

미강과 쌀 단백질의 비율과 분해 시간에 따른 효소분해물의 품질 특성

선유경¹ · 구후모² · 박광근² · 양은주¹

¹(재)전남생물산업진흥원 식품산업연구센터
²매일식품주식회사

Characteristics of Enzymatic Hydrolysates of Rice Bran and Rice Protein by Mixing Ratio and Hydrolysis Times

Yoo Kyung Seon¹, Hoo Mo Goo², Kwang Kun Park², and Eun Ju Yang¹

¹Food Research Center, Jeonnam Bioindustry Foundation
²Maeil Foods Co., Ltd.

ABSTRACT This study was conducted to develop a savory ingredient using rice material. We made hydrolysates with ratios of rice bran and rice protein of 4:0, 3:1, 2:2, and 1:3 (w/w) using commercial enzymes, and then investigated their quality properties. At a ratio of 3:1, nitrogen degradation ratio (NDR), savory taste, and overall acceptability were the highest compared to other ratios. Rice bran and rice protein with a ratio of 3:1 were hydrolyzed for 13 days, and characteristics of the hydrolysate were investigated after 3, 5, 7, 10, and 13 days. Total nitrogen, amino nitrogen, and NDR of the hydrolysate after 10 days were higher than those of other hydrolysates. SDS-PAGE showed that the molecular weight of the hydrolysate peptide became smaller as hydrolysis time increased. Glutamic acid content was highest among all amino acids in the hydrolysate for 13 days. Amino acids related to bitter taste decreased from 5 to 13 days, whereas amino acids related to sweet taste substantially increased over time. Sensory evaluation showed that the hydrolysate after 10 days was best. These results suggest that rice bran and rice protein at a mixing ratio of 3:1 and hydrolysis for 10 days were optimal hydrolysis condition for development of natural savory ingredients.

Key words: rice bran, rice protein, enzymatic hydrolysis, natural seasoning, savory ingredient

서 론

쌀은 밀, 옥수수 등과 함께 세계 3대 작물에 포함되며, 아시아 국가에서 주식으로 사용되는 주요 곡물이다. 미강은 현미를 백미로 도정하는 단계에서 발생하는 부산물로서 우리나라에서는 연간 40~60만 톤의 미강이 부산물로 발생하고 있다. 현재 미강은 일부만 미강유 생산에 사용되며 대부분은 사료로 사용되거나 농업폐기물로 처리되고 있으나(1), 최근에는 미강의 우수한 영양성과 기능성이 보고되면서 식품뿐만 아니라 의약품 소재로서의 활용 가능성도 점차 증가하고 있다. 미강에는 식이섬유, γ -aminobutyric acid(GABA)를 비롯하여 phytic acid, γ -oryzanol, tocopherols, tocotrienols, phenolic 성분의 항산화 물질 등 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있으며(2), 항산화 활성(3), 항암 작용(4), 항염증 작용(5), 항알레르기(6), 면역촉진 효과(7) 등 다양한 생리활성이 보고되고 있다.

미강에는 12~15%의 단백질이 포함되어 있는데, 쌀 단백

질은 다른 곡물과 비교하여 필수아미노산인 lysine 함량이 높으며 소화율이 90% 이상이므로 우수한 곡물 단백질로 평가받고 있다(8). 특히 쌀 단백질은 식품 알레르기 유발 가능성이 매우 낮아 영·유아식의 제조에 유용하게 사용할 수 있으며(9), 기존의 식물성 단백질 급원으로 주로 사용되고 있는 콩단백과 유청단백을 대체할 수 있는 단백질로 기대되고 있다(10).

쌀 단백질을 식품 소재로 개발하기 위해 미강으로부터 단백질의 추출 조건과 추출물의 기능성 평가에 대한 여러 연구들이 진행되어 왔다. 미강을 알칼리 추출 또는 효소를 이용한 가수분해를 통하여 단백질 추출조건을 평가하고(1,11), 추출 단백질의 용해성, 유화성, 거품성 등의 기능성을 평가한 보고들이 있다(12,13). Zhang 등(14)은 미강단백질 가수분해물이 고지방식을 섭취한 동물 모델에서 콜레스테롤 대사를 조절한다고 보고하였다. Boonloh 등(15)은 미강단백질 가수분해물이 고탄수화물 및 고지방식을 섭취한 동물 모델에서 인슐린 저항성을 높이고 전염증성 사이토카인 발현을 감소시킨다고 보고하였다. Shih(16)는 쌀 단백질 농축물을 제조하고 pullulan과 혼합하여 가식성 필름을 제조하였다. 그러나 쌀 단백질을 다양한 식품에 첨가할 수 있는

천연조미료로 개발한 연구는 미비한 실정이다.

