

Lactobacillus acidophilus 에 의한 보리당화액의 젖산 발효

이 성 갑·김 기 철*

국립안성농업전문대학 식품제조과, *충북대학교 농과대학 식품가공학과

Lactic acid Fermentation of Barley Malt Syrup by *Lactobacillus acidophilus*

Seong-Kap Rhee and Ki-Cheul Kim*

Dept. of Food Technology, An Seong National Junior College of Agriculture, An Seong.

Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheong Ju.

Abstract

The optimum conditions for lactic acid fermentation by *Lactobacillus acidophilus* in the media containing malt syrup, skim milk or skim milk and malt syrup were studied to develop marketable fermented beverages from barley. The optimum sugar concentration of malt syrup was 10° Bx. Addition of skim milk to malt syrup enhanced bacterial growth and acid formation. The best flavor of the product was obtained from the media containing 5% skim milk and sterilized at 90°C for 30 minutes. Optimum temperature and pH for the fermentation were 40°C and 6.0, and bacterial cells grew logarithmically upto 16 hours.

서 론

보리는 세계적으로 널리 재배되는 작물이며 전분이 주성분이나 양질의 단백질과 비타민 B가 풍부한 곡류로서 서양에서는 동물의 사료로서 활용되어 왔고 동양에서는 식량으로서 많이 이용되어 왔다.¹⁾

우리나라에 있어서의 보리는 쌀 다음 가는 주곡으로 중요시 되어 왔으며 일부 산간지대를 제외하면 전국적으로 재배가능한 겨울작물이므로 벼·콩 등의 여름 작물과의 이모작(二耗作)이 가능한 이점(利點) 때문에 밭작물 중 그 수위(首位)를 차지하고 있었으나 국민 소득의 향상에 따른 식생활 변화로 보리의 입식(粒食)형태의 소비를 기피함으로써 그 생산량이 급격한 감소추세에 있다.²⁾

현재 단위면적당 생산량으로 보아 보리 대체 작물이 없는 우리의 현실을 감안하면 지속적인 식량 자급도의 향상과 농가 소득 증대를 위하여 보리의

증산과 아울러 이의 활용도를 높여야 할 실정이다.³⁾

따라서 이의 실현을 위해서는 외피층이 두터워 도정 후에도 종구(種溝)가 완전히 제거되지 않아 취반(炊飯)이 어렵고, 소화와 향미가 불량한⁴⁾ 지금까지의 입상(粒狀) 보리의 소비형태를 탈피하여 다양한 보리 가공식품의 개발 보급에 의한 새로운 수요 방안이 절실히 요망된다.

보리의 이용형태를 보면 전통적으로 쌀과의 혼취용(混炊用) 외에 장류와 소주 등의 양조용 및 감주, 보리차(茶) 등의 원료로 이용되어 왔으나 보리 소비확대를 위한 노력과 신 가공품의 개발 필요성에 대한 인식이 높아진 근년에 와서는 복합분 또는 유아식⁵⁾이나 탄산맥아음료⁶⁾ 및 무주정음료^{7,8)}로 이용해 보려는 연구가 시도되어 일부 실용화 되고 있다.

또한 근년 국내외적으로 수요가 급성장 되고 있는 유산균발효음료에 우유 대신 식물성 원료로 대두^{9,10)} 이용에 대하여 많은 연구가 시도되고 있으나 미해결 문제점이 많아 실용화가 지연되고 있다.

한편 보리를 원료로 한 유산균발효음료의 개발

1988년 6월 2일 수리

Corresponding Author: S.K. Rhee

시도로서 *yu* 등¹¹⁾이 맥아당화액을 이용한 유산균 발효에 관한 보고가 있다.

따라서 저자는 보리 유산균 발효음료의 개발을 위한 맥아당화액 조제연구¹²⁾에 이어 본 연구에서는 유산 생산력이 크고 유당이외의 당류 이용성이 높은 *Lactobacillus acidophilus*¹³⁾를 공시균으로 하여 배양조건으로 맥아당화액의 당농도, 탈지분유첨가량, 배양온도, 배지의 pH, 배지의 살균조건 등 발효 최적 조건 등을 연구 검토하였다.

재료 및 방법

공시재료

가. 보리; 본 실험에 사용한 보리는 농촌진흥청 맥류 연구소에서 분양받은 올보리를 사용하였다.

