

## 분리 대두단백의 소화율과 전기영동패턴에 미치는 Phytate의 영향

윤재영 · 조희경\* · 이서래\*

인산전문대학 식품영양과, \*이화여자대학교 식품영양학과

### Effect of Phytate on the Digestibility and Electrophoretic Pattern of Soy Protein Isolate

Jae-Young Yoon, Hee-Kyung Cho\* and Su-Rae Lee\*

Department of Foods Nutrition, Insan Junior College

\*Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University

#### Abstract

This study was carried out to examine the effects of phytate addition on the solubility and digestibility of the low-phytate soy protein isolate (LSP) and high-phytate soy protein isolate (HSPI). In SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of soy protein isolate, different patterns of proteins were observed in both HSPI and LSP at various phytate and pH levels, suggesting that phytate may bind specifically to certain protein fractions at a particular pH. For example, proteins of M.W. 1.8~3.5 kDa resisted phytate binding at acidic pH. LSP was fractionated into albumin, globulin, gliadin and glutelin, and phytate was shown to bind with difficulty to all three gliadin bands. Effects of phytate on the pepsin digestibility of soy proteins were apparent, especially in the short term digestion.

Key words: soy protein isolate, phytate, electrophoresis, digestibility

#### 서 론

두류는 동양에서 많이 섭취하여 온 식품으로 양질의 식물성 단백질 급원이다. 그 중에서도 대두는 경제적 식품원료로 매우 중요하지만 전처리 과정이 필요하므로 식품에 직접 이용되는 비율은 적은 편이다<sup>(1)</sup>. 생대두 중 가열처리의 효과가 적은 phytate는 myo-inositol의 인산 염으로 종자 중에는 Ca, Mg염인 phytin으로 존재한다. Phytate는 단백질과 복합체를 형성하여 단백이용 저해 인자로 작용하므로<sup>(2)</sup> 최근 외국에서는 다각도로 phytate에 대한 연구가 시도되고 있다.

우리나라에서는 발아<sup>(1)</sup>, autoclaving<sup>(3)</sup>, 발효<sup>(4)</sup> 등의 방법에 의한 phytate 감소 효과와 단백질의 용해도, 소화율에 미치는 phytate의 영향에 관한 조 등<sup>(5)</sup>의 연구가 있을 뿐이다. 또한 단백질은 용해도에 따라 albumin, globulin, gliadin, glutelin 등으로 분류할 수 있는데 순수 분리된 단백질 중의 phytate 함량은 lactalbumin이 가장 적은 3.8%, zein이 가장 많은 11.1%였다는 보고<sup>(6)</sup>로 보아 대두 단백질의 각 fraction별 성질을 phytate와 연관하여 살펴볼 필요가 있다. 대두단백질은 phytate와 강하게 결합하나 lysine과 arginine이 풍부한 옥수수배아의 al-

bumin은 phytate와 결합하지 않으므로 단백질과 phytate와의 결합은 염기성 아미노산의 농도와 상관이 없으며<sup>(2)</sup>, 전보<sup>(5)</sup>에서는 두 가지 분리 대두단백의 phytate와의 결합도 차이가 단백질 분자의 conformation 차이라 추정하였다. 그리하여 전기영동 등의 방법으로 두 가지 분리 대두단백의 subunit 구조와 아울러 phytate와의 결합부위에 대해 더 깊은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 phytate 함량이 다른 두 가지 분리 대두단백을 제조하여 phytate가 대두 단백질에 미치는 영향을 전기영동법을 이용하여 알아보았다. 그리고 phytate가 대두 단백질의 소화율에 미치는 영향을 조사하는 동시에 용해도에 따라 분별된 대두 단백의 각 fraction을 전기영동을 통하여 분자량을 추정하고 phytate와 잘 결합하는 단백질을 알아보았다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

Bovine serum albumin, pepsin 효소제(porcine stomach mucosa, 1 : 10,000), sodium phytate(옥수수에서 정제)와 전기영동시 사용한 시약들은 Sigma Chemical Co.에서 구입하였으며 탈지대두분은 유성식품공업사의 제품을 사용하였다. 전기영동용 표준단백질은 Serva Chemical Co.에서 구입하였으며 기타 분석용 시약은

Corresponding author: Jae-Young Yoon, Department of Food and Nutrition, Insan Junior College, Incheon 405-749, Korea

특급시약을 사용하였다.

