

한우 등심과 우둔에서 추출한 Myosin B의 효소적 가수분해물의 단백질 변화와 Angiotensin -I- Converting Enzyme(ACE) 저해효과

김영주 · 진구복

전남대학교 동물자원학부 식육과학 연구실 및 농업과학기술연구소

Evaluation of Angiotensin -I- Converting Enzyme Inhibitory Activity and Protein Changes of Enzymatic Hydrolysate Extracted from Hanwoo Loin and Round Myosin B

Y. J. Kim and K. B. Chin

Dept. of Animal Science and Institute of Agricultural Science and Technology, Chonnam National University, Gwangju, 500-757 Korea

ABSTRACT

This study was performed to determine the protein profiles using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Angiotensin-I-converting enzyme(ACE) inhibitory activity (IC₅₀) as affected by the various meat cuts, digestion times with pepsin. Hydrolysates having the protein concentration of 10 ug/mL had approximately 36~39% ACE inhibitory activities, regardless of meat cut and digestion time. Protein concentration and ACE inhibitory activity of the diluted hydrolysate increased after 1-hr digestion. In original hydrolysates, ACE inhibitory activities of loin had higher than those of round (P<0.05). In addition, non-heated hydrolysates had higher ACE inhibitory activities than heated counterparts. When myosin B was digested by pepsin more than 1 hr, improved ACE inhibitory activities were observed as compared to the non-digested control.

(Key words : Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory activity, Myosin B, Hanwoo loin and round)

I. 서 론

최근 식생활이 서구화 되어감에 따라 지방의 과잉섭취, 식품첨가물의 사용 및 패스트푸드의 섭취빈도가 증가되고, 불규칙한 생활습관과 스트레스로 인하여 암, 고혈압, 당뇨병 및 여러 성인병 등이 발생하고 있다. 이중 고혈압

은 흔히 현대인들이 고통 받고 있는 질병으로, 혈관 내 압력이 상승되며, 혈압의 하강이 억제됨에 따라 발생된다. Gavras 등 (1978)은 울혈성의 심장쇠약의 혈압상승 원인이 말초혈관의 저항을 높은 수준으로 유지하는 renin-angiotensin system에 의한 것으로 보고, 8명의 환자에게 ACE 억제제를 투여하여, 심장기능을 향상시켜

Corresponding author : Koo Bok Chin, Department of Animal Science, Chonnam National University, PukGwangju, P.O. Box 205, Gwangju, Korea 500-600.
Tel : 062-530-2121, Fax : 062-530-2129, e-mail : kbchin@chonnam.ac.kr

ACE 억제제가 혈관의 일부에 정맥혈이 막히어 피가 몰려 일어나는 울혈성 심장질환의 치료에 상당한 효과가 있었다고 보고하였다. 이러한 renin-angiotensin system에서 angiotensin converting enzyme(ACE)은 Angiotensin I에서 Angiotensin II를 생산하는데 관여하며, 혈관확장효소인 bradykinin을 불활성화하여 혈압을 상승시킨다 (Coates, 2003). 이렇게 고혈압과 관련된 ACE의 활성을 억제할 수 있는 억제제를 생화학적으로 분류한다면 황수산기를 함유하는 ACE 억제제 (captopril, fentiapril, piralopril, zofenopril 및 alaceprol), 두 개의 카르복실기를 함유하는 ACE 억제제 (lisinopril, benazapril, qinapril, moexipril, ramipril, spirapril, perindopril, pentopril, cilazapril 및 trandolapril), 그리고 인을 함유하는 ACE 억제제 (fosinopril)로 나눌 수 있다. 하지만 모든 약들과 마찬가지로 부작용과 독성이 나타나는데 이러한 ACE 억제제들의 부작용을 살펴보면, 호흡에서는 기침, 위장에서는 간장의 독성 및 미각장애를 불러 일으키며, 산모의 경우 태아의 기형을, 콩팥에서는 단백뇨와 콩팥 기능을 약화시키며, 피부에서는 발진을 일으키는 등의 부작용을 나타내었다 (Wong 등, 2004). 이렇듯 부작용의 피해에 대한 우려로 식품 단백질로부터 ACE를 억제할 수 있는 생리활성 peptide에 대한 연구가 진행되고 있다. Fujita 등 (2000)은 식품단백질들로부터 파생된 ACE 억제 단백질들의 항고혈압 활성을 살펴본 결과, thermolysin에 의해 가수분해된 닭 근육 ($IC_{50} = 45.0 \text{ ug/ml}$)과 pepsin으로 가수분해된 ovalbumin의 가수분해물 ($IC_{50} = 45.3 \text{ ug/ml}$)로부터 IC_{50} 값을 얻어낼 수 있었다. Athukorala와 Jeon (2005)은 다양한 갈조류들을 Protamex, Kojizyme, Neutrase, Flavourzyme과 Alcalase와 같은 단백분해효소로 가수분해한 결과, Flavourzyme으로 가수분해한 *Ecklonia cava* 종의 가수분해물이 captopril과 유사한 억제율을 가지며, 다른 가수분해물에 비해 가장 낮은 IC_{50} 값을 보여 항 고혈압 화합물의 잠재적인 자원으로 보고하였다. Arihara 등 (2001)은 돼지

