

단백질 분해효소 종류에 따른 콩 가수분해물의 특성

정규호 · 서지형¹ · 정용진[†]

계명대학교 식품가공학과 및 (주)계명푸드텍스, ¹영남이공대학 식음료조리계열

Characteristics of Soybean Hydrolysates Prepared with Various Protease

Kyu-Ho Jeong, Ji-Hyung Seo¹ and Yong-Jin Jeong[†]

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea and
Keimyung Foodex Co., Daegu 704-701, Korea

¹Div. of Food, Beverage & Culinary Arts, Yeungnam College of Science & Technology, Daegu 705-701, Korea

Abstract

In order to produce functional soy hydrolysates, we investigated the characteristics of soy hydrolysates prepared with 4 kinds of commercial proteases. The yield was high in protease (B), in which 43.2% soy flour and 61.6% SPI were obtained. The solubility and the contents of total phenolic compound were greatly increased by the treatment of protease (B) along with protease (C). The calcium intolerance was improved after the protease (B) treatment in soy flour or Soybean Protein isolate (SPI). Consideration for the physicochemical characteristics including yield, protease (B) has potential application for the production of soy hydrolysates. After the protease treatment, the beany flavor of soy flour became weak and the bitter taste was strong in both soy flour and SPI. However, there was no difference of beany flavor and bitter taste among delete protease hydrolysates. Nevertheless, further modifications and improvements to the sensory characteristics would be required for the development of a range of products with the hydrolysate.

Key words : soy bean, soy hydrolysate, protease, functional hydrolysate

서 론

콩은 콜레스테롤이 존재하지 않고 양질의 단백질과 필수 지방산을 함유하고 있으며, 최근 WHO에서 콩단백질이 우유 단백질과 대등한 품질로 확인됨에 따라 효용가치가 높은 천연 식품소재로 부각되고 있다. 특히 콩에 함유된 isoflavone을 비롯한 각종 생리활성 물질이 체내에서 콜레스테롤치 저하, 항암작용, 치매방지, 면역증대 등의 효과가 있는 것으로 보고(1-3)됨에 따라, 청국장이나 두유와 같은 대두 제품의 수요가 급격히 증가하는 추세이다. 콩가공제품은 콩 이외에 분리 콩단백(soy protein isolate, SPI)을 주원료로 하여 생산되고 있으며, 일부에서는 콩에서 비롯된 기능성 peptide(4,5)나, 생리활성 물질(6-8)을 보강시킨 새로운 제품

개발을 시도하고 있다.

두유는 여름철 별미식인 콩국의 비린내를 제거하여 음료 형태로 개발한 제품으로, 과거에는 환자나 노인층에 국한해서 특수 영양식으로 이용되었으나 근래에는 대중화된 음료식품으로 인식되고 있다. 이에 따라 관련 업계에서는 전통식 두유 생산 이외에 소비자의 기호에 부응하여 맛을 개선하는 동시에 기능성을 향상시킨 제품 개발에 주력하고 있으며 관심중의 일부분은 칼슘을 보강한 고칼슘 제품으로, 대다수의 현대인이 칼슘결핍에 따른 골질환 발병의 위험(9)에 노출된 점을 감안할 때 시장성이 클 것으로 평가된다. Protease를 이용한 콩 가수분해물 생산은 콩단백질의 특성 변화로 고칼슘 두유(105 mg/100 mL 이상 칼슘함유)를 생산할 때 발생하는 응고, 침전을 방지할 수 있으며, 이밖에도 기능성 peptide 및 생리활성 성분의 유리현상 등으로 새로운 건강음료의 개발을 기대해 볼 수 있다. 콩단백질의

[†]Corresponding author. E-mail : yjjeong@kmu.ac.kr,
Phone : 82-53-580-5557, Fax : 82-53-580-6477

효소제 처리에 관한 연구로는 Chae 등(10)과 Choung 등(11)이 미생물을 복합처리한 두유박 단백질 제조 및 콩단백질 특성에 대해, Pyun과 Hwang(12)이 *Bacillus polymyxa*에서 분리한 protease를 처리한 단백질의 기능성에 대해 보고하고 있으나, 아직 상업적 활용을 위한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 각각 다른 4종의 protease 처리에 따른 콩분말 및 콩분리단백(SPI) 가수분해물의 특성을 조사하여 그 활용 방안을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험의 재료는 2004년 경북 상주군에서 재배한 메주콩을 분쇄기로 100 mesh 이상 분쇄시킨 분말과, (주)정식품에서 제공받은 콩분리단백(soy protein isolate, SPI)을 각각 증류수에 현탁하여 10%(w/v)용액으로 만들어 기질로 이용하였다. Protease는 Daiwa kasei(Japan)에서 (A) Protin 90,000 PU/g, (B) Protin 70,000 PU/g, (C) Protin -1 100,000 PU/g 및 (D) Protin- 2 100,000 PU/g를 각각 구입하여 사용하였다.

