

식품단백질 효소분해물의 제조 및 이화학적 특성

김 종 희^{1†} · 홍 순 광²

¹서일대학 식품영양과, ²명지대학교 생명공학과

Preparation and Chemical Characteristics of Food Protein Hydrolysates

Jong-Hee Kim^{1†} and Soon-Kwang Hong²

¹Dept. of Food and Nutrition, Seoil College, Seoul 131-702, Korea

²Dept. of Biological Science, Myoung-Ji University, Young-in 449-728, Korea

Abstract

In this study, food protein hydrolysates were prepared from six types of food protein: purified meat protein, whole egg protein, casein, isolated soy protein, concentrated rice protein, and gluten. Food proteins were hydrolyzed with pepsin and ethanol (80%)-soluble fractions of pepsin hydrolysates were employed for analysis. The products were colorless and odorless powders with low fat content and good solubility. The MW (molecular weight) of the protein hydrolysates was confirmed to be 200~1,800 via gel filtration. Free amino acid contents accounted for less than 5% of the samples. The results of our amino acid analysis revealed that all food protein hydrolysates preserved their original amino acid compositions and nutritional values of their source proteins with highly pure oligopeptide mixtures. These results show that the food protein hydrolysates prepared in these investigations should prove excellent dietary nitrogen sources for a variety of applications.

Key words : Food protein, hydrolysate, pepsin, dietary nitrogen source, oligopeptide.

서 론

단백질의 효소 분해물(protein hydrolysate)은 고분자인 단백질과 유리 아미노산의 형태로는 적합하지 않은 경우에 사용할 수 있는 제3의 형태의 질소원이라 할 수 있다(Adibi & Morse 1971). 이러한 단백질 가수분해물에 대한 연구 시도는 1960년대부터 이루어졌으나, 최근 들어 상피세포의 brush board membrane 중에서 oligopeptide의 transporter 등이 분리되면서 소화·흡수 기작이 명확히 밝혀졌다(Faure et al 2005). 또한, 여러 oligopeptide의 생리활성 등이 다각적으로 밝혀지면서 더욱 이용에 집중하게 되었다. 현재까지 연구 또는 실제로 이용되어지는 단백질 가수분해물(protein hydrolysate)을 크게 몇 가지로 분류할 수 있다.

첫 번째로 소화 장애가 있는 환자를 위하여 *in vitro* 상에서 이미 소화가 이루어져 있어 소화·흡수에 용이한 점을 착안하여, 경구·경장영양액 등의 단백질원으로 사용하려는 시도가 매우 활발하다(Habold et al 2005).

두 번째는 단백질이 가진 항원성 성분을 분해함으로써, 항알러지성을 가진 단백질원으로, 예를 들면 대두단백질 효소

분해물을 함유한 저 알러지성 분유나 특수 용도식품이 선을 보이고 있다.

세 번째로는 흡수기전이 아미노산과 다른 경로로 펩타이드 트랜스포터를 이용한다는 점에 착안하여 페닐케톤뇨증 환자(PKU)를 위한 특수 질환식인 페닐알라닌밀크를 조제하여 이용한 예도 있다(桐山修八와 荒井綜一 1990).

네 번째로는 단백질의 종류(Choi et al 2006), 이용 효소(Hiroyuki et al 2000, Hiroyuki et al 2001) 분해 조건(Chung et al 2006), 정제 방법(Kang et al 2006)에 따라 다양한 생리활성을 가진 소재로 활발한 연구가 되어지고 있다.

본 연구에서는 우리의 식생활에서 가장 빈번히 섭취하는 식품들이며, 주요한 단백질 근원 식품으로 그 중에서도, 특징적인 아미노산 조성을 가지고 있는 동식물 식품단백질로서 돈육 단백질, 전란단백질, 카제인, 글루텐, 대두단백질, 쌀 단백질 6종류를 최종적으로 선택하였다. 이들 6종의 식품단백질을 소화효소인 펩신을 사용하여 부분 가수분해하여 각각의 식품단백질 효소분해물을 제조한 후, 효소분해물 조제전의 원래의 단백질과 효소분해물후의 아미노산 조성을 비교하여, 효소분해물로 인한 아미노산 조성의 변화를 확인하고, 효소분해물의 분자량 분포도 및 이화학적 성질을 평가하여 6종의 식품단백질 효소분해물이 식사질소원 소재로서 적

[†] Corresponding author : Jong-Hee Kim, Tel : +82-2-490-7508, Fax : +82-2-490-7507, E-mail : jonghee@seoil.ac.kr

합한지를 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 정제 돈육 단백질의 조제

정제 돈육 단백질 조제법은 Kim *et al*(2007)이 사용한 방법에 의거했다. 먼저 시판용 돼지고기를 polytron으로 파쇄시킨 후, 돼지고기 100 g 당 열 에탄올 0.5 L의 비율로 처리하여 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 정제돈육 단백질(조단백질; 88.7%, 조지방; 5.5%, 회분; 3.0, 수분; 0.58%)을 조제했다.

