

Quality characteristics and antioxidant activity of tofu made from lipoxygenase-free genotypes

In-Sung Kim^{1,3}, Soo-Jung Lee^{1,3}, Hye-Jin Lee^{1,3}, Soo-Jeong Oh^{1,3}, Jong-Il Chung^{2,3}, Nak-Ju Sung^{1,3*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²Department of Agronomy, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

³Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Lipoxygenase 결여 콩 두부의 품질 특성 및 항산화 활성

김인성^{1,3} · 이수정^{1,3} · 이혜진^{1,3} · 오수정^{1,3} · 정종일^{2,3} · 성낙주^{1,3*}

¹경상대학교 식품영양학과, ²경상대학교 농학과, ³농업생명과학연구원

Abstract

The quality characteristics and antioxidant activity of three kinds of tofu made from lipoxygenase (LOX)-free genotypes soybeans were compared to the Taekwang (LOX-present) tofu as the control. The mineral contents of Jinyang tofu were significantly higher than those of the control. The hardness and gumminess of tofu made from LOX-free genotypes were significantly higher than those of the control. Gaechuck#2 tofu showed higher sensory evaluation results than the other kinds of tofu in terms of taste, flavor and overall acceptability. The total isoflavone contents were higher in the LOX-free genotypes than in the control. The total phenol content was similar for the Gaechuck#1, #2 and Taekwang tofu. The flavonoid content was higher in Gaechuck#1 and #2 tofu than in the control. The antioxidant activities were the highest in Gaechuck#1 tofu, followed by the Gaechuck#2. During the 15-day storage at 4°C, the turbidity of the immersing water tended to increase, but Gaechuck#1 and #2 tofu were significantly lower than in the control after 15-day storage. Therefore it is suggested that Gaechuck#2 tofu could be the suitable genotype for tofu products because it is the most effective in terms of overall acceptability, antioxidant activity, and storage stability.

Key words : tofu, lipoxygenase-free genotypes, isoflavone, antioxidant activity

서 론

콩은 양질의 단백질 식품으로 이소플라본, 사포닌, 안토시아닌 및 레시틴 등의 생리활성 물질의 함량이 높아 기능성 식품 소재로써 수요량이 증대되고 있다(1). 특히 현대인들은 일상생활 속에서 기능성이 우수한 식품을 선택하여 섭취하므로써 건강을 증진시키고자 하는 욕구가 높아지고 있는 경향이다. 이에 부합하여 국내의 콩 가공식품은 다양하게 개발되어 1인당 소비량이 계속해서 증가하고 있는

실정이나, 국내의 콩 자급도는 이와는 상반된 경향을 보이고 있다. 따라서 국내의 식용 수요를 맞추기 위해 수입되는 콩이 많으며, 이중 20% 정도가 non-GM(genetically modified)콩으로 수입되고 있어 품질 뿐만 아니라 영양학적 가치, 경제적인 측면에서 국내의 non-GM 콩의 자급 생산이 필요하다.

성숙된 콩에는 가공 후 영양 및 기능적인 면에서 품질을 저하시키고 알러지를 유발시키는 lipoxygenase(LOX), kunitz trypsin inhibitor(KTI), 7S α'-subunit 단백질, raffinose 및 stachyose와 같은 난소화성 당류 등이 다수 존재하고 있다. 특히 콩과 식물에 다량 함유되어 있는 LOX는 콩의 비린 맛에 관여하며, 식품의 색깔, 향미 및 항산화 활성을

*Corresponding author. E-mail : snakju@gnu.ac.kr
Phone : 82-55-772-1431, Fax : 82-55-772-1439

감퇴시키는 성분으로 알려져 있다(2). 또한 KTI 단백질은 콩 섭취 시 소화억제 등과 같은 영양학적 가치를 저하시키는 비영양 성분으로 간주되고 있으며, 7S α' -subunit 단백질은 알러지 유발물질로 알려져 있다(3). 원료 콩으로부터 이러한 성분들을 제거시켜 콩의 이용효율을 높이기 위해서 non-GM 콩의 육종에 대한 요구가 증대되고 있으며(4), 국내에서도 이미 LOX와 KTI 단백질이 결핍된 개척#1 및 개척#2 품종이 육종된 바 있다(4,5).

두부는 대표적인 콩의 비발효 가공식품으로 곡류 위주의 식생활에서 부족되기 쉬운 필수 아미노산, 무기질 등이 다량 함유되어 있으며, 열량과 포화지방 함량이 낮아 당뇨병 환자들에게도 권장되는 식품으로(6), 혈중 콜레스테롤 수준을 감소시켜 성인병 예방과 치료에 효과적인 것으로 알려져 있다(7). 또한 예로부터 곡류 위주의 식생활을 하는 우리나라 뿐만 아니라 중국, 일본 등지에서 섭취되어져 온 대표적인 식물성 단백질 식품으로써 값이 저렴하고 소화흡수율이 높아 간편하게 이용할 수 있는 식품으로 애용되어 왔다(8). 하지만 두부 제조에 있어 콩 품종은 두부의 수율과 품질에 중요한 요소로 작용하는데(9), 콩 품종에 따른 두부의 이화학적 특성(9-11)에 관한 연구는 보고된 바 있으나, 품질특성 및 생리활성에 대한 종합적인 연구는 의외로 적다.

따라서, non-GM의 LOX 결여 콩 품종을 이용하여 전통간장을 제조한 결과 일반콩에 비해 LOX 결여 콩이 생리활성 면에서 우수한 것을 확인하여(12), 본 연구에서는 LOX 결여 콩으로 두부를 제조하여 일반콩(태광)과 이화학적 특성 및 항산화 활성을 비교함으로써 LOX 결여 non-GM 콩의 두부 가공 적성에 대해 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험재료

콩은 경상대학교 농업생명과학대학 농학과에서 육종하여 생산된 non-GM 콩으로, LOX가 결여된 개척#1(LOX2, 3-free), 개척#2(LOX2,3-free) 및 진양(LOX1,2,3-free)과 LOX가 존재하는 태광(LOX1,2,3-present) 콩의 품종을 제공받았다. 개척#1은 검정콩이었으며, 그 외 품종은 모두 황색콩이었다(13).

