SB - 3

수산가공부산물로부터 새로운 생리기능성 소재 개발

김 세 권
부경대학교 화학과

해양생물은 매우 다양하고 양적으로도 풍부하며, 지구상의 전체 동물 중 약 80%가 바다에 서식하고 있는 것으로 알려져 있다. 바다 속에 살고 있는 3만종 이상의 어류를 포함한 해양자원은 육상 생물자원의 부족량을 보완할 수 있는 생물자원으로 인간의 3대 영양소인 단백질, 지방 및 탄수화물의 공급원으로서 식품산업뿐만 아니라 건강기능성 식품 및 의약산업분야에서의 원료로서도 그 중요성이 점점 높아지고 있다.

우리 나라 수산물의 총 생산량(2001년도)은 335만톤이고, 여기에 수입량 (42만톤)을 합친 총공급량은 376만톤이다. 이 중 가공원료로 사용되는 것은 총공급량의 83.8%이며, 선어(鮮魚)로 이용된 것은 16.2%로 가공율이 매년 현저하게 높아가고 있다. 총어획량에서 가공원료로 사용되는 83.8% 중에서 수산가공공장에서 수산제품으로 이용되는 양은 169만톤으로 61%만이 제품화되고 있다. 수산가공 부산물인 어두, 어피, 어뼈, 내장 그리고 어체의 자숙액, 패류와 갑각류의 패각 및 껍질은 극히 일부만이 사료로 이용되고 있을 뿐 대부분이 폐기되어 환경문제를 야기시키고 있다. 이들 수산가공 부산물 및 미이용 해양생물자원들은 다양한 생리기능성 물질들을 함유하고 있어 이를 보다 고부가가치 산업에서 효율적으로 활용할 수 있는 연구가 필요하다.

최근 건강기능성식품 분야에서 주목받고 있는 키틴은 새우, 게와 같은 갑각류의 껍질에 다량 함유되어 있으며, 키틴의 유도체인 키토산과 키토산올리고당은 항종양성(면역능 증강 및 부활작용), 항균성, 항산화성, 항곰팡이성, 콜레스테롤 개선 효과 및 고혈압 억제 작용 등 여러 가지 생리활성이 밝혀져 있다. 이미 밝혀진 이들 생리기능성 외에 키토산 및 그 올리고당은 새로운 생리기능성으로서 알쯔하이머성 치매질환의 예방 및 치료소재로 활용될 수 있다는 사실을 본 강연자의 연구결과에서 밝혀졌다.

한편, 수산가공 부산물 중의 어뼈는 그 조성과 특성이 인체의 뼈와 유사하여 칼슘보충제로서의 이용에 관한 연구가 다수 진행되고 있지만 체내 흡수율이 높지 않아 산업화에 어려움이 있었다. 이러한 문제를 해결하고자 어뼈를 이용하여 생체내 흡수율을 높이기 위한 새로운 형태의 칼슘흡수촉진제를 개발하였다. 따라서 본 강연에서는 상기에서 서술한 수산 부산물 유래의 생리기능성 물질에 관한 연구결과를 중심으로 소개하고자 한다.

1. 탈아세틸화도가 다른 키토산 및 그 올리고당의 생리기능성

탈아세틸화도가 다른 세 종류의 키토산 (50%, 75% 및 90%)은 게껍질로부터 추출된 키틴을 부분적으로 탈아세틸화시켜 제조하였으며, 키토산 올리고당은 막반응기에서 연속적으로 효소분해하여 분자량별(1 kDa 이하, 1-5 kDa, 5-10 kDa)로 분획하였다. 즉, 키토산 1%(w/v) 용액 500ml를 막반응기에 넣고 *Bacillus pumilus* BN-262 유래 키토산 가수분해효소를 25 Unit 되도록 첨가하여 3시간 동안 반응시켜 연속적으로 막반응기를 통하여 키토산 올리고당을 생산하였다. 탈아세틸화도가 다른 키토산의 각 분자량별

올리고당의 생리활성은 항균성, 자유라디칼 소거활성, 항고혈압활성, 항혈액응고활성 및 항암활성에 대하여 검토하였다.

항균활성은 75% 탈아세틸화된 키토산이 가장 높은 활균활성을 나타내었다. 또한 키토산 올리고당의 경우, 항균활성이 분자량의 크기에 따라 크게 의존하였으나 키토산 보다는 우수하지 못하였고, 이들의 항균활성은 시험된 박테리아의 종에 따라서도 다르게 나타났다. 항고혈압 및 자유라디칼 소거활성에서는 90% 탈아세틸화된 키토산을 가수분해시킨 키토산올리고당 중에서 분자량 1~5 kDa 분획물이 가장 높은 항고혈압 활성과 자유라디칼 소거활성을 나타내었다. 항혈액응고 활성의 경우는 탈아세틸화도가 가장 높은 90%인 키토산을 황산화시킨 키토산 황화물이 상대적으로 탈아세틸화도가 낮은 75% 및 50% 키토산 황화물보다 높은 활성을 나타내었다. 또한 90% 키토산 황화물의 경우, 키토산을 가수분해시켜서 제조한 키토산 올리고당을 황산화시킨 키토산 올리고당 황화물보다도 높은 활성을 나타내었다.

