

물과 단백질 가수분해 효소에 의한 동결건조 녹용의 추출

안 용 근

충청대학 인체예술학부 식품영양전공

Extraction of Freeze Dried Young Antler by Water and Protease

Yong-Geun Ann

Dept. of Food and Nutrition, Chungcheong College

Abstract

The freeze dried young antler was extracted by water and proteases. In case of water extraction, the extraction rate was highest when it was reacted in 5% of concentration for 6 hours at 50°C. The result of HPLC analysis of extract shows that high molecular peak in water extract was transformed into low molecular peak by proteases. The rate of low molecular peak was highest when bacteria protease was used, and its second highest rate was pepsin, but the effect of papain on it was low. The extraction rate of young antler reacted for 5 hours was 33.4%(absorbance 13.25 at 280nm) of bacteria protease, 22.4%(absorbance 10.06) of papain, and 30.2% (absorbance 11.34) of pepsin. The young antler was boiled for 30min and it was reacted by proteases for 5 hours at 50°C. The extraction rate of it was 47.6%(absorbance 12.54) of bacteria protease, and 26.4%(absorbance 7.48) of papain, and 45.6%(absorbance 7.23) of pepsin. In protein content, water extract was 52.1%, bacteria protease extract was 37.8%, and in amino acid content, water extract was 16.3%, bacteria protease extract was 31.96%, in ash content, water extract was 8.8%, bacteria protease extract was 5.6% by dry base. In mineral content, water extract contains 3.6% of Ca, 8.6% of P, 0.01% of Mg, 1.4 % of Na, 0.02 % of F, and bacteria protease extract contains 2.5% of Ca, 11.8% of P, 0.046 % of Mg, 2.1 % of Na, 0.018 % of F by dry base.

Key words : young antler, freeze dried young antler, extraction of young antler, solubilization of young antler by proteases.

서 론

녹용은 성질이 따뜻하고 맛이 달면서 시고, 무독하고, 허로(虛勞), 사지와 허리가 저리고 아픈 데, 남자 신(腎)이 허하고 냉한 데, 다리 무릎이 무력한 데, 설정(泄精), 여인의 붕루혈(崩漏血), 적백대하(赤白帶下)에 좋으며, 태를 편하게 하고, 보정(補精) 강장(強壯)에 쓰인다.^{1,2)}

사슴의 뿔이 각질화되지 않은 것은 녹용이고, 각질화된 것은 녹각으로 대부분 수입에 의존하고 있으며, 2000년에 의약용으로 녹용을 159톤을 수입하여 1천 6백만 달러(한화 약180억원)가 지출되었고, 국내 생산생녹용은 75kg이다. 녹용은 500억원 이상의 매출을 형성하고 있다.³⁾

1995년도의 국내 사슴목장 수는 26,188가구, 사육두수는 420,906마리였고, 이 중 꽃사슴이 382,780마리,

본 연구는 충청대학-엔지디코리아(주)-중소기업청-충북도청 산학연컨소시엄의 지원으로 수행되었음.

† Corresponding author : Yong-Geun Ann, Dept. of Food and Nutrition, Chungcheong College, Wolgokri 330, Gangnae, Cheongwon, Chungbuk, 363-792, Korea.

Tel : 019-486-8464, Fax : 043-230-2193, E-mail : annygn@hanmail.net

적록이 15,099마리, 엘크가 23,026마리였다. 연평균 증가는 28.5%나 되었으나 현재는 수입 녹용에 의한 시장 잠식과 광우병 파동으로 녹용생산용 사슴 양식업은 사양길로 접어들고 있다. 그래서 2001년도 12월말의 사슴 사육 농가 수는 12,564가구, 사육두수는 156,079 마리에 지나지 않는다.⁴⁾

그래서 국내 사슴사육 농가의 활성화와 소득증대를 위해서는 새로운 녹용제품을 개발하여 녹용 소비를 촉진시켜야 한다. 녹용 제품 특허는 200여가지나 되지만, 주로 한방제제이나 건강보조식품이다. 녹용을 식용으로 개발한 결과는 녹용 강정식품⁵⁾, 녹용곰탕⁶⁾, 녹용음료⁷⁻⁹⁾, 녹용차¹⁰⁻¹³⁾, 녹용주^{14,15)}, 녹용커피^{16,17)}, 녹용용봉탕¹⁸⁾, 녹용두부¹⁹⁾, 녹용면^{20, 21)}, 녹용과자 및 한과²²⁾ 등이 있다.

녹용을 가용화시키거나 분말로 만들면 식품과 약품에 널리 사용할 수 있다. 그래서 녹용을 가용화시키든지, 액기스로 만들든지, 분말을 만들기 위하여 열탕추출법^{23, 24)}, 단백질 가수분해효소 추출법^{25,26)}, 녹용분해균주를 이용한 분해법²⁷⁾, 알코올 추출법^{28,29)}, 노르말렉산, 클로로포름 및 에탄올 추출법³⁰⁾, 녹혈 분말법^{31,32)}, 기계적 녹용 분쇄법^{33,34)} 등이 개발되었다.

그러나, 열탕 추출법^{23,24)}은 수용성 성분만 추출되고 다른 유효성분이 남고, 단백질이 불용성 침전이 되고, 유기용매 추출법²⁸⁻³⁰⁾은 유용성 성분만 추출되고 수용성 유효성분은 남는다. 효소가수분해법^{25,26)}은 단백질만 추출되고 다른 성분은 추출되지 않는다. 기계적으로 분말화^{33,34)}하여도 주성분인 케라틴은 소화가 안된다.

