

식품단백질 효소가수분해물의 Angiotensin-I 전환효소 저해작용

염동민 · 노승배 · 이태기* · 김선봉*† · 박영호*

양산전문대학 식품영양과

*부산수산대학교 식품공학과

Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitory Activity of Enzymatic Hydrolysates of Food Proteins

Dong-Min Yeum, Sung-Bae Roh, Tae-Gee Lee*, Seon-Bong Kim*† and Yeung-Ho Park*

Dept. of Food and Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan 626-800, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

Abstract

Enzymatic hydrolysates of food proteins (defatted soybean cake, egg albumin and casein) were tested for inhibitory activity against angiotensin-I converting enzyme (ACE). Food proteins were hydrolysed with complex enzyme, bromelain, alcalase, α -chymotrypsin, trypsin, papain and pepsin by heating method. The hydrolysates obtained from the treatment of complex enzyme and bromelain showed the higher ACE inhibitory activity. ACE inhibitory activity of hydrolysates exhibited a tendency to be increased until 8hrs and increased with increment of concentration. The activity was also stable by heat treatment at 100° C for 20min. Molecular weight of active fraction was about 1,400 and defatted soybean cake hydrolysate below 1,400 in case of defatted soybean cake hydrolysate treated with alcalase. Amino acid of the active fractions was abundant in Asp, Glu, Lys, Ile, Leu, Ala and Val.

Key words : angiotensin-I converting enzyme (ACE), protein hydrolysates, ACE inhibitory activity, amino acid composition

서 론

식품중에 함유되고 있는 성분에 의하여 노화나 발암 등 생체장애의 원인이나 돌연변이원성물질의 생성억제 및 불활성화와 생체의 대사기능조절 등의 해명에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다¹⁻⁷⁾.

식품성분이 갖는 생체조절기능의 한 예로서 최근 식품단백질의 소화효소에 의한 가수분해물로부터 opioid peptide나 혈압상승유발요인의 하나인 angiotensin-I 전환효소 저해작용을 가진 peptide 등의 생리활성 peptide가 점차 발견되고 있으며⁸⁻¹³⁾, 이러한 생리활성을 가지는 peptide의 화학적합성이나 protease에 의한 생합성 등이 연구되고 있다¹⁴⁻¹⁶⁾. 또한 이들 단백질 가수분해물에 항산화작용¹⁷⁾ 및 돌연변이원성 억제

작용¹⁸⁾이 있다고 밝혀지고 있다.

이와같이 식품중의 중요한 구성성분으로 함유되어 있는 단백질이 효소에 의하여 가수분해되면 여러가지 생리활성을 가지는 peptide가 생성될 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 단백질의 효소가수분해물에 의한 생리활성 peptide의 생성에 관한 연구의 일환으로 탈지 대두박, egg albumin 및 casein 가수분해물의 angiotensin-I 전환효소 저해작용에 대하여 살펴보았다.

재료 및 방법

실험재료

단백질 가수분해물 조제에 사용된 시료 단백질중 대두단백질은 장류 조제용 탈지대두박을 구입하여 마쇄한 후 200mesh 체로 거른 분말을 대두단백질로 하

† To whom all correspondence should be addressed

였고, egg albumin 과 casein은 Hayashi Pure Chemical Co. (Japan)로부터 각각 구입하였고, protease의 경우는 태평양 복합효소제 2,000(태평양화학), pepsin-(Sigma Co.), α -chymotrypsin(Sigma Co.), trypsin(Sigma Co.), papain(Sigma Co.), bromelain(Sigma Co.), alcalase(Novo Co.) 및 pancreatin(Merck Co.)을 각각 사용하였다.

Angiotensin-I 전환효소(ACE)는 토끼 허파의 acetone 추출물(Sigma Co.) 1g에 sodium borate buffer(pH 8.3) 10ml를 가하여 5°C에서 24시간 교반한 후 원심분리(10,000rpm, 30분)하여 얻은 상층액을 조효소액으로 하여 실험에 사용하였으며, 기질로는 Hippuryl-His-Leu(Sigma Co.)를 사용하였다.

실험방법

단백질 가수분해물의 조제

탈지분말시료에 10배량의 증류수를 가한 다음, 효소를 가하여 복합효소와 alcalase는 각각 50°C와 60°C에서, bromelain은 43°C, pancrease는 40°C, 그리고 pepsin, α -chymotrypsin, trypsin 및 papain은 37°C에서 각각 가수분해를 실시하였다.