항암활성의 경우, 90% 탈아세틸화된 키토산을 가수분해시켜서 제조한 분자량이 1 kDa 이하인 키토산 올리고당을 황산화시켜서 제조한 90% 저분자 키토산 올리고당 황화물이 가장 높은 활성을 나타내었다.

상기 연구결과들을 종합해 보면 키토산, 키토산 올리고당 및 그 유도체의 생리활성은 발현하는 생리활성의 종류에 따라 다르게 나타나는 것으로 밝혀졌으며, 그 생리활성은 그들의 분자량에 따라서도 크게 의존한다는 것을 알 수 있었다.

2. 알쯔하이머성 치매질환 예방 및 치료소재 개발

노인성 치매는 알쯔하이머성과 혈관성 질환으로 크게 대별되며, 현재 치매질환자의 절반이 알쯔하이머성 치매질환으로 밝혀져 있다. 알츠하이머성 치매 질환자들에 공통적으로 나타나는 노인반점(senile plaques)의 주요 요소인 베타아밀로이드(β-amyloid, Aβ) 펩타이드는 그 전구대사단백질인 amyloid precursor protein(APP)으로부터 유래한다. 이 APP는 대부분의 경우, α-secretase와 γ-secretase라고 불리우는 proteases에 의하여 절단되어 P3 펩타이드와 세포의 바깥쪽으로 sAPPα라는 수용성 단백질을 방출하게 된다. 특이적으로 알쯔하이머성 치매 질환자에서는 β-secretase와 γ-secretase가 활성화되어 Aβ 펩타이드와 sAPPβ라는 단백질이 세포밖으로 방출이 된다. Aβ 펩타이드는 42개의 아미노산 잔기로 이루어진 녹지 않는 성질을 가지며, 기억 및 인식과 관련된 뇌 영역에 침착되어 뇌세포의 아폽토시스를 유발하는 것으로 알려져 있다. 따라서 알쯔하이머성 치매질환을 유발시키는 관련 효소들 중에서 Aβ펩타이드의 생성에 가장 중요한 역할을 하고 있는 β-secretase에 대한 저해물질은 알쯔하이머성 치매질환을 예방 및 치료할 수 있는 생리기능성 소재로 사용될 수 있다.

키틴으로부터 키토산의 제조시 탈아세틸화도가 50%, 75%, 90%인 키토산의 β-secretase에 대한 저해활성은 합성기질에 대한 β-secretase의 초기 반응속도를 대조구로 하였을 때 0.9708 UF/sec로 나타났으며, 50%, 75% 및 90% 탈아세틸화된 키토산의 초기 반응속도는 각각 0.3609 UF/sec, 0.3108 UF/sec 및 0.1899 UF/sec로 나타났다. 이들 초기 반응속도를 기준으로 β-secretase에 대한 저해활성은 각각 61.8%, 67.9% 및 80.3%로 나타났는데, 이것은 탈아세틸화도가 높은 키토산이 β-secretase에 대해 높은 저해활성을 나

타내는 것을 알 수 있었다. 키틴으로부터 키토산의 제조시, 키틴의 피란(pyran)환에서 2위치의 2차아민으로부터 아세틸기(CH_3CO-)가 제거되어 1차아민이 외부로 노출되는 키토산이 얻어지는데 탈아세틸화도의 증가에 의한 키토산의 β-secretase에 대한 저해활성은 외부로 노출된 키토산의 1차아민이 β-secretase의 활성부위 또는 보조부위에 작용하는 것으로 판단되었다

