

당의 종류와 효소처리가 분리대두단백으로 제조한 대두요구르트의 품질특성에 미치는 영향

이숙영 · 오경남
중앙대학교 식품영양학과

Effects of Sweeteners and Enzyme Treatments on the Quality Attributes of Soy Yogurt Containing Soy Protein Isolate

Sook Young Lee and Kyong Nam Oh

Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University San 40-1, Nae-ri,
Daeduk-myun, Ansong-si, Kyungki-do, 456-756, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the effects of enzyme treatments on the functional properties of soy protein isolate (SPI) and to examine the quality attributes of soy yogurt prepared by different enzyme treatments, sweeteners and starter cultures. Enzyme treatment increased the solubility and emulsifying capacity of soy proteins, but decreased the emulsifying stability; the enzymatic activity of α -chymotrypsin was higher than that of trypsin. Enzyme treatments decreased the pH of soy yogurts prepared by both culture methods, the culture of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* and the culture of *L. bulgaricus* and *K. fragilis*, but increased the titratable acidity, total numbers of lactic acid bacteria and yeast. Trypsin was more effective than α -chymotrypsin in decreasing pH and increasing titratable acidity and total numbers of lactic acid bacteria and yeast. Fructose decreased the pH of soy yogurts more than sucrose in the culture of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*, and vice versa in the culture of *L. bulgaricus* and *K. fragilis*. Fructooligosaccharides were more effective in the culture of *L. bulgaricus* and *K. fragilis* than in the culture of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* in increasing the titratable acidity, total count of lactic acid bacteria and yeast. In sensory evaluation, soy yogurts containing trypsin treated SPI, fructose and fructooligosaccharides (75%:25%) were more acceptable than those containing untreated or trypsin treated SPI and fructose. This was because of more smooth and less sour, in which the values of pH, titratable acidity, microbial growth, and viscosity were in the range of commercial yogurts. Soy yogurts fermented by *L. bulgaricus* and *K. fragilis* showed more smooth mouthfeel than those fermented by *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*.

Key words: Quality attributes, soy yogurt, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces fragilis*

1. 서 론

대두를 이용한 식품에서 불쾌한 이취미인 콩비린내를 감소시켜 풍미가 향상된 식품을 개발하려는 연구들¹⁻⁷⁾이 활발히 진행되어 왔다. 콩비린내를 감소시키기 위하여 대두를 열처리하거나 효소처리하는 등의 방법이 이용되었으며 특히 효소에 의한 단백질의 가수분해는 단백질의 기능성을 유용하게 변화시킨다. 또한 두유를 젖산균으로 발효하여 대두의 콩비린내를 감소시키며 풍미를 증진시키려는 목적으로 대두요구르트에 대한 연구가 국내외적으로 활발히 진행되었다.

Yamanaka와 Furugawa⁸⁾는 *Lactobacillus acidophilus*,

Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei* 등 젖산균의 산생성이 각종 첨가물(탈지우유, 당, 단백질 가수분해물, yeast extract, whey powder 등)에 의해 크게 증가되었다고 보고하였다. 한편 탈지두유보다는 두유가 젖산균 생육의 우수한 배지였으며, 분리대두단백을 첨가한 요구르트는 훨씬 부드러운 조직을 생성하였다⁹⁾. 박과 이³⁾는 젖당 첨가가 단독 또는 혼합 배양한 대두 요구르트 제조시 pH의 감소, 산도 및 젖산균수의 증가에 효과가 있었다고 보고하였다. 두유의 젖산발효시 산생성은 균체수, 균 생육속도와 당이용성에 의해 결정된다고 하였는데^{8,9)}, 대부분의 젖산균들은 일반적으로 포도당, 과

당, 갈락토오스, 젖당, 맥아당 등의 당류를 잘 이용하였다고 보고하였다. 효모는 젖산균과 공존시 젖산균의 생육을 촉진하거나 젖산균의 장기간 생존을 가능하게 한다. Smith 등¹³⁾에 의하면, 효모가 *Streptococcus lactis*의 생육을 촉진하였는데 이는 효모 추출물 중의 작은 peptide가 젖산균의 생육촉진인자로서 작용하는 것이라고 하였다. Souliès¹⁴⁾에 의하면 *Torulopsis*는 알콜 비발효성인데, 이것과 함께 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 배양하던 효모가 산을 이용하므로 젖산균을 5~8개월간 보존 할 수 있다고 하였다.

이에 본 연구에서는 대두단백의 풍미와 기능성의 향상을 목적으로 효소처리한 분리대두단백을 사용하고, 당의 종류로는 자당, 과당, 프럭토올리고당을 첨가하여 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 혼합배양 또는 *L. bulgaricus*와 *Kluyveromyces fragilis*의 혼합배양으로 대두요구르트를 만들어서 효소처리, 첨가된 당의 종류와 배합비, 배양방법 등이 젖산균의 생육과 산생성 및 대두요구르트의 품질특성에 미치는 영향을 연구하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

분리대두단백(SPI)으로는 시판되고 있는 Supro E 500을 (주)광일에서 제공받아 사용하였고 효소처리에 사용된 단백질 분해효소는 trypsin(Waco, 201-03272, activity: 30 units/mg protein)과 α -chymotrypsin(Sigma C-4120, activity: 40~60 units/mg protein)이었다. 당류로는 자당(Waco, 196-00015), 과당(Sigma, F-0127), 프럭토올리고당((주)삼양제넥스 연구소)이 사용되었다. 젖산균으로는 *L. bulgaricus*(KCTC3188)와 *S. thermophilus*(KCTC2185), 효모로는 *K. fragilis*를 한국생명공학연구소에서 분양받아 incubator에서 37°C, 18시간 배양하여 대두요구르트 제조에 사용하였다.

