

日本の Lysozyme 生産과 利用途 開發現況



민 병 용
(응용연구실)

筆者는 昨年(1988년) 11月 11日 日本東京에서 韓日兩國技術士會가 共同으로 開催한 合同심포지움에 參席하게 되었고 그 심포지움을 잘 끝내고 約 10日 間을 日本에 머물면서 日本농림수산성 食品總合研究所(筑葉市) 九州대학농학부와 약학부 등의 연구기관과 EISAI(주) 식품화학사업부, QP(주) Fine-chemical 부 등의 業界를 訪問하여 關係專門 人사들과 만나 日本에서 lysozyme 의 연구방향과 利用現況에 대해 탐문조사하고 또 얻을 수 있는 若干의 관계자료를 습득하여 歸國하였다.

I. Lysozyme 의 發見과 存在

Lysozyme 은 penicilline 의 發見으로 有名한 Alexander Fleming 에 의해 1922년에 사람의 콧물속에서 溶菌효소로서 發見되었으며 溶菌하는 酵素라는 意味로 lysozyme 이라고 命名하였다. Fleming 은 어느날 細菌培養中の 한 사례의 일부분에 細菌이 증식하지 못하고 있는 것을 이상하게 生覺하여 그 理由를 조사해 보았더니 코감기에 걸린 한 研究員이 콧물 한방울을 떨어뜨렸기 때문이라는 걸 알았다.

그래서 콧물의 成分中에 細菌을 용해하는 酵素가 있음을 알고 이것을 lysozyme(lyso: 菌을 녹인다)+zyme(酵素)라 했다고 전해지고 있다.

일본의 문헌을 보면 이 lysozyme 을 “리조찌一口”이라고 日本文字로 表記하고 있어 “라이소자임”

이라는 英語式 發言에 젓어 있는 筆者에게는 조금 이상하게 들렸다.

그로부터 15년후 Albraham 과 Robinson 은 鷄卵卵白으로부터 lysozyme 를 結晶狀으로 추출하였다. 그후 여러 研究者들에 의해 lysozyme 은 動物의 體液이나 세균, 식물, 미생물에 이르기까지 自然界에 널리 分布하고 있다는 事實이 확인되었다.

그러나 여러 生物中에 存在하는 그 各各의 lysozyme 은 특이성이 있어 分子量, 等電點, amino acid 조성이나 그 내열상태 등을 각각 달리하고 있다.

Lysozyme 이 널리 生體內에 存在하는 이유로서는 그의 溶菌作用으로 볼 때 外界로부터의 생체 감염방어 기구에 관여하고 있는 것으로 推理하고 있다.

생체, 체액중에 lysozyme 을 많이 含有하고 있는 곳으로는 눈물, 콧물, 卵白 등이 알려져 있으나 資源的으로는 계란의 흰자위(卵白)속에 含有된 lysozyme 이 抽出分離 精製가 비교적 용이한 관계로 여러 境遇의 基礎的 研究나 應用的 研究의 素材로 利用되고 있다.

II. Lysozyme 의 一般的인 性質

卵白 lysozyme 의 分子量은 14,400 가량되는 鹽基性 蛋白質로 129個의 amino 산으로 되어 있다.

蛋白質로서 比較的 작은 한가닥의 chain-lipotide 이다. 그림 1 에서 보는 바와 같이 4개의 -S-S- 결합을 포함한 安定된 酵素이나 卵白 lysozyme 이 活性을 나타내기 위해서는 이 가운데 적어도 2개의 -S-S- 결합이 存在할 必要가 있고 -S-S- 결합을 全部 還元하면 活性을 잃게 된다.

卵白 lysozyme 의 等電點은 pH 10.5~11.0이고 pH 3.5~7.0에서 活性이 잘 나타나며 *Micrococcus lysodeikticus* 에 대한 溶解性은 pH 5.0~7.0에서 가장 잘 나타낸다.

