

Bacillus firmus NA-1 균주를 이용한 비지로부터 혈전분해능효소 및 펩타이드 생산

오수명 · 서지현 · 이삼빈[†]

계명대학교 식품가공학과

Production of Fibrinolytic Enzyme and Peptides from Alkaline Fermentation of Soybean Curd Residue by *Bacillus firmus* NA-1

Soo-Myung Oh, Ji-Hyun Seo and Sam-Pin Lee[†]

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701 Korea

Abstract

To produce functional food ingredient from the soybean curd residue (SCR), alkaline fermentation was performed with SCR from cold processed (D-SCR) or hot processed (P-SCR) tofu. The solid-state fermentation was performed by *Bacillus firmus* NA-1 at 42°C. The fermentation of heat-treated D-SCR resulted in higher production of peptides and fibrinolytic enzyme compared with D-SCR without heating. The P-SCR showed higher production of peptides, fibrinolytic enzyme, indicating alkaline pH after fermentation for 18 hr. When the moisture content of P-SCR was reduced to 60%, the production of peptides and fibrinolytic enzyme were enhanced. The P-SCR fortified with 10% MFS (micronized full-fat soy flour) showed higher fibrinolytic enzyme activity and consistency index by fermentation of *Bacillus firmus* NA-1. Furthermore, the P-SCR fortified with 20% MFS indicated relatively higher peptide content, fibrinolytic enzyme activity and enhanced flavor. By increasing the addition of MFS, the peptide content of fermented P-SCR was increased significantly, but fibrinolytic enzyme was slightly decreased.

Key words: soybean curd residue, *Bacillus*, peptide, fibrinolytic enzyme

서 론

대두는 예로부터 두부, 장류, 콩나물 등 다양한 전통식품에 이용되고 있으며, 특히 여러 가지 식품에 첨가되어 양질의 단백질 공급원이 될 뿐만 아니라 식품가공에서도 다양한 용도로 사용되고 있다(1). 콩의 국내 소비를 용도별로 보면 30%가량만이 직접 이용되고 나머지 70%는 식용유, 간장, 두유 및 두부 등의 2차 가공품 생산에 활용되고 있다(2). 특히, 두부는 전통적으로 동양인의 중요한 단백질공급원으로 오랫동안 소비되어 왔으며, 콩 단백질의 농축 및 압착과정에서 콩유청(순분)과 비지(soybean curd residue)가 부산물로 생산된다. 부산물인 비지에는 영양성분 및 식이섬유 등이 많이 남아있음에도 불구하고 수분함량이 70%이상 되므로 자체에 존재하는 미생물에 의해서 쉽게 변질되기 때문에 대부분이 가축의 사료로 이용되거나 부패된 상태로 폐기 처리되고 있다(3,4). 따라서 비지의 활용은 부산물의 이용이라는 측면에서 뿐만 아니라 환경 오염원의 처리비용 절감이라는 면에서도 중요한 연구과제이다.

비지에 관련된 연구로는 비지의 저장성을 연장하기 위한 비지의 건조에 관하여 연구(5,6), 건조방법에 따른 비지의

품질변화(6), 건조비지 첨가에 의한 두부의 제조에 관한 연구(7), 효소제를 첨가한 비지의 발효과정 중 탄수화물 성분 변화에 관한 연구(8) 및 빵 제조 시 비지 첨가 효과(9) 등이 있다. 일본에서는 비지로부터 다당류의 추출 및 정제에 관한 연구가 보고(10)되었다. 특히, 비지발효에 관한 연구로는 비지에서 분리된 젖산균의 동정 및 발효특성(11), 비지의 고초균발효에 의한 성분변화에 관한 연구(12), 비지와 밀기울의 혼합물을 이용한 장 제조(13) 등이 보고되어 있지만 국내외적으로 비지의 고초균 발효에 의한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 일본청국장에서 분리 동정된 *Bacillus firmus* NA-1을 종균으로 이용하며, 전지활성 생대두 미세분말이 강화된 비지의 고체발효를 통해서 비지를 생리활성물질이 포함된 기능성소재로 전환시키는 기본연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

실험에 사용된 비지는 경상남도 창녕에서 생산된 P-회사 비지와 경상북도 김천에서 가져온 D-회사 비지를 사용하였

[†]Corresponding author. E-mail: splee@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5554, Fax: 82-53-580-5554

고, 각각 비지는 P-비지, D-비지로 나타냈으며 1 kg씩 비닐팩에 담아 -20°C 에서 보관하여 사용하였다. 전지활성 생대두미세분말(micronized full-fat soy flour, MFS)은 Perican Co.(Toyko, Japan)으로부터 구입하였다. Fibrin, Fibrinogen, thrombin 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였으며, 그 외의 시약은 특급시약을 사용하였다.

