

파인애플과 키위 과피 추출물을 이용한 가축 혈액, 파란, 글루텐 분말의 가수분해 조건

마정숙 · 심관섭 · 짱광친 · 박강희

전북대학교 농업생명과학대학 동물자원과학과

Hydrolysis of Blood, Egg and Gluten Meals with the Extracts from the Skins of Pineapple and Kiwi

Ma, J. S., Shim, K. S., Zhang, G. Q., Park, G. H.

Department of Animal Resources and Biotechnology, College of Agriculture and Life Science, Chonbuk National University

Summary

The protein in the extracts from the skins of pineapple and kiwi and the optimal conditions to hydrolyze blood, egg and gluten meals with them were investigated. Protein analysis by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis showed one protein band with 22 kd molecular weight in the pineapple skin extract, and five protein bands with 27 kd, 22.5 kd, 22 kd, 19 kd, and 14.4 kd molecular weight in the kiwi skin extract. The 22 kd protein in the pineapple skin extract is assumed to be bromelain, and the 27 kd protein in the kiwi skin extract is assumed to be actinidin, both are protease. The optimal conditions for hydrolysis of blood, egg, and gluten meals are: 6-24 hours in time, 60°C in temperature, and pH 4 - pH 7.

(Key words ; Pineapple, Kiwi, Hydrolysis, Blood, Egg and gluten meals)

서 론

가축의 생산성 향상을 위한 사료 첨가제로서 효모에 대한 연구는 1970년대 이후부터 활발히 진행되어 왔다. 예를 들면, 효모는 아미노산, 비타민 및 광물질 조성이 우수하여

사료적 가치가 높은 것으로 보고되었을 뿐만 아니라(Pepler 등, 1982; Rose 1987), 자돈에서 증체율과 사료효율의 개선(민 등, 1992)과 육계의 증체량 증가(마 등, 2001)가 보고되었다.

이와 같이 효모는 가축의 생산성 향상에

Corresponding Author : Park, G. H. Department of Animal Resources and Biotechnology, College of Agriculture and Life Science, Chonbuk National University, Chonju, 560-756, Koerea. Tel : 063-270-2608, E-mail : Ghp@chonbuk.ac.kr

우수한 생균제로서 오래전부터 보고되었으나 국내에서는 효모의 가격이 고가이기 때문에 그 이용성이 제한되어 있는 실정이다. 효모제의 가격이 높은 이유 중 하나는 효모배양 배지로 이용되는 원료물질이 고가이기 때문이다. 따라서, 효모배양물의 생산 단가를 낮추기 위해서는 좀 더 저렴한 배양 배지성분에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

최근 생활수준의 향상과 식생활의 개선으로 식육류의 소비가 증가됨에 따라 도축 후 생산되는 혈액이 폐기되어 공해 문제까지 야기되고 있으며, 계란의 경우 인간의 식생활에서 완전식품으로서 중요한 위치를 차지하고 있으나 매년 생산량의 10% 이상이 소비자에 도달하기 전까지 파란으로 손실되고 있는 실정이다. 또한 글루텐은 밀가루를 물에 씻어 녹말을 제거하고 남은 탄성이 많은 불용성 단백질로서 가격이 저렴하여 제과, 제빵, 인조육, 장류제조, dietetic 및 baby foods 제재 등 식품분야에서 많이 이용되고 있는 단백질이다. 도축 후 생산되는 혈액에는 약 16~18% 정도의 단백질이 함유되어 있으며 혈장부분에는 albumin과 globulin이 약 8%, 혈구부분에는 globulin이 28%까지 함유되어 있어(현과 신, 1999) 각종 단백질이 풍부한 유용가치가 높은 자원이며, 계란에는 약 13% 정도의 단백질이 함유되어 있고(Kim 등, 1990), 글루텐은 약 25~28%의 단백질을 함유되어 있는 것으로 보고되었다(서, 1973).