그러나, 아직까지 녹용의 추출 및 가용화에 대한 과학적인 데이터가 없다. 본 연구는 동결건조 녹용을 대상으로 유효성분이 변질되지 않도록 저온에서 물추출하고, 남은 부분을 가열 또는, 가열하지 않은 조건에서 단백질 가수분해효소로 추출하여 HPLC 분석, 단백질 및 아미노산 함량 분석, 분광광도 분석, 무기물 분석 등을 한 결과이다.

실험 재료 및 방법

1. 재 료

녹용은 엔지디 코리아(주)의 뉴질랜드산 적록녹용의 동결건조 제품을 사용하였다. 분자량 표준물질은 시그마 제품을 사용하였다. 단백질 가수분해 효소는 태평양(주)의 Protease NP(세균, 활성 470,000pc/g), 시그마의 papain(EC 3.4.1.2, 파파야, 0.5unit/mg), pepsin A(EC 3.4.23.1, 돼지 위, 51unit/mg)을 사용하였다.

2. HPLC

시마쯔 HPLC(LC-10AD 펌프, SPD-10A 분광광도 검출기, 크로마토팩 C-R5A 적산기)를 사용하여 이동상은 0.2M NaCl을 함유한 0.1M K-인산완충액(pH 6.3), 고정상은 파마시아의 Superose 12(1.0 X 30cm), 유속 0.7ml/min로 280nm 및 210nm에서 검출하였다. 시료는 원심분리(15,000rpm, 10분)하여 상징액을 주입하였다. 분자량 마커는 시그마사의 thyroglobulin(MW 670,000), bovine serum albumin(MW 67,000), ammonium molybdate(MW 1,236), acetone(MW 56)을 사용하였다.

3. 흡광도에 의한 단백질 및 아미노산 함량

단백질은 시마쯔사의 분광광도기 UV-1601을 사용하여 280nm에서 흡광도로 측정하였다. 아미노산은 시료 3ml에 5% trichloroacetic acid(TCA) 5ml를 가하고, No. 6 여과지로 여과하여 280nm에서의 흡광도를 재어 침전되지 않은 펩티드와 아미노산량으로 하였다.

4. 녹용의 농도별 물 추출물

100ml 삼각플라스크에 녹용을 각각 1%, 2%, 4%, 6%, 12% 가하고 나머지를 물로 채워 100ml로 만든 다음 50℃에서 시간별로 3ml씩 취하여 HPLC, 280nm에서의 흡광도, 5% TCA 처리용액의 흡광도를 분석하였다.

5. 생녹용 및 열수추출 녹용에 대한 단백질 가수분해효소의 작용

생녹용 및 100℃에서 30분 끓인 녹용 5g에 단백질 가수분해효소 0.5g씩을 가하고 물을 가해 100ml로 하였다. 펩신은 0.2M sodium acetate-HCl 완충액(pH 2.15) 10ml를 가하여 100ml로 하였다. 37℃에서 반응시키면서 1시간, 3시간 5시간 쯤 샘플을 취하여 분해도, HPLC, 흡광광도 스펙트럼을 분석하였다.

6. 단백질 정량

Biuret법을 사용하여 시료 1ml에 Biuret 시약 4ml를 가한 다음 540nm에서 비색정량하였다. 표준 단백질로는 Hammerstein 카제인을 사용하였다.³⁵⁾

7. 아미노산 정량

Nynhydrin법을 사용하여 시료 1ml에 0.2M 시트르산 완충액(pH 5.0) 0.5ml와 닌히드린 용액 1.2ml를 가하고 끓는 물로 15분동안 가열한 다음 60% 에탄올 10ml를 가하여 570nm에서 비색정량하였다. 표준 아미노산으

로는 L-leucine를 사용하였다.³⁶⁾

8. 무기물

양이온성 무기물은 금속이온 유도결합 플라즈마 Mode Optima 3300(Perkinelmer사)을 사용하여 분석하였다. ICP-AES는 RF power 1300W, Coolant 가스유속은 15리터/min, auxiliary 가스유속은 0.5리터/min, nebulizer 가스유속은 0.8리터/min로 작동하여 alumina injector와 Jet-tip nebulizer를 사용하였다. 음이온성 무기물은 Water사 2690 HPLC를 사용한 이온교환크로마토그래피로, 컬럼은 IC Pak anion HR(4.6 X75mm)을 사용하여 Na₂CO₃ 1.4mM과 NaHCO₃ 1.6mM 완충액으로 유속 1ml/min으로 분석하였다.³⁷⁾

9. 회 분

식품공전³⁸⁾ 일반시험법의 회분시험법에 따랐다. 즉, 회화용기에 추출하여 동결건조한 녹용가루 2g을 넣고 회화로에서 600℃로 항량이 될 때까지 가열하여 중량을 측정하였다.

결 과

1. 녹용의 물추출

동결건조 방식으로 제조한 녹용의 녹혈과 단백질을 가열하면 변성 침전되므로 변성을 방지하려면 저온에서 추출해야 한다. 건조녹용은 12% 이상에서는 부피가 과다하여 수면 위로 노출되므로 그 이상 농도로 추출하기 힘들었다. 온도가 높을수록 추출율은 높아지지만 60℃ 이상에서는 단백질이 변성되므로 50℃에서 추출하였다.

