

제빵에서 밀가루 Brew의 조성이 젖산균의 생육에 미치는 영향

조 남 지

혜전대학 호텔제과제빵과

The Effect of Composition of Flour Brew on Growth and Activity of Lactic Acid Bacteria

Nam-Ji Cho

Dept. of Baking Technology, HyeJeon College, Hongsung 350-800, ChungNam, Korea

Abstract

This study was conducted to develop optimal composition of flour brew in order to economically utilize flour brew inoculated by lactic acid bacteria as a starter(mother sponge) in bread-making. Two flour brews were prepared; one with flour and water, the other with flour, water and NaCl. Various nutrients were added to both flour brews and Lactobacilli deMan Rogosa and Sharpe(MRS) broth to investigate the effect of them on growth and activities of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus brevis* and their mixed culture in flour brews to be tested with incubation at 37°C. The growth of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus brevis* and their mixed culture was stimulated by addition of NaCl with 0.85% concentration and more by mixed culture than by single lactic acid bacteria, resulting in 3 hrs reduction in cultivation time. The addition of 3% glucose to flour brew with NaCl was observed to enhance acid production by mixed culture. Yeast extract greatly affected growth and activities of mixed culture of lactic acid bacteria in flour brew with NaCl and its optimum level of this additive in flour brew with NaCl was approximately 1.0%. The optimal composition of flour brew for mixed culture of lactic acid bacteria was suggested as follows; flour 100g, water 300g, NaCl 3.46g, glucose 12.48g, yeast extract 3.46g.

Key words : flour brew, lactic acid bacteria, mixed culture, growth and activities

서 론

빵은 가장 오래된 가공 식품의 하나로, 효모에 의한 알코올 발효와 젖산균에 의한 젖산 발효가 일어나서 빵에 풍미를 부여하고 기호성을 향상시킨다¹⁾. 빵의 풍미에 가장 큰 영향을 미치는 유기산은 락트산과 아세트산으로, 이상적 비율은 3.1 : 1로 알려져 있다²⁾. 빵의 락트산의 생성량을 증가시키기 위해 젖산균을 사용하는 비전통적 발효법³⁾은 밀가루, 물 및 호밀 가루를 섞어서 내재된 *Lactobacillus* sp.를 활성화시킨 다음 밀가루와 물을 더 가해 빵 중균(starter)의 양을 증가시켜 일부는 제빵 원료로 사용하고 일부는 다시 밀가루와 물을 섞어 빵 중균으로 다시 발효시킨다. 이와 같은 비전통적 발효법은 여러 종류의 젖산

균이 관여되어 빵의 일정한 품질을 유지하기가 어렵고 빵 중균 제조에 많은 시간을 필요로 하는 단점이 있다. 그러나 젖산균 발효로 곡물 단백질의 생물이해가 증진되며, 영양소의 양과 이용율을 증가되는 장점도 있다⁴⁾. 빵 제조에 젖산균을 사용한 보고로는, 젖산균이 유기산 생성에 미치는 영향⁵⁻⁶⁾, 사워도우 제조에 관여하는 미생물의 분리·동정⁷⁻⁸⁾, 빵의 저장성 개선을 위한 중균의 배양 방법⁹⁾, 증편과 sour bread의 대량 생산을 위한 스타터 개발 및 생산공정의 개선¹⁰⁾ 등이 있다. 이들 보고는 젖산균 배양 배지로 12%의 환원 탈지유나 생우유⁹⁾와 설탕물¹⁰⁾을 사용하여 배양시킨 후 빵의 원료로 첨가한 것이 대부분이다. 그러나 이와 같은 배양배지는 가격이 비싸고 제조 공정이 불편하기 때문에 이용하기는 어렵다. 제빵에 젖산균을

Corresponding author : Nam-Ji Cho

사용하기 위해서는 배지 제법이 간단하면서도 경제성이 있어야 한다. 조 등¹¹⁾은 *Bifidobacteria* 배지로 밀가루 brew를 사용하여 경제성이 있는 것을 확인하였으나 배양시간이 16시간이나 되어 현장에서 사용하기에는 무리이다. 이들 연구 외에 밀가루를 젖산균의 배양배지로 시도한 결과는 거의 없다.

