

누에 번데기의 단백질 추출에 관한 연구

조철형·차월석·김종수
조선대학교 공과대학 화학공학과

Effect of Temperature, Time and pH on the Extraction of Protein in a Chrysalis of Silk Worm.

Chul-Hyung Cho, Wol-Suk Cha and Jong-Soo Kim
Dept. of Chemical Engineering, Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea

ABSTRACT

In order to determine the optimum extraction condition for protein in a Chrysalis of Silk Worm, Temperature, Time, and pH variation were conducted in the extraction. N.S.I. and nitrogen contents of the extracts in these conditions were identified by Kjeldahl method and a C.H.N. order.

The results were as follows;

Crude protein and crude fat contents in the extracts were 23.34% and 15.61%, respectively.

N.S.I. values with respect to the temperature variation were 6.76% at 60°C, 7.945% at 80°C and 8.675% at 100°C in the condition of pH 4, 1 hr.

N.S.I. values in pH variation were 7.94% at pH4, 8.99% at pH6, 9.70% at pH8, 10.19% at pH 10 and 12.16% at pH 12 in the condition of 80°C, 1hr.

N.S.I. values in extraction time variation were 8.67% in 1hr, 9.23% in 2hr and 9.76% in 3hr in the condition of 100°C, pH 4.

The tendency of N.S.I. variation in these extraction conditions was reconfirmed also by a C.H.N. order.

서론

누에 번데기(chrysalis of silk worm, *Bombix mori*)는 오늘날 고단백 식품으로써 많은 관심의 대상이 되고 있다. 이에 관한 그 이용가치의 유무를 밝힐 필요성을 제시한 바 있으며(1), Malette(2)는 브라질산 누에 번데기를 이용하여 지방산 및 단백질의 조성을 조사 연구하여 쇠고기, 콩 및 어류와 비교하여 필수 아미노산 함량이 많다는 것을 발표하였고, Mametov 등(3)은 소련산 누에 번데기를 보리, 귀리, 폐우유 등과 혼합하여 동물 사료로 사용함으로써 좋은 성장율을 나타냈음을 보고한 바 있다. 또 吉武, 有賀 등(4)은 일본산 누에 번데기의 일반 성분과 Amino acid의 조성을 Paper chromatography로 분석 보고하고 있다. 또한 南(5)은 식용 곤충으로서 누에 성장에 따른 Amino acid 함량 변화에서 단백질의 아미노산의 풍부성을 발표했으며, 趙 등(6)은 굽뽕이와 누

에 번데기의 아미노산 및 지방산 조성에 대한 연구에서 그 지방산의 우수성과 단백질의 풍부 및 고급 불포화 지방산을 발표한 바 있다.

그리고 단백질 추출에 대해서는, Yousses(7)가 미강 단백질 추출 과정들을 pH, 알칼리성의 추출 및 등전점과 온도 변화에 대한 침전 상태를 발표한 바 있고, 崔相 등(8)은 일단백질 개발에서 일단백질의 추출 조건에 대해 검토를 한 바 있으며, 또한 金大 등(9)은 다시마의 알코올 가용성 단백질의 총 질소량과 아미노산 질소의 정량을 보고한 바 있고, 高木(10)은 수종의 해조류 건물의 ethanol 가용성 단백질의 분말 제조와 이의 질소함량을 실험한 바도 있다.

그리고 알칼리 가용성 단백질의 추출에 관한 연구로서는 保井(11), Lawhon(12), Betschart(13) 등의 alfalfa, 大豆葉, 잇꽃씨 등의 단백질 추출 조건을 검토한 내용에서 pH의 영향을 분석 검토한 바 있다.

이와같이 몇가지 용매를 사용하여 단백질을 추출하였

으나, 곤충류인 누에 번데기의 단백질 추출에 대해서는 밝혀진바 없어, 그 조건을 규명하고자 온도와 pH 그리고 추출 시간에 따라 추출된 단백질의 총 질소함량을 Kjeldahl 법과 원소 분석기를 이용하여 분석하고, 질소 분산 계수를 검토하였기에 발표한다.

재료 및 방법

시약 및 기기

시약은 NaOH, HCl, H₂SO₄, K₂SO₄와 CuSO₄는 일본 관동제약용을 사용하였다.

기기는 pH meter: Beckman made in U.S.A., Hot plate stirrer: Corning Co. PC-101, Centrifuge: International Co., C.H.N. corder: Yanaco Co., Kjeldahl 분해 장치를 사용하였다.

