

마 점질물의 중금속 제거능과 ACE저해 효과

하영득[†] · 이삼빈 · 곽연길

계명대학교 식품가공학과

Removal of Heavy Metal and ACE Inhibition of Yam Mucilage

Young-Duck Ha[†], Sam-Pin Lee and Youn-Gil Kwak

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

Abstract

Functional properties of yam mucilage were investigated by physicochemical analysis. Yam mucilage was extracted from the root of yam and then separated into two fractions by its selective aggregation with isopropanol concentration. Each mucilage fraction showed the excellent binding properties with heavy metal ions Co, Cr and Cu. Cr showed the higher affinity with mucilage than Co and Cu at pH 6.3. In ACE inhibition, IC₅₀ values of mucilage fraction 1 and 2 showed 8.99µg/µl and 7.1µg/µl, respectively.

Key words: yam mucilage, heavy metal ion, ACE inhibition, IC₅₀

서 론

마(*Dioscorea batatas* DECENE)는 일반적으로 가식부의 뿌리가 원주상인 비대한 생근 형태로 내부는 유백색이나 황갈색을 띠며 끈끈한 점질다당류를 다량 함유하고 있다. 마의 점질다당류의 구성 성분은 주로 mannan으로 이루어진 식이섬유가 대부분을 차지하며, mannan의 대부분은 acetyl화된 acetylmannan으로 수용성이다(1-4). 마에 함유된 단백질은 생물이 우수하며, 이들의 함량은 품종, 저장, 성숙 상태 및 재배 토양에 따라 다소 다르며(5-7), 단백질은 glycoprotein으로 존재한다고 보고하였다(8).

마는 예로부터 한방에서는 자양(滋養), 강정(强精), 강장(强壯), 폐결핵 등에 유효하고(9,10) 소염, 해독, 진해, 거담, 이뇨, 신경통, 류마티즘에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(11). 또한 마는 알칼리성 식품으로 여러 소화효소가 함유되어 있어 익혀 먹지 않아도 소화가 잘되는 식품으로 다른 가공 식품의 제조시 물성 개량제로도 사용 가능성이 높은 물질이다.

마에 대한 연구는 마의 점질물 정제 및 마의 화학성분조사(12,13), 마 전분의 물성적 특성에 관한 연구(14,

15), 마의 polyphenol oxidase의 특성과 효소 갈변 생성물의 항돌연변이 효과(16), 마의 당뇨병 환자의 혈당에 미치는 영향(17), 마의 항변이원성, 항보체활성 및 면역증강효과(18) 등 마의 기능성 및 생리활성에 관련된 연구들이 많이 보고되었다. 그러나 마의 식품의 중요한 기능성 중의 하나로 받아들여지는 ACE(Angiotensin converting enzyme) 저해 활성과 중금속 제거효과에 대한 연구는 아직 미비한 실정이다. 혈압의 상승억제에 관여하는 ACE 저해물질에 대한 연구가 많이 이루어지고 있는데(19) 우유 카제인의 protease 가수분해물(20)과, 된장, 알로에, 멸치젓갈 같은 어류의 단백질 중에서도 ACE 저해 peptide의 존재가 보고되었다(21-24). 또한, 다당류의 구조적 특징에 기인한 중금속 제거효과는 다당류들의 중요한 기능성 중의 하나로 chitosan과 미생물 다당류 zooglan 등에 의한 중금속 흡착능력이 이미 보고된 바 있다(25,26). 따라서 다량의 점질성 다당류가 존재하는 마에서도 중금속 제거능이 기대된다.

본 연구에서는 마를 이용한 기능성 식품의 개발 가능성을 제시하고자 마의 점질물을 분리하여 이들의 ACE 저해 효과 및 중금속 제거효과를 검토하였다.

[†]To whom all correspondence should be addressed

재료 및 방법

재료

단마(*Dioscorea batatas* DECENE)는 경상북도 평은농협에서 재배하여 수확한 것을 사용하였다. 생마의 장기간 보존을 위하여 물로 수세한 후 물기를 제거하고, 신문지로 '날개' 포장하여 4°C에서 보관하며 사용하였다. 실험에 사용된 cobalt, chromium, copper 등은 특급시약을 사용하였으며, lung acetone powder와 Hippuryl-His-Leu(HHL) 기질을 Sigma사로부터 구입하였다.

마 점질물의 분리

마 점질물의 분리는 생마를 박피하여 Fig. 1과 같은 과정을 거쳐서 분리하였다.

