

## 환원제 첨가가 쌀당화액의 *Bifidobacterium* 발효에 미치는 영향

이주연 · 목철균\* · 박종현 · 장학길  
경원대학교 공과대학 식품생물공학과

**Effect of Reducing Agents on *Bifidobacterium* Fermentation of Saccharified Rice Solution.** Lee, Ju-Yeon, Chulkyoon Mok\*, Jong-Hyun Park, and Hak-Gil Chang. Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, San 65, Bokjung-dong, Sujung-ku, Sunghnam, Kyunggi-do 461-701, Korea – This study was intended to develop a new rice product by the fermentation of saccharified rice solution using *Bifidobacterium* and to select an appropriate reducing agent to provide the anaerobic condition for the growth of *Bifidobacterium* during fermentation. The enhancement of the growth of *Bifidobacterium* in saccharified rice solution was achieved by the treatment of reducing agents such as ascorbic acid and cysteine. The physical and chemical properties of the fermented product were evaluated, and the effect of the reducing agents were compared between ascorbic acid and cysteine. The fermented product with the addition of ascorbic acid shows the lower pH and the higher titratable acidity comparing the product with the addition of cysteine. This indicated that ascorbic acid was more appropriate reducing agent than cysteine for the fermentation of the saccharified rice solution. The number of viable *Bifidobacterium* in the fermented product with the addition of ascorbic acid ( $2.2 \times 10^8 \sim 3.4 \times 10^8$  CFU/ml) was greater than that with the addition of cysteine ( $8 \times 10^7 \sim 2.8 \times 10^8$  CFU/ml). Ascorbic acid supplement also contributed better sensory properties, such as flavor, taste and overall acceptability than cysteine supplement did.

**Key words:** saccharified rice solution, *Bifidobacterium* fermentation, ascorbic acid, cysteine

젖산발효는 오랫동안 식품의 풍미와 영양소의 보존 및 개선방법으로 사용되어 왔으며, 젖산균은 장내 미생물의 적절한 균형을 유지시켜 주는 매우 유익한 균으로 알려져 식품산업에서 다양하게 이용되고 있다. 최근 건강과 장내 세균과의 상관관계가 알려지고 장내 유용균인 *Bifidobacterium*의 중요성이 부각되어 우리나라에서도 유산균 음료에 *Bifidobacterium*을 이용하는 추세이다. 그러나 *Bifidobacterium*은 절대 혐기적인 조건에서 생육하고 특수한 생육촉진물을 첨가하거나 다른 방법으로 생육조건을 조절하여야 하기 때문에 상업적인 제품개발에 장애가 되어왔다.

*Bifidobacterium*의 증식 및 생존성에 영향을 미치는 요인으로 pH, 산의 종류, 혐기적 조건, 생육인자의 특성, 탄수화물의 종류 등이 있다. *Bifidobacterium*이 장기간 활성을 유지하기 위해서는 위액, 각종 소화효소 등 미생물의 생존을 저해하는 요인들을 극복하여야 하므로 생균으로 이용하기 위해서는 저장시 생존력을 증진시키며 외부환경에 저항력을 가지는 배양조건이 필요하다[10].

*Bifidobacterium* 배양조건에 혐기적 환경이 필요한 이유는 과산화수소( $H_2O_2$ )의 축적을 방지하기 위해서인데, 과산화수소가 축적되면 fructose-6-phosphate phosphoketolase를 불활성화시켜 발효과정의 경로가 저해되기 때문이다[3]. NADH-oxidase와 NADH-peroxidase도 *Bifidobacterium*생장

시 산소의 저해를 방지하는데 이는 효소의 생성정도가 증식환경에 따라 달라지기 때문이다[14]. 또한 L-cysteine은 배지내의 산화-환원 전위를 낮추어 혐기조건을 만듦으로써 *Bifidobacterium*의 성장에 유리한 환경을 제공한다[10].

