Bull. Korean Fish. Soc. 26(4), 321～329, 1993 韓水誌, 26(4), 321～329, 1993

수산발효식품 중의 Angiotensin-I 전환효소 저해제의 특성

1. 멸치젓갈 중의 Angiotensin-I 전환효소 저해제의 특성

김선봉 · 이태기 · 박영범 · 염동민* · 김외경 · 변한석 · 박영호
부산수산대학교 식품공학과 · *양산전문대학 식품영양과

Characteristics of Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitors Derived from Fermented Fish Product

1. Characteristics of Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitors Derived from Salted and Fermented Anchovy

Seon-Bong KIM · Tae-Gee LEE · Yeung-Beom PARK · Dong-Min YEUM* · Oi-Kyung KIM · Han-Seok BYUN and Yeung-Ho PARK
Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 606-737, Korea
**Department of Food and Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan, 628-800, Korea*

The present study was conducted to elucidate the body modulating function of fermented seafood products.

Angiotensin converting enzyme(ACE) acts in blood pressure regulation, converting angiotensin I to the potent vasoconstrictor angiotensin II and inactivating the vasodilator bradykinin to raise blood pressure.

Salted and fermented anchovy which is one of the traditional fermented seafood in Korea was tested for inhibitory activity against ACE.

ACE inhibitory activity of salted anchovy during the period of fermentation was increased with the elapse of fermentation days until fermentation of 60 days, but thereafter decreased inversely. When the fermented product was extracted with 50% ethanol, the ACE inhibitory activity was the highest. And the ACE inhibitory activity was proportion to the content of 50% ethanol soluble peptide-nitrogen of the fermented product.

From the profiles of gel permeation chromatography on a Bio-Gel P-2 of 50% ethanol soluble fraction obtained from salted and fermented anchovy fermented for 60 days at an ambient temperature, the higher activity fractions were C′(IC_{50}=97 μg protein/*ml*) and D′ (IC_{50}=65 μg protein/*ml*). Amino acid analysis showed that the large quantify of threonine, glutamic acid, lysine for C′ and serine, proline for D′, respectively.

이 연구는 한국과학재단지정 우수공학연구센터인 해양산업개발연구소의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

서 론

식품중에는 노화나 발암 등의 신체장애의 원인이나 이들 물질의 생성억제 및 불활성화와 생체의 대사조절기능 등에 관여하는 여러가지 물질들이 존재하는데, 최근 이러한 생체조절기능을 가진 물질을 검색 및 분리하여 식품이 갖는 기능의 해석이나 생체내에서의 거동 해석 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

현대 성인병의 대표적인 질환인 고혈압증의 대부분을 차지하고 있는 본태성고혈압(本態性高血壓)의 원인 중에서 renin·angiotensin계가 생체의 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다. 특히 angiotensin converting enzyme(ACE)은 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I으로부터 C말단의 dipeptide를 가수분해 시킴으로서 강력한 혈관수축작용을 갖는 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. 생성된 angiotensin II는 강력한 혈관수축작용을 가지며 adrenal cortex에서 aldosterone의 분비를 촉진함으로서 물과 sodium의 배설을 억제한다. ACE는 또한 혈관이완작용을 가진 nanopeptide인 bradykinin을 분해하여 불활성화시킴으로서 고혈압의 원인이 되고 있다(Manjusri and Richard, 1975; 池本 等, 1981; Horovitz, 1981; 大久保, 1991).

한편, 식품중에는 ACE의 작용을 억제하는 물질이 존재한다고 보고되고 있는데(鈴木 等, 1983), 특히 casein(Maruyama and Suzuki, 1982; Maruyama *et al.*, 1987)과 옥수수 단백질인 zein(Miyoshi *et al.*, 1991)의 가수분해물을 비롯하여 차(茶)의 polyphenol 성분(原 等, 1987), 무화과 유액(Maruyama *et al.*, 1989), 간장(Kinoshita *et al.*, 1993) 및 청주(清酒)와 그 부산물(齊藤 等, 1992)의 가수분해물이 ACE 저해작용을 나타낸다고 보고되고 있다. 또한, 어육단백질인 정어리(末網과 簇島, 1986; 受田 等, 1991, 1992; 松田 等, 1992; Matsui *et al.*, 1993)와 고등어(염 등, 1992) 근육단백질 가수분해물의 ACE 저해작용도 보고되고 있다.

이처럼 단백질 가수분해물이 갖는 생리활성에 대한 연구는 최근에 큰 관심의 대상이 되고 있으나 우리나라의 경우에는 수산단백질의 섭취가 많음에도 불구하고 수산단백질이 갖는 생리활성 특히 고혈압의 억제와 관련이 있는 ACE 저해작용에 관한 연구는 지극히 미비한 실정이다.

