

濃縮大豆蛋白을 이용한 요구르트의 제조

柳枝彰 · 林淑子 · 高榮泰
덕성여자대학 식품영양학과

Manufacture of Yogurt from Soy Protein Concentrate

Ji Chang Yoo, Sook Ja Lim and Young Tae Ko

Department of Foods and Nutrition, Duksung Women's College, Seoul

Abstract

The effects of various nutrients added to soy protein concentrate (SPC)-yogurt on the growth of *Lactobacillus acidophilus* and the flavor of SPC-yogurt were investigated. Soy milk was prepared from SPC (4.2% as protein) and various nutrients. One hundred ml of the prepared soy milk was given proper heat treatment, inoculated with 2.5 ml of 24 hr-old culture, and incubated for 24 hr at 37°C. The growth of *L. acidophilus* was estimated from viable cell counts, titratable acidity and pH. The growth curve obtained from the experiment suggested that the log phase ended after 6 hr and the stationary phase ended after 30 hr. Glucose and fructose greatly enhanced the acid production by *L. acidophilus*. The optimum concentration of these two sugars in the media was approximately 3% each. Yeast extract greatly stimulated the acid production by *L. acidophilus*, and the optimum concentration of this additive was approximately 0.5%. Higher concentration of SPC resulted in slightly higher acidity in soy yogurt.

序 論

대두는 가격이 저렴하고 영양가가 높아 동물성단백질의 섭취가 제한되어 있는 한국인의 식생활에서 중요한 단백질원으로 이용되어 왔다. 대두는 높은 영양가를 가지는 식품이지만 소화율이 낮고, 대두 특유의 불쾌취 (beany flavor)가 있으므로 그 이용이 제한을 받고 있다. 대두의 소화율을 높이고 beany flavor를 없애기 위하여 시도된 가공법이 바로 대두의 발효이다. 대두 단백질의 性状은 우유 단백질의 性状과 유사하므로 대두의 유산균 발효, 즉 soy yogurt의 제조는 매우 흥미있는 연구과제라고 하겠다. 만약 한국인의 구미에 맞는 soy yogurt가 개발된다고 하면 가격면에서 milk yogurt보다 저렴하고 풍미와 영양면에서 현재 많이 이용되고

있는 대두유 (soy milk)보다 우수할 것이다.

Soy yogurt에 관한 연구는 국내외적으로 비교적 활발하게 진행되어 왔다.⁽¹⁻¹⁶⁾ 지금까지의 국내외의 연구를 종합해 보면, 대두유에서는 *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* 등의 균주가 단독으로 혹은 혼합균주가 우수한 생육과 산생성을 보이며, 일반적으로 대두유에서의 유산균의 생육과 산생성은 우유에서보다 떨어지나 각종 첨가물 (糖, skim milk, 단백질가수분해물, 아미노산, yeast extract, whey powder 등) 에 의해 크게 향상되었다.^(5, 8-11, 13, 16) 그리고 탈지대두유보다는 대두유가 유산균 생육의 우수한 배지였으며, 大豆粉 (soy flour)으로 만든 yogurt의 조직은 milk yogurt에 비하여 불량하였으나, soy protein isolate (SPI, 分離大豆蛋白)을 사용함에 의하여 그 품질이 크게 개선되었다.^(6, 11, 16) 이상의 연구의 내용을 검토하여보면, soy protein concentrate (SPC, 濃縮大豆蛋白)을 이용하여 yogurt를 제조

본 연구는 한국과학재단 지원 연구비에 의하여 이루어진 연구의 일부로서 이에 감사를 드리는 바이다.

한 연구가 없는 실정이다.

