

두부 제조과정에서 발생하는 부산물 함유 phytate의 제거

오남순, 서성원
공주대학교 식품공학과

1. 서론

식용 자원으로 사용되고 하는 곡류와 콩에는 단백질과 지방 등의 영양원 이외에도 항영양적 인자인 phytate(유기인산화합물)가 함유되어 있다. phytate는 Cu^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} 와 같은 원소와 결합하여 장에서 쉽게 흡수될 수 없는 phytate-mineral 또는 protein-mineral-phytate 복합체를 형성하기 때문이다. 특히 생물체 내에서 분해되지 않은 상태로 배출된 phytate는 부영양화 유발인자로도 역할을 한다.

곡류 및 콩 가공 후 발생하는 부산물에는 phytate를 다량 함유하며, 이러한 부산물들은 주로 사료 및 비료용으로 사용되기는 하지만, 항상 phytate의 항영양성과 부영양화성이 문제점으로 지적되고 있으며, 이러한 이유로 phytate의 항영양성과 부영양화성 특징을 해소시키려는 노력이 경주되어 왔다. phytate를 분해시키는 방법은 여러 가지가 있을 수 있으나, 생물학적 방법이 효율적이며, phytase에 의한 효소적 방법이 널리 이용되고 있다. 콩 가공식품의 하나인 두부는 오래 전부터 우리나라를 비롯한 아시아 지역 뿐 아니라 유럽, 미주지역에서도 보편적인 식품으로 이용되고 있다. 두부 제조의 원료가 되는 대두는 13.51 mg/g(대두)의 phytic acid를 함유하고 있으며, 이것을 phytate-P(phytate 상태의 인)로 환산하면 3.810mg/g(대두)의 인을 함유함으로써 대두가 함유하는 총인(total phosphorous)의 약 70%를 점유한다. 부산물로서의 비지의 생산은 사용된 콩 중량의 120% 정도로 발생되며, 1999년도에 전국적으로 약 15만여 톤의 비지가 생산된 것으로 추정된다. 또한 두유의 응고, 압착 후 생성되는 순물(두부제조폐액)의 양은 연간 수십만 톤에 이르며, 전량 폐수로 처리되고 있다. 따라서 본 연구에서는 두부의 제조과정중 생성되는 비지, 순물 등과 같은 부산물이 함유하는 phytate의 인(phosphorus)을 효과적으로 제거하는 방법을 확립하고자 한다.

2. 재료 및 방법

1) 재료

실험에 사용된 콩 가공 후 부산물인 두부, 비지, 순물등의 원료는 예산군 농공단지애 소재한 식품업체로부터 구입하여 사용하였다. 입수된 재료는 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 미생물에 의한 phytate의 분해와 분해된 인의 흡수에 의한 제거를 위하여 본 실험실에 보관된 세균인 *Bacillus subtilis* KFB-33 균주와 Y-80 효모균주를 사용하였다. Phytase를 생성하는 *Bacillus subtilis* KFB-33 균주와 Y-80 효모균주는 전통 장류제품의 발효에 관여하는 유용 미생물들이다. Phytate의 분해에 사용된 효소는 Loche Vitamins사(Swiss, Basel)의 상용화된 phytase인 Ronozyme P(L) 제품을 사용하였다. 인의 흡착용 활성탄은 신기화학(주)의 분말 활성탄(SPW-10)을 사용하였다.

2) 실험 및 분석방법

효모는 YM배지에서 배양하여 종균으로 사용하였으며, 세균은 Nutrient broth에서 배양한 후 종균으로 사용하였다. 배양된 미생물은 순물 또는 비지에 접종하고 배양하였다.

효소반응은 비지, 순물에 Collupulin(단백질분해효소) 또는 Ronozyme을 중량 대비 0.01-0.1%(w/w) 되도록 첨가하여 37°C의 항온기에서 반응시켰다.

순물에 존재하는 phytate 또는 유리인산의 흡착에 의한 제거를 위하여 활성탄을 첨가하고 pH를 조절하여 일정조건에서 흡착시킨 후 흡착능을 조사하였다.

