KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 20, No. 1, pp 106~111 (1988)

산화·환원제처리 및 인산화가 분리탈지미강단백의 품질 및 기능적 성질에 미치는 영향

박완규·김성렬·이가순
충남대학교 식품가공학과

Effects of Oxidant, Reductant Treatment and Its Phosphorylation on Qualities and Functional Properties of Defatted Rice Bran Protein Isolates

Wan-Kyu Park, Seung-Yeol Kim and Ka-Sun Lee
Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Taejon.

Abstract

Comparative effects of oxidant, reductant treatment and its phosphorylation on qualities and functional properties of defatted rice bran protein isolates were investigated. Effects of oxidant and reductant treatment were that essential amino acid content of protein isolates was high and its color, pepsin digestibility were good. The phosphorylated defatted rice bran protein isolated was taken by incubating sodium trimeta phosphate in aqueous solution at pH 10.5 and 35℃ for 3 hours and its protein score was 55. Functional properties such as solubility, whipping activity and foam stability were much improved. But color, pepsin digestibility, bulk density and fat absorption were not affected by phosphorylation.

서 론

탈지미강중에는 17%내외의 양질의 단백질이 함유되어 있어 유망한 단백질 자원으로 인정되고 있으나 대부분이 사료로 이용되고 있으며 극히 일부분만이 유지자원으로 이용되고 있을 뿐이다. 미강단백질에 관한 연구로는 Lynn 등[1], Mitsuda 등[2], Saunder 등[3], Chen 등[4]이 미강을 알카리용액으로 추출한 다음, 산침전시켜 얻은 분리단백의 아미노산 조성, 소화율 및 유기용매 처리에 의한 탈색방법등에 관한 보고가 있으나 이들 방법은 알카리처리에 의한 Lysinoalanine의 생성 및 단백질의 변성[5] 또한 유기용매에 의한 단백질의 변성등이 문제되고 있다. 최근 과산화수소 및 아황산소다를 비롯한 산화환원제처리가 분리대두단백의 품질 및 기능성개선[6], 유량종자단백질의 분리[7] 및 우유단백질의 기능성개선[8]등에 효과적이었다는 보고가 있으며 또한 식품단백질의 품질과 기능성을 향상시키기 위하여 화학적 인산화에 의한 화학수식이 이용되어 오고 있는데 Sung 등[9]은 sodium-trimeta phosphate (STMP)를 사용하여 알카리조건에서 대두단백을 인산화한 결과 영양가를 손상시키지 않고 용해도, 유화성 및 기포성 등의 기능성이 향상되었다고 보고하였으며 Hirotsuka 등[10]은 phosphorus oxychloride ($POCl_3$)를 사용하여 대두단백질을 인산화한 결과 Ca^{2+}의 존재시 gel형성능과 용해도등이 개선되었다고 보고하였다.

따라서, 본 연구는 탈지미강단백의 식용화를 위한 기초연구를 목적으로 산화 환원제처리 및 인산화에 의한 분리탈지미강단백의 품질 및 기능성 성질에 미치는 영향을 검토하여 몇가지 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 탈지미강은 1985년도산 신선탈지미강을 충남유지(주)로부터 구입하여 40 mesh가 되도록 분쇄한 후 4℃ 저장고에서 저장하면서 사용하였다.

탈지미강단백질의 분리

Mitsuda 등[2]과 Saunder 등[3]의 방법을 일부 수정하여 그림 1과 같이 일정량의 탈지미강에 0.05% NaOH

용액과 1.0M NaCl를 함유한 0.1M phosphate buffer (pH 7.0)용액 및 증류수를 기본추출용매로 하여 산화제로서 hydrogen peroxide와 환원제로서 sodium bisulfite를 각각 가하여 분리하였다.

