

초고압처리에 의한 연해주 대두분말의 저장기한 중의 산패도 변화

이수복 · 엄병현¹ · 윤원병*

강원대학교 바이오산업공학부 식품생명공학전공
¹한국과학기술연구원 KIST강릉분원

Effect of High Pressure Processing on the Rancidity of Yeonhaeju Soybean (Bazaz) Powder during Storage

Soo-Bock Lee, Byung-Hyun Uhm¹, and Won-Byong Yoon*

Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University
¹Korea Institute of Science and Technology at Gangneung

Abstract

Changes of rancidity of soybean powder from Yeonhaeju (Bazaz) during storage were evaluated by 2-thiobarbituric acid solution (TBA), and compared with those of Korean soybean (Baektae). Lipoxygenase (LOX) in the soybean powder was inactivated by high pressure processing (HPP) to increase the stability of soybean powder during storage. The level of inactivation of LOX was measured by spectrophotometer at 234 nm. HPP decreased the activity of LOX in the soybean powder of Baektae, compared to that of the control (i.e., soybean powder without HPP treatment) of Baektae, while TBA values of both HPP treated Baektae and the control were increased up to 24 days of storage. However, in case of Bazas, both LOX activity TBA values decreased after HPP treatment, compared to those of controls. The antioxidant compounds in both soybeans were measured and quantitatively evaluated by on-line ABTS⁺ assay. Based on the trolox equivalent (TE) value at the retention time 38.2 and 40.1 min, the antioxidant components in Bazaz were higher than that of Baektae. It might indicate that relatively lower TBA values of HPP treated Bazaz was due to lower LOX activity as well as higher antioxidant compounds in the species.

Key words: soybean, lipoxygenase, high pressure treatment, TBA, on-line ABTS⁺ assay

서 론

대두의 분말화 공정은 사용의 편리성과 원산지와 수입국 간의 관세규정에 따라 일정한 가공도를 요구하므로 대두가공의 중요한 단위공정으로 대두되고 있다. 그러나 대두의 분말화 공정으로 인해 산소와의 접촉면이 증가하여 지질의 산화가 빠르게 진행되어 산패취가 발생하여 품질저하의 큰 원인이 될 수 있다.

대두의 품질에 크게 영향을 주는 것은 향미성분으로서 대두의 가공 중 lipoxygenase 효소의 작용으로 인해 발생하는 산패취가 문제가 되고 있다(Jeong, 1999). Lipoxygenase는 linoleic acid의 이중결합에 작용하여 지질의 산화에 촉매역

할을 하며, 이들 산화물들이 휘발성 카보닐화합물을 생성하여 쿽의 비린내를 유발시키는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2008).

대부분의 식품은 가열 또는 비가열처리에 의해 일정 수준의 저장성이 확보되도록 만들어지는데, 일반적으로 가열처리(가열 및 조리)는 미생물의 생육을 억제할 뿐만 아니라 식품 자체의 품질에도 영향을 미칠 수 있다. 이에 반해 최근, 더욱 주목 받고 있는 비가열처리 기술 중 초고압 처리는 식품의 품질에는 영향을 미치지 않으면서 효소 활성을 억제할 수 있는 장점이 있다(Hong & Park, 1999; Katsaros et al., 2009).

초고압 처리기술은 100-1000 MPa의 압력을 이용하여 압력 매체로 물이나 오일을 이용해 압력을 순간적으로 균일하게 전달시키는 비가열처리 기술이다. 초고압 처리는 효소의 불활성화에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Jwa et al., 2003; Wang et al., 2008). 실제로 초고압 처리에 의한 효소의 불활성화 연구는 많이 진행되고 있다. Ludikhuyze et al.(1998)과 Wang et al.(2008)은 대두유와 대두의 lipoxygenase 효소의 활성도가 감소하는 것을 확인하였고,

*Corresponding author: Won-Byong Yoon, Department of Food Science and Biotechnology School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Hyoja2-dong, Chuncheon, Kangwon-do, 200-701, Korea

