는 자양, 강장, 지사, 진해제의 효능이 있는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라(1,2) 중추신경의 기능 강화, 혈액순환 개선, 혈당 강하 작용, 간 기능의 복구에 대해서도 보고되어 있다(3-5). 이들은 모두 오미자(*Schizandra chinensis*) 추출물에 대한 생리활성 분석으로써 지금까지 연구되어 왔으며 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 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 활성 증진 등 많은 장점을 가지므로 식품에 발효공정을 적용하고자 하는 시도가 꾸준히 이루어지고 있다(6,7).

발효는 미생물의 활동으로 유기화합물이 분해되면서 알코올, 유기산, 탄산가스 등 분해산물을 생성하는 작용으로 양조 및 식품의 저장·활용과 밀접하게 관련되어 있는 오랜 역사를 가진 공정이다. 발효식품은 장류를 비롯하여 식초, 젓갈류, 발효유제품 등 종류가 다양할 뿐만 아니라 지역적 특성에 따라서도 다양한 양상을 띠고 있어 그 수를 헤아릴 수 없을 정도로 많다. 또한 과실 전통발효의 경우에는 오래 전부터 주로 발효성 당이 다량 함유되어 있는 과실을 발효시

*These authors contributed equally to this work.

†Corresponding author. E-mail: yjchoi@silla.ac.kr
Phone: 82-51-999-5459, Fax: 82-51-999-6959

커 술로 많이 이용되어 왔으며(8) 탄소원이 부족할 경우에는 발효원료에 설탕, 전분 등 탄소원을 첨가하여 발효시켰다. 최근 들어 식품의 발효를 통해 생성되는 유기산 및 분해산물들이 건강에 좋다는 연구 결과 등이 발표되면서 발효식품의 인기는 점점 높아지고 있는 실정이다(9,10).

따라서 본 연구에서는 오미자 열매를 기존의 추출방법을 통한 일반 추출이 아닌 새로운 전통발효 공정을 통하여 발효시켜 생리활성에 대하여 연구하고자 하였다. 특히, 오미자 발효음료의 잘 알려져 있지 않는 혈전분해능과 항고혈압 및 속취해소 효과에 대해 분석함으로써 기능성 음료개발의 기초자료로 제시하고자 한다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용한 오미자(*S. chinensis* Baillon)는 경상남도 거창 농가로부터 구입하여 깨끗이 씻어 건조시켰다. 이후 당의 농도가 50°Brix가 되도록 10 L의 설탕시럽을 조제한 다음 건조시킨 오미자 300 g에 첨가하였다. 실온에서 약 6개월 동안 발효시켰으며 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.

혈전분해능 측정

혈전용해 활성의 측정에 있어서는 Astrup와 Hullertz의 방법(11)을 변형하여 사용하였다. 0.4% fibrinogen(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 sodium borate buffer(10 mM sodium borate, 160 mM boric acid, 40 mM NaCl)에 녹인 다음 직경 87×10 mm petridish에 10 mL을 넣은 후 thrombin(1,000 unit/mL, Sigma) 20 unit를 첨가하여 실온에 30분간 방치하여 응고시켰다. 응고된 fibrin plate에 오미자 발효액 25%, 50%, 75%, 100%의 시료를 20 µL 점적하여 37°C에서 반응시켜 용해된 분해면적을 측정하였으며, 활성의 세기를 측정하기 위하여 혈전분해효소 plasmin과 비교 후 unit로 환산하여 단위를 정하였다.

α-Amylase 활성억제 효과 측정

오미자 발효액의 pancreatic α-amylase 활성억제 측정은 agar diffusion method의 방법(12)을 변형하여 측정하였다. 즉, 1%의 agar와 1%의 soluble starch를 증류수에 녹인 후, 121°C로 15분간 멸균하고 petridish에 부어 plate를 제작하였다. 시료액과 효소액(1000 U/mL)을 섞어 plate 위에 놓인 8 mm disc 위에 각각 분주하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 넣어 37°C 24시간 배양한 후 I₂/KI(5 mM I₂ in 3% KI) 5 mL을 가하여 15분간 발색시킨 후 다음과 같은 식으로 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \frac{\text{대조구의 면적} - \text{반응구의 면적}}{\text{대조구의 면적}} \times 100$$

α-Glucosidase 활성억제 효과 측정

오미자 발효액의 α-glucosidase 활성억제 효과 측정은 Tibbot과 Skadsen의 방법(13)에 따라 측정하였다. 즉, 50 mM sodium succinate buffer(pH 4.2)에 *p*-nitrophenol-α-D-glucopyranoside(PNPG)를 용해시켜 1 mg/mL의 농도로 기질을 만들고, 기질용액과 효소액을 혼합하고 대조구에는 증류수 0.1 mL, 반응구에는 시료 0.1 mL를 넣어 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N-NaOH 0.1 mL를 첨가하여 발색시켰다. 이때 생성된 *p*-nitrophenol(PNP)은 400 nm에서 spectrophotometer로 측정하였으며, 다음의 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 } p\text{-nitrophenol 생성량}}{\text{대조구의 } p\text{-nitrophenol 생성량}}\right) \times 100$$

Angiotensin I-converting enzyme 저해능 측정

오미자 발효액의 ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(14)에 따라 측정하였는데, rabbit lung acetone powder(Sigma)를 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 1 g/mL(w/v)의 농도로 한 후, 4°C에서 24시간 추출하였다. 이후 4°C, 2000×g에서 40분간 원심분리 하였으며, 상등액을 ACE 조효소액으로 사용하였다.