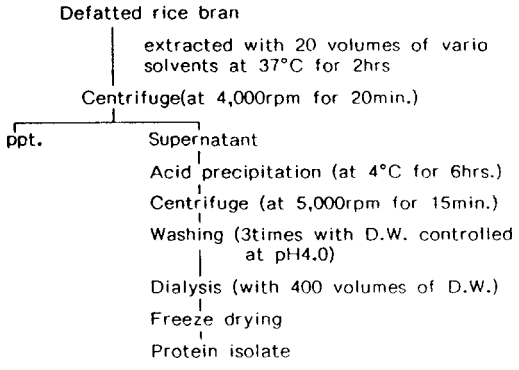

Fig. 1. Procedure for the preparation of defatted rice bran protein isolate

분리단백의 인산화

Sung 등[9]의 방법에 따라 4%의 분리단백용액에 2%에 달하도록 STMP를 첨가하고 1N NaOH 용액으로 pH를 10.5로 조절 유지하면서 35℃에서 3시간동안 반응시킨 후 0.1M KCl 용액과 증류수로서 24시간 투석한 후 건조하여 인산화한 분리단백을 얻었다. 인산화한 시약인 STMP는 Bell[11]의 방법에 따라 조제하였으며 인산화정도는 아미노산을 정량하였을 때 인산화로 인해 총 아미노산에 대한 Serine의 상대적 증가비율을 산출, 표시하였다.

아미노산 분석

아미노산 분석은 Mason 등[12]의 산화가수분해 방법에 따라 hydrogen peroxide, formic acid 및 phenol 혼합액으로 산화시키고 6N HCl로 110℃에서 23시간 가수분해 후 아미노산 자동분석기(LKB Alpha-450)로 분석하였으며 tryptophan은 Spies 등[13]의 비색정량방법에 따라 spectrophotometer(CE-292 Series 2)로 580mm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

pepsin 소화성 및 색상

pepsin 소화성은 AOAC법[14]에 따랐으며 색상은 Color difference meter (color difference No. 1001 DP)로 L, a, b를 측정하여 백도를 산출하였다.

기능적 성질

Wang 등[15]과 Lin 등[16]의 방법에 따라, 용해도, 용적밀도, 수분 및 지방흡착도, 유화성 및 유화안정도 그리고 기포성 및 포립안정도를 측정하였다.

결과 및 고찰

탈지미강단백질의 분리

탈지미강단백질의 추출에 미치는 산화, 환원제의 효과는 그림 2 및 3과 같다. 산화제를 첨가하였을 때는 0.05% NaOH 용액과 병행처리시 H_2O_2농도 0.7%부근에서 추출율이 제일 양호하였고, 환원제를 첨가하였을 때는 0.05% NaOH 용액, 1.0M NaCl이 첨가된 phosphate buffer 및 증류수 첨가구 모두 추출율이 양호하여 $NaHSO_3$ 농도 0.2%에서 73~74%의 추출율을 보였는데 이는 Gheyasuddin 등[7]이 해바라기종자에 대하여 sodium sulfite와 sodium bisulfite를 사용하여 단백질을 추출한 결과와 유사하였으며 이는 환원제가 disulfide 결합의 형성을 방해함으로서 단백질의 추출이 증가한다고 보고하였다. 한편 pH에 따른 단백질의 회수는 그림 4와 같다. 산화, 환원제를 처리하여 추출된 단백질은 공히 pH 4.0부근에서 회수율이 제일 좋았으며 이는 Mitsuda 등[2]이 미강단백질은 pH 4.5에서 회수가 가장 좋았다고 보고한 것과, Betschart 등[17]이 미강단백질의 등전점은 pH 4.0~5.0부근이라고 보고한 것과 유사한 결과이었다.

