

## 효소처리 누에 분말의 생리 활성에 관한 연구

양우송<sup>1†</sup> · 신경옥<sup>2†</sup> · 안규미<sup>1</sup> · 이재림<sup>1</sup> · 윤승섭<sup>3</sup> · 한경식<sup>2,\*</sup>  
<sup>1</sup>삼육대학교 식품생명산업학과, <sup>2</sup>삼육대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>주뉴트리케어

### Functional properties of hydrolysate from silkworms fed *Cudrania tricuspidata*

Woo-Song Yang<sup>1†</sup>, Kyung-Ok Shin<sup>2†</sup>, Gyu-Mi An<sup>1</sup>, Jae-Rim Lee<sup>1</sup>, Sung-Seob Yun<sup>3</sup>, and Kyoung-Sik Han<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Sahmyook University

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Sahmyook University

<sup>3</sup>Nutricare Co. Ltd.

**Abstracts** In this study, silkworms fed *Cudrania tricuspidata* leaves were powdered, and hydrolytic enzymes, including viscozyme, papain, and flavourzyme, were added to verify the functionality of the different mixtures. In the general component analysis, the *C. tricuspidata* silkworm (CS) group exhibited higher crude protein and ash content than did the other groups, and the enzyme-treated groups exhibited higher carbohydrate content than the CS group. The DPPH and ABTS radical scavenging activities were significantly higher in the CS treated with viscozyme (CSV) and the CS treated with viscozyme/flavourzyme (CSVF) than in the other groups, with the CSV group showing the highest reducing power. ACE inhibitory activity was significantly higher in the CS treated with viscozyme/papain (CSVP) than in the CS group. In conclusion, rather than using powdered silkworms fed *C. tricuspidata* leaves, it would be more effective to use hydrolysates from *C. tricuspidata* silkworms as raw materials for functional foods.

**Keywords:** *Cudrania tricuspidata*, *Bombyx nori* L., viscozyme, flavourzyme, papain

## 서 론

낙엽 활엽 교목에 속하는 뽕나무(*Morus alba*)의 뽕잎은 오랜 기간 동안 누에의 먹이 급원으로 사용되어 왔다. 다양한 품종이 있는데, 우리나라에서는 백뽕나무가 가장 많이 재배되며, 양잠, 식용, 약용 및 공업용 등으로 이용되었다. 뽕잎에는 아미노산, 비타민, 무기질 및 식이섬유와 flavone, steroids 및 triterpenes 등의 생리활성 물질이 함유되어 있고, rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin 등을 함유하며,  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 갖는 1-deoxynojirimycin 성분이 확인되었다(Yoshikuni 등, 1988). 뽕잎은 항당뇨, 항고지혈증 및 항산화 효과를 가지고 있으며, 간 기능 개선과 혈당 강하에 효과가 있어 약용작물로서 개발 가능성이 가지고 있다(Doi 등, 2000; Kim 등, 1998; Kim 등, 2018a; Park 등, 2012).

이 중 꾸지뽕(*Machura tricuspidata*)은 활뽕나무라고 불리며, 관목처럼 키가 작다. 뿌리와 잎, 줄기는 단맛과 쓴맛을 복합적으로

가지며, 열매는 단맛이 난다. 우리나라, 일본, 중국 및 동아시아에 주로 분포하며, 10여 종으로 알려져 있다. 아시아 지역에서는 민간요법의 약재로 사용되었고, 꾸지뽕 잎과 뿌리는 각종 염증을 감소시키며, 신장을 튼튼하게 하며, 여성의 자궁질환 치료 및 습진과 타박상 등에 효과가 있다고 알려져 있다(Byun 등, 2019). 또한 최근 연구(Kim 등, 2018b)에서 글루텐 감수성으로 인한 알레르기 및 염증 완화에 효과가 있다고 보고되었다. 꾸지뽕 줄기는 잔탄(폴리페놀)과 플라보노이드가 다량 함유되어 있어 항산화, 세포독성에 효과가 있으며(Byun 등, 2019; Shi 등, 2014), 열매는 해열 항균활성, 신경세포 보호 및 근육 이완 등에 효과가 있다고 보고되었다(Jung 등, 2013; Kim 등, 2018a).