본 연구실에서는 품질면에 있어서 milk yogurt에 상당하는 soy yogurt의 제조를 목표로하여 수년전부터 SPI, SPC, 탈지대두분(defatted soy flour)등을 이용하여 soy yogurt의 제조에 관한 연구를 추진해왔으며 SPI를 이용한 soy yogurt의 제조에 관한 연구 결과를 이미 발표한바 있다.⁽¹⁶⁾

본 연구에서는 SPC를 이용하여 yogurt의 제조를 시도하고, SPC-yogurt에 糖 및 발육촉진물질을 여러가지 농도로 가하여 이들이 유산균의 생육과 산생성에 미치는 영향을 비교 관찰하고, 제조된 soy yogurt의 품질에 관하여 조사하였으므로 그결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

사용균주

한국중균협회에서 분양받은 *Lactobacillus acidophilus* (KFCC 12731)를 사용하였다. 유산균주의 보존용 배지로는 MRS 한천배지와 여기에서 한천을 제외한 MRS broth를 사용하였다.⁽¹⁷⁾

기질의 조제

미국Archer Daniels Midland Foods의 soy protein concentrate (Table 1) 를 구입하여 조제하였고, 加水量을 조절하여 단백질 함량이 4.2%가 되도록 하였다. 즉 total solids가 12%인 skim milk로 만들어진 yogurt와 단백질 함량이 일치하도록 하였다. 준비된 기질에 첨가되는 영양분은 가열 산균전에 기질과 혼합하였다.

Soy yogurt의 제조

이상과 같이 준비된 기질 100ml를 가열 살균(95℃, 20분)한 후 실온까지 냉각시키고, MRS borth에서 24시간 배양한 유산균 배양액을 2.5%(v/v)의 비율로 집중하여 37℃의 incubator에서 24시간 배양하였다.

Table 1. Composition of soy protein concentrate⁽¹⁷⁾

Protein (as is)	67.0 %
Moisture	6.0 %
Fat	0.5 %
Ash	5.3 %
Fiber	3.5 %
Carbohydrates (by difference)	17.7 %
(Microbiological Data)	
Standard Plate Count	50,000/gm. max.
<i>E. coli</i>	no fecal coli present
<i>Salmonella</i>	negative

유산균의 생육, 산도 및 pH 측정

생균수 측정 : 배양이 끝난 soy yogurt에서 일정량의 배양액을 취하여 멸균 peptone수에 의한 10배 희석법으로 희석하여 Tomato Juice Agar배지(Difco Laboratories)에서 37℃, 72시간 배양한 다음 colony수가 30~300개가 나타나는 평판을 선택하여 유산균수를 산출하였다.

산도 : 24시간 배양된 soy yogurt 100ml 중 10ml를 취하여 100ml비커에 옮긴 후 0.1N NaOH로 적정하여 산도를 산출하였다.

pH : pH는 Corning pH meter (Model 10)에 의하여 측정하였다.

이상의 모든 실험은 4회에 걸쳐서 실시하였다.

Soy yogurt의 관능 검사

Curd상의 yogurt로부터 液狀의 유산균음료를 다음과 같이 제조하여 관능검사를 실시하였다. 배양(37℃, 24시간)이 끝난 curd상의 yogurt 100ml를 3배의 증류수로 희석한 뒤, sucrose(15%, w/v), citric acid(0.085%, w/v) 및 미량의 향과 적색색소를 혼합한뒤 충분히 교반하고, 5℃의 냉장고에서 수시간 방냉한 후 관능검사에 사용하였다. 관능검사의 방법은 paired comparison difference test⁽¹⁸⁾와 paired comparison preference test⁽¹⁹⁾에 준하였으며, 10명의 panelist를 예비실험을 통해 미리 훈련시킨 후 4회에 걸쳐 검사에 임하게 하였다. Reference로는 시중에서 판매되고 있는 우유 유산균음료를 사용하였다.