가수분해물의 제조

Cha와 Yoon의 방법(13)에 준하여 콩분말 및 SPI 기질용액을 200 mL씩 취한 후 각각의 protease를 기질용액에 대해 0.2%(v/w)의 농도로 첨가한 다음, 50°C에서 2시간동안 100 rpm으로 진탕하면서 가수분해 시켰다. 각 반응액은 80°C에서 10분간 처리하여 잔존 protease를 불활성화 시킨 후, 8,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 상정액을 사용하였으며, 대조구는 기질용액에 protease 처리를 하지 않은 것을 동일하게 비교하였다.

수율 및 용해도 측정

수율은 원료량에 대하여 가수분해 후 남은 잔사의 건조중량을 뺀 값을 백분율로 나타내었다. 용해도는 Edwards와 Shipe의 방법(14)에 따라 가수분해물 10 mL에 10%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)용액을 동량으로 넣어 혼합한 후 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 불용성 물질을 제거한 후, 분리된 상정액의 가용성 단백질을 정량하여 총 단백질에 대한 가용성 단백질의 백분율로 표시하였다. 이때 10% TCA용액에 침전하지 않는 단백질을 가용성 단백질로 정의하였다.

총 페놀성 물질 및 칼슘내인성 측정

총 페놀성 물질은 A.O.A.C(15) 방법으로 정량하였으며 tannic acid를 표준물질로 이용하였다. 칼슘내인성은 Pyun과 Hwang의 방법(16)에 따라 각각의 가수분해물 10 mL에

30 mM CaCl₂용액 10 mL을 첨가하여 25°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액은 원심분리(8,000 rpm, 10분)하여 침전물을 제거한 후, 280 nm에서 흡광도를 측정하여 칼슘내인성으로 나타내었다.

관능검사

관능검사에 필요한 훈련과정을 거치게 한 후 신뢰성과 실험에 대한 관심도 등을 고려하여 식품영양전공 대학생 15명을 선발하여 관능검사를 실시하였다. 각 가수분해물의 비린향(1점:비린내가 매우 강하다, 5점: 전혀 나지 않는다)과 쓴맛(1점:매우 쓰다, 5점: 전혀 쓰지 않다)에 대하여 5점 평점법으로 평가하였으며(10) 이때 시료는 4°C에서 보관 후 제공되었다. 관능검사 결과는 PC-SAS system을 이용하여 통계처리 하였으며, 시료간의 유의성 검증은 ANOVA를 이용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였다(17).

결과 및 고찰

콩분말 및 SPI 일반성분

본 실험에 사용된 콩분말과 SPI의 일반성분을 조사한 결과를 Table 1에 나타내었다. 수분함량은 콩분말이 8.5%, SPI가 7.9%로 나타났으며, 조단백질은 SPI가 콩분말보다 2배(90.6 ± 0.12 %) 이상 많이 함유되어 있었다. SPI에서는 조지방이 검출되지 않았으며 콩분말은 SPI보다 조회분과 탄수화물의 함량이 높았다.

Table 1. Proximate composition of soy flour and soy protein isolate

Composition	(unit : %)	
	Soy flour	Soy protein isolate
Moisture	8.5 ± 0.21 ¹⁾	7.9 ± 0.16
Crude protein	40.8 ± 0.13	90.6 ± 0.12
Crude fat	20.5 ± 0.12	-
Crude ash	4.2 ± 0.14	1.0 ± 0.10
Crude carbohydrate	26.0 ± 0.13	0.5 ± 0.13

¹⁾Mean ± SD of triplicate determinations.

수율 및 용해도

콩분말과 SPI에 4종의 protease를 각각 처리하여 얻은 가수분해물의 수율은 콩분말을 기질로 하였을 때 각 protease 처리군의 수율은 39.8 ~ 43.2%로, 대조군의 수율 33.5%와 크게 차이하지 않았으나, SPI에서는 protease (A)를 비롯해서 3종의 protease 처리로 수율이 2~10배까지 큰 폭으로 증가하였다(Fig. 1). 이는 콩분말의 경우 가용성을 가진 비단백성 물질이 다량 함유되어, SPI에 비해 수율 변화가 상대적으로 작기 때문인 것으로 생각되며, 수율은

두 기질 모두 protease (B)처리 시에 가장 높았다.

