

## 분리 동백단백의 기능적 특성

강성구<sup>1)</sup>, 최옥자<sup>2)</sup>, 김용두<sup>1)</sup>, 이홍철<sup>1)</sup>, 조성효<sup>3)</sup>, 노일환<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>순천대학교 식품공학과, <sup>2)</sup>순천대학교 조리과학과, <sup>3)</sup>전남대학교 물질화학공학과, <sup>4)</sup>전라남도청

### A Study on the Functional Properties of Camellia(*Camellia japonica* L.) Seed Protein Isolate

Seong Koo Kang<sup>1)</sup>, Ok Ja Choi<sup>2)</sup>, Yong Doo Kim<sup>1)</sup>, Hong Cheol Lee<sup>1)</sup>, Sung Hyo Cho<sup>3)</sup> and Il Hwan Lho<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Dept. of Food Science & Technol., Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea

<sup>2)</sup>Dept. of Food & Cooking Science, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea

<sup>3)</sup>Dept. of Material chemical Engineering Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

<sup>4)</sup>Chonnam Provincial Gervernment, Kwangju 501-702, Korea

#### ABSTRACT

This study was carried out to investigate the functional properties such as nitrogen solubility, emulsifying property, foaming capacity, water and oil absorption of Camellia(*Camellia japonica* L.) seed protein isolate in condition of distilled water and 0.5M NaCl solution at pH 2.0~10.0. Nitrogen solubility of Camellia protein isolate in distilled water showed the minimum value at pH 4.0 and increased at pH lower or higher than the isoelectric point(pH 4.0). It was 90.0% at pH 10.0 Nitrogen solubility of 0.5M NaCl solution showed a similar pattern with that of distilled water but was higher than that of distilled water except pH 2.0 and pH 10.0. Emulsifying activity of Camellia seed protein isolate showed the minimum value at pH 4.0, but was higher at ether value of pH. Emulsifying stability of protein isolate was stable by heat treatment for 30min. at 80℃ and increased in 0.5M NaCl solution more than that of distilled water. Foaming capacity of Camellia seed protein isolate in distilled water showed the minimum value near the isoelectric point, While it changed little at other values of pH. Foaming stability slowly decreased as, but didn't make a significant difference as time was delayed. Oil absorption was 1.4ml per a sample of 1g and water absorption was 0.9ml per a sample of 1g. The former was higher than the latter. The content of total amino acid of Camellia protein isolate was 43.67% and the major total amino acid was in the order of glutamic acid, arginine, aspartic acid, and leucine .

**Key Words:** Camellia(*Camellia japonica* L.) seed, functional properties, protein isolate

#### 서 언

동백나무는 차나무과(*Camellia japonica* L.)에 속하는 활엽상록수로 원산지는 한국, 일본 및 중국이다. 우리나라의 동백나무 분포는 주로 전남지방에 편재되어 있으며, 전국 식재면적의 약 67%를 점유하고 있다(문, 1974; 송 등, 1984; 이, 1982). 10월말 경에

수확되는 동백종실은 한 개과에 1~3개의 씨앗이 들어있는데, 옛날에는 착유하여 두발유와 식용유로 이용하였으나, 최근에는 거의 폐기되어 사용되지 않고 있다. 그러나 동백과 같이 지방을 다량으로 함유하고 있는 종자의 유박에는 일반적으로 단백질이 함유되어 있다. 그동안 단백질의 수급 및 식품의 기능성을 증가시키기 위하여 대두, 참깨, lupin, 면실, 야채, 들깨 등의 종자의 유박에 함유된 단백질을 비롯하여