結果 및 考察

배양시간에 따른 유산균의 생육도의 변화

Fig. 1은 SPC-yogurt에서 배양시간에 따른 유산균의 생육과 산생성의 변화를 보여주고 있다. 0시간은 s-starter를 접종한 직후 측정된 것으로 소량의 산과 10⁸/ml 정도의 유산균이 존재하였으나, 6시간 배양시켰을 경우 유산균의 생육과 산생성이 급격히 증가하였다. 그러나 12, 18, 24, 30시간까지 배양하여도 6시간 배양하였을 때와 비교하여 생균수에는 현저한 차이가 없었으며 48시간에는 감소하였다. 따라서 본 실험의 조건하에서는 6시간까지 log phase이고 30시간까지가 stationary phase인 것으로 생각된다.

糖의 첨가 효과

본 실험에서는 SPC에는 유산균이 이용할수 있는 단

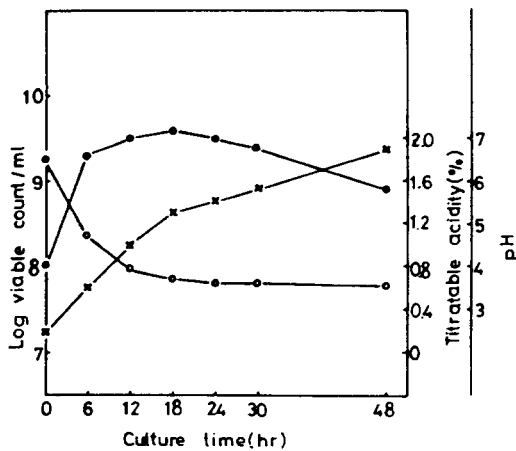


Fig. 1. Growth and acid production by *L. acidophilus* in SPC-yogurt

The media used in this experiment contain SPC (6.27%), glucose (5%) and yeast extract (0.5%)

—●— viable count —○— pH
—×— titratable acidity

당류나 이당류가 거의 없다는 점을 감안하여 자연계에 존재하는 糖 가운데 대표적인 糖인 glucose, lactose, sucrose, fructose를 첨가하여 유산균의 생육과 산생성에 미치는 영향을 비교 관찰하였다.

Table 2는 SPC로 만든 yogurt에 있어서 glucose 농도가 *L. acidophilus*의 생육에 미치는 영향을 보여주고 있으며, 생균수, pH, 산도로 비루어보아 0.5%에서는 유산균의 생육이 저조했으나 1%의 농도로 그 생육이 촉진되었으며, 3% 이상의 농도에서는 뚜렷한 차이가 없는 것으로 생각된다. Table 3은 첨가된 lactose의 효과를 보여주고 있으며, 3% 정도의 농도에서 유산균에 대한 산생성이 비교적 촉진되었으나 glucose에 비하여

Table 2. Effects of glucose on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of glucose (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁸)
0	6.2	0.21	0.5
0.5	4.5	0.70	2.6
1	3.9	1.28	4.2
3	3.7	1.44	5.0
5	3.7	1.52	5.4
7	3.7	1.50	5.3

* The media used in this experiment contain glucose, SPC (6.27%) and yeast extract (0.5%)

Table 3. Effects of lactose on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of lactose (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁸)
0	6.1	0.24	0.5
0.5	4.7	0.62	2.9
1	4.5	0.72	4.4
3	4.5	0.86	5.3
5	4.3	0.92	5.4
7	4.3	0.94	5.9

* The media used in this experiment contain lactose, SPC (6.27%) and yeast extract (0.5%)

는 저조하였다. Table 4는 첨가된 sucrose의 효과를 보여 주는데, 이 경우는 glucose와 lactose에 비하여 유산균에 의한 산생성이 저조하였다. Table 5는 첨가된 fructose의 효과로서, glucose와 매우 유사한 결과를 보였다. Fructose 3%에 의하여 산생성이 현저하게 촉진되었으며 그 이상의 농도에서는 뚜렷한 차이가 없었다.

이상의 결과를 보면 단당류인 glucose와 fructose는 유산균에 의한 산생성에 뛰어난 효과를 보였으며, 이당류인 lactose는 glucose나 fructose에는 미치지 못했으나 대체적으로 촉진효과를 보였으며, 역시 이당류인 sucrose는 soy yogurt의 제조에 적합하지 않은 것으로 나타났다. 이상의 결과는 종래의 연구보고^(8,10,11,16)와 대체로 그 경향이 일치하는 것으로 생각된다.