Protease 처리 후 용해도는 가수분해물의 가용성 단백질 비율을 측정된 것으로, 가수분해로 생성된 peptide의 용해도와 분자크기 등을 간접적으로 나타낸다(Fig. 2). 용해도는 protease (D)을 제외한 나머지 protease를 SPI에 처리하였을 때 크게 증가하여, 단백질의 가용화가 급속히 진행됨을 확인할 수 있었다. Protease (D)는 가수분해물의 수율은 양호하였으나 분해 특성상 좀더 고분자의 peptide를 생산하기 때문에 용해도가 낮은 것으로 예상되었다. 용해도는 protease (B)처리구와 (C)처리구에서 높았으며, 콩분말에서는 용해도가 약 22%, SPI에서는 약 43% 정도로 나타났다. 단백질의 용해도는 등전점일 때 최소이고, 양 극단의 pH로 갈수록 증가하는 유형을 나타낸다(18). 본 연구에서 얻은 가수분해물의 pH는 5.6~5.9 범위로, 본 연구결과는 Pyun과 Hwang(12)이 두유단백질에 효소제를 처리하여 동일한 pH에서 얻은 38% 내외의 수율을 얻은 것과 유사하였다.

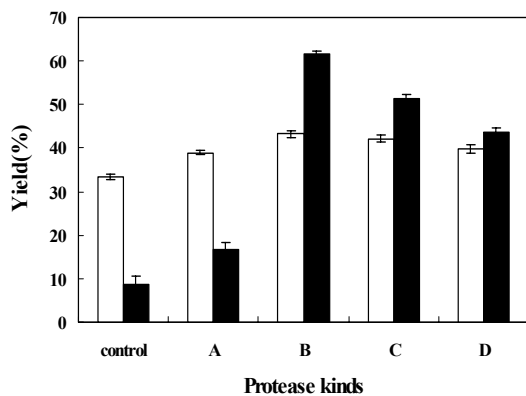


Fig. 1. Comparison of yield of soy flour and soy protein isolate hydrolysate prepared by different proteases.

□; soy flour, ■; SPI.

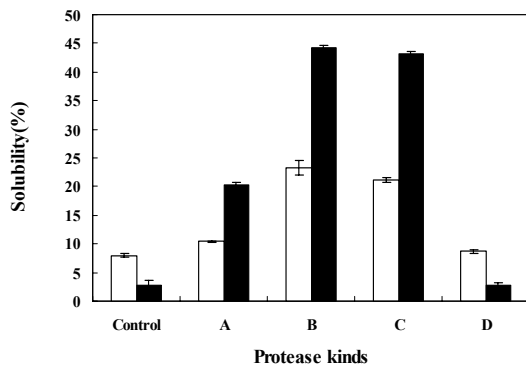


Fig. 2. Comparison of solubility of soy flour and soy protein isolate hydrolysate prepared by different proteases.

□; soy flour, ■; SPI.

총 페놀성물질 및 칼슘내인성

각각의 protease 처리에 따른 총 페놀성 물질의 함량을 조사한 결과를 Table 2에서 보는 바와 같이 SPI를 protease (B)와 (C)로 처리한 경우 총 페놀성 물질은 249.9 mg%, 222.2 mg%로, 대조구 137.6 mg%에 비해서 1.6배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 하지만 protease (A)처리구의 총페놀성 물질은 167.9mg%로 대조구와 차이가 없었으며, protease (D)처리구는 총 페놀성 물질 함량이 대조구보다 낮아 가수분해물간 상호작용이 있을 것으로 사료된다. Pratt 등(8)이 콩단백질을 가수분해하면 페놀성 항산화성분인 isoflavone인 genistein과 daidzein, glycitein 등을 추출된다고 보고된 바 있어, 가수분해 후 페놀성 물질의 증가는 isoflavone 성분과 관련이 있을 것으로 생각되며 함유된 페놀성 물질의 특성에 대해서는 연구가 더 필요한 것으로 생각된다. 한편 콩분말은 대조구의 총 페놀성 물질이 57.4 mg %로 나타났으며, protease (A)와 (D)처리구에서 58.0 mg%와 64.9 mg%, protease (B)와 (C)에서 83.1 mg%와 77.3 mg%를 나타내었다. 앞서 SPI에 대한 결과와 관련지어 볼 때, protease (A),(D)의 분해기전은 기질의 총 페놀성 물질 유리현상과는 크게 상관관계가 없는 것으로 생각된다.

