KOREAN J FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 17, *No.* 3(1985)

국내 액상발효유에서 분리한 유산균의 제품제조 적성조사

소 명 환
부천공업전문대학 식품영양학과

Aptness for the Preparation of Liquid Yogurt by *Lactobacilli* isolated from Korean Liquid Yogurts

Myeong-Hwan So

Department of Food and Nutrition, Bucheon Technical College, Bucheon

Abstract

In order to evaluate the aptness for the preparation of liquid-yogurt, microbiological properties of 8 *Lactobacilli* isolated from 7 Korean liquid-yogurts were investigated. To accelerate acid-producing ability in skim milk, *L. bulgaricus* D, *L. casei* A and *L. casei* E need to supply with glucose, and *L. Casei* A and *L. casei* E also need milk-protein hydrolyzate, but *L. jugurti* B, *L. jugurti* C, *L. jugurti* G, *L. helveticus* F *and L. acidophilus* B did not need those supplements. In cultivation in skimmilk supplemented with glucose, *L. jugurti* B, *L. jugurti* C, *L. jugurti* G, *L. helveticus* F and *L. bulgaricus* D showed rapidity in acid development and weakness in cell viability, but *L. acidophilus* B, *L. casei* A and *L. casei* E showed slowness in acid development and highness in cell viability. Liquid-yogurts made by *L. casei* A or *L. casei* E had no sedimentation during storage but those made by *L. jugurti* B, *L. jugurti* C, *L. jugurti* G, *L. helveticus* F, *L. bulgaricus* D. or *L. acidophilus* B had much sedimentation. In sensory evaluation, Liquid-yogurts made by *L. casei* A or *L. casei* E had good response but those made by *L. jugurti* B, *L. jugurti* C, *L. jugurti* G, *L. helveticus* F, *L. bulgaricus* D or *L. acidophilus* B did not. Among 8 *Lactobacilli* examined, *L. casei* A and *L. casei* E were thought to have more suitable properties for the preparation of liquid-yogurt though they required a long period of cultivation.

서 론

발효유를 제조할 때에 우수한 starter를 사용하는 것이 무엇보다 중요하다. 산생성이 빠른 균을 사용하면 발효탱크의 안전한 관리가 용이하고 발효시간도 단축되어진다. 그뿐만 아니라 유산균은 균종 및 균주에 따라 휘발성 carbonyl화합물[1~3], biter peptide[4~6], 아미노산[3,7], 암모니아[3] 등을 생성하는 능력이 다르므로 starter가 제품의 맛과 향에도 큰 영향을 미치게 될 것이다. 우리나라에서도 1973년 액상발효유의 생산이 시작된 이후 그 소비량이 급격히 증가하여 현재는 10여개의 제조업체에서 연간 10만톤 정도를 생산하고 있다. 그러나 현재 국내에서 발효유 제조에 사용되고 있는 여러 유산균들에 대하여 제품제조와 관련되는 균학적인 특성을 연구한 예는 매우 부족하다. 著者는 前報[8]에서 국내 액상발효유 7개 회사 제품중의 유산균을 분리 동정하고 인공위액과 담즙산에 대한 내성을 조사하였다.

본 연구에서는 前報[8]에 이어 본 유산균들에 대한 발효유 제조적성을 검토하기 위하여 skim milk에서의 증식 및 산생성능을 조사하고 또 본 균들로서 액상발효유를 제조한 후 이화학적인 특성, 침전발생 정도, 기호도 등을 조사하였다.

재료 및 방법

유산균

본 실험에 사용된 8종의 유산균은 1984년 4월 국내 7개 회사의 액상발효유 제품(제조원은 임의로 A, B, C, D로 표기)에서 분리하여 前報[8]에서 동정이 끝난 균이며, *L.casei* A는 A회사 제품에서, *L. acidophilus* B는 B회사 제품에서, *L.jugurti* B는 B회사

제품에서, *L.jugurti* C는 C회사 제품에서, *L.bulgaricus* D는 D회사 제품에서, *L.casei* E는 E회사 제품에서, *L. helveticus* F는 F회사 제품에서, *L.jugurti* G는 G회사 제품에서 각각 분리되었다.