의 골격근을 trypsin, papain, pepsin 등과 같은 단백분해효소를 이용하여 가수분해시켰으며, 이 중 thermolysin 가수분해물이 가장 억제율이 좋았다. 또한 이 가수분해물로부터 Met-Asn-Pro-Pro-Lys와 Ile-Thr-Thr-Asn-Pro의 단백질 서열을 얻어낼 수 있었다. Je 등 (2005)은 발효된 굴 소스로부터 ACE 억제율을 얻어냈으며, 분리를 통해 $IC_{50} = 0.0874 \text{ mg/ml}$ 인 정제물질을 얻어내었다. 또한 이를 spontaneously hypertensive rats (SHRs)에 경구투여하여 혈압을 감소시킬 수 있었다고 보고하였다. Jang과 Lee (2005)는 소의 근장단백질로부터 Thermolysin + Proteinase A에 의한 가수분해를 통해 가장 높은 ACE 억제율 (52.8%)을 얻었으며, Val-Leu-Ala-Gln-Tyr-Lys의 단백질 서열을 얻어냈다. Fujita와 Yoshikawa (1999)는 “가쓰오-부시”의 thermolysin-가수분해물로부터 prodrug-type의 LKPNM의 단백질 서열을 갖는 펩타이드를 분리해냈으며, ACE에 의해 LKP 단백질 서열을 생성함에 따라 ACE 억제활성의 8배가 증가함을 관찰하였다. Pihlanto-leppälä 등 (1998)은 우유단백질들을 pepsin과 trypsin으로 가수분해하여, whey 단백질들로부터는 35~61%의, casein 단백질들로부터는 86%의 ACE 억제율을 얻어냈다. 이러한 ACE 억제에 대한 연구는 오리, 갈조류, 김, 멸치, 돼지, 소 등의 단백질들을 이용하여 실시되고 있지만, 우리나라 고유의 전통소인 한우에 대한 ACE 연구는 수행되고 있지 않는 실정이다. 예로부터 한국인들의 육류섭취의 일부를 차지하고 있는 한우는 수입육 및 다른 육류에 비해 가격이 높아 소비율이 낮은 실정이다. 하지만 한우로부터 기능성 펩타이드의 탐색으로 ACE 억제효과를 검증한다면 한우에 대한 관심과 소비촉진에 기여할 것으로 판단된다. 따라서 본 연구는 한우의 부위별로 등심과 우둔으로부터 추출한 myosin B를 가열유무에 따라 pepsin으로 가수분해 처리하여 얻은 가수분해물들의 단백질 변화와 가수분해물로부터 ACE 억제효과를 평가하기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

한우의 등심과 우둔을 식육도매점에서 구입하여 외부지방과 결체조직을 제거하고, grinder (M-12s, 한국후지 플랜트(주), 부산, 한국)로 만육시켰다. Weber-edsall solution (0.6 M KCl, 0.04 M NaHCO₃, 0.01 M Na₂CO₃)과 섞어 약하게 냉장고에서 40시간동안 교반 후 0.6 M KCl 과 1:2의 비율로 섞어 30,000 × g로 1시간동안 원심분리를 실시하여 상등액을 증류수로 15배 희석하여 12,000 × g에서 30분간 원심분리하여 pellet을 수거하고, 최종농도를 0.5 M NaCl과 1 mM NaN₃로 조정하였다.

