

豆乳의 단백질분해효소 처리가 젖산균의 酸生成과 대두요구르트의 품질에 미치는 영향

김경희 · 방일령 · 고영태

덕성여자대학교 식품영양학과

Effects of Protease Treatment of Soy Milk on Acid Production by Lactic Acid Bacteria and Quality of Soy Yogurt

Kyung-Hee Kim, Il-Ryung Bang and Young-Tae Ko

Department of Foods & Nutrition, Duksung Women's University, Seoul

Abstract

The soy milk prepared from soy protein concentrate was treated with protease of various concentrations. Growth and acid production by *Lactobacillus acidophilus* or *L. bulgaricus* in soy milk containing partially hydrolyzed protein were investigated. Sensory evaluation of soy yogurt beverages prepared from protease treated soy milk was also performed. The treatment of soy milk with protease markedly enhanced acid production by lactic acid bacteria, particularly by *L. acidophilus*, whereas pH and number of viable cells were not affected by protease treatment. Protease treatment of 15 minutes greatly enhanced acid production by lactic acid bacteria, but further treatment up to three hours did not affect the acidity markedly. The sensory evaluation showed that overall acceptability of soy yogurt beverages was slightly improved when soy milk was treated with protease of 0.1%. The amount of non-protein nitrogen was considerably increased by protease treatment of 15 minutes and it reached the maximum value by treatment of two hours.

Key words: soy yogurt, soy protein concentrate, lactic acid bacteria

서 론

대두요구르트는 두유를 젖산균으로 발효시킨 것으로서 대두의 콩비린내(beany flavor)를 감소시키고 香味를 개선시키기 위하여 시도된 가공법 가운데 하나이다. 그런데 두유는 균주에 따라 차이가 있으나 대부분의 젖산균주의 생육 배지로서 적합하지 않으며 두유에서 젖산균의 생육과 산생성이 잘 이루어지기 위해서는 일반적으로 당이나 단백질 가수분해물과 같은 생육촉진물질의 첨가를 필요로 한다. 따라서 두유의 성분을 다소 변화시켜서 젖산균의 생육을 촉진시킬 수 있는 방법이 있다면 이는 매우 바람직하다고 하겠다.

지금까지 이루어진 대두요구르트에 관한 국내외의 연구를 보면, 두유에서 각종 젖산균의 생육과 산생성에 관한 연구^(1~15), 두유에 첨가된 각종 첨가물이 젖산균의 생육과 산생성에 미치는 영향^(1,3~5,7~8,10~13,16~17), 대두요구르트의 香味에 관한 연구^(2~3,7,14,18~22), 젖산균 발효가 두유에 함유된 少糖類에 미치는 영향^(23~24), 대두요구르트

의 저장성에 관한 연구^(3,18,21,25~26), 대두요구르트의 물리적인 특성(조직감, 점도, 경도)에 관한 연구^(9~10,21,27~28) 등이 대부분을 차지하고 있다.

이 가운데서 본 연구의 내용과 관련된 문헌을 살펴보면 다음과 같다. 김동⁽¹⁾은 두유에 0.0008%의 protease를 가한 후 *Lactobacillus acidophilus*를 접종하고 37°C에서 24시간 배양하면서 젖산균의 생육과 산생성을 관찰하였는데, 대조군(protease 비첨가 시료)에 비하여 protease 첨가로 젖산균의 생육과 산생성이 현저하게 촉진되었다고 보고하였다. 김동⁽¹⁾은 protease의 첨가로 대두단백질의 일부가 분해되고 이 분해물질에 의해 젖산균의 생육이 촉진되었다고 설명하였다.

이상의 문헌들을 살펴보면 지금까지 보고된 연구 가운데는 protease 처리가 젖산균의 생육과 산생성에 미치는 영향에 관하여 한 편의 논문이 발표되어 있으나 초보적인 연구에 지나지 않으며, 특히 농축대두단백으로 만든 두유를 protease로 처리했을 때 젖산균의 생육과 산생성에 미치는 영향에 관해서는 아직까지 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 농축대두단백으로 두유를 만들고 protease를 이용하여 대두단백질을 여러 가지 정도로 가수분해한 후, 단백질이 일부 가수분해된 두유에서 2종의

Corresponding author: Young-Tae Ko, Department of Foods & Nutrition, Duksung Women's University, Ssangmun-dong, Dobong-gu, Seoul 132-030

젖산균의 생육과 산생성을 관찰하고, 제조된 대두젖산균 음료의 관능성을 상세히 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주

Lactobacillus acidophilus(KFCC 12731)와 *Lactobacillus bulgaricus*(AKU 1125) 2균주를 선택하여 사용하였으며 젖산균주의 보존용 배지로는 MRS 한천배지(Oxoid Limited)를 사용하였다.

