

Aroase AP10에 의한 문어 가수분해물의 Angiotensin Converting Enzyme 저해 Peptide의 특성

박 영 범

강원도립대학 식품가공제과제빵과

Characteristics of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides from Aroase AP10 Hydrolysate of Octopus

Yeung Beom Park

Dept. of Food Processing and Bakery, Gangwon Provincial College, Gangwon 210-804, Korea

Abstract

The peptides from Aroase AP10 enzymatic hydrolysates of octopus proteins were isolated and tested for inhibitory activity against angiotensin converting enzyme (ACE). The Aroase AP10 hydrolysates were filtered through PM-10 membrane (M.W. cut-off 10,000) to obtain the peptides fractions with ACE inhibition activity. These fractions were applied to a Biogel P-2 column. Three active fractions (A, B, and C) were collected and applied to a SuperQ-Toyopearl 650S column chromatography, leading to the isolation of four active fractions (A-1, A-2, B-1, and C-1). Among the active fractions, C-1 had the highest ACE inhibitory activity ($IC_{50}=3.10 \mu\text{g}$). The main composition of its amino acids is arginine, lysine, histidine and leucine, which cover about 60% of the total amino acids.

Key words: angiotensin converting enzyme, octopus, Aroase AP10 hydrolysate

서 론

우리나라 주요 3대 사망원인으로는 악성종양, 심장질환, 뇌졸중으로 알려져 있으며 이들 사망원인 중 뇌졸중, 심근경색, 동맥경화 등의 순환기계 질환의 원인인자는 고지혈증과 함께 고혈압이 밀접한 상관성을 가지고 있다. 이와 같이 순환기계 질환의 원인이 되는 고혈압은 90% 이상이 정상혈압을 유지하는 기구들이 천천히 붕괴되어 진행되는 본태성 고혈압(1)으로 그 정확한 원인이 규명되고 있지 않으나 발병기작으로 renin-angiotensin system(RAS)이 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다(2).

신장의 근위세뇨관 내피, 심장, 폐, 활성화된 대식세포, 뇌조직 등과 같은 다양한 조직 및 혈장 등에 널리 분포(3)되어 있는 angiotensin converting enzyme(ACE, kininase II peptidyl dipeptide hydrolase, E.C 3.4.15.1)은 RAS에서 renin에 의해 angiotensinogen으로부터 생성된 angiotensin-I의 C 말단인 dipeptide(His-Leu)를 분리시켜 강한 혈관수축을 유발하는 호르몬인 angiotensin-II로 변화시키는데 이는 부신피질에서의 aldosteron, vasopressin의 분비를 활성화시켜 세뇨관의 Na^+ 흡수, 수분의 재흡수, 신장의 혈류량 감소 등을 유발함으로써 혈압을 상승시킨다(4).

또한 혈관확장의 촉진, 혈소판의 흡착저해 등의 효과를 보이는 bradykinin의 C 말단(Phe-Arg)을 분해하여 혈관 이완을 억제함으로써 혈압을 상승시킨다(5,6). 이와 같이 혈압의 상승에는 ACE가 크게 관여하므로 혈압의 상승을 억제하기 위해서는 ACE의 저해가 필수적이다.

이를 위해 현재 혈압을 강하시킬 목적으로 captopril, enalapril 및 lisinopril 등이 화학적으로 합성되어 상업적으로 이용되고 있다(7,8). 그러나 이들 ACE 저해 합성화합물은 마른기침, 습진, 피부가려움증, 두통, 식욕부진, 백혈구의 감소, 단백뇨증 또는 무과립구증 등의 부작용이 문제점으로 대두되었다(9). 따라서 기존의 합성약제에 비해 부작용이 적고 우수한 저해효과를 가지는 약제의 합성과 천연물질로부터의 탐색연구가 활발하다(10,11). Suzuki 등(12)은 식품 중에 존재하는 ACE 저해성분은 가열조리에 안정하며 captopril과 비교하였을 때 활성은 낮지만 상시 섭취하는 식사용법으로서의 충분한 기능을 가진다고 보고하고 있다. ACE 저해연구로는 살모사 독 유래의 peptide인 captopril이 ACE 활성부위에 대한 친화도가 매우 높은 저해활성이 있는 것으로 보고된 후, 다양한 식품단백질의 효소가수분해물로부터 얻어진 펩타이드가 중심으로 연구가 진행되어 casein(13), zein(14), 된장(15), 간장(16), 정어리(17), 대구의 간(18), 오

