

Evaluation of Anti-oxidant, Anti-microbial and Anti-thrombosis Activities of Fruit, Seed and Pomace of *Schizandra chinensis* Baillon

Mi-Sun Kim¹, Hwa-Jung Sung¹, Jong-Yi Park² and Ho-Yong Sohn^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Gyeongbuk Institute For Bio-Industry, Andong 36728, Korea

Received October 7, 2016 / Revised October 12, 2016 / Accepted October 12, 2016

In this study, for the efficient use of the byproduct of the omija (*Schizandra chinensis* Baillon: SC) processing industry, the ethanol extracts of the fruit (F), seed (S), and pomace (P) of SC were prepared, and their useful bioactivities were evaluated. For F-SC, S-SC, and P-SC, the extraction yields were 28.3%, 22.1%, and 7.2%, respectively, and the polyphenol contents were 8.81, 37.22, and 9.20 mg/g, respectively. The total flavonoid content in P-SC (4.31 mg/g) was 3.5-fold higher than that in F-SC (0.76 mg/g). In an antioxidant activity assay, P-SC showed stronger radical scavenging activities against DPPH anion, ABTS cation, and nitrite and stronger reducing power activities than the other extracts. The calculated concentration required for 50% radical scavenging activity, RC_{50S} , of P-SC for DPPH anion, ABTS cation, and nitrite was 226.2, 192.5, and 92.5 μ g/ml, respectively. In an antimicrobial activity assay, F-SC, S-SC, and P-SC showed similarly strong growth inhibitions against *Bacillus subtilis* and *P. vulgaris* at a concentration of 0.5 mg/disc. F-SC and P-SC showed 15-fold extended time in thrombin, prothrombin, and activated partial thromboplastin time assays at a concentration of 5 mg/ml. The anticoagulation activity of P-SC (2.5 mg/ml) was comparable to that of aspirin (1.5 mg/ml). Furthermore, F-SC and S-SC showed very good platelet aggregation inhibitory activities. F-SC, S-SC, and P-SC did not show significant hemolysis against human red blood cell up to a concentration of 0.5 mg/ml. These results suggest that S-SC and P-SC, both of which are by-products of the omija processing industry, show strong potential as novel antioxidant, antimicrobial, and antithrombosis agents.

Key words : Anti-coagulation, anti-oxidation, anti-platelet aggregation, pomace and seed, *Schizandra chinensis*

서 론

오미자(*Schizandra chinensis* Baillon)는 목련과의 덩굴성 식물인 오미자 나무의 열매로서, 지름 약 1cm의 짙은 붉은 빛깔의 공 모양이며, 속에는 붉은 즙과 불그스레한 갈색 종자가 1~2개 들어 있다. 한국에서는 10월 이후 서리가 내린 후에 수확하며, 열매는 단맛, 신맛, 쓴맛, 매운맛, 짠맛의 5가지 다양한 맛을 나타내면서 약리작용이 우수하다고 알려져 식용 및 약용으로 이용되고 있다[23]. 오미자는 주로 열매를 착즙하여 음료로 제조하거나, 또는 열풍 건조하여 건조열매로 판매된다. 민간에서는 건조 열매를 우려내어 음료로 마시거나 다양한 식용 약용작물과 함께 끓여 차 또는 술을 만드는데 사용하기도 하

며, 화채나 녹말편을 만들어 먹기도 한다[11, 28]. 최근에는 오미자를 이용한 다양한 제품개발 연구가 진행되고 있으며 오미자 추출액을 첨가한 식빵[28], 정과, 두부, 고추장, 요구르트 및 오미자 첨가 발효주[23], 오미자 첨가 물김치[19] 등이 보고되어 있다. 그러나 가공부산물로 다량 발생하는 오미자 씨와 착즙 후의 박은 특이한 용도 없이 대부분 폐기되고 있는 실정이다.

한편, 오미자에 대한 성분 및 효능 연구 역시, 주로 열매에 집중되어 있다. 오미자 열매에 대한 주요 성분 연구로는, 오미자 유래 리그난 성분 분석[9], 불용성 페놀산 및 정유 분석[11], 오미자 과실의 기름성분의 분포[16], 오미자의 건조와 저장에 관한 연구[18], 과육의 추출조건 최적화[3, 23] 등이 보고되어 있으며, 오미자 과육의 유용성분으로 schizandrin, schizandrol, schizanthrin, isoschizandrin, gomisin, angeloylgomisin, epigomisin, benzoylgomisin, tigloylgomisin, deoxygomisin, pregomisin 등의 lignans [7, 9, 27, 32], 다양한 정유 및 anthocyanin 색소[11, 15, 24]가 알려져 있다. 오미자 열매의 유용생리활성으로는, 조골세포 분화촉진 활성[3], 항당뇨 및 고혈압 억제효과[5, 13], 항산화 활성[7, 12, 24], 항세균 활성[8], 항염증 활성[10], 돌연변이 억제활성[12], 혈소판 응집저해 활

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-820-7804

E-mail : hysohn@anu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

성[16], 혈전 용해활성[20] 및 암세포 성장억제활성[26, 27, 36] 등이 잘 알려져 있다. 따라서 민간에서는 오미자를 강장제로 사용하며, 한방에서는 폐 기능을 강하게 하는 정천, 진해 거담제 및 피를 맑게 하는 청혈 및 보신제로 사용하고 있다.

