

돈육으로 제조한 정제단백질과 Oligopeptide의 영양평가 : 소화율, 생물가, 단백질 실이용률

김종희[†] · 손민희¹ · 조정순¹
서일대학교 식품영양과, ¹명지대학교 식품영양학과

Purified Protein and Oligopeptide Mixture Preparation from Pork Meat and Evaluation of
their Nutritive Value: True Digestibility, Biological Value, and Net Protein Utilization

Jong-Hee Kim[†], Min-Hee Son¹, Jung-Soon Cho¹
Department of Food and Nutrition, Seoil College, Seoul 131-702, Korea
¹Department of Food and Nutrition, Myoung-JI University, Young-in 449-728, Korea

Abstract

In this study a purified protein was prepared from pork meat. The product consisted of 0.5% moisture, 3.0% ash, 5.5% ether extract and 88.7% crude protein. Also, a meat oligopeptide mixture was prepared from a pepsin digest of the protein preparation. The two preparations were colorless and odorless powders with low fat contents. The nutritive values of the pork meat protein and oligopeptide mixture were estimated by two methods, one using biological value(BV) and the other employing net protein utilization(NPU) by the nitrogen balance method. The meat oligopeptide mixture showed an excellent nutritive value by both methods. The true digestibilities of both the pork meat protein and the oligopeptide mixture were more than 98%. The above results indicate that the oligopeptide mixture is an excellent material as a dietary nitrogen source for many purposes.

Key words : oligopeptide, dietary nitrogen, BV, NPU, true digestibility

1. 서 론

식육단백질은 가장 보편적이고 우수한 영양가를 가진 단백질원임은 지금까지의 수많은 영양학적 연구로 잘 알려진 사실이다. 또한 저염 농도의 물에 용해되지 않는 섬유상 단백질이 많아서 식육의 식감 등에 중요하게 기인하여 기호도가 높은 식품이기도 하다. 그러나 이 용해성의 문제로 인해 식육단백질을 다양한 식사 질소원(dietary nitrogen)의 소재로 이용한 예는 거의 찾아 볼 수 없다. 이에 본 연구는 식육 중에서도 값싸

고 대중적인 시판용 돼지고기를 사용하여 돈육의 영양성은 그대로 보유하면서 이 용해성의 문제를 해결함과 동시에 소화·흡수에 용이한 단백질 효소 분해물 즉 돈육 oligopeptide 혼합물을 조제하여 그 영양학적 평가를 실시하였다(Adibi SA와 Morse EL 1971).

Oligopeptide 혼합물 즉, 단백질의 효소 분해물(protein hydrolysate)은 고분자인 단백질과 유리 아미노산의 형태로는 적합하지 않은 경우에 사용할 수 있는 제3의 형태의 질소원이라 할 수 있다. 이러한 단백질 가수 분해물에 대한 연구 시도는 1960년대부터 이루어졌으나, 최근 들어 상피세포의 brush board membrane 중에서 oligopeptide의 transporter 등이 분리되면서 소화·흡수기작이 명확히 밝혀졌다(Faure M 등 2005). 또한 여러 oligopeptide의 생리활성 등이 다각적으로 밝혀지면서 더욱 이용에 집중하게 되었다. 현재까지 연구 또

Corresponding author : Jong-hee Kim, Department of Food and Nutrition,
Seoil College, 22 Seoil College-Gil, Jungnang-Gu, Seoul 131-702, Korea
Tel : +82-2-490-7508
Fax : +82-2-490-7507
E-mail : jonghee@seoil.ac.kr

는 실제로 이용되어지는 단백질 가수분해물(protein hydrolysate)을 크게 몇 가지로 분류할 수 있다.