마 점질물의 중금속 제거능

마 점질물에 의해 흡착제거되는 중금속의 양을 정량적으로 측정하기 위하여 시판되는 각각의 중금속 이온은 cobalt(Co), chromium(Cr), copper(Cu) 표준용액을 사용하였다. 점질물 용액의 pH는 1M HCl과 1M NaOH을 사용하여 pH 2.8과 pH 10.5로 조정하였다.

각각 Co, Cr, Cu 중금속을 0.002%(w/v) 포함한 수용액 20ml에 2.3%(w/v)인 점질물 fraction 1과 fraction 2의 시료액 2ml을 넣고 30분간 교반하였다. 반응액은 1.2µm filter(GF/C filter, Watman)로 감압여과한 후, 여액을 다시 0.45µm filter로 여과하였다. 각각의 중금속 여과액을 5배 희석시킨 후 이들 혼합액의 pH에 따른 중금속 잔존율을 Inductively Coupled Plasma Spectrometer(JY-38S, Jobin Yvon, France)를 이용하여 측정하였다.

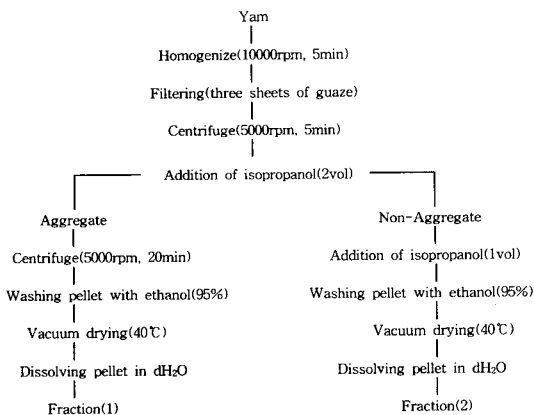


Fig. 1. Flow chart for fractionation of yam mucilage.

$$\text{흡착율}(\%) = \frac{(B - A)}{B} \times 100$$

A: 중금속 잔존량(ppm)

B: 중금속 투입량(ppm)

마 점질물의 ACE(Angiotensin converting enzyme) 저해율의 측정

점질물의 ACE 활성 저해능은 *in vitro* 조건에서 측정하였다. ACE 효소액은 Cushman과 Cheung(27)의 방법에 따라 조제하였으며, ACE 저해율의 측정은 Cushman과 Cheung(27)의 방법을 변형하여 Fig. 2와 같은 방법으로 측정하였다. ACE 조효소(0.81Unit)와 기질인 HHL(Hippuryl histidyl-leucine)을 37°C에서 40분 동안 반응시킨 후 효소작용에 의해 생성된 hippuric acid를 228nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \frac{(Ec - Es)}{(Ec - Eb)} \times 100$$

Ec: 점질물액 대신 증류수를 첨가한 반응액의 흡광도

Eb: 반응초기에 1M HCl을 첨가하여 반응을 정지시킨 반응액의 흡광도

Es: 점질물액을 첨가한 반응액의 흡광도

ACE 효소의 적정 농도의 결정은 7.6mM HHL의 기질에 대한 효소 반응으로부터 추출된 hippuric acid의 흡광도를 측정하여 효소액과 hippuric acid의 흡광도 값이 비례적으로 증가하는 구간 중 ACE 효소액의 최대값을 ACE 효소액의 적정 농도로 결정하였다. 효소액의 활성은 37°C에서 1분 동안 기질 1µM에서 hippuric acid를 유리시키는 효소량을 1unit로 정의하였다.

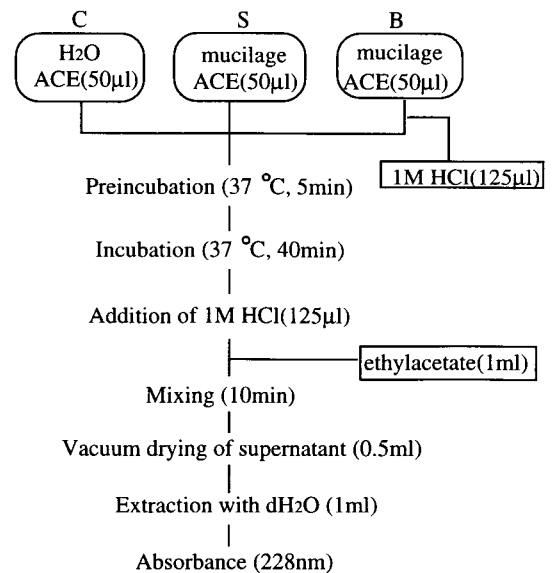


Fig. 2. Flow diagram for ACE inhibition.

