

《총설》

## 쌀 단백질의 천연 유화제로서의 활용

문세훈<sup>†</sup>

서울대학교 식품바이오융합연구소 연구교수

### Application of Rice Protein as a Natural Emulsifier

Saehun Mun<sup>†</sup>

Research Professor, Center for Food and Bioconvergence, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

#### Abstract

**Purpose:** The general characteristics of rice protein and the methods that have been tried to improve its emulsifying capacity were reviewed, and the potential use of rice protein as a natural plant emulsifier to replace milk protein was discussed. **Main issue:** The use of rice protein as a natural emulsifier is significant in many foods taking the form of emulsion system, since the rice protein can replace the existing emulsifier such as synthetic and milk protein-based emulsifiers. Research on methods to improve solubility and emulsifying capacity is necessary to increase the application of rice protein. The solubility and emulsifying capacity of rice protein could be improved by the enzymatic, chemical and physical modification treatment of rice proteins. These modification methods led to the conversion of the secondary structure of the protein into a flexible structure, the exposure of ionizable groups or hydrophobic groups that existed inside the protein structure to the outside, the increase of free sulfhydryl groups and the decrease of disulfide bond. **Conclusion:** Unlike other protein materials that rely on imports, studying and characterizing rice protein isolated from domestic rice is considered essential in terms of the development of new food materials and high-value rice products using rice.

**Key words:** rice protein, plant protein, natural emulsifier, solubility, emulsifying capacity

## I. 서론

소비자들의 건강에 대한 인식이 달라지면서 채식인이 아니더라도 건강이나 친환경 라이프 스타일로 식물성 식품을 선택하는 소비자들이 늘어나고 있는 가운데 동물성 단백질을 식물성 단백질로 대체하는 것에 대한 관심이 높아지고 있다. 지금까지는 식물성 단백질 공급원료로써 콩과 밀이 주로 사용되어 왔으나 유전자변형식품(GMO) 관련 이슈 제기 및 글루텐 알레르기 문제로 알레르기가 없고 소화가 잘 되며 식물성 단백질 중 비교적 필수아미노산 함량이 높고 균형잡힌 조성을 갖고 있다고 알려진 쌀 단백질이 새로운 식물성 단백질 원료로 대두되고 있다.

쌀 단백질은 영양적인 면뿐만 아니라 저 콜레스테롤혈증 활성화와 항산화, 항암효과 등 여러 생리활성을 나타냈다는 보고(Adebisi AP 등 2009, Chanput W 등 2009)가 이어지면서 건강한 단백질원으로 간주되어 면역체계가

완전하게 구축되지 않은 유아나 어린아이들을 위한 식품 제조에 적합한 것으로 인식되고 있다. 식물성 단백질의 영양과 건강적인 면이 새롭게 인식되면서 미국이나 유럽 등지에서는 최근 쌀 단백질을 이용한 제품들의 상업적 판매가 증가하고 있고 미국의 경우, 2005년부터 쌀 단백질이 판매되기 시작하였으며, 쌀 단백질 시장이 꾸준히 증가하여 2024년까지 연평균 18.2% 성장해 전체 시장 규모가 1억 5백만 달러에 이를 것이라고 예측되고 있다.

그러나 좋은 단백질로 인식되고 있는 쌀 단백질이 식품산업에서 제한적으로 활용되고 있는 것은 물에서의 용해도가 낮기 때문이며, 기능적인 특성에 있어서 다른 단백질과 마찬가지로 거품발생능력(foaming capacity)이나 유화능력(emulsifying capacity)을 나타내는 것으로 알려져 있기는 하나, 낮은 용해도와 관련하여 활발하게 응용되지 못하고 있는 실정이다. 이는 쌀 단백질의 주를 이루는 글루테린(glutelin)의 분자량이 크고 이황화(disulfide) 결합에

<sup>†</sup>Corresponding author: Saehun Mun, Center for Food and Bioconvergence, Seoul National University, 1, Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 08826, Korea  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2954-6296>  
Tel: +82-2-880-4890, Fax: +82-2-873-5260, E-mail: saehun@snu.ac.kr



의해 강한 응집(aggregation)을 이루고 있어, pH 10 이하에서 또는 pH 2 이상에서는 용해도가 급격히 감소하게 된다.

단백질이 거품발생능력이나 유화능력을 나타낼 수 있는 것은 양친매성(amphiphilic)을 나타내며, 상대적으로 큰 전하(electrical charge)를 나타낼 수 있기 때문이다. 에멀션(emulsion, 유화액)은 서로 섞이지 않는 두 액체가 섞여 있을 때, 하나의 액체가 방울이 되어 다른 액체 내에 분산되어 있는 상태를 의미하는데, 섞이지 않는 두 액체가 서로 잘 분산되기 위해서는 소수성과 친수성을 동시에 갖고 있는 유화제(emulsifier)를 필요로 한다. 이때 유화제는 양친매성으로서 두 액체 사이의 계면에서 계면장력을 낮춰주는 역할을 하게 되는데, 오일과 물의 유화액을 제조하는 과정이라면 유화제는 물 속에서 새로 생성되는 오일 입자 표면에 흡착되고 표면에 보호층(protective layer)을 형성하면서 오일과 물 사이의 계면장력을 낮춰주게 된다 (Fig. 1). 식품제조를 위하여 가장 보편적으로 많이 사용되는 유화제는 작은 분자의 표면활성제(small-molecule surfactant), 양친매성 고분자(amphiphilic biopolymer)이며, 양친매성 고분자에는 단백질과 다당류가 속하게 된다.

지금까지는 카세인소듐(sodium caseinate)과 유청단백질(whey protein)과 같은 우유 단백질들이 단백질 기반 유화제로써 일반적으로 사용되어 왔으나 관련된 알레르기 유발성과 비건식품(vegan food)에 적합하지 않는 등의 이유로 식물성 기반의 대체 단백질에 대한 요구가 증가하여 왔고, 이에 대두 단백질에 관한 연구가 집중적으로 이뤄졌다(Fernandez-Avila C & Trujillo AJ 2016). 그러나 최근에는 글루텐 프리이며 알레르기가 없고, 모유와 유사한 아미노산 조성을 가지고 있다고 알려진 쌀 단백질을 유청 및 대두 단백질의 대체제로 활용하고자 하는 움직임이 증가하고 있다.

우리가 주로 섭취하는 식품 중 우유, 음료, 드레싱류, 디저트류 등 많은 식품이 에멀션 형태로 존재하며, 안정한 에멀션 제조를 위해서는 유화제의 역할이 중요한 만

큼 쌀 단백질만으로 에멀션 제조를 위한 유화제로 사용될 수 있다면 여러 측면에서 유용한 결과를 얻을 수 있을 것이다. 현재까지는 쌀 단백질의 유화능력이 우유 단백질과 비교하여 현저히 떨어지므로 이를 극복하기 위한 연구들이 진행 중에 있다.