2. 실험 방법

(1) 분리대두단백의 효소처리

10% SPI 용액을 만들어 1 N NaOH와 1 N HCl을 이용하여 pH를 7.0으로 맞춘 후 trypsin 0.5%(w/w), α -chymotrypsin 0.5%(w/w)를 가하여 천천히 저어 주면서 37°C에서 30분과 60분 동안 반응시켰다. 효소반응이 끝난 용액은 즉시 87°C에서 5분간 열처리하여 효소를 불활성화하고 반응을 정지시킨 후 동결건조시켰다. 본 실험의 대조군(control)으로는 효소처리하지 않은 SPI를 사용하였다.

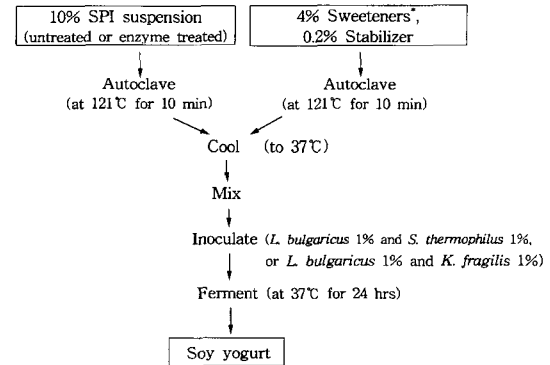


Fig. 1. Procedure for the preparation of soy yogurts treated by different enzymes, sweeteners, and starter cultures.

*sucrose, fructose
or fructose : fructooligosaccharide (75:25, 50:50).

(2) 대두 요구르트의 제조

효소처리, 당의종류와 배합비 및 배양방법 등을 달리한 대두요구르트(시료)의 제조과정은 Fig. 1과 같다. 10% SPI(대조균과 효소처리균) 용액을 121°C에서 10분간 가열 살균한 후 37°C로 냉각시켰다. Maillard 반응에 의한 갈변화를 피하기 위하여 4% 당류(자당, 과당, 프럭토올리고당)와 안정제(xanthan gum 0.2%)를 분리대두단백과 분리하여 살균한 다음 37°C로 냉각한 후 젖산균을 접종하기 직전에 SPI 용액과 혼합하였다. 혼합용액에 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 배양액을 각각 1%(v/v)씩 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였고, 또한 젖산균과 효모의 혼합배양인 경우 *L. bulgaricus*와 *K. fragilis*의 배양액을 각각 1%씩 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양하여 시료를 제조하였다. 이때 초기에 접종된 균의 수는 대두요구르트 1 ml 당 *L. bulgaricus*는 2.3×10^5 CFU, *S. thermophilus*는 2.1×10^5 CFU, *K. fragilis*는 2.4×10^2 CFU이었다.

(3) 효소처리한 분리대두단백의 기능적 성질 측정

1) 용해도 측정

분리대두단백 0.3 g을 0.1 N NaOH 30 ml에 용해시킨 다음 biuret법으로 정량하였다(A). 1% 분리대두단백 용액을 6 N HCl용액으로 각각 pH 3.5, 4.0, 4.5, 5.0으로 조절한 후 25°C에서 300 rpm 속도로 1시간 동안 교반하였다. $4,000 \times g$ 로 20분간 원심분리하여 상층액의 단백질을 Biuret법으로 정량하였다(B). 용해도는 각 pH에서 상층액의 단백질 함량(B)과 용해도가 100%라고 생각되는 pH에서의 단백질 함량(A)을 비교하여 구하였다¹²⁾.

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{B}{A} \times 100$$

2) 유화력 측정

1% 대두단백 용액의 pH를 7.0으로 조절한 후 자석 교반기로 10분간 교반한 다음 25 ml를 취하여 공기름 0.82 ml를 넣고 homogenizer(Nissei, AM-7)의 1000 rpm에서 1분간 교반하였다. 생성된 유화용액 0.1 ml를 0.1% sodium dodecyl sulfate(SDS) 용액으로 1:150이 되게 희석한 뒤 500 nm에서 흡광도를 측정하였고 다음 식에 의해 구한 탁도로 유화력을 나타내었다¹³⁾.

Turbidity=2.303 A/L

A: Absorbance, L: pathlength of cuvette (1 cm)

3) 유화안정성 측정

유화안정성은 유화력 측정시와 같은 방법으로 유화액을 형성한 다음 측정되었다. 유화액을 형성한 다음 30분과 1시간 후에 0.1 ml의 유화액을 취해 위와 동일하게 500 nm에서 흡광도를 측정하여 탁도를 구하였고 유화안정성은 다음 식에 의해 계산되었다.

Emulsifying stability (%)

$$= \frac{T \text{ of emulsion after } t \text{ min}}{T \text{ of initial emulsion}} \times 100$$

T: turbidity

t: 30 or 60 (min)

(4) 대두요구르트의 품질평가

1) pH 및 산도 측정

각 시료의 pH는 pH meter(Metrohm 635)로 측정하였다. 시료 10 ml를 취하여 2배로 희석한 다음 지시약으로 phenolphthalein을 사용하여 0.1 N NaOH로 분홍색이 될 때까지 중화적정하였으며, 산도는 이때 소비된 0.1 N NaOH의 ml수를 측정하여 다음 다음 식을 이용하여 lactic acid(LA) %로 환산하여 표시하였다¹⁴⁾.

$$LA (\%) = \frac{ml \text{ of } 0.1 \text{ N NaOH} \times 0.009}{ml \text{ of sample}} \times 100$$

2) 젖산균수 및 효모수 측정

시료 1 g을 무균적으로 취하여 멸균 peptone 수에 의한 10배 희석법으로 희석하였고 젖산균은 Lactobacillus MRS 배지에, 효모는 PD 한천배지에 도말시킨 후 37°C 배양기에서 48시간 동안 배양시켜 colony 수가 25~250개가 나타나는 평판배지를 선택하여 젖산균수 및 효모수를 산출하였다.

