

## 압출성형시 환원제 첨가에 의한 밀가루 글루텐의 조직 변화와 단백질의 변성

고 봉 경

계명대학교 식품영양학과

### Effects of Reducing Agents on Textural Changes and Protein Modification in Extruded Wheat Gluten

Bong Kyung Koh

*Department of Foods and Nutrition, Kei Myung University*

#### ABSTRACT

Addition of reducing agents during extrusion markedly affected physical and chemical properties of wheat flour and gluten extrudates. Expansion at the die was increased for wheat flour and gluten extrudates. Organic materials containing sulfur were evaporated as a flavor from gluten at the die and total sulfur contents were decreased. Physical shape was different for gluten extrudates without reducing agents. It was difficult to form the long strand of gluten extrudate without cooling die. Hydroquinone accelerated cell breakdown and produced more irregular shape of extrudate. However, addition of cysteine decreased the cell breakdown and produced the long strand of gluten extrudates. Chemical reactions of reducing agents such as cysteine and hydroquinone were different for high content (<80%) of wheat gluten. It was assumed that reducing agents donated hydrogen to inhibit the formation of disulfide crosslinking, decreased the dough strength and produced the broken cell and irregular shape of extrudates. Whereas, cysteine reacted as a binder as well as reducing agent and formed long strands. The evidence of reaction of reducing agents was shown from the fact that non-protein disulfide was increased and protein disulfide was slightly decreased from cysteine added gluten extrudate.

---

Key words: Extrusion, Gluten, Wheat flour, Protein denaturation, Cysteine, Hydroquinone.

#### I. 서 론

Extrusion 가공은 단시간 내에 제품의 연속 대량 생산이 가능하여 생산 효율의 향상, 에너지 절감 및 균일한 제품생산 등 많은 장점이 있으므로 식품뿐

아니라 여러 가지 다른 제품의 공정에 활용되어 그 이용 범위를 넓히고 있다. 과거 식품 압출성형에 주로 이용되는 것은 제면 또는 떡류 제조에 이용되는 간단한 성형 목적의 single screw extruder 가 대부분을 차지하고 있었으나 1990년대에 이르러 breakfast cereals과 snack류의 소비가 증가하면서 twin screw 형의 extruder가 사용되고 있으며 그 공법도 다양해졌다. 식품 압출성형공법은 곡류가공에 활용되어 breakfast cereals, 국수류 (pasta 또는 oriental noodles), confectionary products 등을 제조하고 가축 및 어류의 사료 제조에 널리 이용되고 있으며 그 밖에도 새로운 snack류의 개발 및 과채류의 가공에 이르기까지 활용범위가 넓다<sup>1,2)</sup>.

가공과정 중 기계적 축밀림 (mechanical shear) 및 고온의 열처리에 의하여 부여되는 에너지는 단시간에 식품재료의 조리를 가능하게 하는 동시에 성분을 화학적, 물리적으로 변하게 하며 이러한 변성은 제품에 특징적인 물성을 부여한다<sup>3)</sup>. 콩 단백질의 조직화를 위한 많은 연구에서 단백질의 변성은 제품의 조직감 변화의 중요한 요인이라고 밝히고 있다. 즉 단백질의 다양한 화학 결합 즉, disulfide crosslinking, inter-peptide crosslinking 및 hydrophobic interaction과 수소결합 등은 가공 과정에서 부여되는 에너지에 의하여 끊어지고, 새로이 형성되어 제품의 특징적인 조직감을 부여한다<sup>4-7)</sup>. 최근의 밀가루 extrusion 연구에서도 강한 전단력과 열 에너지는 고분자 글루텐 단백질의 가교를 끊으며 이로 인하여 생성된 sulfur free radicals 또는 peptide free radicals의 불규칙적인 결합은 새로운 단백질 조직을 형성한다고 보고되었다<sup>8)</sup>. 이러한 유리라디칼의 형성은 protein crosslinking 및 fragmentation 그리고 SH/SS 함량, 향기성분 및 puff ratio 등과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>9)</sup>. Koh등<sup>10)</sup>의 연구에 의하면 압출 성형되어진 밀가루 단백질의 용해도는 급격히 감소되었으나 가교형성을 억제하기 위하여 cysteine을 첨가하여 압출성형한 밀가루의 단백질은 용해도가 감소되지 않았으며, 제품의 cell size와 cell wall thickness 및 expansion 등에서 차이점이 있다고 보고하였다.