2. 농축 쌀 단백질의 조제

농축 쌀 단백질은 村田(1971)방법을 참고로 하여 조제하였다(Fig. 1). 시판용 쌀을 분쇄한 후, 이것에 7배의 증류수를 첨가하여, 100℃에서 30분간 가열하여 쌀 전분을 호화한 후 균질화 시켰다. 그런 후 다시 이 용액을 pH 6.5로 조정하여 α-amylase(Type II-A from Bacillus, Sigma)를 650×103 U/kg 쌀로 첨가하여, 쌀 전분 중의 α-amylase를 37℃에서 48시간 효소가수분해시킨 후, 다시 pH를 6.5로 재조정하여 등전침전 분리시켜서, 그 침전물을 수집하여 동결 건조시켜 농축 쌀 단백질(조단백질; 35.8%, 회분; 1.0%, 수분; 5.6%)을 조제했다. 그 이외의 카제인(Sigma社), 전란단백질(太陽化學), 글루텐(나카라이테스크社), 대두분리단백질(不二製油)은 시판용을 사용하였다.

3. 식품단백질 효소분해물의 조제

상기의 6종의 식품단백질을 사용하여 6종의 식품단백질 효소분해물을 조제했다. 먼저 각 식품 단백질을 물에 현탁시킨 후, 염산으로 pH를 2.1로 조정했다. 단백질 표품 100에 대해 각 식품단백질의 최적의 효소 농도(돈육단백질 : 1.67%, 농축 쌀 단백질 : 0.33%, 카제인 : 0.67%, 전란단백질 : 1.0%, 글루텐 : 1.0%, 대두분리단백질 : 0.67% 1.65%)의 소 pepsin(Sigma사 제품)을 첨가하여 37℃에서 24~36시간 가수분해시켰다. 이는 TCA(trichloroacetic acid) 가용성 아미노산의 양을 추적하여 더 이상 분해가 진행되지 않는 점을 종점으로 하여 최적의 분해 조건을 찾아냈다(Kim *et al* 1990). 소화 과정이 끝난 시료액을 80% 에탄올 용액이 되도록 조정하여 침전물을 제거한 후, 여과액 중에 남아 있는 에탄올과 염산을 rotary evaporator로 완전히 제거한 후 동결 건조시켜서(Shin *et al* 2006, Lee *et al* 2006), 6종의 식품단백질 효소분해물을 조제하였다(Kim & Noguchi 1991)(Fig. 2).

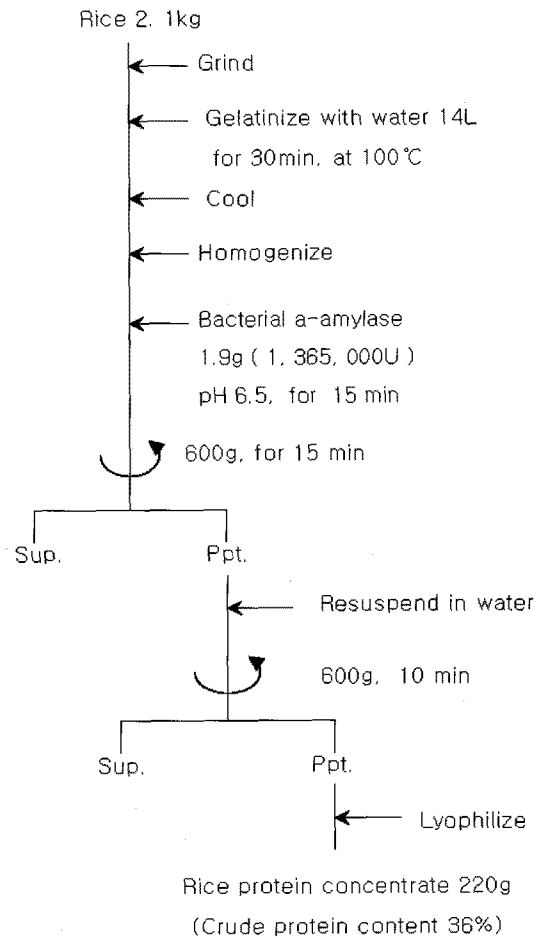


Fig. 1. A procedure for preparation of rice protein concentrate.

