

## 양파 조미액의 Angiotensin Converting Enzyme 저해활성

마 상 조

광주보건대학 식품가공과

### Inhibitory Effect of Onion Seasoning on Angiotensin Converting Enzyme

Sang-Jo Ma

Dept. of Food Technology, Kwangju Health College, Kwangju 506-701, Korea

#### Abstract

This study was executed to develop a new onion seasoning with anti-hypertensive effect. ACE inhibitory fraction was successively isolated by solvent fractionation such as hexane, ether, ethylacetate, butanol and water. Water fraction had the highest protein and sugar content. Water and butanol fraction had 47.6 and 31.9 mg/weight of phenols contents, respectively. Butanol fraction showed the highest ACE inhibition rate (82.1%). Butanol fraction showed a similiar spectrum pattern as flavonoid. Column chromatography (Amberite XAD-2, Sephadex LH-20) and HPLC (C<sub>18</sub> reverse-phase) were also used for further purification of butanol fraction of onion seasoning. F<sub>1-3a</sub> fraction isolated from HPLC had a typical UV<sub>max</sub> absorption spectrum of flavonoids at 364 nm and 260 nm. The fraction showed the typical pattern of noncompetitive inhibition of ACE. These results suggest that flavonoid acts as a major active principle of ACE inhibition in onion seasoning.

**Key words:** onion, flavonoid, angiotensin converting enzyme

#### 서 론

Angiotensin I converting enzyme(EC 3. 4. 15. 1 ; ACE)은 angiotensin I을 강력한 혈압상승 효과를 가지는 angiotensin II로의 전환을 촉매하며, 혈압강하 펩타이드인 bradkynin의 불활성을 촉매하는 효소이다. 그러므로 ACE를 특이적으로 저해하는 물질은 혈압상승을 억제하는 작용을 가지고 있으므로 이런 관점에서 혈압강하제의 개발이 행하여져 왔다(1-3). 현재 각종 생물자원중에서 ACE 저해활성을 가지는 ACE 저해 펩타이드를 구하고 있으며, 그것을 식품으로 섭취시 고혈압을 예방하는 차원에서 많은 연구가 집중되고 있다(4-7).

Suzuki 등(8)은 일상적으로 섭취하는 94개 식품에서 ACE 저해활성을 조사하여, 그중 대두식품, 다류, 패류, 과일류 및 메밀에서의 ACE 저해활성을 찾아냈다. 이러한 식품중에 ACE 저해활성을 가지는 물질은 비교적 저분자 물질이 관여하는 것으로 추정하였으며, 특히 ACE 저해활성이 높은 녹차 및 홍차의 ACE 저해활성을 검토하여 catechin류 및 theaflavin류가 강한 ACE 저해활성을 가진다고 보고하였으며(9), 이는 지금까지의 ACE 저해활성 물질과는 달랐다. 식물체로부터 분리한 phenol성 물질은 각종 세균, 효모의 생육억제 및 효소 저해활성이 있음이 보고되었다(10,11). 다양한 기능을 가지는 phenol성 물질중 일부는 ACE 저해활성을 가지고 있음이 보고

되었다(12,13). Funayama와 Hikono(14)는 감잎에서 분리한 flavonoid가 ACE 저해활성을 가진다고 보고하였으며, Hara 등(9)은 차성분으로부터 분리한 catechin, gallo-catechin, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, theaflavin 등이 강한 ACE 저해활성을 가진다고 보고하였다. 또한 Cho 등(15)은 한국산 녹차에서 분리한 flavan-3ol 화합물이 ACE 저해활성을 가진다고 보고하였다.

ACE 저해활성물질은 펩타이드성 물질과 polyphenol성 물질로 대별되며, 펩타이드성 물질이 경구투여시 소화효소에 의한 분해 등 ACE 저해활성의 상실이 우려되는 반면, polyphenol성 물질은 펩타이드성 물질에 비해 비교적 높은 ACE 저해활성을 가지고 있으며, 소화효소에 의해 저해활성의 상실이 우려되지 않으므로 바람직할 것으로 사료된다.

