

어류 단백질분해 조효소의 이용을 위한 몇가지 성질

이동수 · 허민수* · 김두상 · 변재형

부산수산대학교 식품생명과학과 · 경상대학교 수산대학 식품과학과

Some Properties of the Crude Proteases from Fish for Application in Seafood Fermentation Industry

Dong-Soo LEE, Min-Soo HEU*, Doo-Sang KIM and Jae-Hyeung PYEUN

Department of Food and Life Science, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

*Department of Food Science, Fisheries College, Gyeongsang National University,
Tongyong 650-160, Korea

Properties as related to the utilization of the crude proteases extracted from the muscle and viscera of fish (2 dark fleshed fish; anchovy, *Engraulis japonica*, and gizzard-shad, *Clupanoda punctatus*; 2 white fleshed fish; seabass, *Lateolabrax japonicus*, and sole, *Pleuronichthys cornutus*) were studied. Proteolytic activity of the muscle protease was slightly inhibited with the increase of sodium chloride concentration and it was apparent against the yellowtail myofibrillar protein than casein substrate. Proteolytic activities of the seabass and sole visceral crude protease were inhibited to 50 to 60% by 25% of sodium chloride, but those of anchovy and gizzard-shad viscera crude enzymes were not influenced by sodium chloride. The vacuum freeze-dried crude protease and glycerol-mixed crude protease of gizzard-shad and seabass muscles were almost lost their activities on the 16th week of storage, while those from the viscera of the fish were relatively stable. Degradation of the yellowtail myofibrillar protein by the anchovy muscle and viscera crude proteases rapidly proceeded in the beginning of the reaction and the degraded products were mainly distributed in the range of 6 to 15 kDa electrophoretically.

Key words : fish protease, properties, yellowtail myofibrillar protein, enzymatic hydrolysates

서 론

단백질 분해효소는 식품산업에서 제빵 (Lyons, 1982), 양조 (Bass and Cayle, 1975), 치즈 제조 (Cheryan et al., 1975), 육질 연화 (Bernholdt, 1975) 등 식품의 품질개선에 널리 이용되고 있다 (Demain, 1981; Litchfield, 1983). 최근에는 세제 (Dembann et al., 1971), 사료 (Eriksen, 1982), 가죽연마제, 견직물의 탈검화제 등의 산업에 이용될 뿐만 아니라 소화제 (Taguira et al., 1976)와 소염제 (Stefanini and Martin,

1985) 같은 의약품 원료 등으로 산업적 이용이 더욱 증대하고 있는 실정이다.

단백질분해효소의 공급원으로는 미생물이 주로 이용되어 왔으며 (Fujimaki et al., 1971; Sood and Kosikowski, 1979), 식물의 열매 (Bernholdt, 1975; Eriksen, 1982)나 동물의 장기 (Fujimaki et al., 1977)를 비롯하여 최근에는 어류의 조직 중에 분포하는 효소에까지 그 이용에 관심이 높아지고 있다 (Haard, 1992).

본 연구는 어류의 가공 부산물 중에 잔류하는 단백

이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 수행된 연구의 일부임.

질분해효소의 회수 이용가능성을 타진하기 위하여 시도하였으며, 혈합육어와 백색육어의 육 및 장기 조직에서 추출한 단백질분해 조효소에 대하여 식염농도가 효소활성에 미치는 영향, 단백질분해 조효소 제제의 저장 안정성에 대한 동결건조와 glycerol 혼합의 효과 등에 관하여 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

단백질분해 조효소의 추출 시료는 혈합육어 중의 멸치 (*Engraulis japonica*)와 전어 (*Clupanodon punctatus*)를, 그리고 백색육어는 농어 (*Lateolabrax japonicus*)와 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)를 사용하였다.

2. 방 법

조효소의 추출, 단백질농도, 효소 활성: 전보 (Pyeun et al., 1996)에 따랐다.

효소의 활성에 미치는 식염 농도의 영향: 각 어종의 육과 내장에서 추출한 조효소액과 2% casein 및 근원섬유단백질을 함유하는 100 mM sodium acetate, pH 6.0 기질 용액에 대하여 식염의 최종 농도를 0~25%가 되도록 5% 간격으로 첨가하여 30°C에서 3시간 반응시켜 활성을 측정하였으며, 식염을 첨가하지 않고 작용시켰을 때의 효소 활성과 대조하여 상대 활성으로 나타내었다.

조효소제제의 조제 및 저장 안정화: 전어와 농어 조효소시료 (육은 1.5 ml; 내장은 1 ml)를 -60°C에서 예비 동결한 후에 진공 동결 건조하여 건조 조효소제제를 조제하였다. 이 효소제제를 실온에 저장하면서 저장 기간별로 동량의 증류수를 가하여 용해시킨 후, 효소 활성을 측정하여 동결건조 전의 효소 활성과 비교하므로써 각 조효소제제의 안정성을 검토하였다.

한편, 별도로 전어와 농어 효소에서 얻은 각각의 시료 (육은 1.5 ml; 내장은 1 ml)에 같은 량의 glycerol을 가하여 실온에 저장하면서 효소 활성을 측정하여 glycerol 첨가 전의 효소 활성과 비교함으로써 glycerol 혼합 조효소제제의 안정성을 검토하였다.

근원섬유단백질에 대한 효소의 작용: 전보 (Pyeun

et al., 1996)에서 효소 활성이 가장 강한 것으로 나타난 멸치 육과 내장의 조효소에 대하여는 육 효소와 방어의 근원섬유단백질의 비율을 1:10 (100 mg:100 mg/100 ml)으로, 내장 효소와 근원섬유단백질의 비율 1:2000 (0.5 mg:1000 mg/100 ml)으로 하여 100 mM NaCl · 0.02% sodium azide · 10 mM sodium acetate (pH 6.0) 완충액 중에서, 20°C에서 0~48시간 반응시켰다. 각 반응 시간별로 반응혼액 일정량을 취해 같은 양의 5% TCA를 첨가하여 효소 반응을 정지시키고 원심 분리 (12,000×g, 10 min)한 후에 상층액을 다음의 실험에 사용하였다.

