

효소처리한 번데기 농축단백질의 기능적 특성

전정례 · 박정룡[†]

영남대학교 식품영양학과

Functional Properties of Silkworm Larvae Protein Concentrate After Enzyme Treatments

Jeong-Ryae Jeon and Jyung-Rewng Park[†]

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract

Silkworm larvae protein concentrate was partially hydrolyzed at 50°C by papain at pH 2.0 and pepsin at pH 7.0 for 10min and 60min and the effect of enzymatic modification on the functional properties of silkworm larvae protein concentrate was examined. The degrees of hydrolysis measured by TCA-soluble nitrogen content were 10.2% and 19.2% when hydrolyzed by pepsin for 10min and 60min, respectively. And 15.4% and 21.4% were hydrolyzed when digested by pepsin for 10min and 60min. The nitrogen solubility in water and 0.03M CaCl₂ was increased with increasing the degree of hydrolysis, and bulk density, water and oil absorption were also enhanced by enzymatic hydrolysis when compared with the control.

Key words : silkworm larvae, protein concentrate, functionality

서 론

세계적인 식량공급증 특히 단백질의 공급증가율은 필요량이 증가에 미치지 못하고 있으며 이러한 상황은 개발도상국에 있어서 더욱 심각한 실정이다. 단백질의 부족문제를 해결하기 위한 방법중 새로운 단백질 자원의 개발과 이용에 관한 연구는 주요한 과제중의 하나이다.

제사공장의 부산물인 번데기는 단백질 함량이 높고 또한 필수아미노산의조성이 우수함에도 불구하고¹⁾ 특이한 이취로 인하여 이용가치가 낮은 사료나 비료로 사용되며 적은량은 증자상태로 시판되고있다. 최근 박

은²⁾번데기 농축단백질의 기능성을 대두 농축단백질과 비교 연구한 결과, 유화성, 지방흡수성 및 점도는 대두 단백질보다 높고 또한 아세틸화와 숙시닐화에 의한 화학적 변형결과 기능성이 향상되었다고 보고하였다.

일반적으로 단백질의 낮은 기능성을 향상시키기 위해서는 물리·화학적방법 및 효소에 의한 방법이 이용되고있다. 이중 산에 의한 가수분해는 질소용해도와 풍미를 향상시키나 중화처리 결과 염의 농도가 증가하는 단점이 있으며, 알카리에 의한 가수분해는 유해물질을 파괴시키지만 과도한 알카리 처리시 lysinoalanine과 같은 독성물질이 생성되고 소화를 저해하는 단점이 있다³⁾. 더욱이 이러한 화학적 방법은 기능성은 향상시키지만 아미노산의 파괴와 단백질효율의 저하도 보고되고 있다⁴⁾. Richardson⁵⁾은 효소에 의한 가수분해가

[†] To whom all correspondence should be addressed

단백질의 기능성을 향상시키는데 있어서 더욱 효과적이므로 화학적 변형 방법에 대한 유용한 대체방법이 될 것이라고 제안하였다. 또한 효소적 변형이 온화한 조건하에서 특이성을 가지고 안전하므로 식품에 대한 이용이 공식적으로 인정되고 있으며 이 방법에 의해 대두, 땅콩 및 면실등에서 기능성 및 영양가의 향상이 보고되고있다^{6,8)}.

이에 본연구는 번데기 농축단백질의 기능성을 향상시키기 위한 목적으로 농축단백질을 papain과 pepsin으로 가수분해시킨후 이의 기능성 변화를 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

시중에서 구입한 번데기를 진공건조기(40°C)에서 48시간 건조시켜 분쇄한 다음 Soxhlet 방법에 의해 ether로 탈지시키고 실온에서 풍건하여 Willey mill로 60 mesh를 통과하도록 다시 분쇄하여 사용하였다.

