

Candida utilis 효모를 이용한 HVP 특유의 향 생성 최적화

박근형*·이재화*·김의용**· 채희정*

*호서대학교 식품생물공학 및 벤처전문대학원 첨단산업기술전공

**서울시립대학교 화학공학

e-mail:narasi97@office.hoseo.ac.kr

Optimization of HVP-flavour formation using *Candida utilis*

Keunhyoung Park*, Jaehwa Lee, Eui Yong Kim** and Hee
Jeong Chae*

*Department of Food and Biotechnology and Department of
Innovative Industrial Technology, Hoseo University, Asan
336-795, Korea

**Department of Chemical Engineering, The University of
Seoul, Seoul 130-743, Korea

요 약

본 연구에서는 분리대두단백(ISP: isolated soy protein)과 탈지대두박(DSF: defatted soy flake)을 Devolase, Flavourzyme 효소로 가수분해한 각각의 HVP를 발효 배지로 사용하여 *Candida utilis*(KCCM 50342) 효모의 ethylalcohol, 4-ethylguaiacol의 생성과 향 생성의 주요 인자인 α -galactosidase의 활성을 측정하였다. Ethylalcohol은 발효 1일째에 탈지대두박을 원료로 하고 여과후 미생물 처리한 경우에서 가장 높게 생성되었고, 4-ethylguaiacol은 일부 여과하지 않고 미생물 처리한 경우에서 낮은 농도의 생성을 보였다. α -galactosidase 효소활성은 탈지대두박 보다 ISP를 원료로 한 HVP에서 높은 활성을 보였다. 관능검사결과 탈지대두박을 사용한 HVP의 관능적 특성이 ISP를 원료로 한 HVP보다 더 우수하였다. 결과적으로 탈지대두박을 원료로 한 HVP의 향기성분 및 관능적 특성이 우수함을 확인하였다.

1. 서론

가수분해 식물성 단백질(hydrolyzed vegetable protein, HVP)은 탈지 대두박 또는 소맥 글루텐 같은 식물성 단백질에 염산을 첨가하고 고온에서 일정 시간 반응시킨 후 중화, 여과, 탈색, 탈취 공정을 통해 제조된다[1]. 이런 산분해 HVP는 탈지대두를 산으로 가수분해하여 단백질 가수분해도가 70% 이상으로 관능특성은 좋으나 산분해과정에서 바람직하지 못한 부산물이 형성되고 중화과정에서 다량의 염(salt)이 형성되는 단점이 있다. 100% 발효에 의해 만들어지는 양조 HVP는 이와 같은 불순물이 없는 대신 미생물 발효에 의한 장기간의 숙성 과정과 이

에 필요한 부대 설비를 필요로 하는 단점을 갖고 있다. 반면에, 산분해법과 발효법의 단점이 없으며 속성 제조와 안전성을 특징으로 하는 효소분해법은 식물성 단백질에 적절한 전처리 공정을 거쳐 일정 온도와 pH의 조건에서 단백질 분해효소로 처리하여 단백질을 아미노산이나 펩타이드로 분해하여 제조된다[2]. 그러나 효소분해 HVP는 기존의 산분해 HVP에 비해 다소 관능상의 열악함을 보이며 이것이 소재의 응용성을 제한하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 분리대두단백과 탈지대두박을 효소분해법을 이용하여 가수분해한 HVP에 미생물을 이용한 발효 공정을 도입하여 향을 부여

함으로써 일반 HVP가 갖고 있는 관능상의 단점을 보완하고 속성 HVP의 발향공정을 개발하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 사용균주

본 실험에 사용한 미생물은 한국중균협회에서 분양 받은 *Candida utilis*(KCCM 50342) 효모를 사용하였다.

2.2 단백질 원료 및 재료

단백질 원료로는 분리대두단백(ISP, 에드바이오틱(주) protein-90.2%)과 탈지대두박(DSF, 제일제당(주) protein-44.7%)을 사용하였으며, 단백질 분해효소로는 Novo사(#HP2 02010, Novo Nordisk A/S 2880 Bagsvaerd, Denmark)의 Flavourzyme 500LAPU/g와 비진바이오켐(주)의 Devolase(DSM Food specialites)를 사용하였다.

