KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 26, No. 5, pp. 603~608(1994)

대두의 조리 가공에 따른 Phytate 함량 및 단백질 소화율

김희승 · 윤재영* · 이서래
이화여자대학교 식품영양학과, *인산전문대학 식품영양과

Effect of Cooking and Processing on the Phytate Content and Protein Digestibility of Soybean

Hee-Seung Kim, Jae-Young Yoon* and Su-Rae Lee
Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University, Seoul
**Department of Foods and Nutrition, Insan Junior College, Incheon*

Abstract

This study was undertaken to find out the effect of phytate on the protein digestibility of various soybean foods, including soy milk, bean curd, curd residue, cheongkukjang, soy sauce, and soy paste. The phytate content of soybean was 2.4%, which decreased to 0.2%, 0.7%, and 0.4% in soy milk, bean curd, and curd residue, respectively, and to 0.2% and 1.0% in soy sauce and soy paste, respectively. The phytate/protein ratio was not correlated with protein digestibility by pepsin whereas the ratio was highly correlated with pancreatin digestibility ($p<0.01$, $r=-0.73$). According to SDS-PAGE for the soluble protein fractions, soaked bean showed an alteration in soluble components and bean curd residue exihibited newer low molecular weight bands. Fermented soy products showed no protein band, likely due to degradation.

Key words: soybean processing, phytate content, protein digestibility

서 론

두류는 우리나라에서 단백질과 지방질의 공급원으로 중요한 역활을 해왔으며 동물성 식품의 소비량 증가에도 불구하고 그의 소비량은 꾸준히 증가되고 있다. 두류 중에서도 대두는 양적으로나 용도면에서 중요하나 그중에는 영양 저해 인자인 phytate가 존재한다. Phytate는 중성-알칼리성 pH에서 강한 (−)전하를 띠어 양이온이나 단백질과 불용성인 복합체를 형성하므로 생리적 조건하에서 이용되지 못한다[1].

최근 외국에서는 phytate가 단백 소화에 미치는 영향에 대한 연구를 다각도로 시도하고 있는데 위(胃)에서 작용하는 pepsin에 의한 대두 단백질의 소화 연구[2]와 Hsu 등의 multienzyme법을 사용한 소화 연구[3,4]는 있어도 십이지장에서 작용하는 pancreatin에 의한 대두 단백의 소화 연구는 별로 보고되지 않은 상태이다. 더우기 비료를 주어 재배한 sorghum에서는 phytate 함량이 증가하였다는 보고[5]로 보아, 우리나라의 두류에는 phytate 함량이 높을 것으로 추정된다. 또한 대두식품의 제조과정에 따라 phytate의 함량 및 phytate가 소화율에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 찾아볼 수 없다.

따라서 본 연구에서는 대두의 조리, 가공 단계에 따른 phytate 함량과 단백질 소화율, 용해성 등을 분석하여 phytate가 단백질 소화율에 미치는 영향을 알아보았으며 전기영동을 통하여 대두 가공에 따른 단백질 밴드의 변화 양상을 살펴보았다.

Corresponding author: Su-Rae Lee, Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University, Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea

재료 및 방법

시약

Bovine serum albumin, pepsin(porcine stomach mucosa, 1 : 60,000), pancreatin(p1750, activity equivalent to 4×U.S.P.)과 전기영동시 사용한 시약들은 미국 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다.

식품시료

콩(대두) : 신촌시장에서 황색콩을 구입하여 낱알이 고른 것을 선별한 후 대두 가공식품들과 발효식품을 제조하는데 사용하였다. 껍질벗긴콩은 황색콩의 껍질을 그대로 면도칼로 벗겼고 불린콩은 황색콩을 15시간 수침시킨 후 손으로 껍질을 벗겼다.

두유 : 10~15℃에서 15시간 물에 담근 콩을 5분간 blender로 마쇄하였고 원료콩의 10배가 되도록 물을 가하여 100℃에서 10분간 끓인 다음 여과포에 넣고 압착하여

여과액을 얻었다.

