

피마자 단백질의 식품화를 위한 연구

윤 주 억

동국대학교 식품공학과

(1980년 8월 18일 수리)

Studies on the Preparation of Food Proteins from Castor Bean Protein

Joo-Ok Yoon

Department of Food Technology, Dong Guk University, Seoul 100

(Received August 18, 1980)

Abstract

Detoxified and deallergenized castor bean protein isolate was prepared from defatted castor bean pomace for use in animal feedstuffs and human foods. Succinylation and acetylation of the ϵ -amino groups of the protein improved markedly the water solubility of the protein at pH 7~8. The results of the amino acid analysis of the protein isolate revealed that the sulfur-containing amino acids and L-lysine were limiting amino acids and that succinylation and acetylation caused some little loss of the amino acid content. The L-methionine enriched plastein was synthesized from the protein isolate or the acylated protein isolates and DL-methionine ethyl ester by one step process with papain. By this method the extent of incorporation of L-methionine was about 50%.

Pepsin hydrolyzed both unmodified and modified protein isolates at the same rate (about 92%). Tryptic hydrolysis, however, was less for the succinylated protein isolates (about 42%) and less for the acetylated protein isolates (about 26%). The protein efficiency ratio of L-methionine enriched protein isolate (about 2.5 weight %) was 90% that of reference casein. The protein efficiency ratio values of succinylated (88%) and acetylated (84%) protein isolate were 55 and 69% of reference casein, respectively.

서 론

전 세계의 년 생산량이 1,000,000 metric ton을 넘는 피마자(*Ricinus communis* L.)는 50~60%의 지방분과 18~20%의 단백질을 함유하고 있고, 피마자박은 36% 이상의 단백질을 함유하고 있지만, 사료나 식량으로는 이용되지 않고 있다. 그 이유는 특성 albumin인 ricin과 그밖에 몇 가지 allergen 및 ricinine 등이 함유되어 있기 때문이다^(1~8). 그동안 피마자박에서 이

를 특성분을 제거해 보려는 많은 노력이 있었으나^(9~17) 그 가운데서도 Polit들의 연구⁽¹⁷⁾가 가장 뛰어남으로 본 연구에서는 이들의 방법을 수정하여 특성분이 제거된 피마자박 단백질을 만들고, 이 단백질에 대하여 다음과 같은 실험을 실시하여 사료나 식량으로서의 이용 가능성을 검토하였다. 즉 피마자 단백질을 아실화 하여 식품 단백질로서의 기능성(functional properties)과 적합성(suitability) 향상을 시도하였고, papain을 이용한 plastein 반응으로 L-메티오닌 강화 피마자 단백질을 합성하여 영양가 향상을 시도하였다. 또 펩신 및 트

립신에 의한 시험관내 소화실험으로 소화율을 조사하였고, 흰쥐에 의한 동물시험으로 피마자 단백질, 아실화 피마자 단백질, L-메티오닌 강화 피마자 단백질들의 종합적인 영양가 평가를 하였기에 그 결과를 보고 한다.

재료 및 방법

피마자 단백질의 제조

독성분이 제거된 피마자박 단백질(이하 피마자 단백질이라 함)은 Polit들의 방법⁽¹⁷⁾을 수정한 다음과 같은 방법으로 제조하였다. 즉, 시판 피마자의 껌질을 벗기고, 디에틸 에테르로서 지방분을 제거하여 피마자박을 얻은 다음, 이 피마자박량의 50배의 NaOH 용액(pH 10.0)을 가하고 50°C에서 30분간 교반 하면서 단백질을 추출하였다. 이 추출용액을 pH 5.3으로 맞추어 단백질을 침전시키고 100°C에서 5분간 가열한 다음, 생선된 curd를 모아 물에 혼탁시키고 HCl로서 pH 7.0로 맞추어 동결건조한 것을 동물시험에 사용하였다.

피마자 단백질의 아실화

가. 피마자 단백질의 아실화 방법

피마자 단백질은 Franzen 및 Kinsella의 방법^(18, 19)으로 아실화 하였다. 먼저 숙시닐화 반응은 단백질 2 g에 0.2 M 인산완충액(pH 7.5) 200 ml를 가한 혼탁액에 숙신산 무수물 2.5 g을 2시간 동안 교반하면서 가하였으며, 이 반응 중 pH는 3 M NaOH로서 7.0~8.0로, 온도는 24±0.5°C로 유지하였다. 반응용액의 pH가 안정화된 다음, 4°C에서 24시간 중류수로서 투석하고, 숙시닐화된 단백질은 동결 건조하여 회수하였다.

