

참치백자로부터 추출한 Protamine의 특성 및 항균활성

전태욱 · 김진호* · 박기문

성균관대학교 식품생명자원학과, *오뚜기 중앙연구소

Antimicrobial Activity and Characteristics of Protamine Extracted from Tuna Spermery

Tae-Woog Jeon, Jin-Ho Kim* and Ki-Moon Park

Department of Food and Life Science, Sungkyunkwan University

*Ottogi Research Center

Abstract

The purpose of this study was to investigate the antimicrobial effects and characteristics of protamine extracted from spermery of tuna. The result of amino acids analysis showed that the contents of arginine were 46%. It was 10% lower when compared to standard protamine (SP: Asama kasei LTD, Japan). Also, there were significant difference in the contents of proline and glycine. The average molecular weights of main protein in TP were 13,400 Da, whereas those in SP were 11,300 Da and 2,600 Da. To increase antimicrobial activities of TP, pepsin or trypsin was treated at 37°C. After TP was hydrolyzed with pepsin (pepsin hydrolyzed protamine: PHP) for 4hrs, the average molecular weights of the main protein were 11,300 Da and 3,900 Da, and the antimicrobial activities were significantly increased compared to TP. After TP was hydrolyzed with trypsin (trypsin hydrolyzed protamine: THP) for more than 10 min, the average molecular weights of the main protein were below 2,500 Da. PHP had higher antimicrobial effects on some gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*) than SP. However, THP had no antimicrobial activities. When TP was hydrolyzed with pepsin (PHP), its antimicrobial activities increased in the same level with those of SP, and this increase might be resulted rather from the changes of molecular weights of the main protein than from the contents of arginine in protamine.

Key words: tuna spermery, protamine, antimicrobial activity, pepsin hydrolyzed protamine

서 론

가공 식품의 안전성을 확보하고, 제품의 유통기간을 연장시키기 위하여 가열처리 및 냉장, 냉동, 보존료 첨가, 방사선 조사 등 균의 증식을 억제하거나 살균하는 방법⁽¹⁾ 등이 사용되고 있으며, 최근에는 천연물로부터 추출한 자몽종자 추출물⁽²⁾, 뽕나무 및 고삼⁽³⁾, 어성초⁽⁴⁾, 상백피⁽⁵⁾ 등 천연 항균 물질을 식품에 첨가하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그 중 어류의 정소에서 추출한 염기성 단백질인 protamine은 가열처리 없이도 세균수를 감소시키며, 보존성이 뛰어나 식품을 제조하는데 천연 보존제로써 실용화되어 있다⁽⁶⁾. Protamine은 어류의 정자 핵중의 DNA와 결합되어 있

는 nucleoprotamine으로서 비교적 분자량이 작고, 50~70%의 높은 arginine 함량을 가진 염기성 단백질로 알려져 있다^(7,12). 일반적으로 항균제 대부분이 pH의 의존성이 높고, 산성에서는 효과가 있지만 중성이나 알칼리성에서는 효과가 저하되어 식품의 pH를 조정해야 하는 반면에 protamine은 항균활성의 pH 범위가 넓고, 또한 120°C에서 90분간 가열하여도 항균활성이 지속되는 것으로 알려져 있다^(7,13). 이러한 protamine의 항균작용은 이미 1896년에 밝혀졌으나 이용성이 낮았던 것은 gram (+)균에 대해서는 강한 항균력을 보이나 gram (-)균의 경우 항균력이 없거나 미약하기 때문이라고 보고되어 왔다⁽¹³⁾.

지금까지 밝혀진 protamine의 세균 증식억제 기작은 높은 함량의 염기성 아미노산인 arginine의 작용으로, 세포막의 인지질 및 인산 화합물등과 결합하여 세포벽의 peptidoglycan 합성 및 호흡계를 저해하기 때문으로

Corresponding author: Ki-Moon Park, Department of Food and Life science, Sungkyunkwan University, 300 Chunchung-dong, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do, 440-746, Korea

알려져 있다⁷⁾. 또한 gram (+)균에 대한 항균력이 gram (-)균에 비해 높아 패류, 육류등과 같이 gram (-)균의 증식이 쉬운 식품류에 대해서는 gram (-)균의 증식을 억제할수 있는 glycine, sodium acetate, capric acid monoglyceride 등과 protamine을 함께 사용하는 것을 권장하고 있다⁽¹³⁾. 그밖에 protamine은 heparin의 혈액 응고 저지, insulin의 약효 지속, 효소 및 항균물질의 안정화 작용등이 알려져 각종 의약품에도 널리 이용되고 있다⁽¹³⁾.

