

두부비지를 이용한 박테리오신 생산

이명숙[†] · 이원재 · 김동수* · 박지현 · 강지희

부경대학교 미생물학과

*경성대학교 식품공학과

Production of the Bacteriocin from the Tofu-Residue

Myung-Suk Lee[†], Won-Jae Lee, Dong-Soo Kim*, Ji-Hyun Park and Ji-Hee Kang

Dept. of Microbiology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, KyoungSung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

Growth and bacteriocin production by *Lactobacillus* sp. GM7311 in tofu-residue treated with two commercial amylases were investigated. The optimal condition of amylase I (liquefied enzyme for sauce) and II (multienzyme 2,000) for the enzyme reaction was showed at pH 6.0 and 4.0, respectively. The optimal temperature was 40°C both. At the enzyme dosage 4% and 3% and reaction time 1hr, about 2% of reduced sugar needed bacteriocin production was obtained. The enzymatic treatment of tofu-residue enhanced bacteriocin production by lactic acid bacteria, particularly in the tofu-residues added 2.0% yeast extract. But, we couldn't see the increment of bacteriocin activity in the tofu-residues added other nitrogen sources such as proteose peptone No. 3 and lab lemco powder. Also, in the comparison of amylase I and II, bacteriocin activity in the tofu-residue treated with amylase I was better than that of amylase II.

Key words: tofu-residue, amylase, bacteriocin

서 론

두부 및 두유 제조 공정중 부산물로서 생성되는 비지는 많은 양의 수용성 물질이 제거된 상태이기는 하지만 인체에 필요한 중요한 영양성분은 상당량 잔존하고 있어, 비지의 건물량을 기준으로 할 때 약 50~60%의 탄수화물과 24~30%의 단백질, 그리고 지방과 회분이 각각 13~15% 및 4~5% 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(1). 그러나 수분이 약 80% 이상 함유되어 있어 매우 부패되기 쉽기 때문에 일부만이 동물 사료로 이용되고 있을 뿐 대부분 폐기처리되고 있는 실정으로 식품 산업 현장에서 생산원가 상승이나 환경 오염 측면에서 문제가 되고 있다.

비지를 이용한 연구로는 종래에는 주로 비지를 가공 식품의 증량제나 증미제로 이용하기 위한 전단계로서 건조 방법의 개발(2-4)이나 비지 중 식이섬유의 분리 및 이용(5) 등에 관한 연구가 진행되어 왔다. 그러나 최근에는 국내외적으로 *Aspergillus*나 *Fusarium* 등의 곰팡

이가 생산하는 효소를 이용하여 비지내의 생체 유용성분을 증가시켜 비지의 이용율을 높이고자 하는 연구(6,7)가 활발히 이루어지고 있으며, 최근에 Ohno 등(8)은 비지를 배지성분으로 사용하여 *Bacillus subtilis* NB22를 배양했을 때 이로부터 lipopeptide antibiotic인 Iturin A를 얻을 수 있었다고 보고하였고, Kim 등(9,10)도 *Aspergillus niger* CF-34로부터 두부비지 가용화 효소를 추출하여 그 특성을 밝힌 바 있다. 이와 같이 비지를 고기능성 물질로 전환시키기 위한 우선 과제는 비지내에 불용성 상태로 남아있는 영양성분들의 가용화 방법의 개발이며, 이를 해결하기 위해서 여러 가지 효소적 처리방법이 모색되고 있는데, 이는 반응조건이 기타 방법에 비해 비교적 안전하므로 식품공정이나 유용성 물질 추출을 위한 미생물 배양에의 응용이 용이하기 때문이다.

한편 젖산균이 생산하는 여러 가지 길항 물질 중 박테리오신은 대체적으로 항균 범위가 좁으나 몇몇 박테리오신의 경우는 비교적 광범위한 항균 범위를 가지고 있어 유제품 및 육제품과 사료제품의 저장성 향상에

[†]To whom all correspondence should be addressed

여할 수 있으며, *Listeria* 등의 food-borne pathogens의 제어에도 효과적인 것으로 알려져 있다(11-14). 또한 박테리오신은 천연적인 peptide성 저분자 물질로서 체내 흡수시 쉽게 분해되기 때문에 일반 항생물질이나 화학합성 보존제보다 안전성이 높은 것으로 평가받고 있어(15) 최근 증가 추세에 있는 천연성 방부제에 대한 소비자의 욕구에 잘 부합된다 할 수 있다.