다음 아세틸화 반응은, 아세트산 나트륨 55 g을 중류수 120 ml에 녹인 용액에 단백질 2 g을 가하고, 여기에 아세트산 무수물 3 ml를 90분간 교반하면서 가하였다. 반응 중 pH는 7.5로 유지하였으며 반응용액의 pH가 일정하게 되었을 때 반응을 끝내고, 4°C에서 24시간 투석한 다음, 아세틸화된 단백질은 동결건조하였다.

나. 피마자 단백질의 아실화율 결정

피마자 단백질의 유리 아미노기의 아실화율은 Franzen의 방법⁽¹⁸⁾으로 결정하였다. 즉 1% 단백질 용액 0.5 ml에 닌히드린 용액 0.5 ml를 가하고 100°C에서 5분간 가열한 다음, 실온으로 식히고 75% 에탄올을 가하여 전량을 5 ml로 만들어 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아실화율은 아실화 단백질과 아실화가 되지 않은 단백질과의 흡광도차로 부터 산출하였다.

SH기의 아실화율은 Janolino들의 방법⁽²⁰⁾으로 아실

화 단백질과 아실화 되지 않은 단백질에 존재하는 유리 SH기의 양으로부터 결정하였다.

다. 피마자 단백질 및 아실화 피마자 단백질의 용해도 시료 단백질에 대하여 각각 pH 1.0~11.0 범위의 1% 수용액을 만들고, 이들을 때때로 교반하면서 1시간 동안 실온에 냉침하였다가 30분간 원심분리한 다음, 상정액 5 ml를 취하여 micro-Kjeldahl법으로 단백질 함량을 측정함으로서 각 pH에서의 용해도를 결정하였다.

아미노산 분석

피마자 단백질을 상법에 따라 24시간 가수분해하고 아미노산 분석기로 분석⁽²¹⁾하였으며, 특히 half-cystine 함량은 Moore의 방법⁽²²⁾으로, 트립토판 함량은 Sodek들의 방법⁽²³⁾으로 각각 분석하였다.

Plastein 합성반응에 의한 피마자 단백질의 L-메티오닌 강화

Plastein 반응에 의한 피마자 단백질의 L-메티오닌 강화는 Yomashita들의 1단계법⁽²⁴⁾을 이용하였다.

가. Plastein 합성용 기질, 효소 및 시약

피마자 단백질을 단백질량의 약 100배의 0.1M NaOH에 녹이고 실온에 2시간 두었다가, HCl로서 pH 5.3으로 맞추어 생기는 침전을 원심분리하여 셀로판 주머니로 5°C에서 3일간 투석한 다음, 동결건조한 것을 plastein 합성기질로 사용하였다. D- 및 L-메티오닌 에틸에스테르 염산염(이하 D- 및 L-Met-OEt·HCl)로 표시함)과 파파인(약 16~40 BAEE units/mg)은 Sigma 제품을, L-시스테인은 Merck제품을 각각 사용하였다. 또 동물시험용 plastein을 합성할 적에는 DL-메티오닌(Kyowa Hakko제품)으로 Flēs 및 Markovac-prpic의 방법⁽²⁵⁾에 따라 DL-Met-OEt·HCl(m.p. 81~82°C, [α]_D=+18.7°)을 합성하여 사용하였다.

나. Plastein 합성방법

Plastein 합성기질 1 g에 NaOH용액(pH 10.0) 5 ml를 가하여 만든 반죽에 D- 또는 L-Met-OEt·HCl 0.05 g을 소량의 중류수에 녹여서 pH 10.0으로 맞추어 가하고 혼합하면서 다시 pH 10.0으로 맞추었다. 여기에 파파인을 0.01 g을 10.0 mM L-시스테인에 녹인 것을 주입하고, 37°C에서 24시간 반응시켰다. 반응 중 pH의 강하는 소량의 1M NaOH를 가함으로서 억제하였다.

다. Plastein 합성반응으로 도입된 D- 및 L-메티오닌의 도입율 결정

앞서 말한 방법에 따라 D- 또는 L-Met-OEt·HCl로 각각 plastein 반응을 시킨 다음, 반응액 일정량을 취하여 0.2 M 시트르산 완충액(pH 2.2)으로 희석하고 유리 메티오닌 함량을 분석하였다. 또 같은 반응액 일정량을 따로 취하여 0.1 M NaOH를 가하고 실온에 5

시간 둘으로서 반응 하지 않은 D- 또는 L-Met-OEt를 완전히 가수분해한 다음, 같은 방법으로 유리 메티오닌 함량을 분석하였다. 이 plastein 반응에서 반응하지 않은 D- 또는 L-Met-OEt 양은 앞서 말한 두 분석치의 차가 되므로 도입율은 다음 식으로 부터 산출하였다.

$$\text{메티오닌 도입율} = \frac{[M]_0 - [M]_t}{[M]_0} \times 100$$

단, $[M]_0$: plastein 반응액 중의 D- 또는 L-Met-OEt · HCl의 초기농도

$[M]_t$: 반응이 끝난 반응액 중의 유리 D- 또는 L-메티오닌과 D- 또는 L-Met-OEt · HCl의 합

한편 L-메티오닌 강화 피마자 단백질의 전 아미노산 분석은, 아미노산 분석에서 언급한 방법에 따랐다.