기질은 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 HHL(hippuryl-histidyl-leucine)을 5 mg/mL(w/v)의 농도로 녹인 후 사용하였다. ACE 저해활성은 시료에 ACE 조효소액을 가한 다음 37°C에서 5분간 예비반응 시킨 후, 기질을 가한 후 다시 37°C에서 1시간 반응시켰다. 150 µL의 1 N HCl로 반응을 정지시키고 750 µL의 ethyl acetate 가한 후, 1분간 교반하고 4°C, 2000×g에서 10분간 원심분리 한 다음 500 µL의 상등액을 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시켜 2 mL의 메탄올을 넣은 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 시료 대신 증류수 50 µL을 가해 실험을 하였으며, ACE 저해활성 효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{ACE inhibition}(\%) = \frac{C-S}{C-B} \times 100$$

S: sample absorbance

C: control absorbance

B: blank absorbance

아질산염 소거능 측정

오미자 발효액의 아질산염 소거능은 Gray와 Dugan의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 아질산염 용액에 시료 용액을 가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2) 및 0.2 M 구연산 완충용액(pH 3.0과 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정하여 반응용액을 준비하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 Griess 시약을 가하여 혼합시켜 15분간 실온에 방치시킨 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 공시험은 Griess 시약 대신

증류수를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 다음과 같은 계산식으로 계산하였다.

$$\text{아질산염 소거율(\%)} = [1 - (A - C)/B] \times 100$$

A: 1 mM NaNO₂ 용액에 추출시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B: NaNO₂ 용액의 흡광도

C: 추출시료 자체의 흡광도

ADH 활성 영향 측정

Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성도는 Choi 등(16)과 Racker의 방법(17)을 변형하였는데, spectrophotometer를 이용하여 340 nm에서 형성되는 nicotinamide adenine dinucleotide(NADH)의 흡광도를 측정함으로써 나타내었다. 시험관에 alcohol 0.1 mL, NAD 수용액(2 mg/mL) 0.5 mL, 오미자 발효액 0.1 mL를 첨가하고, 0.01 M glycine-NaOH 완충용액(pH 8.8)을 총 부피가 1.8 mL가 되게 첨가한 후 25°C 항온수조에서 10분간 반응시키고 ADH(10 unit/mL) 0.25 mL를 가하여 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 대조구는 시료 대신 증류수를 넣은 것으로 하였다. Positive control로 사용한 hepos는 약국에서 구입한 것으로, 처방전에 따라 1/2로 희석하여 사용하였다. ADH의 활성은 반응 종료 시의 최대 흡광도를 대조구의 최대 흡광도에 대한 비율로 나타내었으며 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{ADH activity} = (B/A) \times 100$$

A: 대조구의 최대 흡광도

B: 실험구의 최대 흡광도

ALDH 활성 영향 측정

Acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성도는 Tottmar 등의 방법(18)을 변형하여 NADH 생성에 따른 흡광도의 변화를 340 nm에서 측정하였다. ALDH의 활성도 측정을 위해 증류수 2.1 mL, 1 M tris HCl 0.3 mL, 3 M KCl 0.1 mL, 시료 0.1 mL, 20 mM NAD 0.1 mL, 0.33 M 2-mercaptoethanol 0.1 mL, 0.1 M acetaldehyde 0.1 mL를 혼합한 다음 25°C에서 10분간 반응시키고 ALDH(1 unit/mL) 0.1 mL를 가하여 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 대조구는 시료 대신 증류수를 넣은 것으로 하였다. Positive control은 ADH 활성 영향 측정에서 사용한 것으로 하였으며, ALDH의 활성은 ADH 활성 계산식에 따라 측정되었다.