나. 탈지분유; 배지제조용 탈지분유는 (주)빙그레 연구실에서 분양받은 것으로 TTC 검사음성의 제품을 사용하였으며 그 조성은 표 1과 같았다.

다. 균주; (주)빙그레 연구실에서 분양받은 *Lactobacillus acidophilus* ATTC 9224를 이용하였으며 이의 보존은 M.R.S. 배지¹⁴⁾를 사용하였다.

시험방법

가. 배지의 조제

Table 1. Proximate composition of dried skim milk used in these experiments(%)

Moisture	3.00
Protein	35.00
Fat	1.00
Carbohydrate	52.50
Ash	8.50

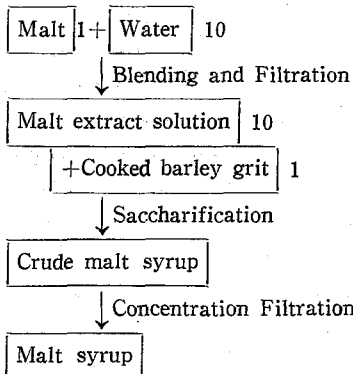


Fig. 1. Flow sheet for the preparation of malt syrup.

Table 2. Proximate composition of malt syrup used in these experiments (%)

Moisture	88.74
Protein	0.79
Fat	0.68
Carbohydrate	9.72
Ash	0.13

(1) 탈지분유 배지(skim milk); 탈지분유에 증류수로 10%(w/v)용액이 되도록 가하여 탈지분유용액을 조제하였다.

(2) 맥아당화액(malt syrup); 그림 1에 표시한 바와 같이 건조 맥아에 10배량(w/w)의 물을 가하여 추출한 맥아즙을 증자(蒸煮)한 정맥에 10배량(w/w)가 하여 당화시킨 후 10°Bx에 달하도록 농축하여¹⁵⁾ malt syrup를 조제, 사용하였으며 그 조성은 표 2와 같았다.

(3) 혼합배지(mixed medium); 상기 조제한 배지(1)과 (2)를 동량(1:1)으로 혼합사용하였다.

나. 종균(starter)의 배양

10%의 탈지분유에 *L. acidophilus*를 접종하고 40°C에서 24시간씩 2계대(繼代) 배양하여 활성화시킨 후 본 발효용 종균으로 사용하였으며 본발효에는 이를 3%(v/v)씩 접종하여 사용하였다.

다. 배지의 조성 및 배양조건

(1) 당농도: malt syrup의 당농도를 1~20°Bx로 조절한 후 starter를 접종, 40°C에서 24시간 배양하였을 때의 산생성량을 측정 비교하였다.

(2) 영양원(源); 적정농도의 malt syrup에 skim milk powder, yeast extract, peptone, glucose, lactose, sodium citrate 등을 일정비율이 되도록 첨가 조제한 배지에 starter를 접종, 40°C에서 24시간 배양한 후의 산생성량 및 생균수를 측정하였다.

(3) 탈지분유농도; 일정량의 malt syrup에 탈지분유를 10, 30, 50 및 70%(v/v)에 달하도록 첨가하여 조제한 배지에 starter를 접종, 40°C에서 24시간 배양한 다음 산생성량 및 발효액의 품질을 측정 비교하였으며 이 때의 품질로서는 제품의 선택과 조지감을 대상으로 판정하였다.

(4) 배지의 열처리; malt syrup, 탈지분유액 및 이들 혼합액을 65, 80, 90, 100, 110 및 120°C에서 30분간 가열처리한 후 starter를 접종하여 40°C에서 24시간 배양한 배양액의 적정산도를 측정하

였다.

(5) 배양온도 ; 20~50°C 범위의 온도에서 24 시간 각각 배양한 발효액의 산도를 측정하였다.

(6) 배양 pH ; pH를 4.0에서 9.0에 달하도록 조절한 배지에 starter를 접종, 40°C에서 24시간 배양한 후 생균수를 측정하였다.

(7) 생육곡선 ; 3종 배지에 starter를 접종시켜 40°C에서 24시간 배양하면서 4시간 간격으로 생균수를 측정하여 생육곡선을 작성하였다.

라. 발효액의 분석

(1) 생균수의 측정 ; 적정농도로 희석한 시료 1 ml를 B.C.P 환천배지(yeast extract 0.5%, glucose 1%, peptone 0.25%, bromocresol purple 0.003%, agar 1.5%, pH 6.8)에 도말하여 37°C에서 72시간 배양한 후에 나타난 황색 colony 수를 측정¹⁶⁾ 비교하였다.

