慶北大農學誌 (Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.) 7 (1989. 12) 23~32

豆乳를 利用한 요구르트 製造에 대하여

劉成植 · 李相甲 · 金進鎬 · 朴愚喆

慶北大學校 農科大學 農化學科

Studies on Production Yoghurt from Soy Flour

Yoo, Sung Sik · Lee, Sang Kap · Kim, Jin Ho · Park, Woo Churl

Dept. of Agricultural Chemistry, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

This experiment was performed to investigate the growth and acid production of lactic acid bacteria in soy yoghurts prepared from soybeans produced using various nitrogen sources and the ability of the bacteria to utilize the available carbohydrates in the medium.

Various soybeans did not show significant difference in the growth and acid production of lactic acid bacteria, soybean D with newly developed complex fertilizer being the best.

The acid production in soy milk by *L. acidophilus* was better than those in defatted soy milk and in isolated soy protein, that in isolated soy milk being significantly poor.

Of lactic acid bacteria tested, *L. bulgaricus* and *L. acidophilus* exhibited more population and acid production in soy yoghurts.

The population and acid production of lactic acid bacteria was increased by the addition of various carbohydrates, and significantly by glucose and yeast extract.

緖 論

大豆는 優秀한 蛋白質源이나 식이요법으로서 뿐만 아니라 栽培 및 利用上의 有利한 特性 때문에 世界 各地에서 널리 利用되고 있으나 消化率이 낮고[3,22] 特有의 비린내(Beany flavor)等으로 因하여 食品으로서의 그 利用이 制限을 받고 있는 實情이므로 이의 補完을 爲한 많은 硏究가 이루어지고 있으며[15,21] 그 중 醱酵에 依한 方法이 가장 좋은 方法中의 하나로 알려져 있고[2,16,23,24] 아직 商品이 大衆化되지는 않았지만 大豆 요구르트에 關한 硏究는 比較的 活潑하게 進行되고 있다.

이들중 豆乳에 対한 各種 乳酸菌의 生育과 酸生成에 關한 硏究로서 Mital等[13]과 Angels等[1] 은 乳酸菌이 醱酵할 境遇 酸生成과 乳酸菌 数는 培地에 包含된 糖의 利用性에 依하여 크게 影響을 받는 것으로 報告하였다. 大部分의 乳酸菌들은 Glucose, Galactose, Fructose 및 Lactose等을 잘 利用하는 것으로[12] 알려져 있으나, 豆乳에는 Sucrose, Raffinose, Stachyose等의 Oligo糖이 主로 含有되어 있으므로[4,18] 補完을 爲한 醱酵性 糖類를 添加한 製造試驗이[6,25] 많이 硏究되고 있다. 또한 大豆와 脫脂大豆, 그리고 分離 大豆蛋白의 乳酸菌에 依한 生育과 酸生成을 比較하여 본 結果, 脫脂大豆乳가 大豆乳에 比

하여 大體로 酸生成量이 적었으며[7,10] 脫脂大豆乳보다도 分離大豆蛋白이 또한 더 低調한 酸生成量을 나타내었는데[5] 그 理由로는 脫脂工程이나 分離精製過程에서 豆乳에 含有된 成長促進物質이 消失되었을 것으로 推測된다.

그밖에 大豆乳에 制限 아미노酸인 Methionine을 添加함으로서 *L.acidphilus*의 生育과 酸生成量이 增加하였고[8] Yeast extract, Pepton等의 成長促進物質의 添加에 依해서도 酸生成量이 크게 增加하였다.[11,17]

特히 本 硏究는 窒素質 肥料의 施肥方法에 差異를 두어 栽培한 大豆를 原料로하여 大豆 요구르트를 製造한 뒤 이들의 酸生成및 乳酸菌의 生育을 確認해 보고 이중 가장 優秀한 大豆를 基質로 使用하여 豆乳와 脫脂豆乳의 比較, 菌株別 比較, 酸酵性 糖類 添加等의 여러 條件을 變化시켜 生菌数및 酸生成을 調査하여 大豆 요구르트 製造를 爲한 一連의 連繼檢討를 實施하였다.

材料 및 方法

1. 使用菌株

本 實驗에 使用한 菌株는 西獨 Weiby社의 *Lactobacillus bulgaricus* No 8, *Streptococcus thermophilus* E/F(以上 Visbyvac series 50) Culture와 *Lactobacillus acidophilus* 3704 그리고 M乳業會社에서 保存中인 *Lactobacillus casei* YA-70이며 이들 菌株를 10 %(w/v) 還元脫脂乳 培地에서 10時間 培養한 後 冷藏保存하면서 使用하였다.

