

Lactobacillus casei IFO 3012 와 Kluyveromyces fragilis KFCC 35458 의 혼합배양에 의한 두유의 젖산발효

유주현 · 류인덕 · 박정길* · 임홍철**

연세대학교 식품공학과, *충주공업전문대학 식품공학과, **캘리포니아대학교 생물공학과

Lactic Acid Fermentation in Soymilk by Single and Mixed Cultures of *Lactobacillus Casei* and *Kluyveromyces fragilis*

Ju-Hyun, Yu, In-Deok Lew, Chung-Kil Park* and Hong Chul Lim**

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul

*Department of Food Technology, Chung Ju National Technical College, Chungju

**Department of Biochemical Engineering, University of California, Irvine, USA

Abstract

Lactobacillus casei IFO 3012 and *Kluyveromyces fragilis*(KFCC 35458) were cultured together in Soymilk to investigate the growth characteristics and the conditions suitable for acid Production. *L. casei* produced more amount of acid rapidly when cultured with *K. fragilis* in soymilk than when cultured singly. The optimum conditions for acid production by the mixed cultures of *L. casei* and *K. fragilis* were achieved with a temperature of 35-37°C, a 1:5-1:9(O.D 660) ratio of *L. casei* to *K. fragilis* at inoculum, a 1.0% level of sucrose fortification or a 2.0% level of skim milk powder fortification and a culture time of 24hr. Under these conditions the amounts of acid produced by the single culture of *L. casei* and the mixed cultures with *K. fragilis* were 0.31% and 0.44% in soymilk, 0.43% and 0.97%, respectively, in soymilk fortified with 1.0% level of sucrose. These indicate that the amount of acid produced by mixed cultures is about 1.42 fold greater in soymilk and about 2.26 fold greater in soymilk fortified with 1.0% level of sucrose than that produced by the single culture of *L. casei*. The amount of acid produced in soymilk fortified with 2.0% level of skim milk powder was 1.0% level for both of the single culture of *L. casei* and the mixed cultures of *L. casei* and *K. fragilis* after 24hr incubation. In soymilk fortified with skim milk powder less than 1.5% the mixed culture with *K. fragilis* showed higher content of acid than the single culture of *L. casei* only.

Key words: lactic acid fermentation, mixed culture, *L. casei*, *K. fragilis*

서 론

Pyun 등의 연구보고에 의하면 n-paraffin을 탄소원으로 사용하였을 경우 *Candida tropicalis* 만을 단독배양한 경우보다 *Torulopsis cutaneum* 과 혼합배양한 경우 단위배지당 균체수율이 높았다.

이 경우 *C. tropicalis* 는 n-paraffin을 자화하여 증식하면서 대사산물로 myristic acid, Pentadecanic

acid와 Palmitic acid를 생산하며 이들 지방산에 의하여 자신의 생육이 저해되었다. 그러나 *T. cutaneum* 과 혼합배양하면 이 효모는 이 지방산들을 주 탄소원으로 자화하여 생육하게 되므로 결국 생육저해 작용을 하는 지방산들이 감소되는 결과가 되어 *C. tropicalis* 의 생육저해가 해소되었다. 이로 인하여 *C. tropicalis* 만을 단독배양한 경우보다 *T. cutaneum* 과 혼합배양한 경우 균체수율이 높고 증식속도도 빠르다고 하였다⁽¹⁾. Alcohol 증류액에서 *C. tropicalis* 와 *Saccharomyces cerevisiae* 를 혼합배양한 경우도 단독배양한 경우보다도 균체의 수율이 더 높았다고 하였다⁽²⁻³⁾.

탈지유를 젖산발효한 경우도 *Streptococcus lactis* 만

Corresponding author: In-Deok Lew, Department of Food Technology, Chung Ju National Technical College, 123, Gumdan-ri, Jungwon-gun, Chungbuk-do 383-870

으로 단독배양한 경우보다 *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus* 또는 *L. plantarum* 과 혼합배양 한 경우 젖산의 생성량이 많았다고 하였다(4-5). *L. helveticus* 와 혼합배양하였을 경우 *Str. lactis* 의 젖산발효를 촉진하는 물질은 발효중 *L. helveticus* 에 의해 lactose로부터 가수분해 되어 생성된 glucose 와 우유단백질로부터 가수분해 생성된 분자량 5000정도의 peptide 이었다고 하였다. 이 peptide 를 산으로 가수분해한 것 중에는 주로 Lys, Arg, Glu 등의 아미노산이 많았다고 하였으며 유리아미노산 중에서 His, Glu, Phe 등이 젖산생성을 촉진하는 효과가 가장 좋았다고 하였다(4-5).

