

산 · 학 · 연 논문

대두의 단백질을 이용한 항고혈압 기능성 펩타이드 제조와 활용가치

김 중 학

(주)이롬 생명과학연구원, 강원대학교 의생명공학과

Production of Functional Peptide from Soy Protein and Its Usability

Joong-Hark Kim

R&D Center, Erom Co., Ltd. and Department of Medical Biotechnology, Kangwon National University

서 론

통계청 조사자료에 따르면 2018년 우리나라 전체 인구는 2031년까지 계속 증가 후 감소하는 반면 65세 이상 인구는 2050년까지 지속적으로 증가할 것으로 예측했으며, 2018년 인구 피라미드는 30~50대의 비중이 높은 형태이지만 2060년에는 고령화로 인하여 60대 이상의 비중이 높은 형태로 변화될 것으로 전망했다. 또한 2018년 65세 이상 인구가 차지하는 구성비는 14.3%로 지속적으로 증가하여 2060년에는 41.0%까지 증가할 것으로 전망하여 우리 사회가 이미 고령화 사회로 진입하고 있으며 그에 따른 대비가 시급한 실정임을 시사했다. 고령자의 사망원인을 살펴보면 2017년 65세 이상 고령자의 사망원인 1위는 암으로 인구 10만 명당 784.4명이 사망한 것으로 나타났으며 다음으로 심장 질환(361.3명)과 뇌혈관 질환(268.6명) 순으로 나타났지만, 뇌혈관 질환도 순환계 질환으로서 고혈압과의 연관이 큰 것을 고려할 경우 고령자의 고혈압에 의한 사망률은 암 환자에 필적할 만큼 지속적으로 증가하고 있어 대책이 매우 시급하다(Fig. 1)

(통계청, 2018).

고혈압을 치료하기 위한 다양한 의약품들이 개발되어 치료에 적용되고 있으나 조절률이 낮은 문제와 특히 다양한 부작용을 야기해 장기적 치료와 관리가 필요한 질병의 특성상 지속 사용이 어려운 문제점을 안고 있다. 한편 식품의 단백질로부터 유래되는 다양한 종류의 펩타이드는 고혈압 유발의 핵심기전 중 하나인 안지오텐신전환효소(Angiotensin Converting Enzyme, ACE)를 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있으며 의약품에 비해 안전하기 때문에 이를 이용하기 위한 연구들이 다양하게 수행되고 있다. 따라서 본문에서는 고혈압의 유병적 특성 및 문제점과 식품 유래의 항고혈압 소재의 개발과 특징에 대해 다루고자 한다.

고혈압의 유병적 특성

고혈압은 일반적으로 특별한 증상이 없으며 일부 환자만이 증상을 호소하는 경우가 있다. 따라서 평소에는 아무런 증상이 없다가 갑자기 뇌졸중과 심장마비 등의 치명

