

동아의 단백질가수분해효소

안 용 근

충청대학 식품영양과

Protease in Wax Gourd

Yong-Geun Ann

Dept. of Food and Nutrition, Chungcheong College, Gannae, Cheongwon, Chungbuk 363-890, Korea

Abstract

Protease activity in matured wax gourd sarcocarp was 0.19unit/0.5ml, immatured wax gourd sarcocarp 0.56unit, and matured wax gourd 24.35 unit, immatured wax gourd core 0.35unit. Protease activity in matured wax gourd sarcocarp to raw meat or raw pork was 13.0 unit, 7.4 unit, respectively, and that in wax gourd core to raw beef was 30.2 unit, and raw pork was 24.5 unit. Thermal stability of protease in matured wax gourd sarcocarp was stable below 70°C when it was heated for 10 minutes. In case of 80°C, the remaining activity was 21%, and at 90°C, it was lost entirely. The absorption spectrum showed peak at 280nm. According to the HPLC analysis, casein was hydrolyzed into small size by protease in core or sarcocarp of matured wax gourd and immatured wax gourd. Wax gourd diluted by 1/10 showed two peaks, one was from casein being hydrolyzed, and the other was from the increased molecular weight with coagulated casein. On the other hand, the molecular weight didn't increase in immatured wax gourd core diluted by 1/10. The result of dilution of 1/10 showed different pattern from undiluted one, but the peak of sarcocarp in matured wax gourd was 1 and the peak of core in immatured wax gourd was 5, and those of core and sarcocarp of immatured wax gourd were 3 respectively.

Key words: protease, wax gourd.

서 론

동아(冬瓜, *Benincasa hispida*, Wax gourd)는 동과자(冬瓜子), 과자(瓜子), 백과(白瓜), 수지(水芝), 지지(地芝)라고도 하며, 열대아시아산으로 박과에 속하고, 박과 호박의 중간 정도의 성질을 갖는다. 맛은 박과 오이의 중간이며, 날로 먹을 수 있다. 원형과 타원형이 있으며 2~3kg에서 15~20kg까지 있으나 보통 10kg 이하이다. 익으면 껍질에 하얀 과분이 붙으며, 과분은 찢듯거린다. 과분이 붙지 않는 것도 있다. 저장성이 있어서 겨울을 잘 나므로 동과(冬瓜)라 쓰고 동아라 읽는다¹⁾. 동아에 대한 연구 결과로, 안 등^{2,3)}은 동아로

다이어트 효과가 있는 술과 홍삼식초를 개발하였다. 홍⁴⁾과 김⁵⁾은 동아로 건강보조식품, 일본의 '宮本⁶⁾'는 다이어트 식품, 김⁷⁾과 송⁸⁾은 당뇨병 치료제, 코랄바이오테크(株)는 히스타민 유리억제제⁹⁾, 변^{10,11)}은 동아 장아찌 및 동아잼, 오¹²⁾는 음료, 松兵衛(有限)¹³⁾는 동아곤약을 개발하였다.

동의보감¹⁴⁾ 및 본초강목¹⁵⁾에 살찐 사람은 동아로 국이나 나물을 만들어서 먹으면 살이 빠진다고 하였고, 소갈증(消渴症, 당뇨병)을 낮게 하고, 얼굴을 희게 하는 미백효과를 주고, 여드름, 주근깨, 기미 등을 없앤다고 하였다. 피부에 대한 동아의 작용은 동아에 함유된 단백질 가수분해효소가 노화된 피부나 변질된 각

† Corresponding author: Yong-Geun Ann

질피부를 가수분해하여 나타나는 작용으로 볼 수 있으나 존재가 밝혀진 바가 없다.

본 연구에서는 동아에 함유된 단백질 가수분해효소의 성질을 밝히기 위해 숙성별, 부위별로 활성을 측정하였고, 열에 대한 안정성을 분석하였고, HPLC로 반응산물을 분석하였고, 생돼지고기와 생쇠고기에 대한 활성을 측정하여 연육효소로서의 가능성을 평가하여 효과적인 결과를 얻었다.

