J Korean Soc Food Sci Nutr
39(3), 331~336(2010)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2010.39.3.331

채취시기에 따른 미더덕의 부위별 항산화 활성 및 ACE 저해 활성

이동원[1]·유동현[1]·양은경[1]·장인철[1]·배명숙[1]·전유진[2]·김석주[3]·이승철[1†]

[1]경남대학교 식품생명학과
[2]제주대학교 해양의생명과학부
[3]우송정보대학 식품영양조리과

Antioxidant and ACE Inhibitory Activities of *Styela clava* according to Harvesting Time

Dong-Won Lee[1], Dong-Hyun You[1], Eun-Kyung Yang[1], In-Cheol Jang[1], Myung-Suk Bae[1], Yuo-Jin Jeon[2], Suk-Ju Kim[3], and Seung-Cheol Lee[1†]

[1]*Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea*
[2]*Faculty of Marine Biomedical Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea*
[3]*Dept. of Food Nutrition and Cookery, Woosong Information College, Daejeon 300-715, Korea*

Abstract

The antioxidant and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory harvesting times were evaluated. During February and July of 2008, *Styela clava* were harvested once per month, and divided into flesh and tunic parts. Each collected part was extracted with water and 70% ethanol. DPPH radical scavenging activity (RSA) for flesh part was higher than that of tunic part, and water extract of flesh harvested at April showed the highest value (53.02% at 10 mg/mL). The highest ABTS RSA was found at water extract of flesh part harvested at March. Water extracts of flesh parts harvested from March to May showed relatively higher ACE inhibitory activity, and freezing did not affect ACE inhibitory activity. The results indicated that antioxidant and ACE inhibitory activity of *S. clava* were variable depending on harvesting time and parts.

Key words: *Styela clava*, antioxidant activity, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity

서 론

미더덕(*Styela clava*)은 척색동물문 미색동물아문에 속하는 해양생물로서 굴과 홍합의 양식을 해치는 해적 생물로 취급되었으나, 1980년대 중반부터 식용을 위한 본격적인 양식이 시작되면서 어민의 소득증대에 기여하고 있다(1). 미더덕은 우리나라 전역에서 발견되고 있지만 경상남도 마산시를 중심으로 통영시, 거제시, 고성군에서 양식이 이루어지고 있다. 미더덕은 7~20 cm의 크기로 황갈색을 띠고 있으며, 수심 4~7 m에서 서식한다. 바닷물을 빨아들이는 입수공과 내어보내는 출수공을 가지고 있어 이를 이용하여 바닷물의 플랑크톤을 먹고 살아간다. 딱딱한 외피는 대부분 섬유질로 구성되어 있으며, 끝 부위가 꼬리처럼 되어 바닥에 부착하여 서식한다. 생리적으로 멍게와 유사한 특성이 있고 외부에 돌기가 있어 영어로는 'warty sea squirt'라고 불린다(2).

미더덕은 주로 찜이나 된장찌개의 부재료로 널리 이용되고 있으며, 불포화지방산(3)과 유리아미노산의 함량(4)이 높아 영양학적으로 우수한 식품 소재로 인식되고 있다. 최근 미더덕의 항산화 활성 및 항암 활성(5-8), 항유전독성 활성(9), 알코올로 인한 손상에 대한 보호효과(10) 등이 보고되었으며, 김치(11), 어묵(12), 술(13) 등의 가공품 개발이 보고된 바 있다. 본 연구에서는 채취시기에 따른 부위별 미더덕의 항산화능과 항고혈압능을 조사하기 위하여 미더덕이 생산되는 2~7월간의 기간 중 매 1개월마다 채취한 미더덕 및 장기 유통을 위하여 3~5월에 채취하여 냉동저장 된 미더덕을 대상으로, 껍질 부위와 육질 부위로 분류하여 각각 물과 70% 에탄올로 추출물을 제조하고, 각 추출물의 항산화 활성(DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능)과 항고혈압 활성(ACE 저해능)을 측정하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에서 사용된 미더덕은 경상남도 마산시 진동면 고현마을에 소재하는 미더덕영어조합법인에서 2009년 2월에서 7월까지 채취한 것을 신선한 상태로 매 1개월마다 구입하

†Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

였으며, 냉동미더덕은 3~5월에 채취되어 냉동된 것으로 구입하였다. 미더덕은 이물질을 제거하고 물로 깨끗이 여러 번 씻어 물기를 제거한 후, 육질 부위와 껍질 부위로 분류하여 분석 재료로 사용하였다.