또한 탈지유를 *Str. thermophilus* 와 *L. helveticus* 로 젖산발효한 경우도 단독발효한 경우보다 이 두균으로 혼합발효한 경우 더 많은 젖산을 생성하였다. *L. helveticus* 의 발효여역에 함유된 분자량 5000정도의 peptide 가 *Str. thermophilus* 의 생육을 촉진한다고 하였다. 이 peptide 중에는 Asp, Glu, Ala, Pro, Leu 이 많았다고 하였다. 특히 Glu, Phe, Trp 의 아미노산이 생육촉진 효과가 좋다고 하였다(6-7).

Yu 등은 두유를 *L. acidophilus*(8-9)나 *L. bulgaricus*(10)등의 젖산균으로 발효할 때 이 젖산균 만으로 단독배양한 경우보다 *Kluyveromyces fragilis* 나 *Sacch. uvarum* 과 혼합배양한 경우 젖산의 생성량이 더 많았다고 하였다. 두유중에는 sucrose, raffinose 와 stachyose 등의 과당류가 함유되어 있는데 이러한 당류는 위의 젖산균에 의해 거의 발효되지 못하나 *K. fragilis* 등의 효모와 혼합배양시에는 이 효모에 의해 이러한 과당류는 가수분해되어 glucose, fructose 등의 단당류를 생성한다고 하였다. 이 분해된 단당류를 젖산균이 발효하여 젖산을 생성하므로서 산의 생성량이 많아진다고 하였다(11). 본 연구에서는 두유를 젖산발효할 경우 *L. casei* 단독발효와 효모인 *K. fragilis* 와의 혼합발효에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 효모는 한국종균협회에서 분양받은 *K. fragilis* 5균주 중에서 soywhey 에서 생육상태가 가장 좋은 한 균주를 선정하여 *Lactobacillus* 속 젖산균들의 산생성 촉진효과를 확인한 후 *L. casei* 와의 혼합발효에 사용하였다. 균주의 보존용 배지로는 효모의 경우

YM 한천배지를 사용하였고 젖산균의 경우 121°C에서 20분간 가압멸균한 10%(w/v) 환원탈지유 배지에서 12시간 배양한 후 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

재료 및 실험방법

두유와 soywhey 의 조제법, starter 의 배양과 접종방법은 YU 등(8-11)이 사용한 방법을 사용하였다. Soywhey 에서 균체의 생육측정, 총산도의 측정법은 Yu 등(8-11)이 사용한 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

균의 생육과 산의 생성에 미치는 단독발효와 혼합발효의 영향

발효유제품 제조에 일반적으로 사용되고 있는 젖산균들은 균주에 따라서 sucrose 를 발효하는 것들은 있으나 raffinose, stachyose 등은 이용하지 못하므로 두유에서의 생육과 산생성이 우유에서 보다 떨어진다고 하였다(12-13).

또한 두유에서 이들 젖산균들끼리 각각 혼합배양한 경우도 산생성은 증가하지 않았다고 하였다(12). 그러나 Yu 와 Lew 등(8,10)의 연구보고에 의하면 두유를 *L. bulgaricus* 또는 *L. acidophilus* 로 단독발효한 경우보다 두 젖산균 모두 *K. fragilis* 와 혼합발효한 경우 산생성량이 많았고 산생성속도도 빨랐다. 그런데 *K. fragilis* 와의 혼합발효시 *L. bulgaricus* 보다 *L. acidophilus* 가 산생성량이 약간 더 많았다. 이것은 *K. fragilis* 와 *Lactobacillus* 속 젖산균과의 혼합발효시 젖산균의 종류에 따라 산생성량에 있어서 차이가 있음을 말해주고 있다. Fig. 1은 soywhey 를 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효할 경우 균체의 생육상태와 pH의 변화상태를 경시적으로 검토한 후 두균을 각각 단독발효하였을 경우의 그것들과 비교하였다. Soywhey 에서 균체의 생육속도는 단독발효한 경우 *L. casei* 보다 *K. fragilis* 가 빨랐다. 이때 pH의 강화속도는 두균주가 같은 수준을 나타내었다. 그러나 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효하였을 경우는 이 두균으로 각각 단독발효하였을 경우보다 균체의 생육속도와 pH 강화속도가 현저히 빨랐다.

혼합발효시 24시간 되었을 때의 균체량은 0.975(OD 660값)로서 *L. casei* 단독발효시 보다 1.91배, *K. fragilis* 단독발효시 보다 1.3배 많았다. 그리고 24시간 발효한 soywhey 의 pH는 *L. casei* 만으로 발효한 경우 pH5.40, *K. fragilis* 로 발효한 경우는 pH5.45이 있다.

