KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 36, No. 3, pp. 448~455 (2004)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

발효 조건을 달리한 비지장의 품질특성

임성경 · 유선미* · 김태영 · 전혜경
농촌진흥청 농업과학기술원 농촌자원개발연구소

Quality Characteristics of *Bijijang* in Different Fermentation Conditions

Sung-Kyung Im, Seon-Mi Yoo*, Tae-Young Kim, and Hye-Kyung Chun
Rural Resource Development Institute, NIAST, RDA

Changes in quality characteristics of *Bijijang* (fermented soybean curd residue) prepared at 35°C and 40°C for 0, 12, 24, 36, and 48 hr were investigated. Acidity of *Bijijang* increased, whereas pH and Hunter's color values decreased during fermentation. Immediately after *Bijijang* preparation, α- and β-amylase activities were very low. β-Amylase activity during fermentation increased rapidly, with those fermented at 40°C higher than at 35°C. Neutral protease activity was significantly higher than acidic protease activity, and increased gradually after 12 hr. Change in total nitrogen content in *Bijijang* was insignificant, whereas contents of amino-type and water-soluble nitrogens increased significantly during fermentation. Major free amino acids of *Bijijang* were Arg, Pro, Glu, Thr, Ser, and Lys at initial fermenting stage, and, as fermentation progressed, contents of Cys, Met, Glu, Ile, Leu, and Phe increased. Reducing sugar contents of *Bijijang* fermented at 40°C were higher than those fermented at 35°C. Sucrose content decreased and glucose content increased. Glucoside (genistin and daidzin) contents decreased and aglycone (genistein and daidzein) contents increased during preparation of *Biji* and fermentation of *Bijijang*. Contents of free sugars and isoflavones were higher in *Bijijang* fermented at 40°C than at 35°C. Based on these results, fermentation at 40°C for 48 hr was determined to be optimum fermentation condition for *Bijijang*.

Key words: *Biji* (soybean curd residue), *Bijijang*, fermentation, amino acids, isoflavones

서 론

대두는 동양에서 수천년동안 양질의 식물성 단백질 및 지방의 공급원으로 두부, 장류 등의 제조에 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 대두의 각종 기능성 및 생리활성 물질들이 보고되면서 기능성 건강 식품의 소재로서 다양하게 활용되고 있다. 하지만 국내 생산량은 매년 감소하고 있어 해마다 150만 톤 가량을 외국으로부터 수입하고, 수입된 대두 가운데 약 30% 가량만이 직접 이용되고 나머지 70%는 식용유, 두부 및 두유 등의 2차 가공품 생산에 활용되고 있다(1).

대두를 침지, 마쇄, 여과하여 두부 또는 두유를 제조하는 과정에서 대량으로 남겨지는 부산물인 비지는 수용성 물질이 빠져나간 상태이긴 하나 많은 영양성분이 남아 있다(2). 비지 단백질은 다른 식품단백질에서 부족되기 쉬운 함황 아미노산과 lysine이 풍부하여 양질의 단백질로 평가되고 있으며(3) 분리 대두 단백질과 비교했을 때 용해도는 떨어지지만 유화력, 수분 및 지방 흡착력, 기포성은 비슷하다고 알려졌다(4). 또한 비지는 식이 섬유소가 풍부하며, 이는 citrus 펙틴과는 다른 다량의 중성당을 함유한 펙틴 다당류인 것으로 보고되었다(5).

대두 1 kg으로 두부와 두유를 제조하면 부산물로 비지 1.1 kg이 얻어지는데(6), 수분함량이 80% 이상 되므로 미생물이 쉽게 번식하고 지방의 산패가 발생하는 등 쉽게 변질되기 때문에 현재 일부만이 대두유 생산에 재활용되고 나머지는 주로 동물의 사료로 사용되거나 변질된 상태로 폐기처분되는 실정이므로 자원의 낭비뿐만 아니라 환경오염의 측면에서도 중대한 문제점을 제기하고 있다(7,8). 탈지대두박의 경우는 발효산업에서 배지성분으로 널리 이용되어 오고 있으나(9), 비지의 경우 건조를 통한 저장성 연구(10), 효소를 이용한 단백질 가용화 연구(11), 식품가공소재로 활용하기 위한 몇몇 연구(12,13)가 있을 뿐 그 실용화는 매우 미흡한 실정이다.

우리의 조상들은 이미 임진왜란 중 콩의 수급이 어려워 구황장의 일종으로 비지장을 개발하였고(14), 비지장을 담거나 띄워서 국·찌개를 끓여 식용하였다고 한다(15). 하지만 생활양식의 변화로 가정에서 직접 두부를 제조하는 대신 공장에서 제조된 두부의 소비율이 늘어나고, 비지장 제조법 보유자의 고령화 등으로 인해 비지장을 섭취하는 문화는 점차 사라져 가고 있다.

*Corresponding author: Seon-Mi Yoo, Rural Resource Development Institute, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, 250 Seodundong, Suwon 441-707, Korea
Tel: 82-31-299-2589
Fax: 82-31-299-2568
E-mail: yousm@rda.go.kr

따라서 본 연구는 전통 장류 문화의 계승발전에 기여하고자 수행되는 연구의 일부로 비지장의 발효 온도 및 시간에 따른 이화학적 품질 특성을 조사하여 적정 발효조건을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

비지장 제조 및 발효

20C 초반의 문헌에는 비지와 밀기울을 혼합하여 메주처럼 띄운 후 말려 가루로 만들고 막장을 담그는 방법과 유사하게 비지장을 제조하는 것으로 나타났으나(15), 최근 조사한 결과에 의하면 비지를 볶은 후 소금을 가하고 청국장을 띄우듯이 아랫목에서 띄운 후 양념하여 먹는 것으로 나타나고 있다(16). 본 연구에서는 최근 이용되는 비지장의 제조방법에 준하여 비지장을 제조하였다. 즉, 깨끗이 수세한 대두를 24시간 물에 불리고 blender로 마쇄한 후 3배되는 물을 넣고 강한 불에서 가열하여 끓기 시작하면 15분 더 가열하고 체에 걸러서 콩물과 비지를 분리하였다. 제조한 콩비지(1 kg)를 5분간 볶은 후 소금(75 g)을 혼합하였고 35±1°C와 40±1°C로 각각 조절된 항온기에서 이틀동안 발효하면서 12시간마다 채취하고 −20°C에서 냉동보관하여 본 실험에 사용하였다.

