

담수어 열수추출물 및 효소가수분해물의 Angiotensin I 전환효소 저해작용

김태진[†] · 윤호동 · 이두석 · 장영순 · 서상복 · 염동민*

국립수산진흥원 이용가공연구실

*양산전문대학 식품영양과

Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitory Activity of Hot-Water Extract and Enzymatic Hydrolysate of Fresh Water Fish

Tae-Jin Kim[†], Ho-Dong Yoon, Doo-Seog Lee, Young-Sun Jang,
Sang-Bok Suh and Dong-Min Yeum*

National Fisheries R & D Agency, Pusan 619-900, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan 626-800, Korea

Abstract

Hot-water extract and enzymatic hydrolysate prepared from fresh water fish such as carp, snakehead, eel and israeli carp were tested for inhibitory activity against Angiotensin I converting enzyme(ACE). ACE inhibitory activity of enzymatic hydrolysate was higher than that of hot-water extract, and was the highest in enzymatic hydrolysate of carp among the tested samples. ACE inhibitory activity of 70% ethanol soluble fraction was higher than that of precipitated fraction, the highest in enzymatic hydrolysate of carp. Molecular weight of active fraction was about 1,400 in hot-water extract and slightly above in enzymatic hydrolysate. Amino acid of active fraction of hot-water extract was abundant in glycine, alanine, leucine and proline, whereas amino acids of aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, valine, leucine and proline were abundant in enzymatic hydrolysate. IC₅₀(amounts of inhibitors need for 50% inhibition) of hot-water extract was the range of 50.3~56.9μg, those of enzymatic hydrolysate 42.6~57.7μg.

Key words: Angiotensin I converting enzyme(ACE), hot-water extract, enzymatic hydrolysate, IC₅₀

서 론

최근 식품이 갖는 생체조절기능에 대한 관심이 증대됨에 따라 식품 중에 함유되어 있는 각종 성분에 의한 노화나 발암과 같은 생체장애현상의 억제, 돌연변이원성 물질의 생성억제나 불활성화 및 생체의 대사조절기능 등에 관한 많은 연구가 진행되고 있다. 식품성분이 갖는 여러가지 생체조절기능 중 단백질 가수분해물이 혈압상승 원인의 하나인 Angiotensin I 전환효소(ACE)에 대한 저해작용이 있다는 사실이 밝혀지면서(1,2) 관련식품의 기능 특성 해명에 많은 관심이 모아지고 있다. 성인병의 하나인 고혈압증의 대부분을 차지하고 있는 본태성 고혈압의 원인은 Renin-Angiotensin 계가 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 여겨지고 있으며, 여기에는 Angiotensin I converting enzyme [EC 3.4.15.1.]이라는 효소가 관여하고 있는 것으로 알

려져 있다(3,4). 생체 중에 존재하고 있는 불활성형의 decapeptide인 Angiotensin I은 ACE에 의하여 C-말단의 His-Leuⁱ 떨어져 나감으로서 혈관벽 수축작용이 있는 octapeptide인 Angiotensin II로 전환되며 생체내 혈압 강하인자인 bradykinin을 불활성화시킴으로서 혈압이 상승하게 된다. 따라서 이러한 ACE의 활성을 억제시킴으로써 혈압상승 원인이 되는 Angiotensin II의 생성을 저하시켜 혈압의 상승을 억제할 수 있게 된다. 식품 중의 고혈압 억제인자에 대해서는 여러가지 식품성분들이 관여하고 있으며, 특히 단백질 가수분해물에 이러한 ACE 저해작용이 있다는 것이 많은 연구자들에 의해 보고(2,5-7)되고 있을 뿐만 아니라, 어육 단백질 가수분해물도 이러한 기능을 가지고 있다고 보고되고 있다(8-11). 이와 같이 단백질 가수분해물이 갖는 생리기능에 대하여 많은 관심을 기울이고 있으나, 우리나라에는 어패류의 섭취가 상대적으로 많음에

