

## 가다랑어 훈연조미제품 유래 저분자물질의 생리활성

이정민 · 최근표<sup>1</sup> · 원무호<sup>2</sup> · 김상무\*

강릉대학교 해양생명공학부, <sup>1</sup>강원전문대학 식품생명과학과, <sup>2</sup>한림대학교 의과대학

### Biological Activities of Low Molecular Weight Substances Fractionated from the Seasoned and Smoked Products of Skipjack Tuna (*Euthynus pelamis*)

Jung Min LEE, Geun Pyo CHOI<sup>1</sup>, Moo Ho WON<sup>2</sup> and Sang Moo KIM\*

Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University, Gangneung 210-702, Korea

<sup>1</sup>Department of Food and Life Science, Gangwon Provincial University, Gangneung 210-800, Korea

<sup>2</sup>College of Medicine, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

We studied the anticancer, antioxidative, ACE inhibitory, antithrombic, and cerebral ischemia inhibitory activities, of low molecular weight substances fractionated from the seasoned and smoked products of skipjack tuna (*Euthynus pelamis*). Low molecular weight substances fractionated from the liquid extract of seasoned and smoked skipjack tuna powder showed 7 peaks on gel permeation chromatography. Anticancer activity was the highest at Peak 3 (54.23%) followed by Peak 4 (41.58%). The potency order of antioxidative activity was the highest at Peak 3 (94.14%) followed by Peak 2 (82.07%) and Peak 5 (81.24%). ACE inhibitory activity was the highest at Peak 3 (67.27%) followed by Peak 5 (45.62%). But there was weak antithrombotic effect (PT and APTT) in the low molecular weight substances of the seasoned and smoked products of skipjack tuna. Cerebral ischemia inhibitory activity was the highest at Peak 3 (80.0%) followed by Peak 5 (40.0%).

Key words: *Euthynus pelamis*, Skipjack tuna, Biological activity, Low molecular weight substances

#### 서 론

현대사회에서 식품의 기능은 영양을 위주로 하는 1차 기능, 맛과 기호성 측면에서의 2차 기능 그리고 질병의 예방과 치료에 도움이 되는 생체조절의 3차 기능으로 분류된다. 최근, 식품의 3차 기능이 강조된 기능성 식품에 대한 관심이 높아지면서 일반 식품으로부터 향암, 항노화, 항고혈압 등 다양한 생리활성을 나타내는 기능성 성분들에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 가다랑어는 고단백 식품으로 영양적으로 우수할 뿐만 아니라 혈중 cholesterol 농도를 낮춰 동맥 경화를 예방하며 항암 작용이 있다고 알려져 있어 각광을 받는 어류이다(Carrill, 1986; Sanders, 1987; Kromhout, 1985; Phillipson et al., 1985; Mehta, 1987). 또한 다량의 아미노산, 펩타이드, 단백질 등과 같은 합질소 성분뿐만 아니라 기능성 지질성분도 다량 함유하고 있어 식품의 소재로서 활용이 가능한 것으로 알려져 있다(Oh et al., 1987, 1990; Jeong, 1993). 부시는 가다랑어, 참치, 고등어, 정어리 등의 어육을 원료로 자숙, 훈건 및 일건, 곰팡이 불이기 등의 공정을 거쳐 나무막대기처럼 딱딱한 상태의 제품으로 만든 것으로(Oh and Lee, 1988a), 그 중 가다랑어를 원료로 한 가쓰오부시는 특히 우수한 풍미를 가지고 있다고 알려져 있다(Maehashi et al., 1999; Oh and Lee,

1988b; Oh and Lee, 1989a,b). 그러나 가쓰오부시의 생리활성에 관한 연구는 주로 ACE 저해 활성에만(Yoshikawa et al., 2000; Fujita and Yoshikawa, 1999; Fujita et al., 1995; Hiroyuki et al., 2001)에 국한되어 있을 뿐 항암이나 항산화활성 등 다른 생리활성에 관한 연구는 아직 미비한 실정이다. 전보(Lee and Kim, 2004; Lee et al., 2004)에서는 크기가 작아 대부분 어분 또는 양어사료로 이용이 되고 있는 동해산 가다랑어를 가공식품화 하기위해 작은 크기의 가다랑어가 지닌 식품원료로서의 약점을 보완한 가다랑어 훈연조미제품을 제조하여 저장기간에 따른 품질변화, 정미성분 및 관능적 변화를 분석하였으며, 본 연구에서는 가다랑어 훈연조미제품에서 생성되는 저분자 생리활성물질을 분획하여 항암, 항산화, ACE 저해, 항혈액 응고활성 및 신경세포사 억제활성을 측정하였다.

