

Phytase, Protease 및 Phytase와 Protease 혼합 효소처리가 폐대두박의 단백질 추출율 및 그 기능성에 미치는 영향

조영제[†] · 천성숙*

상주대학교 식품공학과

*영남대학교 식품가공학과

Effect of Phytase, Protease and the Mixed Enzyme of Phytase and Protease on the Extraction and Properties of the Protein from Abolished Soybean Meal

Young-Je Cho[†] and Sung-Sook Chun*

Dept. of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-170, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

Abstract

To extract insoluble proteins from abolished soybean meal, the meal was treated with phytase and protease produced by *Aspergillus* sp. SM-15 and *Aspergillus* sp. MS-18. The extraction of insoluble soybean protein was increased at alkaline range more than pH 5 in case of phytase, pH 7 to 11 in case of protease and pH 5 to 12 in case of the mixed enzyme of phytase and protease. The optimum extraction temperature of insoluble protein was 50°C for phytase and the mixed enzyme of phytase and protease, and 60°C for protease. The optimum treatment time for extraction of protein was 9 hrs for phytase, 11 hrs for protease and the mixed enzyme of phytase and protease and optimum unit of enzyme for extraction of protein was 600 unit, 40 unit and 900 unit+60 unit in case of phytase, protease, phytase and protease, respectively. The treatment of mixed enzyme showed higher extraction rate of protein than single enzyme treatment. The foaming capacity, foaming stability, emulsion capacity, and emulsion stability of soybean meal protein by the treatment of the enzymes increased at all pH range. Further more oil absorption as well as water absorption capacities by the treatment of the enzymes were also increased. The functional properties of the soybean meal protein treated by the mixed enzyme were higher than those of soybean meal protein treated by the single enzyme.

Key words: extraction, physical properties, abolished soybean meal protein, phytase, protease

서 론

식용 단백질을 얻기 위한 기계발 단백질 자원으로는 대두를 비롯한 식물성 자원에 대하여 많은 연구가 행하여지고 있다(1-3). 그러나 이들 종자 식물에는 영양저해인자로 알려진 phytic acid가 많이 함유되어 있으며, 이들은 단백질과 결합하여 protein-phytate 복합체를 형성하고, 용해도를 감소시켜 단백질 분해 효소의 작용을 저해할 뿐만 아니라 단백질의 체내흡수를 감소시키기 때문에(4,5), phytate의 제거를 위한 연구와 phytate와 결합된 단백질을 가수분해하여 단백질의 추출율을 높이는 연구가 활발히 이루어지고 있다(6-9) 또한 종실 단백질은 종류별로 각 기능 특성이 달라 단백질을 변형시켜 기능 특성을 개선하여 식품에의 이용성을 증가시키고자 단백질에 가수분해 효소를 처리하여 그 기능성을 개선하고자 하

는 연구가 많이 시도되고 있다(10-17). 대두는 가열 후 두유를 압출시키기 때문에 단백질의 변성으로 인해 현재 대두박은 사료 또는 비료로서만 이용되고 있으나, 박에 잔존하는 단백질을 분리하고 기능성의 개선을 통하여 이를 식용화 할 경우 폐자원 이용 면에서 의의가 클 것이다(18) 그러나 이들 폐기종실의 단백질이 식품에 이용되기 위해서는 phytic acid 등의 영양저해인자를 제거하고, 단백질의 분리효율성을 높이는 연구가 선행되어야 하며 pH, 이온 강도, 점도 등의 매우 복잡한 외적 인자에 영향을 받는다고 알려진(18,19) 용해도, 유화성, 점도, 겔 형성, 열안정성, 유지 및 수분흡착력 등 기능성개선에 관한 연구가 병행되는 것이 바람직하다고 생각된다.

따라서 본 연구에서는 폐단백질을 활용하는 방안의 하나로 식물성 폐단백질자원으로부터 단백질의 회수율을 높이고 기능성을 개선하기 위해 phytase와 protease를 처

[†]To whom all correspondence should be addressed

리하여 단백질을 추출하고 추출단백질의 용해도, 유화력, 기포성, 수분 및 유지 흡착성 등의 기능성을 비교 검토한 결과, 이들 효소의 이용으로 기능성의 개선에 유익한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

대두박의 조제

의성산 대두(*Glycine max* L. Merr.)를 시중에서 구입하여 시료로 하였다. 대두박의 조제과정은 먼저 대두를 세척하고 24시간 동안 수침시킨 다음 분쇄하여 얻은 두미(豆糜)를 약 30분간 가열하여 끓이고 두유를 짜낸 잔사를 건조시켰다. 그리고 40 mesh로 분쇄하여 n-hexane으로 20시간 탈지한 후 4°C의 저온실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

