

바지락 단백질 Thermolysin 가수분해물의 Angiotensin Converting Enzyme 저해 Peptide의 특성

이태기⁺ · 염동민^{*} · 김선봉^{**}

남도대학 해양식품산업과, ^{*}양산대학 식품가공제과제빵과

^{**}부경대학교 식품생명공학부

Characteristics of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides from Thermolysin Hydrolysate of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* Proteins

Tae-Gee LEE⁺, Dong-Min YEUM^{*} and Seon-Bong KIM^{**}

Department of Marine Food Industry, Namdo Provincial College of Jeonnam, Jangheung 529-851, Korea

^{*}Department of Food Processing & Baking, Yangsan College, Yangsan 626-740, Korea

^{**}Faculty of Food and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

The peptides inhibiting angiotensin converting enzyme (ACE) were isolated from the hydrolysate of manila clam (*Ruditapes philippinarum*) proteins prepared with thermolysin. The thermolysin hydrolysate was pretreated with membrane filter (MW cut-off 10,000) to obtain the peptide fraction with ACE inhibition. The crude peptides were applied to a Sephadex LH-20 column and eluted with 30% methanol. The three active fractions (A, B and C) were collected and concentrated, and then applied to a SP-Toyopearl 650S column equilibrated with distilled water and was eluted with a linear gradient of NaCl concentration (0 to 1M). The four active fractions (A-1, A-2, B-1 and C-1) were collected and concentrated, and then applied to a SuperQ-Toyopearl 650S column equilibrated with distilled water and was eluted with a linear gradient of NaCl concentration (0 to 1M). The maximum inhibitory activity was observed in the fraction B-1Q showed the IC₅₀ values of 0.748 μg. The abundant amino acids obtained from active fraction B-1Q were leucine, isoleucine, alanine and threonine.

Key words: Angiotensin converting enzyme (ACE), Manila clam, *Ruditapes philippinarum* protein, Thermolysin hydrolysate

서 론

순환기계 질병의 원인이 되는 동시에 뇌출혈, 심장병 및 신장병 등과 합병증으로 나타날 경우 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환인 고혈압의 90% 이상을 차지하는 본태성 고혈압은 정상적인 혈압을 유지하는 기구들이 천천히 붕괴되어 진행되는 질병이다 (Frohlich, 1982). 이러한 본태성 고혈압의 원인 중에서 renin · angiotensin계가 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다 (Saxena, 1992). 즉, angiotensinogen이 renin에 의하여 angiotensin I으로 분해되고, 이는 angiotensin 전환효소 (angiotensin converting enzyme, ACE; peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1)에 의하여 C 말단의 dipeptide (His-Leu)가 절단되어 강력한 혈관수축 호르몬인 angiotensin II로 변하게 된다. 생성된 angiotensin II는 동맥혈관을 수축시켜 혈압을 상승시키고, adrenal에서의 aldosterone의 분비를 촉진하여 신장의 sodium 및 수분의 재흡수를 증가시키는 역할을 한다. 또한 ACE는 혈관확장, 장의 운동성 증대 등의 작용을 가진 bradykinin을 분해하여 불활성화시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다 (Cushman et al., 1977; Sealey and Laragh, 1990).

이와 같이 혈압의 상승에는 ACE가 크게 관여하므로 혈압의 강

하에는 ACE의 저해가 필수적이라 하겠다. 이와 관련하여 1970년 대초 ACE 저해작용을 갖는 peptide인 tetrotide가 브라질과 일본산 (産) 독사 (*Bothrops jararaca*와 *Agkistrodon halys blomhoffii*)의 독액으로부터 분리되었다 (Ferreira et al., 1970; Ondetti et al., 1971; Kato and Suzuki, 1971). 이 tetrotide는 고(高) renin증 고혈압 환자에서 뿐만 아니라 정상인에서도 현저한 혈압강하작용을 갖는 것으로 밝혀짐으로써 ACE 저해제들의 고혈압 치료제로서의 개발 가능성이 제시되었다. 그리고 1988년 미국 고혈압 합동위원회에서는 ACE 저해제를 고혈압 치료제로서 공인하게 되므로써 고혈압 예방 및 치료에 있어서 ACE 저해제의 중요성이 부각되게 되었다 (Nishikawa, 1993).

