Journal of Life Science 2008 Vol. 18. No. 1. 109~113 ©JLS / ISSN 1225-9918

조리에 따른 미더덕의 생리기능성 효과 변화

차용준* · 이희영 · 정은정

창원대학교 식품영양학과

Received December 21, 2007 / Accepted January 9, 2008

Changes of Biological Activites of Two Ascidians, *Styela clava* and *Styela plicata*, by Cooking. Yong Jun Cha*, Hee Young Lee and Eun Jeong Jeong. *Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea* - For useful basic data in new ascidian processed products, this study investigated and compared the biological activities of two ascidians, *Styela clava* and *Styela plicata*, in two conditions with fresh one and cooking one at 100°C for 10 min. By fresh state, *Styela clava* (8.46 mg/ml) had higher activity than *Styela plicata* (13.67 mg/ml) in the antioxidative assay (EDA_{50}), whereas *Styela plicata* (10.54 mg/ml) had higher than *Styela clava* (12.05 mg/ml) after cooking. Particularly the antioxidative activity of *Styela plicata* increased 1.3 times after cooking. Fresh *Styela clava* had antimicrobial activity against *Bacillus subtilis, B. cereus, E. coli,* whereas the activity appeared against *E. coli* only after cooking. However, antimicrobial activity in *Styela plicata* appeared against 4 gram positive bacteria (*B. subtilis, B. cereus, S. aureus* and *L. monocytogenes*) and *E. coli,* regardless of concentration level (1,000-1,500 ppm) and with/without cooking. ACE inhibitory activity was not observed in the samples. By cooking, the level of fibrinolytic activity increased to 1.79 from 1.24 plasmin unit/ml in *Styela plicata,* whereas the level decreased to 1.55 from 1.62 in *Styela clava.*

Key words : *Styela clava, Styela plicata,* antioxidative assay, antimicrobial activity, fibrinolytic activity

서 론

미더덕과(*Styelidae*)는 무척추동물 중 우렁쉥이와 같은 미색류(尾索類)에 속하는 해양생물로서 5-10 cm의 길이에 황갈색을 띄며 외피는 섬유질과 같은 물질로 딱딱하다. 바닷물이 들어오고 나가는 구멍이 몸에 있어 우렁쉥이와 같이 sea squirt로 불리고 있다[9].

미더덕과의 대표적인 미더덕(*Styela clava*)은 번식력이 강하여 굴의 해적생물로서 문제가 되기도 하였으나 80년대 중반부터 본격적인 양식이 시작되어 어민들의 소득증대에 기여하고 있다[1,15]. 현재 진해만을 중심으로 양식되고 있으며, 연중 4월부터 7월 사이에 생산량이 가장 많은 시기이며, 경남 마산시에서 우리나라 소비량의 80%를 생산하고 있다[8]. 독특한 향미를 가지고 있는 미더덕의 소비형태는 주로 찜이나 된장찌개 등의 재료로 이용되고 있으며, 횟감용으로는 4-5월경에 채취된 것이 이용되고 있어[15], 중장년에서부터 젊은 세대에까지 그 선호도는 매우 높다.

흰멍게(*Styela plicata*)는 미더덕과의 일종으로 패각이나 바위 또는 굴양식장의 로우프에 부착하여 성장하는 자웅동체(雌雄同體)의 생물이다[13]. 일반적으로 미더덕(*Styela clava*)을 참미더덕이라 부르는 반면에, 흰멍게(*Styela plicata*)는 오만둥이로 일반인에게 널리 알려져 있다. 이용 가공면에서 보면 미더덕은 껍질을 잘 먹지 않는 편이지만 흰멍게는 껍질이 부드럽고 쫄깃하여 씹는 맛이 좋아 껍질째로 찜이나 된장찌개에 이용되고 있다.

