

증편 구조에 미치는 쌀 단백질의 영향

이해은 · 이아영 · 박주연 · 우경자¹ · 한영숙
성신여자대학교 식품영양학과, ¹인하대학교 식품영양학과

Effect of Rice Protein on the Network Structure of *Jeung-Pyun*

Hai-Eun Lee, A-Young Lee, Ju-Yeon Park, Kyung-Ja Woo, Young-Sook Hahn
Department of Food & Nutrition, Sungshin Women's University,
¹Department of Food & Nutrition Inha University

Abstract

The aim of this study was to examine the effect of rice protein on the network structure of the *Jeung-Pyun*. The major component of *Jeung-Pyun* rice protein was extracted, the change of rice protein during the *Jeung-Pyun* fermentation was assessed, and the effect on the viscosity and volume of adding protease to *Jeung-Pyun* was investigated. In addition, the result of adding protein to rice starch on the viscosity and volume of *Jeung-Pyun* was that the rice protein mediated the volume and expansion ability. The results were as follows. In rice and dough of *Jeung-Pyun*, the SDS soluble protein content was higher than that of wheat flour and no change was detected in the amount of extracted protein with the fermentation time. However, in the FPLC pattern, low molecular weight peaks were decreased with the fermentation time, which indicates the increase in the ratio of high molecular weight substances. In contrast, the addition of protease substantially decreased the viscosity and volume of *Jeung-Pyun*, whereas the viscosity and volume were increased by adding protein to rice starch in order to reconstitute *Jeung-Pyun*. This suggested that rice protein in *Jeung-Pyun* had a mediating effect on both the volume and the formation of the texture.

Key words: *Jeung-Pyun*, Network Structure, Rice Protein

1. 서 론

증편은 기정(강원도), 장편(황해도), 잔편(경상도), 기지떡(충청도), 기루떡, 기증병, 술떡 증병 등으로 알려진 떡의 일종이다. 그 제조방법은 쌀가루에 탁주를 첨가, 반죽하여 발효시킨 다음 찐 것으로 내부구조는 해면상이며 발효제품이라는 점에서 서양의 빵과 유사하다. 빵은 밀가루에 물과 효모를 넣고 반죽하면 점탄성을 갖게된다. 이는 밀단백질 gluten과 전분입자가 망상구조를 형성하고 효모가 만들어내는 CO₂ 및 수증기를 포집하며, 반죽에 유동성과 가소성을 부여한다¹⁾. 쌀만을 이용하여 빵을 만들기는 매우 어려우나 증편의 경우에는 gluten막이 형성되지 않고

도 빵과 비슷한 구조를 보이나 이에 대한 구체적인 메카니즘은 밝혀져 있지 않다.

증편과 유사한 식품으로 인도의 Idli가 있는데 이 식품의 부드러운 스펀지조직은 주로 거품 형성에 기여하는 표면활성단백질 globulin과 거품의 망구조를 안정화시키는 arabinogalactan에 의한 것으로 알려져 있다²⁻³⁾. 그러나 증편의 원료인 쌀의 주 단백질은 glutelin으로 globulin과의 비율은 70 : 10 정도이다. 강⁴⁾은 증편 발효시 뚜렷한 현상 중 하나로 pH의 변화를 들었으며 이에 따라 전분과 단백질이 발효가 진행됨에 따라 다소 분해를 일으켜 저분자화되어야 함에도 불구하고 특정물질의 고분자화 현상이 일어난다고 하였으며 이 현상은 고분자 단백질과 고분자 당질의 회합 내지는 결합에 의한 것이라 하였다. 이에 따라 본 연구에서는 증편 제조시 주원료인 쌀 단백질을 분리하여 증편 발효시 쌀단백질의 변화를 살펴 보았으며 protease 첨가시 증편의 점도 및 부피에