High-phytate soy protein isolate(HSPI)와 Low-phytate soy protein isolate(LSPI)는 전보<sup>(5)</sup>에서와 같이 제조하였다.

#### 단백질 함량 측정

Lowry 등의 방법<sup>(7)</sup>에 따라 가용성 단백질의 농도를 측정하였으며 기준 단백질로는 Bovine serum albumin을 사용하였다.

#### 불리 대두단백과 phytate와의 결합도 측정

각 pH에서 phytate 첨가수준을 달리할 때 phytate와 쉽게 결합하는 단백질 부분을 알아보기 위해 pH 2.0, 8.5로 조절한 중류수 30 mL와 pH 4.5, 5.5로 조절한 중류수 6 mL에 분리대두단백(HSPI, LSPI) 0.5g을 각각 넣고 분산시킨 후 pH를 다시 조절하고 1시간 동안 교반하여 원심분리(13,000×g, 30분)하였다. 그 상징액을 취하여 첨가한 분리 대두단백 1g당 100 mg(pH 2.0인 경우에는 75, 100, 150 mg)의 phytate를 각각 첨가한 후 다시 pH를 조절하여 20분 동안 교반하였다. 이것을 원심분리(13,000×g, 30분)한 후 상징액을 취하여 전기영동을 실시하였다.

#### 용해도에 따른 대두단백질의 분별

Low-phytate soy protein isolate의 단백질 분별은 다음과 같이 실시하였다. 즉, 단백질 원료를 0.5 M NaCl 용액으로 추출하고(pH 8), 그 상징액을 투석한 후 원심분리(5,000 rpm, 30분)하여 상징액과 침전물을 각각 새 투석함으로써 수용성인 albumin과 염용성인 globulin을 얻었다. 0.5 M NaCl 추출 후 나온 잔사는 중류수로 세척 후 70% 에탄올 용액으로 추출한 다음 원심분리(5,000 rpm, 15분)하였다. 이 때 상징액을 농축하여 투석시킨 후 원심분리할 때 얻어지는 침전된 crude gliadin을 소량의 AUC 용매(0.1 N acetic acid, 3 M urea, 0.01 N cetyltrimethylammonium bromide)에 재용해 후 원심분리(5,000 rpm, 30분)하고 상징액을 모아 다시 중류수로 투석한 후 냉동건조하여 글리아딘을 얻었다. 70% 에탄올 추출 후 얻어진 잔사는 중류수로 세척 후 AUC 용매로 추출하고 원심분리(5,000 rpm, 15분)하였으나 상징액은 여과하여 중류수에 투석한 후 냉동건조하여 glutelin을 얻었다.

#### 대두단백질의 소화율 측정

전보<sup>(5)</sup>에서와 같이 pepsin에 의한 단백질 소화법을 사용하였다. 즉, LSPI, HSPi, soy flour 0.25g을 중류수(pH 2.0) 10 mL에 녹인 후 단백질 1g당 0, 50, 100, 150 mg의 phytate를 첨가하였다. pH를 2.0으로 다시 조절하고 37°C에서 30분간 보관하여 평형에 이르게 하였다. 각 tube에 pepsin을 단백질 1g당 250 mg씩 1 mL 중류수에 녹여 첨가한 후 0, 5, 10, 30분 동안 소화반응을

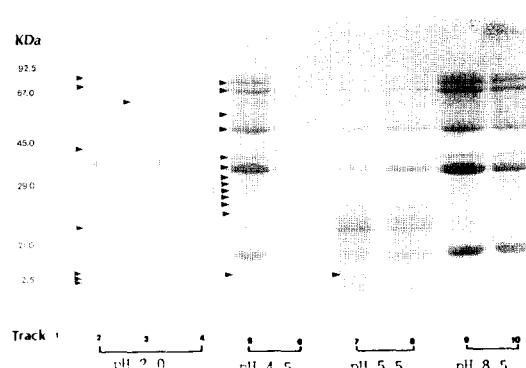


Fig. 1. SDS-PAGE profiles of high-phytate soy protein isolate soluble at various pH levels, as stained with Coomassie

Track 1, standard molecular weight markers; 2, 5, 7, 9, no phytate; 3, 75 mg phytate; 4, 6, 8, 10, 100 mg phytate

지속시켰으며 소화반응의 정지시약으로는 TCA(최종농도 10%) 1.2 mL를 사용하였다. 각 시료를 원심분리하여 상징액의 단백질 함량을 Lowry법<sup>(7)</sup>으로 정량한 다음 단백질의 상대적인 소화 정도로 표현하였다.

