

## Tempeh 제조시 Phytic Acid 함량변화 및 그에 따른 단백질, 무기질과의 상호작용에 관한 연구

박 은 순 · 윤 선

연세대학교 식품영양학과

### The Changes of Phytic Acid Content and its Interactions with Protein and Minerals in the Preparation of Tempeh

Park Eun Soon, Yoon Sun

*Department of Food & Nutrition, Yonsei University, Seoul, Korea*

#### = ABSTRACT =

The interactions of phytic acid with protein and minerals has been blamed to decrease the bioavailability of protein and minerals in soybean products. Tempeh, the traditional Indonesian fermented soybean product, was prepared to investigate the changes of phytic acid contents and its interactions with protein and minerals in the fermentation. The acceptability of tempeh were also studied by conducting sensory evaluation.

1) Phytic acid contents of cooked soybeans and of tempeh were significantly lower than that of raw soybeans, indicating that cooking and fermentation resulted in the decrease in phytic acid content of soybeans. In tempeh the fraction of phytic acid retained after ultrafiltration was significantly lower than that in raw soybeans.

2) The total protein contents were not significantly different between raw soybeans and tempeh. Phytic acid contents per gram of protein retained ultrafiltration were significantly higher in raw soybeans than in tempeh. This result is interpreted as that raw soybeans contain higher amounts of phytic acid-protein complexes than tempeh.

3) Both of calcium and zinc contents were not significantly different among raw, cooked soybeans and tempeh. However, the retained Ca and Zn fraction after ultrafiltration were significantly lower in tempeh comparing with that in raw soybeans. Lower retention of Ca and Zn after ultrafiltration in tempeh may be the result of lower phytate content of tempeh, thereby less chance of forming mineral-phytate complexes.

4) Tempeh received the sensory evaluation scores between good and fair and the addition of garlic to tempeh significantly improved the odor, general desirability and total score.

## 서 론

한국인에게 널리 알려진 식품인 대두류는 양질의 단백질을 경제적으로 공급해주는 급원<sup>1)</sup>일 뿐만 아니라 비타민, 무기질, 필수 지방산과 같은 영양소의 좋은 공급원이기도 하다<sup>2)</sup>. 그러나 여러 연구보고에 의하면 식물성 식품에 함유되어 있는 무기질은 체내에서의 이용도가 현저히 떨어지며 이는 식물성 식품에 존재하고 있는 phytic acid가 단백질 및 무기질과 결합하여 불용성 물질을 형성하기 때문이라고 한다<sup>3), 4), 5), 6)</sup>.

대두류 역시 phytic acid를 함유하고 있으며 이로 인한 단백질과 무기질의 체내 이용도의 감소는 대두 식품의 개발 과정에서 해결해야 할 중요한 과제로 부각되고 있다. 발아, 칩지, 발효등의 방법에 의해 대두에 있는 phytic acid의 함량이 감소됨이 보고되었고<sup>5), 7), 8)</sup> yeast bread에서는 효모에 의해 밀가루의 phytic acid 양이 감소됨이 밝혀졌다<sup>9)</sup>.

우리나라를 비롯한 동남아시아에서 대두 발효 식품이 상용, 애용되고 있음을 감안할때 발효에 의한 phytic acid의 함량변화 및 이에 따른 단백질, 무기질과의 상호작용에 관한 연구는 대두에 있는 중요 영양소의 체내 이용도를 높일수 있는 조리, 가공법의 개발에 한 몫을 할 것으로 사려된다.

이에 본연구에서는 인도네시아의 전통적 대두 발효 식품인 tempeh를 제조하여 발효 과정중의 phytic acid 함량변화 및 그에 따른 단백질, 무기질과의 상호작용을 조사하고 한국인의 기호에 맞는 대두 발효 식품의 소개를 목적으로 tempeh의 수용도도 아울러 조사하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1) 실험재료

대두는 신촌시장에서 구입하였고 tempeh 제조에 사용한 균주 *Rhizopus oligosporus*는 한국 중균협회에서 분양받았다.

날콩가루는 대두 (raw soybeans)의 껍질을 벗긴후 마쇄하고 80 mesh 체로 쳐서 준비하였다. 대두를 실온에서 하룻밤 담가둔 후 껍질을 벗기고 30분간 끓여서 준비한 삶은 콩 (cooked soybeans)과 tempeh는 냉동건조시킨후 80 mesh 체로 쳐서 가루로 만들었다. 이들 세가지 시료는 모두 acetone으로 탈지한후

-1℃이하로 보관하여 분석실험에 사용하였다.