- ① *In vitro*상에서 이미 소화가 이루어져 있어 소화·흡수에 용이하여, 경구·경장영양액 등의 단백질원으로 사용하려는 시도가 활발하다(Habold C 등 2005).
- ② 한편, 단백질이 가진 항원성 성분을 분해함으로써 항알러지성을 가진 단백질원으로 예를 들면 대두 oligopeptide를 함유한 저 알러지성 분유나, 특수 용도 식품이 선을 보이고 있다. 또한, 흡수기전이 아미노산과 다른 점을 이용하여 페닐케톤뇨증 환자(PKU)와 같은 특수 질환식에도 이용한 예가 있다(桐山修八와 荒井綜一 1990).
- ③ 단백질의 종류(Choi GL 등 2006), 이용효소(Hiroyuki F 등 2000, Hiroyuki F 등 2001), 분해조건(Chung IK 등 2006), 정제방법(Kang YJ 등 2006)에 따라 다양한 생리활성을 가진 소재로 활발한 연구가 되어지고 있다.

본 연구에서는 돈육 단백질을 부분 가수분해하여서 돈육 oligopeptide 혼합물을 제조한 후 소화·흡수의 용이성을 확인하고, 질소평형법을 이용한 영양평가를 통해 돈육 oligopeptide가 식사질소원 소재로서 적합한지를 검증하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 정제 돈육 단백질의 조제

정제 돈육 단백질 조제법은 Yamaguchi M와 Kandatsu M(1973)이 사용한 방법에 의거했다. 먼저 시판용 돼지고기를 polytron으로 파쇄시킨 후, 0.5 L/100 g meat의 열 에탄올처리로 단백질을 변성·불용화 시킴과 동시에 지질을 추출, 제거하였다. 이 조작을 2회 실시한 후, 열수처리를 2회 반복하여 가용성 무기질, 저분자 유기화합물 등을 추출, 제거한 후 동결 건조시켜 정제 돈육 단백질(조단백질 88.7%, 조지방 5.5%, 회분 3.0, 수분 0.58%)을 조제했다.

2. 돈육 oligopeptide의 조제

상기의 정제 돈육 단백질을 사용하여 돈육 oligopeptide 혼합물을 조제했다. 먼저 정제 돈육 단백질을 물에 현탁시킨 후, 염산으로 pH를 2.1로 조정했다. 단백질 표

품 100에 대해 1.65%의 소 pepsin(Sigma사 제품)을 첨가하여 37°C에서 10시간 가수분해시켰다. 이는 TCA (trichloro acetic acid) 가용성 아미노산의 양을 추적하여 더 이상 분해가 진행되지 않는 점을 중점으로 하여 최적의 분해조건을 찾아냈다(Kim JH 등 1990). 소화과정이 끝난 시료 액을 80% 에탄올용액이 되도록 조정하여 침전물을 제거한 후, 여과액 중에 남아 있는 에탄올과 염산을 rotary evaporator로 완전히 제거한 후 동결 건조시켜서(Shin MJ 등 2006, Lee YS 등 2006), 단백질 효소 분해물인 돈육 oligopeptide 혼합물을 조제하였다(Kim JH와 Noguchi T 1991)(Fig. 1).

3. 일반 성분 및 아미노산 분석

시료의 일반성분은 AOAC법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semi-micro kjeldahl법으로 질소를 정량한 후 질소계수(6.25)를 이용하여 계산하였고, 조지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법으로 측정하였다. 아미노산 분석은, 시료에 6 N 염산 2 ml를 가한 다음 110°C에서 24시간 가수분해시킨 후 염산 가수분해물을 rotary evaporator로 농축하여 염산을 완전히 제거한 후, 0.155 M lithium citrate완충액(pH 2.8)에 용해시켜 0.2 μm의 filter에 통과시킨 후, Hitachi 835-50형 아미노산 분석기로 분석했다(Kang BS 등 1994).

4. 소화성 실험

소화성 실험은 체중 140 g 전후의 wistar계의 수컷 rat를 사용하였다. 실험군은 12마리씩 3군으로 나누어 한 마리 씩 대사용 케이지에서 분리 사육하였다. 동물