라. 동물시험용 메티오닌 강화 피마자 단백질의 합성
앞서 말한 plastein 합성 방법에 따르되, 피마자 단백질, DL-Met-OEt · HCl, L-시스테인 및 효소를 각각 증량하여 합성하였다. 합성이 끝난 반응액은 20배의 종류수에 혼탁시키고, 90°C에서 5분간 가열하여 파파인을 파괴한 다음, pH를 5.2(또는 4.6)로 낮추어 메티오닌 강화 피마자 단백질의 침전을 얻고, 원심분리하여 다시 HCl로서 pH 7.0로 만든 것을 동결건조하여 동물시험에 사용하였다.

피마자 단백질의 펩신 및 트립신에 의한 소화율 측정

피마자 단백질 800 mg의 혼탁액(pH 2.0)에 펩신(2,500~3,200 units/mg, Sigma) 25 mg를 가하고 37°C에서 교반하면서 4시간 가수분해한 다음, 20% 트리클로로아세트산으로 반응을 정지시키고, 이 가수분해액의 여과액의 질소함량을 측정하였다.

한편, 트립신에 의한 소화율도 같은 방법으로 측정하였다. 이때 단백질 800 mg의 혼탁액은 0.1 M CaCl₂를 함유하는 0.2 M 봉산완충액(pH 8.0)으로 만들었고 이 혼탁액에 트립신(Approx. 10,000 BAEE units/mg, Sigma) 5 mg를 가하였다.

단백질 흐율 측정

동물시험에 사용한 카제인 첨가식이(대조군 식이) 및 피마자 단백질 첨가식이(실험군 식이)의 성분조성은 Table 1과 같다. 식이효율 및 단백질 흐율 측정은 AOAC의 방법⁽²⁵⁾에 따랐다. 즉, 몸무게 50~60 g인 흰쥐 솟놈 6마리를 한 실험군으로 하고, 5개 실험군을 만들어 28일간 사육하였다. 사육기간 중 물 섭취는 자유롭게 해주고 식이급여는 매일 일정시간에 하였으며, 섭취량은 매일, 몸무게는 3일 간격으로 측정하였다.

Table 1. Composition of the diets for protein efficiency ratio determination

Diet constituents	Relative amounts, %
Protein (N × 6.25) ^a	10
Cotton seed oil	8.5
Vitamin mixture ^b	1.5
Mineral mixture ^c	4
N-Free mixture ^d	to 100

^a: From the unmodified and modified CBPI (detoxified and deallergenized castor bean protein isolate) or casein.

^b: Vita-M from YuYu Industrial Co.

^c: The composition of the mineral mixture is given in Table 2.

^d: The composition of the N-free mixture is given in Table 3.

Table 2. Composition of mineral mixture

Components	Relative amounts, %
Calcium lactate	35.15
K ₂ HPO ₄	25.78
CaHPO ₄ · 2H ₂ O	14.60
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	9.38
MgSO ₄ (Anhydrous)	7.29
NaCl	4.61
Ammonium ferric citrate	3.19

Table 3. Composition of nitrogen free mixture

Components	Relative amounts, %
Sucrose	9.0
Cellulose powder	5.2
Wheat flour	85.8

결과 및 고찰

피마자 단백질의 제조

껍질을 벗긴 피마자, 피마자박(탈지 피마자) 및 피마자 단백질의 일반성분과 피마자 단백질의 추출 및 회수율을 Table 4에 표시하였다. 즉 디에틸 에테르로 탈지한 피마자박으로부터의 단백질 추출률은 pH 10.0에서 가장 컸으며(87.5%), 흰색 분말의 피마자 단백질의 회수율은 56.18%였다.

아실화 피마자 단백질

가. 피마자 단백질의 아실화율

피마자 단백질의 속신산 무수물 및 아세트산 무수물에 의한 아실화율은 Table 5와 같다. 즉, 피마자 단백

Table 4. Proximate composition and yields of extraction and recovery of the protein isolate from castor bean pomace

	Moisture, %	Ash, %	Protein (N×6.25), %	Extraction, % of total protein in pomace	Recovery, % of total protein in pomace
Dehulled castor bean seed	5.30	3.29	19.69	NA*	NA
Castor bean pomace	8.57	4.87	64.16	NA	NA
Protein isolate from castor bean pomace	8.77	1.60	93.70	87.5	56.18

* Not applicable.

