

Acyl 화에 의한 녹두 Whole Globulin 의 특성에 관한 연구

김용환 · 송종선 · 김광수*

삼육농업전문대학 식품영양과
*경북전문대학 식품제조과

(1989. 8. 1 수리)

Properties of Acylated Mungbean Whole Globulin Yong-Hwan, Kim · Jong-Seon, Song · Kwang-Soo, Kim*

*Department of Food and Nutrition, Korean Sahn Yook
Agricultural Junior College*

**Department of Food Science and Technology, Kyungbuk
Junior College*

(Received August 1, 1989)

ABSTRACT

The objective of this study was to improved the limited functional characteristics of mungbean whole globulin.

The mungbean whole globulin was acylated with succinic and acetic anhydride, and the functional properties of acylated protein were investigated. The results obtained were as follows :

1. The UV-absorption spectra of acylated whole globulins with that of the succinylated 74% whole globulin as large blue shift of the absorption maximum and minimum wavelength from 275 nm to 269 nm, respectively.
2. The mobility of acylated whole globulin were increased on PAGE pattern, and degree of mobility was particularly remarkable in case of succinylation.
3. The water absorption capacity of whole globulin was increased by acylation. The most increased rate of whole globulin was 174.02% from succinylated 74%. The oil absorption capacity of whole globulin was increased by acylation. The most increased rate of whole globulin was 165.41% from acetylated 81.77%.
4. The bulk density of whole globulin was decreased by acylation, and the greater the extent of acylation, the smaller the bulk density.

5. The foaming capacity and stability of whole globulin was increased by acylation, and remarkably high in 74% succinylated whole globulin. in contrast, however, the foaming capacity and stability of native and acylated whole globulin were decreased by heat treatment.

I. 서 론

녹두 (*Phaseolus radiatus* L.)는 단백질을 약 25% 정도 함유하는 영양가 높은 식물로서 곡류와 채소류가 주식이었던 전통식생활에서 청포묵, 빈대떡, 떡소, 떡고물 및 녹두나물 등의 중요한 식량자원으로 이용되어 왔다.

이에 대한 연구로는 녹두 성장 중의 지방산에 관한 연구¹⁾, 녹두 지질 중의 유리아미노산에 관한 연구²⁾, gel filtration에 의한 녹두 저장단백질의 분리와 특성에 관한 연구³⁾, 녹두 발아중 전기영동상의 변화에 대한 연구⁴⁾와 녹두 염용성 단백질의 물리적 특성에 관한 연구⁵⁾ 등이 있다.

그러나 단백질 자원으로서의 이용에 관한 연구는 미미한 실정으로서 이를 식품원료로서 더욱 효과적으로 이용하기 위해서는 기존 녹두식품의 품질향상을 위한 다각적인 연구가 이루어져야 하겠다.

이에 녹두중에 존재하는 단백질의 기능적 성질을 높이기 위한 구체적인 연구가 필요하며 단백질의 기능적 특성을 향상시킬 때에 일반적으로 사용되는 효소처리법과 알칼리처리법에서는 여러 가지 결점들이 보고^{6,7)}되고 있어 최근에는 화학수식제를 사용하는 방안에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있다^{8~24)}.

본 연구에서는 녹두 단백질 중 whole globulin을 분리하여 succinic anhydride와 acetic anhydride로 각각 acyl화 시켜 이에 따른 화학적 특성과 기능적 특성에 대하여 검토하였다.