그러므로 본 총설에서는 쌀 단백질의 개괄적인 특성과 쌀 단백질의 유화능력을 향상시키기 위해 지금까지 시도된 방법들을 고찰해보며, 우유 단백질을 대체할 수 있는 천연 식물성 유화제로써 쌀 단백질의 활용 가능성을 살펴보고자 하였다.

## II. 본 론

### 1. 에멀션에서 유화제로써 단백질의 역할

많은 단백질들이 표면활성물질로써 유화제로 사용되고, 에멀션이 제조되는 과정 중에 오일 표면에 흡착되어 오일 입자끼리 다시 응집되는 것을 방지함으로써 에멀션 제조가 가능하게 한다. 단백질의 유화 능력은 여러 가지 요인에 의해 좌우될 수 있는데, 단백질의 물과 오일 계면에 대한 흡착률(rate of adsorption of protein), 흡착되는 단백질의 양(amount of protein adsorbed), 흡착 후 계면에서 이뤄지는 단백질 구조의 재배열(conformational rearrangement), 계면장력을 감소시키는 정도(extent of reduction in interfacial tension), 계면주위로 점탄성 있는 막의 형성 유무 등이 그것이다(Zhai J 등 2013).

또한 단백질 자체의 특성 즉, 단백질을 이루고 있는 아미노산 조성, 구조, 분자크기(molecular size), 표면 소수성(surface hydrophobicity), 용해도(solubility), 유연성(flexibility) 뿐만 아니라 환경조건(pH, 이온세기)과 단백질 분리방법 등도 유화능력에 영향을 주는 중요한 요인들이다(Sharif HR 등 2018). 여러 문헌들에서 분자크기가 작을수록, 표면의 소수성과 전하, 용해도, 유연성이 높을수록 단백질의 유화능력이 높았다고 보고하였으며, 계면에 흡착되어 에멀션을 안정화시키는 단백질의 성질이 제조되는 에멀션의 물리화학적 성질과 안정성을 좌우하는 중요한 요소가 된다고 설명하고 있다(Avrarmenko NA 등 2013, Zheng XQ 등 2015, Jiang S 등 2017, Sharif HR 등 2018).

계면에 단백질이 흡착된 후 재배열되어 나타내는 구조와 계면에 형성된 단백질 보호막의 성질 역시 단백질의 분자 구조적 특성에 의해 달라질 수 있는데, 예를 들어 유동성이 있는 random-coil 구조를 갖는 단백질의 경우 소수성 부분이 오일 측으로 돌출되어 나오고 친수성 부분은 수용액 측으로 접하며 중성 부분은 계면에 평평하게 누워있는 상태로 존재하여 두꺼운 막을 형성한다. 반면 구형단백질(globular protein)의 경우는 random-coil 구조를 갖는 단백질보다 더 얇고 치밀한 구조를 갖게 된다고 한다(McClements DJ 2005)(Fig. 2). Romero A 등

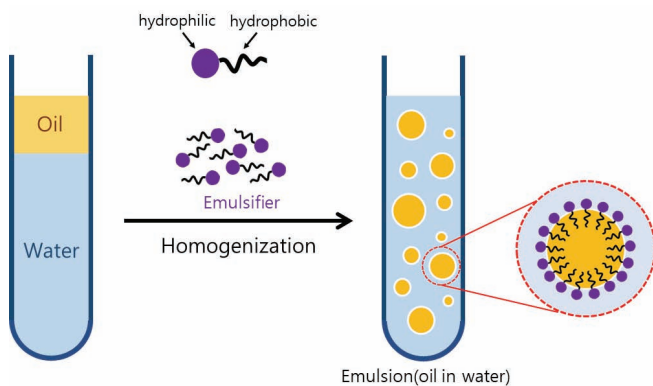


Fig. 1. Emulsion preparation process (Modified from Food science, Lee KY et al, 2014).

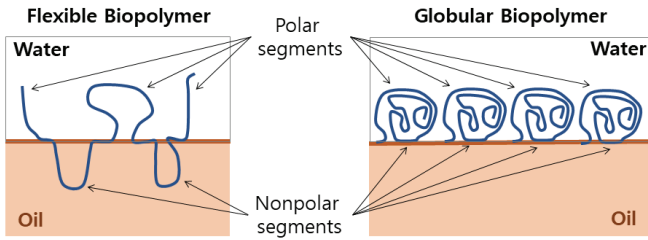


Fig. 2. Effect of the molecular structure of protein on the structure of the interfacial membrane (Modified from Food emulsions, McClements DJ, 2005).

(2012)은 해바라기 오일을 이용하여 물과 오일의 계면에 쌀 단백질 농축물(rice protein concentrate)이 흡착되는 과정의 동역학(adsorption kinetics)을 pH 2와 8에서 단백질 농도의 함수로 관측하였다. 계면에서 단백질 흡착이 빠르게 진행되어 단시간 내에 계면장력이 감소하였다고 하였고 빠른 감소 이후에는 시간과 함께 완만하게 흡착이 진행되었는데, 이것은 계면에서의 단백질의 재구성(reorganization)에 기인한다고 하였다. 평형 상태에서의 계면장력은 단백질 농도가 증가함에 따라 낮아졌고, pH 8에서 보다는 pH 2에서 더 낮은 계면장력을 나타내었으며, 계면 탄성을 오히려 증가시켰으므로 쌀 단백질 농축물의 식품 유화제로서 활용 가능성은 산성 조건에서 더 높은 것으로 보고하였다(Romero A 등 2012).

2. 쌀 단백질의 특성

쌀 단백질은 4가지 구성단백질로 구성되어 있는데, 물에 분산될 수 있는 알부민(albumin), 염용액에 분산가능한 글로불린(globulin), 산성과 알칼리에 분산되는 글루텔린(glutelin), 알콜에 분산가능한 프롤라민(prolamins)이 그것이다. 쌀 성분 중 단백질은 6~9% 범위로 함유되어 있다고 알려져 있는데, 쌀을 도정한 후 얻을 수 있는 분획들의 단백질 함량과 조성이 각각 달라 이에 따른 영양적 질에도 차이가 날 수 있다. 쌀의 왕겨를 벗겨 얻은 현미와 현미에서 미강과 배아를 제거하고 얻은 백미에는 물에 불용인 글루텔린이 각각 75~81%, 79~83% 함유되어 있고, 수용성인 알부민이 10% 이내로 포함되어 있는 반면, 미강 단백질에는 글루텔린이 22~45%, 알부민이 24~43% 함유되어 있어 상대적으로 수용성 분획의 함량이 높아 용해성이 높다고 알려져 있다(Amagliani L 등 2017).