본 연구에서는 전통수산발효식품으로 널리 이용되고 있는 멸치젓갈에 함유되어 있는 angiotensin-I 전환효소 저해물질을 추출하여 gel 여과에 의하여 분리된 획분들의 작용 및 특성에 대해서 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 멸치(*Engraulis japonica*, 체중: 8~16*g*, 체장: 11~15*cm*)는 1992년 4월 13일 경남 양산군 기장읍 대변에서 어획한 선도 양호한 것을 구입하여 시료로 사용하였다.

Angiotensin-I 전환효소(ACE)는 토끼의 허파로부터 얻은 아세톤 침전분말(Sigma Co.) 1*g*에 붕산완충액(pH 8.3) 10*ml*를 가하여 5℃에서 24시간 교반한 후 원심분리(10,000rpm, 30분)하여 얻은 상층액을 조효소액으로 하였으며, 기질로는 hippuryl-His-Leu(Sigma Co.)를 사용하였다.

2. 실험방법

(1) 수분, 염도 및 pH

상법에 따라 수분은 상압가열건조법, 염도는 Mohr법(日本藥學會編, 1980)으로 측정하였으며 또한 pH는 시료에 약 10배량의 증류수를 가하여 waring blender로써 균질화한 후 pH meter(동우 메디칼 시스템, model DP-880)로 측정하였다.

(2) 멸치젓갈의 제조

재래식 제조방법에 따라 선도 양호한 멸치 전어체 중량에 대하여 20%가 되게 정제식염을 가한 다음, 잘 섞어 500*g*씩 플라스틱 용기에 담은 후 뚜껑을 닫아 통풍이 잘 되는 서늘한 곳에 저장하면서 숙성시켰다.

(3) 시료액의 제조

숙성기간 20일 간격으로 각각 멸치젓갈 50*g*씩을 취하여 증류수 50*ml*를 넣고 waring blender로써 균질화하여 얻어진 액을 10,000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 ethanol 및 acetone의 최종농도가 각각 10, 25, 50 및 80%가 되게 가하여 -40℃에서 24시간 방치한 후 다시 10,000rpm에서 20분간 원심분리시킨 후 그 상층액을 40℃에서 감압농축한 것을 시료액으로 하였다.

(4) 휘발성 염기질소

휘발성 염기질소는 conway unit를 이용한 미량확산법(圖說 · 食品營養學實驗書, 1992)으로 측정하였다.

(5) 아미노 질소

아미노 질소는 동염법(Spies and Chamber, 1951)으로 비색 정량하였다.

(6) 단백질 및 peptide-nitrogen 함량

숙성기간에 따른 단백질 함량 및 시료단백질 *mg*당 peptide-nitrogen의 생성량의 변화는 Lowry법(Lowry *et al.*, 1951) 및 개량 biuret법(Umemoto, 1966)으로 측정하였다.

(7) Angiotensin-I 전환효소(ACE) 저해작용의 측정

ACE 저해작용은 Cushman과 Cheung(1971)의 방법에 준하여 실시하였다. 즉, 소정농도의 단백질 가수분해물 50 *μl*를 가한 후, ACE 조효소액 50 *μl* 및 sodium borate buffer(pH 8.3) 100 *μl*를 가한 후, 37℃에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 기질로써 hippuryl-His-Leu 용액(25*mg*/2.5*ml* sodium borate buffer) 50 *μl*를 가하여 다시 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 250 *μl*를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5*ml*를 가하여 15초간 교반한 후, 3,000rpm에서 5분간 원심분리시켜 상층액 1*ml*를 취하였다. 이 상층액을 완전히 건조시킨 뒤 증류수 3*ml*를 가하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질 가수분해물 첨가 전후의 백분율로써 ACE 저해율을 나타내었다.

(8) Gel 여과에 의한 시료액의 분획

Bio-Gel P-2(Bio-Rad사)를 충진한 column(*φ*2.2×80*cm*)을 사용하여 각 시료액 2*ml*를 증류수로써 20*ml*/*hr*의 유속으로 용출시켰다. 이때 용출액 5*ml*씩을 받아 280nm에서의 흡광도 및 Lowry법(Lowry *et al.*, 1951)에 의한 단백질의 함량을 구하였다.

