

미더덕 껍질, 뽕잎, 양파 추출물을 첨가한 항고혈압 저염간장의 제조 및 특성

신유진¹ · 이창권² · 김현진³ · 김현승² · 서한극⁴ · 이승철^{1*}

¹경남대학교 식품생명학과, ²몽고식품(주)
³(주)성심마스타푸드, ⁴건국대학교 동물생명공학과

Preparation and Characteristics of Low-salt Soy Sauce with Anti-hypertensive Activity by Addition of Miduduk Tunic, Mulberry, and Onion Extracts

Yu-Jin Shin¹, Chang-Kwon Lee², Hyun-Jin Kim³, Hyoun-Sung Kim²,
Han-Geuk Seo⁴, and Seung-Cheol Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea

²Mongo Foods Co., Ltd., Gyeongnam 631-847, Korea

³Sungsim Master Food, Gyeongnam 635-872, Korea

⁴Dept. of Animal Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

ABSTRACT Extracts of *Styela clava* (Korean name: miduduk) tunic, mulberry, and onion were selected by pre-screening to develop low-salt soy sauce (12% salt content) with anti-hypertensive activity. After choosing the formula for low-salt soy sauce, extracts were added separately or by mixture in combination. In the case of anti-hypertensive activity, low-salt soy sauce containing extracts of miduduk tunic and onion showed 30% increased inhibitory activity towards angiotensin I converting enzyme, compared to normal salt soy sauce (15% salt content). Addition of extracts also significantly increased DPPH radical scavenging activities of the soy sauces. These results suggest that natural resources such as miduduk tunic, mulberry, and/or onion might be potential candidates for development of low-salt soy sauce with anti-hypertensive activity.

Key words: soy sauce, low-salt, antioxidant, anti-hypertensive

서 론

고혈압은 18세 이상의 성인에서 수축기 혈압이 140 mmHg 이상이거나 확장기 혈압이 90 mmHg 이상인 경우를 말하며 특정한 증상은 없는 편이지만 모든 순환기계 질환 중 발생빈도가 가장 높은 질환일 뿐만 아니라 뇌졸중, 심부전, 관상동맥질환 등과 치명적인 합병증으로 나타날 경우에는 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환이다(1). 이의 발생기작은 확실하게 밝혀져 있지 않으나 주로 레닌-안지오텐신계에 의한 생리 생화학적 기전으로 설명되고 있으며, 고혈압의 효과적인 억제를 위해 안지오텐신 전환효소의 활성을 억제할 수 있는 물질에 초점이 맞추어 있다(2). 고혈압을 개선하기 위한 목적으로 개발되어 현재 상용되고 있는 약제로 enalapril, captopril, ramipril, risinopril 등이 있으나 이러한 약제의 사용으로 인한 미각 이상, 백혈구 감소, 혈관부종, 간기능 이상 등과 같은 부작용이 보고되었다(3). 따라서 천연물질로부터 항고혈압 효과를 가지는 물질 탐색에 대한 연구가 꾸준히

수행되어왔다(4-8).

한편 현대인의 건강한 삶에 대한 관심은 건강먹거리, 전통식품, 슬로푸드, 발효식품 등에 대한 관심의 증가로 이어져 오고 있다. 또한 한식의 우수성에 대한 관심과 함께 장류에 대한 연구도 다양화되어 가고 있다. 장류 중에서 간장은 우리나라 식품의 기본 조미에 사용되는 가장 근간이 되는 양념류로서 다양한 기능성 간장의 개발 및 제조에 대한 연구가 이루어지고 있다(9). 이들 연구에 활용된 식품 재료들에는 헛개(10), 청미래 덩굴 뿌리(11), 고로쇠 및 대나무(12), 마늘(13) 등이 보고된 바 있다.

식품의약품안전처에서는 우리나라 1인 하루 나트륨 섭취량이 WHO의 최대 섭취 권장량인 2,000 mg의 2배가 훨씬 넘는 4,831 mg(2011년 기준)이라고 발표하고, 나트륨 줄이기 운동본부를 운영하며 저염식품의 개발을 적극 추진하고 있다(14). 본 연구에서는 최근 사회적 이슈로 대두되고 있는 나트륨의 과다섭취로 인한 고혈압과 같은 혈관성 질환을 개선할 수 있는 항고혈압 저염간장을 개발하기 위하여 항고혈압/항혈관 질환 기능성을 갖는 천연물 소재를 발굴하여 이들 소재들을 활용한 고품질 저염간장을 개발하고자 하였다.