쌀 단백질은 식물성 단백질 중 비교적 필수 아미노산 함량이 높고 균형잡힌 조성을 가지고 있어 소화이용도 잘 되는 것으로 알려져 있다. 단백질 소화율 교정 아미노산 점수(protein digestibility corrected amino acid score, PDCAAS)는 인체의 아미노산 필요량과 소화하는 능력 모두에 기초하여 단백질의 품질을 평가하는 방법으로 단백질의 질을 평가하는데 활용되는 지표이다. Han SW 등

(2015)이 여러 단백질들의 PDCAAS 값을 비교하였을 때, 카제인 단백질과 유청 단백질이 1인 것에 비교하여 대두 단백질 0.95, 쌀의 미강 단백질 0.90, 쌀의 배유에서 분리한 단백질이 0.63으로 미강 단백질의 질이 비교적 높다고 하였다. 쌀 배유 단백질의 PDCAAS 값이 우유 단백질보다는 낮지만 밀(0.25)이나 다른 곡류 단백질에 비해 높은 수준이며 알레르기 및 관련된 소화장애도 없어 실질적으로 좀 더 우수한 영양적 수준을 보인다고 할 수 있다.

3. 쌀 단백질의 분리

과거에는 산업적으로 단백질 농축 성분(protein-enriched ingredients)의 활용에 대한 관심이 낮았고 쌀 단백질의 낮은 용해도로 인하여 쌀 단백질을 분리하고 활용하는 것에 대해 전혀 관심을 갖지 못했다. 도정된 쌀이나 깨진 낱알로 만들어진 쌀가루의 경우 전분 분리를 위해 주로 활용하였고 전분 분리 후 남겨지는 단백질이 포함된 분획에 대해서는 가치가 없는 부산물로 간주하여 왔다. 상대적으로 백미보다 단백질 함량이 높은 미강 역시 식품 재료로 활용되지 못하고 동물의 사료나 연료로 사용되어 왔다.

쌀 단백질을 분리하는 방법은 3가지로 나눌 수 있다. 알칼리 추출법(alkaline extraction), 효소 이용 방법(enzymatic treatment), 물리적 처리방법(physical treatment)이 그것이다. 원래 알칼리 추출법은 쌀가루로부터 전분을 분리할 때, 단백질을 제거하기 위한 목적으로 사용되어 오던 방법이였으나 이를 역이용하여 단백질을 분리하는 데 활용하고 있다. 즉 희석된 알칼리 용액에 단백질이 용해되어 나오도록 한 후, 단백질의 등전점으로 pH를 조정하여 단백질을 분리하는 방법으로 이와 같이 분리한 쌀 단백질은 주로 글루텔린으로 이루어지게 된다. Paraman I 등 (2008)은 pH 11에서 40℃ 온도로 쌀가루를 알칼리 처리한 후 상등액을 한외거르기(ultrafiltration) 방법과 등전점 침전법(isoelectric point precipitation) 방법으로 처리한 결과 단백질 함량이 각각 71과 86%인 최종산물을 얻었다고 하였다.

이러한 알칼리 추출법은 단백질이 변성되거나 가수분해될 수 있다는 점과, 비단백 물질들이 단백질과 함께 알칼리 추출되어 단백질의 순도를 떨어뜨릴 수 있다는 점, 메일라드반응(Maillard reaction)이 촉진되어 어두운 색깔의 산물을 나타낼 수 있고, lysinoalanine과 같은 독성물질을 형성시킬 수 있다는 단점이 있으나 지금까지 가장 보편적으로 사용되어 온 분리방법이다.

효소에 의한 추출법은 쌀 품종, 도정 정도, 효소 반응조건에 따라 다를 수 있지만 90% 이상의 단백질 함량을 갖는 산물을 생산할 수 있다. α-amylase, glucoamylase와 pullulanase와 같이 전분을 분해하는 효소들이 단백질을 분리하기 위하여 사용되어 왔다(Shih FF & Daigle KW 2000).

고분자량을 갖는 세포벽 구성 물질들을 분리하는 cellulase, hemicellulase, pectinase, xylanase 등의 효소들이 미강으로부터 단백질을 분리할 수 있도록 하기 위해 사용되기도 하며, 여러 가지 프로테아제(protase)들을 활용하여 쌀로부터 단백질을 분리하는 방법도 시도되어 왔으나 이 경우에는 분리된 단백질들이 가수분해되어 원래의 단백질과는 다른 물리화학적 특성을 나타내었다고 보고되었다(Amagliani L 등 2017).

물리적 추출법은 화학적 또는 효소적 방법보다 식품 가공 측면에서 선호되는 추출법으로, 다른 방법들과 비교하여 더 경제적이며 산업적 측면에서 쉽게 적용할 수 있는 방법이다. 쌀로부터 단백질을 분리하기 위하여 보고된 지금까지의 방법들에는 고속블렌딩(high speed blending), 음파처리(sonication), 열수처리(hydrothermal cooking), 마이크로플루이드이션(microfluidization), 아임계 상태의 물(subcritical water)의 활용법 등이 있다. 물리적 추출법은 효소적 추출법과 병행하여 사용되었을 때 더 효과적이라고 알려져 있다(Tang S 등 2002, Hata S 등 2008, Xia N 등 2012).

#### 4. 쌀단백질을 유화제로 활용하는 데 대한 제한점

앞서 설명한 바와 같이 쌀 단백질이 저 알레르기 단백질 급원이며 항암효과 등 여러 생리활성을 나타내고 영양학적으로 가치가 높으나 산업적 활용이 제한되고 있는 것은 낮은 용해도 때문이다. 이는 글루테린이 쌀 단백질의 주된 구성 단백질로 이황화 결합에 의해 강한 응집(aggregation)을 이루고 있고, 분자간 소수성결합(hydrophobic inter-molecular interactions)으로 인해 소수성이 매우 높기 때문이다. 쌀 단백질의 용해도를 분석한 연구들에 의하면 쌀 단백질의 용해도를 pH에 따라 분석하였을 때 산성(pH<3.0)과 알칼리(pH>8.0) 용액에서 상대적으로 높았으며 등전점에 가까워질수록 용해도가 낮아졌다고 하였다. Mun S 등(2016)에 의하면 pH 2에서 쌀 단백질의 용해도가 가장 높았고 용해도는 10~25% 범위였으며 쌀의 품종에 따라 용해도에 차이가 있었다고 하였다. Romero A 등(2012)도 pH 2~10 범위에서 용해도를 분석했을 때 용해도가 25~55% 범위로 분석되었고, pH 4.5에서 가장 낮은 용해도를 나타내었다고 하였다. 산성과 알칼리 조건이 글루테린 응집의 해리를 촉진시켜 용해도를 증가시키는 것으로 보인다.