일반성분 및 무기질 측정

수분은 105°C 상압가열건조법, 조단백은 micro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 법, 조회분은 건식회화법으로 측정하였다. 비지장의 무기질 함량은 600°C에서 건식 회화 후 3 N HCl 10 mL에 용해시켜 Polarized Zeenom Atomic Absorption Spectrophotometer(Z 6100, Hitachi, Japan)에 의해 분석하였다.

pH, 산도 및 염도 측정

pH는 비지장 10 g에 증류수 10 mL를 가하여 잘 교반한 후 pH meter(Model 720A, Orion, USA)로 측정하였으며, 총산도는 비지장 10 g에 증류수 40 mL를 가하고 pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH로 적정하여 시료 100 g에 함유되어 있는 acetic acid의 양으로서 환산하여 표기하였고, 염도는 Mohr법(17)으로 측정하였다.

색도 측정

색차계(Color-Eye 3100, Macbeth, USA)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황색도)를 측정하고 ΔE(색차) = $\sqrt{(L-L')^2+(a-a')^2+(b-b')^2}$를 계산하였으며, 이 때 표준판은 L = 94.87, a = −0.58, b = 1.59의 값을 가진 백색판을 사용하였다.

효소활성도 측정

효소 활성은 Oh 등(18)의 방법을 변형하여 amylase와 protease로 나누어 역가를 측정하였다.

Amylase 활성도는 비지장 10 g에 증류수 200 mL를 가하여 실온에서 4시간 진탕한 후 여과하여 효소액을 조제한 다음 측정하였다. α-Amylase의 활성도는 1% 전분 용액 2 mL에 0.02 M phosphate buffer(pH 6.9) 1 mL를 넣어 기질로 사용하였고 미리 조제한 효소액을 1 mL 첨가하여 40°C에서 30분간 반응시킨 후, 1 M 초산 10 mL로 반응을 정지시키고 N/3000 요오드 용액 10 mL를 넣어 660 nm에서 흡광도를 측정한 후 효소액 1 mL가 나타내는 흡광도의 차(blank-시료)를 unit으로 표시하였다. β-amylase 활성도의 경우 DNS법(19)으로 측정하였으며, 효소액 1 mL가 maltose 1 mg을 유리시킬 때의 효소량을 1 unit으로 하였다.

Protease 활성도를 측정하기 위해, acid protease는 0.4 M lactic acid buffer(pH 3.0), neutral protease는 0.1 M citric acid buffer (pH 7.2), alkaline protease는 0.1 M boric acid buffer(pH 9.0)를 각각 이용하여 비지장의 조효소 추출액을 제조하였다. 0.6% casein 기질용액 1 mL와 증류수 1 mL를 시험관에 넣고 항온 수조에서 30°C로 조정한 후 효소액 1 mL를 첨가하여 10분간 반응시킨 후 0.4 M TCA 용액 3 mL를 넣어 반응을 정지시킨 후 30분간 정치하였다. 이 반응액을 여과한 후 여액 2 mL에 0.55 M Na_2CO_3 5 mL와 Folin reagent 3 mL를 넣고 30°C에서 30분간 반응시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 반응조건 하에서 1분간에 tyrosine 1 μg을 유리시키는 효소량을 1 unit으로 하였다.

질소화합물

총 질소 함량은 micro-Kjeldahl법으로, 아미노산성 질소 함량은 formol법(17)으로 측정하였다. 수용성 질소 함량은 비지장 10 g에 증류수 100 mL를 가하여 2시간 진탕 추출한 후 여과하여 micro-Kjeldahl법으로 측정하였다.

유리 아미노산 함량은 비지장에 10배 량의 물을 가하여 2시간 교반하고, sulfosalicylic acid를 넣어 다시 30분 교반한 후 4°C에서 30분 방치하였다. 상등액을 취해서 0.2 μm membrane filter로 여과한 후 AccQ·fluor reagent kit(Waters, USA)로 유도체화 시켰다. 유리 아미노산 분석은 HPLC(Waters model 600E pump, Waters 474 scanning fluorescence detector at 250 nm excitation and 396 nm emission, Waters Millennium 32 software, AccQ-Tag C_{18} column 3.9 mm×150 mm at 37°C)를 이용하였고, 시료 10 μL를 주입한 후 AccQ-Tag method를 변형하여 아미노산을 분석하였다.

당류

환원당 함량은 Somogyi법(17)으로 측정하였다. 유리당 함량은 비지장 5 g에 80% 에탄올 50 mL를 넣어 2시간 정도 추출한 후 여과시켰다. 이 여과액을 감압 농축하여 에탄올을 증발시킨 후 증류수로 희석하여 50 mL로 정용한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하고, HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석시 Hewlett Packard 1100 series, RI detector, Zovax SB-C_{18} column(4.6×250 mm, Hewlett Packard, USA)을 이용하였고, 이동상은 75% acetonitrile, 온도는 35°C, 유속은 1.2 mL/min, 시료 주입량은 20 μL이었다.

Isoflavones

Isoflavones 함량은 Kim 등(20)의 방법으로 분석하였다. 즉, 동결건조한 비지장에 80% methanol을 넣고 상온에서 4시간 추출하였다. 추출된 시료를 여과한 후, 여액을 0.45 μm membrane filer로 여과하여 HPLC(HP 1100 series, Hewlett Packard, USA)로 분석하였다. 분석조건으로 칼럼은 Eclipse XDB-C18 column (4.6×250 mm, Hewlett Packard, USA), 검출기는 Diode-Array Detector, 시료 주입량은 20 μL, 이동상은 0.1% acetic acid를 함유하는 물과 acetonitrile을 사용하여 linear gradient 방법으로 분리하였고, 유속은 1 mL/min이었다.

