

멸치 가공선 자숙액 pepsin 가수분해물의 angiotensin 전환효소 저해작용

지청일 · 이지혜 · 박덕천 · 구연숙 · 박재홍 · 박영호 · 김인수* · 김선봉
부경대학교 식품생명공학부 · *경상대학교 해양생물이용학부

서론

체내에 널리 분포되어 있는 angiotensin 전환효소(angiotensin converting enzyme, ACE ; peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1)는 angiotensinogen이 renin의 특이적 분해를 받아서 생성된 불활성형인 angiotensin I의 말단 dipeptide(His-Leu)를 절단하여 octapeptide인 활성형의 angiotensin II로 전환시키며, 이렇게 생성된 angiotensin II는 직접적으로 혈압상승 작용을 하거나 adrenal로부터 sodium-retaining steroid hormone인 aldosterone의 유리를 촉진시켜 체내 나트륨을 저류시킨다. 또한 이 효소는 혈관 이완작용을 지니는 혈압 강하물질인 bradykinin의 분해를 촉매한다. 이와 같이 혈압강하를 위해서는 혈압상승에 관여가 큰 ACE의 저해가 필수적으로, 최근 이러한 ACE 저해제들이 심장질환 및 뇌혈관질환 등 고혈압증과 관련이 깊은 질환 치료제로 널리 쓰여지고 있으며, 미국에서는 연간 그 매출액이 꾸준히 증가되고 있다고 한다.

한편, 근년에는 식품이 가지는 생체조절기능에 대한 관심이 높아져 그 기능성 인자 및 특성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 실제로 ACE 저해활성을 갖는 peptide형 및 비peptide형 성분들이 식품소재들로부터 분리되고 있는데, 최근 식품성분 중의 ACE 저해효과는 식물성 단백질 및 어육단백질 등에 유래하는 구조와 활성이 다양한 잠재적 생리활성 peptide류를 중심으로 주로 연구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 멸치의 자건품 생산시 발생하는 멸치 자숙액이 바다로 폐기될 뿐만 아니라, 해양오염까지 유발하고 있다는 것에 착안하여, 소화효소인 pepsin에 의한 가수분해와 켈크로마토그래피를 이용하여 ACE저해 peptide를 검색하고 그 효과를 살펴보았다.

재료 및 방법

멸치 자숙액은 경남 통영시 근해 멸치 가공선에서 나오는 자숙액을 그대로 수집하여 냉장 상태로 운반한 후 -18℃의 동결실에 저장하여 두고, 사용할 때 저온실(4℃)에

서 정치해동한 후 부유하는 협잡물을 제거하기 위하여 감압여과하여 이를 시료액으로 하였다. 멸치 자숙액의 pepsin 가수분해는 pepsin을 시료의 건물당 2%(w/w)의 농도로 첨가하고 10배량의 염산 완충용액(pH 2.0)을 가한 다음 37°C에서 가수분해를 실시하였다. 가수분해후 배양 용액 중에서 5ml를 취하여 효소를 실험시키기 위하여 95°C 탕욕 중에서 5분간 방치한 다음 원심분리(3,200×g, 20분)하여 얻어진 상층액을 멸치 자숙액 pepsin 가수분해 용액으로 하였다. 단백질 함량은 Lowry 등의 비색법과 280nm에서의 흡광도로써 측정하였다. 아미노산의 분석은 단백질 함량으로 15mg되는 시료 1ml를 ample에 넣고, 진한 염산 1ml를 가해 질소가스로 치환한 뒤 봉한 다음 110°C의 dry bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건고하여 염산을 완전히 제거한 다음 증류수 10ml를 가하여 다시 감압건조한 후, 구연산완충액(pH 2.2, Sigma Co.)으로써 25ml로 정용하였다. 이의 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기(Hitachi 835)를 사용하여 정량하였다. ACE 활성은 Cushman and Cheung의 방법을 개량한 Yamamoto 등의 방법에 준하여 실시하였으며, ACE 저해 peptide의 분리는 멸치 자숙 폐액의 pepsin 가수분해물을 40°C에서 감압농축한 후, Bio-gel P-2 (Bio-Rad Laboratories)를 충전한 column(2.2×80cm)을 사용하여 시료액 2ml를 탈이온수로써 용출(유속 20ml/hr, 분획량 5ml/tube)시켰다. 분획한 각 용출액을 280nm에서 흡광도를 측정하고 Lowry법에 의한 단백질 함량을 구하였다.

결과 및 요약

멸치 자숙 폐액의 단백질 농도에 따른 ACE 저해작용을 살펴 본 결과 시료 용액 100 μ l당 1mg으로 하였을 때 51.3%의 저해능을 나타내었다. 한편, pepsin을 이용하여 가수분해할 경우, ACE 저해효과는 4시간째에 65.8%로써 가장 높게 나타내었다. 이 가수분해물을 Bio-gel P-2 column chromatography에 의하여 분리한 결과, P-1~P-5의 5개의 획분을 얻었고 ACE 저해효과가 가장 우수한 획분은 P-2(IC₅₀=0.319mg protein/ml)로 나타났으며, 이 획분의 아미노산 조성을 살펴본 결과 aspartic acid, glutamic acid 및 glycine의 함량이 높았다.

참고문헌

- 이지혜, 지청일, 박덕천, 구연숙, 박재홍, 박영호, 김선봉 : 멸치 가공선 자숙폐액으로부터 타우린의 분리. 한국식품과학회지, 31(4), 1120-1123(1999)
 이태기, 박영범, 박덕천, 염동민, 김인수, 구연숙, 박영호, 김선봉 : 멸치육 효소 가수분해물의 Angiotensin 전환효소 저해작용. 한국수산학회지, 31(6), 875-881(1998)