두부: 두유를 70℃로 유지하고 5% $CaSO_4$ 현탁액을 한방울씩 첨가하면서 저어주었다. 대두 단백이 응고되기 시작하면 두부 성형틀(가로, 세로 각각 18 cm, 높이 7 cm)에 옮겨 뚜껑을 덮고 600 g의 추를 얹어 하룻밤 방치하였다. 두부형이 완성되면 이것을 이등분하여 물에 30분간 담근후 물을 한번 바꿔주었다.

비지: 두유를 만들 때 두유를 얻고 남은 고형분을 시료로 하였다.

발효 식품: 청국장, 메주, 간장, 된장(I)을 실험실에서 제조하였으며 가정에서 재래적으로 만든 것은 된장(II)로 하였다. 청국장은 콩을 15시간 물에 담근 후 물을 빼주고 충분히 삶은 다음 50 g씩 100 ml 비이커에 각각 담아 가아제를 덮고 45℃의 incubator에 보관하였다. 이틀후 흰실의 생성을 확인하고 시료로 하였다. 메주, 간장, 된장(I)은 전통적인 방법으로 메주(약 12×12×15 cm 크기)를 만들어 실온에서 3개월간 띄운 다음 이틀간 햇볕에서 건조시킨 400 g 짜리 세덩어리를 취하여 물 500 ml와 정제염 75 g을 넣었다. 용기에 망을 씌우고 볕이 날 때마다 뚜껑을 열어주면서 50일이 지난 후 플라스틱 망으로 여과하였다. 간장을 걸러낸 고형물에는 정제염 20 g을 넣고 잘 섞어준 후 용기에 담아 윗층에 소금을 뿌린 다음 숙성시켰고 된장 시료는 윗소금 부위를 걷어낸 다음 취하였다.

탈지 대두분과 분리 대두단백(SPI): 탈지 대두분은 유성식품 공업사의 제품을 사용하였다. High-phytate SPI는 일반적인 방법[6]으로, Low-phytate SPI는 de Rham and Jost의 방법[7]에 따라 제조하였다.

식품 성분의 분석법

수분 함량은 상압 가열 건조법으로 측정하였고, 조단백질 함량은 macro-Kjeldahl법으로 측정한 질소 함량에 5.71을 곱하였다. 총 phytate 함량은 Wheeler와 Ferrel에 의한 방법[8]을 변형하여 측정하였다.

단백질의 소화율 측정법

Pepsin에 의한 소화율: Mauron 등의 소화법[9]을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 즉 80 mg의 단백질 함유 시료를 pH 2로 조절된 증류수 20 ml에 녹이고 pepsin 용액(25 mg/ml) 1 ml을 넣고 섞었다. 이것을 dialysis sac (Sigma 250-7U, 21 mm dia., 30 cm length)에 넣고 양끝을 실로 단단히 묶은 후 37℃ 수조내의 pH 2 증류수 250 ml에 넣고 pepsin에 의한 가수분해가 일어나도록 하였다. 소화 시작후부터 투석되어 나오는 액을 정해진 시간 간격으로 취하여 Folin-Lowry법으로 단백질량을 측정하고 다음과 같이 소화율을 계산하였다. 이 때 30분, 1시간, 2시간 후의 투석외액을 새로 바꿔주었다.

$$\text{소화율} = \frac{\text{투석외액의 단백질 함량}}{\text{넣어준 시료의 단백질 함량}} \times 100$$

Pancreatin에 의한 소화율: Gauthier의 단백질 소화법[10]을 변형시켜 다음과 같이 측정하였다. 즉 20 mg의 단백질 함유 시료를 앞의 방법으로 30분간 pepsin으로 소화시킨 후 1.0 N NaOH로 pH 8이 되게 조절하고 pancreatin 용액(5 mg/ml)을 1 ml 넣고 잘 섞어주었다. 이것을 dialysis sac(Sigma D-7884, 30 cm long, 32 mm flat width)에 넣고 37℃ water bath내의 0.1 M phosphate buffer(pH 8) 50 ml에 넣고 pancreatin에 의한 소화가 일어나도록 하였다. 소화 시작후 정해진 시간 간격으로 투석외액을 취하여 단백질량을 측정하였으며 소화율 계산은 pepsin 소화에서와 같이 하였다.