유청단백질에 관하여 연구가 활발하게 진행되어 왔다(이 등, 1995; King 등, 1985; Yang 등, 1980; 박 등, 1990; 조 등, 1992; 조와 홍, 1995). 여기에서 분리된 단백질들은 필수아미노산 및 영양생리활성을 가지고 있고, 유화작용, 기포의 형성, 용해성 및 점도의 증가, 겔형성, 물성의 증가, 향미 등 폭넓은 기능을 갖고 있으므로 단백질의 용도가 다양하며, 외국에서는 제빵, 아이스크림 등 여러 가지 식품에 첨가되고 있다. 특히 대두단백질은 영양성 뿐만 아니라 기능성이 우수하다고 알려져 대두 분리단백질 및 농축단백질 등이 식품산업에서 식품의 증량제, 보충제, 대체제로 널리 이용되고 있다. Rooney 등(1972)은 유박에서 추출한 단백질을 제빵과정 중에 20%를 첨가하였을 때 제빵의 부피가 좋았고, 반죽시 수분흡착력이 증가했으며, 빵의 단백질 함량이 35% 수준으로 증가되었다고 보고하였다. 정 등(1975)에 의하면 동백종실에 약 8.10% 정도의 단백질이 함유되어 있다고 보고하였는데, 단백질이 식품에 이용되기 위해서는 우수한 영양가를 지녀야 하고, 풍미나 색, 기호성 뿐만 아니라 용해도, 유화성, 겔형성 정도, 점도, 열 안정성, 흡착력 등 기능성(functional properties)도 우수해야 한다. 따라서 본 실험에서는 동백유박의 단백질 이용개발을 위하여 동백유박에서 단백질을 분리, 제조한 후 용해도, 유화력, 기포성, 유지 및 수분 흡착력 등의 단백질의 기능적 특성을 실험하여 식품에 응용할 수 있는 기초자료를 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 가. 동백종실

본 실험에 사용한 동백종실은 1995년 전남 여천시 돌산에서 구입한 후 박피하여 사용하였다.

#### 나. 동백유박의 조제

동백종실의 유박은 압착법(윤 등, 1993)으로 유지를 추출한 다음, 이 동백유박과 hexane의 비율을 1 : 2로 하여 24시간 침지 후 Bchner funnel로 흡인 여과하여 지질을 제거하였고, 이와 같은 방법을 5회 반복한 후 30mesh로 하여 동백유박의 시료로 사용하였다.

### 2. 방법

#### 가. 단백질 분리

박 등(1990)의 방법에 의하여 다음과 같은 방법으로 단백질을 분리하였다. 즉 탈지한 동백유박 분말 100g을 취하여 10배의 증류수를 가한 다음 저어주면서 30분 동안 분산시켰다. 그 분산액을 1N NaOH 수용액을 사용하여 pH 11.0으로 조절하고 실온에서 1시간 저어준 후, 원심분리(5,000rpm, 30min)하여 얻어진 상층액에 1N HCl을 첨가하여 pH 4.0으로 조절하여 교반한 후 생성된 단백질 침전물을 원심분리(5,000rpm, 30min)하여 회수한 다음 증류수로 2번 세척 후, 1N NaOH 용액을 첨가하면서 pH 7.0으로 조절한 다음 침전물을 동결건조시켜 동백유박의 분리 단백질(protein isolate) 시료로 하였다.

#### 나. 단백질 및 총 아미노산 함량 분석

단백질은 Micro Kjeldahl법(AOAC,1984)에 의하여 분석하였고, 아미노산은 시료 1g을 ampoule에 넣고 6N HCl 용액 15ml를 가한 후 110℃에서 24시간 가수분해시켜서 얻은 여액을 원심분리하고, 상등액을 50℃에서 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨 후, 구연산나트륨 완충용액(pH 2.2)을 사용하여 5ml로 정용한 다음 0.22 $\mu$ m membrane filter로 여과한 여액을 취하여 분석시료로 사용하였다. 아미노산 분석조건은 표 1과 같다.

Table 1. Condition of amino acid analyzer for amino acid

Items	Conditions
Instrument	LKB 4150, alpha autoanalyzer Ultrapac 11 cation exchange resin
Buffer solution	pH3.2-pH4.25-pH10.0, sodium citrate
Flow rate	Buffer 35 ml/hr, ninhydrin 25 ml/hr
Column temp.	50 ~ 80℃
Injection volume	40 $\mu$ l

#### 다. 단백질의 기능적 특성 실험

##### 1) 용해도(Nitrogen Solubility)

각 시료의 단백질 용해도는 이 등(1982)의 방법에 의하여 측정하였다. 1g의 시료를 100ml의 증류수, 0.5M NaCl 수용액을 각각 가하여 1시간 동안 교반 분산시킨 후 분산액의 pH를 2.0~10.0으로 조절하여 3,000rpm

에서 20분간 원심분리한 다음 얻어진 상등액의 단백질 함량을 Lowry법(1951)으로 측정하여 시료 중의 총 단백질 함량에 대한 백분율로 나타냈다.