한편 오미자 씨를 이용하고자 하는 연구가 상대적으로 제한적이며, 현재까지 오미자 씨 추출물의 항균, 항산화 활성[14], 알코올 무독화 효소 활성화[23], 오미자 씨 오일의 항산화 활성[35], 로스팅 조건에 따른 오미자 씨 오일의 품질특성[21] 등이 알려져 있다. 또한 오미자 씨 주정 추출물의 단회독성 평가 결과 5 g/kg 경구투여시 독성이 나타나지 않았다는 보고[30]와 오미자 씨 오일이 주로 palmitic acid 및 oleic acid로 구성되어 있으며, 이들 오일은 화장품 소재로 적합하다는 연구결과도 보고[35]되어 있으나, 오미자 열매와의 비교 연구는 거의 없는 실정이다. 또한 현재까지 오미자 착즙 후의 박에 대한 연구는 국내외적으로 전무한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 오미자 열매와 가공 부산물인 오미자 씨 및 착즙 후 박으로부터 ethanol 추출물을 제조하고, 이들의 유용성분 분석 및 항산화, 항균, 항혈전 및 인간 적혈구 용혈활성을 평가하였다. 이러한 연구는 오미자 가공산업의 부산물인 오미자 씨 및 착즙 후 박의 새로운 생물소재로서의 가능성을 제시하게 될 것이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험의 오미자 열매, 씨 및 착즙 후 박 시료는 경북 문경의 오미자 가공회사로부터 구입하여 사용하였다. 오미자 열매는 시판 건조 오미자(수분함량 $8.6 \pm 0.3\%$)를 구입하여 사용하였으며, 착즙 후 박(수분함량 $60.5 \pm 3.3\%$)은 오미자를 착즙 직후 4°C의 냉장조건에서 실험실로 옮겨 사용하였다. 착즙 후 회수된 오미자 씨는 흐르는 물에 과육 잔류물을 수작업으로 제거한 후 수분을 제거하고 분쇄기로 12 mesh 이하로 파쇄하여 사용하였다. 오미자 시료의 에탄올 추출물 제조를 위해서는, 열매, 씨 및 착즙 후 박에 대해 각각 10배의 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd., Korea)을 가한 후 상온에서 24시간, 3회 반복 추출하였으며, 추출액은 filter paper (Whatman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Japan)하여 분말로 조제하였다. 조제된 추출물들은 DMSO (Dimethylsulfoxide)에 적당한 농도로 녹여, 성분분석, 항산화, 항균, 혈액응고 저해, 혈소판 응집저해 및 적혈구 용혈활성 평가에 사용하였다. 실험에 사용한 오미자 시료는 안동대학교 식품영양학과에서 보관하고 있다(voucher specimen 2014-SC-1-3).

항산화 활성

조제된 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 ethanol 추출물

들의 항산화 활성은 기존의 보고[1, 17]한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 음이온 소거능, ABTS [2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 양이온 소거능, nitrite 소거능 및 환원력 측정으로 평가하였으며, 최종 항산화 활성의 비교는 RC₅₀ (표준조건에서 활성 radical을 50% 제거하는 데 소요되는 시료의 양)으로 나타내었다. 이때 활성 대조구로는 vitamin C (Sigma Co.)를, 용매 대조구로는 DMSO를 사용하였다. DPPH 음이온 소거능의 경우, 다양한 농도로 희석한 시료 20 µl에 99.5% ethanol에 용해시킨 2×10^{-4} M DPPH용액 380 µl를 넣고 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 516 nm에서 microplate reader (Asys Hitech, Expert96, Asys Co., Austria)를 사용하여 흡광도를 측정하였다[17]. ABTS 양이온 소거능 측정의 경우, 7 mM ABTS (Sigma Co.) 5 ml와 140 mM potassium persulfate 88 ml를 섞은 후 상온에서 16시간 빛을 차단하여 ABTS 양이온을 형성시켰으며, 이후 이 용액을 414 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 ethanol로 희석하였다. 조제된 희석용액 190 µl와 시료 10 µl를 혼합한 후 상온에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다[17]. Nitrite 소거능의 경우, 아질산염 용액(1 mM)에 시료용액을 가하고 여기에 0.1 N HCl을 가해 pH 1.2로 조정한 후, 37°C에서 1시간 반응시킨 후 Griess reagent (Sigma Co., USA)를 가하고 혼합하였다. 이후 15분간 실온에서 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 nitrite 양을 측정하였다[17]. 환원력 평가를 위해서는 ethanol에 용해한 시료 2.5 ml에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 ml와 10% potassium ferricyanide 2.5 ml를 첨가하고 50°C에서 20 분간 반응시킨 후, 10% trichloroacetic acid 2.5 ml를 첨가하여 반응을 종료하고 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수한 상등액은 증류수로 2배 희석한 후, 신선하게 조제된 0.1% ferric chloride 용액과 5:1(v/v) 비율로 혼합하고 700 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다[17].

항균 활성

조제된 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 ethanol 추출물들의 항균 활성은 기존의 보고[1]된 방법과 동일하게 disc-diffusion법으로 평가하였다. 그람 양성세균으로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Listeria monocytogenes* KACC 10550, *Bacillus subtilis* KCTC 1924를, 그람 음성세균으로 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Pseudomonas aeruginosa* KACC 10186, *Proteus vulgaris* KCTC 2433, *Salmonella Typhimurium* KCTC 1926, 진균으로는 *Candida albicans* KCTC 1940 및 *Saccharomyces cerevisiae* IF0 0233를 사용하였으며, 항세균 활성의 경우 Nutrient agar (Difco Co., USA) 배지를, 항진균 활성의 경우 Sabouraud dextrose (Difco Co. USA) 배지를 이용하였다. 각각의 조제된 배지(90×15 mm, Green Cross Co., Ltd. Korea)에 실험균주

(O.D.₆₀₀ 0.1)를 100 μ l 도말하고, 이후 각각의 시료 5 μ l를 멸균 disc-paper (지름 6.5 mm, Whatman No.2)에 가하여 37°C 및 30°C에서 24시간 동안 배양 후, 생육저지환의 크기를 측정하여 항균활성을 평가하였다[1]. 대조구로는 항생제인 ampicillin과 항진균제인 miconazole (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 각각 1 μ g/disc 농도로 사용하였으며, 생육저지환의 크기는 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다.

