

닭 쓸개 methanol 추출물의 생리기능적 특성에 관한 연구

이남혁* · 김현덕 · 양승용 · 성기승 · 한동운¹

한국식품개발연구원

Studies on Physiological and Functional Properties of Methanol Extract from Chicken Bile

Nam-Hyouck Lee*, Hyun-Duk Kim, Seung-Yong Yang, Ki-Seung Soung, and Dong-Un Han¹

Korea Food Research Institute

¹College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Methanol extracts and powder of chicken bile were evaluated to determine antimicrobial, electron-donating, nitrite-scavenging, and inhibitory abilities against angiotensin I-converting enzyme (ACE). HPLC revealed taurochonoxycholic acid (TCDOA) and taurocholic acid (TCA) were major bile salts, at 5,893 and 385 mg/100 g, respectively. Methanol extracts showed inhibitory effect on growth of *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, and *Vibrio parahaemolyticus*, whereas no effect on *Escherichia coli*. Electron-donating and nitrite-scavenging abilities increased significantly with increasing amount of bile samples. Electron-donating activity of dried powder was higher than that of methanol extracts, whereas nitrite-scavenging activity showed opposite trend. Both samples showed positive inhibitory activity of ACE. Methanol extracts showed higher activity than that of freeze-dried powder at high level of bile sample (5 and 10%).

Key words: chicken bile, antimicrobial activity, electron donating ability, nitrite scavenging ability, ACE inhibition

서 론

최근 국민소득이 증가함에 따라 육류의 소비량이 급증하고 있다. 더불어 닭고기를 비롯한 가금류의 소비도 크게 늘고 있다. 2000년도 국내 닭고기 생산량은 21만 6천 500톤, 수입량은 6만 6천 600톤으로서 총 공급량은 32만 8천 100톤이었다. 지난 1998년 21만 1천 200톤에 대비하여 25.6% 증가한 것으로 국내 생산량 약 6.8%, 수입량은 약 51.2%가 증가하였다(1). 이렇게 닭을 비롯한 가금류의 소비가 증가함에 따라 도축 후 발생하는 부산물의 양도 크게 늘어 환경오염의 요인으로 주목을 받게 되었다. 소나 돼지 같은 대동물과 달리 가금류의 부산물은 대부분 별다른 활용 대책 없이 단순 폐기되고 있으며 그러한 과정에서 환경을 오염시키게 된다는 것이다. 이러한 문제를 해결하기 위한 노력의 하나로써 가금류의 부산물 활용에 관한 연구가 광범위하게 진행중이나 아직까지는 성과가 기대만 못한 실정이다(2).

닭을 비롯한 축산물의 부산물 활용과 관련된 최근 연구로서 Lee 등(2)에 의한 닭의 머리를 이용한 육수제품의 개발 연구와

Cha 등(3)에 의한 닭 폐기부산물의 사료자원화 가능성 검토가 눈에 띄는 정도이다. Shim 등(4)은 소의 쓸개즙의 에탄올 추출물이 지니는 항산화 능력을 체계적으로 조사한 바 있는데 이러한 연구는 자연스럽게 가금류나 기타 식용동물 쓸개즙의 생물학적인 기능 및 특성규명 연구의 기폭제 역할을 하였다. Li 등(5)은 닭 쓸개가 심혈관계에 미치는 영향을 보고한 바 있으며 Hwang 등(6)은 닭, 뱀 및 어류 쓸개의 실험용 쥐에 대한 독성을 조사하였다. 또한 Danzinger 등(7)은 닭 쓸개가 담석에 미치는 영향과 Cotter(8)의 닭 쓸개가 항원-항체 반응에 미치는 영향 등 주로 의학적인 입장에서 대부분 진행되었다. 그러나 이러한 연구는 식품학적 입장에서 시작된 것은 아니더라도, 기능성식품 소재로서의 닭 쓸개의 활용가능성을 제시하는 것으로 볼 수 있다.

