

## 솔잎발효추출물의 효소적 저해활성 및 아질산염 소거작용

홍근택<sup>1</sup> · 이용림<sup>1</sup> · 임무현<sup>1†</sup> · 정낙현<sup>2</sup>

<sup>1</sup>대구대학교 공과대학 식품·생명·화학공학부, <sup>2</sup>가톨릭상지대학 식품영양과

### Physiological Functionality and Nitrite Scavenging Ability of Fermentation Extracts from Pine Needles

Taek-Geun Hong<sup>1</sup>, Yong-Rim Lee<sup>1</sup>, Moo-Hyun Yim<sup>1†</sup> and Choung-Nack Hyun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food, Biological & Chemical Engineering, Daegu University, Gyeongsan 712-714, South Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food & Nutrition, Cathollic Sangji College, Andong 760-070, South Korea

#### Abstract

Effects on the physiological functionality, such as tyrosinase, xanthine oxidase, angiotensin converting enzyme and Nitrite scavenging ability were also observed by pine needle fermentation extract(PFE) and the difference in the consistency of pine needle ethanol extracts(PE 80, PE 50) was found. In the inhibition effect on tyrosinase, PFE showed 5-38% higher than that of PE 80 and PE 50. In the inhibition on XOase, PFE, PE 80 and PE 50 showed 62.77%, 64.90%, 55.91% respectively. In the inhibition effect on ACE, PFE, PE 80 and PE 50 showed 78.02%, 69.82% and 21.75% respectively. Among these, PFE showed the highest ACE inhibition effect. In the inhibition effect on nitrite scavenging ability, the pine needle extracts showed a high effect in pH 3.0. As the result of the research using HPLC for the organic acid, all the samples(PFE, PE 80, PE 50) showed higher contents of the ascorbic acid concerned with the effect of the antioxidative. PFE showed the highest contents of the ascorbic acid.

Key words : tyrosinase, xanthine oxidase, angiotensin converting enzyme, nitrite scavenging ability

## 서 론

국민경제가 향상되고 생활이 안정되면서 식생활의 변화로 인하여 신장병, 심장병, 고지혈증, 당뇨병 등의 성인병이 지속적으로 증가되고 있어 식이요인의 중요성이 인식되고 있다. 식품을 섭취해 오면서 안정성이 입증된 식물성 식품을 성인병 예방을 위한 건강식품의 소재로 활용하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 최근 식물체 추출성분에 대한 식품관련 산업과 의약분야에서 실용화를 시도하고 있으며, 연구대상으로 많은 관심이 집중되고 있고 있다(2).

솔잎은 예로부터 중풍을 예방하고 동맥경화, 고혈압, 당뇨병과 같은 노화질환을 예방하는 효능이 있는 것으로 알려져 왔다(3). 또한 솔잎은 흰쥐에서 카드뮴 독성의 해독(4), 체내 지방저하 효과(5,6), 항산화능(6,7) 등의 효과가 보고되고 있다.

Tyrosinase 저해제로 알려진 4-hydroxyanisole과 hydroquinone 등은 강력한 멜라닌 생합성 저해 활성을 보이나 색소세포의 변성과 세포 본래의 기능을 손상시키는 등의 부작용을 나타

내고, kojic acid, arbutin 등은 활성 및 안전성에 문제점이 보고되었다(8).

Xanthine oxidase (XOase)는 생체내 퓨린대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며 urate가 혈장내에 증가되면 골절에 축적되므로 통증을 동반하는 통풍을 일으키는 효소로 알려져 왔다(9,10). 이러한 통풍에 사용되는 약물 중 allopurinol과 alloxanthine은 요산의 생성 마지막단계인 xanthine oxidase의 효소활성을 저해함으로써 요산의 생성을 억제하며, 저농도에서 저해제로 작용한다. 이러한 효소저해제는 천연물을 대상으로 많은 연구가 진행되어 왔는데 XOase의 저해제로서 phenazine dioxidase를 합성하였다(11).