대두단백질의 추출

효소처리

전보(20,21)의 specific activity가 244.32 units/mg인 phytase와 340.43 units/mg인 protease를 실험에 사용하였으며, phytase의 활성측정은 Heinonen과 Lahti(22)의 방법에 따라 실시하였으며, protease의 활성측정은 Anson(23)과 Hagihara(24)의 방법에 따라 실시하였다. 대두박 단백질의 추출을 위한 효소처리는 phytase(300 unit)처리, protease(20 unit)처리 그리고 phytase와 protease혼합(300+20 unit)처리 등 3개의 실험군으로 실시하였다. 즉, 대두박 100 g에 buffer 1,800 mL와 효소액 200 mL를 가하여 50°C에서 12시간 반응을 시키고 반응이 끝난 액을 여과하여 단백질용액을 얻었다.

pH의 영향

효소액 처리 전에 측정된 대두박의 단백질 추출량을 대조구로 하고, 대두박에 pH 3.0과 4.0은 25 mM phosphate HCl 완충액으로, pH 5.0과 6.0은 25 mM citric acid-sodium citrate 완충액으로, pH 7.0과 8.0은 25 mM phosphate 완충액 그리고 pH 9.0~11.0은 25 mM boric acid-NaOH 완충액과 효소액을 가하여 6시간 동안 반응시키고 반응이 끝난 액을 여과한 후에 여액의 총 단백질양을 Lowry 등(25)의 방법으로 정량하였다.

온도의 영향

최적 pH에서 효소액 처리 전 대두박의 단백질 추출량을 대조구로 하여 대두박에 효소를 가하여 20~80°C까지의 각 온도단계에서 8시간 반응시키고 반응이 끝난 액을 여과한 후에 여액의 총 단백질양을 Lowry 등(25)의 방법으로 정량하였다.

효소 반응시간의 영향

최적 pH와 온도에서 효소액 처리 전 대두박의 단백질

추출량을 대조구로 하여 대두박에 효소를 1~12시간까지 교반하고 반응이 끝난 액을 여과한 후에 여액 중의 총 단백질양을 Lowry 등(25)의 방법으로 정량하였다.

처리효소량의 영향

최적 pH와 온도에서 첨가 효소량이 단백질의 추출에 미치는 영향을 알아보기 위하여 효소의 양을 phytase의 경우 60~900 unit까지, protease의 경우 4~60 unit까지, phytase와 protease 혼합의 경우 phytase 60 unit에 protease 4 unit를 혼합한 것에서 phytase 900 unit에 protease 60 unit를 혼합한 수준까지 효소량을 증가시키면서 단백질의 추출량을 Lowry 등(25)의 방법으로 측정하였다.

추출 단백질의 분리

추출된 단백질용액에 70% 황산암모늄을 가해 단백질을 침전시키고 원심분리하여 회수하였으며, 회수된 단백질은 증류수로 48시간 동안 투석하고 동결 건조시켜 단백질 시료로 하였다.

거품형성력 및 안정성

거품형성력은 각 단백질 0.5 g에 증류수 50 mL적을 가하여 Wang과 Kinsella(12)의 방법에 따라 측정하였다.

유화력 및 유화안정성

유화력과 유화안정성은 각 단백질 0.6 g에 증류수 10 mL씩을 각각 가하여 Wang과 Kinsella(12)의 방법에 따라 측정하였다.

유지 및 수분흡착력 측정

유지 및 수분흡착력은 단백질 1 g에 증류수 또는 corn oil 10 mL를 각각 가한 후 Beuchat(5)의 방법에 따라 측정하였다. 흡착력은 1 g의 시료에 흡착된 증류수나 대두유의 부피를 mL수로 나타내었다.

통계처리

실험 결과에 대한 통계처리는 t분포표에 의해 95% 또는 99% 수준에서 대조구에 대한 유의성 여부를 판단하였다(9).

결과 및 고찰

단백질의 추출조건

pH의 영향

pH가 효소 처리에 의한 대두박 단백질의 용해도에 미치는 영향을 시험한 결과를 Table 1에 나타내었다. 대두박에 phytase, protease 및 phytase와 protease를 혼합하