닭 쓸개의 경우에는 한방에서 전통적으로 가래제거 효능이 있는 것으로 알려져 있어, 한약재로서 일부 쓰여지고 있다. 또한 계담즙의 주성분은 담즙산류, 담즙색소, mucin, 지방류 및 무기물 등이 존재하고 있으며 그 중 담즙산류에는 glycolithocholic acid, taurocholic acid, chenodeoxycholic acid, lithocholic acid 및 cholic acid가 존재하는데, 이들 성분은 대부분 글리신과 결합된 형태로 존재하고 있는 것으로 알려지고 있다(9). 하지만 지금까지 알려진 닭 쓸개의 주요 생리활성 효능에 대해서는 대부분 한방적인 경험에서부터 전해오는 것일 뿐 정확한 과학적 근거와 고찰이 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 축산 부산물로 폐기처분되는 닭의 내

*Corresponding author: Nam-Hyouck Lee, Korea Food Research Institute, San 46-1 Backhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea
Tel: 82-31-780-9095
Fax: 82-31-780-9185
E-mail: lnh@kfri.re.kr

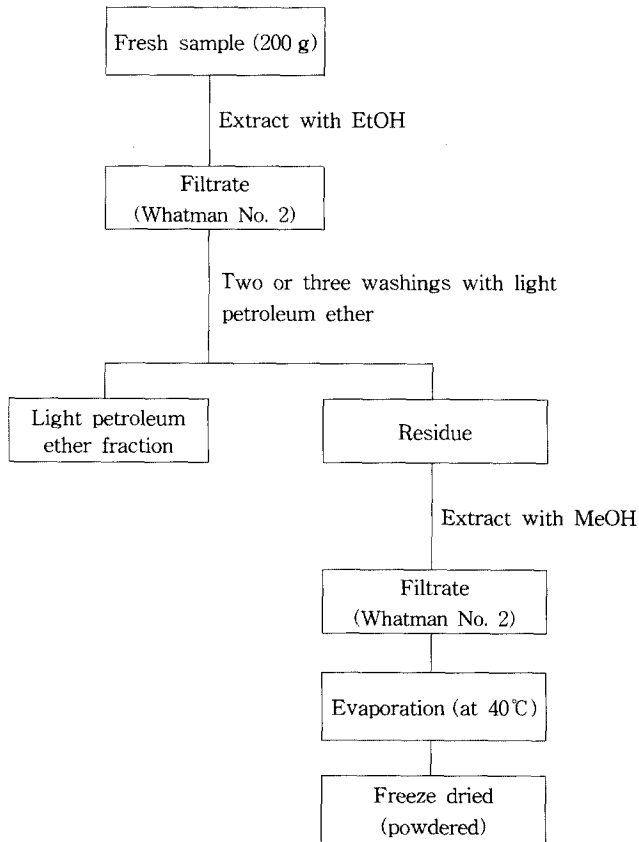


Fig. 1. Solvent fractionation procedure of chicken bile extract.

장 부위 중 닭 쓸개로부터 생리 기능적 특성을 검토하여 기능성 식품을 개발하는데 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서는 (주)하림의 협조를 얻어 도축 후 바로 닭쓸개를 분리하여 -25°C 에서 동결시킨 다음 실험실로 운반하여 필요시 해동하여 사용하였다.

일반성분 분석

일반성분조성은 AOAC방법(11)에 따라 수분은 105°C 상압건조법, 조단백은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로 측정하였으며 회분은 550°C 회화법으로 측정하였다.

Bile acid 추출

닭 쓸개로부터 bile acid의 추출은 Haslewood의 방법(11)에 따라 냉동 상태의 닭 쓸개를 해동하여 4배의 ethanol을 첨가한 후 waring blender로 60초간 마쇄하였다. 이 마쇄액을 Whatman No. 2로 여과한 후 light petroleum ether를 첨가하여 지방질 제거를 2-3회 반복하였다. 지방질이 제거된 마쇄액에 methanol을 첨가하여 bile acid 성분을 추출하였다. 추출된 bile acid를 적당한 농도로 감압 농축한(40°C) 후 동결건조하여 bile acid 분말을 제조하였다. bile acid의 추출 공정은 Fig. 1과 같다.