물추출 결과, Table 1과 같이 모두 30분에 전체의 50% 정도가 추출되고, 이후 5시간 30분 동안 나머지 50% 정도가 추출되었다. 추출속도는 2시간까지 증가하다가 4시간부터는 느려졌다. 추출물의 60~70%는 TCA에 침전되지 않는 아미노산 및 펩티드 기타 280nm 흡광성 물질이고 나머지 30~40%가 단백질로 볼 수 있다. 추출효율을 1%로 환산하면 1%일 때가 가장 높아서 6시간 후 3.61이었고, 6%는 2.40, 2%는 2.24를 나타냈다. 녹용농도가 높으면 녹용 부피가 많아져서 녹용에 남는 부분이 많아지므로 추출효율은 떨어지고 녹용농도가 낮으면 추출 양은 많지만 추출물 농도가 낮아서 농축에 많은 경비가 들어서 비경제적이다. 그러므로 작업성과 효율성, 변성, 미생물 부패 등을 고려하면 녹용 5% 농도, 50℃에서 5시간 추출하는

Table 1. Extraction rate of young antler by water

(Unit: absorbance at 280nm)

Young antler	Extraction time				
	0.5hr	1hr	2hr	4hr	6hr
Total	2.11	2.57	2.87	3.31	3.61
1% Amino acid and peptide	1.28	1.63	1.59	1.74	1.75
Protein	0.83	0.94	1.28	1.57	1.86
Total	2.74	3.31	3.93	4.23	4.40
2% Amino acid and peptide	1.52	1.25	2.65	2.83	2.84
Protein	1.22	2.06	1.28	1.40	1.56
Total	4.91	5.92	6.75	7.80	7.88
4% Amino acid and peptide	3.54	3.88	4.59	5.65	5.50
Protein	1.37	2.04	2.16	2.15	2.38
Total	12.26	12.45	12.53	13.81	14.37
6% Amino acid and peptide	7.59	8.86	8.87	8.89	8.43
Protein	4.67	3.59	3.66	4.92	5.94
Total	12.34	13.38	23.13	24.4	25.71
12% Amino acid and peptide	8.64	9.37	16.95	17.04	18.42
Protein	3.70	4.01	6.18	7.36	7.29

것이 효과적인 것으로 판단된다.

HPLC로 추출물을 분석한 결과는 Fig. 1의 blank와 같이 일곱 가지 물질이 나타났고, 210nm와 280nm의 모습은 같으나, 210nm의 26분 피크는 280nm에서는 없고, 280nm에서 29.5분 피크는 16.0%였으나, 210nm에서는 3.0%였다. 280nm의 36.5분 피크는 210nm에서는 나타나지 않았다. 280nm에서 흡광도를 나타내는 물질은 이중결합과 방향족 화합물로, 주로 아미노산이나 단백질이다. 21분보다 빨리 유출된 피크는 분자량 100만 이상의 고분자 단백질로, 건조 중에 회합하여 커진 것으로 보인다. 21분에서 25분까지 유출되는 피크는 단백질이다. 분자량 56에서 10,000 사이는 아미노산과 펩티드이며 그보다 느린 피크는 더 작은 물질이다.

50°C에서 추출한 용액의 분광광도는 Fig. 2와 같이 280nm의 흡광피크와 400nm의 흡광 피크가 나타났는데, 280nm는 단백질, 400nm는 혈액의 적갈색 흡광도이다. 100°C에서 열수추출한 녹용은 혈액이 변성 침전되어 400nm의 피크는 매우 낮아졌다. 추출액을 TCA 처리하여 고분자물질을 제거한 것은 280nm의 흡광도가 주축이므로 아미노산과 펩티드가 주성분인 것으로 볼 수 있다.

2. 생녹용에 대한 단백질 가수분해 효소의 작용

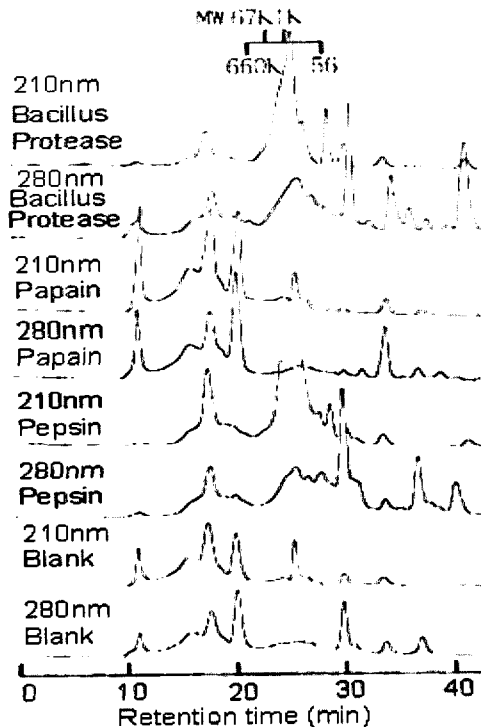


Fig. 1. HPLC of young antler hydrolysed with proteases.

