

실크 세리신 단백질 가수분해물을 이용한 유기 칼슘제의 제조 및 칼슘 결핍 쥐에서의 생체 이용률

조혜진¹ · 이현순^{1,2} · 정은영^{1,2} · 서형주^{1†}

¹고려대학교 식품영양학과, ²고려대학교 보건과학연구소

Manufacturing of Calcium Binding Peptide using Sericin Hydrolysate and Its Bioavailability in Calcium Deficient Rat

Hye Jin Cho¹, Hyun-Sun Lee^{1,2}, Eun Young Jung^{1,2} and Hyung Joo Suh^{1†}

¹Dept. of Food and Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea

²Institute of Health Science, Korea University, Seoul 136-703, Korea

Abstract

Silk sericin protein was hydrolyzed by seven proteolytic enzymes in order to examine the effectiveness of the hydrolysates in binding calcium. The amino acid nitrogen content of hydrolysates from Flavourzyme was higher than that for other enzymes, and its calcium binding capacity showed a dose-dependent increase. We examined the effects of calcium binding peptide from sericin hydrolysates on the bioavailability of Ca-deficient rats. Three-week-old male rats were fed a Ca-deficient diet for three weeks. Rats were divided into four groups (DD: non-treated group on calcium deficient diet; DD+MC: milk-calcium treated group; DD+OC: organic calcium made using sericin hydrolysates; and DD+IC: inorganic calcium (CaCl₂). After oral administration of calcium supplements for one week, the calcium content of the serum and liver were significantly higher in DD+OC (101.7 μ g/mL and 49.3 μ g/mL) and DD+MC (83.6 μ g/mL and 42.8 μ g/mL) than DD (86.3 μ g/mL and 43.4 μ g/mL). The alkaline phosphatase (ALP) content in the treated groups was significantly lower than DD, but no significant difference among groups was shown. Aspartate aminotransferase (AST) levels did not show any significant difference between groups. Alanine aminotransferase (ALT) levels were significantly reduced compared to the DD group. In conclusion, binding calcium to peptides from sericin hydrolysates seems to improve its bioavailability, and to hasten the cure of calcium deficiency in experimental rats.

Key words : Calcium, sericin hydrolysate, deficiency, bioavailability.

서론

칼슘은 인체 내 가장 많이 존재하는 대표적인 무기질로 일반 성인의 경우 체중의 약 2% 정도를 체내에 보유하고 있다. 체내 칼슘의 대부분은 골격과 치아를 형성하고, 약 1% 정도는 근육의 수축과 이완, 규칙적인 심장박동, 혈액응고, 효소의 활성화, 세포내 자극과 흥분 전달과 같은 생리활성을 조절하는 기능을 가지고 있다(Cashman KD 2002).

2009년 발표된 국민건강통계(통계청 2009)에 따르면 칼슘은 한국인의 식생활에서 섭취량이 권장량에 가장 미흡한 영양소로 거의 모든 연령층에서 칼슘 부족이 나타나며, 특히 섭취량이 권장량의 75%에도 미치지 못하는 인구가 절반을 넘는다고 보고되었다. 특히 성장이 가장 왕성한 12~18세의

경우 권장량의 47.6%에 미치는 수준으로 조사되었다. 사춘기 전과 초기의 경우, 칼슘은 골격을 형성하고 무기질화에 미치는 영향이 증가하므로, 이 시기의 칼슘 부족은 부적절한 골격 형성에 중요한 원인이며(Abrams & Stuff 1994), 청년기 이후의 칼슘 결핍은 청년기 골절에는 크게 영향을 미치지 않지만 노년기의 골절 요인을 증가시킨다고 알려져 있다(Matkovc *et al* 1977, Heaney RP 1993). 이처럼 칼슘 부족은 성장 지연뿐만 아니라 노년기 주요 사망 원인인 골다공증, 골절을 유발하며(Wanli *et al* 2005), 최근에는 골격질환뿐 아니라, 고혈압(Johnson S 2001), 순환계 질환 및 대장질환 등 각종 성인병과 관련되어 나타나고 있어 칼슘 함유 식품의 요구는 증대되고 있다(Heaney RP 1993, Han *et al* 2000).