단백질 및 peptide-N 함량

5% TCA(Trichloroacetic acid) 가용성 단백질함량 및 시료단백질 mg 당 5% TCA 가용성 peptide함량은 Lowry법¹⁹⁾ 및 개량 biuret법²⁰⁾에 의하여 각각 측정하였다.

아미노산의 분석

시료 0.2g을 정칭하여 ample에 넣고 6N HCl 10ml를 가하여 질소가스로 치환한 뒤 봉하여 110°C의 sand bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건고하여 HCl을 완전히 제거한 다음 증류수 10ml를 가하여 다시 감압건고한 후 구연산 완충액(pH 2.2)으로써 25ml로 정용하였다. 이의 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기(Hitachi 835)를 사용하여 정량하였다.

Angiotensin-I 전환효소(ACE) 저해작용의 측정

ACE 저해작용은 Cushman과 Cheung의 방법²¹⁾에 준하여 측정하였다.

갈변도의 측정

갈변도는 분광광도계(Shimadzu, UV-140-02)를 사용하여 420nm에서의 흡광도로서 나타내었다.

Gel 여과에 의한 가수분해물의 분획

Bio-gel P-2(Bio-Rad Co.)를 충전한 column(ϕ 3×55cm)을 사용하여 단백질 가수분해물 1g을 2ml의 증류수에 용해시켜 30ml/hr의 유속으로 용출시켰다. 이때 용출액 5ml씩을 받아 280nm에서의 흡광도 및 Lowry법¹⁹⁾에 의한 단백질의 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

식품단백질의 가수분해에 따른 ACE 저해작용의 변화

Angiotensin-I 전환효소(ACE)는 불활성형인 angiotensin-I의 C말단 dipeptide(His-Leu)를 절단하여 활성형인 angiotensin-II로 전환시킴으로서 혈압상승요인의 하나로 알려져 있다. ACE에 대한 단백질 가수분해물의 저해작용을 살펴보기 위하여, 가수분해시간에 따른 ACE저해작용을 Table 1에 나타내었다. 그 결과, 대두단백질의 가수분해에 따른 ACE 저해작용은 복합효소, pepsin, bromelain 및 alcalase로 가수분해하였을 때 큰 것으로 나타났으며, 가수분해시간의 경과와 더불어 가수분해 8시간까지는 급격히 증가하는 경향을 나타내었으나 그 후는 완만하게 증가하였다. 또한 8시간 이후에는 오히려 ACE 저해작용이 감소하는 경우도 있었다. Egg albumin의 경우에 있어서는 복합효소, pepsin, papain 및 pancrease에 의한 가수분해시 우수한 것으로 나타났으며, 특히 pepsin, alcalase 및 papain에 의한 경우는 가수분해 30분에도 ACE 저해작용이 매우 큰 것으로 나타났다. Casein의 경우에 있어서는 pepsin, bromelain 및 papain에 의한 가수분해시 특히 크게 나타났다. 그러나 가수분해 30분까지는 5% TCA 가용성 peptide의 생성이 거의 없어 ACE 저해작용의 측정이 불가능하였다. 이처럼 효소에 의한 단백질 가수분해중의 ACE 저해작용은 전반적으로 복합효소, bromelain, pepsin 및 alcalase에 의한 가수분해시 높은 것으로 나타나 여러 효소의 복합적인 분해에 의해 생성되는 서로 다른 구조나 사슬길이 및 아미노산 배열 순서를 가지는 여러종류의 peptide가 ACE 저해작용을 나타낼 것으로 생각된다.

한편 단백질을 8시간 가수분해하였을 때 ACE 저해작용이 대체로 좋은 것으로 나타났으나, egg albumin 및 casein이 생체내 소화효소인 trypsin이나 α -chymotrypsin과 같은 효소에 의한 가수분해시 가수분해시간의 경과와 함께 ACE 저해작용이 오히려 감소하는 것으로 나타났다. 이는 가수분해에 의해 생성된 ACE 저해작용을

Table 1. ACE inhibition effect of enzymatic hydrolysates of proteins on hydrolysis time

