

글루텐 가수분해물에 의한 칼슘의 가용화 및 체내이용성 증진 효과

이연숙 · 신미경 · 이윤동* · 이현수*

서울대학교 농업생명과학대학 농가정학과,
(주) 삼양 제넥스 연구소*

Enhanced Effect of Gluten Hydrolysate on Solubility and Bioavailability of Calcium in Rats

Lee, Yeon Sook · Shin, Mee Kyoung · Lee, Yun Dong* · Lee, Hyun Soo*

Department of Home Economics, College of Agriculture and Life Sciences,
Seoul National University, Suwon, Korea
Samyang Genex Institute,* Daejeon, Korea

ABSTRACT

Dietary peptides have recently received attention regarding their beneficial effects on nutrient metabolism since the caseinphosphopeptides obtained from casein hydrolysate are generally believed to enhance the intestinal absorption of Ca. The two experiments were conducted to investigate the effects of various hydrolyzed fractions of gluten on Ca bioavailability. The gluten hydrolysate of dietary components was produced by enzymatic hydrolysis of gluten whereas gluten hydrolysate supernatant and its precipitate resulted from centrifugation. In experiment I, the rats were fed for 4 weeks the 4 kinds of diets containing same amount of nitrogen and calories and differing only in the forms of nitrogen sources. The diets were gluten (G), gluten hydrolysate(GH), gluten hydrolysate supernatant(GHS) and gluten hydrolysate precipitate(GHP). Determination was made for the body weight gain, serum Ca concentration, Ca solubility in small intestinal contents, bone weight, length and strength, bone ash and Ca content, and Ca balance, respectively. No significant difference was noticed as regards growth, serum Ca, and bone dimension and Ca content among rat groups. More significant increase was observed with regard to Ca absorption and intestinal solubility in the rats receiving the GH or GHS diet which contained crude gluten peptides, than in those subjected to G or GHP diet. In experiment II, *in vitro* determination for Ca solubility was made to ascertain the mechanism responsible for the effects of gluten peptides on Ca absorption. The 10mM Ca in potassium phosphate buffer solution(pH7.0) incubated for 3 hours at 37°C by the GHS fraction, was observed to be capable of increasing the Ca solubility at 5~25mg/ml concentration of gluten peptides. These observations suggest that the gluten peptides produced from gluten hydrolysate may enhance the Ca absorption efficiency by increasing the solubility of Ca in small intestine. (Korean J Nutrition 30(1) : 40~47, 1997)

KEY WORDS : gluten · gluten hydrolysate · Ca solubility · Ca bioavailability.

책임일 : 1996년 11월 14일

서 론

식품 단백질의 영양은 그 기본적 기능 즉 질소원, 아미노산 공급원, 나아가서는 체내에서 기능하는 수많은 체 단백질 대사에 대한 역할이라는 측면에서 강조되어 왔다. 따라서 식품 단백질의 영양 평가에 있어서도 단백질의 양적 평가와 더불어 아미노산 조성에 의한 질적 평가가 중심으로 되어 왔다. 최근 식품 단백질의 아미노산 공급원으로서의 기능 이외에도 식이 단백질 유래의 펩타이드의 기능에 대한 연구 보고가 발표되면서 식품 단백질 영양에 대한 새로운 인식을 갖게 되었다. 식이 단백질 유래의 펩타이드의 생리기능에 관한 발상은 첫째, 생체내에 생리기능을 갖는 펩타이드가 다수 존재하며, 이것이 전구체 단백질로부터 생성된 것임이 밝혀지고 있으며, 둘째 단백질의 일차구조가 점차 밝혀짐에 따라 식품 단백질의 아미노산 배열내에 생체내 생리 기능성 펩타이드와 유사한 구조가 존재한다는 것에서 비롯된다. 이러한 관점에서의 실험적 approach로서 우선 단백질 중 생리 기능을 갖는 펩타이드가 *in vivo* 또는 *in vitro* 소화 효소에 의해서 생성되는가, 효소에 의해서 생성된 펩타이드가 생체에 유리한 생리기능을 나타내는가, 또는 펩타이드가 소화관에서 흡수 가능한가에 대한 검토이다^{1~2)}.

근래 상당수의 보고에서 단백질의 *in vivo* 소화 과정 중 또는 *in vitro* 가수분해물 중 여러 가지 분자 크기가 다양한 펩타이드류가 단백질 종류에 따라 다양하게 생성되며, 이것들이 여러 가지 생리 기능 및 생체조절기능을 갖는 것으로 보고되어 왔다^{3~6)}.