TLC를 이용한 bile acid 정성분석

닭쓸개로부터 추출된 bile acid의 유용성 성분들 정성분석은

Anderson등의 방법(13)과 같이 TLC를 이용하여 확인하였다. bile acid 정성분석에 사용된 전개판은 Merck사의 silicagel 20×20 plate이었으며, 전개용매는 chloroform : methanol : ammonia water를 15 : 10 : 1의 비율로 또는 ethylacetate : acetic acid : water를 15 : 12 : 2의 부피비로 혼합하여 사용하였다. Loading sample은 bile acid 1 mg을 50 μL methanol에 녹여 사용하였고 시료를 spotting 한 후 전개된 TLC판은 105°C 건조기에서 건조시킨 후 10-20%의 황산용액으로 발색시켜 분리된 bile acid 성분들의 R_f 값을 계산하여 비교하였다. 이때 사용한 표준 물질로는 chenodeoxycholic acid(CDOCA), dehydrocholic acid(DHCA), deoxycholic acid(DOCA), cholic acid(CA), glycocholic acid(GCA), taurodeoxycholic acid(TDOCA), glycochenodeoxycholic acid(GCDOCA), taurocholic acid(TCA), taurochenodeoxycholic acid(TCDOCA)이었다.

HPLC를 이용한 bile acid 정량분석

닭 쓸개로부터 추출한 bile acid의 성분분석은 Yeh와 Hwang(10)의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석에 사용된 표준물질로는 DHCA, CA, GCA, TCA, CDOCA, GCDOCA, DOCA, TCDOCA, TDOCA으로서 Sigma로부터 구입하였다. Bile acid은 buffer(0.3% ammonium carbonate solution: acetonitrile)에 녹인 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC(Younglin Co., Korea)로 분석하였다.

닭 쓸개로부터 추출한 bile acid의 HPLC 분석조건으로 column은 Lichrospher 100RP-18(25×0.3 cm)을 이용하였으며, 이동상은 0.3% ammonium carbonate solution : acetonitrile(70 : 30), 유속은 0.8 mL/min, 검출기는 UV detector (Younglin M 720, Younglin Co., Korea)를 이용하여 210 nm에서 측정하였다.

항균활성 측정

항균 실험에 사용한 균주로는 *Bacillus cereus* KFRI 00437, *Escherichia coli* KCTC 1682, *Salmonella typhimurium* KFRI 00191, *Staphylococcus aureus* KFRI 00171, *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471을 사용하였으며, 배지는 *V. parahaemolyticus*는 Tryptic soy broth(DCM, Sparks, MD, USA) & Marine agar (Difco, Detroit, MI, USA)를 그외 균주들은 Tryptic soy broth (DCM, Sparks, MD, USA) & Nutrient agar(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였다. 배양온도는 37°C 또는 30°C 에서 18-24시간 동안 3회 반복하여 전배양을 행한 후 접종균주로 사용하였다.

항균 검색은 Paper disk agar diffusion법(13)에 따라 측정하였다. 각 시험균주를 해당 액체 배지에 전배양하여 이 배양액 0.1 mL씩 petridish에 접종한 후 멸균시킨 배지(Nutrient agar) 10 mL를 pouring하고 멸균된 paper disk(8 mm thick, Advanted)에 추출액 30 μL 가하여 plate상에 접촉시키고 미생물의 종류에 따라 적정온도에서 12-24시간 동안 배양 후 형성된 저해 부위의 크기를 측정하였다. 항균력은 저해부위 크기를 6종으로 분류하여 평원반의 크기를 포함하여 직경이 8 mm(-)이하 인 것은 항균력이 없는 것으로 8-14 mm(\pm)의 것은 항균력이 매우 약한 것으로, 14-20 mm(+)의 것은 항균력이 약한 것으로, 20-26 mm(++)의 것은 항균력이 중간인 것으로, 26-32 mm(+++)의 것은 항균력이 강한 것으로, 32 mm(++++)이상의 것은 항균력이 매우 강한 것으로 판단하였다.

