

ORIGINAL ARTICLE

수산폐기물인 미더덕껍질 용매 추출물의 항산화 및 항고혈압 활성

이상미 · 이예람 · 조광식 · 박수연 · 장은영 · 황대연 · 정영진 · 손홍주*

부산대학교 생명자원과학대학 및 생명산업융합연구원

Antioxidant and Antihypertensive Activities of Solvent Extract from *Styela clava* Tunic, Fishery Waste

Sang-Mee Lee, Ye-Ram Lee, Kwang-Sik Cho, Soo-Yun Park, Eun-Young Jang,
Dae-Youn Hwang, Young-Jin Jung, Hong-Joo Son*

College of Natural Resources & Life Science, Life and Industry Convergence Research Institute, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

Abstract

Styela clava tunic is generated in large amounts as a waste from *S. clava* processing plants and leads to environmental problems. It destroys the beach scenery and causes a bad smell and pollution by trashing on the seashore. Therefore, purpose of this study was to investigate antioxidant and antihypertensive activities of different solvent extracts from *S. clava* tunic for recycling of fishery waste. Antioxidant and antihypertensive activities of all extracts were concentration-dependent. Of extracts, hot water extract showed the highest DPPH radical scavenging activity with the lowest effective concentration (EC₅₀) value (0.733 mg/ml). Chloroform extract exhibited the highest metal chelation activity with the lowest EC₅₀ value (2.696 mg/ml). Autoclaved water extract showed the highest NO radical scavenging activity with the lowest EC₅₀ value (0.491 mg/ml) and n-hexane extract showed the highest reducing power (A₇₀₀=1.897 at 100 mg/ml). And n-butanol extract showed the highest SOD-like activity with the lowest EC₅₀ value (19.116 mg/ml) and ACE inhibition activity with the lowest inhibitory concentration(IC₅₀) value (0.149 mg/ml). These results indicate that extracts obtained from *S. clava* tunic may potential candidate to reduce diseases caused by various oxidative stresses and hypertension.

Key words : Antioxidant, Antihypertensive activity, Fishery waste, *Styela clava*

1. 서론

인간을 포함한 모든 생물체들의 체내에서는 유독한 활성산소가 생성된다. Hydroxyl 라디칼, peroxides 및 superoxide와 같은 활성산소종과 유리라디칼은 생체 내에 존재하는 단백질, 지질, DNA 등을 분해, 산화 또는 변성시키거나 세포막을 파괴하는 등의 산화적 손상을 초

래함으로써 노화를 유발한다(Valko 등, 2007). 뿐만 아니라 이들은 당뇨병, 고혈압, 심장병, 관절염 및 암 등 다양한 질병을 유발하는 원인이 되기도 한다(Frlich와 Riedere, 1995). 따라서 활성산소와 유리라디칼을 제거할 수 있는 항산화 물질에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Shon 등, 2003; Miliuskas 등, 2004). 현재, 식품, 화장품 등 여러 산업분야에서 합성 및 천연 항산화제가 광

Received 4 March, 2015; Revised 15 April, 2015;

Accepted 21 April, 2015

*Corresponding author : Hong-Joo Son, College of Natural Resources and Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

Phone: +82-55-350-5544

E-mail: shjoo@pusan.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© 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.

범위하게 사용되고 있다. 특히, butylhydroxyanisole 및 butylhydroxytoluene 등과 같은 합성 항산화제는 사용 빈도가 높은 물질이지만 그 안전성에 대한 문제가 제기되면서 사용 규제가 강화되고 있다(Hettiarachy 등, 1996). 따라서 인체에 무해하면서 항산화능이 강한 천연 항산화제에 대한 개발이 절실히 요구되고 있다.

WHO와 ISH (International Society of Hypertension)의 가이드라인에 따르면 140/90 mmHg 및 130/85 mmHg ~ 140/90 mmHg의 혈압을 고혈압이라 하며, 전 세계적으로 환자가 6억 명에 이를 정도로 보편적인 질병이다(Chalmers, 1999). 고혈압은 그 자체로 위험한 질병이기보다는 심장질환, 뇌졸중, 당뇨 등 합병증이 발생할 경우에 치사율이 매우 증가한다고 알려져 있으므로(Lee 등, 2014a) 관련 학계에서 발병 원인이나 다른 질병과의 연관성을 추적하는 연구가 꾸준히 이루어지고 있다. 고혈압 발생에는 renin-angiotensin system이 중요한 역할을 하는데 angiotensin I converting enzyme (ACE)이 angiotensin I을 혈관 수축작용이 있는 angiotensin II로 전환시킴으로써 고혈압을 유도한다고 보고되어 있다(Sun 등, 2009). 따라서 ACE의 활동을 저해하는 것이 고혈압을 억제하는 가장 일반적이면서 효과적인 방법이며, 고혈압 약제로 captopril, quinapril, enalapril, benazepril, lisinopril 등이 상용되고 있으나 백혈구 감소, 간기능 이상 등 부작용이 보고된 바 있기 때문에(Cha 등, 2006; Shin 등, 2014) 항고혈압 활성을 가진 천연물질의 탐색이 시급하다.

