

# 흑염소 단백질의 가수분해 조건에 따른 특성 모니터링

최영선\*, 정지영\*, 남철환\*, 구민정\*, 김훈섭\*, 노유진\*

\*전라남도농업기술원 축산연구소

theydo4406@korea.kr

## Monitoring on Characteristics of Black Goat meat Hydrolyzed by Various Proteolytic Conditions

Young-sun Choi\*, Ji-Yeong Jeong\*, Min-jung Gu\*, Seop-Hun Kim\*, Yu-jin No\*

\*Livestock Research Institute Jeollanamdo Agricultural Research & Extension Service(JARES)

### 요약

본 연구의 목적은 흑염소고기에서 단백질을 추출하여 품질특성을 분석하고 흑염소고기 단백질 소재를 이용한 고령친화식품 개발을 위한 기초자료를 제공하기 위하여 실시하였다. 탈지시킨 흑염소고기 SDS-PAGE 분석 결과 Elastase를 이용한 가수분해물은 15 kDa 미만으로 펩타이드가 생성되었고, 20 kDa와 50 kDa 부근에서도 다른 명확한 밴드가 나타났다. Bromelain를 이용한 가수분해물은 20 kDa 미만으로 가수분해된 펩타이드가 확인되었다. 가수분해 흑염소고기 단백질의 TBARS 분석 결과, Elastase와 Bromelain을 처리한 단백질 가수분해물에서 대조구보다 낮은 지방산화를 나타냈고, DPPH 분석 결과, Bromelain을 처리한 가수분해물에서 elastase를 처리한 단백질 가수분해물보다 높은 항산화능을 나타내었다. Fe-chelating 분석 결과, Elastase를 처리한 단백질 가수분해물에서 Bromelain과 대조구보다 높은 Fe-chelating 효과를 나타내었다. 흑염소고기 단백질 소재를 이용한 단백질 바 조직감 비교 결과 기존 단백질원인 분리대두단백, 카제인나트륨을 첨가한 단백질과 비교하였을 때 흑염소고기 단백질을 첨가한 단백질 바가 부드러운 조직감으로 조사되었다(고령친화식품 품질 기준 경도 1단계(0.5~5.05 kgh)에 해당됨). 이상의 결과를 바탕으로 흑염소 단백질 소재를 이용한 고령친화식품 개발을 위한 기초자료로 활용될 것으로 사료된다.

### 1. 서론

흑염소는 체구가 작고 온순해 상대적으로 노동력이 적게 들어 소자본으로 접근이 쉽고, 산지 생태축산과 6차 산업에 적합하여 최근 사육두수가 증가하였다. 국내 흑염소 사육은 2022년 기준 11,295호, 455천두(추정)이며 특히 전라남도 흑염소 사육은 1,495호 108천두로 전국의 23%를 차지하며 전국에서 가장 많이 사육하고 있는 지역의 대표 특화 가축이다(농림축산식품부 기타가축통계). 또한 흑염소 생산액은 2020년 1,240억원으로 2015년 대비 2배 가까이 급증하였으며, 이러한 추세를 미루어 본다면 향후 예도 지속적으로 증가해 산업 규모가 확대할 것으로 전망된다(강 등, 2020. 축산식품과 산업).

흑염소 고기는 타 육류와 비교해서 수분함량은 소고기와 비슷하고, 단백질은 소고기와 돼지고기보다 약간 높고, 지방함량은 매우 낮을 뿐만 아니라 필수아미노산과 불포화지방산 그리고 vitamin E 함량이 높아 웰빙식

품으로서 훌륭한 가치를 가지고 있음을 확인하였다(Kim et al., 1995). 예로부터 흑염소고기는 본초강목 등 고전 의학서를 통해 건강식품으로 알려져 대부분 약용으로 이용되어 소비가 특정 계층에서만 이루어지고 있으며 흑염소 고기의 유통은 주로 직영농장 또는 식당에서만 이루어지며 활성화되지 못하였고 소비자들의 구매가 쉽지 않은 실정이다. 최근 흑염소고기의 소비 형태가 육용으로 점차 바뀌고 있으나, 쇠고기, 돼지고기 등 주류 육류에 비해 소비량이 저조하고, 섭취 메뉴가 탕, 수육, 불고기로 단순하여 대중화되지 못하고 있다. 흑염소고기 유통도 전문식당을 통한 소비에 국한되어 있어 흑염소 고기에 대한 소비자의 접근성 증대화 소비계층 확대를 통한 소비시장 개척이 필요한 실정이다.