전자공여능 측정

전자공여작용(electron donating ability, EDA)은 각 시료의

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical에 대한 소거효과 측정으로 Blois법(14)을 사용하였다. 0.15 mM DPPH solution 4 mL과 sample 0.4 mL 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하여, DPPH radical 소거활성을 다음 식에 의하여 측정하였다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{SA}{CA}\right) \times 100$$

SA: Sample absorbance
CA: Control absorbance

아질산염 소거능

아질산염 소거작용은 Gray 등의 방법(15)에 의하여 측정하였다. 즉 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 일정농도의 시료 1 mL를 가하고 0.1N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정한 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간반응 시킨 후 각 반응액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL, Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전에 조제) 0.4 mL 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광 광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 공 시험은 Griess시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 상기와 동일하게 행하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

N: Nitrite scavenging ability
A: Absorbance of 1 mM NaNO₂ added sample after standing for one hour
B: Absorbance of 1 mM NaNO₂
C: Absorbance of control

ACE 저해작용

ACE 활성은 Chsuman 등의 방법(16)에 의하여 측정하였다. 즉, Angiotensin-I 전환효소는 토끼의 허파에서 아세트 분말로 정제한 1g에 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 상등액을 ACE 조효소액으로 사용하였다. 시료 50 µL에 ACE 조효소액 50 µL 및 0.1M sodium borate buffer (pH 8.3) 100 µL를 가한 다음 37°C에서 5분간 preincubation 시켰다. 이 반응액에 기질인 hippuryl-histidyl-leucine 용액(HHL 27 mg/2.5 mL in sodium borate buffer) 50 µL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 vortex mixer로 15초간 교반한 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리시켜 상등액 1.0 mL를 취하였다. 이 상등액을 완전히 건조시킨 뒤 증류수 3.0 mL를 가하여 용해한 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하였고, 이때 공시험은 추출물 대신 증류수 50 µL를 첨가하였다. ACE 저해 효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$ACE\ inhibition(\%) = \left(1 - \frac{S-SB}{C-CB}\right) \times 100$$

S: Absorbance of sample
SB: Absorbance of sample blank
C: Absorbance of Control
CB: Absorbance of Control blank

결과 및 고찰

일반성분 분석

닭 쓸개의 일반성분을 분석한 결과 건조중량을 기준으로 조단백질 34.88%, 조지방 22.17%, 조회분 5.17% 그리고 탄수화물 37.78%이었다.

Fig. 2. TLC analysis of the standard bile acid and chicken bile acid extract.

1: chenodeoxycholic acid (CDOCA), 2: dehydrocholic acid (DHCA), 3: deoxycholic acid (DOCA), 4: cholric acid (CA), 5: glycocholic acid (GCA), 6: taurodeoxycholic acid (TDOCA), 7: glycochenodeoxy cholic acid (GCDOCA), 8: taurocholic acid (TCA) 9: taurochenodeoxycholic acid (TCDOCA), 10: chicken bile extract.

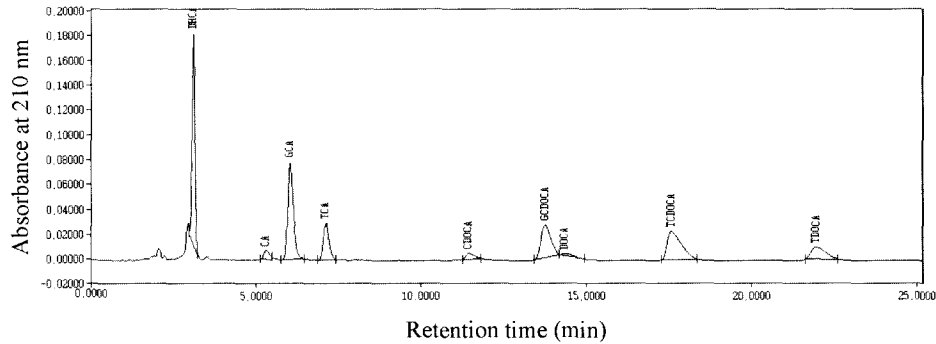


Fig. 3. HPLC chromatogram of the standard bile acid mixture composition.

Column: Lichrospher 100RP-18 (25×0.3 cm), flow rate: 0.8 mL/min, mobile phase: 0.3% ammonium carbonate solution: acetonitrile (70 : 30), detector: UV at 210 nm.