실례로 우유 단백질인 casein의 소화 과정 중 casein 유래의 casein phosphopeptide(CPP)가 생성되며, 이 펩타이드가 소장내에서 이온화된 칼슘과 복합체를 형성하여 칼슘 용해도를 증진시켰다^{6~8)}. 또 Casein으로부터 분리정제된 CPP를 흰쥐에게 급여했을 때 소장내 가용성 칼슘량 및 체내 칼슘 이용성이 유의적으로 증가하였다⁹⁾. 현재 CPP는 식품 산업으로 대량 생산되어 칼슘 흡수 증진제로서 식품에 첨가되고 있으며, 실제로 CPP를 사람과 여러 실험동물에게 급여했을 때 칼슘 흡수량은 유의적으로 증가되었다^{8~11)}.

CPP이외에도 여러 식품단백질 유래의 외인성 opioid 펩타이드¹²⁾, 대두단백질 유래의 혈청 콜레스테롤 저하 효과를 나타내는 펩타이드¹³⁾, 또는 angiotensin converting enzyme(ACE) 활성 저해 효과를 나타내는 펩타이드^{1~2)} 등이 소화 과정 중 또는 인공소화에 의해 생성되는 것으로 보고되고 있다. 이와 같이 소화 과정 중 소화관 내에 생성되는 생리 기능성 펩타이드들은 식품 중

또는 식품의 가공 저장 중에 잠재적으로 존재하며 *in vivo* 소화과정 또는 *in vitro* 인공소화에 의해서 동정, 분리, 정제될 수 있으므로 식품 산업 공학의 발전과 함께 금후 식품 신소재로서 다양한 식이 펩타이드류가 개발되고 활용될 것이 크게 기대된다^{1~2)}.

글루텐은 밀, 대두, 옥수수 등 식물성 식품의 주요 단백질로서 그 아미노산 조성으로 볼 때, 제 1 제한 아미노산이 lysine으로 단백질의 질적인 면에서 낮게 평가되고 있다. 한편 글루텐은 glutamic acid의 함량(24.5g/100g protein)이 완전 단백질로 평가되는 egg whole protein(12.6g/100g protein)에 비해 2배 정도 높다. Glutamic acid는 쥐의 성장면에서 비필수 아미노산으로 분류되고 있으나, 화학구조상 음(-)으로 하전되어 극성을 띠는 아미노산으로 무기질의 양이온과의 결합력이 높아 이들의 체내 이용성에 다소간 영향을 미칠 것으로 사료된다. 특히, 소장내에서 불용성 염 형성으로 흡수율이 저하되는 칼슘이온과의 가용성 복합체 형성이 가능할 것으로 생각되며, 이것이 어떤 방법으로든지 칼슘 흡수에 영향을 미칠 것으로 예상된다. 이러한 점에서 볼 때, 글루텐 단백질은 아미노산 조성으로서의 질적 평가가 낮지만, 글루텐 펩타이드로서의 그 영양적 평가는 다르게 평가될 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 글루텐 펩타이드의 영양적 의의와 생리적 기능을 밝히고자 *in vivo* 또는 *in vitro*의 두 가지 실험을 수행하였다. 즉, 실험 1에서는 옥수수 글루텐의 *in vitro* 소화물인 글루텐 가수분해물(gluten hydrolysate), 가수분해물의 TCA 처리 후 원심 분리에 의해 얻어진 상등액(gluten supernatant)과 침전물(gluten precipitate)의 각 분획을 실험식이에 첨가하여 소화관내 칼슘의 가용화 및 체내 이용성에 미치는 효과를 글루텐 첨가 식이와 비교 검토하였다. 실험 2에서는 글루텐 펩타이드(gluten supernatant)의 *in vitro* 칼슘 가용화 효과를 검토하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물의 사육과 식이(실험 1)

글루텐 가수분해물의 섭취가 칼슘 체내 이용성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 체중 110~120g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rats, male; 서울대학교 실험 동물 사육장에서 구입)를 군 당 8마리씩 4군의 실험식이군으로 체중에 따라 완전임의 배치하였다. 실험식이 군은 질소급원에 따라 각각 글루텐(gluten : G), 글루텐 가수분해물(gluten hydrolysate : GH), 글루텐 가수분해물의 상등액(gluten hydrolysate supernatant : GHS),

Table 1. Composition of diets in experiment I (g/kg)

Ingredients	Gluten	GH	GHS	GHP
Gluten	100	—	—	—
GH ¹⁾	—	100	—	—
GHS ²⁾	—	—	100	—
GHP ³⁾	—	—	—	100
ISP ⁴⁾	100	100	100	100
Starch	643	643	643	643
Corn oil	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50
Min. Mix. ⁵⁾	35	35	35	35
Vit. Mix. ⁶⁾	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2
PEG #4000 ⁷⁾	10	10	10	10

- 1) Gluten hydrolysate
- 2) Gluten hydrolysate supernatant
- 3) Gluten hydrolysate precipitate
- 4) Isolated Soy Protein
- 5) Mineral mixture(AIN - 76)
- 6) Vitamin mixture(AIN - 76)
- 7) Polyethylene glycol #4000

글루텐 가수분해물의 침전물(gluten hydrolysate precipitate : GHP) 섭취군으로 나누었다.