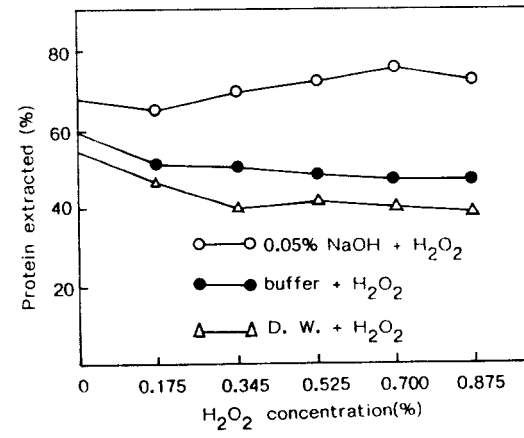

Fig. 2. Effect of H_2O_2 on the extractability of defatted rice bran protein at NaOH and phosphate buffer. buffer; 0.1M phosphate buffer+1.0M NaCl(pH 7.0)

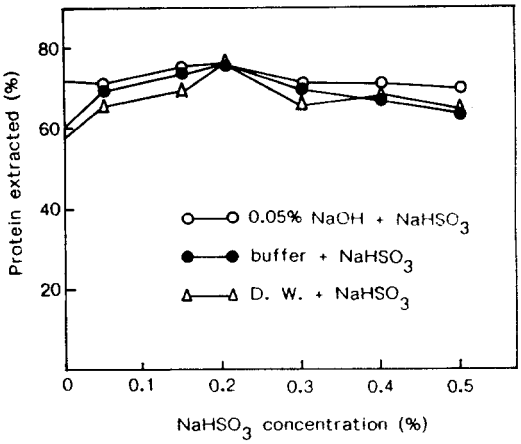

Fig. 3. Effect of $NaHSO_3$ on the extractability of defatted rice bran protein at NaOH and phosphate buffer.
buffer; O.1M phosphate buffer+1.0M NaCl(pH 7.0)

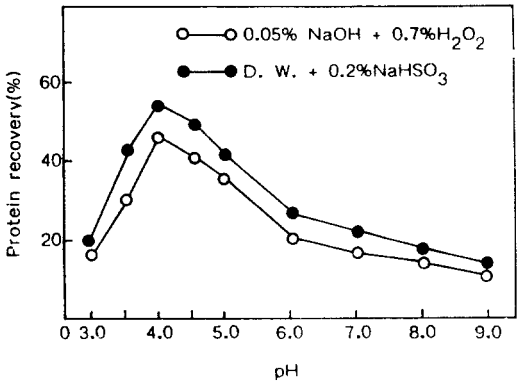

Fig. 4. Effect of pH on the recovery of defatted rice bran protein isolates

분리단백의 일반성분

산화, 환원제를 처리하여 얻은 분리단백의 일반성분은 표1과 같으며 알카리처리구의 단백질함량은 70.95%로 이는 Chen 등[4]이 보고한 미강단백농축물의 단백질 함량과 유사한 결과이었으며 산화, 환원제처리로 단백질함량이 약간 증가하여 환원제처리구일 경우 76.81%로 제일 양호하였다.

분리단백의 인산화

산화, 환원제를 처리하여 얻은 탈지미강분리단백을 인산화한 결과는 표2와 같다. STMP농도 2%, pH 10.5에서 3시간동안 반응하였을 때 산화, 환원제처리구 각각 29.68, 28.40%가 인산화되었다 [9].

아미노산 조성

산화, 환원제처리 및 인산화한 분리단백의 아미노산조성은 표3과 같으며 각각의 처리구에서 얻은 분리단백의 아미노산조성은 glutamic acid가 제일 많았으며 leucine과 tyrosine의 순이었고 특히 곡류에서 부족되기 쉬운 lysine의 함량이 높았다. 또 산화, 환원제처리에 의하여 알카리추출구보다 필수아미노산의 함량이 높았으며 인산화에 의한 분리단백의 필수아미노산함량도 Sung 등[9]의 보고에서와 같이 serine과 lysine의 잔기가 잠정적으로 보호되므로서 높게 나타나 FAO reference protein과 비교해 볼 때 제한아미노산인 methionine을 제외하면 필수아미노산의 함량이 비교적 높았으며 분리단백의 단백가는 55, 54로서 시판분리대두단백의 단백가 64보다는 다소 낮았으나, 인산화에 의해 미강단백의 품질향상이 효과적임을 볼 수 있었다.

