

한국산 검정콩 색소의 생리활성효과

손 준 호 / 한국식품연구소 연구팀

Physiological Effect of Korean Black Soybean Pigment

Jun-Ho Son

Research Team, Korea Advanced Food Research Institute

Abstract

Physiological effects of Korean black soybean pigment were investigated. Major anthocyanin pigments of Korean black soybean were extracted with 1% HCl for 24 hours at 4°C. Inhibitory effects of angiotensin converting enzyme (IC₅₀) were 0.22mg/mL (Kumjungkong #1), 0.28mg/mL (Ipumkumjungkong) and 0.38mg/mL (Milyang #95). Inhibitory effects xanthine oxidase (IC₅₀) were 0.118mg/mL (Kumjungkong #1), 0.165mg/mL (Ipumkumjungkong) and 0.163mg/mL (Milyang #95). The cPLA₂ inhibitory effects(IC₅₀) were 19.7μg/mL, 10.7μg/mL and 25.3μg/mL. The cytotoxic effects of anthocyanins from Milyang #95 were 66.0% against human colon cell line (HT29), 58.2% against human liver cell line (HepG2) and 64.4% against mouse liver cell line (Hepa), respectively.

서론

우리 나라 콩의 재배 역사는 4,000년이 넘고 그 원산지는 우리 나라를 포함한 중국의 동북부로 우리 민족과 콩은 그 기원과 함께 불가분의 관계가 있을 것으로 생각된다. 콩을 식용으로 하면서 콩속에 들어있는 많은 영양소들이 우리들 조상의 건강을 지켜 주었고 현재에도 우리 식단에서 건강을 지켜주고 있는 식품이다⁽¹⁾.

콩은 동·서양을 막론하고 단백질 및 지질의 공급원으로서 식품 및 사료로, 특히 동양에서는 단백질 및 지질 공급원 외에 발효식품이나 비발효식품으로도 다양하게 이용되어 왔다⁽²⁾. 콩에 함유된 주요 성분들은 단백질이 40%, 지질이 20%, 탄수화물이 35%, 기타성분이 5% 정도로 구성되어 있다. 이들 성분은 단백질, 지질, 탄수화물, 비타민, 무기물 등과 같은 영양 성분과 생리활성을 나타내는 식물성 물질(phytochemicals)인 비영양 성분으로 구분할 수 있다⁽³⁾. 콩은 종실성분 중 단백질과 지질이 풍부하여 그 영양학적 중요성이 전 세계적으로 강조되며, 쌀, 보리, 밀 등의 전분성 곡물이 가지는 영양학적 결점을 보완하는 중요한 곡물로 평가되고 있다.

검정콩을 비롯한 식물의 열매, 꽃, 과일, 줄기, 잎, 뿌리 등에 폭넓게 함유되어 있는 안토시아닌은 적색, 자색, 청색을 나타내는 수용성 flavonoid 색소이다⁽⁴⁾. 이 안토시아닌은 그리스어로 꽃을 의미하는 anthos와 푸른색을 의미하는 kyanos로부터 유래되었으며 1835년 Marquart가 꽃의 푸른 색소를 명명하기 위하여 최초로 이 말을 사용하였다. 안토시아닌은 일반적으로 식물체의 액포 혹은 세포질에 배당체 형태로 존재하며, 가수분해가 되면 당이 제거된 aglycone인 안토시아니딘이 생성된다. 기본적으로 안토시아닌 색소는 안토시아니딘과 당의 결합으로 구성되지만 경우에 따라서 3번, 5번위치 혹은 7번위치에 glucose, rhamnose, galactose, xylose, arabinose 등이 결합하여 3,5-diglycoside, 3-monoglycoside, 3-biosides, 3-trioside 및 3,7-diglycoside 등으로 구성하고 있으며 이 당고리에 방향족 혹은 비방향족 유기산이 결합되기도 하고, 그 결합방법에 의해 자연계에 다양하게 존재한다⁽⁵⁾.