2. 단백질의 가수분해, 농도 측정 및 전기영동 분석

Myosin B의 농도를 Lowry 등 (1951)의 방법으로 측정하였다. 등심과 우둔의 Myosin B 농도를 0.5 NaCl로 희석하여 10 mg/ml로 조절하였고 그것의 절반은 98℃의 끓는 물에 10분간 끓이고 다시 냉각하였다. 가열한 것과 가열하지 않은 것 모두 pH를 2로 조절하였고 가수분해 효소인 pepsin은 0.05 M Citrate buffer와 0.05 M tris-HCl buffer를 이용하여 5 ug/ul 농도로 1 ml 씩 준비하였다. 등심과 우둔의 가열, 비가열 Myosin B의 5 ml를 효소와 100:1의 비율로 50 ul씩 첨가한 후 각 0, 1, 3 그리고 6시간 간격으로 37℃에서 반응시켰다. 반응은 97℃에서 10분간 가열함으로써 종료시켰고 pH 7.5로 조정한 후, 15,000 × g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취해 가수분해물을 회수하였다. 가수분해의 단백질 농도는 Lowry 정량을 이용하여 측정하였으며, 가수분해물의 농도를 15 ug/ul로 조정하여 Laemmli (1970)의 방법으로 전기영동을 실시하였다(Fig. 1). Separating gel (12% gel, 0.375 M Tris, pH 8.8)과 stacking

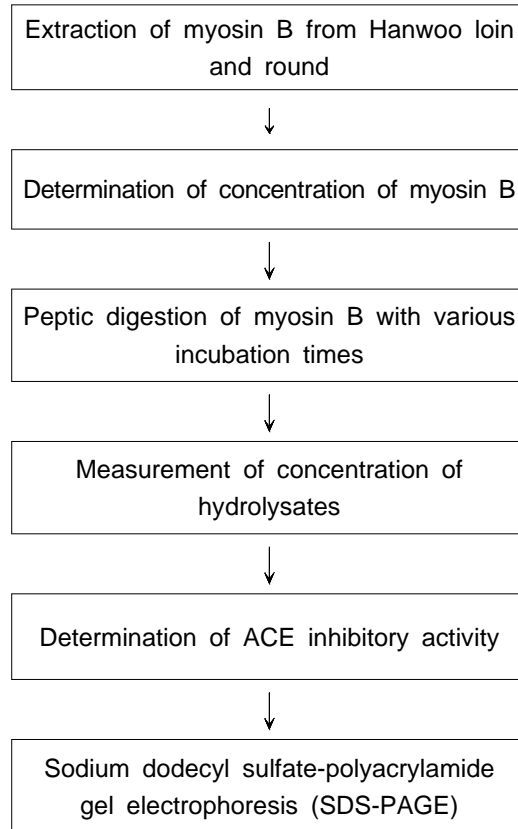


Fig. 1. Experiment procedure of this study.

gel (3% gel, 0.125 M Tris, pH 6.8)을 이용하여 150 V에서 실시하였으며, standard protein은 myosin (201 kDa), β-galactosidase (120 kDa), bovine serum albumin (100 kDa), ovalbumin (55 kDa), carbonic anhydrase (38 kDa), soybean trypsin inhibitor (29 kDa), Lysozyme (20 kDa), aprotinin (6 kDa)로 사용하였다. Stain 용액 (coomassie blue)에서 30분간 염색, Destain 용액에서 30분간 탈색한 후 Fixing 용액에서 고정시켰다. 고정 후 단백질 밴드는 분자량은 standard protein과 비교하여 계산하였다.

