

미생물 Protease 또는 Papain 으로 처리된 豆乳에서 젖산균의 酸生成과 대두요구르트의 제조

고 영 태

덕성여자대학교 식품영양학과

Acid Production by Lactic Acid Bacteria in Soy Milk Treated by Microbial Protease or Papain and Preparation of Soy Yogurt

Young-Tae Ko

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

Abstract

The soy milk prepared from soy protein concentrate was treated with microbial protease or papain. Growth and acid production by *Lactobacillus acidophilus* in soy milk containing partially hydrolyzed proteins were investigated. Sensory evaluation of yogurt beverage prepared from protease treated soy milk was also performed. Protease treatment of soy milk enhanced acid production by lactic acid bacteria, particularly in case of microbial protease and simultaneous treatment by two types of protease showed synergistic effect. pH and number of viable cells were not affected markedly by protease treatment. Microbial protease treatment up to 15 minutes or papain treatment up to 45 minutes enhanced acid production, but further treatment up to three hours did not affect the acidity markedly. The sensory evaluation showed that overall acceptability and taste of soy yogurt beverage were slightly improved when soy milk was treated with microbial protease of 0.2% or papain of 0.2%. The amount of non-protein nitrogen considerably increased by protease treatment of 15 minutes and it increased gradually by further treatment up to three hours.

Key words: soy yogurt, protease, lactic acid bacteria

서 론

대두요구르트는 젖산균을 이용하여 대두의 콩비린내 (beany flavor)를 감소시키고 소화율을 높이기 위하여 시도된 것이다. 대두단백질이 우유의 카제인과 그 性狀이 여러가지 면에서 유사하므로 대두의 젖산균 발효, 즉 대두요구르트의 제조는 매우 흥미있는 연구과제라고 하겠다. 그런데 젖산균은 그 起源이 대두가 아니기 때문에 두유에서 젖산균의 생육과 산생성은 일반적으로 저조하며 이와 같은 단점을 보완하기 위하여 두유에 각종 첨가물(단백질 가수분해물, yeast extract, 糖, 우유, 탈지우유, 乳清, 아미노산, 무기질 혼합물, 인산염 등)을 가하여 젖산균의 산생성을 촉진시킬 필요가 있다고 알려져 있다⁽¹⁻¹⁴⁾.

이 가운데서 본 연구의 내용과 관계가 있는 문헌을 살펴보면 다음과 같다. Angeles와 Marth⁽¹⁾는 13종의 젖산균(*Streptococcus* 4종, *Leuconostoc* 2종, *Pediococcus* 1종, *Lactobacillus* 6종)의 두유에서 산생성을 조사하였는데 13종 가운데 두유에 들어있는 糖을 이용할 수 있는 *S. thermophilus*, *L. delbrueckii*, *L. pentosus*, *Leuconostoc mesenteroides* 만이 비교적 높은 산생성을 보였고, 두유에 단백질 가수분해물인 peptone 또는 casitone을 첨가했을 때 *S. thermophilus*, *Leuconostoc* 2종, *L. pentosus*에 의한 산생성은 증가하였으나 *L. delbrueckii*의 산생성은 오히려 감소하였고 나머지 8종은 변화가 없었다고 보고하였다. 한편 탈지대두, 농축대두단백, 분리대두단백으로 만든 두유에 발육촉진물질인 yeast extract 또는 단백질 가수분해물인 peptone, tryptone, soy-tone을 각각 첨가하고 *L. acidophilus*의 산생성을 관찰한 연구의 결과를 보면⁽²⁻⁴⁾, 첨가물에 의하여

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

젖산균에 의한 산생성이 현저하게 증가하였는데 yeast extract에 의한 산생성 촉진 효과가 단백질 가수분해물의 경우보다 훨씬 높았으며 탈지대두로 만든 두유보다 농축대두단백이나 분리대두단백으로 만든 두유에서 산생성 촉진 효과가 보다 현저하였다.