본 연구에서는 두부 제조시 부생되는 비지의 효율적 이용의 일환으로 천연 항균성 물질인 박테리오신의 생산 가능성을 알아보기 위해, 시판 amylase로 비지의 당류를 분해하여 박테리오신을 생산하는 젖산균 배지로서의 이용 가능성을 연구하여 그 결과를 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 성분 분석

본 실험에 사용한 두부 비지는 (주)동화식품(부산시 소재)에서 두부 생산시 부산물로 얻어지는 것을 수집하여 -80°C의 동결고(REVCO, ULT 2586-7-D12)에 보관하면서 실험에 사용하였다. 비지의 일반 성분은 AOAC법(16)에 따라 측정하였으며, 효소 처리한 비지 상징액의 환원당은 Somogy-Nelson법(17)으로 측정하였다.

사용 효소 및 활성 측정

본 실험에 사용한 두 종류의 amylase는 (주)태평양에서 시판되고 있는 장유용 액화효소(amylase I이라 칭함)와 복합효소 2,000(amylase II라 칭함)을 구입하여 사용하였으며, Kim과 Sohn(10)의 방법을 변형하여 다음과 같이 활성을 측정하였다. 즉, 0.1N sodium phosphate buffer(pH 6.0)에 starch, pectin, polygalacturonic acid(PGA), xylan의 네 가지 기질을 1%가 되도록 조제한 후, 이 용액 1ml에 증류수를 이용하여 만든 1% 효소액 0.2ml를 가하여 55°C에서 50분간 반응시킨 다음 100°C에서 5분간 끓여 반응을 중지시킨다. 이후 Somogy-Nelson법을 이용하여 생성된 환원당을 측정하였으며, 각 amylase의 활성은 1분 동안 1μmole의 환원당을 생산할 수 있는 효소의 양을 1unit로 하였다.

효소의 최적 pH 및 반응온도

두 효소를 비지에 첨가했을 때 비지내에서의 효소 활성에 적합한 최적 pH 및 반응온도를 다음과 같이 조사하였다. 효소 처리를 위해 비지 10g을 증류수 190g과 혼합한 후 stomacher(STOMACHER 400, Seward, Sweden)를 이용하여 260 rpm에서 60초간 분쇄하여 비지 균질액을 만들어 이후의 실험에 사용하였다. 최적

pH를 선정하기 위해 비지 균질액을 효소별로 소정의 pH로 조정후, 효소를 비지 균질액에 사용된 비지량의 3%씩 첨가하여 40°C에서 1시간 반응시켰다. 반응 용액은 끓는 물에서 10분간 가열하여 실활시킨 후 환원당을 정량하였으며, 효소 처리 없이 pH만 조절하여 동일한 과정을 거친 비지 균질액을 대조구로 하여 최적 pH를 조사하였다. 최적 온도는 비지 용액을 각 효소에 따라 최적 pH로 조절후 반응온도를 각각 달리하면서 같은 방법으로 조사하였다.

젖산균의 생육과 박테리오신 생성

사용균주

실험에 사용한 젖산균주는 Lee 등(18)이 시판 유제품으로부터 분리한 박테리오신 생성균인 *Lactobacillus sp.* GM7311을 *Lactobacilli* MRS broth에 24시간 전 배양하여 사용하였다.

적정 효소량 및 적정 반응시간

먼저 *Lactobacillus sp.* GM7311이 박테리오신을 생성하는데 필요한 환원당량을 얻을 수 있는 적정 효소량과 반응시간을 조사하기 위해, 최적 pH와 최적 온도로 조절한 비지 균질액내의 비지량에 대해 효소량은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 8%로, 반응시간은 0, 1, 2, 3, 4, 5시간씩 조절하여 반응시킨 후 반응액의 환원당량을 측정하였다.

