

멸치 가공선 자숙폐액으로부터 타우린의 분리

이지혜 · 지청일* · 박덕천* · 구연숙* · 박재홍* · 박영호* · 김선봉*
국립수산물검사소, *부경대학교 식품생명공학부

Isolation of Taurine from Cooking Wastes of Anchovy Factory Ship

Ji Hye Lee, Cheong Il Ji*, Douck Choun Park*, Yeun Suk Gu*, Jae Hong Park*,
Yeung Ho Park* and Seon Bong Kim*

National Fisheries Products Inspection Station

*Faculty of Food and Biotechnology, Pukyong National University

Abstract

The isolation of taurine from cooking wastes of anchovy factory ship was conducted. Anchovy cooking wastes had 93.9% moisture, followed by 4.8% ash, 0.4% protein and 0.2% lipid in order. Free amino acids of anchovy cooking wastes consisted of 38.8% taurine, 26.6% histidine and 10.0% glutamic acid. Taurine-rich fraction was isolated by cation and anion exchange chromatography with its yield and purity being 79.2% and 89.9%, respectively. The 80% ethanol precipitate obtained from the taurine-rich fraction showed yield of 29.5% and purity of 98.1% as taurine.

Key words: taurine, anchovy cooking wastes

서 론

타우린은 비단백성 아미노산의 일종으로 2-aminoethanesulfonic acid의 구조를 가진 β -alanine 유사물로 단백질의 구조형성에 참여하지 않고 동물의 담즙 중의 cholic acid와 결합하여 taurocholic acid로서 다량 존재하는 외에 해산어류의 혈합육, 오징어, 패류 등의 연체동물 그리고 해조류 등에 광범위하게 존재하는 것으로 알려져 있다⁽¹⁻⁴⁾.

이러한 타우린은 혈중 콜레스테롤·중성지방량 저하, 저밀도·초저밀도 지질단백질중의 콜레스테롤량 감소에 의한 동맥경화성 질환의 억제, 담즙산 생합성 촉진에 의한 항담석작용, 간효소대사·간기능개선, 담즙분비 촉진 등에 의한 급성간질환 환자의 증상개선, 뇌의 교감신경에 대한 억제작용으로 인한 혈압강하, 뇌졸중의 예방 등 그 생리작용 및 유용성에 대한 연구가 현재까지 다수 보고되고 있을 뿐 아니라 그외 안구의 피로회복, 노인성 치매증상 개선, 노화 방지 등에 대한 결과도 보고되고 있다^(4,7).

그리하여 현재, 일본을 비롯한 구미유럽에서는 건강음료, 특수 조제분유, 이유식 및 비타민제 등에 기능성 소재로서 첨가되어 널리 이용되고 있으며 추후 건강식품·특정보건식품에 이용되는 빈도가 증가할 것으로 예측되고 있다.

한편, 국내에서는 합성 타우린이 일부 의약품에 사용되고 있는 정도로 추후 천연 타우린의 생산 이용전망은 밝다고 할 수 있으나, 천연 타우린 소재를 얻기 위한 소재 탐색 및 분리, 정제에 관한 연구는 일본에서 몇편의 특허 등록 및 보고가 되어 있고⁽⁸⁻¹⁰⁾, 국내에서는 Lee 등⁽¹¹⁾이 굴 박신액으로부터 타우린의 분리에 관한 연구가 있을 뿐 이에 대한 연구는 극히 미비한 실정이다.

한편, 우리나라 연구해 자원 중 매년 어획량의 큰 변화없이 어종별 생산순위의 수위를 차지하고 있는 멸치는 약 10% 정도가 자건품으로 가공되고 있는데 자숙공정은 어획 즉시 선상에서 처리되며, 이때 발생하는 자숙액은 타우린을 다량 함유하고 있으나 어선 1척당 1회 15여톤으로 추정되는 많은 양이 바다로 폐기될 뿐만 아니라 해양오염까지 유발하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 멸치 자건품의 선상 가공시 나오는 자숙액의 유효이용을 도모 하고 그 분리기술을

Corresponding author : Seon Bong Kim, Faculty of Food and Biotechnology, Pukyong National University, Daeyeon3-dong Nam-gu, Pusan 608-737, Korea

개발하기 위해 이온교환수지 및 결정화처리를 행하여 타우린을 분리, 정제하고 각 단계별 수율과 순도를 살펴보았다.