항산화력 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), peroxidase(EC 1.11.1.7), dimethyl sulfoxide(DMSO) 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, potassium phosphate monobasic, sodium phosphate dibasic은 Daejung Chemical Co. (Siheung, Korea), angiotensin converting enzyme(ACE)을 얻기 위한 rabbit lung acetone powder와 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL)은 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. 기타 시약 및 용매는 모두 1급 이상의 등급을 사용하였다.

미더덕 추출물 제조

각 미더덕 부위를 분쇄기(HR2870, Philips Electronics, Eindhoven, Netherlands)를 이용하여 분쇄한 후, 동결건조기(FD 5512, Ilshin Lab Co., Seoul, Korea)로 건조하였다. 건조한 미더덕을 다시 분쇄기로 분쇄하여 육질 부위는 35 mesh의 체를, 껍질 부위는 14 mesh의 체를 통과한 크기로 분말화하였다. 각 분말 미더덕 시료 100 g에 1 L의 용매(물, 70% 에탄올)를 각각 첨가하여 진탕배양기(HB-201s, Hanback Co., Seoul, Korea)에서 25°C, 100 rpm의 조건으로 24시간 동안 추출하였다. 각각의 추출시료는 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 회전진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 37°C에서 농축하였다. 각 농축물은 유리병에 담아 질소치환 후, 4°C에서 저장하였고, 최종농도 50 mg/mL로 DMSO에 녹여, 필요에 따라 DMSO로 희석하여 시료로 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등(14)의 방법에 준하여 시료 0.1 mL에 0.041 mM DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도(Shimadzu UV-1601, Kyoto, Japan)를 측정하였다. 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 Pellegrini 등(15)의 방법에 따라 측정하였다. 시료 100 μL에 0.1 M의 Phosphate buffer(pH 5.0) 100 μL와 10 mM의 hydrogen peroxide 20 μL를 가하고 이 혼합물을 37°C에서 5분간 예비반응을 시켰다. 이 반응물에 1.25 mM의 ABTS와 peroxidase(1 U/mL)를 각각 30 μL 넣고 다시 37°C에서 10분간 반응을 시킨 후, 405 nm에서 Multiplate Reader(Sunrise RC/TS /TS Color-TC/TW/BC/6Filter, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ACE 저해 활성

ACE 저해 활성 측정은 Cushman과 Cheung(16)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 20 mL에 1 g의 rabbit lung acetone powder를 4°C에서 24시간 동안 교반한 후, 10분간 원심분리(4°C, 5,000×*g*)하여 ACE 조효소액을 얻었다. 각 농도로 희석한 시료 50 μL에 ACE 조효소액 50 μL를 가한 다음 37°C에서 10분간 예비반응시킨 후, 25 mM HHL 100 μL를 첨가하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 1 M HCl 250 μL를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 mL를 가해 30초간 교반한 후 원심분리(3,000×*g*, 10 min, 4°C)하여 상등액 1 mL를 얻었다. 이 상등액을 80°C에서 30분간 완전히 건조시켜 증류수 1 mL를 넣은 후에 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용매 50 μL를 가해 실험하였으며, ACE 저해활성 효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{ACE 저해능(\%)} = \{1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} - \text{시료대조구의 흡광도}) / \text{무처리구의 흡광도}\} \times 100$$

통계처리

DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, 그리고 ACE 저해 활성에 대한 데이터의 통계처리는 각 시료 당 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Student-Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다(17).

결과 및 고찰

건조 및 추출 수율

미더덕의 생산 시기에서 각 1개월 간격으로 채취한 미더덕의 껍질과 육질 부위의 건조후 고형분 함량을 Table 1에 나타내었다. 미더덕 육질 부위의 건조후 고형분 함량은 4월(8.75%)에서 가장 높은 수율을 나타냈으며, 7월(6.45%)이 가장 낮게 나타났다. 이는 미더덕을 수확하는 시기 중에서 4월에 가장 수분이 낮고 고형물이 충실하다는 것을 의미한다. 미더덕의 가식부에는 92.9%의 수분이 함유되어 있다고 보고되어 있는데(18), 가식부가 육질 부위임을 감안할 때 본 연구에서 얻은 6.45~8.75%의 건조 수율과 일치하였다. 한편 Lee 등(19)은 4~9월에 경남 통영에서 채취한 미더덕의 껍질을 벗기고 펄과 물기를 제거한 가식부의 경우 83.6~86.8%의 수분을 함유한다고 보고하였으나, 본 실험에서는 펄과 물기를 제거하지 않고 건조하였으므로 고형분의 함량

Table 1. Solid content of *Styela clava* after freeze drying according to harvesting time and parts (unit: %)

Part	Harvesting time						Freezing type
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Flesh	7.23	7.54	8.75	6.73	6.82	6.45	7.30
Tunic	37.31	15.74	12.58	12.11	13.04	13.05	14.10

이 낮게 측정된 것으로 보인다.