본 연구에서는 밀가루 단백질을 model system으로 이용하여 extrusion 과정에서 열에 안정한 환원제를 첨가하여 단백질의 disulfide 가교형성을 억제함으로써 나타나는 조직형성의 변화를 환원제를 넣지 않은 것과 비교하여 extrusion 과정에서 단백질의 disulfide crosslinking 형성과 변성이 곡류의 압출성형가공 과정 중 제품의 조직 형성에 미치는 영향을 규명하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 연구에 사용되어진 밀가루는 강력분 (밀맥스, 삼양사) 을 시중에서 구입하였으며 회분 및 단백질과 수분 함량은 각각 0.55 %, 15.18 % (N × 5.8), 그리고 7.4 % (dry basis) 였다. Gluten은 Belgium 으로부터 수입되어진 food grade vital gluten을 시중에서 구입 사용하였고, 단백질과 수분 함량은 각각 82.03 % (N × 6.25) 및 6.9 % (dry basis) 였다.

### 2. Extrusion 조건

Gluten과 밀가루에 각각 2% (wet basis) hydroquinone (Showa Chem. Japan) 또는 cysteine (Showa Chem. Japan)을 첨가하여 밀폐된 비닐 백에서 완전히 섞는다. 환원제와 섞여진 gluten과 밀가루는 extruder에 연결된 sample mixer에서 다시 섞인 후 Table 1에 표시된 일정한 속도로 extruder에 전달되어 가공되어졌다. Extrusion 공정은 corotating twin screw extruder (백상기기)를 이용하여 Table 1의 조건으로 하였다. 수분공급은 feeding zone의 입구에 연결되어진 첫 번째 extruder zone에 metering pump를 연결하여 일정한 속도로 공급되어졌으며 extruder의 압력과 온도는 최적의 팽창과 조직감을 형성하는 조건에서 결정되어졌다. Extrudates는 가공 즉시 밀폐한 용기에 넣어 -20℃ 냉동 보관한 후 wiley mill에서 40 mesh 크기의 분말로 갈은 후, 이화학 분석을 위하여 사용되어졌다.

**Table 1.** Extrusion process conditions

	Flour	Flour + HQ	Flour + CYS	Gluten	Gluten + HQ	Gluten + CYS
MC (%) of raw material	7.4	7.4	7.4	6.9	6.9	6.9
MC (%) of pretreated dough	15	15	15	20	20	20
Feed Rate (g/min)	140	140	140	124	124	124
Screw Speed (rpm)	83	83	83	82	82	82
#1 Temp Set /Read	87	87	87	85	85	85
#2 Temp Set /Read	100	100	100	104	104	104
#3 Temp Set /Read	121	121	121	130	130	130
Die Temp	120	120	120	124	124	124

### 3. Expansion ratio의 측정

시료의 extrusion으로 인한 expansion ratio (팽화율)은 Alvarez-Martinez<sup>11)</sup> 등의 방법에 따라 extrusion 제품의 종단면의 지름을 caliper를 사용하여 무작위로 추출한 20개의 제품에 한하여 3회 측정하고 그 평균을 표시하였다.