탈아세틸화도가 각각 50%, 75% 및 90%인 키토산을 효소로 분해시킨 후, 분자량별(1 kDa이하, 1~5 kDa 및 5~10 kDa)로 분획된 키토산올리고당의 β-secretase에 대한 저해활성은 탈아세틸화도가 50%인 키토산을 분해하여 얻어진 분자량별 키토산올리고당은 분자량에 관계없이 β-secretase에 대해 모두 10%이하의 낮은 저해활성을 나타내었으며, 75% 키토산의 경우도 거의 10%내외로 나타났다. 그러나 탈아세틸화도가 90%인 키토산을 분해하여 얻어진 분자량별 키토산올리고당의 경우, 1 kDa이하, 1~5 kDa 및 5~10 kDa범위의 키토산올리고당의 β-secretase에 대한 저해활성은 각각 46.5%, 50.4% 및 34.1%로 나타났다. 90% 탈아세틸화된 키토산올리고당을 분자량별(1 kDa이하, 1~3 kDa, 3~5 kDa, 5~10 kDa)로 더욱 세분하여 β-secretase에 대한 저해활성을 측정한 결과, 1 kDa이하, 1~3 kDa, 3~5 kDa 및 5~10 kDa범위의 키토산올리고당의 β-secretase에 대한 저해활성은 각각 46.5%, 60.6%, 74.8% 및 34.1%로 분자량 3~5 kDa 키토산올리고당이 가장 높은 저해활성을 나타내었다. 그리고 키틴 및 키토산의 monomer인 N-acetylglucosamine과 glucosamine의 21.0%와 28.0% 보다도 높게 나타났다. 따라서 분자량 3~5 kDa 범위의 키토산올리고당이 β-secretase의 활성을 50% 저해시킬 때의 농도(IC_{50}값)로 나타낸 결과, IC_{50}값은 0.126 mg/mL였다

한편, 합성기질에 대한 β-secretase의 반응속도상수 Km 및 Vmax값은 각각 3.44 μM 및 1.767 UF/sec였다. 그리고 분자량 3~5 kDa 범위인 키토산올리고당의 β-secretase에 대한 저해 방식은 Lineweaver-Burk plot에서와 같이 저해제의 농도에 관계없이 1/S축의 절편(-1/Km)이 동일한 값을 나타내어 비경쟁적 저해반응 양식을 나타내는 것을 알 수 있었다. 따라서 분자량 3~5 kDa 범위인 키토산올리고당의 2위치의 1차 아민은 β-secretase의 활성부위에 결합하여 저해하는 것이 아니라 보조부위에 결합하여 활성부위의 촉매작용을 저해한다는 사실을 알 수 있었다.

3. 생선뼈로부터 수용성 칼슘의 추출 및 칼슘흡수촉진제 개발

수산가공 부산물인 생선뼈와 내장을 각각 가공공장으로부터 수거하여 내장으로부터 복합효소를 추출한 후 이를 이용하여 생선뼈에 붙어있는 생선육을 완전히 제거하여 생선뼈만을 얻었다. 이렇게 얻어진 생선뼈를 마쇄하여 다시 어류복합효소로 최적조건에서 반응시킴으로써 생선뼈 수용성 칼슘을 제조하였다.

또한 게와 새우 등의 각갑류 껍질의 키틴을 키토산으로 제조한 다음 키토산 분해효소를 이용한 막효소반응기에서 저분자 키토산 올리고당(1,000 Da)을 분리하였다. 저분자 키토산 올리고당에 인산기를 수식하여 저분자 인산화 키토산 올리고당을 칼슘흡수촉진물질(칼슘흡수강화제)로써 이용하였다.

생선뼈 수용성 칼슘과 저분자 인산화 키토산 올리고당의 골다공증 치료효과를 확인하기 위해 4주 동안 칼슘결핍시킨 쥐와 시판용 탄산칼슘 섭취군, 수용성 칼슘칼슘식이군,

그리고 수용성 칼슘 및 칼슘흡수촉진물질인 저분자 인산화 키토산 병용 섭취군에 대한 연구결과, 쥐의 혈중 칼슘농도는 수용성 칼슘 식이군과 수용성칼슘 및 저분자 인산화 키토산병용 섭취군이 칼슘결핍군의 것보다 상당히 증가한 것을 알 수 있으며, 시판용 탄산칼슘보다도 유의적으로 높았다.

쥐가 배설하는 분을 통한 1일 칼슘 배설량을 측정한 결과, 생선뼈 수용성 칼슘 식이군과 생선뼈 수용성 칼슘 및 저분자 인산화 키토산 올리고당을 병용 섭취시킨 식이군에서 분으로 배출되는 칼슘의 양은 칼슘 결핍군에 비해 약 15배 감소하여 장을 많은 양이 체내로 흡수되는 것을 알 수 있었다.

쥐대퇴골의 칼슘함량은 칼슘 결핍군에 비해 칼슘식이 섭취군들에서 약 1.7배 정도 증가고, 칼슘식이 군에서도 생선뼈 수용성 칼슘과 저분자 인산화 키토산 올리고당을 병용 섭취시킨 군에서 유의적으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 이것은 쥐 대퇴골의 밀도를 주사전자현미경(SEM)으로 측정한 미세구조에서도 생선뼈 수용성 칼슘과 저분자 인산화 키토산 올리고당을 병용 섭취시킨 군에서 조밀한 다공성을 확인할 수 있었다.