

가수분해 시간에 따른 저분자 두유의 품질특성 변화

장세영¹ · 신경아¹ · 박난영¹ · 김동희² · 김미정² · 김정훈² · 정용진^{3*}

¹(주)계명푸드엑스

²웅진식품(주) 중앙연구소

³계명대학교 식품가공학과 및 (주)계명푸드엑스

Changes of Quality Characteristics of Low-Molecular Soymilk According to Hydrolysis Time

Se-Young Jang¹, Kyung-A Sin¹, Nan-Young Park¹, Dong-Hee Kim²,
Mi-Jung Kim², Jeong-Hoon Kim², and Yong-Jin Jeong^{3*}

¹Keimyung Foodex Co., Ltd., Daegu 704-701, Korea

²Woongjin Food R&D Center, Seoul 110-789, Korea

³Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University and Keimyung Foodex Co., Ltd., Daegu 704-701, Korea

Abstract

This study investigated quality changes and functions of low-molecular soymilk according to hydrolysis time (30, 60, and 90 minutes). According to the results, pH of hydrolyzed groups were lower than that of the control group but it did not show a large difference according to hydrolysis time while sugar content was reduced with longer hydrolysis time. Although degree of hydrolysis and calcium tolerance increased with longer hydrolysis time, there was not a significant difference according to the time. Among free sugars, contents of glucose and fructose grew while those of sucrose and maltose tended to decline with time. Total free sugar content was the largest with 60 minutes of hydrolysis time recording 827.65 mg%. Total amino acid content was also the highest with hydrolyzed for 60 minutes recording 85.80 mg% and those of all hydrolyzed groups were higher than that of the control group. In addition, the content of essential amino acid increased significantly with time. In SDS-PAGE, checked for the tendency of becoming low molecules, molecular weights were found to be 33 kDa or less kDa in all hydrolyzed groups. When functional characteristics of soymilk such as electron donating, superoxide radical scavenging and ACE inhibitory activities were compared, longer hydrolysis time led to higher activities. From these results, overall quality of low molecular soymilk was superior when hydrolyzed for 60 minutes and the findings should be viable in the development of various types of functionally strengthened low-molecular soymilk in the future.

Key words: soymilk, low-molecular, hydrolysis, soybean

서 론

두유는 대두를 추출하여 음료의 형태로 가공한 대표적인 대두 가공식품으로, 수용성 단백질과 불포화지방산 및 필수 아미노산의 함량이 높고 곡류위주의 식습관으로 결핍되기 쉬운 라이신이 풍부하여 예로부터 널리 이용되어왔으며 (1,2), 최근 이소플라본, 사포닌, 피틴산, 트립신 저해제 등 기능성 성분으로 인한 생리활성 효과가 입증되면서 소비량이 크게 증가하고 있다(3-5). 국내 두유 시장동향 조사 결과에 따르면 2004년에는 2,000억 원대의 규모로 증가되었으며, 이러한 상승세로 영양과 맛이 뛰어난 검은콩, 녹차, 검은깨를 사용한 두유와 갈슘, 과즙, 이소플라본과 뉴클레오타이드

등을 첨가하여 기능성을 강화한 두유 제품이 큰 폭으로 성장하고 있다(6,7).

그러나 두유는 적혈구응집활성을 지닌 hemagglutinin과 장내 가스 발생 인자인 raffinose, stachyose와 같은 영양저해인자를 함유하고 있으며 lipoxygenase가 불포화지방산에 작용하여 생성되는 콩 비린내, 원료의 수율 및 제품의 안정성 등의 시장 성장 저해요인을 가지고 있어 이를 보완 시정하기 위한 다양한 연구들이 진행되어왔다(8,9). 두유 제조방법에서의 품질개선 방법으로는 콩을 NaHCO₃ 용액에 침지하여 불린 후 마쇄 전후로 가열하여 단백질 수율을 높이는 Illinois 방법(10)과 끓는 물로 마쇄하여 지방산패 및 콩 비린내 발생 인자를 불활성화 시키는 hot grinding method 등이

*Corresponding author. E-mail: yjjeong@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5557, Fax: 82-53-580-6477

보고되었고(11), 대두단백질의 용해도 증가(12,13), 유화형성 개량(14), 효소처리를 통한 기능성 향상(15,16) 등 두유의 제조 특성 및 기능성 향상을 위한 연구 결과가 있으나 두유의 효소처리를 통한 생리활성 분석과 관능적 품질 개선에 관한 연구는 미흡한 실정으로 산업적 활용이 가능한 연구의 필요성이 요구되고 있다.

최근에 식품소재의 기능성 및 생리활성 효과를 입증하려는 연구가 많이 시도되고 있는데 단백질의 기능특성을 개선하는 방법 중 가수분해 효소 처리를 통해 변형대두단백질을 제조하는 것이 현실적으로 가장 적용 가능성이 크다(15). 또한 대두단백질의 효소분해물이 단순히 아미노산 집합체만으로는 설명할 수 없는 기능을 가지고 있는 것이 해명되어(17) 영양공급과 기호성을 충족시키는 기본 목적 이외에 질병예방 및 기능적 효능을 갖춘 새로운 식품소재로서 재평가 받고 있다(18).