Tel: +82-33-250-6459; Fax: +82-33-241-0508

E-mail: wbyoon@kangwon.ac.kr

Received January 12, 2011; revised July 4, 2011; accepted July 4, 2011

Riahi et al.(2004)은 초고압 처리를 이용하여 사과주스의 amylase 효소의 활성도 감소를 확인하였다. 또한, 열처리에 의한 살균은 식품 표면과 내부의 살균 정도에서 차이가 나지만, 초고압 기술은 모든 방향에서 압력이 균일하게 작용하므로, 처리의 정도 차이가 존재하지 않는다. 대두 내에 존재하는 산패에 영향을 미치는 효소 등의 초고압 처리에 의한 불활성을 통해 대두의 저장기간 중 발생하는 산패의 정도를 감소시킬 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는, 초고압 처리에 의한 대두의 lipoxigenase 효소의 효소활성을 비교하고, 연해주 대두(bazazs)와 국산 대두를 비교하여 품질의 변화를 최소화 하는 전처리 기술의 개발을 위하여 대두를 2분 동안 분쇄한 후 초고압 처리하여 저장 기간별 TBA를 측정하여 초고압 처리가 대두의 품질에 대한 영향을 검토하였다. 또한 국산대두와 연해주 대두의 항산화 성분을 분석하여 저장 중 항산화에 영향을 주는 성분의 존재 여부를 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료

국산 대두는 대형 마트에서 백태를 구입하여 사용하였다. 연해주 대두는 유한회사 들살림(Gangneung, Korea)에서 공급받아 사용하였다. 각 대두는 분쇄기(FM-909W, Hanil electric, Wonju, Korea)를 이용하여 2분 동안 분쇄한 시료를 이용하였다.

초고압 처리

본 실험에서 초고압 처리기(WIP-72-350-5.6K, Daejeon, IlshinAutocleave, Korea)를 이용하여 25°C, 450 MPa 압력에서 30분 동안 처리하였다.

Lipoxigenase 활성 측정

효소활성은 Wang et al.(2008)의 방법과 Ludikhuyze et al.(1998)의 방법을 변경하여 측정하였다. Substrate solution은 linoleic acid를 사용하였다. Linoleic acid는 0.01 mL의 linoleic acid와 0.01 mL의 Tween20, 4 mL의 0.2 M borate buffer pH 9.0을 섞은 후, 0.5 N NaOH를 넣어 섞은 후에 60 mL까지 borate buffer로 채워 만들었다. 시료는 사용할 때까지 저온으로 보관 하였다. Enzyme solution은 시료 6 g을 30 mL의 borate buffer에 넣어 3분 동안 반응 시킨 후, 고속원심 분리기에서 13,000×g, 4°C의 조건에서 원심분리를 하고 상층액을 회석하여 사용하였다. Standard curve를 만들 때에는 lipoxigenase 시약(Sigma L7395, St. Louis, MO, USA)을 이용하여 units수가 500 units 정도가 되게 회석하여 농도별로 측정한 후 standard curve를 만들어 시약의 효소 농도를 구하였다.

흡광도 측정은 UV/Vis. spectrophotometer(Optizen pop,

mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 측정하였다. 제조한 시약을 이용하여 enzyme solution 0.1 mL, borate buffer 2 mL와 linoleic acid 0.9 mL를 섞어 석영 큐벳에 넣고 234 nm에서 측정하였다.

저장실험

초고압 처리한 대두 분말과 처리하지 않은 분말을 15°C에서 보관하여 0, 2, 3, 4, 8, 12, 15, 21, 24일에 TBA를 측정하였다. TBA는 Park(1997)의 방법을 변경하여 측정하였다. TCA solution은 2 M H₃PO₄를 만들어 200 g의 TCA 시약과 2 M H₃PO₄ 용액을 혼합하여 만들었다. 0.01 M 2-thiobarbituric acid solution(TBA)은 시약 1.4709 g을 증류수에 넣어 1 L를 만들었다. Isoamyl alcohol과 pyridine solution은 각각 400 mL, 200 mL를 혼합(2:1, v/v)하여 만들었다. 모든 시약은 빛에 노출이 막기 위해 어두운 곳에 보관하였다.

