

Nitrite Scavenging and Alcohol Metabolizing Activities of Hot Water Extract from *Makgeolj* and Its Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Effect

Eun Kyung Cho¹, Hee Yeon Kim, Hyeon Ji Byeon, Soo Won Kim² and Young Ju Choi*

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

¹*Department of Bio-Food Materials, College of Medical Life Science, Silla University, Busan 617-736, Korea*

²*NzonB&F, Busan 617-736, Korea*

Received April 7, 2010 / Accepted May 7, 2010

In this study, we investigated the antioxidant activities, alcohol metabolizing activities, nitrite scavenging ability, angiotensin converting enzyme (ACE), and elastase inhibitory effects of hot water extract from *Makgeolj* (HWM). Antioxidant activities were measured by using 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity and SOD (superoxide dismutase)-like activity. The DPPH radical scavenging activity and SOD-like activity of HWM were remarkably increased in a dose-dependent manner and were 48.0% and 98.7% at 10 mg/ml, respectively. To determine the influence of HWM on alcohol metabolizing activity, the generating activities of reduced-nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) by alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) were measured. The facilitating rates of ADH and ALDH activity by HWM were remarkably increased in a dose-dependent manner and were 70.2% and 64.1% at 10 mg/ml, respectively. The inhibitory activity against angiotensin converting enzyme (ACE) of HWM was increased in a dose-dependent manner and was 74.2% at 10 mg/ml. The nitrite scavenging ability of HWM showed the most remarkable effect at pH 1.2 and 2 mg/ml. These results indicated that HWM may have valuable biological properties owing to their antioxidant activities, ADH and ALDH activity, nitrite scavenging ability, and ACE inhibitory activity.

Key words : *Makgeolj*, antioxidant activities, alcohol metabolizing activities, nitrite scavenging activity, angiotensin converting enzyme

서 론

우리의 민속주 막걸리는 한국의 대표적인 전통 술로 쌀, 보리, 밀 따위의 곡식을 발효시킨 것으로 맑은 술을 떠내지 않고 걸러 짠 술을 의미하여 탁주라 불리기도 한다. 예로부터 자가 생산하여 널리 이용하여 온 일종의 양조주로서 당화와 발효의 공정을 병행하여 만들어져 왔다[18]. 최근 웰빙 열풍이 시작되면서 소비자들에게 각광을 받고 있는데, 빛깔은 뜨물처럼 희며 알코올 성분은 6도로 도수가 낮은 알콜성 음료이다[10,17]. 알코올 도수가 높은 술을 마시게 되면 곧 취하게 되고 간에 많은 부담을 주게되나, 막걸리는 알코올 도수가 상대적으로 낮아 간뿐만 아니라 위에도 부담을 주지 않는다. 또한, 막걸리는 일반 주류와는 달리 상당량의 단백질, 당질, 비타민 B군을 함유하고 있고, 누룩의 protease에 의한 분해산물인 valine, leucine, serine, proline, glycine 등의 아미노산들도 많이 함유하고있다. 이 뿐만 아니라 생효모가 함유되어 있어 다른 주류와 차별화된 영양학적 특징을 가지고 있다[8,31]. 이는 막걸리 발효에 이용되는 미생물에 의한 효소작용으로 인해 원료성분

이 분해되어 생성된 것으로 대부분 막걸리 침전물을 이루고 있다. 그러므로, 막걸리의 좋은 성분들 즉, 효모 · 유산균 · 비소화성 식이섬유와 그 외의 영양분들은 그 침전물에 있다고 할 수 있다. 하지만, 막걸리의 저장성 증대 및 용이한 음용을 위해 막걸리의 침전물을 가라앉힌 맑은 상등액을 판매하려는 추세일 뿐만 아니라 막걸리 침전물의 기능성에 대한 연구 또한 대부분 보고되어 있지 않다.