본 연구에서는 대두단백 가수분해물의 이용성 증대를 위하여 기존 두유의 품질 특성을 개선하고자 하였으며, 이를 위하여 가수분해 시간에 따른 저분자화 두유의 품질 특성 및 기능성을 비교 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 두유는 고형분 9.57%, pH 7.15로 (주)웅진식품에서 제공받아 사용하였고, 효소제는 (주)계명푸덱스(KMFoodex Co., Ltd., Korea)에서 제공받은 저분자화 효소제 KMF-G(70,000 PU/g)를 사용하였다.

가수분해 시간에 따른 저분자화 두유의 제조

Jang 등(19)의 방법에 준하여 두유에 효소제(KMF-G)를 0.20%(w/w) 첨가하여 50°C에서 30, 60 및 90분 동안 각각 가수분해하였다. 가수분해한 두유를 95°C에서 5분간 효소를 불활성화한 후 8,000 rpm으로 20분간 원심분리 한 상등액을 분석시료로 사용하여 이화학적 특성을 비교 분석하였다. 대조구로 효소 처리하지 않은 두유를 사용하였다.

이화학적 특성

pH는 pH meter(Metrohm 691, Metrohm Ltd., Swiss)를 사용하여 측정하였으며, 가용성 고형분 함량은 항량한 수기에 시료 10 mL을 취하여 105°C에서 증발 건조시킨 후 무게를 측정하여 시료액에 대한 건물량(%)으로 나타내었다. 가수분해도는 Edward와 Shipe(20)의 방법에 따라 가수분해물 10 mL에 10%(w/v) trichloroacetic acid(TCA) 용액을 동량으로 넣어 혼합한 후 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 불용성 물질을 제거한 후, 분리된 상등액의 가용성 단백질을 정량하여 총 단백질에 대한 가용성 단백질의 백분율로 표시하였다. 이때 10% TCA용액에 침전하지 않는 단백질을 가용성 단백질로 정의하였다.

칼슘내인성

칼슘내인성은 각 시료에 액상의 이온화칼슘을 칼슘 함량 110 mg/100 mL를 첨가한 후 1시간 동안 교반하였다. 칼슘과 단백질의 결합을 확인하기 위하여 8,000 rpm으로 10분간 원심분리 하여 단백질과 결합한 칼슘을 침전시키고 상등액을 회화로서 550°C로 회화하여 6 N HCl 5 mL에 용해한 후 상온에 12시간 방치하였다. 증류수로 100 mL 정용한 후 0.45 µm membrane filter로 여과한 액을 ICP-AES(Jobin-Yvon JY38S, France)로 측정하였으며, 이때 분석조건은 frequency 40.66 MHz, plasma gas flow 12 L/min, sheath gas flow 0.2 L/min, sample flow rate 1 mL/min, wave length 393.3 nm로 하였다(21).

유리당 함량

유리당 함량 분석은 각 시료를 diethyl ether로 탈지한 후 여과지(Whatman No. 1, England)로 여과하여 sep-pack C₁₈ cartridge로 색소 및 단백질성분을 제거한 후 0.45 µm membrane filter로 여과하여 high performance liquid chromatograph(HPLC, Waters 2690, Japan)로 분석하였다. Column은 Shimpak CLC-NH₂(4.6 mm I.D.×25 cm), detector는 RI, mobile phase는 80% acetonitrile, flow rate는 0.6 mL/min, injection volume은 20 µL로 정량하였다(22).

유리아미노산

유리아미노산 분석(23)은 각 시료에 75% ethanol을 가하여 80°C water bath에서 1시간 추출한 후 여과하고 감압 농축시켜 증류수로 100 mL이 되게 정용한 후 이 중 50 mL를 취하였다. 여기에 25% TCA 용액을 동량 가하여 1시간 냉장 보관 후 원심분리(3,000 rpm, 20 min)하여 취한 상등액에 diethyl ether 100 mL을 가하여 3회 세척한 후 40°C에서 감압 농축 건조시켜 0.2 N lithium citrate buffer(pH 2.2) 10 mL로 용해하고 0.22 µm membrane filter로 여과한 액을 아미노산 자동분석기(Biochem 20, Pharmacia Biotech. Ltd., England)로 분석하였다.

