

단백질 가수분해 효소 및 이황화 결합 환원제 처리가 쌀의 이화학적 성질과 호화 특성에 미치는 영향

김성란 · 안승요*

서울대학교 식품영양학과

초록 : 밥의 식미가 다른 추청벼(자포니카형), 조생통일벼(통일계), IR 36(인디카형)의 세 품종의 쌀을 시료로 하여 단백질 가수분해 효소와 이황화 결합 환원제 처리가 쌀의 이화학적 성질, 호화 특성 및 가용성 탄수화물 용출 양상에 미치는 영향에 관하여 실험하였다. 세 품종 쌀의 아밀로오스 함량은 IR 36이 24.56%로 가장 높고 조생통일벼가 20.63%, 추청벼가 20.36%였다. 팽윤력과 용해도는 IR 36이 특히 낮았다. 시차 주사열량계로 조사한 호화 엔탈피와 X-선 회절에 의한 결정성은 IR 36이 가장 컸다. 쌀가루의 단백질을 효소로 가수분해시켰을 때 가열 중 수분 흡수량이 증가하였고, 쌀에 2-mercaptoethanol 처리를 하였을 때 세 품종 모두 수분 흡수 속도가 커지고 수분 흡수량이 증가하였으며 특히 IR 36에서 현저한 증가를 보였다. 아밀로그래프의 호화 개시온도는 추청벼가 가장 낮고 IR 36이 높았으며 50°C의 냉각 점도와 setback은 IR 36이 가장 컸다. 효소 처리와 2-mercaptoethanol 처리는 아밀로그래프의 점도 감소를 초래하여 쌀알 중의 단백질이 전분립의 팽윤을 제한하고 전분립에 강도를 부여하는 것을 알 수 있었다. 효소처리를 한 쌀 전분 현탁액에서도 쌀가루만큼 뚜렷하지는 않았으나 아밀로그래프의 점도가 감소하였다. 가용성 탄수화물의 분자량 분포는 세 품종간에 차이가 있었다. 추청벼가 용출된 가용성 탄수화물의 양이 가장 많았고, 큰 분자량의 분율이 다른 품종보다 높았다. 단백질 가수분해 효소처리는 쌀가루의 가용성 탄수화물 용출량, 특히 큰 분자량(K_{av} 0.3 이상)의 용출을 증가시켰다. 이 증가량은 IR 36에서 가장 컸고 조생통일벼, 추청벼의 순이었다(1995년 10월 23일 접수, 1995년 12월 16일 수리).

서 론

쌀밥의 식미에 영향을 미치는 인자로서 아밀로오스 함량,¹⁾ 전분의 호화 특성²⁾과 분자구조 등^{3,4)} 쌀의 주성분인 전분의 성질을 중심으로 많은 연구가 이루어져 왔다. 그러나 전분립을 둘러싸고 있는 배유 세포벽과 불용성 단백질은 쌀의 취반 동안 전분립의 팽윤 및 호화와, 밥의 텍스처 등에 중요하게 작용할 것으로 생각됨에도 불구하고 이들 성분과 전분과의 상호작용에 대한 연구는 몇 사람에게 의하여 시도되었을 뿐이다.

쌀의 단백질은 하위 호분층에 단백질 체(protein body)의 형태로 분포하며 전분층의 중심부로 갈수록 희박해진다.^{5,6)} 단백질은 복합 전분립을 둘러 쌀 뿐만 아니라 전분립 사이에서 과립상의 단백질 체로 존재한다고 보고되었다.⁷⁾ 쌀의 단백질 함량은 7% 내외로 인디카 종이 자포니카 종보다 많고 멥쌀보다 찰쌀이 높으나 품종, 기후, 재배 조건에 따라 변이가 심하여 쌀 품질 판정에 있어서 중요한 지표로 여겨지지 못하였다.⁸⁾ 그러나 총 단백질 함량은 쌀의 품질과 밥의 텍스처에 영향을 미쳐 단백질이 많을수록 밥이 단단하고 부착성이 떨어져 식미가 저하된다고 보고되었다.⁹⁾ 또한 단백질의 불용성 성질 때문에 쌀 단백질이 취반중 수분 흡수율과 전분립의 부피팽창에 영향을 줄 것이라고 시사하는 몇 편의 연구가 수행되었다.¹⁰⁻¹⁴⁾

Sosulski 등¹⁰⁾은 수분 흡수와 전분립의 팽윤을 억제할 것으로 생각되는 두류의 지질, 표면 단백질, 다당류 등을 효소적으로 제거하여 아밀로그래프의 호화 양상과 점도를 변화시키려고 하였다. Chandrashekar와 Kirleis¹¹⁾는 전분립의 호화가 protein matrix에 의하여 영향을 받는다고 보고하였고, 최근 Marshall 등¹²⁾과 Harmaker와 Griffin¹³⁾은 전분과 단백질의 상호작용에 대한 더 깊은 연구가 필요하다고 시사하였다. Harmaker와 Griffin¹⁴⁾은 이황화 결합이 풍부한 단백질이 전분의 호화에 영향을 미친다고 시사하였다.

본 연구에서는 쌀 단백질이 전분의 호화와 식미에 미치는 영향을 구명하기 위하여 단백질 가수분해 효소와 이황화 결합 환원제 처리가 쌀의 이화학적 성질, 호화 양상 및 가용성 탄수화물 용출 양상에 미치는 효과에 관하여 시험하였다.

재료 및 방법

재료

쌀은 서울대학교 농업생명과학대학 시험 포장에서 1992년 수확된 품종으로 자포니카형(japonica) 추청벼, 통일계(tongil, indica x japonica) 조생통일벼, 인디카형(indica) IR 36을 10분도로 도정하여 사용하였다. 쌀가루는 쌀을 마쇄기로 갈아 60 메쉬 체를 통과시켜 제조

찾는말: 쌀, 단백질 가수분해 효소, 이황화 결합 환원제, 호화, 가용성 탄수화물
*연락처자

하였으며 4°C에서 보관하며 시료로 사용하였다.

이화학적 성질 분석

총 아밀로오스 함량과 가용성 아밀로오스 함량은 Juliano¹⁵⁾의 방법과 Sowbhagya와 Battacharya¹⁶⁾의 비색법으로 각각 정량하였다. 팽윤력과 용해도는 Schoch¹⁷⁾의 방법을 보완하여 60~90°C의 온도범위에서 측정하였다.