Table 1. Proximate compositions and mineral contents of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

	Soybean	*Biji*	*Bijijang*
Moisture (%)	11.35	86.73	81.49
Crude protein (%)	32.60	3.47	3.46
Crude fat (%)	6.48	0.99	1.02
Carbohydrates (%)	45.03	8.55	7.09
Crude fiber (%)	0.13	0.03	0.03
Crude ash (%)	4.40	0.23	6.91
Minerals (mg%)			
Cu	0.82	0.17	0.11
Fe	6.33	2.18	1.47
Zn	3.50	0.59	0.53
Na	151.67	152.73	2675.60
K	2153.79	425.30	494.42
Ca	70.64	35.30	27.81
Mg	280.25	53.06	32.63

결과 및 고찰

일반성분 및 무기질

대두, 비지 및 비지장의 일반성분은 Table 1과 같다. 대두, 비지, 비지장 모두 조단백질의 조성비는 모두 높지만, 비지 제조 과정 중 조리수로 수용성 단백질의 상당량이 용출되어 감소되었음을 알 수 있다. Hackler 등(21)의 연구결과에 의하면 건물량을 기준으로 할 때 비지의 일반성분으로 단백질이 24-30%, 지방이 13-15%, 탄수화물이 50-60%, 회분 4-5%, 조섬유가 14% 함유되어 있다고 보고하였고, Lee(22)는 수분 85%, 조단백 5.82%, 조지방 2.55%, 회분 0.82%, 식이섬유 3.2%의 조성을 가진다고 보고하였다. 본 연구결과에서 조단백질과 조지방 함량이 낮게 나타난 것은 대두의 품종 및 비지 회수방법에 따른 차이로 볼 수 있다.

Na을 제외한 모든 무기질 함량이 대두, 비지, 비지장의 순으로 높았는데 건물량으로 비교해보면 대두보다 오히려 비지의 각 무기질 함량이 더 높은 것으로 나타나 제조과정에서 손실되는 것이 아님을 알 수 있다. 비지장에서 Na 함량이 매우 높은 것은 원료로 사용되는 소금 때문이다. 한편 비지장의 발효 온도 및 시간에 따른 무기질 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았다(data not shown).

pH, 총산 및 염도

비지장의 발효과정 중 pH, 총산 및 염 함량을 Table 2에 나타내었다.

pH와 총산 함량은 발효 온도와 시간 모두의 영향을 받았는데, pH는 발효 중 6.60에서 6.06-6.13으로 점차 감소하였고 총산 함량은 12.76 mg%에서 37.03-42.54 mg%로 증가하였다. 비지장이 숙성됨에 따라 pH가 저하되는 것은 숙성 중 당이나 단백질에 미생물이 작용하여 여러 가지 휘발성 또는 비휘발성 유기산이 생성되어 산도를 증가시키기 때문인 것으로 생각된다. 발효온도가 높으면 pH는 더 낮았고 총산 함량은 더 높게 나타났으며, 40°C에서 발효시킨 비지장은 36시간 이후에 pH와 총산 함량의 변화가 크지 않았다. Lee 등(23)은 비지의 pH가 처음에 중성이었던 것이 55°C에서 48시간 발효 후에는 8.74로서 알칼리성으로 변한다고 보고하였는데, 이와 같은 차이는 비지에 존재하는 미생물들의 적정 생육온도가 다르고 이에 따른 대사산물이 다른데 기인하는 것으로 생각된다. Baek 등(24)은 재래식 콩 발효법에 의해 55°C에서 48시간 이상 발효한 경우에는 고초균이 주로 관여하고 30°C 또는 37°C에서 발효한 경우에는 젖산균의 생육이 촉진되었다고 하였다. 비지장의 염도는 발효기간 동안 초기 11.62%에서 48시간 후 12.83-12.93%로 증가하였지만, 발효 온도에 따른 시료 간의 차이는 유의적이지 않았으며, 시판 전통식 된장의 염도(10.2-13%)와 비슷하였다(25).

색도 측정

Table 3은 비지와 비지장의 표면색택에 대한 결과이다. 비지로 비지장 제조 후 명도(L), 적색도(a), 황색도(b) 각각 78.31에서 75.27로, −1.57에서 −1.70으로, 13.81에서 11.37로 감소하였다. 비지장의 명도는 발효온도 보다 발효시간에 따라 유의적인 차이를 보였는데 발효기간 중 점차 감소하는 추세를 보였다. 이러한 변화는 된장의 발효시 L값의 변화와 비슷한 양상을 나타내었다(26). 비지장의 적색도와 황색도는 발효기간 중 큰 변화는 없었고 40°C에서 발효시킨 비지장의 적색도와 황색도가 35°C에서 발효시킨 비지장의 값보다 높게 나타났다. 비지장의 색차

Table 2. Salinity, pH, and acidity of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

	Fermentation		Salinity (%)	pH	Acidity (mg%)
	Temp.	Time			
Soybean			-	-	-
Biji			0.03 ± 0.02^{e}	7.08 ± 0.05^{a}	8.01 ± 0.43^{g}
Bijijang		0 hr	11.62 ± 0.03^{d}	6.60 ± 0.04^{b}	12.76 ± 0.75^{f}
	35°C	12 hr	11.92 ± 0.35^{c}	6.50 ± 0.03^{c}	14.51 ± 0.87^{e}
		24 hr	12.12 ± 0.08^{c}	6.30 ± 0.02^{d}	22.27 ± 0.43^{d}
		36 hr	12.69 ± 0.03^{a}	6.21 ± 0.03^{e}	33.53 ± 0.87^{c}
		48 hr	12.83 ± 0.14^{a}	6.13 ± 0.00^{f}	37.03 ± 0.87^{b}
	40°C	12 hr	12.07 ± 0.07^{c}	6.24 ± 0.02^{e}	22.27 ± 0.43^{d}
		24 hr	$12..37 \pm 0.03^{b}$	6.03 ± 0.01^{g}	36.03 ± 0.15^{b}
		36 hr	12.79 ± 0.06^{a}	6.06 ± 0.01^{g}	41.53 ± 0.43^{a}
		48 hr	12.93 ± 0.08^{a}	6.06 ± 0.03^{g}	42.54 ± 0.87^{a}

The values represent the mean ± standard deviation (n=3).
Means in a column bearing the same letter are not significantly different ($p>0.05$) as determined by Duncan's multiple range tests.

