韓國營食誌 5(1) 75~80 1976

J. Korean Soc. Food Nutr. 5(1) 75~80 1976

硬蛋白質의 利用에 關한 硏究

徐 弘 吉

釜山實業專門學校 食品營養學科

Studies on the Utilization of Keratins

by

Hong-Kyl Suh

Department of Food & Nutrition, Busan Vocational College

Abstract

The development of protein utilization with keratin(cattle hair and human hair) have heen investigated. The include a) conditioning of hydrolysis of keratin, b) isolation of crude protein, c) pepsin HCl digestibility of isolated protein, d) the amino acid composition of isolated protein and amino acid concentrate.

The results are obtained as follow ;

1. Human hair and cattle hair were softened and hydrolysed with hot dilute alkali(especially 1% NaOH)
2. Crude protein were isolated from hydrolysed keratin by means of different solubility and isoelectric point.
3. The protein isolated was of good quality on the point of color, protein content and pepsin digestibility.
4. The amino acid concentrate obtained by acids processing was of good quality on the point of color, taste and amino acid composition.

緖 論

蛋白質은 人間에게 절대적으로 필요한 영양소로서 이의 섭취량과 그 質은 선진국에 속한 사람에게도 문제가 될 뿐 아니라 우리 나라는 물론 아시아·아프리카 등 저개발국으로 갈수록 蛋白質의 절대량이 부족한 형편이므로 蛋白質資源의 개발은 시급한 문제가 되고 있다. 식량 생산의 증가가 인구 증가를 따르지 못하므로 앞으로의 식량난은 더욱 심각해질 수밖에 없으나 장래의 식량난 해결책으로 S. C. P(single

cell protein)[1], L. P. C(leaf protein concentrate)[2] 등은 아직 연구 단계에 머물러 있다고 보는 것이 좋겠다. 그러므로 이제까지 活用되지 않은 자원을 개발하여 이용하는 것이 식량난 해결의 한 방편이 될 수 있는바 keratin이 이 예로 생각된다.

Keratin은 모발·牛毛·羽毛 등을 구성하는 硬蛋白質로서 蛋白質이 90% 이상 함유되어 있어 蛋白質資源으로 개발될 소지가 크다. 그러나 keratin은 peptide間의 연결이 disulfide bond를 이루고 있어 物理化學的인 安定性이 강하고 일반 단백질溶媒에도 不溶性이며[3),4)] 消化酵素로 peptide가 분해되지 않으므로 蛋白質로 이용하기가 어려웠다. Keratin을 蛋白質資源으로 이용하기 위해서는 disulfide bond를 파열시켜 peptide결합을 분해시켜야 하고, 蛋白質을 불순물로부터 분리해내어야 한다. Keratin을 구성하고 있는 아미노산은 lysine, methionine, tryptophan등 필수아미노산이 제한된 반면 비필수아미노산은 풍부하여 훌륭한 蛋白質資源으로 보기는 어려우나[5),6),7)], 최근 아미노산의 醱酵工業 및 合成工業의 발달로 이러한 필수아미노산은 安價로 생산되고 있으므로[10] keratin을 처리한 蛋白質 혹은 amino acid에 이러한 제한된 아미노산 2~3종을 强化시키면 蛋白質資源으로 훌륭히 이용될 수 있을 것이다.

Keratin중에서 羽毛는 침낭 등에 솜 대신 이용되기도 하고, 豚毛는 brush용으로 대부분 활용되고 있으므로 모발과 牛毛가 개발의 여지가 많을 것으로 생각된다. 모발은 이발 후에 얻어지는 것으로 긴 모발을 제외하고는 대부분 폐기되고 있으며 이의 수집 가능량은 年間 10,000 ton 이상으로 추정된다. 牛毛는 피혁공장에서 가죽다루기 하기 전에 깎아서 폐기되는 것으로 이 또한 상당량에 이를 것으로 추정된다. 모발 및 牛毛의 이용에 대한 연구는 대부분 고압증기로 처리하여 사료로 이용하는 것[6),8)]이고 alkali에 의한 환원처리로 Crewther[5] 및 金[9] 등의 연구가 있으나 이제까지 實用化 안된 것은 불순물 제거 방법이 없었고, 또 처리에 대한 조건 규명이 없었기 때문인 것으로 생각된다.