최근 안토시아닌 색소는 청량음료, 잼, 사탕 등 가공식품의 첨가제로 활용도가 높다. 가공식품은 특유의 색을 가지고 있으나 가공 또는 저장 중에 고유의 색상이 변하기도 하고 영양적 가치도 변하게 되는데, 안토시아닌의 첨가는 식품자체 고유색의 변색 또는 퇴색을 방지하거나, 고유의 색을 보완 미화시켜 식품의 가치를 높이는 효과가 있다. 안토시아닌은 유지 및 가공식품의 저장성을 증진시키는 식품보존제로서의 기능도 보고되고 있으며, 식품첨가제 외에 향장공업의 착색원료 및 의약품에도 적극 활용되고 있다. 안토시아닌 색소는 주로 적색으로 독성이 없고, 채소나 과일의 부산물로도 가공이 가능하여 유해성 문제가 대두되는 합성착색료의 대체용으로 청

량음료, 주류, 기타 분말제품에 확대 이용될 수 있을 것이며, 향후 국민소득의 증대 및 식생활 선진화 추세에 따라 천연색소의 수요가 계속 늘어날 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 한국산 검정콩종피의 색소를 추출하여 그 생리활성을 부각 시킴으로써 기능성식품 소재의 활용으로 국민 보건 향상은 물론 농가 소득증대에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 검정콩(*Glycine max* Merr)은 1998년 농촌진흥청 영남 시험장에서 분양 받은 검정콩 1호, 일품검정콩, 밀양95호를 선정하여 세척 후 건조하여 사용하였다.

검정콩 종피의 추출

검정콩의 종피를 벗겨낸 다음 종피만을 분리한 후 1% HCl 용액에 4°C에서 24시간 동안 담그어 색소를 추출하였다. 추출된 색소는 0.45 μ m membrane filter로 여과한 다음 Sep-pak plus C18 cartridge(Waters, USA)를 적용하여 물층을 통과시킨 후 흡착된 색소는 메탄올로 용출시켰다. 이를 질소 gas 하에서 농축시켜 본 실험용 시료로 사용하였다.

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해

Angiotensin converting enzyme 저해 효과 측정은 Cushman 등⁽⁶⁾의 방법을 변형하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3M NaCl을 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 기질인 Hippuryl-L-histidyl-L-leucine (HHL) 2.5mM을 녹인 액 0.15mL, ACE (0.2unit/mL) 0.1mL와 각 추출시료 용액 0.1mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1N HCl 0.25mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 1.5mL의 ethylacetate를 첨가하였다. Ethylacetate층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 228nm에서 측정할 후 다음 식에 따라 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}} \right) \times 100$$

Xanthine oxidase 저해

Xanthine oxidase 활성 저해 측정은 Stirpe와 Corte⁽⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 반응구는 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 xanthine 2mM을 녹인 기질액 0.4mL에 xanthine oxidase (0.2unit/mL) 0.2mL와 시료액 0.2mL를 가하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 0.2mL 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시키고 20% trichloroacetic acid (TCA) 1mL를 가하여 반응을 종료시키고 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292nm에서 측정하여, 다음 식으로 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}} \right) \times 100$$

Phospholipase A₂ 저해활성조사

효소는 cPLA₂ (cytosolic PLA₂)와 sPLA₂ (secretory PLA₂)를 cloning 하여 sf-9 cell에서 발현시킨 후 정제한 것을 사용하였고 기질은 1-palmitoyl-2-[1-¹⁴C]arachidonyl-L-3-phosphatidylethanolamine (Amersham Co.)을 사용하였으며, 저해활성 측정은 1M Tris-HCl buffer(pH 9.0) 20 μ L, 60mM CaCl₂ 20 μ L, 20nmole의 기질 140 μ L, 20ng의 PLA₂를 함유한 전체용적 200 μ L의 반응용액을 37°C 항온수조에서 진탕하면서 20분 동안 반응시킨 후 생성된 유리지방산을 Dole의 방법⁽⁸⁾으로 추출하였다. 즉 반응액에 Dole's 용액을 넣어 반응을 정지시킨 후, n-heptane과 증류수를 가하여 혼합한 후 원심분리 하여 n-heptane을 분리하였다. 여기에 100mg의 silica gel을 넣어 미반응 기질을 흡착시킨 후 n-heptane층을 취하고 액체섬광계수기 (liquid scintillation counter)로 유리된 [¹⁴C] 지방산의 양을 측정하였다. 저해활성은 기질만 처리한 대조

구에 대하여 백분율로 나타내었다.