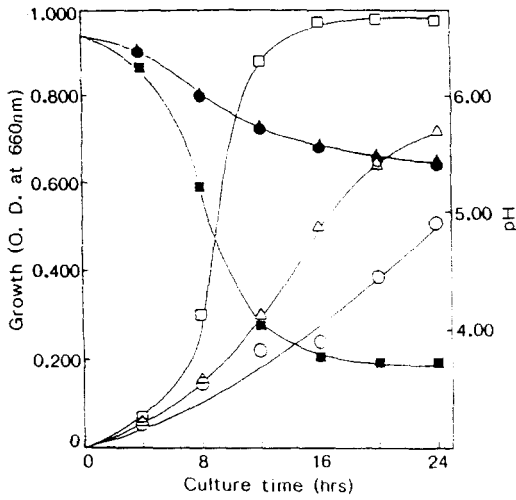


Fig. 1. Effect of single and mixed cultures of *K. fragilis* KFC 35458 and *L. casei* IFO 3012 on growth and lactic acid fermentation in soywhey at 37°C

Growth
 ○—○ : *L. casei*
 △—△ : *K. fragilis*
 □—□ : *L. casei* and *K. fragilis*

pH
 ●—● : *L. casei*
 ▲—▲ : *K. fragilis*
 ■—■ : *L. casei* and *K. fragilis*

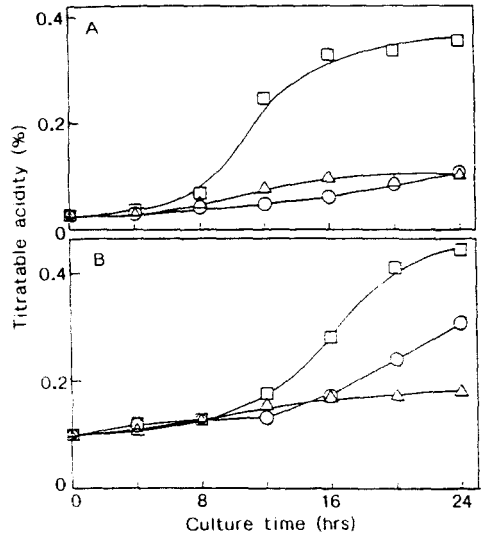


Fig. 2. Effect of soywhey and soymilk on lactic acid fermentation by single and mixed cultures of *L. casei* IFO 3012 and *K. fragilis* KFCC 35458 at 37°C.

A: soywhey B: soymilk
 ○—○ : *L. casei*
 △—△ : *K. fragilis*
 □—□ : *L. casei* and *K. fragilis*

이 두균으로 혼합발효한 경우는 pH 3.7로서 혼합발효한 경우가 가장 낮았다. 이와 같은 결과로부터 혼합발효시 *K. fragilis*는 *L. casei*의 산생성을 촉진한다고 생각되었다.

젖산발효에 미치는 두유와 soywhey의 영향

두유중의 수용성 물질이 젖산발효에 영향을 주는지 알아보기 위하여 pH4.2 침전 단백질과 열불안정성 단백질을 제거시킨 soywhey 또는 두유를 *L. casei*와 *K. fragilis*로 단독 또는 혼합발효하여 산생성에 미치는 두유와 soywhey의 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같았다. 산의 생성속도는 soywhey를 사용하였을 경우 *L. casei*와 *K. Fragilis*는 같은 수준으로 아주 느린 경향을 나타내었으나 이 두균으로 혼합발효시는 현저히 빨랐다. 두유를 사용하였을 경우는 *K. fragilis*보다 *L. casei*가 빨랐고 이들보다 이 두균으로 혼합발효한 것이 빨랐다. 혼합발효시 24시간 발효하였을 때의 산의 축적량은 두유를 사용한 것이 soywhey를 사용한 것보다 1.25배 많았다. 24시간 발효한 두유의 산도는 *K. fragilis*만으로 발효하였을 경우 0.18%, *L. casei*만으로 발효하였을 경

우 0.31%이었고 이 두균으로 혼합발효하였을 경우는 0.44%로서 두균으로 각각 단독발효한 경우보다 높았으며 *L. casei*만으로 단독발효하였을 때보다 1.42배 높았다.

