

## Sorbitol첨가가 Frozen Yoghurt중 유산균의 생존율과 조직에 미치는 영향

김응률 · 김유성 · 이영건 · 주지선 · 이강익 · 백승천\* · 이종익\*\* · 유제현  
건국대학교 낙농학과, 서울우유(협) 기술연구소\*, 삼익유가공(주)\*\*

### Effect of Sorbitol on the Texture and the Survival of Lactic Acid Bacteria of Frozen Yoghurt

E. R. Kim, Y. S. Kim, Y. G. Lee, J. S. Ju, G. I. Lee, S. C. Baick<sup>1)</sup> and J. H. Yu

Dept. of Dairy Science, Kon-Kuk University

\*Seoul Dairy Cooperation, \*\*Sam-Ik Dairy & Food Co.

### ABSTRACT

This study was conducted to examine the usability of sorbitol for the manufacture as low-calory ingredient and cryoprotectant against frost damage. When frozen yoghurt was made of replacing sucrose by sorbitol at yoghurt mix, the change of physicochemical and lactic acid bacteria, such as *Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*, and mixed culture of *Str. thermophilus* and *L. bulgaricus*(1:1), was studied during the frozen storage ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).

During the incubation of yoghurt mix, the rapid growth of lactic acid bacteria in all sample was observed as the increase of sorbitol addition, but sample A and D were almost similar. This results suggested that sucrose could play role of effecting the growth stimulator, otherwise, sorbitol could inhibit the death of microorganism, following the genus.

At the survival rate between lactic acid bacteria during freezing of  $-5^{\circ}\text{C}$  by ice cream freezer, *Str. thermophilus* showed 26.19 to 34.76%, *L. bulgaricus* 3.97 to 5.20%, and mixed culture 17.16 to 40.87% respectively. *L. bulgaricus* showed the greater lethal rate than other genus. Sample C which mixed sucrose with sorbitol (1:2 ratio) was showed the lowest lethal rate. Therefore, it suggested that the use of this ration could be used for better anti-frost damage.

During the storage of  $-20^{\circ}\text{C}$ , the number of lactic acid bacteria generally decreased in the stand point of genus and frozen storage period. The survival of lactic acid bacteria might be the addition of sorbitol which could have the effect of anti-frost damage.

In all treatment, lactase activity showed the rapid decrease after freezing. During the period of frozen storage, it was shown the slow decreasing trend. In spite of decreasing, the result during yoghurt mix incubation,  $-5^{\circ}\text{C}$  freezing, and  $-20^{\circ}\text{C}$  frozen storage was different at the level. After 80 days of storage, the lactase activity was similar among all genus and sample.

Despite differenting viscosity followed by genus, combination of mix, and pH, the ratio of 1 to 2

(sucrose : sorbitol) showed the greatest viscosity. The water holding capacity of frozen yoghurt mix was closely related to viscosity.

As increasing sorbitol amounts, hardness and cohesiveness were increased, but elasticity was decreased. The significant differences between sample was inoculated with *Str. thermophilus*. However, there were not significant difference from the sample inoculated with *L. bulgaricus* and mixed culture.

Key words : Frozen Yoghurt, Lactic acid bacteria, Sorbitol

## I. 서 론

동결요구르트는 요구르트의 영양적 특성(low fat, active enzyme culture)과 더불어 아이스크림의 관능적 특성(low acidity)이 가미되어야 하며(Guinard 등, 1994), 생균을 포함하여야 한다. 동결요구르트내의 유산균은 장내에서 뿐만 아니라 제조시, 동결에 의해 대략 1.5 log cycle이 감소하며, 반면 lactase의 활성은 대략 30%정도 증가되었다는 결과가 보고되었다(Thompson과 Mistry, 1994). 이러한 생균수의 감소현상은 동결시 전해질의 농도가 바뀌고, 손상세포를 그대로 유지시키는 ice crystal을 형성하기 때문인 것이라고 하였다(Korsop, 1991).

동해방지제의 첨가는 동결저장시 수분과 결합하고, 세포 내외의 ice crystal형성을 억제시킴으로서 생존률을 높이게 된다. 많은 양의 동해방지제가 존재하게 되면, 동결시 crystalline ice 대신에 extracellular amorphous ice의 형성을 유발시키게 된다고 하였다(Lloyd, 1975).

Sorbitol은 대부분의 과립과 씨앗에 존재하는 polyhydric alcohol, 즉 polyol의 일종으로서 빙결정 지연, 숙성시 안정화 향상, 점도와 조직의 조절, 보존성, 용융성, 보수력 등의 효과를 가지고 있으므로 식품첨가물로서 각광을 받고 있다(Furia, 1972). Sorbitol은 glycol, glycerol, adonitol, mannitol 등과 같이 균주 동결저장에 보존제로서 많이 이용되어오고 있다(Korsop, 1991).

현재 동결요구르트의 제조에 가장 많이 이용되는 *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*와 *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*의 혼합

균주는 -20℃에서 1~2주간 저장시에 그 수효에서 많은 변화를 나타내었으며, 동결요구르트 믹스의 조성과 pH에 의해서도 많은 차이를 보였다고 한다(Miles와 Leeder, 1981). Speck과 Geoffrion(1980)에 의하면, 일반냉장저장된 요구르트의 경우는 lactase activity만이 저장기간에 따라 커다란 영향을 미칠 뿐 pH와 유산균수에서는 큰 차이가 없었으나, 동결요구르트의 경우는 저장기간에 따라 lactase activity는 감소되지 않는 반면, 유산균수에서 약간의 감소 추세를 보였다고 하였다. 미생물은 동결과 해동에 대한 민감성이 매우 크며, 균종, 성장조건, 성장배지의 특성, 동결 저장 및 해동조건 등에 많은 영향을 받는다(Ray와 Speck, 1973).