실험 동물들은 Shoe-box cage에서 분리 사육하였으며, 사육실의 환경은 일정하게 유지하였다(온도 22±2°C, 상대 습도 65±5%, 조명 6:00 a.m.~6:00 p.m.). 실험식이와 탈이온수는 완전 자유 급식 방법(ad libitum)으로 4주간 공급하였으며, 실험 기간 동안 2일마다 식이 섭취량과 증체량을 기록하였다. 또 실험 종료 전 4일간의 대사 실험을 수행하였다.

Table 1에 제시한 바와 같이 실험식이의 조성은 대체로 AIN-76 정제식이 패턴을 따랐다. 단백질 함량은 20%를 기준으로 하였으며, 기본적으로 대두 단백질(isolated soy protein, ISP : Ralston Purina Intl. Co.)이 10% 함유하도록 하였다. 나머지 10%를 실험군에 따라 우수수 글루텐(삼양제넥스연구소), 글루텐 가수분해물(GH : 삼양제넥스 연구소에서 글루텐의 papain 처리에 의해 제조된 것으로 단백질, 펩타이드, 아미노산의 혼합물임), 글루텐 가수분해물의 상등액(GHS : GH에 TCA(trichloroacetic acid) 처리 후 원심분리(5,660×g, 30min)에 의해 얻어진 상등액의 농축 및 동결건조에 의해 제조된 것으로 대부분이 펩타이드이고, 일부가 아미노산으로 구성되었음) 및 글루텐 가수분해물 침전물(GHP : GHS를 분리시 얻어진 침전물 분획으로 TCA 침전 단백질로 구성되었음)을 함유하도록 하였다. 칼슘과 인의 함량은 모든 실험식이에서 칼슘 0.52%, 인 0.4%이었으며, 소화관 내 식이 이동 marker로서 PEG(polyethylene glycol #4000, Yakuri chemicals)를 식이 중 1% 함유하도록

하였다.

2. 글루텐 펩타이드의 *in vitro* 칼슘 가용화 효과(실험 2)

상기에 기술한 글루텐 가수분해물 상등액(GHS)은 그 조성이 대부분 펩타이드로 구성되어 있었기 때문에 본 실험에 그대로 사용되었다. GHS 함량이 5~25mg/ml로 되도록 20mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 7종의 GHS 함량별 시험용액을 만들었다.

칼슘용액은 동일한 buffer를 사용하여 10mM 농도 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)가 되도록 만들었다. 실험은 GHS 용액과 Ca 용액을 동량(3ml씩)을 buffer 용액(6ml)에 혼합하여 37°C에서 3시간 동안 incubation 한 후, 원심분리 (11,300×g, 10min)에 의해 가용성 획분을 분리하였다. 가용성 획분 중 칼슘 함량은 OCPC법(o-Cresolphthalein Complexon)을 이용한 칼슘 측정용 Kit(Sigma)을 사용하여 측정하였다.

3. 시료수집

실험 최종일에 실험 동물을 14시간 절식시킨 후, 식이를 1.5시간 동안 급여하였다. 식이 섭취 종료 1시간 후, sodium pentobarbital(Pitman-Moore, Inc., USA)을 체중 100g당 5mg씩 복강내 주입으로 마취하여 시료를 채취하였다.

혈액은 경동맥에서 채취하였으며 24시간 동안 4°C에 보관한 후, 3000rpm에서 20분간 원심 분리(Sorvall, GLC-2B)에 의해 혈청을 얻었다.

소장내용물은 전체를 0.9% NaCl 용액으로 씻어 내린 후, 내용물의 부피를 일정하게 fill up 한 후, 원심 분리 (7,800×g, 20min : BECKMAN J2-21)에 의해 가용성 획분을 분리하였다. 양쪽 대퇴골을 적출하여 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등을 제거한 후 길이와 무게를 측정하고 뼈의 파단력(breaking force)을 측정하였다.

실험종료전 4일간 매일 동일한 시간에, 24시간 동안의 분과 뇨를 수집하였다. 수집된 분은 냉동건조(Freeze-Dryer 18, Labconco)시켜 총 건조량을 측정하고, 뇨는 부피를 측정하였다. 이상과 같이 처리한 시료는 분석시 까지 각각 -40°C 이하에서 냉동 보관되었다.

4. 생화학적 분석

혈청과 소장내용물의 가용성 획분의 칼슘 함량은 각각 시료를 해동시킨 후, TCA(trichloroacetic acid) 용액으로 최종 농도가 5% 되도록 희석하여 원심분리에 의해 단백질을 제거한 후, 뇨는 TCA 처리없이 그대로 원심분리(760×g, 20min)에 의해 상등액을 얻어 $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 용액으로 La의 최종 농도가 1% 되도록 희석한 후

Atomic Absorption Spectrophotometer(AAS : Hitachi Z-6000)로 422.7nm에서 측정되었다.