껍질 부위는 2월에 채취한 미더덕에서 월등히 높은 건조 후 고형분 함량을 나타냈는데, 이는 미더덕의 생육과 밀접한 관계가 있는 것으로 추정된다. 미더덕의 주 성장기는 3월과 4월이며, 어릴 때는 해류를 따라 이동하지만 자라면서 바닥에 붙어 성장한다. 그렇기 때문에 주성장을 앞둔 2월의 미더덕은 바닥에 정착하기 위해 먼저 껍질 부분부터 성장이 활발하게 발달하며, 그로 인해 단단해지기 때문에 2월의 미더덕의 껍질 수율이 높을 것이라 생각된다. 냉동 미더덕은 주로 3월부터 5월에 수확한 미더덕을 장기 유통하기 위해 냉동상태로 보관하다가 판매시기에 해동하는 것으로서 냉동과 해동 과정이 건조 수율에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다. 전체적으로는 육질 부위보다 껍질 부위에서 높은 건조 수율을 보였으며, 이는 수분 함량이 육질 부위에서 더 높음을 의미한다고 생각된다.

미더덕의 부위와 채취시기에 따라 물과 70% 에탄올로 추출하였을 때의 수율을 Table 2에 나타내었다. 전체적으로 볼 때, 육질 부위의 경우 물보다는 70% 에탄올에서 추출수율이 높았으며, 껍질 부위에서는 물 추출 시 수율이 더 높았다. 부위별로는 모든 용매에서 껍질 부위보다 육질 부위에서 더 높은 수율을 보였다. 물 추출 수율을 보면, 4월과 7월의 육질 부위가 각각 37.00%와 37.30%로 높았고, 냉동 미더덕은 34.03%이었다. 껍질 부위의 물 추출 수율은 6월의 경우에 14.03%로 가장 높았다.

70% 에탄올로 추출한 경우, 육질 부위는 5월(41.17%)과 냉동 미더덕(41.13%)에서 높은 수율을 보였으며, 2월(34.93%)과 6월(34.73%)에 채취한 미더덕은 낮은 수율을 보였다. 미더덕 껍질의 경우를 보면 3월(12.87%)에 채취한 미더덕이 가장 높았으며, 7월(7.13%)에 채취한 미더덕은 가장 낮은 수율을 보였다. 전체적으로 냉동 미더덕의 수율이 높았으며, 시기별, 육질, 껍질간의 뚜렷한 연관성은 보이지 않았다.

DPPH 라디칼 소거능

유리 라디칼은 생물학적 손상의 주요 요인으로 잘 알려져 있는데, DPPH는 천연 항산화제의 유리 라디칼 소거능을 평가하는데 일반적으로 사용된다(20). 부위별과 추출용매에 따른 미더덕 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 Table 3, 4에 나타내었다. Table 3에 나타낸 바와 같이 미더덕 각 부위의 물 추출물의 경우 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였다. 시기별로 비교한 경우, 4월에 채취한 미더덕의 육질 부위에서 가장 높은 활성을 보였는데, 10 mg/mL 농도에서 53.02%로 측정되었다. 껍질 부위는 대체로 육질 부위보다 낮은 DPPH 라디칼 소거능을 보였으며, 시기별로는 4월에 채취한 경우에 가장 높게 관찰되었다. 냉동 미더덕의 경우에 껍질 부위는 4월보다 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였으나 육질 부위는 4월보다 낮았다. 한편, Jung 등(8)은 2006년 3월에 채취한 미더덕의 육질 부위 및 껍질 부위의 DPPH 라디칼 소거능이 10 mg/mL 농도에서 각각 76.78%와

Table 2. Extraction yield from *Styela clava* with different harvesting times, extraction solvents, and parts (unit: %)

Extraction solvent		Harvesting time						Freezing type
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Water	Flesh	30.77	25.47	37.00	28.57	30.10	37.30	34.03
	Tunic	11.93	10.77	12.83	11.33	14.03	12.50	13.77
70% ethanol	Flesh	34.93	36.53	39.83	41.17	34.73	38.70	41.13
	Tunic	8.93	12.87	9.77	10.40	9.03	7.13	11.13

