

微生物을 이용한 大豆蛋白質分解利用研究

金載勗 · 趙武濟 · *金尙淳 · 李春寧

서울大學校 農科大學

*淑明女子大學校

(1969年 7月 29日受理)

Studies on the Digestion of Soybean protein

by *Aspergillus sojae*

Z.U. Kim, M.J. Cho, S.S. Kim*and C.Y. Lee

College of Agriculture of Seoul National University

Sukmyung Women's University*

Summary

As a one of the new methods for soybean protein food processings, an attempt was made to decompose steamed soybean protein to amino acids, peptides, and other water soluble forms by the use of protease produced by *Aspergillus sojae*, and extract them to use as additives of low protein foods or weaning-foods of children.

In this paper, as a one part of this subject, the optimum condition, such as optimum pH, temperature, digestion period, raw material's mixing ratio with wheat meal, amount of water added, and effect of sodium chloride addition, to decompose and extract soybean protein were studied. They were obtained when mixing raw materials with wheat meal in the ratio of 10:4 and adding six folds of water at 40-45°C, pH 5-8 for 18 hrs. digestion.

Although sodium chloride addition exerted an unfavorable influence upon the decomposition of the aforementioned materials, it was effective to prolongation of digestion period. Under the above-mentioned optimum conditions, the maximum extractability of soybean protein as forms of amino acids, peptides, and other water soluble forms, was nearly 70 percent against protein content of raw materials.

緒 言

大豆는 動物性蛋白質源이 적은 우리나라에서는 가

장 重要한 蛋白質源으로 되어 있으나 이것을 利用하는 食品으로는 從來의 간장 된장 豆腐 納豆等뿐 임으로 그 利用方法은 舊態依然하여 큰 進展을 볼 수 없었다.

그러므로 大豆蛋白質을 利用한 새로운 食品開發이 要望된다. 새로운 大豆食品을 開發하기 爲하여서는 우선 大豆蛋白質을 溶出시킨 다음에 이것을 適當하게 加工하는 것이 한가지 方法일 것이다.

大豆蛋白質을 溶出시킨것에 豆腐類가 있기는 하나 이것은 蛋白質 그대로 溶出되어 食味が 比較的 單純하다.

따라서 本研究에서는 大豆蛋白質을 溶出시키되 強力한 蛋白質分解酵素를 生成하는 微生物을 使用하여 大豆蛋白質을 分解溶出 시켜서 食味는 勿論 消化되기 쉬운 形態로서 溶出利用케 하였다.

微生物에 의한 蛋白質分解利用에 該當되는 것으로서 從來 간장이 있으나 이것은 比較的 長時日이 所要되는 外에 食鹽을 加하게 되는 故로 乳兒食用等에는 不適當한 點이 있음은 勿論 물이 比較的 많아 濃縮하기도 어렵고 濃縮 후에는 鹽分이 너무 높게 되어 좋지않다.

이러한 觀點에서 筆者는 蒸煮大豆蛋白質을 微生物을 利用하여 分解溶出시키되 蛋白質의 分解溶出이 가장 높은 最適條件으로서 炭水化物配合量 加水量 pH. 消化溫度 및 消化時間을 決定하였기에 報告하는 바이다.

研究史

大豆蛋白質의 食品化學的 性質에 對하여서는 Briggo¹⁾, Danielson²⁾, 紫崎^{3,4)} 渡邊^{5,6)} 等 比較的

많은 연구가 되어있으며 이것을 용출시켜 利用하고자 하는 연구는 Smith^{7,8,9)} ABD¹⁰⁾ 등의 것이 있지만 이는 生大豆에서 그대로 용출시키고자 하였으나 본 연구에 가까운 것은 별로 없다.

本 연구에 應用이 되는 것은 간장 釀造에서 比較的 많이 볼 수 있으며 Yamamoto¹¹⁾ 金^{12,13)} 등은 *Aspergillus sojae*를 利用하여 製麴할 때 大豆와 밀의 配合비가 1:1일 경우 Protease 力價가 가장 높다고 하였고 難波¹⁴⁾는 麴菌 Protease에 의한 蒸煮脫脂大豆의 消化過程에 對하여 報告하였고 高田, 中江^{15,16)} 등은 食鹽을 添加하지 않은 醬油麴의 消化狀態를 研究 報告하였다.