3. Angiotensin converting enzyme (ACE) 억제 활성 측정

ACE 저해효과의 측정은 Cushman과 Cheung

(1971)의 방법을 이용하여 ACE 억제 활성을 검사하였다. Test tube에 100 mM Hippuric acid-Histidine-Leucine (HHL; sigma) 50 ul를 넣고 6 ul의 가수분해물 시료를 넣어 5분간 37°C water bath에서 반응을 시킨 후 ACE를 0.25 M sodium borate buffer와 섞어 100 mU/ml로 만들어 20 ul를 넣어 다시 37°C water bath에서 30분간 반응시킨 후 0.1 N HCl 554 ul를 넣어 반응을 종료시켰다. 각 tube에 ethyl acetate를 1.5 ml씩 넣고 2분간 흔들어 준 후 800×g로 5분간 원심분리하여 상등액만을 1 ml 취해 Dry Thermo Unit에서 100°C로 증발시켰다. 1 N NaCl을 1 ml씩 넣고 ultrasonic에서 10분간 방치한 후 228 nm로 흡광도를 측정한다. 이때 가수분해물은 10 ug/ml의 농도로 희석한 것과 원액을 이용하여 ACE 억제활성도를 측정하였다(Fig 1).

저해율 (%) = $(E_c - E_s)/(E_c - E_b) \times 100$

E_c = 시료 대신 증류수 첨가 시의 흡광도

E_s = 시료 첨가 시의 흡광도

E_b = 반응정지 후 시료 첨가 시의 흡광도

4. 통계분석

본 실험의 측정결과는 SPSS software program (10.1)을 이용하여 통계분석을 실시하였다. 부위(등심과 우둔), 가열여부(가열과 비가열) 그리고 가수분해 시간(0, 1, 3 and 6 시간)을 요인으로 한 삼원배치 분산분석(Three-way Analysis of Variance)에 의하여 각 요인들 간의 상호작용(interaction)을 분석한 뒤 상호작용의 유의차가 발견되지 않을 경우 Duncan's multiple range test에 의하여 $p < 0.05$ 유의수준에서 유의성 차이를 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 전기영동 결과

신선육의 myosin과 100°C에서 10분간 가열하

여 변성된 myosin을 각각 0, 1, 3 그리고 6 시간동안 가수분해시켜 전기영동으로 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. Myosin B를 pepsin으로 가수분해 시킨 가수분해물의 전기영동 결과, 가수분해 시간이 길어질수록 밴드의 수가 감소하는 경향이였다. 등심의 myosin B를 가열처리한 가수분해물들의 밴드가 우둔 myosin B의 가열처리된 가수분해물에 비하여 연하게 나타났으며, 비가열처리구에 비해 가열처리구에서 밴드가 비교적 많이 소실되어 가열처리가 단백질의 가수분해를 더욱 촉진하는 것을 알 수 있었다. 이는 돼지의 골격근 단백질을 단백질효소로 가수분해 시킨 결과, 가열로 인해 변성된 myosin이 가열처리하지 않은 신선한 myosin 보다 더 가수분해 되었다는 Katayama 등 (2003)의 보고와 일치하였다. 가열된 myosin B를 1시간 이상 가수분해한 처리구에서 40 kDa부터 밴드가 나타난 것으로 보아 actin 단백질이 분해된 것으로 사료되며, 3시간 후 소실된 21~20 kDa의 밴드는 troponin-C 단백질로 여겨지는 밴드로서 가열 후 3시간 이상 가수분해 되면 소멸되어지는 것으로 사료된다 (Katayama 등, 2003). 또한, 비가열 myosin B를 1시간 이상 가수분해 시키면 고분자의 밴드는 소실되며, 가수분해 시간이 경과됨에 따라 대부분의 밴드가 연하게 나타났다. 35 kDa의 밴드는 가수분해 시간이 경과할수록 밴드가 진해지는데 비해, 24 kDa은 분해가 될 수록 밴드가 사라지는 것으로 보아 가수분해가 진행됨에 따라 tropomyosin 단백질의 밴드는 진해지며, troponin-I 단백질은 분해되어 소멸되어지는 것으로 사료된다(Fig. 2).