현재 천연조미료의 제조는 미생물의 작용으로 단백질을 분해하여 된장, 간장 및 액젓 등을 제조하는 발효법과 산분해 또는 효소분해법을 통하여 동물성 및 식물성 단백질 가수분해물을 제조하는 방법이 사용되고 있다(17). 특히 가수분해 식물성 단백질(hydrolyzed vegetable protein, HVP)은 복합조미료, 소스류, 풍미증진제 등의 원료로 널리 사용되고 있으나(18), HVP의 원료로 탈지 대두박이나 소맥 글루텐이 주로 사용되며 이들은 알레르기를 유발하는 식품으로 알려져 있다. Sampson(19)은 영유아 및 어린이에게 알레르기를 일으키는 식품으로 우유, 달걀, 땅콩, 대두, 밀이 90%를 차지한다고 보고하였다. Ogura 등(20)은 아토피피부염 환자를 조사한 결과 식품알레르기 유병률이 대두알레르기는 33.5%, 밀알레르기는 20.2%인 반면에 쌀알레르기는 2.5%로 나타났음을 보고하였다. 쌀은 국내외에서 알레르기의 유발을 저하시킨 글루텐-프리 제품의 대체 소재로 이용되고 있으며(21), 우유 단백질 알레르기를 가진 유아의 식이 소재로 적합한 것으로 연구되었다(22). 따라서 쌀 단백질을 이용한 조미소재는 저알레르기 식품 원료로 다양하게 활용될 수 있다.

본 연구에서는 영양성과 기능성이 우수하면서도 알레르기 유발 가능성이 낮은 미강과 쌀 단백질을 원료로 효소분해법을 이용하여 감칠맛이 우수한 조미소재를 개발하고자 하였다. 미강과 쌀 단백질의 비율과 효소분해 시간에 따른 효소분해물의 특성을 평가하여 쌀 유래의 감칠맛 소재를 제조하기 위한 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료

효소분해 원료인 미강은 전남 순천시에 소재하는 농업회사법인 (주)현도에서 구매하였다. 쌀 단백질은 벨기에의 Beneo-Remy NV에서 제조한 Remypro N80+ 제품을 (주)빅솔(Anyang, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 효소는 Novozyme(Bagsvaerd, Denmark) 제품으로서 Flavourzyme, Protamex, Alcalase, Viscozyme, Celluclast, Glutaminase를 구입하여 사용하였다.

효소분해

원료의 비율에 따른 효소분해를 위하여 미강과 쌀 단백질을 각각 4:0, 3:1, 2:2, 1:3(w/w) 비율로 혼합하여 준비하였다. 미강과 쌀 단백질의 비율에 따른 원료를 각각 150 g씩 유리병에 넣고 15% 소금물 300 g과 분해 효소인 Flavourzyme 9 g, Protamex 1.5 g, Alcalase 0.9 g, Viscozyme 0.12 g, Celluclast 1.5 g, Glutaminase 0.3 g을 첨가한 후 50°C에서 7일 동안 효소분해를 진행하였다. 효소분해 시간을 선정하기 위해 미강과 쌀 단백질을 3:1(w/w) 비율로 혼합하여 효소분해 원료로 사용하였으며, 소금물과 효소는 상

기의 방법과 동일하게 첨가한 후 50°C에서 각각 3, 5, 7, 10, 13일 동안 효소분해를 진행하였다. 분해가 종료된 효소분해물은 filter paper(HM.01006185, Hyundai Micro Co., Ltd., Seoul, Korea)로 여과한 후 여과액을 85°C에서 15분간 처리하여 효소를 실활시켰다. 미강의 전분 및 불용성 침전물을 제거하기 위하여 실온에서 72시간 정치한 후 filter paper로 여과한 효소분해물을 분석 시료로 사용하였다.

이화학적 특성 분석

총질소(total nitrogen, TN) 함량은 Kjeldahl법, 아미노태질소(amino nitrogen, AN) 함량은 Formol 적정법으로 분석하였다. 염도는 Mohr법으로 측정하였으며, Brix는 당도계(PAL-a, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. pH는 pH meter(pH-200L, Istek Inc., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다.

관능평가

효소분해물의 관능평가는 매일식품(주)과 식품산업연구센터 연구원 중 훈련된 12명의 패널을 대상으로 실시하였다. 평가 항목으로는 색(color), 향(flavor), 감칠맛(savory taste)과 종합 기호도(overall acceptability)에 대하여 평가자의 기호도를 7점 척도법으로 평가하였다. 각 항목에 대한 점수는 1점으로 갈수록 기호도가 낮고, 7점으로 갈수록 기호도가 높아지는 것으로 평가하였다.

유리아미노산 분석

효소분해물 0.2 mL에 16% trichloroacetic acid(Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA) 10 mL를 가하여 30분간 진탕한 후 1,650×g에서 15분간 원심분리 하고 0.45 μm syringe filter(Advantec, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하여 시료로 사용하였다. 분석은 injection volume 20 μL, flow rate 0.3 mL/min으로 하여 자동 아미노산 분석기(Hitach Amino Acid Analyzer L-8900, Hitach Ltd., Tokyo, Japan)로 분석하였다.

SDS-PAGE

효소분해물의 단백질 및 펩타이드 패턴은 SDS를 포함하는 polyacrylamide gel(NuPAGE 4~12% Bis-Tris Gel, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 이용한 전기영동으로 확인하였다. 효소분해물을 sample buffer(4× Laemmli Sample Buffer, Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)와 섞어서 5분간 끓인 다음 gel에 loading 하였다. 표준 분자량 물질로는 PageRuler Plus Prestained Protein Ladder(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하였다. 전기영동은 180 mA로 시행하였으며, staining buffer(Brilliant Blue R250 Protein Staining Solution, ELPIS-Biotech Inc., Daejeon, Korea)와 destaining buffer(methanol 300 mL, acetic acid 100 mL, H₂O

600 mL)로 염색 및 탈색을 하였다.

