

β -Galactosidase 처리 시유로 제조한 요구르트의 이화학적 성분 변화

이인선·김상희·하재호*·강국희

성균관대학교 낙농학과, *한국식품개발연구원

Changes of Some Physicochemical Properties of Yoghurt made from β -Galactosidase-treated Commercial Milks

In-Seon Lee, Sang-Hee Kim, Jae-Ho Ha* and Kook-Hee Kang

Department of Dairy Science, Sungkyunkwan University, Suwon

*Korea Food Research Institute, Banwol, Kyonggi-do

Abstract

This study was carried out to hydrolyze lactose in commercial milk by β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis* and to compare some physicochemical properties of yoghurts made from control and lactase-treated commercial milks. Quantitative analysis of sugars was performed by gas liquid chromatograph (GLC) on trimethylsilyl (TMS) derivatives. In commercial milk, 94.6% of lactose was hydrolyzed after 2 hours incubation at 40 °C with 6.0 units/ml of β -galactosidase. pH, titratable acidity and viable cell number of yoghurt made from lactase-hydrolyzed (LH) commercial milk were 4.1, 1.04% and 6.5×10^8 /ml of *Str. thermophilus*, 8.9×10^8 /ml of *L. bulgaricus* after 8 hours incubation at 40 °C, respectively. The total contents of amino acid were 2.63% in control and 2.19% in LH yoghurt. The total contents of free amino acid were 26.95 mg% in control and 17.55 mg% in LH yoghurt. Analysis of free fatty acids resulted in that the contents of short chain fatty acids in LH yoghurt were a little higher than those in control. Both in control and LH yoghurt, the palmitic acid content was highest and that was followed by oleic and myristic acid.

Key words: β -galactosidase, yoghurt, lactose intolerance

서 론

우유내에 5% 정도 함유되어 있는 유당은 소화장애증(lactose intolerance)과 아이스크림에 있어서의 결정 형성(lactose crystallization)에 따른 "sandiness"와 같은 문제점을 야기시키고 있는데, β -galactosidase에 의해 분해시킬 경우, 유당이 야기하는 문제점 등을 해결할 수 있다⁽¹⁾. 이러한 β -galactosidase는 포유동물, 식물, 미생물 등에 널리 존재하고 있으며, 특히 세균⁽²⁻⁴⁾ 및 효모^(5,6)와 곰팡이^(7,8)로부터 정제한 β -galactosidase를 유제품에 이용하기 위한 연구가 이루어졌다.

본 연구에서는 *K. fragilis* SKD-7001에서 부분 정제한 β -galactosidase를 이용하여 시유에서의 유당가수분해율을 측정하고, 요구르트를 제조하여 이화학적

성분의 변화에 관하여 검토하였다.

재료 및 방법

재료

성균관대학교 낙농학과 연구실에 보관중인 *K. fragilis* SKD-7001로부터 부분 정제한 β -galactosidase를 사용하였으며, 시유(매일유업)는 시중에서 구입하여 사용하였다.

유당의 가수분해

유당의 가수분해는 시유에 효소를 1.5, 3.0, 4.5 및 6.0 units/ml로 첨가하여 40°C에서 30, 60, 90, 120분간 반응시켰으며, 유당의 가수분해율은 Toba 등⁽⁹⁾의 방법에 따라 TMS 유도체를 제조하여 GC(Varian VISTA 6000 Capillary Gas Chromatography)로 측정하였다. 이때 GC의 분석조건은 BP-10 column

Corresponding author: In-Seon Lee, Korea Food Research Institute, 148-1, Dansoo-ri, Banwol-myun, Hwasung-gun, Kyonggi-do 445-820

(0.22mm×25m fused silica capillary column)을 사용하였고, 컬럼 오븐 온도는 170°C에서 1분간 유지시킨 후, 분당 5°C씩 250°C까지 승온시켜 11분간 유지시켰다. 주입부 온도는 300°C, 검출기 온도는 320°C로 하였으며, 운반기체로는 질소를 사용하였다. Methyl stearate를 내부 표준물질로 사용하여 정량분석하였으며, 가수분해율은 유당의 감소율로써 계산하였다.

요구르트의 제조

L. bulgaricus SKD-003과 *S. thermophilus* SKD-1005를 starter로 사용하였으며, 대조 요구르트는 시유를 멸균하여 냉각시킨 후, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 배양액을 1:1의 비율로 1.5%되게 접종하여 40°C에서 8시간 배양하면서 2시간 간격으로 pH, 산도, 생균수의 변화를 검토하였다. Lactase-hydrolyzed(LH) 요구르트는 시유에 β-galactosidase를 6.0 units/ml 첨가하여 40°C에서 120분간 반응시켜 유당을 가수분해시킨 다음 멸균하여 대조 요구르트와 같은 방법으로 제조하였다.