### 4. Sulfhydryl 과 disulfide 함량 측정

글루텐과 글루텐 extrudate에 대하여 단백질 내의 sulfhydryl과 disulfide의 함량을 Chan과 Wasserman<sup>12)</sup>의 변형된 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 50 mg을 10 ml DTNB (5,5-dithiobis [2-nitrobenzoic acid], Aldrich, USA)를 첨가한 시약에 섞은 후 공기와 빛의 접촉을 차단하여 30 분간 실온에서 반응시킨다. 반응 중에 1 분간 Ultrasonic cleaner (Bransonic 221, Bransonic, USA)을 사용하여 sonication하고 free sulfhydryl 함량을 측정하였다. Disulfide 함량은 NTSB<sup>2-</sup> (disodium 2-nitro-5-thiosulfobenzate) 시약을 Thannhauser 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 합성하였으며 시료 (50 mg)와 NTSB가 포함된 시약 (10 ml)을 섞은 뒤 빛과 공기의 접촉을 피하며, 1 분간 sonication한 후 100°C에서 30 분간 가열하여 함량을 측정하였다. Cysteine 첨가 시료는 반응시약의 양을 첨가된 cysteine의 몰수에 비례하여 다른 시료보다 많은 양의 시약과 반응하도록 하였으며 글루텐의 단백질과 결합되지 않고 반응 중 남아 있는 thiol과 disulfide 함량은 Koh<sup>10)</sup> 등의 방법에 따라 1 g 시료를 25 ml 증류수에 용해시킨

뒤 원심분리하여 그 상등액의 수용성 단백질을 n-ethyl alcohol로 침전, 원심분리시켜 제거한 후 상등액을 증류하여 위의 두 가지 시약을 이용하여 단백질과 결합하지 않은 free sulfhydryl 과 disulfide의 함량을 측정하였다.

## III. 실험결과 및 고찰

실험에 첨가되어진 cysteine은 곡류화학 연구에 보편적으로 이용되는 환원제로, 식품 첨가제로서 안전성에 문제가 없으나 그 반응이 매우 다양하고 복잡하여 단순한 환원제로서 역할을 설명하는 것은 여러 가지 문제점이 있다. 따라서 cysteine을 대신하는 환원제를 첨가하여 화학결합의 변화를 보고자 하였으나 대부분의 식품 첨가제로 인정되어진 환원제 또는 항산화제는 열에 불안정하여 반응 부산물의 복잡한 화학반응에 따라 제품의 조직감 특성이 변화하므로 단지 환원성 작용에 의한 화학적 반응을 규명하는데 문제가 제기된다. 따라서 식용은 아니지만 비교적 열에 안정한 hydroquinone을 본 연구에서는 첨가하여 cysteine과 비교, 설명하고자 하였다.

밀가루에 환원제 cysteine 또는 hydroquinone을 첨가하여 extrusion 하였을 때 Table 2에서 나타나는 바와 같이 extrudates의 종단면이 팽화된 것을 볼 수 있다. 그러나 시중에서 유통되고 있는 밀가루에서 글루텐만을 분리한 vital gluten을 extrusion 한 결과 cysteine 과 hydroquinone의 역할이 각각 다름을 볼 수 있다 (Fig. 1). Faubion 등<sup>14, 15)</sup>의 연구

**Table 2.** Expansion ratio of extruded wheat flour and gluten treated with reducing agents

Extrudate	Expansion ratio
Wheat flour	2.01±0.20
+CYS	2.04±0.24
+HQ	2.10±0.31
Gluten	1.25±0.46
+CYS	1.29±0.04
+HQ	1.47±0.72

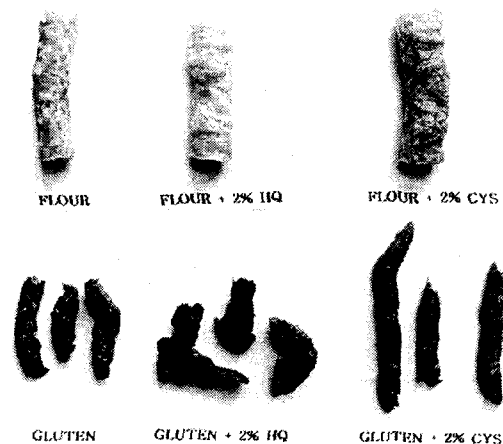
(values are averages of each 20 samples ± standard deviations.