이상의 연구에서는 두유에 발육촉진물질이나 단백질 가수분해물을 직접 첨가한 것인데 비하여 **금과 $\text{金}^{(5)}$** 은 두유의 성분을 다소 변화시켜서 젖산균의 산생성을 촉진시키고자 시도하였다. **금과 $\text{金}^{(5)}$** 은 두유에 0.0008%의 protease를 가한 후 *L. acidophilus*를 접종하고 37°C에서 24시간 배양하면서 젖산균의 생육과 산생성을 관찰하였는데, 대조군(protease 비첨가시료)에 비하여 protease 첨가시료에서 젖산균의 생육과 산생성이 현저하게 촉진되었다고 보고하였다. 이들은 protease 첨가로 대두단백질의 일부가 분해되고 이 분해물질에 의해 젖산균의 생육이 촉진되었다고 설명하였다. 즉 이들의 실험에서는 두유에 protease를 가하여 soytone에 상당하는 물질을 일부 생성시켜 젖산균의 산생성을 촉진시키고자 한 것이다.

이상의 문헌들을 살펴보면 지금까지 보고된 연구에서는 주로 두유에 발육촉진물질이나 단백질 가수분해물을 직접 첨가하여 젖산균의 산생성을 촉진시키고자 하였으며 두유의 단백질을 다소 변화시켜서 젖산균의 산생성을 촉진시키고자 하는 시도는 **금과 $\text{金}^{(5)}$** 의 초보적인 연구 뿐인 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 **금과 $\text{金}^{(5)}$** 의 연구를 토대로 하되 실험조건을 달리하고 실험범위를 확대하여 다음과 같은 실험을 실시하였다. 즉 농축대두단백으로 두유를 만들고 2종의 protease(미생물 protease 및 식물성 protease)를 각각 또는 혼합 사용하여 대두단백질을 가수분해한 후, 단백질이 일부 가수분해된 두유에서 젖산균의 산생성을 관찰하고 제조된 대두요구르트의 관능성을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주

Lactobacillus acidophilus (KFCC 12731)를 선택하여 사용하였으며 젖산균주의 보존용 배지로는 MRS 환천 배지(Difco Laboratories)를 사용하였다.

두유의 제조 및 protease 처리

미국 ADM Foods의 농축대두단백(soy protein concentrate)⁽¹⁵⁾을 구입하여 고형분 함량이 4.5%

(W/V)가 되도록 두유를 만들고 여기에 포도당(1%, W/V)을 가한 후, 두유 100 ml에 미생물 protease(복합효소제 2000, 태평양화학)⁽¹⁶⁾ 또는 papain(papain from *Carica papaya*, Fluka AG)⁽¹⁷⁾을 농축대두단백의 0.1-5%로 가하고 미리 50°C로 고정시킨 수조에서 15-180분간 가수분해시켰다. 본 실험에서 사용된 미생물 protease 및 papain은 50°C에서 안정하며 농축대두단백으로 만든 두유의 pH(pH 6.6-6.7) 부근에서 최적작용을 나타내므로^(16,18) 가수분해 온도는 50°C로 하였으며 두유의 pH는 별도로 조정하지 않았다. 가수분해가 완료된 두유는 protease의 불활성화 및 두유의 살균을 위하여 95°C의 수조에서 30분 가열하였다.

대두요구르트의 제조

이상과 같이 준비된 두유 100 ml에 MRS broth에서 24시간 배양한 젖산균 배양액을 3%(V/V)의 비율로 접종하여 40°C의 항온기에서 일정시간 배양하였다.

젖산균의 생육과 산생성량의 측정

배양이 완료된 대두요구르트로부터 시료를 취하여 前報⁽⁴⁾의 방법에 준하여 젖산균수, 적정산도, pH를 측정하였다.

대두젖산균음료의 제조 및 관능검사

*L. acidophilus*를 접종하여 24시간 배양하여 얻은 커드상의 요구르트를 1.5배의 증류수로 희석하고, 자당(15%) 및 구연산(0.1%)을 혼합한 다음 충분히 교반하고 5°C의 냉장고에서 수 시간 방냉하여 관능검사에 사용하였다. 관능검사의 방법은 多重比較試驗(multiple comparisons test)⁽¹⁹⁾에 준하였으며, 10명의 검사원을 예비실험을 통해 미리 훈련시킨 후 4일간 4회에 걸쳐 검사를 실시하였다. 多重比較試驗의 표준시료로는 효소 처리하지 않은 대두젖산균음료를 사용하였다.