실험재료 및 방법

1. 동아

2001년 4월부터 10월까지 충북 청원군 현도면 상삼리 오희상씨 밭에서 위탁재배한 길다란 품종을 수확하여 사용하였다.

2. 동아의 착즙

익은 동아의 껍질과 씨를 제거하고 절단하여 녹즙기로 착즙하고, 한일 5KR 원심분리기로 4,500rpm에서 20분간 원심분리하여 상정액을 사용하였다.

3. 추출액의 분광광도 스펙트럼

동아 추출액을 적당한 농도로 희석한 다음, 원심분리하여 침전을 제거하고 시마쯔 UV-1601 분광도계로 200nm에서 700nm까지 스캐닝하였다.

4. 단백질 가수분해효소 활성

1% Hammerstein milk casein(0.2M K-인산완충액, pH 7.7) 용액 2.5ml에 동아추출액 0.5ml를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 5% 트리클로로아세트산 5ml를 가하여 10분후 Toyo 여과지 No.6로 여과하여 상정액을 시마쯔 UV-1601 분광광도계로 비색정량하여 활성을 측정하였다.

5. 단백질 가수분해효소의 열안정성

동아를 착즙하여 여과한 동아즙 9ml에 1M 시트르산 완충액(pH 5.0)을 가하여 0.1M 시트르산 농도로 만든 것과, 이것을 0.1M 시트르산 완충액(pH 5.0)으로 10배 희석한 것을 각 온도에서 10분간 놓아두었다가 얼음 위에 놓아 식힌 다음 0.5ml를 취하여 함머스텐 카제인 기질 2.5ml를 가하여 단백질 가수분해효소 활성을 측정하였다.

6. 연육효소 활성

녹즙기로 마쇄한 생쇠고기 및 생돼지고기 50g에 익

은 동아 착즙액, 1% 태평양화학 프로테아제 (2.6unit/0.5ml), 대조구를 따로 5g씩 가하여 잘 섞은 다음 항온 수조에 넣어서 30°C에서 4시간 정치하였다. 그후 형광으로 짜서 10배로 희석하여 상기 단백질 가수분해효소 활성 측정과 마찬가지로 방법으로 트리클로로아세트산을 가하여 침전은 버리고, 여과액을 280nm에서 측정하였다. 여기서 얻은 결과에서 대조구의 흡광도를 뺀 값을 가수분해율로 하였다. 활성은 280nm에서의 흡광도×320/251×희석배수로 계산하였다.

7. 추출액과 카제인 기질 반응 산물의 HPLC

시마쯔 HPLC 시스템(LC-10AD 펌프, SPD-10A 분광광도 검출기, CTO-10A 컬럼오븐, 크로마토펙 C-R5A 적산기)과 Superose 12 분자체 컬럼(1×30cm)을 사용하여 실온에서 0.2M NaCl을 함유한 0.1M 인산(pH 6.8) 완충액을 이동상으로 하여, 유속 0/7ml/min로 유출시켜서 280nm와 210nm에서 검출하였다. 시료는 익은 동아와 익지 않은 동아를 함머스텐 기질에 작용시킨 것을 주입하여 전후의 단백질 기질과, 가수분해된 후의 기질을 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 단백질 가수분해효소 활성

익은 동아 육질의 단백질 가수분해효소 활성은 0.19 unit/0.5ml, 어린 동아 육질은 0.56unit/0.5ml로 어린 동아의 육질이 3배 정도 높았다. 익은 동아속의 활성은 24.35unit/0.5ml인 데 반해 어린 동아속은 0.35unit/0.5ml에 지나지 않아 익은 동아속의 활성이 69배나 높았다. 단백질 가수분해효소는 각질화된 피부나 노화된 피부를 가수분해하여 제거하므로 피부를 깨끗하게 하고, 여드름, 기미, 주근깨 등을 없앤다. 오이 맛사지도 이런 효과를 얻기 위한 것이지만 동아의 단백질 가수분해효소 활성은 오이보다 훨씬 강하다.