卵白 lysozyme 은 어떤 種의 細菌의 細胞膜에 作

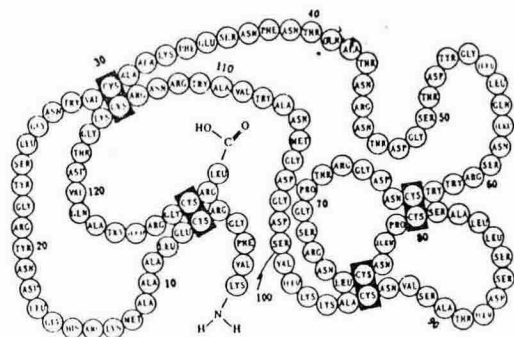


그림 1. 卵白 lysozyme 의 一次構造

用하여 溶菌現象을 유발하기 때문에 溶菌酵素라고도 불리지고 있으나 이것은 細胞壁을 構成하고 있는 成分인 多糖類中 N-acetylmuramic acid (NAM)와 N-acetylglucosamine(NAG) 사이의 $\beta(1-4)$ 결합을 加水分解 하기 때문이다.

卵白 lysozyme 에 의해 溶菌되는 菌의 種類에 대해서는 Salton 과 Peterson 등이 發表한 바와 같이 gram 陽性菌에는 잘 作用하는데 이 理由가 gram 陽性菌의 細胞壁이 主로 NAG 와 NAM 이 結合한 多糖類로 되어 있기 때문이다.

특히 卵白 lysozyme 에 感受性이 강한 菌으로서

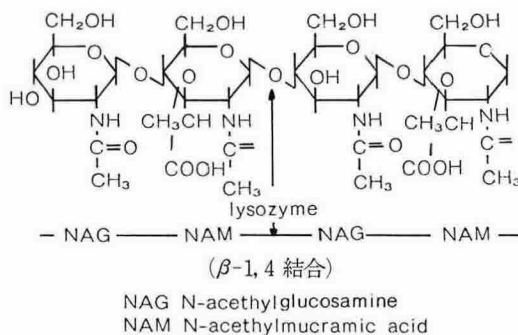


그림 2. Lysozyme 의 溶菌機作

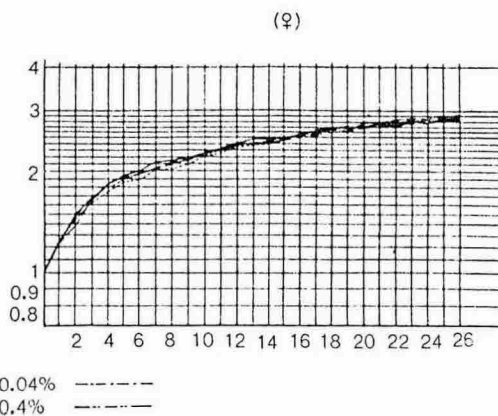
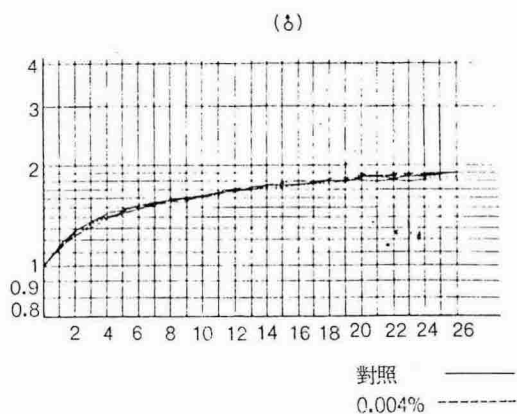


그림 3. Lysozyme 을 添加한 飼料를 먹은 흰쥐의 體重增加 曲線

는 *Micrococcus lysodeikticus*, *Bacillus subtilis*, *B. megathericum*, *Sarcina lutea* 등이다. 이 중에서도 *M. lysodeikticus* 는 lysozyme 의 bioassay 식 定量에 잘 利用되고 있다.

卵白 lysozyme 은 濃度 0.1% 以上の 水溶液 中에서는 安定하다. 그러나 이보다 낮은 濃度の 경우에도 糖類蛋白質, amino 酸, 有機酸, 有機溶媒 等の 少量과 共存할 때는 安定化 된다. 예를 들면 alcohol(EOH) 10% 溶液에서는 lysozyme 10ppm 程度의 濁은 濃度로 室溫에 1年間 放置해 두어도 86%의 活性을 維持한다.

卵白 lysozyme 은 白쥐에 5,000mg/kg(經口投與 할 수 있는 限界量)을 經口投與 해도 全然 異常한 現象이 나타나지 않을 뿐만 아니라 體重增加曲線(그림 3)을 볼 때도 對照區와 別로 差가 없었다.