총질소 및 TCA 용해 질소측정

두유 또는 protease 처리 두유에 들어 있는 총질소의 측정은 macro-Kjeldahl 법⁽²⁰⁾에 준하였고 TCA 용해 질소는 다음과 같이 측정하였다. 두유 또는 protease 처리 두유 100 ml를 95°C에서 30분간 가열한 후 방냉하고 10% TCA 용액 70 ml를 가하고 교반하였다. 하루 저녁 방치 후 Buchner funnel을 사용하여 여과시켜 얻은 여과액을 용량플라스크로 전체를 200

Table 1. Effect of concentration of microbial protease or papain on acid production by *L. acidophilus* in soy milk^{a)}

Type of protease Conc. of protease (%) ^{b)}	Microbial protease			Papain		
	pH	% TA ^{c)}	% of control	pH	%TA ^{c)}	% of control
0 (control)	3.76	0.553±0.004	100	3.83	0.566±0.007	100
0.1	3.73	0.621±0.015	112	3.77	0.617±0.004	109
0.2	3.73	0.617±0.004	112	3.77	0.624±0.013	110
0.5	3.73	0.651±0.007	118	3.82	0.626±0.011	111
1	3.73	0.656±0.009	119	3.81	0.630±0.010	111
2	3.74	0.656±0.011	119	3.81	0.624±0.029	110
5	3.74	0.695±0.015	126	3.80	0.699±0.011	123

a) Soy milk was treated with protease at 50°C and added with glucose of 1%.

b) Conc. of protease was expressed as g protease per 100g SPC in soy milk.

c) Mean values and standard deviation of four replications.

%TA: % Titratable acidity as lactic acid. Values reported represent the difference between TA of an incubated sample and that of an identically treated, but unincubated sample.

m/로 만든 후 그 10 m/를 취하여 질소 측정의 시료로 하였다.

결과 및 고찰

미생물 protease 및 papain 농도의 효과

본 실험에서는 두유에 미생물 protease 또는 papain을 여러가지 농도로 가한 후 50°C에서 60분간 가수분해하고 젖산균을 접종하여 24시간 배양한 후에 대두요구르트의 산생성도를 관찰하였다. Table 1에서 TA는 24시간 배양 후에 측정된 산도에서 접종 직후의 산도를 뺀 수치이다.

먼저 미생물 protease의 경우를 보면 (Table 1), protease 0.1%로 산도가 대조군 (protease 0%)에 비하여 12% 증가하였으며 protease 농도를 증가시키에 따라 산도가 점차로 증가하여 protease 5%의 경우 대조군의 26%까지 증가하였다. pH는 protease 처리로 변화하지 않았다. 한편 papain의 경우를 보면 (Table 1), papain 0.1%로 산도가 대조군에 비하여 9% 증가하였으며 papain 농도를 증가시키에 따라 산도는 거의 변화가 없다가 papain 5%의 경우에 대조군보다 23% 증가하였다. papain 처리로 pH는 거의 변화하지 않았다. 미생물 protease와 papain을 비교해 보면 같은 농도에서는 미생물 protease에 의한 산생성 촉진 효과가 약간 더 높았다.

Table 2는 두유에 같은 농도의 미생물 protease와 papain을 가하고 50°C에서 60분간 가수분해하여 만든

Table 2. Synergistic effect of microbial protease and papain on acid production by *L. acidophilus* in soy milk^{a)}

Conc. of microbial protease (%) ^{b)}	Conc. of papain (%) ^{b)}	pH	% TA ^{c)}	% of control
0	0 (control)	3.78	0.553±0.012	100
0.1	0.1	3.76	0.617±0.011	112
0.2	0.2	3.73	0.626±0.017	113
0.5	0.5	3.75	0.659±0.011	119
1	1	3.73	0.710±0.007	128
2	2	3.69	0.771±0.007	139
5	5	3.69	0.795±0.022	144

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

기질에 젖산균을 접종하여 24시간 후 산도를 측정된 것이다. 혼합효소 0.1% 경우 산도가 대조군의 12% 증가하였으며 효소농도를 증가시키에 따라 산도가 점차로 증가하여 5%의 경우 대조군보다 44% 증가하였다. pH는 효소농도의 증가에 따라 다소 저하하는 경향을 보였다. Table 1과 2의 결과를 비교하면 2종의 효소로 혼합 처리한 경우 미생물 protease 또는 papain 단독으로 처리한 경우보다 젖산균의 산생성이 더 높았으며 이와 같은 상승효과는 효소농도 1% 이상에서 보다 현저하였다.

