

豆乳의 품질향상을 위한 酵素劑 처리의 효과

兪靜善 · 李瑞來

이화여자대학교 식품영양학과

Efficacy of Enzyme Treatment for the Quality Improvement of Soymilk

Jeong-Seon Yoo and Su-Rae Lee

Department of Food & Nutrition, Ewha Woman's University, Seoul

Abstract

This study was undertaken to investigate for the possible use of enzymes with α -galactosidase and protease activities to remove flatulence factors as well as to improve the yield and protein digestibility in soymilk preparation. The volume and protein yield were not increased significantly by enzyme treatment. The solids yield increased by raising treatment pH 6 to 10, the temperature 30°C to 60°C. Enzyme treatment brought about a remarkable increase in TCA-soluble nitrogen compounds and a decrease in the contents of flatulence factors raffinose and stachyose. Key words: soymilk, enzyme treatment, quality improvement

서 론

최근 세계 여러나라에서는 豆乳(soymilk)를 비롯한 大豆食品의 소비가 크게 증가하고 있다. 특히 豆유는 豆유를 섭취할 수 없는 lactose intolerance의 幼兒나 기호성, 경제성 또는 동물성 식품의 과다섭취 등으로 인하여 豆유를 기피하는 成人들에게 豆유 대용품으로 애용되고 있다. 이때 豆유에서 영양阻害因子나 가스發生因子를 제거하고 나아가 豆유의 收率과 消化率도 향상시킬 수 있는 방법이 있다면 매우 바람직한 일이다.

豆유중의 가스발생인자를 제거하기 위한 방법에는 豆유의 發芽과정을 이용하는 방법⁽¹⁾과 ultrafiltration을 이용하는 방법⁽²⁾외에 豆유 제조중에 효소제를 처리하여 galactose-containing oligosaccharide를 제거하는 방법이 알려져 있다. 이에 저자들은 장내 가스발생인자의 함량분석 및 분해효소인 α -galactosidase에 대한 연구를 수행하여 왔으며 그 결과를 이미 보고한 바 있다⁽³⁻⁵⁾.

본 연구는 국내에서 시판되는 酵素劑를 豆유 제조시에 複合적으로 처리하여 장내 가스발생인자의 제거효과를

조사하는 동시에 豆유 수율 및 단백질의 소화율에 미치는 영향을 알아보고자 시도하였으며 이에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

실험재료

豆유 제조에 사용한 대두는 서울시 서대문구 신촌시장에서 구입하였다. 효소제는 태평양화학공업주식회사에서 생산되는 2종의 효소제제로 protease 제제 (136 units/g; one unit of protease activity was the amount of enzyme which liberated 1 micromole of tyrosine from casein per minute)⁽⁶⁾와 α -galactosidase의 역가를 갖는 pectinase 제제 (237 units/g; one unit of α -galactosidase activity was the amount of enzyme which hydrolyzed 1 micromole of p-nitrophenyl- α -D-galactoside per minute)⁽⁴⁾를 사용하였다.

豆유 제조방법

대두를 하룻밤 동안 상온에서 침지시킨 다음 체에 발혀 물기를 제거하고 폴리에틸렌 봉지에 넣어 냉장고에 보관

Corresponding author: Su-Rae Lee, Department of Food & Nutrition, Ewha Woman's University, Soodaemun-gu, Seoul 120-750

하였다. 분 콩 50g(마른콩 20g에 해당)에 50ml의 증류수를 넣고 homogenizer(대림 산업 MODEL-ST-HGC)로 5분간 마쇄한 후 100ml의 증류수를 더 하였으며 정해진 반응온도에서 효소제를 첨가하였다.

효소제는 효소제의 농도 실험 이외의 경우 대두무게(풍건물 기준)의 4%에 해당하는 양을 10ml의 증류수에 분산시킨 후 3800 rpm에서 20분간 원심분리시킨 상정액을 사용하였다. 효소처리가 끝난 후 끓는 물에서 10분간 증탕하여 효소반응을 정지시키고 냉수에 담그어 식힌 후 4분간 homogenizer로 균질화 시켰다. 이것을 고운 체로 거른 다음 20ml의 증류수로 2회에 걸쳐 씻어내린 여과액을 모두 합쳐 두유로 사용하였다.

