

고초균에 의한 비지 발효물을 첨가한 쿠키의 품질특성 연구

류미진 · 김혁일 · 이삼빈[†]

계명대학교 식품공학과

Quality Characteristics of Cookies Fortified with Soymilk Cake Fermented by *Bacillus subtilis* GT-D

Mi-Jin Ryu, Hyuk-I Kim and Sam-Pin Lee[†]

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

Abstract

Soymilk cake (SMC) fortified with defatted soy flour was fermented by a novel *Bacillus subtilis* GT-D in the solid-state fermentation with chlorella, mulberry leaves or green tea as food ingredient. The fermentation of SMC resulted in higher content of tyrosine and higher activities of protease, amylase and fibrinolytic enzymes. Fermented SMC including mucilage indicated six-fold higher content of dietary fiber compared to that of non-fermented SMC. The SMC fermented without additional ingredient allowed the highest spread ratio and width of cookies. Cookies prepared without SMC showed the lowest value of spread ratio and width compared to those of fermented SMC. In addition, these cookies showed the highest hardness value of 8,975 g, and thickness value of 5.97 and slightly higher bright color. Cookies fortified with SMC fermented with chlorella or mulberry leaves showed higher sensory evaluation value. Fortification of SMC fermented without additional ingredient resulted in the highest preference in the sensory evaluation of cookies.

Key words: soymilk cake, *Bacillus*, sugar cookie, mucilage

서 론

대두는 예로부터 양질의 식물성 단백질 및 지방의 공급원으로 두부, 장류 등의 제조에 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 대두의 각종 기능성 및 생리활성 물질들이 보고되면서 기능성 건강식품의 소재로서 다양하게 활용되고 있다. 대두를 칩지, 마쇄, 여과하여 두부 또는 두유를 제조하는 과정에서 대량으로 남겨지는 부산물인 비지는 수용성 물질이 빠져 나간 상태이긴 하나 많은 영양성분이 남아 있다(1). 비지의 종류로는 대두의 가공식품인 두부를 만드는 과정에서 남는 생비지, 생비지를 청국장이나 된장처럼 발효시킨 발효비지, 그리고 대두를 맷돌이나 믹서기에 갈아서 그대로 섭취하는 콩비지 등 3종류가 있다(2). 특히 생비지는 수분함량이 80% 이상이 함유되어 저장성이 약하며, 자체 존재하는 미생물에 의해 쉽게 변질되는 문제점을 가지고 있다. 따라서 부산물로 생산되는 생비지는 식용으로 이용되기보다는 대부분 가축 사료로 이용되거나 폐기되고 있는 실정이다(3). 따라서 비지의 식품소재로의 활용은 부산물의 이용이라는 측면에서 뿐만 아니라 친환경적 비용 절감이라는 경제적인 측면에서도 중요하다. 비지에 대한 연구는 건조방법에 따른 비지의 품질

변화(4), 건조비지 첨가에 의한 두부의 제조에 관한 연구(5), 효소제를 첨가한 비지의 발효과정 중 탄수화물 성분변화에 관한 연구(6) 및 빵 제조 시 비지 첨가효과(7) 등이 있다. 최근 고초균을 이용하여 비지로부터 혈전 분해효소 및 펩타이드 생산(8)과 발효비지의 기능성(9)에 관한 보고가 있었다. 하지만 비지 발효물을 이용한 가공제품으로의 응용은 전무한 실정이다.

가공식품으로 쿠키는 제과류 중 건과자에 속하고 미생물적인 변패가 적어 저장성이 우수하며, 감미가 높고 맛이 우수하여 어린이, 젊은 여성, 노인 등의 주된 간식으로 애용되고 있다(10). 현재 건강식품 및 성인병 예방 식품에 대한 관심이 높아지면서 기능성 물질을 첨가한 다양한 쿠키에 관한 연구로 쌀 쿠키(11), 보리와 귀리를 첨가한 쿠키(12), 마늘을 첨가한 쿠키(13), 당 알콜을 이용한 쿠키(14), 감자껍질을 첨가한 쿠키(15) 등이 보고되고 있으나 아직 식이섬유가 풍부한 발효비지를 이용한 쿠키의 연구 보고는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 전통 청국장으로부터 분리된 유용 고초균을 이용하여 고체발효를 통해서 녹차, 클로렐라, 콩잎 등이 함유된 비지 발효물을 제조하여 쿠키제조에 이용하였으며 이들 제품의 이화학적 · 관능적 특성을 연구하여 비지

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

발효물 함유 기능성 쿠키의 개발 가능성을 알아보았다.

재료 및 방법

재료 및 시약

실험에 사용한 비지는 (주)풀무원에서 제공 받았으며 1 kg씩 비닐팩에 담아 -20°C 냉동고에 보관하였다. 탈지대두 미세분말(Defatted soy flour, DSF)은 Archer Daniels Midland Co.(Decatur, IL, USA)으로부터 구입하였으며, 클로렐라 분말은 (주)대상에서, 녹차는 보성산 녹차가루(대호식품), 뽕잎은 (주)헬씨탑에서 구입하여 사용하였다. 쿠키제조에는 밀가루(대한제분 1등급 박력분), 버터(무염, 서울우유), 설탕(제일제당), 소금(샘표) 등을 사용하였으며 그 외의 시약은 특급시약을 사용하였다.

