J Korean Soc Food Sci Nutr
37(2), 136~140(2008)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2008.37.2.136

번데기 가수분해물의 ACE 저해활성과 항산화활성

유정식[1] · 우관식[1] · 황인국[1] · 이연리[1] · 강태수[2] · 정헌상[1†]

[1]충북대학교 식품공학과
[2]충북과학대학 바이오식품생명과학과

ACE Inhibitory and Antioxidative Activities of Silkworm Larvae (*Bombyx mori*) Hydrolysate

Jung Sik Yu[1], Koan Sik Woo[1], In Guk Hwang[1], Youn Ri Lee[1], Tae-Su Kang[2], and Heon Sang Jeong[1†]

[1]Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
[2]Dept. of Biofood Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial College of Science and Technology, Okcheon 373-806, Korea

Abstract

In order to utilize the silkworm larvae (*Bombyx mori*) protein, defatted silkworm protein was hydrolysed by four enzymes (pepsin, trypsin, neutrase and alcalase) at various hydrolysis times (6, 12, 18, 24 and 30 hr) and suspension concentrations (2, 5, 10, 15 and 20%). Protein solubility index, ACE (angiotensin converting enzyme) inhibitory activity and antioxidative activity of silkworm protein hydrolysates were investigated. The optimum condition of hydrolysis was 10% suspension concentration and 18 hr. Protein solubility index of trypsin treatment was higher than other enzyme treatments. ACE inhibitory activity and IC_{50} value of antioxidative activity of neutrase treatment were 86.16% at 100 μg/mL and 352.75 μg/mL, respectively; also, these values were higher than other enzyme treatments.

Key words: silkworm larvae (*Bombyx mori*), hydrolysis, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity, antioxidant activity

서 론

누에(*Bombyx mori*)는 나비목 누에나방과(*Lepidoptera, Bombycidae*)에 속하는 완전변태를 하는 곤충이다. 원산지는 중국으로 알려져 있으며 인위적 또는 자연적으로 세계 각국의 여러 지방으로 점차 분산되어 기후 또는 지리적 특성에 따라 일본종, 중국종, 유럽종, 열대종 및 한국종 등 지리적 종으로 분화된 것으로 알려져 있다(1). 예로부터 동의보감을 비롯한 동양의약서에는 누에와 관련된 여러 가지 산물들이 소갈증, 고혈압 및 불면증에 효과가 있다고 기록하고 있으며(2), 실크단백질이 체중감소 및 체지방 감소, 항산화 활성, 뇌기능 활성 및 항종양 효과가 있는 것으로 보고되었다(3). 잠사부산물인 번데기는 단백질 함량이 높으며, 필수아미노산의 조성이 우수함에도 불구하고 특이한 이취로 인하여 이용가치가 낮아 사료나 비료로 사용되며, 극히 소량만이 증자상태로 시판되고 있다.

국내에서는 번데기의 식품용도 개발에 관한 연구로서 이취 발생으로 인한 식품자원으로서의 제약을 해결하고자 알칼리처리 및 탈지처리에 의한 번데기의 변화 및 탈지 후의 조성에 관한 연구가 있으며(4), Park과 Lee(5)는 번데기 농축단백질의 기능성을 대두 농축단백질과 비교 연구한 결과, 유화성, 지방흡수성 및 점도는 대두단백질보다 높고 또한 아세틸화와 숙시닐화에 의한 화학적 변형 결과 기능성이 향상되었다고 보고하였다. 또한, 미성숙 흰쥐에서 누에번데기 및 한약재 혼합물의 여성호르몬 대체효과에 관한 연구가 보고되었으며(6), 국내외의 식품 단백질 기능성에 관한 연구로는 대두(7)를 비롯하여 타조(8), 참깨박(9), 참치 가공부산물(10), 홍게(11) 및 어분(12) 등에 관한 연구가 보고되는 등 가공부산물의 단백질을 활용하려는 연구가 다양하게 진행되고 있고 Do 등(13)에 의하면 멸치, 명태, 고등어의 단백질 분해물의 펩타이드는 본태성 고혈압 쥐에게 음용수로 공급한 결과 혈압강하에 효과가 있는 것으로 보고하였으며, 식품의 단백질 가수분해산물에서 생성된 간단한 아미노산 결합으로 구성되어 성인질환에 대한 생체조절기능을 갖는 펩타이드는 다양한 식품원료의 분해물로부터 분리하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. Ni 등(14)은 silk fibroin을 alca-