효소제의 혼합비율과 사용농도

Protease 제제와 pectinase 제제를 각각 다른 비율로 섞은 효소제를 10ml의 증류수에 분산시켜 원심분리한 후 반응액에 넣고 50°C에서 60분간 incubation 시키고 끓는 물에서 10분간 증탕하여 효소반응을 정지시킨 후 두유를 제조하여 분석하였다.

효소제의 농도효과를 보기 위해서는 protease 제제와 pectinase 제제를 6:4로 섞은 것을 대두에 대해 각각 0%, 2%, 4%, 8%(풍건물 기준)수준으로 넣어 실험을 행하였다.

효소제의 반응조건

반응 pH의 영향을 보기 위해서 증류수와 함께 마쇄한 대두를 50°C에서 30분간 온도평형시킨 후 4N NaOH나 6N HCl 용액으로 pH 4~10의 범위로 조절하여 50°C에서 60분간 반응시켰다.

효소제의 처리온도를 보기 위해선 30°C, 40°C, 50°C, 60°C에서 각각 60분씩 반응시켰고 효소제의 처리시간을 보기 위해서는 50°C에서 각각 0분, 30분, 60분, 120분씩 반응시켰으며 이때 pH는 조절하지 않았다.

두유의 분석법

생산량 및 고형분: 두유의 생산량은 부피로 비교하였으며 고형분은 두유를 증류수로 250배 희석한 후 Spectrophotometer(Spectronic 21, Bausch & Lomb Co.)를 이용하여 40nm에서의 흡광도를 읽었다⁷⁾. 그리고 고형분이 6.6%인 두유를 일정한 비율로 희석하여 작성한 표준곡선으로부터 시료의 고형분을 계산하였다. 희석한 두유의 고형분이 60mg/100g의 농도범위에서는 400nm에서의 흡광도와 고형분간에 비례관계

가 성립되었다.

조 단백질과 가용성 질소화합물: 조 단백질 함량은 Micro-Kjeldahl 법(AOAC)에 의해 측정된 질소함량에 6.25를 곱하여 산출하였다. 가용성 질소화합물의 함량은 10ml의 두유에 10% trichloro acetic acid(TCA) 10ml를 가하여 3800rpm에서 20분간 원심분리시킨 후 상정액을 취하여 Microkjeldahl 법으로 질소함량을 측정하고 6.25를 곱하여 산출하였다. 이 방법으로 산출된 TCA-soluble nitrogen compounds(이하 가용성 질소화합물로 지칭)에는 아미노산 및 저급 peptide가 포함되는 것으로 판단된다.

가스발생인자: 前報³⁾에서와 같이 Sugimoto 등⁸⁾의 방법으로 시료를 제조한 후 Tanaka 등⁹⁾의 방법에 따른 TLC를 실시하여 분석하였다

통계분석

두유의 용량, 단백질 수율과 고형분의 양에 대한 결과는 각 실험군당 평균치와 표준편차를 구하였고 $\alpha=0.05$ 수준에서 Tukey's multiple range test에 의하여 각 실험군당 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

효소제의 혼합비율에 따른 처리효과

두유의 가스발생인자를 제거하기 위하여 α -galactosidase의 역가가 높은 pectinase 제제와 두유제조시 단백질의 수율과 분해를 증가시키기 위한 protease 제제의 적당한 혼합비율을 설정하기 위해 실험한 결과는 다음과 같다.

Table 1에서 보면 protease 제제의 비율이 감소할수록 두유 생산량이 약간 증가하는 경향을 보이나 그 차이는 5% 이내의 수준에 머물렀으며 단백질의 수율은 효소제를 처리하지 않은 대조군에 비해 8~17%가량 증가하는 것으로 나타났다.

