

## In vitro에 의한 녹용 추출물의 생리 활성 효과

이경애\* · 정혜영

\*한국식품연구원, 경원대학교 식품영양학과

### The Biological Activity of Deer Antler Extract *in vitro*

Kyung-Ae Lee\* and †Hae-Young Chung

\*Korea Food Research Institute, Sungnam 463-420, Korea

Dept. of Food and Nutrition, Kyungwon University, Sungnam 461-702, Korea

#### Abstract

Our research objective was to examine the *in vitro* biological activity of deer antler(Nogyong in Korean) extract, including the antioxidative, nitrite scavenging, and tyrosinase inhibitory effects, as well as the antithrombotic, and angiotensin I converting enzyme(ACE) inhibitory activities. The carbohydrate, protein, fat, and mineral contents of the deer antler were 7.6%, 65.3%, 3.2% and 23.9%, respectively. The electron donating ability(EDA) by the reduction of 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) was 67.1%, and the inhibition rate of lipid peroxidation by the thiocyanate method using linoleic acid was 92.1% in 100 mg/ml of extract. The nitrite scavenging effects were pH dependent, and were highest at pH 1.2 and lowest at pH 6.0. The sample inhibition rate against tyrosinase was above 64.0%. The platelet aggregation induced by ADP(adenosine-5'-diphosphate) was inhibited up to 51.7%, and the inhibitory effect was dependent on the sample concentration. Lastly, the inhibition rate of ACE was 47.5% in 100 mg/ml of deer antler extract.

Key words: antler, antioxidative, platelet aggregation, ACE.

#### 서론

생체 내 산화 과정에서 생기는 활성산소와 자유 라디칼은 세포 노화, 동맥 경화, 당뇨 및 암 등의 질병의 주된 요인 중 하나로 알려져 있다<sup>1,2)</sup>. 항산화제는 산화 과정에서 생성되는 활성산소인 일중항 산소(singlet oxygen)를 직접 제거하거나 유리 지방산의 자동산화 반응에서 생기는 자유 라디칼(free radical)의 생성을 억제시키는 효과로 산화를 방지한다<sup>3)</sup>.

항산화 작용을 하는 물질로는 토코페롤을 포함한 페놀 화합물, 콩, 옥수수, 곡류 껍질 등에서 얻을 수 있는 식물성 기름과 여러 가지 식물 추출물 같은 천연 항산화제와 BHA(butylated hydroxy anisol)과 BHT(butylated hydroxy toluene) 등 합성 항산화제가 있다<sup>4~11)</sup>. 최근에는 건강에 대한 관심

으로 값싸고 효과적이지만 독성이 우려되는 합성 항산화제<sup>9~11)</sup>보다는 천연 물질에서 추출한 새로운 천연 소재에 대한 관심이 집중되고 있으며, 곡류, 버섯, 약초 및 여러 가지 한약제에 대한 항산화 및 생리 활성 연구가 진행되고 있다<sup>12~19)</sup>.

전통 한약탕제에 첨가되어 널리 사용되고 있는 녹용(antler, *Cornu cervi parvum*)은 cervidae에 속하는 사슴의 대각으로서 우리나라를 비롯한 중국 및 동북아 지역에서 고귀한 보혈 강장제<sup>20,21)</sup>로 알려져 있는 한약제로 여러 가지 생리작용 및 약리작용이 있다. 현재 녹용에 대한 연구로는 성분 분석<sup>22)</sup>, 녹용 부위별 무기질 조성<sup>23)</sup> 및 약효 성분 추출<sup>24)</sup> 등이 있으며, 실험적 연구에 의해 입증된 녹용의 약리 작용으로는 심혈관계의 심방 수축<sup>25)</sup>, monoamine oxidase(MAO) 억제 효과<sup>26)</sup> 등이 있다. 또한, 녹용을 사용한 전통 한약탕제 중 총 26건의 약재를

† Corresponding author: Hae-Young Chung, Dept. of Food and Nutrition, Kyungwon University, Sungnam 461-701, Korea. Tel: +82-31-750-5970, Fax: +82-31-750-5974, E-mail: hychung@kyungwon.ac.kr