누에(*Bombyx nori* L.)는 누에나방의 애벌레(유충)로서 알에서 깰 때는 검고 털이 있으나, 첫 허물을 벗고 나면 털이 없고 회색이 된다. 신농본초경(神農本草經)의 기록에 의하면 소아의 경기치료나 기생충을 제거하는데 효과가 있다고 기록되어 있으며, 본초강목(本草綱目)에는 풍(風)을 다스리고, 담(痰)을 부드럽게 한다고 기록되어 있다(Kang 등, 2014). 선행연구에 의하면, 누에의 배설물은 건조시켜 갈아먹었을 경우 신경통, 진통, 관절염, 월경 불순 및 자궁출혈 등의 치료에 효과가 있으며, 술과 함께 먹으면 결막염, 가려움증 및 중풍 등에도 효과가 있다고 보고되었다(Kang 등, 2014). 누에는 단백질이 풍부하여 식품으로 주로 이용되며, 음식 섭취 후에 당의 분해와 흡수를 지연시켜 혈당강하 효과(Choi, 2000; Jang와 Rhee, 2004; Kim 등, 2005), 간경화나 간암 치료에 효과(Shiomi 등, 1998), 누에 분말의 항종양 효과(Park 등, 1988), monoamine oxidase-B의 억제효과(Kang 등, 2005), 기관지의 점액 분비 촉진효과(Kang 등, 2000), 누에 추출물의 체내 활성산소 억

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this work and should be regarded as co-first authors.

\*Corresponding author: Kyoung-Sik Han, Dept. of Food and Nutrition, Sahmyook University, Seoul 01795, Korea  
Tel: +82-2-3399-1765  
Fax: +82-2-3399-1655  
E-mail: kshan@syu.ac.kr

Received September 1, 2021; revised October 25, 2021;  
accepted December 6, 2021

제(Kang 등, 2014) 및 누에 분말의 투여가 뇌기능 보호(Choi 등, 2000) 등의 약리효능이 보고되었다. 그러나 현재 기능성식품과 관련된 국내 곤충산업은 1차 가공(건조, 분말, 추출 등)에 국한되어 있으며, 다른 식품의 부재료로 이용되는 매우 기초적인 수준이다. 또한 꾸지뽕 잎을 섭취시켜 사육한 누에의 기능성과 관련된 연구는 부족하며, 제품 및 산업화는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 꾸지뽕 잎을 섭취시켜 사육한 누에를 분말화하고 섬유소 및 단백질 가수분해 효소를 첨가하여 제조한 가수분해물들의 기능과 영양학적 성분을 확인하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

실험에 사용된 꾸지뽕잎은 충북 영동군의 산야 꾸지뽕에서 구매하고 건조, 분쇄하여 사용하였다. 실험에 사용된 누에는 강원도(Gonigol farm, Gangwon, Korea)에서 생산된 것을 건조, 분쇄하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 저장하여 사용하였다. 섬유소 분해효소(viscozyme) 및 단백질 분해효소(papain, flavourzyme)는 바이오시스(Busan, Korea)로부터 구입하였으며, 분석용 시약은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 본 연구에서 전체 실험군은 대조군(CS), 누에 분말에 섬유소 분해효소(viscozyme) 첨가군(CSV), 누에 분말에 섬유소 분해효소(viscozyme)와 단백질 분해효소(papain) 첨가군(CSVP), 누에 분말에 섬유소 분해효소(viscozyme)와 단백질 분해효소(flavourzyme) 첨가군(CSVF)으로 분류하여 실험을 실시하였다.

### 꾸지뽕 누에 가수분해물 제조

꾸지뽕 잎을 섭취시켜 사육한 누에를 건조시켜 분말화하여 100 mg/mL의 비율로 현탁시킨 후, pH (6/papain 6.3)를 맞춰준 다음, 분해효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 각각 1% (w/w)가 되도록 첨가하여 항온수조(100 rpm, 2시간,  $55^{\circ}\text{C}$ )에 가수분해하였다. 그 후  $90^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 가열해 효소를 불활성화하였다. 가수분해가 끝난 시료는 액체 상태이며, 다른 처리 없이 소분하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동보관 하여 실험에 사용하였다. 일반성분 분석시료는 3일 동안 동결 건조(FDTL-4504, Operon, Gimpo, Korea)하고 분말화 하여 실험에 사용하였다.

### 일반성분 분석

일반성분은 AOAC(2000)에 따라 분석하였다. 수분 함량은  $105^{\circ}\text{C}$  상압가열건조법(EYELA, Tokyo, Japan), 회분 함량은  $550^{\circ}\text{C}$  직접 회화법(KL-160, Toyo Seisakusho Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 분석하였다. 조단백질 함량은 Kjeldahl법을 이용한 단백질 자동분석기(Kjeltec TM 2300, FOSS, Höganäs, Sweden)로 측정하였으며, 조지방 함량은 Soxhlet법(Soxtex system HT 1043, Foss Tecator, Sweden)을 이용하여 분석하였다. 탄수화물 함량은 위의 측정치를 합한 값을 100에서 뺀 차감 값으로 하였다.