Suh 등(16)과 Yoo 등(17)은 조리, 가공에 널리 사용되는 양파가 저장, 유통시 변색, 연부병, 동해 등이 발생하여 저장성이 매우 낮아 발생하는 문제점을 개선하고자 양파 조미액 제조에 Celluclast, Pectinex 등 효소를 활용하였으며, 조미액의 갈색화 방지를 위해 알콜 침지, 또는 cystein 첨가에 대한 갈변억제 효과 등에 대한 연구를 시행하였다. 또한 양파 조미액의 조미기능 외에 다른 생리활성 존재 여부를 확인한 결과, ACE 저해활성을 갖고 있음을 확인하였다.

그러므로 본 실험에서는 양파 조미액이 지니는 ACE

저해활성을 가지는 물질을 분리, 규명하고자 column chromatography법과 HPLC를 사용하여 ACE 저해활성 물질을 분리하였으며, ACE 저해기작 역시 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험의 재료인 양파는 경기도 삼승리에 소재하는 농협구판장에서 구입하여 사용하였으며, Amberite XAD-2는 Rohm & Haas Co(Frankfurt, Germany), Sephadex LH-20은 Pharmacia LKB Biotechnology(Uppsala, Sweden)로부터 구입하여 사용하였다. ACE 저해작용 측정용 시약으로는 ACE rabbit lung acetone powder와 Hippuric acid-Histidine-Leucine (Hip-His-Leu) (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 사용했다. 실험에 사용된 추출 및 기타 용매는 특급시약을 사용하였다.

### 양파조미액의 제조

양파 조미액은 양파껍질을 제거하고 수세과정을 거친 양파 50 g에 물을 50 mL를 가하여 Waring blender로 마쇄 후 Cereflo, Cellualst 1.5L, Pectinex와 Viscozyme L 등의 효소를 각각 0.5% 가하여 가수분해를 실시하였다. 효소 처리에 의해 얻은 가수분해액을 Whatman No. 4 여지로 여과시킨 후 감압·농축하여 30 brix로 조정하여 실험에 사용하였다.

### ACE 저해 효과 측정

ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(18)을 이용하여 측정하였다. 시료 0.05 mL에 Hip-His-Leu을 0.1 mL 가한 후 37°C에서 5분간 방치하였다. 여기에 ACE 효소액을 0.15 mL 가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시킨 후 0.5 N HCl을 0.25 mL 가하여 반응을 정지시켰다. 공실험은 시료용액 대신 증류수 50 µL를 사용하였으며 대조구는 HCl을 가한 후 효소액을 가하였다. 여기에 ethylacetate 1.5 mL를 가하여 15초간 섞어준 후 2,800 rpm에서 10분간 원심분리시켜 상등액을 0.5 mL 취하였다. 이 상등액을 oil bath 140°C에서 15분간 건조 후 1 M NaCl을 3 mL 가하여 용해시킨 후 228 nm에서 흡광도를 측정하여 다음식에 의해 ACE 저해율을 측정하였다.

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

$E_c$  = 시료대신 증류수 첨가시의 흡광도

$E_s$  = 시료 첨가시의 흡광도

$E_b$  = 반응 정지후 시료 첨가시의 흡광도

### 유기용매에 의한 ACE 저해물질 분리

ACE 저해활성 물질은 Fig. 1과 같은 방법에 의해 각

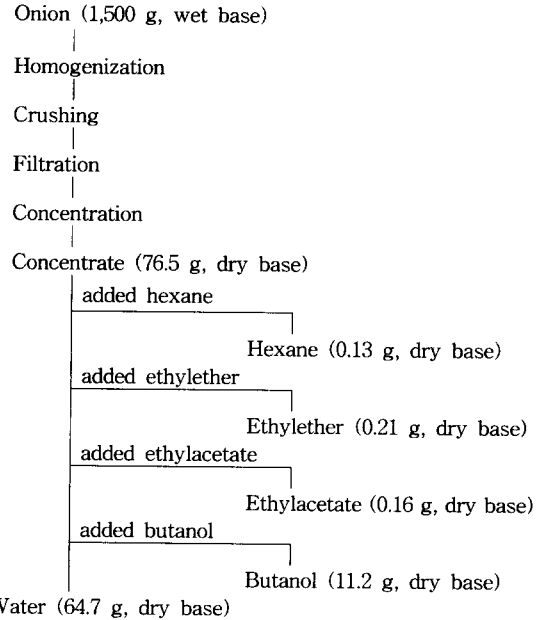


Fig. 1. Flow chart of solvent fractionation on onion concentrate.