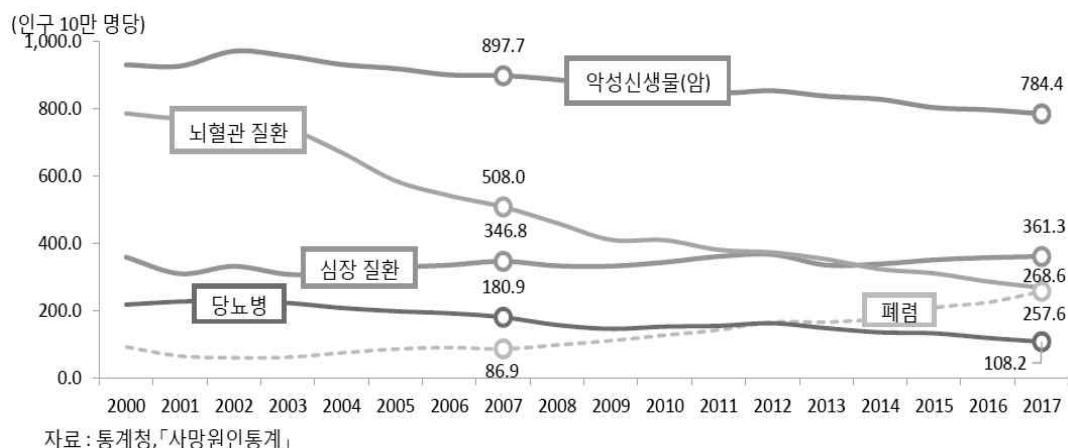


Fig. 1. 65세 이상 고령자의 사망원인 및 사망률 추이. 자료: 통계청, 2018.

적인 질환을 일으키기 때문에 “침묵의 살인자”라고도 불린다. 고혈압은 수축기 및 이완기 혈압이 140 mmHg와 90 mmHg 이상인 경우를 말하며 160 mmHg 이상이면 고혈압 2기로 분류된다. 고혈압 대부분은 1차성, 즉 본태성 고혈압으로 알려져 있으며 원인은 분명하지는 않으나 유전적인 요인이 큰 것으로 알려져 있다. 고혈압은 다양한 합병증을 유발하며 장기손상으로 나타나는데 뇌혈관, 심혈관, 신장, 망막출혈 질환 등이 대표적인 질환으로 고혈압 환자의 사망률을 크게 증가시키는 원인이 된다. 고혈압 합병증에 의한 사망률은 우리나라 전체 사망원인의 약 50% 이상을 차지하며, 특히 40대에서 50대의 한창 일할 나이에서 가장 많이 발생하여 개인과 가정의 불행은 물론 국가 경제에도 큰 손실을 야기하고 있다.

한국인의 고혈압 유병률은 30세 이상 남자가 31.8%, 여자가 26.2%로 30대 이상에서 주로 발병되며, 50세 이상부터는 평균 32%, 70세 이상에 평균 63.5%로 연령이 증가함에 따라 발병률이 크게 증가하는 것으로 나타난다(보건복지부, 2015). 특히 고혈압의 자각률에 대해서 30대의 81%와 40대의 57%는 본인이 고혈압임을 전혀 인지하지 못하고 있는 것으로 드러나 고혈압 발병을 사전에 대응하지 못하는 것으로 나타났다(질병관리본부, 2015). 또한 고혈압 환자 중 치료를 통한 고혈압의 조절률은 72.7%로 남녀 모두 높은 편이지만, 만 30세 이상의 성인에서 고혈압 유병자를 기준으로 한 조절률은 45.7%에 불과해 매우 낮은 것으로 나타났다(보건복지부, 2015; Nwankwo

등, 2013). 따라서 고혈압은 적극적인 치료와 중재를 통해 조절하는 것도 중요하지만 질병에 대한 자각률이 낮으므로 예방과 지속적인 관리하에 고혈압의 유병률을 낮추는 것이 무엇보다 중요하다.

고혈압을 조절하기 위한 치료제는 이뇨제, 교감신경차단제, 안지오텐신전환효소 억제제, 칼슘길항제, 직접 혈관 확장제, 응급약물, 복합약물요법 등이 사용되고 있다. 이중 안지오텐신전환효소 억제제(ACE Inhibitors)는 심장이나 혈관에 직접 작용하지 않고 레닌-안지오텐신-알도스테론(renin-angiotensin-aldosterone)이라는 인체에서 혈압을 올리고 염분과 수분을 축적시키는 시스템을 억제하여 혈압을 낮추는 약물로써 고혈압 치료에 많이 사용되고 있다. 고혈압의 주된 원인 및 발생 기전은 인체에서 혈압을 올리는 레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템(renin-angiotensin-aldosterone system)과 밀접하게 관련되어 있으며, 안지오텐신전환효소와 그 억제제가 핵심 조절인자인 것으로 밝혀져 있다(Fig. 2)(Muñoz-Durango 등, 2016). 안지오텐신전환효소는 칼리크레인-키닌계(kallikrein-kinin system)에서 B2 수용체를 통해 혈관 확장 촉진과 혈소판의 흡착 및 평활근세포 증식의 저해 기능을 하는 브래디키닌으로부터 두 개의 C-말단 Phe-Arg를 가수 분해하여 불활성화시킴으로써 혈압을 높인다. 따라서 이러한 안지오텐신전환효소의 억제물질인 안지오텐신전환효소 저해제는 혈압 상승의 원인을 제거하고 혈관 확장제인 브래디키닌을 증가시키며 특이