#### 5. 쌀 단백질의 유화제로서의 기능을 향상시키기 위한 방법

쌀 단백질을 식품산업에서 응용하고 활용하기 위하여 물리화학적 특성을 바꾸고자 하는 연구가 꾸준히 진행되어 왔는데, 쌀 단백질의 기능성, 특히 유화능력의 향상은

용해도의 향상과 직접적으로 연관되어 있기 때문에 시도된 여러 방법들이 용해도를 증진시키는 방법과 연결되어 있다고 할 수 있다. 단백질의 특성을 변화시킬 수 있는 방법은 크게 효소를 이용하는 방법, 화학적 처리방법, 물리적 처리방법, 첨가물질의 활용으로 나눌 수 있다.

##### 1) 효소 이용 방법

쌀 단백질과 같은 식물성 단백질의 용해도를 증가시키기 위해서는 단백질의 분자크기를 감소시킬 필요가 있고, 단백질과 단백질의 결합보다는 단백질과 물과의 결합을 증가시켜야 하기 때문에, 화학적 또는 효소적 가수분해 방법이 용해도와 유화력을 증진시키기 위한 가장 용이한 방법이라고 할 수 있다. 두 가지 방법 중에서도 특히 영양학적인 면에서의 질적 감소를 최소화하며 바람직한 최종산물을 얻기 위해서는 효소적인 가수분해가 더 바람직하다. 가장 공통적으로 사용되는 효소는 alcalase, pepsin, trypsin, papain 등이다. 효소적 분해방법에서 중요한 것은 단백질의 기능성을 향상시킬 수 있는 가수분해 정도를 파악하는 것인데, degree of hydrolysis(DH)는 가수분해 정도를 설명하는 수치로써 기능성을 향상시킬 수 있는 최적의 DH 수준을 정하는 것이 효소를 이용하는 방법에서는 가장 중요한 요인이라고 보고되고 있다(Avramenko NA 등 2013, Ghribi AM 등 2015, Jung S 등 2005, Xu X 등 2016a, Xu X 등 2016b). 가수분해에 의해 단백질의 분자량이 감소될 뿐만 아니라 이온화된 그룹(ionisable group)의 수가 증가할 수 있으며 소수성 그룹(hydrophobic groups)의 노출(exposing)이 일어날 수 있다. 효소의 가수분해에 의해 식물성 단백질들의 젤화특성, 거품발생능력, 유화력들이 향상되었다는 보고들이 꾸준히 발표되고 있다(Jung S 등 2005, Yin SW 등 2008, Avramenko NA 등 2013, Ghribi AM 등 2015).

Xu X 등(2016a)은 쌀 단백질로부터 글루테린을 분리하고 trypsin으로 가수분해하여, 가수분해정도가 글루테린의 분자량 분포, 구조, 표면 소수성(surface hydrophobicity) 및 기능성에 주는 영향을 분석하였고, 가수분해된 글루테린으로 안정화된 에멀션을 제조하여 안정성을 분석하였다. 글루테린을 효소 가수분해했을 때 가수분해율이 증가할수록 모든 pH 범위에서 용해도가 증가하였고, 등전점이 가수분해하지 않은 글루테린(pH 5)의 것보다 가수분해 후 더 산성(pH 4)쪽으로 이동된 특성을 보였다고 하였다. 이는 효소에 의해 부분적으로 분해되면서 가수분해되지 않은 원래의 글루테린 내에서 전하를 띠던 그룹의 종류와 수가 달라졌기 때문이라고 설명하였다. 지금까지 알려진 바에 의하면 쌀 단백질의 용해도가 낮은 이유는 쌀 단백질의 대부분을 차지하는 글루테린이 분자 내 또는 분자 간 이황화 결합으로 강하게 결합되어 있고, 분자 간 소수성 결합에 기인하여 응집하려는 경향이 크고 단단한

구조를 갖고 있기 때문이라고 알려져 있는데, 효소분해에 의해 이러한 이황화 결합의 정도가 감소되고, 단백질 응집이 감소됨에 따라 단백질 용해도가 증가하는 것으로 판단된다.

쌀로부터 분리한 글루텔린 외에도 옥수수 글루텔린, 보리 글루텔린, heme 단백질의 용해도가 효소에 의한 부분적 가수분해에 의해 증가하였다고 보고된 바 있다(Yin SW 등 2008, Xia Y 등 2012, Zheng XQ 등 2015). 결국 효소 가수분해에 의해 쌀 단백질 용해도가 증가할 수 있는 것은 분자량이 감소되며 분자내 펩타이드에서 unfolding이 일어나고, 불용의 큰 응집체(aggregate)로부터 작고 용해성의 응집체가 용해되기 때문인 것으로 요약해 볼 수 있겠다. 이렇듯 용해도가 증가한 글루텔린 가수분해물을 유화제로 에멀션을 제조하였을 때는 가수분해율이 2% DH인 글루텔린 가수분해물이 저장 중에도 안정하며 염과 열에도 안정한 에멀션을 제조하였다고 보고하였는데(Xu X 등 2016b), 이러한 결과는 효소 가수분해로 인해 글루텔린 단백질의 구조가 더 유동적으로 변화되었고 원래의 글루텔린에 존재하던 불용의 응집체를 용해될 수 있는 응집체로 변화시켰기 때문이라고 설명하였다. 글루텔린 가수분해물의 이차구조를 circular dichroism spectra로 분석한 결과,  $\beta$ -sheet 부분은 가수분해율이 증가할수록 감소하는데 반해,  $\alpha$ -helix와 random coil 부분은 증가하였다. 이전 보고들에 따르면  $\beta$ -sheet 구조는 상대적으로 안정한 데 반해  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -turn과 random coil은 상대적으로 유동적인 구조를 나타낸다고 한다. 그러므로 글루텔린이 효소 가수분해에 의해 이차구조가 좀 더 유동적인 구조로 변화된 것으로 보인다.

Zang X 등(2019)은 최적 수준으로 가수분해된 단백질은 용해도도 향상되고, 표면 소수성, 전하(charge characteristics), 구조의 유동성이 증가하여 유화제로서의 잠재력이 증가한다고 하였고, 또한 3%의 가수분해율을 갖는 단백질 가수분해물의 경우, 여전히 단백질의 등전점( $pI \approx 4.5$ )에서와 높은 염 농도 조건에서는 안정하지 않다고 하더라도 열 안정성이 향상된 에멀션을 제조할 수 있었다고 하였다.