박테리오신 생산

이상의 실험에서 얻어진 각 효소별 최적 pH 및 반응온도와 적정 효소량 및 반응시간으로 처리한 비지 균질액은 박테리오신 생산을 조사하기 위해 pH 6.0으로 조절하여 100°C, 5분간 가열하여 살균한 다음, *Lactobacillus sp.* GM7311을 최종 농도 3.3×10^5 cfu/ml가 되도록 접종한 후 37°C에서 일정 시간 배양하면서 젖산균 수 및 pH의 변화와 박테리오신 활성을 측정하였다. 또한 박테리오신 생산을 증대시키는 조건을 찾기 위해 pH 6.0으로 조절한 효소처리액에 yeast extract 등의 질소원을 변화시키면서 박테리오신 생산을 관찰하였다. 이 때 젖산균수 측정은 APHA법(19)에 따랐으며, 박테리오신은 Lee 등(18)의 방법에 따라 젖산균 배양액을 원심분리(4,500×g, 30분)한 다음 그 상징액을 조 박테리오신으로 하여 실험에 사용하였으며, 항균력은 microdilution method(20)를 이용하여 조사하였다.

결과 및 고찰

비지의 일반성분과 효소 활성

AOAC법에 따라 측정된 비지의 일반성분은 수분

77.40%, 탄수화물 12.85%, 단백질 7.15%, 그리고 지방 1.74%였으며 회분은 0.86%이었다. Lee 등(21)은 비지의 일반성분을 조사했을 때, 87.77%의 수분과 5.80%의 탄수화물, 3.48%의 단백질 그리고 2.43%의 조지방이 분석되었다고 하였으며, Kim과 Sohn(10)은 수분과 탄수화물 및 단백질이 각각 83.40%, 7.76%, 5.44%라고 보고하였다. 이와 같이 비지내 성분들의 함량이 다소 차이를 나타내는 것은 대두의 품종 및 비지 회수 방법, 그리고 두부의 제조 공정의 차이에 기인한 것이라 볼 수 있다.

Starch, pectin, PGA, xylan의 네 가지 기질을 이용하여 amylase I과 amylase II의 효소활성을 측정한 결과는 Table 1에 나타내었다. 측정 결과 amylase I의 경우, starch 및 pectin에 대한 활성이 각각 8,100과 5,800 unit/g으로 나타났으며, PGA 및 xylan에 대한 활성은 없는 것으로 나타났다. 그러나 amylase II는 실험한 네 가지 기질 모두에 대해 고른 활성을 보이는 것으로 나타났다.

효소 반응 최적 pH와 온도

본 실험에서 사용한 두 효소의 최적 pH를 조사하기 위하여 pH를 변화시키면서 처리한 비지 균질액의 환원

당 함량과 이때 각 pH에 따른 효소의 활성을 측정하여 Table 2에 relative activity(RA, %)로 나타내었다. 이때 효소 처리를 하지 않은 비지 용액의 상징액내에 존재하는 환원당의 양은 약 2,200mg/L였으며, pH만 조절된 채 효소 처리없이 동일한 과정으로 실험한 비지 균질액을 대조구로 하여 강산이나 강알칼리에 의해 용출되는 환원당 값을 배제하였다. Amylase I으로 처리할 경우 비지 균질액의 환원당은 pH 6.0에서 약 17,824mg/L의 값을 보였으며 이때의 효소 활성은 약 5495.8 unit/g으로 최대값을 나타내었고, pH 5.0에서도 비교적 높은 활성을 가지는 것으로 나타났다. 이때 pH 2.0과 8.0, 9.0에서는 대조구에서도 상당히 높은 값을 나타내어(결과 미제시), 강산이나 강알칼리에 의한 영향을 알 수 있었다. Amylase II는 pH 4.0에서 최대활성을 나타내었다.

또한 비지의 가수분해에 필요한 각 효소의 최적 온도를 Table 3에 역시 환원당 함량과 효소의 활성으로 나타내었다. 이때 amylase I은 pH 6.0으로, amylase II는 pH 4.0으로 조절하여 실험하였다. 실험결과 효소의 종류에 관계없이 모두 40°C에서 최대 활성을 보였으며, 50°C에서도 대체적으로 높은 활성을 나타내었다.

