

된장으로부터 Angiotensin Converting Enzyme 활성 저해물질의 정제

서형주³ · 서대방 · 정수현¹ · 황종현² · 성하진¹ · 양한철*

고려대학교 식품공학과, ¹고려대학교 생물공학연구소

²두산기술원, ³고려대학교 병설 보건전문대학 식품영양과

초록 : 된장의 새로운 기능성을 검색하기 위해 된장의 ACE 활성 저해효과를 측정하였다. 7개의 시중제품중 ACE 활성 저해효과가 가장 높은 된장의 열수추출물을 용매별 분획시 acetone(50~80%) 분획이 acetonitrile(50~80%) 분획에 비해 다소 낮은 57% 단백질 회수율을 보였으나, ACE 활성 저해효과는 92.8%로 가장 높은 활성 저해효과를 보였다. 아세톤 분획을 Sephadex G-25, Sephadex LH-20, ODS column chromatography와 HPLC를 이용하여 정제한 결과 수율은 1%, IC₅₀ 값은 0.6 mg/ml로 나타났다. 된장으로부터 정제한 저해물질은 경쟁적 저해기작을 나타냈으며, 아미노산 분석결과 Ala, Phe, Leu, Glu, Gly, Ser, Asp 아미노산으로 구성되어 있었다(1994년 9월 16일 접수, 1994년 10월 31일 수리).

서 론

식품중에는 종래의 영양기능 및 기호성 항상 이외에 생체 대사조절 기능에 관여하는 여러가지 물질들이 존재한다. 최근 이러한 생체 조절 기능을 가진 물질을 식품으로부터 검색, 분리하여 기능을 해석하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

현대 성인병의 대표적인 질환인 고혈압의 대부분을 차지하는 본태성 고혈압은 정확한 원인이 규명되고 있지 않으나 다음과 같은 기작에 의해 발병되는 것으로 추측하고 있다. 교감신경계가 활성화되어 압-Na 이뇨 관계(pressure-natriuresis)의 변화를 초래하게 되어 혈압이 상승하는 기작으로 renin-angiotensin system의 활성도가 관여하는 기작,^{1,2)} Na배설호르몬 및 Na운반기전에 이상이 생겨 Na의 배설이 원활하지 못해 혈압이 정상으로 환원되지 못하는 기작으로 이러한 변화는 catecholamine이나 angiotensin II의 농도가 증가하여 신장의 원심 세동맥을 수축하기 때문에 발생하는 것으로 추측하고 있다.^{3,4)} 또한 세포막의 이상에 의해 Na와 Ca농도가 증가하게 되어 동맥압이 상승되는 기작에 의해 고혈압이 발병한다. 위에서 알수 있듯이 고혈압의 발병기작으로 renin-angiotensin system이 혈압조절에 중요한 역할을 하고 있다. 특히 angiotensin converting enzyme(ACE,

Kininase II peptidyldipeptide hydrolase, E.C 3.4.15.1)은 불활성인 angiotensin I의 C말단 dipeptide(His-Leu)를 가수분해하여 혈관벽 평활근 수축 등의 작용을 가지며, adrenal cortex에서 aldosterone의 분비를 촉진함으로써 물과 Na의 배설을 억제한다. ACE 활성은 또한 혈관이완작용을 가진 nanopeptide인 bradykinin을 분해하여 불활성시킴으로써 고혈압의 원인이 되고 있다.^{5,6)}

현재 본태성 환자에게 효과가 있는 ACE 활성저해제는 *Borthrops Jararula*와 같은 뱀독에서 추출하거나 합성에 의한 저해제(carprtopryl, enalapril)를 사용하고 있으나, 사람에 따른 투여량과 합성제제에 의한 부작용과 안정성이 문제가 되고 있다.^{7,8)} 따라서 이들 ACE 활성 저해작용을 나타내는 성분에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