이에 따라 본 연구는 흑염소고기에서 단백질을 추출하여 품질특성을 분석하고 시제품을 제조한 후, 흑염소 단백질 소재를 이용한 고령친화식품 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 공시재료

분석에 사용된 흑염소 시료는 동일농장(전남 강진군)에서 사육된 흑염소 고기를 이용하였다. 원료육의 과도한 지방과 결체조직을 제거한 후 직경 5mm, 3mm 플레이트 각각 사용하여 2회 분쇄한 후 잘 섞어 원료육으로 이용하였다.

### 2.2 DPPH(Diphenyl picrylhydrazyl) 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성 분석방법(Blois, 1958)을 이용하여 시료의 펩타이드의 항산화 활성을 측정하였다. 펩타이드 용액(1mg/mL) 2mL를 증류수(DW) 18mL에 녹여서 균질화하였다. 원심분리는 Whatman No.4 여과지를 이용하여 균질화물을 여과한 후 1,000g에서 10분간 실시하였고, 상층액(0.4mL), DW (1.6mL) 및 DPPH 용액 2mL(메탄올 0.2 mL)을 1시간 동안 암실에 보관하였고, 1,000g에서 10분간 원심분리가 끝나면 517nm에서 흡광도를 측정하고 아래의 식을 이용하여 항산화 활성을 측정하였다.

$$\text{DPPH-radical scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}} \times 100$$

### 2.3 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

TBARS(2- thiobarbituric acid - reactive substances) 측정방법(Ahn et al., 1998)에 따라 시료 5 g 에 증류수 15 mL를 50 mL 시험관에 섞어 균질화 하였다. 균질된 시료 1 mL을 15 mL튜브에 옮겨 넣고, TBA/TCA(20 mM thiobarbituric acid/ 15% trichloroacetic acid) 혼합용액을 2 mL을 첨가하였다. 혼합물이 완전히 섞은 뒤 90℃ 항온 수조에서 15분간 색깔을 발현 시키고, 10분간 식힌 후 다시 섞어 원심분리기를 이용하여 3000 rpm, 4℃에서 15분간 원심분리 한 후, 상층액을 531 nm에서 흡광도를 측정하였다. 증류수 1 mL 및 TBA/TCA 용액 2 mL를 혼합하여 blank로 하였으며, TBARS 양은 샘플 kg당 Malonedialdehyde(MDA)의 mg으로 표시하였다.

### 2.4 Iron (II) chelating activity

시료의 철(II) 킬레이트 활성은 이전 연구인 Carter, 1971()에 따라 평가하였다. 먼저 펩타이드 용액 100L(0.1 mg/mL)가 들어있는 15mL 시험관에 10ppm Fe<sup>2+</sup>(Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1mL와 증류수 900L를 넣고 상온에서 5분간 배양하였다. 그 후, 시료 용액에 트리클로로아세

트산 용액 0.9mL(13%, w/v)를 넣고 2500g에서 10분간 원심 분리하였다. 15mL 원심분리관에서 수집된 상층액 1mL, 페로인 색 지시약 0.2 mL, DW 1mL 및 10% 아세트산암모늄 0.8 mL를 함께 와류하였다. 배양은 상온에서 5분간 수행한 후 562nm에서 흡광도를 측정하였다. 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Iron (II) chelating activity (\%)} = 1 - \left( \frac{\text{Absorbance of the sample}}{\text{Absorbance of the blank}} \right) \times 100$$