Table 3. Hunter's color values of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

	Fermentation		L	a	b	ΔE
	Temp.	Time				
Soybean			-	-	-	-
Biji			78.31±0.85[a]	-1.57±0.13[ab]	13.81±2.09[a]	-
Bijijang		0 hr	75.65±0.97[b]	-1.70±0.15[bcd]	11.37±1.11[c]	-
	35℃	12 hr	74.52±0.66[c]	-1.50±0.29[ab]	13.61±1.76[ab]	2.72±0.56[a]
		24 hr	75.67±0.23[b]	-1.84±0.14[cd]	11.17±0.69[c]	2.76±0.67[a]
		36 hr	73.65±0.89[cde]	-1.67±0.13[bc]	11.69±0.74[c]	2.25±0.74[a]
		48 hr	73.20±0.40[de]	-1.64±0.06[b]	11.89±0.21[c]	0.59±0.27[b]
	40℃	12 hr	75.75±0.87[b]	-1.88±0.07[d]	12.12±0.63[bc]	2.24±0.84[a]
		24 hr	73.68±0.73[cde]	-1.51±0.11[ab]	13.70±1.55[ab]	2.15±1.52[a]
		36 hr	74.14±0.86[cd]	-1.42±0.11[a]	13.50±0.71[ab]	2.03±0.79[a]
		48 hr	72.85±0.82[e]	-1.56±0.08[ab]	12.68±0.32[abc]	1.50±0.16[ab]

The values represent the mean±standard deviation (n=3).
Means in a column bearing the same letter are not significantly different ($p>0.05$) as determined by Duncan's multiple range tests.

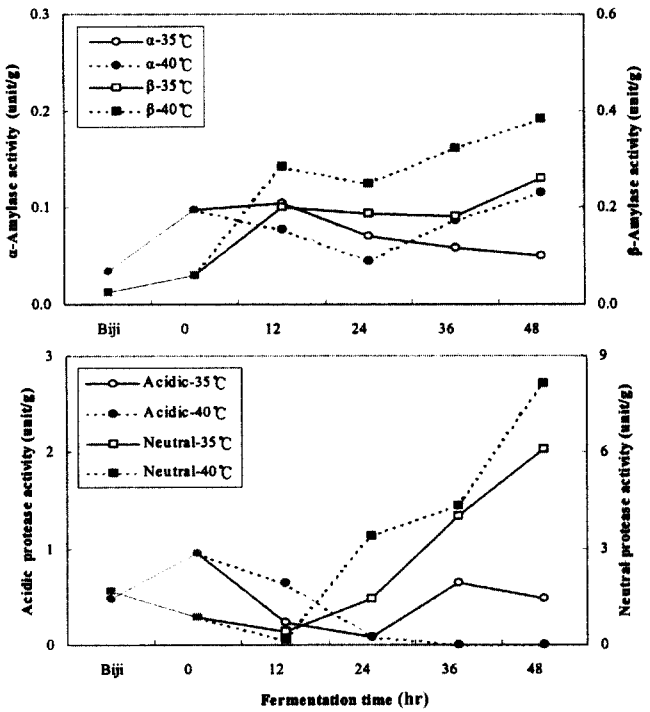

Fig. 1. Changes in amylase and protease activity of *Biji* and *Bijijang* during fermentation.

(ΔE)는 35℃에서 48시간 발효시킨 비지장에서 최소값을 보였다.

효소활성도

비지와 비지장의 숙성기간 중 amylase 활성도의 변화는 Fig. 1과 같다. α-Amylase 활성도는 비지장 담금 후 비지보다 크게 증가하였고, 35℃에서 발효시킨 비지장의 경우 12시간 이후 점차 감소하였으나, 40℃에서 발효시킨 비지장의 경우 발효 초기에는 감소하다가 24시간 이후 다시 증가하는 경향을 보였다. Amylase 활성은 pH와 온도의 영향을 받는데 Jana와 Pati(27)는 α-amylase 활성의 최적 pH가 6.0정도였고 숙성기간이 경과되면서 pH나 염 등의 농도에 의해 효소의 활성이 저해되었다고 보고하였다. 따라서 비지장의 발효초기에 염농도가 증가하면서 α-amylase 활성도가 감소하다가 40℃에서 발효 36시간 이후 pH가 6.0으로 떨어지면서 효소 활성도가 증가하였다고 판단된다.

전분질을 분해하여 환원성 당을 생성시키는 당화 효소인 β-amylase 활성도는 초기 발효 12시간동안 급격히 증가하였으며, 35℃보다 40℃에서 발효 시 더 높은 활성도를 보였다.

비지장의 protease 활성도 변화는 Fig. 1과 같이 중성 protease가 산성 protease보다 월등하게 높은 활성도를 나타내므로, 대두의 단백질 성분을 유리 아미노산으로 가수분해하는데 중성 protease가 주로 관여했을 것으로 보인다. 비지장의 산성 protease의 활성도는, 35℃에서 발효시킨 경우 12시간까지 감소하였다가 다시 증가하는 경향을 보였고, 40℃에서 발효시킨 비지장의 효소 활성도는 계속 감소하였다. 중성 protease의 활성도는 발효온도에 상관없이 12시간까지 감소하였다가 점차 증가하는 경향을 보였다.