#### 2) 유화력과 유화안정성의 측정(Emulsion activity & Emulsion stability)

유화력은 Wang 등(1976)의 방법에 따라 단백질 0.7g에 증류수 10ml 및 0.5M NaCl 수용액 10ml를 각각 가하여 vortex mixer로 완전히 분산시키고 pH를 2.0~10.0로 조절한 다음 여기에 대두유 10ml를 가하여 waring blender 20,000rpm에서 1분간 유화시켰다. 이 유화액을 원심관에 넣고 3,000rpm에서 5분간 원심분리하여 유화력(Emulsion activity)을 다음과 같이 계산하였다.

$$EA = \frac{\text{Height of emulsified layer}}{\text{Height of total contents in the tube}} \times 100$$

유화안정성(Emulsion stability)은 유화력 측정시와 같은 방법으로 유화시킨 다음 80℃에서 온탕 수조에서 30분간 가열하여 15℃로 냉각한 후 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 다음과 같이 계산하였다.

$$ES = \frac{\text{Height of emulsified layer after heating}}{\text{Height of total contents in the tube}} \times 100$$

#### 3) 기포형성력 측정

기포성은 Sathe 등(1981)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 시료 0.5g에 증류수 및 NaCl 수용액 50ml를 각각 가하여 내부직경이 4.5cm인 눈금 cylinder에 취한 다음 pH를 2.0~10.0으로 각각 조절하여 homogenizer(M133/1281-0, Switzerland)로 3,000rpm에서 30초간 기포를 형성시켰다. 기포형성력은 증가된 부피(ml)로 나타냈으며, 기포안정성은 시간의 경과에 따른 기포의 부피 변화(ml)로 나타냈다.

#### 4) 유지 및 수분 흡착력 측정

유지 및 수분 흡착력은 Sathe 등(1981)의 방법에 따라 측정하였다. 시료 1g에 증류수 10ml 또는 대두유 10ml를 각각 가하여 vortex mixer로 잘 교반하여

실온에서 30분간 방치한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액의 부피를 측정하였으며, 흡착력은 1g의 시료에 흡착된 증류수와 대두유의 부피를 ml로 각각 나타냈다.

## 결과 및 고찰

### 1. 동백종실, 동백유박 및 분리 동백단백의 단백질 함량

동백종실, 동백유박 및 분리 동백단백의 단백질 함량은 표 2와 같다. 동백종실의 단백질 함량은 8.44%, 동백유박에 함유된 단백질의 함량은 17.5%로 나타났고, 분리 동백단백의 단백질 함량은 49.7%이었다. 동백종실의 단백질 함량은 정 등(1975)이 발표한 8.1%와 유사한 값을 나타냈다. 동백단백질은 참깨, 들깨의 종실(22.3%, 24.5%), 유박(43%, 48%) 분리 단백질(83%, 83%) 함량(1990)에 비하여 단백질의 함량은 낮았다.

Table 2. Content of protein in Camellia seed, defatted Camellia seed flour and Camellia protein isolate (%)

Sample	Protein content (%)
Camellia seed	8.44
Defatted Camellia seed flour	17.50
Protein isolate from defatted Camellia seed flour	49.70

Table 3. Content of amino acid in Camellia protein isolate (mg%)

Components	Protein isolate (mg%)
Asp	3711.43
Thr	1674.54
Ser	3036.91
Glu	8082.87
Pro	1988.70
Gly	2458.28
Ala	2279.91
Cys	540.12
Val	1803.79
Met	1283.86
Iso	2125.65
Leu	3503.30
Tyr	1495.37
Phe	2136.65
His	1679.10
Lys	1688.79
Arg	4179.82
Total	43669.09

## 2. 분리 동백단백의 아미노산 조성

분리 동백단백의 아미노산 함량은 표 3과 같이 43.67g%를 나타냈다. 분리 동백단백의 아미노산의 종류는 17종이 확인되었고, glutamic acid가 8.08g%로 가장 높았고 arginine, aspartic acid, leucine 순으로 높게 나타났다. 이러한 경향은 동백종실과 유박의 총 아미노산의 조성(정 등, 1975)과 유사하다.

