

특집 I: 대두 펩타이드의 건강기능성과 산업전망

전통 대두발효식품에서 펩타이드의 역할

최 신 양
한국식품연구원

Roles of Soy Peptide on the Korean Traditional Fermented Foods

Shin-Yang Choi

Traditional Food Research Division, KFRI, Gyeonggi 463-746, Korea

서 론

콩 단백질은 인류가 이용하는 단백질의 대부분을 공급하여 주며 또한 식물성 단백질의 주요 공급원으로서 동물성 단백질에 비해 비교적 값이 싸고 양질의 단백질과 필수 아미노산을 제공한다. 다양한 콩 식품의 건강기능성에는 여러 가지 성분이 생리활성에 관여하게 되는데, 이들 활성성분으로는 isoflavone, trypsin inhibitor, phenolics, Maillard 반응산물, globulin, 펩타이드 등이 보고된 바 있다. 우리나라의 전통 대두발효식품으로 대표되는 간장, 된장, 고추장, 청국장 등 각종 장류는 일반적으로 콩을 주원료로 곰팡이나 세균 등에 의해 발효되는 식품이다. 이들 장류에는 주원료인 콩의 단백질, 지방, 탄수화물 등이 미생물의 작용으로 분해되어 생성된 분해산물과 발효과정 중에 미생물의 작용이나 갈변반응 등에 의해서 새로이 생성되는 물질들로 구성되어 있으므로 다양한 생리활성을 나타낼 것으로 여겨진다.

펩타이드란 단백질의 분해과정에서 생기는 물질로서 단백질은 체내에서 소화관을 통하는 사이 소화효소에 의해 아미노산으로 분해되어 소장에서 흡수된다. 그러나 모든 단백질이 아미노산까지 분해되지 않고 일부는 아미노산이 여러개 결합된 펩타이드 상태로 흡수된다. 펩타이드는 단백질이 아미노산으로 분해되는 과정의 중간산물로, 다양한 조합의 아미노산이 펩타이드 결합에 의해 중합물을 형성하고 있는 것으로서 일반적으로 분자량 10,000이하의 것을 말한다. 식품 중에 존재하는 펩타이드는 아미노산을 공급하는 영양기능, 맛이나 용해성, 유화성 등에 관여하는 감각기능, 여러 생리활성을 나타내는 생체조절기능 등에 모두 관여하는데 최근에는 특히 펩타이드의 생체조절기능에 대한 관심이 높아지고 있다. 본 고에서는 전통

대두발효식품인 각종 장류에서 밝혀진 건강기능성과 관련된 펩타이드의 역할에 대하여 몇가지 연구결과를 소개하고자 한다.

펩타이드의 항종양활성

서울대 이형주 교수 연구팀은 서울, 대전, 대구, 광주로부터 수집한 재래식 간장과 된장, 대두 단백질 가수분해물에서 소수성의 펩타이드를 분리하여 여러 가지 암세포주들에 대한 세포독성시험을 행하였다(1).

전통 콩 발효식품인 재래식 간장의 항암활성을 분석하기 위하여 서울, 대전, 대구, 광주에서 시료를 수집하여 냉동 건조하고, 함유된 소수성 펩타이드를 클로로포름과 메탄올을 2:1로 섞은 혼합용매로 추출하였다. 추출된 소수성 펩타이드에서 색소를 제거한 후 펩타이드 추출물은 Sephacryl S-200 겔 투과 크로마토그래피와 여러 단계의 HPLC를 통해 분획하였다. 각 펩타이드 분획의 항암 활성은 여러 종의 암세포주(NIH/3T3: 생쥐의 섬유아세포주, P388D1: 생쥐의 백혈병 세포주, MSB1: 닭의 T cell 림프암 세포주, SNU-C2A: 사람 결장암 세포주)에 대하여 *in vitro* cytotoxicity assay를 하여 항종양활성을 조사하였다. 간장의 각 시료로부터 겔 크로마토그래피를 통해 얻어진 10개의 분획들 중에 대구지역에서 수집한 간장 시료에서 얻어진 SSF-T2 분획이 암 세포주에 가장 높은 항암활성을 보였다. 이 분획을 가지고 C₁₈ HPLC를 통해 다시 분획한 후 각 분획에 대한 항암 활성을 확인하였다. Fig. 1은 P388D1(생쥐의 백혈병 세포주)에 대한 항암 활성을 보여준다. 그림에서 보는 바와 같이 SSF-T23 분획이 높은 활성을 보이며, IC₅₀ 값은 약 260 µg/mL이다. SSF-T23 분획의 아미노산이 분석되었고, 그 결과는 Table 1에 나타

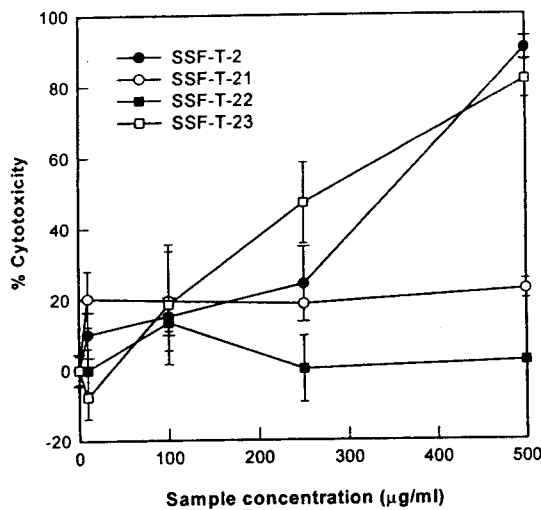


Fig. 1. Cytotoxicity of three HPLC fractions from hydrophobic peptide extracts from Taegu soy sauce on P388D₁, a mouse monocyte macrophage.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