본 연구는 밀가루와 물을 혼합하여 젖산균 배지용 밀가루 brew를 조성하고, 식염과 포도당, 발육 촉진 물질인 yeast extract는 여러 농도로 가하여 단독 또는 혼합 젖산균의 생육에 적합하고 배양시간을 단축할 수 있는 밀가루 brew의 조성을 분석하여 효과적이고, 경제적으로 락트산을 생산할 수 있는 조건을 찾으려 한 결과이다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

밀가루는 제일제당(주)의 제빵용 밀가루(강력1급)로 수분 14.0%, 단백질 13.9%(N×5.7), 회분 0.39%짜리를 사용하였다. 균주의 종 배양 배지는 Difco사(Difco Lab., USA) 제품을, 실험에 사용한 시약은 동경화성제(일본) 특급시약을, 포도당은 시판 정제포도당을 사용하였다.

2. 사용균주

Sour dough bread의 제조에 사용한 *Lactobacillus brevis*는 Flora Pan Rye L-62(Chr. Hansen's Lab., Denmark)를, *Streptococcus thermophilus*는 한국야쿠르트사의 CH-1을, *Lactobacilli deMan Rogosa and Sharpe*(MRS) broth(Difco Lab. USA)에서 계대 배양하여 $1\sim 2 \times 10^7$ colony forming unit(cfu)/ml가 되도록 한 균주를 단독 또는 동량 혼합하여 본 배양에 사용하였다.

3. 밀가루 brew의 제조

밀가루 brew는 밀가루 100g, 증류수 300ml를 혼합한 것과 밀가루 100g, 증류수 300ml, NaCl을 0.85%가 되도록 첨가한 것을 제조한 후, 각각 포도당 3%, yeast extract(Acumedica, USA)를 여러 농도로 첨가하였다. 이 밀가루 brew에 MRS broth에서 전 배양한 증균을 1%씩 접종하고 37°C의 incubator에서 정치 배양하면서 일정시간별로 균의 생장을 관찰하였다.

4. 생균수 측정

배양이 끝난 밀가루 brew 일정량을 10배 희석법으로 희석한 후, MRS agar, plate count agar 및 EMB agar에 접종하여 37°C에서 48시간 배양한 다음 콜로니수가 30~300개가 나타나는 평판을 선택하여 균수를 산출하였다.

5. pH 및 TA의 측정

젖산균 및 혼합젖산균을 밀가루 brew에서 일정시간 배양(37°C)하면서, 3시간마다 배양액 10g을 취하여 250ml 삼각 플라스크에 넣고 100ml 증류수를 가한 다음 균일하게 혼합하고, 25°C에서 30분간 방치 후 pH meter(Hanna Instruments, Singapore)로 측정하였다. 적정 산도는 AACCB방법 02-31¹²⁾에 따라 1.0%(w/v) phenolphthalein-50% ethanol 5방울을 넣어 혼합하고 1시간 방치 후 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1N NaOH 용액으로 적정하여 산도(% 락트산)를 구하였다.

결과 및 고찰

1. 각 배지의 젖산균 및 혼합 젖산균의 성장곡선

MRS broth, 밀가루 brew 및 식염을 첨가한 밀가루 brew에서 배양한 결과 생균수는 Fig. 1~Fig. 3과 같이 변화하였다. *Streptococcus thermophilus*(Fig. 1)의 초기 생균수는 1.5×10^5 cfu/ml에서 배양 12시간까지 증가하여 MRS broth에서 5.5×10^7 cfu/ml, 밀가루 brew에서 5.2×10^7 cfu/ml, 식염을 첨가한 밀가루 brew에서 5.4×10^7 cfu/ml로 최대값을 나타냈다. 그 후는 서서히 감소하여 배양 36시간에는 각 배지 모두 $6.4\sim 6.5 \times 10^6$ cfu/ml로 변화가 없었다. *Lactobacillus brevis*(Fig. 2)는 실험 배지에서 *S. thermophilus*에 비하여 성장속도는 12시간 늦고, 생균수는 1/10로 나타났으며, 식염첨가 밀가루 brew가 젖산균의 생육에 비교적 좋은 결과를 미치는 것으로 나타났다. 식염은 발효식품에서 젖산 발효가 잘 이루어지도록 하며 젖산균 이외의 미생물에 대해서는 탈수 작용, 비가역적 원형질 분리, 효소활성 억제, Cl⁻의 독작용 등으로 번식을 저해하는 것으로 알려져 있다¹³⁾. 강 등¹⁴⁾의 연구에서도 10% NaCl 존재하는 완충액(pH 5~6)에서 24시간 배양 후 젖산균은 다른 세균보다 생존률이 높았다고 하였다. *L. brevis*의 경우는 pH 5에서 30.1%, pH 6에서 92.9%, pH 7에서 11.9%의 생존률을 보였다고 하였다.