#### 재료 및 방법

##### 훈연가다랑어 조미제품의 제조

전보(Lee and Kim, 2004)와 같이 제조하였다. 즉, 2001년 12월 동해안 삼척근해에서 어획한 무게 1-2 kg, 길이 20-25 cm의 냉동(-40℃에서 3개월 저장) 가다랑어(*Euthynus pelamis*)를 해동시켜 머리, 내장을 제거한 후 fillet으로 만들어 다시마(20 g/L) 및 가다랑어 머리부분(3-4개/L)으로 1 시간 동안 끓인 자숙액에 20분간 조미한 다음 참나무 목초액(원미식품, 원주)

\*Corresponding author: smkim@kangnung.ac.kr

을 처리하여 혼연기(Alto-Shaam Co., USA)로 혼연하여 50 mesh 이하로 분쇄하였다. 혼연분말제품 20 g에 물 200 mL를 첨가하여 100°C에서 20분간 가열한 다음 상온으로 자연냉각하여 시료로 사용하였다.

#### 저분자물질의 분획

시료를 sulfosalicylic acid로 단백질을 제거한 다음, 4°C에서 PM10 (MWCO 3000) membrane filter (Amicon, Bedford, MA, U.S.A.)를 사용하여 분자량 3,000 dalton 이하로 분획하였다. 분획된 액은 40°C에서 감압 농축한 다음 Bio-Rad P-2 gel (Bio-Rad, CA)을 충전한 column (2.6×70.0 cm)에서 0.5 mL/min의 유속으로 용출하여 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도의 분획을 초과하는 농도의 fraction은 증류수로 희석하여 흡광도를 측정하고 다음 희석배수를 곱하여 농도를 표시하였다. 최대 흡광도의 50% 이상의 fraction을 pooling하여 실험에 사용하였다.

#### Peptide-Nitrogen 함량

Peptide-nitrogen 함량의 측정은 Umemoto (1966)의 개량 biuret법에 의하여 측정하였다.

#### 항암활성(MTT-assay)

In vitro 항암실험을 위해 사용된 암세포주는 인체에서 유래한 위암세포인 SNU-1 (서울대학교, 서울)을 한국세포주은행(서울, 한국)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 암세포 SNU-1은 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin 및 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 RPMI 1640배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양된 각각의 암세포는 일주일에 2-3회 배지를 교환해주며 75 mL cell culture flask에 5 mL씩 분할하여 주입하고 6-7일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 동물세포에 대한 시료의 암세포 성장 저해효과를 측정은 Carmichael et al. (1987)의 방법에 따라 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyltertrazoliumbromide (MTT) 분석방법으로 측정하였다. 즉, 동물세포를 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well이 되게 분주하고 일정농도의 시료 20 μL를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 96시간 배양하였다. 여기에 5 mg/mL MTT 용액 20 μL를 첨가하고 다시 상기와 같은 조건에서 4시간 더 배양하였으며 이 때 대조구로는 증류수를 사용하였다. 배양액을 원심분리 (8,000 g, 10 min)하여 상층액을 제거하고 각 well당 dimethylsulfoxide (DMSO) 150 μL를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader(Molecular Device Co.)로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식을 이용하여 성장억제효과 항암활성을 구하여 세포 독성 활성의 지표로 하였다.

Cytotoxicity (%) =

$$\left( \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료 처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \right) \times 100$$

#### 항산화활성

각 시료의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical에 대한 소거효과 측정은 Blois 방법(1958)으로 측정하여 항산화능의 지표로 삼았다. 즉, methanol로 농도를 조정된 시료 4 mL를 취하고, 0.15 mM DPPH 1 mL와 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 methanol을 사용하였으며 다음 식을 이용하여 DPPH radical 소거활성을 구하였다.

Reduction of DPPH (%) =

$$\left( \frac{\text{시료 처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \right) \times 100$$

#### ACE 저해활성

ACE 활성의 측정은 Chshman and Cheung의 방법(1971)으로 측정하였다. 즉, lung acetone powder (Sigma chemical Co., St Louis, MO) 1 g에 400 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 10 mL를 가한 다음 5°C에서 24시간 교반한 후 원심분리(8,000 g, 30 min)하여 얻은 상층액을 ACE 조효소액으로 사용하였다. 대조구는 시료 대신 400 mM sodium borate buffer (pH 8.3)를 사용하였다. 반응구는 시료 100 μL에 ACE 효소액 20 μL를 가한 다음 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 기질로써 0.5 mM Hippury-L-histidyl-L-leucine (HHL) (2.14 mg/mL) 200 μL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μL를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 2 mL를 가하여 15초간 교반한 다음 원심분리(1,350 g, 5 min)하여, 상층액 1 mL를 취하였다. 이 상층액을 완전히 건조시킨 뒤 1 M NaCl 3 mL를 가하여 용해한 다음 추출된 hippuric acid 농도를 228 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 계산식을 이용하여 ACE 저해활성을 계산하였다.

