

## 실크 단백질의 식이 소재로서의 응용

여주홍\* · 이광길 · 권해용 · 한상미 · 박경호 · 김성수<sup>1</sup> · 신봉섭<sup>2</sup>  
농업과학기술원 농업생물부, <sup>1</sup>중앙대학교 의과대학, <sup>2</sup>상주대학교

### Application for Dietary Resources by Silk Protein

Joo-Hong Yeo\*, Kwang-Gill Lee, HaeYong Kweon, Sang-Mi Han,  
Kyung-Ho Park, Sung-Su Kim<sup>1</sup> and Bong-Sub Shin<sup>2</sup>

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea

<sup>1</sup>Department of Anatomy, Chung-Ang University, Seoul, Korea

<sup>2</sup>Sang-Ju National University, Sangju 742-711, Korea

#### ABSTRACT

Recently, *B. mori* proteins such as silk fibroin and silk sericin have been found to have a water-holding capacity, anti hydrogen peroxide toxicity, antioxidant activity and tyrosinase-inhibitory activity (Yeo 2006, Kurioka 1999 & 2004), implying its potential usefulness of the application for cosmetic and functional food (Yamazaki 1999 & Une 2000). We are tried to application for dietary resources of *B. mori* silk fibroin and sericin that were prepared to some of different molecular cutting these resources by preparative recycling HPLC system. In our studies with rats have demonstrated that consumption of these silk proteins are being prevents constipation effect and it is maybe enhances intestinal absorption of water and dietary effects. These some of useful results further suggest a usefulness of sericin as dietary resources for health.

**Key words :** Silk protein, Molecular weight, Silk sericin, Silk fibroin, Dietary effect

#### 서 론

서구 식생활의 급속한 확산 및 사회생활의 지나친 스트레스는 성인병 발병률을 급속히 증가시키는 원인으로 알려져 있다. 이와 관련하여 식생활의 자연식으로의 전환, 성인병을 줄이기 위한 각자의 노력은 건강하게 늙고 싶어 하는 우리 모두의 염원임은 말할 필요가 없으리라 생각된다. 최근 특이할 만한 것은 변비를 비롯한 대장관련 질환 환자가 급증하고 있고, 대장암의 사망원인이 급증하고 있는 것으로 보고되어지고 있다. 이에 부응하여 갖가지의 대장 관련 식이소재 및 식품이 등장하고 있으며, 천연물을 소재로 한 소재개발이 점차 추진되고 있다.

한편, 실크는 의류 소재로만 여기어 지던 것이 점차 단백질 자원으로 인식되어져 그 활용를 모색하고 있고, 최근에는 피부 친화형 소재를 비롯한 콜라겐 증강 물질 적용 및 실크 단백질의 기능을 최대한 활용하는 연구 추세이다(여 1999 & 2000).

실크는 피브로인과 세리신이라는 단백질로 구성되어 있

으며, 각각의 물리화학적 성질은 전혀 다른 특이 성분이고 농도로 집약 되어진 단백질로 되어있다(여 1999). 그 중에서도 피브로인은 선상 단백질이고, 세리신은 구상 단백질이며 이들의 분자량을 조절할 경우, 이들이 가지고 있는 성분에 더하여 식이소재로 활용할 수 있는 가능성을 가지고 있으리라 생각되어진다. 특히 세리신의 경우는 세린 및 타이로신이 30% 이상을 차지하고 있으므로(北條 1980) 수산기(-OH)가 하는 역할에 착안할 경우 항산화 효과 및 수분과 관련된 효과를 기대할 수 있다.