질소화합물

Table 4에서 보는 바와 같이 총질소 함량을 비교해 보면 비지 제조시 크게 감소하지만, 비지장을 담근 후 발효 조건에 따른 총질소 함량의 유의적인 차이는 볼 수 없었다. Kim 등(26)은 대두를 주원료로 사용하는 전통된장의 총질소 함량이 숙성기간 동안 다소 증가하였다고 보고하였는데 그 숙성기간이 120일에 이르고, Rhee와 Cheigh(28)는 전통된장의 총질소 함량은 45일 간 숙성 중 큰 변화가 없었다고 보고하였다. 이들과 비교했을 때 비지장의 총질소 함량 변화가 크지 않았던 것은 숙성기간이 상대적으로 짧은데 기인하는 것으로 볼 수 있다.

수용성 질소 함량은 대두(2414 mg%), 비지(192.65 mg%), 담금 직후 비지장(92.15 mg%) 순이었다(Table 4). 이는 비지 제조시 끓는 물에 수용성 질소 성분이 상당량 용출되었고, 비지장 제조시 가열처리에 의한 손실로 볼 수 있다. 비지장의 수용성 질소 함량은 발효과정 중 계속 증가하였고 40℃에서 발효시킨 비지장에서 더 높게 나타났으며 중성 protease 활성도와 유사한 경향을 보였다. 대두의 단백질 성분은 담금 후 protease에 의해 수용성으로 변화된 후 펩타이드, 아미노산으로 가수분해되므로, 수용성 질소 함량이 높은 비지장에서 총 유리 아미노산 함량도 높게 나타났다(Table 5). 단백질 용해율은 단백질 분

Table 4. Nitrogen compounds of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

	Fermentation		Total N (mg%)	Water-soluble N (mg%)	Amino type N (mg%)	Protein solubility ratio (%)	Protein hydrolysis ratio (%)
	Temp.	Time					
Soybean			5708±264[a]	2414±93[a]	307±11[a]	42.30	5.39
Biji			608.02±45.63[b]	192.65±5.02[c]	24.06±2.23[h]	31.68	3.96
Bijijang		0 hr	606.37±18.30[b]	92.15±2.86[d]	29.41±1.12[gh]	15.20	4.85
	35°C	12 hr	618.66±14.96[b]	93.10±2.57[d]	34.37±1.05[fg]	15.05	5.56
		24 hr	609.82±15.92[b]	174.38±4.34[c]	45.29±2.52[e]	28.60	7.43
		36 hr	590.58±9.45[b]	251.06±2.14[b]	66.48±2.54[d]	42.51	11.26
		48 hr	591.01±6.01[b]	262.78±6.57[b]	81.68±3.10[bc]	44.46	13.82
	40°C	12 hr	610.38±5.18[b]	189.17±1.84[c]	40.32±3.70[ef]	30.99	6.61
		24 hr	584.03±5.03[b]	244.82±11.80[b]	63.74±1.21[d]	41.92	10.91
		36 hr	622.57±46.17[b]	277.23±6.08[b]	76.82±3.29[c]	44.53	12.34
		48 hr	558.15±10.82[b]	281.45±4.21[b]	85.77±3.78[b]	50.42	15.37

The values represent the mean±standard deviation (n=3).
Means in a column bearing the same letter are not significantly different ($p>0.05$) as determined by Duncan's multiple range tests.
Protein hydrolysis ratio (%) = (Amino type N/Total N)×100.
Protein solubility ratio (%) = (Water-soluble N/Total N)×100.

해율과 유사하게 증가하였으며 Joo 등(29)의 보고와 같은 경향을 보였다.

아미노산성 질소 함량은 대두 307 mg%, 비지 24.06 mg%, 비지장 담금 직후 29.41 mg%이었다(Table 4). 숙성이 진행됨에 따라 증가하여 48시간에는 81.68-85.77 mg%로 나타났다. 아미노산성 질소는 대두 발효 식품의 숙성도를 판정하는 중요한 성분으로 단백질이 효소작용으로 가수분해되어 구수한 맛인 아미노산을 생성하게 되는데, Park 등(30)은 숙성 중 된장의 아미노산성 질소 함량이 증가하였고 숙성기간 중의 아미노산성 질소의 함량이 높은 코오지 된장이 성분면에서 좋은 것으로 평가하였다. 또한 비지장은 발효 과정 중 단백질 분해율이 급격히 증가하여 대두의 2.6-2.9배에 이르게 되는데 이러한 변화는 발효와 관련된 미생물이 갖는 단백질 분해효소 활성에 기인한 것으로 생각된다.

대두, 비지, 발효과정 중 비지장의 유리 아미노산 조성 변화는 Table 5와 같았다. 총 유리 아미노산 함량은 대두, 비지, 담금 직후의 순으로 많았고 발효 초기에 12시간까지 감소하다가 다시 증가하는 경향을 보였으며 40°C에서 발효시킨 비지장에서 더 높게 나타났다. 주요 유리 아미노산은 대두가 Pro, Arg, Val, Tyr, Ala, Glu 순이었고 비지는 Pro, Arg, Lys, His, Phe 순이었고, 담금 직후의 비지장은 Arg, Pro, Glu, Tyr, Ser, Lys 순이었다. 발효 기간 중 Arg은 감소하였지만 함황 아미노산인 Cys과 Met이 증가하였고, Glu은 증가하다가 36시간이후 소량 감소하였고, Ile, Leu, Phe은 24시간 이후 급격히 증가하였다. 비지장 발효시 구수한 맛을 내는 Glu이 증가하므로 소금과 결합하여 monosodium glutamate를 형성하여 맛의 상승효과를 갖게 될 것으로 생각된다. Lee 등(23)은 비지의 총유리 아미노산 함량은 55℃에서 48시간 발효하는 과정 중 약 17배 증가하였고, Lys, His, Asp, Glu, Tyr, Phe은 증가하였고, Arg은 감소하였으며, 맛 성분에 영향을 주는 아미노산은 Glu, Phe, Lys이라고 밝힌바 있다.