ACE inhibitory activity (%) =

$$\left( 1 - \frac{\text{시료 처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \right) \times 100$$

#### 항혈액 응고활성

항혈액응고 실험은 Hara et al. (1994)의 방법에 따라 실시하였다. PT (prothrombin time) 측정은 500 μL의 sodium citrate 용액에 정상인의 혈액 4.5 mL를 섞은 후 원심분리(1,000 g, 5 min)하여 plasma를 분리하여 PT의 시료로 하였다. 30분 이상 warming 시킨 시계에 option ball을 1개씩 sample cup에 넣은 후 혈장 100 μL에 시료용액 10 μL를 넣고 교반한 다음 37°C에서 2분간 incubation 한 후, 여기에 37°C에서 15분간 incubation 한 thromboplastin을 200 μL 넣음과 동시에 응고시간을 측정하였다. APPT (activated partial thromboplastin time)는 500 μL의 sodium citrate 용액에 정상인의 혈액 4.5 mL를 첨가한 다음 원심분리 (1,000 g, 5 min)하여 plasma를 분리하여 제조하였다. APTT 측정은 혈장 100 μL에 시료용액 10 μL를 넣고 교반한 다음 37°C 항온수조에서 1분간 가온하였다. 여기에 100 μL actin을 첨가한 후 다시 37°C의 20 mM CaCl<sub>2</sub> 100 μL를

냉음과 동시에 응고시간을 측정하였다. 대조구로 증류수를 첨가하였으며, Clotting time은 Sysmex CA-540 (Sysmex Co., Japan)으로 측정하였다.

**신경세포사 억제활성**

신경세포사 억제활성을 위한 *in vivo* ischemic model 제작은 65-75 g 내외의 수컷 Mongolian gerbil을 수술을 행하지 않는 정상군, 증류수를 투여한 대조군, 그리고 가다랑어 훈연조미제품투여군으로 나누어 10마리씩 실험에 사용하였다. 가다랑어 훈연조미제품의 신경세포사 억제효과를 확인하기 위해 뇌허혈 유발 30분 전, 후에 가다랑어 훈연조미제품을 100 mg/kg용량으로 경구투여 하였다. 뇌허혈 유발 4일 후에 4% paraformaldehyde로 관류시켜 전신을 고정하였으며, 고정이 끝나면 두개강을 열고 신속히 뇌를 꺼낸 다음 동일고정액에 6시간 동안 후고정을 실시하였다. 후고정이 끝난 조직을 30% sucrose 용액에서 반응시켰다. 반응이 끝난 조직은 30 μm 두께의 조직을 만들고 이 중 hippocampus가 나타난 조직을 골라 slide glass에 얹어 12시간 건조를 한 다음 cresyl violet 염색을 수행하였다. 해마의 CA (Cornus ammonis) 1영역의 세포수를 image analyzer (Optimas pro 6.5)를 이용하여 계수한 다음 가장 일반적인 부분을 Axiophot microscope (Carl Zeiss, Germany)를 이용하여 사진촬영을 실시하였다.

**통계처리**

실험결과에 대한 통계적인 유의성 검정은 SPSS Ver. 10.0 program (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA)을 이용하여 Duncan's multiple comparison test로 95% 신뢰도에서 유의차를 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**저분자 물질의 특성**

가다랑어 훈연조미제품의 열수 추출물을 gel permeation chromatography로 분석한 결과 총 7개의 분획물을 얻었으며 이들의 peptide-nitrogen 함량은 0.10-1.25 mg/mL로 나타났다 (Fig. 1). 본 실험에서 사용한 Bio-Rad P-2 gel은 100-1,800 daltons 사이의 분자량을 분획할 수 있는 능력을 지니고 있어

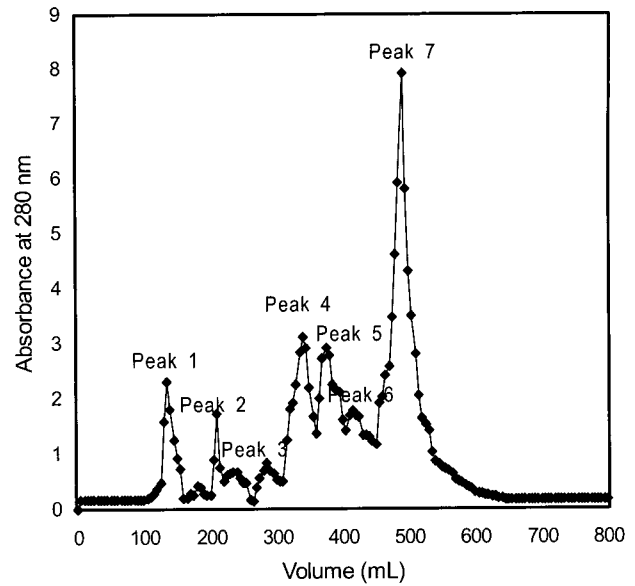


Fig. 1. Elution profile of low-molecular weight substances purified from the liquid extract of seasoned and smoked skipjack tuna powder (*Euthynus pelamis*) on Bio-Rad P2 gel column (2.6×70.0 cm).