현재까지 막걸리의 건강기능성과 관련한 연구는 막걸리 속 유산균 동정[9], 누룩 추출물의 항염증작용의 가능성을 제시한 연구[11] 및 막걸리 농축물의 항암효과에 관한 연구[29]등이 있다. 또한, 막걸리박에 대한 연구가 진행 되어왔는데 제1형과 2형 당노 쥐에서 막걸리박 추출물의 혈당 저하 효과[14,16] 및 막걸리박의 혈압 저하 효과 등[15]이 보고되었다. 뿐만 아니라, 막걸리에서 분리한 다당체에 대한 강력한 면역 활성화 효과도 보고되었는데[4], 이는 막걸리의 건강기능성에 대한 관심이 증가하고 있음을 나타내고 있다. 하지만, 막걸리의 기능성 및 효능이 높을 것으로 예상되는 침전물에 대한 연구는 없는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 막걸리 침전물을 열수 추출하여 그 효능을 측정함으로써 막걸리 산업의 부흥을 위해 막걸리의 건강기능성 효과를 증명 하고자 한다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5459, Fax : +82-51-999-6959

E-mail : yjchoi@silla.ac.kr

재료 및 방법

시료 및 추출

본 실험에 사용된 막걸리는 시중에 판매되고 있는 S막걸리를 구입하여 실험재료로 사용하였다. 실험재료 막걸리는 5,000x g에서 30분간 원심분리하여 가라앉은 침전물을 사용하였으며, 증류수 500 ml를 가하고, 90°C에서 6시간 동안 추출하였다. 추출한 다음은 Whatman No. 2 filter paper로 여과한 후 rotary evaporator에서 농축하여 -70°C에서 동결 건조하여 시료로 사용하였다. 시료는 증류수에 농도별로 녹여 분석에 이용하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Blois의 방법[1]에 따라 DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. DPPH 용액은 100 ml 에탄올에 DPPH 1.5×10^{-4} M을 녹인 후 증류수와 혼합하여 Whatman No. 2 filter paper로 여과하여 만들었다. 96 well plate에 시료와 DPPH용액을 1:4 비율로 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, ELISA reader를 이용하여 520 nm (Molecular Device, VersaMax Microplate Reader, California, USA)에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능(Electron donating ability, EDA)은 $EDA(\%) = (\text{대조구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}) / \text{대조구 흡광도} \times 100$ 로 계산하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조그룹과 흡광도차를 비교하여 free radical의 제거활성을 백분율로 나타내었다.

SOD 유사활성 측정

SOD 유사활성(Superoxide dismutase-like activity)은 Marklund와 Marklund의 방법[21]에 따라 활성 산소종을 과산화수소(H_2O_2)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 나타내었다. 시료를 농도별로 희석하여, 10 μ l씩 96 well plate에 첨가한 후, Tris-HCl Buffer (50 mM Tris aminomethane, 10 mM EDTA, pH 8.0) 150 μ l와 7.2 mM pyrogallol 10 μ l을 첨가하여, 실온에서 10분간 반응시키고, 1 N HCl 50 μ l을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA reader를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

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

A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 시료 무첨가구의 흡광도

Angiotensin I-converting enzyme 저해능 측정

시료의 ACE저해 활성은 Cushman과 Cheung 등의 방법[3]에 따라 측정하였는데, rabbit lung acetone powder (Sigma, USA)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, 2,000x g에서 40분간 원심 분리하였으며, 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 ACE조효소액을 가한 다음 37°C에서 5분간 예비반응 시킨 후, 기질을 가한 후 다시 37°C에서 1시간 반응 시켰다. 150 μ l의 1 N HCl로 반응을 정지시키고 750 μ l의 ethyl acetate를 가한 후, 1분간 교반하고 4°C, 2,000x g에서 10분간 원심 분리한 다음 500 μ l의 상등액을 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조 시켜 2 ml의 메탄올을 넣은 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 시료 대신 증류수 50 μ l을 가해 실험을 하였으며, ACE 저해 활성효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

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

S: Sample absorbance

C: Control absorbance

B: Blank absorbance

아질산염 소거능 측정

시료의 아질산염 소거능은 Gray와 Dugan의 방법[5]을 변형하여 측정하였다. 아질산염 용액에 시료 용액을 가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2) 및 0.2 M 구연산 완충용액(pH 3.0와 6.0)을 사용하여 반응 용액의 pH를 각각 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정하여 반응용액을 준비하였다. 이를 37°C에서 1시간동안 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 $NaNO_2$ 용액에 추출 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B: $NaNO_2$ 용액의 흡광도