2.3 효소분해액의 제조 및 발효 조건

원료인 단백질 가수분해물(HVP)은 임 등[3]의 방법을 변형하여 제조하였다. 분리대두단백과 곱게 분쇄한 탈지대두박을 증류수에 각각 5% 농도로 첨가 후 30℃ 정도에서 교반하고 Autoclave(121℃, 15min)로 멸균한 다음 sodium carbonate를 첨가하여 pH를 7.0 정도로 조절하였다.

첨가된 고형분의 단백질 함량(w/w%)을 기준으로 Flavourzyme 500LAPU/g 2.5%와 Devolase 0.15%를 첨가하고 55℃에서 8시간 동안 가수분해 한 후 100℃에서 20분간 열처리하여 효소를 실행시켰다.

분리대두단백, 탈지대두박의 효소분해액을 여과한 경우와 여과하지 않은 군으로 구별하고 각각 NaCl을 0, 2, 5, 7%를 첨가하여 배지를 제조하였다. 여기에 HVP 특유의 향 생성능이 우수한 균주 *Candida utilis*(KCCM 50342) 효모를 접종하여 30℃에서 7일간 배양하였다[4].

2.4 Ethylalcohol, 4-ethylguaiacol 정량

배양액 5ml씩을 취하여, NaCl 1g, ethylacetate(초산에틸) 2ml를 가하여 10분간 진탕 추출한 후 3200rpm 10(600sec)분간 원심분리하였다. 분리된 초산에틸층만을 3회 반복하여 분취한 후 GC(Gas Chromatography, Agilent 6890N)를 이용하여

ethylalcohol, 4-ethylguaiacol을 내표준법으로 정량 분석하였다[5]. 내표준 물질로는 cyclohexanol을 사용하였다.

2.5 α-galactosidase활성 측정

각각의 배양액 5ml를 취하여 15ml tube에 넣고 원심분리(3200rpm 20분)한 후 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 조효소액 0.1ml과 10mM PNPG를 포함한 0.2M 인산완충액(pH 7.0) 0.1ml 혼합하여 교반한 후 40℃ 수욕조(water bath)에서 10분간 반응시켰다. 반응액에 0.5M Na₂CO₃용액 1ml를 첨가하여 반응을 정지시키고 p-nitrophenol의 양을 400nm에서 흡광도를 측정하였다[6]. (효소 활성 1단위=p-nitrophenol를 1 μmole를 생성하는 효소의 양)

2.6 관능검사

선발된 10명의 패널원을 대상으로 하여 ISP-HVP, DSF-HVP와 시판되는 양조간장(샘표 양조간장)으로 실시하였으며, 평가항목은 냄새(ordor), 단맛(sweet), 쓴맛, 감칠맛 이었다. 모든 관능적 특성은 최저 1점, 최고 5점으로 5점 척도법을 이용하여 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3. Ethylalcohol, 4-ethylguaiacol 정량

HVP의 특유의 향으로써 ethylalcohol과 4-ethylguaiacol의 생성이 우수하다고 알려진 *Candida utilis* (KCC M 50342)를 ISP-HVP와 DSF-HVP에 각각 접종하여 GC로 향기물질을 분석하였다.

ethylalcohol은 발효 2일째 가장높게 생성되었고 그 이후로 급격히 감소하는 경향을 보였다. 이는 HVP에 단백질원료 외에 다른 영양성분들을 첨가하지 않았기 때문에 미생물이 생성된 ethylalcohol을 영양소로 사용하였다고 판단된다. Table 1.에서 보는 바와 같이 ISP-HVP와 DSF-HVP를 여과한 가수분해액에서의 ethylalcohol은 여과하지 않은 군보다 더 높은 생성을 보였다.

원료에 따른 ethylalcohol 분석에서는 ISP보다 DSF를 원료로 사용한 HVP에서 더 높은 생성을 나타내었다. 또한, NaCl이 ethylalcohol의 생성에 미치는 영향을 분석한 결과, 0, 2, 5% 첨가한 군에서는 많이 생성되었지만, 7% 첨가한 군에서는 가장 낮은 생성을 보였다.

4-ethylguaiaicol은 4일째 ISP-HVP에서 일부 생성되고 있고 대부분의 배지에서 생성되지 않았다.