젖산균 생육과 박테리오신의 생산

적정 효소량과 반응 시간

효소를 산업적으로 이용하는 경우에 있어서 효소의 사용량과 반응 시간은 최종 제품 생산 비용의 상당 부분을 차지하기 때문에 적정 효소량과 적정 반응 시간은 경제성 등을 고려할 때 매우 중요한 요인이다. 따라서 본 연구에서는 짧은 반응시간 내에 적은 효소량으로 *Lactobacillus sp.* GM7311이 박테리오신을 생성하는데 필요한 환원당량이 얻어지는 적정 효소량과 반응 시간을 조사하였으며, 이때 박테리오신 생산에 필요한 환

Table 1. Activity of amylase I and amylase II on various substrates

Substrate	Amylase I ¹⁾	Amylase II ²⁾
Starch	8,100 ³⁾	4,600
Pectin	5,800	5,000
Polygalacturonic acid	-	3,600
Xylan	-	6,400

¹⁾Amylase I: Liquefied enzyme for sauce

²⁾Amylase II: Multienzyme 2,000

³⁾Activity: $\mu\text{moles/min/g}$ of enzymes

Table 2. Effect of pH on the activity of the amylase I and amylase II in the tofu-residue

pH	Amylase I			Amylase II		
	Reduced sugar (mg/L)	Activity unit/g	RA(%) ¹⁾	Reduced sugar (mg/L)	Activity unit/g	RA(%)
2	3,728	1149.5	20.9	5,300	1247.3	27.7
3	9,324	2874.8	52.3	19,272	4461.0	98.9
4	12,852	3962.7	72.1	19,484	4510.3	100.0
5	14,716	4537.4	82.6	19,276	4462.0	98.9
6	17,824	5495.8	100.0	18,860	4365.8	96.8
7	13,884	4281.0	77.9	17,200	3981.5	88.3
8	13,676	4216.8	76.7	13,884	3214.0	71.3
9	14,508	4473.2	81.4	10,568	2446.3	54.2

¹⁾RA: Relative Activity

Enzyme reaction was performed under the condition of temp. 40°C and reaction time, 1hr. And enzyme was added to 3% of the tofu-residue in the homogenizing solution.

Table 3. Effect of temperature on the activity of the amylase I and amylase II in the tofu-residue

Temp.(°C)	Amylase I			Amylase II		
	Reduced sugar (mg/L)	Activity		Reduced sugar (mg/L)	Activity	
		unit/g	RA(%)		unit/g	RA(%)
20	19,292	5224.9	78.3	12,860	2467.5	55.0
30	20,744	5665.1	84.9	15,564	3091.8	69.0
40	24,060	6675.9	100	21,572	4483.3	100
50	23,440	6490.1	97.2	21,160	4387.5	97.9
60	21,780	5983.9	89.6	19,292	3958.3	88.3
80	14,112	3640.9	54.5	10,796	1991.8	44.4

Enzyme reaction was performed under the condition of pH 6.0(for amylase I)/pH 4.0(for amylase II) and reaction time, 1hr. And enzyme was added to 3% of the tofu-residue in the homogenizing solution.

원당량의 기준은 Lee 등(18)이 *Lactobacillus sp.* GM7311의 박테리오신 생성에 필요한 glucose(탄소원)의 양이 2~3%라고 보고한 것에 근거하여 동일한 값으로 정하였다.

먼저 적정 효소량 조사는 비지 용액을 각 효소별로 최적 pH와 최적 온도로 조절하여 실험하였다. Fig. 1에서 보듯이 amylase I은 비지 균질액 내의 비지량에 대해 첨가한 효소량이 증가할수록 용출되어 나오는 환원당의 양도 증가하였는데 환원당의 양이 20,000mg/L(2%)를 넘긴 4%를 적정 효소량으로 정하였으며, amylase II는 3% 농도로 첨가하였을 때 약 20,000mg/L 정도의 환원당을 얻을 수 있었다.

이상의 실험에서 얻어진 각 효소의 최적 pH와 온도 및 적정 효소량을 기준으로 하여 적정 반응시간을 알아

보기 위해 반응 시간별 환원당량을 조사하였다. 실험 결과(Fig. 2) 두 가지 효소 모두 초기 1시간까지의 반응에서는 환원당 함량이 급격히 증가하였으나, 이후로는 반응시간을 늘려도 성분 함량의 증가폭이 적은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Eriksen(22)이 실험한, 효소처리 시 전지 대부분의 hydrolysis 양상과 유사하였으며, Han과 Hwang(23), Cha와 Yoon(24)의 효소 처리에 의한 대두 단백질의 기능 특성 연구결과에서 보고된 반응시간별 가수분해 형태와도 유사한 결과를 보였다. 또한, Kim 등(9)은 *Aspergillus niger* CF-34로부터 추출한 효소를 이용하여 비지를 가용화시키는 실험에서 초기 1시간 반응에서 고형분의 약 47%가 용해되었고, 3시간 및 6시간 반응에서 각각 50%, 58%의 고형분 용해도를 나타내