전기영동법

Laemmli의 방법[11]에 따라 4℃에서 10~16%의

Table 1. Protein and phytate contents of various soy products

Soy product	Moisture (%)	Protein (%)	Phytate (% dw basis)	Relative phytate*	Phytate/protein ratio (%)
Soybean	10.0	31.6	2.67	1.00	7.7
Dehulled soybean	10.0	29.4	2.64	0.99	7.7
Soaked soybean	64.5	12.5	2.64	0.39	7.4
Soy milk	92.0	3.6	2.70	0.09	6.2
Bean curd	76.1	11.3	2.91	0.29	6.2
Bean curd residue	81.4	4.2	2.32	0.18	10.2
Cheongkukjang	65.8	14.6	2.53	0.36	6.0
Meju	36.8	26.7	2.24	0.59	5.7
Soy sauce	76.0	9.5	0.80	0.08	2.1
Soy paste I	46.3	17.0	1.88	0.42	6.9
Soy paste II	64.2	9.6	0.54	0.08	2.1
Defatted soyflour	6.9	43.4	2.63	1.02	5.8
High-phytate SPI	2.3	70.4	1.45	0.59	2.1
Low-phytate SPI	3.1	76.5	0.27	0.11	0.4

*Relative concentration of phytate on "as-is basis", as related to 2.4% in raw soybean

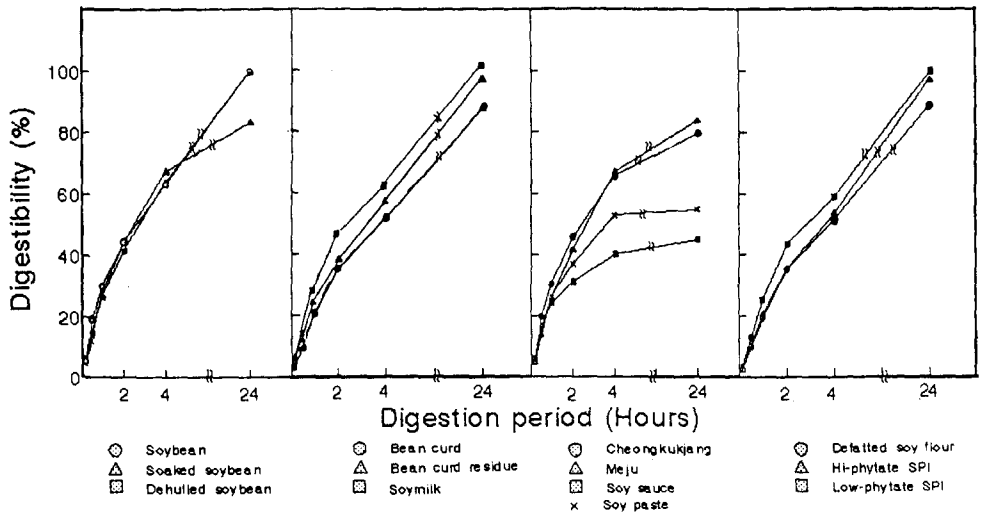

Fig. 1. Protein digestibility of various soy products hydrolyzed by pepsin

SDS-polyacrylamide gel과 불연속 완충계를 이용하여 단백질의 전기영동을 수행하였다. 전기영동에 의해 분리된 밴드의 색깔 강도는 densitometer(LKB Ultra scan XL enhanced laser densitometer)로 측정하였다.