통계처리

실험 결과는 SPSS program(Statistical Package for Social Science, version 17, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 시행한 후 Duncan's multiple range test로 사후 검증하였다($P < 0.05$).

결과 및 고찰

미강과 쌀 단백질 비율에 따른 효소분해물의 품질 특성

쌀을 원료로 하는 감칠맛 소재를 개발하기 위하여 주원료로서 쌀 가공부산물인 미강을 선정하고 부원료로 아미노산 함량을 보완할 수 있는 쌀 단백질을 선정하였다. 미강은 15% 정도의 단백질을 함유하므로 식물성 단백질원으로 활용할 수 있다. 원료 비율에 따른 효소분해물의 특성을 평가하기 위하여 미강과 쌀 단백질을 4:0, 3:1, 2:2, 1:3(w/w)의 비율로 준비하여 효소분해를 시행하였다. 가수분해 효소는 미강의 단백질과 결합되어 있는 섬유질을 분해하기 위한 Celluclast와 Viscozyme, 단백질 가수분해 효소인 Flavourzyme, Protamex, Alcalase, 그리고 glutamine을 glutamic acid로 변환시키는 Glutaminase를 혼합하여 사용하였다. 효소분해 시 미생물의 오염을 방지하기 위하여 15% 염수를 첨가하였다. 미강과 쌀 단백질의 비율에 따른 효소분해물의 이화학적 특성은 Table 1에 나타내었다. 쌀 단백질의 비율이 높아질수록 총질소와 아미노태 질소 함량은 증가하였다. 미강과 쌀 단백질이 4:0 비율일 때 총질소와 아미노태 질소는 각각 0.70%와 0.31%로 가장 낮은 함량을 나타내었으며, 1:3의 비율일 때 총질소와 아미노태 질소는 각각 3.13%와 1.37%로 가장 높은 함량을 나타내었다. Jeong 등

(23)은 미강 첨가량에 따른 단기속성 간장을 제조한 연구에서 총질소 성분은 유리아미노산, 펩타이드, 아미노태 질소 등으로 구성되어 있으며, 간장의 맛을 좌우함은 물론 간장의 수율에 관여한다고 하였다. Kim(24)은 간장의 속성에 따른 성분의 변화를 연구한 보고에서 아미노태 질소는 간장의 속성 정도 및 보존기간 중의 품질평가 지표가 되는 성분이며, 아미노태 질소의 함량이 높은 장류가 성분 면에서도 좋은 것으로 평가된다고 하였다. 미강의 단백질 함량은 15% 정도이나, 쌀 단백질의 단백질 함량은 80%로서 매우 높으므로 원료에서 쌀 단백질의 비율이 증가할수록 질소 함량은 높아진다. 그러나 농업부산물인 미강에 비해 쌀 단백질은 가공제품으로서 원료에서 쌀 단백질 비율의 증가는 원가상승의 요인이 되므로 효소분해물의 질소 함량뿐만 아니라 질소분해율 및 관능적 특성을 종합적으로 고려하여 품질 특성과 경제성이 우수한 원료의 비율이 선정되어야 한다. 총질소 함량에 대한 아미노태 질소의 함량 비율인 질소분해율은 발효진행도를 나타내는 지표이며(25), 본 연구에서는 미강과 쌀 단백질이 3:1의 비율로 사용된 효소분해물에서 질소분해율이 가장 높은 것으로 나타났다. 염도는 미강의 비율이 높아질수록 증가하였으며, 이러한 결과는 미강이 수분을 흡수하면서 효소분해액의 부피가 감소하여 상대적으로 염도의 비율이 높아진 것으로 생각된다. 브릭스 측정을 통한 가용성 고형분 함량은 쌀 단백질의 비율과 비례하여 증가하였으며, pH 측정에서 원료 비율에 따른 유의적인 변화는 크지 않은 것으로 나타났다.

미강과 쌀 단백질의 비율에 따른 효소분해물의 관능적 특성은 색, 향, 감칠맛, 종합기호도 항목으로 7점 척도법으로 평가하여 Table 2에 나타내었다. 색에 대한 기호도는 미강과 쌀 단백질이 2:2 비율인 효소분해물에서 5.58점으로 가장 높은 기호도를 나타내었으나, 원료 비율에 따른 특이적인 경향성은 나타나지 않았다. 향에 대한 기호도는 미강과 쌀

Table 1. Chemical characteristics of enzymatic hydrolysate of rice bran and rice protein prepared with different mixing ratios

Mixing ratio (rice bran : rice protein)	Total nitrogen (%)	Amino nitrogen (%)	Nitrogen degradation ratio (%)	NaCl (%)	Brix (%)	pH
4:0	0.70±0.04 ^{c1)}	0.31±0.02 ^c	44.29 ^{bc}	17.30±0.11 ^a	34.20±0.30 ^c	4.72±0.06 ^b
3:1	1.53±0.17 ^b	0.74±0.08 ^b	48.37 ^a	17.30±0.16 ^a	35.20±0.10 ^c	4.77±0.03 ^b
2:2	2.50±0.45 ^a	1.12±0.21 ^a	44.80 ^b	15.30±0.20 ^b	38.80±0.40 ^b	4.87±0.05 ^a
1:3	3.13±0.66 ^a	1.37±0.30 ^a	43.77 ^c	14.90±0.18 ^b	41.90±0.30 ^a	4.90±0.04 ^a

Values are expressed as the mean±SD (n=3).