단백질 가수분해 효소처리 및 이황화 결합 환원처리

쌀 단백질을 단백질 가수분해 효소(protease type XXV from *Streptomyces griseus*, Sigma)로 가수분해 하였다. Shibuya와 Iwasaki¹⁸⁾의 방법과 Hamaker와 Griffin¹³⁾의 방법에 따라 쌀가루 20 g을 증류수 200 ml에 현탁시킨 후 효소(4 U/mg) 100 mg을 첨가하고 37°C에서 2시간 가수분해시켰다. 반응이 끝난 후 3000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상정액을 제거하고, 침전물에 다량의 증류수를 가하고 원심분리기를 이용하여 반복 세척한 후 건조시켰다.

쌀 단백질의 이황화 결합 환원 처리는 Chandrashekar와 Kirleis¹¹⁾의 방법에 따라 0.05% 2-mercaptoethanol (Sigma)을 사용하여 실시하였다.

일반 성분 분석

쌀가루와 효소처리한 쌀가루의 단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법¹⁹⁾으로 질소 함량을 구한 후 질소량에 5.95를 곱하여 계산하였다. 수분, 총지방과 회분의 함량은 AOAC법²⁰⁾에 의하여 분석하였다.

쌀의 수화율과 쌀가루의 가열중 수분 흡수량 측정

김 등²¹⁾의 방법에 따라 건물 1g당 쌀알의 수분 흡수량을 계산하였다. 또한 쌀알 1g을 0.05% 2-mercaptoethanol 50 ml에 침지시켰을 때의 수분 흡수량을 동일한 방법으로 측정하였다.

쌀가루의 가열 중 수분 흡수량(water uptake)을 Chandrashekar와 Kirleis¹¹⁾의 방법으로 측정하였다. 쌀가루 1g (건물 중량)을 증류수 40 ml에 분산시키고 단백질 가수분해 효소를 5 mg 첨가하여 37°C에서 2시간 반응시켰다. 이어서 60°C, 70°C, 80°C, 90°C의 항온 수조에서 30분간 교반시키며 가열한 다음 3000 rpm으로 20분간 원심분리하고 상정액을 제거한 후 침전물의 무게와 105°C에서 16시간 건조한 후의 침전물 무게로부터 수분 흡수량을 계산하였다. 대조구로 불활성화 시킨 효소를 포함하는 용액에서 동일한 방법으로 실시하여 얻은 수분 흡수량과 비교하였다.

상대적 결정화도 측정

쌀가루와 효소처리한 쌀가루의 X-선 회절 양상은 X-ray diffractometer (Rigaku Co.)를 사용하여 target; Cu-K α , filter; Ni, 35 kV, 15 mA의 조건으로 회절각도(2 θ) 5~40도 범위에서 분석하였고 Komiya와 Nara²²⁾의 방법

에 따라 상대적 결정화도를 계산하였다.

한편 Juliano와 Perez²³⁾의 방법에 따라 시료 1g (건물 중량)에 2.2 N 염산 40 ml를 첨가하고 35°C의 항온 수조에서 가수분해시키면서 산처리 기일이 4일과 12일 경과된 때의 산 가수분해율을 측정하여 결정화도를 비교하였다.

아밀로그래피

Hamaker와 Griffin¹³⁾의 방법을 보완하여 amylogram을 측정하였다. 온도 program 시작 전에 amylograph bowl에 쌀가루 40 g(건물 중량)을 증류수 360 ml에 현탁시키고 단백질 가수분해 효소 200 mg(800U)를 첨가하여 37°C에서 2시간 반응시켰다. 또한 쌀가루 40 g을 증류수와 0.05% 2-mercaptoethanol용액 360 ml에 현탁시키고 37°C에서 2시간 반응시켰다. 위 처리를 각각 실시한 후 1.5°C/min의 속도로 가열하여 95°C에서 15분간 유지시킨 후 같은 속도로 50°C까지 냉각시키면서 호화 및 노화 특성을 조사하였다.

시차 주사 열량계

쌀가루와 효소처리한 쌀가루의 DSC thermogram을 측정하였다. 밀봉 가능한 알루미늄 팬(hermetic aluminum pan)에 시료 5 mg과 증류수 10 μ l (1:2 w/w)를 넣고 밀봉한 후 DSC(model SSC/120, Seiko)를 이용하여 30°C부터 160°C까지 분당 5°C의 속도로 가열하며 흡열 피크를 얻었다. 또한 증류수 대신 0.05% 2-mercaptoethanol에 현탁시킨 쌀가루의 DSC thermogram을 측정하였다. 이때 reference pan에는 2-mercaptoethanol을 사용하였다.

가용성 탄수화물의 젤크로마토그래피

쌀가루 0.7 g을 증류수 20 ml에 분산시킨 현탁액과 이 현탁액에 단백질 가수분해 효소 5 mg (20 U)을 첨가한 것을 각각 37°C에서 2시간 반응시킨 후, 80°C와 95°C의 진탕수욕조에서 30분간 교반하며 가열하였다. 이를 3000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상정액(가용성 탄수화물) 중 2 ml를 취하여 Sepharose 2B-CL(Sigma)을 충전한 column(2.5×100 cm)에 주입하고 권 등²⁴⁾의 방법에 따라 젤크로마토그래피를 실시하였다.

결과 및 고찰

아밀로오스 함량

쌀 전분의 아밀로오스 함량은 Table 1과 같이 IR 36 32.36%, 조생통일벼 27.36%, 추청벼 25.30%의 순이었으며, 불용성 아밀로오스 함량도 인디카형인 IR 36이 15.83%로 가장 많았고 조생통일벼의 불용성 아밀로오스 함량이 추청벼보다 많았다. 아밀로오스와 불용성 아밀로오스의 함량이 많을수록 밥의 텍스처는 더 단단하고 부착성이 떨어지며 저장에 의한 경도 증가가 크다고 보고되었다.¹⁾ 쌀가루의 총 아밀로오스 함량은 추청벼와

Table 1. Amylose contents of rice starches and rice flours

	Rice starch			Rice flour		
	CC ¹⁾	CT ¹⁾	IR 36	CC	CT	IR 36
Total amylose	26.10	27.36	32.36	20.36	20.63	24.56
Soluble amylose	19.46	18.00	16.53	12.76	11.66	13.45
Insoluble amylose	6.64	9.36	15.83	7.60	8.97	11.11

¹⁾ CC and CT mean Chucheongbyeo and Chosengtongilbyeo, respectively.

