

Ovotransferrin 가수분해물의 Angiotensin-converting Enzyme 활성억제 효과 및 생산 최적화

이나경 · 안동욱¹ · 박근규² · 백현동*

건국대학교 동물생명과학부 및 생명분자정보학센터

¹아이오와주립대학교 동물과학과 및 서울대학교 Biomodulation 전공, ²건국대학교 동물자원연구센터

Inhibitory Effect on Angiotensin-converting Enzyme (ACE) and Optimization for Production of Ovotransferrin Hydrolysates

Na-Kyoung Lee, Dong Uk Ahn¹, Keun-Kyu Park², and Hyun-Dong Paik*

Division of Animal Life Science and Bio/Molecular Informatics Center, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

¹Department of Animal Science, Iowa State University, Iowa 50011, USA and Major in Biomodulation,
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

²Animal Resources Research Center, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Abstract

Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity and production optimization of ovotransferrin hydrolysates were studied. Ovotransferrin was hydrolyzed by several enzymes (protamex, alcalase, trypsin, pepsin, neutrase, and flavorzyme) and acid (0.03 N HCl). Ovotransferrin hydrolysate reduced ACE activity by 60.2%, 55.8%, and 42.6% when treated with trypsin, acid, and pepsin, respectively. Trypsin was selected for production of peptide having maximum ACE inhibitory effect, which was greatest with 7 h hydrolysis. Central composite design determined that optimum composition of ACE inhibitory substances using substrate concentration of 20-35%, temperature of 35-55°C, and pH of 6.0-8.0. The optimum composition was 1% trypsin, substrate concentration of 26.32%, 51.29°C, and pH 6.32. Under this conditions, a maximum ACE inhibitory effect of 69.1% was evident, similar to the predicted value.

Key words: ovotransferrin, hydrolysate, angiotensin-converting enzyme, trypsin, response surface methodology

서 론

인간의 평균 수명이 연장되고 점차 노령화 사회가 되어 가면서, 각종 성인병 인구가 늘어가고 있는 추세이다. 성인병 중에서도 순환기 계통의 고혈압, 심장병과 당뇨병 등의 질환이 증가되고 있는 추세이며, 특히 고혈압은 많은 성인병의 원인이 되고 있다(Shinogle and Limon, 1989). Angiotensin-converting enzyme(ACE)은 renin-angiotensin aldosterone 계의 angiotensin I을 생리적 혈압 상승물질인 angiotensin II로 전환시키거나 혈관 이완 작용이 있는 bradykinin을 분해시키는 효소로 동물체의 각 조직에 널리 분포되어 있으며, ACE 저해제는 이 ACE를 특이적으로

저해한다. Angiotensin II가 감소되면 혈 중 catecholamine 값이 감소되고 혈관이 확장되며 동시에 항이노 호르몬인 aldosterone의 분비가 억제된다. 이에 따라 나트륨 이온(Na⁺) 및 수분 배설이 촉진되어 순환 혈액량이 감소되고 혈압 강하가 일어난다. 그러므로 ACE 작용 억제는 결국 혈관 수축을 막고 체 내 수분 저류를 막아 혈압을 낮추는 효과를 나타낸다(Petrillo and Ondetti, 1983). 기존의 화합물질에 의한 ACE 저해 치료제의 경우, 마른 기침, 식욕 부진, 미각 이상, 발진 등과 같은 부작용 사례가 있으며, 이를 대체하기 위해 계란(Ibrahim *et al.*, 2000), 우유(Do *et al.*, 2007), 자색고구마(Shin *et al.*, 2008), 뽕잎 추출물(Cho *et al.*, 2006), 전통 된장(Kim *et al.*, 1999), 미생물(Papadimitrio *et al.*, 2007; Lim *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2009), 소고기(Jang *et al.*, 2003)로부터 ACE 저해 천연소재 펩타이드를 분리하기도 하고, 펩타이드의 합성(Jang *et al.*, 2008)에 관한 연구가 진행된 바 있다.