대퇴골 및 분중 칼슘 함량은 각각 시료를 550~600°C 회화로에서 약 6~8시간 동안 회화하여 얻은 회분을 6N HCl 용액으로 용해한 후 각각 $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 용액으로 La의 농도가 1% 되도록 회석하여 AAS로 측정하였다.

소장내용물의 PEG함량을 Hyden 방법¹⁴⁾으로 측정(Spectrophotometer : Shimadzu UV-200, 540nm) 하였으며, 식이 유래 장관내 총 칼슘 중 가용성 칼슘의 차지비율(%)은 식이중 Ca/PEG와 소장내용물의 가용성 확분의 Ca/PEG로 계산하였다.

대퇴골의 파단력은 Instron(Intron Universal Testing Instrument, Model 1000)을 이용하여 뼈의 중앙부위(5kg의 추와 scale range는 50/10)에서 측정하였다.

5. 통계분석

실험분석 결과는 평균±표준오차(mean±SE)를 계산하였다. 각 실험식이군의 평균치 간의 유의성 검정은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 실시하였다.

실험결과

1. 성장과 식이 섭취량

Table 2에서 보는 바와 같이 1일 식이 섭취량 및 증체량 그리고 식이 효율에 있어서 G, GH, GHS간에는 차이가 없었으나 GHP군에서는 유의적으로 감소하였다. 이는 GHP가 소화효소에 의해 가수분해되지 않은 난소화성 단백질로 구성되어 있으므로 식이 섭취량 및 체내 이용률의 저하에 기인한 것으로 사료된다.

Table 2. Daily food intake, weight gain and food efficiency ratio

	Final body weight(g)	Food intake(g/d)	Weight gain(g/d)	FER ²⁾ (Wt/FI)
G	274.8 ± 4.8 ^{1a)}	18.7 ± 0.5 ^a	6.6 ± 0.3 ^a	0.36 ± 0.02 ^a
GH	257.2 ± 8.0 ^a	17.7 ± 0.8 ^a	6.0 ± 0.4 ^a	0.34 ± 0.01 ^a
GHS	274.4 ± 8.2 ^a	19.0 ± 0.5 ^a	6.6 ± 0.3 ^a	0.35 ± 0.01 ^a
GHP	220.1 ± 7.2 ^b	15.1 ± 0.8 ^b	4.3 ± 0.2 ^b	0.28 ± 0.01 ^b

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) Food efficiency ratio(FER) : weight gain(g) / food intake(g)

a, b, Values with different superscript within column are significantly different($p < 0.05$)

Table 3. Serum Ca concentration and soluble Ca in small intestinal contents

Serum Ca(mg/100ml)	Small intestinal content		
	Soluble Ca(mg)	Soluble Ca(%) ²⁾	PEG (mg)
G	11.12 ± 0.40 ^{NS}	1.10 ± 0.12 ^c	27.34 ± 3.00 ^b
GH	10.12 ± 0.46 ^{1b}	2.37 ± 0.26 ^a	40.75 ± 5.41 ^a
GHS	11.22 ± 0.57	1.89 ± 0.18 ^{ab}	30.15 ± 2.41 ^b
GHP	10.51 ± 0.44	1.65 ± 0.31 ^{bc}	21.57 ± 1.18 ^b

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) [(Soluble Ca/PEG in the small intestinal content) / (Ca/PEG in diet)] × 100

a,b, Values with different superscripts in column are significantly different($p < 0.05$)

NS : Not significant

Table 4. Wet weight, length, and breaking force of femur

	Wet weight ²⁾		Length ³⁾ (cm)	Breaking force(kg/g)
	Total (g)	(g/100g BW)		
G	1.39 ± 0.02 ^{1a)}	0.51 ± 0.01 ^{NS}	3.26 ± 0.02 ^a	6.63 ± 0.36 ^{NS}
GH	1.29 ± 0.01 ^a	0.51 ± 0.02	3.24 ± 0.02 ^a	7.58 ± 0.36
GHS	1.34 ± 0.04 ^a	0.49 ± 0.02	3.24 ± 0.02 ^a	6.98 ± 0.38
GHP	1.13 ± 0.05 ^b	0.52 ± 0.02	3.08 ± 0.05 ^b	7.11 ± 0.57

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) Total weight of left and right femur

3) Mean length of left and right femur

a, b, Values with different superscripts in column are significantly different($p < 0.05$)

NS : Not significant

2. 혈청 칼슘 농도와 소장 내용물 중 가용성 칼슘 함량

혈중의 칼슘 농도(Table 3)는 각 실험군에서 모두 정상 범위를 나타냈으며, 실험 군간에 통계적 유의차는 없었다.