(9) 아미노산의 분석

시료 0.2*g*을 정칭하여 ample에 넣고, 6N HCl 10 *ml*를 가하여 질소가스로 치환한 뒤 봉한 다음, 110℃의 sand bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건고하여 HCl을 완전히 제거한 다음 증류수 10*ml*를 가하여 다시 감압건고한 후 구연산 완충액(pH 2.2)으로써 25*ml*로 정용하였다. 이의 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기(LKB 4150)로서 정량하였다.

결과 및 고찰

멸치젓갈 숙성중의 수분, 염도 및 pH의 변화

멸치젓갈 숙성중의 수분, 염도 및 pH의 변화를 Table 1에 각각 나타내었다.

숙성기간에 따라 수분의 변화는 66%를 전후로 약간의 증가와 감소를 보였으나 큰 변화는 없었다. 李 등(1987a)은 생멸치와 숙성멸치 간의 일반성분의 변화를 나타내었는데 생멸치의 수분이 약 74%인데 비하여 숙성멸치의 수분은 60% 정도를 유지하였다고 한다. 숙성멸치의 수분함량이 낮은 것은 첨가한 염에 의한 희석효과일 것이라고 하였다.

염분의 변화는 숙성 60일차에 약 15%로 매우 낮은 염농도를 유지하였으며 그 후 다소 상승하는 경향을 나타내었다.

pH의 변화는 숙성 40일차까지는 다소 감소하다가 그 후 증가하는 경향을 나타내었다.

Table 1. Changes in moisture, salinity and pH during ripening of salted anchovy

	Ripening, days					
	0	20	40	60	80	100
Moisture(%)	64.8	67.0	64.5	68.2	65.9	64.9
Salinity(%)	18.0	16.6	19.0	14.9	16.7	17.8
pH	6.20	5.97	5.83	6.10	6.28	6.60

멸치젓갈 숙성중의 휘발성 염기질소(VBN)의 변화

멸치젓갈 숙성중의 휘발성 염기질소의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과, 숙성이 진행됨에 따라 VBN은 계속 증가하였으며 숙성 60일차에는 95.77 *mg*/100*g*으로 상당히 낮은 함량을 나타내었으나 80일차에는 152.21*mg*/100*g*으로 급격히 증가하는 경향을 나타내었다.

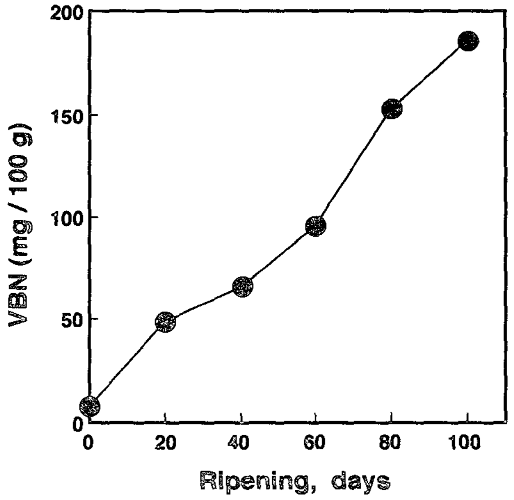

Fig. 1. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) during ripening of salted anchovy.

李 등(1987b)은 멸치젓갈 숙성중 VBN의 함량은 숙성기간에 따라 두 단계에 걸쳐 증가한다고 하였다. 즉 숙성 초기에 1차 증가한 후, 숙성 4~5개월째에 두번째 급격한 증가를 하는데 이는 멸치젓갈 숙성에 관여하는 미생물이 분비하는 RNA-depolymerase 활성과 깊은 관계가 있다고 한다.

RNA-depolymerase는 호염성의 박테리아 수가 증가하면서 그 활성도 함께 증가하여 nucleotides가 5'-mononucleotides로 분해되기 때문에 2차적 VBN의 증가가 진행된다고 보고하고 있다.

멸치젓갈 숙성중의 아미노 질소의 변화

멸치젓갈 숙성중의 아미노 질소의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 그 결과, 숙성 20일차에 420.15*mg*/100*g*으로 급격히 증가하였고, 숙성 60일차에는 823.53 *mg*/100*g*으로 최고값을 나타내다가 그 후 거의 변화가 없었다. 李 등(1987c)에 의하면 멸치젓갈은 숙성이 진행되면서 수용성 질소 화합물이 육조직에서 액즙으로 용출되어 나오며 3개월을 전후로 평형에 도달한다고 하였다. 이 시기가 멸치젓갈의 적정 숙성기간이라고 하였으며, 아미노 질소와 비단백 질소 함량은 숙성 3개월 후에도 계속 증가한다고 하였다. 또한 이 등(1986)은 멸치젓갈 숙성중의 아미노 질소의 변화와 맛의 형성과의 관계에서 아미노 질소 함량이 최대가 될 때 최적 맛을 가지게 된다고 보고하고 있다.