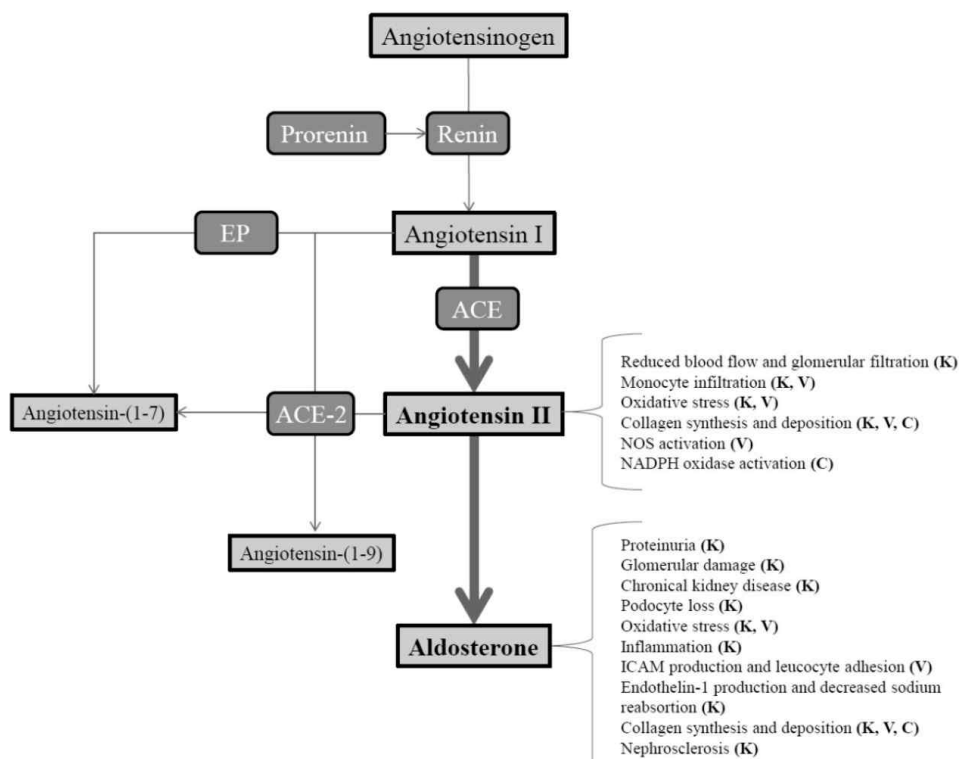


Fig. 2. Renin angiotensin aldosterone system. K: kidney, V: vascular tissue, C: cardiac tissue, EP: endopetidases, ACE: angiotensin converting enzyme, ACE-2: angiotensin converting enzyme 2 (Muñoz-Durango et al., 2016).

적으로 신장혈관을 확장시켜 나트륨 배설을 촉진함으로써 고혈압뿐만 아니라 고혈압의 합병증인 만성신장병, 동맥경화 및 심장발작과 그로 인한 사망률 등을 크게 감소시킬 수 있다.

안지오텐신전환효소 억제 기전의 치료제는 sulphhydryl 계열의 captopril, carboxyl 계열의 enalapril, quinapril, ramipril, lisinopril, benazepril 및 phosphoryl 계열의 fosinopril 등이 있다. 안지오텐신전환효소 억제제는 다른 항고혈압 의약품에 비해 부작용이 거의 없으나, 약 20%의 사람에게서 마른기침을 유발하거나 신부전과 임신의 경우 사생아를 유발, 이상 미각, 백혈구 감소증, 혈관부종 및 발진 등을 유발하는 것으로 알려져 있다(대한고혈압학회, 2013).