단백질의 표면 소수성은 단백질의 형태(conformation)와 기능성을 좌우하는 중요한 요인이다. 단백질의 유화력에 있어서는 표면 소수성에 따라 오일과 물의 계면에 흡착되는 단백질의 양, 계면을 둘러싼 단백질 보호막의 구조, 더 나아가 에멀션이 제조된 후, 저장 중 안정성이 달라질 수 있기 때문에 단백질 기능성 향상과 관련한 중요한 요인이라고 할 수 있다. 결합하는 단백질의 가수분해율이 0~2% DH까지 증가하였을 때 단백질의 기능성이 증가하였으나, 가수분해율이 더 증가할수록 기능성이 감소하였다고 보고한 연구결과에서도 알 수 있듯이 가수분해의 어느 수준까지는 단백질이 부분적으로 unfolding되고 단백질 내부에 묻혀있던 소수성기들이 노출되면서 소

수성기가 증가하지만 어느 수준 이상의 가수분해가 일어나면 효소에 의해 소수성 부분의 분해가 일어날 수도 있어 오히려 단백질간 응집이 촉진되어 노출될 수 있는 소수성 부분이 감소될 수 있다고 하였다(Jung S 등 2005, Avramenko NA 등 2013). Ghribi AM 등(2015)도 병아리콩 분리단백질을 alcalase로 분해하여 유화력을 분석했을 때 가수분해율이 4%인 경우 유화력과 유화안정성이 증진하였다고 보고하였고, 이를 통해 유화력을 증진시킬 수 있는 정확한 가수분해율을 결정하는 것이 단백질의 효소가 수분해물 활용에서 가장 중요한 요인이 됨을 시사하였다.

## 2) 화학적 처리방법

식물성 단백질의 특성을 변화시키는 화학적 처리방법으로 지금까지 보고된 것은 인산화 반응(phosphorylation), 아마이드기 제거 반응(deamidation), 글리코실화 반응(glycosylation)이 있다. 인산화 반응은 단백질 분자 표면에 인산그룹을 삽입함으로써 음전하 양을 증가시키는 변형방법으로 단백질의 용해력과 에멀션 제조 효율을 증가시킨다고 보고되고 있다(Hu Z 등 2019). 이전 보고에 의하면 serine, threonine, tyrosine의  $-OH$  그룹, lysine의  $\epsilon-NH_2$ , histidine의 imidazole ring과 arginine의 guanidine group의 질소원자에 인산기가 선택적으로 반응하였다고 하였다. Sodium tripolyphosphate(STPP), sodium trimetaphosphate(STMP),  $POCl_3$ 가 안전한 첨가제로 인산그룹을 삽입하는데 사용될 수 있다(Sánchez-Reséndiz A 등 2018).

Hu Z 등(2019)이 미강 단백질과 STMP를 활용하여 다양한 pH 범위(3, 5, 7, 9, 11)에서  $55^\circ C$ 로 2시간 반응하여 인산화된 단백질을 제조하고 용해도와 유화력을 분석하였을 때, pH 9에서 인산화한 단백질의 용해도와 유화력이 가장 높았다고 하였다. 표면전하를 측정할 수 있는 제타전위값을 측정하였을 때 인산화하지 않은 미강 단백질의 경우  $-4.0$  mV였던 것에 반해  $-15.12$  mV(pH 3),  $-16.1$  mV(pH 5),  $-20.1$  mV(pH 7),  $-23.3$  mV(pH 9),  $-19.2$  mV(pH 11)로 인산화 정도가 증가할수록 음전하가 증가하였다고 하였다. 제타전위값은 같은 전하를 띠는 두 입자간 반발력을 알 수 있는 지표이므로 에멀션 시스템에서의 안정성과 관련이 깊다. 에멀션에서 지방입자 표면에 전하의 정도가 높을수록 두 입자간 정전기적 반발력이 증가하여 입자들끼리 응집하는 것을 방지하게 되므로 인산화 정도에 따라 음전하 정도가 달라지면 곧 에멀션의 안정성과 연결되는 것이다. 알칼리 pH에서 인산화 정도가 증가하는 것은 알칼리 pH에서 lysine이나 serine과 같은 아미노산의 아미노기와 수산기가 부분적으로 탈수소화하면서 STMP와 접촉할 수 있는 가능성이 높아지기 때문이다.

또 한 가지 식물성 단백질의 용해도와 유화력을 증진시키기 위하여 사용될 수 있는 방법이 아마이드기 제거 반응(deamidation)이다. 아마이드기(amide group)를 카복

실기(carboxyl group)로 전환시켜 음전하와 수화력을 증가시키는 처리방법으로, glutamine을 glutamic acid로 전환하여 단백질 분자간 정전기적 반발력을 증가시키고, glutamine이 응집되는 것을 막아준다. Zhao J 등(2011)도 보리 글루텔린을 아마이드기 제거 반응시켜 글루텔린의 용해도를 향상시킬 수 있었다. 그 결과로 단백질이 오일과 물의 계면으로 쉽게 확산되어 접근할 수 있었고, 단백질 표면으로 노출되어 나온 소수성 패치들이 오일 표면에 단백질이 결합하는 것을 촉진시켰으며 오일표면을 둘러싼 단백질들이 소수성 패치들이 응집되면서 에멀전을 더 안정하게 유지시켰다고 하였다. 콩, 옥수수 등과 같은 다른 식물성 단백질을 아마이드기 제거 반응 처리한 연구들에서는 단백질의 기능성을 향상시킬 수 있는 적정 아마이드기 제거 정도를 결정하는 것이 중요하며, 지나친 반응은 단백질 펩타이드의 분해를 초래하여 오일과 물의 계면에서 보호막 형성을 오히려 방해하고 에멀션의 안정성을 감소시킬 수 있다고 보고하였다(Martínez KD 등 2007, Paraman I 등 2007, Liao L 등 2010).

쌀의 글루텔린에는 glutamine, asparagine, arginine, glycine, alanine과 같은 아미노산이 풍부한데, 특히 glutamine과 asparagine의 아마이드 그룹이 글루텔린의 응집을 촉진시킨다고 하므로(Paraman I 등 2007) 아마이드기 제거 반응이 이런 측면에서 용해력을 증진시키는데 효과가 있는 것으로 판단된다.

