

## 대두를 이용한 이유식 제조에 관한 연구(제 1 보)

효소를 이용한 대두단백질 분해 적정 조건결정 및 조제에 관하여

김 재 욱·조 무 제\*

서울대학교 농과대학·진주농과대학\*

(1970. 1. 31, 수리)

### Studies on the Preparation of Weanling Food from Soybean (Part 1)

Conditions for the digestion of soybean protein by Eenzyme from *Aspergillus*

Z.U. Kim and M. J. Cho\*

College of Agriculture, Seoul National University

Jin Ju National Agricultural College\*

(Received Jan. 31, 1970)

#### Summary

In order to prepare digested Protein source for the Weanling Food from soybean, an attempt was made to decompose steamed soybean protein to amino acids and peptides by protease and cellulase produced from *Aspergillus niger* and *Aspergillus sojae*.

In this paper, the optimum conditions for digestion of soybean protein were studied and also investigated the effects of decolorization of it.

As the results, followings were obtained;

1. As steaming conditions, a treatment under 15 lb of pressure and 10 minutes of heating shows most effective.

2. The optimum pH of *Asp. sojae* enzyme for the digestion of soybean protein is 6.0, while that of *Asp. niger* enzyme is 4.4.

In successively-decomposing with *Asp. sojae* and *Asp. niger*, it shows the most effective on ratio of water-soluble-nitrogen to total nitrogen and amino-nitrogen to total nitrogen than any other separate treatments.

3. The suitable amount of the enzyme solution to that of the soybean substrate paste, in volume, is 1 : 2.

4. Digestion ratio of soybean protein indicates the gradual and steady effects of increasing time of digestion, but 8 hour-digestion regarding to putrefaction was suitable.

5. The most effective decolorization was successively passed on culumns of active carbon and anion exchanger (Dowex 2-x-8) at room temperature. In separate treatments, the effective order of decolorization was as follows; (Dowex 2-x-8) > Active carbon > Amberite IR-120

6. The powder type of the soy protein source obtained by concentration below 60°C contains 12. 51% of moisture, 66. 31% of protein, 4.25% of fat, 12.75% of carbohydrate, 4. 18% of ash.

## 서 언

대두 단백질은 동물성 단백질에 뒤떨어지지 않을 정도로 영양가가 높고 또한 어느 정도 대량 생산이 가능하므로 우리나라 뿐만 아니라 동물성 단백질원이 부족한 동양 제국에 있어서 중요한 단백질원으로 되어 있으며 이를 이용한 식품으로는 두부, 간장, 된장, 납두 등 뿐만 아니라 최근 일본, 미국 등지에서 대두 단백질을로부터 인조육을 만드는 단계에 있다. 그러나 대두를 분해 이용하여 이유식을 제조하려는 의도로는 단지 대두분말을 적당히 배합하는 정도에 지나지 않으며 더우기 콩죽 등 대용유의 생산이 적은 우리나라에서는 대두를 이용한 이유식의 합리적 개발이 절실히 요망된다고 하겠다. 종래 대두 단백질을 분해하는 연구로서는 難波<sup>(1)</sup>가 국균 *Protease*를 이용하여 소화 정도를 연구하였고 Fukushima<sup>(2)</sup>, 野本<sup>(3)</sup>, Haira<sup>(4)</sup> 櫻井<sup>(5)</sup>은 대두의 가열 정도가 국균 *Protease* 소화 에 미치는 영향을 보고 연구한 바 있으며 Abdo<sup>(6)</sup> 田崎<sup>(7)</sup>, Toyama<sup>(8)</sup> 등은 목재부패균 및 *Aspergillus niger cellulase*로서 대두를 분해시켜 대두 단백질 분해 용출에 *Cellulase*가 중요한 역할을 함을 보고 하는 등의 많은 연구가 있었으나 실제로 대두분해 물을 이용하여 이유식을 제조한 보고는 거의 없다.

본 연구에서는 대두를 가압 증자하여 *Trypsin inhibitor*, *Hemagglutinin*, *Saponin* 등의 *Antinutritional factor*를 불활성화시키고 *Protease* 및 *Cellulase* 역가가 비교적 높은 사상균의 피국추출효소액을 이용하여 대두단백질을 *Amino acid* 내지 *Peptide* 태로 분해시켜 어린이들에게 소화되기 쉬운 형태로 만들고 이것을 적당히 탈색하여 단백질원으로 하고 여기에 탄수화물, 무기물, *Vitamin* 등을 배합하여 이유식을 제조하고자 하는 목적에서 효소를 이용한 대두단백질 분해 적정조건을 결정하여 탈색, 농축 과정을 거쳐 유용한 단백질원을 얻었기에 여기에 제 1 보고서 보고하는 바이다.