사용균주

비지의 고초균 발효에 이용된 균주는 Oh 등(9)이 재래식 청국장에서 분리한 *Bacillus subtilis* GT-D를 MRS agar 배지를 이용하여 42°C 에서 24시간 활성화 시켰다.

Starter 배양액 제조

탈지대두미세분말을 5% 용액으로 균질화한 후 121°C 에서 15분간 멸균하여 냉각한 액체 배지 50 mL에 MRS agar plate에서 42°C 에서 24시간 배양시킨 *B. subtilis* GT-D 균주를 1회 접종한 뒤, 진탕배양기(SI-900R, JEIO TECH Co., Ltd., Korea)에서 42°C , 24시간 동안 180 rpm으로 배양하여 starter로 사용하였다.

비지발효물 제조

비지 45 g에 탈지대두미세분말 10%를 첨가한 후 클로렐라, 뽕잎, 녹차분말을 각각 2%씩 첨가하여 골고루 혼합하였다. 혼합된 시료는 autoclave를 이용하여 121°C 에서 15분간 멸균한 뒤 고초균 *B. subtilis* GT-D starter를 1%씩 접종하여 42°C 에서 18시간 고체 발효하였다.

비지 및 비지발효물의 일반성분 분석

비지와 비지발효물의 식이섬유를 포함한 일반성분은 AOAC방법(16)에 따라 측정되었다. 수분은 105°C 건조법, 조회분은 600°C 회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl 질소 정량법에 따라 측정하였다. 원료비지의 수분활성도는 25°C 에서 AW SPRINT TH-500(Novasina, Swiss) 장치를 이용하여 측정하였다.

비지발효물의 물리화학적 성분 분석

pH는 pH meter(model 420A+, Thermo Orion, USA)를 이용하여 발효물 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. 혈전용해효소 활성은 Astrup과 Mullertz의 fibrin plate method(17)

를 사용하여 측정하였다. 또한 비지 발효물의 peptide 생성 정도를 측정하기 위하여 Folin phenol 시약을 이용하여 발효 비지의 추출액 중에 존재하는 tyrosine 함량을 측정하였다(18). 효소활성은 α -amylase와 protease로 나누어 역가를 측정하였으며, 비지발효물 5 g에 0.02 M phosphate buffer(pH 7.0) 95 mL을 첨가한 뒤 실온에서 진탕 후 원심분리(15,000 rpm, 15 min)하여 상등액으로부터 효소액을 조제한 다음 효소활성을 측정하였다. α -Amylase의 기질로는 1% 가용성전분(0.02 M phosphate buffer, pH 7.0) 1 mL을 사용하였다. 미리 조제한 효소액을 1 mL 첨가하여 37°C 에서 30분간 반응시킨 후 1 M acetic acid 10 mL로 반응을 정지시키고 요오드화 용액(0.005% I_2 +0.05% KI) 2 mL을 넣고 발색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 blank OD값의 10% 감소시키는 것을 1 unit로 하여 시료 1 g으로 환산시킨 후 표시하였다. 대조군인 공시험은 미리 제조한 효소액을 100°C 에서 30분간 끓여서 활성을 잃은 검액을 사용하였다(19). Protease의 활성도는 Anson의 방법을 변형하여 측정하였다(20). 기질로 0.6%의 casein-용액 0.35 mL과 효소액 0.35 mL를 e-tube에 넣고 항온수조에서 반응(37°C , 10 min)시킨 다음 0.44 M TCA 용액 0.7 mL을 넣어 반응을 정지시킨 후 37°C 에서 30분간 정치시킨다. 이 반응액을 원심분리(15,000 rpm, 15 min)한 후 여액 1 mL에 0.55 M Na_2CO_3 2.5 mL와 3배 희석된 Folin reagent 0.5 mL을 넣고 37°C 에서 30분간 반응시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 반응조건 하에서 1분간에 tyrosine 1 μg 을 유리시키는 효소량을 1 unit로 하였다. 비지발효물의 점조도는 발효물을 증류수로 10배 희석하여 균질화한 후 여과액 13 mL를 원통형 점도계(HAAKE RheoStress1, Germany)에 Spindle(rotor GD43 KIN 53544 Titan)을 장착하여 measuring cup DG43을 사용하여 측정하였다(21).

쿠키의 제조

비지발효물을 첨가한 쿠키의 재료 배합비는 Table 1과

Table 1. Formula for production of functional cookies fortified with fermented SMC

Ingredients	Weight (g)	
	Control	Cookie
Flour	320	281.6
Fermented SMC	0	38.4
Sugar	192	192
Shortening	96	96
Non-fat dried milk	9.6	9.6
Sodium bicarbonate (NaHCO_3)	3.2	3.2
Sodium bicarbonate (in solution A ¹⁾)	2.56	2.56
Ammonium chloride (NH_4Cl) (in solution B ²⁾)	1.6	1.6
NaCl (in solution B)	1.44	1.44
Deionized water	variable	variable

¹⁾Prepared by dissolving 79.8 g NaHCO_3 in 1 L of distilled water.