이러한 미더덕(*Styela clava*)에 관한 연구로는 계절에 따른 영양성분의 조성[15], 정미성분[16] 및 지방질성분[12]에 관한 연구가 많이 시도되어, glutamic acid, taurine, aspartic acid, alanine, glycine 등의 아미노산, Na, K, Mg, Ca 등의 미네랄, 인지질, betaine, 핵산관련물질 및 유기산(succinic acid)의 함량이 많아 다른 연체동물에 비해 영양생리적인면이나 정미성분에서도 매우 손색이 없다는 것이 밝혀졌다. 한편 흰멍게에서도 미더덕과 마찬가지로 proline, alanine, glutamic acid, serine 등의 아미노산, 핵산관련물질(IMP), betaine, TMAO 및 총creatinine 등이 정미성분의 주요인이라고 밝혀졌다[13].

최근에는 미더덕 추출물의 항산화효과[9,10] 및 세포독성에 관한 연구[8], 미더덕의 1차가공 폐기물인 껍질로부터 생리기능성 물질로서 분리한 carotenoprotein [11], glycosaminoglycan [1]의 특성에 관한 연구와 이러한 미더덕과 흰멍게를 이용한 술의 제조[7], 된장에 흰멍게를 첨가하여 생리적 기능성을 가지는 해물된장에 관한 시제품[5]도 출시된 바 있다.

그러나 현재까지 미더덕이나 흰멍게는 적절한 가공방법이 개발되지 않아 단순 1차가공의 범주를 벗어나지 못하고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 이들 미더덕의 사용빈도가 가장 높은 된장찌게에 첨가되는 조건과 같은 열처리 온도에서의 미더덕이 가지는 생리기능성 효과를 밝혀 새로운 가공제품의 개발시 기초자료를 제공하고자 한다.

***Corresponding author**
Tel : +82-55-213-3513, Fax : +82-55-281-7480
E-mail : yjcha@changwon.ac.kr

재료 및 방법

시료

실험에 사용된 미더덕류, 미더덕(*Styela clava*) 및 흰멍게(*Styela plicata*), 는 경남 마산시 진동면 고현리에 소재한 미더덕영어조합에서 구입하여, 실험실로 운반한 다음 이물질 제거 후 세척하여 사용하였다. 다음으로 생시료와 100°C에서 10분간 가열 조리한 시료를 각각 진공 동결건조(Vacuum freeze dryer, Ilsin engineering Co. Seoul) 하여 분말화 하였다. 이때 가열조리한 경우는 시료에 3배량의 물을 넣고 끓인 것을 시료로 하였다. 다음으로 시료중량의 5배 메탄올로 하룻밤 동안 교반·추출한 다음, 여과(whatman No.2)한 후 회전식 진공증발기(Eyela, N-INW, Tokyo Rikakikai Co. Ltd., Japan)로 농축시켜 DMSO (Dimethyl sulfoxide, Kanto, Japan)에 녹인 다음 냉동고(-26°C)에 보관하면서 검색용 시료로 사용하였다. 혈전용해활성 시험의 경우 가열조리한 미더덕류는 3배량의 물과 함께 끓여 그 여액을 검색용 시료로 사용하였다.

항산화성 측정

항산화성 시험은 식품영양실험핸드북의 방법[21])에 준하여 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Aldrich Co., USA) 활성을 측정하여 DPPH에 대한 전자공여능(Electron donating ability, EDA (%))과 free radical inhibition의 50% 억제농도인 EDA_{50} (mg/ml)을 구하여 비교하였다. 이때 대조구로서 합성항산화제인 BHA, BHT와 천연항산화제인 α-tocopherol을 사용하여 같은 방법으로 측정하였다.

항균성 측정

항균성 시험에 사용한 균주는 식중독 및 병원성균으로 그람 양성균 4종, *Bacillus subtilis* (KCTC 1021), *Bacillus cereus* (KCTC 1012), *Staphylococcus aureus* (KCTC 1916), *Listeria monocytogenes* (KCTC 3710) 및 그람 음성균 2종, *Escherichia. coli* (KCTC 1924), *Salmonella typhimurium* (KCTC 2515)을 선택하여 사용하였다. 미생물 배양에 사용된 배지는 모두 Difco Co. (USA) 제품을 사용하였으며, 항균력 측정용 배지로는 Mueller-Hinton agar를 사용하였다. 항균력 시험은 전보[3]에서와 같이 paper disk법을 사용하였다.