Received 14 February 2014; Accepted 2 May 2014

*Corresponding author.

E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr, Phone: +82-55-249-2684

재료 및 방법

시약

L-Ascorbic acid, gallic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), rabbit lung acetone powder, hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL)은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, Folin-Ciocalteu 시약은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하였다. 액상과당은 (유)인그리디언코리아 (Inchen, Korea)로부터, 효소처리스테비아는 (주)케미넥스 (Seongnam, Korea)로부터, 주정은 대한주정판매(주)(Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 기타 시약 및 용매는 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

추출물 제조

일반적으로 항고혈압능이 알려진 천연물 소재 중에서 예비 실험을 통해 비교적 높은 ACE 저해능과 항산화활성이 우수한 미더덕 껍질, 뽕잎, 양파 추출물을 선정하였다. 미더덕 껍질의 경우에는 2013년 3~5월에 수확한 미더덕의 껍질을 동결건조 하고 분쇄하여 14 mesh의 체를 걸러 분말을 회수한 결과 14.10%의 수율을 보였으며, 이 분말에 10배 (v/w)의 물을 가하여 25°C에서 24시간 추출하였다. 이후 여과지(Whatman No. 1, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과한 후, 여과액을 동결건조 하였다. 이때 건조 분말로부터 얻은 미더덕 껍질 추출물의 수율은 13.77%이었다. 뽕잎 추출물은 (주)바이오랜드(Cheonan, Korea)에서 추출분말 형태로 구입하였으며, 양파 추출물(62 Brix)은 (주)엠에스씨(Yangsan, Korea)에서 구입하였다.

양조간장 원액 제조

저염간장 배합의 주원료인 양조간장 원액을 얻기 위해 다음과 같은 공정에 의해 양조간장 원액을 제조하였다. 증자 탈지대두와 볶음할쇄소맥을 5:5의 비율로 혼합한 후 국균 (*Aspergillus oryzae*)을 총량의 0.2% 첨가하여 28°C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 중 발생하는 열에 의한 국균

의 사멸을 최소화하기 위해 배양 18시간째, 30시간째에 교반을 통해 통기를 원활히 하였다. 이렇게 제조한 개량식 메주에 23%의 식염수를 12.5배(v/w) 가하여 발효조에 넣고 30°C에서 4개월 동안 발효·숙성한 후 얻어진 간장덧을 여과하여 양조간장 원액(염도 17%, 총질소 1.60%)을 얻었다. 이 양조간장 원액을 이용하여 Table 1에 나타난 배합비에 따라 본 연구의 저염간장을 제조하였다.

저염간장 제조 및 이화학적 특성 분석

염도 12%를 기준으로 양조간장의 배합비 및 액상과당, 효소처리스테비아의 함량을 조절하여 예비실험으로 기준을 정한 후, 이에 미더덕 껍질, 뽕잎, 양파의 추출물을 단독 또는 혼합으로 첨가한 후 잘 혼합하여 93°C에서 30분간 살균하고 30°C까지 냉각하여 주정을 3% 첨가하고 규조토로 여과하여 간장을 제조하였다. 이들 간장에 대하여 제품의 기준이 되는 총질소, Brix, 순추출물, 비중, pH, 염도를 식품공전의 분석법에 의거하여 분석하였다(15). 또한 간장 유통 및 사용 중 미생물의 오염 발생유무의 기준이 될 수 있는 수분활성도를 분석하여 기호성과 안전성을 고려한 배합비 선정에 활용하였다.