소장 내용물의 가용성 확분 중 칼슘 함량은 Table 3에서 보는 바와 같이 글루텐 군에 비해 글루텐 가수분해물 군에서 높은 경향을 보였다. 특히 GH와 GHS군에서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 식이 이동 marker로 사용된 PEG 함량을 기초로 계산된 식이 유래의 장관내 총 칼슘 농도 중 가용성 칼슘이 차지하는 비율(%)을 보면 글루텐 단백질군에 비해 가수분해물군에서 유의적으로 높게 나타났으며, 대부분 웹타이드로 구성되어 있는 가수분해물 상등액(GHS군)에서도 높은 경향을 보였다.

3. 뼈의 크기와 칼슘 함량

대퇴골의 습중량, 길이 및 파단력은 Table 4에 제시하였다. 대퇴골의 습중량과 길이는 G군, GH군 그리고 GHS군간에는 유의차가 없었으나, GHP군에서는 다른 군에 비해 유의적으로 낮았다. 그러나 체중 100g당 습중량에는 식이군간 차이가 없었으므로 GHP군에서 뼈무게가 낮았던 것은 체중이 낮았기 때문인 것으로 사료된다. 대퇴골의 파단력은 실험식이 군간에 차이가 없었다. 대퇴골의 조회분과 칼슘의 함량은 Table 5와 같다. 습중량 g당 조회분과 칼슘 함량에는 식이 군간에 유의차가

없었다. 총 칼슘 농도는 GHP군에서 유의적으로 낮게 나타났으며, 이는 뼈의 중량이 낮은 데 기인한 것으로 사료된다.

4. 칼슘의 체내 보유량과 흡수량

실험 식이에 따른 칼슘 섭취량, 분증 칼슘 배설량, 뇨중 칼슘 배설량, 보유량, 보유율, 곁보기 흡수량, 곁보기 흡수율은 Table 6에 제시하였다. 칼슘 섭취량은 GHP군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 대사실험 중 뇨를 통한 1일 칼슘 배설량에는 차이가 없었으나, 분을 통한 1일 칼슘 배설량은 글루텐 가수분해물 섭취군들에서 유의적으로 낮게 나타났다. 칼슘의 1일 보유량, 보유율, 곁보기 흡수량, 곁보기 흡수율은 G군에 비해 GH, GHS군

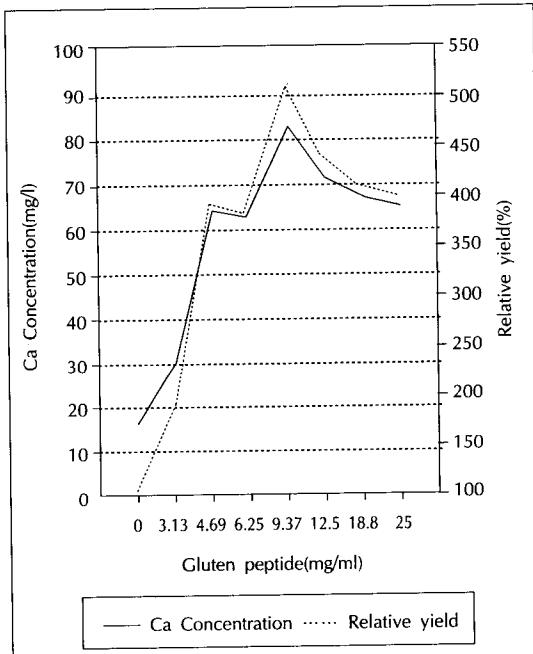


Fig. 1. In vitro Ca solubility of gluten peptides.

Table 5. Ash and Ca contents of femur

	Ash (mg/g)	Ca (mg/g)	Total Ca (mg)
G	324.22±9.48 ^{NS}	102.58±3.82 ^{NS}	141.71±3.90 ^a
GH	327.15±4.76 ¹⁾	108.61±3.71	140.24±4.71 ^a
GHS	326.27±6.98	106.84±2.50	143.44±4.60 ^a
GHP	324.24±5.35	114.55±2.80	129.15±3.81 ^b

1) Mean±SE of 8 rats per group

a, b, Values with different superscripts in column are significantly different($p < 0.05$)

NS : Not significant

Table 6. Daily Ca intake, fecal and urinary Ca excretion, Ca retention and apparent absorption