고기를 간 배나 썬 배에 재어 놓는 것은 배에 들어 있는 단백질 가수분해효소의 작용으로 고기를 연하게 하여 먹기 좋게 하기 위해서인데 동아속의 단백질 가수분해효소 활성은 매우 높아서 연육제로 사용할 수 있다.

2. 연육효소 활성

익은 동아 육질 및 속을 착즙하여 생쇠고기 및 돼지고기에 대한 분해율로 연육 활성을 측정하였다. 고기 자체에 들어 있는 단백질 가수분해효소 활성은 쇠고기는 6.4, 돼지고기는 6.2이며, 이 값을 뺀다. 동아 육

질은 생쇠고기에 대해 13.0unit의 활성을 나타냈으나 생돼지고기에 대해서는 7.4unit로 낮았다. 동아속도 쇠고기에 대해서는 30.2unit를 나타냈으나 돼지고기에 대해서는 24.5unit/를 나타내 동아 육질이나 속 모두 돼지고기보다는 쇠고기를 더 잘 가수분해하였다. 그러나 동아속끼리의 차이는 적었다. 이런 차이는 쇠고기와 돼지고기의 단백질 구조와 동아 육질과 동아속의 단백질 가수분해효소 종류의 차이 때문으로 보인다.

태평양화학의 시판 단백질 가수분해효소의 활성은 1% 농도에서 생쇠고기에 대해서는 41.3unit, 생돼지고기에 대해서는 40.0unit를 나타내 기질인 고기 종류에 따른 차이는 거의 없었다.

동아 육질과 속의 단백질 가수분해효소를 생쇠고기와 생돼지고기에 작용시켰을 때의 활성 차이는 카제인에 작용시켰을 경우보다 작았다. 이것은 동아 육질의 효소가 속의 효소보다 비변성 단백질에 잘 작용하는 것을 의미한다.

30℃에서 한시간 동안 익은 동아속으로 고기를 재면 호물호물할 정도로 활성이 높아서 희석하거나 소량 사용해야 한다. 그러나 동아육질의 효소는 적당하였다. 동아는 비만 억제효과를 갖기 때문에 ‘다이어트 불고기’, ‘다이어트 갈비’, ‘다이어트 주물럭’으로 조리할 수 있다.

그러나, 동아의 단백질 가수분해효소에 대한 보고나, 동아 효소를 이용한 연육제에 대한 연구결과 보고는 접한 바 없다.

3. 단백질 가수분해효소의 열 안정성

동아속을 온도별로 10분간 가열하였다가 남은 활성을 측정 한 결과, 단백질 가수분해효소는 Fig. 1과 같이 70℃까지는 안정하였고, 80℃에서는 21%의 활성만 남고, 90℃ 이상에서는 활성이 남지 않았다. 일반적으로 단백질 가수분해효소는 열에 불안정한 것들이 많아서 산업적으로 내열성 효소를 찾기 위해 노력하고 있으나, 자가소화 등의 문제 때문에 쉽지 않다¹⁶⁾. 그런 의미에서 이 같이 70℃에서도 안정한 것은 드물며, 기질의

Table 1. Protease activity of wax gourd protease on raw beef and pork(unit: absorbance at 280nm)

Beef		Pork	
Wax gourd	Protease*	Wax gourd	Protease*
sarcocarp	core	sarcocarp	core
13.0	30.2	7.4	24.5
	41.3		40.0

* Pacific Chemicals Co.

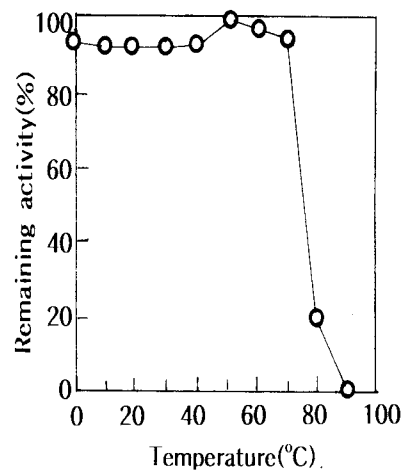


Fig. 1. Thermal stability of protease in wax gourd.

