

## 굴 효소 가수분해물의 제조 및 기능특성

정인권 · 김혜숙 · 강경태 · 최영준 · 최종덕 · 김진수 · 허민수<sup>†</sup>

경상대학교 해양생명과학부/해양산업연구소

### Preparation and Functional Properties of Enzymatic Oyster Hydrolysates

In-Kwon Chung, Hye-Suk Kim, Kyung Tae Kang, Yeung Joon Choi,  
Jong-Duck Choi, Jin-Soo Kim and Min Soo Heu<sup>†</sup>

Division of Marine Life Science, Institute of Marine Industry,  
Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

#### Abstract

The study was carried out to prepare oyster hydrolysates by using Alcalase, Flavourzyme, Neutrase, Protamex, pepsin and trypsin, and to investigate its functional properties. The ACE inhibitory activity and antioxidant activity of enzymatic oyster hydrolysates did not increase with hydrolysis time. Among enzymatic oyster hydrolysates, oyster hydrolysates incubated with Protamex for 1 hr (OHP) showed the most excellent ACE inhibitory activity and antioxidant activity, and their IC<sub>50</sub> values were 1.16 mg/mL and 1.49 mg/mL, respectively. However, all enzymatic oyster hydrolysates were not detected in antimicrobial activity.

**Key words:** oyster hydrolysates, ACE inhibitory activity, antioxidant activity, antimicrobial activity

#### 서 론

굴은 예로부터 타우린, 글리코겐, 셀레늄 및 아연 등을 다량 함유한 건강기능성 식품소재로 널리 알려져 있다(1,2). 우리나라에서는 이와 같은 건강기능성 식품소재인 굴을 다량 생산할 목적으로 청정해역인 남해안의 거제, 통영, 남해, 고성, 여수, 고흥 등을 중심으로 수하식 양식을 실시하였고, 그 결과 이들 지역을 중심으로 생산량이 급진적으로 증가하게 되었다. 한편, 우리나라의 탈각굴 생산 및 소비량은 1997년에 각각 30,100톤 및 14,000톤을 기록하였으며, 이후 1998년부터 2001년까지는 각각 27,000톤 및 13,000톤 내외로 다소 감소하기 시작하였다. 그러나 2002년 이후 탈각굴 생산이 37,000톤으로 급격히 증가하여, 2003년에는 그 생산 및 소비량이 42,000톤 및 20,000톤 이상을 기록하였고, 현재 탈각굴의 년 평균 생산량은 35,000톤 내외이며, 그 소비는 18,000톤 가량 이루어지고 있다(3). 이와 같이 청정해역에서 다량 생산되고 있는 우리나라 양식 굴의 소비는 국내시장의 경우 생식되거나 김치제조 시에 조미용 등으로 이용되고 있는 정도이며, 그 소비량은 약 18,000톤에 불과하다. 따라서 국내에서 생산한 양식 굴 소비의 50% 이상은 가열조리용 또는 냉동 굴의 형태로 일본에, 건조 굴의 형태로 대만을 비롯한 화교권에, 냉동 굴 및 통조림의 형태로 미국 및 유럽 등에 수출되고 있어, 양식 굴 소비의 대부분은 수출에 의존하고

있다. 현재 우리나라 굴 소비시장의 형태는 공장규모 김치의 대량생산, 조리방법 및 고차 가공품의 개발 부진에 따른 수요감소 등과 같은 국내적 요인과 대일수출 굴에서 패독과 이질균의 검출로 인한 일본 정부의 부정적인 시각과 FDA 권고사항 미 이행에 따른 수출의 중단 등과 같은 대외적인 요인에 의해 극히 부진한 상태이며, 그에 따른 양식 굴의 잉여 생산량은 더욱 증가할 것으로 판단된다. 이러한 일면에서 볼 때, 소비자 기호에 맞는 굴 가공품의 개발이 절실히 요구되고 있다.

그러나 굴에 관한 국내의 연구들의 대부분은 굴의 성분특성에 관한 결과가 주류를 이루었고(4-7), 일부 개발을 시도한 가공품의 경우도 단지 저차가공인 천연조미료 개발(8,9)에 불과하여 양식 굴의 소비에 획기적으로 기여하지 못하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 양식기술의 발달에 의해 다량 생산되면서 영양 및 기능특성이 우수한 양식산 굴을 이용하여 효소 가수분해 및 한외여과 처리에 의해 굴 효소 가수분해물의 제조를 시도하였고, 아울러 이의 건강기능 특성에 대하여 살펴보았다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

실험에 사용한 굴은 양식산 참굴(*Crassostrea gigas*, 각

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: minsheu@gsnu.ac.kr  
Phone: 82-55-640-3177. Fax: 82-55-640-3170