Table 1. Amino acid composition of anti-cancer peptide fraction, SSF-T-23 from traditional Korean soy sauce from Taegu

AA	Conc. ¹⁾	mol %
Cya ²⁾	41	1.9
Asx ³⁾	50	2.7
Glx ⁴⁾	306	14.0
Ser	105	4.8
Gly	112	5.1
His	29	1.3
Arg	53	2.4
Thr	95	4.3
Ala	103	4.7
Pro	400	18.3
Tyr	26	1.2
Val	238	10.8
Met	28	1.3
Ile	93	4.3
Leu	263	12.0
Phe	119	5.4
Trp	48	2.2
Lys	75	3.4
Total	2191	100.0

¹⁾ pmol/10 µL injection volume.

²⁾ Cya: cysteic acid and oxidized cystine.

³⁾ Asx: Asp and Asn.

⁴⁾ Glx: Glu and Gln.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

내었다. Proline, leucine, valine, phenylalanine, alanine 등 소수성 아미노산의 함량이 매우 높고, 그 중에서 proline의 함량은 18.3%로 제일 높게 나타났다. 이 결과는 한국의

재래식 간장에서도 항암 활성을 보이는 펩타이드가 존재함을 나타내는 것이다(2).

된장에서와도 간장과 비슷한 방법으로 항암 펩타이드를 분리하여 활성을 확인하였다. 즉, 된장의 항암 활성을 보기 위해 간장과 같은 방법으로 유기 용매로 소수성 펩타이드를 추출한 후 이 분획을 Sephacryl S-200 겔 크로마토그래피와 C₁₈ HPLC로 분획을 얻어 *in vitro*에서 항암 활성을 분석하였다. 그리고 이 분획의 아미노산 구성도 역시 간장에서와 같은 방법으로 분석하였다. 많은 분획들 중에서 C₁₈ HPLC에서 얻은 SWF-12와 겔 투과 크로마토그래피 HPLC에서 얻은 SUNF-122, SWF-121이 암세포주에 높은 항암활성을 보였다. Fig. 2와 3은 SNU-C2A(사람의 결장암 세포주)에 대해 SNUF-12, SWF-12 분획들의 항암 활성을 나타내는 것이다. SNUF-12와 SWF-12의 IC₅₀값은 각각 105 µL/mL, 40 µL/mL이다.

콩 단백질에서 유래한 펩타이드의 항암 활성을 규명하기 위해 탈지대두박을 16종의 단백 분해효소(Alcalase, Esperase, Neutrase, Corolase7092, Bioprotease AV, Promod 278, pepsin, Thermoase, Protamax, trypsin+chymotrypsin, bromelain, papain, protease from *Asp. oryzae*, subtilisin Carlsberg, Thermolysin, and protease from *Asp. niger*)로 가수분해시켰다. 이 가수분해물을 물, 메탄올, 에탄올, 부탄올, 클로로포름+메탄올, 아세톤, 헥산 등과 같은 7종의 용매로 추출하여 펩타이드 분획을 얻었고, 이 분획들을 P388D₁(생쥐의 백혈병 세포주)에 대해 *in vitro*에서 항암 활성을 분석하였다. Table 2는 콩 단백질 가수분해물에서 여러 용매로 추출된 추출물들의

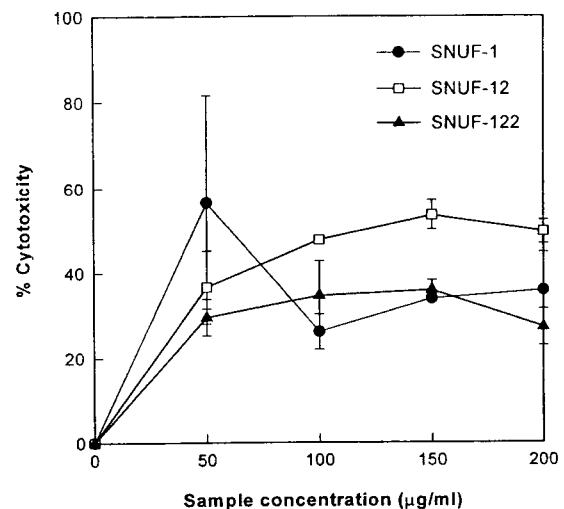


Fig. 2. *In vitro* cytotoxicity of SNUF-1, SNUF-12 and SNUF-122 on SNU-C2A, a human colon cancer cell line: ATCC CCL 250.1.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