시료중의 유리상태의 인과 phytate 형태의 인은 다음과 같이 분석하였다.

유리상태의 인(Free PO_4^{3-})의 분석은 시료 1 ml에 10% TCA(trichloroacetic acid) 1ml을 첨가한 후 1.5 ml의 발색시약(발색시약은 5.5% H_2SO_4 에 1.5%가 되도록 ammonium molybdate를 녹인 용액과 2.7% ferrous sulfate를 증류수에 녹인 용액을 4:1로 혼합하여 조제한 용액)으로 발색시켜 10분 후에 700 nm에서 흡광도를 측정하여 KH_2PO_4 표준용액의 흡광도와 비교하였다. Phytate-phosphorus(phytate형태의 인)는 시료 0.5ml에 1ml의 ferric solution(0.2 g의 ammonium iron(III) sulfate · $12H_2O$ 를 30% TCA 100ml로 용해한 후 증류수로 1 L로 맞춘 용액)을 첨가한다. 그 후 뚜껑을 덮고 끓는 수욕중에서 30분 동안 반응시킨 다음 얼음물로 15분 동안 냉각하여 원심분리(12,000 rpm, 15분) 하였다. 상침액 1ml에 1.5ml의 bipyridine 용액(10 g의 2,2'-bipyridine에 10 ml의 thioglycolic acid를 첨가하여 증류수로 1 L로 맞춘 용액) 1.5 ml과 반응시켜 519 nm에서 흡광도를 측정한다.

3. 결과 및 연구의 전개

1) 두부의 제조과정과 비지 및 순물의 생성

두부의 제조과정을 다음 Fig. 1에서 보는 바와 같이 열처리된 콩즙의 여과로 비지가 생성되며, 두유에 간수를 넣어 두부를 만드는 압착공정에서 순물이 생성된다.

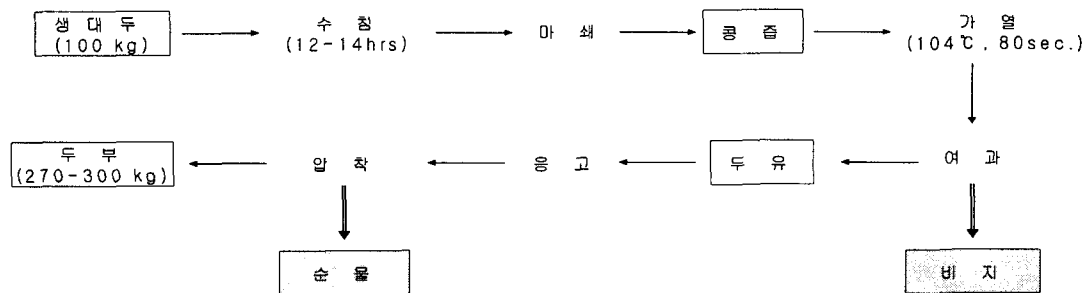


Fig. 1. Manufacturing process of tofu

2) 비지 및 순물의 성분 분석

Table 1은 두부 및 두부의 제조과정중 생성되는 비지와 순물의 일반성분을 분석한 결과로, 비지의 pH는 중성부근이었으며, 순물은 5.01로 약산성을 나타냈다. 비지에서는 phytate 형태의 인(phosphorus) 함량이 740 ug/g, 순물은 335 ug/g의 인이 함유하고 있었다.

유리인(free PO_4)의 함량은 순물에서 약 100 ug/g으로, 비지의 약 3배에 이르는 함유량을 보였다.

Table 1. Chemical composition of tofu, soybean curd residue and soybean curd waste broth.

성분	pH	Moisture (%)	Solids (%)	Ash (%)	TN (%)	Reducing sugar (%)	Phytate-P ¹⁾ (ug/g)	Free-P ²⁾ (ug/g)
Tofu	5.53	80.6	19.4	0.66	1.787	0.12	913	51
Soybean curd residue	7.01	78.2	21.8	0.84	0.979	0.28	740	32
Soybean curd waste broth	5.01	-	3.2	0.45	0.083	0.45	335	101

¹⁾ Phytate phosphorus, ²⁾ Free phosphorus.