SDS-PAGE 전기영동

각 시료에 sample buffer를 동량 첨가한 후 100°C의 물에 5분간 가열하여 단백질의 완전한 변성을 유도한 후 전기영동을 하였다(Mini-PROTEAN 3, BIO-RAD Laboratories, Inc., USA). 전기영동용 gel은 10% acrylamide gel을 조제하여 사용하였으며 완충용액은 0.1%(w/v) SDS를 포함하는 0.025 M-Tris base, 0.192 M glycine(pH 8.3) 용액을 사용하였다. Bromophenol blue를 tracer로 하여 10 mA/gel의 전류로 3시간 전기영동 후 coomassie blue R-250로 상온에서 30분간 교반하면서 염색하였고, 탈색시약(100 mL methanol, 100 mL glacial acetic acid, 800 mL H₂O)으로 gel을 하룻밤 동안 충분히 탈색시켜 가용성 단백질의 전기영동 패턴을 조사하였다(24).

DPPH free radical 소거활성

α, α' -Diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH) free radical 소거활성은 DPPH 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후, 50% ethanol 용액을 대조구로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0이 되도록 희석하여 사용하였다. 시료 1 mL에 DPPH용액 4 mL을 혼합하여 정확히 30초 동안 반응시킨 후, UV-visible spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도의 변화를 측정해 아래의 식으로부터 DPPH free radical 소거활성을 계산하였다(25).

$$\text{DPPH free radical 소거활성}(\%) = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100$$

As: 시료 첨가구의 흡광도, Ac: 시료 무첨가구의 흡광도

Superoxide radical 소거활성

Superoxide radical($\cdot O_2^-$) 소거활성은 xanthine-xanthine oxidase cytochrome C 환원법으로 측정하였다(26). 가수분해물 0.2 mL, 50 mM 인산완충액(pH 7.8) 1.2 mL, 1 mM xanthine 0.2 mL, 0.05 mM cytochrome C 0.2 mL 및 550 nm에서 분당 흡광도 변화가 0.02가 되도록 희석한 xanthine oxidase 0.2 mL를 가하여 혼합한 다음 정확히 3분 동안 반응시킨 후, UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식으로부터 superoxide radical 소거활성으로 나타내었다.

$$\cdot O_2^- \text{ 소거활성}(\%) = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100$$

As: 시료 첨가구의 흡광도, Ac: 시료 무첨가구의 흡광도

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성능

ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(27)을 변형하여 측정하였다. 반응구는 시료 50 μ L에 ACE 조효소액 50 μ L 및 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μ L를 가하여 37°C에서 5분간 전 배양시켰다. 여기에 기질용액 50 μ L를 가하여 다시 37°C에서 30분 반응시킨 후 1 N HCl 250 μ L를 가하여 반응을 정지시켰다. 이 때, 공시험은 시료 대신 증류수 50 μ L를 가하였으며, 대조구는 시료와 기질을 모두 포함하나 1 N HCl 250 μ L를 가하여 반응을 정지시킨 다음 시료 50 μ L를 가하였다. 여기에 ethyl acetate 1 mL를 가하여 15초간 교반한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리시켜 상등액 1 mL를 취하였다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시킨 다음 1 M NaCl 3 mL를 가하여 15초간 교반하여

용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 의해서 ACE 활성 저해율을 나타내었다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(\frac{A-B}{A-C}\right) \times 100$$

A: 시료 대신 증류수를 첨가한 반응액의 흡광도

B: 시료 첨가한 반응액의 흡광도

C: 반응초기에 1 N HCl을 첨가하여 반응 정지시킨 반응액의 흡광도

결과 및 고찰

이화학적 특성의 변화

두유에 효소제(KMF-G)를 첨가하여 가수분해 시간에 따른 이화학적 특성을 조사하였다. 그 결과 Table 1과 같이 pH는 30분, 60분 및 90분 실험구간에서 6.85~6.89로 가수분해 시간에 따른 큰 차이가 없었으나 대조구 pH 7.15에 비해 낮아 효소에 의해 단백질의 가수분해가 일어나면 아미노산의 carboxyl기가 노출되어 용액의 pH가 떨어지게 된다는 Hsu 등(28)과 Gu 등(29)의 보고와 유사하였다. 가용성 고형분 함량은 대조구가 9.57%로 가장 높았고 가수분해 시간이 길어짐에 따라 감소하였다. 가수분해도는 대조구는 5.54%였으나 30분 가수분해할 때 29.27%로 급격히 증가하였고 60분과 90분에서는 각각 39.75%, 41.14%로 시간이 지남에 따라 증가하였다. 칼슘내인성은 대두 단백질의 칼슘에 대한 결합 억제능을 나타낸 값(30)으로 대조구는 66.86 mg%이었으나 효소로 가수분해한 처리구에서는 30분 가수분해할 때 76.95 mg%로 급격히 증가하였다가 60분과 90분에서는 각각 78.64 mg%, 79.34 mg%로 약간의 증가를 보였다. 이러한 결과는 칼슘강화 두유를 제조할 때 protease 처리에 의해 칼슘 내인성을 높일 수 있다는 Pyun과 Hwang(21)의 연구결과와 일치하며 최근 식품업계에서 고칼슘 두유(105 mg/100 mL 이상 칼슘함유)를 생산할 때 발생하는 응고, 침전 등의 발생을 억제할 수 있을 것으로 생각되며 추가적인 연구가 요구되었다.