Corresponding author: Young-Sook Hahn, Sungshin Women's University,
249-1, 3-ga, Dongsun-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-742, Korea
Tel: 02-920-7210
Fax: 02-921-3197
E-mail: yshan@sungshin.ac.kr

미치는 영향을 조사하였다. 또한, starch에 단백질 첨가시 증편의 점도 및 부피에 미치는 영향을 살펴본 결과 쌀단백질이 증편구조에 영향을 주는 것으로 생각되어 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 용매별 단백질 추출 특성 조사

각 발효 시간별 증편 반죽은 동결건조기(FD-3, Heto, Denmark)를 사용하여 24시간 동결 건조 하였고, 쌀은 마쇄기로 갈아서 60 mesh 체를 통과하여 4℃에서 보관하면서 시료로 사용하였다. 실험에 사용된 단백질 추출용매는 Table 1과 같으며, 추출 방법은 다음과 같았다. 즉, 밀가루와 쌀가루 그리고 2시간 발효하여 동결 건조한 증편 반죽 1g에 용매 25ml/을 넣어 상온에서 2시간 동안 교반하여 단백질을 추출하였다. 15,000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상등액을 취한 다음 표준단백질 BSA(Bovine Serum Albumin, Sigma Co.)를 사용하여 Bradford method로 단백질을 정량하였다. 발효시간에 따른 증편 반죽의 단백질 함량 변화를 조사하기 위하여 동결 건조한 발효시간별 증편반죽 1g에 SDS 용매(2% Sodium dodecyl sulfate, 10mM KH₂PO₄, 1mM EDTA/1l Distilled water) 25ml/를 가하여 상온에서 2시간 동안 교반하여 단백질을 추출하였고 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상등액을 취했다. 표준단백질 BSA를 standard로 하여 Bradford method에 따라 단백질 함량을 조사하였다.

Table 1 Reagent and concentration for extraction of protein

Number	Reagent	Concentration
1	Sodium dodecyl sulfate(SDS)	1 %
2	Mercuric chloride (HgCl ₂)	1 %
3	Urea	6 M
4	Dimethylformamide	6 M
5	SDS - HgCl ₂	1% - 1%
6	SDS - urea	1% - 6M
7	SDS - dimethylformamide	1% - 6M
8	n-Propanol - EDTA	60% - 1mM
9	Lactic acid - EDTA	1% - 1mM
10	SDS solvent	
	Sodium dodecyl sulfate(SDS)	2%
	KH ₂ PO ₄	10mM
	EDTA	1mM
11	AUC solvent	
	acetic acid	0.1M
	urea	3M
	cethyltrimethyl ammonium bromide	0.01M

2. 단백질 추출 및 전기영동

SDS 용매를 이용하여 쌀가루와 각 시간별 증편 반죽으로부터 추출한 단백질을 SDS-PAGE (sodium dodesyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)로 분리하였다. 각 시료로부터 추출한 단백질 용액을 5배 농도의 sample buffer(1M Tri-HCl : pH 6.8, 50% glycerol, 10% SDS, 2-mercaptoethanol, 1% bromophenol blue)와 1 : 1(v/v)로 섞은 후 끓는 물에서 5분간 증탕 가열한 뒤 lane 당 1μg의 농도로 1mm 두께의 15% separating gel과 4%의 stacking gel에 주입하여 전개용액(3g Tris, 14.4g glycine, 1g SDS/1l D.W.)으로 150 V에서 90분간 전개하였다. 분자량 marker는 Precision Protein Standard(Prestained broad range, Bio-Rad, USA)를 사용하였다.

전기영동 후 gel은 Coomassie staining solution(1g Coomassie Blue R-250, 450ml methanol, 450ml D.W., 100ml glacial acetic acid)으로 18시간 동안 염색하고, Coomassie destaining solution(100ml methanol, 100ml glacial acetic acid, 800ml D.W.)으로 2시간 동안 탈색하였다.