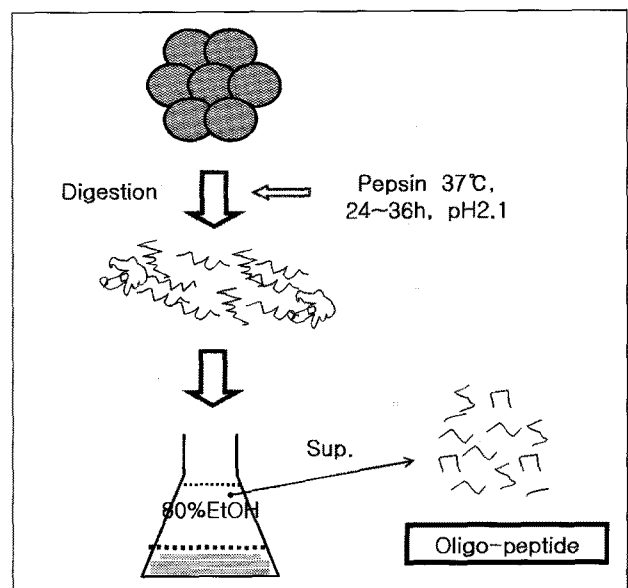


Fig. 2. Preparation of food protein hydrolysates from purified food proteins

4. 일반 성분 및 아미노산 분석

시료의 일반 성분은 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 2mL를 가한 다음 110℃에서 24시간 가수분해시킨 후 염산 가수분해물을 rotary evaporator로 농축하여 염산을 완전히 제거한 후, 0.155 M lithium citrate 완충액(pH 2.8)에 용해시켜 0.2 μM의 filter에 통과시킨 후, Hitachi 835-50형 아미노산 분석기로 분석했다(Kang et al 1994).

5. 유리아미노산 함량 및 Peptide 중합도의 분석

각 식품단백질 효소분해물 중에 함유한 유리아미노산 함량 측정을 위해서, 6종의 효소분해물을 직접 0.155 M lithium citrate 완충액(pH 2.8)에 용해시켜 0.2 μM의 filter에 통과시킨 후, Hitachi 835-50형 아미노산 분석기로 분석한 후 정량했다. 6종의 식품단백질 효소분해물의 peptide 중합도 측정을 위해서는 각 분해물의 N말단 아미노산을 DNP화 시키는 방법에 의해 측정하였다. 즉, 6종의 식품단백질 효소분해물을 1%의 triethyleneamine 수용액에 용해 후, 여기에 5% 에탄올의 1-fluoro-2,4-dinitrobenzen(FDNB) 용액을 첨가한다. 이때, FDNB를 첨가하지 않은 시료를 대조군으로 하여 동일한 조작을 한다. 2시간 방치 후 DNP-peptide를 얻는다. 이를 산가수분해하여 아미노산 분석을 한다. 이때 전아미노산량에서 N말단 아미노산을 빼는 방식으로 중합도를 산정한다(Kim JH 1992).

6. 분자량 패턴의 측정

분자량 측정을 위하여서는 gel-filtration법을 사용하였다. 먼저, 각 식품단백질 효소분해물을 0.1M lithium phosphate 완충액(pH 7.0)에 용해하여, 분자량 분포가 100~2,000 분류에 적합한 Bio-gel P-2(2.4×40 cm, Pharmacia)를 같은 완충액으로 평형화시킨 컬럼에 주입했다. 유속 20 mL/h에서 동일 완충액으로 용출하여 2.0 mL씩 분취하였다. 이때 용출되는 hydrolysate는 280 nm에서 흡광도로 검출하였다. 각 획분별 분자량의 분포는 표준 단백질(Gly-Tyr, 256 MW; Bestatin, 308 MW; Blue tetrazoline, 728 MW; Bacitracin, 1,411 MW; β-interferon 1,845 MW)을 사용하여 작성한 분자량 분포 곡선에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 정제 돈육단백질과 농축 쌀단백질의 조성

돼지고기와 쌀에서 정제한 단백질은 Table 1과 같은 조성을 나타냈다. 이는 돼지고기의 경우, 지방 함량이 5.5% 정도로 처음 돈육 상태로부터 지방이 90% 정도 제거되었다고 할 수 있다.