일반적으로 protamine 추출에 사용된 어종으로는 연어가 가장 많이 이용되고 있으며, 그 외에 송어, 청어, 고등어 등으로부터 protamine 추출이 보고되어 있다⁽⁸⁻¹¹⁾.

본 연구에서는 국내에서 다량 소비되고 있는 참치의 백자로부터 protamine을 추출하여 그 특성을 파악하고 기존 연어로부터 추출한 protamine과 항균력 비교실험을 통하여 천연 항균제로서의 사용 가능성을 실험하였다.

재료 및 방법

참치 백자

본 실험에 사용한 원료는 경남 거제시 소재의 수산물 가공업체인 태양실업(주)으로부터 냉동된 참치 백자 20 kg를 제공받아 사용하였다.

표준 시료

본 시험에 사용한 standard protamine (SP)으로는 연어에서 추출한 Asama 화성(일본)제품을 사용하였다.

Protamine의 분리 및 정제

참치 백자로부터 protamine의 추출 및 정제는 Iwai 등⁽⁴⁻⁷⁾의 방법을 참조하여 Fig. 1과 같이 실험하였다. protamine을 분리할 때는 단백질의 염 침전법중 소량의 첨가로도 단백질 분리가 가능한 sodium hexametaphosphate 5 g을 사용하여 침전시켰다. 그리고 침전된 단백질에 2 M ammonium sulfate 30 mL를 첨가하고 70°C에서 가열처리하여 열 변성이 일어나지 않는 protamine을 제외한 다른 단백질 성분을 침전, 여과하여 제거하였다. 여과액은 4°C에서 24시간 방치하여 protamine을 자연침전시켰고 상등액을 제거한 다음 20 mL의 증류수로 protamine을 재용해시켜 95% ethanol로 재결정화한 후, 건조하여 사용한 백자의 약 1%에 해당하는 protamine을 회수하였다.