균의 배양

10% skim milk용액 또는 포도당 3%나 유단백질 분해물 0.3%가 첨가된 10% skim milk 용액을 솜마개를 한 삼각 flask에 넣고 110℃에서 15분간 멸균한 후 37℃로 냉각시키고 여기에 미리 준비된 유산균 starter 0.2%를 접종한 후 37℃에서 배양하였다.

유단백질 분해물의 제조

5% Na-caseinate용액 100 *ml*에 trypsin(Novo Industrias Co. 2250 NF/*mg*) 5 *mg*을 가하여 37℃에서 1시간 분해시켰다.

TA(titrable acidity) 및 유산균수 측정

TA는 Atherton[9]의 방법으로 측정한 후 젖산함량(%)으로 표시하였고, 유산균 생균수는 BCP agar배지를 사용하여 standard plate count method[10]로 측정하였다.

TCA-soluble peptide함량 측정

Hull[11]의 방법에 준하여 前報[12]에서와 같은 방법으로 측정하였다.

Amino acid함량 측정

Sörensen의 formol titration method[13]에 준하여 측정한 후 glycine의 함량(*mg/ml*)으로 표시하였다.

액상발효유의 제조

포도당 3%를 첨가한 10% skim milk용액을 Fig. 1과 같이 배양하여 TA가 1.80%에 도달했을 때 배양을 완료하고 균질시킨 후 설탕, 이온교환수 및 향료를 가하여 유고형분 3.3%, 설탕 16%, TA 0.6%의 조성을 갖는 액상발효유를 제조하였다.

단백질 안전성 측정 및 관능검사

액상발효유의 단백질 안정성은 前報[12]의 방법에 의하였고, 관능검사는 Sawyer[14]와 Dawson[15]의 방법에 따라 30명의 여대생 중에서 선별한 10명의 관능검사 요원을 대상으로 5단계 평가법[16]으로 액상발효유의 맛과 향을 종합적으로 평가케 하였고, Amerine[17]의 방법에 따라 유의성을 검정하였다.

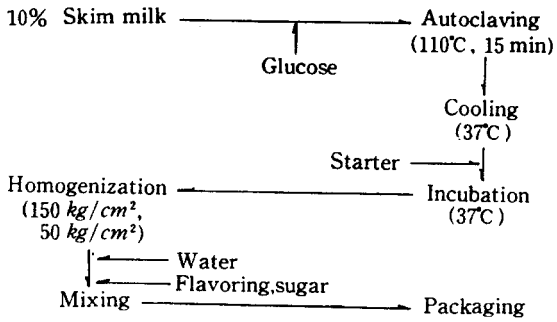

Fig.1 Flow diagram for preparation of liquid-yogurt

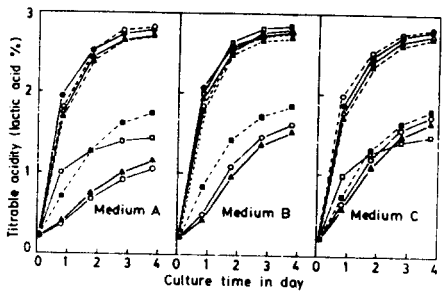

Fig.2 Time course of acid production by different *Lactobacilli* isolated from Korean liquid-yogurts during cultivation in skim milk and in supplemented skim milk at 37℃

—□— : *L.bulgaricus*D —●— : *L.jugurti*G
—▲— : *L.casei*A --○-- : *L.jugurti*C
—○— : *L.casei*E —△— : *L.jugurti*B
--▲-- : *L.helveticus*F --■-- : *L.acidophilus*B

Medium A : 10% skim milk, Medium B : 10% skim milk + 3% glucose, Medium C : 10% skim milk + 0.3% tryptic digest of Na-caseinate.