### 2.5 Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity

ACE 억제 활성은 Cushman & Cheung,(1971)의 방법에 따라 평가되었다. 0.1mL의 펩티드 용액을 20L의 ACE (25 mU/mL)와 함께 배양 후 미리 배양된 혼합물을 5mM HHL (Hippuryl-Histidil-Leucine)을 포함하는 0.1M 보레이트 완충액 (pH 8.3) 0.1mL와 혼합하고 37에서 30분 동안 재배양하였다. 염산 (1M) 150L를 사용하여 반응을 정지시키고 방출된 히푸린산을 에틸 아세테이트 1mL로 추출하고 1,500g에서 10분 동안 원심 분리한 후, 상층액 (0.75mL)을 1.5mL 시험관으로 옮기고, 열 불꽃 증발에 의해 에틸 아세테이트를 90에서 15분 동안 제거하였다. 이어서 큐벳을 사용하여 히푸린산이 DW 0.8mL에서 재용해된 후 228 nm에서 분광광도계 흡광도를 측정하였다.

$$\% \text{ ACE inhibition} = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{blank}}} \times 100$$

## 3. 결과 및 고찰

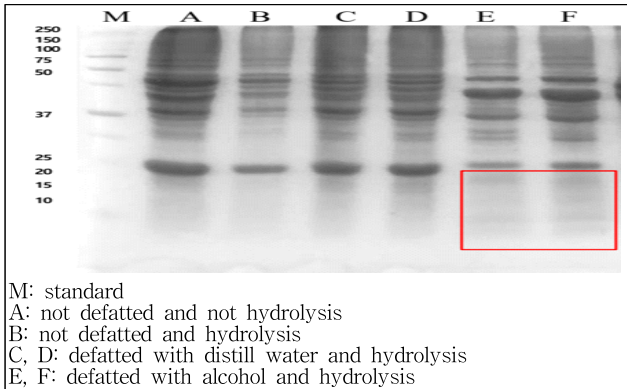
### 3.1 흑염소 단백질 원료 탈지 공정

단백질 원료 생산 및 분말화 공정확립을 위해 동결 건조, 열풍건조, 육포 분말을 첨가한 흑염소고기 단백질 바를 제조하였다. 단백질 원료 생산을 위한 탈지 공정은 원료육 분쇄 후 증류수 및 식품용 주정(고기:증류수 1:3)에 3시간 정치(3회 반복) 후 동결 조 분말로 제조하였다. 증류수 탈지보다 식품용 주정으로 탈지했을 때 지방 함량이 감소한 것을 조사되었다(표 1).

[표 1] 흑염소 단백질 탈지 공정확립을 위한 지방함량 비교

지방 함량	탈지 전(%)	탈지 후(%)
식품용 주정 탈지	2.42	1.46
증류수 탈지	2.42	2.37

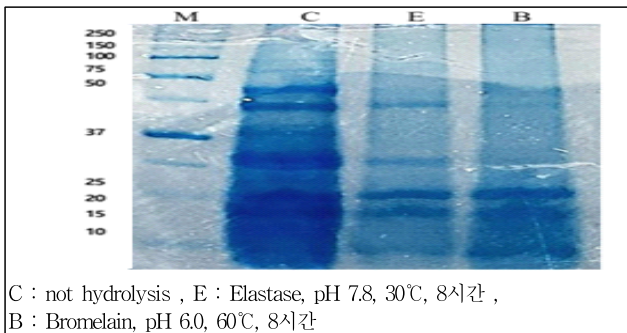
탈지시킨 흑염소고기 가수분해물 제조 및 SDS-PAGE 기법 확인(가수분해 조건 설정 : 효소 Elastase, pH 7.8, 25°C, 8시간) 결과 그림 1과 같이 탈지 및 가수분해 과정을 거치지 않은 A는 가수분해시킨 B에 비해 단백질이 분해되지 않았고, 증류수를 이용하여 탈지시킨 C, D의 가수분해물은 75 kDa 이하 수준으로 분해되었으나, 10 kDa 미만 분자량에서는 관찰되지 않았다. 식품용 주정을 이용하여 탈지시킨 E, F 가수분해물을 10 kDa 이하 분자량에서 단백질 밴드 관찰되어, 식품용 주정을 이용하여 탈지시킨 흑염소고기 단백질 소재 가수분해물의 저분자 펩타이드가 많이 관찰되는 것으로 나타났다.



