

김 단백질 가수분해물의 Angiotensin I 전환효소 저해 활성

† 김영명 · 도정룡 · 인재평 · 박종혁

한국식품연구원

Angiotensin I Converting Enzyme(ACE) Inhibitory Activities of Laver(*Porphyra tenera*) Protein Hydrolysates

† Young-Myoung Kim, Jeong-Ryong Do, Jae-Pyung In and Jong-Hyuk Park

Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam, 463-420, Korea

Abstract

Angiotensin I converting enzyme(ACE) inhibitory activities of laver(*Porphyra tenera*) protein hydrolysates were investigated by enzymes used for hydrolysis, molecular fractions and drying methods. For the enzymatic hydrolysis, crude laver protein, separated by filtration of water extract of dried laver extracted with 20 times(w/v) water for 3 hours at boiling temperature, were hydrolyzed with three commercial protease, Pepsin, alcalase and maxazyme NNP at optimal conditions. The yield of hydrolysis and ACE inhibitory activities of which were high in order of pepsin, alcalase and maxazyme NNP. ACE inhibitory activities of laver hydrolysates by molecular levels were high in order of 3 kDa > 10 kDa > 3~10 kDa, and the IC₅₀ ACE inhibitory activities by molecular levels were 4 mg/mL(3 kDa), 5 mg/mL(total hydrolysate), and 20 mg/mL(10 kDa), respectively. The storage stability of dried laver hydrolysates at 20°C were strongly affected by drying methods, hot air dried of which were much stabler than freeze-dried one.

Key words : Laver(*Porphyra tenera*) hydrolysate, ACE inhibitory activity, protease, molecular fraction, drying method

서 론

국내 해조류의 년간 생산량은 2002년 말 기준 총 507,984 톤으로서 전체 수산물 생산량의 20.5%를 차지하고 있으며, 전체 생산량의 97.9%를 천해양식에 의존하므로서 계획적 생산 및 공급이 가능한 주요 식품 소재로서의 위치를 확고히 하고 있다. 해조류 중 김(*Porphyra tenera*)의 년간 생산량은 210,024 톤(99.99%가 천해양식 생산품)으로서 전체 해조류 생산량의 41.3%를 차지하는 주요 해조자원일 뿐만 아니라, 양질

의 단백질과 당질, 미네랄과 각종 비타민을 풍부하게 함유하고 있어 식품으로서의 우수한 기호성 외에도 영양 생리학적 가치가 주목을 받고 있다. 또한 식용의 역사 및 주 소비지역이 우리나라와 일본 등 일부 지역으로 집중된 특성이 있으나 급속히 진행되어 가는 국제화 추세하에서 점차 국제적인 식품 인지도가 상승하고 있다고 할 수 있겠다.

이와 같은 식품 소재로서의 우수성에도 불구하고 우리나라에서 김은 계속되는 풍작에 의한 생산 증가, 가격 하락 및 소비 둔화 등으로 고부가가치 창출을 위

† Corresponding author : Young-Myoung Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam, 463-420, Korea.

Tel : +82-31-780-9009, Fax : +82-31-780-9099, E-mail : ymkim@kfri.re.kr

한 다양한 가공식품화 등 관련 기술개발 필요성이 특히 강조되어 왔으며, 생명공학 관련 과학기술이 눈부시게 발전하고 있는 최근부터는 김에 함유된 생리적 기능활성 성분을 활용한 고부가가치 기능성 식품 소재화 기술개발에 대한 관심도 점차 증대되고 있는 실정이다.

이처럼 김의 고부가가치 활용을 위한 시도로서 김에 함유된 유용성분 중 생리적 효과가 기대되는 포파란 등 일부 기능성 다당류에 대한 연구와 함께 혈압 조절기능의 ACE(Angiotensin I converting enzyme) 저해활성을 갖는 기능성 펩타이드에 관한 연구도 국내·외에서 부분적으로 진행되어 왔으나^{1~8)}, 대부분 생리활성 성분의 연구에 치중한 반면 기능성 물질의 효과적 분리정제 및 유효 활용을 위한 안정성 관련 연구는 많지 않은 실정이었다.