사용하여 조제한 녹용대보탕의 항산화 작용과 생체 내 생리 활성 효과<sup>27)</sup>는 보고되었으나, 다른 약재가 포함되지 않은 순수한 녹용의 생리 활성 효과에 대한 연구는 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 한약제인 순수한 녹용의 생체 내 생리 활성 효과에 대한 기초 자료를 얻어 객관적인 평가 자료를 마련하고자 *in vitro*에 의한 전자 공여 작용과 지질 과산화 억제 효과의 항산화 활성, 아질산염 소거 효과, tyrosinase 저해 효과, 혈소판 응집 억제 활성 및 ACE 저해 활성 등을 측정하여 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료의 조제

녹용(antler, *Cornu cervi parvum*)은 뉴질랜드산 녹용 상대를 시중에서 구입하여 사용하였다. 세절된 녹용을 analytical mill(A10 IKA, Selangor, Malaysia)로 갈아서 10 mesh를 통과하게 한 후 round flask에 넣고 증류수 3,000 ml를 넣은 후 약 4시간 열탕하고 여과한 여액을 rotary evaporator로 감압 농축한 후 동결 건조하여 녹용 추출물을 얻었다.

### 2. 일반성분 분석

AOAC법<sup>28)</sup>에 따라 녹용의 일반성분 분석을 하였다. 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백은 semi micro Kjeldahl 법, 조회분은 550°C 회화법으로 정량하였다. 탄수화물은 조지방과 조단백, 조회분을 뺀 값으로 하였다.

### 3. 항산화 활성의 측정

전자 공여 작용(electron donating ability, EDA)은 Kang 등의 방법<sup>29)</sup>을 변형한 실험 방법으로 각 녹용 추출물 0.2 ml에  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액(2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl)을 첨가하여 vortex mixer로 10초 동안 진탕하고 10분 후 분광 광도계(UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Japan)로 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자 공여 효과는 Lee와 Chung<sup>27)</sup>의 연구에 나타난 바와 같이 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 계산하였다.

지질 과산화 억제 활성의 측정은 Osawa의 방법<sup>30)</sup>에 따라 먼저 리놀레산(25 mg/ml in Et-OH), 염화 철분(2.45 mg/ml in 3.5% hydrochloride), ammonium thiocyanate(0.3 g/ml in H<sub>2</sub>O), 0.2 M 인산 완충액(pH 7.0)을 조제하여 이들을 stock solution으로 사용하였다. 혼합 용액은 각 시료 용액 0.2 ml(6.0 mg/ml 또는 0.6 mg/ml)에 리놀레산 0.2 ml를 시험관에 넣고 혼합한 후 인산 완충액 0.4 ml와 증류수 0.2 ml를 가하여 40°C에서 은박 포장한 후 incubation하면서 일정 간격으로 측정하였다.

측정 방법은 혼합 용액에서 0.1 ml를 취하여 시험관에 넣고 70% 에탄올 3 ml와 ammonium thiocyanate 용액 0.1 ml, 염화 철분 용액 0.1 ml를 혼합한 다음 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4. 아질산염 소거 작용의 측정

Gray와 Dugan의 방법<sup>31)</sup>에 따라 1 mM NaNO<sub>3</sub> 용액 1 ml에 일정 농도의 메탄올 추출물 시료(2 ml)를 첨가하고, 0.1N HCl (pH 1.2) 과 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 및 6.0)를 사용하여 반응 용액의 pH를 1.2, 3.0, 4.2, 6.0으로 조정한 다음 최종 부피를 10 ml로 하였다. 이 혼합 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1 ml씩 취하여 2% 초산 용액 5 ml, Griess시약 0.4 ml를 가하고 잘 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수를 0.4 ml를 사용하였으며, 아질산염 소거율은 Lee와 Chung<sup>27)</sup>의 연구와 같이 시험구와 대조구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

### 5. Tyrosinase 저해 작용의 측정

Tyrosinase 저해 효과 측정은 Wong 등의 방법<sup>32)</sup>으로 측정하였으며, tyrosinase를 50 mM sodium phosphate 완충액(pH 7.0)에 용해하여 조효소액으로 하였다. 효소 활성의 측정은 10 mM catechol 용액 2.8 ml에 tyrosinase 조효소액 0.2 ml, 추출액 0.5 ml를 가하고 분광광도계로 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였으며, 효소 1 ml가 1분간에 0.001의 흡광도를 변화시키는 것을 효소 1 unit로 나타내었다. Tyrosinase에 대한 각 추출물의 효소 활성 저해 효과는 추출물을 넣지 않은 무첨가구와 활성 unit 대비를 저해 백분율로 나타내었다.