저자는 keratin을 蛋白質資源로 이용하기 위해서는 불순물이 분리 제거된 어느 정도 순수한 상태의 蛋白質 및 아미노산을 만들어 내는 것이 가장 필요한 일로 생각되어 이에 대한 실험을 행한바 몇 가지 知見을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

材料 및 實驗方法

1. 試　料

① 牛　毛 : 시내 피혁공장에서 가죽다루기 과정에서 깎아서 폐기하는 것을 수집하여 異物을 골라내고 세척하여 풍건한 것을 사용하였다.

② 모　발 : 시내 이발소에서 이발 후 폐기되는 단모(3~5 cm)를 수집하여 위와 같이 처리하여 사용하였다.

2. 一般成分分析

① 試料건조품을 一般食品分析法[11]을 적용하여 粗蛋白質, 粗灰分 및 粗纖維量을 구하였다.

② Pepsin HCl digestibility[12] : 알칼리로 加水分解하여 분리해 낸 단백질의 pepsin에 의한 分解 정도를 보기 위하여 試料蛋白質 1 g에 0.076*N*-HCl 용액으로 0.2%의 pepsin 용액을 만들어 이 용액 80 m*l*를 가한다. 이것을 마개하여 45°C로 유지되는 진탕기에 넣고 16시간 진탕하여 酵素分解시킨다. 여과하고 잔사는 온수 및 알코올로 각 2회 세척하여 내용물을 Kjeldahl 분해하여 粗蛋白質量을 구하여 다음 計算에 의하여 *in vitro* 消化率을 測定하였다.

$$\text{消化率} = 100 - \left(\frac{\text{不消化 殘渣의 질소} \times 6.25}{\text{試料의 粗蛋白質量}} \times 100\right)$$

③ 粗蛋白質의 아미노산 組成 : 試料의 아미노산分析은 Lamkin and Gehrke(1965)[13], Gehrke et al (1968 a, b)[14),15)]의 方法에 따라 分析하였다.

④ Keratin의 알칼리 加水分解 및 粗蛋白質의 分離 : 牛毛 및 모발의 세척 풍건한 試料에서 alkali에 의한 軟化 加水分解 및 分離條件을 검토하기 위하여 試料 10 g을 取하여 Fig. 1과 같이 알칼리 100 m*l*를 加한 후 100°C로 가열하여 加水分解가 상당히 진행되었을 때 同量의 물을 가하여 더욱 가열하고 중화시켜 溶解度差 및 等電點 pH를 이용하여 粗蛋白質을 분리하였다.

⑤ 牛毛 및 모발의 酸에 의한 加水分解[16),17)] : 牛毛 및 모발을 酸으로 加水分解하여 아미노산으로 만들기 위하여 목이 가는 flask에 20% 酸 150 m*l*를 넣고 試料 50 g을 넣어 냉각관을 연결하여 Fig. 2와 같이 加水分解하였다. 分解정도를 알기 위하여 一定時間 간격으로 分解液의 一部를 取하여 뷰렛반응을 보아 종말점을 구하였다. 완전히 加水分解되면 同量

의 물을 加하고 여과하여 humin 질을 제거하였다. 이것을 알칼리로 中和하고 活性炭으로 탈색시켜 농축하여 amino acid concentrate를 만들었다.