사용균주

비지의 고초균 발효에 이용된 균주는 Seo와 Lee(14)가 일본청국장으로부터 분리한 *Bacillus firmus* NA-1을 5% 콩미세분말용액을 포함한 agar배지에서 42°C 에서 24시간 활성화시켰다.

Starter 배양액 제조

전지활성 생대두미세분말을 5% 용액을 균질화한 후 121°C 에서 15분간 살균하여 냉각한 액체 배지 50 mL에 MRS agar plate에서 42°C 에서 1일 배양시킨 *Bacillus firmus* NA-1 균주를 1회 접종한 뒤 진탕배양기(SI-900R, JEIO TECH Co., Ltd., Korea)에서 42°C , 24시간 동안 180 rpm으로 배양하여 starter로 사용하였다. 스타터 배양액의 생균수는 MRS agar plate에서 확인하였다.

pH 측정

pH meter는(Model 420A⁺, Thermo Orion, USA)를 이용하여 측정하였으며, 발효 비지 20 g을 채취하여 80 mL의 멸균수에 혼합한 후 혼합기(Jeil Scientific Ind. Co., Ltd., Korea)로 2분 동안 5,000 rpm에서 혼합한 후 시료의 pH를 측정하였다.

생균수 측정

발효 비지 20 g을 멸균수 80 mL에 혼합하여 얻은 발효비지 추출액을 10^5 , 10^6 배로 단계별 희석하여 MRS broth agar 배지에 20 μL 도말한 후, 37°C 항온배양기에서 24시간 배양한 후의 생균수를 측정하였다.

혈전용해효소의 활성측정

혈전용해효소 활성은 fibrin plate method의 일종인 Astrup and Müllertz method(15)를 사용하여 측정하였다. Fibrin plate는 0.5% fibrinogen을 0.067 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)에 용해시켜서 직경 9 cm인 petri dish에 10 mL을 가하였다. 여기에 0.067 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)에 용해된 thrombin(100 NIH/mL) 0.1 mL을 가하고 신속하게 혼합하고 균일한 평판을 제조한 후 실온에서 30분 방치하여 고정화시켰다. Fibrin plate에 시료 점적 위치를 표시하고 발효비지 추출액을 20 μL 씩 각 표시한 위치에 점적하여 37°C 에서 2시간 반응시킨 후 용해 면적으로 효소 활성을 구하였다. 혈전용해효소의 표준곡선을 구하기 위해서 표준 plasmin 효소활성의 표준곡선을 작성하였다. 발효비지 중의 혈전용해효소는 표준곡선과 비교하여 plasmin unit로 환산하

여 혈전용해활성(%)을 나타내었다.

혈전용해활성(%)=

$$(\text{시료의 용해영역}/\text{plasmin의 용해영역}) \times 100$$

Tyrosine 함량 측정

비지 발효물의 peptide 생성정도를 측정하기 위하여 Folin phenol 시약을 이용하여 발효비지의 추출액 중에 존재하는 tyrosine 함량을 구하였다(16). 각 발효비지를 5배 희석하여 추출한 시료를 증류수로 5배 희석시킨 시료액 0.7 mL에 0.44 M TCA(trichloroacetic acid) 0.7 mL을 첨가하고 37°C 에서 30분간 반응시키고, $22,250 \times \text{g}$ 에서 10분 동안 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 회수된 상등액 1 mL에 0.55 M Na_2CO_3 2.5 mL와 phenol reagent 0.5 mL를 차례로 넣고 혼합한 후 37°C 항온수조에서 30분간 반응시켰다. 상온에서 냉각시킨 후 반응액의 흡광도를 spectrophotometer(UNION, Kontron instruments, France)로 660 nm에서 측정하였다.

점도 측정

비지 발효물의 점도는 Rheometer System(HAAKE Rheo-Stress 1, Germany)에 spindle(Platte PP35 Ti, D=35 mm)을 장착하여 measuring plate P61을 사용하여 측정하였다. 측정온도 20°C 에서 전단속도($\dot{\gamma}$)는 $1 \sim 100 \text{ s}^{-1}$ 의 범위에서 점도 측정을 통해서 유동특성을 알아보고, 점도도지수와 유동지수 값은 Power law model로 측정하였다(17).