Table 1. Composition of meat protein and rice protein

Composition	Contents(%)	
	Meat protein	Rice protein
Moisture	4.5	5.6
Crude protein	87.7	35.8
Crude lipide	5.5	-
Ash	3.0	1.0

또한, 쌀의 경우는 보통 쌀의 단백질 함량에 비교해서 3배 이상 농축된 순도 높은 단백질을 조제할 수 있었다.

2. 6종의 식품단백질 효소분해물의 조제

Fig. 3에서 나타내는 것처럼 6종의 식품단백질 효소분해물은 거의 착색되지 않은 옅은 베이지색이며, 모두 무취의 분말로서 80% 에탄올 가용액만을 수집하였기에 뛰어난 용해성을 나타냈다.

3. 6종의 식품단백질 효소분해물의 유리아미노산 함량, Peptide 중합도 및 분자량 분포

6종의 식품단백질 효소분해물의 유리아미노산 함량은 Table 2에서 나타낸 것처럼 5% 이하로 전반적으로 낮은 함유량



Fig. 3. Six kinds of food protein hydrolysates from purified food proteins.

Table 2. Free amino acid contents of food protein hydrolysates

Sample	Content(%)
Meat hydrolysate	1.9
Egg hydrolysate	0.9
Casein hydrolysate	2.6
Soybean hydrolysate	2.5
Rice hydrolysate	3.7
Gluten hydrolysate	4.5

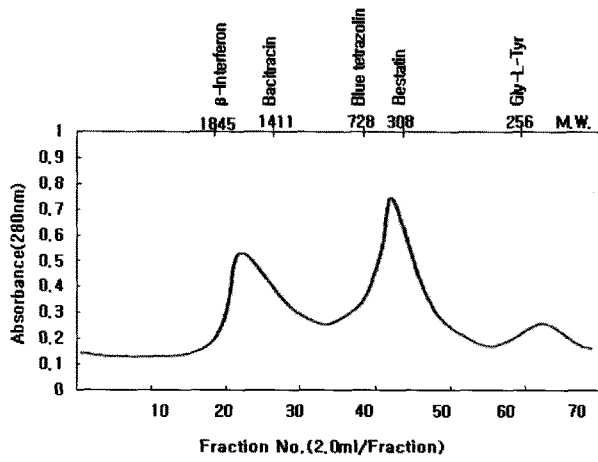


Fig. 4. Molecular weight distribution profile of meat hydrolysates.

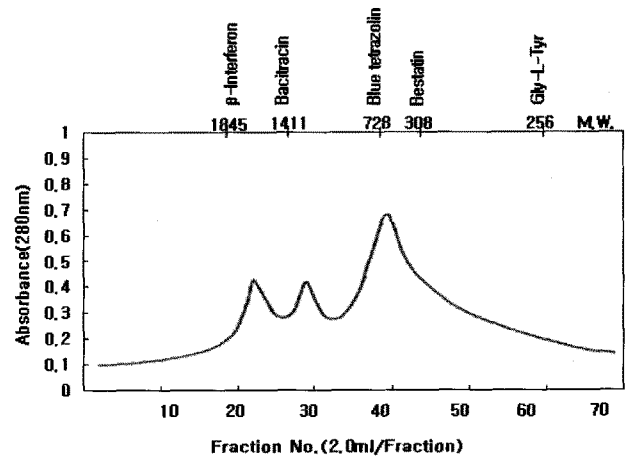


Fig. 7. Molecular weight distribution profile of SPI hydrolysates.

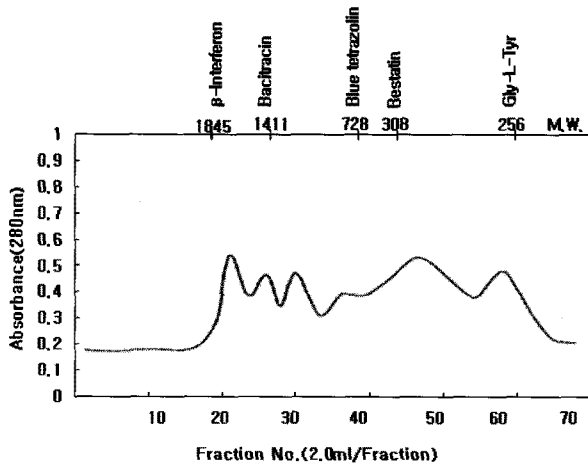


Fig. 5. Molecular weight distribution profile of egg hydrolysates.