한편, *S. thermophilus*와 *L. brevis*를 혼합 배양한 경우(Fig. 3)는 단일 균주 배양시보다 배양 시간이

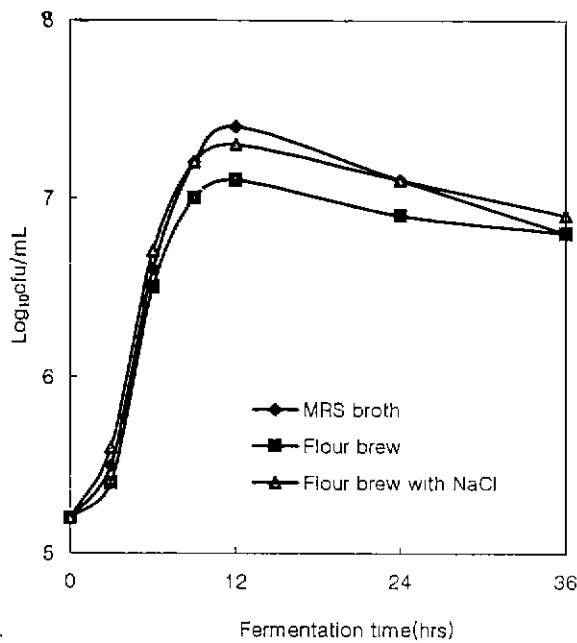


Fig. 1. Growth of *S. thermophilus* in MRS broth, flour brew and flour brew with NaCl during incubation at 37C.

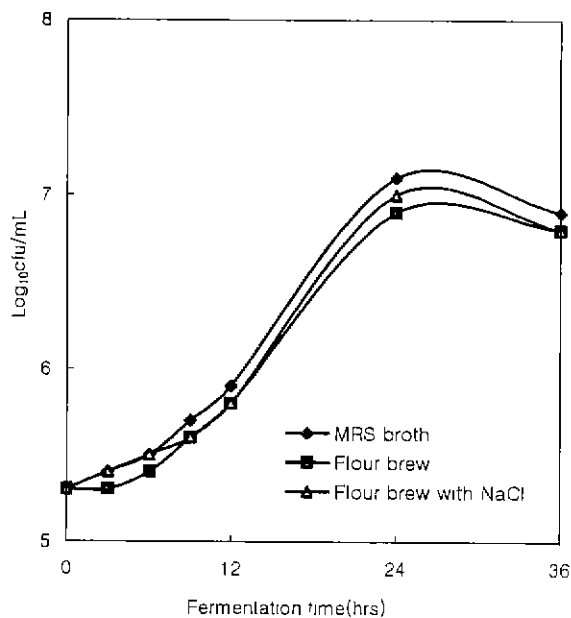


Fig. 2. Growth of *L. brevis* in MRS broth, flour brew and flour brew with NaCl during incubation at 37C.