유기용매를 이용하여 분리하였다. 양파 조미액에 동량의 hexane을 가한 후 3회씩 추출 농축하여 hexane분획을 얻었으며, 계속해서 같은 방법으로 물층을 ethylether, ethylacetate, butanol로 추출 농축하여 각각의 분획을 얻었으며, 최종적으로 물층을 회수하였다.

### Amberite XAD-2 column chromatography

Amberite column(2.6×23 cm)에 butanol 분획을 주입하고 methanol로 24 mL/hr의 속도로 용출하여서 3 mL씩 분획하여 활성이 있는 부분을 모아 감압농축하였다.

### Sephadex LH-20 column chromatography

20% methanol로 평형화된 Sephadex LH-20 column (1.2×25 cm)에 주입하고 8.22 mL/hr의 유속으로 동일용액으로 용출해서 2 mL/hr씩 분획하여 활성이 있는 부분을 감압농축하였다.

### HPLC

Sephadex LH-20 column chromatography에서 얻어진 활성분획을 농축한 후 Supercosil LC-18 column(0.46×15 cm, PA, USA)에 주입한 후 Shodex RI 71 detector를 사용하여 340 nm에서 acetonitrile-water mixture(15:85)로 2 mL/min의 유속으로 용출하여 ACE 저해활성을 가지는 분획을 분리하였다.

### ACE에 대한 저해작용 측정

ACE에 대한 저해양상을 알아보기 위해 기질의 농도

를 변화시키며 저해제를 각각 13.7  $\mu$ L, 6.9  $\mu$ L 첨가하여 효소의 활성을 측정하고 Lineweaver-Burk plot에 의해 저해제를 첨가하지 않은 대조구를 이용해서 비교하였다.

### 단백질, 당 및 페놀성분 측정

단백질은 Bradford 법(19)에 의하여 측정하였으며, 당 함량은 phenol sulfuric acid 법(20)에 의하여 측정하였다. 또한 페놀 함량은 Folin-Denis 법(21)에 의하여 행하였다.

## 결과 및 고찰

### ACE 저해물질의 용매분획

양파 조미액의 ACE 저해물질을 분리하고자 유기용매를 사용하여 Fig. 1의 방법에 의해 얻은 각 분획, hexane, ethylether, ethylacetate, butanol과 물층은 건물량으로 환산 시 물층이 64.7 g으로 가장 많은 양이 분획되었으며, butanol에 의해서는 11.2 g이 분획되었다. 그러나 hexane, ethylether, ethylacetate에 의해서는 0.13 g, 0.21 g, 0.16 g으로 적은 양이 분획되었다(Table 1). 또한 각 분획의 단백질함량, 당함량과 페놀성 성분의 함량을 측정한 결과, 가장 많은 양을 얻었던 물층의 경우 단백질과 당의 양이 2.9과 37 g/weight로 거의 대부분이 당으로 구성되어 있음을 알 수 있었으며, butanol층 역시 단백질 0.8 g/weight, 당 4.8 g/weight으로 많은 양이 함유되어 있었다. 또한 양파 조미액에서 기능성을 발휘할 것으로 기대되는 phenol 성 물질의 양도 역시 물층이 47.6 mg/weight, butanol층이 31.9 mg/weight으로 높은 양을 함유하였고 이들 분획에서 ACE 저해활성이 높을 것으로 기대되었다.

이들 각 분획의 ACE 저해활성을 측정한 결과(Fig. 2), butanol 분획이 82.1%로 70.3%의 ACE 저해활성을 보인 양파 조미액보다 높은 저해활성을 보였으나, ethylacetate, 물, hexane 및 ethylether 분획은 52.3%, 44.4%, 28.7% 및 17.0%의 낮은 ACE 저해활성을 보였다. Butanol 분획이 물 분획 다음으로 높은 회수율을 보였으며, 또한 양파 조미액보다 높은 ACE 저해활성을 보임에 따라 양파 조미액의 ACE 저해활성을 가지는 물질은 양파에 함유되어 있는 페놀성물질로 생각된다. 양파에 함유되어 있는 페놀성 물질은 quercetin 4'-glucoside, quercetin 4',7-diglycoside, quercetin 3,7-diglycoside, quercetin 3,4'-diglycoside, quercetin aglycone, isorhamnetin monoglycoside, kaemp-