	Ca intake (mg/d)	Fecal excretion (mg/d)	Urinary excretion (mg/d)	Ca retention ²⁾ (mg/d)	Ca retention ³⁾ (%)	Apparent absorption ⁴⁾ (mg/d)	Apparent absorption ⁵⁾ (%)
G	97.4±2.3 ^{1a}	60.1±2.2 ^a	0.38±0.03 ^{NS}	36.9±3.1 ^b	37.7±2.6 ^b	37.2±3.1 ^b	38.1±2.6 ^b
GH	91.4±4.5 ^a	42.1±3.2 ^b	0.49±0.03	48.7±3.3 ^a	53.3±2.7 ^a	49.2±3.3 ^a	53.9±2.6 ^a
GHS	98.8±2.6 ^a	49.8±4.5 ^{ab}	0.52±0.11	48.4±2.9 ^a	49.3±3.5 ^a	48.9±2.9 ^a	49.8±3.5 ^a
GHP	78.0±4.2 ^b	43.5±4.1 ^b	0.34±0.03	34.1±3.7 ^b	43.8±4.1 ^{ab}	34.4±3.7 ^b	44.2±4.1 ^{ab}

1) Mean±SE of 6 rats per group

2) Retention(mg/d)=Intake(mg/d)-[Fecal excretion(mg/d)+Urinary excretion(mg/d)]

3) Retention(%)=[Retention(mg)/Intake(mg)]×100

4) Apparent absorption(mg/d)=Intake(mg/d)-Fecal excretion(mg/d)

5) Apparent absorption(%)=[apparent absorption(mg)/Intake(mg)]×100

a, b, Values with different superscripts in columns are significantly different($p < 0.05$)

NS : Not significant

에서 유의적으로 높았다.

5. *In vitro* 글루텐 펩타이드의 칼슘 가용화 효과

Fig 1에서 보는 바와 같이, 용액 중 글루텐 펩타이드 함량이 높을수록 가용성 칼슘 함량은 높았으며, 글루텐 펩타이드 함량이 10mg/ml 일 때 최고치를 나타내었으며 첨가하지 않았을 때의 5배 값을 보였다.

고 찰

예비 실험에서 질소원으로서 글루텐과 글루텐 가수분해물을 각각 20% 함유한 실험식이를 성장기 흰쥐에게 4주간 급여한 후 비교했을 때, 글루텐 가수분해물을 섭취한 흰쥐의 장관내 가용성 칼슘 함량은 글루텐에 비해 유의적으로 높은 경향을 보였으나, 글루텐의 단백수가 낮으므로 성장은 모든 실험군에서 저조하였다. 따라서 정상적 성장조건 하에서의 실험동물 실험을 수행하기 위해서 대두 단백질 10%와 글루텐과 글루텐 가수분해물의 각 분획을 각각 10%씩 첨가하였다.

글루텐 가수분해물의 침전물군을 제외하고 성장과 식이 섭취량 및 식이효율면에서 글루텐군과 글루텐 가수분해물군간에 유의적인 차이가 없었다. 이는 침전물이 가수분해되지 않은 난소화성 단백질로 구성되어 있기 때문으로 사료된다. 지금까지 많은 연구에서 단백질과 그 가수분해물 및 아미노산 혼합물을 질소급원으로서 성장과 식이효율을 비교했을 때 정상적인 영양조건에서는 이들 간에 거의 차이가 없었다. 정상인에게 아미노산 혼합물과 단백질 가수분해물을 경구 투여하여, 아미노산 흡수 실험을 한 결과, 아미노산 혼합물보다 단백질 가수분해물의 흡수가 더 커졌다¹⁵⁾. 또 동물에서 위장질환 또는 기아와 같은 영양 불량 상태로 소장의 형태와 기능에 심각한 손상이 일어난 경우, 단백질 가수분해물이 단백질이나 아미노산보다 질소 이용 면에서 더 좋은 효과를 보였다¹⁶⁻¹⁸⁾.

Casein phosphopeptides(CPP)는 카제인 섭취시⁷⁻⁸⁾ 또는 카제인의 인공소화에 의해 제조된 CPP를 섭취한 경우⁹⁾ 칼슘이온과 가용성 복합체를 형성하므로서 소장내 가용성 칼슘의 농도가 증가됨이 보고된 이래, 이러한 실험성질을 근거로하여 카제인의 *in vitro* 소화효소에 의한 가수분해물에서 CPP가 분리정제되어 기능성 식품에 칼슘흡수증진제로 이용되고 있다. 본 실험에서도 글루텐 단백질 자체보다는 글루텐 가수분해물(GH)과 상동액(GHS)에서 장관내 가용성 칼슘 함량이 1.5~2배 이상 높게 나타났다(Table 3). 상기 CPP의 섭취 효과를 고려해 볼 때 글루텐 가수분해물의 칼슘 가용화 증진 효과는 글루텐의 *in vitro* 소화물인 글루텐 가수분해물과 상

등액중에 주로 존재하고 있는 펩타이드에 기인 한 것으로 사료된다. 특히 실험 2의 *in vitro* 실험결과를 고려할 때, 글루텐 펩타이드의 칼슘 가용화 효과는 더욱 명백하다.

