

Bacillus sp. CW-1121이 생성하는 효소를 처리한 참깨박 단백질의 기능성

최 청* · 천성숙 · 조영제

영남대학교 식품가공학과

초록 : 참깨박에 함유되어 있는 불용성 형태의 단백질을 *Bacillus* sp. CW-1121이 생성하는 효소를 이용하여 가용성 형태의 단백질로 용출시키기 위하여 효소를 작용시켰다. 효소 처리 참깨박 단백질의 기포 형성력은 염용성 단백질이 수용성 단백질에 비해 현저히 낮았다. 기포 안정성은 염용성 단백질이 10분 이내 크게 감소된 반면 수용성 단백질의 기포 안정성은 30분 까지 완만하게 감소하였다. 유화력은 각 단백질의 등전점 부근에서 가장 낮았으며, 염용성 단백질이 수용성 단백질에 비해 낮았다. 유화 안정성은 유화력과 비슷한 크기로 나타나 80°C에서의 30분 가열에서도 이들 단백질이 열에 안정함을 보였다. 유지 및 수분 흡착력은 염용성 단백질이 수용성 단백질 보다 높은 값을 나타내었다(1993년 3월 12일 접수, 1993년 4월 19일 수리).

세계 인구의 빠른 증가는 장래에 식량부족을 유발하게 될 것으로 예상된다. 이러한 문제를 해결하는 방법의 하나로 미개발자원식물, 미생물, 해양에서 식용단백질을 얻기 위해 단세포 단백질, 어류, 식물의 잎, 콩, 면화씨, 평지씨 등에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다. 단백질이 식품에 이용되기 위해서는 만족할 만한 영양가를 가져야 하고 풍미, 색 및 조직성이 좋아야 하며 또한 용해도, 유화성, 점도, 겔 형성, 열 안정성, 유지 및 수분흡착력 등 기능성이 좋아야 한다. 이들 단백질의 기능성에 영향을 미치는 인자들은 단백질 자체의 물리 화학적 성질 즉 아미노산 종류, 분자의 크기와 형태 등의 구조에 의한 내적인 요소에 일차적으로 영향을 받을 뿐 아니라 pH, 이온강도, 점도 등의 매우 복잡한 외적 인자에 영향을 받는다고 알려져 있다.¹⁻⁸⁾ 종실 단백질은 종류별로 각 기능특성이 달라 단백질을 변형시켜 기능특성을 개선하여 식품에의 이용성을 증가시키려는 연구가 많이 시도되고 있다.^{9,10)} 이러한 개선방법 중 현실적으로 적용가능성이 큰 방법으로 단백질에 단백질 가수분해 효소를 처리시켜 단백질의 기능성을 개량하기 위해 변형 단백질을 제조하여 그 기능성을 이용하는 연구가 시도되었다.^{11,12)} 식물성 단백질 원료로는 대두가 가장 유망하나 우리나라에서는 그 생산량이 적어 이용하기 어려우며, 착유 후 부산물로 얻어지는 참깨박에는 50% 내외의 질이

우수한 높은 함량의 단백질이 포함되어 있으며¹³⁻¹⁵⁾ 이를 식용화 할 경우 단백질자원으로 주목시 될 것이며 폐자원 이용면에서 의의가 클 것이다. 그러나 다른 유량종자박과는 달리 참깨는 볶은 후에 착유하기 때문에 단백질의 변성과 착색으로 인해 현재 사료 또는 비료로서만 이용되고 있으며 이들 단백질의 기능성에 대하여는 별로 연구되지 않은 실정이다.