아미노산 분석

분리, 정제한 protamine의 아미노산 분석은 Pico-

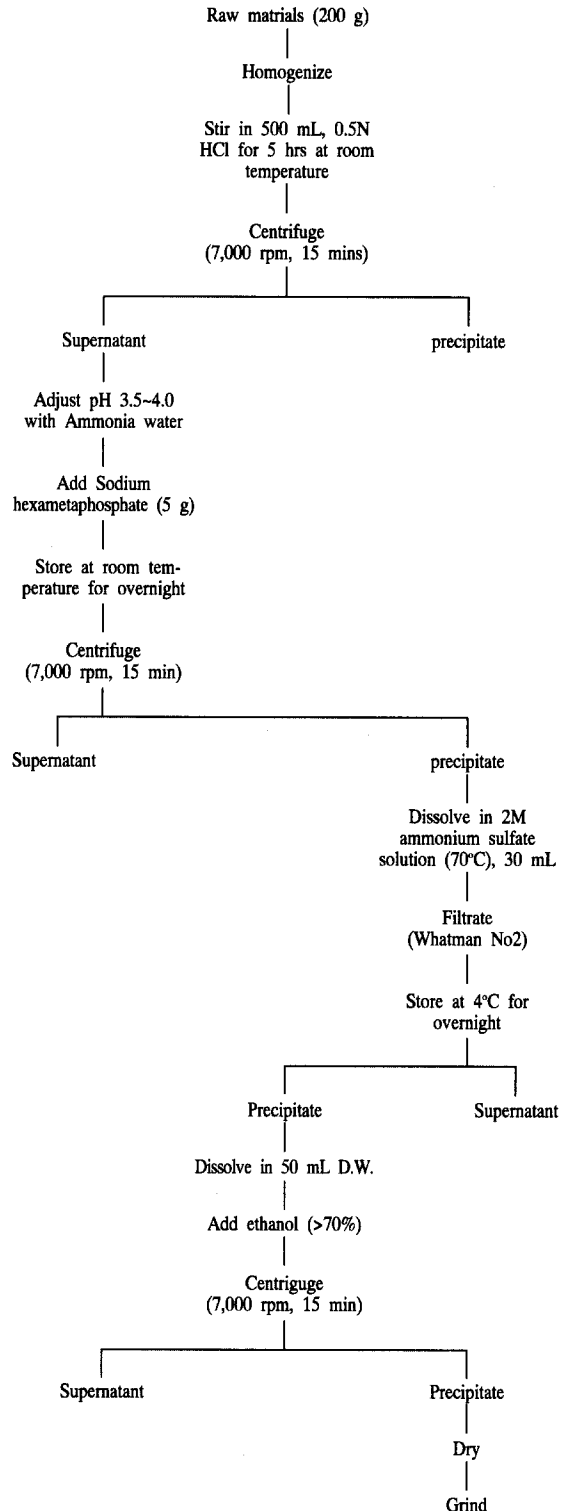


Fig. 1. Flow diagram for extraction and purification of protamine.

tag방법⁽¹⁴⁾에 따라 HPLC (Water사, Model 510)를 사용하여 분석하였다.

분자량 측정

Laemmli와 Mizutani⁽¹⁵⁾의 방법에 따라 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 분자량을 측정하였다. Polyacrylamide gel 농도를 12.5%로 하였으며, acrylamide와 bisacrylamide의 농도비는 20:1로 조절하여 사용하였다.

그리고 protamine의 분자량을 결정하기 위해 protein standard mixture I (Merck, Germany), egg albumin (M.W 45,000 Da, Sigma)과 carbonic anhydrase (M.W 29,000, Sigma)을 혼합하여 standard marker로 사용하였고 Image analyzer (Bio Profil, France)로 분자량 등을 측정하였다.

항균력 실험

사용 균주: 본 실험에 사용한 균주는 Table 1과 같이 gram (+)균 7종, gram (-)균 6종, 그리고 yeast와 mold 1종씩을 선택하여 각각의 액체배지에 계대 배양한 후 실험에 사용하였다.

protamine의 효소처리: 항균력을 향상시키기 위하여 protamine의 효소 처리는 Tomita 등⁽¹⁶⁾의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 증류수 5 mL에 protamine 0.5 g을 넣고 1N HCl을 이용하여 pH를 2.5로 조정한 후 기질에 대해 최종 농도가 2% (w/v)되도록 pepsin (1:10,000,

1900 unit/mg prot, Sigma)용액 0.1 mL 가하여 37°C 항온수조에서 1시간 간격으로 8시간까지 반응시켰다. 반응후 효소 불활성화는 80°C에서 15분간 가열하였고, 1N NaOH를 사용하여 pH 7.0으로 조절하였다. 그리고 trypsin (2,000E/G, Merck)도 동일한 농도로 첨가한 후, 37°C에서 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간동안 반응시키고 pepsin과 같은 방법으로 불활성시켰다.

항균활성 시험: Table 1의 증식배지를 사용하여 hard agar plate를 제조한 후 soft agar에 배양한 시험균주 1%를 접종하여 증충하였다. 그리고 멸균된 paper disc (φ8 mm, What-man)를 사용하여 protamine을 농도 별로 첨가하고 24시간 배양한 후, 형성된 clear zone (mm)으로 항균활성을 비교하였다^(2,4,17,18).

결과 및 고찰

Protamine의 정제

참치 백자 200 g을 사용하여 염산추출법으로 원료 처리 조건에 따른 protamine 추출율을 확인한 결과 참치백자를 비교쇄 하였을 경우 추출율 0.22%, 약 1 cm³ 정도로 절단시 0.47%, 균질기(ACE Homogenizer, Nihon Kaisha LTD)를 사용하여 15,000 rpm에서 3분간 균질화 하였을 경우 1.0%정도의 protamine이 추출되었다. 연어 백자로부터 protamine의 추출수율이 4.5%로 보고^(4,5)되어 있는 것과 비교할때 참치 백자의 protamine 함량이 상당히 낮은 것으로 나타났다.