질 2g을 숙신산 무수를 2.5g과 반응시켰을 때, 유효 아미노기의 숙시닐화율은 88%로서 가장 높았으며, Franzen^(18,19)에 의하면 이때 숙시닐화되는 아미노기는 주로 리신의 ε-아미노기라고 한다.

Table 5. Extent of acylation as a function of the acylating agent-CBPI ratio

Succinic anhydride: protein, g/g	Extent of succinylation, %
1 : 2	64
2 : 2	81
2.5 : 2	88
Acetic anhydride: protein, ml/g	Extent of acetylation, %
1 : 2	49
2 : 2	75
3 : 2	84

또 단백질 2g을 아세트산 무수를 3ml로서 아세틸화하였을 때 유효 아미노기의 아세틸화율은 84%였다.

한편, SH기의 아실화율은 Table 6과 같다. 피마자 단백질을 숙시닐화하였을 때 SH기의 반응 참여도는 1/4 정도임을 알 수 있고, 아세틸화하였을 때는 1/5 정도임을 알 수 있다. 또 SH기의 숙시닐화율은 아미-

Table 6. Reaction of acylating agents with sulfhydryl groups of CBPI at various levels of acylation

CBPI	Extent of acylation, %	SH groups reacted with anhydride, %
Succinylated	64	21
	81	23
	88	24
Acetylated	49	20
	75	18
	84	15

노기의 숙시닐화율에 영향을 별로 안받으나, 아세틸화율은 아미노기의 아세틸화율이 높으면 반대로 떨어짐을 볼 수 있다.

나. 피마자 단백질 및 아실화 피마자 단백질의 용해도 피마자 단백질, 숙시닐화 피마자 단백질, L-메티오닌 강화 피마자 단백질 및 L-메티오닌 강화 숙시닐화 피마자 단백질의 pH 변화에 따른 용해도 변화를 Fig. 1에 표시하였다. 이를 단백질의 용해도는 pH 5 부근에서 가장 낮으며, 이 보다 pH가 높아지면 증가

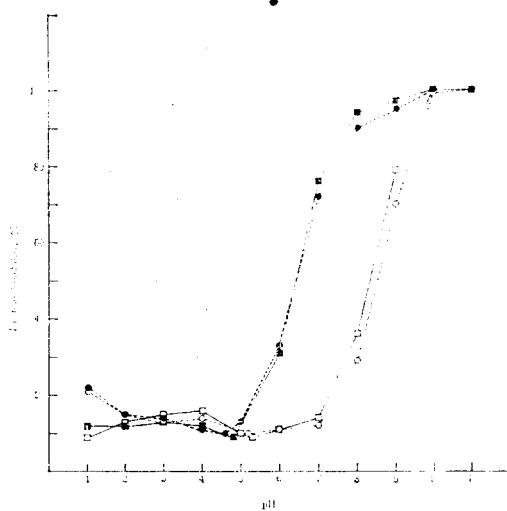


Fig. 1. Protein solubility profiles for unmodified and modified CBPI

Symbols: (—□—) unmodified; (.....○.....) L-Met incorporated; (—■—) succinylated (88%); (.....●.....) succinylated(88%) and L-Met incorporated CBPI.

하고, 낮아지면 큰 변화 없이 서로 비슷하였다. 피마자 단백질과 L-메티오닌 강화 피마자 단백질의 용해도는 거의 서로 같으며, 각각 pH 5.2와 5.3에서 가장 낮고 pH 6~7 부근에서는 15% 미만이었다. 또 숙시닐화 피마자 단백질과 L-메티오닌 강화 숙시닐화 피마

Table 7. Amino acid composition of unmodified and modified CBPI

(Unit: g/16 g of nitrogen)

Amino acid	Unmodified	Succinylated	Acetylated	L-Met enriched ^a	Succinylated and L-Met enriched ^b	Acetylated and L-Met enriched ^b
Alanine	5.16	4.98	5.09	5.12	4.94	5.06
Arginine	13.08	12.80	12.96	12.93	12.82	12.91
Aspartic acid	13.35	12.88	13.01	13.38	12.84	13.12
Half-Cystine	0.76	0.65	0.79	0.80	0.71	0.76
Glutamic acid	26.67	24.82	26.17	26.43	24.76	26.25
Glycine	4.90	4.63	4.68	4.76	4.60	4.62
Histidine	1.98	1.91	1.95	2.02	1.93	1.93
Isoleucine	3.71	3.47	3.60	3.64	3.51	3.58
Lecucine	6.42	5.92	6.03	6.10	5.88	6.11
Lysine	3.42	2.43	2.37	3.46	2.40	2.29
Methionine	1.02	1.21	1.19	3.71	3.65	3.72
Phenylalanine	4.47	4.14	4.43	4.49	4.06	4.40
Proline	4.14	4.47	4.02	4.09	4.17	4.08
Serine	5.83	5.71	5.77	5.75	5.72	5.75
Threonine	3.25	3.03	3.23	3.27	3.18	3.24
Tryptophan	1.06	0.85	0.94	0.95	0.82	0.96
Tyrosine	3.49	3.33	3.43	3.46	3.40	3.43
Valine	4.03	3.62	4.07	4.02	3.57	4.04

^a: L-Methionine-enriched CBPI was synthesized by the papain-catalyzed one step plastein reaction.^b: L-Methionine was incorporated into the acylated CBPI.