Protein	Enzymes	ACE inhibition ratio(%) ^{a)}			
		0.5 hr	8 hr	16 hr	24 hr
Defatted soybean cake	Complex enzyme	10.6	37.4	38.0	29.1
	Pepsin	14.9	38.3	32.6	43.9
	Bromelain	14.9	37.5	45.9	27.6
	Papain	14.5	22.7	27.3	30.7
	Alcalase	3.2	42.9	32.6	34.7
	α -Chymotrypsin	9.0	28.5	27.1	24.7
	Trypsin	7.0	23.4	27.3	30.5
	Pancrease	7.3	10.9	15.5	21.0
Egg albumin	Complex enzyme	13.0	46.7	48.1	21.3
	Pepsin	32.7	45.2	46.6	48.3
	Bromelain	24.0	41.7	22.1	23.8
	Papain	28.1	43.6	34.2	29.7
	Alcalase	30.4	31.6	23.8	17.5
	α -Chymotrypsin	19.4	32.3	24.2	28.1
	Trypsin	19.1	36.9	20.8	7.0
	Pancrease	17.6	44.5	41.3	19.8
Casein	Complex enzyme	-	21.0	22.1	25.3
	Pepsin	-	47.9	40.1	42.1
	Bromelain	-	40.7	45.6	48.1
	Papain	-	32.7	45.5	45.3
	Alcalase	-	29.8	16.7	16.1
	α -Chymotrypsin	-	21.0	23.3	13.2
	Trypsin	-	33.6	31.0	28.6
	Pancrease	-	16.5	13.1	10.1

^{a)}ACE inhibition ratio was determined with 50 μ l of hydrolysate containing 20 μ g of protein

Table 2. ACE inhibition effect on amount of protein hydrolysates

Protein hydrolysates (Enzyme used)	ACE inhibition ratio(%)			
	20 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g
DSH ^{a)} (Com) ^{b)}	11.8	14.1	29.2	39.8
DSH(Alc)	7.0	15.2	19.1	31.9
DSH(Pep)	6.4	8.0	10.1	22.6
ALH(Com)	9.9	28.7	27.7	54.5
ALH(Pep)	7.1	11.7	19.9	31.4
CAH(Com)	14.1	32.9	40.8	57.3
CAH(Bro)	14.7	32.1	46.7	71.1

^{a)}DSH, ALH and CAH denote defatted soybean cake, egg albumin and casein hydrolysate powders, respectively

^{b)}Com, Alc, Pep and Bro mean commercial enzyme, alcalase, pepsin and bromelain, respectively

나타내는 peptide가 가수분해의 진행에 따라 다시 분해되어 peptide의 사슬 길이나 구조 및 그 아미노산 배열이 달라지기 때문에 사용된 단백질 함량은 같으나 ACE 저해작용은 감소하는 것으로 생각된다. 이처럼 소화효소에 의하여 ACE 저해작용을 가진 peptide가 생성되는 한편 생성된 활성 peptide가 분해될 수도 있음을 알수 있으나 杉山 등²²⁾은 정어리 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 소화효소에 의한 분해에서도 60%이상의 잔존 활성을 나타내었다고 보고하였다.

이상의 결과에서 사용된 8가지 효소에 의한 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 주로 복합효소, bromelain, pepsin 및 alcalase의 경우에 우수한 것으로 나타났다. 따라서, 복합효소, alcalase 및 pepsin에 의한 탈지대두박 가수분해물, 복합효소와 pepsin에 의한 egg albumin 가수분해물 및 복합효소와 bromelain에 의한 casein 가수분해물을 조제하여 첨가량에 따른 ACE 저해작용을 살펴본 결과를 Table 2에 나타내었다. 그 결과, 이들의 ACE 저해작용은 bromelain에 의한 casein 가수분해물의 경우가 다른 것에 비해 우수한 것으로 나타났다. 이들 ACE 저해작용은 첨가량에 따라 증가하는 것으로 나타났는데, 이때 이들의 IC₅₀(ACE의 활성을 50% 억제하는데 요구되는 저해제의 양)은 각각 bromelain에 의한 casein 가수분해물이 115 μ g, 복합효소에 의한 casein 가수분해물은 125 μ g, 복합효소에 의한 egg albumin 가수분해물은 180 μ g인 것으로 나타났으며, 나머지는 200 μ g 이상인 것으로 나타났다.

