

Potassium Sorbate가 요구르트 Starter와 오염 Yeast의 성장에 미치는 영향

임용숙[†] · 이신호

효성여자대학교 식품가공학과

Effects of Potassium Sorbate on the Growth of Yogurt Starter and Contaminant Yeast

Yong-Sook Lim[†] and Shin-Ho Lee

Dept. of Food Science and Technology, Hysung Women's University, Hayang 713-702, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of potassium sorbate on the growth of yogurt starter and contaminant yeast. Yogurt starter was isolated using 9 company of market yogurt and 10 strains of contaminant yeast was isolated in swollen yogurt after incubated for 7 days at 25°C. The growth of isolated starter was inhibited by 0.3% of potassium sorbate except starter-H. Most isolated yeast was inhibited by the 0.1% of potassium sorbate. The growth of yeast-9 was the most inhibited among isolated yeast. The growth of selected starter-H was similar to that of control in MRS broth containing 0.3% of potassium sorbate. 0.3% of potassium sorbate did not affect the growth of selected starter-H incubated with selected yeast-9 in skim milk at 37°C for 48hr, whereas, the growth of yeast-9 did not occur during incubation. The viable cell change of starter-H in yogurt contaminated with selected yeast-9 was not observed at 4±1°C for 7 days and the contaminant yeast-9 did not change at the same condition, whereas, the growth of contaminant yeast-9 was significantly inhibited in 0.3% potassium sorbate containing yogurt during storage at 25°C.

Key words : potassium sorbate, yogurt starter, contaminant yeast

서 론

Sorbic acid는 마가목 나무의 설익은 열매의 oil에서 처음으로 1859년 Hofmann¹⁾이 분리하였고 1950년 중반부터 미생물에 의한 변패의 방지 목적으로 여러가지 식품에 응용된 이래, 전세계적으로 널리 사용되는 식품 첨가물의 형태는 sorbic acid와 potassium sorbate이며 모든 형태의 식품, 사료, 의약품, 화장품, 포장지 등에 사용된다. 낙농제품, 제빵, 과일, 야채, 채소가공품,

육가공제품, 제과 등 다방면에 미생물에 의한 변패현상 주로 곰팡이와 효모의 성장을 감소시키기 위해 0.05~0.3%의 sorbic acid가 사용되었다. 채소가공품은 15~20%의 소금물에서 0.02~0.05% sorbate첨가로 yeast발생이 방지되었다는 보고²⁾와 오이발효 햄의 표면, 건조과일, cottage cheese, smoked fish와 과일쥬스 등에서 발생하는 yeast의 성장이 억제되었다는 보고³⁾가 있으며 yogurt culture에 대한 영향은 Hamdan 등⁴⁾이 0.1% potassium sorbate에 의해 *Lactobacillus bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus*의 산생성이 지연되었다고 보고하였으나 Corn-Products Company⁵⁾의 보

[†]To whom all correspondence should be addressed

고에 의하면 0.2% sorbate는 발효유제품 제조시 starter의 성장은 촉진시키고 부패미생물은 억제시켰다고 보고하였다. 요구르트의 생산 관리상 문제점은 특히 하절기에 많이 발생하는 yeast 오염에 의한 요구르트의 상품적 가치 상실 현상이다. 본 연구는 이러한 현상을 방지할 수 있는 방법을 모색하고자 오염 yeast와 yogurt starter의 potassium sorbate에 대한 성장 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 연구에 사용된 공시재료는 현재 시판되고 있는 9개 회사 제품의 액상 요구르트를 제조 익일 구입하여 사용하였다.

유산균 및 오염 yeast의 분리

유산균은 0.02% sodium azide를 첨가한 MRS agar로 분리하였으며 yeast는 요구르트를 25°C에 보관하면서 팽창 현상을 보인 시료를 사용하여 potato dextrose agar를 이용 분리하였다.

분리 starter와 yeast의 potassium sorbate에 대한 내성

Yeast와 유산균을 각각 potassium sorbate 농도 0.1%, 0.3% 첨가한 YM broth, MRS broth에 접종하여 25°C, 37°C에서 12시간 배양후 spectrophotometer (Shimadzu UV 120-02)를 사용하여 620nm에서 optical density를 측정하였다.

