

실크 세리신 단백질을 이용한 유기 철분제의 제조 및 철분 결핍쥐에서의 생물학적 유용성

조혜진¹ · 이현순¹ · 정은영¹ · 박소연² · 임우택³ · 이정용³ · 연성호³ · 이진채³ · 서형주^{1*}

¹고려대학교 식품영양학과
²공주대학교 식품공학과
³월드웨이(주)

Manufacturing of Iron Binding Peptide Using Sericin Hydrolysate and Its Bioavailability in Iron Deficient Rat

Hye Jin Cho¹, Hyun-Sun Lee¹, Eun Young Jung¹, So Yeon Park², Woo-Taek Lim³,
Jeong-Yong Lee³, Seong-Ho Yeon³, Jin-Chae Lee³, and Hyung Joo Suh^{1*}

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

²Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Chungnam 314-701, Korea

³Worldway Co. LTD., Chungnam 339-853, Korea

Abstract

Silk sericin protein was hydrolyzed by seven proteolytic enzymes to examine the effectiveness of the hydrolysates to bind iron. The amino acid nitrogen contents of hydrolysates by Flavourzyme were higher than the others enzymes, and its iron binding capacity showed dose-dependent increase. The bioavailability of iron binding peptide from sericin hydrolysates was investigated in iron-deficient rats. Three-week-old male rats were fed iron-deficient diet for three weeks. Rats were divided into four groups (DD: no treated group on iron deficient diet, DD+HI: heme-iron treated group, DD+OI: sericin-Fe, and DD+II: inorganic iron (FeSO₄) treated group, and then iron supplemented by injection for one week. After oral administration for one week, the iron contents of serum and liver were significantly higher in DD+OI (4.2 µg/mL and 80.1 µg/mL) and DD+HI (3.2 µg/mL and 70.6 µg/mL) than DD (2.0 µg/mL and 47.9 µg/mL). Hemoglobin content of treated groups was significantly higher than DD, but the significant difference among groups was not shown. Aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels did not show any significant difference among all groups. Binding iron to peptide from sericin hydrolysates seems to improve its bioavailability and to hasten the cure of iron deficiency in experimental rat.

Key words: iron, sericin hydrolysate, iron binding peptide, bioavailability

서 론

철분은 생체 내에서 이루어지는 거의 모든 대사에 필수적인 성분으로 다른 영양소와 비교하여 비교적 소량만 필요하지만(1), 철분 결핍은 특이하게도 개발도상국뿐만 아니라 선진국에서도 흔히 볼 수 있는 영양결핍성 질환 중 하나이다(2). 전 세계적으로 철분 결핍이 의심되는 사람들은 약 20억 명에 이르며 개발도상국에서 학령기 전 아동들 중 철분 결핍의 유병률은 40%에 이른다고 보고되고 있다(3).

철분은 산소의 수송, 호흡, tricarboxylic acid(TCA) cycle, 지질 대사, gene regulation, DNA 합성 등 모든 세포질 대사 과정에 필수적인 cofactor로 작용하여(4) 생명 유지 및 신체의 발달에 필수적인 영양성분으로 특히 신경 수초화 과정에

관련되어 있으며 성장 및 면역기능에도 영향을 미치는 중요한 물질이다(5). 따라서 성장기의 철분 결핍은 성장 발달 장애 및 인지 기능의 저하 등 심각한 후유증을 초래할 수 있다.

철분은 체내에서 십이지장의 점막에서 흡수되는데 철분은 분자량이 크며, 이온화된 형태로 lipid-rich cellular membrane인 십이지장 점막을 쉽게 통과할 수 없다. 따라서 식이로 섭취된 철분(non-heme iron, Fe³⁺)은 십이지장의 luminal site에 있는 duodenal cytochrome B(Dcytb) reductase에 의해 Fe²⁺로 전환되어 divalent metal transporter 1(DMT1, ferroportin) 단백질을 통해 흡수되며(6), 섭취된 양의 5~10% 정도만 흡수된다고 알려져 있다. 이와 다르게 헴철(heme iron)은 십이지장의 상피세포에 존재하는 heme carrier protein 1(HCP1)이나 heme 부분과 결합하여 헴철을 흡수하는

*Corresponding author. E-mail: suh1960@korea.ac.kr
Phone: 82-2-940-2853, Fax: 82-2-940-2850

breast cancer resistance protein(Bcrp)을 통해서 쉽게 흡수되어 십이지장의 enterocyte에서 heme oxygenase(HO)의 작용을 받아 철분의 형태로 전환된 후 체내에서 이용되며 흡수율 또한 30~35% 정도로 높다(4).