한편, 이들 요구르트의 pH는 Corning pH/ion meter 150을 사용하여 측정하였고, 적정 산도는 0.1 N NaOH로 적정하여 유산(%)로 환산하여 표시하였다⁽¹⁰⁾. 총 유산균 수는 Elliker lactic agar⁽¹¹⁾로 하였으며, *L. bulgaricus*의 수는 Rogosa SL agar⁽¹²⁾를

사용하여 측정하였고, Elliker lactic agar와 Rogosa SL agar에 나타난 colony 수의 차이를 *S. thermophilus*의 수로 계산하였다⁽¹³⁾.

아미노산 및 지방산의 측정

총 아미노산은 6N HCl로 가수분해시킨 시료를 감압, 농축시켜 염산을 제거하고, 0.2N 구연산 완충액(pH 2.2)으로 정용한 뒤 0.45 μ membrane filter로 여과시켜 아미노산 자동분석기(automatic amino acid analyzer, LKB 4151 ALPHA PLUS)로 분석하였다⁽¹⁴⁾.

유리아미노산은 시료에 10% trichloroacetic acid (TCA) 용액을 가하여 원심분리한 뒤, 상정액에 ethyl ether를 첨가하여 TCA를 제거하였으며, 물층을 농축 건조하여 아미노산 자동분석기에 의하여 분리 정량하였다⁽¹⁵⁾.

지방산의 측정은 Bligh⁽¹⁶⁾의 방법에 따라 지방을 추출한 뒤, 14% BF₃/MeOH를 사용하여 methyl ester를 만들고 GLC로 분석하였다. 사용한 컬럼은 Supelcowax-10(0.32mm×30m capillary column)이며, 컬럼온도는 100°C에서 1분간 유지시킨 다음 분당 5°C씩 210°C까지 승온시켜 4분간 유지시켰으며, 이때 주입부 온도는 230°C, 검출기 온도는 250°C로 하였다.

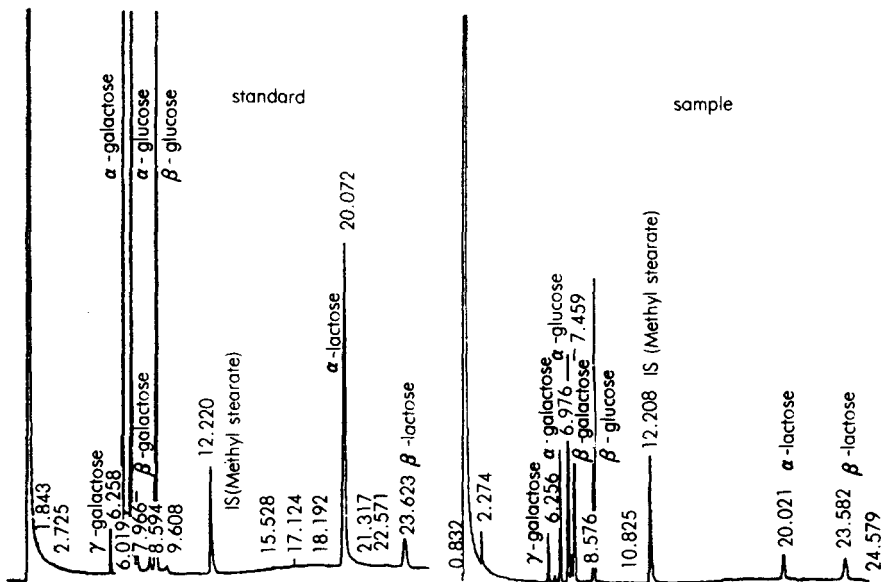


Fig. 1. Chromatograms of sugars in lactase-hydrolyzed commercial milk by β-galactosidase.

결과 및 고찰

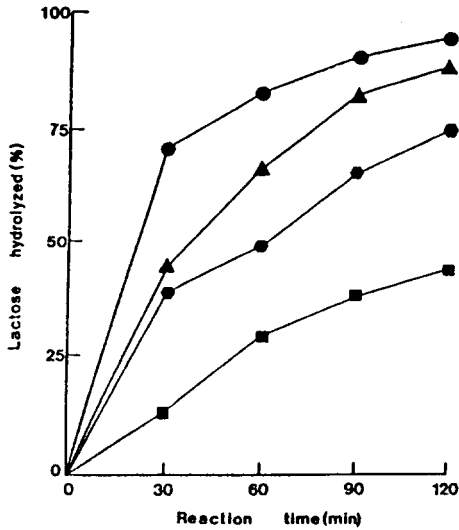


Fig. 2. Hydrolysis of lactose by β -galactosidase in commercial milk.