두유의 제조 및 protease 처리

미국 ADM Foods의 농축대두단백(soy protein concentrate)⁽²⁹⁾을 구입하여 고형분 함량이 4.5%(w/v)가 되도록 두유를 만들고 여기에 포도당(0.5~3%, w/v)을 가한 후, 두유 100ml에 protease(태평양화학 복합효소제 2000: protease 역가 25,000 unit/g)⁽³⁰⁾를 농축대두단백의 0.1~5%로 가하고 미리 50°C로 고정시킨 수조에서 15~180분간 가수분해시켰다. 가수분해가 완료된 두유는 protease의 불활성화 및 두유의 살균을 위하여 95°C의 수조에서 30분 가열하였다.

대두요구르트의 제조

이상과 같이 준비된 두유 100ml에 MRS borth에서 24시간 배양한 젖산균 배양액을 2.5%(v/v)의 비율로 접종하여 40°C의 항온기에서 일정시간 배양하였다.

젖산균의 생육과 산생성량의 측정

배양이 완료된 대두요구르트로부터 시료를 취하여 前報⁽¹⁷⁾의 방법에 준하여 젖산균수, 적정산도, pH를 측정하였다.

대두젖산균음료의 제조 및 관능검사

L. acidophilus 또는 *L. bulgaricus*를 접종하여 24시간 배양하여 얻은 커드(curd)상의 요구르트를 1.5배의 증류수로 회석하고, 자당(15%) 및 구연산(0.1%)을 혼합한 다음 충분히 교반하고 5°C의 냉장고에서 수시간 방영하여 관능검사에 사용하였다. 관능검사의 방법은 多重比較試驗(multiple comparisons test)⁽³¹⁾에 준하였으며, 10명의 검사원을 예비실험을 통해 미리 훈련시킨 후 각각 4회에 걸쳐 검사를 실시하였다. 多重比較試驗의 표준시료로는 protease 처리하지 않은 대두젖산균 음료를 사용하였다.

총질소 및 TCA용해 질소 측정

두유 또는 protease 처리 두유에 들어 있는 총질소의 측정은 macro-Kjeldahl법⁽³²⁾에 준하였고 TCA 용해 질소는 다음과 같이 측정하였다. 두유 또는 protease 처리 두유 100ml를 95°C에서 30분간 가열한 후 방냉하고 10% TCA 용액 70ml를 가하고 잘 교반하였다. 하루 저녁 방치 후 Buchner funnel을 사용하여 여과시켜 얻은 여과액을 TCA 용해 질소로 간주하고 용량플라스크로 전체를 200ml로 만든 후 그 10ml를 취하여 질소 측정의 시료로 하였다.

결과 및 고찰

protease 및 포도당 농도의 효과

본 실험에서는 두유에 포도당과 protease를 여러 가지 농도로 가한 후 50°C에서 60분간 가수분해하고 2종의 젖산균을 각각 접종하여 24시간 배양한 후에 대두요구르트의 산생성도를 관찰하였다.

Table 1에서 TA는 24시간 배양 후에 측정한 산도에서 접종 직후의 산도를 뺀 수치, 즉 24시간 배양에 의하여 생성된 산도를 의미하는 것이다(이하에 나오는 모든 TA도 이와 같이 수정된 수치이다). 먼저 *L. acidophilus*의 경우를 보면(Table 1), protease 0.1% 처리에 의하여 포도당 0%를 제외한 모든 시료에서 산도가 대조군(protease 0%)에 비하여 20~30% 증가하였다. protease 농도를 증가시킴에 따라 산도가 점차적으로 증가하여 protease 5%의 경우 대조군의 45~55% 증가하였다. pH는 포도당 0%의 경우를 제외하고는 protease 처리로 대체로 감소하는 경향을 보였다. 포도당 농도의 효과를 보면 1%까지는 산생성을 크게 촉진시켰으나 그 이상의 농도에서는 촉진 효과가 완만하였다.