2 g의 시료를 50 mL conical tube에 넣고, 2 mL의 20% TCA 용액을 넣고 4 mL의 TBA 용액을 넣어 잘 섞어 준 후, 항온수조의 온도를 90°C로 하여 tube가 잠긴 후 10분 동안 열처리를 하였다. 10분 후에 즉시 얼음에 넣어 10분 동안 냉각시킨 후 6 mL의 isoamyl alcohol과 pyridine solution 혼합 용액을 넣은 후 흔들어서 고루 섞은 후 원심분리를 2,400 rpm의 속도로 상온에서 하였다. 상층액을 538 nm에서 흡광도를 측정하였다.

항산화 성분 분석

국산 대두와 연해주 대두의 항산화 성분을 분석하기 위해 HPLC를 이용해 항산화 성분을 분석하는 on-line ABTS⁺ assay를 이용하여 분석하였다(Lee, 2008).

On-line 라디칼 활성 측정을 위한 표준시료 조제는 125 mL 바이얼 병의 물 40 mL에 potassium persulfate 37.8 mg을 넣어 완전히 녹인 후 ABTS⁺ 44 mg을 첨가하여 충분히 교반 해준 후 호일을 둘러 쌓았다. 초기 제조된 용매 40 mL 중 30 mL을 덜어서 870 mL의 순수한 물을 넣은 1 L 갈색 병에 넣고 하루 정도 radical의 안정성을 위해 어두운 곳에서 보관한 뒤 사용하였다.

HPLC급 물(99.9%) 100%를 이용하여 추출된 시료는 농축을 하기 위해서 회전식 증발기(LABO-THERM SW 200, Resona Technics Co., Osaka, Japan)를 사용하였고, HPLC시스템으로는 Agilent 1200(Agilent Technologies, Karlsruhe, Germany)으로 ChemStation(Agilent Technologies)이 부착된 HPLC-DAD를 사용하였다. 시료를 10 mg/mL의 농도로 10 mL injection하였다. ABTS⁺ 표준액은 Agilent 1200 pump에 의하여 ABTS⁺ 시약이 유속 0.5 mL/min로 1 mL loop를 통해 시약이 운반되며, 혼합기에서 혼합된 시료를 통해 UV검출기(Agilent Technologies, Karlsruhe, Germany) 734 nm에서 항산화 활성을 측정하였다. 데이터처리는 Agilent사

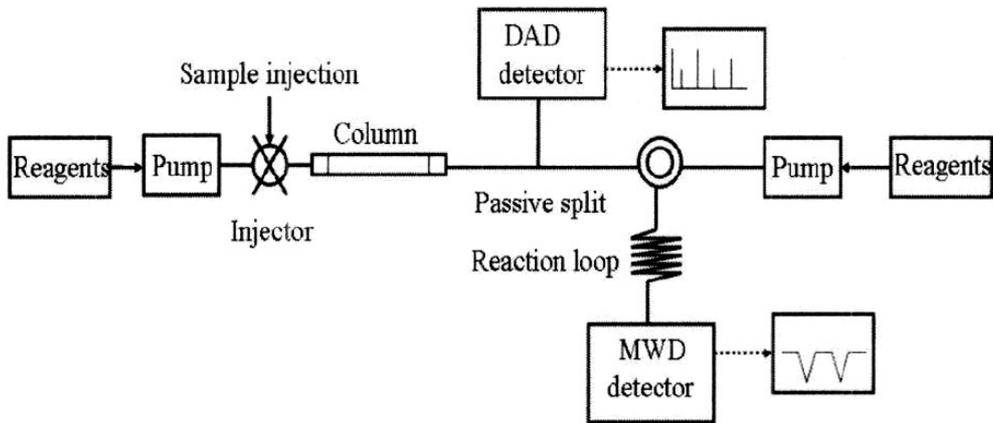


Fig. 1. Scheme of HPLC on-line ABTS⁺ screening system.

(Karlsruhe, Germany)의 PC에 설치된 Millennium 3.2를 사용하였으며, 분석에 사용된 컬럼은 5 µm인 물질이 충전된 분석용 RP-HPLC의 컬럼(RS-tech OP C₁₈, 4.6×250 nm)이다. 유속은 1 mL/min로 고정하였다. UV detector는 DAD의 파장범위는 200-400 nm를 적용하였으며, 크로마토그래피는 254 nm로 나타내었다. Fig. 1에 HPLC on-line ABTS⁺ screening 시스템을 나타내었다.