항고혈압성 측정

항고혈압성 측정은 Angiotensin-I converting enzyme (ACE) 저해능으로 실험하였는데 ACE 조효소액 조제는 Cushman과 Cheung의 방법[6]에 따라 제조하였으며, ACE 저해활성측정은 Trinitrobenzene Sulfonate (TNBS)를 이용한 색도계 측정 방법[15]에 따라 측정하였다. 이때 효소저해 활성은 IC_{50}으로 나타내었다.

혈전용해활성 측정

Astrupt의 방법[2]을 변형하여 67 mM 인산완충용액(pH 7.4)으로 fibrinogen을 최종농도가 0.5%가 되도록 완전히 용해시킨 용액 5 ml에 동량의 1% agarose 5 ml를 첨가하여 혼합하였다. 혼합한 용액에 thrombin (50 unit/ml) 0.2 ml를 첨가하여 충분히 혼합한 후 즉시 petri dish에 붓고 고화시켜 fibrin plate를 제조하였다.

고화된 fibrin plate에 pasteur pippet으로 지름 5 mm의 구멍을 만들어 착즙한 각 시료 20 μl를 주입하고 37°C에서 13시간 반응시킨 다음, 이때 생성된 투명환의 면적을 계산하였으며 대조구로는 정제된 혈전용해효소인 plasmin (1.0 unit/ml)을 사용하여 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하였다.

결과 및 고찰

메탄올추출물의 수율

미더덕과 흰멍게의 생시료와 100°C에서 10분간 조리 후 동결건조한 다음 메탄올추출물의 수율을 측정한 결과, 미더덕 생시료는 20.6%, 조리 후에는 15.1% 였고, 흰멍게 생시료와 조리후에는 각각 14.1% 와 11.4%였다. 조리 후 경우가 시료에 관계없이 생시료에 대해 19-26% 정도 낮은 수율을 보여, 가열 후 극성용매의 추출환경이 나빠진 것으로 생각되었다. Kim 등[10]도 미더덕의 가열처리 후 용매추출 효율을 비교한 결과 생시료에 비해 수율이 낮았다고 하였다.

항산화능(DPPH radical 소거능)

미더덕과 흰멍게의 생시료 및 가열조리후의 항산화능을 DPPH법에 의한 전자공여능으로 측정하였으며, 그 결과를 Table 1에 나타내었다. DPPH를 50% 환원시키는데 필요한 분획물의 농도(EDA_{50}, mg/ml)를 보면, 미더덕에서는 생시료에서 8.46 mg/ml이 가열후에는 12.05 mg/ml로 활성이 떨어져, 생시료에 비해 70%의 잔존율을 보였다. 흰멍게에서는 생시료에서 13.67 mg/ml의 활성이 가열 후에는 10.54 mg/ml로서 오히려 1.3배정도 활성이 증가되었다. 미더덕과 흰멍게 간에는 생시료에서는 미더덕의 DPPH소거능이 좋았고, 가열후에는 흰멍게가 좋았다. 그러나 대조구으로 실험한 합성 및 천연항산화제와 비교한다면 매우 낮은 값이었다. Kim 등[9]과 Kim 등[10]도 미더덕 및 흰멍게에서의 항산화능 실험에서 처리방법 및 추출용제에 따라 DPPH소거능(%)이 다르며 생시료에서는 아세톤추출이 우수하였다고 하였으나 추출수율은 메탄올이 양호하다고 하였다. 한편 미더덕의 DPPH소거능은 비록 활성은 낮으나 그 주체가 carotenoid 계열의 물질들로 밝혀졌다[11,19].