(2) 적정산도(Titratable acidity=TA) 및 pH의 측정 ; 적정산도는 phenolphthalene을 지시약으로 상법에 따라 적정하여 젖산으로 환산¹⁷⁾하였으며 pH는 pH meter(Fisher model 114)를 사용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

배지조성과 배양조건

가. 당농도의 영향

malt syrup의 당농도에 따른 *L. acidophilus*의 유산 생성량을 측정한 결과는 그림 2와 같이 10° Bx 도달할 때까지는 산생성량이 급격히 증가하였으나 그 이상의 당도에서는 산생성에 큰 차이를 나타내지 않았다. yu 등¹¹⁾도 맥아 당화액 중에서

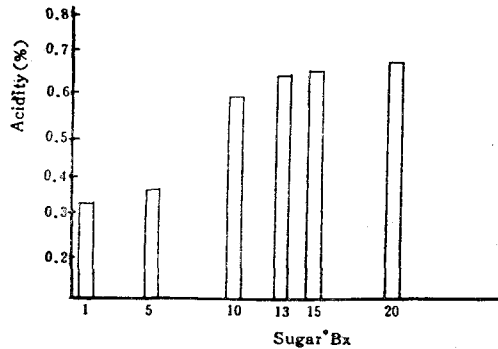


Fig. 2. Effect of sugar concentration of malt syrup on the acid production by *L. acidophilus**
* The culture was incubated with 3% inoculum at 40°C for 24 hrs.

*L. lactis*를 배양하였을 때의 최적 당도는 10° Bx였다고 보고한 바 있어 균주는 달라도 본 실험 결과와 일치하는 경향을 나타내고 있다.

나. 영양원의 첨가효과

*L. acidophilus*의 영양요구성^{13,14,18,19)}과 malt syrup의 조성¹⁵⁾을 고려하여 몇가지 질소원, 탄소원 및 무기성분 첨가시의 효과를 측정한 결과는 표 3과 같이 질소원인 yeast extract와 peptone을 첨가하였을 때에는 생균수 및 적정산도가 약간씩 증가하였고 탄소원 중 glucose 경우 생균수는 증가시켰으나, 산의 생성은 억제하였고 lactose와 sodium citrate를 첨가하였을 때에는 생균수 및 산도에 모두 현저한 효과를 보였으며 탈지 분유 첨가는 대조구에 비하여 2배 이상의 적정 산도를 나타내었고 생균수도 현저하게 증가시켰다. yu 등¹¹⁾은 몇종의 유산균을 맥아당화액에 배양하였을 때

Table 3. Effect of nutrient additions on the acid production and viable cell counts in malt syrup (10°Bx) by *L. acidophilus**

Nutrients	None	Yeast Extract	Peptone	Skim milk
Test	% TA cell/ml	% TA cell/ml	% TA cell/ml	% TA cell/ml
Initial	0.12 4.5×10 ⁷	0.14 5.1×10 ⁷	0.16 5.8×10 ⁷	0.14 7.8×10 ⁷
Cultured	0.42 2.5×10 ⁸	0.57 4.7×10 ⁸	0.68 6.9×10 ⁸	0.96 5.7×10 ⁸
Nutrients	Glucose	Lactose	Na-citrate	
Test	% TA cell/ml	% TA cell/ml	% TA cell/ml	
Initial	0.12 4.5×10 ⁷	0.16 5.8×10 ⁷	0.14 5.1×10 ⁷	
Cultured	0.39 2.1×10 ⁸	0.53 4.0×10 ⁸	0.56 4.6×10 ⁸	

* The culture was incubated with 3% inoculum at 40°C for 24 hrs.

glucose, yeast extract, mineral mixture 및 sodium citrate의 첨가효과를 검토하여 그 중 yeast extract 와 sodium citrate 만이 산생성을 촉진하였다고 보고한 바 있는데 본 실험결과도 이와 일치하는 경향을 나타내었다.

특히 탈지분유첨가에 의하여 산생성이 현격한 증가를 한 것은 탈지분유중에 질소원, 무기성분 및 비타민류의 함량이 풍부²³⁾하기 때문이라고 사료되었다. Yamanaka 등²⁰⁾은 두유를 *L. acidophilus* 로 유산발효시킬 때 탈지분유의 첨가가 가장 효과적이었다는 보고도 발표되고 있다.