Angiotensin converting enzyme (ACE)은 angiotensin I의 C-말단 dipeptide를 절단하여 활성형인 angiotensin II로 전환시켜 혈관수축작용을 일으키며, 부신에서의 aldosterone분비를 촉진하여, 결과적으로 혈압을 상승시키는 작용을 하여 동맥경화의 위험율을 높이는 것으로 알려져 있다(12). 이러한 ACE의 작용을 저해함으로써 혈압강하 활성을 갖는 물질로는 단백질 효소 분해물 유래의 peptide가 40여종이 있다고 보고되고 있다(13).

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : mhlhm@daegu.ac.kr, Phone : 82-53-850-6531, Fax : 82-53-850-6539

천연물에 의한 아질산염 소거작용에 대한 연구로는 해조류추출물 및 야채 추출물에 관한 보고가 있다(14).

국내 산림의 50%이상을 점유하고 있는 소나무의 솔잎을 기능성 식품소재로 활용하고자 하는 평가와 함께 부분적으로는 솔잎추출물의 생리활성 작용의 규명과 기능성에 관한 연구가 이루어지고 있으나, 솔잎발효추출물에 대한 생리활성 작용에 대한 규명과 이에 따른 기능성에 관한 연구는 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 솔잎을 자연 발효시켜 식품소재로서의 생리활성에 관하여 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 솔잎(*Pinus densiflora* Seib. et Zucc.)은 '01년 10월에 충청북도 음성에서 채취하여 물로 수세 후 풍건하여 절단하여 사용하였다. Tyrosinase, xanthine, ACE 및 아질산염 등의 실험에 사용된 효소와 시약은 Sigma Co.(U.S.A.)의 제품을 사용하였으며, 기타 시약류는 분석용 특급시약을 사용하였다. 또한 oxalic acid, tartaric acid, malic acid, ascorbic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, succinic acid의 HPLC 분석용 표준품은 Sigma Co.(U.S.A.)의 제품을 사용하였다.

### 솔잎발효추출물의 제조

솔잎발효추출물은 솔잎, 물 그리고 설탕(1:1:1.5, w/w/w)을 혼합한 후 20℃에서 70일 동안 자연 발효시켜 솔잎발효액과 발효잔여물로 분리하고, 발효잔여물에 솔잎(1:0.5, w/w)을 혼합한 후 물(1:3, w/w)을 첨가하여 100℃에서 6시간 동안 가열 추출하였다. 여기서 수득한 추출액을 40℃에서 감압농축하여 30°Brix로 조정하였다. 상기의 솔잎발효액과 농축한 추출액(1:1.5, w/w)을 혼합하여 20℃에서 30일 동안 재 발효시켰다. 이 솔잎발효추출액을 Rotary vacuum evaporator (Model-NE, Tokyo Rikakikai Co. LTD., Japan)를 사용하여 감압농축한 후 동결건조기(Bondiro, Ilsin Enge. Co., Korea)를 사용하여 -60℃, 10 mmHg에서 동결건조하여 사용하였다.

### 솔잎에탄올추출물의 제조

솔잎에탄올추출물은 솔잎 250 g에 각 50%와 80% 에탄올 1.5L를 가하여 실온(25℃)에서 10일간 침지시킨 후 원심분리기(HRT-620v, Hanil Industrial Co., Korea)를 사용하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액과 침전물을 분리하여 상층액은 별도로 모아두고, 분리된 침전물을 같은 방법에 따라 50%와 80% 에탄올에 침지시켜 동일한 방법으로 반복 추출하였다. 반복 추출한 상층액을 모아 솔잎발효추출물과 같

은 방법으로 감압농축한 후 동결 건조하여 사용하였다(15).