혈액응고 저해활성

조제된 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 ethanol 추출물들의 혈액응고 저해 활성은 기존의 보고한 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT) 을 측정하여 평가하였다[17]. 혈장은 시판 control plasma (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China), PT reagent와 aPTT reagent는 MD Pacific Hemostasis (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China)의 분석시약을, 기타 시약은 시약급 이상으로 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 각각의 혈액응고활성은 3회 반복 측정하였으며, thrombin, prothrombin, 혈액응고인자 저해활성은 시료 첨가시의 TT, PT 및 aPTT의 평균값을 용매 대조구인 DMSO첨가시의 TT, PT 및 aPTT 평균값의 비로 각각 나타내었다[17]. 이때 시료 대조구으로는 aspirin (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였으며, 각각의 실험은 3회 반복 측정하였다.

혈소판 응집 저해 활성

조제된 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 ethanol 추출물들의 혈소판 응집저해 활성은 기존에 보고한 방법과 동일하게, Whole Blood Aggregometer (Chrono-log, PA, U.S.A)를 이용한 impedance법[33]으로 평가하였다. 먼저 10 mM CaCl₂ 50 μ l, suspending buffer 147.5 μ l, 오미자 추출물 시료 5 μ l 가 포함된 반응 cuvette에 50 μ l의 혈소판(5×10^8 cells/ml)을 넣은 후 3분 동안 37°C로 가온 후 응집유도제로 collagen (1 mg/ml)을 2.5 μ l를 넣고 혈소판 응집을 측정하였다. 응집반응은 collagen 첨가 후 12분간 측정하였으며, amplitude, slope, area under curve (AUC)를 측정하여 평가하였다. 이때, amplitude (ohm)는 혈소판에 응집유도제를 첨가하였을 때 일어나는 최대 응집정도를 나타내며, slope 는 응집유도제를 첨가한 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 나타내며, AUC는 전체적인 혈소판 응집 정도를 표시하는 것으로 전기저항 증가에 따른 slope 곡선의 하강면적을 의미한다. 최종 혈소판 응집 저해도(DPAI: Degree of Platelet Aggregation Inhibition)는 다음의 식에 의해 계산하였다[16].

$$DPAI (\%) = [(A-B)/A] \times 100.$$

A: 용매 대조구 DMSO처리시의 AUC, B: 시료 처리시 AUC

인간 적혈구 용혈 활성 평가

조제된 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 ethanol 추출물들의 인간 적혈구 용혈 활성은, 기존의 보고한 방법[17]과 동일하게 평가하였다. 먼저 PBS로 3회 수세한 인간 적혈구(4%) 100 μ l를 96-well microplate에 가하고 다양한 농도의 시료용액 100 μ l를 가한 다음 37°C에서 30분간 반응시켰으며, 이후, 반응액을 10분간 원심분리(1,500 rpm)하여 상등액 100 μ l를 새로운 microtiter plate로 옮긴 후 용혈에 따른 헤모글로빈 유출 정도를 414 nm에서 측정하였다. 시료의 용매 대조구로는 DMSO (2%)를 사용하였으며, 활성 대조구로는 triton X-100을 사용하였다. 용혈활성은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.
(%) Hemolysis = [(S - C)/(T - C)] \times 100.

S: 시료 첨가구의 흡광도, C: DMSO 첨가구의 흡광도, T: Triton X-100첨가구의 흡광도.

기타 분석

총 폴리페놀 (total polyphenol) 및 총 플라보노이드 (total flavonoid) 함량은 기존의 보고된 방법[31]에 따라 측정하였으며, 각각 rutin과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. 총당 정량의 경우에는 phenol-sulfuric acid법을, 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였다[34]. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다.

통계분석

실험 결과는 SPSS 24.0 버전을 사용하여 mean \pm SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Duncan 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였다. 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결과 및 고찰

오미자 열매, 씨 및 착즙 후 박의 ethanol 추출 수율 및 추출물의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 총당 및 환원당 분석

상업적 시설에서 오미자를 착즙하는 경우, 신선 열매 100 kg으로부터 약 20 kg의 과즙, 30~35 kg의 씨와 45 kg의 착즙 후 박(pomace)을 회수하게 된다. 과즙은 살균 후 음료로 주로 이용되나, 씨와 박은 특별한 용도 없이 폐기되고 있는 실정이다. 따라서, 오미자 열매와 가공부산물인 씨 및 착즙 후 박의 유용생리활성 평가를 위해 에탄올 추출물을 조제하였다. 열매, 씨 및 박의 추출 수율은 각각 28.3, 22.1 및 7.2%로 나타났다 (Table 1). 권 등은 오미자 열매의 ethanol 추출 수율을 33.9%로 보고[20]하여 본 연구보다 약 5.6% 높은 수율을 보고한 바, 이는 오미자 시료의 차이와 70% ethanol을 추출용매로 사용한 차이로 이해된다. 한편 오미자 씨의 경우, 기존의 볶음 처리후

Table 1. Yields of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit, seed and pomace and their components analysis

Samples	Extraction yield (%)	Content (mg/g)			
		Total polyphenol	Total flavonoid	Total sugar	Reducing sugar
Fruit	28.27	8.81±0.01 ^a	0.76±0.05 ^a	233.34±1.22 ^a	143.32±2.35 ^a
Seed	22.1	37.22±0.65 ^b	1.25±0.13 ^b	41.53±0.14 ^b	39.68±1.81 ^b
Pomace	7.2	9.20±0.15 ^a	4.31±0.18 ^c	153.24±8.95 ^c	124.94±2.15 ^c