3) 점도 측정

점도의 측정은 Ioanna 등¹⁵⁾과 성 등¹⁶⁾의 방법을 약간 변형하여 Brookfield viscometer(Model LVF Brookfield Engineering Lab. Inc. USA)를 사용하여 측정하였

다. 시료의 온도를 항온수조에서 37°C로 유지하면서 spindle No.1 또는 No.3으로 30 rpm과 60 rpm에서 점도를 측정하였다.

4) 관능검사

중앙대학교 식품영양학과 대학원생 10명을 panel로 하여 사전 교육시킨 후, 대두요구르트 시료 20 ml씩 제공하여 외관, 콩비린내, 신맛, 쓴맛, 입안에서의 질감, 전반적인 바람직성 등에 대해 5점 평점법(scoring test)¹⁷⁾으로 관능평가를 실시하였다. 시료는 4°C에서 1일간 저장한 후 평가되었는데 평가항목은 외관(매우 좋지 않다 1점~매우 좋다 5점), 콩비린내(강하게 난다 1점~전혀 나지 않는다 5점), 신맛(매우 강하거나 약하다 1점~매우 적당하다 5점), 쓴맛(매우 쓰다 1점~전혀 쓰지 않다 5점), 입안에서 질감(매우 거칠다 1점~매우 부드럽다 5점), 전반적인 바람직성(매우 바람직하지 않다 1점~매우 바람직하다 5점)이었다.

5) 통계처리

모든 실험은 요인분석(Factorial design) 및 완전임의 배치법(completely randomized design)으로 실시하였고 통계분석은 PC-SAS(1989)를 이용하였다. 시료간의 유의성은 모든 쌍의 평균(all-pairwise comparison)으로 분산분석한 후 Tukey의 Honestly Significant Difference (HSD) test(p<0.05)로 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 효소처리가 분리대두단백의 기능적 성질에 미치는 영향

(1) 용해도

효소의 종류와 처리시간, pH를 달리하여 대두단백의 용해도를 측정하여 Fig. 2와 같다. 비효소처리군과 효소처리군 간의 대비에서 효소처리군이 비효소처리군보다 단백질의 용해도가 더 높았다(p<0.05). 효소처리군 간에 있어서는 α-chymotrypsin 처리군이 trypsin 처리군보다 단백질 용해도가 더 높았고 α-chymotrypsin 60분 처리군이 가장 높았다. 가수분해 시간에 따른 용해도는 모든 효소처리군에서 60분 처리군이 30분 처리군보다 더 높았는데(p<0.05), 60분 효소처리군의 용해도가 30분 효소처리군보다 더 높았던 것은 효소반응이 진행됨에 따라 단백질이 분해되어 극성 group이 증가되거나 친수성 group이 노출되어 물과의 반응가능성이 높아졌기 때문으로 사료된다.

pH에 따른 용해도는 모든 효소처리군이 등전점(pH 4.5)에 가까울수록 낮아졌고 등전점에서 멀어질수록 재 용해되어 용해도가 상승되었으며 모든 pH에 있

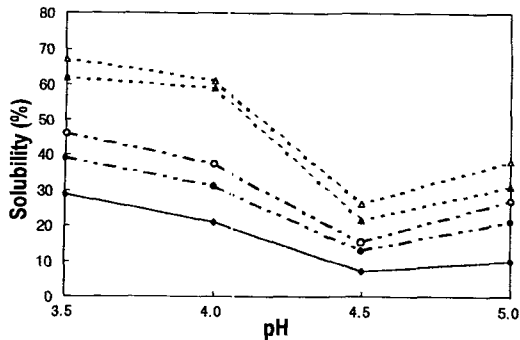


Fig. 2. Solubility of soy proteins treated by different enzymes and hydrolysis times at different pH ◆--◆: untreated, ▲--▲: α -chymotrypsin, 30 min, △--△: α -chymotrypsin, 60 min, ●--●: trypsin, 30 min, ○--○: trypsin, 60 min.

어서 α -chymotrypsin 처리군의 단백질 용해도가 가장 높았다.

(2) 유화력

효소의 종류와 처리시간을 달리하여 대두단백의 유화력을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 효소처리군의 유화력이 비효소처리군보다 더 높았으나 비효소처리군과 trypsin 처리군 간에는 유의적인 차이가 없었다($p > 0.05$). 가수분해 시간에 따른 유화력은 α -chymotrypsin 처리군과 trypsin 처리군과는 다른 경향을 나타내었는데, 30분처리군과 60분처리군 간에 유의적인 차이는 없었으나($p > 0.05$), α -chymotrypsin 처리군이 trypsin 처리군보다 유화력이 높았다($p < 0.05$) 이와 같은 결과를 통해 유화력을 높이기 위해서는 일정한 크기의 peptide가 필요하다는 것을 알 수 있다^{18,19}.

효소에 의한 단백질의 가수분해는 물-기름 계면에서 유화에 참여할 수 있는 peptide의 수를 증가시키고 또한 단백질 내부에 있는 소수성 잔기들을 노출시켜

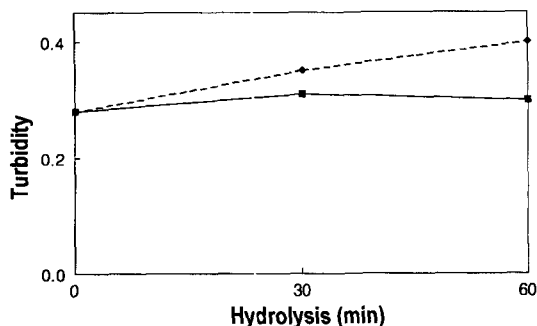


Fig. 3. Turbidity of the soy protein emulsions treated by different enzymes and hydrolysis times. ◆--◆: α -chymotrypsin, ■--■: trypsin.