II. 재료 및 방법

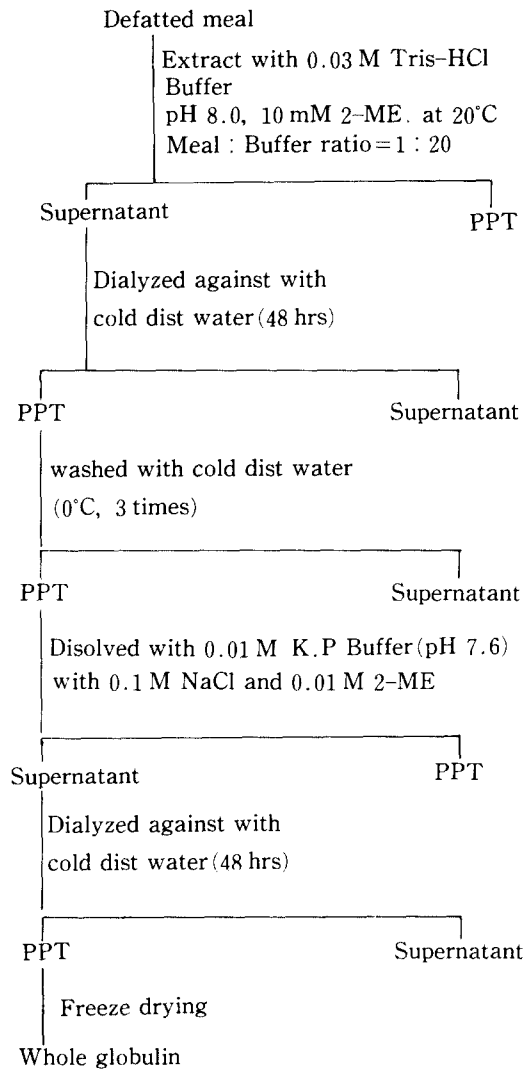


Fig. 1. Extraction methods of Mungbean whole globulin. each precipitated fraction was removed by centrifugation. 10,000 g for 20 min. at 4°C

1. 재 료

시료녹두(*Phaseolus radiatus* L.)는 1988년 4월 경동시장에서 구입한 것으로 100 mesh 로 분쇄 후 ethyl ether 로 24 시간 탈지, 음건하여 Fig. 1 에서와 같이 whole globulin 을 분리하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) acyl 화

Succinyl 화와 acetyl 화는 Franzen 과 Kinsella 의 방법⁸⁾을 응용하여 실시하였다.

즉 succinyl 화는 0.075 M KP buffer (pH 7.6) 5.0 ml 에 protein 1 g 씩을 용해시킨 후 anhydride 0.25 g 및 1.0 g 을 각각 첨가하였으며 acetyl 화는 포화 sodium acetate buffer 50 ml 에 protein 1 g 씩을 용해시킨 후 anhydride 0.1 ml 및 1.2 ml 를 각각 첨가하였다. 반응이 진행되는 동안 1 N-NaOH 및 3 N-NaOH 를 사용하여 pH 7.8~8.0 으로 유지하였으며 반응이 끝난 후 4°C 에서 탈이온수로 48 시간 투석하여 동결건조하였다.

2) Acyl 화도

Acyl 화도는 Franzen 과 Kinsella 의 ninhydrine 법⁹⁾을 사용하였다. 즉 1% 단백질용액 0.5 ml 와 ninhydrine 용액 0.5 ml 를 혼합하여 100°C 에서 5 분간 가열 후 냉각하고 75% ethyl alcohol 4 ml 를 가하고 570 mm 에서 흡광도를 측정하였다. 이때 acyl 화율은 처리구와 비처리구의 흡광도 차이로 산출하였다.

3) 단백질 정량

단백질 함량은 Lowry 등의 방법²⁶⁾에 의하여 측정하였으며 표준단백질로는 bovine serum albumin 을 사용하였다.

4) UV-absorption spectra

시료를 0.4 M NaCl 을 함유하는 0.01 M potassium phosphate buffer (pH 7.6) 에 0.1% 가 되도록 용해시킨 후 spectrophotometer (shimadzu UV-100-02) 를 사용하여 200~400

nm 까지 scanning 하였다.

5) 전기영동

전기영동은 Ornstein²⁷⁾과 Davis²⁸⁾의 방법에 따라 7.5% acrylamide gel 에 tris-glycine buffer (pH 8.3) 에서 BPB 를 tracer 로 하여 3 mA / column 으로 90 분간 영동하였다. 그 후 amido black 10 B 로 염색하였으며 탈색이 끝난 gel 은 Densitometer (Sebia system 2-Ref : 134, France) 를 사용하여 530 nm 에서 scanning 하였다.

6) 물리적 특성

수분흡수력과 지방흡수력 및 체적밀도는 Rahma 와 Narasinga Rao 의 방법¹³⁾을 응용하여 실시하였으며 포말형성력 및 포말안정성은 Yasumatsu 등¹⁰⁾과 Ma¹⁶⁾의 방법을 응용하여 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Acyl 화

Succinic 및 acetic anhydride 에 의한 acyl 화 정도를 측정한 결과는 Table 1 과 같다. 즉 succinic anhydride 는 68.0% 와 74.0% 가 acetic anhydride 는 53.66% 와 81.77% 가 acyl 화 되었다.