ACE 저해제로서는 1960년대 *Bothrops jararaca* 독사의 독에서 BPFs가 발견되었고⁹⁾ BPFs 중 nonapeptide인 SQ20881이 Engel 등¹⁰⁾에 의해서 우수한 ACE 저해제로 제시되었다. 1977년 ACE의 강력한 저해제인 Captopril이 개발되었고 이후 Enalapril, Benazepril 등 수종의 ACE 저해제가 상품화되어 고혈압 치료제로서 이용되고 있다¹⁰⁾. 식품관련 분야에서의 ACE 저해제로서는 단백질 가수분해물, 돼지혈장에서 분리된 peptide 등의 주로 C 말단에 proline을 가지는 peptide, 감귤류 및 과실류의 flavonoid 배당체류 등을 들 수 있다. 그러나 이들 성분은 천연물이라는 측면에서 안전성이 높지만 ACE 저해에 대한 역가가 captopril 대비 1/20에 지나지 않아 보다 강력한 ACE 저해능을 갖는 천연물질에 대한 탐색이 지속적으로 이루어지고 있다^{11~20)}.

이와 관련하여 본 연구에서는 김으로부터 혈압조절 기능성 성분의 생산 가능성 및 활성성분의 안정화를 위한 기초연구의 일환으로 단백질 가수분해 효소 3종을 이용한 김 단백질 가수분해물을 실험제조하고 ACE 저해활성을 포함한 콜레스테롤 대사관련 생리활성을 *in vitro* 실험법으로 검토하는 한편 가수분해물의 전조 조건이 기능활성의 변화에 미치는 영향을 실험 검토 코져 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

원료 김은 2004년 1~2월중에 전남 완도에서 양식 생산된 참김(*Porphyra tenera*)을 신선한 상태에서 충분히 담수 세척하여 기존의 전조 김 생산공정에 준하여 초제 전조한 다음 -20°C에서 방습포장 상태로 저장

하면서 실험용 재료로 사용하였다.

2. 김 가수분해물의 제조

전조 김 분말에 20배량(w/v)의 물을 가한 후 3시간 동안 비등온도에서 교반하면서 열수 추출한 다음 여과하여 얻은 잔사에 3배량의 물을 가한 후 3종의 protease(Table 1)를 가하여 각각의 효소 조건에 따라 가수분해하였다. 즉, 김의 열수 추출 여과 잔사에 사용 효소에 따라 Alcalase의 경우는 pH 조절을 하지 않은 상태로, Pepsin과 Maxazyme NNP 처리의 경우는 구연산 20% 용액을 가하여 각각 pH 2.5 및 pH 5.5로 조절한 다음 김 원료중량(건물기준)에 대하여 각각 1% 상당의 효소를 가하여 50°C(Maxazyme NNP)와 60°C(Alcalase 및 Pepsin) 조건에서 4시간 교반 가수분해한 후 85°C에서 30분간 가열하여 효소를 불활성화 시켰다. 이어서 20% KOH 용액을 가하여 pH 5.5로 보정한 다음 투석막(Celulose membrane: MWCO 3,500, membrane filter products, Inc., USA)을 사용하여 4°C 증류수 중에서 24시간 투석하여 탈염하였으며, 70°C에서 10° brix로 감압농축한 후 진공 동결 건조하였다. 또한 감압농축한 가수분해물에 동량의 70% 에탄올을 가하여 생진 침전물을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 다음 40°C에서 열풍건조하여 열풍건조시료를 얻었다.

3. 일반성분

일반성분과 무기질은 AOAC의 방법²¹⁾에 따라 측정하였고, 총 당의 함량은 glucose를 표준품으로 하여 폐놀-황산법²²⁾으로, 황산기의 함량은 Dodgson과 Price의 방법²³⁾에 따라 측정하였다.

Table 1. Characteristics of proteases used in laver hydrolysis

Enzyme ¹⁾	Optimum pH ²⁾	Optimum temp(°C) ³⁾	Origin
Alcalase	6.5~8.5(7.0)	55~70(60)	<i>Bacillus licheniformis</i>
Maxazyme NNP	4.5~6.0(5.5)	< 60(50)	<i>Bacillus subtilis</i>
Pepsin	2.0~3.0(2.5)	55~70(60)	Porcine stomach mucosa

¹⁾ Alcalase(Novo enzyme, Denmark), Maxazyme NNP(Gist-brocades Co.) Pepsin(1:10,000, Waco Pure Chemical)

²⁾ Optimum pH range(experimental condition)

³⁾ Optimum tempearture range(experimental condition)