철분 섭취의 대표적인 헴철은 소 등의 도축 혈액 속 헤모글로빈(hemoglobin)을 단백질 분해효소를 이용하여 단백질 부분(globin)을 분해한 후 단백질 침전, 탈취 등 정제과정을 거쳐 헴철로 만들어진다(7). 따라서 헴철의 제조과정은 도축 혈액을 사용하기 때문에 엄격한 위생관리가 요구되며 제조과정 또한 간단하지 않기 때문에 비교적 고가로 판매되고 있다. 특히 우리나라는 도축혈액의 활용도가 매우 낮은 실정으로 극소량만 이용되고, 대부분은 폐기처분되고 있으며, 헴철의 국내 공급량은 전부 수입에 의존하고 있다. 또한 국내·외적으로 최근에는 효모(8), casein 가수분해물(2,9), 유청(whey) 가수분해물(10,11) 및 닭의 근육 단백질 가수분해물(12) 등을 이용하여 철분과 결합력이 큰 단백질이나 peptide를 얻어 이를 이용한 철분결합 제제에 대한 연구가 진행되고 있다.

실크 세리신(sericin)은 누에가 방사하는 고치실의 20~30% 정도를 차지하는 접착성 단백질이다. 누에고치의 정련과정에서 세리신은 용해도가 높아 일반적으로 정련과정에서 제거되어 피브로인만 남게 되는데 이를 명주라고 한다. 용해도가 높아 정련과정의 폐기물로 여겨졌던 세리신은 최근에 들어 높은 용해도와 다양한 기능성이 알려지면서 다양한 영역에서의 활용 가능성이 보고되고 있다. 세리신은 다양한 단백질로 구성되어 있지만 특히 여러 아미노산 중 -OH기를 함유하는 아미노산인 세린의 함량이 30% 이상 포함되어 있는 특이적 단백질로 알려져 있다(13). Sasaki 등(14)은 세리신이 aspartic acid와 serin이 많다는 사실에 착안하여 열수 추출한 세리신을 금속성분(Ca, Fe, Mg, Zn)과 함께 투여한 결과 금속 성분의 흡수도가 증가하였다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 이미 식품 소재로 활용 가능성이 입증된 세리신을 철분과 결합력이 우수한 가수분해물을 제조하기 위하여 다양한 효소 처리를 실시하였고 가장 높은 가수분해도를 보인 Flavourzyme으로 처리한 세리신 가수분해물을 이용하여 철분과 결합력을 검토하였으며, 이렇게 제조된 세리신 유래 펩타이드 결합 유기철분을 실험동물에게 투여하여 체내 흡수율을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

세리신 단백질은 월드웨이(Worldway, Yeongi, Korea)에서 제공 받아 사용하였으며, 가수분해에 사용된 효소인 Flavourzyme, Neutrased, Alcalase, Collupulin, Protamex은 Novo사(Novozymes Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) 제품을, Ficin, Pancreatin은 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)

제품을 구입하여 사용하였다. FeSO₄은 Showa Denko K.K. (Fukushima, Japan) 제품을 사용하였으며, 양성 대조군으로 사용한 헴철은 보령제약(株)(Seoul, Korea) 제품을 구입하여 사용하였다.

세리신의 제조

실크 세리신의 제조공정을 간략히 기술하면 무정련 코쿤에 정제수를 이용하여 110°C에서 3시간 추출 후 여과하여 90°C에서 30분간 멸균 후 protease 효소를 이용하여 12시간 분해 후에 효소 활성을 억제하기 위하여 가열한 후 감압 동결건조 하여 세리신 단백질 분말을 얻었다(15).

효소를 이용한 세리신 가수분해

세리신 단백질 10% 용액에 Flavourzyme, Protamex, Neutrased, Alcalase, Ficin, Collupulin, Pancreatin을 0.01%를 첨가하여 Table 1에 나타낸 것처럼 제조사가 제시한 최적 반응온도 및 최적 pH에서 12시간 가수분해한 후 가열하여 반응을 정지시킨 후 원심분리(4°C, 3,000×g, 10 min) 후 상등액을 회수하였다.

아미노산량

유리 아미노산량은 2,4,6-trinitrobenzensulfonic acid (TNBS)법을 이용하여 측정하였다(16). 시료 0.125 mL에 0.212 M phosphate buffer(pH 8.2) 1 mL와 0.1% TNBS 1 mL을 가하고 혼합물을 50°C에서 60분간 암소에서 반응시켜 100 mM HCl 2 mL을 가하고 20분간 방치 후, 증류수 4 mL을 가하고 10분 방치한 다음 340 nm에서 흡광도를 측정하여 L-leucine 표준곡선과 비교하여 상대적인 아미노산 양으로 표현하였다.