단백질 가수분해물의 ACE 저해작용에 대한 가열의 영향

이들 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용에 있어서 가열의 영향을 살펴보기 위하여 가수분해물 50 μ g을

사용하여 100°C에서 20분간 가열한 뒤의 ACE 저해작용을 조사하여 Table 3에 나타내었다. 그 결과, 가열전

Table 3. Changes in ACE inhibition and browning intensity of protein hydrolysates before and after heating

Protein Hydrolysates (Enzyme used)	Browning intensity (O.D. at 420nm)		ACE inhibition ratio ^{a)} (%)	
	before	after	before	after
DSH ^{b)} (Com) ^{c)}	0.059	0.060	14.1	19.1
DSH(Alc)	0.049	0.078	15.2	13.5
DSH(Pep)	0.017	0.019	8.0	7.8
ALH(Com)	0.110	0.157	28.7	21.0
ALH(Pep)	0.020	0.021	11.7	17.5
CAH(Com)	0.012	0.014	32.9	27.6
CAH(Bro)	0.030	0.031	32.1	28.0

^{a)} Fifty micrograms of the hydrolysate powders was used for the ACE inhibition assay

^{b,c)} Refer to the comment in Table 2

Table 4. Comparison of ACE inhibition of protein hydrolysates at the same level of protein

Protein hydrolysates (Enzyme used)	Protein (μg)	ACE inhibition ratio (%)
DSH ^{a)} (Com) ^{b)}	20	21.2
DSH(Alc)	20	12.1
DSH(Pep)	20	18.6
ALH(Com)	20	20.9
ALH(Pep)	20	11.3
CAH(Com)	20	34.0
CAH(Bro)	20	29.7

^{a,b)} Refer to the comment in Table 2

Table 5. Amino acid composition of various protein hydrolysates

(% to total amino acid)

Amino acids	Protein hydrolysates (Enzyme used)						
	DSH ^{a)} (Com) ^{b)}	DSH(Alc)	DSH(Pep)	ALH(Com)	ALH(Pep)	CAH(Com)	CAH(Bro)
Asp	10.8	10.8	11.0	10.0	9.8	6.1	6.3
Thr	3.5	3.4	3.5	4.5	4.0	3.8	3.8
Ser	2.6	2.5	2.5	4.0	3.5	3.8	3.2
Glu	25.1	27.1	25.1	18.0	18.1	27.8	28.7
Gly	5.3	5.0	5.3	4.6	4.6	2.2	2.2
Ala	6.0	5.9	6.0	7.9	8.1	4.1	3.9
Val	5.0	4.6	5.0	6.9	7.1	7.8	7.7
Cys	0.2	0.3	0.1	1.2	1.4	0.1	0.2
Met	0.8	0.9	0.9	2.7	2.8	2.4	2.8
Ile	4.7	4.6	4.7	5.3	4.7	5.8	5.8
Leu	7.7	7.4	7.9	9.0	9.1	10.3	9.8
Tyr	3.8	3.6	4.1	3.6	3.7	3.4	3.6
Phe	4.8	4.6	4.6	5.6	5.5	4.9	4.6
Lys	9.5	9.2	8.9	8.9	9.4	10.3	10.2
His	3.1	3.2	3.1	2.9	3.1	3.7	3.8
Arg	7.1	6.9	7.2	4.9	5.1	3.6	3.4
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

^{a,b)} Refer to the comment in Table 2

후의 ACE 저해작용은 가열전에 비하여 가열후의 ACE 저해작용이 다소 낮은 것으로 나타났으나 전체적으로 큰 차이는 없는 것으로 나타나 단백질 가수분해물중의 ACE 저해작용을 가진 peptide는 비교적 가열에 안정한 저분자의 물질로 추정된다. 鈴木 등²³⁾도 식품중의 ACE 저해인자는 가열에 안정한 비교적 저분자의 물질이라고 보고하였다.

또한 420nm에서의 갈변도의 변화와 비교하여 볼 때 갈변도는 다소 증가하는 것으로 나타났으나 ACE 저해작용은 오히려 약간 감소하는 경향을 나타내어 가열에 의한 갈변은 ACE 저해작용에 거의 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 이때 가열에 의해 ACE 저해작용이 다소 증감하는 경향은 생성된 ACE 저해작용을 가진 peptide가 가열에 의하여 그 구조에 약간의 변화가 일어나기 때문으로 추정된다

효소에 따른 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용

효소의 종류에 따른 각 식품단백질의 가수분해물중의 단백질 함량을 20μg으로 동일하게 조정하고 그 때의 ACE 저해작용을 조사하여 Table 4에 나타내었다.