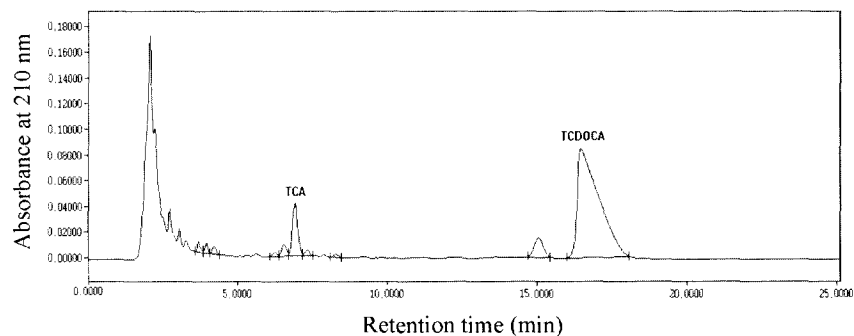


Fig. 4. HPLC chromatogram of bile acid.

Column: Lichrospher 100RP-18 (25×0.3 cm), flow rate: 0.8 mL/min, mobile phase: 0.3% ammonium carbonate solution: acetonitrile (70 : 30), detector: UV at 210 nm.

TLC를 이용한 bile acid 정성

닭 쓸개로부터 추출한 bile acid의 구성성분을 조사하기 위하여 TLC를 이용하여 분리한 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서 보는바와 같이 시료의 bile acid는 모두 3개의 성분으로 분리되었으며 각각의 R_f 값은 0.15, 0.44, 0.54이었다. Bile acid의 9개 표준물질에 대한 R_f 값은 각각 CDOCA(0.45), DHCA(0.60), DOCA(0.46), CA(0.31), GCA(0.30), TDOCA(0.55), TCA(0.43), TCDOCA(0.53), GCDOCA(0.42)이었다. TLC에 의해 분리된 닭 쓸개의 bile acid 중 TCA(0.43), TCDOCA(0.53)는 표준물질의 TCA 및 TCDOCA와 비슷한 R_f 값을 나타내었다. 하지만 닭 쓸개로부터 추출한 bile acid의 시료와 표준물질간의 R_f 값이 정확하게 일치하지 않으므로 HPLC등을 통한 정확한 분석이 필요한 것으로 사료되었다.

HPLC를 이용한 bile acid의 함량 측정

닭 쓸개로부터 추출한 bile acid의 각각의 구성성분을 상세히 검토하고자 HPLC로 분석하여 결과를 Fig. 3 및 4에 제시하였다. Fig. 3은 bile acid의 표준물질로서 9가지 bile acid 구성성분의 표준물질에 대한 검량선은 0.1-10 mg/g 농도의 범위 안에서 각각의 표준물질의 면적에 대한 농도 변화를 함수로 도식하여 직선을 얻었다. 각각의 표준물질에 대한 표준 곡선의 식과 상관계수는 다음과 같다.

DHCA, $y = 0.9262x + 29.052$ ($R^2 = 0.9998$), CA, $y = 0.1054x - 4.7801$ ($R^2 = 0.9996$), GCA, $y = 1.3498x - 2.2187$ ($R^2 = 0.9998$), TGA, $y = 1.2465x + 16.227$ ($R^2 = 0.9995$), CDOCA, $y = 0.1184x + 27.135$ ($R^2 = 0.9993$), GCDOCA, $y = 1.2509x - 73.365$ ($R^2 = 0.9997$), DOCA,

$y = 0.1103x + 23.383$ ($R^2 = 0.9969$), TCDOCA, $y = 0.6974x + 47.183$ ($R^2 = 0.9998$), TDOCA, $y = 0.7879x + 49.377$ ($R^2 = 0.9995$)

Fig. 4에서 보는바와 같이 닭 쓸개로부터 추출한 bile acid의 성분 중 TCDOCA와 TCA가 검출되었다. 표준물질과 비교하여 이들의 함량을 구한 결과 TCA는 385 mg/100 g, TCDOCA는 5893 mg/100 g으로 나타났다. 이는 TLC에서의 정성분석 결과와 비교하여 볼 때 TCA와 TCDOCA가 검출된 것과 비슷한 경향을 나타내었다. 하지만 그 밖의 bile acid 성분인 CDOCA, DHCA, DOCA, CA, GCA, TDOCA, GCDOCA는 검출되지 않았다.