CYS : 2% added cysteine. HQ : 2% added Hydroquinone).

에서도 밀가루 extrudate의 조직감 및 팽화는 밀가루의 단백질 종류 및 함량에 따라서 다양한 것으로 밝혀졌다. 1~11% 함량의 단백질을 함유한 것은 단백질의 함량이 높을수록 전분의 팽창이 감소되며 11~16%인 경우 전분의 팽화가 증가되었다. 그러나 그 이상의 단백질 함량 즉 전분의 함량이 작을 경우 extrudate의 팽화가 오히려 감소한다고 보고되었다. 본 연구에서는 cooling die를 연결하지 않고 vital gluten만으로 extrusion하였을 때 Fig. 1에 나타난 바와 같이 불규칙적으로 잘라진 모양의 제품을 얻게 되었고 이러한 현상은 Faubion 등의 연구에서

와 같이 전분의 extrudate의 팽화와 조직형성에 대한 역할을 나타내고 있다. Hydroquinone을 첨가한 것은 extrusion 공정 후 product의 대부분이 성형을 이루지 못하고 작은 덩어리의 형태를 이루고 die에 급격히 팽창하면서 cell의 파열과 같이 부스러진 형태의 제품을 얻게 되었다. 반면 일반적으로 같은 환원제로서의 기능을 예측하였던 cysteine은 예상외로 반대의 결과를 얻게 되었다. Table 2에서 보는 바와 같이 글루텐만의 extrudate와 큰 차이없이 팽화되었으나 매우 규칙적인 성형을 이루며 끊어짐 없이 곧은 제품을 얻을 수 있었다. 이와 같이 같은 환원제임에도 불구하고 그 양상이 뚜렷이 다르게 나타나고 있다. 이러한 물리적 차이점을 이해하기 위하여 extrusion 가공시 조직감 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 단백질의 disulfide crosslinking의 변화를 sulfhydryl 함량의 변화로서 추적하고자 분석한 결과 Table 3과 같다.

Extrusion 가공 후 글루텐의 전체 SH/SS (SH + S-S) 함량이 extrusion 이전보다 감소하며 특히 많은 양의 sulfhydryl이 감소되었다. 이는 extrusion die에서 제품이 생성될 때 유기성분의 황을 함유한 dimethyldisulfide, thiazole, 2-pentylthiophene 등이 flavor 성분으로 휘발하기 때문이며<sup>16)</sup> disulfide 함량에는 큰 차이가 없다. 즉 가공 과정



**Fig. 1.** Physical appearance of wheat flour and gluten extrudates with addition of reducing agents.  
% HQ= hydroquinone added during extrusion. % CYS =cysteine added during extrusion.

**Table 3.** Thiol and disulfide contents of wheat gluten extrudates treated with cysteine and hydroquinone

	SH <sup>b</sup>	S-S <sup>b</sup>	SH + S-S <sup>b</sup>
<u>TOTAL</u>			
Gluten	19.07 ± 1.19	37.40 ± 2.31	93.86 ± 4.47
Gluten extrudate	3.44 ± 2.09	37.09 ± 19.00	77.62 ± 37.95
+ CYS <sup>c</sup>	138.29 ± 27.50	78.73 ± 17.42	295.74 ± 21.39
<u>NONPROTEIN</u>			
Gluten	-	-	-
Gluten extrudate	-	-	-
+ CYS <sup>c</sup>	23.03 ± 2.89	47.05 ± 1.91	117.13 ± 2.5
<u>PROTEIN</u>			
Gluten	19.07 ± 1.19	37.40 ± 2.31	93.86 ± 4.47
Gluten extrudate	3.44 ± 2.09	37.09 ± 19.00	77.62 ± 37.95
+ CYS <sup>c</sup>	115.26 ± 19.95	31.68 ± 12.39	178.61 ± 15.23

<sup>a</sup> All values presented are expressed as nmole / mg of protein. Values are averages of three experiments ± standard deviations.