高田, 中江¹⁵⁾은 이때 消化溫度로서는 50°C가 最適이나 55~60°C에서도 消化率이 그다지 떨어지지 않는다고 하였고 消化 pH로서는 3.5以下에서 消化 酵素力은 상당히 저해를 받으나 방부의 효과가 있고 4.5부근에서는 5~6日間 이를 부패균의 번식을 억제할 수 있었다고 報告하였다.

消化期間은 50~60°C에서 pH 4.5로서 50~60時間 동안 消化시킬 수 있었으며 또한 이때 2~3日間の 消化로서 從來의 食鹽을 添加한 醬油덧의 1個年 熟成에 相當하는 것을 얻었다고 報告하였다.

實驗材料 및 方法

1. 供試材料

實驗用大豆 및 밀은 1967年度 市販品을 購入하여 使用하고 菌株은 서울大學校 農科大學에 保存하고 있는 *Aspergillus sojae*를 使用하였다.

2. 實驗方法

가. 試料調製

大豆를 水洗하고 常溫에서 12時間 浸漬한 다음 12~13lbs로 30分間 加壓 蒸煮한것에 常法¹⁷⁾에 따라 밀과 種麴을 섞되 밀은 미리 볶아서 40mesh 정도 破碎한것을 表 I과 같은 比率로 配合한後 chopper로 鉛筆程度의 굵기의 가락을 만들어 製麴하되 製麴溫度는 Masatoshi¹³⁾의 報告에 따라 可能的한 低溫 18~19°C에서 4日間 製麴하였다. 製麴後 陰乾시켜 60mesh로 破碎한 것을 消化試驗用 試料로 使用하였다.

나. 蛋白質溶出實驗方法

上記의 原料配合비가 다른 各試料에 對하여 原料 配合比, 加水量, pH 消化溫度 및 消化時間 그리고 鹽分添加量을 달리하여 蛋白質溶出 정도를 試驗하되 먼저 原料配合비가 最適加水量을 택하여 이 配合試料에 對하여 加水量의 影響을 實驗하고 이 結果 最適加水量을 定하여 그 加水量에 다시 pH의

表 I. 試料原料配合比(重量比)

試料번호	原料	콩	밀
1		100	0
2		100	20
3		100	40
4		100	60
5		100	80
6		100	100

影響을 實驗하는 段階의 方法으로 다음과 같이 蛋白溶出量을 實驗하였다.

(1) 原料配合비에 따른 溶出實驗方法

먼저 水分을 定量한 試料에 대하여 溶出前의 總蛋白質量을 定量한 後 試料 6g을 100ml 들의 Centrifuge tube에 採取하고 증류수 50ml을 加하여 常溫에서 24時間 방치하여 蛋白質을 溶출시킨 다음 원심분리 (3000rpm, 15分間)를 하여 上澄液中 5ml를 取하여 溶出된 蛋白質量을 定量하고 總量을 計算하였음.

(2) 加水量에 따른 溶出量實驗方法

上記實驗에서 定해진 한가지 試料에 對하여 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100배 (V/W比)되는 물을 加하여 (1)에서와 同一한 조작으로 實驗하였다.

(3) pH에 따른 溶出實驗

(1), (2)에서 定해진 最大溶出條件下에서 HCl과 NaOH를 使用하여 pH를 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11으로 조절하여 먼저와 같은 조작으로 最適 pH를 實驗하였다.

(4) 消化溫度 및 消化時間에 따른 蛋白質溶出量

(1)(2)(3)에서 定해진 條件으로 35, 40, 45, 50°C의 여러 溫度로 조절한 incubator에 넣어 各 溫度마다 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24時間 경과후의 溶解率을 上記와 같은 方法으로 定量計算하였다.

(5) 鹽分添加에 따른 溶出量

(1)(2)(3)(4)에서 定해진 最適條件下에서 0, 5, 10, 15, 20%(V/W)의 NaCl 溶液을 加하여 同一한 方法으로 實驗하였다.

다. 分析方法

總蛋白質은 Kjeldahl 法으로 總窒素量을 定量하고 여기에 6.25를 승하여 總蛋白質量으로 表示하였다.