²⁾Prepared by dissolving 101.6 g NH_4Cl +88.9 g NaCl in 1 L of distilled water.

같으며 쿠키는 AACC method 10-52(22)에 따라 제조하였다. 먼저 중탕한 쇼트닝과 설탕, 탈지분유, 중탄산나트륨을 믹싱볼에 넣고 1단에서 3단까지 각 단계별로 1분씩 크림상태가 될 때까지 전기믹서(model H-3841, Hobart, USA)로 혼합한 후 발효볼과 첨가물을 넣은 후 5분간 크림화 시켰다. 20 mesh 체에 박력분을 넣고 체에 내린 후 반죽에 혼합한다. 골고루 섞은 후 반죽은 두께 6.15 mm, 지름 51.30 mm의 쿠키모양으로 성형한 다음 205°C에서 11분간 구운 후 실온에서 1시간 냉각한 후 실험에 사용하였다.

쿠키의 색도

쿠키의 색도는 색차계(Chromater CR-200, Minolta, Japan)로 측정하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness) 값을 6회 반복 측정하고 그 평균값을 나타내었다. 표준 백색판(standard white plate)은 L값 97.48, a값 0.02, b값 1.82이었다.

쿠키의 퍼짐성 측정

쿠키의 퍼짐성(spread ratio)은 AACC Method 10-52(22)의 방법을 사용하여 구하였다. 쿠키 6개를 이용하여 직경(mm)과 높이(mm)의 비로 나타낸 것으로 다음과 같은 식을 이용하여 구하였다.

$$\text{퍼짐성 (spread ratio)} = \frac{\text{cookie 1개에 대한 평균 넓이(cm/개)}}{\text{cookie 1개에 대한 평균 두께(cm/개)}}$$

비지청국장 쿠키의 조직감 측정

제조한 쿠키의 조직감은 포장(packaging) 상태에서 24시간이 지난 후 Texture analyzer(TA.XTplus, Stable Micro Systems, Lloyd Instruments Ltd., UK)를 사용하여 조직감을 측정하였다. Texture analyzer의 조건은 Table 2의 조건으로 하였고 4.2 cm 간격의 두 지지대 사이에 쿠키를 얹고 Texture analyzer에 장착된 가로 7 cm에 두께 0.28 cm HDP/BS probe가 쿠키표면에 닿은 후 5 mm 침투하게 해서 쿠키가 중심에서 부러질 때 생기는 조직적 특성을 측정하였다.

쿠키의 경도(hardness)를 측정하기 위해서 Snap test(Three-point break, triple beam snap)를 수행하였다(23). 쿠키가 중심에서 부러질 때 받는 최대힘(maximum force; g)을 경도(hardness)로 표시하고 지름 2 mm의 cylinder형

probe(P/2)를 쿠키속으로 8 mm 침투시켜 그래프(graph) 상에 나타나는 peak(hold 100 g)의 개수(number of peak)를 파쇄성(바삭바삭함; brittleness)으로 나타내었다.

비지청국장 쿠키의 관능검사

관능검사는 훈련된 12명의 패널을 대상으로 실시하였다. 쿠키는 실온에서 24시간이 지난 후에 똑같은 접시에 담아 제시하였으며 평가항목은 외관, 풍미, 단단함, 바삭거림, 구수한 맛 및 전반적인 기호도이며 scoring test 중 9점 점수법으로 평가하였다. 그리고 각 특성은 강할수록 높은 점수를 주도록 하였으며 기호도는 특성 선호도가 높을수록 높은 점수를 주도록 하였다.

통계처리

통계분석은 SAS 통계 package를 이용하여 Duncan's multiple range test를 실시하여 5% 유의수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

비지 및 비지발효물의 일반성분

생비지 및 발효비지의 일반성분은 Table 3에서 나타내는 것처럼 생비지의 수분 함량은 74%, 조단백질 6.9%, 조지방 0.9%, 조섬유 2.3%이었다. 반면에 비지발효물의 수분 함량은 69%, 조단백질 8.8%, 조지방 1.9%, 조섬유 12.4%로 나타났다(Table 3). Screw식 압착방식으로 얻어진 생비지는 거의 수분이 없는 상태를 보이고 있으나, 수분활성도 값은 0.938로 측정되면서 세균이 생육할 수 있는 충분한 조건을 갖추고 있었다. 따라서 생비지는 고초균에 의한 고체발효를 통해서 생비지 성분 이외에 고초균이 생합성하는 점질물, 펙타이드 및 효소류를 함유하고 있었다. Im 등(24)이 보고한 비지장의 일반성분에 비하여 발효비지의 단백질과 식이섬유 함량이 높은 것으로 나타났다. 이는 비지 발효시에 첨가되는 탈지대두분말에 의해서 비지발효물의 단백질 함량이 증가된 것으로 사료된다. 비지발효시에 탈지대두분말의 첨가는 원료 비지의 초기 수분 함량을 낮추는 효과 및 발효미생물에 대한 영양공급의 수단이 되고 있다. Prakasham 등(25)은 고초균에 의한 고체발효에서 효소의 생산은 기질의 수분 함량 또는 수분활성도가 중요한 인자임을 보고하였다.