장  $4.6 \pm 2.3$  cm, 각종  $9.9 \pm 3.2$  g)로, 경남 통영 인근 양식장에서 생굴 시판을 목적으로 채취한 것을 빙장상태에서 30분 이내에 실험실로 옮긴 다음, 지퍼팩에 일정량씩 포장한 후 냉동고( $-25^{\circ}\text{C}$ )에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

#### 효소 및 균주

굴 가수분해물의 제조를 위하여 사용한 상업적 효소들 중에서 Alcalase 2.4 L(2.4 AU/g, 이하 Alcalase로 명명), Flavourzyme 500 MG(500 LAPU/g, 이하 Flavourzyme으로 명명), Neutrase 0.8 L(0.8 AU/g, 이하 Neutrase로 명명), Protamex 1.5 MG(1.5 AU/g, 이하 Protamex로 명명)는 Novozymes사(Novonordisk Bioindustrials, Inc., Denmark)에서, Pepsin 570 unit/mg solid(이하 pepsin으로 명명) 및 Trypsin 12,800 unit/mg solid(이하 trypsin으로 명명)는 Sigma사(Sigma Chemical Co., USA)에서 각각 구입하여 사용하였다.

굴 효소 가수분해물의 항균성 측정을 위한 균주는 gram positive 3균주(*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus*)와 gram negative 3균주(*Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* 및 *Vibrio parahaemolyticus*)를 2004년 8월에 한국미생물보존센터로부터 각각 분양받아 사용하였다.

#### 굴 가수분해물의 제조 및 가수분해율

가수분해물의 제조를 위하여 냉동보관한 굴을 해동한 다음, 동량의 증류수를 가하여 균질화하였다. 여기에 굴의 단백질 함량에 대하여 1%에 해당하는 효소를 첨가한 후, 각 효소의 제조회사에서 제시한 최적온도 및 pH(Alcalase,  $55^{\circ}\text{C}$  및 pH 7.0; Flavourzyme,  $50^{\circ}\text{C}$  및 pH 7.0; Neutrase,  $50^{\circ}\text{C}$  및 pH 6.0; Protamex,  $40^{\circ}\text{C}$  및 pH 7.0; pepsin,  $37^{\circ}\text{C}$  및 pH 3.0; trypsin,  $37^{\circ}\text{C}$  및 pH 8.0)로 조정된 다음, 진탕항온조(Orbital shaker, Forma Scientific, USA)에서 일정시간(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0시간)동안 반응시켰다. 효소반응의 정지는 끓는물( $100^{\circ}\text{C}$ )에서 10분간 중탕하여 효소를 실패시키고, 이를 원심분리( $3,000 \times g$ , 20 min) 및 여과하여 굴 효소 가수분해물 제조한 다음, 동결건조 처리하여 시료로 사용하였다.

가수분해율은 굴 효소 가수분해물에 동량의 20%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)를 넣고, 혼합하여 제단백한 다음 원심분리( $3,000 \times g$ , 20 min)한 상층액을 시료로 하여 semi-micro Kjeldahl법으로 질소를 정량한 후 측정하였다. 가수분해율의 계산은 가수분해물의 총질소량에 대하여 10% TCA 가용성 질소의 상대비율(%)로 나타내었다.

#### 일반성분, pH 및 휘발성 염기질소

일반성분은 AOAC법(10)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법으로 질소를 정량한 후 질소계수(6.25)를 이용하여 계산하였고, 조지방은 Soxhlet 법, 회분은 건식회화법으로 측정하였다. pH는 시료에 10배량의 탈이온수를 가한 다음, pH meter(691, Metrohm, Swiss)

로 측정하였고, 휘발성 염기질소 함량은 Conway unit를 사용하는 미량확산법(11)으로 측정하였다.

#### Angiotensin I converting enzyme(ACE)의 저해능, 항균성 및 항산화능

ACE 저해능은 Horiuchi 등(12)의 방법에 따라 시료를 전처리한 다음 이의 20  $\mu\text{L}$ 를 Zorbax 300SB  $\text{C}_8$  column(i.d.  $4.6 \times 150$  mm, Hewlett Packard Co., USA)이 장착된 역상 HPLC(LC-10AVP, Shimadzu Co., Japan)에 주입하여 분석하였다. ACE 저해능은 ACE의 활성을 50% 저해하는데 요구되는 저해제의 양인  $\text{IC}_{50}$ (mg/mL)으로 나타내었다.

항균성은 gram positive 3균주(*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus*)와 gram negative 3균주(*Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* 및 *Vibrio parahaemolyticus*)를 이용하여 paper disc법(13)으로 측정하였다. 항균성은 disc주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로 나타내었다.

