KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 12, No. 1 (1980)

한국산 豆類의 Trypsin 沮害 活性 및 赤血球 凝集 活性

姜 明 喜* · 金 容 華 · 李 瑞 來
韓國 原子力 研究所, 環境 化學 研究室

(1979년 10월 19일 수리)

Trypsin Inhibitor and Hemagglutinating Activities of Some Minor Beans in Korea

Myung-Hee Kang, Yong-Hwa Kim and Su-Rae Lee
Environmental Chemistry Laboratory, Korea Atomic Energy Research Institute, Seoul

(Received October 19, 1979)

Abstract

Trypsin inhibitor and hemagglutinating activities of some minor beans produced in Korea were determined in comparison with those of soybean and the effects of heat treatment on the activities were studied. The results are summarized as follows :

1. The trypsin inhibitor activity (% [TU] inhibited/*mg*) of soybean, red bean, kidney bean, and mung bean were 79.9, 46.4, 43.2 and 17.7, respectively, on the dry weight basis and were 194, 222, 170 and 75, respectively, on the protein basis.
2. Heat destruction by boiling or autoclaving of trypsin inhibitor activity of red bean, mung bean, kidney bean, and soybean were 85~87, 87~94, 76~79 and 67~72 %, respectively. No significant difference was, however, observed in the effect between the two heating methods.
3. The hemagglutinating activity (unit/*g*) of kidney bean, soybean, mung bean and red bean were 48,300, 18,000, 136 and non-detectable, respectively, on the dry weight basis and were 190,600, 43,700, 581 and non-detectable, respectively, on the protein basis. Heat treatment destructed the hemagglutinating activity in all three beans.

서 론

豆類는 高蛋白 식품으로서 영양적 가치가 높으나 가열 되지 않은 生 豆類 중에는 營養 沮害 물질이 존재하는 것으로 알려져 큰 관심사가 되어 왔다. 이러한 유해 성분에 관해서는 주로 大豆를 중심으로 연구가 시작 되었고 특히 trypsin inhibitor에 대해서는 생화학적, 영양학적 및 식품 가공적인 면에서 많은 연구가 되어 왔으며 최근 Liener에 의한 總說[1]이 나와 있다. 한편 두류중에는 영양 저해 물질로 trypsin 沮害劑 외에도 赤血球 凝集 活性을 가지는 hemagglutinin이 있는 바 1953년 Liener[2]는 생콩을 먹인 동물에서 성장 저해 요인의 50%는 hemagglutinin에 起因한다고 밝혀 그의 중요성을 시사하였다. 그 이후 hemagglutinin에 관한 영양학적, 생화학적 및 병리학적 연구가 많이 수행 되었다. 이러한 두류의 유해 성분인 trypsin 沮害劑와 hemagglutinin은 가열 처리에 의

* 梨花 女子 大學校, 食品 營養 學科 博士 과정; 농촌 진흥청, 농촌 영양 개선 연수원

해 그 활성도가 떨어지며 이에 관한 많은 연구가 있으나 우리나라에서 많이 사용되는 두류에 대해서는 식품가공과 조리면에서의 이용을 고려한 이러한 방면의 연구가 매우 제한되어 있다.

우리나라에서의 연구로는 대두를 중심으로 발아 기간中의 trypsin 저해 활성의 변화[3], 열 처리 조건에 따른 trypsin 저해제의 파괴 정도[4]에 관한 것이 있으며 대두를 포함하여 녹두, 강남콩등 16종의 한국산 두류에 대하여 trypsin 저해 활성을 측정한 朴[5]의 보고가 있다. 또한 대두로 부터 hemagglutinin의 정제에 관한 보고[6]가 있을 뿐이다.

따라서 본 연구는 旣報[7]에 이어 국내산 두류 중 비교적 연구가 적게 된 大豆 이외의 두류에 관한 문제를 규명하기 위하여 trypsin 沮害 活性 및 赤血球 凝集 活性을 측정하고 가열 처리에 따른 파괴 정도를 관찰하였기에 그 결과를 이에 보고한다.

재료 및 방법

두류 시료

실험 재료로는 팥(*Phaseolus angularis*), 녹두(*Phaseolus vidissimus*), 강남콩(*Phaseolus vulgaris var. nanus*)을 택하였으며 對照 시료로 대두(*Glycine max*)를 사용하였다. 이들 시료는 경기도 水原 지역에서 1977년 가을에 수확한 것을 100 mesh 이상되게 진동 mill로 분쇄한 후 Soxhlet 추출 장치에서 에틸에테르로 10시간이상 脫脂하여 분석에 제공하였다.

가열 처리

가열 처리는 boiling과 autoclaving의 두가지 방법으로 행하였다. 즉 boiling의 경우는 두류 種實 50 *g*을 실온에서 6시간 浸水시킨 후 비이커에 넣고 8배의 물을 가해 뚜껑을 덮고 30분 동안 끓였다. Autoclaving의 경우도 같은 조건으로 침수시켜 물을 뺀 후 120°C, 15 p.s.i.에서 30분간 autoclaving 하였다. 이와 같이 가열 처리된 시료를 50°C의 fan 달린 오븐에서 4~5일간 건조 시켜 진동 mill로 100 mesh 이상이 되도록 분쇄한 후 에틸에테르로 탈지시켰다.

단백질의 정량

Micro-Kjeldahl법의 Perrin씨 변법[8]으로 질소의 양을 구하고 이에 6.25를 곱한 수치를 단백질 양으로 하였다.

Trypsin 沮害 活性(trypsin inhibitor activity)의 측정

가. Trypsin inhibitor 용액의 추출

두류의 脫脂 분말 시료 1~2 *g*에 0.1 *M* Sörensen phosphate buffer (pH 7.6) 20 *ml*를 가해 실온에서 진탕기로 1시간 추출한 후 3,500 r.p.m.에서 10분간 원심 분리하여 상징액을 phosphate buffer로 희석하였다. 이때 희석 배수는 단백질 농도를 기준으로 예비 실험을 행하여 결정하였다.