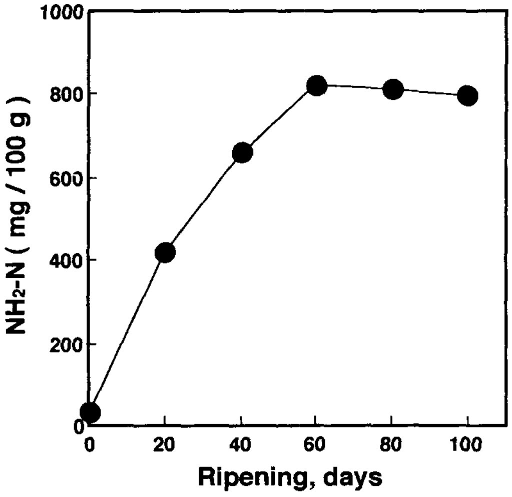

Fig. 2. Changes in amino nitrogen during ripening of salted anchovy.

추출 용제별 농도에 따른 단백질 함량 및 ACE 저해효과

ACE 저해물질의 추출 조건을 검토하기 위하여 가장 높은 ACE 저해효과를 나타내는 숙성 60일차의 멸치젓갈 50*g*에 증류수 50*ml*를 넣고 waring blender로써 균질화하여 얻어진 액을 원심분리(10,000 rpm, 20분)하였다. 상층액에 ethanol 및 acetone 농도를 10, 25, 50 및 80%가 되게 각각 가하여 -40℃에서 24시간 방치한 후 다시 원심분리(10,000rpm, 20분)시킨 후 그 상층액을 40℃에서 감압농축하여 Lowry법에 의한 단백질 함량 및 그 때의 ACE 저해효과를 검토한 결과(Table 2), ethanol 농도가 50%인 획분에서 단백질 함량은 0.72*g*으로 ethanol 농도 10%의 0.81*g*보다도 다소 낮았으나 그 저해효과는 46.2%로 다른 획분에 비해 가장 우수한 것으로 나타났다. Acetone의 경우는 ethanol에 비하여 ACE 저해효과가 전반적으로 낮게 나타났다.

Table 2. Changes of ACE inhibition effect of salted and fermented anchovy* according to extraction solvents

Solvents	Protein-g, Yield	ACE inhibition ratio, %
Unfractionated	1.36(100)	7.8
Ethanol		
10%	0.81 (60)	21.2
25%	0.79 (58)	31.6
50%	0.72 (53)	46.2
80%	0.36 (27)	31.7
Acetone		
10%	0.80 (59)	17.3
25%	0.62 (46)	24.1
50%	0.61 (45)	25.0
80%	0.57 (42)	22.6

* Fermented for 60 days at an ambient temperature.

멸치젓갈 숙성중 시료액의 peptide-nitrogen 함량 및 ACE 저해효과

멸치젓갈 숙성중 시료액의 50% ethanol 가용성 peptide-nitrogen 함량 및 ACE 저해효과를 검토한 결과를 Table 3에 나타내었다. 그 결과, 숙성기간에 따른 peptide-nitrogen의 함량은 아미노 질소 함량이 최고치를 나타내는 숙성 60일차에 최대값을 나타내다가 그 후로는 다소 감소하는 경향을 나타내

Table 3. Changes in the 50% ethanol soluble peptide-nitrogen and ACE inhibition effect during ripening of salted anchovy

Ripening, days	Peptide-nitrogen, *mg/ml*	ACE inhibition ratio, %
0	15.08	8.4
20	25.09	19.9
40	28.51	44.3
60	44.04	46.2
80	38.87	35.8
100	29.58	20.3

었고, ACE 저해효과도 숙성 60일차에 46.2%로 가장 높은 저해효과를 나타내어 숙성중 peptide-nitrogen의 생성과 ACE 저해효과 사이에는 매우 밀접한 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

따라서 가장 높은 저해효과를 나타내는 숙성 60일차의 멸치젓갈의 첨가량에 따른 ACE 저해효과를 살펴본 결과 Table 4에 나타내었다. 즉, 첨가량을 각각 20, 50 및 100㎍으로 하였을 때 ACE 저해효과는 23.3, 46.2 및 79.1%로 첨가량에 따라 증가하는 것으로 나타났다.