†Corresponding author. E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr
Phone: 82-43-261-2570, Fax: 82-43-271-4412

lase 처리하여 얻어진 가수분해물의 ACE(angiotensin I-converting enzyme) 저해활성을 가지는 물질이 glycine-tyrosine의 아미노산을 가지는 물질이라 보고하였으며, Vercruysse 등(15)은 *Spodoptera littoralis*, *Bombyx mori*, *Schistocerca gregaria* 및 *Bombus terrestris*에 gastrointestinal proteases, alcalase 및 thermolysin으로 가수분해하여 ACE 저해활성을 측정한 결과 gastrointestinal proteases 처리 시 양호한 것으로 보고하였다. 그러나 번데기를 식품에 적용하기 위해 상업용 효소와 정제효소에 대한 비교연구는 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 누에번데기를 식품으로 활용하기 위한 방안을 모색하기 위하여 2종의 정제효소와 2종의 상업용 단백질 가수분해효소를 이용하여 누에번데기 단백질을 가수분해시킨 후 생성된 가수분해물의 *in vitro*상에서 항고혈압, 항산화활성 등의 생리활성변화를 확인하고 이를 바탕으로 번데기 단백질의 효소적 가수분해 조건을 선정하여 기능성식품 단백질원으로서 번데기 단백질의 이용 가능성을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

탈지 번데기 분말 제조

본 실험에 사용된 번데기는 시중에 유통되는 청주의 재래시장에서 냉동 번데기(*Bombyx mori*, China, 2006)를 구입하여 -20°C의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 탈지 번데기 분말 제조는 Jeon과 Park(16)의 방법을 참고하여 번데기를 -50°C에서 72시간 동결건조기(Modulyod-115, Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)로 건조한 후 5배량의 n-hexane을 넣어 분쇄기(HM-180, Hi-bell, Korea)로 5분간 습식 분쇄한 후 6시간 동안 실온에서 교반하면서 탈지시켰으며, 이 과정을 5회 반복하였다. 탈지된 번데기 박을 감압건조기(Townson & Mercer, UK)를 이용하여 40°C에서 48시간 진공 건조하여 번데기 박에 남아있는 hexane을 완전히 제거하였다. 진공 건조된 탈지 번데기분말을 분쇄한 다음 60 mesh 체를 통과시켜 탈지 번데기 분말을 제조하였다. 위와 같은 방법으로 제조한 탈지 번데기 분말을 -20°C의 냉동고에 보관하면서 실험에 이용하였으며, 탈지 번데기 분말의 제조 수율은 약 34%이었다.

번데기 단백질 가수분해 효소 선정

번데기 단백질의 가수분해를 위하여 정제효소 2종(pepsin 및 trypsin)과 상업용 효소 2종(alcalase 및 neutrase)을 사용하였다. 정제효소인 pepsin(E.C. 3.4.23.1 from porcine stomach mucosa, 3,200~4,500 units/mg) 및 trypsin(E.C. 3.4.21.4 from bovine pancreas, 10,000 units/mg)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 상업용 효소인 alcalase(2.5-LDX, Subtilisin EC 3.4.21.62 from *Bacillus licheniformis*, 2.4 AU/mg) 및 neutrase(1.5-MG, EC 3.4.24.28 from *Bacillus amyloliquefaciens*, 0.8AU/mg)는 Novozyme (Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하여 사용하였다. 번데기 단백질의 가수분해를 위한 효소처리는 Lee 등(17)의 방법을 참고하여 처리하였다. Pepsin은 0.1 M HCl 완충액(pH 2.0)을 사용하였으며, neutrase는 0.1 M 인산칼륨 완충액(pH 7.0)을 사용하였고, trypsin과 alcalase는 0.1 M 인산칼륨 완충액(pH 8.0)을 사용하였다. 탈지 번데기 분말(단백질함량 70%)에 완충용액을 첨가하여 분산시킨 후 효소처리를 하였다. 처리한 효소의 양은 시료 중의 단백질함량 대비 1:100(효소 : 시료의 단백질함량, w/w)으로 하였으며(17,18), 가수분해는 37°C에서 250 rpm으로 교반하면서 실시하였다. 정해진 시간동안 반응시킨 후 반응을 정지시키고, 3,000×*g*에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액을 단백질용해지수(protein solubility index)와 특성 분석에 사용하였다.