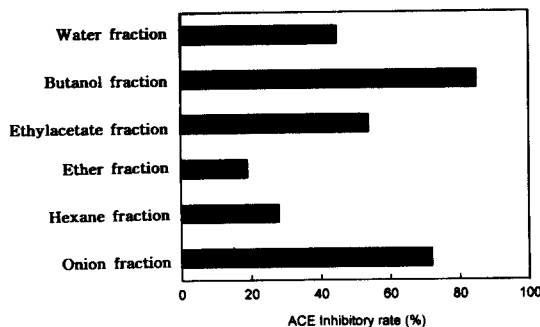


Fig. 2. ACE inhibitory rate of solvent fraction obtained from onion concentrate.

ferol monoglycoside 등의 flavonoid가 함유되어 있으며, 이중 80%가 quercetin diglycoside, quercetin monoglycoside, quercetin aglycone으로 구성되어 있다(22). 또한 양파에 함유되어 있는 flavonoid는 240~280 nm(band II)와 350~385 nm(band I)에서 전형적인 피크를 가지는데(23), butanol 분획 역시 263 nm와 364 nm(자료 미제시)에서 피크를 보이므로 ACE 저해활성을 보이는 물질이 flavonoid로 추정되었다.

### Amberite XAD-2 column chromatography에 의한 ACE 저해물질의 분획

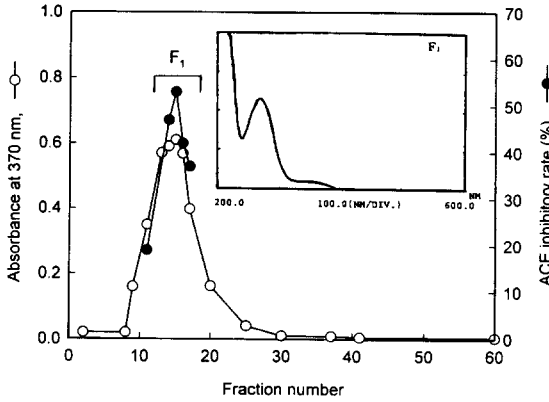
Amberite column(2.6×23 cm)에 butanol 분획을 주입하고 methanol로 washing하여 미흡착 분획을 모았다(Fig. 3). 미흡착 분획의 ACE 저해활성을 측정한 결과, 미흡착 분획과 일치하는 ACE 저해 활성을 보인 F<sub>1</sub> 분획을 얻었다. F<sub>1</sub> 분획을 spectrophotometer를 이용하여 scanning을 한 결과(Fig. 3), 265 nm에서 band II를 확인하였으며, flavonoid의 특징인 band I은 미약하게 확인되었다. 이는 band II의 흡광도가 높음에 따라 band I이 미약하게 나타난 것으로 butanol 분획의 spectrophotogram과 거의 유사한 경향을 보였다.

### Sephadex LH-20 column chromatography에 의한 ACE 저해물질의 분획

20% methanol로 평형화된 Sephadex LH-20 column(1.2×25 cm)에 활성분획 F<sub>1</sub>을 주입하고 8.22 mL/hr의 유속으로 동일용액으로 용출해서 2 mL씩 분획하였다(Fig. 4). 분획한 결과, 4개(F<sub>1-1</sub>, F<sub>1-2</sub>, F<sub>1-3</sub>, F<sub>1-4</sub>)의 peak를 얻었

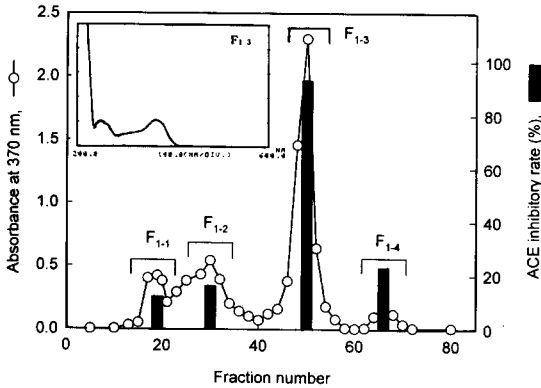
Table 1. Yields and chemical contents of various solvent fractions of onion seasoning

