한국농화학회지 제 40권 제 2호(1997)
Agricultural Chemistry and Biotechnology
Vol. 40, No. 2, pp. 95~100(1997)

공업적 이용을 위한 동물성 키틴분해효소의 탐색

한범구 · 이우진[1] · 조도현*

아주대학교 생물공학과, [1]삼아벤처

초록 : 키틴을 효소적인 방법으로 분해하여 키틴올리고머를 생산할 수 있는 값싸고 안정적인 효소원을 확보하기 위하여 농어, 방어, 대구, 닭 등의 동물체로 부터 키틴분해효소를 탐색하였다. 각 효소원의 장기와 소화액 및 달팽이 β-glucuronidase로 부터 키틴분해활성을 측정한 결과, 대구와 닭은 키틴을 주로 중합도 3~5의 크기로 분해하며 endochitinase의 활성도가 exochitinase활성보다 7~10배 높았다. 달팽이 β-glucuronidase는 키틴을 모두 N-acetylglucosamine으로 분해하였고 닭의 경우 소화기조직과 내용물에서 모두 endochitinase 활성이 높았다. 어류중에서 농어는 키틴분해활성을 보이지 않았으며 방어와 대구는 비슷한 수준의 키틴분해활성을 보였다. 이들 효소의 최적pH는 4~5, 최적온도는 50~60℃였다. 한편 키토산분해능력은 닭의 소화기내용물과 조직, 대구의 위조직에서 관찰되었으며, 닭 소화기내용물이 가장 높았으나 키틴분해능의 15%에 지나지 않았으며 그 다음은 달팽이의 β-glucuronidase로 닭 소화기내용물의 키토산분해능력의 약 30% 활성을 보였다. 키틴올리고머의 생산을 위한 가장 적합한 효소원으로 exochitinase 활성이 적고, endochitinase 활성이 높으며 값이 저렴하고 안정적인 공급이 가능한 닭의 소화기가 적합한 것으로 사료되었다.(1996년 12월 2일 접수, 1997년 2월 5일 수리)

서 론

최근들어 각광을 받고 있는 키틴, 키토산의 올리고머는 다양한 생리활성을 갖고 있으며 수용성이어서 이들 올리고머의 생산에 대한 많은 연구들이 이루어지고 있다.[1] 이들 올리고머중 의약품등에 가장 부가가치가 높고 응용범위가 많은 것은 4~6개정도 중합된 것으로 산처리등의 화학적인 방법[2,3]으로는 수율이 낮고 환경적인 문제점을 나타내고 있어서 효소에 의한 방법이 연구되고 있다.

키틴을 구성하고 있는 N-acetylglucosamine의 C-1과 C-4 결합을 끊는 효소인 키틴분해효소는 endochitinase, exochitinase, β-N-acetylglucosaminidase와 chitobiase 등이 알려졌으며 다양한 생명체에 분포하고 있다.[4] 식물체의 키틴분해효소들이 주로 방어기작에 관여하여[5] 외피에 주로 존재하는[6] 반면에 동물체의 키틴분해효소는 키틴을 많이 함유하는 새우, 게 등을 먹이로 하기 때문에 주로 소화기관에 존재하거나 탈피시에 분해효소로 존재한다.[4,7,8] 한편 미생물이 생산하는 키틴분해효소는 분해양상이 exochitinase형으로 N-acetylglucosamine이나 dimer의 생산이 대부분이며 N-acetylglucosamine의 중합도 3이상인 분해산물은 아주 소량이거나 존재하지 않는 것으로 보고되어 있다.[9]