본 실험에서 사용된 두 효소는 본 실험의 조건(50°C, pH 6.6-6.7)에서 안정하고 최적작용을 나타낸다고 알려져 있는데^(16,18), Table 1의 결과로 보아 미생물 protease가 papain보다 주어진 조건에서 활성이 높

있던 것으로 생각된다. 한편 papain의 경우 0.1% 이상 2%까지 산생성에 차이가 없는 이유는 본 연구의 결과만으로는 확실히 알 수가 없으나 앞으로의 연구에서 밝혀져야 할 것으로 생각된다. Table 2의 결과로 보아 2종의 효소를 함께 사용했을 때는 대두단백질의 가수분해가 상승적으로 촉진되어 단일효소 사용시 보다 단백질 가수분해물의 생성이 증가하고 이에 따라서 젖산균의 산생성도 촉진되는 것으로 생각된다.

Cysteine 에 의한 papain 의 활성화

본 연구에서 사용된 papain 은 sulfhydryl protease 로서 활성을 최대한으로 높이기 위하여 환원제를 첨가하는 경우가 있다⁽¹⁸⁾. 따라서 본 실험에서는 두유에 cysteine 을 여러가지 농도로 첨가하고 papain 으로 가수분해시킨 후 여기에 젖산균을 접종하여 산생성을 관

찰하였다.

Table 3에 나타난 바와 같이 cysteine 0.02% 또는 0.05% 첨가로 젖산균의 산생성은 대조군에 비하여 9-20% 증가하였으나 cysteine 을 0.1% 이상 첨가했을 때는 cysteine 0.05%의 경우보다 산생성이 오히려 감소하였다. Cysteine 첨가로 papain 의 활성이 증가되어 단백질 가수분해가 촉진됨에 따라 젖산균의 산생성도 촉진된 것으로 해석되며, 0.1% 이상의 cysteine 첨가로 산도가 더 이상 증가하지 않는 것은 고농도의 cysteine 에 의하여 젖산균의 생육과 산생성이 저해를 받기 때문이라고 생각된다⁽⁷⁾. 젖산균의 산생성을 촉진시킬 수 있는 cysteine 의 최저농도는 0.02%인데 이 정도의 농도에서는 대두요구르트에 cysteine 의 유허냄새가 비교적 강하게 잔존하여 관능성이 저하되므로 이후의 모든 실험에서는 cysteine 첨가없이 실험을 실시하였다.

Table 3. Effect of cysteine on acid production by *L. acidophilus* in soy milk^{a)}

Conc. of cysteine (%) ^{d)}	Conc. of papain (%) ^{b)}	pH	%TA ^{c)}	% of control
0 (control)	5	3.82	0.704±0.008	100
0.01	5	3.80	0.695±0.011	99
0.02	5	3.76	0.767±0.011	109
0.05	5	3.69	0.842±0.007	120
0.1	5	3.66	0.830±0.004	118
0.2	5	3.63	0.770±0.007	109
0.5	5	3.53	0.761±0.005	108

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

d) Concentration of cysteine (L-cysteine·HCl·hydrate, GR, Kishida Chemical Co.) was expressed as g cysteine per100 ml milk.

Protease 처리 시간의 효과

본 실험에서는 예비 관능검사의 결과로부터 효소농도가 높을 경우 젖산균에 의한 산생성은 촉진되나 생성된 고농도의 peptide 에 의한 異味感으로 관능성이 저하되는 것을 알았으므로 이후의 모든 실험에서는 효소농도를 0.2%로 하였다. 효소농도를 0.2%로 하고 반응시간을 달리하여 준비한 두유에 젖산균을 접종하여 24시간 배양 후 산도를 측정한 결과는 다음과 같다. 먼저 미생물 protease 의 경우를 보면 (Table 4), 반응시간 15분에 대조군(반응시간 0)에 비하여 산도가 11% 증가하였고 그 후에는 반응시간 3시간까지 큰 변화가 없었으며, papain 의 경우는 (Table 4) 반응시간 45분까지 산도가 서서히 증가하여 대조군보다 9%가 높았으며