미네랄 함유 펩타이드 제조

세리신 단백질 10% 용액에 Flavourzyme을 0.01%를 첨가하여 최적반응온도 50°C 및 최적 pH 6.0에서 12시간 가수분해하여 10분간 가열한 후 4°C, 3,000×g에서 10분간 원심분리 하여 상정액을 회수하였다. 유기철분은 10% 세리신 단백질 가수분해 용액에 각각 FeSO₄을 1000 ppm과 2000 ppm이 되도록 혼합하여 pH 4로 조정 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 80% ethanol이 되도록 한 후 4°C에서 12시간 방치 다음 상정액과 침전을 회수하였다.

Table 1. Characteristic of enzyme for the hydrolysis of sericin

Enzyme	Source	Optimum pH	Optimum temp. (°C)
Flavourzyme	<i>Asp. oryzae</i>	5.0~7.0	50
Protamex	<i>Bacillus sp.</i>	5.5~7.5	35~60
Neutrased	<i>B. amyloliquefaciens</i>	5.5~7.5	45~55
Alcalase	<i>Bacillus sp.</i>	7.0~9.0	50~60
Ficin	<i>Ficus carica</i>	5.0~8.0	15~60
Collupulin	<i>Caruca papaya</i>	5.0~7.5	50~70
Pancreatin	<i>Porcine pancreas</i>	7.0	37

Table 2. Components of experimental diets

Components	Amount (g)
Corn starch	1132
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): CaHPO₄ · 2H₂O, 14.56 g; KH₂PO₄, 25.72 g; NaH₂PO₄, 9.35 g; NaCl, 4.66 g; calcium lactate, 35.04 g; MgSO₄, 7.17 g; ZnCO₃, 110 mg; MnSO₄ · 4H₂O, 120 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 30 mg; KI, 10 mg.

실험동물

실험동물은 나라바이오텍(Daejon, Korea)에서 3주령(60 ± 5 g) 수컷 Sprague-Dawley(SD) 쥐를 구입하여 사용한다. 실험동물은 사육케이지(42×28 cm)를 이용해 실험실 온도 22~24°C, 습도 60±5%가 유지되며 밤낮 주기(12시간 light/12시간 dark)가 자동 조절 장치에 의해 조절되는 고려대학교에서 사육하였다. 본 연구는 고려대학교 동물실험 윤리위원회 승인을 받은 후(승인번호 KUACUC-2010-106) '실험동물 관리 및 이용에 관한 지침(Guide for the care and use of Laboratory Animals, NRC)'에 맞추어 관리하면서 실시하였으며 실험에 사용된 사료조성은 Table 2에 나타내었다.

철분투여 실험군

실험동물군은 무작위 추출법에 의해 군당 6마리씩 4개군으로 분류하였다. 실험 대조군은 2주간 철분 결핍사료를 먹인 후 철분 결핍 사료 투여 외에는 아무런 처치를 하지 않은 무처리 음성 대조군(DD), 철분을 처치한 군은 양성 대조군인 헴철을 투여한 군(DD+HI), Flavourzyme을 이용한 세리신 가수분해물을 이용하여 제조한 유기철분 투여군(DD+OI), 무기철분(FeSO₄) 투여군(DD+II)으로 분류하였다. 철분 처치군은 2주간 철분 결핍 사료를 먹인 후 사료 외에 헴철(DD+HI), 세리신을 이용하여 제조한 유기철분(DD+OI), FeSO₄을 0.2 mg/day의 농도로 1주 동안 경구 투여하였다.

혈액 및 장기 적출 및 분석

실험 종료 시점에서 12시간 절식시킨 실험동물을 ethyl ether로 마취시켜 희생시킨 후 흉강을 열고 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 시험관에 넣어 4°C, 3,000×g에서 10분간 원심분리 하여 상징액인 혈청을 취하였으며 분석 시까지 -70°C에서 보관하였다.

혈액은 혈액 자동 분기인 FUJI DRI-CHEM 3500(Fuji Photo Film Co., Osaka, Japan)을 이용해 헤모글로빈, aspartate aminotransferase(AST) 및 alanine aminotransferase(ALT) 농도를 측정하였다.