특히 protease 제제와 pectinase 제제를 6:4의 비율로 혼합하여 처리한 시료의 단백질 수율이 높게 나타난 것은 pectinase 제제에 존재하는 hemicellulase 활성에 의해 대두내의 hemicellulose가 분해되어 단백질 입자가 잘 분리되고 protease 제제의 작용에 의해 단백질 분자가 파괴되어 추출이 용이해졌기 때문인 것으로 보인다.

Table 1. Effect of protease : pectinase ratio on the extraction yields in soymilk preparation

Protease:pectinase	Volume of soymilk* (ml)	Solids yield* (g)	Protein yield* (g)	(per 100g soaked bean)	
				TCA-soluble N	Total N (%)
0 : 0	362 ± 9 NS	16.6 ± 0.7 NS	10.9 ± 0.6 ^a		7.9
10 : 0	373 ± 4 NS	17.6 ± 3.0 NS	11.2 ± 1.0 ^a		22.9
6 : 4	376 ± 12 NS	16.2 ± 2.8 NS	12.8 ± 1.5 ^b		25.2
4 : 6	371 ± 15 NS	15.6 ± 2.2 NS	11.9 ± 0.3 ^{ab}		22.9
0 : 10	376 ± 14 NS	18.8 ± 1.9 NS	12.1 ± 0.3 ^{ab}		12.4

* Mean ± S.D. of triplicate runs. Values followed by different letters in the same column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's test. NS means not significantly different. These apply equally to Tables 2-5

추출된 단백질의 형태를 보면 대조군에 비해 효소제를 처리한 시료들의 총 단백질 중에서 가용성 질소화합물이 차지하는 비율이 크게 증가함을 볼 수 있는데 이 결과에서도 protease : pectinase 제제를 6 : 4의 비율로 혼합한 것이 가장 효과가 큰 것으로 나타났다.

효소제의 혼합비율에 따른 flatulence factor의 함량 변화를 보면 Fig. 1과 같다. 그림에서 보면 pectinase(α -galactosidase)제제의 비율이 증가함에 따라 stachyose의 함량은 급격히 감소하여서 pectinase 제제만으로 처리한 경우 대조군에 비해 약 90%가 분해된 것으로 나타났다.

한편 raffinose는 stachyose보다는 감소폭이 완만하고 pectinase 제제로만 처리한 경우 오히려 약간 증가하는 경향을 보이는데 이것은 stachyose에서 galactose 한 분자가 분리되어 raffinose가 되기 때문인 것으로 보인다. 실제로 대두나 두유중에는 stachyose가 raffinose보다 더 많이 존재하며 가스발생에 더 크게 관여하므로 stachyose의 급격한 감소는 매우 바람직한 것으로 생각된다.

효소제의 농도에 따른 처리효과

두유제조시 효소제의 적정 사용량을 설정하기 위하여 효소제의 농도를 달리하여 실험한 결과는 Table 2와 같다. 두유의 생산량은 효소제의 농도가 증가해도 크게 변화되지 않았다. 고품분의 양은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 효소제의 농도가 증가함에 따라 약간 증가하는 경향을 나타냈는데 이는 대두중의 단백질과 탄수화물 성분이 효소작용을 받아 작은 입자로 분해되어 여과가 용이해졌기 때문인 것으로 생각된다.

효소제의 농도를 달리하여 처리한 두유의 단백질을 보

면 효소제의 농도가 증가해도 총 단백질의 함량은 크게 증가하지 않는 것으로 나타났으나, 가용성 질소화합물의 비율은 효소제를 처리하지 않은 시료에 비해 5배 이상 증가하였다. 그 증가하는 경향이 효소제의 농도 4%이상에서는 완만한 경향을 보였으므로 본 실험에서는 효소제의 처리농도를 건조대두 무게의 4%로 정하여 다음 실험을 계속하였다.