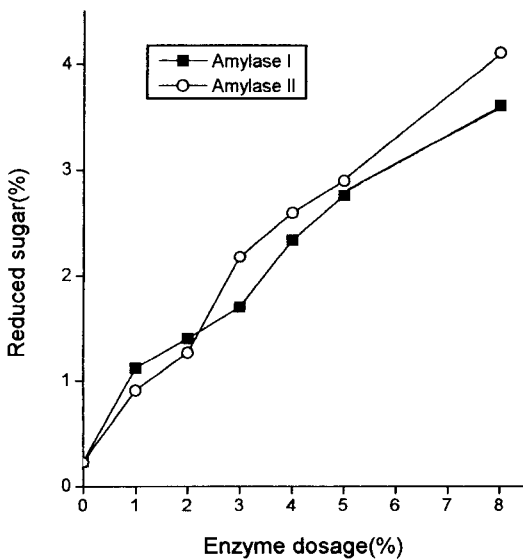


Fig. 1. Effect of enzyme dosage on production of reduced sugar of tofu-residue prepared to the optimal pH and temperature for enzyme reaction.

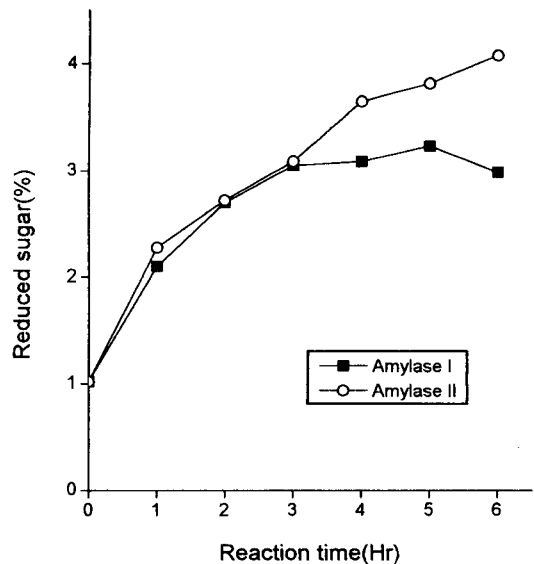


Fig. 2. Effect of reaction time on production of reduced sugar of tofu-residue prepared to the optimal pH, temperature and enzyme dosage for enzyme reaction.

었으며, 비지의 가수분해 특성은 일정량의 효소첨가로 반응시간이 증가함에 따라 단백질 및 가수분해도가 계속 증가하나 그 속도는 점차 감소되는 경향을 보이면서 가수분해의 포화현상이 관찰되었다고 하여 본 실험과 유사한 결과를 나타내었다. 본 실험에서는 두 효소 모두 환원당량이 역시 20,000mg/L를 넘긴 1시간을 적정 반응시간으로 하였다.

이상의 결과를 바탕으로 각 효소별 최적 pH 및 온도와 적정 효소량 및 반응시간으로 처리한 비지 균질액에 용출되어 나온 환원당의 양을 비교해보면, amylase I으로 처리할 경우 얻어지는 환원당량은 약 24,700mg/L였으며, amylase II에서는 약 21,200mg/L의 환원당을 얻을 수 있었는데, 이 때의 환원당량은 젖산균 생육에 충분하다고 판단되어 다음 실험을 계속 진행하였다.

박테리오신 생산

두 효소의 최적 반응 pH 및 온도와 적정 효소량 및 반응시간으로 비지 균질액을 효소처리하여 pH 6.0으로 조절한 후 여기에 *Lactobacillus sp.* GM7311을 접종하였다. 이때 pH를 6.0으로 조절한 이유는 Lee 등(18)이 *Lactobacillus sp.* GM7311의 박테리오신 생성에 필요한 최적 pH가 6.0이라고 보고한 바에 의한 것이다. 젖산균이 접종된 비지 균질액을 37°C에서 각각 24, 48, 72시간 배양하면서 pH 및 생균수의 변화, 그리고 박테리오신 활성을 측정된 결과는 다음과 같다.