나. 沮害 活性度의 측정법

Kunitz[9]의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 12 *ml* 용량의 원심 분리관에 trypsin stock solution(trypsin 300 *mg*을 0.0025 *N* HCl 100 *ml*에 녹인것) 0.5 *ml*를 넣고 trypsin inhibitor 용액(crude bean extract)을 0.1 *ml*에서 0.5 *ml* 까지 단계적으로 가한 다음 0.1 *M* phosphate buffer(pH 7.6)로 1 *ml*를 만들었다. 이에 기질로 사용한 1 % 카제인(Hammarsten) 용액 1 *ml*를 가한 후 잘섞어서 35°C 水槽에서 정확히 20분간 배양 시켰다. 시험관을 빼내어 5 % TCA 용액 3 *ml*를 가하여 총량이 5 *ml*가 되게 한 후 실온에서 한시간 방치하여 3,000×g에서 20분간 원심 분리한 후 상징액을 취해 파장 280 nm에서의 흡광도를 Beckman DU-2 spectrophotometer로 측정하였다. 이때 對照區는 세가지를 사용하였는데 똑같은 조건으로 하되 trypsin과 inhibitor 용액(crude bean extract) 대신 완충액을 넣은 것을 instrumental blank로 사용하였고 trypsin을 미리 넣지 않고 배양 직후에 넣어 TCA와 반응시킨 것으로 trypsin 중의 peptide로 말미암은 흡광도의 변화를 고려해 주었으며, 세번째 對照區로는 trypsin 없이 inhibitor를 농도 별로 취하여 물을 가해 2 *ml*로 만든 후 같은 조건에서 배양시켜 TCA를 가한 후 흡광도를 측정하고 실험치에서 inhibitor의 첨가량에 따라 각각 빼주었다.

Trypsin 표준 곡선은 trypsin stock solution으로 그렸으며 trypsin inhibitor 용액(crude bean extract) 대신 0.1 *M* phosphate buffer(pH 7.6)를 사용하였다.

다. Trypsin 沮害 活性度(TUI)의 표현

일정한 조건 (35°C에서 20분간 배양 시킬 때의 용량은 2 *ml*이고 TCA 첨가 후의 마지막 용량은 5 *ml*가 되는 조건) 하에서 1분 동안에 파장 280 nm에서 흡광도 1.00을 증가 시키도록 가수 분해 산물을 내는 trypsin의 활성도를 1 trypsin unit [TU]로 나타내었다.

본 실험은 20분 간 행하였으므로 표준 곡선의 초기 부분에 접선을 그어 이 선에 따라 흡광도 0.2 단큼 증가시킨 효소량을 1×10^{-2}[TU]로 표시하였다. Trypsin 沮害 活性度는 上記와 같은 실험 조건 하에서 沮害劑의 첨가에 의하여 감소된 [TU]의 百分率 즉 %[TU] inhibited로 표현하였다.

赤血球 凝集 活性(hemagglutinating activity)의 측정

Liener[10]의 photometric method에 준하여 측정하였다.

가. 표준 trypsinated blood suspension의 조제

토끼의 赤血球가 다른 동물의 것보다 두류 단백질에 대해 민감하다고 알려져 있다[11]. 따라서 본 실험에서는 살아있는 토끼의 심장에서 적혈구를 직접 採血하여 동량의 Alsever's solution[12] (dextrose 2.05 *g*, trisodium citrate dihydrate 0.8 *g*, sodium chloride 0.42 *g*을 증류수 100 *ml*에 녹인 후 10 % 구연산으로 pH를 6.1로 맞추어 merthiolate(Thimerosal®)를 0.02 %되게 가한 후 15 p.s.i., 120°C에서 15분간 살균한 액)에 넣어 4°C에서 보관하며 사용하였다.

토끼 혈액과 Alsever's solution이 동량 섞인 액을 4°C, 1,500×g에서 30분 간 원심 분리하여 상징액을 버리고 blood cell이 4 %가 되게 phosphate buffer saline(0.02 *M* phosphate buffer in 0.1 *M* NaCl solution, pH 6.8)으로 희석한 후 4 % blood suspension : trypsin 용액이 10 : 1이 되도록 trypsin 용액을 가하여 37°C 水槽에서 1시간 배양 시킴으로써 trypsin에 의해 blood cell 표면이 분해 되도록 하여 두류에 의한 토끼 赤血球의 凝集感度를 높여 주었다. 배양 후에 4°C, 1,500×g에서 30분간 원심 분리한 후 saline으로 세척, 원심 분리하는 조작을 세번 반복하고 1.25~1.50 % cell suspension이 되도록 saline으로 희석하였다. 이 suspension 1 *ml* 를 10×75 *mm* photometric tube에 넣고 saline으로 2 *ml*되게 하여 흡광도가 0.5~0.6 범위에 오도록 blood suspension의 농도를 조절하여 standard blood suspension을 조제하였다. 이 standard blood suspension은 stock suspension으로 부터 매일 새로히 만들었다.

표준 곡선은 standard blood suspension 0.2~1.0 *ml*를 단계적으로 취하여 saline으로 2 *ml*가 되게 희석한 후 흡광도를 측정하여 작성하였다.

나. 豆類 추출액의 조제

탈지 두류 시료 2 *g*에 saline 20 *ml*를 가해 실온에서 30분 간 진탕기로 추출한 후 1,000×g에서 10분 간 원심 분리하여 상징액을 saline으로 희석하였다. 이때 희석 배수는 예비 실험을 통하여 blood cell이 침전되는 정도에 따라 조절하였는 바 단백질 농도로 대두에서는 159 *μg/ml*, 강남콩은 128 *μg/ml*, 녹두는 11,810 *μg/ml*, 팥은 50,000 *μg/ml*가 되게 희석하였다.