그 결과, 복합효소에 의한 casein 가수분해물의 ACE 저해작용이 가장 우수한 것으로 나타났으며, 그 다음으로 bromelain에 의한 casein 가수분해물, 복합효소에 의한 대두단백질 가수분해물 및 egg albumin 가수분해물의 순으로 나타나 이 ACE 저해작용에는 단백질이나 peptide의 양보다는 어떤 종류의 peptide가 존재

하는가에 영향을 받는다는 것을 알 수 있었으며, 이러한 ACE 저해작용은 한가지 종류의 peptide 뿐만 아니라 다른 여러 종류의 peptide도 ACE 저해작용을 나타낸다는 것이 시사되었다.

따라서 조제된 각 단백질 가수분해물의 아미노산 조성을 살펴본 결과(Table 5), 전반적으로 비슷한 경향을 나타내었으며, 특히 glutamic acid와 lysine의 함량이 많은 것으로 나타나 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 그 아미노산의 종류나 함량에도 다소 영향을 받으나, egg albumin 가수분해물의 경우는 glutamic acid의 함량이 적은 반면 alanine 및 cysteine의 함량이 다소 많은 것으로 미루어 그 구성 peptide의 종류나 아미노산 배열에 더 큰 영향을 받을 것으로 생각된다.

ACE 저해 활성획분의 분획 및 아미노산 조성

앞의 결과에서 효소에 의한 단백질 가수분해물은 ACE 저해작용이 매우 우수한 것으로 나타나 이들 인자를 보다 구체적으로 살펴보기 위하여 Bio-gel P-2를 사용하여 gel 여과를 실시하고 분리된 각 획분들의 ACE 저해작용에 대하여 살펴보았다.

대두 단백질 가수분해물의 분획에 따른 각 획분별 280nm에서의 흡광도 및 단백질함량은 Fig. 1과 같다. 그 결과 복합효소에 의한 대두단백질 가수분해물로부터는 9개의 획분을 얻었으며, 같은 방법으로 alcalase 및 pepsin에 의한 탈지대두박 가수분해물로부터는 각각 7개 및 5개의 획분을 얻었다. 그리고 복합효소와 pepsin에 의한 egg albumin 가수분해물에서는 각각 5개씩의 획분을 얻었으며 복합효소와 bromelain에 의한 casein 가수분해물로부터는 각각 8개, 6개씩의 획

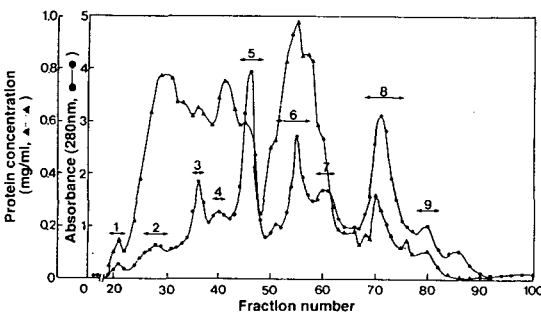


Fig. 1. Gel permeation chromatography of defatted soybean cake hydrolyzed with complex enzyme on the Bio-gel P-2 column.

분을 얻었다. 이 때 분리된 각 단백질 가수분해물의 획

Table 6. ACE inhibition of the fractions separated from defatted soybean cake hydrolysates on Bio-gel P-2 column

