

## 미생물 Transglutaminase를 이용하여 제조된 쌀 혼합 전두부의 이화학적 및 물성 평가

진익훈 · 이삼빈<sup>†</sup>

계명대학교 식품가공학과, 전통 미생물자원개발 및 산업화 연구센터

### Physicochemical and Rheological Evaluation of Rice-Whole Soybean Curds Prepared by Microbial Transglutaminase

Ik-Hun Jin and Sam-Pin Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Technology and The Center for Traditional Microorganism Resources (TMR),  
Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

#### Abstract

We manufactured rice-whole soybean curd by a microbial transglutaminase (MTGase) with a mixture of hydrolyzed rice and micronized whole soybean powder (MWSP) and analyzed its rheological properties, including texture, viscoelasticity, protein cross-linking, and surface structure. A 40% rice suspension digested with a Termamyl enzyme at 85°C for 20 min showed a 9.0% reducing sugar and a consistency of 1.27 Pa·s<sup>n</sup>, resulting in a great reduction in consistency. A MWSP suspension with 22% solid content was transformed into a typical tofu texture. MWSP curd fortified with 7.5% rice showed enhanced texture properties, with a hardness of 639.6 dyne/cm<sup>2</sup>, and a springiness of 0.96. In a MWSP suspension (18~22% w/v) treated with 5% MTGase, viscoelasticity increased dependently with MWSP concentration, and a 22% MWSP indicated a G' value of 5.1 Pa and a G'' value of 9.0 Pa. Furthermore, soybean proteins present in the 22% MWSP curd largely disappeared or formed polymers with a high molecular weight by MTGase reaction within 30 min. MWSP (22%) fortified with 7.5% rice showed similar polymerization patterns on SDS-PAGE. The surface structure of the rice-MWSP curds was more dense and homogeneous network due to the addition of hydrolyzed rice. However, the surface structure of all rice-MWSP curds became rough and showed a non-homogeneous network after cold storage.

**Key words:** rice-whole soybean curd, microbial transglutaminase, termamyl, texture, dynamic viscoelasticity

#### 서 론

대두의 수용성 단백질을 추출한 후 응고시켜 압착 성형한 두부는 단백질, 필수지방산, 필수아미노산 등 영양성분 및 식이섬유 및 이소플라본 등 기능성성분을 함유한 식물성 단백질 식품으로 동양에서 널리 소비되고 있다(1). 두부에 관한 최근 연구로는 두부 제조 시 품질과 수율에 미치는 요인(2), 구기자(3), 허브(4), 키토산(5) 등을 첨가하여 기능성을 증진시킨 두부 제조, soy protein isolate의 gelation 강화(6) 등의 연구가 보고되고 있다.

이러한 영양학적으로 우수한 두부를 제조하는 공정에서 단점으로는 두부 제조과정 중에 발생하는 비지와 압착 시 빠져나가는 수용성 영양성분들의 손실을 들 수 있으며, 화학적 응고제를 사용하는 것에 대한 소비자의 거부감, 생산 과정 중 발생하는 폐수(순물) 등이 있다. 두부 제조과정에서 부산물로 생산되는 비지와 순물은 일부 식품 및 생물소재

활용을 위한 연구가 진행되고 있으나(7,8), 대부분이 사료로 이용되거나 폐기되는 현실이다. 따라서 섬유소를 비롯한 영양 성분이 풍부한 비지와 순물의 손실을 최소화 하는 두부 제조방법에 관한 연구가 필요한 실정이다.

한편, 분체공학의 발전과 더불어 지방질이 풍부한 콩의 미세 분말화가 가능하게 되었다. 콩 분말의 입도가 300 mesh 이상인 전지활성 생대두 미세분말(micronized whole soybean powder, MWSP)은 생대두의 껍질만을 제거한 후 대두 고유의 영양 및 생리활성 성분, 맛과 풍미를 그대로 유지하고 단백질 변성이나 지방질의 산패를 최소화하는 조건에서 미세 분말화한 것으로, 우수한 유효력을 가지고 보수력이 양호하며, 가공 적성이 우수하여 식품소재로서 활용되고 있다(9). 최근 콩 미세 분말을 활용한 대표적인 가공식품으로 충전 두부인 전두부 제조를 들 수 있다(10).

전두부는 콩 미세분말을 이용하여 두부 겔을 형성시킨 제품으로, 기존의 두부 제조에 비해 가공 공정의 간소화 및

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: splee@kmu.ac.kr  
Phone: 82-53-580-5554, Fax: 82-53-580-5554

경제성이 있으며, 다양한 부 원료가 첨가된 전두부 제조가 가능하다(11,12).

두부 제조 시 가장 중요한 것은 응고제를 넣어 두유 단백질을 응고시키는 응고 공정이다. 응고제는 일반적으로 chloride-type( $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ ), sulfate-type( $MgSO_4$ ,  $CaSO_4$ ), glucono- $\delta$ -lactone(GDL) 및 산성응고제(acetic acid, lactic acid) 등이 있으며, 각각의 응고제는 단백질 겔 형성 과정과 두부의 조직감에 큰 영향을 준다(13,14). 식품산업에 흔히 사용되고 있는 응고제들은 각기 다른 특성을 가지며, 다양하게 이용되어졌으나 최근 화학적 응고제에 대한 소비자들의 거부감으로 인해 천연 응고제를 이용한 두부의 제조가 필요한 실정이다.

미생물에서 유래된 microbial transglutaminase(MTGase)는 단백질의 glutamine과 lysine 잔기 사이를 선택적으로 펩타이드 결합을 형성시키는 가교 중합형 효소이다. 단백질 가교 고분자화 기능을 가지는 효소인 MTGase는 의학 분야의 생리 화학적 측면에서 많이 연구되어졌으며, 동물, 식품 이외에도 미생물에 의해 생산되는 MTGase에 관한 연구가 보고되고 있다(15). 미생물 유래의 MTGase는 칼슘 비의존성이며 반응하는 pH 범위가 넓은 특성을 가지고 있어(16) 단백질 결합에 따른 물성조절의 첨가제로써 널리 이용되고 있다. 최근 다양한 출처로부터 얻어지는 MTGase 효소들에 관한 식품 및 바이오분야의 산업적 응용에 대한 보고가 있었으며(17), 특히 콩 단백질을 이용한 두부 조직 형성에 MTGase에 의한 영향에 관한 연구가 보고된 바 있다(18). MTGase를 이용하여 단백질의 일부를 중합시키면 변형된 단백질은 물리적, 기능적 특징이 부여되며, 이러한 효소 처리된 단백질 소재 및 제품은 식품가공 산업에서 매우 유용하게 이용될 것으로 기대되고 있다.