4. 구성당 분석

구성당 조성 분석은 Fureneaux 등²⁴⁾의 방법에 따라서 시료 2 mg을 teflonlined된 뚜껑이 있는 사험관에 취하고 내부표준 물질로서 *myo*-inositol을 가한 후 0.1 M trifluoroacetic acid(TFA) 0.3 mL를 가하였다. 그리고 80 °C에서 3시간 1차 가수분해한 후 50°C에서 공기를 불어 넣어 TFA를 휘발시켰다. 잔사에 0.26 M sodium borohydride 용액 0.1 mL를 가하여 실온에서 1시간 환원시켰다. 과잉의 sodium borohydride는 acetic acid glacial로 분해시키고 50°C 공기로 건조시켰다. Methanol을 가하여 교반한 후 공기로 휘발시키는 조작을 3회 반복하여 잔존하는 borate를 제거한 후 0.3 mL의 2 M TFA로 120°C에서 1시간 2차 가수분해하였다. 1차 가수분해와 같이 환원, borate 제거 조작을 한 후, acetic anhydride와 pyridine을 각각 0.2 mL씩 첨가하여 교반한 다음 120°C에서 20분간 acetylation시켰다. 50°C 공기로 휘발시킨 후 dichloromethane 1 mL를 가하고 교반한 다음 중류수로 2회 세척하고 dichloromethane 충만을 회수하여 -20°C에서 보관하면서 GC 분석을 하였다(Table 2). 구성당의 확인은 표준 시약의 크로마토그램과 retention time을 비교하여 확인하였고, 정량은 내부 표준물질(*myo*-inositol)과 표준시약(D-galactose, D-glucose, D-mannose, L-rhamnose, D-xylose, D-fucose, D-ribose, L-arabinose)을 시료와 동일하게 acetylation 시켜 농도별 상대 면적비를 구하여 환산하였다.

5. ACE 저해활성 측정

Angiotensin-I 전환효소(ACE) 활성은 Cushman과 Cheung의 방법²⁵⁾을 다소 수정하여 측정하였다. 즉, 소정 농도의 시료 100 μL에 ACE 조효소액 100 μL 및 붕산

Table 2. GC conditions for the analysis of alditol acetates

Instrument	: Hewlett Packard GC Model 6890
Column	: SP-2330, (0.25mm I.D. ×30m, film thickness; 0.2μm)
Oven temp.	: Isothermal 230°C
Carrier gas	: Helium, 27.6psi(1.6mL/min.)
Make up gas	: Nitrogen (30mL/min.)
Detector	: Flame ionization detector
Injector temp.	: 240°C
Detector temp.	: 240°C
Split ratio	: 60 : 1

완충액(pH 8.3, containing 400 mM NaCl) 200 μL를 가한 후, 37°C에서 preincubation시켰다. 여기에 기질로써 12.5 mM의 hippuryl-histidyl-leucine 용액 100 μL를 가하여 다시 37°C에서 1시간 반응시킨 후 1N HCl 300 μL를 가하여 반응을 정지시켰다(공시험은 시료 용액 대신에 붕산완충액 100 μL를 사용하였으며, 대조구는 1N HCl 300 μL를 가한 다음 ACE 조효소액 100 μL를 가하였다). 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15초간 교반한 후 1,089×g에서 10분간 원심 분리시켜 상층액 1 mL를 취하였다. 이 상층액을 140°C에서 20분간 건조시킨 다음 실온에서 5분간 방치한 후 1 M NaCl 3 mL를 가하여 15초간 교반하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가 전후 활성의 백분율로써 ACE 저해율을 나타내었다.

6. 분자량 분획

동결건조 및 열풍건조된 김 가수분해물 시료를 molecular weight cut-off가 각각 3 kDa과 10 kDa인 한외여과막(YM-3 membrane and YM-10 membrane, DIAFLO ultrafiltration membrane, Amicon Co.)를 사용하여 10 kDa 이상, 10~3 kDa, 3 kDa 이하로 각각 나누어 농축시킨 후 동결건조하여 각각의 수율 및 ACE 저해효과를 측정하였다⁶⁾. 또한 분자량 분획별 ACE 저해활성 비교는 Angiotensin-I converting enzyme에 대하여 50%의 저해활성을 갖는 농도(IC₅₀) 값으로 나타내었다.