결과 및 고찰

혈전분해능

혈전은 혈관손상으로 혈액이 유출될 때 합성되는 섬유성 단백질인 피브린으로 알려져 있다. 이들 피브린은 그대로 두면 다시 용해되는데 이는 혈장 속에 있는 플라스미노겐이 활성화하여 plasmin이 되어 피브린을 분해시키기 때문이다. 하지만 어떤 장애로 인한 불균형으로 인하여 혈전이 분해되

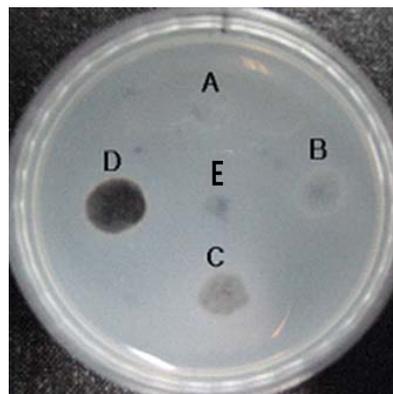


Fig. 1. Fibrinolytic activity of fermented omija beverage (FOB). (A), (B), (C), and (D) is 15 µg, 30 µg, 45 µg, and 60 µg of FOB, respectively and (E) is 20 µg of plasmin. Test samples were dropped onto the fibrin plate and the plate was incubated for 30 min at 37°C.

지 않고 응집되어 혈관에 축적됨으로써 혈전증을 야기한다(19). 이에 본 연구에서는 오미자의 혈전분해능을 조사하고자 하였으며, 그 결과 오미자 발효액에서 혈전분해능이 나타났다(Fig. 1). Positive control인 plasmin 20 µg과 비교실험을 실시한 결과 오미자 발효액에서 높은 혈전분해능을 나타냈다. 발효액의 혈전분해능은 체온과 유사한 온도인 37°C에서 30분 반응 후 확인되고 있으며, 농도가 증가할수록 활성이 증가하는 것을 볼 수 있었는데, 이는 plasmin보다 더 효율적으로 보인다. 이에 반해 본 실험실의 오미자 열수 추출물에서는 혈전분해능을 보이지 않고 있어 오미자 발효액의 혈전분해능은 발효 중 생성된 균주들의 혈전분해능으로 사료된다(data not shown). 지금까지의 보고에 의하면 된장으로부터 분리된 *Bacillus* 속 KDO-13(20), 치즈로부터 분리된 *B. amyloliquefaciens* DC-4(21), 흑두로 제조한 청국에서 분리된 *B. subtilis* BB-1(22), 멸치액젓으로부터 분리된 *B. subtilis* JM-3(23), 청국장으로부터 분리된 *B. subtilis* KCK-7(24) 등이 혈전분해능이 우수한 것으로 알려져 있다.

항고혈압 효과

ACE는 renin에 의하여 생성된 angiotensin I으로부터 C-말단 dipeptide(His-Leu)를 가수분해 시킴으로써 강력한 혈관수축작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하여 고혈압의 원인이 되고 있다. 이러한 ACE의 활성 저해인자로는 저분자 peptide들과 그 유도체들, 녹차에 존재하는 catechin과 메틸의 rutin과 같은 polyphenol 성분들이 대표적으로 알려져 있다(25). Angiotensin II는 혈관을 수축시키는 작용을 하고, 부신에서 aldosterone의 분비를 촉진시켜 체내 수분 보유량을 많게 하여 결과적으로 혈압을 상승시키는 작용을 한다. ACE의 작용이 계속 지속될 경우 고혈압이 지속되어 혈관 벽이 약화되어 터지게 되거나 뇌졸중 등의 여러 질환을 유발시킬 수 있다.

이러한 ACE의 작용을 억제하기 위한 활성이 오미자 발효

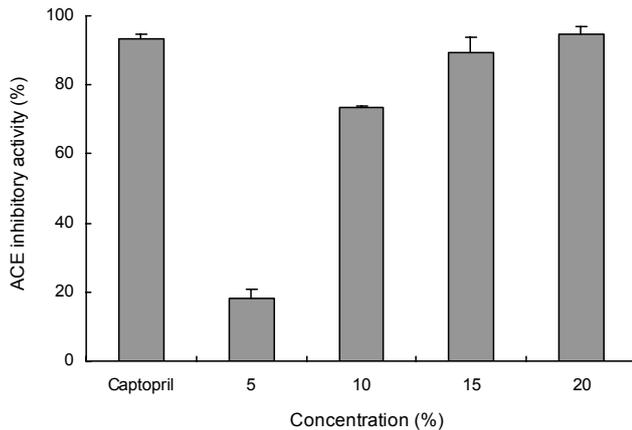


Fig. 2. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory effects of fermented omija beverage (FOB). Results are mean \pm SD of triplicate data. Concentration of captopril as positive control is 0.01%.

액에 있는지 알아보기 위해 실험한 결과, 높은 활성을 나타내었다(Fig. 2). Positive control로는 현재 시판되고 있는 항고혈압제인 captopril을 사용하였으며, captopril 0.01%(0.1 mg/mL)에서 93.4%의 저해활성을 나타내었고, 5배 희석한 오미자 발효액 20%(0.6 mg/mL)는 94.8%의 높은 저해활성을 나타내었다. Park 등(26)은 항고혈압 효과가 뛰어난 유색감자의 추출물 0.1 mg/mL에서 50%의 ACE 저해능을 보고하였는데, 본 연구결과와 비교분석한 결과 오미자 발효액의 우수한 항고혈압 효능을 예측할 수 있었다. 또한, 본 실험실에서 오미자 열수 추출물의 ACE 저해능을 관찰한 결과 그 효능이 나타나지 않았고(data not shown), 지금까지 오미자의 ACE 저해활성에 대해 보고된 바가 없으므로, 본 연구결과의 가치가 높다고 판단된다.