위의 상층액 1 ml를 취하여 반응 시간별로 Biuret 법에 의한 유리 peptide의 양을 측정하였다.

겔 여과용 수지 Sephacryl S-100 (Sigma Co., HR-S-100)을 충전한 column (1.5×70 cm)을 100 mM NaCl · 0.02% sodium azide · 10 mM sodium acetate, pH 6.0으로 평형화시킨 다음, 각 시간별 효소 반응액에 TCA를 2.5%의 농도수준으로 첨가하여 원심분리 (3,000 rpm, 10 min)하고, 그 상등액을 일정량 주입하여 같은 완충액으로 분획하면서 반응액 중의 방어근원섬유단백질 가수분해 생성물에 대한 분자량 분포를 측정하였다.

아울러, HPLC (Spectra system, Thermo Separation Products)의 reversed phase C₁₈ column (4.6×250 mm, particle size 10 μm)에 각 효소 반응액에 TCA를 5%의 농도수준으로 첨가하여 원심분리 (3,000 rpm, 10 min)하고, 그 상등액을 일정량 주입하여 acetonitrile/0.1% trifluoroacetate (TFA)의 혼합 용매를 사용하여 농도 구배법 (linear gradient: 0~25% acetonitrile in 0.1% TFA for 50 min; 25~55% acetonitrile in 0.1% TFA for 50~75 min. flow rate; 1 ml/min)으로 분획하였다.

결과 및 고찰

효소 활성에 미치는 식염 농도의 영향

어체가 보유하는 단백질분해효소에 대하여 효소 활성에 미치는 영향을 casein과 근원섬유단백질 기질에 대하여 검토한 결과, 육에서 추출한 조효소의 경우는

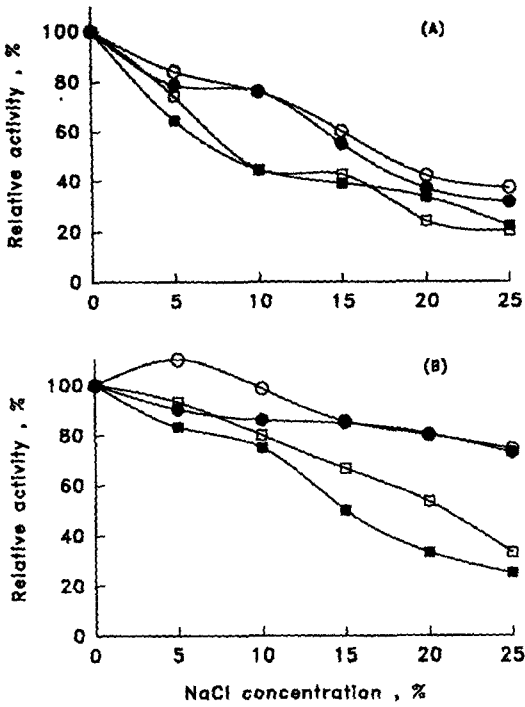


Fig. 1. Effect of NaCl concentration on proteolytic activity of the muscle crude protease from anchovy (○) and gizzard-shad (●) of dark fleshed fish, and seabass (□) and sole (■) of white fleshed fish for natural substrates, casein (A) and myofibrillar protein (B).

식염 농도의 증가와 더불어 활성이 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 1). Casein기질에 대하여 식염 농도 25% 일 때는 멸치, 전어, 농어 및 도다리가 모두 60% 이상으로 활성이 감소하였으나, 근원섬유단백질에 대하여는 멸치와 전어 등의 혈합육어가 25%의 식염 농도에서 활성이 80%가량 잔류한 반면, 백색육어는 30~40%의 활성만이 잔류할 따름이었다.

내장에서 추출한 조효소의 경우, 혈합육어의 조효소에서는 casein 및 근원섬유단백질에 대한 영향이 거의 무시할 정도였으며, 백색육어에서 얻은 조효소에서는 식염 농도 10%까지는 활성이 90%정도까지 잔류하였으나, 식염 농도 25%에서는 약 55%까지 감소하였다 (Fig. 2).

이상의 결과에서, 식염 농도의 차이에 따른 각 조효소의 천연 기질에 대한 분해능의 차이는 기질 단백

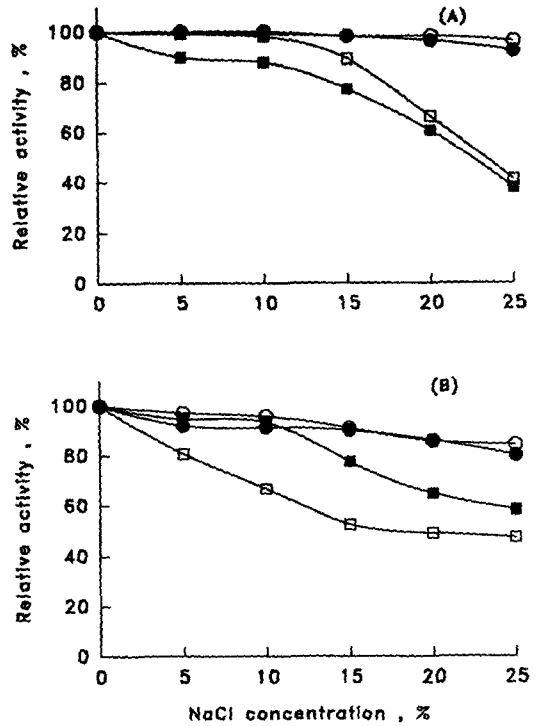


Fig. 2. Effect of NaCl concentration on proteolytic activity of the viscera crude protease from anchovy (○) and gizzard-shad (●) of dark fleshed fish, and seabass (□) and sole (■) of white fleshed fish for natural substrates, casein (A) and myofibrillar protein (B).