재료 및 방법

멸치 자숙액

멸치 자숙액은 경남 통영시 근해 멸치 가공선에서 나오는 자숙 폐액을 그대로 수집하여 냉장상태로 운반한 후 -18°C의 동결실에 저장하여 두고, 사용할 때 저온실(4°C)에서 정치해동한 후 부유하는 협잡물을 제거하기 위하여 감압여과하고 별도의 펩티드 제거과정이나 pH 조정없이 시료로 사용하였다.

일반성분

수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 Kjeldahl법, 회분은 전석회화법으로 측정하였다.

유리아미노산 정량

유리아미노산 농도의 분석은 일정량의 시료에 TCA 50 mL를 가해 균질화하여 여과한 후 상층액을 증류수로 정용한 100 mL 액에서 20 mL를 취해 분액여두에 옮기고 50 mL 디에틸에테르를 가하여 TCA를 제거하였다. TCA를 제거한 증류수층을 모은 후 50°C에서 감압농축 하고 이 농축물을 10 mL의 0.2N 구연산 완충액(pH 2.2, Sigma Co.)에 용해하여 아미노산 자동분석기(Hitachi 835)를 사용하여 분석하였다.

한편, 이온교환크로마토그래피에 있어서 유리아미노산 함유 회분의 검색을 위하여서는 OPA(O-phthalaldehyde)법에 의한 Goodno 등⁽¹²⁾의 방법에 따라 유리아미노산을 정성하였다. 즉, 실험 당일 100 mM sodium tetraborate 25 mL, 20%(w/w) sodium dodecyl sulfate 2.5 mL, 1 mL의 메탄올에 용해시킨 OPA 40 mg, β-mercaptoethanol 100 μL를 증류수로 50 mL되게 정용하여 OPA 시약으로 하였다. 다음 1.5 mL quartz cuvette에 5 μg~100 μg의 단백질을 함유한 10 μg~50 μg의 시료용액과 OPA시약 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 2분간 방치한 후 340 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

이온교환크로마토그래피에 의한 타우린 분리

타우린의 분리는 멸치 자숙액 300 mL를 강산성 양이온교환수지인 Amberlite IR-120(H⁺ form)을 충전한 column(bed volume 250 mL)에 주입하고 증류수를 흘러 유속 1 mL/분으로 fraction collector를 이용하여 5

mL씩 분획하였다. 분획한 용출물중 OPA와의 반응시 흡광도가 0.1 이상이고, pH가 2.5이하이며 ninhydrin과의 발색을 나타내는 회분을 모았다. 그리고 이들 회분을 NH₄OH용액으로 pH 7로 조정된 후 강염기성 음이온교환수지인 Amberlite IR-400(OH⁻ form)을 충전한 column(bed volume 200 mL)에 주입하고 흡착시킨 다음 bed volume의 2배의 증류수로 세정한 후 0.1N HCOOH용액으로 유속 1 mL/분으로 fraction collector를 이용하여 5 mL씩 분획하였다. 분획한 용출물중 OPA와의 흡광도가 0.1 이상이고, ninhydrin과의 발색을 나타내는 회분을 모아 crude한 타우린 용액으로 하였다.

타우린 결정화

이온교환크로마토그래피로 분획한 crude한 타우린 용액에 최종 에탄올 농도가 80%되게 에탄올을 첨가하여 0°C에서 하룻밤 방치한 후 석출한 결정을 원심 분리(20,000×g, 10분) 하여 모으고 진공 테시케이터 중 에서 건조하여 결정화하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 유리아미노산 조성

Table 1에 멸치 자숙 폐액의 일반성분 조성을 나타내었다. 멸치 자숙 폐액은 수분함량이 93.9%로 대부분을 차지하였으며 회분함량이 4.8%였다. 그의 단백질과 지질 성분은 각각 0.4%와 0.2%로 미량 존재하고 pH는 6.2로 약산성을 나타내었다. 한편, 유리아미노산 함량에 있어서는 총유리아미노산 함량 290.0 mg/100g 중에서 타우린 38.8%(112.5 mg/100g), 히스티딘 26.6%(77.2 mg/100g), 글루탐산 10.0%(28.9 mg/100g)로, 이들 세 가지 아미노산이 전체 유리아미노산의 75% 이상을 차지하였다(Table 2). 이 결과는 적색육 어류의 가식부 중에 존재하는 타우린의 함량이 약 165 mg/100g으로 유리아미노산중 많은 부분을 차지한다는 Lee 등⁽¹³⁾의 보고를 통해 멸치육 중에 존재하는 수용성의 타우린이 자숙과정 중에 용출되었음을 알 수 있었다.

