

홍합과 여러 식물의 열수 추출물의 알코올분해효소에 미치는 영향과 항산화 및 ACE 저해 활성

옥들이·김시경·이승철[†]
경남대학교 식품생명학과

Effect of Hot Water Extracts of Blue Mussel and Several Plants on Alcohol Metabolizing Enzymatic, Antioxidant, and Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activities

Dul-Lee Ok · Si-Kyung Kim · Seung-Cheol Lee[†]

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Changwon 631-701, Korea

Abstract

For the development of a hangover soup containing blue mussel, 11 kinds of hot water extracts were prepared – A (mistletoe); B (shepherd's purse); C (arrowroot); D (bean sprout); E (oriental raisin); F (blue mussel); G (blue mussel and mistletoe); H (blue mussel and shepherd's purse); I (blue mussel and arrowroot); J (blue mussel and bean sprout); and K (blue mussel and oriental raisin). Extract C showed the highest effect for increasing the activities of alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH); however, the addition of blue mussel did not provide a synergy effect on extract C. Other than the arrowroot-containing extracts (C and I), extract H showed relatively higher ADH (237.4±1.7%) and ALDH (136.5±2.1%) activities. Moreover, extract H showed the highest DPPH radical scavenging activity (93.9±0.1%) and angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity (42.7±1.6%). The combination of blue mussel with shepherd's purse had a synergic effect on its ADH and ACE inhibitory activities.

Key words: blue mussel, alcohol dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase, DPPH radical scavenging activity, angiotensin-converting enzyme

I. 서론

홍합은 우리나라에서 널리 소비되는 어패류의 하나로 서 전세계적으로 널리 분포한다. 우리나라에서는 자연산 홍합(*Mytilus coruscus*)과 양식되는 진주담치(blue mussel, *Mytilus edulis*)를 학술적으로 구분하고 있지만, 이들 간의 영양 성분은 큰 차이가 없으며(Kim SG 등 2013) 일반적으로는 진주담치(이하 홍합)를 홍합으로 혼동하여 인식하고 있다. 2012년도 수산정보포털의 통계에 따르면 우리나라에서 홍합은 832 ha에서 202건의 양식면허에 의해 61,310 M/T가 생산되었으며, 수출은 거의 되지 않고 대부분이 우리나라에서 소비되었다(Fisheries Information Portal Service 2014). 홍합은 주로 요리나 안주의 부재료로 많이 이용되고 있으며, 홍합의 이용 다변화를 위하여

조미 통조림(Noe YN 등 2011, Park TH 등 2012), 양념 젓갈(Park JS 2011) 등의 다양한 가공 식품이 개발되고 있다.

홍합의 생리적 기능성의 경우에는 뉴질랜드의 초록입 홍합(green lipped mussel, *Perna canaliculus*)에 함유된 불포화지방산을 중심으로 관절염(McPhee S 등 2007)과 염증(Treschow AP 등 2007)에 효과가 있음이 일반적으로 잘 알려져 있다. 본 연구에 사용된 홍합에는 항산화능과 항고혈압능이 있다고 알려진 DHA와 EPA가 전체 지질의 각각 12.6%와 21.1%를 차지한다(National Fisheries Research Development Institute 2014). 또한 간기능 보호와 시력회복 기능이 있으며 동맥경화와 고혈압예방 기능이 있다고 알려진 베타인류의 일종인 글리신 베타인, 프롤린 베타인, 트리고넨린이 각각 1,630 µg/g, 26 µg/g, 83 µg/g 함유되어 있다(de Zwart FJ 등 2003). 이외에도 홍합 발효물로부터 ACE 저해능과 항산화능이 우수한 펩티드가 분리되었다(Je JY 등 2005, Jung WK 등 2005). 국내 연구로는 홍합 단백질을 가수분해하여 얻은 펩티드의 항산화, 항암, 항염증에 대한 보고가 있으며(Park PJ 등

[†]Corresponding author: Seung-Cheol Lee, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan-happogu Changwon 631-701, Korea
Tel: +82-55-249-2684
Fax: +82-55-249-2995
E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr

2012), 근래 홍합 열수 추출물의 항산화능과 알콜분해효소에 미치는 영향이 보고되었다(Kim SK 등 2014). 본 논문에서는 홍합 육수를 기본으로 하여 일반적으로 숙취해소 효과가 있다고 알려진 겨우살이, 냉이, 취, 콩나물, 헛개나무를 각각 첨가한 육수를 제조하여 알콜분해효소에 미치는 영향과 항산화능, 그리고 고혈압과 관련한 angiotensin I converting enzyme (ACE)에 미치는 영향을 분석하여 홍합 육수를 숙취 해소와 관련한 식품 개발의 근거를 마련하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 연구에 사용된 홍합은 2013년 5월에 채취된 진주담치로서 껍질이 있는 신선한 상태로 구입하였다(창원시 마산수협). 겨우살이는 지리산 청정약초(경남 산청군)에서 구입하였고, 냉이와 콩나물은 농수산물 도매시장(창원시)에서 구입하였다. 취는 지리산공동체(전북 남원시)에서 판매하는 것을 구입하였으며, 헛개나무는 황금약초농장(충남 공주시)에서 구입한 헛개나무의 가지 부분을 이용하였다. 재료 중에서 겨우살이, 취, 헛개나무는 건조품을 사용하였다. 생리활성 분석을 위한 alcohol dehydrogenase (ADH), acetaldehyde dehydrogenase(ALDH), ascorbic acid, captopril, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), rabbit lung acetone powder, hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL), NAD^+ 는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, Hepos(조아제약, 서울)는 시중 약국에서 구입하였다. 연구에 사용된 그 외 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

2. 홍합을 함유한 열수 추출물의 제조

껍질 홍합을 구입 후 수돗물로 껍질에 붙은 이물질을 제거하고, 껍질 홍합 1 kg에 2 L의 생수(마신다, (주)동아오즈카, 서울)를 가하여 껍질이 완전히 벌어질 때까지 가열하였다. 한편, 겨우살이, 냉이, 취, 콩나물, 헛개나무는 깨끗이 씻고 물기를 제거한 후 각각 100 g에 생수 2 L를 가하여 가열하여 열수 추출물을 제조하였다. 겨우살이, 취, 헛개나무의 경우에는 가열 전에 10분정도 두었다. 홍합과 겨우살이, 냉이, 취, 콩나물, 헛개나무를 각각 혼합하여 열수 추출물을 제조한 경우에는 껍질 홍합 1 kg과 각각의 혼합 소재 100 g에 생수 2 L를 가하여 가열하였다. 가열 조건은 3구3열 버너(열량 35,000 kcal/hr, ㈜극동주공, 인천)에서 5분 가열 한 후 중불에서 20분 동안 가열하였다. 모든 열수 추출물은 상온에서 2시간 식힌 후, Whatman No.3 여과지(Advantec, Tokyo, Japan)로 통과시켜 그 여과액을 분석에 이용하였다.

3. Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성

각 열수 추출물의 ADH 활성에 미치는 영향은 Bergmeyer HU(1974)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 증류수 0.7 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.8) 0.38 mL, 20 mM NAD^+ 0.15 mL, 0.2 M ethanol 0.15 mL, 시료 50 μ L를 혼합하여 25°C 항온수조에서 10분간 방치한 후, ADH(5 unit/mL) 27.5 μ L를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 생성된 NADH는 spectrophotometer(Optizen pop, Mecasys Co. Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 상대적 활성을 비교하였다. 음성 대조구는 시료 대신 증류수를 첨가하였고, 양성 대조구는 2배 희석한 Hepos를 이용하였다. ADH 활성은 반응 종료 시 흡광도를 대조구의 흡광도에 대한 비율로 나타내었으며, 다음과 같은 식으로 계산하였다.

ADH 활성(%)

$$= (\text{실험구의 최대 흡광도} / \text{대조구의 최대 흡광도}) \times 100$$

4. Acetaldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성

각 열수 추출물의 ALDH 활성에 미치는 영향은 Koivula T와 Koivusalo M(1975)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 증류수 1.05 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 0.15 mL, 20 mM NAD^+ 50 μ L, 0.1 M acetaldehyde 50 μ L, 3.0 M KCl 50 μ L, 0.33 M 2-mercaptoethanol 50 μ L, 시료 50 μ L를 잘 혼합하여 25°C에서 10분간 방치한 후, ALDH(1 unit/mL) 50 μ L를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응하여 NADH의 생성을 340 nm에서 흡광도로 측정하였다. 음성 대조구와 양성 대조구는 ADH 활성 측정과 동일한 방법을 사용하였다.

5. DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong SM 등(2004)의 방법을 이용하여 시료 0.1 mL에 0.041 mM DPPH 용액 0.9 mL을 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능(%)

$$= \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

6. ACE 저해활성 측정

ACE 저해활성 측정은 Cushman DW와 Cheung HS(1971)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저, 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 20 mL에 1 g의 rabbit lung acetone powder

를 4°C에서 24시간 동안 교반한 후, 10분간 원심분리(4°C, 5000×g)하여 ACE 조효소액을 얻었다. 각 농도로 희석한 시료 50 µL에 ACE 조효소액 50 µL를 가하여 37°C에서 10분간 방치한 후, 25 mM HHL 100 µL를 첨가하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 반응액에 1 M HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 0.5 mL를 가하여 30초간 교반하고 원심분리(5000×g, 10 min, 4°C)하여 상정액 200 µL를 얻었다. 이 상정액을 80°C에서 30분간 완전히 건조시켜 증류수 1 mL를 넣은 후에 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 증류수를 가해 실험하였으며, 양성 대조구로는 captopril(0.5 µg/mL)을 사용하였다. ACE 저해활성 효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{ACE 저해활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의흡광도}}{\text{무처리구의흡광도}}\right) \times 100$$