이에 본 연구는 실크 단백질의 분자량을 인위적으로 조절하여 변비를 유도시킨 동물에 식이소재로 활용한 결과를 보고하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 피브로인 단백질 제조

본 연구에 사용한 견사는 가잠(*Bombyx mori*)으로부터 얻어지는 견사를 사용하였다. 정련은 생사를 육비 50 : 1

\*Corresponding author. E-mail: y610525@rda.go.kr

에서 5 wt%의 마르셀 비누 및 3 wt%의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 혼합 용액에 넣어 90°C에서 40분간 2회 처리한 후, 증류수로 3번 정도 같은 작업을 반복하여 충분히 수세하여 사용하였다. 이때의 연감율은 24%였으며, 이것을 순수 피브로인 원료로 하였다. 순수 건 피브로인의 용해는 여(여 1999)의 방법에 따라 제조하였으며, 유기 염의 순수 분리는 Sephadex G-25 Gel Filtration Chromatography(Pharmacia, GradiFrac, UV-1 detection, Sweden) 장치를 이용하여 피브로인과 염을 완전히 분리하는 방법을 이용하였는데 이 방법을 “F-중성염법”이라 하였다. 또한 이 용액에 3%(w/w)의 단백질 분해효소(Nove, Denmark)를 첨가하여 질소 가스 충전 조건에서 55°C, 48시간 가수분해를 실시하였다. 그 후, 100°C에서 5분간 효소의 불활성 처리를 하여 0.45 μm 필터(Sartorius, Germany)로 처리하였다. 그 후 얻어진 각 시료를 챔버내 온도가 -5°C 내외를 유지하는 감압 건조 장치(삼원 냉열사, Model: Vacuum Freeze Dryer)를 이용하여 수용성 분말을 얻었다. 이것을 “F-효소법” 샘플이라 하였다.

### 2. 세리신 단백질 제조

또한 순수 세리신 단백질은 정련을 하지 않은 누에고치 를 1:50의 액비로 110°C에서 3시간 고온 처리 한 후 마이크로 필터로 잔유물을 제거 한 후 얻어진 샘플을 “S-고압법”이라 하였고, 이것을 단백질 분해효소(Nordic, Denmark)를 3~5%(v/v) 첨가 한 후, 55°C에서 48시간 가수분해를 실시한 후 필터링한 것을 감압 건조 장치(삼원 냉열사, Model: Vacuum Freeze Dryer)를 이용하여 얻어진 수용성 분말을 “S-효소법”이라 하여 본 실험에 사용하였다.

### 3. 식이조성

실크 단백질을 함유하는 동물식이 사료는 한삼R&D(서울)에서 제조하여 난피법으로 각 군으로 20마리를 나눈 후 27일 간 공급하였다. 각 실험군의 식이조성은 Table 1과 같으며 실크단백질 세리신과 피브로인은 전체 식이무

게의 1%에 상응하는 실크단백질 세리신과 피브로인을 식이에 혼합하여 공급하였다. 27일 간 실크단백질을 첨가하지 않은 정상식이를 공급 받은 군을 정상대조군(Co)으로 하였다.

### 4. 평균 분자량(Mw) 측정

제조한 실크 피브로인 및 세리신 단백질의 평균분자량(Mw)의 크기는 gel permeation chromatography(GPC) 장치(Viskotec, USA)를 이용하였으며, 0.2 N NaNO<sub>3</sub>를 완충용액으로 하여 refractive index(RI)의 값으로 환산하였다. 표준시료는 Pullulan(Shodex STANDARD P-82, Showa denko, Japan)을 정제 없이 사용하였다.

### 5. in vivo 실험

삼육 실험 동물센터로부터 분양 받은 체중 250 ± 5 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley Rat의 웅성 흰쥐를 사용하여 고형 사료 및 표준사육조건(온도 : 20 ± 2°C, 습도 : 50%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)하에서 충분히 적응시킨 후 사용하였다. 그 후 시판되고 있는 탄닌계 변비 유도제(현대약품 디엔탑 캡셀)를 증류수에 녹인 후 유도제 중의 주요 성분인 탄닌산베르베린 이 5 mg/kg의 농도를 1회/1일 oral needle을 사용하여 경구투여 하였다. 각각의 변의 무게는 마르지 않은 신선한 것을 채취하여 건조 후의 무게에 대한 변 수분량을 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 실크 피브로인 및 세리신의 분자량

본 연구에 사용한 실크 피브로인의 평균 분자량 분포(Mw)는 그림 1과 같았다. 그림 1의 좌측에는 F-중성염법으로 제조한 실크 피브로인, 우측에는 F-효소법으로 제조한 피브로인 단백질 분포를 나타내고 있다. F-중성염법의 경우는 평균 분자량 분포가 Mw 65,300이었고, F-효소법의 샘플은 Mw 8,630이었다.