글리코실화 반응 역시 단백질에 친수성기를 더해주게 되므로 조절된 글리코실화 반응은 단백질들의 용해도, 거품형성능, 유화력, 수분흡수력 등의 성질을 향상시키게 된다. 메일라드반응을 통한 글리코실화 반응이 가장 간단하면서 단백질의 기능성을 향상시킬 수 있는 방법이며 라이소자임, 오브알부민, 대두 단백질을 글리코실화 하여 용해도와 유화력을 향상시킨 예들이 보고된 바 있다(Achouri A 등 2005). 글리코실화된 단백질의 기능성은 메일라드 반응의 시간과 당의 종류에 따라 달라지며, Paraman I 등(2007)에서는 포도당과 산탄검의 경우, 50°C, 65% 습도에서 각각 8시간, 20시간 반응시켰을 때 단백질의 용해도와 유화력이 향상되었다고 하였다.

### 3) 물리적 변형방법

지금까지 단백질의 구조를 변형시키는 것으로 보고되는 물리적 방법은 고출력 초음파(power ultrasound)를 활용한 방법이다. 사람의 귀로 들을 수 없는 16 kHz 이상의 음파로 정의할 수 있는 초음파(ultrasound)는 화학 및 생물 분야의 연구를 위해 다양하게 이용되어져 왔다. 초음파가 물리적, 화학적 반응을 나타낼 수 있는 이유는 음향 캐비테이션(acoustic cavitation) 현상 때문이다(Hu H 등 2013, Jiang S 등 2017). 캐비테이션에 의해 유도되는 micro-, macro streaming에 의한 전단력, jet류(micro jet flow) 및

충격파(shock wave)가 단백질 응집체의 크기를 감소시키고 구조를 변화시킨다. Hu H 등(2013)은 대두 단백질을 초음파 처리했을 때 단백질의 용해도와 설프하이드릴기(free sulfhydryl) 함량, 표면 소수성이 증가하였고 단백질 분자 내 비공유(non-covalent) 결합이 감소하여 단백질의 물리적 특성이 변할 수 있음을 설명하였다. 설프하이드릴기의 양이 증가했다는 의미는 단백질의 unfolding으로 인하여 또는 단백질의 이황화 결합의 분해에 의하여 SH 그룹이 표면으로 노출되어 단백질의 형태학적 특성이 변화되었음을 시사해준다(Hu H 등 2013).

Jiang S 등(2017)은 완두콩 단백질을 다양한 범위의 pH 용액(pH 2, 4, 10, 12)에 분산시켜 초음파 처리를 시행했을 때 pH 12에서 분산시켜 초음파한 경우, 단백질의 용해도와 표면 소수성이 향상되었다고 하였다. 단백질의 유화능력은 친수성과 소수성 그룹 사이의 균형에 의존하기 때문에 표면 소수성을 변화시키며 용해도를 증가시킬 수 있는 알칼리 pH 분산 및 초음파 결합 방법은 단백질의 유화능력을 향상시킬 수 있는 방법이 될 수 있을 것으로 사료된다(Jiang S 등 2017). Yildiz G 등(2017)도 알칼리 pH에서 대두 단백질이 unfolding되어 음향 캐비테이션에 의한 물리적 힘에 의해 단백질이 구조가 더 용이하게 영향 받을 수 있었다고 보고한 바 있다.

### 4) 첨가물질의 효과

위에서 언급한 여러 효소적, 물리적, 화학적 처리 방법과 같이 단백질 자체의 구조를 변형시켜 기능성을 향상시키는 방법 이외에 다른 물질들을 첨가하여 쌀 단백질과 함께 사용함으로써 단백질의 구조와 기능성에 영향을 줄 수 있다는 연구들도 꾸준히 보고되고 있다(Shpigelman A 등 2010, Kanakis CD 등 2011, Su YR 등 2015, Li D 등 2020). 먼저 작은 분자(small biomolecule)들을 첨가하였을 때 단백질과 결합하여 단백질의 여러 특성에 영향을 줄 수 있는데, Li D 등(2020)은 차의 폴리페놀 중 하나인 카테킨(+)-catechin, CC)과 미강 단백질로 복합체를 제조하고 복합체로 안정화된 에멀션의 특성에 대하여 첨가된 CC 농도의 영향을 분석하였다. 복합체를 형성하는 경우, 형성하지 않은 미강 단백질에 비해 단백질의 2차 구조인  $\alpha$ -helix와  $\beta$ -sheet 구조의 비율은 감소하고,  $\beta$ -turn과 random coil의 비율은 증가하는 결과를 나타내었다. 이는 CC와 미강 단백질간 복합체 형성이 단백질의 2차 구조에 변화를 초래한 것으로  $\alpha$ -helix와  $\beta$ -sheet와 같은 안정한 분자구조가 좀 더 유동적인  $\beta$ -turn이나 random coil 구조로 전환되어 지면서, 단백질의 2차 구조가 느슨해지고 단백질 분자가 조금 더 유동적으로 변화됨을 시사해준다고 하였다. 또한 복합체의 표면 소수성을 분석하였을 때 복합체를 형성하지 않은 단백질과 비교하여 소수성이 증가하였는데, 이는 CC의 하이드록실기가 단백질

의 잔기들과 결합함으로써, 더 많은 소수성 그룹들이 밖으로 노출될 수 있게 하였기 때문이라고 보고하였다. 이러한 폴리페놀의 결합으로부터 야기된 단백질들의 구조적인 변화들의 결과로써 복합체가 오일과 물 사이의 계면에 더 빨리 흡착되면서 계면장력을 더 빨리 감소시키고 유화력을 향상시켰다고 설명하였다. 쌀 단백질 이외에 베타-락토글로블린, 젤라틴 단백질과 폴리페놀 물질들 간 복합체 형성이 이들 단백질 특성에 영향을 주었다는 (Shpigelman A 등 2010, Kanakis CD 등 2011, Su YR 등 2015) 연구들도 보고된 바 있다.

펙틴이나 검 아라빅과 같은 다당류들은 천연 유화제로 사용되고 있는 것들이며 이러한 다당류들이 단백질과 함께 에멀션 제조에 첨가되는 경우, 다당류의 전하, 구조, 그리고 첨가되는 농도에 따라 단백질로 안정화된 에멀션의 안정성에 영향을 줄 수 있다고 알려져 있다. 특히 단백질은 등전점 이하의 pH에서 양전하를, 등전점 이상의 pH에서는 음전하를 나타내기 때문에 반대 전하를 띠는 다당류와 복합체를 형성할 수 있다. 결국 단백질과 다당류로 안정화된 오일입자의 경우, 단백질로만 안정화된 에멀션을 불안정화시킬 수 있는 다양한 외부환경 즉 염, pH, 열처리, 냉동조건에 노출되더라도 오일입자를 안정하게 유지시킬 수 있게 된다. 다만 이러한 에멀션 안정성의 향상은 첨가된 다당류의 특성들 즉, 전하밀도(charge density), 분자량, 형태에 크게 영향을 받는다는 특징이 있다(Zang X 등 2019).