## 3. 분리 동백단백의 기능적 성질

### 가. 용해도

분리 동백단백의 용해도를 측정한 결과는 그림 1과 같다. 증류수구에서 단백질의 용해도는 pH4.0에서 7.0%로 가장 낮아 등전점을 보였고, 이보다 높거나 낮은 pH에서는 용해도가 크게 증가하여 pH10.0에서는 90.0%로 가장 높게 나타났다. 박 등(1990)에 의하면 들깨와 참깨 단백질은 pH4.0에서, 대두단백질은 6.0에서 각각 등전점을 보이며, pH10.0에서 참깨 단백질의 용해도는 73%, 들깨단백질은 63%, 대두단백질은 86%라고 하였는데, 동백단백질은 90%로 nitrogen 용해도는 이들 보다 더 높았다. 염이 첨가된 0.5M NaCl 용액에서도 증류수구와 같이 pH4.0에서 등전점이 나타나 비슷한 경향을 보였으며, pH2.0와 pH10.0의 부분을 제외하고는 증류수구보다 0.5M NaCl 용액

에서 용해도가 더 높았다. 단백질의 용해도는 염의 농도에 따라 영향을 받는데, Ravis 등(1981)은 염의 농도가 0.25M에서 1.0M로 높아짐에 따라 pH 6.0~pH 8.0 범위에서 단백질이 많이 용해되었다고 하였다. 본 실험에서도 증류수구보다 염용액에서 더 높은 용해도를 나타냈다.

### 나. 유화력 및 유화 안정성

분리 동백단백의 유화력을 측정한 결과는 그림 2와 같다. 증류수구의 경우 pH 4.0에서 가장 낮은 유화력을 보였고, 그외의 pH에서는 더 높았다. pH 변화에 따른 동백단백질의 유화력은 40~58% 정도로 11~61% 범위인 참깨박 단백질(이 등, 1995) 보다 변화의 폭이 작았다. 단백질의 유화력은 peptide 크기, 화학적, 구조적 특성에 영향을 받는다고 알려져 있다(차와 윤, 1993). 0.5M NaCl 용액에서의 동백단백의 유화력은 pH 4.0에서 가장 낮은 유화력을 보였고, 전 구간에서 증류수구보다 더 높은 유화력을 나타냈으며, pH에 따른 유화력은 증류수구에 비하여 변화가 더 적었다. 이 등(1982)은 NaCl 농도에 따른 유화력의 변화에서 대두단백질이 0.1~0.5M NaCl농도에서 유화력이 증가하여 3.0M 농도에서는 최대가 되었다고 하였고, Wang 등(1976)도 증류수구보다 1.0M 염 농도에서 유화력이 증가한다고 하였는데 본 실험 결과와 유사하다. 이러한 이유는 NaCl이 유화하는 동

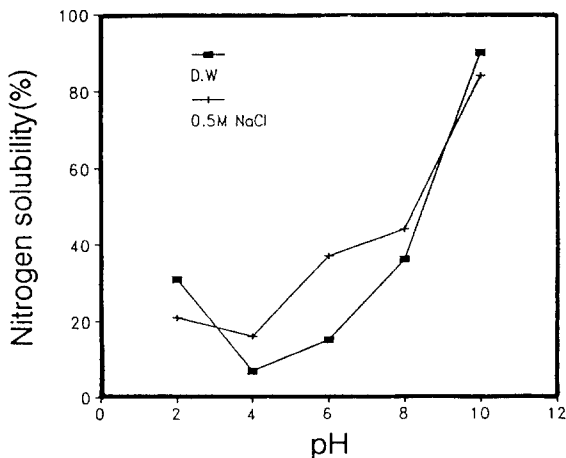


Fig. 1. Nitrogen solubility of Camellia protein isolate in distilled water and 0.5M NaCl solution at pH 2.0~10.0.