존재 하에서는 더 안정해지므로 단백질 가수분해효소의 종류, 작용양식, 기질 특이성, 생성물 등을 확인하여 산업적으로 유용하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다(Fig. 1).

4. 동아 추출액의 분광광도 스펙트럼

동아 추출액의 분광광도 스펙트럼은 Fig. 2와 같이 280nm에서의 피크가 하나 나타나고 낮은 파장에서 흡광도가 높아졌으며, 단백질은 280nm에서 흡광한다(Fig. 2).

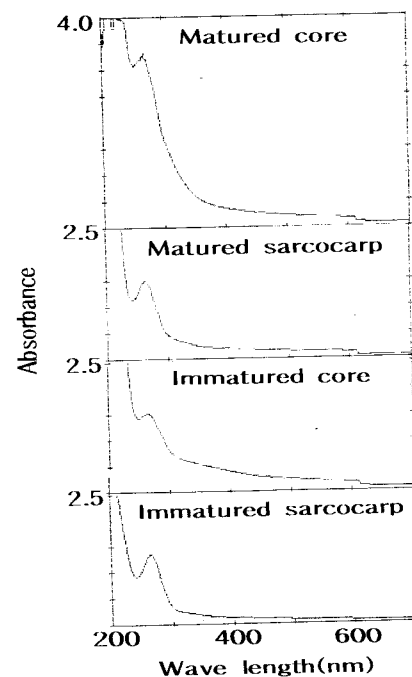


Fig. 2. Absorption spectrum of wax gourd extract.

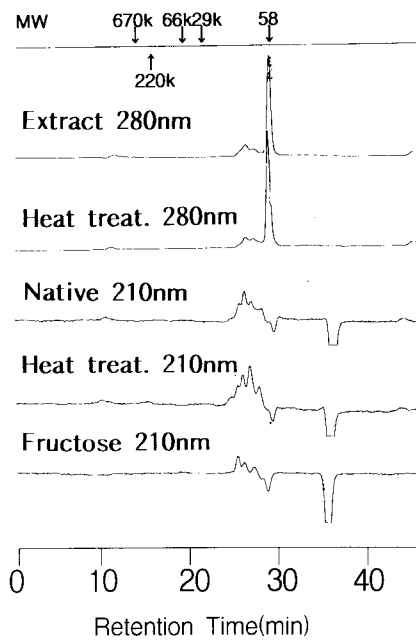


Fig. 3. HPLC of wax gourd extract. Column, Superose 12(1×30cm); eluate, 0.1M K- phosphate buffer(pH 6.8) containing 0.2M NaCl; flow rate, 0.7ml/min.

5. 가수분해물의 HPLC

Fig. 3은 위에서부터 익은 동아 육질만을 대상으로 한 비열처리 동아 착즙액, 열처리 착즙액의 280nm에서 검출한 HPLC의 피크로, 분자량 60정도의 저분자량

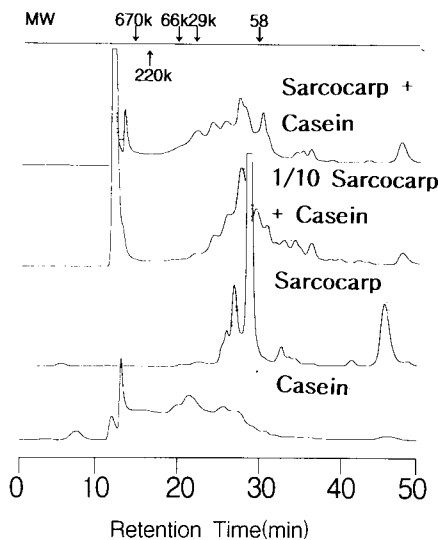


Fig. 4. HPLC of matured wax gourd sarcocarp and casein hydrolysates. Column, Superose 12(1×30cm); eluate, 0.1M K-phosphate buffer(pH 6.8) containing 0.2M NaCl; flow rate, 0.7ml/min.

