

The Effect of *Makgeolli* on Blood Flow, Serum Lipid Improvement and Inhibition of ACE *in vitro*

Mi-Ok Shin, Mi-Hyang Kim and Song-Ja Bae*

Department of Food and Nutrition, Research Center for *Makgeolli*-globalization, Silla University, Busan 617-736, Korea

Received January 20, 2010 / Accepted April 15, 2010

This study was conducted to investigate the effect of *Makgeolli* (MG) and *Makgeolli GiGemi* (MGG) on blood flow, serum lipid improvement *in vivo* and inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) *in vitro*. The activities of serum AST and ALT were increased by ovariectomy. Serum AST levels were decreased to 77.71 ± 13.97 and 74.57 ± 14.90 unit/ml in the OVX-MG50 and OVX-MGG50 groups compared to the OVX-control group (91.14 ± 12.02 unit/ml). Serum ALT levels were decreased to 34.00 ± 8.41 and 30.43 ± 3.60 unit/ml in OVX-MG50 and OVX-MGG50 groups compared to the OVX-control group (37.14 ± 5.40 unit/ml). Serum total cholesterol and triglyceride contents decreased in the sham group compared with OVX-control group by ovariectomy. Six weeks feeding of MG and MGG resulted in a decrease to 116.14 ± 36.02 and 109.14 ± 11.55 mg/dl compared to the OVX-control group (120.43 ± 8.36 mg/dl) in serum total cholesterol, and triglyceride levels were decreased to 52.43 ± 12.41 and 47.29 ± 12.08 mg/dl in the OVX-MG50 and OVX-MGG50 groups compared to the OVX-control group (58.57 ± 5.47 mg/dl). The level of HDL-cholesterol in the OVX-control group was significantly reduced to 51.29 ± 20.49 mg/dl compared to the sham group (72.29 ± 10.29 mg/dl), but it was increased to 70.71 ± 19.53 and 62.00 ± 20.20 mg/dl with MG and MGG supplementation. Furthermore, the effect of the MG group was higher than the MGG group. Microscopic observation showed that whole blood passed smoothly through the micro channels in the MG and MGG supplemented groups. The platelet aggregation ability of the groups treated with MG and MGG was less than that of the OVX-control group. *In vitro* assay, the angiotensin converting enzyme (ACE) activity was significantly inhibited by MG and MGG (82.6% and 68.9% inhibition at 0.4 g/ml). These results suggest that the beneficial effects of MG and MGG may be used to improve on the lipid metabolic syndrome of menopausal women. In addition, MG and MGG might improve blood homeostasis mediated activities via anti-platelets and MG and MGG may be used as antihypertensive functional foods and nutraceuticals.

Key words : *Makgeolli* (MG), ovariectomized rats, serum lipid, platelet aggregation, angiotensin converting enzyme (ACE)

서 론

빠른 속도로 증가하고 있는 심장질환은 최근 급속한 경제 성장과 더불어 생활양식의 서구화로 인한 고지방식이의 증가, 스트레스, 운동부족 및 의료 기술 발달에 의한 노령 인구의 증가 등에 의한 것으로 알려져 있다. 그리고 식생활과 생활습관이 바뀌어가면서 육류섭취가 증가하고 혈중 콜레스테롤 농도 증가로 인한 고혈압, 협심증, 급성심근경색증, 관상동맥경화증, 혈전증 등의 혈액에 관련된 심혈관계 질환 또한 해마다 그 발병률과 사망률이 증가하고 있는 추세이다[22]. 또한 에스트로겐 변화로 발생하는 폐경기의 건강 문제 중에서도 심혈관계 질환이 우리나라 사망원인의 제3순위를 차지하고 있고, 그 발생률도 계속 증가할 것으로 예측되고 있다[12]. 폐경과 심혈관계 질환의 관계에 있어서는 폐경이나 난소 절제 시 에스트

로겐이 감소됨과 동시에 high density lipoprotein cholesterol (HDL-cholesterol) 및 apolipoprotein A-1이 감소되고 low density lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol)이 증가하여 심혈관계 질환의 발병 위험률이 증가한다고 알려져 있다 [4,18]. 그러므로 여성의 생식기계 질환을 치료할 목적으로 시행되고 있는 난소절제술은 에스트로겐의 생성을 저하시킴으로써 인위적인 폐경을 유도하여 이로 인한 심혈관계 질환 발생을 연구하는 방법으로 널리 이용되고 있다[27]. 생체 내의 혈액은 응고와 용해작용이 항상 평형을 이루고 있어 정상적인 상태에서는 출혈이나 혈전 등에 의해 흐름이 방해 받지 않는다. 그러나 여러 가지 요인으로 인해 이러한 평형상태가 깨지면 혈관의 흐름이 원활하지 못하여 심혈관계 질환이 발생된다 [11,28]. 혈관 내벽의 collagen이 노출되면 혈액중의 혈소판이 점착, 활성화, 응집되고 혈액 응고계를 활성화하여 급속한 혈전을 형성하게 된다[24,26]. 이러한 질환을 치료하기 위하여 coumarin 등의 항응고제, 아스피린 등의 항 혈소판제를 장기 복용 하도록 처방하고 있지만 이들 약제는 출혈의 부작용과