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

Table 2. Sensory characteristics of enzymatic hydrolysate of rice bran and rice protein prepared with different mixing ratios

Mixing ratio (rice bran : rice protein)	Color	Flavor	Savory taste	Overall acceptability
4:0	5.25±1.54 ^{a1)}	5.83±1.11 ^a	4.25±0.97 ^b	4.00±1.04 ^b
3:1	4.58±0.79 ^a	5.00±0.85 ^a	6.25±0.45 ^a	5.83±0.39 ^a
2:2	5.58±1.00 ^a	3.83±0.72 ^{ab}	5.25±0.45 ^{ab}	4.58±0.51 ^b
1:3	4.83±1.11 ^a	3.17±0.72 ^b	4.42±0.51 ^b	3.42±0.51 ^b

Values are expressed as the mean±SD (n=3).

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

단백질의 4:0 비율에서 5.83점으로 가장 높은 기호도를 나타내었으며, 쌀 단백질의 비율이 증가할수록 낮아지는 경향을 나타내었다. 감칠맛은 미강과 쌀 단백질이 3:1의 비율로 사용된 효소분해물에서 6.25점으로 가장 높은 기호도를 나타내었으며, 4:0 비율에서 4.25점으로 가장 낮은 기호도를 나타내었다. 종합 기호도 항목에서도 미강과 쌀 단백질의 3:1 비율에서 5.83점으로 가장 높은 기호도를 나타내었다. 패널 평가에서 미강에 비해 쌀 단백질의 비율이 높아질수록 효소분해물의 이미와 이취가 강해지는 것이 기호도가 낮아지는 원인으로 조사되었다. 원료 비율에서 쌀 단백질이 증가할수록 총질소와 아미노태 질소의 함량은 증가하지만 관능적 품질과는 비례하지 않으며, 이러한 결과는 효소분해물에 함유된 아미노산, 펩타이드, 당 등 여러 가지 성분의 복합적 작용에 의해 영향을 받은 것으로 생각된다. 미강과 쌀 단백질이 4:0 비율로 사용된 효소분해물은 이미는 전혀 느껴지지 않으나 감칠맛의 강도가 약하여 조미소재로서 부적합한 것으로 평가되었다. 원료의 비율에 따른 효소분해물의 이화학적 특성 및 관능적 특성 분석에 따라 원가 상승의 요인이 되는 쌀 단백질의 비율이 높지 않으면서 질소분해율과 관능적 특성이 우수한 것으로 나타난 미강과 쌀 단백질의 3:1 비율이 감칠맛 소재로서 효소분해 원료에 적합한 것으로 확인되었다.

효소분해 시간에 따른 효소분해물의 품질 특성

감칠맛 소재 개발을 위한 효소분해 원료로 미강과 쌀 단백질을 3:1의 비율로 선정한 후 효소분해 시간에 따른 효소분해물의 품질 특성을 조사하였다. 미강과 쌀 단백질의 효소분해가 3, 5, 7, 10, 13일 진행된 효소분해물의 이화학적 특성은 Table 3에 나타내었다. 총질소는 분해 3일에 1.44%에서 분해 시간에 따라 조금씩 증가하여 분해 10일에 최대값인 1.55%를 나타내었으며, 분해 13일에는 1.54%로 분해 10일과 유사한 함량을 나타내었다. 총질소와 유사하게 아미노태 질소는 분해 3일에 0.60%에서 분해 시간에 따라 조금씩 증가하여 분해 10일에 0.67%로 최대값을 나타내었으며, 분해 13일에는 0.66%로 유사한 함량을 나타내었다. 효소분해 시간에 따른 효소분해물의 질소분해율은 분해 3일에 41.67%에서 점차 증가하여 분해 10일에 43.23%로 최대값을 나타내었으며, 분해 13일에는 42.86%로 미미하게 감소하였다. 효소분해 시간에 따른 효소분해물의 총질소, 아미노태 질소,

질소분해율은 모두 분해 10일에서 최대값을 나타내었다. Jeong 등(23)의 연구에서 미강 첨가량에 따른 단기숙성 간장의 총질소는 발효 3일에 약 0.5%에서 발효 10일에 1% 정도였으며, 아미노태 질소는 발효 3일에 약 0.2%에서 발효 10일에 0.3~0.5%로 발효시간에 따라 서서히 증가하였다. 보리등겨로 제조한 간장의 숙성기간에 따른 총질소를 조사한 결과 숙성 90일째에 0.7%에 도달하였다(26). 코지를 이용한 발효에서는 총질소와 아미노태 질소가 발효 및 숙성에 따라 서서히 증가하지만, 본 연구에서는 효소분해를 통하여 분해 3일 만에 총질소 1.44%와 아미노태 질소 0.60%의 함량을 나타내므로 산업화 시 제조기간을 상당히 단축할 수 있는 이점이 있다. 효소분해물의 염도는 15.67~16.26%의 범위로 나타났으며, 효소분해 시간에 따른 경향성은 나타나지 않았다. 효소분해물의 가용성 고형분 함량과 pH는 효소분해 시간과 상관없이 유사한 수준을 나타내었다.