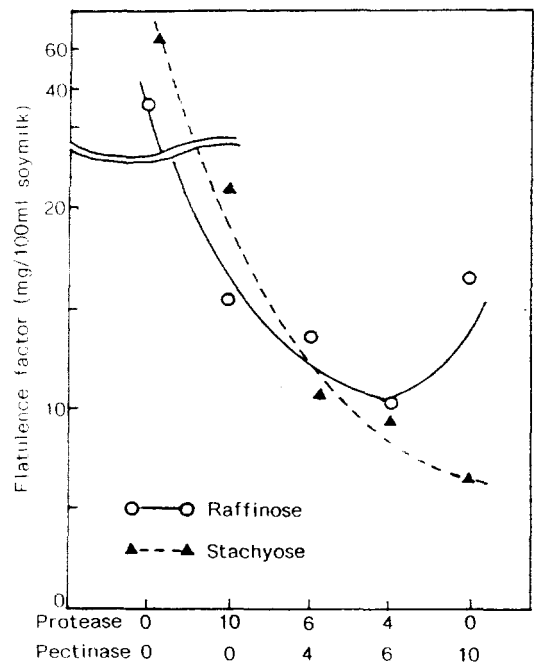


Fig. 1. Effect of protease : pectinase ratio on the flatulence factor in soymilk preparation.

Table 2. Effect of enzyme concentration on the extraction yields in soymilk preparation

(per 100g soaked bean)

Enzyme concentration (% on air-dry beans)	Volume of soymilk* (ml)	Solids yield* (g)	Protein yield* (g)	TCA-soluble N Total N (%)
0	377 ± 6 NS	14.2 ± 6.9 NS	11.6 ± 0.9 a	5.7
2	376 ± 12 NS	18.1 ± 3.3 NS	11.7 ± 0.2 a	21.6
4	392 ± 9 NS	18.5 ± 4.6 NS	12.5 ± 0.3 ^{ab}	25.3
8	387 ± 4 NS	18.1 ± 1.1 NS	12.8 ± 0.4 b	28.2

* See footnote in Table 1.

pH의 영향

두유 자체의 pH는 6.35~6.45였다. 여기에 산이나 알칼리용액을 첨가하여 pH를 조절한 후 효소제를 처리한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 pH 4~10사이에서 두유 생산량은 별 변화가 없는 것으로 나타났고 pH 4에서 효소제를 처리한 경우 단백질 수율이 다른 것에 비해 적게 나타났다. 이것은 대두 단백질의 등전점이 pH 4 부근으로 단백질의 용해도가 최소로 되기 때문으로 생각된다.

반면 pH 6에서 pH 10으로 될 수록 단백질 수율이 증가하고 고형분의 양도 증가하는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 알칼리조건에서 대두단백질의 용해도가 높아지기 때문으로 생각된다. 가용성 질소화합물의 비율은 pH 8이상에서 증가하는 것으로 나타났는데 이는 효소제 중의 protease 역가가 pH 8이상에서 높기 때문인 것으로 보인다.

pH에 따른 두유중의 가스발생인자의 함량을 보면 Fig. 2와 같이 단백질의 경우와는 반대로 pH 10에서 pH 4로 감소할 수록 raffinose와 stachyose가 크게 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 raffinose와 stachyose를 분해하는 α-galactosidase의 최적 pH가

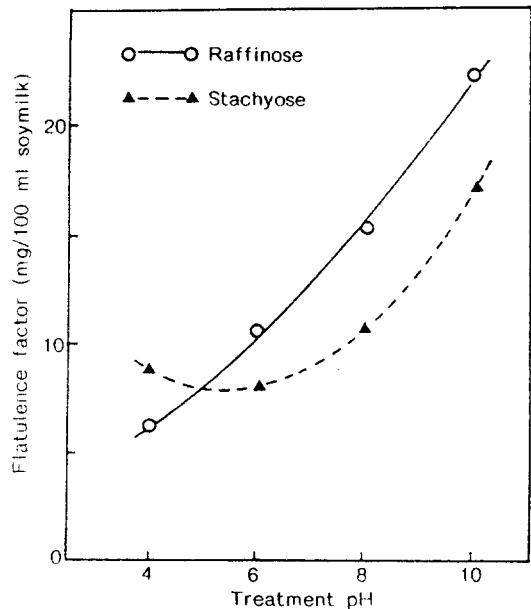


Fig. 2. Effect of pH on the flatulence factor in soymilk preparation.