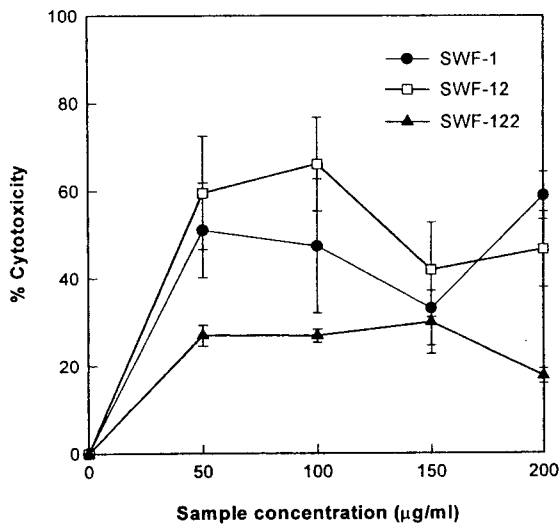


Fig. 3. *In vitro* cytotoxicity of SWF-1, SWF-12 and SWF-122 on SNU-C2A, a human colon cancer cell line: ATCC CCL 250.1.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

항암활성을 보여준다. 여러 추출물 중에서 Esperase/ethanol, Thermoase ethanol, Protamax/acetone, bromelain/ethanol, Subtilisin/carlsberg 추출물이 강한 항암 활성을 보였다.

Thermoase/ethanol 추출물에서 가장 높은 활성을 보였기 때문에 이 시료를 XAD-2 흡착 크로마토그래피를 통해 소수성 분획과 친수성 분획으로 나누어 각 분획을 ³H-thymidine uptake assay를 통해 항암 활성을 보았는데, 소수성의 To 분획이 더 높은 활성을 보였다. 이 분획을

이온 교환 크로마토그래피를 통해 다섯 개의 분획으로 다시 나누었다.

P388D1에 대한 To1에서 To5 분획의 항암 활성을 본 결과는 Fig. 4에 나타나 있다. 그림에서 알 수 있듯이 항암 활성은 To2분획에서 가장 높게 나타나며, 이 때의 IC₅₀ 값은 19 µg/mL였다. To2 분획을 다시 C18 HPLC를 통해 12분획으로 나누었다(To2-1~To2-12). 이 분획들 중에서 To2-9 분획이 가장 높은 활성을 보여서 겔 투과 크로마토그래피를 통해 다시 다섯 분획으로 나누었다(To2-9-G1~To2-9-G5, Fig. 5). P388D1에 대한 To2-9-G1에서 To2-9-G5 분획의 항암 활성을 본 결과는 Fig. 6에 나타나

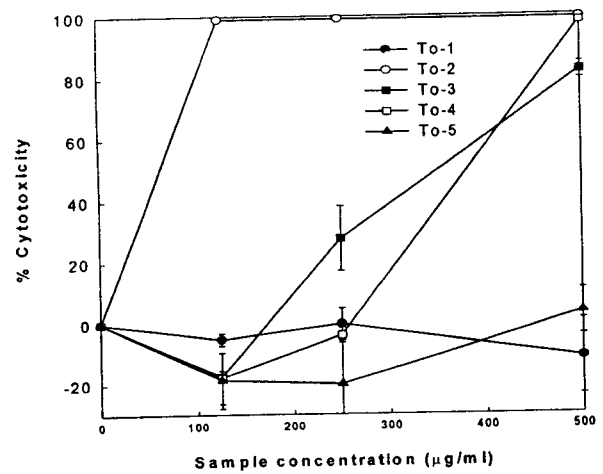


Fig. 4. Cytotoxicity of To1, To2, To3, To4 and To5 obtained by ion exchange column chromatography on P388D1.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

Table 2. Cytotoxicity of various enzymatic hydrolysates of soybean protein extracts on P388D1; a mouse monocyte-macrophage cell line

Enzyme	Water	MeOH	EtOH	BtOH	CF+MeOH	Acetone	Hexane
Alcalase	-	-	+	-	-	-	-
Esperase	-	-	++	-	-	-	-
Neutrased	-	-	-	-	-	-	-
Corolase 7092	-	-	-	-	-	-	-
Bioprotease AV	-	-	-	-	-	-	-
Promod 278	-	-	-	-	-	-	-
Pepsin	-	-	-	-	-	-	-
Thermoase	-	-	++	-	-	-	-
Protamex	-	-	-	-	-	++	-
Trypsin +Chymotrypsin	-	-	-	-	-	-	-
Bromelain	-	-	++	-	-	-	-
Papain	-	-	-	-	-	-	-
Protease from Asp. oryzae	-	-	-	-	-	-	-
Subtilisin Carlsberg	-	-	-	-	-	-	++
Thermolysin	-	-	-	-	-	+	-
Protease from Asp. nigar	-	-	-	-	-	-	-

++, strong cytotoxic effect; +, mild cytotoxic effect; -, no cytotoxic effect.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

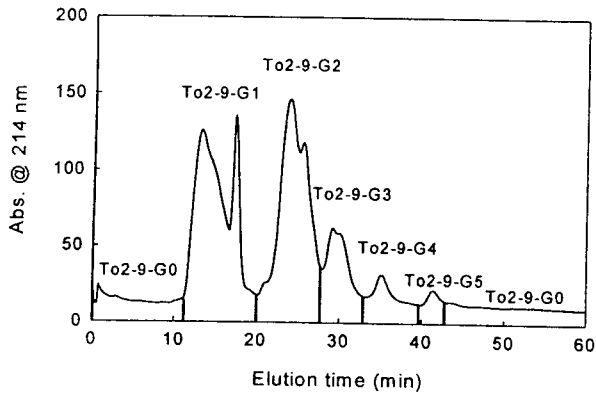


Fig. 5. The gel filtration chromatogram of thermoase/EtOH To2-9 fraction.