Table 1. Microorganisms tested for antimicrobial activity of protamine

| | Organisms | Medium | Incubation temperature |
|----------|--------------------------------------------------------|------------------|------------------------|
| Gram (+) | <i>Bacillus subtilis</i> KCTC1021 | NA ²⁾ | 37°C |
| | <i>acillus cereus</i> KCTC 1012 | NA | 37°C |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65389 | NA | 37°C |
| | <i>Lactobacillus helveticus</i> SKD ¹⁾ 0009 | MRS | 37°C |
| | <i>Lactobacillus plantarum</i> SKD 0024 | MRS | 37°C |
| | <i>Streptococcus thermophilus</i> SKD 1005 | M17 | 37°C |
| | <i>Streptococcus cremoris</i> SKD 1004 | M17 | 37°C |
| Gram (-) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1636 | NA | 37°C |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311 | NA | 37°C |
| | <i>Vibrio paphaemolyticus</i> ATCC 17802 | NA | 37°C |
| | <i>Shigella flexneri</i> SKD 9020 | NA | 37°C |
| | <i>Salmonella enteritidis</i> SKD 4006 | NA | 37°C |
| | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | NA | 37°C |
| Yeast | <i>Aspergillus oryzae</i> KCTC 6095 | YM ³⁾ | 30°C |
| Mold | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> SKD 8006 | YM | 30°C |

¹⁾SKD: Sung Kyun Dairy science culture collection.

²⁾NA: Nutrient Agar.

³⁾YM: Yeast Malt Extract Agar.

아미노산 분석

Protamine의 추출 원료가 되는 참치 백자의 성분을 분석한 결과 수분 78.74%, 단백질 3.22N%, 지방 0.45% 그리고 회분이 2.16%로 확인되었고 아미노산 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 우선 참치 백자의 아미노산 조성은 proline이 약 23%, arginine이 10.4%로 나타났으며 참치백자로부터 추출한 protamine (TP)의 경우 arginine 약 46%, proline 28.8% 그리고 lysine이 5.8%로 protamine의 주성분인 arginine 함량이 약 4.5배 증가한 것으로 나타났다. 그리고 참치 백자에 5%이상 존재했던 glycine과 기타 aspartic acid, glutamic acid, histidine, alanine, isoleucine, phenylalanine은 제거된 것으로 밝혀졌다. TP와 SP의 아미노산 조성을 비교해 본 결과, 연어 protamine에 비해 참치로부터 분리한 protamine의 arginine 함량은 약 10%가 낮고 proline이 약 18%정도 높은 것으로 나타났으며, 이외의 아미노산 조성도 큰 차이가 있는 것으로 밝혀졌다.

분자량 측정

Protamine을 전기 영동한 후, Image analyzer로 분자량과 단백질 분포를 측정된 결과는 Fig. 2과 같이 참치 protamine인 TP의 경우 주된 단백질 peak가 1개로 평균 분자량은 13,400 Da 정도로 나타났으며, 연어 protamine인 SP의 경우 주된 단백질 peak가 2개로 평균 분자량이 11,800 Da과 2,600 Da으로 밝혀졌다. 따라서 어종에 따라 protamine의 분자량도 차이가 있는 것으로 밝혀졌다.

항균활성

TP와 SP의 항균활성: 추출한 TP와 SP의 항균력을 비교하기 위하여 800 ppm의 농도에서 항균력 실험 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 TP는 SP에 비하여 Staphylococcus aureus를 제외한 모든 실험균에서 항균력이 약한 것으로 밝혀졌다. 이것은 arginine 함량, 또는 분자량 분포에 따라 항균력이 달라진 것으로 생각된다. 그리고 Motohiro¹³⁾가 보고한 것과는 다르게 gram (-)균에서도 항균력이 나타났으며, gram (+)균에

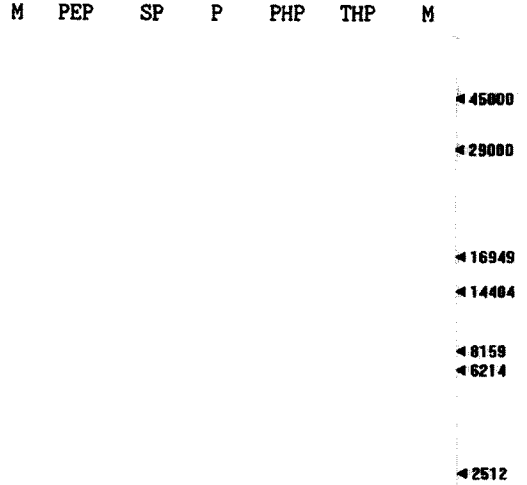


Fig. 2. SDS-PAGE patterns of protamine extracted from tuna spermary. ¹⁾Standard Marker, ²⁾Pepsin, ³⁾Standard Protamine, ⁴⁾Protamine, ⁵⁾Enzyme Hydrolysis Protamine (by pepsin), ⁶⁾Enzyme Hydrolysis Protamine (by trypsin).