최근 여러나라에서는 다양한 칼슘염의 형태를 한 칼슘 보충제 및 체내 이용성 촉진 물질 등을 개발하고 있으며, 국내에서도 우골분, 난각 분말, 패각 분말을 이용한 철분체제가 연구되고 있다(Recker *et al* 1988, Lee & Chang 1994, Lee &

† Corresponding author : Hyung Joo Suh, Tel : +82-2-940-2853, Fax : +82-2-940-2850, E-mail : suh1960@korea.ac.kr

Oh 1995). 우골분은 국내에서 생산되는 많은 칼슘 함유 식품의 원료로 사용되고 있으나 전량 수입에 의존하고 있으며, 최근 광우병 파동으로 안정성의 문제가 제기되고 있어 칼슘 공급 원으로서의 양질의 우골분 대체 물질에 대한 개발은 국민의 건강과 영양을 위해 매우 시급한 과제이다(Kim *et al* 2004).

실크 세리신은 누에가 방사하는 고치실의 20~30%를 차지하는 접착성 단백질로 용해도가 높아 일반적으로 정련 공정에서 제거되어 피브로인만 남게 되는데, 이를 일반적으로 명주라고 한다. 과거 용해도가 높아 정련 과정의 폐기물로 여겨졌던 세리신은 최근 들어 높은 용해도와 다양한 기능이 알려지면서 다양한 영역에서 활용가치가 연구되고 있다. 세리신은 다양한 단백질로 구성되어 있지만 특히 여러 아미노산 중 -OH기를 함유하는 아미노산, 특히 세린의 함량이 30% 이상 포함되어 있는 특이적 단백질로 알려져 있다(Lee KH 2005). Sasaki *et al*(2000)은 세리신이 아스파티산과 세린이 많다는 사실에 착안하여 이들이 금속 성분과 배위 결합을 하여 금속 성분의 장내 흡수를 도울 수 있을 것으로 기대하여 열수 추출한 세리신을 금속 성분(아연, 철, 마그네슘, 칼슘)과 함께 투여한 결과, 금속 성분의 흡수도가 증가하였다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 이미 식품 소재로 활용 가능성이 입증된 세리신을 칼슘과 결합력이 우수한 가수분해물을 제조하기 위하여 다양한 효소 처리를 실시하였으며, 가장 높은 활성을 보인 Flavourzyme으로 처리한 세리신 가수분해물을 이용하여 칼슘과 결합력을 검토하였으며, 이렇게 제조된 세리신 유래 펩타이드 결합 유기칼슘을 실험 동물에게 투여하여 체내 흡수율을 조사하였다

재료 및 방법

1. 재료

세리신 단백질은 월드웨이(주)(Worldway, Yeongi, Korea)에서 제공 받아 사용하였으며, 가수분해에 사용된 효소인 flavourzyme, neutrase, alcalase, collupulin, protamex은 Novo사(Novozymes Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) 제품을, collupulin은 비전바이오켄(주) (BISION, Sungnam, Korea) 제품, ficin, pancreatin 및 CaCl₂는 Sigma Co.(St. Louis, MO, UAS) 제품을 구입하여 사용하였다. 양성 대조군으로 사용한 밀크칼슘은 AMT Labs(Utah, North Salt Lake, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 세리신의 제조

실크 세리신의 제조 공정을 간략히 기술하면 무정련 코쿤에 정제수를 이용하여 110℃에서 3시간 추출 후 여과하여 90℃에서 30분간 멸균 후 protease 효소를 이용하여 12시간 분해

후에 효소 활성을 억제하기 위하여 가열한 후 감압 동결 건조하여 세리신 단백질 분말을 얻었다(Worldway 2001).

3. 효소를 이용한 세리신 가수분해

세리신 단백질 10% 용액에 flavourzyme, protamex, neutrase, alcalase, ficin, collupulin, pancreatin을 0.01%를 첨가하여 각 제조사에서 제시한 최적 반응 온도 및 최적 pH에서 12시간 가수분해한 후 가열하여 반응을 정지시킨 후 원심분리(4℃, 3,000×g, 10 min)후 상등액을 회수하였다.

4. 아미노산 정량

다양한 효소로 처리한 후 얻은 상등액의 유리 아미노산 함량은 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid(TNBS)법을 이용하여 측정하였다(Habeeb AF 1966). 시료 0.125 mL에 0.212 M phosphate buffer(pH 8.2) 1 mL와 0.1% TNBS 1 mL를 가하고, 혼합물을 50℃에서 60분간 암소에서 반응시켜 100 mM HCl 2 mL를 가하고 20분간 방치 후에 증류수 4 mL를 가하고 10분 방치 후 340 nm에서 흡광도를 측정하여 L-leucine 표준곡선과 비교하여 상대적인 아미노산 양을 측정하였다.