Two microliters was loaded on gel filtration column (Superdex 75). Double distilled water was eluted in 60 min. [출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

있다. 그림에서 알 수 있듯이 겔 투과 FPLC를 통한 다섯 개의 분획들 중, To2-9-G2만이 높은 항암 활성을 보였다.

펩타이드의 혈압강하활성

안지오텐신 전환효소(Angiotensin converting enzyme, ACE)는 안지오텐신 I(angiotensin I)의 C-말단 디펩타이드(dipeptide, His-Leu)를 절단하여 활성형인 안지오텐신 II(angiotensin II)로 전환시켜 혈압을 상승시킴과 동시에 생체내에서 혈압강하작용을 갖는 물질을 분해하는데 이러한 ACE의 작용을 저해함으로써 혈압 강하 효과를 노릴 수 있다. ACE의 작용을 저해함으로써 혈압강하활성을 갖는 물질로는 단백질 효소 분해물 유래의 펩타이드(peptide)가 40여 종이 있다고 보고되어 있다. ACE 저해 펩타이드는 우유 카세인, 젤라틴, 정어리, 참치, 돼지 및 효모의 효소, 무화과, 옥수수 단백질, 돼지혈액, 뱀의 독, 청주, 발효 등 광범위한 식품에 존재한다고 보고되어 있으며 국내에서도 멸치육이나 된장에서 유래된 ACE 저해 펩타이드가 발표된 바 있다. 장류는 단백질 함량이 많고 발효에 의해 단백질이 분해되는 특징을 갖는 콩 발효식품이므로 혈압을 강하시키는 펩타이드가 많을 것으로 생각되어 왔

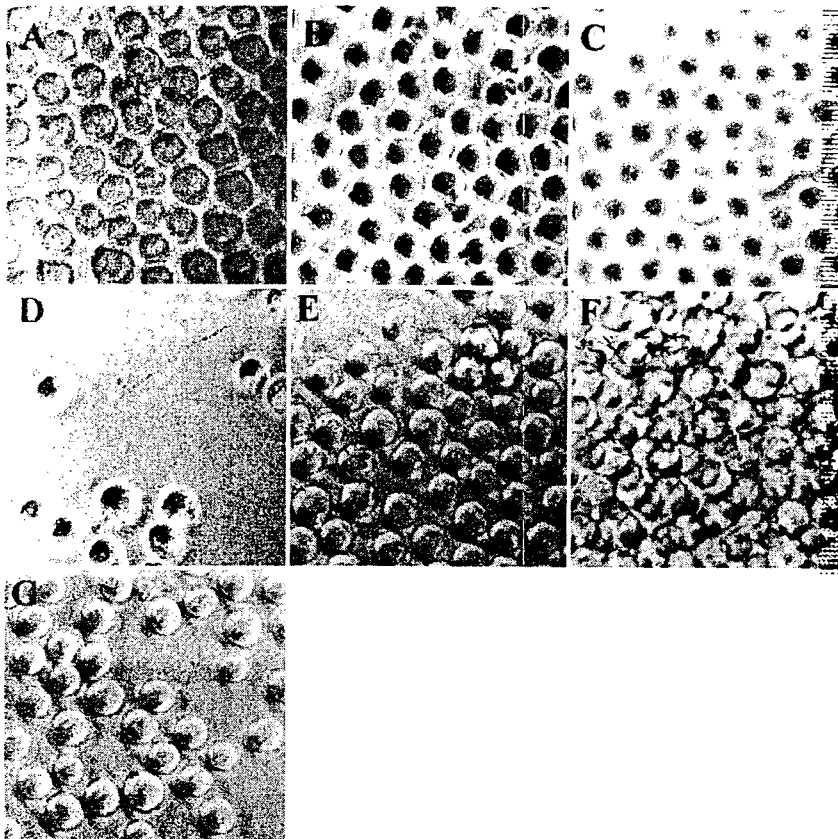


Fig. 6. Cytotoxicity of To2-9-G0 to To2-9-G5 at 500 µg/mL concentration of peptides on P388D1 (mouse monocyte macrophage: ATCC HB 8065).

Among them, only To2-9-G2 showed anticancer activity.

A, control; B, To2-9-G0; C, To2-9-G1; D, To2-9-G2; E, To2-9-G3; F, To2-9-G4; G, To2-9-G5.

[출처: 이형주, 장류의 항암효과, 영남대 제2회 장류심포지움 초록집, 53-68 (1999)]

다. 고혈압, 동맥경화 등 성인병의 경우 대부분이 식습관과 밀접한 관련을 가지는 점을 고려할 때 일상적으로 널리 식용되고 있는 콩으로 만든 전통 발효식품인 장류를 대상으로 혈압강하효과를 나타내는 물질을 검색하는 것은 질병의 예방차원에서 매우 의미가 있다.