7. 김 가수분해물의 흡습에 따른 ACE 활성 변화

동결건조 및 열풍 건조한 김 가수분해물을 20°C에서 6주간 저장하면서 저장 중 흡습에 따른 수분함량과 ACE 저해활성 변화를 14일 간격으로 측정하였으며, 이때 수분함량의 변화는 건량기준(dry base)으로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 효소 및 건조 방식에 따른 수율 변화

김 단백질의 효소 가수분해 수율은 사용된 효소의 종류에 따라 Pepsin > Alcalase > Maxazyme NNP 처리구 순으로 높게 나타났으며 건조방법과는 직접적 관련이 없는 것으로 나타났다(Table 3). 이와 같은 김 단백질의 가수분해 수율 차이는 기본적으로는 가수분해 단백질(김 단백질의 함량과 구조적 특성)과 효소의 활성 등 기질과 효소의 특성에 기인한 것으로서, 김 단백질의 가수분해시 pepsin과 alcalase의 활성이 다른 pro-

Table 3. Yield of enzyme hydrolysates of laver by drying methods (%)^a, dry basis)

Enzyme ¹⁾	Freeze dried	Hot air dried
Pepsin	29.8±1.2 ²⁾	24.1±1.7
Alcalase	24.6±0.8	20.3±0.9
Maxazyme NNP	17.3±1.1	12.8±1.4

¹⁾ Neutralized and desalinated after hydrolysis by dialysis.

²⁾ Data were presented as means±standard deviation.

tease 활성보다 상대적으로 높았으며, Lee⁶⁾와 Kunio⁷⁾의 연구 결과와도 유사한 경향을 나타내었다.

또한 김 단백질 효소 가수분해물의 건조방법에 따른 수율은 사용된 효소의 종류에 상관없이 동결건조 수율이 열풍건조 수율보다 모두 높았다. 이는 동결건조의 경우 가수분해물 전체를 동결 후 건조함에 따라 공정 중 손실량이 미미한데 비하여 열풍건조 공정의 경우 건조중의 표면경화 발생 억제 및 저온건조 등 건조효율의 증진을 위해 건조 전에 가수분해물의 에탄올 침전 및 원심분리 전처리 공정을 거침에 따라 에탄올에 침전되지 않은 일부 저분자 물질의 손실에 기인한 것으로 사료되었다.

2. 일반 성분

김 단백질 가수분해물 중 수율이 높은 pepsin 가수분해물(동결건조)에 대한 탈염 투석 처리가 화학적 성분조성에 미치는 영향을 살펴보았다. 탈염 투석에 의해 회분 및 NaCl 함량이 큰 폭으로 감소한 반면 단백질과 탄수화물 함량은 모두 증가하여 68.5% 및 13.5%를 차지하였다(Table 4). 김 단백질 가수분해물의 구성 당 조성도 탈염처리에 의해 주성분인 mannose, galactose, glucose가 각각 9.4%, 12.7%, 10.6%로서 투석전에 비해 상대적으로 증가하는 경향을 보였으며 특히 galactose 함량의 증가가 가장 현저하였다. 이와 같은 김의 구성당 성분들에 대한 다양한 생리활성이 알려지고 있으며, 특히 galactose의 경우 콜레스테롤 저하 등 생리적 기능활성이 높은 김 유래 기능성 다당류인 porphyran의 주요 구성당 성분으로 알려지고 있다^{7,8)}. 이와 같은 여러 여건을 고려할 때 김 단백질 가수분해물의 기능활성 증대를 위해 탈염처리는 간과할 수 없는 주요 공정요소임을 알 수 있었다. 또한 미네랄 함량에 있어서도 탈염처리에 의해 Na은 1.5%에서 0.2% 수준으로, Ca은 3.6%에서 2.6%로, K은 5.2%에서 3.2%로 각각 저하하였다(Table 5).

Table 4. Chemical compositions of pepsin-treated hydrolysate of laver (%)^a, dry basis)

Components	A ¹⁾	B ¹⁾
Moisture	2.4	2.3
Ash	24.6	15.7
Protein	61.2	68.5
Fat	0.0	0.0
Total carbohydrate	11.8	13.5
NaCl	2	0.2
Sulfate	tr ²⁾	tr
Mannose	3.2	9.4
Galactose	3.7	12.7
Glucose ¹⁾	7.6	10.6

¹⁾ A and B : Laver hydrolysates before(A) and after(B) desalination, respectively.

²⁾ Trace.

Table 5. Mineral composition of pepsin-treated hydrolysate of laver (mg/100g)

Mineral	A ¹⁾	B ¹⁾
P	425.3	271.5
Fe	17.2	11.0
Ca	3,529.1	2,752.3
Na	1,546.1	167.2
K	5,195.9	3,016.1
Mg	972.5	620.7

¹⁾ A and B : Laver hydrolysates before(A) and after(B) desalination, respectively.