결과 및 고찰

Skim milk에서의 증식 및 산생성

국내 액상발효유에서 분리한 8종의 유산균을 10% skim milk, 포도당 3%를 첨가한 10% skim milk 및 유단백질 분해물 0.3%를 첨가한 10% skim milk에 배양하면서 배양시간 경과에 따른 산생성의 변화를 조사한 결과는 Fig. 2와 같았다. Fig. 2에서 보면 *L. jugurti* B, *L.jugurti* C, *L.jugurti* G 및 *L.helveticus* F는 skim milk에서의 산생성이 빨랐고, 포도당이나 유단백질 분해물의 첨가에 의한 산생성 촉진은 인정되지 않았다. *L.bulgaricus* D는 skim milk에서의 산생성은 아주 낮았으나 포도당의 첨가로 산생성이 현저히 증가되었다. *L.bulgaricus*D의 이러한 현상은 본 균이 유당

의 분해로 생성된 galactose를 잘 이용하지 못하기 때문인 것으로 생각되는데 Tamime[1], 崔 外[18], Robinson[19]의 연구에서도 *L.bulgaricus*의 이러한 특성을 잘 나타내고 있다. 또 *L.casei* A, *L.casei* E 및 *L. acidophilus* B는 skim milk에서의 산생성이 아주 느렸고, 포도당과 유단백질 분해물을 첨가했을 때 *L. casei* A와 *L.casei* E는 산생성이 상당히 촉진되었다. *L. casei* A와 *L.casei* E의 이러한 현상은 본균의 유당 이용능이 낮고 유단백질의 분해능도 약하기 때문인 것으로 생각되며[12,20,21], Thomas[4], Kihara[22], Matthews[23]도 milk에 단백질 분해물을 첨가했을 때 *L.casei*의 생육이 촉진되었다고 했다.

포도당 3%를 첨가한 10% skim milk에 본균들을 배양할 때에 배양시간 경과에 따른 생균수의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3과 같았다. *L.jugurti* B, *L.jugurti* C, *L.jugurti* G, *L.helveticus* F 및 *L.bulgaricus* D는 배양 24시간 이후에서 급격한 생균수의 감소를 보였지만 *L.casei* A, *L.casei* E 및 *L.acidophilus* B는 배양 5일까지도 높은 생균수를 유지하였다. *L.jugurti*, *L. helveticus* 및 *L.bulgaricus*에 속하는 균들에 있어서 생균수의 감소가 급격한 이유는 본균들의 산생성 속도가 빨라 배양액의 pH가 급격히 낮아지게 되고, 또 균

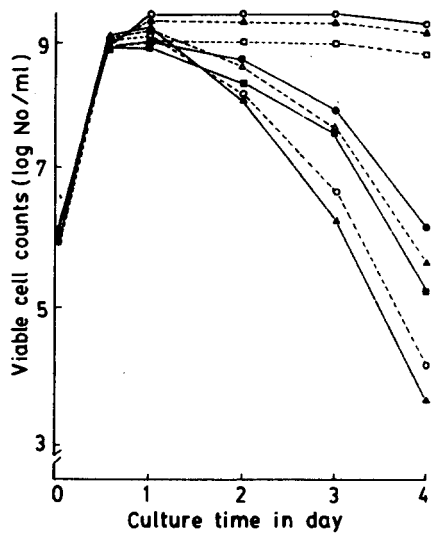

Fig.3 Viable cell changes of various *Lactobacilli* isolated from Korean liquid-yogurts during cultivation in skim milk supplemented with 3% glucose at 37℃

--▲-- : *L. casei* A --□-- : *L.acidophilus* B
--△-- : *L. jugurti* B --○-- : *L.jugurti* C
—■— : *L.bulgaricus* D —○— : *L.casei* E
—▲— : *L.helveticus* F —●— : *L.jugurti* G

자체의 내산성도 강하지 못하기 때문일 것으로 생각된다.[24~26]