### 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀의 함량은 Folin과 Denis(1912)의 방법에 의해 측정하였다. 시료의 총 페놀 함량은 5 mg/mL 농도의 시료 1 mL를 25 mL volumetric flask에 취하여 증류수 9 mL와 혼합하고 1 mL의 Folin-ciocalteu's phenol reagent (1 M) (Sigma-Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, USA)와 혼합해 상온에서 5분간 대기한 뒤 7%  $\text{NaCO}_3$  용액 10 mL를 가하여 volumetric flask 총량까지 증류수를 채운 후  $23^{\circ}\text{C}$ 에 90분간 방치해 750 nm에서 흡광도(UV/VIS

Spectrophotometer, Optizen 2120UV, Gyeonggi, Korea)를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 하여 환산하였고, 양성대조구로 vitamin C를 사용하였다.

### 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Nieva 등(2000)의 방법을 변형하여 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 10 mg/mL 농도의 시료 1 mL에 증류수 4 mL를 혼합하고 5% sodium nitrite 용액 0.3 mL를 가하여 상온에 5분간 방치한 뒤, 10% aluminium chloride 용액 0.3 mL를 혼합해 상온에 6분간 방치하였다. 혼합액에 2 mL sodium hydroxide (1 M) 용액을 가한 뒤 증류수를 2.4 mL 혼합하여 510 nm에서 흡광도(SpectraMax M3 microplate reader, Molecular Devices LLC, Sunnyvale, CA, USA)를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 catechin hydrate를 표준물질로 하여 환산하였고, 양성대조구로 vitamin C를 사용하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성은 Blois(1958)의 방법을 변형시켜 측정하였다. DPPH 용액(0.2 mM) (Sigma-Aldrich Co., Spruce, MO, USA)과 에탄올과 시료를 1:1:1 비율로 하여 혼합한 후 실온에 30분간 방치 후, 원심분리(12,000 rpm, 15분)하여 상등액을 회수해 517 nm에서 흡광도계(Optizen 2020 UV Plus, Mecasys Ltd., Daejeon, Korea)를 측정하여 대조구와 비교하였다.

ABTS 라디칼 소거활성은 Re 등(1999)의 방법으로 측정하였다. 최종 농도 7.4 mM의 ABTS (Sigma-Aldrich Co., Spruce MO, USA) 용액과 2.6 mM potassium persulfate (Samchun Pure Chemical Co., Ltd., Seoul, Korea) 용액을 혼합한 수용액을 암소에 24시간 방치해 라디칼을 형성시켰다. ABTS 용액의 농도는 사용하기 직전, 734 nm에서 흡광도 값이  $0.700 \pm 0.030$  범위에 들도록 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 50  $\mu\text{L}$ 에 시료 950  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 1분 동안 실온에 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성대조구로 vitamin C를 사용하였다.

### 환원력 측정

시료의 환원력은 Oyaizu(1986)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 0.5 mL에 sodium phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) 0.5 mL와 1% potassium ferricyanide 1 mL를 혼합하여  $50^{\circ}\text{C}$ , 20분간 반응시킨 후, 10% trichloroacetic acid (TCA)용액을 0.5 mL 혼합하였다. 혼합된 시료 2 mL에 증류수 2 mL와 0.1% ferric chloride 0.4 mL를 가하고 700 nm에서 흡광도(UV-1700, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 측정하였고, 양성대조구로 vitamin C를 사용하였다.

### ACE 저해 활성

ACE 저해 활성은 Cushman과 Cheung(1971)의 방법으로 측정하였다. ACE 조효소액은 Rabbit lung powder를 0.2 g/10 mL 농도로 0.1 M sodium borate buffer (pH 8.3, containing 0.3 M NaCl)를 가하여 10 mL로 정용한 뒤,  $4^{\circ}\text{C}$ , 24시간 교반하여 원심분리(4,000 rpm, 40분,  $4^{\circ}\text{C}$ )하여 얻은 상정액으로 하였다. 기질은 25 mg의 hippuryl-histidyl-leucine (HHL)을 sodium borate buffer (0.1 M, pH 8.3)에 혼합하여 제조하였다. 시료 50  $\mu\text{L}$ 에 ACE 조효소액 50  $\mu\text{L}$ 를 혼합한 다음  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 예비반응시킨 후, HHL 기질용액 100  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 60분간 반응시켰다. hydrochloric acid (1 N)용액 250  $\mu\text{L}$ 를 가하여 반응을 정지시킨 후 ethyl acetate를 1.5 mL 혼합해 15초간 교반한 다음, 원심분리(3,000

rpm, 10분, 4°C) 하였다. 상등액 1 mL를 test tube에 넣고 80°C에서 약 60분간 완전 건조 후, 증류수를 3 mL를 넣고 교반하여 228 nm에서 흡광도(Agilent 1260 Infinity, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 측정하였고, 양성대조구로 captopril을 사용하였다.