통계분석

본 실험은 백태와 연해주대두(bazazs)의 자연적인 특성을 고려하여 엑셀 2007을 이용하여 $p < 0.1$ 에서 유의차 분석을 하였다.

결과 및 고찰

Lipoxygenase 효소 활성

초고압 처리에 의한 국산 대두와 연해주 대두의 lipoxygenase 효소의 활성 변화를 각각 Fig. 2 및 3에 나타내었다. 초고압 처리한 대두에서 분리한 lipoxygenase의 효

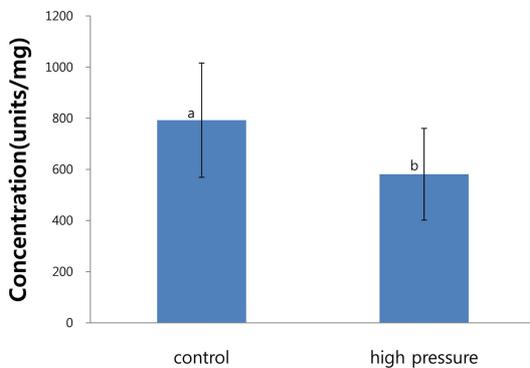


Fig. 2. Effect of high pressure treatment on the lipoxygenase activity of Korean soybean (Baektae). Values for a given fraction sharing the same superscript are not significantly different at $p < 0.1$.

소 활성이 처리하지 않은 콩에 비해 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 두 data가 유의미하게 차이를 나타내기 때문에 초고압 처리에 의해 lipoxygenase 효소의 활성이 감소하는 것으로 판단 되어졌다. Ludikhuyze et al.(1998)의 실험에서 초고압 처리에 의한 lipoxygenase 효소의 활성도가 감소되어 본 실험과 유사한 것을 볼 수 있었다. Katsaros et al.(2009)의 실험에서는 초고압 처리에 의해 식물의 단백질 분해효소 중 무화과 나무의 ficin과 파파야 열매의 papain 이 불활성 되는 것을 확인하였다. 이처럼 초고압 처리는 여러 효소에 작용하는 것을 알 수 있었다.

저장 실험

국산 대두의 저장실험 TBA값을 Fig. 3에 나타내었다. 15 일 이전에는 대두 지질의 산패 유도기간에 의해 값이 증가하지 않는 것을 볼 수 있었다. 15 일 이후에는 산패가 시작하여 TBA값이 증가하는 것을 볼 수 있었다. Liang &

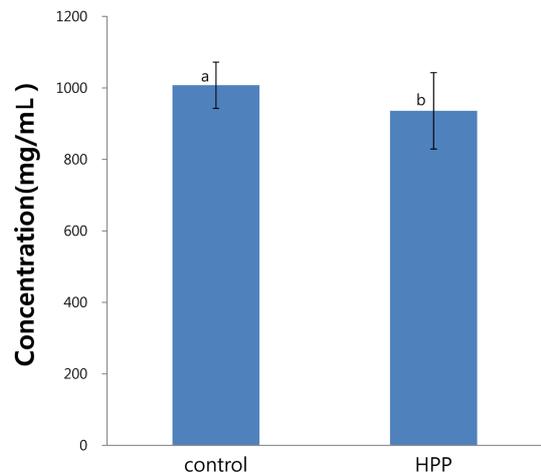


Fig. 3. Effect of high pressure treatment on the lipoxygenase activity of Yeonhaeju soybean (Bazaz). Values for a given fraction sharing the same superscript are not significantly different at $p < 0.1$.