α -Amylase 활성억제 효과

제2형 당뇨병인 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 혈당을 조절함으로써 당뇨 현상을 완화시키고자, 혈당강하 기능을 가진 물질을 찾고자 연구되어 왔다. 이에 본 연구에서는 오미자 발효액으로부터 항당뇨 효과의 지표로 이용되는 α -amylase 저해율을 분석하여 Table 1에 나타내었다. 대조군으로서는 증류수를 사용하여 오미자 발효액의 pancreatic α -amylase에 대한 저해활성을 비교 분석하였는데, 그 결과 4배 희석한 오미자 발효액(25%)은 7.4%의 저해활성을 나타

Table 1. Inhibition of α -amylase activity by the fermented omija beverage (FOB)

Sample	Clear zone (cm)	Inhibitory activity (%)
Control	1.0 \pm 0	—
25% FOB	0.8 \pm 0.05	36.0 \pm 7.8
50% FOB	0.6 \pm 0.05	64.0 \pm 5.8
75% FOB	0.4 \pm 0.05	84.0 \pm 3.8
100% FOB	0 \pm 0	100 \pm 0

Each value represents the mean \pm SD (n=3). Control: distilled water.

냈고, 오미자 발효원액(100%)은 100%의 높은 α -amylase 활성저해효과를 나타내었다. 따라서 오미자 발효액의 α -amylase 저해활성이 아주 우수한 것으로 판단된다. Cho 등(27)의 보고에 따르면 α -amylase 활성억제 효과는 오미자 물 추출물과 ethanol 추출물 모두에서 100%로 높은 α -amylase 저해활성이 나타났다. 또한, Ko 등(28)에 따르면 오미자 추출물에 인슐린 민감성 제제가 함유되어 있을 것으로 추정된다고 보고하였다. 이들 보고는 본 연구결과와 유사한 것으로 오미자 발효액에는 혈당을 강하시키는 물질이 함유되어 있을 것으로 추정되며 당뇨병의 치료와 예방에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

α -Glucosidase 활성억제 효과

α -Glucosidase는 α -amylase에 의해 분해된 당질을 최종적인 단당류로 전환시킨다. 이러한 효소의 활성 저해는 당질 가수분해와 흡수과정을 지연시킴으로 식후 당 농도를 제한한다(29). 따라서 α -glucosidase 저해제는 제2형 당뇨와 같은 당질 관련 질병을 위한 치료제 개발에 유용하다(30).

본 연구에서는 오미자 발효액이 제2형 당뇨병 환자의 당분해를 억제할 수 있는지를 분석하기 위해 항당뇨 효과의 지표로 이용되는 α -glucosidase 저해율을 Fig. 3에 나타내었다. 본 연구에서 positive control로 사용된 α -glucosidase 억제제인 acarbose는 0.05%(0.5 mg/mL)의 농도에서 40.4%의 α -glucosidase 저해효과를 나타냈으며, 오미자 발효액 30%(0.9 mg/mL)의 농도에서는 15.8%, 60%(1.8 mg/mL)의 농도에서는 49%의 저해활성을 나타내었다. 농도가 증가할수록 저해율 또한 증가하므로 오미자 발효원액에서 높은 α -glucosidase 저해율을 기대할 수 있다. Cho 등(27)의 보고에 따른 α -glucosidase 활성억제 효과는 오미자 물 추출물 0.2 mg/mL에서 97.4%, 60% ethanol 추출물 0.2 mg/mL에서 84.5%로 높게 나타났다. 이들 보고와 본 연구결과로 오미자 발효액이 추출물의 효능보다는 낮지만, 탄수화물의 소화과정에서 α -glucosidase에 의한 단당류 생성을 저해함으로써

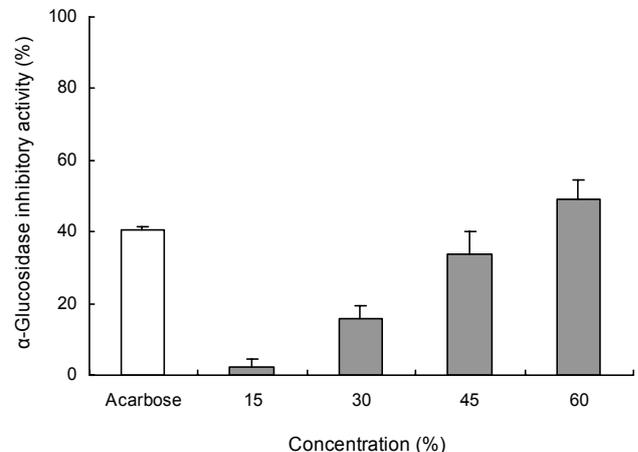


Fig. 3. Inhibitory effects of fermented omija beverage (FOB) on α -glucosidase activity. Results are mean \pm SD of triplicate data. Concentration of acarbose as positive control is 0.05%.