Fraction	Onion seasoning	Hexane	Ethylether	Ethylacetate	Butanol	Water
Weight (g)	76.51	0.13	0.21	0.16	11.21	64.73
Yield (%)	-	0.2	0.3	0.2	14.6	84.6
Protein (mg/wt)	13655.1	126.9	44.5	38.1	756.2	2872.8
Sugar (mg/wt)	57196.3	0.8	44.6	34.9	4824.1	37598.5
Polyphenols (mg/wt)	154.3	4.8	5.6	6.5	31.9	47.6



**Fig. 3. Chromatogram of butanol fraction on Amberlite XAD-2 column.**

Column: 2.6×23 cm, flow rate: 24 mL/hr, eluent: methanol.



**Fig. 4. Sephadex LH-20 column chromatogram of F1 fraction obtained from Amberlite XAD-2 chromatography.**

Column: 1.2×25 cm, flow rate: 8.22 mL/hr, eluent: 20% methanol.

으며, 이중 가장 높은 흡광도를 보이는 F<sub>1-3</sub> 분획의 ACE 저해활성은 93%로 가장 높은 저해활성을 보였다. Leighton 등(22)은 같은 조건에서 4개의 peak를 얻었으며, F<sub>1-1</sub>은 quercetin diglycosides, F<sub>1-2</sub>는 isorhamnetin glucoside, F<sub>1-3</sub>은 quercetin-4'-monoglucoside, F<sub>1-4</sub>는 quercetin임을 보고하였으며, Park과 Lee(24)는 위와 같은 조건에서 4개의 분획외에 F<sub>1-2</sub>와 F<sub>1-3</sub> 사이에 또 하나의 분획을 얻었으며, 이 분획을 rutin이라고 밝혔다. Leighton 등과 Park 등에 의하면 ACE 저해활성을 보이는 F<sub>1-3</sub>은 quercetin-monoglucoside임을 알 수 있었으며, flavonoid의 전형적인 band I과 band II가 공히 나타났다.

**HPLC에 의한 ACE 저해물질의 분리**

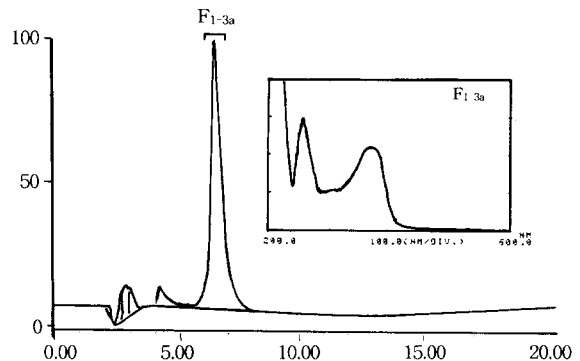
Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 얻어진 활성분획 F<sub>1-3</sub>을 감압건조 후 15% acetonitrile에 녹인 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리시키고, 0.2 μm

pore size의 HPLC prefilter로 걸러서 불순물을 제거시킨 후 Supercosil LC-18 column을 이용하여서 HPLC를 실시하였다. 그 결과(Fig. 5) 6분대에서 ACE 저해활성을 가지는 커다란 피크(F<sub>1-3a</sub>)를 얻었다. HPLC에 의해 얻은 분획 F<sub>1-3a</sub>의 spectrophotogram을 측정한 결과(Fig. 4), flavonoid의 특징인 band I이 확연하게 나타났으며, 또한 band II 역시 잘 나타나 있다.

Kameda 등(25)은 감압에서 분리한 astragalín, kaempferol 3-O-(2''-O-galloyl)-glucoside, isoquercitrín, quercetin 3-O-(2''-O-galloyl)-glucoside 등 flavonol glucoside와 flavonol gallates는 ACE 저해활성이 나타내었으나, flavonoid aglycone는 ACE 저해활성이 나타나지 않았다고 보고하였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 양과 가수분해물의 ACE 저해 효과를 나타내는 물질은 flavonoid로 추정되나, 이에 대한 정확한 물질 규명은 추후 실험을 통하여 정확히 규명하고자 한다.