항산화능은 ferric thiocyanate법(14)에 따라 spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu Co., Japan)로 흡광도(500 nm)를 측정하여 다음 식으로부터 계산하였다.

$$\text{Anti-oxidative activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}}\right) \times 100$$

#### 분자량 패턴

분자량 측정을 위하여 시료를 여과(microfilter,  $0.45 \mu\text{m}$ )한 다음 이를 0.1 M NaCl을 함유하는 0.01 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 평형화시킨 Sephadex G-50칼럼(i.d.  $1.6 \times 100$  cm)에 주입하였다. 이어서 칼럼을 동일 완충액으로 용출( $0.75 \text{ mL/min}$ )하면서 일정량(5 mL)씩 분취하였다. 이 때 용출되는 단백질은 280 nm에서 흡광도로 검출하였다. 가수분해물의 획분별 분자량의 분포는 표준단백질(aprotinin, 6.5 kDa; cytochrome, 12.4 kDa; carbonic anhydrase, 29 kDa; bovine serum albumin, 66 kDa)을 사용하여 작성한 분자량 분포곡선에 따라 측정하였다.

#### 통계처리

각 실험항목의 반복횟수는 3회 실시하였으며, 실험결과를 평균과 표준편차(mean  $\pm$  SD)로 나타내었다(15).

## 결과 및 고찰

#### 굴의 원료특성

굴 효소 가수분해물의 제조원료로 사용한 생굴의 일반성분, 휘발성염기질소 함량 및 pH는 Table 1과 같다. 원료로 사용한 생굴의 수분, 단백질, 조지방 및 조회분 함량은 각각 82.2%, 11.6%, 2.1% 및 1.1%로, 수분을 제외한다면 단백질이 주성분이었다. 본 실험에서 원료로 사용한 굴의 수분 및 단백질 함량은 Cha와 Kim(16)이 가수분해물의 원료로 사용한

**Table 1. Proximate composition, pH and volatile basic nitrogen (VBN) of raw oyster**

Proximate composition (%)				VBN	pH
Moisture	Protein	Lipid	Ash	(mg/100 g)	
82.2±0.8 <sup>1)</sup>	11.6±0.4	2.1±0.3	1.1±0.3	6.8±1.4	6.40±0.03

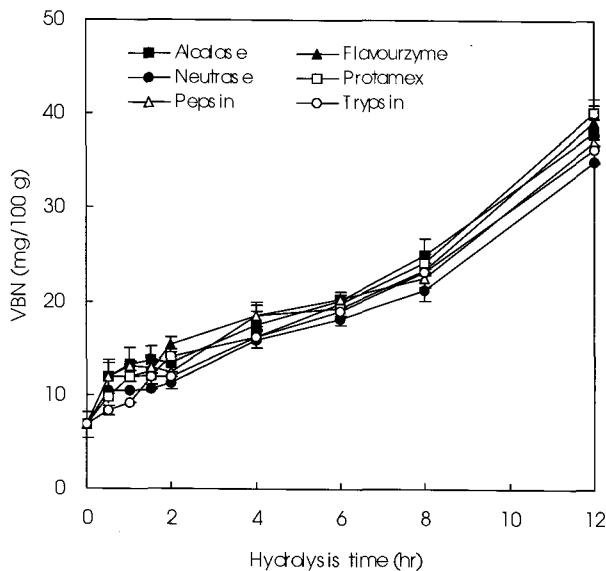
<sup>1)</sup>Values are the means±SD of three determinations.

굴의 수분 및 단백질 함량(각각 78.5% 및 9.6%)에 비하여 높았다. 이는 두 시료간에 채취시기, 채취지역 및 크기 등에 의한 차이 때문이라 생각되었다(17). 한편, 본 실험에서 사용한 원료 생굴의 신선도는 휘발성염기질소 함량 및 pH가 각각 6.8 mg/100 g 및 6.40을 나타내어 아주 신선하다고 판단되었다. 일반적으로 수출용 굴의 휘발성염기질소 및 pH는 각각 20 mg/100 g 이하 및 6.0 이상이어야 한다(18).