3. ACE Inhibitory Activity

Protease의 종류와 건조방법을 달리하여 실험 제조한 김 단백질 가수분해물의 ACE 저해 활성은 대체적으로 동결건조한 시료가 열풍건조한 시료보다 상대적으로 높은 저해활성을 보였으며, 사용된 종류에 따라서는 동결건조 효소가수분해물의 ACE 저해활성은 Pepsin(47.3%)>Alcalase(43.6%)>Maxazyme NNP(40.6%) 순으로 모두 효소분해를 하지 않은 열수 추출 대조시료(HE) 보다 6.3배 이상 높게 나타났다(Fig. 1). 이처럼 김 가수분해물의 ACE 저해활성이 효소를 첨가하지 않고 단순 열수 추출한 대조시료보다 월등히 높으며 사용된 효소의 종류에 따라 차이가 나는 것은 처리조건에 따른 아미노산 또는 웹타이드 조성과 가용 성분

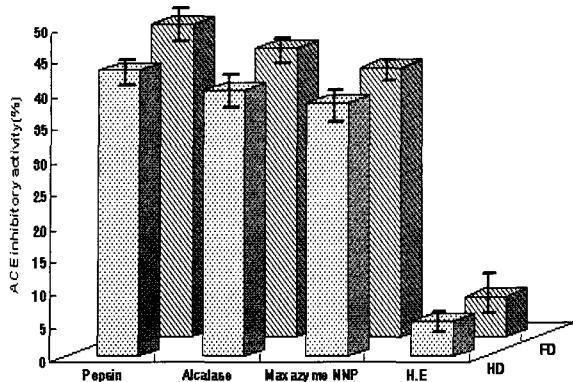


Fig. 1. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of enzyme hydrolysate of laver.
[HD: Hot air-dried (40°C), FD: Freeze-dried (-50°C), H.E : Hot water extract without enzyme(100°C, 3hr)]

등의 차이에 주로 기인한 것으로 추정되었으며, 동물성 시료이기는 하지만 담수어의 열수 추출물과 효소 가수분해물의 ACE 저해 효과를 비교한 결과 효소 가수분해물의 ACE 저해 효과가 높게 나타났다는 Kim 등⁹의 보고와도 유사한 결과로 사료되었다.

또한, 열풍 건조한 효소 가수분해물의 ACE 저해활성도 동결건조 시료보다는 상대적으로 낮았으나 비슷한 경향을 보여 Pepsin(43.2%) > Alcalse(40.2%) > Maxazyme NNP(38.3%) 순으로 비교적 높은 저해효과를 보였다.

이와 같은 건조방법에 따른 김 가수분해물의 ACE 저해활성 차이는 건조과정 중 미세한 수분함량의 변화, 산화작용 등 다양한 요인에 의한 활성 peptide 부분의 미미한 구조변화 등에 기인한 것으로 추정되었으나 정확한 원인 구명을 위해서는 관련 후속연구의 필요성이 있을 것으로 사료되었다.

4. 분자량 분획 수율

ACE 저해활성이 높은 김 단백질의 pepsin 가수분해물을 투석·탈염 후 한외여과막을 이용하여 분자량별로 분획한 다음 건조방법에 따른 분획수율을 조사하였다(Table 6). 분자량별 분획수율은 동결건조 처리구는 10 kDa 이상 획분이 전체의 42.9%±0.7로서 최대, 3 kDa 획분은 전체의 33.3%±0.5, 10~3 kDa 획분은 전체의 23.7%±1.2로서 최소 점유비중을 각각 나타내었다. 열풍건조 처리구는 10 kDa 이상 획분이 전체의 48.7%±1.5로서 최대, 3 kDa 획분이 전체의 28.4%±1.4, 10~3 kDa 획분이 전체의 22.8%±1.2로서 최소 점유비율을 각각 나타내었다. 동결건조 및 열풍건조 모두 대체적으로 고분자 획분수율이 높은 경향을 나타

Table 6. Yield of pepsin-treated hydrolysate of laver by drying methods and molecular weight cut-off
(%, dry basis)

Materials	Freeze dried	Hot air dried
10 kDa >	42.9±0.7 ¹⁾	48.7±1.5
10~3 kDa	23.7±1.2	22.8±1.2
3 kDa <	33.3±0.5	28.4±1.4

¹⁾ Data were presented as means±standard deviation.