Jeuniaux와 Cornelius[7]는 조류와 포유류의 소화기관에서 키틴분해효소의 활성을 보고하였으며, 굴,[10] 참새우[11] 등의 수중 무척추동물에서도 키틴분해효소가 존재함이 보고되었다. Kono 등[12]은 뱀장어의 위에서 키틴분해효소의 존재를 보고하였고, Okutani[8]는 해양어류의 소화기관에서 키틴을 단당체로 분해하는 미생물이 존재함을 보고하였다. 이와같이 해양어류 소화기와 소화기내에 존재하는 미생물이 키틴을 다당체로 분해할 가능성을 보여주고 있다. 한편, Smironoff[13]는 닭의 모래주머니와 내용물에서 다량으로 키틴 분해효소를 추출하는 방법을 보고하였으나 생물학적인 농약인 BT(*Bacillus thuringiensis*)제제의 첨가물로 애기잎 파리나방 유충(budworm)으로부터 가문비나무나 전나무의 보호에 효과가 증진하였다고 보고하였을 뿐 효소의 특성에 대한 연구는 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 값이 저렴하고 지속적인 원료공급이 가능한 효소원을 탐색하고 올리고머를 생산하기 위한 기초연구로 여러 동물체의 소화기 및 소화기내용물에서 키틴분해효소의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

닭(*Gallus gallus*)은 대연식품(경기도 용인시 소재)에서 당일 처리한 닭의 소화기(전위+모래주머니)와 내장을 절개하여 사용하였고, 대구(*Gadus macrocephalus*)의 위는 가락시장에서 냉동상태로 구입하여 해동시켜 사용하였다. 농어(*Lateolabrax japonicus*)와 방어(*Seriola quinqueradiata*)는 수원시내 횟집에서 당일 구입하여 사용하였다. 표품인 chitobiose, chitotriose, chitotetraose, chitopentaose는 Seikagaku (Japan)의 제품을 N-acetylglucosamine은 Sigma사의 제품을 사용하였다. 달팽이 내장에서 추출한 β-glucuronidase(Sigma, 미국)는 pH 5.2, 40 mM citrate-phosphate 완충액으로 희석하여 사용하였다.

효소액의 제조

효소액은 한 등의 방법[6]으로 제조하였다. 즉, 닭의 소화

찾는말 : chitin, chitinase, animal, oligomer, chitosanase
*연락저자

기(전위+모래주머니)와 내장, 대구, 농어, 방어의 위, 지라, 간 등은 표면의 지방을 제거한 후에 절개하여 pH 5.2, 40 mM citrate-phosphate 완충액으로 세척하여 내용물을 분리하였다. 세척한 조직에 상기 완충액을 1 : 4 (w/v)로 가하여 Ace-Homogenizer(Nihonseiki, Japan)로 분쇄한 후 이들 시료를 3,000 g에서 10분 원심분리하여 얻은 상징액을 다시 20,000 g에서 20분 원심분리 후 상징액을 $(NH_4)_2SO_4$를 100%로 포화시켜서 염석하여 사용하였다. 각 효소액을 Lowry 등의 방법[14]으로 단백질을 정량하였다.

효소활성 측정

(1) Exochitinase 활성측정

표준분석법은 염산을 처리하여 제조한[15] colloidal chitin 2 mg에 단백질 1 mg해당량의 효소액을 가하고 부피를 4 ml이 되도록 pH 5.2, 40 mM citrate-phosphate 완충액으로 조정한다. 37℃에서 2시간 진탕하면서 반응시킨 후 100℃에서 10분간 가열하여 반응을 중지하고 냉각하여 3,000 g에서 20분간 원심분리하여 미반응의 colloidal chitin을 제거한 후 상징액을 Reissig 등의 방법[16]으로 분해된 N-acetylglucosamine을 정량하였다.

(2) Endochitinase 활성측정

Exochitinase 활성측정 상징액 500 μl를 취하여 상징액중에 녹아 있는 키틴올리고머를 N-acetylglucosamine으로 분해시키기 위하여 달팽이내장 β-glucuronidase (Sigma사, 미국) 100 μl(1U)를 가하고 pH 5.2, 40 mM citrate-phosphate 완충액으로 1 ml이 되도록 조정하고 37℃에서 1시간 진탕 반응한 후 100℃에서 10분간 가열하여 반응을 중지한 후 냉각하여 Reissig 등의 방법[16]으로 정량하여 total activity를 측정한 후 다음과 같이 계산하였다.