탈지 번데기 분말 첨가량별 및 가수분해시간 결정

탈지 번데기분말 분산농도는 각 완충용액 70 mL에 2, 5, 10, 15 및 20%의 농도에 해당하는 탈지번데기분말을 첨가하여 가수분해시킨 다음 단백질용해지수를 측정하였다. 단백질용해지수는 BCA(bicinchoninic acid) Protein Assay kit (Pierce, Rockford, IL, USA)를 이용하여 측정하였다. 즉, 가수분해물 25 μL에 BCA kit 시약 200 μL를 첨가한 다음 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응물을 실온으로 냉각한 다음 562 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 검량선(R^2= 0.9946)을 이용하여 가수분해물의 단백질 함량을 구하였으며, 표준물질로 BSA(bovine serum albumin, Pierce, Rockford, IL, USA)를 사용하였다. 상기 방법에 의해 결정된 탈지 번데기 분말 분산농도에 대한 가수분해시간을 결정하기 위하여 6, 12, 18, 24 및 30시간 동안 가수분해한 다음 단백질용해지수를 측정하여 최적 가수분해시간을 결정하였고, 이 조건으로 가수분해물을 제조하여 실험에 사용하였다.

가수분해물의 ACE 저해활성

효소를 이용하여 가수분해시킨 번데기 가수분해물의 ACE(angiotensin I converting enzyme) 저해활성은 Do 등(13)의 방법으로 측정하였다. 즉, ACE 효소액 80 μL(0.2 unit/mL)에 기질인 5 mM Hippuryl-L-His-L-Leu(HHL, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 100 μL를 취하여 반응시키고, 가수분해물의 상층액 100 μL를 가하여, 37°C에서 30분 동안 반응을 시켰다. 1 N HCl 0.25 mL를 가하여 반응을 정지시키고, ethyl acetate 1.25 mL를 가하여 vortex로 강하게 15초간 교반한 후 상층액 1 mL 취하여 120°C의 thermo bath(ALB-128, Finepcr, Korea)에서 30분간 건조시킨 다음 증류수 1 mL를 가하여 용해시킨 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 모든 실험은 3회 반복 실험하였다.

가수분해물의 항산화활성 측정

가수분해물의 전자공여능(electron donating ability, EDA)

은 Roberta 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 가수분해물 0.2 mL에 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액 0.8 mL를 가하고 잘 혼합한 후 실온에서 30분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 가수분해물의 전자공여능은 시료첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 구하였으며, 가수분해물의 EDA(%)를 50% 감소시키는 IC_{50}(inhibition concentration)을 구하였고, 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

결과 및 고찰

가수분해를 위한 탈지번데기분말 첨가량

탈지 번데기분말의 분산농도를 결정하기 위하여 2, 5, 10, 15 및 20% 현탁액을 제조하고, 정제효소 2종(pepsin 및 trypsin)과 상업용 효소 2종(alcalase 및 neutrase)으로 가수분해시킨 후 단백질용해지수를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 비 효소 처리구인 대조구의 경우 탈지번데기분말 분산농도에 관계없이 약 15%의 용해지수를 보였다. 탈지번데기분말 분산농도 5% 현탁액에서 pepsin 처리구의 경우 35.79%, alcalase 처리구의 경우 43.37%로 가장 높은 용해지수를 보였다. Trypsin 처리구와 neutrase 처리구의 경우 탈지번데기분말 분산농도 10% 현탁액에서 가장 높은 용해지수를 보였으며, 특히 trypsin 처리구의 경우 59.37%로서 다른 효소처리구에 비해 약 1.5~2.0배의 용해지수를 보였다. 대조구의 경우 탈지번데기분말 분산농도에 관계없이 용해지수는 유의적인 차이가 없었으나, 효소처리구의 경우 2~10%의 분산농도범위에서 용해지수가 높았으며, 10% 이상의 분산농도에서는 용해지수가 감소하는 경향을 보였다. Jeon과 Park(16)의 연구에 의하면 10%의 탈지번데기분말 분산농도에서 효소처리를 하였다고 보고하고 있으며, Han과 Hwang (20)은 5% 탈지번데기분말 분산농도에서 용해지수가 가장 높았으며, 그 이상의 농도에서는 용해지수가 감소하였다고 보고한 것과 비슷한 경향을 보였다. 즉, 효소마다 약간의 차이는 있으나 분산농도 5~10% 범위에서 용해지수가 높았으며, 분산 농도 10% 이상에서는 오히려 용해지수가 감소하였다. 따라서 탈지번데기분말의 최적 분산농도는 효소마다 약간의 차이는 있으나 5~10% 범위로 판단되었다.