쌀은 뛰어난 맛과 영양을 지닌 동양인의 주식이지만, 생활양식의 서구화에 따라 패스트푸드를 비롯한 각종 외래 식문화에 밀려 쌀 소비량은 매년 감소되고 있다(19). 최근 인스턴트식품의 소비를 줄이고 쌀 소비를 증가시키기 위해 소비자의 수요에 맞는 다양한 제품 개발이 요구되고 있다. 근래에 들어 쌀의 기능적 우수성에 관한 연구가 많이 이루어지고 있어 쌀의 혈압조절기능(20), 당뇨병예방(21), 암 예방 효과(22), 돌연변이 억제효과(23), 쌀의 식이섬유 함량이 정상 혈당에 미치는 영향(24) 등이 밝혀지고 있다. 본 실험에서는 쌀 소비를 증진시키고자 쌀을 초미세 생대두 분말과 혼합하여 전두부 제조를 최적화하였으며, 쌀의 첨가량을 최대화하기 위해서 쌀 분말을 액화효소에 의한 가수분해 시킨 후 전두부 제조에 첨가하여 맛과 조직감이 우수한 쌀이 첨가된 전두부를 제조하고자 하였다.

젤라틴은 콜라겐 단백질을 가수분해 하여 얻어지는 고분자 단백질을 우수한 겔 형성능을 가지고 있다. 전두부의 젤라틴 첨가는 단백질 결합효소 사용량을 줄이는데 효과적인 것으로 보고된 바 있으며(25), 본 연구에서는 전두부 제조

에 겔화성이 우수한 젤라틴을 첨가하여 효소 사용량을 최소화 하며 조직감이 우수한 전두부를 제조하고자 하였다.

따라서 본 연구에서는 초미세 생대두 분말과 단백질 중합 효소인 MTGase를 응고제로 사용하여 젤라틴과 쌀 가수분해물 첨가량에 따른 쌀이 첨가된 전두부를 제조하였으며, 이에 대한 물성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

원료인 초미세 생대두 분말(micronized whole soybean powder, MWSP)은 동양 하이텍(Daegu, Korea)사로부터 제공받아 사용하였고, 전두부 제조를 위해 microbial transglutaminase(MTGase)는 Ajinomoto사(Tokyo, Japan)로부터 구입하여 사용하였다. 젤라틴은 식품첨가물로서 분자량 130 kDa인 제품을 Sami Co.(Ansan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 쌀은 안계농협(경북 의성)에서 구입하여 Centrifugal Force Mill(KCFM-48, Korea MEDI Co., Seoul, Korea)로 분쇄하여 사용하였다. 액화효소 Termamyl 120L (Type L)은 Novozymes Korea(Seoul, Korea)사로부터 구입하여 사용하였으며, gel 염색 시약인 Instant blue 용액(Coomassie dye, Expedeon, Cambridge, UK) 그 외의 시약들은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다.

### MWSP 및 쌀의 입자 크기 분석

MWSP와 쌀 분말의 입자 크기를 분석하기 위해 Laser diffraction particle size analyzer(LSI3320, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)를 이용하여 0.1~1,000  $\mu\text{m}$ 의 범위 안에서 측정하였다.

### 쌀 가수분해물 및 쌀이 첨가된 전두부의 제조과정

쌀 분말 분산액의 농도를 40%(w/v)로 제조하여 Termamyl 120L 효소(120 KNU)를 쌀 고형분 기준 0.15%를 첨가 85°C에서 20분간 열처리 하여 쌀 가수분해물을 제조하였다. MWSP용액(30%, w/v)에 젤라틴을 0.5% 첨가한 후 homogenizer(TH220, Omni International, Waterbury, CT, USA)를 이용하여 10,000 rpm에서 1분간 균질화한 후 95°C에서 10분간 열처리하여 전두유를 제조하였다(Fig. 1). 쌀 가수분해물과 전두유는 mixer(Dongyoung Hitech, Daegu, Korea)를 이용하여 일정 비율로 혼합한 후 MWSP 고형분 기준 5% MTGase를 첨가하고 전용 사각용기(8.7×8.7×3.7 cm)에 담아 용기 실링기(O-sung, Yangju, Korea)로 밀봉한 뒤 50°C에서 1시간 효소 반응시킨 후 냉각하였다. 살균 목적으로 95°C에서 10분간 열처리 하였으며 상온에서 1시간 방치하여 비압착식 쌀이 첨가된 전두부를 제조하였다.

### MWSP의 농도에 따른 전두부 제조

MWSP를 각각 18%, 20%, 22%(w/v)의 농도로 제조한

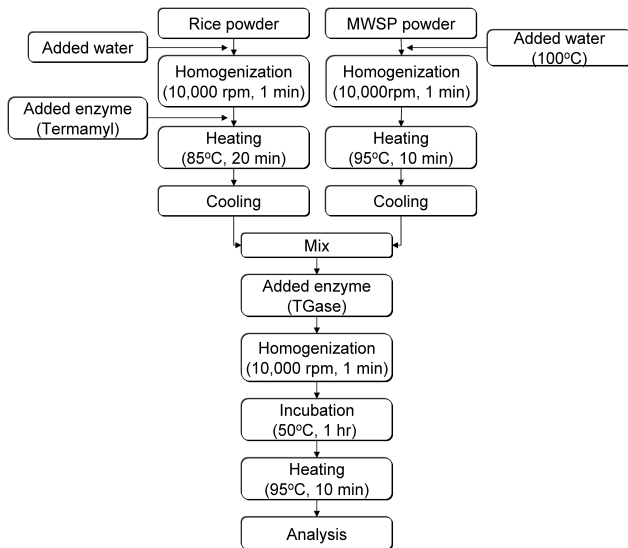


Fig. 1. Flow chart for manufacturing rice-whole soybean curd.

뒤 균질화 하고 MTGase를 콩 미세분말의 고형분 기준으로 5%(w/w)를 첨가한 뒤 50°C에서 1시간 반응하여 전두부를 제조하였다.

#### 쌀의 농도에 따른 쌀이 첨가된 전두부 제조

MWSP의 농도에 따라 쌀 첨가량을 각각 2.5, 5.0, 7.5, 10%(w/v)로 하고 MTGase를 콩 미세분말의 고형분 기준 5%(w/w) 첨가한 뒤 50°C에서 1시간 반응하여 쌀이 첨가된 전두부를 제조하였다.

#### 점조도 측정

효소처리된 쌀 가수분해물(40%) 13 mL을 취하여 원통형 점도계(HAAKE RheoStress 1, Karlsruhe, Germany)에 spindle(Rotor DG43 DIN53544 Titan)을 장착하여 measuring cup DG43을 사용하여 측정하였다. 측정온도는 20°C에서 전단속도( $\dot{\gamma}$ )는 1~100 s<sup>-1</sup>의 범위에서 점도 측정을 통해서 유동특성을 알아보았고, 점도지수와 유동지수 값은 power law model( $\tau=ar^b$ )로 측정하였다(26).

$$\text{power law model: } \sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

$\sigma$ 는 전단응력(shear stress, Pa), K는 점조도 지수(consistency index, Pa · s<sup>n</sup>),  $\dot{\gamma}$ 는 전단속도(shear rate, s<sup>-1</sup>), n은 유동성 지수(flow behavior index)이다.