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5881, Fax : +82-51-999-5687

E-mail : sjbae@silla.ac.kr

위장장애 등의 문제점을 가지고 있다. 본 연구에서 실험시료로 사용된 우리의 전통 민속주 막걸리는 옛 부터 자가 생산하여 널리 이용하여 온 일종의 양조주로서 당화와 발효의 공정을 병행하여 만들어진 알콜성 음료이다[23]. 알코올 도수가 높은 술을 마시게 되면 곧 취하게 되고 간에 많은 부담을 주게 되나, 우리의 전통주인 막걸리는 알코올 도수가 상대적으로 낮고 곡류를 이용한 발효식품으로서 위에 부담을 주지 않을 뿐 아니라, 유[35]에 의하면 양조장에서 생산되고 있는 막걸리는 에탄올이 약 6-8% 함유되어 있고 1.5-1.9% 정도의 상당량의 단백질과 당질, 그리고 비타민 B군과 C 및 각종 유용한 영양소를 함유하고 있다고 한다. 그리고 담금 후 누룩중의 미생물에 의한 효소작용으로 원료성분이 분해되어 당분이 생성되고, 각종 아미노산, 유기산 등의 맛 성분과 효모나 젖산균 등의 미생물에 의한 알코올 발효로 휘발성 풍미 성분이 생성되어 색과 함께 품질의 조화를 이루게 된다[19]. 막걸리를 빚은 후 술을 걸러내는 과정에서 생성되는 부산물인 원료인 술지게미는 쌀의 양에 대하여 약 20% 정도가 얻어지는데, 이 막걸리 지게미에도 당질과 단백질 외 섬유소, 무기질, 비타민 그리고 알코올과 유기산, 효소, 효모 등의 영양성분이 다량 함유한 것으로 보고되었다[3]. 최근 막걸리지게미는 적절한 이용분야를 찾지 못해 양돈 사료로 이용되거나 그대로 폐기 하는 등 그 이용률이 매우 저조한 편이다. 막걸리지게미에 관련한 연구로는 지게미의 활용에 대한 연구인 고추장, 제빵, 국수 제조 시 첨가에 따른 품질특성 등에 대한 연구[21,9]가 보고되어졌고 막걸리의 경우 원료와 누룩을 달리한 막걸리의 품질특성이나 휘발성 향기성분에 대한 연구는 이루어져 있는 실정이나[6,7,16,20,29,30] 생리 활성 및 기능성에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 최근, 막걸리와 막걸리지게미의 건강기능성 관련한 연구로는 막걸리 속 유산균을 16S rRNA sequence 분석을 통해 7종의 *Lactobacillus*를 동정한 연구[10], 누룩 추출물의 항염증 작용의 가능성을 제시한 연구[15] 및 당뇨를 유발한 흰쥐에서의 혈당 수준 개선효과[17]등이 보고되어졌다. 본 연구에서는 막걸리와 막걸리지게미를 시료로 하여 난소를 절제하여 갱년기 장애를 유도한 흰쥐에 투여함으로써 난소절제에 의한 estrogen 결핍에서 발생하는 지질조성의 변화 및 혈소판 응집능에 미치는 막걸리와 막걸리 지게미의 영향 등을 검토하여 막걸리의 혈행 및 지질개선 효과에 대하여 알아보았고, *in vitro*에서의 ACE저해 효과를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻어 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료 제조 방법

본 실험에 사용된 막걸리(*Makgeolli*, MG)와 막걸리 지게미(*Makgeolli GiGeni*, MGG)는 부산탁약주협회에서 제공받아 사용하였으며 회전식 진공농축기로 감압 농축시켜 막걸리와 막

걸리 지게미 농축물을 얻었다. 이 농축물을 각각 동결 건조하여 분말을 만든 후 증류수에 녹여 시료로 사용하였다.

실험동물

실험동물은 체중이 평균 180 g (8주)되는 Sparague-dawley 계 암컷 흰쥐를 (주)오리엔트바이오(경기도, 성남)로부터 구입하였으며, 실험시작 1주일 동안 고형사료(삼양유지)로 적응시킨 후 동물의 체중에 따라 4군으로 나누었다. 실험동물은 난소 절제 대조군(OVX-control), 비난소절제군(Sham), 막걸리 농축물 50 mg/Kg투여군(OVX-MG50) 및 막걸리 지게미 50 mg/Kg투여군(OVX-MGG50)으로 나누어 실험 하였다. 체중은 실험 사육 기간 중에 격일로 일정 시간에 측정하고, 식이 섭취량은 매일 식이 잔량을 측정하여 산출하였다. 동물 실험실의 사육조건은 온도 24±2°C, 습도 55-60%을 유지 시키며 물과 식이는 자유 공급하였고, 실험시료는 증류수에 녹여 매일 1 ml씩 경구 투여하였고, 대조군은 동일 용량의 증류수를 투여하였다.