식품 유래 항고혈압 펩타이드

식품 유래의 생리활성 펩타이드(bioactive peptides)의 장점은 안전하며 매우 선택적이고 효과적이며 또한 지속적으로 의약품에 비해 보다 좋은 대체재로 알려져 있다. 특히 항고혈압 활성의 생리활성 펩타이드는 식품의 저렴한 단백질 원료로부터 쉽게 얻을 수 있어 기능성 식품 및 건강 증진에 대한 소비자의 인식과 수요가 증가하고 있다(Aluko, 2015). Cheung 등(1980)은 여러 가지 dipeptide를 합성하여 안지오텐신전환효소 저해 효과에 미치는 C 말단 및 N 말단 아미노산 잔기의 영향을 검토한 결과 C 말단에서 방향족 아미노산 그리고 N 말단에서 지방족 아미노산 잔기가 분지된 것이 안지오텐신전환효소와 결합하는 경쟁적 저해제로서 작용하는 것으로 보고했다. 한편 Hazato와 Kase(1986)는 돼지 혈장으로부터 Leu-Val-Leu를 발견하는 등 식품 유래의 단백질로부터 안지오텐신전환효소의 활성을 억제할 수 있는 생리활성 펩타이드의 생산이 가능함을 보고했다. Kumar 우유, 카제인, 소, 곡물, 어류, 돼지, 사람, 닭, 콩, 계란 등의 다양한 식품으로부터 항고혈압 활성의 펩타이드를 개발하기 위한 다양한 연구가 수행되고 있으며 현재까지 약 1,700종류가 보고되어 있고, 활성 펩타이드는 주로 2~5 아미노산 잔기의 작은 펩타이드들이 대략 75%, 6~16 잔기의 긴 펩타이드들이 약 25%로 다양하게 분포하고 있다고 보고했다(Kumar 등, 2015).

그중 우유는 식품으로서의 영양적인 가치가 높고 가격이 저렴하며 심혈관 질환을 포함한 다양한 질환의 개선에 효과가 있으며, 특히 위장관에서의 소화나 발효에 의해 만들어지는 생리활성 펩타이드는 지질 저하, 항고혈압, 면역조절, 항염증 및 항트롬빈 효과와 같은 다양하고 유익한 효과를 나타내는 것으로 알려져 이를 이용하여 항고혈압 소재를 개발하기 위한 다양한 연구들이 수행되고 있다(Marcone 등, 2017). 한편 우유는 가격이 저렴하고 영양적인 가치는 높지만 최근 알레르기 및 포화지방 과다 섭취 우려 등으로 인하여 우유의 건강에 미치는 효과에

대한 문제도 제기되고 있어 최근 우유를 대체하기 위한 소재의 개발도 다양하게 수행되고 있다.

대두를 이용한 항고혈압 펩타이드의 제조

대두는 전통적으로 우리나라 국민이 가장 많이 섭취하는 곡물 중 하나로 간장, 된장, 고추장 등 장류뿐 만이 아니라 단백질이 많아 육류 대체식품이나 영양공급원 등으로 다양하게 이용되어 왔다. 대두 단백질은 대두 건조중량의 약 35~40%를 차지하고 있고 주로 glycinin(11S globulin)과 β -conglycinin(7S globulin)의 저장 단백질로 구성되어 있으며 전체 대두 단백질의 약 65~85%를 차지하고 있다(Sanjukta와 Rai, 2016). 최근 연구에 따르면 대두를 발효시킨 음식의 섭취는 심혈관 질환으로 인한 사망률과 심혈관 질환, 심장마비, 심혈관 질환 발병 위험도를 낮추어 주는 것으로 보고되어 있다(Nagata 등, 2017; Yan 등, 2017). 대두는 우유로부터 추출한 유청단백질에 비하면 가격이 높은 편이지만 최근에는 대두의 단백질만을 추출·정제하여 상업화시킨 분리대두단백(soy protein isolate, SPD)이 낮은 가격으로 유통되고 있어 활용 가치가 높아지고 있다. 분리대두단백은 단가가 저렴하고 가공 특성이 우수하여 대체육 제품이나 두유 등의 가공식품 및 영양보급식품으로 단백질 보충용 식품 등의 원료로 주로 사용되고 있다.