#### 환원당 측정

환원당 함량은 DNS(dinitrosalicylic acid)법에 의해 측정하였다(27). 효소 처리된 쌀 가수분해물을 희석한 시료 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 가하고 100°C에서 5분간 발색시킨 다음, 실온의 암소에서 30분간 냉각 후 550 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 glucose를 표준물질로 하여 표준곡선을 작성하여 구하였다.

#### 전두부의 조직감 측정

쌀이 첨가된 전두부 조직감 측정은 전두부 제조 후 2시간 뒤 일정크기(2×2×2 cm)로 절단하여 Texture analyser(TA-XTplus, Micro Stable System, Godalming, UK)를 이용하여 TPA(texture profile analysis) test를 시행하였다. Texture analyzer의 조건은 test speed(3 mm/sec), strain(40%), time(3 sec), trigger force(4 g)에서 plunger( $\phi$  35 mm)를 이용하여 시료 당 10개 sample을 반복 측정하였다. 한편 불가피하게 측정 과정 중 조직이 파괴되는 경우 strain 35% 수준으로 낮추어 측정하였다. 이 장비에 의한 TPA test로서 얻을 수 있는 값으로 겔의 경도(hardness), 탄성(Springiness), 씹힘성(chewiness), 점착성(gumminess), 응집성(cohesiveness)을 평가하였다.

#### SDS-PAGE 분석

대두 단백질의 주성분인 11S, 7S glycinin 분획 패턴을 알아보기 위해 10% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) 전기영동을 수행하였다. 동결건조 하여 분말화한 전두부 또는 쌀이 첨가된 전두부 시료 40 mg을 SDS-sample buffer(0.15 M Tris-HCl, pH 6.8, 4% SDS, 5%  $\beta$ -mercaptoethanol)에 용해시킨 후 전기영동(Mini-Protean Tetra system, BIO RAD, Hercules, CA, USA)을 실시하였다. Gel 염색은 Instant blue 용액(Coomassie dye, ethanol, phosphoric acid, solubilizing agent)을 사용하였으며 표준 단백질은 Protein Multicolor Marker로 myosin,  $\beta$ -galactosidase, phosphorylase-b, BSA, ovalbumin, carbonic anhydrase, soybean trypsin inhibitor로 조합되어 있는 marker를 사용하였다.

#### 동적점탄성 측정

MWSP분산액에 MTGase를 첨가한 후 겔화 반응 시 일어나는 동적점탄성 특성 측정은 Rheometer system(HAAKE RheoStress 1)에 cone plate device(Platte PP35 Ti, 35 mm diameter, 1.0 mm gap)를 장착하여 측정하였다. 시료 1.0 mL을 취하여 plate에 올려 측정하였다. 변형력과 변형률 사이에 선형관계가 나타나는 구간을 결정하기 위해 frequency sweep로부터 결정된 진동수(frequency,  $\omega$ ) 6.2832 rad/s에서 효소 최적 반응 온도인 50°C의 시간에 따른 탄성률(elastic modulus, G')과 점성률(viscous modulus, G'')을 측정하였다.

#### Scanning electron microscopy(SEM) 분석

제조된 전두부 또는 쌀이 첨가된 전두부를 10×10×10 mm 크기로 절단 후 동결건조기(Ilsin, Busan, Korea)를 이용하여 동결건조 한 뒤 전두부의 관찰 표면을 금으로 도금시켜 전도성을 갖게 하여 scanning electron microscopy(SEM, S-4300, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 가속전압 15 kV로 하여 85초 동안 50배에서 200배로 하여 관찰하였다.

통계처리

실험 결과는 PASW Statistics 18(version 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준오차(mean ±SD)를 구하였으며, 각 집단 간 평균치 차이를 검증하기 위하여 one way-ANOVA 및 Tukey test를 적용하였다. 결과에 대한 검증은 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

MWSP 및 쌀 분말 입도 분석

MWSP와 원심력 분쇄기를 이용하여 건식 분쇄한 쌀 분말의 입도는 각각 평균 25, 20 µm의 값으로 나타났으며 한국분체시스템이 제공하는 입도 변환표에 의하면 모두 약 600 mesh 정도로 나타났다. Lee(28)에 의하면 쌀의 분쇄는 건식 혹은 침수 방법으로 제조되는데, 습식과 건식 모두에서 10~30 µm, 50~180 µm 두 가지 크기의 입자가 존재하며 건식분쇄 시 더 큰 입자의 분포가 많은 부분을 차지한다고 보고하였다. Park 등(29)의 연구에서는 roller mill과 micro mill을 병용하여 쌀가루 제조 시 200과 230 mesh에서의 분포도가 각각 40.7%, 17.0%로 높게 나타났다고 보고하였다.

Termamyl의 처리에 따른 쌀 가수분해물의 점조도 및 환원당 함량 변화

40%(w/v) 쌀 분말 현탁액에 액화효소 Termamyl을 첨가하여 가열온도와 시간에 따른 쌀 가수분해물을 제조하였다. Termamyl을 첨가하지 않은 경우 쌀 분말 현탁액은 10분간 열처리 하였을 때 호화되면서 겔처럼 굳어지는 현상이 나타났다(Fig. 2). 반면에 Termamyl을 쌀 고형분 기준으로 0.15%(w/w) 첨가하여 75, 85, 95°C 각각의 온도에서 열처리 하였을 때 85°C에서 20분간 열처리 한 조건의 점조도가 1.27 Pa·s<sup>n</sup>으로 급격히 감소하였으며, 가수분해 시간이 증가되면서 점조도가 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3). 95°C 10분간 열처리 하였을 때의 점조도가 0.54 Pa·s<sup>n</sup>로 더 감소하였으나 가수분해물의 일부가 작은 덩어리 형태로 응집되는 현상

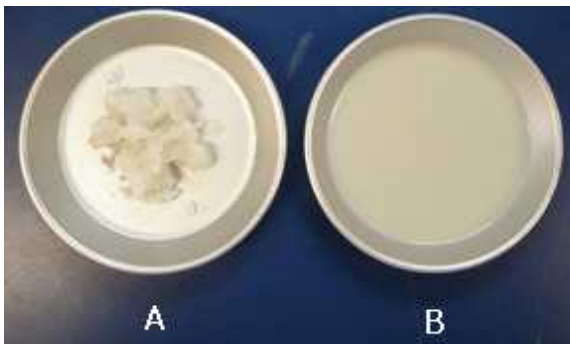


Fig. 2. Effect of Termamyl enzyme treatment on the hydrolysis of rice suspension. The hydrolysis was performed by heating at 95°C for 10 min with or without Termamyl enzyme. A: Termamyl non-added, B: Termamyl added.