결과 및 고찰

대두 제품의 수분, 단백질 및 Phytate 함량

실험실에서 제조한 여러가지 대두 식품의 수분, 단백질, phytate 함량을 보면 Table 1과 같다. 이 때 phytate 함량은 원료 대두 중의 phytate 함량을 기준으로 한 상대량으로 표현하였다. 원료콩의 단백질 함량은 약 30%이었고 phytate 함량은 2.4%이었다. Lolas 등[12]은 15종의 대두가 1.0~1.5%의 phytate를 함유한다고 하였는데 품종에 따라 그 함량이 다를 것으로 생각된다. 두유, 두부의 phytate/protein 비율은 6.2%로 원료콩의 7.7%보다 약간 낮았다.

대두 발효 식품중 2~3개월이라는 오랜 발효 기간을 거친 간장과 된장의 phytate 함량은 원료콩의 약 40% 수준(건조물 기준)으로 매우 낮았고 이틀간 발효시킨 청국장은 콩의 94%, 메주는 83% 수준으로 약간 낮았다. 일반적으로 phytate 함량은 미생물에 의해 감소되는데 본 실험에서도 발효 기간의 길이에 따라 phytate의 분해 정도가 다르다는 것을 알 수 있었다. Wang 등[13]은 발효 식품인 tempeh, 간장, 된장 등의 제조에 쓰이는 다양한 곰팡이중 *Aspergillus oryzae*가 phytase를 가장 잘 생성한다고 하였다. 박 등[14]은 phytate-mineral-protein 복합체를 형성하는 경향이 날콩에서 보다 tempeh에서 적었는데 이는 발효 과정중 phytase에 의해 phytate가 분해되어 복합체 형성에 부적합해지기 때문인 것으로 추측하였다.

탈지 대두분의 phytate 함량은 원료콩과 비교할 때 거의 같았고 단백질 함량은 더 높았다. 단백질 함량은 탈지 대두분, hi-phytate SPI, low-phytate SPI의 순으로 증가한 반면 phytate 함량은 반대로 현격히 감소하였으며 SPI를 얻는 과정중 phytate가 많이 제거되는 것을 알 수 있었다.

각 시료의 단백질 함량에 대한 phytate 함량의 %비율을 보면 두유나 두부에서는 원료콩보다 그 비율이 낮았으나 비지에서는 높았다. 이는 두유와 비지의 분리 공정에서 phytate가 수용성인 콩단백질과 결합하여 두유에 들어갈 수도 있지만 비지중의 불용성 물질에 흡착되어 나타난 결과로 생각된다. 발효 식품에서는 phytate가 phytase에 의하여 분해되어 그 비율이 콩원료에 비하여 대체로 낮았다. 탈지 대두분과 분리 대두단백은 탈지 대두분>high-phytate SPI>low-phytate SPI의 순으로 낮아졌다.

Pepsin에 의한 단백질 소화율

여러가지 대두식품에서 pepsin에 의한 단백 소화율을 보면 Fig. 1과 같다. 원료콩을 불리거나 껍질을 벗겨도 소화율에는 큰 차이가 없었으며 불린 콩은 원료콩이나 껍질벗긴콩에 비하여 4시간까지는 소화율이 약간 높았으나 24시간 후의 소화율은 오히려 더 낮은 것으로 나타났다.

두유, 비지, 두부에서는 두유의 소화율만이 원료콩에 비하여 조금 높았으며 두부가 비지보다 좀 더 낮은 경향을 보였다. 발효 식품에서는 청국장과 메주만이 원료콩과 비슷한 수준이었고 된장과 간장의 소화는 초기 2시간까지는 빨리 되나 그 이후에는 오히려 서서히 증가하였다.