#### 전기영동실험

Laemmli의 방법에 따라 전보<sup>(8)</sup>에서와 같이 실시하였다.

#### 결과 및 고찰

##### High-phytate SPI와 phytate와의 결합 패턴

4 가지의 다른 pH 영역에서 phytate 함량이 높은 HSPi 용액에 다른 수준의 phytate를 첨가한 다음 원심분리하여 phytate와 결합하지 않은 단백질이 녹아 있는 상징액을 취하여 전기영동한 결과는 Fig. 1과 같으며 분리된 단백질 band의 농도를 densitometer로 측정하여 총 단백질 양에 대한 백분율로 표시한 결과는 Table 1과 같다. pH 2.0에서는 총 18개의 단백질 band가 나타났으며 단백질 1g당 75 mg phytate를 첨가하였을 때 13.6, 14.8, 15.5, 22.3, 40.0, 72.8, 81.1 kDa인 단백질이 사라졌고 100 mg phytate 첨가시에는 60.5 kDa인 단백질이 더 사라졌다. 이것은 조 등<sup>(8)</sup>의 유채단백에 관한 연구에서도 볼 수 있듯이 phytate가 특히 잘 결합하는 단백질 fraction이 존재한다는 것을 의미한다. 대두단백질의 주요 성분은 분자량이 18.0, 35.0, 52.5 kDa였으며, 13.6, 14.8, 15.5, 22.3, 40.0, 60.5, 72.8, 81.1 kDa인 8개의 단백질은 phytate와의 결합이 용이한 반면 18.0, 26.9, 35.0 kDa의 단백질들은 오히려 그 상대적 비중이 커서 phytate와의 결합에 상당히 resistant한 성질을 지녔다고 생각된다. pH 4.5의 경우에는 역시 18.0, 35.0, 52.5 kDa의 단백질이 주요 성분이었으며 100 mg phytate 첨가시 13개의 단백질(15.5, 23.9, 26.9, 28.8, 29.8, 31.8, 32.8, 35.0, 40.0,

**Table 1. Relative concentration of protein bands separated by SDS-PAGE for the soluble fractions of high-phytate soy protein isolate obtained at various pH and phytate levels**

| Peak number | M.W. (kDa) | % Relative concn at different pH & phytate levels |       |        |        |        |        |        |        |        |
|-------------|------------|---------------------------------------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|             |            | pH 2.0                                            |       |        | pH 4.5 |        | pH 5.5 |        | pH 8.5 |        |
|             |            | 0 mg                                              | 75 mg | 100 mg | 0 mg   | 100 mg | 0 mg   | 100 mg | 0 mg   | 100 mg |
| 1           | 81.1       | 5.6                                               | —     | —      | 4.7    | —      | 2.8    | 3.6    | 5.8    | 5.5    |
| 2           | 72.8       | 6.5                                               | —     | —      | 5.2    | —      | 2.4    | 3.9    | 6.7    | 6.4    |
| 3           | 67.3       | 4.1                                               | 2.9   | 2.1    | 2.9    | 8.6    | 2.1    | 3.1    | 3.6    | 4.0    |
| 4           | 60.5       | 1.9                                               | 5.3   | —      | 2.8    | —      | 1.5    | 1.8    | 3.4    | 4.3    |
| 5           | 52.5       | 11.3                                              | 10.6  | 16.4   | 12.1   | —      | 4.4    | 5.9    | 13.6   | 10.0   |
| 6           | 40.0       | 4.4                                               | —     | —      | 4.5    | —      | 2.1    | 3.6    | 4.8    | 6.5    |
| 7           | 35.0       | 16.0                                              | 21.9  | 13.6   | 17.5   | —      | 6.3    | 9.3    | 18.5   | 17.7   |
| 8           | 32.8       | 4.4                                               | 7.4   | 6.5    | 2.5    | —      | 1.9    | 2.4    | 3.1    | 2.2    |
| 9           | 31.8       | 4.8                                               | 8.0   | 6.6    | 2.3    | —      | 3.3    | 3.1    | 3.1    | 2.6    |
| 10          | 29.8       | 2.6                                               | 6.6   | 6.6    | 3.4    | —      | 4.3    | 2.1    | 2.8    | 2.9    |
| 11          | 28.8       | 1.8                                               | 6.1   | 6.0    | 2.3    | —      | 3.9    | 3.4    | 1.9    | 2.0    |
| 12          | 26.9       | 4.0                                               | 7.2   | 12.1   | 3.8    | —      | 2.5    | 6.0    | 1.9    | 3.4    |
| 13          | 23.9       | 4.1                                               | 7.2   | 11.6   | 9.1    | —      | 22.5   | 18.7   | 3.3    | 3.3    |
| 14          | 22.3       | 2.3                                               | —     | —      | 2.1    | 37.8   | 8.1    | 5.3    | 4.8    | 4.5    |
| 15          | 18.0       | 17.3                                              | 16.8  | 18.5   | 16.2   | 34.9   | 17.4   | 16.0   | 16.4   | 17.4   |
| 16          | 16.5       | —                                                 | —     | —      | —      | —      | —      | —      | —      | —      |
| 17          | 15.5       | 2.6                                               | —     | —      | 2.1    | —      | 3.8    | 3.5    | 3.0    | 2.6    |
| 18          | 14.8       | 2.3                                               | —     | —      | 2.4    | 10.3   | 4.0    | —      | —      | —      |
| 19          | 13.6       | 4.2                                               | —     | —      | 4.2    | 8.6    | 6.7    | 8.2    | 3.4    | 4.6    |
| Total       |            | 100.2                                             | 100.0 | 100.0  | 100.1  | 100.2  | 100.0  | 99.9   | 100.1  | 99.9   |