쌀 유래 단백질은 albumin, globulin, prolamin, glutelin으로 구성되어 있으며, 이 중 glutelin은 66~78%의 큰 비율을 차지한다(27). 쌀 단백질을 단백질 전기영동을 시행하였을 때 전체 단백질 분자량은 10~66 kDa 범위로 분포하나, 주요 단백질은 glutelin 전구체인 57 kDa의 단백질과 30~35 kDa의 glutelin acidic subunit, 19~25 kDa의 glutelin basic subunit 등이 검출되었다(28,29). 본 연구에서 효소분해 시간에 따른 효소분해물의 단백질 및 펩타이드 패턴을 조사하기 위하여 단백질 전기영동을 시행하였다(Fig. 1). 효소분해 3일부터 큰 분자량의 단백질이 대부분 분해되어 15 kDa 미만에서 3개의 주요 band가 형성되었으며, 분해 13일 까지 시간에 따른 펩타이드 패턴의 큰 변화는 나타나지 않았다. 그러나 효소분해 7일 이후에는 15 kDa 미만의 저분자 단백질 또는 펩타이드 band의 농도가 점차 낮아지는 경향을 보이며 효소분해 시간이 길어질수록 저분자 물질로 분해가 진행되고 있음을 추정하였다.

효소분해 시간에 따른 미강과 쌀 단백질 효소분해물의 유리 아미노산 함량은 Table 4에 나타내었다. 총아미노산 함량은 3,954.44~4,309.74 mg% 수준으로 분해 5일에 4,309.74 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 이후 조금씩 감소하여 분해 13일에 4,245.73 mg%를 나타내었으나 함량의 변화는 크지 않았다. 분해 시간과 상관없이 모든 효소분해물에서 감칠맛 성분인 glutamic acid가 가장 높게 검출되었으며, glutamic acid는 분해 시간에 따라 조금씩 증가하여 분

Table 3. Chemical characteristics of enzymatic hydrolysate of rice bran and rice protein prepared with different hydrolysis times

Hydrolysis time (day)	Total nitrogen (%)	Amino nitrogen (%)	Nitrogen degradation ratio (%)	NaCl (%)	Brix (%)	pH
3	1.44±0.08 ^{a1)}	0.60±0.05 ^a	41.67 ^a	16.26±0.18 ^a	35.00±0.20 ^b	4.85±0.08 ^a
5	1.50±0.03 ^a	0.63±0.08 ^a	42.00 ^a	15.67±0.11 ^b	35.50±0.30 ^{ab}	4.94±0.05 ^a
7	1.53±0.12 ^a	0.65±0.01 ^a	42.48 ^a	16.03±0.21 ^{ab}	35.50±0.30 ^{ab}	4.96±0.04 ^a
10	1.55±0.10 ^a	0.67±0.07 ^a	43.23 ^a	16.03±0.13 ^a	35.80±0.10 ^a	4.85±0.09 ^a
13	1.54±0.05 ^a	0.66±0.06 ^a	42.86 ^a	15.92±0.15 ^{ab}	35.80±0.40 ^a	4.92±0.07 ^a

Values are expressed as the mean±SD (n=3).

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range test (P<0.05).

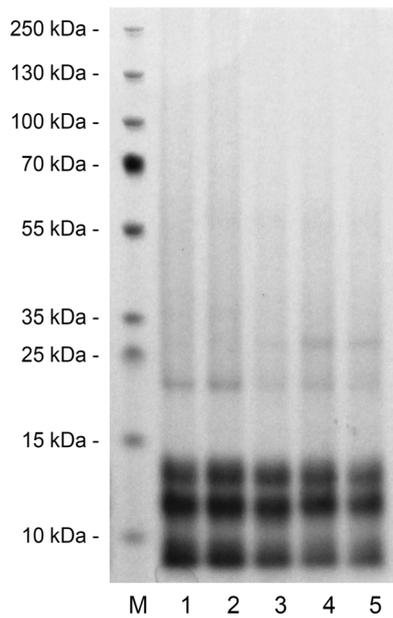


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of the enzymatic hydrolysate of rice bran and rice protein prepared with different hydrolysis times. M, size marker; lane 1, 3 day; lane 2, 5 day; lane 3, 7 day; lane 4, 10 day; lane 5, 13 day.

해 3일에 521.51 mg%에서 분해 13일에 586.14 mg%까지 증가하였다. Glutamic acid와 함께 주요 감칠맛 성분인 aspartic acid도 분해 3일에 166.38 mg%에서 분해 시간에 따라 증가하여 분해 13일에 211.16 mg%로 증가하였다. 단맛을 나타내는 glycine, alanine, proline, threonine, serine 등의 아미노산도 분해 시간에 따라 대체로 증가하는 경