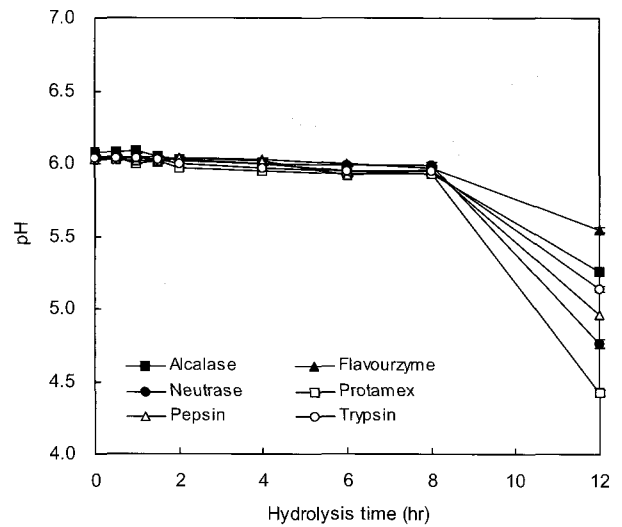
**휘발성염기질소, pH 및 관능검사**

효소의 종류 및 가수분해 시간에 따른 굴 효소 가수분해물의 휘발성염기질소 함량 변화는 Fig. 1과 같다. 휘발성염기질소 함량은 생시료가 6.8 mg/100 g이었고, 굴 효소 가수분해물의 경우 상업적 효소의 종류에 관계없이 가수분해 시간이 경과함에 따라 증가하였다. 가수분해 중 휘발성염기질소의 증가속도는 가수분해 6시간까지는 서서히 증가하여 6시간 후에 18.1~20.2 mg/100 g의 범위이었고, 그 이후에는 급격히 증가하여 12시간 후에 35.0~40.2 mg/100 g의 범위이었다. 상업적 효소의 종류에 따른 가수분해물의 휘발성염기질소 함량은 가수분해 6시간까지는 크게 차이가 없었고, 그 이후에는 약간의 차이가 있어, Neutralse, trypsin, pepsin 등으로 가수분해한 것이 Alcalase, Flavourzyme, Protamex 등으로 가수분해한 것에 비하여 낮았다.

효소의 종류 및 가수분해 시간에 따른 굴 효소 가수분해물



**Fig. 1. Volatile basic nitrogen (VBN) content of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times.**



**Fig. 2. pH of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times.**

의 pH 변화는 Fig. 2와 같다. 생시료의 pH가 6.40인데 반하여, 가수분해물의 pH는 효소의 종류에 관계없이 가수분해 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같이 가수분해 시간에 따른 가수분해물의 pH가 감소하는 것은 첨가한 효소의 작용으로 단백질이 분해되면서 산성아미노산의 carboxyl group의 유리화 더불어 굴에 함유되어 있는 glycogen이 가수분해가 진행됨에 따라 해당작용에 의하여 젖산으로 분해되었기 때문이라 판단되었다(19). 그리고 효소에 의한 굴의 가수분해 중 pH의 감소속도는 가수분해 8시간까지는 서서히 감소하여 8시간 후에 5.93~5.99의 범위이었고, 그 이후에는 급속히 감소하여 12시간 후에 4.43~5.54의 범위이었다. 효소의 종류에 따른 가수분해물의 pH는 가수분해 8시간까지는 크게 차이가 없었고, 그 이후에는 차이가 있어, Protamex 가수분해물이 가장 낮았고, 다음으로 Neutralse, pepsin, trypsin 그리고 Alcalase 가수분해물의 순이었으며, Flavourzyme 가수분해물이 가장 높았다.

상업적 효소의 종류 및 가수분해 시간에 따른 굴 효소가수분해물의 부패취 정도를 관능검사한 결과는 Table 2와 같다. 생시료는 관능검사 결과 전 관능요원이 굴 특유의 신선한

**Table 2. Sensory evaluation of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times**

Enzymes	Hydrolysis time (hr)							
	0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	6.0	8.0	12.0
Alcalase	0 <sup>1)</sup>	0	0	0	0	0	6	9
Flavourzyme	0	0	0	0	0	0	7	9
Neutralse	0	0	0	0	0	0	5	9
Protamex	0	0	0	0	0	0	5	9
Pepsin	0	0	0	0	0	0	6	9
Trypsin	0	0	0	0	0	0	6	9

<sup>1)</sup>Values indicate the number of panel member felt a putrid smell from oyster hydrolysates.

향을 나타낸다고 보고하였다. 하지만 상업적 효소와 가수분해 시간을 달리하여 가수분해물을 제조한 다음, 관능검사를 실시한 결과 상업적 효소의 종류에 관계없이 가수분해 6시간까지는 전 관능요원이 부패취를 전혀 감지하지 못하였으나, 가수분해 8시간 후에는 전 가수분해물에서 5~7명의 범위에서 부패취를 감지하였고, 가수분해 12시간 후에는 전 가수분해물에서 모든 관능요원들이 부패취를 감지하였다.

가수분해 시간에 따른 휘발성염기질소 함량, pH 및 관능검사의 결과로 미루어 6종의 상업적 효소를 이용한 굴 효소 가수분해물의 제조 시 적절한 가수분해 시간은 6시간 이하로 판단되었다.