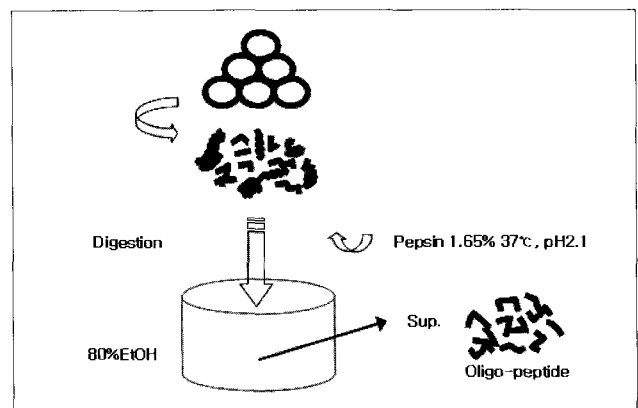


Fig. 1. Preparation of oligopeptide mixture from purified pork meat protein

사육실은 항온 항습(온도 22±2℃, 상대습도 60%), 조명 AM 8:00-PM 8:00의 조건으로 하였다. 실험식 구성은 12% 돈육 단백질 식군, 12% 돈육 oligopeptide 식군, 그리고 내인성 단백질량의 추정을 위해 무단백질 식군으로 나누고, NRC 표준(National research council, 1978)에 맞추어 제한아미노산이 없도록 필수아미노산을 보충하였다(Lemon PWR 1996)(Table 1).

비타민 혼합물 1%, 미네랄 혼합물 4%, cellulose powder 5%, 대두유 5%, 나머지를 전분을 넣어 100%가 되도록 하였다. 소화율 측정은 질소평형법을 사용하였다. 각 군의 전분(全糞)을 채취하여 질소량을 측정하고, 무단백질 식군의 분 중 질소량, 즉 내인성질소량을 뺀 소화율(true digestibility)을 분석했다.

$$\text{True Digestibility(\%)} = \frac{I - (Fex - Fpf)}{I} \times 100$$

I : 실험식의 질소섭취량

Fex : 실험식 섭취 시 분 중 배설된 질소량

Fpf : 무단백질식 섭취 시 분 중 배설된 질소량

5. 질소평형법을 이용한 영양평가 실험

흡수된 질소량에 대한 체내 보유질소량의 백분율을 산출하는 생물가(BV: biological value)와 이 생물가에 소화·흡수율을 보정하여 단백질 실이용률(NPU: net protein utilization)을 분석했다(Kim JH 1992).

6. 통계처리

실험결과들은 SAS 통계프로그램을 이용하여 실험군 당 평균과 표준편차를 구하였다. 실험군 간의 통계적

Table 1. Composition of the diets

	Protein free	Meat protein	Meat oligopeptide
Meat protein		12.0	
Meat oligopeptide			12.0
L-Methionine		0.32	0.21
L-Threonine		0.05	0.05
Cellulose powder	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture [†]	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture [†]	1.0	1.0	1.0
Choline chlotide	0.15	0.15	0.15

[†]Based on the pattern of Rogers & Happer(Harper AE, 1976)

*Total weight of the diets was made to 100 with β-cornstarch

유의성은 p<0.05수준에서 Duncan's multiple range test 로 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 정제 돈육 단백질의 조성

돼지고기에서 조제한 정제 돈육 단백질은 Table 2와 같은 조성을 나타냈다.

이는 지방함량이 5.5%정도로 처음 돈육상태로부터 지방이 90%정도 제거되었으며, 무기질 함량도 3%정도로 순도 높은 정제 돈육 단백질을 조제할 수 있었다.

2. 정제 돈육 단백질과 돈육 oligopeptide

Fig. 2에서 나타내는 것처럼 정제 돈육 단백질과 oligopeptide 혼합물은 거의 착색되지 않은 옅은 베이지 색이며, 둘 다 무취의 분말로서 뛰어난 용해성을 나타냈다.