Table 3. DPPH radical scavenging activity of water extract from flesh and tunic parts of *Styela clava* with different harvesting times (unit: %)

Conc. (mg/mL)		Harvesting time						Freezing type
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Flesh	1	12.59 ± 3.19^{cx}	13.92 ± 2.10^{bx}	14.98 ± 1.48^{ax}	14.63 ± 2.49^{ax}	12.03 ± 3.00^{cx}	14.77 ± 0.38^{ax}	12.10 ± 1.82^{cx}
	5	29.54 ± 1.29^{dy}	34.74 ± 0.83^{dy}	41.56 ± 2.61^{ay}	38.12 ± 1.39^{cy}	31.93 ± 0.78^{ey}	40.08 ± 2.10^{by}	23.35 ± 1.10^{fy}
	10	34.74 ± 2.49^{dz}	43.11 ± 2.10^{cz}	53.02 ± 1.29^{az}	47.40 ± 2.49^{bz}	33.54 ± 3.10^{ez}	43.74 ± 0.56^{cz}	29.40 ± 1.22^{fz}
Tunic	1	4.08 ± 3.20^{cx}	4.36 ± 0.99^{cx}	8.23 ± 2.10^{bx}	4.85 ± 1.29^{cy}	4.85 ± 2.81^{cx}	4.64 ± 2.44^{cx}	10.83 ± 1.55^{ax}
	5	7.17 ± 2.73^{dy}	6.40 ± 1.29^{ey}	12.59 ± 2.19^{by}	8.39 ± 1.39^{cx}	6.89 ± 0.99^{ey}	7.38 ± 4.19^{dy}	17.93 ± 1.40^{ay}
	10	11.67 ± 1.38^{ez}	7.74 ± 5.20^{gz}	22.43 ± 2.19^{bz}	13.92 ± 3.11^{dz}	9.21 ± 2.76^{fz}	17.09 ± 3.17^{cz}	25.67 ± 1.98^{az}

All measurements were done in triplicate, and all values are means±standard deviation.
Different letters within a row (a-g) and a column (x-z) are significantly different ($p<0.05$), n=3.

Table 4. DPPH radical scavenging activity of 70% ethanol extract from flesh and tunic parts of *Styela clava* with different harvesting times (unit: %)

Conc. (mg/mL)		Harvesting time						Freezing type
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Flesh	1	8.86 ± 4.35^{cx}	10.13 ± 4.21^{ax}	8.72 ± 2.56^{cx}	9.07 ± 5.22^{bx}	8.09 ± 1.34^{cx}	7.17 ± 6.43^{dx}	5.98 ± 1.34^{ex}
	5	23.98 ± 2.42^{ey}	24.33 ± 2.19^{dy}	24.40 ± 3.44^{dy}	26.37 ± 3.72^{cy}	29.75 ± 3.38^{by}	31.93 ± 2.48^{ay}	20.46 ± 5.92^{fy}
	10	30.52 ± 4.52^{ez}	31.01 ± 4.20^{dz}	31.01 ± 5.21^{dz}	34.32 ± 2.53^{cz}	40.65 ± 6.22^{bz}	48.17 ± 3.29^{az}	26.02 ± 3.41^{fz}
Tunic	1	3.09 ± 1.30^{ex}	3.94 ± 2.31^{dx}	5.20 ± 1.10^{bx}	4.22 ± 2.69^{cx}	4.08 ± 1.39^{cx}	5.77 ± 2.18^{ax}	3.80 ± 0.78^{dx}
	5	6.33 ± 4.24^{fy}	9.07 ± 1.23^{cy}	12.94 ± 2.34^{ay}	9.92 ± 1.32^{cy}	7.03 ± 0.82^{ey}	10.76 ± 1.09^{by}	8.65 ± 0.91^{dy}
	10	11.95 ± 2.91^{gz}	13.20 ± 3.29^{fz}	17.30 ± 2.18^{cz}	15.05 ± 3.13^{dz}	14.35 ± 1.38^{ez}	19.55 ± 2.14^{az}	18.42 ± 1.29^{bz}

All measurements were done in triplicate, and all values are means±standard deviation.
Different letters within a row (a-g) and a column (x-z) are significantly different ($p<0.05$), n=3.