본 연구에서는 *Bacillus* sp. CW-1121이 생성하는 효소를 이용하여 참깨박의 불용성 단백질을 분해 추출하고 분리단백질을 제조하여 그들의 용해도, 유화력, 기포성, 수분 및 유지 흡착성 등의 기능성을 비교 검토하여 참깨박 단백질을 활용하기 위한 기초 자료로 이용하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료조제

본 실험에 사용한 참깨박은 1991년 10월에 시중에서 구입한 참깨(*Sesamum indicum* L. white)를 세척한 후 영남대학교 식품가공학과 가공공장에서 볶은 후 압착법으로 착유한 다음 부산물인 참깨박을 40 mesh로 분쇄하여 20시간 ethyl ether로 탈지한 후 4°C의 저온실에 보관하면서 사용하였다. 이때 일반성분은 A.O.A.C.법¹⁶⁾에

Key words : Functional property, sesame protein, *Bacillus* sp. CW-1121
Corresponding author : C. Choi

준하여 실시한 결과 수분 6.03%, 조단백질 32.5%, 조지방 2.95%, 조섬유 24.9%, 회분 14.6%, 가용성무질소물 19.02%였다.

사용균주

균주는 영남대학교 농축산대학 식품가공학과에 보관 중인 *Bacillus* sp. CW-1121(이하 BCW)를 사용하였다.

질소화합물 정량

아미노태 질소는 Formol 적정법, 암모니아태 질소는 Folin법으로 각각 측정하였다.¹⁷⁾

효소액 제조

이 등¹⁸⁾의 보고에 의한 BCW의 효소생성 최적 조건에서, 참깨박 1 kg을 물을 충분히 가하여 3시간 방치한 후 물을 뺀 것을 15 psi에서 40분 동안 가압증자하여 식히고 여기에 T.G.Y. media로 37°C의 incubator에서 30시간 배양한 starter를 2 ml 접종하여 37°C로 유지되는 발효실에서 배양하고, 12시간 간격으로 참깨박 분해 효소의 활성도를 측정하였다. 효소액은 배양한 BCW 50 g을 삼각 flask에 넣고 증류수 400 ml를 가한 후 5분 정도 진탕하고 실온에서 4시간 정치, 효소를 침출하여 이것을 Toyo filter paper(No. 2)로 여과하여 사용하였다.

단백질 분리, 제조 및 정량

전보¹⁹⁾에서 보고한 바와 같이 최적 효소생산 조건에서 BCW가 생산하는 효소처리에 의하여 생성된 참깨박의 단백질을 균질화 시킨 다음 Bietz분류법²⁰⁾에 따라 Fig. 1에서와 같이 수용성 단백질과 염용성 단백질을 분리하고,

분리한 단백질용액에 70% 황산암모늄을 가해 단백질을 침전시키고 원심분리하여 회수하였으며, 회수된 단백질은 증류수로 48시간 동안 투석하고 동결건조 시켜 단백질 시료로 하였다. 단백질의 정량은 Lowry 등²¹⁾의 방법에 의하여 측정하였으며 단백질 값은 bovine serum albumin을 사용한 표준곡선에 의하여 환산하였다.

효소 활성 측정

효소 활성 측정은 Anson-秋源변법²²⁻²⁴⁾에 의하여 실시하였으며, 효소 활성은 효소액 1 ml가 1분간에 1 µg의 tyrosine을 생성하는 것을 1 unit로 정하였다.

기포형성력 및 안정성

기포형성력은 Sathe와 Salunkhe²⁵⁾의 방법을 이용하였다. 즉, 시료 0.5 g에 증류수 및 NaCl 수용액 50 ml씩을 가하여 눈금 실린더에 취하고 pH를 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 및 10.0으로 조절한 후 homogenizer로 300 rpm에서 30초간 기포를 형성 시켰다. 기포형성력은 생성된 기포 부피(ml)로 나타내었으며, 안정성은 방치시간 (0, 10, 30, 60, 120 분)에 따른 기포 부피 변화(ml)로 나타내었다.

유화력 및 유화안정성

유화력은 Wang과 Kinsella 등²⁶⁾의 방법으로 측정하였다. 즉, 단백질 0.7 g에 증류수 및 NaCl 수용액 10 ml씩을 각각 가하여 vortex로 분산시키고 pH를 2~10까지 조절한 다음 여기에 corn oil 10 ml를 첨가하여 waring blender 20,000 rpm에서 1분간 분산시켰다. 이때 형성된 emulsion은 두개의 centrifuge tube (15 ml)에 나누어 넣고, 원심분리하여 유화력을 측정하였다.