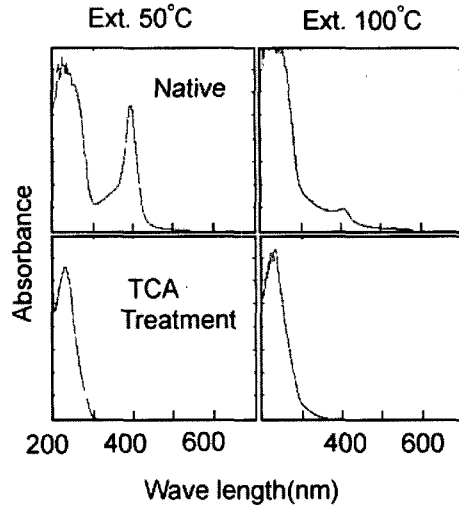


Fig. 2. Spectra of water extract from young antler.

생녹용에 단백질 가수분해 효소를 가하여 50°C에서 5시간 작용시킨 결과, Table 2와 같이 세균 protease추출액은 녹용의 33.4%(흡광도 13.25), 파파인 추출액은 22.4%(흡광도 10.06), 펩신 추출액은 30.2%(흡광도 11.34)가 가용화되어 세균 protease의 효율이 가장 높고, 파파인이 가장 낮았다. 대조군은 20.0%이었다. 280nm의 흡광도는 세균 protease가 가장 높았다. 추출액에 TCA를 가하여 단백질을 제거하여 아미노산 및 펩티드의 흡광도를 분석한 결과는 세균 protease 추출액은 12.74(96%), 펩신 추출액은 10.65(94%)로 대부분 작은 펩티드나 아미노산으로 나타났다. 그러나 파파인 추출액은 5.13(51%)으로 대조군(51%)과 같아서 거의 가수분해되지 않은 것으로 나타났다.

세균 protease 추출액과 펩신 추출액은 시간 경과에 따라 단백질의 함량이 줄어들었는데 초기에 많이 추출되었던 단백질이 가수분해되었기 때문이다. 파파인 추출액은 시간 경과에 따라 단백질 함량이 증가하였는데, 가수분해가 따라 가지 못하였기 때문이다.

생녹용에 단백질 가수분해 효소를 작용시켜서 추출한 용액을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 세균 protease 추출액은 blank의 21분보다 빠른 분자량 100만 이상의 피크들이 25분보다 느린 작은 분자량으로 분해되었고, 210nm에서는 검출되지 않는 작은 성분들이 280nm에서 검출되었다. 가장 많은 것은 25분의 분자량 1000 정도의 펩티드 피크로 세균 protease 추출액은 210nm에서 추출물의 65.2%, 펩신 추출액은 62.3%를 차지하였다.

펩신도 21분과 17분 피크 외에 21분보다 빠른 고분자 단백질 피크가 25분보다 느린 작은 것들로 분해되

Table 2. Extraction rate of young antler by proteases

(Unit: absorbance at 280nm)

Enzyme	Time			Residue g/5g	Extraction rate %
	1hr	3hr	5hr		
Bacillus protease	9.87	11.49	13.25	3.33	33.4%
Amino acid and peptide	7.02	9.00	12.74		
Protein	2.85	2.49	0.51		
Papain	7.12	9.12	10.06	3.88	22.4%
Amino acid and peptide	4.99	5.45	5.13		
Protein	2.13	3.67	4.93		
Pepsin	7.32	9.04	11.34	3.49	30.2%
Amino acid and peptide	6.03	7.95	10.65		
Protein	1.29	1.09	0.70		

있으며, 210nm보다 280nm의 피크 수가 더 많다. 세균 protease 추출액과 마찬가지로 25분에 유출되는 피크가 전체의 62.3%로 가장 많고, 그보다 느린 작은 것의 패턴은 세균 protease 추출액과 다르다. 단백질을 가수분해하는 위치가 효소마다 다르기 때문이다. 파파인은 blank의 21분보다 빨리 유출되는 고분자 단백질 피크를 거의 분해하지 못하였다.

생녹용 추출액을 분광광도계로 스캐닝한 결과, Fig. 3과 같이 시간 경과에 따라 세균 protease와 펩신추출액의 흡광도는 많이 증가하였으나, 파파인추출액은 그

다지 증가하지 않았다. 파파인과 펩신추출액은 400nm의 피크에 변화가 없으나 세균 protease 추출액은 피크 높이가 낮아졌는데, 혈액 성분이 일부 분해되었기 때문이다.

3. 가열 녹용에 대한 단백질 가수분해 효소의 작용

30분 끓인 녹용에 단백질 가수분해 효소를 가하여 50℃에서 5시간 추출한 결과, Table 3과 같이 세균 protease 추출액은 47.6%(흡광도 12.54)가 가용화되었고, 파파인추출액은 26.4%(흡광도 7.48), 펩신추출액은 45.6%(흡광도 7.23)로 세균 protease의 효율이 가장 높았다.

추출율은 생녹용을 효소로 추출한 것보다 세균 protease는 14.2%, 펩신은 7.23%, 파파인은 3% 증가되었다. 끓여서 녹는 성분이 증가하였기 때문이다. 280nm에서의 흡광도는 세균 protease 추출액이 가장 높았다. 추출액에 TCA를 가하여 단백질을 제거하고 흡광도를 분석한 결과 세균 protease 추출액은 12.05(96%), 펩신추출액은 7.14(98%), 파파인추출액은 5.45(73%)였다. 생녹용 결과와 비교하여, 세균 protease는 0.69, 펩신은 3.51 저하하였으나 파파인은 0.32 증가하였다. 이것은 가열로 단백질이 변성 침전되었으나 펩신과 파파인의 가수분해력이 부족하여 가용화시키지 못한 부분이 많은 것을 의미한다.