7. 통계처리

모든 분석은 3회 반복으로 이루어졌으며 SPSS 프로그램(ver. 14, SPSS Academy, Seoul, Korea)을 사용하여 통계 처리하였다. 각 항목에 따라 평균치±표준오차로 나타내었고, 각 군의 평균 차이에 대한 유의성 검정을 위해 one-way 분산분석(ANOVA)을 시행하였고, 사후 검증은 Duncan의 다중 검정법을 이용하였다. 각 실험 항목에 대해 상관관계를 분석하였으며 통계적 유의성은 95%(*p*<0.05) 수준에서 평가하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 각 열수 추출물이 알코올 분해효소의 활성에 미치는 영향

음주 직후에 체내에 흡수되는 알코올의 약 80%는 alcohol dehydrogenase(ADH, EC 1.1.1.1)에 의해 acetaldehyde로 전환되고, 이후 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH, EC 1.2.1.10)에 의해 아세트산으로 산화되어 분해되며, 나머지 20% 정도의 알코올은 마이크로솜 산화계에 의해 처리된다(Liber CS 1991). 본 연구에서는 홍합을 함유한 여러 열수 추출물의 ADH와 ALDH의 활성에 미치는 영향을 분석함으로써 숙취 해소에 도움이 되는가 여부를 판단하였다.

Fig. 1에 ADH의 작용에 대한 홍합 추출물들이 미치는 영향을 나타내었는데, 음성 대조군으로 추출물 대신 증류수를 처리하였고, 양성 대조군으로 Hepos를 처리하였다. Hepos는 20 mL 기준으로 L-arginine 1.462 g, 구연산 0.588 g, 베타인 HCl 1.00 g, 베타인 1.00 g이 함유되어 있으며,

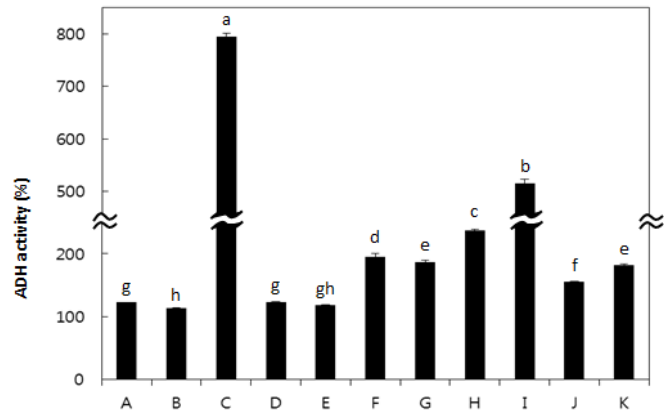


Fig. 1. Effect of 11 hot water extracts on the activity of alcohol dehydrogenase (ADH). A (mistletoe); B (shepherd's purse); C (arrowroot); D (bean sprout); E (oriental raisin); F (blue mussel); G (blue mussel and mistletoe); H (blue mussel and shepherd's purse); I (blue mussel and arrowroot); J (blue mussel and bean sprout); and K (blue mussel and oriental raisin). Values not sharing the same letter are significantly different from one another (*p*<0.05).

알코올 분해효소 실험에서 양성 대조군으로 널리 이용된다. 그 결과, 음성 대조군을 ADH 활성의 100%로 계산하였을 때 2배로 희석한 Hepos를 처리한 경우에는 195.5±0.7%의 활성을 나타내었다. 본 연구에서 선택한 소재인 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무와 홍합의 열수 추출물을 첨가한 경우 ADH 활성은 각각 122.7±0.2, 113.5±0.7, 793.8±6.5, 123.2±0.2, 117.9±1.1, 195.4±4.9%로 나타났다. 즉, 모든 추출물들은 ADH 활성을 증가시켰으며, 특히 칩은 다른 어떤 소재보다도 ADH 활성을 크게 향상시켰으며, 홍합의 경우도 양성 대조구인 Hepos를 첨가한 경우와 비슷한 정도로 ADH 활성을 증가시켰다. 홍합과 다른 소재들을 혼합한 경우에 대부분 상승효과를 나타내지 못했다. 즉, 홍합에 겨우살이, 칩, 콩나물, 헛개나무를 각각 혼합한 경우 ADH 활성은 186.5±3.4, 515.2±8.7, 155.4±1.1, 182.0±1.1%로 나타났으며, 이는 홍합 단독을 첨가했을 때의 활성(195.4±4.9%)보다 낮거나 칩 단독을 첨가했을 경우(793.8±6.5%)보다 낮았다. 그러나, 홍합과 냉이를 혼합한 경우에는 ADH 활성이 237.4±1.7%로 측정되어 상승효과가 있는 것으로 나타났다.