난소 절제 시술

1주일 동안 주위환경에 적응시켜 난괴법에 의해 군을 나누어 난소 절제 시술을 실시하였다. 수술은 ether 마취 후 심마취기에 이르면 늑골하부를 절개하여 난소를 제거하고 절개부는 봉합하였다. 시술 후 3일부터는 매일 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 시료를 6주간 경구 투여하였다.

혈액 채취

혈액은 실험동물을 해부 전 24시간 절식 시킨 후 ether 마취 하에서 개복한 후 대동맥에서 채취하였고, 혈청 중의 지질 농도는 실온에서 한 시간 방치 후 3,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 분석에 사용하였다.

혈청 중의 효소 활성 및 지질 농도 분석

혈청 중 AST (glutamic oxaloacetic transaminase)와 ALT (glutamic pyruvic transaminase)의 효소 활성과 혈청 중 TG (triglyceride), TCHO (total cholesterol), HDL (HDL-cholesterol), LDL (LDL-cholesterol)농도는 자동 측정용 slide (FUJI FILM, Japan)를 이용하여 Dry chemistry analyzer 3500 (Fuji, Japan)로 측정하였다.

혈류측정

혈류는 Micro Channel Array Flow Analyzer KH-6 (MC Lab, Japan)을 이용하여 채취한 혈액 100 µl를 주입하여 측정하였다.

혈소판 응집력

Ether 마취 후 개복하여 대동맥으로부터 채혈한 혈액에

3.2% sodium citrate용액과 1:9의 비율로 혼합한 뒤 1,100 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet rich plasma)를 취하고, 3,000 rpm에서 10분간 더 원심분리 하여 상층에 혈장을 제거한 후 EDTA를 포함하는 washed buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 5.5 mM glucose, 1 mM EDTA, pH 6.5) 5 ml를 가하고 섞어주어 혈소판을 재 현탁시켰다. 이 혈소판을 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후, 세척액을 버리고 혈소판을 위의 방법으로 한번 더 세척하였다. 세척 후 suspending buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 5.5 mM glucose, 0.49 mM MgCl₂, 0.25% Gelatin, pH 7.4)로 재 현탁 시켜 3,000 rpm, 10분간 원심분리한 후 다시 suspending buffer로 현탁시켜 washed platelet을 조제하였다. Washed platelet는 suspending buffer로 희석하여 혈소판 수가 5×10⁸/ml이 되도록 하였고, 응집유도제로 collagen을 2.5 μl 가하여 5분간 반응시켜, Whole blood lumi-aggregometer (Chrono-log, USA)를 사용하여 37°C에서 혈소판 응집을 측정하였다.

In vitro ACE 저해작용

막걸리 농축물과 막걸리 지게미의 가수분해

막걸리 농축물을 동결 건조한 후 분말로 만든 각각의 시료 10 g 에 증류수 100 ml을 취한 후 효소인 protamex, flavyzyme, neutrase 를 각각 2% (v/w)첨가하였으며 대조구는 효소 대신 증류수 2%를 첨가하여 50°C에서 4시간 동안 가수분해하였다. 가수 분해물은 원심분리기를 이용하여 5,000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하였으며 상등액을 실험에 사용하였다.

ACE 저해작용

ACE 저해활성 측정은 Cushman 등[5]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, ACE 저해활성은 0.3 M NaCl을 함유한 0.1 sodium borate buffer (pH 8.3)에 rabbit lung acetone powder (Sigma, USA)를 1 g/10 ml (w/v)의 농도로 4°C에서 24시간 동안 추출한 후, 4°C, 4,000 rpm에서 40분간 원심 분리하여 ACE 조효소액을 얻었다. ACE 저해활성은 시료 50 μl에 0.1 M sodium borate buffer (pH 8.3) 100 μl 와 ACE 조효소액 50 μl를 가한 다음 37°C에서 5분간 예비반응 시킨 후, 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer (pH 8.3) 5 ml에 HHL (hippuryl-histidyl-leucine) 25 mg을 첨가하여 만든 기질 50 μl 를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이에 1 N HCl 250 μl를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 ml를 가해 15 sec 교반한 후 원심 분리(3,000 rpm/ 5 min, 4°C)하여 상등액 1 ml를 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시켜 증류수 3 ml를 넣은 후에 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 측정 하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용매 50 μl를 가해 실험하였으며, ACE 저해활성 효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$* \text{ ACE inhibition (\%)} = 1 - \frac{S.-S.B.}{C.-C.B.} \times 100$$

S: sample absorbance

S.B: absorbance of sample blank

C: control absorbance

C.B.: absorbance of control blank

통계처리

각 실험의 결과는 Student's t-test를 이용하여 통계분석을 수행하였다. 통계분석결과는 평균 및 편차로 표시하였으며 각 처리군 간의 유의적인 차이는 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