Table 1. Effects of different enzyme treatments and hydrolysis times on the emulsifying stability of soy proteins after 30 and 60 min (unit: %)

Treatments	Hydrolysis times (min)	After 30 min	After 60 min
Untreated	0	82.8 ^a ±0.2	81.0 ^a ±0.2
Trypsin treated	30	70.8 ^b ±0.2	67.0 ^b ±0.2
	60	65.4 ^c ±0.2	62.2 ^c ±0.2
α -Chymotrypsin treated	30	51.0 ^d ±0.2	47.2 ^d ±0.2
	60	37.8 ^e ±0.2	33.6 ^e ±0.2

^{a-e}Means with different superscripts in the same column differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test ($p < 0.05$).

hydrophilic-lipophilic balance를 높여줌으로써 유화력을 향상시킨다^{18,19}고 하였다. Franzen 등¹²은 변형단백질의 경우 유화력과 용해도의 변화가 일치하고 있으며, 김 등²⁰은 용해도와 유화력 사이의 직접적인 관계가 있음을 보고하였으나 용해도와 유화력 사이에서는 항상 일치되는 경향은 보이지 않는다고 하였다.

(3) 유화 안정성

효소의 종류와 처리시간을 달리하여 대두단백의 유화안정성을 측정된 결과는 Table 1와 같다. 비효소처리군의 유화안정성이 가장 높았으며 효소처리군 간에 있어서 유화안정성은 trypsin 처리군이 α -chymotrypsin 처리군보다 더 높았는데($p < 0.05$), 이는 용해도가 높을수록 유화력은 증가되었으나 유화안정성이 저하되는 경향을 나타내었다. 가수분해 시간에 따른 유화안정성은 trypsin과 α -chymotrypsin 처리군 모두 60분 처리군이 30분 처리군보다 더 낮았다($p < 0.05$). 또한 효소처리군의 유화안정성이 비효소처리군보다 더 낮았으며 효소처리시간이 길수록 유화안정성이 감소되었다. 이는 지나친 가수분해는 peptide 길이가 짧아지면서 구형이 깨어져 기름방울을 둘러싸는 유화막이 얇아지고 경계면에서의 consistency가 낮아지므로 유화를 안정시키기에 불충분하기 때문인 것이다¹². 시간 경과에 따른 유화안정성은 모든 효소처리군이 시간이 경과할수록 유화안정성이 낮아지는 경향을 나타내었다.

2. 효소처리, 당의 종류와 배합비 및 배양방법 등이 대두요구르트의 품질특성에 미치는 영향

(1) pH

효소처리, 당의 종류와 배합비 및 배양방법 등을 달리하여 제조한 시료의 pH를 측정된 결과는 Table 2에 제시되어 있다. 효소처리군의 pH는 비효소처리군보다 더 낮게 나타났는데, 이는 효소의 가수분해로 인해 단백질 가수분해물 등의 젖산균 생육촉진물질들이 많

Table 2. Effects of different enzyme treatments, sweeteners and starter cultures on the pH of soy yogurts

Treatments	Sweeteners	Starter cultures	
		<i>L. bulg.</i> + <i>S. thr.</i> ²⁾	<i>L. bulg.</i> + <i>K. fra.</i> ³⁾
Untreated	Sucrose	^A 5.66 ^a	^A 5.45 ^a
	Fructose	^B 5.51 ^a	^A 5.46 ^a
	Fruc(75%)+F.O(25%) ¹⁾	^B 5.45 ^a	^B 5.21 ^a
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^B 5.36 ^a	^B 5.13 ^a
Trypsin treated	Sucrose	^B 5.36 ^a	^B 5.10 ^b
	Fructose	^E 3.87 ^b	^B 5.21 ^a
	Fruc(75%)+F.O(25%)	^{DE} 3.91 ^b	^{DE} 4.62 ^b
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^E 3.77 ^b	^E 4.59 ^b
α -Chymo- trypsin treated	Sucrose	^B 5.40 ^a	^B 5.10 ^b
	Fructose	^{CD} 4.05 ^b	^B 5.13 ^a
	Fruc(75%)+F.O(25%)	^{CD} 4.07 ^b	^C 4.91 ^a
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^C 4.20 ^b	^{CD} 4.78 ^a

¹⁾Fruc(75%)+F.O(25%) means fructose: fructooligosaccharide=75%:25%.

²⁾*L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

³⁾*L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

^{A-E)}Means with different superscripts in the same column differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test (p<0.05).

^{a,b)}Means with different superscripts in the same row differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test (p<0.05).

이 생성되었기 때문이라고 사료된다. 효소처리군에서는 대체로 α -chymotrypsin 처리군의 pH가 trypsin 처리군보다 더 높았다. 또한 배양방법에 따른 pH는 두 종류의 젖산균으로 혼합배양한 자당 첨가군이 과당 첨가군보다 더 높았다(p<0.05). 즉 자당 첨가군의 pH가 다른 당첨가군보다 높게 나타난 것은 *L. bulgaricus*는 비환원당인 자당을 이용하지 못하고 과당, 프럭토올리고당과 같은 환원당을 잘 이용하기 때문으로 사료된다. 올리고당의 첨가에 따른 pH는 모든 처리군에서 유의적인 차이가 없었다(p>0.05). 젖산균과 효모의 혼합배양에서는 모든 처리군에서 과당 첨가군의 pH가 자당 첨가군과는 유의차 없이 가장 높았다(p>0.05). 모든 처리군에서 올리고당을 첨가할수록 pH가 저하되었으나 올리고당 25% 첨가군과 50% 첨가군 간에는 유의적인 차이가 없었고(p>0.05) 젖산균과 효모의 혼합배양의 경우 올리고당의 이용효과가 큰 것으로 나타났다.