Table 8. Essential amino acid composition of CBPI, L-methionine enriched CBPI, FAO pattern (milk) and egg

(Unit: g/16 g of nitrogen)

Essential amino acid	CBPI	L-Metenriched CBPI	FAO/WHO scoring pattern (1973)	Egg
Isoleucine	3.71	3.64	4.0	5.76
Leucine	6.42	6.10	7.04	8.90
Lysine	3.42	3.46	5.44	6.65
Methionine plus Cysteine	1.78	4.51	3.52	5.36
Phenylalanine plus Tyrosine	7.96	7.95	6.08	10.32
Threonine	3.25	3.27	4.00	5.14
Tryptophan	1.06	0.95	0.96	1.50
Valine	4.03	4.02	4.96	7.54
Arginine	13.08	12.93	—	6.15

자 단백질의 용해도도 거의 서로 같으며, 각각 pH 4.6과 4.8에서 가장 낮고, pH 7~8에서는 피마자 단백질이나 L-메티오닌 강화 피마자 단백질 보다 현저하게 증가하고 있다.

한편, 아세틸화 피마자 단백질의 pH변화에 따른 용

해도 변화 역시 속시닐화 단백질의 경우와 비슷하였다.

아미노산 조성

피마자 단백질, L-메티오닌 강화 피마자 단백질, 아실화 피마자 단백질, 그리고 L-메티오닌 강화 아실화 피마자 단백질의 아미노산 조성은 Table 7에서 보는 바

와 같다. 피마자 단백질은 황-합유 아미노산과 L-리신(제한 아미노산)의 함량이 부족함을 알 수 있다. 또 피마자 단백질의 아실화 과정은 아미노산 함량에 약간의 손실을 주며, 그중에서도 숙시닐화가 손실을 더 많이 줌을 알 수 있다. 특히 아실화 피마자 단백질의 리신 함량이 현저하게 감소된 이유는, 이 단백질은 산 가수 분해를 받을 때 리신의 탈 아실화가 완전하게 일어나지 않기 때문인 것으로 생각된다^(27, 28).

Plastein 반응으로 합성한 L-메티오닌 강화 피마자 단백질

피마자 단백질은 열처리와 알칼리 처리로 황-합유 아미노산과 리신의 파괴가 일어나, 이들이 제한 아미노산임을 알 수 있다(Table 8). 즉 피마자 단백질의 조성 아미노산 중 황-합유 아미노산 함량은 FAO/WHO scoring pattern의 황-합유 아미노산의 51%(단백가)밖에 되지 않으므로 plastein 반응을 이용하여 우선 L-메티오닌을 피마자 단백질에 도입하고 그 영양효과를 분석하였다. Plastein 합성반응은 일반적으로 두 가지 반응단계, 즉 단백질 분해반응과 재합성 반응으로 되어 있으나^(29~31), 본 실험에서는 피마자 단백질에 직접 메티오닌을 도입하는 Yamashita들⁽²⁴⁾의 1 단계법을 이용하고, 또 도입기질로는 DL-메티오닌을 사용함으로서 아미노산 강화 단백질의 생산비 절감을 시도하였다. D- 및 L-메티오닌의 피마자 단백질과 아실화 피마자 단백질에의 도입율은 Table 9와 같다.

Yamashita들⁽²¹⁾에 의하면 D-Met-OEt는 단백질에 도입이 안된다고 하였으며, 본 실험에서도 같은 결과를 얻었다. 한편, plastein 반응에 의한 피마자 단백질과 아실화 피마자 단백질의 L-메티오닌 도입율은 큰 차이가 없었다. 또 Table 7에 표시한 바와 같이 피마

자 단백질, L-메티오닌 강화 피마자 단백질, L-메티오닌 강화 숙시닐화 피마자 단백질 및 L-메티오닌 강화 아세틸화 피마자 단백질의 L-메티오닌 함량은 각각 1.02, 3.71, 3.65, 그리고 3.72 g / 16 g of nitrogen 이므로, 각 단백질마다 메티오닌이 약 2.5%씩 강화되었음을 알 수 있다.

