

## 가수분해 식물성 단백질의 효소적 생산을 위한 효소 반응 시스템의 최적화

채희정 · 인만진 · 김민홍  
(주)미원 중앙연구소

### Optimization of Enzymatic Treatment for the Production of Hydrolyzed Vegetable Protein

Hee Jeong Chae, Man-Jin In and Min-Hong Kim  
R&D Center, Miwon Co., Ltd

#### Abstract

The effects of enzyme combination, pH, acid washing and enzyme treatment sequence were investigated in the hydrolysis of soy protein. Comparing Alcalase vs. Neutrase/Alcalase, it appeared that Neutrase/Alcalase was more efficient than Alcalase alone, as the highest degree of hydrolysis (DH) was seen in Neutrase/Alcalase. A surprisingly high DH (more than 60%) was observed with Flavourzyme in the second hydrolysis. The separation of insolubles from the first hydrolysis had little effect on the second hydrolysis. When the washing water from the first hydrolysis was reused in the next hydrolysis, the DH and protein recovery were increased. The addition of calcium ion showed not so much positive effects by the stabilization of Neutrase on the protein hydrolysis. The use of carbohydrase and repeated acid washing gave positive effects on DH. The simultaneous treatment using endoprotease and exoprotease with pH adjustment improved DH significantly.

Key words: protease, hydrolyzed vegetable protein, degree of hydrolysis

#### 서 론

일반적으로 혼합간장, 소스류 등의 가공식품의 원료 및 첨가물로 널리 사용되는 가수분해 식물성 단백질(hydrolyzed vegetable protein, HVP)은 탈지 대두박 또는 소맥 글루텐 같은 식물성 단백질에 염산을 첨가하고 고온(100~125°C)에서 일정시간(4~24시간) 반응시킨 후 중화, 여과, 탈색, 탈취 공정을 통해 제조한다. 이런 산분해 HVP는 탈지 대두박에 함유된 여러 가지 물질들이 고온, 강산의 조건에서 상호 반응하여 많은 불순물을 만드는 것으로 알려져 있다. 그 중에는 탈지 대두박에 잔류하는 클리세린에 염산과 반응하여 생성되며, 발암 및 불임 유발 가능 물질로 유해성 논란이 있는 3-chloro-1,2-propanediol과 1,3-dichloro-2-propanol도 포함되어 있다<sup>(1)</sup>. 양조간장은 이와 같은 불순물이 없는 대신 미생물 발효에 의한 장기간의 숙성과

정과 이에 필요한 부대 설비를 필요로 하는 단점을 갖고 있다.

이러한 산분해법과 양조법의 단점이 없으며 속성 제조와 안전성을 특징으로 하는 효소분해법은 식물성 단백질에 적절한 전처리 공정을 거쳐 일정 온도와 pH의 조건에서 단백질 분해효소로 처리하여 단백질을 아미노산이나 펩타이드로 분해한다<sup>(2,3)</sup>. 분해 공정 후 분리, 농축하고 제품의 용도에 따라 분무 건조하여 분말화시키기도 한다. 이렇게 하여 얻은 정미 성분은 양조간장이나 산분해 HVP와 동일한 원료인 대두 단백질에서 유래된 유리 아미노산과 펩타이드가 주성분이므로 천연 향미 증진제이자 기능성 단백질 소재로의 응용이 가능하다<sup>(2,4,6)</sup>. 일반적인 효소분해HVP의 용도에는 조미료, 양념장, soup, bouillon, gravy, 효소분해간장, 가공식품의 풍미 증진제, 발효 배지의 원료 등이 있다.

본 연구에서는 효소분해HVP의 제조를 위한 효소 반응계의 최적화를 목적으로 여러 효소의 조합 사용, 효소 농도, 산 세척(acid wash), 효소 첨가 순서 등이

Corresponding author: Hee Jeong Chae, R&D Center, Miwon Co., Ltd., 125-8 Pyokyo-ri, Majang-myun, Icheon, Kyungki-do 467-810, Korea

가수분해도에 미치는 영향을 검토하였다.