먼저 효소 처리하지 않은 비지용액의 경우 젖산균이 생육하기는 하였으나 박테리오신 활성은 나타나지 않았으며(결과미제시), amylase I과 II로 처리한 비지 균질액에 *Lactobacillus sp.* GM7311을 접종하여 실험한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. pH는 실험한 두 가지 효소 모두 24시간째에 4.0 이하로 급격히 감소하였으며 이후로는 일정하게 유지되었다.

생균수의 경우는 24시간까지 급격한 증가를 보이다가 이후로는 큰 변화가 나타나지 않았으며, 박테리오신 활성 역시 24시간까지는 증가하였으나 이후로는 증가폭이 적었는데 이는 두 효소 모두 같은 경향을 나타내었다.

한편 Lee 등(18)은 *Lactobacilli* MRS broth를 이용하여 *Lactobacillus sp.* GM7311로부터 박테리오신이 생성되었다고 보고한 바 있는데, 이때의 박테리오신 활성은 농축하지 않은 원액의 경우 150 BU/ml의 활성을 나타내었으며, 배양 24시간만에 최대 활성에 도달하였다고 하였다. 그러나 본 실험에서 두부 비지를 이용하여 젖산균을 배양해서 얻은 박테리오신의 최대 활성은 약 15~20 BU/ml로서 대단히 낮은 수치를 나타내었다.

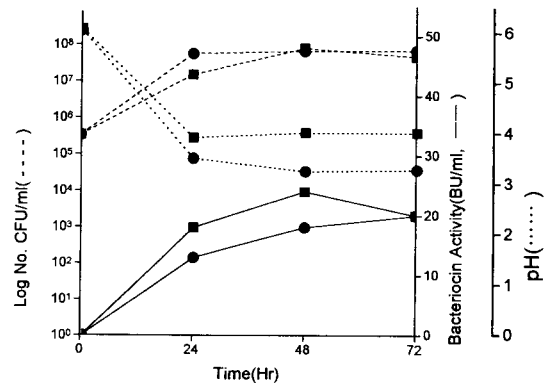


Fig. 3. Change of pH, cell number and activity of bacteriocin produced from *Lactobacillus sp.* GM7311 cultured in tofu-residue treated with amylase I (■) and amylase II (●).

이와 같이 박테리오신 생산이 저조한 것은 본 실험에 사용한 두 효소의 활성이 주로 amylase쪽에 주안을 둔 것임을 미루어 봤을 때 박테리오신의 생산에 영향을 끼치는 또다른 중요 인자인 질소원의 부족때문인 것으로 생각되어 이후 질소원 첨가에 따른 영향을 조사하였다.

우선 젖산균의 생육 및 대사과정에 필수적이라고 알려져 있는(25) yeast extract를 농도별로 첨가한 비지의 효소 처리액에 *Lactobacillus sp.* GM7311을 3.3×10^5 cfu/ml 접종하여 37°C, 24시간 배양하면서 균의 증식 및 박테리오신 생산 정도를 알아보았다. Table 4에서 보듯이 두 효소의 처리액 모두 yeast extract의 농도가 증가할수록 박테리오신 생산도 함께 증가하여 2.0%의 농도에서는 약 48~55 BU/ml의 활성을 얻을 수 있었는데, 이 값은 yeast extract가 첨가되지 않은 대조구에 비하여서는 약 1.5~2배 증가한 값이었다. 한편 proteose peptone No. 3와 lab lemco powder를 각각 2%씩, 그리고 proteose peptone No. 3와 lab lemco powder를 1%씩 혼합하여 첨가한 후 yeast extract와의 다른 질소원에 대한 영향을 알아보았으나 yeast extract보다 나은 효과를 볼 수는 없었다(Table 5). 또한 두 효소를 서로 비교하였을 경우 amylase I이 amylase II보다 높은 박테리오신 활성을 나타냈는데, 이는 Table 1에서 보듯이 amylase I의 starch 활성이 높아 본 실험에 사용된 *Lactobacillus sp.* GM7311이 박테리오신을 생성하는데 특히 필요한 glucose를 얻는 것이 더 용이했기 때문인 것으로 보인다.