징어(19) 등의 식품에서 다수의 ACE 저해 펩타이드가 보고되었다. 또한 최근 정어리단백질 유래 디펩타이드인 Valyl-tyrosine은 경증고혈압 환자에 대해 강압효과를 나타내어 우리나라 제 1호 개별 인정형 건강기능식품으로 인정받았다.

본 연구에서는 예로부터 민간요법으로 혈압이 높거나 심장병 등 순환기계 질병예방 및 완화에 널리 알려진 문어를 효소처리하여 얻은 가수분해물의 ACE 저해효과를 비교하고 이로부터 ACE 저해 peptide를 한외여과, 겔 크로마토그래피 및 이온교환크로마토그래피로 분리하여 그 저해효과를 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 문어(*Paroctopus dofleini*)는 강릉시 동해안에서 채집한 것을 구입하여 동결건조한 후 50 mesh로 분말화한 것을 동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다. 토끼 허파로부터의 ACE 정제효소와 기질(hippuryl-histidyl-leucine)은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며 단백질 가수분해효소는 Novozymes사(Novo nordisk Bioindustrials Inc., Bagsvaerd, Denmark)의 Alcalase 2.4L, Flavourzyme 500MG, Neutrase 0.8L, Protamex 1.5MG, 및 Aroase AP10(Yakurt Pharma. Co., Tokyo, Japan)을 사용하였다.

ACE 저해능

15 μ L의 시료용액에 ACE 정제효소(60 mU/mL) 50 μ L를 가한 후, 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 borate buffer(pH 8.3, 400 mM NaCl 함유)로 용해한 5 mM hippuryl-histidyl-leucine 기질 125 μ L를 가하고 37°C에서 30분간 incubation시킨 후, 10% trifluoroacetic acid(TFA) 20 μ L를 가하여 반응을 정지시켰다. 이들 반응 용액 20 μ L를 Zorbax 300SB C₈ column(4.6×150 mm, Agilent Tech. Inc., Santa Clara, CA, USA)이 장착된 역상 HPLC(Thermo Separation Products Inc., San Jose, CA, USA)에 주입하여 분석하였다. 분석 시 용출속도는 1 mL/min, 이동상으로는 0.1%의 TFA를 함유한 acetonitrile을 linear gradient(0~63%)하여 기질로부터 유리된 hippuric acid를 228 nm에서 검출하여, 시료 첨가 전후의 잔존 활성의 백분율로써 ACE 저해능을 나타내었다.

Arosas AP10 가수분해물의 제조

문어분말시료 100 g에 시료량 10배의 증류수를 가한 다음 100°C에서 5분간 비등하여 자가소화효소를 불활성화시켰다. 여기에 각 효소의 최적온도와 pH(Alcalase, 55°C, pH 7.0; Flavourzyme, 50°C, pH 7.0; Neutrase, 50°C, pH 6.0; Protamex, 40°C, pH 6.5; Aroase AP10, 55°C, pH 8.0)가 되도록 조정된 후 시료량에 대해 1%가 되도록 효소를 첨가하여

교반하면서 4시간 동안 가수분해시키고 100°C에서 비등하여 반응을 정지시켰다. 이들 용액을 원심분리(5,000×g, 20 min)한 후, 그 상층액을 시료액으로 사용하였다. Aroase AP10 효소가수분해물은 다시 한외여과막(PM-10, Amicon Co., Beverly, MA, USA)을 사용하여 분자량 10,000 Da이하의 저분자물질을 회수하여 원심농축(CVE-100D, Eylea Co., Tokyo, Japan)한 것을 gel chromatography 시료액으로 사용하였다.