철분 농도 측정

세리신 결합 유기철분 사료, 혈청, 각 동물의 간 조직의

철분 함량 측정을 위한 전처리는 마이크로웨이브 분해법(17)을 이용하여 실시하였다. 시료 1 mL(혹은 0.25 g)에 질산 1.5 mL, 60% 과염소산 1 mL을 넣어 400 W, 15 min, 800 psi, 200°C 전 처리를 한 후 Optima 2100 DV ICP-OES (PerkinElmer, Shelton, MA, USA)를 이용하여 각 시료의 철분함량을 분석하였다.

통계 분석

실험 결과는 SPSS 12.0(SPSS Inc., Chicago, 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

효소에 의한 세리신 가수분해 및 Flavourzyme 세리신 가수분해물의 철분 결합력

고분자인 세리신 단백질 분말을 효소 처리하지 않은 control의 유리 아미노태 질소 함량은 11.4 mg/mL였으며 이 세리신 용액을 Table 1에 나타난 7가지의 효소를 이용하여 처리한 후 유리아미노산의 함량을 측정된 결과 Flavourzyme(16.2 mg/mL)을 처리한 경우 처리 전보다 유리아미노산의 함량이 유의적으로 증가하였다(Fig. 1). Flavourzyme은 *Aspergillus oryzae*에서 생산된 효소로 endoproteinase와 exoproteinase의 혼합효소이다. 식품영역에서 다른 proteases를 사용해서 단백질을 분해하는 경우 쓴맛이 생기는 반면 Flavourzyme은 소수성 잔기를 제거하여 다른 효소들에 비해 쓴맛이 생기지 않는다(18). Lee 등(19)의 연구결과

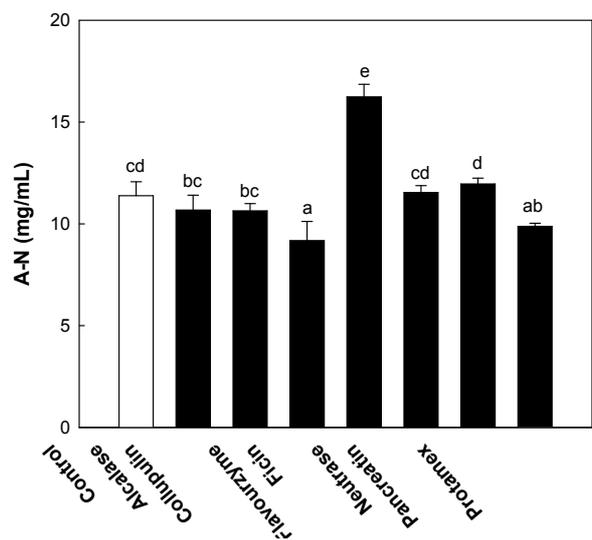


Fig. 1. The concentrations of amino acid from hydrolyzed sericin by various enzymes. Means with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

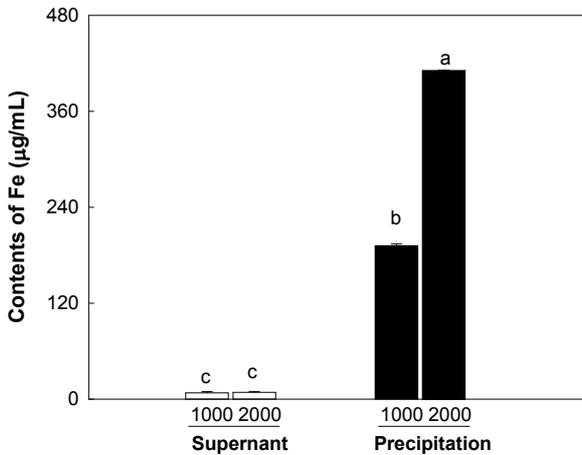


Fig. 2. Iron-binding capacity of sericin hydrolysate.

에 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.

Flavourzyme을 이용하여 가수분해한 실크 단백질에 각각 1000 ppm과 2000 ppm의 FeSO₄을 넣어 교반한 후 80% 에탄올 침전 후 얻은 상등액과 침전물을 Fe 함량을 측정 한 결과 (Fig. 2) Fe 농도가 증가할수록 단백질과 결합해 침전한 Fe의 함량이 증가하였다. 유기철분 1000 ppm의 ethanol 침전시켰을 때 철분의 양은 상등액 (7.8 µg/mL)에 비해 침전 (191.5 µg/mL)은 높은 값을 나타내며 유기철분 2000 ppm 역시도 ethanol 침전 시 상등액 (8.5 µg/mL)에 비해 침전 (411.0 µg/mL)이 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 FeSO₄와 결합하여 킬레이트 구조를 형성할 수 있는 것으로 추측된다.

