

과산화수소, Papain 처리 및 Acyl 화가 분리참깨박 단백질의 품질 및 기능적 성질에 미치는 영향

김성렬 · 심현숙*

충남대학교 식품가공학과, *대전보건전문대학 식품영양과

Effects of H₂O₂ and Papain Treatments, and Acylation on Chemical and Functional Properties of Defatted Sesame Oil Cake Protein

Seung-Yeol Kim and Hyun-Sook Shim

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Taejeon

*Department of Food & Nutrition, Taejeon Medical Junior College, Taejeon

Abstract

In this study, the treatment of H₂O₂, papain and acylation on the protein isolate obtained from defatted sesame oil cake for the changes in amino acids composition, color, digestibility and some functional characteristics of this protein were investigated. The results showed that H₂O₂, papain and papain H₂O₂ treatment increased the rates of the protein extraction and content of protein in protein isolates when those values were compared to the alkali treatment. Also amino acid composition of the protein isolates were comparatively good, and color, and functional properties and pepsin digestibility were markedly improved. The amount of lysine, the first limiting amino acid of this protein was increased. The solubility, bulk density, water absorption, fat absorption and emulsifying properties were remarkably improved while foaming properties and digestibility was slightly decreased.

Key words: sesame seed, acylation, functional properties of protein

서 론

참깨 (*Sesame indicum L.*)는 40% 이상의 유지를 함유하여 주요 유지자원으로 이용되고 있으며 또한 착유후 부산물로 얻어지는 참깨박에는 50% 내외의 단백질을 함유하여 이를 식용화 할 경우 단백질 자원으로 주목될 것이다. 그러나 다른 유량종자박과는 달리 참깨는 볶은 후에 착유하기 때문에 단백질의 변성과 착색으로 인해 현재 사료 또는 비료로 이용되고 있다.

유량종자박의 단백질에 관한 연구중 Feeny 등⁽¹⁾은 유량종자박에 각종 과산화물을 처리하면 색상의 향상과 용해도의 증가를 기할 수 있다고 보고하였고 Kato 등⁽²⁾은 과산화수소 또는 Ozone 처리가 Maillard 반응에 의해서 생성된 melanoidin 색소를 효과적으로 분해시킬 수

있다고 보고하였다. 한편 Sekul 등⁽³⁾은 목화씨와 땅콩등의 유박에 bromelin, papain 등의 효소를 처리하면 단백질의 수율이 향상되었음을 보고하였고 Johnson 등⁽⁴⁾은 목화씨에 효소와 과산화수소를 병행처리하여 분리단백의 색향상과 아울러 단백질의 수율을 크게 향상시킬 수 있다고 보고하였다.

최근 분리단백의 기능성을 향상시키기 위한 각종 화학수식이 이루어지고 있는데 acylation에 의하여 Franzen 등^(5,6)은 일단백의 기능성과 색을 향상시켰다고 보고하였고 Rahma 등⁽⁷⁾은 목화씨박의 기능성이 향상되었음을 보고하였으며 또 satake 등⁽⁸⁾은 succinylation에 의해 clover 일단백의 기능성을 향상시켰다고 보고하였다.

이에 본 연구는 여지껏 보고된 바 없는 참깨박 단백질의 식용화를 위한 기초자료를 얻고자 과산화수소와 papain 처리가 참깨박 단백질의 추출, 분리, 아미노산 조성, 기능성 및 pepsin 소화성등에 미치는 영향을 검토하여 몇가지 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

Corresponding author : Seung-Yeol Kim, Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Kung-dong, Jung-gu, Taejeon, Chungnam-do 301-764

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 참깨박은 1986년 1월 시중에서 구입한 참깨 (*sesamum indicum L. white*)를 세척한 후 상법에 의하여 볶은후 압착법으로 착유한 다음 얻은 박을 40mesh로 분쇄하여 20시간 ethyl ether로 탈지한 후 4°C의 저온실에 보관하면서 사용하였다. [Apex Cutter mill(Model 116 ARI)]

참깨박 단백질의 분리

Johnson 등⁽⁴⁾과 Sekul 등⁽³⁾의 방법에 따라 그림 1과 같이 일정량의 탈지참깨박에 pH 10의 알칼리 용액처리, 0.75%의 H₂O₂ 용액처리, 0.5%의 papain 용액처리 및 0.5%의 papain 처리와 0.75%의 H₂O₂를 병행처리하여 단백질을 분리하였다.