## 실 험

### 1. 공시 재료

본 연구에 사용된 대두 및 소맥은 시판품을 구입 사용하였고 효소 제조용 균주는 서울대학교 농과대학에서 보존하고 있는 *Aspergillus niger* 및 *Aspergillus sojae*를 사용하였다.

### 2. 실험 방법

### 가. 효소액의 조제

밀기울에 50%의 물과 HCl을 가하여 pH를 조절 (pH 3.2)하여 가열 살균한 것에 *Asp. niger* 균주를 접종하여 30°C에서 8일간 배양하고 *Asp. sojae*의 경우에는 4일간 배양한 다음 이것에 10배의 물을 가하여 실온에서 3시간 진탕 침출하여 여과시켜서 효소액을 조제하였다.

### 나. 대두단백질 분해 실험

#### (1) 효소종류 및 농도 실험

수세한 콩 300g을 상온에서 12시간 침지한 다음 15lb에서 10분간 증자한 후 Waring blender로 마쇄하고 3l로 가수하여 그 중 50ml를 취하여 분해용 시료로 사용하고 여기에 *Asp. niger* 및 *Asp. sojae* 조제 효소액 50ml를 가하여 분해 처리하되 효소종류, 효소농도, 소화시간, 소화 pH를 각기 달리하여 대두단백질을 분해시킨 다음 처음에는 여리점의 가제(gauze)를 이용하여 여과하고 마지막에는 여지로 여과하여 전질소 및 아미노태 질소를 측정하므로써 분해정도를 평가하였다.

#### (2) 가열정도 실험

수세한 콩을 10, 15, 20lb에서 각각 10, 20, 30분간 가열하여 (1)의 최적 조건으로 분해 정도를 실험하였다.

### 다. 탈색 방법

#### (1) 이온교환수지에 의한 탈색

Anion exchanger로는 Dowex 2-x-8(50~100 mesh, 3.0±0.3meq./dry g)를 사용하고 Cation exchanger로는 Amberlite IR-120(50~100 mesh, 2.7±0.4meq./dry g)를 사용하여 이것을 상법에 의하여 전처리하여 4×40cm의 Column에 각각 충전시킨 다음 S.V=5.0의 유속으로 통과시켜 탈색하여 2배로 희석한 후 Colorimeter (Coleman Spectrophotometer Model 14)를 사용하여 각 파장에서의 O.D를 측정하여 탈색정도를 평가하였다.

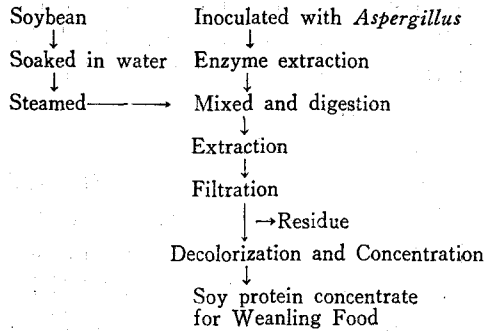
#### (2) 활성탄에 의한 탈색

대두를 소화 분해시켜서 여과하여 얻은 소화액 1l에 Coconut charcoal 10g을 가한 다음 70~80°C에서 30분간 처리 탈색한 것을 2배로 희석하고 여과하여 이온교환수지 처리의 경우와 같은 방법으로 O.D를 측정하였다.

### 라. 농축 방법

소화 분해물을 여과한 다음 탈색한 것을 감압농축기(일본 Sibata 회사제)를 이용하여 50°C 이하에서 일단 예비 농축시킨 다음 진공조기에서 60°C 이하에서 건조시켜 건조분말을 만들었다.

Fig. 1. Laboratory process for preparation of Weanling Food.