結果 및 考察

1. Keratin의 alkali에 의한 加水分解 및 蛋白質 分離

Keratin은 알칼리에는 저농도에서도 단시간에 軟化·分解가 잘 되었다. 牛毛 및 모발을 알칼리용액에 넣고 가열하여 저분자의 蛋白質로 分解시킬 때 NaOH, KOH, $Ca(OH)_2$ 세 종류의 알칼리를 사용하여 비교해 보니 NaOH와 KOH는 비슷하나 $Ca(OH)_2$는 열등하였다. $Ca(OH)_2$ 용액에 牛毛 및 모발을 담그고 常溫에서 오랜 시간 放置해 두어도 keratin은 軟化分解하는 것을 볼 수 있다. 그러나 短時間에 熱處理하여 분해시키기에는 NaOH가 가장 좋은 것 같았다. 牛毛와 모발의 分解 정도를 비교하면 모발이 더 강인하여 시간이 약간 더 소요되는데 이것은 굵기에 관계되는 것으로도 생각된다. 또 cystine의 함량에 따라 결합의 강도가 높아진다고[6] 하는바 cystine 함량은 牛毛보다 모발이 높다. Keratin의 軟化分解는 알칼리의 농도와 처리 온도 및 시간에 비례하였고 투입하는 모발의 量에 반비례하는 것으로 보였다. 실험 결과 NaOH 溶液 1%에서 液量의 $\frac{1}{10}$의 牛毛 및 모발을 투입하여 100°C에서 20~25分 가열하여 分解시키는 것이 가장 좋았다. 이때 keratin은 연화되어 팽윤하고 부피가 수배나 부풀어 오르고 손으로 문지를 때 한천같이 눌려 퍼지고 흐물흐물해졌다. 牛毛 및 모발의 원료는 아무리 깨끗이 세척해도 모래·종이 등 협잡한 異物을 완전히 제거하기란 거의 불가능하였는데, 軟化시켜서 바로 사료로 사용하는 Crewther[5] 및 金[9] 등의 方法으로는 이런 협잡물이 그냥 남아있을 뿐 아니라, 이외 melanin 색소, humin 質, fiber 등 불순물도 그대로 남는다. Fig. 1은 이 문제를 해결하여 비교적 순수한 蛋白質을 分離해 내고자 고안한 方法이다. 1% NaOH 溶液 100 m*l*에 keratin 試料 10 g을 넣고 100°C로 가열하면서 저어준다. 20~25分間 keratin을 충분히 연화시킨 후에 처음과 同量의 물을 加하여 10分 더 가열해 준다. 이때 melanin 색소나 fiber 등은 더 이상 分解되지 않고, 팽윤한 단백질은 더욱 용해가 촉진되었다. 이것을 식혀서 酸을 가해 中和시키면 pH 6에서 異物 및 불순물은 대부분 응고하여 침전되었다. 이것을 cheese clothe로 여과하고 여액은 pH 4로 조정하면 蛋白質은 침전되어 회수되었다. 中和할 때 강렬한 H_2S 臭가 발생하는데, keratin의 disulfide bond가 파열되고 생긴 유화수소로 생각된다. 蛋白質 침전은 맨 처음 가라앉는 부분은 적흑색에 가깝고 나중으로 침전될수록 회백색에서 연한 회갈색으로 된다. 뒤의 침전일수록 蛋白質의 순도는 높아지므로 처음의 침전물은 조작을 다시 한번 반복할 필요가 있다. 상징액은 투명한데 이것을 경사하여 농축하면 상징액에서 水溶性 蛋白質을 회수할 수 있었다. 分離된 蛋白質은 60°C 정도에서 응고하여 점탄성과 응집력을 가지는 肉狀物質이 되었다. 이때 얻어지는 殘渣, 分離蛋白質 및 水溶性 蛋白質은 2 : 7 : 1이었다. 이 分離蛋白質 및 原料 keratin의 一般成分 및 pepsin-HCl digestibility는 Table 1과 같다. 分離蛋白質은 牛毛에서 분리된 것이 水分 10.1%, 粗蛋白質 88.7%로서 거의 대부분이 단백질이고 모발에서 分離된 것은 水分 10.1%, 蛋白質 87.6%로 역시 대부분 蛋白質로 되어 있음을 알 수 있다. 이 둘의 *in vitro* digestibility는 거의 100%로서 消化酵素에 의해 거의 대부분이 消化利用될 것으로 생각된다. 殘渣의 粗灰分이 특히 높은 것은 異物인 모래 때문인 것으로 생각이 된다. 分離蛋白質의 아미노산 조성은

Table 1. Composition of raw and isolated protein and their pepsin digestibility(%)

item / sample	moisture	crude protein	crude fiber	crude ash	pepsin HCl digestibility
hair	6.4	89.8	1.5	2.2	6.8
residue	10.3	65.1	5.3	10.5	68.5
isolated protein	10.1	87.6	0.2	0.8	97.5
cattle hair	6.2	92.2	1.6	2.2	8.5
residue	10.5	68.0	4.8	10.2	71.5
isolated protein	10.1	88.7	0.3	0.7	98.5

Table 2 와 같다.