<sup>b</sup> SH=free sulfhydryl; S-S = disulfide (disulfide contents were calculated as [ total sulfhydryl · free sulfhydryl content ] / 2. SH + S-S = total sulfhydryl.

<sup>c</sup> Cysteine added per mg of protein during extrusion = 222 (nmole / mg protein)

에서 기계적 축밀림과 열에너지에 의해 끊어진 sulfhydryl free radicals의 재결합으로 비슷한 양의 disulfide cross linking이 재생성되었다고 사려된다. Hydroquinone을 첨가한 군은 DTNB 시약과 반응이 hydroquinone의 방해작용으로 인하여 sulfhydryl 함량을 측정할 수 없었으므로 이의 연구를 위한 새로운 측정방법의 모색이 필요하다. Cysteine을 첨가한 제품의 경우 첨가되어진 cysteine의 양이 모두 gluten과 반응하였는가에 대한 의문점을 밝히기 위하여 전체 측정치에서 단백질을 제거한 분획 (Table 3에서는 nonprotein 어로 표기) 에서 측정된 disulfide 함량과 sulfhydryl 함량을 각각 뺀 뒤 남은 단백질만의 (Table 3에서는 protein 으로 표기) 함량을 비교하면 많은 양의 free sulfhydryl은 증가하였으나 disulfide 함량은 오히려 감소하는 것을 볼 수 있다. 이러한 현상은 Koh<sup>10)</sup> 등의 연구에서도 보고되고 있는 바와 같이 cysteine이 extrusion 과정에 생성되어진 sulfur radical에 환원제로서 역할하여 disulfide crosslinking을 억제하므로서 free sulfhydryl량은 증가하나 disulfide는 감소되는 것으로 사려된다. 또한 전체 SH/S-S 함량 (178.61)이 첨가된 cysteine량(222 nmole / mg protein) 보다도 적게 측정되어진 것은 위에서 언급한

바와 같이 die에서 황을 함유한 flavor성분으로 많은 sulfur 화합물이 휘발하여 cysteine 첨가군은 특유의 향이 매우 강하였다. 이러한 환원제로서의 역할은 hydroquinone에서도 그대로 설명되어지며 따라서 단백질 조직을 형성하지 못하여 cell이 약한 부스러진 형태의 extrudate를 얻게 된다. 그러나 cysteine은 이러한 환원제로서의 역할이 조직 형성의 주요 원인이기보다는 연결제 (binder) 역할에 의하여 hydroquinone과는 전혀 다른 결과를 얻게 되어진 것으로 보여진다. 이러한 황을 함유한 화합물이 연결제로서 이용되어진 예는 soy protein을 이용한 조직화에서 황을 함유한 화합물을 첨가하여 얻은 Jenkins<sup>17)</sup>의 특허에서도 나타나고 있다.

#### IV. 결론 및 요약

환원제 cysteine 또는 hydroquinone의 첨가는 밀가루 extrudate의 팽화를 증가시켰으나 밀가루에서 글루텐만을 분리하여 시중에서 유통되고 있는 vital gluten을 이용하여 extrusion한 결과 cysteine과 hydroquinone의 역할이 각각 다를 수 있었다. Cooling die를 연결하지 않고 extrusion 하였을 때 vital gluten은 불규칙적으로 잘라진 모양의 제