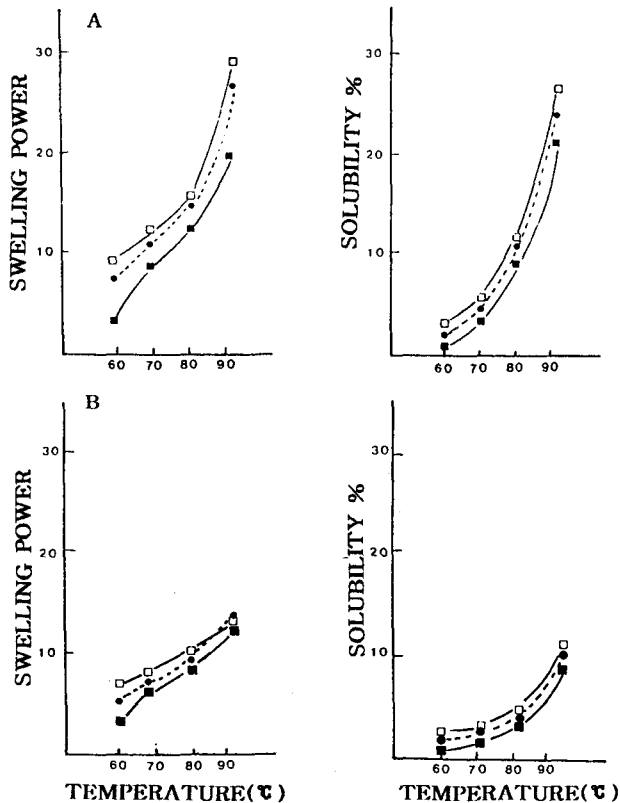


Fig. 1. Swelling power and solubility of rice starch(A) and rice flours(B) from Chucheongbyeo(□-□), Chosengtongilbyeo(●-●), and IR 36(■-■).

조생통일벼가 각각 20.36%, 20.63%로서 김 등²⁵⁾이 보고한 우리나라 쌀의 아밀로오스 수준이었고 IR 36은 24.56%로 가장 높았다.

팽윤력과 용해도

세 품종 쌀의 팽윤력과 용해도를 쌀가루와 쌀 전분에 대하여 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 세 품종간 팽윤력과 용해도의 차이가 있었는데 그 중에도 IR 36의 팽윤력과 용해도가 특히 낮았다. 이 결과는 IR 36이 다른 두 품종에 비해 전분립 내의 결정성이 크다는 것을 의미한다.²⁶⁾

온도 증가에 따른 팽윤력과 용해도의 증가율이 쌀 전분보다 쌀가루의 경우가 작은 것은 쌀가루 내부에 존재하는 전분 외의 다른 성분 즉 단백질과 지방, 세포벽

Table 2. Composition of rice flours and protease-treated rice flours

Variety	Moisture (%)	Protein (%) (N×5.95)	Ash (%)	Total lipid (%)
Chucheongbyeo				
Control	12.60	6.02	0.39	0.83
P-treated ¹⁾	11.18	0.90	0.39	0.80
Chosengtongilbyeo				
Control	12.41	7.46	0.46	0.91
P-treated	11.20	2.60	0.38	0.83
IR 36				
Control	14.53	8.80	0.65	1.17
P-treated	11.58	3.16	0.45	1.01

¹⁾ The rice flours were treated with protease(type XXV from *Streptomyces griseus*) at 37°C for 2 hours. The enzyme to rice ratio is 1/200.

물질 등이 쌀 전분의 팽윤을 억제하기 때문인 것으로 생각된다.

단백질 가수분해 효소처리에 따른 일반 성분 변화

쌀가루의 일반 성분은 Table 2와 같이 단백질 6.02~8.80%, 회분 0.39~0.65%, 조 지방 0.56~0.91%, 총 지방 0.83~1.17% 범위였으며 쌀 품종간 단백질 함량과 지방 함량의 차이가 있었다. IR 36의 단백질 함량은 8.80%로 가장 많았으며 조생통일벼가 7.46%, 추청벼가 6.02%였고 지질 함량도 IR 36이 가장 많았다.

쌀가루를 단백질 가수분해 효소처리를 한 후 일반 성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 단백질 함량으로 추정해 볼 때 추청벼 쌀가루는 효소처리로 인하여 85%의 단백질이 제거되었고 조생통일벼와 IR 36 쌀가루는 65%의 단백질이 제거되었다. 효소처리 쌀가루의 회분과 지방 함량도 약간 감소하였는데 이는 효소처리 후 증류수 세척 과정에서 소실된 것으로 생각된다.

쌀의 수화 특성과 쌀가루의 가열 중 수분 흡수량

쌀의 수화 특성과 수분 흡수량을 10°C, 20°C 및 40°C의 침지 온도와 60분간의 침지 시간에 따라 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 침지 온도가 높을수록 수분 흡수 속도가 빠르고 수분 흡수량이 증가하였으며, 60분 침지 후의 평형 수분 함량은 추청벼가 23~32%, 조생통일벼가 27~34%, IR 36이 15~23%로 IR 36의 평형 수분 함량이 현저하게 낮았다. 침지한 쌀의 평형 수분 함량은 아밀로오스 함량과 높은 부의 상관관계를 보인다고 보고되었으므로²⁵⁾ 본 결과에서도 같은 경향이였다.

