

각종 미강 추출물들의 항고혈압성 엔지오텐신 전환효소 저해 활성

김형종, 김재호, 손종록*, 이종수
배재대학교 자연과학대학 유전공학과·작물시험장*

Antihypertensive Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activity of Various Extracts from Some Rice Brans

Hyoung-Jong Kim, Jae-Ho Kim, Jong-Rok Sohn* and Jong-Soo Lee
Department of Genetic Engineering, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea
National Crop Experiment Station*, RDA, Suwon 441-100, Korea

각종 미강 추출물들의 항고혈압성 엔지오텐신 전환효소 저해 활성을 측정하고 이들의 추출 최적조건을 검토하였다. 각종 미강 추출물들중에서 일품벼 미강의 물 추출물이 77%의 가장 높은 안지오텐신 전환효소 저해활성 보였다. 일품벼 미강중의 안지오텐신 전환효소 저해물질은 물을 1:10(w/v)으로 미강 분말에 첨가한 후 30℃에서 12시간 추출하였을 때 가장 많이 용출되었다..

Angiotensive I-converting enzyme inhibitory activity of various extracts from some rice brans were investigated with its optimal extraction conditions. Water extracts of Ilpumbyeo rice bran showed the highest ACE inhibitory activities of 77.0%. ACE inhibitor from Ilpumbyeo rice bran was maximally extracted when its powder was treated with 10 times of distilled water for 12h at 30℃.

Key words : rice brans, antihypertensive, ACE inhibitory activity

I. 서 론

근래 건강에 대한 관심이 높아지고 있는 가운데 각종 발효식품과 농작물 등으로부터 성인병을 예방 할 수 있는 생리기능성 물질에 대한 탐색과 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.¹⁾

지난해 우리나라 사람들의 질병에 의한 사망요인 중 두 번째로 높은 질환이 심혈관계 질환이다. 이들 심혈관계 질환의 대다수를 차지하는 질병이 고혈압이며 여기에는 엔지오텐신 전환효소(Angiotensin-converting enzyme, ACE)가 관여하는데 이 효소는 체내 혈압조절에 관여하는 renin계에서 renin에 의하여 angiotensinogen으로부터 활성화된 angiotensin(I)을 (II)로 전환시켜 혈관수축을 유도하여 고혈압을 유발시키는 것으로 알려져 있다.²⁾

이러한 고혈압을 예방(또는 치료)하는 방법의 하나로 ACE 저해제에 대한 탐색이 곡류와 수산물 및 축산가공물 등을 대상으로 활발히 이루어지고 있다.²⁾ 지금까지 밝혀진 식품 유래의 ACE 저해제로서는 우유, 대두, 옥수수, 정어리, 참치 등의 단백질 가수 분해물, 돼지혈장에서 분리된 peptide류, 감귤 및 과실류의 flavonoid 배당체류, 차 성분의 카테킨류 등이 있다.^{2~7)} 그러나 이들의 ACE 저해활성이 화학합성의 ACE 저해제인 Captopril보다 약 20배 이상 낮아 강력한 ACE 저해활성을 가지면서 부작용이 없고 비교적 저렴하게 생산이 가능한 ACE 저해제 탐색과 개발이 절실히 요구되고 있다.

한편, 2002년도 우리나라 총 쌀 생산량은 3,422만석(4,924천 톤)으로 평년에 비해 약 3%가 증가하였고 이와 병행하여 부산물인 미강도 많은 량이 생산되었다. 그러나 미강은 미강유 가공으로 극히 일부만이 소비되고 있을뿐이고 미강을 이용한 다양한 제품 개발이나 고부가가치 물질의 생산에 관한 연구는 매우 미흡하여 최 등⁸⁾의 미강에탄올 추출물의 항산화 효과와 Ghoneum⁹⁾의 미강 anabinoxylane, MGN-3의 항 HIV활성 및 조 등¹⁰⁾의 미강 단백질 가수분해물의 특성 조사 뿐이다.