### Tyrosinase 저해활성측정

Tyrosinase 저해활성측정은 mushroom tyrosinase를 0.07M phosphate buffer(pH 6.8)에 녹여 동결 보관한 후 사용시 병상에서 녹여 효소원으로 사용하였다. L-DOPA는 차광병에서 0.07M phosphate buffer에 녹인 후 사용하였으며, 이 용액은 사용직전에 조제하였다. 0.07mM phosphate buffer(pH 6.8) 1mL, 10 μM L-DOPA 0.5mL, tyrosinase 0.5 mL(200 unit/mL)와 시료 1 mL을 혼합하여 항온수조(MC-31, Jeio Tech Co. LTD, Korea)를 사용하여 25℃에서 10분간 반응시키고, 분광광도계(Unikon 860, Kontron Instruments, U.S.A.)를 사용하여 흡광도 475 nm에서 측정하였다. 저해율 계산은  $1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}}$  /  $A_{\text{blank}} \times 100$ 으로 하였으며, 동일농도로 3회씩 반복 시험한 후 하고 평균값을 저해율로 산출하였다. Control은 tyrosinase가 없는 상태에서의 흡광도로 하였다(16).

### Xanthine oxidase (XOase) 저해활성측정

XOase 저해활성측정은 50 mM phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 1 mL에 효소액 0.1 mL와 시료 0.1 mL를 첨가하여 반응구로 하였으며, 대조구는 시료 대신 증류수를 0.1 mL 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 후 20% TCA 1 mL를 첨가하여 반응을 종료시키고 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. 효소의 저해율은 동일농도로 3회씩 반복 시험한 후 반응액 중에 생성된 uric acid의 평균값을 백분율로서 나타내었다(17).

### Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해활성측정

ACE 저해작용의 측정은 시료 50 μL에 ACE 조효소액 50 μL, 300 mM NaCl을 함유하는 50 mM HEPES HCl buffer(pH 8.3) 100 μL를 첨가한 후 항온수조를 사용하여 37℃에서 10분간 preincubation을 하였다. 이 반응액에 기질(Hypuryl-L-histidyl-L-leucine : HHL) 50 μL를 첨가한 후 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 250 μL를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 여기에 ethylacetate 1.5 mL를 가하여 진탕한 후 hypuryl acid 추출을 위해 10분간 방치한 후 상층액 1 mL를 취하여 ethylacetate층을 dry oven(Model-1060, Dong Yang Science Co., Korea)을 사용하여 140℃에서 20분간 건조시킨 후 3 mL의 증류수를 첨가하여 흡광도 228 nm에서 측정하여 다음 식에 의해서 저해율을 나타내었다(18).

$$\text{Inhibition effect (\%)} = \left( \frac{E_c - E_s}{E_c - E_b} \right) \times 100$$

$E_c$  : 시료 대신 증류수를 넣었을 때의 흡광도

E<sub>s</sub> : 시료 첨가 시 흡광도

E<sub>b</sub> : 반응 정지 후 시료 첨가했을 때의 흡광도

**아질산염 소거능 측정**

아질산염 소거능은 1 mM NaNO<sub>2</sub> 2 mL에 10 mg/mL로 조제한 각각의 시료 1 mL를 가하고, 0.1N HCl(pH 1.2), 0.2M 구연산 완충액(pH 3.0, pH 6.0)으로 각각 pH 1.2, pH 3.0, pH 6.0으로 보정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 2 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphththlamine = 1 : 1) 0.4 mL를 가한 후 vortex하여 실온에서 15분간 방치 후 흡광도 520nm에서 측정하였으며, 100-[(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)×100]으로 나타내었다(19).

**HPLC에 의한 유기산 검색**

유기산 분석은 HPLC를 사용하여 검색하였다. 분석용 column으로 econosphere C<sub>18</sub> Analytical column(5µm, 250×4.6mm)을 사용하였으며, column의 온도는 25°C이었고, 유속은 0.7mL/min이었다. 이동상의 용매로는 0.05M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 2.5)를 사용하였으며, 각 시료를 5 µg/mL로 조제하여 0.45 µm membrane filter(Millipore, pore size 0.45 µm)로 여과하고 Sep-pak C<sub>18</sub> cartridge로 지질, 단백질, 색소물질을 등을 제거하여 20 µL씩 HPLC에 주입하여 215 nm에서 측정하였다. 정량은 각각의 표준품이 혼합된 표준용액과 각 시료 용액을 주입하여 얻은 HPLC에 주입하여 얻은 chromatogram의 면적을 비교하는 방법으로 하였다(20).