식사 후 혈당이 급격히 상승하는 등의 증상에 효과적으로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

아질산염 소거능

아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 2급, 3급 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하며, 위내에서 발암성 물질로 작용한다(31). 그러므로 산성 영역에서 니트로사민의 생성인자인 아질산염을 효과적으로 소거하여 니트로사민의 생성을 억제하는데 기여하는 물질들을 찾고자 연구되어 왔다. 이에 본 연구에서는 오미자 발효액이 아질산염 소거능에 미치는 영향을 분석하였다. 오미자 발효액의 농도별, pH별 아질산염 소거능에 대한 결과는 Fig. 4와 같다. Positive control인 Vit. C는 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.2%의 농도로, 오미자 발효액은 25, 50, 75, 100%의 농도로 하였는데, 그 결과 pH가 낮아수록 시료농도의존적으로 아질산염 소거능이 증가하였다. 즉, pH 1.2의 경우 오미자 발효액 25%(0.75 mg/mL)와 Vit. C 0.2%(2 mg/mL)의 농도에서 약 85%의 비슷한 아질산염 소거능을 나타냈다. pH 3.0의 경우는 오미자 발효액 25%(0.75 mg/mL)와 Vit. C 0.01%(0.1 mg/mL)가 약 46%로 비슷한 아질산염 소거능을 나타냈고, 오미자 발효액 100%(3 mg/mL)와 Vit. C 0.2%(2 mg/mL)에서는 아질산염 소거능이 73%와 62%로 관찰되었다. 이상의 결과로 볼 때 Vit. C와 오미자 발효액의 경우 농도가 증가할수록 아질산염 소거능이 증가하였고, 오미자 발효액과 Vit. C 모두 pH가 낮은 조건에서 높은 아질산염 소거능을 보였으며, 특히, pH 1.2에서 오미자 발효액의 경우 Vit. C보다 약간 높은 아질산염 소거능을 나타내었다. Kwon과 Park(32)의 보고에 의하면 pH 1.2에서 오미자는 80°C 열수와 ethanol 추출물 1 mg/mL에서 각각 70.2%와 76.2%의 아질산염 소거능을 나타내었다고 보고하

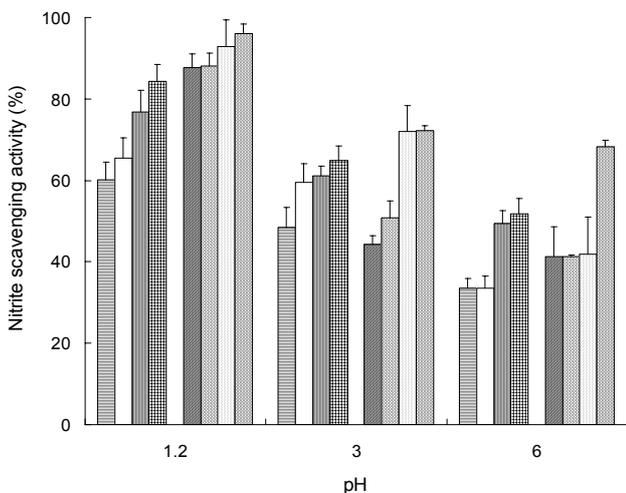


Fig. 4. Nitrite scavenging effect of fermented omija beverage (FOB) under different pH conditions. ▨, 0.01% of Vit. C; □, 0.05% of Vit. C; ▩, 0.1% of Vit. C; ▤, 0.2% of Vit. C; ▥, 25% of FOB; ▦, 50% of FOB; ▧, 75% of FOB; ▨, 100% of FOB. Results are mean±SD of triplicate data.

였다. 또한 Jeon 등(33)은 오미자 ethanol 추출물의 경우 pH 1.2에서는 76~83%의 소거능을 나타내었고, pH 3.0에서는 69~74%, pH 6.0에서는 매우 낮은 소거능을 나타냈다고 보고하였다. 따라서 본 실험과 비교해서 볼 때 오미자 발효액은 높은 아질산염 소거능을 나타냄을 알 수 있었다. 아질산염은 우리가 흔히 섭취하는 생선이나 육류 등에 발색, 풍미 증진, 항균작용 및 산패 방지를 위해 첨가제로 많이 이용되고 있지만, 이러한 아질산염을 섭취했을 경우 동물이나 인체의 위 내에서 아민류와 반응하여 발암성 물질로 알려진 nitrosamine을 생성하게 된다. 따라서 인체에 유해한 물질이라고 할 수 있는 아질산염을 효과적으로 제거할 수 있는 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구결과에서 오미자 발효액은 높은 아질산염 소거능을 나타내고 있는데 특히, 인체의 위 내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 활성이 좋은 것으로 확인되어 오미자 발효액은 아질산염 소거작용에 효능이 있는 전통발효식품소재로서의 역할이 기대된다.