이처럼 가축 혈액, 파란 그리고 글루텐은 높은 단백질을 함유하고 있기 때문에 효모배양 배지의 질소원으로 충분히 이용될 가능성이 있으나 배지의 조제 과정 중 열처리에 의해 혈액의 경우 알부민이나 글로불린 등과 같은 단백질이 응고되며, 파란 역시 단백질이 응고되고, 밀 글루텐은 단순히 가열 건조하였을 때 45℃ 부근의 저온에서도 불가역 열변성을 받아 단백질이 응고되어(서, 1973) 효모배양 배지로 이용하는데 한계가 있다.

그러므로 효모배양배지의 원료로 이러한 물질들이 좀더 효율적으로 이용되기 위해서는 가열·살균 후에 단백질의 응고를 최소화시킬 수 있는 연구가 이루어져야 할 것이다,

따라서 본 연구는 도축부산물인 혈액과 파란의 단백질 및 글루텐 단백질의 이용성을 증진시키기 위하여 식물성 단백질 분해효소가 함유되어 있다고 알려진 파인애플 또는 키위의 가공시 폐기되는 과피 부분에서 수용성 물질을 추출하여, 이것이 가축 혈액, 파란 및 글루텐의 가수분해에 미치는 영향과 그에 대한 최적 조건을 알아보고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 시험에 이용된 파인애플은 수입산을 이용하였으며 키위는 제주도에서 생산되는 것을 이용하였다. 파인애플과 키위의 과피 부분을 분리하여 각각의 과피 부분을 mixer로 균질화 시켰다. 균질액을 cheese cloth로 여과한 후에 여과액을 3,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 상등액을 수거하여 -20℃에 저장하였다. 가수분해를 위한 단백질원으로서 혈액, 파란 및 글루텐을 80℃에서 48시간 건조한 후 분쇄한 분말을 사용하였다.

2. SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)를 통한 파인애플과 키위 과피 추출물의 단백질 분석

파인애플과 키위 과피 추출물에서 단백질의 분리 및 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis는 이 등(1999)이 설명한 방법을 변형시켜서 실행하였다. 파인애플과 키위의 과피 추출물을 20ml씩 취한 후 각각의 과피 추출물에 100ml의 0.2M phosphate buffer(pH 6.0)을 첨가하고 voltex를 이용하여 혼합하였다.

혼합액을 10,000 rpm에서 15분 원심분리하여 상층액을 수거하였다. 수거된 상층액에 2 배의 아세톤을 첨가하여 혼합한 다음, 17,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 침전된 단백질 부분에 잔류하는 아세톤을 실온에서 증발시키고 전기영동의 시료로 이용하였다. 전기영동은 13% polyacrylamide gel을 이용하여 25 mA에서 1시간 동안 실시하였다. Gel의 염색은 Sasse와 Gallagher(1991)가 설명한 coomassie blue staining 방법에 의하여 실행하였다. 단백질의 분자량 측정은 Imagemaster 1D Prime (Pharmacia Biotech) Program을 이용하여 분석하였다.

3. 가수분해 적정조건

파인애플과 키위의 과피 추출물을 이용한 혈분, 파란 및 글루텐 단백질의 가수분해의 적정조건을 찾기 위하여 반응시간, 온도 및 pH에 대한 시험은 혈분, 파란 및 글루텐 분말 1g과 파인애플, 키위 과피 추출물을 2ml를 첨가 실시하였다. 반응시간의 경우 24시간까지, 온도의 경우 30℃~60℃, pH의 경우 pH 4~7의 범위에서 가수분해를 실행하였다. 반응이 끝난 후 각 시료를 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 가수분해물이 포함된 상층액을 수거하였다. 수거된 상층액의 가수분해물 함량은 Smith(1987)가 설명한 Lowry 방법을 변형시켜 실시하였다. 상층액 1 ml에 동량 CTC(Copper Tartrate/carbonate) solution을 첨가하여 Voltex 한 후 실온에서 10분간 정치하였다. 다시 20% Folin-Ciocalteu 0.5ml을 넣고 즉시 voltex 한 후 실온에서 30분간 정치한 후, UV-Spectrometer (Pharmacia : Ultrospec2000)로 A750에서 흡광도를 측정하였으며 BSA(bovine-serum albumin) standard의 흡광도와 비교하였다.