**결과 및 고찰**

**Tyrosinase 저해효과**

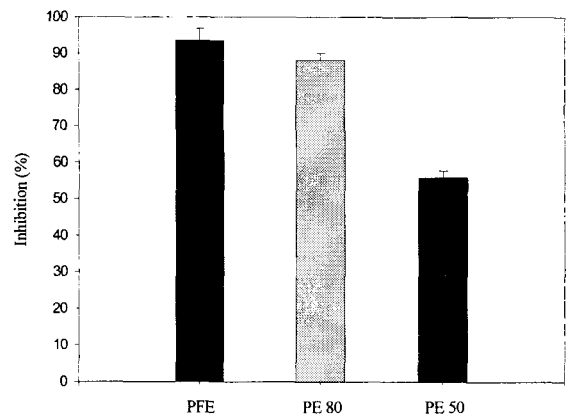
솔잎발효추출물과 농도를 달리한 솔잎 에탄올 추출물을 1mg/mL로 조제하여 melanin을 형성하는 tyrosinase의 저해효과를 실험한 결과, Fig. 1과 같다.

솔잎 추출물의 tyrosinase 저해효과는 80%에탄올 추출물인 PE 80은 88.17%의 저해율을 나타내었으며, 50% 에탄올 추출물인 PE 50은 55.91%의 저해율을 나타내었다. 반면에 발효시킨 시료 PFE는 93.55%의 가장 높은 저해율을 나타내었다.

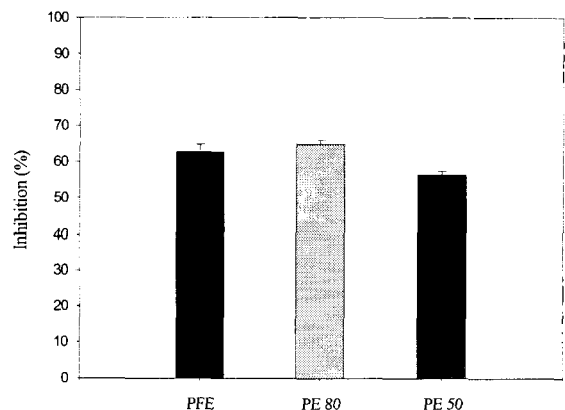
**Xanthine oxidase (XOase) 저해효과**

Xanthine oxidase (XOase)는 퓨린대사에 관여하여 xanthine 또는 hypoxanthine을 산화하여 요산을 생성하게 하는 효소이다. 이들 Xanthine oxidase(XOase)와 Xanthine, hypoxanthin과 같은 기질과의 반응은 일반적인 라디칼 형성반응으로 알려

져 있다. xanthine oxidase/xanthine oxidase -cytochrome c 반응계에서 측정되는 superoxide anion radical에 대한 소거효과는 어떤 물질에 의해 반응계 자체가 억제될 경우, 그 물질의 실제 라디칼 소거효과보다 높은 활성으로 나타나게 된다. 따라서 솔잎 추출물의 xanthine oxidase의 활성 저해능을 알아보기 위하여 솔잎발효추출물과 농도를 달리한 솔잎에탄올 추출물을 1 mg/mL로 조제하여 XOase 저해효과를 살펴본 결과 Fig. 2에 나타내었다. 각 추출물의 반응에서 솔잎을 발효시킨 시료 PFE는 18.55 µg/mL, 80%에탄올 추출물인 PE 80이 17.49 µg/mL, PE 50이 21.73 µg/mL의 요산 생산량을 나타내었으며, XOase의 저해효과는 PFE가 62.77%, PE 80이 64.90%, PE 50이 55.91%의 저해율을 나타내어 80% 에탄올 추출물이 가장 높은 XOase의 저해효과를 나타내었다.