Gel chromatography에 의한 분리

Bio-gel P-2(Bio-Rad Lab., Hercules, CA, USA)를 충전한 column(2.2×80 cm)을 사용하여 한외여과액 2 mL를 탈이온수로써 용출(유속 20 mL/hr, 분획량 5 mL/tube)시켰으며 분획한 각 용출액은 280 nm에서 흡광도를 측정하여 chromatogram을 작성하였다.

Ion exchange chromatography의 의한 분리

활성회분을 탈이온수로 평형화시킨 SuperQ-Toyopearl 650S(Tosoh Co., Ltd., Tokyo, Japan) column(16×650 mm)에 주입하고 흡착시킨 다음 탈이온수로 용출하고 다시 NaCl 용액(0~1 M)을 사용하여 linear gradient(유속 3 mL/hr, 분획량 5 mL/tube)하여 용출, 분리하였다.

아미노산 분석

단백질 함량이 약 10 mg이 되는 시료 1 mL를 유리관에 넣고 6 N HCl 1 mL를 가하여 질소 충전시킨 후 밀봉하여 110°C 24시간 가수분해하였다. 분해액을 감압건조하여 HCl을 제거하고 여기에 증류수 10 mL를 가하여 다시 감압 건조한 후, 구연산나트륨 완충용액(pH 2.2)으로 정용하고 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기로 분석하였다.

결과 및 고찰

효소별 가수분해물의 ACE 저해작용

효소별 문어 효소가수분해물의 ACE 저해능을 살펴본 결과(Table 1) Protamex, Alcalase 및 Neutrase가 약 50%의 저해효과를, Aroase AP10이 약 40%를, Flavourzyme이 약 35%의 효과를 나타내었다. 이들 각 효소가수분해물의 ACE 저해능을 peptide-nitrogen 함량과 비교해 볼 때 peptide ni-

Table 1. Peptide-nitrogen contents and ACE inhibitory activity of octopus hydrolysates by various enzymes

Enzymes	Peptide-nitrogen (mg/mL)	ACE inhibition (%)
Alcalase	4.10	51.9
Neutrase	4.84	51.4
Flavourzyme	5.01	33.8
Protamex	4.90	52.7
Aroase AP10	4.84	40.8

trogen의 함량이 가장 낮은 Alcalase(4.10 mg/mL)가 ACE 저해효과가 가장 우수하였으며 Flavourzyme(5.10 mg/mL)은 peptide nitrogen의 함량이 가장 많음에도 ACE 저해효과가 가장 낮아 ACE 저해능과 peptide-nitrogen 함량사이에는 뚜렷한 상관성을 나타내지 않았다. 이와 관련하여 Kim 등(20)의 담수어 효소가수분해물, Lee 등(21)의 김 가수분해물에서 ACE 저해능은 가수분해도 및 peptide-nitrogen 함량과는 관련성이 없다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 나타내었다. 따라서 효소가수분해물에 의한 ACE 저해능의 차이는 효소의 기질특이성에 의해 생성된 peptide의 아미노산 조성, 사슬길이 등에 의해 관계 되는 것으로 판단된다.