5. 미네랄 함유 펩타이드 제조

세리신 단백질 10% 용액에 flavourzyme을 0.01%를 첨가하여 최적 반응 온도 50℃ 및 최적 pH 6.0에서 12시간 가수분해하여 10분간 가열한 후 4℃, 3,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 유기칼슘은 10% 세리신 단백질 가수분해 용액에 각각 CaCl₂을 1,000 ppm과 2,000 ppm이 되도록 혼합하여 pH 4로 조정 후 37℃에서 1시간 반응시킨 후 80% ethanol이 되도록 한 후 4℃ 12시간 방치한 뒤 3,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액과 침전을 회수하였다.

6. 실험 동물

실험 동물은 나라바이오텍(Seoul, Korea)에서 SD쥐를 구입하여 사용하였으며, 수컷 3주령(60±5 g)을 사용한다. 실험 동물은 사육 케이지(42×28 cm)를 이용해 실험실 온도 22~24℃, 습도 60±5%가 유지되며, 밤낮 주기(12시간 light/12시간 dark)가 자동 조절 장치에 의해 조절되는 고려대학교 동물실험 윤리위원회 승인을 받은 후(승인번호 KUACUC-2010-106) ‘실험 동물 관리 및 이용에 관한 지침(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NRC)’에 맞추어 관리하면서 실시하였다. 실험에 사용된 사료 조성은 Table 1에 나타내었다.

7. 칼슘 투여 실험군

실험 동물군은 무작위 추출법에 의해 군당 6마리씩 4개군으로 분류하였다(Table 2). 실험 대조군은 칼슘 결핍 사료를

먹인 후 시료 처리하지 않은 무처리 음성 대조군(DD), 칼슘을 처리한 군은 양성 대조군인 밀크 칼슘을 투여한 군(DD+MC), flavourzyme을 이용한 세리신 가수분해물을 이용해 제조한 유기칼슘 투여군(DD+OC), 무기칼슘 투여군(DD+IC)으로 분류하였다. 칼슘 처리군은 2주간 칼슘 결핍 사료를 먹인 후 1주 동안 양성 대조군(DD+MC), 유기칼슘 투여군(DD+OC), 무기칼슘 투여군(DD+IC)은 각각의 칼슘 3.5 mg/day을 경구 투여하였다.

8. 혈액 채취 및 장기 적출

실험 종료 시점에서 12시간 절식시킨 실험 동물을 ethyl ether로 마취시켜 희생시킨 후 흉강을 열고 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 시험관에 넣어 4℃, 3,000×g에서 10분간 원심 분리하여 상등액인 혈청을 취하였으며, 분석

Table 1. Components of experimental diets

Components	Amount(g)
Corn starch	1,132
Casein	392
Sucrose	200
Soybean oil	160
Cellulose	100
L-methionine	6
Vitamin mixture ¹⁾	20
Mineral mixture ²⁾	70

¹⁾ Vitamin mixture: AIN-93G.

²⁾ Mineral mixture (100 g): KH₂PO₄: 25.72 g, NaH₂PO₄: 9.35 g, NaCl: 4.66 g, MgSO₄: 7.17 g, ZnCO₃: 110 mg, MnSO₄ · 4H₂O: 120 mg, CuSO₄ · 5H₂O: 30 mg, KI: 10 mg, Iron citrate: 6.36 g.

Table 2. Experimental groups in iron bioavailability study

Experimental group (6 rats/group) ¹⁾	Diet	Treatment
DD	Calcium deficient diet	No-treatment
DD+MC	Calcium deficient diet	Milk-calcium
DD+OC	Calcium deficient diet	Organic-calcium
DD+IC	Calcium deficient diet	Inorganic-calcium(CaCl ₂)

¹⁾ DD : no-treatment with calcium deficient diet.

DD+MC : milk-calcium with calcium deficient diet.

DD+OC : organic-calcium with calcium deficient diet.

DD+IC : inorganic-calcium with calcium deficient diet.

시까지 -70℃에서 보관하였다. 혈액 채취 후 간을 적출하였다.

혈액은 혈액 자동 분기인 FUJI DRI-CHEM 3500(Fuji Photo Film Co., Osaka, Japan)을 이용해 alkaline phosphatase(ALP), aspartate aminotransferase(AST) 및 aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

9. 칼슘 농도 측정

시료 전처리는 마이크로웨이브 분해법(Ferrando *et al* 1993)을 이용하여 혈청, 간을 전처리 하였다. 시료 1 mL(0.25 g)에 질산 1.5 mL, 60% 과염소산 1 mL를 넣어 400 W, 15 min, 800 psi, 200℃ 전처리를 한 후 Optima 2100 DV ICP-OES(Perkin-Elmer, MA, USA)를 이용하여 분석하였다.