Table 1. Extent modification of acylated mung-bean whole globulin.

Anhydride conc. / protein	Extent of modification
Native 0.00	0.00%
Succinic 0.25 g	68.00%
Succinic 1.0 g	74.00 g.
Acetic 0.1 ml	53.66%
Acetic 1.2 ml	81.77%

2. UV-absorption spectra

화학수식제의 종류 및 첨가량이 미치는 영향을 알아보기 위하여 200~400 nm 까지 Scanning 하여 본 결과는 Fig. 2 에서와 같다.

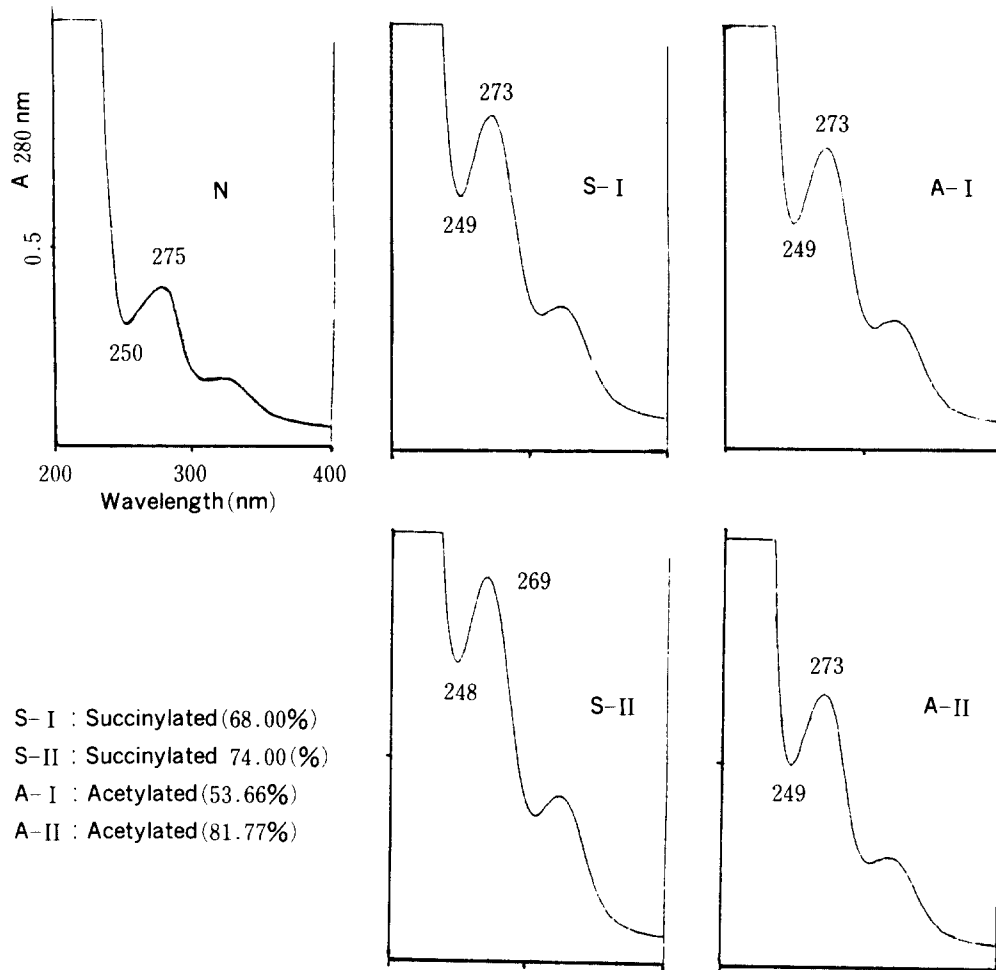


Fig. 2. UV-absorption spectra of native and acylated whole globulin

즉 acyl 화 시키지 않았을 경우 흡수최대파장 275 nm, 흡수최소파장 250 nm 로 나타났다. 그러나 acyl 화 되었을 경우 273~269 nm 와 249~248 nm로서 전반적으로 blue shift 되었 으며 74% succinyl 화 된 경우 흡수최대파장 269 nm 로서 비교적 큰 폭으로 blue shift 되었다. 이는 저농도의 succinyl 화된 pepsinogen 의 흡수최대파장이 1 nm blue shift 되었다는 Goumaris 와 Perlmann 의 보고²²⁾와 유사한 경향을 보인 것으로서 tyrosine 잔기와 lysine 잔기의

acyl 화 증가에 따라 단백질구조의 비 가역적 변 조가 발생하거나 보다 안정한 단백질구조를 유지하고자 하기 때문인 것으로 사료된다.