우둔 myosin B의 가수분해물의 전기영동을 살펴보면, 가열처리한 경우가 비가열 처리구에 비해 밴드의 수가 더 많이 감소되고, 밴드도 연하게 나타나 등심의 결과와 같이 가열처리가 myosin B의 가수분해를 촉진하는 것을 알 수 있었다. 가수분해를 시키지 않은 경우 80 kDa, 1 그리고 3시간 가수분해 시킨 경우 44 kDa, 6 시간 가수분해 시킨 경우 30 kDa부터 밴드가

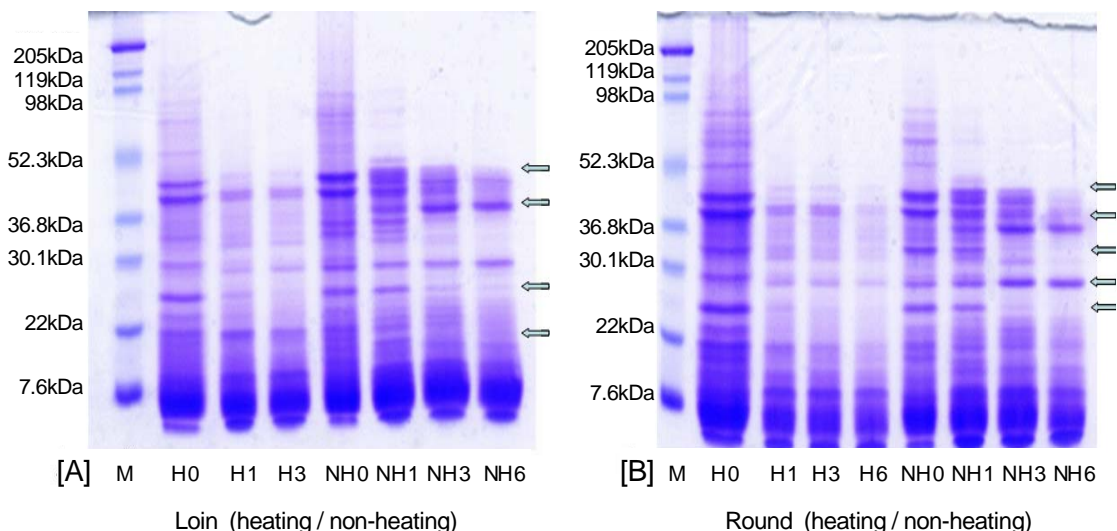


Fig. 2. SDS-PAGE profiles of hydrolysates from myosin B protein of Korean native beef as affected by meat cut, heating and digestion time.

M = standard proteins, H 0 = no digestion with heated protein, H 1 = digestion for 1 hr with heated protein, H 3 = digestion for 3 hrs with heated protein, H 6 = digestion for 6 hrs with heated protein, NH 0 = no digestion with non-heated protein, NH 1 = digestion for 1 hr with non-heated protein, NH 3 = digestion for 3 hrs with non-heated protein, NH 6 = digestion for 6 hrs with non-heated protein.

나타난 것으로 보아 가수분해로 인해 actin 단백질이 가수분해 초기에 많이 소실된 것으로 사료된다. 가수분해 1시간 이후에 44 kDa 이상의 분자량을 갖는 단백질은 가수분해로 인해 소실된 것으로 사료되며, 6시간 후에는 40 kDa의 단백질 밴드가 사라졌다. 우둔의 myosin B를 가열처리하지 않은 경우 96 kDa 이하의 분자량을 갖고 있었으며, 가수분해됨에 따라 1시간 후에는 71 kDa, 가수분해 3 그리고 6시간 후에는 45 kDa 이상의 밴드가 소실되었다. 그리고 1시간 후에는 33 kDa, 3시간 후에는 40 kDa, 6시간 후에는 39, 28, 16 kDa의 밴드가 가수분해에 의해 소실되는 것으로 보아, 가수분해 시간이 증가할수록 밴드의 소실율이 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한, 가수분해 1시간 후에는 tropomyosin 단백질이 소실되고, 가수분

해 3시간째 actin 단백질이 분해되며, 가수분해 6시간에 tropomyosin, myosin light chain 단백질이 분해되어 밴드가 소실되는 것으로 사료된다 (Fig. 2).

가열처리한 단백질이 가열처리 하지 않은 단백질에 비해 가수분해율이 높았으며, 가수분해 시간이 경과할수록 소실되는 단백질 또한 많았다. 그리고 가수분해 되어진 고분자 단백질로 인해서 생성되어지는 저분자 단백질이 있었다. 이는 가열처리하지 않은 단백질과 가열로 인해 변성된 단백질들의 가수분해물 밴드의 수가 유의적인 차를 보이며, 가열하지 않은 단백질에서 더 많은 밴드가 잔존하였다는 Katayama 등 (2003)의 보고와 일치하였다. 하지만, 6 시간의 가수분해에도 불구하고 비가수분해물이 존재하는 것으로 판단된다.