최근 보고된 인공 polyglutamate의 칼슘 가용화 효과를 참조할 때¹⁹⁾, 글루텐 펩타이드 구조내에 많이 존재할 것으로 추측되는 glutamate의 역할로 칼슘의 가용화 증진 효과가 설명될 수 있다. 즉 glutamate는 음(-)으로 하전되어 칼슘이온과의 가용성 복합체 형성이 가능하며, 이것이 칼슘이온이 다른 음이온과의 불용성 염 형성을 저지할 수 있을 것으로 추측된다.

한편, 카제인 섭취의 경우 소화과정 중에 CPP가 생성되어 칼슘과 약한 결합을 통해 가용화 촉진기능을 가지며 CPP 자체는 점차 소화과정을 밟게 된다⁸⁾. 그러나 글루텐의 경우 소화과정 중 칼슘 가용화에 대한 생리기능을 갖는 펩타이드의 생성여부는 미지수이다. 본 실험결과로 볼 때, 즉 글루텐을 단백질 형태(G와 GHP)로 섭취했을 때, 장관내 가용성 칼슘의 증진 효과는 없었기 때문에(Table 3) 이와 같은 펩타이드의 생성가능성은 희박하다.

글루텐 가수분해물의 섭취로 인한 가용성 칼슘 증가가 칼슘의 체내 이용성, 즉 보유량과 흡수량을 증가시켰으며(Table 6), 이는 CPP에 의한 장관내 가용성 칼슘의 증가가 칼슘의 흡수량을 증가시켰다는 연구결과⁸⁾와 일치하는 것이다. 칼슘이온이 소장 점막세포를 통과하기 위해서는 반드시 가용성으로 존재해야 하며 칼슘흡수저하가 주로 장관내에서 불용성 칼슘염의 형성에 있다는 점을 고려할 때, 장관내 가용성 칼슘 및 흡수를 증진 효과를 갖는 식이인자에 대한 연구는 더욱 필요하다. 글루텐 가수분해물 섭취에 따라 칼슘 흡수량과 보유량이 증가했음에도 불구하고 혈액이나 골격의 칼슘 함량에는 글루텐 섭취시와 차이가 없었다. 이는 4주간의 실험식이 섭취기간이 칼슘 증진으로 인한 골격의 칼슘 함량 증가에 영향을 미치기에는 부족했던 것으로 사료된다.

이상에서 살펴본 바와 같이 글루텐 가수분해물이 성장면에서는 글루텐 단백질과 유의한 차이를 나타내지 않지만 칼슘의 장관내 가용화 및 이용성 증진면에서는 효과가 있는 것으로 나타났다. 이러한 글루텐 가수분해물의 칼슘 흡수 증진 효과는 가수분해물중 펩타이드에 의한 칼슘 가용화에 기인하며, 아미노산 구성요소중 다량 함유되어 있는 glutamic acid가 음으로 하전되어 극성을 피는 아미노산으로 칼슘 이온과 결합하여 가용성 복합체를 형성하여 칼슘 흡수에 영향을 미친 것으로 예상된다. 따라서 질소급원으로서 질적으로 낮게 평가되고 있는 글루텐 단백질이지만, 인공적으로 가수분해 처리한 그 가

수분해물 또는 펩타이드에 대하여 기능적인 면에서의 새로운 영양적 평가가 필요하다고 보며, 식품산업에서 이용가능한 식품신소재가 될 수 있음이 시사되었다.

요약 및 결론

본 연구는 글루텐 가수분해물 및 펩타이드의 장관내 칼슘의 가용화 및 이용성 증진 효과를 검토하기 위한 목적으로 두가지 실험을 수행하였다. 실험 1에서는 옥수수 글루텐(G), 글루텐의 papain 처리에 의해 얻어진 글루텐 가수분해물(GH), 그 가수분해물의 원심분리에 의해 얻어진 가용성 상동액(GHS) 및 침전물(GHP)을 포함하는 4종의 실험식이를 성장기 흰쥐에게 4주간 급여하고 성장, 소장내용물 중 가용성 칼슘량, 혈액과 뼈중 칼슘 함량 및 칼슘 흡수량을 측정하였다. 실험 2에서는 글루텐 펩타이드(GHS)의 *in vitro* 칼슘 가용화 효과를 측정하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

성장, 식이 섭취량 및 식이 효율은 글루텐 단백질, 글루텐 가수분해물 및 가수분해물의 상동액 섭취의 실험군 간 유의적인 차이가 없었고, 침전물 섭취 군에서 유의적으로 감소하였다. 혈중 칼슘 농도는 실험식이군간 유의적인 차이가 없었으며, 모두 정상 범위를 나타냈다. 소장 내 가용성 칼슘 함량은 글루텐 단백질 섭취군에 비해 글루텐 가수분해물 또는 상동액 섭취군에서 유의적으로 증가하였고, 식이 유래의 장관 내 총 칼슘량 중 가용성 칼슘이 차지하는 비율은 글루텐 가수분해물 섭취군에서 유의적으로 높게 나타났다. 대퇴골의 습중량, 길이, 총칼슘 함량은 침전물 섭취군에서 유의하게 낮았고, 과단력, 회분, 칼슘 함량은 실험군간 유의적인 차이가 없었다. 칼슘의 흡수량 및 보유량이 글루텐 단백질 섭취군에 비해 글루텐 가수분해물 또는 상동액 섭취군에서 유의적으로 높았다.