Fig. 1의 Peaks들은 상대적으로 낮은 분자량을 가진 물질일 것으로 추정되어 진다.

**항암활성**

가다랑어 훈연조미제품 유래 저분자 물질의 항암활성은 Peak 3 에서 54.23% (IC<sub>50</sub> 0.2 mg/mL, 비활성 246.5%·mL/mg)로 가장 높았다(Table 1). Chung et al. (1998)은 대두발효식품의 암세포주에 대한 세포 독성 조사 실험에서 된장 메탄올 추출물 및 청국장 메탄올 추출물은 사람의 암세포 SNU-1에 대해서 성장 억제 효과를 나타내었다고 하였으며, 이때의 IC<sub>50</sub>는 각각 13.38 및 0.756 mg/mL이었다고 보고 하였다. Yang et al. (1996)은 전통 약용식물 및 각종 식물의 항암 효과에 대한 연구에서 약용식물의 추출물은 10-100 μg/mL 사이에서 SNU-1에 대한 항암활성을 나타내었다고 보고하였으며, 본 실험의 Peak 3 (cytotoxicity, 54.23%) 및 Peak 4 (cytotoxicity, 41.58%)의 항암

Table 1. Biological activities of low molecular substances fractionated from the liquid extract of seasoned and smoked skipjack tuna (*Euthynus pelamis*)

Low molecular substance	Peptide-N (mg/mL)	Yield (%)	Cytotoxicity (%)	Specific cytotoxicity activity (%·mL/mg)	Antioxidative activity (%)	Specific antioxidative activity (%·mL/mg)	ACE inhibitory activity (%)	Specific ACE inhibitory activity (%·mL/mg)
Peak 1	1.25	33.97	1.34 <sup>a</sup>	1.1	7.65 <sup>a</sup>	6.1	4.21 <sup>a</sup>	3.4
Peak 2	0.29	7.88	28.34 <sup>c</sup>	97.7	82.07 <sup>d</sup>	283.0	6.14 <sup>a</sup>	21.2
Peak 3	0.22	5.98	54.23 <sup>b</sup>	246.5	94.14 <sup>e</sup>	427.9	67.27 <sup>e</sup>	305.8
Peak 4	0.85	23.10	41.58 <sup>d</sup>	43.9	54.24 <sup>c</sup>	63.8	2.85 <sup>a</sup>	3.4
Peak 5	1.04	28.26	3.14 <sup>a</sup>	3.0	81.24 <sup>d</sup>	78.1	45.62 <sup>d</sup>	43.9
Peak 6	0.10	2.72	17.35 <sup>b</sup>	173.5	49.23 <sup>b</sup>	492.3	12.56 <sup>b</sup>	125.6
Peak 7	0.43	11.68	2.62 <sup>a</sup>	6.1	6.74 <sup>a</sup>	15.7	21.32 <sup>c</sup>	49.6

<sup>a-c</sup>Means with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

활성과 유사한 경향을 나타내었다.

### 항산화활성

가다랑어 훈연조미제품의 열수추출물에서 분획한 저분자 물질의 항산화 활성은 Peak 3 (94.15%), Peak 2 (82.07%) 및 Peak 5 (81.24%) 순으로 높게 나타났다(Table 1). 그러나 비활성(specific activity)은 Peak 6 (492.3%·mL/mg), Peak 3 (427.9%·mL/mg), Peak 2 (283.0%·mL/mg) 순으로 측정되었다. Park et al. (1998)은 *Symphycydia latuscula*의 추출물에 대한 항산화 활성에 대한 연구에서 추출물의 IC<sub>50</sub>은 3.14-15.44 µg/mL로 나타났다고 하였으며, 특히 천연항산화제(L-ascorbic acid 및 α-tocopherol) 및 합성항산화제(BHA 및 BHT)의 IC<sub>50</sub>은 각각 1.22 및 1.28, 1.06 및 3.21 µg/mL로 측정되었다고 보고하였다. 본 연구의 가다랑어 훈연조미제품 유래 저분자물질의 IC<sub>50</sub>은 0.12 µg/mL (Peak 3), 0.17 µg/mL (Peak 2) 및 0.64 µg/mL (Peak 5)로 천연항산화제 및 합성항산화제에 비해 높은 활성을 나타내는 것으로 나타났으며, 시료 자체가 100% 완전 정제 물질이 아닌 것을 고려해 볼 때 가다랑어 훈연조미제품에서 유래한 저분자물질은 아주 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 생각된다. 약 10,000 daltons 크기의 대구 frame 효소가수분해물은 α-tocopherol과 비슷한 항산화활성을 가지고 있으나, 대구고기 효소가수분해물의 경우 1,000 Da 이하의 분자량에서 항산화활성이 높았다고 한다(Kim et al., 2000). 본 실험에 높은 항산화활성을 가지는 저분자물질의 또한 분자량이 1,000 Da 내외로 생각되며, 정제과정을 통한 분자량 측정 및 아미노산 조성에 관한 연구가 필요할 것으로 생각되어 된다.