다. 凝集 活性度의 측정법

豆類 추출액은 serial twofold dilution 방법을 사용하여 saline으로 희석해서 응집 활성을 측정하였다. 즉 10개의 10×75 *mm* 경질 시험관을 마련하고 두류 추출액을 saline으로 0, 2, 4, 8, 16, ……512 배로 희석하여 1 *ml*씩 넣은 다음 standard trypsinated blood suspension 1*ml*를 가하여 잘 섞이도록 좌우로 기울이며 가만히 흔들어 주었다. 시험관 벽에 응고된 cell이 부착되는 것을 방지하기 위해 tube를 꼭 맞는 시험관 대에 수직으로 설치하여 일정한 시간 실온에 방치한 후 내용물이 흔들리지 않도록 주의하면서 Spectronic 20 분광 비색계로 파장 620 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

측정된 흡광도는 표준 곡선을 이용하여 suspension 안에 남아있는 세포의 %로 나타내었다.

라. 赤血球 凝集 活性度(hemagglutinating unit, HU)의 표현

Liener의 방법[10]에 따라 위와 같은 조건 하에서 3시간 동안에 standard cell suspension 이 50 % 침강되게 하는 (E_{50}) 試料 溶液의 level을 1 HU로 나타내었다. 이때 E_{50}는 blood suspension의 표준 곡선으로 부터 읽을 수 있고 각 두류의 凝集 活性을 다음 식으로 구하였다.

$$\log X = \log A + \frac{(E_{50} - R_A)}{(R_B - R_A)} \times \log 2$$

여기서

A : 시험관 A (E_{50} 보다 흡광도가 작은 가장 가까운 시험관)의 희석 배수의 역수

R_A : 시험관 A의 흡광도

R_B : 시험관 B(E_{50} 보다 흡광도가 큰 가장 가까운 시험관의 흡광도

X : E_{50}에 해당하는 희석 배수의 역수

실험 결과

Trypsin 沮害 活性

가. 豆類 상호간의 活性度 비교

Trypsin에 의한 카제인의 분해 곡선은 Fig. 1과 같이 Kunitz[13]의 것과 유사한 결과를 보였다. 이 곡선을 이용하여, 두류 추출액 속에 존재하는 trypsin 沮害活性을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 대두를 비롯하여 세 종류의 두류는 모두 그 정도는 다소 다르나 두류의 양이 증가 할 수록 trypsin 沮害 活性이 증가하는 경향을 보였으며 본 실험에 사용한 모든 두류에는 trypsin inhibitor가 존재함을 확인할 수 있었다.

위의 결과를 각 두류의 乾物 중량 당으로 표현한 比活性度는 Table 1과 같다. 이론적으로는 두류 추출액의 사용량에 관계없이 比活性度는 일정한 값을 보여야 하겠으나 어느 두류든지 두류 추출액의 양이 증가함에 따라 점차 감소하는 경향을 보였다. 그러나 이와 같이 각각 다른 沮害劑 농도에서 측정한 값을 모두 평균해서 두류 별로 비교하여 보면 대두가 79.9로 가장 높았고 팥과 강남콩은 비슷했으며 녹두가 가장 낮았다.

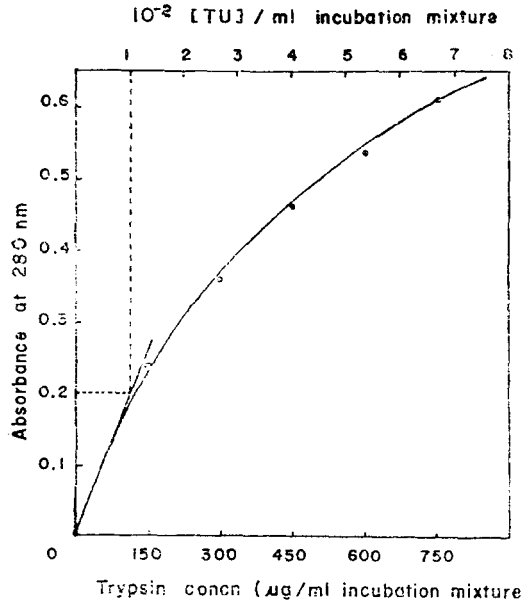

Fig. 1. A standard curve for the hydrolysis of casein by trypsin

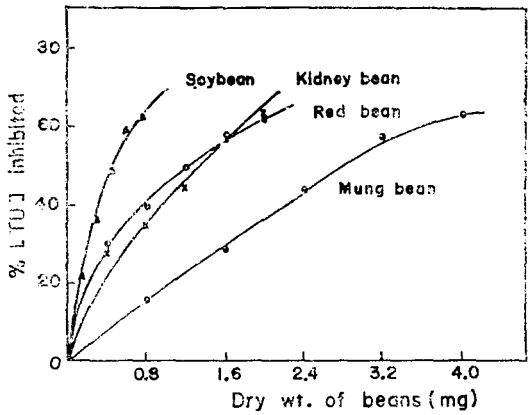

Fig. 2. Comparison of trypsin inhibitor activities of some beans

한편 trypsin inhibitor 자체는 단백질이므로 이들 결과를 각 두류의 단백질 중량 당으로 환산한 比 活性度는 Table 2와 같다. 여기에서 보면 건물 중량 당 活性度에서는 대두가 제일 높았고 그 다음이 팥, 강남콩, 녹두의 순이었으나 단백질 중량 당으로 환산한 경우에는 그

Table 1. Variation of trypsin inhibitor activity in some beans at different levels of the extract
(Unit : % [TU] inhibited/*mg* raw bean)

Bean	Volume of bean extract(*ml*)/incubation tube					Average
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	
Red bean (팥)	74.8	49.2	41.1	35.8	30.9	46.4
Mung bean (녹두)	19.3	17.7	18.1	17.9	15.6	17.7
Kidney bean (강남콩)	69.3	43.4	36.9	35.2	31.3	43.2
Soybean (대두)	104.1	87.3	77.8	70.4	60.1	79.9

Table 2. Trypsin inhibitor activity of some beans

Bean	% TU inhibited/*mg* material		Protein content (%)
	Dry weight basis	Protein basis	
Red bean (팥)	46.4	222	20.9
Mung bean (녹두)	17.7	75	23.5
Kidney bean (강남콩)	43.2	170	25.4
Soybean (대두)	79.9	194	41.1

순서가 바뀌어 팥이 제일 높았으며 그 다음으로 대두, 강남콩, 녹두의 순이었다. 이와 같은 현상은 두류 단백질중 trypsin inhibitor의 活性을 가지는 단백질의 농도가 두류에 따라 다르기 때문인 것으로 생각된다. 이상과 같은 결과는 박[5]이 단백질 함량이 많은 두류일수록 trypsin 저해도가 높았다는 보고와 일치된다.