(2) 산도

효소처리, 당의 종류와 배합비 및 배양방법 등을 달리하여 제조한 시료의 pH를 측정된 결과는 Table 3에 제시되어 있다. 효소처리군의 산도는 비효소처리군보다 더 높았으며 효소처리군의 산도는 두 종류 젖산균의 혼합배양한 경우 효모와 젖산균으로 혼합배양한 경우보다 더 높았는데 이는 단백질 가수분해물의 우

Table 3. Effects of enzyme different treatments, sweeteners and starter cultures on the titratable acidity of soy yogurts (unit: %)

Treatments	Sweeteners	Starter cultures	
		<i>L. bulg.</i> + <i>S. thr.</i> ²⁾	<i>L. bulg.</i> + <i>K. fra.</i> ³⁾
Untreated	Sucrose	^F 0.38 ^b	^{EG} 0.49 ^a
	Fructose	^F 0.41 ^a	^{EG} 0.49 ^a
	Fruc(75%)+F.O(25%) ¹⁾	^D 0.55 ^a	^{CD} 0.60 ^a
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^D 0.57 ^a	^C 0.62 ^a
Trypsin treated	Sucrose	^E 0.48 ^a	^{DE} 0.53 ^a
	Fructose	^A 1.31 ^a	^{EG} 0.52 ^b
	Fruc(75%)+F.O(25%)	^C 1.16 ^a	^A 0.94 ^b
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^A 1.30 ^a	^A 0.95 ^b
α -Chymo- trypsin treated	Sucrose	^{EF} 0.45 ^b	^{DEF} 0.56 ^a
	Fructose	^B 1.23 ^a	^G 0.46 ^b
	Fruc(75%)+F.O(25%)	^B 1.21 ^a	^{CD} 0.60 ^b
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^C 1.13 ^a	^B 0.79 ^b

¹⁾Fruc(75%)+F.O(25%) means fructose: fructooligosaccharide =75%:25%.

²⁾*L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

³⁾*L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

^{A-E)}Means with different superscripts in the same column differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test (p<0.05).

^{a,b)}Means with different superscripts in the same row differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test (p<0.05).

수한 산생성능, 효모발효시 생산된 alcohol의 pH 완충 작용 때문이라고 생각된다. 한편 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 혼합배양에서 상호 공생관계가 형성되는데 *L. bulgaricus*는 아미노산을 생성하여 *S. thermophilus*에게 공급하고, *S. thermophilus*는 formic acid를 생성하여 *L. bulgaricus*에게 공급하므로써 생육이 촉진되므로²¹⁾ 이들의 혼합배양시 산생성력이 우수하다. 효모와 젖산균을 혼합배양한 경우, 모든 처리군에서 올리고당을 첨가할수록 산도가 증가되었다. 효소처리군에서는 trypsin 처리군의 산도가 α -chymotrypsin 처리군보다 더 높은 경향을 나타냈다(p<0.05). 비효소처리군과 자당을 첨가한 효소처리군의 산도는 요구르트의 산도로 적합하지 않았으나 과당 및 과당과 올리고당을 첨가하여 두 종류 젖산균으로 혼합배양한 trypsin 처리군과 α -chymotrypsin 처리군 및 과당과 올리고당을 첨가하여 젖산균과 효모를 혼합배양한 trypsin 처리군은 요구르트의 산도로써 적합하였다.

(3) 젖산균수 및 효모수

효소처리, 당의 종류와 배합비 및 배양방법 등을 달리하여 제조한 시료의 젖산균수 및 효모수는 Table 4에 제시되어 있다. 젖산균수는 효소처리군이 비효소처리군보다 더 높았으며 두 종류의 젖산균으로 혼합

Table 4. The total numbers of lactic acid bacteria in soy yogurts prepared by different enzyme treatments, sweeteners and starter cultures after incubation at 37°C for 24 hours (unit: CFU/ml)

Treatments	Sweeteners	Starter cultures	
		<i>L. bulg.+S. thr.</i> ²⁾	<i>L. bulg.+K. fra.</i> ³⁾
Untreated	Sucrose	$2.0 \times 10^7 \pm 4.0 \times 10^6$	$1.2 \times 10^7 \pm 2.1 \times 10^5$
	Fructose	$2.2 \times 10^7 \pm 4.0 \times 10^6$	$1.3 \times 10^7 \pm 8.0 \times 10^5$
	Fruc(75%)+F.O(25%) ¹⁾	$2.8 \times 10^7 \pm 3.9 \times 10^6$	$2.9 \times 10^7 \pm 7.6 \times 10^5$
	Fruc(50%)+F.O(50%)	$2.9 \times 10^7 \pm 3.9 \times 10^6$	$3.1 \times 10^7 \pm 5.8 \times 10^5$
Trypsin treated	Sucrose	$1.4 \times 10^8 \pm 7.9 \times 10^6$	$1.8 \times 10^8 \pm 8.1 \times 10^6$
	Fructose	$4.5 \times 10^8 \pm 2.8 \times 10^6$	$1.7 \times 10^8 \pm 8.5 \times 10^6$
	Fruc(75%)+F.O(25%)	$3.3 \times 10^8 \pm 4.5 \times 10^6$	$2.2 \times 10^8 \pm 5.3 \times 10^6$
	Fruc(50%)+F.O(50%)	$3.6 \times 10^8 \pm 2.3 \times 10^6$	$2.3 \times 10^8 \pm 4.5 \times 10^6$
α -Chymotrypsin treated	Sucrose	$1.7 \times 10^8 \pm 6.6 \times 10^6$	$2.1 \times 10^8 \pm 5.0 \times 10^6$
	Fructose	$2.9 \times 10^8 \pm 4.9 \times 10^6$	$1.9 \times 10^8 \pm 8.8 \times 10^6$
	Fruc(75%)+F.O(25%)	$2.7 \times 10^8 \pm 9.5 \times 10^6$	$2.1 \times 10^8 \pm 8.5 \times 10^6$
	Fruc(50%)+F.O(50%)	$2.6 \times 10^8 \pm 1.0 \times 10^7$	$2.4 \times 10^8 \pm 1.7 \times 10^7$