3. 쌀 단백질의 gel permeation chromatography

SDS 용매로 추출한 단백질을 8,000 cut off membrane (Spectra/Por, Spectrum laboratories Inc., USA)으로 투석하여 FPLC(Fast Protein Liquid Chromatography)용 시료로 사용하였다. 각 시료로부터 추출한 단백질의 gel permeation chromatography는 Superose 12 10 / 300 GL column(Amersham Bioscience, USA)을 이용하여 ÄKTA explorer system(Amersham Bioscience, USA)으로 조사하였다.

Sample 200μl를 주입하여 0.5ml/min의 속도로 buffer(50mM NaHPO₄ - 0.15 M NaCl(pH 7.0))를 흘려 주면서 280nm에서 흡광도를 측정하고 retention time은 25분까지로 보았다.

4. protease에 의한 증편 반죽의 점도, 부피변화

증편반죽 100g에 대해 protease 1.6units와 3.2units를 각각 첨가하여 발효 0, 1, 2, 3, 5, 7시간에 시료를 채취하여 점도계(B8M, Tokimec Inc., Japan)를 이용하여 점도변화를 관찰하고, 증편 반죽 50ml/을 메스 실린더에 넣어 발효 2시간째 부피를 비교하였다. rice starch와 BSA로 반죽한 시료에 protease 1.6units, 3.2units를 넣어 점도를 관찰하고, 점도가 가장 높은 발효 4시간째 부피를 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 용매별 단백질 추출 특성

쌀가루를 2시간 발효하여 동결건조한 증편반죽에 용매를 넣어 단백질을 추출정량한 결과를 밀단백질과 비교한 것은 Table 2와 같다. 일반적으로 SDS와 AUC 용매(0.1M acetic acid, 3M urea, 0.01M cethyltrimethyl ammonium bromide/1/ D.W.)는 단백질의 소수결합 또는 수소결합을 붕괴시키는 용매이며 HgCl₂와 urea는 S-S bond의 절단에 사용되는 용매로 SDS 가용성 단백질 함량이 높게 나타나 밀가루와는 달리 소수결합 또는 수소결합에 의해 망상조직이 이루어지고 있음을 알 수 있었다⁴⁾. 쌀가루와 증편반죽에서는 알콜 용해성 단백질 함량이 밀가루와 비교하여 상당히 적은양으로 보여진다. 그러나 산 용해성 단백질(glutelin, 즉 쌀에서는 oryzenin)의 함량은 밀가루와 비슷했으며, SDS는 밀가루나 쌀가루, 그리고 증편 반죽에서 모두 단백질 가용성이 우수한 것으로 나타났다.

단백질 가용성이 우수한 SDS 용액을 사용하여 발효시간에 따른 증편반죽의 단백질 함량 변화를 조사한 결과는 Table 3과 같았으며, 발효시간에 따라 단

Table 2 Changes in protein extraction abilities of various solvent

Solvent No.	Protein Contents (mg / g dough DW)		
	Wheat Flour	Rice Flour	Dough
1	18.52	15.50	15.34
2	1.26	-	-
3	36.24	31.14	23.12
4	18.63	1.51	3.68
5	22.77	14.69	15.14
6	23.37	24.13	19.18
7	18.12	14.69	14.03
8	21.00	3.68	5.15
9	28.82	24.23	26.75
10	13.48	12.32	11.41
11	61.94	67.59	64.61

Table 3 Changes in the contents of protein from Jeung-Pyun dough during fermentation

Fermentation Time (h)	Protein contents
	(mg / g dough DW)
0	12.06
1	12.32
2	12.16
3	12.37
5	12.21
7	12.27

백질 함량은 큰 차이가 없었다. 쌀알의 바깥층에는 albumin(water-soluble proteins)과 globulin(salt-soluble protein)이 풍부하나 milled rice(endosperm)에는 glutelin(alkali-soluble proteins)가 풍부하다. Prolamin(alcohol-soluble proteins)은 쌀알의 도정획분의 minor fraction이다. 도정된 쌀의 albumin:globulin:prolamin:glutelin의 비율은 8 : 10 : 12 : 70이라고 보고되었다⁵⁾.