본 연구는 sucrose에 비해 저칼로리 물질이며, 동해방지 효과가 좋은 sorbitol을 첨가하여 동결요구르트를 제조시, 이화학적 변화와 유산균의 생존율 및 조직 등을 비교하므로써 sorbitol의 적정 첨가량을 찾고자 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 균주 및 시료

균주는 삼익유가공(주)에서 보관중인 *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*(USA Culture system), *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*(USA Culture system), 그리고 YC-180(*Str. thermophilus* : *L. bulgaricus* = 1:1, USA Culture system)의 동결건조균주를 Direct Vat System으로 이용하였다.

요구르트 믹스에 첨가된 sucrose의 함량에 대해

D-sorbitol (Yakuri Pure Chem., Japan)를 각각 33.3%(Sample No. B), 66.6%(C), 100%(D), 대체시킨 것을 처리구로 하였으며, sorbitol을 첨가하지 않은 것을 대조구(Sample No. A)로 하였다.

동결요구르트 mix의 조성은 Thompson과 Mistry(1994)의 관능검사 결과 소비자의 기호도가 가장 높은 동결요구르트의 배합비를 응용하여 fat 7.0%, MSNF 10.3%, sweetener 12.0%, 유화안정제 0.3%로서 총고형분이 29.6%가 되도록 제조하였다.

## 2. Frozen yoghurt의 동결저장과 해동조건

아이스크림 동결기에서 동결된 시료 50g을 50ml Conical tube에 담아서 -40℃로 5시간 동안 경화시킨 후 -20℃에 저장하였다.

시료를 -20℃에 80일동안 저장하면서 10일 간격으로 20℃ incubation chamber(SYCC-SGT III, Senvir system, Korea)에서 1시간동안 해동시킨 후, Vortex(G-560, Scientific Industries, USA)로 10초간 교반시킨 후 분석하였다.

## 3. 유산균수 및 유산균 사멸률의 측정

총유산균수의 측정은 멸균된 희석액에 적정비율로 희석된 배양액 1ml를 petri dish에 채취한 후에, *Str. thermophilus*는 M17 agar(Difco Laboratory, West Molesey, U.S.A.)를 이용하여 43℃에서 48시간 배양하였으며, *L. bulgaricus*는 Elliker agar(Difco Laboratory, Detroit Michigan, U.S.A.)를 이용하여 37℃에서 72시간 배양하였고, Mixed culture는 BCP agar (Eiken Chem., Japan)를 이용하여 37℃에서 72시간 배양한 후에 Standard Method(APHA, 1985)에 따라 counting하였다.

유산균 생존율은 동결전의 유산균수와 동결후의 유산균수를 3회 반복측정하여 백분율로 나타냈다.

## 4. Lactase activity 측정

동결저장중인 시료를 해동하여 1ml를 50ml Erlenmeyer flask에 정량하여 0.001M MgSO<sub>4</sub>와 0.05M β-mercaptoethanol이 첨가된 pH 7.0 phosphate buffer로 희석하였다. 희석된 시료에 chloroform 2방울과 0.1% SDS solution 1방울을 첨가하여 10초간 교반한 후, 28℃의 water bath에서 5분간 정치시키고, 0.2ml ONPG(4mg/ml)를 첨가하여 10초간 잘 혼합하였다. 혼합된 전처리시료를 28℃ water bath에 10분간 유지한 후에 1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 0.5ml을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 Mashayekh와 Brown(1992)의 방법에 따라 흡광도를 측정하였다.

전처리된 시료를 UV KON 860(Kontron) spectrometer에서 420nm와 550nm로 측정한 후, 다음의 공식에 의해 산출하였다.

$$A_{420} = 1.75 \times A_{550}$$

$$\text{Lactase units} = \frac{1000 \times A_{420} - 1.75 A_{550}}{t \times v}$$

t ; reaction time (min)

v ; culture volume (ml)

## 5. Viscosity와 water holding capacity 측정

점도의 측정은 frozen yoghurt mix의 숙성후, 동결 직전에 50ml beaker에 담아서 10℃로 유지시킨 것을 RPM 6, spindle No. 4로 정하여 LVT viscometer (Brookfield Eng., U.S.A)로 측정하였다.

Estelle(1986) 등의 방법에 따라, 시료 10g을 시험관에 담은 후, high centrifuge(Centrifon T-124, 68K 1022, Kontron Instruments, Italy)로 13,500 rpm/30min, 10℃로 원심분리한 후에 상등액을 제거하고 10분 경과후 침전물의 중량을 잰 후 중량중 침전물의 %를 보수율로 표시하여 보수력을 측정하였다.

Water Holding Capacity =

$$\frac{W_1 - W_0}{W_2 - W_0} \times 100$$

$W_0$  = 용기무게

$W_1$  = 상등액 제거 후의 시료무게+용기무게

$W_2$  = 시료무게+용기무게

### 6. Frozen yoghurt의 rheology 측정

Rheology의 측정은 Kim 등(1992)의 방법을 응용하여 제조된 동결요구르트를 알루미늄 용기(직경 5cm, 높이 3.5cm)에 담아서 -20℃에서 3일간 저장한 후에 Rheometer(Fudoh, NMR-2002型, Japan)를 사용하여 Hardness, Cohesiveness, Elasticity를 측정하였다. 이때 Rheometer의 operating condition은 adapter 길이 1.4cm, 침입 거리 1.5cm, power 2kg × 1 volt, chart speed 12cm/min, table speed 6cm/min의 조건에서 측정하였다.

### 7. 통계 분석

3회 반복실험을 통해 얻어진 결과를 신뢰성을

높이기 위해 SAS(statistical analysis system)을 응용하여 통계분석을 하였으며, 시료평균치간의 유의성 검정은 Duncan의 다중 검정법(Steel과 Torrie, 1980)으로 실시하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. Yoghurt mix 배양에 따른 유산균수의 변화

*Str. thermophilus*에 의한 yoghurt mix의 유산균수 변화는 Fig. 1에 나타냈다.