9.01%라고 보고하였는데, 이 결과는 본 논문의 3월 결과와 비교할 때 다소 높은 값을 보였다. 이는 미더덕의 생육 시기가 환경에 따라 매년 다소 차이가 있고, 본 논문의 경우 미더덕 채취 시기가 매달의 중순인데 비하여 Jung 등(8)의 논문에서는 시기가 명확하지 않아 정확히 비교하기는 어려운 것으로 생각된다.

Table 4에서는 70% 에탄올로 추출한 미더덕 부위의 시기별 DPPH 라디칼을 나타내었다. 육질 부위의 경우에는 채취시기가 늦어질수록 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으며, 7월에 채취한 경우 10 mg/mL 농도에서 48.17%로 가장 높게 나타났다. 껍질부위 역시 마찬가지로 7월에 채취한 미더덕의 10 mg/mL 농도에서 19.55%로 높게 나타났다. 최대 DPPH 라디칼 소거능의 수치는 Table 3의 물 추출물보다는 낮았지만 용매의 극성에 따라 다른 물질이 항산화능에 관여함을 알 수 있었다.

ABTS 라디칼 소거능

ABTS를 peroxidase, H_2O_2와 반응(hydroxyl)시켜 활성 양이온인 ABTS를 형성하여 항산화에 의한 소거작용을 측정하는 것이며, 유리기들(hydroxyl, peroxyl, alkoxyl, inorganic radical)과 반응하여 상대적으로 안정한 $ABTS\cdot^{+}$를 형성하게 된다(21). 부위, 추출용매와 채취시기에 따른 미더덕 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 Table 5, 6에 나타내었다.

육질 부위의 물 추출물의 경우, 3월에 가장 높은 ABTS 라디칼 소거능을 보였으며, 10 mg/mL의 농도에서 61.1%로 측정되었다(Table 5). 대체로 채취시기의 후기로 들면서 감소하는 경향을 보였고, 냉동 미더덕의 경우는 낮게 측정되었다. 껍질 부위도 마찬가지로 3월이 가장 높게 측정되었는데, 냉동 미더덕의 경우에는 육질부위와 달리 높은 활성을 보였다.

70% 에탄올로 추출한 미더덕 추출물들의 ABTS 라디칼

Table 5. ABTS radical scavenging activity of water extract from flesh and tunic parts of *Styela clava* with different harvesting times (unit: %)

Conc. (mg/mL)		Harvesting time						Freezing type
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Flesh	1	12.59 ± 3.19^{cx}	37.40 ± 6.36^{ax}	25.60 ± 7.85^{by}	-20.00 ± 3.26^{fx}	17.40 ± 3.66^{cx}	10.70 ± 2.60^{dx}	-9.20 ± 1.13^{ex}
	5	18.90 ± 3.50^{dy}	45.60 ± 0.64^{ay}	37.40 ± 1.54^{bz}	3.40 ± 4.84^{gy}	27.40 ± 3.43^{cy}	16.50 ± 1.46^{ey}	9.00 ± 5.20^{fy}
	10	31.20 ± 2.17^{ez}	61.10 ± 8.24^{az}	37.90 ± 0.59^{cz}	38.80 ± 15.24^{bz}	36.10 ± 3.94^{dz}	25.10 ± 2.61^{fz}	22.80 ± 5.83^{gz}
Tunic	1	8.50 ± 3.19^{dx}	23.20 ± 6.72^{ax}	11.30 ± 5.22^{bx}	-3.12 ± 4.12^{fx}	9.80 ± 0.86^{cx}	11.20 ± 6.06^{bx}	1.40 ± 1.85^{ex}
	5	27.80 ± 0.08^{ay}	24.80 ± 3.17^{by}	12.80 ± 5.71^{gy}	19.70 ± 9.23^{ey}	23.60 ± 1.27^{cy}	15.40 ± 1.44^{fy}	20.60 ± 0.88^{dy}
	10	31.00 ± 1.29^{cz}	34.20 ± 6.42^{bz}	18.80 ± 3.33^{fz}	31.00 ± 4.26^{cz}	29.30 ± 2.68^{dz}	26.90 ± 4.17^{ez}	43.10 ± 17.22^{az}

All measurements were done in triplicate, and all values are means±standard deviation.
Different letters within a row (a-g) and a column (x-z) are significantly different ($p<0.05$), n=3.