암세포 증식 억제능

검정콩 종피색소의 암세포주 (human colon HT-29, human liver HepG2, mouce liver Hepa)에 대한 세포 증식 억제효과는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 방법⁽⁹⁾으로 조사하였다. 배양된 암세포에 배지를 첨가하고 잘 혼합하여 암세포수를 1×10^4 cells/mL로 조정한다. 다음, 96 well microtiter plate에 준비된 암세포를 180 μ L씩 첨가하고 24시간 동안 배양시킨 후 각 농도의 종피 색소 추출물을 20 μ L씩 well에 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 하에서 48시간 배양하였으며 이 때 대조군은 시료대신 배지를 동량 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 배양 후 MTT 시약을 20 μ L를 첨가한 후 다시 4시간 더 배양하였다. 배양종료 후 생성된 formazon 결정을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해시켜 cell plate reader로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 증식 억제효과는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Cytotoxicity(\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

결과 및 고찰

검정콩 품종별 조색소의 추출

검정콩 중 세가지 품종, 검정콩 1호, 일품검정콩, 밀양 95호를 선택하여 조색소액을 추출한 다음 Sep-pak plus C18 cartridge에 1% HCl액을 통과시킨 후 흡착된 색소는 메탄올로 용출하여 이를 HPLC를 이용하여 분석하였다. 검정콩 1호의 경우는 한가지 색소, 즉 cyanidin-3-glucoside (C3G)로만 구성되어 있었으며, 일품검정콩은 cyanidin-3-glucoside (C3G)와 delphinidin-3-glucoside (D3G)로, 밀양 95호는 C3G와 D3G 외의 색소를 미량 함유하는 것으로 나타났고, 이들 각각의 조성을 정량한 결과 Fig. 1과 같이 검정콩 1호는 C3G가 100%, 일품검정콩은 C3G와 D3G를 72%, 24%를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 밀양 95호는 C3G와 D3G 외의 색소를 약 15%정도 함유하고

있는 특이성이 있어 이들 세 가지 품종을 선택하여 기능성 검증실험을 실시하였다.

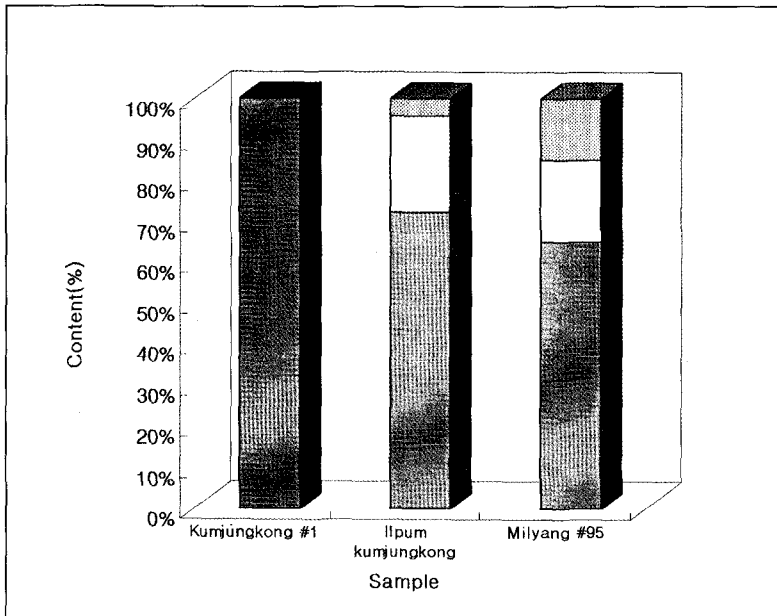


Fig. 1. Anthocyanin content in black soybean pigments.