**재료 및 방법**

**단백질 원료 및 재료**

가수분해에 사용된 탈지대두박(단백질 함량 46%)은 동방유량으로부터 구하였고 단백질 분해효소는 Novo 사(Denmark)의 *Bacillus licheniformis* 유래의 Alcalase™, *Bacillus subtilis* 유래의 Neutrase™와 *Aspergillus oryzae* 유래의 Flavourzyme™을 사용하였다. 탄수화물 분해 효소로 동사의 Viscozyme™을 사용하였다.

**단백질 가수분해**

탈지대두박 150 g에 증류수를 1350 g 더하여 교반한 다음 105°C에서 20분간 cooking하였다. 염산으로 pH를 4.5로 조절한 후, 5500 g에서 10분간 원심분리하여 침전물을 회수하였다. 침전물에 전체 중량이 800 g되도록 증류수를 첨가하고 pH를 7.5~8.5로 조절한 다음 50~55°C에서 4시간 동안 1차 가수분해하였다. 1차 가수분해에서는 Alcalase를 단백질 기준으로 0~0.5% 또는 Neutrase를 단백질 기준으로 0~2% 사용하였다. 1차 가수분해가 종료된 후 90°C에서 5분간 가열 처리한 다음 Flavourzyme을 0~1%의 농도를 첨가하여 2차 가수분해를 실시하였다. 이 때 반응 온도는 55°C로 하여 4시간 동안 실시하였다. 효소 반응이 종료된 후 반응액을 5500 g에서 10분 간 원심분리한 다음 상등액을 Whatmann GF/F로 filter하였다. 여과액을 55°C에서 30분간 활성탄(0.15% (w/w)) 처리한 후 Whatmann GF/F로 다시 여과하였다.

**분석 방법**

원심분리 상등액의 가용성 고형분 함량은 굴절계를 이용하여 측정하였고 총 질소(TN)는 킬달 분석기를 이용하였다<sup>(7)</sup>. 가수분해도는 주로 osmolality 측정 값을 기초로 다음의 식에 의하여 결정하였다<sup>(8)</sup>.

$$DH(\%) = \frac{C}{S \times f_{osm}} \times \frac{1}{\omega} \times 1h_{tot} \times 100$$

- 여기서, C: 일정시간 동안 osmolality의 증가분(mOsm)
- S: 기질 농도 (%)
- $f_{osm}$ : 고형분 함량에 대한 변환 계수(% → g/kg-water),  $f_{osm} = \frac{1000}{100 - D(\%)}$
- D: 고형분 함량(%)
- $\omega$ : 펩타이드의 삼투압 계수(osmotic coefficient)

=0.963

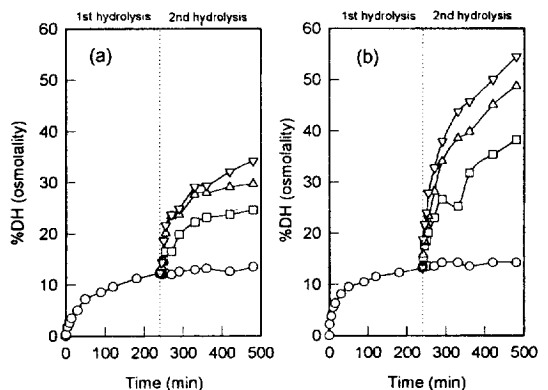
$h_{tot}$ : 단위 무게 당 펩타이드 결합 총 수(대두의 경우 7.8 eqv/kg)

가수분해도의 측정법으로 TNBS법<sup>(9)</sup>을 보조적으로 활용하였다. Endoprotease의 활성은 카제인을 기질로 하여 개량된 Anson법에 준하여 측정하였다<sup>(10)</sup>.