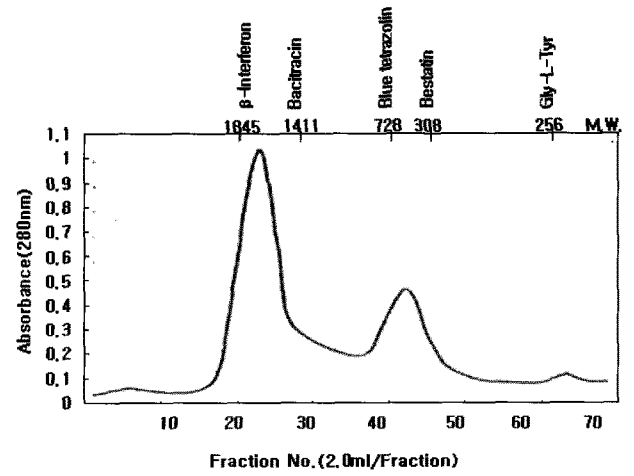


Fig. 8. Molecular weight distribution profile of rice hydrolysates.

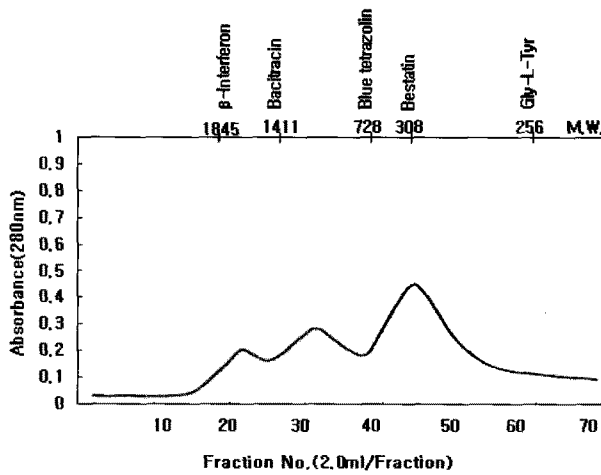


Fig. 6. Molecular weight distribution profile of casein hydrolysates.

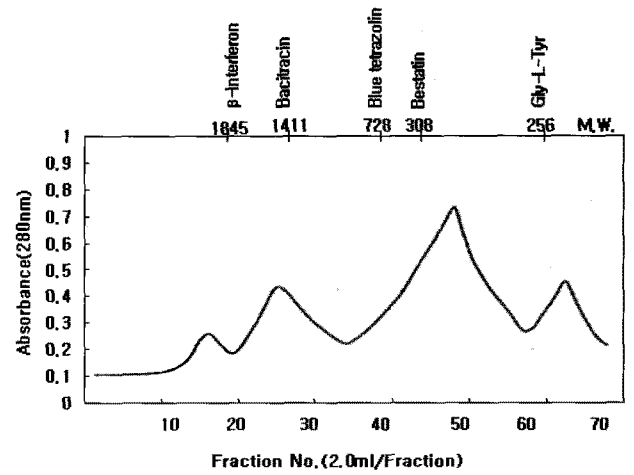


Fig. 9. Molecular weight distribution profile of gluten hydrolysates.

으로, 특히 전란단백질의 경우 1% 이하의 유리아미노산 함량을 나타내어 상대적으로 peptide 함량이 매우 높음을 알 수 있다. 한편, DNP화에 의한 N말단 아미노산량의 측정 결과는 6종의 식품단백질 효소분해물의 평균 중합도는 정제돈육단백질 효소분해물은 4.97, 정제 전란단백질 효소분해물은 3.91, 카제인 효소분해물은 3.80, 분리 대두단백질 효소분해물은 2.52, 글루텐 효소분해물은 4.78, 농축 쌀단백질 효소분해물은 3.94를 나타냈다. 그리고 분자량 분포는 Fig. 4~9에서 나타내는 것처럼 조금씩 다른 패턴을 보였지만 6종 모두 분자량이 200~1,800의 peptide 혼합물로서, 위의 유리아미노산 및 중합도 결과와 함께 추정하면 6종의 식품단백질 효소분해물은 유리아미노산 함량을 극히 미량 함유하였다. 그리고 아미노산을 2개에서 5개 정도로 펩타이드 결합한 고농도의 oligopeptide 혼합물임을 알 수 있었다.