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

Type of protease	Microbial protease			Papain			
	Reaction time	pH	%TA ^{b)}	% of control	pH	%TA ^{b)}	% of control
0 (control)		3.80	0.550±0.007	100	3.73	0.552±0.004	100
15 min		3.77	0.613±0.011	111	3.72	0.572±0.006	104
30 min		3.76	0.624±0.007	113	3.71	0.581±0.008	105
45 min		3.76	0.624±0.007	113	3.68	0.604±0.007	109
1 hr		3.75	0.624±0	113	3.69	0.604±0.007	109
2 hr		3.75	0.624±0.004	113	3.69	0.610±0.004	111
3 hr		3.77	0.624±0.007	113	3.69	0.613±0.004	111

a) Soy milk was treated with protease of 0.2% at 50°C and added with glucose of 1%

b) Mean values and standard deviation of four replications.

%TA: Corrected value

그 후에는 반응시간 3시간까지 큰 변화가 없었다. 한편 두 효소를 혼합사용한 경우 (Table 5), 반응시간 15분에 대조군보다 산도가 12% 증가하였고 그 후 반응시간 3시간까지 완만한 증가를 보였다. 미생물 protease, papain, 혼합효소를 서로 비교하면, 같은 반응시간에 서는 혼합효소, 미생물 protease, papain 의 순으로

산도가 높아서 혼합효소 처리에 의하여 젖산균의 산생 성이 상승적으로 촉진됨을 보였다. 한편 pH는 반응시 간에 3시간에 이르러도 거의 변화가 없었는데 그 이유 는 생성된 peptides에 의한 완충작용 때문이라고 생각 된다. 이상의 결과로 보아서 반응시간 1시간 이후에는 산도의 증가가 현저하지 않은 것으로 판단되어 이후의

Table 5. Effect of hydrolysis time on acid production by *L. acidophilus* in soy milk treated with microbial protease and pa-pain^{a)}

Reaction time	Conc. of microbial protease (%)	Conc. of papain (%)	pH	%TA ^{b)}	% of control
0 (control)	0.2	0.2	3.85	0.549±0	100
15 min	0.2	0.2	3.82	0.615±0.011	112
30 min	0.2	0.2	3.81	0.624±0.007	114
45 min	0.2	0.2	3.84	0.624±0.013	114
1 hr	0.2	0.2	3.81	0.631±0.012	115
2 hr	0.2	0.2	3.79	0.638±0.009	116
3 hr	0.2	0.2	3.82	0.644±0.011	117

a) b) See footnote in Table 4.

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

	Type of protease	Culture time (hr)						
		0	6	12	18	24	30	48
Titratable acidity (%) ^{b)}	Control	0	0.143 (±0.004)	0.309 (±0.004)	0.426 (±0.004)	0.559 (±0.016)	0.625 (±0.012)	0.720 (±0.007)
	Microbial protease	0	0.156 (±0.004)	0.366 (±0.004)	0.504 (±0)	0.626 (±0.009)	0.700 (±0.022)	0.819 (±0.006)
	Papain	0	0.150 (±0.004)	0.357 (±0.004)	0.504 (±0)	0.624 (±0.016)	0.699 (±0.036)	0.819 (±0.006)
	Microbial protease and papain	0	0.189 (±0.007)	0.384 (±0.004)	0.519 (±0.008)	0.632 (±0.017)	0.714 (±0.026)	0.819 (±0)
pH	Control	6.25	4.90	4.26	3.98	3.86	3.82	3.70
	Microbial protease	6.14	4.73	4.15	3.95	3.81	3.80	3.60
	Papain	6.18	4.78	4.19	3.90	3.80	3.84	3.61
	Microbial protease and papain	6.11	4.67	4.15	3.92	3.82	3.81	3.65
Viable cell count (CFU/ml)	Control	8.4 × 10 ⁷	3.4 × 10 ⁸	1.6 × 10 ⁹	1.5 × 10 ⁹	2.0 × 10 ⁹	1.2 × 10 ⁹	1.1 × 10 ⁹
	Microbial protease	7.9 × 10 ⁷	2.8 × 10 ⁸	1.2 × 10 ⁹	1.2 × 10 ⁹	1.3 × 10 ⁹	1.2 × 10 ⁹	9.0 × 10 ⁸
	Papain	7.2 × 10 ⁷	3.5 × 10 ⁸	1.4 × 10 ⁹	1.0 × 10 ⁹	1.7 × 10 ⁹	1.6 × 10 ⁹	7.0 × 10 ⁸
	Microbial protease and papain	8.8 × 10 ⁷	3.2 × 10 ⁸	1.3 × 10 ⁹	1.1 × 10 ⁹	1.6 × 10 ⁹	1.4 × 10 ⁹	7.0 × 10 ⁸