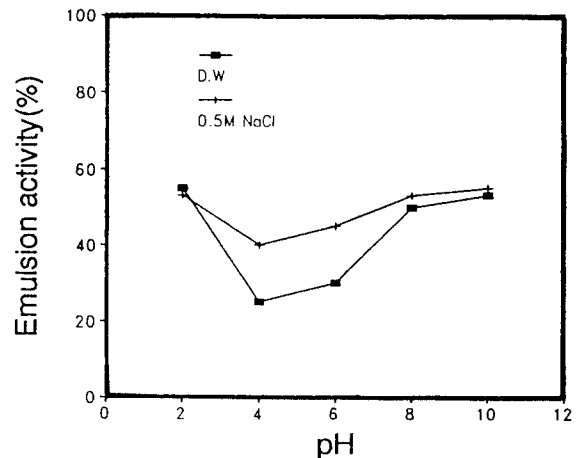


Fig. 2. Emulsion activity of Camellia protein isolate in distilled water and 0.5M NaCl solution at pH 2.0~10.0.

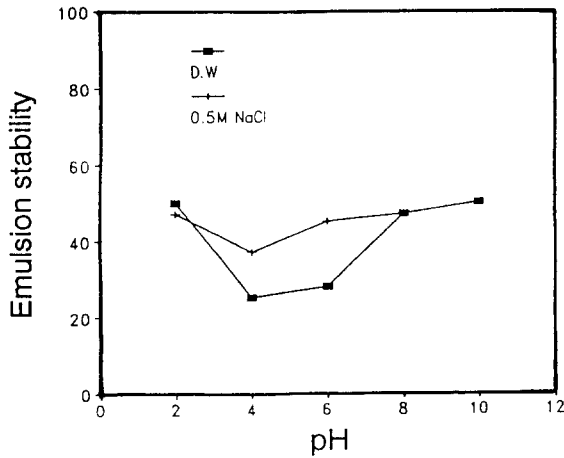


Fig. 3. Emulsion stability of Camellia protein isolate in distilled water and 0.5M NaCl solution at pH 2.0~10.0.

안에 protein film 상에 안정효과를 주는 것 때문이다. 유화된 분리 동백단백을 80℃에서 30분 가열하여 측정된 유화안정성은 그림 4와 같다. 증류수구에서나 0.5 M NaCl 용액에서 동백단백질의 유화안정성은 유화력에서 보인 바와 같이 등전점인 pH 4.0에서 가장 낮았고 그보다 산성이나 알칼리성 쪽으로 갈수록 증가를 보여 유화력과 비슷한 경향을 나타냈다. 전체적으로 유화안정성은 유화력보다는 약간 낮으나, 큰 차이가 없는 것으로 보아 동백단백질은 가열에 의한 유화특성은 안정하다고 하겠다.

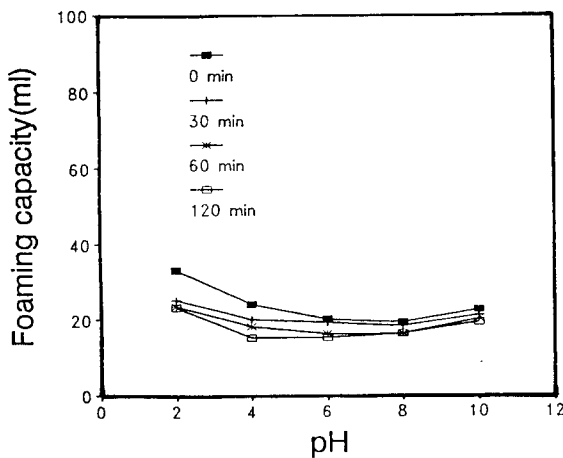


Fig. 4. Foaming capacity of Camellia protein isolate in distilled water at pH 2.0~10.0.