살균과 비살균 비지를 이용한 시간별 발효

P-비지는 두부제조공정에서 열처리된 콩 우유로부터 스크루 방식에 의해서 얻어진 온비지이며, D-비지는 두부제조과정 중에서 열처리 하지 않은 콩 마쇄물을 원심분리에 의해서 콩 우유를 제거하고 부산물로 얻어지는 일종의 냉비지이다. 비지는 -20°C 에 냉동 보관된 비지를 전자레인지에서 30분간 해동한 후 autoclave를 이용하여 121°C 에서 15분간 살균을 하였으며, 살균과 비살균 비지에 고초균 starter 1%를 접종한 뒤 42°C 에서 18, 24, 30, 42, 48시간동안 시간별 발효를 하였다. 발효된 비지발효물의 20 g을 멸균수 80 mL에 녹인 시료를 이용하여 pH, tyrosine, 혈전용해능 및 점도를 측정하였다.

수분함량에 따른 비지의 변화

비지는 -20°C 에 냉동 보관된 비지를 전자레인지에서 30분간 해동한 후 비지의 수분함량을 조절하기 위해서 열풍건조기(HS, Hwashin, Korea)를 이용하여 50°C 에서 비지를 일정 시간 건조한 다음 autoclave를 이용하여 121°C 에서 15분간 살균을 하였으며, 살균된 비지를 이용하여 고초균 starter 1%를 접종한 뒤 18, 24, 30시간동안 42°C 에서 발효시킨 후 상기의 방법으로 분석하였다.

MFS첨가에 따른 비지의 발효

P-비지를 발효하는 경우에 전지활성 생대두미세분말(mi-

cronized full-fat soy flour, MFS)을 첨가하여 실시하였다. MFS를 비지에 0, 10, 20, 30%로 첨가한 후 autoclave를 이용하여 121°C에서 15분간 살균한 뒤 고초균 starter 1%를 접종하여 18시간동안 42°C에서 발효시켰다. 비지 발효물 20 g에 증류수 80 mL 첨가하여 균질화한 후에 여과 체(sieve)를 이용하여 여과시킨 시료 14 mL을 취하여 원통형점도계에 넣은 후 증밀림속도를 100(1/s)까지 증가시키면서 점도를 측정하였으며, power law equation에 의해서 점조도 지수 및 유동지수 값을 구하였다. 발효비지의 분석은 위와 동일한 방법으로 수행하였다.

결과 및 고찰

살균과 비살균 비지를 이용한 시간별 발효

비지는 두부 제조공정에서 열처리 유무에 따라 냉비지 또는 온비지 형태로 생산되며, 또한 콩 우유를 얻기 위한 압착 방법의 차이에 따라 비지의 수분함량에 큰 차이가 있다. 본 실험에 사용한 P-비지는 스크루압착에 의해서 얻어진 온비지이며 수분 72%, 초기 pH 7.4, 환원당 7.3 mg/g, 총생균수 6.5×10^6 CFU/g이었다. 반면에 원심분리방식에 의해 부산물로 얻어진 냉비지인 D-비지는 수분 84%, 초기 pH 6.8, 환원당 14.6 mg/g, 총생균수 6.0×10^7 CFU/g을 나타내었다. 비지 발효에서 중요한 초기 수분함량은 온비지가 냉비지보다 10%정도 낮은 것을 알 수 있었다. Fig. 1에서 보는 것처럼 D-비지의 경우에 살균의 유무에 따라 청국장 발효의 큰 차이를 보였다. 각 비지에 고초균 스타터 1%를 접종시켰을 때, 살균 D-비지와 살균 또는 비살균된 P-비지에서는 18시간 발효 시에도 초기 pH 6.8에서 pH 8이상을 보이면서 발효가 되었으며, 이때의 발효비지의 고초균은 각각 3.2×10^9 , 5.9×10^9 , 4.5×10^8 CFU/g을 보였다. 비살균된 D-비지에서는 24