김(1988)은 새우젓 숙성중의 단백질의 변화는 숙성 1개월을 기점으로 분자량이 적은 단백질은 모두 가수분해되어 peptide나 아미노산으로 분해되며 남아있는 작은 분자량의 단백질도 숙성과 더불어 분해가 진행된다고 보고하였다. 이러한 결과로 미루어 멸치젓갈 중의 ACE 저해작용을 가진 peptide는 숙성에 따라 자가효소 및 미생물이 분비하는 단백질 분해효소에 의하여 단백질로부터 유리되는 것으로 생각되며, 숙성과 더불어 이 ACE 저해작용을 가진 peptide가 다시 분해되는 것으로 생각된다. 그러나 杉山 等(1991)은 정어리 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 소화효소에 의한 분해에서도 60% 이상의 잔존 활성을 나타내었다고 보고하였다. 또한 50% ethanol 가용성 peptide-nitrogen의 생성량과 비교해 볼 때 이 ACE 저해작용은 peptide-nitrogen의 생성량과도 관련이 있으나 생성되는 peptide의 종류에 더 큰 영향을 받는다는 것이 시사되었다.

또한 염 등(1992)은 효소에 의한 고등어 근육단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 단백질의 가수분해에 의해 생성된 저분자 peptide 사슬길이나 구조 및 아미노산 배열순서 등에 따라 서로 다른 것으로 추정하고 있다.

Table 4. ACE inhibition effect according to concentration of salted and fermented anchovy fermented for 60 days

Salted and fermented anchovy, ㎍	ACE inhibition ratio, %
20	23.3
50	46.2
100	79.1

멸치젓갈로부터 분리한 ACE 저해제의 정제 및 특성

앞의 결과에서 멸치젓갈 숙성에 따른 ACE 저해효과가 가장 우수하게 나타난 숙성 60일차의 멸치젓갈에 대하여 이들 인자를 보다 구체적으로 살펴보기 위하여 Bio-Gel P-2에 의한 gel 여과를 실시하여 이에 따른 280nm에서의 흡광도 및 그 때의 단백질 함량의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과 11개의 획분을 얻었는데 이들 각 획분들의 단백질 함량을 동일하게 조정한 후, ACE 저해효과를 살펴본 결과는 Table 5와 같다. 즉, 획분 C와 획분 D의 ACE 저해효과가 각각 65.2, 59.7%로 가장 우수한 것으로 나타나, 이들을 rechromatography한 결과(Fig. 4), 각각 단일획분을 얻을 수 있었다. 이때 분리된 C'와 D'획분의 IC_{50}(ACE 활성을 50% 저해하는데 요구되는 저해제의 양)을 살펴본 결과(Table 6), 각각 97, 65㎍으로 나타났다.

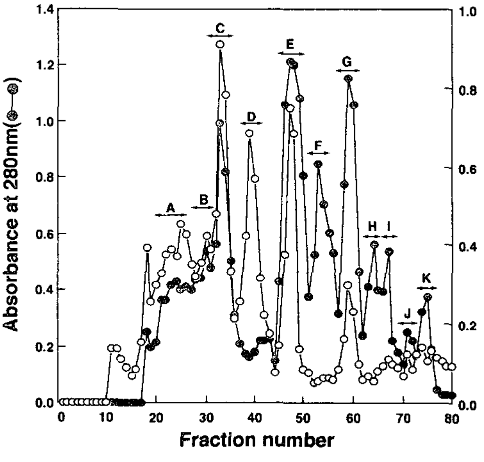

Fig. 3. Gel chromatogram on a Bio-Gel P-2 column of 50% ethanol soluble fraction obtained from salted and fermented anchovy*.

*Fermented for 60 days at an ambient temperature.

Table 5. ACE inhibition effect of each fraction fractionated from salted and fermented anchovy* on a Bio-Gel P-2 column

Fractions**	ACE inhibition ratio, %
Part A(Fraction No. 21~27)	11.8
Part B(Fraction No. 29~31)	34.2
Part C(Fraction No. 32~35)	65.2
Part D(Fraction No. 40~44)	59.7
Part E(Fraction No. 45~50)	41.5
Part F(Fraction No. 52~56)	33.0
Part G(Fraction No. 58~61)	32.2
Part H(Fraction No. 63~65)	30.0
Part I(Fraction No. 66~68)	28.3
Part J(Fraction No. 70~72)	18.9
Part K(Fraction No. 73~76)	14.7

* Fermented for 60 days at an ambient temperature.