해양생물은 육상생물에서 찾아볼 수 없는 특유의 대사양식을 가지고 있어 육상생물과는 다른 새로운 생리활성물질 생성이 기대되고 있다. 따라서 해양생물을 대상으로 한 신규 천연물질의 탐색에 대한 연구가 활성화되어 가고 있는 추세이며, 이들로부터 유용 성분을 추출하여 그 생리활성을 밝히고, 기능성 소재로서의 활용 가능성을 타진하는데 많은 연구와 관심이 집중되고 있다(Ngo 등, 2012). 미더덕(*Styela calva*)는 한국, 일본을 포함한 전 세계 해역에 광범위하게 분포하는 해양생물로서, 독특한 맛과 향이 있기 때문에 식품재료로 널리 사용되고 있다(Lee 등, 1995). 그러나 미더덕의 약 40%를 차지하는 껍질은 가식부위가 아니므로 미더덕 가공공장 주변이나 해변가에 그대로 방치됨으로써 악취 등 환경을 오염시키는 물질로 간주되고 있다. 따라서 미더덕 껍질

의 적정 처리법과 활용방안을 확인할 수만 있다면 폐기물 재활용, 즉 환경학적 관점에서 많은 장점을 부여할 수 있을 것이다.

한편, 가식부인 미더덕 육질의 영양 성분과 항산화, 항암, 항고혈압 활성 등 생리활성에 관한 연구(Jo, 1978; Jung 등, 2008; Kim 등, 2005; Ko 등, 2012; Lee 등, 2009)는 많이 수행되어 있지만 미더덕 껍질에 대한 연구는 껍질로부터 glycosaminoglycan, 황산콘드로이틴 추출 등 소수에 불과하다(Ahn 등, 2003). 이전에 선행 연구자들은 미더덕 껍질 추출물의 tyrosinase에 대한 inhibitory concentration (IC₅₀)을 조사함으로써 미더덕 껍질 추출물의 피부 미백 소재로서의 가능성을 보고한 바 있다(Lee 등, 2014b). 그 과정 중 미더덕 껍질 추출물이 항산화 활성과 항고혈압 활성을 가진다는 사실을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 극성이 서로 다른 각 용매를 이용하여 미더덕 껍질을 추출한 후, 추출물들의 다양한 활성산소와 유리 라디칼에 대한 항산화 활성과 항고혈압 활성을 effective concentration (EC₅₀)과 IC₅₀ 수준에서 조사함으로써 수산폐기물의 재활용에 대한 기초자료를 구축하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

실험에 사용한 미더덕(4월에 채취) 껍질은 경상남도 고성군에서 수집하여 깨끗이 세척한 후, 7일 동안 음지에서 풍건하여 4 °C 냉장보관하면서 사용하였다.

2.2. 미더덕껍질 추출물 제조

풍건한 미더덕껍질을 1~2 cm 길이로 파쇄한 후, 극성이 서로 다른 각 용매와 1:10의 비율로 혼합하여 추출하였다. 열수 추출(100 °C, 3 h), 고압열수 추출(121 °C, 3 h), methanol 및 ethanol 추출(80 °C, 3 h), 그 외 나머지 용매인 n-butanol, acetone, ethyl acetate, hexane 및 chloroform 추출(30 °C, 24 h)을 각 3회 반복 수행하였다. 각 추출액은 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 진공농축하여 용매를 제거하고 동결건조시켜서 냉동보관하였다.

2.3. 미더덕껍질 추출물의 항산화 활성 조사

DPPH 라디칼 소거능은 항산화력을 측정하는 대표적

인 분석법인데, Blois (1958)의 방법을 약간 변형하여 조사하였다. 다양한 농도의 시료 0.5 ml에 200 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 0.5 ml를 첨가하여 37 °C, 30분 간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조군의 흡광도를 측정한 뒤, 대조군과 실험군간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었으며, 계산식은 다음과 같다.