향을 나타내었다. 반면 대표적인 쓴맛을 나타내는 아미노산인 phenylalanine, isoleucine, leucine은 분해 5일에서 가장 높은 함량을 나타낸 후 분해 13일까지 감소하는 경향을 나타내었다. Kim 등(1)의 연구에서 탈지미강을 Protamex, Alcalase, Protease N 효소의 단일 또는 혼합 형태로 분해한 후 아미노산 조성을 분석한 결과 glutamic acid나 aspartic acid보다 쓴맛을 유발하는 아미노산(leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, arginine)의 함량이 높아 효소분해물의 쓴맛이 강할 것으로 예상하였다. Kim 등(30)의 연구에서는 물엿을 제조한 후 생성된 부산물인 쌀 시럽박을 Protease M, Protease N, Protease A의 효소를 단일 또는 혼합처리 하였을 때 효소에 따른 아미노산 조성은 특정 패턴을 보이지 않았으나, 쓴맛을 유발하는 아미노산인 leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, arginine의 함량이 높으므로 효소분해물의 쓴맛이 강할 것이라 예상하였다. 이와 다르게 본 연구에서 미강과 쌀 단백질을 효소분해한 시료는 감칠맛 성분인 glutamic acid의 함량이 가장 높고, 쓴맛과 단맛을 발현하는 아미노산이 골고루 분포하였다. 이러한 결과는 원료가 모두 쌀 유래이지만 미강, 쌀 시럽박, 미강과 쌀 단백질의 혼합 형태 등 효소의 기질로 사용된 원료의 종류가 다르며, 분해에 사용된 효소의 종류도 각각 다르므로 기질과 효소의 종류 및 조성이 가수분해물의 특성에 큰 영향을 주는 것으로 생각된다. Chung과 Lee(31)는 쌀 단백질 잔사를 Alcalase, Delvolase, Protamex, Flavourzyme의 효소로 각각 분해하여 맛 특성을 측정한 결과 효소에 따라 감칠맛과 쓴맛의 강도는 각기 다르게 나타났다. 특히 Protamex 처리구는 쓴맛이 3.28로서 Flavourzyme 처

Table 4. Free amino acid contents of enzymatic hydrolysate of rice bran and rice protein prepared with different hydrolysis times

Free amino acid (mg%)	Hydrolysis time (day)				
	3	5	7	10	13
Aspartic acid	166.38±10.60	190.21±3.50	193.30±9.90	210.49±11.00	211.16±12.90
Glutamic acid	521.51±9.10	569.86±13.30	569.65±11.40	584.55±6.10	586.14±7.50
Asparagine	208.14±5.80	231.89±4.10	235.00±7.10	236.50±7.60	236.66±5.40
Serine	172.45±3.80	192.84±5.80	197.69±1.40	203.43±4.20	203.21±2.90
Histidine	103.00±5.80	102.52±4.10	104.70±7.50	103.50±1.10	104.59±3.60
Glycine	69.42±2.60	79.15±3.20	78.98±3.70	86.05±5.10	86.27±4.80
Threonine	158.34±1.80	168.76±3.00	173.67±1.30	171.55±5.50	172.16±6.00
Arginine	462.39±11.70	496.88±7.90	492.19±13.60	496.35±9.90	495.83±10.20
Alanine	211.34±5.80	250.31±7.10	249.79±7.50	258.14±6.40	254.37±5.50
Taurine	17.93±1.70	21.28±1.20	22.00±2.10	21.58±2.00	22.78±1.40
γ-Aminobutyric acid	17.22±0.60	26.55±0.70	24.26±0.70	30.07±1.10	31.13±0.50
Tyrosine	246.46±2.90	253.49±5.00	195.50±3.80	173.03±3.70	170.46±4.10
Valine	347.86±5.40	369.36±4.30	364.20±3.90	350.28±5.00	348.95±3.70
Methionine	84.37±6.70	93.18±10.10	92.75±9.20	86.67±7.70	85.12±4.90
Phenylalanine	262.45±7.50	286.57±5.20	276.97±6.50	269.18±5.30	268.34±6.90
Isoleucine	225.80±15.80	242.39±5.80	238.69±7.10	230.68±12.10	228.11±5.50
Leucine	377.99±10.70	408.94±8.90	407.08±3.30	393.13±8.00	392.95±14.30
Lysine	210.09±8.50	223.86±4.60	221.20±10.40	225.50±13.20	225.74±11.60
Proline	91.30±4.80	101.70±3.20	106.85±4.80	119.83±8.60	121.76±7.20
Total	3,954.44±121.60	4,309.74±101.00	4,244.47±115.20	4,250.51±123.60	4,245.73±118.90

Values are expressed as the mean±SD (n=3).

Table 5. Sensory characteristics of enzymatic hydrolysate of rice bran and rice protein prepared with different hydrolysis times

Hydrolysis time (day)	Color	Flavor	Savory taste	Overall acceptability
3	4.58±0.79 ^{a1)}	3.42±0.51 ^b	5.24±0.50 ^b	5.08±0.92 ^a
5	4.83±0.92 ^a	4.21±0.45 ^{ab}	5.58±0.62 ^{ab}	5.42±1.25 ^a
7	5.02±1.68 ^a	4.72±1.21 ^{ab}	6.14±0.79 ^{ab}	5.94±0.58 ^a
10	5.42±0.60 ^a	5.25±0.45 ^a	6.42±0.51 ^a	6.30±0.72 ^a
13	5.38±0.62 ^a	5.18±0.94 ^{ab}	6.38±0.60 ^{ab}	6.24±0.60 ^a

Values are expressed as the mean±SD (n=3).

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

리구(8.08), Delvolase 처리구(9.13), Alcalase 처리구(9.59)에 비하여 낮은 값을 나타내었다.