식품중에 존재하는 ACE 활성 저해인자는 가열조건에 안정하며 체내에서의 흡수도 용이한 비교적 저분자 물질이다. 이들의 활성 저해효과는 혈압 강하제와 비교했을 때 비교적 낮은 활성을 나타내지만 대량으로 항상 섭취하는 식품 중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대되어진다.⁹⁾ 이러한 ACE 활성 저해제는 casein 가수분해물,^{10,11)} 인공 합성 peptide,^{12,13)} zein 가수분해물¹⁴⁾을 비롯하여 차의 phenol성분¹⁵⁾ 무화과 유액¹⁶⁾ 및 청주와 그 부산물¹⁷⁾의 가수분해물이 ACE 활성 저해작용을 나

Key words : Soybean paste, ACE inhibitor

*Corresponding author : H.-C. Yang

타낸다고 보고되었다. 또한 어육단백질인 정어리, 갈치에서 분획한 peptide,¹⁸⁾ 고등어 근육단백질의 가수분해물의¹⁹⁾ ACE 활성 저해효과도 보고되었다.

본 연구에서는 전통발효식품으로 널리 이용되고 있는 된장의 ACE 활성 저해효과를 검색하여 새로운 기능성을 전통 발효식품인 된장에 부여하는 동시에 본 연구를 토대로 ACE 활성 저해효과가 높은 된장을 이용한 새로운 sauce의 개발 및 된장 이외의 전통발효식품(간장, 고추장 등)에 새로운 기능성 검색의 기초자료로 삼고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험재료인 된장은 시중에 유통되는 7개의 상품을 구입하여 실험에 사용하였으며, ACE 활성 저해효과 측정을 위한 angiotensin converting enzyme, hippuryl-histidyl-leucine는 Sigma Co.에서 구입하여 사용하였다. Sephadex G-25, Sephadex LH-20은 Pharmacia LKB Biotechnology에서 구입하여 사용하였다.

Angiotensin converting enzyme 활성 저해효과 측정

Angiotensin converting enzyme(ACE) 활성 저해효과는 Cheung²⁰⁾ 등의 방법에 의해 측정하였다. 시료 50 μl에 기질 100 μl를 가한 후 37°C에서 5분간 방치하였다. 여기에 ACE 효소액을 150 μl 가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시킨 후 0.5 N HCl 250 μl를 사용하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 ml를 가하여 15초간 균질화 한후 2000×g에서 10분간 원심분리시켜 상정액을 0.5 ml 취하였다. 이 상정액을 140°C에서 15분간 건조후 1 M NaCl을 3 ml 가해 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음식에 의해서 ACE 활성 저해율로 나타내었다.

$$\text{저해율}(\%) = \frac{E_c - E_s}{E_c - E_b} \times 100$$

E_c : 시료 대신 증류수를 넣었을 때의 흡광도

E_s : 시료 첨가시 흡광도

E_b : 반응 정지후 시료 첨가한 것의 흡광도

된장중의 ACE 활성 저해물질의 정제

1) 아세톤 분획

된장 100g에 물 1000 ml를 가하여 3시간 열수추출하여

얻은 열수추출액에 50~80%의 아세톤을 가하여 균질화한 후 1시간 방치하여 원심분리(8,000×g, 10 min)하여 침전만을 모아 갑암건조하였다.

2) Sephadex G-25 column chromatography

아세톤 분말을 증류수에 용해후 원심분리하여 불용성 성분을 제거후 증류수로 평형화된 Sephadex G-25 column(1.8×60 cm)에 주입하고 증류수로 6 ml/h의 속도로 용출하여 2.5 ml/씩 분획을 모았다. ACE 활성 저해효과가 있는 분획을 모아 농축 건조하였다.

3) Sephadex LH-20 column chromatography

Methanol(15%)로 평형화된 Sephadex LH-20 column(1.8×43 cm)에 ACE 활성 저해효과가 있는 분획을 주입하고 동일 용액으로 용출하여 ACE 활성 저해효과가 있는 부분만을 모아 농축하였다.

4) ODS column chromatography

Acetonitrile(5%)로 평형화된 ODS column(2.5×15 cm)에 농축된 ACE 활성 저해효과가 있는 분획만을 주입한 후 5% acetonitrile로 세척하고 15%, 30%, 60%, acetonitrile을 이용하여 용출 분획하였다.