III. 日本의 卵白 lysozyme 의 生産과 利用現況

앞에서 記述한 바와 같이 Fleming 이 콧물속에 lysozyme 이 存在한다는 것을 發見한 것은 지금으로부터 60~70年前의 일이었다 이 lysozyme 을 實質的으로 우리 人間에게 有益하게 利用할 수 있게 된 것은 極히 최근의 일이다.

日本에서는 lysozyme 의 特性을 有用하게 商品化하는 研究를 많이 하여 1970年代에는 日本內 15個 會社가 鷄卵을 原料로 한 lysozyme 生産을 企業的으로 試圖하였으나 製造原價가 비싸게 될 뿐만 아니라 lysozyme 의 利用途가 擴大되지 못하여 生産條件이 不利한 生産會社에서는 lysozyme 의 生産을 中斷하게 되어 現在는 EISAI(株), QP(株), 太陽 Food(株) 等の 3個社만이 lysozyme 의 生産을 계속하고 있는 것으로 探聞되고 있다. 그러나 이들 會社들이 製造하는 方法과 生産量은 一切 外部에 알려진 바가 없고 이들에 關한 資料를 求得할 수 없었다. 日本에서 企業的으로 lysozyme 을 抽出分離 製造하는 技法은 企業上의 祕密로 간직하고 있어 外部에서의 接近을 許容하고 있지 않았다. 다만 特許 公報上

에 發表된 內容의 資料와 學術誌 등에서 發表된 研究論文을 筆者가 日本에서 入手하고 또 關係專門人과의 對話로 어느 程度의 內容을 推定하는데 不過하였다.

日本에서 年間 lysozyme 의 總 去來量은 約 40~50M/T 으로 推定되며 그 中 一部는 輸入되고 있는 것이라 한다. 純 國產 lysozyme 의 流通量은 40M/T 이 넘지 않을 것으로 보고 있다. 日本產 lysozyme 의 一部는 우리나라와 台灣 等に 輸出되고 있는 것도 事實이다.

Lysozyme 의 製造原料로 가장 좋은 것은 鷄卵의 흰자위인데 卵白 1ml 中에는 約 0.5~1.0mg 의 結晶 lysozyme 에 相當하는 活性을 가지고 있다.

처음 日本에서 lysozyme 을 製造하는 方法은 直接結晶법에 의존했는데 이 製法은 均質化된 卵白 1,000ml 에 食鹽 50gr 을 加하여 교반하면서 溶解하고 1N-가성소오다를 40~50ml 加하여 pH 를 9.5로 조절한다. 이 液에 卵白 lysozyme 結晶物을 微量을 添加하여 잘 저어서 4℃의 冷藏庫에 放置해 두면 結晶이 생기게 되는데 lysozyme 이 析出하게 될 때까지 約 2~4日間 하루 數回씩 교반을 해 주어야 한다. 析出해서 나온 結晶을 遠心沈澱하여 밑에 가라 앉은 것을 한데 모우고 물로 抽出하여 醋酸溶液과 섞는다. 이 溶液에 重碳酸 소오다의 粉沫을 5%가 되도록 加하여 pH 를 8.0~8.5로 하면 lysozyme 炭酸鹽의 結晶이 析出한다. 먼저 물로 抽出하여 醋酸溶液과 혼합 溶液에 重碳酸 소오다 代身에 食鹽(NaCl)을 5% 加하여 1-N 加성소오다로 pH 9.5~10.0으로 맞추면 等電點(Iso-electric point) lysozyme 의 結晶을 얻을 수 있다. 이 方法으로 lysozyme 을 製造할 때 精製結晶에 時間이 오래 걸릴 뿐만 아니라 生産施設 裝置를 갖추는데 넓은 空間이 必要하기 때문에 企業生産을 할 때 不合理한 점이 많다고 한다. 또 이 方法은 lysozyme 을 抽出해 낸 뒤의 卵白은 食鹽이 많이 含有되어 있어 食品加工用 素材로 利用하는 데에는 여러가지 制限을 받게 됨으로 副産物인 卵白의 利用性이 낮아 結果的으로는 lysozyme 의 製造原價가 비싸게 먹힌다는 欠點이 있어 實際 企業의 lysozyme 生産方法으로는