나. 가열 처리의 영향

각 두류를 boiling과 autoclaving의 두가지 방법으로 가열 처리한 후의 trypsin 沮害 活性을 각 두류 추출액의 양별로 비교한 결과는 Fig. 3~6과 같다. 각 두류에 있어서 두류 추출액의 첨가량이 증가할 수록 trypsin 沮害 活性이 증가하는데 반하여 가열 처리된 두류의 경우는 추출액이 증가하는 것에 불구하고 沮害 活性이 크게 감소하였다.

이 결과를 각 두류 별로 비교해 보기 위해 생두류에서 90 % 沮害 活性을 보이는 점에서 가열 처리에 따른 沮害 活性의 파괴율을 계산한 결과는 Table 3과 같다. 이에 의하면 팥, 녹두는 85~95 %의 파괴율을 보여 72~80 %를 보인 대두, 강남콩에 비해 열 처리 효과가 높았다. 두가지 가열 처리 방법간의 차이는 녹두에 있어서 autoclaving한 것이 boiling한 것보다 trypsin 沮害 活性이 약간 더 파괴 되었을 뿐 다른 두류에서는 크게 눈에 띄지 않았다.

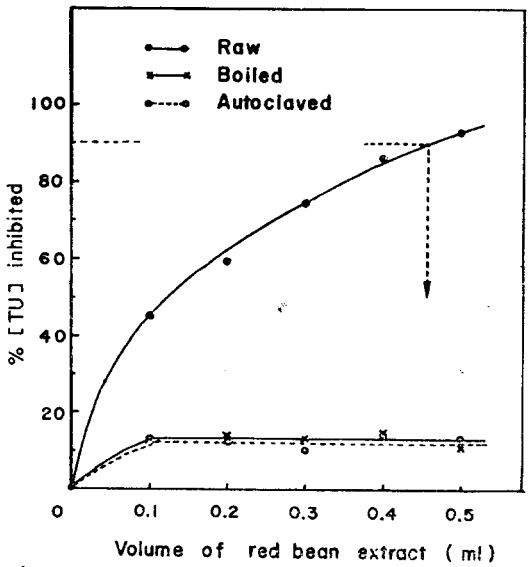

Fig. 3. Effect of heating on the trypsin inhibitor activity of red bean

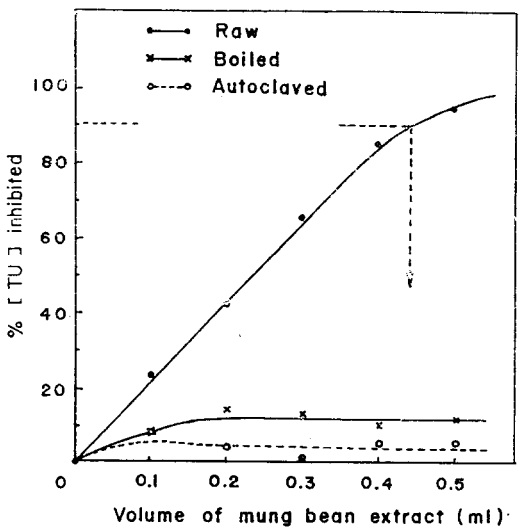

Fig. 4. Effect of heating on the trypsin inhibitor activity of mung bean

Table 3. Degree of destruction by heating of trypsin inhibitor activity in some beans

Bean	% Destruction*		
	Raw	Boiling	Autoclaving
Red bean (팥)	0	85.0	86.9
Mung bean (녹두)	0	86.9	94.0
Kidney bean (강남콩)	0	79.4	75.6
Soybean (대두)	0	71.7	67.4

* % trypsin inhibitor activity destroyed when calculated at 90 % inhibition time of [TU] in raw beans

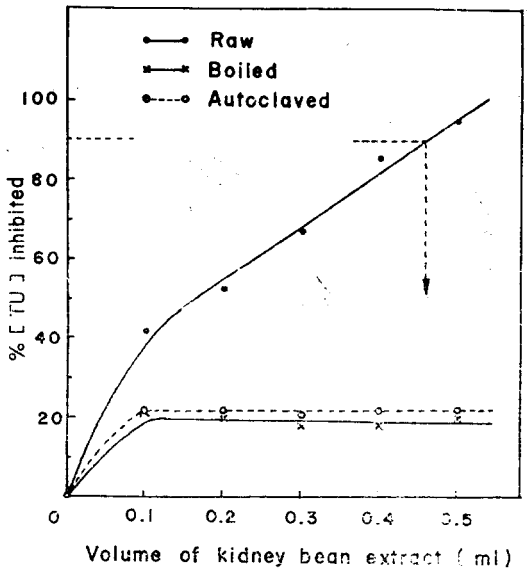

Fig. 5. Effect of heating on the trypsin inhibitor activity of kidney bean

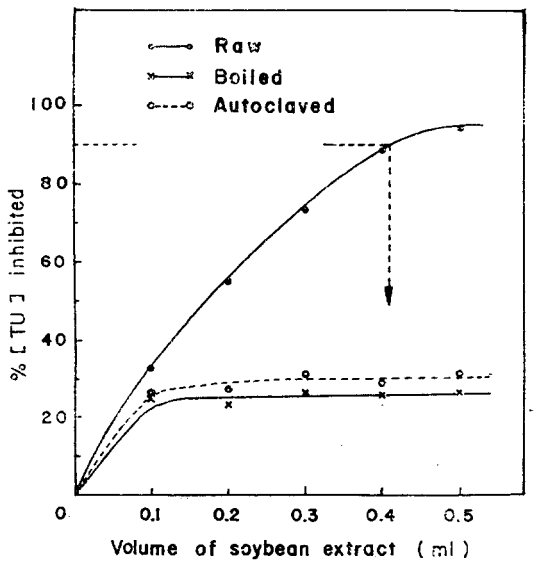

Fig. 6. Effect of heating on the trypsin inhibitor activity of soybean

赤血球 凝集 活性

가. 豆類 상호간의 活性度 비교

여러가지 농도의 두류 추출액이 standard blood suspension에서 赤血球의 沈降 속도에 미치는 영향을 실험한 결과는 Fig. 7과 같다. 두류 추출액을 첨가하지 않은 것은 2~3시간이 경과해도 침강을 일으키지 않은 반면 두류 추출액을 첨가한 것은 그 첨가량과 방치 시간에 따라 침강 속도가 증가하는 경향을 보였다.