Yeh(9) 등의 보고에 의하면 본 실험의 종과는 다른 여러 종류의 어류표본에 함유한 bile acid를 분석한 결과 어류 표본의 주요 구성 bile acid가 TCA와 TCDOCA라는 결과와 같은 경향을 나타내었으며 또한 본 실험에서의 시료(닭)와 같은 종의 닭과 오리 등의 주요 bile acid를 분석한 결과 ursodeoxycholic acid 및 TCA와 TCDOCA가 주요 bile acid라는 보고와 본 실험의 결과와는 유사한 경향을 나타내었다.

항균활성 효과

Chicken bile의 MeOH 추출물의 생리활성 특성을 검토하기 위하여 항균력을 측정된 결과를 Table 1에 제시하였다. 추출물을 10, 20, 30% 수준의 농도로 멸균된 paper disk(8mm thick, Advanted)에 추출액 30 μ L가하여 plate상에 접착시키고 미생물의 종류에 따라 적정온도에서 12-24시간 동안 배양 후 형성된 저해 부위의 크기를 측정된 결과 특히 *Bacillus cereus*에 대하여 강한 항균력을 보였으며 *Salmonella typhimurium*, *Staphylo-*

Table 1. Antimicrobial effects of chicken bile extract

Microorganisms	Concentration (%)		
	10%	20%	30%
<i>Bacillus cereus</i> KFRI 00437	+++ ¹⁾	++++	++++
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> KFRI 00191	+	±	++
<i>Staphylococcus aureus</i> KFRI 00171	+	+	±
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> KCTC 2471	+	±	++

¹⁾Size of clear zone (-: no activity ±: 8-14 mm, +: 14-20 mm, ++: 20-26 mm, +++: 26-32 mm, ++++: >32 mm).

Fig. 5. Electron donating ability of chicken bile extract.

^{a,b,c,d,e,f,g}Values are significantly different with different letter ($p < 0.001$).

coccus aureus, *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서도 항균력을 나타내었다. 그러나 일반 식품오염 미생물인 *Escherichia coli*에 대해서는 항균력을 관찰 할 수 없었다.

이상의 결과로부터 bile acid 추출물은 *E. coli*를 제외하면 어느 정도 미생물 생육 억제능이 있는 것으로 사료되었으며, 천연 항균제로서의 이용 가능성을 시사하였다.

전자공여능

전자공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품중의 지방질산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로 이용되고 있다(17).

Chicken bile에서 추출한 MeOH 추출물과 동결건조물에서의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 9와 같다. BHA 0.01%를 기준으로 하였을 때 DPPH가 76.01%으로 나타났다. 본 실험의 경우 시료의 농도가 증가할수록 전자공여능은 유의적으로 증가하여 MeOH 추출물 0.1, 1, 5, 및 10%에서 각각 2.16, 8.12, 68.31 및 92.85% 전자공여작용을 나타내었고, 동결건조물의 경우는 0.1, 1, 5 및 10%에서 각각 2.22, 22.59, 82.98 및 86.90%의 전자공여 효과를 나타내었다($p < 0.001$).

Shim 등(4)은 bovine bile에서 에탄올로 추출, 분리하여 TLC로 분석한 결과 R_f값이 각각 0.21, 0.3 및 0.72의 3개의 분획물을 얻을 수 있었으며, 인공 항산화제인 BHT와의 DPPH에 의한 항산화력을 실험한 결과 광학활성이 0.448 및 0.862로 항산화력이 BHT(100%)에 비해 약 50% 정도의 수준이라고 하였으며, 항산화력에 있어서 환원성 항산화제의 경우는 수소공여능과 환원제에 의한 연쇄적인 radical 반응이 유발되기 때문이라

Fig. 6. Nitrite scavenging effect of chicken bile extract.