### 2) 실험방법

(1) *Rhizopus oligosporus*의 보존 및 starter의 조제: 균주는 Potato Dextrose Agar (PDA) 배지에 사면 배양한후 5℃에서 보존하여 starter로 사용하였다.

### (2) Tempeh 제조 :

Tempeh는 Smith 등<sup>1)</sup>의 방법과 Steinkraus 등<sup>10)</sup>의 방법을 절충하여 인도네시아에서 상용되고 있는 것과 유사한 방법으로 만들었다.

콩을 실온에서 하룻밤 칩지시킨후 흐르는 물에서 껍질을 벗기고 30분간 끓여 물기를 제거시킨 다음 약 37℃로 냉각시켰다. 사면 배양시켜 놓은 균주 1 slant에 3~4 ml의 멸균수를 가하여 포자분산액 (spore suspension)을 만든 다음 삶은 콩 300g에 잘 섞었다.

Petri dish나 polyethylene bag에 접종된 콩을 담고 37℃에서 20시간 정도 배양하여 콩의 표면에 하얀 mycelium이 덮히도록 하였다.

### (3) Total phosphorus 정량 :

총 인의 함량은 molybden-blue 비색법으로<sup>11)</sup> 정량하였다.

(4) Phytic acid p, 단백질, 무기질 (Ca, Zn)의 함량 측정 :

날콩, 삶은 콩, tempeh 각각의 탈지가루와 그들의 water extract, ultrafiltration한 후 retentate에서 각각 phytic acid p, 단백질, 무기질 함량을 측정하였다. water extract, retentate의 준비과정은 Fig. 1과 같다.

### Defatted powder

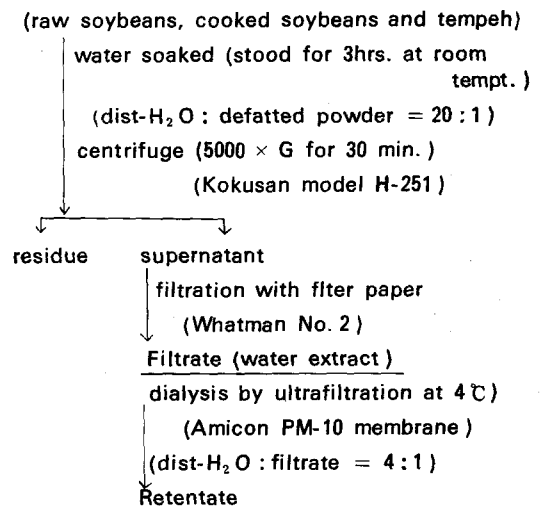


Fig. 1. The process for the preparation of sample.

① Phytic acid P의 정량 ;

Wheeler와 Ferrel의 방법<sup>12)</sup>으로 phytic acid를 추출한후 O-phenanthroline 법<sup>13)</sup>으로 구한 Fe의 함량을 근거로 phytic acid P 양을 산출하였다. phytic acid에는 6개의 p가 존재하고 이들은 Fe 4개와 결합하므로 Fe:p = 4:6에서 p 함량을 구하였다. phytic acid의 p는 phytic acid의 28.16%에 해당하므로 phytic acid의 p 양에 3.546을 곱하여 phyt-

ic acid 함량을 산출하였다.

② 단백질의 함량측정 ;

Semi-micro-kjeldahl 질소 정량법<sup>11)</sup>에 의해 측정하였고 질소계수 6.25를 사용하여 단백질 함량으로 환산하였다.

③ 무기질 (Ca, Zn)의 함량측정 ;

Ca, Zn를 분석하기 위한 시료용액은 김영희가 이용한 방법<sup>14)</sup>에 의하여 조제하였고 AOAC법<sup>15)</sup>에 따라 Atomic Absorption Spectrophotometer (Varian A A-375)에 의하여 Ca은 422.7 nm, Zn는 213.9 nm에서 각각 측정하였다.

(5) 관능검사 :

Tempeh의 수용도를 알아보기 위해 관능검사를 실시하였다. 관능검사원은 연세대학교 가정대학 식생활학과 대학원생으로 예비실험을 통해 훈련시킨후 관능 검사에 임하였다.