영남대 박정룡 교수 연구팀은 간장으로부터 혈압상승을 주도하는 효소인 ACE의 활성을 저해하는 펩타이드를 생산하는 균을 분리하여 분석한 결과, 메주에 많이 분포되어 있는 고초균(*Bacillus subtilis*)으로 동정하였다(3). 경북대 박희동 교수 연구팀도 우리 나라 전통발효식품인 된장으로부터 ACE 저해활성이 우수한 균주를 분리하여 형태학적, 배양학적, 생리화학적 특성을 조사한 결과(4), *Bacillus pumilus* SYG3로 동정하고 분리 균주의 배양중경시적인 ACE 저해활성을 조사한 바 있다(Fig. 7).

(주)농심의 신재익 박사 연구팀은 식품 유래의 생리활성 펩타이드(peptide) 물질을 분리할 목적으로 전통발효식품인 된장으로부터 혈압강하기능을 가지는 ACE 저해활성 펩타이드를 분획하였다(5). 시판 된장의 냉동건조 분말을 냉수로 추출했을 때 총질소의 회수율은 추출시간 30분에 73.3%를 보였다. 용매추출액에서 고분자 펩타이드를 제거하고 저분자 펩타이드만을 얻기 위해 PM-10 막(Amicon)을 이용하여 3시간 동안 한외여과한 결과, 질소성분의 회수율은 80.8%, 염의 회수율은 99.2%에 달했고 투과액의 ACE IC₅₀은 4.18 µg/mL이었다. 한외여과 투과액을 역상 prep-HPLC로 분획하여 7개의 분획을 얻었으며, 그 중 F5분획물의 ACE 저해활성이 IC₅₀=6.8 µg/mL로 비활성이 가장 높았다. F5 분획물을 이온교환 prep-HPLC

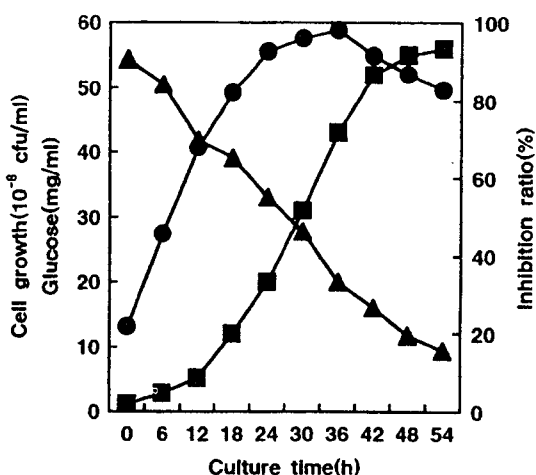


Fig. 7. Time course of the ACE inhibitor production by *B. pumilus* SYG3.

During the bacterial culture for 54 hour under the optimized culture conditions, cell growth, ACE inhibition ratio and residual sugar content were monitored every 6 hour.

[출처: 박희동 외 2인, 한국식품과학회지, 33(1), 84-88 (2001)]

로 다시 분획하여 얻은 5개의 모든 분획(Fig. 8)을 얻었으며 그 중 F53 분획물의 비활성이 가장 높았으며(IC₅₀=2.5 µg/mL), F53의 구성아미노산 분석 결과 히스티딘(histidine)의 함량이 특징적으로 높았다(Table 3, 4).

한국식품연구원의 김승호 박사 연구팀은 전통 된장으로부터 안지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme, ACE)를 저해하는 물질을 추출하여 그 구조를 밝혀냈다(6). ACE 저해효과가 큰 물질은 분자량이 272.34로서 디펩타이드(dipeptide)인 아르기닌-프로린(arginine-proline)임을 밝혀 ACE 저해펩타이드가 한국의 전통 된장에서 생산할 수 있음을 보여주고 있다.

혈소판 응집저해 펩타이드

혈관 내에서 혈액이 응고하게 되면 혈전이 형성되어 혈액순환이 방해받게 되는데, 이 결과 심근경색증, 뇌졸중, 폐동맥 경색증, 혹은 부종이나 염증을 유발할 수도 있다. 즉, 생체내에 작은 상처 등이 발생하게 되면 이를 복구하

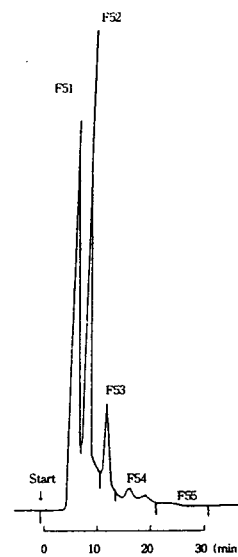


Fig. 8. The preparative high performance liquid chromatogram of F5 fraction on ion exchange column (Detection: 214 nm). [출처: 남희섭 외 5인, 한국식품과학회지, 27(2), 230-234 (1995)]

Table 3. ACE inhibitory property of each fraction obtained from ion exchange column by preparative HPLC

Fractions	F51	F52	F53	F54	F55
IC ₅₀ ¹⁾ (µg/mL)	6.6	6.0	2.5	3.8	8.3
RTIC ²⁾	1.3	1.3	1.0	1.0	0.5

¹⁾IC₅₀, defined as the concentration which inhibits 50% of the angiotensin-I converting enzyme activity.

²⁾RTIC, relative total IC₅₀; total IC₅₀, defined as the weight of materials divided by its IC₅₀.