### 통계분석

실험된 모든 자료는 SPSS package version 18.0 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 평균치 비교는 one-way ANOVA 방법에 따라 실시하였으며, 평균들 간 차이의 유의성 분석( $p < 0.05$ )은 Duncan의 다중검정법(Duncan's multiple range test)을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반성분 분석

꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 가수분해 효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 첨가한 시료의 일반성분 분석은 Table 1과 같다. CS군의 일반분석 중 탄수화물 5.87±0.85%, 수분 9.78±0.04%, 조단백질 65.79±0.56%, 조지방 4.82±0.12%, 조회분 13.73±0.14%로 조사되었으며, 이 중 조단백질 함량이 가장 높았다. 각각 3가지 효소를 첨가한 경우 탄수화물 12.65-12.76%, 수분 8.91-9.33%, 조단백질 61.13-61.92%, 조지방 4.39-5.44%, 조회분 11.54-11.92% 범위를 나타내었다. 일반성분 분석 항목 중 CS군에서는 조단백질과 조회분 함량이 높았으며, 효소 첨가군에서는 CS군 보다 탄수화물 함량이 높게 조사되었다( $p < 0.05$ ). 선행연구(Nam, 1975)에서는 누에 유충의 수분 7.35%, 조단백질 54.97%, 조지방 30.08%, 조회분 4.95%, 누에 성충의 수분 7.49%, 조단백질 55.09%, 조지방 29.58%, 조회분 4.91%, 누에 번데기의 수분 7.46%, 조단백 56.05%, 조지방

29.49%, 조회분 5.12%로 보고하였는데, 이와 비교했을 때, 본 연구에서의 누에 분말의 수분과 조회분 함량이 높고, 조단백질과 조지방은 낮은 수치를 보였다.

### 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량

꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 가수분해 효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 시료의 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 Table 2에 제시하였다. 총 페놀 함량은 CS군에서 42.40±0.20 mg GAE/g로 가장 높은 수치를 보였으며, CSV군은 41.80±1.59 mg GAE/g, CSVP군은 41.60±1.22 mg GAE/g, CSVF군은 40.00±1.22 mg GAE/g 순으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 총 플라보노이드 함량은 39.43-40.80 mg CA/g 범위로 조사되었으며, 양성대조구로 설정한 비타민 C에 비해 높은 수치를 보였다( $p < 0.05$ ). 페놀계 성분들은 식물체에 특수한 색을 부여하고 산화-환원반응의 기질로 작용하고, 한 분자 내, 2개 이상의 phenolhydroxyl기를 가진 방향족 화합물을 의미하며, 이러한 페놀성 성분은 체내에서 항산화, 항염증, 항비만, 고혈압 등의 다양한 생리활성을 가진다(Nieva 등, 2000).

### DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거활성

꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 가수분해 효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 첨가한 시료의 DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거활성은 Fig. 1과 Fig. 2에 각각 제시하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 CS군은 68.2%, CSV군은 65.5%, CSVP군은 60.0% 및 CSVF군은 66.5%로 나타났으며, CSVP군을 제외하고 CS, CSV 및 CSVF군은 유의하게 높은 수치를 보였다( $p < 0.05$ ). 수소원자나 전자의 공여능력을 평가할 때 이용되는 DPPH 라디칼은 수소 혹은 전자를 받아 안정한 형태의 화합물로 전환되어 라디칼 특유의 보라색을 잃은 노란색으로 전환시킨다(Blois, 1958).

**Table 1. Proximate composition of the powder and its hydrolysates of silkworm fed *C. tricuspidata* leaves**

Composition (%)	CS	CSV	CSV P	CSV F
Carbohydrate	5.87±0.85 <sup>1)2)b</sup>	12.75±3.50 <sup>a</sup>	12.76±1.68 <sup>a</sup>	12.65±1.21 <sup>a</sup>
Moisture	9.78±0.04	8.91±1.07	8.93±0.11	9.33±0.13
Crude protein	65.79±0.56 <sup>a</sup>	61.13±1.42 <sup>b</sup>	61.33±1.16 <sup>b</sup>	61.92±0.29 <sup>b</sup>
Crude fat	4.82±0.12	5.29±0.93	5.44±0.07	4.39±0.57
Crude ash	13.73±0.14 <sup>a</sup>	11.92±0.08 <sup>b</sup>	11.54±0.34 <sup>b</sup>	11.71±0.22 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SD.