[그림 1] 탈지시킨 흑염소고기 가수분해물 제조 및 SDS-PAGE 기법 확인

### 3.2 탈지시킨 흑염소 가수분해물 제조 및 품질특성 확인

SDS-PAGE 분석 결과(그림 2) Elastase를 이용한 가수분해물은 15 kDa 미만으로 펩타이드가 생성되었고, 20 kDa와 50 kDa 부근에서도 다른 명확한 밴드가 나타났다. Bromelain를 이용한 가수분해물은 20 kDa 미만으로 가수분해된 펩타이드가 확인되었고, 가수분해하지 않은 C보다 효소를 이용한 가수분해물 E와 B에서 명확한 펩타이드 밴드가 확인되었다. 단백질에 비해 크기가 작은 생리 활성 펩타이드는 생체 내로 쉽게 흡수될 수 있으며, 항산화 효과, 면역기능, 고혈압 예방, 진통완화 및 항균작용 등 생리활성 높은 것으로 보고되고 있다.

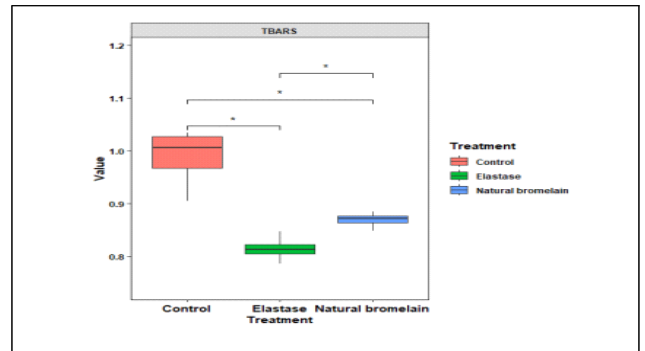


[그림 2] 흑염소고기 단백질 소재 가수분해물 제조 및 품질특성 확인

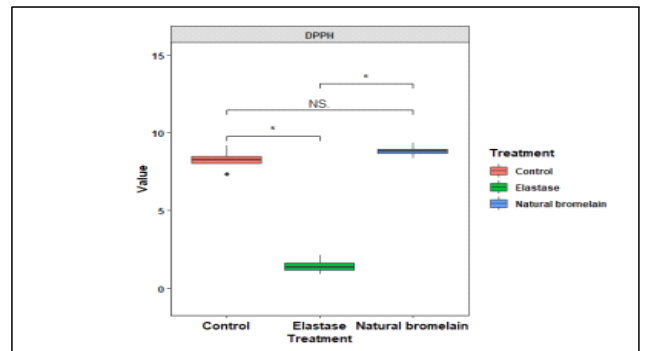
### 3.3 흑염소 가수분해물 항산화

TBARS 분석 결과, Elastase와 Bromelain을 처리한 단백질 가수분해물에서 대조구보다 낮은 지방산화를 나타냈고, DPPH 분석 결과, Bromelain을 처리한 가수분해물에서 elastase을 처리한 단백질 가수분해물보다 높은 항산화능을 나타냈다. 단백질이 가수분해되면 유리아미노산 및 저분자 펩타이드가 생성되며 이들의 크기, 함량, 구조나 구성하고 있는 아미노산의 종류, 배열순서 등 복합적인 작용으로 항산화 효과를 나타낸다.