[출처: 남희섭 외 5인, 한국식품과학회지, 27(2), 230-234 (1995)]

Table 4. Amino acid composition of F53 fraction

아미노산	농도, nmole/mL		
	총아미노산(mole%)	유리 아미노산(mole%)	펩타이드(mole%)
아스파르트산	88 (1.5)	ND	88 (2.1)
글루탐산	171 (2.8)	ND	171 (4.1)
세린	82 (1.4)	ND	82 (2.0)
글리신	272 (4.5)	1681 (86.6)	272 (6.6)
히스티딘	4504 (74.2)	ND	2823 (68.5)
아르기닌	25 (0.4)	ND	25 (0.6)
트레오닌	128 (2.1)	ND	128 (30.1)
알라닌	ND	ND	ND
프롤린	ND	ND	ND
티로신	ND	NA	ND
발린	107 (1.8)	ND	107 (2.6)
메티오닌	ND	ND	ND
시스테인	ND	ND	ND
아이소루이신	164 (2.7)	ND	164 (4.0)
루이신	ND	ND	ND
페닐알라닌	478 (7.9)	261 (13.4)	217 (5.3)
리신	45 (0.7)	ND	45 (1.1)
총	6064 (100.0)	1942 (100.0)	4122 (100.0)

[출처: 남희섭 외 5인, 한국식품과학회지, 27(2), 230-234 (1995)]

기 위해 생성되는 혈전들이 상처복구 후에도 분해되지 않고 혈관을 순환하게 된다. 생체내에서는 혈액의 응고와 용해작용이 항상 평형을 이루도록 하고 있으나 여러 가지 원인 등으로 균형이 깨져 혈전들이 미세한 혈관, 특히 뇌혈관 등에 축적되어 혈액순환을 차단함으로써 각 조직으로의 원활한 영양분 및 산소공급이 중단되고 혈압의 증가 현상을 가져온다. 즉, 뇌혈관에 혈전이 생성되면 뇌혈전증이 일어나 반신불수가 되고, 뇌혈관이 파열되면 뇌출혈, 뇌의 미세한 혈관이 파열되어 뇌와 머리뼈 사이의 공간으로 출혈되면 거미줄막 출혈 등이 일어나 생명에 치명적인 상태가 되며, 심장혈관이 막히면 심부전증이나 심장마비가 되어 사망의 원인이 된다. 최근 조사된 현대인들의 사망률 추세 보고에 의하면 혈관내 장애에 의한 사망자의 수의 합계가 전체의 약 40%로서 제 1위를 차지함에 따라 혈관 장애에 대한 기초 및 임상분야에서의 활발한 연구가 진행되고 있으며 이들 질환의 예방 및 치료를 위한 연구개발의 추세는 혈전의 생성을 억제하는 항혈전제의 개발과 생성된 혈전을 용해시키는 혈전 용해제의 개발 등에 초점을 두고 있다.

혈전은 상처복구시 생체내의 복잡한 혈전생성기작(blood cascade mechanism)에 의해 활성화된 thrombin에 의하여 fibrinogen이 fibrin으로 전환되어 서로 불용성의 입체적 구조를 가진 3차원의 격자 중합체를 형성함으로써 생성된다. Fibrinogen은 서로 다른 3쌍의 polypeptide chain (α, β, γ)이 disulfide결합으로 연결되어 있고 각 polypeptide chain의 분자량은 63,500, 55,000, 47,000이다. 이 단백질은

thrombin에 의해 α 와 β chain의 N말단의 Arg-Gly 결합이 가수분해 된다. Fibrin monomer와 fibrinopeptide A와 B(인체내에서는 각각 16개 및 14개의 아미노산으로 된)로 절단되면 fibrin이 서로 횡으로 응집할 수 있는 결합부위가 노출되며 이러한 fibrin monomer들은 수소결합과 소수성결합에 의해 응집되어 soft clot을 형성한다. 이 soft clot은 효소(factor x III 또는 fibrin stabilizing factor(FSF)) 반응에 의해서 hard clot으로 전환되어 혈전이 생성되게 된다.

최근 일본에서는 우리나라의 청국장과 비슷한 콩으로 만든 전통식품인 낫또(Natto)에서 분리한 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)라는 미생물이 강력한 혈전용해 효소를 분비하는 것으로 밝혀지면서 우리나라의 콩 발효 식품에도 이러한 혈전용해효소가 있지 않을까 하여 여러 연구자들이 관심을 갖게 되었다. 일본의 콩을 원료로 한 전통발효식품인 Natto를 섭취할 때 생체내의 혈전용해능이 증가됨을 발견하고, 이 Natto로부터 혈전용해효소(nattokinase)를 분리하여 8일간 장내 투여한 결과 혈전용해능이 점차 증가하여 4일째 가장 높은 수치를 나타내었다. 혈중 fibrin 분해산물의 항원량은 2일째 가장 높은 수치를 나타내다가 점차 감소하였으며, tPA의 항원량은 4일째까지 점차 증가하다가 8일째는 다소 감소된다고 보고하여 식품을 섭취함으로써 여러 혈관질환을 치료 및 예방할 수 있다는 점에서 관심을 끌고 있다. 혈전용해능을 나타내는 물질은 nattokinase라 불리우는 분자량이 약 35,000이며 등전점(pI)이 8.6인 serine protease로서 아미노산배열 분석 결과 subtilisin NAT라 불리우는 효소와

Table 5. Fibrinolytic activities of isolates from Korean traditional foods

Strains	Fibrinolytic activities (%)
K-54	189
K-63	162
K-68	131
K-72	159
J-10	152
Plasmin (1 Unit)	100

[출처: 강상모 외 3인, 한국산업미생물학회지, 26(6), 507-514 (1998)]

	1			5				9	
K-54	A	Q	S	V	P	Y	G	V	S
Carlsberg	A	Q	T	V	P	Y	G	I	P
BPN'	A	Q	S	V	P	Y	G	V	S
Nattokinase	A	Q	S	V	P	Y	G	I	S
CK-11	A	Q	T	V	P	Y	G	I	P

Fig. 9. Comparison of N-terminal sequence of fibrinolytic enzyme from Nattokinase and K-54.