Table 2. Comparison of total phenolic compound contents of soy flour and soy protein isolate hydrolysate prepared by different protease

Protease kinds	(mg %)	
	Soy flour	Soy protein isolate
Control	57.4 ± 0.93 ¹⁾	137.6 ± 2.41
A	58.0 ± 1.91	167.9 ± 3.68
B	83.1 ± 3.27	249.9 ± 1.06
C	77.3 ± 1.82	222.2 ± 0.95
D	64.9 ± 1.85	69.6 ± 1.22

¹⁾Values are mean ± S.D.

Protease 처리 후 가수분해물의 칼슘내인성을 조사한 결과를 콩분말의 칼슘내인성은 protease (A), (C) 및 (D)처리구에서 0.105 ~ 0.188로 대조구의 0.107과 차이가 없었으나 protease (B)처리구는 0.421로 가장 높게 나타났다(Table 3). SPI 가수분해물의 칼슘내인성은 protease (B)처리구에서 0.32로 다른 protease 처리구보다 높았다. 또한 Protease (B) 처리에 따른 칼슘내인성은 SPI 기질보다 콩분말을 기질로 한 처리구에서 높게 나타나 콩분말과 SPI간 성분 차이에 의한 영향이 있을 것으로 생각된다. 칼슘내인성은 콩단백질의 칼슘에 대한 결합 억제능을 나타낸 값으로, 칼슘이 강화된 음료형태의 콩제품 생산에 있어 잠재적 품질결정 요인으로 인식된다(16). 따라서 칼슘내인성은 단백질의 용해도와 함께 콩가공품의 품질을 좌우하는 주요 요인으로

protease (B)는 칼슘내인성 향상에 긍정적인 효과를 가져올 것으로 예상되며 칼슘내인성에 영향을 미치는 요인에 대한 추가적인 연구가 요망된다.

Table 3. Comparison of calcium intolerance capacity of soy flour and soy protein isolate hydrolysate prepared by different proteases

Protease kinds	Soy flour	Soy protein isolate
Control	0.107 ± 0.002 ¹⁾	0.093 ± 0.004
A	0.116 ± 0.000	0.179 ± 0.003
B	0.421 ± 0.014	0.320 ± 0.008
C	0.188 ± 0.003	0.256 ± 0.012
D	0.105 ± 0.007	0.121 ± 0.011

¹⁾Turbidity at 280 nm of diluted($\times 100$) supernatant of soymilk added 30 mM CaCl₂.

관능평가

콩분말과 SPI의 protease 가수분해물의 관능검사 결과를 Table 4에 나타내었다. 콩분말에서 콩 특유의 비린향은 대조구와 protease 처리구간에 유의적인 차이가 있었으나 SPI에서는 유의적인 차이가 없었다. 이는 콩분말을 protease로 처리하면 lipoxxygenase의 작용이 저해되어 콩비린내가 감소한 것으로 생각되며, SPI는 콩에서 SPI를 분리·제조하는 중에 lipoxxygenase가 불활성화 됨으로서 콩비린향에 유의적 차이가 나타나지 않은 것으로 생각된다. 또한 protease를 처리한 후 잔존한 콩비린내는 본 연구에서 열처리되지 않은 기질을 이용하여 저온(50°C)에서 가수분해물을 제조한 것에 기인된 것으로 생각되었다. 맛에 대한 평가는 콩분말과 SPI 모두 대조구보다 protease 처리구가 유의적으로 쓴맛을 나타내었으며, 콩분말보다 SPI를 기질로 한 조건에서 쓴맛이 강한 것으로 나타났다. 이 같은 쓴맛은 가수분해물을 제조할 때 고미성 아미노산이 함께 생성됨에 따른 것이며, 콩분말에 비해 SPI의 가수분해도가 높아서 쓴맛이 좀더

Table 4. Sensory evaluation of soy flour and soy protein isolate hydrolysate prepared by different proteases

Protease kinds	Soy flour		Soy protein isolate	
	Beany flavor	Bitter taste	Beany flavor	Bitter taste
Control	2.59 ^b	3.87 ^a	3.38 ^a	3.66 ^a
A	3.16 ^a	3.66 ^b	3.48 ^a	3.50 ^{ab}
B	3.21 ^a	3.62 ^b	3.52 ^a	3.19 ^b
C	3.18 ^a	3.59 ^b	3.42 ^a	3.18 ^b
D	3.09 ^a	3.69 ^b	3.45 ^a	3.22 ^b

^{ab} means in the column followed by the same letters are not significantly different at p < 0.05 level by Duncan's multiple range test.