C: 추출시료 자체의 흡광도

ADH 활성 영향 측정

ADH 활성도는 Choi 등[2]과 Racker의 방법[26]을 변형하였는데, spectrophotometer를 이용하여 340 nm에서 형성되는 NADH의 흡광도를 측정함으로써 나타내었다. 시험관에 alcohol 0.1 ml, NAD 수용액 0.5 ml, 시료 0.1 ml를 첨가하고 0.01M glycine-NaOH 완충용액(pH 8.8)를 총 부피가 1.8 ml가 되게 첨가한 후 25°C 항온수조에서 10분간 반응시키고 ADH 0.25 ml를 가하여 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때

대조구는 시료대신 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

ALDH의 활성도는 Tottmar 등의 방법[30]을 변형하여 NADH생성에 따른 흡광도의 변화를 340 nm에서 측정하였다. ALDH의 활성도 측정을 위해 증류수 2.1 ml, 1 M tris HCl, 3 M KCl, 시료 0.1 ml, NAD 0.1 ml, 2-mercaptoethanol 0.1 ml, acetaldehyde 0.1 ml를 혼합한 다음 25°C에서 10분간 반응시키고 ALDH 0.1ml를 가하여 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 대조구는 시료대신 증류수를 넣은 것으로 하였다. Positive control은 ADH 활성 영향 측정에서 사용한 것으로 하였으며, ALDH의 활성은 ADH 활성 계산식에 따라 측정 되었다.

결과 및 고찰

DPPH 라디칼 소거능

Free radical은 노화와 질병의 원인 중의 하나이며, 생체내에서 활성산소종을 생성하게 된다. 이들 활성산소종은 각종 성인병과 노화, 특히 피부노화의 원인으로 큰 관심을 끌고 있으며, 피부 면역 기능을 억제시켜 피부 염증을 유발시키고, 탄력감소, 주름 및 기미, 주근깨 등의 피부노화를 가속화시킨다. 인체 내의 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 사용되는 방법이다.

막걸리 침전물 열수 추출물의 항산화 효과는 DPPH radical 제거 정도를 측정하여 전자공여능으로 나타내었으며, 그 결과 10 mg/ml에서 48%의 항산화활성을 나타내었다(Fig. 1). 이는 positive control로 사용한 vitamin C의 0.1 mg/ml에서 나타난 96% 항산화 활성보다 낮은 수준이다. 하지만, 쑥, 민들레, 아카시아, 솔밭, 쉼뜨기, 감잎 발효액의 DPPH radical 소거능이 16.4%, 17.1%, 10.7%, 18.5%, 19.2%, 22.6%로 나타나고 있어, 막걸리의 항산화 활성을 기대할 수 있다[13]. 또한, Moon등 [23]의 보고에 의하면 약재로 알려져 있는 갈근, 감초, 당귀, 박하, 진피 추출물 1 mg/ml의 농도에서 전자공여효능이 각각

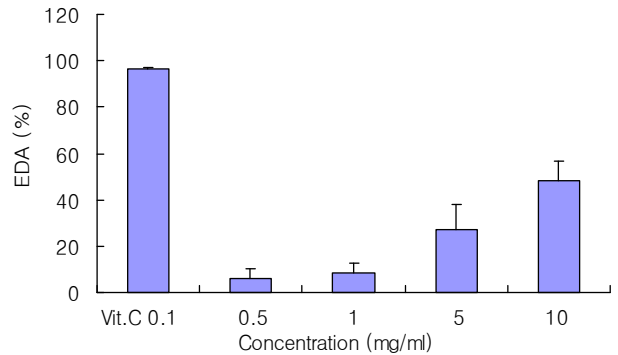


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activity of hot water extract from Makgeoly (HWM). Results are mean±S.D. of triplicate data. Vit. C, vitamin C.

18.4, 39.3, 13.7, 26.3, 26.7%로 나타났는데, 이들 결과들은 막걸리 침전물 열수 추출물의 항산화능에 있어서 효과적임을 보여주고 있다. 특히, 알코올 음료의 항산화 활성에 대한 보고는 지금까지 없으므로 본 연구결과와 활용 가치가 높음을 시사하고 있다.

SOD 유사활성

Superoxide dismutase (SOD)는 항산화 효소로서 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 약하여 이러한 단점을 보완할 수 있는 저분자물질로 체내에서 역할이 유사한 SOD 유사활성 물질에 대한 연구가 진행되고 있다.