**결과 및 고찰**

**Endoprotease의 선별**

다양한 효소 조합에 의한 대두박 가수분해 기초 실험으로부터 대두 단백질의 가수분해에는 endoprotease와 exoprotease의 병용으로 높은 가수분해도(degree of hydrolysis, DH)를 얻을 수 있고 저 분자량의 펩타이드와 유리 아미노산의 함량을 높일 수 있는 것으로 나타났다(데이터 제시 생략). 1차 가수분해 시 사용되는 endoprotease로서 단독으로 Alcalase만을 사용하는 경우(Fig. 1(a))와 Neutrase와 Alcalase를 병용하는 경우(Fig. 1(b))를 비교한 결과, 후자의 경우에서 높은 수준의 가수분해도(최고 55%)를 얻을 수 있었다(Fig. 1). Alcalase는 *B. licheniformis* 유래의serine protease로서 alkaline pH에서 높은 활성을 보인다. 반면, Neutrase는 *B. subtilis* 유래의 중성 pH에서 고 활성을 갖는 metalloprotease이며 또한 상용 제품 중에  $\beta$ -glucanase의 활성을 갖기 때문에 Alcalase의 단독 처리보다 Alcalase와 Neutrase의 병용 처리에서 높은 가수분해도를 얻은 것으로 보인다. Exoprotease인 Flavourzyme을 이용한



**Fig. 1. Effect of endoprotease combinations on degree of hydrolysis.** (a) 0.5% Alcalase, (b) 0.1% Alcalase and 2% Neutrase. 1st hydrolysis conditions: 55°C, pH 7.5. 2nd hydrolysis conditions: 55°C, pH 7.5, ○—○: 0%, □—□: 0.33%, △—△: 0.67%, ▽—▽: 1.0% Flavourzyme.

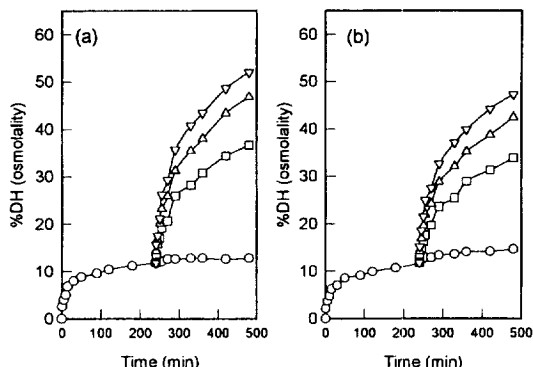
2차 가수분해 전까지는 사용한 endoprotease의 종류에 따라 가수분해도의 차이가 거의 없으나(12%), 2차 가수분해 시에는 1차 가수분해 시 사용한 endoprotease의 종류에 따라 현저한 차이를 보였다. Flavourzyme의 사용이 가수분해도에 크게 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 사용량에 따라 현격한 가수분해도의 차이가 있었다. Flavourzyme은 펩타이드의 노출된 아미노산 잔기로부터 아미노산을 유리시키는 exoprotease이므로 이와 같이 급격한 가수분해도의 상승이 관찰되는 것으로 보인다.

**pH의 영향**

Flavourzyme의 최적 pH는 5~7로서 약산성에서 중성의 범위에서 broad하게 최적의 효소 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(제조사 자료). 1차 가수분해 시 Alcalase를 단독 사용하는 경우에는 2차 가수분해 시 초기 pH를 7.5로 하는 경우보다 5.0으로 조절하여 가수분해하는 것이 가수분해도를 현격히 높일 수 있었다(Table 1). Alcalase/Neutrase의 병용 처리에서는 2차 가수분해 pH의 조절에 의한 영향이 비교적 크지 않았다. 1차 가수분해 후 반응액의 pH는 5.0부근이므로 별도의 조절 없이, 또는 소량의 NaOH나 HCl을 사용하여 pH를 5.0으로 조절할 수 있었다. 또한 pH 5.0에서 Flavourzyme의 활성이 높으므로 이후의 실험에서는 2차 가수분해 시 pH를 5.0으로 조절하였다.