2. 증편반죽의 단백질의 전기영동패턴의 변화

SDS-PAGE로 분리한 결과와 같이 증편 발효과정 중 발효와 더불어 단백질의 저분자화가 일어나리라고 예상하였으나 특별한 패턴 변화는 없었다(Fig. 1).

Mandia and Juliano⁶⁾은 SDS-PAGE 결과 prolamin fraction이 17KDa의 주밴드와 23KDa의 minor band를 보인다고 보고하였다. Kim and Okita⁷⁾은 prolamin이 glutamine, leucine과 alanine이 높은 수준이며 lysine, histidine, cysteine 그리고 methionine의 수준은 낮다고 하였으며 정제된 prolamin은 매우 hydrophobic하고 N-과 C-말단이 hydrophilic한 반면 중앙부는 많은 hydrophobic 아미노산 잔기를 포함하고 있다고 하였다. 고분자량 저장단백질인 rice glutelin 즉,oryzenin은 rice kernel의 주단백질로 희석 alkali 용액에서 추출되며 분자량은 10⁵에서 10⁶의 범위이다. oryzenin은 38, 25 그리고 16KDa의 주 subunits을 갖고 있다고 Juliano and Boulter⁸⁾가 보고하였다. 또한 Zhao et al⁹⁾는 rice(*Oryza sativa*)의 grain meals로부터 glutelin fraction을 추출하여 SDS-PAGE로 전개한 결과 두 개의 주 glutelin subunits(22와 36Kda)이 disulfide-bonded

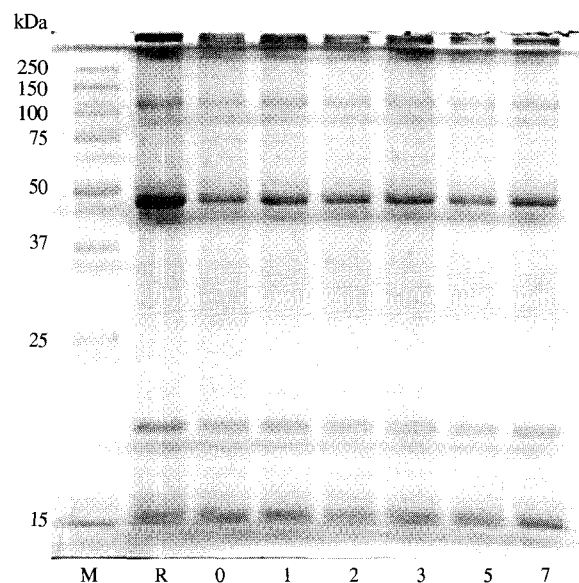


Fig. 1 SDS-PAGE profiles of proteins from rice and Jeung-Pyun dough

M : Marker R : Rice protein

pair로 연결되어 있다고 하였다.

3. 쌀단백질의 gel permeation chromatography

SDS solvent로 추출한 단백질을 투석하여 FPLC 패

턴을 시간별로 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 각 시간별 증편 반죽으로부터 추출된 단백질 peak 1을 보면 발효 3시간까지는 변화가 없었으나 발효 5시간 후에는 거의 없어졌고 peak 3은 발효시간 경과와 더