본 연구에서 막걸리 침전물 열수 추출물의 SOD 유사 활성은 농도 의존적으로 증가하였는데, 10 mg/ml에서 98.7%로 나타났다(Fig. 2). 대조구인 Vit. C의 경우 농도 0.5 mg/ml일 때 95.8%로 나타났는데, 막걸리 침전물 열수 추출물과 유사한 항산화능을 나타내고 있다. 본 연구에서 막걸리 침전물 열수

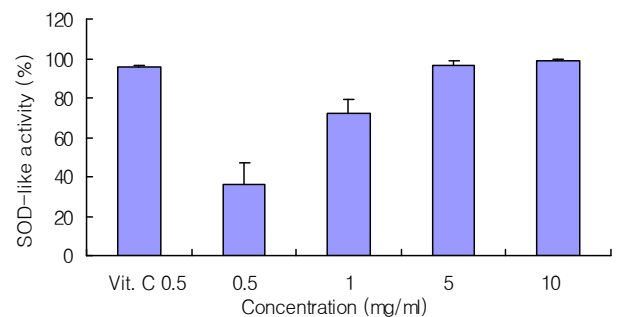


Fig. 2. Superoxide dismutase (SOD)-like activity of hot water extract from Makgeoly (HWM) depending on concentration. Results are represented as means±S.D. of three independent experiments. Vit. C, vitamin C.

추출물의 SOD 유사활성은 비교적 항산화력이 높은 식품으로 알려진 사과, 브로콜리, 키위, 딸기의 SOD 유사활성 14.6, 41.7, 27.6, 30.2% 보다 훨씬 높은 SOD 유사활성을 나타내고 있어 막걸리 침전물의 우수한 항산화능을 알 수 있었다[6]. Lee 등 [19]과 Lim 등[20]은 오가피, 구기자, 복분자, 갈근, 생강 등 국산 식약용식물 82종의 SOD 유사활성 분석결과 13.5~21.3%의 SOD 유사활성이 있다 하였다. 이들 결과들은 막걸리 침전물 열수 추출물의 높은 SOD 유사활성을 나타내고 있을 뿐만 아니라 지금까지 알코올 음료수의 SOD 유사활성에 대해서 보고되지 않고 있어, 기능성 알코올 음료에 있어서 막걸리에 대한 그 기대치가 높을 것으로 판단된다.

항고혈압 효과

ACE는 renin에 의하여 생성된 angiotensin I 으로부터 C-말단 dipeptide (His-Leu)를 가수분해 시킴으로서 강력한 혈관 수축작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하여 고혈압의 원인이 되고 있다. 이러한 ACE의 활성 저해인자로는 저분자 peptide들과 그 유도체들, 녹차에 존재하는 catechin과 메밀의 rutin 과 같은 polyphenol성분들이 대표적으로 알려져 있다 [22]. 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 혈관벽이 약화되어 터지게 되거나, 뇌졸중 등의 여러 질환을 유발시킬 수 있다.

이러한 ACE의 작용을 억제하기 위한 활성이 막걸리 침전물 열수 추출물에 있는 지 알아보기 위해 실험한 결과, 높은 활성을 나타내었다(Fig. 3). Positive control로는 현재 시판되고 있는 항고혈압제인 captopril을 사용하였으며, captopril 0.1 mg/ml에서 93.4%의 저해 활성을 나타내었고, 막걸리 10 mg/ml에서 74%의 높은 저해 활성을 나타내었다. Lee 등[15]에 의하면 막걸리박 열수 추출물을 섭취시킨 고혈압 발생 쥐

에서 고혈압 억제 효과가 관찰되어, 막걸리박 열수 추출물의 ACE 저해 효능을 분석하였다. 그 결과 막걸리박 열수 추출물 10 mg/ml의 농도에서 90%의 저해 활성을 나타내었다. 이는 막걸리박에 함유된 혈압저하물질은 90°C이상의 고온에서도 안정한 물질이라는 것을 의미한다. 또한, 막걸리박 열수 추출물의 항고혈압 효과는 일부 ACE 저해 효과를 통해 일어난 것으로 보고하였다. Saito 등[27,28]은 청주(sake)와 청주 주박에 항고혈압 효능이 있음을 보고하였으며, 이들의 항고혈압 효능은 ACE활성을 저해함으로써 그 효과를 나타냄을 보고하였다. 이들 보고와 본 연구결과를 비교분석한 결과 막걸리 침전물의 우수한 항고혈압 효능을 예측할 수 있다. 지금까지 막걸리 침전물의 ACE 저해 활성에 대해 보고된 바가 없으므로, 본 연구결과에의 가치가 높다고 판단된다.