5) HPLC

ODS column에서 얻어진 ACE 활성 저해효과가 있는 분획을 농축한 후 HPLC를 이용하여 정제 하였다. Column은 supercosil PLC-18, detector는 Shodex RI-71를 사용하여 acetonitrile과 water(15 : 75) 혼합용액으로 용출(2 ml/min)하여 웹타이드를 정제하였다.

6) 아미노산 분석

시료에 6N HCl을 가하여 110°C에서 24시간 가수분해한 후 PicoTag system(Waters Co.)을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

된장의 ACE 활성 저해효과

시중에 유통되고 있는 7개 된장을 구입하여 ACE 활성 저해효과를 측정한 결과(Fig. 1), 2번 시료가 39%의 비교적 높은 ACE 활성 저해효과를 보였으나, 다른 6개의 시료는 거의 ACE 활성 저해효과를 보이고 있지 않다. 이는 된장의 제조방법의 차이, 된장 제조시 사용하는 균이 각각 다르기 때문으로 추측된다.

이상의 결과에 의해 ACE 활성 저해효과가 높은 2번 시료를 선택하여 ACE 활성 저해물질의 분리와 저해기작을 각각 검토하였다.

추출용매에 따른 ACE 활성 저해효과

ACE 저해물질의 분획 조건을 검토하기 위하여 2번

된장 100g에 중류수 1L를 가하여 열수추출 후 여과하여 열수추출물을 제조하였다. 열수추출물에 ethanol, acetone, methanol을 30, 50 및 80%가 되도록 하여 1시간 균질화한 후 원심분리하여(12,000 rpm, 10 min) 단백질 함량과 ACE 활성 저해효과를 조사했다(Table 1). Acetone 50~80% 분획시 57%의 단백질 회수율을 보였다. ACE 활성 저해효과는 acetonitrile(50~80%), ethanol (30~50%), methanol(30~50%) 분획시 77%, 66%, 67%의 저해효과를 보인 반면, aceton(50~80%) 분획시 93%의 높은 활성 저해효과를 보였다. 김²¹⁾ 등은 멸치젓갈

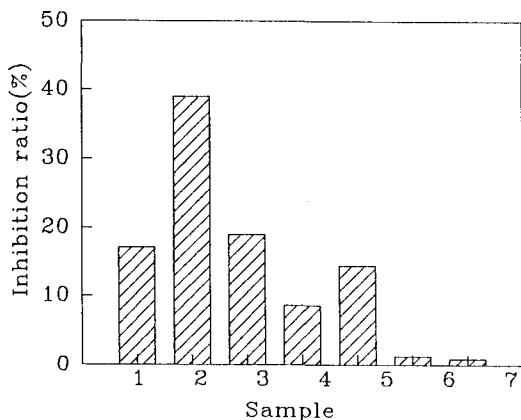


Fig. 1. ACE inhibition effect of soybean paste.

Table 1. Fractionation effect of organic solvents on ACE inhibition

Solvent	Protein (mg)	Protein yield(%)	ACE inhibition(%)
None	13.8	100.0	42.0
Acetonitrile			
0~30%	1.7	12.3	6.8
30~50%	3.9	28.3	54.2
50~80%	9.1	65.9	77.1
Ethanol			
0~30%	2.3	16.7	57.7
30~50%	6.3	45.6	66.2
50~80%	5.8	42.0	33.1
Methanol			
0~30%	3.0	21.7	60.0
30~50%	5.1	36.9	66.8
50~80%	4.9	35.5	37.7
Acetone			
0~30%	2.7	19.6	34.0
30~50%	2.5	18.1	54.0
50~80%	7.9	57.2	92.8

중의 저해물질 분획시 acetone이 ethanol에 비해서 ACE 활성 저해효과가 낮았다는 보고와는 달리 acetone 분획시 단백질의 회수율과 활성 저해효과가 높았다.

된장중의 ACE 활성 저해물질 정제

된장 열수추출액을 acetone 50~80% 분획 동결 감압 건조하여 저해물질 정제에 사용하였다.

Sephadex G-25 column chromatography

단백질 회수율과 ACE 활성 저해효과가 높게 나타났던 acetone 분획을 모아 감압농축, 건조후 중류수에 용해하여 Sephadex G-25 column에 의해 정제시 5개의 단백질 peak를 얻었다(Fig. 2). 3번째와 4번째 peak에서 ACE 활성 저해효과를 보였다.