소화성 및 색상

분리탈지미강단백의 소화성 및 색상을 검토한 결과는

Table 1. Proximate composition of defatted rice bran protein isolates (%)

Protein samples	Solvents	Proximate composition			
		Moisture	Protein *	Lipid	Ash
I	0.7%H_2O_2+0.05%NaOH	7.38	74.35	o.90	4.40
II	0.2% $NaHSO_3$	8.00	76.81	0.89	4.40
III	0.05% NaOH	8.02	70.95	0.91	4.50

* Total N% x 6.25

Table 2. The extent of phosphorylation of defatted rice bran protein isolated

Protein samplesa*	Serine content**		Extent of phosphorylation
	protein isolate	P-protein isolate***	
I	2.83	3.67	29.68
II	2.60	3.34	28.40

* Protein samples were the same as table 1 ** Serine content g/100g recovered amino acid
*** Phosphorylated protein isolate

Table 3. Amino acid composition of defatted rice bran protein isolates prepared under different conditions (g amino acid per 100g recovered amino acid)

Protein samples / amino acid	I	II	III	P-I*	P-II**	SPI***
Threonine	1.76	1.08	1.27	1.86	1.42	3.76
Valine	4.91	3.75	3.70	4.75	5.18	4.99
Methionine	1.06	1.04	0.91	1.20	1.18	1.30
Isoleucine	5.21	3.94	2.43	5.62	5.37	5.03
Leucine	9.40	7.62	4.89	9.89	9.29	6.55
Phenylalanine	5.83	5.95	4.12	5.53	6.78	6.23
Lysine	3.08	2.45	2.53	4.33	4.77	7.86
Tryptophane	1.25	1.30	1.12	1.30	1.37	1.42
Serine	2.83	2.60	1.78	3.67	3.34	3.93
Aspartic acid	3.32	3.75	3.12	3.70	3.34	10.36
Glutamic acid	10.26	11.73	12.28	12.56	11.87	19.10
Proline	3.44	2.64	1.42	1.61	1.48	4.13
Glycine	3.19	3.16	2.88	3.17	3.15	3.71
Alanine	2.51	2.52	2.46	2.81	2.52	3.45
Gystine	1.06	1.04	0.95	1.26	1.22	1.30
Tyrosine	8.04	8.93	7.00	5.16	5.73	4.30
Histidine	2.47	2.10	3.42	3.65	3.93	2.83
Arginine	4.72	5.01	5.73	5.65	5.61	3.93
Protein score	-	-	-	55	54	64

* Phosphorylated protein sample I ** Phosphorylated protein sample II *** Soyprotein isolate

표4와 같다. 소화성은 알카리처리구보다 산화, 환원제처리에 의해 향상되었으나 산화, 환원제처리에 의해 얻은 분리단백의 인산화에 의해서는 커다란 효과를 보이지 않았다. 색상은 산화, 환원제처리에 의해 백도가 알카리처리구보다 약간 상승하였으나 인산화에 의해서는 오히려 저하하는 경향을 보였으며 시판분리대두단백의 색상을 백도 100으로 기준할 때 분리탈지미강단백의 색상은 백도 67~78로 이는 미강의 잔류색소와 아미노산 및 당과의 반응에 의한 갈색화 때문이라고 Conner 등[18]이 보고한 것과 유사한 결과를 나타냈다.

기능성

가) 용해도

산화, 환원제처리 및 인산화에 의하여 얻은 탈지미강단백의 pH에 따른 용해도는 그림5와 같다. 각각의 분리단백은 pH가 증가함에 따라 용해도가 점차 증가하여 pH12에서 제일 양호하여 산화, 환원제처리구는 64~68%가 용해되었으며 인산화에 의한 분리단백은 5%내외의 용해도증가를 보여 70~74%가 용해되었다. 이는 Sung 등[9], Hirotsuka 등[10]이 분리대두단백을 인산화함으로서 용해도가 증가하였다는 결과와 유사하였다.