### ACE 저해활성

가다랑어 훈연조미제품의 ACE 저해활성은 Peak 3 및 Peak 5에서 각각 67.27 및 45.62%로 가장 높게 나타났으며(Table 1), 비활성(specific activity)은 Peak 3 (305.8%·mL/mg) 및 Peak 6 (125.6%·mL/mg)에서 높게 나타났다. Yeum et al. (1992)은 ACE 저해 작용에는 단백질의 함량보다는 그 중의 peptide의 종류에 따른 영향이 크다고 보고 하였으며 Lee et al. (1999)도 해조류의 ACE 억제효과 연구에서 미역의 경우 가수분해시간이 길어지면서 peptide-nitrogen량은 증가하였으나 ACE 효과는 감소하였다고 하였으며, ACE 저해활성은 peptide-nitrogen 생성량과도 관련이 있지만 peptide의 종류에 더 큰 영향을 받는다고 하였다(Yeum et al., 1992, 1993). 본 실험에서도 ACE 저해활성은 peptide-nitrogen량에 비례하지 않아 상기와 같은 원리가 적용된 것으로 보여지며, ACE 저해활성에 차이가 나는 것은 가다랑어 훈연조미제품의 열수추출에 의해 생성된 peptide의 사슬 길이나 구조 및 그 아미노산의 배열이 다르기 때문으로 보여진다.

### 항혈액 응고활성

가다랑어 훈연조미제품으로부터 분획한 저분자물질의 PT와 APTT에 미치는 영향을 알아보았다(Table 2). 대조구의 PT와 APTT의 값은 9.8 및 25.1 sec로 측정되었다. 가다랑어 훈연

Table 2. In vitro coagulation times (PT and APTT) of low molecular substances fractionated the liquid extract of seasoned and smoked skipjack tuna (*Euthynus pelamis*)

Low molecular substances	Peptide-N (mg/mL)	Antithrombic activity (sec)	
		PT	APTT
Control	-	9.87 <sup>a</sup>	25.10 <sup>a</sup>
Peak 1	1.25	9.93 <sup>a</sup>	25.40 <sup>a</sup>
Peak 2	0.29	9.91 <sup>a</sup>	25.80 <sup>a</sup>
Peak 3	0.22	11.03 <sup>b</sup>	27.24 <sup>b</sup>
Peak 4	0.85	11.24 <sup>b</sup>	28.59 <sup>b</sup>
Peak 5	1.04	9.89 <sup>a</sup>	25.14 <sup>a</sup>
Peak 6	0.10	9.92 <sup>a</sup>	25.43 <sup>a</sup>
Peak 7	0.43	9.83 <sup>a</sup>	25.99 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Means with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

조미제품의 PT와 APTT의 값은 9.83-11.24 및 25.14-28.59 sec로 대조구와 큰 차이는 나타내지 않았다. 그러나 정제된 Peak 중 Peak 3 및 4의 PT의 값은 11.03 및 11.24 APTT의 값은 27.24, 및 28.59 sec로 대조구보다 약간 높은 항혈액 응고활성을 나타내었다. 다른 실험구는 대조구와 거의 유사한 값을 나타내었다. Song et al. (2002)은 오배자의 항혈액 응고효과에 관한 연구에서 PT 및 APTT는 19.41 및 32.64 sec로 나타났다고 보고 하였으며, Yoon et al. (2000)은 해조류의 항혈액 응고활성 연구에서 동해산 해조류의 APTT는 36-290 sec로 다양하게 나타났으며, 냉수나 열수 등의 수용성 획분 에는 단백질이나 다당 등의 고분자류의 함량이 높는데 이러한 고분자류가 항응고 활성에 관여한다고 보고 하였다. 본 실험에 사용된 가다랑어 훈연조미 액상제품은 정제 과정에서 분자량 100-1,800 dalton으로 정제하였기 때문에 시료에 포함된 고분자류는 포함되어 있지 않아 낮은 항혈액 응고활성을 나타낸 것으로 생각되어진다.