질의 구조와 친화성에 의한 영향이기도 하겠지만, casein기질이 식염 농도의 증가에 의하여 활성에 많은 영향을 보인 것은 casein기질의 조제 과정이 열 변성 과정을 거쳐 조제하게 됨으로서 느슨해진 단백질 구조 내의 SH기 및 OH기 등의 음하전을 띠는 이온과 Na⁺이온이 결합하여 효소 작용을 방해하기 때문인 것으로 추정되며 (Brown and Smith, 1990), 근원섬유 단백질 기질에 대한 효소 활성 측정값이 높게 나타난 이유는 근원섬유 단백질이 염에 의하여 안정한 상태로 존재함으로써 효소 작용을 보다 받기 쉬워진 것이 원인으로 생각된다. 한편, 염 농도의 증가에 따른 효소의 활성 감소는 반응혼액 중의 이온 강도의 증가에 의하여 효소와 기질 단백질의 구조적 변화에 의해 효소가 불활성화하고, 한편, 기질분자의 수축이 일어난 때문인 것으로 생각된다 (Dixon and Webb, 1979). 그

리고, 효소는 고농도의 염류 용액 중에서도 활성은 보유하여 이들 단백질분해효소가 어체의 구조 단백질의 분해에 결정적인 영향 인자로서 작용한다는 것을 알 수 있었다. 수산 발효 식품 중 젓갈은 일반적으로 20% 이상의 식염을 첨가하여 숙성시키게 되는데, 이 정도의 식염의 농도에서는 호염성 미생물 이외의 미생물의 생육은 거의 억제되는 것으로 알려져 있으며 (Pelczar and Chan, 1981), 따라서 젓갈의 숙성에는 미생물 산생효소에 의한 작용보다는 오히려 어체 중에 분포하는 단백질분해효소가 구조 단백질의 분해에 주로 작용함으로써 진행됨을 뒷받침하였다.

진공 동결건조 및 glycerol 혼합 조효소제제의 안정성

전어와 농어의 육과 내장에서 추출하여 조제한 동

결건조 단백질분해 조효소제제의 안정성을 천연 기질 및 합성 기질에 대한 분해 활성으로 검토하여 각각 Fig. 3과 4에 나타내었다. 육 조효소제제의 경우 (Fig. 3), 전어는 azocasein 및 N-succinyl-alanylalanyl-prolinyl-phenylalanyl- ρ -nitroanilide (SAAPFNA)에 대하여는 저장 16주에 이르기까지 약 40% 정도의 활성 감소를 보였으며, L-arginine-4-methoxy- β -naphthylamide (ArgMNA)와 Na-benzoyl-DL-arginine- ρ -nitroanilide (BAPNA)에 대하여는 10% 전후의 활성을 보일 뿐이었다. 농어는 SAAPFNA 및 BAPNA 기질에 대한 효소 활성이 각각 8주와 12주에 이르러 실패하였고, azocasein과 ArgMNA에 대하여만 약 20% 정도의 활성이 잔류하였다. 이들 조효소제제의 기질 특이성으로 검토한 결과, 전어는 cathepsin G 유사 효소의 활성은 저장 기간동안 활성이 어느 정도 잔류하는 반면, ca-

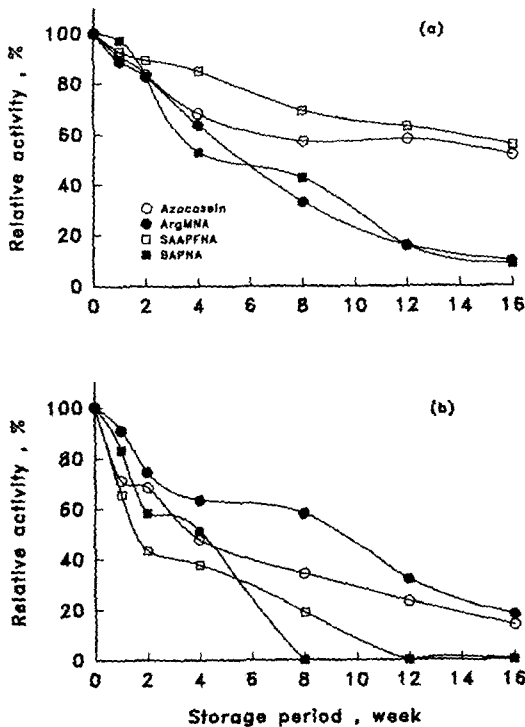


Fig. 3. Changes in proteolytic activity of the crude protease, from gizzard-shad (a) and seabass (b) muscles, during storage at 20°C after freeze drying, on the various substrates.

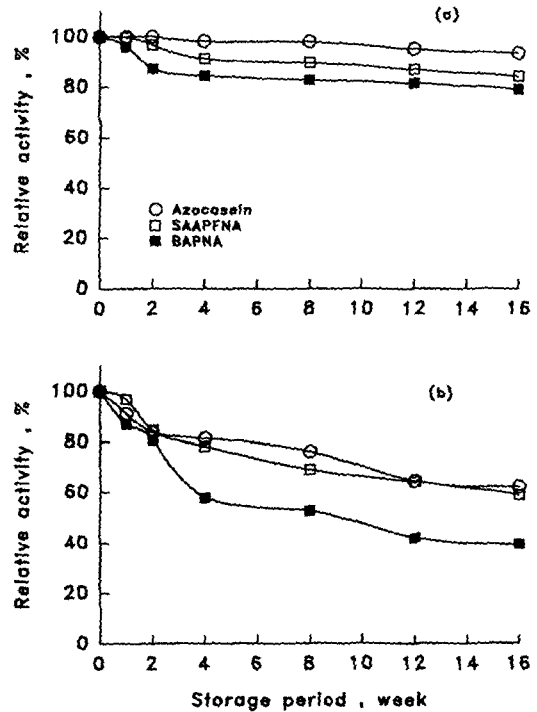


Fig. 4. Changes in proteolytic activity of the crude protease, from gizzard-shad (a) and seabass (b) visceras, during storage at 20°C after freeze drying, on the various substrates.