두부의 제조

두부의 제조는 Yoo(10)의 방법에 따랐으며, 4종의 콩 각 1 kg에 대해 10배의 수도수를 가하여 12~15시간 실온에서 침지시킨 다음 불린 콩에 대해 물 3 L를 넣고 마쇄하여 여과하였다. 얻어진 두유는 95~100°C에서 가열한 후 82~85°C로 식힌 다음 응고제로써 침침수(14)를 8~10 mL 첨가하여 5분간 고르게 저어준 다음 정치시켜 curd가 형성되도록

하였다. 이를 두부틀(12×10×10 cm)에 붓고 누름틀(1 kg)로 20분간 압착한 후 찬물에 담가 두부를 냉각시켰다(20분). 완성된 두부는 증류수에 10분간 담군 후 plastic trap 용기(15×12×6 cm)에 넣고 증류수를 충전하여 PE 필름으로 가열 밀봉하였다.

두부의 저장 및 추출물의 제조

PE 필름으로 포장된 두부는 4°C에서 15일간 저장하였으며, 저장기간 3, 6, 9, 12 및 15일에 시료를 각각 채취하여 분석용 시료로 사용하였다.

두부의 항산화 활성을 측정하기 위하여 두부의 제조 직후 동결건조시켜 분말화하여 80% 메탄올로 추출한 다음 추출물의 농도를 25, 50, 100 및 200 mg/mL가 되도록 조정하였다.

일반성분 분석

두부의 일반성분은 AOAC법(15)에 따라 수분 함량은 105°C 상압가열 건조법, 회분은 550°C 직접회화법, 조지방은 soxhlet법 및 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법으로 분석하였다. 탄수화물의 함량은 100에서 수분, 회분, 조지방 및 조단백질 함량을 뺀 값으로 계산하였다.

무기물 정량

두부의 무기물은 분해용 플라스크에 일정량의 시료를 취하여 진한 황산과 질산을 각각 10 mL씩 차례로 가한 다음 hot plate상에서 무색으로 변할 때까지 분해하여 100 mL로 정용·여과한 후 Inductively Coupled Plasma(ICP, Optima 3300 DV, Perkin-Elmer Co., NY, USA)로 분석하였다. 이때, RF generator는 27.12 MHz, RF power는 1,300 W, Plasma argon 15 L/min, auxiliary argon flow rate 0.5 L/min, nebulizer argon flow rate 0.8 L/min, sample up take는 1.5 mL/min으로 하였다.

조직감 측정

두부는 일정한 크기(1×1×1 cm)로 자른 후 texture meter(TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., England)로 측정하였다. 경도(hardness), 점착성(adhesiveness), 탄력성(springiness), 검성(gumminess), 응집성(cohesiveness), 복원성(resilience)을 10회 이상 측정하여 평균±표준편차로 나타내었다. 분석 조건으로 probe는 50 mm stainless cylinder를 사용하였으며, pre-test speed 1.0 mm/s, test speed 1.0 mm/s, post-test speed 1.0 mm/s, trigger force 1.0 g, test distance 4 mm로 하였다.

관능평가

관능평가는 두부를 완성하여 3시간 경과 후 두부의 내부 온도가 실온으로 되었을 때, 식품영양학과 학부생 및 대학

원생 20명을 대상으로 하여 두부의 표면색, 맛(구수한 맛), 풍미, 질감 및 종합적인 기호도에 대해 5점 척도법으로 평가하였으며, 색깔이 진하고, 맛과 풍미가 우수하고 질감이 부드러우며 종합적인 기호도가 좋을수록 높은 점수를 부여하도록 하였다. 각 시료는 난수표로 작성되어 제공하였으며, 물로 입안을 충분히 헹군 후에 다음 시료의 평가가 이루어지도록 하였다.

이소플라본 정량

동결건조된 두부 시료 2 g에 80% 메탄올 20 mL를 가하여 30분간 추출한 후 원심분리시켜(1,000 rpm, 10 min) 얻은 상층액을 0.2 µm syringe filter로 여과하여 HPLC(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 이때 칼럼은 YMC C₁₈(5 µm, 4.6×250 mm), 254 nm에서 UV-detector를 사용하였으며, 이동상 용매로는 0.1% acetic acid in water(A)와 0.1% acetic acid in acetonitrile(B)를 사용하여 0~5분(10%, B), 5~70분(70%, B), 70~72분(98%, B), 72~80분(98%, B)의 조건에서 분석하였다. 이때 유속은 0.8 mL/min, 시료 주입량은 20 µL였다. 이소플라본의 표준물질은 daidzein, genistein, daidzin, genistin 및 glystin 5종을 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, dimethylsulfoxide에 용해하여 HPLC chromatogram에서 retention time의 비교로 동정하였으며, peak area의 실측치와 표준물질의 농도간 계산에 의해 이소플라본의 함량을 산출하였다.

총 페놀 및 플라보노이드 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(16)에 따라 두부 동결건조 분말의 메탄올 추출물 1 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 및 10% Na₂CO₃용액을 각각 1 mL씩 차례로 가하여 실온의 암실에서 1시간 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma Co.)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 총 페놀 함량을 계산하였다.

플라보노이드 함량은 Moreno 등(17)의 방법에 따라 두부의 추출물 1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온의 암실에서 40분간 반응시킨 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma Co.)을 표준물질로 하여 얻은 표준 검량선에 의해 플라보노이드 함량을 계산하였다.

항산화 활성 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거활성은 DPPH에 대한 전자공여 활성으로 나타내었다. 즉, 일정농도로 조정된 두부 추출물과 0.005%의 DPPH 용액을 동량으로 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도

를 측정하였다(18).

2,2'-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonate)(ABTS) 라디칼 소거활성은 7 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시켰다. 이를 415 nm에서 흡광도 값이 약 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 기질 용액 3 mL에 두부 추출물 1 mL를 가하여 실온에서 5분간 반응시켜 흡광도를 측정하였다(19). DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

환원력은 두부 추출물 1 mL에 200 mM phosphate buffer(pH 6.6) 및 1% potassium ferricyanide를 각각 1 mL씩 차례로 가하여 교반한 후 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 1 mL를 가하여 5,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액 1 mL에 증류수 및 0.1% ferric chloride를 각각 1 mL씩 차례로 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값으로 시료의 환원력을 나타내었다(20).

저장 중 두부 침지액의 탁도 측정

두부 침지액의 탁도는 두부를 4°C에서 저장하는 동안 일정기간(3, 6, 9, 12 및 15일)에 침지액을 회수하여 여과한(Whatman No. 6) 후 증류수를 대조로 하여 분광광도계로 600 nm에서 측정하였다. 탁도는 흡광도 값으로 나타내었다.