### 6. 혈소판 응집 억제 활성의 측정

ADP(adenosine-5'-diphosphate) 유도 혈소판 응집 억제 활성은 Shon 등의 방법<sup>33)</sup>에 따라 Sprague Dawley(SD) male rat의 혈소판을 분리한 후 Aggregometer(Chrono-log, Model No. 490-2D, Havertown, PA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 시험물질의 억제율(inhibition rate)은 Lee와 Chung<sup>27)</sup>의 연구에서 설명한 계산식으로 나타내었다.

### 7. ACE 저해 활성의 측정

ACE(angiotensin I converting enzyme) 저해 활성 측정은 Chushman과 Cheung<sup>34)</sup>의 방법으로 NaCl 0.3 M을 함유한 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 녹인 기질 Hip-His-Leu(2.14 mg/ml) 200  $\mu$ l에 ACE 저해용액 75  $\mu$ l를 첨가한 후, 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 증류수에 녹인 ACE 조효소액(0.2 U/ml) 20  $\mu$ l를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1

N HCl 250  $\mu$ l를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 다시 여기에 ethylacetate 2 ml를 가하여 15초간 교반하고 원심 분리시킨 상정액 1 ml를 가하여 용해시킨 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 ACE 저해율을 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = 1 - \frac{S - B}{C - B} \times 100$$

B: Optical density of blank

C: Optical density of control

S: Optical density of sample

## 결과 및 고찰

### 1. 일반성분 분석

본 연구에서 사용된 녹용의 일반성분 분석의 결과는 탄수화물이 7.6%, 조단백질이 65.3%, 조지방이 3.2%, 그리고 조회분이 23.9%였다(Table 1). Kim과 Rhyu<sup>23)</sup>의 무기질 조성에 대한 연구에 의하면 녹용 전체의 회분 함량이 21.8%이었다.

### 2. 항산화 활성의 효과

항산화 활성의 효과를 측정하기 위하여 녹용 추출물의 2, 10, 20, 100 mg/ml 농도별에 따른 DPPH(2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl)에 대한 전자 공여 효과를 측정하였다. 그 결과 본 시료를 100 mg/ml 조제하여 활성을 측정한 경우 가장 높은 67.1%의 전자 공여 효과를 나타냈으며, 항산화 활성은 농도의존적으로 나타나는 것으로 확인되었다(Fig. 1). 녹용 함량이 약 70 mg/ml 정도 함유되는 녹용대보탕의 항산화 활성이 80.9%였다는 Lee와 Chung<sup>27)</sup>의 보고와 비교할 때 한약탕제의 생약 성분들인 플라보노이드와 페놀산이 중요한 항산화 역할을 하는 것으로 추정되었으나, 본 실험에 의해 대부분의 항산화 활성이 녹용 첨가에 의한 것으로 사료된다.

리놀레산을 이용한 지질 과산화 억제 효과는 Fig. 2와 같이 녹용 추출물 100 mg/ml의 경우 92.1%를 보였으며, 이 결과로 녹용 추출물의 과산화 지질의 생성을 억제하는 효과가 큰 것으로 확인되었다. 현재 많이 사용되고 있는 합성 항산화제인 BHT(0.1 mg/ml)를 대조구로 첨가하였을 때 약 78.8%의 지질

Table 1. Proximate analysis of deer antler<sup>1)</sup>

Components	Contents(%)
Carbohydrate	7.6
Crude protein	65.3
Crude fat	3.2
Ash	23.9

<sup>1)</sup> Values are based on the dry basis.

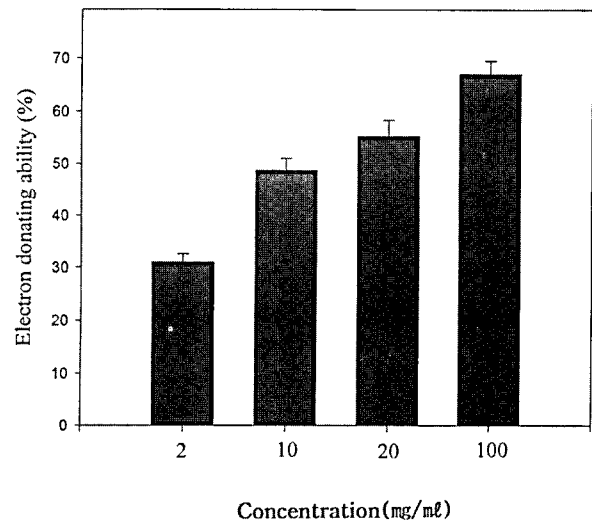


Fig. 1. Electron donating ability(EDA) of deer antler extracts.