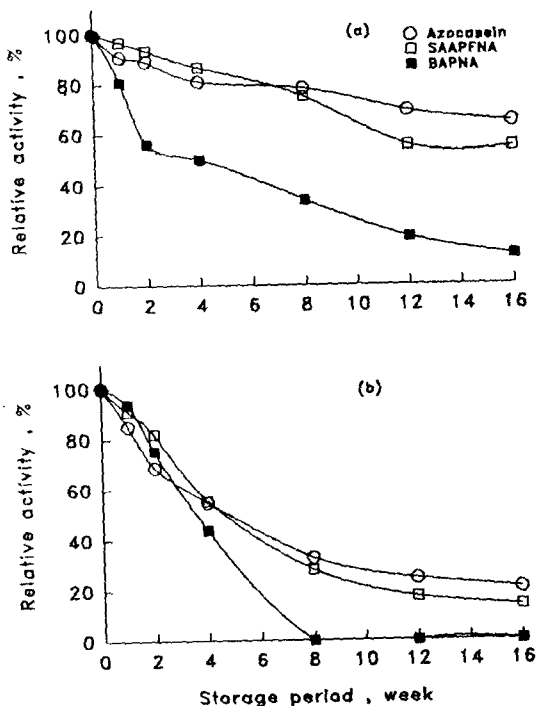


Fig. 5. Changes in proteolytic activity of the crude protease, from gizzard-shad (a) and seabass (b) muscles, during storage at 20 °C after immersing glycerine, on the various substrates.

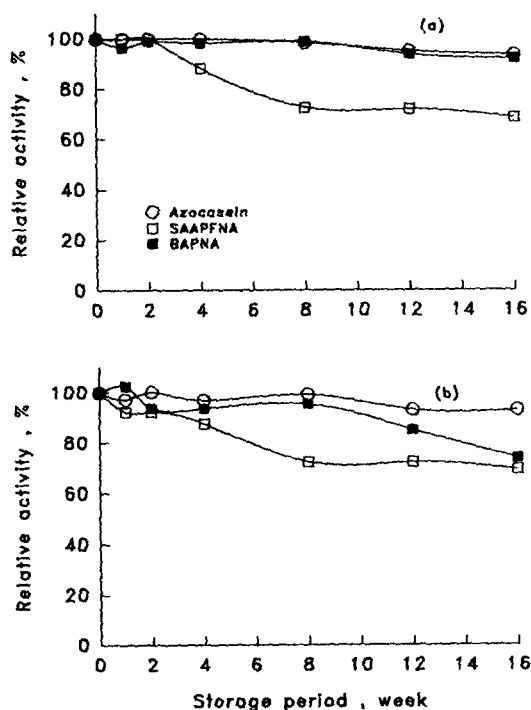


Fig. 6. Changes in proteolytic activity of the crude protease, from gizzard-shad (a) and seabass (b) visceras, during storage at 20 °C after immersing glycerine, on the various substrates.

thepsin B, H 및 L 유사 효소는 상대적으로 불안정하였다. 또한, 농어는 cathepsin H 유사 효소의 활성이 다른 3종의 기질에 비해 다소 높았고, 따라서, 전어와 농어 육의 조효소제제는 각각 cathepsin G 유사 효소와 cathepsin H 유사 효소가 단백질 분해를 주도한 것으로 추정된다.

Fig. 4는 전어와 농어의 내장 조효소제제의 저장 안정성을 분석한 결과를 나타낸 것으로서, 전어는 azocasein에 대한 분해 활성에 16주간의 실온 저장에서도 활성의 변화가 거의 없었으며, SAAPFNA와 BAPNA에 대한 분해 활성은 10~20% 정도의 감소를 나타내었다. 농어의 경우, azocasein과 SAAPFNA에 대한 분해 활성은 저장 16주 동안 약 30%의 감소를 보였고, BAPNA에 대하여는 50%의 활성 감소를 나타내었다. 이들 조효소제제의 기질 특이성으로 보아, 혈합육어인 전어의 내장 조효소제제는 chymotrypsin 및 trypsin

유사 효소가 단백질 분해를 주도 할 뿐만 아니라, 저장 안정성이 뛰어난 반면, 백색육어인 농어는 그 저장 안정성이 떨어진다고 하겠다.

육과 내장에서 추출한 조효소와 glycerol을 1:1로 혼합하여 조제한 조효소제제의 안정성을 분석한 결과를 각각 Fig. 5와 6에 나타내었다. 먼저, 육의 조효소제제의 경우 (Fig. 5), 전어는 실온 저장 16주에 이르기까지 azocasein에 대하여 약 20% 내외의 활성 감소를 보였으며, SAAPFNA에 대하여는 40%, BAPNA에 대하여는 90%의 활성 감소를 나타내었다. 농어의 경우는 azocasein과 SAAPFNA에 대하여는 저장 16주에 약 80% 내외로 활성이 감소하였고, BAPNA에 대하여는 저장 8주에 완전히 실패 하였다. 기질 특이성으로 나타난 저장 안정성은 Fig. 3의 결과에서와 마찬가지로 cathepsin G 유사 효소가 cathepsin B와 L 유사 효소 보다 안정한 것을 알 수 있었다.

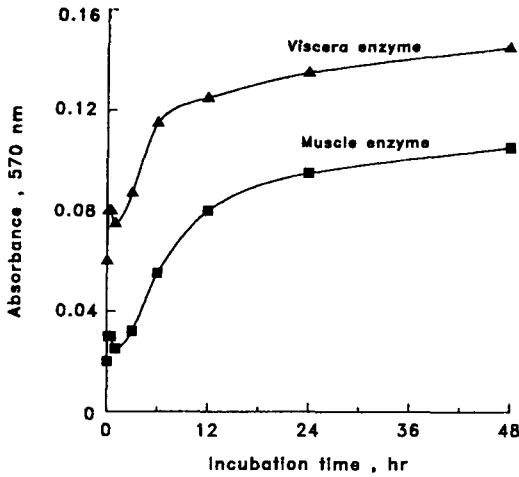


Fig. 7. Changes in 2.5% TCA-soluble fraction as a biuret-positive substance of enzymatic hydrolysate from the yellowtail, myofibrillar protein by the crude protease from the muscle and viscera of anchovy during incubation time at 20°C
Incubation condition:

Ratio of crude protease to myofibrillar protein:
Muscle enzyme, 1 : 10; Viscera enzyme 1 : 2,000.
Buffer solution; 100 mM NaCl · 10 mM Na-acetate · 0.02% NaN₃ pH 6.0

Fig. 6은 내장의 glycerol 혼합 조효소제제의 저장 안정성을 측정 한 결과로서, 전어는 azocasein과 BAPNA에 대한 분해 활성은 변화가 실은 저장 16주에 이르기까지 거의 없었으며, SAAPFNA에 대해 약 30%의 활성 감소를 보였다. 농어는 실은 저장 16주까지 azocasein에 대한 활성의 변화는 거의 없었다. SAAPFNA와 BAPNA에 대한 활성은 약 20%정도 감소하였다.