항균력

메탄올추출물의 농도별에 따른 항균력을 paper disk법으

Table 1. Comparison of antioxidative activity (DPPH radical scavenging) in *Styela* species, *Styela clava* and *Styela plicata*

	Materials	*Styela clava*		*Styela plicata*	
		Antioxidative activity (%)	EDA_{50} (mg/ml)	Antioxidative activity (%)	EDA_{50} (mg/ml)
Conditions	Raw	5.92±0.33[1)]	8.46±0.47	3.68±0.39	13.67±1.40
	Heat treatment	4.15±0.17	12.05±0.47	4.77±0.39	10.54±0.89
Reference	α-Tocopherol	84.76±0.13	0.59±0.00		
	BHA	84.29±0.29	0.59±0.00		
	BHT	78.33±0.54	0.64±0.00		

[1)]Mean value±S.D. (n=3).

Table 2. Comparison of antimicrobial activity in *Styela* species, *Styela clava* and *Styela plicata* (unit: mm)

Species	Condition	Conc. (μg)	Clear zone on plate					
			Gram (+)				Gram (-)	
			Bacillus subtilis	*Bacillus cereus*	*Staphylococcus aureus*	*Listeria monocytogenes*	*Escherichia coli*	*Salmonella typhimurium*
Styela clava	Raw	a[1)]	8.5	8.5	-[2)]	-	9.5	-
		b[1)]	8.5	8.5	-	-	10.0	-
	Heat-treatment	a	-	-	-	-	9.5	-
		b	-	-	-	-	11.0	-
Styela plicata	Raw	a	9.5	8.5	8.5	8.5	9.5	-
		b	10.0	8.5	8.5	8.5	10.0	-
	Heat-treatment	a	9.0	8.5	8.5	8.5	9.5	-
		b	9.5	8.5	8.5	8.5	9.5	-

[1)]a: 1,000 ppm, b: 1,500 ppm.
[2)]Not detected.

로 측정한 결과는 Table 2와 같다. 미더덕 생시료의 메탄올 추출물을 1,000-1,500 ppm 농도로 첨가하였을 때 *B. subtilis*, *B. cereus* 및 *E. coli*에 대해서만 항균활성이 있었으며, 가열 후에는 *E. coli* 를 제외하고 활성이 소실되었다. 반면 흰멍게 생시료에서는 4종의 그람양성 식중독균에서 모두 항균활성이 나타났으며, 그람음성균에서는 *E. coli*에 대해서만 활성이 나타났는데 농도에 따른 차이는 거의 없었다. 이러한 항균력은 가열후에도 여전히 생시료에서와 같은 활성을 나타내어, 된장찌개와 같은 조리과정에서 첨가된 흰멍게는 그 자체의 정미성분 뿐만 아니라 생리적 기능성에도 기여할 것이라 추정되었다. 앞으로 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 그리고 미더덕 및 흰멍게 모두 *S. typhimurium* 균에 대해서는 음성이었다. 본 실험의 결과를 식해류의 메탄올추출물[4]과 비교할 때는 비교적 낮은 활성임을 알 수 있었다. 항균활성은 낮지만 이러한 미더덕으로부터 추출한 항균성분의 주체가 w-3 계열의 고도불포화지방산과 sulfated alkene류 물질 등으로 밝혀졌다[22,23].

항고혈압성(ACE저해능)

미더덕과 흰멍게에 대한 ACE저해능을 측정한 결과(Table 3), 모든 시료에서 활성이 나타나지 않았다. 일반적으로 단백질 가수분해물에 의한 효과가 매우 큰 것으로 알려져 있는데, 특히 해산물에서는 dipeptide류와 tripeptide류와 같은 저분자 peptide류가 ACE저해능이 높으며[18], 수산발효식품[3,4] 및 해조류에서도 항고혈압성 효과가 있다고 보고되고 있다[14].