가수분해시간

탈지 번데기분말의 가수분해시간을 선정하기 위하여 10% 탈지 번데기분말 현탁액에 대하여 6, 12, 18, 24 및 30시간 동안 처리한 후 용해지수를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 대조구의 경우 추출시간에 상관없이 약 15%의 용해지수를 보인 반면, 효소처리구의 경우 가수분해시간이 길어질수록 용해지수도 높아지는 경향을 나타내었다. Pepsin 처리구의 경우 6시간 처리 시 19.95%에서 12시간 처리 시 31.76%로 급격히 증가하다가 이후 완만히 증가하는 경향을 보였고, neutrase 처리구의 경우 6시간 처리 시 28.03%에서 30시간 처리 시 34.65%로 약 7% 증가한 것에 비해 trypsin 및 alcalase 처리구의 경우 6시간 처리 시 각각 39.02 및 23.87%였으며, 30시간 처리 시 각각 59.63 및 43.20%로 약 20% 이상 증가하였다. 본 실험결과 처리시간이 길어질수록 가수분해에 따른 용해지수가 증가하는 경향을 보였지만, 지나친 가수분해 처리 시 경제성 및 이취의 발생 등을 고려하여 가수분해시간을 18시간이 적당한 것으로 판단되었다. 18시간 가수분해 시 단백질의 용해지수는 대조구는 15% 정도이었으며, pepsin, trypsin, nutrase 및 alcalase 처리구에서는 각각 31, 46.86, 32.17 및 35.87%로 나타났다.

가수분해물의 ACE 저해활성

번데기를 4종의 단백질 분해효소로 18시간 동안 가수분해하여 얻은 가수분해물의 *in vitro*상에서 고혈압에 대한 활성을 알아보기 위하여 ACE 저해활성을 측정한 결과 Fig. 3과 같이 나타났다. 혈압상승과 관련된 기전의 일부 중 ACE (angiotensin-converting enzyme)에 의해서 일어나는데(21)

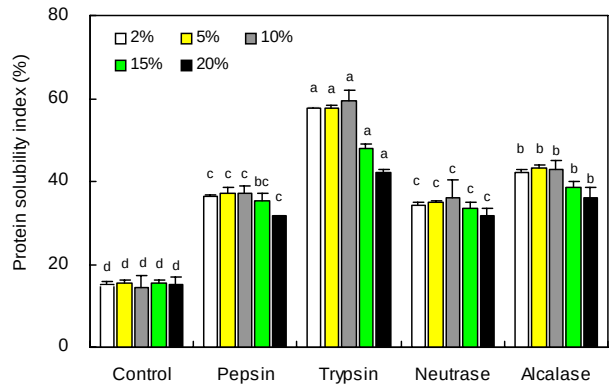

Fig. 1. Protein solubility index of hydrolyates according to enzyme type and suspension concentration of defatted silkworm larvae flours.
Each value was expressed as mean±standard deviation (n=3).