총량과 아미노산 함량은 시간 경과에 따라 증가하였다. 세균 protease 추출액과 펩신추출액의 단백질 함량은 3시간째 약간 증가하였다가 5시간째에 저하하였는데, 3시간까지 단백질 추출량이 많았으나 효소가 분해하여 5시간째에 줄어들었기 때문이다. 파파인을 사용한 추출액의 단백질 함량이 많은 것은 가수분해작용이 약하기 때문이다.

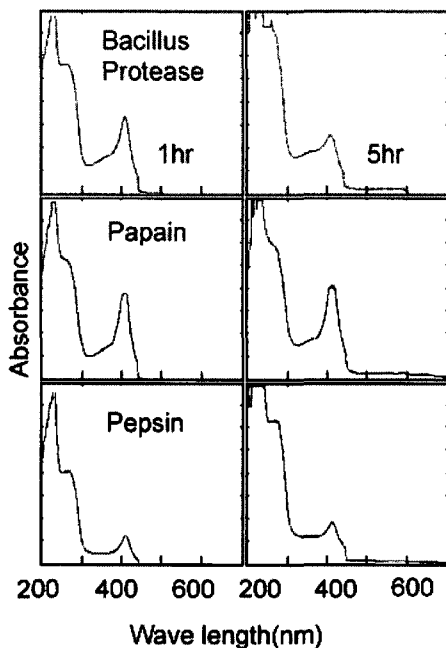


Fig. 3. Spectra of young antler residue hydrolysed with proteases.

Table 3. Extraction rate of young antler residue by proteases after boiling (Unit: absorbance at 280nm)

Enzyme	Time			Residue g/5g	Extraction rate %
	1hr	3hr	5hr		
Bacillus protease	9.08	11.49	12.54	2.62	47.6%
Amino acid and peptide	9.00	10.80	12.05		
Protein	0.08	1.49	0.49		
Papain	7.10	7.31	7.48	3.68	26.4%
Amino acid and peptide	4.99	5.25	5.45		
Pepsin	2.11	2.06	2.03		
Pepsin	5.45	6.45	7.23	2.72	45.6%
Amino acid and peptide	5.45	6.25	7.14		
Protein	0.00	0.25	0.09		

HPLC로 분석한 결과는 Fig. 4와 같이 Blank의 21분보다 빠른 분자량 100만 이상의 고분자 단백질은 세균 protease와 펩신을 사용한 경우 모두 분해되었다. 그래서 세균 protease 추출액은 210nm에서 24.5분 피크(분자량 1000)로 분해되어 89%, 펩신추출액은 98%가 되었다. 파파인은 분해율이 낮고, 210nm에서 더 큰 분자량으로 중합되었다. 280nm에서 30분보다 느린 피크는 패턴이 동일하였으나, 파파인은 다른 효소를 사용한 경우보다 39분 피크가 높았다. 생녹용 Blank의 21분보다 빠르게 유출되는 분자량 1백만 이상의 피크 넷은, 가장 큰 것만 남고 없어졌는데, 단백질이 열변성으로 침전되었기 때문이다.

가열녹용의 효소추출액을 분광광도계로 스캐닝한 결과, Fig. 5와 같이 280nm의 흡광도는 세균 protease가 가장 많이 증가하였고, 그 다음 펩신, 파파인의 순이었으나 파파인은 거의 변화가 없었다. 생녹용의 400nm 피크는 가열로 침전되어 없어졌다.

4. 성분 함량

동결건조한 녹용을 물추출한 것과, 잔류 물질을 효율이 높은 세균 protease로 추출한 용액의 성분을 분석한 결과는 Table 4와 같다.

건조상태를 기준으로 단백질 함량은 물추출물은 52.1%, 세균 protease 추출물은 37.8%였다. 아미노산 함량은 물추출물이 16.3%인데 반해 세균 protease 추출물이 31.9%로 거의 두 배였는데 효소가 단백질을 분해하였기 때문이다. 한편, 이 등³⁷⁾은 제주도산 엘크 녹용 상대의 단백질 함량은 66.91%, 하대의 함량은 52.64%, 아미노산 함량은 상대는 53.8%, 하대는 48.9%라고 하

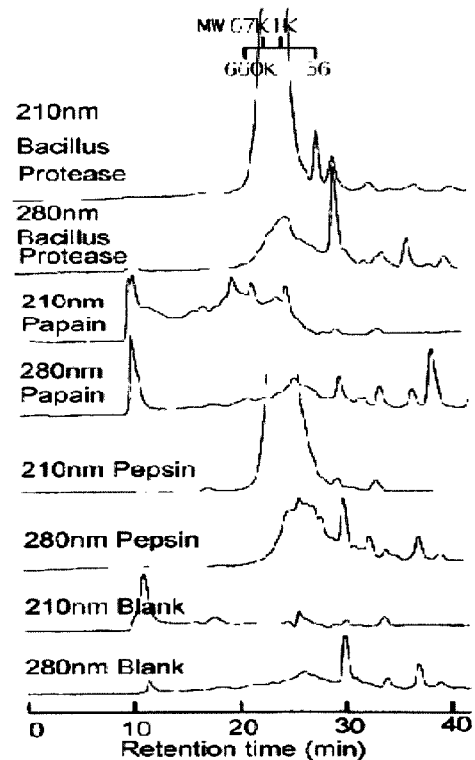


Fig. 4. HPLC of young antler hydrolysed with proteases after boiling for 30min.