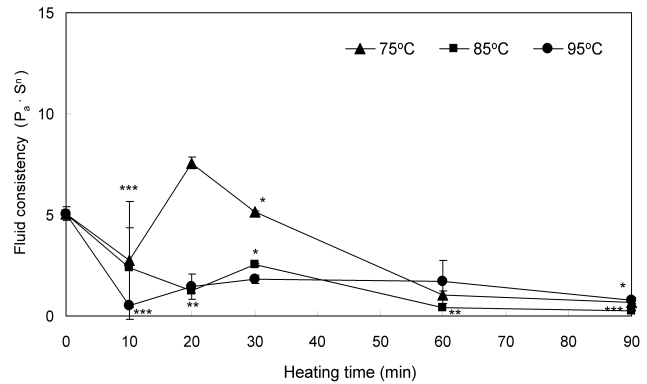


Fig. 3. Changes in fluid consistency of 40% rice suspension according to the different heating time. Rice suspension (40%, w/w) was treated with Termamyl enzyme (0.15%, rice solid basis). Mean±SD (n=3); Compared to control as determined by Tukey's studentized range (HSD) test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

을 보였다. 또한 가수분해 시간이 증가되면서 점조도값의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다. 반면에 75°C에서 열처리 하는 경우에 초기 20분 열처리에 의해서 점조도 값이 증가되었으며, 이후 60분 열처리 되었을 때 점조도 값은 급격하게 감소되어 85°C, 95°C에서 가수분해 결과와 유사한 점조도 값을 나타내었다. 초기에 점조도 값의 증가는 쌀 전분의 호화와 효소에 의한 가수분해가 동시에 수반되면서 가수분해가 지연되면서 호화된 전분에 의한 점조도 상승으로 사료된다. 따라서 쌀 전분의 점조도를 효과적으로 감소시켜 최종 혼합물 제품의 점도를 크게 상승시키지 않으면서 쌀의 탄수화물을 강화시키는 조건으로 85°C 이상의 온도에서 20분 정도 가수분해를 수행하는 것이 적당한 것으로 사료된다.

가열 시간에 따른 환원당 변화는 Fig. 4와 같이 나타났다. 75, 85, 95°C 온도에서 시간에 따른 환원당은 75°C의 10, 20, 30, 60, 90분에서 각각 3.5%, 7.6%, 10.2%, 15.5%, 16.6%으로 시간이 증가함에 따라 환원당의 함량도 증가되었다. 85°C 열처리의 10, 20, 30, 60, 90분에서의 환원당 함량은 각각 4.3%, 9.0%, 12.6%, 16.5%, 27.3%로 시간이 증가함에 따라 환원당

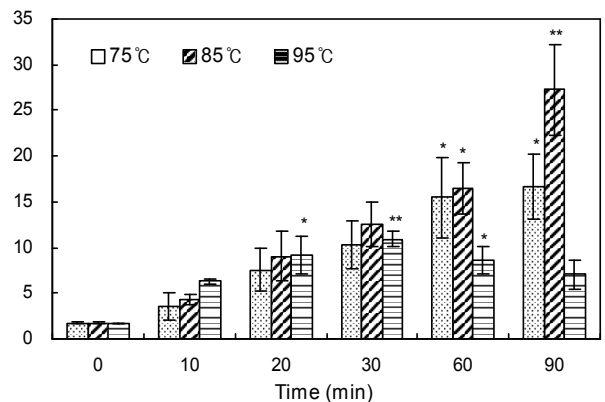


Fig. 4. Reducing sugar content of 40% rice suspension treated at different heating time and temperature. Mean±SD (n=3); Compared to control as determined by Tukey's studentized range (HSD) test (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

의 함량이 증가하였으며 60분 이후 급격히 증가하였다.

Shih와 Daigle(30)에 의하면 쌀 분말로부터 단백질을 효과적으로 분리하기 위해서 Termamyl 120L을 처리한 결과, 반응온도 및 시간이 증가할수록 단백질 함량, DE(dextrose equivalent)값 및 탄수화물 액화율이 유의적으로 증가한다고 보고하였으며, 특히 90°C에서 45분 처리하였을 때 단백질 함량이 65% 이상 분리되고, DE값은 23.5, 탄수화물 액화율은 77.7%로 가장 높게 나타난다고 보고하였다.

본 연구에서는 열처리 95°C의 10, 20, 30, 60, 60분에서는 각각 6.3%, 9.2%, 10.9%, 8.6%, 7.1%의 환원당 함량을 보였으며 30분 이후에는 완만하게 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 Termamyl 액화효소의 열안정성이 85°C에서는 1시간 이상 유지되지만 95°C에서는 30분 이후부터 효소활성이 감소되는 것을 알 수 있었다. 따라서 85°C에서 20분 열처리하는 쌀 가수분해 조건은 쌀 전분의 호화촉진과 동시에 액화효소의 활성 최대화로 효과적인 쌀 가수분해가 이루어지며 낮은 점도의 균일한 입자를 갖게 되므로 가장 바람직한 액화 조건으로 사료된다.

#### MWSP 농도에 따른 동적점탄성 특성

유체의 동적점탄성(dynamic viscoelasticity)은 저장탄성률( $G'$ )과 손실탄성률( $G''$ )의 변화를 나타내는 것이며, 질화가 일어나는 동안 점탄성의 변화는 구조 파괴가 거의 없는 선형 점탄성 범위에서 진동(oscillation)에 의해 측정되었다.

MWSP 18%, 20%, 22% 농도에서 MTGase를 고형분 기준으로 5% 첨가하여 약 6분 동안의 효소반응 시간에 따른 점탄성의 변화를 측정하였다. 예비실험에서 MWSP 12% 이하 구간에서의  $G'$ 와  $G''$ 는 시간이 증가함에 따라 측정 주파수 범위 내에서 거의 변화가 없었으며 MWSP 14% 이상에서 약간의 점탄성의 변화가 관찰되었다. 특히 MWSP 18% 이상의 농도에서는 농도 의존적으로 점탄성 값이 급격하게 증가하는 경향을 보였으며, 초기 점탄성 값의 증가속도를 나타내는 기울기가 MWSP 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 5A).