결과 및 고찰

1) Tempeh의 회수율

Tempeh를 제조하여 회수율을 조사한 결과 75.28%의 회수율을 보인 것과 비슷하였다.

2) Tempeh 제조 과정중장 total p 및 phytic acid p의 함량변화

Tempeh 제조 과정중의 총 인 및 phytic acid p의 함량변화는 Table 2에 나타난 바와 같다.

날콩, 삶은 콩, tempeh 내의 총 인의 함량은 718.

Table 2. Total P and phytic acid P contents of raw, cooked soybeans and Tempeh<sup>1)</sup>

Sample	Total P (mg %)	Phytic acid P (mg %)
raw soybeans	744.28 ± 5.0	539.38 ± 14.03 <sup>a</sup>
water extract		377.24 ± 28.07 <sup>b</sup>
retentate of ultrafiltration		92.80 ± 4.68 <sup>c</sup>
cooked soybeans	731.8 ± 10.6	462.28 ± 11.80 <sup>a</sup>
water extract		325.44 ± 11.81 <sup>b</sup>
retentate of ultrafiltration		70.07 ± 2.36 <sup>c</sup>
Tempeh	718.60 ± 19.3	348.64 ± 23.09 <sup>a</sup>
Water extract		240.73 ± 11.74 <sup>b</sup>
retentate of ultrafiltration		42.90 ± 4.70 <sup>c</sup>

Mean ± S.D.

1) : dry weight basis

a, b, c: p < 0.05

Table 3. Protein and phytic acid contents, and phytic acid/protein ratio(mg phytic acid per g protein) in raw soybeans and Tempeh<sup>2)</sup>

Sample	Protein (%)	Phytic acid <sup>2)</sup> (mg %)	mg phytic acid /g protein
raw soybeans	50.88 ± 0.72	1912.62 ± 45.58	
water extract	27.94 ± 0.62	1337.68 ± 99.56	47.89 ± 1.06 <sup>a</sup>
retentate	22.44 ± 1.07	329.07 ± 27.30	14.68 ± 0.71 <sup>b</sup>
Tempeh	52.69 ± 0	1236.30 ± 83.27	
water extract	25.06 ± 0.82	853.64 ± 41.06	34.07 ± 0.27 <sup>a</sup>
retentate	19.50 ± 0.53	152.12 ± 37.01	7.80 ± 0.83 <sup>b</sup>

Mean ± S.D.

1) : dry weight basis

2) : calculated phytic acid assuming 28.27% phosphorus in the molecule

a, b: P < 0.05

60 ~ 744.28 mg%이었고 이들의 총 인의 함량간에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. Tabekhia 등도<sup>7)</sup> 여러 종류의 콩에서 찌지, 발아시 총 인의 함량에 유의적인 차이가 없다고 하였다. phytic acid p 함량은 날콩에서 539.38 mg%, 삶은 콩에서 462.28 mg%, tempeh에서 348.64 mg%로 나타났다. 이는 열처리 (cooking)와 발효(fermentation)에 의해 phytic acid p 양이 유의적으로 감소함을 보여주고 있다. Tempeh의 phytic acid p 함량이 삶은 콩에서 보다 유의적으로 낮아서 열처리보다는 발효에 의해 phytic acid p의 감소가 현저함을 알수 있었다. Water extract에 함유된 phytic acid p 함량은 날콩에서 377.24 mg%, 삶은 콩에서 325.44 mg%, tempeh에서 240.73 mg%로써 각 시료간에 유의적인 차이를 보였다. 이들에서 phytic acid p의 water solubility rate는 비슷한 것으로 나타났다.

날콩, 삶은 콩, tempoh의 water extract를 Ultrafiltration 한 후 retentate에 보유된 phytic acid p의 함량을 측정된 결과 날콩의 경우 92.80 mg%, 삶은 콩이 70.07 mg%, tempeh가 42.90 mg%로 나타났다.