혈전용해능

미더덕과 흰멍게에서의 혈전용해능을 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 생시료에서는 미더덕(1.62 plasmin unit/ml)이 흰멍게(1.24 plasmin unit/ml)에 비해 혈전용해 활성이 매우 높았으나 가열조리 후에는 미더덕은 활성이 4% 정도 감소한 반면에 흰멍게는 1.79 plasmin unit/ml로 활성이 144% 정도 증가하였다. 미더덕의 경우 가열에 의한 혈전

Table 3. Comparison of antihypertensive activity (ACE inhibitory activity) in *Styela* species, *Styela clava* and *Styela plicata*

	Styela clava		*Styela plicata*	
	Raw	Heat-treatment	Raw	Heat-treatment
ACE inhibitory activity	-[1)]	-	-	-

[1)]Not detected.

Table 4. Comparison of fibrinolytic activity in *Styela* species, *Styela clava* and *Styela plicata*

	Styela clava		*Styela plicata*	
	Raw	Heat-treatment	Raw	Heat-treatment
Fibrinolytic activity (plasmin unit/ml)[1)]	1.62±0.09[2)]	1.55±0.13	1.24±0.04	1.79±0.17

[1)]Activity: dimension of clear zone of sample/dimension of clear zone of plasmin.
[2)]Mean value±S.D. (n=3)

용해능의 활성소실은 항산화능에 비해 안정함을 알 수 있었으며, 흰멍게는 가열에 의해 항산화능, 항균력 및 혈전용해능이 증가되는 것으로 보아 생식보다는 오히려 조리에 의한 섭취가 더 좋을 것으로 생각되었다. 전통 가자미 및 명태 식해류에서의 혈전용해능과 비교하여 볼 때 2배 이상 우수함을 알 수 있었다. 한편 Pavão 등[20]은 흰멍게에서의 혈전용해능의 주체를 일반적으로 mucopolysaccharide물질로 알려진 dermatan sulfates (glycosaminoglycan)라고 하였다.