결과 및 고찰

1. SDS-PAGE를 통한 파인애플과 키위 과피 추출물의 효소단백질 분해

최 등(1992)은 한국산 파인애플에서 단백질 분해효소인 분자량 22 kd의 bromelain을 분리하여 보고하였으며, 조 등(1994)은 제주산 키위에서 단백질 분해효소인 분자량 27k의 actinidin을 분리하여 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 이러한 단백질들이 파인애플이나 키위의 가공 시 폐기되는 과피 부분에도 존재를 하는지 알아보기 위하여 과피 부분의 단백질을 분석하였으며 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

파인애플 과피의 경우 전기영동에 의하여 하나의 단백질 band가 나타났으며 이 단백질의 분자량은 약 22 kd인 것으로 추정되었다. 키위의 경우 전기영동에 의하여 5개의 단백질 band가 나타났으며 이 단백질의 분자량은 각각 27 kd, 22.5 kd, 22 kd, 19 kd 그리고 14.4 kd인 것으로 추정되었다. 본 연구 결과에서 나타난 파인애플 과피에서의 분자량 22 kd의 단백질은 최 등(1992)이 설명한 단백질 분해효소인 bromelain과 분자량이 일치하며, 키위 과피에서 나타난 분자량 27 kd의 단백질은 조 등(1994)이 설명한 단백질 분해효소인 actinidin과 분자량이 일치한다.

2. 혈분, 파란분말 및 글루텐 분말의 가수분해 적정조건

마 등(2001)은 사료용 효모 배양에 돼지 혈액은 우수한 배지 원료가 되지만 혈액 중 알부민이나 글로불린과 같은 단백질은 멸균 시 열처리에 의하여 응고가 되기 때문에 배지 원료로서의 사용이 매우 제한적이라고 보고하였다. 이러한 문제점을 해결할 수 있는 가장 좋은 방법은 단백질 분해효소를 이용하