3. Pork meat protein 과 oligopeptide의 아미노산 조성과 함량

Fig. 3에서 나타낸 것처럼 정제 돈육 단백질과 돈육 oligopeptide의 아미노산 조성을 분석한 결과 극히 유사한 아미노그램을 나타냄으로써 조제한 돈육 oligopeptide 혼합물은 원래의 돈육 단백질이 가지고 있는 아미노산 조성을 잘 보존하고 있었다. 또한 돈육 oligopeptide의

Table 2. Composition of purified meat protein

Composition	Contents
Moisture	0.5%
Crude protein	88.7%
Crude lipid	5.5%
Ash	3.0%

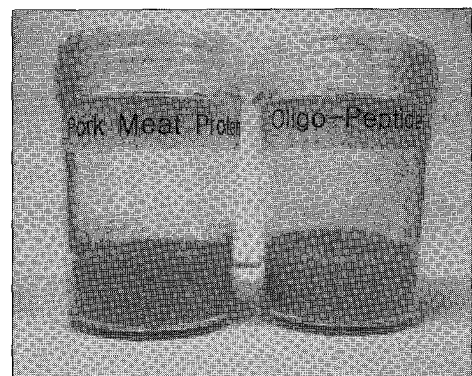


Fig. 2. Purified pork meat protein and oligopeptide mixture

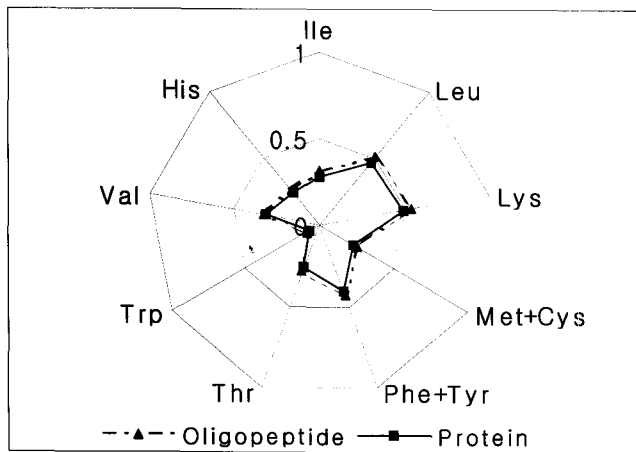
조단백질 함량이 91.2%로 정제 돈육 단백질 88.7%보다 약간 높기 때문에 각 아미노산 함량 면(Table 3)에서 돈육 oligopeptide가 정제 돈육 단백질과 비교하여 전체적으로 미량이지만 조금 높게 나타났다.

4. 소화성실험결과

질소평형법에 의해 전분(全糞) 채취량을 분석한 소화율(True Digestibility)은 meat protein과 meat oligopeptide 각각 98.9%, 99.0%로 모두 높은 소화율을 나타냈다.

5. 영양평가 실험결과

Fig. 4에서 나타내는 것처럼 meat oligopeptide 섭취



(amino acid/nitrogen g)

Fig. 3. Essential amino acid composition of meat protein and meat oligopeptide

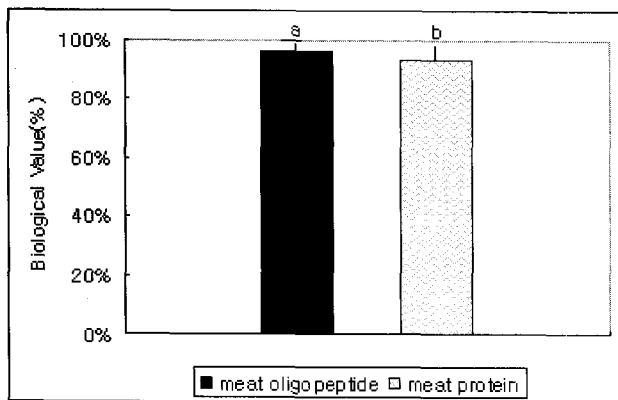


Fig. 4. Biological Value(BV) in the rats fed on various experimental diets

Groups with unlike superscript letters were significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

군의 생물가는 96%로 meat protein 섭취군의 93%보다 유의하게 높았다. 또한, Fig. 5에 나타난 단백질 실이용률의 경우는 meat oligopeptide 섭취군이 96%이며 meat protein 섭취군이 94%로 유의차가 없이 동등하였다. 이 결과로 meat oligopeptide가 돈육 단백질과 비교하여 단백질 영양원(Noguchi T 등 1990)으로서 동등 또는 그 이상의 우수함을 증명할 수 있었다.