피크 하나가 전체의 90% 정도를 차지하고 있다. 반면, 세번째부터 아래쪽으로는 210nm에서 검출한 비열처리 착즙액, 열처리 착즙액, 프룩토오스이다. 동아 착즙액과 프룩토오스는 210nm에서 서로 같은 형태의 피크를 나타내므로 동아에도 이와 비슷한 구조와 크기를 가진 당이 있다고 할 수 있다.

Fig. 4는 익은 동아의 육질 착즙액(이하 동아 육질이라 한다)에 대한 실험 결과이다. 위에서부터 익은 동아 착즙액을 희석하지 않고 카제인과 반응시킨 것, 10배 희석하여 카제인과 반응시킨 것, 착즙액, 함머스텐 카제인 기질이다. 카제인은 분자량 분포가 100 만 이상에서 1000 정도 이하의 저분자까지 분포하는데 반해, 익은 동아와 반응시킨 것은 가수분해되어 분자량 3만 이하로 작아졌다. 25분 이후 유출되는 것은 단백질보다 작은 아미노산이나 펩티드이다. 이것은 동아에 함유된 단백질 가수분해효소가 카제인 기질을 작은 분자로 가수분해하였기 때문이다. 추출액을 10배 희석하여 기질과 반응시킨 것(위에서 두 번째)은 13분 정도에 유출되는 큰 분자가 생겼는데, 동아의 단백질 가수분해효소는 농도가 낮으면 카제인을 영기게 하는 작용이 있기 때문으로 보인다. 그래서 분자량이 커졌으며, 이런 현상은 우유단백질을 키모신으로 처리할 때도 나타나며, 이런 작용을 이용하여 우유에서 카제인을 침전시켜서 치즈를 만들고 있다^{17,18)}. 한편, 동아 자체에 함유된 단백질은 28분 정도에 유출되는 저분자량이 90% 정도를 차지하고 있으나 펩티드나 아미노산인가는 확인할 수 없다. 나아가 동아착즙액의 단백질 농도가 낮아서 단백질 피크는 보이지 않는다.

Fig. 5는 어린 동아 육질 착즙액(이하 어린 동아 육질이라 한다)을 Fig. 4와 같은 조건에서 반응시킨 것으로, Fig. 4의 익은 동아 결과와 비슷하며, 카제인 기질과 반응시킨 것은 저분자량 펩티드나 아미노산으로 분해되어 분자량이 작아졌다. 그러나, 익은 동아에 비하여, 원액과 반응시킨 것은 10배 희석한 것보다 30분 이후에 나타나는 분자량이 작은 피크가 둘 더 있고, 원액과 반응시킨 기질의 모습도 익은 동아의 결과와 다르다. 이것은 어린 동아에 들어있는 단백질 가수분해효소의 양과 종류가 익은 동아의 것과 달라서 나타나기 때문으로 볼 수 있다. 한편, 동아 자체의 단백질이나 효소 피크는 농도가 낮아서 보이지 않으며 아미노산 정도의 28분에서 30분까지 유출되는 피크 둘, 33분 유출되는 피크 하나가 나타났다.

Fig. 6은 익은 동아속 착즙액(이하 익은 동아 속이라 한다)을 Fig. 4 및 5와 같은 조건에서 분석한 결과로, 익은 동아속을 카제인과 반응시킨 것은 상기 결과들

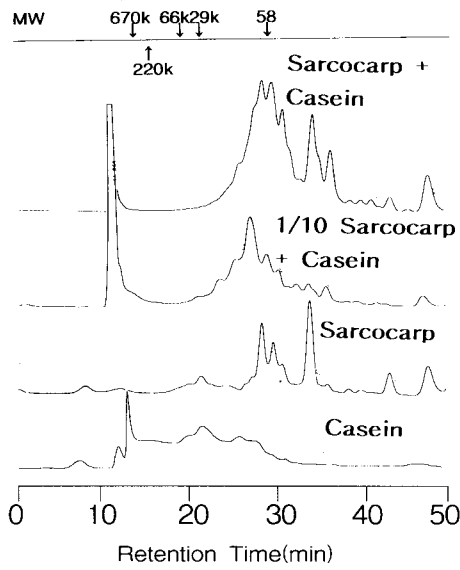


Fig. 5. HPLC of immatures wax gourd sarcocarp and casein hydrolysates. Column, Superose 12(1×30cm); eluate, 0.1M K- phosphate buffer(pH 6.8) containing 0.2M NaCl; flow rate, 0.7ml/min.