*Corresponding author: Hyun-Dong Paik, Division of Animal Life Science and Bio/Molecular Informatics Center, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-2049-6011, Fax: 82-2-455-3082, E-mail: hdpaik@konkuk.ac.kr

천연의 완전식품으로 잘 알려진 계란은 각 성분들의 생리적 기능과 상호작용에 의한 역할이 밝혀지고 있고, 기능성 건강식품의 주요한 소재로 사용될 수 있다는 점에서 그 중요성이 더욱 강조되고 있다(Jeon *et al.*, 2002). Ovotransferrin은 난백 중 ovalbumin 다음으로 차지하는 비중이 많은 단백질이며, 이 단백질의 기능성으로는 항균, 항바이러스, 항산화능(Ibrahim *et al.*, 2003; Ibrahim *et al.*, 2007) 등이 알려져 있다. 하지만, ovotransferrin에 대한 국내 연구는 ovotransferrin의 생산(Jang *et al.*, 2005), 항균효과(Jang *et al.*, 2005)에 대한 사례밖에 없다. 또한, 특허를 통해서도 국내의 ovotransferrin과 관련한 연구는 아주 미흡한 실정이다. 하지만, 북미, 일본 및 유럽 각국에서는 ovotransferrin의 추출, 분리에 관한 연구가 지속되고 있으며, 점차 시장이 확대되고 있다. 또한, ACE 저해효과의 경우, 단백질인 ovalbumin에 대해서 보고된 사례는 있으나, ovotransferrin의 경우는 확인되지 않았다(Fujita *et al.*, 2000; Huopalahti *et al.*, 2007; Miguel *et al.*, 2004).

따라서, 본 연구에서는 산업적 이용 가능성이 우수한 ovotransferrin을 여러 가수분해효소를 이용하여 얻은 가수분해물의 ACE 저해효과를 확인하고, 그 중 효과가 우수한 trypsin에 의한 ovotransferrin 가수분해물의 반응 시간, 기질의 농도, pH, 반응 온도를 조건으로 하여 가수분해물의 최적화 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구를 위해 ovotransferrin(순도: 98%)은 미국의 아이오와주립대학교(Iowa State University, Ames, IA, USA)에서 제조된 시료를 사용하였다. 가수분해를 위해서 protamex(Novozymes Co., Bagsvaerd, Denmark), alcalase(Novozymes), trypsin(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), pepsin(Sigma), neutrase(Novozymes), flavorzyme(Novozymes)을 사용하였다. ACE 저해효과를 확인하기 위해 rabbit lung acetone powder, hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma), sodium borate(Duksan Pure Chemical Co., Gyunggi-do, Korea)를 사용하였다.

ACE 억제 활성 측정

ACE 억제 활성 측정은 Cushman and Cheung(1971)에

의해 보고된 실험방법으로 실험하였다. Rabbit lung acetone powder(Sigma Chemical Co., USA)를 10배의 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)로 현탁하고 4°C에서 24시간 동안 효소를 추출하였다(Cushman and Cheung, 1971). 추출된 효소액을 1,900 g에서 40분간 원심분리하여 그 상등액을 ACE 조효소로 사용하였다. 0.3 M NaCl을 함유한 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 기질 Hippuryl-histidyl-leucine(HHL, Sigma Chemical Co., USA) 2.5 mM을 녹인 용액 50 μ L, ACE 조효소 50 μ L와 시료 50 μ L(시료농도: 30 mg/mL)를 혼합하였으며, 대조구는 시료 대신 증류수 50 μ L를 첨가하여 37°C에서 30분 간 반응시키고 1 N HCl 250 μ L 첨가하여 반응을 중지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15초 간 교반한 후, 1,900 g에서 20분간 원심분리하여 상등액 1 mL를 취하였다. 이 상등액을 121°C에서 가열하여 완전히 건조시킨 뒤 증류수 3 mL를 가하여 용해시킨 후 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해율을 구하였다.

$$\text{ACE 저해율 (\%)} = [(SC - S)/SC] \times 100$$

SC, 시료 대조구의 흡광도; S, 시료의 흡광도

가수분해물의 제조

Ovotransferrin의 가수분해물은 산 가수분해와 protamex, alcalase, trypsin, pepsin, neutrase, flavorzyme에 의한 효소로 가수분해 되었다(Shinha *et al.*, 2007). 산 가수분해는 0.03 N HCl에 녹여, 100°C, 150분 간 반응시킨 후, ammonium water로 pH 7.0으로 중화시켰다. 효소 가수분해는 효소의 농도는 1%(w/v)로 첨가되었으며, 기질(ovotransferrin)의 농도는 25%로 하여 pepsin은 pH 2.5에서, pepsin의 다른 효소는 pH 6.5로 45°C, 3시간 반응시킨 후, pepsin의 경우 pH 7.0으로 조절한 후 100°C에서 10분 동안 가열을 통해 반응을 정지시켰으며, 나머지는 그대로 반응 정지를 위해 100°C에서 10분 동안 가열하였다. 이들은 각각 원심분리(Hanil Co., Korea, 1,900 g, 20 min)하여 상등액을 동결건조하여 본 실험에 사용하였다.