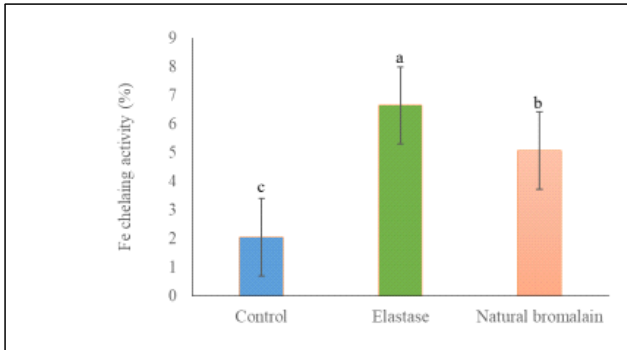
Fe-chelating 분석 결과, Elastase을 처리한 단백질 가수분해물에서 Bromelain과 대조구보다 높은 Fe-chelating 효과를 나타냈고, Bromelain을 처리한 단백질 가수분해물도 대조구보다 높은 Fe-chelating 효과를 나타냈다. ACE 저해능 분석 결과, Bromelain을 처리한 단백질 가수분해물에서 ACE 저해능이 높은 것으로 나타났다. 흑염소고기 단백질 가수분해물의 항산화 활성 측정 결과, 가수분해하지 않은 대조구보다 가수분해한 처리구(Elastase, Bromelain)에서 TBARS, DPPH, Fe-chelating, ACE 저해능과 같은 항산화 활성과 기능성이 우수함을 확인할 수 있고, 향후 흑염소고기 단백질을 이용한 펩타이드에 관한 연구를 통해 기능성식품 및 소재 개발에 이용할 수 있을 것으로 사료된다.



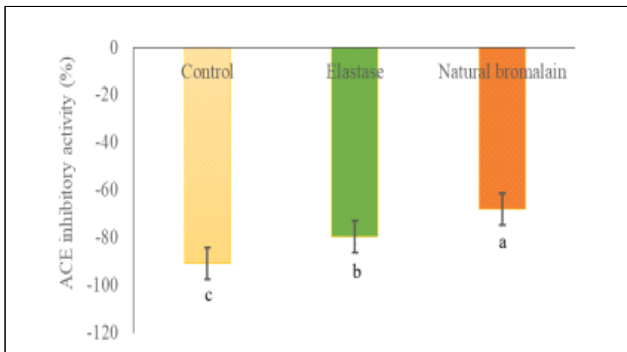
[그림 3] 흑염소고기 단백질 소재 가수분해물 TBARS 소거 활성



[그림 4] 흑염소고기 단백질 소재 가수분해물 DPPH 소거 활성



[그림 5] 흑염소고기 단백질 소재 가수분해물 Fe-chelting



[그림 6] 흑염소고기 단백질 소재 가수분해물 ACE 저해능

참고문헌

- [1] 임동균, “유자 및 매실추출물 첨가가 천연건조 한우 육포의 품질특성에 미치는 영향”, 충남대학교 농업과학기술연구소, 39권, 2호, 243-253, 2012년
- [2] 남기창, “건조방법에 따른 우육포의 유리아미노산 및 Dipeptide 함량, 물성 및 관능 특성 비교”, 한국축산식품학회, Vol. 32, No. 6, pp. 796-802, 2012년
- [3] Keskinel, A., Ayres, J. C., and Hnyer, H. E. (1964) Determination of oxidative changes of meats by the 2-thiobarbituric acid method. J. Food Tech. 18, 223-228.
- [4] Witte, V. C., Krause, G. F., and Baile, M. E. (1970) A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. J. Food Sci. 35, 352-358.
- [5] Park, G. B., Hur, S. J., Lee, J. R., Lee, J. I., Kim, Y. H., Ha, Y.L., and Joo, S. T. (2000) Effects of onion peel components on lipid oxidation and the changes of color in press ham. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 20, 93-100.
- [6] Na Y, Joo N. 2012. Processing optimization and antioxidant activity of sausage prepared with tomato powder. Korean J Food Cookery Sci 28: 195-206.