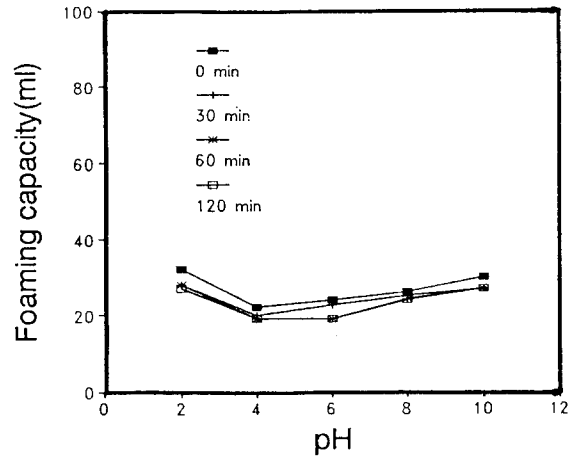


Fig. 5. Foaming capacity of Camellia protein isolate in 0.5M NaCl solution at pH 2.0~10.0.

#### 다. 기포형성력 및 안정성

분리동백 단백질의 기포형성력을 측정된 결과는 그림 4~5와 같다. 증류수구의 경우 등전점 근처에서 기포형성력이 가장 낮았으며 강산성과 강알칼리성에서는 기포가 치밀하고 기포형성력이 좋아 기포형성력이 더 높게 나타났다. 동백단백질의 기포형성력은 23~30% 사이로 박 등(1990)이 보고한 들깨와 참깨 단백질의 기포형성력(20% 이하)보다는 높고, 대두단백질(60% 이상)보다는 낮게 나타났다. Eldridge 등(1963)은 기포형성력이 단백질의 용해도에 영향을 크게 받으며 등전점 부근에서 가장 낮다고 하였는데 본 실험 결과도 이와 같은 결과를 보였다. 기포형성 후 120분 동안 방치한 다음 측정된 기포안정성은 시간이 지날수록 점점 감소하였는데 시간 지연에 따른 기포안정성은 큰 차이가 없었다. 특히 pH 10.0에서는 기포감소량이 적어 다른 pH 구간에 비하여 기포안정성이 높았다. 그림 6의 0.5M NaCl 용액에서는 등전점에서 기포력이 가장 낮았고, 강산성과 강알칼리성 쪽에서 더 높게 나타났다. 증류수구와 비교하였을 때 0.5M NaCl 용액에서는 기포형성력 및 기포안정성이 더 우수하였다.

#### 라. 유지흡착력 및 수분흡착력

분리 동백단백의 유지 및 수분 흡착력을 측정된 결과는 표 4와 같다. 동백단백의 유지흡착력은 시료

1g당 1.4ml로 참깨단백질(이 등, 1995) 1.1ml 보다 더 높았다. 유지흡착력은 향미를 좋게 해주기 때문에 단백질 가공에 중요한 기능적 성질로 알려져 있다. 수분흡착력은 시료 1g당 0.9ml로 참깨단백질(이 등, 1995) 0.8ml 보다 약간 더 높게 나타났다. 수분흡착력은 단백질의 종류, 아미노산의 조성, pH, 가공공정 등에 영향을 받는다고 한다(Hermansson, 1973). 동백단백질의 유지흡착력은 수분흡착력보다 더 높게 나타났으며, 유지 및 수분 흡착력은 단백질의 구조 즉 hydrophilic 또는 lipophilic group의 수, physically trapliqid능력의 기능이라고 알려져 있다.

Table 4. Oil and water absorption capacity of Camellia seed protein isolate (ml/g)

Sample	Oil absorbed	Water absorbed
Camellia seed protein isolate	1.4	0.9

## 적 요

동백유박에서 단백질을 분리하여 용해도, 유화력, 기포성, 유지 및 수분 흡착력 등의 단백질의 기능적 특성을 분석한 결과는 다음과 같다.