Endochitinase activity = total activity - exochitinase activity

(3) 분해산물의 TLC에 의한 분석

분석에 사용한 TLC plate는 Sigma사의 제품(20×20 cm, 250 μm)을 사용하였다. Propanol : water : NH_4OH (60 : 40 : 5, v/v)의 전개용매에서 15 cm를 전개시키고 발색하여 표품과의 Rf값을 비교하여 확인하였다.

발색시약은 1% *o*-aminophenol : H_3PO_4 : water를 1 : 2 : 1 (v/v)의 비율로 만들어 분무하고 110℃에서 1시간 가열하여 발색하는 방법[17]과 fluorescamine을 acetonitrile에 녹여서(0.2 mg/ml) 분무하고 UV(365 nm)를 조사하여 측정[18]하였다.

(4) 키토산 분해효소의 활성 측정

키토산 초산용액을 중화하여 제조한[19] colloidal chitosan 2 mg에 1 mg해당량의 효소액을 가하고 부피가 4 ml이 되도록 pH 6, 40 mM citrate-phosphate 완충액으로 조정한다. 37℃에서 2시간 진탕하면서 반응시킨 후 100℃에서 10분간 가열하여 반응을 중지하고 냉각하여 3,000 g에서 20분 원심분리하여 상징액을 Tsuji 등의 방법[20]으로 hexosamine을 정량하였다.

(5) 온도 및 시간, pH의 효과 측정

온도는 pH 5.2에서 30~70℃까지 10℃간격으로 2시간씩 반응시키고, pH는 2.5~7까지는 citrate-phosphate, 7~8까지는 phosphate 완충액으로 37℃에서 2시간 반응 후 exochitinase와 endochitinase활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

키틴분해효소의 분포

동물성 효소원에서 키틴분해능은 Table 1에서 보는 바와 같이 소화기조직과 소화기내용물 사이에서 효소활성의 차이가 거의 없는 것이 특징이었으며 달팽이 내장 β-glucuronidase가 키틴분해능이 가장 높고 닭과 대구가 다음의 활성을 나타내었다. 방어도 대구수준의 효소활성을 나타내었으나 시료확보에 어려움이 있다. 농어의 경우에는 전혀 효소의 활성을 보이지 않는 것은 Okutani[8]의 결과 와는 상이하다. 이는 현재 국내 시장의 농어가 가두리 양식에 의하여 사육되는 관계로 사료 공급시의 사료상의 차이로 생각되며 자연에서 어획되는 농어와 양식 농어와의 비교연구가 필요하다고 생각된다. Jeuniaux와 Cornelius[7]는 닭의 경우 1350~4040 μgNAG/g fresh tissue-h의 활성을 보고하였고, Danulat[21]는 대구의 위조직이 가장 활성이 높아 695±284 μg/g fresh tissue-h이었으며, 장내용물은 위조직의 70%를 나타내며, 위내용물은 50% 수준을 보임을 보고하였다. 이것은 닭 모래주머니의 신선한 조직 1 g이 10 mg정도의 단백질양에 해당되므로 단백질을 기준으로 환산하면 135~404 μg/mg protein-h의 활성도를 갖는 것으로 본 연구에서 270~320 μg/mg protein-2h의 활성도와 비슷한 결과를 보여준다.

어류의 경우에 소화기에서 키틴분해효소의 출처에 대하여는 소화기조직에서 분비되는 키틴분해효소와 소화기에 공생하는 미생물에 의한 것으로 Okutani[8]는 보고하였다. 따라서 닭의 경우에도 소화기내용물에서 존재하는 미생물의 종류와 키틴분해능을 갖는지에 대한 연구가 앞으로 이루어져야겠다.

Table 1. Distribution of the total chitinolytic activity of some crude enzyme from animal source.

