

수산동물의 소화 관련효소의 분포 -단백질분해효소-

허민수 · 김정은 · 손보영 · 김진수 · 오광수
경상대학교 해양생물이용학부

서론

수산 생물의 종에 따른 생물학적 다양성은 각기 독특한 성질을 갖는 다양한 효소들이 분포한다는 것을 의미하기도 한다. 이러한 이유로 다양한 효소자원으로서 수산동물의 가공 부산물 또는 폐기물로부터 소화 관련 효소(digestive enzymes)의 회수와 산업적 이용의 잠재성은 매우 크다고 할 수 있다. 수산동물의 소화 관련 효소는 pepsin(Gildberg et al., 1990;1991), chymotrypsin, trypsin(Heu et al., 1995), gastricsin(Sanchez-Chiang and Ponce, 1981) 그리고 elastase(Bjarnason et al., 1993)을 상으로 연구가 이루어지고 있다. 특히 수산동물과 같이 저온에 적응한 냉혈동물의 단백질분해효소는 육상의 온혈동물의 동종 효소보다 낮은 최적온도와 온도안정성 때문에 식품산업에 응용성이 넓다고 하겠다. 따라서 우리나라의 다양한 수산자원의 폐기물 및 가공부산물로부터 소화 관련 효소를 분리하여 식품산업에 있어서 가공보조제(processing aids)로서 이용 가능하리라 생각된다.

효소 응용기술은 현재 수산가공산업에 적용되고있으며, 이들 효소는 수산가공 보조제로서 이용될 뿐만 아니라 수산동물 자체의 폐기물로부터 얻을 수 있다(Simpson and Haard, 1987 ; Almas, 1990 ; Raa, 1990 ; Haard, 1992). 최근에 Iceland, Norway, Japan, Denmark, Great Britain 등 해양을 접하고 있는 나라의 여러 연구실들에서는 수산가공 부산물로부터 효소를 분리하여 산업적 이용을 위한 개발에 박차를 가하고 있다(Haard, 1992). 한편, 우리 나라에서는 본 연구자들이 산업적 이용을 위한 기초연구에서 10종의 어류 내장으로부터 추출한 조효소에 대한 단백질분해효소의 활성분포(Heu and Ahn, 1999)와 이들 어종 중에서 활성이 강한 4종의 조효소 및 ammonium sulfate 염석에 의해 분획, 조제한 효소제제의 안정성에 대한 연구가 있을 따름이다(Heu et al., 1999). 따라서 본 연구는 40여종의 수산동물을 대상으로 이들의 주된 폐기물인 내장으로부터 효소를 추출하여 소화와 관련된 효소 중 1차적으로 단백질분해효소의 pH 및 기질별 활성분포와 특히 활성이 강한 것으로 나타난 20종의 어종에 대하여는 단백질 분해활성의 분포를 전기영동 분석으로 측정하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

44종의 어류 내장으로부터 효소를 추출하여 조효소 및 ammonium sulfate 염석에 의해 분획(30~50%과 50~70% 획분)된 효소를 대상으로 하였다.

단백질 농도의 측정은 Lowry *et al.*(1951)의 비색 법에 따라 bovine serum albumin을 표준 단백질로 하여 구한 검량 곡선으로부터 단백질 농도를 측정하였다.

천연 기질에 대한 효소활성은 1% hemoglobin(pH 3.0)을 사용하여 Anson(1938)의 방법을 개량한 Pyeun and Kim(1986)의 방법에 따라 흡광도 660nm에서, 1% azocasein(pH 6.0과 8.0)에 대한 활성은 Starky(1977)의 방법에 따라 흡광도 410nm에서 측정하였다.

전기영동 분석(native gel electrophoresis)은 Davis(1964)의 방법에 따라 측정하였으며, 전기영동 분석에 의한 효소활성의 분포를 측정하기 위하여는 2mg/mL의 casein을 함유하는 separating gel을 조제하여 전기영동을 하였다.