結果 및 考察

1. 原料配合비에 따른 蛋白質溶出量

蒸煮大豆에 밀의 配合比를 달리하여 *Aspergillus sojae*를 培養시키기 前에 總蛋白質 및 水溶性 蛋白

表 2. 原料配合比를 달리하였을 때의 總蛋白質 및 蛋白質溶解率

試料 No	接 種 前			培 養 後			水 溶 性 蛋 白 質 溶 解 率 係 數
	總 蛋 白 質 (1)	水 溶 性 蛋 白 質 (2)	溶 解 率 (3) (21/1)×100	總 蛋 白 質 (4)	水 溶 性 蛋 白 質 (5)	溶 解 率 (6) 15/4×100	
1	42.2%	2.3	5.4	43.3	22.0	51.1	9.6
2	37.5	2.0	5.3	40.5	21.4	53.2	10.7
3	34.2	1.7	5.0	35.7	19.3	54.1	11.3
4	31.5	1.4	4.4	33.2	17.9	54.4	11.8
5	29.4	1.5	5.1	30.0	17.2	57.3	11.4
6	25.6	1.6	6.2	27.1	15.8	59.1	10.0

質을 測定하고 培養한 것을 各各常溫(25°C)에서 24 時間 消化시킨 것에 대한 총 단백질과 溶出된 水溶性蛋白質 및 水溶性蛋白質을 總蛋白質로 나눈 溶解率을 表示하면 表2 및 그림 1과 같다.

表 2에서 蒸煮大豆의 總蛋白質이 42.2%이었으나 蛋白質의 含量이 比較的 적은 밀을 많이 配合할 수록 總蛋白質이 漸次 적어져서 同量配合區에서는 26.5%로 적어지고 이와 平行하여 水溶性蛋白質도 2.3%에서 점차 적어져서 同量配合區에서는 1.6%에 이르고 있다.

水溶性蛋白質을 總蛋白質로 나눈 溶解率은 그림 1에서 보는데와 같이 큰 變化를 볼 수 없는 44~6.2의 範圍에 있다. 그러나 *Aspergillus sojae*를 培養한 後에는 水溶性蛋白質은 接種前에 比하여 全般的으로 顯著한 增加를 보이며 밀의 配合量이 많을수록 높아지는 傾向을 보이고 있는데 이것은 밀을 添加함으로써 微生物의 繁殖이 旺盛하여 *Protease*의 力價가 증가하기 때문이라고 생각한다.

Yamamoto¹¹⁾는 *Aspergillus sojae*의 培地로서 밀과 大豆의 比가 1:1일 때엔 *Protease*의 力價가 가장 높다고 하였으며 金等^{12,13)}의 연구도 이와 비슷

한 結果로서 이들 結果와 大體로 一致하고 있다.

이하의 實驗에서는 水溶性蛋白質總量과 蛋白質溶解率兩者를 鑑察할 때 比較的 有利한 3番試料를 擇하였다.

2. 加水量에 따른 蛋白質溶出量

溶出蛋白質을 濃縮시킬 때 경비를 줄이기 爲하여 可及的 少量의 물을 加하여 消化溶出시키는 것이 有利할 것이다.

따라서 단백질의 消化 및 溶出量에는 큰 支障이 없는 最少限의 加水量을 求하기 爲하여 콩과 밀의 配合比率이 100:40인 3番試料에 4, 5, 8, 10, 12 倍의 蒸溜水(pH 5.5)를 加하여 常溫에서 24時間동안 消化시킨 것의 溶出蛋白質量 및 溶解率은 表 3 및 그림 2와 같다.

表 3. 加水量에 따른 溶出蛋白質量 및 溶解率

加 水 量	溶 出 蛋 白 質 量	溶 解 率
4倍	20.7(%)	58(%)
6"	21.8	61
8"	21.9	61.2
10"	22.0	61.4
12"	22.1	61.5