ADH 및 ALDH 활성 영향

오미자 발효액에 의한 숙취 해소능을 생화학적으로 분석하기 위해 체내 알코올 대사의 1차 관여 효소인 ADH의 활성 증진 정도를 측정하였다. 또한 숙취의 주 원인물질인 acetaldehyde는 체내에서 흡수된 알코올이 분해 시 생성되는 대사산물로서 단순히 ADH만 활성화시키면 혈중 알코올 농도는 빠르게 감소시킬 수 있으나 간이나 혈액에 남아있는 acetaldehyde는 계속 축적이 되어 심한 숙취를 일으킬 수 있는 가능성이 있다. 따라서 acetaldehyde의 분해에 직접적인 영향을 미치는 효소인 ALDH의 활성에 오미자 발효액이 미치는 영향을 분석하였다. 오미자 발효액의 ADH 및 ALDH의 활성에 미치는 효과는 반응 후의 최대 흡광도와 효소의 반응 속도를 통하여 분석하였으며, ADH에 대한 결과는 Fig. 5에 나타난 바와 같다. 최대 흡광도는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈으며 대조구의 흡광도의 값을 100으로 하였을 때 오미자 발효액을 첨가한 경우 ADH 활성이 증가하였다. 즉, 2배 희석한 오미자 발효액(50%)의 ADH 활성

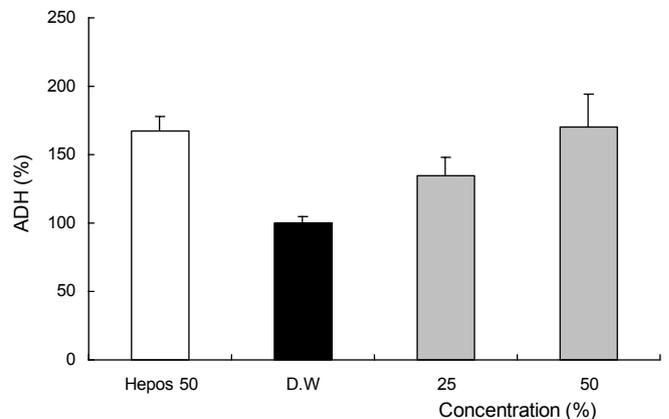


Fig. 5. Effects of fermented omija beverage (FOB) on the alcohol dehydrogenase (ADH) activity. Results are mean±SD of triplicate data. Hepos 50 is used as positive control.

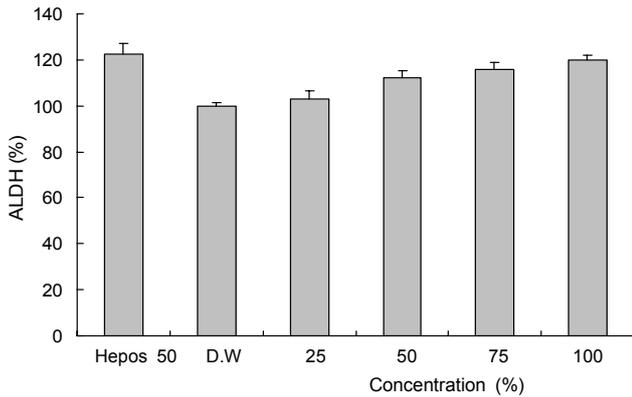


Fig. 6. Effects of fermented omija beverage (FOB) on the aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity. Results are mean \pm SD of triplicate data. Hepos 50 is used as positive control.