Data are presented as the mean±SD of three determinations. Different superscript letters within a column differ significantly by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

의 n-hexane 추출 수율은 23.9~26.3%로 알려져 있으며, 압착 추출의 경우 32~38%로, 용매추출보다 수율이 높은 것으로 알려져 있다[21]. 본 연구에서는 별도의 볶음 전처리 없이 약 22.1%의 수율을 나타내어 기존 보고된 n-hexane 추출 수율보다 1.8~4.2% 낮은 수율을 나타내었다. 한편 박의 경우 추출 수율이 열매에 비해 약 1/4정도(7.2% 추출 수율)로 낮게 나타났다.

조제된 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 ethanol 추출물들의 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과, 각각 8.81, 37.22 및 9.20 mg/g 함량을 보였다(Table 1). 오미자 열매 추출물의 경우 기존 보고[20]인 6.96 mg/g 보다 약간 높은 함량을 보였으며, 오미자 씨 추출물의 경우 오미자 열매보다 4.2배 높은 함량을 보였다. 이는 기존의 탈산, 탈검 등을 거친 정제된 포도씨유 및 카놀라씨유가 각각 7.5 mg/g, 5.9 mg/g을 나타냄[21]을 고려한다면, 오미자씨 추출물은 매우 높은 폴리페놀 함량을 가짐을 알 수 있다. 또한 박의 경우에도 오미자 열매와 유사한 함량의 폴리페놀을 확인하였다. 한편, 총 플라보노이드 함량 분석 결과 박(4.31 mg/g)>씨(1.25 mg/g)>열매(0.76 mg/g) 추출물 순으로 나타났으며, 착즙 후 박이 열매 추출물보다 약 5.6배 높은 플라보노이드 함량을 나타내었다. 총당 및 환원당의 경우 열매>박>씨 추출물 순으로 나타나, 씨 추출물은 상대적으로 당 성분이 적음을 알 수 있었다.

오미자 열매, 씨, 착즙 후 박의 ethanol 추출물의 항산화 활성
조제된 오미자 추출물 시료들의 항산화 활성 평가 결과는

Table 2에 나타내었다. 먼저 DPPH 음이온 소거능을 0.5 mg/ml 농도에서 평가한 결과 예상과는 달리 박 추출물에서 가장 높은 74%의 소거능을 나타내었으며, 씨 추출물, 열매 추출물 순으로 나타났다. 또한 ABTS 양이온 소거능 및 nitrite 소거능 평가에서도 박>씨>열매 추출물 순으로 우수한 항산화능을 나타내었다. 환원력 평가 결과 역시, 가장 강력한 활성은 박 추출물에서 확인되었으며, 박>씨 >열매 추출물 순의 활성을 보였다.

다양한 농도의 오미자 추출물 시료의 항산화력을 측정하여 RC₅₀을 계산하였으며, 그 결과 박 추출물의 DPPH 양이온, ABTS 음이온 및 nitrite 소거능에 대한 RC₅₀는 각각 226.2, 192.5 및 92.5 µg/ml 로 확인되었다(Table 3). 이는 vitamin C의 DPPH 양이온, ABTS 음이온 및 nitrite 소거능에 대한 RC₅₀가 각각 9.6, 4.9 및 15.3 µg/ml 임을 고려하면, 상대적으로 약한 항산화능이지만, 열매 및 씨 추출물에 비해서는 우수한 항산화능을 나타냄을 의미한다. 또한 씨 추출물의 경우, DPPH 양이온, ABTS 음이온 및 nitrite 소거능에 대한 RC₅₀가 각각 611.0, 225.7 및 117.6 µg/ml 로 계산되어, DPPH 소거능에 대한 RC₅₀값인 630.1 µg/ml (가시오가피), 540.2 µg/ml (백부자), 700 µg/ml (산수유) 및 800 µg/ml (삼지구엽초) 와 유사하거나 우수한 항산화력을 알 수 있었다[12]. 이러한 결과는 폐기되고 있는 오미자 씨 및 착즙 후 박의 우수한 항산화 활성을 이용한 식의약품 소재 개발이 필요함을 제시하고 있다.

Table 2. Radical scavenging activities against DPPH anion, ABTS anion, nitrite and reducing power of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit juice, seed and pomace

Samples/Chemicals	Antioxidant activity (%)			
	DPPH SA ¹⁾	ABTS SA ¹⁾	Nitrite SA ¹⁾	Reducing power
Fruit	21.03±1.73 ^a	29.65±1.48 ^a	31.39±2.24 ^a	0.121±0.001 ^a
Seed	38.92±5.15 ^b	66.16±1.38 ^b	66.13±0.98 ^b	0.275±0.012 ^b
Pomace	74.19±4.41 ^c	76.50±3.08 ^c	70.05±1.30 ^c	0.442±0.011 ^c
Vitamin C	81.98±1.55 ^d	89.14±0.01 ^d	83.79±0.56 ^d	1.791±0.001 ^d

¹⁾SA: scavenging activity. The concentrations of samples used for DPPH, ABTS and nitrite scavenging activity assay and reducing power assay were 500 µg/ml, 500 µg/ml, 200 µg/ml and 500 µg/ml, respectively. The concentration of vitamin C used for assay was 50 µg/ml.