그리고 가시적으로 native protein 은 백색상태를 나타내었으나 acyl 화된 경우 특이하게 황 색~갈색상태를 나타내었으며 native protein 에 비하여 325 nm 부근에서 높은 흡광도를 나타내 었다. 이러한 색소의 형성은 acyl 화 과정에서 발생된 것으로 판단되며 이에 대하여는 보다 계 속적인 검토가 필요할 것이다.

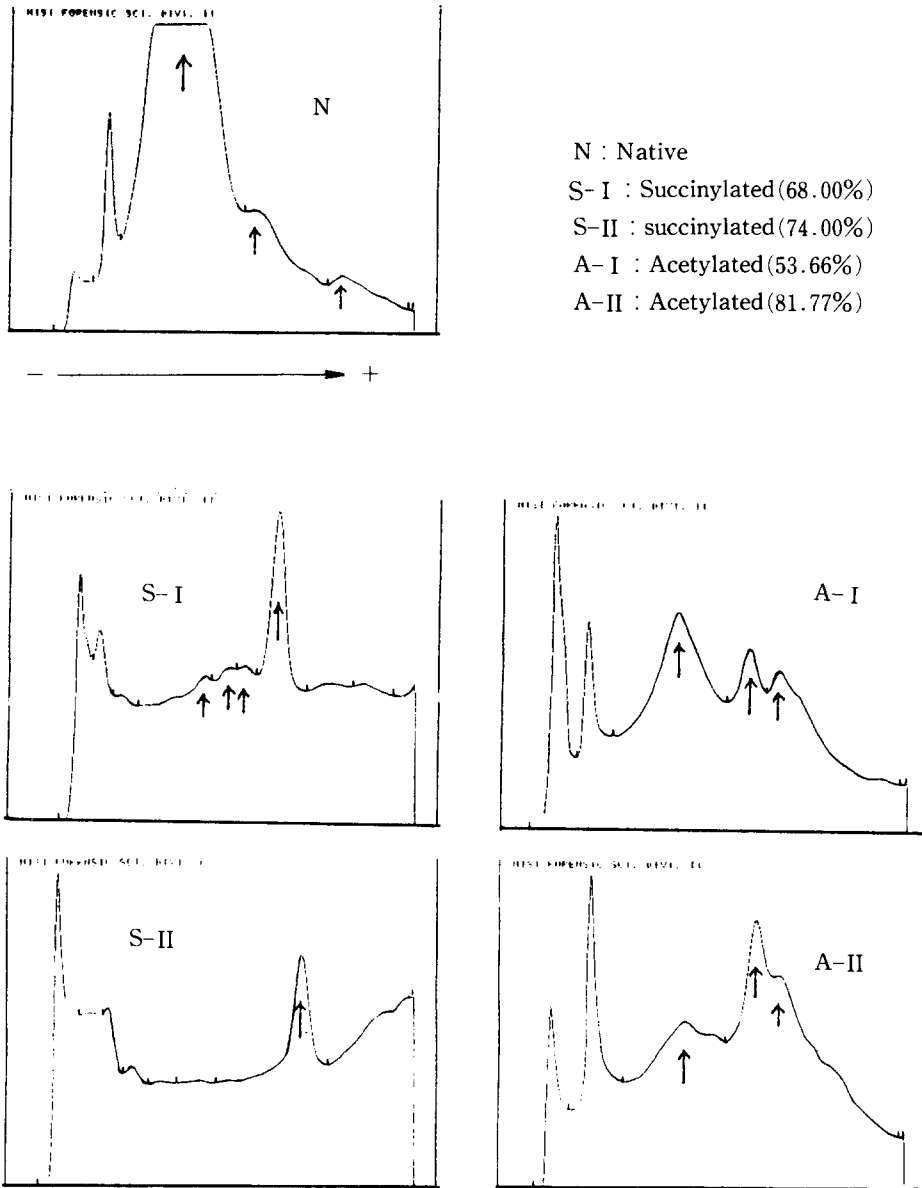


Fig. 3 Densitogram on polyacrylamide gel disc electrophoresis of native and acylated whole globulin.