MWSP 농도가 18, 20, 22%로 증가될수록 반응시간에 따른  $G'$ (탄성 값)이 급격하게 증가하는 경향을 보였으며, 반응시간에 따른 가장 높은  $G'$ 값은 각각 2.2, 3.5, 5.1 Pa 값을 보였다. 또한 점성 값을 나타내는  $G''$ 값도 MWSP 농도 증가에 따라 급격하게 증가하는 경향을 보였으며, 특히 22% MWSP의 경우에는  $G''$ 값이 9.0 Pa까지 증가되었다. 이는 MWSP의 첨가량이 증가함에 따라 TGase와 반응하는 단백질의 농도가 증가하면서 효과적으로 단백질간의 결합이 형성되면서 겔 형성이 촉진되어 점성과 탄성 값이 MWSP 농도 의존적으로 증가하는 것으로 사료된다. MWSP 농도에 따른 MTGase 효소의 의한 겔화 촉매반응은 6분 이내에 이루어지면서 형성된 겔은 반응시간이 증가되면서 조직이 변형되면서 점탄성 값이 감소하는 것으로 사료된다.

또한 MWSP 18, 20, 22% 농도에서 쌀 가수분해물을 각각

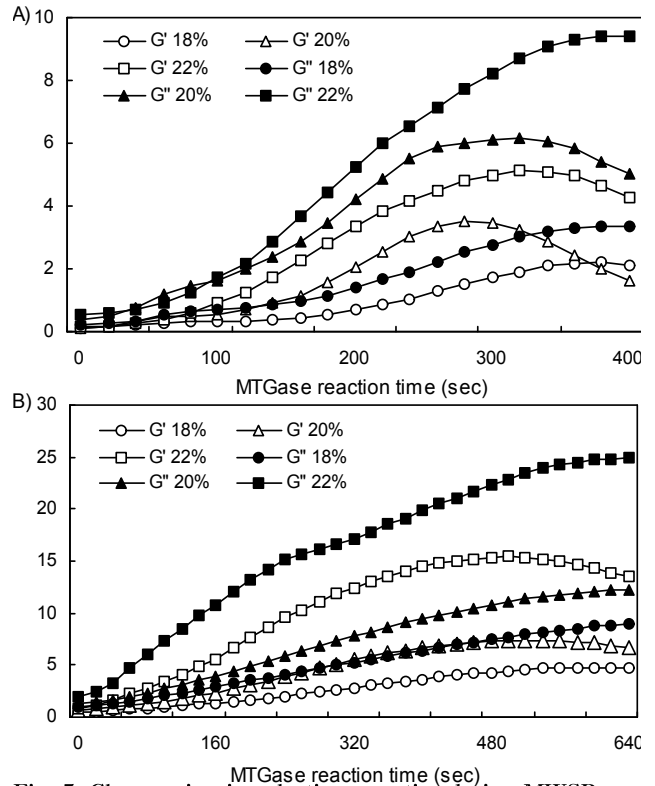


Fig. 5. Changes in viscoelastic properties during MWSP gelation with 5% MTGase enzyme. A: MWSP only, B: MWSP with 7.5% rice.

첨가하여(dry base 7.5%) 점탄성의 변화를 측정하였다(Fig. 5B). 쌀 가수분해물이 첨가된 MWSP는 쌀 가수분해물이 첨가되지 않은 경우보다 더 높은  $G'$  및  $G''$ 값을 나타내었으며, 반응시간에 따른 가장 높은  $G'$ 값은 각각 4.7, 7.3, 15.4 Pa 값을 보였다. 특히 MWSP 22%의 쌀 가수분해물 첨가 경우  $G'$ 값이 15.4 Pa까지 증가하여 쌀 가수분해물을 첨가하지 않은 구의 5.1 Pa보다 2배 이상 증가하였으며, 점성 값을 나타내는  $G''$  값 또한 급격히 증가하여 22% MWSP의 경우 25.0 Pa까지 증가되었다. 따라서 MWSP 농도별 쌀 가수분해물 첨가는 점성 및 탄성을 크게 증가시켜주며 MWSP 22% 농도에서 뛰어난 것으로 사료된다.

이는 MWSP 22% 농도는 TGase 효소에 의한 겔 형성이 우수하여 견고성이 높은 전두부 제조가 가능하였으며, 일정량의 쌀 가수분해물 첨가 시 단백질 함량 증가에 따른 TGase 효소의 겔 형성이 촉진되어 점성과 탄성이 가장 높게 나타나는 것으로 사료되었다.

Marco와 Rosell(31)에 의하면 쌀 반죽 제조 시 soybean, pea, egg-albumin 및 whey protein으로부터 얻은 분리단백을 각각 첨가하여 MTGase와 반응시켰을 때 특히, 첨가 분리단백 중 soybean 분리단백 처리구의 경우 가장 값의 변화가 크게 나타났으며, 대조구(MTGase 반응 전 시료)에 비해  $G'$ 과  $G''$ 값이 약 1.5배 이상 증가하였고, 유리아미노산 함량이 가장 많이 감소한 것으로 보고하였다. 따라서 쌀과 혼합

된 콩 단백질은 MTGase에 의한 우수한 겔 형성능으로 단백질의 lysine과 glutamine 잔기의 결합을 통해서 효과적인 단백질간의 결합으로 점탄성이 증가하는 것으로 사료된다.

#### 전두부의 SDS-PAGE 분석

MTGase 효소 반응시간에 따른 MWSP 단백질 결합 패턴을 확인하기 위해 MTGase 5% 첨가 후 5분 간격으로 반응시킨 전두부 시료를 취하여 10분간 중탕 가열하여 불활성화시킨 후 동결건조 한 후 대두 단백질의 변화를 측정하였다. Fig. 6A와 같이 22% 농도의 MWSP 단백질은 MTGase 효소에 의해서 효과적으로 단백질 중합이 이루어지며, 효소반응 10분 이내에 대부분의 콩 단백질인 7S, 11S fraction이 사라지면서 고분자의 중합체가 형성되어 12% polyacrylamide gel을 통과하지 못하는 것으로 나타났다. 이는 MTGase를 처리함과 동시에 저분자 밴드가 감소하여 고분자 중합체가 형성하게 되어 stacking gel을 빠져나가지 못한다고 보고(32)된 결과와 일치함을 알 수 있었다. Joo(25)는 MWSP 15%에 MTGase를 1시간 반응할 경우 첨가 농도가 증가할수록 콩 단백질인 11S glycine이 감소하는 경향을 나타내어 MTGase 결합이 용이하였다고 보고하였다. 그러나 22% MWSP의 단백질은 5% MTGase 첨가 시 효소 반응시간이 30분 이내에 대부분의 콩 단백질은 중합되어 소실되면서 효과적으로 단백질 결합이 이루어짐을 확인할 수 있었다(Fig. 6A).