ACE 저해 효과

ACE 저해 효과는 Cushman와 Cheung의 방법(16)을 변형하여 측정하였다. 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 20 mL에 1 g의 rabbit lung acetone powder를 4°C에서 24시간 동안 교반한 후, 10분간 원심분리(4°C, 5,000×g)하여 ACE 조효소액을 얻었다. 증류수를 가하여 10배 희석한 간장 50 µL에 ACE 조효소액 50 µL를 가한 다음 37°C에서 10분간 예비 반응시킨 후, 25 mM HHL 100 µL를 첨가하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 1 M HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 0.5 mL를 가해 30초간 교반한 후 원심분리(3,000×g, 10 min, 4°C)하여 상정액 0.2 mL를 얻었다. 이 상정액을 80°C에서 30분간 완전히 건조시켜 증류수 1 mL를 넣은 후에 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Table 1. Formula for several soy sauces in this study

(unit: %)

	15S	C	S	M	O	SM	SO	MO	SMO
Crude fermented soy sauce	65	65	65	65	65	65	65	65	65
Liquid fructose	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Enzymatically modified stevia	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Spirit	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Miduduk tunic extract	—	—	0.01	—	—	0.01	0.01	—	0.01
Mulberry leaves extract	—	—	—	0.1	—	0.1	—	0.1	0.1
Onion extract	—	—	—	—	0.5	—	0.5	0.5	0.5
Refined salt	4.45	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Purified water	20.50	24.00	23.99	23.90	23.50	23.89	23.49	23.40	23.39

Abbreviations: 15S, 15% salt soy sauce; C, 12% salt soy sauce; S, 12% salt soy sauce containing miduduk (*Styela clava*) tunic extract; M, 12% salt soy sauce containing mulberry (*Morus alba* L.) leaves extract; and O, 12% salt soy sauce containing onion (*Allium cepa* L.) extract.

$$\text{ACE 저해능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료} - \text{시료대조구}}{\text{무처리구}}\right) \times 100$$

DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등(17)의 방법에 준하여 100배 희석한 간장 0.1 mL에 0.041 mM DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값은 SPSS software(Ver. 12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 General Linear Model의 방법에 따라 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치±표준오차를 구하였으며, 모든 처리값의 차이는 신뢰수준 95%(*P*<0.05)로 비교하여 분석되었다.

결과 및 고찰

항고혈압 저염간장의 시제품 제조 및 이화학적 특성 분석

저염간장의 경우 낮은 염도로 인해 제품의 유통 및 사용 중 미생물에 오염될 가능성이 있으므로 제품의 안전성 확보를 위해 예비실험으로 수분활성도(water activity; Aw)가 낮은 저염간장에 대한 조건을 잡았다. 또한 양조간장의 함량과 액상과당의 함량을 높인 염도 12%의 저염간장 시제품을 8종류 제조하여 간장 제조업체인 몽고식품(주)과 성심마스타푸드에 재직하는 전문 집단을 대상으로 관능검사 및 이화학적 검사를 실시하여 기본 배합비를 선정하였다. Table 1에서 이상의 기본 배합비로 기존 간장의 염도(15%)로 제조한 것을 15S, 12%의 저염간장을 C로 대조군 시료로 제조하였다. 그리고 항고혈압의 가능성을 갖는 것으로 검증된 미더덕 껍질 추출물, 뽕잎 추출물, 양파 추출물을 맛과 구입 용이성 등을 고려하여 첨가 비율을 정하고, 각각 또는 혼합하여 첨가한 12% 저염간장 7종을 제조하였다. 이들 시제품들에 대한 이화학적 특성은 Table 2에 나타내었으며 모든 제품들의 총질소 함량은 1.0% 이상으로서 시판용 간장의 규격인

총질소 함량 0.8% 이상에 적합한 것으로 확인되었다. 또한 시제품들의 수분활성은 간장의 호염성을 나타내는 세균이나 내염성 효모 이외의 미생물 오염으로부터 안전성을 나타내는 기준인 0.83 이하로 측정되어 제품의 안전성에는 문제가 없는 것으로 나타났다(18).