發展할 수 없었다고 보고 있다. 그러나 製造原價에 關心을 두지 않는 研究用으로 純度가 높은 lysozyme 을 製造하는 境遇 아직도 이 直接結晶法을 活用하고 있었다. 이 點에 對해 九州大學의 山崎教授는 研究室에서 손쉽게 簡單한 裝置로 不純物이 없는 完全한 lysozyme 結晶을 얻을 수 있기 때문에 結晶을 얻는데 까지 時間이 많이 걸리고 자주 교환해 주어야 하는 단점이 있기는 하지만 純度 높은 結晶物을 比較的 容易하게 求得할 수 있어 좋다고 했다.

近來에 와서는 이온 交換樹脂를 使用하여 卵白속에 있는 lysozyme 을 直接 樹脂에 吸着시켜 卵白의 機能的 特性을 그대로 保存케 하면서 微量成分인 lysozyme 만을 抽出해 내는 方法에 關해 開發되고 있다. 여기에 利用되고 있는 이온 交換樹脂의 種類도 여러가지 있어 各各의 樹脂는 卵白속에 있는 lysozyme 을 吸着하는 능력과 또 卵白을 流出시키는 難易性 등이 서로 다를 뿐만 아니라 나뉠대로의 長短點이 있고 또 樹脂 그 自體의 값에도 많은 高低가 있어 簡單하게 어떤 樹脂가 가장 좋은 것이다 라고 斷言하기가 어려운 實情이다.

世界的으로 볼 때 lysozyme 을 製造生産 할 수 있는 나라는 歐美의 先進諸國과 日本 뿐이다. 全世界가 1年間生産하는 lysozyme 의 量을 140~150M/T 程度로 推量하고 있고 歐美諸國에서 lysozyme 을 hard cheese 醱酵에 主로 利用되고 있고 그 所用量을 80~90M/T 可量으로 보고 있다. 나머지 60~70M/T 은 醫藥用 素材로 利用되고 있다고 推測한다. Lysozyme 을 의약원료로 利用하고 있는 宗主國은 日本인데 40~50M/T 의 lysozyme 을 日本에서는 이 目的으로 消費하고 있다고 한다.

日本에서 의약용으로 去來되는 lysozyme 을 金額으로 推定한다면 200億圓(¥)이 넘을 것이라 한다.

世界的으로 lysozyme 을 가장 많이 生産하는 나라는 伊太利로 日本 市場을 除外한 lysozyme 의 國際市場을 占有하고 있다. 그 理由는 價格이 다른 競爭國에 比해 低廉하기 때문이라 한다.

伊太利에서는 lysozyme 을 抽出하고 난 卵白을 食品製造 原料로 使用함에 있어 自然狀態의 鷄卵 卵

白과 何等의 差別없이 流通되고 있는데 反해 日本國은 脫 lysozyme 한 卵白은 天然의 卵白과 區別되어 食品原料로 利用하려 할 때 食品衛生法에 依해 여러 가지 制限을 받도록 規制되어 있다.

이러한 脫 lysozyme 한 卵白에 대한 利用制限이 日本과 伊太利間에 lysozyme 生産原價에 큰 差異를 나타내는 理由가 아닐까 生覺한다.

1987年度에 우리나라가 日本에서 輸入한 lysozyme 의 量은 粗品으로 約 6,000kg 인데 大部分이 醫藥製造 原料로 使用되고 있는 일도 있다.

醫藥品이나 化粧品의 製造用에 쓰이는 lysozyme 은 鹽化 lysozyme 이고 食品保藏이나 食品加工에 쓰이는 lysozyme 은 卵白 lysozyme(等電點 分離 lysozyme)만 쓰도록 日本에서는 規制하고 있다.

IV. 卵白 lysozyme 의 利用

日本에서 卵白 lysozyme 의 利用 現況을 보면 가장 많이 利用되고 있는 分野는 治療醫藥 領域이고 그 다음은 乳兒營養에의 活用이다. 또 利用 動向을 보면 天然의 保存料로서 食品保存에의 利用研究와 醱酵工業 領域에 利用하고자 研究를 하고 있다.