결과적으로 2일째 여과한 DSF-HVP의 ethylalcohol 생성능이 가장 높다는 결과를 얻었다. 이는 ISP의 단백질 함량(90.2%)이 DSF의 단백질 함량(44.2%) 보다 높기 때문에 미생물이 이용할수 있는 영양분이 거의 없고 단백질만이 영양분으로 사용되었기 때문이라고 판단된다.

Table 1. Ethylalcohol production by *Candida utilis* using HVP.

ISP-HVP(mg/L)			DSF-HVP(mg/L)	
NaCl	Filtration	Not Filtration	Filtration	Not Filtration
0%	562	564	971	766
2%	501	590	934	825
5%	512	607	1029	764
7%	133	171	641	213

3.2 α-galactosidase활성 측정

각각의 배양액에서 대두의 주된 당류인 sucrose, raffinose 및 stachyose등의 당류를 분해하는 α-galactosidase활성을 조사하였다. 그 결과, 대부분의 배지에서 발효 6일째 효소활성이 높게 나왔고 ISP-HVP가 DSF-HVP보다 효소활성이 높은 경향을 보였다. Table 2에서 HVP에 NaCl이 첨가되지 않은 경우, 여과에 상관없이 가장 높은 활성을 나타내었고, NaCl 2, 5, 7%가 첨가된 HVP에서는 여과하지않은 가수분해액에서 높은 활성을 보였다. 따라서, α-galactosidase활성은 HVP의 여과 여부와 NaCl첨가량과의 높은 상관관계가 있음을 확인하였다.

Table 2. α-galactosidase activity by *Candida utilis* using HVP.

ISP-HVP(unit)		DSF-HVP(unit)	
---------------	--	---------------	--

NaCl	Filtration	Not Filtration	Filtration	Not Filtration
0%	20.7	20.1	14.3	15.9
2%	16.1	14.2	16.4	16.8
5%	7.4	11.6	6.1	13.4
7%	7.3	10.7	12.3	15.7

3.3 효소분해간장의 관능검사

Table 3에서 선발된 10명의 패널원을 대상으로 하여 7%의 NaCl이 첨가된 ISP-HVP, DSF-HVP와 양조간장을 나눠주고 5점 척도법으로 관능검사를 실시하였다. 쓴맛에서는 여과하지않은 ISP-HVP가 높은 점수를, 단맛과 향에서는 여과한 DSF-HVP가 가장 높은 점수를 나타내었고, 감칠맛에서는 여과한 ISP-HVP와 DSF-HVP가 가장 높은 점수를 나타내었다. 결과적으로 여과한 DSF-HVP가 가장 우수한 관능적 특성을 나타냈다.

본 실험에서의 HVP는 양조간장의 관능평가보다 낮았지만 마이러드반응과 조미과정을 가미할 경우 더높은 관능적 특성을 나타낼 것으로 기대된다.

Table 3. Sensory evaluation of enzymatically hydrolyzed soy sauces.

	ISP-HVP		DSF-HVP	
	Filtration	Not Filtration	Filtration	Not Filtration
swetness	2.36	2.09	2.64	2.55
bitterness	2.82	3.09	2.60	2.55
savory taste	2.90	2.45	2.90	2.36
flavour	2.45	2.09	3.18	2.73
overall acceptance	2.63	2.40	2.83	2.55

4. 참고문헌

- [1] 고정삼 (1994), 식품가공학, 광일문화사, 서울 p.175.
- [2] pommer, K (1995), New proteolytic enzymes for the production of savory ingredients, *Cereal Foods World*. 40, 745.
- [3] 임철, 박완수, 조윤제, 채희정, 김민홍 (1996), 식물단백질의 효소가수분해물을 함유하는 고품미, 고단백 조미료 조성물, 한국 공개특허 96-16754호.
- [4] 류병호, 조경자, 채영주, 진성현 (1993), 고정화된 *Zygosaccharomyces rouxii* BH-90과 *Candida versatilis* BH-91를 이용한 Column형 reactor에서 간장의 연속적 숙성발효, *Kor J Appl Microbiol Biotechnol*. 21, 336-372.
- [5] Yokosuka T, Sasaki M, Nunomura N, Asao Y (1980) Aroma of soy sauce, *J Brew Soc Japan*. 75, 717-728.
- [6] 정수현, 이호, 서형주 (1997), 순물의 *Lactobacillus acidophilus* 배지로서의 이용 및 생육균주의 내산성과 내담즙산성, 한국식품영양과학회지. 26, 872-877.