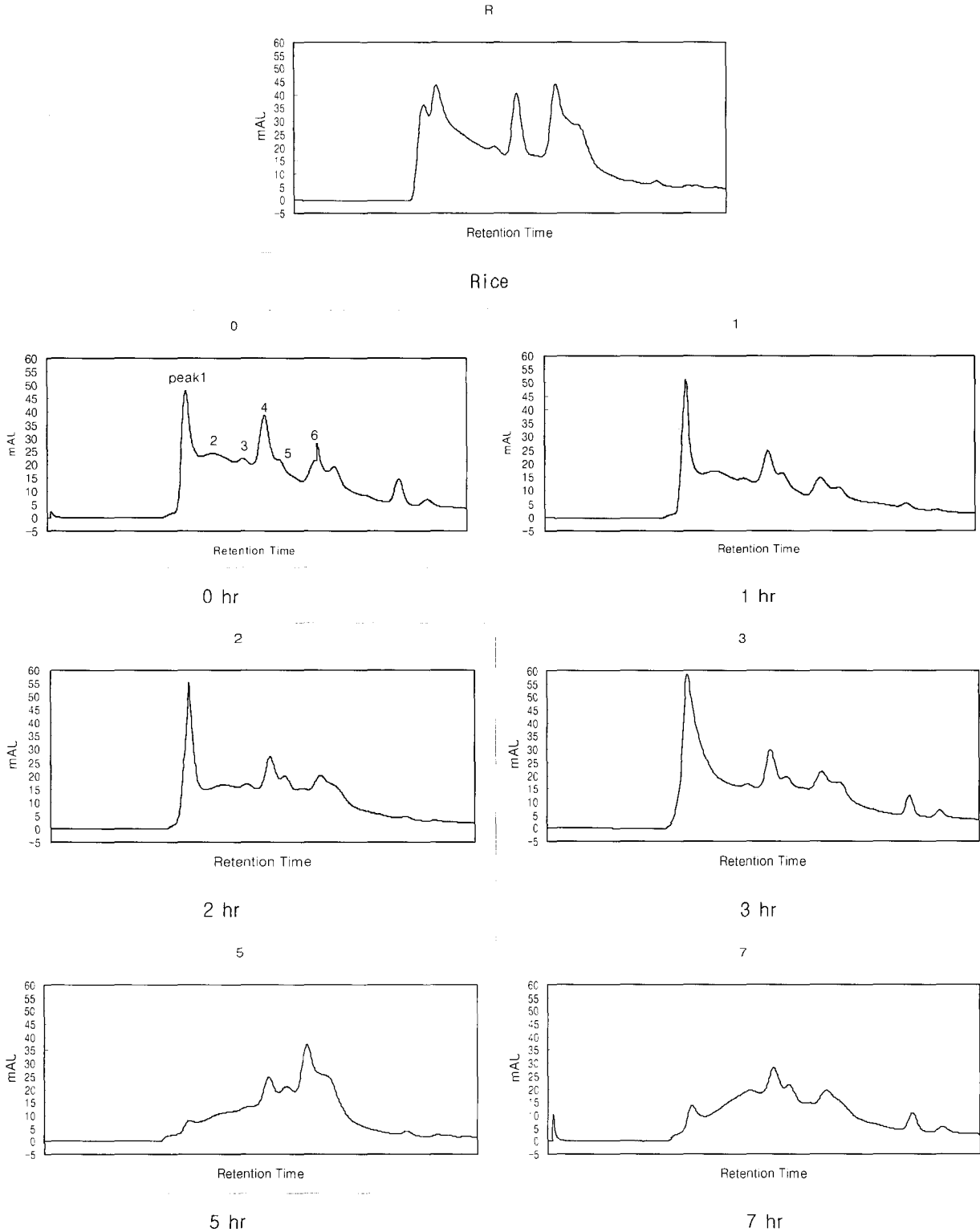


Fig. 2 Gel permeation chromatography of rice and Jeung-pyun dough protein

불어 거의 변화가 없었다. 이에 비하여 peak 6은 시간의 경과와 더불어 커져서 단백질의 고분자화가 일어나는 것으로 보여졌다.