유리당의 변화

가수분해 시간에 따른 두유의 유리당 함량의 변화를 분석한 결과, Table 2와 같이 sucrose 함량은 대조구에서 679.0 mg%였으나 60분에서 658.9 mg%로 감소하였다가 60분 이후에는 큰 변화가 없었다. Maltose 함량은 대조구에서 47.5

Table 1. Physicochemical properties of the soymilk hydrolysate by different hydrolysis times

Physicochemical properties	Hydrolysis time (min)			
	Control	30	60	90
pH	7.15±0.01 ¹⁾	6.85±0.03	6.89±0.04	6.87±0.02
Soluble solids (%)	9.57±0.06	8.23±0.21	7.87±0.06	7.77±0.06
Degree of hydrolysis (%)	5.54±0.10	29.27±0.03	39.75±1.33	41.14±1.00
Calcium intolerance (mg%)	66.86	76.95	78.64	79.34

¹⁾Mean±SD of triplicate determination.

Table 2. Saccharide contents of the soymilk hydrolysate by different hydrolysis times (dry base: mg%)

Saccharide	Hydrolysis time (min)			
	Control	30	60	90
Fructose	69.9±1.2 ¹⁾	72.6±1.1	78.1±0.9	78.0±1.7
Glucose	ND ²⁾	24.3±1.7	49.4±5.0	47.1±2.1
Sucrose	678.7±8.6	676.3±1.0	658.9±1.6	658.8±2.3
Maltose	47.5±4.2	40.6±2.7	41.3±2.4	42.1±2.9
Total	796.1±19.8	813.8±9.2	827.7±14.0	826.0±12.7

¹⁾Mean±SD of triplicate determination.²⁾Not detected.

mg%였으나 30분에서 40.6 mg%로 급격하게 감소하였다가 30분 이후에는 함량 변화가 없었다. Fructose는 대조구에 비해 가수분해 구에서 함량이 증가하였으나 가수분해시간에 따른 큰 차이는 없었으며 glucose는 대조구에서는 검출되지 않았으나 30분에서 24.3 mg%의 함량을 나타내었고 60분에서는 49.4 mg%로 증가하다가 90분에서 47.1 mg%로 나타나 60분 이후에는 함량 차이가 없는 것으로 나타났다. 총 유리당 함량은 대조구에 비하여 가수분해 구에서 증가하였고 가수분해 시간 60분에서 827.7 mg%로 가장 높았으나 가수분해 구간별 큰 차이는 없었다. 대조구에서 검출되지 않았으나 가수분해 구에서 glucose가 생성 및 함량이 증가되었고, 총 유리당 함량이 증가된 것은 두유에는 본 실험에서 분석한 당류 이외에도 raffinose, stachyose 등의 다당류가 다량 존재하므로(31) 두유를 효소처리 하는 과정에서 이들 당의 일부가 분해되었기 때문인 것으로 추정된다.

유리아미노산 함량의 변화

두유의 가수분해 시간에 따른 유리아미노산 분석 결과 Table 3과 같이 대조구의 총 유리아미노산 함량은 30.16 mg%였고, 30분 및 60분 가수분해 구간에서는 각각 50.74 mg%와 85.80 mg%로 가수분해 시간이 길어짐에 따라 증가하였다. 가수분해 시간 90분에서 72.84 mg%로 60분보다 오히려 감소하였으나 대조구에 비해서는 증가한 것으로 나타났다. 필수 아미노산은 30분, 60분 및 90분에서 각각 17.78 mg%, 24.00 mg% 및 30.51 mg%로 가수분해 시간이 길어짐에 따라 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 가수분해 구간의 급격한 수치의 증가가 나타나는 것은 대두 단백질이 가수분해 효소에 의하여 아미노산으로 분해되었기 때문으로 생각된다. Shin 등(7)은 대두유를 neutrase와 bromelain으로 각각 효소 처리하여 유리아미노산의 함량이 증가되었다고 보고하여 본 연구결과와 일치하는 경향을 나타내었다.

SDS-PAGE 패턴 변화

SDS-PAGE 전기영동을 통해 각 시료의 대두 단백질의 분자량을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 대조구는 분자량이 가장 큰 분획이 170 kDa 정도였으며 33 kDa~170 kDa 범위에서 강한 밴드가 나타났다. 반면 모든 가수분해구에서는 33 kDa 이하에서 넓은 밴드가 나타났고 특히, 17 kDa 이하로 내려갈수록 강하게 나타났으며, 가수분해 시간에 따른 대두

Table 3. Comparison of free amino acid contents of the soymilk hydrolysate by different hydrolysis times (mg%)