결과 및 고찰

1. 대두 단백질의 분해최적조건

가. 효소종류 및 처리 pH

*Asp. niger* 및 *Asp. sojae*를 밀기울에 배양한 피국에 10배로 가수하여 얻은 두가지 조효소액을 이용하여 NaOH 또는 HCl을 사용하여 pH를 달리하

여 40°C에서 3시간 진탕 분해한결과는 Table1과 같다. 즉 대두 시료의 전질소에 대한 효소를 처리하여 용출시킨 액의 전질소의 백분율인 단백질용해율 및 효소처리로서 용출된 액의 전질소에 대한 그 액의 아미노태 질소의 백분율인 단백질용해율은 *Asp. niger* crude enzyme 처리액은 pH4.4에서, *Asp. sojae* crude enzyme 처리구는 pH 6.0에서 다 같이 가장 높았으며 최저 pH의 경우 단백질용해율은 *Asp. niger* crude enzyme 처리구가 높았고 단백질용해율은 *Asp. sojae* enzyme 처리구가 높았는데 이는 *Asp. sojae* Protease 역가가 높는데 반하여 *Asp. niger*는 Protease 역가는 *Asp. sojae* 보다 낮지만 Cellulase 역가는 훨씬 높음으로 양자의 상승효과에 의하여 대두단백질 용해량이 증가함을 나타내는 것이라 생각된다. 또한 *Asp. sojae*로서 pH 6.0에서 먼저 처리한 후 다시 pH를 4.4로 조절하여 *Asp. niger* enzyme을 처리한 구는 양자 단독으로 처리한 것보다 단백질용해율 및 단백질분해율이 높았다.

Table 1. Effect of pH on the solubility and decomposition of soy protein.

pH	<i>Asp. niger</i>		<i>Asp. sojae</i>		<i>Asp. sojae</i> + <i>Asp. niger</i> *	
	Water-soluble -N/Total N	Amino-N /Total N	Water-soluble N/Total N	Amino-N /Total N	Water-soluble- N/Total N	Amino-N /Total N
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
3.6	53.3	51.1	—	—		
3.8	49.2	49.3	—	—		
4.0	50.3	50.0	48.1	50.1		
4.2	58.1	51.4	47.6	50.0		
4.4	60.2	52.3	50.8	50.7		
4.8	55.4	50.1	51.1	53.2		
5.0	49.1	48.3	52.7	54.8		
6.0			58.4	57.3		
7.0			58.1	58.4		
8.0			54.2	57.2		
9.0			50.4	52.4		
Control	40.1	45.4	57.9	58.0	62.3	56.4

\* pH 6.0에서 *Asp. sojae* enzyme 25ml를 가하여 1.5시간 작용시킨 후 pH를 4.4로 조절하고 *Asp. niger* enzyme 25ml를 가하여 1.5시간 분해시켰다.

(나) 효소 농도에 따른 단백질용해율 및 단백질 분해율 상기의 최적 조건으로 볼 수 있는 *Asp. sojae* enzyme은 pH 6.0으로 40°C에서 1.5시간 *Asp. niger* enzyme은 pH 4.4로 하여 1.5시간 분해시키되 효소의 농도를 달리하여 대두단백질 용해율 및 분해율을 측정하여 Table 2와 같은 결과를 얻었다. Table 2에서 보는 바와 같이 원료대두에 대하여 되

도록 다량의 효소를 첨가할수록 단백질용해율 및 분해율이 높으나 최소한 50ml 정도 첨가해 주면 61% 정도의 단백질용해율 및 60% 정도의 단백질 분해율을 얻을 수 있었는데 그 이상의 효소액 첨가는 절대 용해율 및 분해율이 높아지기는 하나 효소액첨가에 비하여 현저한 증가는 볼 수 없었다.

(다) 증자 정도에 따른 단백질분해정도

상기의 최적 pH와 50ml의 효소액을 첨가하여 미생물 효소에 의한 대두단백질의 최적 소화에 적당한 가열정도를 실험한 결과는 Table 3과 같다. Table 3에서 보는 바와 같이 단백질용해율은 10lb에서 10분간 처리한 구가 가장 높았고 단백질용해율은 15lb에서 10분간 처리한 것이 가장 높았으며 그 이상의 압력과 처리시간은 오히려 떨어지는 경향에 있다. 양자를 종합해서 고려해 볼 때 15lb에서 10분간 처리구가 가장 높은 값을 나타낸다고 볼 수 있다.

(다) 단백질분해 시간에 따른 단백질분해 정도

상기의 최적 조건인 15lb로 10분간 증자 처리하여 대두단백질에 효소처리 시간을 달리하여 단백질분해

Table 2. Influence of enzyme concentration on the solubility and decomposition of soy protein

Solubility & decomposition	Water-soluble-N	Amino-N/Total
(ml)	(%)	(%)
100	65.1	61.4
75	63.5	60.9
50	61.8	60.1
25	57.5	59.4
13	43.4	52.1
6	38.8	50.4
3	35.1	48.1
1	20.6	30.2

\*효소농도는 *Asp. niger*와 *Asp. sojae*를 같은 양한 총량을 표시한다.