■: 1.5 units/ml, ●: 3.0 units/ml, ▲: 4.5 units/ml, ●: 6.0 units/ml

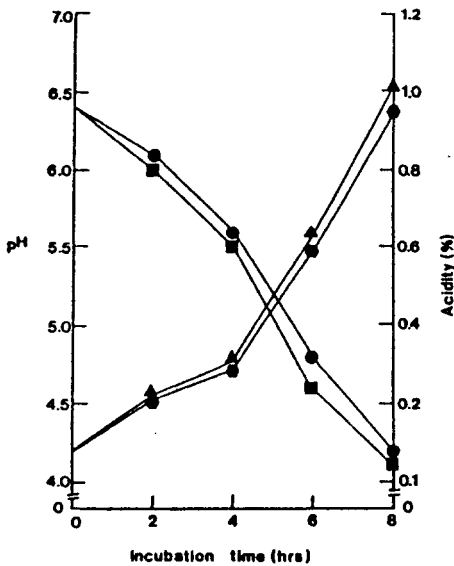


Fig. 3. Changes in pH and acidity during the fermentation of control and lactase-hydrolyzed (LH) commercial milks by a mixed yoghurt starter culture.

●: pH (Control), ■: pH (LH), ●: Acidity (Control), ▲: Acidity (LH)

GLC로 분석한 당 표준품 및 시료의 chromatogram은 그림 1과 같으며, 유당의 가수분해율을 조사한 결과는 그림 2와 같다. 3.0 units/ml 처리시 120분간 반응시켰을 때 유당의 가수분해율이 75.0%를 나타내었고, 6.0 units/ml 처리시 120분간 반응시켰을 때에는 94.6%이었다.

그림 3은 pH와 적정 산도를 측정한 결과로써, pH는 LH 요구르트가 대조 요구르트보다 다소 빨리 감소한 반면, 배양 8시간에는 각각 4.1, 4.2로써 LH 요구르트가 약간 낮은 값을 나타내었다. 산도는 배양 4시간 이후부터 LH 요구르트가 높은 경향을 나타내었으며, 배양 8시간에는 각각 1.04%, 0.95%로써 LH 요구르트가 대조 요구르트보다 약간 높게 나타났는데, 이러한 결과는 O'leary 등⁽¹⁷⁾의 보고와 유사한 경향을 보여주었다.

생균수의 변화를 측정한 결과는 그림 4로 나타내었으며, *Str. thermophilus*와 *L. bulgaricus*가 모두 배양 초기에는 대조 요구르트에서의 성장이 왕성하게 이루어졌으나, 배양 4시간 이후에는 LH 요구르트에서의 성장이 빠른 것으로 나타났다. 배양 8시간째 대조 요구르트에서의 생균수는 *Str. thermophilus*가 3.0×10^8 /

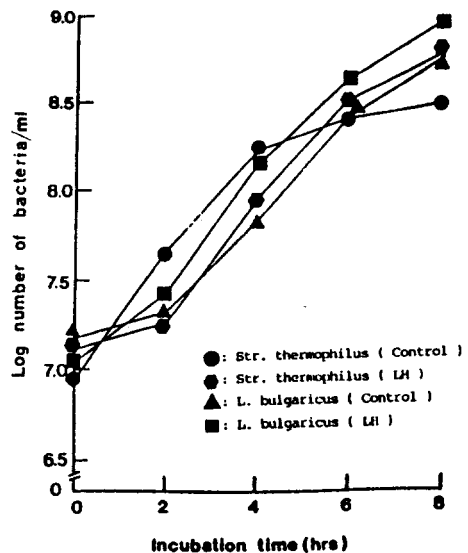


Fig. 4. Growth of *Str. thermophilus* and *L. bulgaricus* of a mixed culture in control and lactase-hydrolyzed(LH) commercial milks.