Sephadex LH-20 column chromatography

Sephadex G-25 column chromatography에 의해 얻은 ACE 활성 저해효과를 가진 분획을 15% methanol로 평형화된 Sephadex LH-20 column에 의해 정제시(Fig. 3), 3개의 단백질 peak를 얻었으며, ACE 활성 저해효과는 2번째와 3번째 단백질 peak에 걸쳐서 나타났다.

ODS column chromatography

활성분획을 15% acetonitrile로 평형화된 ODS column에 의해 15~60% 직선적 농도구배에 의해 용출시, 2개의 단백질 peak를 얻을 수 있었으며 2개의 peak 모두 ACE 활성 저해효과를 보였다(Fig. 4). 첫번째 peak는 60%, 두번째 peak는 50%정도의 ACE 활성 저해효과를 보였다. 이중 ACE 활성 저해효과가 높은 첫번째 peak를

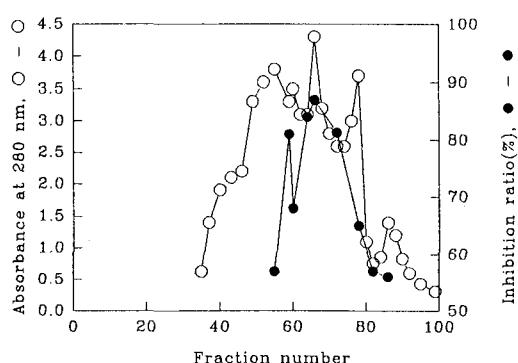


Fig. 2. Chromatography of acetone fraction on Sephadex G-25.

The column (1.8×60 cm) was eluted with DW at flow rate of 6 ml/hr; 2.5 ml fractions were collected.

이용하여 계속 정제하였다.

HPLC

ODS에 의해 정제되어진 첫번째 분획을 15% acetonitrile을 이용하여 supercosil PLC-18 column을 이용하여 HPLC를 실시한 결과(Fig. 5), ACE 활성 저해효과를 보이는 1개의 peak만을 얻었다. 열수추출물은 39% 저해율, 28 mg/ml의 IC₅₀값을 보였으나, column chromatography와 HPLC에 의해 정제된 저해물질은 1%의 단백질 회수율과 0.6 mg/ml의 IC₅₀값을 보였다.

이상에서와 같이 gel filtration, reverse phase column chromatography, HPLC 등의 과정을 통하여 된장의 열

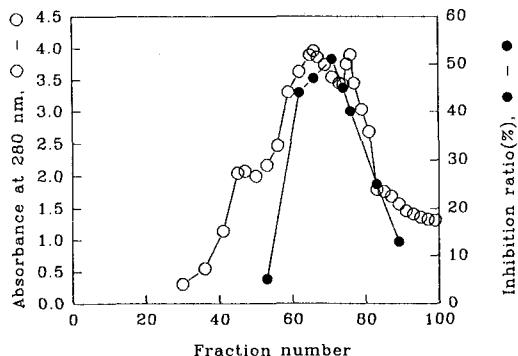


Fig. 3. Chromatography of active fraction from Sephadex G-25 on Sephadex LH-20 column.

The column (1.8×43 cm) was eluted with 15% methanol at flow rate of 4.8 ml/hr; 1.8 ml fractions were collected.

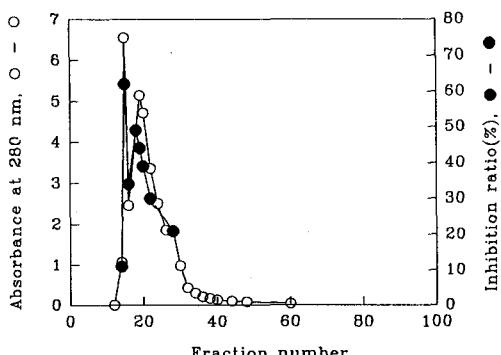


Fig. 4. Chromatography of active fraction from Sephadex LH-20 on ODS column.

The column (2.5×15 cm) was eluted with 5% acetonitrile at flow rate of 2.9 ml/hr; 1.1 ml fractions were collected.