Table 3. Effect of pH on the extraction yields in soymilk preparation

(per 100g soaked bean)

Treatment pH	Volume of soymilk* (ml)	Solids yield* (g)	Protein yield* (g)	TCA-soluble N Total N (%)
4	376 ± 14 NS	11.8 ± 2.8 a	10.6 ± 0.8 a	20.2
6	379 ± 1 NS	14.4 ± 0.4 a	12.1 ± 0.3 b	20.9
8	382 ± 14 NS	27.0 ± 1.1 b	12.0 ± 0.1 b	26.6
10	383 ± 1 NS	28.5 ± 1.1 b	12.5 ± 0.1 b	25.5

* See footnote in Table 1

4.5이기 때문이며⁽⁴⁾ pH 6, 8, 10의 경우 raffinose 함량이 stachyose 함량보다 많은 것으로 나타난 것은 stachyose가 raffinose보다 먼저 분해된 결과로 생각된다.

결국 두유의 pH를 알칼리성으로 조절하여 효소제를 처리하면 고형분의 양과 단백질 수율 그리고 가용성 질소화합물의 비율이 증가되고 두유 자체도 분산이 잘 되어 바람직하나 가스발생인자의 제거에는 산성 pH가 더 적당하므로 목적에 따라 적당한 pH로 조절하여 처리할 필요가 있을 것이다.

반응온도의 영향

두유제조시 효소처리 온도의 영향을 보기 위하여 protease와 pectinase 제제를 6:4로 혼합하여 대두의 14%농도로 사용하여 실험한 결과는 Table 4와 같다. 온도가 증가해도 두유의 생산량이나 단백질 수율에는 변화가 없는 것으로 나타났다. 그러나 고형분의 양은 온도가 증가함에 따라 증가하는 것으로 나타났는데 이는 protease와 pectinase 제제의 작용 최적온도가 50°C 부근이기 때문으로 보인다.

가용성 질소화합물의 비율은 온도가 30°C에서 40°C, 50°C로 증가함에 따라 약간 증가하고 60°C에서는 감소하는 결과를 보였다. 이는 효소제중 protease 활성의 영향에 따라 나타난 것으로 60°C에서는 효소가 불활성화되었기 때문으로 생각된다.

효소제의 처리온도에 따른 raffinose와 stachyose 함량의 변화는 Fig. 3과 같이 온도가 증가함에 따라 그 함량이 감소하는데 이는 pectinase 제제의 α -galactosidase역가가 40~50°C에서 가장 크기 때문으로 생각된다.

정등⁽⁴⁾에 의하면, α -galactosidase가 50°C 이상의 온도에서는 활성이 급격히 감소하는 것으로 알려졌는데,

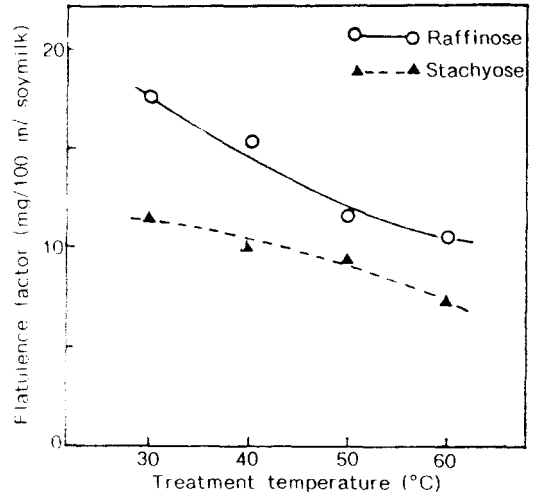


Fig. 3. Effect of treatment temperature on the flatulence factor in soymilk preparation.