Fig. 2의 아래 그림은 쌀을 0.05%의 2-mercaptoethanol에 침지시켰을 때의 수화 특성으로 물에 침지한 결과에 비하여 수분 흡수가 빨랐으며 침지 시간 10분에 20% 이상의 수분 함량에 이르렀고 평형 수분 함량도 증가하였다. 특히 IR 36에서 현저한 증가를 보였다. 이 결과는 단백질이 쌀의 수분 침투 및 수화에 영향을 미

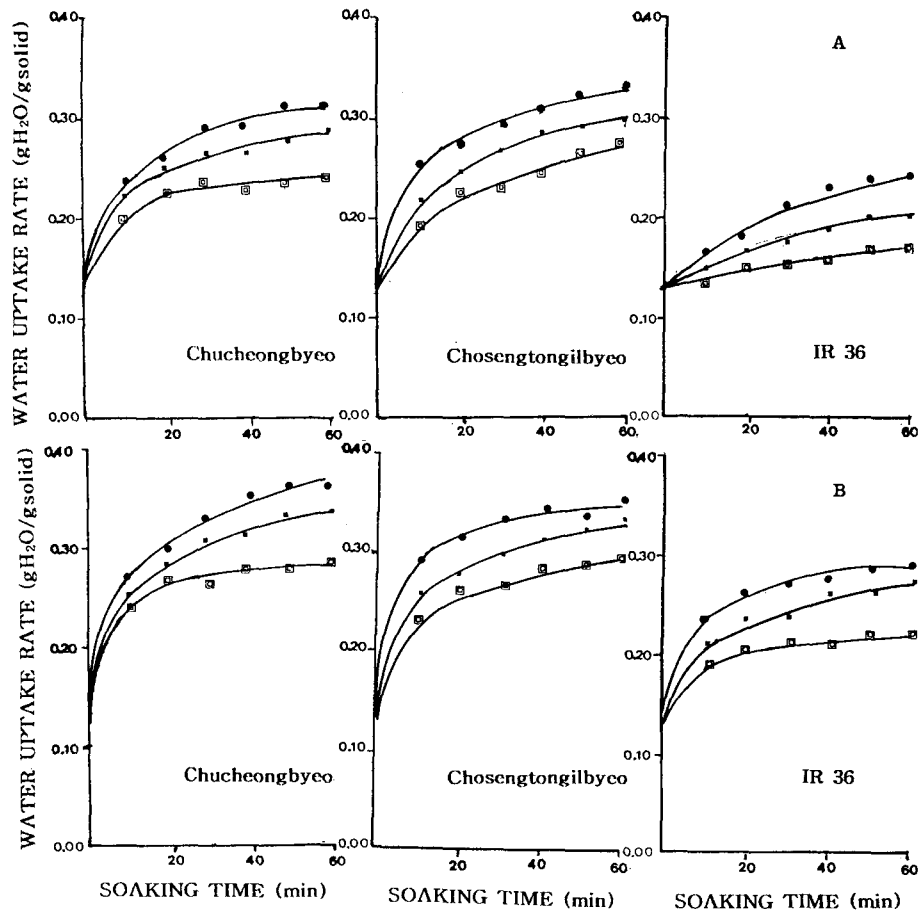


Fig. 2. Water uptake during hydration of rice grains in water(A) and 0.05% 2-mercaptoethanol(B). Soaking temperature are 10 (□-□), 20 (■-■), and 40°C (●-●).

Table 3. Water uptake (g H₂O/ g solid) of rice flours treated with protease

Temperature (°C)	Chucheonyeo		Chosengtongilbyeo		IR 36	
	Control	P-treated ^{b)}	Control	P-treated	Control	P-treated
60	3.76	4.33	2.68	2.65	1.20	1.25
70	4.97	5.13	4.80	4.96	4.18	4.31
80	5.93	6.27	5.38	5.76	5.33	5.39
90	7.38	9.04	7.49	8.41	7.59	8.37
95	10.65	14.24	10.71	15.23	7.75	11.67

^{b)} Protease treatment was same as Table 2.

친다는 것을 시사하여 준다.

Table 3은 쌀가루의 단백질을 효소로 제거했을 때 팽윤된 전분립들의 가열 중 수분 흡수량(water uptake)을 비교한 것이다. 단백질 제거로 인하여 쌀가루의 전분립들은 충분한 양의 물을 빠르게 흡수하여 호화되고 팽윤됨을 알 수 있다. 이 결과로 볼 때 단백질이 전분의 호화에 이용되는 수분의 확산을 방해할 것으로 사료된다.

상대적 결정화도와 산 가수분해율

쌀가루의 X-선 회절양상도 쌀 전분과 동일한 A형의 전형적인 양상을 나타냈으며 추청벼 쌀가루에 대한 상대적 결정화도는 Table 4와 같이 조생통일벼가 1.03, IR

36이 1.06으로 IR 36의 결정화도가 컸다. 효소처리한 쌀가루의 X-선 회절양상은 변화가 없었으며 상대적 결정도는 세 품종 모두 약간 감소하였고 IR 36의 결정성이 가장 높았다.

산 가수분해율로 비교한 결정도는 추청벼가 가장 낮고 IR 36이 가장 높았다. 효소처리 쌀가루의 산 가수분해율의 증가는 단백질 등의 가수분해로 인하여 상대적으로 전분의 비율이 높기 때문인 것으로 생각된다. 한편 무정형 부분에서의 가수분해가 일어나는 4일 산처리의 경우 쌀가루와 효소처리 쌀가루의 가수분해율 차이가 크고, 결정성 부분에서의 가수분해가 일어나는 12일 산처리의 경우 쌀가루와 효소처리 쌀가루의 가수분해율

Table 4. Relative crystallinities and acid hydrolysis of rice flours and protease-treated rice flours

Variety	Relative crystallinity	Relative crystallinity ratio	Acid hydrolysis (%)	
			4 days	12 days
Chucheongbyeo				
Control	0.3360	1.00	58.8	86.9
P-treated ¹⁾	0.3218	0.96	59.6	87.7
Chosengtongilbyeo				
Control	0.3466	1.03	52.0	78.4
P-treated	0.3235	0.96	57.2	78.3
IR 36				
Control	0.3563	1.06	40.7	72.1
P-treated	0.3408	1.01	48.9	73.3

¹⁾ Protease treatment was same as Table 2.

차이가 거의 없었다. 이 결과는 단백질의 존재가 산의 침투를 방해하며 단백질의 분포 위치가 무정형 부분과 관련이 있다는 사실을 시사하여 준다. 쌀가루와 효소처리 쌀가루의 가수분해율 차이는 세 품종 중 IR 36이 가장 크고 조생통일벼, 추청벼의 순이었는데 이는 세 품종의 단백질 함량 차이와 잘 일치되고 있다.

아밀로그래프 특성

쌀의 호화 특성은 아밀로오스 함량과 아밀로펙틴의 사슬 길이, 전분립과 관련된(starch granule-associated) 지질과 단백질 등에 따라 차이가 난다고 보고되었다.^{2,27,28)} Table 5는 쌀 단백질의 존재가 전분의 호화 양상에 어떻게 영향을 줄 수 있는지를 조사하기 위하여 단백질 가수분해 효소처리와 이황화 결합 환원제 처리가 쌀가루의 아밀로그래프 특성에 미치는 영향을 검토한 결과이다.