이러한 결과로부터 *L. casei*와 *K. fragilis*의 혼합배양에 의한 두유의 젖산발효시 두유중의 pH 4.2 침전단백질과 열불안정성 단백질이 균의 생육과 젖산생성에 영향을 준다는 것을 알았다. 이러한 현상은 *L. bulgaricus* 또는 *L. acidophilus*를 *K. fragilis*와 혼합발효하였을 경우^(8,10)와 같았다. 그리고 *L. bulgaricus* 또는 *L. acidophilus*는 두유에서의 생육이 불량하여 거의 산생성을 하지 못하였다.^(8,10) 그러나 *L. casei*는 이 두 젖산균보다 두유에서의 생육상태가 양호하여 더 많은 산을 생성하였다. 한편 두유에서 *K. fragilis*와 혼합배양시의 산도는 *L. bulgaricus*를 사용하였을 경우는 0.41%⁽¹⁰⁾ *L. acidophilus*를 사용하였을 경우는 0.43%⁽⁸⁾ 그리고 *L. casei*를 사용하였을 경우는 0.44%로서 약간의 차이를 보여 주고 있으며 이중 *L. casei*를 사용하였을 경우가 산생성량이 가장 많다는 것을 알 수 있다.

온도 및 접종비율의 영향

산의 생성에 미치는 온도의 영향을 알아보기 위하여 25°C~50°C의 범위에서 온도 변화에 따른 산생성량을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다.

L. casei 는 37°C, *K. fragilis* 는 30°C, *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효시는 35~37°C의 온도범위에서 최대의 산생성을 나타내었다.

L. casei 와 *K. fragilis* 로 두유를 혼합발효시 두균주의 접종비율이 산생성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 4와 같았다. *L. casei* 와 *K. fragilis* 의 접종비율(O.D 660값)을 1:5~1:9 수준으로 하였을 경우 산생성량이 많았다. 이러한 결과는 *L. acidophilus* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효하였을 때와 같은 양상을 보여 주었다⁽⁶⁾. 또한 두유를 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효시 *L. casei* 의 젖산발효는 *K. fragilis* 에 대한 의존성이 매우 크다는 것을 알 수 있었다.

Sucrose 의 영향

L. casei 와 *K. fragilis* 로 24시간 혼합발효한 두유의 산도는 0.44%로서(Fig. 2) *L. casei* 만으로 단독발효한 경우보다 1.42배나 높지만 풍미를 개선하는데는 비교적 낮은 편이었다. 두유중에는 sucrose 0.48%, raffinose 0.07%, 그리고 미량의 단당류가 함유되어 있으나⁽¹⁴⁾ 이 당류를 전부 이용하여 산을 생성한다고 할지라도 충분한

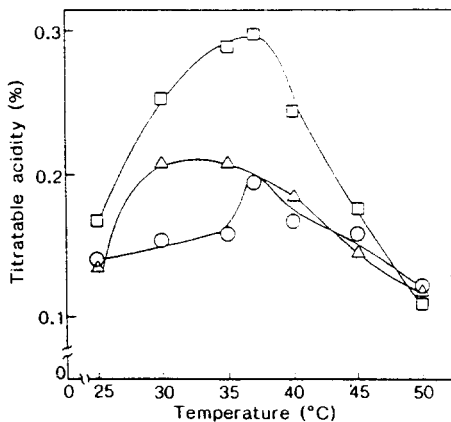


Fig. 3. Effect of temperature on lactic acid fermentation by single and mixed cultures of *L. casei* IFO 3012 and *K. fragilis* KFCC 35458 in soymilk for 6hrs.

○—○: *L. casei*
 △—△: *K. fragilis*
 □—□: *L. casei* and *K. fragilis*

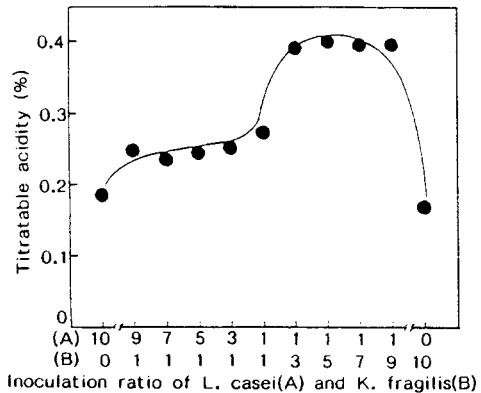


Fig. 4. Effect of inoculation ratio of *L. casei* IFO 3012 and *K. fragilis* KFCC 35458 on lactic acid fermentation in soymilk at 37°C for 16 hrs.

산생성을 하는 데는 그 양이 부족하다고 할 수 있다. 그러므로 많은 양의 산을 생성하기 위해서는 당류의 첨가가 필요하다고 생각되었다.