2. 大豆原料의 選擇

供試品種으로는 우리나라 奬勵品種인 白雲콩(*Glycine max* cv.Back woon)을 使用하였고 供試肥料는 尿素, 硫安, 旣存複肥(8-14-2)및 開發複肥(13-14-12)를 使用하였다.

施肥方法은 Table1과 같으며 이 大豆를 利用하여 大豆요구르트를 製造한 後 酸生成이 가장 優秀한 大豆를 選擇하였다.

3. 大豆의 成分分析.

大豆의 成分分析은 水分과 組灰分은 A. O. A. C. 分析法, 蛋白質은 Kjeldahl法, 組脂肪은 Soxhlet 抽出法, 組纖維는 Fibertec 法으로 測定하였다.

4. 豆乳및 脫脂豆乳의 調製

Fig 1에서와 같이 大豆를 Waring Blender로 均一하게 粉末로 磨碎한 後 5℃ 冷藏庫에 保管하면서 實驗에 必要한 濃度로 調整하여 大豆乳를 製造하였으며 脫脂豆乳는 製造된 豆乳 粉末을 Ether 抽出法으로 脂肪을 除去한 後 使用하였다.

Table 1. Treatment of fertilizers application

Treatment	Amount of application(kg/10a)		
	N	P_2O_5	K_2
Urea	4.0	7.0	6.0
Ammonium sulfate	6.5	7.0	6.0
Complex fer.1*	4.0	7.0	6.0
Complex fer.2**	6.5	7.0	6.0
Non-nitrogen	0.0	7.0	6.0

* : Complex fertilizer readily used

** : Complex fertilizer newly developed

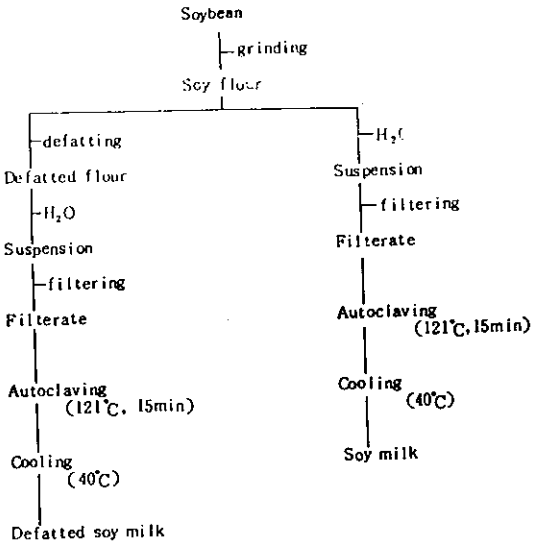

Fig. 1. Preparation of soy milk and defatted soy milk.

5. 大豆 요구르트의 調製

準備된 豆乳에 10% 還元脫脂乳에서 培養한 乳酸菌 培養液을 2%(v/v)의 比率로 接種하여 37℃에서 一定時間 培養하였다.

6. 酸度測定

酸度는 試料를 一定量 取하여 Phenolphtalein 指示藥을 加한 다음 0.1N NaOH로 滴定하여 Total Acidity를 求하여 Lactic acid(%)로 換算表示하였다.

$$\text{Lactic acid}(\%)=\frac{0.1N\ NaOH적정량\times 0.009}{시료의\ 무게}\times 100$$

7. 生菌数 測定

乳酸菌 測定은 培養이 完了된 試料의 1mℓ를 取하여 0.85% 食鹽水에 10^7, 10^8培로 稀釋한 뒤 샤레에 注入하고 여기에 BCP plate count agar를 混入시켜 40℃에서 72時間 培養한 後 나타나는 Colony를 計測하였다. BCP plate count agar의 組成은 表2와 같다.

Table 2. Composition of BCP plate count agar

Reagent	Amount(g)
Yeast extract	2.5
Peptone	5.0
glucose	1.0
Tween 80	1.0
L-cystein	0.1
Bromo cresol purple	0.04
Agar	1.5
Distilled water	1000ml
Final pH	6.9

結果 및 考察

1. 大豆 原料에 따른 影響

施肥條件은 달리하여 栽培한 5種類의 大豆를 原料로 하여 만든 豆乳에서의 *Lactobacillus acidophilus* 生育과 酸生成을 Table 3에 나타내었다.