마지막 첨가물질의 효과로써 기존에 유화제로 주로 사용되고 있는 우유 단백질과 함께 쌀 단백질을 사용하는 방법이다. 앞서 설명한 바와 같이 쌀 단백질의 용해도와 유화력을 향상시키기 위하여 여러 가지 방법들이 시도되고 있기는 하나 쌀 단백질로 완전히 우유 단백질을 대체하기는 아직까지 어려워 보이는 것이 사실이다. 특히나 단백질로 안정화된 에멀션은 온도, 염과 pH 등에 의해 쉽게 영향을 받을 수 있으므로, 쌀 단백질과 우유 단백질과 함께 혼합하여 기존 유화제를 부분적으로 대체하는 방법에 대해서도 고려해볼 필요가 있다고 생각된다.

카세인소듐, 대두 단백질, 유청 단백질과 완두콩 단백질을 혼합하여 사용한 연구들이 발표된 바 있는데, 혼합시 에멀션을 물리적으로 안정화하는데 효과가 있었으며 이는 조밀한 계면층(dense interfacial layer)을 형성하였기 때문이라고 하였다. 그러나 사용되는 단백질 양에 따라 오일과 물 사이의 계면에 흡착되지 않고 depletion flocculation을 초래할 수도 있어 단백질의 농도와 계면과 bulk로의 두 단백질이 어떻게 분배되는지가 안정화를 향상시키는데 중요한 요인이 된다고 생각된다. 두 단백질이 동시에 계면에 흡착된다면 에멀션 안정성을 향상시킬 수 있지만, 두 단백질이 경쟁적인 관계로 흡착에 참여한다면 에멀션이 불안정해질 수 있다는 문제도 있다.

Hinderink EBA 등(2019)은 유청 단백질과 완두콩 단백질, 카세인소듐과 완두콩 단백질을 각각 혼합하여 에멀션을 제조하였을 때, 에멀션의 물리적 안정성이 향상되었고, 카세인소듐과 완두콩단백질로 안정화된 에멀션의 경우, 14일 저장하는 동안 에멀션이 불안정하여 쪼으나 혼합한 경우에는 안정성을 유지하였다고 하였다. 혼합액으로 에멀션을 제조하는 경우 우유 단백질과 대두 단백질이 계면에 흡착된 후 계면에 흡착되는 단백질의 구성이 변화되는 재배열이 일어난다고 하였고, 유청 단백질은 대두 단백질을 부분적으로 대체할 수 있고 대두 단백질은 카세인소듐을 대체할 수 있다고 보고하였다.

### III. 요약 및 결론

식물성 단백질 중 알레르기가 없고, 비교적 필수 아미노산 함량이 높으며 단백질 이용효율이 높은 쌀 단백질이 새로운 단백질 원료로 관심을 모으고 있다. 현재까지 쌀 단백질은 낮은 용해도로 인하여 산업적으로도 적극적으로 활용되고 있지 못하는 실정이므로 향후 개발의 가능성이 높은 단백질 소재라고도 할 수 있겠다. 특히 천연 유화제로써 쌀 단백질의 활용은 유화 형태를 취하고 있는 많은 식품들에 포함되어 있는 기존 유화제의 대체제로 활용할 수 있으며 더 나아가 기능 소재를 캡슐화하는 캡슐 소재로도 응용 가능하리라 생각되어 쌀 단백질의 용해도와 유화능을 향상시키기 위한 방법의 연구는 쌀 단백질의 활용 확대를 위하여 필요하다고 생각된다. 본 총설에서는 쌀 단백질의 용해도 및 유화능력을 향상시킬 수 있는 방안을 모색하기 위하여 기존에 보고된 여러 방법들을 고찰하였다. 쌀 단백질의 효소적, 화학적, 물리적 처리 방법에 의해 쌀 단백질의 용해도와 유화능력이 향상되었는데, 이는 사용된 변형 방법들에 의해 단백질의 2차 구조가 유동적 구조로 전환되고, 단백질 구조 내부에 존재하던 이온화될 수 있는 그룹이나 소수성기들이 외부로 노출되었을 뿐 아니라 설프하이드릴기들이 증가하고 이황화 결합이 감소하는 등의 변화들이 수반되었기 때문이다. 효소적 처리 방법에 의해서는 단백질의 분자 크기가 감소하였으며, 단백질과 폴리페놀류와 같은 첨가되는 물질 간 복합체 형성 역시 단백질 구조의 변화와 단백질의 표면 소수성의 증가 등과 같은 변화를 초래함으로써 용해도와 유화능력을 향상시킬 수 있었다. 단백질과 다당류를 함께 사용한다거나 기존 유화제로 활용되는 단백질과 쌀 단백질을 함께 사용함으로써 유화능을 향상시킬 수도 있었다. 수입에 의존하는 다른 단백질 소재와 다르게 국산화가 가능한 쌀 단백질을 연구하고 특성화하는 것은 쌀을 이용한 새로운 식품소재의 개발 및 고부가의 쌀 관련 제품의 개발 측면에서도 꼭 필요하다고 생각된다.

## Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## Acknowledgments

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT)(NRF-2018R1A2B6005003).