¹⁾Fruc(75%)+F.O(25%) means fructose: fructooligosaccharide=75%:25%.

²⁾*L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

³⁾*L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

배양한 경우, 비효소처리군에서 올리고당을 첨가한 시료의 생균수가 가장 많았으나, 효소처리군에서는 fructose만을 첨가한 시료의 생균수가 가장 많았다. 효모와 젖산균을 혼합배양한 경우는 비효소처리군을 제외하고 자당 첨가군의 생균수가 과당 첨가군보다 더 많았다. 이는 *K. fragilis*에 의해 자당이 포도당과 과당으로 분해되어 *L. bulgaricus*가 이용함으로써 산 생성량이 증가되었기 때문이다¹¹⁾. 또한 젖산균과 효모를 혼합배양한 경우는 올리고당 첨가비율이 높을수록 생균수가 많았는데 이는 효모가 올리고당을 분해하면서 이의 분해산물을 *L. bulgaricus*가 이용하여 산생성능이 향상되는 것으로 사료된다.

Table 5. The total numbers of yeast in soy yogurts prepared by different enzyme treatments and sweeteners after incubation at 37°C for 24 hours (unit: CFU/ml)

Treatments	Sweeteners	<i>L. bulg.+K. fra.</i> ²⁾
Untreated	Sucrose	$3.7 \times 10^4 \pm 9.7 \times 10^2$
	Fructose	$3.3 \times 10^4 \pm 3.0 \times 10^2$
	Fruc(75%)+F.O(25%) ¹⁾	$4.1 \times 10^4 \pm 2.5 \times 10^2$
	Fruc(50%)+F.O(50%)	$4.3 \times 10^4 \pm 1.9 \times 10^2$
Trypsin treated	Sucrose	$5.6 \times 10^4 \pm 1.3 \times 10^4$
	Fructose	$5.3 \times 10^4 \pm 7.5 \times 10^2$
	Fruc(75%)+F.O(25%)	$7.3 \times 10^4 \pm 1.0 \times 10^3$
	Fruc(50%)+F.O(50%)	$9.0 \times 10^4 \pm 1.5 \times 10^3$
α -Chymotrypsin treated	Sucrose	$5.0 \times 10^4 \pm 5.2 \times 10^2$
	Fructose	$4.2 \times 10^4 \pm 1.7 \times 10^3$
	Fruc(75%)+F.O(25%)	$5.1 \times 10^4 \pm 8.5 \times 10^2$
	Fruc(50%)+F.O(50%)	$6.0 \times 10^4 \pm 8.0 \times 10^2$

¹⁾Fruc(75%)+F.O(25%) means fructose: fructooligosaccharide=75%:25%.

²⁾*L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

젖산균과 효모로 혼합배양한 시료의 효모수는 Table 5에 제시되어 있다. 효소처리군의 효모수는 비효소처리군보다 더 많았으며 trypsin 처리군이 α -chymotrypsin 처리군보다 더 많았다. 당첨가에 따른 효모수는 모든 처리군에서 자당첨가군의 효모수가 과당첨가군보다 더 많았고 과당만을 첨가한 시료에서 가장 적었다. 또한 올리고당의 첨가에 따른 효모수는 첨가비율이 높을수록 많아지는 경향을 나타내어 효모는 과당보다는 자당과 올리고당의 이용성이 더 좋은 것으로 나타났다.

(4) 점도

효소처리, 당의 종류와 배합비 및 배양방법 등을 달리하여 제조한 시료의 젖산균수 및 효모수는 Table 6에 제시되어 있다. Trypsin 처리군의 점도가 비효소처리군보다 더 높았으나 α -chymotrypsin 처리군의 점도는 비효소처리군보다 훨씬 낮았다. 즉 α -Chymotrypsin 처리군의 점도가 현저히 낮은 것은 효소처리에 의해 가수분해가 진행됨에 따라 고유점도는 감소되는데, 분산질의 분자량 및 기하학적 입자구조와 깊은 관계가 있으며 분자량이 작을수록 또한 구조가 구형에 가까울수록 고유점도가 작아지고²¹⁾ 또한 trypsin 처리군의 점도가 비효소처리군보다 높게 나타난 것은 효소처리에 의한 산생성이 시료의 점도를 증가시킨 것으로 사료된다. 당첨가에 따른 점도는 자당 첨가군이 가장 낮았으며 과당 첨가군의 점도가 자당 첨가군보다 높았는데 Keating 등²²⁾은 과일 요구르트에 자당, 과당, 아스파르트산 등 여러 종류의 당을 첨가해 본 결과 과당 첨가군이 수분결합능력이 커서 점도가 더 컸다고 보

Table 6. Effects of different enzyme treatments, sweeteners and starter cultures on the viscosity of soy yogurts (unit: centipoise (cp))