** ACE inhibition was determined with 50 μl of each fraction containing 50 μg of peptide-nitrogen.

식품단백질 효소가수분해물의 angiotensin-I 전환효소 저해작용에 관한 염 등(1993)의 보고에 의하면 탈지 대두박, egg albumin 및 casein 가수분해물의 gel 여과에 의한 획분별 ACE 저해작용은 전반적으로 fraction No. 40을 전후하여 ACE 저해작용이 큰 것으로 보고하고 있으며, 이들 ACE 저해획분의 분자량은 약 1,400부근인 것으로 추정하고 있다.

한편, 단일 획분인 C'와 D'획분의 아미노산 조성을 살펴본 결과를 Table 7에 나타내었다. 그 결과 이들 두 획분의 아미노산 조성은 다소 차이가 있었으며, C'획분은 threonine, glutamic acid 및 lysine의 함량이, D'획분은 serine과 proline의 함량이 많은 것으로 나타났다.

이와 관련하여 ACE 저해작용을 갖는 정어리 단백질 가수분해물의 아미노산 조성에 대하여 受田等(1991)은 lysine의 함량이 적고 tyrosine, leucine 및 phenylalanine 등의 소수성 아미노산 함량이 많은 것으로 보고하였다.

또한 Cheung *et al.*(1980)은 여러가지 dipeptide를 합성하여 ACE 저해효과에 미치는 C말단 및 N말단 아미노산 잔기의 영향에 대하여 검토한 결과, C말단 아미노산 잔기로서는 tryptophan, phenylalanine, tyrosine 및 proline을 N말단 아미노산 잔기로서는 valine과 isoleucine을 가지는 depeptide가 높은 ACE 저해효과를 가진다는 것을 밝히고, 활성의 발현에 있어서 방향족 및 소수성 아미노산 잔기의 기여가 중요하다는 것을 시사하였다.

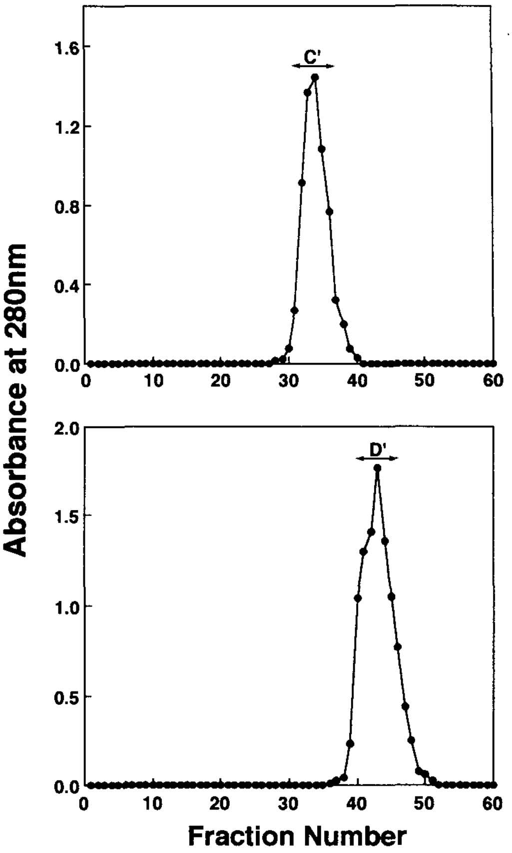

Fig. 4. Rechromatogram on a Bio-Gel P-2 column of active fraction C' and D' from salted and fermented anchovy.

Table 6. IC_{50} of ACE inhibitors from salted and fermented anchovy*

Inhibitors	IC_{50}(μg protein/ml)
C'	97
D'	65

* Fermented for 60 days at an ambient temperature.

이러한 사실로 미루어 멸치젓갈로부터 분리한 획분의 ACE 저해작용은 그 구성 아미노산의 조성이나 함량에도 영향을 받을 것으로 생각되나, 구성 peptide의 종류나 아미노산의 배열에 더 큰 영향을

받을 것으로 생각된다. 따라서 생성된 저분자 peptide의 길이나 구조 및 아미노산의 종류나 배열순서 등의 복합적인 작용에 의하여 angiotensin-I 전환효소에 대하여 저해작용이 있는 것으로 추정된다.

Table 7. Amino acid composition of active fraction C′ and D′ fractionated from salted and fermented anchovy* on a Bio-Gel P-2 column (% to total amino acids)

Amino acids	Fractions	
	C′	D′
Aspartic acid	3.76	3.50
Threonine	16.43	4.59
Serine	0.87	31.02
Glutamic acid	23.40	7.24
Proline	7.87	19.07
Glycine	5.56	4.01
Alanine	6.67	6.31
Cysteine	1.23	1.28
Valine	4.98	5.89
Methionine	1.05	1.81
Isoleucine	2.70	1.68
Leucine	1.87	1.18
Threonine	-	0.38
Phenylalanine	0.77	2.55
Histidine	5.26	3.72
Lysine	11.57	3.54
Arginine	6.01	2.23
Total	100.00	100.00

* Fermented for 60 days at an ambient temperature.