Source	Part	Specific activity (μg/mg protein-2h)
Broiler	gizzard	320
	chyme	320
	intestines	±
Bas	stomach	UD
	liver	UD
	spleen	UD
Yellowtail	stomach	120
	stomach contents	110
Cod	stomach	200
	stomach contents	180
Snail	β-glucuronidase	90

UD, undetectable; ±, not constant.

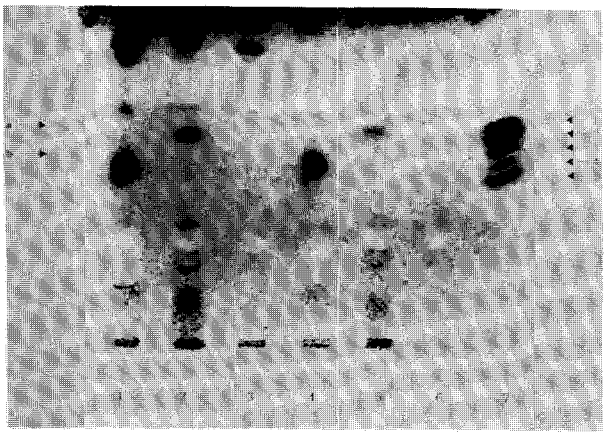

Fig. 1. TLC analysis of the reaction product of colloidal chitin by the crude enzymes. 1, chyme; 2, chyme+β-glucuronidase; 3, chyme without substrate; 4, gizzard; 5, gizzard+β-glucuronidase; 6, gizzard without substrate; 7, standard.

본 실험에서는 가격이 저렴하고 안정적으로 쉽게 구입할 수 있는 닭의 소화기와 대구의 위 두 가지에서 조효소를 제조하여 키틴분해특성과 pH, 온도의 영향을 조사하였다.

TLC에 의한 분해산물의 분석

소화기조직과 내용물을 효소원으로하여 키틴과 반응시킨 후 반응액 그대로와 달팽이 β-glucuronidase로 처리한 후에 이를 TLC로 분석하였다(Fig. 1). Fig. 1에서 보는 바와 같이 조직과 소화기내용물 모두 키틴을 중합도 3~5정도로 분해함을 관찰 할 수 있었다(lane 1,4). 이것을 달팽이 β-glucuronidase로 처리한 결과 모두 단당체로 분해됨을 보였다(lane 2,5). 이는 Fig. 2에서 달팽이 β-glucuronidase의 exochitinase 활성도가 다른 효소원보다 월등히 높은 것과 일치된다고 할 수 있다. 대구의 경우에는 조직과 내용물이 약간 다른 키틴의 분해형태를 보임을 알 수 있었으나(data not shown), 달팽이 β-glucuronidase 처리후에 monomer의 검출이 분명치 못하여 이에 대한 연구가 필요하다.

pH의 영향

(1) Exochitinase

Fig. 2에서 보는 바와 같이 달팽이 β-glucuronidase가 7~17 μg/mg protein-2h의 활성을 갖는 닭이나 대구의 효소보다 4~5배 정도 우수한 90 μg/mg protein-2h의 활성도를 나타내었다. 또한 대구나 닭의 경우 소화기 내용물과 소화기조직에서 활성도의 차이가 거의 없었다. 최적 pH는 달팽이 β-glucuronidase은 pH 6이었으며 닭의 소화조직의 경우 pH 5이었고 나머지 효소시료는 모두 pH 6 부근이었다.

닭과 대구의 소화기내용물은 pH 5~7사이에서 최대활성의 90%를 보이고 있어 비교적 광범위한 범위에서 효소활성을 나타내고 있다.