ACE 저해 활성

Angiotensin converting enzyme(ACE)은 angiotensin I을 angiotensin II로 전환시키며, 전환된 angiotensin II는 혈압 상승의 원인이 된다. ACE에 대한 저해는 angiotensin II로 전환되는 것을 억제하여 혈압이 상승하는 것을 막아준다(19). 천연물 소재를 첨가한 간장의 ACE 저해능은 Fig. 1에 나타내었다. 대조구의 경우, 15% 일반 간장(15S, 41.04%)에 비하여 12% 저염 간장(C, 43.37%)이 약간 증가하였으나 유의적인(*P*<0.05) 차이를 나타내지는 않았다. 천연물 소재가 첨가된 경우에는 ACE 저해능이 더욱 증가하였다. 미더덕 껍질과 양파의 추출물들이 혼합되어 첨가된 저염간장인 SO(52.32%)는 미더덕 껍질과 양파의 추출물이 단일로 첨가된 저염간장(각각 48.47%와 46.42%)보다 높은 ACE 저해능을 보였다(*P*<0.05). 모든 간장 시제품 중에서 특히 미더덕 껍질과 양파의 추출물들이 혼합된 경우(SO)에서 가장 높은 ACE 저해능을 보였으며, 이는 절대치로 보았을 때 15% 일반 간장(15S)에 비하여 10% 이상 증가하였고

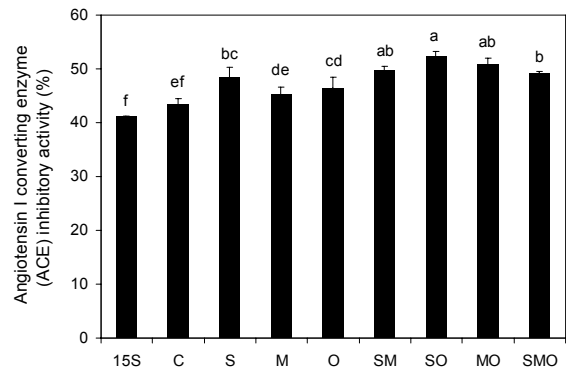


Fig. 1. ACE inhibitory activity of several soy sauces. Each value is the mean with standard deviation from triplicate experiments. The mean value for each soy sauce was compared by an analysis of variance conducted by the General Linear Model with SPSS software (Ver. 12). Values not sharing the same letter (a-f) are significantly different from one another (*P*<0.05).

Table 2. Physico-chemical characteristics of several soy sauces

	15S	C	S	M	O	SM	SO	MO	SMO
Total nitrogen (%)	1.04±0.01	1.05±0.01	1.06±0.01	1.06±0.01	1.05±0.01	1.05±0.01	1.05±0.01	1.05±0.01	1.06±0.01
°Brix	34.7±0.2	32.3±0.1	32.5±0.1	32.5±0.1	32.5±0.1	32.5±0.1	32.6±0.1	32.6±0.1	32.6±0.1
Pure extract	19.9±0.1	20.0±0.1	20.4±0.1	20.4±0.1	20.5±0.1	20.4±0.1	20.5±0.2	20.6±0.1	20.6±0.2
Specific gravity	1.16±0.02	1.14±0.01	1.15±0.02	1.15±0.01	1.15±0.01	1.15±0.01	1.15±0.02	1.15±0.01	1.15±0.01
pH	4.56±0.01	4.56±0.02	4.53±0.01	4.53±0.01	4.53±0.01	4.51±0.01	4.51±0.01	4.52±0.02	4.52±0.01
Salinity (%)	15.6±0.2	12.0±0.1	12.0±0.1	12.1±0.1	12.0±0.1	12.0±0.1	12.0±0.1	12.0±0.1	12.0±0.1
Water activity (Aw)	0.77±0.01	0.82±0.01	0.83±0.01	0.83±0.01	0.82±0.01	0.82±0.01	0.82±0.01	0.82±0.01	0.83±0.01

상대치로 보았을 때는 30% 정도의 ACE 저해능이 향상되었다. 그러나 미더덕, 뽕잎, 양파 추출물을 모두 첨가한 경우 (SMO)에는 미더덕 껍질과 양파의 추출물들이 혼합된 경우 (SO)보다 유의적으로($P<0.05$) 낮은 ACE 저해능을 보였는데, 추출물 성분 간의 상승효과 및 간섭효과에 대해서는 추후 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

한편 미더덕 껍질 물 추출물의 경우 1월부터 7월까지 수확시기에 따라 차이를 보이는 하나 18.33%에서 45.77%의 ACE 저해능을 나타내었다(20). 뿐만 아니라 항산화 효과가 있음이 보고되어(21) 수산가공부산물인 미더덕 껍질을 기능성 식품소재로써 다양하게 이용할 수 있을 것이라 사료된다. 뽕잎의 물 추출물은 고혈압 쥐에서 혈압을 낮추는 효과가 있으며, 상당한 ACE 저해능($IC_{50}=29.8$ mg/mL)을 보인다고 보고되었다(22). 또한 양파에 함유된 quercetin-4-glucoside가 혈압 강하 작용에 큰 영향을 미침으로써 항고혈압에 효과가 있음을 밝힌 바 있다(23). 이상의 결과는 미더덕 껍질, 양파, 뽕잎 등의 천연물 소재의 추출물들을 저염간장에 첨가하면 혈압 상승의 억제를 평가하는 지표인 ACE 저해능이 상승함을 의미한다.