요 약

수산자원의 기능특성 해명을 위한 연구의 일환으로 전통수산발효식품으로 널리 이용되고 있는 멸치젓갈에 함유되어 있는 angiotensin-I 전환효소 저해물질을 추출하여 gel 여과에 의하여 분리된 획분들의 작용 및 특성에 대해서 살펴보았다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. ACE 저해물질의 추출 조건을 검토하기 위하여 가장 높은 ACE 저해효과를 나타내는 숙성 60일차의 멸치젓갈을 ethanol 및 acetone의 농도를 각각 10, 25, 50 및 80%로 하여 추출하였을 때 ethanol 농도가 50%인 획분이 가장 우수한 저해효과를 나타내었다.

2. 멸치젓갈 숙성중 시료액의 50% ethanol 가용성 peptide-nitrogen 함량 및 ACE 저해효과는 아미노 질소 함량이 최고치에 달하는 숙성 60일차에 최대값을 나타내다가 그 후 다소 감소하는 경향을 나타내었다.

3. Gel 여과에 의한 멸치젓갈의 획분별 ACE 저해효과를 검토한 결과, 획분 C 및 D가 가장 높은 ACE 저해작용을 나타내어 이들을 rechromatography하여 분리한 단일 획분인 C′와 D′획분의 IC_{50}은 각각 97, 65 μg로 나타났다.

4. 분리한 단일 획분인 C′와 D′획분의 아미노산 조성은 다소 차이가 있었으며, C′획분은 threonine, glutamic acid 및 lysine의 함량이 많은 것으로 나타났으며, D′획분은 serine과 proline의 함량이 많은 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

Cheung, H. S., F. L. Wang, M. A. Ondetti, E. F. Sabo and D. W. Cushman. 1980. Binding of peptide substracts and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Importance of the COOH-terminal dipeptide sequence. J. Biol. Chem., 255, 401~407.

Cushman, D. W. and H. S. Cheung. 1971. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochemical Pharmacology, 20, 1637~1648.

Horovitz, Z. P. 1981. Angiotensin converting enzyme inhibitors. Urban & Schwarzenberg, Baltmore-Munich, 3~25.

Kinoshita, E., J. Yamakoshi and M. Kikuchi. 1993. Purification and identification of an angiotensin-I converting enzyme inhibitor from soy sauce. Biosci. Biotech. Biochem., 57(7), 1107~1110.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265~275.

Manjusri, D. and L. S. Richard. 1975. Pulmonary angiotensin-converting enzyme. J. Biol. Chem., 250(17), 6762~6768.

Maruyama, S. and H. Suzuki. 1982. A peptide inhibitor of angiotensin I converting enzyme in the

tryptic hydrolysate of casein. Agric. Biol. Chem., 46(5), 1393～1394.

Maruyama, S., H. Mitachi, H. Tanaka, N. Tomizuka and H. Suzuki. 1987. Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin I converting enzyme inhibitors derived from casein. Agric. Biol. Chem., 51(6), 1581～1586.

Maruyama, S., S. Miyoshi and H. Tanaka. 1989. Angiotensin I converting enzyme inhibitors derived from *Ficus carica*. Agric. Biol. Chem., 53 (10), 2763～2767.

Matsui, T., H. Matsufuji, E. Seki, K. Osajima, M. Nakashima and Y. Osajima. 1993. Inhibition of Angiotensin I-converting enzyme by *Bacillus licheniformis* Alkaline Protease Hydrolyzates Derived from Sardine Muscle. Biosci. Biotech. Biochem., 57(6), 922～925.

Miyoshi, S., H. Ishikawa, T. Kaneko, F. Fukui, H. Tanaka and S. Maruyama. 1991. Structures and activity of angiotensin-converting enzyme inhibitors in an α-zein hydrolysate. Agric. Biol. Chem., 55(5), 1313～1318.

Spice, T. R. and D. C. Chamber. 1951. Spectrophotometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. J. Biol. Chem., 191, 787～797.

荒井綜一・前田明子. 1987. 食品研究の新しい潮流−4. 7. 先天性アミノ酸代謝異常症と新しい食品. 化學と生物, 25(5), 332～340.

千葉英雄・荒井綜一. 1988. 機能性食品. 化學と生物, 26(1), 34～40.