Amino acids	Hydrolysis time (min)			
	Control	30	60	90
O-Phospho-L-serine	-	-	1.83	-
Taurine	0.09	0.07	-	-
O-Phosphoethanolamine	0.13	0.15	0.13	0.05
Urea	0.75	0.99	0.15	-
Threonine	0.02	-	-	-
Hydroxy-L-proline	-	-	0.66	-
Serine	0.02	0.02	0.02	-
Asparagine	2.90	4.17	13.55	6.91
Glutamic acid	0.06	2.58	0.04	3.00
Sarcosine	-	-	14.75	0.06
α-Aminoadipic acid	0.74	0.90	0.92	1.08
Proline	0.74	1.28	0.99	2.34
Glycine	0.64	0.83	0.03	0.96
Alanine	2.20	2.84	1.09	3.54
Citrulline	-	-	5.36	-
α-Amino-n-butyric acid	0.15	0.02	0.02	0.02
Valine	4.58	6.09	6.29	6.68
Cystine	1.93	2.70	2.75	3.95
Methionine	0.03	0.31	0.51	0.63
Cystathionine	-	0.19	0.66	0.42
Isoleucine	0.55	1.92	3.26	4.43
Leucine	0.65	2.14	3.40	4.86
Tyrosine	0.79	1.22	1.52	1.54
β-Alanine	0.81	0.88	0.84	0.76
Phenylalanine	1.50	5.64	8.17	10.49
β-Aminoisobutyric acid	-	0.05	0.13	0.34
Homocystine	0.06	0.09	0.07	-
γ-Amino-n-butyric acid	0.66	0.73	0.85	0.97
Ethanolamine	1.11	1.50	1.47	1.55
δ-Hydroxylysine	0.08	0.15	0.15	0.15
Ornithine	0.11	0.14	0.13	0.11
Lysine	0.68	1.68	2.37	3.42
Histidine	0.90	1.09	1.33	1.29
3-Methyl-L-histidine	-	0.15	0.73	-
Carnosine	-	-	0.21	0.27
Arginine	7.28	10.22	11.42	13.02
TA ¹⁾ (mg%)	30.16	50.74	85.80	72.84
EA ²⁾ (mg%)	7.99	17.78	24.00	30.51

¹⁾TA: Total free amino acid.²⁾EA: Essential amino acid (Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+Lys+Trp).

단백질 분자량 양상에는 큰 차이가 없었다. 대조구와 다르게 모든 가수분해구의 분자량이 33 kDa 이하에서 넓은 밴드가 나타난 것은 가수분해로 인해 polypeptide 사슬이 보다 작은 분자량으로 분해되었기 때문으로 생각되며 이러한 결과는 Kim 등(32)과 Lee 등(33)이 효소제(KMF-G)로 녹두와 청국장을 가수분해하면 단백질이 분해되어 저분자화된다고 보고한 것과 유사한 경향을 나타내었다. 또한 모든 가수분해구의 단백질 양이 적은 것은 저분자 폴리펩타이드의 이동속도가 빨라서 gel에서 빠져나왔기 때문으로 추정된다.

전자공여능의 변화

DPPH 방법을 이용한 전자공여능을 분석한 결과 Fig. 2와 같이 30분 가수분해구간은 32.99%, 60분은 33.02%, 90분은

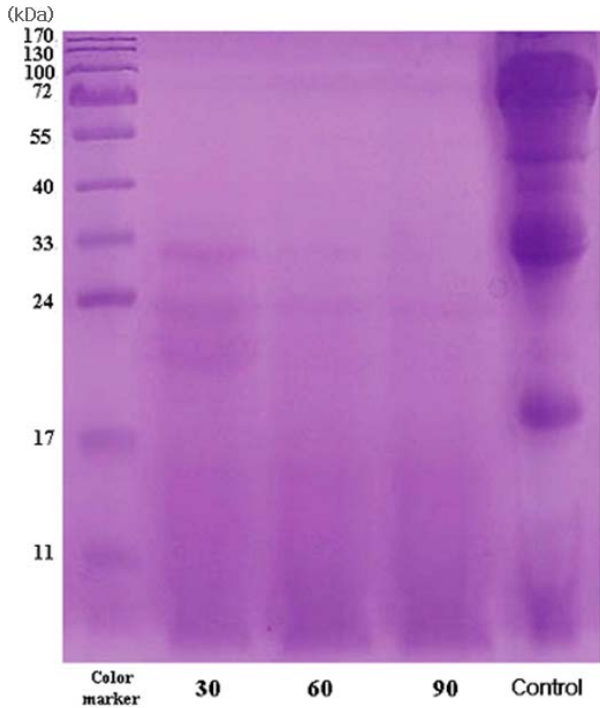


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis profile of the soymilk hydrolysate by different hydrolysis times. Lane 1: Molecular weight marker, Lane 2: Hydrolysis time at 30 minute, Lane 3: Hydrolysis time at 60 minute, Lane 4: Hydrolysis time at 90 minute.