^{a,b,c,d,e,f,g}Values are significantly different with different letter ($p < 0.001$).

고 하였다(21). 한편, Kang 등(18)의 보고에 의하면 전자공여능은 전반적으로 농도가 상승함에 따라 증가한다고 하였으며, 1-6 mM 사이에서는 농도차에 의한 효과는 크지 않았으며, 페놀성 화합물중 hydroxybenzoic acids류에서 gallic acid, hydroxycinnamic acids에서 hydrocaffeic acid, flavonoids 중에서는 (+) catechin류가 높은 전자공여능을 나타내었으며, 전자공여능은 환원력이 큰 것이 높은 값을 나타낸다고 하였다.

아질산염 소거작용

식품의 가공 및 저장 특히 수산물이나 식육제품에 첨가되어 독소생성억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하며 메트헤모글로빈증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급, 3급 아민과의 nitroso화 반응은 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나며 발암물질은 nitrosamine을 생성할 수 있으므로 아질산염과 아민을 동시에 섭취했을 때 위에서 nitrosamine의 생성을 억제 할 수 있는 많은 연구가 진행되고 있다(19).

본 실험에서는 위의 pH 조건과 비슷한 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 아질산염 소거작용을 측정하였고 결과는 Fig. 6과 같다. MeOH 추출물의 경우 0.1, 1, 5 및 10%에서 아질산 소거율은 1.52, 20.40, 63.08 및 92.47%를 나타내어, 동결건조물의 0.1, 1, 5, 및 10%에서 0.54, 13.62, 25.35 및 68.60% 보다 높은 수치를 나타내었다($p < 0.001$). 또한 MeOH 추출물과 동결건조물 모두 농도가 증가할수록 아질산염 소거능은 유의적으로 증가하는 것으로 나타나($p < 0.001$), 위내의 pH 1.2에서 아질산염 소거능을 보인 닭 쓸개를 아질산염과 아민이 존재할 수 있는 가공식품 등과 함께 섭취하도록 함으로써 nitrosamine에 의한 암의 발생을 예방 할 수 있는 가능성을 시사하였다.

ACE 저해작용

Angiotensin I-converting enzyme(ACE)은 불활성인 angiotensin-I의 C말단 dipeptide(His-Leu)를 절단하여 혈관벽 평활근 수축 등의 작용에 의하여 강한 혈압상승작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하는 한편, 혈압강하작용을 가지는 bradykinin을 분해하여 불활성화 시킴으로서 고혈압의 원인이 되고 있다(20).

지원에 감사드립니다.

문 헌

Fig. 7. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory effect of chicken bile extract.

^{a,b,c,d,e,f,g}Values are significantly different with different letter ($p < 0.001$).

Chicken bile의 MeOH 추출물과 동결건조물의 ACE 저해작용을 측정된 결과는 Fig. 7에서 나타낸 바와 같다. MeOH 추출물의 경우 0.1, 1, 5 및 10%에서 3.86, 19.79, 52.87 및 56.68%의 저해작용을 나타내었고 동결건조물의 경우 0.1, 1, 5 및 10%에서 6.10, 19.97, 37.20 및 46.87%의 ACE 저해효과를 보였다($p < 0.001$). 첨가량이 증가됨에 따라 ACE 저해효과가 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며, MeOH 추출물의 경우 더 높은 저해작용을 나타내었다($p < 0.001$).