당류

Table 6에서 보는 바와 같이 환원당 함량은 대두 0.20%, 비지 0.07%이었고, 비지장의 발효과정 중 0.04 %에서 0.08-0.25%로 증가하였다. 또한 환원당 함량은 35℃에서 발효했을 때보다 40°C에서 발효한 비지장에서 2배 높게 나타났으며 발효시간에 따른 변화는 미미하였다. 비지의 발효 과정 중 환원당 함량의 증가를 Lee 등(23)은 발효에 관여하는 미생물군이 분비하는 탄수화물 가수분해 효소들의 작용에 의한 것으로 보고하였다.

유리당 함량은 대두의 경우 fructose 0.25 mg%, sucrose 1.55 mg%이었고, 비지의 경우 fructose 0.03 mg%, glucose 0.13 mg%, sucrose 0.18 mg%이었다. 비지장의 sucrose 함량은 담금 직후 0.23 mg%이었던 것이 발효과정 중 점차 감소하여 극소량만 남게 되고, glucose 함량은 5.88 mg%에서·40°C에서 발효한 경우 6.54 mg%로 증가하여 비지장의 발효과정 중 이당류인 sucrose가 분해되어 단당류인 glucose는 증가함을 알 수 있었다. Lee(22)는 비지를 자연 발효시킨 경우 glucose의 함량이 서서히 증가하였고, 복합효소제를 첨가한 경우 발효초기에 급격히 증가하였다고 보고하였다. 또한 Lee 등(23)은 비지의 발효과정 중 소당류의 변화는 미량이기는 하나 raffinose와 stachyose함량이 감소하였다고 보고하였는데, 본 연구 결과 삼당류 이상의 소당류는 검출되지 않았다.

Isoflavones

대두, 비지, 비지장의 isoflavones 함량을 Table 7에 나타내었다. Isoflavone 조성을 살펴보면 대두로 비지 제조시 genistin과 daidzin은 소량 감소하였고, genistein과 daidzein은 각각 2.98배와 2.12배 증가하였다. 즉 glucosides 함량은 감소하고 aglycones 함량은 증가하였는데, 이러한 변화는 비지 제조 과정 중 대두의 수침과 가열에 의해 β-glycosidases 효소의 용출과 활성에 영향을 주었기 때문이라 생각된다.

대두 제품에서 가열처리, 효소적 가수분해, 발효에 의해 isoflavones 성분 조성이 유의적으로 변하며, daidzein 또는 genistein은 끓이기, 제분하기, 두부 제조 과정중 단백질 응고와 같은 가공처리에 의해 파괴되지 않으나 굽기에 의해 15-21%의 손실이 일어난다고 보고된 바 있다(31). Jackson 등(32)의 tofu 제조 과정 중 isoflavones 함량 및 조성 연구에서 총 isoflavone

Table 5. Free amino acid composition of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

(unit: mg%)

	Fermentation		Asp	Ser	Glu	Gly	His	Arg	Thre	Ala	Pro	Cys	Tyr	Val	Met	Lys	Ile	Leu	Phe	Total
	Temp.	Time																		
Soybean			30.92	29.45	43.12	6.45	12.20	268.16	12.70	44.63	390.02	19.86	66.05	115.37	6.24	24.40	7.82	8.49	11.92	1097.80
Biji			1.30	1.85	2.42	1.17	4.36	12.85	2.67	3.38	14.71	0.98	3.20	2.05	0.67	8.69	0.34	0.95	3.25	64.84
Bijijang		0 hr	0.57	2.17	2.55	0.55	1.17	18.07	0.87	2.02	11.90	1.34	2.53	0.72	0.34	1.91	0.50	0.63	0.80	48.63
	35℃	12 hr	0.44	1.74	2.12	0.43	0.92	14.50	0.59	1.57	9.56	1.05	2.06	0.50	0.24	1.49	0.30	0.41	0.60	38.53
		24 hr	0.32	0.40	2.77	0.22	0.97	14.16	0.70	1.37	12.28	1.29	2.36	0.35	0.11	2.55	0.40	0.38	0.55	41.18
		36 hr	0.30	0.23	4.75	0.11	1.28	7.52	2.19	1.31	11.16	2.07	4.37	0.41	0.84	19.81	3.24	1.98	3.77	65.36
		48 hr	0.21	0.54	3.83	0.16	0.81	5.15	2.04	1.04	13.89	2.18	3.66	0.45	1.08	15.50	4.34	2.02	4.18	61.09
	40℃	12 hr	0.21	0.46	0.93	0.17	0.65	8.32	0.42	0.91	7.06	0.98	1.29	0.14	0.22	3.12	0.70	0.20	0.36	26.14
		24 hr	0.23	0.38	4.38	0.18	1.23	0.76	0.71	1.61	17.41	1.68	2.54	2.28	1.07	8.45	0.59	1.84	3.58	48.93
		36 hr	0.24	0.67	5.08	0.27	2.41	1.02	2.55	1.82	33.23	1.78	7.09	5.86	3.45	17.92	4.01	12.00	9.26	108.65
		48 hr	0.23	0.45	2.17	0.24	2.39	1.30	1.75	1.84	25.24	2.12	6.58	5.37	3.01	13.33	3.82	11.16	8.85	89.84

Average of duplicate determinations.