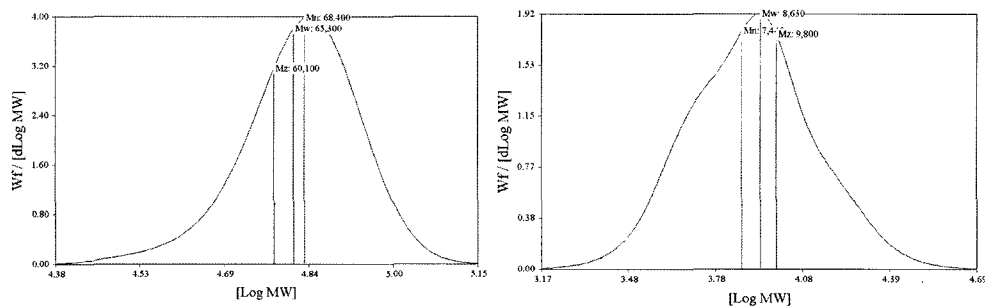


Fig. 1. Molecular weight (Mw) of silk fibroin by gel permeation chromatography (left: calcium chloride treated, right:enzyme treated).

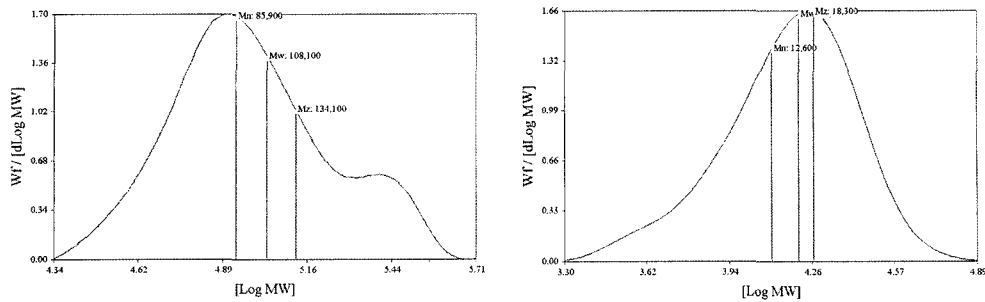


Fig. 2. Molecular weight (Mw) of silk sericin by gel permeation chromatography (left: high pressure method, right:enzyme treated).

원래 실크 피브로인의 분자량 분포는 Mw 30만~35만 정도로 알려져 있다(北條 1980). 그러나 이러한 거대 분자량의 경우는 소화 흡수가 안 되기 때문에 유기용매를 사용하여 저분자화 시켜야 한다. 본 연구에서는 가능하면 소화가 잘 되지 않는 고분자량을 목적으로 하기 때문에 온화한 유기 용매로 알려져 있는 염화칼슘(CaCl<sub>2</sub>)으로 분자량을 낮게 하고, 또한 이것을 단백질 분해 효소를 사용하여 더 낮은 분자량을 조절하였다. 그림 1에서와 같이 효소가수분해를 실시함으로써 분자량이 훨씬 낮아 졌음을 알 수 있다.

또한 그림 2는 실크 세리신 단백질의 분자량 분포를 나타내고 있다.