**F<sub>1-3a</sub>의 ACE에 대한 저해작용**

ACE에 대한 저해양상을 알아보기 위해 기질의 농도를 변화시키며 저해제를 각각 13.7 μg, 6.89 μg 첨가하여 효소의 활성을 측정하고 Lineweaver-Burk plot에 의해 저해제를 첨가하지 않는 대조구를 이용해서 비교하였다. 그 결과(Fig. 6) 비경쟁적 저해제임을 확인하였다. Cho 등(15)에 의하면 탄닌유래의 화합물과 단백질과의 결합은 단백질의 아미드 결합과 탄닌의 페놀성 수산기간의 수소결합에 의한 반응으로 단백질과 탄닌 복합체의 침전물을 형성한다. 이런 현상은 pH, 이온강도, 단백질 및 탄닌 농도에 의한 상호작용으로 비경쟁적 효소를 저해함으로써 효소의 용해성 및 안정성을 저하, 효소 불활성화를 일으키는 것으로 보고하였다. Matsubara 등(13)은 밀감의 피층에서 얻은 탄닌류가 ACE에 강한 비경쟁적 저해효과를 보고한 바 있다. Phenolic 물질이 비경쟁적 저해기작



**Fig. 5. HPLC chromatogram of F<sub>1-3</sub> fraction obtained from Sephadex LH-20 column chromatography on C<sub>18</sub> column.**

Column: 0.46×15 cm, flow rate: 2 mL/min, eluent: acetonitrile-water mixture (15:85).

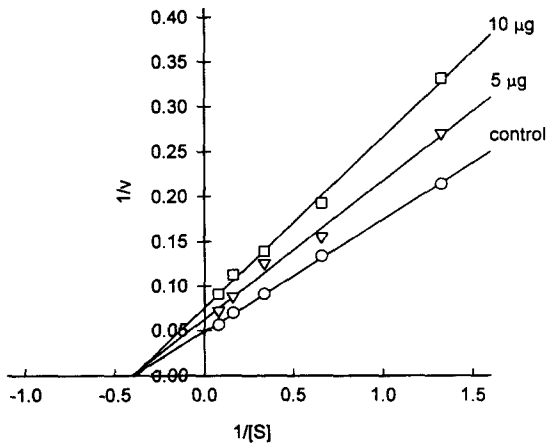


Fig. 6. Lineweaver-Burk plot of ACE activity by F<sub>1-3a</sub>.

에 의해 ACE 저해활성을 나타내는 것처럼 양파에서 분리한 flavonoid 역시 비경쟁적 저해 기작에 의해 혈압을 강하시키는 효과가 있음을 확인하였다.

요 약

양파 조미액으로부터 ACE 저해활성 물질을 분리하기 위해 hexane, ethylether, ethylacetate, butanol과 물로 분획시, 4.8 g의 당 함량과 31.9 mg의 phenol성 물질을 함유한 butanol 분획이 82.1%의 ACE 저해활성을 나타내었고, 70.3%의 ACE 저해활성을 보인 양파 조미액보다 높은 저해활성을 보였다. Butanol 분획을 Amberite XAD-2 column으로 분리한 결과, ACE 저해활성을 보이는 미흡착 분획(F<sub>1</sub>)을 얻었다. 활성분획 F<sub>1</sub>을 Sephadex LH-20 column으로 분획한 결과, 4개(F<sub>1-1</sub>, F<sub>1-2</sub>, F<sub>1-3</sub>, F<sub>1-4</sub>)의 분획을 얻었으며, 이중 F<sub>1-3</sub> 분획의 ACE 저해활성은 93%로 가장 높은 저해활성을 보였다. Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 얻어진 활성분획 F<sub>1-3</sub>을 Super-cosil LC-18 column을 이용하여 분리한 결과, 6분대에서 ACE 저해활성을 가지는 단일 peak(F<sub>1-3a</sub>)를 얻었다. 각 정제 과정에서 얻은 분획들은 전형적인 flavonoid의 band I과 band II의 피크를 보였다. 또한 ACE에 대한 저해기작은 flavonoid 물질이 보이는 전형적인 비경쟁적 저해양상을 보였다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 광주보건대학 학술연구비 지원에 의하여 수행되었음을 밝힙니다.