10. 통계 분석

실험 결과는 SPSS program(ver. 12.0, SPSS Inc., IL, USA)을 이용하여 통계 처리하였으며, 모든 측정 항목에 대한 평균(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)를 산출하였다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 구체적인 사후 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 다양한 효소를 이용한 세리신 가수분해

고분자인 세리신 단백질 분말을 효소 처리하지 않은 control의 유리 아미노태질소 함량이 11.4 mg/mL였으며, 이 세리신 용액을 Table 3에 나타낸 7가지의 효소를 이용하여 처리한 후 유리아미노산의 함량을 측정된 결과, flavourzyme(16.2

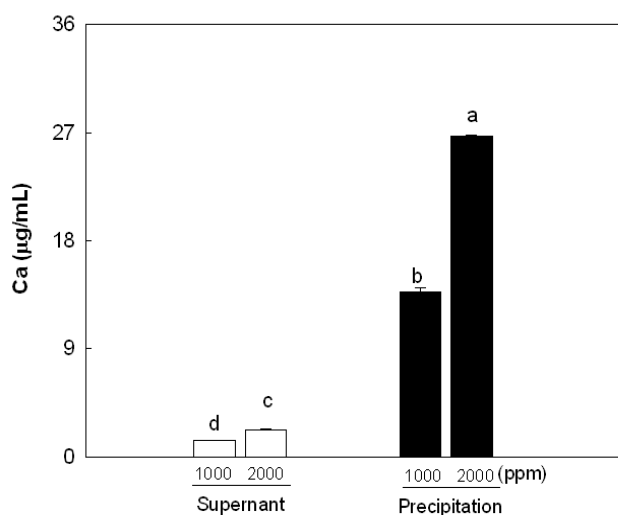


Fig. 1. Calcium-binding capacity of sericin hydrolysate. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

Table 3. The concentrations of amino acid from hydrolyzed sericin by various enzymes of enzyme for the hydrolysis of sericin

Enzyme	Source	Contents of free amino acid (mg/mL)
Flavourzyme	<i>Asp. oryzae</i>	16.2±0.6 ^c
Protamex	<i>Bacillus</i> sp.	19.9±0.2 ^{ab}
Neutrase	<i>B. amyloliquefaciens</i>	11.5±0.3 ^{cd}
Alcalase	<i>Bacillus</i> sp.	10.7±0.7 ^{bc}
Ficin	<i>Ficus carica</i>	9.2±0.9 ^a
Collupulin	<i>Caruca papaya</i>	10.6±0.4 ^{bc}
Pancreatin	Porcine pancreas	12.0±0.3 ^d

Means with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

mg/mL)을 처리한 경우, 처리 전보다 유리 아미노산의 함량이 유의적으로 증가하였다. Flavourzyme은 *Aspergillus oryzae*에서 생산된 효소로 endoproteinase와 exoproteinase의 혼합 효소이다. 식품영역에서 다른 proteases를 사용해서 단백질을 분해하는 경우 쓴맛이 생기는 반면, flavourzyme은 소수성 잔기를 제거하여 다른 효소들에 비해 쓴맛이 생기지 않는다(Pommer K 1995). Lee *et al*(2001)의 연구 결과에 따르면 flavourzyme을 이용하여 실크 세리신을 처리할 경우 거의 100% 세리신을 회수할 수 있다고 보고하였으며, 그 분해물의 아미노산 조성을 보면 극성을 띄는 아미노산이 많은 양(serine 24.4%, aspartic acid 14.4% 및 threonine 8.0%)을 차지한다고 보고하였다.

2. Flavourzyme을 이용하여 분해한 세리신과 칼슘과의 결합력

단백질의 유기용매에 대한 용해도 차를 이용한 분획 침전법은 대량의 단백질을 회수할 수 있으며, 양호한 정제 효과를 얻을 수 있다. 본 연구에서는 물과 완전히 혼합될 수 있어 널리 사용되고 있는 유기용매인 ethanol을 유기미네랄 용액에 처리하여 침전되는 단백질 중 칼슘 농도를 조사하여 결합력을 측정하고자 하였다. Flavourzyme을 이용하여 가수분해한 실크 단백질에 각각 1,000 ppm과 2,000 ppm이 되도록 CaCl_2 를 넣어 37°C에서 1시간 반응한 뒤, 80% 에탄올 침전 후 얻은 상등액과 침전물의 Ca 함량을 측정된 결과(Fig. 2), Ca 농도가 증가할수록 단백질과 결합해 침전한 Ca의 함량이 증가하였다. 유기칼슘 1,000 ppm의 ethanol을 침전시켰을 때, 칼슘의 양은 상등액(1.4 mg/dL)에 비해 침전(13.7 mg/dL)은 높은 값을 나타내며, 유기칼슘 2,000 ppm 역시도 ethanol 침전 시 상등액(2.3 mg/dL)에 비해 침전(26.7 mg/dL)으로 유의적으로