*To whom all correspondence should be addressed

도 불구하고 수산물이 갖는 생체조절기능에 관한 연구는 부족한 실정이다. 특히 담수어류는 예로부터 건강 보양식품으로 널리 알려져 있으며 민간요법으로 손쉽게 조리하여 허약자, 노약자 및 산후 조리시에 애용되어온 우리나라의 전통식품이지만 이의 기능특성에 대한 체계적인 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 이들 담수어류 추출물이 갖는 생체조절기능에 대한 연구의 일환으로 담수어류 추출물과 담수어류의 근육단백질을 효소로 가수분해하여 얻은 가수분해물의 ACE 저해작용을 살펴보고, 또한 관련 peptide 등을 gel여과를 통하여 분획하여 아미노산 조성 및 이들의 ACE 저해활성을 대해서도 비교, 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

담수어의 열수추출물은 전보(12)에 따라 제조하였으며, 효소가수분해물의 제조는 어육에 Neutrase(Novo사, Denmark)를 첨가하여 4시간 동안 가수분해하여 원심분리($1,500 \times g$, 30min)한 상층액을 시료로 사용하였다. Angiotensin I 전환효소(ACE)는 토키 허파의 acetone 추출물 1g(Sigma Co.)에 sodium borate buffer(pH 8.3) 7.5ml를 가하여 4°C에서 24시간 추출한 다음 원심분리($1,500 \times g$, 30min)하여 얻은 상층액을 조효소액으로 사용하였다.

단백질 및 peptide-nitrogen 함량

열수추출물 및 효소가수분해물의 단백질 함량 및 peptide-nitrogen의 함량은 Lowry법(13) 및 개량 biuret법(14)으로 측정하였다.

Angiotensin I converting enzyme(ACE) 저해작용의 측정

ACE 저해작용의 측정은 Cushman과 Cheung(15)의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 일정 농도의 시료 50μl에 ACE 조효소액 50μl 및 sodium borate buffer(pH 8.3) 100μl를 가하고 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 기질 Hippuryl-His-Leu-용액(25mg/2.5ml sodium borate buffer) 50μl를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시키고 1N HCl 250μl를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5ml를 가하여 15초간 고반한 후 3,000rpm에서 5분간 원심분리시킨 상층액 1ml를 건조시킨 후 증류수 3ml를 가하여 용해시키고

228nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가 전후의 백율분로서 ACE 저해율을 나타내었다.

Gel 여과에 의한 peptide의 분획

Bio-gel P-2(Bio-Rad Co.) column($\varphi 2.5 \times 85\text{cm}$)에 시료 2ml를 채우고 Tris-HCl buffer(pH 7.5)로써 60ml/hr의 유속으로 용출시켜 5ml씩 분취하여 280nm에서 흡광도를 측정하고 Lowry방법(13)에 따라 단백질의 농도를 계산하였다.

아미노산의 분석

일정량의 시료를 취하여 ample에 넣고 6N HCl을 가하여 질소가스로 치환한 뒤 밀봉하여 110°C sand bath상에서 24시간 가수분해하고 HCl을 완전히 제거한 다음 증류수 10ml를 가하여 다시 감압건조한 후 구연산나트륨 완충액(pH 2.2)으로 일정량으로 정용하였다. 이를 membrane filter($\varphi 0.45\mu\text{m}$)로 여과한 후 아미노산 자동분석기(Hitachi 835)로 분석하였다.

결과 및 고찰

담수어 열수추출물 및 효소가수분해물의 ACE 저해작용

고혈압의 원인물질이라고 알려져 있는 Angiotensin I 전환효소(ACE)에 대한 저해작용을 살펴 보기 위하여 담수어 중에 존재하는 생리활성물질의 검색의 일환으로 오래 전부터 건강보조식으로 애용되어 온 잉어, 가물치, 뱀장어 및 이스라엘잉어의 열수추출물과 효소가수분해물의 ACE 저해작용을 살펴 보았다. 제조된 열수 추출물과 효소 가수분해물의 질소 및 peptide 함량은 Table 1과 같으며, 이때의 ACE 저해작용은 Table 2와