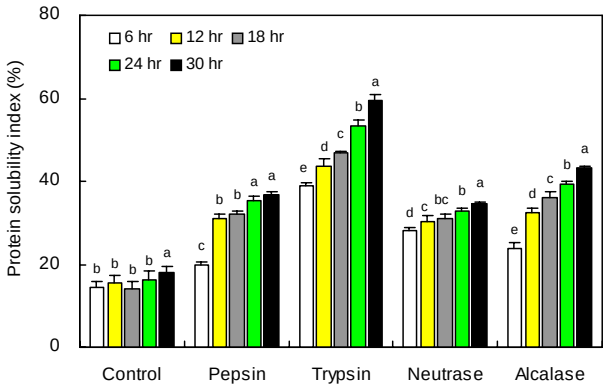

Fig. 2. Protein solubility index of hydrolyates according to enzyme type and hydrolysis time in 10% suspension concentration of defatted silkworm larvae flours.
Each value was expressed as mean±standard deviation (n=3).

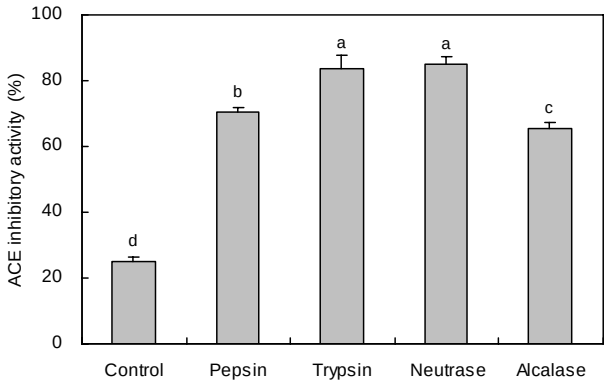

Fig. 3. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hydrolysates.
Hydrolysis was performed at 10% suspension concentration and 18 hr. Sample solution was 100 μg/mL. Each value was expressed as mean±standard deviation (n=3).

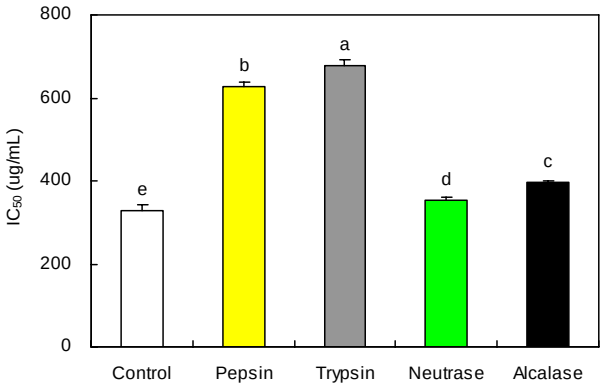

Fig. 4. Antioxidative activity of hydrolysates by DPPH assay.
Hydrolysis was performed at 10% suspension concentration and 18 hr. Each value was expressed as mean±standard deviation (n=3).

불활성형인 안지오텐신 I 을 안지오텐신Ⅱ로 전환시키고 혈관확장제인 bradykinin을 불활성화시켜서 sodium 축적으로 혈압상승하게 된다(22). 가수분해물의 단백질 농도를 100 μg/mL로 일정하게 조정한 후 ACE 저해활성을 측정한 결과 대조구는 24.94%의 저해활성을 나타내었으며, pepsin 처리 가수분해물의 경우 70.45%, trypsin 처리구의 경우 83.46%, neutrase 및 alcalase 처리 가수분해물의 경우 각각 85.16 및 65.39%의 저해활성을 나타내었다. 특히 대조구에 비해 모든 효소 처리구에서 ACE 저해활성이 2~3배 높은 활성을 나타났다. 또한 가수분해율과 용해지수를 감안할 때 trypsin은 3배, 그리고 나머지 효소 처리구에서는 2배 이상 증가하는 것으로 나타났다. Zhang 등(23)은 중국 전통발효 콩의 ACE 저해활성에 미치는 peptide에 관한 연구에서 500 μg/mL의 농도에서 70% 이상의 ACE 저해활성을 나타내었다고 보고하였고, Do 등(13)은 어육단백질로부터 분리한 ACE 저해 peptide에 관한 연구에서 250 μg/mL의 농도에서 70% 저해활성을 보인다고 보고한 바 있으며, Yeum과 Kim(24)은 식품단백질 효소가수분해물의 angiotensin-I 전환효소 저해작용에 대한 연구에서 효소의 복합적인 분해에 의해 생성되는 서로 다른 구조나 사슬길이 및 아미노산 배열 순서를 가지는 여러 종류의 peptide가 ACE 저해작용을 나타내는 것으로 추정하였고, 이로 미루어 효소별 동일농도의 가수분해물에서 ACE 저해활성에 차이가 나는 것은 효소마다 작용하는 기질의 반응부위가 다르며, 이로 인하여 생성된 peptide의 아미노산 배열이 다르기 때문이라 생각되어진다.