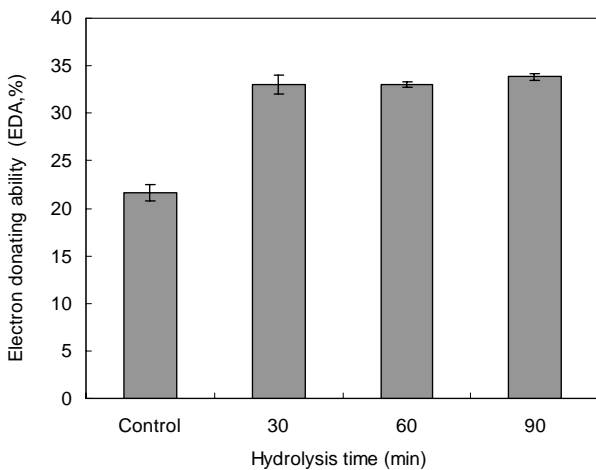


Fig. 2. Comparison of DPPH free radical scavenging activity on soymilk hydrolysate by different hydrolysis times. Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

33.82%로 대조구 21.64%에 비해 모두 높은 활성을 나타내었으나 가수분해 시간에 따른 큰 차이는 없었다. 대두에 함유된 대표적인 항산화물질은 사포닌, 폴리페놀 화합물(34)과 플라보노이드(35)로 알려져 있으며, 발효과정 중 대두 단백질이 가수분해 되어 생성되는 펩타이드와 유리아미노산도 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고된 바 있다(36,37). 또한 Park 등(38)은 발효방법과 발효기간에 따른 대두 발효식품

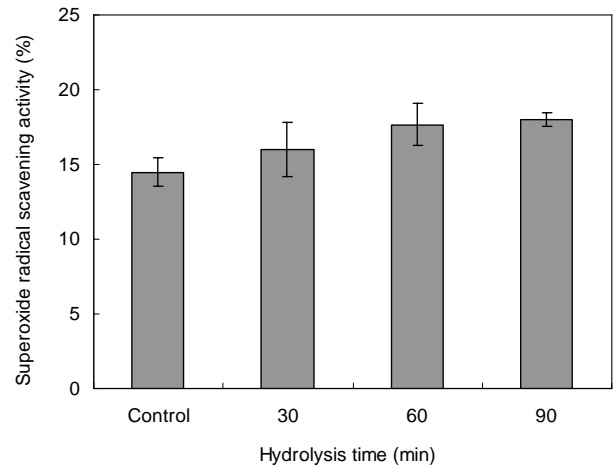


Fig. 3. Comparison of superoxide radical scavenging activity on soymilk hydrolysate by different hydrolysis times. Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

의 항산화활성 비교분석 실험에서 발효식품의 항산화활성이 대두보다 높은 것은 발효과정에서 항산화물질의 양이 증가하였기 때문으로 보고하여 본 연구에서도 두유에 효소제를 첨가하여 가수분해하는 과정에서 항산화활성 관련 물질이 생성되어 대조구에 비해 가수분해구의 활성이 더 높게 나타난 것으로 판단된다.

SOD 소거활성의 변화

Superoxide, hydroxyl radical과 같은 free radical은 분자 구조적으로 매우 불안하므로 단백질, DNA 등과 같은 고분자 세포성분들에 작용하여 산화적 손상을 일으켜 노화를 비롯한 면역물질의 활성도 감소, 각종 암 등을 유발한다는 보고가 있다(39,40). 본 연구에서 xanthine oxidase 저해활성을 이용하여 두유의 가수분해 시간에 따른 SOD 소거활성을 확인한 결과, Fig. 3과 같이 30분 16.01%, 60분 17.67%, 90분 17.98%로 가수분해 시간이 길어질수록 SOD 소거활성이 높게 나타났다. 모든 가수분해구의 SOD 소거활성은 대조구에 비하여 높게 나타나 가수분해 처리에 의한 두유의 항산화 향상 효과가 기대되었다.

ACE 저해활성

두유의 가수분해 시간에 따른 ACE 저해활성을 분석한 결과, 대조구는 29.07%, 30분에서 53.61%로 대조구에 비해 1.8배 높은 활성을 나타내었고, 60분에서 57.94%, 90분에서 60.62%로 가수분해 시간이 증가할수록 높은 활성을 나타내었다(Fig. 4). Yeum 등(41)은 효소의 가수분해로 생성되는 다양한 구조와 아미노산 배열 순서를 가지는 여러 가지 펩타이드가 ACE 저해 작용을 나타낸다고 보고하였고, Cho 등(42)은 청국장 발효과정 중 단백질의 분해로 생성되는 펩타이드가 ACE 저해활성과 관련이 있으며 protease activity가 가장 높은 조건에서 대두단백질의 분해로 용출된 펩타이드 양이 가장 많아 ACE 저해활성도 높은 것으로 보고하였다.