쌀이 첨가된 전두부 시료(MWSP 22%, rice 7.5%)에서도 MTGase에 의한 효과적인 중합반응을 관찰할 수 있었으며, 반응 20분 이후 40 kDa 단백질의 일부를 제외하고는 대부분의 단백질들이 관찰되지 않았다(Fig. 6B). 따라서 MWSP와 쌀을 혼합하여 효소적 중합하는 것이 MWSP만 사용하는 것보다 더 효과적이었으며, MWSP 단백질과 쌀 혼합물에 MTGase 효소를 처리함으로써 효과적으로 단시간에 겔 형

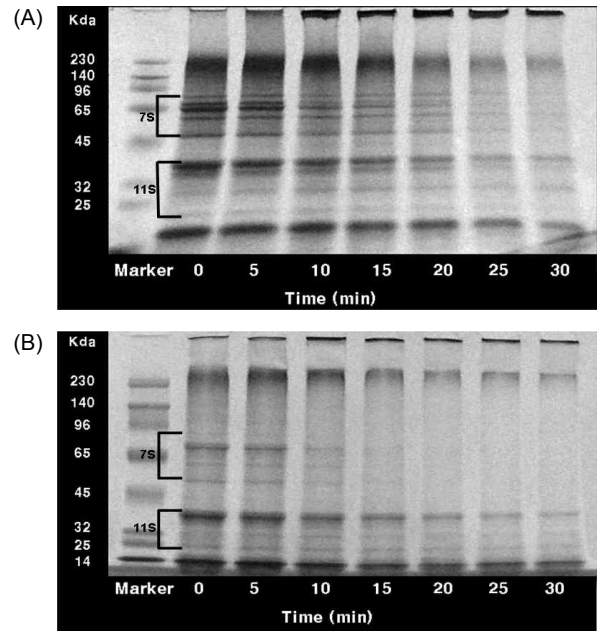


Fig. 6. SDS-PAGE patterns of MTGase-treated MWSP according to the reaction times. A: MWSP 22%, B: MWSP 22% with rice 7.5%.

성을 통해서 두부 조직감을 갖는 쌀이 첨가된 전두부의 제조가 가능하다고 사료된다.

#### 쌀이 첨가된 전두부의 texture 특성변화

쌀이 첨가된 전두부를 제조 시 쌀 첨가량에 따른 조직감을 측정한 결과는 Table 1과 같다. MWSP 농도를 18%, 20%, 22%로 사용하여 제조된 전두부 대조구의 경도는 각각 302.5 dyne/cm<sup>2</sup>, 444.1 dyne/cm<sup>2</sup>, 444.8 dyne/cm<sup>2</sup>이었으며, MWSP 18%, 20%에 쌀을 각각 10% 첨가한 전두부의 경도는 323.6

Table 1. Rheological properties of rice-whole soybean curds (RWSC) according to the rice content

MWSP/Rice (%) <sup>1)</sup>	Hardness (dyne/cm <sup>2</sup> )	Springiness (g)	Cohesiveness (%)	Gumminess (%)	Chewiness <sup>2)</sup>	
MWSP 18	0	302.5±44.3	0.90±0.02	0.72±0.03	215.6±22.6	194.4±23.1
	2.5	372.8±29.0	0.92±0.01	0.76±0.04	282.3±24.0	261.0±23.2
	5 <sup>3)</sup>	288.7±11.1	0.91±0.02	0.80±0.01	229.7±9.8	209.9±12.4
	7.5 <sup>3)</sup>	330.7±17.8	0.94±0.01	0.82±0.01	272.2±15.3	256.2±15.4
	10 <sup>3)</sup>	323.6±24.9	0.94±0.01	0.82±0.01	264.9±21.9	247.9±21.9
MWSP 20	0	444.1±7.8	0.92±0.01	0.78±0.00	346.5±4.7	319.6±2.0
	2.5	439.3±26.3	0.93±0.00	0.80±0.02	350.2±16.1	327.4±14.8
	5	428.0±25.9	0.92±0.02	0.76±0.03	326.9±31.5	266.9±34.7
	7.5	421.1±8.3	0.93±0.01	0.80±0.00	337.7±6.9	312.7±4.2
	10	445.2±10.1	0.92±0.01	0.76±0.02	336.3±16.3	310.2±12.0
MWSP 22	0	444.8±12.3	0.95±0.00	0.83±0.00	369.0±10.1	348.7±11.0
	2.5	445.6±16.6	0.95±0.02	0.85±0.00**	378.7±14.5	357.8±9.7
	5	564.9±27.5	0.96±0.00	0.84±0.00	474.7±22.5	455.1±20.3*
	7.5	639.6±57.6**	0.96±0.01	0.84±0.00	535.7±48.4**	511.9±47.1**
	10	690.7±6.9**	0.95±0.01	0.84±0.00	580.5±9.1**	553.3±1.0**

<sup>1)</sup>RWSC was prepared with 5% MTGase and 0.5% gelatin at 50°C for 1 hr.

<sup>2)</sup>Chewiness = springiness × gumminess.

<sup>3)</sup>Compression was performed at 35% strain.

Mean±SD (n=3); Compared to control as determined by Tukey's studentized range (HSD) test (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

dyne/cm<sup>2</sup>, 445.2 dyne/cm<sup>2</sup>로 증가하는 경향을 보였지만, 유의적이 차이는 없었으나 MWSP 22%에 쌀 10%를 첨가하는 경우에는 경도 값이 690.7 dyne/cm<sup>2</sup>로 증가하는 경향을 보였다. MWSP 18%, 20% 수준으로 첨가한 경우에는 쌀 첨가량이 10%보다 낮은 농도에서는 쌀이 첨가된 전두부의 경도에는 크게 영향을 미치지 않았다. 한편 MWSP 18%의 경우 5% 이상의 쌀 첨가 조건에서는 40% strain(변형)으로 물성 측정 과정 중 쌀이 첨가된 전두부의 조직이 파괴되는 현상이 나타나 strain을 35% 수준으로 감소하여 측정하였다. MWSP 18% 이상의 농도에서 제조된 전두부는 탄성 값 0.9 이상으로 매우 탄력성이 있는 조직감을 나타내었다. 또한 쌀 가수분해물의 첨가 농도가 증가함에 따라서 전두부의 탄성 값에는 거의 변화가 없었다. 한편, MWSP 18% 농도에서 형성된 전두부는 응집성 값이 쌀의 첨가 농도에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 이보다 높은 농도의 MWSP에서는 쌀 가수분해물 첨가에 따른 값의 변화가 거의 나타나지 않았다. MWSP 22%에서 점착성 값과 씹힘성 값이 쌀 가수분해물 첨가 농도가 크게 증가하면서 씹힘성이 증가하는 것으로 판단된다.

쌀 10% 첨가구의 쌀이 첨가된 전두부는 경도가 증가하였으며 단맛이 강하였다. 이는 쌀 가수분해물은 전분의 가수분해로 환원당이 생성됨으로써 쌀이 첨가된 전두부에 단맛이 부여되는 것으로 사료되며, 결과적으로 MWSP 22%를 사용

하여 쌀 가수분해물을 7.5% 첨가한 군이 적당한 물성과 맛을 가지는 쌀이 첨가된 전두부 제조에 가장 적합한 것으로 사료된다.