Table 6. Sugar contents of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

	Fermentation		Reducing sugar[1] (%)	Free sugar[2] (mg%)		
	Temp.	Time		Fructose	Glucose	Sucrose
Soybean			0.20±0.05	0.25±0.01	0.00±0.00	1.55±0.04
Biji			0.07±0.03	0.03±0.00	0.13±0.16	0.18±0.01
Bijijang		0 hr	0.04±0.01	-	5.88±0.10	0.23±0.00
	35°C	12 hr	0.12±0.05	-	5.79±0.10	0.17±0.02
		24 hr	0.08±0.01	-	5.88±0.57	0.14±0.01
		36 hr	0.12±0.04	-	5.49±0.69	0.07±0.00
		48 hr	0.14±0.04	-	5.71±0.52	0.03±0.00
	40°C	12 hr	0.23±0.11	-	6.98±0.26	0.19±0.01
		24 hr	0.23±0.05	-	6.91±0.35	0.09±0.01
		36 hr	0.25±0.04	-	6.30±0.70	Trace
		48 hr	0.23±0.05	-	6.54±0.95	Trace

[1]The reducing sugar values represent the mean±standard deviation (n=3).
[2]The free sugar values represent the mean±standard deviation (n=2).

Table 7. Isoflavone contents of soybean, *Biji*, and *Bijijang*

	Fermentation		Daidzin (mg%)	Daidzein (mg%)	Genistin (mg%)	Genistein (mg%)
	Temp.	Time				
Soybean			13.48±0.28	2.93±0.01	23.21±6.27	2.86±0.01
Biji			12.46±0.21	6.19±0.01	20.43±0.10	8.53±0.03
Bijijang		0 hr	8.62±0.06	4.68±0.00	13.29±0.55	6.12±0.00
	35°C	12 hr	8.60±0.34	4.72±0.02	14.29±0.86	6.15±0.05
		24 hr	8.81±0.06	4.54±0.00	14.25±0.09	5.73±0.01
		36 hr	7.31±0.00	5.02±0.01	12.27±0.01	6.43±0.01
		48 hr	7.11±0.01	5.31±0.01	12.04±0.01	6.98±0.02
	40°C	12 hr	9.00±0.16	4.58±0.00	15.00±0.44	5.80±0.01
		24 hr	8.14±0.03	5.22±0.00	13.58±0.05	6.53±0.01
		36 hr	7.67±0.04	5.90±0.02	12.70±0.09	7.68±0.00
		48 hr	7.14±0.18	6.72±0.01	11.76±0.34	9.05±0.02

Average of duplicate determinations.
All values were on dry basis.

함량은 대두(720 mg), 수침한 대두(690 mg), 끓는 물과 섞어 마쇄한 현탁액(550 mg), 비지(220 mg) 순으로 높았고, 비지의 isoflavones 조성은 aglycones 15.4%, glucosides 28.9%, acetylgenistin 0.89%인 것으로 밝혀졌다. 또한 끓는 물에서 마쇄하는 단계에서 isoflavone의 주요 손실이 일어났으며, aglycones인 daidzein과 genistein은 수침, 가열, 마쇄 과정에서 각각 12배와 23배 증가하였다고 보고하였다.

비지장의 발효 초기와 48시간 후 isoflavones 조성은 genistin은 13.29 mg%에서 11.76-12.04 mg%으로, daidzin은 8.62 mg%에서 7.11-7.14 mg%으로 감소하였고, genistein은 6.12 mg%에서 6.98-9.05 mg%으로, daidzein은 4.68 mg%에서 5.31-6.72 mg%으로 증가하였다. 즉 발효 과정 중 glucosides 함량은 감소하고 aglycones 함량은 증가하였으며 40°C에서 발효한 비지장에서 증감의 폭이 큰 것은 β-glycosidases 작용과 활성온도에 기인한 것으로 판단된다.

대두의 isoflavones은 glycosilated conjugates(malonylglycosides와 β-glycosides) 형태로 존재하다가 가공처리하면 aglycones과 acetylglycosides 형태로 전환된다. Isoflavones의 생리활성은 장내 미생물에 영향을 받으며(33), 일반적으로 aglycones이 인체 내 흡수가 빠르고 생리활성이 높다고 알려져 있다.

요 약

전통 장류의 하나인 비지장의 계승발전에 기여하고, 두유 및 두부 제조과정에서 대량으로 얻어지는 비지를 효과적으로 이용하고자 발효 온도(35°C와 40°C)와 시간(0, 12, 24, 36, 48시간)에 따른 품질 특성을 조사하였다.

발효과정 중 비지장의 염도와 총산 함량은 증가하였고, pH는 발효 중 감소하였다. 발효기간 중 비지장의 명도는 점차 감소하였으며 40°C에서 발효시킨 비지장의 적색도와 황색도가 35°C에서 발효시킨 비지장의 값보다 높게 나타났다. β-amylase 활성도는 초기 발효 12시간동안 급격히 증가하였고 35°C보다 40°C에서 발효 시 더 높은 활성도를 보였다. 중성 protease 활성도가 산성 protease 활성도보다 월등하게 높았으며 발효 12시간까지 감소하였다가 점차 증가하는 경향을 보였다. 총질소 함량, 아미노산성 질소 함량, 수용성 질소 함량 모두 비지 제

조시 감소하였으나 아미노산성 질소 함량과 수용성 질소 함량은 비지장의 발효가 진행됨에 따라 증가하였다. 담금 직후 비지장의 주요 유리 아미노산은 Arg, Pro, Glu, Tyr, Ser, Lys 순이었고, 발효에 의해 Glu, Ile, Leu, Phe 그리고 함황 아미노산인 Cys과 Met은 급격히 증가하여 비지장의 맛 성분에 영향을 주었다. 비지장의 발효과정 중 환원당 함량은 증가하였으며 40°C에서 발효한 비지장에서 높게 나타났다. 비지장의 발효과정 중 이당류인 sucrose 함량은 감소하고 단당류인 glucose 함량은 증가하였고 40°C에서 발효한 비지장에서 glucose 함량이 높게 나타났다. 대두로 비지를 제조했을 때와 비지장의 발효과정 중 isoflavones 조성은 glucosides 함량은 감소하고 aglycones 함량은 증가하였으며 40°C에서 발효한 비지장에서 그 증감의 폭이 컸다.