Table 2. Operating conditions of texture analyzer

Caption	Value
Test mode	Compression
Pre-test speed	3.00 mm/sec
Test speed	1.00 mm/sec
Post-test speed	10.00 mm/sec
Target mode	Distance
Distance	8.00 mm
Trigger type	Auto (Force)
Trigger force	5.0 g
Break mode	Off

Table 3. The general composition of fermented SMC

Component	FSMC	SMC
pH	7.1	7.5
Moisture (%)	69	74
Crude protein (%)	8.7	6.9
Crude fat (%)	1.8	0.9
Carbohydrate (%)	7.8	14.8
Dietary fiber (%)	12.4	2.3

SMC: soymilk cake, FSMC: fermented soymilk cake.

Table 4. Functional and physical properties of fermented SMC

	N ¹⁾	S1 ²⁾	S2 ³⁾	S3 ⁴⁾	S4 ⁵⁾
pH	6.4±0.1	6.9±0.1	6.9±0.1	6.9±0.1	7.2±0.5
Fluid consistency (Pa · s ⁿ)	ND ⁶⁾	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
Fibrinolytic activity (%)	-	34±3	33±1	30±4	28±2
Tyrosine content (mg%)	192	537±57	575±39	561±45	718±34
Protease activity (unit/g)	-	374±49	392±32	376±18	418±58
α-Amylase activity (unit/g)	-	101±20	102±16	120±37	108±18

¹⁾N: non-fermented SMC. ²⁾S1: Fermented SMC. ³⁾S2: Fermented SMC with chlorella. ⁴⁾S3: Fermented SMC with mulberry leaves. ⁵⁾S4: Fermented SMC with green tea. ⁶⁾ND: not detected.

특히 발효비지의 식이섬유는 고초균에 의해서 생성된 점질 물에 기인하여 원료 생비지에 비해서 6배 정도 증가를 보였다. 탄수화물 함량의 감소는 고초균 발효 동안에 발효성 당의 소비에 기인한 것으로 보인다. 비지발효물의 경우 대두의 품종과 비지 회수방법, 발효방법 및 첨가된 부원료의 차이에 따라 최종 발효비지성분의 함량 변화가 있는 것으로 사료된다.

부원료를 첨가한 비지발효물의 물리화학적 특성

녹차, 콩잎, 또는 클로렐라분말이 강화된 비지발효물의 pH, 점질물, 가수분해 및 혈전분해효소 생산 정도는 Table 4에서 나타내고 있다. 생비지의 고초균에 의한 고체발효시에 청국장 특유의 냄새를 가지며, glutamate중합체인 점질물의 생성으로 증가된 점조성을 나타내었다. 비지발효물은 생비지보다 약간 높은 pH 6.9값을 보였으며, 녹차를 첨가한 경우에 가장 높은 pH 7.2를 나타내면서 약알칼리성을 나타냈다. 동시에 단백질의 가수분해 정도를 나타내는 tyrosine 함량은 비지발효물에서 536 mg%로써 원료 비지보다 약 3배 정도 증가되었다. 특히 녹차를 첨가한 후 발효된 비지발효물에서 718 mg%로 대조구에 비하여 34% 높게 나타났다. Oh 등(9)은 전지활성 생대두미세분말을 비지에 10% 수준으로 첨가하여 고초균으로 발효시킨 비지발효물이 300 mg% 정도 tyrosine값을 함유한다고 보고하였다. 이는 부원료로 높은 단백질 함량의 탈지대두분말이 발효중에 가수분해되는 것에 기인한 것으로 사료된다. 비지 발효시 첨가되는 부원료인 콩잎, 클로렐라, 녹차분말에 관계없이 발효비지의 점조도는 0.3~0.4 Pa · sⁿ으로 거의 변화가 없는 것으로 나타났다. 혈전용해효소 활성은 기준 혈전분해효소(plasmin)에 대한 비교 값으로 표현할 때 생비지인 대조구에서는 효소활성이 검출되지 않았지만, 부원료를 첨가하지 않고 발효시킨 발효

비지는 34%, 콩잎과 클로렐라 및 녹차를 첨가하여 얻은 발효물의 경우는 각각 33, 30, 28%로 나타났다. Protease 및 α-amylase 효소활성의 경우 생비지에서는 역시 측정되지 않았으나 생비지 발효물과 부재료를 첨가하여 발효시킨 비지발효물에서 효소활성들이 높게 나타났다. 특히 protease 활성은 녹차를 첨가한 경우 418 unit/g로 가장 높게 나타났다. 이는 앞에서 비지발효물의 tyrosine 함량의 높은 값과 일치하는 결과였다. α-Amylase 활성은 클로렐라를 첨가한 비지 발효물에서 120 unit/g로 높게 나타났다.