Table 1. Protein and total peptide contents of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish

Sample	Protein (mg/ml)	Total peptide (mg/ml)
Hot-water extract		
Carp	4.52	3.10
Snakehead	5.26	5.26
Eel	4.45	2.16
Israeli carp	4.19	4.32
Enzymatic hydrolysate		
Carp	7.47	4.32
Snakehead	8.35	5.64
Eel	7.93	5.73
Israeli carp	7.42	4.98

Table 2. Comparison of ACE inhibition ratio of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish

Sample	Protein(μg)	ACE inhibition ratio(%)	
		Hot-water extract	Enzymatic hydrolysate
Carp	50	28.3	43.1
Snakehead	50	25.4	30.0
Eel	50	18.5	21.6
Israeli carp	50	25.7	30.4

Table 3. Comparison of ACE inhibition ratio of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of 70% ethanol soluble and precipitated fraction

Sample	Protein(μg)	ACE inhibition ratio(%)			
		Hot-water extract		Enzymatic hydrolysate	
		Soluble	Precipitate	Soluble	Precipitate
Carp	50	35.7	1.8	46.1	12.2
Snakehead	50	30.2	14.7	40.0	1.8
Eel	50	24.8	18.9	34.2	6.1
Israeli carp	50	35.6	—	30.6	1.4

같다. ACE 저해작용은 전체적으로 열수추출물에 비하여 효소 가수분해물이 강한 것으로 나타났으며, 특히 잉어의 경우 다른 어종에 비하여 월등히 높은 것으로 나타났다. 열수추출물 보다 효소 가수분해물쪽에서 ACE 저해작용이 높은 것은 단백질의 분해로 생성되는 peptide가 ACE 저해작용을 갖고 있기 때문이라 생각된다. 또한 열수추출에 비하여 효소 가수분해에 의한 경우가 보다 다양한 peptide를 생성하기 때문에 ACE 저해작용이 크게 나타나는 것으로 생각된다.

70% ethanol 가용성획분 및 침전획분의 ACE 저해작용

앞의 결과에서 담수어류 열수추출물 및 효소 가수분해물의 ACE 저해능이 우수한 것으로 나타나 이들 ACE 저해작용과 관련된 인자를 구체적으로 살펴 보고자 70%의 ethanol을 사용하여 가용성획분 및 침전획분으로 나눈 후 ACE 저해작용을 살펴 보았다(Table 3). 그 결과 ethanol 가용성획분의 ACE 저해효과는 침전획분에 비하여 월등히 높은 것으로 나타나 ACE 저해작용을 지니는 peptide는 저분자물질로 생각되어진다. 또한 ethanol 가용성획분에 있어서도 열수추출물에 비하여 효소 가수분해물이 강한 ACE 저해효과를 나타내었으며, 열수추출물의 ACE 저해율은 24.8~35.7%, 효소 가수분해물은 30.6~46.1%로서 잉어의 저해효과가 가장 뛰어난 것으로 나타났다. 침전획분에 있어서는 전반적으로 ACE 저해활성이 가용성획분에 비하여 낮게 나타났으나 가물치와 잉어 열수추출물의 경우는 각