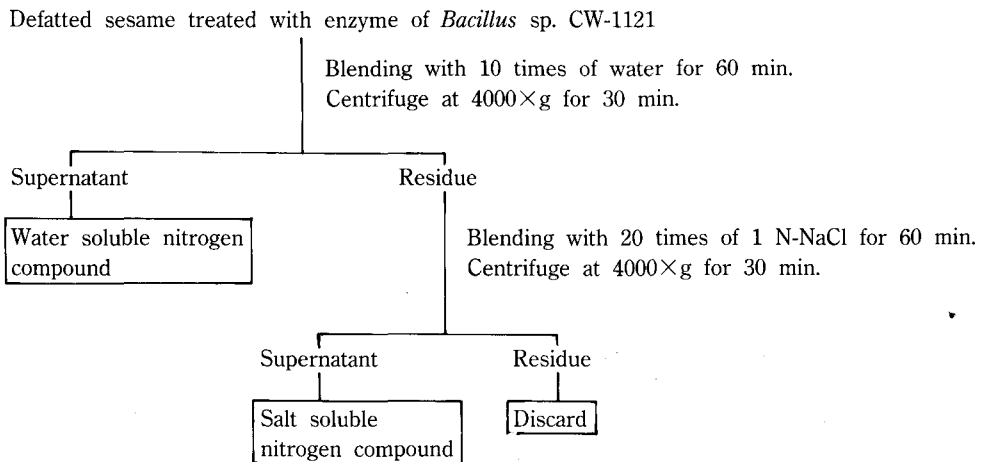


Fig. 1. Flow diagram for preparation of protein isolate from defatted sesame with enzyme of *Bacillus* sp CW-1121

$$\text{유화력(\%)} = \frac{\text{유화된 층의 높이}}{\text{시험관 내 총내용물의 높이}} \times 100$$

유화안정성은 유화액을 80°C의 물중탕에서 30분간 가열 후, 15°C로 냉각하여 원심분리한 다음 유화력측정과 동일한 방법으로 측정하였다.

$$\text{유화안정성(\%)} = \frac{\text{가열후 유화된 층의 높이}}{\text{시험관 내 총내용물의 높이}} \times 100$$

유지 및 수분 흡착력 측정

유지 및 수분 흡착력 측정은 Sathe와 Salunkhe²⁵⁾의 방법에 의하여 1g의 시료에 증류수 또는 corn oil 10 ml를 각각 가하여 vortex로 잘 섞고 실온에서 30분간 정지한 다음 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액의 부피를 10 ml 눈금 실린더를 사용하여 측정하였다. 흡착력은 1g의 시료에 흡착된 증류수나 대두유의 부피를 ml수로 나타내었다.

결과 및 고찰

질소화합물의 변화

이 등¹⁸⁾이 보고한 효소생성 최적조건에서 BCW가 생성하는 효소(4.4 U/ml)를 이용하여 참깨박의 질소화합물 변화를 살펴본 결과 Table 1과 같이 암모니아태 질소는 배양 6일째까지 0.056%에서 0.036%로 감소하였으며 아미노태 질소는 0.12 mg/g에서 1.33 mg/g으로 증가 하였다. 이는 생성된 단백질 분해효소에 의한 작용을 받아 저분자의 단백질의 생산이 증가한 것으로 추측되었다. 또한 수용성 단백질과 염용성 단백질은 효소 처리구와

대조구간 격차가 시간이 경과할수록 점차 커짐을 알 수 있었다.