Fig. 3과 Table 5는 10% 쌀가루 현탁액의 아밀로그래프를 비교한 것으로 세 품종간 호화 개시 온도의 차이가

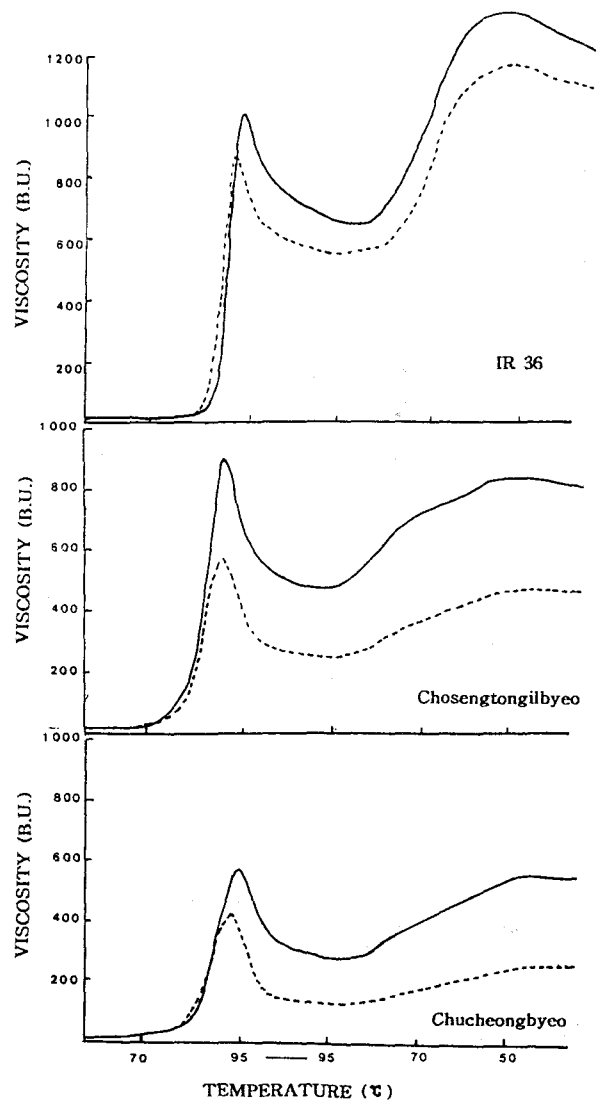


Fig. 3. Brabender Visco/amylo/Graph pasting curve for 10% slurries or rice flours (—) and protease-treated rice flours (-----).

Table 5. Brabender Visco/amylo/Graph characteristics of rice flours treated with 2-mercaptoethanol or protease

Variety	Temperature(°C)				Viscosity (B.U.)			
	Initial	Peak	Peak (P)	Hold 15 min.(H)	Cool to 50°C (C)	Consistency (C-H)	Breakdown (P-H)	Setback (C-P)
Chucheongbyeo								
Control	69.8	93.0	590	293	580	287	297	-10
ME-treated ¹⁾	67.4	92.0	562	250	555	312	305	-7
P-treated ²⁾	69.8	91.0	435	130	270	140	305	-165
Chosengtongilbyeo								
Control	70.5	93.5	935	487	870	383	448	-65
ME-treated	70.0	94.5	658	305	565	353	260	-93
P-treated	71.5	93.0	595	250	478	228	345	-117
IR 36								
Control	78.5	95.0	1075	700	1435	735	375	360
ME-treated	74.0	94.0	845	520	1075	358	543	185
P-treated	78.5	94.0	910	570	1218	648	308	308

¹⁾ The rice flours were treated in 0.05% 2-mercaptoethanol at 37°C for 2 hours. ²⁾ Protease treatment was same as Table 2.

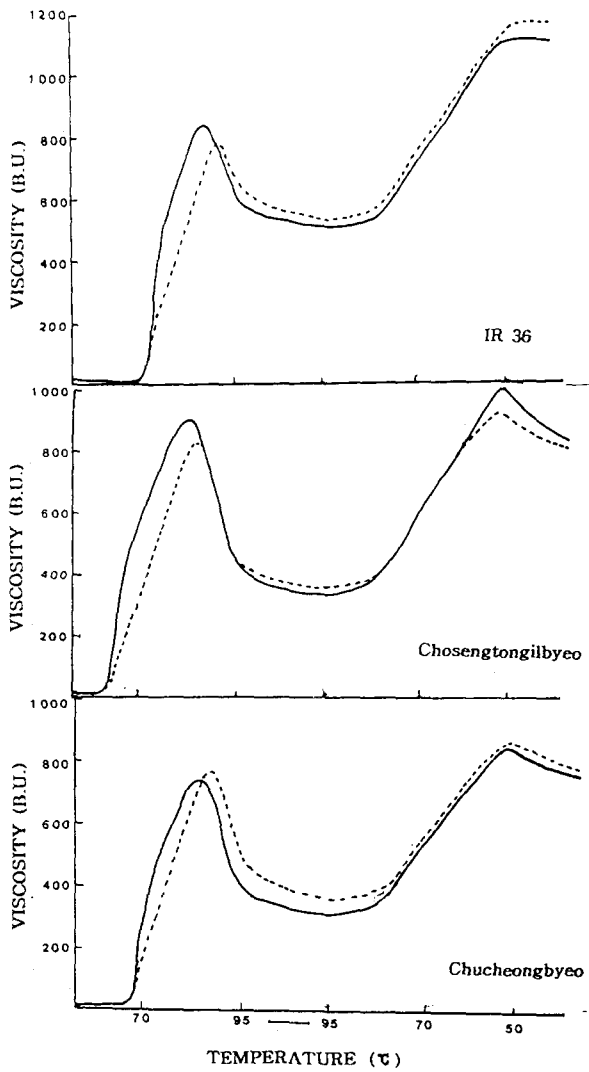


Fig. 4. Brabender Visco/amylo/Graph pasting curve for 8% slurries or rice starches (—) and protease-treated rice starches (-----).