Protein hydrolysates (Enzyme used)	Fractions	ACE inhibition ratio ^{a)} (%)
DSH ^(Com) ^{b)}	Part 1 (Fraction No. 20~23)	0
	Part 2 (Fraction No. 26~30)	0
	Part 3 (Fraction No. 35~37)	34.6
	Part 4 (Fraction No. 39~41)	26.4
	Part 5 (Fraction No. 44~48)	20.7
	Part 6 (Fraction No. 51~57)	10.7
	Part 7 (Fraction No. 59~62)	1.5
	Part 8 (Fraction No. 68~75)	1.2
	Part 9 (Fraction No. 78~82)	0
DSH (Alc)	Part 1 (Fraction No. 23~28)	0
	Part 2 (Fraction No. 33~39)	8.6
	Part 3 (Fraction No. 41~46)	18.6
	Part 4 (Fraction No. 48~52)	4.7
	Part 5 (Fraction No. 56~62)	14.1
	Part 6 (Fraction No. 64~69)	23.7
	Part 7 (Fraction No. 73~79)	3.7
DSH (Pep)	Part 1 (Fraction No. 22~26)	14.5
	Part 2 (Fraction No. 28~32)	17.6
	Part 3 (Fraction No. 34~40)	20.4
	Part 4 (Fraction No. 41~47)	18.4
	Part 5 (Fraction No. 48~54)	18.4
ALH (Com)	Part 1 (Fraction No. 22~27)	4.7
	Part 2 (Fraction No. 37~42)	39.2
	Part 3 (Fraction No. 51~55)	17.0
	Part 4 (Fraction No. 60~63)	1.3
	Part 5 (Fraction No. 67~69)	2.4
ALH (Pep)	Part 1 (Fraction No. 20~24)	12.5
	Part 2 (Fraction No. 26~29)	15.3
	Part 3 (Fraction No. 30~35)	11.1
	Part 4 (Fraction No. 38~44)	25.0
	Part 5 (Fraction No. 46~50)	32.2
CAH (Com)	Part 1 (Fraction No. 21~26)	14.0
	Part 2 (Fraction No. 28~32)	30.8
	Part 3 (Fraction No. 37~41)	48.4
	Part 4 (Fraction No. 43~48)	46.0
	Part 5 (Fraction No. 51~55)	17.2
	Part 6 (Fraction No. 57~60)	17.1
	Part 7 (Fraction No. 63~66)	10.2
	Part 8 (Fraction No. 72~77)	6.8
CAH (Bro)	Part 1 (Fraction No. 20~25)	1.4
	Part 2 (Fraction No. 29~34)	37.9
	Part 3 (Fraction No. 35~37)	42.0
	Part 4 (Fraction No. 39~47)	48.8
	Part 5 (Fraction No. 49~56)	9.9
	Part 6 (Fraction No. 58~68)	10.1

^{a)} ACE inhibition ratio was determined with 50μl of hydrolysate containing 20μg of protein

^{b)} Refer to the comment in Table 2

Table 7. ACE inhibition effects of the active fraction on Bio-gel P-2 column

Protein hydrolysates (Enzyme used)	Fractions	IC ₅₀ (μg protein/μg powder)
DSH ^{a)} (Pep) ^{b)}	Part 3	26.4/124
ALH (Com)	Part 2	43.9/ 95
CAH (Com)	Part 3	37.1/121
CAH (Bro)	Part 4	26.9/ 75

^{a,b)} Refer to the comment in Table 2

Table 8. Amino acid composition of active fractions on Bio-gel P-2 column of egg albumin hydrolysates by complex enzyme
(% to total amino acid)

Amino acids	Fractions	
	Part 2 of ALH(Com) ^{a)}	Part 3 of ALH(Com)
Asp	12.0	8.9
Thr	4.3	2.7
Ser	2.8	3.7
Glu	21.2	12.1
Gly	5.5	4.0
Ala	6.7	5.9
Val	8.2	5.7
Cys	1.3	0.3
Met	2.1	5.9
Ile	5.9	6.6
Leu	9.1	8.0
Tyr	1.7	2.6
Phe	2.3	5.6
Lys	11.6	7.6
His	3.1	10.3
Arg	2.2	10.1
Total	100.0	100.0

^{a)} ALH(Com) denotes egg albumin hydrolysates by complex enzyme

분별 ACE 저해작용을 살펴본 결과는 Table 6과 같다.

복합효소에 의한 탈지대두박 가수분해물의 획분별 ACE 저해작용은 획분 3, 4가 우수한 것으로 나타났으며, alcalase에 의한 경우는 전체적으로 다소 낮으나 획분 6에서 가장 크게 나타났다. Pepsin에 의한 탈지대두박 가수분해물의 획분별 ACE 저해작용도 alcalase에 의한 경우와 마찬가지로 다소 낮으나 획분별 차이가 거의 없는 것으로 나타났다.

복합효소에 의한 egg albumin 가수분해물의 획분별 ACE 저해작용은 획분 2가 가장 큰 것으로 나타났으며, pepsin에 의한 경우는 획분 5가 가장 큰 것으로 나타났다.