따라서, 전보⁶⁾에서 필자 등은 흑진주벼 미강으로부터 생리기능성 물질을 탐색하여 보고하였고, 본연구에서는 각종 미강으로부터 엔지오텐신 전환효소(ACE) 저해물질을 개발하여 이들을 이용한 고부가치의 생리 기능성 제품을 생산하고자 하였다. 이를 위해 먼저 각종 용매를 이용하여 미강들의 extracts를 추출한 후 ACE 저해활성 등 몇가지 성인병에 관련된 생리 기능성을 측정하고 가장 활성이 높았던 일품 벼 미강중의 ACE 저해 물질의 추출 최적 조건을 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료, 효소 및 시약

공시재료로는 2001년 농촌진흥청 작물시험장에서 재배된 일품벼, 적진주벼, 앵미 (PBR, Photo Blastic Rice와 WD-4)들을 마찰식 정미기(Satake-Whitener : MCM-50)로 도정한 후 분리된 미강을 사용하였다.

또한 Hip-His-Leu, trypsin, protease E 등은 Sigma사 제품(미국)을 사용하였고 angiotensin I-converting enzyme(ACE)는 Sigma사 제품(미국)의 rabbit lung acetone 분말을 구입하여 완충용액으로 추출한 후 사용하였다. 또한, protease 2A, protease S, protease M, protease N, nutrase III 등은 Amano사 제품(일본)을 사용하였고 그 밖의 시약은 분석용 특급을 사용하였다.

2. Extracts의 제조

시료 미강들을 분쇄하여 분말로 만든 후 이들 일정량을 각각 물(1:10), 80% 에탄올(1:5), 80% 메탄올(1:5)등에 현탁시켜 상온에서 12~24시간 진탕하여 extracts를 추출한 후 여과하고 동결 건조시켜 extracts 시료로 하였다.

3. Angiotensin-converting enzyme(ACE) 저해활성 측정

Cushman 등¹¹⁾의 방법을 일부 수정하여 다음과 같이 ACE 저해활성을 측정하였다. 먼저 추출물에 일정량의 sodium borate 완충용액을 첨가하여 현탁 시킨 후 동일 용량의 ethyl acetate를 첨가하여 30초간 진탕시킨 다음 원심 분리하였다. 이 여과액 50 μ l를 rabbit lung powder에서 추출한 ACE용액 150 μ l(약 2.8~3.0 unit)와 기질 용액(pH 8.3의 100 mM borate 완충용액에 300 mM NaCl과 23 mM Hip-His-Leu을 녹인 것) 50 μ l를 섞은 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl로 반응을 정지시켰다. 이 반응 액에 유리되어 나온 hippuric acid의 양을 분광분석기로 228 nm에서 흡광도를 측정하여 정량한 후 이를 시료 무첨가 대조구에서 생성되는 hippuric acid량과 비교하여 저해활성을 계산하였다.⁶⁾

4. 각종 protease 처리효과

시료 각각의 물 추출물들을 Phosphate 완충용액에 녹인후 각 효소의 최적 pH로 조정된 다음 protease 2A, protease S, protease M, protease N, nutraseIII, trypsin, protease E 등을 0.25 U 첨가하여 각 효소의 반응 최적온도인 50℃와 70℃로 1시간 반응시킨 다음 75℃에서 20분간 열 처리하여 반응을 정지시켰다. 이 반응액을 여과 한 후 위와 같은 방법으로 ACE 저해활성을 측정하였다.^{5, 6)}

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 각종 미강 추출물의 생리 기능성

일품벼, 적진주벼, 앵미(PBR, WD-4)등의 미강 extracts를 물과 에탄올과 메탄올로 각각 추출한 후 각종 생리 기능성을 측정한 결과 먼저 고혈압을 유발시키는 효소로 알려진2) 엔지오텐신 전환효소(ACE)에 대한 저해활성은 적진주벼와 일품벼의 미강들을 물로 추출하였을 때 각각 74.3%, 77.0%로 타 시료에 비하여 높았으나 앵미의 미강인 PBR과 WD-4에서는 활성이 없었다(Table 1).