식품성분 중에서 ACE 저해효과를 나타내는 성분으로는 여러 가지 식품단백질의 효소 가수분해물로부터 얻어진 peptide류를 중심으로 주로 연구되고 있다. 즉, casein (Maruyama et al., 1987), zein (Miyoshi et al., 1991), gelatin (Oshima et al., 1979), 쌀 (Muramoto and Kawamura, 1991), 대두 (Suh et al., 1994; Cho et al., 2000), 청주와 그 부산물인 술 지게미 (Saito et al., 1992; 1994), 정어리육 (Matsufuji et al., 1994), 가다랑어육 (Kohama et al., 1991)과 내장 (Matsumura et al., 1993), 자배건 가다랑어 (Yokoyama et al., 1992), 고등어육 (Yeum et al., 1992), 오징어 (Suh et al., 1997), 대구의 간 (Choi et al., 2000) 등의 가수분해물로부터 ACE 저해 peptide를 분리하여 아미노산 배열을 해석하였고, 이를

⁺Corresponding author: tglee@namdo.ac.kr

기초로 peptide를 화학적으로 합성하여 저해효과에 미치는 C 및 N 말단 아미노산의 영향에 대하여 검토되고 있다. 또한 Osajima et al. (1993)은 ACE 저해 peptide의 공업적 대량 생산을 위한 system을 설계, 제작하였다. 최근 일본의 경우 casein 유래의 dodecapeptide를 함유한 청량음료수인 「카제인DP」가 특정보건음식품의 하나로 시판되고 있다.

본 연구에서는 각종 패류로부터 ACE 저해물질의 검색을 행한 결과, 전남 서남해안 지역특산물인 바지락 단백질의 thermolysin 가수분해물중에서 그 저해활성이 확인되어, 이로부터 ACE 저해 peptide를 한외여과, 겔 크로마토그래피 및 이온 교환 크로마토그래피로 분리하여 그 저해효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

재 료

실험에 사용한 바지락 (*Ruditapes philippinarum*)은 전남 득량만에서 채집한 것을 구입하여 탈각 후 증류수에 넣어 10분간 비등한 다음, $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

ACE는 토끼의 허파로부터 얻은 정제효소 (Sigma chemicals Co.)를, 기질로는 hippuryl-histidyl-leucine (Sigma chemicals Co.)을, 그리고 단백질 가수분해효소로는 thermolysin을 (Sigma chemicals Co.) 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

ACE 활성 측정

소정농도의 시료 $15 \mu\text{L}$ 에 ACE 정제효소 (60 mU/mL) $50 \mu\text{L}$ 를 가한 후 37°C 에서 5분간 preincubation 시켰다. 여기에 붕산완충액 (pH 8.3, 400 mM NaCl 함유)에 용해한 5 mM 의 hippuryl-histidyl-leucine 용액 $125 \mu\text{L}$ 를 가하여 다시 37°C 에서 30분 반응시킨 후 10% trifluoroacetic acid (TFA) $20 \mu\text{L}$ 를 가하여 반응을 정지시켰다 (공시험은 시료 용액 대신에 증류수 $15 \mu\text{L}$ 를 사용하였다). 반응용액 $20 \mu\text{L}$ 를 Zorbax 300SB C_8 column (Hewlett Packard Co., $4.6 \times 150 \text{ mm}$)을 이용한 역상 HPLC (Hewlett Packard Co., HP 1100, USA)로써 분석하였다. 이때, 용출속도는 1 mL/min , 이동상으로는 0.1% TFA를 함유한 acetonitrile 용액 ($0 \sim 63\%$, 36 min)을 사용하여 선형상 농도구배법으로 효소 반응에 의하여 기질로부터 유리된 hippuric acid를 228 nm 에서 검출하여, 시료 첨가 전후 생성량을 백분율로써 ACE 저해율을 나타내었다. ACE 저해제의 농도는 ACE의 활성을 50% 저해하는데 요구되는 저해제의 양을 계산하여 IC_{50} (μg)으로 정의하였다.