以上의 結果를 綜合해 볼때 施肥條件의 差異를 둔 大豆로 調製한 豆乳別 乳酸菌 生育과 酸生成은 全般的으로 큰 差異를 나타내지는 않고 있으며 開發複肥를 使用한 Soybean D가 多少 優秀하며, 窒素肥料를 따로 使用치 않은 Soybean E의 境過 低調한 生菌数와 酸度를 나타내었다.

2. 菌株에 따른 影響

乳酸菌의 生育이 優秀한 Soybean D를 豆乳의 原料로 使用하여 Glucose 4%를 添加한 後 여기에 *L.bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*및 *S. thermophilus*를 2%되게 接種하여 37℃에서 培養하면서 酸度의 經時的 變化를 調査하였다.

時間의 經過에 따른 菌株別 酸生成能은 培養初期에는 큰 差異가 없었으나 10時間 以後 부터 *L. bulgaricus*에 依한 酸生成量이 가장 많았고 다음은

Table 3. Growth and acid production by *L. acidophilus* in soy milk*

Source of soy milk	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
Soybean A	3.65	0.89	1.4×10^9
Soybean B	3.60	0.94	1.9×10^9
Soybean C	3.65	0.90	1.2×10^9
Soybean D	3.60	0.95	2.6×10^9
Soybean E	3.65	0.84	0.8×10^9

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)

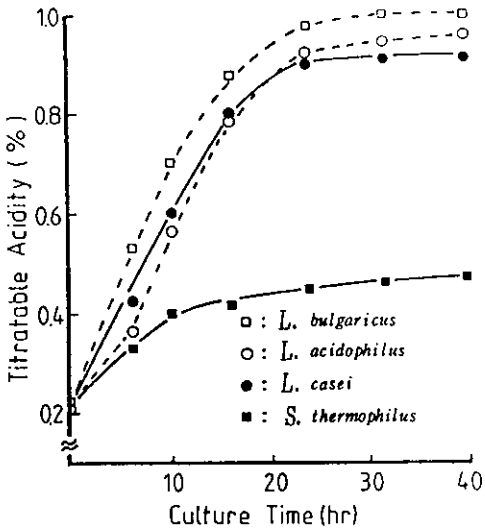

Fig. 2. Changes in titratable acidity during fermentation of soy milk*

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)

L. casei 와 *L. acidophilus*가 비슷한 水準을 나타내었다.

以上의 結果를 볼때 豆乳에 있어서 *Lactobacillus* 種의 酸生成이 優秀한 것으로 나타났다. 이는 *L. bulgaricus*가 大豆에 들어있는 糖인 Sucrose, Raffinose, Stachyose等을 利用할 수 없으므로 豆乳에서의 菌生成은 매우 低調하였다는 Wang等[25]의 報告와 一致하지 않는데 그것은 本 實驗에 使用한 豆乳 Base가 Glucose 4%를 添加하여 製造한 것이므로 *L. bulgaricus*의 菌生成이 다른 菌株에 比하여 優秀한 것으로 생각된다.

3. 豆乳 形態別 影響

Fig. 3은 大豆와 脫脂大豆, 그리고 分離大豆蛋白

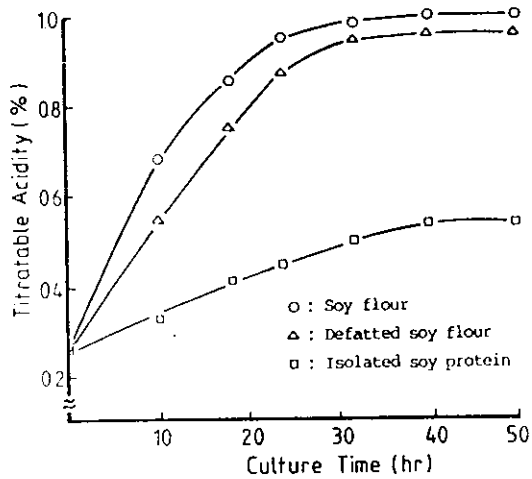

Fig. 3. Changes in titratable acidity by *L. acidophilus* in soy milk*

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)

으로 만든 豆乳에서 變化를 調査한 것이다.

酸生成은 大豆에서 가장 優秀하였으며 分離大豆蛋白에서는 顯著히 적은 것으로 나타났다.

이는 豆乳와 脫脂豆乳에서 乳酸菌의 生育과 酸生成을 比較하여 大豆가 多少優秀하였다고 한 Mital과 Steinkraus 等[12]의 報告와 一致하는 것으로 이들에 依하면 大豆를 溶媒로 脫脂하는 課程에 乳酸菌 發育促進物質의 一部가 消失되었을 可能性이 있기 때문인 것으로 推測하였다.