농축단백질의 제조

번데기 농축단백질은 Nath와 Narasinga⁹⁾의 방법을 일부 수정하여 Fig. 1과 같이 제조하였다. 탈지번데기 분을 5% trichloroacetic acid (TCA) 용액으로 실온에서

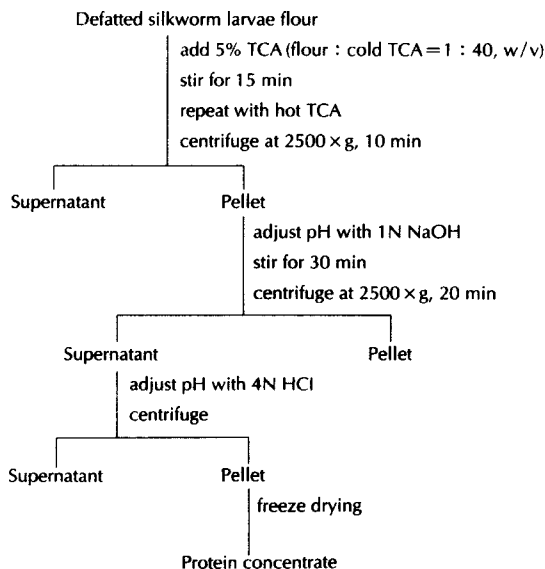


Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of silkworm larvae protein concentrate.

15분간 교반하고 다시 80°C TCA용액으로 반복한후 2500×g에서 10분동안 원심분리후 침전물을 1N NaOH 용액으로 pH 12.0에서 30분간 교반하면서 단백질을 추출하였다. 추출액은 2500×g에서 원심분리후 상정액을 모아 4N HCl로 pH 5.0으로 조정하여 원심분리하고 생성된 침전물을 모아 다시 pH 7.0으로 조정 한 다음 -50°C에서 48시간 동안 동결건조시켰다.

일반성분 분석

시료의 일반성분 분석은 AOAC¹⁰⁾ 방법에 따라 수분은 105°C에서 상압건조법, 조단백질은 Kjeldahl법, 지방은 Soxhlet법, 회분은 550°C에서 직접회화법으로 분석하였다.

농축단백질의 가수분해

번데기 농축단백질의 가수분해는 papain (Sigma Co.)과 pepsin (Sigma Co.)을 사용하였다.

번데기 농축단백질 분산액 (10%, w/v)에 1N HCl과 1N NaOH를 사용하여 pH 2.0 및 pH 7.0으로 각각 조정 한 후 항온수조 (50°C)에서 10분동안 서서히 교반시킨 다음 pH를 재조정하였다. Papain은 효소와 기질의 비율이 1 : 20, pH 7.0에서, pepsin은 효소와 기질의 비율이 1 : 100, pH 2.0의 조건에서 각각의 효소를 첨가한 후 50°C에서 서서히 진탕시키면서 10분과 60분동안 가수분해하였다.

가수분해 정도의 측정

가수분해 정도는 Yamashita 등¹¹⁾의 방법을 일부 수정하여 TCA 가용성 질소를 측정하여 계산하였다. 즉 가수분해시킨 용액 50ml에 10% TCA 가용성 및 불용성 물질을 얻기위해 20% TCA용액 50ml를 첨가하여 혼합하고 12,000×g 에서 15분간 원심분리후 상정액의 가용성 질소량을 측정하여 다음식에 의하여 계산하였다.

$$\text{Approx. degree of hydrolysis (\%)} = \frac{10\% \text{ TCA - soluble N}}{\text{Total N}} \times 100$$

기능성 측정

용해도

물에 대한 용해도는 Dench¹²⁾의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 각 시료 0.5g에 0.1N HCl과 0.1N

NaOH를 사용하여 pH를 단계적으로 pH 2.0~12.0으로 조정하고 최종 용량이 40ml가 되게 한 후, 25°C에서 30분간 교반하면서 다시 pH를 조정한다. 다음 2500×g에서 15분간 원심분리하고 상징액 10ml를 취하여 micro-Kjeldahl법¹⁰⁾으로 질소를 정량하여 총 질소에 대한 백분율로 용해도를 계산하였다. 0.03M CaCl₂에 대한 용해도는 각 시료 0.5g에 35ml의 증류수를 넣고 0.1N NaOH를 사용하여 pH를 단계적으로 조정하고 15분간 교반한 다음 최종용량이 40ml가 되게 증류수를 첨가하여 2,500×g에서 15분간 원심분리한 후 상징액 10ml를 취하여 micro-Kjeldahl법¹⁰⁾으로 질소를 정량하여 물에 대한 용해도를 다음과 같이 계산하였다.