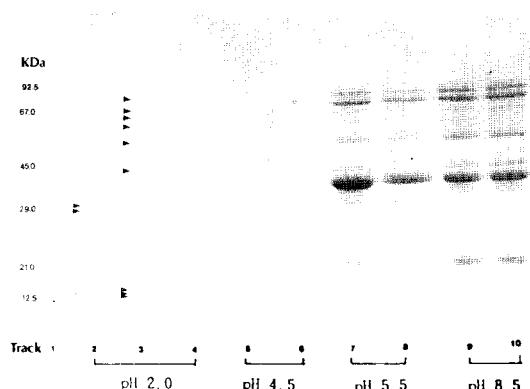
52.5, 60.5, 72.8, 81.1 kDa)이 사라졌다. 한편 pH 5.5에서는 1개의 단백질(14.8 kDa)만이 사라졌으며 pH 8.5에서는 단백질 band의 변화가 나타나지 않았다.

O'Dell & de Boland<sup>(2)</sup>는 pH 9.0에서 사용성 대두단백질과 phytate가 강하게 결합된다는 것을 전기영동에서 보여주었고 Reddy & Salunkhe<sup>(9)</sup>는 pH 8.4에서 일어난 phytate와 단백질의 결합은 등전점보다 높은 pH에서 phytate의 polyvalent 성질 때문에 Ca, Mg 등 양이온의 중재에 의하여 단백질-양이온-phytate의 3차원적 복합체를 형성하기 때문이라 하였다. 본 실험 결과 알カリ성 pH, 즉 pH 8.5에서 단백질 band의 변화가 거의 없었던 것은 사용한 SPI 제품 중에 phytate와 단백질의 결합에 필요한 만큼의 양이온이 존재하지 않았기 때문에 음이온을 띠는 phytate와 단백질의 정전기적 반발력으로 이들이 서로 결합하지 못한 것으로 사료된다.

한편 high-phytate SPI는 low-phytate SPI보다 phytate와의 결합도가 높게 나타났다. 이러한 결과는 두 가지 방법으로 제조한 SPI의 입체구조나 전하의 차이라고 생각되며 2차 전기영동 등을 통하여 더 연구되어야 할 것이다.

#### Low-phytate SPI와 phytate와의 결합 패턴

LSPI에 대한 실험에서 사용성 단백질을 전기영동한 결과는 Fig. 2, Table 2와 같다. 구성 단백질의 band 수는 모두 19개였으며 phytate 첨가시 pH 2.0에서 가장 큰



**Fig. 2. SDS-PAGE profiles of low-phytate soy protein isolate soluble at various pH levels**

Tracks 1, standard molecular weight markers; 2, 5, 7, 9, no phytate; 3, 6, 8, 10, 100 mg phytate; 4, 150 mg phytate