*Bifidobacterium*의 성장을 촉진하기 위해 첨가제를 사용한 경우를 살펴보면, 우유 내에서 *Bifidobacterium*발육을 조사한 결과, 20%의 pepsin을 첨가한 것이 가장 좋고 아무 것도 첨가하지 않은 우유가 가장 나쁘다고 보고하고 있다. 생육촉진 물질을 첨가하지 않는 우유에 *Bifidobacterium*이 생육하기 어려운 것은 asparagin 과 함황 아미노산 cysteine 과 meth-ionine이 부족하기 때문이다[4]. 멸균 탈지유에 yeast extract를 0.1% 첨가하고,  $CO_2$ 를 주입하여 37 °C에서 배양한 결과 처음 12시간 동안 약간 증가하다가 24시간까지 유지하며, 그 이후에는 감소하는 결과를 보였다[3]. Collions와 Hall[1]은 탈지유만을 기질로 하는 것보다 MRS broth, cysteine, py-ruvic acid, ascorbic acid 등을 첨가하는 편이 양호함을 보고하였다. 또한 Oishi[8]는 dextrin과 maltose, dextrin과 cysteine은 상승효과가 있고, 우유지방산 중에서 lauric acid와 myristic acid, palmitic acid, stearic acid는 촉진 작용을 하며, oleic acid와 linoleic acid는 미약한 효과가 있다고 보고하였다.

임 등[8]은 *Bifidobacterium bifidum* HY-8108의 우유내 성장에 관한 연구에서 *Bifidobacterium*의 성장을 촉진시킨다고 보고되고 있는 yeast extract와 BIOS 2000을 첨가한 경우 이들 첨가제가 각각 독립적으로 첨가된 것 보다 같이

\*Corresponding author  
Tel. 82-342-750-5403; FAX. 82-342-750-5403  
E-mail: mokck@mail.kyungwon.ac.kr

첨가된 경우 성장 촉진효과가 우수함을 보고하였다. 또 다른 성장 촉진제를 사용한 연구가 이 등[6]에 의해 이루어졌다. 이 연구는 calcium carbonate( $\text{CaCO}_3$ )가 산과 반응하여 칼슘염과 이산화탄소 및 물을 생성함으로써 수용액내의 수소 이온을 제거시키는 중성의 완충물질로 사용되는 원리를 이용하였다. Calcium carbonate( $\text{CaCO}_3$ )는 대량 발효공정 중 안정제로 사용되고 있는데 이 물질을 *Bifidobacterium*의 배양에 이용할 경우 생성되는 초산 및 유산과 반응하여 배양액내 수소이온을 제거시켜 pH를 안정화시킨다. 그리고 부반응으로 생성되는 이산화탄소는 배양액내 산소분압을 떨어뜨리고 환경을 혐기적 조건으로 만들어 줌으로써 *Bifidobacterium*이 성장하기에 적당한 환경을 조성하였다. 이상과 같이 *Bifidobacterium*의 생육촉진에 많은 성장촉진제가 이용되었고 그 효과 또한 여러 문헌에서 확인할 수 있다.

본 연구에서는 혐기적 환경에서 생육하는 *Bifidobacterium*의 활성을 촉진하기 위한 탈산소제로 환원제인 ascorbic acid와 cysteine의 효과를 비교하였으며 쌀당화액의 비피더스 발효특성과 관능특성을 조사하여 건강지향적인 비피더스 발효음료의 개발 가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 쌀

본 실험에 사용된 쌀은 경기도 평택시 평성농협 특산미 백조쌀(1996년산)을 구입하여 분쇄한 후 사용하였다.

### 효소

Amylolytic enzymes을  $\alpha$ -amylase와 glucoamylase (amylglucosidase)를 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하였다. Alpha-amylase(EC 3.2.1.1, Type X-A : from *Aspergillus oryzae*)와 glucoamylase(EC 3.2.1.3, from *Rhizopus mold*)의 활성은 각각 300 units/mg solid과 22,500 units/g solid였다. Alpha-amylase의 역가는 20 °C, pH 6.9, 3분 동안 전분의 maltose 1.0 mg을 유리시키며, glucoamylase의 역가는 55 °C, pH 4.5, 3분 동안 전분의 glucose 1.0 mg을 가수분해하는 것을 1 unit로 정하였다. 또한 사용된 효소의 양은 제조회사의 권장사용량으로 하였다.