반응시간에 따른 ACE 저해 효과 검증

기질(ovotransferrin)의 농도를 25%, trypsin 1%, pH 6.5, 반응온도 45°C로 하여 9시간 동안 반응시키고, 1시간 단위로 시료를 채취하여 ACE 저해 효과를 검증하였다.

Table 1. Levels of independent variables for experimental design

| X _n | Independent variables | Levels | | | | |
|----------------|--------------------------------|--------|-----|-----|-----|-----|
| | | -2 | -1 | 0 | 1 | 2 |
| X ₁ | Concentration of substrate (%) | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 |
| X ₂ | pH | 6.0 | 6.5 | 7.0 | 7.5 | 8.0 |
| X ₃ | Temperature (°C) | 35 | 40 | 45 | 50 | 55 |

Response surface methodology를 이용한 기질의 농도, pH, 반응 온도의 최적화

기질의 농도(20-40%), pH(6.0-8.0), 반응온도(35-55°C)로 하여 중심합성계획에 의해 총 16개의 조건으로 결정하여 최적화하였다. 이들 요인변수(X_n)에 의해 영향을 받는 반응변수(Y)를 회귀분석에 사용하였다. 회귀분석에 의한 모델식의 예측에는 SAS program이 사용되었다.

결과 및 고찰

Ovotransferrin의 산 분해 및 효소 가수분해에 따른 ACE 억제효과

혈압 상승의 중요한 기전인 rennin-angiotensin system에서 주요 효소인 angiotensin-converting enzyme(ACE)은 angiotensin I을 angiotensin II로 전환하는 효소로서, 전환된 angiotensin II가 angiotensin II-type 1 receptor에 작용하여 혈관을 수축시키고 aldosteron의 분비를 증가시켜 혈압을 상승하는 것으로 알려져 있다(McFarlane *et al.*, 2003). Ovotransferrin과 산 가수분해 및 효소 별 가수분해하여 얻은 가수분해물의 ACE 저해효과를 확인하였다(Table 2). ACE 저해효과는 trypsin>pepsin>산 분해의 순으로 확인되었다. Trypsin에 의해 가수분해되어 생산된 가수분해물이 가장 높은 ACE 저해효과(60.2%)를 보이는 것으로 확인되었다. 이 수치는 대조군인 ovotransferrin(7.3%)의 ACE 저해효과에 비해 월등히 높은 수치이며, 산 가수분해물과 비교해서도 5% 정도 높은 수치이다. 산 가수분해물보다 효소 가수분해물의 소비자들의 선호 및 안전성과 다른 장점을 생각한다면 이 결과는 매우 긍정적인 결과라고 판단된다. 반면에, flavorzyme, alcalase, neutrase에 의한 가수분해물들은 오히려 ACE 활성을 상승시키는 것으로 확인되었다.

반응시간에 따른 ovotransferrin 가수분해물의 ACE 저해 펩타이드의 생산

Ovotransferrin의 가장 높은 ACE 저해효과를 나타낸 trypsin을 처리하여 0-9시간 동안 1시간 간격으로 확인하

Table 2. ACE inhibitory effect of ovotransferrin hydrolysate

| | ACE inhibitory effect (%) |
|--------------------------|---------------------------|
| Control (ovotransferrin) | 7.3 |
| Acid hydrolysate | 55.8 |
| Enzyme hydrolysate | |
| Pepsin | 42.6 |
| Flavorzyme | - ^a |
| Alcalase | - |
| Neutrase | - |
| Trypsin | 60.2 |

^aNegative effect.

였다(Fig. 1). 반응시간이 7시간 일 때 ACE 저해효과가 64%로 가장 높게 나타났으며, 그 이후에는 비교적 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 7시간을 기준으로 최적화 실험을 계속하였다.

중심합성계획에 의한 생산 최적화

기질과 효소의 비, pH, 반응온도를 변수로 사용하여 중심합성계획에 의해 총 16개의 조건으로 하여 최적화하였다(Table 3). 각 조건의 결과를 이용해 SAS를 통한 회귀분석 결과는 Table 4에 나타내었다.