Table 1. Effect of pH on extraction of protein from soybean meal residue treated with phytase, protease and the mixed enzyme of phytase and protease¹⁾

pH	Protein extract (mg/sesame g)			
	Control	Phytase	Protease	Phytase and protease
2	19.23±1.10	28.07±0.12**	21.47±1.28	30.20±0.27**
3	16.27±1.70	28.57±0.21**	19.90±1.35	30.61±0.76**
4	18.53±0.15	30.17±0.21**	22.63±1.85	32.17±0.96**
5	22.53±0.25	31.40±0.46**	28.07±0.90**	34.47±0.15**
6	23.07±0.21	30.20±0.27**	31.03±0.15**	37.60±0.96**
7	27.70±0.35	30.53±0.15**	37.10±0.10**	40.47±0.15**
8	30.23±1.27	31.13±0.12	40.17±1.06**	41.17±0.15**
9	30.33±1.23	32.80±1.48	37.10±0.10**	38.40±0.56**
10	25.47±0.95	30.13±1.50*	37.57±0.21**	35.20±0.44**
11	31.63±1.27	35.30±1.39*	37.57±0.41**	35.87±0.42**
12	32.43±1.88	34.10±0.56	34.10±0.56	36.10±0.10*

¹⁾Soybean meal was treated at 25°C for 6 hrs with 300 units of phytase and 20 units of protease.

*p<0.05, **p<0.01.

여 각각 가하고 6시간 동안 추출한 결과 Table 1에서와 같이 대조구의 경우 pH 3에서 16.27±1.70 mg/g으로 최저값을 보이다가 pH가 높아짐에 따라 추출량이 점차 증가하여 pH 11과 12에서 31.63±1.27과 32.43±1.88 mg/g으로 가장 높은 값을 보였다 그리고 효소처리의 경우는 phytase처리시 pH 3~5에서 대조구의 16.27±1.70~22.53±0.25 mg/g에 비해 28.57±0.21~31.40±0.46 mg/g으로 상당히 높은 추출량을 나타내었다. 이러한 결과는 phytase 처리 최적작용 pH 5.0부근인 것(20)과 관련된 것으로 판단되었으며, protease의 경우 pH 8이상의 알칼리 영역에서 34.10±0.56~40.17±1.06 mg/g으로 추출량이 증가함을 나타내었다. Phytase와 protease를 혼합처리한 경우는 모든 pH영역에서 대조구에 비해 유의성 있는 추출율의 증가를 나타내었고(p<0.01), 이는 phytase가 산성에서, protease가 알칼리에서 각각 작용한 결과인 것으로 판단된다. 또한 단독처리군보다는 혼합처리군에서의 추출율이 증가하였다. 이러한 결과는 Lee와 Kim(26)이 natto protease가, 그리고 Choi 등(7)이 미생물 protease가 효소의 최적작용 pH에서 단백질의 추출율을 최대로 증가시켰으며, Chun 등(9,19)이 단독효소보다는 복합효소처리가 불용성단백질의 추출에 더 효과적이었다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

온도의 영향

온도의 변화에 따라 효소처리에 의한 대두박 단백질의 추출에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 대두박에 각각의 효소를 가하고 20°C에서 80°C까지 온도를 변화시키며 8시간 동안 단백질을 추출하여 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 대조구의 경우 온도가 높아짐에 따라 추출량이 26.93±2.27~31.31±1.30 mg/g으로 완만하게 증가하였으나 phytase처리의 경우 효소최적작용 온도인(23) 40

Table 2. Effect of temperature on extraction of protein from soybean meal residue treated with phytase, protease and the mixed enzyme of phytase and protease¹⁾

Temp. (°C)	Protein extract (mg/sesame g)			
	Control	Phytase	Protease	Phytase and protease
20	26.93±2.27	31.50±1.76	30.88±0.38*	31.57±0.45*
30	28.90±0.46	34.58±0.68**	31.94±0.14**	36.72±0.41**
40	29.10±1.31	41.43±0.41**	36.59±0.40**	42.24±0.31**
50	30.10±1.18	43.23±1.82**	40.45±0.61**	46.74±1.52**
60	29.73±1.07	36.03±1.00**	41.50±0.50**	43.37±0.44**
70	30.40±1.55	34.37±0.53*	36.06±2.06*	38.72±1.63**
80	31.37±1.30	33.25±1.15	34.68±2.40	35.18±2.80

¹⁾Soybean meal was treated for 8 hrs with 300 units of phytase and 20 units of protease.

*p<0.05, **p<0.01.