였는데, 아미노산은 유리아미노산뿐 아니라 구성아미노산도 포함된 양이다.

물추출물의 무기물 함량은 Ca 3.6%, P 8.6%, Mg 0.01%, Na 1.4%, F 0.02%를 나타냈다. 세균 protease 추출물의 무기물 함량은 Ca 2.5%, P 11.8%, Mg 0.046%, Na 2.1%, F 0.018%를 나타냈다. 이 같이 칼슘은 물추

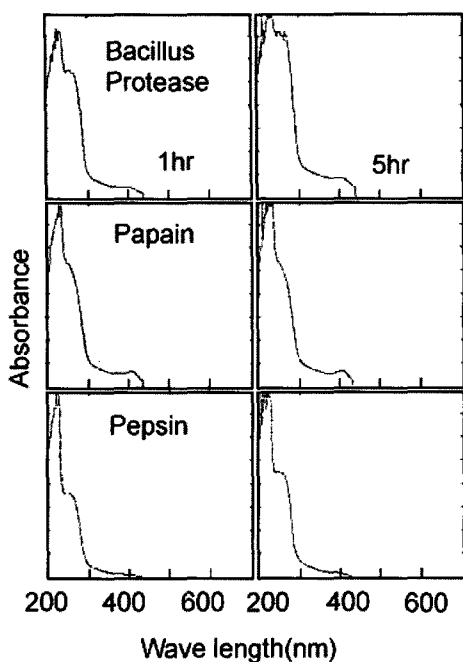


Fig. 5. Spectra of young antler residue hydrolysed with proteases after boiling for 30min.

Table 4. Chemical composition of young antler extract (Unit: dry base)

Component	Water extract	Protease extract
Protein	52.1	37.8
Amino acid	16.3	31.9
Ash	8.8	5.6
Ca	3.6	2.5
P	8.6	11.8
Mg	0.01	0.046
Na	1.4	2.1
F	0.02	0.018
Others	9.2	8.2
Total	100.0	100.0

출물에 많았고, 인, 마그네슘, 나트륨은 효소추출물에 더 많았다.

회분은 물추출물은 8.8%, 세균 protease 추출물은 5.6%였다. 한편, 김 등⁴⁰⁾은 국산 녹용의 부위별 회분함량을 보고하였는데, 스폰지층은 24.8%, 벨벳층은 9.1%, 평균 21.1%라고 하였다. 이 등³⁹⁾은 상대는 22.7%, 하대는 34.5%라고 하였다.

김 등⁴⁰⁾은 국산녹용의 벨벳층은 Ca 3.4%, P 1.8%, Mg 0.1%, Na 0.8%, F 0.4%, 스폰지층은 Ca 8.9%, P 2.5%, Mg 0.3%, Na 1.1%, F 0.5%라고 보고하였고, 이 등³⁹⁾은 제주도산 엘크녹용의 상대는 Ca 2.0%, P 2.6%, Mg 0.07%, Na 0.2%, F 0.16%, 하대는 Ca 1.9%, P 2.5%, Mg 0.08%, Na 0.1%, F 0.008%로 보고하였다. 그러나, 녹용 추출물의 성분에 대한 보고는 없다.

고 찰

녹용을 추출하는 방법은 저온 물추출, 고온 가열물 추출^{23,24)}, 가압가열 추출^{23,24)}, 효소추출^{25,26)}, 에탄올 추출^{28,29)}, 노르말렉산 추출³⁰⁾, 클로로포름 추출³⁰⁾ 등이 있는데, 상온에서 건조하거나 가열건조한 녹용의 단백질이 변성되어서 용해되지 않으므로 저온에서 물추출되지 않고, 동결건조한 것만 저온 물추출할 수 있다. 가열추출하면 녹용의 주성분인 콜라겐이 젤라틴화되어서 추출되며, 가압하여 고온에서 추출하면 추출 효과가 높아진다. 유기용매 추출은 지방질 성분이나 다른 특수성분을 목적으로 할 때 사용한다. 효소적 방법은 단백질 가수분해 효소를 사용하여 함유 단백질을 분해하여 추출하는 방법으로, 함유 단백질은 펩티드나 아미노산으로 분해되어 추출되지만, 단백질 가수분해 효소의 종류에 따라 분해하는 위치가 달라서 생성되는 펩티드와 아미노산도 효소에 따라 다르다. 그리고, 같은 효소라도 효소 농도, pH, 시간 등에 따라라도 작용 위치가 달라서 다른 것이 생성될 수 있다.

효소적 방법으로는 녹용을 열수추출한 다음 단백질 분해효소로 추출박과 역기스를 함께 반응시켜서 저분자화시킨 다음 텍스트린에 흡착건조시켜서 분말로 만드는 방법²⁵⁾이 있는데, 어떤 효소인지 언급이 없으므로, 불확실한 방법이다.