이러한 결과는 질소원으로서 질적 평가가 낮은 글루텐 단백질에 대하여 그것의 *in vitro* 소화물인 글루텐 가수분해물 또는 펩타이드가 칼슘의 체내 이용성을 증진시킨다고 하는 새로운 측면에서의 식품 단백질의 기능의 재평가를 시사한다. 또 금후 글루텐 가수분해물 또는 펩타이드가 생리 활성을 갖는 식이 펩타이드로서 활용될 것이 기대된다.

Literature cited

- 1) Chiba H, Yoshikawa M. 食品機能. 學會出版セソタ-, Tokyo, 1988
- 2) Arai S. 機能性食品の 研究. 學會出版 セソタ-, Tokyo,
- 1995
- 3) Alder-Nissen J. Limited enzymic degradation of protein : A new approach in the industrial application of hydrolysate. *J Chem Tech Biotechnol* 32 : 138-156, 1982
 - 4) Chobert JM, Harb CB, Nicholas MG. Solubility and emulsifying properties of casein and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J Agric Food Chem* 36 : 883-892, 1988.
 - 5) Keohane P, Grimble GK, Brown B, Spiller RC, Silk DBA. Influence of protein composition and hydrolysis method on intestinal absorption of protein in man. *Gut* 26 : 907-13, 1985
 - 6) Naito H, Kawakami and Imamura T. In vivo formation of phosphopeptide with calcium-binding property in the small intestinal tract of the rat fed on casein. *Agri Biol Chem* 36 : 409-415, 1972
 - 7) Lee YS, Noguchi T, Naito H. Phosphopeptides and soluble calcium in the small intestine of rats given a casein diet. *Br J Nutr* 43 : 457-467, 1980
 - 8) Lee YS, Noguchi T, Naito H. Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein or amino acid mixture : the role of casein phosphopeptides. *Br J Nutr* 49 : 67-76, 1983
 - 9) Lee YS, Park J, Naito H. Supplemental effect of caseinphosphopeptides(CPP) on the calcium balance of growing rats. *J Jap Soc Nutr Food Sci* 45 : 333-338, 1992
 - 10) Naito H, Lee YS. Searches for novel sources of functional foods with special reference to calcium nutrition. Intl. Symp. on functional Foods for Health, Proc. pp139-141, Seoul, 1995
 - 11) Heaney RP, Saito Y, Orimo H. Effect of caseinphosphopeptide on absorbability of co-ingested calcium in normal postmenopausal women. *J Bone Miner Met* 12 : 77-81, 1994
 - 12) Green GM, Miyasaka K. Rat pancreatic response to intestinal infusion of intact and hydrolyzed protein. *Am J Physiol* 245 : G394-G398., 1983
 - 13) 한웅수 · 이형주 · 손동화. 대두펩타이드의 소화율이 흰쥐의 혈청 콜레스테롤 농도에 미치는 영향. *한국영양학회지* 26 : 585-592, 1993
 - 14) Hyden S. A turbidimetric method for the determination of higher polyethylene glycol in biological materials. *Kungl Lantbrukshogskolans Annaler* 22 : 139-145, 1955
 - 15) Moriarty KJ, Hegarty JE, Fairclough PD, Clark MJ, Dawson AM. Relative nutritional value of whole protein, hydrolyzed protein and free amino acids in man. *Gut* 26 : 694-699, 1985
 - 16) 김장임 · 이연숙. 단백질과 단백질가수분해물이 침수 속박스트레스에 의해 유도된 위궤양 흰쥐의 질소대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 28 : 291-297, 1995
 - 17) Poullian MG, Cezard JP, Roger L, Mondy F. Effect of

- whey proteins, their oligopeptide hydrolysates and free amino acid mixtures on growth and nitrogen retention in fed and starved rats. *J Parent Enteral Nutr* 13 : 382-386, 1989
- 18) Yamamoto S, Korin T, Anzai M, Wang MF, Inoue. Comparative effects of protein, protein hydrolysate, amino acid diets on nitrogen metabolism of normal, protein-deficient, gastrectomized or hepatectomized rats. *J Nutr* 115 : 436-446, 1985
- 19) Sato S, Nosawa K, Tanimoto K, Honki M. Effects of r-polyglutamate on Ca bioavailability. 48th Ann. Meeting Jap Soc Nutr Food Sci Hukuoka, 1994