내었으나 특히 열풍건조 시료의 경우 3 KDa 이하의 저분자 획분 수율이 동결건조 시료보다 상대적으로 낮았는데, 이는 열풍건조의 경우 건조 전처리 과정 중 알콜침전 및 침전물의 원심분리 회수공정 등을 거친에 따른 저분자 획분의 부분적 손실 가능성 등에 상당부분 기인한 것으로 사료되었다.

5. 분자량 획분별 ACE 저해활성

김 가수분해물을 molecular weight cut-off^o 각각 3 kDa과 10 kDa인 한외여과막으로 ultrafiltration한 후 3 kDa 이하, 3~10 kDa 및 10 kDa 이상의 분자량 수준별로 분획하여 ACE 저해 활성을 측정하였다(Fig. 2). 그 결과 분자량 3 kDa 이하 분획물의 ACE 저해 활성이 60.8%로 가장 높았으며 10 kDa 이상, 3~10 kDa 순으로 활성이 높았다. 이는 pepsin을 사용한 김 가수분해물의 경우 분자량 300~5,000 Da 범위의 획분에서 가장 높은 ACE 저해활성을 보였다는 Kunio⁴⁾의 실험 결

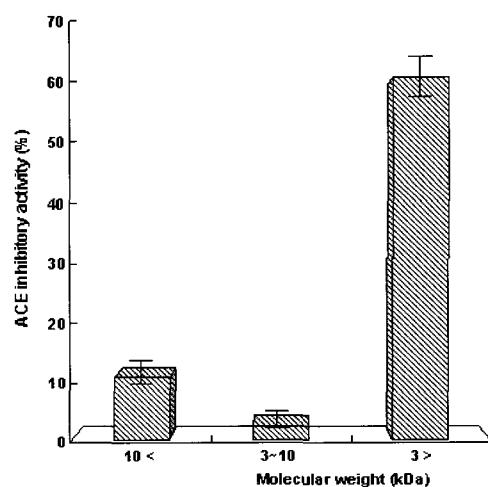


Fig. 2. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of pepsin-treated hydrolysate of laver by molecular weight.

과와 유사하였다. 그러나 3 kDa 이하의 저분자 혼분뿐만 아니라 3~10 kDa과 10 kDa 이상 혼분에서도 높은 ACE 저해활성을 보였다는 Lee⁶의 결과와는 일치하지 않았다. 이는 사용되어진 효소 및 가수분해 조건 등의 차이에 기인한 것으로 보여진다. 김 가수분해물의 분자량 혼분별 IC₅₀ 값은 3 kDa(4 mg/mL) < Total 가수분해물 (5 mg/mL) < 10 kDa 이상 혼분(20 mg/mL) 순으로 낮게 나타나므로서(Fig. 3) 저분자 peptide 혼분의 ACE 저해활성이 높다는 연구결과와 유사한 경향을 보였다^{6,7,16,11~14}.

6. 저장 중 ACE 저해활성 및 수분함량의 변화

김 가수분해물의 실온조건에서 저장 중 ACE 저해활성 및 수분함량의 변화를 Fig. 4 및 5에 나타내었다. 열풍건조 및 동결건조한 김 가수분해물의 실온 저장 중 ACE 저해활성은 동결건조 시료가 열풍건조 시료에 비해 초기 활성값이 상대적으로 높았으며, 저장 중 활성저하 및 흡습량 증가 속도도 상대적으로 높은 경향을 보였다. 실온 저장 동결건조 시료의 경우 ACE 저해활성은 저장 전 47.4%에서 6주 저장 후 36.7%로서 22.6%의 활성 저하를 나타낸 반면, 열풍건조 시료의 경우 저장 전 43.2%에서 41.8%로서 3.2%의 활성 저하를 보임으로서 동결건조 시료보다 상대적으로 높은 저장 안정성을 보여 주었다. 수분함량의 변화에 있어서도 동결건조 시료는 저장 6주 동안 104.5%의 수분함량 증가를 보였으나 열풍건조 시료의 경우 35.2%의 상대적으로 낮은 수분함량 증가 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 김 가수분해물의 저장 중 건조방법이 ACE 저