<sup>2)</sup>Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

CS: *C. tricuspidata* silkworm, CSV: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%), CSV P: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+papain (1%), CSV F: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+flavourzyme (1%).

**Table 2. Total phenolic and total flavonoid contents of the powder and its hydrolysates of silkworm fed *C. tricuspidata* leaves**

Composition (%)	Vitamin C	Papain	Flavour zyme	CS	CSV	CSV P	CSV F
Total polyphenol (mg GAE <sup>1)</sup> /g)	210.4±0.00 <sup>3)4)a</sup>	0.14±0.01 <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>d</sup>	42.40±0.20 <sup>b</sup>	41.80±1.59 <sup>b</sup>	41.60±1.22 <sup>b</sup>	40.00±1.22 <sup>c</sup>
Total flavonoid (mg CA <sup>2)</sup> /g)	3.27±0.31 <sup>b</sup>	0.02±0.03 <sup>b</sup>	0.10±0.01 <sup>b</sup>	40.80±3.06 <sup>a</sup>	39.43±3.46 <sup>a</sup>	40.17±2.65 <sup>a</sup>	36.93±2.56 <sup>a</sup>

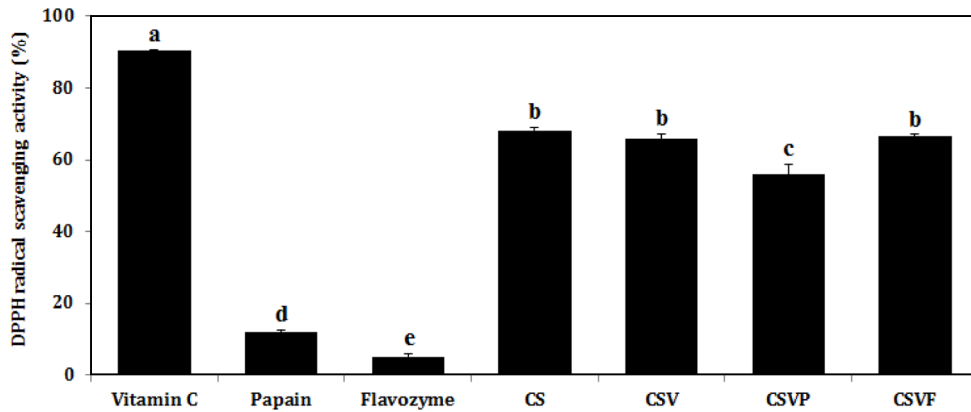
<sup>1)</sup>GAE: Gallic acid equivalent.

<sup>2)</sup>CA: Catechin hydrate equivalent.

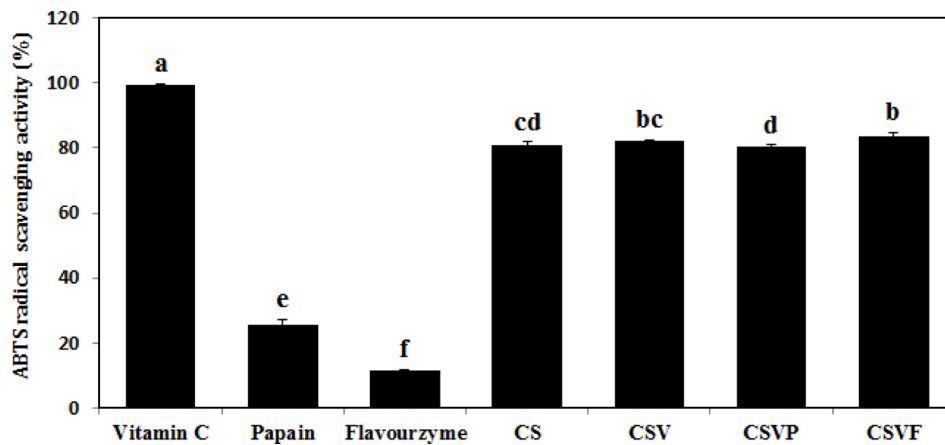
<sup>3)</sup>Values represented mean±SD of three parallel measurements.