세리신의 분자량 또한 Mw 30만 이상으로 알려져 있는데(北條 1980), 본 연구에서는 위에서 언급한대로 고분자량을 얻기 위하여 고압법으로 세리신을 추출하였고, 이때의 분자량은 Mw 108,100(그림 2 좌)이고, 이것을 단백질 분해효소로 가수분해할 경우는 Mw 15,000(그림 2 우)로 나타났다. 본 연구에는 실크 단백질을 소화가 되지 않는 난소화성을 이용한 식이소재로의 활용을 검토하고 있는데, 이유는 실크 단백질의 특성상 저분자량을 할 경우는 소화 흡수가 되어 변비 및 다이어트 등의 목적하는 결과를 얻을 수 없으리라 생각되어지기 때문이다.

### 2. 사료 식이 조성

본 연구에 사용한 동물 섭취 사료 조성은 Table 1과 같다. 공시한 실험동물에 인위적으로 따른 변비를 유도한 후, 각각 위에서 제조한 실크 단백질이 1% 함유된 식이사료를 공급하여 그 변화를 보았다. 정상식을 공급받은 정상군은 casein으로 전체 식이무게 중 23% 상응하는 단백질을 공급하였으며, 반면, 피브로인 군과 세리신 공급군의 경우는 22%의 casein 단백질에 나머지 1%를 실크 단백질로 공급하였다.

### 3. 동물 소화산물의 수분량

그림 3은 위에서 제조한 실크 단백질 섭취 동물의 소

Table 1. Compositions of Experimental Diet (g/kg)

Ingredients	Group		
	Control (n = 10)	S-고압법 S-효소법	F-중성염법 F-효소법
Casein <sup>1)</sup>	230	220	220
Sericin	0	10	0
Fibroin	0	0	10
L-cystine	3	3	3
Corn oil	100	100	100
Cellulose powder	50	50	50
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	10	10	10
Salt mixture <sup>3)</sup>	35	35	35
Sucrose	200	200	200
Corn starch	372	372	372

<sup>1)</sup> Casein (nitrogen × 6.25), 870 g/kg

<sup>2)</sup> Vitamin Mix Composition : AIN-93 Vitamin Mix #310025 (Dyets Inc, Bethlehem, PA, USA) : Niacin 3 g/kg, Calcium Pantothenate 1.6 g/kg, Pyridoxine HCl 0.06 g/kg, Thiamine HCl 0.6 g/kg, Riboflavin 0.6 g/kg, Folic Acid 0.2 g/kg, Biotin 0.2 g/kg, Vitamin E Acetate (500 IU/g) 15 g/kg, Vitamine B<sub>12</sub> (0.1%) 2.5 g/kg, Vitamine A Palmitate (500,000 IU/g) 0.8 g/kg, Vitamine D<sub>3</sub> (400,000 IU/g) 0.25 g/kg, Vitamine K<sub>1</sub>/Dextrose Mix (10 mg/g) 7.5 g/kg, Sucrose 967.23 g/kg

<sup>3)</sup> Salt Mix Composition : AIN-93 G salt mix #210025 (Dyets Inc, Bethlehem, PA, USA) : Calcium Carbonate 357 g/kg, Potassium Phosphate (monobasic) 196 g/kg, Potassium Citrate H<sub>2</sub>O 70.78 g/kg, Sodium Chloride 74 g/kg, Potassium Sulfate 46.6 g/kg, Magnesium Oxide 24 g/kg, Ferric Citrate U.S.P 6.06 g/kg, Zinc Carbonate 1.65 g/kg, Manganous Carbonate 0.63 g/kg, Cupric Carbonate 0.3 g/kg, Potassium Iodate 0.01 g/kg, Sodium Selenate 0.01025 g/kg, Ammonium Paramolydate 4H<sub>2</sub>O 0.00795 g/kg, Sodium Metasilicate 9H<sub>2</sub>O 1.45 g/kg, Chromium Potassium Sulfate 12H<sub>2</sub>O 0.275 g/kg, Lithium Chloride 0.0714 g/kg, Boric Acid 0.0815 g/kg, Sodium Fluoride 0.0635 g/kg, Nickel Carbonate 0.0318 g/kg, Ammonium Vanadate 0.066 g/kg, Sucrose finely powdered 221.026 g/kg

화 산물(변)의 수분량을 나타내고 있다.