겉보기 밀도, 수분흡수력 및 지방흡수력

겉보기 밀도는 Rahma와 Narasinga⁴⁾의 방법으로 행하였다. 무게를 측정된 12ml 원심분리관에 시료를 넣어 계속 가볍게 두드리며 부피가 일정하게 될 때까지 넣은 후 다음식에 의해 계산하였다.

$$\text{겉보기 밀도} = \frac{\text{시료의 무게(g)}}{\text{시료의 부피(ml)}}$$

수분 및 지방흡수력은 Wang과 Kinsella¹³⁾의 방법으로 행하였다. 시료 1g에 수분흡수력의 경우 증류수 10ml, 지방흡수력은 옥수수기름 10ml를 각각 첨가하여 초음파파쇄기로 1분간 파쇄시킨 후 자석교반기로 25°C에서 30분간 교반한 다음 1,600g에서 15분 동안 원심분리하였다. 분리된 액은 10ml 실린더로 그 양을 측정하여 흡수된 수분과 기름의 양으로 나타내었다.

결과 및 고찰

일반성분

번데기 농축단백질의 일반성분은 Table 1에 나타난 바와같이 단백질 함량은 83.94%로 남¹¹⁾이 보고한 탈지 번데기 보다 높은 단백질 함량을 나타내었으며 박²⁾이 보고한 대두 농축단백질(70.30%)보다도 더 높은 단백질 함량을 나타내었다.

Table 1. Chemical composition of silkworm larvae protein concentrate

	Moisture			
	Crude protein	Fat	Ash	(%)
Silkworm larvae protein conc.	3.17	83.94	0.58	5.24

가수분해 정도의 평가

번데기 농축단백질을 papain 과 pepsin으로 가수분해하여 TCA 가용성 질소의 양을 측정하여 나타난 가수분해 정도는 Table 2와 같다. TCA 가용성 질소의 양은 효소를 처리하지않은 번데기 농축단백질의 경우 2.20%로 아주 낮았으나 papain으로 10분과 60분동안 가수분해 시킴으로써 10.23%와 19.17%로 각각 증가하였다. 한편 pepsin으로 10분과 60분동안 처리한 농축단백질의 가수분해정도는 15.41% 및 21.41%를 각각 나타내어 이 등⁶⁾이 보고한 4.25%와 16.46%보다도 높게 나타났다.

Byers¹⁴⁾는 잎 단백질을 papain으로 가수분해시킨 결과 반응온도는 37°C보다 65°C가 더 효과적이었다고 보고하였으며, Nanda 등¹⁵⁾은 식물성단백질을 papain으로 기질과 효소의 비율을 1 : 100으로 70°C에서 24시간 *in vitro*에서 가수분해시킨 결과 약 83%의 가수분해율을 얻을수 있었는데 80°C에서 6시간 이상의 가수분해는 오히려 역효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한 Montecalvo 등¹⁶⁾에 의하면 생선단백질을 pepsin으로 처리한 결과 18시간 이상의 장시간 처리에서는 더 이상의 가수분해가 측정되지 않았다.

한편 단백질의 지나친 가수분해는 bitter peptide를 생성시키고 기능성을 저하시켜 가수분해물의 식품에서의 적용을 부적합하게 하지만 제한된 가수분해는 쓴맛과 무관하면서 기능성의 향상을 유도하는 것으로 알려져 있으며 가수분해후의 bitter peptide 생성은 각각의 효소에 따라 쓴맛의 강도가 다름에도 불구하고 이 쓴맛은 사용된 효소보다 단백질 그 자체에 관련되는 것으로 나타났다⁷⁾.

용해도

번데기 농축단백질 및 효소처리한 농축단백질의 물에 대한 질소 용해도를 pH 2.0~12.0의 범위에서 측정 한 결과는 Fig. 2에 나타난 바와같다.