발효완료액의 이화학적인 특성

국내 액상발효유에서 분리한 8종의 유산균을 포도당 3%가 첨가된 skim milk에 접종하여 발효를 시킨 후 starter별로 발효완료액의 이화학적인 특성을 조사한 결과는 Table 1과 같았다. 발효종지점인 TA 1.80%에 도달하는 데 소요되는 배양시간은 *L. helveticus*, *L.jugurti* 및 *L.bulgaricus*에 속하는 균들은 15~19시간으로 아주 짧았고, *L.casei* A 및 *L.casei* E는 각각 144시간 및 132시간으로 아주 길었다. 또 유단백질의 분해정도를 알 수 있는 TCA-soluble peptide와 amino acid의 함량은 *L.bulgaricus* D가 가장 높았고 *L.helveticus*, *L.jugurti* 및 *L.acidophilus*에 속하는 균들은 중간 정도이었고, *L.casei*A 및 *L. casei* E 사용구는 아주 낮았다. 본 결과를 산생성 속도와 비교해 보면 유단백질의 분해를 많이 일으키는 유산균이 산생성 속도도 빠른 경향을 나타내고 있다. 또 *L.casei* A 및 *L.casei* E를 사용한 발효액은 불쾌한 발효취가 없었으나 *L.jugurti* B 및 *L.bulgaricus* D를 사용한 것에서는 좋지 못한 냄새를 강하게 느낄수 있었다. 이와 같은 불쾌한 냄새는 starter의 단백질 분해능과 관련성이 있는 듯함을 관찰할 수 있는데, Singh 등[1,27]도 유산균 중 단백질 분해능이 강한 균이 발효취도 강하게 생성하는 경향이 있음을 지적하였다.

試製品의 단백질 안정성

액상발효유는 음료이므로 유통과정 중에 침전이 발생되면 품질이 크게 떨어지게 된다. 국내 액상발효유에서 분리한 8종의 유산균으로 발효시킨 Table 1의 발효완료액으로 액상발효유를 제조한 후 이를 냉장고에 보관하면서 starter 별로 침전이 발생되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 4와 같았다. *L.casei* A 및 *L.casei* E로 제조한 액상발효유는 8일간 보관하여도 침전이 생기지 않았으나 다른 균들로 제조한 것은 모두 침전이 발생하였다. 이와 같은 결과는 액상발효유를 제조할 때에 유단백질 분해능이 높은 균을 starter로 사용하면 제품에서 침전이 발생된다는 若者[12]의 先硏究 결과를 재확인 시켜주는 결과가 되며, *L.jugurti* B, *L. jugurti* C, *L.jugurti* G, *L.helveticus* F 및 *L.bulgaricus* D를 starter로 사용하는 발효유 제조업체에서 유단백질의 침전발생을 억제하기 위하여 각종 안정제[28]의 사용이 불가피함을 예측할 수 있다.

Table 1. Physico-chemical properties of fermented milks made by various lactic acid bacteria isolated from Korean liquid yogurts

Items \ Samples	1	2	3	4	5	6	7	8
Bacterial starter	*L. casei* A	*L. acidophilus* B	*L. jugurti* B	*L. jugurti* C	*L. bulgaricus* D	*L. casei* E	*L. helveticus* F	*L. jugurti* G
Incubation time (hr)	144	72	15	18	15	132	19	15
Titrable acidity (lactic acid %)	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Viable cell ($\times 10^8/ml$)	8.7	5.5	13.0	12.0	8.0	13.0	13.0	10.0
TCA-sol. peptide (Casein *mg/ml*)	3.0	4.7	4.6	4.4	5.1	2.9	4.4	4.7
Amino acid (Glycine *mg/ml*)	1.2	1.3	1.4	1.4	1.6	1.2	1.4	1.4
pH	3.54	3.53	3.55	3.53	3.55	3.55	3.54	3.53
Milk solids(%)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Slime production*	−	−	−	−	−	−	−	−
Presence of off flavor *	−	+	+++	−+	+++	−	++	++

* −;None, +;Slight, ++;Moderate, +++;Intense.