증가하였다. Flavourzyme으로 분해한 경우 serine과 threonine을 많은 함량을 차지하며, 이들 모두 side chain에 -OH기를 가지고 있어서 물과 수소 결합을 하며 단백질 표면에 위치하므로 쉽게 CaCl_2 과 결합하여 킬레이트 구조를 형성할 수 있는 것으로 추측된다.

3. 세리신 결합 칼슘의 체내 흡수율

2주간 칼슘 결핍 식이를 투여한 쥐를 Table 2와 같이 4군으로 분리한 후 형태가 다른 3종의 칼슘을 1주간 투여한 결과, 체중 증가량이나 식이 섭취율 및 식이 효율을 측정된 결과, 세리신을 이용하여 만든 유기칼슘 투여군(DD+OC)의 식이 효율이 다른 군보다 유의적으로 높았다(Table 4). 다양한 형태의 칼슘 처리에 따른 혈청 및 간의 칼슘 농도를 나타내었다. 혈중 칼슘 농도는 무처리군(86.3 $\mu\text{g/mL}$)과 무기칼슘군

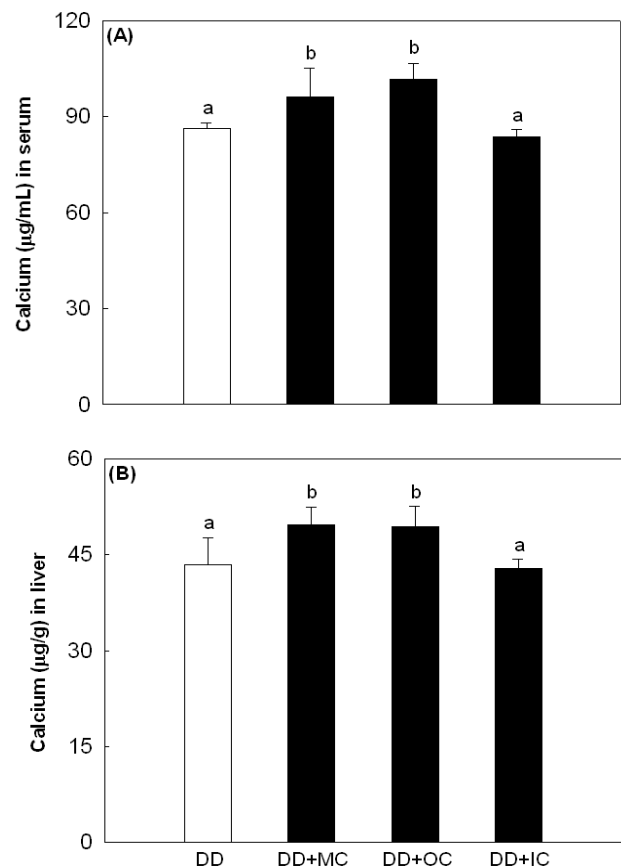


Fig. 2. Calcium levels of serum (A) and liver (B) in SD rats treated with various calcium types for 1 week.

Values are mean±S.D. for 6 rats. Means with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests. DD : no-treatment with calcium deficient diet, DD+MC : milk-calcium with calcium deficient diet, DD+OC : organic-calcium with calcium deficient diet, DD+IC : inorganic-calcium with calcium deficient diet.

(83.6 $\mu\text{g/mL}$)이 낮았으며, 칼슘 처치로 인해 혈중 칼슘 농도의 감소가 억제되는 경향을 나타내었는데, 혈중 칼슘 농도는 유기칼슘군(101.7 $\mu\text{g/mL}$), 밀크칼슘군(96.2 $\mu\text{g/mL}$)으로 높아졌다. 간의 칼슘 농도도 혈중 칼슘과 마찬가지로 감소된 경향을 나타내었으며(DD : 43.4 $\mu\text{g/mL}$, DD+IC : 42.8 $\mu\text{g/mL}$), 칼슘 처치로 인해 증가되었는데, 유기칼슘(49.3 $\mu\text{g/mL}$)은 밀크칼슘(49.7 $\mu\text{g/mL}$) 수준으로 증가되었다. 혈청과 간 모두 유기칼슘군과 밀크칼슘군은 무치치군과 무기칼슘군에 비하여 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 따라서 칼슘 결핍 식이로 인해 혈청과 간의 감소된 칼슘 농도를 칼슘 처치로 증가(무기칼슘은 제외)시킬 수 있는데, 이러한 경향은 칼슘 형태에 따라 정도의 차이를 보이며, 유기칼슘은 무기칼슘보다 증가 정도가 큰 경향을 나타내었다.