통계분석

각 실험은 반복실험을 통하여 결과를 얻었고 SPSS(12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 통계처리 하였으며, 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 p < 0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

두부의 일반성분 함량

LOX 결여된 non-GM 콩으로 제조한 두부의 일반성분을 일반콩(태광)을 대조로 비교한 결과는 Table 1과 같다. 두부의 수분 함량은 72.14~76.56%였으며, 개척#2 두부가 유의적으로 낮았으나 시료간에 대차는 아니었다. 회분 함량은 1.11~1.42%로 시료간에 유의차가 없었다. 조지방 함량은 개척#2 두부가 태광 두부와 비슷한 함량이었으나, 이에 반해 개척#1 두부와 진양 두부는 대조구보다 유의적으로 낮았다. 조단백질 함량은 개척#1 두부가 가장 높았으나, 시료간에 차이가 작았다. 탄수화물 함량은 개척#2 두부가 7.91%로 타 시료(3.31~4.50%)에 비해 유의적으로 높았는데, 이는 개척#2 두부의 수분 함량이 타 시료에 비해 작았던 것에

대한 상대적인 차이라 여겨진다. 두부의 건물량으로 볼 때 조지방 함량은 태광 콩에서 가장 높았으며, 조단백질은 개척#2 두부에서 가장 낮은 수준이었다.

국내에서 생산된 두부 제조용 콩으로 만든 두부의 수분 함량은 70.00~72.43%였으며(10), 17종의 콩을 사용하여 각각 제조한 두부의 수분 함량은 75.02~82.00%였다는 보고가 있으며(9), 단단한 두부의 수분 함량은 75~79%이며, 부드러운 두부의 수분 함량은 82~88%였다고 보고되어 있다(21). 또한 두부의 수분 함량이 콩 단백질의 무기성분과 결합력에 의한 결합 강도 및 결합 시간의 차이가 두부의 보수력에 영향을 주었기 때문이라는 보고도 있다(11). 더욱이 원료 콩의 수분함량이 10.83~11.78%로 시료간에 함량차가 미미한 것으로 보아(13) 두부의 수분 함량은 제조공정에 의한 영향이 주요 요인일 것으로 생각된다.

Table 1. Proximate composition of tofu made from different soybean cultivars

Proximate composition	Tofu			
	Taekwang	Gaechuck#1	Gaechuck#2	Jinyang
Moisture (%)	76.56±1.10 ^B	74.81±1.63 ^B	72.14±1.61 ^A	75.66±1.05 ^B
Ash (%)	1.11±0.05 ^{NS} (4.74±0.19) [*]	1.42±0.09 (5.65±0.36)	1.36±0.16 (4.88±0.59)	1.41±0.31 (5.80±1.27)
Crude lipid (%)	7.20±0.16 ^C (30.70±0.66)	6.66±0.23 ^B (26.44±0.90)	7.04±0.07 ^C (25.28±0.26)	6.24±0.19 ^A (25.61±0.77)
Crude protein (%)	11.83±0.78 ^{AB} (50.47±3.32)	12.69±0.08 ^B (50.36±0.30)	11.55±0.28 ^A (41.47±1.01)	12.19±0.48 ^{AB} (50.08±2.00)
Carbohydrate (%)	3.31±1.72 ^A (14.12±7.37)	4.42±1.31 ^A (17.55±5.19)	7.91±1.46 ^B (28.38±5.24)	4.50±1.13 ^A (18.51±4.65)

All values are mean±SD (n=3).

^{*}Values are calculated as dry base.

^{A,C}Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

NS: not significant

Carbohydrate=100-(moisture+ash+crude lipids+crude protein).

품종 및 산지를 달리한 콩으로 제조한 두부에서 회분 함량은 0.71~1.12%(22), 0.90~1.09%(9) 범위였는데, 본 연구 결과는 이보다 다소 높은 함량이었다. 한편 14품종의 콩으로 제조한 두부의 조지방 및 조단백질 함량은 각각 2.66~9.58% 및 1.80~13.71%의 범위로 품종간에 차이가 크나, 원료 콩과 두부의 조단백질 함량과의 상관관계는 0.8로써 비교적 높은 관련성을 보인다고 보고되어 있다(9). 본 연구에 사용된 원료 콩의 단백질 함량은 건물량 기준 36.93~39.33%(13)로 시료간에 유사하였으며 이는 두부 제조 시에도 동일한 경향이였다. 더욱이 LOX 결여 콩의 조지방 함량은 일반콩에 비해 유의적으로 낮았는데(13), 이 또한 본 연구에서 두부로 제조하였을 때도 동일한 경향을 보이는 것으로 나타났다. 따라서 콩 품종에 따른 두부의 성분 차이는 두부 제조과정상의 차이를 배제할 수는 없으나, 원료 콩의 성분도 관여할 것으로 판단된다.

무기물 함량

LOX 결여 콩으로 제조한 두부에서 무기물 함량은 Table 2와 같다. 두부 중 무기물은 9종이 검출되었으며, 총 함량은 진양 두부에서 가장 높은 함량이었다. 개척#2 두부는 648.27 mg/100 g으로 대조구(731.64 mg/100 g)에 비해 유의적으로 낮았으며, 개척#1 두부는 대조구와 유의차를 보이지 않았다. 무기물 성분으로는 K의 함량이 가장 높았으며, 다음으로 P, Ca의 순이었다. Na는 83.11~110.07 mg/100 g으로 Mg 함량(67.36~92.93 mg/100 g)과 비슷한 수준이었으며, 그 외 무기물은 20 mg/100 g이하였다. 두부 중 Ca과 P의 함량을 비교해 보면, 개척#2 두부에서 Ca:P의 비율이 1:1이었으며, 그 외 두부는 모두 인(P)의 함량이 더 높았다.

해양 심층수를 응고제로 사용한 두부는 K의 함량이 가장 높으며 표층, 중층 심층수를 사용한 두부에서 Mg, Ca 및 Na의 함량이 비슷하였으나, 저층 심층수를 사용한 두부는 Na의 함량이 훨씬 낮은 경향이며 심층수를 사용한 두부는 화학적 응고제를 사용한 두부에 비해 중금속의 검출이 상당히 낮아 안전성이 높은 것으로 평가된 바 있다(6). 두부 제조 시 상업적인 화학적 응고제인 magnesium chloride를 사용한 두부는 Mg의 함량이 가장 많으며, 다음으로 K, Ca, Na의 순이라고 보고된 바 있으며(23), calcium sulfate를 사용하여 제조한 두부는 Ca의 함량이 K보다 훨씬 높은 것으로 보고되어 있다(6). 따라서 두부의 무기물 중 K 함량이 가장 높았던 것은 해양 심층수의 사용에 기인된 결과라 생각된다. 한편, 개척#2와 진양 콩으로 제조한 재래식 간장의 무기물 함량 비교에서 개척#2 간장 < 태광 간장 < 진양 간장의 순이었다는 보고(12)로 볼 때 본 연구에서 LOX 결여 콩으로 제조한 두부의 무기물 함량도 상기 보고와 일치하는 경향으로 두부의 무기물 함량 차이는 원료 콩에 의한 영향일 것으로 사료된다.