혈청 중의 효소 활성

Table 1은 난소 절제 흰쥐에 막걸리와 막걸리 지게미 농축물을 투여하여 혈청 중 효소활성 변화를 나타낸 결과이다. AST활성에서는 난소를 절제한 OVX-control군(76.14±9.70 unit/ml)이 난소를 절제하지 않은 Sham군에 비해 AST활성이 96.14±12.02 unit/ml로 증가하였고, OVX-MG50군과 OVX-MGG50군에서는 모두 Sham군과 비슷하게 77.71±13.97 unit/ml와 74.57±14.90 unit/ml로 AST활성이 감소하였다. ALT활성 또한 난소를 절제한 OVX-control군(30.43±2.70 unit/ml)이 난소를 절제하지 않은 Sham군에 비해 ALT활성이 37.14±5.40 unit/ml로 증가하였고, OVX-MG50군과 OVX-MGG50군에서는 모두 OVX-control군에 비해 34.00±8.41 unit/ml와 30.43±3.60 unit/ml로 감소하였다. 그리고 OVX-MGG50군이 OVX-MG50군에 비해 차이는 미미하나 AST와 ALT활성이 조금 더 감소하는 경향을 보였다. 일반적으로 정상 흰쥐의 AST, ALT 활성도는 각각 50-90 unit/ml, 5-40 unit/ml이라고 알려져 있다[1]. 따라서 본 연구결과 모두 정상범위에 속하므로 난소절제로 인하여 AST와 ALT활성에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 추측된다.

Table 1. Effect of MG and MGG on serum glutamic oxaloacetic transaminase (AST) and glutamic pyruvic transaminase (ALT) concentration in ovariectomized rats (mg/dl)

	AST (unit/ml)	ALT (unit/ml)
Sham	76.14±9.70	30.43±2.70
OVX-CON	91.14±12.02 [#]	37.14±5.40 [#]
OVX-MG	77.71±13.97	34.00±8.41
OVX-MGG	74.57±14.90 [*]	30.43±3.60 [*]

MG: *makgeolli* (MG), MGG: *makgeolli gigeni* (by product of makgeolli) (MGG)

The results are expressed as mean±S.D. of 6 rats. statistical significance: ^{*}p<0.05 vs. OVX-CON, and [#]p<0.05 vs. control.

혈청 중의 지질 조성의 변화

폐경 후 여성이나 난소를 제거한 동물의 경우 음식물의 섭취가 촉진되고 지방조직이 증가하는데 이는 에스트로겐이 감소 때문에 에스트로겐은 지방조직의 지단백 리파제(lipoprotein lipase) 활성을 저하시키고 호르몬 민감성 리파제(hormone sensitive lipase) 활성을 증가시켜 체지방 축적을 억제한다고 알려져 있다[14,34]. 그리고 콜레스테롤 농도의 분포를 보면, 건강한 젊은 여성의 경우 같은 나이의 남성에 비해, TCHO, LDL 및 TG의 농도가 낮고 HDL의 농도는 남성에 비해 상대적으로 높다. 그러나 폐경에 이르게 되면 TG와 HDL의 농도는 대체로 변화가 없으나 TCHO과 LDL의 농도가 증가되어 폐경기 이후 혈관 관련 질환의 발병률이 높아지는 원인으로 작용하고 있다[25]. Table 2는 난소 절제 흰쥐에 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 투여 후 혈청 중 TG와 TCHO 및 HDL의 농도 변화를 나타내었다. 난소를 절제한 OVX-control군이 난소를 절제하지 않은 Sham군(48.43±15.87 mg/dl)과 비교해 TG의 함량이 58.57±5.47 mg/dl로 증가하였고, OVX-MG50군과 OVX-MGG50군에서는 모두 OVX-control군에 비해 52.43±12.41 mg/dl와 47.29±12.08 mg/dl로 감소하였다. 또한 TCHO의 함량도 난소를 절제한 OVX-control군이 난소를 절제하지 않은 Sham군(105.86±12.98 mg/dl)에 비해 120.43±8.36 mg/dl로 증가하였고, OVX-MG50군과 OVX-MGG50군에서 OVX-control군에 비해 116.14±36.02 mg/dl와 109.14±11.55 mg/dl로 모두 감소하였다. HDL은 말초조직 및 혈액 중에 축적된 콜레스테롤을 이화, 제거하여 콜레스테롤 에스테르로 만들고 간으로 역수송을 촉진하여 담즙산으로 배설시킴으로써 TG의 농도를 저하시켜 동맥경화증의 개선 및 예방에 유효한 것으로 알려져 있다[2]. 혈청 중 HDL농도는 난소를 절제하여 갱년기

장애를 유도한 OVX-control군에 비해 Sham군이 증가하였으며, OVX-MG50군과 OVX-MGG50군에서 각각 70.71±19.53 mg/dl와 62.00±20.20 mg/dl로 난소 절제로 감소된 OVX-control군(51.29±20.49 mg/dl)에 비해 증가하였다. 그리고 OVX-MG50군이 OVX-MGG50군보다 조금 더 증가되는 경향을 보였다. 폐경기 여성을 대상으로 한 다수의 연구에서 에스트로겐을 투여하면 HDL의 농도가 증가하고 LDL 및 TG의 농도는 낮춘다고 알려져 있다[32,33]. 이와 같은 결과로 미루어 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 투여가 난소절제에 의해 에스트로겐 분비가 저하된 상태에서 TG와 TCHO의 농도는 저하시키고 HDL농도를 증가시키는 등 지질대사에 영향을 주어 심혈관계 질환개선에 도움을 줄 것으로 기대된다.