다. 탈지분유 첨가량의 영향

표 3에서 나타난 바와 같이 각종 영양성분 중 탈지분유가 *L. acidophilus* 의 산생성을 가장 촉진하였으므로 이의 첨가량의 영향을 검토하게 되었으며 그 결과는 그림 3에서와 같이 3% 첨가시까지는 산생성이 급격히 증가하였으나 그 이상 첨가에서는 효과가 적었다. 그러나 맥아당화액을 이용한 완제품의 색상 및 관능면을 고려하여 3% 보다는 5%를 첨가하는 것이 우수하여 이후의 시험에서는 맥아당화액에 5% 탈지분유를 첨가하였다. 이같은 첨가량은 yogurt 제조시 원유에 3~6%의 분유를 첨가하는 것이 효과적이라는 보고²¹⁾와 동일한 첨가량이었다.

라. 배지의 열처리 효과

배지의 종류에 따르는 열처리 정도의 차이가 *L. acidophilus* 의 산생성량에 미치는 영향을 검토한 결과는 표 4와 같이 malt syrup 은 65°C에서 30분, 탈지분유액은 100°C에서 30분, 그리고 이들 혼합배지는 90°C에서 30분 처리하였을 때 산생성

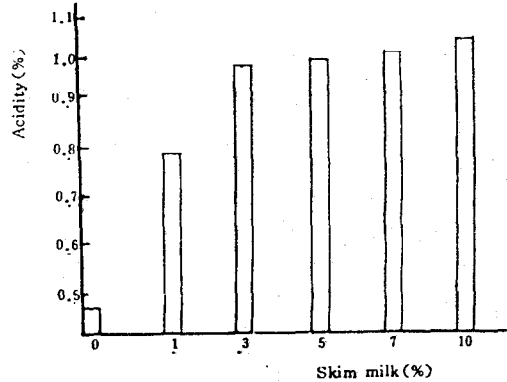


Fig. 3. Effect of skim milk the concentration added in malt syrup on the acid production by *L. acidophilus**

* cultured conditions were the same as Fig. 4.

량이 가장 많았다. malt syrup 을 고온처리할수록 산생성량이 떨어지는 것은 고온처리로서 amino-carbonyl 반응 등으로 유산균이 이용가능한 당과 amino acid 성분의 소실작용이 강해지고 또한 내열성이 약한 생육인자의 파괴²³⁾ 때문인 것으로 생각되며 탈지분유액이 고온처리가 효과적인 이유로서는 가수분해 작용이 촉진되어 배지의 조성이 산발효에 더욱 양호한 상태로 변화되었기 때문이라고 판단되었다. 혼합배지에 있어서의 산생성효과는 malt syrup 에 있어서의 상호작용원리와 탈지유에 있어서의 분해원리가 동시에 작용하였기 때문이라고 생각되었다. Singh²⁴⁾을 우유를 발효시키기 전의 열처리 조건을 검토하였을 때 *S. thermophilus* 는 65°C에서 30분간 처리하는 것이 효과

Table 4. Effects of heat treatments of malt syrup, skim milk and skim milk malt syrup(1 : 1) on lactic acid fermentation by *L. acidophilus**

Heat treatment		Titratable acidity(%)		
Temp. °C.	Min.	Malt syrup ¹⁾	Skim milk ²⁾	Mixed medium ³⁾
65	30	0.72	0.89	0.86
80	30	0.68	1.08	0.83
90	30	0.64	1.13	0.93
100	30	0.62	1.32	0.84
110	30	0.60	1.17	0.77
120	30	0.57	1.05	0.75

* Cultural conditions were the same as Table 7

1) 10°Bx malt syrup solution

2) 10% skim milk solution

3) Mixed solution(1 : 1, ① and ②)

적이었으나 *L. acidophilus* 는 100°C에서 30 분간 처리하는 것이 효과적이라 보고하였는데 이는 균주간 배지성분의 분해이용능력의 차라고 하였다.

다. 배양온도의 영향

배양온도가 유산생성에 미치는 영향을 검토한 결과는 그림 4와 같았으며 배지의 종류에는 관계없이 35~45°C에서 양호한 결과를 보였고 최적산생성온도는 40°C이었다. Dutta 등²⁵⁾은 *L. casei* 등을 이용하여 우유를 산발효시킬 때의 최적온도를 40°C 전후이었다고 보고한 바 있다.