DPPH radical scavenging activity(%)

$$= \left[1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{control blank}}} \right] \times 100$$

또한 sigmaplot 12.0 program을 통해 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 시료 농도인 effective concentration (EC₅₀)을 산출하였으며, 이때 사용한 식은 $y = \min + (\max - \min) / (1 + 10^{[\log EC_{50} - x] \text{ hill slope}})$ 이었다. 여기서 x는 추출물 농도의 로그값, max는 100% 소거, min은 0% 소거를 나타낸다. EC₅₀이 낮을수록 DPPH 라디칼 소거능이 뛰어난 것을 의미한다. Catechin을 양성대조군으로 사용하였다.

Metal chelation 활성은 Dinis 등(1994)의 방법을 사용하여 조사하였다. 다양한 농도의 시료 1 ml에 2 mM ferrous chloride 100 µl와 5 mM ferrozine 200 µl를 혼합한 후, 상온에서 10분 간 방치한 다음 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. Metal chelation 활성은 DMSO를 사용한 대조군과 실험군과의 차이를 백분율로 나타내었으며, 계산식은 다음과 같다.

Metal chelation activity(%)

$$= \left[1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{control blank}}} \right] \times 100$$

얻어진 결과를 바탕으로 sigmaplot 12.0 program을 통해 EC₅₀을 산출하였으며, 양성 대조군으로는 EDTA를 사용하였다.

Nitric oxide (NO) 라디칼 소거능은 Marocci 등 (1994)의 방법에 준하여 수행하였다. 다양한 농도의 시료 500 µl와 10 mM sodium nitroprusside 500 µl를 혼합한 후, 상온에서 150분 동안 방치시켰다. 그 후, 1%

sulfanilamide 500 µl와 0.1% N-(1-naphthyl)ethylene diamine dihydrochloride 500 µl를 첨가하여 546 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO 소거능은 DMSO를 사용한 대조군과 실험군과의 차이를 백분율로 나타내었으며, 계산식은 다음과 같다.

NO scavenging activity(%)

$$= \left[1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{control blank}}} \right] \times 100$$

얻어진 결과를 바탕으로 sigmaplot 12.0 program을 통해 EC₅₀을 산출하였으며, 양성 대조군으로는 catechin을 사용하였다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사 활성은 Marklund와 Marklund (1974)의 방법에 의하여 조사하였다. 다양한 농도의 시료 200 µl에 50 mM Tris-HCl 3 ml와 7.2 mM pyrogallol 200 µl를 첨가하여 25 °C에서 10분 동안 방치한 후, 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사 활성은 DMSO를 사용한 대조군과 실험군과의 차이를 백분율로 나타내었으며, 계산식은 다음과 같다.

SOD-like activity(%)

$$= \left[1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{control blank}}} \right] \times 100$$

또한, 결과를 바탕으로 sigmaplot 12.0 program을 이용하여 EC₅₀을 산출하였으며, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

환원력(reducing power)은 Oyaizu (1986)의 방법에 의하여 조사하였다. 즉, 시료 1 ml에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 250 µl와 1% potassium ferricyanide 250 µl를 혼합하여 50 °C에서 20 분 방치한 후, 원심분리하였다. 상등액에 증류수 250 µl와 0.1% ferric chloride 50 µl를 첨가하여 상온에서 10분 간 방치한 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 값이 높을수록 시료의 환원력이 뛰어나다는 것을 의미한다 (Oyaizu, 1986). 양성대조군으로 butylhydroxytoluene (BHT)을 사용하였다.

2.4. 미더덕껍질 추출물의 항고혈압 활성 조사

ACE 저해 활성은 Cushman과 Cheung (1971)의 방법에 준하여 조사하였다. 먼저 50 mM sodium borate buffer (pH 8.3)에 rabbit lung acetone powder를 10% 첨가하고 4 ℃에서 24시간 교반한 다음, 원심분리(4℃, 12,000 rpm, 1시간)하여 ACE 조효소액을 제조하였다. 시료 50 µl에 기질과 효소를 100 µl씩 첨가한 후, 37 ℃에서 30분 방치하였다. 그런 다음 1 N HCl을 250 µl 첨가하여 반응을 중지시키고, 그 혼합물에 1.5 ml의 ethyl acetate를 첨가하여 12,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 상등액을 회수하여 90 ℃에서 건조시킨 뒤, 증류수 1.5 ml를 가하여 1 시간 뒤에 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해능은 시료 대신 DMSO를 사용하여 동일하게 실험한 대조군과 시료간의 차이를 백분율(%)로 나타내었다. 또한 sigmaplot 12.0 program을 이용하여 IC₅₀을 구하였다. 양성대조군으로는 captopril을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 미더덕껍질 추출물의 항산화 활성