쌀이 첨가된 전두부 제조 시 MWSP 22%를 기준으로 하여 쌀 첨가량을 10% 수준까지 가하여 제조한 쌀이 첨가된 전두부를 2일간 냉장저장한 후 전두부의 물성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 쌀 첨가 농도가 증가할수록 냉장 후 모든 구에서 농도 의존적으로 경도 값이 증가하는 것으로 나타났으며, 탄성 및 응집성 값의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다. 쌀을 첨가하지 않은 대조구의 경도는 444.8 dyne/cm<sup>2</sup> 나타났으며, 저장 2일째 경도 값 585.5 dyne/cm<sup>2</sup>로 크게 증가되면서 냉장저장 후에 조직감이 단단해짐을 알 수 있었다. 이는 전두부 제조 시 첨가된 쌀 가수분해물의 탄수화물이 전두부의 냉장저장 중 노화되는 현상으로 사료되며, 냉장저장 후에 쌀이 첨가된 전두부의 경도 증가는 시판되는 두부의 조직감과 유사한 물성을 갖는 것으로 판단된다. 시판되는 두부의 종류에 따라 조직감의 차이가 크지만, 시판중인 5종의 냉장 부침용 두부의 경우 실험군과 같은 조건으로 조직감을 측정하였을 때 대략 경도 430~630 dyne/cm<sup>2</sup>, 탄성 0.92~0.95 g, 응집성 0.73~0.78%, 점착성 170~480%, 씹힘성 160~440으로 측정되었다.

Table 2. Rheological properties of rice-whole soybean curds during the cold storage period

	Storage period	Concentration of rice (%) <sup>1)</sup>				
		0	2.5	5	7.5	10
Hardness (dyne/cm <sup>2</sup> )	0 day	444.8±12.3	445.6±16.6	564.9±27.5	639.6±57.6**	690.7±6.9**
	2 days	585.5±34.0	579.3±13.8	589.7±12.9	620.3±19.3	687.0±23.8**
Springiness (g)	0 day	0.95±0.00	0.95±0.02	0.96±0.00	0.96±0.01	0.95±0.01
	2 days	0.94±0.01	0.95±0.01	0.95±0.00	0.94±0.00	0.94±0.00
Cohesiveness (%)	0 day	0.83±0.00	0.85±0.00**	0.84±0.00	0.84±0.00	0.84±0.00
	2 days	0.83±0.00	0.84±0.01	0.84±0.01	0.83±0.00	0.82±0.01
Gumminess (%)	0 day	369.0±10.1	378.7±14.5	474.7±22.5	535.7±48.4**	580.5±9.1**
	2 days	484.3±26.5	486.5±7.8	498.2±12.8	514.8±18.7	563.1±24.9**
Chewiness <sup>2)</sup>	0 day	348.7±11.0	357.8±9.7	455.1±20.3*	511.9±47.1**	553.3±1.0**
	2 days	456.1±29.4	460.0±3.1	471.6±11.3	484.3±18.1	531.1±23.3*

<sup>1)</sup>RWSC was prepared with 22% MWSP, 5% MTGase and 0.5% gelatin at 50°C for 1 hr.

<sup>2)</sup>Chewiness = springiness × gumminess.

Mean±SD (n=3); Compared to control as determined by Tukey's studentized range (HSD) test (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

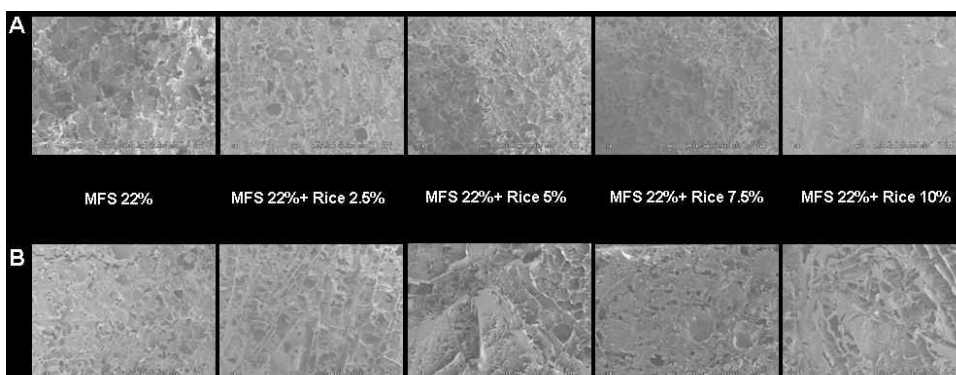


Fig. 7. SEM images (×50) of rice-whole soybean curds fortified with various concentrations of rice. A: before cold storage, B: after cold storage at 4°C for 2 days. RWSC was prepared with MWSP 22% and MTGase 5% at 50°C for 1 hr.

### 쌀이 첨가된 전두부의 SEM 표면 촬영

쌀이 첨가된 전두부 중 MWSP 농도 22%를 기준으로 하여 쌀 첨가량에 따라 2일간 냉장저장한 후의 시료들을 동결 건조 하여 SEM 촬영을 통해 쌀이 첨가된 전두부의 표면 상태를 관찰하였다. 50배율에서 촬영한 결과는 Fig. 7과 같다. 냉장 전의 표면은 대조구(MWSP 22%)에 비해 쌀 첨가량이 증가됨에 따라 균일하고 치밀한 구조를 나타내고 있다 (Fig. 7A). 이는 단백질간의 결합에 의해서 형성된 구조에 쌀 가수분해물이 고르게 분산되는 것에 기인한 것으로 판단되며, 쌀 첨가량이 증가함에 따라 경도 값이 증가되는 것과 관련이 있는 것으로 사료된다. 반면에 냉장저장 후 시료의 표면은 냉장 전 시료에 비해 균일하기 못한 불규칙한 구조를 나타내었다. 쌀을 첨가하지 않은 대조구에 비해 쌀을 첨가한 시료의 표면은 더욱 거칠어지는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 7B). 이는 첨가된 쌀 가수분해물이 냉장에서 노화되면서 전 분 입자의 결정화가 진행된 결과라 사료된다.