Table 4. Pepsin digestibility and whiteness of defatted rice bran protein isolates prepared under different conditions

Protein samplesa*	Pepsin digestibility (%)	Hunter value L	a	b	W**
I	75.05	65	4.3	17.1	60(75)
II	75.84	65	3.3	16.0	62(78)
III	63.39	57	4.6	16.6	54(67)
P-I	72.56	61	4.4	16.8	58(72)
P-II	78.44	62	4.5	16.4	59(75)
SPI	87.46	86	0.3	14.2	80(100)

* Protein samples were the same as table 1 and 3
** $W=100-\sqrt{(100-L)^2+a^2+b^2}$

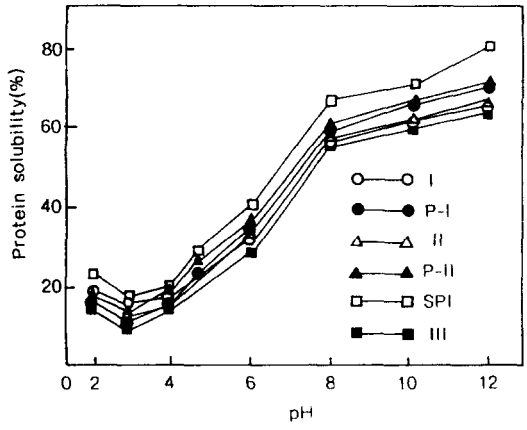

Fig. 5. Effect of pH on the solubility of defatted rice bran protein isolated under different conditions

나)용적밀도, 수분 및 지방흡착도

분리탈지미강단백의 용적밀도, 수분 및 지방흡착도를 검토한 결과는 표5에 나타난 바와 같다. 용적밀도는 산화, 환원제를 처리하여 얻은 분리단백이 각각 0.263, 0.243g/m*l*로서 시판분리대두단백의 0.294g/m*l*보다 양호하였으나 인산화에 의한 효과는 나타나지 않았으며 수분흡착도는 산화, 환원제를 처리하여 얻은 분리단백이 각각 3.8, 3.0m*l*/g으로 시판분리대두단백의 5.0m*l*/g보다 낮았으나 인산화에 의해서 공히 5.2ml/g으로 커다란 증가를 보였다. 이는 분리대두단백을 인산화하여 수분흡착도가 증가하였다는 Sung 등[9]과 casein을 인산화하였을 때 수분흡착도가 증가하였다는 Mathesis 등[19]의 보고와 유사하였다. 지방흡착도는 산화, 환원제 처리 및 인산화에 의해 별다른 영향을 보이지 않았다.

다)유화성과 기포성

분리탈지미강단백의 유화성과 유화안정도, 기포성과 포립안정도를 측정한 결과는 표6에 나타난 바와 같다. 유화성 및 유화안정도는 산화, 환원제처리에 의해 얻은 분리단백이 시판분리대두단백보다 양호하였으며 인산화에 의해서 약간 증가하였으나 커다란 효과는 나타나지 않았다. 이는 Sung 등[9]이 분리대두단백을 인산화하였을 때 유화성 및 유화안정도가 증가하였다는 결과와 유사한 경향을 보였으나 Mathesis 등[19]은 $POCl_3$를 사용하여 Casein을 인산화하면 유화성 및 유화안정도는 오히려 저하된다고 보고한 바 있다. 기포성과 포립안정도는 산화, 환원제 처리에 의해 얻은 분리단백은 시판분리대두단백보다 낮았으나 인산화에 의해서 현저한 증가를 보여

Table 5. Some functional properties of defatted rice bran protein isolates under different conditions

Protein samples	Functional properties		
	Bulk density (g/m*l*)	Water absorption (mgH_2O/g protein)	Fat absorption (m*l* oil/g protein)
I	0.263	3.8	1.2
II	0.243	3.0	1.3
III	0.400	2.4	1.1
P-I	0.345	5.2	1.3
P-II	0.400	5.2	1.4
SPI	0.294	5.0	0.9