쿠키의 색도

비지발효물을 첨가한 쿠키의 색도는 Table 5와 같다. 쿠키의 밝기를 나타내는 L값은 유의적인 차이가 있었으며, 비지발효물이 첨가되지 않은 군에서 69.45로 가장 높은 값을 보였다. 비지발효물을 첨가한 쿠키에서 밝은 정도(L값)가 낮은 것은 생비지를 발효하기 전 고온 살균으로 인한 갈변화 반응과 비지발효 중에 일어나는 비효소적 갈변화반응의 영향으로 일부 갈변화된 발효비지의 첨가에 기인한 것으로 사료된다.

적색도를 나타내는 a값은 녹차를 첨가한 군에서 7.84로 가장 높게 나타났으며, 동시에 L값은 가장 낮은 58.29를 나타내었다. 노란색 정도를 나타내는 b값에서도 대조군과 발효물을 첨가한 쿠키에서 유의적인 차이가 없었으나 녹차 발효물을 첨가한 쿠키에서 26.65로 다소 낮은 값을 나타내었다. 이처럼 쿠키의 색은 일정한 조건하에서 주로 당에 의한 영향이 크고, 고온의 오븐에서 환원당에 의한 비효소적 갈변인 maillard 반응, 열에 불안정한 당에 의한 카라멜화 반응에 의해 쿠키 색에 영향을 미칠 것으로 사료된다. 특히, 비지발효물은 고유한 색상 때문에 따른 최종 쿠키 제품의 색도에 영향을 미치는 것을 사료된다.

Table 5. Color values of the cookies fortified with the SMC fermented with chlorella, mulberry leaves and green tea¹⁾

	Control ²⁾	Fermented SMC			
		S1	S2	S3	S4
L	69.45±0.92 ^a	62.29±1.37 ^b	58.29±0.88 ^c	63.18±0.99 ^b	62.37±2.53 ^b
a	5.87±0.58 ^{bc}	6.63±0.82 ^b	7.84±0.51 ^a	2.55±0.28 ^d	5.40±1.03 ^c
b	34.77±0.56 ^a	36.01±1.00 ^a	35.32±0.51 ^a	35.82±1.02 ^a	26.65±3.10 ^a

¹⁾Values represent the means of four cookies. Mean values with the same letter in a row are not significantly different (p<0.05).

²⁾Control: cookies prepared without fermented SMC.

Table 6. Texture characteristics of the cookies fortified with the SMC fermented with chlorella, mulberry leaves and green tea¹⁾

	Control	Fermented SMC			
		S1	S2	S3	S4
W ²⁾	44.05±0.35 ^c	46.70±0.14 ^a	45.00±0.14 ^b	45.55±0.35 ^b	45.50±0.57 ^b
T ³⁾	5.97±0.01 ^a	5.15±0.02 ^c	5.51±0.02 ^b	5.26±0.03 ^d	5.40±0.01 ^c
S · R ⁴⁾	7.38±0.04 ^e	9.07±0.14 ^a	8.17±0.06 ^d	8.66±0.02 ^b	8.43±0.08 ^c
H ⁵⁾	8975±695 ^a	4584±622 ^b	3618±209 ^c	4655±380 ^b	4162±240 ^{bc}
B ⁶⁾	47±1 ^b	49±6 ^b	60±4 ^a	33±4 ^c	50±3 ^b

¹⁾Values represent the means of four cookies. Mean values with the same letter in a row are not significantly different (p<0.05).

²⁾W: width of cookies. ³⁾T: thickness of cookies. ⁴⁾S · R: spread ratio of cookies. ⁵⁾H: hardness of cookies (g force). ⁶⁾B: brittleness of cookies (number of peak).

쿠키의 조직감 측정

비지발효물을 넣지 않은 것을 대조구로 하고 발효 시 부원료를 첨가하지 않은 것과 부원료인 콜로렐라, 뽕잎 또는 녹차를 첨가하여 얻은 비지발효물의 첨가에 따른 쿠키의 기계적 조직감 분석 결과는 Table 6에 나타내었다. 쿠키의 퍼짐성은 비지발효물을 첨가하였을 때 첨가하지 않은 것보다 퍼짐성이 크게 나타났고 부원료를 첨가하지 않은 비지 발효물을 섞은 쿠키에서 퍼짐성이 9.07로 가장 높은 값을 나타냈다.