또 L-메티오닌 강화 피마자 단백질, L-메티오닌 강화 숙시닐화 피마자 단백질 및 L-메티오닌 강화 아세틸화 피마자 단백질의 황-합유 아미노산 함량은 각각 4.51, 4.36 및 4.48 g / 16 g of nitrogen으로서 FAO/WHO scoring pattern의 3.52를 능가하며, 달걀의 5.36에 거의 접근하고 있다. 그러므로 메티오닌 강화 피마자 단백질 합성에 DL-Met-OEt·HCl을 사용하는 1 단계법 플라스테인 반응의 이용이 가능함을 알 수 있다.

피마자 단백질의 펩신 및 트립신에 의한 소화율

피마자 단백질과 수식된 피마자 단백질에 대한 펩신 및 트립신의 시험판내 소화율은 Table 10과 같다. 펩신에 의한 소화율은 피마자 단백질과 모든 수식된 피마자 단백질이 카제인의 소화율(96.8%)에 가까운 92% 정도였으나, 트립신에 의한 소화율은 단백질의 아실화로 크게 감소 되었으며, 그중에서도 아세틸화 단백질의 소화율이 더 떨어졌다. 이러한 현상은 Li들⁽³²⁾의 트립신은 아실화 리신이 있는 펩티드 결합은 분해하지 못한다는 보고와 잘 일치하고 있다.

단백질 효율

동물시험 결과, 본 실험에서 제조한 피마자 단백질에는 잔존하는 독성분이 없음을 확인하였다. 즉 피마자박을 흰쥐에 급식하면 사육 4~5일 안에 사망율이 100%였으나, 피마자 단백질 첨가 식이군은 Table 11

Table 9. Extent of D- or L-methionine after papain-catalyzed plastein reaction by onestep process^a

Methionine incorporated	Protein enriched	Extent of incorporation (%)	Extent of unincorporation(%)	
			Free form	Ethyl ester form
D-Methionine	CBPI	0.0	2.4	97.6
	Succinylated(88%) CBPI	0.0	1.5	98.5
	Acetylated(84%) CBPI	0.0	1.9	98.1
L-Methionine	CBPI	51.4	47.2	1.4
	Succinylated(88%) CBPI	48.8	49.7	1.5
	Acetylated(84%) CBPI	49.7	48.7	1.6

^a : $[S]_0 = 20(\text{wt}\%), [M]_0/[S]_0 = 0.05(\text{w/w}), [E]_0/[S]_0 = 0.01(\text{w/w}), [A]_0 = 10.0(\text{mM}), \text{pH}_0 = 10.0$, and incubation time = 24 hr at 37°C.

Abbreviations used are: $[S]_0$: Initial concentration of substrate (CBPI or acylated CBPI) in the reaction mixture; $[M]_0$: Initial concentration of D- or L-Met-OEt·HCl; $[E]_0$: Initial concentration of papain; $[A]_0$: Initial concentration of activator (L-cysteine); and pH_0 : Initial pH of the reaction mixture.

Table 10. Trichloroacetic acid soluble nitrogen content(%) after peptic and trypic hydrolysis of casein, unmodified CBPI and modified CBPI

Protein	TCA soluble N content of peptic hydrolysate, % ^a	TCA soluble N content of trypic hydrolysate, % ^a
Casein	96.8	94.2
Unmodified CBPI	92.5	63.7
Succinylated(88%) CBPI	91.4	41.9
Acetylated(84%) CBPI	92.9	25.5
L-Methionine-enriched CBPI ^b	92.0	60.4
Succinylated(88%) and L-methionine enriched CBPI ^c	91.7	42.3
Acetylated(84%) and L-methionine enriched CBPI ^c	92.3	26.1

^a : $\frac{\text{TCA soluble N}}{\text{Total protein N}} \times 100$

^b : 2.5 wt % of L-methionine was incorporated into the CBPI.

^c : 2.5 wt % of L-methionine was incorporated into the acylated CBPI.

Table 11. Mean values of gain in weight by Albino rats, and FER and PER for unmodified and modified CBPI^a

Protein source	Mean wt gain, g / rat	FER ^b	PER ^c
Casein	85.8±18.2	0.74±0.062	2.81±0.154
Unmodified CBPI	30.2±2.15	0.71±0.083	2.48±0.167
Succinylated(88%) CBPI	26.5±1.24	0.67±0.042	1.54±0.061
Acetylated(84%) CBPI	28.3±1.67	0.65±0.058	1.95±0.053
L-Methionine enriched CBPI ^d	53.6±2.57	0.71±0.036	2.52±0.151
Succinylated(88%) and L-methionine enriched CBPI ^e	46.8±2.02	0.65±0.066	1.83±0.068
Acetylated(84%) and L-methionine enriched CBPI ^e	50.7±2.26	0.67±0.022	2.15±0.072

^a : Duration of experiment: 28 days

^b : FER(Feed Efficiency Ratio)=weight gain(g)/food intake(g)

^c : PER(Protein Efficiency Ratio)=weight gain(g)/protein intake(g)

^d : 2.5wt % of L-methionine was incorporated into the CBPI.