Phytate/protein 비율과 pepsin에 의한 30분후 단백질

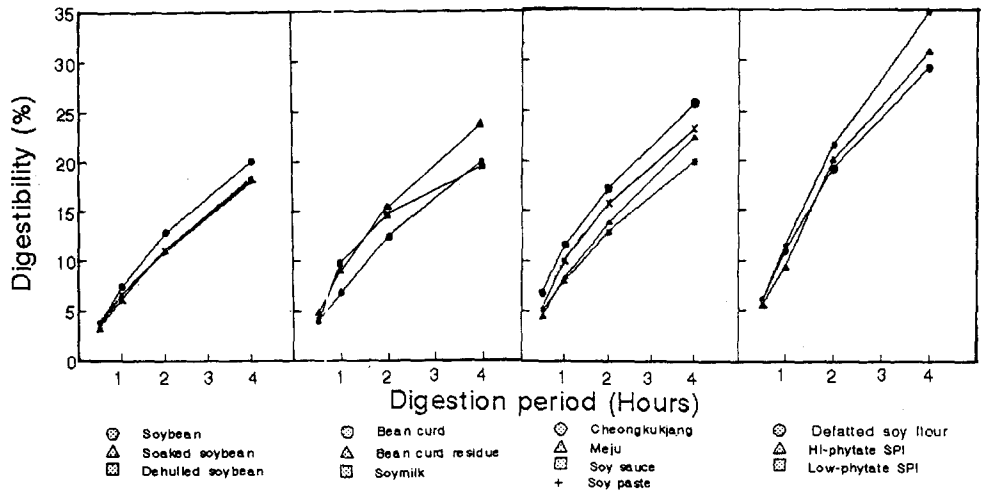

Fig. 2. Protein digestibility of various soy products hydrolyzed by pancreatin

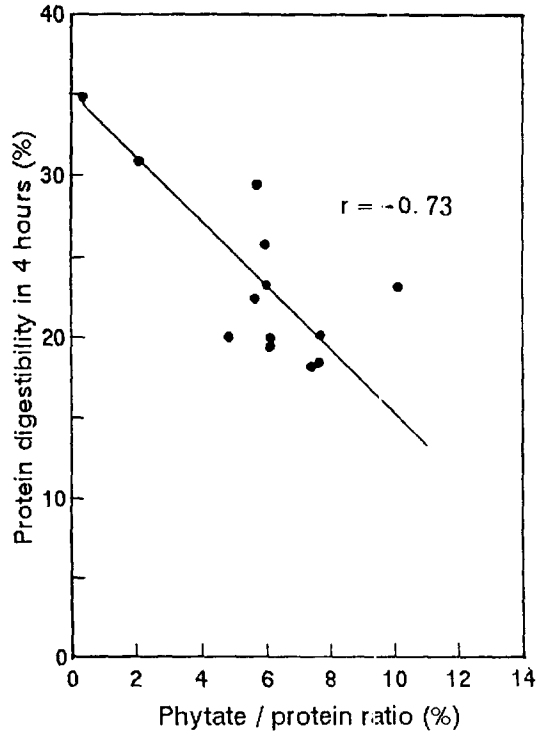

Fig. 3. Interrelation between phytate/protein ratio and protein digestibility by pancreatin of various soy products

소화율간의 상관관계를 보면 두 변수 간에 서로 영향을 주지 않는 것으로 나타났다(r=0.18).

Pancreatin에 의한 단백질 소화율

여러가지 대두식품에서 pancreatin에 의한 단백 소화율을 보면 Fig. 2와 같다. 콩을 불리거나 껍질을 벗겨도 거의 비슷한 소화율을 보이며 비지, 두유, 두부를 제조했을 때는 원료콩에 비하여 소화율이 빨라지는 경향이 있었다. Pepsin에 의한 소화에서와는 달리 발효 식품들은 소화율이 높은 경향이었고 청국장>된장>메주>간장의 순으로 나타났다. 발효 식품들은 미생물이 분비한 phytase로 phytate가 분해되면서 단백질이 유리 상태로 되어 pancreatin에 의한 분해가 수월해지기 때문이라 생각된다.

Phytate/protein 비율과 pancreatin에 의한 4시간후 단백질 소화율 간의 상관관계를 보면 Fig. 3에서와 같이 유의적인 음의 상관관계를 보였다($p<0.01$, $r=-0.73$). 즉 phytate/protein 비율이 증가할수록 단백질 소화율이 낮아짐을 나타내었다. 이는 phytate가 pancreatin의 단백분해효소를 불활성화시키는 동시에 기질인 단백질과 결합되기 때문이라 추측된다.