분리 유산균과 yeast의 성장에 미치는 potassium sorbate의 영향

선발된 유산균과 yeast의 성장검사는 유산균은 MRS broth를 사용하여 37°C에서 48시간, yeast는 YM broth를 사용하여 25°C에서 48시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 시료를 채취하여 620nm에서 optical density를 측정하여 potassium sorbate 첨가에 대한 성장 특성을 관찰하였다.

Potassium sorbate에 대한 유산균과 분리 yeast의 혼합배양

0.3% potassium sorbate를 첨가한 skim milk에 선발

유산균과 yeast를 동시에 접종하여 37°C에서 배양하면서 일정 시간 간격으로 생균수를 APHA법⁶⁾으로 측정하였다.

유산균은 0.02% sodium azide를 함유한 MRS agar를 이용하여 37°C에서 48시간 배양후 생성된 colony 수를 계측하였고, yeast는 potato dextrose agar를 이용하여 25°C에서 48시간 배양후 생성된 colony 수를 계측하였다.

Yogurt 저장 온도에 따른 starter와 yeast의 생존 특성

분리 선발된 유산균을 starter로 yogurt를 제조한 후 선발 yeast를 접종하여 4±1°C와 25±1°C에서 7일간 저장하면서 유산균과 yeast의 생균수 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

분리 starter와 yeast의 potassium sorbate에 대한 내성

시판 액상 요구르트 9개 회사 제품에서 분리한 유산균과 팽창 현상을 보인 요구르트에서 분리한 yeast를 각각 MRS broth, YM broth에 접종하여 37°C와 25°C에서 각각 배양하면서 potassium sorbate농도에 따른 내성을 검토한 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 유산균의 대부분이 성장 억제 현상을 보였으며 특히 H 균주는 0.3%의 potassium sorbate 농도에서도 성장에 큰 영향을 받지않아 내성이 가장 강한 균주로 선발하여 향후 실험에 사용하였다. Yeast는 대부분이 potassium sorbate에 대해서 성장이 뚜렷이 억제되었다.

분리 유산균과 yeast의 성장에 미치는 potassium sorbate의 영향

Yogurt starter H균주의 성장 특성은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 배양 48시간 동안 potassium sorbate 농도 0.1%와 0.3%는 대조구와 거의 비슷한 성장 현상을 나타내었으며 0.6% 첨가구의 경우 성장이 억제되었다.

Sorbic acid의 미생물 저해 효과는 Phillips 등⁷⁾에 의해 처음으로 보고된 이후 Emard 등⁸⁾과 Hansen 등⁹⁾은 catalase 양성 균주 및 gram 음성 세균은 sorbic acid에 의해 선택적 저해 효과가 있었다고 보고하였으며 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*가 0.1% potassium sorbate에 의해 성장이 억제되었다는 Hamdan¹⁰⁾의 보고와

Table 1. Effect of potassium sorbate on the growth of isolated yogurt starters and yeasts from yogurts

(O.D. at 620nm)

Strain	Conc. of K-sorbate (%)			
	0	0.1	0.3	
Yogurt starter	A	1.453	1.233	0.674
	B	1.228	1.028	0.854
	C	1.533	1.155	1.010
	D	1.421	1.345	1.021
	E	1.328	1.177	1.025
	F	1.490	1.209	0.744
	G	1.509	1.482	1.224
	H	1.570	1.569	1.550
	I	1.342	1.201	1.094
Yeast	Y-1	0.846	0.753	0.094
	Y-2	0.753	0.570	0.062
	Y-3	0.913	0.646	0.071
	Y-4	0.923	0.706	0.078
	Y-5	0.742	0.638	0.075
	Y-6	0.610	0.445	0.064
	Y-7	0.687	0.485	0.060
	Y-8	0.858	0.621	0.089
	Y-9	0.955	0.530	0.040
	Y-10	0.857	0.520	0.053

Incubation time : 12 hrs

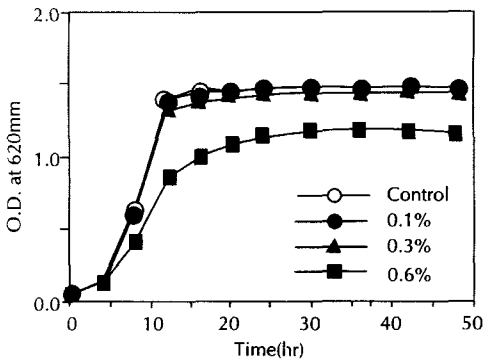


Fig. 1. Effect of potassium sorbate on growth of yogurt starter(H) in MRS broth at 37° C.