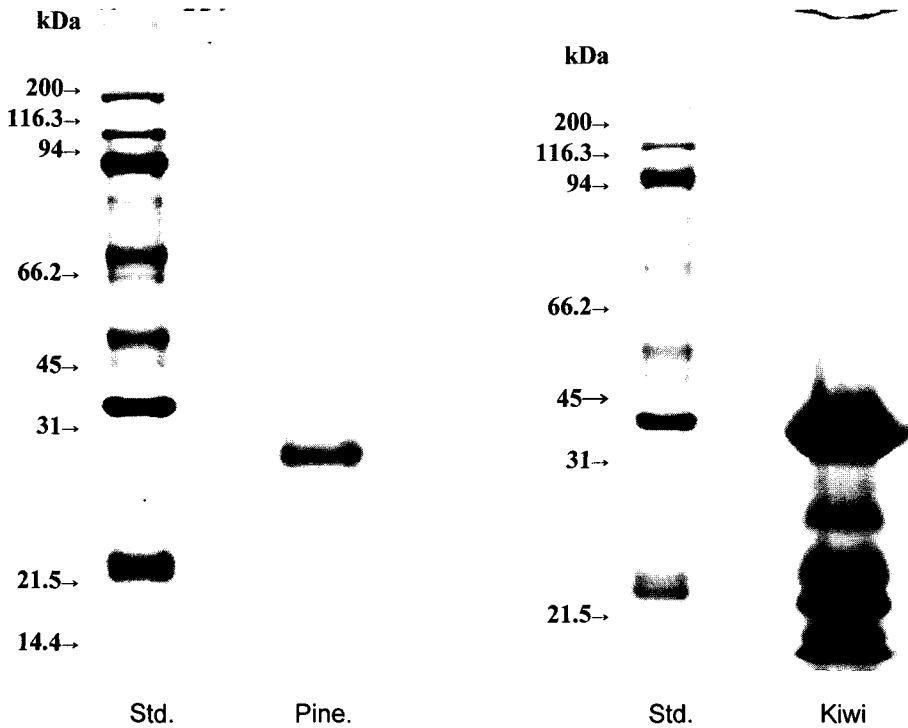


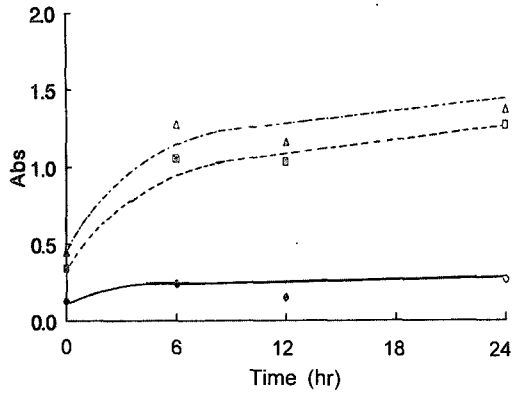
Fig. 1. SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis of the extracts from the skins of pineapple and kiwi.

여 단백질을 가수 분해시키는 것이다. 따라서 본 연구에서는 파인애플이나 키위의 과피에 있는 단백질들이 최 등(1992)이 설명한 단백질 분해효소인 bromelain이나 조 등(1994)이 설명한 단백질 분해효소인 actinidin과 일치하는지의 여부와 이것들을 이용하여 혈분, 파란 및 글루텐 분말을 가수분해시키는 조건 등을 조사하였다.

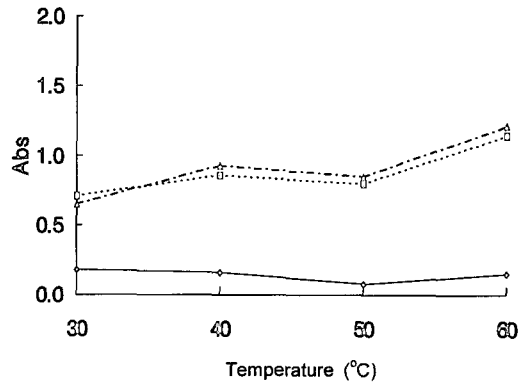
Fig. 2은 파인애플 또는 키위의 과피 추출물이 24시간 동안 혈분(Fig. 2-a), 파란분말(Fig. 2-b) 및 글루텐 분말(Fig. 2-c)의 가수분해에 영향을 나타낸 것이다. 모든 가수분해 반응에서 대체로 가수분해가 6시간까지는 급격히 증가하고 6시간에서 24시간까지는 그것이 유지되었다. 따라서 이러한 연구 결과

는 파인애플이나 키위의 과피 추출물을 이용하여 단백질을 가수분해 시킬 때에는 6시간에서 24시간을 유지하는 것이 바람직하다는 것을 보여준다. 또한 과피 추출물에 단백질 가수분해력이 있다는 것을 나타낸 본 연구의 결과는 파인애플의 과피 추출물에 있는 분자량 22 kd의 단백질은 최 등(1992)이 설명한 단백질 분해효소인 bromelain과 일치하며, 키위 과피에서 나타난 분자량 27 kd의 단백질은 조 등(1994)이 설명한 단백질 분해효소인 actinidin과 일치한다는 것을 보여준다.