또한 分離大豆蛋白 亦是 發育促進物質의 一部가 分離, 精製하는 課程에서 消失되었을 것으로 생각된다.

4. 豆乳濃度別 影響

Table 4는 豆乳 製造時 고형분의 濃度를 달리하면서 *L. acidophilus*에 対한 生菌数및 酸生成 効果를 觀察한 것으로서 大豆의 固形分 濃度를 增加시킴에 따라 酸生成이나 生菌数가 多少 增加하는 것으로 나타났으며 大豆 요구르트의 組織도 약간 좋아졌는데 이는 乳酸菌 發育에 必要로하는 營養物質이 增加하였기 때문으로 생각한다.

5. 糖의 添加 効果

大豆乳에 Glucose와 Lactose의 添加에 依한 乳酸菌의 生育과 酸生成에 미치는 影響을 比較 觀察하여 Tabel 5, Table 6에 各各 나타내었다.

Table 4. Effects of soy flour concentration on growth and acid production by *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of soy flour(%)	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
3	3.6	0.74	1.2×10^8
4	3.6	0.81	0.8×10^9
5	3.6	0.89	2.4×10^9
6	3.6	0.93	2.3×10^9

* soy flour + glucose 4%(w/v)

Table 5. Effects of glucose on the growth of *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of glucose(%)	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
0	5.60	0.24	— —
0.5	3.85	0.58	1.2×10^8
1	3.65	0.76	1.9×10^9
3	3.60	0.90	2.6×10^9
5	3.60	0.98	0.8×10^9
7	3.60	1.00	1.4×10^9

*soy flour 6%(w/v)+glucose

Table 6. Effects of lactose on the growth of *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of lactose(%)	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
0	5.60	0.24	−
0.5	3.80	0.64	9.0×10^8
1	3.65	0.70	6.0×10^8
3	3.65	0.74	1.7×10^9
5	3.65	0.81	9.0×10^9
7	3.65	0.79	2.4×10^9

* soy flour 6%(w/v)+lactose

大豆乳에 添加된 Gluose濃度가 *L. acidophilus*의 生育과 酸生成에 미치는 影響은 0.5% 添加區에서부터 酸生成量의 增加가 나타나고 있으며 7% 添加區에서는 5% 添加區와 비슷한 水準을 나타내어 5% 程度가 適定 濃度인 것으로 思料된다.

Lactose의 添加는 Glucose 添加에서와 類似하게 0.5% 添加區에서 酸의 增加가 促進되었으나 濃度의 增加에 따른 酸生成의 增加는 Glucose에 比해 低調하였다.

6. 發育促進物質의 添加 効果

乳酸菌은 一般的으로 여러가지 營養分을 必要로 하며 生育條件이 까다로운 微生物로 알려져 있으므로 大豆로 調製한 豆乳에 Glucose와 發育促進物質로 잘 알려진 Yeast extract, Peptone및 Tryptone을 各各 添加하여 그 効果를 比較하였다.

Table7에서와 같이 Yeast extract 添加効果는 非添加區에 比하여 酸生成이 크게 促進되었으며 0.5%以上에서는 큰 差異가 없는 것으로 나타났다.

Table 7. Effects of yeast extract on the growth of *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of yeast extract(%)	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
0	3.60	0.95	1.7×10^9
0.1	3.55	1.19	2.8×10^9
0.3	3.55	1.28	4.3×10^9
0.5	3.50	1.34	3.0×10^9
0.7	3.50	1.37	3.2×10^9

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)+yeast extract

이처럼 Yeast extract 添加가 酸生成을 顯著히 上昇 시킨것은 Yeast extract가 Vitamine B郡과 各種 유리 아미노酸等을 含有하고 있기 때문인 것으로 생각된다.

Table8, Table9는 大豆 요구르트에 Peptone, Tryptone의 添加效果를 檢討한 結果로서 이들 生育 發育促進物質의 添加가 乳酸菌의 生育과 酸生成을 促進하였으나 Yeast extract에 比하여 顯著한 效果를 나타내지 않았다.