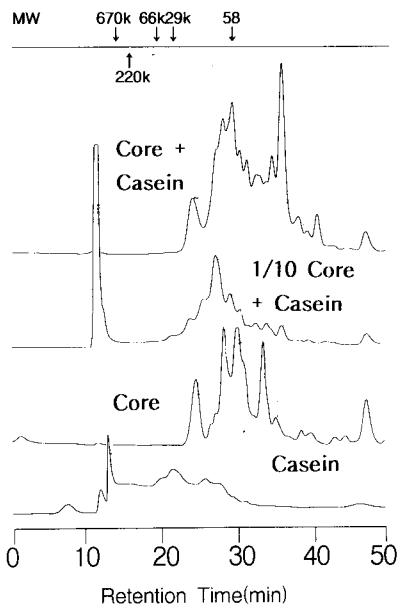


Fig. 6. HPLC of matured wax gourd core and casein hydrolysates. Column, Superose 12(1×30 cm); eluate, 0.1M K-phosphate buffer(pH 6.8) containing 0.2M NaCl; flow rate, 0.7ml/min

과 달리 25분에서 30분까지 유출되는 피크 외에 30분에서 35분까지 유출되는 피크량이 늘어나서 50%나 된다. 익은 동아 및 어린 동아 육질보다 30분 이후의 저분자량 피크가 많아진 것은 단백질 가수분해효소의

활성이 강하여 카제인이 아미노산 단위까지 분해되었기 때문으로 볼 수 있다. 단백질 가수분해효소 활성 결과도 익은 동아육이 가장 강하여 이를 뒷받침하고 있다. 동아육을 10배 희석하여 카제인과 반응시킨 것은 다른 결과와 비슷하다. 한편, 동아육 자체의 단백질 피크는 단백질 농도가 낮아서 검출되지 않았으며 아미노산 정도의 저분자량 피크는 다섯이었다.

Fig. 7은 어린 동아육 착즙액(이하 어린 동아육이라 한다)을 Fig. 4~6과 같은 조건에서 반응시킨 것으로, 대부분 가수분해되어 펩티드나 아미노산 정도로 작아졌으며 결과는 익은 동아육과 비슷하다. 그러나, 원액을 카제인과 반응시킨 것은 30분 후의 저분자 피크가 익은 동아육보다 적다. 이것은 익은 동아육보다 단백질 가수분해효소의 활성이 약하기 때문이다. 상기 Fig. 4~6의 결과 중 10배 희석하여 카제인과 반응시킨 것은 모두 12분에 유출되는 분자량이 커진 피크가 있었으나 여기서는 없다. 또, Fig. 4~6의 결과는 희석하지 않은 것과 10배 희석한 것의 카제인과 반응한 모습이 달랐으나 여기서는 같다는 점도 특이하다.

동아 자체의 피크는 30분전에 두 개, 30분 후에 한 개를 나타냈다. 10배 희석한 결과에서 분자량이 큰 침전이 생기지 않은 이유는 말단 가수분해효소와 내부 가수분해효소의 공존, 또는 상기 Fig. 4~6과 다른 효소의 존재 때문일 가능성이 크다.

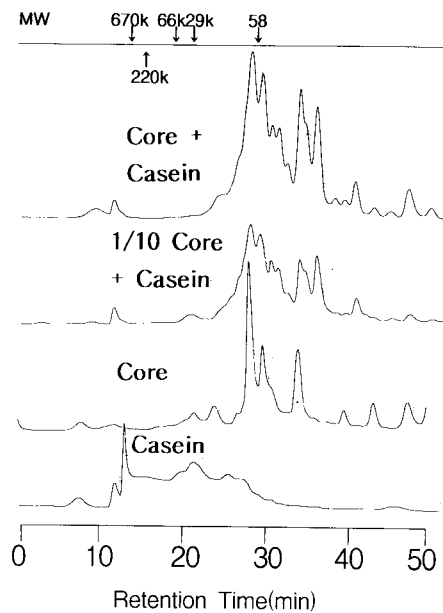


Fig. 7. HPLC of immatures wax gourd core and casein hydrolysates. Column, Superose 12(1×30cm); eluate, 0.1M K-phosphate buffer(pH 6.8) containing 0.2M NaCl; flow rate, 0.7ml/min