Table 2. Amino acid composition of isolated protein from keratin. (% total N)

sample / amino acids	standard protein*	protein from hair	protein from cattle hair
alanine		5.2	2.4
glycine		5.1	7.0
isoleucine	4.2	4.0	4.0
leucine	4.8	8.0	9.3
methionine	2.4	0.5	0.4
phenylalanine	2.8	2.8	2.2
glutamic acid		8.8	20.1
valine	4.2	5.3	5.7
threonine	2.8	2.3	7.0
proline		6.0	8.3
serine		5.6	10.6
lysine	4.2	3.0	4.1
aspartic acid		3.3	4.7
tyrosine	2.8	2.5	2.0
arginine		16.5	9.8

* F. A. O

蛋白質을 알칼리 分解하면 disulfide bond의 파괴로 cystine의 量은 감소하고 他아미노산의 組成에 변화가 생긴다는 Groot[18] 의 보고가 있는데, Table 2를 酸分解한 Table 3과 비교할 때 isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, valine, alanine, glutamic acid, glycine 등이 증가된 것으로 나타났다. 이 分離蛋白質을 F. A. O의 표준蛋白 구성과 비교해 보면 필수아미노산 중에서 isoleucine, leucine, phenylalanine, valine, threonine, lysine, tyrosine 등은 표준단백구성보다 비슷하거나 많고 methionine은 많이 부족하다. 이것은 뒤에 언급하는 것과 같이 安價하게 强化시킬 수 있다. 비필수아미노산은 一般食品과 비교해서 상당히 풍부한 것으로 생각된다.

2. Amino acid concentrate의 제조

牛毛 및 모발의 酸分解는 목이 가는 flask에서 20% 酸 150 m*l*에 試料를 50 g까지 잔뜩 틀어넣고 Fig 2와 같이 분해 處理하는 것이 경제적이었다. 酸은 20% HCl 및 H_2SO_4를 사용했는데 둘 다 비슷한 결과를 보이나 H_2SO_4는 中和劑로 $CaCO_3$를 쓰게 되므로 나을 것 같다. Flask 위에 냉각관을 연결하고 사욕 혹은 直火上에서 가열 분해하면서 때때로 흔들어 주었다. 10~12 시간 分解하여 biuret 反應으로서 종결점을 구하고, 완료 후 同量의 물을 加하고 여과한다. 이때 humin 질은 완전히 제거되지 않고 一部 남아서 적흑색을 띤다. 알칼리로 중화시켜 pH 4.5정도에 이르면 나머지 humin 질은 침전되어 제거된다. 여기에 活性炭을 가하여 색소 및 불순물을 흡착해서 제거하고 농축하면 amino acid concentrate를 만들 수 있었다. 이렇게 만들어진 아미노산 농축물은 거의 완전히 아미노산으로 구성되어 있고, 20% H_2SO_4로 加水分解한 것의 아미노산 조성은 Table 3과 같다.

Table 3. Amino acid composition of amino acid concentrates from keratin. (% total N)

sample / amino acids	standard protein*	protein from hair	protein from cattle hair
alanine		2.8	2.4
glycine		4.5	4.0
isoleucine	4.2	2.0	3.4
leucine	4.8	3.9	7.8
methionine	2.4	0.4	0.4
phenylalanine	2.8	1.1	2.0
glutamic acid		7.0	21.0
valine	4.2	4.2	5.1
threonine	2.8	4.4	7.5
serine		7.4	9.6
lysine	4.2	3.2	5.1
aspartic acid		3.5	4.6
arginine		16.2	10.3
tyrosine	2.8	1.3	2.5