효소처리한 번데기 농축단백질의 질소용해도는 전

Table 2. Degree of hydrolysis of silkworm larvae protein concentrate with papain and pepsin

Treatments	TCA - soluble N (%)
Control	2.20
Papain 10min	10.23
60min	19.17
Pepsin 10min	15.41
60min	21.41

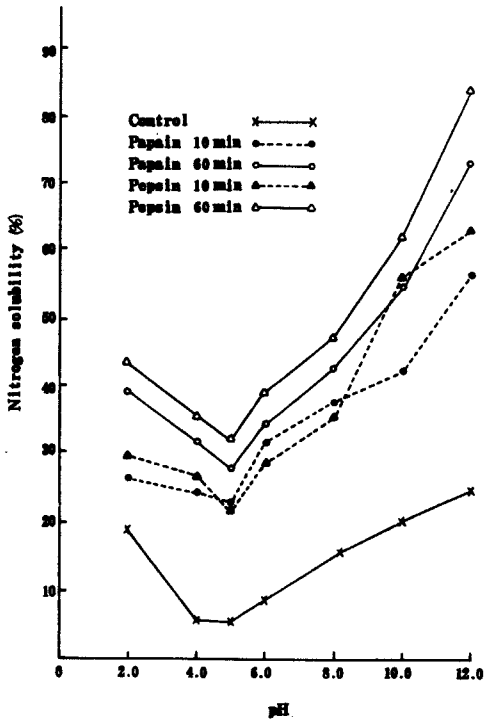


Fig. 2. Effect of pH on the solubility of enzyme-treated silkworm larvae protein concentrates in water.

pH범위에 있어서 증가하였으며 papain과 pepsin 모두 60분 처리한 것이 10분처리한 것이 보다 높게 나타났다. Control은 pH 2.0에서 19%의 용해도를 나타낸 반면 papain과 pepsin으로 30분간 처리한 농축단백질의 용해도는 각각 26%와 30%로 증가하였고 60분간 처리한 결과 39%와 43%로 각각 증가하였다.

질소용해도가 가장 높은 pH 12.0에서는 60분간 효소 처리한 결과 control에 비해 papain은 약 3배, pepsin은 약 4배 까지 증가하는 효과를 나타내었다. 본 실험의 결과는 Jones와 Tung¹⁷⁾의 유량중자단백질에 trypsin 처리를 함으로서 질소용해도가 증가한 결과와 일치하였으며, 이는 trypsin이 단백질의 분자량을 감소시키고 염기성 아미노산에 인접한 peptide를 분해시킴으로서 계면적과 음전하를 증가시키고 극성기를 주위의 물에 노출시키기 때문이라 보고하였다¹⁸⁾.

Fig. 3은 0.03M CaCl₂용액에서 각 pH에 따른 질소에 대한 용해도를 나타낸 것으로서 효소처리를 하지않은 번데기 농축단백질은 물에서보다 0.03M CaCl₂용액에서 전 pH에 걸쳐 용해도가 증가되었는데 이는 박²⁾이 보고한 번데기 농축단백질은 물에서보다 염용액에 더

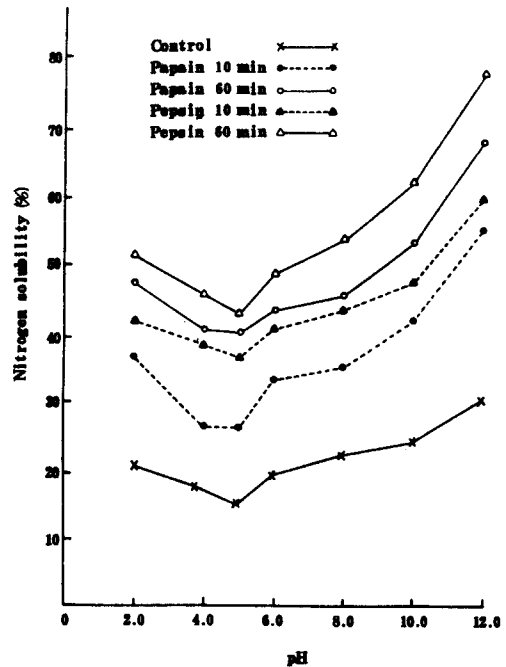


Fig. 3. Effect of pH on the solubility of enzyme-treated silkworm larvae protein concentrates in 0.03M CaCl₂.