■ : C-3-G, □ : D-3-G, ▨ : Unidentified

Angiotensin converting enzyme 저해

Angiotensin converting enzyme은 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I 으로부터 C-말단의 dipeptide를 가수분해시킴으로써 강력한 혈관수축작용을 갖는 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. 이러한 angiotensin converting enzyme에 대한 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 2에서 보는 바 같이 300ppm 농도에서 검정콩 1호의 안토시아닌 용액은 66%, 일품검정콩은 51%, 밀양 95호는 37%의 저해율을 나타내었으며 검정콩 1호의 저해율이 가장 높았다. 150ppm에서는 30, 27, 23% 등으로 거의 유사한 저해율을 보여주었다. 또한 IC₅₀은 검정콩 1호 색소액의 경우 0.22mg/mL, 일품검정콩은 0.28mg/mL, 밀양 95호는 0.38mg/mL로 나타났다. 황⁽¹⁰⁾이 보고한 메주 유래의 *B. subtilis* SCB-3으로 제조된 된장의 ACE 저해효과에서 여러군의 된장의 IC₅₀ 값과 유사하게 나타났으며 류 등⁽¹¹⁾이

보고한 알로에 아세틸만난의 ACE 저해효과와도 유사하였고, 서 등⁽¹²⁾의 된장으로부터 Sephadex LH-20, ODS column chromatography와 HPLC를 이용하여 정제한 시료의 IC₅₀ 값이 0.6mg/mL인 것과 비교하면 약 2배의 저해능을 나타낸 것으로 보고되었다. 서 등⁽¹³⁾이 보고한 오징어가수분해물의 IC₅₀ 값은 24.1mg/mL이었으며 이것을 아세톤 분획하여 Sephadex G-25, Dowex 1X-8, Sephadex LH-20, ODS를 통과시켜 정제한 물질의 IC₅₀이 0.6mg/mL 이라고 보고하였다.

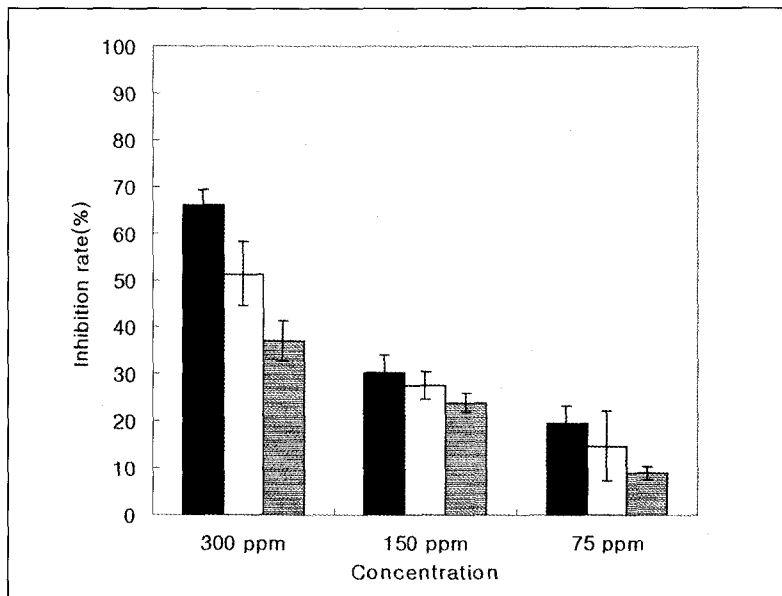


Fig. 2. Inhibition of angiotensin converting enzyme by black soybean pigments.
 ■ : Kumjungkong #1, □ : Ilpumkumjungkong, ▨ : Milyang #95

Xanthine oxidase 저해

통풍을 일으키는 원인 물질인 요산은 hypoxanthine과 xanthine에서 xanthine oxidase의 촉매로 산화되어 요산이 되며 요산 생성 효소인 xanthine oxidase는 Mo와 Fe를 함유하는 flatoprotein이다. 이러한 요산을 생성하는 xanthine oxidase에 대한 활성저해능을 측정된 결과 Fig. 3에서 나타난 것과 같이 세가지 품종의 색소 모두