바지락 단백질 thermolysin 가수분해물로부터 ACE 저해 peptide의 분리

바지락 100 g 을 증류수 300 mL 에 넣어 10분간 비등한 후, polytron으로 균질화하였다. 균질물 30 mL 를 100 mM Tris-HCl 완충용액 (pH 8.2, 10 mM CaCl_2 함유) 50 mL 를 가한 다음, thermolysin 32 mg 을 첨가하여 37°C 에서 4.5시간 가수분해한 다음, 100°C 에서 10분간 비등하여 반응을 정지시켰다. 이를 원심분리 ($3,000 \text{ g}$, 20 min)

한 후, 그 상층액을 한외여과막 (PM-10, Amicon Co.)을 이용하여 분자량 $10,000 \text{ Da}$ 이하의 저분자물질을 회수하여 원심농축한 것을 시료액으로 하였다. 조제한 시료액 5 mL 를 30% methanol로 평형화시킨 Sephadex LH-20 column (Pharmacia Fine Chemicals, $26 \times 900 \text{ mm}$)에 주입하고 30% methanol로 용출 (유속 20.8 mL/hr , 분획량 5.2 mL/tube)시켰다. 활성 획분을 증류수로 평형화시킨 SP-Toyopearl 650S column (Tosoh Co., Ltd., $16 \times 650 \text{ mm}$)과 SuperQ-Toyopearl 650S column (Tosoh Co., Ltd., $16 \times 650 \text{ mm}$)에 주입하여 증류수로 용출한 다음, NaCl 용액 ($0 \sim 1 \text{ M}$)을 사용하여 선형상 농도구배법으로 용출 (유속 30 mL/hr , 분획량 5 mL/tube)하여 저해물질을 분리하였다.

아미노산 분석

아미노산 분석은 단백질 함량으로 15 mg 되는 시료 1 mL 를 sample에 넣고, 진한 염산 1 mL 를 가하여 질소가스로 치환하고 밀봉한 다음, 110°C 의 dry bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건고하여 염산을 완전히 제거한 다음 증류수 10 mL 를 가하여 다시 감압건고한 후, 구연산나트륨완충용액 (pH 2.2, Sigma chemical Co.)으로써 25 mL 로 정용하였다. 이의 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기 (Pharmacia Biotech Co., Biochrom 20, Sweden)를 사용하여 분석 및 정량하였다.

결과 및 고찰

바지락 단백질의 thermolysin 가수분해물로부터 ACE 저해 peptide를 분리하기 위하여, 분자량 한계범위가 $10,000 \text{ Da}$ 인 한외여과막을 통과한 저분자량의 물질을 Sephadex LH-20 column을 이용한 겔 크로마토그래피를 실시하여 분획한 후, 280 nm 에서의 흡광도 및 그 때의 ACE 저해효과를 살펴본 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 A (No. 45, 46), B (No. 49, 50) 및 C (No. 65~68)의 3개의 활성 획분을 얻었다. 이를 다시 원심농축하여 SP-

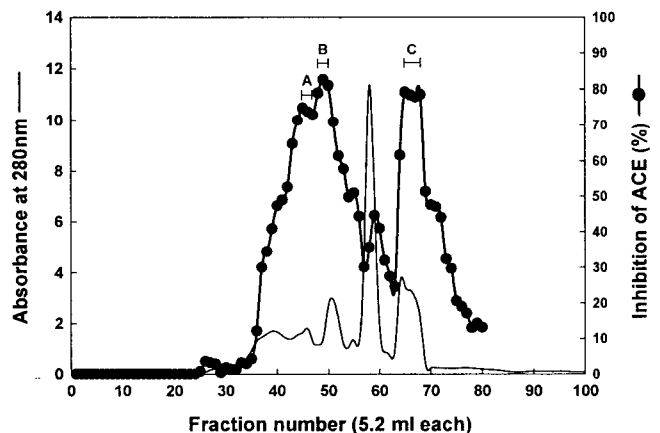


Fig. 1. A thermolysin hydrolysate of manila clam proteins filtered with PM-10 membrane was chromatographed on a Sephadex LH-20 column. The fractions marked with a horizontal line were collected.