Liener[10]는 soyin과 대두 추출물에 의한 예비 실험

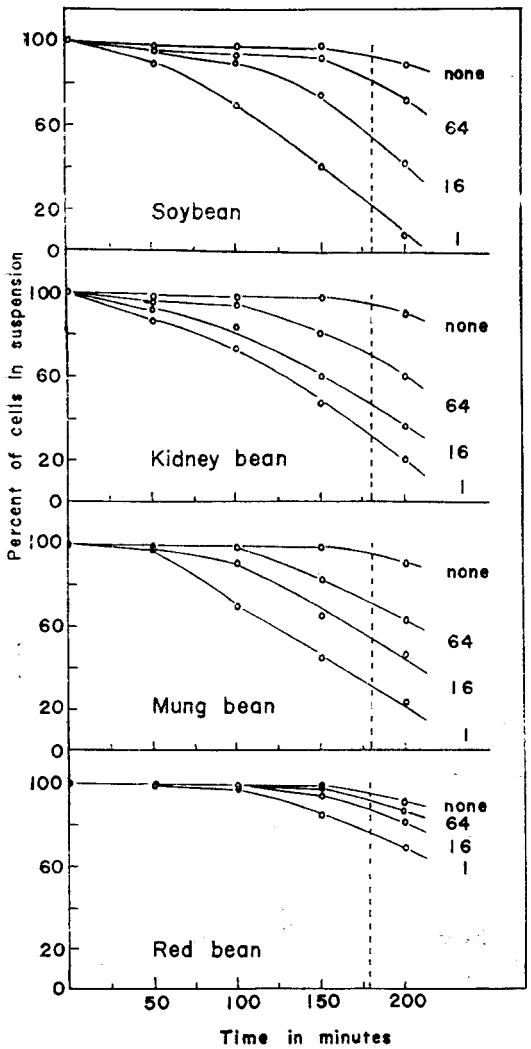

Fig. 7. Sedimentation rates of red blood cells in the presence of some bean extracts
None : no addition of bean extracts
Numbers : serial dilution ratio of test bean extracts

Table 4. Hemagglutinating activity of some beans

Bean	Hemagglutinating unit/g material	
	Dry weight basis	Protein basis
Red bean (팥)	0	0
Mung bean (녹두)	136	581
Kidney bean (강남콩)	48,300	190,600
Soybean (대두)	18,000	43,700

에서 방치 시간을 2시간 반(150분)으로 하였으나 본 실험에서는 팥의 경우 150분이 경과 하였을 때 두류 추출액의 농도 별로 큰 차이를 보이지 않았으므로 방치 시간을 3시간으로 선정하였다. 3시간 방치 후 흡광도를 읽어 두류 추출액의 농도와의 관계를 보면 Fig. 8~10과 같다.

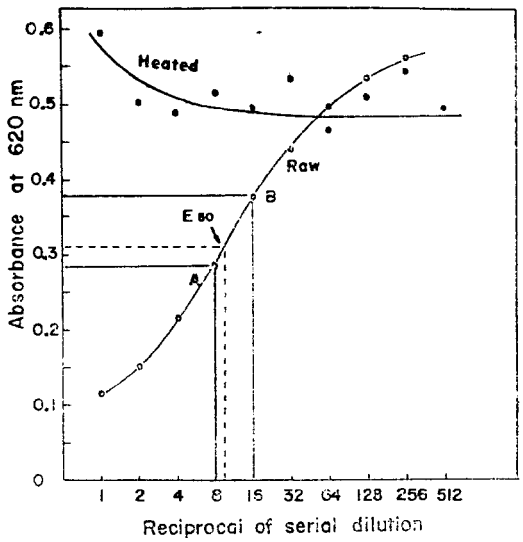

Fig. 8. Curves for the calculation of hemagglutinating activity in raw and heated soybean

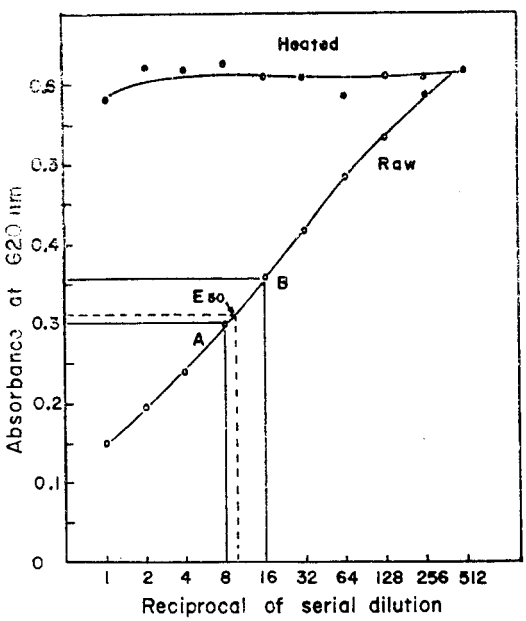

Fig. 9. Curves for the calculation of hemagglutinating activity in raw and heated mung bean

이들로 부터 각 두류의 赤血球 凝集 活性을 구한 결과는 Table 4와 같다. 단백질 중량 당 trypsin 沮害 活性이 제일 높았던 팥의 경우는 凝集 活性이 나타나지 않

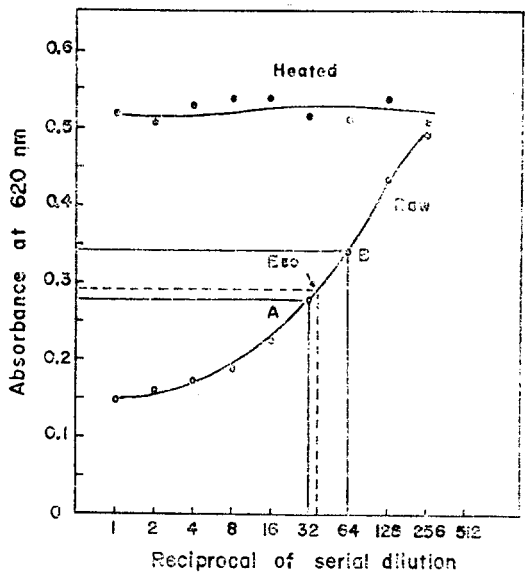

Fig. 10. Curves for the calculation of hemagglutinating activity in raw and heated kidney bean

았고 강남콩이 제일 많았으며 대두, 녹두의 순이었다.