Table 1. Proximate composition of anchovy cooking wastes

Items	Content (%)
Moisture	93.9
Crude protein	0.4
Crude lipid	0.2
Crude ash	4.8
Crude carbohydrate ¹⁾	0.7

¹⁾100-(moisture+crude protein+crude lipid+crude ash)

Table 2. Free amino acid content of taurine-rich fractions isolated from anchovy cooking waste (mg/100g)

Amino acid	anchovy cooking wastes	T-1 ¹⁾	T-2 ²⁾	T-3 ³⁾
Taurine	112.5(38.8) ⁴⁾	100.3(66.4)	234.5(89.9)	1,175.5(98.1)
Aspartic acid	5.8(2.0)	0	0	2.4(0.2)
Threonine	11.4(3.9)	0	0	2.0(0.2)
Serine	15.6(5.4)	0	0	0
Glutamic acid	28.9(10.0)	0	0	0
Glycine	2.9(1.0)	0	0	3.8(0.3)
Alanine	4.2(1.4)	0	0	0
Cysteine	2.2(0.8)	0	0	2.0(0.2)
Valine	3.5(1.2)	0	1.6(0.6)	2.5(0.2)
Methionine	1.8(0.6)	0	0	0
Isoleucine	1.5(0.5)	0	0	0
Leucine	2.4(0.8)	10.2(6.7)	0	0
Tyrosine	1.2(0.4)	14.0(9.2)	11.1(4.2)	0
Phenylalanine	4.5(1.5)	20.0(13.3)	9.9(3.8)	10.4(0.9)
Lysine	3.0(1.0)	0	0	0
Histidine	77.2(26.6)	6.6(4.4)	0.7(0.3)	0
Arginine	1.7(0.6)	0	3.1(1.2)	0
Proline	9.2(3.2)	0	0	0
Total	290.0(100.0)	151.1(100.0)	260.9(100.0)	1,198.6(100.0)
Yield of taurine (%)	100.0	89.1	79.2	29.5

¹⁾Taurine-rich fraction isolated from anchovy cooking wastes by Amberlite IR-120 column chromatography.

²⁾Taurine-rich fraction isolated from T-1 by Amberlite IR-400 column chromatography.

³⁾80% ethanol precipitate of T-2 fraction.

⁴⁾The numbers in the parenthesis are the percentage to total free amino acids.

타우린의 분리

Table 2에는 멸치 자숙 원액, 이온교환크로마토그래피에 의한 타우린 분리 획분 및 80% 에탄올 침전 획분의 유리아미노산 함량 및 조성을 나타내었다. 먼저, 멸치 자숙 폐액을 pH 7로 평형화시킨 Amberlite IR-120(H⁺ form) column으로 이온교환크로마토그래피를 실시하여 흡착하지 않고 통과한 획분들을 OPA와의 흡광도와 260 nm에서의 흡광도를 측정하여 OPA와의 흡광도가 0.1 이상이면서 260 nm에서의 흡광도가 0.2 이상인 획분들을 수집하였다. 이 획분은 타우린의 수율이 89.1%, 순도는 66.4%였다.

이어서 이들 획분을 pH 7로 조정된 뒤 미리 평형화시킨 Amberlite IR-400(OH⁻ form) column에 통과시켰다. 이때 흡착한 획분을 0.1N HCOOH로 용출시켜 OPA와의 흡광도가 0.1 이상을 나타내는 획분을 수집하였다. 이 획분은 타우린의 수율이 79.2%, 순도는 89.9%였다.

음이온 교환수지로 용출한 획분 중의 타우린을 더욱 정제하기 위하여 에탄올을 이용하여 결정화를 시도하였다. 그 결과, 에탄올에 의한 결정화 획분의 타우린 수율은 29.5%였고, 그 순도는 98.1%에 달하였다.