지구상의 모든 호기성 생물의 체내에는 활성산소가 생성되는데, 이러한 활성산소는 반응성이 매우 크기 때문에 세포에 산화적 손상을 유발하여 암이나 노화, 혈관 질환 등을 초래하는 것으로 밝혀졌다. 현재 합성 항산화제가 활성산소 소거 목적으로 사용되고 있지만 동물실험 시 장기에 부정적인 영향을 끼친다는 연구결과와 함께 안전성에 대한 논란이 있기 때문에 천연물유래 항산화 물질에 대한 관심이 급증하고 있다(Choe와 Yang, 1982; Hettiarachy 등, 1996). 따라서 미더덕껍질 추출물의 농도에 따른 각종 라디칼 소거능을 조사한 후, 얻어진 결과를 바탕으로 EC₅₀을 산출하였다. 각 추출물의 농도에 따른 결과는 너무 방대하여 모두 나타내지 않았는데, 그 중 각종 라디칼에 대한 소거능이 가장 높은 것들만 선별하여 Fig. 1에 나타내었으며, 각 추출물과 양성대조군의 라디칼 소거를 위한 EC₅₀은 Table 1에 정리하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 선정된 각 추출물들의 라디칼 소거 활성은 모두 농도 증가에 따라 향상되는 것으로 나타났다.

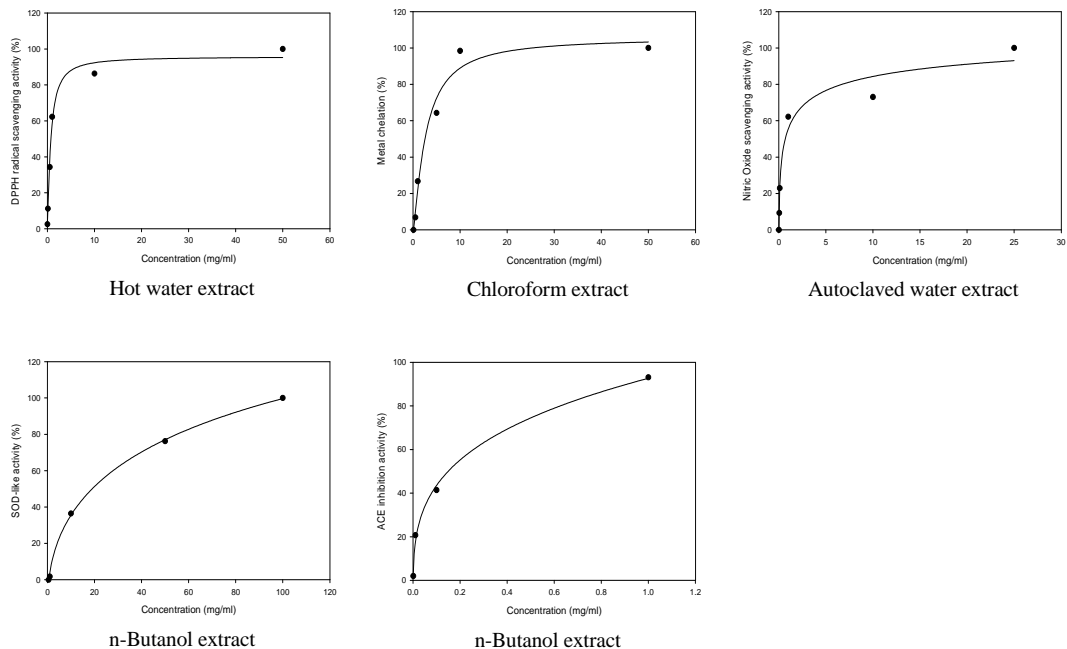


Fig. 1. Antioxidant and antihypertensive activities of the selected *Styela clava* tunic extracts.