그리고, 녹용 1kg에 1N염산 12리터와 펩신 600g을 가해 42℃에서 2시간 가열교반하고 5N 염산으로 pH를 보정하면서 42℃에서 15시간 가열 교반한 후 42℃에서 다시 48시간동안 가열정치시키고, 상징액만 취하여 여과하여 121℃에서 20분간 멸균처리하는 복잡한 공정의 방법²⁶⁾이 있는데, 펩신의 최적 pH는 1.8이므로 최적 pH를 유지하기 위하여 염산을 가하는 것은 좋으나, 녹용을 65시간 동안 염산 산성 용액에 놓아두고 121℃에서 20분씩 두 번이나 가열하므로, 염산에 의하여 유효성분이 파괴되고, 탈수되어 갈변화되므로 좋은 제품을 얻기 힘들다. 그리고, 녹용 1kg에 펩신을 600g 사용하고 있는데 이것은 녹용의 37.5%(0.6/1+0.6)나 되어

순수 녹용이라 할 수 없고, 일반적으로 효소는 기질의 0.5% 내지 1.0%를 가하여 5시간 이내 반응시키는데, 이 방법은 상식을 초월하고 있다. 실온에서 5시간 이상 지나면 효소단백질이 변성되는 경우가 많아서 그 이상의 효소분해는 의미가 적다.

따라서 본연구에서는 동결건조 녹용을 물추출하는 방법, 동결건조 녹용에 단백질 가수분해 효소를 작용시키는 방법, 동결건조 녹용을 30분간 끓여서 단백질 가수분해 효소를 작용시키는 방법으로 효과적인 녹용 추출 방법을 찾았다. 그 결과, 비가열녹용은 6% 농도에서 6시간 후 추출율은 14.37이었다. 효소는 세균 protease의 효율이 가장 높고, 다음 펩신이었으나, 파파인은 효과가 미미하였다. 280nm의 흡광도로 단백질 추출율을 분석한 결과, 세균 protease는 비가열 녹용에 대하여 13.25, 가열녹용에 대하여 12.54를 나타내어 가열 녹용이 1.8 낮았다. 추출된 것은 비가열 녹용 및 가열녹용 모두 96%가 TCA에 침전되는 저분자 펩티드와 아미노산이었다. 비가열 녹용에 대한 세균 protease의 가용화율은 33.4%이었으나 가열녹용은 47.6%로 14.2%나 높았다. 이 같이 녹용을 가열하여 세균 protease를 작용시키면 비가열 녹용에 비하여 단백질 추출율은 저하되고, 다른 성분의 추출율이 높아졌다.

펩신을 사용한 경우, 280nm 흡광도로 단백질 추출율을 분석한 결과, 비가열녹용은 11.34, 가열녹용은 7.23을 나타내어 가열 녹용의 경우가 4.11이나 낮았다. 이것은 가열로 변성침전되는 단백질의 가수분해율이 낮기 때문이다. 비가열녹용 추출물의 펩티드와 아미노산 함량은 94%, 가열녹용은 99%이었다. 생녹용에 대한 가용화율은 30.2%이었으나 가열녹용은 45.6%로 15.4%나 높았다. 녹용을 가열하면 펩신의 단백질 추출율은 떨어지고 다른 성분의 추출율이 높아지기 때문이다.

파파인의 결과는 대조군과 거의 같아서 효소적으로 작용하지 못한 것으로 나타났는데, 280nm의 흡광도로 분석한 비가열녹용 추출액의 아미노산 및 펩티드의 비율은 51%, 가열녹용은 73%로 세균 protease와 펩신에 비하여 낮았는데 단백질가수분해작용이 약하여 단백질을 분해한 양이 적었기 때문이다.

이상의 결과로부터 동결건조 녹용을 50℃에서 6시간 물추출한 것은 효소 추출한 용액과 단백질 함량이 비슷하므로, 먼저 저온에서 물추출하고, 남은 잔사에 효소, 그중 세균 protease를 가하여 추출하는 방법이 좋고, 가열하면 단백질 추출량이 떨어지므로 단백질 추출을 목적으로 할 때는 가열하지 않는 것이 좋은 것으로 나타났다.

단백질 가수분해 효소에 의하여 추출된 녹용이 본래의 생리활성을 어느 정도 유지하는가에 대해서는 후속 연구에서 밝히려고 한다.

이어지는 논문은 녹용을 추출하고 폐기하는 각질을 단백질 가수분해효소 및 염산으로 가용화시켜서 이용하는 방법을 찾아 분석한 결과이다.

요 약

동결건조 녹용을 물과 단백질 가수분해 효소로 추출하였다. 동결건조녹용을 물추출하는 경우, 추출효율은 5% 농도로 50℃에서 6시간 추출하는 것이 가장 높았다. 추출물을 HPLC 분석한 결과, 물추출액에 존재하던 고분자 단백질은 단백질 가수분해 효소에 의해 저분자화되었다. 저분자화율은 세균 protease를 사용한 경우가 가장 높고 다음 pepsin인데, papain의 효과는 적었다. 생녹용에 단백질 가수분해 효소를 5시간 작용시켜서 얻은 추출액의 추출율은 세균 protease는 33.4%(280nm의 흡광도 13.25), papain은 22.4%(흡광도 10.06), pepsin은 30.2%(흡광도 11.34)였다. 30분동안 끓인 녹용에 단백질 가수분해 효소를 5시간 작용시킨 용액의 추출율은 세균 protease는 47.6%(흡광도 12.54), papain은 26.4%(흡광도 7.48), pepsin은 45.6%(흡광도 7.23)였다. 단백질함량은 물추출액은 52.1%, 세균 protease 추출액은 37.8%였고, 아미노산 함량은 물추출액은 16.3%, 세균 protease 추출액은 31.9%였다. 회분함량은 물추출액은 8.8%, 세균 protease 추출액은 5.6%였다. 무기물 함량은 물추출액의 경우 Ca 3.6%, P 8.6%, Mg 0.01%, Na 1.4%, F 0.02%, 세균 protease의 경우 Ca 2.5%, P 11.8%, Mg 0.046%, Na 2.1%, F 0.018%였다.