한편 *L. bulgaricus*의 경우를 보면(Table 2), protease 0.1% 처리로 포도당 1% 이상 시료에서만 산도가 대조군에 비하여 5~15% 증가하였다. protease 농도를 증가시킴에 따라 산도는 거의 변화가 없다가 protease 5%의 경우에 다소 증가하여 대조군에 비하여 5~20% 증가하였다. pH는 포도당 0%의 경우를 제외하고는 큰 차이가 없었으며, 포도당 농도의 효과를 보면 *L. acidophilus*의 경우와 마찬가지로 1%까지만 산생성을 크게 촉진시켰으며 그 이상의 농도는 효과가 없었다.

*L. acidophilus*와 *L. bulgaricus*를 비교해 보면 포도당 0%의 경우를 제외하고는 protease 처리로 *L. acidophilus*의 산생성이 보다 더 촉진되었는데 이것은 *L.*

Table 1. Effects of concentration of protease and glucose on acid production by *L. acidophilus* in soy milk^{a)}

Conc. of glucose (%)	0		0.5		1		2		3	
Conc. of protease (%) ^{b)}	%TA ^{c)}	pH	%TA	pH	%TA	pH	%TA	pH	%TA	pH
0	0	5.80	0.29	4.00	0.39	3.80	0.39	3.85	0.39	3.90
0.1	0	6.00	0.37	3.90	0.49	3.65	0.48	3.70	0.49	3.70
0.2	0	5.95	0.37	3.90	0.50	3.65	0.49	3.65	0.50	3.65
0.5	0	5.95	0.38	3.85	0.50	3.65	0.50	3.70	0.51	3.65
1	0	5.90	0.39	3.90	0.50	3.70	0.50	3.70	0.52	3.70
2	0	5.95	0.39	3.85	0.54	3.65	0.54	3.65	0.53	3.65
5	0	5.85	0.42	3.90	0.60	3.60	0.59	3.65	0.60	3.60

a) Values are averages of four experiments. Protein in soy milk was hydrolyzed for one hour at 50°C.

b) Conc. of protease was expressed as basis of weight of SPC in soy milk.

c) %TA: % Titratable acidity as lactic acid. Values reported represent the titratable acidity of an incubated sample minus that of an identically treated, but unincubated sample.

Table 2. Effects of concentration of protease and glucose on acid production by *L. bulgaricus* in soy milk^{a)}

Conc. of glucose (%)	0		0.5		1		2		3	
Conc. of protease (%) ^{b)}	%TA ^{c)}	pH	%TA	pH	%TA	pH	%TA	pH	%TA	pH
0	0	6.00	0.41	3.95	0.68	3.65	0.68	3.60	0.70	3.55
0.1	0	5.95	0.41	3.90	0.73	3.55	0.79	3.50	0.77	3.50
0.2	0	5.90	0.42	3.90	0.73	3.50	0.80	3.45	0.78	3.50
0.5	0	5.75	0.42	3.90	0.74	3.55	0.78	3.50	0.78	3.55
1	0	5.65	0.42	3.95	0.74	3.55	0.79	3.50	0.79	3.55
2	0.02	5.35	0.42	3.90	0.73	3.60	0.78	3.55	0.79	3.50
5	0.14	4.65	0.44	3.95	0.78	3.55	0.82	3.50	0.83	3.50

a), b), c) See footnote in Table 1

*bulgaricus*에 비하여 *L. acidophilus*가 생육과 산생성을 위하여 단백질 가수분해물과 같은 생육촉진물질을 보다 더 필요로 한다는 것을 의미한다. 한편 포도당 농도는 1%가 적당한 것으로 생각되어 이후의 모든 실험에서는 포도당의 첨가 농도를 1%로 하였다.

protease 처리 시간의 효과

본 실험에서는 protease 농도를 0.1%, 0.5%, 5%로 하고 반응시간을 달리하여 준비한 두유에 2종의 젖산균을 각각 접종하고 24시간 배양 후 대두요구르트의 산도를 측정하였다.