분리 동백단백의 용해도는 증류수구의 경우 pH 4.0에서 7.0%로 가장 낮아 등전점을 보였고, 이보다 높거나 낮은 pH에서는 용해도가 크게 증가하여 pH 10.0에서 90.0%로 가장 높게 나타났다. 0.5M NaCl 용액에서도 증류수구와 비슷한 경향을 보였으며, pH 2.0, pH 10.0을 제외하고는 증류수구보다 0.5M NaCl 용액에서 용해도가 더 높았다. 유화력은 증류수구의 경우 pH 4.0에서 가장 낮은 유화력을 보였고, 그외의 pH에서는 더 높았다. 0.5M NaCl 용액에서의 분리 동백단백의 유화력은 pH 4.0에서 가장 낮은 유화력을 보였으나, 전구간에서 증류수구보다 더 높았으며, pH에 따른 유화력은 증류수구에 비하여 변화가 더 적었다. 유화안정성은 증류수구, 0.5M NaCl용액 모두 유화력과 비슷한 경향을 나타냈다. 기포형성력은 증류수구의 경우 등전점 근처에서 기포형성력이 가장 낮았으며 강산성과 강알칼리성에서 더 높게 나타났다. 기포안정성은 시간이 지날수록 점점 감소하였는데 시간 지연에 따른 기포안정성은 큰 차이가 없었다. 0.5M NaCl 용액에서는 증류수구와 유사한

경향이었으나 증류수구보다 기포형성력 및 기포안정성은 더 우수하였다. 유지흡착력은 시료 1g당 1.4ml. 수분흡착력은 시료 1g당 0.9ml로 유지흡착력이 수분흡착력보다 더 높았다.

## 인 용 문 헌

- A.O.A.C. 1984. Official Methods Analysis 14th ed, Association of official analytical chemists. Washington D.C.
- 차명화, 윤선. 1993. 단백질분해효소에 의한 대두단백의 기능적 특성변화. 한국식품과학회지, 25(1):39
- 조희경, 윤재영, 이서래. 1992. 분리 유채단백의 용해도와 소화율에 미치는 phytate의 영향. 한국식품과학회지, 24(3):279
- 조수진, 홍윤호. 1995. 시판유청분말의 이화학적 및 기능적 특성. 한국식품과학회지, 27(2): 151
- Eldridge, A.C., Hall, P.K. and Wolf, W.J. 1963. Stable foams from unhydrolyzed soybean protein. *Food Technol.*, 17:1592
- Hermansson, A.M. 1973. Determination of functional properties of protein foods. In "Proteins in Human Nutrition" Acad. Press, N. Y.
- 정병제, 이은철. 1975. 임산유지 및 단백질자원 개발에 관한 연구. 전남대논문집, 22권:159
- King, J., Aguirre, C. and de Pablo, S. 1985. Functional properties of lupin protein isolates. *J. Food Sci.*, 50:82
- Lowry, O.H., Rodebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. *J. Biol. Chem.*, 193:265
- 이선호, 조영제, 천성숙, 김영활, 최청. 1995. 단백질분해효소에 의한 참깨박 단백질의 기능성 변화. 한국식품과학회지, 27(5):708
- 이창복. 1982. 대한식품도감. 향문사, 543
- 이철호, 김학량, 양현철, 이명원, 배종찬. 1982. 단백질의 유화작용에 미치는 외적조건에 관한 연구. 한국식품과학회지, 14(1):49
- 문교부. 1974. 한국동식물도감, 제15권.삼화출판사, 665
- 박현숙, 안빈, 양차범. 1990. 참깨와 들깨 단백질의 기능성에 관한 연구. 한국식품과학회지, 22(3):350
- Rivas, N., Dench, J.E. and Caygill, R.J.C. 1981. Nitrogen extractability of sesame seed and the preparation

- of two protein isolates. *J. Sci. Food Agric*, 32:565
- Rooney, L.W., Gustason, C.B., Clark, S.P. and Cater, C.M. 1972. Comparison of the baking properties of several oilseed flour. *J. Food Sci.*, 37:14
- Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K. 1981. Functional properties of the great northern bean (*phaseolus vulgaris* L.) proteins emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J. Food Sci.*, 46, 71.
- 송규택, 정현배, 봉희성. 1984. 한국자원식물. 미도문  
화사, p650
- Wang, J.C. and Kinsella, J. E. 1976. Functional properties of novel protein : Alfalfa leaf protein. *J. Food Sci.*, 41:286  
World Conference on Vegetable Food Proteins, Amsterdam.
1979. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 56:99
- Yang, C. I. 1980. Studies on the nutritonal quality of rapeseed protein isolates Korean. *J. Food Sci. Technol.*, 12(2):109
- 윤석권, 김정환, 김재욱. 1993. 탈지들깨박 ethanol추출물의 항산화효과. 한국식품과학회지, 25(2):160