본 실험의 결과 60°C에서도 raffinose와 stachyose의 함량이 많이 감소하는 것으로 나타난 것은 기질이 천연의 상태이고 protease 제제내의 α -galactosidase(bacterial)가 작용했을 가능성등 복합요인에 의한 결과로 생각된다.

반응시간의 영향

효소제의 처리시간에 따라 두유의 생산량은 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 단백질의 수율도 효소제 처리시간이 길어짐에 따라 약 8% 정도가 증가하는 것으로 나타났다. 두유중 가용성 질소화합물의 비율은 대조군에서 15%인데 비하여 30분, 60분, 120분의 효소제 처리에 따라 각각 22%, 25%, 26%로 증가하는 것을 볼 수

Table 4. Effect of treatment temperature on the extraction yields in soymilk preparation

(per 100g soaked bean)

Treatment temperature (°C)	Volume of soymilk* (ml)	Solids yield* (g)	Protein yield* (g)	TCA-soluble N Total N (%)
30	386 ± 7 NS	17.9 ± 0.4 a	12.2 ± 0.4 NS	20.0
40	384 ± 6 NS	19.8 ± 0.2 b	12.1 ± 0.4 NS	22.2
50	389 ± 4 NS	22.6 ± 0.3 c	12.5 ± 0.2 NS	24.0
60	387 ± 1 NS	22.3 ± 0.6 c	12.6 ± 0.4 NS	16.7

* See footnote in Table 1

Table 5. Effect of treatment time on the extraction yields in soymilk preparation

(per 100g soaked bean)

Treatment time (min.)	Volume of soymilk* (ml)	Solids yield* (g)	Protein yield* (g)	TCA-soluble N / Total N (%)
0	377 ± 4 ^a	22.7 ± 5.7 ^{NS}	11.4 ± 0.6 ^a	15.7
30	391 ± 1 ^c	18.4 ± 1.0 ^{NS}	12.4 ± 0.3 ^a	22.1
60	390 ± 2 ^c	16.9 ± 0.5 ^{NS}	12.3 ± 0.2 ^b	25.0
120	383 ± 4 ^b	16.7 ± 1.7 ^{NS}	12.4 ± 0.4 ^b	26.4

* See footnote in Table 1

있었다.

효소제의 처리시간에 따른 두유중 raffinose와 stachyose의 함량은 Fig. 4와 같이 효소제 처리시간이 30분이 되기까지는 대조군에 비해 오히려 증가하는 경향을 보이다가 30분 이후부터 차츰 감소하는 것으로 나타났다. Raffinose의 함량이 처리시간 60분까지 증가하는 것으로 나타난 것은 stachyose의 분해에 따라 raffinose의 양이 증가하였기 때문으로 보이며 시간이 더욱 경과할수록 raffinose도 stachyose와 함께 분해되어 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 본 실험의 결과 대조군(효소제

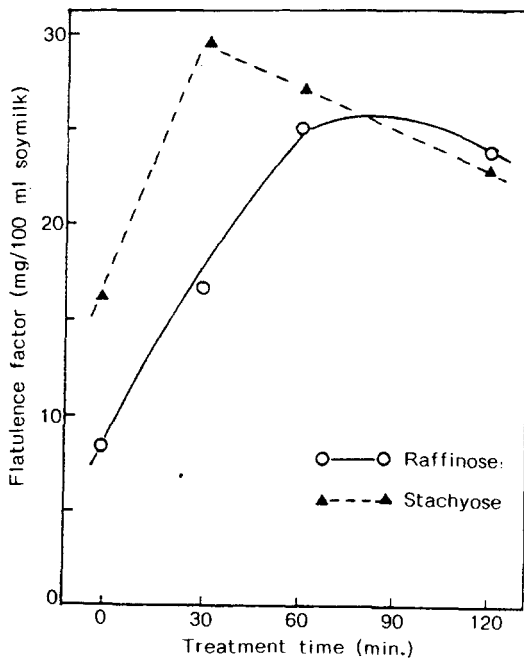


Fig. 4. Effect of treatment time on the flatulence factor in soymilk preparation.