Table 6. ABTS radical scavenging activity of 70% ethanol extract from flesh and tunic parts of *Styela clava* with different harvesting times (unit: %)

Conc. (mg/mL)		Harvesting time						Freezing type
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Flesh	1	-28.70 ± 3.74^{fx}	-6.60 ± 4.86^{cx}	-5.40 ± 2.83^{bx}	-14.2 ± 1.14^{ex}	-6.20 ± 9.47^{cx}	5.70 ± 8.46^{ax}	-8.24 ± 5.71^{dx}
	5	-4.40 ± 3.92^{gy}	1.70 ± 4.46^{fy}	17.70 ± 2.01^{ay}	5.60 ± 4.34^{ey}	13.80 ± 7.76^{bycy}	6.30 ± 4.70^{dy}	7.91 ± 8.58^{cy}
	10	31.20 ± 5.08^{ez}	61.10 ± 2.96^{az}	37.90 ± 3.80^{cz}	38.80 ± 2.32^{bzz}	36.10 ± 3.55^{dz}	25.10 ± 2.34^{fz}	23.10 ± 3.43^{gz}
Tunic	1	-18.40 ± 1.38^{fx}	-20.61 ± 0.60^{gx}	-8.20 ± 1.13^{ex}	0.01 ± 2.92^{dy}	6.40 ± 5.00^{bx}	13.10 ± 3.24^{ax}	1.79 ± 4.17^{cx}
	5	36.90 ± 5.36^{ay}	8.00 ± 1.56^{fy}	21.00 ± 3.24^{cy}	-0.50 ± 2.48^{gx}	24.90 ± 5.88^{by}	20.40 ± 2.31^{dy}	19.32 ± 3.62^{ey}
	10	48.60 ± 6.46^{az}	12.70 ± 3.36^{ez}	28.80 ± 1.10^{dz}	9.30 ± 6.39^{fz}	28.20 ± 10.41^{dz}	47.70 ± 0.91^{bz}	41.31 ± 1.96^{cz}

All measurements were done in triplicate, and all values are means±standard deviation.
Different letters within a row (a-g) and a column (x-z) are significantly different ($p<0.05$), n=3.

Table 7. ACE inhibitory activity of water extract from flesh and tunic part of *Styela clava* with different harvesting times

(unit: %)

	Conc. (mg/mL)	Harvesting time						Freezing type
		Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	
Flesh	1	11.87 ± 8.91^{dx}	1.25 ± 0.93^{ex}	34.03 ± 3.02^{ax}	29.55 ± 3.41^{bx}	-6.15 ± 3.96^{gx}	-5.24 ± 2.25^{fx}	20.79 ± 1.88^{cx}
	5	15.65 ± 7.23^{dy}	46.08 ± 10.2^{cy}	54.93 ± 1.72^{ay}	53.31 ± 2.66^{by}	3.42 ± 1.35^{ey}	2.62 ± 0.75^{fy}	53.36 ± 2.58^{by}
	10	26.72 ± 3.16^{dz}	65.22 ± 0.71^{az}	63.12 ± 2.18^{bz}	60.93 ± 1.54^{cz}	18.33 ± 3.24^{ez}	10.57 ± 2.45^{fz}	63.26 ± 1.83^{bz}
Tunic	1	2.65 ± 1.21^{ex}	1.96 ± 0.22^{fx}	10.19 ± 6.48^{bx}	8.03 ± 5.47^{cx}	4.71 ± 4.81^{dx}	1.97 ± 0.65^{fx}	15.26 ± 1.97^{ax}
	5	25.66 ± 8.84^{cy}	14.65 ± 5.16^{fy}	30.37 ± 1.41^{ay}	19.79 ± 7.36^{dy}	15.57 ± 2.97^{ey}	6.79 ± 2.13^{gy}	28.34 ± 1.50^{by}
	10	40.45 ± 5.13^{cz}	26.39 ± 0.90^{ez}	45.77 ± 2.94^{az}	32.40 ± 0.60^{dz}	32.30 ± 1.88^{dz}	18.33 ± 2.03^{fz}	41.22 ± 2.82^{bz}

All measurements were done in triplicate, and all values are means±standard deviation.
Different letters within a row (a-g) and a column (x-z) are significantly different ($p<0.05$), n=3.

소거능을 측정한 결과(Table 6), 육질 부위의 활성은 물로 추출한 경우에 비해 비교적 낮았으며, 10 mg/mL 농도에서 6월의 미더덕이 높은 활성을 보여 물 추출물과는 다른 경향을 보였다. 껍질 부위의 경우도 2월과 7월에 채취한 미더덕에서 높은 활성을 보였다. 그러나 1 mg/mL의 농도에서는 대부분 음(-)의 값을 나타내었다. 추출물의 낮은 농도에서 음(-)의 값이 나오지만 높은 농도에서 양(+)의 값이 나오는 것은 추출물에 산화 촉진 물질과 항산화 물질이 공존한다고 볼 수 있으며, 높은 농도의 추출물에서 항산화 물질이 상대적으로 우월한 활성을 나타내기 때문이라 생각된다.