**불용 성분 분리의 영향**

Fig. 2는 1차 가수분해 후 미반응 불용 성분을 원심분리로 제거하여 그 상등액만으로 가수분해한 경우(a)와 분리하지 않고 가수분해한 경우(b)의 가수분해도에 미치는 영향을 보여 주고 있다. Fig. 2(a)의 실험에서는 1차 가수분해물을 5500 g에서 원심분리하고, 증류수 세척 후 재 원심분리(2차)한 상등액만을 취하여 불용 성분을 제거하였다. 불용 성분을 제거하지 않았을 경우(b)가 분리·제거한 경우(a) 보다 가수분해도가 약



**Fig. 2. Hydrolysis curves of enzymatic hydrolysis.** (a) with insoluble separation, (b) without insoluble separation before 2nd hydrolysis. 1st hydrolysis conditions: 55°C, pH 7.5; 0.1% Alcalase and 2% Neutrase. 2nd hydrolysis conditions: 55°C, pH 5.0, ○—○: 0%, □—□: 0.33%, △—△: 0.67%, ▽—▽: 1.0% Flavourzyme.

간 낮은 수준을 보였다. 불용 성분이 제거된 반응액은 물에 용해되는 저분자의 단백질이나 펩타이드가 주성분이므로 exoprotease에 의해 분해되기 쉬울 것이다. 불용 성분은 가수분해되지 않고 남아 있는 고분자 단백질과 탄수화물로 추측되며, 2차 가수분해 시 사용되는 Flavourzyme이 exoprotease타입이므로, 이러한 불용 성분이 Flavourzyme의 저분자 펩타이드에 대한 가수분해 작용을 부분적으로 방해할 것으로 보인다. 그러나 불용 성분의 분리가 가수분해도에 미치는 영향이 미미하고, 향후 효소 공정 및 회수 공정에서의 고형분 수율 및 단백질 수율 향상을 위하여 이후의 실험은 불용성 고형분을 제거하지 않고 2차 가수분해를 실시하였다.

**수세수 재사용의 영향**

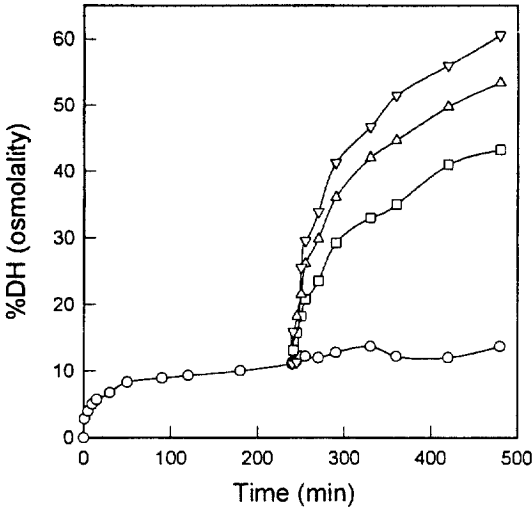
Fig. 3는 1차 가수분해 후 2차 원심분리의 상등액(수세수)을 단백질 현탁용 용액으로 재사용하여 가수분해하였을 때의 결과이다. 수세수를 재사용함으로써

**Table 1. Effects of initial pH of 2nd hydrolysis on degree of hydrolysis<sup>1)</sup>**

| Flavourzyme concentration (%) | %DH, based on osmolality method <sup>2)</sup> |        |                                 |        |
|-------------------------------|---|--------|---------------------------------|--------|
|                               | Endoprotease: Alcalase                        |        | Endoprotease: Alcalase/Neutrase |        |
|                               | pH 7.5  | pH 5.0 | pH 7.5                          | pH 5.0 |
| 0.33                          | 13.2  | 26.8   | 25.0                            | 24.8   |
| 0.67                          | 20.1  | 37.8   | 35.4                            | 35.0   |
| 1.0                           | 23.1  | 42.0   | 41.2                            | 40.2   |

<sup>1)</sup>1st hydrolysis conditions: 0.5% Alcalase (or 0.1% Alcalase and 2% Neutrase) were added, T=55°C, pH 7.5, Time=240 min; 2nd hydrolysis conditions: T=55°C, pH 5.0, Time=240 min.

<sup>2)</sup>after 2nd hydrolysis.