**Fig. 1. Tyrosinase inhibition effect of pine needle extracts.**  
PFE: pine needle fermentation extract, PE 80: pine needle 80% ethanol extract, PE 50: pine needle 50% ethanol extract.



**Fig. 2. Xanthine Oxidase inhibition effect of pine needle extracts.**  
PFE, PE 80 and PE 50: Same symbols are used in Fig. 1.

**Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해효과**

솔잎발효추출물과 농도를 달리한 솔잎에탄올추출물을 1

mg/mL로 조제하여 고혈압과 연관된 ACE의 저해실험 결과를 Fig. 3에 나타내었다. ACE의 저해효과는 솔잎을 발효시킨 시료 PFE가 78.02%, PE 80이 69.82%, PE 50이 21.75%의 순으로 솔잎발효 추출물인 PFE가 가장 높은 ACE 저해효과를 나타내었으며, 상대적으로 PE 50이 가장 낮은 저해 효과를 나타내었다.

최근 ACE 저해제가 합성되어 치료법으로 임상에 제공되게 되었고(21), Kameda 등(22)은 감잎에서 추출하고 gel fraction 한 compound 물질이 ACE 저해효과를 발표하였다.

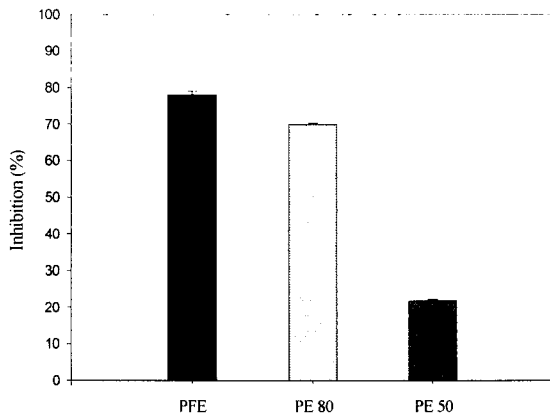


Fig. 3. Angiotensin converting enzyme inhibition effect of pine needle extracts. PFE, PE 80 and PE 50: Same symbols are used in Fig. 1.

아질산염 소거능에 대한 효과

아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급 및 3급아민 등의 아민류와 반응하여 nitrosamine을 생성하는 것으로 보고되고 있는데(23), 이들 nitrosamine은 동물실험결과 대부분이 발암성을 나타내는 물질로 밝혀짐으로써 주목을 끌게 되었다. 아질산염 소거능을 pH별로 측정 한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 반응용액의 pH가 낮을수록 아질산염 분해능이 높게 나타났으며 특히 pH 1.2에서 PFE가 73.24%, PE 80이 77.85%, PE 50이 73.45%로 높게 나타났으며, pH가 증가할수록 분해능은 감소하여 pH 6.0에서는 PFE가 32.70%, PE 80이 28.65%, PE 50이 28.58%로 낮은 분해능을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Kang 등(24)이 솔잎추출물의 아질산염 소거능을 각기 다른 pH에서 조사한 결과 pH 3.0이하에서 높은 분해능을 나타내며 pH 6.0이상에서는 낮은 분해능을 나타내었다는 보고와 유사하게 나타났다. 그리고, Lee 등(25)의 버섯 추출물을 이용한 아질산염 소거작용을 실험한 결과 영지버섯의 diethylether 추출물 및 표고버섯의 botanol 추출물이 68.34% 및 68.23%로 높은 아질산염 소거작용을 나타내었다고 보고하였으나 본 실험의 pH 3.0 이하에서의 아질산염 소거작용 결과보다는 다소 낮은 분해능을 나타내었다.