참고문헌

1. 李時珍 : 本草綱目(1578), 鹿, p 1054, 고문사, 영인본 (1985)
2. 許浚 : 東醫寶鑑(1613) 鹿, p1128, 동의보감국역위원회, 증보판, 남산당(1969)
3. 한국의약품수출입협회 : 의약품수출입통계(2001).
4. 농림부 : 기타 가축통계(2001)
5. 이곤경 : 한약재를 이용한 강정식품의 개발 상품명 애정 (愛情), 특허출원 66124호(2001)
6. 이정희 : 죽석 레토르트식과 통조림 방식 및 냉동방식으로 생산하는 사슴녹용 한우의 곰탕 등의 제조 방법, 특허출원 43274호(2001)
7. 이임순 : 숙취해소 음료의 제조 방법, 특허출원 27653호 (2001)

8. 송병식 : 갱년기 이후 우울증 및 신경쇠약 개선음료 조성물 및 이의 제조, 특허출원 22289호(2000)
9. 민영기 : 인삼 및 생약을 포함하는 한방 스포츠음료 및 이의 제조 방법, 특허출원 17994호(2000)
10. 강창환 : 두뇌활성화 및 성장촉진 기능을 강화한 생식타입의 차 조성물, 특허출원 38호(2001).
11. 장상근 : 숙취해소용 건강차 및 그 제조 방법, 특허출원 31423호(2000)
12. 최정 : 수제용 약차와 약술의 제조 방법, 특허출원 23795호(2000)
13. 백운화 : 자양강장에 효과가 있는 한약재를 원료로 한 차 조성물 및 이의 제조 방법, 특허출원 80801호(1996)
14. 오정일 : 녹용을 주재료로 한 보양주의 제조 방법, 특허출원 53500호(2000)
15. 이수남 : 주류 제조를 위한 잔당 발효방법, 특허 45989호(1996)
16. 김만순 : 허브커피, 특허출원 30424호(2000)
17. 남춘옥 : 성질이 다른 두 종류 이상의 허브 식물성류 등을 이용한 커피맛 음료의 조성물 및 그 제조 방법, 특허출원 18589호(1999).
18. 남춘자 : 용봉탕의 제조 방법, 특허출원 55188호(1999)
19. 김광연 : 약초가 첨가된 두부의 제조 방법 및 그 조성물을 함유한 식품, 특허출원 26366호(1999)
20. 손중업 : 면의 제조 방법, 특허출원 76920호(1997)
21. 손중업 : 생약을 이용한 건강국수의 제조 방법, 특허출원 24940호(1993)
22. 전병태 : 녹용이 첨가된 과자류 및 한과류의 제조 방법, 특허출원 3471(2002)
23. 백인범 : 생녹용 엑기스 추출방법, 특허 5594호(1987)
24. 한동근 : 농축녹용 엑기스 및 건조 녹용 엑기스 미분말의 제조 방법 및 이를 이용한 건강식품, 특허 10775호(1995)
25. 풀무원테크 : 녹용의 효소처리를 통한 녹용 농축분말의 제조, 특허 14395호(2002)
26. 바이오젠 : 녹용의 가수분해물 제조 방법, 특허 65197호(2002)
27. 박주석 : 신규한 녹용 분해균 및 그의 분리 방법, 특허 206182호(1999)
28. 김생기 : 녹용 추출액의 제조방법, 특허 2011호(1994)
29. 김재운 : 녹용 엑기스 함유 연질캡셀, 특허출원 109(1994)
30. 전길자, 우윤정, 김종관 : 녹용으로부터 추출된 골형성 촉진 물질 및 그의 추출 방법, 특허 6876호(2002)
31. 한동근 : 녹혈 분말의 제조 방법 및 동결건조 녹혈을 함유한 건강영양 조성물, 특허 5200호(1995)
32. 이형수 : 녹혈분말의 제조 방법, 특허 3979호(1992)
33. 백인범 : 달이지 않고 복용하는 녹용 분말, 특허 1557호(1992)
34. 백인범 : 녹용 캡셀제, 특허 219439호(1999)
35. 안용근 : 단백질의 정량, 생화학 실험법, 양서각, p.27~33(1995)
36. 안용근 : 단백질의 정량, 생화학 실험법, 양서각, p.18~19(1995)
37. A.O.A.C : Metals and other elements in plants, p.161~162, In methods of Analysis for Nutrition Labelling, Sullivan, D. and Carpenter, D. Eds. AOAC International, Arlington USA(1993)
38. 식품의약품안전청: 회분, 식품공전(식품공업협회, 문영사), p 544(2000)
39. 이부용, 이옥환, 최현선: 국내산 녹용의 부위별 식품학적 성분분석, *한국식품과학회지*, **35**, 52~56(2003)
40. 김혜영, 류미라: 국내산 녹용의 부위별 무기물 조성

(2003년 11월 19일 접수)