접종 직후 시료간의 유산균수는  $4.95 \times 10^6$  CFU/ml~ $6.05 \times 10^6$  CFU/ml이었으며, 배양 5시간후의 유산균수는 시료 C가 다른 시료들에 비해 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 sorbitol함량이 0%인 대조구(시료 A)와 sorbitol함량이 3%인 시료 D의 유산균수가 유사하였으며, 반면 sucrose와 sorbitol의 비율이 1:2인 시료 C가 가장 높은 유산균수를 나타내었다.

*L. bulgaricus*에 의한 yoghurt mix의 유산균수 변화는 Fig. 2에 나타내었으며, 배양 2시간 경과후의 control은  $8.75 \times 10^6$  CFU/ml, B는  $8.0 \times 10^6$  CFU/ml, C는  $8.45 \times 10^6$  CFU/ml, D는  $8.15 \times 10^6$  CFU/ml로서 접종직후의 유산균수와 커다란 차이를 보이지 않았다.

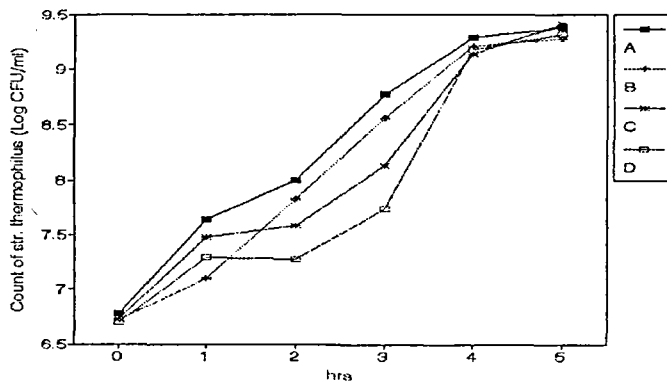


Fig. 1. Change of *Str. thermophilus* in yoghurt mix added with sorbitol during incubation.

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

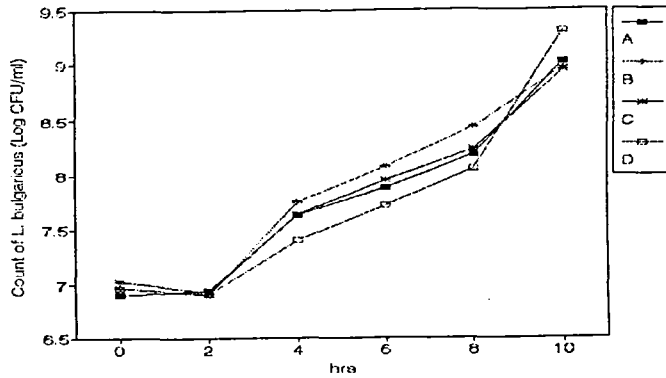


Fig. 2. Change of *L. bulgaricus* in yoghurt mix added with sorbitol during incubation.

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

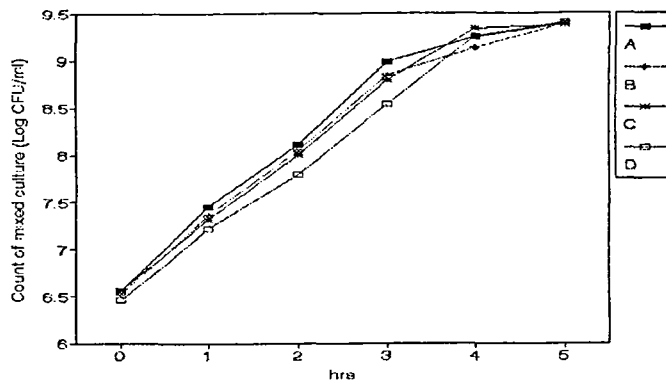


Fig. 3. Change of mixed culture(*Str. thermophilus* : *L. bulgaricus* = 1:1) in yoghurt mix added with sorbitol during incubation.

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

*Str. thermophilus*에 비해 유도기가 현저히 길게 나타나는 것으로 볼 때, mix의 조성에 대한 *L. bulgaricus*의 민감도가 높은 것으로 생각된다. 또한 배양 10시간 경과후 control은  $1.05 \times 10^9$  CFU/ml, B는  $9.25 \times 10^8$  CFU/ml, C는  $8.7 \times 10^8$  CFU/ml, D는  $1.98 \times 10^9$  CFU/ml로서 커다란 차이를 보였다. 이것은 sorbitol함량이 증가할수록 *L. bulgaricus*의 성장에 효과가 높았으며, 또한 control과 D가 유사한 것으로 볼 때, sorbitol과 sucrose가 *L. bulgaricus*에 대해서는 큰 영향을 미

치지 않는 것으로 사료된다. 이것은 배양 8시간 경과후의 유산균수가 낮은 control과 시료 D가 10시간 경과 후에 급속히 증가되어 가장 높은 수효를 나타내는 것으로 볼 때, sorbitol과 sucrose의 혼합비율 때문인 것으로 사료되며, sorbitol이 첨가되지 않은 control과 sucrose가 첨가되지 않은 시료 D가 유사한 경향을 보이는 것은 control은 sucrose에 의해 균성장이 촉진되기 때문이며, 시료 D는 sorbitol에 의해 성장된 유산균의 생존율이 높은 원인 때문이라고 사료된다.

혼합균주(*Str. thermophilus* : *L. bulgaricus* = 1:1)에 의한 yoghurt mix의 배양에 따른 유산균수 변화는 Fig. 3에 나타내었다.