는 상이하였는데 그것은 본 실험에 사용한 선발유산균 H는 potassium sorbate에 내성이 가장 강한 starter를 선발하였기 때문으로 판단되었다. Fig. 2는 yeast-9의 potassium sorbate 농도에 따른 성장 검사 결과로 potassium sorbate 농도가 증가함에 따라 선발 yeast의 성장은 뚜렷이 억제되었으며 0.3% 첨가구에 있어서 배양 12시간까지 거의 성장이 이루어지지 않았으며 그 후 완만한 증가 현상을 보였다.

일반적으로 sorbate는 식품의 부패 yeast를 억제하는데 매우 효과적이라고 알려지고 있다. Bell 등¹⁰은 32중

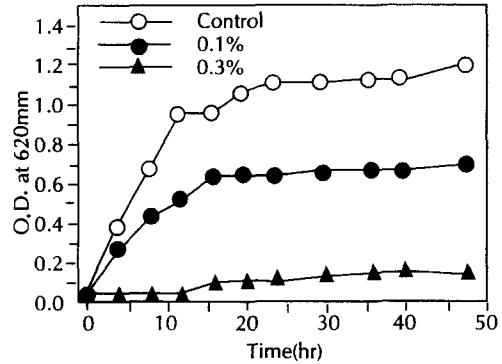


Fig. 2. Effect of potassium sorbate on growth of yeast (Y9) isolated from liquid type yogurt in YM broth at 25° C.

의 yeast가 0.1% sorbic acid에 의해 성장이 억제되었다고 보고하였으며 Restaino 등¹¹은 4종의 내 삼투압성 yeast의 성장에 대한 sorbate와 산의 복합 효과를 검토한 결과 0.05% potassium sorbate 첨가의 경우 4종 모두 완전히 성장이 억제되었다고 보고하였다. 또한 Costilow 등⁹은 sorbate는 오이 발효에 있어 yeast의 성장을 억제시킨다고 보고하였다.

Potassium sorbate에 의한 yeast의 억제 현상은 유산균의 성장으로 인한 영양분의 소모, 성장 적정 온도의 상이, potassium sorbate의 자체의 영향 등에 기인한 것으로 판단되었다.

Potassium sorbate에 대한 유산균과 분리 yeast의 혼합 배양 특성

선발된 유산균과 yeast를 10% 환원 탈지유에 동시에 접종시켜 37°C에서 48시간 배양중 각각의 생균수를 측정 한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 유산균은 0.3% potassium sorbate 첨가구의 성장이 대조구와 거의

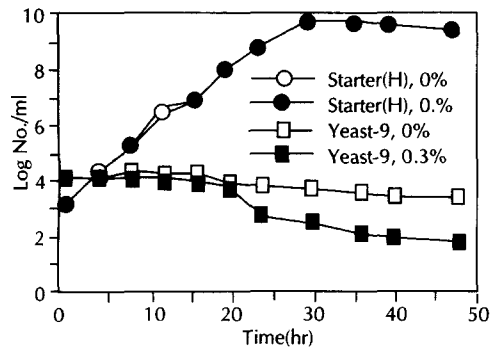


Fig. 3. Competitive growth of starter(H) and Yeast-9 in skim-milk containing different concentration of potassium sorbate at 37° C.

일치하는 경향을 나타내었으며 yeast는 0.3% 첨가구의 경우 뚜렷한 억제 효과가 관찰되었다. 유산균 H와 yeast-9의 혼합 배양 기간 동안은 배양이 진행됨에 따라 potassium sorbate 첨가구와 대조구 pH는 모두 감소하여 유산균의 성장과 일치하는 경향을 나타내었다.

Sofos와 Busta¹²⁾는 채소류 발효에 관여하는 유산균은 대부분의 효모와 곰팡이의 성장이 억제되는 sorbate 농도에서도 정상적인 성장이 이루어진다고 보고하였다.