### 시약 및 배지

실험에 사용된 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, Mo, U.S.A.) 등에서 구입하여 사용하였으며 폴락토올리고당, 갈락토올리고당, 이소말토올리고당은 (주)삼양제넥스로부터 구입하였고, resazulin은 0.02% (w/v)용액으로하여 사용하였다.

### *Bifidobacterium*

본 실험에 사용한 *Bifidobacterium*은 한국인의 장내에서

분리한 균주인 *Bifidobacterium* sp. FBD-22 이었으며, 한국 식품개발연구원에서 분양받아 Lactobacilli MRS broth (Difco Detroit, MI, U.S.A.)에 cysteine을 0.05%첨가하여 증배양한 후 2%씩 접종하였다.

### 환원제

L-cysteine(Lancaster Co. England), L-ascorbic acid(Duksan Pharmaceutical Co. Korea)를 각각 1%(w/v)용액으로 하여 사용하였다.

### 환원력 측정

첨가한 환원제의 탈산소 작용을 resazulin을 첨가한 쌀당화액의 색택을 측정하여 검정하였다. 쌀당화액의 색택 변화(산소 존재시 : 남적색, 산소 제거시 : 백색)는 색차계 (Minolta CR-200, Japan)를 이용하여 밝기(L), 적색도(a), 청색도(b)를 측정하였다.

### 쌀당화액 제조

쌀가루 1 kg에 증류수 6.4 l를 첨가하여 60 °C에서 40분 가온, 100 °C에서 45분 호화하고,  $\alpha$ -amylase 0.135 unit/g rice powder와 glucoamylase 3.375 unit/g rice powder가 되도록 0.1% (w/v)효소용액 첨가 후 75분간 당화하고 여과하여 사용하였다[5].

### 쌀당화액의 발효

쌀당화액을 media bottle에 넣고 환원제를 0~0.1% 수준으로 첨가한 후 마개를 막아 100 °C에서 10분간 가열하고 냉각한 후 증배양한 *Bifidobacterium* sp. FBD-22를 2% 접종하여 37 °C에서 42시간 발효하였으며, 이때 resazulin은 첨가하지 않았다.

### 쌀당화액의 발효 특성

pH meter(Model 520A, Orion Research Inc. U.S.A.)를 사용하여 pH를 측정하였고, 산도는 시료 10 ml 취하여 0.1% 페놀프탈레인을 지시약으로 사용하여 0.1 N NaOH으로 적정하고 소비된 NaOH양으로부터 식 (1)에 의하여 %젖산으로 산도를 계산하였다.

$$\text{산도}(\% \text{젖산}) = \frac{\text{NaOH 소비량} \times \text{NaOH 역가}}{\text{시료부피}} \times 0.009 \quad (1)$$

### *Bifidobacterium* 수 측정

Press tube에 당화액을 넣고 37 °C에서 42시간 발효한 시료를 혐기성 용액에 십진적 희석한 후 MBS(modified *Bifidobacterium* selective medium)[11]에 도말하여 anaero-bic jar(Difco, Detroit, MI, U.S.A.)에 질소충진하고 anaero-bic catalyzer와 gas generating systems을 넣고 37 °C에서 3일간 혐기배양한 colony를 계수하였다.

관능검사

비피더스 발효음료의 관능검사는 다섯가지 항목(색, 향, 맛, 조직감, 종합적 기호도)에 대하여 9점 채점법으로 실시하였다[7]. 이때 채점기준은 아주 좋다: 9점, 보통으로 좋다: 7점, 좋지도 나쁘지도 않다: 5점, 보통으로 나쁘다: 3점, 아주 나쁘다: 1점이었다. 관능검사는 본 학과의 대학원생 및 학부생 10명의 패널을 대상으로 실시하였다. 관능검사 결과는 SAS를 사용하여 Duncan의 중범위검정으로 유의차를 분석하였다[13].