요 약

닭 쓸개의 생리기능적 특성을 연구하기 위하여 TLC 및 HPLC를 이용하여 쓸개내 성분을 정성 및 정량 분석을 하였고, 항균 활성, 전자공여능, 아질산염 소거능 및 ACE 저해능을 비교 검토하였다. TLC 및 HPLC에 의해서 분석한 결과 닭 쓸개의 담즙산 중에는 taurochenodeoxycholic acid와 taurocholic acid로 추정되는 성분이 검출되었으며, 이들의 함량은 taurochenodeoxycholic acid가 5.893 mg/100 g, taurocholic acid는 385 mg/100 g 이었다. 이들 추출물은 *Bacillus cereus*에 대하여 강한 항균활성을 보였으며 *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* 및 *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서도 항균 활성을 나타내었다. 그러나 *Escherichia coli*에 대해서는 항균활성을 보이지 않았다. 쓸개의 냉동 건조물 및 methanol 추출물의 전자공여능은 시료의 농도가 증가할수록 유의적으로 증가하였다. 또한 pH 1.2에서 측정된 아질산염 소거작용에 있어서도 농도가 높을수록 유의적으로 증가하였으며, methanol 추출물이 냉동 건조물 보다 높게 나타났다. Angiotensin I-converting enzyme(ACE) 저해 작용에서도 methanol 추출물과 냉동건조물 모두에서 나타났으며, 첨가량을 증가시켰을 때 methanol 추출물의 작용이 냉동건조물의 경우 보다 상승폭이 큰 것으로 확인되었다.

이상의 결과로부터 닭 쓸개는 항균활성, 전자공여능 및 아질산염 소거능 그리고 ACE 저해능 등의 다양한 생리기능적 특성을 지니고 있어 기능성 식품 등의 소재로서의 활용을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림특정연구개발과제의 일부이며 연구비

1. Joen JH. The Livestock Yearbook of Korea. The Agriculture, Fisheries and Livestock News, Seoul, Korea. p. 133 (2001)
2. Lee JM, Kim KO, Choi SE. Effect of soaking and blanching chicken-head in the preparation of chicken-head broth. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 674-680 (2000)
3. Cha SH, Cho JH, Chung KS, Chang PS, Yi YH. Proximate composition and microbial content change of broiler waste silage by mixing with wheat bran and oven-drying. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 63-67 (1995)
4. Shim JG, Park MW, Lim KT. Natural antioxidant activity of ethanol extracted from bovine bile; Biological effects and characterization. Korean J. Environ. Agric. 18: 221-228 (1999)
5. Li P, Guan H, Has S. Effect of chicken bile on heart and blood pressure in animals. Zhongguo-Zhong-Yao-Za-Zhi 22: 113-115 (1997)
6. Hwang DF, Lai YS, Chiang MT. Toxic effects of grass carp, snake, and chicken bile juices in rats. Toxicol. Lett. 85: 85-92 (1996)
7. Danzinger RG, Hofmann AF, Schoenfield LJ, Thistle JL. Dissolution of cholesterol gallstones by chenodeoxycholic acid. New Engl. J. Med. 286: 1-8 (1972)
8. Cotter PF. Analysis of chicken bile by gel precipitation reactions using a lectin in the place of antibody. Poultry Sci. 79: 1276-1281 (2000)
9. Yeh YH, Hwang DF. High-performance liquid chromatographic determination for bile components in fish, chicken and duck. J. Chromatogr. B 751: 1-8 (2001)
10. AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
11. Haslewood GAD. The Biological Importance of Bile Salts. North-Holland, Amsterdam, Holland. pp. 35-36 (1978)
12. Anderson IG, Haslewood GAD, Oldham RS, Amos B, Ioke's I. A more detailed study bile salt evolution, including techniques for small-scale identification and their application to amphibian biles. Biochem. J. 141: 485-494 (1974)
13. Kim MS, Lee DC, Hong JE, Chang KS, Cho HY, Kwon YK, Kim HY. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 949-958 (2000)
14. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 26: 1119-1200 (1958).
15. Gray JI, Dugan LR. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. J. Food Sci. 40: 981-985 (1975).
16. Cushman DW, Cheung HS. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20: 1637-1648 (1971)
17. Lee KD, Chang HK, Kim HK. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 432-436 (1997)
18. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 232-239 (1996)
19. Jin Q, Park JR, Kim JB, Cha MH. Physiological activity of zizyphus leaf extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 593-598 (1997)
20. Maruyama S, Miyoshi S, Tanaka H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from *Ficus carica*. Agric. Biol. Chem. 53: 2763-2767 (1989)
21. Habig WH, Pabest MJ, Jakoby WR. Glutathione S-transferase; The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. 249: 7130-7139 (1974)

(2004년 2월 2일 접수; 2004년 6월 28일 채택)