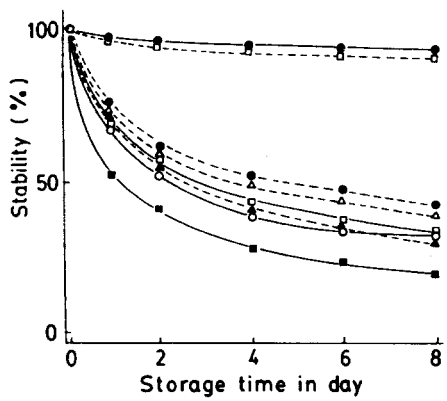

Fig.4 Comparison of storage stability of liquid yogurts made by different *Lactobacilli isolated* from Korean liquid-yogurts

--□--: *L.casei*A --▲--: *L. acidophilus*B
—□—: *L.jugurti*B --△--: *L. jugurti*C
—■—: *L.bulgaricus*D —●—: *L.casei*E
--●--: *L.helveticus*F —○—: *L.jugurti*G.

試製品의 관능검사

Table 1의 발효완료액으로 액상발효유를 제조하여 관능검사를 실시한 결과는 Table 2와 같았고, 통계적인 분석결과(variance analysis) 관능검사요원 간에는 유의적인 차이가 인정되지 않았으나 시료들 간에는 5% 및 1%의 위험수준에서 유의적인 차이가 인정되었다.

Table 2에서 보면 평균점수가 높은 순위는 sample 6 >sample 1 >sample 2 >sample 7 >sample 4 >sample 8 =sample 3 >sample 5이었고, Duncan's multiple range test 결과 sample 6과 sample 1의 사이, sample 7, sample 4, sample 8 및 sample 3의 사이, sample 8, sample 3 및 sample 5의 사이에서는 5%의 위험수준에서 유의적인 차이가 인정되지 않았다.

이와 같은 관능검사 결과를 Table 1의 발효액 분석결과와 비교해 보면 *L.jugurti* B, *L.jugurti* C, L.jugurti G, *L.helveticus* F 및 *L.bulgaricus* D의 사용에서와 같이 유단백질의 분해가 많이 이루어진 sample에서는 관능검사 결과 모두 낮은 점수를 얻고 있음을 관찰할 수 있다. 유산균의 단백질 분해능과 제품의 관능적인 면과의 관계는 아직 잘 연구되어 있지 않지만 단백질 분해로 생성된 bitter peptide, 아미노산의 旨味로 인한 청량감의 감소, 아미노산의 분해로 인한 아민류, NH_3 및 H_2S의 생성 등은 제품의 품질을 저하시키는 중요한 요인이 될 수 있을 것으로 예측되며 이점에 대해서는 앞으로 더욱 깊은 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

요 약

국내의 액상발효유 7개 회사 제품에서 분리한 8종

Table 2. Sensory evaluation datas for 8 samples of liquid yogurts made by different bacterial starters isolated from Korean liquid-yogurts

Samples* / Judges	1	2	3	4	5	6	7	8	Total
1	3	3	2	3	2	4	3	2	22
2	4	2	1	3	2	4	3	2	21
3	4	4	2	2	1	5	3	2	23
4	3	3	2	2	2	4	2	3	21
5	4	3	3	3	2	4	3	3	25
6	3	3	2	3	2	3	2	2	20
7	4	4	3	2	1	4	3	2	23
8	5	4	2	3	2	4	2	2	24
9	4	3	2	2	2	3	2	2	20
10	4	3	3	2	2	4	3	2	23
	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Totals	38	32	22	25	18	39	26	22	222
Means**	3.8^{C}	3.2	2.2^{AB}	2.5^{B}	1.8^{A}	3.9^{C}	2.6^{B}	2.2^{AB}	—