결과 및 고찰

*Bifidobacterium*의 최적 발효조건을 위한 혐기적 조건 확립

쌀당화액 10 ml에 0.02%(w/v) resazulin 용액을 10 µl를 가한 후에 1%(w/v) cysteine 과 1%(w/v) ascorbic acid 용액의 첨가량을 달리하여 100 °C에서 5분간 가열 후 색택의 변화를 측정하였다. 그 결과 Fig. 1과 같이 L값은 ascorbic acid를 첨가한 경우 높게 나타났고, a값은 ascorbic acid를 첨가한 것이 낮은 값을 나타내어 ascorbic acid의 환원력이 cysteine의 환원력보다 우수함을 알 수 있었다. 환원제의 적절한 첨가량은 ascorbic acid 용액을 0.04%첨가한 경우 가장 높은 L 값과 가장 낮은 a 값을 나타내어 적정첨가량으로 결정하였다.

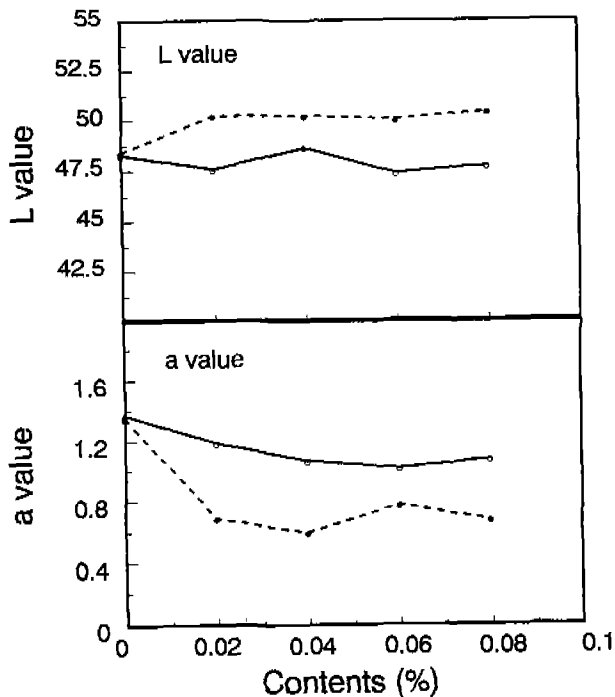


Fig. 1. Changes in color of resazulin reacted with saccharified solution after boiling for 5 min with respect to reducing agent.

○: Cysteine, ●: Ascorbic acid

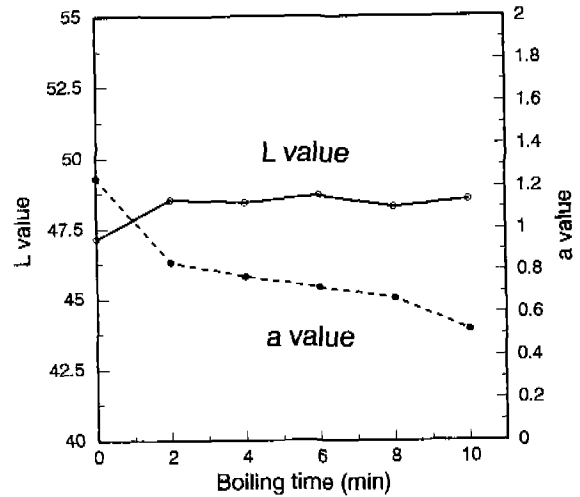


Fig. 2. Changes in color of saccharified rice solution with 0.04% ascorbic acid during boiling.

○: L value, ●: a value

Ascorbic acid 용액 0.04%를 첨가하여 100 °C에서 10분 동안 가열하면서 환원력을 측정한 결과는 Fig. 2와 같이 ascorbic acid를 0.04%첨가한 쌀당화액의 L값은 완만히 증가하였고, a 값은 계속적으로 감소하였다.