가수분해물의 항산화 활성

번데기 단백질 가수분해물의 항산화활성을 알아보기 위하여 4종의 효소로 18시간 동안 가수분해하여 얻은 가수분해물의 DPPH assay에 의한 항산화활성(IC_{50})을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 번데기 단백질 가수분해물의 항산화활성은 정제효소인 pepsin 및 trypsin의 경우 IC_{50}값이 각각 626.09 및 677.44 μg/mL이었으며, 상업용 효소인 neutrase와 alcalase의 경우 각각 352.75 및 396.09 μg/mL이었다. 대조구의 경우 327.24 μg/mL을 나타내었다. 효소 처리구의 경우 효소의 종류에 따라 항산화활성에 커다란 차이를 보였으며, 정제효소인 pepsin 및 trypsin 처리 시 항산화활성이 대조구에 비해 감소하는 경향을 보였으나, 상업용 효소인 netrase와 alcalase 효소처리구와는 유사한 값을 나타내었다. Kim 등(18)은 대구고니 단백질의 효소적 가수분해물로부터 항산화성 펩타이드의 분리·정제 및 특성에 관한 연구에서 가수분해물의 항산화활성의 차이는 기질의 차이뿐만 아니라 각 효소가 기질에 작용하는 절단 부위가 다르기 때문에 N-말단 및 C-말단에 위치하는 아미노산의 종류가 달라지므로 항산화활성이 다르게 나타나는 것으로 보고한 바 있으며, Yamaguchi 등(25)은 각종 dipeptide와 이를 구성하는 아미노산의 항산화성 비교에서 dipeptide를 구성하고 있는 아미노산 중 Met, His, Trp, Tyr이 강한 항산화활성을 나타날 때 이 아미노산들의 위치에 대해 Met과 His은 C-말단에, Try과 Tyr은 N-말단에 위치할 때 그 효과가 상승된다고 보고하였으며, 이로 미루어 가수분해물의 항산화활성은 가수분해물의 N-말단 및 C-말단에 위치하는 아미노산의 종류에 의해 영향을 받는 것으로 생각되어지며, 광범위한 항산화 펩타이드의 구성 아미노산 종류 및 길이와 항산화효과와의 상관성 규명이 필요할 것으로 판단된다.

요 약

번데기 단백질의 최적 가수분해 조건을 선정하기 위해 4종의 가수분해 효소를 이용하여 번데기분말 첨가량별 및 가수분해시간에 따른 단백질 용해지수, 각각의 가수분해물의 ACE 저해활성 및 항산화활성 등을 조사하였다. 탈지번데기 분말의 최적 분산농도는 5~10% 범위였으며 가수분해시간은 18시간이었고, ACE 저해활성은 neutrase, trypsin, pep-

sin 및 alcalase 효소처리 시 각각, 85.16, 83.46, 70.45 및 65.39%로 모든 효소 처리구가 비효소 처리구(24.94%)에 비해 높은 활성을 나타내었다. 가수분해물의 항산화활성(IC_{50})은 상업용 효소인 neutrase와 alcalase의 경우 각각 352.75 및 396.09 μg/mL로 비효소처리구(327.24 μg/mL)와 유사한 값을 보였고, pepsin 및 trypsin은 각각 626.09 및 677.44 μg/mL로 비효소처리구보다 낮게 나타났다.