발육촉진물질의 첨가 효과

본 실험에서는 yogurt 제조의 기질로 사용되는 SPC와 糖만으로는 *L. acidophilus*의 생육이 활발하지 않은 것으로 예측되므로 유산균의 발육 촉진인자로서 yeast extract, peptone, tryptone, soytone, L-methionine을

Table 4. Effects of sucrose on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of sucrose (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁸)
0	6.1	0.26	0.6
0.5	5.5	0.33	0.9
1	5.3	0.41	1.4
3	4.9	0.54	2.8
5	4.7	0.62	2.6
7	4.7	0.64	2.0

* The media used in this experiment contain sucrose, SPC (6.27%) and yeast extract (0.5%)

Table 5. Effects of fructose on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of fructose (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
0	6.1	0.24	0.4
0.5	4.4	0.76	1.5
1	3.9	1.25	1.8
3	3.7	1.46	2.5
5	3.7	1.48	3.1
7	3.7	1.50	2.6

* The media used in this experiment contain fructose, SPC (6.27%) and yeast extract (0.5%)

첨가하고 그 영향을 관찰하였다.

Table 6은 첨가된 yeast extract의 농도의 영향을 본 것으로 yeast extract의 첨가에 의하여 산생성이 촉진되었으며 0.5%이상에서는 산생성에 큰 차이가 없는 것으로 생각된다. Table 7, Table 8, Table 9는 첨가된 peptone, tryptone, soytone의 효과를 본 것으로서 이들의 첨가가 산의 생성을 다소 촉진시켰으나 그 정도는 yeast extract에 비하여 저조하였다. yeast extract에 의한 산생성 촉진 효과는 前報⁽¹⁴⁾에서 언급한 바와같이 yeast extract (Difco Laboratories)가 여러가지 Vitamin B complex와 유리아미노산, peptides등을 함유하고 있으므로 유산균에 의한 산생성에 도움이 된 것으로 생각된다.

Table 10은 우유에 비하여 대두유의 부족 필수아미노산인 L-methionine의 첨가 효과를 보여주고 있다. 본 실험에서 사용된 L-methionine은 가열에 의하여 유산균의 생육을 저해할 수 있는 sulfhydryls(-SH)와 sulfides(황化物)의 생성을 방지하기 위하여 가열 살균하지 않고 기질에 첨가되었다. Table 10에 나타난 바와같이

Table 6. Effects of yeast extract on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of yeast extract (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
0	4.0	0.96	4.9
0.05	3.9	1.21	4.4
0.1	3.8	1.27	5.3
0.3	3.7	1.52	5.4
0.5	3.6	1.66	4.2
0.7	3.6	1.76	5.6

* The media used in this experiment contain yeast extract, SPC (6.27%) and glucose (5%)

이 다른 발육촉진물질과는 달리 L-methionine의 첨가에 의해 유산균에 의한 산생성이 다소 감소하였다. 김등⁽¹⁵⁾은 두유에 0.036%의 농도로 첨가된 methionine이 *L. acidophilus*의 생육과 산생성을 촉진시켰다고 보고하였으나 본 실험에서는 반대의 결과가 나왔다. 이와같이

Table 7. Effects of peptone on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of peptone (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
0	4.1	0.91	2.6
0.05	3.9	1.04	2.6
0.1	3.9	1.08	2.4
0.3	3.9	1.12	2.6
0.5	3.9	1.18	2.4
0.7	3.9	1.26	2.6

* The media used in this experiment contain peptone, SPC (6.27%) and glucose (5%)

Table 8. Effects of tryptone on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of tryptone (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
0	4.2	0.88	2.1
0.05	4.0	1.09	2.7
0.1	3.9	1.12	2.7
0.3	3.8	1.25	2.5
0.5	3.8	1.33	2.5
0.7	3.8	1.36	2.9