변화를 나타내었다. pH 2.0의 경우 단백질 1g당 100 mg phytate 첨가시 분자량 28.8, 29.8 kDa인 단백질이 phytate와 반응하여 침전됨으로써 band가 나타나지 않았으나 150 mg phytate 첨가시에는 9개의 band(13.6, 14.8, 15.5, 40.0, 52.5, 60.5, 67.3, 72.8, 81.1 kDa)가 더 사라졌다. 즉 LSPI는 HSPI와 비교해 볼 때 더 많은 phytate를 첨가해야만 침전되는 것을 알 수 있으며 total phytate

**Table 2. Relative concentration of protein bands separated by SDS-PAGE for the soluble fractions of low-phytate soy protein isolate obtained at various pH and phytate levels**

| Peak number | M.W. (kDa) | % Relative concen at different pH & phytate levels |        |        |      |        |      |        |       |
|-------------|------------|----------------------------------------------------|--------|--------|------|--------|------|--------|-------|
|             |            | pH 2.0                                             |        | pH 4.5 |      | pH 5.5 |      | pH 8.5 |       |
|             |            | 0 mg                                               | 100 mg | 150 mg | 0 mg | 100 mg | 0 mg | 100 mg | 0 mg  |
| 1           | 81.1       | 5.9                                                | 1.9    | —      | —    | —      | 2.8  | 5.2    | 5.2   |
| 2           | 72.8       | 6.2                                                | 7.1    | —      | —    | —      | 7.8  | 6.4    | 6.1   |
| 3           | 67.3       | 4.1                                                | 4.1    | —      | —    | —      | 2.7  | 4.6    | 3.1   |
| 4           | 60.5       | 4.0                                                | 4.3    | —      | —    | —      | 3.0  | 3.3    | 3.3   |
| 5           | 52.5       | 10.9                                               | 12.3   | —      | —    | —      | 7.8  | 7.9    | 8.8   |
| 6           | 40.0       | 3.9                                                | 2.9    | —      | —    | —      | 7.9  | 5.5    | 4.7   |
| 7           | 35.0       | 13.3                                               | 18.5   | 27.1   | 9.4  | 10.5   | 23.1 | 21.2   | 20.9  |
| 8           | 32.8       | 6.7                                                | 3.5    | 4.8    | —    | —      | 0.8  | 2.1    | 3.9   |
| 9           | 31.8       | 1.8                                                | 3.1    | 4.1    | 7.1  | 8.7    | 0.8  | 2.2    | 3.9   |
| 10          | 29.8       | 1.5                                                | —      | —      | 7.5  | 9.2    | 5.5  | 5.1    | 3.4   |
| 11          | 28.8       | 1.0                                                | —      | —      | 10.6 | 12.0   | 0.7  | 2.2    | 3.4   |
| 12          | 26.9       | 3.0                                                | 3.9    | 15.0   | 10.5 | 12.1   | 3.8  | 4.3    | 2.2   |
| 13          | 23.9       | 3.4                                                | 3.5    | 5.0    | —    | —      | 3.3  | 1.6    | 2.6   |
| 14          | 22.3       | 4.3                                                | 2.9    | 6.3    | 9.1  | 8.5    | 4.2  | 2.5    | 2.9   |
| 15          | 18.0       | 20.3                                               | 20.7   | 37.6   | 19.8 | 22.5   | 12.8 | 14.2   | 16.5  |
| 16          | 16.5       | —                                                  | —      | —      | 7.3  | 4.0    | 3.0  | 2.6    | 1.7   |
| 17          | 15.5       | 2.8                                                | 4.3    | —      | 7.7  | 5.4    | 2.5  | 2.5    | 2.4   |
| 18          | 14.8       | 3.5                                                | 3.0    | —      | 7.1  | 4.0    | 2.2  | 2.4    | 2.3   |
| 19          | 13.6       | 3.4                                                | 3.9    | —      | 3.8  | 2.9    | 5.2  | 4.0    | 2.9   |
| Total       |            | 100.0                                              | 99.9   | 99.9   | 99.9 | 99.8   | 99.9 | 99.8   | 100.2 |
|             |            |                                                    |        |        |      |        |      |        | 100.2 |

함량이 영향을 미치는 것으로 생각된다.