먼저 *L. acidophilus*의 경우를 보면 (Table 3), 반응시간 15분으로 대조군(반응시간 0)에 비하여 산도가

15~40% 증가하였고 그 후에는 5%를 제외하고는 반응시간 3시간까지 큰 변화가 없었다. pH는 5%의 경우만 protease 처리로 다소 감소하는 경향을 보였다.

다음에 *L. bulgaricus*의 경우를 보면 (Table 4), 반응시간 15분으로 대조군에 비하여 산도가 10~15% 증가하였으나 그 후에는 반응시간 3시간까지 큰 변화가 없었으며 pH는 protease 처리로 변화가 없었다. 이와 같은 결과는 *L. acidophilus*에 비하여 *L. bulgaricus*의 경우는 단백질 가수분해물에 의한 산생성 촉진 효과가 저조하다는 것을 의미한다.

L. acidophilus 와 *L. bulgaricus* 어느 경우나 반응시간 15분 이후에는 3시간이 경과하여도 산도의 변화가 현저하지 않았는데 그 이유는 두유에 효소제를 가하고 수조

Table 3. Effects of hydrolysis time on acid production by *L. acidophilus* in soy milk^{a)}

Conc. of protease (%)	0.1		0.5		5	
	%TA ^{b)}	pH	%TA	pH	%TA	pH
0	0.42	4.00	0.41	4.00	0.41	4.00
15min	0.48	3.90	0.48	4.00	0.58	3.85
30min	0.50	3.90	0.48	4.00	0.58	3.85
45min	0.50	3.90	0.47	4.05	0.60	3.85
1hr	0.50	3.95	0.49	4.00	0.59	3.85
2hr	0.50	3.95	0.50	3.95	0.62	3.90
3hr	0.50	3.90	0.50	4.00	0.65	3.80

a) Values are averages of four experiments. Soy milk was treated with protease at 50°C and fortified with glucosel1%, w/v.

b) %TA: Corrected value

Table 4. Effects of hydrolysis time on acid production by *L. bulgaricus* in soy milk^{a)}

Conc. of protease (%)	0.1		0.5		5	
	%TA ^{b)}	pH	%TA	pH	%TA	pH
0	0.68	3.80	0.68	3.75	0.69	3.75
15min	0.77	3.75	0.76	3.75	0.78	3.75
30min	0.76	3.75	0.77	3.70	0.78	3.70
45min	0.77	3.75	0.77	3.75	0.78	3.75
1hr	0.76	3.75	0.77	3.70	0.78	3.80
2hr	0.76	3.75	0.77	3.75	0.79	3.80
3hr	0.77	3.75	0.78	3.75	0.80	3.80

a) b) See footnote in Table 3

Table 5. Effects of protease treatment on growth and acid production by *L. acidophilus* in soy milk^{a)}

	Conc. of protease (%)	Culture time (hr)						
		0	6	12	18	24	30	48
Titratable acidity (%)	0	0	0.06	0.23	0.35	0.43	0.45	0.62
	0.1	0	0.08	0.32	0.48	0.50	0.51	0.68
	0.5	0	0.10	0.29	0.48	0.54	0.52	0.71
	5.0	0	0.11	0.38	0.50	0.58	0.63	0.79
pH	0	6.20	5.35	4.40	4.15	4.05	4.00	3.80
	0.1	6.15	5.10	4.15	4.00	3.95	3.90	3.75
	0.5	6.05	5.05	4.30	4.05	3.95	3.95	3.75
	5.0	5.90	4.95	4.15	4.05	3.95	3.90	3.75
Viable cell count (CFU/ml)	0	3.8×10^7	3.7×10^8	7.4×10^8	1.3×10^9	1.2×10^9	1.3×10^9	1.2×10^9
	0.1	5.6×10^7	5.0×10^8	1.6×10^9	2.0×10^9	1.5×10^9	9.2×10^8	9.3×10^8
	0.5	4.3×10^7	4.3×10^8	7.3×10^8	1.1×10^9	1.5×10^9	7.5×10^8	1.3×10^9
	5.0	4.5×10^7	3.4×10^8	1.2×10^9	1.5×10^9	1.6×10^9	9.9×10^8	1.1×10^9

a) Values are average of four experiments. Soy milk was treated for one hour at 50°C and fortified with glucosel1%, w/v.