Table 6. Emulsifying and whipping properties of defatted rice bran protein isolates prepared under different conditions

Protein sample	Emulsifying activity (%)	Stability of emulsified layer(%)	Whipping capacity ml/(1/2min)	Foam stability(ml)			
				10	30	60	120(min)
I	75.99	76.00	64	13	11	10	10
II	78.00	75.50	70	21	18	16	16
III	50.00	54.43	65	15	14	12	10
P-I	78.00	76.50	73	23	20	16	15
P-II	80.00	78.00	80	33	28	28	23
SPI	60.00	62.23	90	38	38	33	30

시판분리대두단백과 유사한 결과를 보였다.

요 약

미강단백질을 식용화하기 위한 기초연구를 목적으로 산화, 환원제처리 및 인산화가 분리탈지미강단백질의 품질 및 기능성에 미치는 영향을 조사하였다.

산화, 환원제를 처리한 분리단백은 알카리처리구보다 필수아미노산 함량이 높았고, 색상, pepsin 소화성이 양호하였으며 용해도, 용적밀도, 유화성 및 유화안정도 등이 개선되었다. pH 10.5, 35℃에서 STMP(sodium trimeta phosphate)로 분리탈지미강단백을 3시간 반응시켜 인산화하였다. 인산화한 분리단백의 단백가는 55이었으며 용해도, 수분흡착도, 유화성과 유화안정도 및 기포성과 포립안정도등의 기능성이 향상되었으나 색상, 소화성, 용적밀도 및 지방흡착도는 인산화의 효과가 나타나지 않았다.

문 헌

1. Lynn, L.: *American Association of Cereal Chemist.*, **152**(1969)
2. Mitsuda, H., Murakami, K. and Takagi, S.: 榮養と食糧, **23**(2), 6(1969)
3. Saunder, R.M., Betschart, A.A. and Kohler, G.O.: *The baker's digest*, February, **49**(1975)
4. Chen, L. and Houston, D.F.: *Cereal Chem.*, **47**, January, 72(1970)
5. Maga, J.A.: *J. Agri. Food Chem.*, **32**(5), **955**(1984)
6. Johnson, R.A., Joes, S. and Anderson, P.T.: *U.S. Patent*, **3**, 127, 388(1964)
7. Gheyasuddin, S., Cater, C.M. and Mattil, K.F.: *J. Food Sci.*, **35**, 453(1970)
8. Cooney, C.M. and Morr, C.V.: *J. Dairy Sci.*, **55**, 567(1972)
9. Sung, H.Y., Chen, H.J., Liu, T.Y. and Su, J.C.: *J. Food Sci.*, **48**, 716(1983)
10. Hirotsuka, M., Taniguchi, H., Narita, H. and Kito, M.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gkkaishi*, **32**(9), 622(1985)
11. Bell, R.N.: *Inorganic Synthesis*, McGraw-Hill book Co., Inc., New York 3, p.104(1950)
12. Mason, V.C., Anderson, S.B. and Rudemo, M.: Proc. 3rd FAAP Symp. On Protein Metabolism and Nutrition., May. Vol. 1, (1980).
13. Spies, J.R. and Chambers, D.C.: *Analytical Chemistry.*, **20**(1), 30(1948)
14. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists.,Washington, D. C., p.158(1984)
15. Wang, J.C. and Kinsella, J.E.: *J. Food Sci.*, **41**, 286(1976)
16. Lin, M.J.Y. and Humbert, E.S.: *J. Food Sci.*, **39**, 368(1974)
17. Betschart, A.A., Fong, R.Y. and Saunder, R.M.: *J. Food Sci.*, **42**, 1088(1977)
18. Conner, M.A., Saunder, R.M. and Kohler, G.O.: *Cereal Chem.*, **53**, 488(1976)
19. Mathesis, G., Penner, M.H., Feeney, R.E. and Whitaker, J.R.: *J. Agri. Food Chem.*, **31**, 379(1983)

(1987년 10월 19일 접수)