아미노산 분석

일반아미노산 분석은 Mason 등⁽⁹⁾의 산화가수분해법에 따라 분리단백 100mg을 oxidation mixture(30% hydrogen peroxide 0.5ml, 88% formic acid 4.5 ml, phenol 25mg)에 넣어 0°C에서 16시간 산화시키고 6N HCl로 110°C에서 23시간 가수분해한 후 아미노산 자동분석기(L, K, B, Alpha-450 U, K)로 분석하였으며 Tryptophan은 Spies 등⁽¹⁰⁾의 비색정량법에 준하였다.

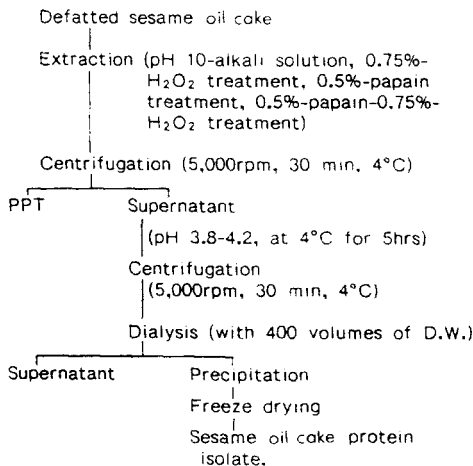


Fig. 1. Preparation procedures of sesame oil cake proteins.

분리단백의 색상 및 소화성

분리단백의 색상은 color difference meter(Model 1001 DP U, K)를 사용하여 Hunter 표색법에 의해 L, a, b를 측정한 다음 백도로 환산표시하였으며 pepsin 소화성은 AOAC법⁽¹¹⁾에 따라 행하였다.

기능적 성질

Wang 등⁽¹²⁾, Lin 등⁽¹³⁾, Yatsumatu 등⁽¹⁴⁾와 La-won 등⁽¹⁵⁾의 방법에 따라 용해도, 용적밀도, 수분 및 지방흡착도, 유화능과 유화안정성, 기포성과 포말안정성을 측정하였다.

분리단백의 아실화

Succinylation과 acetylation은 Franzen 등^(5,6)의 방법에 따라 행하였으며 아실화의 범위측정은 ninhydrin 용액 1ml를 1% 분리단백용액 1ml에 첨가하고 580nm에서 흡광도를 측정하여 unmodified protein과 acylated protein의 흡광도 차로 아실화의 범위를 측정하였다.

결과 및 고찰

참깨단백질의 분리

Hydrogen peroxide의 첨가량, pH, 온도에 따른 단백질의 추출율은 그림 2 및 3과 같다. hydrogen peroxide의 농도 및 pH가 증가함에 따라 추출율이 증가하는 경향을 나타내었으며 pH 10.0에서 0.9%의 hydro-

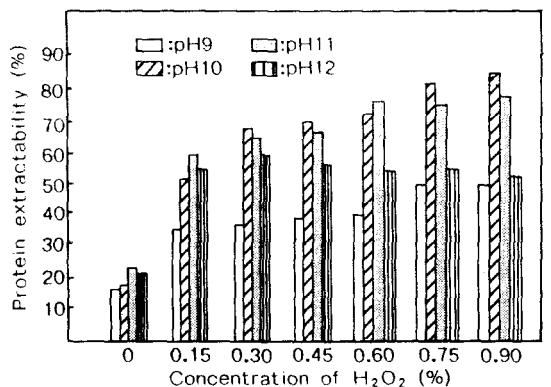


Fig. 2. Effect of H₂O₂ concentration on the extractability of defatted sesame oil cake protein after extraction at various pH for 60 minutes.