조 등<sup>(5)</sup>은 phytate 첨가량의 증가에 따른 phytate/protein 비율을 살펴보았는데 phytate가 대두 단백질과 결합되면 용해성이 상실되어 침전되므로 phytate와 단백질 사이에는 어느 정도 stoichiometric reaction이 일어나는 것으로 추정하였다. LSPI는 HSPI에 비교하면 전기영동에서 비교적 분리능이 좋은 편이었으나 역시 phytate 첨가량이 증가함에 따라 분리능은 떨어졌다. Okubo<sup>(10)</sup>에 따르면 pH 6.0, 8.0, 10.0에서 phytate와 glycinin을 혼합한 다음 gel filtration하여 살펴보았을 때 결합이 나타나지 않았으나 pH 2.0에서는 단백질이 양전하를 띠우게 되므로 phytate와 결합하여 soluble complex를 형성한다고 하였다. 즉 분리능이 떨어지는 이유는 불용성 복합체 이외에 soluble complex가 존재하기 때문에 이들이 전기영동시 단백질의 입체구조 등에 영향을 미쳐 결과적으로 분리능을 떨어뜨리는 것으로 판단된다. pH 4.5에서는 모두 11개의 band가 나타났으며 pH 5.5와 pH 8.5에서는 19개의 단백질이 나타났다. 그러나 이들 pH에서 phytate 첨가에 의한 band 수의 차이는 보이지 않았으며 주요 단백질 band의 분자량은 18.0, 35.0 kDa이었다.

위의 실험결과를 종합해 보면 LSPI와 HSPI는 모두 분자량이 13,600~81,100에 이르는 단백질로 구성되어 있으며 산성 pH에서 18.0~35.0 kDa의 단백질은 phytate 첨가의 영향을 별로 받지 않는 것으로 보아 용해도는 높으나 phytate와는 잘 결합하지 않는 특성을 지니고

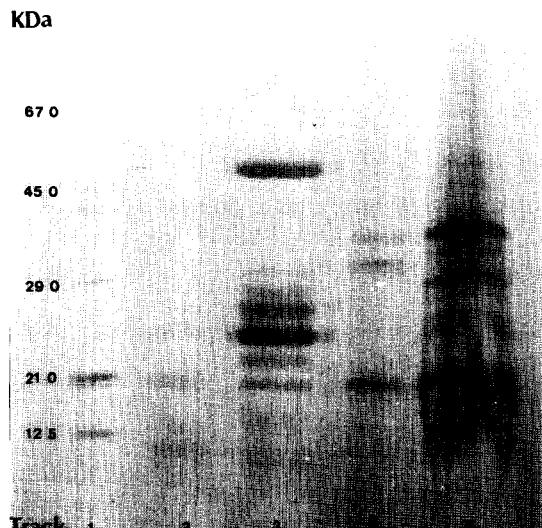


Fig. 3. SDS-PAGE profiles of albumin, globulin, gliadin, and glutelin fractions of Low-phytate soy protein isolate at pH 2.0

Track 1, standard molecular weight markers; 2, albumin; 3, globulin; 4, gliadin; 5, glutelin

있는 것으로 생각된다. 그리고 특정 pH에서 특정한 단백질 band가 없어지는 것으로 보아 phytate와 특히 잘

**Table 3. Relative concentration of protein bands separated by SDS-PAGE for the different fractions of low-phytate soy protein isolate obtained at pH 2.0**

| Peak No. | M.W. (kDa) | Albumin | Globulin | Gliadin | Glutelin |
|----------|------------|---------|----------|---------|----------|
| 1        | 81.1       | —       | —        | —       | —        |
| 2        | 72.8       | —       | —        | —       | 2.2      |
| 3        | 67.3       | —       | —        | —       | —        |
| 4        | 60.5       | —       | —        | —       | 2.4      |
| 5        | 52.5       | —       | 29.5     | —       | 3.0      |
| 6        | 40.0       | —       | —        | —       | 4.3      |
| 7        | 35.0       | —       | —        | 20.5    | 18.7     |
| 8        | 32.8       | —       | —        | 35.7    | —        |
| 9        | 31.8       | —       | 6.7      | —       | 9.6      |
| 10       | 29.8       | —       | —        | —       | —        |
| 11       | 28.8       | 8.6     | 6.4      | —       | 15.0     |
| 12       | 26.9       | 12.4    | 12.3     | —       | 4.3      |
| 13       | 23.9       | 15.2    | 18.2     | —       | 5.6      |
| 14       | 22.3       | 5.4     | 6.7      | —       | 6.7      |
| 15       | 18.0       | 34.1    | 6.8      | 43.8    | 15.6     |
| 16       | 16.5       | —       | 2.5      | —       | 7.9      |
| 17       | 15.5       | 5.5     | —        | —       | 4.7      |
| 18       | 14.8       | 4.2     | 2.2      | —       | —        |
| 19       | 13.6       | 14.6    | 8.5      | —       | —        |
| Total    | 100.0      | 99.8    | 100.0    | 100.0   |          |

결합하는 fraction이 존재할 것으로 생각된다.