DPPH 라디칼 소거능

산화적 스트레스가 높아지면 콩팥의 안드로젠 조절 단백질을 과다 발현시켜 고혈압을 유발하며(24), 항산화 비타민과 미네랄 보충식은 수축기 혈압과 이완기 혈압을 유의적으로 감소시킨다(25). 이에 본 연구에서 제조한 저염간장을 100배 희석하고 DPPH 라디칼 소거능으로 항산화능을 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 양파가 다른 기초 소재와 혼합되어 첨가된 저염간장인 SO(44.00%), MO(45.04%), SMO(45.19%)에서 비교적 높은 소거능을 보였으며, 이는 양파만 첨가된 저염간장인 O(43.74%)보다 약간 높은 활성을 나타내었다. 또한 천연물 소재를 첨가하지 않은 염도 15% 간장

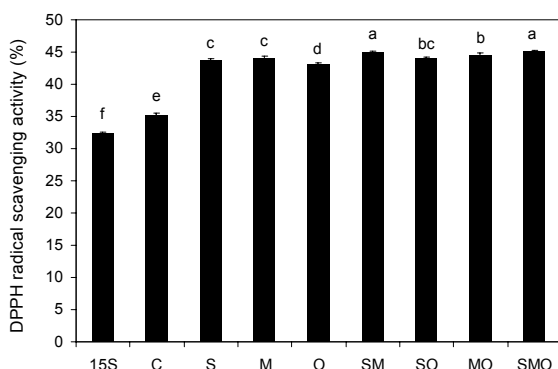


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of several soy sauces. Each value is the mean with standard deviation from triplicate experiments. The mean value for each soy sauce was compared by an analysis of variance conducted by the General Linear Model with SPSS software (Ver. 12). Values not sharing the same letter (a-f) are significantly different from one another ($P<0.05$).

인 15S(32.39%)와 염도 12% 저염간장 C(35.21%)는 기초 소재를 첨가한 저염간장보다 낮은 활성을 나타내었다. 대조구로 이용된 L-ascorbic acid가 100 μ g/mL 농도에서 89.38%의 소거능을 나타내었다. 뽕잎의 flavonol 배당체는 강력한 항산화능을 보이며(26), 양파의 경우에는 quercetin 뿐만 아니라 allyl propyl disulfide 및 diallyl disulfide와 같은 항산화성 황화합물이 풍부하게 함유되어 있어 다양한 생리적 기능성 및 강력한 항산화 효과를 지닌다고 보고되어져 있다(27,28).

요 약

고혈압과 같은 혈관성 질환을 개선할 수 있는 항고혈압 저염간장을 개발하기 위하여 미더덕 껍질, 뽕잎, 양파 추출물을 저염간장(염도 12%)에 첨가하였다. 그 결과 단일 소재 추출물을 첨가하였을 때보다 두 가지 이상을 혼합하여 첨가하였을 때 높은 ACE 저해능과 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 특히 미더덕 껍질과 양파의 추출물들을 첨가한 저염간장에서 ACE 저해능과 DPPH 라디칼 소거능이 기존의 일반 염도인 15% 간장에 비하여 상대적으로 약 30% 향상되었다. 이상의 결과는 미더덕 껍질, 뽕잎, 양파의 추출물들이 항고혈압능과 항산화능에 유의한 저염간장을 제조할 수 있는 유의한 소재로 활용될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 논문은 중소기업청에서 지원하는 2012년도 산학연공동 기술개발(No. C0009664)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