문 헌

1. Kang PD, Ryu KS, Kim KM, Sohn BH. 1999. General characteristics and life span of silkworm moth according varieties, *Bombyx mori*. *Korean J Seric Sci* 41: 154-166.
2. Ryu KS, Lee HS, Kim YS. 1999. Pharmacodynamic study of power in mice administered to maltose, sucrose and lactose. *Korean J Seric Sci* 41: 9-13.
3. Choi JH, Kim DI. 1999. Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzyme in serum of rats. *Korean J Seric Sci* 41: 141-146.
4. Park GS, Park JR. 1986. Functional properties of silkworm larvae protein concentrate. *Korean J Food Sci Technol* 18: 204-209.
5. Park JR, Lee KH. 1983. Amino acid composition and nutritional value of silkworm larve protein. *Korean J Food Nutr* 12: 368-373.
6. Yang JW, Choi EM, Kwon MG, Koo SJ. 2005. Sex-hormone replacement effect of silkworm pupa and mixture with herbs. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 769-775.
7. Yoon HH, Jeon EJ. 2004. Functional properties of soy protein isolate from heat treated soybean. *Korean J Food Sci Technol* 36: 38-43.
8. Chin KB, Keeton JT. 2000. Evaluation of diet frozen storage on protein functional of ostrich muscle. *Korean J Food Sci Ani Resour* 20: 320-325.
9. Cho YJ, Kim JK. 1999. Change of physical properties and extraction of sesame meal protein by gamma irradiation. *Korean J Food Sci Technol* 31: 924-930.
10. Cha YJ, Kim EJ, Kim H. 1996. Development of functional seasoning agents from skipjack processing by-product with commercial proteases. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 627-631.
11. Kim YJ, Shin TS, Oh HI. 1996. Solubility, emulsion capacity and emulsion stability of protein recovered from red crab processing water. *Korean J Food Nutr* 9: 319-324.
12. You BJ, Lee KH. 1990. Improving functional properties of fish meal protein. *Bull Korean Fish Soc* 23: 401-405.
13. Do JR, Heo IS, Jo JH. 2006. Effect of antihypertensive peptides originated from various marine protein on ACE inhibitory activity and systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Korean J Food Sci Technol* 38: 567-570.
14. Ni L, Tao GJ, Dai J, Wang Z, Xu SY. 2001. Separation, purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory silk fibroin peptide. *Se Pu* 19: 222-225.
15. Vercruysse L, Smagghe G, Herregods G, Van Camp J. 2005. ACE inhibitory activity in enzymatic hydrolysates of insect protein. *J Agric Food Chem* 53: 5207-5211.
16. Jeon JR, Park JR. 1992. Functional properties of silkworm larvae protein concentrate after enzyme treatment. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 706-711.
17. Lee YC, Kim DS, Kim YD, Kim YM. 1990. Preparation of oyster (*Crassostrea gigas*) and sea mussel (*Mytilus coruscus*) hydrolyzates using commercial protease. *Korean J Food Sci Technol* 22: 234-240.
18. Kim SK, Choi YR, Park PJ. 2000. Purification and characterization of antioxidative peptides from hydrolysate of cod teiset protein. *J Korean Fish Soc* 33: 198-204.
19. Roberta R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 26: 1231-1237.
20. Han JS, Hwang IK. 1992. Effects of functional properties of soy protein isolate and qualities of soybean curd upon proteolytic hydrolysis. *Korean J Food Sci Technol* 24: 294-299.
21. Jeong JD, Seo YB. 2001. Experimental studies on the haematopoietic effect of the Rehmanniae Radix Preparata. *Korean J Her* 16: 73-89.
22. Kim HM, An CS, Jung KY, Choo YK, Park JK, Nam SY. 1999. Rehmannia glutinosa inhibits tumour necrosis factor-α and interleukin-1 secretion from mouse astrocytes. *Pharmacol Res* 40: 171-176.
23. Zhang JH, Tatsumi E, Ding CH. 2006. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides in douchi, a Chinese traditional fermented soybean product. *Food Chem* 98: 551-557.
24. Yeum DM, Kim YS. 1994. Antioxidative action of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. *Korean J Food Nutr* 7: 128-136.
25. Yamaguchi NS, Naito YY, Fujimaki M. 1980. Application of protein hydrolyzate to biscuit as antioxidant. *J Jap Soc Food Sci Technol* 27: 56-59.

(2007년 11월 12일 접수; 2008년 2월 5일 채택)