미더덕에 존재하는 항산화 물질은 구성 성분으로부터 고찰할 수 있다. 미더덕에는 고유의 주황색 색소와 관련된 carotenoprotein이 함유되어 있으며, astaxanthin이 주된 carotenoid 물질로 동정되었다(22). Astaxanthin이 포함된 xanthin계 carotenoid류는 강한 라디칼 소거능을 보인다고 보고되었다(23). 또한 미더덕의 총지질의 38.9%가 ω-3계 고도 불포화지방산이며, 이중 DHA(22:6)는 14.2%이며, EPA(20:5)는 18.3%이며(19), carotenoid의 지방산도 ω-3계 고도 불포화지방산이 30.8%라 보고되었다(22). 이러한 고도 불포화지방산은 지방 과산화를 억제하며 malonedialdehyde 생성을 억제하는 항산화효과가 보고되어 있다(24). 이상의 carotenoid와 고도 불포화지방산이 미더덕의 주된 항산화물질이라 생각되지만 그 이외의 물질도 배제할 수는 없다.

ACE 저해능

Angiotensin I은 angiotensin converting enzyme(ACE)에 의해 angiotensin II로 전환되며, 이 angiotensin II는 혈압 상승의 원인이 된다(25). ACE 저해는 angiotensin II로 전환되는 것을 차단시켜 혈압 상승을 막아준다고 보고되어 있다(26). 각 시기의 미더덕의 부위별 물 추출물의 ACE 저해능은 Table 7에 나타내었다. 육질 부위의 경우 3월부터 5월에 채취한 경우에 높은 ACE 저해능을 보였는데, 3월의 것이 10 mg/mL 농도에서 65.22%로 가장 높은 값을 보였다. 그러나 7월에 채취한 미더덕의 육질 부위는 가장 낮은 값을 보였다. 냉동 미더덕의 육질 부위도 3월~5월에 채취한 것과 유사하게 높은 ACE 저해능을 보였다. ACE 저해능은 주로 펩티드에 의해 유발되는데(25), 미더덕 가식부의 시기별 조단백질 함량은 7월에 상대적으로 낮았다고 보고되어 있어(19) 본 연구의 결과를 뒷받침하였다. 껍질 부위의 경우도 4월의 미더덕에서 가장 높은 ACE 저해능을 보였으며, 냉동 미더덕의 껍질 부위도 4월의 것과 비슷한 ACE 저해능을 보였다. 본 연구에 사용한 냉동 미더덕은 주로 3월과 5월에 생산된 것을 장기 유통을 위해 -30°C에서 저장한 것인데, 유통 직전에 해동한 것이다. Table 7에 나타난 결과를 보면 냉동 미더덕은 4월과 5월에 채취한 미더덕의 ACE 저해능과 비슷한 값을 보이는데, 이는 냉동 과정이 ACE 저해 활성에 큰 영향을 주지 않음을 의미한다.

요 약

미더덕(*Styela clava*)을 시기에 따라 2월부터 7월까지 매월 1회 채취하여 육질과 껍질 부분으로 나눈 후, 물과 70% 에탄올로 추출하여 항산화활성과 ACE 저해능을 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 육질 부위가 껍질 부위보다 높았고, 가장 높은 소거능은 4월에 채취한 미더덕의 육질 부위의 물 추출물에서 53.02%로 나타났다. ABTS 라디칼 소거능의 경우에는 3월에 채취한 미더덕의 육질 부위의 물 추출물에서 61.1%로 가장 높았다. ACE 저해능은 전반적으로 육질 부위가 껍질 부위보다 높은 활성을 보였고, 대체로 3월에서 5월 사이에 채취한 경우에서 높게 관찰되었다. 가장 높은 ACE 저해능은 3월 미더덕의 육질 부위의 물 추출물에서 65.22%로 측정되었다. 한편, 냉동 미더덕의 ACE 저해능은 육질 및 껍질 부위 모두에서 3월과 5월 사이에 채취한 미더덕의 경우와 비슷한 경향을 보였는데, 이는 냉동 미더덕이 3월과 5월 사이에 채취된 것이고 냉동 과정 중에 ACE 저해능이 영향을 받지 않는 것을 의미한다. 이상의 결과로 미더덕의 채취 시기 및 부위에 따라 항산화 및 ACE 저해능의 차이가 있으며, 3월에서 5월에 채취한 미더덕의 육질 부위가 비교적 높은 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 해양과학기술연구개발사업의 연구비지원(과제번호 20080105)에 의해 수행되었습니다.