Treatments	Sweeteners	Starter cultures	
		<i>L. bulg.</i> + <i>S. thr.</i> ²⁾	<i>L. bulg.</i> + <i>K. fra.</i> ³⁾
Untreated	Sucrose	^g 1045.00 ^a	^e 840.00 ^b
	Fructose	^f 1160.00 ^a	^d 960.00 ^b
	Fruc(75%)+F.O(25%) ¹⁾	^{ef} 1170.00 ^a	^e 870.00 ^b
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^e 1200.00 ^a	^d 915.00 ^b
Trypsin treated	Sucrose	^d 1245.00 ^a	^d 920.00 ^b
	Fructose	^a 2475.00 ^a	^b 1560.00 ^b
	Fruc(75%)+F.O(25%)	^c 1810.00 ^a	^c 1280.00 ^b
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^b 2035.00 ^a	^a 1720.00 ^b
α -Chymotrypsin treated	Sucrose	^h 47.00 ^a	^f 30.75 ^b
	Fructose	^h 63.50 ^a	^f 47.00 ^b
	Fruc(75%)+F.O(25%)	^h 52.75 ^a	^f 27.00 ^b
	Fruc(50%)+F.O(50%)	^h 75.25 ^a	^f 52.75 ^b

¹⁾Fruc(75%)+F.O(25%) means fructose: fructooligosaccharide =75%:25%.

²⁾*L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

³⁾*L. bulgaricus*+*S. fragilis*.

^{a-h)}Means with different superscripts in the same column differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test ($p < 0.05$).

^{ab)}Means with different superscripts in the same row differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test ($p < 0.05$).

고하여 Keating 등의 연구결과와 일치하였다. 올리고당의 첨가비율에 따른 점도는 50%의 비율로 첨가한 시료군이 25%의 비율로 첨가한 시료군보다 더 높았다. 배양방법에 있어서는 두 종류의 젖산균 혼합배양한 경우 젖산균과 효모로 혼합배양한 시료보다 점도가 더 높았다.

(5) 관능적 특성

관능검사에 사용된 시료는 시판 요구르트의 점도와 유사한 trypsin 처리군 중에서 비교적 산생성이 우수한 과당 첨가군과 과당과 프럭토올리고당의 첨가비율을 75:25로 한 시료를 선정하여 관능적 특성을 비교하였다. Table 7에서 보는 바와 같이 외관과 콩비린내는 시료간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 신맛에 있어서는 효소처리하지 않고 젖산균과 효모로 혼합배양한 시료가 가장 낮은 점수를 보였고 이에 반해 trypsin 처리군의 젖산균과 효모로 혼합배양하고 프럭토올리고당을 25% 첨가한 시료가 좋은 점수를 나타내었는데 이의 pH는 4.62로서 시판 요구르트의 pH와 유사하였다. 쓴맛에 있어서는 효소처리하고 효모와 혼합배양한 시료의 쓴맛이 좋은 점수를 보였다. 이는 효소처리하고 두가지 젖산균으로 혼합배양한 시료도 같은 정도의 효소처리를 하였지만 효모와 혼합배양한 시료의 쓴맛이 더 좋은 점수를 보인 것은 알콜발효에 의한 covering 효과 때문인 것으로 사료된다. 입안에서의 질감은 배양방법이 같은 시료간에는 유의적인 차이는 없었고 젖산균과 효모를 혼합배양한 요구르트 가 두 종류 젖산균으로 혼합배양한 요구르트보다 더 부드럽다고 평가되었다. 전반적인 바람직성은 과당과 프럭토올리고당을 75:25의 비율로 첨가한 trypsin 처리군들이 pH와 산도가 시판요구르트와 유사하였기 때문에 과당을 첨가하고 두 종류의 젖산균으로 혼합배양한 경우보다 더 바람직하다고 평가되었다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 대두요구르트의 품질 향상을 목적으로 효소처리, 당의 종류와 배합비, 배양방법을 달리하

Table 7. Sensory evaluation of soy yogurts prepared by different enzyme treatments, sweeteners and starter cultures

Samples Items	A	B	C	D	E	F	F-value
Visual appearance	3.20	2.80	2.75	2.65	3.10	3.15	0.80 ^{N.S.}
Beany flavor	3.35	2.85	3.35	3.60	3.85	3.85	1.81 ^{N.S.}
Sour taste	2.55 ^a	1.95 ^b	2.20 ^{ab}	2.10 ^{ab}	2.30 ^{ab}	2.45 ^a	2.28 [*]
Bitter taste	3.45 ^a	3.70 ^a	2.80 ^b	3.80 ^a	3.00 ^{ab}	3.70 ^a	3.33 [*]
Mouth feel	2.35 ^b	3.95 ^a	2.55 ^b	4.10 ^a	2.95 ^b	3.85 ^a	23.89 [*]
Overall acceptability	2.50 ^b	2.70 ^{ab}	2.45 ^b	2.90 ^{ab}	3.45 ^a	3.25 ^a	1.73 [*]

^{N.S.}: not significant, ^{*} $p < 0.05$.

^{ab)}Means with different superscripts in the same row differ significantly by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test ($p < 0.05$).

A: untreated, fructose, *L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

B: untreated, fructose, *L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

C: trypsin treated, fructose, *L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

D: trypsin treated, fructose, *L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

E: trypsin treated, fructose:fructooligosaccharide=75%:25%, *L. bulgaricus*+*S. thermophilus*.

F: trypsin treated, fructose:fructooligosaccharide=75%:25%, *L. bulgaricus*+*K. fragilis*.