크고 피크 점도(P)와 냉각 점도(C), setback의 차이가 컸다. Amylogram으로 살펴본 품종간 노화경향의 차이는 쌀전분보다 쌀가루에서 더 뚜렷하여 IR 36의 노화 경향이 가장 크고 조생통일벼, 추청벼의 순이었다. Fig. 4의 쌀 전분의 amylogram은 쌀가루와 차이가 있었으며 이 결과는 전분 외의 성분인 단백질과 지질 등이 점도와 호화 특성에 영향을 미친다는 것을 시사한다.

효소처리한 쌀가루의 아밀로그래프는 curve의 전 지점에서 현저한 점도 감소를 보이고 있다. 쌀가루 현탁액의 점도는 전분립의 팽윤 능력이 반영된 것으로 여러 인자에 의하여 좌우된다. 전분립 주위의 단백질은 전분립의 팽윤을 제한하고 전분립에 강도를 부여할 것으로 생각된다. 단백질 가수분해 효소처리로 인하여 팽윤된 전분립들이 전단에 더 약해지기 때문에 breakdown이 커졌는데 이것은 protein matrix나 starch granule associated protein의 존재가 전분의 팽윤과 호화에 영향을 미친다는 것을 시사한다.

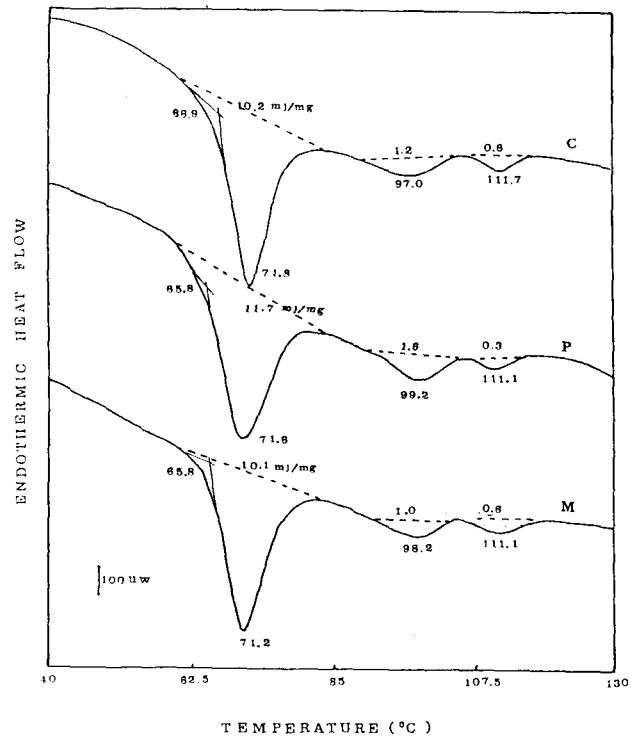


Fig. 5. DSC thermograms of untreated(C), protease-treated(P) and 2-mercaptoethanol-treated rice flour(M).

Fig. 4에서와 같이 전분에 효소를 처리한 결과에서도 쌀가루만큼 뚜렷하지는 않았으나 점도 감소가 나타났다. 쌀전분은 분리 과정에서 대부분의 단백질이 제거되었으나 추청벼 0.23%, 조생통일벼 0.28%, IR 36 0.59%의 단백질이 남아 있었으며, 이들 전분에 존재하는 소량의 starch granule associated protein²⁹⁾도 전분의 호화에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

2-Mercaptoethanol을 쌀가루 현탁액에 처리했을 때 Table 5와 같이 호화 점도가 감소하였는데 이것은 이황화 결합이 protein matrix의 유지에 관여하고 있다는 것을 시사하며 단백질과 단백질간 상호작용의 변화도 pasting viscosity를 변화시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 2-Mercaptoethanol 처리에 의한 점도 변화가 IR 36에서 가장 두드러지고 조생통일벼, 추청벼의 순인 것으로 보아 쌀 단백질 중 황을 함유한 아미노산의 비율과 이황화 결합과 관련된 단백질 구조에 세 품종간 차이가 있을 것으로 추측된다.

DSC 특성

단백질 가수분해 효소와 2-mercaptoethanol을 처리한 쌀가루의 DSC 측정 결과를 Fig. 5와 Table 6에 제시하였다.

쌀가루의 호화 개시 온도(T_0)는 추청벼가 가장 빨랐으며 IR 36보다 10°C 일찍 호화 피크가 시작되었고, 호화 엔탈피는 IR 36이 컸다. Biliaderis³⁰⁾는 인디카형 쌀의 T_0 가 자포니카형 쌀보다 높으며 T_0 와 T_c (conclusion temperature)간 범위도 인디카형 쌀이 크다고 보고하고 이

Table 6. DSC characteristics of rice flours treated with 2-mercaptoethanol or protease

Variety	1st peak of thermal curve			2nd peak			3rd peak		
	To ¹⁾ (°C)	Tp ²⁾ (°C)	ΔH ³⁾ (mJ/mg)	To (°C)	Tp (°C)	ΔH (mJ/mg)	To (°C)	Tp (°C)	ΔH (mJ/mg)
Chucheongbyeo									
Control	56.1	63.4	9.0	88.3	97.0	1.4	105.7	110.1	0.2
ME-treated ⁴⁾	56.4	62.6	9.1	77.6	84.5	0.3	91.3	97.4	1.1
P-treated ⁵⁾	55.1	63.4	9.4	87.5	100.0	1.0	106.0	108.9	0.1
Chosengtongilbyeo									
Control	60.1	66.4	9.6	88.0	98.6	0.9	105.1	110.7	0.3
ME-treated	59.4	65.2	9.9	91.8	99.6	0.7	103.8	109.2	0.7
P-treated	60.2	66.0	10.3	87.4	99.4	1.4	106.0	110.7	0.2
IR 36									
Control	66.9	71.8	10.2	88.4	97.0	1.2	107.0	111.7	0.6
ME-treated	65.8	71.2	10.1	89.3	98.2	1.0	105.0	111.1	0.6
P-treated	65.8	71.6	11.7	93.6	99.2	1.6	106.6	111.1	0.3

¹⁾To: Onset temperature ²⁾Tp: Peak temperature ³⁾ΔH: Gelatinization enthalpy ⁴⁾2-mercaptoethanol treatment was same as Table 5. ⁵⁾Protease treatment was same as Table 2.