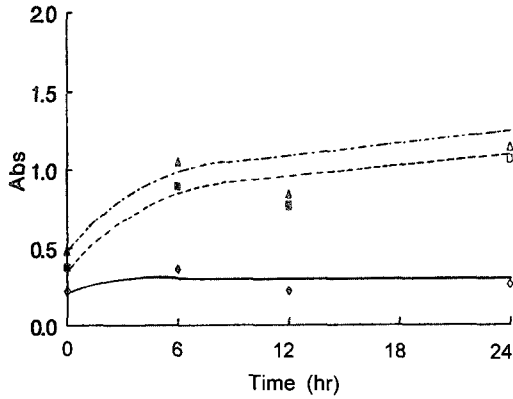
Fig. 3는 다양한 온도 범위에서 파인애플 또는 키위의 과피 추출물을 첨가하여 가수분해 시킨 결과를 나타낸 것으로, 혈분(Fig. 3-a), 파란분말(Fig. 3-b) 및 글루텐 분말(Fig. 3-c)



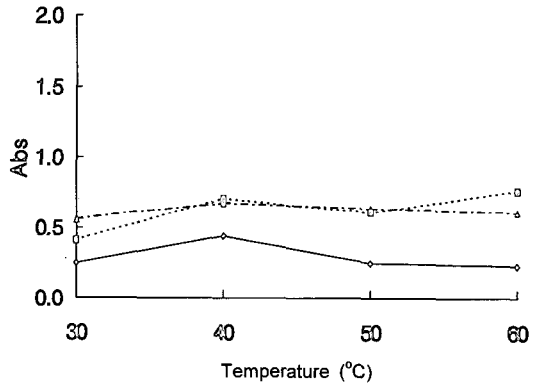
[a]



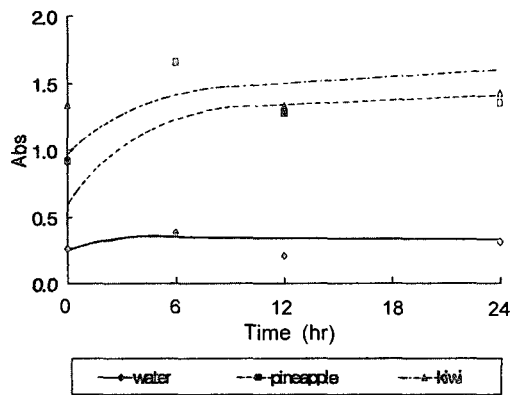
[a]



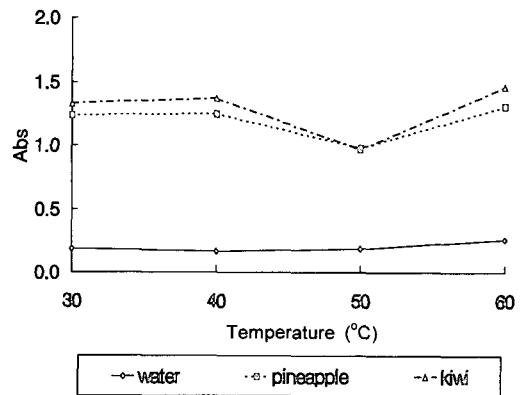
[b]



[b]



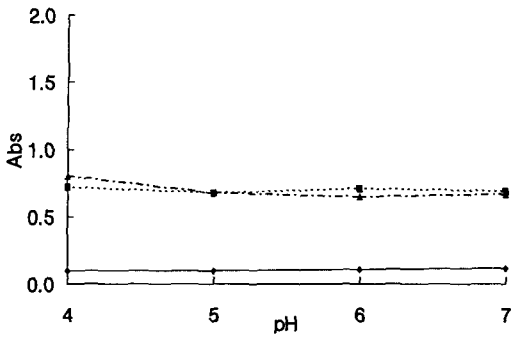
[c]



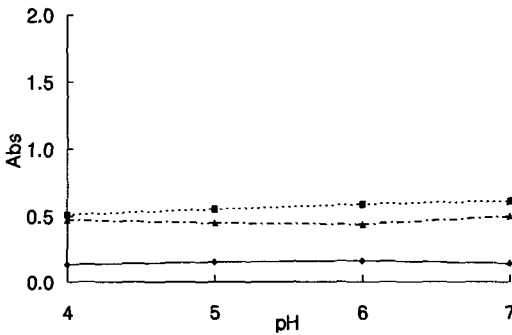
[c]

Fig. 2. Time courses of the hydrolysis of blood (a), egg (b) and gluten meals (c) with the extracts from the skins of pineapple and kiwi.