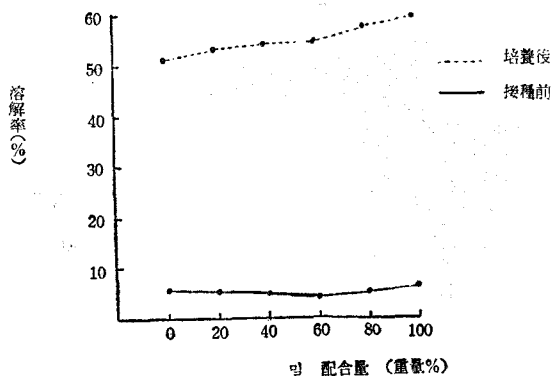


그림 1. 原料配合비에 따른 蛋白質溶解率의 變化圖

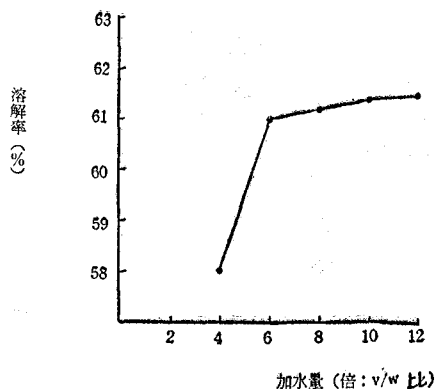


그림 2. 加水量에 따른 溶解率變化圖

表 3 및 그림 2에서 보는바와 같이 加水量이 많을수록 溶出蛋白質의 量도 增加하고 있기는 하나 4 배에서 6배의 加水量을 使用하였을 때 急히 增加하고 그 후는 약간의 增加가 있을 程度이다.

따라서 濃縮을 目的으로 할 경우를 생각하면 6배 程度의 加水量이 有利하다고 생각된다.

3. pH에 따른 蛋白質溶出量의 變化

pH가 溶出量에 미치는 영향을 규명하는 同時에 最大溶出量을 내는 pH를 求하기 위하여 3番試料에 다 6배의 물을 加하여 HCl, NaOH 로서 pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11로 조절하여 常溫 (25°C)에서 24시간 동안 溶出시켰을 경우의 蛋白質溶出量은 表4 및 그림 3과 같다.

表 4. pH變化가 大豆蛋白質溶出에 미치는 영향

pH	溶出蛋白質量	溶解率
2	17.9(%)	50.1(%)
3	20.5	57.4
4	22.8	63.8
5	24.6	68.5
6	24.3	68.2
7	24.6	68.5
8	24.6	68.5
9	24.2	62.8
10	24.0	67.2
11	23.6	66.0

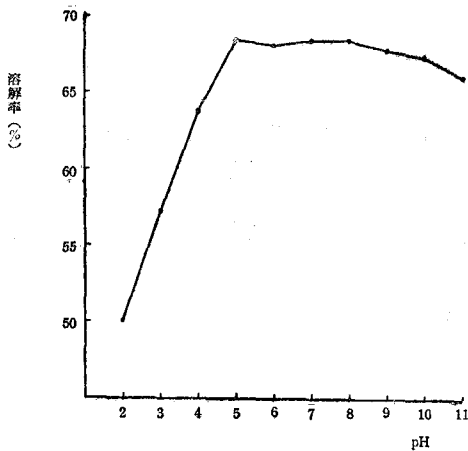


그림 3. pH에 따른 大豆蛋白質 溶解率 變化圖

表4 및 그림 3에서 보는 바와 같이 pH 2~4 정도의 산성 측에서는 比較的 溶解率이 낮고 pH 5~8 범위에서 가장 높은 값을 보여주며 이들 서로 간에 별로 큰 차가 없다.

이는 難波⁴⁾가 보고한 大豆蛋白質을 기질로 할경

우의 麴菌 Protease의 作用 曲線과 거의 一致하는 傾向이다.

따라서 pH는 5~8 어느곳에서나 비슷하므로 보통의 물을 pH의 조절없이 그대로 (pH 5.5) 사용하는 것이 溶출후의 중화의 필요성이 없으므로 유리할 것으로 생각된다.

4. 消化溫度 및 消化時間과 蛋白質 溶出量

效率인 溫度와 消化時間을 얻기위하여 3번시료에 試料의 6배되는 量의 蒸溜水를 加하여 35, 40, 55, 50°C에서 各各 溶출시간을 달리하여 消化시켜 단백질 溶출량을 측정 한 결과는 表5 및 그림 4와 같다.

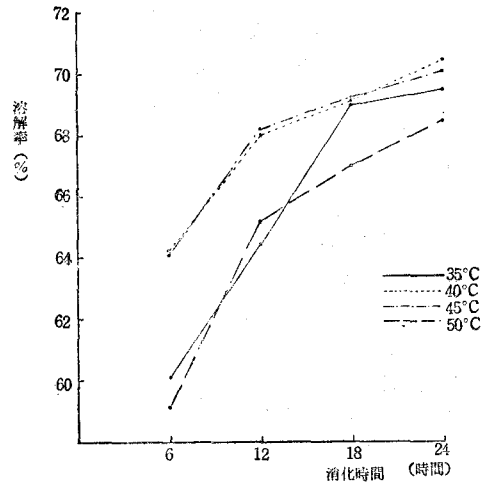


그림 4. 消化溫度 및 消化期間에 따른 蛋白質溶解率 變化圖

表 5 및 그림 4를 보면 6 및 12시간의 消化期間에서 40°C 및 45°C 보다 35°C 및 50°C가 현저하게 낮아 溫度에 따라 蛋白質 溶出量에 큰 差異가 있으나 18시간 消化에서 50°C를 除外하면 거의 같고 消化期間이 연장되어 24시간이 되면 消化溫度에 관계없이 거의 같은 값을 나타내고 있으며 消化時間이 길수록 溶出量이 처음에는 顯著하게 높아지고 20시간 以後에는 약간의 增加를 보이고 있다,