<sup>4)</sup>Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

Vitamin C: positive control, CS: *C. tricuspidata* silkworm, CSV: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%), CSV P: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+papain (1%), CSV F: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+flavourzyme (1%).



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging activities of the powder and its hydrolysates of silkworm fed *C. tricuspidata* leaves. Results are presented as the mean±SD of 3 independent in triplicate. Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. Vitamin C: positive control, CS: *C. tricuspidata* silkworm, CSV: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%), CSVP: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+papain (1%), CSVF: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+flavourzyme (1%).



**Fig. 2.** ABTS radical scavenging activities of the powder and its hydrolysates of silkworm fed *C. tricuspidata* leaves. Results are presented as the mean±SD of 3 independent in triplicate. Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. Vitamin C: positive control, CS: *C. tricuspidata* silkworm, CSV: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%), CSVP: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+papain (1%), CSVF: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+flavourzyme (1%).

ABTS 라디칼 소거활성은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS 라디칼을 황산화 물질에 의해 제거해 청록색을 탈색시키는 원리로서(Ham 등, 2015), ABTS 탈색반응은 이미 생성된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 소거활성을 측정하였다. CS군은 80.7%, CSV군은 82.3%, CSVP군은 80.2% 및 CSVF군은 83.8%인 것으로 나타났으며, 이 중 CSVF군에서 ABTS 라디칼 소거활성이 가장 높은 수치를 보였다 ( $p<0.05$ ).

**환원력 측정**

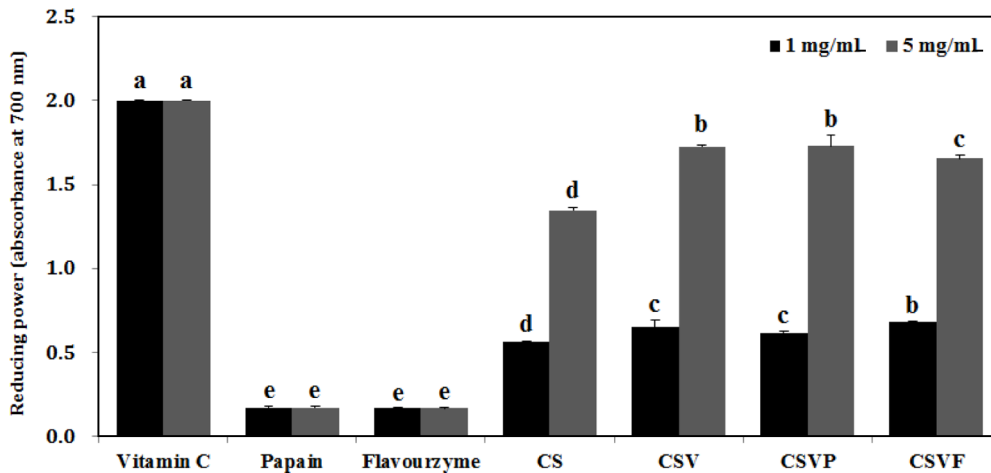
꾸지뽕 잎을 섭취시켜 사육한 누에를 분말화하여 가수분해 효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 첨가한 시료의 환원력은 Fig. 3에 제시하였다. 각각의 1 mg/mL와 5 mg/mL에서 환원력은 CS군은 0.56과 1.35의 흡광도를 기록하였고, CSV군은 0.65와 1.73, CSVP군은 0.62와 1.73 및 CSVF군은 0.68과 1.65로 나타났으며, 이 중 CSV군에서 가장 높은 환원력을 보였다. 환원력은  $Fe^{3+}$ 과  $Fe^{2+}$  간의 상호 전환에 의해 청록색을 나타내며 흡광도 값이 클수록 높은 환원력을 의미한다(Terpinc 등, 2012) 본 연구에서 환원력은 모두 농도 의존적인 결과를 보였으며, 단백질 가수분해물

을 첨가한 시료에서 높은 환원력을 나타내었다.