Aroase AP10에 의한 문어 가수분해물로부터 ACE 저해 peptide의 분리

현재 보고된 많은 ACE 저해 peptide는 분자량이 2,000이하인 것으로 보고(22)되고 있으므로 고분자의 polypeptide를 제거하고 저분자 peptide만을 얻기 위해 위의 효소가수분해물 중에서 Aroase AP10 효소가수분해물을 molecular weight cut-off가 10,000 Da이하인 한외여과막을 통과한 저분자 분획물을 Biogel P-2 column에 주입하여 겔 크로마토그래피를 실시하였다. 분획 후, 각 용출획분의 280 nm에서의 흡광도 및 ACE 저해효과를 살펴본 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 활성획분인 A(tube No. 51, 52, 53), B(tube No. 67, 68) 및 C(tube No. 75, 76)를 분리하였다. 이들 각 획분의 ACE 저해효과는 각각 약 65%, 84% 및 89%였다. 이들 획분들을 다시 원심농축하여 Super Q-Toyopearl 650S column을 이용한 음이온교환크로마토그래피를 행하여 A 획분으로부터 증류수 용출획분인 A-1(tube No. 16, 17) 및 0.275~0.30 M의 NaCl 용출획분인 A-2(tube No. 49, 50)를 얻었으며 또한 B와 C 획분으로부터 증류수 용출획분인 B-1(tube No. 12, 13) 및 C-1 (tube No. 17)를 각각 분리하였다(Fig. 2). 이들 각 분리된 활성 용출획분의 아미노산 조성을 Table 2에 나타내었다. 이들 분리된 용출획분 중에 높은

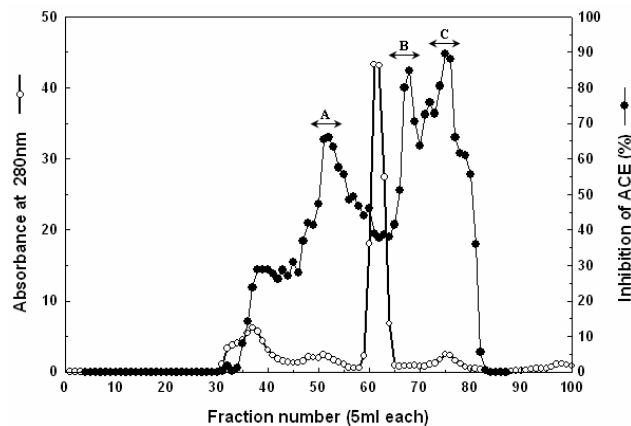


Fig. 1. Gel chromatogram on a Bio-gel P-2 column of Aroase AP10 hydrolysate filtered with PM-10 membrane. Arrow lines were collected separately.