a) b) See footnote in Table 4.

실험에서는 protease 처리시간을 1시간으로 하였다.

배양시간에 따른 젖산균의 산생성과 생육의 변화

본 실험에서는 두유에 효소를 0.2% 가하고 50°C에서 1시간 가수분해시킨 후 젖산균을 접종하여 48시간 동안 배양하면서 젖산균의 산생성과 생육을 관찰하였다. Table 6에서 산도를 보면 배양시간 전 기간에 걸쳐서 protease로 처리한 시료의 산도가 대조군보다 현저하게 높았으며 protease 시료 사이에서는 혼합효소 시료가 가장 높았고 미생물 protease 시료가 papain 시료보다 다소 높은 경향을 보였다. pH의 변화를 보면 protease 시료의 pH가 대조군보다 다소 낮았으나 protease 시료 사이에서는 뚜렷한 차이가 없었다. 생균수의 변화를 보면 대조군과 나머지 3시료 사이에 차이가 없었으며 대체로 12시간을 전후로 하여 정지기가 시작되어 48시간까지 계속되는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 효소에 따라 차이가 있으나 protease 처리로 젖산균에 의한 산생성이 촉진되는 것으로 나타났는데 그 주된 이유는 단백질 가수분해로 생성된 peptides가 젖산균의 산생성을 촉진하기 때문이라고 생각된다. 요구르트제조에 사용되는 젖산균은 일반적으로 단백질 분해능력이 약한 것으로 알려져 있다⁽²¹⁾.

금과 金⁽⁵⁾은 두유에 0.0008%의 protease를 가한 후 *L. acidophilus*를 접종하고 37°C에서 24시간 배양하면서 젖산균의 생육과 산생성을 관찰하였는데, 대조군에 비하여 protease 첨가 시료에서 젖산균의 생육과 산생성이 현저하게 촉진되었다고 보고하였다. 본 연구에서 얻어진 결과를 보면 protease 처리로 산생성이 촉진되는 점은 금과 金⁽⁵⁾의 연구결과와 그 경향이 일치하지만 산생성 촉진효과가 그들이 얻은 결과만큼 현저하지는 않았으며 생균수의 증가도 보이지 않았다. 이와 같이 다소 相異한 결과가 나온 이유는 두 실험의 재료와 방법이 서로 다르기 때문이라고 생각된다. 즉 금과 金⁽⁵⁾의 실험에서는 全脂大豆로부터 두유를 만들었고, 두유에 protease를 첨가한 후 젖산균을 접종하여 단백질 가수분해와 젖산 발효를 동시에 실시하였는데 이것은 본 실험에서 사용한 재료 및 방법과는 다소 相異한 것이었다.

Protease 처리가 대두요구르트의 향미에 미치는 영향

본 실험에서는 두유에 효소를 0.2% 가하고 50°C에

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

Type of protease	Average flavor score		
	Overall acceptability	Taste	Texture
Microbial protease	5.85 a	5.30 a	5.25 a
Papain	5.45 ab	5.15 a	5.00 a
Reference	5.05 bc	5.05 a	5.05 a
Microbial protease and papain	4.65 c	4.95 a	5.10 a

a) Soy milk was treated with protease of 0.2% for one hour at 50°C and added with glucose of 1%.

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.