효소분해 시간에 따른 미강과 쌀 단백질 효소분해물의 관능적 특성을 평가하였다(Table 5). 평가 항목인 색, 향, 감칠맛, 종합 기호도에서 모두 3일 분해된 효소분해물의 기호도가 가장 낮았으며, 모든 항목에서 기호도는 효소분해 시간에 따라 점차 증가하여 10일 분해된 효소분해물의 기호도가 가장 높은 것으로 평가되었다. 10일과 13일 분해된 효소분해물의 기호도는 큰 차이를 보이지 않았다. 3일 분해된 효소분해물은 향에 대한 평가에서 3.42점으로 중간 이하의 기호도를 나타내어 조미소재로서 적합하지 않은 것으로 평가되었다. 패널 평가에서 10일 이상 분해된 효소분해물은 감칠맛과 함께 고쿠미(kokumi)가 풍부하여 농후감과 후미가 우수한 것으로 평가되었다. 효소분해 시간에 따른 효소분해물의 이화학적 특성은 큰 차이를 보이지 않았으나, 단백질 전기영동과 아미노산 분석 결과는 효소분해가 진행되면서 펩타이드의 저분자화가 진행되고 있으며, 아미노산의 종류에 따라 증가 또는 감소하는 경향을 나타내었다. 질소 함량, 질소분해율, 관능적 특성은 10일 분해된 효소분해물에서 가장 우수한 결과를 보이며, 아미노산 함량과 패턴의 변화는 분해 10일 이후에 큰 차이가 없으므로 산업적 공정에서 효소분해 시간이 증가할수록 공정 단가가 상승하는 점을 고려하여 미강과 쌀 단백질의 분해 시간은 10일이 최적인 것으로 생각한다.

미강과 쌀 단백질의 효소분해물은 분해 초기에 주요 단백질의 대부분이 가수분해가 이루어지고, 분해 후기에는 저분자 펩타이드의 생성 및 아미노산 패턴의 변화, 당과 아미노산 간의 마이야르(Millard) 반응이 촉진되어 감칠맛과 풍미가 강화되는 것으로 생각된다. 분자량 1~5 kDa 범위의 마이야르 반응 생성 펩타이드는 맛이 강하진 않으나 감칠맛의 상승 작용을 통해 우수한 풍미를 나타낸다는 보고가 있다(32). Chung과 Lee(31)는 쌀 단백질 잔사를 Protamex로 처리한 분해물에서 올리고 펩타이드를 분리하였으며, 분해물에 함유된 다양한 펩타이드 성분이 효모 추출물의 풍미를 증진시키는 효과를 발현하는 것으로 추정하였다. 본 연구에서 미강과 쌀 단백질의 효소분해물은 감칠맛과 단맛을 발현하는 아미노산의 비율이 우수하며, 다양한 저분자 펩타이드를 함유하여 풍미가 증강되는 것으로 예측되어 저알레르기성 천연 조미소재로서 다양한 건강식에 활용이 가능할 것으

로 생각된다.

요 약

쌀 단백질 유래의 감칠맛 소재를 개발하기 위해 도정 부산물인 미강과 쌀 단백질을 원료로 효소분해물을 제조하고 품질 특성을 평가하였다. 미강과 쌀 단백질의 비율을 4:0, 3:1, 2:2, 1:3(w/w)으로 달리하여 효소분해한 후 분해물의 특성을 분석한 결과, 3:1의 비율에서 질소분해율 및 감칠맛과 종합 기호도가 우수하였다. 효소분해 원료로 미강과 쌀 단백질을 3:1의 비율로 선정하여 13일 동안 효소분해를 진행하면서 시간에 따른 분해물의 특성을 분석하였다. 총질소, 아미노태 질소, 질소분해율은 분해 10일에서 최대값을 나타내었으며, 단백질 전기영동 결과 효소분해 시간이 길어질수록 펩타이드의 저분자화가 진행되는 것으로 추정되었다. 유리 아미노산 분석 결과 분해 시간에 따른 모든 효소분해물에서 감칠맛 성분인 glutamic acid 함량이 가장 높게 나타났으며, 효소분해 시간에 따라 쓴맛 성분은 감소했지만 단맛 성분은 증가하는 경향을 나타내었다. 관능적 특성(색, 향, 감칠맛, 종합기호도)은 분해 10일의 효소분해물에서 가장 우수한 기호도를 나타내었다. 따라서 미강과 쌀 단백질을 3:1의 비율로 하여 효소분해를 10일 동안 진행하였을 때 효소분해물은 쌀 유래의 감칠맛 소재로서 품질 특성이 우수하며, 영·유아식과 건강식에 다양하게 활용이 가능할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업(114031-2)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Kim CW, Kim HS, Kim BY, Baik MY. 2011. Proteolysis of defatted rice bran using commercial proteases and characterization of its hydrolysates. *Food Eng Prog* 15: 41-47.
2. Joo SY, Choi HY. 2012. Antioxidant activity and quality characteristics of black rice bran cookies. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 182-191.
3. Oh SK, Kim DJ, Chun AR, Yoon MR, Kim KJ, Lee JS, Hong HC, Kim YK. 2010. Antioxidant compounds and anti-