바. 배양 pH의 영향

배양 pH가 *L. acidophilus* 의 증식속도에 미치는 영향을 검토한 결과는 그림 5와 같고 pH 5.0

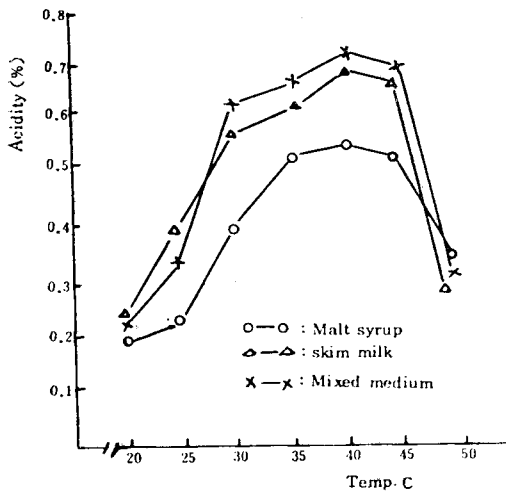


Fig. 4. Effects of different incubation temperatures on the acid production.

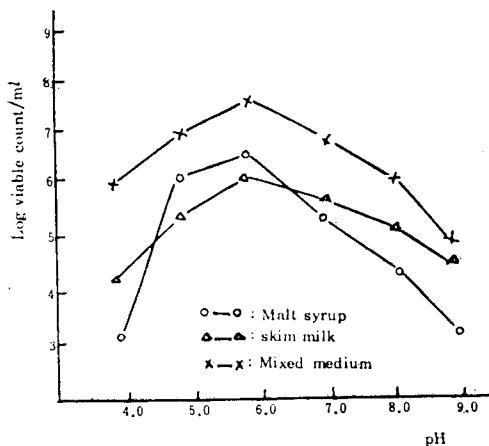


Fig. 5. Effects of different pH on growth of *L. acidophilus*.

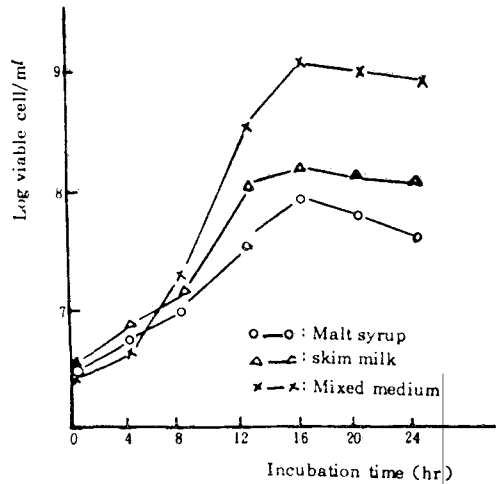


Fig. 6. Changes of viable cell count of *L. acidophilus* inoculated in different media.

~7.0에서 생육이 왕성하였고 최적 pH는 6.0이었다. 이는 Bergey's의 manual¹³⁾에 나타나 있는 *L. acidophilus*의 생육최적 pH와 일치하는 결과이다. 따라서 이러한 결과와 lactobacilli 속의 생육은 pH 3.5 정도에서 정지된다는 보고²⁶⁾를 참고하여 이후의 실험은 배지 pH를 6.0으로 하였다.

사. *L. acidophilus*의 생육곡선

이상의 malt syrup, skim milk, mixed medium 중에 있어서의 *L. acidophilus*의 생육 및 산생성 조건을 검토한 결과를 토대로 한 최적조건하에서 본균의 생육곡선을 그린 결과는 그림 6과 같았으며 16 시간까지가 대수기이고 그 이후가 정상기임을 알 수 있었다.

3종의 배지 중 혼합배지에서 생육이 가장 왕성한 결과를 나타내었는데 이와 같은 결과는 양배지를 혼합함으로써 본균의 생육에 필요한 각종 영양성분의 함량을 상호보완하게 되며 기인된 것이 아닌가 생각된다. Lee 등¹⁰⁾은 탈지대두유를 배지로 하여 *L. acidophilus*(KFCC 12731)를 37°C에서 24시간 유산발효시켰을 때 대수기가 12시간까지였다고 한 보고와는 본시험결과와 약간의 차이를 나타내고 있는데 이와같은 차이는 배지조성 및 종균의 차이에 기인하는 것으로 판단되었다.