아질산염 소거능

아질산염은 우리가 흔히 섭취하는 생선이나 육류 등에 발색, 풍미증진, 향균작용 및 산패 방지를 위해 첨가제로 많이 이용되고 있지만, 이러한 아질산염을 섭취했을 경우 동물이나 인체의 위 내에서 아민류와 반응하여 발암성 물질로 알려진 nitrosamine을 생성하게 된다[25]. 따라서 인체에 유해한 물질이라고 할 수 있는 아질산염을 효과적으로 제거할 수 있는 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 본 연구에서는 막걸리 침전물의 열수 추출물이 아질산염 소거능에 미치는 영향을 분석하고자 하였다. 막걸리에 관한 지금까지의 연구는 막걸리 분획물에 의한 암세포 성장 억제능에 관한 것으로 간암, 피부암, 대장암, 유방암에 대해서 보고하였다[29]. 그 결과, 4종의 암세포에서 막걸리의 농도 의존적인 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 하지만, 막걸리 침전물의 생리활성에 대한 연구는 진행되어 오고 있지 않을 뿐만 아니라, 아질산염 소거능에 대해서도 보고되지 않았다.

본 연구에서 막걸리 침전물 열수 추출물의 pH별 아질산염 소거능에 대한 결과는 Fig. 4와 같다. Positive control인 Vit. C는 1 mg/ml의 농도로, 막걸리 열수 추출물은 2 mg/ml의

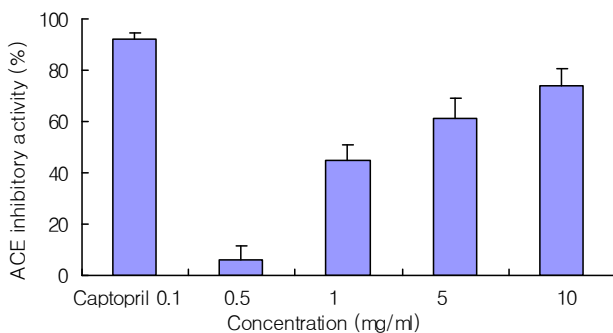


Fig. 3. Angiotensin I-converting enzyme(ACE) inhibitory effects of hot water extract from *Makgeoljy* (HWM). Results are mean±S.D. of triplicate data. Concentration of captopril as positive control is 0.1 mg/ml.

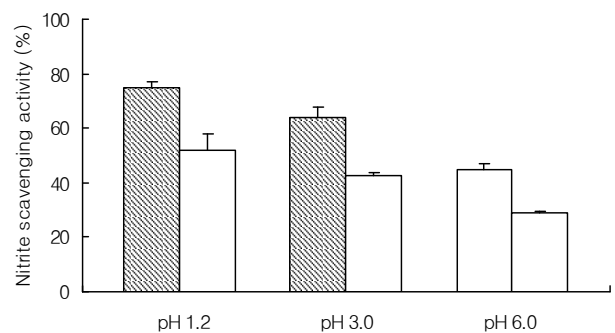


Fig. 4. Nitrite scavenging effect of hot water extract from *Makgeoljy* (HWM) under different pH conditions. Results are mean±S.D. of triplicate data. ▨, vitamin C; □, HWM.

농도로 분석하였는데, 그 결과 pH가 낮을수록 아질산염 소거능이 증가하였다. 즉, pH 1.2의 경우 Vit. C와 막걸리 침전물 열수 추출물은 각각 74%와 51%의 아질산염 소거능을 나타냈다. pH 3.0의 경우는 Vit. C와 막걸리 침전물 열수 추출물은 64%와 42%로 아질산염 소거능을 나타냈고, pH 6.0에서는 45%와 28%의 아질산염 소거능이 관찰되었다. 이상의 결과로 볼 때 막걸리 침전물 열수 추출물은 pH가 낮은 조건에서 높은 아질산염 소거능을 보였으며 특히, 인체의 위 내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 활성이 좋은 것으로 확인되어 막걸리는 아질산염 소거작용에 효능이 있는 기능성 알코올 음료로서의 역할이 기대된다. Moon 등[23]의 보고에 의하면 pH 1.2에서 1 mg/ml 농도의 32종 약재 추출물은 40% 이상의 소거능을 보여 아질산염 소거에 효과적임을 보여주었다. 이들 결과는 막걸리 침전물 열수 추출물의 아질산염 소거능과 유사하게 관찰되었는데, 이로써 막걸리 침전물 열수 추출물의 우수한 아질산염 소거능을 예측할 수 있다.