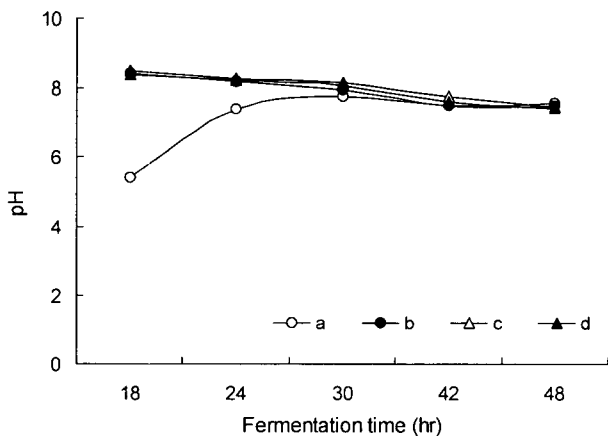


Fig. 1. Effect of heat-treatment on pH of SCR fermented at 42°C.

a: non-sterilized D-SCR, b: sterilized D-SCR, c: non-sterilized P-SCR, d: sterilized P-SCR, D-SCR: soybean curd residue obtained from D-Company, P-SCR: soybean cured residue obtained from P-Company.

시간이상부터 점차 pH가 높아지면서 청국장 발효가 늦게 진행되는 것을 알 수 있었으며, 발효시간이 30시간이 지나서 비지발효물의 pH가 8.0정도에 도달하였으며, 고초균은 1.7×10^9 CFU/g을 나타내었다(Fig. 1). Lee 등(12)은 비지발효에서 50°C이하이면 곰팡이가 생겨 55°C에서 48시간 동안 발효하는 것을 최적으로 보고하였으며, 본 실험에서는 발효 온도와의 차이가 있었다. Lee 등(12)이 사용한 비지는 수분함량이 87%로 높았으며, 이들이 포함한 미생물상에 차이가 있을 것으로 사료된다.

비지의 청국장 발효에 따른 alkaline protease로서 알려진 혈전분해효소의 활성은 Fig. 2에서 나타내고 있다. 비지 발효온도는 42°C가 최적임을 예비실험을 통해서 알 수 있었다. 반면에 42°C에서 30시간 동안 발효시키는 경우에 비살균된 D-비지로부터 얻어진 비지 발효물에서는 혈전분해효소의 활성이 검출되지 않았으며, 살균된 D-비지는 접종된 고초균의 발효에 의해서 상대혈전분해효소활성이 18시간 발효시에 37%에서 30시간에는 45%로 증가되었다. P-비지 경우에는 비살균 비지로부터 발효시간이 증가함에 따라 40~58%의 상대효소활성을 보였으며, 살균 비지 역시 45% 이상의 비교적 높은 상대효소활성을 나타내었다. Seo와 Lee(18)는 콩 grit를 원료로 한 청국장 발효에서 발효시간 24시간에서 상대활성 50~70%로 혈전분해효소 활성을 보였다는 결과와 비교할 때 비지발효물의 혈전분해효소활성은 약간 낮음을 알 수 있었다. 발효된 비지에 존재하는 고초균의 생균수는 살균 D-비지, 살균 또는 비살균 P-비지의 경우에 발효 18시간부터 10^9 개 이상의 *Bacillus*가 보였으나 비살균된 D-비지에서는 30시간 발효시켰을 때 *Bacillus*가 나타나는 것을 알 수 있었다. 이는 비지의 발효물에 존재하는 고초균의 생균수와 혈전분해효소의 생산에 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

비살균된 D-비지의 발효 비지는 시큼한 냄새가 나는 반면에, 살균 발효비지에서는 청국장 냄새가 낮으며 색은 갈색

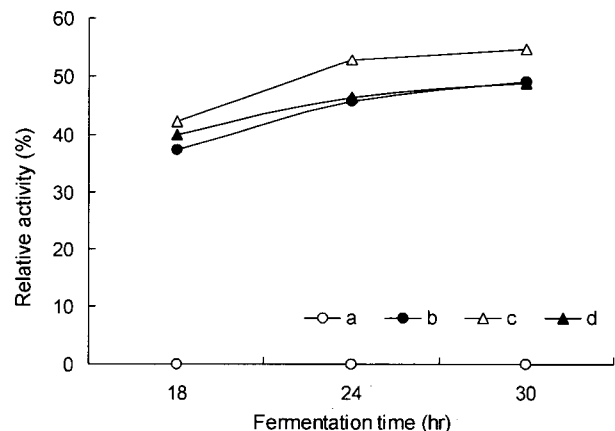


Fig. 2. Effect of heat-treatment on the relative fibrinolytic enzyme activity of P-SCR and D-SCR during alkaline fermentation at 42°C.

Groups are the same as in Fig. 1.