Table 8. Effects of peptone on the growth of *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of peptone(%)	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
0	3.60	0.93	2.5×10^9
0.05	3.60	0.95	0.9×10^9
0.1	3.55	0.99	1.8×10^9
0.3	3.50	1.10	5.6×10^9
0.5	3.50	1.16	8.2×10^9
0.7	3.50	1.13	8.7×10^9

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)+peptone

Table 9. Effects of tryptone on the growth of *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of tryptone(%)	pH	titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
0	3.60	0.93	1.6×10^9
0.05	3.55	0.95	1.2×10^9
0.1	3.50	0.98	2.8×10^9
0.3	3.50	1.03	6.6×10^9
0.5	3.50	1.12	6.8×10^9
0.7	3.50	1.13	4.6×10^9

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)+ tryptone

7. L-Methionine과 L-Cysteine의 添加 效果

大豆蛋白質의 制限 아미노酸인 L-Methionine과 역시 含硫黃 아미노酸인 L-Cysteine을 豆乳에 添加하여 *L. acidophilus*에 미치는 影響을 調査하였다.

Methionine이나 Cysteine의 添加效果는 두드러지게 나타나지는 않았으나 濃度를 增加시킴에 따라

Table 10. Effects of L-methionine and L-cysteine on the growth of *L. acidophilus* in soy milk*

Concentration of methionine and cysteine(%)		pH	Titratable acidity(%)	Viable count (per ml)
Methionine	0	3.60	0.92	1.2×10^9
	0.001	3.60	0.94	1.3×10^9
	0.01	3.60	0.95	5.5×10^9
	0.03	3.60	0.95	4.2×10^9
	0.05	3.55	0.96	2.1×10^9
Cysteine	0.001	3.60	0.94	1.6×10^9
	0.01	3.55	0.96	3.7×10^9
	0.03	3.55	0.98	3.8×10^9
	0.05	3.55	0.99	4.2×10^9

* soy flour 6%(w/v)+glucose 4%(w/v)+methionine or cysteine

多少 酸生成量이 增加하는 傾向을 보였다. 그러나 이 効果는 Methionine과 Cysteine을 添加함으로서 酸生成量이 오히려 減少하였다고 報告한 高等[8]의 研究結果와 相異한 것으로 같은 乳酸菌의 種 가운데도 菌株에 따라 Methionine에 対한 感受性이 서로 다르기 때문인 것으로 생각된다.

8. 脱脂粉乳 添加 効果

風味를 改善하고 酸生成을 높이기 爲하여 大豆乳에 Skim milk를 添加한 研究가 많이 報告되고 있다.[26]

本 實驗에서는 大豆乳에 10%, 30%의 還元 脱脂乳를 添加한 다음 *L. acidophilus*에 依한 酸生成의 經時變化를 調査하였다.

脱脂乳를 10% 添加한 境遇에는 40時間 以後에 이르러 酸生成은 더 이상 增加를 나타내지 않았다.

그러나 30% 添加時 Skim milk에는 比較할 수 없지만 상당한 酸度의 增加를 나타내었다.

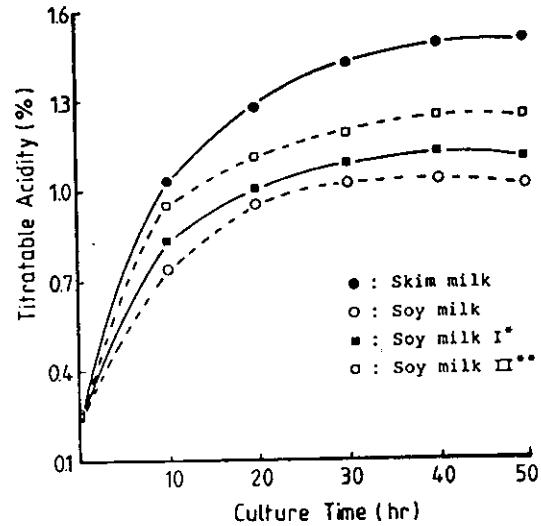

Fig. 4. Changes in titratable acidity by *L. acidophilus* in soy milk and skim milk

* added skim milk 10%

** added skim milk 30%

摘　要

大豆를 利用한 요구르트및 乳酸菌 飮料의 製造를 爲하여 豆乳 요구르트에 対한 乳酸菌 生育과 酸生成및 여러가지 添加物에 対한 影響을 調査하였다.

施肥條件에 差異를 두어 栽培한 大豆를 利用한 豆乳에서의 乳酸菌 生育및 酸生成은 큰 差異가 없었으나 開發復肥를 使用한 Soybean D가 多少 良好한 것으로 나타났으며, 豆乳, 脫脂豆乳및 分離大豆蛋白에서의 酸生成은 豆乳가 脫脂豆乳보다 良好했으며 分離 大豆蛋白으로 調製한 豆乳에서는 顯著히 낮았다.