ADH 및 ALDH 활성 영향

막걸리 침전물 열수 추출물에 의한 숙취 해소능을 생화학적으로 분석하기 위해 체내 알콜 대사의 1차 관여 효소인 ADH의 활성 증진 정도를 측정하였다. 또한 숙취의 주 원인물질인 acetaldehyde는 체내에서 흡수된 알코올 분해 시 생성되는 대사산물로서 단순히 ADH만 활성화 시키면 혈중 알콜 농도는 빠르게 감소시킬 수 있으나 간이나 혈액에 남아있는 acetaldehyde는 계속 축적이 되어 심한 숙취를 일으킬 수 있는 가능성이 있다[24]. 따라서, acetaldehyde의 분해에 직접적인 영향을 미치는 효소인 ALDH의 활성에 막걸리 침전물 열수 추출물이 미치는 영향을 분석하였다. 막걸리 침전물 열수 추출물의 ADH 및 ALDH의 활성에 미치는 효과는 반응 후의 최대 흡광도와 효소의 반응 속도를 통하여 분석하였으며, ADH활성과 ALDH활성에 대한 결과는 Fig. 5와 6에 나타낸 바와 같다. 최대 흡광도는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈으며

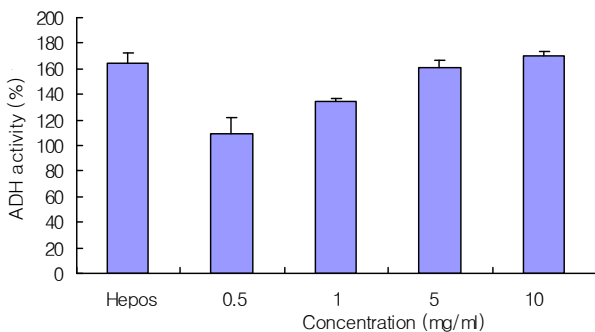


Fig. 5. Effects of hot water extract from *Makgeolgy* (HWM) on the alcohol dehydrogenase (ADH) activity. Results are mean±S.D. of triplicate data. Hepos is used as positive control.

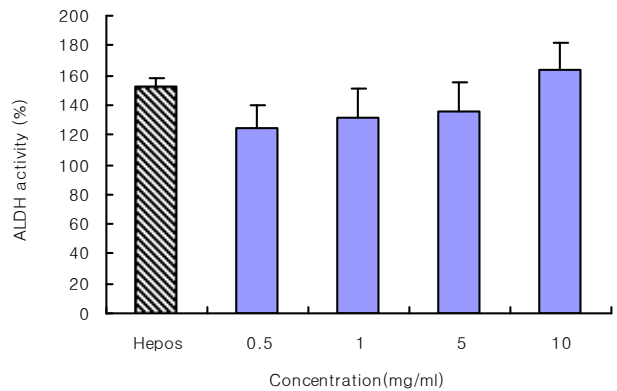


Fig. 6. Effects of hot water extract from *Makgeolgy* (HWM) on the aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity. Results are mean±S.D. of triplicate data. Hepos is used as positive control.