Data are presented as the mean±SD of three determinations. Different superscript letters within a column differ significantly by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

Table 3. Radical scavenging activities (RC₅₀s) of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit, seed and pomace

Samples/ Chemicals	Radical scavenging activity : RC ₅₀ (µg/ml) ¹⁾		
	DPPH	ABTS	Nitrite
Fruit	1,188.6	229.0	159.3
Seed	611.0	225.7	117.6
Pomace	226.2	192.5	92.5
Vitamin C	9.6	4.9	15.3

¹⁾RC₅₀: The concentration required to scavenge 50% of particular radical under the standard conditions.

오미자 열매, 씨, 착즙 후 박의 ethanol 추출물의 항균 활성

조제된 오미자 추출물 시료들의 항세균 및 항진균 활성을 평가하였으며, 그 결과는 Table 4에 나타내었다. 먼저 대조구로 사용된 ampicillin과 miconazole은 각각 광범위하면서도 강력한 항세균 및 항진균 활성을 나타내었다. 오미자 열매, 씨 및 박 추출물은 0.5 mg/disc 농도에서 *B subtilis* 및 *P. vulgaris* 균에 대한 항균 활성을 나타내었으며, 열매 추출물은 특히 *S. aureus* 및 *C. albicans*에 대해서도 생육억제 활성을 나타내었다. 특히 오미자 박 추출물은 *P. vulgaris*에 대해 열매 및 씨 추출물보다 강력한 항균력을 나타내었다. 따라서 오미자 박 및 씨의 경우 오미자 열매와 유사한 항균 스펙트럼을 가질 것으로 추측된다. 기존의 오미자의 항균력 보고의 경우, 열매 에탄올 추출물은 10 mg/ml 이상의 농도에서 *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*에 대해 항균 활성이 나타나며, 그람 음성균인 *S. typhimurium* 및 *E. coli*에 대해서는 30 mg/ml 농도까지 항균 활성이 나타나지 않는다[20]는 보고가 있으며, 씨 에탄올 추출물이 그람양성균인 *Lactobacillus plantarum*, *B subtilis*, *S. aureus* 및 그람 음성균인 *S. typhimurium*, *E. coli* 및 진균인 *Penicillium citrinum*에 대해 9.7~12.6 mm의 생육억제환을 나타내며, 특히 *B subtilis*에 대한 가장 우수한 항균력을 나타낸다고 보고되어

있다[14]. 본 연구결과와 기존 보고를 고려한다면, 항균력 측정 방법과 사용균주, 사용농도의 차이로 정확한 비교는 어려우나, 오미자 가공부산물을 이용하여 다양한 식중독 및 병원성 세균에 대한 항균제 개발도 가능하리라 예상된다.

오미자 열매, 씨, 착즙 후 박의 ethanol 추출물의 항혈전 활성 및 적혈구 용혈활성

조제된 오미자 추출물 시료들의 항혈전 활성을 평가하기 위해 5 mg/ml 농도의 시료를 이용하여 혈액응고 저해활성을 평가하였다. 먼저 대조구로 사용된 aspirin의 경우 5 mg/ml 농도에서 TT, PT 및 aPTT를 모두 무첨가구에 비해 15배 이상 연장시켰으며, 1.5 mg/ml 농도에서도 TT, PT 및 aPTT를 각각 2배, 1.7배, 1.4배 연장시켜 혈액응고를 효율적으로 저해함을 확인하였다(Table 5). 한편 오미자 열매 추출물과 박 추출물은 5 mg/ml 농도에서 TT, PT 및 aPTT를 모두 무첨가구에 비해 15배 이상 연장시켰다. 열매 추출물의 경우 2.5 mg/ml 농도에서도 TT, PT 및 aPTT를 무첨가구에 비해 15배 이상 연장시킨 반면, 오미자 박 추출물은 2.5 mg/ml 농도에서 TT, PT 및 aPTT를 각각 2.2배, 1.3배 및 1.4배 연장시켜 aspirin 1.5 mg/ml와 유사한 혈액응고 저해를 나타내었다. 따라서 오미자 박 추출물은 기존의 혈액응고저해 활성이 우수하다고 보고된 마가목 줄기보다 우수한 혈액 응고저해 활성[17]을 가짐을 알 수 있었다. 씨 추출물은 5mg/ml 농도에서 aPTT를 1.5배 연장시켜 혈액응고인자 저해활성은 인정되었으나, 혈전 생성 관련 효소인 thrombin, prothrombin의 저해활성은 나타나지 않았다.

한편 조제된 오미자 추출물 시료들의 항혈전 활성을 평가하기 위해 0.25 mg/ml 농도의 시료를 이용하여 인간 혈소판 응집저해능을 평가하였다. Aspirin은 농도 의존적으로 혈소판 응집을 저해하였으며, 0.25 mg/ml 농도에서 17%의 응집저해 및 0.5 mg/ml 농도에서 62.4%의 응집저해를 나타내었다(Table

Table 4. Antimicrobial activities of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit, seed and pomace against pathogenic and food-spoilage bacteria and fungi

Samples/ Chemicals	Growth inhibition zone (mm)									
	Gram positive bacteria				Gram negative bacteria				Fungi	
	SA ¹⁾	SE	LM	BS	EC	PA	PV	ST	CA	SC
Fruit	8.0	- ²⁾	-	12.0	-	-	8.5	-	9.0	-
Seed	-	-	-	8.5	-	-	10.0	-	-	-
Pomace	-	-	-	10.5	-	-	19.0	-	-	-
Ampicillin	26.0	22.5	16.0	28.0	12.5	18.0	30.0	22.5	-	-
Miconazole	-	-	-	-	-	-	-	-	20.5	24.5

¹⁾SA: *Staphylococcus aureus*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, LM: *Listeria monocytogenes*, BS: *Bacillus subtilis*, EC: *Escherichia coli*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, PV: *Proteus vulgaris*, ST: *Salmonella typhimurium*, CA: *Candida albicans*, SC: *Saccharomyces cerevisiae*, ²⁾-: No inhibition.