250ppm에서는 70%이상의 효소활성 억제능이 있는 것으로 나타났다. 125ppm 농도에서도 거의 50%의 저해능을 보여주었으며, 이중 검정콩 1호의 anthocyanin 용액이 500ppm에서 59.6%의 저해율을 보여 가장 높았다. Xanthine oxidase의 활성을 50% 저해하는 농도 IC₅₀은 검정콩 1호의 경우 0.118mg/mL, 일품검정콩은 0.165mg/mL, 밀양 95호는 0.163mg/mL로 나타나 김 등⁽¹⁴⁾이 보고한 해조류 추출물의 XOase 저해 작용에서 밝힌 감태 매탄올 추출물이 400ppm 농도에서 53.1%로 나타나 검정콩 색소의 저해율과 유사하게 나타났으며 조 등⁽¹⁵⁾이 보고한 한국산 녹차의 아세톤 추출물 보다는 높은 저해율을 보였으며, 분리된 polyphenol 물질보다는 낮은 저해율을 보였다.

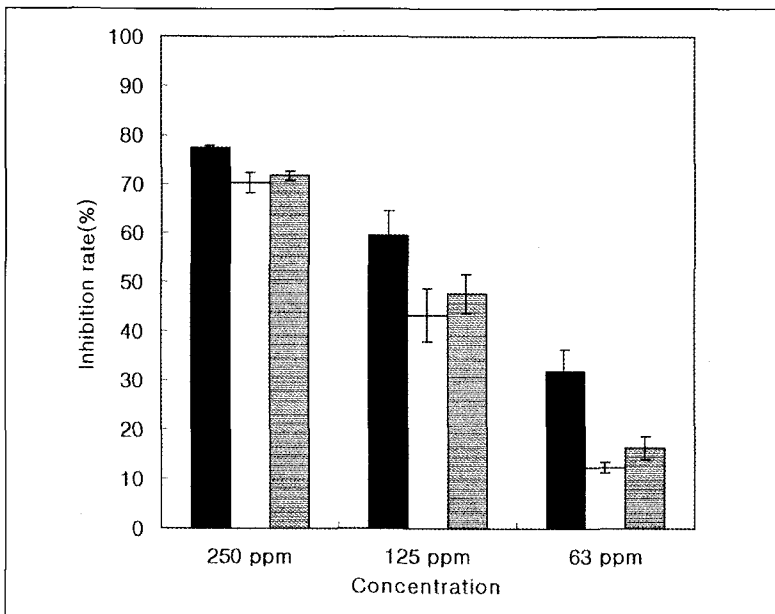


Fig. 3. Inhibition of xanthine oxidase by black soybean pigments.
 ■ : Kumjungkong #1, ▨ : Ilpumkumjungkong, ▩ : Milyang #95

Phospholipase A₂(PLA₂) 저해활성

혈소판 세포에 분포하며, 류마티스성 관절염을 앓고 있는 환자의 synovial fluid에서도 가용성 형태로 발견되어 염증과 관련된 질병에 관여하고 있는 것으로 알려져 있는 cPLA₂의 저해활성을 살펴본 결과(Table 1) 색소추출액의 최종농도가 125μg/mL

이 되도록 조제하여 첨가하였을 때 각각 샘플은 94, 97, 99%의 저해능을 보였으며, 15.6 μ g/mL가 되도록 첨가하였을 때에는 46, 57, 30%의 저해능을 나타내었다. 일품검정콩의 경우에는 저농도에서도 저해능이 비교적 높게 유지되었으며 sPLA₂에 대하여서는 저해능을 나타내지 않아 특이성을 보여주었다. IC₅₀을 조사해 본 결과 19.7, 10.7, 25.3 μ g/mL로 일품검정콩이 가장 높게 나타났으며 염증유발을 억제하고 지질과산화물의 축적을 저해할 것으로 사료된다. 진 등⁽¹⁶⁾은 가수분해형 탄닌 1-desgalloyljugosin-F에 의한 cPLA₂에 대한 활성저해를 살펴본 결과 DGRF농도를 증가시킴에 따라 활성을 저해시켜 농도 의존적인 양상을 보였으며 IC₅₀값은 3.2 μ M로 나타났으며 60 μ M DGRF에 의해 효소활성이 완전히 억제되었으며 sPLA₂의 활성에 대하여는 저해를 나타내지 않아 일치하는 결과를 나타내었다.