단축되어 배양 9시간에서 MRS broth 2.6×10^9 cfu/ml, 밀가루 brew 2.0×10^8 cfu/ml, 식염 첨가 밀가루 brew 1.3×10^9 cfu/ml를 나타냈다. 이 결과

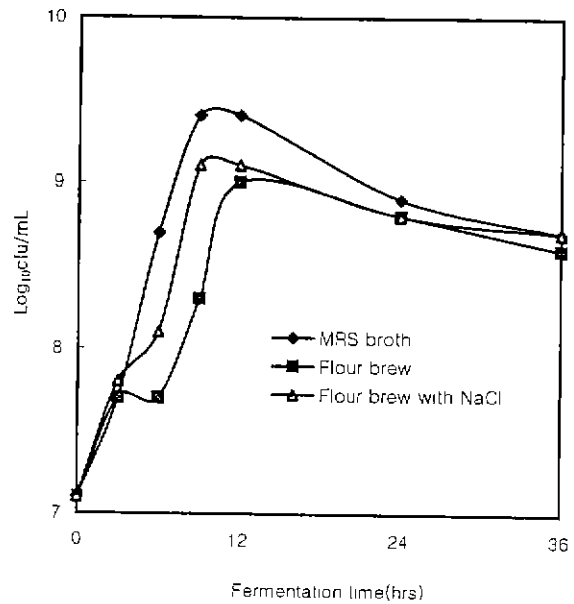


Fig. 3. Growth curves of mixed lactic acid bacteria in MRS broth, flour brew and flour brew with NaCl during incubation at 37C.

는 모든 시료군이 10배 이상의 생균수 증가를 보인 것으로, 혼합균종의 사용으로 젖산발효에서 젖산생성 수율을 증가시킨다는 기존의 연구 결과들과 비슷한 결과이다. 본 실험에서 혼합균종 중 주 균종은 *S. thermophilus*로 예측된다.

2. 각 배지의 젖산균과 혼합 젖산균의 pH와 적정산도의 변화

각 배지의 젖산균과 혼합 젖산균의 pH와 적정산도의 변화는 생균수의 변화와 밀접한 관계를 보였다. 즉 생균수가 지수함수적으로 증가하는 배양시간까지는 pH와 적정산도는 직선적으로 감소 또는 증가하였고 그 이후 생균수가 서서히 감소하면서 pH는 완만하게 낮아지고 적정산도는 완만하게 증가하였다. 혼합 배양 젖산균의 pH 및 적정산도의 변화는 Fig. 4와 같다. 혼합 배양 젖산균의 pH 및 적정산도의 변화는 모든 배지에서 생균수의 변화와 밀접한 관계를 보여 배양 9시간까지 pH는 직선적으로 감소하였으며 적정산도도 변화폭이 가장 컸다. MRS broth와 밀가루 brew의 pH 및 적정산도의 변화 차이는 밀가루에 의한 완충 효과 때문으로 보이며, 조 등¹¹⁾의 실험 결과와 유사하였다. 한편 밀가루 brew의 식염첨가 시료와 비첨가 시료의 적정산도의 증가폭은 식염 비첨가 시료가 높았다. 이 차이는 배양시간 12시간 후에 없

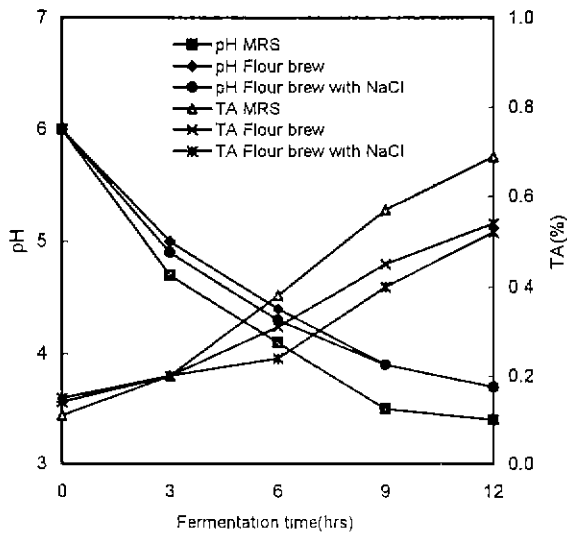


Fig. 4. Changes of pH and % titratable acidity in MRS broth, flour brew and flour brew with NaCl inoculated with mixed culture. TA:titratable acidity.

어졌다. 이러한 결과는 균종간의 특정한 생성물질에 의한 것으로 예측되나 본 실험에서는 밝힐 수 없었다.