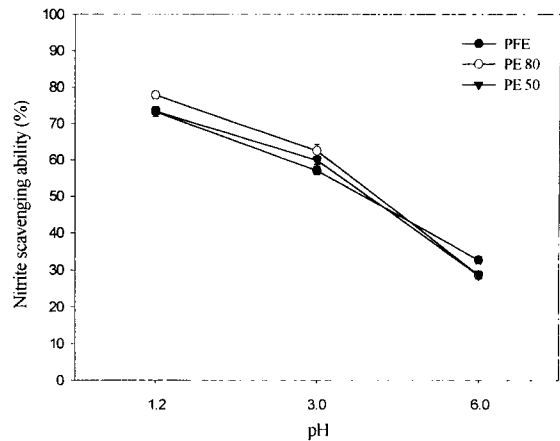


Fig. 4. Nitrite scavenging ability of pine needle extracts. PFE, PE 80 and PE 50: Same symbols are used in Fig. 1.

HPLC에 의한 유기산 분석

솔잎발효추출물과 농도를 달리한 솔잎에탄올추출물을 HPLC로 유기산함량을 측정한 결과를 Table 2과 Fig. 5~7에 나타내었다. 솔잎 발효추출물인 PFE에서는 4가지의 유기산이 검출되었는데 retention time (t<sub>R</sub>) 4.430분에서 ascorbic acid의 함량이 가장 높았으며, retention time (t<sub>R</sub>) 4.078분에 tataric acid, retention time (t<sub>R</sub>) 4.995분에 acetic acid, retention time (t<sub>R</sub>) 5.466분에 citric acid의 순으로 유기산 함량을 나타내었다. 에탄올 추출물인 PE 80에서는 3가지의 유기산이 검출되었으며, retention time (t<sub>R</sub>) 4.436분에 ascorbic acid의 함량이 높게 나타났고, retention time (t<sub>R</sub>) 4.130분에 tataric acid, retention time (t<sub>R</sub>) 4.971분에 acetic acid의 순으로 적은 함량을 나타내었다. 그러나 PE 50에서는 retention time (t<sub>R</sub>) 4.433분에 ascorbic acid 1개만 검출되었을 뿐 그 외의 다른 유기산은 검출되지 않았다.

Table 1. Analysis of major organic acid in pine needle extracts (PFE, PE 80 and PE 50: Same symbols are used in Fig. 1).

Organic acid	PFE	PE 80	PE 50
Oxalic acid	ND <sup>1)</sup>	ND	ND
Tataric acid	110.75	109.73	ND
Malic acid	ND	ND	ND
Ascorbic acid	7331.20	5299.94	3349.57
Lactic acid	ND	ND	ND
Acetic acid	258.27	151.82	ND
Citric acid	150.66	ND	ND
Succinic acid	ND	ND	ND
Total	7850.88	5561.49	3349.57

<sup>1)</sup> ND: not detected.

솔잎 발효추출물과 농도를 달리한 솔잎 에탄올추출물을 모두에서 항산화작용에 관여하는 ascorbic acid의 함량이 가

장 높게 나타났으며, 3시료 중 PFE에서 가장 많은 ascorbic acid 함량이 검출되었다. 이와 같은 결과는 감잎, 녹차, 솔잎을 원료로 한 건분 및 에탄올추출물의 항산화능에 미치는 영향의 연구 등에서의 같이 솔잎의 시료에서 ascorbic acid의 함량이 가장 높게 나타난 것과 유사한 결과로 나타났다(26).