대조구의 흡광도의 값을 100으로 하였을 때 막걸리 침전물 열수 추출물을 첨가한 경우 ADH와 ALDH 활성이 증가하였다. 즉, 10 mg/ml 농도의 막걸리 침전물 열수 추출물의 ADH 활성 촉진율은 70.2%로 positive control (hepos) 64.1% 보다 높게 나타났으며, 막걸리 침전물 열수 추출물의 농도가 증가함에 따라 ADH 활성 촉진율은 증진하였다(Fig. 5). 또한, 막걸리 침전물 열수 추출물은 ALDH 활성 촉진율을 증대시켰는데 대조구의 흡광도 값을 100으로 하였을 때 10 mg/ml 농도의 막걸리 침전물 열수 추출물을 첨가한 경우, 64.1%의 ALDH 활성 촉진율을 나타내었다. Positive control (hepos)의 ALDH 활성 촉진율 52.3% 보다 높게 보였다(Fig. 6). Hwang 등[7]의 보고에 의하면 매실즙과 10% GMT에서 ADH 활성 촉진율이 각각 37.9%, 53.0이였으며, 1% 아스파르트산의 경우 44.3%로 나타났다. GMT는 쌀배아 추출물인 구루메로써 아스파르트산과 함께 숙취해소 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Kim 등[12]의 보고에 의하면 *in vivo* 실험에서 알콜 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 알콜 분해도 촉진시키지만 ALDH의 활성을 좀 더 증진 시키므로 빠르게 acetaldehyde를 acetic acid로 분해시켜서 숙취해소에 상당한 도움을 주는 것으로 밝혀졌다. 이들 보고와 비교해 볼 때 막걸리 침전물 열수 추출물은 높은 알콜과 acetaldehyde분해능을 가진 기능성 음료로써 그 가치가 높다. 하지만, 지금까지 막걸리 침전물의 알코올 대사작용에 대해 보고된 바가 없으므로, 본 연구결과의 이용성이 높다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국해양수산기술진흥원의 수산중소·벤처기업 기술개발지원사업의 연구비 지원 아래 수행되었습니다.

References

1. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1198-1200.
2. Choi, J. T., H. K. Joo, and S. K. Lee. 1995. The effect of *Schizandrae fructus* extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. *Agric. Chem. Biotechnol.* **38**, 278-282.
3. 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.
4. Edaily EFN, 2008.6.23. http://efn.edail.co.kr/BrandNews/pop_print.asp.
5. Gray, J. I. and L. R. Dugan Jr. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* **40**, 981-984.
6. Hong, H. D., N. K. Kang, and S. S. Kim. 1998. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetable. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1484-1487.
7. Hwang, J. Y., J. W. Ham, and S. H. Nam. 2004. Effect of Maesil (*Prunus mume*) juice on the alcohol metabolizing enzyme activities. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 329-332.
8. Jeong, J. W., K. J. Park, M. H. Kim, and D. S. Kim. 2006. Changes in quality of spray-dried and freeze-dried Takju powder during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 513-520.
9. Jin, J. 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.
10. Kim, A. R., S. Y. Lee, K. B. W. R Kim, E. J. Song, J. H. Kim, M. J. Kim, K. W. Ji, and I. S. Ahn, and D. H. Ahn. 2008. Effect of *Glycyrrhiza uralensis* on shelf-life and quality of *Takju*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 194-200.
11. 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 p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Microbial. Biotechnol.* **18**, 1423-1426.
12. Kim, M. H., Y. T. Chung, J. H. Lee, Y. S. Park., M. K. Shin, H. S. Kim, D. H. Kim, and H. Y. Lee. 2000. Hepatic detoxification activity and reduction of serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* THUNB from Korea and China. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **8**, 225-233.
13. Kim, N. M., J. W. Lee, J. H. Do, and J. W. Yang. 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.
14. Kim, S. M. and W. K. Cho, 2006. Effect of *Takju* (Korean turbid rice wine) lees on the serum glucose levels in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J. Food Culture* **21**, 638-643.
15. Lee, H. S., K. H. Hong, J. Y. Kim, D. H. Kim, C. H. Yoon, and S. M. Kim. 2009. Blood pressure lowering effect of Korean turbid rice wine (Takju) lees extracts in spontaneously Hypertensive Rat (SHR). *Korean J. Food Culture* **24**, 338-343.
16. Lee, H. S., K. H. Hong, C. H. Yoon, J. M. Kim, and S. M. Kim. 2009. Effect of Korean turbid rice wine (Takju) lees extract on blood glucose level in db/db mouse. *Korean J. Food Culture* **24**, 219-223.
17. 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.
18. Lee, S. H. and J. S. Joo. 1985. Nutritional influence of *Takju* (Korean rice wine) on human body. *J. Ko Rae Univ.* **22**, 17-32.
19. Lee, Y. S., E. Y. Joo, and N. W. Kim. 2005. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J. Food Preserv.* **12**, 75-79.
20. Lim, J. D., C. Y. Yu, M. J. Kim, S. J. Yun, S. J. Lee, N. Kim, and I. M. Chung. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plant. *Korean J. Med. Crop Sci.* **12**, 191-202.
21. Marklund, S. and G. Marklund. 1975. Involvement of superoxide aminoradical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 468-474.
22. Maruyama, S., K. Nakagomi, N. Tomizuka, and H. Suzuki. 1985. Angiotensin converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.* **49**, 1405-1410.
23. Moon, J. S., S. J. Kim, Y. M. Park, I. S. Hwang, E. H. Kim, J. W. Park, I. B. Park, S. W. Kim, S. G. Kang, Y. K. Park, and S. T. Jung. 2004. Activities of antioxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Korean J. Food Preserv.* **11**, 201-206.
24. Nanji, A. A. and D. Zakim. 1996. Alcoholic liver disease. In *Hepatology* 3rd ed., Zakim D, Boyer T (eds.). *Saunders*, Philadelphia, **3**, 891-936.
25. Park, Y. B., T. G. Lee, O. K. Kim, J. R. Do, S. G. Yeo, Y. H. Park, and S. B. Kim. 1995. Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tora* L. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 124-128.
26. Racker, E. 1973. Alcohol dehydrogenase in rat liver. *Biochem J.* **135**, 577-581.
27. Saito, Y, K. Wanezaki, A. Kawato, and S. Imayasu. 1994a. Antihypertensive effects of peptide in sake and its by-products on spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **58**, 812-816.
28. Saito, Y., K. Wanezaki, A. Kawato, and S. Imayasu. 1994b. Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sake and sake lees. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **58**, 1767-1771.
29. Shin, M. O., D. Y. Kang, M. H. Kim, and S. J. Bae. 2008. Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of Makgeoly fractions in various cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 288-293.
30. Tottmar, S. O., H. Petterson, and K. H. Kiessling 1973. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem J.* **135**, 577-581.
31. Yoo, T. J. 1981. Korean famous wine. pp. 96, *Central New Book*, Seoul, Korea.