각 추출물의 ALDH 활성에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. 증류수만을 첨가한 음성 대조구의 ALDH 활성을 100%로 할 때, 양성 대조군인 2배 희석한 Hepos를 첨가한 경우에 138.0±2.0%의 ALDH 활성이 측정되었다. 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무와 홍합의 열수 추출물을 첨가한 경우 ALDH 활성은 각각 95.0±1.7, 90.1±2.8, 291.6±0.8, 86.1±1.4, 71.7±3.9, 132.9±1.7%로 나타났다. 즉, 칩 또는 홍합의 추출물만 ALDH 활성을 증가시켰으며,

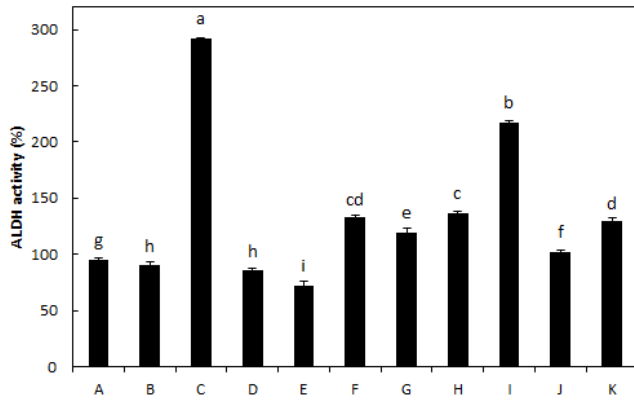


Fig. 2. Effect of 11 hot water extracts on the activity of acetaldehyde dehydrogenase (ALDH). A (mistletoe); B (shepherd's purse); C (arrowroot); D (bean sprout); E (oriental raisin); F (blue mussel); G (blue mussel and mistletoe); H (blue mussel and shepherd's purse); I (blue mussel and arrowroot); J (blue mussel and bean sprout); and K (blue mussel and oriental raisin). Values not sharing the same letter are significantly different from one another ($p < 0.05$).

특히 칩은 월등히 우수한 ALDH 활성을 보였다. 홍합과 다른 소재들을 혼합한 경우에 대부분 상승효과를 나타내지 못했다. 즉, 홍합에 겨우살이, 칩, 콩나물을 각각 혼합한 경우 ALDH 활성은 119.4 ± 3.3 , 217.6 ± 1.7 , $101.5 \pm 2.1\%$ 로 나타났으며, 이는 홍합 단독을 첨가했을 때의 활성 ($132.9 \pm 1.7\%$)보다 낮거나 칩 단독을 첨가했을 경우 ($291.6 \pm 0.8\%$)보다 낮았다. 그러나, 홍합과 냉이를 혼합한 경우에는 ALDH 활성이 $136.5 \pm 2.1\%$ 로 홍합 단독보다는 약간 높게 측정되었으나 유의차($p < 0.05$)를 보이지는 않았다.

ADH와 ALDH는 NAD^+ 를 조효소로 이용하는 산화환원효소이다. 홍합에는 아스파르트산과 니아신(NAD^+ 의 전구체) 함량이 각각 677 mg, 3.4 mg/100 g 가식부인데(National Fisheries Research Development Institute 2014), 일반적으로 아스파르트산과 아스파라긴은 체내에서 아스파르트산-사과산염 순환계에 의해 NAD^+ 를 생성하여 ADH의 합성을 촉진시켜 숙취에 도움을 준다고 알려져 있다(Park SC 1994). 또한, 홍합에는 베타인(betaine) 성분이 163 mg/100 g으로 매우 많은 양이 함유되어 있는데(de Zwart FJ 등 2003) 베타인은 콩팥의 삼투압 유지에 기여할 뿐만 아니라 메틸기 공여체로서 간과 콩팥의 메티오닌 대사에 기여함으로써 간과 콩팥의 보호에 기여하는 것으로 알려져 있다(Craig SAS 2004).