다양한 종류의 유산균(lactic acid bacteria)은 단백질을 발효의 기질로 이용하여 높은 활성의 항고혈압 활성 펩타이드를 생성하는 것으로 알려져 있다(Vallabha와 Tikku, 2014; Thakkar 등, 2018). 본 연구진은 한국의 된장으로부터 다양한 종류의 유산균주를 분리한 후에 대두의 단백질을 기질로 하여 발효시킨 후 안지오텐신전환효소의 억제 활성이 높은 *Pediococcus pentosaceus* SDL1409와 *Lactobacillus rhamnosus* EBD1 2종의 유산균주를 선별할 수 있었다. 이중 *P. pentosaceus* SDL1409를 대두 분리단백질을 기질로 하여 발효시킨 후 발효산물을 LC-ESI-TOF-MS/MS를 이용하여 분석한 결과 분자량이 7 kDa보다 작은 88종의 저분자 펩타이드를 확인할 수 있었으며, 그중 안지오텐신전환효소의 억제 활성이 높은 EDEVSFSP, EVSFSP, SFSP, RSPFNL, SRPFNL, ENPFNL, PFNL 및 FNL의 8종의 생리활성 펩타이드를 동정할 수 있었다. 8종의 펩타이드는 모두 안지오텐신전환효소에 대한 억제 활성을 보였지만 특히 C-터미널이 FNL인 펩타이드 중 분자량이 작은 PFNL과 FNL이 강한 억제 활성을 가지는 것으로 확인되었다(Table 1)(Daliri 등, 2018).

한편, 2종의 유산균 중 *L. rhamnosus* EBD1을 이용하여 우수한 활성의 펩타이드를 효율적으로 생산하기 위하여 대두분리단백질을 효소 가수분해와 유산균 발효의 개별 처리 및 병행 처리 등 다양한 조건에 따른 생물전환 공정 산물에 대해 안지오텐신전환효소 억제 활성을 평가

Table 1. Inhibitory potency of selected SPI-derived peptides on ACE activity

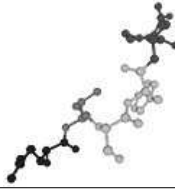



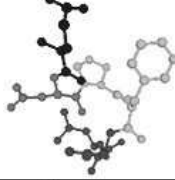
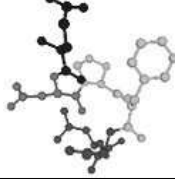
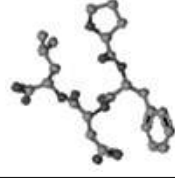
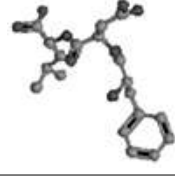
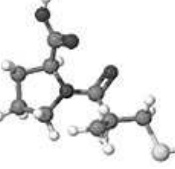
Peptide	Structure	IC ₅₀ (mg/mL)
EDEVSFSP		0.571±0.12
EVSFSP		0.133±0.03
SFSP		0.262±0.18
RSPFNL		0.811±0.05
SRPFNL		0.131±0.02
ENPFNL		0.287±0.07
PFNL		0.048
FNL		0.038
Captopril		0.005

Table 2. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of processed SPI

Sample	Inhibitory activity (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
Raw SPI	10.21±4.0	n.d
Enzyme treated SPI	60.8±2.0	0.980
P-SPI	88.24±3.2	0.592
Captopril	94.20±5.4	0.005

했다. 각각의 공정을 통해 생산된 산물의 안지오텐신전환 효소 억제 활성은 모두 높은 것으로 나타났지만, 특히 가수분해와 발효 공정을 병행한 것(P-SPI)이 가장 높아 억제 활성이 의약품으로 처리되는 captopril과 유사한 수준으로 나타났다(Table 2)(Daliri 등, 2019).