나. 가열 처리의 영향

赤血球 凝集 活性을 나타낸 바 있는 대두, 강남콩, 녹두에 있어서 가열 처리(autoclaving)한 후에 凝集 活性을 보면 Fig. 8~10과 같이 모두 파괴된 것으로 나타났다.

고　찰

두류 중 독성 물질로 알려진 trypsin inhibitor는 단백질 소화 효소인 trypsin의 작용을 방해하여 단백질의 소화율 및 이용율을 떨어 뜨림으로써 동물의 성장을 저해한다. 일찌기 Read & Hass[14]는 대두로 부터 trypsin inhibitor의 존재를 밝혔고 Kunitz는 이를 순수 분리하는데 성공했으며[15] 카제인을 이용한 활성도 측정 방법을 확립하였다[13]. 한편 Kakade등[16]은 흡광도를 읽을 때 수학적인 처리를 해주거나 기질로서 카제인 대신 합성 기질인 benzoyl-*D,L*-arginine-*p*-nitroanilide를 사용함으로써 trypsin inhibitor의 경합적인 저해 작용을 잘 설명할 수 있다고 하였다.

Turner & Liener[17]는 카제인을 기질로 하여 단백질 1 *g*당 대두의 TUI(trypsin 沮害 活性度)를 측정한 결과 98로서 본 실험치보다 낮았으며 Kakade등[18]은 여러 종류의 대두를 대상으로 역시 단백질 1 *g*당 TUI를 측정한 결과 종류에 따라 66~223의 범위에 있었다고 하였다. 팥의 TUI에 관한 보고는 아직 찾아볼 수 없어 비교할 수 없으나 본 실험에서는 대두에서 보다는 팥에서 TUI가 더 높았다는 사실로 미루어 우리나라에서 많이 섭취되고 있는 팥에 대해서도 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

녹두는 본 실험에 사용한 시료 중 TUI가 가장 낮은 것으로 나타났으나 단백질 중량 당으로 볼 때 가장 높았던 팥에 비해 1/3 정도의 활성이 있는 것으로 보아 녹두의 trypsin 沮害 活性도 看過해서는 안될 것이다.

본 실험에서는 trypsin 표준 곡선의 초기 부분에 접선을 그어 〔TU〕를 결정했기 때문에 두류 추출액의 농도가 높아짐에 따라 단위 중량당 TUI는 감소했다. 이는 Kakade등[16]이나 孫등[3]이 지적한 대로 카제인을 기질로 사용했기 때문이라고 생각된다. 또 Kozlowska등[19]도 기질에 따라 trypsin 저해 활성이 달라짐을 보고하였는데 카제인을 사용한 경우가 합성 기질 사용시 보다 그 활성이 더 높았으나 이 차이는 두류의 단백질 함량이 많을수록 감소한다고 하였다.

각 두류별로 乾物 중량 당 TUI를 비교해 보면 대두가 가장 높았고 그 다음이 팥, 강남콩, 녹두의 순을 보였는 바 한국산 두류 16종의 trypsin 저해도를 관찰한 결과 대두가 가장 높았고 그 다음이 강남콩이었으며 녹두가 가장 낮았다고 보고한 朴[5]의 결과와 일치하였다. 그러나 단백질 1 *mg*당 TUI로 환산해 보면 대두는 194인데 비해 팥은 그보다 높은 222를 보였다는 사실은 주목할 만하다.

식물 체내에 들어 있는 대부분의 단백질 분해 효소 저해 물질은 열에 의해 파괴되어 영양가가 향상 되는 것으로 알려져 왔다[20]. 1917년 Osborne과 Mendel[21]이 열 처리에 의해 대두 단백의 영양가가 향상된다고 발표한 이래 trypsin inhibitor는 가열 처리로 인해 그 활성도가 떨어지는 것으로 알려져 있다. 이러한 가열 처리에 의한 영양가의 향상은 두류의 종류[20], 가열 온도, 압력 및 시간[22], 가열전의 수분 함량[23]등에 따라 달라진다. Steele등[24]에 의하면 浸水하지 않고 그대로 autoclaving한 대두는 negative N balance를 보였으나 침수 시켜 boiling한 것은 positive N balance를 보였다고 한다. 두류의 영양 저해 물질을 불활성화 시키는 가열 조건으로 대두의 경우 脫脂를 하면 100°C, 15분간 steaming 함으로서 trypsin inhibitor를 불활성화 시킬 수 있으며[25] 탈지하지 않은 대두의 경우는 25 %의 수분을 함유시키면 20분, 60 %이상 함유시키면 5분 가열로도 trypsin inhibitor가 파괴 된다고 하였다[26]. 즉 수분 함량이 적으면 가열 시간이나 온도가 더 필요하게 된다. 또 李, 俞[4]는 대두를 10분간 100°C 및 120°C에서 처리했을 때 각각 90 %, 96 %의 trypsin

inhibitor가 파괴되었다고 한다. 그러나 강남콩등 *Phaseolus vulgaris*에 속하는 두류는 가열 처리 전에 반드시 침수 시켜야만 유독 성분이 완전히 제거되며 그 조건은 20~24시간 침수 후 105~110°C에서 40분간이라고 한다[27]. 본 실험에서는 이러한 여러 조건을 만족시킬 수 있는 조건으로 100°C (boiling) 혹은 120°C, 15 p.s.i. (autoclaving)에서 30분간 가열하였는 바 두가지 가열 처리 방법간의 차이는 보이지 않아 100°C, 상압에서 30분간 가열하면 120°C, 15 p.s.i.에서 30분동안 가열한 것과 같은 효과를 낸다고 볼 수 있었다.