(2) Endochitinase

닭과 대구 모두 소화기조직과 내용물에서 활성의 차이가 거의 없는 것은 exochitinase와 비슷하나 endochitinase 효소활성에서는 닭의 경우는 280~290 μg/mg protein-2h이

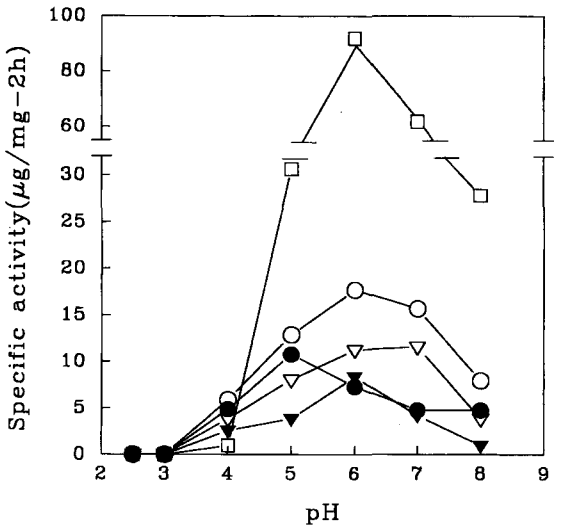

Fig. 2. Effect of the pH on the exochitinolytic activity of some curde enzymes. chyme of the brolier(○—○), gizzard of the broiler(●—●), stomach contents of the cod(▽—▽), stomach of the cod(▼—▼), β-glucuronidase from snail gut(□—□).

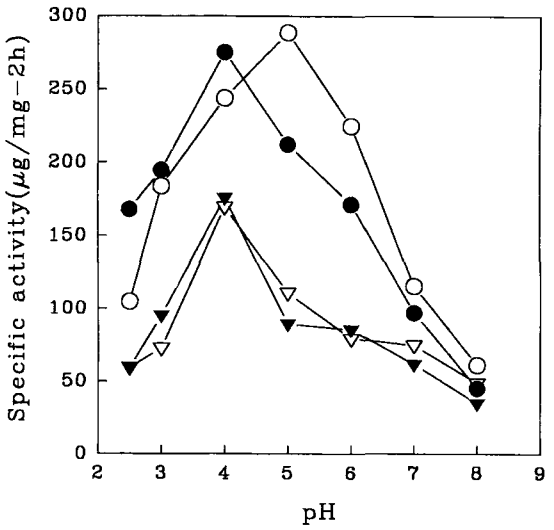

Fig. 3. Effect of the pH on the endochitinolytic activity of some crude enzymes. chyme of the brolier(○—○), gizzard of the broiler (●—●), stomach contents of the cod(▽—▽), stomach of the cod (▼—▼).

며 대구의 경우에는 180 μg/mg protein-2h으로 exochitinase의 활성보다 7~10배 이상의 높은 효소활성을 갖고 있음을 보이고 있다. 또한 닭 소화기 내용물은 최적 pH가 5이었으나 닭 소화기조직과 대구의 소화기조직 및 소화기 내용물은 모두 exochitinase의 경우와는 달리 pH 4 부근에서 최적 pH를 나타냈다. 한편, exochitinase활성이 가장 높았던 달팽이 β-glucuronidase는 endochitinase활성은 검출되지 않거나 미약하였다.

pH변화에 대한 효소활성도는 닭의 소화기내용물의 경우에는 최적 pH가 5로써 pH 4와 pH 6에서 최대활성의 70~80%를 유지하며 pH의 변화에 따른 효소활성도의 차이가 적었으나 최적 pH가 4인 대구소화기나 내용물에서는 pH

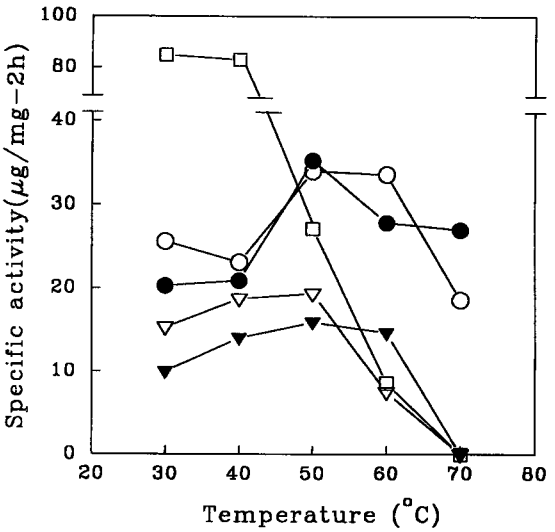

Fig. 4. Effect of the temperature on the exochitinolytic activity of some crude enzymes. chyme of the broiler(○—○), gizzard of the broiler(●—●), stomach contents of the cod(▽—▽), stomach of the cod(▼—▼), β-glucuronidase from snail gut(□—□).