Toyopearl 650S column으로 양이온 교환 크로마토그래피를 행한 결과, 획분 A로부터 증류수 용출 획분인 A-1 (No. 18, 19)과 0.438~0.450 M NaCl 농도범위에서 용출된 A-2 (No. 62, 63), 획분 B 및 C로부터 증류수 용출 획분인 B-1 (No. 25, 26) 및 C-1 (No. 21) 획분을 얻었다 (Fig. 2). 이를 다시 원심농축하여 SuperQ-Toyopearl 650S column을 이용한 음이온 교환 크로마토그래피를 행한 결과, 4개의 활성 획분, 즉 획분 A-1 및 A-2로부터 비흡착 획분인 A-1Q (No. 16), A-2Q (No. 14), B-1로부터 B-1Q (No. 17) 및 C-1로부터 C-1Q (No. 23) 획분을 회수하였다 (Fig. 3). 분리된 각 활성 획분의 아미노산 조성은 Table 1과 같다. 가장 높은 저해 활성을 나타내는 획분인 B-1Q의 아미노산 조성은 alanine, leucine, isoleucine 및 threonine이 각각 30.0%, 11.3%, 10.7% 및 11.2%로 나타나, 이들 4종류의 아미노산이 약 63% 정도를 차지하였고, ACE 저해 활성은 IC₅₀ 값이 0.748 µg이었다 (Table 2).

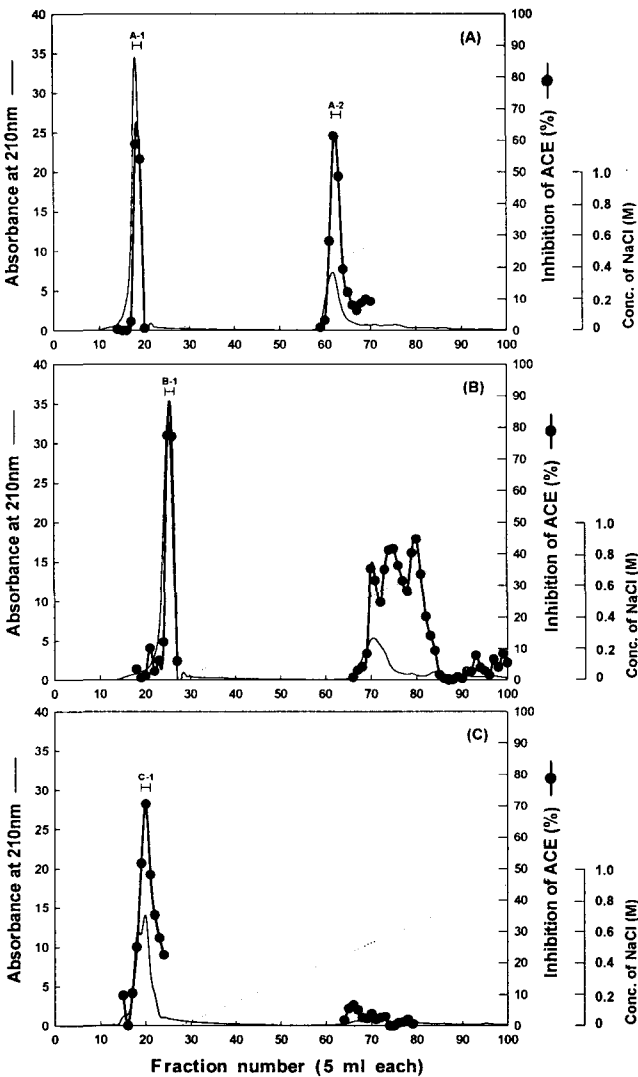


Fig. 2. The active fractions eluted from Sephadex LH-20 column was chromatographed on a SP-Toyopearl 650S column. The fractions marked with a horizontal line were collected.

Cho et al. (2000)의 경우 납두 발효과정 중 생성된 ACE 저해 peptide의 아미노산 조성은 alanine이 30.8%로 가장 높았다고 보고하였으며, Suh et al. (1994)의 경우 된장에서 정제한 peptide도 alanine이 55.5%로 상당히 높은 비중을 차지한다고 보고하여, 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 Suetsuna et al. (1988)도 12종의 어육과 3종의 패류육의 pepsin 가수분해물에서 ACE 저해 효과를 가지는 peptide를 검색·분리하였으며, ACE 저해 peptide의 아미노산 조성은 aspartic acid, glutamic acid, arginine, proline, isoleucine 및 lysine의 함량이 특징적으로 많다고 하였다. 그리고, Yeum et al. (1992)도 고등어 근육단백질의 복합효소 및 bromelain에 의한 가수분해물에서 ACE 저해 활성 획분의 분자량은 약 1,450로 추정하였고, 아미노산 조성은 aspartic acid, glutamic acid, lysine, leucine, valine 및 alanine의 함량이 많은 것으로 보고하였다.