결과 및 고찰

마 점질물의 분리

마로부터 추출 분리된 점질물의 고형분 함량은 건물 기준으로 29.68%(w/w)이었고, Fig. 1과 같은 방법으로 정제하여 얻은 점질물 fraction 1의 고형분 함량은 14.64%(w/w)였고, fraction 2의 고형분 함량은 14.99%였다.

마 점질물의 중금속 제거능

마 점질물 fraction들의 pH에 따른 중금속 제거 효과를 측정하였다(Fig. 3, Fig. 4).

점질물 fraction 1을 첨가한 경우 pH 6.3에서 중금속 제거율이 가장 높게 나타났으며, pH 10.5, pH 2.8 순으로 중금속 제거효과를 나타내었다. 이러한 결과는 활성탄 및 제오라이트를 흡착제로 사용시 pH가 상승할수록 중금속의 제거율이 높아졌다는 정(28)의 보고와 chitosan을 흡착제로 사용시 pH가 상승할수록 중금속의 제거율이 낮아졌다는 최(29)의 보고와는 다른 경향으로 흡착제의 종류와 구조적 특성 및 흡착환경 등에 따라 중금속의 흡착정도가 달라지는 것으로 생각한다. 고분자 응집제는 수용성 상태에서의 이온성에 의하여 그 기능이 발휘되는 pH 범위가 다른데 양이온성 응집제는 산성영역에서, 음이온성 응집제는 알칼리성 영역에서 효과가 크고, 양쪽성 응집제는 pH에 크게 의존함

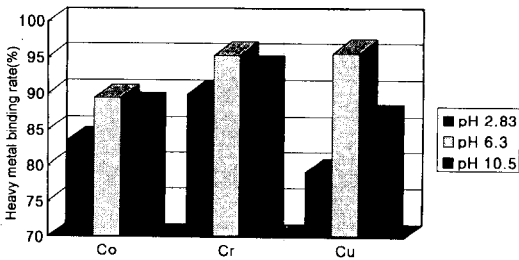


Fig. 3. Effect of pH on the heavy metal binding with mucilage fraction 1.

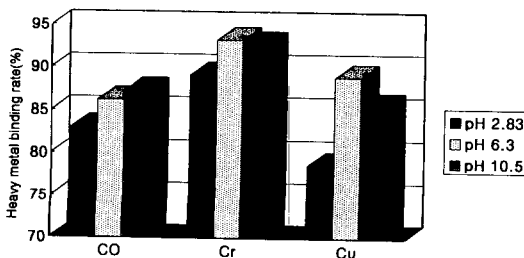


Fig. 4. Effect of pH on the heavy metal binding with mucilage fraction 2.

이 없이 기능을 발휘한다(29). 마 점질물의 중금속 제거 효과를 보면 중금속별로는 Cu가 다른 중금속에 비하여 pH 6.3에서 가장 높은 제거율인 96%를 나타낸 반면, pH 2.8에서는 가장 낮은 제거율인 79%를 나타냈다. 그러나 pH 2.8에서 중금속 전체 평균 제거율이 79.1%로 비교적 높은 제거율을 나타내고 있으므로 경구섭취시 위산의 낮은 pH에서도 높은 중금속 제거효과는 계속 유지될 수 있으리라 생각된다.

점질물 fraction 2를 첨가한 경우에도 pH 6.3에서 가장 높은 중금속 제거율을 나타내었으며, pH 10.5, pH 2.8 순이었다. 중금속별로는 Cr이 pH 6.3에서 가장 높은 제거율인 95%를, pH 2.83에서는 Cu가 가장 낮은 제거율인 78%를 보였다.

pH 6.3에서 중금속 제거율을 비교해 보면, 점질물 fraction 1이 fraction 2보다 약간 우수한 중금속 제거율을 보였다. 이상과 같은 결과로 마 점질물은 역시 저농도의 중금속 폐수처리 및 지하수 처리, 오염 토양처리 등과 같은 환경산업 분야에 유기 고분자 흡착제로서 활용이 가능하리라 생각되며, 식품으로서 섭취시 체내 중금속 제거와 같은 기능성이 기대된다. 이와 같은 견해는 안과 정(30)의 생물 고분자의 중금속 제거에 관한 연구에서도 찾아 볼 수 있다.