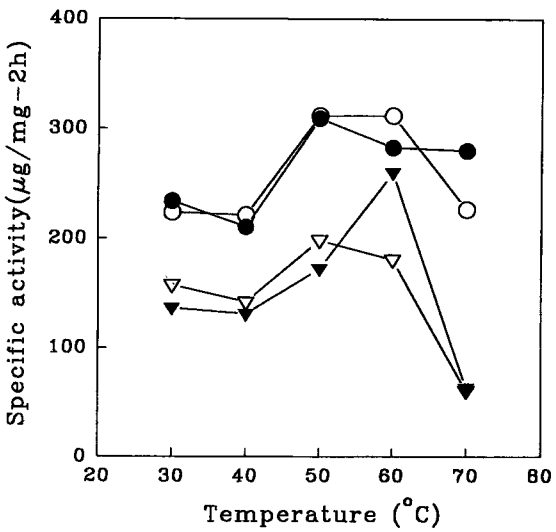

Fig. 5. Effect of the temperature on the endochitinolytic activity of some curde enzymes. chyme of the broiler(○—○), gizzard of the broiler(●—●), stomach contents of the cod(▽—▽), stomach of the cod(▼—▼).

3과 5에서 60% 이하의 활성을 보여서 pH 변화에 따라 아주 예민하게 효소활성도가 감소하였다.

Smucker와 Wright[10]는 굴에서 분리한 키틴분해효소의 최적 pH가 6으로 보고하였으며 Okutani[8]는 농어에서 분리한 키틴분해효소의 최적 pH가 4이며 pH 3~8에 이르기까지 안정하다고 보고하였다. Manson 등[22]은 가자미에서 키틴분해효소의 최대활성이 pH 2~3에서 나타나며 pH 6에서는 최대활성도의 10% 정도로 보고하여 동물의 키틴분해효소는 최적 pH와 pH변화에 대한 안정성이 다양함을 보여준다.

온도의 영향

(1) Exochitinase

온도의 변화에 따른 exochitinase의 활성도 변화는 Fig. 4에 나타내었다. 달팽이의 β-glucuronidase는 30~40℃에서 안정된 최고활성을 보였으며 50℃ 이상에서는 활성이 급격히 감소하여 30% 이하로 감소하였으며 60℃에서는 10% 정도만 유지하였다. 반면에 닭이나 대구의 경우에는 50~60℃에서 최고의 활성을 보였으며 특히 닭의 조직의 경우에는 70℃에서도 최대활성도의 60%를 유지함이 특기할만하다.

(2) Endochitinase

Endochitinase의 활성도 50~60℃에서 최적의 활성을 보였으며 닭의 경우가 대구의 경우보다 활성이 높은 것은 exochitinase의 경우와 동일한 경향을 보였다(Fig. 5). 한편 식물체에서 한 등[6]이 보고한 바와 같이 exochitinase와 endochitinase의 활성정도가 뒤바뀌는 경향은 보이지 않았다. Exochitinase의 경우와 마찬가지로 닭의 경우에는 70℃에서도 상당한 열안정성을 보이고 있다.

닭의 체온이 41℃이지만 대구의 체온은 10~14℃이어서 체온과 최적온도와의 연관성은 이들 효소를 순수분리하여 열안정성등의 연구를 수행한다면 보다 명확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

Table 2. Comparison of the relative chitosanolytic activity of some crude enzyme from animals.