* F. A. O

一般的으로 酸分解하면 아미노산 組成에는 변화가 생기지 않는 것으로 알려져 있다[17]. 이 때의 결과를 F. A. O의 표준단백구성과 비교해 보면 leucine, valine, threonine 등은 표준단백구성보다 비슷하거나 많고 lysine, methionine 등은 부족하다. lysine, methionine 및 tryptophan 등은 대량 生産되어 비교적 安價로 구입할 수 있는데 lysine은 국내 味元회사에서, methionine 및 tryptophan은 日本 味の元에서 食用品으로 각각 kg당 5弗, 4弗, 70弗로 구득

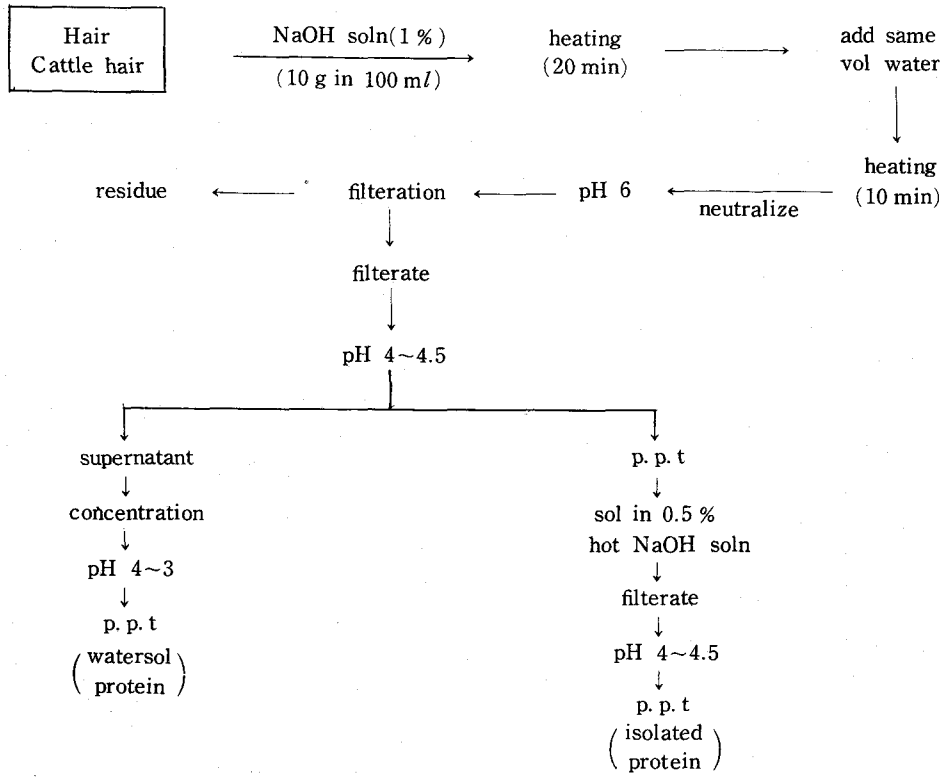

Fig. 1. Hydrolysis and isolation from keratin (hair, cattle hair)