~50°C에서 41.43±0.41~43.23±1.82 mg/g으로 추출량이 급격히 증가하다가(p<0.01), 70°C 이상에서 추출량이 떨어졌다. Protease의 경우 50~60°C에서 40.45±0.61~41.50±0.50 mg/g으로 증가하였으며 혼합효소처리의 경우 40°C에서 60°C까지 42.24±0.86~70.77±0.32 mg/g으로 급격하게 상승하다가(p<0.01) 그 이상의 온도에서는 phytase와 같이 추출량이 떨어지는 경향이였다. 이는 고온에서 효소의 활성이 실행되어 효소의 작용이 이루어지지 않은 결과로 판단되었으며, Choi 등(7)은 단백질 추출에서 효소처리시 최적작용온도에서 추출율이 증가한다고 보고하였으며, Chun 등(9,19)은 효소작용온도 이상의 고온에서 효소를 작용시켰을 때 효소의 실행에 의해 추출율이 저하된다고 한 보고와 비슷한 결과였다

반응시간의 영향

효소작용시간에 따른 단백질의 추출량 변화를 살펴보기 위하여 대두박에 각각의 효소를 가하고 50°C에서 1~8시간 동안 추출하였다. 실험결과 Table 3에서와 같이 각 효소처리구가 모두 반응시간의 경과에 따라 추출량이 점차 증가하였고 대조구와 효소처리구 모두 반응초기에는 추출량이 급속도로 증가하다가 phytase의 경우 반응 9시간 이후부터, protease의 경우와 phytase와 protease 혼합처리의 경우는 11시간 이후부터 추출량의 증가가 완만해지기 시작했으며 12시간 경과시까지도 추출량은 완만하게 계속 증가하였다(p<0.01). Choi 등(7)이 참깨박에 protease를 처리했을 때와 Chun 등(9,19)이 참깨박에 phytase와 protease를 처리했을 때 효소처리 시간이 경과할수록 초기 추출율이 증가하다가 증가율이 점차 완만해진다고 보고하였으며 본 실험결과와 유사하였다

처리효소량의 영향

첨가 효소량에 의한 추출률의 변화를 살펴보기 위하여 phytase는 60~900 unit까지, protease는 4~60 unit까지, phytase와 protease혼합의 경우 phytase 60 unit에 protease

Table 3. Effect of reaction time on extraction of protein from defatted soybean meal treated with phytase, protease and the mixed enzyme of phytase and protease¹⁾

Time (hr)	Protein extract (mg/sesame g)			
	Control	Phytase	Protease	Phytase and protease
1	19.64±1.41	22.58±1.58	22.48±1.43	24.74±0.28**
2	21.91±1.88	27.06±2.48*	24.04±0.08	31.52±1.80**
3	23.04±1.99	33.11±2.39**	31.50±2.42**	33.54±1.67**
4	24.65±0.16	34.87±1.98**	34.18±0.18**	34.30±0.32**
5	26.72±1.39	37.97±1.36**	35.64±2.26**	38.26±1.06**
6	29.34±1.51	39.76±0.45**	38.17±1.80**	41.02±0.17**
7	31.81±0.30	42.41±2.31**	40.87±0.84**	42.26±0.23**
8	32.38±1.72	42.45±1.92**	41.30±1.48**	43.82±1.11**
9	34.30±0.40	43.46±2.18**	42.08±2.08**	44.68±0.28**
10	35.23±1.14	43.47±2.08**	42.69±0.36**	46.26±2.07**
11	36.08±0.13	43.24±0.12**	42.95±0.27**	47.41±0.45**
12	36.43±0.67	43.34±0.34**	43.10±0.15**	47.26±0.95**

¹⁾Soybean meal was treated at 50°C and pH 11 with 300 units of phytase and 20 units of protease.

*p<0.05, **p<0.01.

4 unit를 더한 것에서 phytase 900 unit에 protease 60 unit를 더한 것까지 처리하는 효소의 양을 달리하면서 12시간 효소처리하여 단백질의 추출에 미치는 영향을 살펴본 결과 Table 4와 같이 phytase와 protease를 단독으로 처리하였을 경우 phytase는 600 unit까지 효소량을 증가시킬 때까지 추출량이 대조구의 28.43±0.25 mg/g에 비해 43.25±1.21 mg/g(p<0.01)로 증가하였으며 900 unit까지 효소량을 증가시켰을 때부터 증가량이 다소 완만해지는 것을 관찰할 수 있었다. Protease는 40 unit 처리시까지 33.99±1.20 mg/g(p<0.01)으로 추출량이 증가하지만 그 이상의 효소처리에서는 추출량이 크게 변하지 않았으며, 혼합처리했을 경우에 첨가 효소량이 증가할수록 단백질의 추출량도 증가하는 양상이었으며 phytase 900 units와 protease 60 units를 처리했을 때 49.67±0.07 mg/g(p<0.01)의 추출량을 나타내었다. 또한 protease의 처리량을 증가시키는 것보다 phytase의 처리량을 증가시키는 것이 더 효과적이라고 생각되며, 단독처리보다는 혼합처리가 단백질의 추출에 더 효과적일 것으로 판단되었다.