세리신 결합 철분의 체내 흡수율

2주간 철분 결핍 식이를 투여한 쥐를 4군으로 분리한 후 형태가 다른 3종의 철분을 1주간 경구투여 한 결과 체중증가량이나 식이섭취율, 식이효율 및 각 장기의 무게는 모든 투여군에서 군 간의 유의적인 차이가 없었다 (Table 3). 그러나 체내 흡수된 철분의 농도를 측정 한 결과 혈청 (2.0 µg/mL)과 간 (47.9 µg/mL) 모두에서 무처리 대조군 (DD)에서 가장 낮

Table 3. Body weight gain, food intake, and food efficiency ratio (FER) of experimental groups for iron bioavailability

Experiment group (6 rats/group)	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER
DD	1.5±0.3	11.1±0.1	0.1±0.0
DD+HI	1.2±0.4	10.7±0.1	0.1±0.0
DD+OI	1.5±0.3	11.7±0.3	0.1±0.0
DD+II	1.2±0.2	11.4±0.1	0.1±0.0

은 철분 농도가 관찰되었다. 형태를 달리한 철분을 투여한 모든 군에서 무처리 대조군보다 철분의 농도가 혈청 및 간에서 모두 유의적으로 증가하였다 (Fig. 3). 세리신을 이용하여 제조한 유기철분 투여군은 간에서 80.1 µg/mL, 혈청에서 4.2 µg/mL의 철분 농도가 관찰되었으며, 양성 대조군인 헴철 투여군에서는 간에서 70.6 µg/mL, 혈청에서 3.2 µg/mL의 철분 농도가 관찰되었으나 두 투여군 간의 유의적 차이는 없었다. 무기철분을 투여한 군 (DD+II)도 간에서의 철분 함량 (67.9 µg/mL)이 무처리 대조군 (DD)보다 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으나 유기철분이나 헴철보다는 유의적인 수준에서 낮게 관찰되었다.

다양한 철분 형태 처치에 따른 혈중 헤모글로빈 농도는 Fig. 4에 나타내었다. 혈중 헤모글로빈 농도는 무처리 대조군 (8.9 g/dL)에 비해 철분 처치군 (DD+HI; 12.2 g/dL, DD+OI; 12.6 g/dL, DD+II; 12.0 g/dL)이 유의적으로 높았으나 철분의 형태에 따른 유의적 차이는 관찰되지 않았다 (p < 0.05).

철분결핍의 제 1단계는 체내 저장철의 함량이 감소되는 단계이며, 제 2단계는 저장 철분의 고갈과 함께 transferring

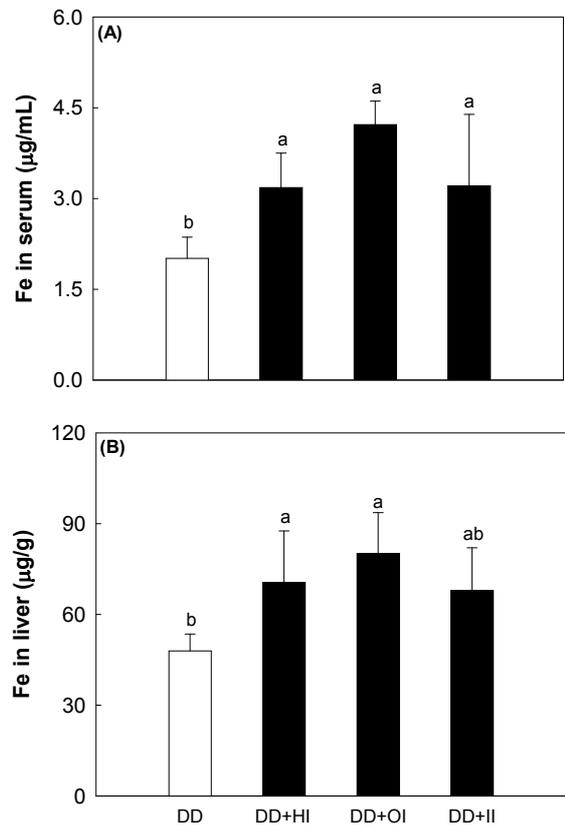


Fig. 3. Iron levels of serum and liver in SD rats treated with various iron types for 1 week. Values are mean±SD for 6 rats. Means with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests. DD: no-treatment with iron deficient diet, DD+HI: heme-iron with iron deficient diet, DD+OI: organic-iron with iron deficient diet, DD+II: inorganic-iron with iron deficient diet.