Table 7. Gel chromatographic fractions of soluble carbohydrates of rice flours obtained by heating at 80°C and 95°C

Variety	Heated at 80°C					Heated at 95°C				
	Solubles (%)	Chromatographic		fraction (%) ¹⁾		Solubles (%)	Chromatographic		fraction (%)	
I		II	III	IV	I		II	III	IV	
Chucheongbyeo										
Control	3.39	12.3	34.8	33.0	19.9	14.15	47.6	44.7	4.3	3.4
P-treated ²⁾	3.60	23.6	44.5	12.8	19.1	14.50	50.9	37.6	3.6	7.9
Chosengtongilbyeo										
Control	3.02	18.4	36.7	26.5	18.4	12.25	41.7	48.0	6.5	3.8
P-treated	3.24	9.9	43.9	18.1	28.1	14.03	47.5	42.2	5.8	4.6
IR 36										
Control	2.59	10.0	37.6	30.1	22.3	11.98	31.0	59.4	5.5	4.1
P-treated	2.89	9.3	51.4	13.8	25.5	14.10	43.6	47.0	4.3	5.1

¹⁾I; $K_{av} < 0.3$, $M_w > 2.6 \times 10^6$; II; $0.3 < K_{av} < 0.8$, $2.6 \times 10^6 < M_w < 5 \times 10^6$; III; $0.8 < K_{av} < 0.88$, $5 \times 10^6 < M_w < 4 \times 10^7$; IV; $K_{av} > 0.88$, $M_w < 4 \times 10^4$.

²⁾Protease treatment was same as Table 2.

결과는 아밀로펙틴의 분지 정도의 차이이며 분지가 많을수록 범위가 넓어진다고 설명하였다. 호화 개시 온도와 호화 엔탈피로 볼 때 IR 36의 결정성이 크다는 것을 확인할 수 있었으며 이는 팽윤력과 X-선 회절도 결과와 잘 일치되고 있다.

한편 쌀가루의 경우 90°C 부근의 amylose-lipid complex에 의한 두 번째 피크와 110°C 부근의 세 번째 피크가 연결되어 나타났다. 박과 현³¹⁾은 130°C 부근의 세 번째 피크를 관찰하고 쌀에 존재하는 전분과 단백질 결합체의 상전이라고 시사하였다. Wirakartakusumah³²⁾도 세 번째 피크를 관찰하고 고온에서 전분의 특정 성분이 열분해되어 나타나는 피크라고 해석하였다. 한편 Sievert와 Pomeranz³³⁾는 enzyme-resistant starch(RS)의 DSC thermogram에서 120~165°C에서의 흡열피크를 보고하고 이를 RS에서 생성된 recrystallized amylose의 용융에 의한 것으로 보고하였다.

단백질 가수분해 효소처리와 2-mercaptoethanol 처리로 인하여 적은 온도차이지만 T_o가 일찍 시작되었고 T_p는 변화가 없거나 약간 빨라졌다. 효소처리 쌀가루에서 첫 번째 피크의 호화 엔탈피가 증가한 것은 단백질의 가수분해로 상대적으로 전분의 비율이 높기 때문인 것으로 해석된다. 한편 amylose-lipid complex 피크는 단백질 가수분해 효소처리 시에도 2개로 분리되어 나타났으며 효소처리와 2-mercaptoethanol 처리로 인하여 피크의 모양이 변하고 엔탈피도 차이가 났다.

가용성 탄수화물의 용출 양상

쌀가루와 효소처리 쌀가루를 80°C와 95°C에서 가열하였을 때 용출된 가용성 탄수화물을 분석한 결과는 Table 7과 같다.

전분에 물과 열을 가하면 호화과정이 진행되며 아밀로펙틴과 아밀로오스가 만든 결정성 구조가 무너지고

용액 중으로 아밀로오스와 약간의 아밀로펙틴 용출이 시작된다. Hizukuri³⁴⁾는 용출 온도가 높아질수록 용출된 분자의 중합도와 사슬 길이가 증가한다고 보고하였다. 김 등³⁵⁾은 쌀가루를 98°C에서 8분간 가열했을 때 일반계가 통일계보다 가열에 의한 가용성 물질의 용출이 쉬우며 가용성 아밀로오스 비율도 높다고 보고하였고 가용성 탄수화물의 함량이 밥의 경도와는 부의 상관관, 부착성과는 정의 상관관을 보임을 보고하였다. 두 온도에서의 가용성 탄수화물의 총 용출량은 추청벼가 많고 조생통일벼, IR 36의 순이었으며 용출온도가 증가하면 가용성 탄수화물 량도 증가하였고 특히 획분 I의 증가가 현저하였다. 효소처리에 의하여 총 용출량이 증가되었다. 효소처리로 인하여 전분립은 처리전 쌀가루 상태보다 충분히 팽윤되고 호화되므로 용출되기 어렵던 큰 분자량의 가용성 탄수화물의 용출이 증가한 것으로 생각된다. 80°C의 경우 효소처리로 인하여 획분 II의 용출량이 증가하였고, 95°C의 경우는 획분 I의 용출이 증가하였으며 증가율은 IR 36이 가장 크고 조생통일벼, 추청벼의 순이었다.

이상의 단백질 가수분해 효소와 이황화 결합 환원제 처리에 의한 쌀의 특성 변화로 보아 세 품종 쌀의 수화 특성과 호화 양상은 단백질 함량, 분포 위치 및 이황화 결합 등의 영향을 받는다는 것을 알 수 있었으며, IR 36의 경우 다른 두 품종보다 단백질이 쌀의 특성에 미치는 효과가 큰 것으로 나타났다. 앞으로 식미에 영향을 미치는 인자를 더욱 분명히 구명하고 미질을 향상시키기 위해서는 쌀 단백질의 구조와 쌀 저장 중의 단백질의 변화 등에 대한 연구가 필요하며 전분과 단백질의 상호작용에 대한 더 깊은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 1993년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비 지원에 의하여 연구되었습니다. DSC 실험을 도와주신 서울대학교 농업생물신소재연구센터에 깊이 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Battacharya, K. R., C. M. Sowbhagya and Y. M. Induduhara Swamy (1982) Quality profiles of rice; A tentative scheme for classification. *J. Food Sci.* **47**, 564-569.
2. Webb, B. D. (1985) Criteria and tests for rice grain qualities. In 'Rice Chemistry and Technology', Juliano, B. O., 2nd ed., Chap. 11, AACC Inc., Minnesota, U.S.A.
3. Hizukuri, S., Y. Takeda, N. Maruta and B. O. Juliano (1989) Molecular structure of rice starch. *Carbohydr. Res.* **189**, 227-235.
4. Hizukuri, S. (1993) Properties of rice starch. *J. Jap. Soc. Starch Sci.* **40**, 183-190.
5. Juliano, B. O. and B. B. Donald (1985) The rice grain and