^e : L-methionine was incorporated into the acylated CBPI.

과 같이 체중 증가율, 식이효율(이하 FER로 표시함) 및 단백질 효율(이하 PER로 표시함)이 카제인 첨가 식이군(대조 식이군)과 비교하여 큰 차이가 없었고, 건강상태도 대조군과 다른 점이 없었다. 이것은 Polit들의 실험결과⁽¹⁷⁾와 마찬가지로, 피마자 단백질이 식품 단백질로서 만족할만한 것이 될 수 있음을 말해주는 동시에 피마자박 종의 독성분이 완전히 제거되었음을 증명하여 주는 것이다.

또 피마자 단백질 첨가군의 PER은 카제인 첨가군의 PER의 88%였고, L-메티오닌 강화 피마자 단백질 첨가군의 PER은 카제인 첨가군의 90%였으므로 피마자 단백질에 L-메티오닌과 L-리신을 동시에 도입한다면

카제인에 가까운 PER을 나타내는 단백질을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

한편 아실화 피마자 단백질의 용해도는 증가되었으나(Fig. 1) FER과 PER은 감소하였다. 즉 숙시닐화 단백질 첨가군이 PER은 카제인 첨가군의 55%였고, 아세틸화 단백질 첨가군은 카제인 첨가군의 69%로서 아실화율이 비슷할 경우, 숙시닐화 단백질이 아세틸화 단백질 보다도 PER이 더 많이 감소하였다. 아실화 단백질에 L-메티오닌을 도입하였을 경우도 카제인이나 L-메티오닌만 도입된 단백질 보다는 PER이 떨어졌고, 역시 숙시닐화 단백질이 아세틸화 단백질 보다도 떨어졌다.

이와 같은 현상은 Bjarnason들⁽³³⁾, Creamer들⁽³⁴⁾, 그리고 Belikow들⁽³⁵⁾의 연구보고와도 잘 일치되고 있다.

Leclerc 들⁽³⁶⁾, Bjarnason 들^(33, 37), Creamer 들⁽³⁴⁾, 그리고 Endo⁽³⁸⁾는 포유동물에서 아세틸화 단백질 보다 속시닐화 단백질의 영양가가 떨어지는 이유는 리신의 ε-질소에서 포르밀기나 아세틸기 보다 큰 아실기를 가수분해 할 수 있는 deacylase가 없기 때문이라고 하였는데, 본 실험의 결과도 피마자 단백질의 아실화는 주로 리신의 ε-아미노기에서 일어났을 것이므로^(18, 19) 속시닐화 피마자 단백질의 PER이 아세틸화 단백질 보다 떨어지는 이유를 deacylase의 결핍에 기인된 것으로 생각할 수 있을 것이다.

이상으로 피마자 단백질은 사료 또는 식품 단백질로서 이용할 수 있음을 알았다. 그러나 앞으로 피마자의 대량생산, 피마자 단백질 제조의 경제성, 피마자 단백질의 특성분, 영양가 보완, 식품 단백질로서의 기능성과 적합성 개량, 나아가서는 어떤 식품에 어떻게 이용할 것인가 하는 문제 등 해결해야 할 일들이 많이 남아 있다.

요 약

피마자박 단백질을 사료 또는 식품화 하기 위하여 탈지 피마자박으로부터 특성분이 완전하게 제거된 단백질을 만들었다. 이 피마자 단백질의 용해도는 ε-아미노기의 속시닐화 및 아세틸화로 pH 7~8에서 현저하게 증가하였다. 아미노산 분석결과, 황-합유 아미노산과 L-리신이 제한 아미노산이었고, 아실화 과정은 아미노산 함량에 약간의 손실을 주었다. 파파인을 이용한 1단계법 plastein 반응으로 피마자 단백질 또는 아실화 피마자 단백질과 DL-메티오닌 에틸 에스테트로부터 L-메티오닌 강화 피마자 단백질을 합성하였고, 이 방법으로 L-메티오닌 도입율은 50%였다.

피마자 단백질 및 수식된 피마자 단백질의 펩신에 의한 소화율은 모두 92% 정도였으나, 트립신에 의한 소화율은 속시닐화 및 아세틸화 단백질이 현저하게 떨어져서 각각 42% 및 26%였다. 피마자 단백질의 단백질 효율은 L-메티오닌 강화로 카제인의 단백질 효율의 90%까지 향상되었으나, 피마자 단백질을 속시닐화 및 아세틸화 하면 단백질 효율은 감소되어, 각각 카제인의 55% 및 69%였다.