두류 간에 trypsin 저해 활성의 감소율이 다르고 대두와 강남콩의 경우 20~28 %의 trypsin 저해 활성이 잔존하는 것으로 나타났다. 본 실험에서는 순수 분리된 trypsin inhibitor가 아닌 粗 抽出物(crude extract)를 사용하였으므로 결론 짓기는 어려우나 다른 연구자들의 결과[1]에 의하면 각 두류 간의 trypsin inhibitor가 불활성화 되는 정도는 다른 것으로 보고되고 있다. 물론 단일 종류에서 발견된 trypsin inhibitor도 한 개가 아니라는 것이 밝혀졌다. 예를 들면 대두에서는 5~6개, lima bean에서는 6개로 알려지고 있고 이들 개개의 저해제는 열, 알카리, 산 등에 의한 불활성화 정도가 다르며 그 기작의 주 요인으로 인정되고 있는 것은 trypsin inhibitor의 cystine 함량이다. 대두의 경우 열에 의해 불활성화가 쉽게 일어나는 저해제의 cystine 함량은 10 %, 불활성화가 어려운 것은 17 %였다고 하였다.

지금까지 알려진 바에 따라 각 두류중 trypsin inhibitor의 cystine 함량을 보면 대두 17 %, 강남콩 15 %, 녹두 10.2 %, 그리고 팥에 관한 자료는 없다. 이로 볼 때 본 실험 결과는 대두와 강남콩이 열에 불활성화 되기 어려운 trypsin inhibitor를 가지고 있다는 사실과 상통된다 하겠다. 앞으로 국내산 두류의 각 변종에 대한 trypsin inhibitor 열 불활성화 정도에 대한 기초 조사가 있어야 하겠으며 이와 더불어 열에 파괴 되지 않고 잔존 하는 trypsin 沮害 活性의 영양학적 의의에 관해서는 추시되어야 할 것이다.

식물체에 널리 분포 되어 있으며 동물의 赤血球를 응고 시키는 hemagglutinin은 단백질의 좋은 급원이 되는 두류에서 많이 발견되며 이를 섭취한 동물의 성장 저해의 큰 원인이 된다고 한다[28]. Hemagglutinin이 대두의 영양가에 영향을 줄 수 있는 지의 여부는 성장 저해 요소인 antitrypsin factor의 저해 機作을 밝히기 위해 연구하면서 부터 시작되었다. 즉 trypsin inhibitor가 발견되지 않는 두류에서도 가열 처리에 의해 영양가가 증진 되었는데 이와 같은 결과는 trypsin inhibitor 외에 열에 약한 다른 독성 물질의 존재를 시사해 주었다[20]. 1949년 Liener[29]는 쥐의 성장 저해가 반드시 trypsin inhibitor 때문만이 아니라 hemagglutinating activity를 갖는 어떤 다른 단백질에 기인한다고 했으며 또 大豆 사료를 먹인 쥐의 성장 저해의 50 %는 hemagglutinin에 기인한다고 하였다[2]. 더 나아가 두류의 영양가 指標로 hemagglutinating activity가 쓰일수 있다고 제의한 바 있다.

Hemagglutinin은 2개 혹은 그 이상의 結合 部位(binding region)을 가지고 있는 데 이곳에 세포 표면의 당류 물질이 결합한다[30]. 즉 經口 섭취된 두류의 hemagglutinin은 腸壁에 있는 세포와 결합해서 세포의 기능을 방해하므로 腸內 흡수율이 감소하게 되어 성장 저해를 가져오며 심하면 죽기까지 한다[31].

본 실험에서는 두류 영양가의 指標로 hemagglutinating activity (HA)를 측정하였는 바 두류의 단위 중량당으로 볼 때 강남콩이 제일 높아 대두의 약 3배를 보였으며 녹두는 가장 낮았다. 이와 같은 결과는 Chen 등[32]이 대두, 녹두 등으로 건물 중량 당 HA를 측정한 결과 보다 대두는 조금 높고 녹두는 다소 낮은 편이었다. 그러나 HA는 두류의 종류에 따라 크게 달라지며 같은 두류 중에서도 그 變種에 따라 많은 차이를 보인다[18,33]. Jaffé[33]는 강남콩이 속해 있는 *Phaseolus vulgaris* 중에서도 변종에 따라 HA의 차이를 많이 보여 HA가 전혀 보이지 않는 것에서부터 1 g당 500,000 HU나 되는 것도 보고하였다. 본 실험에서 사용한 강남콩은 단백질 1 g당 190,600 HU로 나타났으며 이는 대두등 다른 두류 보다 훨씬 많은 양으로 대두의 5배, 녹두의 300배나 되었다. 이는 *Phaseolus vulgaris*를 대상으로 한 여러 연구[31,34,35]와 일치하는 것으로 강남콩은 동물에게 먹이면 성장이 저해 되거나[34,35] 심하면 죽었다고 한다[36]. 또 강[37]의 연구에서도 대두 보다 강남콩에서 성장 저해 현상이나 致死率이 훨씬 높았다. 따라서 강남콩의 성장 저해 현상은 주로 hemagglutinin에 기인한다고 볼 수 있으며 그 저해 정도가 대두나 다른 두류 보다 훨씬 더 강력하므로 문제가 된다고 생각된다. Hemagglutinin도 열에 약한 물질이므로[1] 본 실험에서 사용한 가열 처리 조건에 의해서는 거의 불활성화 되어서 HA를 나타내지 않았으나 앞으로 강남콩의 가공 및 배합, 조리에 있어서의 안전한 이용을 위해서는 더욱 많은 연구가 필요하다고 본다. 실제로 곡류에다 두류를 배합시의 제빵 특성에 관한 연구[38,39]가 시도되고 있으므로 이의 기본 연구로서 식품공학적인 열 처리의 표준화 연구도 요청된다. 이때 hemagglutinating activity 측정이 영양학적인 指標로

서 충분히 검토 되어야 할 것이다.