품이 되었으며 이로써 전분이 extrudate의 팽화와 조직형성에 중요한 인자임을 나타내고 있다. 또한 제품 생산과정에서 황을 함유한 유기성분이 향기성분으로 다량 휘발하여 전체 SH/SS 함량이 extrusion 이전보다 감소하였고 cysteine을 첨가한 것은 더욱 많은 차이를 나타내었다. Gluten에 hydroquinone을 첨가한 것은 성형을 이루지 못하고 cell이 파열되어 부스러진 형태의 제품을 얻게 되었으나 반면 같은 환원제로서의 기능을 예측하였던 cysteine은 예상외로 매우 규칙적인 성형을 이루며 끊어짐 없이 끈은 제품을 얻을 수 있었다. 환원제의 첨가는 extrusion 과정에 생성되어진 sulfur radicals로부터 disulfide crosslinking의 형성을 억제하므로써 free sulfhydryl 양은 증가하나 disulfide 형성은 감소되어 영성한 단백질 조직을 형성하여 cell이 약하고 부스러진 형태의 extrudate를 얻게 된다. 그러나 본 연구 조건에서 cysteine은 이러한 환원제로서의 역할이 조직형성의 주요 원인이기보다는 연결제 (binder)로서의 역할에 의하여 단백질의 조직형성에 작용하고 있다.

## V. 감사의 글

본 연구는 1995년도 계명대학교 비사 신진 연구기금으로 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

## VI. 참고문헌

1. 이철호, 김동철, 전제현, 김철진, 김종배, 김재득, 손충천 : 식품 extrusion 기술, 유림문화사, 서울, 13-19, 1987.
2. Frame, N. D. : The technology of extrusion cooking, Blackie Academic & Professional, London, 100-113, 1994.
3. Camire, M. E. : Protein functionality modification by extrusion cooking, J. Am. Oil Chem. Soc., 68(3):200, 1991.
4. Burgess, L. D., and Stanley, D. W. : A possible mechanism for thermal texturization of soy protein, J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment., 9(4):228, 1976.
5. Chiang, J. P. C., and Sternberg, M. : Physical and chemical changes in spun soy protein fibers during storage, Cereal Chem., 51:465, 1974.
6. Cumming, D. B., Stanley, D. W., and deMan, J. M. : Fate of water soluble soy protein during thermoplastic extrusion, J. Food Sci., 38:320, 1973.
7. Wolf, W. J. : Soybean Proteins: Their functional, chemical, and physical properties, J. Agr. Food Chem., 18(6):969, 1970.
8. Schaich, K. M. : Physical forces in food systems, Research Accomplishments of the Center for Advanced Food Technology, Rutgers-The State University of New Jersey, 67-79, 1992.
9. Rebello, C. : Structural changes in wheat proteins during twin screw extrusion., Thesis, Rutgers-The State University of New Jersey, 1993.
10. Koh, B. K., Karwee, M. V., and Schaich, K. M. : Effects of cysteine on the free radical production and protein modification in extruded wheat flour, Cereal Chem., 73(1):115, 1996.
11. Alvarez-Martinez, L., Kondury, K. P., and Harper, J. M. : A general model for expansion of extruded products, J. Food Sci., 53(2):609, 1988.
12. Chan, K. Y. and Wasserman, B. P. : Direct colorimetric assay of free thiol groups and disulfide bonds in suspensions of solubilized and particulate cereal proteins, Cereal Chem., 70(1):22, 1993.
13. Thannhauser, T. W., Konishi, Y., and Scheraga, H. A. : Analysis for disulfide bonds in peptides and proteins, Methods Enzymol., 143:115, 1987.
14. Faubion, J. M., and Hosney, R. C. : High

- temperature-short time extrusion cooking of wheat starch and flour. I. Effect of moisture and flour type on extrudate properties, *Cereal Chem.*, 59(6):529, 1982.
15. Faubion, J. M., and Hosney, R. C. : High temperature-short time extrusion cooking of wheat starch and flour. II. Effect of protein and lipid on extrudate properties, *Cereal Chem.*, 59(6):533, 1982.
16. Ho, C. T. and Hartman, T. G. : Lipids in food flavors. ACS symposium series, American Chemical Society, Washington DC., 144-157, 1994.
17. Jenkins, S. L. (to Ralston Purina Co. St. Louis, MO.). Method for preparing a protein product. U.S. Patent 3,496,858., 1970.