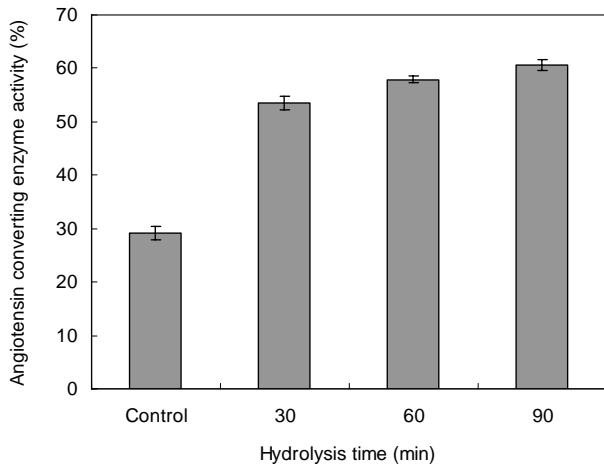


Fig. 4. Comparison of angiotensin converting enzyme activity on soymilk hydrolysate by different hydrolysis times. Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

이로 미루어 본 연구에서 모든 효소처리구가 대조구에 비해 높은 ACE 저해활성을 나타낸 것은 효소처리에 의해 생성된 펩타이드 때문으로 판단되며, 가수분해 시간이 증가할수록 ACE 저해활성과 관련된 펩타이드가 다량 생성되어 ACE 저해활성이 높게 나타난 것으로 생각된다.

요 약

두유의 저분자화 가수분해 시간(30, 60 및 90분)에 따른 품질 및 기능성 변화를 조사하였다. 그 결과 pH는 가수분해 시간에 따른 큰 차이 없이 대조구에 비해 낮았고, 당도는 가수분해 시간이 길어짐에 따라 감소하였다. 가수분해도 및 칼슘내인성은 가수분해 시간이 지남에 따라 증가하였다. 유리당은 glucose, fructose 함량은 가수분해 시간이 경과됨에 따라 증가하였고, sucrose와 maltose는 감소하는 경향을 보였으며 총 유리당 함량은 가수분해 시간 60분에서 827.65 mg%로 가장 높게 나타났다. 총 유리아미노산 함량은 가수분해시간 60분에서 85.80 mg%로 가장 높았고 모든 가수분해구가 대조구에 비해 높았으며 필수아미노산 또한 가수분해 시간이 경과됨에 따라 크게 증가되었다. 저분자화 경향을 확인하기 위한 SDS-PAGE에서 모든 가수분해구간이 분자량 33 kDa 이하로 나타났다. 두유의 기능적 특성으로 전자공여능, superoxide radical 소거활성 및 ACE 저해활성을 비교한 결과 가수분해 시간이 지남에 따라 높은 활성을 나타내었다. 이상의 결과 저분자화 두유 가수분해 시간 60분에서 전반적 품질 특성이 가장 우수하여 향후 다양한 기능성 강화 저분자 두유의 개발이 기대되었다.

문 헌

1. Kim SR, Park YK, Seong HM, Oh SH. 2002. Whole soybean

- milk produced by enzymatic solubilization of soymilk residue, and its nutritional properties. *Korea Soybean Digest* 19: 8-18.
2. Lee EK, Hwang IK. 1994. Study on the physicochemical, nutritional and sensory characteristics of the calcium-fortified soy-milk (tofu-milk). *Korea Soybean Digest* 11: 23-31.
3. Kim JS. 1996. Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest* 13: 17-24.
4. Kim CH, Park JS, Shon HS, Chung CW. 2002. Determination of isoflavone, total saponin, dietary fiber, soy oligosaccharides and lecithins from commercial soy products based on the one serving size-some bioactive compounds from commercialized soy products. *Korean J Food Sci Technol* 34: 96-102.
5. Shon HS, Lee YS, Shin HC, Chung HK. 2000. Does soybean isoflavone have adverse effects on human? *Korea Soybean Digest* 17: 9-19.
6. Lim JK, Kim D. 2006. Market trends and new marketing strategies of soy peptide. *Food Industry and Nutr* 11: 13-18.
7. Shin HC, Seong HS, Sohn HS. 2004. The industrial development and health benefits of the soymilk. *Korea Soybean Digest* 21: 15-27.
8. Lee HY, Kim JS, Kim YS, Kim WJ. 2005. Isoflavone and quality improvement of soymilk by using germinated soybean. *Korean J Food Sci Technol* 37: 443-448.
9. Kim YS, Kim CJ. 1999. Effects of extraction methods and heating times on physicochemical properties of soymilk. *Korea Soybean Digest* 16: 40-55.
10. Nelson AI, Steinberg MP, Wei LS. 1976. Illinois process for preparation of soymilk. *J Food Sci* 41: 57-61.
11. Johnson KW, Snyder HE. 1978. Soymilk a comparison of processing methods on yields and composition. *J Food Sci* 43: 349-353.
12. Yoon HH, Jeon EJ. 2004. Functional properties of soy protein isolate from heat treated soybean. *Korean J Food Sci Technol* 36: 38-43.
13. Kim HS, Kang YJ. 1995. Effect of deamidation with neuraminase on the solubility of BSA, egg albumin, and soy protein isolate. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 811-815.
14. Kim YS, Yeum DM, Hwang JK. 1994. Effect of phosphate and citrate salts on the emulsion stability of soy protein isolate in the presence of calcium. *Korean J Food & Nutr* 7: 177-182.
15. Lee CH, Kim CS, Lee SP. 1984. Studies on the enzymatic partial hydrolysis of soybean protein isolates. *Korean J Food Sci Technol* 16: 228-234.
16. Kang JH. 1999. Functional characterization of soy protein hydrolysate. *Food Industry and Nutrition* 4: 66-72.
17. Kennedy A. 1995. Cancer prevention by soy products. *J Nutr* 125: 733-741.
18. Yoon JY, Cho HK, Lee SR. 1993. Effect of phytate on the digestibility and electrophoretic pattern of soy protein isolate. *Korean J Food Sci Technol* 25: 360-365.
19. Jang SY, Gu YA, Park NY, Kim IS, Jeong YJ. 2007. Physicochemical property changes of whole soymilk dependent on hydrolysis conditions. *Korean J Food Preserv* 14: 394-399.
20. Edward JH, Shipe WF. 1978. Characterization of protein reaction products formed by pepsin, α -chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysates. *J Food Sci* 43: 1215-1219.
21. Pyun JW, Hwang IK. 1996. Preparation of calcium-fortified soymilk and *in vitro* digestion properties of its protein and