각 14.7%, 18.9%의 ACE 저해능을 나타내었다. 그리고 ACE 저해작용이 우수한 잉어 효소 가수분해물의 peptide 함량이 가물치나 뱀장어에 비하여 상대적으로 낮았으나 뛰어난 저해효과를 나타낸 것은 ACE 저해작용에는 단백질의 함량 보다는 구성 peptide의 종류에 따른 영향이 클 것으로 생각되며 한종류의 peptide 뿐만 아니라 서로 다른 여러 종류의 peptide가 복합하여 ACE 저해작용을 나타낸 것이 아닌가 생각된다. 또한 원료의 종류의 따라 가수분해에 의하여 생성된 peptide의 사슬 길이나 구성 아미노산의 배열이 다른 데에도 원인이 있다고 여겨진다. 따라서 이를 담수어 열수추출물 및 효소 가수분해물의 ACE 저해작용에 있어 아미노산의 영향을 살펴 보고자 70% ethanol 가용성획분의 아미노산의 조성을 알아보았다. Table 4에 나타낸 바와 같이 열수추출물 및 효소 가수분해물의 주요 아미노산은 glutamic acid, glycine, alanine, lysine 및 aspartic acid 등이었다. 그러나 효소 가수분해물은 열수추출물에 비하여 aspartic acid, leucine 및 lysine 등의 함량이 많은 경향이었고 glycine은 적었다. 이로부터 이들의 ACE 저해작용은 구성 아미노산의 종류나 함량에도 다소 영향을 받는 것으로 생각된다. 또한 열수추출에 의하여 얻어진 추출물에 있어서 ACE 저해활성을 나타낸 것은 열수추출물 중의 ACE 저해작용을 가진 peptide는 가열에 안정한 저분자 물질이기 때문이라고 생각되며, 鈴木 등(16)도 식품 중의 ACE 저해인자는 가열에 안정한 저분자 물질임을 보고한 바 있다.

Table 4. Amino acids composition of hot-water extract and enzymatic hydrolysate prepared from fresh water fish
(% to total amino acids)

Amino acids	Hot-water extract				Enzymatic hydrolysate			
	Carp	Snakehead	Eel	Israeli carp	Carp	Snakehead	Eel	Israeli carp
Asp	8.9	8.7	7.3	8.8	9.9	11.0	8.9	9.9
Thr	3.9	3.5	2.9	3.3	4.5	5.1	4.1	4.4
Ser	3.5	3.3	3.1	3.2	3.5	4.4	3.4	3.6
Glu	16.0	15.0	13.0	16.0	16.0	5.4	14.0	15.0
Gly	11.0	16.0	19.0	14.0	8.7	11.0	11.0	8.7
Ala	8.0	9.4	10.0	9.0	7.3	8.7	8.0	7.4
Cys	0.6	0.6	0.6	0.7	0.4	0.4	0.3	0.4
Val	4.2	3.4	3.0	3.7	5.0	5.4	4.6	4.8
Met	2.5	2.1	2.0	2.1	1.2	0.4	1.7	1.8
Ile	3.6	2.6	2.1	2.7	4.8	5.0	4.1	4.5
Leu	6.8	5.7	4.5	6.1	8.0	8.4	6.9	7.9
Tyr	2.3	1.3	0.9	1.6	1.8	2.6	1.8	1.9
Phe	3.3	3.1	2.9	3.0	4.1	4.4	3.7	4.0
Lys	9.3	8.2	6.5	8.9	10.0	12.0	9.6	10.0
His	2.2	1.5	3.5	2.4	2.5	2.4	2.9	2.7
Arg	7.5	7.1	8.0	7.3	7.3	7.5	7.5	7.2
Pro	6.5	8.4	10.0	7.6	5.1	6.4	6.9	5.3
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

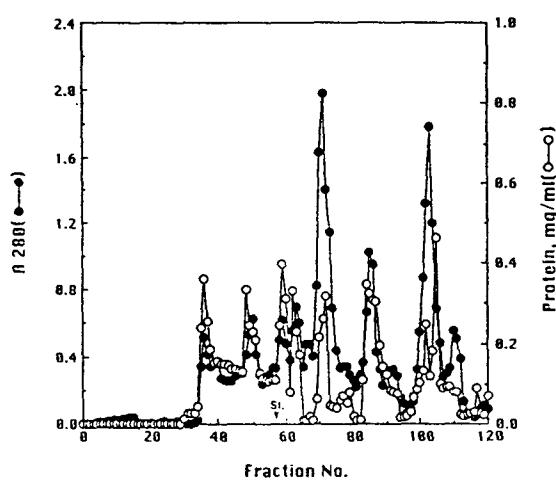


Fig. 1. Gel chromatogram on Bio-gen P-2 column of 70% ethanol soluble fraction obtained from enzymatic hydrolysate of carp.
St.; Streptomycin sulfate.