Table 2. Mineral content of tofu made from different cultivars

Mineral	Tofu			
	Taekwang	Gaechuck#1	Gaechuck#2	Jinyang
K (mg/100 g)	250.72±1.83	280.72±4.95	261.83±2.25	304.39±5.29
Ca (mg/100 g)	120.29±0.59	119.15±0.85	103.35±1.34	135.03±1.29
Mg (mg/100 g)	80.49±0.69	83.80±1.06	67.36±0.40	92.93±1.43
Na (mg/100 g)	104.74±2.18	83.11±2.35	95.59±1.38	110.07±3.34
P (mg/100 g)	155.56±0.73	153.84±2.14	104.78±1.95	150.49±0.83
Fe (mg/100 g)	17.38±0.07	13.44±0.21	13.81±0.04	15.71±0.13
Mn (mg/100 g)	0.63±0	0.59±0.01	0.40±0	0.72±0
Al (mg/100 g)	1.81±0.03	1.10±0.04	1.12±0.02	2.76±0.01
Se (mg/100 g)	0.03±0.01	0.05±0.02	0.03±0.01	0.03±0.01
Total (mg/100 g)	731.64±4.00 ^B	735.81±9.69 ^B	648.27±3.03 ^A	812.12±10.70 ^C

All values are mean±SD (n=3).

^{A,C}Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

조직감

태광 및 LOX 결여 콩으로 제조한 두부의 조직감은 Table 3에 나타낸 바와 같이 경도(hardness) 및 검성(gumminess)은 태광 두부에 비해 LOX 결여 콩으로 만든 3종의 두부에서 유의적으로 높았다. 접착성(adhesiveness)은 태광 두부에 비해 개척#1 두부가 높았고 개척#2 및 진양 두부에서 낮은 값이었다. 탄력성(springiness) 및 응집성(cohesiveness)은 태광 두부가 유의적으로 높았으나, 시료간에 차이는 작았다. 복원성(resilience)은 진양 두부가 유의적으로 낮았으나, 시료 간에 대차는 아니었다.

두부의 검성은 경도와 응집성에 의해 결정되는데, 두부의 응집성이 시료간에 대차를 보이지 않아 두부의 검성은 경도와 유사한 경향이었던 Shih 등(24)의 보고와 일치하는 결과였다. 반면에 두부의 경도는 수율과 상반된 관계를 가진다는 보고가 있는데(25), 본 연구에서 진양 두부의 경우 수율이 가장 낮았으며(13) 경도가 가장 높아 상기 보고와 일치하는 경향이었으나, 개척#1 및 #2두부의 경우에는 경도가 비슷하였으나 수율은 개척#2 두부가 유의적으로 높았으며(13), 태광 두부는 경도는 낮았으나 수율은 높아 콩의 품종에 따라 상이한 결과를 보였다.

두부의 견고성은 두유 중의 고형분 함량, 응고제의 종류 및 양, 원료의 수분, 단백질 함량 및 성분 조성 등에 따라 상이하다고 보고되어 있으며(26), 두부의 단백질 질 형성은 단백질과 단백질, 단백질과 용매 간의 인력에 의존하여 단백질의 3차원 망에 의해 물이 함유되어짐으로써 탄력성을 띄게 되는데 두부 제조 시 빠른 응고는 단단한 두부의 형성과 이수현상으로 두부의 조직감에 영향을 끼치는 것으로 보고되어 있다(27). 따라서 본 연구에서 두부의 조직감은 제조공정 및 콩 단백질 성분 등에 따른 차이일 것으로 사료된다(11). 하지만, LOX 결여 콩으로 만든 두부는 일반콩 두부와 비교 시 경도가 다소 클 뿐 그 외의 조직감에서는 대차를 보이지 않아 기계적인 조직감의 차이가 두부의 기호성에 두드러진 영향을 주지는 않을 것으로 짐작된다.

Table 3. Texture characteristics of tofu made from different soybean cultivars

Texture characteristics	Tofu			
	Taekwang	Gaechuck#1	Gaechuck#2	Jinyang
Hardness (g/cm ²)	79.81±4.29 ^A	118.88±11.32 ^B	123.21±16.68 ^B	144.00±16.64 ^C
Adhesiveness (g·sec)	-8.64±1.57 ^C	-3.24±0.58 ^D	-12.21±1.62 ^B	-13.83±0.52 ^A
Springiness (%)	0.95±0.02 ^B	0.93±0.02 ^A	0.92±0.02 ^A	0.93±0.01 ^A
Gumminess (g)	65.06±2.87 ^A	93.60±7.88 ^B	96.98±7.63 ^B	105.96±13.20 ^C
Cohesiveness (%)	0.82±0.02 ^C	0.79±0.03 ^B	0.79±0.03 ^B	0.74±0.02 ^A
Resilience (%)	0.44±0.02 ^B	0.44±0.02 ^B	0.43±0.03 ^B	0.37±0.02 ^A

All values are mean±SD (n=5).
^{A-D}Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

관능평가

태광 및 LOX 결여 콩으로 제조한 두부의 관능평가 결과는 Fig. 1과 같다. 두부의 표면색(color)은 검정콩으로 제조한 개척#1 두부가 가장 진하였고, 다음으로 개척#2 두부였으며, 진양 및 태광 두부는 유의차가 없었다. 이는 개척#2 콩의 특성상 배아 부위에 존재하는 검은색 줄에 의한 영향으로 태광이나 진양 콩과 같은 황색종임에도 불구하고 두부의 색이 다소 진하게 평가된 것으로 사료된다. 두부의 맛은 구수한 맛으로 평가되었는데, 개척#1에 비해 개척#2 및 진양 두부가 유의적으로 높게 평가되었다. 풍미는 대조구에 비해 개척#1 및 #2 두부에서 다소 높았으며, 진양 두부가 대조구에 비해 낮은 것으로 인지되었으나, 통계적인 유의차는 작았다. 조직감은 두부의 부드러운 정도에 대한 평가로 경도가 낮았던 태광 두부에서 가장 부드러웠으며, 이에 반해 LOX 결여 콩 두부가 다소 단단한 것으로 평가되었으나, 3종의 두부간에 통계적인 유의차는 작았다. 두부의 전체적인 기호도는 시료간에 유의차가 없었으나, 개척#2 두부가 다소 높은 경향이였다.