Yogurt 저장온도에 따른 starter와 yeast의 생존 특성

일반적으로 요구르트 제조후 포장 과정에서 yeast 오염 현상이 발생할 수 있으므로 이러한 상황을 가정하여 선발된 유산균으로 요구르트를 제조한 후 선발된 yeast를 인위적으로 오염시켜 4±1°C의 냉장고에서 7일 동안 저장하면서 유산균과 yeast의 변화를 관찰한 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 유산균은 전 기간 동안 10⁹/ml을 유지하여 뚜렷한 변화 현상을 나타내지 않았다. 그리고 yeast도 냉장 상태에서 거의 성장이 정지되는 경향을 나타내었다. 그리고 저장 6일 이후 0.3% potassium sorbate 처리구의 경우 점차 감소하는 경향을 나타내었으며 전 저장 기간중 pH는 4.4의 범위를 유지하였다. 생균수의 변화와 pH의 변화 결과로 미루어보아 요구르트 제조 후 yeast에 오염되었다하더라도 냉장 유통이 이루어 진다면 오염 yeast에 의한 팽창 현상은 예방할 수 있을 것으로 사료되었다. 25°C 저장의 경우 Fig. 5에서 보는 바와 같이 저장 초기부터 yeast의 성장은 potassium sorbate에 의해 뚜렷하게 억제되어 상온에서 유통될 경우 potassium sorbate에 의한 저장

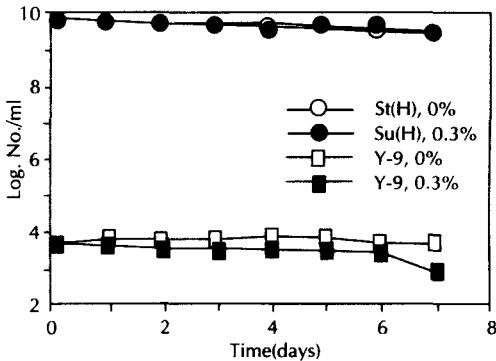


Fig. 4. Effect of potassium sorbate on viable cell changes of starter(H) and Yeast-9 in yogurt for 7 days at 4°C. Yeast was inoculated after yogurt manufacture.

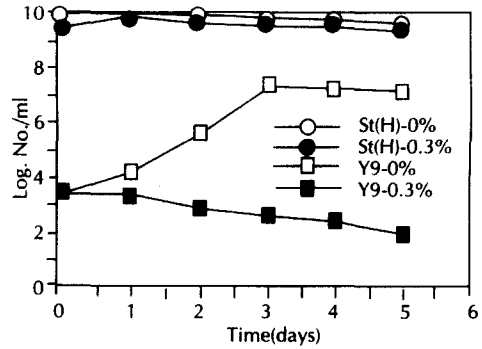


Fig. 5. Effect of potassium sorbate on viable cell changes of starter(H) Yeast-9 in yogurt for 5 days at 25°C. Yeast-9 was inoculated after yogurt manufacture.

성 증진 효과는 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.

이상의 결과로 미루어 보아 yogurt 제조시 potassium sorbate를 0.3% 이하로 사용할 경우 yogurt 배양 전 yeast가 오염되었다 하더라도 potassium sorbate에 내성이 강한 starter를 사용하면 발효는 정상적으로 진행될 수 있으며 배양 후 yeast가 오염된 경우도 냉장유통이 보장된다면 yeast에 의한 제품의 품질 악화는 어느 정도 방지할 수 있을 것으로 사료되었다. 산업적으로 이용하기 전에 우선 potassium sorbate 사용에 의한 yogurt 품질에 관한 연구가 선행되어야 할 것으로 판단되었다.

요 약

시판 9개 회사의 요구르트를 25°C에 보관하면서 yeast 오염에 의한 팽창 현상이 관찰되는 시료에서 10 균주의 yeast와 starter를 분리하여 potassium sorbate 농도에 따른 생육 특성을 조사한 결과 starter로 사용되고 있는 유산균중 potassium sorbate에 대해 영향을 받지 않는 균주가 있는 반면 다소간의 생육 억제 현상을 보이는 균주를 관찰할 수 있었다. 분리 yeast는 모두 성장이 억제되었으며 potassium sorbate 농도가 증가함에 따라 억제 현상은 더욱 뚜렷하였다. 선발된 유산균과 yeast를 skim milk에 혼합 배양한 결과 유산균은 potassium sorbate 0.3% 첨가에 의해 영향을 받지 않았으며, yeast의 경우 성장 현상은 관찰되지 않았으나 potassium sorbate 첨가구는 배양 18시간 이후 생균수가 감소하는 경향을 나타내었다. 선발된 유산균으로 yogurt를 제조한 후 선발 yeast를 오염시켜 4±1°C와 25±1°C

에서 7일간 저장하면서 생균수의 변화를 조사한 결과 전 저장 기간중 유산균의 변화는 관찰할 수 없었으며 10%/ml을 유지하였다. 오염 yeast는 $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 경우 대조구에서는 성장을 관찰할 수 없었으며, potassium sorbate 첨가구의 경우 저장이 계속됨에 따라 완만하게 감소하였고, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 경우에서도 0.3% 첨가구의 경우 차츰 감소하는 경향을 나타내었다.