**Fig. 3. Hydrolysis curves of enzymatic hydrolysis with the reuse of washing water.** 1st hydrolysis conditions: 55°C, pH 7.5, 0.1% Alcalase and 2% Neutrase. 2nd hydrolysis conditions: 55°C, pH 5.0, ○—○: 0%, □—□: 0.33%, △—△: 0.67%, ▽—▽: 1.0% Flavourzyme.

가수분해도를 높일 수 있었으며(최대 가수분해도, 60%) 단백질 회수율이 3% 정도 향상되었다. 이와 같은 결과로부터 수세수의 재사용이 상업 생산의 생산성 향상 및 자원 재활용을 위해 적용 가능한 방법으로 판단되었다.

**효소의 열안정성 시험**

1차 가수분해 시 사용되는 효소인 Alcalase와 Neutrase의 열 안정성을 확인한 결과(Fig.4) 55°C의 반응 온도에서 Alcalase는 2시간 경과 후 초기 활성의 84%

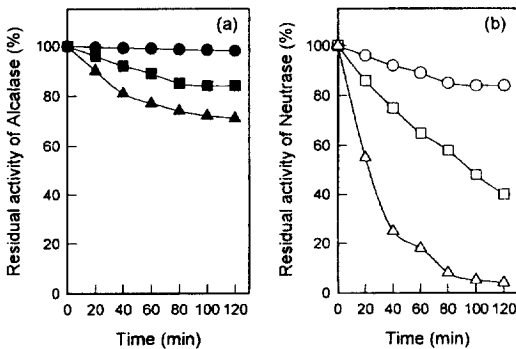
의 잔존 활성을, Neutrase의 경우에는 40%의 잔존 활성을 보였으며, 반면에 50°C에서는 두 효소의 잔존 활성이 각각 98%와 84%의 잔존 활성을 보였다. 이러한 효소의 열 안정성을 고려하여 최고 활성 온도인 55°C에서 50°C로 조정하여 실험하였다.

**Ca이온의 영향**

1차 가수분해에 사용되는 Neutrase가 metalloprotease이며 Ca<sup>2+</sup>이온에 의해 안정화되는 것으로 알려져 있다<sup>(6)</sup>. 따라서 Ca 이온이 가수분해 활성에 미치는 영향을 검토하였다(Table 2). 또한 exoprotease인 Flavourzyme의 첨가 시기가 가수분해도에 미치는 영향을 함께 검토하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 Ca 이온의 첨가에 의해서 osmolality로 측정된 가수분해도는 높아졌지만 TNBS법에 의해 측정된 가수분해도는 향상되지 않았다. 가수분해도의 측정법으로 많이 사용되는 osmolality법은 측정 방법이 단순하여 사용하기 편리한 장점을 갖고 있지만, 염류나 당류 같이 osmolality에 영향을 주는 인자들이 반응액에 존재할 경우 단백질 가수분해도의 측정에 간섭 효과를 줄 수 있다. 이 경우 유리된 아미노기의 양을 직접 재는 TNBS법에 의해 측정된 가수분해도로 가수분해 정도를 판단하는 것이 합리적이다. 그러므로 osmolality로 측정된 가수분해도가 Ca 농도가 증가함에 따라 증가한 것은 Ca이온에 의한 실질적인 효소 안정화의 결과라기보다는 염의 추가에 의한 osmolality의 상승에 기인하는 것으로 보인다.

**Exoprotease 처리 순서의 영향**

Flavourzyme를 endoprotease과 함께 초기부터 첨가



**Fig. 4. Thermal stability of (a) Alcalase and (b) Neutrase at different temperatures.** Hydrolysis conditions: initial enzyme concentration=1.0%, pH 7.5, substrate: defatted soya protein (10%).