Table 4. Effect of enzyme concentration on extraction of protein from soybean meal residue treated with phytase, protease and the mixed enzyme of phytase and protease¹⁾

		Phytase (unit)					
		Control	60	120	300	600	900
Protease (unit)	Con.	28.43±0.25	35.87±0.15**	38.36±0.05**	40.82±1.21**	43.25±2.15**	43.38±1.78**
	4	31.21±1.03*	36.31±0.18**	38.37±1.20**	41.31±0.87**	42.64±0.97**	43.91±0.91**
	8	32.14±2.02*	37.52±1.26**	39.98±1.27**	41.95±0.29**	43.72±1.99**	44.27±1.25**
	20	37.21±2.02**	40.05±1.32**	41.72±0.76**	42.54±1.12**	45.69±1.15**	46.38±0.71**
	40	39.99±1.20**	42.18±1.53**	43.68±1.32**	45.23±2.26**	46.82±1.99**	48.74±1.66**
	60	40.65±0.39**	43.07±1.04**	44.28±1.50**	45.69±1.04**	47.15±1.06**	49.67±0.07**

¹⁾Soybean meal was treated at 60°C and pH 11 with 60~900 units of phytase and 4~60 units of protease

*p<0.05, **p<0.01

추출 단백질의 기능성

기포형성력 및 기포안정성

효소처리 대두박단백질의 기포형성력을 측정한 결과는 Table 5와 같다. Phytase 처리구, protease 처리구, phytase와 protease 혼합처리구 모두 pH 3 부근에서 기포형성력이 최소값을 나타냈으며 phytase 처리구의 경우 대조구의 기포형성력 35.17±0.76~54.83±0.76 mL에 비해 37.83±0.29~53.50±0.50 mL로 기포형성력의 증가는 별로 두드러지지는 않았으나, protease 처리구와 phytase와 protease의 혼합처리구에서는 각각 43.17±0.29~58.17±0.76 mL와 45.83±1.04~61.17±0.29 mL (p<0.01)로 기포형성력이 증가하였다. 또한 protease 단독 처리보다는 phytase와 protease 혼합처리에 의해 기포형성력이 더욱 증가하였다. 기포안정성은 대조구의 경우 30분 방치시에 기포부피가 약 55% 수준으로 떨어졌으나 phytase 처리구의 경우 60~90분 경과시 대조구에 비해 유의적인 기포부피의 차이를 보였으며(p<0.01), protease 처리구의 경우와 protease와 phytase 혼합처리구의 경우에도 10~90분 방치시간 내내 대조구에 비해 유의적인 기포부피의 차이를 나타내었고(p<0.01), 90분 경과후에도 약 60% 정도의 부피가 유지되었다. 이는 대조구의 경우 표면활성이 효소처리 단백질에 비해 표면장력을 충분히 낮추어 줄만큼 강하지 못해 표면적을 적게 해주어 기포형성력이 낮게 나타났다고 생각된다. Cha와 Yoon(16)은 대두박에 protease 처리시 기포형성력이 급격히 증가한다고 보고하였고, Kinsella(27)는 단백질의 기포팽창력과 안정성은 단백질의 용해도에 따라 좌우되고 등전점 부근에서 가장 낮다고 하였으며, 다량의 불용성 단백질이 기포형성력에 영향을 미칠 수 있다고 추측하였다. 따라서 protease 처리군과 phytase와 protease 혼합처리군에서 다량의 가용성 단백질이 추출되어 더 많은 공기를 포함할 수 있기 때문에(28) 기포형성력이 높아진 것으로 생각된다.

유회력과 유회안정성

탈지대두박을 phytase, protease 그리고 phytase와 protease를 혼합하여 작용시킨 후에 추출한 단백질을 pH별로 그 유회력의 차이를 측정한 결과는 Table 6과 같다. 단

Table 5. Foaming capacity of protein from defatted soybean meal with phytase, protease, and phytase and protease treatment

pH	Foaming capacity (mL)									
	Control					Phytase				
	Standing time (min)					Standing time (min)				
	0	10	30	60	90	0	10	30	60	90
3	35.17±0.76	32.00±1.32	20.50±0.50	10.67±0.29	5.33±0.58	37.83±0.29**	34.33±1.04	26.50±0.50**	15.67±0.76**	10.67±0.58**
5	42.33±1.26	38.83±1.26	25.50±0.50	12.17±0.29	7.33±0.58	44.83±0.76*	41.00±0.87	29.83±0.76*	15.50±0.50**	10.50±0.50**
7	50.83±0.76	45.83±0.76	29.33±1.36	15.83±0.76	9.67±0.58	52.67±0.76*	47.00±0.50	32.33±1.26*	18.17±0.29**	12.50±0.50**
9	54.83±0.76	47.00±1.50	30.50±0.87	13.17±0.29	8.33±0.58	53.50±0.50	46.50±0.50	31.50±0.50	18.33±0.58**	12.33±0.29**
11	53.00±0.50	45.67±0.76	30.00±1.32	12.17±0.29	7.33±0.58	53.33±0.58	45.67±0.58	27.83±1.04	14.17±1.07*	9.50±0.50**