Table 3. Influence of steaming on the solubility and decomposition of soy protein

Solubility & decomposition	Water-soluble-N	Amino-N/Total	
			Steaming
lb	(mins)	(%)	(%)
10	10	63.2	58.5
	20	62.4	60.1
	30	61.8	60.0
15	10	63.0	62.1
	20	62.8	62.2
	30	61.5	60.9
20	10	59.0	58.4
	20	57.1	58.2
	30	56.1	59.1

정도를 시험한 결과는 Table 4와 같다. Table 4에

서 보는 바와 같이 분해시간이 경과함에 따라 단백질용해율 및 단백질분해율이 다같이 증가하는 경향이 있으나 8시간 이상이 경과되면 부패될 우려가 있으므로 최고 8시간 정도가 실용적이며 이 조건에서 70%의 단백질용해율과 62%의 단백질분해율을 얻을 수 있었다.

2. 분해단백질의 탈색

대두단백질의 분해 최적조건을 정하여 분해한 분해물은 검은 갈색을 띄었는데 이것을 식품으로서의 적합한 색으로 탈색시키기 위하여 직접 활성탄 또는 이온교환수지 그리고 이들 두가지로 병용하여 탈색 처리한 다음 2배로 희석하여 이들 탈색 정도

Table 4. Effect of digestion time on the solubility and decomposition of soy protein

Solubility & decomposition	Water-soluble-	Amino-N
Time	N/Total N	/Total N
2 (hrs)	49.7(%)	50.4(%)
4	64.5	59.5
6	68.2	61.5
8	70.1	62.3

Table 5. Effect of decolorization on the digested soy protein (O.D)

Treatment	Control	Active carbon	Dowex 2-x-8	Amberlite IR-250	Active carbon + Dowex 2-x-8
mμ					
430	0.810	0.485	0.170	0.580	0.104
440	0.780	0.450	0.140	0.520	0.092
450	0.730	0.410	0.119	0.460	0.071
460	0.691	0.380	0.100	0.410	0.052
470	0.653	0.345	0.085	0.380	0.041
480	0.615	0.320	0.080	0.352	0.031
490	0.580	0.300	0.069	0.347	0.020
500	0.550	0.270	0.050	0.312	0.012
510	0.525	0.260	0.050	0.300	
520	0.500	0.235	0.040	0.284	
530	0.475	0.222	0.032	0.261	
540	0.460	0.205	0.030	0.232	
550	0.430	0.190	0.028	0.225	

를 Colorimeter로 측정된 결과는 Table 5와 같으며 이것을 그림으로 표시하면 Fig 2와 같다.

Fig 2에서 보는 바와 같이 어떠한 탈색 처리도 원액에 비하여 탈색효과가 있기는 하나 양이온 교환수지 (Amberlite IR-120) 처리가 가장 낮고 활성탄 처리 후 음이온교환수지 (Dowex 2-x-8)로 처리

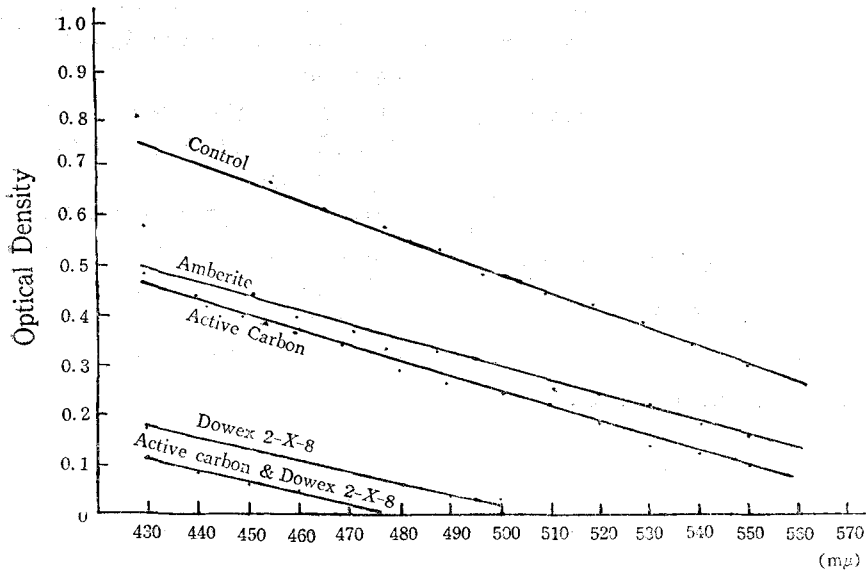


Fig. 2 Effect of de-colorization on the degested soy protein

한 구가 가장 탈색이 잘 되었으며 황성탄 및 음이온교환을 각각 단독으로 처리한구는 그 중간 정도의 효과가 있었다.