이러한 結果로 볼때 消化溫度는 40~45°C가 가장 效果的인 것 같다. 이것은 Yashimura¹⁰⁾ Hayash²⁰⁾ 등이 發表한 *Aspergillus sojae*에서 分泌되는 protease의 最適溫度와 거의 一致한다. 消化時間을 연장하면 할수록 溶出量은 多少나마 증가하기는 하나 35°C에서 24시간이 되면 雜菌의 繁殖으로 腐敗하기 始作함으로 可及의 消化時間을 18시간 以下로 하는것이 完全하다. 따라서 40~45°C의 消化溫度로서 18시간 消化시키는 것이 적당한 것으로 생각된다.

表 5. 消化溫度 및 消化時間을 달리하였을 때의 蛋白質溶出量

消化溫度 區分 消化時間	35°C		40°C		45°C		50°C	
	溶出 蛋白質質量	溶解率	溶出 蛋白質質量	溶解率	溶出 蛋白質質量	溶解率	溶出 蛋白質質量	溶解率
6	21.5(%)	60.1(%)	22.9(%)	64.2(%)	22.9(%)	64.1(%)	21.1(%)	59.1(%)
12	22.8	64.4	24.3	68.0	24.3(%)	68.2(%)	23.3	65.2
18	24.6	69.0	24.7	69.1	24.7(%)	69.3(%)	23.9	65.0
24	24.8	69.5	25.2	70.5	25.0(%)	70.1(%)	24.5	68.5

5. 食鹽添加가 蛋白質溶出量에 미치는 영향

食鹽을 添加했을 때 蛋白質溶出量에 미치는 영향과 消化物이 腐敗物이 되는 것을 어느 정도 연장시킬 수 있는가를 알기 위하여 3番試料에 6倍되는 量의 蒸溜水를 加하고 食鹽를 0, 5, 10, 15, 20% 添加하여 40°C에서 12時間 消化시켜 蛋白質溶出量을 測定한 結果는 表6, 7 및 그림 5와 같다.

表 6. 食鹽添加量에 따른 蛋白質溶出量 및 溶解率(pH 9, 40°C에서 12時間 消化)

NaCl添加量(%)	단백질溶出量 溶出蛋白質質量	溶解率
0	24.3(%)	68(%)
5	23.2	65
10	22.5	63
15	21.8	61
20	21.4	60

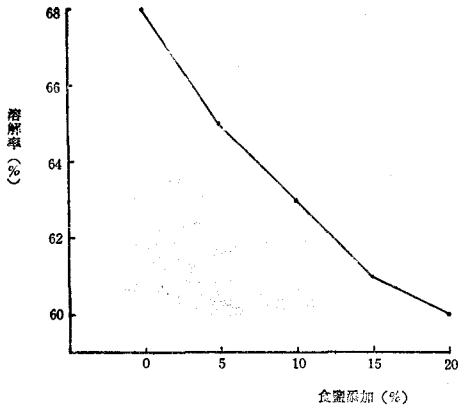


그림 5. 食鹽添加에 따른 蛋白質 溶解率의 變化圖

表6, 7 및 그림 5에서 보는 바와 같이 食鹽添加量이 增加할수록 溶出된 蛋白質의 量은 감소하였으며 이는 食鹽의 添加로 Protease가 害를 받기 때문이다. 一般적으로 Protease는 食鹽의 添加로 害된다²¹⁾는 것은 잘 알려진 사실이므로 食鹽添加로 단

表 7. 食鹽添加에 의한 消化可能 時間 및 蛋白質溶出量

食鹽添加量	腐敗防止期間	腐敗防止期間의 溶出量	
		溶出된 蛋白質質量	溶解率
0(%)	18(時間)	24.5(%)	69(%)
5	20	23.9	67
10	48	24.3	68
15	72시간이상	22.3	62
20

백질용출량이 감소할 것은 예상할 수 있는 일이지만 이것을 添加함으로써 腐敗되는 期間을 어느 程度 연장시킬 수 있기는 하나 溶解率을 높이는 데는 別效果를 볼수는 없다.