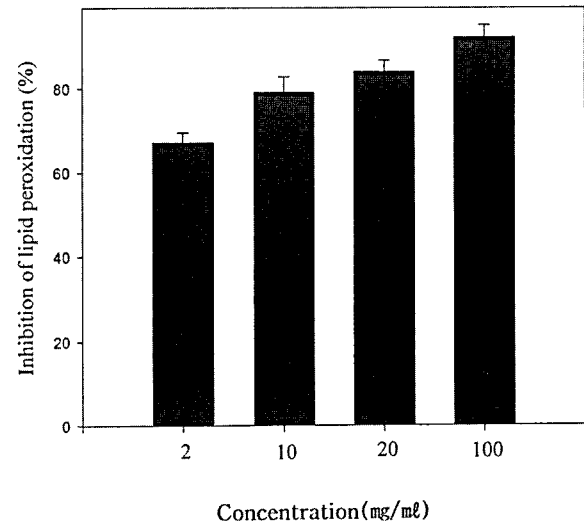


Fig. 2. Inhibitory effect of lipid peroxidation of deer antler extracts.

과산화 억제 효과가 있다는 보고<sup>27)</sup>와 비교하면 또한 녹용이 천연 항산화제의 역할을 할 수 있는 것으로 사료된다.

### 3. 아질산염 소거작용

녹용 추출물의 pH 조건별 아질산염 소거 효과를 비교 검토한 결과, Fig. 3에 나타난 바와 같이 100 mg/ml의 녹용 추출물은 pH 1.2 산성에서 64.0%의 활성을 나타냈으며, pH 6.0에서는 38.0%의 활성을 보였다. 이는 pH가 감소함에 따라 아질산염 소거 작용이 증가함을 알 수 있었다. 이 결과는 Lee 등<sup>18)</sup>의

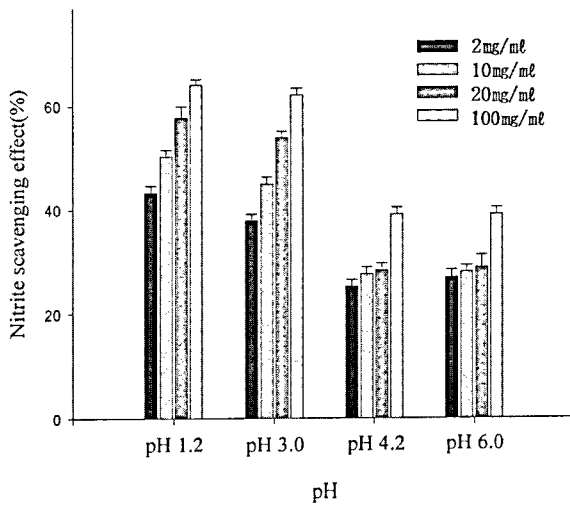


Fig. 3. Nitrite-scavenging effect(NSE) of deer antler extracts in various pH.

영지버섯과 표고버섯의 추출물 연구와 Yoon 등<sup>19)</sup>의 능이버섯 추출물의 항산화성 연구에서도 pH가 감소함에 따라 아질산염 분해능이 뛰어났다는 결과와 일치하였다. 그리고 Kang 등<sup>35)</sup>의 솔잎과 쑥 추출물의 기능성 조사에서도 산성 부근(pH 3.0)에서 추출물 모두 80~90%의 아질산 소거 작용 효과가 나타났다고 하였다. 그밖에 토코페롤 같은 천연 항산화제, 멜라노이딘과 채소 추출물 등에서 아질산염의 소거 작용이 있다고 하였다<sup>36~39)</sup>.