세 가지 조건인 기질의 농도(X_1), pH(X_2), 반응온도(X_3)가 변할 때 ACE 저해효과에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같았다.

$$Y(\%) = 1718.23 - 15.40X_1 - 396.62X_2 + 1.09X_1X_2 - 0.12X_1^2 + 27.48X_2^2 + 0.11X_3^2$$

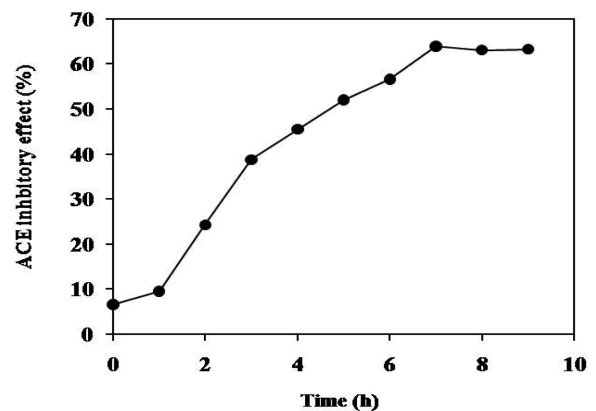


Fig. 1. ACE inhibitory effect of an ovotransferrin hydrolysate using trypsin.

Table 3. Experimental design and ACE inhibitory effect of the central composite design

| No. | Substrate Conc. (%) | pH | Temperature (°C) | ACE inhibitory effect (%) |
|-----|---------------------|-----|------------------|---------------------------|
| 1 | 25 | 6.5 | 40 | 39.00 |
| 2 | 25 | 6.5 | 50 | 62.54 |
| 3 | 25 | 7.5 | 40 | 39.38 |
| 4 | 25 | 7.5 | 50 | 57.00 |
| 5 | 30 | 7 | 45 | 32.10 |
| 6 | 30 | 7 | 45 | 31.10 |
| 7 | 20 | 7 | 45 | 49.47 |
| 8 | 40 | 7 | 45 | 38.15 |
| 9 | 30 | 6 | 45 | 58.00 |
| 10 | 30 | 8 | 45 | 60.15 |
| 11 | 30 | 7 | 35 | 20.24 |
| 12 | 30 | 7 | 55 | 65.69 |
| 13 | 35 | 6.5 | 40 | 28.27 |
| 14 | 35 | 6.5 | 50 | 49.68 |
| 15 | 35 | 7.5 | 40 | 37.87 |
| 16 | 35 | 7.5 | 50 | 56.81 |

Table 4. Least square fit and parameters for ACE inhibitory effect

| Model term ^a | Parameter estimate | t-Value | p-Value |
|--------------------------------|--------------------|---------|---------|
| Intercept | 1718.2263 | 9.32 | <0.0001 |
| X ₁ | -15.4044 | -5.54 | 0.0015 |
| X ₂ | -396.6238 | -11.81 | <0.0001 |
| X ₃ | -5.01538 | -1.70 | 0.1405 |
| X ₁ ×X ₁ | 0.1221 | 5.80 | 0.0011 |
| X ₂ ×X ₁ | 1.0945 | 3.68 | 0.0103 |
| X ₂ ×X ₂ | 27.4750 | 13.06 | <0.0001 |
| X ₃ ×X ₁ | -0.0041 | -0.14 | 0.8962 |
| X ₃ ×X ₂ | -0.4195 | -1.41 | 0.2083 |
| X ₃ ×X ₃ | 0.1137 | 5.40 | 0.0017 |

^aX₁, substrate concentration; X₂, pH; X₃, temperature.

회귀식의 전체 R²는 0.9908였고, 0.01% 유의수준을 나타내었다. Fig. 2를 통해 두 성분 간의 상관관계를 확인하였다. 기질의 농도(X₁)와 pH(X₂)의 상관관계, 기질의 농도(X₁)와 반응온도(X₃)의 상관관계는 확인이 되었으나, pH(X₂)와 반응온도(X₃)의 상관관계는 확인할 수 없었다.

중심합성계획에 따른 maximum response는 기질농도 26.32%, pH 6.32, 51.29°C에서 ACE 저해효과 70.67%로 예측되어졌으며, 실제로 실험한 결과도 이와 유사하게 69.1%로 나타내어 본 최적화 실험이 성공적으로 이루어졌음이 확인되었다.