3. 전기영동

Acyl 화가 whole globulin 의 회합 및 해리와 그들의 형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 전기영동을 실시한 결과는 Fig. 3에서와 같다.

즉 acyl 화 되지 않은 경우 main fraction 의 이동도가 0.24 이고 이동도 0.48, 0.76 인 2 개의 minor fraction 이 확인되었다. 그러나 68% succinyl 화된 경우 이동도 0.33, 0.41, 0.46 인

3 개의 minor fraction 과 이동도 0.56 인 main fraction 이 확인되었으며 74% succinyl 화된 경우 minor fraction 은 소실되고 main fraction 의 이동도가 0.64 로 변화된 것이 확인되어 succinyl 화에 의하여 이동도가 크게 증가된 것을 알 수 있었다. 한편 acetyl 화된 경우 acyl 화도에 관계없이 3 개의 fraction 으로 확인되었으며 다만 53.66% acetyl 화된 경우 이동도가 0.28, 0.51, 0.59 인 것이 81.77% acetyl 화된 경우 0.29, 0.53, 0.61 로 소규모로 이동도가 증가하였다. 이는 succinyl 화에 의하여 acyl 화도가 증가함에 따라 이동도가 증가하였다는 Choi 등¹²⁾의 보고와 Beuchat 의 보고¹⁴⁾로 미루어 acyl 화가 진행됨에 따라 분자간 해리현상이 발생하였으며 acetyl 화보다 succinyl 화가 더욱 해리작용이 큰 것으로 사료된다.

4. 수분 및 지방흡수력

Succinyl 화 및 acetyl 화에 의하여 acyl 화가 진행됨에 따라 수분흡수력과 지방흡수력은 모두 증가하였다.

Table 2. Water absorption capacity and oil absorption capacity of acylated mungbean whole globulin.

Extent of acylation (%)	Water absorption capacity (ml/g)	Oil absorption capacity (ml/g)
Native (0.00)	2.54	2.92
Succinylated (68.00)	4.11	4.29
Succinylated (74.00)	4.42	4.67
Acetylated (53.66)	3.1	4.61
Acetylated (81.77)	3.87	4.83

즉 Table 2 에서와 같이 수분흡수력은 74% succinyl 화된 상태에서 최고 174.02% 까지 증

가되었으며 53.66% acetyl 화된 상태에서도 122.05% 증가되었으며, 지방흡수력은 81.77% acetyl 화된 상태에서 최고 165.41% 까지 증가되었으며 68% succinyl 화된 상태에서도 140.92% 가 증가되었다. 이는 yellow pea protein 에서 acetyl 화 및 succinyl 화의 증가에 의하여 수분 및 지방흡수력이 더불어 증가하였다는 보고¹¹⁾와 일치하나 Ma¹⁶⁾는 oat protein 의 수분흡수력이 acyl 화도가 증가함에 따라 감소하였다고 보고하였다. 이는 pH, 이온강도, 단백질의 종류, 아미노산 조성, 탄수화물의 존재 및 가공 방법에 따른 차이에 기인한 것으로 사료된다.

5. 체적밀도

Acyl 화에 의한 체적밀도는 Table 3 에서와 같이 전반적으로 낮아졌으며 74% succinyl 화된 경우 native protein 에 비하여 54.76% 까지 감소하였으며 acyl 화도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 3. Bulk density of acylated mungbean whole globulin.

Extent of acylation (%)	Bulk density (g/ml)
Native (0.00)	0.42
Succinylated (68.00)	0.29
Succinylated (74.00)	0.23
Acetylated (53.66)	0.34
Acetylated (81.77)	0.32

이는 acyl 화가 진행됨에 따라 체적밀도가 감소하였다는 보고¹⁶⁾와 일치하며 단백질의 종류 및 가공법과 pH, 단백질 농도, 온도 등에 의하여 변한다는 보고^{8,19)}도 있다. 그러므로 본 연구에서의 체적밀도 감소 역시 acyl 화제의 종류 및 acyl 화율의 증가에 따른 차이라고 하겠다.