잘 추출된다는 것과 일치하였으며 특히 pepsin 60분 처리의 경우 각 pH에서 control보다 약 3배이상의 용해도의 증가를 나타내었다. Beuchat 등¹⁹⁾에 의하면 peanut flour의 효소적 가수분해는 0.03M Ca²⁺내에서 fluid milk와 연관된 pH범위에서 매우 높은 용해도를 나타낼 정도로 변형시켰는데 Puski²⁰⁾에 의하면 이러한 calcium tolerance는 영양소 함상을 위해 Ca의 보강을 필요로 하는 imitation dairy product와 같은 제품에의 적용에 중요하다고 보고하였다.

겉보기 밀도, 수분 흡수력 및 지방 흡수력

Table 3은 효소처리에 따른 번데기 농축단백질의 겉보기 밀도, 수분 및 지방흡수력을 나타낸 결과이다.

번데기 농축단백질의 겉보기 밀도는 0.567g/ml이었으며 papain으로 분해한 것과 차이가 나타나지 않았으나 pepsin으로 10분과 60분 분해한 경우 약 0.1g정도 증가 하였다.

수분 흡수력은 papain으로 처리한 경우 control에 비해 다소 증가하였으며 pepsin으로 10분간 분해한 경우 4.10ml/g으로 상당히 증가하는 결과를 나타내고 있다. 이러한 현상은 용해도의 경우와 같이 가수분해 결과 소수기의 상호작용을 붕괴시킴으로 유리아미노기 및

Table 3. Bulk density, water absorption and fat absorption of enzyme-treated silkworm larvae protein concentrates

Treatments	Bulk density (g/ml)	Water absorption (ml H ₂ O/g)	Fat absorption (ml oil/g)
Control	0.567	3.07	2.85
Papain 10min	0.576	3.12	3.17
60min	0.566	3.30	3.13
Pepsin 10min	0.653	4.10	3.22
60min	0.667	3.38	3.15

carboxyl기가 같은 친수성기를 주위의 물에 노출시키고 음전하의 수를 증가시킨 결과로 시료되며 쿨리 및 해바라기 종자 단백질등에서도 보고되고 있다^{17,18)}. 그러나 Rahma와 Narasinga⁹⁾의 *Aspergillus oryzae*에 의해 탈지 면실박을 부분적으로 가수분해시켜 친수성기를 증가시켰음에도 불구하고 단백질의 형태적 변화를 가져와 수분흡수력을 감소시켰다는 것과는 상반된 결과를 나타내었다.

번데기 농축단백질의 지방흡수력은 control (2.85ml oil/g)에 비해 papain과 pepsin으로 분해시킨 결과 다소 증가하였으나 두 경우 모두 60분 분해시킨 것이 10분간 분해시킨 것에 비해 지방흡수력이 더 증가 하지는 않았다.

이러한 결과는 Beuchat 등¹⁹⁾이 보고한 pepsin으로 분해한 peanut flour의 지방 흡수력은 처음 10분동안은 증가하였지만 60분으로 처리한 결과 오히려 감소한다는 결과와 일치하였다.

요 약

Papain과 pepsin에 의한 부분 가수분해가 번데기 농축단백질의 기능적 특성에 미치는 영향을 검토하였다. TCA 가용성 질소량을 측정하여 얻은 가수분해 정도는 papain으로 10분과 60분간 처리한 결과 각각 10.23%와 19.17% 였으며 pepsin으로 10분과 60분간 처리한 경우는 각각 15.41%와 21.41%로 나타났다. 효소처리한 번데기 농축단백질의 질소 용해도는 실험한 pH 전 범위에서 증가하였으며 특히 papain과 pepsin 모두 60분 처리한것이 10분간 처리한것 보다 높게 나타났다. 0.03M CaCl₂를 첨가한 결과 전반적으로 질소 용해도가 증가하는 경향을 나타내었다. 번데기 농축단백질의 겔 보기 밀도는 papain으로 처리시 차이가 나타나지 않았

으며 pepsin의 경우는 다소 증가하는 경향이였다. 수분 흡수력의 경우 pepsin으로 10분간처리한것 이외에는 큰차이를 나타내지 않았으나 지방흡수력은 papain과 pepsin으로 부분 가수분해한 결과 전반적으로 증가하였다.