### 요 약

Microbial transglutaminase(MTGase)를 이용하여 쌀 가수분해물과 초미세 생대두 분말을 혼합하여 전두부를 제조한 후 조직감, 동적점탄성, 단백질 결합패턴 및 미세구조를 평가하였다. 40%(w/v) 쌀 용액을 Termamyl 효소처리(85°C, 20분) 하였을 때 점조도 값 및 환원당 함량이 각각 1.27 Pa·s<sup>n</sup>, 9.0%로 나타났다. MWSP 18~22% 농도에서 MTGase 효소로 응고시킨 전두부의 물성을 측정할 결과 MWSP 22% 첨가구에서 전형적인 두부의 조직감을 얻었으며, 쌀 가수분해물 7.5% 첨가구의 경우 경도 639.6 dyne/cm<sup>2</sup>, 탄성 0.96으로 나타났다. MTGase 5%의 첨가 조건에서 MWSP 18~22% 농도에 따라 동적점탄성을 측정할 결과 MWSP 22% 첨가 경우 반응 6분 이내 G'(5.1 Pa) 및 G''(9.0 Pa)값으로 높게 나타났다. MWSP 22% 첨가구에서 시간에 따른 SDS-PAGE 상에서 대부분의 콩 단백질은 30분 이내에 중합되어 고분자중합체를 형성하였으며, 쌀 가수분해물이 첨가된 경우에도 대부분의 콩 단백질들이 중합되는 유사한 경향을 보였다. 쌀이 첨가된 전두부의 미세구조는 균일한 입자로 채워진 네트워크 구조를 보였으나 냉장저장 2일 후에는 쌀을 첨가하지 않은 대조구에 비해 더욱 거칠어진 표면을 확인할 수 있었다.

### 감사의 글

본 연구는 지식경제부 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원과 계명대학교 대학원 학생 학술 연구 장학금, 경상북도에서 시행한 농수산기술개발사업으로 수행되었음에 감사드립니다.

### 문 헌

1. Song HN, Jung KS. 2006. Quality characteristics and physiological activities of fermented soybean by lactic acid bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 38: 475-482.
2. Shen CF, Man LD, Buzzel RI, Man JM. 1991. Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics (glucono-delta-lactone coagulant). *J Food Sci* 56: 109-112.
3. Koh KM. 2009. A study on quality characteristics and shelf life of tofu prepared with *Lycii fructus* powder. *MS Thesis*. Mokpo National University, Jeonnam, Korea.
4. Jeon MK. 2005. Studies on quality and storage characteristics of tofu with herb. *MS Thesis*. Kyungpook National University, Daegu, Korea.
5. Lee JH. 1996. Studies on effects of chitosan addition on soybean curd and whey. *MS Thesis*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea.
6. Oscar C, Sandara EH, Helen JA, Isobel DS, John RM. 1994. Gelation enhancement of soy protein isolate using the Maillard reaction and high temperature. *J Food Sci* 59: 872-875.
7. Bae EA, Kwon TW, Moon GS. 1997. Isoflavone contents and anti-oxidative effects of soybean curd and their by-products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 371-375.
8. Mok CK, Ku KH, Park DJ, Kim NS, Sohn HS. 1995. Ultrafiltration of soybean cooking water for the production of soy oligosaccharides. *Korean J Food Sci Technol* 27: 181-184.
9. Lee J, Choe E. 2002. Physical properties of micronized full fat soylfleur for packed whole-tofu (chundubu) manufacture. *Food Sci Biotechnol* 11: 165-171.
10. Joo SI, Kim JE, Lee SP. 2011. Physicochemical properties of whole soybean curd prepared by microbial transglutaminase. *Food Sci Biotechnol* 20: 437-444.
11. Kim WJ, Um BY, Chung SS, Chung MS. 2002. Effects of heating temperature and time on textural properties of soy gel. *Food Sci Biotechnol* 8: 65-67.
12. Metussin R, Alli I, Kermasha S. 1994. Micronization effects on composition and properties of tofu. *J Food Sci* 57: 418-422.
13. Lee SM, Hwan IK. 1997. Texture characteristics of soybean-curd prepared with different coagulants and compositions of soybean-curd whey. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 13: 78-85.
14. Lu JY, Carter E, Chung RA. 1980. Use of calcium salt for soybean curd preparation. *J Food Sci* 45: 32-34.
15. Ando H, Adachi M, Umeda K, Matsuura A, Nonaka M, Uchio R, Tanaka H, Motoki M. 1989. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agric Biol Chem* 53: 2613-2617.
16. Faergemand M, Otte J, Qvist KB. 1997. Enzymatic cross-linking of whey protein by a Ca<sup>2+</sup>-independent microbial transglutaminase from *Streptomyces lydicus*. *Food Hydrocolloids* 11: 19-25.
17. Santos M, Torne JM. 2009. Recent patents on transglutaminase production and applications: a brief review. *Recent Pat Biotech* 3: 166-174.
18. Yasir SB, Sutton KH, Newberry MP, Andrews NR, Gerrard JA. 2007. The impact of transglutaminase on soy proteins and tofu texture. *Food Chem* 104: 1491-1501.
19. Son SM. 2001. Rice based meal for prevention of obesity and chronic disease. *Korea J Community Nutr* 6: 862-867.
20. Saito Y, Nakamura K, Kwato A, Imayasu S. 1992. Angiotensin I converting enzyme inhibitors in sake and its



- by-products. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 66: 1081-1087.
21. Wolevera TM, Katzman-Relle R, Jenkins AL, Vuksan V, Josse RG, Jenkins DJ. 1994. Glycaemic index of 102 complex carbohydrate foods in patients with diabetes. *Nutr Res* 14: 651-669.
  22. Yun HJ. 2004. Studies on the comparison of physicochemical properties and the evaluation of the effect antioxidative activity. *MS Thesis*. Kyungpook National University, Daegu, Korea.
  23. Chun HS, Kim IH, Kim YJ, Kim KH. 1994. Inhibitory effect of rice extract on the chemically induced mutagenesis. *Korean J Food Sci Technol* 26: 188-194.
  24. Lee C, Shin JS. 2002. The effect of dietary fiber content of rice on the postprandial serum glucose response in normal subject. *Korean J Food Nutr* 15: 173-177.
  25. Joo SI. 2009. Production of whole soybean curd using transglutaminase and evaluation of physical properties. *MS Thesis*. Keimyung University, Daegu, Korea.
  26. Kelessidis VC, Maglione R. 2006. Modeling rheological behavior of bentonite suspensions and Casson and Robertson-Stiff fluids using Newtonian and true shear rates in Couette viscometry. *Powder Technol* 168: 134-147.
  27. Luchsinger WW, Coonesky RA. 1962. Reducing power by the dinitrosalicylic acid method. *Anal Biochem* 4: 364-347.
  28. Lee SH. 2007. Physicochemical properties of dry milled soaked rice flours with different particle size and reparation of rice manju using them. *MS Thesis*. Chonnam National University, Gwangju, Korea.
  29. Park YK, Seog HM, Nam YJ, Shin DH. 1988. Physicochemical properties of various milled rice flours. *Korean J Food Sci Technol* 20: 504-510.
  30. Shih FF, Daigle K. 1997. Use of enzymes for the separation of protein from rice flour. *Cereal Chem* 74: 437-441.
  31. Marco C, Rosell CM. 2008. Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *J Food Eng* 84: 132-139.
  32. Lee HA. 2005. Characteristics of emulsion-gel formed by microbial transglutaminase. *MS Thesis*. Seoul National University, Seoul, Korea.

(2011년 1월 31일 접수; 2011년 4월 21일 채택)