혈류 개선효과

혈류 개선에는 혈액을 구성하는 혈장 및 혈구세포(혈소판)가 주로 관여하며, 이들은 혈류의 항상성을 유지시키며 혈관의 손상된 부위나 염증 부위에서 정상적인 지혈과 보호 작용을 유지함으로써 인체의 정상적인 기능을 유지한다[13,31]. 혈류의 흐름에 미치는 막걸리와 막걸리 지게미 농축물의 영향을 검토해보기 위해 OVX-control, Sham 및 OVX-MG50군과 OVX-MGG50군의 혈액을 각각 채취하여 헤파린 처리 후, 시각적이고 정량적으로 혈액의 유동성을 인식하여 혈액의 속도를 측정할 수 있는 Micro channel array flow analyzer (MCFAN)를 이용하여 일정한 압력으로 혈액이 모세관을 25, 50, 75, 100 µl 통과하는 시간을 측정하였다. 본 실험결과 Sham군이 OVX-control군에 비해 빠른 시간에 모세관을 통과하였다 (Table 3). 또한 OVX-MG50군과 OVX-MGG50군이 OVX-control군보다 빨리 모세관을 통과하였고, 특히 OVX-MG50군이 OVX-MGG50군보다 빠른 혈액 유동성을 나타내었다. 이상의 결과에서 난소절제로 인한 에스트로겐 분비저하와 지질대사의 영향으로 혈류의 모세혈관 통과속도가 다소 늦어졌으나 일정량의 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 투여에 의해 혈류의 속도가 빨라짐을 볼 수 있었고, 이와 같은 결과는 막걸리가 혈류의 흐름에 좋은 영향을 줄 것으로 기대되어진다.

혈소판 응집에 미치는 영향

막걸리와 막걸리 지게미 농축물의 혈소판 응집 억제 효과를 검토해보기 위하여 washed platelet을 분리하고 collagen 2 µg

Table 2. Effect of MG and MGG on serum triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol concentration in ovariectomized rats (mg/dl)

Group	TG	TCHO	HDL
Sham	48.43±15.87	105.86±12.98	72.29±10.29
OVX-CON	58.57±5.47 [#]	120.43±8.36 [#]	51.29±20.49 [#]
OVX-MG	52.43±12.41 [*]	116.14±36.02	70.71±19.53 [*]
OVX-MGG	47.29±12.08 [*]	109.14±11.55 [*]	62.00±20.20

The results are expressed as mean±S.D. of 6 rats. statistical significance: ^{*}p<0.05 vs. OVX-CON, and [#]p<0.05 vs. control.

Table 3. Effect of MG and MGG on micro channel array flow

Group	25 µl	50 µl	75 µl	100 µl
Sham	10.46±1.34	21.36±2.63	36.39±3.79	52.29±4.25
OVX-CON	11.63±1.93 [#]	26.87±5.02 ^{##}	46.05±8.93 ^{##}	71.06±13.06 ^{###}
OVX-MG	10.33±0.71	22.73±1.592	37.45±2.94	55.12±5.03
OVX-MGG	14.36±0.58	27.43±1.39 ^{**}	42.15±2.73 ^{**}	59.12±2.81 ^{***}

The results are expressed as mean±S.D. of 6 rats. statistical significance: ^{**}p<0.01, ^{***}p<0.001 vs. OVX-CON, and [#]p<0.05, ^{##}p<0.01, ^{###}p<0.001 vs. control.

Table 4. Effect of MG and MGG against collagen induced platelet aggregation

Group	Amplitude (%)	Slope (Ω /min)	Lag time (sec)
Sham	109.58±2.63	139.50±8.58	37.58±9.18
OVX-CON	120.57±4.05 ^{###}	150.36±7.05 [#]	24.17±2.57 [#]
OVX-MG	107.36±33.57 ^{***}	141.04±44.71	32.99±11.83 [*]
OVX-MGG	109.86±3.21 ^{***}	146.86±14.38	30.62±4.73 ^{**}

The results are expressed as mean±S.D. of 6 rats. statistical significance: ^{**} $p < 0.01$, ^{***} $p < 0.001$ vs. OVX-CON, and [#] $p < 0.05$, ^{###} $p < 0.001$ vs. control.