한편, 우리나라 국립농업과학원의 국가표준 식품성분표(Food Composition Table 2014)에는 콩나물 100 g의 아스파르트산과 니아신의 함량이 각각 1,102 mg, 0.7 mg이며, 냉이 100 g의 아스파르트산과 니아신의 함량은 각각 305 mg, 1.1 mg이다. 칩의 경우에는 함유된 kakkalide(Yamazaki

T 등 1997) 및 daidzin와 daidzein(Keung WM와 Vallee BL 1993)이 알코올 손상을 억제한다고 보고되었다. 겨우살이는 참나무, 밤나무 등에서 기생하는 관목식물로 lectin, amyirin, nositol, viscotoxin, viscine, flavonoid, tyramine 등의 성분을 함유하며, 콜레스테롤 저하, 혈압 강하, 이노, 항균 및 항바이러스 등의 약리적 효능을 가지는 것으로 보고되었다(Han SS 등 1998). 헛개나무에서 분리된 hovenitin I과 (+)-ampelopsin은 알코올 분해 및 간 기능 회복에 효과가 있으며(Yoshikawa M 등 1997), 헛개나무 과병 추출분말은 2008년 우리나라 식품의약품안전처로부터 알코올성 손상으로부터 간을 보호하는데 도움을 줄 수 있는 건강기능식품 기능성 원료로 인증받았다. Kang BK 등(2002)은 대조구의 ADH 활성을 0%라고 할 때 콩나물의 수용성 분획물이 125.75%라고 보고하였다. Kim SM 등(2006)은 헛개나무 열매의 열수 추출물의 농도가 10, 30, 60, 100% (v/v)에서 ADH의 상대적인 활성이 4.4, 14.4, 25.0, 46.6%로 증가하며, ALDH의 활성은 13.1, 15.9, 29.0, 40.7%로 증가한다고 보고하였다.

이상과 같이 본 연구에서 사용된 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무는 각각 알코올 분해효소의 활성을 향상시키는 가능성이 매우 높은 재료들이며, 실제로 각각의 추출물들은 모두 ADH의 활성을 증진시켰으나, ALDH 활성의 경우에는 칩 추출물만이 향상시켰다. 그러나, 홍합과 이들 소재를 혼합하였을 경우에는 냉이의 경우만이 유의적으로($p < 0.05$) ADH를 상승시키고 ALDH 활성에는 영향을 주지 않아 가장 긍정적인 조합임을 알 수 있었다. 냉이 이외의 소재들과 홍합을 혼합하였을 경우에는 시너지 효과를 보기 어려웠는데, 추출물 성분 간의 상승효과 및 간섭효과에 대해서는 추후 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

2. DPPH 라디칼 소거능

각 추출물의 항산화능을 DPPH 라디칼 소거능으로 분석하여 Fig. 3에 나타내었다. 양성 대조구인 ascorbic acid는 20 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 $48.6 \pm 1.2\%$ 의 소거능을 나타내었다. 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무, 홍합의 열수 추출물을 단독으로 첨가한 경우 DPPH 라디칼 소거능은 각각 28.7 ± 0.7 , 43.9 ± 2.9 , 69.5 ± 0.3 , 21.8 ± 1.0 , 70.1 ± 0.8 , $50.2 \pm 1.1\%$ 로 나타났다. 한편, 홍합에 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무를 각각 혼합한 경우 DPPH 라디칼 소거능은 80.9 ± 1.2 , 93.9 ± 0.1 , 92.9 ± 0.2 , 42.6 ± 0.6 , $70.3 \pm 0.7\%$ 로 나타났다. 이를 홍합 또는 소재 단독을 첨가했을 때의 활성과 비교해 보면 홍합에 콩나물을 첨가한 경우만이 상승효과가 없었으며 나머지 경우에는 모두 상승효과가 있는 것으로 나타났다. 특히, 홍합과 냉이를 혼합한 경우에 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능이 측정되었다.

겨우살이 1 g을 50 mL의 에탄올로 추출하였을 때 93.27%

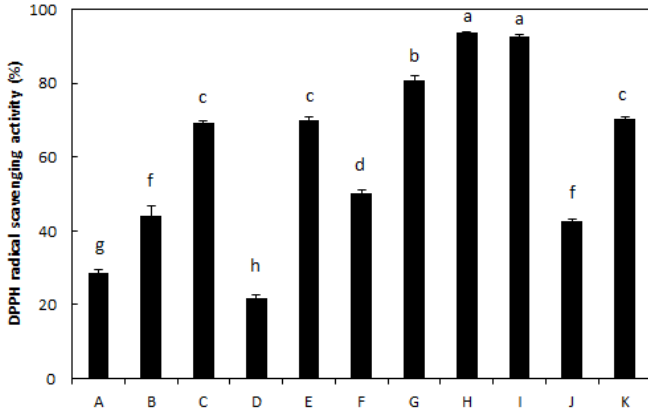


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of 11 hot water extracts. A (mistletoe); B (shepherd's purse); C (arrowroot); D (bean sprout); E (oriental raisin); F (blue mussel); G (blue mussel and mistletoe); H (blue mussel and shepherd's purse); I (blue mussel and arrowroot); J (blue mussel and bean sprout); and K (blue mussel and oriental raisin). Values not sharing the same letter are significantly different from one another ($p < 0.05$).