4. protease에 의한 증편 반죽의 점도, 부피변화

증편반죽에서 단백질이 부피에 미치는 영향을 알아보기 위하여 protease를 첨가하여 점도와 부피를 살펴본 결과는 Fig. 3, 4와 같다. 증편반죽의 점도는 2시간까지 증가하다가 3시간째에 약간 감소하였다가 그 후로 그 수준을 그대로 유지하였다(Fig. 3). protease를 첨가하였더니 점도는 감소하였으며 첨가된 protease양이 증가함에 따라 더 많이 감소하였으나 전반적인 패턴은 비침가시와 비슷한 양상을 나타내었다. 이때 2시간째 증편의 부피는 protease 첨가에 따라 감소되어(Fig. 4) 3.2unit를 첨가한 경우는 부피

가 거의 증가하지 않았다. 이로 미루어 단백질이 증편의 부피증가에 영향을 주는 것으로 생각되어, 이번에는 증편을 rice starch로 만들어 보고 이에 단백질로 bovine serum albumin을 첨가하여 증편을 만들어 이와 비교하였다(Fig. 5, 6).

Fig. 5에서 보면 증편 반죽의 점도는 4시간까지 급속도로 증가하여 그 후 급속히 감소하였다. 이것은 BSA와 전분 등의 증편성분과 상호결합되어 구조를 만드는데 증편에서와는 달리 좀 더 시간이 걸린 것으로 생각된다. 그러나 그 이후의 감소경향은 비슷하였다. 그러나 이 점성의 증가는 protease 첨가시 전혀 증가되지 않았으며 Fig. 6에서와 같이 증편반죽 부피의 증가도 protease 양의 첨가와 더불어 찾아 볼 수 없었다. 특히 protease 3.2unit을 첨가한 경우에는 rice starch만 한 것과 부피가 거의 비슷하여 증편의

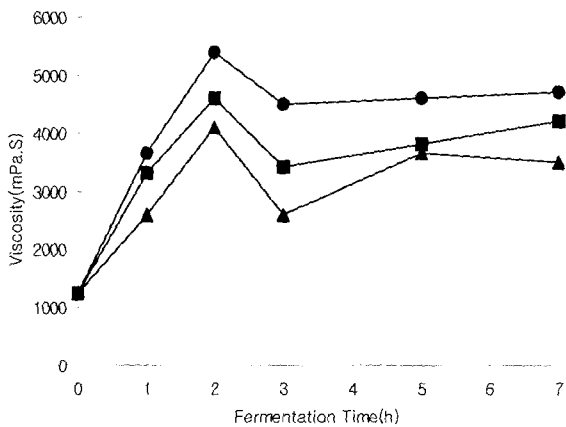


Fig. 3 Changes in viscosity of Jeung-Pyun batter during fermentation

●:control ■:protease 1.6units ▲:protease 3.2units

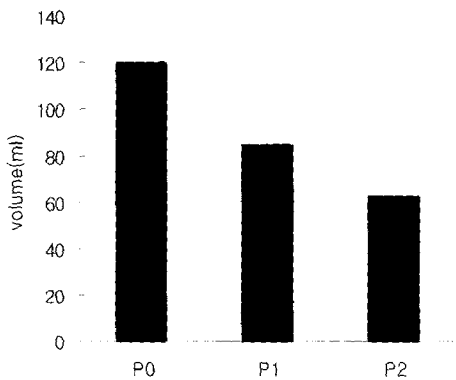


Fig. 4 volume of Jeung-Pyun batter

[P0] : control
[P1] : protease 1.6 unit
[P2] : protease 3.2 unit

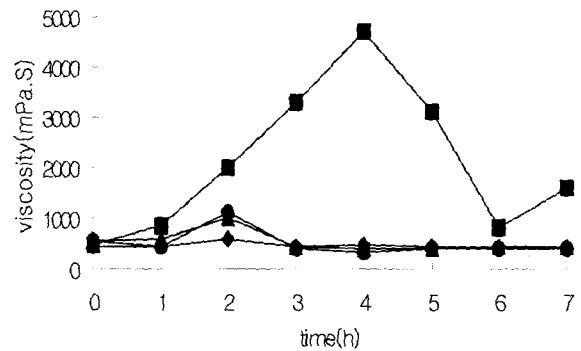


Fig. 5 Variation of viscosity of Jeung-Pyun batter during fermentation

◆:rice starch 80g
■:rice starch 80g, BSA 6g
▲:rice starch 80g, BSA 6g, protease 1.6units
●:rice starch 80g, BSA 6g, protease 3.2units