을 나타내었다. 또한 발효 30시간 이후에는 암모니아취가 심해지는 것을 보아 42°C에서 비지는 24시간 이내에 발효시키는 것이 좋을 것으로 사료되었다.

냉비지인 D-비지의 경우에는 비지 자체에 많은 젖산균이 존재하였으며, 특히 45°C 정도에서도 생육하는 젖산균을 분리할 수 있었다. Baek 등(11)은 비지에서 *L. rhamnosus*와 *Ent. faecium*을 분리 동정했으며, *Ent. faecium*은 50°C에서도 생육이 가능하였다고 보고한 바 있다. 따라서 청국장 발효온도에서 접종된 *Bacillus firmus*와 비지에 존재하는 젖산균이 경쟁적으로 생육함으로써 발효초기에 젖산균의 생육에 의한 고초균의 생육이 저해되는 것으로 사료된다. 특히, D-비지로부터 47°C에서도 생육하는 젖산균이 분리되었으며, 이 균주에 대한 연구가 진행 중에 있다. 그러나 D-비지가 발효 전에 살균됨으로서 비지에 존재하는 미생물들이 사멸되고 스타터로 접종된 고초균이 단독으로 생육함으로써 청국장 발효가 단시간에 효과적으로 수행되는 것으로 판단된다.

비지의 종류 및 열처리 유무에 따른 비지 발효물의 펩타이드 함량을 측정하기 위해서 tyrosine 함량을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내고 있다. 비지 발효물로부터 생산되는 단백질의 가수분해물인 peptide 함량은 peptide에 포함된 방향족 아미노산인 tyrosine의 페놀잔기와 반응하는 Folin-Ciocalteu 시약을 사용하여 측정하였다. 비살균된 D-비지의 경우 초기 비지의 tyrosine 함량은 21 mg%에서 비지 발효물의 tyrosine 함량이 100 mg%이하로 증가된 값을 보였으며, 살균 비지의 경우에 발효시간 18시간에는 240 mg%을 크게 증가하였으며, 발효시간에 따라 증가하는 경향을 보였다. 반면에 P-비지 경우에는 비살균 비지의 발효물과 살균 비지의 발효물의 tyrosine 함량이 살균된 D-비지의 발효물보다 높은 값을 보였으며, 발효시간에 따른 증가 추세를 보였다(Fig. 3).

수분함량에 따른 발효비지의 변화

비지의 수분함량이 72%로서 비교적 낮은 P-비지는 고초균에 의한 표면배양에서 24시간 이내에 발효를 통해서 청국

장의 고유한 냄새를 나타냈으며, 특히 비지를 건조하여 수분을 60%로 조절한 비지의 발효물이 가장 점질물이 많고 냄새가 좋았다. Fig. 4에서 P-비지의 수분함량에 따른 비지 발효물의 tyrosine 함량은 초기 수분함량이 72%인 경우보다 수분함량이 감소된 비지의 발효물에서 높게 나타났다. 또한 발효시간이 경과할수록 tyrosine 증가에 따른 peptide 함량이 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 4). 비지 발효물의 혈전분해효소는 초기 비지의 수분함량이 72%인 경우에 발효 18시간 후에 40% 정도의 상대효소활성을 나타내었으며, 24시간에서 증가한 후에 30시간에서는 약간 감소하는 경향을 보였다. 반면에 초기 비지를 건조에 의해서 수분함량을 50~60% 수준으로 감소시킨 경우에 비지 발효물의 상대혈전분해효소 활성은 증가되었으며, 60%의 수분의 비지를 24시간 동안 발효시킨 비지 발효물에서 53%으로 가장 높은 상대혈전분해효소활성을 나타냈다. 발효시간증가에 따른 혈전분해효소활성은 약간의 증가를 보였다. 이는 콩 grit를 이용하여 *Bacillus* 균주로 발효시킨 발효물의 혈전분해효소 생성이 24시간에서 최대 값을 보인 결과는 약간의 차이를 보였다(14). 초기 발효비지의 수분함량에 따른 tyrosine 함량과 혈전분해효소의 활성을 비교할 때 수분함량이 50~60% 수준에서는 고초균 발효에 의한 차이가 크게 없는 것으로 사료되나, 수분함량이 72% 수준으로 높은 경우에는 비지 발효물의 tyrosine과 혈전분해효소의 생산이 저하됨을 알 수 있었다(Fig. 5). Youn 등(19)은 청국장 발효 시 수분함량이 균주에 따라 다르나 53.2~55.9%에서 효과적이었음을 보고하였다. 이는 비지의 경우 60%일 때 가장 발효가 잘되는 것과 비교할 때 약간의 차이를 보였다.