### 신경세포사 억제활성

수술을 실시하지 않은 가수술군의 경우 해마(hippocampus)의 전영역에 걸쳐 cresyl violet에 신경세포가 염색되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1A,C). 그러나 증류수를 투여한 군의 경우 뇌허혈 유발 4일경에는 해마의 CA1영역에서는 cresyl violet에 염색성을 나타내지 않는 것을 확인할 수 있어, 이 시기에 뇌허혈에 의해 신경세포사가 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, cresyl violet에 염색된 세포의 수는 정상군에 비해 11.2% 정도의 세포만을 확인할 수 있었다(Fig. 2B,D). 가쓰오부시 훈연조미제품 유래 저분자 물질에서 분획한 총 7개의 peak의 신경세포사 억제활성 효능을 확인한 결과 7개의 분획물 중에서 2개의 분획물(Peak 3 및 5)에서 뇌허혈에 의한 신경세포사 억제 효과가 관찰되었다(Fig. 3). 특히 peak 3의 경우 cresyl violet에 염색되는 세포수는 정상군과 비교했을 때 약 80% 정도임을 확인할 수 있었으며, peak 5의 경우도 정상군과 비교해서 40% 정도의 세포가 cresyl violet에 염색되는 것을 확인할 수 있었다(Fig 4). 그러나 그 외에 Peak에서는

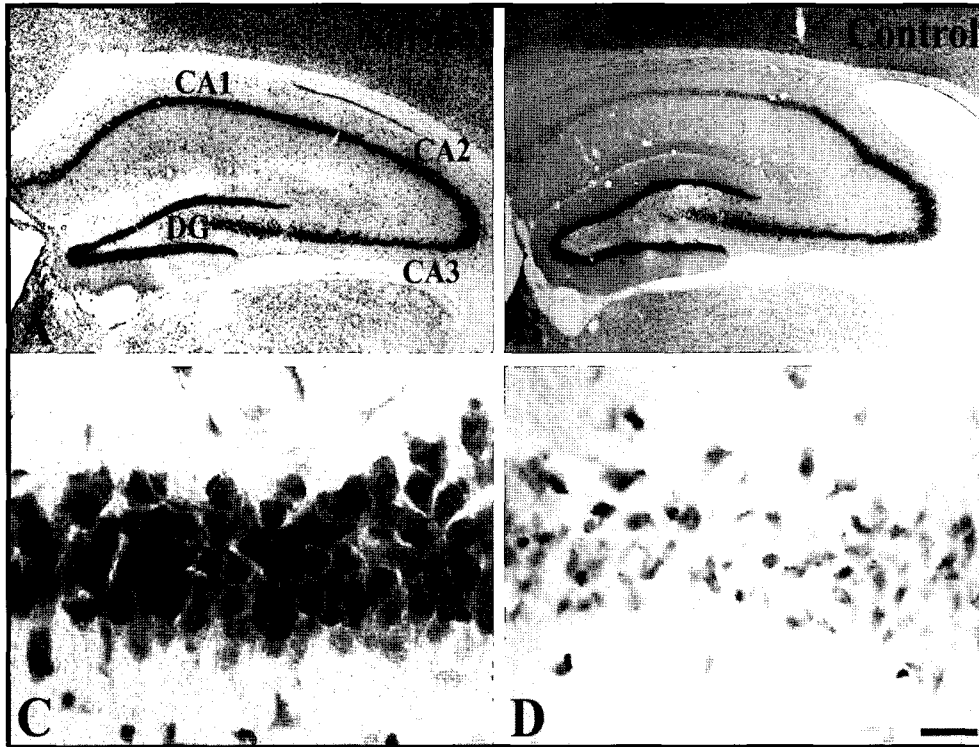


Fig. 2. Microphotographs of the hippocampus stained with cresyl violet in the normal group (A and C), vehicle-treated control group (B and D) 4 days after ischemic insult. Scale bar=800  $\mu$ m (A and B), 50  $\mu$ m (C and D).