이상의 결과로부터 homo형 젖산균인 *S. thermophilus* 와 hetero형 젖산균인 *L. brevis*를 혼합 사용하고 밀가루 brew에 식염을 0.85% 첨가하면 생균수의 증대효과와 함께 밀가루 brew의 배양시간을 단축시킬 수 있을 것으로 분석되었다.

3. 포도당의 첨가 효과

밀가루에 소량 존재하는 단당류 및 이당류¹⁵⁾는 젖산균의 생육에 부족하다. 그래서 포도당을 3% 첨가한 식염 첨가 밀가루 brew에서 혼합 젖산균의 생장에 미치는 영향을 검토하였다.

포도당은 3% 첨가까지는 젖산균의 산 생성이 촉진되며, 그 이상의 농도에서는 큰 차이를 보이지 않는다

고 보고되어 있다^{6,16)}. 본 결과에서도 포도당을 0, 1, 3, 5, 7 % 농도로 밀가루 brew에 첨가하여 예비 실험한 결과 종래의 보고와 유사한 경향을 나타냈다. Table 1에서 식염첨가 밀가루 brew에 포도당을 3% 첨가한 시료는 무첨가 시료에 비하여 생균수는 큰 차이를 보이지 않았으나 9시간 배양까지는 증가하였다. 포도당 첨가시료의 pH는 3.58, 적정산도는 0.60을 나타내어 포도당 비첨가 시료의 12시간 배양값과 비슷하였다. 이상의 결과로부터 혼합 배양 젖산균의 생장에 포도당이 미치는 영향이 있고, 밀가루 brew를 조성하는데 포도당이 필요한 것으로 나타났다.

4. Yeast extract의 첨가 효과

젖산균의 산 생성은 생균수, 성장속도 및 탄수화물 이용능력에 따르며, 그를 위해 여러 가지 영양분을 필요로 한다. 본 실험에서는 식염 첨가 밀가루 brew에 젖산균의 발육 촉진 물질로 알려진 yeast extract를 0.5, 1 및 1.5%씩 첨가하고 그 영향을 관찰하였다.

혼합 젖산균의 생균수(Fig. 5)는 배양 9시간에서 yeast extract 무첨가 시료는 1.3×10^9 cfu/ml이었는데 반해 yeast extract 0.5% 첨가 시료는 3.7×10^9 cfu/ml, 1.0% 첨가 시료는 9.1×10^9 cfu/ml, 1.5%는 3.5×10^9 cfu/ml를 나타내어 모두 증가한 것으로 나타났다. pH 및 적정산도(Fig. 6)는 yeast extract 무첨가 시료에 비하여 첨가시료는 첨가 농도에 관계없이 감소 및 증가하였으며, pH는 배양 6시간까지 직선적으로 감소하였으며 적정산도도 비첨가 시료에 비하여 2단위 이상 증가하여 배양시간 단축에 효과가 큰 것으로 나타났다. 첨가 농도별로는 yeast extract 1% 첨가시료에서 생균수 및 적정산도가 가장 높았다. 유 등¹⁶⁾은 탈지대두단백을 이용하여 요쿠르트를 제조할 때 젖산균의 발효촉진물질로 yeast extract의 산생성을 관찰하여 0.5%가 적당하다고 하였다. 김 등⁶⁾은 두유에 젖산균 발효 촉진 물질로 0.5%의 yeast extract를 첨가하면 산생성은 촉진되나

Table 1. Effect of glucose on the growth of mixed culture in flour brew with NaCl during incubation at 37°C

| Incubation (hrs) | Flour brew ¹⁾ | | | Flour brew ¹⁾ + glucose(3%) | | |
|------------------|----------------------------|------|-----------------------|--|------|-----------------------|
| | Viable count ²⁾ | pH | T.A ³⁾ (%) | Viable count ²⁾ | pH | T.A ³⁾ (%) |
| 0 | 1.3×10^7 | 6.00 | 0.15 | 1.3×10^7 | 6.00 | 0.15 |
| 3 | 2.6×10^7 | 5.51 | 0.20 | 2.4×10^7 | 5.21 | 0.25 |
| 6 | 3.0×10^7 | 4.15 | 0.34 | 3.2×10^7 | 4.07 | 0.39 |
| 9 | 3.1×10^7 | 3.60 | 0.40 | 3.6×10^7 | 3.57 | 0.48 |
| 12 | 2.2×10^7 | 3.57 | 0.52 | 2.2×10^7 | 3.50 | 0.59 |