마 점질물에 의한 ACE 활성 저해효과 측정

마 점질물의 fraction 1과 fraction 2의 ACE 활성 저해능을 측정하여 ACE효소의 활성을 50% 저해하는데 요구되는 저해시료의 농도 IC₅₀ 값을 결정하였다. 점질물 fraction 1의 IC₅₀값은 8.99µg/µl이었으며, 점질물 fraction 2의 IC₅₀값은 7.1µg/µl을 나타내었다(Fig. 5). Fig. 6은 점질물 fraction 1과 fraction 2의 ACE 저해율을 비교한 것으로 마 점질물 fraction 1보다는 fraction

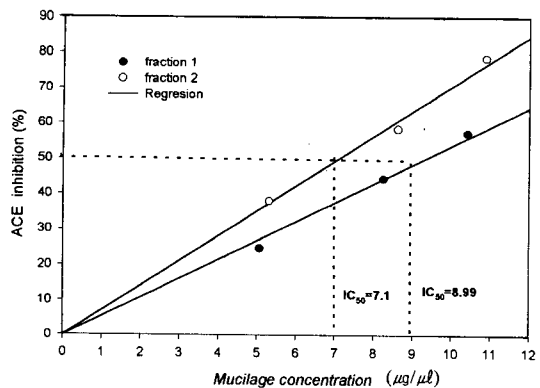


Fig. 5. IC₅₀ value determined with mucilage fraction 1 and fraction 2.

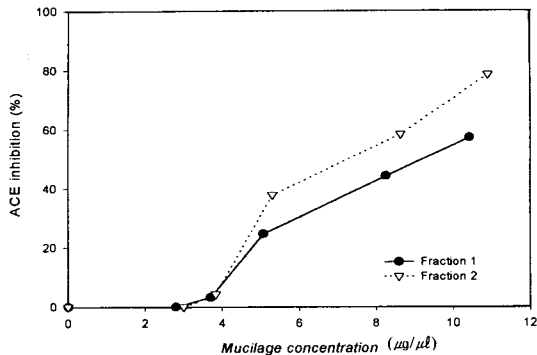


Fig. 6. Comparison of ACE inhibition with increasing concentration of mucilage fraction 1 and fraction 2.

2가 ACE 저해율이 더 우수함을 알 수 있었다. 점질물 다당류에 의한 ACE 저해효과는 민(22)의 알로에 점질물의 ACE 저해활성 물질이 분자량 20,000 이하의 저분자량 산성당이었던 보고가 있었다. 마 점질물을 구성하는 단백당(proteoglycan)의 분자량은 Sephadex G-100을 이용한 gel chromatography를 통하여 100,000 dalton 이상의 거대분자임을 알 수 있었고, F1, F2 각각의 점질물 중에 포함되어 있는 유리 단백질은 12% SDS-PAGE로 전기영동하여 모두 31,000 dalton의 분자량을 갖는 것을 알 수 있었다(31). 이들 각 성분의 ACE 저해 효과에 관한 깊이있는 연구는 앞으로 계속 필요하리라 생각된다. 그 밖에도 마는 다양한 생리활성을 나타내는 성분들을 함유하고 있어서 혈압강하 목적 등 기능성 식품의 소재로서 이용이 가능하리라 사료된다.

요 약

마 점질물의 기능성을 조사하기 위하여 마 점질물을 isopropanol 농도차에 의해서 두 개의 fraction을 얻어 각각의 중금속 제거효과와 ACE 저해효과를 알아보았다. 점질물 fraction 1과 fraction 2는 Co, Cr, Cu 이온에 대하여 약 79% 이상의 우수한 흡착력을 보였고, 특히 pH 6.3에서 Cu 제거능이 95.63%로 가장 높았으며, 전체적으로는 Cr에 대한 제거능이 가장 우수한 것으로 나타났다. 그러나 pH의 상승이나 감소에 따른 중금속 제거능의 비례적 관계는 찾아 볼 수 없었다. 점질물 fraction 1과 fraction 2의 ACE 저해율 실험을 통하여 두 점질물 fraction 모두 ACE 저해 효과가 있음을 알 수 있었으며, 점질물 fraction 2의 저해율이 더 우수했다. 점질물 fraction 1과 fraction 2의 IC_{50} 값은 8.99µg/µg, 7.1µg/µl값으로 측정되었다.