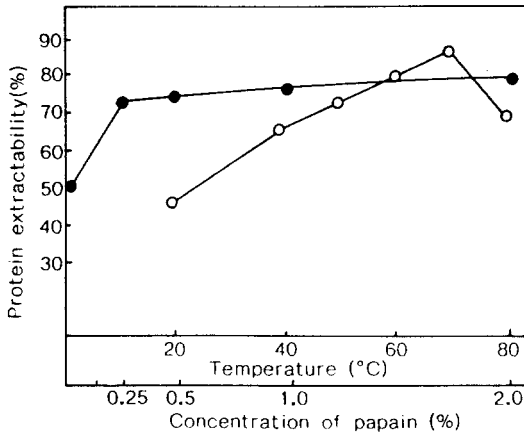


Fig. 3. Effect of temperature under 0.9% of H₂O₂ and papain concentration on the extractability of defatted sesame oil cake protein after extraction at pH 10.0 for 60 minutes.

○—○ : extraction temperature
●—● : papain concentration

gen peroxide를 첨가하였을 때 85%의 추출율을 보였는데 이는 Johnson 등⁽⁴⁾이 hydrogen peroxide를 0.75% 처리하였을 때 81%의 추출율을 나타냈다는 보고와 유사한 결과이며 추출온도에 의한 영향은 70°C에 달할 때까지는 온도가 높을수록 추출율이 증가하는 경향으로 85%의 추출율을 나타냈으나 80°C에서는 오히려 저하하는 현상을 나타내었는데 이는 고온에 의한 단백질의 변성에 의한 것이 아닌가 생각된다. papain 처리농도와 시간의 영향은 그림 3, 4와 같다. 1.0% 첨가시까지는 papain의 첨가량을 증가시킬수록, 또한 처리시간이 길수록 단백질의 추출율이 증가하는 경향을 보여 150분 처리시 58%의 추출율을 보여 알칼리 용액에서의 추출율보다 20%이상 향상되었다. papain 처리와 hydrogen peroxide만을 처리하였을 때보다 다소 낮은 결과이었다. 한편 각처리 후 얻어진 추출액의 침전에 미치는 pH의 영향을 검토한 결과는 그림 5와 같다. hydrogen peroxide를 처리하여 추출한 단백질의 침전율이 다른 처리시보다 월등히 높아 pH 3.8에서 58%내외를 보였다.

분리단백의 일반성분

각각의 처리에 의해 준비된 참깨박 분리단백의 일반성분을 분석한 결과는 표1과 같다. Papain 처리에 의한 참깨박 분리단백의 단백질 함량이 alkali 용액처리에 의한

Table 1. Proximate composition of sesame oil cake proteins prepared under different conditions

Preparative treatment	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Ash (%)	NFE* (%)
Alkaline solution	9.64	75.85	0.15	1.00	11.36
H ₂ O ₂	8.42	89.88	0.19	0.90	0.71
Papain	7.32	87.39	0.10	1.46	3.24
Papain-H ₂ O ₂	7.12	91.62	0.17	1.00	0.80
Commercial soy protein	7.30	88.82	0.80	0.80	2.18

* Nitrogen free extract

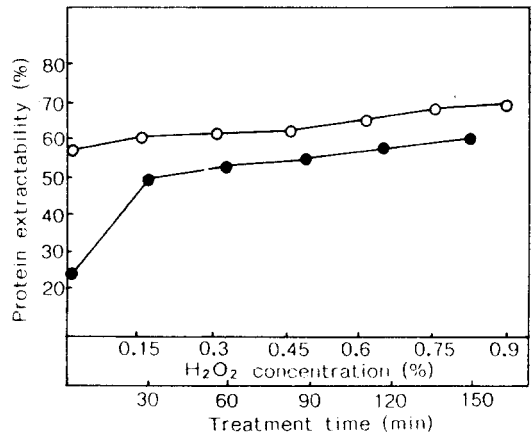


Fig. 4. Effect of papain-H₂O₂ treatment and papain treatment time on the extractability of sesame oil cake protein after extraction at 65°C, pH 8.5, papain concentration 0.5%.

●—● : papain treatment time
○—○ : papain-H₂O₂ treatment

것보다 약 12%정도 높게 나타났으며 papain과 hydrogen peroxide를 병행처리한 경우는 시판 대두단백의 함량보다 높게 나타났다. 이는 hydrogen peroxide와 papain 처리가 단백질의 순도에 영향을 주었다고 본다.