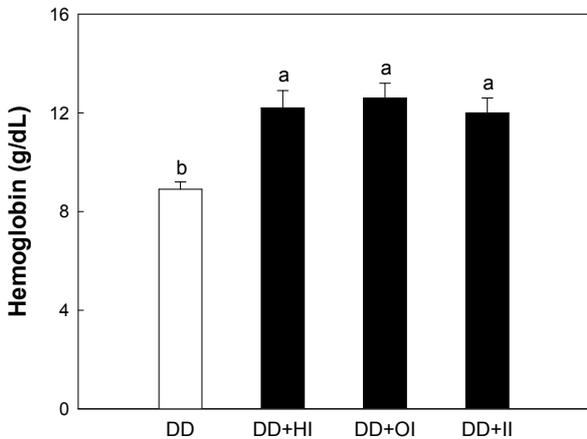


Fig. 4. Hemoglobin level of SD rats treated with various iron types for 1 week. Values are mean±SD for 6 rats. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests. DD: no-treatment with iron deficient diet, DD+HI: heme-iron with iron deficient diet, DD+OI: organic-iron with iron deficient diet, DD+II: inorganic-iron with iron deficient diet.

포화도가 감소되고 조혈세포에 공급되는 철분이 부족하여 헤모글로빈 생성에 장애가 나타나기 시작하는 단계이다. 제 3단계는 헤모글로빈 농도의 저하와 함께 뚜렷한 철분결핍성 빈혈증세가 나타나는 단계이므로 철분투여군 중 유기철분의 헤모글로빈 농도가 가장 높았지만 철분의 형태에 따른 유의적 차이가 관찰되지 않은 것으로 추정된다(20).

양성 대조군인 헴철 투여군이나 유기철분 투여군이 무기철분 투여군보다 체내 흡수율에서 큰 유의적 차이가 관찰되지 않았다. 이는 본 실험이 3주령 웅성 쥐를 2주간의 철분결핍 후 1주간 투여 후 관찰한 결과로 짧은 기간 동안 수행되어 무기철분 투여군과 헴철 투여군의 유의적 차이가 관찰되지 않은 것으로 추정된다. 그러나 조금 더 긴 기간 동안 관찰할 경우 유의적 차이가 보다 뚜렷하게 나타날 것으로 예측된다.

철분제제의 간독성

철분 결핍상태에서 높은 농도의 철분을 급여한 경우에는 정상 상태에서 높은 농도의 철분을 급여한 경우보다 간에서의 저장철분의 증가폭이 높게 나타나며 철분 결핍식에 적응된 쥐에게 철분을 보충 시 고갈된 간의 철저장량을 적극적으로 충당하기 위해서 철의 흡수율이 증가될 수 있다는 연구가 보고되었다. 우리는 이에 철분이 간에 독성으로서 작용을 하는가를 알아보기 위하여 ALT, AST 농도를 분석을 하였다. 혈중 ALT, AST 농도는 무처치 대조군에 비해 헴철과 유기철분은 다소 증가시키는 경향을, 무기철분은 다소 감소시키는 경향을 나타내 철분 형태에 따른 상반된 경향을 나타내었으나 통계적으로 의미는 없었다(Fig. 5). 따라서 효소처리 세리신을 이용한 유기철분의 투여 시 간독성이 없음을 추정할 수 있었다.

우리나라의 경우, ferritin 수치를 조사한 결과를 보면 성인 남성의 4.7%, 성인 여성의 45%, 10대 남성 25%, 10대 여성의 59%가 철분결핍성 빈혈상태인 것으로 보고되고 있다(9). 철분 결핍의 주요 원인은 주로 부적절한 식이, 흡수장애, 반복적 임신 및 소아기 급속 성장에 따른 요구량 증가를 들 수 있다(21). 특히 우유에 의존하고 있는 유아 및 어린이의 철분결핍은 유아 성장에 많은 장애를 일으킬 수 있고, 이러한 성장장애가 특이성 중추 신경계에 영향을 미쳐 정신 발달장애를 일으킨다(22). 따라서 최근 효과적인 철분 공급제인 헴철의 효능을 가지면서도 저렴한 철분제에 대한 연구가 진행되고 있다(2,10-12).