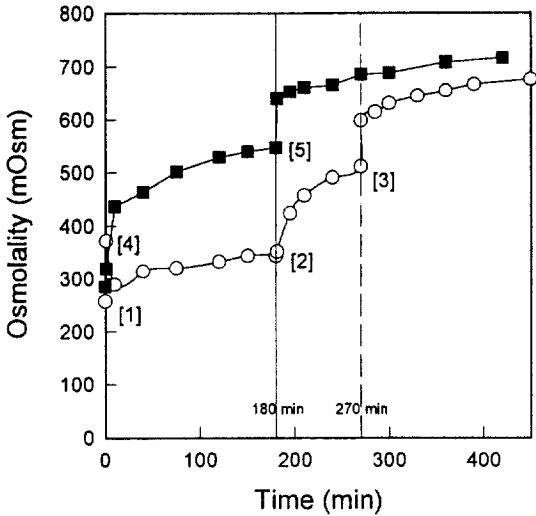
**Table 2. Effect of calcium ion and the time of Flavourzyme addition on degree of hydrolysis<sup>1)</sup>**

| Flavourzyme addition time | CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O (mmol/L) | %DH (osmolality method) | %DH (TNBS method) |
|---------------------------|---|-------------------------|-------------------|
| 180 min <sup>2)</sup>     | 0   | 42.2                    | 35.6              |
|                           | 10  | 50.0                    | 34.4              |
|                           | 40  | 51.9                    | 34.9              |
| 0 min <sup>3)</sup>       | 10  | 52.7                    | 37.8              |
|                           | 40  | 53.4                    | 38.4              |

<sup>1)</sup>after 360 min.

<sup>2)</sup>1st hydrolysis conditions: 0.1% Alcalase and 2% Neutrase were added, T=50°C, pH 7.5, Time=180 min; 2nd hydrolysis conditions: 1% Flavourzyme was added, T=50°C, pH 5.0, Time=180 min.

<sup>3)</sup>hydrolysis conditions: 0.1% Alcalase, 2% Neutrase and 1% Flavourzyme were added, T=50°C, pH 7.5, Time=360 min.



**Fig. 5. Effect of the sequence of the enzyme addition.**  
 ○—○: Method I; 1st step conditions (0~180 min): 0.1% Alcalase and 2% Neutrase, 50°C, pH 8; 2nd step conditions (180~270 min): 1% Flavourzyme, 50°C, pH not adjusted; 3rd step (270~450 min): pH adjusted to 5.0. ■—■: Method II; 1st step conditions (0~180 min): 0.1% Alcalase, 2% Neutrase and 1% Flavourzyme, 50°C, pH 8; 2nd step conditions (180~450 min): pH adjusted to 5.0.

하여 1단계로 가수분해 하는 것과 1차에서는 endoprotease만으로 가수분해하고 2차 가수분해 시에 Flavourzyme을 사용하는 방법을 비교하였다(Table 2와 Fig. 5). Table 2에서 보는 바와 같이 Flavourzyme를 endoprotease와 함께 초기부터 첨가하여 1단계로 가수분해 하는 것이 가수분해도를 높일 수 있는 방법이었다. 이것은 endoprotease가 원료 단백질을 random하게 가수분해하여 중·저분자의 펩타이드를 생성시키고, exoprotease는 endoprotease에 의해 생성된 작은 크기의 펩타이드의 말단으로부터 아미노산을 유리시키기 때문에 이 둘이 동시에 존재함으로써 시너지 효과를 갖기 때문인 것으로 보인다<sup>(6)</sup>. Fig. 5는 exoprotease의 첨가 시기의 변화와 pH의 조절을 동시에 실시하였을 때 시간 경과에 따른 osmolality의 변화를 나타내었다. 1차 가수분해 시 endoprotease만을 첨가한 경우(Method I) osmolality의 증가 속도는 초기에 완만하였다가 2차로 (180분 경과 후) Flavourzyme을 첨가하였을 때([2] in Fig. 5)와 pH를 5.0으로 조절하였을 때(270분) 급격한 osmolality의 상승이 관찰되었다. Exoprotease를 endoprotease와 함께 투입하였을 때(Method II)에는 초기부터 osmolality가 급격히 상승하였으며 180분 경과 후 pH를 exoprotease의 최적 pH인 5.0으로 조절하였을 때([5] in Fig. 5) osmolality가 급상승하였다가 서서히