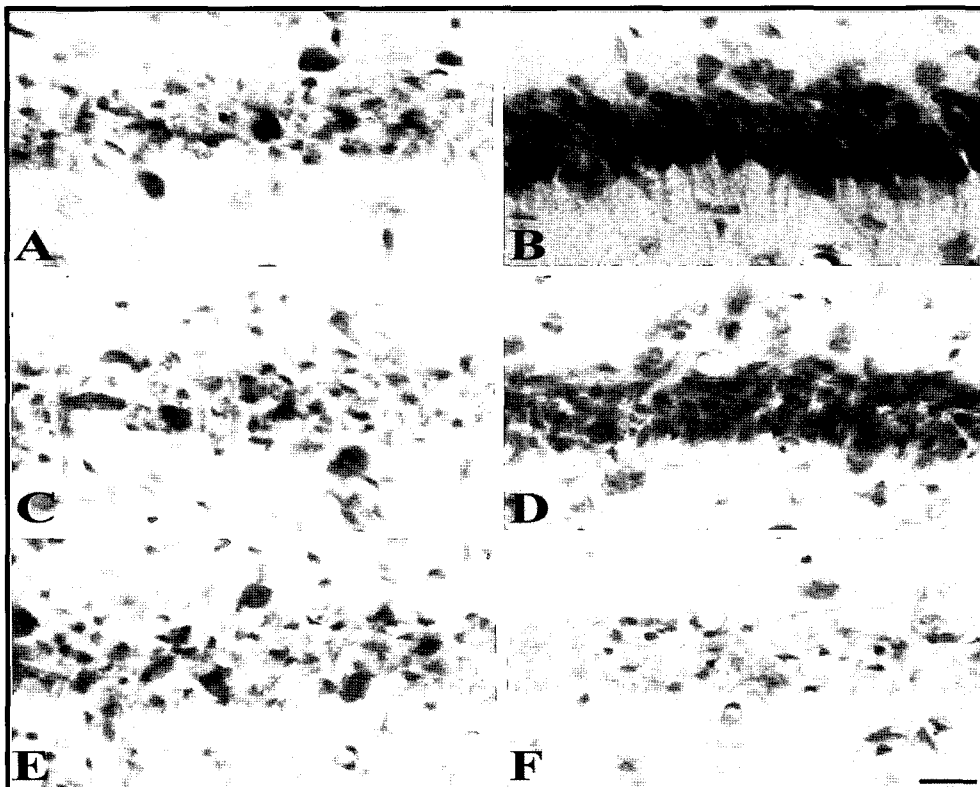


Fig. 3. Microphotographs of hippocampal CA1 region in the liquid extract of seasoned and smoked skipjack tuna (*Euthynus pelamis*) powder after 4 days of ischemic insult. Scale bar=50  $\mu$ m.

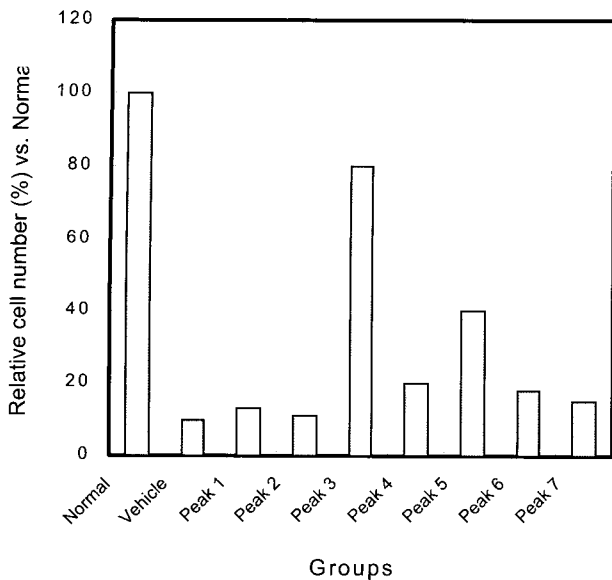


Fig. 4. Relative numeric analyses of cresyl violet positive neurons in the vehicle-treated and in the liquid extract of seasoned and smoked skipjack tuna (*Euthynus pelamis*) powder treated groups versus the normal group.

cresyl violet에 염색되는 세포의 수가 용매를 투여한 군과 비슷하게 관찰되었다(Figs. 3,4).

## 사 사

본 연구논문은 2001년도 한국과학재단 지역협력연구센터(한림대 실버생물산업기술센터 R12-2001-047-03004-0)의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1119-1200.
- Carrill, K.K. 1986. Biological effects of fish oils in relation to chronic diseases. *Lipids*, 21, 732-736.
- Charmichael, J., E.G. Degraff, A.F. Gazdaar, J.D. Minna and J.B. Michell. 1987. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, 47, 936-942.
- Chung, K.S., K.D. Yoon, D.J. Kwon, S.S. Hong and S.Y. Choi. 1998. Cytotoxicity testing of fermented soybean products with various tumour cells using MTT assay. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 477-482.
- Cushman, D.W. and H.S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1637-1648.
- Fujita, H. and M. Yoshikawa. 1999. LKPNM: a prodrug-type ACE inhibitory peptide derived from fish protein. *Immunopharmacology*, 44, 123-127.
- Fujita, H., K. Yokoyama, R. Yasumoto and M. Yoshikawa. 1995. Antihypertensive effect of thermolysin digest of dried bonito in spontaneously hypertensive rat. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.*, 22, S304-305.
- Hara, T., A. Yokoyama, H. Ishihara, T. Nagahara and M. Iwanoto. 1994. DX-9065a, a new synthetic, potent anticoagulant and selective inhibitor for factor Xa. *Thromb. Haemost.*, 71, 314-319.
- Hiroyuki, F., Y. Tomohide and O. Kazunori. 2001. Effects of an ace-inhibitory agent, katsuobushi oligopeptide, in the spontaneously hypertensive rat and in borderline and mildly hypertensive subjects. *Nutr. Res.*, 21, 1149-1158.
- Jeong, B.Y. 1993. Isolation and purification of DHA from skipjack orbital tissue oil. *J. Kor. Fish. Soc.*, 26, 529-537.
- Kim, S.K., Y.R. Choi, P.J. Park, J.H. Choi and S.H. Moon. 2000. Purification and characterization of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysate of cod teiset protein. *J. Kor. Fish. Soc.*, 33, 198-204.
- Kromhout, D. 1985. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *New Engl. J. Med.*, 312, 1205-1210.
- Lee, H.O., H.D. Yoon, Y.S. Jang, S.B. Suh and Y.S. Ko. 1999. Angiotensin - I converting enzyme inhibitory activity of algae. *J. Kor. Fish. Soc.*, 32, 738-746.
- Lee, J.M. and S.M. Kim. 2004. Quality changes of seasoned and smoked skipjack tuna (*Euthynus pelamis*) powder and liquid products captured in the East Sea. *J. Kor. Fish. Soc.*, 37, 77-84.
- Lee, J.M., S.J. Bang and S.M. Kim. 2004. Changes in taste compounds and sensory qualities of the seasoned and smoked products of skipjack tuna (*Euthynus pelamis*) captured in the East Sea during storage. *J. Kor. Fish. Soc.*, 37, 366-371.
- Maehashi, K., M. Matsuzaki, Y. Yamamoto and S. Udaka. 1999. Isolation of peptides from an enzymatic hydrolysate of food proteins and characterization of their taste properties. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63, 555-559.
- Mehta, J. 1987. Eicosapentaenoic acid, its relevance in atherosclerosis and coronary heart disease. *Am. J. Cardiol.*, 59, 155-161.
- Oh, K.S. and E.H. Lee. 1988a. Studies on the processing of powdered katsuobushi and its flavor constituents. 1. Processing conditions of powdered katsuobushi and its taste compounds. *J. Kor. Fish. Soc.*, 21, 21-29.
- Oh, K.S. and E.H. Lee. 1988b. Studies on the processing