## References

- Achouri A, Boye JI, Yaylayan VA, Yeboah FK. 2005. Functional properties of glycosylated soy 11S glycinin. *J Food Sci* 70(4): C269-C274.
- Adebisi AP, Adebisi AO, Yamashita J, Ogawa T, Muramoto K. 2009. Purification and characterization of antioxidative peptides derived from rice bran protein hydrolysates. *Eur Food Res Technol* 228(4):553-563.
- Amagliani L, O'Regan J, Kelly AL, O'Mahony JA. 2017. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. *Trends Food Sci Technol* 64:1-12.
- Avramenko NA, Low NH, Nickerson MT. 2013. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. *Food Res Int* 51(1):162-169.
- Chanput W, Theerakulkait C, Nakai S. 2009. Antioxidative properties of partially purified barley hordein, rice bran protein fractions and their hydrolysates. *J Cereal Sci* 49(3):422-428.
- Fernandez-Avila C, Trujillo AJ. 2016. Ultra-high pressure homogenization improves oxidative stability and interfacial properties of soy protein isolate-stabilized emulsions. *Food Chem* 209:104-113.
- Ghribi AM, Gafsi IM, Sila A, Blecker C, Danthine S, Attia H, Bougateg A, Besbes S. 2015. Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate. *Food Chem* 187:322-330.
- Han SW, Chee KM, Cho SJ. 2015. Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein. *Food Chem* 172:766-769.
- Hata S, Wiboonsirikul J, Maeda A, Kimura Y, Adachi S. 2008. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. *Biochem Eng J* 40(1):44-53.
- Hinderink EBA, Münch K, Sagis L, Schroën K, Berton-Carabin CC. 2019. Synergistic stabilisation of emulsions by blends of dairy and soluble pea proteins: Contribution of the interfacial composition. *Food Hydrocoll* 97:105206.
- Hu H, Wu J, Li-Chan ECY, Zhu L, Zhang F, Xu X, Fan G, Wang L, Huang X, Pan S. 2013. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocoll* 30(2):647-655.
- Hu Z, Qiu L, Sun Y, Xiong H, Ogra Y. 2019. Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate. *Food Hydrocoll* 96:288-299.
- Jiang S, Ding J, Andradea J, Rababah TM, Almajwalc A, Abulmeatyc MM, Feng H. 2017. Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrason Sonochem* 38:835-842.
- Jung S, Murphy PA, Johnson LA. 2005. Physicochemical and functional properties of soy protein substrates modified by low levels of protease hydrolysis. *J Food Sci* 70(2):C180-C187.
- Kanakis CD, Hasni I, Bourassa P, Tarantilis PA, Polissiou MG, Tajmir-Riahi HA. 2011. Milk  $\beta$ -lactoglobulin complexes with tea polyphenols. *Food Chem* 127(3):1046-1055.
- Lee KY, Koo NS, Kim MJ, Yoon HY, Koh EM. 2014. Food science. Powerbook, Goyang, Korea. p 93.
- Li D, Zhao Y, Wang X, Tang H, Wu N, Wu F, Yu D, Elfalleh W. 2020. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet size, zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior. *Food Hydrocoll* 98:105306.
- Liao L, Liu TX, Zhao MM, Cui C, Yuan BE, Tang S, Yang F. 2010. Functional, nutritional and conformational changes from deamidation of wheat gluten with succinic acid and citric acid. *Food Chem* 123(1):123-130.
- Martínez KD, Sánchez CC, Ruíz-Henestrosa VP, Rodríguez Patino JM, Pilosof AMR. 2007. Effect of limited hydrolysis of soy protein on the interactions with polysaccharides at the air-water interface. *Food Hydrocoll* 21(5-6):813-822.
- McClements DJ. 2005. Food emulsions: Principles, practices, and techniques. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp 137-140.
- Mun S, Shin M, Kim YR. 2016. Emulsifying properties of proteins isolated from various rice cultivars. *Food Bioprocess Technol* 9(5):813-821.
- Paraman I, Hettiarachchy NS, Schaefer C. 2007. Glycosylation and deamidation of rice endosperm protein for improved solubility and emulsifying properties. *Cereal Chem* 84(6): 593-599.
- Paraman I, Hettiarachchy NS, Schaefer C. 2008. Preparation of rice endosperm protein isolate by alkali extraction. *Cereal Chem* 85(1):76-81.
- Romero A, Beaumal V, David-Briand E, Cordobes F, Guerrero A, Anton M. 2012. Interfacial and emulsifying behaviour of rice protein concentrate. *Food Hydrocoll* 29(1):1-8.
- Sánchez-Reséndiz A, Rodríguez-Barrientos S, Rodríguez-Rodríguez J, Barba-Dávila B, Serna-Saldívar SO, Chuck-Hernández C. 2018. Phosphoesterification of soybean and peanut proteins with sodium trimetaphosphate (STMP): Changes in



- structure to improve functionality for food applications. *Food Chem* 260:299-305.
- Sharif HR, Williams PA, Sharif MK, Abbas S, Majeed H, Masamba KG, Safdar W, Zhong F. 2018. Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants - A review. *Food Hydrocoll* 76:2-16.
- Shih FF, Daigle KW. 2000. Preparation and characterization of rice protein isolates. *J Am Oil Chem Soc* 77(8):885-889.
- Shpigelman A, Israeli G, Livney YD. 2010. Thermally-induced protein-poly phenol co-assemblies: Beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nano vehicles for EGCG. *Food Hydrocoll* 24(8):735-743.
- Su YR, Tsai YC, Hsu CH, Chao AC, Lin CW, Tsai ML, Mi FL. 2015. Effect of grape seed proanthocyanidin-gelatin colloidal complexes on stability and *in vitro* digestion of fish oil emulsions. *J Agric Food Chem* 63(46):10200-10208.
- Tang S, Hettiarachchy NS, Shellhammer TH. 2002. Protein extraction from heat-stabilized defatted rice bran. 1. Physical processing and enzyme treatments. *J Agric Food Chem* 50(25):7444-7448.
- Xia N, Wang JM, Gong Q, Yang XQ, Yin SW, Qi JR. 2012. Characterization and *in vitro* digestibility of rice protein prepared by enzyme-assisted microfluidization: Comparison to alkaline extraction. *J Cereal Sci* 56(2):482-489.
- Xia Y, Bamdad F, Gänzle M, Chen L. 2012. Fractionation and characterization of antioxidant peptides derived from barley glutelin by enzymatic hydrolysis. *Food Chem* 134(3):1509-1518.
- Xu X, Liu W, Liu C, Luo L, Chen J, Luo S, McClements DJ, Wu L. 2016a. Effect of limited enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of rice glutelin. *Food Hydrocoll* 61:251-260.
- Xu X, Zhong J, Chen J, Liu C, Luo L, Luo S, Wu L, McClements DJ. 2016b. Effectiveness of partially hydrolyzed rice glutelin as a food emulsifier: Comparison to whey protein. *Food Chem* 213:700-707.
- Yildiz G, Andrade J, Engeseth NE, Feng H. 2017. Functionalizing soy protein nano-aggregates with pH-shifting and manothermo-sonication. *J Colloid Interface Sci* 505:836-846.
- Yin SW, Tang CH, Cao JS, Hu EK, Wen QB, Yang XQ. 2008. Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. *Food Chem* 106(3):1004-1013.
- Zang X, Wang J, Yu G, Cheng J. 2019. Addition of anionic polysaccharides to improve the stability of rice bran protein hydrolysate-stabilized emulsions. *LWT-Food Sci Technol* 111:573-581.
- Zhai J, Day L, Aguilar MI, Wooster TJ. 2013. Protein folding at emulsion oil/water interfaces. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 18(4):257-271.
- Zhao J, Tian Z, Chen L. 2011. Effects of deamidation on aggregation and emulsifying properties of barley glutelin. *Food Chem* 128(4):1029-1036.
- Zheng XQ, Wang JT, Liu XL, Sun Y, Zheng YJ, Wang, XJ, Liu Y. 2015. Effect of hydrolysis time on the physicochemical and functional properties of corn glutelin by Protamex hydrolysis. *Food Chem* 172:407-415.

Received on Dec.18, 2019 / Revised on Feb.5, 2020 / Accepted on Feb.7, 2020