의 DPPH 라디칼 소거능을 보이며(Lee HJ 등 2010), 냉이에는 kaempferol-3-O-rutinoside와 quercetin-6-C-glucoside 등의 flavonoid를 다량 함유하며 DPPH 라디칼 소거능에 대한 메탄올 추출물의 EC_{50} 은 1041.49 $\mu\text{g/mL}$ 이라 보고된 바 있다(Grosso C 등 2011). 칩과 헛개나무의 DPPH 라디칼 소거능에 대한 70% 에탄올 추출물의 IC_{50} 은 126.91 $\mu\text{g/mL}$, 24.87 $\mu\text{g/mL}$ 로 보고되었으며(Joo SY 2013), 콩나물의 DPPH 라디칼 소거능에 대한 EC_{50} 은 0.339 g fresh weight/mL H_2O 라 보고되었다(Park CH 등 2014). 본 연구에 사용된 것과 같은 홍합의 물 추출물도 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으며, 10 mg/mL 농도에서 30.81%의 소거능을 나타내었다(Kim SK 등 2014). 본 연구에 사용된 모든 소재들은 이상과 같이 DPPH 라디칼 소거능을 보였지만, 홍합과 각각 혼합하였을 경우에는 상승효과가 서로 다른 차이를 나타내었다. 특히 홍합과 냉이를 혼합하여 추출한 경우에 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로($p < 0.05$) 크게 증가하였는데, 이들 성분 간에 시너지 효과가 있는 것을 알 수 있다.

3. ACE 저해활성

ACE는 혈압 상승의 원인이 되는 Angiotensin II를 Angiotensin I으로부터 전환하는 효소로서, ACE 활성을 저해하는 것은 혈압 상승을 억제하는 지표로 널리 이용되고 있다(Iroyukifujita H 등 2000). 각 추출물의 ACE 저해능을 Fig. 4에 나타내었다. 양성 대조구인 captopril은 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 85.2 \pm 6.8%의 저해능을 유발하였다. 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무, 홍합의 열수 추출

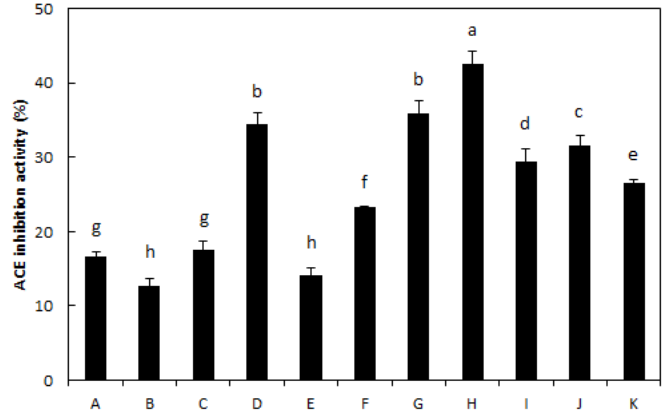


Fig. 4. ACE inhibitory activity of 11 hot water extracts. A (mistletoe); B (shepherd's purse); C (arrowroot); D (bean sprout); E (oriental raisin); F (blue mussel); G (blue mussel and mistletoe); H (blue mussel and shepherd's purse); I (blue mussel and arrowroot); J (blue mussel and bean sprout); and K (blue mussel and oriental raisin). Values not sharing the same letter are significantly different from one another ($p < 0.05$).

물을 단독으로 첨가한 경우 ACE 저해능은 각각 16.7 \pm 0.5, 12.7 \pm 1.0, 17.6 \pm 1.2, 34.4 \pm 1.7, 14.1 \pm 1.0, 23.4 \pm 0.1%로 나타났다. 한편, 홍합에 겨우살이, 냉이, 칩, 콩나물, 헛개나무를 각각 혼합한 경우 ACE 저해능은 35.9 \pm 1.6, 42.7 \pm 1.6, 29.4 \pm 1.8, 31.7 \pm 1.2, 26.6 \pm 0.5%로 나타났다. 이를 홍합 또는 소재 단독을 첨가했을 때의 활성과 비교해 보면 홍합에 콩나물을 첨가한 경우만이 상승효과가 없었으며 나머지 경우에는 모두 상승효과가 있는 것으로 나타났다. 특히, 홍합과 냉이를 혼합한 경우에 유의적으로($p < 0.05$) 가장 높은 ACE 저해능이 측정되었다.