혈청 alkaline phosphatase(ALP)는 골형성 지표로서 대사성 골질환 등 골대사 회전이 활발할 때 즉, 골 재형성시 조골세포의 활동이 증가되어 골 교체율이 빠를때 혈청 내 농도가 증가되는 것으로 가장 흔하게 이용되는 골형성 생화학적 지표이다(van Daele *et al* 1994, Woo *et al* 2007). Alkaline phosphatase(ALP)는 골아세포에서 분비되는 효소로 임상에서 가장 흔히 이용되는 골형성 지표 중 하나인데, 골다공증, 골연화증 등 골대사 이상에서 증가되는 소견을 나타낸다. 본 연구에서 ALP는 칼슘 결핍으로 인해 증가되었으며(DD : 1,488.0 U/L) 밀크칼슘(874.2 U/L)과 유기칼슘(886.6 U/L)으로 인해 ALP의 혈중 증가가 유의적으로 억제되었으며, 무기칼슘(1,057.2 U/L)은 유의한 수준은 아니었다. AST 수준은 다른 군들에 비하

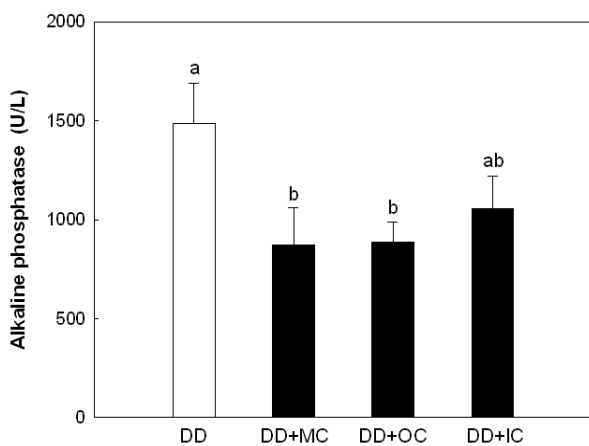


Fig. 3. Alkaline phosphatase levels in serum of SD rats treated with various calcium types for 1 weeks.

Values are mean \pm S.D. for 6 rats. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests. DD : no-treatment with calcium deficient diet, DD+MC : milk-calcium with calcium deficient diet, DD+OC : organic-calcium with calcium deficient diet, DD+IC : inorganic-calcium with calcium deficient diet.

여 유기칼슘이 가장 낮은 값을 가졌지만 유의적으로 차이는

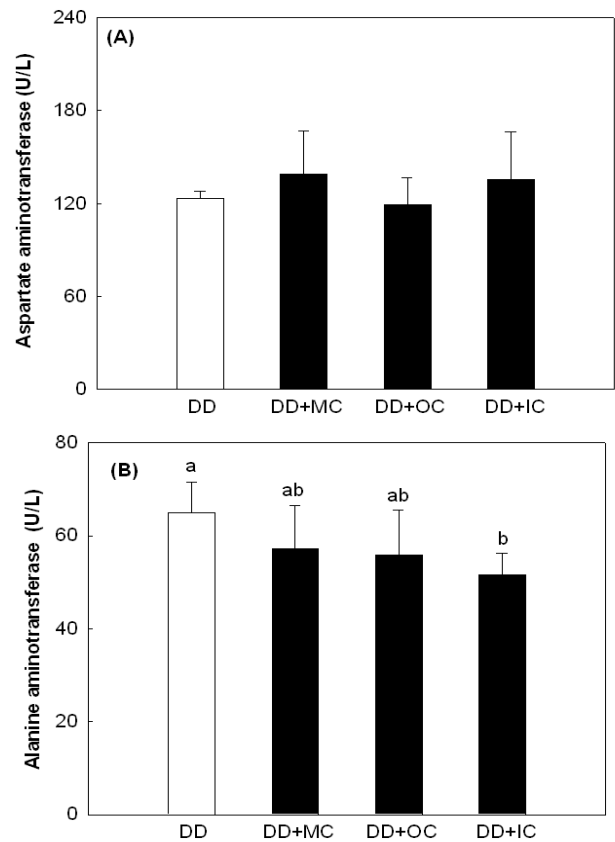


Fig. 4. AST (A) and ALT (B) levels in serum of SD rats treated with various calcium types for 1 weeks.