4. 식품단백질과 그 단백질의 효소분해물의 아미노산 분석 비교

6종의 정제단백질과 그 단백질 효소분해물의 아미노산 조성을 분석한 결과, 극히 유사한 아미노그램을 나타냄으로써 조제한 6종의 식품단백질 효소분해물은 원래의 정제단백질이 가지고 있는 아미노산 조성을 잘 보존하고 있었다(Fig. 10~15) 또한, Fig. 10~15와 Table 3에서 보는 것처럼 6종의 식품단백질은 식품단백질 효소분해물로 조제함으로써 질소함량 (=단백질 함량)이 전체적으로 미량이지만 증가한 것을 알 수 있었다.

본 실험에서는 먼저 우리 식생활에서 주요하며, 특징 있는 아미노산 조성을 가진 6종의 식품단백질을 선택하였다. 그 중 돼지고기와 쌀로부터 고 순도의 농축 정제단백질을 조제하였으며, 나머지 4종은 시판용 식품단백질을 사용 총 6종의 식품단백질을 소화효소 펩신을 사용하여, 예비 실험으로 최적의 분해 조건에서 효소 분해하여 6종의 식품단백질 효소분해물을 조제할 수 있었다. 본 연구의 결과를 종합해 보면 첫째는 6종의 식품단백질 효소분해물은 거의 무색, 무취의 분말로서 식품 단백질이 가지고 있던 난용성을 극복하여 높은 용해성을 나타냈다. 둘째로 유리아미노산 함량이 적고, 아미노산 중합도가 2에서 5정도이며 분자량 분포가 200~1,800(MW)을 갖는 고순도의 oligopeptide라 할 수 있다. 셋째로 6종의 식품단백질 효소분해물은 고유의 아미노산 조성을 그대로 보유하고 있어 이들은 원래의 단백질 상태에서 갖던 영양가를 그대로 보유하고 동시에 *in vitro* 상의 소화 단계를 거침으로써 높은 소화율을 보유하게 되었다고 할 수 있다. 그러므로 현재, 경구·경장 영양액은 동물성 단백질 공급원이 우유와 계란이 주로 이며, 식물성 단백질의 경우는 대두가 대부분을 차지하고 있는(Noguchi *et al* 1988) 상황에서 이들을 대체할

수 있는 질소원으로 우유, 계란, 대두단백질 효소분해물이 그 가능성을 보여준다고 할 수 있다. 더 나아가 쌀, 밀가루, 돈육은 우리 한국인이 가장 많이 섭취하는 주요 식품이며, 주요한 단백질 공급임에도 불구하고, 용해성과 가공 적성상의 문제로 경구·경장액에서는 거의 사용하지 못하고 있으나, 식품단백질 효소분해물은 이에 새로운 가능성을 열어 주었다고 할 수 있다. 또한, 이번에 조제한 식물성 식품단백질 효소분해물은 기존의 동물성 단백질이 갖고 있는 알려지워진성 문제도 훨씬 적을 것으로 예상된다. 앞으로 보다 우수하고, 다양한 식품 단백질 유래의 효소분해물을 조제하여, 좀 더 심

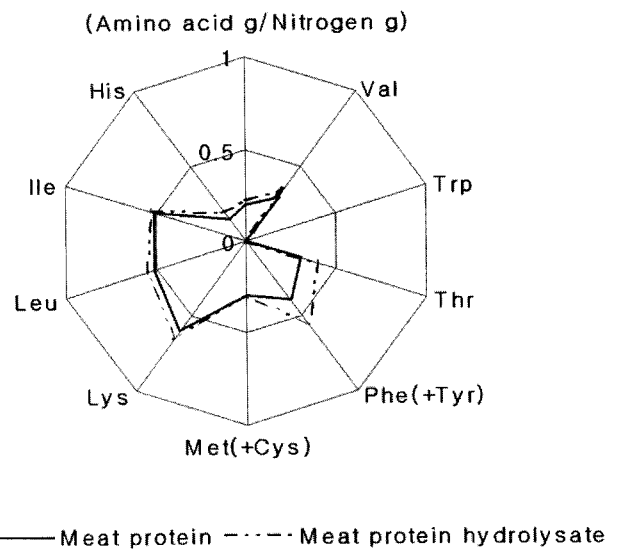


Fig. 10. Amino acid composition of meat protein and meat protein hydrolysate.