b) %TA: Corrected value

에 넣어 온도를 50°C까지 올리는 시간과 효소 불활성화 및 두유의 살균처리를 위하여 95°C로 올리는 시간에 가수 분해가 이루어져서 15분 시료에서도 사실상 상당한 가수 분해가 이루어진 것으로 생각된다. 본 실험에서 사용된 protease는 미생물 기원의 protease로 최적 온도가 50°C 부근이지만 30°C 이하에서부터 80°C에 걸쳐 protease 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다⁽³⁰⁾.

배양시간에 따른 젖산균의 생육과 산생성의 변화

본 실험에서는 두유에 protease를 0.1%, 0.5% 또는 5% 가하고 50°C에서 1시간 가수분해시킨 후 젖산균을 접종하여 48시간 동안 배양하면서 젖산균의 생육과 산생성을 관찰하였다.

Table 5는 *L. acidophilus*의 생육과 산생성을 보여 주는데 먼저 산도를 보면 배양 시간 전 기간에 걸쳐서 protease 처리 시료의 산도가 대조군(protease 0%)보다 현저하게 높았으며 protease 처리 시료 사이에서는 5%가 0.1%나 0.5%보다 높았다. pH의 변화를 보면 protease 처리 시료의 pH가 대조군보다 다소 낮았으나 protease 처리 시료 사이에서는 뚜렷한 차이가 없었다. 생균수의 변화를 보면 대체로 12시간에는 18시간 사이에 대수기가 끝났으며 48시간까지 정지기가 계속되는 것으로 생각된다.

한편 *L. bulgaricus*의 경우를 보면(Table 6), protease 처리 시료의 산도가 대조군보다 다소 높았으며 protease 처리한 3시료 사이에서는 5%가 다소 높은 경향을 보였다. pH는 12시간까지는 대조군이 다소 높았으

Table 6. Effects of protease treatment on growth and acid production by *L. bulgaricus* in soy milk^{a)}

	Conc. of protease (%)	Culture time (hr)					
		0	6	12	18	24	30
Titratable acidity (%) ^{b)}	0	0	0.13	0.40	0.60	0.72	0.80
	0.1	0	0.15	0.48	0.68	0.78	0.86
	0.5	0	0.16	0.51	0.66	0.78	0.83
	5.0	0	0.17	0.51	0.70	0.80	0.86
pH	0	6.25	4.90	4.05	3.85	3.70	3.65
	0.1	6.20	4.70	3.90	3.75	3.65	3.60
	0.5	6.10	4.70	3.95	3.85	3.70	3.70
	5.0	5.95	4.75	3.95	3.85	3.80	3.75
Viable cell count (CFU/ml)	0	3.2×10^7	2.6×10^8	5.0×10^8	1.1×10^9	1.8×10^9	2.2×10^9
	0.1	3.5×10^7	1.9×10^8	8.2×10^8	1.3×10^9	1.5×10^9	2.3×10^9
	0.5	3.3×10^7	2.2×10^8	1.1×10^9	1.3×10^9	1.4×10^9	1.3×10^9
	5.0	4.2×10^7	2.1×10^8	1.4×10^9	1.3×10^9	1.4×10^9	1.0×10^9

a) b) See footnote in Table 5

나 18시간부터는 protease 처리 시료와 구분하기 어려웠다. 생균수는 대조군과 나머지 3시료 사이에 차이가 없었으며 대체로 12시간에서 18시간 사이에 대수가가 끝났으며 48시간에는 사멸기에 들어서 있는 것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아 균에 따라 차이가 있으나 protease 처리에 의하여 젖산균에 의한 산생성이 대체적으로 촉진되는 것으로 나타났는데 그 이유는 단백질 가수분해에 의하여 생성된 peptides가 젖산균에 의한 산생성을 촉진시키기 때문이라고 생각된다. 요구르트 제조에 사용되는 젖산균은 일반적으로 단백질 분해능력이 약한 것으로 알려져 있다⁽³³⁾.