대조군(Co)은 실크 단백질을 섭취시키지 않은 정상식이 군을 의미하며, 그림 3과 같이 전체 무게의 약 35% 정도가 수분을 함유하고 있음을 나타내고 있다. 전체 무

실크 단백질의 식이 소재로서의 응용

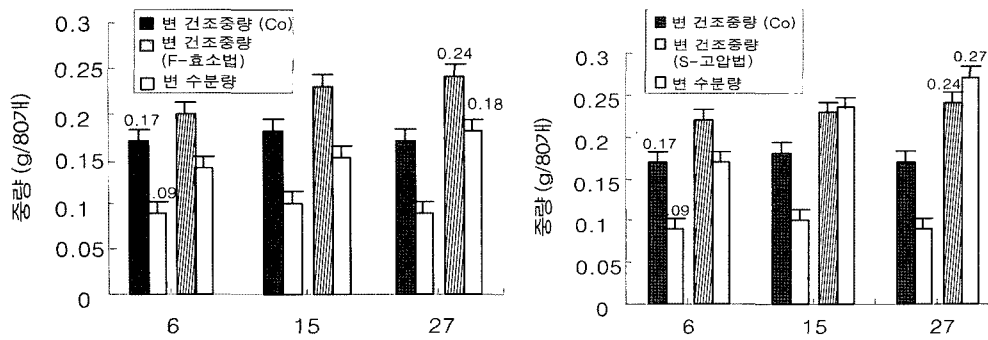


Fig. 4. Content moisture ratio of dried and wet digested materials during the 27 days.

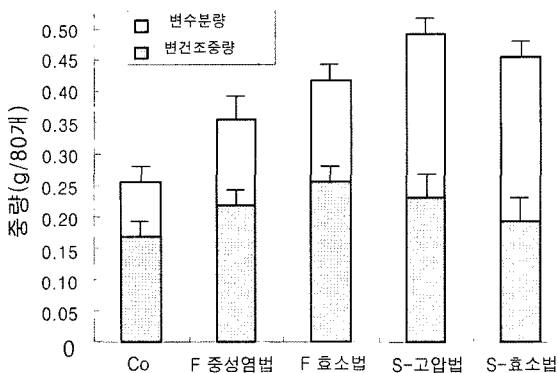


Fig. 3. Content water ratio of digested materials by various silk proteins.

게 및 소화산물의 수분량은 F-중성염법 < F-효소법이며, 수분량은 S-고압법과 > S-효소법이 많음을 알 수 있다(그림 3). 변의 무게는 F-효소법이 가장 무거웠으며, 소화산물의 수분량은 S-효소법이 가장 많은 수분을 함유하고 있었으며, 특히 S-고압법 및 S-효소법의 수분량이 전체 무게의 반 이상을 차지하고 있고 변비가 나타나지 않고 있음을 동물 외형 및 소화산물의 외견상 발견할 수 있었다. 이는 세리신 내에 들어있는 수산기(-OH)의 영향이던지 아니면 대장 및 소화기 계통의 변화로 생각되어지며, 본 연구의 결과만으로는 결론지을 수 없었다. 특히 각 샘플간의 유의차 검증을 실시한 결과, F-효소법과 S-고압법이 유의차가 인정되었다(그림 4).

4. 일수별 동물 소화 산물의 건조 및 수분함량 변화

위에서 유의차가 있는 F-효소법 및 S-고압법 만을 선택하여 일수별 소화 산물의 변화 관계는 그림 4과 같았다.