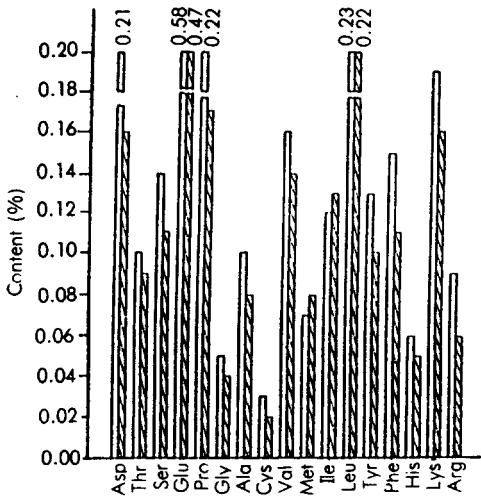


Fig. 5. Content of total amino acids of yoghurt made from commercial milk.

□, Control; ▨, Lactase-hydrolyzed

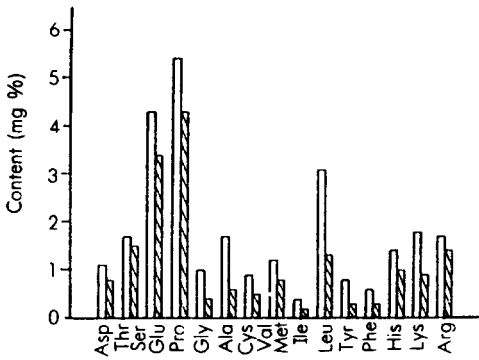


Fig. 6. Content of free amino acids of yoghurt made from commercial milk.

□, Control; ▨, Lactase-hydrolyzed

ml 이었고, *L. bulgaricus* 는 5.8×10^8 /ml 를 나타내었다. 배양 8시간째 LH 요구르트에서의 생균수는 *Str. thermophilus* 가 6.5×10^8 /ml, *L. bulgaricus* 가 8.9×10^8 /ml 를 나타내었다.

Starter 에 의한 유당의 가수분해율을 검토해 본 결과, 대조 요구르트에서 25.2%, LH 요구르트에서 35.2%이었으며, 이러한 결과는 요구르트 제조 후 lactose 의 함량이 34.6% 감소하고 galactose 의 함량이 처음에는 0.04%이었으나, 배양 후 1.46%로 증가한다는 Goodenough 등⁽¹⁸⁾의 보고와 비슷한 경향을 보

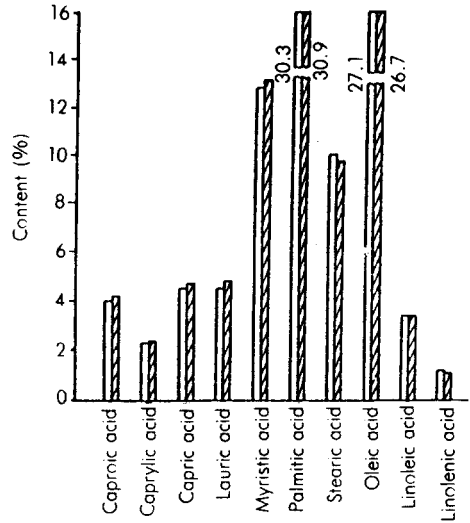


Fig. 7. Content of fatty acids of yoghurt made from commercial milk.

□ ; Control, ▨ ; Lactase-hydrolyzed

여주었다.

총 아미노산의 함량은 각각 2.63%, 2.19%로써 LH 요구르트보다 대조 요구르트가 더 높은 것으로 나타났고(그림 5), glutamic acid 의 함량이 가장 많았으며, leucine, proline 의 순으로 나타났다.

유리 아미노산의 총 함량은 대조구가 26.95 mg%, LH 요구르트가 17.55 mg%를 나타내었으며, LH 요구르트보다 대조구에서 더 높은 것으로 나타났다(그림 6).

지방산의 경우, LH 요구르트가 대조구에 비하여 저급지방산의 함량이 약간 높게 나타났으며, 고급 지방산 중에서는 palmitic acid 의 함량이 가장 많은 것으로 나타났다(그림 7).

이상에서의 같이 β -galactosidase 의 처리유로 요구르트를 제조할 경우 산생성 속도와 유산균의 생육속도가 빨라지게 되므로 요구르트의 제조시간을 단축시킬 수 있을 것으로 사료되며, 또한 starter 에 의한 유당의 가수분해율도 증가되므로 더욱더 유당의 함량이 낮은 요구르트를 만들 수 있다고 생각한다.

요 약

효모 *Kluyveromyces fragilis* SKD-7001로부터 정제한 β -galactosidase 를 이용하여 시유의 유당을 가수분해시키고, 이 효소의 처리유로 요구르트를 제조하

여 이들의 이화학적 성분의 변화를 검토하였다.