이상의 조효소제제에 대한 저장 안정성은 기질 종류에 따른 효소 활성에 차이를 보이지만, 대개 내장 효소가 육 효소 보다, 혈합육어 효소가 백색육어 효소보다 안정한 것으로 나타나 혈합육어의 내장은 효소제제 개발의 원료로 이용 가능할 것으로 생각되었다.

효소 작용에 의한 분해 생성 peptide의 분석
전보 (Pyeun et al., 1996)에서, 네 어종 중에서 특

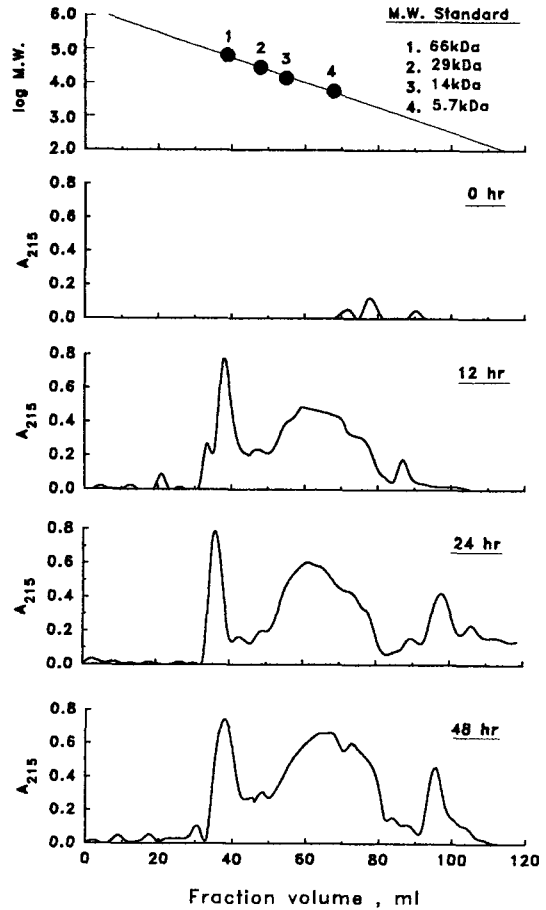


Fig. 8. Changes in sepsacryl S-100 gel permeation column chromatograms of the 2.5% TCA-soluble fraction of yellowtail myofibrillar protein by the crude protease from anchovy muscle during incubation time.
Incubation condition: Refer to the footnote of Fig. 7.

히 활성이 강한 것으로 나타난 멸치 육과 내장의 조효소를 방어의 근원섬유단백질에 작용시켜 그 분해 생성물을 2.5%의 TCA로 단백질을 제거한 후에 그 가용성 확분을 biuret법으로 흡광도를 측정 한 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 육과 내장의 효소 모두 분해 생성물의 양은 분해 12시간에 이르기까지 비례적으로 증가하였으며, Fig. 7에 의하면 육과 내장에서 추출한 조효소에 의한 단백질 분해 생성물의 생성량이 비슷한 경향을 보이면서 가수분해 12시간 이후 완만하게

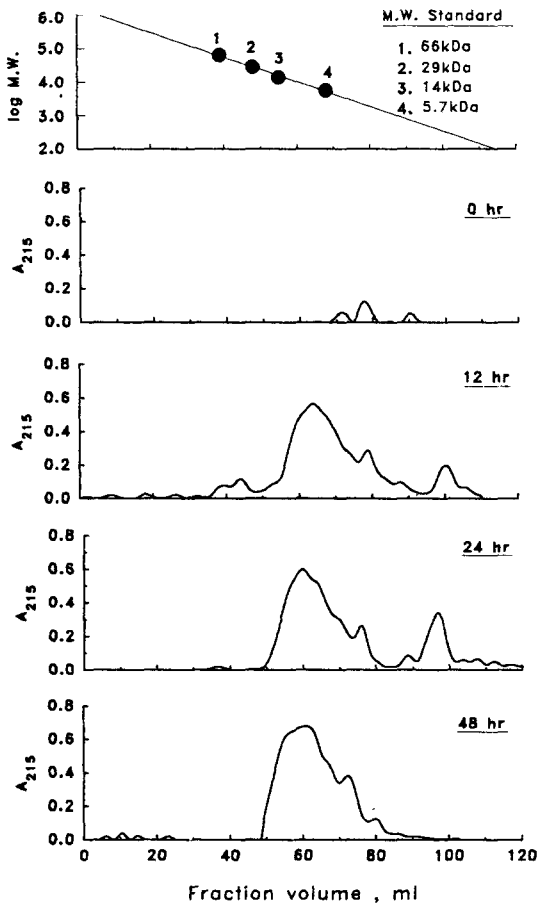


Fig. 9. Changes in sephacryl S-100 gel permeation column chromatograms of the 2.5% TCA-soluble fraction of the enzymatic hydrolysate of yellowtail myofibrillar protein by the crude protease from anchovy viscera during incubation time. Incubation time and condition: Refer to the footnote of Fig. 7 and 8.