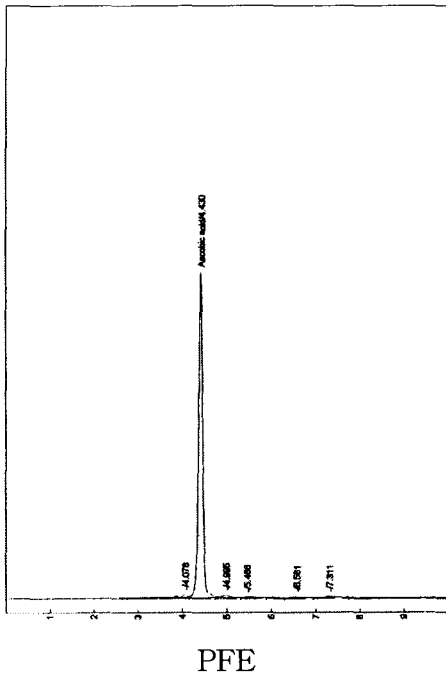


Fig. 5. HPLC chromatogram for organic acid of pine needle fermentation extract(PFE).

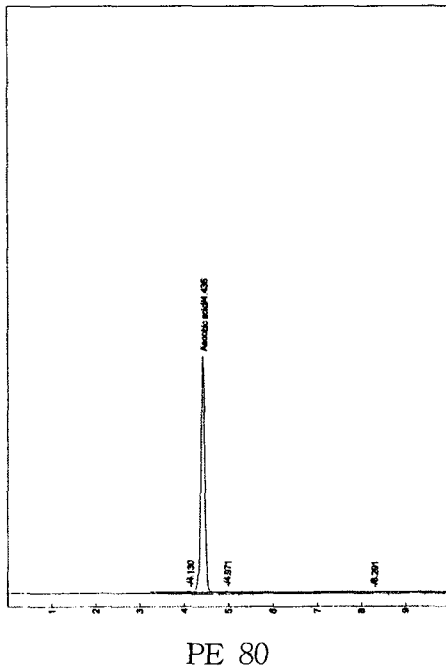


Fig. 6. HPLC chromatogram for organic acid of pine needle 80% ethanol extract(PE 80).

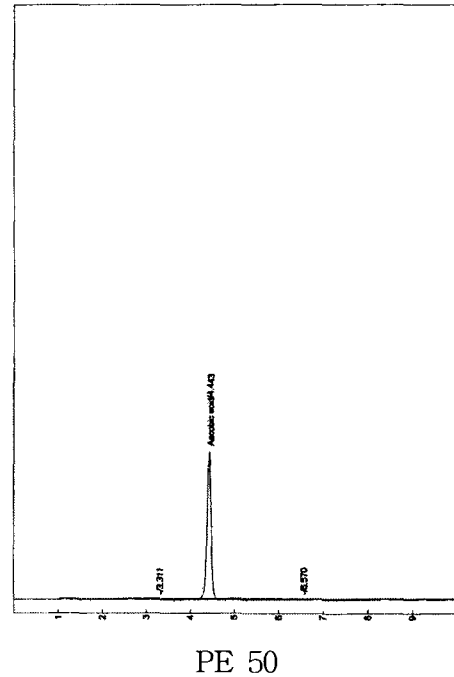


Fig. 7. HPLC chromatogram for organic acid of pine needle 50% ethanol extract(PE 50).

요 약

솔잎의 기능성에 관한 연구를 위하여 솔잎발효추출물(PFE)과 에탄올추출물(PE 80, PE 50)로 효소적 저해활성과 아질산염 소거작용에 대하여 연구하였다.

Tyrosinase의 저해효과는 솔잎발효 추출물인 PFE가 솔잎 에탄올 추출물 PE 80과 PE 50에 비해 약 5~38%정도 저해활성 효과가 높게 나타났다. XOase 저해효과는 PFE가 62.77%, PE 80이 64.90%, PE 50이 55.91%의 저해율을 나타내었으며, ACE 저해효과는 PFE가 78.02%, PE 80이 69.82%, PE 50이 21.75%의 순으로 솔잎발효 추출물인 PFE가 가장 높은 저해효과를 나타내었다.