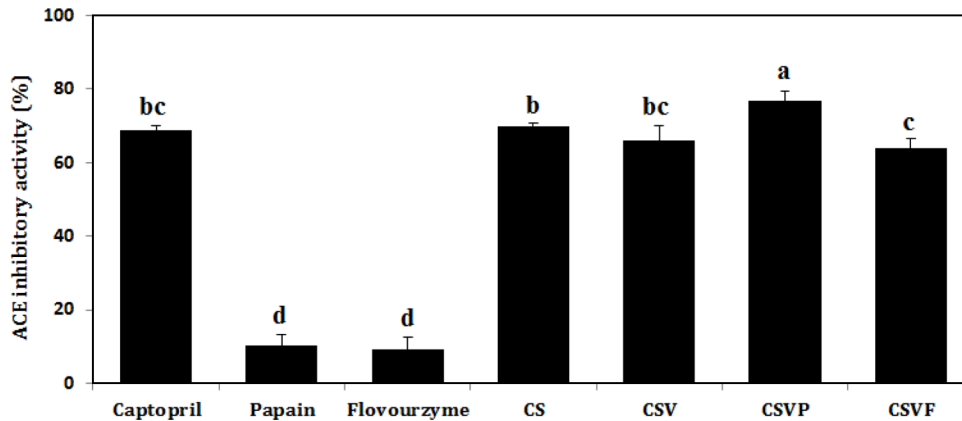
**ACE 저해 활성**

꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 가수분해 효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 첨가한 시료의 ACE 저해 활성은 Fig. 4에 제시하였다. ACE 저해활성을 측정한 결과, CS군은 70.0%의 저해활성을 나타내었으며, CSV군은 65.9%, CSVP군은 77.0%, CSVF군은 64.0%인 것으로 나타났으며, 특히 CS군에 비해 CSVP군에서 ACE 저해활성이 높게 나타났( $p<0.05$ ). 효소별 동일 농도의 가수분해물에서 ACE 저해활성에 차이가 나는 것은 효소마다 작용하는 기질의 반응 부위가 다르며, 이로 인하여 생성된 peptide의 아미노산 배열이 다르기 때문이라고 사료 된다. Angiotensin-converting enzyme (ACE)은 angiotensin I을 angiotensin II로 전환하는 효소를 의미하며, angiotensin II는 angiotensin II-type 1 receptor에 작용하고 혈관을 수축 및 알도스테론의 분비를 증가시켜 혈압을 상승하는 기작을 갖고 있다(Lee 등, 2007). 따라서 고혈압에 대한 활성을 알아보기 위하여 ACE 저해 활성 측정은 좋은 표지인자이다.





**Fig. 3. Reducing power of the powder and its hydrolysates of silkworm fed *C. tricuspidata* leaves.** Results are presented as the mean±SD of 3 independent in triplicate. Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Vitamin C: positive control, CS: *C. tricuspidata* silkworm, CSV: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%), CSVP: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+papain (1%), CSVF: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+flavourzyme (1%).



**Fig. 4. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity of the powder and its hydrolysate of silkworm fed *C. tricuspidata* leaves.** Results are presented as the mean±SD of 3 independent in triplicate. Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Captopril: positive control, CS: *C. tricuspidata* silkworm, CSV: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%), CSVP: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+papain (1%), CSVF: *C. tricuspidata* silkworm+viscozyme (1%)+flavourzyme (1%).

## 요약 및 결론

본 연구에서는 꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 가수분해 효소인 viscozyme, papain, flavourzyme을 각각 첨가하여 그 기능성을 확인하고자 실시하였다. 일반성분 분석 항목 중 CS군에서는 조단백질과 조회분 함량이 높았으며, 효소 첨가군에서는 CS군 보다 탄수화물 함량이 높게 조사되었다( $p < 0.05$ ). 총 폴리페놀 함량은 40.00-42.40 mg GAE/g, 총 플라보노이드 함량은 39.43-40.80 mg CA/g 범위로 조사되었다. DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성은 가수분해 처리한 CSV군과 CSVF군에서 유의하게 높았으며, CSV군이 가장 높은 환원력을 보였다( $p < 0.05$ ). ACE 저해 활성은 CS군에 비해 단백질 가수분해 효소 처리한 CSVP군에서 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). 본 연구를 종합해 볼 때, 꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 사용하는 것보다는 꾸지뽕 잎을 섭취시켜서 사육한 누에를 분말화하여 목적에 따라 가수분해 효소 처리 후, 각종 기능성 식품의 원료로 사용하는 것이 효과적이라고 판단된다. 이 결과들이 향후 새로운 기능성 식품 및 소재 개발로서 식품업계에 활용될 수 있

을 것이라 사료된다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청에서 시행한 농업실용화기술 R&D 지원 사업(과제번호: PJ01634801)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## References

- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC. Intl. 17th ed. Association of Official Analytical Communities, Gaithersburg, MD, USA. pp 1-26 (2000)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 26: 1199-120 (1958)
- Byun EB, Kim KW, Oh NS, Park WJ, Park SH, Kim WS, Song HY, Han JM, Byun EH. Protective poles of polysaccharides extracted from *Cudrania tricuspidata* fruits in macrophages. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 48: 1330-1336 (2019)
- Choi JH. Effect of silkworm (*Bombyx mori* L.) powder on lipofuscin, acetylcholine and its related enzyme activities in brain of SD rats.