原 征彦・松岐妙子・鈴木建夫. 1987. 茶成分のアンジオテンシンＩ變換酵素沮害能について. 日農化誌, 61(7), 803～808.

林 寬・福澤美喜男・菊野惠一郎・箕口重義. 1992. 圖說・食品營養學實驗書. 理工學社, 5～13.

池本文彦・岩尾 洋・山本研二郎. 1981. 高血壓の生化學. 化學と生物, 19(8), 482～488.

上野川修一・東 德洋・山內邦男. 1987. 食品研究の新しい潮流−2. 4. 食品中に存在する細胞成長因子. 化學と生物, 25(3), 207～211.

김병묵. 1988. 새우젓 숙성중의 단백질 특성변화에 관한 연구. 한국식품과학회지, 20(6), 883～889.

小林彰夫. 1987. 食品研究の新しい潮流−2. 3. 外因性および內因性の食慾調節因子. 化學と生物, 25(3), 203～206.

이철호・이응호・임무현・김수현・채수규・이근우・고경희. 1986. 우리나라 수산발효기술의 특색. Korean J. Dietary Culture, 1(3), 267～279.

李哲鎬・李應昊・林戊鉉・蔡洙圭・李根雨・高慶姬. 1987a. 韓國의 水產醱酵食品. 裕林文化社, 서울, p. 25.

李哲鎬・李應昊・林戊鉉・蔡洙圭・李根雨・高慶姬. 1987b. 韓國의 水產醱酵食品. 裕林文化社, 서울, pp. 30～31.

李哲鎬・李應昊・林戊鉉・蔡洙圭・李根雨・高慶姬. 1987c. 韓國의 水產醱酵食品. 裕林文化社, 서울, pp. 27～28.

松下雲郎. 1987. 食品研究の新しい潮流−4. 8. 生體の老化を抑制する食品. 化學と生物, 25(5), 336～340.

松田秀喜・長岡俊德・森田日出男・筬島克裕・筬島 豊. 1992. 食品工業用蛋白質分解酵素によってイトワシ筋肉から得られたアンジオテンシンI變換酵素沮害ジペプチド. 日食工誌, 39(8), 678～683.

村上浩紀・大村浩久. 1987. 食品研究の新しい潮流−3. 5. 食品成分による生體防御. 化學と生物, 25(4), 268～279.

日本藥學會編. 1980. 衛生試驗法註解, 金原出版株式會社, 東京, p. 62.

大久保博晶. 1991. 血壓調節機構の分子生物學的研究−レニン・アンギオテンシン系を中心に−. 日本生化學會誌, 63(12), 1419～1440.

齊藤義幸・中村圭子・川戶章嗣・今安 聰. 1992. 清酒, および副產物中のアンギオテンシン變換酵素沮害物質. 日農化誌, 66(7), 1081～1087.

末網邦男・筬島克裕. 1986. イワシおよびタチウオ筋肉由來鹽基性ペプチドのアンジオテンシンＩ轉換酵素沮害能について. 日水誌, 52(11), 1981～1984.

杉山圭吉・高田康二・江川 眞・山本郁雄. 1991. 魚タンパク加水分解物の高血壓抑制作用. 日農化誌, 65(1), 35～43.

鈴木建夫・石川宣子・目黑 熙. 1983. 食品中のアンジオテンシンＩ轉換酵素沮害能について. 日農化誌, 57(11), 1143～1146.

受田浩之・松田秀喜・黑田浩之・筬島克裕・松藤豊. 1991. イワシ蛋白質加水分解物からのアンジオテンシンＩ變換酵素沮害ペプチドの調製とその分離. 日農化誌, 65(8), 1223～1228.

受田浩之・松田秀喜・筬島克裕・松藤 寛・松井利郎・筬島 豊. 1992. 加熱イワシ筋肉のペプシン加水分解物中に存在するアンジオテンシンI變換酵素沮害ペプチド. 日農化誌, 66(1), 25~29.

梅本 滋. 1966. ビュレット反應による魚肉タン白定量改良. 日水誌, 32(5), 427~435.

염동민・이태기・변한석・김선봉・박영호. 1992. 효소에 의한 고등어 근육단백질 가수분해물의 Angiotensin-I 전환효소 저해작용. 한국수산학회지, 25(3), 229~235.

염동민・노승배・이태기・김선봉・박영호. 1993. 식품단백질 효소가수분해물의 Angiotensin-I 전환효소 저해작용. 한국영양식량학회지, 22(2), 226~233.

1993년 6월 1일 접수
1993년 7월 3일 수리