으로 혈소판 응집을 유도하였다. 막걸리와 막걸리 지게미 농축물의 항혈소판 응집에 미치는 영향을 검토한 결과, OVX-control군의 경우 대조군인 Sham군에 비해 혈소판 응집이 증가한 반면 OVX-MG50군과 OVX-MGG50군은 OVX-control군에 비해 혈소판응집이 억제되는 것으로 나타났다(Table 4). Amplitude (%)는 혈소판 응집율을 나타낸 것으로 수치가 작을수록 시료의 항혈소판 응집효과가 큰 것을 의미한다. Amplitude (%)의 경우, 난소를 절제한 OVX-control군은 Sham군(109.58±2.63%)과 비교하였을 때 120.57±4.05%로 증가하였으나 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 투여로 인해 응집율이 각각 107.36±33.57%와 109.86±3.21%로 감소하는 경향이 나타났다. Slop (Ω /min)은 혈소판 응집에 대한 기울기로 ohm수치가 클수록 collagen 응집제로 인해 혈소판의 응집이 급격하게 이루어진 것을 의미한다. 난소를 절제한 OVX-control군은 Sham군(139.50±8.58 Ω /min)과 비교하였을 때 150.36±7.03 Ω /min으로 증가하였으나 OVX-MG50군과 OVX-MGG50군에서 역시 141.04±44.71 Ω /min와 146.86±14.38 Ω /min으로 감소하는 경향이 나타났다. Lag time (sec)은 혈소판 응집이 일어나는 반응시간으로 반응시간이 짧을수록 collagen 응집제로 인해 혈소판의 응집이 급격하게 이루어진 것을 의미한다. OVX-control군은 Sham군(37.58±9.18 sec)과 비교하여 24.17±2.57 sec로 감소하였는데 이는 collagen첨가에 의한 응집효과가 난소절제로 인하여 더욱 촉진된 것으로 사료된다. 이에 반해 OVX-MG50군과 OVX-MGG50군은 OVX-control군에 비하여 응집시간이 32.99±11.83 sec와 30.62±4.73 sec로 증가하여 응집이 지연되는 결과를 나타내었고, OVX-MG50군이 OVX-MGG50군보다 응집 시간이 조금 더 지연됨을 알 수 있었다. 이상의 결과로 막걸리와 막걸리 지게미 농축물이 collagen으로 인한 응집을 효율적으로 억제시키는 것으로 생각할 수 있다.

In vitro ACE 저해 효과

체내에 널리 분포되어 있는 ACE는 불활성형인 안지오텐신 I의 말단을 절단하여 활성형의 안지오텐신 II로 전환시키며 이렇게 생성된 안지오텐신 II는 직접적으로 혈관을 수축하고 신장에서 알도스테론의 분비를 증가시켜 체액량을 증가시켜 혈압을 상승시키는 작용을 한다. 이러한 레닌-안지오텐신-알도스테론 고리에 이상이 생기면 이차적인 고혈압이 발생한다. 따라서 이 고리의 작용을 효과적으로 조절하는 약물의 발견은

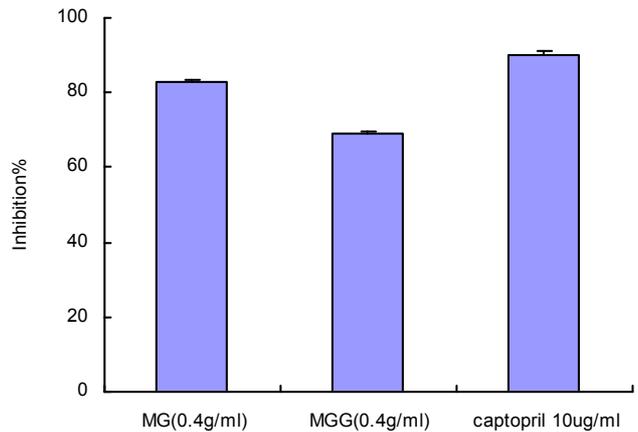


Fig. 1. *In vitro* Inhibitory effects of the MG and MGG on angiotensin converting enzyme activities. The assay procedure was described in experimental methods. Values are mean±S.D. of triplicated experiments.

MG: *makgeolli* (MG)

MGG: *makgeolli gigeni* (by product of makgeolli) (MGG)

고혈압치료제로서 중요한 의미가 있다[8]. 막걸리와 막걸리 지게미 농축물을 가수분해 시킨 후 ACE 활성 저해 효과를 *in vitro* 실험을 통하여 확인해 보았다(Fig. 1.) 막걸리와 막걸리 지게미 가수분해물 0.4 g/ml 농도에서 각각 82.6%와 68.9%의 억제효과를 보였다. 양성 대조군으로는 고혈압 치료제로 사용하고 있는 captopril (10 μ g/ml)을 사용 하였으며 대조군에 비하여 ACE 활성 저해에 대한 약효력은 떨어지지만 ACE 활성 저해 효과는 확인하였다. 특히, 막걸리와 막걸리 지게미 농축물을 비교하여 볼 때 막걸리 농축물에서 더 높은 ACE 활성 저해 효과를 보였다. 앞으로 막걸리와 막걸리 지게미 농축물이 여러 생리활성 중 특히 동맥경화증, 혈전증 및 고혈압 예방 등의 혈관 관련성 질환 개선에 도움을 줄 것으로 기대되며, 기능성 식품 및 식재료로 사용하기위하여 유효성분 추적 등의 더욱 구체적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

References

1. Baker, H. J., J. R. Lindsey, and S. H. Weisbroth. 1984. The laboratory rats. pp. 123-127, Vol. II, Academic Press Inc., New York.