전기영동에 의한 수용성 단백 분획의 비교

콩을 불려서 껍질을 벗기고 비지, 두유, 두부 등의 가공식품을 제조하고 대두분으로 부터 hi-phytate SPI, low-phytate SPI를 제조함에 따른 각 제품의 수용성 단백분획을 전기영동으로 분리한 다음 각 밴드의 농도를 densitometer로 측정하여 총단백질량에 대한 백분율로 표시한 결과는 Table 2와 같다.

원료콩과 껍질벗긴콩은 거의 유사한 양상으로 총 18개의 밴드로 나타났고 이 중 주요 성분은 분자량이 12.3, 14.5, 33.9, 53.7 kDa이었다. 콩을 불린 후에는 그 양상이 변화되어 10.4, 30.9, 74.1, 117.5 kDa의 밴드는 사라진 한편 13.8, 56.2, 77.1, 169.8 kDa의 새로운 밴드가 나타났다. 비지의 수용성 분획중에는 주로 저분자 단백질들이 많았고 고분자 성분인 30.9, 38.9, 74.1, 117.5 kDa 밴드는 사라졌다. 두유에서는 17.8, 19.1, 21.4, 24.5 kDa인 밴드가

Table 2. Relative concentration of protein bands separated by SDS-PAGE at pH 2 for soluble fractions of various soy products (% of whole bands)

Peak no.	M.W. (kDa)	Soy bean	Dehulled soybean	Soaked soybean	Beancurd residue	Soy milk	Bean curd	Soy flour	HSPI	LSPI
1	169.8	–	–	2.0	–	–	–	–	–	–
2	117.5	2.5	1.5	–	–	1.7	–	–	–	–
3	100.0	4.9	3.9	3.1	1.8	5.6	2.5	5.6	4.7	8.5
4	85.1	5.3	6.2	3.2	6.2	7.4	2.2	4.9	6.0	9.0
5	77.1	–	–	2.4	–	–	–	–	–	–
6	74.1	2.4	3.2	–	–	3.3	–	1.8	2.7	4.4
7	64.6	2.3	1.5	2.1	2.3	3.7	–	3.3	3.6	4.1
8	56.2	–	–	2.4	2.5	–	2.1	–	–	–
9	53.7	9.1	7.1	2.7	3.2	9.4	3.0	7.7	10.6	12.1
10	38.9	3.9	7.7	5.3	–	8.5	–	7.9	5.8	6.1
11	33.9	12.3	12.0	21.4	19.7	19.3	23.3	20.9	14.7	24.0
12	30.9	4.9	4.7	–	–	6.6	–	2.0	2.6	–
13	26.9	3.0	2.9	5.4	6.1	4.7	11.5	3.4	4.6	–
14	25.1	3.3	3.0	2.9	2.9	3.7	4.0	3.2	3.6	–
15	24 5	3.8	3.3	6.2	8.0	–	8.9	2.8	4.0	–
16	21.4	4.9	5.5	5.1	2.4	–	5.8	3.6	3.7	–
17	19.1	1.6	1.7	3.1	2.2	–	4.7	5.7	7.2	–
18	17.8	1.9	2.4	2.2	6.4	–	3.5	–	–	–
19	14.5	16.7	16.5	5.9	5.4	16.0	3.9	19.4	15.6	22.3
20	13.8	–	–	4.4	3.4	–	5.4	1.1	–	2.6
21	12.3	13.5	7.1	15.4	13.2	6.6	18.6	2.2	5.5	–
22	10.4	3.8	9.9	–	10.7	3.6	–	4.7	5.3	6.8
23	9.3	–	–	–	4.5	–	–	–	–	–

사라졌고 이들 사라진 밴드는 비지에서 나타났다. 두부에는 두유에서 사라진 밴드가 있었으며 비지와 유사한 양상을 보였다.