시료 처리

본 실험에 사용한 누에 번데기는 광주 잠업 검사소에서 수집한 것을 건조기를 사용하여 60°C 정도에서 약 3시간 건조하여 60mesh 정도로 분쇄하여 조지방, 조단백질 함량 분석 시료로 사용하였다.

그리고 원소 분석기(C.H.N. corder)용과 총질소계수용 시료는 건조하지 않고 100~150 mesh로 분쇄하여 -10°C의 냉동 상태에서 취하여 사용하였다.

실험 방법

조지방의 함량은 시료 1g을 ethyl ether로 soxhlet 장치하에서 24시간 추출한 후 건조시켜 산출하였다.

조단백질은 A.O.A.C 법(14)에 의해 조작하고 질소 factor를 6.25로하여 함량을 구하였다.

총 질소계수(N.S.I)는 A.O.A.C 법(15)에 따라 시료 2.5g을 취하여 200ml 비이커에 넣고 증류수(25°C)를 30ml 넣어 약 10분간 교반하면서 pH를 NaOH-3N과 HCl-3N로 각각 조절하였다. 이것을 round flask 250ml에 옮겨 냉각기 장치를 하여 각각의 온도와 시간별로 추출하여 pipet으로 약 20ml 정도를 취해 1500 rpm으로 약 10분간 원심분리하여 스포이드로 10cc를 각각 취해 건조시켰다.

결과 및 고찰

조지방 및 조단백질

조지방, 조단백질의 분석 결과 조지방 함량이 15.61%이고, 조단백질은 23.34%이다.

온도와 pH 변화에 의한 총 질소값(N.S.I)

실험 방법 과정에서 처리한 시료를 Kjeldahl 장치로 분해시켜 A.O.A.C 법(15)에 따라 계산한 값은 Table 1과 Fig. 2에 표시하였다.

온도 60°C에서 1, 2, 3시간 간격으로 pH 4, 6, 8, 10, 12로 변화시킨 상태에서 얻어진 총 질소량은 시간이 경과됨에 따라 증가됨을 알수 있고, pH 4의 경우 1시간과 2시간 사이에는 0.87%가 증가되었고, 2시간과 3시간 사이에서는 1.24%가 증가함을 알수 있다.

그리고 pH 증가에 따라서는 1시간 동안에 추출된 경우 pH 4와 6사이에는 0.89%, 6과 8사이에는 1.26%, 8과 10사이에는 0.85%, 10과 12사이에는 0.6%가 증가되었다. 이 결과에서 시간의 경과와 pH가 높아짐에 따라 추출된 총 질소값, 즉 질소 분산 함량이 증가됨을 알수 있고, 특히 pH 6과 8사이에서 제일 높은양으로 추출되었다. 또한 Fig. 1에서 처럼 시간의 경과와 pH의 증가에 따라 완만한 경사

Table 1. Values of Net Nitrogen in pH, Time and Temperature variation. (unit: %)

Temp.	pH					
	Hours	4	6	8	10	12
60°C	1hr	6.76	7.64	8.91	9.76	10.36
	2hr	7.63	8.76	8.87	9.93	10.58
	3hr	8.87	9.56	9.96	10.78	10.97
80°C	1hr	7.94	8.99	9.70	10.19	12.16
	2hr	8.35	9.44	10.19	10.79	12.79
	3hr	8.76	9.74	10.49	11.24	13.26
100°C	1hr	8.67	9.74	10.14	11.32	15.15
	2hr	9.23	10.14	10.29	12.94	15.93
	3hr	9.76	10.73	11.17	14.11	16.34

값을 보여준다.

온도 80°C에서, 1, 2, 3시간과 pH 4, 6, 8, 10, 12로 변화 시키면서 얻어진 총 질소값은 pH 4의 경우 1시간과 2시간 사이는 0.41%가 증가되었고, 2시간과 3시간 사이에는 0.41%가 증가됨을 알수 있다. 또한 pH 변화에 따라 1시간의 경우 pH 4와 6사이는 0.96%, 6과 8사이는 0.71%, 8과 10사이는 0.49%, 10과 12사이는 1.97%가 증

가됨을 볼때 pH 10 부분에서는 조금 높은 값으로 증가되고, 10이하에서는 낮은 값으로 증가됨을 1, 2, 3시간의 경우에서 알수 있다.