수추출물로 부터 ACE 활성 저해효과가 있는 펩타이드를 분리하였다. 위의 정제단계에 의해 최종적으로 정제되어진 ACE 활성 저해 펩타이드는 Dowex 50W와 Sephadex G-25를 이용하여 분리한 정어리육의 염기성 펩타이드의 IC₅₀ 값(0.39 mg/ml)보다 낮은 결과를 나타내었으나, 갈치에서 분리한 염기성 펩타이드(IC₅₀: 0.9 mg/ml)에 비해 ACE 활성 저해효과가 높은 것을 알 수 있었다.¹⁸⁾

ACE에 대한 저해물질의 저해기작

ACE에 대한 저해 기작을 알아보기 위하여 기질의

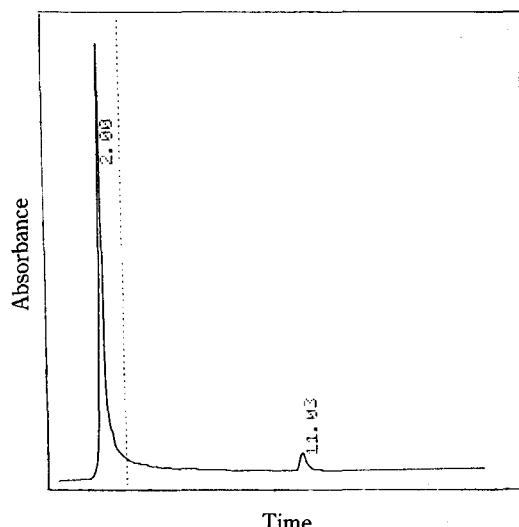


Fig. 5. Chromatography of active fraction from ODS on HPLC.

Operation condition was described in "Materials and Methods".

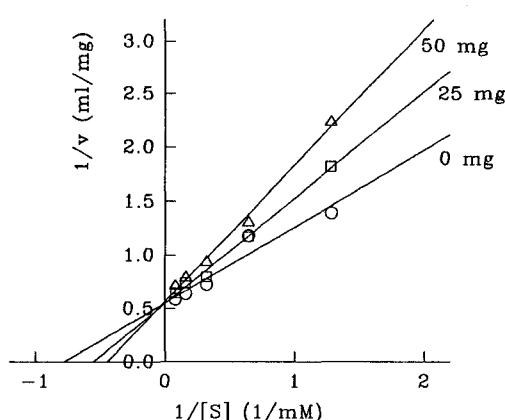


Fig. 6. Lineweaver-Burk plots of ACE activity in the presence of inhibitor.

Table 2. Amino acid composition of ACE inhibitor purified from soybean paste

Amino acid	Content(%)
Asp	0.33
Glu	1.00
Ser	0.50
Gly	0.74
Ala	55.50
Leu	2.09
Phe	39.84

농도를 변화시키며 저해물질을 각각 25 µg, 50 µg 첨가하여 효소의 활성을 측정하고 lineweaver-burk plot하여 저해물질을 첨가하지 않은 대조구와 비교하였다(Fig. 6). V_{max} 값은 저해물질의 첨가여부에 영향을 받지 않았으나 K_m 값은 저해물질을 첨가하였을 때가 첨가하지 않았을 때보다 높게 나타났다. 즉 기질과 저해물질이 효소의 같은 활성범위에 경쟁적으로 결합하기 때문에 효소의 활성부위에 요구되는 기질의 양은 증가한다. 된장으로부터 정제한 저해물질은 경쟁적 저해제로 작용함을 의미한다. Bush²⁰⁾ 등에 의하면 ACE의 활성부위의 아연이온은 C-terminal peptide bond와 결합하는 carboxyl-bonding group, carbonyl group과 반응하여 ligand를 형성함으로써 ACE 활성이 저해된다. 즉 저해물질은 효소와 결합하여 저해물질-효소 혼합물을 형성하여 기질의 결합을 방해하며 효소, 기질, 저해물질이 동시에 존재할 때는 효소는 기질이나 저해물질과 선택적으로 반응하여 혼합물을 생성한다. 이때 기질과 저해물질은 서로 배타적이다. 이러한 기작에 의해 저해물질과 기질은 경쟁적으로 반응한다.²²⁾

*Nocardia orientalis*에서 분리한 펩타이드인 muracein이 ACE 활성을 경쟁적으로 저해하나,²²⁾ 조²³⁾ 등은 녹차에서 분리한 phenol성 물질들이 ACE 활성을 비경쟁적으로 저해한다고 보고하였다. 또한 Cushman²⁴⁾ 등은 펩타이드류가 ACE 활성을 경쟁적으로 저해한다는 사실에 근거하여 활성 저해효과를 나타내는 저해물질을 합성하기도 하였다.