[출처: 강상모 외 3인, 한국산업미생물학회지, 26(6), 507-514 (1998)]

동일한 것으로 나타났다. 유로키나제(Urokinase)라는 혈전용해제를 투약하는데 1회 투약량하고 같은 양의 작용효과가 Natto 100 g으로 얻을 수 있다고 하였다.

건국대 강상모 교수연구팀은 국내 전통식품인 청국장으로부터 강력한 혈전용해 활성(fibrinolytic activity)을 갖는 K-54균주를 분리(Table 5), 동정한 결과 바실루스 서브틸리스(*B. subtilis*)로 확인되었으며 이 균으로부터 강력한 효소를 정제하였다(7). N-말단 아미노산 서열 분석 결과, *B. subtilis* K-54주에서 정제한 혈전용해효소(fibrinolytic enzyme)는 Ala-Gly-Ser-Val-Pro-Try-Gly-Ser이었으며 세린계 단백질효소(serine protease) 저해제에 강력한 활성 저해를 보여 serine protease 계열의 효소임을 확인할 수 있었다(Fig. 9).

같은 대학의 이시경 교수연구팀은 청국장으로부터 분리한 체내혈액의 응고기작에 의해 생성된 단백질인 피브린(fibrin)을 분해할 수 있는 효소를 분비하는 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) KCK-7을 이용하여 혈전용해효소(fibrinolytic enzyme)의 생성을 위한 최적 배지조건을 조사하였다(8). 최적 배지조건은 0.5% 펩톤(peptone), 0.3% 육액기스(beef extract), 0.5% 셀로비오스(cellobiose), 5% 가용성 전분(soluble starch), 2% 대두분(soybean meal), 0.02% 제2인산나트륨(Na_2HPO_4)으로서 본 배지를 효소생산용 배지로 이용할 때 Fig. 10에 나타난 바와 같이 배양 48시간에 효소생성이 가장 높은 것으로 나타났다.

한국식품연구원의 손동화 박사연구팀은 전통식품인 된장으로부터 혈소판응집 저해활성을 갖는 항혈전 펩타

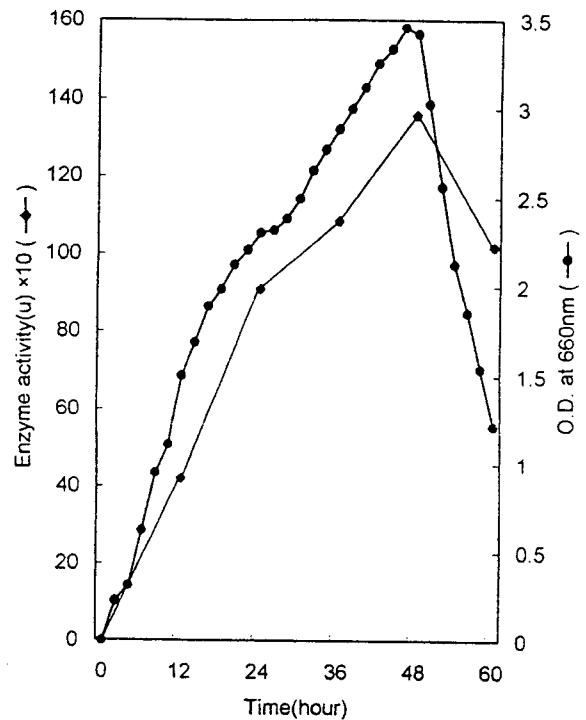


Fig. 10. Time course of cell growth and fibrinolytic enzyme production of *Bacillus subtilis* KCK-7.

[출처: 이시경 외 3인, 한국산업미생물학회지, 26(3), 226-231 (1998)]

이드를 탐색하고자 하였다(9). 증류수로 추출한 된장액을 한외여과하여 얻은 분자량 3,000 dalton 이하의 여액에 대하여 SD회주의 세척혈소판을 이용하여 ADP자극으로 유도되는 혈소판응집의 저해정도를 aggregometer에서의 탁도로 측정하였을 때, 96 µg/mL로 처리시 90%가량의 응집효과가 확인되었다. 추출물을 Dowex 50W X-2 column chromatography를 통하여 18개의획분을 얻고 활성을 측정한 결과, 16번 분획이 활성이 가장 높았으며 (Table 6) 이 분획의 아미노산 분석 결과 펩타이드 부분에 histidine, arginine, alanine 등이 높은 비율로 존재하였다(Table 7).