Table 1. cPLA₂ inhibitory effects of anthocyanin solution of black soybean pigments

| Sample | IC ₅₀ (μ g/mL) |
|------------------|--------------------------------|
| Kumjungkong #1 | 19.7 |
| Ilpumkumjungkong | 10.7 |
| Milyang #95 | 25.3 |

암세포 증식 억제능

검정콩 색소의 항암 효과를 검색하기 위하여 인간과 마우스로부터 유래한 세가지 암세포를 사용하여 본 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 인간 유래의 결장암 세포인 HT29 cell line에 대한 색소추출물의 세포 증식 저해율은 세가지 품종 모두 0.5mg/mL의 농도에서 50% 이상의 저해율을 나타내어 증식 억제능이 높은 것으로 나타났으며 그 중에서 밀양 95호의 경우 66%까지 억제능을 나타내어 가장 높은 저해율을 나타내었다. 그리고 인간 유래의 간암 세포인 HepG2 cell line에 대한 세포 증식 억제능을 본 결과 0.5mg/mL에서 검정콩 1호는 42.1%로 비교적 낮은 수치를 보였지만 다른 품종에서는 56.4%, 58.2%로 50%이상의 저해능을 나타내어 비교적 효과

가 있는 것으로 나타났다. 마우스 유래의 간암 세포인 Hepa cell line에 대한 억제능을 본 결과 HepG2와 유사한 결과를 보여 세 품종 중에서는 밀양 95호의 암세포 증식 억제능이 가장 높은 것으로 나타나 색소 성분이 하나인 검정콩 1호 보다는 세 가지 모두를 함유하고 있을 때 더 높은 저해능이 있는 것으로 확인되었다. 이 등⁽¹⁷⁾이 보고한 영지 균사체의 액체배양액 중 세포의 수용성 다당 (BWS)과 균사체 유래의 수용성 다당 (MWS)의 분획의 mouse leukemia L1210에 대한 암세포 증식 억제능이 600 μ g/mL의 농도에서 86%와 89%로 나타났으며, 한 등⁽¹⁸⁾이 보고한 전통 메주에서 분리된 단독균으로 제조한 메주추출물의 혈액암세포에 대한 억제능을 보았을 때 21종의 추출물 중에서 가장 높은 저해능이 0.5mg/mL의 농도에서 58%인 점과 비교하면 검정콩 색소의 암세포에 대한 저해능이 더 우수한 것으로 판단된다.

Table 2. Cytotoxic effects of anthocyanin on human colon cell(HT29), human liver cell(HepG2)and mouse liver cell(Hepa) by MTT assay

(unit : mg/mL)

| Sample | Inhibition rate(%) | | | | | |
|------------------|--------------------|------|-------|------|------|------|
| | HT29 | | HepG2 | | Hepa | |
| | 0.25 | 0.5 | 0.25 | 0.5 | 0.25 | 0.5 |
| Kumjungkong #1 | 12.3 | 52.4 | 13.8 | 42.1 | 5.3 | 40.6 |
| Ilpumkumjungkong | 10.4 | 63.7 | 16.9 | 56.4 | 8.2 | 53.4 |
| Milyang #95 | 6.1 | 66.0 | 27.5 | 58.2 | 13.1 | 64.4 |

요약

한국산 검정콩의 종피색소를 1% HCl 용액으로 4°C에서 24시간 추출하여 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 Sep-pak plus C18 cartridge를 통과시켜 흡착된 색소성분을 메탄올로 용출시켜 30°C에서 농축하여 실험을 실시하였다.

검정콩 세 가지 품종의 조색소액의 생리활성 효과를 살펴본 결과 고혈압에 관여하는 angiotensin converting enzyme 저해실험에서는 검정콩 1호, 일품검정콩 및 밀양 95호에서의 IC₅₀는 각각 0.22, 0.28, 0.38mg/mL로 나타나 검정콩 1호가 가장 우수하였