농도별 MFS첨가에 따른 발효비지의 변화

P-비지의 고초균 발효에 전지활성 생대두미세분말의 첨가에 따른 비지 발효물의 tyrosine 함량, 혈전분해효소 및 점

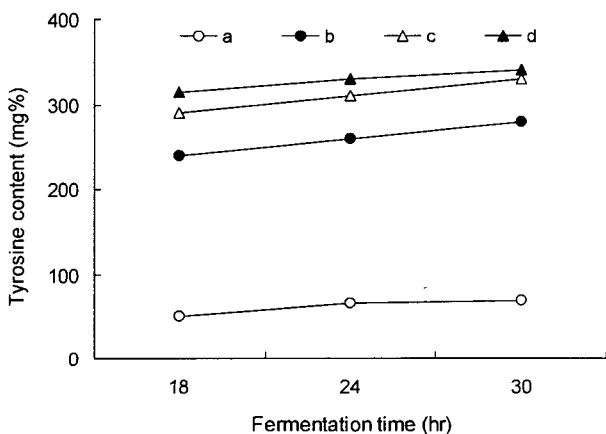


Fig. 3. Effect of heat-treatment on the tyrosine content of SCR fermented at 42°C. Groups are the same as in Fig. 1.

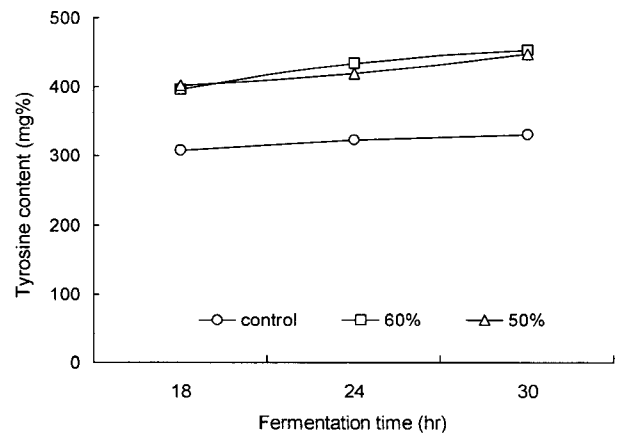


Fig. 4. Effect of moisture content on the tyrosine content of SCR fermented at 42°C. P-SCR: soybean cured residue obtained from P-Company. Initial moisture content: 50%, 60%.

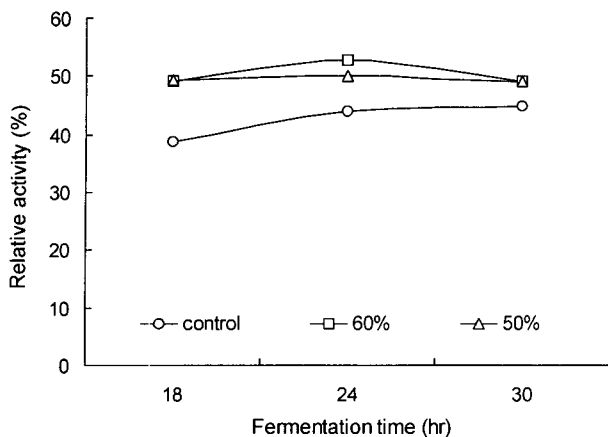


Fig. 5. Effect of moisture content on the relative fibrinolytic enzyme activity of P-SCR fermented at 42°C.

P-SCR: soybean cured residue obtained from P-Company. Initial moisture content: 50%, 60%.

질물에 의한 점도 측정 결과는 Table 1과 같다. 초기 수분함량이 72%인 P-비지에 생대두미세분말의 첨가는 수분함량을 조절할 수 있으며, 콩단백질 강화를 통한 발효 및 대사산물의 생산에 크게 기여할 것으로 평가되었다. Table 1에서 보는 것처럼 전지활성 생대두미세분말이 30% 수준으로 첨가되면서 42°C에서 18시간 동안 발효시킨 비지의 tyrosine 함량은 현저하게 증가하였으며, 이에 반해 발효비지의 pH 변화는 10%이상 첨가에서는 pH 8.0이하로 완만하게 감소되는 결과를 보였다. 이는 첨가된 단백질에 의한 완충작용의 효과로 사료된다.