비해 gram (-)균에서 항균력이 약한 것으로 나타났다.

Enzyme 처리에 따른 항균활성: Table 3의 결과에서 보듯이 TP의 항균력은 SP에 비하여 상당히 낮은 것을 알 수 있었다. 따라서 TP의 항균력을 높이기 위하여 pepsin과 trypsin으로 일부 가수분해한 후 항균활성을 실험한 결과, trypsin은 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간 동안 반응시켰지만, TP보다 전체적으로 항균력이 떨어지는 것으로 나타났다. Trypsin 처리에 의해 항균활성이 감소하는 것은 arginine 함량에는 변화가 없으나 분자량이 2,500 Da 이하로 SP가 가지고 있는 11,800 Da에 분포된 단백질이 없고, 저분자량의 2,600 Da보다 적은 단백질로 분해되었기 때문에 항균력이 상실된 것으로 생각된다. 반면에 pepsin 처리의 경우 1시간에서 8시간까지 시간별로 반응시킨 결과, Table 4와 같이 균에 따라서 약간의 차이는 있었으나 전반적으로 4시간 처리한 pepsine hydrolyzed protamine (PHP)

Table 2. Amino acid composition of spermary, protamine and standard protamine (%)

| | ASP | GLU | SER | GLY | HIS | ARG | THR | ALA | PRO | NH3 | TYR | VAL | MET | CYS | ILE | LEU | PHE | LYS |
|------------------|------|------|------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| TS ¹⁾ | 3.38 | 3.19 | 2.16 | 6.80 | 4.78 | 10.40 | 5.31 | 3.90 | 23.19 | 2.97 | 2.99 | 3.64 | 3.84 | 4.18 | 3.10 | 5.80 | 4.23 | 5.04 |
| TP ²⁾ | | | 4.73 | | | 46.33 | 5.39 | | 28.84 | | 1.74 | 5.25 | 0.24 | 1.21 | | 0.49 | | 5.79 |
| SP ³⁾ | | | 5.80 | 7.19 | 0.42 | 55.99 | | 4.89 | 10.40 | | | 4.26 | | 2.13 | 1.07 | | 2.78 | 5.07 |

¹⁾TS: spermary (from tuna).

²⁾TP: protamine (from tuna).

³⁾SP: standard protamine (from salmon).

Table 3. Comparison of antimicrobial activity for standard protamine and protamine (unit: mm)

| Organisms | Protamine | SP ¹⁾ | TP ²⁾ |
|---------------------------------------|-----------|-------------------------|------------------|
| <i>Bacillus subtilis</i> | | 4.00±0.16 ³⁾ | 3.00±0.13 |
| <i>Bacillus cereus</i> | | 3.00±0.06 | 1.50±0.05 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | 2.00±0.20 | 2.00±0.15 |
| Gram (+) | | | |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | | 3.00±0.11 | 2.00±0.07 |
| <i>Streptococcus cremoris</i> | | 3.50±0.13 | 2.50±0.06 |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> | | 2.50±0.23 | 1.50±0.12 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | | 2.50±0.35 | 1.50±0.22 |
| Gram (-) | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | 2.75±0.05 | 1.50±0.13 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | | 2.75±0.18 | 2.00±0.17 |
| <i>Vibrio paphaemolyticus</i> | | 1.50±0.10 | 0.50±0.06 |
| <i>Shigella flexneri</i> | | 1.25±0.10 | 0.50±0.10 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> | | 1.50±0.07 | 0.25±0.21 |
| Fungi <i>Aspergillus Oryzae</i> | | ND ⁴⁾ | ND |
| Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | | 2.00±0.37 | ND |

¹⁾SP: standard protamine (from salmon).

²⁾TP: protamine (from tuna).

³⁾Mean±SD.

⁴⁾ND: Not detected.