복합효소에 의한 casein 가수분해물의 획분별 ACE

Table 9. Amino acid composition of the active fractions separated from each protein hydrolysate on Bio-gel P-2 column
(% to total amino acid)

Amino acids	Fractions			
	Part 3 of DSH ^{a)} (Com) ^{b)}	Part 2 of ALH (Com)	Part 3 of CAH (Com)	Part 4 of CAH (Bro)
Asp	12.0	12.0	10.8	4.5
Thr	4.2	4.3	10.9	3.0
Ser	2.8	2.8	6.7	2.2
Glu	25.8	21.2	22.3	22.3
Gly	5.6	5.5	2.9	2.0
Ala	7.8	6.7	3.4	5.3
Val	5.2	8.2	-	5.8
Cys	0.1	1.3	0.5	-
Met	1.2	2.1	2.5	3.5
Ile	5.4	5.9	11.7	5.4
Leu	7.6	9.1	8.6	10.1
Tyr	2.5	1.7	2.1	2.9
Phe	2.3	2.3	1.6	2.9
Lys	9.3	11.6	10.4	17.9
His	2.9	3.1	2.6	7.6
Arg	5.3	2.2	3.0	4.6
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

^{a,b)} Refer to the comment in Table 2

저해작용은 획분 3이 가장 우수한 것으로 나타났으며, bromelain에 의한 경우는 획분 4가 가장 우수한 것으로 나타났다. 이처럼 단백질 가수분해물의 획분별 ACE 저해작용은 전반적으로 fraction number 40을 전후하여 ACE 저해작용이 큰 것으로 밝혀졌는데, peptide 화합물인 bacitracin (MW ; 1,422.71)과 streptomycin sulfate (MW ; 1,457.4)를 사용하여 분자량을 추정된 결과, 이들 ACE 저해획분의 분자량은 약 1,400부근인 것으로 나타났다. 그러나 alcalase에 의한 탈지대두박 가수분해물의 ACE 저해작용 획분은 fraction number 65 부근인 것으로 미루어 이들의 분자량은 1,400보다 적다는 것이 시사되었다.

한편 이들 ACE 저해작용을 갖는 활성획분의 IC₅₀을 살펴본 결과 (Table 7), pepsin에 의한 탈지대두박 가수분해물의 획분 3, 복합효소에 의한 egg albumin 가수분해물의 획분 2 및 casein 가수분해물의 획분 3, bromelain에 의한 casein 가수분해물의 획분 4의 IC₅₀은 각각 26.4, 43.9, 37.1 및 26.9 μg protein으로 나타났다.

따라서 이들 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용에 있어서 아미노산의 영향을 살펴보기 위하여 복합효소에 의한 egg albumin 가수분해물의 획분 2, 3의 아미노산 조성을 살펴본 결과 (Table 8), 서로 다른 경향을 나타내었다. 또한 앞의 결과에서 ACE 저해작용이 우수

하게 나타난 획분들의 아미노산 조성을 살펴본 결과 (Table 9), 전체적으로 산성 아미노산인 aspartic acid, glutamic acid의 함량이 큰 것으로 나타났으나 각 단백질 가수분해물간의 아미노산 조성은 서로 다른 것으로 나타났다. 이러한 결과로 미루어 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용은 그 구성 아미노산의 조성이나 함량에도 다소의 영향을 받을 것으로 생각되나 그 구성 peptide의 종류나 아미노산의 배열에 더 큰 영향을 받을 것으로 생각되며, peptide의 길이나 구조에 의해서도 영향을 받는다는 것이 강하게 시사되었다.

따라서 단백질 가수분해물이 나타내는 ACE 저해작용은 단백질의 가수분해에 의해 생성된 저분자 peptide의 길이나 구조 및 아미노산의 종류나 배열순서 등의 복합적인 작용에 의하여 angiotensin-I 전환효소에 대하여 저해작용이 있는 것으로 추정된다.

요 약

효소에 의한 가수분해로 식품단백질로부터 생리활성 peptide의 생성을 밝히기 위한 연구의 일환으로 효소에 의한 단백질 가수분해물의 ACE 저해작용을 검토한 결과는 다음과 같다. 1. 가수분해에 따른 ACE 저해능은 가수분해 8시간까지는 급격히 증가하다가 그 후로는 완만하게 증가하였으며, 특히 복합효소, bromelain 및 pepsin 등에 의해 우수하게 나타났다. 그러나 trypsin 및 α -chymotrypsin에 의한 egg albumin 및 casein 가수분해시에는 가수분해 8시간 이후에는 오히려 감소하는 경향을 나타내었다. 2. 단백질 가수분해물의 ACE 저해능은 첨가량의 증가와 함께 우수한 것으로 나타났으며, 가열에 대하여 비교적 안정한 것으로 나타났다. 3. 단백질 가수분해물의 아미노산 조성은 거의 유사한 것으로 나타났으며, 특히 glutamic acid의 함량이 월등히 많은 것으로 나타났다. 그러나 egg albumin 가수분해물의 경우는 glutamic acid의 함량이 적은 반면 alanine 및 cysteine의 함량이 다소 많은 것으로 나타났다. 4. Gel 여과에 의한 단백질 가수분해물의 획분별 ACE 저해작용은 서로 비슷한 획분에서 나타났으며 이 때의 분자량은 1,400부근으로 나타났다. 5. Gel 여과에 의한 ACE 저해작용 획분의 아미노산 조성은 서로 다른 것으로 나타났다.