접종 직후와 배양 5시간 경과후의 유산균수 변화가 시료간에 거의 유사한 수치를 보였지만, 배양 4시간대에 control은  $1.74 \times 10^9$  CFU/ml, B는  $1.345 \times 10^9$  CFU/ml, C는  $2.12 \times 10^9$  CFU/ml, D는  $1.765 \times 10^9$  CFU/ml을 나타내었으나, 시료 C와 D의 경우 배양 4시간과 5시간대에 유산균수가 control과 B와는 달리 커다란 증가추세를 보이지 않는 것으로 볼 때, *Str. thermophilus*와 *L. bulgaricus*에 비해 유산균 성장의 정체기가 sorbitol의 첨가량이 증가될수록 빨리 시작되는 것으로 사료된다.

Yoghurt mix 배양시 사용된 모든 균종에서 control과 시료 D는 유사한 경향을 보였지만, sucrose와 sorbitol의 비율을 2:1, 1:2로 한 시료 B와 C의 경우는 균종에 따라 다른 경향을 보였다.

유산균종에 따라 sucrose는 유산균의 성장 촉진 효과가 있는 반면, sorbitol은 유산균의 생존에 효과가 있는 것으로 사료된다.

## 2. 동결 전후에 따른 유산균 생존율의 비교

-5°C 동결에 따른 유산균 생존율은 Table 1에 나타내었다. *Str. thermophilus*와 *L. bulgaricus* 및 mixed culture 모든 균종에서 시료 C가 다른 시료들에 비해 생존율이 가장 높은 것으로 볼 때, sucrose와 sorbitol의 비율이 1:2인 것이 동해방지

효과 측면에서 가장 좋은 것으로 나타났다.

균종간의 생존율의 범위에 있어서 *Str. thermophilus*는  $26.19 \pm 0.86\% \sim 34.76 \pm 0.30$ , *L. bulgaricus*는  $3.97 \pm 0.53\% \sim 5.20 \pm 0.57$ , mixed culture는  $17.16 \pm 0.30\% \sim 40.87 \pm 0.14$ 로 *L. bulgaricus*가 다른 균종에 비해 생존율이 가장 낮으며, mixed culture가 가장 높은 것으로 나타났다. 이것은 구균이 간균보다 첨가제에 대한 민감성이 적다는 보고(Miles와 Leeder, 1981)와 일치하였다. 또한 *L. bulgaricus*의 낮은 생존율에도 불구하고 mixed culture가 *Str. thermophilus*와 유사하게 나타난 것은 혼합균주내 구균과 간균비율이 70:30의 비율로 존재한다는 보고(Kosikowski, 1981)를 고려해 볼 때, 간균의 수효가 상당히 낮기 때문인 것으로 사료된다.

전반적으로 *L. bulgaricus*를 제외한 균종들에 있어서 동결시 1.5 log cycle이 감소한다는 Thompson과 Mistry(1994)의 연구결과 보다 높게 나타난 이유는 sucrose와 sorbitol의 성장촉진과 동해방지 효과 때문인 것으로 사료되었다.

## 3. Frozen yoghurt의 동결저장기간에 따른 유산균수 변화

*Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*, mixed culture를 이용해서 제조한 frozen yoghurt의 -20°C 동결저장에 따른 유산균수 변화는 Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6에 각각 나타냈다.

동결 직후 *Str. thermophilus*의 유산균수는 대조

Table 1. Survival rate(%) of lactic acid bacteria by freezing\*

(Units : %)

Sample No.	A	B	C	D
Stain				
<i>Str. thermophilus</i>	$26.19 \pm 0.86^a$	$14.19 \pm 0.44^c$	$14.76 \pm 0.30^c$	$32.01 \pm 0.26^b$
<i>L. bulgaricus</i>	$3.97 \pm 0.53^a$	$4.49 \pm 0.11^a$	$5.20 \pm 0.57^b$	$4.45 \pm 0.45^a$
Mixed culture	$38.19 \pm 0.18^b$	$37.16 \pm 0.30^a$	$40.87 \pm 0.14^c$	$38.33 \pm 0.96^b$

\* : Means with three replicated trials

a~d : Means with different supercripts differ at each row (P<0. 05)

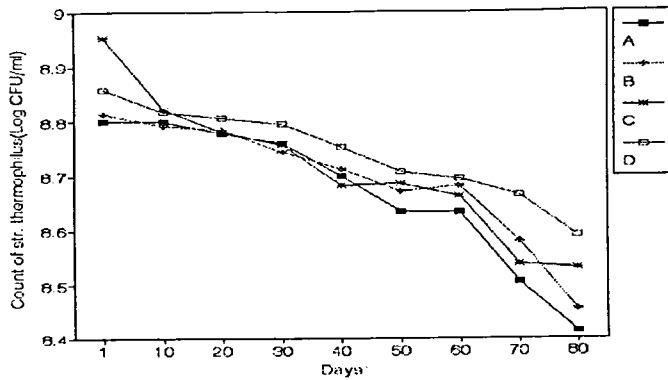


Fig. 4. Change of *Str. thermophilus* in frozen yoghurt added with sorbitol during frozen storage.

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

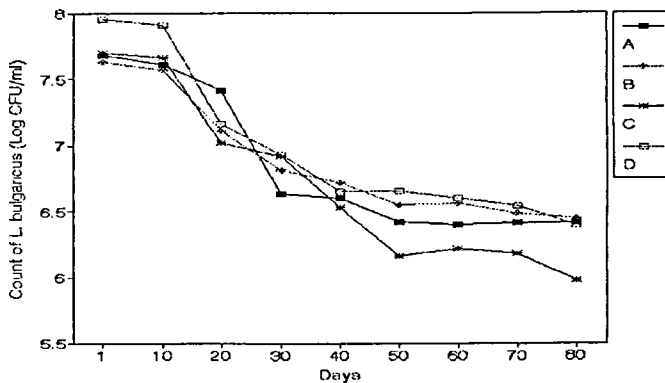


Fig. 5. Change of *L. bulgaricus* in frozen yoghurt added with sorbitol during frozen storage.