이상과 같이 amylase로 처리된 두부 비지액에 적절한 질소원을 적정 농도로 첨가시킬 경우 박테리오신 생산이 증가함을 알 수 있었으며, 이때의 활성이 *Lactobacilli* MRS broth를 이용한 경우보다 낮은 값이라 하더라도 본 실험에 사용된 비지 용액은 그 자체가 20배 희

Table 4. Effect of yeast extract concentration on the production of bacteriocin by *Lactobacillus sp.* GM7311 in the enzymes treated tofu-residue

Yeast extract Conc.(%)	Amylase I			Amylase II		
	pH	Viable cell count (CFU/ml)	Bacteriocin activity (BU/ml)	pH	Viable cell count (CFU/ml)	Bacteriocin activity (BU/ml)
0	3.97	5.1×10^7	25.3	3.88	4.9×10^7	31.0
0.5	3.73	1.1×10^8	37.4	3.75	2.1×10^8	34.0
1.0	3.75	1.7×10^8	40.0	4.10	2.3×10^8	44.8
1.5	4.03	6.4×10^8	41.4	4.16	8.2×10^8	44.0
2.0	4.15	2.3×10^8	55.0	4.23	3.2×10^8	48.0

Table 5. Effect of various nitrogen source on the production of bacteriocin by *Lactobacillus sp.* GM7311 in the enzymes treated tofu-residue

Nitrogen source	Amylase I			Amylase II		
	pH	Viable cell count (CFU/ml)	Bacteriocin activity (BU/ml)	pH	Viable cell count (CFU/ml)	Bacteriocin activity (BU/ml)
Yeast extract ¹⁾	4.15	1.1×10^8	54.6	4.24	1.0×10^8	41.6
Proteose peptone	4.11	6.1×10^7	50.2	4.59	8.2×10^7	35.3
Lab lemco powder	4.40	8.0×10^7	50.4	4.59	4.9×10^7	36.1
Proteose peptone + Lab lemco powder ²⁾	4.37	2.3×10^8	50.0	4.50	1.6×10^8	35.2

¹⁾Concentration was 20g/L.

²⁾Concentration of the mixed nitrogen source was 10g + 10g/L.

석된 용액임을 고려했을 때 박테리오신 생산을 위한 두부 비지의 이용가능성은 경제적 측면에서 충분하다고 사료된다.

요 약

두유 및 두부 제조시 부수적으로 생산되는 비지를 산업적으로 이용하기 위한 목적의 일환으로 두 종류의 시판 amylase를 이용하여 비지내 다당류 성분을 분해한 후 여기에 젖산균을 배양하여 박테리오신 생산을 시도하였다. 우선 비지에 작용하는 두 효소의 최적 pH 및 반응온도를 조사하였으며, 이때 효소 처리시 두부 비지내 불용성 다당류 성분이 환원당으로 전환되는 것을 측정하였고, 그 결과 amylase I(장유용 액화효소)은 pH 6.0, 40°C에서 최적 활성을 나타냈으며, amylase II(복합효소 2,000)는 pH 4.0, 40°C에서 최적 활성을 나타내었다. 한편 *Lactobacillus sp.* GM7311의 박테리오신 생성에 필요하다고 보고되어진 2~3%의 환원당량을 얻을 수 있는 효소량은 amylase I의 경우 비지의 효소처리액 내의 비지량에 대한 4%였으며, amylase II는 3%였다. 또한 적정 반응시간은 두 효소 모두 1시간으로 나타났다. 이상에서 얻어진 효소별 최적 pH 및 온도와 적정 효소량 및 반응시간을 바탕으로 각 효소처리한 비지의 균질액에 *Lactobacillus sp.* GM7311을 배양했을 때 박

테리오신이 생산됨을 관찰할 수 있었으나 생산된 박테리오신의 활성은 극히 낮은 값을 나타내었다. 따라서 효소처리된 비지 균질액에 yeast extract 등의 질소원을 첨가시켜 본 결과 2.0%의 yeast extract 첨가는 박테리오신 활성을 현저하게 증가시키는 것을 관찰할 수 있어 박테리오신 생산을 위한 두부 비지의 이용 가능성을 높혀 주었다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 부경대학교 학술진흥재단의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Hackler, L. R., Hand, D. B., Steinkraus, K. H. and Van Buren, J. P.: A comparison of the nutritional value of protein from several soybean fractions. *J. Nutri.*, **80**, 205(1963)
- Chung, S. S., Chang, H. N. and Park, M. Y.: Dehydration of soybean residue by hot-air in conjunction with filter pressing. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **10**, 1(1978)
- Sohn, J. W. and Kim, W. J.: Some quality changes in soybean curd by addition of dried soymilk residue. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **17**, 522(1985)
- Sul, M. H.: Changes in quality of soybean curd residue