서 1시간 가수분해한 후 젖산균을 접종하고 24시간 배양하여 얻은 커드상의 대두요구르트로부터 액상의 젖산균음료를 제조하여 관능검사를 실시하였다. Table 7에 나타난 바와 같이 전체적인 기호도(overall acceptability)는 미생물 protease 시료와 papain 시료가 표준시료보다 우수하고 혼합효소 시료가 표준시료보다 저조하였는데 특히 미생물 protease 시료와 표준시료 사이에는 5% 수준에서 유의차가 있었다. 한편 맛(taste)은 그 경향이 전체적인 기호도와 유사하여 미생물 protease 시료와 papain 시료는 표준시료보다 우수하고 혼합효소 시료는 표준시료보다 저조하였으나 4시료 사이에 유의차는 없었다. 마지막으로 조직감(texture)을 보면 미생물 protease 시료와 혼합효소 시료가 표준시료보다 다소 우수하였으나 4시료 사이의 차이는 현저하지 않았다.

미생물 protease나 papain 처리로 관능성이 증가하는 이유는 생성된 peptides에 의하여 젖산균의 생육과 산생성이 촉진됨에 따라 두유의 콩비린내 성분이 감소되고 유제품의 芳齎 성분이 많이 만들어지기 때문이라고 생각된다⁽²²⁾. 한편 혼합효소 시료의 경우는 젖산균의 산생성은 높으나 단백질 가수분해로 생성된 peptides의 양이 과다하게 남아 있어서 대두요구르트에 異味感을 주기 때문에 관능성이 표준시료보다 오히려 저조했던 것으로 생각된다.

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

Reaction time	Type of protease								
	Microbial protease			Papain			Microbial protease and papain		
	(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±0	433.3±2.8	1.9	8.4±0	431.9±1.7	1.9	9.8±0	436.7±2.8	2.2
15 min	82.1±1.3	433.3±2.8	18.9	57.4±1.2	431.9±1.7	13.3	110.7±1.2	436.7±2.8	25.3
30 min	86.9±2.0	433.3±2.8	20.1	58.8±0	431.9±1.7	13.6	114.9±0	436.7±2.8	26.3
45 min	93.9±1.4	433.3±2.8	21.7	60.2±1.2	431.9±1.7	13.9	126.1±0	436.7±2.8	28.9
1 hr	98.9±1.6	433.3±2.8	22.8	64.4±0	431.9±1.7	14.9	128.9±2.3	436.7±2.8	29.5
2 hr	114.9±2.3	433.3±2.8	26.5	65.8±1.4	431.9±1.7	15.2	147.1±1.7	436.7±2.8	33.7
3 hr	128.1±1.3	433.3±2.8	29.6	67.2±0	431.9±1.7	15.6	159.7±0	436.7±2.8	36.6

a) Mean values (and standard deviation) of three replications. Values are expressed as mg of nitrogen in 100 ml soy milk. Soy milk was treated with protease of 0.2% at 50°C.

Protease 처리에 의한 TCA 용해 질소의 변화

본 실험에서는 효소처리로 생성된 非단백태 질소 (non-protein nitrogen : NPN)의 함량을 구하기 위하여 일정시간 가수분해시킨 시료를 TCA 용액으로 처리하였다. Table 8에 나타난 바와 같이 미생물 protease, papain, 혼합효소 어느 경우나 가수분해시간 15분에 이미 높은 수치를 나타냈으며 반응시간 전체에 걸쳐 미생물 protease 나 혼합효소 시료의 수치가 papain 시료의 수치보다 높았다. 효소 처리하지 않은 시료에 함유된 NPN 은 두유나 효소제로부터 유래된 것으로 생각되며 가수분해시간 15분에 이미 NPN 의 수치가 높은 것은 두유에 효소를 가하고 수조에 넣어 온도를 50°C까지 올리는 시간과 효소를 불활성화 (95°C, 30분)시키기 위하여 온도를 올리는 과정에서 가수분해가 일어났기 때문이라고 생각된다. 가수분해시간의 효과를 조사한 실험 (Table 4, 5)에서 같은 반응시간에 있어서 papain 시료의 산도보다 미생물 protease 나 혼합효소 시료의 산도가 높은 것은 Table 8에서 같은 반응시간에 있어서 papain 시료보다 다른 두 시료의 NPN 함량이 높다는 사실과 관계가 있다고 생각된다.