Table 1. Effective concentration (EC₅₀) of *Styela clava* tunic extracts on antioxidant activities

Extract or Control (Polarity)	DPPH radical scavenging activity (EC ₅₀ mg/ml)	Metal chelation activity (EC ₅₀ mg/ml)	NO radical scavenging activity (EC ₅₀ mg/ml)	SOD-like activity (EC ₅₀ mg/ml)
Hot water (10.2)	0.733	38.890	15.280	31.165
Autoclaved water (10.2)	1.356	36.730	0.491	36.746
Methanol (5.1)	21.373	27.600	2.135	22.206
Acetone (5.1)	5.705	17.592	1.409	0
Ethyl acetate (4.4)	1.444	32.324	3.852	34.208
Ethanol (4.3)	2.270	23.010	12.107	0
Chloroform (4.1)	31.060	2.696	8.196	0
n-Butanol (3.9)	6.070	52.820	1.481	19.116
n-Hexane (0.1)	44.509	36.250	11.456	0
Catechin	0.012	-	0.1582	-
EDTA		0.054	-	
Ascorbic acid				0.706

미더덕껍질 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 농도 의존적으로 증가하였으며, 열수 추출물의 EC₅₀이 0.733 mg/ml로 가장 낮았고, 고압열수 추출물 1.356 mg/ml, ethyl acetate 추출물 1.444 mg/ml, ethanol 추출물 2.270 mg/ml의 순서로 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다(Table 1). 양성대조군인 catechin의 EC₅₀은 0.012 mg/ml로 나타났다. 체내에 축적된 금속이온과 결합하여 체외로 배출할 수 있는지 여부를 조사하기 위하여 미더덕껍질 추출물의 metal chelation 활성을 조사한 결과, 모든 추출물이 농도 의존적으로 활성을 증가시키는 것을 알 수 있었다. 대부분의 미더덕껍질 추출물은 비교적 높은 EC₅₀을 나타내어 metal chelation 활성이 낮은 것으로 판단되지만 chloroform 추출물의 경우, 2.696 mg/ml의 비교적 낮은 EC₅₀을 나타내었다(Table 1). 양성대조군인 EDTA의 EC₅₀ 값은 0.054 mg/ml로 나타났다. 용매별 추출물들의 NO 라디칼 소거능 역시 모두 농도가 증가함에 따라 소거 활성이 증가하였고, 고압열수 추출물의 EC₅₀이 0.491 mg/ml로 가장 효과적인 소거 활성을 나타내었다. 또한 가장 낮은 소거 활성을 보인 열수 추출물의 EC₅₀도 15.280 mg/ml로 나타나 다른 라디칼 소거능에 비해 NO 라디칼 소거능이 전체적으로 높은 경향을

보였다(Table 1). 양성대조군 catechin의 EC₅₀은 0.158 mg/ml로 나타났다. 한편, ethanol, acetone, chloroform, n-hexane 추출물은 SOD 유사 활성을 전혀 나타내지 않았으나 나머지 용매 추출물들은 활성을 나타내었다(Table 1). 즉 미더덕껍질 추출물의 SOD 유사 활성은 n-butanol 추출물의 EC₅₀이 19.116 mg/ml로 가장 낮았다. 양성대조군인 ascorbic acid의 EC₅₀ 값은 0.706 mg/ml로 나타났다. 모든 미더덕껍질 용매추출물은 환원력을 나타내었다(Table 1). 환원력은 다른 항산화 활성과 달리 흡광도 값 자체가 환원력을 나타내는 지표이다(Oyaizu, 1986). 100 mg/ml의 농도에서 n-hexane 추출물이 1.897, 열수 추출물이 1.677로 높은 환원력을 나타내었으며, n-butanol이 0.517로 가장 낮은 환원력을 나타내었다(Fig. 2). 양성대조군인 BHT는 200 mg/l 농도에서 1.360의 환원력을 나타내었다.

각 미더덕껍질 추출물과 항산화 활성 간의 관계가 정확히 일치하지 않음을 알 수 있는데, 이것은 Diplock (1997)가 보고한 바와 같이 추출물 내에 존재하는 항산화 물질의 종류와 그 농도가 다양하고, 또한 항산화 물질의 종류에 따라 라디칼 소거 기작이 서로 다르기 때문인 것으로 판단된다. 미더덕은 채취시기에 따라 항산화 활