6. 포말형성력 및 포말안정성

Succinyl 화와 acetyl 화에 의하여 포말형성력 및 안정성은 Table 4, 5 에서와 같다.

Table 4. Foam capacity and stability of acylated mungbean whole globulin. (non-heating)

Extent of Acylation(%)	Non-heating (25°C)		
	Foam capacity (ml)	Foam stability(ml)	
		after 30 min	after 60 min
Native (0.00)	5.94	4.79	4.7
Succinylated (68.00)	6.27	5.61	5.12
Succinylated (74.00)	8.22	7.44	6.84
Acetylated (53.66)	6.11	5.12	4.86
Acetylated (81.77)	6.44	5.45	5.12

Table 5. Foam capacity and stability of acylated mungbean whole globulin after heating.

Extent of acylation(%)	Heating (65°C, 30 min)		
	Foam capacity (ml)	Foam stability(ml)	
		after 30 min	after 60 min
Native (0.00)	5.28	3.96	3.38
Succinylated (68.00)	4.79	3.14	2.31
Succinylated (74.00)	3.71	2.81	2.15
acetylated (53.66)	3.96	2.81	2.25
Acetylated (81.77)	3.14	2.25	1.82

즉 상온에서 처리한 경우 포말형성력은 최고 증가가 74% succinyl 화된 경우로서 138.38% 까지 증가되었고 81.77% acetyl 화된 경우 102.86% 까지 증가되었다.

또한 포말안정성은 최고안정성이 30 분 경과 후와 60 분 경과 후 모두 74% succinyl 화된 경우로서 각각 90.5%, 83.22% 로 나타났으며 최저안정성은 native protein 이 30 분 경과 후와 60 분 경과 후 각각 80.64%, 39.12% 로 가장 낮게 나타났다. 이는 acyl 화도가 증가함에 따라 포말형성력이 모두 증가한다는 보고^{13,16)}와 분리 대두단백질의 succinyl 화와 acetyl 화 모두 포말형성력과 안정성에 효과가 있었으며 succinyl 화가 더욱 양호하였다는 보고^{8,9)}와 일치한다.

한편 acyl 화된 상태에서 65°C 로 30 분간 열처리 후 포말형성력과 안정성은 acyl 화가 증가함에 따라 모두 감소하였으며 이는 일반적으로 단

백질은 70°C 부근에서 열변성을 일으켜 응집력이 형성되면서 응고되고 용해도가 감소하며 단백질의 생물학적 특성이 변하고 물리·화학적 성질도 변하는 바 이에 따라 acyl 화된 group 의 단백질이 해리되며 특히 succinyl 화가 acetyl 화에 비하여 큰 폭으로 해리시키는 것으로 알려져 있어 이 해리된 상태에서 열에 대한 변성이 더욱 촉진되어 발생한 것으로 판단된다.

IV. 요 약

녹두단백질의 제한된 기능적 특성을 향상시키기 위하여 분리된 whole globulin 을 succinic anhydride 와 acetic anhydride 로 acyl 화 시켰을 때 그의 화학적 특성과 물리적 특성에 미치는 영향을 검토하였다.

1. Acyl 화에 의하여 UV-absorption spectra

는 blue shift 되었으며 74% succinylation 된 경우 흡수최대파장이 275 mm 에서 269 mm 로 크게 shift 되었다.

2. Polyacrylamide gel 전기영동상은 acyl 화에 의하여 이동도가 크게 증가하였다.

3. 수분 및 지방흡수력은 모두 증가하였으며 수분흡수율은 74% succinylation 되었을 경우 174.02% 가, 지방흡수력은 81.77% acetylation 되었을 경우 165.41% 가 증가하였다.

4. 체적밀도는 acylation 이 진행됨에 따라 모두 감소하였으며 대체적으로 succinylation 의 경우가 감소율이 높았다.

5. 포말형성력은 74% succinylation 되었을 경우 138.38% 까지의 증가율을 보였으며 30 분 후 90.51%, 60 분후 81.22% 의 포말안정성을 나타내었다.