온도 100°C에서, 1, 2, 3시간으로 시간의 경과와 pH 4, 6, 8, 10, 12로 변화 시키면서 얻어진 총질소량은 pH 4의 경우 1시간과 2시간에서는 0.56%, 2시간과 3시간에서는 0.53%가 증가되었고, 1시간의 경우에서 pH 4와 6사이는 1.07%, 6과 8은 0.4%, 8과 10은 1.18%, 10과 12사이에는 3.83%가 증가됨을 볼때 pH 6, 10, 12일때 높은값이며, 12부분에서 3.83%로 제일 높다.

그리고 Fig. 1에서 보면 pH 8까지는 완만한 경사값을 나타내었다. 전체적으로 볼때 60°C에서는 시간과 pH의 변화에 따른 총질소량이 조금씩 증가하고, 80°C 이상에서는 시간과 pH의 변환 관계가 조금씩 증가하였지만, pH 10 이상에서는 많이 증가함을 보여 주었다. 그리고 온도 증가에 있어서는 60°C에서 80°C 그리고 100°C로 증가됨에 따라 총 질소량이 증가함을 알수 있었다.

원소 분석기에 의한 질소 분산계수(N.S.I)

시료를 원소 분석기에 의해 분석한 결과를 Table 2와 Fig. 2에 표시하였다.

온도 60, 80, 100°C하에서 1, 2, 3시간, pH 4, 6, 8, 10, 12로 변화시켜 얻은 각각의 시료를 분석하였다.

온도 60°C에서, 시간과 pH가 증가함에 따라 총 질소량은 증가됨을 알수 있고, pH 4의 경우 1시간과 2시간 사이에는 0.31%가 증가되었고, 2시간과 3시간 사이는 0.59%가 증가함을 알수 있다. 그리고 pH의 증가에 따라서는 1시간 동안에 추출된 경우 pH 4와 6사이는 1.1%, 6과 8사이는 0.78%, 8과 10사이는 0.61%, 10과 12사이는 0.09%가 증가되었다.

온도 80°C에서, 1, 2, 3시간과 pH 4, 6, 8, 10, 12로 변화시키면서 얻어진 총 질소값은 pH 4의 경우 1시간과 2시간 사이에서는 0.34%, 2시간과 3시간에서는 0.77%가 증가함을 알수 있다. 그리고 pH 변화의 경우 1시간에서 pH 4와 6사이는 1.16%, 6과 8사이는 0.11%, 8과 10사이는 0.64%, 10과 12사이는 1.05%가 증가함을 알 수 있었으며, 온도와 시간 그리고 pH가 증가함에 따라 Fig. 2와 같이 완만한 경사값을 보여 주었다.

요 약

누에 번데기의 단백질 추출 조건을 규명하고자 온도, pH 및 시간 변화에 따라 추출된 단백질의 총 질소함량을 Kjeldahl법과 원소 분석기를 이용한 결과는 다음과 같다.

1. 누에 번데기의 조단백질 : 23.34%, 조지방 : 15.61%이다.

2. 온도 변화에 따른 pH 4에서 1시간 추출시 60°C : 6.

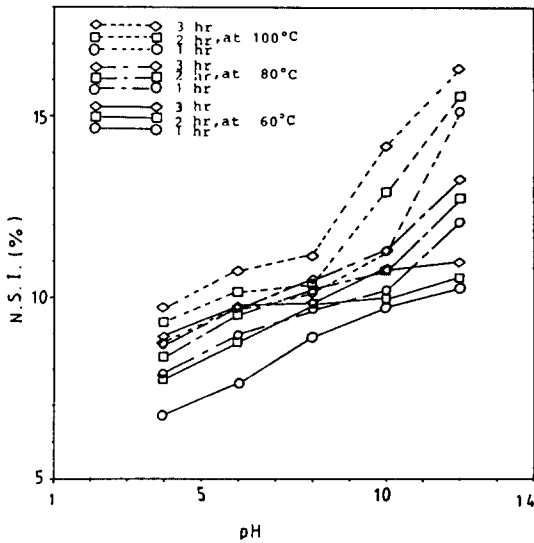


Fig. 1. Influence of Extraction Temperature, pH and Time on N.S.I. by Kjeldahl method.