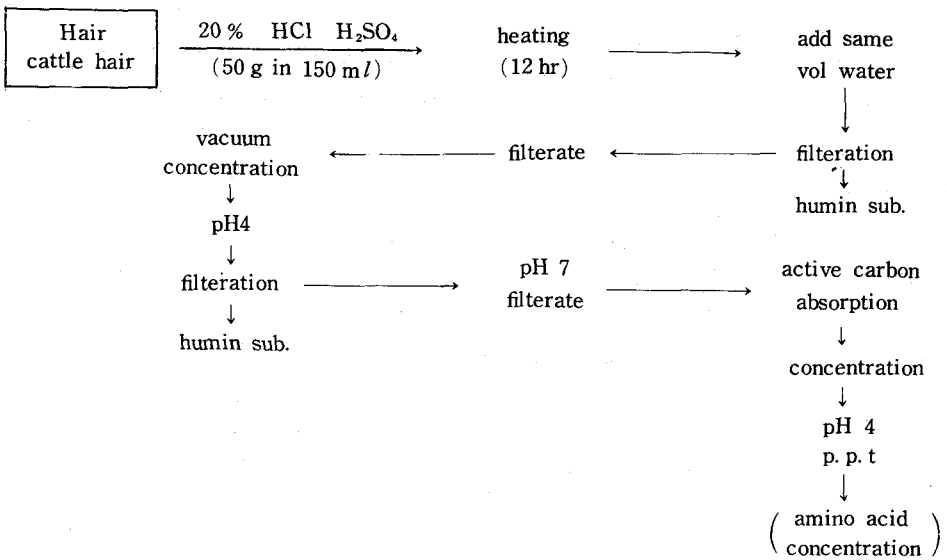

Fig. 2. Preparation of amino acid concentrate from keratin.

할 수 있다.

이상의 결과에서 牛毛 및 모발의 分離蛋白質 및 amino acid concentrate는 필수아미노산 2~3種을 安價로 强化시켜 훌륭한 蛋白質資源으로 利用할 수 있을 것으로 사료된다. 動物試驗은 次後 보고에서 다루고자 한다.

要 約

牛毛 및 모발을 蛋白質資源으로 이용하고자 그 처리 加工方法을 실험하여 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

① 알칼리 分解는 NaOH 1% 溶液에 牛毛 및 모발을 10% 투입하여 100°C에서 25~30分 가열 分解하면 팽윤하여 軟化分解된다.

② 이것을 humin質, fiber 등 불순물과 異物에서 蛋白質을 分離해 내는 데는 용해도差 및 等電點 pH를 이용하여 分離蛋白質을 만들 수 있었다.

③ 分離蛋白質은 pH 3~4.5의 等電點 pH를 가졌고 이의 組成은 대부분이 蛋白質로 되어 있고 amino acid조성도 비교적 좋아서 蛋白質로 이용할 만했다.

④ 酸分解는 20%의 HCl, H_2SO_4 용액에 液量의 30%의 keratin을 투입하여 분해시킴이 좋았고 불순물은 溶解度差 및 흡착제로 제거할 수 있었다.

⑤ 이때의 amino acid concentrate는 分離蛋白質과 같이 몇 종의 필수아미노산을 安價로 强化시키면 훌륭한 蛋白質資源으로 活用할 수 있을 것으로 사료된다.

參考文獻

1) 김 상순 外 : 食品微生物, 修學社 p. 19 (1974)

2) 최 상·김 건치 : 한국식품과학회지 4, 1 (1972)

3) Haurowitz, Felix: The Chemistry and Functions of Protein(2nd ed.) Academic press N.Y. p. 217 (1963)

4) Wall J. S. : J. Agr. Food Chem. 1914 (1971)

5) Crewther W. G. : Advances in protein chemistry 20 : 191~330 (1965)

6) Moran E. T. : Poultry Sci, 46, 548 (1967)

7) Moran E. T., J. D. Summers : Poultry Sci, 47, 570 (1968)

8) 이 영철 : 韓國畜産學會誌 12, 3 (1970)

9) 金春洙 外 : 韓國畜産學會誌 14, 1 (1972)

10) 金子武夫外 : アミノ酸工業, 講談社 サイエンテイフイワ, Tokyo (1973)

11) 이 현기·이 성우 外 : 食品化學實驗, 修學社 (1975)

12) Association of official agricultural chemists : Methods of analysis(10th ed.), Washington D. C (1965)

13) C. W. Geherke : Analyt. Chem 37, 383 (1965)

14) R. W. Zumwalt, L. L. Wall : J. Chromatog, 37, 398 (1968)

15) D. Koach, R. W. Zumwalt, P. L. Stalling and L. L. Wall : Quantitative Gasliquid Chromatograph of Amino acids in Proteins and Biological Substances, Analytical Biochemistry Laboratory Inc, Columbia, Missouri (1968)

16) 유 태종 外 : 食品學實驗, 修學社 (1975)

17) 김 재욱 : 農産加工學, 鄕文社 p. 172 (1973)

18) De Groot, A. D., P. Slump : J. Nutrition 98, 45 (1969)