*p<0.05, **p<0.01

continued

pH	Foaming capacity (mL)									
	Protease					Phytase and protease				
	Standing time (min)					Standing time (min)				
	0	10	30	60	90	0	10	30	60	90
3	43.17±0.29**	40.00±0.50**	32.33±1.04**	27.83±0.29**	26.33±0.29**	45.83±1.04**	41.17±0.29**	36.83±0.76**	33.00±0.50**	30.33±2.26**
5	51.17±0.76**	44.17±0.29**	38.50±0.50**	34.17±0.76**	28.50±0.51**	51.17±1.26**	45.33±1.04**	40.17±0.29**	36.33±0.29**	33.33±1.76**
7	54.17±0.29**	49.67±0.29**	38.17±0.29**	35.33±0.58**	30.50±0.50**	56.17±0.76**	52.33±1.04**	42.33±0.76**	38.50±0.50**	35.33±0.58**
9	58.17±0.76**	51.17±0.29**	39.50±0.50**	34.50±0.50**	31.33±1.53**	61.00±0.50**	55.17±0.29**	45.33±1.04**	38.83±0.76**	35.67±1.53**
11	56.50±0.50**	51.00±0.00**	38.67±0.58**	34.50±0.50**	30.00±0.50**	61.17±0.29**	54.83±0.76**	45.17±0.29**	40.50±0.50**	35.50±0.50**

*p<0.05, **p<0.01.

Table 6. Emulsion capacity of protein from defatted soybean meal with enzyme treatment

pH	Emulsion activity (%)			
	Control	Phytase	Protease	Phytase and protease
3	38.77±1.02	42.87±2.30*	60.43±0.78**	71.97±0.45**
5	43.63±0.61	47.53±1.99*	68.90±0.56**	73.53±0.55**
7	46.30±0.66	50.83±0.97**	73.23±0.83**	74.13±0.55**
9	48.30±0.56	51.37±1.16*	78.20±1.15**	78.27±1.06**
11	48.20±0.26	50.70±0.56**	76.43±0.76**	77.73±0.71**

*p<0.05, **p<0.01

백질의 유화력은 대조구와 효소처리구 모두 등전점 부근에서 가장 낮았으며 알칼리성으로 갈수록 조금씩 증가하였으나, pH에 따른 차이는 작았다. 효소처리구간의 차이는 대조구의 유화력은 38.77±1.02~48.30±0.56%였으나 phytase처리구는 42.87±2.30~51.37±1.16%(p<0.05)로 다소 증가했으며, protease처리구는 60.43±0.78~78.20±1.15%(p<0.01)로 큰 폭의 상승을 보였다. 또한 phytase와 protease 혼합처리구의 유화력은 71.97±0.45~78.27±1.06%(p<0.01)로 pH의 영향을 거의 받지 않고 유화력이 증가하였으며, 단백질의 유화력 역시 단일효소처리보다는 혼합효소처리가 높게 나타났다. 단백질의 유화성은 많은 요인 즉, 기름의 첨가속도, 온도, pH, 단백질의 형태, 용해도 및 농도, 사용되는 기름의 종류, 그리고 수분함량 등에 의해서 영향을 받는다고 알려져 있다(14,18). Cha와 Yoon(16)도 대두단백질에 pepsin 같은 단백질분해효소 처리시에 그 유화력이 약 40~60%까지 급격히 증가한다고 하였다. 효소처리 대두박 단백질의 유화안정성을 살펴보

기 위하여 80°C에서 30분간 가열하고 15°C로 식힌 다음 원심분리하여 유화력을 측정된 결과 Table 7과 같이 유화력은 대조구의 30.13±1.16~35.33±0.75%에 비해 phytase 처리구는 41.43±0.55~48.17±1.25%(p<0.01), protease 처리구는 47.77±1.41~61.23±0.45%(p<0.01), phytase와 protease 혼합처리구는 68.33±0.93~72.00±3.56%(p<0.01)로 각 효소처리군 모두 유화안정성의 증가를 나타내고 있고 혼합처리구의 안정성이 가장 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 효소의 분해작용에 의해 기름과 물 경계면에서 유화를 형성하는데 유용한 펩타이드수와 극성기의 증가(10,14,18,27)에 기인하는 것으로 판단되었다