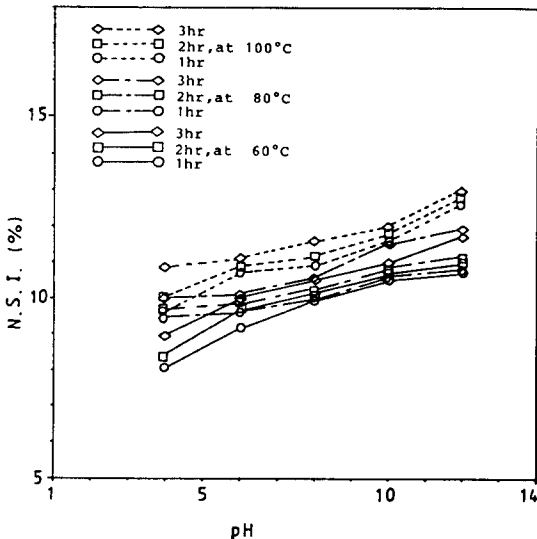


Fig. 2. Influence of Extraction Temperature, pH and Time on N.S.I. by C.H.N. coder.

Table 2. Values of Dispersion Coefficient of Nitrogen for C.H.N. corder. (unit: %)

Temp.	Hours	pH				
		4	6	8	10	12
60°C	1hr	8.08	9.18	9.96	10.57	10.66
	2hr	8.39	9.76	10.02	10.66	10.97
	3hr	8.98	9.92	10.45	10.98	11.67
80°C	1hr	9.52	9.69	10.11	10.60	10.78
	2hr	9.78	9.87	10.15	10.67	10.98
	3hr	10.02	10.10	10.59	11.48	11.90
100°C	1hr	9.72	10.88	10.99	11.63	12.68
	2hr	10.06	10.92	11.08	11.81	12.71
	3hr	10.83	11.03	11.56	11.99	12.98

76%, 80°C : 7.94%, 100°C : 8.67%이고, C.H.N corder의 분석결과는 60°C : 8.08%, 80°C : 9.52%, 100°C : 9.72%로서 두 가지 방법에서 수치는 다르지만 온도 상승에 따라 수용성 질소계수가 증가하는 경향임을 알 수 있다.

3. pH변화에 따른 80°C에서 1시간 추출시 pH 4 : 7.94%, pH 6 : 8.96%, pH 8 : 9.70%, pH 10 : 10.19%, pH 12 : 12.16%이고, C.H.N. corder에 의한 결과는 pH 4 : 9.52%, pH 6 : 9.69%, pH 8 : 10.15%, pH 10 : 10.67%, pH 12 : 10.98%로 온도 상승과 같이 pH증가에 따라 증가하는 경향을 보이고 있다.

4. 추출시간의 변화에 따른 100°C에서 pH 4인 경우 1시간 : 8.67%, 2시간 : 9.23%, 3시간 : 9.76%이고, C.H.N. corder의 결과는 1시간 : 9.72%, 2시간 : 10.06%, 3시간 : 10.83%로서 추출 시간이 늘어남에 따라 증가되는 경향을 보이고 있다.

참 고 문 헌

1. 한국과학기술 연구소 식량자원 연구실(1971), 한국 식품문헌 총람, 서울 한국 식품과학회, 328-329
2. Malleto, Silvano, gampos, Merino, J.Mussa, P.P.Nicacio, C.Riberio Salazer, Luna and F.Sarra(1974) *Ann. Fac. Med. Torimo*, **21**. 60.
3. R.S.O. Mametov, Ch. No. Dadeshev, G.D Kerimov.(1967).
4. 김문협(1974) *잠사학 개론*, 서울 향문사 324-326
5. 南賢根(1975) *한국 영양학회지* **4**(1) 59-66
6. 조성휴, 차월석, 양성훈(1983) *조선대 생산기술 연구*, **83**. 105
7. A.M. Yousses., E.L.fouly, M.M. and E.L.-BAZ, F.K.qualitas plantarum(1974) **24** 71-84
8. 崔相, 金健治, 全明姬, 金吉煥(1970) *한국식품과학회지*, **2**. 8-25(1970)
9. 金大圭一, 田村 子, 金井英治(1961) *日水誌*, **27**(6) 601-605
10. 高木光造, 大石圭一, 村 子(1967) *日水誌*, **33**, 669-673
11. 保井忠, 補立 誠(1969) **43**(5), 328-338
12. J.T. Lawhon(1971) and C.M.Cater: *J.Food Sci.*, 327-377
13. A.A. Betschart(1975). *J.Food Sci.*, **40** 1010-1013
14. A.O.A.C. William horwtz(1980) "*Official method of analysis of the association of official analytical chemists*", *thirteen*, 437, Washington. DC, 20044
15. A.O.C.S.American oil chemists' society, official and tentative methods 3,edition revised in(1969)

(Received April 20, 1989)