의 항균활성이 향상되어 SP의 항균활성과 유사한 결과를 나타내었다. 그리고 Fig. 2에서 보는바와 같이 PHP-4의 주된 단백질의 평균 분자량이 11,300 Da과 3,900 Da으로 SP와 유사한 분자량 분포를 보이면서 항균력이 향상된 것으로 생각된다. 따라서 protamine의 항균력은 지금까지 알려진 arginine 함량 이외에 주된 단백질의 분자량 분포도 상당히 영향을 미치는 것으로 나타났다.

농도별 항균활성: 효소처리한 PHP-4, 그리고 TP와 SP 등을 400 ppm과 800 ppm 첨가하여 항균활성을 실험한 결과 Table 5와 같이 TP, PHP-4 그리고 SP 모두

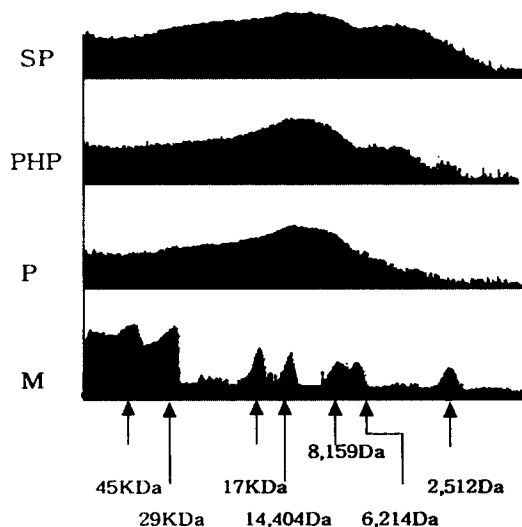


Fig. 3. Distribution of molecular weight of standard protamine (SP), pepsin hydrolyzed protamine (PHP), protamine (P), standard marker (M) by Image analyzer.

400 ppm과 800 ppm 모두 gram (-)균보다 gram (+)균에 강한 항균활성을 나타내었다. 400 ppm의 경우 gram (+)균에서는 SP가 TP와 PHP-4보다 항균활성이 우수한 것으로 나타났으며, gram (-)균에서도 SP가 *E. coli*를 제외하고 항균활성을 보였고, TP와 PHP-4는 *Pseudomonas aeruginosa*와 *Salmonella typhimurium*를 제외하고는 항균활성이 없는 것으로 나타났다. 그리고 *Aspergillus oryzae*와 *Saccharomyces cerevisiae*에서는 SP, TP 그리고 PHP-4 모두 항균활성이 없는 것으로 나타났다. 그러나 800 ppm의 경우 SP와 PHP-4가 항균활성이 우수한 것으로 나타났으며 특히, PHP-4는 *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*에 대해서는 SP보다 더 우수함을 알

Table 4. Changes of antimicrobial activity of protamine when pepsin was treated for different times (unit: mm)

| Organisms | Treatment time | SP ¹⁾ | PHP ²⁾ -1 ³⁾ | PHP-2 | PHP-3 | PHP-4 | PHP-5 | PHP-6 | PHP-7 | PHP-8 |
|-----------------------------------|----------------|-------------------------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | | 1.82±0.23 ⁴⁾ | 1.49±0.19 | 1.34±0.16 | 1.37±0.06 | 1.65±0.13 | 1.35±0.05 | 1.34±0.06 | 1.25±0.05 | 1.39±0.24 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | | 3.34±0.16 | 2.02±0.13 | 2.87±0.58 | 3.22±0.24 | 3.32±0.23 | 2.40±0.35 | 2.39±0.18 | 2.79±0.25 | 3.04±0.38 |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> | | 3.14±0.61 | 3.77±0.45 | 3.35±0.05 | 3.34±0.06 | 3.45±0.35 | 3.35±0.43 | 3.47±0.41 | 3.62±0.41 | 3.77±0.23 |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | | 3.75±0.15 | 3.22±0.16 | 2.99±0.37 | 2.87±0.42 | 3.29±0.31 | 3.25±0.84 | 3.27±0.73 | 3.07±0.38 | 3.24±0.16 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | | 3.29±0.59 | 2.85±0.65 | 2.44±0.26 | 2.80±0.99 | 3.27±0.08 | 2.92±0.16 | 2.94±0.38 | 3.60±0.20 | 3.40±0.20 |
| <i>Vibrio paphaemolyticus</i> | | 3.67±0.16 | 2.14±0.06 | 2.30±0.27 | 3.22±0.41 | 3.34±0.36 | 3.24±0.29 | 2.09±0.11 | 2.07±0.06 | 3.05±0.05 |
| <i>Escherichia coli</i> | | 2.40±0.35 | 3.00±0.31 | 3.10±0.46 | 2.10±0.06 | 1.80±0.48 | 1.75±0.13 | 2.40±0.38 | 1.75±0.11 | 1.70±0.49 |

¹⁾Standard Protamine (from salmon).