Values are mean \pm S.D. for 6 rats. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests. DD : no-treatment with calcium deficient diet, DD+MC : milk-calcium with calcium deficient diet, DD+OC : organic-calcium with calcium deficient diet, DD+IC : inorganic-calcium with calcium deficient diet.

Table 4. Body weight gain, food intake, and food efficiency ratio (FER) of experimental groups for calcium bio-availability

Experiment group (6 rats/group) ¹⁾	Body weight gain(g/day)	Food intake (g/day)	FER
DD	1.4 \pm 0.3 ^a	10.6 \pm 1.0	0.1 \pm 0.0 ^a
DD+MC	0.8 \pm 0.3 ^c	10.3 \pm 0.7	0.1 \pm 0.0 ^b
DD+OC	1.5 \pm 0.2 ^a	9.7 \pm 1.2	0.2 \pm 0.0 ^a
DD+IC	1.1 \pm 0.3 ^b	9.9 \pm 1.9	0.1 \pm 0.0 ^a

¹⁾ The same as in Table 2.

^{a-c} Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

없었다. ALT 수준은 칼슘 무처리군에 비하여 칼슘 처리군이 낮아지는 경향을 보였으며, 무기 칼슘군을 제외하고는 통계적 의미가 없었다. 하지만 칼슘 처리군들 사이에서 역시 통계적 차이가 없었다. 따라서 효소 처리 세리신을 이용한 유기칼슘의 투여 시, 간 독성이 없음을 추정할 수 있었다.

요약 및 결론

세리신을 칼슘과 결합력이 우수한 가수분해물로 제조하기 위하여 다양한 효소 처리를 실시하였으며, 세리신 가수분해물을 이용하여 칼슘과 결합력을 검토하였다. 고분자인 세리신 단백질 분말을 효소 처리하지 않은 control과 비교한 결과, flavourzyme(16.2 mg/mL)을 처리한 경우, 처리 전보다 유리 아미노산의 함량이 유의적으로 증가하였다. Favourzyme을 이용하여 가수분해한 실크 단백질에 각각 1,000 ppm과 2,000 ppm이 되도록 CaCl₂을 넣어 교반한 후, 80% 에탄올 침전 후 얻은 상등액과 침전물을 Ca 함량을 측정된 결과, 유기칼슘 1,000 ppm의 칼슘의 양은 상등액(1.4 mg/dL)에 비해 침전(13.7 mg/dL)은 높은 값을 나타내며 유기칼슘 2,000 ppm 역시 상등액(2.3 mg/dL)에 비해 침전(26.7 mg/dL)이 유의적으로 증가하였다.

2주간 칼슘 결핍 식이를 투여한 쥐를 4군으로 분리한 후 형태가 다른 3종의 칼슘을 1주간 투여한 후 체내 흡수된 칼슘의 농도를 측정된 결과를 혈청과 간에서 무처리 대조군(DD : 86.3 µg/mL & 43.4 µg/mL)과 무기칼슘군(DD+HC : 83.6 µg/mL & 42.8 µg/mL)이 유의적으로 낮은 칼슘 농도가 관찰되었다. 형태를 달리한 칼슘을 투여한 밀크칼슘과 유기칼슘군에서 무처리 대조군과 무기칼슘군보다 칼슘의 농도가 혈장 및 간에서 모두 유의적으로 증가하였다. 세리신은 주로 음 전하를 띠어 염기성 기질이 잘 부착되는 특징을 가지고 있다. Sasaki 등의 보고에 따르면 세리신과 미량 원소(Ca, Fe, Mg, Zn)를 동시에 실험 동물에 투여 시 그 흡수율이 증가하였다고 보고하였다. 본 연구진의 연구에서도 세리신 가수분해를 이용하여 칼슘 결합력을 측정된 결과, 높은 결합력을 가지고 있는 것을 확인하였다(Fig. 1). 또한, 이를 이용한 유기칼슘의 경우, 밀크칼슘과 유사한 체내 흡수율을 가지고 있음을 확인하였다(Fig. 2 및 Fig. 3). 본 연구를 통하여 현재 폐기되고 있는 양잠 산업의 부산물인 세리신이 기능성 식품의 소재화 가능성이 있음을 확인하였다. 세리신은 다량의 음 전하를 띠는 단백질로 이를 이용하여 칼슘과 같이 양이온을 띠는 무기질과 결합시켜 영양 보충제를 제조할 경우 무기질과의 결합력도 우수하며, 체내 흡수율 또한 우수한 소재임을 확인할 수 있었다. 그러나 본 연구는 짧은 기간 수행된 연구 결과로 보다 긴 기간 동안의 연구가 수행될 필요가 있으며, 세리신과 결합된 칼슘이 어떻게 흡수되는 지에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다. 본 연구는 몇 가지 극복해야 할 연구를 가지고 있으나, 현재