효소 처리 참깨박 단백질의 기능성

1) 기포 형성력 및 안정성

효소 처리 참깨박 단백질의 기포 형성력을 측정한 결과는 Table 2, 3과 같다. 전보¹⁹⁾에서 보고한 효소처리 참깨박 단백질의 등전점 부근에서 기포형성력이 최소값을 나타냈으며 수용성 단백질의 기포력은 현저히 높게 나타났으나 염용성은 낮았다. 또한 기포 안정성은 수용성 단백질의 경우 30분 방치시, 염용성 단백질보다 안정하였다. 이는 염용성 단백질의 표면활성이 수용성 단백질에 비해 표면장력을 충분히 낮추어 줄만큼 강하지 못해 액체의 변형을 어렵게 해주고, 표면적을 적게 해주어 기포 형성력이 낮게 나타난다고 생각된다. Eldridge 등²⁰⁾도 가수분해 시키지 않은 대두단백질의 기포형성력에

Table 2. Foaming capacity of water soluble protein from defatted sesame meal with enzyme of *Bacillus* sp. CW-1121

pH	Foaming capacity(ml)				
	A	B	C	D	E
2	88	58	27	10	5
4	77	44	13	6.5	5
6	77	53	15.5	6.5	4
8	101	85	52.5	8	5.5
10	82	72	44	9	5.5

Standing time: A, 0 min; B, 10 min; C, 30; D, 60 min; E, 120 min

Table 1. Change of nitrogen compounds during incubation at 37°C of defatted sesame meal with enzyme of *Bacillus* sp. CW-1121

	Incubation Time (Day)													
	0		1		2		3		4		5		6	
	NE	E	NE	E	NE	E	NE	E	NE	E	NE	E	NE	E
Extracted crude protein(%)	20.67	20.67	21.47	29.92	23.33	40.43	23.76	51.36	25.02	57.41	25.54	53.06	27.67	54.50
Amino nitrogen(mg/g)	0.12	0.12	0.23	0.47	0.31	0.64	0.38	0.96	0.39	1.10	0.43	1.21	0.46	1.33
Ammonia nitrogen(%)	0.056	0.056	0.063	0.052	0.076	0.047	0.084	0.040	0.087	0.038	0.093	0.039	0.097	0.036
WSP(mg/g)	36.41	36.41	37.16	67.05	38.32	87.51	39.10	99.26	39.45	113.42	39.79	115.89	40.47	117.99
SSP(mg/g)	69.82	69.82	71.02	80.69	72.20	84.35	72.63	94.89	72.91	100.70	73.48	106.29	74.47	109.51

WSP, Water soluble protein; SSP, Salt soluble protein
NE, No enzyme treatment; E, Enzyme treatment

대한 pH 영향에서 기포 팽창력과 안정성은 단백질 용해도에 좌우되며 등전점 부근에서 가장 낮다고 하였다. Kinsella²⁸⁾는 다량의 불용성 단백질이 기포 형성력에 영향을 미칠 수 있다고 추측하였으며 기포형성 동안 단백질분자는 air-water interface에 흡착되고 air droplet를 안정시키는 막을 형성하려고 상호작용을 하고 이때 가용성 단백질만이 기포형성에 관여할 수 있기 때문에 가용성 단백질의 농도가 중요하다고 보고 하였다.

2)유화력 측정

효소 처리한 참깨박 단백질의 유화력을 pH에 따라서 측정된 결과는 Table 4와 같다. 단백질의 유화력은 낮은 pH에서 약간 높게 나타났고 등전점 부근에서 가장 낮았으며 알칼리성으로 갈수록 약간 감소하였고 pH에 따른 변화폭은 작았다. 수용성 참깨 단백질은 pH 2.0에서 약 87%로 가장 높은 유화력을 나타내었다. 염용성 단백질은 수용성 단백질보다 유화력이 현저히 낮았으며 pH간 격차는 거의 없는 편이었다. 단백질의 유화성은 많은 요인 즉, 기름의 첨가속도, 온도, pH, 단백질의 형태, 용해도 및 농도, 사용된 기름의 종류 그리고 수분함량 등에 의해서 영향을 받는다고 알려져 있다.²⁹⁾ Dench 등³⁰⁾은 pH 7.0으로 조절된 참깨 분리단백질의 유화력은 50~60%의

Table 3. Foaming capacity of salt soluble protein from defatted sesame meal with enzyme of *Bacillus* sp. CW-1121

pH	Foaming capacity(ml)				
	A	B	C	D	E
2	11	3	2	2	1.5
4	13.5	4.5	3	2.5	2
6	14	5	3	2.5	2
8	14.5	7	3	2	2
10	16.5	9	3.5	3	2