- of powdered katsuobushi and its flavor constituents.  
2. Lipid components of powdered katsuobushi. Bull. Kor. Fish. Soc., 22, 19-24.
- Oh, K.S. and E.H. Lee. 1989a. Studies on the processing of powdered katsuobushi and its flavor constituents.  
3. Volatile flavor components of powdered katsuobushi. Bull. Kor. Fish. Soc., 22, 169-176.
- Oh, K.S. and E.H. Lee. 1989b. Studies on the processing of powdered katsuobushi and its flavor constituents.  
4. Extractive conditions and sensory evaluation of taste compounds of powdered katsuobushi. J. Kor. Fish. Soc., 22, 228-232.
- Oh, K.S., E.H. Lee, M.C. Kim and K.H. Lee. 1987. Antioxidative activities of skipjack meat extract. J. Kor. Fish. Soc., 20, 441-446.
- Oh, K.S., J.G. Kim, I.S. Kim, E.H. Lee and B.G. Kim. 1990. Components of white and dark muscle of skipjack for canning. J. Kor. Fish. Soc., 23, 178-184.
- Phillipson, B.E., D.W. Rothrock, W.E. Connor, W. Harris and R. Ellingworth. 1985. Reduction of plasma, lipoprotein and apoprotein by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. New Engl. J. Med., 312, 1210-1217.
- Sanders, T. 1987. Fish and coronary artery disease. Br. Heart J., 57, 214-219.
- Song, G.Y., B.J. Park and S.H. Kim. 2002. Antithrombotic effect of galla rhois. Kor. J. Pharmacogn., 33, 120-123.
- Umamoto, S. 1966. A modification method for estimation of muscle protein by biuret method. J. Jap. Soc. Sci. Fish., 32, 427-435.
- Yang, Y.M., J.W. Hyun, K.H. Lim, M.S. Sung, S.S. Kang, W.H. Paik, K.W. Bae, H. Cho, H.J. Kim, E.R. Woo, H.K. Park and J.G. Park 1996. Antineoplastic effect of extracts from traditional medicinal plants and various plants (III). Kor. J. Pharmacogn., 27, 105-110.
- Yeum, D.M., T.G. Lee, H.S. Byun, S.B. Kim and T.H. Park. 1992. Angiotensin - I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. J. Kor. Fish. Soc., 25, 229-235.
- Yeum, D.M., T.G. Lee, J.R. Do, O.K. Kim, Y.B. Park, S.B. Kim and Y.H. Park. 1993. Characteristics of angiotensin - I converting enzyme inhibitors derived from fermented fish product. J. Kor. Fish. Soc., 26, 416-423.
- Yoon, J.A., K.W. Yu, W.J. Jun, H.Y. Cho, Y.S. Son and H.C. Yang. 2000. Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extraction condition. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 29, 1098-1106.
- Yoshikawa, M., H. Fujita, N. Matoba, Y. Takenaka, T. Yamamoto, R. Yamauchi, H. Tsuruki and K. Takahata. 2000. Bioactive peptides derived from food proteins preventing lifestyle-related diseases. Biofactors, 12, 143-146.

---

2004년 11월 11일 접수

2005년 8월 4일 수리