²⁾Pepsin Hydrolysis Protamine.

³⁾Treatment time.

⁴⁾Mean±S.D.

Table 5. Effect of different concentrations of standard protamine, protamine and pepsin hydrolyzed protamine on antimicrobial activity

| Strains | Concentration | 400 ppm | | | 800 ppm | | |
|----------|---------------------------------|------------------|----|-------|---------|-----|-------|
| | | SP | TP | PHP-4 | SP | TP | PHP-4 |
| Gram (+) | <i>B. subtilis</i> | ++ ¹⁾ | + | ++ | +++ | ++ | +++ |
| | <i>B. cereus</i> | ++ | + | + | +++ | + | ++ |
| | <i>Stap. aureus</i> | ++ | + | + | ++ | ++ | +++ |
| | <i>L. helveticus</i> | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ |
| | <i>L. plantarum</i> | ++ | + | + | ++ | +++ | +++ |
| | <i>S. thermophilus</i> | ++ | + | + | +++ | ++ | ++ |
| | <i>S. cremoris</i> | ++ | + | + | +++ | ++ | ++ |
| Gram (-) | <i>Pseud. aeruginosa</i> | + | - | + | ++ | ++ | ++ |
| | <i>Sal. typhimurium</i> | + | + | + | ++ | ++ | ++ |
| | <i>Vibrio paphaemolyticus</i> | + | - | - | ++ | + | ++ |
| | <i>Shigella flexneri</i> | + | - | - | + | + | + |
| | <i>Sal. cholerasius</i> | + | - | - | ++ | + | + |
| | <i>E. coli</i> | - | - | - | ++ | + | + |
| Fungi | <i>Aspergillus Oryzae</i> | - | - | - | - | - | - |
| Yeast | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | - | - | - | + | + | + |

¹⁾Inhibition zone (-: none, +: <1.5 mm, ++: 1.5~3 mm, +++: >3 mm).

수 있었다. Gram (-)균의 경우, SP는 모든 균에서 항균 효과를 보였으며, TP와 PHP-4에서도 *Samonella cholerasius* 및 *E. coli* 균에서 약한 항균력을 보였으나 나머지 균에서는 SP와 동일한 항균효과를 보여주었다. 또한 *Saccharomyces cerevisiae*에 대해서는 SP, TP, PHP-4 모두 약한 항균활성을 나타낸 반면, *Aspergillus oryzae*의 경우 전혀 없는 것으로 나타났다. 이와 같이 효소처리 후, protamine의 항균활성이 향상된 것은 항균활성에 영향을 미치는 요인이 지금까지 알려진 arginine 함량 이외에 구성 단백질의 분자량 분포가 항균활성 향상에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

요 약

참치 백자의 항균제호서의 사용 가능성 검토를 위하여 참치 백자의 특성 및 항균력 실험을 하였다. 아미노산 분석결과 arginine 함량은 약 46%로 연어 백자로부터 추출한 standard protamine (SP, Asama 화성, Japan)에 비해 약 10%가 낮았으며, proline 및 glycine 등 아미노산 조성에서도 큰 차이가 있었다. 주된 단백질의 평균 분자량은 SP가 11,300 Da과 2,600 Da이었으며, TP는 13,400 Da이었다. 그리고 SP와 TP의 항균활성 비교 실험에서 TP는 SP보다 약한 것으로 나타났다. 항균활성을 높이기 위해 37°C에서 효소처리한 pepsine hydrolyzed protamine (PHP)과 trypsin hydrolyzed protamine (THP)의 주된 단백질의 평균 분자량은 PHP의 경우 11,300 Da과 3,900 Da으로 확인되

었고, THP의 분자량은 2,500 Da 이하로 나타났다. PHP의 항균활성을 확인한 결과 TP보다 높은 항균력을 보였으며, 주된 단백질의 평균 분자량이 비슷한 SP와 유사하게 항균활성이 향상됨을 알 수 있었다. 그러나 gram (+)균인 *Stap. aureus*, *L. helveticus*, *L. plantarum* 등에서는 PHP가 SP보다 강한 항균활성을 보여 주었다. 그리고 분자량이 2,500 Da 이하인 THP의 경우 항균활성이 없는 것으로 밝혀졌다.