The concentrations of the extract and antibiotics chemicals used were 500 µg/disc and 1 µg/disc, respectively. The growth inhibition zone expressed was included size of disc-paper (6.5 mm of diameter). The data represent a classical result of three independent determinations.

Table 5. Anti-coagulation activities of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit, seed and pomace

Samples/Chemicals	Conc. (mg/ml)	Anti-coagulation activity ¹⁾		
		TT	PT	aPTT
DMSO	-	1.0±0.1 ^a	1.0±0.0 ^a	1.0±0.0 ^a
Aspirin	5.0	>15.0 ^d	>15.0 ^e	>15.0 ^c
	1.5	2.0±.1 ^b	1.7±0.1 ^d	1.4±0.0 ^b
Fruit	5.0	>15.0 ^d	>15.0 ^e	>15.0 ^c
	2.5	>15.0 ^d	>15.0 ^e	>15.0 ^c
	1.25	1.3±0.1 ^{ab}	1.4±0.1 ^c	>15.0 ^c
Seed	5.0	1.1±0.0 ^a	1.0±0.0 ^a	1.5±0.1 ^b
Pomace	5.0	>15.0 ^d	>15.0 ^e	>15.0 ^c
	2.5	2.2±0.2 ^c	1.3±0.0 ^b	1.4±0.1 ^b
	1.25	1.2±0.1 ^{ab}	1.0±0.1 ^a	1.1±0.1 ^a

¹⁾Anti-coagulation activity is calculated on the clotting time of sample divided by the clotting time of solvent control in blood coagulation assay. Data are presented as the mean±SD of three determinations. The thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) of solvent control (dimethylsulfoximide) were 31.1 sec, 19.7 sec, 42.7 sec, respectively. Data are presented as the mean±SD of three determinations. Different superscript letters within a column differ significantly by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

Table 6. Platelet aggregation inhibitory activities of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit, seed and pomace

Chemicals/Samples	Conc. (mg/ml)	Amplitude (Ω)	Slope (Ω/min)	Lag time (sec)	Area under curve	DPAI ¹⁾ (%)
DMSO	-	17	3	31	123.6	-0.1
		17	3	36	123.4	0.1
Aspirin	0.5	8	1	40	46.4	62.43
	0.25	16	2	25	102.5	17.00
Fruit	0.25	4	1	74	31.3	74.66
Seed	0.25	7	2	16	64.3	47.93
Pomace	0.25	26	6	8	243.9	-97.49

¹⁾DPAI: Degree of Platelet Aggregation Inhibition. Data are presented as a representative result relative of independent three determinations. Amplitude is expressed as ohms by maximum extent of platelet aggregation, and slope (rate of reaction) is determined by drawing a tangent through the steepest part of curve. Area under curve is a calculated area in descent drawing during platelet aggregation.

6). 오미자 열매 추출물(0.25 mg/ml)은 74.6%의 응집저해를 나타내어 aspirin 보다 강력한 응집저해를 나타내었다. 이는, 오미자 열매 methanol 추출물이 1 mg/ml 농도에서 rabbit 혈소판 응집을 65.7% 저해한다는 기존의 보고[16]와 유사한 결과이다. 한편 오미자 박 추출물은 응집저해가 전혀 나타나지 않은 반면, 오미자 씨 추출물(0.25 mg/ml)은 47.9%의 응집저해를 나타내어 동일농도의 aspirin 보다 우수한 혈소판 응집저해 활성을 나타내었다. 따라서, 상기 결과는 오미자 씨를 이용한 신규의 항혈소판제 개발이 가능함을 제시하고 있다.

조제된 오미자 추출물 시료들의 실제적인 식의약품 소재 개발 가능성을 검토하기 위해 인간 적혈구 용혈활성을 평가하였다. 그 결과, 0.5 mg/ml 농도까지 열매 추출물 및 박 추출물에서는 용혈활성이 전혀 나타나지 않았으며, 씨 추출물에서는 13.6%의 용혈활성이 나타났다. 그러나 이는 용혈활성이 문제

가 되고 있는 amphotericin이나, triton X-100과 비교시 매우 미약한 활성이며, 오미자씨유 5g/kg 경구투여시 독성이 나타나지 않았다는 보고[30]를 고려한다면 특이 문제는 야기하지 않을 것으로 판단된다. 최종적으로 본 연구에서, 오미자 가공 산업에서 발생하는 오미자 씨와 착즙 후의 박은 오미자 열매

Table 7. Hemolysis activities of the ethanol extracts of *Schizandra chinensis* Baillon fruit, seed and pomace against human red blood cell

Samples (mg/ml)	Hemolysis (%)
Fruit (0.5)	0.0±0.4
Seed (0.5)	13.6±0.5
Pomace (0.5)	-2.5±0.7
Triton X-100 (1.0)	100±0.5
Amphotericin B (0.05)	97.3±1.6