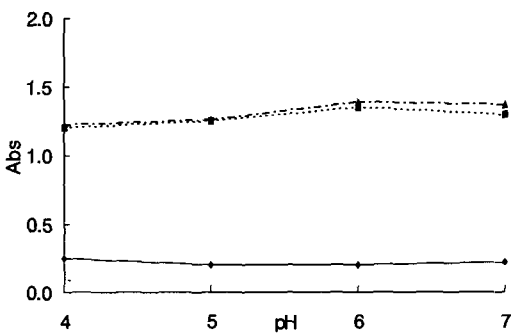
Fig. 3. Effects of temperature on the hydrolysis of blood (a), egg (b) and gluten meals (c) with the extracts from the skins of pineapple and kiwi.



[a]



[b]



[c]

—○— water ···□··· pineapple -▲- kiwi

Fig. 4. Effects of pH on the hydrolysis of blood (a), egg (b) and gluten meals (c) with the extracts from the skins of pineapple and kiwi.

에 파인애플 또는 키위의 과피 추출물을 첨가했을 때 물을 첨가한 것에 비하여 가수분해물이 급격히 증가한다는 것을 보여준다. 또한 가수분해물의 양을 온도별로 비교해 보았을 때 파인애플이나 키위의 과피 추출물 모두 60℃에서 가장 높았으며 이 온도에서 물을 첨가하여 반응시킨 것보다 과피 추출물을 첨가하였을 때 혈분은 약 4~5배, 파란분말은 2~3배 그리고 글루텐 분말의 경우 6~7배 정도 높게 나타났다. 파인애플이나 키위의 과피 추출물을 이용한 가수분해의 적정온도가 60℃인 것으로 나타난 본 연구의 결과는 Tappel 등(1956)과 최 등(1992)이 파인애플의 효소활동 최적온도가 60℃라고 밝힌 결과나, 키위의 경우 60℃ 전후에서 효소 활성이 최대가 된다고 보고한 Yamaguchi 등(1982)과 배 등(2000)의 결과와 일치한다.

Fig. 4는 pH의 변화가 파인애플 또는 키위의 과피 추출물을 이용한 혈분, 파란분말 및 글루텐 분말의 가수분해에 미치는 영향을 나타낸 것이다. pH 4-7의 범위에서 파인애플과 키위 과피 추출물을 첨가하여 혈분, 파란분말, 글루텐 분말을 가수분해 시킨 결과 pH 4-7의 범위에서는 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 한국산 파인애플의 단백질분해 효소의 활성이 pH 4-7의 범위에서 안정하다고 보고한 최 등(1992)의 연구와 일치하였다.

결론적으로 본 연구는 파인애플 또는 키위의 가공시 폐기되는 과피에도 단백질 분해효소가 존재하며, 이것들은 축산폐기물을 이용한 사료용 효모배양의 효율성을 증진시키는데 유용하게 이용될 수 있다는 것을 보여준다.