한편, 활성 발현에 있어 C 말단 아미노산 잔기로서 중요한 역할을 하는 proline 함량도 3.7%인 것으로 나타났다 (Table 1). 이와 관련하여 Cheung et al. (1980)은 peptide들의 ACE 저해효과에 미치는 C 말단 및 N 말단 아미노산 잔기의 영향에 대하여 검토한 결과, C 말단에는 tryptophan, phenylalanine, tyrosine 및 proline 등이, N 말단에는 histidine을 비롯한 염기성 아미노산과 방향족 및 소수성 아미노산들이 있고, 이들 peptide들은 ACE에 대하여 angiotensin I 과 경쟁적으로 결합하여 ACE의 활성을 감소시키는 것으로 추정된다고 하였다. 또한 옥수수 배유 단백질인 α -zein의 효소가수분해물로부터 분리한 ACE 저해 peptide들은 C 말단 아미노산 잔기로서 proline, tyrosine, alanine 및 glutamine을 가지는 tripeptide로서, 이 중 ACE 저해효과가 우수한 것은 C 말단 아미노산 잔기가 proline인 Leu-Arg-Pro (IC₅₀=0.27 µM), Leu-Ser-Pro (IC₅₀=1.7 µM) 및 Leu-Gln-Pro (IC₅₀=1.9 µM) 등이었고, N 말단 아미노산 잔기로서 leucine을 가진 것이 valine을 가진 것보다 우수하다고 하였다 (Miyoshi et al., 1991).

Matsumura et al. (1993)은 가다랑어 내장으로부터 ACE 저해 작용을 나타내는 6종류의 peptide를 분리하여 이들의 아미노산 배열을 밝히고, 이를 기초로 peptide를 화학적으로 합성하여 ACE 저해작용을 검토한 결과, 강한 저해활성을 나타내는 4종류의 tripeptide들은 공통적으로 N 말단 아미노산 잔기로서는 valine, isoleucine 및 leucine과 같은 소수성 아미노산을 가지고, 중앙에는 arginine 및 lysine과 같은 염기성 아미노산을, C 말단 아미노산 잔기로서는 proline을 가졌다고 하였다.

이상의 결과를 종합하면 바지락 thermolysin 가수분해물의 ACE 저해작용은 그 구성 아미노산의 조성이나 함량에도 영향을 받을 것으로 생각되나, 그 구성 peptide의 종류나 아미노산 배열이 더 큰 영향을 받을 것으로 추정된다. 따라서 이에 대한 아미노산 배열 해석은 추후 실험을 통하여 규명하고자 한다.