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

구가  $6.3 \times 10^8$  CFU/ml, B는  $6.5 \times 10^8$  CFU/ml, C는  $8.95 \times 10^8$  CFU/ml, D는  $7.2 \times 10^8$  CFU/ml로서  $-5^\circ\text{C}$  동결시에 sorbitol의 동해방지효과와, sucrose와 sorbitol의 비율에 의한 유산균 성장촉진효과에 의해 시료간에 다소의 차이를 보였으며, *L. bulgaricus*와 mixed culture의 경우도 시료간에 약간의 차이를 보였다.

*Str. thermophilus*는 동결직후 서서히 감소추세를 보여 동결저장 60일 경과시의 유산균수는 4.

$3 \sim 4.95 \times 10^8$  CFU/ml로서 유사한 경향을 보였지만. 이후 급격한 감소추세를 보여 동결 80일 경과후의 대조구는 동결 직후에 비해 0.38, B는 0.36, C는 0.42, D는 0.26 log cycle이 감소되었다. 이상과 같이 sorbitol함량이 많아질수록  $-20^\circ\text{C}$  동결저장시 *Str. thermophilus*의 수효는 대조구에 비해 감소추세가 적음을 알 수 있었다.

*L. bulgaricus*는 동결저장 10일까지는 약간의 감소추세를 보였으나, 10일 경과후 부터 40일까지

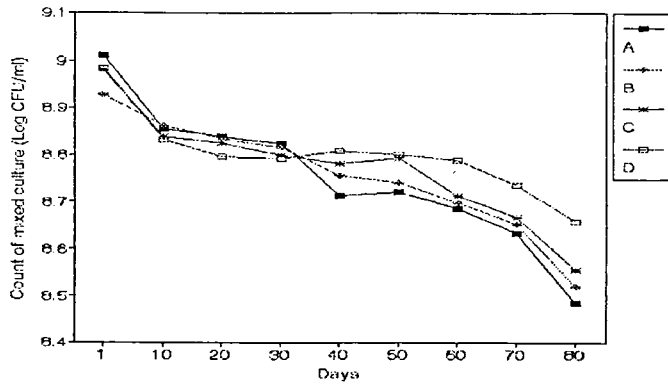


Fig. 6 Change of mixed culture in frozen yoghurt added with sorbitol during frozen storage.

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

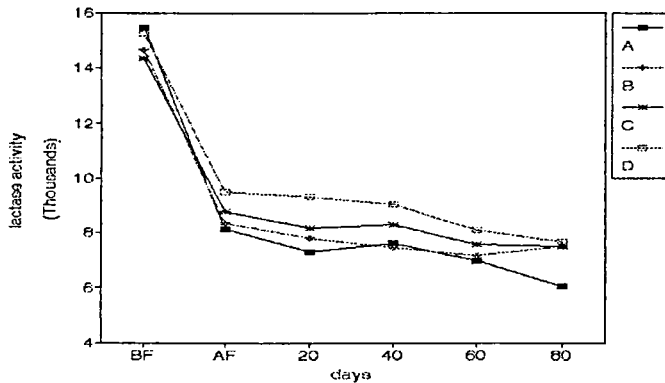


Fig. 7 Lactase activity of *Str. thermophilus* during frozen storage.

BF : Before Freezing, AF : After Freezing

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol    C : 2% of sorbitol    D : 3% of sorbitol

급격한 감소추세를 보였다. 동결저장 40일 경과후 부터 그 감소 추세는 완만하여 시료간에 커다란 차이를 보이지 않았다. 또한 동결저장 1일과 80일 경과 후의 생존율을 비교해 보면, 대조구는 1.28, B는 1.18, C는 1.27, D는 1.56 log cycle이 감소하므로서 sorbitol함량이 증가할수록, 즉 sucrose함

량이 감소될수록 생존율이 낮게 나타났다.

*L. bulgaricus*가 동결저장시 *Str. thermophilus*와는 상반된 경향을 보인 것은 sorbitol보다는 sucrose에 의한 완충력이 더 크기 때문인 것으로 사료된다.

Mixed culture는 동결저장 20일차까지 급격한



감소 추세가 시료간에 나타났지만, 대조구는 30일 경과 후부터 급격히 감소하여 동결저장 80일 경과 후에는 동결 직후에 비해 1.51 log cycle 감소되었다. 반면 D의 경우는 대조구에 비해 그 감소 추세가 완만하여 동결 80일 경과후에는 1.33 log cycle 이 감소되었다.

동결 직후의 유산균 수효가 시료 C, D, B, A 순이었던 것이 동결저장 80일 경과 후에 시료 D, C, B, A 순으로 바뀐 것은 sorbitol에 의한 것으로 사

료되었다. 또한 균종, 동결저장기간에 따라 약간의 감소 추세를 보였지만, sorbitol의 동해방지 효과로 인한 유산균의 생존 효과가 인정되었다.

#### 4. 동결저장기간에 따른 lactase activity 변화

-20℃저장기간에 따른 lactase activity는 Fig. 7, 8, 9와 같았다.

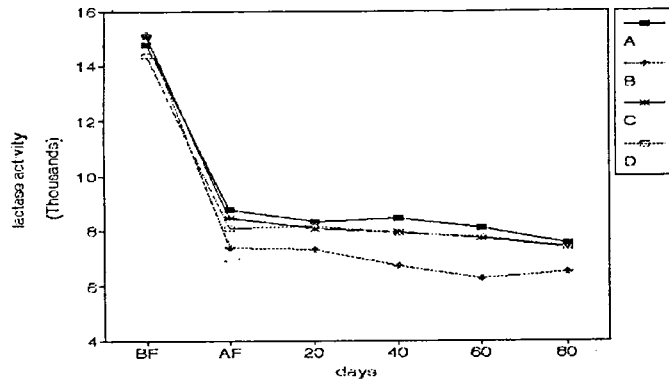


Fig. 8. Lactase activity of *L. bulgaricus* during frozen storage.