동아대 박인식 교수연구팀은 청국장에서 혈전을 용해시키는 혈전용해효소를 세포외로 분비하는 미생물을 분리하였으며, 분리한 균을 형태학적, 생화학적인 분류를 수행하여 바실루스 속(*Bacillus* sp.)으로 추정하고 *Bacillus* sp. KP-6408로 명명하였다(10). 그리고 분리한 *Bacillus* sp. KP-6408을 이용하여 액체배지에서 배양 및 청국장으로 발효시켰을 경우에 최대 효소의 생성조건을 조사하였다.

결론

앞의 여러 실험결과에서 보는 바와 같이 간장, 된장 등

Table 6. IC₅₀ of peptide fractions on ADP-induced platelet aggregation

Fraction No.	IC ₅₀ (µg/mL)
B	150
1	180
2	250
3	150
4	1,000
5	400
6	250
7	200
8	250
9	200
10	600
11	200
12	150
13	125
14	100
15	100
16	10
17	15
18	20
Whole extract	30
RGDS ¹⁾	205

¹⁾RGDS, tetrapeptide as a positive control.

[출처: 손동화 외 6인, 한국식품과학회지, 28(4), 684-688 (1996)]

Table 7. Amino acid composition of the peptide fraction No.16

Amino acid	Concentration, mole %		
	Total amino acid	Free amino acid	Peptide
Asp	2.48	ND ¹⁾	2.48
Glu	2.87	0.40	2.47
Ser	4.15	1.60	2.55
Gly	3.63	ND	3.63
His	7.30	ND	7.30
Arg	9.07	0.24	8.83
Thr	0.92	0.17	0.75
Ala	49.28	40.52	8.76
Pro	4.76	ND	4.76
Tyr	4.79	1.25	3.54
Val	3.10	2.12	0.99
Met	2.54	0.46	2.08
Ile	0.75	0.66	0.09
Leu	1.42	ND	1.42
Phe	ND	ND	ND
Lys	2.49	ND	2.49
Total	100.00	47.57	52.43

¹⁾ND: Not detected.

[출처: 손동화 외 6인, 한국식품과학회지, 28(4), 684-688 (1996)]

콩 발효식품과 콩 가수분해물에서 유래된 여러 펩타이드들은 생쥐 및 인간의 백혈병, 림프암, 대장암 세포주의 생육을 저해함으로써 항종양 활성을 나타내었고, angiotensin 전환효소의 저해제로 작용함으로써 혈압강하활성을 나타냈다. 이와 같은 결과는 콩으로 만든 전통 발효식품이나 콩 가수분해물에서 유래된 여러 종류의 펩타이드들이 항종양, 혈압강하, 혈청 콜레스테롤 강하활성 등을 갖는 신기능 식품소재로서 응용될 수 있는 가능성을 보여주는 것이다. 이들 콩 펩타이드의 생체조절 기능성에 대한 연구는 아직 초기 단계에 있으므로 해당 펩타이드의 일차구조 결정, 작용기작, 규명, 미생물 등에 의한 대량발현 등에 관한 연구가 더 진행되어야 할 것이다. 이와 같은 연구가 성공적으로 수행된다면 콩으로부터 여러 가지 생리활성을 갖는 펩타이드의 신소재가 개발되어 여러 가지 생체조절 기능성 식품개발에 응용될 수 있을 것이며 국민보건 향상 및 식품 및 의약품 관련 산업 발전에 기여할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 이형주. 1999. 장류의 항암효과. 영남대 제2회 장류심포지움 초록집. p 53-68.
- Kim SE, Pai TK, Lee HJ. 1998. Cytotoxic effects of the peptides from traditional Korean soy sauce on tumor cell lines. *Food Sci Biotechnol* 7: 75-79.
- 차동화, 박정룡. 2001. 간장으로부터의 Angiotensin Converting Enzyme 활성 저해물질 생성 균주의 분리동정. *한국식품영양과학회지* 30: 594-599.
- 김용석, 이창호, 박희동. 2001. 된장으로부터 Angiotensin 전환효소 저해제 생산 세균의 분리 및 특성. *한국식품과학회지* 33: 84-88.
- 신재익, 안창원, 남희섭, 이형재, 이형주, 문태화. 1995. 된장으로부터 angiotensin converting enzyme(ACE) 저해 peptide의 분획. *한국식품과학회지* 27: 230-234.
- 김승호, 이윤진, 권대영. 1999. 전통된장으로부터 angiotensin converting enzyme 저해물질의 분리. *한국식품과학회지* 31: 848-854.
- 유철권, 서원상, 이철수, 강상모. 1998. 청국장에서 분리한 *Bacillus subtilis* K-54이 분비하는 혈전용해효소의 정제 및 특성. *한국산업미생물학회지* 26: 507-514.
- 이시경, 허석, 배동호, 최기현. 1998. 청국장으로부터 분리한 *Bacillus subtilis* KCK-7에 의한 fibrin 분해효소 생산배지 최적화. *한국산업미생물학회지* 26: 226-231.
- 손동화, 이경애, 김승호, 안창원, 남희섭, 이형재, 신재익. 1996. Microplate법에 의한 된장유래의 항혈전 펩타이드 탐색. *한국식품과학회지* 28: 684-688.
- 길지은, 김기남, 박인식. 1998. 새로운 혈전용해 효소의 생성 및 특성. 청국장에서 분리한 *Bacillus* sp KP-6408로부터 효소생성의 최적조건. *한국식품영양과학회지* 27: 51-56.