폐자원으로 취급되는 세리신의 활용 가능성이 있음을 확인하였고, 특히 이를 이용한 유기칼슘의 경우 밀크칼슘과 유사한 활성을 가지고 있음을 본 연구를 통해 확인할 수 있었다.

문헌

- 통계청 (2009) 2008년 국민건강영양조사. p 158.
- Abrams SA, Stuff JE (1994) Calcium-metabolism in girls-current dietary intakes lead to low rates of calcium-absorption and retention during puberty. *Am J Clin Nutr* 60: 739-743.
- Cashman KD (2002) Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *Br J Nutr* 87 Suppl 2: S169-177.
- Ferrando AA, Green NR, Barnes KW, Woodward B (1993) Microwave digestion preparation and ICP determination of boron in human plasma. *Biol Trace Elem Res* 37: 17-25.
- Habeeb AF (1966) Determination of free amino groups in proteins by trinitrobenzenesulfonic acid. *Anal Biochem* 14: 328-336.
- Han JS, Lee MH, Kim MS, Minamide T (2000) The study for utilization of pork bone as calcium reinforcement diet. *J East Asian Soc Dietary Life* 10: 153-159.
- Heaney RP (1993) Nutritional factors in osteoporosis. *Annu Rev Nutr* 13: 287-316.
- Johnson S (2001) The multifaceted and widespread pathology of magnesium deficiency. *Med Hypotheses* 56: 163-170.
- Kim YM, Yoon GA, Hwang HJ, Chi GY, Son BY, Bae SY, et al (2004) Effect of bluefin tuna bone on calcium metabolism of the rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 101-106.
- Lee KG, Yeo JH, Lee YW, Kweon HY, Kim JH (2001) Bioactive and skin-compatible properties of silk sericin. *Korean J Seric Sci* 43: 109-115.
- Lee KH (2005) Application of silk sericin as a polymer material. *Polymer Science and Technology* 16: 577-587.
- Lee SH, Chang SO (1994) Comparison of the bioavailability of calcium from anchovy, tofu and nonfat dry milk (NFD) in growing male rats. *Korean J Nutrition* 27: 473-482.
- Lee YS, Oh JH (1995) Effects of bovine bone ash and calcium phosphate on calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis model rats. *Korean J Nutrition* 28: 431-441.
- Matkovic V, Kostial K, Simonovic I, Brodarec A, Buzina R (1977) Influence of calcium intake, age and sex on bone. *Calc Tiss Res* 22: 393-396.
- Pommer K (1995) New proteolytic-enzymes for the production of savory ingredients. *Cereal Food World* 40: 745-748.
- Recker RR, Bammi A, Barger-Lux MJ, Heaney RP (1988) Cal-

- cium absorbability from milk products, an imitation milk, and calcium carbonate. *Am J Clin Nutr* 47: 93-95.
- Sasaki M, Yamada H, Kato N (2000) Consumption of silk protein, sericin elevates intestinal absorption of zinc, iron, magnesium and calcium in rats. *Nutr Res* 20: 1505-1511.
- van Daele PL, Birkenhager JC, Pols HA (1994) Biochemical markers of bone turnover: An update. *Neth J Med* 44: 65-72.
- Wanli L, Yuhui T, Xiaofei S, Min Z, Guanxin S (2005) Relationship between BMD and Zn, Cu, Ca levels in the hair and meal in elderly people. *J Huazhong University of Science and Technology* 25: 97-99.
- Woo JH, Lee HJ, Sung IH, Kim TH (2007) Changes of clinical response and bone biochemical markers in patients with ankylosing spondylitis taking etanercept. *J Rheumatol* 34: 1753-1759.
- Worldway (2001) Recovering method of sericin. Patent number 10-2001-0057987 Korea.

접 수: 2010년 7월 13일
 최종수정: 2010년 9월 29일
 채 택: 2010년 10월 18일