대두분리단백질을 효소에 의한 가수분해 공정과 발효 공정을 병행하여 생산한 시료의 섭취가 고혈압에 미치는 영향을 평가하기 위해 자발적 고혈압 유발 실험동물인 SHR rat에게 제조한 생물전환 시료를 일일 10 mg/kg 및 100 mg/kg의 용량으로 투여하였다. 양성대조물질로 captopril을 50 mg/kg의 농도로 6주간 함께 경구투여하며 2주 간격으로 혈압의 변화를 측정하여 비교 평가하였다. 물질을 섭취하기 전 SHR rat의 수축기 혈압은 약 179 mmHg로 높은 혈압을 보였으며 음성대조군은 6주 동안 30 mmHg 이상으로 유의하게 혈압이 상승한 것으로 나타났다. captopril은 음성대조군에 비해 6주간 혈압이 22 mmHg로 감소하여 대두분리단백질의 생물전환 시료를 섭취시킨 실험동물은 섭취 용량과 섭취 기간에 따라서 대조군에 비해 유의하게 혈압이 감소한 것으로 나타났다. 특히 생물전환 시료를 100 mg/kg 섭취시킨 실험동물은 6주 차에 의약품인 captopril과 유사한 수준으로 혈압이

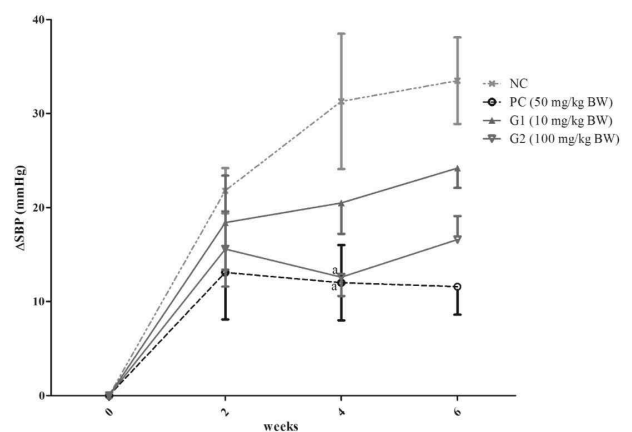


Fig. 3. Changes of systolic blood pressure followed by administration of processed SPI. Systolic blood pressure changes from the baseline are expressed in absolute values (mmHg) and data are mean±SEM from 5 determinations. Data points with the same alphabet are not significantly different ($P>0.05$) using one-way ANOVA followed by Duncan tests. NC: Negative control, PC: Positive control, G1: Group 1, G2: Group 2.

감소된 것을 확인하였다(Fig. 3)(Daliri 등, 2019).