아실화의 범위측정

참깨박 분리단백의 succinic anhydride 및 acetic anhydride에 의한 아실화율을 측정된 결과는 표2와 같다. 참깨박 분리단백 2g을 succinic anhydride 2g과 반응시켰을 때 유효아미노기의 숙시닐화율은 85%로서 가장 높았으며 또한 참깨박 분리단백 2g에 acetic

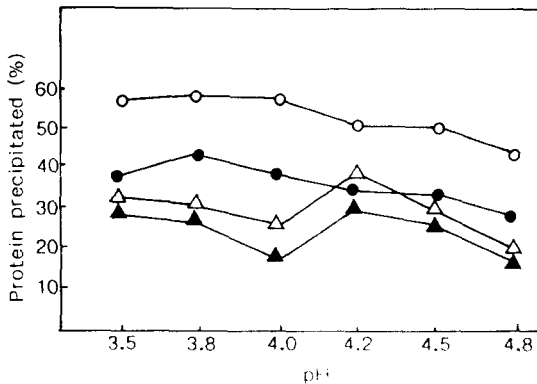


Fig. 5. Effect of pH for various treatment on the precipitation of protein in defatted sesame oil cake extracts.

▲ : Alkali solution, △ : Papain treatment
○ : H₂O₂ treatment, ● : Papain-H₂O₂ treatment

anhydride 2, 4ml로서 아세틸화 하였을 때 유효아미노
기의 아세틸화율은 82%이었다. 이는 윤⁽¹⁶⁾이 피마자단

Table 2. Extent of acylation as a function of the ratio of acylating agent and sesame oil cake protein isolate.

Succinic anhydride: protein (g/g)	Succinylation (%)	Acetic anhydride: protein (g/g)	Acetylation (%)
0.5 : 2	45.2	0.6 : 2	30.8
1 : 2	65.8	1.2 : 2	53.3
1.5 : 2	80.4	1.8 : 2	78.1
2 : 2	85.6	2.4 : 2	81.7

백을 아실화하여 각각 88%, 84% 아실화율을 보고한 것
과 유사하였다.

아미노산 조성

참깨박 분리단백의 아미노산 조성은 표3과 같다. 각각
의 처리구에 의한 분리단백의 아미노산 조성은 glutamic
acid가 가장 높았으며 필수아미노산은 phenylalanine,
leucine, arginine 등으로 lysine, methionine 등을 제

Table 3. Amino acid composition of sesame oil cake proteins prepared under different conditions

(g amino acid per 100g recovered amino acid)

Amino acid	protein sample									
	FAO*	I	II	III	IV	V	II-S	II-S	II-A	IV-A
Arginine	2.0	3.69	4.35	3.60	3.85	3.93	4.42	4.43	4.42	4.41
Tyrosine	2.6	2.55	3.43	2.48	4.01	4.31	5.87	6.31	5.73	6.03
Phnylalanine	2.8	4.09	4.72	5.05	5.35	6.23	2.42	2.27	2.31	2.61
Valine	4.2	2.67	4.52	2.73	4.82	4.39	4.21	4.17	4.16	4.28
Methionine	2.2	2.16	1.87	2.00	2.00	1.38	2.11	2.31	1.83	1.87
Isoleucine	4.2	2.09	3.55	3.55	3.78	5.03	4.29	4.35	4.52	4.34
Leucine	4.8	4.08	5.71	4.74	6.23	6.55	6.37	6.55	6.47	6.12
Tryptophane	1.4	0.83	1.22	1.17	1.23	1.42	1.11	1.13	1.05	1.12
Lysine	4.2	1.70	1.59	1.20	2.12	7.86	3.77	3.81	3.76	3.80
Histidine	2.4	7.64	8.00	7.92	8.97	2.83	1.33	1.32	1.43	1.56
Aspartic acid		5.64	8.09	5.67	8.50	10.36	7.81	7.78	8.04	8.01
Serine		1.70	2.58	1.75	2.31	3.93	3.59	3.70	3.0	2.90
Glutamic acid		25.32	25.89	24.76	25.80	19.10	26.03	27.08	26.29	26.52
Proline		1.48	2.07	1.10	2.21	4.13	5.49	5.58	5.72	4.84
Glycine		3.45	3.68	3.30	4.16	3.71	3.67	3.50	4.01	4.15