양이온 크로마토그래피와 음이온크로마토그래피 단계를 거치면서 수율은 89.1%에서 79.2%로 떨어졌으나 순도는 66.4%에서 89.9%로 증가함을 알 수 있었다. 또

한 타우린의 결정화 단계에서 수율이 29.5%로 낮아졌으나 순도는 98.1%로 비교적 고순도의 타우린 결정을 얻을 수 있었다. 한편, Lee 등⁽¹¹⁾은 굴 박신액으로부터 양이온 교환수지와 음이온 교환수지를 차례로 통과시켜 수율과 순도가 각각 84.8%, 94.9%인 타우린을 분리한 바 있다. 그리고 Ebitani 등⁽¹⁰⁾은 정어리 자숙액으로부터 한외여과, 이온교환, 전기투석 및 결정화처리를 거친 결과 타우린의 정제도가 향상하였으며, 특히 강산성 양이온 교환수지를 사용한 경우에는 자숙액의 한외여과액으로부터 정제도 43.5%, 회수율 85.9%를 나타내었으며, 강염기성 음이온교환수지를 사용한 경우에는 한외여과액으로부터 정제도 90.6%, 회수율 64.1%의 타우린을 얻을 수 있었다고 보고하였다.

요 약

본 연구는 멸치 자건품의 선상 가공시 유출되는 자숙액 중에 다량으로 함유되어 있는 타우린을 분리, 정제하고자 하였다. 원료 자숙액 중의 타우린 함량은 112.5 mg/100g으로서 총유리아미노산 함량의 38.8%를 차지하였다. 이 자숙액을 Amberlite IR-120과 Amberlite IR-400 column에 순차적으로 적용하여 수율이 79.2%, 순도가 89.9%인 타우린을 얻었다. 또한 이를

다시 에탄올로 정제한 결과, 수율이 29.5%, 순도가 98.1%인 고순도 타우린 결정을 얻을 수 있었다.

문 헌

1. Park, Y.H., Jang, D.S. and Kim, S.B. Free amino acids, pp. 149-153. In: Fisheries Processing and Utilization. 2nd ed. Hyeongseol Press, Seoul, Korea (1997)
2. Imabori, K. and Yamakawa, T. Taurine, p. 786. In: Biochemistry Dictionary. 2nd ed. Tokyo Chemistry Companion, Tokyo, Japan (1990)
3. Zatta, P. Calcium and taurine interaction in the heart of the crab *carcinus maenas*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 1765-1768 (1987)
4. Yositsuka, T., Ito, H., Ohta, A. and Tamura, T. Taurine, pp. 482-485. In: A handbook of New Materials for Food Development. Korin Press, Tokyo, Japan (1991)
5. Chiba, H. Food components and blood pressure regulation, pp.189-196. In: The bioactive Function of Foods. Press Center of Academic Society, Tokyo, Japan (1992)
6. Tsuji, K. Taurine and Cholestrerol metabolism. Bioscience and Biotechnology 23: 217-218 (1985)
7. Pion, P.D., Kittleson, M.D., Rogers, Q.R. and Morris, J.G. Myocardial failure in cats associated with low plasma taurine: A reversible cardiomyopathy. Science 237: 764-768 (1987)
8. Konosu, S. Preparation methods of taurine. Official Report of Japan Patent Showa 59-167559 (1984)
9. Tashiro, T. Treatment methods of liquid containg taurine. Official Report of Japan Patent Showa 60-92253 (1985)
10. Ebitani, K., Ohbori, T. and Takahashi, K. Development of taurine collection technology from sardine cooking wastes, pp. 88-91. In: National Conference Materials for Fisheries Utilization and Processing. Central Fisheries Institute, Tokyo, Japan (1992)
11. Lee, Y.C., Koo, J.G., Kim, D.S. and Kim, Y.M. The isolation of taurine from the oyster shucking juice using ion exchange column chromatography. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 616-618 (1992)
12. Goodno, C.C., Harold, E.S. and George, L.C. A fluorometric assay for available lysine in proteins. Analytical Biochemistry 115: 203-211 (1981)
13. Lee, C.K., Lee, D.S., Yun, H.Y., Jang, Y.S. and Kim, S.J. Amino acid composition of selected sea foods. Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency 47: 251-261 (1993)

(1999년 3월 30일 접수)