본 연구로부터 대두분리단백질은 효소처리 및 유산균 발효를 이용한 안지오텐신전환효소 억제 기능의 생리활성 펩타이드를 제조하기 위한 식품원료로 사용하기에 좋은 소스임을 확인하였으며, 효소처리 및 유산균 발효를 병행하여 활성이 높고 생산효율이 좋은 공정을 설계할 수 있었다. 식품으로부터 유래한 이들 생리활성 펩타이드는 비교적 저분자로서 열에 안정하고 체내에서의 흡수도 용이한 한편 인체의 소화 효소에도 매우 안정하여 기존 혈압 강하제보다는 비교적 활성이 낮으나, 식품을 통해 대량으로 항상 섭취하므로 안전하다는 점에서 향후 의약품을 대체할 소재로 기대된다. 특히 급격한 고령화에 따른 고혈압 환자의 증가와 노화에 따른 소화흡수 장애로 인한 영양결핍 및 근소실증 등의 노인성 질환에 대해 대두와 대두단백질을 이용한 기능성 소재를 두유나 두유를 기반으로 한 유동식 유형의 제품에 적용하면, 대두로부터 양질의 단백질 및 영양성분을 섭취하는 한편 장기적인 섭취로 고혈압의 예방과 혈압조절에도 도움을 주므로 노인의 삶의 질을 향상시켜 주고 노화에 따른 사회적 손실을 낮출 수 있을 것으로도 기대되어 미래식품으로 개발 및 활용 가치가 높은 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 중소벤처기업부의 기술개발사업 지원에 의한 연구임[C0502529].

참고문헌

- 대한고혈압학회. 2013년 고혈압 진료지침. 2013.
- 보건복지부. 2014년 국민건강영양조사. 2015.
- 질병관리본부. 2015 만성질환 현황과 이슈—만성질환 Fact-book—. 2015.
- 통계청. 2018년 고령자 통계. 보도자료. 2018.9.27.
- Aluko RE. Antihypertensive peptides from food proteins. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2015. 6:235-262.
- Cheung HS, Wang FL, Ondetti MA, Sabo EF, Cushman DW. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Importance of the COOH-terminal dipeptide sequence. *J Biol Chem*. 1980. 255:401-407.
- Daliri EBM, Lee BH, Park MH, Kim JH, Oh DH. Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from soybean protein isolates fermented by *Pediococcus pentosaceus* SDL1409. *LWT-Food Sci Technol*. 2018. 93:88-93.
- Daliri EBM, Ofosu FK, Chelliah R, Park MH, Kim JH, Oh DH. Development of a soy protein hydrolysate with an anti-hypertensive effect. *Int J Mol Sci*. 2019. 20:1496.
- Hazato T, Kase R. Isolation of angiotensin-converting enzyme inhibitor from porcine plasma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986. 139:52-55.
- Kumar R, Chaudhary K, Sharma M, Nagpal G, Chauhan JS, Singh S, et al. AHTPDB: a comprehensive platform for analysis and presentation of antihypertensive peptides. *Nucleic Acids Res*. 2015. 43:D956-D962.
- Marcone S, Belton O, Fitzgerald DJ. Milk-derived bioactive peptides and their health promoting effects: a potential role in atherosclerosis. *Br J Clin Pharmacol*. 2017. 83:152-162.
- Muñoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, González-Gómez LM, Vecciola A, Fardella CE, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system beyond blood pressure regulation: molecular and cellular mechanisms involved in end-organ damage during arterial hypertension. *Int J Mol Sci*. 2016. 17:797.
- Nagata C, Wada K, Tamura T, Konishi K, Goto Y, Koda S, et al. Dietary soy and natto intake and cardiovascular disease mortality in Japanese adults: the Takayama study. *Am J Clin Nutr*. 2017. 105:426-431.
- Nwankwo T, Yoon SS, Burt V, Gu Q. Hypertension among adults in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey, 2011-2012. *NCHS Data Brief*. 2013. 133:1-8.
- Sanjukta S, Rai AK. Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. *Trends Food Sci Technol*. 2016. 50:1-10.
- Thakkar PN, Patel AR, Modi HA, Prajapati JB. Evaluation of antioxidative, proteolytic, and ace inhibitory activities of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food products. *Acta Aliment*. 2018. 47:113-121.
- Vallabha VS, Tiku PK. Antihypertensive peptides derived from soy protein by fermentation. *Int J Pept Res Ther*. 2014. 20:161-168.
- Yan Z, Zhang X, Li C, Jiao S, Dong W. Association between consumption of soy and risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of observational studies. *Eur J Prev Cardiol*. 2017. 24:735-747.