* See reference 17

- I : Alkali solution
- II : H₂O₂ treatment
- III : Papain treatment
- IV : Papain-H₂O₂ treatment

- V : Commercial soy protein
- II-S : H₂O₂ treatment, succinylation
- IV-S : Papain-H₂O₂ treatment, succinylation
- II-A : H₂O₂ treatment, acetylation
- IV-A : Papain-H₂O₂ treatment, acetylation

외한 필수아미노산의 함량은 FAO 권장량보다 높게 나타났다. 또한 alkali 처리시 보다 papain 처리에 의해 lysine 을 비롯한 필수아미노산의 보존성이 증가하였으며 이는 아실화가 분리단백의 품질향상에 효과적임을 볼 수 있다. 일반적으로 분리단백의 아미노산 조성은 Johnson 등⁽¹⁷⁾이 보고한 dehulled sesame products 의 아미노산 함량보다는 약간 적게 나타났으나 비교적 필수아미노산의 함량이 높아 단백질원으로 우수하다고 사료된다.

분리단백의 색상 및 소화성

각각의 처리구에 의한 분리단백의 색상 및 소화성을 검토한 결과는 표4와 같다. 분리단백의 색상은 alkali 처리보다 hydrogen peroxide 를 처리하여 얻어진 분리단백의 색상이 현저히 향상하여 시판 대두단백의 백도를 100으로 기준하였을 경우 86~89정도로 나타났으며 또한 succinylation 과 acetylation 처리에 의해 Hunter 값이 약간 더 상승하는 경향을 보였는데 이는 Rahma 등⁽⁷⁾과 Franzen 등⁽⁶⁾의 결과와 유사하였다. pepsin 을 이용한 참깨박 분리단백의 소화율은 82~84%로 시판 대두단백의 소화율보다 다소 낮았으며 처리방법에 따라 다소 소화성에 차이가 있어 alkali 용액 처리후 얻어진 분리단백의 소화율은 61%이고 papain 과 hydrogen peroxide 를 병행처리한 분리단백의 소화율은 85%이었다. 또한 아실화에 의해서 소화율이 감소하였는데 이는 Rahma 등⁽⁷⁾이 cotten seed flour 에 acylation 처리를 함으로써 소화율이 약간 감소하였다고 보고한 것과 유사한 결과를 나타내었다.

기능적 성질

용해도 : 분리단백의 pH 에 따른 용해도를 측정된 결과는 그림 6, 7과 같이 pH 4에서 최저의 용해도를 나타냈으며 pH 가 높아감에 따라 약간 증가하여 pH 12에서 급격히 증가하였다. hydrogen peroxide 처리나 papain 과 hydrogen peroxide 를 병행처리한 경우 알칼리에서 용해도가 증가하였으나 시판 대두단백의 용해도보다는 현저히 낮았으며 pH 4이상에서는 acylation 에 의해 용해도가 증가하는 현상을 보였다. 이는 Franzen 등⁽⁹⁾이 acylation 에 의해 pH 4-10 사이의 용해성을 현저히 증가시켰다고 보고한 것과 같이 분리단백의 용해성을 증가시켰으나 acetylation 처리에 의해 용해도가 오히려 감소하는 현상을 보였다.

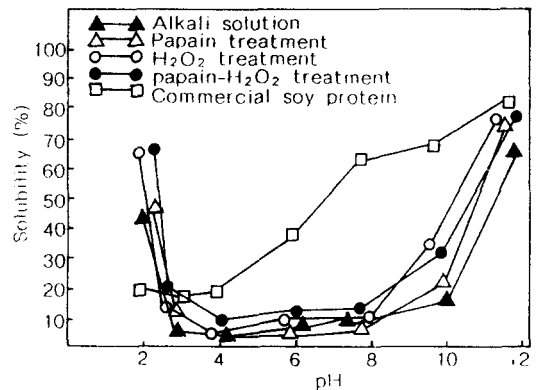


Fig. 6 Effect of pH on the solubility of defatted sesame oil cake protein.

Table 4. Color comparison and digestibility of sesame oil cake proteins prepared under different conditions.