결론 및 요약

수산 동물의 주된 폐기물인(fish processing waste) 내장으로부터 추출한 소화 관련 효소의 hemoglobin(Hb, pH 3.0)에 대한 분해활성은 참노래미(0.240 U/mg), 수조기(0.186 U/mg), 참돔(0.168 U/mg), 연어와 조피볼락(0.143 U/mg) 순으로 강한 것으로 나타나, pepsin 이나 cathepsin D와 유사한 효소들이 분포하는 것으로 추정되며, azocasein(pH 6.0과 8.0)에 대한 분해활성은 송어, 고등어, 수미, 전어, 참돔, 참치 순으로(0.301~0.552 U/mg, pH 6.0 ; 0.432~0.781 U/mg, pH 8.0)

강하였다. 또한, 추출 조효소에 ammonium sulfate를 첨가하여 각각 30~50%와 50~70% 포화농도로 염석하여 분획된 효소에 대한 단백질 분해활성을 측정한 결과, Hb(pH 3.0)에 대하여 30~50% 획분에서는 참노래미, 연어, 전어, 조피볼락, 깨뎀(0.383~1.417 U/mg) 순이었고, 50~70% 획분에서는 연어, 참치, 오징어, 정어리, 참뎀(0.234~0.521 U/mg) 순으로 강한 활성을 나타내었다. azocasein(pH 6.0)에 대하여는 30~50% 획분이 쥐노래미, 고등어, 삼치, 전어, 감성뎀(3.404~3.944 U/mg) 순이었고, 50~70% 획분에서는 송어, 돌돔, 전어, 참치, 고등어(1.449~1.930 U/mg) 순으로 강한 분해활성을 보였으며, azocasein(pH 8.0)에 대하여는 30~50% 획분이 고등어, 송어, 참치, 조피볼락, 전어(6.843~7.535 U/mg) 순으로, 50~70% 획분에서는 송어, 돌돔, 전어, 고등어, 참치(3.088~3.655 U/mg) 순으로 강한 분해활성을 나타내었다. 이상의 결과로 어종별, pH별, ammonium sulfate 획분별, 단백질 분해활성의 분포가 다양함을 알 수 있었으며, 30~50%획분이 50~70% 획분비해 약 1.5~2배가량 높은 단백질 분해활성을 보였고, 이에 따른 전기영동분석에 의한 단백질 이동도(mobility)에도 차이가 있음이 인지 되었다.

참 고 문 헌

- Anson, M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Physiol.*, 22, 79-89.
- Almas, K.A. 1990. Utilization of Marine Biomass for Production of Microbial Growth Media and Biochemicals. In *Advance in Fisheries Technology and Biochemistry for Increased Profitability* (M Voigt and J.R. Botta, eds.) pp. 361-372.
- Bjarnasson, J.B., Mantyla, E.O. and Asgeirsson, B. 1993. Purification and characterization of proteolytic digestive enzymes from the pyloric caeca of Atlantic cod. In *Physiological and Biochemistry Aspects of Fish Development* (B.T. Walther and H.J. Fyhn, eds. University of Bergen, Norway).
- Davis. B.J. 1964. Disc-electrophoresis II. Method and application to human serum protein. *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 404-427.
- Gildberg, A., Olsen, R.L. and Bjarnasson, J.B. 1990. Catalytic properties and chemical composition of pepsin from Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.* 69B, 323-330.
- Gildberg, A., Olsen, R.L. and Bjarnasson, J.B. 1991. Characteristics and composition of pepsins from Atlantic cod. *Adv. Exp. Med. & Biol.* 306, 107-110.
- Haard, N.F. 1992. A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their application in the food industry. *J. Aqu. Food Product Tech.* 1(1), 17-35.
- Heu, M.S., Kim, H.R. and Pyeun, J.H. 1995. Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *Comp. Biochem. Physiol.* 112B(3), 557-568.
- Heu, M.S., J.S. Kim, S.H. Ahn, D.S. Kim, and K.S. Oh. 1999. Preparation and Keeping Quality of proteolytic enzymes from an Inedible Seafood Wastes. in *Abstracts of 1999 Autumn Joint Meeting of the Korean Societies on Fisheries Science, Field of Fish Processing*, 129-131(in Korean).
- Heu, M.S. and S.H. Ahn. 1999. Development and fractionation of proteolytic enzymes from inedible seafood product. *J. Korean Fish. Soc.*, 32(4), 459-465(in Korean).
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Raa, J. 1990. Biotechnology in Aquaculture and the Fish Processing Industry: A success story in Norway. In *Advance in Fisheries Technology and Biothechnology for Increased Profitability* CO., Lancaster, PA.
- Sanchez-Chiang, L. and Ponce, O. 1981. Gastricsinogens and gastricsins from *Merluccius gayi*. *Comp. Biochem. Physiol.* 68B, 251-257.
- Simpson, B.K. and Haard, N.F. 1987. Trypsin and a trypsin-like enzymes from the stomach less cunner. *J. Agr. Food Chem.* 35, 652-654.
- Starky, P.M. 1977. Elastase and cathepsin G: the serine proteinases of human neutrophil leucocytes and spleen. In *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues*, Barrett, A. J. ed North-Holland Publishing Co., Amsterdam, pp. 57-89.