와 유사하거나 보다 우수한 항혈소판, 항균 및 항산화 활성을 나타냄을 확인하였다. 본 연구결과는 오미자 가공부산물을 이용한 고부가가치 식의약품, 화장품 소재 개발의 기초자료로 이용될 것이다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 산업통상자원부 바이오테라피 산업기반구축사업(과제번호 N0001805)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Ahn, S. M., Ryu, H. Y., Kang, D. K., Jung, I. C. and Sohn, H. Y. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the fruit of *Prunus avium* L. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 195-200.
- Bijak, M., Nowak, P., Bobrowiecka, M., Ponczek, M. B., Zbikowska, H. and Wacowicz, B. 2012. Protective effects of (-)-epicatechin against nitrative modifications of fibrinogen. *Thrombosis Res.* **130**, 123-128.
- Caichompoo, W., Zhang, Q. Y., Hou, T. T., Gao, H. J., Qin, L. P. and Zhou, X. J. 2009. Optimization of extraction and purification of active fractions from *Schisandra chinensis* (Turcz.) and its osteoblastic proliferation stimulating activity. *Phytother Res.* **23**, 289-292.
- Chen, H., Qi, X., He, C., Yin, Z., Fan, D. and Han, G. 2013. Coagulation imbalance may not contribute to the development of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis. *Thrombosis Res.* **131**, 173-177.
- Cho, E. K., Cho, H. E. and Choi, Y. J. 2010. Inhibitory effects of angiotensin converting enzyme and α -glucosidase, and alcohol metabolizing activity of fermented omija (*Schisandra chinensis* Baillon) beverage. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 655-661.
- Choi, S. R., Kim, C. S., Kim, J. Y., You, D. H., Kim, J. M., Kim, Y. S., Song, E. J., Kim, Y. G., Ahn, Y. S. and Choi, D. G. 2011. Changes of antioxidant activity and lignan contents in *Schisandra chinensis* by harvesting times. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **19**, 414-420.
- Choi, Y. W., Takamatsu, S., Khan, S. I., Srinivas, P. V., Ferreira, D., Zhao, J. and Khan, I. A. 2006. Schisandrene, a dibenzocyclooctadien lignin from *Schisandra chinensis*: structure antioxidant activity relationships of dibenzocyclooctadien lignans. *J. Nat. Prod.* **69**, 356-359.
- Chung, K. H., Lee, S. H., Lee, Y. C. and Kim, J. T. 2001. Antimicrobial activity of Omija (*Schisandra chinensis*) extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 127-132.
- Deng, X., Chen, X., Cheng, W., Shen, Z. and Bi, K. 2008. Simultaneous LC-MS quantification of 15 lignans in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. fruit. *Chromatographia* **67**, 559-566.
- Guo, L. Y., Hung, T. M., Bae, K. H., Shin, E. M., Zhou, H. Y., Hong, Y. N., Kang, S. S., Kim, H. P. and Kim, Y. S. 2008. Anti-inflammatory effects of schisandrin isolated from the fruit of *Schisandra chinensis* Baill. *Eur. J. Pharmacol.* **591**, 293-299.
- Hyun, K. H., Kim, H. J. and Jeong, H. C. 2002. A study of determining chemical composition of *Schisandra chinensis*. *Kor. J. Plan. Res.* **15**, 1-7.
- Jeon, Y. H., Kil, J. H., Lim, S. M., Kim, M. H. and Kim, M. R. 2008. Analysis of antioxidative activity and anti-mutagenic effect of ethanol extract from *Schisandra chinensis* Baillon. *J. East Asian Soc. Diet. Life* **18**, 746-752.
- Jo, S. H., Ha, K. S., Moon, K. S., Lee, O. H., Jang, H. D. and Kwon, Y. I. 2011. *In vitro* and *in vivo* anti-hyperglycemic effects of omija (*Schisandra chinensis*) fruit. *Int. J. Mol. Sci.* **12**, 1359-1370.
- Jung, G. T., Ju, I. O., Choi, C. S. and Hong, J. S. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schisandra chinensis* (Omija) seed. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 928-935.
- Kim, K. S., Park, C. G., Ryu, S. N., Bang, J. K. and Lee, B. H. 2000. Schisandrin, oil compounds and their extraction yield in fruits of *Schisandra chinensis* Baillon. *Kor. J. Crop. Sci.* **45**, 158-162.
- Kim, M. G., Lee, C. H. and Lee, H. S. 2010. Anti-platelet aggregation activity of lignans isolated from *Schisandra chinensis* fruit. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **53**, 740-745.
- Kim, M. S., Seong, H. J. and Sohn, H. Y. 2016. *In-vitro* antithrombosis activity of different parts of *Sorbus commixta* from Ulleung island. *J. Life Sci.* **26**, 289-295.
- Kim, Y. J., Lee, Y. G., Choi, Y. W. and Kim, Y. C. 2008. Effects of drying conditions on the profile of volatile terpenoid and color of Shizandra Fruit. *J. Life Sci.* **18**, 1066-1071.
- Kim, Y. S., Kim, Y. S., Kim, S. Y., Whang, J. H. and Suh, H. J. 2008. Application of omija (*Schisandra chinensis*) and plum (*Prunus mume*) extracts for the improvement of Kimchi quality. *Food Control* **19**, 662-669.
- Kwon, H. J. and Park, C. S. 2008. Biological activities of extracts from Omija (*Schisandra chinensis* Baillon). *Kor. J. Food Preserv.* **15**, 587-592.
- Lee, H. J., Cho, J. S., Lee, Y. M., Choi, J. Y., Sung, J. H., Chung, H. S. and Moon, K. D. 2015. Quality characteristic of Omija (*Schisandra chinensis* Baillon) seed oils by roasting conditions and extraction methods. *Kor. J. Food Preserv.* **22**, 845-850.
- Lee, J. S. and Lee, S. W. 1991. Effect of water extracts of endocarps and seeds of omija (*Schisandra chinensis* Baillon) on alcohol metabolism. *J. East Asian Soc. Diet. Life* **1**, 299-304.
- Lee, W. Y., Choi, S. Y., Lee, B. S., Park, J. S., Kim, M. J. and Oh, S. L. 2006. Optimization of extraction conditions from omija (*Schisandra chinensis* Baillon) by response surface methodology. *Kor. J. Food Preserv.* **17**, 637-643.
- Liu, C. J., Zhang, S. Q., Zhang, J. S., Liang, Q. and Li, D. S. 2012. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from berries of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Nat. Prod. Res.* **26**, 2199-2203.
- Martinez, M., Weisel, J. W. and Ischiropoulos, H. 2013.