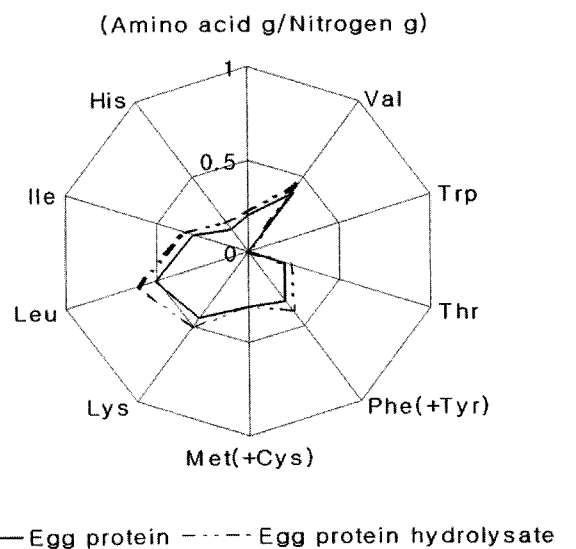


Fig. 11. Amino acid composition of egg protein and egg protein hydrolysate.

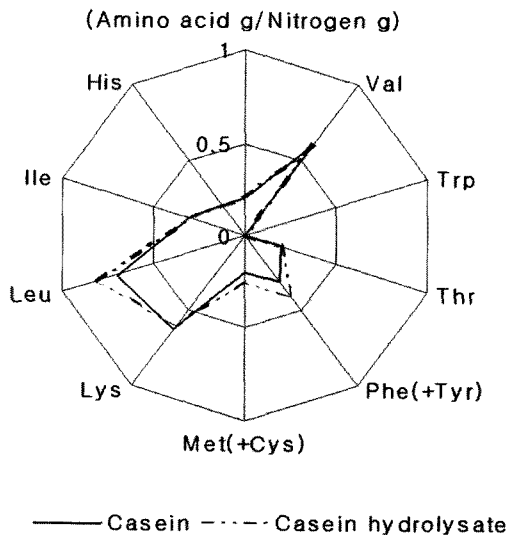


Fig. 12. Amino acid composition of casein and casein hydrolysate.

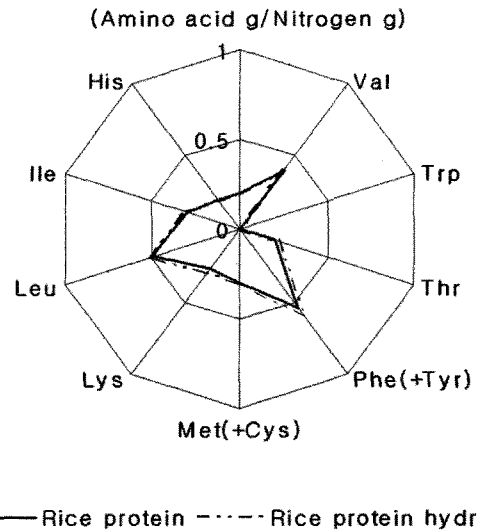


Fig. 14. Amino acid composition of rice protein and rice protein hydrolysate.

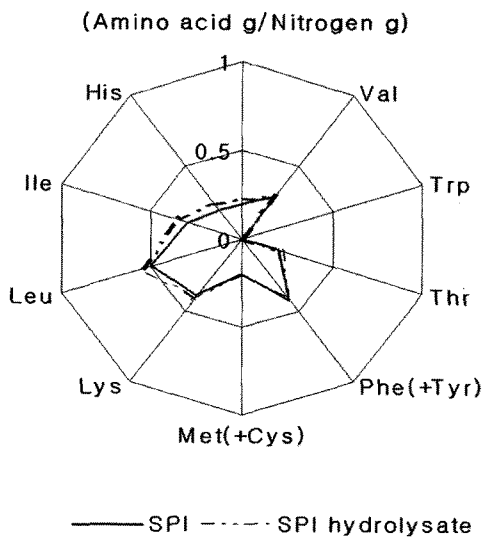


Fig. 13. Amino acid composition of SPI and SPI hydrolysate.