2. Beson, P. B., W. McDermott, and J. B. Wyngarden. 1979. Text book of medicine. pp. 77-100, Saunders Co. Philadelphia
3. Cho, S. Y., J. W. Park, and C. R. Hee. 1998. Edible films from protein concentrates of rice wine meal. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1097-1098.
4. Corine, H. R. and S. W. Emma. 1984. *Basic nutrition and diet therapy*. pp. 272-273, Vol. 5, Macmillan Co., New York.
5. Cushman, D. W. and H. S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637-1648.
6. Han, E. H., T. S. Lee, B. S. Noh, and D. S. Lee. 1997. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by using different *nunuks* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 555-562.
7. Han, E. H., T. S. Lee, B. S. Noh, and D. S. Lee. 1996. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using different *nunuks*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 563-570.
8. Hong, J. H., B. S. Son, B. K. Kim, H. Y. Chee, K. S. Song, B. H. Lee, H. C. Shin, and K. B. Lee. 2006. Antihypertensive effect of *Echlonia cava* extract. *Kor. J. Pharmacol.* **37**, 200-205.
9. Jeong, J. W. and K. J. Park. 2006. Quality characteristics of loaf bread added with *takju* powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 52-58.
10. Jin J. B., S. Y. Kim, Q. Jin, H. J. Eom, and N. S. Han. 2008. Diversity analysis of lactic acid bacteria in *takju*, Korean rice wine. *J. Microbial. Biotechnol.* **18**, 1678-1682.
11. Jung, C. J. 2006. Effect of *Ulmus davidiana* var. *japonica nakai* ethanol extract on antioxidative system and lipid metabolism of rat. Department of food and nutrition, Graduated School of M. S. Thesis, Chosun University. Seoul, Korea.
12. Jung, Y. T. 2006. *Human Physiology*. pp. 384-414, 3rd revised, Chungu Press, Seoul.
13. Kang, J. A. and J. S. Kang. 1997. Effect of garlic an onion plasma an liver cholesterol and triglyceride and plate aggregation in rat basal or cholesterol supplemented diets. *Korean J. Nutr.* **32**, 132-138.
14. Kim, H. S. and G. J. Kim. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemia rats. *J. Kor. Soc. Food Sci.* **27**, 718-723.
15. Kim, J. E., S. K. Jung, S. J. Lee, K. W. Lee, G. W. Kim, and H. J. Lee. 2008. *Nuruk* extract inhibits lipopolysaccharide-induced production of nitrite and interleukin-6 in Raw 264.7 cells through blocking activation of p-38 mitogen-activated protein kinase. *J. Microbial. Biotechnol.* **18**, 1423-1426.
16. Kim, S. M., C. H. Yoon, and W. K. Cho. 2007. Quality characteristics of noodle added with *takju* (korean turbid rice wine) lees. *Korean J. Food Culture* **22**, 359-364.
17. Lee, H. S., K. H. Hong, K. H. Yoon, J. M. Kim, and S. M. Kim. 2009. Effect of Korean turbid rice wine (*takju*) less extract on blood glucose level in *db/db* mouse. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23**, 109-113.
18. Lee, J. H. and N. J. sung. 1983. The content of minerals in algae. *J. Kor. Soc. Food Sci.* **12**, 51-58.
19. Lee, J. S., T. S. Lee, S. O. Park, and B. S. Noh. 1996. Flavor components in mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 316-323.
20. Lee, J. S., T. S. Lee, S. O. Park, and B. S. Noh. 1996. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 330-336.
21. Lee, K. S. and D. H. Kim. 1991. Effect of sake cake on the quality of low salted *Kochuzang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23**, 109-113.
22. Park, D. K. and H. J. Park. 1990. Studies on the effect of rat platelet aggregation by ginkgo and perilla oil dietary. *J. Korean. Soc. Food Nutr.* **19**, 127-132.
23. Lee, S. H. and J. S. Joo. 1985. Nutrition influence of *takju* (Korean rice wine) on human body. *J. Ko Rae Univ.* **22**, 17-32.
24. Lim, S. S. and J. H. Lee. 1997. Effect *Atemisa princeps* var *orientalis* and *Cirsium japonicum* var *ussuriense* on serum lipid of hyperlipidemic rat. *Korean J. Nutr.* **30**, 12-18.
25. Mendelsohn, M. E. and R. H. Karas. 1994. Estrogen and the blood vessel wall. *Curr. Opin. Cardiol.* **9**, 619-626.
26. Mustard, J. F. and M. A. Packham. 1970. Factors influencing platelet function: adhesion and aggregation. *Pharmacol.* **22**, 97-137.
27. Preuss, H. G. 1993. Nutrition and disease of women cardiovascular disorders. *J. Am. Coll. Nutr.* **12**, 417-425.
28. Seoung, T. K., H. Kwan, Y. R. Pyun, S. B. Kim, I. H. Yeo, and K. H. Chung. 1999. Anti-thrombotic and anti-hypercholesterolemic effects of natural plants extract mixture. *Korean J. Hematology* **6**, 11-24.
29. Shin, K. R., B. C. Kim, J. Y. Yang, and Y. D. Kim. 1999. Characterization of *yakju* prepared with yeasts from fruits (quality characteristics of *yakju* during fermentation). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 801-804.
30. Shin, K. R., B. C. Kim, J. Y. Yang, and Y. D. Kim. 1999. Characterization of *yakju* prepared with yeasts from fruits (volatile components in *yakju* during fermentation). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 794-800.
31. Shin, K. S., J. J. Lee, Y. R. Jin, J. Y. Yu, E. S. Park, J. H. Im, S. H. You, K. W. Oh, M. K. Lee, J. J. Wee, Y. S. Kim, and Y. P. Yun. 2007. Effect of korean red ginseng extract on blood circulation in healthy volunteers: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Ginseng Res.* **31**, 109-116.
32. Shumker, S. A., C. Legault, L. Kuller, S. R. Rapp, L. Thal, and D. S. Lane et al. 2004. For the women's health initiative memory study investigators. conjugated equine estrogens and incidence of probable dementia and mild cognitive impediment in post-menopausal women: women's health initiative memory study. *JAMA* **291**, 2947-2958.
33. Tashiro, T. 1983. Analysis of nucleic acid related substances of dried purple laver. *Bull. Japan. Soc. Fish* **49**, 1121-1125.
34. Veltte, A., K. M. Meignen, L. Mercier, J. G. Liehr, and J. Boyer. 1986. Effect of 2-fluoroestradiol on lipid metabolism on the ovariectomized rat. *J. Steroid Biochem* **25**, 575-578.
35. Yoo, T. J. 1981. Korean famous wine. pp. 96, Central New Book, Korea.