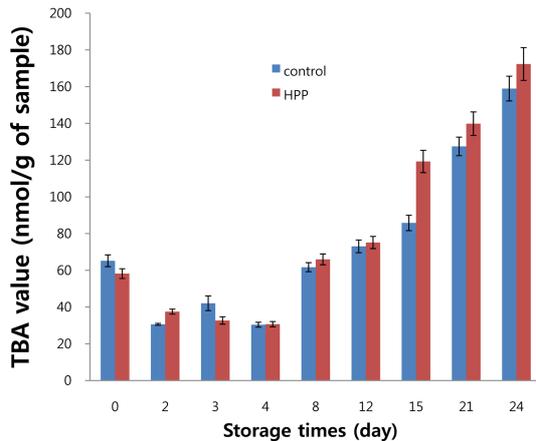


Fig. 4. Changes of TBA value of Korean soybean (Baektae) upon the high pressure treatment during storage.

Lin(2000)의 연구에서 역시 15-20 일 정도의 산패 유도기간이 확인되었다.

초고압 처리에 의해 대두 지질의 산패에 영향을 주는 lipoygenase 효소활성이 감소하였지만, 저장 실험 결과 초고압 처리하지 않은 TBA값 보다 초고압 처리한 TBA값이 높은 것을 확인할 수 있었다. 이는 TBA값에 영향을 미치는 lipoygenase 효소 이외의 다른 화학반응이 영향을 주어 초고압 처리를 하지 않은 대두와 처리한 대두의 TBA값이 같이 증가하는 것으로 생각 되어졌다.

연해주 대두의 저장실험 TBA값을 Fig. 4에 나타내었다. 연해주 대두의 TBA값 역시 15 일 이전에는 유도기간에 의해 변하지 않는 것을 확인할 수 있었다. 15 일 이후의 TBA값을 보면 초고압 처리에 의해 크게 감소하는 것을 확인할 수 있다. 연해주 대두의 결과와 국산 대두의 결과를 비교했을 때, 연해주 대두의 경우에는 내부의 다른 물질, 예를 들어 항산화 물질 등에 의해 TBA값이 감소되었을 것으로 예상 되어졌다.

항산화 성분 분석 결과

On-line ABTS⁺assay를 이용하여 항산화 성분을 분석한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. Retention time이 38.2와 40.1 min에서 발생한 두 개의 peak는 토코페롤의 이성질체를 나타내는 peak들로서 시료 중에 항산화 성분이 존재함을 나타낸다. 두 peak를 정량화하여 trolox equivalent(TE)값으로 환산 시 연해주대두의 TE는 0.0467과 0.069으로 국산 대두의 TE값인 0.0351과 0.0454에 비하여 33-48%의 항산화 성분이 많은 것을 알 수 있다. 이는 Fig. 4에서 나타난 연해주 콩의 저장 중 TBA값의 증가가 국산 콩의 증가에 비하여 낮은 이유는 LOX의 불활성과 함께 자동산화 등에 의하여 반응되는 산화과정을 연해주 콩 내부의 항산화성분이 지연시켜 주기 때문이라는 해석이 가능하다.

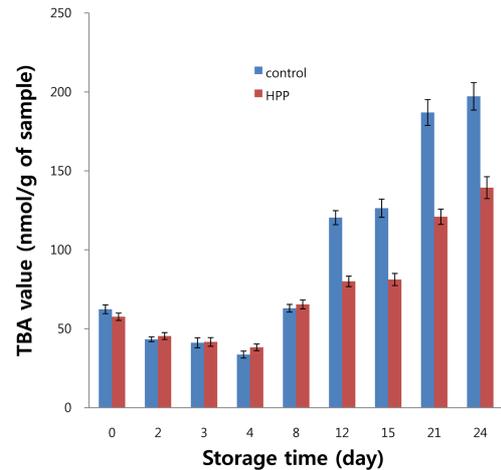


Fig. 5. Changes of TBA value of Yeonhaeju soybean (BAZAZ) upon the high pressure treatment during storage.