콜로렐라를 첨가한 발효물로 제조한 쿠키의 퍼짐성은 8.66, 뽕잎을 첨가한 발효물로 제조한 쿠키의 퍼짐성은 8.17, 녹차를 첨가한 발효물로 제조한 쿠키의 퍼짐성은 8.43으로 나타났다. 비지발효물을 첨가하지 않은 쿠키는 퍼짐성이 7.38로 가장 낮은 값을 나타내었다. 이는 발효비가 함유한 높은 수분함량에 의해서 쿠키 반죽의 수분함량이 증가되고 유동특성이 향상되면서 퍼짐성이 커지는 것으로 사료된다. 퍼짐성(spread ratio)은 쿠키의 품질요인 중 가장 중요한 것으로 퍼짐성이 클수록 얇고 씹기에 적당한 쿠키가 된다. 이것은 반죽이 중력적인 유동성과 반죽 내 단백질인 gluten의 유리 전이(glass transition)로 연속적인 상태가 되어 반죽의 유동이 중단될 때까지 일어난다. 퍼짐성은 반죽 내 수분함량이 많을수록 작아지고 당의 용해성과 보습성에 기인한 반죽 점성에 의해 조절된다(26-29). 따라서 비지발효물의 점질물이 포함하는 식이섬유(PGA)에 의해 쿠키 반죽의 퍼짐성에 영향을 미치며, 높은 수분함량의 비지발효물의 첨가에 따른 수분함량의 증가가 쿠키의 퍼짐성에 복합적으로 작용하는 것으로 사료된다.

경도에 대한 측정결과는 비지발효물을 첨가하지 않은 대조군이 8,975 g으로 발효물을 첨가한 쿠키보다 2배 높게 나타났다. 발효물을 첨가한 쿠키가 대조군보다 더 부드러운 것으로 나타났으며, 그중에서 뽕잎 함유 비지발효물로 제조한 쿠키에서 경도가 가장 낮게 나타났다.

쿠키의 파쇄성(brittleness)은 쿠키가 팽창함에 따라 얇은 피막 사이에 다공성 조직(porous structure)을 형성하므로 이들 조직이 외부로부터 힘을 받아 부서질 때마다 바삭바삭함을 느끼게 되며 이것에 의해서 graph상에 날카로운 multi-peak가 나타나게 된다. 따라서 바삭바삭함을 나타내는 brittleness는 peak의 개수로 나타내는데, peak의 개수가 많을수록 brittleness가 우수하다(23). Brittleness는 콜로렐라 함유 발효물로 제조한 쿠키에서 60.0으로 가장 높게 나타났으나 비지발효물을 첨가하지 않은 대조군과 부원료가 포함된 쿠키에서의 brittleness는 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 이는 비지발효물에 포함된 수분과 점질물이 쿠키의 brittleness 저하에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 결국 발효물의 첨가 유무에 따른 brittleness는 크게 영향을 받지 않았으며 경도 수치만 낮아지는 효과를 보였다.

쿠키의 관능검사

Table 7은 비지발효물 및 비지발효물 첨가 없이 제조한 쿠키의 관능검사 결과이다. 첨가된 비지발효물의 함량은 12%로 하였으며 6, 12, 18% 수준으로 첨가하였을 때 비지발효물 6%첨가에서보다 12%첨가하였을 때 쿠키의 선호도가 높았으며 18%의 경우 반죽의 성형과정에서 끈적이는 특성을 보였다(data not shown).

Table 7. Sensory characteristics of the cookies fortified with the SMC fermented with chlorella, mulberry leaves and green tea¹⁾

	Control	Fermented SMC			
		S1	S2	S3	S4
Appearance	4.89±1.45 ^a	5.33±1.00 ^a	6.00±0.87 ^a	5.11±1.27 ^a	4.89±1.18 ^a
Flavor	5.00±1.17 ^a	5.67±0.71 ^a	5.67±0.87 ^a	5.11±1.05 ^a	5.33±1.00 ^a
Hardness	5.00±0.93 ^a	5.56±0.53 ^a	5.56±0.88 ^a	5.56±1.33 ^a	5.33±1.50 ^a
Brittleness	5.56±1.24 ^a	5.56±1.13 ^a	5.11±0.78 ^a	5.44±1.58 ^a	5.56±1.33 ^a
Delicate taste	5.11±0.67 ^{ba}	5.56±1.01 ^a	5.00±0.50 ^{ba}	5.11±1.00 ^{ba}	4.67±0.94 ^b
Overall acceptability	5.00±0.78 ^a	5.67±1.32 ^a	5.11±1.05 ^a	5.22±1.30 ^a	4.89±1.05 ^a

¹⁾Values represent the means of four cookies. Mean values with the same letter in a row are not significantly different (p<0.05).

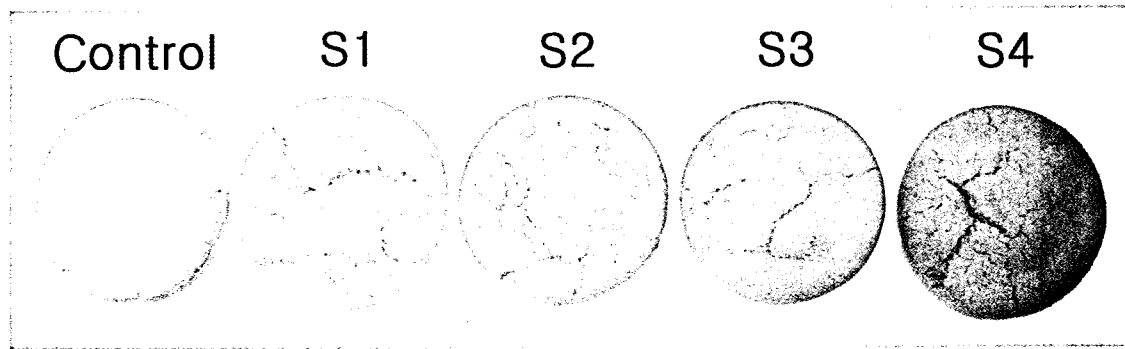


Fig. 1. Cookies fortified with the SMC fermented with chlorella, mulberry leaves or green tea.