Baek 등(11)은 전지활성 생대두분말을 이용하여 5%(w/v) 고형분으로 하는 배지에 젖산균의 배양을 위한 배지로 사용하여 1.8×10^9 CFU/mL의 생균수를 보고하였다. 본 실험에서 사용한 고초균의 스타터 배양액은 전지활성 생대두분말을 5%(w/v) 고형분으로 하는 액체배지에 *Bacillus firmus* NA-1을 접종한 후 42°C에서 24시간 동안 배양하여 1.9×10^9 CFU/mL의 생균수를 포함하였다. 발효비지의 혈전분해효소는 생대두미세분말의 첨가에 따른 효과가 크지 않음을 알 수 있었으며, 10% 수준으로 생대두미세분말의 첨가는 혈전분해효소의 증가를 나타내었다. 그러나 20% 이상의 첨가에서는

Table 1. Effect of MFS addition on pH, tyrosine content and relative fibrinolytic enzyme activity of P-SCR fermented at 42°C for 18 hr

MFS ²⁾ (%)	P-SCR ¹⁾ fermented			
	Moisture content (%)	pH	Tyrosine content (mg%)	Relative fibrinolytic enzyme activity (%)
0	71.5	7.8	280.6	38.8
10	64.8	8.1	324.1	49.5
20	58.4	7.3	390.5	39.5
30	51.5	7.0	418.2	34.6

¹⁾P-SCR: soybean cured residue obtained from P-Company.

²⁾MFS: micronized full-fat soy flour.

Table 2. Effect of MFS addition on the flow behavior and consistency indexes of P-SCR fermented at 42°C for 18 hr

MFS ¹⁾ (%)	Power law indexes		
	a	b	R ²
0	0.23	0.74	0.9976
10	1.32	0.43	0.9974
20	1.24	0.54	0.9981
30	0.43	0.59	0.9997

¹⁾MFS: micronized full-fat soy flour.

$\tau = ar^b$ (τ : shear stress (Pa), r : shear rate (sec^{-1}), R^2 : regression coefficient, a: consistency index (Pa · sec), b: flow behavior index).

혈전분해효소가 감소하는 경향을 보였다(Table 1). 비지에 생대두미세분말의 10% 첨가는 비지발효물의 수분함량을 65.0%로 낮추는 결과를 보였으며, 가장 높은 혈전분해효소 생산과 점질물의 생성에 따른 비지발효물의 추출액의 점도도 지수값이 1.32 Pa · s로 가장 높은 값을 보였다(Table 2). 또한 발효비지의 점질물은 비뉴우톤유체의 흐름특성을 나타내었다. 이는 생대두미세분말의 첨가는 청국장장의 유용성분으로 점질물의 생산과 혈전분해효소 생산에 기여하는 것으로 판단되었다. 또한 20% 수준으로 생대두미세분말의 첨가는 무첨가군에 비해서 비지 발효물은 높은 점도 지수값과 tyrosine 생산이 증가되었으며, 비지 발효물의 풍미가 가장 양호함을 알 수 있었다. 따라서 비지의 종류에 따라 발효비지의 성분과 품질에 차이가 있을 수 있지만, P-비지의 경우에 생대두미세분말의 10~20% 수준으로 첨가는 비지의 고초균 발효를 촉진시키면서 대사산물로서 점질물, 단백질의 가수분해, 혈전분해효소생산의 증가 및 풍미를 개선함을 알 수 있었다.

72% 수분을 함유한 P-비지에 생대두미세분말을 첨가하여 발효시킨 발효비지를 50°C 열풍건조기에서 건조시킨 후 시료의 조단백질 함량을 측정된 결과 생대두미세분말이 10%, 20% 수준으로 첨가한 경우에 각각 24.2% 또는 27.3%의 조단백질 함량을 보였다. 이는 비지를 이용한 청국장발효를 통해서 건강기능식품군에 속하는 효소식품으로 개발하기 위한 기본 규격을 만족시키는 것으로 단백질, 탄수화물 분해효소의 활성을 포함하는 기능성소재로 전환이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

일본 청국장장에서 분리된 *Bacillus firmus* NA-1를 이용하여 비지의 수분함량, 생대두미세분말첨가 및 발효시간에 따른 비지 발효물의 혈전용해효소, 점질물, 펩타이드생산 및 풍미개선 효과를 알아보았다. 비살균 D-비지는 30시간 이상부터 청국장 발효가 진행되는 반면, 살균 D-비지는 18시간부터 고초균 발효에 의하여 pH가 증가하였으며 혈전분해효소, 펩타이드 함량이 비살균 D-비지보다 높은 값을 보였다.