증가함을 알 수 있었다. 그러나 내용면에서는 방어 근원섬유단백질에 대한 조효소의 첨가량을 내장 조효소의 경우 육에서 추출한 조효소의 첨가량에 비하여 1/200에 해당하는 양(육 조효소에 대한 내장 조효소의 첨가비; 100 mg : 0.5 mg)을 작용시켰기 때문에 내장 조효소가 육 조효소에 비하여 훨씬 강한 것을 알 수 있었다.

한편, Fig. 7의 실험으로 얻어진 멸치의 육과 내장 조효소의 분해 생성물의 분자량 분포를 알아보기 위

하여 Sephacryl S-100 겔 여과법으로 분석한 결과를 각각 Fig. 8과 9에 나타내었다. 먼저, 육 조효소의 분해 생성물은 분해 12시간에서 70 kDa, 10~15 kDa 및 3 kDa의 획분이 검출되었으며, 분해 48시간에 이르러 10~15 kDa 및 3 kDa이하의 획분 증가가 확인되었다 (Fig. 8). 내장 조효소의 분해 생성물은 육 조효소 분해 생성물과는 달리 전 반응시간에 걸쳐 70 kDa에 해당하는 획분은 나타나지 않았으며, 효소 반응 12~24시간에서 10~15 kDa 및 3 kDa이하의 획분의 증가가 인지되었다. 그러나 분해 48시간에서는 10~15 kDa의 증가한 반면, 3 kDa 이하의 획분이 보다 더 저분자로 분해되어 나타내지는 않았다 (Fig. 9).

멸치 육과 내장에서 추출한 조효소를 방어의 근원섬유단백질에 작용시켜 얻은 분해 생성물 중에 5% TCA-soluble peptide를 C₁₈ 칼럼을 사용하여 HPLC로 분석한 결과를 각각 Fig. 10과 11에 나타내었다. 먼저, 멸치 육 조효소를 방어 근원섬유단백질에 대하여 1 : 10의 비율로 작용시켰을 때 (Fig. 10), retention time (RT) 20분까지는 효소 반응 24시간과 48시간에서 peak 1, 2와 3의 양이 다소 증가하였으며, RT 50~60분에서 효소 반응 12시간의 시료에서는 peak 6만이 분리되었으나, 그 이후 분해 시간에서 더욱 세분화된 peak 4, 5, 6, 및 7이 생겨났다. 그리고 RT 65~75분에서는 분해 시간의 경과에 따라 peak 8과 9의 면적이 완만히 증가하는 경향이 있었다.

또한, 멸치 내장 조효소를 방어 근원섬유단백질에 대하여 1 : 2,000의 비율로 작용시켰을 때에는 RT 20분까지는 분해 시간 24시간, 48시간에서 peak 1, 2와 3이 검출되었으며, 분해 12시간에서는 RT 55~60분의 peak 7과 RT 65~75분의 peak 9, 10 및 11이 분리되었다 (Fig. 11). 한편, 효소 반응 24시간에서는 보다 세분화된 peak 4, 5, 6과 8이 나타났으며, peak 9, 10과 11의 증가와 RT 90분대의 peak 12가 더욱 분명하게 출현하였다. 효소 반응 48시간에서는 24시간에 나타난 peak의 면적이 전체적으로 증가하는 경향을 보였다.

이상의 결과에서 육과 내장의 조효소 가수분해액의 분리 양상이 유사한 경향을 나타내었는데, 이는 육과 내장 중에 분포하는 단백질분해효소 (serine-과 SH-proteinase)의 기질 특이성이 유사하기 때문이며 (Barrett, 1977; Haard, 1992; Suwansakornkul et al., 1993; Pyeun et al., 1996), 효소 작용 12시간 이후 더욱 세