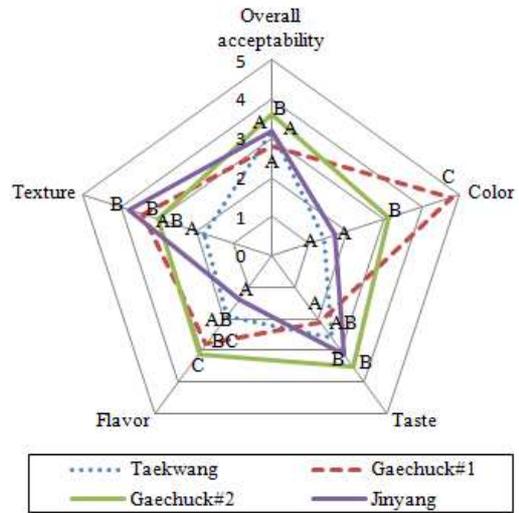


Fig. 1. Sensory characteristics of tofu made from different cultivars.

All values are mean (n=20).
^{A-C}Means with different superscripts in the different samples are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

콩 품종을 달리한 두부는 맛과 냄새 측면에서 시판 두부와 유의차가 없었다고 보고되어 있다(9). 두부의 맛은 주로 고소한 맛과 밀접한 관계가 있고, 원료 콩의 조단백질과 지방 함량이 높을수록 고소한 맛이 좋은 것으로 평가되며, 경도와 탄성이 높은 두부에서 전체적인 기호도가 높았다는 보고도 있다(10). Lee 등(13)의 연구에서 개척#2 및 진양 콩은 단백질 함량이 높았기 때문에 이들을 사용한 개척#2 및 진양 두부는 본 연구에서 구수한 맛이 좋은 것으로 평가되어 상기 보고와 유사하였다. 더욱이 개척#2와 진양 두부는 LOX 결여로 인해 비린내가 작아짐에 따라 담백하고

구수한 맛이 상승된 것으로 여겨진다. 따라서 LOX 결여 콩으로 제조한 두부는 일반콩 두부에 비해 조직감이 좋고 맛이나 풍미 측면에서 손색이 없어 두부 제조에 적합한 것으로 판단된다.

이소플라본 함량

LOX 결여 콩으로 제조한 두부의 이소플라본 함량을 분석한 결과는 Table 4에 나타난 바와 같이 7종이 동정되었다. 이소플라본의 총 함량은 태광 두부에 비해 LOX가 결여된 3종의 콩으로 만든 두부에서 높았는데 특히, 태광 두부에 비해 개척#1과 진양 두부가 유의적으로 높았으며, 개척#2 두부는 유의차가 없었다. 이소플라본 함량은 malonylgenistin의 함량이 가장 높았으며, 다음으로 malonyldaidzin이었으며, 그 외 이소플라본은 50 µg/g 이하였다. 검출된 5종의 배당체 중 glycitin의 함량이 5 µg/g 미만으로 가장 낮았으나, 이 또한 대조구보다 개척#1 두부에서 유의적으로 높은 수준이었다. Aglycon인 daidzein과 genistein의 함량은 대조구에 비해 개척#1 두부는 유의차를 보이지 않았으나, 개척#2 및 진양 두부는 유의적으로 높은 함량으로 특히 진양 두부는 태광 두부에 비해 약 1.7~1.8배 높은 수준이었다.

본 실험에서 두부의 이소플라본 함량은 전보(13)에서 보고한 원료 콩의 이소플라본 함량에 비해 태광 두부는 66.4%, 개척#1 두부는 60.1%, 개척#2 두부는 65.6% 및 진양 두부는 71.0% 감소된 결과를 보였다. 이는 산지를 달리한 대두로 제조한 두부에서 이소플라본 함량이 침지, 가열, 여과, 응고 등의 두부 제조 과정에서 67% 정도 손실되었다는 보고(28)와 유사한 결과였으며, 두부 제조과정 중 이소플라본 함량이 다소 감소되기는 하나, 원료 콩의 특성이 두부에 나타난다는 보고(22)와도 일치하는 결과였다. 한편 흑태로 만든 두부의 이소플라본 함량은 백태 두부에 비해 1.6배 높은 것으로 보고된 바 있는데(29), 본 연구에서도 LOX-2,3이 결여된 검정콩(개척#1) 두부가 황색콩(개척#2) 두부에

Table 4. Isoflavone contents of tofu made from different soybean cultivars

Isoflavone	Tofu	Taekwang	Gaechuck#1	Gaechuck#2	Jinyang
Daidzin (µg/g)		20.42±0.38 ^A	28.06±1.94 ^B	19.96±0.82 ^A	20.29±0.19 ^A
Genistin (µg/g)		36.21±2.08 ^A	45.05±3.73 ^B	33.81±2.44 ^A	36.61±2.39 ^A
Glycitin (µg/g)		3.53±0.12 ^B	4.72±0.19 ^D	4.33±0.07 ^C	2.00±0.09 ^A
Malonyldaidzin (µg/g)		139.61±12.46 ^A	244.84±27.42 ^B	153.72±13.24 ^A	154.26±16.12 ^A
Malonylgenistin (µg/g)		188.48±8.31 ^A	334.17±19.82 ^C	194.88±12.32 ^A	240.76±13.05 ^B
Daidzein (µg/g)		6.66±0.19 ^A	6.11±0.55 ^A	7.45±0.24 ^B	12.58±0.51 ^C
Genistein (µg/g)		6.98±0.01 ^B	6.25±0.07 ^A	7.56±0.06 ^C	13.69±0.14 ^D
Total (µg/g)		401.88±18.57 ^A	669.19±41.15 ^C	421.73±22.54 ^A	480.19±26.93 ^B

All values are mean±SD (n=3).

^{A-D}Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

비해 1.4배 정도 이소플라본 함량이 높아 상기 보고와 유사한 경향이었으며, 이는 개척#1(검정콩)의 종피로부터 유래된 페놀화합물 함량에 기인된 것으로 사료된다.