#### 4. Tyrosinase 저해 작용

녹용 추출물 농도별에 따른 tyrosinase 저해 작용을 측정 한 결과는 Fig. 4에 나타난 바와 같고, 녹용 추출물 100 mg/ml에서 64.0%의 활성을 보였다. 또한, 화장품에 많이 사용되는 미백제 성분인 아스코르브산을 대조군으로 사용하였을 때, 0.1 mg/ml의 농도에서 74.0%의 tyrosinase 억제 활성을 나타내었다는 보고<sup>27)</sup>와 비교하여 볼 때 본 연구에 사용된 녹용 추출물도 tyrosinase 저해 효과 및 항산화성이 있다고 볼 수 있다.

#### 5. 혈소판 응집 억제 활성

녹용 추출물 농도별에 따라 SD rat의 혈소판을 ADP로 자극하였을 때 일어나는 혈소판 응집 저해 활성을 측정 한 결과, 100 mg/ml의 경우 51.7%로(Fig. 5), 혈전의 예방 효과가 있음을 확인할 수 있었으며, 이들 억제 효과는 농도 의존적으로 일어남을 알 수 있었다. 녹용에는 불포화 지방산이 포화 지방산보다 많이 함유되었으며 혈소판 응집 억제 효과가 있는 docosahexaenoic acid(DHA)가 43.7% 들어 있다는 것으로 설명 될 수 있다<sup>22)</sup>.

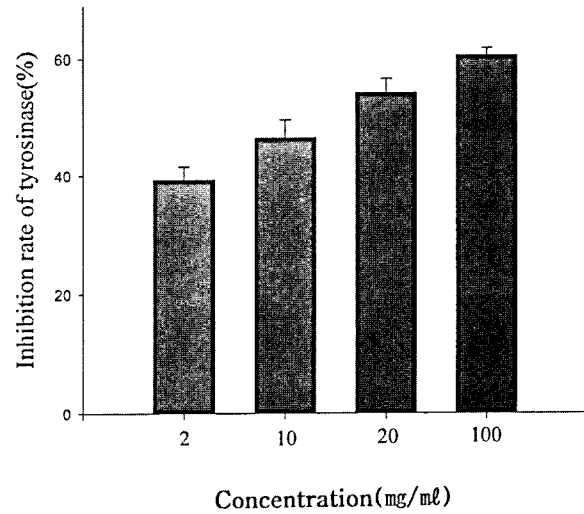


Fig. 4. Inhibitory effect of deer antler extracts on tyrosinase.

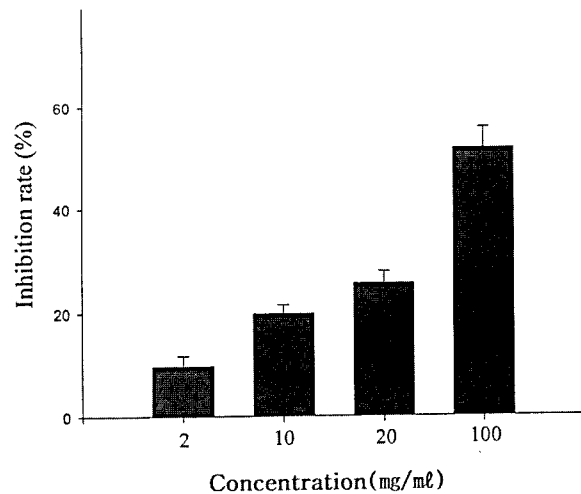


Fig. 5. Inhibitory effect of deer antler extracts on platelet aggregation.

#### 6. ACE 저해 작용

ACE(angiotensin I converting enzyme)에 의해 생성된 angiotensin I는 혈압을 높이는 작용을 하며, 지방산의 산화를 촉진 시키거나 과산화가를 증진시키므로 동맥경화의 위험률을 높이는 것으로 알려져 있다<sup>40,41)</sup>. 이러한 ACE의 작용을 저해함으로써 고혈압의 치료가 가능하다고 알려져 있으며, 단백질 효소 분해물 유래의 peptide가 40여종이 있다고 보고되고 있다<sup>42)</sup>. 본 실험에 사용된 녹용 추출물 ACE 저해 작용은 100 mg/ml에서 47.5%의 활성을 나타내었다(Fig. 6). ACE 저해 작용은 녹용 추출물 농도가 증가할수록 그 작용이 증가하였고, 2 mg/ml 추출물과 비교하였을 때 100 mg/ml 추출물에서 그 값