김등⁽¹⁾은 두유에 0.0008%의 protease를 가한 후 *L. acidophilus*를 접종하고 37°C에서 24시간 배양하면서 젖산균의 생육과 산생성을 관찰하였는데, protease 비첨가 시료에 비하여 protease 첨가 시료에서 젖산균의 생육과 산생성이 현저하게 촉진되었다고 보고하였다. 본 연구에서 얻어진 결과를 보면 *L. acidophilus*의 경우 protease 처리로 산생성이 촉진되는 점은 김등⁽¹⁾의 연구 결과와 그 경향이 대체로 일치하지만 김등⁽¹⁾의 보고에서처럼 산생성 촉진효과가 대단히 현저하지는 않았으며 생균수의 증가도 보이지 않았다. 이와 같이 다소 相異한 결과가 나온 이유는 두 실험의 재료와 방법이 서로 다르기 때문이라고 생각된다. 즉, 김등⁽¹⁾의 실험에서는 全脂大豆로부터 두유를 만들었고, 두유에 protease를 첨가한 후 젖산균을 접종하여 단백질 가수분해와 젖산발효를 동시에 실시하였는데 이것은 본 실험의 재료 및 방법과는 다소 相異한 것이었다.

protease 처리가 대두젖산균음료의 香味에 미치는 영향

본 실험에서는 두유에 protease를 여러 가지 농도로 가하고 50°C에서 1시간 가수분해한 후 2종의 젖산균을 각각 접종하고 24시간 배양하여 얻은 커드상의 대두요구르트로부터 대두젖산균음료를 제조하여 관능검사를 실시하였다.

Table 7에 나타난 바와 같이 전체적인 기호도 (overall acceptability)는 protease 0.1%가 가장 높고 protease 5%가 가장 낮았으나 표준시료, protease 0.1% 및 0.5% 사이에는 5% 수준에서 유의차가 없었다. 한편 맛(taste)은 protease 0.1%나 표준시료가 가장 높고 protease 5%가 가장 낮았으나 역시 상위 3시료 사이에는 5% 수준에서 유의차가 없었다. 마지막으로 조직감(texture)을 보면 대체적으로 표준시료가 높은 편이고 protease 5%가 가장 낮았으나 protease 처리 시료 사이의 차이는 전체적인 기호도나 맛의 경우만큼 현저하지는 않았다.

이상의 결과로 보아서 낮은 농도의 protease(0.1%) 처리에 의하여 대두젖산균음료의 전체적인 기호도가 다소 개선되는 것으로 생각된다. 높은 농도의 protease 처리로는 대두젖산균음료의 관능성이 오히려 저하되는데 그 이유는 단백질 가수분해가 지나쳐서 관능성을 저하시키는 쓴맛의 peptides가 과량으로 생성되기 때문인 것으로 생각된다.

Protease 처리에 의한 TCA 용해 질소의 변화

본 실험에서는 protease 처리로 생성된 非단백태 질소 (non-protein nitrogen)의 함량을 구하기 위하여 일정 시간 가수분해시킨 시료를 TCA 용액으로 처리하였다.

Table 7. Effects of protease treatment of soy milk on flavor of soy yogurt beverage^{a)}

Type of yogurt beverage	<i>L. acidophilus</i>			<i>L. bulgaricus</i>		
	Overall acceptability	Taste	Texture	Overall acceptability	Taste	Texture
Soy yogurt beverage (R)	5.17a	5.05a	5.00a	5.14a	5.06a	5.06a
SYB treated with protease 0.1%	5.38a	5.10a	4.94a	5.41a	5.06a	5.00a
SYB treated with protease 0.5%	5.21a	4.85a	5.00a	5.32a	5.00a	5.00a
SYB treated with protease 5%	4.00b	3.90b	4.44b	4.09b	4.06b	4.65b

a) Soy milk was treated with protease for one hour at 50°C and fortified with glucose(1%, w/v). Any two means not followed by the same letter are significantly different at the 5% level. The scores were assigned numerical values 1 to 9 with "no difference between sample and reference" equaling 5, "extremely better than reference" equaling 9 and "extremely inferior to reference" equaling 1.