**가수분해율**

효소의 종류 및 가수분해 시간에 따른 굴 효소 가수분해물의 가수분해율의 변화는 Fig. 3과 같다. 가수분해율은 효소 처리하지 않은 대조구의 경우 15.2%이었다. 이를 6종의 상업적 효소로 가수분해하는 경우 효소 가수분해물의 가수분해율은 효소의 종류에 관계없이 2시간까지는 가수분해 시간이 경과함에 따라 급격히 증가하여 31.2~32.8% 범위에 있었

고, 그 이상의 가수분해 시간에서는 완만한 증가를 하였으며, 6시간 이후에는 38.3~41.3% 범위, 12시간후에는 42.2~46.6% 범위이었다. 상업적 효소로 1시간 처리한 가수분해물의 가수분해율은 Protamex와 Alcalase 가수분해물이 각각 29.0% 및 28.0%였으며, 다음으로 Flavourzyme이 27.0%, Neutrased가 24.7%로 가장 낮았다. Pepsin 및 trypsin을 사용한 가수분해물의 가수분해율은 1시간까지 급격한 증가를 하여 모두 22.3%를 나타내었으나, 그 이후에는 pepsin 가수분해물의 경우 거의 증가를 하지 않아 6시간 후에는 23.9%, 12시간 후에는 24.8%를 나타내었고, trypsin 가수분해물의 경우 미미한 증가를 하여 6시간 후에는 27.9%를 12시간 이후에는 30.0%를 나타내었다. 이와 같은 결과로 미루어보아 굴에 대한 가수분해능은 endoprotease가 주로 함유된 Alcalase 및 Protamex가 endo- 및 exoprotease의 혼합형태인 Neutrased와 Flavourzyme보다 우수하였다. 또한 상업적 효소가 기질특이성이 높은 pepsin이나 trypsin과 같은 소화 효소에 비하여 우수하였다.

**기능특성**

효소의 종류 및 가수분해시간에 따른 굴 효소 가수분해물의 angiotensin-I converting enzyme(ACE) 저해능의 변화는 Table 3과 같다. ACE 저해능은 상업적 효소의 종류에 관계없이 가수분해 시간에 따른 의존성, 즉 가수분해율에 따른 의존성은 없었다고 판단되었다. 이와 같은 결과는 단백질 가수분해물의 기능성이 peptide를 구성하는 아미노산의 종류에 의해 결정되므로, 적정 이상으로 가수분해되는 경우 기능성 함유 peptide의 생성보다 오히려 분해가 많았기 때문이라 판단되었다. 한편, Byun과 Kim(20)도 상업적 효소를 이용하여 명태껍질 가수분해물을 제조하여 ACE 저해능을 살펴 본 결과 가수분해율과 ACE 저해능 간에는 상관성이 없었다고 보고한 바 있다. 효소의 종류에 따른 굴 효소 가수분해물의 ACE 저해능(IC<sub>50</sub>)은 가수분해를 1시간 실시한 경우, Protamex가 1.49 mg/mL로 농도가 가장 낮아 저해능이 가장 강하였으며, 다음으로 Alcalase(1.70 mg/mL), trypsin (2.15 mg/mL), Neutrased(4.19 mg/mL) 그리고 pepsin 가수분해물(7.39 mg/mL)의 순이었으며, Flavourzyme 가수분해물이 16.31 mg/mL로 가장 높아 저해능이 가장 낮았다. 그리고

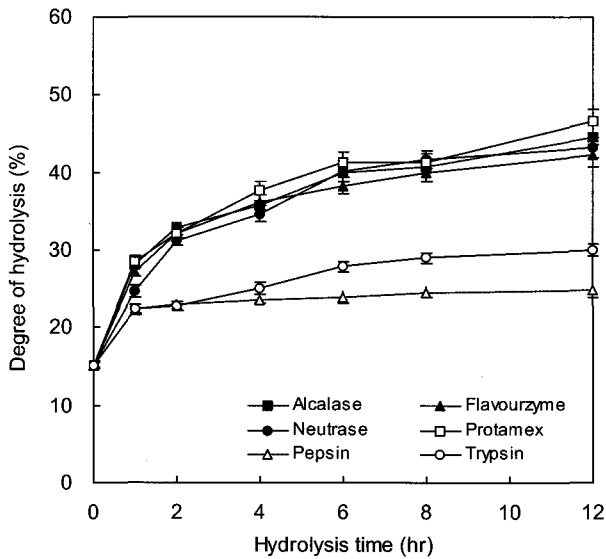


Fig. 3. Hydrolysis degree of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times.

Table 3. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity (IC<sub>50</sub>) of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times (mg/mL)

Enzymes	Hydrolysis time (hr)					
	0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	6.0
Alcalase	3.09±0.20 <sup>1)</sup>	1.70±0.10	2.12±0.10	2.34±0.10	2.50±0.10	2.35±0.10
Flavourzyme	6.84±0.40	16.31±0.70	9.32±0.40	11.59±0.60	16.73±0.90	11.84±0.70
Neutrased	3.45±0.10	4.19±0.20	4.06±0.20	3.96±0.10	6.64±0.30	8.69±0.50
Protamex	1.63±0.10	1.49±0.10	2.69±0.20	4.84±0.20	2.83±0.10	3.61±0.20
Pepsin	7.73±0.50	7.39±0.30	9.07±0.40	9.42±0.30	11.12±0.50	11.38±0.60
Trypsin	3.84±0.20	2.15±0.10	3.45±0.20	3.55±0.10	2.92±0.10	4.10±0.20

<sup>1)</sup>Values are the means±SD of three determinations.