### 3. 농축 및 건조분말 제품의 제조

상기의 최적조건 즉 효소의 최적 pH, 효소의 최적 실용농도, 최적 증자정도, 최적분해시간 등으로 처리하여 도시한 Fig 1의 공정에 따라 분해시킨 대두단백질을 감압농축기를 이용하여 50°C 이하에서 수분 함량이 약 65% 정도 되도록 일단 예비 농축한 다음 진공건조기에 옮겨서 60°C 이하에서 건조시켜 건조분말로 만들어 이 최종 건조분말 제품의 일반성분을 분석한 결과는 Table 6과 같다 Table 6. Chemical composition of digested soy protein powder.

Moisture	Protein	Fat	Ash	Carbohydrate*
(%)				
12.51	66.31	4.25	4.18	12.75

\* 단백질, 지방, 회분, 수분을 제외한 나머지를 탄수화물의 양으로 하였다.

본 최종 제품의 물리적 성질로는 기타 방법으로 제조한 대두단백질의 농축물과 마찬가지로 강한흡수성<sup>(9)</sup>을 지녔으며 분해 과정 중 수용성을 취하였으므로 완전 수용성이었다.

### 요 약

우수한 영양가를 가진 대두를 이용하여 이유식

을 제조하기 위하여 가압증자한 대두에 Protease 및 Cellulase 역가가 비교적 높은 *Asp. niger* 및 *Asp. sojae* 균의 피국 추출효소액을 작용시켜 대두 단백질에 아미노산 내지 Peptide 태로 분해시키는 최적조건을 결정하고 여기서 얻은 분해물을 탈색 농축시키는 효과에 관하여 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대두의 가압증자는 15lb에서 10분간 처리함이 가장 높은 단백용해율 및 단백분해율을 나타냈다.
2. *Asp. sojae* enzyme은 pH 6.0, *Asp. niger* enzyme은 pH 4.4에서 가장 높은 단백용해율과 단백분해율을 나타냈다.

*Asp. sojae* enzyme을 처리한 다음 *Asp. niger* enzyme을 작용 분해시킨 것이 각 효소 단독으로 처리했을때 보다 높은 단백용해율(62.3%) 및 단백분해율(56.4%) 나타냈다.

3. 기질에 대한 효소액 첨가량은 원료 대두에 10배의 물을 가한 마쇄기질액에 피국에 대하여 10배의 물로 추출한 효소액 1/2에 해당하는 양 (*Asp. sojae* enzyme와 *Asp. niger* enzyme 총량)을 가하는 것이 가장 실용적이었다.

4. 분해시간이 길 수록 단백용해율 및 단백분해율이 높아지나 부패 등을 고려할 때 실용분해 시간은 8시간 정도가 적당하다.

5. 탈색 효과는 황성탄으로 처리한 후 음이온교환수지(Dowex 2-x-8)을 처리한 것이 가장 좋고 단

독처리로는 음이온교환수지, 활성탄, 양이온교환수지(Amberite)의 순으로 효과가 적었다.

6. 이상의 최적 조건으로 대두단백질을 분해하고 60°C 이하에서 감압농축하여 얻은 제품은 수분 12.51%, 단백질 66.31%, 지방 4.25%, 탄수화물 12.75%, 인 건조분말을 얻었다.

이 연구는 1969년도 문교부 학술연구 조성비로 이루어진 것이며 본 연구에 헌신적인 보조를 아끼지 않았던 박 관화 군에게 감사하는 바이다.

#### 참 고 문 헌

1. 難波 晴行; 日食工誌 12, 226 (1965)
2. Fukushima; Bull. Agr. Chem. Soc. Japan 23,

7 (1959)

3. 野木 正雅; 日農化 34, 430 (1930)
4. H. Haira, K. Sugimura; Agr. Biol. Chem. 29, 1074 (1965)
5. 櫻井 芳人, 平春枝; 日農化 40, 41 (1966)
6. K.M. Abdo, A.W. King; J. Agr. Food Chem 15, 83 (1967)
7. 田崎, 大上; 日醸酵工 40, 195 (1962)
8. Toyama; Memories of the faculty of Agr. Univ of Miyazaki 3, (2) (1962)
9. Edwin W. Meyer; Soybean Protein Foods. (A R.S. US Dept of AGR, 1967) 142