초 록

브리를 이용한 유산균음료를 개발하기 위한 기초자료를 얻고자 malt syrup, skim milk, 및 분유

첨가 malt syrup 을 배지로 하여 *Lactobacillus acidophilus* 를 배양할 때의 각종 배양조건을 시험 조사하여 얻은 주요 결과는 다음과 같다. *L. acidophilus* 를 stater 로 하여 malt syrup 에서의 유산발효시킬 때의 최적당도는 10°Bx 이었고 3% 이상의 skim milk 를 첨가하면 유산균의 생육 및 산생성을 현저히 촉진하였으나 품질 및 기호성을 고려하면 5%의 탈지분유를 첨가하는 것이 적당하였다.

5%의 탈지분유를 첨가한 10°Bx 의 malt syrup 에서 *L. acidophilus* 를 배양할 때 배지의 열처리 조건으로서는 50°C, 30 분간이 가장 효과적이었고 최적배양온도는 40°C였고 pH는 6.0 이었다. *L. acidophilus* 의 생육은 malt syrup, skim milk 및 분유첨가한 malt syrup 배지 중 분유 5% 첨가한 맥아당화액배지에서 가장 왕성하였으며 16 시간까지가 대수기(log)로 인정되었다.

참 고 문 헌

1. Cho, Jae Young: Upland Crops, Hyang Mun-Sa, p. 31(1986)
2. Ministry of Agriculture and Fisheries: Statistical Yearbook of Agriculture, Forestry and Fisheries, p. 78(1985)
3. Ju, Y.J. and K.S. Kim: The Korea Rural Economic Review, 11(4) p. 34(1979)
4. Pollock, J.R.A.: Brewing Science. Vol. 1. 2., Academic press inc Ltd., p. 146(1979)
5. Choi Hong Sik: Survey on the review of nutritive value and utilization of barley. Korean Institute of Science and Technology, p. 216(1978)
6. Seok, Ho Moon: Korean Patent, 34-J-22 (Notice 510)(1980)
7. Satou, S: J. Brew Soc. Japan, 75(4) p. 344 (1980)
8. Delhay, L.L. and R.P. James: United States Patent, 4004034(1977)
9. Angels, A.G. and E.H. Marth: J. Milk Food Technol, 34(1) p. 30(1971)
10. Lee, J.S., Ko, Y.T. and J.K. Paik: J. Korean Agr. Chem. Society, 27(1) p. 7(1984)
11. Yu, T.J. and J.W. Lee: Korean J. Food Sci. Technol, 14(1) p. 57(1982)
12. Rhee Seong Kap: Res. Rept. of An Seong Agr. Jr. College, 16, p. 433(1984)
13. Buchaman, R.E. and N.E. Gibbon: Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed, Williams Wilkims Co. Baltimore, p. 580 (1974)
14. Carr, J.G., Cutting, C.V. and G.C. Whiting: Lactic acid bacteria in beverages and food, Academic press, N.Y., p. 168(1975)
15. Yoshioka, K. and N. Hashimoto: Rept. Res. Lab. KIRIN brewing Co. LTD(Japan) No. 22. 23(1979)(KIRIN KIYO 26213, 1975)
16. Richardson, G.H.: Standard method for the examination of dairy products. 15th, American public health association, p. 133(1985)
17. Koburger, J. A., Speck, M.L. and L.W. Aurand: J. Bacteriol 85, p. 1051(1963)
18. Rasic, J.L. and J.A. Kurmann: YOGHURT, Technical dairy pub. house, copenhagen, Denmark, p. 14(1978)
19. Furikawa, Kinchiro: Handbook of dairy technology(1) Japan dairy technological association, p. 337(1975)
20. Yamanaka, Y. and N. Furukawa: Japan J. Food Sci. 17(10) p. 456(1970)
21. Tamine, A.T. and H.C. Deeth: J. Food Protection, 43(12) p. 939(1980)
22. Kim, Y.K., Kim, Y.J. and H. U. Kim: Science of milk and its products, Yuhan pub. Co. LTD p. 34(1981)
23. Hemma, B.H., V. Schmal and J.E. Auclair: J. Dairy Res. 48. p. 146(1981)
24. Singh, J.: Milch Wissenschaft, 38(6), p. 347 (1983)
25. Dutta, S.M., R.K. Kuila, B.C. Arora and B. Ranganthan: J. Food Protection, 35, p. 242(1972)
26. Stainer, R.Y.M., Doudoroff and E.H. Adelberg: General Microbiology, 3rd ed. p. 180 (1971)