* The media used in this experiment contain tryptone, SPC (6.27%) and glucose (5%)

Table 9. Effects of soytone on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of soytone (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
0	4.1	1.01	3.6
0.05	4.0	1.18	2.8
0.1	3.8	1.22	3.9
0.3	3.8	1.29	4.2
0.5	3.8	1.34	4.6
0.7	3.8	1.41	4.2

* The media used in this experiment contain soytone, SPC (6.27%) and glucose (5%)

다른 결과가 나온 이유는 아마도 김등⁽⁶⁾의 실험에서 사용된 균주와 본 실험에서 사용된 균주가 methionine에 대한 감수성이 다르기 때문이 아닌가 생각된다. 이 부분의 실험은 앞으로 자세히 연구 검토되어져야할 흥미 있는 연구과제라고 생각된다.

대두 단백질의 농도의 영향

Table 11은 대두 단백질의 농도의 영향을 본 것으로

Table 10. Effects of methionine on the growth of *L. acidophilus* in SPC-yogurt*

Concentration of L-methionine	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
0 %	3.9	0.96	4.3
0.001	4.0	0.86	2.5
0.005	4.0	0.81	2.8
0.01	4.0	0.78	2.9
0.03	4.0	0.75	2.8
0.05	4.0	0.72	2.4
0.07	4.0	0.73	2.2

* The media used in this experiment contain L-methionine, SPC (6.27%) and glucose (5%). L-methionine used in this experiment was not heat treated.

Table 11. Effects of concentration of soy protein on growth of *L. acidophilus**

Concentration of protein in SPC (%)	pH	Titratable acidity (%)	Viable count /ml (10 ⁹)
3	3.5	1.40	2.1
4.2	3.6	1.58	2.9
5	3.6	1.66	2.7
6	3.6	1.76	3.4

* The media used in this experiment contain SPC glucose (5%) and yeast extract (0.5%)

Table 12. Paired comparison difference test for flavor of yogurt beverage

Order of presentation	Frequency of scores equal to							Total score	Mean	Average preference
	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3			
Sample, Reference		5	14					-24	-1.26	-1.30
Reference, Sample				1	13	3	3	27	1.35	1.30
Total		0	5	15	0	13	3	3		

서, 그 농도의 증가는 유산균의 생육에 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 산의 생성을 다소 증가시킨 것으로 나타났다. SPC 6%의 blank (starter를 가하고 즉시 산도를 쟀 것)가 다른 농도의 blank에 비하여 산도가 다소 높다는 사실로부터 높은 농도의 SPC에 의하여 유산균에 의한 산생성이 촉진되었다기 보다는 SPC에 함유되어 있는 어떤 성분이 산도 상승의 원인이 되는 것이 아닌가 생각된다.

Soy yogurt의 관능검사

Curd상의 yogurt로부터 液狀의 유산균음료를 제조하여 10명의 panelist가 flavor에 대하여 판정한 paired comparison difference test의 결과는 Table 12, Table 13과 같다. Table 12에 나타난 바와 같이 sample 유산균 음료에 대한 average preference가 -1.30으로 시판의 우유 유산균음료의 flavor에 비해 다소의 차이가 있음을 나타냈다. Score test (Table 13)의 결과에서도 sample과 reference의 average score가 각각 1.97과 2.74로 유의차가 크지 않은 것으로 나타났다. 한편 paired comparison preference test의 결과에서는 reference가 34, sample이 5로 시판의 우유 유산균음료에 대한 선호도가 높았다.