**Table 3. Effect of Viscozyme on degree of hydrolysis and dry matter content**

| %DH and Dry matter | Remark                             | Treatment without Viscozyme | Treatment with Viscozyme <sup>1)</sup> |
|--------------------|------------------------------------|-----------------------------|--|
| %DH1               | after 1st hydrolysis <sup>2)</sup> |                             | 44.6                                   |
| %DH2               | after 2nd hydrolysis <sup>3)</sup> | 8.7                         | 13.4                                   |
| total %DH          | osmolality method                  | 53.4                        | 58.0                                   |
| total %DH          | TNBS method                        | 38.4                        | 41.9                                   |
| Dry matter (%)     |                                    | 14.4                        | 15.3                                   |

<sup>1)</sup> Added after 1st hydrolysis.  
<sup>2)</sup> 0.1% Alcalase, 2% Neutrase and 1% Flavourzyme were added; T=50°C; pH 8.0; Time=180 min.  
<sup>3)</sup> 0.5% Viscozyme was added; T=50°C; pH 5.0; Time=240 min.

증가하는 추세를 보였다. 400분이 경과한 후 TNBS 법으로 결정한 가수분해도는 순서적 첨가의 경우(Method I)와 동시 첨가의 경우(Method II)에서 각각 34과 38%를 나타내었다.

**당 분해 효소 처리의 영향**

대두에 함유되어 있는 대부분의 단백질은 탄수화물과 결합되어 있는 상태로 존재하는 경우가 많으며, 따라서 반응의 효율을 높이기 위해 탄수화물 분해효소의 일종이며 cellulase를 포함한 복합 탄수화물 분해효소인 Viscozyme을 2차 가수분해의 효소로 사용하였다(Table 3). Viscozyme처리구와 비처리구의 가수분해도와 고형분 농도를 비교하면 Viscozyme 처리구에서 높은 수준의 가수분해도와 고형분 회수율을 얻었다. 탈지 대두박의 탄수화물 함량은 35%의 수준으로 비교적 큰 반면 단백질 분해효소에 의해 분해되지 않는다. 따라서 적절한 탄수화물 분해효소로 처리한 경우 단백질 분해효소의 작용을 용이하게 하는 것으로 보인다.

**Flavourzyme 분할 처리의 영향**

가수분해 초기부터 Flavourzyme을 endoprotease과 동시에 첨가하는 것이 Flavourzyme을 사용하는 별도의 2차 처리를 실시하는 것보다 높은 가수분해도를 얻을 수 있었다(Table 2와 Fig.5). 또한 추가적인 Flavourzyme의 첨가에 의해 높은 수준의 가수분해도를 얻을 수 있을 것으로 판단되었다. 경제적인 관점에서, Flavourzyme같은 exoprotease이 endoprotease에 비하여 고가임을 감안할 때 사용 농도에 제한이 있으므로, 1단계 처리 시의 사용 농도(1.0%)의 1/2(0.5%)로 endoprotease와 함께 우선 1차 처리하고 나머지(1/2)로 pH 조절 후(pH 5.0) 2차 처리하여 가수분해도를 비교한

**Table 4. Effect of number of acid wash on degree of hydrolysis and protein content**

| No. of acid wash | %DH (osmolality method)      |                              |       | %DH (TNBS method) | %protein based on dry matter |
|------------------|------------------------------|------------------------------|-------|-------------------|------------------------------|
|                  | 1st hydrolysis <sup>1)</sup> | 2nd hydrolysis <sup>2)</sup> | total | total             |                              |
| 0                | 30.3                         | 16.0                         | 46.3  | 36.1              | 65.2                         |
| 1                | 33.0                         | 16.2                         | 49.2  | 36.3              | 72.9                         |
| 2                | 36.0                         | 16.7                         | 52.7  | 36.1              | 77.0                         |
| 3                | 37.4                         | 15.8                         | 53.2  | 36.4              | 76.6                         |

<sup>1)</sup>0.1% Alcalase, 2% Neutrase and 0.5% Flavourzyme were added; pH 8.5; Time=210 min.