ACE 저해 활성화분의 분획 및 아미노산 조성

담수어류 열수추출물이나 효소 가수분해물의 ACE 저해활성이 매우 우수한 것으로 나타나 이를 관련인자로 규명하고자 Bio-gel P-2로 gel 여과를 실시하고 분리된 각 화분들의 ACE 저해작용을 살펴 보았다. 담수어류 중 잉어의 효소가수분해물의 분획에 따른 각 화분들의 280nm에서의 흡광도 및 단백질 함량은 Fig. 1과 같이 나타났다. 그 결과 7개의 화분을 얻었으며, 같은 방법으로 가물치로 부터는 7개, 뱀장어와 이스라엘잉어

어로 부터는 각각 5개 및 7개의 화분을 얻었다. 또한 열수추출물에 있어서는 잉어의 경우 6개, 가물치 6개, 뱀장어와 이스라엘잉어는 각각 6개 및 7개를 얻었다.

Table 5. ACE inhibition of each fraction fractionated from hot-water extract of fresh water fish separated on Biogel P-2 column

Sample	Fraction number (FN)	ACE inhibition ratio(%)
Carp	Part 1 (FN 30-32)	6.8
	Part 2 (FN 62-65)	49.8
	Part 3 (FN 81-83)	20.3
	Part 4 (FN 88-90)	6.3
	Part 5 (FN 94-98)	46.8
	Part 6 (FN 108-111)	29.9
Snakehead	Part 1 (FN 29-32)	17.5
	Part 2 (FN 59-62)	53.0
	Part 3 (FN 78-80)	22.5
	Part 4 (FN 85-87)	17.9
	Part 5 (FN 93-95)	12.5
	Part 6 (FN 105-107)	5.8
Eel	Part 1 (FN 29-33)	29.2
	Part 2 (FN 48-51)	33.2
	Part 3 (FN 60-64)	44.5
	Part 4 (FN 66-70)	32.8
	Part 5 (FN 91-94)	24.8
	Part 6 (FN 103-107)	18.6
Israeli carp	Part 1 (FN 29-32)	16.1
	Part 2 (FN 52-54)	27.0
	Part 3 (FN 59-63)	51.1
	Part 4 (FN 79-81)	30.7
	Part 5 (FN 85-87)	29.6
	Part 6 (FN 92-96)	18.3
	Part 7 (FN 105-107)	14.6

Table 6. ACE inhibition of each fraction fractionated from enzymatic hydrolysate of fresh water fish separated on Biogel P-2 column

Sample	Fraction number (FN)	ACE inhibition ratio(%)
Carp	Part 1 (FN 36-37)	24.9
	Part 2 (FN 48-51)	56.6
	Part 3 (FN 58-60)	78.8
	Part 4 (FN 61-62)	56.5
	Part 5 (FN 69-73)	67.5
	Part 6 (FN 85-86)	41.1
	Part 7 (FN 101-105)	44.5
Snakehead	Part 1 (FN 31-35)	35.4
	Part 2 (FN 56-60)	62.8
	Part 3 (FN 76-79)	56.6
	Part 4 (FN 86-89)	49.8
	Part 5 (FN 93-94)	37.1
	Part 6 (FN 109-113)	45.9
	Part 7 (FN 125-127)	34.8
Eel	Part 1 (FN 30-33)	24.7
	Part 2 (FN 57-59)	60.6
	Part 3 (FN 65-68)	44.8
	Part 4 (FN 86-89)	43.7
	Part 5 (FN 109-111)	29.8
Israeli carp	Part 1 (FN 32-36)	22.8
	Part 2 (FN 38-42)	43.9
	Part 3 (FN 55-59)	47.4
	Part 4 (FN 73-75)	25.6
	Part 5 (FN 81-86)	16.1
	Part 6 (FN 88-90)	10.2
	Part 7 (FN 101-105)	10.2

이렇게 하여 분리된 열수추출물 및 효소가수분해물의 각 획분별 ACE 저해작용을 살펴본 결과는 Table 5 및 Table 6과 같다.