강하게 나타난 것으로 생각된다. 쓴맛은 콩비린내와 마찬가지로 protease 종류에 따른 영향은 확인되지 않았다. 이상의 결과로 protease (B)를 이용한 기능성 콩 가수분해물의 제조 가능성을 확인할 수 있었으며 앞으로 protease (B)의 최적 처리조건과 관능적 특성에 대한 지속적인 연구가 더 필요하며, 가수분해물을 음료 등으로 상품화할 경우에는 제품의 concept 및 소비계층의 기호를 반영하여 관능적 보완이 요구되었다.

요 약

콩 가수분해물의 기능성 강화를 위하여 콩분말 및 SPI에 4종의 protease를 처리하여 가수분해물의 특성을 조사하였다. 수율은 protease (B)를 처리하였을 때 콩분말에서 43.2%, SPI에서 61.6%로 가장 높게 나타났다. 용해도와 총페놀성 물질은 protease (B)와 (C) 처리구에서 크게 증가하였으며, 칼슘내인성은 protease (B)를 처리하였을 때 향상되었다. 콩분말에서 콩 특유의 비린내는 protease 처리로 감소하였으나 콩분말과 SPI 모두 protease 처리로 쓴맛이 강해졌으며 protease의 종류에 따른 차이는 확인되지 않았다. 가수분해물의 수율을 비롯한 이화학적 특성을 감안할 때, protease (B)가 가수분해물 제조에 적합하였으며, 가수분해물의 활용 형태에 따라 관능적 특성의 보완이 요구되었다.

참고문헌

1. Son, Y.S. and Kwon, T.W. (2000) Hypocholesterolemic effect of soybean and soy products. *Food Industry and Nutrition*, 5, 36-41
2. Sung, M.K. (1996) The anticarcinogenic properties of soybeans. *Korea Soybean Digest.*, 13, 19-31
3. Tovar-Palacio, C., Potter, S.M., Hafermann, J.C. and Sahy, N.F. (1998) Intake of soy protein and soy protein extracts influences lipid metabolism and hepatic gene expression in gerbils. *J. Nutr.*, 128, 839-842
4. Kang, J.H. (1999) Funtional characterization of soy protein hydrolysate. *Food Industry and Nutrition*, 4, 66-72
5. Jianping, W.U. and Xiaolin, D. (2002) Characterization of inhibition and stability of soy protein derived angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides. *Food Res. Int.*, 35, 367-375
6. Kim, C.S., Lee, Y.S., Kim, J.S. and Hahn, Y.H. (2000) High performance liquid chromatographic analysis of isoflavones in soybean foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 32, 25-30

7. Liu, K. (2000) Expanding soybean food utilization. *Food Technol.*, 54, 46-58
8. Pratt, R., Dan, E., Pietro, W.L. and Giffee, J.W. (1981) Phenolic antioxidants of soy protein hydrolysate. *J. Food Sci.*, 47, 24-31
9. Health Industry Development Division. (2002) Report on 2001 national health and nutrition survey - Nutrition survey(I). Ministry Health & Welfare. p.155-222.
10. Chae, H.J., In, M.J. and Lee, J.D. (1998) Production of a protein supplement from soymilk residues by combined use of enzymes and microorganisms. *Agri. Chem. Biotechnol.*, 41, 73-77
11. Choung, N.H., Shin, Y.S., Kim, S.H. and Yim, M.H. (2003) Characteristics of soy protein hydrolysates with enzymes produced by microorganisms isolated from traditional *Meju*. *Korean J. Food Preserv.*, 10, 80-88
12. Pyun, J.W. and Hwang, I.K. (1995) Effects of protease treatment on functional properties of soymilk protein. *Korean J. Soc. Food Sci.*, 11, 26-32
13. Cha, M.H. and Yoon, S. (1993) Modification of functional properties of soy protein isolate by proteolytic enzymes. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, 25, 39-45
14. Edwards, J.H. and Shipe, W.F. (1978) Characterization of plastein reaction products formed by pepsin, α -chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysates. *J. Food Sci.*, 43, 1215-1219
15. A.O.A.C. 1980. Official methods of analysis. 13th ed., Association of Official Analytical Chemist. Washington, p.176-180
16. Pyun, J.W. and Hwang, I.K. (1996) Preparation of calcium-fortified soymilk and *in vitro* digestion properties of its protein and calcium. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 995-1000
17. SAS. 1988. *SAS/STAT User's Guide*. Version 6 4th ed. SAS institute, Inc., Cary, NC.
18. Kim, S.Y., Park, P.S. and Rhee, K.C. (1990) Functional properties of peroteolytic enzyme modified soy protein isolate. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 651-657

(접수 2005년 7월 6일, 채택 2005년 9월 23일)