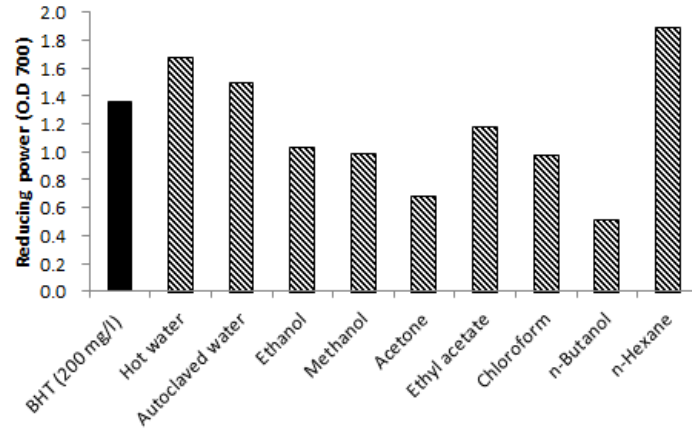


Fig. 2. Reducing powers of *Styela clava* tunic extracts obtained by different solvents.

성이 서로 상이한 것으로 알려져 있는데, 3월 및 4월에 채취한 미더덕 육질과 껍질의 물 추출물(10 mg/ml)은 각각 76.78% 및 53.02%, 9.01% 및 22.43%의 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다(Jung 등, 2006). 또한, 미더덕 육질의 아세톤 추출물(10 mg/ml)의 환원력은 1.224였으며(Jung 등, 2008), 동결건조 미더덕 육질은 메탄올 추출물에서 가장 높은 환원력을 나타내었다(Kim 등, 2006). 이들 보고들은 EC_{50} 에 대한 결과를 제시하지 않아 본 연구 결과와 정확하게 비교하기는 어려웠다. 미더덕에는 astaxanthin을 포함한 carotenoid 물질이 포함되어 있으며, 이들은 강한 라디칼 소거능을 보인다고 알려져 있다(EI-Agamey 등, 2004). 따라서 carotenoid 계열의 물질이 주요한 항산화 물질이라고 판단되지만 기타 물질이 존재할 가능성을 배제할 수는 없었다.

3.2. 미더덕껍질 추출물의 항고혈압 활성

Renin-angiotensin system에서 ACE는 혈압을 조절하는 중요한 효소이며, 10개의 펩티드로 구성된 angiotensin I 이 renin에 의해 분해되면 ACE가 C-terminal에 존재하는 디펩티드(His-Leu)를 잘라내어 강한 혈관 수축물질인 angiotensin II로 전환시킴과 동시에 혈관 확장에 관여하는 bradykinin도 분해함으로써 혈압 상승에 기여한다(Cha 등, 2006). 따라서 ACE를 저해하는 것이 고혈압을 방지하는 효과적인 방안이 될 수 있으므로 미더덕 껍질 추출물의 항고혈압 활성을 ACE 저해능을 조사함으로써 확인하였다(Fig. 1, Table 2). 미더덕껍질 추출물

의 ACE 저해능은 농도가 증가할수록 높아지는 양상을 보여주었다. 용매 추출물 중 가장 높은 ACE 저해능을 보인 것은 n-butanol 추출물로서, IC_{50} 이 0.149 mg/ml이었다. 이것은 n-butanol 추출물이 양성대조군인 captopril ($IC_{50} = 0.214$ mg/ml)보다 더 낮은 농도에서 ACE를 효과적으로 저해한다는 것을 의미한다. Acetone 추출물도 IC_{50} 이 0.989 mg/ml로 나타나 ACE 저해능이 뛰어난 것을 알 수 있었으며, 열수 추출물은 2.144 mg/ml, ethanol 추출물은 2.209 mg/ml, chloroform 추출물은 2.142

Table 2. Inhibitory concentration (IC_{50}) of *Styela clava* tunic extracts on antihypertensive activity

Extract or Control	ACE inhibition activity (IC_{50} mg/ml)
Hot water	2.144
Autoclaved water	4.578
Ethanol	2.209
Methanol	6.245
Acetone	0.989
Ethyl acetate	9.946
Chloroform	2.142
n-Butanol	0.149
n-Hexane	8.037
Captopril	0.214