REFERENCES

- Cambien F, Chretien JM, Ducimetiere P, Guize L, Richard JL. 1985. Is the relationship between blood pressure and cardiovascular risk dependent on body mass index? *Am J Epidemiol* 122: 434-442.
- Weinberger MH. 1987. Angiotensin converting enzyme inhibitors in the treatment of hypertension: Efficacy, metabolic effects and side effect. *Cardiovasc Drug Ther* 1: 9-13.
- Doyle AE. 1984. *Handbook of hypertension: Clinical pharmacology of antihypertensive drug*. 1st ed. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. Vol 5, p 246-271.
- Lee JK, Jeon JK, Byun HG. 2011. Effect of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide purified from skate skin hydrolysate. *Food Chem* 125: 495-499.
- Zhao Y, Li B, Liu Z, Dong S, Zhao X, Zeng M. 2007. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate. *Process Biochem* 42: 1586-1591.
- Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Okubo A, Yamazaki S, Takano T. 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J Dairy Sci* 78: 777-783.
- Suetsuna K. 1998. Isolation and characterization of angio-

- tensin I -converting enzyme inhibitor dipeptides derived from *Allium sativum* L. (garlic). *J Nutr Biochem* 9: 415-419.
8. Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K. 2008. In vitro studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *Bioresour Technol* 99: 2981-2298.
 9. Jung SY, Lim JS, Song HS. 2012. Alcohol dehydrogenase activity and sensory evaluation of hutgae (*Hovenia dulcis* Thunb) fruit soy sauce. *Korean J Food & Nutr* 25: 747-754.
 10. Won SB, Song HS. 2013. Antioxidant activity and sensory evaluation in soy sauce with fruit, stem, or twig of *Hovenia dulcis* Thunb. *Korean J Food & Nutr* 26: 258-265.
 11. Song HS. 2012. Sensory evaluation of cheongmirae (*Smilax china*) root extract for soy sauce development. *Korean J Food & Nutr* 25: 1086-1091.
 12. Chung MJ, Jo JS, Kim HJ, Sung NJ. 2001. The components of the fermented soy sauce from gorosoe and bamboos sap. *Korean J Food & Nutr* 14: 167-174.
 13. Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Lee SJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Composition of physicochemical properties and antioxidant activities. *J Agric Life Sci* 44: 39-48.
 14. Na down Oondongbonbu. www.foodnara.go.kr/Na_down (accessed Feb 2014).
 15. KFDA. Food Codex. http://fse.foodnara.go.kr/residue/RS/jsp/menu_02_01_01.jsp (accessed May 2014).
 16. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
 17. Jeong SM, Kim SY, Park HR, Lee SC. 2004. Effect of far-infrared radiation on the activity of extracts from *Citrus unshiu* peels. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1580-1583.
 18. Jeong DH. 2006. *Soybean fermentation food*. Hongikjae Press, Seoul, Korea. p 392.
 19. Corvol P, Michaud A, Soubrier F, Williams TA. 1995. Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme. *J Hypertens Suppl* 13: S3-S10.
 20. Lee DW, You DH, Yang EK, Jang IC, Bae MS, Jeon YJ, Kim SJ, Lee SC. 2010. Antioxidant and ACE inhibitory activities of *Styela clava* according to harvesting time. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 331-336.
 21. Jung ES, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activities of extracts from parts of *Styela clava*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1674-1678.
 22. Yang NC, Zhou KY, Tseng CY. 2012. Antihypertensive effect of mulberry leaf aqueous extract containing γ -aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rat. *Food Chem* 132: 1796-1801.
 23. Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J. 2001. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 133: 117-124.
 24. Grande MT, Pascual G, Riobos AS, Clemente-Lorenzo M, Bardaji B, Barreiro L, Tornavaca O, Meseguer A, López-Novoa JM. 2011. Increased oxidative stress, the rennin-angiotensin system, and sympathetic overactivation induce hypertension in kidney androgen-regulated protein transgenic mice. *Free Radical Biol Med* 51: 1831-1841.
 25. Yang SJ. 2006. Effects of antioxidant vitamins & minerals supplementation on blood pressure and lipids in the elderly with hypertension. *J Korean Acad Community Health Nurs* 17: 461-471.
 26. Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. 2006. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chem* 97: 25-31.
 27. Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY. 1997. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Korean J Food Sci Technol* 29: 595-600.
 28. Formica JV, Regelson W. 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* 33: 1061-1080.