이는 water extract에 함유된 총 phytic acid p 함량의 24.62%, 21.53%, 17.82%에 해당하는 값으로 water extract내에 함유된 phytic acid p의 80% 정도가 Ultrafiltration하는 동안 membrane을 통과해 빠져나갔음을 말해준다. 특히 tempeh의 경우 retentate의 phytic acid p 보유량이 날콩과 삶은 콩에 비해 유의적으로 낮았다. Omosaiye 등<sup>16)</sup>에 의하면 phytic acid와 그의 염들은 분자량이 1,000 이하여서 그들이 사용한 XM-50 membrane (M.W. 50,000)을 자유롭게 통과할 수 있으나 Ultrafiltration을 하는 과정에서 phytic acid의 용해도가 낮아지거나 membrane을 통과하지 못하는 물질과 결합하게 되면 retentate에 남게된다고 하였다.

### 3) Tempeh 제조 과정중의 단백질과 phytic acid의 상호작용

단백질과 phytic acid의 상호작용을 알아 보기 위해 날콩과 tempeh의 탈지가루, water extract, Ultrafiltration 한 후 retentate에서 각각 단백질 함량을 측정하였고 단백질 g당 phytic acid mg양을 산출하여 비교하였다. 그 결과를 Table 3에 요약하였다.

날콩의 단백질 함량은 50.88%였고 water extract에는 27.94%가 포함된 것으로 나타났다. Tempeh의 총 단백질 함량은 52.69%이고 water extract에는 25.

06%가 함유된 것으로 나타나 날콩과 tempeh의 총 단백질과 water extract된 단백질양에는 유의적인 차이가 없었다. 이는 tempeh 발효시 총 단백질 함량에 변화가 없음을 보고여 Steinkraus 등<sup>10)</sup>의 결과가 일치한다.

Ultrafiltration 한 후 retentate 내의 단백질 함량은 날콩이 22.44%, tempeh가 19.5%로 날콩에서 약간 높게 나타났으나 통계적인 유의성 ( $P < 0.005$ )은 없었다.

Phytic acid와 단백질의 상호작용을 알아보기 위해 단백질 g당 phytic acid mg양을 산출한 결과 날콩의 water extract에서는 단백질 g당 47.89 mg의 phytic acid가 함유되고 tempeh에서는 34.07 mg이 함유된 것으로 나타나 tempeh내의 단백질 g당 phytic acid 함량이 유의적으로 낮았다 ( $P < 0.05$ ).

Ultrafiltration 한 후 회수한 retentate에서도 단백질 g당 phytic acid 양이 날콩은 14.66 mg, tempeh는 7.80 mg으로 tempeh가 유의적으로 낮은 값을 나타냈다.

Crean과 Haisman<sup>3)</sup>에 의하면 phytic acid 분자는 대개의 pH에서 음으로 하전되어 있으며 따라서 단백질의 등전정보다 낮은 pH에서는 단백질과 electrostatic interaction을 하고 높은 pH에서는 Ca, Mg, Zn 등의 양이온 존재하에 phytic acid-Mineral-Protein 복합체를 형성한다고 한다. 이들 복합체는 ultrafiltration 시 분자량이 커서 membrane을 통과할수 없게된다.

본 연구의 결과 tempeh의 경우 ultrafiltration 한 후 retentate에 보유된 단백질 g당 phytic acid의 함량이 낮은 것은 phytic acid 복합체 형성이 낮은데 기인한 것으로 사려된다.

Table 4. Ca and Zn content in raw soybeans and Tempeh<sup>1)</sup>

Sample	Ca(mg %)	Zn (mg %)
raw soybeans	210.96 ± 5.85	5.54 ± 0.04
water extract	130.16 ± 15.60	3.53 ± 0.06
retentate	23.17 ± 1.57 <sup>a</sup>	1.03 ± 0.04 <sup>b</sup>
Tempeh	213.06 ± 11.74	5.64 ± 0.07
water extract	137.25 ± 12.53	3.63 ± 0.06
retentate	15.50 ± 3.14 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.09 <sup>b</sup>

Mean ± S.D.

1) : dry weight basis

a, b :  $P < 0.05$

Table 5. Results of sensory evaluation of two tempehs

Sample	Color	Odor	Texture	Appearance	Flavor	General desirability	Total score
T <sub>1</sub>	3.69 ± 0.63	3.38 ± 0.86	3.69 ± 0.85	3.69 ± 0.86	3.31 ± 0.85	3.73 ± 0.62	3.57 ± 0.72
T <sub>2</sub>	3.85 ± 0.69	4.00 ± 0.82	3.46 ± 0.83	3.85 ± 0.70	3.77 ± 0.73	4.08 ± 0.53	3.83 ± 0.83
F-value	0.13	8.90 *	0.93	0.34	2.98	9*	7.45*

Mean ± S.D.