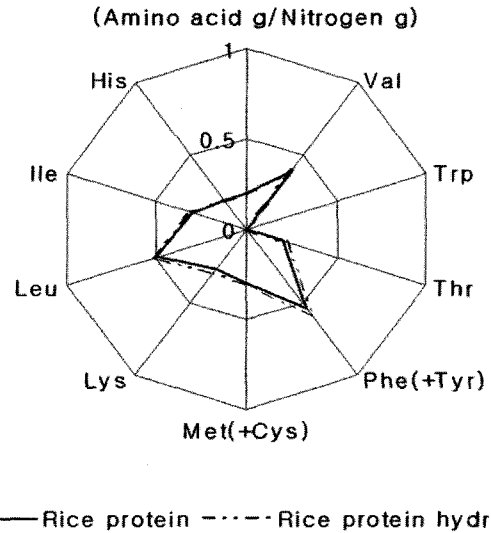


Fig. 15. Amino acid composition of gluten and gluten hydrolysate.

도 있는 영양 평가와 다양한 가공식품 개발에 관한 연구도 계획하고 있다.

요약 및 결론

돈육과 쌀에서 농축단백질을 정제하고, 4종의 시판용 식품단백질을 선택하여 총 6종의 식품단백질을 준비하였다. 이들 식품단백질을 단백질 분해효소 펩신을 사용하여 식품단백질 효소분해물(food protein hydrolysate)을 제조하고, 80% 에탄올 용액에 침전되는 부분 가수분해물을 제거하여 최종적으로 6종의 식품단백질 효소분해물을 얻었다. 이들 6종의

식품단백질 효소분해물은 본래의 단백질 상태의 아미노산 조성을 잘 보전하였으며, *in vitro*의 소화 과정을 거쳐서, 뛰어난 용해성을 나타냈다. 유리아미노산 함량이 5% 이하이며, 분자량 중합도는 아미노산이 2~5개이며, 분자량 분포는 200~1,800(MW)인 고순도의 oligopeptide임을 알 수 있었다. 그리고 질소 함량 면에서도 미량이지만 6종의 식품단백질 효소분해물은 본래의 단백질 상태일 때보다 그 함량이 증가했음을 나타냈다. 또한, 외관은 무색, 무취를 나타내므로 혼합, 가공 등에 매우 적합한 상태라 할 수 있다. 이상의 결과로 6종의 식품단백질 효소분해물은 여러 가공 식품 및 경구·경장 영양액의 질소원 소재로서 충분한 이용 가능성이 사료된다.

Table 3. Comparison of nitrogen contents of food proteins and food protein hydrolysates

Sample	Before hydrolysis (Food protein)	After hydrolysis (Food protein hydrolysate)
Meat	155.4 mg 88%	159.8 mg 90%
Egg	158.3 mg 90%	162.3 mg 92%
Casein	156.4 mg 89%	163.4 mg 92%
Soybean	131.6 mg 78%	144.4 mg 82%
Rice	52.4 mg 35%	57.5 mg 38%
Gluten	130.2 mg 76%	147.8 mg 83%

nitrogen (mg) protein contents (%)

감사의 글

본 논문은 2007년도 서일대학 학술연구비에 의해 연구되었으므로, 지원에 감사드립니다.

문헌

- 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 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: 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: 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: 575-586.
- 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, Kazunori 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: 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: 127-131.
- Kim JH, Noguchi T (1991) Digestibility and nutritive value of SPI and its pepsin digest. *Nutr Sci Soy Pro* 12: 41-43.
- Kim JH, Noguchi T, Miura Y (1990) Evaluation of nutritive value of peptide preparations derived from SPI. *Nutr Sci Soy Pro* 11: 83-86.
- Kim JH, Son MH, Cho JS (2007) Purified protein and oligopeptide mixture preparation from pork meat and evaluation of their nutritive value: True digestibility, biological value, and net protein utilization. *Korean J Food Cookery Sci* 23(5): 644-649.
- Kim JH (1992) Studies on the nutritional significance of enzymatic food protein hydrolysates. *Ph D Dissertation* Tokyo University, 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: 534-542.
- 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.
- 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: 1342-1348.
- 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.
- 村田希久, 山本公子, 池田喜美子, 田中淑子 (1971) 栄養と食糧. 栄養食糧學會. Japan. pp 355.

(2008년 11월 27일 접수, 2009년 1월 23일 채택)