Source	Specific activity (μg/mg protein-2h)	Relative activity (%)
Chyme of the broiler	40	100
Gizzard of the broiler	8	20
Stomach contents of the cod	2	5
Stomach tissue of the cod	0	0
β-glucuronidase from snail gut	8	45

The reaction mixture contained 2 mg of the colloidal chitosan and the volume of each fraction equivalent to 1 mg of protein.

키토산분해효소활성

키틴분해효소의 분포와는 달리 닭과 대구 모두 조직에서 키토산분해활성도가 약하거나 검출되지 않고 내용물에서만 주로 검출되었음을 보여준다(Table 2). 표준 반응조건인 pH 6에서 효소활성을 측정한 결과 닭소화기액이 40 μg/mg protein-2h으로 가장 높은 활성을 보였으며, 이는 키틴분해효소의 활성도인 280 μg/mg protein-2h에 비하여 15% 수준이다. 달팽이 β-glucuronidase는 닭 소화기내용물의 키토산분해능의 30% 활성을 보였다. 이 활성도는 키틴분해능에 비하면 20% 수준이다. 끝으로 대구의 경우에는 키토산분해능이 2 μg/mg protein-2h으로 키틴분해능의 160 μg/mg protein-2h에 비하여 아주 낮다. 따라서 닭, 대구, 달팽이 β-glucuronidase 모두가 키토산보다는 키틴을 더 잘 분해함을 보여주고 있다.

이상의 결과를 종합하면 키틴을 이용한 키틴올리고머의 생산을 위한 가장 적합한 효소원으로 exochitinase활성이 낮고 endochitinase활성이 높은 닭과 대구의 소화기가 선발되었으며 이중 닭의 소화기가 공급이 안정적이며 쉽게 구할 수 있는 장점이 있다. 또한 닭의 소화기에서 중합도 3~