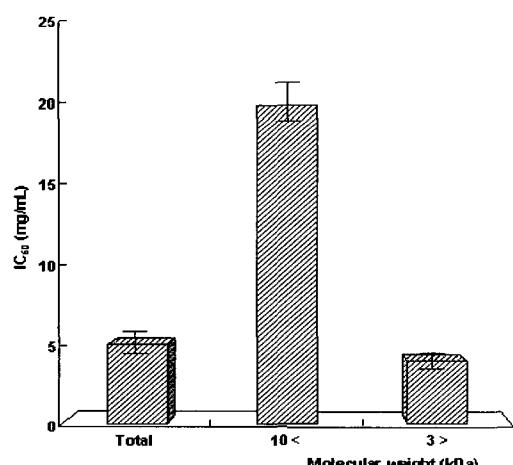


Fig. 3. IC₅₀ value of Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of pepsin-treated hydrolysate of laver by molecular weight cut off.

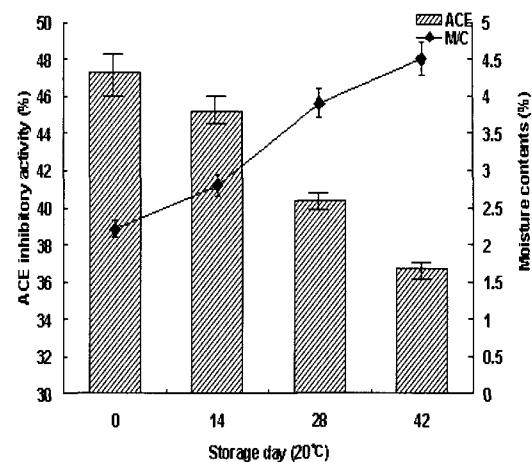


Fig. 4. Changes in Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity and moisture content of freeze-dried pepsin-treated hydrolysate of laver during storage.

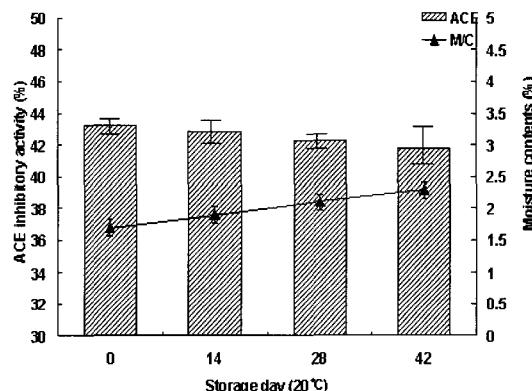


Fig. 5. Changes in Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity and moisture content of hot air dried pepsin-treated hydrolysate of laver during storage.

해활성에 미치는 영향에 관한 선행연구 결과를 찾아보기 어려워 직접 고찰은 어려우나, 동결건조 시료의 경우 열풍건조 시료에 비해 비체적이 크고 다공성 미세구조 특성 등 흡습 및 산화하기 쉬운 물리화학적 구조특성에 기인할 것으로 추정되었다.

결 론

건조 김을 열수 추출하여 가용성 당을 제거한 후 단백질 가수분해 효소를 가하여 가수분해하고 한의여과한 다음 분자량 혼분별 ACE(Angiotensin-I converting enzyme) 저해활성을 측정하였으며, 건조방법에 따른 김 가수분해물의 ACE 저해활성을 알아보았다. 효소의

종류에 따른 김의 가수분해 수율과 ACE 저해활성은 모두 Pepsin > Alcalase > Maxazyme NNP 순으로 높게 나타났다. 효소종류 및 건조방법에 따른 원료 건조 김 중량기준 가수분해 수율은 Pepsin 가수분해물이 24% (열풍건조) 및 29%(동결건조)로 가장 높았다. 분자량 획분에 따른 ACE 저해 활성은 3 kDa 이하 > 10 kDa 이상 > 3~10 kDa 순으로 높았다. 김 가수분해물의 IC₅₀ 값은 분자량 획분에 따라 3 kDa 이하 획분이 4 mg/mL로서 가장 낮았으며 Total 가수분해물은 5 mg/mL, 10 kDa 이상 획분의 경우 20 mg/mL 수준의 IC₅₀ 값을 각각 나타내었다. 또한 건조방법에 있어서는 열풍건조가 동결건조에 비해 현저히 높은 품질 안전성을 나타내었다.