원료 콩의 이소플라본은 daidzin과 genistin보다 이들의 malonyl isomer인 malonyldaidzin과 malonylgenistin의 함량이 더 높았는데(13), 두부에서도 malonyl isomer의 함량이 높아 이들 물질이 물에 대한 용해도가 높고 열에 의해 분해되기 쉽기 때문(28)인 것으로 생각된다. 또한 두부 제조시 aglycon의 함량 감소는 원료 콩의 침지에 의한 결과이며 특히 가열 과정은 daidzein의 감소에 유의적인 것으로 보고되어 있다(30). 따라서 개척#1 및 개척#2 콩은 대조구에 비해 두부 제조시 이소플라본 함량이 작아 두부 가공에 효과적이라고 판단된다.

총 페놀 및 플라보노이드 함량

태광 및 LOX 결여 콩으로 제조한 두부의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 Table 5와 같다. 총 페놀 함량은 태광 두부에 비해 개척#1 두부가 유의적으로 높았으며, 개척#2 두부는 유의적으로 낮은 함량이었으나, 이들 3종의 시료간에 함량 차이는 작았다. 플라보노이드 함량은 개척#1 및 개척#2 두부가 태광 두부보다 유의적으로 높은 함량이었으나, 특히 대조구에 비해 개척#1 두부는 2.6배, 개척#2 두부는 1.4배 높은 수준이었다.

Table 5. Total phenol and flavonoid contents of tofu made from different soybean cultivars

Tofu	Total phenol (mg/100 g)	Flavonoid (mg/100 g)
Taekwang	53.80±0.78 ^C	1.81±0.22 ^B
Gaechuck#1	56.23±0.51 ^D	4.68±0.05 ^D
Gaechuck#2	52.43±0.29 ^B	2.48±0.09 ^C
Jinyang	45.91±0.86 ^A	1.41±0.18 ^A

All values are mean±SD (n=3).

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

선행연구(13)에서 LOX 결여 콩(개척#1, 개척#2 및 진양)의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 본 연구에서 이들 콩으로 각각 제조한 두부의 함량과 비교해 보아, 원료 콩에 비해서는 두부의 함량이 상당히 낮았으나 이소플라본의 함량과 마찬가지로 원료 콩의 특성이 유지되는 것으로 나타났다. 또한 LOX 결여 품종인 개척#2, 진양 및 CJ#1 콩으로 제조한 재래식 간장에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량도 원료 콩의 함량과 유사한 패턴인 것으로 보고된 바 있다(12). 원료 콩의 종류를 달리하여 제조한 두부, 비지, 두부 순물의 총 페놀 함량을 측정할 연구에서 황색콩에 비해 검정콩 두부의 총 페놀 함량이 높았으며, 두부 순물 > 두부 > 비지의 순으로 총 페놀 함량이 높아 두부 제조 시 이소플라본의

용출이 초래되는 것으로 보고된 바 있다(31). 콩의 2차 가공 품인 두부에서 총 페놀 화합물의 함량이 감소되기는 하나 원료 콩의 특성이 잔존한다는 보고(22)로 보아 본 연구 결과 LOX 결여 콩 품종은 두부 가공 적성에 손색이 없을 것으로 사료된다.

항산화 활성

태광 및 LOX 결여 콩을 만든 두부의 80% 메탄올 추출물에 대한 항산화 활성을 측정한 결과는 Table 6과 같다. 두부 메탄올 추출물은 25~200 mg/mL의 농도범위에서 DPPH, ABTS 라디칼 소거활성과 환원력을 측정하여 DPPH 및 ABTS 라디칼을 50% 소거하는데 관여하는 시료의 농도 (EC₅₀%)로 나타낸 결과, 개척#1 두부에서 50 mg/mL이하였으며, 환원력은 흡광도 값이 0.3에 도달하는데 관여하는 시료의 농도(EC_{0.3})으로써 72.08 mg/mL로 여타 시료에 비해 유의적으로 활성이 높았다. 다음으로 개척#2 두부였으며, 진양 두부는 대조구인 태광 두부에 비해 유의적으로 활성이 낮았다.

콩의 항산화 활성은 이소플라본 중 genistein 및 daidzein에 의한 유리 라디칼 소거에 의한 것으로 알려져 있는데 (32), LOX-2,3이 결여된 콩은 일반콩에 비해 이소플라본 함량이 높으며(33) 본 연구에서 진양 두부도 genistein 및 daidzein 함량이 타 시료에 비해 월등히 높았으나, 항산화 활성은 오히려 가장 낮은 것으로 나타나 이와 상반된 결과를 보였다. 즉, 진양 두부에서 항산화 활성이 낮았던 것은 시료 중 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 여타 시료에 비해 유의적으로 낮았던 것과 관련성이 더 크다고 생각된다. Shih 등(24)은 두부의 항산화 활성은 시료 중 항산화성 물질의 함량에 의존적이며, 이소플라본을 포함한 총 페놀 화합물의 함량과 밀접한 관련성이 있는 것으로 보고한 바 있다. 따라서 개척#1 두부의 경우 총 이소플라본, 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 가장 높았기 때문에 항산화 활성이 높았다

Table 6. Effective concentration values for antioxidant activity in 80% methanol extracts of tofu made from different soybean cultivars

activity Tofu \ Antioxidant	DPPH radical scavenging ¹⁾	ABTS radical scavenging ¹⁾	Reducing power ²⁾
Taekwang	142.95±7.49 ^C	104.96±5.50 ^C	138.70±0.32 ^C
Gaechuck#1	47.51±1.10 ^A	42.54±0.57 ^A	72.08±1.18 ^A
Gaechuck#2	98.85±1.41 ^B	68.41±2.80 ^B	101.67±0.72 ^B
Jinyang	183.54±7.61 ^D	129.89±3.24 ^D	180.89±1.92 ^D

¹⁾Effective concentration values (EC₅₀, mg/mL) were calculated from the regression lines using four different concentrations (25, 50, 100 and 200 mg/mL) and their data were presented as 50% scavenging activity.

²⁾Reducing power values (EC_{0.3}, mg/mL) were presented by the sample concentration at 0.3 of absorbance value at 700 nm.

^{A-D}Each value represents mean±SD (n=5). Means with different superscripts among the samples are significantly different at p<0.05.

고 판단되며, 순수 이소플라본이 항산화 활성이 낮다는 보고(34)나 원료 콩의 항산화 활성이 시료 중의 페놀 화합물 함량에 기인한다는 보고(13)로 볼 때 두부의 항산화 활성은 시료 중의 총 페놀 화합물의 함량에 더 의존적인 것으로 사료된다.