- calcium. *Korean J Food Sci Technol* 28: 995-1000.
22. Shin JS, Jeong YJ. 2003. Changes in the components of acetic acid fermentation of brown rice using raw starch digesting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 381-387.
 23. Oh YA, Kim SD, Kim KH. 1997. Changes of sugars, organic acids and amino acids content during fermentation of pine needle added *Kimchi*. *J Food Sci Technol* 9: 45-50.
 24. Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
 25. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1202.
 26. McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase. *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
 27. Chshman DW, Cheung HS. 1971. Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
 28. Hsu HW, Vavak DL, Sattellee LD, Miller A. 1977. A multi-enzyme technique for estimating protein digestibility. *J Food Sci* 42: 1269-1272.
 29. Gu YA, Jang SY, Park NY, Mun CR, Kim OM, Jeong YJ. 2006. Property changes of Mung bean depending on conditions of hydrolysis. *Korean J Food Preserv* 13: 563-568.
 30. Kang YJ, Rhee KC, Park YH. 1988. Hydrolysis of 7S and 11S soy proteins by commercial protease. *Korean J Food Sci Technol* 20: 338-343.
 31. Oh HS, Lee KH, Yoon S. 1981. Preparation of soymilk yogurt and the related studies. *Korean J Food & Nutr* 14: 175-181.
 32. Kim OM, Gu YA, Jeong YJ. 2007. Characteristics of mung bean powder after various hydrolysis protocols. *Korean J Food Preserv* 14: 301-307.
 33. Lee MY, Gu YA, Choi MS, Kwon JH, Kim IS, Jeong YJ. 2007. Characteristic changes in red ginseng fusion *Cheong-gukjang* based on hydrolysis conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1031-1037.
 34. Kao TH, Chen BH. 2006. Functional components in soybean cake and their effects on antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 54: 7544-7555.
 35. Dane P, Birac PM. 1979. Source of antioxidant activity of soybeans and products. *J Food Sci* 44: 1720-1722.
 36. Lee JJ, Cho CH, Kim JY, Kee DS, Kim HB. 2001. Antioxidant activity of substances extracted by alcohol from *Chungkookjang* powder. *Korean J Microbiol* 37: 177-181.
 37. Kim JS, Yoon S. 1999. Isoflavone contents and β -glucosidase activities of soybeans, *Meju* and *Doenjang*. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1405-1409.
 38. Park JW, Lee YJ, Yoon S. 2007. Total flavonoids and phenolics in fermented soy products and their effects on antioxidant activities determined by different assays. *Korean J Food Culture* 22: 353-358.
 39. Kim HJ, Bae JT, Lee JW, Hwangbo MH, Im HG, Lee IS. 2005. Antioxidant activity and inhibitive effects on human leukemia cells of edible mushrooms extracts. *Korean J Food Preserv* 12: 80-85.
 40. Cha BC, Lee EH, Noh MA. 2005. Antioxidant activity of *Smilacis Chinae Radix*. *Korean J Pharmacogn* 36: 195-200.
 41. Yeum DM, Lee TG, Byum HS, Kim SB, Park TH. 1992. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. *Bull Korean Fish Soc* 25: 229-235.
 42. Cho YJ, Cha WS, Bok SK, Kim MU, Chun SS, Choi UK. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during *Chunggugjang* fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 247-252.

(2008년 8월 14일 접수; 2008년 9월 24일 채택)