#### 단백질 fraction별 phytate 결합

분리 대두단백중 phytate와 반응하여 침전되는 것이 어느 단백질 fraction인가 알아보기 위하여 각 용매로 분별한 albumin, globulin, gliadin, glutelin을 pH 2.0에서 전기영동 결과는 Fig. 3, Table 3과 같다.

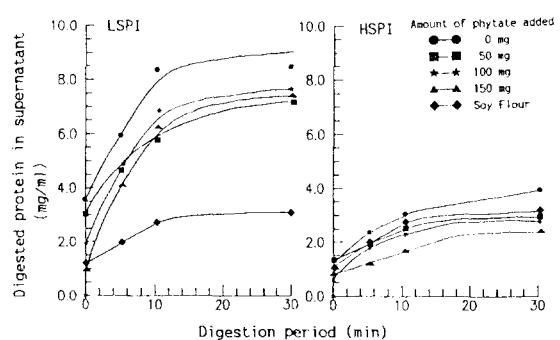
Albumin, globulin, gliadin, glutelin은 전기영동상으로 보아 각각 8개, 10개, 3개, 13개의 band로 나뉘어졌다. Albumin의 경우 분자량 18 kDa인 단백질을 비롯하여 비교적 분자량이 작은 단백질이 주종을 이루었으며, globulin 분획은 분자량 52.5, 23.9 kDa이 주요 단백질이었다. Gliadin은 3개의 band로 나타났는데 이들은 모두 phytate에 의해 침전되지 않는 성분이었으며 glutelin은 설명하지 않은 band들이 여러개 나타났으며 분자량은 중간에 속한 것이 많았다.

본 실험 결과(Table 3)를 이용하여 각 단백질 fraction에서 phytate와 결합하여 침전되는 단백질 band들의 함량 비율을 계산한 결과는 Table 4와 같다. Gliadin 성분은 phytate와 결합하지 않지만 그 외 fraction들은 약 1/2이 결합하는 것으로 나타났다.

용해도에 따라 나뉘는 albumin, globulin, gliadin, glutelin fraction에 따른 phytate의 결합 친화도에 대해서는 서로 다른 주장들이 나오고 있다. 예컨대 Bovine serum albumin은 casein보다 phytate와 더 적게 결합한다는 보고<sup>(11)</sup>와 lactoalbumin은 가장 적게 결합되고 zein(prolamine)

**Table 4. Relative amount of phytate-binding proteins in different fractions of low-phytate soy protein isolate as determined by SDS-PAGE**

| Protein fraction | Number of bound bands/total bands | Relative amount (%) |
|------------------|-----------------------------------|---------------------|
| Albumin          | 4/ 8                              | 32.9                |
| Globulin         | 5/10                              | 59.1                |
| Gliadin          | 0/ 3                              | 0                   |
| Glutelin         | 7/13                              | 39.5                |



**Fig. 4. Effect of phytate on the pepsin digestion of low-phytate and, high-phytate soy protein isolates**

min)은 가장 많이 결합한다는 보고<sup>(6)</sup>, 백미의 glutelin도 phytate와 선택적으로 결합한다는 보고<sup>(12)</sup> 등이 그것이다. 본 실험에서는 오히려 gliadin은 모두 침전되지 않는 것으로 나타났고 glutelin, albumin, globulin의 순서로 phytate와의 침전 경향이 큰 것으로 나타났다. 이는 추출용매와 식품 시료의 차이에서 비롯된 것이라 생각되나 앞으로 각 분획별로 phytate 침가 및 전기영동 실험을 통하여 규명되어야 할 것이다.