효소가수분해물의 시간에 따른 ACE 저해능(IC<sub>50</sub>)이 Alcalase, Protamex, pepsin 및 trypsin은 가수분해 1시간에서, Flavourzyme(6.84 mg/mL) 및 Neutrase(3.45 mg/mL)는 가수분해 30분에서 우수한 것으로 나타났다. 이와 같은 효소의 종류에 따른 굴 효소 가수분해물의 ACE 저해능의 차이는 효소의 기질특이성에 의해 생성된 peptide의 아미노산 구성에 차이가 있었기 때문이라 판단되었다(21). 한편, Byun과 Kim(20)은 명태껍질을 기질로 하여 Pronase E로 2시간 처리한 가수분해물의 ACE 저해능(IC<sub>50</sub>)은 0.66 mg/mL이었다고 보고한 바 있고, Ukeda 등(22)은 정어리 근육을 기질로 하여 pepsin으로 처리한 가수분해물의 ACE 저해능(IC<sub>50</sub>)은 0.62 mg/mL이었다고 보고한 바 있다. 이와 같은 보고로 미루어 본 실험에서 검토한 굴을 기질로 하여 Protamex로 1시간동안 처리한 가수분해물의 ACE 저해능이 명태 및 정어리

가수분해물들의 ACE 저해능(IC<sub>50</sub>)에 비해 낮았으나, Protamex의 단가가 Pronase E 및 pepsin의 단가에 비하여 확연히 낮아, 이를 이용한 제품 개발시에 생산 단가적인 장점이 있다고 판단되었다.

효소의 종류 및 가수분해 시간을 달리하여 제조한 굴 효소 가수분해물의 gram positive 3종(*B. cereus*, *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*), gram negative 3종(*E. coli*, *S. Typhimurium* 및 *V. parahaemolyticus*)에 대한 항균성은 Table 4와 같다. 효소의 종류 및 가수분해 시간에 따른 굴가수분해물은 항균성 측정에 사용된 모든 균주에 대하여 항균 활성을 나타내지 않았다. 이상의 결과로 미루어보아 굴 효소 가수분해물이 항균성보다는 오히려 미생물들의 영양원으로 이용되었으리라 판단되었다. 한편, Pellegrini 등(23)도 효소로 단백질 가수분해물을 제조한 다음 *E. coli*와 같은 gram-

**Table 4. Antimicrobial effects of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times**

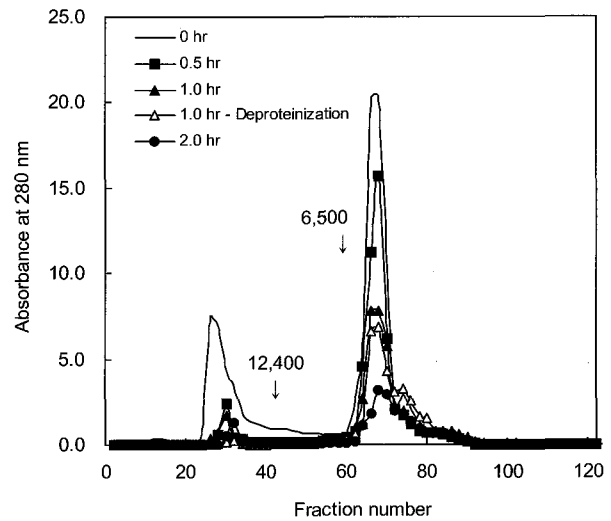
Enzymes		Microorganisms	Hydrolysis time (hr)					
			0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	6.0
Alcalase	Gram (+) bacterial	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
	Gram (-) bacterial	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-
Flavourzyme	Gram (+) bacterial	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
	Gram (-) bacterial	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-
Neutrase	Gram (+) bacterial	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
	Gram (-) bacterial	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-
Protamex	Gram (+) bacterial	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
	Gram (-) bacterial	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-
Pepsin	Gram (+) bacterial	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
	Gram (-) bacterial	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-
Trypsin	Gram (+) bacterial	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
	Gram (-) bacterial	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	-

negative 균주에 대하여 항균성을 살펴본 결과 항균성이 인정되지 않았다고 보고한 바 있다.