리시간 0분)에 비해 30분간 효소제를 처리한 경우 raffinose와 stachyose의 함량이 증가하는 것으로 나타난 것은 고형분의 양과 비교해 볼 때 흥미로운 결과이며 이러한 결과에 대한 정확한 원인규명을 위해서는 단일한 효소제를 이용하거나 효소처리 시간을 더 길게 하는 등 실험조건을 달리하여 실험해 보아야 될 것으로 생각된다.

위의 결과들을 종합해 볼 때, 두유 제조시 적당한 농도의 효소제를 처리함으로써 두유의 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 생각되며, 가스발생인자의 제거효과와 소화율의 향상을 위해 50°C 정도의 온도에서 60~120분 정도의 효소처리가 효과적인 것으로 생각되며 이때 pH는 조절하지 않아도 될 것이다.

본 실험의 결과 두유의 생산량과 단백질 수율, 고형분의 양 등에서는 효소제의 처리효과가 크게 나타나지 않았으나 두유의 제조방법을 개선한다면 더 좋은 결과가 얻어질 수 있을 것으로 예상된다.

요 약

α -galactosidase 및 protease 활성을 가지는 효소제제를 豆乳 제조시에 처리하여 腸內 가스발생인자 (flatulence factor)를 제거하는 동시에 두유의 收率과 消化率을 향상시키고자 실험한 결과는 다음과 같다.

두유의 생산량 및 단백질 수율은 酵素劑 처리에 의하여 증가하지 않았다. 두유중 고형분의 양은 pH 6에서 pH 10으로 높아질수록, 효소제 처리온도가 30°C에서 60°C로 높아질수록 증가하였다. 두유중 TCA 가용성 질소화합물의 비율은 효소제의 농도가 높을수록, pH 4에서 pH 10으로 증가할수록, 처리시간이 길어질수록 증가하였고 처리온도 50°C까지 증가하는 경향을 보였다. 장내 가스발생인자로 알려진 raffinose와 stachyose의 함량도 효소제의 농도가 증가할수록, 처리온도가 30°C에서

60°C로 증가함에 따라 많이 감소하였으며 최적 pH는 4-5사이였다.

문헌

1. 김우정 : 콩우유 품질향상에 관한 연구, 食品科學 17(2), 4(1984)
2. Omosaiye, O., Cheryan, M. and Mathews, M.E. : Removal of oligosaccharides from soybean water extracts by ultrafiltration. *J. Food Sci.*, 43, 354(1978)
3. 배지현, 이서래 : Quantitative determination of flatulence factors in legume seeds and soy products. 한국식품과학회지, 19, 387(1987)
4. 정상수, 이서래 : 대두의 flatulence factor 제거를 위한 α -galactosidase 효소제의 특성, 한국식품과학회지, 18, 450(1986)
5. 전향숙, 이서래 : Production and enzymatic charac-

- teristics of α -galactosidase from *Aspergillus niger*. 한국식품과학회지, 20, 79(1988)
6. 이경숙, 이서래 : 과일 채소중 식이섬유의 분석법 검토 및 함량분석, 한국식품과학회지, 19, 317(1987)
7. Johnson, K.W. and Snyder, H.E. : Soymilk; a comparison of processing methods on yields and composition. *J. Food Sci.*, 43, 349(1978)
8. Sugimoto, H. and Van Bruen, J.P. : Removal of oligosaccharides from soy milk by an enzyme from *Aspergillus saitoi*. *J. Food Sci.*, 35, 655(1970)
9. Tanaka, M., Thananunkul, D., Lee, T.C. and Chichester, C.O. : A simplified method for the quantitative determination of sucrose, raffinose and stachyose in legume seeds. *J. Food Sci.*, 40, 1078(1975)

(1988년 3월 11일 접수)