¹⁾ Flour brew contains 0.85% NaCl, ²⁾ Viable count : cfu/ml, ³⁾ T.A : titratable acidity

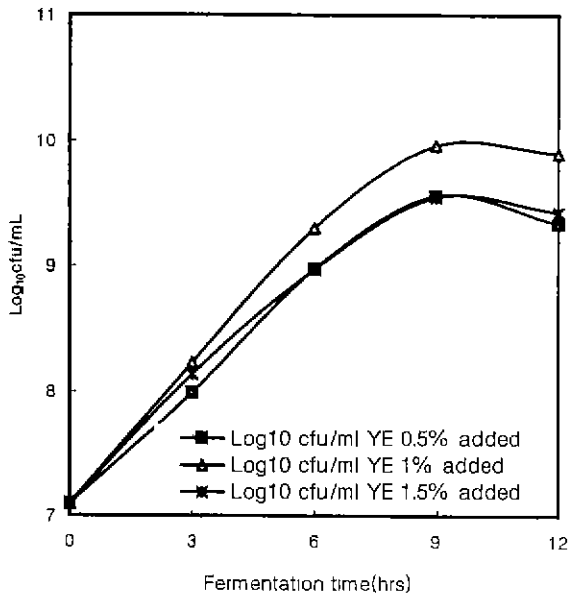


Fig. 5. Effect of addition of yeast extract on growth of mixed culture in flour brew with NaCl.

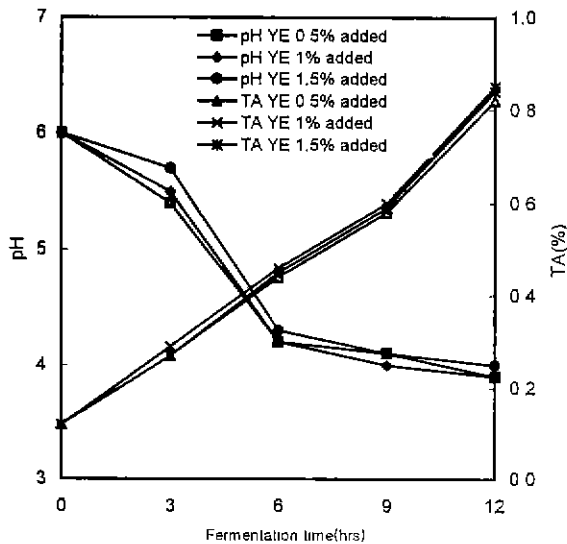


Fig. 6. Effect of addition of yeast extract on pH and % T.A. by mixed culture in flour brew with NaCl. TA:titratable acidity, YE:yeast extract.

생균수의 변화는 관찰되지 않았다고 하였다. 이와 같이 상이한 결과는 젖산균의 생육 기질의 차이에 따른 것으로 보인다. 본 실험에서 사용한 밀가루는 두유나 탈지대두단백에 비해 유리 아미노산, peptides 등이 부족하기 때문에 젖산균 생장을 위해서는 yeast ex-

tract 농도가 높아야 하며, yeast extract가(1.5% 이상) 과잉으로 존재하여도 저해 효과가 나타나는 것으로 추측되나 정확한 이유는 알 수 없었다.