문 헌

1. Yamamoto, N. : Antihypertensive peptides derived from

food proteins. *Biopoly.*, **43**, 129-134 (1997)

2. Ukeda, H., Matsuda, H., Kuroda, H., Osajima, K., Matsufuji, H. and Osajima, Y. : Preparation and separation of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **65**, 1223-1228 (1991)

3. Takayanagi, T. and Yokotsuka, K. : Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from wine. *American J. Ecology Viticulture*, **50**, 65-68 (1999)

4. Chung, S.H., Suh, H.J., Choi, Y.M., Noh, D.O. and Bae, S.H. : Enzyme activities and inhibitory effect on angiotensin converting enzyme of *Monascus*-koji for the *kochujang* production. *Food Sci. Biotechnol.*, **8**, 179-183 (1999)

5. Suh, H.J., Whang, J.H. and Lee, H. : A peptide from corn gluten hydrolysate that is inhibitory toward angiotensin I converting enzyme. *Biotechnol. Letters*, **21**, 1055-1058 (1999)

6. Meisel, H. : Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins. *Biopoly.*, **43**, 119-128 (1997)

7. Matsumura, N., Fujii, M., Takeda, Y., Sugita, K. and Shimizu, T. : Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bonito bowels autolysate. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **57**, 695-697 (1993)

8. Suzuki, T., Ishikawa, N. and Meguro, H. : Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity in foods. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **57**, 1143-1146 (1983)

9. Hara, Y., Matsuzaki, T. and Suzuki, T. : Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **61**, 803-808 (1987)

10. Villar, A., Gasco, M.A. and Alcaraz, M.J. : Anti-inflammatory action and anti-ulcer properties of hypolaetin-8-glucosides, a novel plant flavonoid. *J. Pharmacol.*, **36**, 820-865 (1984)

11. Katiyar, S.K. : Protection against TPA-induced inflammation in SENCAR mouse sar skin by polyphenolic fraction of green tea. *Carcinogenesis*, **14**, 361-367 (1993)

12. Somanadhan, B., Smitt, U.W., George, V., Pushpangadan, P., Rajesekharan, S., Duus, J.O., Nyman, U., Olsen, C.E. and Jaroszewski, J.W. : Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors from *Jasminum azoricum* and *Jasminum grandiflorum*. *Planta Medica*, **64**, 246-250 (1998)

13. Matsubara, Y., Kumamoto, H., Iizuka, Y., Murakami, T., Okamoto, K., Miyake, H. and Yokoi, K. : Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in *Citrus unshiu* peelings. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 909-914 (1985)

14. Funayama, S. and Hikono, H. : Hypotensive principles of *Diospyros kaki* leaves. *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 2865-2868 (1979)

15. Cho, Y.J., An, B.J. and Choi, C. : Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated from Korean green tea. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **25**, 238-242 (1993)

16. Suh, H.J., Chung, S.H., Son, J.Y., Son, H.S., Cho, W.D. and Ma, S.J. : Preparation of onion hydrolysate with enzyme. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**, 786-790 (1996)

17. Yoo, K.W., Noh, D.U. and Suh, H.J. : Effect of steeping on browning of onion hydrolysate. *Kor. J. Food Nutr.*, **10**, 382-386 (1997)

18. Cushman, D.W. and Cheung, H.S. : Spectrometric assay and properties angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637-1648 (1971)

19. Bradford, M.M. : A rapid and sensitive method for the quantification of  $\mu\text{g}$  proteins. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254 (1976)
20. Omran, H., Buchenhüskes, H., Zapo, B. and Gierscher, K. : Technical enzymes for the liquefaction of white cabbage and saurkraut. *Food Biotechnol.*, **3**, 59-63 (1989)
21. Swain, T., Hillis, W.E. and Oritega, M. : Phenolic constituents of *Ptunus domestica* I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 83-86 (1959)
22. Leighton, T., Ginther, C., Fluss, L., Harter, W.K., Cansado, J. and Nortario, V. : Molecular characterization of quercetin and quercetin glycosides in *Allium* vegetables. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*. ACS, Washington, D.C., p.220 (1992)
23. Markham, K.R. : Ultraviolet-visible absorption spectroscopy. In *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press, New York, USA, p.36 (1982)
24. Park, Y.K. and Lee, C.Y. : Identification of isorhmnetin 4'-glucoside in onions. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 34-36 (1996)
25. Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H. and Kimua, Y. : Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J. Natural Products*, **50**, 680-683 (1987)

(2000년 3월 8일 접수)