V. 참고문헌

1. 김경자 : 녹두나물 성장과정 중의 지질 및 지방산 변화에 관한 연구, 대한가정학회지, 20, 85(1982).
2. 강영희, 이정옥, 정하분, 이기열 : 녹두지침에 있어서의 함질소화합물, 특히 유리아미노산의 소장에 관하여, 한국영양학회지, 4, 63(1971).
3. 이춘영, 김수언, 유기중 : 녹두와 팥의 저장 단백질의 분리와 그 특성에 관하여, 한국생화학학회지, 11, 179(1978).
4. 박동연, 조숙자, 신용철 : 녹두발아중 단백질 전기영동패턴의 변화, 한국식품과학회지, 18, 163(1986).
5. Narang, A.S., Bains, G.S. and Bhatia, I. S. : Physical and hydrodynamic studies on salt-soluble proteins of mungbean, *Cereal Chem.*, 58, 92(1981).
6. Arai, S., Yamashita, M. and Fujimaki, M. : Plastein and its application, *Cereal Foods World*, 20, 107(1975).
7. Monique, M.P. Provansal, Jean-Louis, A. Cuq. and Jean-Claude, Cheftel : Chemical and nutritional modification of sunflower proteins due to alkaline processing, formation of amino acid cross-links and isomerization of lysine residue, *J. Agric. Food Chem.*, 23, 938(1975).
8. Franzen, K.L and Kinsella, J.E. : Functional properties of succinylated and acetylated soy protein, *J. Agric. Food Chem.*, 24, 788(1976).
9. 김영숙, 황재관, 조은경, 이신영, 변우량 : 변형 대두단백질의 기능특성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 17, 383(1985).
10. Yasumatsu, K., Sawada, K. and Moritaka, S. : Whipping and emulsifying properties of soybean proteins, *Agr. Biol. Chem.*, 36, 719(1972).
11. Johnson, E.A. and Brekke, C.J. : Functional properties of acylated pea protein isolates, *J. Food sci.*, 48, 722(1983).
12. Choi, Y.R., Lusas, E.W. and Rhee, K. C. : Molecular structure and functionalities of protein isolates prepared from defatted cottonseed flour succinylated at various levels, *J. Food Sci.*, 48, 1275(1983).
13. Rahma, E.H. and Narasinga Rao, M.S : Effect of acetylation and succinylation of cottonseed flour on its functional properties, *J. Agric. Food Chem.*, 31, 352(1983).
14. Beuchat, L.R. : Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein, *J. Agric. Food chem.*, 25, 258(1977).
15. 김성렬, 심현숙 : 과산화수소, papain 처리 및 acyl 화가 분리참깨박단백의 품질 및 기

- 능적 성질에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 20, 405(1988).
16. Ma, C.Y. : Functional properties of acylated oat protein, *J. Food Sci.*, 49, 1128(1984).
 17. Barber, K.J. and Warthsen, J.J. : Some functional properties of acylated wheat gluten, *J. Agric. Food chem.*, 30, 930(1982).
 18. Ma, C.Y., Oomah, B.D. and Holme, J. : Effect of deamination and succinylation on some physicochemical and baking properties of gluten, *J. Food Sci.*, 51, 99(1986).
 19. Knuckles, B.E. and Kohler, G.O. : Functional properties of edible protein concentrates from alfalfa, *J. Agric. Food Chem.*, 30, 748(1982).
 20. Ball, H.R. Jr. and Winn, S.E. : Acylation of egg white proteins with acetic and succinic anhydride, *Poultry Sci.*, 61, 1041(1982).
 21. King, A.J., Ball, H.R. Jr., Catignani, G. L. and Swaisgood, H.E. : Modification of egg white proteins with oleic acid, *J. Food Sci.*, 49, 1240(1984).
 22. Gounaris, A.D. and Perlmann, G.E. : Succinylation of pepsinogen, *J. Biol. Chem.*, 242, 2739(1967).
 23. Shetty, K.J. and Kinseila, J.E. : Preparation of yeast protein isolate with low nucleic acid by succinylation, *J. Food Sci.*, 44, 633(1979).
 24. Groninger, H.S. : Preparation and properties of succinylated fish myofibrillar protein, *J. Agric. Food Chem.*, 21, 978(1973).
 25. Groninger, H.S. and Miller, R. : Some chemical and nutritional properties of acylated fish protein, *J. Agric. Food chem.*, 27, 949(1979).
 26. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951).
 27. Ornstein, L. : disclectrophoresis I. Background and theory, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 321(1964).
 28. Davis, B.J. : Discelectrophoresis II. Method and application to human serum protein, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404(1964).