열수추출물에서는 잉어의 경우 획분 2와 5에서, 가물치는 획분 2에서, 뱀장어는 획분 3에서, 이스라엘잉어는 획분 3에서 가장 강한 ACE 저해활성을 보였으며, 잉어 49.8%, 가물치 53.0%, 뱀장어 44.5%, 이스라엘잉어 51.1%의 저해능을 나타내었다. 잉어 효소가수분해물은 획분 2, 3, 4 및 5에서 강한 저해활성을 나타내었으며, 특히 획분 3에서는 78.8% 정도의 높은 ACE 저해활성을 보였다. 가물치 효소가수분해물에 있어서는 획분 2, 3 및 4에서 강한 ACE 저해활성을 나타내었으며 획분 2에서 62.8%로 나타났다. 뱀장어와 이스라엘잉어의 효소가수분해물에 있어서는 각각 획분 2, 3, 4 및 획분 2, 3에서 강한 ACE 저해활성을 보였으며 뱀장어에서는 60.6%로 높았으나 이스라엘잉어의 경우에는 다소 낮은 경향이었다. 이상과 같이 효소가수분해물의 ACE 저해활성은 잉어가 가장 강한 것으로 나타났으며 가물치와 뱀장어는 비슷하였고 이스라엘잉어는 다소 낮은 경향을 보였다. Table 5와 Table 6에

서 나타낸 바와 같이 열수추출물은 fraction number 62를 전후하여 ACE 저해작용이 큰 것으로 밝혀졌으며, 효소 가수분해물은 fraction number 59를 전후하여 강한 ACE 저해능을 나타내어 효소 가수분해물과 열수추출물의 ACE 저해에 관여하는 peptide의 종이 다른 것으로 생각된다. 이들의 분자량을 peptide 화합물인 streptomycin sulfate(MW; 1457.4)을 사용하여 추정해 본 결과, 열수추출물의 ACE 저해획분의 분자량은 1450 부근이었으며, 효소 가수분해물은 이보다 다소 큰 것으로 판단되었다. 그리고 이들 단백질 가수분해물들의 ACE 저해작용에 있어 아미노산의 영향을 살펴 보기 위하여 활성획분의 아미노산 조성을 살펴보았으며 그 결과는 Table 7과 같다.

열수추출물에 있어서는 전반적으로 glycine, alanine, valine, leucine 및 proline 등의 함량이 많았는데, 시료 별로 살펴보면 잉어는 glycine, alanine, leucine, proline 등의 함량이 많았으며 가물치는 glycine, alanine, valine, isoleucine, leucine 등의 함량이 많았고, 뱀장어는 glycine, alanine, leucine, 이스라엘잉어는 glutamic acid, glycine, alanine, lysine, proline 등의 함량이 많았다. 또한 효소에 의한 단백질 가수분해물에 있어서는 aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, valine, leucine, proline 등의 함량이 많았는데, ACE 저해작용이 우수한 것으로 나타난 잉어 효소가수분해물의 아미노산 조성을 살펴본 결과, 산성 아미노산인 aspartic acid, glutamic acid와 glycine, lysine 및 proline의 함량이 많았으며, 뱀장어에서는 이를 아미노산의 함량이 적었다. 염 등(7)도 고등어 단백질 가수분해물에 있어서는 aspartic acid, glutamic acid, lysine, alanine, valine 및 leucine 등의 함량이 많았다고 하였다. 그리고 Table 4에 나타낸 ethanol 활용성획분의 아미노산 조성에 비하여 glutamic acid가 감소하는 대신에 열수추출물에서는 alanine, valine, leucine, lysine 등의 함량이 증가하였고, 효소가수분해물에 있어서는 proline, leucine, valine, alanine 등의 함량이 증가하는 것으로 나타나 담수어의 ACE 저해작용에는 이들 아미노산이 영향을 미칠 것으로 추정되며, 어종 간의 특이성을 나타낸 것으로 여겨진다. 이들 열수추출물 및 효소가수분해물의 ACE 저해작용을 지니는 획분들의 분자량이 비슷한 것으로 미루어 ACE 저해작용은 그 구성 아미노산의 조성이나 함량 뿐만 아니라 구성 peptide의 종류나 아미노산의 배열에도 영향을 받을 것으로 여겨지며, 이들 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 가수분해로 부터 생성된 저분자 peptide의 길이나 구조 및 아미노산의 종류나 배열순서 등에 의해 저해작용이 나타나는 것으로 여겨