여 대두요구르트를 만들어서 이들이 젖산균의 생육 및 산생성과 대두요구르트의 품질특성에 미치는 영향을 검토하였다. 효소처리한 대두단백이 효소처리하지 않은 대두단백보다 용해도와 유화력은 높았으나 유화안정성은 낮았다. 효소처리한 대두단백으로 제조한 대두요구르트의 품질특성에 있어서는 효소처리에 의해 산생성이 촉진되었으며, trypsin 처리군이 요구르트의 점도로 적합하였으나 점도가 대체로 낮은 α -chymotrypsin 처리군은 적합하지 않았다. 또한 당첨가에 따라서는 두 종류의 젖산균으로 혼합배양한 경우에 자당의 이용성이 좋지 않았으나 젖산균과 효모를 혼합배양한 경우에는 자당의 이용성이 과당과 비슷하였고 올리고당의 이용성은 자당과 과당의 이용성보다 더 좋았다. 자당이외의 다른 당을 첨가하였을 경우는 효소처리군의 경우 두 종류 젖산균의 혼합배양이 젖산균과 효모의 혼합배양보다 pH를 더 많이 감소시켰고 산도와 젖산균수를 더 증가시켰으나 비효소처리군의 pH와 산도에 있어서 배양방법에 따른 유의적인 차이가 없었다. 관능평가 결과, 젖산균과 효모로 혼합배양한 대두요구르트들의 질감이 두 종류의 젖산균으로 혼합배양한 대두요구르트보다 더 부드러웠다. 과당과 프럭토올리고당을 75:25의 비율로 첨가하여 젖산균과 효모로 혼합배양한 trypsin 처리군이 pH, 산도, 점도, 전반적인 바람직성에서 좋은 결과를 보였다.

감사의 글

이 논문은 1997년 중앙대학교 학술 연구비에 의하여 수행된 것으로써 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Yamanaka, T. and Furukawa, N.: Studies on utilization of soy protein for food manufacturing. II. Influence of soy milk added to slim milk on the acidity and the hardness of curd produced by lactic acid bacteria for dairy use, *J. Food Sci. Technol., Tokyo*, **17**: 456 (1970).
2. 문성애, 고영태: 분리대두단백으로 제조된 젖산균 음료의 저장성, *한국식품과학회지*, **18**(2): 113 (1986).
3. 박미정, 이숙영: Lactose와 효모의 첨가가 대두요구르트 발효 중 젖산균의 생육특성 및 관능적 특성에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **29**(3): 553 (1997).
4. 권태완: 콩과 현대인의 건강, '현대인의 건강을 위한 콩단백질의 영양과 이용' 국제심포지움 발표논문집, *한국식품과학회. 한국콩연구회*, p. 3 (1993).
5. Akiva, D.E.: Classification, definition and methodology, protein functionality, ACS. Symposium. series, **147**: 3 (1981).
6. Mital, B.K., Steinkraus, K.H. and Naylor, H.B.: Growth of lactic acid bacteria in soy milks, *J. Food Sci.*, **39**(1): 1018 (1974).
7. Mital, B.K. and Steinkraus, K.H.: Utilization of oligosaccharides by lactic acid bacteria during fermentation of soy milk, *J. Food Sci.*, **40**(6): 1114 (1975).
8. Angeles, A.G. and Marth, E.H.: Growth and acidity of lactic acid bacteria in soy milk. I. Growth and acid production, *J.M. Food Technol.*, **34**: 36.
9. Mital, B.K. and Steinkraus, K.H.: Fermentation of soy milk by lactic acid bacteria, A Review, *J. Food Prot.*, **42**(1): 895 (1979).
10. Smith, J.S., Hiller, A.J., Less, G. and Jago, G.R.: The nature of stimulation of the growth of *Streptococcus lactis* by yeast extract, *J. Dairy Res.*, **42**: 123 (1975).
11. Soulides, D.A.: Synergism between yogurt bacteria and yeast and the effect of their association upon the viability of the bacteria, *Appl. Microbiol.* **3**: 129 (1982).
12. Franzen, K.L. and Kinsella, J.E.: Functional properties of succinylated and acetylated soy protein, *J. Agr. Food Chem.*, **24**(2): 788 (1976).
13. Pearce, K.N. and Kinsella, J.K.: Emulsifying properties of proteins evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. and Food Chem.*, **26**(3): 716 (1978).
14. 유주현: 식품공학실험서 I, 탐구당, p. 449 (1995).
15. Ioanna, S., Martinou-Voulasiki and Zerfiridis, G.K.: Effect of Some Stabilizers on Textural and Sensory Characteristics of yogurt Ice Cream from Sheep's Milk, *J. Food Sci.*, **55**(3): 703 (1990).
16. 성원희, 임숙자, 고영태: 분리대두단백이 *Lactobacillus acidiphilus*의 생육에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **16**(1): 120 (1984).
17. Elizabeth, L.: Laboratory method for sensory evaluation of food, Agricultural Canada, p. 31 (1977).
18. Kimball, M.E., Hsien, D.S.T. and Rha, C.: Chymotrypsin hydrolysis of soybean protein, *J. Agric. Food Chem.*, **29**(4): 872 (1981).
19. Olsen, H.S. and Alder-Nissen, J.: Industrial production and applications of a soluble enzymatic hydrolysates of soy protein, *Process Biochem.*, **14**: 6 (1979).
20. 김영숙, 조형용, 조은경, 이신영, 변유량: 분리대두단백질의 기름-물 계면흡착과 유화안정성에 관한 연구, *한국식품과학회지*, **18**(6): 468 (1986).
21. 이철호, 김찬식, 이삼빈: 효소처리에 의한 분리대두단백질의 부분기수분해에 관한 연구, *한국식품과학회지*, **16**(2): 228 (1984).
22. Keating, K.R. and White, G.R.: Effect of alternative sweeteners in plain and fruit-flavored yogurt, *J. Dairy Sci.*, **73**(1): 54 (1990).

(1999년 1월 19일 접수)