Wang 등⁽⁵⁾은 산미와 감미의 균형은 젖산 발효두유의 기호성에 영향을 준다고 하였다. 따라서 발효두유에 상쾌한 감미를 주고 산생성량을 높이는 데는 보편적으로 사용되고 있는 sucrose가 적당하다고 생각되었다. 두유에 sucrose를 0.5~3.0%(w/v) 범위에서 각 농도가 되게 첨가하여 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 단독 또는 혼합발효하여 젖산발효에 미치는 sucrose 농도의 영향을 조사한 결과는 Fig. 5와 같았다. 두유를 *K. fragilis* 로 발효할 경우는 sucrose를 첨가하지 않은 것과 첨가한 것을 서로 비교해 볼 때 거의 차이가 없이 산생성이 불량하였다. 그러나 *L. casei* 만으로 발효할 경우 또는 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효할 경우는 sucrose를 첨가한 것이 첨가하지 않은 것보다 산생성량이 많았다. 또한 sucrose를 첨가한 경우에도 *L. casei* 만으로 단독발효하는 것보다는 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효하는 것이 산생성량이 많았다.

첨가한 sucrose의 농도가 증가함에 따라서 산생성량은 *L. casei* 만으로 단독발효하였을 경우는 서서히 증가하였으나 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효하였을 경우는 급격히 증가하여 첨가한 sucrose의 농도가 1.0% 수준이었을 때 최대의 산생성을 나타내었다. 그 이상의 농도에서는 산생성량이 오히려 서서히 감소하는 경향을 보여 주었다. 이러한 결과로부터 *L. casei* 와 *K. fragilis* 에 의한 두유의 젖산 발효시 최대의 산생성을 위

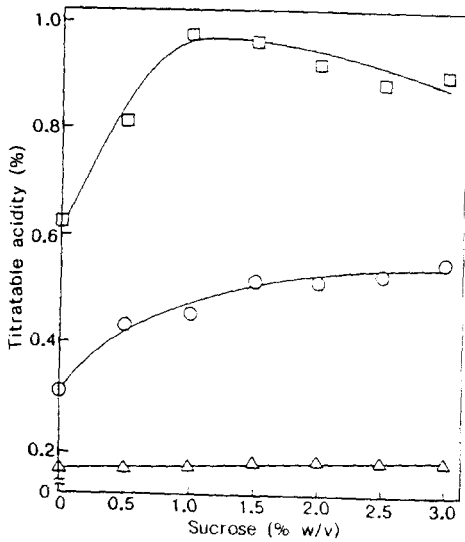


Fig. 5. Effect of addition sucrose concentration on lactic acid fermentation by single and mixed cultures of *L. casei* IFO 3012 and *K. fragilis* KFCC 35458 in soymilk at 37°C for 24 hrs.

○—○: *L. casei*
 △—△: *K. fragilis*
 □—□: *L. casei* and *K. fragilis*

한 sucrose의 농도는 1.0% 수준이 적당함을 알 수 있었다.

두유 대신에 soywhey를 사용하였을 경우에도 sucrose의 첨가여부가 산생성량의 증가에 영향을 주는지를 알아보기 위하여 soywhey와 두유에 각각 sucrose를 1.0%되게 첨가한 후 *L. casei*와 *K. fragilis*로 단독 또는 혼합발효하여 산생성량을 경시적으로 조사한 결과는 Fig. 6과 같았다. 혼합발효시 *L. casei*와 *K. fragilis*의 접종 비율은 1:5로 하였다.

Soywhey를 *L. casei* 또는 *K. fragilis*만으로 단독 발효하였을 때 산생성은 매우 불량하였다. 단지 이 두균으로 혼합발효하였을 때만 발효시간에 따라서 산생성량이 증가하여 24시간 되었을 때의 산도는 0.35%이었다 (Fig. 2). 이 결과를 sucrose를 1.0%되게 첨가한 soywhey에서의 산생성량과 비교해 볼 때 *L. casei*와 *K. fragilis*로 각각 단독발효한 경우는 sucrose의 첨가여부가 산생성량에 전혀 영향을 주지 못했다. 혼합발효한 경우에만 약간 더 많은 산을 생성하였다. 24시간 혼합발효하였을 때의 산도는 0.43%로서 sucrose 첨가전 보다 1.2배 높았다. 한편 두유를 *K. fragilis*와 *L. casei*로