초록 : 막걸리 열수 추출물의 아질산염 소거능, 알코올 분해능 및 angiotensin converting enzyme 저해 효과

조은경¹ · 김희연 · 변현지 · 김수원² · 최영주*

(신라대학교 의생명과학대학 식품영양학과, ¹바이오식품소재학과, ²(주)엔존비엔에프)

전통발효주 막걸리의 기능성을 증명하기 위하여 S사막걸리로부터 구입한 막걸리 침전물의 여러 가지 생리활성에 대하여 조사하였다. 우선 막걸리 침전물 열수 추출물의 항산화 효과를 측정하기 위해 DPPH radical 소거능과 SOD 유사활성을 측정하였다. 그 결과 DPPH법을 통해 측정된 막걸리 침전물 열수 추출물의 radical 소거능은 10 mg/ml에서 48.0%으로 나타났으며, 농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 SOD 유사활성은 10 mg/ml 농도에서 98.7%로 비교적 높은 SOD 유사활성을 보였다. 항고혈압 활성 측정 실험에서는 현재 시판되고 있는 항고혈압제인 captopril은 0.1 mg/ml에서 93.4%의 ACE 억제효과가 나타났고, 막걸리 침전물 열수 추출물 10 mg/ml에서는 74.0%의 높은 저해 활성을 나타내었다. 따라서, 막걸리 침전물 열수 추출물은 인체에 부작용이 적은 천연 항고혈압소재로서 이용가능성이 높은 것으로 사료된다. 아질산염 소거능 측정 실험에서는 positive control인 Vit. C 1 mg/ml의 경우 pH 1.2와 3.0에서는 74~64%, pH 6.0에서는 45%의 소거능을 보인 반면, 막걸리 침전물 열수 추출물의 경우 pH 1.2와 3.0에서는 51~42%, pH 6.0에서는 28%의 소거능을 나타내었다. 막걸리 침전물 열수 추출물의 숙취해소 효능은 ADH와 ALDH 활성증진에 막걸리 침전물 열수 추출물이 미치는 영향을 조사함으로써 증명하고자 하였다. 그 결과, 알콜과 acetaldehyde 분해능은 높게 나타났다. 이상의 결과들은 막걸리 침전물의 우수한 기능성으로서의 이용 가능성에 대한 기초자료로 그 가치가 기대된다.