Table 8. Changes in TCA soluble nitrogen during protease treatment of soy milk^{a)}

Reaction time	Concentration of protease (%)								
	0.1		0.5		5				
	(I)TCA soluble N (mg)	(II)Total N (mg)	I/II (%)	(I)TCA soluble N (mg)	(II)Total N (mg)	I/II (%)	(I)TCA soluble N (mg)	(II)Total N (mg)	I/II (%)
0	8.4	437.7	1.9	8.4	437.0	1.9	9.8	432.2	2.3
15min	57.4	437.7	13.1	131.7	437.0	30.1	262.0	432.2	60.6
30min	65.8	437.7	15.0	146.4	437.0	33.5	278.0	432.2	64.3
45min	73.5	437.7	16.8	155.6	437.0	35.6	283.0	432.2	65.5
1hr	79.8	437.7	18.2	165.2	437.0	37.8	289.8	432.2	67.1
2hr	93.8	437.7	21.4	189.0	437.0	43.2	304.6	432.2	70.5
3hr	93.8	437.7	21.4	189.8	437.0	43.4	305.2	432.2	70.6

a) Values are averages of two experiments. Values are expressed as mg of nitrogen in 100ml soy milk. Soy milk was treated with protease at 50°C.

Table 8에 나타난 바와 같이 protease 0.1%, 0.5%, 5% 어느 경우나 가수분해 시간이 2시간 경과하자 비단백질의 함량이 최대치에 도달하였으며 15분에 이미 높은 수치를 보였다. protease로 처리하기 전의 시료에 함유된 비단백질 질소는 두유와 효소제로부터 유래된 것으로 생각되며 가수분해 시간 15분에 비단백질 질소의 수치가 높은 것은 앞에서도 밝힌 바와 같이 두유에 protease를 가하고 수조에 넣어 온도를 50°C까지 올리는 시간과 효소를 불활성화(95°C, 30분)시키기 위하여 온도를 올리는 과정에서 가수분해가 일어났기 때문인 것으로 생각된다. 가수분해 시간의 효과를 조사한 실험(Table 3과 Table 4)에서 반응시간 15분에 이미 산도가 최대치에 상당히 접근한 것은 본 실험의 결과(Table 8)에 나타난 바와 같이 반응시간 15분에 이미 비단백질 질소의 함량이

상당히 높다는 사실과 관계가 있는 것으로 생각된다.

요약

본 연구에서는 농축대두단백으로 두유를 만들고 protease를 이용하여 대두단백질을 여러가지 정도로 가수분해한 후, 단백질이 일부 가수분해된 두유에서 *L. acidophilus* 또는 *L. bulgaricus*의 생육과 산생성을 관찰하고 제조된 대두젖산균음료의 관능성을 조사하였다. protease 처리에 의하여 젖산균에 의한 산생성이 촉진되었는데 특히 *L. acidophilus*에 의한 산생성이 현저하게 촉진되었다. 그러나 pH와 생균수는 큰 변화가 없었다. 15분 가수분해 시료에서 이미 산도가 상당히 증가하였으며 그 후 3시간이 경과하여도 산도의 변화가 현저하지 않

았다. 0.1% protease 처리로 대두젖산균 음료의 전체적인 기호도가 다소 개선되었다. protease 처리 15분에 비단백질 질소의 함량이 상당히 증가하였고 2시간에 최대치에 도달하였다.

감사의 말

본 연구는 한국과학재단 지원 연구비에 의하여 이룩된 연구의 일부로 한국과학재단에 깊은 謝意를 드리는 바입니다.