참고문헌

- Lee, KH, Song, SH and Jeong, IH. Quality changes of dried lavers during processing and storage. *Bull. Korean Fish. Soc.* 20:408-418. 1987
- Jo, KS, Do, JR and Koo, JG. Pretreatment condition of *Porphyra yezoensis*, *Undaria pinnatifida* and *Laminaria religiosa* for functional alage-tea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27:275-280. 1998
- Park, JH, Koo, JG, Do, JR, Yang, CB and Woo, SK. Effect of extraction temperature and pH on the chemical properties of crude porphyran extracted from *Porphyra yezoensis*. *J. Korean Fish. Soc.* 31:127-131. 1998
- Koo, JG and Park, JH. Chemical and gelling properties of alkali-modified porphyran. *J. Korean Fish. Soc.* 32:271-275. 1999
- Lee, HO. Separation and purification of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from algae hydrolysate., Dept. Food Nutr. Graduate School. Hanyang univesity. 1999
- Kunio, S. Purification and identification of angiotensin I -converting enzyme inhibitors from the red alga *Porphyra yezoensis*. *J. Mar. Biotechnol.* 6: 163-167. 1998
- Jung, KJ, Jung, BM and Kim, SB. Effect of porphyran Isolated from laver, *Porphyra yezoensis*, on lipid metabolism in hyperlipidemic and hypercholesterolemic rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33:633-640. 2001
- Kim, SJ, Moon, JS, Kang, SG and Jung, ST. Extraction of porphyran from decolored laver. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35:1017-1021. 2003
- Kim, TJ, Yoon, HD, Lee, DS, Jang, YS, Suh, SB and Yeum, DM. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25:871-877. 1996
- Engel, SL, Schaeffer, TR, Gold, BI and Rubin, B. Inhibition of pressure effects of angiotensin I and augmentation of depressor effects of bradykinin by synthetic peptides. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 140: 240-245. 1972
- Maruyama, S, Nakagomi, K, Tomizuka, N and Suzuki, H. Angiotensin converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.* 49:1405-1410. 1985
- Maruyama, S, Mitachi, H, Tankata, H, Tomizuka, N, and Suzuki, H. Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin I converting enzyme inhibitors derived from casein. *Agric. Biol. Chem.* 51:1581-1586. 1987
- Kinoshita, E, Yamakoshi, J and Kikuchi, M. Purification and identification of an angiotensin-I converting enzyme inhibitor from soy sauce. *Bio. Biotech. Biochemn.* 57: 1107-1110. 1993
- Kang, DG, Lee, YS, Kim, HJ, Lee, YM and Lee, HS. Angiotension converting enzyme inhibitory phenylpropanoid glycosides from *Clerodendron trichotomum*. *J. Ethnopharma.* 89:151-154. 2003
- Cushman, DW and Ondetti, MA. In progress in Medicinal Chemistry. pp.41. Elsevier, North Holland, Amsterdam. 1979
- Hwang, JH. Angiotensin- I converting enzyme inhibitory effect of Doenjang fermented by *B. subtilis* SCB-3 isolated from Meju, Korean traditional food. *J. Kor. Soc. Food. Nutr.* 26:775-783. 1997
- Park, DC, Park, JH, Gu, YS, Han, JH, Byun, DS, Kim, EM, Kim, YM and Kim, SB. Effects of salted fermented fish products and their alternatives on angiotensin converting enzyme inhibitory activity of Kimchi during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32:920-927. 2000
- Hong, SP, Kim, MH and Oh, SW. ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitos oligosaccharide in SHR. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30:1476-1479.

- 1998
- 19. Ryu, IW and Shin, YS. Inhibition effect of ACE (angiotensin converting enzyme) and kinetics of aloe acetylmannan. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1269-1274. 1997
 - 20. Moon, SH, Ha, SC, Lee, DS, Kim, JG and Hong, SD. Identification and culture condition of an actinomycetes strain producing an angiotensin converting enzyme inhibitor. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 23:439-445. 1995
 - 21. A.O.A.C. Official Methods of Analysis, 16th ed., Chapter 11. pp. 1-31. The Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. 1998
 - 22. Dubois, M, Gills, KA, Hamilton, JK, Rebers, PA, and Smith, F. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-352. 1956
 - 23. Dodgson, KS and Price, RG. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *J. Biochem.* 84:106-107. 1962
 - 24. Furneaux, RH, Miller, IJ, and Stevenson, TT. Agaroids from New Zealand members of the *Graciariaceae*(*Gracilariales, Rhodophyta*)-a novel dimethylated agar. *Hydrobiologia*. 204:645-650. 1990
 - 25. Cheung, HS and Chshman, DW. Spectrometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20:1637-1647. 1971

(2004년 12월 8일 접수; 2005년 2월 14일 채택)