문 헌

1. Ministry of Agriculture and Forestry. 1993. *Ministry of Agriculture and Forestry Statistical Yearbook*. Seoul, Korea. p 291.
2. Davis MH, Davis ME. 2007. The distribution of *Styela clava* (Tunicate, Ascidiacea) in European waters. *J Exp Mar Biol Ecol* 342: 182-184.
3. Lee EH, Oh KS, Lee TH, Ahn CB, Chung YH, Kim KS. 1985. Lipid components of sea squirt, *Halocynthia roretzi*, and Mideuduck, *Styela clava*. *Korean J Food Sci Technol* 17: 289-294.
4. Lee EH, Chung SY, Ha JH, Sung NJ, Cho KO. 1975. Amino acid content in the extract of mideuduck, *Styela clava*. *Bull Korean Fish Soc* 8: 177-180.
5. Kim JJ, Kim SJ, Kim SH, Park HR, Lee SC. 2005. Antioxidant and anticancer activity of extracts from *Styela plicata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 937-941.
6. Kim JJ, Kim SJ, Kim SH, Park HR, Lee SC. 2006. Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela clava* according to the processing methods and solvents. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 278-283.
7. Jung ES, Kim JY, Park E, Park HR, Lee SC. 2006. Cytotoxic effect of extracts from *Styela clava* against human cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 823-827.
8. Jung ES, Park E, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activities of extracts from parts of *Styela clava*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1674-1678.
9. Seo BY, Jung ES, Kim JY, Park HR, Lee SC, Park E. 2006. Effect of aceton extract from *Styela clava* on oxidative DNA damage and anticancer activity. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 227-232.
10. Kim JM, Park HR, Lee SC, Park E. 2007. Ethanol induced leucocytic and hepatic DNA strand breaks are prevented by *Styela clava* and *Styela plicata* supplementation in male SD rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1271-1278.
11. Bae MS, Lee SC. 2008. Characteristics of Kimchi containing *Styela clava*. *Korean J Food Cookery Sci* 24: 573-579.
12. Park SM, Lee BB, Hwang YM, Lee SC. 2006. Quality properties of fish paste containing *Styela clava*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 908-911.
13. Jung ES, Lee SC. 2007. Preparation and characterization of liquors prepared with *Styela clava* and *Styela plicata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1038-1042.
14. Jeong SM, Kim SY, Park HR, Lee SC. 2004. Effect of far-infrared radiation on the activity of extracts from *Citrus unshiu* peels. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1580-1583.
15. Pellegrini N, Re R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylene-benzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol* 299: 379-389.
16. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
17. SAS. 1995. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute, NC, USA.
18. The Korean Nutrition Information Center. 1998. *Food Values*. The Korean Nutrition Society. Seoul, Korea. p 192.
19. Lee KH, Park CS, Hong BI, Jung BC, Cho HS, Jea YG. 1995. Seasonal variations of nutrients in warty sea squirt (*Syela clava*). *J Korean Soc Food Nutr* 24: 268-273.
20. Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka GI, Nishioka I. 1998. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem Pharm* 56: 213-222.
21. Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 139-147.
22. Lee AJ, Kim YT, Kim SK. 1996. Purification and characterization of a carotenoprotein from *Styela clava*. *J Life Sci* 6: 250-263.
23. El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG, Young AJ. 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch Biochem Biophys* 430: 37-48.
24. Choi JH, Byun DS. 1989. Physiological activity of ω3 polyunsaturated fatty acids in dark fleshed fishes. II. Antioxidative effect on lipid peroxidation in rats. *Bull Korean Fish Soc* 22: 109-114.
25. Fujita H, Yokoyama K, Yoshikawa M. 2000. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *J Food Sci* 65: 564-569.
26. Corvol P, Jeunemaitre X, Charru A, Kotelevtsev Y, Soubrier F. 1995. Role of the renin-angiotensin system in blood pressure regulation and in human hypertension: new insights from molecular genetics. *Recent Prog Horm Res* 50: 287-308.

(2009년 11월 19일 접수; 2009년 12월 30일 채택)