요 약

본 연구에서는 농축대두단백으로 두유를 만들고 미생물 protease 와 papain 을 단독 또는 혼합 사용하여 대두단백질을 가수분해한 후, 단백질이 일부 가수분해된 두유에서 *L. acidophilus* 의 생육과 산생성을 관찰

하고 제조된 젖산균음료의 관능성을 조사하였다. Protease 처리로 젖산균의 산생성이 촉진되었는데 미생물 protease 가 papain 보다 효과적이었으며 2종의 효소를 혼합 사용했을 때는 상승효과가 보였다. 그러나 protease 처리로 pH 와 생균수는 큰 변화가 없었다. 미생물 protease 의 경우는 가수분해시간 15분까지, papain 의 경우는 가수분해시간 45분까지 산생성 촉진 효과가 현저했으나 그 후에는 3시간이 경과하여도 큰 변화가 없었다. 미생물 protease 0.2% 또는 papain 0.2% 처리로 대두젖산균음료의 전체적인 기호도와 맛이 다소 개선되었다. Protease 처리 15분에 비단백태 질소의 함량이 현저하게 증가하였고 그 후 3시간까지 서서히 증가하였다.

문 헌

1. Angeles, A. and Marth, E.:Growth and activity of lactic acid bacteria in soy milk, part 1. *J. Milk and Food Technol.*, **34**, 30(1971)
2. 성원희, 임숙자, 고영태 :분리대두단백이 유산균의 생육에 미치는 영향, 한국식품과학회지, **16**, 120(1984)
3. 유지창, 임숙자, 고영태 :농축대두단백을 이용한 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, **16**, 143(1984)
4. 이정숙, 고영태, 백정기 :탈지대두유가 *L. acidophilus* 의 생육에 미치는 영향, 한국농화학회지, **27**, 7(1984)
5. 김오섭, 김창한 :두유에서의 유산균 생육과 산생성에 관한 연구, 산업미생물학회지, **7**, 205(1979)
6. 김경희, 고영태 :두유에서 젖산균의 생육과 산생성에 관

- 한 연구, 한국식품과학회지, 19, 151(1987)
7. 고영태 : 두유에 첨가된 Methionine 이 유산균의 생육과 산생성에 미치는 영향, 한국농화학회지, 30, 17(1987)
 8. 이재성, 한판주, 서기봉 : 두유를 이용한 변형 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 4, 194(1972)
 9. 이 호 : 두유와 탈지두유를 이용한 유산균음료 제조에 관한 연구, 고려대학교 대학원 석사학위논문(1980)
 10. 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 Sci. and Technol.*, 14, 182(1977)
 11. Wang, H.L., Kraidej, L. and Hesseltine, C.W.: Lactic acid fermentation of soybean milk *J. Milk and Food Technol.*, 37, 71(1974)
 12. Pinthong, R., Macrae, R. and Rothwell, J.: The development of a soya-based yogurt, part 1, *J. Food Technol.*, 15, 647(1980)
 13. Yamanaka, Y. and Furukawa, N.: Studies on utilization of soybean protein for food manufacturing, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 17, 456(1970)
 14. Sugimoto, H., Nishio, M., Horiuchi, T. and Fukushima, D.: Improvement of organoleptic quality of fermented soybean beverage by additions of PGA and Ca lactate, *J. Food Proc. and Preserv.*, 5, 83(1981)
 15. ADM Foods: Composition of soy protein concentrate, ADM Foods, Decatur, Ill.(1982)
 16. 태평양화학 : 태평양화학 복합효소제 2000, 태평양화학, 서울(1987)
 17. Fluka AG: Catalogue 15(Chemika, Biochemika), Fluka AG, Switzerland(1986)
 18. Kang, C.K. and Warner, W.D.: Tenderization of meat with papaya latex proteases, *J. Food Sci.* 39, 812(1974)
 19. Larmond, E.: *Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food*, Canada Dept. of Agriculture, Ottawa, p.31(1977)
 20. 신호선 : 식품분석(이론과 실험), 신광출판사, p. 83(1985)
 21. Rasic, J.L. and Kurmann, J.A.: *Yoghurt*, Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, p.194(1978)
 22. 문승애, 김영배, 고영태 : 두유에서 젖산균의 생육과 대두요구르트의 香味, 한국식품과학회지, 18, 118(1986)

(1989년 2월 14일 접수)