- Korean J. Life Sci. 43: 564-569 (2000)
- Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim JM, Cho WK, Lee HS, Ryu KS. Effects of silkworm (*Bombyx mori* L.) powder on lipofuscin, acetylcholine and its related enzyme activities in brain of SD rats. Korean J. Life Sci. 10: 564-569 (2000)
- Cushman DW, Cheung HS. Spectrophometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20: 1637-1648 (1971)
- Doi K, Kojima T, Fujimoto Y. Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein. Biol. Pharm. Bull. 23: 1066-1071 (2000)
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem. 12: 239-249 (1912)
- Ham H, Woo KS, Lee B, Park JY, Sim EY, Kim BJ, Lee C, Kim SJ, Kim WH, Lee J, Lee YY. Antioxidant compounds and activities of methanolic extracts from oat cultivars. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 1660-1665 (2015)
- Jang MJ, Rhee SJ. Hypoglycemic effects of pills made of mulberry leaves and silkworm powder in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1611-1617 (2004)
- Jung GT, Ju IO, Choi SR, You DH, Noh JJ. Food nutritional characteristics of fruit of *Cudrania tricuspidata* in its various maturation stages. Korean J. Food Preserv. 20: 330-335 (2013)
- Kang KK, Choi MJ, Nam SH. Effect of ethanolic extract of silkworm on reactive oxygen species formation *in vivo*. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 28: 379-383 (2014)
- Kang YK, Lim HB, Sohn HO, Lee YG, Lee DW, Nam SH. Effect of silkworm-extract on mucus secretion in rat tracheobronchial lumen. Korean J. Entomol. 30: 71-75 (2000)
- Kang YK, Nam SH, Sohn HO, Lee DW. Inhibitory effects of silkworm-extract (SE) on monoamine oxidase activity *in vitro* and *in vivo*. Entomol. Res. 35: 189-193 (2005)
- Kim YE, Cho EJ, Byun EH. Antioxidant and neuroprotective effects of crude polysaccharide fractions from *Cudrania tricuspidata* fruits. Korean J. Food Sci. Technol. 50: 543-548 (2018a)
- Kim YH, Cho NJ, Im MH. Rheological properties of dough and quality characteristics of bread added with silkworm powder. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 377-388 (2005)
- Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 1217-1222 (1998)
- Kim SA, Shin YW, Lee IA. Effects of *Cudrania tricuspidata* leaf extract on gluten sensitivity. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 47: 512-518 (2018b)
- Lee YS, Choi JB, Joo EY, Kim NW. Antioxidative activities and tyrosinase inhibition of water extracts from *Ailanthus altissima*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 1113-1119 (2007)
- Nam HK. Studies on the amino acid change in silkworm and silkwormchrtsalis as an edibal insect. J. Korean Soc. Food Nutr. 4: 59-66 (1975)
- Nieva MM, Sanpietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr. 44: 307-315 (1986)
- Park IK, Lee JO, Lee HS, Seol KY, Ahn YJ. Cytotoxic activity of *Bombyx nori* and *Morus alba* derived materials against human tumor cell lines. Agri. Chem. Biotech. 41: 187-190 (1988)
- Park JH, Lee KW, Sung KS, Kim SS, Cho KD, Lee BH, Han CK. Effect of diets with mulberry leaf and *Cudrania tricuspidata* leaf powder supplements on blood glucose related biomarkers in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 766-773 (2012)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26: 1231-1237 (1999)
- Shi L, Dong Q, Ding K. Structure elucidation and immunomodulatory activity *in vitro* of a xylan from roots of *Cudrania tricuspidata*. Food Chem. 152: 291-296 (2014)
- Shiomi S, Habu D, Takeda T, Nishiguchi S, Kuroki T, Tanaka T, Tsuchida K, Yamagami, S. Significance of peptidoglycan in patients with chronic liver diseases. J. New Remedies & Clinics. 47: 32-37 (1998)
- Terpin P, Ceh B, Ulrih, NP, Abramovic H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. Ind. Crops Prod. 39: 210-217 (2012)
- Yoshikuni Y, Ezure Y, Aoyagi Y, Enomoto H. Inhibition of intestinal alpha-glucosidase and postprandial hyperglycemia by N-substituted moranoline derivatives. J. Phar. macobiodyn. 11: 356-362 (1988)