문 헌

1. Kazunori, H., Takada, K. and Ishibashi, K. : Chemical composition of mucilage of Chinese yam. *Nippon shokuhin Kogyo Gakkaishi.*, **37**, 48(1990)
2. Misaki, A., Ito, T. and Harada, T. : Constitutional studies on the mucilage of Yamanoimo *Dioscorea batatas* DECNE. *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 761(1972)
3. Ohtani, K. and Murakami, K. : Structure of mannan fractionated from water soluble mucilage of nagaimo (*Dioscorea batatas* DECNE). *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2413(1991)
4. Tomoda, M., Ishikawa, K. and Yokoi, M. : Plant mucilages. Isolation and characterization of a mucilage "Dioscorea-mucilage B" from the rhizophors of *Dioscorea batatas*. *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3256(1981)
5. 김종익 : 마의 식품영양학적 연구. 승전대학교 논문집, **8**, 167(1978)
6. Kouass, B. and Diopoh, J. : Total amino acids and fatty acids composition of yam tubers and their evolution during storage. *J. Sci. Food Agric.*, **42**, 273(1988)
7. Ciacco, C. F. and D'appolonia, B. L. : Baking Studies with cassava and yam flour. I. Biochemical composition of cassava and yam flour. *Cereal Chem.*, **55**, 402(1978)
8. 최은미 : 마 점질다당류의 물성 및 열적 특성에 관한 연구. 경희대학교 석사논문(1996)
9. 도정애 : 한국산 산약류의 생약학적 연구. 한국생약학회지, **15**, 30(1984)
10. 박부길 : *Dioscorea batatas* DECEN 성분에 관한 연구. 강원대학교 연구논문, **6**, 89(1972)
11. 약품식물학 연구회 : 신약품 식물학. 학창사, p.355(1992)
12. 한용남, 한승혜, 이인란 : 산약 점액 성분의 정제와 함량 분석에 관한 연구. 한국생약학회지, **21**, 274(1990)
13. 지형준, 김현수, 이수연 : 한국산 약용 식물의 화학 성분 검색(IV). 한국생약학회지, **13**, 284(1982)
14. 이부용, 이영철, 김홍만, 김철진, 박무현 : 마전분 호화액의 리올로지 특성. 한국식품과학회지, **24**, 619(1992)
15. 최일숙, 이임선, 구성자 : 마전분의 rheology 및 열적 특성에 관한 연구. 한국조리과학회지, **8**, 57(1992)
16. 정승희, 이임선, 구성자 : 마의 polyphenol oxidase의 특성과 효소갈변생성물의 항돌연변이 효과. 한국식품과학회지, **10**, 339(1994)
17. 김평자 : 참마의 조리법 개발과 그 섭취가 당뇨병 환자의 혈당에 미치는 영향. 덕성여자대학교 석사학위논문(1994)
18. 이임선 : 마의 생리활성물질의 기능성. 경희대학교 박사학위논문(1996)
19. Ondetti, M. A. and Cushman, D. W. : Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme. New class of orally active anti-hypertensive agents. *Science*, **196**, 441(1977)
20. 윤주역 : 프로테아제에 의한 카제인 가수분해물중의 angiotensin I converting enzyme 저해 펩타드. 동국대학교 석사학위논문(1992)
21. 신재익, 안창원, 남희섭, 이형재, 이형주, 문태화 : 된장으로 부터 ACE저해 peptide의 분획. 한국식품과학회지, **27**, 230(1995)
22. 민병주 : *Aloe vera* Linne. 점질물의 기능성 탐색 연구. 강원대학교 석사학위논문(1995)

23. 강윤한, 박용근, 오상룡, 문광덕 : 솔잎과 쑥 추출물의 기능성 검토. 한국식품과학회지, **27**, 978(1995)
24. 김선봉, 이태기, 박영범, 염동민, 김외경, 도정룡, 박영호 : 멸치육 단백질 가수 분해물로부터 angiotensin I 전환 효소 저해제의 분리 및 그 특성. 한국수산학회지, **27**, 1 (1994)
25. 이혜순 : Chitosan을 이용한 폐수처리에 관한 연구. 성균관대학교 석사학위논문(1991)
26. Norberg, A. B. and Persson, H. : Accumulation of heavy metal ions by *Zoogloea ramigera*. *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 239(1984)
27. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. : Inhibition of homogeneous angiotensin-converting enzyme of rabbit lung by synthetic venom peptides of *Bothrops jararaka*. *Biochim. Biophys. Acta*, **293**, 453(1973)
28. 정진화 : 쓰레기 매립장 침출수중의 중금속류 처리에 관한 연구. 동아대학교 석사학위논문(1987)
29. 최경주 : 키토산을 이용한 침출수중의 중금속이온 흡착. 조선대학교 석사학위논문(1994)
30. 안대회, 정윤철 : 생물고분자를 이용한 중금속 제거/회수에 관한 연구. 한국생물공학회지, **8**, 336(1987)
31. 광연길 : 마 점질물의 물성 및 기능성 탐색. 계명대학교 석사학위논문(1998)

(1998년 4월 23일 접수)