結 論

이상을 종합하여 볼 때 大豆 및 小麥配合을 10:4 되게 配合하되 溶出最適條件으로는 消化溫度는 40~45°C pH는 5~8 消化期間은 16~18時間 정도 하는 것이 適當하며 最大 溶解率 約 70%까지 大豆蛋白質을 溶出し킬 수 있다.

食鹽의 添加는 溶出量에 있어서나 溶出後의 처리상 添加량이 좋은 영향을 주지는 못하지만 最終蛋白質源으로 食鹽이 있어도 무방할 경우에는 食鹽添加로서 腐敗되는 期間을 연장시키는데 有效하다.

그리고 용출되고난 殘渣는 간장 高오지를 만들때 添加하면 害없이 有用하게 利用할 수 있을 것이다.

摘 要

우리나라에서 많이 生産되고 특히 蛋白質含量이 많은 大豆로 부터 蛋白質을 溶出하여 새로운 大豆食品을 만들거져 煮大豆에 적당량의 糶를 加하여 *Aspergillus sojae*를 種培養시켜 이것이 分泌하는 Portease에 依하여 大豆中の 蛋白質을 Amino酸내지 peptide形態로 分解溶出し키는데 있어서 最適溶出條件을 實驗한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 原料配合(大豆+小麥)비에 따른 蛋白質溶出量은 單位 原料當 總溶出蛋白質量은 콩만을 原料로한 것이 가장 많았고 溶解率은 양자 等量配合比가 가장 높은 값을 나타내나 總溶出蛋白質量과 溶解率을 더하여 생각할 때 콩과 밀이 10:4의 配合이 가장 적당하다.

2. 加水量에 따른 단백질 溶出量은 加水量이 많을수록 溶出量도 많았으나 溶出後 濃縮할 것을 고려하면 6倍(V/pH) 정도의 加水量이 적당하다.

3. 消化 pH는 5~8 정도로 하는 것이 溶出量이 높으며 보통의 수도물을 그대로 사용함이 용출후 중화의 필요성이 없으므로 적당하다.

4. 消化溫度는 40~45°C 溶出期間은 18時間이 적당하다.

5. 食鹽添加는 腐敗防止期間을 연장시킬 수 있으나 蛋白質溶出量은 감소하는 傾向을 보였다.

6. 上記의 최적 조건으로서 試料中の 總蛋白質에 對하여 70%까지 溶出이 가능하였다.

本研究는 1968年度 農村振興廳研究補助費로서 遂行한 것이며 農村振興廳當局에 深甚한 謝意를 表하는 바이다.

References

1. D.R. Briggo & R.L. Mamr, Cereal Chem, 27, 243 (1950)
2. C.E. Danielson, Biochem J. 44, 387 (1949)
3. 紫崎一雄, 大久保一化, 日食工誌 12, 521 (1965)
4. " " ibid 10, 56 (1967)
5. 渡邊篤二 " " 10, 163 (1963)
6. " 化學と生物 3(7) 9 (1965)
7. A.K.Smith & S. T. Cirele, Ind. Eng. Chem. 30, 1414 (1938)
8. " T.T. Rachis J. Am. Chem. Soc. 79, 633 (1957)
9. " S.T. Cirele. Ind. Eng. Chem. 31, 284 (1939)
10. K.M. ABOO. KW. King. J. Agr. Food Chem. 15, 88 (1967)
11. Kisiro Yamamoto Bull. Agr. Chem. Soc. Japan 21, (5) 319~324 (1957)
12. 김호식 이서래 農化誌 2, 23 (1961)
13. 김용휘 김재욱 " 4, 117 (1963)
14. 難波晴行 日食工誌 12, 226 (1965)
15. 高團, 中江 釀造, 19, 171 (1941)
16. " 特許 140260 (12. 6. 1940)
17. 김호식 김재욱 김동연著 農産加工學
18. Masatashi J. Ferm. Tech. 35, 150 (1957)
19. Gemichi Dammo Sadahi kiyoshi mura. Agr. Biol. Chem. 31, 1151~58 (1967)
20. Karaya Hayashi Danji Fukusbima, ibid, 31, 1171~1178 (1967)
21. 難波晴行, 日食工 2, 26 (1955)