아미노산 분석

정제되어진 ACE 활성 저해물질의 아미노산 조성을 살펴본 결과(Table 2), 소수성 아미노산인 Ala, Phe, Leu의 함량이 55.50%, 39.84%, 2.09%로 소수성 아미노산의 함량이 많으며, Asp, Glu, Ser, Gly는 소량 함유하였다. 이와 관련하여 ACE 활성 저해작용을 갖는 정

어리 단백질 가수분해물의 아미노산 조성에 대하여受田 등²⁵⁾은 lysine의 함량이 적고 Tyr, Leu 및 Phe 등의 소수성 아미노산 함량이 많은 것으로 보고하였으며, Cheung²²⁾ 등은 여러 가지 dipeptide를 합성하여 ACE 활성 저해효과에 미치는 C말단 및 N말단 아미노산기의 영향을 검토한 결과 C말단 잔기로서는 Trp, Phe, Tyr 및 Pro을 N말단 잔기로는 Val과 Ile을 가지는 dipeptide가 높은 ACE 활성 저해효과를 가진다는 것을 밝히고 저해작용의 발현에 있어 방향족 및 소수성 아미노산잔기의 기여가 중요하다는 것을 시사하였다.

이러한 사실로 미루어 된장으로부터 분획한 저해물질은 그 구성 아미노산간의 조성이나 함량에도 영향을 받을 것이며, 또한 구성 펩타이드의 종류나 아미노산 배열에 더 큰 영향을 받을 것으로 생각된다. 생성된 저분자 펩타이드의 길이나 구조 및 아미노산 종류와 배열 등의 복합적인 작용에 의한 ACE 활성 저해효과가 있을 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

- Genest, J., E. Koiw, and O. Kuchel (1977) In 'Hypertension; Physiopathology and treatment', Chapter 3, McGraw-Hill, U.S.A.
- Hatzinikolaou, P., H. Gavras, H. R. Brunner and I. Gavras (1981) Role of vasopressin, catecholamines, and plasma volume in hypertonic saline-induced hypertension, *Am. J. Physiol.*, 240, H827-H831
- Wweinberger, M. H. (1986) Dietary sodium and blood pressure, *Hosp. Practice*, 55-64
- Ljungman, S. (1981) Sodium excretion and blood pressure, *Hypertension*, 3, 3185. Manjusri, D. and L. S. Richard (1975) Pulmonary angiotensin converting enzyme, *J. Biol. Chem.*, 250, 6762-6768
- Gavras, I. (1992) Bradykinin-mediated effects of ACE inhibition, *Kidney International*, 42, 1020-1029
- Kato, H. and T. Suzuki (1971) Bradykinin-potentiating peptides from the venom of *Agiistrodomus halys blomhoffi*. Isolation of fivebradykinin potentiators and the amino acid sequence of two of them potentiators B and C, *Biochemistry*, 10, 972-980
- Ferreria, S. H., C. B. Diana, and L. J. Greene (1983) Isolation of bradykinin-potentiating peptides from Bothrops jararaca venom, *Biochemistry*, 9, 2583-2593
- 鈴木健夫, 石川宣子, 目黒熙 (1983) 食品中のアンギオテンシンI変換酵素阻害能について, *日農化誌*, 57, 1143-114610. Maruyama, S. and H. Suzuki (1982)