Control: without SMC, S1: fermented SMC, S2: SMC fermented with chlorella, S3: SMC fermented with mulberry leaves, S4: SMC fermented with green tea.

쿠키의 외관은 클로렐라 함유 발효물로 제조한 쿠키에서 최대값을 보였으며, 대조군과 녹차함유 발효물 쿠키는 낮게 나타났다. Fig. 1에서 보는 것처럼 클로렐라 함유 발효물로 제조한 쿠키는 발효물 자체의 색깔도 클로렐라의 녹색을 유지하고 쿠키반죽에 혼합됨으로써 연한 연두색에서 알맞게 구운 느낌이 드는 황갈색을 띄면서 관능검사요원들이 선호하는 색으로 작용한 것으로 생각된다. 특히, 표면에 형성된 선모양의 사브레 같은 crack로 외관이 좋게 평가된 것으로 여겨진다. 반면에 녹차 함유 발효물이 첨가된 쿠키에서 점수가 낮은 것은 녹차가 비지에 혼합된 후 발효과정을 거치면서 진한 초콜릿색으로 된 비지발효물이 반죽과 섞이면서 색상이 어둡게 되는 큰 요인으로 작용한 것으로 나타났다. 이는 녹차에 포함된 페놀화합물들이 잔존하는 갈변화효소에 의한 효소적 갈색화반응이 비지발효 중에 갈변화를 수반하는 것으로 사료된다.

풍미의 경우 대조군을 제외한 발효물이 첨가된 쿠키에서는 대체적으로 비슷한 값으로 평가되었으며, 부원료를 첨가하지 않은 비지발효물과 부원료로 클로렐라를 첨가하여 발효시킨 비지발효물로 제조한 쿠키에서 높은 풍미를 나타내었으며, 빵잎을 첨가한 비지발효물로 제조한 쿠키에서 낮은 풍미 값을 나타내었다. 쿠키의 단단함의 경우는 선호도에서 대조군이 가장 낮게 나타내었으나, 비지발효물을 첨가한 쿠키에서와 경도값에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 바삭거림의 경우는 대조군과 비지발효물, 녹차를 첨가한 비지발효물로 제조한 쿠키에서 비슷한 값을 나타내었으며 클로렐라를 첨가한 비지발효물로 제조한 쿠키에서 가장 낮은 수치를 나타내었으나, 시료 간에 유의적인 차이는 없었다.

구수한 맛의 경우에서는 비지발효물과 클로렐라를 포함하는 비지발효물로 제조한 쿠키에서 가장 높은 수치를 나타내었고 녹차를 첨가한 비지발효물로 제조한 쿠키에서 가장 낮은 수치를 나타내었으며, 대조군과 시료들 간에는 유의적인 차이가 없었다. 전반적인 기호도는 부원료를 첨가하지

않은 비지발효물에서 가장 높은 점수를 나타내었다. 이것은 외관과 풍미, 단단함, 바삭거림, 구수한 맛에서 높은 관능평가 값을 보였으며, 이 쿠키의 경우 구운 갈색을 가지며 깨어 무는 강도가 좋고 바삭바삭함이 우수한 것으로 나타났다. 또한 녹차를 첨가한 비지발효물로 제조한 쿠키를 제외한 쿠키는 대조군보다 모두 높은 수치를 나타내었다. 또한 비지에 클로렐라와 녹차 및 빵잎을 첨가하여 발효한 비지발효물이 풍미개선에도 효과적인 것으로 나타났다.