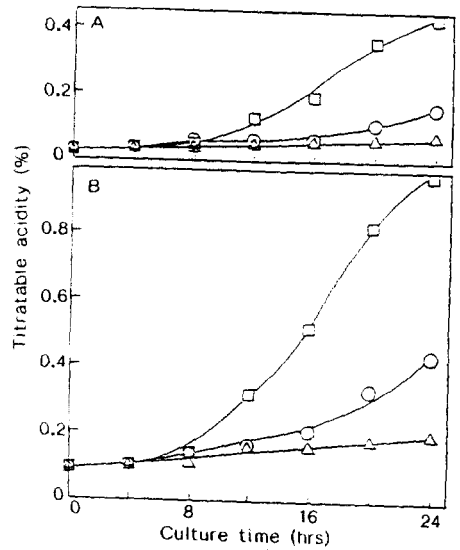


Fig. 6. Time course of lactic acid fermentation of soywhey and soymilk with the addition of 1% sucrose by single and mixed cultures of *L. casei* IFO 3012 and *K. fragilis* KFCC 35458 at 37°C.

A: soywhey B: soymilk
 ○—○: *L. casei*
 △—△: *K. fragilis*
 □—□: *L. casei* and *K. fragilis*
 Inoculation ratio of *L. casei* and *K. fragilis*; 1:5

각각 단독 또는 혼합발효하였을 때 24시간 후의 두유의 산도는 각각 0.18%, 0.31%와 0.44%이었다 (Fig. 2).

Sucrose를 1.0%되게 첨가한 두유를 사용하였을 때의 산도는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 각각 0.20%, 0.43%와 0.97%로서 *L. casei*만으로 단독발효할 경우보다 *K. fragilis*와 혼합발효한 경우 2.26배 높았다. sucrose를 첨가하기 전의 산도들과 비교할 때 *L. casei*만으로 단독발효하거나 이와 *K. fragilis*로 혼합발효할 경우는 sucrose를 첨가하였을 때 더 많은 산을 생성한다는 것을 알 수 있었다. 혼합발효하였을 경우의 산도는 sucrose를 1.0%되게 첨가한 두유가 첨가하지 않은 두유보다 2.2배 높았다. 이상의 결과들로부터 두유에 sucrose를 첨가한 경우도 *L. casei*만으로 단독발효하는 것보다 *K. fragilis*와 혼합발효하는 것이 산생성량이 많고 산생성속도가 빠르다는 것을 알 수 있었다. Fig. 7은 sucrose를 1.0%되게 첨가한 두유를 *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* 그리고 *L. casei*로 각각 단독발효하거나 또는 이들의 각균과 *K. fragilis*로 혼합발효하였을

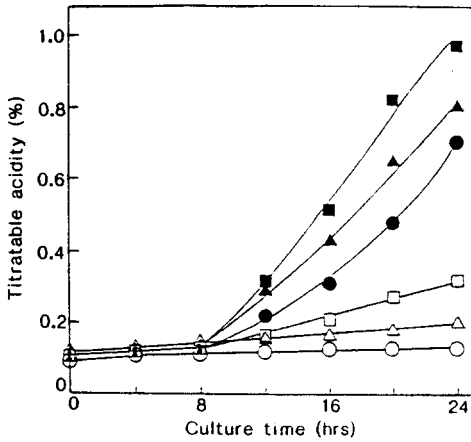


Fig. 7. Effect of soymilk with the addition of 1% sucrose on lactic acid fermentation by single and mixed cultures of *Lactobacillus* and *L. fragilis* KFCC 35458 at 37°C.

○—○: *L. bulgaricus* ●—●: *L. bulgaricus* and *K. fragilis*
 △—△: *K. acidophilus* ▲—▲: *L. acidophilus* and *K. fragilis*
 □—□: *L. casei* ■—■: *L. casei* and *K. fragilis*
 Inoculation ratio
L. bulgaricus and *K. fragilis*; 1:2
L. acidophilus and *K. fragilis*; 1:5
L. casei and *K. fragilis*; 1:5

경우 산생성속도와 산생성량을 비교 검토한 것이다. 단독 발효의 경우 *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* 는 산생성이 불량하였고 *L. casei* 만이 약간의 산을 생성하였다.

그러나 이들 각 젖산균과 *K. fragilis* 로 혼합발효한 경우는 모두 산생성속도가 빠르고 산생성량이 많았다. 24시간 발효하였을 때의 산도는 *L. bulgaricus* 와 *K. fragilis* 를 사용하였을 경우 0.70%, *L. acidophilus* 와 *K. fragilis* 를 사용하였을 경우 0.80%이었고 *L. casei* 와 *K. fragilis* 를 사용하였을 경우는 0.97%로서 이 중에서 가장 많은 산을 생성하였고 산생성속도도 가장 빨랐다.