2. ACE 억제활성 평가

Table 1은 각 부위, 가열유무, 그리고 가수분해 시간에 따른 추출 원액과 10 ug/ml로 희석된 희석액의 단백질 농도와 ACE 저해 효과를 나타낸 것이다.

추출 원액에 있어서 단백질 함량은 부위에서는 영향이 없었으나 가열여부와 가수분해 시간에 의해서 영향을 받았다($p < 0.05$). 비가열처리한 단백질의 농도는 가열처리한 단백질보다 높았으며, 가수분해 시간이 경과할수록 증가하였다($p < 0.05$). ACE 억제효과에 있어서는 부위, 가열여부, 가수분해 시간에 의해서 모두 영향을 받았으며, 우둔 보다는 등심의 가수분해물이 ACE 저해효과가 더 우수하였다($p < 0.05$). 그리고 가열처리한 것 보다 가열처리하지 않은 가수분해물의 ACE 저해율이 더 뛰어났으며 가수분해 시간이 경과할수록 ACE 억제효과는 뚜렷하였다($p < 0.05$). 반면, 10 ug/ml로 희석한 가수분해물은 가수분해 시간에 의해서만 영향을 받았으며,

원액과 같이 가수분해 시간이 경과할수록 높은 ACE 억제효과를 나타냈다($p < 0.05$). 10 ug/ml로 희석한 가수분해물은 1시간 이상 가수분해시키면 약 40%의 ACE 억제율을 나타내는데 비해 원액의 가수분해물은 1시간 이상 가수분해시키면 약 70% 이상의 ACE 억제율을 갖는 것으로 보아 한우의 myosin B 단백질은 원액이 희석액에 비하여 그리고 1시간 이상 가수분해시키면 ACE 억제율이 증진되는 것으로 사료되어진다. Jang 등 (2003)은 소의 염통을 효소로 가수분해시키지 않았을 경우에는 ACE 저해효과가 거의 없었으나, 4시간의 가수분해 후에는 ACE 저해율이 나타났다고 보고하여, 효소에 의한 가수분해를 통해 ACE 억제율의 향상을 보인 본 연구의 결과와 유사하였다. Kim 등 (2003)은 효소로 가수분해 시킨 오리고기 단백질의 가수분해물로부터 65% 이상의 ACE 억제율을 측정하였으며, Jang 등 (2005)은 소의 사태를 효소로 4시간 가수분해 시킨 결과 48~66.4%의 ACE 억제율을 측정하였다. 따라서 본 연구의

Table 1. Effect of cut, heating, and digestion time in protein concentration (mg/ml) and ACE inhibitory activity (%)

		Cut		Heat		Digestion time (hrs)			
		Loin	Round	Yes	No	0	1	3	6
Original solution (mg/ml)	Protein conc	3.93 ± 2.03 ¹⁾	3.68 ± 0.97	2.88 ^b ± 1.11	4.52 ^a ± 1.55	2.55 ^b ± 1.07	3.90 ^a ± 1.58	4.25 ^a ± 1.87	4.57 ^a ± 1.26
	ACE inhibition	71.43 ^a ± 20.61	57.39 ^b ± 17.72	60.24 ^b ± 22.40	67.95 ^a ± 18.32	39.17 ^b ± 14.93	68.88 ^a ± 12.00	74.12 ^a ± 16.35	77.35 ^a ± 12.26
	Original soln (mg/ml)	5.23 ^a ± 1.91	4.05 ^b ± 1.41	4.50 ± 1.15	4.78 ± 2.03	2.87 ^b ± 1.54	4.48 ^a ± 1.05	5.32 ^a ± 1.98	4.86 ^a ± 1.35
Protein conc	Diluted soln (ug/ml)	10	10	10	10	10	10	10	10
	ACE inhibition	37.10 ± 9.96	38.79 ± 9.47	38.23 ± 8.10	37.70 ± 10.46	22.76 ^b ± 5.51	36.91 ^a ± 7.62	40.43 ^a ± 5.83	42.22 ^a ± 9.43

¹⁾ Mean ± Standard deviation; soln=original solution; Conc.=Concentration

^{a, b} Means having same letter within same row in the same solution are not significantly different ($p > 0.05$).