축진율은 170.3%로 positive control(hepos) 167.5%보다 높게 나타났으며, 오미자 발효액의 농도가 증가함에 따라 ADH 활성율은 증진하였다(Fig. 5). 이에 반해, 오미자 발효액은 ALDH 활성 축진율에 있어서 아무런 영향을 미치지 않았다. 즉, 대조구의 흡광도 값을 100으로 하였을 때 오미자 발효액을 첨가한 경우, 농도 증가에 따른 ALDH 활성 축진율의 변화는 크게 나타나지 않았으며, 오미자 발효액 원액임에도 불구하고 positive control(hepos)의 ALDH 활성 축진율 118.3%보다 낮게 보였다(Fig. 6). Hwang 등(34)의 보고에 의하면 매실즙과 10% GMT에서 ADH 활성 축진율이 각각 137.9%, 153.0이었으며, 1% 아스파르트산의 경우 144.3%로 나타났다. GMT는 짙배아 추출물인 구루메로써 아스파르트산과 함께 숙취해소 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Kim 등(35)의 보고에 의하면 *in vivo* 실험에서 알코올 분해와 숙취에 효과가 있는 것으로 알려진 헛개나무 추출물을 이용하여 분석한 결과 대조군보다 8~14% 정도 상승한 것으로 그다지 높지 않았지만, ALDH의 활성 증진이 18~24% 정도 더 높게 나타났다. 이는 헛개나무가 ADH 활성 증진에 의한 알코올 분해도 촉진시키지만 ALDH의 활성을 좀 더 증진시키므로 빠르게 acetaldehyde를 acetic acid로 분해시켜서 숙취해소에 상당한 도움을 주는 것으로 밝혀졌다. 이들 보고와 비교해 볼 때 오미자 발효액은 acetaldehyde 분해능은 없고, 높은 알코올 분해능을 가진 기능성 음료로서의 가치만 고려된다. 하지만, 지금까지 오미자의 알코올 대사 작용에 대해 보고된 바가 없으므로, 본 연구결과와 이용성이 높다고 판단된다.

요 약

전통발효식품의 기능성을 증명하기 위하여 경상남도 거창 농가로부터 구입한 오미자를 발효시켜 오미자 발효액을 제조하였으며, 여러 가지 생리활성에 대하여 조사하였다. 우선 오미자 발효액의 혈전분해능에 대해 분석한 결과, 혈전용

해제로 알려져 있는 plasmin보다 높은 활성을 나타내었다. 항고혈압 활성 측정 실험에서는 현재 시판되고 있는 항고혈압제인 captopril은 93.4%의 ACE 억제효과가 나타났고, 5배 희석한 오미자 발효액(20%)에서는 94.8%의 높은 저해활성을 나타내었다. 따라서 오미자 발효액은 인체에 부작용이 적은 천연 항고혈압소재로서 이용가능성이 높은 것으로 사료된다. 혈당 강하 효과를 조사하기 위하여 α -amylase와 α -glucosidase 활성억제 효과를 측정하였다. 오미자 발효액의 pancreatin α -amylase에 대한 저해 효과를 검토한 결과 오미자 발효액 25%의 농도에서 7.4%의 저해효과가 나타났고 오미자 발효원액인 100%에서는 100%의 높은 α -amylase 저해효과를 나타냈다. 따라서 오미자 발효액의 α -amylase 저해활성은 우수한 것으로 판단된다. 또한 오미자 발효액의 α -glucosidase 활성억제를 조사한 결과 30%의 농도에서 15.8%, 60%의 농도에서 49%의 저해활성을 나타냈다. 아질산염 소거능 측정 실험에서는 positive control인 Vit. C 0.1%의 경우 pH 1.2와 3.0에서는 61~76%, pH 6.0에서는 49%의 소거능을 보인 반면 오미자 발효원액(100%)의 경우 pH 1.2와 3.0에서는 72~96%, pH 6.0에서는 68%의 소거능을 나타내었다. 오미자 발효액의 숙취해소 효능은 ADH와 ALDH 활성증진에 오미자 발효액이 미치는 영향을 조사함으로써 증명하고자 하였다. 그 결과, 오미자 발효액은 acetaldehyde 분해능은 없는 반면, 알코올 분해능은 높게 나타났다. 이상의 결과들은 오미자 발효액의 우수한 기능성식품으로서의 이용 가능성에 대한 기초자료로 그 가치가 기대된다.

문 헌

- Hsieh MT, Tsai ML, Peng WH, Wu CR. 1999. Effects of *Schizandrae fructus* on cycloheximide-induced amnesia in rats. *Phytother Res* 13: 256-257.
- Nishiyama N, Chu PJ, Saito H. 1996. A herbal prescription, S-113m, consisting of biota, ginseng and *Schizandra* improves learning performance in senescence accelerated mouse. *Biol Pharm Bull* 19: 388-393.
- Ip SP, Che CT, Ko KM. 1998. Structure activity relationship of *Schizandrins* in enhancing liver mitochondrial glutathione status in CCl₄-poisoned mice. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* 19: 313-316.
- Molokovskii DS, Davydov VV, Tiulenev VV. 1987. The action of adaptogenic plant preparations in experimental alloxan diabetes. *Probi Endokrinol* 35: 82-87.
- Zhu M, Lin KF, Yeung RY, 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.
- Mok CK. 2005. Quality characteristics of instant tea prepared from spray-dried Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extract grape juice mixture. *Food Engineer Progress* 9: 226-230.
- Park MS, Rim YS, Shin SC. 2006. Comparison of the properties and extracting conditions of juice preparation from *Schizandra nigar*. *J Korean Forestry Soc* 95: 453-485.
- Bae IY, Yoon EJ, Woo JM, Kim JS, Lee HG, Yang CB. 2002. The development of Korean traditional wine using the