황색콩 두부는 쥐눈이콩이 첨가된 황색콩 두부에 비해 항산화 활성이 낮았으며, 특히 쥐눈이콩의 첨가량에 의존적인 경향을 보이며, 쥐눈이콩에 함유된 안토시아닌을 비롯한 페놀성 화합물에 의한 것으로 보고된 바 있다(35). 본 연구에서 개척#1 두부의 항산화 활성이 높게 나타난 것도 시료 중의 페놀 화합물 때문인 것으로 사료된다.

저장 중 두부 침지액의 탁도 변화

플라스틱 용기에 두부를 함기 포장하여 저장하는 동안 두부 침지액의 탁도를 600 nm에서 측정할 결과는 Fig. 2와 같다. 두부 침지액의 탁도는 저장 초기에 0.04~0.09의 범위로 시료간에 차이가 작았으며, 저장 3일에는 0.05~0.14의 범위로 진양 두부에서 유의적으로 높았다. 침지액의 탁도는 저장기간이 경과됨에 따라 점차 증가하는 경향이었으며 저장 6일 이후 진양 두부에서 유의적으로 높았으며, 태광 두부는 9일 이후 유의적으로 증가하였다. 저장 15일 경과 후에도 개척#1 및 #2 두부는 태광 두부에 비해 유의적으로 낮은 수준이었다.

쥐눈이콩이 첨가된 황색콩 두부는 대조구에 비해 항산화 활성이 높았으며, 저장 중 탁도가 낮아 시료 중의 항산화성 물질에 의해 두부의 저장성이 향상된 것으로 보고된 바 있다(35). 오미자즙과 매실즙으로 응고시킨 두부의 침지액에서 탁도는 대조구에 비해 낮았으나, 저장 8일 이후에는 모든 시료에서 급격히 증가하는 것으로 보고되어 있다(36). 한편, 알팔파 추출물이 첨가된 두부의 침지액은 대조구에 비해 탁도가 높았는데, 이는 알팔파 추출물의 색소가 두부

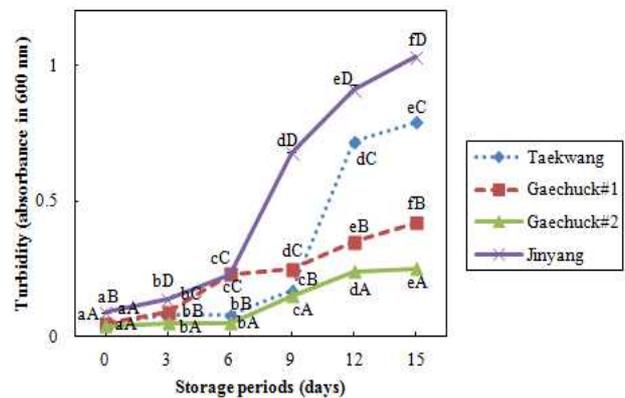


Fig. 2. Turbidity in the immersing water of tofu made from different soybean cultivars during storage at 4°C.

All values are mean±SD (n=3). Means with different superscripts in the same sample (a-f) and same storage periods (A-D) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

단백질에 흡착되지 못하여 용출된 것으로 추정된 보고도 있다(8).

두부의 제조과정 중 순물의 탁도는 두부 응고제의 종류에 따라 달라지며 화학적 응고제보다 심층수를 사용한 경우 탁도가 높았는데, 두부 제조 중 응고제와 반응하지 못한 미세 분자들이 순물로 이행되기 때문이라고 한다(14). 또한 두부 침지액의 탁도 증가는 저장 중 세균의 성장이나 변질에 따른 침질물의 생성에 기인된 것으로 보고된 바 있는데(36,37), 두부 중의 항산화성 물질에 의해 이러한 현상은 다소간 지연될 수 있다고 보고되어 있다(36). 본 연구결과 진양 두부는 제조 직후 경도가 단단한 것으로 보아 저장동안 이수현상과 함께 두부 중 성분의 용출이 빠르게 진행된 것과 항산화 활성이 타 시료에 비해 낮아 저장 6일 이후 침지액의 탁도가 급격히 상승된 것으로 추정된다. 또한 개척#1 두부에서 침지액의 탁도는 검정콩의 안토시아닌 색소의 용출에 기인된 것으로 유추된다. 따라서 두부의 제조공정 및 시료의 항산화 활성과 관련하여 두부 침지액의 탁도에 변화를 초래하며 이는 두부의 저장기간 연장에도 영향을 줄 것으로 사료된다.

요 약

LOX 결여 콩(개척#1, 개척#2 및 진양)과 일반콩(태광)으로 만든 두부의 이화학적 특성 및 항산화 활성을 비교하였다. 두부의 무기물 함량은 대조구에 비해 진양 두부에서 훨씬 높은 함량이었다. 경도 및 검성은 대조구에 비해 LOX 결여 콩 두부에서 유의적으로 높았다. 두부의 맛, 풍미를 포함한 전체적인 기호도는 개척#2 두부가 다소 높게 평가되었다. 두부의 이소플라본 함량은 대조구에 비해 LOX 결여 콩 두부에서 높았다. 두부의 총 페놀 함량은 대조구와 개척#1 및 개척#2 두부에서 비슷한 수준이었으며, 플라보노이드 함량은 대조구에 비해 개척#1 두부는 2.6배, 개척#2 두부는 1.4배 높았다. 두부의 항산화 활성은 개척#1 두부에서 가장 높았으며, 다음으로 개척#2 두부였다. 4°C에서 15일 저장하는 동안 두부 침지액의 탁도는 점차 증가하였는데, 저장 15일 경과 후 개척#1 및 #2 두부는 태광 두부에 비해 유의적으로 낮았다. LOX가 결여된 개척#1 및 #2 두부는 이소플라본 및 총 페놀 함량이 태광 두부에 비해 높아 항산화 활성 및 저장 안정성에 효과적이었으며, 특히 개척#2 두부는 전체적인 기호도가 높아 LOX 결여 콩 품종이 두부 가공에 적합할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사