1. 治療醫藥에의 利用

Lysozyme 의 藥理作用으로서는 生體에 여러가지 保護作用을 하고 있는 粘液을 分解하는 作用을 하고 있을 뿐만 아니라 그의 溶解作用에 의해 外來 感染에 對해 生體를 防禦하는 役割도 하고 있다고 본다.

Lysozyme 의 藥理作用으로서는 (1) 出血抑制作用 (2) 感染抑制作用 (3) 膿液, 咯痰分解作用 (4) 放射線 障害豫防 作用 (5) 癌性 疼痛緩解作用 (6) 炎症 抑制作用 (7) 癍痕形成, 組織修復作用 (8) 抗生物質 效果 增強作用 (9) 抗腫瘍作用 등이 있으며 病原體에 對한 直接作用 보다도 非特異的 防禦作用에 많이 關與하는 것으로 推定하고 있다.

實際 臨床面에서 卵白 lysozyme 은 注射 또는 內

服으로 全身 投與하거나 噴霧(nebuliger) 등에 의한 局所 投與가 廣範圍하게 이용되고 있다. 適應症으로는 手術中 또는 手術後의 出血과 手術後症으로 나타나는 血尿, 血痰, 咯血, 鼻出血 등의 出血性 疾患과 咯炎, 咯出困難慢性副腔炎, 口內炎, 咽喉炎 등의 粘膜炎症性 疾患 등에 施用되고 있다.

2. 乳兒의 人工營養에의 利用

牛乳의 母乳化를 目的으로 育兒用 粉乳에 卵白 lysozyme 을 添加한 調製粉乳가 프랑스, 오스트리아 등 歐洲諸國에서는 實際로 쓰이고 있다.

Lysozyme 이 乳兒의 人工營養에 利用하게 된 背景은 무엇보다 먼저 母乳에는 lysozyme 의 含量이 매우 높아 平均 40mg/10ml 이나 되는데 比하여 牛乳에는 極히 微量이다.

Table 1. Lysozyme contents of milk of certain species

Species	No. of sample	Lysozyme ug/100ml
Human	3	40,000
Cow	3	13
Goat	3	25
Sheep	4	10
Low	3	0

표 1은 Chandan 등이 사람과 動物의 乳汁中の lysozyme 含量을 比較 分析한 成績을 나타낸 것이다.

牛乳에 卵白 lysozyme 을 添加할 때 몇 가지 生理的 效果를 列舉하면 1) Lysozyme 은 乳兒의 胃腔內에서 milk-casein 의 커드(curd)化를 促進하고 또 微細하게 分散한 다음 curd 를 形成하기 때문에 消化를 改善하고, 2) 人工營養兒의 腸內 細菌叢을 正常化 한다. 3) 여러 가지 生體의 防禦因子의 作用을 補

強하여 細菌 汚染에 抵抗力을 높이는 등이다.

3. 食品保藏에의 利用

Lysozyme 은 前述한 바와 같이 比較的 安定이 있는 酵素이고 그의 溶菌作用이 可能한 pH 의 範圍가 넓어 여러 種類의 食品의 pH 가 여기에 包含되기 때문에 食品保存劑로서의 開發可能性이 많을 것으로 生覺되며 最近에 여러 食品科學者의 關心을 모으고 있다.

天然의 保存料로서 卵白 lysozyme 을 食品에 利用한 例는 Pulay 등이 *Cl. tyrobutyricum* 의 汚染 때문에 나타나는 半硬質 cheese 의 Butyric acid blowing 現象을 防止하는데 lysozyme 을 利用하였다.

食品의 防腐劑로서의 lysozyme 을 생각할 때 lysozyme 자체가 蛋白質이고 毒性이 없고 가장 安全한 防腐劑라고 생각하고 있다. 그러나 作用特異성이 높고 效果가 있는 菌에 限定되며 그의 感受性도 生育期間中에 어떤 時期에 限定되며 酵母 등과 같은 生細胞에는 作用하기 어렵고 孢子 形成細菌에 대해서는 細胞壁은 溶解되어도 孢子는 그대로 남게 되며 또 다른 化學殺菌劑에 비하면 값이 越等하게 비싸다는 등 아직도 問題點이 많아 商業적으로 實用化에는 多少의 時日이 必要할 것으로 判斷된다.