BF : Before Freezing, AF : After Freezing

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol C : 2% of sorbitol D : 3% of sorbitol

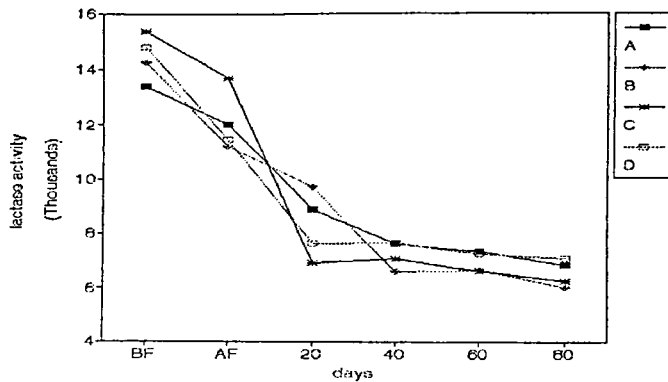


Fig. 9. Lactase activity of mixed culture during frozen storage.

BF : Before Freezing, AF : After Freezing

A : Control(frozen yoghurt mix without sorbitol)

B : 1% of sorbitol C : 2% of sorbitol D : 3% of sorbitol

동결 직후와 동결저장 80일 경과 후의 lactase activity는 *Str. thermophilus*의 경우 A는 60.9%, B는 48.8%, C는 47.8%, D는 49.88% 감소하였으며, *L. bulgaricus*의 경우 A는 49.0%, B는 57.03%, C는 51.08%, D는 48.46% 감소하였다. 또한 mixed culture의 경우 A는 49.06%, B는 57.67%, C는 59.5%, D는 52.31%로 나타났다.

Yoghurt의 경우에는 냉장기간에 따라 lactase activity는 큰 차이를 보였고, frozen yoghurt에서는 동결저장기간에 따른 lactase activity, pH, 유산균수에서 커다란 차이가 있다는 보고(Speck 등, 1980)와 일치하였으나, 동결 직후 lactase activity가 대략 30% 증가되었다는 Thompson과 Mistry(1994)의 연구결과와 일치하지 않았다.

-5°C 동결에 따른 lactase activity의 감소률은 시료간의 차이는 있었지만, *Str. thermophilus*의 경우는 37.78~47.45%, *L. bulgaricus*의 경우는 40.74~51.37%, mixed culture의 경우는 10.58~23.07%로서 균종에 따라 차이가 컸으며, 단독균주보다는 혼합균주가 적게 감소되었다. 또한 80일 경

과후의 활력은 유사하였는데, 이것은 혼합균주가 단독균주보다 동결저장에 따른 lactase의 활력저하가 더 크기 때문인 것으로 사료되었다.

그러나, 유산균수와는 달리 lactase activity는 다른 변화와는 다르게 yoghurt mix배양 등의 과정에서 sorbitol과 sucrose의 효과에 의해 단계별로 약간의 차이는 보였지만, 동결 80일 경과 후의 활력은 유사한 것으로 나타났다.

또한 *Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*, mixed culture 균종간에 수치는 유사하였으며, 이것은 *Str. thermophilus*가 *L. bulgaricus*보다 대략 3배의 lactase activity를 보였다는 Kilara 등(1975)의 연구결과와 상이하였다. 동결요구르트에 있어서 sucrose와 sorbitol이 lactase activity에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다.

### 5. Frozen yoghurt mix의 점도와 보수력

Frozen yoghurt제조시 숙성 12시간 후 10°C로 유지된 mix의 점도는 Table 2와 같았다.

Table 2. Viscosity of frozen yoghurt mix added with sorbitol\* (Unit : M cps)

Sample No. Strains	A	B	C	D
<i>Str. thermophilus</i>	10.97±0.31 <sup>c</sup>	16.37±0.86 <sup>a</sup>	13.03±0.61 <sup>b</sup>	10.07±0.80 <sup>c</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	10.67±0.55 <sup>c</sup>	12.53±0.15 <sup>b</sup>	17.93±0.78 <sup>a</sup>	6.70±0.36 <sup>d</sup>
Mixed culture	7.67±0.25 <sup>c</sup>	9.47±0.42 <sup>a</sup>	8.40±0.26 <sup>b</sup>	7.23±0.51 <sup>c</sup>

\* : Means with three replicated trials

a~d : Means with different supercripts differ at each row (P<0.05)

Table 3. Water holding capacity of frozen yoghurt mix added with sorbitol (Unit : %)

Sample No. Strains	A	B	C	D
<i>Str. thermophilus</i>	21.28±0.17 <sup>d</sup>	22.38±0.07 <sup>b</sup>	24.05±0.12 <sup>a</sup>	21.99±0.20 <sup>c</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	24.48±0.49 <sup>b</sup>	24.91±0.17 <sup>b</sup>	26.13±0.09 <sup>a</sup>	25.63±0.47 <sup>a</sup>
Mixed culture	25.17±0.58 <sup>b</sup>	24.68±0.22 <sup>b</sup>	30.21±0.29 <sup>a</sup>	25.08±0.11 <sup>b</sup>

\* : Means with three replicated trials

a~d : Means with different supercripts differ at each row (P<0.05)

*Str. thermophilus*에 의해 제조된 시료들의 점도는 A는  $0.97 \pm 0.31$  M cps, B는  $16.37 \pm 0.86$ , C는  $13.03 \pm 0.61$ , D는  $10.07 \pm 0.80$ 으로 B, C, D, A 순이었으며, mixed culture의 경우도 마찬가지로의 경향을 보였다. 그러나 *L. bulgaricus*의 경우는 시료 C가 가장 높은 수치를 나타내었고 D가 현저히 낮은 수치를 나타냈다.