본 연구에 사용된 소재에 대한 연구로서, 겨우살이속의 *Viscum triflorum*의 ACE 저해능이 기생하는 숙주 식물에 의존하며(Anne A 등 2011), 냉이의 70% 에탄올 추출물 0.1 mg/mL 농도에서 23.3%의 ACE 저해능을 나타내고(Ivanov SA 등 2013), 헛개나무 물 추출물 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 13.5%의 ACE 저해능을 보인다는(Lee SE 등 2004) 보고가 있었다. 칩의 puerarin 성분이 ACE의 mRNA 발현에 영향을 미치다는(Ye XY 등 2008) 보고가 있으며, 콩나물의 ACE 저해능에 관한 자료는 찾기 어려웠으나 콩의 페놀 추출물이 ACE 저해능을 보인다는 자료(Ademiluyi AO와 Oboh G 2013)가 있었다. 홍합 열수 추출물은 30 mg/mL 농도에서 28.99%의 저해능을 나타내었다(Kim SK 등 2014). 홍합과 다른 소재와의 혼합에 의한 ACE 저해능 결과는 콩나물을 제외하고는 전반적으로 상승효과를 보였는데, 이는 알코올 분해효소와 DPPH 라디칼 소거능과는 다른 경향이었다. 이는 각 생리활성에 관여하는 성분들이 서로 다름을 의미한다. 냉이의 경우에는 분석한

모든 항목에서 홍합과 상승효과를 나타내었는데, 앞으로 이를 혼합한 식품 소재의 개발이 기대된다.

IV. 요약

홍합을 함유한 숙취 해소용 식품 개발의 근거를 확보하기 위하여 12종류의 열수 추출물을 제조하였다 - A(겨우살이); B(냉이); C(취); D(콩나물); E(헛개나무); F(홍합); G(홍합과 겨우살이); H(홍합과 냉이); I(홍합과 취); J(홍합과 콩나물); K(홍합과 헛개나무). C 추출물이 alcohol dehydrogenase(ADH)와 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성을 가장 크게 증가시켰으나, 홍합과 혼합한 경우에는 상승 효과를 보이지 않았다. 취를 함유한 경우를 제외하고는 H 추출물이 높은 ADH(237.4±1.7%)와 ALDH(136.5±2.1%) 활성을 보였다. 또한, H 추출물은 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능(93.9±0.1%)과 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해능(42.7±1.6%)을 나타내었다. 홍합과 냉이를 혼합한 경우에는 alcohol dehydrogenase 활성과 ACE 저해능이 상승되는 시너지 효과를 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 경남대학교 연구비 지원으로 이루어졌습니다.

References

- Ademiluyi AO, Oboh G. 2013. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) *in vitro*. *Exp Toxicol Pathol* 65(3):305-309
- Anne A, Peter M, Henning A. 2011. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Viscum triflorum* is host plant-dependent. *Pharm Biol* 49(3):302-305
- Bergmeyer HU. 1974. Alcohol dehydrogenase. Vol 1. pp 428-429. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU (ed). Academic Press. New York, NY, USA
- Craig SAS. 2004. Betaine in human nutrition. *Am J Clin Nutr* 80(3):539-549
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20(7):1637-1648
- de Zwart FJ, Slow S, Payne RJ, Lever M, George PM, Gerrard JA, Chambers ST. 2003. Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods. *Food Chem* 83(2):197-204
- Fisheries Information Portal Service. Overall current state of cultivating fisheries. Available from: http://www.fips.go.kr/jsp/farm/farm_info4.jsp?menuDepth=030102. Accessed July 8, 2014
- Food Composition Table. Rural Resources Development Institute. Available from: http://koreanfood.rda.go.kr/fct/Fct_New.aspx. Accessed July 8, 2014
- Grosso C, Vinholes J, Silva LR, de Pinho PG, Gonçalves RF, Valentão P, Jäger AK, Andrade PB. 2011. Chemical composition and biological screening of *Capsella bursa-pastoris*. *Braz J Pharmacogn* 21(4):635-643
- Han SS, Kang ST, Choi KP, Park WB, Lee DS. 1998. Antimutagenic effect of Korean mistletoe extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27(2):359-365
- Iroyukifujita H, Eiichiyokoyama K, Yoshikawa M. 2000. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *J Food Sci* 65(4):564-569
- Ivanov SA, Garbuz SA, Malfanov IL, Ptitsyn LR. 2013. Screening of Russian medicinal and edible plant extracts for angiotensin I-converting enzyme (ACE I) inhibitory activity. *Russ J Bioorg Chem* 39(7):743-749
- Je JY, Park PJ, Byun HG, Jung WK, Kim SK. 2005. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, *Mytilus edulis*. *Bioresource Technol* 96(14):1624-1629
- 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(9):1580-1583
- Joo SY. 2013. Antioxidant activities of medicinal plant extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(4):512-519
- Jung WK, Rajapakse N, Kim SK. 2005. Antioxidative activity of a low molecular weight peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, *Mytilus edulis*. *Eur Food Res Technol* 220(5):535-539
- Kang BK, Jung ST, Kim SJ. 2002. Effects of vegetable extracts by solvent separation on alcohol dehydrogenase activity from *Saccharomyces cerevisiae*. *Korean J Food Sci Technol* 34(2):244-248
- Keung WM, Vallee BL. 1993. Daidzin and daidzein suppress free-choice ethanol intake by Syrian golden hamsters. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90(21):10008-10012
- Kim SG, Lee SJ, Oh KS. 2013. Food component characteristics of wild hard-shelled mussel *Mytilus coruscus* and cultured sea mussel *Mytilus edulis* in Korea. *Kor J Fish Aquat Sci* 46(6):717-724
- Kim SK, Ok DL, Park E, Lee SC. 2014. Effect of hot water extracts of domestic blue mussel and New Zealand green lipped mussel on alcohol metabolizing enzymes activities, and their DPPH radical scavenging activity and angiotensin converting enzyme inhibitory activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 49(3):1363-1368
- Kim SM, Kang SH, Ma JY, Kim JH. 2006. A study on the extraction and efficacy of bioactive compound from *Hovenia dulcis*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21(1):11-15
- Koivula T, Koivusalo M. 1975. Different forms of rat liver

- aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim Biophys Acta* 397(1):9-23
- Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 2010. Antioxidant effects of *Viscum album* L. extracts by extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39(1):14-19
- Lee SE, Bang JK, Seong NS. 2004. Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme and antioxidant activity of *Hovenia dulcis* Thunb. cortex extract. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12(1):79-84
- Liber CS. 1991. Hepatic metabolic and toxic effects of ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 15(4):573-592
- McPhee S, Hodges LD, Wright PFA, Wynne PM, Kalafatis N, Harney DW, Macrides TA. 2007. Anti-cyclooxygenase effects of lipid extracts from the New Zealand green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Comp Biochem Physiol Part B* 146(3):346-356
- National Fisheries Research Development Institute. Fisheries information of blue mussel. 2014. Available from: http://portal.nfrdi.re.kr/page?id=aq_seafood_2_7&type=tot&from=totList&fim_col_id=2009-MF0008018-6-D01. Accessed July 8, 2014
- Noe YN, Kong CS, Yoon HD, Lee SB, Nam DB, Park TH, Kwon DG, Kim JG. 2011. Preparation and keeping quality of canned sea mussel using tomato paste. *J Fish Mar Sci Edu* 23(3):410-424
- Park CH, Kim KH, Yook HS. 2014. Comparison of antioxidant activities in soybean sprout according to preparation and cooking process. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43(3):397-403
- Park JS. 2011. Physicochemical properties of salt-fermented *Mytilus edulis* added with various seasoning sauces. *Kor J Food Preserv* 18(3):335-340
- Park SC. 1994. Effect of bean sprout extracts on metabolism and biological functions of ethanol *in vitro* and *in vivo*. *Korea Soybean Digest* 11(1):121-130
- Park PJ, Lee SJ, Kim EJ. 2012. Method for isolating and purifying functional peptide derived from shellfish and the use of the functional peptide. Korea Patent 1011478470000
- Park TH, Noe YN, Lee IS, Kwon SJ, Yoon HD, Kong CS, Nam DB, Oh KS, Kim JG. 2012. Processing and characteristics of canned seasoned sea mussel. *J Fish Mar Sci Edu* 24(6):820-832
- Treschow AP, Hodges LD, Wright PFA, Wynne PM, Kalafatis N, Macrides TA. 2007. Novel anti-inflammatory ω -3 PUFAs from the New Zealand green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Comp Biochem Physiol Part B* 147(4):645-656
- Yamazaki T, Nakajima Y, Niho Y, Hosono T, Kurashige T, Kinjo J, Nohara T. 1997. Pharmacological studies on Puerariae flos III: Protective effects of kakkalide on ethanol-induced lethality and acute hepatic injury in mice. *J Pharm Pharmacol* 49(8):831-833
- Ye XY, Song H, Lu CZ. 2008. Effect of puerarin injection on the mRNA expressions of AT1 and ACE2 in spontaneous hypertension rats. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 28(9):824-827
- Yoshokawa M, Murakami T, Ueda T, Yoshizumi S, Ninomiya K, Murakami N, Matsuda H, Saito M, Fujii W, Tanaka T, Yamahara J. 1997. Bioactive constituents of chinese natural medicines. III. Absolute stereostructures of new dehydroflavonols, hovenitins I, II, and III, isolated from *Hovenia semen seu fructus*, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae): Inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Yakugaku Zasshi* 117(2):108-118

Received on July 16, 2014/ Revised on Oct. 1, 2014/ Accepted on Oct. 6, 2014