다. 통풍에 관여하는 xanthine oxidase 저해실험에서의 IC₅₀이 각각 0.118, 0.165, 0.163mg/mL로 나타나 angiotensin converting enzyme 저해실험에서와 동일하게 검정콩 1호가 가장 높게 나타났다. 항염증효과를 살펴본 결과 cPLA₂를 50% 저해하는 IC₅₀값이 19.7, 10.7, 25.3 μ g/mL로 나타났으며, 암세포 증식 억제능을 실험한 결과 각각의 시료 중 밀양 95호가 0.5mg/mL의 농도에서 사람 유래의 결장암 세포주인 HT-29 및 사람과 마우스 유래의 간암 세포주인 HepG2와 Hepa에 대하여 각각 66.0%, 58.2%, 64.4%의 억제능을 보여 시료 중 가장 높은 함암효과를 나타내었다. 이러한 결과로 볼 때 함암효과에서는 하나의 색소로 구성된 검정콩 1호보다는 여러 색소 성분이 공존하는 것이 더 유리한 결과를 나타내었으며, 여러 가지 기능성을 가지는 색소임을 알 수 있었다.

문헌

1. Kang, M.H. and Lee, S.R. Eractonaton and electrophoretic pattern of proteins in some korean beans. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 10: 415~422 (1978)
2. Kye, S.H., Park, H.S. and Kim, S.S. A study on the protein bioavailability in rats fed fermented soybeans. *Kor. J. Nutr.* 20: 104~110 (1987)
3. Kim, Y.H., Kim, S.D., Hong, E.H. and Ahn, W.S. Physiological function of isoflavones and their genetic and environmental variations in soybean. *Kor. J. Crop. Sci.* 41: 25~45 (1996)
4. Kim, Y.H., Yun, H.T., Park, K.Y. and Kim, S.D. Extraction and separation of anthocyanins in black soybean. *RDA. J. Crop. Sci.* 39: 35~38 (1997)
5. Goto, T. Structure, stability and color variation of natural anthocyanin. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 52: 113~117 (1997)
6. Cushman, D.W. and Ondetti, M.A. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacology* 29: 1871~1877 (1980)
7. Stirpe, F. and Corte, E.D. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 244: 3855~3863 (1969)
8. Dole, V.P. and Meinertz, H. Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.* 235: 2595~2599 (1960)
9. Dariusz, S., Sarah, J.S. Richard, H.C. and Michael B. An improved MTT assay. *J. of Immuno. Methods* 157: 203~207 (1993)

10. Hwang, J.H. Angiotensin I converting enzyme inhibitory effect of Doenjang fermented by *B. subtilis* SCB-3 isolated from Meju, Korean traditional food. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 775~783 (1997)
11. Ryu, I.W. and Shin, Y.S. Inhibition effect of ACE (Angiotensin converting enzyme) and kinetics of aloe acetylmannan. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29: 1269~1274 (1997)
12. Suh, H.J., Suh, D.B., Chung, S.H., Whang, J.H., Sung, H.J. and Yang, H.C. Purification of ACE inhibitor from soybean paste. *Kor. Agric. Chem. and Biotechnol.* 37: 441~446 (1994)
13. Suh, H.J., Cho, S.J., Whang, J.H., Lee, H. and Yang, H.C. Characterization of angiotensin converting enzyme inhibitor from squid hydrolysate. *Foods and Biotechnology* 6: 122~124 (1997)
14. Kim, O.K., Lee, T.G., Park, Y.B., Park, D.C., Lee, Y.W., Yeo, S.G., Kim, I.S., Park, Y.H. and Kim, S.B. Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extract. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 1069~1073 (1996)
15. Cho, Y.J., Chun, S.S. and Choi, C. Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean Green tea against xanthine oxidase. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 22: 418~422 (1993)
16. Chin, M.R., Shin, H.S., Jung, K.M., Kang, M.S., Lee, M.W. and Kim, D.K. Inhibition of 100 kDa cytosolic phospholipase A2 by hydrolysable tannin, 1-desgalloylrugosin-F. *Yakhak Hoeji* 44: 47~51 (2000)
17. Lee, S.Y., Kang, T.S., Moon, S.O., Lew, I.D. and Lee, M.Y. Fractionation and antitumor activity of the water soluble exopolysaccharide by submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* Mycelium. *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.* 24: 459~464 (1996)
18. Han, J., Kim, H.J., Lee, S.S. and Lee, I.S. Inhibitive effects of meju extract made with a single inoculum of the fungi isolated from the traditional meju on the human leukemia cell line. *The Korean J. of Mycology* 27: 312~317 (1999)