발효 식품인 청국장, 메주, 간장, 된장의 전기영동에서는 저분자량의 밴드를 감지(感知)하기 위하여 picric acid 용액으로 고정하는 과정을 더 거쳤으나 densitometer에 의해 peak가 나타나지 않았다. 이는 발효 과정에서 단백질이 분해되어 전기영동에서 나타나지 않을 정도의 작은 peptide로 분해되었기 때문으로[15] 생각된다.

요 약

대두 식품의 가공 및 발효에 따른 phytate 함량의 변화, 그 함량이 pepsin과 pancreatin에 의한 단백질 소화에 미치는 영향, 그리고 전기영동법에 의한 단백질 분획의 변화를 조사하였다.

황색콩의 phytate 함량은 2.4%이었고 가공 및 발효에 따라 감소하여 두유 0.2%, 두부 0.7%, 비지 0.4%로, 청국장 0.9%, 메주 1.4%, 간장 0.2%, 된장 1.0%로 나타났다. Phytate/protein 비율은 pepsin에 의한 단백질 소화율과 상관성이 없었으나 pancreatin에 의한 단백질 소화율과는 부(負)의 상관관계를 나타냈다($p<0.01$, $r=-0.73$). 전기영동 결과 콩을 물에 불리면 수용성 분획이 변화되었고 두유 제조시 비지에는 주로 저분자량 밴드들이 새로이 나타났다. 발효 과정에서는 단백질이 분해되어 밴드가 거의 나타나지 않았다.

문 헌

1. Cheryan, M.: Phytic acid interactions in food systems. *CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 12, 297(1980)
2. 조희환 : 분리 대두단백의 용해도와 소화율에 미치는 Phytate의 영향. 한국식품과학회지, 23, 286(1991)
3. Hsu, H.W., Vavak, D.L., Satterlee, L.D. and Miller, G. A.: A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.*, 42, 1269(1977)
4. Carnovale, E., Lugaro, E. and Lombardi-Boccia, G.: Phytic acid in faba bean and pea: effect on protein digestibility. *Cereal Chem.*, 65, 114(1988)
5. Ali, H.I. and Harland, B.F.: Effects of fiber and phytate in sorghum flour on iron and zinc in weanling rats: A pilot study. *Cereal Chem.*, 68, 234(1991)
6. 이현기, 박원기, 이성우, 이응호, 황호관 : 식품화학실험 p.208(1985)
7. deRham, O. and Jost, T.: Phytate-protein interactions in soybean extracts and low-phytate soy protein products. *J. Food Sci.*, 44, 596(1979)
8. Wheeler, E.L. and Ferrel, R.E.: A method for phytic acid determination in wheat and wheat fractions. *Cereal Chem.*, 48, 313(1971)
9. Mauron, J., Mattu, F., Bujard, E. and Egli, R.H.: Availability of lysine, methionine and tryptophan in condensed milk and milk powder. *In vitro* digestion studies. *Arch. Biochem. Biophys.*, 59, 433(1955)

10. Gauthier, S.F., Vachon, C., Janes, J.D. and Savoie, L.: Assessment of protein digestibility by in vitro enzymatic hydrolysis with simultaneous dialysis. *J. Nutr.*, 11, 1718(1982)
11. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680(1970)
12. Lolas, G.M., Palamidas, N. and Markakis, P.: The phytic acid-total phosphorus relationship in barley, oats, soybeans and wheat. *Cereal Chem.*, 53, 867(1976)
13. Wang, H.L., Swain, E.W. and Hesseltine, C.W.: Phytase of molds used in oriental food fermentation. *J. Food Sci.*, 45, 1262(1980)
14. 박은순, 윤 선 : Tempeh 제조시 phytic acid 함량 변화 및 그에 따른 단백질, 무기질과의 상호작용에 관한 연구. 한국식품과학회지, 16, 281(1983)
15. Yeoung, A.K. and William, E.B.: Evaluation of SDS method for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.*, 56, 1082(1991)

(1994년 7월 21일 접수)