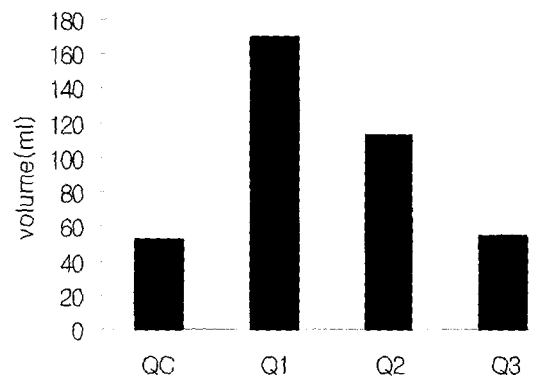


Fig. 6 volume of Jeung-Pyun batter

[QC]:rice starch 80g
[Q1]:rice starch 80g, BSA 6g
[Q2]:rice starch 80g, BSA 6g, protease 1.6units
[Q3]:rice starch 80g, BSA 6g, protease 3.2units

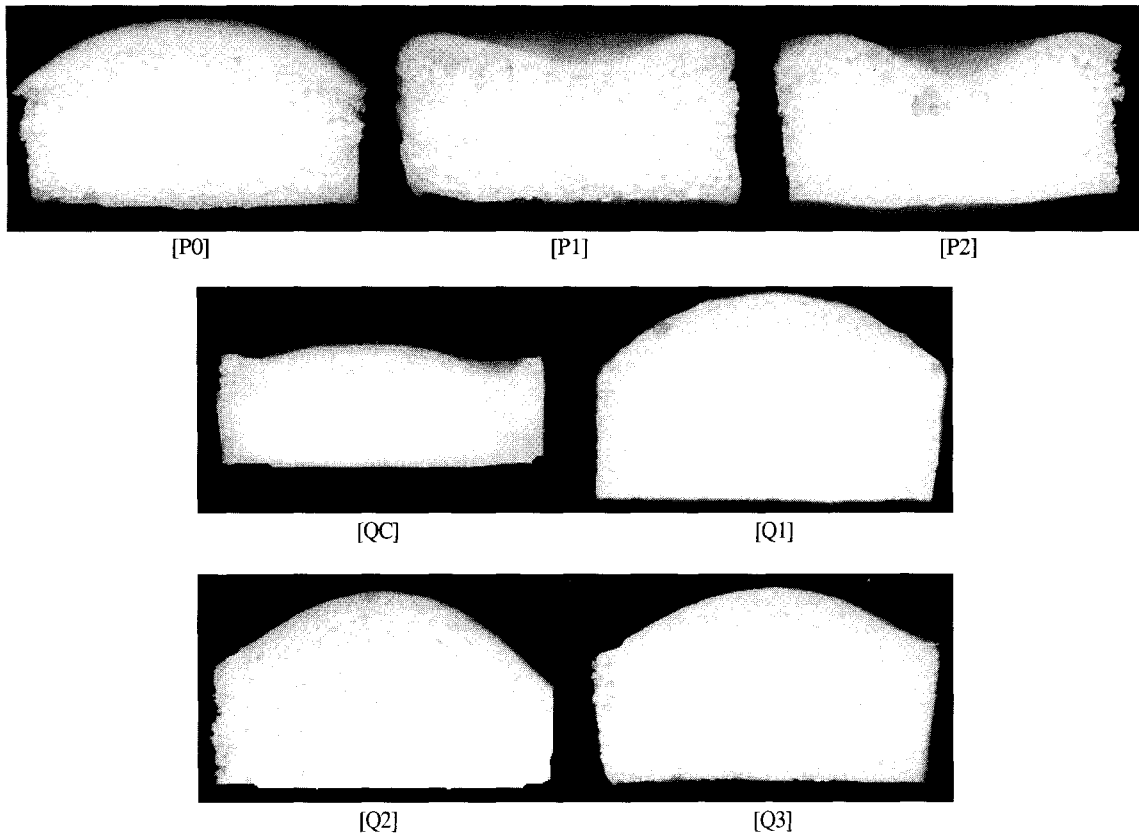


Fig. 7 Cross-sectional view of Jeung-Pyun prepared by the amount of adding protease
 [P0]:control [P1]:protease 1.6units [P2]:protease 3.2units
 [QC]:rice starch 80g [Q1]:rice starch 80g, BSA 6g
 [Q2]:rice starch 80g, BSA 6g, protease 1.6units [Q3]:rice starch 80g, BSA 6g, protease 3.2units

부피, 더 나아가 sponge 모양의 망상구조로 CO₂를 포집하는데 단백질이 중요한 역할을 함을 알 수 있었다.

이 모양은 Fig. 7의 사진에서 확인할 수 있었다.

IV. 요약

증편의 sponge상의 망상구조에 쌀 단백질의 영향을 조사하기 위하여 증편제조시 주원료인 쌀 단백질을 분리하고 증편 발효시 그 변화를 살펴 보았으며 protease 첨가가 증편의 점도 및 부피에 미치는 영향을 살펴보았다. 또한 쌀 전분에 단백질을 첨가하여 증편의 점도 및 부피에 미치는 영향을 살펴본 결과 쌀 단백질이 증편의 부피 팽창에 영향을 주는 것으로 생각되었다. 쌀 및 증편 반죽에서는 SDS가용성 단백질 함량이 밀가루와 비교해 높게 나타났으며 발효시간에 따른 단백질 추출량은 큰 변화가 없었다. 그러나 증편반죽의 시간별 FPLC패턴은 발효시간에 따라 저분자 peak가 감소하여 고분자화합을 알 수 있었다. 단백질 분해효소 protease를 첨가하여 본 결

과 증편의 점도 및 부피는 현저히 감소하였고 쌀전분에 단백질을 첨가하여 증편을 재구성한 결과, 점도, 부피는 증가하는 것으로 나타나 증편내에서 쌀 단백질이 증편의 부피 내지는 조직감 형성에 크게 영향을 미치는 것으로 생각되어진다.

V. 감사의 글