요 약

본 연구는 미더덕류의 새로운 가공제품 개발에서의 기초자료를 제공할 목적으로 미더덕과 흰멍게 생시료 및 가열조리 후의 생리기능성을 비교 검증하였다. DPPH소거능으로서의 항산화능(EDA_{50})은 생시료에서는 미더덕(8.46 mg/ml)이 흰멍게(12.05 mg/ml) 에 비해 활성이 높았으나, 가열조리 후에는 흰멍게는 생시료보다 오히려 1.3배 활성이 증가하였고, 미더덕에서는 70%의 잔존활성을 보였다. 생 미더덕은 *B. subtilis*, *B. cereus* 및 *E. coli*에서 항균활성이 나타났으며, 가열조리 후에는 *E. coli* 를 제외하고는 활성이 나타나지 않았다. 반면 흰멍게는 가열 후에도 생시료와 마찬가지로 *S. typhimurium* 균을 제외한 모든 균에 활성이 있었으며, 농도(1,000-1,500 ppm)에 의한 차이는 없었다. ACE저해능은 나타나지 않았으며, 혈전용해능은 항산화능과 마찬가지로 생시료는 미더덕이 활성이 높았고, 가열 조리후에는 흰멍게의 경우 1.4배의 활성이 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 창원대학교 교내연구비의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Ahn, S. H., S. H. Jung, S. J. Kang, T. S. Jeong and B. D. Choi. 2003. Extraction of glycosaminoglycans from *Styela clava* tunic. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 180-185.
2. Astrup, T. and S. Mullertz. 1952. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Archs. Biochem. Biophys.* **40**, 346-352.
3. Cha, Y. J., C. E. Lee, E. K. Jeong, H. Kim and J. S. Lee. 2002. Physiological functionalities of traditional Alaska Pollack *Sik-hae*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 559-565.
4. Cha, Y. J., D. H. Cho, J. H. Seo, W. J. Cho and E. J. Jeong. Comparison of biological activites in *sikhae*, traditional fermented sea products. *J. Korean Fish Soc.* **38**, 1-5.
5. Cha, Y. J., W. J. Cho, E. J. Jeong, H. Y. Lee and N. D. Kim. 2006. Seafoods doenjang and it's making method. Korean patent pending No. 0036078.
6. Cushman D. W. and H. S. Cheung. 1971. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit rung. *Biochemical Pharmacology* **20**, 1637-1648.
7. Jung E. S. and S. C. Lee. 2007. Preparation and characterization of liquors prepared with *Styela clava* and *Styela plicata*. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 1038-1042.
8. Jung, E. S., J. Y. Kim, E. J. Park, H. R. Park and S. C. Lee. 2006. Cytotoxic effect of extracts from *Styela clava* against human cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 823-827.
9. Kim, J. J., S. J. Kim, S. H. Kim, H. R. Park and S. C. Lee. 2005. Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela plicata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 937-941.
10. Kim, J. J., S. J. Kim, S. H. Kim, H. R. Park and S. C. Lee. 2006. Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela clava* according to the processing methods and solvents. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 278-283.
11. Lee, A. J., Y. T. Kim and S. K. Kim. 1996. Purification and characterization of a carotenoprotein from *Styela clava*. *Korean J. Life Science* **6**, 250-263.
12. Lee E. H., K. S. Oh, T. H. Lee, C. B. Ahn, Y. H. Chung and K. S. Kim. 1985. Lipid components of sea squirt, *Halocynthia roretzi*, and mideuduck, *Styela clava*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**, 289-294.
13. Lee, E. H., S. K. Chung, J. K. Jeon, Y. J. Cha and S. Y. Chung. 1983. A study on the taste compounds of an Ascidian, *Styela plicata*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **15**, 1-5.
14. Lee, E. K. 1996. Separation and purification of anti-hypertensive substances from edible seaweeds. M.S. Thesis. Kangnung National University, Korea.
15. Lee, K. H., C. S. Park, B. I. Hong, B. C. Jung, H. S. Cho and Y. G. Jea. 1995. Seasonal variations of nutrients in warty sea squirt (*Styela clava*). *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 268-273.
16. Lee, K. H., M. G. Kim, B. I. Hong, B. C. Jung, D. H. Lee and C. S. Park. 1995. Seasonal variations of taste components in warty sea squirt (*Styela clava*). *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 274-279.
17. Matsui T., H. Matsufuji and Y. Osajima. 1992. Colorimetric measurement of Angiotensin I -converting enzyme inhibitory activity with trinitrobenzene sulfonate. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**, 517-518.
18. Matsumura, N., M. Fujii, Y. Takeda and T. Shimizu. 1993.

Isolation and characterization of angiotensine I-converting enzyme inhibitory peptides derived from bonito bowels. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57, 922-925.

19. Nacional, L. M. 2006. Seasonal variation in nutritional value and antioxidant properties of mideodeok *Styela clava* in Korea. M. S. Thesis, Gyeongsang National University, Korea.
20. Pavão, M. S. G., K. R. M. Aiello, C. C. Werneck, L. C. F. Silva, A.-P. Valente, B. Mulloy, N. S. Colwell, D. M. Tollefsen and P. A. S. Mourão. 1998. Highly sulfated dermatan from ascidians. *J. Biol. Chem.* **273**, 27848-27857.
21. The Korean Society of Food Science and Nutrition (KSFSN). 2000. Handbook of experiments in food science and nutrition. Food science part. pp. 198-200, 651-652, KSFSN, eds., Hyoil Press, Seoul.
22. Yun, S. M. 2007. Isolation, structures and some properties of antimicrobial compounds in *Undaria pinnatifida* and *Styela clava*. M.S. Thesis, Gyeongsang National University, Korea.
23. Yun, S. M., J. H. Jang, J. E. Ryu, B. D. Choi and J. S. Lee. 2007. Antibacterial sulfated alkene from a tunicate, *Styela clava*. *Natural Product Science* **13**, 132-134.