\* P < 0.05

T<sub>1</sub>: 1% 소금물에 tempeh를 10분간 담근후 튀긴 것.

T<sub>2</sub>: 마늘을 첨가한 1% 소금물에 tempeh를 10분간 담근후 튀긴 것.

4) Tempee 제조 과정중의 무기질의 함량변화  
 낱콩과 tempeh의 water extract를 ultrafiltration 하고 이때 보유된 Ca, Zn의 함량을 측정하였다. 그 결과는 Table 4에 나타난 바와 같다.

Ca 함량은 낱콩에서 210.96 mg%, tempeh에서 213.06 mg%로 유의적인 차이가 없었고 water extract에서도 130.16 mg%, 137.25 mg%로서 상호간에 유의적인 차이가 없었다(P < 0.05).

Zn 함량은 낱콩에서 5.54 mg%, tempeh에서 5.64 mg%로 유의적인 차이가 없었고 water extract에서도 3.53 mg%, 3.63 mg%로 유의적인 차이가 없었다. Osborn 등<sup>17)</sup>은 탈지 대두분의 Ca 함량이 240 ~ 300 mg%이고 Zn 함량이 5.5 ~ 7.7 mg%라 보고하였다.

그러나 Ultrafiltration 한 후 Ca 보유율은 낱콩의 경우 17.80%, tempeh의 경우는 11.29%로써 낱콩보다 유의적으로 낮은 값을 나타냈다. Ultrafiltration 한 후 retentate의 Zn 보유율은 tempeh에서 22.59%로 낱콩 29.18%보다 유의적으로 낮았다(P < 0.05).

위 결과는 Ca 이나 Zn가 phytic acid - Mineral - Protein 복합체를 형성하는 경향이 낱콩에서보다 tempeh에서 낮은 것을 시사한다. 이는 발효과정중 phytase에 의해 복합체 형성에 방해받을 것으로 추측된다.

#### 5) 관능검사

Tempeh는 얇은 조각으로 자른 다음 1% 소금물에 10분간 담근후 마늘을 첨가한 것과 첨가하지 않은 것을 각각 190°C에서 튀겨 관능검사를 실시하였다. 색깔, 외관, 냄새, 질감, 풍미에 대해서는 5점법으로 general desirability에 대해서는 10점법으로 관능검사를 실시하였고 득점 결과는 P < 0.05 수준에서 F-

test로 분산분석하여 Table 5에 요약하였다.

마늘을 첨가한 것이 냄새, general desirability 및 전체적 점수에서 마늘을 첨가하지 않은 것보다 유의적으로 높은 호응도를 보였다(P < 0.05). 두 종류의 tempeh는 색깔, 냄새, 질감, 외관, 풍미 및 general desirability 모두가 3.31 이상으로 좋은 평가를 받았다. 따라서 tempeh는 우리의 기호에 별 저항없이 받아들여질 것으로 기대되며 대두를 이용한 또 하나의 고단백 식품의 개발에 공헌할 것으로 사려된다.

## 요 약

본 연구에서는 tempeh 제조 과정중의 phytic acid 함량 변화를 측정하였고 그에 따른 단백질, 무기질과의 상호작용을 조사하였다. 또한 한국인의 기호에 맞는 대두 발효식품의 소재를 목적으로 tempeh의 수용도도 아울러 조사하였다.

이상의 실험결과를 요약하면 다음과 같다.

1) Tempeh 제조시 회수율은 75.28%였다.

2) 낱콩, 삶은 콩, tempeh의 총 인 함량은 718.60 ~ 744.2 mg%로 각 시료간에는 유의적인 차이가 없었다. 그러나 phytic acid p 함량은 낱콩에 539.38 mg%, 삶은 콩에 462.28 mg%, tempeh에 348.64 mg%로 열처리나 발효에 의해 phytic acid p 함량이 유의적으로 낮아짐을 보였고 열처리보다는 발효에 의해 phytic acid p가 유의적으로 감소됨을 나타냈다.