- oxidant activities of ethanol extracts from milling by-products of rice cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 624-630.
4. Nam SH, Choi SP, Kang MY, Kozukue N, Friedman M. 2005. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. *J Agric Food Chem* 53: 816-822.
 5. Choi SP, Kang MY, Nam SH. 2004. Inhibitory activity of the extracts from the pigmented rice brans on inflammatory reactions. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 222-227.
 6. Choi HI, Ye EJ, Kim SJ, Bae MJ, Yee ST, Park EJ, Park EM. 2006. Anticancer (*in vitro*) and antiallergy effects of rice bran extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1297-1303.
 7. Park HY, Yu AR, Choi IW, Hong HD, Lee KW, Choi HD. 2013. Immunostimulatory effects and characterization of a glycoprotein fraction from rice bran. *Int Immunopharmacol* 17: 191-197.
 8. Wang M, Hettiarachchy NS, Qi M, Burks W, Siebenmorgen T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *J Agric Food Chem* 47: 411-416.
 9. Helm RM, Burks AW. 1996. Hypoallergenicity of rice protein. *Cereal Foods World* 41: 839-843.
 10. Park SJ, Park JW, Lee HS, Kim BY, Baik MY. 2012. A study on the changes of insoluble protein and dietary fiber of the rice by-products prepared by mixed enzyme treatment. *Food Eng Prog* 16: 157-163.
 11. Adebisi AP, Adebisi AO, Ogawa T, Muramoto K. 2007. Preparation and characterization of high-quality rice bran proteins. *J Sci Food Agric* 87: 1219-1227.
 12. Yeom HJ, Lee EH, Ha MS, Ha SD, Bae DH. 2010. Production and physicochemical properties of rice bran protein isolates prepared with autoclaving and enzymatic hydrolysis. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53: 62-70.
 13. Lee ES, Kim KJ, Kim JH, Hong ST. 2010. A study on the development of high functional food protein ingredient from rice bran. *J Agric Sci* 37: 61-68.
 14. Zhang H, Wang J, Liu Y, Gong L, Sun B. 2016. Rice bran proteins and their hydrolysates modulate cholesterol metabolism in mice on hypercholesterolemic diets. *Food Funct* 15: 2747-2753.
 15. Boonloh K, Kukongviriyapan V, Kongyingyoes B, Kukongviriyapan U, Thawornchinsombut S, Pannangpetch P. 2015. Rice bran protein hydrolysates improve insulin resistance and decrease pro-inflammatory cytokine gene expression in rats fed a high carbohydrate-high fat diet. *Nutrients* 7: 6313-6329.
 16. Shih FF. 1996. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. *Cereal Chem* 73: 406-409.
 17. Kim MJ, Nahmung B, Kim BN, Lee SJ, Kim CJ, Cho YJ, Kim CT. 2009. Preparation and physicochemical characteristics of anchovy hydrolysates produced by high hydrostatic pressure and enzymatic hydrolysis treatment. *Food Eng Prog* 13: 85-91.
 18. Chae HJ, In MJ, Kim MH. 1997. Optimization of enzymatic treatment for the production of hydrolyzed vegetable protein. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1125-1130.
 19. Sampson HA. 1999. Food allergy. Part I: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 103: 717-728.
 20. Ogura Y, Ogura H, Zusi N. 2001. The incidence of food allergy in atopic dermatitis. *Arerugi* 50: 621-628.
 21. We GJ, Lee I, Cho YS, Yoon MR, Shin M, Ko S. 2010. Development of rice flour-based puffing snack for early childhood. *Food Eng Prog* 14: 322-327.
 22. Reche M, Pascual C, Fiandor A, Polanco I, Rivero-Urgell M, Chifre R, Johnston S, Martin-Esteban M. 2010. The effect of a partially hydrolysed formula based on rice protein in the treatment of infants with cow's milk protein allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 21: 577-585.
 23. Jeong SJ, Shin MJ, Jeong SY, Yang HJ, Jeong DY. 2014. Characteristic analysis and production of short-ripened Korean traditional soy sauce added with rice bran. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 550-556.
 24. Kim JG. 2004. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of Korean traditional soy sauce—amino nitrogen, amino acids, and color. *Kor J Env Hlth* 30: 22-28.
 25. Ko YJ, Son YH, Kim EJ, Lee HH, An SR, Kim DH, Ryu CH. 2012. Quality properties of commercial *Chungkukjang* in Korea. *J Agric Life Sci* 46: 177-187.
 26. Lee EJ, Son DH, Choi UK, Lee SI, Im MH, Kim DG, Kwon OJ, Chung YG. 2002. Characteristics of *kanjang* made with barley bran. *Korean J Food Sci Technol* 34: 200-206.
 27. Cagampang GB, Cruz LJ, Espiritu SG, Santiago RG, Juliano BO. 1966. Studies on the extraction and composition of rice proteins. *Cereal Chem* 43: 145-155.
 28. Jeon SJ, Lee JH, Song KB. 2010. Preparation for calcium and iron-binding peptides from rice bran protein hydrolysates. *J Appl Biol Chem* 53: 174-178.
 29. Kim W, Jung SY, Hong KW. 2011. Optimum pH condition of defatted rice protein extraction by alkaline method. *Food Eng Prog* 15: 143-147.
 30. Kim CW, Park JW, Choi HJ, Han BK, Yoo SS, Kim BY, Baik MY, Kim YR. 2011. Hydrolysis of rice syrup meal using various commercial proteases. *J Life Sci* 21: 309-315.
 31. Chung HY, Lee HJ. 2014. Taste enhancing effects of enzyme hydrolysates of rice protein residue. *Food Eng Prog* 18: 140-145.
 32. Ogasawara M, Katsumata T, Egi M. 2006. Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1000 to 5000 Da peptide. *Food Chem* 99: 600-604.