이 논문은 2002년도 성신여자대학교 이세웅 박사 학술진흥연구비 지원에 의하여 이루어진 내용의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Faridi, A and Faubion, JM : Fendamentals of dough rheology. AACC, 1936
2. Susheelamma, NS and Rao, MVL : Functional role of the arabinogalactan of black gram in the texture of leavened foods. J. Food Sci., 44:1309, 1979
3. Jung, DH and Shim, SK : Soybean fermented food. GisungSam. p.739-772, 1994

4. Kang, MS : Changes in starch and protein of Jeungpton (fermented rice cake) during fermentation. Ph. D. Dissertation. Hyosung Women's University, 1994
5. Padhye, VW and Salunkhe, DK : Extraction and characterization of rice proteins. Cereal Chem., 56:389, 1979
6. Mandiac, B and Juliano, BO : Properties of prolamins in mature and developing rice grain. Phytochemistry, 17:611, 1978
7. Kim WT and Okita, TW : Structure, expression and heterogeneity of the rice seed prolamins. Plant Physiol., 88:649, 1988
8. Juliano, BO and Boulter, D : Extraction and composition of rice endosperm glutelin. Phytochemistry, 15:1601-1606
9. Zao, WM, Gatchouse, JA and Boulter, D : The purification and partial amino acid sequence of a polypeptide from glutelin fraction of rice grains; homology to pea legumin. FEBS Lett., 162:96, 1983

(2004년 7월 30일 접수, 2004년 8월 17일 채택)