- during drying process and investigation of drying methods. *Master Thesis*, KyungSung University(1996)
5. Lee, W. J., Choi, M. R. and Sosulski, F. W. : Separation of tofu-residue(*biji*) into dietary fiber and protein fractions. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **24**, 1997(1992)
 6. Chung, S. H. and Park, K. H. : Preparation of plant cell wall lytic enzymes from *Fusarium moniliforme* and protoplast isolation from plant leaf and cell suspension cultures. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, **18**, 148(1990)
 7. Sharma, A. and Joseph, R. : Studies on the application of plant cell wall degrading enzymes from *Aspergillus terreus* and *Neurospora crassa*. *Biotechnol. Lett.*, **5**, 481(1983)
 8. Ohno, A., Ano, T. and 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 Biochemistry*, **31**, 801(1996)
 9. Kim, K. S., Park, E. H., Choi, Y. B., Kim, K. C., Lee, S. H. and Sohn, H. S. : Solubilization of tofu-residue using multienzyme derived from *Aspergillus niger* CF-34. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **26**, 484(1994)
 10. Kim, K. S. and Sohn, H. S. : Characterization of tofu-residue hydrolyzing carbohydrase isolated from *Aspergillus niger* CF-34. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **26**, 490(1994)
 11. Berry, E. D., Liewen, M. B., Mandigo, R. W. and Hutkins, R. W. : Inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin producing *Pediococcus* during the manufacture of fermented semidry sausage. *J. Food Prot.*, **53**, 194(1990)
 12. Harris, L. J., Daeschel, M. A., Stiles, M. E. and Klauenhammer, T. R. : Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *Inter. J. Food Microbiol.*, **52**, 3184(1989)
 13. Okereke, A. and Thomas, J. M. : Nisin dissipates the proton motive forces of the obligate anaerobe *Clostridium sporogenes* PA 3679. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2463(1992)
 14. Lewus, C. B., Kaiser, A. and Montville, T. J. : Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocin from lactic acid bacteria isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1683(1991)
 15. University of Gent, Belgium. : Bacteriocins of lactic acid bacteria microbiology, genetics and applications. Chapman & Hall, Glasgow, p.153(1994)
 16. AOAC : *Official methods of analysis*. 15th ed., Association of official chemists, Washington, D.C.(1990)
 17. Ju, H. K., Cho, H. K., Cho, H. Y., Park, C. K., Cho, K. S., Chae, S. K. and Ma, S. J. : *Food analysis*. Hak Mun Publishing Co., p.288(1996)
 18. Lee, M. S., Chang, D. S. and Kang, J. H. : Cultural conditions of *Lactobacillus sp.* GM7311 for the production of bacteriocin. *J. Korean Fish. Soc.*, **30**, 834(1997)
 19. APHA : *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3rd ed., p.80(1992)
 20. Toba, T., Samant, K. S. and Itoh, T. : Assay system for detecting bacteriocin in microdilution wells. *Lett. Appl. Microbiol.*, **13**, 102(1991)
 21. Lee, M. S., Kim, K. H. and Lee, G. J. : Microbiological studies and biochemical changes in fermenting soybean curd residue during fermentation. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **19**, 520(1987)
 22. Eriksen, S. : Application of enzyme in soy milk production to improved yield. *J. Food Sci.*, **48**, 445(1983)
 23. Han, J. S. and Hwang, I. K. : Effects of functional properties of soy protein isolate and qualities of soybean curd upon proteolytic hydrolysis. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **24**, 294(1992)
 24. Cha, M. H. and Yoon, S. : Modification of functional properties of soy protein isolate by proteolytic enzymes. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **25**, 39(1993)
 25. Rogers, A. H. : Effect of the medium on bacteriocin production among strains of *Streptococcus mutans*. *Appl. Microbiol.*, **24**, 294(1973)

(1998년 11월 16일 접수)