3) Phytase에 의한 비지 및 순물중 phytate의 유리인산화

비지와 순물에 phytase를 농도별로 첨가하여 효소반응을 시킨 후 비지(Fig. 2)와 순물(Fig. 3) 중 phytate가 유리인으로의 전환율을 조사하였다.

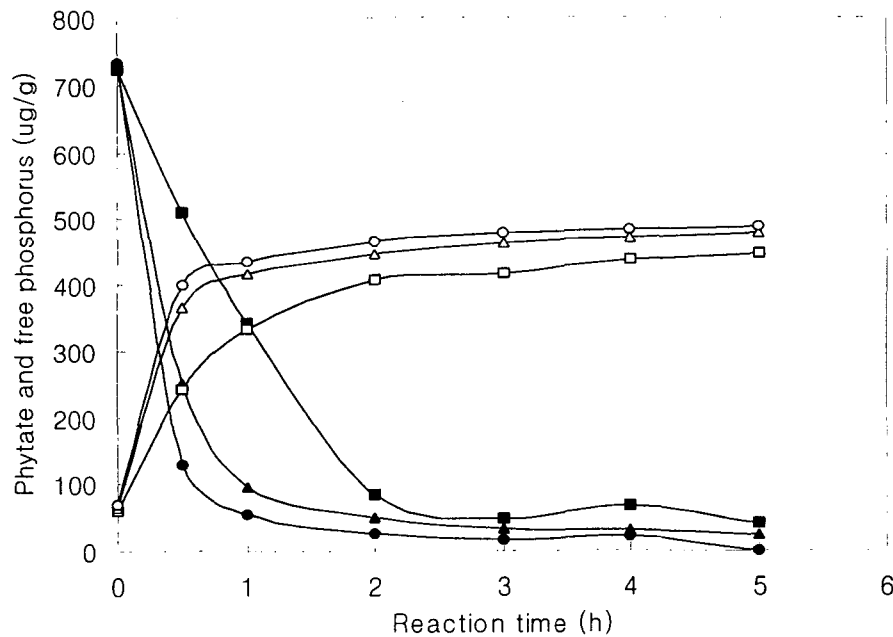


Fig. 2. Enzymatic conversion of phytate(filled figure) into free phosphorus(open figure) in soybean curd residue. Phytase concentration(% w/w); 0.01%(■), 0.05%(▲), 0.1% (●).

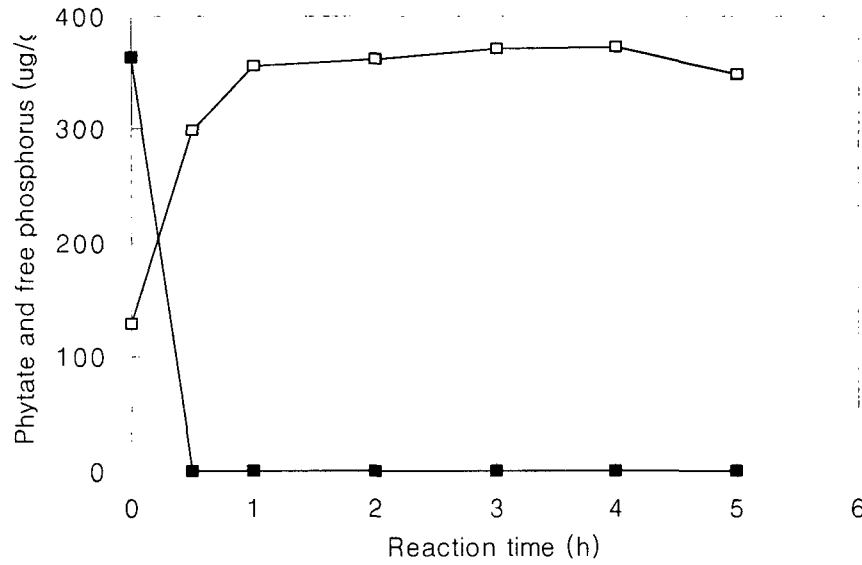


Fig. 3. Enzymatic conversion of phytate(filled figure) into free phosphorus(open figure) in soybean curd waste broth.