초록 : 막걸리의 혈행, 지질개선 효과 및 *in vitro*에서의 ACE 저해 효과

신미옥 · 김미향 · 배송자*

(신라대학교 식품영양학과, 막걸리세계화연구소)

막걸리와 막걸리지게미를 시료로 하여 난소를 절제하여 갱년기 장애를 유도한 흰쥐에 투여함으로써 난소절제에 의한 estrogen 결핍에서 발생하는 지질조성의 변화와 혈류 및 혈소판 응집능에 미치는 막걸리와 막걸리 지게미의 영향을 검토해 보았다. 난소절제에 의한 estrogen 결핍에서 발생하는 혈청 중의 AST와 ALT의 효소 활성은 막걸리와 막걸리 지게미 농축물을 각각 투여하였을 때, 모두 Sham군과 비슷하게 감소하였으며, TG, TCHO 및 HDL농도의 변화를 알아본 결과, 난소를 절제한 OVX-control군이 난소를 절제하지 않은 Sham군과 비교해 TG와 TCHO의 함량이 증가하였고 막걸리와 막걸리 지게미 농축물을 투여한 군에서는 OVX-control군에 비해 감소하였다. 그러나 혈청 중 좋은 콜레스테롤인 HDL의 농도는 막걸리와 막걸리 지게미 농축물의 투여로 증가함을 알 수 있었다. 그리고 막걸리 농축물과 막걸리 지게미 농축물의 효소활성과 지질개선 효과를 비교해 볼 때, 막걸리 농축물 투여군이 막걸리 지게미 농축물 투여군보다 조금 더 증가되는 경향을 보였다. 혈류 및 혈소판 응집에 미치는 영향에 대한 결과는 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 투여로 인해 OVX-control군보다 혈류속도가 빨라짐을 확인할 수 있었고, 막걸리 농축물과 막걸리 지게미 농축물 중 막걸리 농축물 투여군이 막걸리 지게미 농축물 투여군 보다 빠른 혈류 개선 효과 즉 높은 혈액 유동성을 나타내었다. 그리고 난소절제로 증가되어진 혈소판 응집 현상도 막걸리와 막걸리 지게미 농축물 투여로 인하여 감소되어 혈소판 응집 억제 효과를 확인할 수 있었다. 또한 *in vitro* 실험에서 막걸리와 막걸리 지게미 농축물의 투여로 인한 ACE 활성 저해 효과도 확인하였으며, 막걸리와 막걸리 지게미 농축물을 비교하여 볼 때 막걸리 지게미 농축물보다 막걸리 농축물에서 더욱 높은 ACE 활성 저해 효과를 보였다. 이상으로 *in vitro*에서의 ACE 저해 효과와 더불어 동물실험에서 막걸리와 막걸리 지게미 농축물이 혈청 중의 효소활성과 지질조성의 변화를 나타내어 지질개선효과를 볼 수 있었으며, 혈류 속도 증가와 혈소판 응집 억제 효과도 함께 보여 혈행 개선 효과도 확인할 수 있었다. 그리고 전반적인 실험결과에서 막걸리 농축물이 막걸리 지게미 농축물보다 조금 더 효과 있는 결과를 보였는데 이는 막걸리 농축물속에 발효를 통한 부유물의 여러 유효성분들이 더 많을 것으로 추정되고, 여러 가지 생리활성에도 영향을 준 결과로 사료되어진다. 또한 본 연구에서 시료로 사용된 폐기 되어지는 막걸리 지게미 농축물에서도 막걸리 농축물보다는 낮은 효과이지만 생리활성을 보인 것으로 보아 막걸리지게미를 이용한 고부가가치 활용방안도 기대되어진다.