요 약

본 연구를 통해 난백 단백질인 ovotransferrin 및 가수분

해물의 항고혈압 효과를 얻을 수 있는 ACE 저해효과가 최초로 확인되었다. Ovotransferrin과 산 분해 및 효소 가수분해물의 ACE 저해효과 순서는 trypsin>pepsin>산 분해 순인 것으로 나타났다. 따라서, trypsin에 의해 가수분해되어 생산된 가수분해물이 가장 큰 ACE 저해효과(60.2%)를 나타내는 것으로 확인되었으며, 이 결과를 토대로 trypsin에 의한 가수분해물의 최적화 연구를 수행하였다. ACE 저해효과를 효소 반응시간에 따른 생산을 검토한 결과, 7시간 일 때 64%로 가장 높게 나타났으며, 7시간을 반응시간으로 최적화 실험을 계속 진행하였다. 기질과 효소의 비, pH, 반응온도를 변수로 사용하여 중심합성계획에 의해 총 16개의 조건으로 하여 최적화 하였다. 회귀식의 전체 R²는 0.9908이었고, 0.01% 유의수준을 나타내었다. 중심합성계획에 따른 maximum response는 기질 농도 26.32%, pH 6.32, 51.29°C에서 ACE 저해효과 70.67%로 예측되어졌으며, 실제 실험으로 검증한 결과도 이와 유사하게 69.1%로 확인됨으로써, 본 실험을 통해 ACE 저해활성을 나타내는 가수분해물의 생산이 최적화되었다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단의 중점연구소 지원사업(2009-0093824) 및 농수산식품기술기획평가원 지원과제(608001-05-1-SB240)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다. 또한, 아이오와주립대와 교육과학기술부 WCU 프로그램(R31-10056)의 지원에도 감사드립니다.

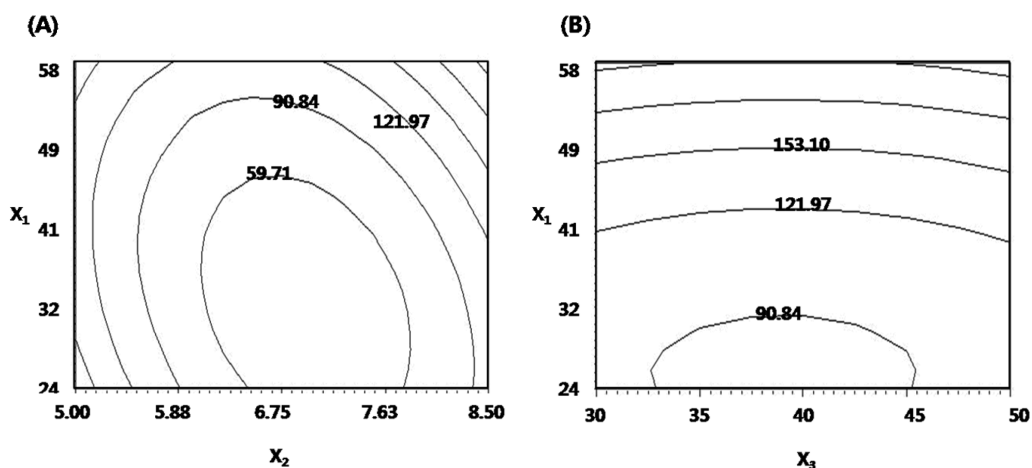


Fig. 2. Contour graph of substrate concentration (X₁), pH (X₂), and temperature (X₃).

Table 5. Analysis of variance (ANOVA) for ACE inhibitory effect

| Sources of variations | DF | Mean square | F Value | Pr>F |
|-----------------------|----|-------------|---------|---------|
| Model | 9 | 45.34 | 71.55 | <0.0001 |