적 요

파인애플과 키위의 과피 추출물의 단백질 분석과 이를 이용한 혈분, 파란분말 그리고 글루텐 분말의 가수분해 최적 조건을 조사하였다. 전기영동에 의하여 단백질을 분석한 결과 파인애플 과피 추출물에서는 분자량 22 kd의 단백질이 나타났으며 키위의 과피 추출물에서는 분자량 27 kd, 22.5 kd, 22 kd, 19 kd 그리고 14.4 kd인 단백질 6종이 나타났다. 파인애플 과피 추출물에서 나타난 22 kd 단백질은 단백질 분해효소인 bromelain인 것으로 추정되며, 키위 과피 추출물에서 나타난 27 kd 단백질은 단백질 분해효소인 actinidin인 것으로 추정된다. 파인애플과 키위의 과피 추출물을 이용한 혈분, 파란 분말 그리고 글루텐 분말의 가수분해 최적 시간, 온도 및 pH는 각각 6에서 24시간, 60℃ 그리고 pH 4에서 7의 범위인 것으로 나타났다.

인 용 문 헌

1. ImageMaster 1D Prime. 1997. Gel analysis software system manual @2.01. Pharmacia Biotech software support dept. NonLear Dynamics Ltd., England.
2. Kim, S. Y., Park, P. S. W. and Rhee, K. C. 1990. Funtional properities of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. J. agric. Food Chem., 38, 651.
3. Pepler, H. J. 1982. Yeast extracts. In : A. H. Rose.(ed) Fermented Foods p.293. Academic Press, London.
4. Rose, A. H. 1987. Yeast, a microorganism for all spices: a theoretical look at its mode of action. p. 113.
5. Sasse, J. and Gallagher, S. R. 1991. Isolation and analysis of proteins. In Coilgan, J. E., Kruisbeek, A. M., Margulies, D. H., Shevach, E. M. and Strober, W. (ED.), Current Protocols in Immunology. NIH. USA. p8.9.1-8.9.8.
6. Smith, J. A. 1987. Quantitation of proteins. In Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Smith, J. A., Seidman, J. G., Struhl, K. (Ed.), Current Protocols in Immunology. NH. USA. p8.9.1-8.9.8.
7. Tappel, A. L., Miyada, D. S., Sterling, C. and Maier, V. P. 1956, Meat tenderization. II. Factors affecting the tenderization of beef by papain. Food Research, 31.
8. Yamaguchi, T., Yamashita, Y., Takeda, I. and Hirashi, K. 1982. Proteolytic enzymes in green asparagus. Kiwifruit and mint: occurrence and partial characterization. Agrc. Biol. Chem., 45(8).
9. 마정숙, 심관섭, 박강희. 2001. 돼지혈액 및 간을 이용한 사료용 효모배양과 효모 배양물이 육계성장에 미치는 영향. 축산 시설환경학회지, 7(1):21-28.
10. 민태선, 한인규, 정일병, 김인배. 1992. 사료내 항생제, 복합설파제, 유산동, 복합효소제, 생균제의 첨가가 돼지의 성장능력 및 도체특성에 미치는 효과. 한국영양사료학회지, 16(5):265.
11. 배영희, 노정혜. 2000. 배, 키위, 무화과, 파인애플, 파파야에 존재하는 단백질 분해효소의 특성비교. 한국식품과학회지 16(4):363-366.
12. 서홍길. 1973. Vital Wheat Gluten의 제조, 한국식품과학회지 5(1):1-5.
13. 이제훈, 박강희, 김정학. 1999. 육계 지방

- 조직 특이단백질의 다형 분석, 한국축산
학회지 41(5):583-592.
14. 조성자, 정수현, 서형주, 이 호, 강덕호,
양한철. 1994. 제주산 키위에서 분리한
단백질 분해효소 Actinidin의 정제 및 특
성, 한국식품영양학회지 7(2):87-94.
15. 최 청, 손규목, 조영제, 천성숙, 임성일,
석영란. 1992. 한국산 파인에플에서 분리
한 bromelain의 정제와 특성, 한국농화학
회지 35(1):23-29.
16. 현창기, 신현길. 1999. 도축 폐혈액 단백
질로부터의 Angiotensin I Converting Enzyme
저해 펩타이드의 생산, 한국생물공학회지
14(5):600-605.