mg/ml의 IC₅₀을 가짐을 알 수 있었다. 채취시기에 따른 미더덕 추출물의 항고혈압 활성은 다소 상이한 것으로 보고되어 있는데, 11월과 3월에 채취한 미더덕 육질의 물 추출물은 10 mg/ml의 농도에서 각각 63.38% (Park 등, 2011), 65.22%의 저해 활성을 나타내었으며, 4월에 채취한 미더덕 껍질의 물 추출물은 45.77%의 ACE 저해 활성을 나타내었다(Lee 등, 2010). 한편, 다양한 녹조류 추출물은 ACE 저해 활성을 보유하고 있음이 밝혀지고 있는데, 잇바다팽생이 모자반, 말미역, 바위주름, 넓패, 툫, 다시마의 열수 추출물들은 높은 ACE 저해활성을 가지고 있으며, IC₅₀은 각각 0.0200, 0.1576, 0.1226, 0.1377, 0.0285, 0.1059 mg/ml로 보고되어 있다(Cha 등, 2006). 또한 몽골의 전통발효유제품인 Aaruul과 Eezgii는 각각 2.59~5.30 mg/ml 및 4.82~28.04 mg/ml의 IC₅₀을 가지는 것으로 보고되어 있다(Bayarsaikhan 등, 2011).

4. 결론

해마다 미더덕의 소비가 증가하는 가운데 미더덕의 정미성분이나 생리활성에 관한 연구는 수행된 바 있으나, 폐기물로 환경 문제를 일으키는 미더덕껍질에 관한 연구는 근래에 들어서야 주목을 받기 시작했다. 따라서 본 연구에서는 미더덕껍질을 각종 극성이 다른 용매로 추출한 후, 유용한 생리활성을 탐색하여 미더덕껍질의 재활용 방안을 위한 기초자료를 마련하고자 하였다. 미더덕껍질 용매추출물의 DPPH 라디칼 소거능, NO 라디칼 소거능, 그리고 환원력은 뛰어난 것으로 나타났으며, 모든 추출물은 농도의존적으로 라디칼을 소거하였다. 용매추출물들 간의 활성 차이는 있었으나 어느 한 추출물이 특별히 우수하지는 않았다. 그러나 전반적으로 열수 추출물이 다양한 항산화 능력을 보유하고 있었으며, 그 활성 또한 높았다. 또한 모든 미더덕껍질 추출물은 항고혈압 활성을 나타내었으며, 농도의존적으로 ACE를 저해하였다. ACE 저해 활성에 대한 IC₅₀은 n-butanol 추출물이 0.149 mg/ml, acetone 추출물이 0.989 mg/ml, 열수 추출물이 2.144 mg/ml로 낮은 값을 나타내었다. 따라서 미더덕껍질 추출물은 합성 항산화제와 항고혈압제를 대체할 천연 항산화, 항고혈압제로서의 잠재적 가치가 있다고 판단된다.

감사의 글

이 논문은 농림수산식품부 수산실용화기술개발사업의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCE

- Ahn, S. H., Jung, S. H., Kang, S. J., Jeong, T. S., Choi, B. D., 2003, Extraction of glycosaminoglycans from *Styela clava* tunic, Kor. J. Biotechnol. Bioeng., 18, 180-185.
- Bayarsaikhan, D., Ohnishi-Kaneyama, M., Shirai, N., Takahashi, Y., Yamaki, K., 2011, Inhibition of angiotensin-converting enzyme by components of traditional Mongolian fermented milk products, Food Sci. Technol. Res., 17, 567-572.
- Blois, M. S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181, 1199-1200.
- Cha, S. H., Ahn, G. N., Heo, S. J., Kim, K. M., Lee, K. W., Song, C. B., Cho, S. K., Jeon, Y. J., 2006, Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin- I converting enzyme (ACE) inhibitory activity, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 35, 307-314.
- Chalmers, J., 1999, 1999 World Health Organization - International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. J. Hypertens., 17, 151-183.
- Choe, S. Y., Yang, K. H., 1982, Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA), Kor. J. Food Sci. Technol., 14, 283-288.
- Cushman, D. W., Cheung, H. S., 1971, Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung, Biochem. Pharm., 20, 1637-1648.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., Almeida, L. M., 1994, Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers, Arch. Biochem. Biophys., 315, 161-169.
- Diplock, A. T., 1997, Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease?, Free Rad. Res., 27, 511-532.
- El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen,