그림3-좌의 F-효소법 동물 소화 산물과 그림3-우의 S-고압법의 동물 소화 산물을 비교 했을 때, 변의 건조 중량은 피브로인을 섭취한 동물 소화 산물(그림3-좌)이 세리신을 섭취한 소화 산물보다 건조 중량이 높았다. 반면, 소화 산물의 수분량은 일수가 경과 할수록 세리신을 섭취한 그룹이 훨씬 많이 함유하였다. 수분 함량으로 나타

낼 때, 세리신 섭취 군의 경우, 27일 경에는 소화 산물의 거의 반 정도가 수분으로 함유되어 있음을 나타내고 있고, 세리신에 함유되어 있는 수산기가 작용하여 수분함량을 높인 것으로 해석되어진다. 이는 식이 재료로 사용할 경우, 섭취한 음식물의 배변 속도를 빠르게 할 가능성이 있으며, 다이어트 소재 혹은 관련 소재로의 활용을 생각해 볼 수 있을 것이다. 또한 세리신이 가지고 있는 항산화 능력(Kurioka 2004)을 고려할 때, 대장암 및 관련 질환에 효과를 갖는 식이소재로의 개발이 기대된다.

적 요

변비를 인위적으로 유도한 동물에 분자량을 다르게 한 실크 피브로인 및 세리신 단백질을 섭취시켜 식이소재로서의 활용가능성을 검토한 본 연구에서는 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 소화기 기능향상과 대장 관련 질환에 유효한 실크 피브로인 및 세리신 단백질의 평균분자량(Mw) 범위는 중성염처리 피브로인의 경우 Mw 65,000 내외, 고압 정제 세리신은 Mw 108,000 내외였다.
2. 동물 소화력 탐색 실험에 있어서 저분자 보다는 고분자량의 실크 단백질을 섭취한 동물 소화산물(변)에 수분 함량이 많이 함유되고 있었으며, 특히 고압 정제 세리신 섭취군의 경우는 원활한 소화산물의 배출이 유도됨을 확인할 수 있었다.
3. 실크 단백질을 함유한 식이소재를 동물 섭취에 27일간 섭취 시킨 결과, 세리신 섭취 군의 경우가 변비 유도를 시킨 정상군에 비하여 확실한 유의차를 나타내어 대장 관련 식이소재 혹은 관련 식품 소재로 적용할 수 있는 가능성이 확인되었다.

사 사

본 연구는 바이오그린 21연구과제의 연구비 지원에 의

해 일부 수행되었으며 관계자 여러분들께 감사드립니다.

### 인용문헌

- Kurioka, A., F. Kurioka and M. Yamazaki (2004) Characterization of Sericin Powder Prepared from Citric Acid-degraded Sericin Polypeptides of the Silkworm, *Bombyx mori*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**(4): 774~780.
- Kurioka A., M. Yamazaki and H. Hirano (1999) Primary structure and possible functions of a trypsin inhibitor of *Bombyx mori*, *Eur. J. Biochem.*, **259**: 120~126.
- 北條 裕正 (1980), 繭絹絲の構造(信州大學): 379~415.
- Une T., K. Kusaki, and H. Takai (2000) Properties of silk pigment and its application for cosmetics, *FRAGRANCE J.*, **14**: 15~21.
- Yamazaki M., N. Nakamura, A. Kurioka and K. Komatsu (1999), Antioxidative activity of ethanolic extracts of cocoon shell, *J. Seric. Sci. Jpn.*, **68**(2): 167~169.
- Yeo J.-H, K.-G. Lee, H.Y. Kweon, S.-O. Woo, S.-M. Han, S. -S. Kim and M. Demura (2006) Fractionation of a Silk Fibroin Hydrosate and Its Protective Function of Hydrogen Peroxide Toxicity, *J. Appl. Polym. Sci.*, **102**: 772~776.
- Yeo, J. H, K. W. Lee, H. C. Kim, Y. L. Oh, A. J. Kim, and S. Y. Kim (2000) The Effects of PVA/Chitosan/Fibroin(PCF)-Blended Spongy Sheets on Wound Healing in Rats, *Biol. Pharm. Bull.*, **23**: 1220~1223.
- 여주홍, 이광길, 이용우, 남진, 김선여 (1999) 용해조건에 따른 견단백질의 조성 변화, *Anal. Sci. & Tech.*, **12**(4): 306~311.