문 헌

- Hofmann, C., Schweitzer, T. R. and Dably, G. : Fungistatic of the fatty acids and possible biochemical significane. *Food Res.*, **4**, 539(1944)
- Costilow, R. N., Coughlin, F. W., Robbins, F. K. and Hsu, W. T. : Effect of sorbic acid on the yeast and lactic acid fermentations in brined cucumbers. *Appl. Microbiol.*, **5**, 373(1957)
- Liewen, M. B. and Marth, E. H. : Growth and inhibition of microorganism in the presence of sorbic acid : A Review. *J. Food Prot.*, **48**, 364(1985)
- Hamdan, I. Y., Deane D. D. and Kunsmn, J. E. Jr. : Effect of potassium sorbate on yogurt cultures. *J. Milk Food Technol.*, **34**, 307(1971)
- Corn Products Company(Delaware) : Improvements in or relating to processing milk-based foods. *British Pat. Dairy Sci. Abst.*, **26**, 534(1964)
- American Public Health Assoiation : *Standard methods for the examination of dairy products*. Marth, E. H. (ed.), p.77(1978)
- Phillips, G. F. and Mundt, J. O. : Sorbic acid was inhibitor of scum yeast in cucumber fermentations. *Food Technol.*, **4**, 291(1983)
- Emard, L. O. and Vaughn, R. H. : Selectivity of sorbic acid media for the catalase negative lactic acid bacteria and clostridia. *J. Bacteriol.*, **63**, 487(1952)
- Hansen, J. D. : The effects of sorbic, propionic and caproic acids on the growth of certain clostridia. *J. Food Res.*, **20**, 92(1955)
- Bell, T. A., Etchells, J. L. and Borg, A. F. : Influence of sorbic acid on the growth of certain species of bacteria, yeasts and filamentous fungi. *J. Bacteriol.*, **77**, 573(1959)
- Restaino, L., Lenovich, L. M. and Bills, S. : Effects of acids and sorbate combinations on the growth of four osmophilic yeasts. *J. Food Prot.*, **45**, 1138(1982)
- Sofos, J. N. and Busta, F. F. : Antimicrobial activity of sorbate. *J. Food Prot.*, **44**, 614 (1981)
- Warth, A. D. : Resistance of yeast species to benzoic and sorbic acids and to sulfur dioxide. *J. Food Prot.*, **48**, 564(1985)
- Branen, A. L. and Davidson, P. M. : Antimicrobial in foods. p.141(1983)
- Ferguson, W. E. and Powrie, W. D. : Studies on the preservation of fresh apple juice with sorbic acid. *Appl. Microbiol.*, **5**, 41(1957)
- George, K. Y. and Vaughn, R. H. : Mechanisms in the inhibition of microorganisms by sorbic acid. *J. Bacteriol.*, **88**, 411(1964)
- Luck, E. : *Antimicrobial food additive, characteristics, uses, effects*. Springer-Verlag, Berlin (1980)
- Green, M. D. and Ibe, S. N. : Yeasts as primary contaminants in yogurts produced commercially in lagos, Nigeria. *J. Food Prot.*, **50**, 193(1987)
- Myers, B. R., Edmondson, J. E., Anderson, M. E. and Marshall, R. T. : Potassium sorbate and recovery of pectinolytic psychrotrophs from vacuum-packaged pork. *J. Food Prot.*, **46**, 499(1983)
- Pierson, M. D., Smoot, L. A. and Stern, N. J. : Effects of potassium sorbate on growth of *Staphylococcus aureus* in bacon. *J. Food Prot.*, **42**, 302(1979a)
- Edinger, W. D. and Splittstoesser, F. D. : Sorbate tolerance by lactic acid bacteria associated with grapes and wine. *J. Food Sci.*, **51**, 1077
- Rasic, J. L. and Kurmann, J. A. : *Yogurt. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen*, p.24(1978)
- 서동철, 황인규 : 발포 액상요구르트 존재하는 분리 및 동정. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **15**, 15 (1987)

(1992년 5월 25일 접수)