5 Scales; Very poor = 1, Poor = 2, Indifferent = 3, Good = 4, Very good = 5,

*Samples are the same as in Table 1

**Means labeled by the same letters are not significantly different at 5% level

의 유산균에 대하여 발효유 제조와 관련된 균학적인 특성을 조사하였다. skim milk에 배양할 때 산생성을 촉진시키기 위하여 *L.bulgaricus* D는 포도당의 첨가를, *L.casei* A와 *L.casei* E는 포도당과 유단백질 분해물의 첨가를 필요로 했으나, *L.jugurti* B, *L.jugurti* C, *L.jugurti* G, *L.helveticus* F 및 *L.acidophilus* B는 이들의 첨가를 필요로 하지 않았다. 포도당을 첨가한 skim milk에 배양할 때 *L.jugurti* B, *L.jugurti* C, *L. jugurti* G *L.helveticus* F 및 *L.bulgaricus* D는 산생성 속도와 균의 사멸속도가 빨랐으나, *L.acidophilus* B, *L.casei* A 및 *L.casei* E는 산생성과 사멸이 느렸다. *L. jugurti* B, *L.jugurti* C, *L.jugurti* G, *L.helveticus* F, *L. bulgaricus* D 및 *L.acidophilus* B로 제조한 액상발효유는 침전이 발생되고 맛과 향이 좋지 못했으나, *L. casei* A 및 *L.casei* E로 제조한 것은 침전도 생기지 않았고 맛과 향도 비교적 좋았다.

문 헌

1. Tamime, A.Y. and Deeth, H.C.: *J.Food Protection*, **43**, 937(1980)
2. Singh, J.and Sharma, D.K.: *Cultured Dairy Products Journal*,Fegrury, 22(1982)
3. Rasic, J.L.and Kurmann, J.A:*Yogurt*, Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, p.69(1978)
4. Thomas, T.D.and Mills, O.E.: *Neth. Milk Dairy J.*, **35**, 225(1981)
5. Lowrie, R.J.: *J.Dairy Sci.*,**60**, 810(1976)
6. Tanev, G.and Zivkova, A.: *Milchwissenschaft*, **35**, 280(1977)
7. Livia A.: *J.Dairy Sci.*, **65**,1696(1982)
8. 소명환 : 한국식품과학회지, **17**, 192 (1985)
9. Atherton, H.V.and Newlander, J.A.: *Chemistry and Testing of Dairy Products*, AVI Publishing Company, p.246(1977)
10. Marth, E.H.: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, American Public Association, Washington, D.C., p.73(1978)
11. Hull, M.E.: *J.Dairy Sci.*,**30**, 881(1947)
12. 소명환 : 한국산업미생물학회지, **12**, 285(1984)
13. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., p.413(1980)
14. Sawyer, F.M., Stone, H.Abplanalp, H. and Stewart, G.F.: *J.Food Sci.*, **27**, 386(1962)
15. Dawson, E.H., Brogdon, J.L. and McManus, S.: *Food Technol.*, **19**, 39(1963)
16. 장건형 : 식품의 기호성과 관능검사, 개문사, 서울, p.68(1975)
17. Amerine, M.A., Pangbon, R.M. and Roessler, E.

D.: *Principle of Sensory Evaluation of Food*, Academic Press, New York, p.459(1965)

18. 麻生健治, 渡邊沈男：セクルト研究所 研究 報告集, 第1號, p.1(1970)
19. Robinson, R.K. and Tamime, A.Y.: *J.Soc.Dairy Technol.*, **24**,149(1975)
20. 山下 哲郎, 高橋ヨリ子：セクルト研究所 研究 報告集, 第2號, p.37(1971)
21. Soda, M.E., Bergere, J.L. and Desmazeaud, M.J.: *J.Dairy Res.*, **45**, 519(1978)
22. Kihara, H.and Snell, E.S.: *J.Biol.Chem.*, **235**, 1409(1960)
23. Matthews, D.M.and Payne, J.W.: *Peptide Transport in Protein Nutrition*, North Holland Publishing Company, Amsterdam, p.13(1975)
24. 小林 洋一, 遠山清：日本細菌誌, **29**, 691(1974)
25. Yakult Institute: *Report on Yakult Beverage and Yakult Strain*, No.7, Tokyo, p.1(1980)
26. Mutai, M.: *Kor.J.Appl. Microbiol.Bioeng.*, **11**, 339(1983)
27. Singh, J. and Chopra, A.K.: *J.Food Sci.*,**47**, 1027(1982)
28. 湧口 浩也：日本乳技協資料, **31**, 19(1982)

1985년 3월 8일 접수