5사이의 올리고머를 분해하는 것이 TLC상으로 확인된 점은 기존에 보고되지 않은 것으로 공업적으로 이들 올리고머를 대량 생산할 수 있어 그 상품가치는 매우 크며 비교적 고온에서 반응시킬 수 있다는 장점이 있다. 또한 위에서 탐색한 각 동물체의 키틴분해효소를 정제·순수분리하여 비교한다면 더욱 정확한 결과를 얻을 것이며 이에 대한 연구가 진행중에 있다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 '95 산학협력연구 지원과제(과제번호 : 95-1-15-03-01-3)에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 坂井和男 (1987) キチン・キトサンゴ糖の開發と現狀. "キチン・キトサンの科學" 食品化學新聞社, pp.106-111.
2. Horowitz, S. T., S. Roseman and H. J. Blumenthal (1957) The preparation of glucosamine oligosaccharides. I. Separation. *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 5046-5049.
3. Rupley, J. A. (1964) The hydrolysis of chitin by concentrated hydrochloric acid, and the preparation of low-molecular-weight substrate for lysozyme. *Biochimica et Biophysica Acta*, **83**, 245-255.
4. Flach, J., P. E. Pilet and P. Jollès (1992) What's new in chitinase research? *Experientia*, **48**, 701-716.
5. Schlumbaum, A., F. Mauch, U. Vögeli and T. Boller (1986) Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. *Nature*, **324**, 365-367.
6. 한범구, 이우진, 박인호, 조도현 (1996) 공업적 이용을 위한 식물성 키틴분해효소의 탐색. 한국농화학회지, **39**, 466-471.
7. Jeuniaux, C. and C. Cornelius (1978) Distribution and activity of chitinolytic enzymes in the digestive tract of birds and mammals. in "Proceedings of the first international conference on chitin/chitosan." edited by Muzzarelli, R. A. A. and E. R. Pariser, MIT Sea Grant Report MITSG, pp. 542-549.
8. Okutani, K. (1978) Chitin digestion in the digestive tract of fish. in "Proceedings of the first international conference on chitin/chitosan." edited by Muzzarelli, R. A. A. and E. R. Pariser, MIT Sea Grant Report MITSG, pp. 554-562.
9. 渡邊剛志 (1995) 微生物キチナ-ゼ in "キチン,キトサンハンドブック" edited by キチン,キトサン研究會, 技報當出版社, pp. 67-72.
10. Smucker, R. A. and D. A. Wright (1986) Oyster chitinase activity as a function of ionic concentration of the medium. in "Chitin in Nature and Technology" edited by Muzzarelli R. A. A., C. Jeuniaux and G. W. Gooday, Plenum Press, New York, pp. 251-254.
11. Kono, M., T. Matsui, C. Shimizu and D. Koga (1990) Purification and some properties of chitinase from the liver of a prawn, *Penaeus japonicus*. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2145-2147.
12. Kono, M., T. Matsui, C. Shimizu and D. Koga (1990) Purification and some properties of chitinase from the stomach of Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Agric. Biol. Chem.* **54**, 973-978.
13. Smironoff, W. A. (1978) Method of extracting chitinase from gastric juices and intestinal chyme of chicken. in "Proceedings of the first international conference on chitin/chitosan." edited by Muzzarelli, R. A. A. and E. R. Pariser, MIT Sea Grant Report MITSG, pp. 550-553.
14. 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.
15. Shimahara, K. and Y. Takiguchi (1989) Preparation of crustacean chitin. *Meth. Enzymol.*, **161**, 417-423.
16. Reissig, J. L., J. L., Strominger, and L. F., Leloir (1955) A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars. *J. Biol. Chem.*, **217**, 965-968.
17. Stahl, E. (1969) Thin-layer chromatography - a laboratory handbook, Springer-Verlag pp. 807-836.
18. Chen, A. C. and Richard T. M. (1981) Fluorescamine as a tool for amino sugar analysis. *J. Chromatogr.*, **207**, 445-448.
19. 이우진, 한범구, 박인호, 박승현, 오훈일, 조도현 (1995) 키토산 제조시 반응 온도와 시간및 입자크기가 키토산의 물리화학적 특성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, **27**, 997-1002.
20. Tsuji, A., T. Kinoshita, and M. Hoshino (1969) Analytical chemical studies on amino sugars. II. Determination of hexosamines using 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone hydrochloride. *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1505-1510.
21. Danulat, E. (1986) Origin of chitinase activity in cod, *Gadus morhua* (L.). in "Chitin in Nature and Technology" edited by Muzzarelli, R. A. A., C. Jeuniaux and G. W. Gooday, Plenum Press, New York, pp. 241-243.
22. Manson, F. D. C., G. W. Gooday and T. C. Fletcher (1989) The development of gastric and blood chitinase activity in the turbot, *Scopathalmus maximus* (L.). in "Chitin and chiotosan-sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications." Elsevier Applied Science, pp. 243-253.

Survey on the Chitinolytic Activity from Some Animals for the Industrial Utilization.

Beom Ku Han, Woo Jin Lee[1] and Do Hyun Jo* (*Department of Biotechnology, Ajou University, Suwon 441-749, Korea;* [1]*Sama Venture Co*)

Abstract : This study was aimed to survey inexpensive and reliable sources of chitinase from the animal origin. The stomach and its content of the broiler, the cod, the yellowtail and β-glucuronidase from snail gut showed a considerable chitinolytic activity, while those of the bas didn't have any detectable activity. These crude enzymes was found to have both endo- and exochitinase activity. The effects of pH and temperature on the enzyme activity were variable. The hydrolytic products of colloidal chitin by the enzyme preparation from the broiler and the cod were chitooligomers having the degree of polymerization between 3 and 5. Furthermore we observed the chitosanolytic activity from these enzymes. In the degradation of chitosan the chyme of the broiler had the highest activity and β-glucuronidase from snail gut followed. On the basis of the fact that the by-product of the broiler was not only commercially available but also the most potent in the endochitinase activity and the lowest in the exochitinase activity, we conclude that the gizzard and its chyme are considered as the most suitable source of the industrial chitinase among animals studied in this paper.

Key Words : chitin, chitinase, animal, oligomer, chitosanase
*Corresponding author