Table 7. Amino acids composition of active fraction of hot-water extract and enzymatic hydrolysate prepared from fresh water fish (% to total amino acids)

Amino acids	Hot-water extract				Enzymatic hydrolysate			
	Carp	Snakehead	Eel	Israeli carp	Carp	Snakehead	Eel	Israeli carp
Asp	3.2	1.3	2.9	1.9	13.0	10.6	3.6	7.3
Thr	5.0	2.3	4.7	3.7	2.8	3.9	3.7	4.7
Ser	1.0	0.6	1.7	0.7	2.5	3.5	4.2	4.1
Glu	4.2	1.9	1.3	7.7	11.0	4.3	2.1	3.0
Gly	15.0	9.4	11.0	10.6	10.0	4.7	6.5	5.2
Ala	22.0	21.0	25.0	20.0	7.2	11.4	8.9	12.0
Cys	3.9	2.5	5.5	3.7	1.0	0.9	0.9	1.1
Val	8.5	10.0	7.4	6.6	4.1	11.1	9.6	9.6
Met	0.0	0.0	2.2	0.8	0.6	0.8	1.2	1.3
Ile	7.5	10.0	5.8	4.5	3.3	7.9	4.6	7.6
Leu	15.0	24.0	9.4	8.9	11.0	16.2	7.8	16.0
Tyr	0.6	0.4	1.7	0.2	0.8	1.2	0.9	1.1
Phe	0.8	0.7	1.9	0.4	1.5	0.2	18.4	0.7
Lys	1.3	6.2	2.5	18.0	10.1	9.1	4.4	11.0
His	0.5	0.3	6.5	0.9	1.3	1.7	11.8	1.9
Arg	0.7	0.8	2.6	0.7	1.1	1.9	2.9	2.8
Pro	12.0	7.3	7.6	11.0	19.0	10.6	8.5	11.2
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 8. IC₅₀ of ACE inhibitors from hot-water extract and enzymatic hydrolysate

	IC ₅₀ (μ g protein)	
	Hot-water extract	Enzymatic hydrolysate
Carp	50.3	42.6
Snakehead	55.1	48.6
Eel	56.9	53.5
Israeli carp	54.8	57.7

진다. 한편 이들 활성획분의 IC₅₀(ACE의 활성을 50% 억제하는데 요구되는 저해제의 양)을 살펴 본 결과, Table 8에 나타낸 바와 같이 열수추출물에 있어서는 잉어, 가물치, 뱀장어, 이스라엘잉어는 각각 50.3, 55.1, 56.9 및 54.8 μ g protein이었으며, 효소 가수분해물의 경우는 각각 42.6, 48.6, 53.5 및 57.7 μ g protein으로 나타났다. 이로 부터 열수추출물 보다 효소 가수분해물의 IC₅₀이 낮은 것을 알 수 있었다.

이상의 결과를 살펴 볼 때 열수추출물 및 효소 가수분해물이 나타내는 ACE 저해작용은 가열이나 효소에 의하여 단백질이 가수분해되었을 때 생성되는 저분자 peptide의 길이나 구조 및 이들을 구성하고 있는 아미노산의 종류나 배열순서 등 복합적인 작용에 의하여 ACE 저해작용이 나타나는 것으로 생각된다.