또한 *Str. thermophilus*와 mixed culture에 비해 *L. bulgaricus*의 점도가 높은 것은 간균이 점성물질을 더욱 많이 생성해 낸다는 결과(허 등, 1995)와 일치하였다. 균종 및 mix의 조성과 pH에 따라 점도에 약간의 차이는 있었지만, sucrose와 sorbitol의 비율이 1:2인 것이 점성면에서는 가장 좋은 것으로 사료되었다.

보수력은 Table 3과 같이 sucrose와 sorbitol의 비율이 1:2인 것이 모든 시료들에서 높게 나타났으며, 또한 A와 D가 *Str. thermophilus*의 경우는 각각  $21.28 \pm 0.17$ ,  $21.99 \pm 0.20$ 이었고, *L. bulgaricus*

의 경우는 각각  $24.48 \pm 0.49$ ,  $25.63 \pm 0.47$ 이었으며, mixed culture의 경우는 각각  $25.17 \pm 0.58$ ,  $25.08 \pm 0.11$ 로 거의 유사한 수치를 나타냈다. 점도는 보수력에 의해 크게 좌우됨을 알 수 있었다.

## 6. Frozen yoghurt mix의 rheology

Frozen yoghurt의 동결 72시간 후 hardness, cohesiveness, elasticity는 Table 4, Table 5, Table 6에 각각 나타내었다.

Hardness는 사용된 모든 균주에 있어서 sorbitol함량이 증가될수록 높은 수치를 나타내었으며, 단독균주일 때 A와 D는 차이가 있었으나 mixed culture에서는 차이가 없었다. 이것은 빙점이 낮은 frozen desserts가 저장시 더욱 soft해지며 (Smith와 Bredley, 1983), sorbitol이 sucrose에 비해 빙점이 더욱 낮다(Baer와 Baldwin, 1984)는 결과와 상이하였다.

Table 4. Hardness of frozen yoghurt mix added with sorbitol

Sample No. Strains	Sample No.			
	A	B	C	D
<i>Str. thermophilus</i>	$288.33 \pm 2.08^c$	$287.00 \pm 6.56^c$	$347.00 \pm 12.77^b$	$380.00 \pm 11.00^a$
<i>L. bulgaricus</i>	$290.00 \pm 1.00^b$	$291.33 \pm 3.21^b$	$293.00 \pm 7.21^b$	$368.67 \pm 17.39^a$
Mixed culture	$305.67 \pm 5.03^c$	$299.33 \pm 5.03^c$	$328.33 \pm 12.34^b$	$360.00 \pm 6.00^a$

\* : Means with three replicated trials

a~d : Means with different supercripts differ at each row ( $P < 0.05$ )

A : Frozen yoghurt mix without sorbitol

B : 1% of sorbitol C : 2% of sorbitol D : 3% of sorbitol

Table 5. Cohesiveness of frozen yoghurt mix added with sorbitol

Sample No. Strains	Sample No.			
	A	B	C	D
<i>Str. thermophilus</i>	$0.104 \pm 0.005^a$	$0.149 \pm 0.059^a$	$0.141 \pm 0.002^c$	$0.154 \pm 0.005^a$
<i>L. bulgaricus</i>	$0.101 \pm 0.004^a$	$0.088 \pm 0.003^b$	$0.081 \pm 0.002^c$	$0.103 \pm 0.003^a$
Mixed culture	$0.102 \pm 0.011^b$	$0.122 \pm 0.005^a$	$0.104 \pm 0.004^b$	$0.108 \pm 0.003^b$

\* : Means with three replicated trials

a~d : Means with different supercripts differ at each row ( $P < 0.05$ )

Table 6. Elasticity of frozen yoghurt mix added with sorbitol

Sample No. Strains	A	B	C	D
	<i>Str. thermophilus</i>	0.428±0.003 <sup>a</sup>	0.411±0.004 <sup>b</sup>	0.374±0.008 <sup>c</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	0.290±0.003 <sup>a</sup>	0.292±0.003 <sup>a</sup>	0.278±0.007 <sup>b</sup>	0.287±0.005 <sup>a,b</sup>
Mixed culture	0.345±0.004 <sup>a</sup>	0.334±0.007 <sup>b</sup>	0.326±0.002 <sup>b</sup>	0.328±0.003 <sup>b</sup>

\* : Means with three replicated trials

a~d : Means with different superscripts differ at each row (P<0.05)

Cohesiveness는 *Str. thermophilus*의 경우 sorbitol함량에 따른 증가추세가 뚜렷한 반면, *L. bulgaricus*와 혼합균주의 경우 약간의 차이가 있었고, 시료간의 차이는 거의 없었다.

Elasticity는 사용된 모든 균주에 있어서 sorbitol함량에 반비례의 경향을 나타내었으며, *Str. thermophilus*의 경우는 차이를 보였고(p<0.05), *L. bulgaricus*와 혼합균주의 경우는 차이가 없었다(p>0.05).

이상과 같이, sorbitol함량이 증가될수록 hardness와 cohesiveness가 증가되지만, elasticity는 감소되었다. 또한 *Str. thermophilus*는 시료간에 확연한 차이를 보였지만, *L. bulgaricus*와 mixed culture는 차이를 보이지 않았다.

결론적으로 유산균의 성장, 동결저장시의 유산균의 생존율, lactase activity, rheology면에서 frozen yoghurt제조시 동해방지제로서 sorbitol 2%(sucrose : sorbitol = 1 : 2)의 첨가는 매우 효과적이라고 판단되었다.