이와같이 PHP의 항균활성이 향상된 것은 protamine의 arginine의 함량이 증가하지 않더라도 주된 단백질의 평균 분자량이 변화되었기 때문으로 생각된다. 따라서 참치 백자로부터 추출한 TP를 pepsin처리했을 때 SP와 유사한 수준으로 항균활성 향상되는 것을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 산학협동재단 학술연구비 지원에 의하여 수행된 결과로서 이에 깊은 감사를 드립니다.

문 헌

1. Ahn, E.Y., Shin, D.H., Back, N.I. and Oh, J.A.: Isolation and Identification of Antimicrobial Active Substance from *Glycyrrhiza uralensis FISCH* (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30(3), 680-687 (1998)
2. Choi, J.D., Seo, I.W. and Cho, S.H.: Studies on the Antimicrobial Activity of Grapefruit seed Extract (in

- Korean). *Bull Korea, Fish Soc.*, **23**(4), 297-302 (1990)
3. Han, J.S. and Shin, D.H.: Antimicrobial Effect of Each solvent Fraction of *Morus alba* Linne, *sophora flarescens aiton* on *Listeria monocytogenes* (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**(5), 539-544 (1994)
 4. Kim, K.Y., Chung, D.O. and Chung, H.J.: Chemical Composition and Antimicrobial Activities of *Houttuynia cordata* Thumb (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**(3), 400-406 (1997)
 5. An, E.Y., Han, J.S. and Shin, D.H.: Growth Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Pure Compound Isolated from Extract of *Morus alba* Linne Bark (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**(6), 1236-1240 (1997)
 6. Sanyo Shokuhin Co.: The collaboration to the occupancy developing of natural preservative protamine (in Japanese). *Japan Food sci.*, **9**, 76-77 (1988)
 7. Kodaka, A. and Nozaka, N.: The present situation of food preservative developing in natural product (in Japanese). *Japan Food sci.*, **5**, 25-34 (1988)
 8. Iwai, D.: Extraction method of protamine (in Japanese). Japan Patent 59-31518 (1984)
 9. Iwai, D.: Extraction, isolation and purification methods of high quality protamine (in Japanese). Japan Patent 59-31519 (1984)
 10. Iwai, D.: Isolation method of protamine (in Japanese). Japan Patent 59-49238 (1984)
 11. Iwai, D.: Simply purification method of high quality protamine (in Japanese). Japan Patent 59-49239 (1984)
 12. Yamashita, H., Yoshino, T., Kikuchi, H., Tsukamoto, K. and Sato, T.: Utilization of food of salmon spermary extract (in Japanese). *New Food Industry.*, **29**(4), 82-86 (1987)
 13. Motohiro, T.: Antimicrobial action of gram negative bacteria by protamine (in Japanese). *Japan Food sci.*, **6**, 57-63 (1989)
 14. Young In Scientific Co.: Application of Amino Acid Analysis System (in Korean). Young In Scientific Co., Seoul p.5 (1992)
 15. Oh, S.W., Kim, Y.M., Nam, E.J. and Jo, J.H.: Proteolytic Properties of Saewoojeot (Salted and Fermented Shrimp) on Meat Proteins (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**(6), 1191-1195 (1997) [Nature, 227, 680(1970), Bulletin of the Bational Museum of Ethnology, 12, 801 (1987)]
 16. Tomita, M., Takase, M., Bellamy, W. and Shimamura, S.: The active peptide of lactoferrin. *Acta Paediatrica Japonica.*, **36**, 585-591 (1994)
 17. Ma, S.J., Ko, B.S. and Park, K.H.: Isolation of 3,4-Dihydroxybenzoic Acid with Antimicrobial Activity from Bark of *Aralia elata* (in Korean). *Korean J. Food sci. Technol.*, **27**(5), 807-812 (1995)
 18. Pulusani, S.R., Rao, D.R. and Sunki, G.R.: Antimicrobial acitivity of Lactic cultures. *J. Food Sci.*, **44**(2), 575-578 (1979)

(1998년 10월 23일 접수)