Standing time: A, 0 min; B, 10 min; C, 30 min; D, 60 min; E, 120 min

Table 4. Emulsion capacity of protein from defatted sesame meal with enzyme of *Bacillus* sp. CW-1121

pH	Emulsion activity(%)	
	Water soluble protein	Salt soluble protein
2	86.49	50.50
4	80.57	48.45
6	83.06	50.52
8	80.21	51.55
10	78.92	51.08

범위라고 보고하였으며 본 시료의 염용성 단백질과는 유사하였으나 수용성 단백질은 80% 이상의 유화력을 나타내었다.

3)유화 안정성

효소 처리 참깨박 단백질의 유화안정성을 살펴보기 위하여 80°C에서 30분간 가열하고 15°C로 식힌 다음 원심분리하여 유화력을 측정된 결과 Table 5와 같이 유화력은 59~70% 사이로 각 pH 별로 큰 차이가 없었으며 수용성과 염용성 단백질간의 차이도 거의 없었다. 김과 신³¹⁾은 acyl화한 분리 참깨박 단백질의 유화안정성이 37~51%였다고 보고하였으나 본 효소 처리 참깨박의 경우 그보다도 다소 높았다. 이와같은 결과는 효소의 분해작용에 의해 기름과 물 경계면에서 유화를 형성하는데 유용한 켈타이드수와 극성기의 증가^{13,32)}에 기인하는 것으로 판단되었다. 효소 처리된 단백질의 용해성이 증가하여 지방구 주위에 층을 형성하고 aqueous phase와 결합이 더 용이하게 되어 수용성 단백질이 fat globule과의 결합이 더 단단해져 유화안정성이 높은 것으로 추측된다. 이와같이 유화력과 유화 안정성이 높은 것으로 보아 육제품의 결착제로서의 이용도도 상당히 높은 것으로 판단하였다.

4)유지 및 수분 흡착력

효소 처리 참깨박 단백질의 유지 및 수분 흡착력을 측정된 결과는 Table 6과 같다. 유지 흡착력을 보면 수용성 단백질이 5.7 ml/g, 염용성 단백질이 7.2 ml/g이었으며 박 등³³⁾의 탈지 참깨 단백질의 유지 흡착력 3.3 ml/g보다 훨씬 높았다. 이는 효소 처리 참깨박 단백질이

Table 5. Emulsion stability of protein from defatted sesame meal with enzyme of *Bacillus* sp. CW-1121

pH	Emulsion activity(%)	
	Water soluble protein	Salt soluble protein
2	69.57	65.63
4	67.19	58.85
6	69.69	66.33
8	68.13	66.66
10	65.17	67.01

Table 6. Oil and water absorption capacity of protein from defatted sesame meal with enzyme of *Bacillus* sp. CW-1121

	Absorption volume(ml/g)	
	Water soluble protein	Salt soluble protein
Oil	5.7	7.2
Water	6.3	7.7

입자의 부피가 증가된 fluffy structure를 가지고 있기 때문에 추측하였다. 수분 흡착력은 염용성 단백질이 수용성 단백질보다 흡착 능력이 뛰어났다. 단백질의 수분 흡착력에 영향을 미치는 인자는 pH, ion농도, 단백질 종류, 아미노산 조성, 탄수화물의 존재 등이며, 또한 고도의 가용성 단백질은 수분 흡착력이 나빠진다고 Hermansson 등³⁴⁾이 보고하였으며 본 실험의 결과와 유사하였다.