4) 활성탄과 효모배양에 의한 Phosphorus의 제거

활성탄을 이용한 순물 중 phytate-p와 유리인산의 제거율(Table 2)을 조사하였으며, 식품에 사용되는 유익효모인 H-11 효모균주를 배양하면서 phosphorus의 제거율(Table 3)을 조사하였다.

Table 2. Removal of phytate and phosphorus in soybean curd waste broth by active carbon powder.

Phosphorus type	pH 4.2	pH 5.11	pH 6.37	pH 7.14	pH 8.23	pH 9.44
Removed phytate-p (%)	4.0	5.6	2.3	15.5	8.9	10.8
Removed free-p (%)	9.9	25.0	27.8	22.2	24.2	2.9

Table 3. Removal of phytate and phosphorus in soybean curd waste broth by yeast strain H-11 during culture period.

Phosphorus type	SCWB ¹⁾ + Glucose 1%	SCWB + Glucose 3%	SCWB + Glucose 5%	SCWB + Glucose 10%
Removed phytate-p (%)	0	0	0	0
Removed free-p (%)	48.4	72.4	90.6	97.9

¹⁾SCWB; Soybean curd waste broth

5) 생물학적 방법을 이용한 비지의 재활용 실례

두부제조 공정에서 부산물로 생성되는 비지와 순물은 더 이상 가공을 하지 않은 상태에서 주로는 사료 및 비료로 사용되어 왔다. 그러나 최근에는 이러한 용도로 사용되는 양마저 줄어들고 있으며, 폐수 또는 야외에 방치된 상태로 유기되는 경우가 많아지고 있다. 이러한 가운데서도 가까운 일본에서는 효소 및 유용 미생물을 이용한 비지의 기능성화로 새로운 용도를 개척하고 있으며, 본 연구는 비지 및 순물의 기능화를 통한 이들의 재활용을 촉진하고자 실시되고 있다.

Table 4. Recycling of soybean curd residue

응 용 기 술	사 용 효 소 (미생물)	용 도
		사료용, 비료용
효소반응	지방 또는 단백질 분해효소	식물섬유, 식품소재
효소반응	펙틴 분해효소	빵, 과자용
효소반응	셀룰로스 분해효소	푸딩, 우동
미생물 배양	곰팡이 배양	크로켓, 햄버거 소재
건조		식품의 물성개량체, 절임류, 배합사료용, 양어용, 미생물배지용

감 사

본 연구는 한국과학재단 지정 공주대학교 자원재활용 신소재 연구센터의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

4. 참고문헌

1. 한국식품연감 (2002) 제17장 연식품, pp. 538-548, 농수축산신문, 서울.
2. 안빈, 양차범 (1985) 처리방법에 따른 종자중 Phytic acid의 함량변화, *한국식품과학회지*, 17(6), 516-521.
3. 진효상 (1994) 순물(두부폐액)을 이용한 probiotics의 생산, *한국환경생물학회지*, 12(2), 59-64.
4. 양시웅, 송민동, 김창원, 유제현, 정기철 (2001) Phytate 분해 유산균의 분리 및 이용, *한국산업미생물학회지*, 29(4), 195-200.
5. T. Anno, K. Nakanishi, R. Matsuno and T. Kamikubo (1985) Enzymatic elimination of phytate in soybean milk, *일본식품공업학회지*, 32(3), 174-180.
6. D. Carlson, H. D. Poulsen (2003) Phytate degradation in soaked and fermented liquid feed-effect of diet, time of soaking, heat treatment, phytase activity, pH and temperature, *Animal Feed Science and Technology*, 103, 141-154.
7. A. S. Sandberg (1994) Antinutrient effects of phytate, *Nutrition*, 18(9), 429-432.