본 실험에서 시판용 돼지고기로부터 고 순도의 농축 정제단백질을 조제하고, 다시 그 단백질로부터 oligopeptide 혼합물을 조제할 수 있었다. 이 oligopeptide는 거의 무색, 무취의 분말로서 돈육 단백질이 가지고

Table 3. Amino acid concentration of meat protein and meat oligopeptide (nmol/mg)

Amino acid	Meat protein	Meat oligopeptide
Asparagine/aspartic acid	510	586
Threonine	279	308
Serine	251	289
Glutamine/glutamic acid	527	603
Glycine	330	371
Alanine	551	612
Valine	494	515
Cysteine	16	30
Methionine	113	162
Isoleucine	298	336
Leucine	509	536
Tyrosine	137	177
Phenylalanine	206	227
Lysine	477	527
Histidine	120	134
Arginine	340	383
Proline	367	356

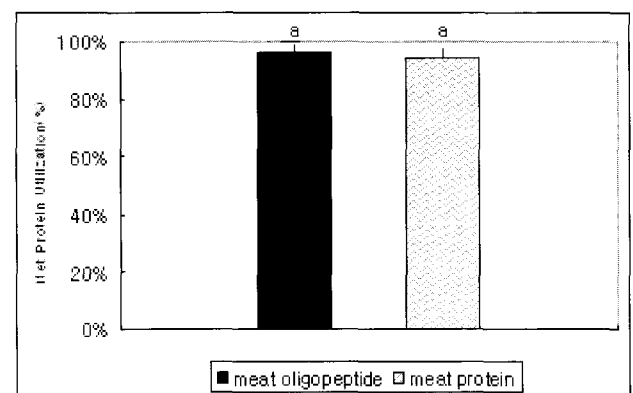


Fig. 5. Net Protein Utilization(NUP) in the rats fed on various experimental diets

Groups with unlike superscript letters were significantly different($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

있던 난용성을 극복하여 높은 용해성을 나타냈다. 또한 돼지고기가 갖고 있던 고유의 아미노산을 그대로 보유하며, *in vitro* 상의 소화단계를 거침으로서 높은 소화율과 원래 돈육 단백질이 가지고 있는 우수한 단백질 영양평가를 나타냈다. 특히, 금번에 조제한 돈육 oligopeptide는 아미노산 조성으로 본 우수한 영양성과 소화·흡수성 그리고 가공 시 편리한 용해성을 갖고 있다고 할 수 있다. 그러므로 현재, 경구·경장 영양액의 동물성 단백질 급원이 우수와 계란이 대부분을 차지하고 있는데(Noguchi T 등 1988) 이들을 대체 할 수 있는 가능성을 보여준다고 할 수 있다. 또한 기존의 동물성 단백질이 갖고 있는 알러지원성 문제도 훨씬 적을 것으로 예상된다. 앞으로 보다 우수하고, 다양한 식품 단백질 유래의 oligopeptide를 조제하여, 좀 더 심도 있는 영양평가와 다양한 가공식품 개발에 관한 연구도 계획하고 있다.

IV. 요약 및 결론

시판용 돈육에서 단백질을 정제하여 지방함량 5.5%, 조단백질함량 88.7%의 정제 돈육 단백질을 조제하였다. 그리고 이 단백질을 단백질 분해효소 펩신을 사용하여 단백질 효소 분해물(protein hydrolysate)을 제조하고, 80% 에탄올 용액에 침전되는 부분 가수 분해물을 제거하여 최종적으로 돈육 oligopeptide 혼합물을 얻었다. 이는 돈육 본래의 아미노산 조성을 잘 보전하였으며, *in vitro*의 소화과정을 거쳐서, 소화성 실험 결과에서 보여 지는 것처럼 99%에 이르는 우수한 소화성을 나타냈으며, 질소평형법을 이용한 영양평가 결과, 생물가와 단백질 실 이용률에서 돈육 oligopeptide 혼합물은 정제 돈육 단백질과 비교해서 동등 또는 그이상의 영양가를 나타냈다. 이에 돈육 oligopeptide 혼합물은 돈육의 우수한 단백질 영양은 그대로 보유하면서 용해성이 뛰어나, 여러 가공 식품 및 경구·경장 영양액의 질소원 소재로서 충분한 이용 가능성이 사료된다.