Table 13. Paired comparison score test for flavor of yogurt beverage

	Frequency		Score	
	S	R	S	R
Good	4	29	12	87
Fair	30	10	60	20
Poor	5	0	5	0
Total Score			77	107
Average Score			1.97	2.74

S: Sample, R: Reference

이상의 관능검사의 결과를 종합하여 보면, *sample* 유산균음료의 flavor가 시판의 우유 유산균음료에 비하여 다소 떨어진다는 결론을 얻었는데, 그 주요한 이유는 대부분의 panelist가 지적인 바와같이 대두 유산균음료의 조직(texture)이 우유 유산균음료에 비하여 다소 거칠었고, 고형분(solids)의 침전이 있었기 때문이 아닌가 생각된다. 조직(texture)의 투박함은 均質化(homogenization)에 의하여, 고형분의 침전은 안정제(stabilizer)의 첨가에 의하여 개선될 수 있을 것으로 사려되며, 앞으로의 지속적인 연구에 의하여 SPC로부터 flavor의 면에서 우유 유산균음료에 상당하는 soy yogurt의 개발이 가능할 것으로 예상된다.

要 約

본 연구에서는 SPC-yogurt에 첨가되는 여러가지 糖과 발육촉진물이 *L. acidophilus*의 생육에 미치는 영향을 관찰하고, 제조된 yogurt의 flavor를 조사하였다. Soy milk를 SPC(단백질 4.2%)와 여러가지 糖 및 발육촉진물질로 제조하였고, 준비된 Soy milk 100ml를 적절히 가열살균후 24시간 배양된 유산균 2.5ml를 접종하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 유산균 생육의 정도는 생균수, 산도, pH로 판단하였다. 배양시간에 따른 유산균의 생육도를 측정 한 실험으로부터 6시간까지가 log phase이고 30시간까지가 stationary phase인 것으로 나타났다. 본 실험에서 사용된 糖 가운데 glucose와 fructose가 유산균에 의한 산생성에 현저한 효과를 보였으며, 그 적정농도는 각각 3% 정도였다. 첨가된 발육촉진물질 가운데 yeast extract가 유산균에 의한 산의 생성을 가장 촉진시켰으며 그 적정 농도는 0.5% 정도였다. SPC의 농도가 증가함에 따라 제조된 soy yogurt의 산도가 다소 증가하였다.

文 獻

1. Yamanaka, Y. and Furukawa, N. : *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 16, 572 (1969)
2. Yamanaka, Y. and Furukawa, N. : *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 17, 456 (1970)
3. Yamanaka, Y. and Okumura, S. : *U. S. Patent*, 3, 535, 117 (1970)
4. Andres, C. : *Food Processing*, 39 (11), 67 (1978)
5. Pinthong, R., Macrae, R. and Rothwell, J. : *J. Food Technol.*, 15, 647 (1980)
6. Pinthong, R., Macrae, R. and Rothwell, J. : *J. Food Technol.*, 15, 653 (1980)
7. Pinthong, R., Macrae, R. and Dick, J. : *J. Food Technol.*, 15, 661 (1980)
8. 김오섭, 김창한 : 산업미생물학회지, 7, 205 (1979)
9. 오혜숙, 이경혜, 윤선 : 한국영양학회지, 14, 175 (1981)
10. 이재성, 한판주, 서기봉 : 한국식품과학회지, 4, 194 (1972)
11. 이호 : 고려대학교 대학원 석사학위 논문(1980)
12. Patel, A., Waghmare, W. and Gupta, S. : *Process Biochem.*; 15(7), 9 (1980)
13. Angeles, A. and Marth, E. : *J. Milk and Food Technol.*, 34, 30 (1971)
14. Angeles, A. and Marth, E. : *J. Milk and Food Technol.*, 34, 63 (1971)
15. Kanda, H., Wang, H., Hesseltine, C. and Warner, K. : *Process Biochem.*, 11(5), 23 (1976)
16. 성원희, 임숙자, 고영태 : 한국식품과학회지, 16, 120 (1984)
17. ADM Foods : *Technical Data*, ADM Foods, Decatur, Illinois (1982)
18. Larmond, E. : *Methods for Sensory Evaluation of Food*, Canada Department of Agriculture, Ottawa, p. 31 (1970)

(1984년 1월 18일 접수)

1. Yamanaka, Y. and Furukawa, N. : *Nippon Shok-*