#### IV. 적 요

본 연구는 sucrose에 비해 저칼로리 물질이며, 동해방지 효과가 더욱 큰 것으로 알려지고 있는 sorbitol을 요구르트 믹스의 sucrose와 1, 2, 3% 대체하여 동결요구르트를 제조시, 조직변화와 -20℃에서 저장기간에 따른 유산균수 변화를 비교 검토함으로써 sorbitol의 동결요구르트에 대한 이용도를 모색하고자 수행하였으며, 얻어진 결과는 다음과 같다.

Yogurt mix배양시 유산균 성장은 모든 균주에 있어서 sorbitol함량이 증가될수록 빠른 것으로 밝혀졌으나, sorbitol이 첨가되지 않은 대조구와 3%의 sorbitol이 첨가된 시료D는 거의 유사하였다. 이것은 균종에 따라 sucrose는 균의 성장촉진효과가 있는 반면, sorbitol은 균의 사멸억제에 효과가 있기 때문인 것으로 사료되었다.

유산균종간의 -5℃ 동결시 생존율은 *Str. thermophilus*는 26.19%~34.76%, *L. bulgaricus*는 3.97%~5.20%, mixed culture는 17.00%~40.87%로 *L. bulgaricus*가 다른 균종에 비해 가장 낮았으며, 전반적으로 sucrose와 sorbitol의 비율이 1:2인 시료 C가 생존율이 가장 높은 것으로 보아 동해방지 측면에서 가장 좋은 것으로 사료되었다.

-20℃ 동결저장시 유산균수 변화는 균종과 동결저장기간에 따라 감소 추세가 있어서 다소의 차이를 보였지만, sorbitol의 동해방지 효과로 인한 유산균의 생존효과가 인정된다고 사료되었다.

Lactase activity는 모든 균종과 시료에서 동결 직후 급격히 감소된 후에 동결기간 동안에도 서서히 감소되는 경향을 보였다. 또한 lactase activity의 감소추세는 yogurt mix배양, 동결(-5℃), 동결저장(-20℃) 등의 단계별로 약간의 차이를 보였지만, 동결 80일 후의 활력은 대부분이 유사한 것으로 나타났다.

각각의 처리구간에 점도의 차이는 있지만, sucrose와 sorbitol의 비율이 1:2인 것이 점성면에서는 가장 좋은 것으로 나타났다. Frozen yogurt mix의 보수력은 점도와 밀접한 관계가 있었다(P<0.05).

Sorbitol함량이 증가될수록 hardness와 cohesiveness는 증가되었지만, elasticity는 감소되었다. 또한 *Str. thermophilus*는 처리구간에 큰 차이를 보였지만( $p < 0.05$ ), *L. bulgaricus*와 mixed culture는 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

(주요어 : 동결요구르트, 유산균, 솔비톨)

## V. 참고문헌

- American Public Health Association. 1985. Standard Methods for the examination of dairy products. 15th Washington D. C.
- Baer, R.T. and K.A. Baldwin. 1984. Freezing points of bulking agents used in manufacture of low-calorie frozen desserts. J. Dairy Sci. 66:2860-2862.
- Estelle, M., P. Clunies, Y. Kakuda and K. Mullen. 1986. Physical properties of yogurt : A comparison of vat versus continuous heating systems of milk. J. Dairy Sci. 69:2593-2603.
- Furia, T. E. 1972. Handbook of Food Additives ; chapter 10. Polyhydric alcohols. The Chemical Rubber Co. p431-455.
- Guinard, J. X., C. Little, C. Marty, and T. R. Palchak. 1994. Effect of sugar and acid on the acceptability of frozen yogurt to a student population. J. Dairy Sci. 77:1232-1238.
- Kilara A. and K. M. Shahani. 1975. Lactase activity of cultured and acidified dairy products. J. of Dairy Science. 59(12):2031-2035.
- Kim, Y. H., S. C. Baick, Y. G. Lee, and J. H. Yu. 1993. Studies on the changes of lactic acid producing capacity and proteolytic activity of freeze-treated *L. casei* ssp. *casei* ATCC 393. Korean J. Dairy Sci. 15(2):135-144.
- Korsop, B. E. 1991. Maintenance of microorganisms and cultured cells ; 3. General introduction to maintenance methods. Academic Press LTD., London. p21-30.
- Kosikowski, F. 1981. Properties of commercial flavored frozen yogurts. J. Food Protection. 44(11):853-856.
- Lloyd, G. T. 1975. The production of concentrated starters by batch culture : II. Studies on the optimum storage temperature. The Australian Journal of Dairy Technology. 107-108.
- Miles, J. J. and J. G. Leeder. 1981. Starter culture viability in frozen yogurt. Cultured Dairy Products J. 12-14.
- Mashayekh, M. and R. J. Brown. 1992. Stability of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* and  $\beta$ -galactosidase activity in frozen cultured ice cream. Cultured Dairy Products Journal. 4-8.
- Ray, B., and M. L. Speck. 1973. Freeze-injury in bacteria. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 4:161.
- Smith, K. E. and R. L. Bredley. 1983. Effects on freezing points of carbohydrates commonly used in frozen desserts. J. Dairy Sci. 66:2464-2467.
- Speck, M. L. and J. W. Geoffrion. 1980. Lactase and starter culture survival in heated and frozen yogurts. J. Food Protection. 43(1):26-28.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1990. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach, 2nd ed., McGraw Hill Inc.
- Thompson, L. D. and A. N. Mistry. 1994. Compositional changes in frozen yogurt during fermentation, frozen storage, and soft serve freezing. Cultured Dairy Products J. 29(8):12-17

18. 허철성, 이정희, 백영진, 김현욱. 1995. Bifidobacteria와 유산균에 의해 생산되는 다당류의 특성. 제40회 춘계유가공세미나. 한유연. 34-45.