Table 1. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activities of various extracts from rice brans (%) ^{a)}

Extracts	Rice brans			
	PBR ^{b)}	WD-4	Jugjinju byeo	Ilpum byeo
D.W extracts	n.d ^{c)}	n.d	74.3	77.0
EtOH extracts	n.d	18.2	n.d	46.5
MeOH extracts	n.d	2.8	n.d	5.2

a) ACE inhibitory activities were assayed after addition of 20 times solvent in powders of rice brans, and extraction for 12 h.

b) PBR = Photo Blastic Rice

c) n.d : not determined

또한 에탄올과 메탄올로 추출한 시료에서는 일품벼 미강 추출물에서 46.5%와 5.2%를 보였고 앵미인 WD-4에서 각각 18.2%와 2.8%일 뿐 여타의 시료에서도 ACE 저해활성이 없었다.

이와 같이 미강의 종류에 따라 ACE 저해활성이 차이가 있는 것은 각종 미강들이 ACE 저해물질로 알려진 펩타이드^{2,4~7)}나 색소류^{6~7)}들을 다르게 함유하고있기 때문인

것으로 생각되며 이러한 ACE 저해활성은 흑진주벼 미강에서 동일한 방법으로 추출한 추출물의 38.0%보다⁶⁾ 높은 결과이었다. 그러나 두류 단백질의 펩신 가수분해물의 활성(40~100%)²⁾과 전통된장의 열수 추출물의 활성(70~90%)⁴⁾ 및 쪽의 열수 추출물의 활성(75.1%)¹²⁾과는 비슷하거나 다소 낮은 결과이었다.

2. 일품벼 미강으로부터 ACE 저해물질의 추출조건

각종 미강류와 곡류 중 ACE 저해활성이 가장 높았던 일품벼 미강으로부터 ACE 저해물질 추출을 위한 물 추출 최적조건을 검토한 결과 물 첨가 비율을 1:10으로 했을 때 79.2%의 ACE 저해활성을 보였고(Table 2), 12시간 추출하였을 때 최대활성을 나타내었으며 추출 시간이 길어짐에 따라 오히려 ACE 저해활성은 약간 낮아졌다(Fig. 1).

Table 2. Effect of addition amount of distilled water and temperature on the extraction of ACE inhibitor from Ilpumbyeo rice bran

Addition ratio of D.W	ACE inhibitory activity(%)	Extraction temperature (°C)	ACE inhibitory activity (%)
1:5	75.5	20	78.0
1:10	79.2	30	79.5
1:20	75.0	50	75.0
1:30	75.8	80	72.3

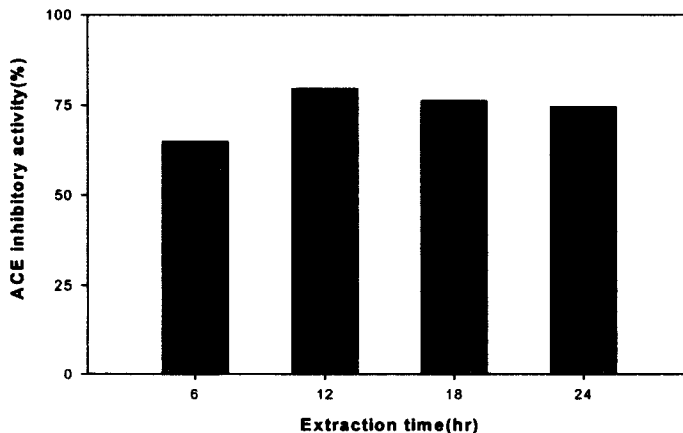


Fig. 1. Effect of extraction time on the extraction of ACE inhibitor from Ilpumbyeo rice bran.

* ACE inhibitory activity was assayed after addition of 10 times D.W in powder of Ilpoubyeo rice bran and indicated time.

이는 추출시간이 길어짐에 따라 이미 미강으로부터 추출된, 펩타이드로 추정되는 ACE 저해물질들이 단백질 분해효소 등에 의해 일부 분해되었기 때문인 것으로 생각된다.

또한, ACE 저해물질의 추출에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과 30℃에서 12시간 추출하였을 때 가장 높은 ACE 저해활성을 보였고 추출 온도가 높아짐에 따라 오히려 활성이 낮아졌다(data not shown).