여러 種類의 食品汚染菌에 대한 lysozyme 의 防禦的 效果를 gram 陽性菌에 對하여는 確實하나 陰性菌에 대해서는 效果가 뚜렷하게 보이지 않으며 또 菌에 따라서는 pH 나 食鹽의 濃도에 따라서 效果가 달리 나타나기 때문에 添加할 lysozyme 의 濃도에 食品의 pH 溫度, 鹽濃도를 考慮하고 또 食品에 添加하는 時期와 方法 등에 대해서도 適正한 條件을 究明할 必要가 있을 것이다.

Lysozyme 을 食品保存劑로 利用함에 있어 앞에서 指摘한 問題點을 解決하기 위해 lysozyme 單用보다 他物質과 같이 혼용하거나 同時併用할 때 相乘 效果를 期待하는 研究도 實施되고 있다. 킬레이트劑(chelating agent)인 EDT, amino acid 의 一種인

glycin 과 cystine, 過酸化水素 그리고 有機酸 等과
의 併用에서 相乘效果가 認知되고 있다.

Lysozyme 을 食品保存劑 또는 防腐劑로서의 利
用을 보면 前述한 바와 같이 歐美에서는 半硬質
cheese 製造 工程中에서 酪酸醱酵 防止 目的으로 利
用하고 있는데 日本에서는 水産生鮮物과 畜産物의
鮮度維持 目的으로나 水産練製品의 shelf life 延長
을 위해 lysozyme 의 利用途를 開發하는 研究를 하
고 있었다. 特히 日本水産(株), 太陽 Food(株),
QP(株)等 會社가 lysozyme 의 食品에의 利用을 위
해 많은 研究費를 投入하고 있다는 情報를 入手하였
기 때문에 이들 會社에 筆者가 直接 訪問하였으나
詳細한 內容을 말해주지 않았다.

4. 醱酵工業에의 利用

이 分野의 利用法으로서는 *M. lysodeikticus* 培
養菌體로부터 catalase 의 回收過程, 혹은 *E. coli*
의 培養菌體에서 L-asparaginase 를 調製하는 過
程에서 各各 lysozyme 을 利用해 收量과 純度を 높
이는 方法을 들고 있다. 또 大澤 等이 發表한 報文에
의하면 *Microbacterium ammoniaphilum* 을 이용
한 glutamic acid 의 醱酵生産에 있어 lysozyme
을 쓰면 顯著한 收量增加를 確認하였다고 했다. 그
러나 이 分野에 있어서 lysozyme 의 利用을 實用化
할 수 있는지 어떤지의 關鍵은 技術上의 利點과 經
濟性的의 有無에 있다고 본다.

V. 참고 문헌

1. A. Fleming: Proc. Roy. Soc., B93, 306(1922)
2. E.P. Abraham and R. Robinson: Nature 14024(1937)
3. J. Jolles, Jaurequi-Adell, I. Bernies and P. Jolles: Biochem., Biophys. Acta 78, 668(1963)
4. R.E. Canifield: J. Biol. Chem., 238, 2698(1963)
5. Jelles, P.: C.R. Held Sianeer Acids. Sci., 253, 2698(1963)
6. R.G. Peterson and S.E. Hartrell: J. Infection Ddsease, 96, 75(1955)
7. M.R.J. Balton and J.G. Pavlik: Biochem. Biophys. acta 39, 398(1960)
8. 赤塚: 月刊 Food Chemical 70, 1988-8
9. 松岡: 營養と食糧, Vol. 24, No. 6, 311(1971)
10. 日高: New Food Industry, Vol. 15, No. 1, 43(1973)
11. 吉武, 赤塚: New Food Industry, Vol. 19, No. 12, 17(1977)
12. 赤司景: 食品工業 8下-1972, 78
13. 日高義雄: Application of Lysozyme for Medical Use., Symposia, p.228-231
14. Chandan, R.C. Parry, R.M. Jr and Shahani: J. Dairy Sci., 51, 606(1968)
15. LY 시리즈 天然食品添加物 卵白 리ゾチム (QPFC)
16. LY 시리즈 鹽化리ゾチム(QPFC)
17. 日高義雄, 吉武繁廣: 天然物による 食品の保存技術.(有)お茶の水企劃 (1985)
18. 大澤岳義, 澄川滿 等: 特許公報 昭 45-14876