Skim milk 의 영향

풍미를 개선하고 산생성량을 증가시키기 위하여 두유를 젖산균으로 발효시 skim milk 를 첨가한 경우를 여러 연구보고에서 볼 수 있다⁽¹⁶⁻¹⁸⁾, 그러므로 두유를 *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 단독 또는 혼합발효시 첨가 skim milk 가 산생성에 어떤 영향을 주는지 알아보기 위하여 두유에 skim milk powder 를 0.5~3.0% (w/v) 범위의 농도로 첨가하여 37°C에서 24시간 발효하였을 때

skim milk 첨가량에 따른 산생성량을 조사하였다. 그 결과 Fig. 8에 나타난 것과 같이 *L. casei* 로 단독발효하였을 경우와 *K. fragilis* 와 혼합발효하였을 경우 모두 두유보다 skim milk 를 첨가한 두유에서 산생성량이 많았다. 2.0% (w/v) 농도의 첨가까지는 skim milk 의 첨가량이 증가함에 따라서 산생성량이 급격히 증가하였고 그 이상의 농도에서는 아주 서서히 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 두유에 skim milk 첨가량을 1.5% 이하로 했을 때만 *L. casei* 로 단독발효한 경우 보다 *K. fragilis* 와 혼합발효한 경우가 산생성량이 많았고 1.5% 이상으로 했을 때는 *K. fragilis* 와의 혼합발효한 경우보다 *L. casei* 로 단독 발효한 경우가 약간 더 많은 산을 생성하는 경향을 나타내고 있으나 거의 같은 수준이라고 볼 수 있다. 이상의 결과로부터 산생성을 위한 최적 skim milk 의 농도는 2.0% 수준이 적당하다는 것을 알 수 있었고 이때의 산도는 *L. casei* 로 단독발효한 경우 1.05%, *L. casei* 와 *K. fragilis* 로 혼합발효한 경우는 0.99%로서 거의 같은 수준을 나타내었다.

이상의 연구결과를 종합하면 *L. casei* 를 두유에 접종

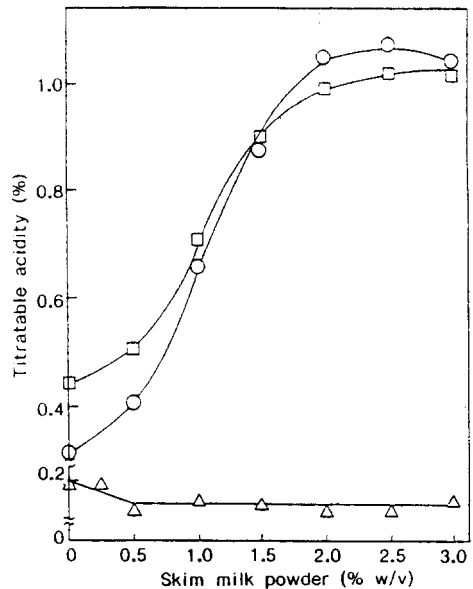


Fig. 8. Effect of addition skim milk concentration on lactic acid fermentation by single and mixed cultures of *L. casei* IFO 3012 and *K. fragilis* KFCC 35458 in soymilk at 37°C for 24 hrs.

○—○: *L. casei*
 △—△: *K. fragilis*
 □—□: *L. casei* and *K. fragilis*

하여 발효할 경우 단독발효하는 것보다 *K. fragilis*와 혼합발효하는 것이 젖산의 생성량이 많았다. 이러한 경향은 두유를 *L. bulgaricus*와 *L. acidophilus*로 단독발효하거나 이들 각균을 *K. fragilis*와 혼합발효한 경우^(8,10) 또는 *L. acidophilus*와 *sacch. uvarum*으로 단독발효 혹은 혼합발효한 경우⁽⁹⁾와 같은 경향으로 젖산발효가 일어났다.