한편, ACE저해물질이 대부분 펩타이드 인점^{2,5)}에 착안하여 일품벼 미강의 물 추출물에 각종 단백질분해 효소를 처리한 결과 흑진주벼 미강 단백질⁶⁾에서와 같이 ACE 저해활성에 아무런 영향을 주지 않았다(data not shown). 따라서 시료 미강에 함유되어 있는 ACE저해물질은 펩타이드가 아닌 것으로 추정되어 현재 이들을 정제하여 특성을 조사하고 있다. 한편, 이 등⁷⁾은 미강 단백질을 분리하여 펩신으로 처리하였을 때 ACE 저해효과가 높게 나타났다고 보고한 바 있다.

위와 같은 결과로부터 농업부산물인 일품벼 미강의 물 추출물이 고혈압 예방에 매우 중요한 ACE 저해활성이 비교적 높다는 것이 확인되었다. 따라서 본 연구 결과들은 일품벼 미강을 이용한 고혈압 예방효과를 가진 생리기능성 음료나 식품 의약품 등을 개발하고 산업화하는데 매우 귀중한 자료로 활용될 것이다.

IV. 요약

각종 미강으로부터 생리 기능성 물질을 탐색, 추출하여 이들을 이용한 고부가가치의 건강 식품이나 식품의약을 개발하고자 먼저 물과 에탄올, 메탄올 등으로 각각의 extracts를 제조 한 후 엔지오텐신 전환효소(ACE) 저해활성을 측정하였다. 일품벼 미강의 물 추출물에서 엔지오텐신 전환효소 저해활성이 77.0%로 제일 높았고 일품벼 미강 중의 ACE 저해물질은 미강에 물을 1:10으로 첨가하여 30℃에서 12시간 진탕시켰을 때 가장 많이 추출 되었다.

V. 참고문헌

1. Korean Soc. Food Sci. Technol(1997), Symposium of health-aid food. Abstract. 3-140
2. Rhyu, M.R., Nam Y.J. and Lee, H.Y.(1996), Screening of angiotensinI-converting enzyme inhibitors in cereals and legumes. *Foods and Biotechnology*. **5**, 334-347
3. Choi, S.W., Nam, S.H. and Choi, H.C.(1996), ACE inhibitory activity of ethanolic extracts from rice bran. *Kor. J. Food Sci. and Technol.* **5**, 305-309
4. Kim, S.H., Lee, Y.J. and Kwon, D.Y.(1999), Isolation of ACE inhibitor from traditional *Doenjang*. *Kor. J. Food Sci. and Technol.* **31**, 848-854
5. Saito, Y., Nakamura, K., Kawato, A. and Imayasu, S.(1994), Structure and activity of angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from sake and lees. *Biosci. Biotech. Biochem.* **58**, 1767-1771
6. Lee, G.Y., Kim, J.H., Sohn, J.R. and Lee, J.S.(2001), Detection and extractio condition of physiological functional compounds from bran of Heugjinju byeo rice. *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.* **8**, 296-301
7. Lee, H.Y.(1995), Development of new functional material for antihypertensive and antiblood sugar from by-product of rice. *Report of Science and Teachnology*. N1068-0957
8. Choi, S. W., Nam, S. H. and Choi, H. C.(1996) Antioxidative activity of ethanolic extracts of rice brans. *Food and Bitechnol.* **5**, 305-309
9. Ghoneum, M.(1998), Anti-HIV activity in vitro of MGN-3, an activated arabinoxylane from rice bran. *Biochem. Biophys. Res. Com.* **243**, 25-29
10. Cho, W. I. and Moon, T. W.(1997), Isolation and partial physicochemical characterization of bile acid-binding fraction from rice bran protein hydrolysates. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**, 417-426
11. Cushman, D.W. and Cheung, H.S.(1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*. **20**, 1637-1648
12. Kang, W.H., Park, Y.G., Oh, S.Y. and Moon, K.D.(1996), Functionalities of extracts from pine leaves and ssug. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 978-984