유지 및 수분 흡착력

효소처리 대두박 단백질의 유지 및 수분 흡착력을 측정된 결과는 Table 8과 같다. 유지 흡착력을 보면 대조구의 3.78±0.18 mL/g(p<0.01)에 비해서 phytase처리구가 5.18±0.03 mL/g(p<0.01), protease처리구가 5.53±0.06

Table 7. Emulsion stability of protein from defatted soybean meal with enzyme treatment

pH	Emulsion activity (%)			
	Control	Phytase	Protease	Phytase and protease
3	30.13±1.16	41.43±0.55**	47.77±1.41**	68.33±0.93**
5	34.37±1.66	43.85±0.40**	56.37±0.91**	71.30±1.95**
7	35.20±0.46	45.10±0.85**	60.33±0.70**	71.33±4.62**
9	35.33±0.75	48.17±1.25**	61.23±0.45**	72.00±3.56**
11	34.93±0.71	47.87±0.32**	58.23±0.70**	70.03±1.46**

*p<0.05, **p<0.01

Table 8. Oil and water absorption capacity of protein from defatted soybean meal with enzyme treatment

Absorbing material	Absorption volume (mL/g)			
	Control	Phytase	Protease	Phytase and protease
Oil	3.78±0.18	5.18±0.03**	5.53±0.06**	6.17±0.25**
Water	3.27±0.15	4.05±0.05**	3.77±0.15 [†]	4.28±0.13**

[†]p<0.05, **p<0.01

mL/g(p<0.01), phytase와 protease 혼합처리구가 6.17±0.25 mL/g(p<0.01)으로 크게 증가하였고, 대두박단백질의 흡착력은 각종 효소처리에 의해 대조구에 비해 약 1.4~2.4 mL 정도의 증가를 관찰할 수 있었으며, 이러한 결과는 효소처리된 대두박단백질이 입자의 부피가 증가된 fluffy structure를 가지기 때문으로 추측하였다. 수분흡착력도 대조구의 3.27±0.15 mL/g에 비해서 phytase처리구가 4.05±0.05 mL/g(p<0.01), protease 처리구가 3.77±0.15 mL/g(p<0.05), phytase와 protease 혼합처리구가 4.28±0.13 mL/g(p<0.01)으로 혼합처리구의 수분흡착력 증가폭이 더 커짐을 알 수 있었다. 단백질의 수분흡착력에 영향을 미치는 인자는 pH, ion농도, 단백질 종류, 아미노산 조성, 탄수화물의 존재 등이고, 고도의 가용성 단백질은 수분흡착력이 나빠진다는 보고(5,14)가 있으며, 대두박에 protease를 처리하였을 때보다 phytase를 처리하였을 때의 수분흡착력이 더 높은 것도 이러한 이론을 뒷받침하여 주었다.

요 약

대두박에 함유되어 있는 불용성 단백질을 가용성 단백질로 추출시키기 위하여 대두박에 *Aspergillus* sp. SM-15와 *Aspergillus* sp. MS-18 균주로부터 생산된 phytase와 protease를 작용시켰다. 이때 대두박 단백질의 추출을 위한 적정 pH는 phytase의 경우 pH 5 이상에서, protease의 경우 pH 7~11까지의 알칼리 영역에서, phytase와 protease 혼합처리의 경우 pH 5~12까지의 넓은 영역에서 추출율의 증가를 보였다. 최적 온도는 phytase 및 phytase와 protease 혼합처리의 경우 50°C였고, protease의 경우 60°C이었다. 최적 작용시간은 phytase의 경우 9시간, 그리고 protease와 혼합효소처리의 경우 11시간이었다. 효소의 최적 첨가량은 phytase 600 unit, protease 40 unit 정도였으며, 혼합효소처리의 경우는 효소량이 증가할수록 추출량은 증가하였으며, 단독처리보다 혼합처리가 추출량이 많았다. 효소처리된 대두박 단백질은 phytase 처리의 경우 대조구에 비해 기포형성력과 유화력이 다소 증가하였으나 protease처리와, phytase와 protease의 혼합처리에서는 기포형성력과 기포안정성, 유화력과 유화안정성이 매우 증가하였고, 유지흡착력과 수분흡착력은 phytase처리구, protease처리구, phytase와 protease 혼

합처리구 모두 대조구에 비해서 높은 값을 나타내었다. 또한 phytase와 protease 혼합처리구가 phytase, protease 단독처리구에 비해 기능적 특성이 더 우수한 것으로 나타났다