업(2011-0899)의 연구과제로 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

References

1. Myung JE, Hwang IK (2008) Functional components and antioxidative activities of soybean extracts. *Korean Soybean Digest*, 25, 23-29
2. Taver B, Ashlan D (2007) Lipoxygenase in fruits and vegetables: a review. *Enzyme Microb Technol*, 40, 491-496
3. Sung MK, Kim KR, Park JS, Han EH, Nam JW, Chung JI (2010) Selection of lipoxygenase, kunitz trypsin inhibitor and 7S α' -subunit protein free soybean strain. *J Agric Life Sci*, 44, 29-33
4. Kim MS, Sung MK, Seo SB, Kim KR, Lee KJ, Park MS, Chung JI (2008) Breeding of lipoxygenase and Kunitz trypsin inhibitor-free soybean line. *Korean Soybean Digest*, 25, 1-6
5. Chung JI (2009) A new soybean cultivar "Gaechuck#2": Yellow soybean cultivar with lipoxygenase 2, 3-free, Kunitz trypsin inhibitor-free. *J Korean Breed Sci*, 41, 612-615
6. Kim GW, Kim GH, Kim JS, An HY, Hu GW, Son JK, Kim OS, Cho SY (2008) Quality of tofu prepared with deep seawater as coagulant. *J Korean Fish Soc*, 41, 77-83
7. Chang SY, Song JH, Kwak YS, Han MJ (2012) Quality characteristics of gondre tofu by the level of *Cirsium setidens* powder and storage. *Korean J Food Culture*, 27, 737-742
8. Kim SE, Lee SW, Yeum DM, Lee MJ (2012) Quality characteristics of tofu with added alfalfa (*Medicago sativa* L.) extracts. *J Korean Soc Food Sci*, 41, 123-128
9. Chang CI, Lee JK, Ku KH, Kim WJ (1990) Comparison of soybean varieties for yield, chemical and sensory properties of soybean curds. *Korean J Food Sci Technol*, 22, 439-444
10. Yoo KM (2011) Effects of soybean varieties on the physicochemical and sensory characteristics of tofu. *Korean J Food Nutr*, 24, 451-457
11. Kim KC, Hwang IG, Kim HY, Song HL, Kim HS, Jang KI, Lee JS, Jeong HS (2010) Quality characteristics and mineral, oxalate and phytate contents of tofu manufactured by recommended soybean cultivars in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 986-991
12. Hwang CR, Lee SJ, Kang JR, Kwon MH, Kwon HJ,

- Chung JI, Sung NJ (2012) Physicochemical characteristics and antioxidant activity of *Kanjang* made from soybean cultivars lacking lipoxygenase and kunitz trypsin inhibitor protein. *J Agric Life Sci*, 46, 109-123
13. Lee SJ, Kim IS, Lee HJ, Chung JI, Sung NJ (2013) Properties of non-GM soybeans with lipoxygenase free genotypes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 42, 1629-1637.
 14. Hwang CR, Yoon HS, Kang MJ, Sim HJ, Shin JH (2013) Quality characteristics of tofu coagulated by deep ground sea-like water. *Korean J Food Preserv*, 20, 636-642
 15. AOAC (1995) Official methods of analysis. 16th ed. Association of official analytical chemists. Patricia C, ed. Arlington, VA, USA, 2, 26-36
 16. Gutfinger T (1981) Polyphenols in olive oil, *J Am Oil Chem Soc*, 58, 966-968
 17. Moreno MIN, Isla MI, Sanpietro AR, Vattuone MA (2000) Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Enthropharmacol*, 71, 109-114
 18. Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200
 19. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26, 1231-1237
 20. Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction: Antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr*, 44, 307-315
 21. Egziabher AG, Summer AK (1988) Preparation of high protein curd from field peas. *J Food Sci*, 48, 375-377
 22. Seo YJ, Kim MK, Lee S, Hwang IK (2010) Physicochemical characteristics of soybeans cultivated in different regions and the accompanying soybean curd properties. *Korean J Food Cookery Sci*, 26, 441-449
 23. Baek SW, Kang KH, Choe SN (1996) Effect of seaweeds added in preparation of tofu. *Korean J Food Nutr*, 9, 529-535
 24. Shih MC, Yang KT, Kuo SJ (2002) Quality and antioxidative activity of black soybean tofu as affected by bean cultivar. *J Food Sci* 67, 480-484
 25. Hou HJ, Chang KC, Shih MC (1997) Yield and textural properties of soft tofu as affected by coagulation method. *J Food Sci* 62, 824-827
 26. Park CK, Hwang IK (1994) Effects of coagulant concentration and phytic acid addition on the contents of Ca and P and rheological property of soybean curd. *Korean J Food Sci Technol*, 26, 355-358
 27. Mulvihill DM, Kinsella JE (1987) Gelation characteristics of whey proteins and β -lactoglobulin. *Food Tech*, 41: 102-107
 28. Jackson CJC, Dini JP, Lavandier C, Rupasinghe HPV, Faulkner H, Poysa V, Buzzell D, Degrandis S (2002) Effects of processing on the content and composition of isoflavones during manufacturing of soy beverage and tofu. *Process Biochem*, 37, 1117-1123
 29. Kim KS (2007) Functional ingredient composition of soybean curds (Tofu) made with black soybeans (*Huktae*) and white soybeans (*Baktae*). *Korean J Food Nutr*, 20, 158-163
 30. Rekha CR, Vijayalakshmi G (2010) Influence of natural coagulants on isoflavones and antioxidant activity of tofu. *J Food Sci Technol*, 47, 387-393
 31. Bae EA, Kwon TW, Moon GS (1997) Isoflavone contents and antioxidative effects of soybeans, soybean curd and their by-products. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 26, 371-375
 32. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice Evans CA (1997) Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res*, 26, 63-70
 33. Esteves EA, Duarte Martino HS, Esteves Oliveira FC, Bressan J, Brunoro C (2010) Chemical composition of a soybean cultivar lacking lipoxygenase (LOX2 and LOX3). *Food Chem*, 122, 238-242
 34. Kao TH, Chen BH (2006) Functional components in soybean cake and their effects on antioxidant activity. *J Agric Food Chem*, 54, 7544-7555
 35. Lee YT (2007) Quality characteristics and antioxidative activity of soybean curd containing small black soybean. *Korean Soybean Digest*, 24, 14-22
 36. Jung GT, Ju IO, Choi SJ, Hong JS (2000) Preparation and shelf-life of soybean curd coagulated by fruit juice of *Schizandra chinensis* Ruprecht (Omija) and *Prunus mume* (maesil). *Korean J Food Sci Technol*, 32, 1089-1092
 37. Doston CR, Frank HA, Cavaletto CG (1997) Indirect methods as criteria of spoilage in tofu. *J Food Sci*, 42, 273-276