Protein sample*	L	a	b	W	%	Digestibility (%)
I	33.5	6.2	10.7	31.97	39.96	61.73
II	80.2	2.8	19.7	71.93	89.91	82.18
III	39.6	6.6	13.2	37.38	47.29	74.79
IV	77.9	3.5	21.6	68.90	86.13	84.87
V	86.0	0.3	14.2	80.00	100.00	87.46
II-S	70.0	6.2	9.1	72.11	90.14	80.52
IV-S	70.0	6.6	9.5	72.85	91.06	77.08
II-A	71.1	6.0	9.3	71.95	89.94	80.63
IV-A	74.9	7.0	11.0	72.75	89.64	72.21

* refer to table 3 for protein sample preparation

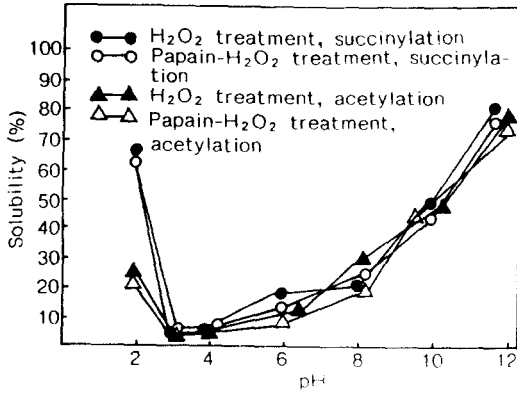


Fig. 7. Effect of pH on the solubility of defatted sesame oil cake protein treated with acylation

용적밀도, 수분 및 지방흡착도: 표5에서와 같이 hydrogen peroxide 처리를 한 분리단백의 용적밀도가 alkali 용액처리를 한 것보다 낮은 값을 나타냈으며 또한 아실화한 분리단백의 용적밀도는 현저히 향상되어 시판 대두단백과 유사하였다. 수분흡착도는 처리방법에 따라 2.0~2.7ml/g의 수분흡착도를 나타냈으나 succinylation과 acetylation에 의해서는 5.2ml/g까지 증가되어 시판 대두단백에 유사함을 보였다. 지방흡착도는 alkali 용액 처리보다 hydrogen peroxide 처리를 함에 따라 증가하였으나 아실화에 의해서는 커다란 차이가 없었다.

Table 5. Some functional properties of sesame oil cake protein prepared by various treatment*

Protein sample	Bulk density g/ml	properties Water absorption ml H ₂ O/g socpi**	Fat absorption ml oil/g socpi**
I	0.400	2.0	2.8
II	0.317	2.8	3.8
III	0.392	2.3	3.0
IV	0.334	2.7	3.4
V	0.210	5.6	4.0
II-S	0.274	4.7	3.0
IV-S	0.276	5.2	3.1
II-A	0.274	4.0	3.7
IV-A	0.270	3.9	4.0

* Referred to table 3 for protein sample preparation
 ** Sesame oil cake protein isolate

유화성과 기포성: 분리단백의 유화성과 유화안정도, 기포성과 포집안정도를 측정된 결과는 표6과 같다. 유화성 및 유화안정도는 hydrogen peroxide 처리에 의한 분리단백의 경우에는 증가되는 현상을 보였으나 Dench 등⁽¹⁸⁾과 복지 않은 참깨박의 유화능보다는 낮은 값이었다. 기포성을 hydrogen peroxide 처리를 하여 얻어진 분리단백이 가장 높아 시판 대두단백보다 높게 나타났으며 이는 Dench 등⁽¹⁸⁾이 보고한 복지 않은 참깨박의 거품성과 유사하였으나 그밖의 처리를 한 분리단백의 경우는 거품성이 감소하였다. 또한 아실화에 의해서는 포집안정도가 현저히 감소하였다.