문 헌

- King, J., Aguirre, C. and De Pablo, S. Functional properties of lupin protein isolates (*Lupinus albus* cv *Multotupa*). *J. Food Sci.*, **50**, 82-86 (1985)
- Yang, C.I. : Studies on the nutritional quality of rapeseed protein isolates *Korean J. Food Sci. Technol.*, **12**, 109-115 (1980)
- Nilo, R., Dench, J.E. and Caygill, J.C. Nitrogen extractability of sesame (*Sesamum indicum* L.) seed and the preparation of two protein isolates. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 565-570 (1981)
- Kim, K.H. and Kim, D.H. Improved soy food products through food science and nutrition application (in Korean) *Food Sci. Ind.*, **29**, 37-43 (1996)
- Beuchat, L.R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 71-75 (1981)
- Lee, S.H., Cho, Y.J., Chun, S.S., Kim, Y.H. and Cho, C. Functional properties of proteolytic enzyme-modified isolated sesame meal protein. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 708-715 (1995)
- Choi, C., Chun, S.S. and Cho, Y.J. : Extraction of protein from defatted sesame meal using the enzyme from *Bacillus* sp. CW-1121 (in Korean) *Kor. Agric. Chem. Soc.*, **36**, 121-126 (1993)
- Chun, S.S., Cho, Y.J., Kim, Y.H., Woo, H.S. and Choi, C. : Change of functional properties and extraction of protein from abolished protein resource by phytase (in Korean). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 46-50 (1998)
- Chun, S.S., Cho, Y.J., Cho, K.Y. and Choi, C. : Change of functional properties and extraction of sesame meal protein with phytase and protease. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 895-901 (1995)
- Kinsella, J.E. Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 242-246 (1979)
- Montecalvo, J.J.R., Coonstantinides, S.M. and Yang, C.S. : Enzymatic modification of fish frame protein isolates *J. Food Sci.*, **49**, 1305-1311 (1984)
- Wang, J.C. and Kinsella, J.E. Functional properties of novel proteins, alfalfa leaf protein *J. Food Sci.*, **41**, 286-291 (1976)
- Kang, Y.J. : Enzymatic modification of soy proteins: Effects of functional properties of soy isolate upon proteolytic hydrolysis (in Korean) *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 211-217 (1984)
- Quaglia, G.B. and Orban, E. Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina pilchardus*) protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, **55**, 1571-1575 (1990)
- Yoo, J.S. and Lee, S.R. Efficacy of enzyme treatment for the quality improvement of soymilk (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **20**, 426-432 (1988)
- Cha, M.H. and Yoon, S. Modification of functional properties of soy protein isolate by proteolytic enzymes (in Korean). *Korean J. Food Sci. Tech.*, **25**, 39-43 (1993)

17. Han, J.S. and Hwang, I.K. : Effects of functional properties of soy protein isolate and qualities of soybean curd upon proteolytic hydrolysis (in Korean). *J. Food Sci Tech*, **24**, 294-299 (1992)
18. Dench, J.E., Nilo, R.R. and Caygil, J.C. : Selected functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) flour and two protein isolates. *J. Sci. Food Agric*, **32**, 557-563 (1981)
19. Chun, S.S., Cho, Y.J., Son, G.M., Choi, H.J. and Choi, C. : Change of functional properties and extraction of protein from abolished protein resource by protease (in Korean). *Agric. Chem. Biotech*, **41**, 13-17 (1998)
20. Chun, S.S., Cho, Y.J., Cha, W.S., Lee, H.D., Lee, S.H. and Choi, C. : Isolation, purification and characterization of phytase from *Aspergillus* sp. (in Korean). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*, **27**, 38-45 (1998)
21. Chun, S.S., Cho, Y.J., Sung, T.S., Son, J.H. and Choi, C. : Isolation, characteristics of microbial protease for application to abolished protein resource (in Korean). *Agric. Chem. Biotech*, **41**, 6-12 (1998)
22. Hemonen, J.K. and Lahii, R.J. : A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. *Anal. Biochem.*, **113**, 313-319 (1981)
23. Anson, M.L. : The estimation of pepsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol*, **22**, 79-85 (1938)
24. Hagihara, S. : *Method of enzymatic analysis*. Tokyo, Japan, Vol 2. p.237-246 (1956)
25. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-271 (1951)
26. Lee, S.M. and Kim, Z.U. : Extraction of proteins from soymilk residue using the enzymes from *Bacillus subtilis*. *Kor. Agric. Chem. Soc.*, **33**, 282-286 (1990)
27. Kinsella, J.E. : Relationships between structure and functional properties of food protein. In *Food Protein*, Fox, P.F.(ed.), Applied Sci Publishers, London, p51 (1982)
28. Kimball, M.E., Hesien, D.S.T. and Rha, C. : Chymotrypsin hydrolysis of soybean protein. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 872-879 (1981)

(1999년 10월 11일 접수)