- A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., Young, A. J., 2004, Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Arch. Biochem. Biophys.*, 430, 37-48.
- Frlich, I., Riederer, P., 1995, Free radical mechanisms in dementia of Alzheimer type and the potential for antioxidant treatment, *Drug Res.*, 45, 443-449.
- Hettiarachy, N. S., Glenn, K. C., Gnanasambandam, R., Johnson, M. G., 1996, Natural antioxidant extract from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) for ground beef patties, *J. Food Sci.*, 61, 516 - 519.
- Jo, Y. G., 1978, The sterol composition of *Styela clava*, *Kor. Fish Soc.*, 11, 97-101.
- Jung, E. S., Kim, J. Y., Park, H. R., Lee, S. C., 2006, Cytotoxic effect of extracts from *Styela clava* against human cancer cell lines, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35, 823-827.
- Jung, E. S., Park, E., Lee, S. C., 2008, Antioxidant activities of extracts from parts of *Styela clava*, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 37, 1674-1678.
- Kim, J. J., Kim, S. J., Kim, S. H., Park, H. R., Lee, S. C. 2005, Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela calva*, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 937-941.
- Kim, J. J., Kim, S. J., Kim, S. H., Park, H. R., Lee, S. C. 2006, Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela calva* according to the processing methods and solvents, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 35, 278-283.
- Ko, S. C., Kim, D. G., Han, C. H., Lee, Y. J., Lee, J. K., Byun, H. G., Lee, S. C., Park, S. J., Lee, D. H., Jeon, Y. J., 2012, Nitric oxide-mediated vasorelaxation effects of anti-angiotensin I-converting enzyme (ACE) peptide from *Styela clava* flesh tissue and its anti-hypertensive effect in spontaneously hypertensive rats, *Food Chem.*, 134, 1141-1145.
- Lee, D. W., You, D. H., Yang, E. K., Jang, I. C., Bae, M. S., Jeon, Y. J., Kim, S. J., Lee, S. C., 2010, Antioxidant and ACE inhibitory activities of *Styela clava* according to harvesting time, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 39, 331-336.
- Lee, J. J., Kim, A. R., Seo, Y. N., Lee, M. Y., 2009, Comparison of physicochemical composition of three species of genus *Angelica*, *Kor. J Food Preserv.*, 16, 94-100.
- Lee, K. H., Park, C. S., Hong, B. I., Jung, B. C., Cho, H. S., Jea, Y. G., 1995, Seasonal variations of nutrients in warty sea squirt (*Styela clava*), *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, 24, 268-273.
- Lee, N. R., Go, T. H., Lee, S. M., Jeong, S. Y., Park, G. T., Hong, C. O., Son, H. J., 2014a, *In vitro* evaluation of new functional properties of poly- γ -glutamic acid produced by *Bacillus subtilis* D7, *Saudi J. Bio. Sci.*, 21, 153-158.
- Lee, S. M., Kang, E. G., Go, T. H., Jeong, S. Y., Park, G. T., Lee, H. S., Hang, D. Y., Jung, Y. J., Son, H. J., 2014b, Screening of biological activity of solvent extract from *Styela clava* tunic for fishery waste recycling, *J. Environ. Sci.*, 23, 89-96.
- Marcocci, L., Maguire, J. J., Droylefaix, M. T., Packer, L., 1994, The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGB 761, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 201, 748-755.
- Marklund, S., Marklund, G., 1974, Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., van Beek, T. A., 2004, Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, *Food Chem.*, 85, 231-237.
- Ngo, D. H., Vo, T. S., Ngo, D. N., Wijesekara, I., Kim, S. K., 2012, Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms, *Int. J. Biol. Macromol.*, 51, 378-383.
- Oyaizu, M., 1986, Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine, *Jpn. J. Nutr.*, 44, 307-315.
- Park, J. W., You, D. H., Bae, M. S., Kim, J., Lee, J. H., Kim, S. J., Jeon, Y. J., Park, E., Lee, S. C., 2011, Antioxidant and antihypertensive activities of *Styela plicata* according to harvesting time and size, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 40, 350-356.
- Shin, Y. J., Lee, C. K., Kim, H. J., Kim, H. S., Seo, H. G., Lee, S. C., 2014, Preparation and characteristics of low-salt soy sauce with anti-hypertensive activity by addition of miduduk tunic, mulberry, and onion extracts, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 43, 854-858
- Shon, M. Y., Kim, T. H., Sung, N. J., 2003, Antioxidants

- and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (Phellinus of Hymenochaetaceae) extracts, Food Chem., 82, 593-597.
- Sun, T., Zhao, S., Wang, H., Cai, C., Chen, Y., Zhang, H., 2009, ACE-inhibitory activity and gamma-aminobutyric acid content of fermented skim milk by *Lactobacillus helveticus* isolated from Xinjiang koumiss in China. Eur. Food Res. Technol. 228, 607-612.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, Int. J. Biochem. Cell Biol., 39, 44-84.