요 약

바지락 단백질의 thermolysin 가수분해물로부터 분자량 한계범위가 10,000 da인 한외여과막을 통과한 저분자량의 물질을 Sephadex

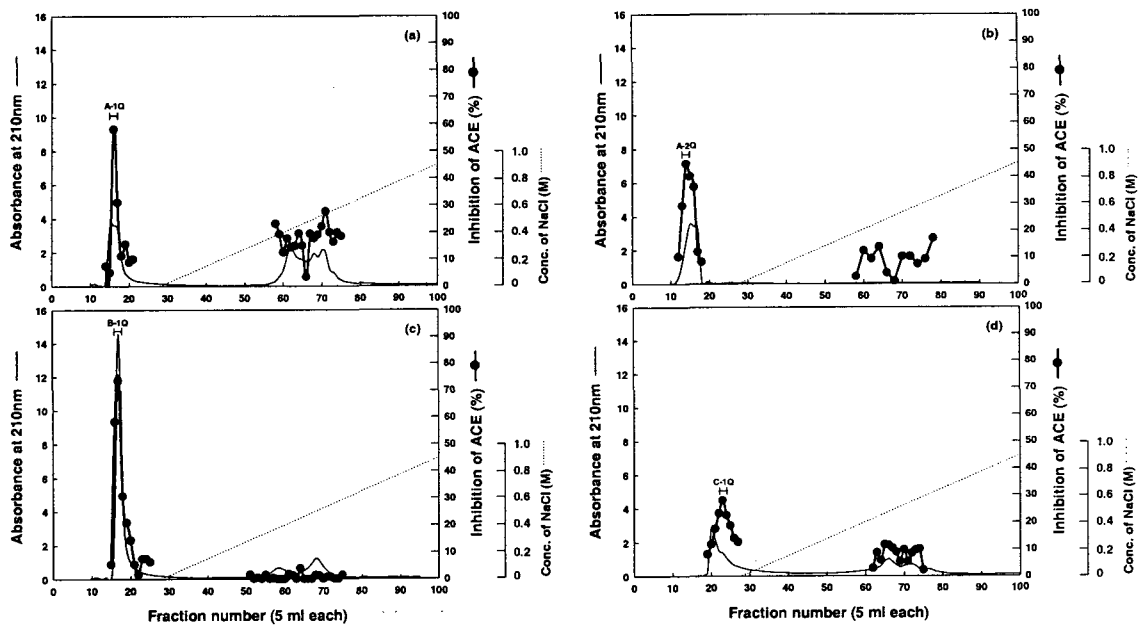


Fig. 3. The active fractions eluted from the SP-Toyopearl 650S column was chromatographed on a SuperQ-Toyopearl 650S column. The fractions marked with a horizontal line were collected.

Table 1. Amino acid composition of active fractions isolated on a SuperQ-Toyopearl 650S column (% to total amino acids)

Amino acids	A-1Q	A-2Q	B-1Q	C-1Q
Aspartic acid	10.2	4.0	5.7	0.8
Threonine	10.6	5.7	11.2	1.2
Serine	6.8	4.1	5.7	1.3
Glutamic acid	4.3	3.4	4.1	1.0
Glycine	10.5	6.2	8.8	5.9
Alanine	14.9	10.5	30.0	8.0
Cysteine	1.4	0.8	1.8	1.1
Valine	9.1	8.9	0.8	8.7
Methionine	1.0	1.5	1.1	1.9
Isoleucine	5.6	8.6	10.7	11.9
Leucine	8.1	11.3	11.3	18.5
Tyrosine	0.5	0.3	2.2	12.1
Phenylalanine	1.7	1.4	2.7	22.7
Lysine	3.8	25.7	0	3.5
Histidine	0	0	0	0
Arginine	2.4	3.9	0	0
Proline	9.0	3.8	3.7	1.4
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 2. ACE inhibitory activity of active fractions

Fraction	IC ₅₀ (μg protein)
A-1Q	1.221
A-2Q	1.230
B-1Q	0.748
C-1Q	2.620

LH-20 column을 이용한 겔 크로마토그래피에서 ACE에 대하여 저해 활성을 가지는 3개의획분을분취하여 SP-Toyopearl 650S

column과 SuperQ-Toyopearl 650S column을 이용한 이온 교환 크로마토그래피에 의하여 4개의 활성획분을 얻었다. 이 중 가장 높은 저해 활성을 나타내는 획분의 아미노산 조성은 alanine, leucine, isoleucine 및 threonine의 함량이 많았고, 활성 발현에 있어 C 말단 아미노산 잔기로서 중요한 역할을 하는 proline의 함량도 3.7%인 것으로 나타났다. ACE 저해 활성은 IC₅₀ 값이 0.748 μg이었다.

참고 문헌

- Cheung, H.S., F.L. Wang, M.A. Ondetti, E.F. Sabo and D.W. Cushman. 1980. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Importance of the COOH-terminal dipeptide sequence. *J. Biol. Chem.*, 255, 401~407.
- Cho, Y.J., W.S. Cha, S.K. Bok, M.U. Kim, S.S. Chun, U.K. Choi, S.H. Kim and K.S. Park. 2000. Production and separation of angiotensin converting enzyme inhibitor during *Natto* Fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29, 737~742 (in Korean).
- Choi, Y.R., P.J. Park, J.H. Choi, H.G. Byun, I.C. Jeong, S.H. Moon and S.K. Kim. 2000. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from enzymatic hydrolysate of cod liver protein. *Korean J. Life Sci.*, 10, 140~149 (in Korean).
- 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, 54~84.
- Ferreira, S.H., D.C. Bartelt and L.J. Greene. 1970. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Biochemistry*, 9, 2583~2593.
- Frohlich, E.D. 1982. Hemodynamic factors in the pathogenesis and