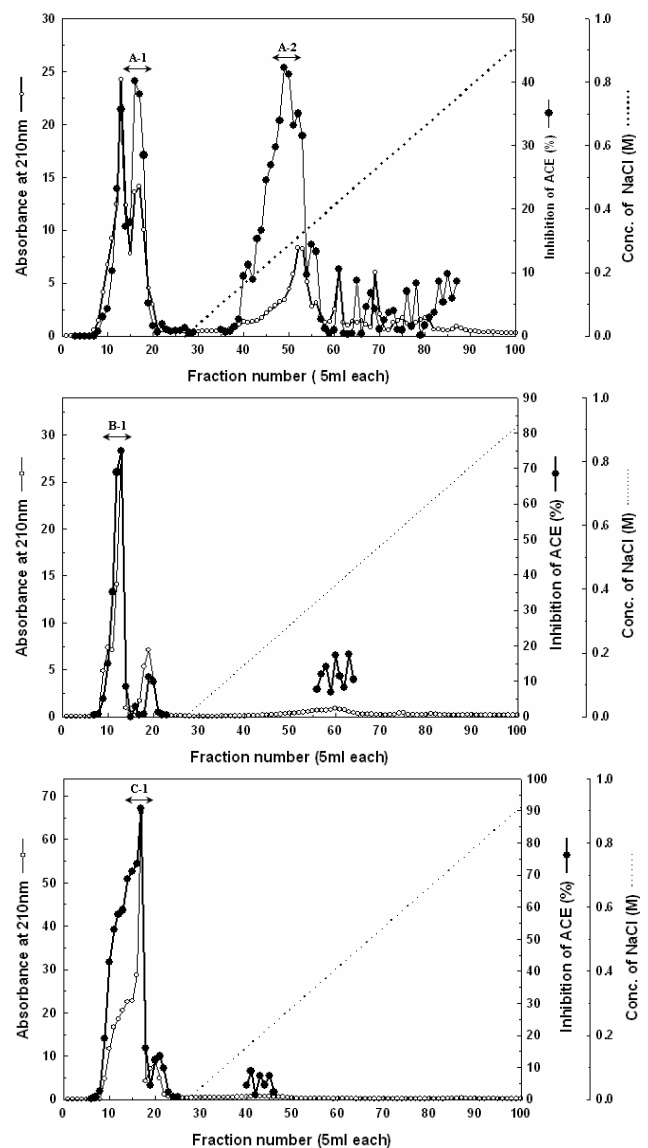


Fig. 2. Ion chromatogram on a SuperQ-Toyopearl 650S column of the active fractions eluted from Bio-gel P-2 column. Arrow lines were collected separately.

저해활성을 나타내는 C-1 획분의 주요 아미노산은 arginine(26.7%), lysine(12.3%), histidine(12.0%)으로 이들 3종류의 염기성 아미노산이 전체아미노산의 50%를 차지하였으며 이들 외에 aspartic acid와 glutamic acid가 약 9%, tyrosine과 phenylalanine이 약 9% 그리고 leucine과 isoleucine이 약 12%를 차지하였으며 ACE 저해효과는 $IC_{50} = 3.10 \mu\text{g}$ 이었다(Table 3). 이와 관련하여 Shin 등(23)은 된장 peptide를 용출, PM-10 membrane으로 여과 및 정제한 ACE 저해 peptide의 아미노산조성은 염기성아미노산인 histidine이 74.5%로 가장 많은 것으로 보고하였으며 또한 된장으로부터 우수한 ACE 저해활성을 가지는 peptide로서 His-His-Leu, His-Leu-Leu을 보고(United States Patent 6232438)하고 있어 본 실험에서도 이들 염기성 아미노산이

Table 2. Amino acid composition of each active fractions eluted from SuperQ-Toyopearl 650S column

Amino acids	A-1	A-2	B-1	C-1
Aspartic acid	7.3	7.4	5.9	4.0
Threonine	7.5	5.1	5.4	3.2
Serine	7.8	5.0	4.9	3.1
Glutamic acid	ND	20.3	9.0	4.9
Glycine	11.7	3.4	6.3	3.3
Alanine	12.0	7.2	5.2	3.5
Cysteine	0.5	ND	ND	ND
Valine	10.1	9.5	5.6	3.3
Methionine	ND	ND	ND	ND
Isoleucine	7.4	8.3	4.8	3.1
Leucine	14.5	12.5	9.7	9.1
Tyrosine	ND	ND	0.4	3.3
Phenylalanine	1.1	1.5	1.1	5.6
Tryptophan	ND	ND	ND	ND
Lysine	8.5	1.3	25.0	12.3
Histidine	0.5	0.1	3.1	12.0
Arginine	5.5	14.7	8.7	26.7
Proline	5.6	3.7	4.9	2.6

ND: not detected.

Table 3. ACE inhibitory activity of each active fractions

Fractions	IC ₅₀ (µg protein)
A-1	4.39
A-2	3.56
B-1	4.94
C-1	3.10

ACE 저해활성과 관계있을 것으로 추정된다. A-2획분의 경우에는 glutamic acid(20.3%), valine(9.5%), leucine(12.5%), arginine(14.7%)이 주요 구성 아미노산으로 60%를 차지하였으며 ACE 저해활성은 IC₅₀=3.56 µg이었다. 이들 결과와 관련하여 Suetsuna 등(24)은 어류와 패류단백질의 pepsin 가수분해물로부터 ACE 저해활성을 가지는 peptide를 분리하였으며 peptide의 주요 아미노산은 aspartic acid, glutamic acid, arginine, proline, isoleucine 및 lysine의 함량이 많은 것으로 보고하였다. 또한 Yeum 등(25)은 복합효소와 bromelain에 의한 ACE 저해활성을 갖는 고등어 단백질 가수분해물은 aspartic acid, glutamic acid, lysine, alanine, valine 및 leucine 등이 대체적으로 많은 것으로 보고하여 본 실험의 A-2획분의 아미노산 조성과의 유사하였다.