요 약

재래청국장에서 분리된 *Bacillus subtilis* GT-D균주를 이용하여 생비지에 탈지대두미세분말(DSF), 빵잎, 클로렐라 및 녹차를 첨가하여 비지발효물을 제조하였다. 비지발효물에서는 생비지에 비하여 점질물이 생성되면서 식이섬유 함량이 6배 정도 증가되었으며, tyrosine 함량이 크게 증가되었다. 부원료를 첨가한 비지발효물은 protease, amylase 및 혈전분해효소 활성이 크게 증가되었으며, 풍미 개선 효과도 나타났다. 또한 비지발효물을 첨가하여 제조한 쿠키의 색도 측정 결과 첨가하지 않은 대조군에 비하여 유의적인 차이는 없었으나 대조군이 69.45로 다소 밝게 나타났다. 쿠키의 퍼짐성은 부원료를 첨가하지 않은 비지발효물이 섞인 쿠키에서 9.07로 가장 높았으며 부원료를 첨가한 비지발효물로 제조한 쿠키에서는 다소 낮게 나타났다. 쿠키의 경도는 비지발효물이 첨가되지 않은 대조군에서 8,975 g으로 가장 높게 나타났고, 부원료 첨가 비지발효물로 제조한 쿠키에서는 경도가 유의적으로 낮게 나타났다. 특히, 클로렐라 함유 비지발효물로 제조한 쿠키의 경도가 3,618 g으로 가장 낮게 나타내었으며, 가장 높은 바삭거림을 보였다. 쿠키의 관능검사평가에서는 부원료를 첨가하지 않은 비지발효물로 제조된 쿠키의 선호도가 가장 높았으며, 빵잎과 클로렐라 함유 비지발효물 순으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역혁신인력양성사업의 연구결과로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Van der Reit WB, Wight AW, Clillierers KR, Datel JM. 1989. Food chemical investigation of tofu and its by product Okara. *Food Chem* 34: 193-202.
2. Oh OH, Han JS. 2004. A survey on perception and usage of Bizi (soybean curd residue). *Int J Hum Ecol* 42: 17-26.
3. Kim KS, Sohn HS. 1994. Characterization of tofu-residue hydrolyzing carbohydrase isolated from *Aspergillus niger* CF-34. *Korean J Food Sci Technol* 26: 490-495.
4. Kim DS, Seol MH, Kim HD. 1996. Changes in quality of soybean curd residue as affected by different drying methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 453-459.
5. Kweon MN, Ryu HS, Moon JH. 1993. Nutritional evaluation of tofu containing dried soymilk residue (DSR). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22: 255-261.
6. Lee GJ. 1984. Changes in carbohydrate composition during the fermentation of soybean curd residue with enzymes. *J Korean Biochem* 17: 44-50.
7. Shin DH, Lee YW. 2002. Quality attributes of bread with soybean milk residue-wheat flour. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 15: 314-320.
8. Oh SM, Seo JH, Lee SP. 2005. Production of fibrinolytic enzyme and peptides from alkaline fermentation of soybean curd residue by *Bacillus firmus* NA-1. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 904-909.
9. Oh SM, Kim CS, Lee SP. 2006. Functional properties of soybean curd residue fermented by *Bacillus* sp. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 115-120.
10. Lee JA, Park GS, Ahn SH. 2002. Comparative of physicochemical and sensory quality characteristics of cookies added with barleys and oatmeals. *Korean J Soc Food cookery Sci* 18: 238-246.
11. Kim HY, Lee IS, Kang JY, Kim GY. 2002. Quality characteristics of cookies with various levels of functional rice flour. *Korean J Food Sci Technol* 34: 642-646.
12. Park GS, Lee SJ. 1999. Effects of job's tears powder and green tea powder on the characteristics of quality of bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1244-1250.
13. Kim HYL, Jeong SJ, Heo MY, Kim KS. 2002. Quality characteristics of cookies prepared with varied levels of shredded garlics. *Korean J Food Sci Technol* 34: 637-641.
14. Shin IY, Kim HI, Kim CS, Whang K. 1999. Characteristics of sugar cookies with replacement of sucrose with sugar alcohols. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 850-857.
15. Han JS, Ki JA, Han GP, Kim DS. 2004. Quality characteristics of functional cookies with added potato peel. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 20: 607-613.
16. AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
17. Astrup T, Mullertz S. 1952. The fibrin plate method for estimation fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* 40: 346-351.
18. Matsushita S, Iwami N, Nitta Y. 1966. Colorimetric estimation of amino acids and peptides with the Folin phenol reagent. *Anal Biochem* 16: 365-371.
19. Park JM, Oh HI. 1995. Changes in microflora and enzyme activities of traditional Kochujang Meju during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 1158-1165.
20. Kim HJ, Lee JJ, Cheigh MJ, Choi SY. 1998. Amylase, protease, peroxidase and ascorbic acid oxidase activity of Kimchi ingredients. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1333-1338.
21. Genc M, Xorba M, Oza G. 2002. Determination of rheological properties of boza by using physical and sensory analysis. *J Food Engineering* 52: 95-98.
22. AACC. 2000. *Approved Methods of the AACC*. 10th ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA.
23. Yang SY, Kim SY, Jang KS, Oh DK. 1997. Gas production of chemical leavening agents and effects on textures of cookies. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1131-1137.
24. 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.
25. Prakasham RS, Rao CS, Sarma PN. 2006. Green gram husk-an inexpensive substrate for alkaline protease production by *Bacillus* sp. in solid-state fermentation. *Bioresource Technol* 97: 1449-1454.
26. Doescher LC, Hosney RC. 1985. Effect of sugar type and flour moisture on surface cracking of sugar-snap cookies. *Cereal Chem* 62: 263-266.
27. Curley LP, Hosney RC. 1984. Effect of corn sweeteners on cookie quality. *Cereal Chem* 61: 274-278.
28. Miller RA, Hosney RC, Morris CF. 1997. Effect of formula water content on the spread of sugar-snap cookies. *Cereal Chem* 74: 669-674.
29. Gaines CS, Donelson JR. 1985. Evaluation cookie spread potential of whole wheat flours from soft wheat cultivars. *Cereal Chem* 62: 134-136.

(2007년 5월 14일 접수; 2007년 6월 30일 채택)