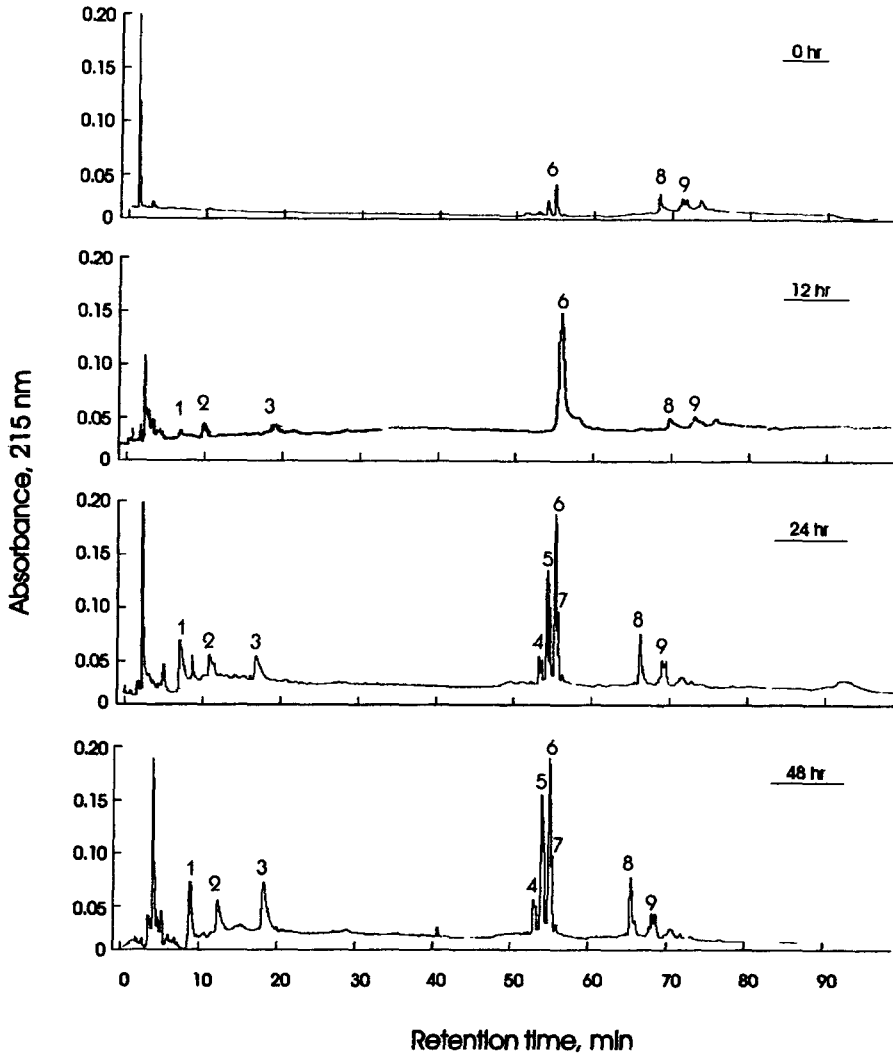


Fig. 10. Changes in C_{18} reversed-phase HPLC chromatograms of the 5% TCA-soluble peptides from the enzymatic hydrolysates of the yellowtail myofibrillar protein by the crude protease from anchovy muscle during incubation time. Incubation time and condition: Refer to the legend of Fig. 7 and 8.

분화된 peak를 나타내었고, 효소 작용 48시간일 때는 더욱 뚜렷한 분리 양상을 보여 소수성에 의한 분리양상면에서 더욱 세분된 peptide의 규칙적인 생성을 증명할 수 있었다.

Doke et al. (1980)과 Bonete et al. (1984)에 의하면, 천연 기질에 대한 효소의 작용은 효소와 기질간의

반응으로 1차 분해 산물이 생성되며, 이 1차 분해 산물의 생성에 비하면 반응속도는 느리지만, 1차 분해 산물이 다시 효소의 작용을 받아서 2, 3차 분해 산물을 생성하게 된다고 하였는데, 본 실험에서도 효소 반응시간의 경과에 따라 peak가 세분화된 것은 이러한 2, 3차 분해 산물에 기인하는 것으로 추정된다.

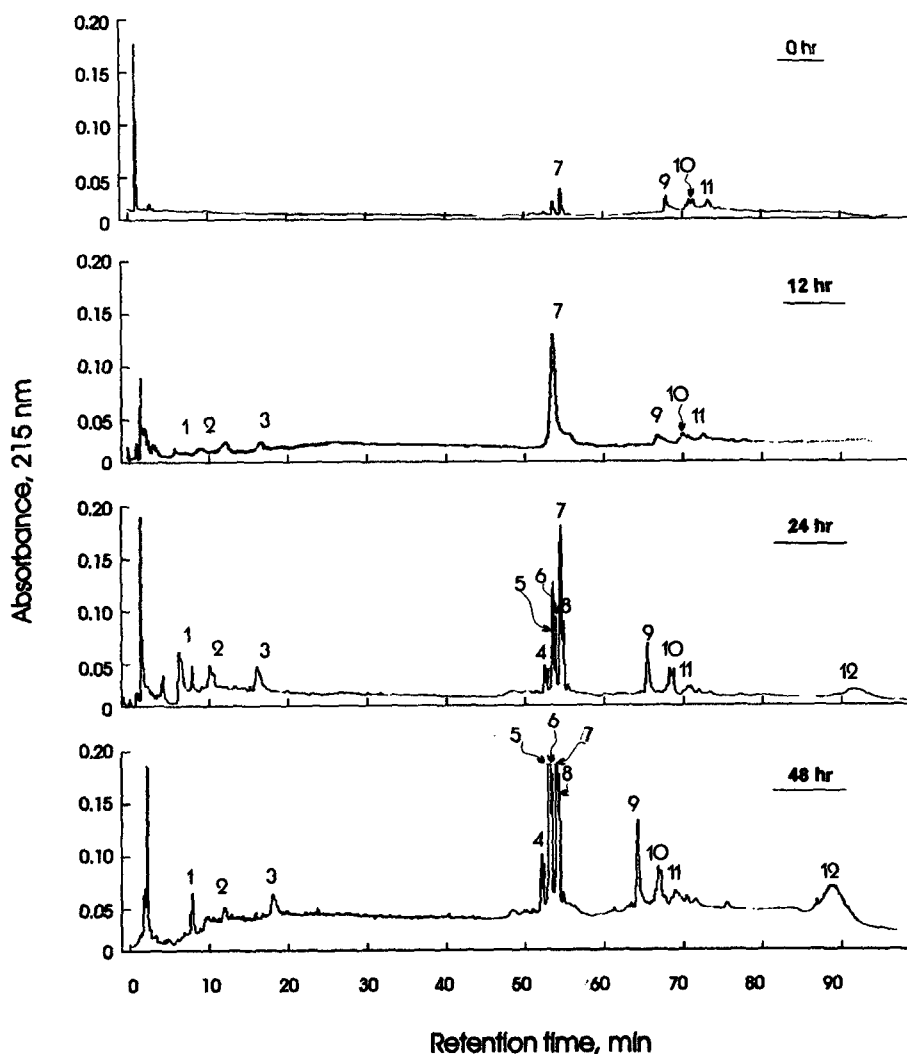


Fig. 11. Changes in C_{18} reversed-phase HPLC chromatograms of the 5% TCA-soluble peptides from the enzymatic hydrolysates of the yellowtail myofibrillar protein by the crude protease from anchovy viscera during incubation time.

요 약

어체 중에 분포하는 단백질분해효소를 어류가공 부산물의 회수 이용 측면에서 검토회자 혈합육어(멸치와 전어)와 백색육어(농어와 도다리)의 육과 내장에서 추출한 조효소에 대하여 식염농도의 차이가 활성에 미치는 영향, 그리고 진공동결건조와 glycerol의 혼합이 저장 중 단백질분해능에 미치는 영향 등에 관하여 검토하였다.

그리고 멸치의 육과 내장 단백질분해 조효소에 대하여는 효소작용 시간별로 방어근원섬유단백질의 분해생성물에 대한 Sephacryl S-100 gel chromatography 및 C_{18} reversed phase HPLC chromatography 분석도 병행하였다.