아질산염 소거작용은 솔잎추출물 모두 pH 3.0이하에서 높은 분해능을 나타내었다. 유기산 함량 분석 결과, PFE, PE 80, PE 50의 세 시료 모두 항산화작용에 관여하는 ascorbic acid가 가장 많이 함유되어 있었으며, 시료별 ascorbic acid의 함량은 솔잎 발효추출물인 PFE가 가장 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 대구대학교 학술연구조성비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Pack, C. S., Kwon, C. J., Choi, M. A., Pack, G. S. and Choi, K. H. (2002). Antioxidative and nitrite scavenging activity of mugwort and pine needle extracts. *Korean Journal of Food Preservation*, 9, 248-252
2. Yoon, S. O., Yoo, S. J and Oh, J. S. (1997). A study on the pharmacological and nutritional values of needles of *pinus densiflora* S. et Z. *Research Bulletin of the Experiment Foresta*, 5, 63-81
3. Moon, J. J., Han, Y. B. and Kim, J. S. (1993). Studies on antitumor effects of pine needles, *Pinus densiflora Sieb. et Zucc.* *Korean Vet Res.*, 33, 701-710
4. 이종섭, 박경옥 (1996) 송엽 추출물을 이용한 카드뮴 독성의 해독에 관한 연구. *한국환경위생학회지*, 22, 88-97
5. 이 은, 최무영 (2000) 솔잎분말이 고 콜레스테롤 급여 흰쥐의 체지방 구성과 TBARS량에 미치는 영향. *한국영양과학회지*, 32, 1186-1190
6. 김은성, 김미경 (1999) 감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올추출물이 흰쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향. *한국영양과학회지*, 32, 337-352
7. 백태홍, 이민수, 이준홍 (1987) 송엽중의 항산화성 물질이 리놀산의 광산화에 미치는 영향. *한국유화학회지*, 4, 25-30
8. Meada, K. and Fukuda, M. (1991). In vivo effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 42, 361-367
9. Jonnes, P. H. (1973). Iodine as an antihypertensive agent. *Ibid.*, 3, 679-686
10. Storch, J. and Ferber, E. (1988). Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.*, 169, 262-269
11. Kang, I. Y., Kim, S. Y., Kim, H. S. and Huh, K (1990). Effect of phenazine dioxide derivatives on the hepatic xanthine oxidase activity. *Yakhak Hoeji*, 34, 112-119
12. Kim, S. H., Lee, Y. J., and Kwon, D. Y. (1999). Isolation of angiotensin converting enzyme inhibitor from *Doenjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31, 848-854
13. Ariyoshi, Y. (1993). Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trend Food Science Technol.*, 4, 139-144
14. Kim, D. S., Ahn, B. W., Yeum, D. M., Lee, D. H., Kim, S. B. and Park, Y. H. (1987). Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 20, 463-469
15. Cho, Y. C., Chun, S. S. and Choi, C. (1993). Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22, 418-422
16. Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu, N. (1986). *Planta Med.*, 39, 517-522
17. Stirpe, F. and Corte, E. D. (1969). The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, 244, 3855-3859
18. Chshman D. W. and Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, 20, 1637-1643
19. Kato, H., Lee, I. E., Chuyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F. (1987). Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1333-1339
20. 이영숙. (1998). 개량누룩에 의한 탁주의 품질개선. 석사학위논문 : 동국대학교 산업기술환경대학원
21. 이기호. (1992). Angiotensin converting enzyme 저해제의 합성 및 동력학적 연구. 박사학위논문 : 강원대학교 대학원
22. Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H. and Kimura, Y. (1987). Inhibition effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin converting enzyme activity. *J. Natural Products*, 50, 680-685
23. Croby, N. T. and Sawyer, R. (1976). N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. "Advances in food research" (C.O. Chichstered). Academic press, 21, 1
24. Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D. (1995). Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extract. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 978-984
25. Lee, G. D., Chang, H. G., and Kim, H. K. (1997). Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29, 432-438
26. 김은성, 김미경. (1999). 감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올추출물이 흰쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향. *한국생약학회지*, 32, 337-352

(접수 2004년 2월 3일, 채택 2004년 3월 5일)