- maintenance of hypertension. Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 41, 2400~2408.
- Kato, H. and T. Suzuki. 1971. Bradykinin-potentiating peptides from the venom of *Agkistrodon halys blomhoffii*. Isolation of five bradykinin potentiators and the amino acid sequences of two of them, potentiators B and C. Biochemistry, 10, 972~980.
- Kohama, Y., H. Oka, Y. Kayamori, K. Tsujikawa, T. Mimura, Y. Nagase and M. Satake. 1991. Potent synthetic analogues of angiotensin-converting enzyme inhibitor derived from tuna muscle. Agric. Biol. Chem., 55, 2169~2170.
- 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, 1581~1586.
- Matsufuji, H., T. Matsui, E. Seki, K. Osajima, M. Nakashima and Y. Osajima. 1994. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in an alkaline protease hydrolyzate derived from sardine muscle. Biosci. Biotech. Biochem., 58, 2244~2245.
- Matsumura, N., M. Fujii, Y. Takeda and T. Shimizu. 1993. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from bonito bowels. Biosci. Biotech. Biochem., 57, 1743~1744.
- 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, 1313~1318.
- Muramoto, M. and Y. Kawamura. 1991. Antihypertensive peptides derived from rice protein. *Shokuhin Kogyo*, 11, 18~26 (in Japanese).
- Nishikawa, K. 1993. Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. Protein, Nucleic Acid and Enzyme, 38, 239~246 (in Japanese).
- Ondetti, M.A., N.J. Williams, E.F. Sabo, J. Pluscec, E.R. Weaver and O. Kocy. 1971. Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, elucidation of structure, and synthesis. Biochemistry, 10, 4033~4039.
- Osajima, K., S. Sakakibara, T. Sawabe, K. Kitamura, H. Matsuda and Y. Osajima. 1993. Study on separation system of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides originating from sardine meat. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 40, 568~576 (in Japanese).
- Oshima, G., H. Shimabukuro and K. Nagasawa. 1979. Peptide inhibitors of angiotensin I-converting enzyme in digests of gelatin by bacterial collagenase. Biochim. Biophys. Acta, 566, 128~137.
- Saito, Y., K. Nakamura, A. Kawato and S. Imayasu. 1992. Angiotensin I converting enzyme inhibitors in sake and its by-products. Nippon Nōgeikagaku Kaishi, 66, 1081~1087 (in Japanese).
- Saito, Y., K. Wanezaki (Nakamura), A. Kawato and S. Imayasu. 1994. Antihypertensive effects of peptide in sake and its by-products on spontaneously hypertensive rats. Biosci. Biotech. Biochem., 58, 812~816.
- Saxena, P.R. 1992. Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 19, S80~S88.
- Sealey, J.E. and J.H. Laragh. 1990. Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management (Edited by Laragh, J.H. and B.M. Brenner). The renin-angiotensin-aldosterone system for normal regulation of blood pressure and sodium and potassium homeostasis, pp. 1287~1317, Raven Press, LTD., New York.
- Suetsuna, K., M. Yamagami and K. Kuwata. 1988. Inhibitory activity against angiotensin I-converting enzyme of peptides originating from fish and shellfish muscle. Nippon Suisan Gakkaishi, 54, 1853.
- Suh, H.J., D.B. Suh, S.H. Chung, J.H. Whang, H.J. Sung and H.C. Yang. 1994. Purification of ACE inhibitor from soybean paste. Korean J. Agric. Chem. Biotech., 37, 441~446 (in Korean).
- Suh, H.J., S.J. Cho, J.H. Whang, H. Lee and H.C. Yang. 1997. Characterization of angiotensin converting enzyme inhibitor from squid hydrolysate. Food and Biotechnology, 6, 122~124.
- Yeum, D.M., T.G. Lee, H.S. Byun, S.B. Kim and Y.H. Park. 1992. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. Bull. Korean Fish. Soc., 25, 229~235 (in Korean).
- Yokoyama, K., H. Chiba and M. Yoshikawa. 1992. Peptide inhibitors for angiotensin-converting enzyme from thermolysin digest of dried bonito. Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1541~1545.

2002년 7월 2일 접수

2002년 9월 23일 수리