#### 대두 단백질의 소화율에 미치는 phytate의 영향

Phytate 무침가시 pepsin에 의한 LSPI, HSPI, soy flour(SF)의 소화율을 비교하면 Fig. 4와 같이 LSPI가 HSPI보다 현저히 높았고 소화시간이 길어질수록 그 차가 더 크게 나타났다. SF와 비교하면 LSPI는 소화기간이 길어질수록 그 차가 점점 커졌으며 HSPI는 SF와 비슷하였다. Phytate 첨가시에는 LSPI, HSPI의 소화율이 감소되었다. 조 등<sup>(5)</sup>은 phytate 무침가시 LSPI의 소화율이 HSPI의 경우보다 평균 7.6% 높았고 phytate 첨가시 LSPI, HSPI 모두 5~10%의 소화율 감소를 보였다고 하였으며 Ritter 등<sup>(13)</sup>은 phytate와 phenolics의 함량을 감소시킨 분리 대두단백은 정제되지 않은 것보다 소화가 더 잘되었고 0.07% phytate를 함유한 11S 대두단백이 1.41% phytate를 함유한 7S 대두 단백질보다 소화가 더 잘되었다고 보고한 바 있다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 단백질 소화에 미치는 phytate의 저해적 영향은 대두 단백질과 phytate가 결합하여 난소화성 복합체를 이루어

pepsin의 접근이 억제되었기 때문이며 또한 효소 단백질 자체가 phytate와 직접 반응하여 효소활성이 감소되므로 소화작용이 억제된 것으로 추측할 수 있다.

## 요 약

Phytate 함량이 다른 두 분리 대두단백(HSPI : high-phytate soy protein isolate, LSPI : low-phytate soy protein isolate)을 제조하여 pH 및 phytate 첨가량이 그들의 용해도와 소화율에 미치는 영향을 알아보았고 분리 대두단백을 용해도에 따라 분별한 후 그들의 특성을 전기영동을 통하여 알아보았다. LSPI와 HSPI 모두 분자량이 13.6~81.1 kDa에 이르는 단백질 성분으로 이루어져 있으며 산성 pH에서 18.0~35.0 kDa의 단백질은 phytate와 잘 결합하지 않는 특성을 가졌다. LSPI를 용해도에 따라 분별하였을 때 gliadin을 구성하는 단백질은 pH 2에서 phytate와 쉽게 결합하지 않았다. 대두 단백질은 pepsin 소화율은 phytate 첨가량이 증가할수록 크게 저하되었다.

## 감사의 글

이 논문은 1991년도 교육부 지원 학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. 김우정, 김나미, 성현순 : 밀아에 의한 콩우유의 phytic acid의 함량 변화. 한국식품과학회지, 16, 358(1984)
2. O'Dell, B.L. and de Boland, A.: Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oil-

- seed meals. *J. Agric. Food Chem.*, 24, 804(1976)
3. 안빈, 양자범 : 처리방법에 따른 종자중 phytic acid의 함량 변화. 한국식품과학회지, 17, 516(1985)
4. 배영희, 윤선 : 대두의 발효가 흰쥐의 단백질 및 무기질의 생체이용률에 미치는 영향. 한국영양학회지, 18, 139(1985)
5. 조희환, 윤재영, 이서래 : 분리 대두단백의 용해도와 소화율에 미치는 phytate의 영향. 한국식품과학회지, 23, 286(1991)
6. Carnovale, E., Lugaro, E. and Lombardi-boccia, G.: Phytic acid in faba bean and pea: Effect on protein availability. *Cereal Chem.*, 65, 114(1988)
7. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 256(1951)
8. 조희경, 윤재영, 이서래 : 분리 유채단백의 전기영동배탄에 미치는 phytate의 영향. 한국식품과학회지, 24, 284(1992)
9. Reddy, N.R. and Salunkhe, D.K.: Interactions between phytate, and minerals in whey fractions of black gram. *J. Food Sci.*, 46, 564(1981)
10. Okubo, K., Waldrop, A.B., Iacobucci, G.A. and Myers, D.V.: Preparation of low-phytate soybean protein isolate and concentrate by ultrafiltration. *Cereal Chem.*, 52, 263(1975)
11. Knuckles, B.E., Kuzmicky, D.D. and Betschart, A.A.: Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on *in vitro* protein digestibility. *J. Food Sci.*, 50, 1080(1985)
12. Juliano, B.O., Hussain, A., Resurreccion, A.P. and Bushuk, W.: Interference of phytate with extraction of protein from brown rice using 5 M acetic acid. *Cereal Chem.*, 68, 317(1991)
13. Ritter, M.A., Morr, C.V. and Thomas, R.L.: *In vitro* digestibility of phytate-reduced and phenolics-reduced soy protein isolates. *J. Food Sci.*, 52, 325(1987)

(1993년 5월 27일 접수)