

산양유 β -Casein의 효소 가수분해 특성과 가수분해물의 Angiotensin Converting Emzyme 저해효과

박용국 · 김거유

강원대학교 동물자원과학대학 축산식품과학과

서 론

최근 국민소득의 증가와 생활수준의 향상에 따라 건강증진 욕구가 높아지면서 식품으로부터 다양한 생리활성을 나타내는 기능성 성분들에 대한 연구가 활발히 진행되어가고 있으며, 그 중 우유와 대두 등의 식품단백질을 효소 가수분해시켜 얻어진 다양한 생리활성을 가지는 천연 펩타이드들은 기능성 식품의 신소재로서 뿐만 아니라 의약품 분야에까지 점차로 그 용도가 확대되고 있다.

우유 단백질은 아주 다양한 생리활성 Peptide를 생산할 수 있는 고기능성 단백질원으로 이용되고 있으며 그중 안지오펩신 변환효소 활성저해peptide는 가열조건에 안정하며 체내에서의 흡수도 비교적 용이한 저분자 물질로서 이들의 활성 저해효과는 혈압 강하제와 비교하였을 때 비교적 낮은 활성을 나타내지만 화학합성 저해제의 부작용으로 인한 피해를 줄일 수 있으며 우리가 항시 섭취하는 식품 중에 존재한다는 보편성과 안정성 면에서 그 유용성이 기대된다⁽¹⁾.

본 연구에서는 산양유 케이신 중에서 가장 많은 비중을 차지하고 있는 β -casein을 trypsin으로 가수분해하여 베타케이신의 가수분해 효소에 의한 특이성을 알아보고, 가수분해물들의 안지오펩신 변환효소 활성 저해능력을 측정하여 산양유의 기능성 식품 검색의 기초 연구로 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

연구에 사용된 원유는 홍천의 조롱골 목장에서 착유한 신선한 혼합유를 사용하였으며, Barrefors 등²⁾의 방법에 따라 산케이신을 제조하였다.

2. 실험방법

1) β -casein의 분리

FPLC를 사용하여 분리하였으며, 6M Urea와 0.02M acetate가 포함된 완충액으로 Cation Exchange Mono S HR 5/5 컬럼을 사용하여 분리하였다.

2) β -casein의 가수분해

Trypsin과 Pepsin을 사용하여 B-casein을 가수분해하였으며, 가수분해는 Hernandez-Ledesma 등³⁾의 방법을 변형하여 실시하였다. Enzyme/Substrate 는 1:1,000과 1:500으로 조정하였으며, 가수분해의 정지는 95°C에서 15분간 열처리하여 반응을 중지시켰다.

3) 전기영동

전기영동(SDS-PAGE)은 Laemmli법⁴⁾에 따라 실시하였으며, 각각 4%와 12.5%의 stacking gel과 separating gel을 사용하였으며, 0.01% comassie brilliant blue R-250으로 2시간 염색 후 탈색액으로 6시간 탈색하였다.

4) 가수분해물 측정

가수분해물의 NPN은 Lowry 등⁵⁾의 방법에 준하여 실시하였으며, 흡광도는 540nm에서 측정하였고 Bovine Serum Albumin(Sigma co. USA)을 사용한 표준곡선에 의해 환산하였다.

5) ACE 저해활성의 측정

ACE활성 저해효과는 Cushman 과 Cheung⁶⁾의 방법을 변형하여 실시하였으며, 기질로는 Hip-His-Leu를 사용하였다. 흡광도는 228nm에서 측정하였다.

결과 및 고찰

산양유의 β -casein을 양이온 교환 컬럼인 Mono S HR 5/5를 이용하여 분리하였으며 분리된 β -casein을 동물성 분해효소인 trypsin과 pepsin으로 처리하여 가수분해 특성을 확인하였다. 그리고 가수분해물의 Angiotensin Converting Enzyme 저해활성을 측정하였다.

Mono S HR 5/5 양이온 교환 컬럼상에서 산양유 casein은 3개의 peak로 분리되었고, 각각의 peak를 SDS-PAGE를 통해 확인한 결과 β -, κ -, α -casein으로 확인되었다.

산양유 β -casein을 trypsin으로(E/S :1/500) 가수분해하여 NPN 생성 pattern을 알아본 결과 가수분해 직후 63 μ g이었으나 120분이 경과 한 후에는 94 μ g으로 증가하였으며, 그 가수분해물을 전기영동으로 확인한 결과 가수분해 직후부터 β -casein 위치의 band가 희미해지기 시작하고 저분자량의 band가 나타나기 시작하였으며 120분이 지난 후에는 모든 band가 가수분해되어 사라졌다.

산양유에서 분리된 β -casein을 trypsin으로 처리하고 그 가수분해물을 이용하여 ACE 저해효과를 측정할 결과 가수분해하지 않은 β -casein은 1.80 \pm 1.21%의 ACE 저해활성을 보였으나 trypsin으로 가수분해 하여 ACE 저해 활성을 측정하였을 때 25.36 \pm 0.79%의 저해 활성을 나타내었다. Trypsin에 의한 β -casein 가수분해물을 BSA표준곡선에 의해 환산하여 IC50을 측정한 결과 308.7 \pm 2.77(μ g/ml)로 나타났다.

요 약

본 연구는 산양유 β -casein의 효소에 의한 가수분해 특성과 가수분해물의 Angiotensin Converting Enzyme의 저해 효과를 측정하고자 실시하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 산양유 β -casein은 Mono S HR 5/5 양이온 교환 컬럼에서 분리하여 SDS-PAGE로 순수하게 분리된 것을 확인하였다.
2. 분리된 β -casein을 Trypsin으로 처리하여 가수분해물의 ACE저해 활성을 측정한 결과 가수분해 하지 않은 β -casein은 1.8%의 저해활성을 나타낸 반면, 가수분해한 β -casein은 25.36%의 저해활성을 나타내어 ACE 저해활성이 크게 증가한 것을 확인하였다.
3. 가수분해물의 IC_{50} 을 측정한 결과 308.7 μ l/ml로 나타났다.

참고문헌

1. 염동민, 노승배, et al. 1993. 한국영양학회지, 22 : 2262.
2. Barrefors, P., Ekstrand, B.1985. *Milchwissenschaft*, 40 : 257.
3. Hernandez-Ledesma, B. et al. 2002. *International Dairy Journal*, 12 : 805.
4. Laemmli, U. K. 1970. *Nature*, 227 : 680-685.
5. Lowry, O. H., Rosebrough, N. et al. 1951. *J. Biol. Chem.*, 193 : 265-275.
6. Cheung, H. S. and D. W. Cushman. 1971. *Biochem. Pharmacol.*, 20 : 1637-1647.