참고문헌

- 桐山修八, 荒井綜一. 1990. Nutrition of Peptide. 北海道大學圖書刊行會. Japan. pp 27-179
- Adibi SA, Morse EL. 1971. Intestinal transporter of dipeptides in man : relative importance of hydrolysis and intact absorption. J Clin Invest 50:2226-2275
- Choi GL, Hong YM, Lee KW, Choi YJ. 2006. Food Functionalities of Dried Fish Protein Powder. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(10):1394-1398
- Chung IK, Kim H, Kang KT, Choi YJ, Choi JD, Kim JS, Heu MS. 2006. Preparation and Functional Properties of Enzymatic Oyster Hydrolysates. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(7):919-925
- Faure M, Moennoz F, Montigon C, Mettraux D, Breuille D, Balleve O. 2005. Dietary Threonine Restriction Specifically Reduces Intestinal Mucin Synthesis in rats. J Nutr 135(2):486-491
- Habold C, Foltzer-Jourdainne Y, Maho L, Lignot JH. 2005. Intestinal gluconeogenesis and glucose transport according to body fuel availability in rats. J Physiol 566(2):575-586
- Harper AE. 1976. In Proteins in Human Nutrition. London and New York Academic Press. Washington DC. pp 349-352
- Hiroyuki F, Keiichi Y, Masaki Y. 2000. Classification and Antihypertensive Activity of Angiotensin 1-Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Food Proteins. J Food Sci 65:564
- Hiroyuki F, Tomohide Y, Kazumori O. 2001. Effect of an ace-inhibitory agent, katsuobushi oligopeptide in the spontaneously hypertensive rat and in borderline and mildly hypertensive subjects. Nutr Res 21:1149
- Kang BS, Kim BY, Lee JK. 1994. Rheological Studies of the Fish Protein upon the Thermal Processing. J Korean Food Sci Technol 26(2):103-109
- Kang YJ, Yi SD, Lee GH, Oh MJ. 2006. Antibacterial Activity of Zein Hydrolysate with Pepsin. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(2):127-131
- Kim JH, Noguchi T, Miura Y. 1990. Evaluation of nutritive value of peptide preparations derived from SPI. Nutr Sci Soy Pro 11(1):83-86
- Kim JH, Noguchi T. 1991. Digestibility and nutritive value of SPI and its pepsin digest. Nutr Sci Soy Pro 12(2):41-43
- Kim JH. 1992. Studies on the nutritional significance of enzymatic food protein hydrolysates. Doctorate thesis. Tokyo University of Japan. pp 2-65
- Lee YS, Park YS, Chang HG. 2006. Physicochemical Properties and White Layer Cake Making Potentialities of Wheat Flour and Soy Protein Isolate Blends. Korean J Food Sci Technol 38(4):534-542
- Lemon PWR. 1996. Is increased dietary protein necessary or beneficial for individuals with a physically active lifestyle. Nutr Revi 54(4):S169-S175
- National research council. 1978. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. National Academy of Sciences. Washington DC. pp 3-23
- Noguchi T, Nam TJ, Kato H, Naito H. 1988. Further studies on the nutritional factors affecting the urinary excretion of acid-soluble peptides in rats. Br J Nutr 60: 321-337

- Noguchi T, Takahashi S, Kajikawa M, Umezawa T, Takahashi SI, Kato H, Miura Y, Nam TJ, Naito H. 1990. Effect of dietary proteins on the plasma immunoreactive insulin-like growth factor-1/somatostatin C concentration in the rat. *Br J Nutr* 63:521-534
- Shin MJ, Park MJ, Youn MS, Lee YS, Nam MS, Park IS, Jeong YH. 2006. Effects of Silk Protein Hydrolysates on Blood Glucose and Serum Lipid in db/db Diabetic Mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35(10):1342-1348
- Yamaguchi M, Kandatsu M. 1973. Catabolic Rate of Body Protein in Adult Rat over an Entry Period of Protein Depletion. *Agri Biol Chem* 37(3):579-586

(2007년 8월 27일 접수, 2007년 9월 13일 채택)