효소의 종류 및 가수분해 시간을 달리하여 제조한 굴 효소 가수분해물의 항산화능은 Table 5와 같다. 굴 효소가수분해물의 항산화능은 ACE 저해능과 같이 상업적 효소의 종류에 관계없이 가수분해 시간에 따른 의존성, 즉 가수분해율에 따른 의존성은 없다고 판단되었다. 이와 같은 결과는 단백질 가수분해물의 기능성은 peptide를 구성하는 아미노산의 조성 특히 말단기를 구성하는 아미노산의 종류에 결정적으로 영향을 받으므로 과도하게 가수분해되는 경우 기능성 함유 peptide가 오히려 분해되기 때문이라 판단되었다. 한편, Wu 등(24)도 자가소화효소 및 상업적 효소를 이용하여 고등어 근육 가수분해물을 제조하여 항산화능을 살펴본 결과 가수분해 시간과 항산화능 간에는 상관성이 없었고, anserine 및 carnosine과 같은 유리아미노산과 몇몇 peptide가 상관성이 있었다고 보고한 바 있다. 효소의 종류에 따른 굴 효소 가수분해물의 항산화능(Table 5)은 가수분해를 1시간 실시한 경우 Protamex 가수분해물(1.16 mg/mL)이 가장 높았고, 다음으로 Neutrase(1.80 mg/mL), Flavourzyme(1.81 mg/mL), pepsin(2.50 mg/mL) 그리고 trypsin 가수분해물(4.79 mg/mL) 등의 순이었으며, Alcalase 가수분해물(5.06 mg/mL)이 가장 낮았다. 그리고 총 6시간의 가수분해 시간 중에서 Alcalase(2.56 mg/mL), Neutrase(1.52 mg/mL) 및 pepsin(1.48 mg/mL)은 가수분해 1.5시간에서, Flavourzyme 및 Protamex는 가수분해 1시간에서, trypsin(1.90 mg/mL)은 가수분해 0.5시간에서 항산화능이 우수한 것으로 나타났다. 이와 같이 효소의 종류에 따른 굴 효소 가수분해물 간의 항산화능 차이는 효소의 기질특이성에 의해 생성된 peptide의 아미노산 조성에 차이가 있었기 때문이라 판단되었다. 본 실험에서 6종의 상업적 효소를 이용하여 6시간동안 처리한 가수분해물 간의 항산화능은 Protamex로 1시간동안 가수분해하여 제조한 가수분해물이 가장 우수하였다.

**분자량 분포**

가수분해 시간(0분, 0.5시간, 1시간 및 2시간)을 달리하여 제조한 Protamex 굴 가수분해물의 분자량 분포는 Fig. 4와



**Fig. 4. Molecular weight distribution profile of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with Protamex for different times.**

같다. 가수분해 처리하지 않은 대조구는 크게 fraction 22~38번 사이의 고분자 획분(29~66 kDa)과 fraction 60~72번 사이의 저분자 획분(6.5 kDa 이하)으로 구성되어 있었고, 가수분해 시간이 경과함에 따라 고분자 획분과 저분자 획분이 모두 감소하는 경향을 나타내었다. 아울러 TCA를 사용하여 재단백한 1시간 가수분해물의 분자량 분포에서는 제단백 처리하지 않은 가수분해물에 비해 29~66 kDa의 고분자 획분의 확연한 감소를 나타내어 TCA에 의한 고분자량의 단백질 제거효과가 있는 것으로 나타났으며, 이들 고분자 획분은 효소 가수분해시간을 연장하면 고분자 획분의 가수분해를 높일 수 있으리라 판단되나, 본 실험결과(2시간 이상의 가수분해)에서도 나타났듯이 가수분해 시간의 연장에 의해 저분자 획분(6.5 kDa 이하)도 과도한 분해로 그 분자량의 분포가 감소함으로서 ACE 저해능(Table 3)과 항산화능(Table 5)과 같은 기능특성이 감소하는 결과를 보였다. 따라서 Protamex를 이용하여 가수분해물을 제조하는 경우 가수분해 시간은 기능특성을 고려하여 1시간이 적절한 것으로 판단되었고, 차후의 연구에서는 기능성 개선을 위하여 고분자 획분을 제거하기 위한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

**Table 5. Antioxidant activity (IC<sub>50</sub>) of enzymatic hydrolysates from oyster incubated with various enzymes for different times (mg/mL)**

Enzymes	Hydrolysis time (hr)					
	0.5	1.0	1.5	2.0	4.0	6.0
Alcalase	6.44±0.40 <sup>1)</sup>	5.06±0.30	2.56±0.20	3.97±0.20	4.02±0.30	3.88±0.20
Flavourzyme	2.72±0.10	1.81±0.20	4.13±0.20	5.98±0.40	8.24±0.50	5.72±0.40
Neutrase	3.65±0.20	1.80±0.10	1.52±0.10	2.14±0.20	4.25±0.30	9.27±0.60
Protamex	2.40±0.20	1.16±0.10	3.32±0.20	6.20±0.50	4.29±0.30	5.62±0.30
Pepsin	4.12±0.30	2.50±0.10	1.48±0.10	1.78±0.20	3.67±0.10	3.97±0.20
Trypsin	1.90±0.20	4.79±0.30	7.14±0.50	5.11±0.30	4.62±0.20	6.83±0.50

<sup>1)</sup>Values are the means±SD of three determinations.