육에서 추출한 단백질분해 조효소는 casein과 방어근원섬유단백질 기질에 대하여 식염농도의 증가와 더불어 효소활성의 저해도 증대하였으며, 효소활성의 저해도는 방어근원섬유단백질에 비하여 casein 기질에

서, 혈합육어 단백질분해 조효소보다는 백색육어의 단백질분해 조효소에서 더욱 현저하였다. 내장에서 추출한 단백질분해 조효소의 경우, 혈합육어 단백질분해 조효소는 식염농도의 차이에 의하여 효소활성에 미치는 영향이 적었으나 백색육어의 단백질분해 조효소는 활성의 현저한 저하를 초래하였다.

전어와 농어의 육 및 내장 단백질분해 조효소의 활성에 미치는 동결건조 및 glycerol혼합에 의한 영향을 저장중에 비교한 결과, 기질의 종류에 따라 차이가 있었지만, 전어의 육과 내장 단백질분해 조효소에 비하여 농어의 육과 내장 단백질분해 조효소가 훨씬 불안정하였다.

멸치육과 내장 단백질분해 조효소의 방어근원섬유 단백질에 대한 가수분해작용은 반응초기에 신속히 진행되었고, 가수분해물의 생성량은 첨가된 단백질분해 조효소의 비율에 따라 규칙적으로 증가하였다. 그리고, 효소작용에서 생성한 가수분해물을 분석한 결과, 효소작용시간의 경과와 더불어 세분화된 획분의 종류와 양이 점차 증가하였으며, 이 같은 경향은 근육 단백질분해 조효소에 비하여 내장 단백질분해 조효소에서 더욱 현저하였다. 이 결과는 효소분해생성물의 종류와 양이 규칙적으로 분해되어 일정한 분해생성물이 증가하여 가는 것을 암시하였다.

참 고 문 헌

- Barrett, A. J. 1977. *Proteinases of mammalian cell and tissues*, North Holland Publ., pp. 181~208.
- Bass, E. J. and T. Cayle. 1975. Beer. In "Enzymes in food processing", ed. G. Reed, Academic Press, New York, p 455.
- Bonete, M. J., A. Manjon, F. Llorca and J. L. Ibora. 1984. Acid proteinase activity in fish-II. Purification and characterization of cathepsin B and D from *Mujil auratus* muscle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 78B, 207~213.
- Brown, D. H. and W. E. Smith. 1990. The impact of metal ion chemistry on our understanding of enzymes. In "Enzyme Chemistry", 2nd ed., Chapman and Hall, London, pp 227~243.
- Cheryan, M., Van Wyk, P. and M. F. Olson. 1975. Continuous coagulation of milk using immobilized enzymes in a fluidized bed reactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 17 : 585.
- Dambann, C., P. Holm and V. Jensen. 1971. How enzymes got into detergents. "Industrial Microbiology," ed. B.M. Miller and W. Litsky, Am. Inst. Biol. Sci., Washington, D.C., p 11.
- Demain, A. L. 1981. *Industrial microbiology*. Science 214, 987~995.
- Dixon, M. and E. C. Webb. 1979. *Enzymes*, 3rd Ed., Longman, London, pp. 47~62, 138~140, 164~169.
- Doke, S. N., V. Ninjoor and G. B. Nadkarni. 1980. Characterization of cathepsin D from the skeletal muscle of fresh water fish, *Tilapia mossambica*. *Agric. Biol. Chem.*, 44, 1521~1528.
- Eliksen, S. 1982. Controlled proteolysis of food ingredients. *Biochem. Soc. Trans.*, 10 : 285.
- Fujimaki, M., H. Kato, S. Arai and M. Yamashita. 1971. Application of microbial proteases to soybean and other materials to improve acceptability, especially through the formation of plastein. *J. Appl. Bacteriol.*, 34 : 119.
- Fujimaki, M., S. Arai and M. Yamashita. 1977. Plastein. In "Food proteins: Improvements through chemical and enzymatic modification," ed. R.E. Feeney and J.R. Whitaker, *Adv. in Chem Series No 160*, Am. Chem. Soc., Washington, D.C., p 156.
- Haard, N. F. 1992. A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their application in the food industry. *J. Aqua. Food Produc. Tech.*, 1, 17~31.
- Liston, J. 1982. Recent advances in the chemistry of iced fish spoilage. In "Chemistry and Biochemistry of marine food products." AVI publishing Co. U.S.A. 27~37.
- Litchfield, J. H. 1983. Single cell proteins. *Science*, 219, 740~746.
- Lyons, T. P. 1982. Proteinases in baking industry.

- Biochem. Soc. Trans., 10 : 285.
- Pelczar, M. J. and E. C. S. Chan. 1981. Elements of microbiology. McGraw-Hill Book Co., New York, pp 323~324.
- Pyeun, J. H., D. S. Lee, D. S. Kim, and M. S. Heu. 1996. Distribution of the proteolytic enzymes participating in post-mortem autodegradation of fish. J. Korean Fish. Soc., 29, submitted (in Korean).
- Raae, A J. and B. T. Walther. 1989. Purification and characterization of chymotrypsin, trypsin and elastase like proteinases from cod (*Gadus morhua L.*). Comp. Biochem. Physiol., 93B, 317~324.
- Sood, V. K. and F. V. Kosikowski. 1979. Acceleration of cheddar cheese ripening by added microbial enzymes. J. Dairy Sci., 62, 1865.
- Stefanini, M. and H. Martin. 1985. Fibrynolytic activity of extracts from non-pathogenic fungi. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99, 504.
- Suwansakornkul, P., Y. Itoh, S. Hara and A. Obatake. 1993. Identification of proteolytic activities of gel-degrading factors in three lizardfish species. Nippon Suisan Gakkaishi, 59, 1039~1045.
- Taguira, M., M. Suzuki M. Ishikawa and M. Sasaki. 1976. Pharmaceutical studies on aminopeptidase from *Aspergillus japonica* I. Chem. Pharm. Bull., 24, 2286.
- Yamamoto, A. 1975. Proteolytic enzymes. In "Enzymes in food processing" ed. G. Reed, Academic Press, New York, 123 pp.

1996년 4월 3일 접수

1996년 5월 4일 수리