

미생물 효소처리로 얻은 대두 펩타이드의 기능성

박양원

동신대학교 식품생물공학과

Dept. of Food and Biotechnology, Dongshin Univ., Naju 520-714 Korea

전화 (061) 330-3223, FAX (061) 330-2909

Abstract

Microorganism, including some bacteria isolated from soil, were found to secrete an extracellular soymilk-clotting enzyme. Using this bacterial enzyme experiments were carried out to optimize the hydrolyzing conditions for the production of soy peptides. The soy peptides produced by hydrolyzing 11S globulin with enzyme treatment at 65°C, pH 6.1, for 1hr were found to have a accessible possibility. The obtained coagulum by enzymatic reaction was very flocculation with fine structural formation. Properties of peptide Y and W of the enzyme hydrolysates at pH 6.1 were superior to that of isoelectric precipitation because these peptides were miscible with water in all proportions.

서론

예로부터 한국인은 대두의 미생물효소 분해에 의해 된장, 간장, 고추장등의 형태로 대두 펩타이드를 식생활중에 도입하여 중요한 단백질 자원으로 이용하여 왔다. 최근에 대두에 대한 단백질에 관한 영양연구가 발전하며, 대두 단백질의 효소분해물이 단순히 아미노산의 집합체만으로는 설명할 수 없는 기능을 가지고 있는 것이 해명되면서 새로운 용도를 가진 신소재로서 재평가를 받기 시작했다^{1,2)}.

본 연구에서는 영양면에서 이용될 수 있는 대두 펩타이드를 만들어 그의 응용에 대한 전망을 하였다.

재료 및 방법

효소생산 균주

토양으로부터 분리한 *Bacillus* sp. IJ-3균주는 glucose-peptone-agar 사면배지에 1 백금이를 접종하여 4°C에서 보관한 것을 사용 전에 35°C에서 3일간 배

양하여 완전히 숙성시켜 얻은 효소를 실험에 사용하였다.

탈지대두 제조

탈지대두는 나주산 대두를 n-hexane으로 지방을 분리하고, 얻은 탈지대두분말을 상온에서 용제를 제거하여 얻은 것을 사용했다. 이것의 NSI(질소용해지수)는 약 85였다.

SEM의 관찰

조제된 11S globulin 용액에 IJ-3 균주의 효소액을 0.5ml첨가하고 65°C에서 15분간 반응시켜 생성된 coagulum의 형태를 SEM으로 관찰하였다.

전기영동

IJ-3 균주 효소용액과 11S globulin 혼합용액을 65°C에서 1시간 반응시키면서 시간별로 채취하여 11S globulin의 가수분해 상태를 전기영동으로 확인하였다.

유화특성의 측정

TCA가용성 질소에 의한 분해율(TCA-N)은 5% TCA용액에 녹는 질소와 전질소(T-N)와의 비율을 가지고 다음 식으로 계산하였다.

$$TCA-N = (5\% \text{ TCA soluble-N}) / (T-N) \times 100 (\%)$$

아미노산 분석

펩타이드 Y와 W에 6N-HCl을 가하여 밀봉한 후 110°C에서 24시간 가수분해한 뒤 HCl을 제거하고 0.02M sodium citrate buffer를 가하여 아미노산 자동분석기 (LKB4150 Alpha)로 정량 하였다.

결과 및 고찰

11S globulin은 Sepharose 6B column chromatography를 통하여 간단히 95% 순도로 정제하였고, DEAE-Sephadex A-50 column chromatography로 산성 subunit(M.W. 37,000~45,000)와 염기성 subunit(M.W. 20,000~22,000)를 분리하였다.

11S globulin에 IJ-3 균주 효소를 65°C에서 15분간 반응시켜 얻은 coagulum을 SEM으로 관찰한 것을 Fig. 1에 나타내었다. 그림에서 보는 것과 마찬가지로 효소처리를 한 11S globulin의 coagulum은 등전침전 (pH 4.5)으로 얻은 coagulum보다 매우 치밀한 구조를 보였다. 11S globulin의 크기는 대체로 37,000~42,000정도의 크기로 효소 처리한 11S globulin의 가수분해 시간에 따른 단백질 분자는 초기 1분의 효소반응에 의해 서서히 저 분자화되기 시작하여 분자량 30,000정도와 그 이하의 작은 분자량으로 분해되었고, 30분이 경과

하면서 단백질의 크기는 거의 20,000이하의 작은 분자를 생성하였다(Fig. 2).

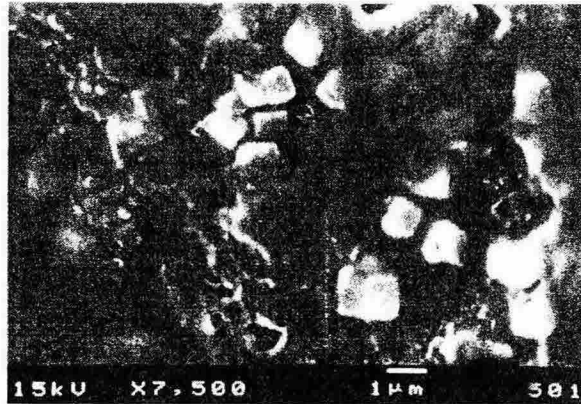


Fig. 1. Scanning electron micrograph of microbial enzyme induced aggregate produced from the 11S globulin.