한편, Cheung 등(26)은 dipeptide의 C 말단 및 N 말단 아미노산잔기의 영향에 대하여 검토한 결과, C 말단 아미노산잔기로는 tryptophan, phenylalanine, tyrosine 및 proline이, N 말단 아미노산의 잔기로는 valine, isoleucine과 같은 branched-chain aliphatic 아미노산, 또는 arginine과 같은 염기성 아미노산을 가지는 dipeptide가 ACE 저해활성이 높음을 보고하였으며, 이들 dipeptide 중에서 arginine을 함유한 ACE 저해 peptide는 Arg-Trp(IC₅₀=16 µM), Arg-Pro(IC₅₀=180 µM), Arg-Phe(IC₅₀=180 µM), Lys-Arg(IC₅₀=380 µM) 및 Arg-Ala(IC₅₀=180 µM)이라고 보고하였다.

또한 Maruyama 등(27)은 무화과 유액으로부터 우수한 ACE 저해효과를 나타내는 peptide로서 C 말단잔기가 arginine, lysine과 같은 염기성 아미노산을 가지는 Ala-Val-Asn-Pro-Ile-Arg, Leu-Tyr-Pro-Val-Lys 및 Leu-Val-Arg을 분리·보고하였는데, 본 실험에서도 ACE 저해효과를 보인 A-2, B-1 및 C-1은 다른 아미노산에 비해 상대적으로 arginine과 lysine의 함량이 많은 것으로 나타났다.

한편 Matsumura 등(28)도 ACE 저해효과를 나타내는 가다랑어 내장 peptide를 분리하고 이를 바탕으로 한 peptide를 합성한 결과, 저해활성이 강한 peptide들은 공통적으로 N 말단 아미노산잔기에는 valine, isoleucine 및 leucine과 같은 소수성 아미노산이, 중앙에는 arginine 및 lysine과 같은 염기성 아미노산이, C 말단의 아미노산잔기는 proline으로 구성되었다고 보고하였다. 특히 이들 합성 peptide C 말단의 아미노산잔기인 proline은 ACE 활성부위와의 결합에 중요한 역할을 하여 강력한 ACE 저해제로 작용한다고 보고하였으나 본 실험에서의 A-2 및 C-1획분의 proline함량은 3.7%와 2.6%로 나타났다.

이상에서 살펴본 바와 같이 문어 효소가수분해물의 ACE 저해 peptide는 그 구성 아미노산의 조성, 함량에도 영향을 미칠 것으로 예측되나 그 외에도 peptide의 아미노산 배열순서, 길이 등이 더 크게 저해활성에 영향요인이 될 수 있을 것으로 판단되며 앞으로 HPLC 등을 통한 분리 및 배열해석 등에 대한 추가 실험이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

문어육의 Aroase AP10 가수분해물을 제조하고 이들 가수분해물을 한외여과막을 통과시켜 회수한 분자량 10,000 Da이하의 저분자물질을 Bio-gel P-2 gel chromatography를 행하여 ACE 저해효과를 가지는 3개획분을 분취하였다. 또한 이들 획분을 SuperQ-Toyopearl 650S column을 이용한 이온교환크로마토그래피에 의해 4개의 활성획분을 분리하였다. 이 중 ACE 저해효과가 가장 높은 C-1획분의 아미노산 조성은 arginine, lysine, histidine 및 leucine의 함량이 가장 많아 전체의 약 60%를 차지하였으며 IC₅₀은 3.10 µg으로 나타났다.

문 헌

1. Frohlich ED. 1982. Hemodynamic factors in the pathogenesis and maintenance of hypertension. *Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol* 41: 2400-2408.
2. Esther CR, Marino Jr EM, Bernstein KE. 1997. The role of angiotensin-converting enzyme in blood pressure control, renal function and male fertility. *Trends Endocrinol Metab* 8: 181-186.
3. Lapointe N, Rouleau JL. 2002. Activation of vascular tissue angiotensin-converting enzyme (ACE) in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 39: 776-779.