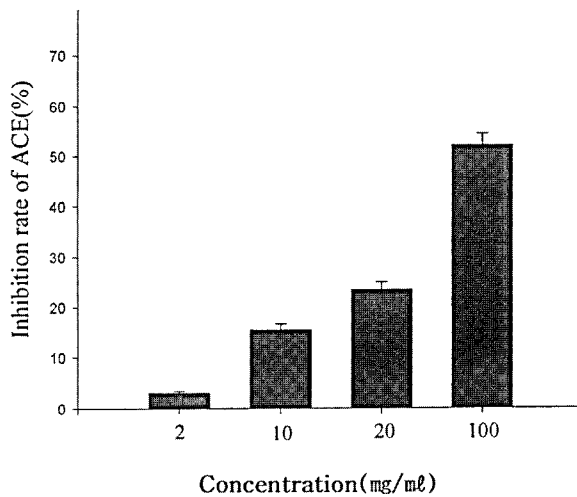


Fig. 6. Inhibitory effect of deer antler extracts on angiotensin I converting enzyme(ACE).

이 크게 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 Kim과 Rhyu<sup>23)</sup>의 보고에서와 같이 녹용 중의 아미노산인 glycine과 glutamic acid 등의 각종 필수아미노산과 수종의 미량 원소들에 의한 것으로 보이니 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

### 요약 및 결론

전통 한약탕제의 원료로 사용되는 녹용의 추출물에 대하여 *in vitro*에 의한 전자 공여 작용과 지질 과산화 억제 효과의 항산화 활성, 아질산염 소거 효과, tyrosinase 저해 효과, 혈소판 응집 억제 활성 및 ACE 저해 작용 등을 측정하였다. 본 실험에서 사용한 녹용의 탄수화물, 단백질, 조지방 및 조회분 함량은 각각 7.6%, 65.3%, 3.2%와 23.9%로 확인되었다. 녹용 추출물 100 mg/ml의 농도에서 DPPH에 의한 전자 공여 효과는 67.1%로 나타났으며, 리놀레산을 이용한 지질 과산화 억제 효과는 92.1%로 매우 높은 활성을 보였다. 여러 가지 pH에서 아질산염 소거 효과를 비교 검토한 결과, 시료의 아질산염 소거 효과는 pH 1.2에서 가장 높았고, pH 6.0에서 가장 낮은 소거 효과를 나타내어 pH가 높아질수록 그 활성이 낮았다. tyrosinase 억제 효과는 64.0%, SD rat의 혈소판을 ADP로 자극하였을 때 일어나는 혈소판 응집에 대한 저해 활성은 51.7%로 이들 억제 효과는 농도 의존적으로 일어남을 알 수 있었다. ACE의 저해 효과는 녹용 추출물 100 mg/ml의 농도에서 47.5%인 것으로 나타났다.

### 참고문헌

1. Hammond, B, Kontos, A and Hess, ML. Oxygen radicals in

- the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can. J. Physion. Pharmacol.* 63:173-187. 1985
2. Aruoma, OI. Free radical, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75: 199-212. 1998
3. Min, DB, Lee, EC and Lee, SH. Singlet oxidation of vegetable oils. In: Flavor Chemistry of Lipids Foods. Min, DB and Smouse, T.H.(eds.), p57. The American Oil Chemists' Society, Campaign, IL. 1989
4. Carpenter, AP. Determination of tocopherols in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56:668-671. 1979
5. Lozano, YF, Mayer, CD, Bannon, C and Gaydou, EM. Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70:561-565. 1993
6. Eggitt, PWR and Norris, FW. The chemical estimation of vitamin-E activity in cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 7:493-511. 1956
7. Tian, LL and White, PJ. Antioxidant activity of oat extract in soybean and cottonseed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71:1079-1086. 1994
8. Jung, MY and Min, DB. Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci.* 55:1464-1465. 1990
9. Branen, AL. Toxicology and biochemistry of BHA and BHT. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52:59-63. 1975
10. Perkins, EG. Nutritional and chemical changes occurring in heated fats. *Food Technol.* 13:508-514. 1960
11. Hahm, TS, King, DL and Min, DB. Food antioxidants. *Foods and Biotechnol.* 2:1-18. 1993
12. Duve, KJ and White, PJ. Extraction and identification of antioxidants in oats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68:365-370. 1991
13. Kim, SY, Kim, JH, Kim, SK, Oh, MJ and Jung, MY. Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77: 633-640. 1994
14. Takagi, T and Iida, T. Antioxidant for fats and oils from canary seed. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 57:326-330. 1980
15. Chang, SS, Matijasevic, BO, Hsieh, OAL and Huang, C. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* 42:1102-1106. 1977
16. Choi, U, Shin, DH, Chang, YS and Shin, JI. Screening of natural antioxidant from plant and their antioxidative effect. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 24:142-148. 1992