Root MSE = 2.10; CV = 4.64%; R²=0.9908

참고문헌

1. Cho, Y. J., Chun, S. S., Kwon, H. J., Kim, J. H., Lee, K. H., An, B. J., and Choo, J. W. (2006) Inhibitory effects of water and 80% ethanol extracts from Mulberry leaves (*Morus alba* L.) on angiotensin converting enzyme and xanthine oxidase. *J. Korean Soc. Biol. Chem.* **49**, 114-124.
2. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637-1648.
3. Do, J. R., Kim, K. J., Kim, H. K., Kim, Y. M., Park, Y. B., Lee, Y. B., and Kim, S. B. (2007) Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for production of angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide from casein. *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 565-571.
4. Fujita, H., Yokoyama, K., and Yoshikawa, M. (2000) Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *J. Food Sci.* **65**, 564-569.
5. López-fandiño, R., Resion, I., and Ramos, M. (2007) Egg protein-derived peptides with antihypertensive activity. In: Bioactive egg compounds. Huopalahti, R., López-fandiño, R., Anton, M., and Schade, R. (eds.), Springer, Berlin, pp. 199-211.
6. Ibrahim, H. R. (2000) Ovotransferrin. In: Natural Food Antimicrobial Systems, A. S. Naidu (eds), CRC Press Inc., FL, pp. 211-226.
7. Ibrahim, H. R., Hoq, M. I., and Aoki, T. (2007) Ovotransferrin possesses SOD-like superoxide anion scavenging activity that is promoted by copper and manganese binding. *Int. J. Biol. Macromol.* **41**, 631-640.
8. Jang, A., Jo, Y. J., Lee, M., and Kim, J. C. (2005) Animal products and processing : Development of the purification method of ovotransferrin in egg white. *J. Anim. Sci. Technol. (Kor.)* **47**, 1025-1032.
9. Jang, A., Lee, M., and Kim, J. C. (2005) Protein characteristics of ovotransferrin under the pH and temperature and its anti-microbial activity. *J. Anim. Sci. Technol. (Kor.)* **47**, 1033-1040.
10. Jang, A., Jo, C., Kang, K. S., and Lee, M. (2008) Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Food Chem.* **107**, 327-336.
11. Jang, S. H., Jang, A., Kim, K. J., Cheon, Y. H., Min, J. S., Lee, S. O., and Lee, M. (2003) Purification and isolation for antihypertensive peptides from beef heart and spleen. *J. Anim. Sci. Technol. (Kor.)* **45**, 319-326.
12. Jeon, T. W. and Park K. M. (2002) Functional properties of egg shell membrane hydrolysate as a food material. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 267-273.
13. Kim, S. H., Lee, Y. J., and Kwon, D. Y. (1999) Isolation of angiotensin converting enzyme inhibitor from Doenjang. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 848-854.
14. Lim, S. D., Kim, K. S., and Do, J. R. (2008) Physiological characteristics and ACE inhibitory activity of *Lactobacillus zoeae* RMK354 isolated from raw milk. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**, 587-595.
15. McFarlane, S. I., Kumar, A., and Sowers, J. R. (2003) Mechanisms by which angiotensin-converting enzyme inhibitors prevent diabetes and cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.* **91**, 30-37.
16. Miguel, M., Recio, I., Gómez-Ruiz, J. A., Ramos, M., and López-Fandiño, R. (2004) Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *J. Food Prot.* **67**, 1914-1920.
17. Papadimitriou, C. G., Vafopoulou-Mastrojiannaki, A., Silva, S. V., Gomes, A. M., Malcata, F. X., and Alichanidis, E. (2007) Identification of peptides in traditional and probiotic sheep milk yoghurt with angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. *Food Chem.* **105**, 647-656.
18. Petrillo, E. W. and Ondetti, M. A. (1983) ACE inhibitors: Medicinal chemistry biological actions. *Med. Res. Rev.* **3**, 1-50.
19. Shin, J. Y., Ryu, I. H., SeoMun J. H., and Lee, K. S. (2008) The inhibitory effect of purple sweet potato extracts on the ACE (Angiotensin Converting Enzyme). *J. Life Sci. Nat. Res.* **30**, 35-44.
20. Shinogle, J. A. and Limon, L. (1989) The use of angiotensin-converting enzyme inhibitors in heart failure. *Am. Pharm.* **29**, 536-539.
21. Shinha, R., Radha, C., Prakash, J., and Kaul, P. (2007) Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional qualities, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chem.* **101**, 1484-1491.
22. Yu, M. J., Im, H.G., Im, N. K., Hwang, E. Y., Choi, J. H., Lee, E. J., Kim, J. B., Lee, I. S., and Seo, H. J. (2009) Anti-hypertensive activities of *Lactobacillus* isolated from Kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.* **41**, 428-434.

(Received 2009.12.17/Revised 2010.3.22/Accepted 2010.3.23)