요 약

동아의 단백질 가수분해효소 활성은 익은 동아 육질은 0.19unit/0.5ml, 어린 동아 육질은 0.56unit, 익은 동아속은 24.35unit, 어린 동아속은 0.35unit이었다. 생고기에 대한 활성은 익은 동아 육질은 생쇠고기에 대해서는 13.0unit, 생돼지고기에 대해서는 7.4unit를 나타냈고, 동아속은 생쇠고기에 대해서는 30.2unit, 생돼지고기에 대해서는 24.5unit를 나타냈다. 단백질 가수분해효소의 열 안정성은 각 온도별에서 10분간 가열한 다음 70℃까지는 안정하였고, 80℃에서는 21%의 활성만 남고, 90℃ 이상에서는 활성을 잃었다. 분광광도 스펙트럼 결과는 280nm에서의 단백질 피크가 주이고, 다른 흡광성 물질은 없었다. HPLC 분석 결과, 익은 동아와 어린 동아 육질과 속은 모두 단백질 가수분해효소 작용으로 casein을 작은 분자로 가수분해하였다. 1/10로 희석한 것은 카제인이 가수분해된 것과, 엉겨서 분자량이 커진 것 두 가지인데 반해 1/10 희석한 익은 동아속은 분자량이 커진 것은 나타나지 않았다. 그리고, 1/10 희석한 것은 원액을 사용한 것과 모습이 다르지만 익은 동아속은 원액과 패턴이 같았다.

참고문헌

1. 안용근: 한국인과 개고기, 247쪽 효일문화사(2000).
2. 안용근, 김승겸, 신상철, 신철승: 다이어트 와인 동아주 제조에 관한 연구, *한국식품영양학회지*, **13** 578~584 (2000).

3. 안용근: 동아 홍삼식초에 관한 연구-1, *한국식품영양학회지*, **14**, 52~58(2001).
4. 홍석산: 동아의 비만증 억제기능 규명 및 이를 활용한 가공식품 개발, 농림부(1999).
5. 김길환: 동과, 팔, 다엽 및 상지의 추출물을 함유하는 비만조절용 건강식품, 특허 237168(1999).
6. 宮本保幸: ダイエット食品, 日本公開特許 75756(1999).
7. 김길환: 동아녹즙 및 그 잔사를 사용하여 제조된 체중 및 혈당 조절용 식품 조성물 및 그 제조 방법, 공개특허 18977(1998).
8. 송시훈: 당뇨병 치료용 혈당강하 음료, 공개특허 70228 (1999).
9. コーラルバイエテック(株): ヒスタミン遊離抑制劑 日本公開特許 324398(2000).
10. 변윤섭: 동아잼 및 그 제조방법, 공개특허 18294(2000).
11. 변윤섭: 동아장아찌 및 그 제조 방법 공개특허 18295 (2000).
12. 오세권: 동아의 과즙 또는 추출물을 함유하는 음료 조성물, 공개특허 72599(2000).
13. 松兵衛合資會社(有限): 新規なごんやく及びその製造法, 日本公開特許 192106(1993).
14. 許浚: 東醫寶鑑(1613), 東醫寶鑑國譯委員會譯, 1170쪽, 南山堂(1998).
15. 李時珍: 本草綱目(1578), 970쪽, 고문사 영인본(1985).
16. 一島英治: プロテア-ゼ, 學會出版センタ-(1983).
17. 안용근: 식품가공저장학, 178쪽, 효일문화사(1999).
18. 안용근: 식품가공실험, 31쪽, 효일문화사(1999).

(2002년 3월 14일 접수)