P-비지의 경우는 18시간 발효시에 가장 높은 pH, tyrisone 함량과 혈전용해효소활성을 나타냈다. 또한 P-비지를 건조하여 초기수분함량을 60%로 낮추었을 때 발효비지물의 펩타이드 함량과 혈전용해분해효소활성이 증가하였다. P-비지에 전지활성 생대두미세분말을 10%수준으로 첨가함으로써 혈전분해효소 및 펩타이드 함량이 증가되는 효과를 보였으며, 점질물의 생성에 따른 점조도 값의 증가를 나타내었다. 특히, 콩미세분말을 20% 수준으로 첨가하여 발효시킨 비지는 고유한 청국장의 풍미를 나타내었으며, 건조시킨 발효비지물의 조단백질함량은 27.3%를 나타내었다. 따라서 비지의 고초균 발효시에 전지활성 생대두미세분말의 첨가는 비지의 초기수분함량을 낮추면서, 고초균 발효의 촉진을 통한 콩 펩타이드 및 혈전용해효소의 증가, 점질물 생산, 풍미 개선을 비롯하여 발효비지의 단백질 보강이 가능하였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 지원 및 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원과 산업자원부의 지역혁신 인력양성 사업의 연구결과로 수행되었음.

문헌

1. Ma CY, Liu WS, Kwok KC, Kwok F. 1997. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). *Food Res Intern* 29: 799-805.
2. Woo EY, Kim MJ, Shin WS, Lee KS. 2001. Production of protein hydrolyzate, that can be used as food additives, from Okara. *Korean J Food Sci Technol* 33: 769-773.
3. Shurtliff W, Aoyagi A. 1995. *Tofu and soymilk production*. New Age Food Study Center, Lafayette, CA, USA.
4. Kang KH, Lee DS. 1991. Studies on the tofu-residue recycling. *Korean Sci Ind* 24: 31-35.
5. Chung SS, Chang HN, Park MY. 1978. Dehydration of soybean residue by hot-air in conjunction with filter pressing. *Korean J Food Sci Technol* 10: 1-7.
6. Kim DS, Seol NH, Kim HD. 1996. Change in quality of soybean curd residue as affected by different drying methods. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 453-459.
7. Sohn JW, Kim WJ. 1985. Some quality changes in soybean curd by addition of dried soymilk residue. *Korean J Food Sci Technol* 24: 522-525.
8. Lee GJ. 1984. Changes in carbohydrate composition during the fermentation of soybean curd residue with enzymes. *J Korean Biochem* 17: 44-50.
9. Cho MK, Lee WJ. 1996. Preparation of high-fiber bread with soybean curd residue and Makkolli (rice wine) residue. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 632-636.
10. Yamaguchi F, Ota Y, Hatanaka C. 1996. Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean okara and enzymatic analysis of their structures. *Carbohydrate Polymers* 30: 265-273.
11. Baek J, Lee IS, Lee SP. 2002. Characterization and fermentation characteristics of lactic acid bacteria isolated from soybean curd residue (biji). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 583-588.
12. Lee MS, Kim KH, Lee GJ. 1987. Microbiological studies and biochemical changes in fermentation soybean curd residue during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 19: 520-527.
13. Im SK, Yoo SM, Kim TY, Chun HK. 2004. Quality characteristics of bijijang in different fermentation conditions. *Korean J Food Sci Technol* 36: 448-455.
14. Seo JH, Lee SP. 2004. Optimization of the production of fibrinolytic enzyme from *Bacillus firmus* NA-1 in fermented soybeans. *J Food Sci Nutr* 9: 14-20.
15. Astrup T, Müllertz S. 1952. The fibrin plate method for estimation fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* 40: 346-351.
16. Matsushita S, Iwami N, Nitta Y. 1966. Colorimetric estimation of amino acids and peptides with the Folin phenol reagent. *Anal Biochem* 16: 365-371.
17. Genc M, Zorba M, Ova G. 2002. Determination of rheological properties of boza by using physical and sensory analysis. *J Food Engineering* 52: 95-98.
18. Seo JH, Lee SP. 2004. Production of fibrinolytic enzyme from soybean grit fermented by *Bacillus firmus* NA-1. *J Medicinal Food* 7: 442-449.
19. Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW. 2002. Quality characteristics of the chungkookjang fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 204-210.

(2005년 3월 29일 접수; 2005년 5월 26일 채택)