Table 6. Emulsifying and Foaming properties of defatted sesame oil cake protein prepared by various treatments

Protein sample*	Emulsifying activity (%)	Stability of emulsified layer (%)	Vol. increase on whipping (%)	Vol. of after whipping			
				10min	30min	60min	120min
I	33.30	36.61	22.5	20.0	15.0	13.0	12.5
II	34.43	51.07	100.0	75.0	60.0	45.0	20.0
III	30.68	35.80	17.0	10.0	7.0	5.0	5.0
IV	39.00	37.50	25.0	22.5	19.0	15.0	11.0
V	60.00	62.23	90.0	38.0	38.0	33.0	30.0
II-S	47.95	42.18	30.0	5.0	4.0	4.0	3.0
IV-S	42.25	42.88	25.0	4.0	3.0	2.0	2.0
II-A	38.85	46.58	30.0	5.0	3.0	2.0	2.0
IV-A	41.94	45.22	22.5	5.0	4.0	2.0	2.0

* Refer to table 3 for protein sample preparation

요 약

참깨박 단백질의 식용화를 목적으로 참깨박에 hydrogen peroxide, papain 처리 및 아실화가 분리참깨박단백의 품질 및 기능적 성질에 미치는 영향을 검토하였다. hydrogen peroxide, papain 및 papain 과 hydrogen peroxide 를 병행처리한 경우 alkali 처리시보다 참깨박 단백질의 추출율, 분리단백의 단백질 함량이 높았으며 분리단백의 아미노산 조성은 lysine 을 제외한 필수아미노산의 함량이 비교적 우수하였고 분리단백의 색상, 기능적 성질 및 pepsin 소화성이 현저히 향상되었다. 또한 아실화에 의하여 제1 제한아미노산인 lysine 의 함량증가와 용해도, 용적밀도, 수분흡착도, 지방흡착도 및 유화성이 현저히 개선되었으나 기포성 및 소화성은 약간 저하시키는 경향을 보였다.

문 헌

1. Feeney, R.E. and Whitaker, J.R. : *Food proteins*, p. 60(1977)
2. Fumitaka, H., Seon Bong, K. and Kato, H. : Decolorization and degradation products of the melanoidins by hydrogen peroxide. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2711(1984)
3. Sekul, A.A. and Ory, R.L. : Rapid enzymatic method for partial hydrolysis of oilseed proteins for food uses. *J. AM. Oil Chemists' Soc.*, **54**, 32(1977)
4. John, R.A. and Anderson, P.T. : Peroxide treatment in alkaline and enzymic hydrolysis of seed press-cake. *U.S. Patent Office*, **3**, 127, 388(1964)
5. Franzen, K.L. and Kinsella, J.E., : Functional properties of succinylated and acetylated leaf protein. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 914(1976)
6. Franzen, K.L. and Kinsella, J.E. : Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 788(1976)
7. Raham, E.H. and Narasinga Rao, M.S. : Effect of acetylation and succinylation of cottenseed flour on its functional properties. *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 352(1983)
8. Satake, I. and Makino, S. : Effect of succinylation on the functional properties of clover white leaf protein concentrate. *日本食品工業學會誌*, **32**, 808(1985)
9. Mason, V.C., Andersen, S.B. and Rudemo, M. : Hydrolysate preparation for amino acid determination in feed constituents in proc. *3rd EAAP Symp. on protein metabolism and nutrition*, **1**, (1980)
10. Spies, J.R. and Chamber, D.C. : Chemical determination of tryptophan. *Analytical Chemistry*, **20**, 30(1948)
11. A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., p.158(1984)
12. Wang, J.C. and Kinsella, J.E. : Functional properties of novel proteins: Alfalfa leaf protein. *J. Food Science*, **41**, 286(1976)
13. Lin, M.J.Y. and Humbert, E.S. : Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Food Science*, **39**, 368(1974)
14. Yasumatsu, K., Sawada, K. and Moritaka, S., : Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 719(1972)
15. Lawhon, J.T., Cater, C.M. and Mattil, K.F. : A comparative study of the whipping potential of an extract from several oilseed flours. *Cereal Science Today*, **17**, 240(1974)
16. 윤주역 : 피마자 단백질의 식품화를 위한 연구, 한국식품과학회지, **12**, 263(1980)
17. Johnson, L.A., Suleiman, T.M. and Lusa, E.W. : Sesame protein; A review and prospectus. *J.A.M. Oil Chemists' Soc.*, **56**, 463(1979)
18. Dench, J.E., Rivas, N. and Caygill, J.C. : Selected functional properties of sesame flour and two protein isolates. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 357(1981)

(1988년 3월 25일 접수)