문 현

1. 김오섭·김창한: 두유에서의 유산균 생육과 산생성에 관한 연구, 산업미생물학회지, 7, 205(1979)
2. 오혜숙·이경혜·윤 선: 고형 두유요구르트 제조에 관한 연구, 한국영양학회지, 14, 175(1981)
3. 이재성·한판주·서기봉: 두유를 이용한 변형 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 4, 194(1972)
4. 이 호: 두유와 탈지 두유를 이용한 유산균 음료 제조에 관한 연구, 고려대학교 대학원 석사학위 논문(1980)
5. Angeles, A., Marth, E.: Growth and activity of lactic acid bacteria in soy milk, part I. Growth and acid production, *J. Milk and Food Technol.*, 34, 30(1971)
6. Mital, B.K. and Steinkraus, K.H.: Growth of lactic acid bacteria in soy milks, *J. Food Sci.*, 39, 1018(1974)
7. Wang, H.L., Kraidej, L. and Hesseltine, C.W.: Lactic acid fermentation of soybean milk, *J. Milk and Food Technol.*, 37, 71(1974)
8. Pinthong, R., Macrae, R. and Rothwell, J.: The development of a soya-based yogurt, part I. Acid production by lactic acid bacteria, *J. Food Technol.*, 15, 647(1980)
9. Yamanaka, Y. and Furukawa, N.: General components and solubility of current commercial soybean flour, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 16, 572(1969)
10. Yamanaka, Y. and Furukawa, N.: Studies on utilization of soybean protein for food manufacturing, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 17, 456(1970)
11. 성원희·임숙자·고영태: 분리대두단백이 유산균의 생육에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 16, 120(1984)
12. 유지창·임숙자·고영태: 농축대두단백을 이용한 요구르트의

- 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 16, 143(1984)
13. 이정숙·고영태·백정기: 탈지 대두유가 *Lactobacillus acidophilus*의 생육에 미치는 영향, 한국농화학회지, 27, 7(1984)
14. 문승애·김영배·고영태: 두유에서 젖산균의 생육과 대두요구르트의 香味, 한국식품과학회지, 18, 118(1986)
15. 김경희·고영태: 두유에서 젖산균의 생육과 산생성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 19, 151(1987)
16. Mital, B.K., Prasad, R. and Singh, S.: Effect of carbohydrates and phosphates on acid production by lactic acid bacteria in soy milk, *J. Food Science and Technol.*, 14, 182(1977)
17. 고영태: 두유에 첨가된 Methionine이 유산균의 생육과 산생성에 미치는 영향, 한국농화학회지, 30, 17(1987)
18. 고영태·김영배·백정기: 탈지대두로 제조된 유산균 음료의 저장성, 한국농화학회지, 27, 163(1984)
19. 이정숙·김영배·고영태: 대두 요구르트의 香味와 휘발성분, 한국식품과학회지, 17, 51(1985)
20. Mital, B.K., and Steinkraus K.H.: Flavor acceptability of unfermented and lactic fermented soy milks, *J. Milk and Food Technol.*, 39, 342(1976)
21. Kanda, H., Wang, H., Hesseltine, C. and Warner, K.: Yogurt production by *Lactobacillus* fermentation of soybean milk, *Process Biochem.*, 11(5), 23(1976)
22. Pinthong, R., Macrae, R. and Rothwell, J.: The development of a soya-based yogurt, part II. Sensory evaluation and analysis of volatiles, *J. Food Technol.*, 15, 653(1980)
23. Mital, B.K. and Steinkraus, K.H.: Utilization of oligosaccharides by lactic acid bacteria during fermentation of soy milk, *J. Food Sci.*, 40, 114(1975)
24. Pinthong, R., Macrae, R. and Dick, J.: The development of a soya-based yogurt, part III. Analysis of oligosaccharides, *J. Food Technol.*, 15, 661(1980)
25. 백인숙·임숙자·고영태: 농축대두단백으로 제조된 유산균 음료의 저장성, 한국식품과학회지, 17, 45(1985)
26. 문승애·고영태: 분리대두단백으로 제조된 젖산균 음료의 저장성, 한국식품과학회지, 18, 124(1986)
27. Kolar, C.W., Cho, I.C. and Watrous, W.L.: Vegetable protein application in yogurt, coffee creamers and whip toppings, *J. Am. Oil Chemist's Soc.*, 56, 389(1979)
28. Andres, C.: Fermented and enzyme treated food products, *Food Processing*, 39(11), 67(1978)

29. ADM Foods : Composition of soy protein concentrate, ADM Foods, Decatur, Illinois(1982)
30. 태평양화학공업주식회사 : 태평양 복합효소 제 2000, 태평양 화학공업주식회사, 서울(1987)
31. Larmond, E. : *Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food*, Canada Department of Agriculture, Ottawa, p.31(1977)
32. 신효선 : 식품분석(이론과 실험), 신광출판사, p.83(1985)
33. Rasic, J.L. and Kurmann, J.A. : *Yoghurt*, Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, p.194(1978)
-
- (1988년 8월 30일 접수)