세리신은 양잠산업의 부산물로 과거에는 폐기물로 여겨졌으나 최근 그 활용가능성이 소개되면서부터 새로운 기능성 소재로 주목받고 있다(13). 세리신은 주로 음전하를 띠어 염기성 기질이 잘 부착되는 특징을 가지고 있다. Sasaki 등(14)의 보고에 따르면 세리신과 미량원소(Ca, Fe, Mg, Zn)를 동시에 실험동물에 투여할 때 미량원소의 흡수율이 증가하

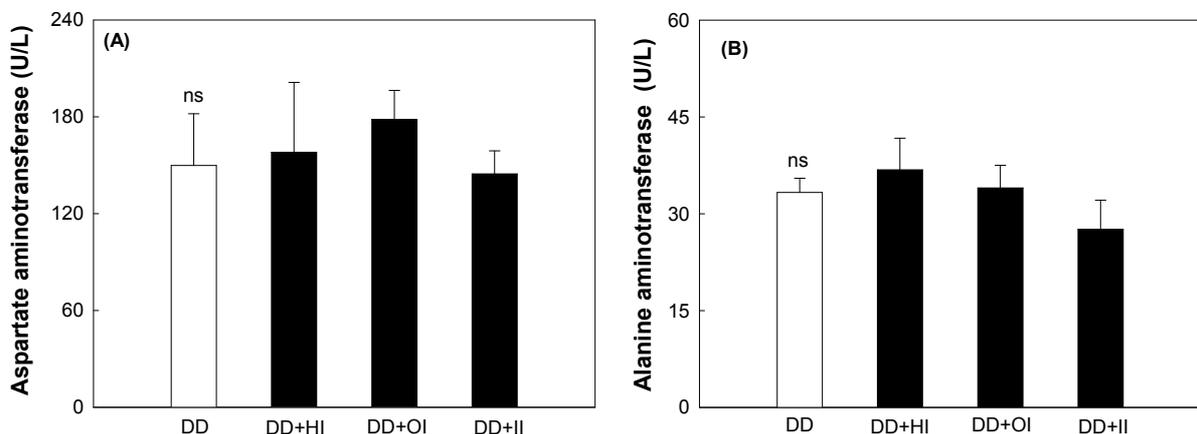


Fig. 5. Aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels of SD rats treated with various iron types for 1 week. Values are mean±SD for 6 rats and ns, not significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests. DD: no-treatment with iron deficient diet, DD+HI: heme-iron with iron deficient diet, DD+OI: organic-iron with iron deficient diet, DD+II: inorganic-iron with iron deficient diet.

였으며, 특히 철분의 경우 그 흡수율이 41% 정도 증가하였다고 보고하였다. 본 연구진의 연구에서도 세리신 가수분해물을 이용하여 철분과의 결합력을 측정된 결과, 높은 결합력을 가지고 있는 것을 확인하였다(Fig. 2). 또한 이를 이용하여 제조한 유기철분의 경우 헴철과 유사한 체내 흡수력을 가지고 있음을 확인하였다(Fig. 3 및 Fig. 4). 그러나 본 연구는 짧은 기간 동안 수행한 연구결과로 조금 더 정확한 결과를 위해서는 보다 긴 기간 동안의 연구가 진행되어야 할 필요가 있으며, 또한 세리신과 결합된 철분이 어떻게 흡수되는지에 대한 기전연구가 수행되어야 할 것이다. 그러나 본 연구진은 이번 연구를 통해 현재 폐자원으로 취급되는 세리신의 활용 가능성이 있음을 확인하였고, 특히 이를 이용한 유기철분의 경우 고가의 헴철과 유사한 활성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

요 약

세리신을 철분과 결합력이 우수한 가수분해물을 제조하기 위하여 다양한 효소 처리를 실시하였으며 세리신 가수분해물을 이용하여 철분과 결합력을 검토하였다. 고분자인 세리신 단백질 분말을 효소 처리하지 않은 control과 비교한 결과 Flavourzyme(16.2 mg/mL)을 처리한 경우 유리 아미노산의 함량이 유의적으로 증가하였다. Flavourzyme 세리신 가수분해물에 각각 1,000 ppm과 2,000 ppm의 FeSO₄을 넣어 교반한 후 80%에탄올 침전 후 얻은 상등액과 침전물을 Fe 함량을 측정된 결과 유기철분 1,000 ppm의 철분의 양은 상등액(7.8 µg/mL)에 비해 침전(191.5 µg/mL)이 높은 값을 나타내며 유기철분 2,000 ppm 역시도 상등액(8.5 µg/mL)에 비해 침전(411.0 µg/mL)이 유의적으로 증가하였다. 2주간 철분 결핍 식이를 투여한 쥐를 4군으로 분리한 후 형태가 다른 3종의 철분을 1주간 투여한 결과 체중증가량이나 식이 섭취율 및 식이효율을 측정된 결과 모든 투여군에서 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 체내 흡수된 철분의 농도를 측정된 결과 혈청(2.0 µg/mL)과 간(47.9 µg/mL) 모두 무처리 대조군(DD)에서 가장 낮은 철분 농도가 관찰되었다. 형태를 달리한 철분을 투여한 모든 군에서 무처리 대조군보다 철분의 농도가 혈청 및 간에서 모두 유의적으로 증가하였다. 세리신을 이용하여 제조한 유기철분 투여군은 간에서 80.1 µg/mL, 혈청에서 4.2 µg/mL의 철분 농도가 관찰되었으며, 양성 대조군인 헴철 투여군에서는 간에서 70.6 µg/mL, 혈청에서 3.2 µg/mL의 철분 농도가 관찰되었으나 두 투여군 간의 유의적 차이는 없었다. 무기철분을 투여한 군(DD+II)보다는 간에서의 철분 함량(67.9 µg/mL)이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으나 유기철분이나 헴철보다는 유의적인 수준에서 낮게 관찰되었다. 혈중 헤모글로빈 농도는 무처리 대조군(8.9 g/dL)에 비해 철분 처치군(DD+HI: 12.2 g/dL, DD+OI: 12.6 g/dL, DD+II: 12.0 g/dL)이 유의적으로 높았으나 철분의 형태에 따른 유의적 차이는 관찰되지 않았다.