요 약

한국산 두류 중 대두를 비롯한 팥, 녹두, 강남콩에 대하여 trypsin 沮害 活性과 赤血球 凝集 活性을 측정하고 이들의 가열 처리에 의한 파괴 효과를 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 각 두류의 乾物 중량 당 沮害 活性度 (% 〔TU〕 inhibited/*mg*)는 대두가 가장 높아 79.9를 나타낸 반면 팥, 강남콩은 각각 46.4, 43.2로 대두의 반정도이었으며 녹두는 17.7로 제일 적었다. 이를 단백질 중량당으로 환산하면 팥이 제일 높아 222를 보였고 그 다음이 대두 194, 강남콩 170의 순이었으며 녹두는 제일 낮아 75를 보였다.

2. 열에 의한 trypsin 沮害 活性度의 파괴율은 팥, 녹두가 각각 85~87, 87~94 %로 높았고 강남콩, 대두는 각각 76~79, 67~72 %로 낮았다 그러나 boiling과 autoclaving 간의 가열 방법에 따른 차이는 발견할 수 없었다.

3. 각 두류의 토끼 혈액에 대한 赤血球 凝集 活性 (hemagglutinating unit/*g*)은 팥에서는 나타나지 않았고 강남콩이 제일 많아 건물 1 *g*당 48,300을 보인데 비해 대두는 18,000, 녹두는 136이었다. 이를 단백질 중량당으로 환산하면 마찬가지 경향을 보여 강남콩 190,600, 대두 43,700, 녹두 581로 나타났다. 이들 두류의 赤血球 凝集 活性은 가열 처리에 의하여 모두 파괴되었다.

문 헌

1. Liener, I. E. : *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, Academic Press, New York, p. 8~68 (1969)
2. Liener, I. E. : *J. Nutr.*, **49**, 527 (1953)
3. 孫惠淑, 朴正隆, 李盛雨 : 한국 농화학 회지, **20**, 182 (1977)
4. Lee, C. J. and Yoo, Y. J. : 고려 대학교 논문집 **12**, 101 (1970)
5. 朴聖培 : 서울 特別市 保健 研究所報, **13**, 1 (1977)
6. 金秀一, 李春寧 : 한국 농화학 회지, **12**, 1 (1969)
7. 姜明喜, 李瑞來 : 한국 식품 과학 회지 **10**, 415 (1978)
8. Perrin, C. H. : *Anal.* Chem., **25**, 968 (1953)
9. Bergmeyer, H. U. : *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. II, 2nd Ed., Verlag Chemie, Academic Press, Inc., p. 1018~1021 (1974)
10. Liener, I. E. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 223 (1955)
11. Liener, I. E. : *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, Academic Press, New York, p. 71 (1969)
12. Kwapinski, J. B. G. : *Methodology of Immunochemical and Immunological Research*, Wiley-Interscience, New York, p. 483 (1972)
13. Kunitz, M. : *J. Gen. Physiol.*, **30**, 291 (1947)
14. Read, J. W. and Hass, L. W. : *Cereal Chem.*, **15**, 59 (1938)
15. Kunitz, M. : *J. Gen. Physiol.*, **29**, 149 (1946)
16. Kakade, M. L., Simons, N. and Liener, I. E. : *Cereal Chem.*, **46**, 518 (1969)
17. Turner, R. H. and Liener, I. E. : *J. Agr. Food Chem.*, **23**, 3 (1975)
18. Kakade, M. L., Simons, N. R., Liener, I. E. and Lambert, J. W. : J. Agr. Food Chem., **20**, 87 (1972)
19. Kozlowska, H., Borowski, J. and Elkowicz, K. : *Soybean Abs.*, **1**(6), 95 (1978)
20. Liener, I. E. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **11**, 281 (1962)
21. Osborne, T. B. and Mendel, L. B. : *J. Biol. Chem.*, **32**, 369 (1917)
22. Wilgus, Jr., H. S., Norris, L. C. and Heuser, C. F. : *Ind. Eng. Chem.*, **28**, 586 (1936) 〔*Am. J. Clin. Nutr.*, **11**, 281 (1962)〕
23. Parsons, H. T. : *J. Home Econ.*, **35**, 211 (1943)
24. Steele, B. F., Sanberlich, H. E., Reynolds, M. J. and Baumann, C. A. : *J. Nutr.*, **33**, 209 (1947)
25. Rackis, J. J. : *Food Technol.*, **20**, 1482 (1966)
26. Albrecht. W. J., Mustakas, G. C. and McGhee, J. E. : *Cereal Chem.*, **43**, 400 (1966)
27. Jaffé, W.G. : *Proc. Soc. Expt'l, Biol. Med.*, **71**, 398 (1949)
28. Liener, I. E. : *J. Agr. Food Chem.*, **22**, 17(1974)
29. Liener, I. E., Deuel, Jr., H. J. and Fevold, H. L. : *J. Nutr.*, **39**, 325 (1949)
30. Sharon, N. : *Sci. Amer.*, **236**(6), 108 (1977)
31. Pusztai, A., Grant, G. and Palmer, R. : *J. Sci. Food Agr.*, **26**, 149 (1975)
32. Chem, L. H., Thacker, R. R. and Pan, S. H. : *J. Food Sci.*, **42**, 1666 (1977)
33. Jaffé, W. G. and Vega Lette, C. L. : *J. Nutr.*,

94, 203 (1968)
34. Pusztai, A. and Palmer, R. : *J. Sci. Food Agr.*, 28, 620 (1977)
35. Palmer, R., McIntosh, A. and Pusztai, A. : *J. Sci. Food Agr.*, 24, 937 (1973)
36. 유유상 : 이화 여자 대학교 교육 대학원 석사 학위 논문(1978)
37. 강명희 : 미발표
38. Naivikul, O. and D'appolonia, B. L. : *Cereal Chem.*, 55, 913 (1978)
39. Naivikul, O. and D'appolonia, B. L. : *Cereal Chem.*, 56, 24 (1979)