문 헌

1. 小林彰夫：食品研究の新しい潮流-2. 3. 外因性およ

- び内因性の食慾調節因子. 化学と生物, 25, 203(1987)
2. 上野川修一, 東 徳洋, 山内邦男：食品研究の新しい潮流-2. 4. 食品中に存在する細胞成長因子. 化学と生物, 25, 207(1987)
3. 村上浩紀, 大村浩久：食品研究の新しい潮流-3. 5. 食品成分による生體防御. 化学と生物, 25, 268(1987)
4. 荒井綜一, 前田明子：食品研究の新しい潮流-4. 7. 先天性アミノ酸代謝異常症と新しい食品. 化学と生物, 25, 332(1987)
5. 松下雪郎：食品研究の新しい潮流-4. 8. 生體の老化を抑制する食品. 化学と生物, 25, 336(1987)
6. 岩井和夫：食品研究の新しい潮流-5. 9. 食品成分による膵酵素の分泌調節機構. 化学と生物, 25, 392(1987)
7. 千葉英雄, 吉川正明：食品研究の新しい潮流-5. 10. 食品起源の生體調節因子. 化学と生物, 25, 396(1987)
8. Yoshikawa, M., Yoshimura, T. and Chiba, H. : Opioid peptides from human β -casein. *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3185(1984)
9. Yoshikawa, M., Tani, F., Ashikaga, T., Yoshimura, T. and Chiba, H. : Purification and characterization of an opioid antagonist from a peptic digest of bovine κ -casein. *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2951(1986)
10. Tani, F., Iio, K., Chiba, H. and Yoshikawa, M. : Isolation and characterization of opioid antagonist peptides derived from human lactoferrin. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1803(1990)
11. Maruyama, S., Nakagomi, K., Tomizuka, N. and Suzuki, H. : Angiotensin-I converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II. Isolation and bradykinin potentiating activity on the uterus and the ileum of rats. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 1405(1985)
12. Maruyama, S., Mitachi, H., Awaya, J., Kurono, M., Tomizuka, N. and Suzuki, H. : Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of the C-terminal hexapeptide of α_1 -casein. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2557(1987)
13. 千葉英雄, 吉川正明：食品タンパク質に由来する生理活性ペプチド. 化学と生物, 29, 454(1991)
14. 泉屋信夫：生理活性ペプチドの化学合成. 化学と生物, 20, 220(1982)
15. 麻生慶一：プロテアーゼによる機能性オリゴペプチドの合成. 化学と生物, 28, 267(1990)
16. 水野健作, 松尾壽之：生理活性ペプチド前駆體のプロセッシングに關するプロテアーゼ. 化学と生物, 23, 2(1985)
17. 김선봉, 염동민, 여생규, 지청일, 이용우, 박영호：酵素에 의한 蛋白質 加水分解物의 抗酸化作用. 한국식품과학회지, 21, 492(1989)
18. 박영호, 염동민, 김선봉：돌연변이원성 카르보닐화합물에 대한 단백질 가수분해물의 돌연변이원성 억제작용. 한국노화학회지, 2, 16(1992)
19. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
20. 梅本 滋：ビュレット反應による魚肉タン白定量法の

改良. 日水誌, 32, 427(1966)

21. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. : Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharm.*, **20**, 1637 (1971)
22. 杉山圭吉, 高田康二, 江川 眞, 山本郁雄, 思塚 博, 大

場健吉 : 魚タンパク加水分解物の高血壓抑制作用. 日本農藝化學誌, **65**, 37(1991)

23. 鈴木建夫, 石川宣子, 目黒 熙 : 食品中のアンジオテンシン轉換酵素 阻害能について. 日本農藝化學會誌, **57**, 1143 (1983)

(1992년 11월 19일 접수)