豆乳 요구르트의 製造에 使用한 菌株別 酸生成能力은 *L. bulagricus* 와 *L. acidophilus*가 優秀하였다.

糖과 各種 發育促進物質의 添加에 의해 菌增殖및 酸生成이 促進되었으며 特히 Glucose와 Yeast Extract의 添加는 顯著한 効果를 나타내었다.

引用文獻

1. Angeles, A.G and E.H. Marth, 1971. Growth and activity of lactic acid bacteria in soy milk. J. Milk Food Tech. 34, 30.
2. Hesseline, C.W and H.L. Wang, 1972. Fermented soybean food products. Chem. and Technol. 1, 389.
3. Hopkins, D.T, 1980. Protein quality in humans an *in vitro* estimation. proceedings Conference. Airlie House, Warrention, VA.
4. Kawamure, S and M. Tada, 1967. Isolation and determination of sugars from the cotyledon hull and hypocotyl of soybeans by carbon column chromatography. Tech. Bul. Fac. Kagawa Univ., Japan. 18, 138
5. Kim, K.H.and Y.T.Ko, 1987. Study on growth and acid production by lactic acid bacteria in soy milk. Korean J. Food Sci. Technol. 19(2), 45
6. Kim, O.S and C.H.Kim, 1979. Studies on the growth and acid production of lactic acid bacteria in soy milk. Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng., 7, 205.
7. Kim.S.J. 1978. Studies on the growth of lactic bacteria in soy milk. J.Kor. Agr. Chem. Soc., 21, 178.
8. Ko, Y.T., 1987. Effects of methionine supplemented to soy milk on growth and acid production by lactic acid bacteria. J. Kor. Agr. Chem. Soc., 3, 21.
9. Lee, H. 1980. Studies on production of lactic acid fermented beverage from soy milk and skim milk.
10. Lee, J. S. 1984. Effects of defatted soy milk on the groth of *lactobacillus acidophius*. J. Kor. Agr. Chem. Soc., 27, 32.
11. Mital, B.K and K.H. Steinkraus, 1974. Growth of lactic acid bacteria in soy milk. J.Food Sci., 39, 1018.
12. Mital, B.K and K.H. Steinkraus, 1975. Utilization of oligosaccharides by lactic acid bacteria during fermentation of soy milk. J. Food Sci., 40, 114
13. Mustakas, G.C., Albrecht, W.J., Mcghee, J.E., Black, L.T., Bookwalter, G.N and E.L. Griffin. 1969. Lipoxidase deactivation to improve stability. J.Am.Chem. Soc., 46, 623.
14. Martinelli, A.F and C.W. Hesseltine, 1964. Tempen fermentation. packate and tray fermentations. Food Tech., 18, 167.
15. Pinthong, R., Macrae, R and J. Rothwell, 1980. The development of a soya based yoghurt, J. Food Technlo., 15, 647

16. Pinthong, R., Macrae, R and J.Dick, 1980. The development of a soya-based yoghurt. J. Food Tech., 15, 661
17. Seong, W.H and S.J.Lim, 1984. Effects of soy protein isolated on the growth of lactobacillus acidophilus. Korean J. Food Sci. Tech., 16, 6
18. Steinkraus, K. H. 1973. Method defatting sobyean meal. U. S. Patent 3, 721, 569.
19. Steinkraus, K. H., Hand, D. B and L. R. Hackler, 1962. Research on soybean products of improved nutritional value. New York Agr. Expt. Sta. Farm Res., 28, 45
20. Steinkraus, K. H., Hwa, Y. B., Van Buren, J. P., Prcvvidenti, M. I and D. B. Hand, 1960. Studies on tempeh-An indonesian fermented soybean food. Food Res., 25, 777
21. Steinkraus, K. H., Lee, C. Y. and P. A. Buck, 1965. Soybean fermentation by the Ontjom mold Neurospora. Food Tech., 19, 119
22. Wang, H. L., Kraidej, L and C. W. Heseltine, 1974. Lactic acid fermentation of soybean milk. J. Milk Food Tech., 37, 71.
23. Yamanaka, Y and N. Furukawa, 1970. Studies on utilization of soybean protein for food manufacturing. J. Food Sci. Technol., 17, 465
24. Yamanaka, Y., Okamura, O and Y. Hasegawam 1970. Method of preparing a soy milk beverage. U. S. Patent 3. 535, 117.