- A peptide inhibitor of angiotensin converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein, *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1393-1394
11. Kohmura, M., N. Nio and Y. Ariyoshi (1990) Inhibition of angiotensin converting enzyme by synthetic peptide fragment of human α -casein, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 835-836
 12. Kohmura, M., N. Nio and Y. Ariyoshi (1990) Inhibition of angiotensin converting enzyme by synthetic peptide fragment of various β -casein, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1101-1102
 13. Maruyama, S., S. Miyoshi, T. Kaneko and H. Tanaka (1989) Angiotensin converting enzyme inhibitory activities of synthetic peptides related to the tandem repeated sequence of a maize endosperm protein, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 1077-1081
 14. Miyoshi, S., H. Ishikawa, T. Kaneko, F. Fukui, H. Tanaka and S. Maruyama (1991) Structure and activity of angiotensin converting enzyme inhibitors in an α -zein hydrolysate, *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1313-1318
 15. 原征彦, 松崎妙子, 鈴木健夫 (1987) 茶成分のアンギオテンシン変換酵素について, 日農化誌, 61, 803-808
 16. Miyoshi, S., H. Ishikawa and H. Tanaka (1989) Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from *Ficus carica*, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2763-2767
 17. 齊藤義辛, 中村圭子, 川戸章嗣, 今安聰 (1992) 清酒および副産物中のアンギオテンシン変換酵素沮害能について, 日農化誌, 66, 1081-1087
 18. 末綱邦男, 筬島克裕 (1986) イワツおよびタチウオ筋肉由來塩基性ペプチドのアンギオテンシン変換酵素沮害能について, 日水誌, 52, 1981-1984
 19. 염동민, 이태기, 변한석, 김선봉, 박영호 (1992) 효소에 의한 고등어 근육단백질 가수분해물의 angiotensin I 전환효소저해작용, 한국수산학회지, 25, 229-235
 20. Cheung, H. S. and D. W. Chshman (1971) Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung, *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1637-1647
 21. 김선봉, 이태기, 박영범, 염동민, 김외경, 변한석, 박영호 (1993) 수산발효 식품중에 angiotensin I 전환효소 저해제의 특성. 1. 멸치 젓갈중에 angiotensin I 전환효소 저해제의 특성, 한국수산학회지, 26, 321-329
 22. Bush, K., P. L. Henry and D. S. Slusarchyle (1984) Muraceins-muramyl peptides produced by *Nocardia orientalis* as angiotensin converting enzyme inhibitor, *J. Antibiotics*, 37, 330-334
 23. 조영제, 안봉전, 최정 (1993) 한국산 녹차로부터 분리한 flavan-3-ol 화합물의 Angiotensin converting enzyme 저해효과, 한국식품과학회지, 25, 238-242
 24. Cushman, D. W., H. S. Cheung, E. F. Sabo and M. A. Ondetti (1977) Design of potent competitive inhibitors of angiotensin converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids, *Biochemistry*, 16, 5484-5490
 25. 受田浩之, 松田秀喜, 黒田浩之, 筬島克裕, 松藤賁, 筬島豊 (1991) イワツ蛋白加水分解物がらのアンギオテンシン変換酵素沮害ペプチドの調製ともの分離, 日農化誌, 65, 1223-1228

Purification of ACE Inhibitor from Soybean Paste

Hyung-Joo Suh³, Dae-Bang Suh, Soo-Hyun Chung¹, Jong-Hyun Whang², Ha-Jin Sung¹ and Han-Chul Yang* (Department of Food Technology and ¹Institute of Biotechnology, Korea University, Seoul, 136-701, Korea, ²Doosan Technical Center, Yongin-Gun, Kyonggi, 449-840, Korea, ³Department of Food and Nutrition, Junior College of Allied Health Science, Korea University, Seoul, 136-703, Korea)

Abstract : Seven commercial soybean paste were tested for ACE inhibition effect. In purification of ACE inhibitor from No. 2 soybean paste, acetone fraction (50~80%) had 57% protein yield with 92.8% ACE inhibition effect. Inhibitor was purified from acetone fraction of soybean paste by Sephadex G-25, Sephadex LH-20 and ODS column chromatography and HPLC. IC₅₀ value of the purified inhibitor was 0.6 mg/ml. The inhibitor showed the competitive inhibition patterns on ACE. Amino acid analysis showed that the peptides consist of Ala, Phe, Leu, Glu, Gly, Ser, and Asp.