요 약

양식 굴을 효율적으로 이용할 목적으로 6가지의 상업적 효소(Alcalase, Flavourzyme, Neutrase, Protamex, pepsin, trypsin)를 이용하여 굴 효소 가수분해물을 제조하고, 그 특성에 대하여 살펴보았다. 상업적 효소 굴 가수분해물의 항산화능 및 ACE 저해능은 모두 Protamex로 1시간동안 가수분해시킨 것이 가장 우수하였고, 이 때 이들의 IC<sub>50</sub>값은 각각 1.16 mg/mL 및 1.49 mg/mL이었다. 하지만 항균성은 모든 효소 가수분해물에서 인정되지 않았다. 또한, ACE 저해능 및 항산화능은 가수분해 시간에 따른 의존성이 인정되지 않았다. Protamex로 1시간동안 처리한 굴 가수분해물의 경우 가수분해 처리하지 않은 대조구에 비하여 29~66 kDa 획분과 6.5 kDa 부근의 획분이 모두 감소하여 저분자화 하는 경향을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부에서 시행하고 해양수산개발원에서 지원한 2004년도 수산특정연구개발사업과제에 의해 수행된 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Kim CY, Pyeon JH, Nam JN. 1981. Decomposition of glyco-gen and protein in pickled oyster during fermentation with salt. *J Korean Fish Soc* 14: 66-71.
2. National Fisheries Research and Development Agency. 1995. *Supplemented Chemical Composition of Marine Products in Korea*. Yemoon Publishing Co., Seoul. p 139-143.
3. MOMAF. 2003. *Statistical Year Book of Maritime Affairs and Fisheries*. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Seoul. p 1439.
4. Jeong BY, Choi BD, Moon SK, Lee JS. 1998. Proximate composition, cholesterol and  $\alpha$ -tocopherol content in 72 species of Korean fish. *J Korean Fish Sci Tech* 1: 129-146.
5. Hosoi M, Kubota S, Toyohara M, Toyohara H, Hayashi I. 2003. Effect of salinity change on free amino acid content in Pacific oyster. *Fisheries Science* 69: 395-400.
6. Li Q, Osada M, Mori K. 2000. Seasonal biochemical variations in Pacific oyster gonadal tissue during sexual maturation. *Fisheries Science* 66: 502-508.
7. Soudant P, Chu FL. 2001. Lipid class and fatty acid composition of the protozoan parasite of oysters, *Perkiasus marinus* cultivated in two different media. *J Eukaryotic Microbiology* 48: 309-319.
8. Shiau CY, Chai T. 1990. Characterization of oyster shucking liquid wastes and their utilization as oyster soup. *J Food Sci* 55: 374-378.
9. Kim JS, Heu MS. 2001. Preparation of instant powdered soup using canned oyster processing waste water and its characteristics. *J Korean Fish Soc* 34: 285-290.
10. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC. p 69-74.
11. Ministry of Social Welfare of Japan. 1960. Volatile basic nitrogen. In *Guide to Experiment of Sanitary Infection*. Kenpakusha, Tokyo. p 30-32.
12. Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T, Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. *J Chromatography* 233: 123-130.
13. Davidon PM, Parish ME. 1989. Methods for testing the efficacy of food anti-microbials. *Food Technol* 1: 148-151.
14. Mitsuda H, Yasumoto K, Iwami K. 1996. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyotoshokuryo* 19: 210-214.
15. Steel RGD, Torrie JH. 1980. *Principle and Procedures of Statistics*. 1st ed. Kogakusha, McGraw-Hill, Tokyo. p 187-221.
16. Cha YJ, Kim EJ. 1995. Response surface methodology in development of oyster hydrolysate. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 427-433.
17. Park YH, Chang DS, Kim SB. 1995. *Processing and Utilization of Seafood*. Hyungsul Publishing Co., Seoul. p 73-80.
18. Kim JS. 2003. *Food Chilling and Freezing*. Hyoil Publishing Co., Seoul. p 236-239.
19. Park YH, Chang DS, Kim SB. 1995. *Processing and Utilization of Seafood*. Hyungsul Publishing Co., Seoul. p 347-361.
20. Byun HG, Kim SK. 2001. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *Process Biochemistry* 36: 1155-1162.
21. Suetsuna K, Yamagami M, Kuwata K. 1988. Inhibitory activity against angiotensin I converting enzyme of peptides originating from fish and shellfish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1853-1858.
22. Ukeda H, Matsuda H, Osajima K, Matsufuji H, Matsui T, Osajima Y. 1992. Peptides from peptic hydrolysate of heated sardine meat that inhibit angiotensin I converting enzyme. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 66: 25-29.
23. Pellegrini A, Dettling C, Thomas U, Hunziker P. 2001. Isolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine  $\beta$ -lactoglobulin. *Biochem Biophysics Acta* 1526: 131-140.
24. Wu HC, Chen HM, Shiau CY. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International* 36: 949-957.

(2006년 5월 1일 접수; 2006년 6월 28일 채택)