문 헌

1. Bezkorovainy A. 1989. Biochemistry of nonheme iron in man. II. Absorption of iron. *Clin Physiol Biochem* 7: 53-69.
2. Ait-Oukhatar N, Peres JM, Bouhallab S, Neuville D, Bureau F, Bouvard G, Arhan P, Bougle D. 2002. Bioavailability of caseinophosphopeptide-bound iron. *J Lab Clin Med* 140: 290-294.
3. Domellof M. 2007. Iron requirements, absorption and metabolism in infancy and childhood. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10: 329-335.
4. Cairo G, Bernuzzi F, Recalcati S. 2006. A precious metal: Iron, an essential nutrient for all cells. *Genes Nutr* 1: 25-39.
5. Beard JL. 2001. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J Nutr* 131: 568S-579S.
6. Mackenzie B, Garrick MD. 2005. Iron imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastr* L289: G981-G986.
7. Lebrun F, Bazus A, Dhulster P, Guillochon D. 1998. Solubility of heme in heme-iron enriched bovine hemoglobin hydrolysates. *J Agric Food Chem* 46: 5017-5025.
8. Na SJ, Oh JI, Uuganbayar D, Jung DK, Kim HY, Moon ST, Yang CJ. 2006. Effects of dietary chelated Fe and yeast Fe on growth performance and body composition in broiler chicks. *Korean J Poult Sci* 33: 113-119.
9. Chio IW, Kim KS, Lim SD, Lim SW. 1998. Iron binding peptides from casein hydrolysates produced by alcalase. *Korean J Food Sci Technol* 30: 218-223.
10. Kim SB, Seo IS, Khan MA, Ki KS, Lee WS, Lee HJ, Shin HS, Kim HS. 2007. Enzymatic hydrolysis of heated whey: Iron-binding ability of peptides and antigenic protein fractions. *J Dairy Sci* 90: 4033-4042.
11. Kim SB, Seo IS, Khan MA, Ki KS, Nam MS, Kim HS. 2007. Separation of iron-binding protein from whey through enzymatic hydrolysis. *Int Dairy J* 17: 625-631.
12. Seth A, Mahoney RR. 2000. Binding of iron by chicken muscle protein digests: the size of the iron-binding peptides. *J Sci Food Agric* 80: 1595-1600.
13. Lee KH. 2005. Application of silk sericin as a polymer material. *Polymer Science and Technology* 16: 577-587.
14. 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.
15. Worldway. 2001. Recovering method of sericin. *Korean Patent* 10-2001-0057987.
16. Habeeb AF. 1966. Determination of free amino groups in proteins by trinitrobenzenesulfonic acid. *Anal Biochem* 14: 328-336.
17. 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.
18. Pommer K. 1995. New proteolytic-enzymes for the production of savory ingredients. *Cereal Food World* 40: 745-748.
19. 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.
20. Yang MZ, Kim YJ, Part T. 2003. Effect of dietary supplementation of sypjeondaebotang or jahyulyanggeuntang on iron bioavailability in rats. *Korean J Nutr* 36: 262-269.
21. Gautam CS, Saha L, Sekhri K, Saha PK. 2008. Iron deficiency in pregnancy and the rationality of iron supplements prescribed during pregnancy. *Medscape J Med* 10: 283.
22. Cook JD. 1994. Iron-deficiency anaemia. *Baillieres Clin Haematol* 7: 787-804.

(2010년 7월 7일 접수; 2010년 8월 2일 채택)