문 헌

1. 남현근: 식용곤충으로서의 누에성장에 따른 아미노산 함량변화에 관한 연구. 한국영양식량학회, 4(1), 59(1975)
2. 박금순: 번데기 농축단백질과 변형 단백질의 기능적 특성. 영남대학교 대학원 박사학위논문(1987)
3. Provensal, M. P., Cug, J. L. and Cheftel, J. C.: Chemical and nutritional modifications of sunflower protein due to alkaline processing, formation of amino acid cross-links and isomerization of lysine residues. *J. Agric. Food Chem.*, 23, 938(1975).
4. Rahama, 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)
5. Richardson, T.: Functionality changes in protein following action of enzyme. In "Food proteins. Improvement through chemical and enzymatic modification" Feeney R. E. and Whitaker, J. R. (eds.), Am. Chem. Soc., Washington, D. C., p.185(1977)
6. 이철호, 김찬식, 이삼빈: 효소처리에 의한 분리 대두 단백질의 부분 가수분해에 관한 연구. 한국식품과학회지, 16(2), 228(1984)
7. Sekul, A. A., Vinnett, C. H. and Ory, R. L.: Some functional properties of peanut protein partially hydrolyzed with papain. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 855(1978)
8. Rahma, E. H. and Narasinga Rao, M. S.: Effect of limited proteolysis on the functional properties of cottonseed flour. *J. Agric. Food Chem.*, 31, 356(1983)
9. Nath, J. P. and Narasinga Rao, M. S.: Functional properties of guar protein. *J. Food Sci.*, 46, 1225(1981)
10. AOAC.: Association of official analytical chemist, 13th ed., Washington, D. C. (1980)
11. Yamasita, M., Arai, S., Matauyama, J., Gonda, M., Kato, H. and Fugimaki, M.: Phenomenal survey on alpha-chymotryptic plastein synthesis from peptic hydrolysates of soy protein. *Agric. Bio. Chem.*, 34, 1484(1970)
12. Dench, J. E.: Extraction of nitrogenous material from winged bean [*Psophocarpus tetragonolouus*(L.) DC] flour and the preparation of protein isolates. *J. Sci. Food Agric.*, 33, 173(1983)
13. Wang, J. C. and Kinsella, J. E.: Functional properties of novel proteins: Alfalfa leaf protein. *J. Food Sci.*,

- 41**, 286 (1976)
14. Byers, M. : The *in vitro* hydrolysis of leaf proteins. 1. The action of papain on protein extracted from the leaves of zea may. *J. Sci. Food Agric.*, **18**, 28 (1967)
 15. Nanda, C. L., Ternouth, J. H. and Kondos, A. C. : *In vitro* hydrolysis of plant protein concentrate with papain. *J. Sci. Food Agric.*, **28**, 20 (1977)
 16. Montecavalvo, J. JR., Constantinides, S. M. and Yang, C. S. T. : Enzymatic modification of fish frame protein isolates. *J. Food Sci.*, **49**, 1305 (1984)
 17. Jones, L. T. and Tung, M. A. : Functional properties of modified oilseed protein concentrates and isolates. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.*, **16** (1), 57 (1983)
 18. Ma, C. Y. : Functional properties of oat concentrate treated with linolate or trypsin. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.* **18** (2), 1150 (1985)
 19. Beuchat, L. R., Cherry, J. P. and Quinn, M. R. : Physicochemical properties of peanut flour as affected by proteolysis. *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 4 (1975)
 20. Puski, G. : Modification of functional properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatment. *Cereal Chem.*, **52**, 655 (1975)

(1992년 9월 3일 접수)