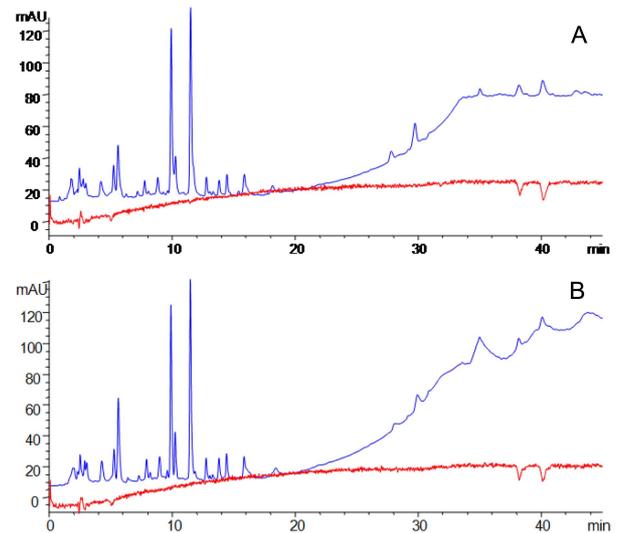


Fig. 6. Chromatogram of soybean compounds using the HPLC on-line ABTS⁺ screening method. A: Yunhaeju soybean (BAZAZ), B: Korean soybean (Baektae).

요 약

대두에서 산패취를 발생시키는 lipoygenase 효소를 비가열 전처리 방법인 초고압 처리 방법을 이용하여 효소의 활성도의 변화를 확인하였다. 연구 결과 초고압 처리에 의해 lipoygenase 효소의 활성도가 감소하는 것을 확인하였다. 또한 lipoygenase 효소의 활성도 감소에 의해 대두의 저장성에 미치는 영향을 확인하기 위해 국산 대두와 연해주 대두를 이용하여 저장 실험을 실시하였다. 실험 결과 국산 대두의 경우 초고압 처리에 의해 lipoygenase 효소의 활성도가 감소하였으나 TBA값에 영향을 주는 자동산화 등의 화학반응에 의해 TBA값이 지속적으로 증가함을 보여

주었다. 그러나 연해주 대두의 경우에는 초고압 처리를 한 시료의 TBA값의 증가정도가 상대적으로 낮게 측정된 것을 확인하였다. 이는 연해주 대두가 항산화 성분을 국산콩에 비하여 많이 포함하고 있어 초고압 처리에 의한 lipoxygenase 효소의 불활성과 함께 항산화 성분의 영향으로 TBA값의 저장 중 증가 정도가 낮게 측정된 것으로 판단되어진다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부, 강원도, 강릉시, 강릉과학산업진흥원의 연구개발사업으로 수행된 연구결과임

참고문헌

- Hong SI, Park WS, 1999. Effect of high hydrostatic pressures on biological systems. *Food Eng. Prog.* 3(3): 123-133.
- Jeong DH. 1999. *Science of soybean*. Daekwangseolim, Seoul, Korea.
- Jwa MG, Im SB, Mok CG, Park YS. 2003. Inactivation of microorganisms and enzymes in *Foxtail Millet Yakju* by high hydrostatic pressure treatment. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32(8): 1221-1226.
- Kim YJ, Park TI, Cho SK, Oh YJ, Kim TS, Kim JG. 2008. Effective screening methods for lipoxygenase isozymes in soybean seeds. *Korean J. Breed. Sci.* 40(1) : 26-30.
- Katsaros GI, Katapodis P, Taoukis PS. 2009. High hydrostatic pressure inactivation kinetics of the plant proteases ficin and papain. *J. Food Eng.* 91(1): 42-48.
- Lee GJ. 2008. Antioxidant activity analysis of catechin compounds in Korean green tea using HPLC On-Line ABTS+ antioxidant screening system. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 23(1): 96-100.
- Liang JH, Lin CC. 2000. Fluorescence kinetics of soybean flour oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* J9420(77): 709-713.
- Ludikhuyze LR, Van den Broeck I, Weemaes CA, Hendrickx ME. 1998. High pressure and thermal denaturation kinetics of soybean lipoxygenase: A study based on gel electrophoresis. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie.* 31(7-8): 680-686.
- Park KM. 1997. Studies on the lipid rancidity and rheology of yackwa during storage. *Korean J. Soc. Food Sci.* 13(5): 609-616.
- Riahi E, Ramaswamy HS. 2004. High pressure inactivation kinetics of amylase in apple juice. *J. Food Eng.* 64(2): 151-160.
- Wang R, Zhou X, Chen Z. 2008. High pressure inactivation of lipoxygenase in soy milk and crude soybean extract. *Food Chem.* 106(2): 603-611.