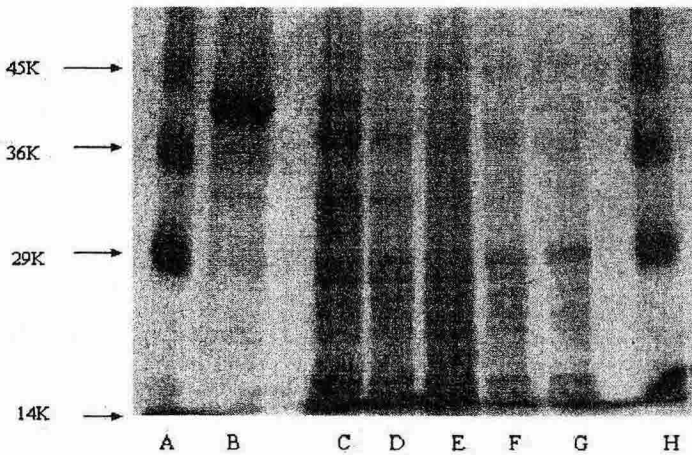


Fig. 2. Profile of the SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of enzyme reaction time on the purified 11S.

A, H, molecular weight markers; B, acid subunit; C, 1min; D, 5min; E, 10min; F, 30min; G, 1hr

대두 펩타이드의 조성과 물리화학적 성질

여기서 말하는 대두 펩타이드는 구체적으로 대두 단백질의 효소 분해물이다. 대두 펩타이드는 탈지대두로부터 비지를 분리하여 두유를 제조하고 65°C에서 30분간 효소반응을 한 후, 상등액을 제거 curd를 분리한 것(펩타이드 W)과

정제하여 건조한 것(펩타이드 Y)으로 구분하였다. 조제된 대두 펩타이드의 아미노산 조성은 대두 단백질과 다소의 차이를 보이고는 있으나 필수 아미노산을 균형있게 포함하고 있다.

Table 1. General composition of soy peptides

일반성분 (%)	대두 펩타이드 Y	대두 펩타이드 W
수분 (%)	4.6	4.9
조 단백질 (%) ^{*1}	8.4	8.6
조 회분 (%)	5.8	6.1
기타 (%)	5.6	6.0
12.5% TCA 가용성 단백질 (%) ^{*2}	95.5	96.1
NSI ^{*3}	95.3	95.8
유리아미노산 (%)	11.6	12.1
pH	6.2	6.2
용해도	투명	투명

*1. 조단백 함량 = N × 6.25 (Kjeldahl method)

*2. TCA = Trichloroacetic acid

*3. NSI = 수용성 질소계수 (NIrogen Solubility Index)

대두 펩타이드 Y와 W의 분자량을 보면 분자량 20,000이하의 것을 주체로 한 것으로 그림에서 보는 것과 마찬가지로 분자량의 크기는 조금씩 차이를 보이고 있다. 그러나 효소반응시간의 경과에 따라 분해물의 크기도 점점 더 작아지므로 해서 펩타이드로서의 저분자물질을 생성하는 것을 알 수 있다. 펩타이드의 식품소재로서의 적성은 점도와 용해도로 표현될 수 있다. 대두 단백질의 점도가 농도의 증가와 함께 급격하게 상승하는것에 대해 저 분자화된 펩타이드에서는 그 변화가 그다지 심하지 않고 고농도 50%에서 높은 유동성을 보였다. 한편 pH와 용해성을 보면 대두 단백질에서는 pH 4.5부근에서 등전 침전하는 것에 비해 대두 펩타이드에서는 가용성을 보였다. 이와 같은 물성은 펩타이드의 이용에 중요한 성질이라 하겠다.

요약

대두단백을 응고시키는 균체의 효소를 생산하는 박테리아를 포함하는 미생물을 토양으로부터 분리하였다. 이 미생물효소를 이용하여 대두 펩타이드를 생산하는 최적분해조건을 검토하였고, pH 6.1, 65°C에서 1시간 효소처리를 하여 11S globulin를 가수분해, 대두 펩타이드를 얻었다. 효소반응으로 얻은 응고물은 치밀한 구조를 지녔다. 효소반응 가수분해물인 펩타이드 Y와 W는 등전침전으로 얻은 가수분해물에 비해 그 용해성이 뛰어났다.

참고문헌

1. Kennedy, A.: Cancer prevention by soy products. *J. Nutr.* 125, 733(1995)
2. Messina, M.: Soybeans and the prevention of chronic disease. *J. Nutr.*