효소의 농도를 3.0 units/ml 처리시 120분간 40°C에서 반응시켰을 때 유당의 가수분해율이 75.0%를 나타내었고, 6.0 units/ml 처리시 120분간 반응시켰을 때에는 94.6%이었다.

β -galactosidase의 처리유로 요구르트를 제조하여 pH, 산도, 유산균의 생균수를 검토해 본 결과, 40°C에서 8시간 배양하였을 때 pH 4.1, 산도 1.04% 그리고 유산균의 생균수는 각각 *Str. thermophilus* 가 6.5×10^8 /ml, *L. bulgaricus* 가 8.9×10^8 /ml를 나타내었다.

총 아미노산을 분석해 본 결과 총 함량은 대조 요구르트가 2.63%, LH 요구르트가 2.19%로써, LH 요구르트보다 대조 요구르트 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 유리 아미노산을 분석해 본 결과 총 함량은 시유의 경우 대조 요구르트가 26.95 mg%, LH 요구르트가 17.55 mg%로써, LH 요구르트보다 대조 요구르트의 함량이 더 높은 것으로 나타났다.

지방산에 있어서는 LH 요구르트가 대조 요구르트보다 caprylic, capric, lauric acid 등의 저급 지방산 함량이 약간 높은 경향을 보였고, 고급 지방산 중에서는 palmitic acid의 함량이 가장 많은 것으로 나타났다.

문 헌

- 안종건, 김현구: 유제품에 이용되는 β -galactosidase에 대한 총설, *Korean J. Dairy Sci.*, 3(1), 47 (1981)
- Appel, S.N., Alpers, D.M. and Tomkins, G.M.: Multiple molecular forms of β -galactosidase. *J. Molecular Biol.*, 11, 12(1965)
- Anema, P.J.: Purification and some properties of β -galactosidase of *Bacillus subtilis*. *Biochem. Biophys. Acta.*, 89, 495(1964)
- Ramana Rao, M.V. and Dutta, S.M.: Purification and properties of β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.*, 46, 1419(1981)
- Guy, E.J., Tamsma, A., Kontson, A. and Holsinger, V.H.: Lactase treated milk provides base to develop products for lactose intolerant populations. *Food Product Devel.*, 8(8), 50(1974)
- Bouvy, F.A.M.: Applications for lactase-treated whey. *Food Product Dev.*, 9(2), 10(1975)
- Wierzbicki, L.E. and Kosikowski, F.V.: Kinetics of lactose hydrolysis in acid whey by β -galactosidase from *Aspergillus niger*. *J. Dairy Sci.*, 56(11), 1396(1973)
- Toba, T., Yokota, A. and Adachi, S.: Oligosaccharides structure formed during the hydrolysis of lactose by *Aspergillus oryzae* β -galactosidase. *Food Chem.*, 16, 147(1985)
- Toba, T., Watanabe, A. and Adachi, S.: Quantitative change in sugars, especially oligosaccharides, during fermentation and storage of yoghurt. *J. Dairy Sci.*, 66, 17(1983)
- 신효선: 식품분석, p. 240, 신광출판사(1983)
- Elliker, P.R., Anderson, A.W. and Hannessen, G.: An agar culture medium for lactic acid *Streptococci* and *Lactobacilli*. *J. Dairy Sci.*, 39, 1161(1956)
- Rogosa, M., Mitchell, J.A. and Wiseman, R.F.: A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal *Lactobacilli*. *J. Bacteriol.*, 62, 132(1951)
- 이신호, 구영조, 신동화: *L. bulgaricus* 와 *S. thermophilus* 의 단독배양 및 혼합배양에 의한 요구르트의 이화학적, 미생물학적 특성. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20(2), 140(1988)
- 석호문: Roasting 온도가 쌀보리 맥아의 향기생성에 미치는 영향. 중앙대학교 박사학위 논문(1987)
- 허우덕, 하재호, 석호문, 남영중, 신동화: 김치의 저장 중 향미성분의 변화. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20(4), 511(1988)
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911(1959)
- Oleary, V.S. and Woychik, J.H.: A comparison of some chemical properties of yoghurt made from control and lactase-treated milks. *J. Food Sci.*, 41, 791(1976)
- Goodenough, E.R. and D.H. Kleyn: Qualitative and quantitative changes in carbohydrates during the manufacture of yoghurt. *J. Dairy Sci.*, 59, 45(1976)

(1989년 7월 26일 접수)