謝 意

이 논문은 1979년도 문교부 학술연구 조성비에 의하

문 현

1. Osborne, T. B., Mendel, L. B. and Harris, I. F.: *Am. J. Physiol.*, **14**, 259 (1905)
2. Waller, J. R. and Negi, S. S.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, 409 (1958)
3. Coulson, E. J., Spies, J. R. and Stevens, H.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37**, 657 (1960)
4. Funatsu, M.: *Proteins: Structure and Function*, vol. 2. (Funatsu, M., Hiromi, K., Imahori, K., Murachi, T. and Narita, K. Eds.), John Wiley & Sons, New York. p.103 (1972)
5. Spies, J. R.: *J. Agric. Food Chem.*, **22**, 30 (1974)
6. Daussant, J., Ory, R. L. and Layton, L. L.: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 103 (1976)
7. Olsnes, S. and Pihl, A.: *Receptors and Recognition Series B: The Specificity and Action of Animal, Bacterial and Plant Toxins* (Cuatrecasas, P., Ed.), Chapman and Hall, London, p.130 (1976)
8. Youle, R. J. and Huang, A. H. C.: *Plant Physiol.*, **61**, 1040 (1978)
9. Jones, D. B.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **24**, 247 (1947)
10. Gardner, H. K., Jr., D'Aquin, E. L., Koltum, S. P., McCourtney, E. J., Vix, H. L. E. and Gastrock, E. A.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37**, 142 (1960)
11. Mottola, A. C., Mackey, B. and Herring, V.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **48**, 510 (1971)
12. Mottola, A. C., Mackey, B., Herring, V. and Kohler, G. O.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **49**, 101 (1972)
13. Mottola, A. C., Mackey, B., Walker, H. G. and Kohler, G. O.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **49**, 662 (1972)
14. Vilhjalmsson, L. and Fisher, A.: *J. Nutr.*, **101**, 1185 (1971)
15. Fuller, G., Walker, H. G., Jr., Mottola, A. C., Kuzmyky, D. D., Kohler, G. O. and Vohra, P.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **48**, 616 (1971)

16. Weiss, E. A.: *Castor, Sesame and Safflower*, Leonard Hill Books, London (1971)
17. Polit, P. F. and Sgarbieri, V. C.: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 795 (1976)
18. Frlnzen, K. L. and Kinsella, J. E.: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 788 (1976)
19. Franzen, K. L. and Kinsella, J. E.: *Agric. Food Chem.*, **24**, 914 (1976)
20. Janolino, V. G. and Swaisgood, H. E.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 2532 (1975)
21. Spackman, D. H., Stein, W. H. and Moore, S.: *Anal. Chem.*, **30**, 1190 (1958)
22. Moore, S.: *J. Biol. Chem.*, **238**, 235 (1963)
23. Sodek, L., Vecchia, P. T. D. and Lima, M. L. G. P.: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 1147 (1975)
24. Yamashita, M., Arai, S., Imaizumi, Y., Amano, Y. and Fujimaki, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 52 (1979)
25. Fles, D. and Markovac-Prpic, A.: *Croat. Chem. Acta*, **29**, 79 (1957)
26. Association of Official Analytical Chemists: "Official Methods of Analysis", 12th Ed., Washington, D. C., p.130, 857 (1975)
27. Gounaris, A. D. and Ottesen, M.: *C. R. Trav. Lab. Carlsberg*, **35**, 37 (1965)
28. Gounaris, A. D. and Perlmann, G.: *J. Biol. Chem.*, **242**, 2739 (1967)
29. Fujimaki, M., Yamashita, M., Arai, S. and Kato, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1325 (1970)
30. Yamashita, M., Arai, S. and Fujimaki, M.: *J. Food Sci.*, **41**, 1029 (1976)
31. Aso, K., Yamashita, M., Arai, S., Suzuki, J. and Fujimaki, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 1138 (1977)
32. Li, C. H. and Bertsch, L.: *J. Biol. Chem.*, **235**, 2638 (1960)
33. Bjarnason, J. and Karpenter, K. J.: *Br. J. Nutr.*, **23**, 859 (1969)
34. Creamer, L. K., Roeper, J. and Lohrey, E. H.: *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, **6**, 107 (1971)
35. Belikow, W. M., Kharatyan, S. G., Besrukow, M. G. and Wolnowa, A. I.: *Nahrung*, **19**, 65 (1975)
36. Leclerc, J. and Benoiton, L.: *Can. J. Biochem.*, **46**, 471 (1968)
37. Bjarnason, J. and Karpenter, K. J.: *Proc. Nutr. Soc.*, **28**, 2A (1969)
38. Endo, Y.: *Biochim. Biophys. Acta*, **523**, 207 (1978)