- Functional impact of oxidative posttranslational modifications on fibrinogen and fibrin clots. *Free Radic. Biol. Med.* **65**, 411-418.
26. Min, H. Y., Park, E. J., Hong, J. Y., Kang, Y. J., Kim, S. J., Chung, H. J., Woo, E. R., Hung, T. M., Youn, U. J., Kim, Y. S., Kang, S. S., Bae, K. H. and Lee, S. K. 2008 Antiproliferative effects of dibenzocyclooctadiene lignans isolated from *Schizandra chinensis* in human cancer cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**, 523-526.
27. Nomura, M., Nakachiyama, M., Hida, T., Ohtaki, Y., Sudo, K., Aizawa, T., Aburada, M. and Miyamoto, K. I. 1994. Gomisins A, a lignan component of *Schizandra* fruits, inhibits development of preneoplastic lesions in rat liver by 3'-methyl-4-dimethylamino-azobenzene. *Cancer Lett.* **76**, 11-18
28. Park, L. Y., Lee, S. H. and Kim, S. J. 2010. Preparation and sensory characteristics of bread containing *Schizandra chinensis* Baillon (a traditional Korean medicinal plant). *Kor. J. Food Preserv.* **17**, 637-643.
29. Ryu, I. H., Kwon, T. O. 2012. The antioxidative effect and ingredients of oil extracted from *Schizandra chinensis* seed. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **20**, 63-71.
30. Ryu, S. N., Kim, K. S., Lee, E. B., Kang, S. S., Kim, J. S., Cheon, S. A. and Lee, B. H. 1998. Acute toxicity of fruit pigment and seed oil of *Schizandra chinensis* in mice. *Kor. J. Intl. Agri.* **10**, 37-41.
31. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
32. Sung, K. C. 2011. A study on the pharmaceutical and chemical characteristics and analysis of natural omija extract. *J. Kor. Oil Chem. Soc.* **28**, 290-298.
33. Sweeney, J. D., Hoerning, L. A., Behrens, A. N., Novak, E. and Swank, R. T. 1990. Thrombocytopenia after desmopressin but absence of *in-vitro* hypersensitivity to ristocetin. *Amer. J. Clin. Path.* **93**, 522-525.
34. Valentina, U., Fabrice, J. and Stampar, F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**, 185-192.
35. Yang, J. C. 2012. The evaluation on the effectiveness as a cosmetic material of oil extracted from *Schizandra chinensis* seed. *J. Kor. Oil Chem. Soc.* **29**, 231-237.
36. Yim, S. Y., Lee, Y. J., Lee, Y. K., Jung, S. E., Kim, J. H., Kim, J. E., Kim, H. J., Son, B. G., Park, Y. H., Lee, Y. G., Choi, Y. W. and Hwang, D. Y. 2009. Gomisins N isolated from *Schizandra chinensis* significantly induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects in hepatic carcinoma. *Mol. Med. Rep.* **2**, 725-732.

초록 : 오미자 열매, 씨, 착즙 후 박의 항산화, 항균 및 항혈전 활성 평가

김미선¹ · 성화정¹ · 박종이² · 손호용^{1*}

(¹안동대학교 식품영양학과, ²경북바이오산업연구원)

본 연구에서는 오미자 가공산업의 부산물 이용을 위해, 오미자 열매, 씨 및 착즙 후의 박의 에탄올 추출물을 각각 조제하고, 이들의 유용생리활성을 평가하였다. 오미자 열매, 씨 및 박의 추출 수율은 각각 28.3, 22.1 및 7.2%로 나타났으며, 추출물들의 총 폴리페놀 함량은 각각 8.81, 37.22 및 9.20 mg/g로 나타났다. 총 플라보노이드 함량 분석 결과 박(4.31 mg/g) > 씨(1.25 mg/g) > 열매(0.76 mg/g) 추출물 순으로 나타났다. 항산화 활성 평가 결과, 다양한 radical (DPPH 음이온, ABTS 양이온 및 nitrite) 소거능 및 환원력 평가에서 박 > 씨 > 열매 추출물 순으로 항산화능이 나타났으며, 오미자 박 추출물의 DPPH 양이온, ABTS 음이온 및 nitrite 소거능에 대한 RC₅₀는 각각 226.2, 192.5 및 92.5 µg/ml로 계산되었다. 항균 활성 평가 결과, 오미자 열매, 씨 및 박 추출물(0.5 mg/disc)은 *B subtilis* 및 *P. vulgaris* 균에 대한 강한 항균 활성을 나타내었다. 혈액응고저해 활성의 경우, 오미자 열매 및 박 추출물은 5 mg/ml 농도에서 TT, PT 및 aPTT를 모두 무첨가구에 비해 15배 이상 연장시켰으며, 박 추출물(2.5 mg/ml)은 aspirin (1.5 mg/ml)과 유사한 혈액응고 저해를 나타내었다. 혈소판응집 저해 활성 평가 결과, 열매 추출물과 씨 추출물(0.25 mg/ml)은 동일농도의 aspirin 보다 우수한 혈소판 응집저해 활성을 나타내었다. 상기의 오미자 시료들은 0.5 mg/ml 농도까지 유의적인 용혈활성이 나타나지 않았다. 본 연구 결과는 오미자 가공산업에서 발생하는 오미자 씨와 착즙 후의 박을 이용한 항산화, 항균, 항혈전 기능성 소재 개발이 가능함을 제시하고 있다.