- fruits of *Oportia ficus-indica* var. saboten; characteristics of mashes and soju. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 45: 11-17.
9. 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. *Korean J Medicinal Crop Sci* 8: 351-361.
 10. Hong SW, Kim JY, Lee BK, Chung KS. 2006. The bacterial and biological response modified enriched Chungkookjang fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 38: 548-553.
 11. Astrub T, Hullertz S. 1952. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* 40: 346-351.
 12. Cavidson PH, Parish ME. 1989. Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148-150.
 13. Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30: 229-241.
 14. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
 15. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.
 16. Choi JT, Joo HK, Lee SK. 1995. The effect of *Schizandrae fructus* extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. *Agric Chem Biotechnol* 38: 278-282.
 17. Racker E. 1973. Alcohol dehydrogenase in rat liver. *Biochem J* 135: 577-581.
 18. Tottmar SO, Petterson H, Kiessling KH. 1973. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem J* 135: 577-581.
 19. Peng Y, Yang XJ, Zhang Y. 2005. Microbial fibrinolytic enzymes: an overview of source, production, properties, and thrombolytic activity in vivo. *Appl Microbiol Biotechnol* 69: 126-132.
 20. Lee SK, Bae DH, Kwon TJ, Lee SB, Lee HH, Park JH, Heo S. 2001. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KDO-13 isolated from soybean paste. *J Microbiol Biotechnol* 11: 845-845.
 21. Peng Y, Huang Q, Zhang RH, Zhang YZ. 2003. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from *douchi*, a traditional Chinese soybean food. *Comparative Biochem Physiol Part B* 134: 45-52.
 22. Lee YH, Lee SH, Jeon JM, Kim HC, Cho YU, Park KH, Choi YJ, Gal SW. 2005. Cloning and characterization of a gene for fibrinolytic enzyme from *Bacillus subtilis* BB-1 isolated from black bean *Chung-kuk*. *J Life Sci* 15: 513-521.
 23. Lee SS, Kim SM, Park UK, Kim HY, Shin IS. 2002. Studies on proteolytic and fibrinolytic activity of *Bacillus subtilis* JM-3 isolated from anchovy sauce. *Korean J Food Sci Technol* 34: 283-289.
 24. Paik HD, Lee SK, Heo S, Kim SY, Lee HH, Kwon TJ. 2004. Purification and characterization of the fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus subtilis* KCK-7 from *Chung Kookjang*. *J Microbiol Biotechnol* 14: 829-835.
 25. Maruyama S, Nakagomi K, Tomizuka N, Suzuki H. 1985. Angiotensin converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. *Agric Biol Chem* 49: 1405-1410.
 26. Park YE, Cho HM, Lee HJ, Hwang YS, Choi SSN, Lee SJ, Park ES, Lim JD, Choung MG. 2007. Antioxidant and inhibition on angiotensin converting enzyme activity of colored potato extracts. *Korean J Crop Sci* 52: 447-452.
 27. Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, Kim MJ. 2007. Biological activity of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *Korean J Appl Biol Chem* 50: 198-203.
 28. Ko BS, Park SK, Choi SB, Jun DH, Choi MK, Park SM. 2004. A study on hypoglycemic effect on crude extracts of *Schizandrae Fructus*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 258-264.
 29. Shinde J, Taldone T, Barletta M, Kunaparaju N, Hu B, Kumar S, Placido J, William ZS. 2008. α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydr Res* 343: 1278-1281.
 30. Baron AD. 1998. Postprandial hyperglycemia and α -glucosidase inhibitors. *Diabetes Res Clinical Practice* 40: 51-55.
 31. Park YB, Lee TG, Kim OK, Do JR, Yeo SG, Park YH, Kim SB. 1995. Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tora* L. *Korean J Food Sci Technol* 27: 124-128.
 32. Kwon HJ, Park CS. 2008. Biological activities of extracts from Omija (*Schizandra chinensis* Baillon). *Korean J Food Preserv* 15: 587-592.
 33. Jeon TW, Jo C, Kim KH, Byun MW. 2002. Inhibitory effect on tyrosinase and xanthine oxidase, and nitrite scavenging activities of *Schizandrae fructus* extract by gamma irradiation. *Korean J Food Preserv* 9: 369-374.
 34. Hwang JY, Ham JW, Nam SH. 2004. Effect of Maesil (*Prunus mume*) juice on the alcohol metabolizing enzyme activities. *Korean J Food Sci Technol* 36: 329-332.
 35. Kim MH, Chung YT, Lee JH, Park YS, Shin MK, Kim HS, Kim DH, Lee HY. 2000. Hepatic detoxification activity and reduction of serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* T_{HUNB} from Korea and China. *Korean J Medicinal Crop Sci* 8: 225-233.

(2010년 2월 9일 접수; 2010년 3월 15일 채택)