ACE 억제율이 다른 효소적 가수분해의 ACE 억제율에 버금가는 것으로 보아 앞으로 이 가수분해물의 분리 및 동정을 통하여 생리활성을 띠는 peptide를 정제해 낼 수 있을 것으로 사료된다.

IV. 요약

본 실험은 한우 육단백질의 가수분해물로부터 항고혈압 활성을 측정하기 위하여 실시한 것으로서 한우 등심과 우둔으로부터 추출한 myosin B를 pepsin으로 가수분해하여 가수분해물들의 전기영동 결과, 가열처리와 가수분해 시간의 증가에 따라 단백질의 소실이 증가하였다. 항 고혈압 활성을 측정한 결과 10 ug/ml의 희석된 가수분해물의 ACE 억제효과는 1시간 이상 가수분해 시키면 약 40%의 억제율을 가졌다. 가수분해물 원액으로 ACE 억제효과를 살펴본 결과에서는 등심이 우둔보다 높았으며 ($p<0.05$), 비가열 가수분해물이 가열한 가수분해물 보다 억제율이 높게 나타났다 ($p<0.05$). 또한, 가수분해 시간별 처리구에서는 1시간 이상 가수분해 시키면 약 70% 이상의 억제율을 갖는 것으로 나타나 한우의 myosin B를 1시간 이상 가수분해하면 ACE 억제율이 증진되는 것으로 사료된다.

V. 사 사

본 연구는 2005년 농림부 농림기술사업의 지원(2005-0190)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

VI. 인용 문헌

1. Arihara, K., Nakashima, Y., Mukai, T., Ishikawa, S. and Itoh, M. 2001. Peptide inhibitors for angiotensin I-converting enzyme from enzymatic

hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. Meat Sci. 57:319-324.

2. Athukorala, Y. and Jeon, Y. J. 2005. Screening for angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of *Ecklonia cava*. J. Food Sci. Nutr. 10:134-139.
3. Coates, D. 2003. The angiotensin converting enzyme (ACE). Int. J. Biochem. Cell Biol. 35:769-773.
4. 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.
5. Fujita, H. and Yoshikawa, M. 1999. LKPNM : a prodrug-type ACE- inhibitory peptide derived from fish protein. Immunopharmacol. 44:123-127.
6. 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(4): 564-569.
7. Gavras, H., Faxon, D. P., Berkoben, J., Brunner, H. R. and Ryan, T. J. 1978. Angiotensin converting enzyme inhibition in patients with congestive heart failure. Circulation. 58:770-776.
8. Jang, A. and Lee, M. 2005. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from beef hydrolysates. Meat Sci. 69:653-661.
9. 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. Korean J. Food Sci. Technol. 45(2):319-326.
10. Je, J. Y., Park, J. Y., Jung, W. K., Park, P. J. and Kim, S. K. 2005. Isolation of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitor from fermented oyster sauce, *Crassostrea gigas*. Food Chem. 90: 809-814.
11. Katayama, K., Fuchu, H., Sakata, A., Kawahara,

- S., Yamauch, K., Kawamura, Y. and Muguruma, M. 2003. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of porcine skeletal muscle proteins following enzyme digestion. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16(3):417-424.
12. Kim, S. Y., Kim, S. H. and Song, K. B. 2003. Purification of an ACE inhibitory peptide from hydrolysates of duck meat protein. *Nutraceuticals & Food.* 8:66-69.
13. Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural pectins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature.* 227:680-685.
14. Lowry, O. H., Roserbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
15. Pihlanto-Leppälä, A., Rokka, T. and Korhonen, H. 1998. Angiotensin-I-converting Enzyme Inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *Int. Dairy J.* 8:325-331.
16. SPSS. 1995. SPSS for Windows, 6.1.2. SPSS Inc. Chicago, IL. USA
17. Wong, J., Patel, R. A. and Kowey, P. R. 2004. The clinical use of angiotensin- converting enzyme inhibitors. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 47(2):116-130.
- (접수일자 : 2006. 11. 27. / 채택일자 : 2006. 1. 8.)