<sup>2)</sup>0.5% Flavourzyme; pH 5.0; Time=210 min.

결과 1.0%로 1단계 처리하는 경우와 1, 2단계로 나누어 각각 0.5%씩 처리하는 경우에서 유의적인 차이를 발견할 수 없었다(데이터 제시 생략).

### 산 세척의 영향

산을 이용한 단백질의 세척은 가수분해에 사용되는 원료의 단백질 순도를 높이기 위해 일반적으로 사용되는 방법이다. 탈지대두박을 증류수에 현탁시킨 후 염산을 이용하여 pH를 4.5로 조절하여 110°C에서 20분간 cooking한 다음 원심분리하고 침전물을 증류수로 세척하였다. 산을 이용한 이상의 세척과정을 0, 1, 2, 3회 반복한 다음 이를 가수분해의 원료로 사용하였다(Table 4). 산 세척(acid wash)의 횟수가 증가함에 따라 최종 가수분해물의 단백질 함량과 osmolality법으로 측정된 가수분해도는 증가하였으나 TNBS법으로 측정된 가수분해도에는 큰 영향이 없었다. 결과적으로 산 세척은 가수분해도를 높이기 보다는 생산물의 단백질 순도를 높이는 데 주로 기여하는 것으로 판단된다.

### 요 약

효소 분해에 의해 HVP를 생산하는데 있어서 여러 가지 효소의 조합, 효소 첨가 순서, pH, 산세척 등이 가수분해에 미치는 효과를 검토하였다. Endoprotease으로서 Neutrase와 Alcalase를 혼합하여 사용하는 것이 Alcalase를 단독 사용하는 것 보다 가수분해도가 높았으며 exoprotease인 Flavourzyme을 이용하여 2차 가수분해함으로써 60%이상의 가수분해도를 얻을 수 있었다. 2차 가수분해 시 원심분리에 의해 미반응 불용 성분을 제거하는 것은 가수분해도에 큰 영향을 미치지 않았고, 1차 가수분해 후 2차 원심분리의 수세수를 원료 현탁에 재사용하였을 경우 가수분해도 및 단

백질 회수율을 높일 수 있었다. Ca이온의 첨가에 의한 Neutrase의 안정화 효과는 가수분해도에 큰 영향을 미치지 않았다. 탄수화물 분해효소의 사용과 산세척의 반복에 의해 가수분해도와 생산물의 단백질 함량이 각각 증가함을 알 수 있었다. Endoprotease과 exoprotease을 별도로 각각 처리하기보다는 동시 처리하는 것이 가수분해에 효율적이었다.

### 문 헌

- Ericsson, R.J. and Youngdale, G.A.: Male antifertility compounds: structure and activity relationships of U-5897, U-15,646 and related substances. *J. Reprod. Fert.*, **21**, 263 (1970)
- Pommer, K.: New proteolytic enzymes for the production of savory ingredients. *Cereal Foods World*, **40**, 745 (1995)
- Olsen, H.S. and Adler-Nissen, J.: Industrial production and applications of a soluble enzymatic hydrolyzate of soya protein. *Process Biochem.*, **14**, 6 (1979)
- Lahl, W.J. and Braun, S.D.: Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. *Food Technol.*, **48**, 68 (1994)
- Frokjaer, B.: Use of hydrolysates for protein supplementation. *Food Technol.*, **48**, 86-88 (1994)
- Schmidl, M. K., Taylor, S. L. and Nordlee, J. A.: Use of hydrolysate-based products in special medical diets. *Food Technol.*, **48**, 77 (1994)
- Hjalmarsson, S. and Akesson, R.: Modern Kjeldahl procedure. *Int. Laboratory*, **3**, 70 (1983)
- Adler-Nissen, J.: *Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins*, Elsevier Applied Science Publisher, New York, p.1 (1986)
- Adler-Nissen, J.: Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 1256 (1979)
- Novo Industry A/S: Anson hemoglobin method for determination of bacterial proteinase activity. AF 4.2/5, Novo Industry A/S, Bagsvaerd, Denmark.

(1997년 6월 11일 접수)