3) 총 단백질 함량은 낱콩과 tempeh 간에 유의적인 차이가 없었고 Ultrafiltration 한 후 보유된 단백질 함량에는 약간의 차이가 있었으나 통계적 유의성은 없었다.

단백질 9당 phytic acid mg 양을 산출한 결과 Ultr-

afiltration 한 후 retentate 내의 phytic acid/protein ratio 는 낱콩에서 14.66 , tempeh 에서 7.80 으로 유의적인 차이를 보였다.

4) Ca의 함량은 낱콩과 tempeh 에서는 유의적인 차이가 없으나 Ultrafiltration 한 후 retentate 의 Ca 보유율은 tempeh 에서 유의적으로 낮았다. Zn의 함량도 낱콩과 tempeh 에서 유의적인 차이가 없었고 Ultrafiltration 한 후 retentate 내 Zn 보유율은 tempeh 에서 유의적으로 낮았다.

5) 관능검사 결과는 마늘을 첨가한 것이 냄새, general desirability 및 전체적 점수에서 유의적으로 높게 평가되었다. 그러나 두 시료 모두 색깔, 외관, 풍미, 질감, 냄새 및 general desirability 에서 3.31 이상의 좋은 평가를 받았으므로 tempeh 가 새로운 식품으로 소개될때 별 저항없이 받아들여질 것으로 사료된다.

#### REFERENCES

- 1) Smith, A.K., J.J. Rackis, C.W. Hesseltine, M.R. Smith, J. Dorothy & Booth, A.V.: *Tempeh : Nutritive value in relation to processing Cereal Chem.* 41 : 173-178, 1964.
- 2) Smith, A.K. & Circle, S.J.: *Soybeans : Chemistry and Technology. Vol.1. Proteins AVI publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.* p 203-277, 1972.
- 3) Crean, D.E.C. & Haisman, D.R.: *The interaction between phytic acid and divalent cation during the cooking of dried peas. J. Sci. Food Agri.* 14 : 824-830, 1963.
- 4) O'Dell, B.L. & de Boland, A.: *Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. J. Agri. Food Chem.* 24 : 804-808, 1976.
- 5) Reddy, N.R. and Salunkhe, D.K.: *Phytate phosphorus and mineral changes during fermentation and cooking of black gram seed. J. Food Sci.* 43 : 540-543, 198 1978.
- 6) Wilcke, H.L., D. T. Hopkins & D. H. Waggle : *Soy protein and human nutrition. Academic press, New York, p 187-207, 1979.*
- 7) Tabekhia, M.M. & Luh, B.S.: *Effects of germination, cooking and canning on phosphorus and phytate retention of dry beans. J. Food Sci.* 45 : 406-408, 1980.
- 8) Sudarmadji, S. & p. Markakis : *The phytate and phytase soybean tempeh. J. Sci Food and Agri.* 28 : 381-383, 1977.
- 9) Fardiaz, D. & P. Markakis : *Degradation of phytic acid in oncom. J. Food Sci.* 46 : 523 - 525, 1981.
- 10) Steinkraus, K.H., B.H., Yap, J.P. Van Buren, M.I. Provvideati & Hand, D.B.: *Studies on tempeh-on Indonesian fermented soybean food, Food Research.* 25 : 777-788, 1960.
- 11) 이현기 · 박원기 · 이성우 · 이응호 · 황호관 : 식품화학 실험, 수확사 p. 115-148, 1980.
- 12) Wheeler, E.L. & Ferrel, R.E.: *A method of phytic acid determination in wheat and wheat fractions. Cereal Chem.* 48 : 312-320, 1971.
- 13) 류태중 · 이동석 · 김형수 · 권혁인 : 식품학실험. 수확사, p. 134-135, 1972.
- 14) 김영희 : 응고제에 따른 두부의 texture 특성과 무기성분 검토. 연세대학교 대학원 석사학위논문 1979.
- 15) A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis(12th Ed), Association of Official Agricultural Chemists. Washington. D.C., 1975.*
- 16) Omosaiye, O. & Cheryan, M.: *Low phytate, ful-fat soy protein product by ultrafiltration of aqueous extracts of whole soybeans. Cereal Chem.* 56 : 58-62, 1979.
- 17) Osborn, T.W.: *Elemental composition of soybean meal and interlaboratory performance. J. Agri. Food Chem.* 25 : 229-232. 1977.