17. Kim, SY, Jim, JH and Kim, SK. Isolation and characterization of antioxidant components in *Epimedium koreanum* Nakai extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 24:535-540. 1992
18. Lee, GD, Chang, HG and Kim, HK. Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29:432-436. 1997
19. Yoon, KY, Lee, SH and Shin, RS. Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from *Sarcodon aspratus*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 35:967-972. 2006
20. Won, DH. The review of the specifications and the compositions of velvets. In: The Proceedings of the International Symposium on *Cervi parvum* Cornu. pp.13-39. Seoul. Korea. 1994
21. 이영은, 홍승헌. 한방 식품재료학, pp.251-252. 교문사. 서울. 한국. 2003
22. Ha, H and Yoon, SH. Analytical studies of constituents of Antlers. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 25:279-282. 1996
23. Kim, HY and Rhyu, MR. Sectional composition of minerals in domestic deer antler. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 32:31-36. 2000
24. Kim, YE, Lee, SK and Lee, MH. Biochemical studies on antler. *Kor. Biochem. J.* 10:1-12. 1977
25. Huang, SL, Kakiuchi, N, Hattori, M and Namba, T. A new monitoring system of cultured myocardial cell motion: effect of pilose antler extract and cardioactive agents on spontaneous beating of myocardial cell sheets. *Chem. Pharm. Bull.* 39:384-387. 1991
26. Wang, BX, Zhao, XH, Yang, XW, Kaneko, S, Hattori, M, Namba, T and Nomura, Y. Identification of the inhibitor for monoamine oxidase B in the extract from deer antler (Rokujo). *J. Med. Pharmaceut. Soc. WAKAN-YAKU.* 5:116-122. 1988
27. Lee, KA and Chung, HY. Biological activities of a Korean traditional prescription *Nogyongdaebotang*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 33:28-33. 2004
28. A.O.A.C. Official Method of Analysis, 16th ed., The Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. 1985
29. Kang, YH, Park, YK and Lee, GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenol compounds(in Korean). *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28:232-239. 1996
30. Osawa, TA. A novel type of antioxidant isolated from leaf was of *Eucalyptus* leaves. *Agric. Biol. Chem.* 45: 735-739. 1981
31. Gray, JI and Dugan Jr. LR. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 40:981-984. 1975
32. Wong, TC, Luh, BS and Whitaker, JR. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiol.* 48:19-23. 1971
33. Shon, DH, Lee, KA, Kim, SH, Ahn, CW, Nam, HS, Lee, HJ and Shin, JI. Screening of antithrombotic peptides from soybean paste by the microplate method. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28:684-689. 1996
34. Chushman, DW and Cheung, HS. Spectrometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem.* 20:1637-1647. 1971
35. Kang, YH, Park, YK, Oh, SR and Moon, KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27:978-984. 1995
36. Byers, T and Perry, G. Dietary. carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu. Rev. Nutr.* 12: 135-159. 1992
37. Kato, H, Lee, LE, Cheyen, NV, Kim, SB and Hayase, F. Inhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. *Agric. Biol. Chem.* 51: 1333-1339. 1987
38. Kim, SB. Chemical analysis and biological activity of mail-lard reaction products. *Food Sci.* 19:25-30. 1986
39. Kim, DS, Ahn, BW, Yeum, DM, Lee, DH, Kim, SB and Park, YH. Degradation of carcinogenic nitrosamine formulation factor by natural food components. 1. Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. *Bull. Kor. Fish Soc.* 20:463-468. 1987
40. Manjusri, D and Richard, LS. Pulmonary angiotensin converting enzyme. *J. Biol. Chem.* 250:6762-6768. 1975
41. Gavras, I. Bradykinin-mediated effects of ACE inhibition. *Kidney International.* 42:1020-1029. 1992
42. Ariyosh, Y. Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trend Food Sci. Technol.* 4: 139-144. 1993