요 약

두유를 *L. casei*로 젖산발효시킬 때 *L. casei* 단독발효와 효모인 *K. fragilis*와의 혼합발효에 대하여 검토하였다. 그 결과 두유를 *L. casei*로 단독발효한 경우보다 *K. fragilis*와 혼합발효한 경우 산생성량이 많고 산생성속도가 빨랐다. 이 두균을 혼합배양하여 산생성을 높이기 위한 발효조건은 두유에 sucrose를 1.0% 또는 skim milk를 2.0% 첨가하고 *L. casei*와 *K. fragilis*를 O.D 660값으로 1 : 5~1 : 9되게 접종하여 35~37°C의 온도에서 24시간 발효하는 것이 효과적이었다. 두유를 *L. casei*로 단독발효한 경우와 *L. casei*와 *K. fragilis*로 혼합발효한 경우의 산도는 각각 0.31%와 0.44%로서 혼합발효한 경우가 1.42배 높았다. sucrose를 1.0% 첨가한 두유를 사용하였을 경우는 각각 0.43%와 0.97%로서 혼합발효한 경우가 2.26배 높았다. 그리고 skim milk를 2.0% 첨가한 두유를 사용하였을 경우는 각각 1.05%와 0.99%로서 *L. casei*로 단독발효한 것과 *K. fragilis*와 혼합발효한 것 사이에 차이가 없이 같은 수준을 나타내었다. 단지 skim milk를 1.5%이하로 첨가했을 때만 *L. casei*로 단독발효한 것보다 *K. fragilis*와 혼합발효한 것이 산생성량이 많았다.

사 의

이 연구를 위해 연구비를 지원하여 주신 한국음식문화연구원 김채방 원장께 감사드립니다.

문 헌

1. Pyun, Y.R., T.W. Kwon and J.H. Yu : Studies on a mixed yeast culture. part I. Interaction in a mixed yeast culture. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19, 306(1977)
2. Oh, D.H., R. Yang and J.H. Yu : Studies on the utilization of alcohol distillers waste. part II. Optimum condition for the growth of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida tropicalis* in the waste filtrate. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 4, 43(1976)
3. Oh, D.H., R. Yang and J.H. Yu : Studies on the utilization of alcohol distillers waste part III. Production of single cell protein in a mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida tropicalis*. *Kor. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 4, 71(1976)
4. Park, J.K., I.D. Lew and J.H. Yu : Effect of peptide on the mixed fermentation of *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML₃ in skim milk. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 14, 487(1986)
5. Park, J.K., I.D. Lew, S.S. Yoon and J.H. Yu : Interaction of *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML₃ on the sugar fermentation in skim milk. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19, 42(1987)
6. Yoon, S.S., C.K. Park and J.H. Yu : On the mixed culture of *Lactobacillus helveticus* and *Streptococcus thermophilus* in milk. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 13, 151(1985)
7. Yoon, S.S. and J.H. Yu : Identification of growth stimulatory compound in the mixed culture of *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus thermophilus* CH-1 in milk. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 18, 492(1986)
8. Yu, J.H., I.D. Lew, C.K. Park and I.S. Kong : Lactic acid fermentation of soymilk by mixed cultures of *Lactobacillus acidophilus* and *Kluyveromyces fragilis*. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 15, 162(1987)
9. Kong, I.S., J.S. Lee, Y.J. Chung, I.D. Lew, D.H. Oh and J.H. Yu : Lactic acid fermentation of soymilk by mixed culture of *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces uvarum*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19, 355(1987)
10. Yu, J.H., I.D. Lew, C.K. Park and I.S. Kong : Lactic acid fermentation of soymilk by mixed cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Kluyveromyces fragilis*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19, 263(1987)
11. Lew, I.D. and J.H. Yu : Interaction between *Lactobacillus acidophilus* and *Kluyveromyces fragilis* on the metabolism of galacto-oligosaccharides in soymilk. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 15, 253(1987)
12. Mital, B.K. and K.H. Steinkraus : Flavor accepta-

- bility of unfermented and Lactic-fermented soymilks. *J. Milk Food Technol.*, **39**, 342(1976)
13. Angeles, A.E. and E.H. Marth : Growth and activity of lactic acid bacteria in soymilk. *J. Milk Food Technol.*, **34**, 30(1971)
14. Mital, B.K. and K.H. Steinkrans : Utilization of oligosaccharides by lactic acid bacteria during fermentation of soymilk. *J. Food Sci.*, **40**, 114(1975)
15. Wang, H.L., L. Kraidej and C.W. Hesseltine : Lactic acid fermentation of soybean milk. *J. Milk Food Technol.*, **37**, 71(1974)
16. Yamanaka, Y., Okamura, O. and Hasegawa, Y. : Metod of preparing a sour milk beverage. *U.S. Patent* 3,535,117(1970)
17. Dimov, N., O. Dzhondzhorova, and A. Kozhev : Dietetic sour milk product from soybean milk and cow's milk. *Khranit Promst.*, **29**, 12(1980)
18. Yamanaka, Y. and N. Furukawa, N. : Influence of soymilk added to skim milk on the acidity and the hardness of curd produced by lactic acid bacteria for dairy use. *J. Food Sci. Technol*(Tokyo), **17**, 456(1970)

(1988년 4월 1일 접수)