요 약

제빵시 밀가루로 경제적인 젖산균 배양 배지 (brew)를 만들기 위하여 밀가루에 물을 섞은 것에, 식염 및 포도당을 일정 농도로 가한 것에, 젖산균 발효촉진물질인 yeast extract를 여러 농도로 가해 제한 후, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus brevis* 및 이들을 단독 또는 혼합 접종하여 젖산균의 생장에 미치는 영향을 검토하였다. 밀가루 brew에서 젖산균은 물보다는 0.85%의 식염 농도 하에서 생장이 촉진되었으며, 혼합 젖산균은 배양시간 12시간의 *Streptococcus thermophilus*보다 더 촉진되어 9시간으로 3시간 정도 단축되었다. 밀가루 brew에 3%의 포도당을 첨가한 결과 산 생성을 촉진시켜 배양시간 단축에 영향을 미쳤다. Yeast extract는 혼합 젖산균의 성장 및 산 생성에 가장 큰 영향을 주었으며 첨가농도는 밀가루 brew에서는 1.0%가 적합하였다. 이상의 결과로 제빵에 사용될 밀가루 젖산균 배지(밀가루 brew)의 이상적 조성으로는 밀가루 100.00g, 물 300.00g, 포도당 12.48g, yeast extract 4.08g 그리고 NaCl 3.46g으로 나타났고, 혼합 젖산균을 사용할 때의 적정 배양시간은 37℃에서 9시간이었다.

감사의 말

본 논문은 1998년도 혜전대학 학술 연구 조성비에 의하여 이룩된 연구로, 이에 감사를 드린다.

참고문헌

1. Danaka, K.B. : Science of Baking Process(In Japanese), Kow Lin Publishing Co., Tokyo, Vol. 1, p 151~158(1994).
2. Galal, A.M., Johnson, J.A. and Varrino-Martson, E. : Lactic acid volatile organic acids of Sanfrancisco sourdough French bread, Cereal Chem., 55, 461~468(1977).
3. 이성갑 : 유산균 발효물이 제빵 품질에 미치는 영향, 안성산업대학교 논문집, 27, 311~ 326(1995).
4. Rajalakshimi, R. and Vanaja, K. : Chemical and biological evaluation of the effects of fermentation on the nutritive value of foods prepared from rice and grains, Brit. J. Nutr., 21, 467~473

- (1967).
5. Wang, H. L., Karidej, L. and Hesseltine, C. W. : Lactic acid fermentation of soybean milk, *J. Milk Food Technol.*, 37, 71~73(1974).
 6. 김경희, 고영태 : 두유에서 젖산균의 생육과 산생성에 관한 연구, *한국식품과학회지*, 19, 151~156(1987).
 7. Martinez-Anaya, M. A., Pitarch, B., Bayarri, P. and Benedito De Barber, C. : Microflora of the sourdough of wheat flour bread, *Cereal Chem.*, 67, 85~91(1990).
 8. Sugihara, T. F., Kline, N. and Miller, M. W. : Microorganisms of the San Francisco sour dough bread process, *Appl. Microbiology*, 21, 456~458 (1971).
 9. 국승욱 : 빵의 저장성 증진을 위한 종균 배양 방법, *한국식품영양학회지*, 9, 236~241(1996).
 10. 목철균, 문혜준, 이상기, 서남석 : 증편과 sour bread의 대량생산을 위한 스타터의 개발 및 생산공정 개선, *경원대-삼립식품 산학 컨소시엄 제1년차 연구보고서*(1997).
 11. 조남지, 이시경, 김성곤, 주현규 : *Bifidobacterium bifidum*을 이용한 밀가루 brew가 반죽의 이화학적 성질에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, 30, 832~841(1998).
 12. A.A.C.C. : Approved Method of the AACC, 8th ed., American Association of Cereal Chemists, St. Paul, p.1~1(1983).
 13. Frazier, W. C. and Westhoff, D. C. : Food Microbiology, McGraw-Hill Book Co., p.151~153 (1988).
 14. 강영미, 경규향, 박세원, 유양자, 김연순 : 식염용액에서 휴지미생물 세포의 사멸, *한국식품과학회지*, 30, 660~664(1998).
 15. Atkin, L., Schultz, A. S. and Frey, C. N. : Enzymes and Their Role in Wheat Technology, Interscience Publishing Co., p.200~208(1986).
 16. 유지창, 임숙자, 고영태 : 농축대두단백을 이용한 요구르트의 제조, *한국식품과학회지*, 16, 143~148(1984).

(1998년 12월 28일 접수)