요 약

담수산 어류의 고도이용과 이들 추출물의 기능적

특성 해명을 위하여 전통적인 건강보양식품으로 애용되어 온 담수산 어류를 대상으로 열수추출물과 효소 가수분해물을 제조하고 이들의 ACE 저해작용 및 gel 여과에 의한 ACE 저해획분을 분리하고 그 특성을 알아 보았다. 열수추출물과 효소 가수분해물의 ACE 저해활성은 담수어류 중 잉어가 가장 높았으며, 효소 가수분해물이 열수추출물에 비하여 강한 경향을 보였다. Ethanol 사용성 확분이 침전획분에 비하여 강한 ACE 저해능을 나타내었으며, 잉어 효소 가수분해물의 70% ethanol 사용성 확분이 가장 높은 ACE 저해율을 나타내었다. ACE 저해효과를 지니는 활성획분의 분자량은 열수추출물에서는 약 1,400이었으며 효소 가수분해물에서는 1,400 보다 다소 큰 것으로 나타났고, 시료 중 잉어 효소 가수분해물이 가장 높은 ACE 저해활성을 나타내었다. 활성획분의 아미노산 조성은 열수추출물에 있어서는 glycine, alanine, leucine, proline 등의 함량이 많았으며 효소 가수분해물에 있어서는 aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, valine, leucine, proline 등의 함량이 많았다. 활성획분의 IC₅₀은 효소 가수분해물이 열수추출물에 비하여 낮은 경향이었다.

문 헌

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

2. 松田秀喜, 長岡俊徳, 森田日出男, 篠島克裕, 篠島 豊: 食品工業用蛋白質分解酵素によってイワシ筋肉から得られたアンジオテンシン I 變換酵素阻害ペプチド. 日食工誌, **39**, 678(1992)
3. 池本文彦, 岩尾 洋, 山本研二郎: 高血壓の生化學. 化學と生物, **19**, 482(1981)
4. 大久保博晶: 血壓調節機構の分子生物學的研究-レニン・アンジオテンシン系を中心-. 日本生化學會誌, **63**, 1419(1991)
5. Maruyama, S., Nakagomi, K., Tomizuka, N. and Suzuki, H.: Angiotensin I converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. Isolation and bradykinin potentiating activity on the uterus and the ileum of rats. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1405(1985)
6. Maruyama, S., Mitachi, H., Awaya, J., Kurono, M., Tomizuka, N. and Suzuki, H.: Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of C-terminal hexapeptide of α_{s1} -casein. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2557 (1987)
7. 염동민, 노승배, 이태기, 김선봉, 박영호: 식품단백질 효소가수분해물의 Angiotensin I 전환효소 저해작용. 한국영양식량학회지, **22**, 226(1993)
8. 受田浩之, 松田秀喜, 黒田浩之, 篠島克裕, 篠藤 寛, 篠島 豊: イワシ蛋白質加水分解物からアンジオテンシン I 轉換酵素阻害ペプチドの調製とその分離. 日農化誌, **65**, 1223(1991)
9. 受田浩之, 松田秀喜, 篠島克裕, 篠藤 寛, 松井利郎, 篠島 豊: 加熱イワシ筋肉のペプシン加水分中に存在するアンジオテンシン I 轉換酵素阻害ペプチド. 日農化誌, **66**, 25(1992)
10. 염동민, 이태기, 변한석, 김선봉, 박영호: 효소에 의한 고등어 근육 단백질 가수분해물의 Angiotensin I 전환효소 저해작용. 한수지, **25**, 229(1992)
11. 염동민, 이태기, 도정룡, 김외경, 박영범, 김선봉, 박영호: 수산발효식품중의 Angiotensin I 전환효소 저해제의 특성. 한수지, **26**, 416(1993)
12. 윤호동, 이두석, 김태진, 장영순: 담수어 열수추출물의 제조 및 품질에 관한 연구. 수진사업보고서, p.630(1994)
13. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
14. 梅本滋: ビュレット反応による魚肉タン白定量改良. 日水誌, **32**, 427(1996)
15. Cushman, D. W. and Cheung, H. S.: Spectrometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637(1971)
16. 鈴木建夫, 石川宣子, 目黒 照: 食品中のアンジオテンシン I 轉換酵素阻害能について. 日農化誌, **57**, 1143(1983)

(1996년 6월 22일 접수)