- its gross composition. In 'Rice Chemistry and Technology', Juliano, B. O., 2nd ed., Chap. 2, AACC Inc., Minnesota, U.S.A.
6. Little, R. R. and E. H. Dawson (1960) Histology and histochemistry of raw and cooked rice kernels. *Food Res.* **25**, 611-622.
7. Hayakawa, T., S. W. Seo and I. Igaue (1980) Electron microscopic observation of rice grain. *J. Jap. Soc. Starch Sci.* **27**, 173-179.
8. Juliano, B. O. (1985) Polysaccharide, proteins and lipids of rice grain composition. In 'Rice Chemistry and Technology', 2nd ed., Chap. 3, AACC Inc., Minnesota, U.S.A.
9. Juliano, B. O., I. U. Onate and A. M. del Mundo (1965) Relation of starch composition, protein content, gelatinized temperature to cooking and eating qualities of milled rice. *Food Tech.* **19**, 116-121.
10. Sosulski, F., W. Waczkowski and R. Hoover (1989) Chemical and enzymatic modifications of the pasting properties of legume starches. *Starke* **41**, 135-140.
11. Chandrashekar, A. and A. W. Kirleis (1988) Influence of Protein on starch gelatinization in sorghum. *Cereal Chem.* **65**, 457-462.
12. Marshall, W. E., F. I. Normand and W. R. Goynes (1990) Effect of lipid and protein removal on starch gelatinization in whole grain milled rice. *Cereal Chem.* **67**, 458-463.
13. Hamaker, B. R. and V. K. Griffin (1990) Changing the viscoelastic properties of cooked rice through protein disruption. *Cereal Chem.* **67**, 261-264.
14. Hamaker, B. R. and V. K. Griffin (1993) Effect of disulfide bond containing protein on rice starch gelatinization and pasting. *Cereal Chem.* **70**, 377-380.
15. Juliano, B. O. (1971) A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Sci. Today* **16**, 334-340.
16. Sowbhagya, C. M. and K. R. Bhattacharya (1979) Simplified determination of amylose in milled rice. *Starke* **31**, 159-163.
17. Schoch T. J. (1964) Swelling power and solubility of granular starches. In 'Methods in Carbohydrate Chemistry', Whistler, R. L., Vol IV, Chap. 28, Academic Press Inc., London.
18. Shibuya, N. and T. Iwasaki (1984) Effect of cell wall degrading enzymes on the cooking properties of milled rice and the texture of cooked rice. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **31**, 656-660.
19. Christensen, A. C. (1988) In 'Approved methods of the American Association of Cereal Chemist', 8th ed., AACC Inc. Minnesota, U.S.A.
20. Morwitz, W. (1990) In 'AOAC methods of analysis', 15th ed., Washington.
21. 김성근, 한기영, 채제천, 이정행 (1985) 백미의 수분 흡수 속도. *한국농화학회지* **28**, 62-67.
22. Komiya, T. and S. Nara (1986) Changes in crystallinity and gelatinization phenomena of potato starch by acid treatment. *Starke* **38**, 9-13.
23. Juliano, B. O. and C. M. Perez (1990) Crystallinity of raw rice starch granule as indexed by corrosion with hydrochloric acid and amylase. *Starke* **42**, 49-52.
24. 권미라, 김성란, 임경숙, 안승요 (1992) 묵형성 전분의 특

- 성에 관한 연구. 한국농화학회지 **35**, 92-98.
25. 김성곤, 채제천 (1983) 쌀의 화학적 특성과 물리적인 특성과의 관계. 한국작물학회지 **28**, 281-284.
 26. Wong, R. B. K. and J. Leliever (1985) Comparison of the crystallinities of wheat starches with different swelling capacities. *Stärke* **34**, 159-161.
 27. Maningat, C. C. and B. O. Juliano (1980) Starch lipids and their effect on rice starch properties. *Stärke* **32**, 76-82.
 28. Juliano, B. O. (1982) Properties of rice starch in relation to varietal differences in processing characteristics of rice grain. *J. Jap. Soc. Starch Sci.* **29**, 305-317.
 29. Villareal, C. P. and B. O. Juliano (1986) Waxy gene factor and residual protein of rice starch granules. *Stärke* **38**, 118-119.
 30. Biliaderis, C. G., T. J. Maurice and J. R. Vose (1980) Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.* **45**, 1660-1680.
 31. Park, K. H. and C. K. Hyun (1988) Differential scanning calorimetry of rice starch. Proc. Int. Congr. *Food Sci. Technol.*, pp. 144-147, Singapore.
 32. Wirakartakusumah, M. A. (1981) Kinetics of starch gelatinization and water absorption in rice. Ph. D. Thesis, University of Wisconsin.
 33. Sielvert, D. and Y. Pomeranz (1989) Enzyme-resistant starch I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chem.* **66**, 342-347.
 34. Hizukuri, S. (1991) Properties of hot-water extractable amylose. *Carbohydr. Res.* **217**, 251.

Effect of Protease and Disulfide Bond Reducing Agent Treatment on the Physicochemical and Gelatinization Properties of Rice

Sung-Ran Kim and Seung-Yo Ahn* (*Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*)

Abstract : Effect of the modification of rice protein by protease and 2-mercaptoethanol on physicochemical and gelatinization properties was investigated for the three cultivars of rice. Total amylose contents of Chucheongbyeon(japonica type), Chosengtongilbyeon(tongil type, indica x japonica) and IR 36 (indica type) were in the range of 20~25%. Total amylose and insoluble amylose content of IR 36 were higher than the others. The differential scanning calorimetric and X-ray diffraction results revealed higher relative crystallinity of IR 36 than the others. Water uptake was increased and amylographic viscosity was significantly decreased by 2-mercaptoethanol treatment. Amylographic viscosity was significantly decreased and hot water-soluble carbohydrate content was increased by protease treatment. The proportions of high molecular weight of soluble carbohydrate fractionated by gel filtration chromatography were increased by protease treatment. These effects were most significant in IR 36. This results suggested that starch gelatinization be accelerated by alteration of the protein with protease and reducing agent.

*Corresponding author