이상의 결과로부터 비지장의 맛과 인체 이용율에 바람직한 영향을 주는 요인이라 생각되는 β-amylase와 중성 protease 활성도, 단백질 분해율과 용해율, 유리 아미노산 총함량 및 조성, 환원당과 glucose 함량, genistein과 daidzein의 함량 등을 고려했을 때 품질이 우수한 비지장을 얻기 위해서는 40°C에서 48시간 발효시키는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청의 바이오그린 21사업의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Woo EY, Kim MJ, Shin WS, Lee KA, Kim KS. Production of protein hydrolyzate, that can be used as food additives, from Okara. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 769-773 (2001)
2. Van der Reit WB, Wight AW, Cilliierers KR, Datel JM. Food chemical investigation of Tofu and its byproduct Okara. Food Chem. 34: 193-202 (1989)
3. Hackler LR, Stillings BR, Ploimeni BJ. Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fraction. Cereal Chem. 44: 638-344 (1973)
4. Ma CY, Liu WS, Kwok KC, Kwok F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (Okara). Food Res. Int. 29: 799-805 (1996)
5. Yamaguchi F, Ota Y, Hatanaka C. Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean Okara and enzymatic analysis of their structures. Carbohydr. Polym. 30: 265-273 (1996)
6. Khare SK, Jha K, Gandhi AP. Citric acid production from Okara(soy-residue) by solid-state fermentation. Biores. Technol. 54: 323-325 (1995)
7. Shurtleff W, Aoyagi A. Tofu and Soymilk Production. New Age Food Study Center, Lafayette, CA, USA (1995)
8. Kang KH, Lee DS. Studies on the Tofu-residue recycling. Korean Sci. Ind. 24: 31-35 (1991)
9. Ohno A, Ano T, Shoda M. Use of soybean curd residue, Okara, for the solid state substrate in the production of a lipopeptide antibiotic, Iturin A, by *Bacillus subtilis* NB22. Process Biochem. 31: 801-806 (1996)
10. Kim DS, Seol MH, Kim HD. Changes in quality of soybean curd residue as affected by different drying methods. J. Korean Soc. Food Nutr. 25: 453-459 (1996)
11. Kim KS, Park EH, Bae CY, Kim KC, Lee SH, Sohn HS. Solubilization of tofu-residue using multienzyme derived from *Aspergillus niger* CF-34. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 484-489 (1994)
12. Cho MK, Lee WJ. Preparation of high-fiber bread with soybean curd residue and *Makkolli* (rice wine) residue. J. Korean Soc. Food Sci. Technol. 10: 1-7 (1996)
13. Sohn JW, Kim WJ. Some quality changes in soybean curd by addition of dried soymilk residue. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 522-525 (1985)
14. Foundation for the Preservation of Cultural Properties. Korean Cuisine Fermented and Processed Food. Hollym Corporation, Seoul, Korea (2001)
15. Lee YK. Preparation Method of Joseon Cuisine. Institute of Korean Royal Cuisine, Seoul, Korea (2001)
16. Kim JS, Han GJ, Yoo SM. Survey on Korean Traditional Foods. National Rural Living Science Institute., Suwon, Korea (2001)
17. The Korean Society of Food Science and Nutrition. Handbook of Experiments in Food Science and Nutrition. Hyoil Co., Ltd., Seoul, Korea (2000)
18. Oh HI, Shon S, Kim J. Changes in microflora and enzyme activities of *Kochujang* prepared with *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis*, and *Saccharomyces rouxii* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 410-416 (2000)
19. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-431 (1959)
20. Kim CH, Park JS, Sohn HS, Chung CW. Determination of isoflavone, total saponin, dietary fiber, soy oligosaccharides, and lecithins from commercial soy products based on the one serving size. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 96-102 (2002)
21. Hackler LR, Hand DB, Steinkraus KH, Van Buren JP. A comparison of the nutritional value of protein from several soybean fractions. J. Nutr. 80: 205-210 (1963)
22. Lee GJ. Changes in carbohydrate composition during the fermentation of soybean curd residue with enzymes. Korean Biochem. J. 17: 44-50 (1984)
23. Lee MS, Kim KH, Lee GJ. Microbiological studies and biochemical changes in fermenting soybean cud residue during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 19: 520-527 (1987)
24. Baek J, Lee IS, Lee SP. Characterization and fermentation characteristics of lactic acid bacteria isolated from soybean curd residue (*Biji*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 583-588 (2002)
25. Park SK, Seo KI, Choi SH, Moon JS, Lee YH. Quality assessment of commercial *Doenjang* prepared by traditional method. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 211-217 (2000)
26. Kim HJ, Sohn KH, Chae SH, Kwak TK, Yim SK. Brown color characteristics and antioxidizing activity of *Doenjang* extracts. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 18: 644-654 (2002)
27. Jana M, Pati B. Thermostable, salt-tolerant α-amylase from *Bacillus* sp. MD-124. J. Basic Microbiol. 37: 323-326 (1997)
28. Rhee SH, Cheigh HS. Studies on the lipids in Korean soybean fermented foods. J. Korean Soc. Food Nutr. 14: 67-71 (1985)
29. Joo HK, Kim DH, Oh KT. Chemical composition changes in fermented *Doenjang* depend on *Doenjang* koji and its mixture. J. Korean Agric. Chem. Soc. 35: 351-360 (1992)
30. Park JS, Lee MY, Kim JS, Lee TS. Compositions of nitrogen compound and amino acid in soybean paste (*Doenjang*) prepared with different microbial sources. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 609-615 (1994)
31. Franke A, Custer L, Cerna C, Narala K. Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 208: 18-26 (1995)
32. Jackson C, Dini JP, Lavandier D, Rupasinghe HPV, Faulkner H, Poysa V, Buzzell D, DeGrandis S. Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. Process Biochem. 37: 1117-1123 (2002)
33. Wang HJ, Murphy PA. Isoflavone content of commercial soybean foods. J. Agric. Food Chem. 42: 1666-1673 (1994)

(2003년 11월 5일 접수; 2004년 5월 28일 채택)