감사의 글

이 연구는 1992년도 한국과학재단의 연구비 지원에 의한 결과의 일부로 이에 감사드립니다. 과제 번호 : 921-1500-021-1

참 고 문 헌

1. Metolfe, L. D. and Schmitz, A. A.: Anal. Chem., 33 : 363(1961)
2. Dench, J. E., N. Rivas and Cayagill J. C.: Sci Food Agric. 32 : 357(1981)
3. 최 청, 조영제, 손규목, 임성일, 이우제 : 영남대학교 자원문제연구소논문집, 81 : 85(1989)
4. A. O. A. C.: Official Methods of Analysis, 14th ed. (1984)
5. Joslyn, M. A.: Methods of Food Analysis, 2nd ed. Academic Press, N. Y.
6. 정태석 : 과연회보, 1 : 19(1956)
7. Wolf W. J. and Briggs, D. R.: Arch. Biochem. Biophys., 76 : 337(1959)
8. Catsimpoalas, N., Campbell, T. G. and Meter, E. W.: Arch. Biochem. Biophys., 131 : 577
9. Pucki, G.: Cereal Chem., 52 : 654(1975)
10. Nissen, J. A. and Olsen, H. S.: ADS Sym. Series, 92 : 125(1979)
11. Sekul, A. A., Vinnett, C. H. and Ory, R. L.: J. Agric. Food Chem., 24 : 855(1978)
12. Kimball, M. E., Hesien, D. S. T. and Rha, C.: J. Agric. Food chem., 29 : 872(1981)
13. 신효선 : 한국식품과학회지, 5 : 113(1973)
14. 김준평, 심우만, 김종익 : 한국농화학회지, 23 : 14(1980)
15. Lyon, C. K.: Sesame: J. Am. Oil. Chem. Soc., 49 : 245(1972)
16. A. O. A. C.: Official Method of Analysis, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.(1980)
17. 유주현, 양한철, 정동효, 양 용 : 식품공학실험, p. 660, 탐구당(1988)
18. 이우제, 손규목, 최 청 : 한국영양식량학회, 20 : 387 (1991)
19. 최 청, 천성숙, 조영제 : 한국농화학회지, 36(1993)
20. Bietz, J. A.: Cereal Fiids World, 24 : 199(1979)
21. Lowry, C. H. and Rosebrongh, N. J.: J. Biol. Chem., 193 : 265(1951)
22. Anson, M. L.: J. Gen. Physiol., 22 : 79(1938)
23. 秋源文二 : 赤堀編, 醇赤研究法, 第二卷, p. 240, 朝食書占, 日本(1956)
24. 秋源文二 : 江上編, 標準生化學, 實驗書, p. 207, 文光堂, 日本(1953)
25. Sathe, S. K. and Salunkhe, D. K.: J. Food Sci., 46 : 82(1981)
26. Wang, J. C. and Kinsella, J. E.: J. Food Sci., 41 ; 286 (1976)
27. Eldridge, A. C., Hall, P. K. and Wolf, W. J.: Food Technol., 17 : 1592(1963)
28. Kinsella, J. E.: A Survery Crit. Rev. Food Nutr., 7(3) : 219(1976)
29. Saffle, R. L.: Adv. Food Sci., 16 : 105(1968)
30. Dench, J. E., Rivas, N. and Caygill, R. J. C.: J. Sci. Food Agric., 32 : 557(1981)
31. 김성렬, 심현숙 : 한국식품과학회지, 20 : 405(1988)
32. Morr, C. V.: ACS Sym. series 147 : 201(1981)
33. 박현숙, 안 빈, 양차범 : 한국식품과학회지, 22(3) : 350(1990)
34. Hermansson, A. M., Sivik, B. and Skuoldebrand, C.: Lebensm. Wiss. Technol., 4 : 20(1971)

Functional properties of protein from defatted sesame meal using the enzyme from *Bacillus* sp. CW-1121

C. Choi, S. S. Chun and Y. J. Cho (Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyongsan, 712-749, Korea)

Abstract : To extract insoluble proteins from sesame meal residue by microorganism, the sesame meal residue was treated with crude enzyme solution of *Bacillus* sp. CW-1121. The foaming capacity of salt soluble protein was quite lower than that of water soluble protein and the foaming stability of salt soluble protein decreased abruptly in 10 min., while it sustained for 30 min in case of water soluble protein. Emulsion capacities of all the protein fractions showed minimum value near isoelectric point of protein and salt soluble protein had lower emulsion capacities than that of water soluble protein. The emulsion stability of the protein was relatively stable for 30 min at 80°C. Oil and water absorption capacities of salt soluble protein were higher than those of water soluble protein.