4. Unger T. 2002. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 89: 3A-10A.
5. Ondette MA, Cushman DW. 1982. Enzymes of the renin-angiotensin system and their inhibitors. *Ann Rev Biochem* 51: 283-308.
6. Murphey L, Vaughan D, Brown N. 2003. Contribution of bradykinin to the cardioprotective effects of ACE inhibitors. *European Heart J Suppl* 5: A37-A41.
7. Soffer RL. 1976. Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Annu Rev Biochem* 45: 73-94.
8. Ferreria SH, Diana CB, Greene LJ. 1983. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Biochemistry* 9: 2583-2593.
9. Atkinson AB, Robertson JIS. 1979. Captopril in the treatment of clinical hypertension and cardiac failure. *Lancet Neurology* 2: 836-839.
10. Lee HJ, Kim YS, Chang Y, Lee JR, Yun-Choi HS. 1984. Synthesis of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Yakhak Hoeji* 28: 313-319.
11. Mark KS, Davis TP. 2000. Development, prevention and treatment with peptides inhibitor. *Peptides* 21: 1965-1793.
12. Suzuki T, Ishikawa N, Meguro H. 1983. Angiotensin I-converting enzyme inhibition activity in foods. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 57: 1143-1146.
13. Yamamoto N, Akino A, Takano T. 1994. Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *J Dairy Sci* 77: 917-922.
14. Yano S, Suzuki K, Gunatsu G. 1996. Isolation from α -zein of thermolysin peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity. *Biosci Biotech Biochem* 60: 661-663.
15. Kuba M, Tanaka K, Tawata S, Takeda Y. 2003. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides isolated from Tofuyo fermented soybean food. *Biosci Biotech Biochem* 67: 1278-1283.
16. Zhu XL, Watanabe K, Shiraishi K. 2008. Identification of ACE-inhibitory peptides in salt-free soysauce that are transportable across caco-2 cell monolayers. *Peptides* 29: 338-344.
17. Do JR. 2000. Separation and purification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from mackerel. *J Korean Fish Soc* 33: 153-157.
18. Choi YR, Park PJ, Choi JH, Byun HG, Jeong IC, Moon SH, Kim SK. 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.
19. Suh HJ, Cho SJ, Whang JH, Lee H, Yang HC. 1997. Characterization of angiotensin converting enzyme inhibitor from squid hydrolysate. *Food and Biotech* 6: 122-124.
20. Kim TJ, Yoon HD, Lee YS. 1996. 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.
21. Lee HO, Kim DS, Do JR, Kwan DY. 2001. Separation and purification of angiotensin- I converting enzyme inhibitory peptides from laver hydrolysate. *J Korean Fish Soc* 34: 164-172.
22. Ariyoshi Y. 1993. Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends Food Sci Technol* 4: 139-144.
23. Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Moon TH. 1995. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J Food Sci Technol* 27: 230-234.
24. Suetsuna K, Yamagami M, Kuwata K. 1988. Inhibitory activity against angiotensin I-converting enzyme of peptides originating from fish and shellfish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1853-1858.
25. Yeum DM, Lee TG, Byun HS, Kim SB, Park YH. 1992. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. *Bull Korean Fish Soc* 25: 229-235.
26. Cheung HS, Wang FL, Ondetti MA, Sabo FF, Cushman DW. 1980. Binding-of peptide substrates and inhibitors of angiotensin- I converting enzyme, importance of the COOH-terminal dipeptide sequence. *J Biol Chem* 255: 401- 407.
27. Maruyama S, Niyoshi S, Tanaka H. 1989. Angiotensin- I converting enzyme inhibitor derived from *ficus carica*. *Agric Biol Chem* 53: 2763-2767.
28. Matsumura N, Fujii M, Takeda Y, Shimizu T. 1993. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived form bonito bowels. *Biosci Biotech Biochem* 57: 1743-1744.

(2008년 11월 3일 접수; 2008년 12월 30일 채택)