Ascorbic acid 용액을 첨가한 후 행한 열처리 온도에 따른 탈산소능의 변화를 조사하기 위하여 쌀당화액에 ascorbic acid 용액 0.04%를 첨가하여 100, 90, 80 °C에서 30분 동안 가열하며 온도에 따른 색택의 변화를 측정하였다. 그 결과 Fig. 3과 같이 100 °C에서 가열한 a값은 10분 이내에 급격히 감소하였고, 90, 80 °C에서 가열한 경우는 10분 동안 감소하다가 그 이후에는 완만하게 감소하거나 거의 변화

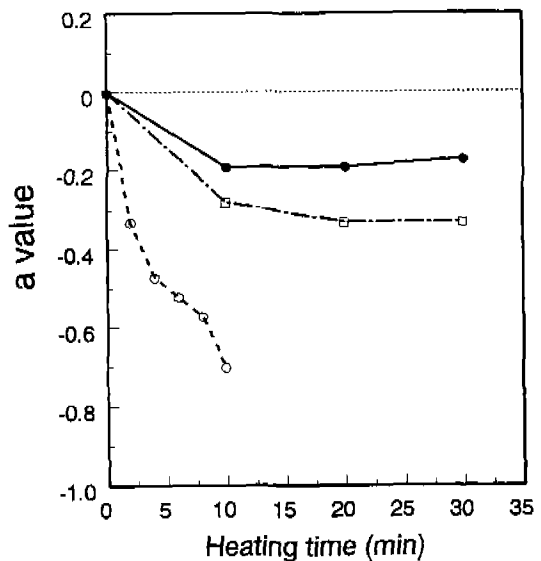


Fig. 3. Effects of heating temperature on color of saccharified rice solution with 0.04% ascorbic acid.

○: 100 °C, □: 90 °C, ●: 80 °C

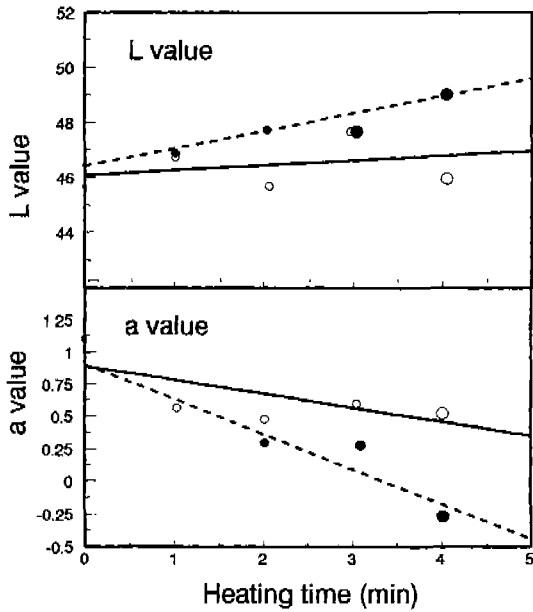


Fig. 4. Effects of reducing agents on L value and a value of saccharified rice solution during heating at 100 °C. —○—: Cysteine, ···●···: Ascorbic acid

가 없어 가열처리온도 100 °C에서 가장 빠른 시간에 높은 환원력을 보여주었다.

Ascorbic acid와 cysteine의 환원력을 비교하기 위해 동일한 조건에서 L 값과 a 값을 측정하여 환원력의 정도를 측정한 결과 Fig. 4와 같이 ascorbic acid 첨가시 기울기가 크게 나타나 ascorbic acid의 산소제거능이 cysteine보다 우수하였으며, 이로부터 결정한 쌀당화액의 환원제 처리조건은 0.04% ascorbic acid를 첨가하여 100 °C에서 10분간 가열하는 것이 적절하였다.

박 등[11]의 연구에서 cysteine 0.05%와 ascorbic acid 0.1%를 쌀발효배지에 첨가하였을 때 거의 같은 생육현상을 보였으며 cysteine의 경우 36시간 후에 최고의 균수를 측정할 수 있었으며 ascorbic acid의 경우는 24시간 만에 최고의 균수가 측정되었다. 배지중에 환원제로 사용되는 cysteine을 ascorbic acid로 대체하므로써 식용첨가제로서 기호성을 증가시킬 뿐만 아니라 발효시간을 단축시킬 수 있는 가능성을 제시하였다.

환원제를 첨가한 비피더스음료의 발효특성

쌀당화액에 환원제를 0~0.1%수준으로 첨가한 후 살균 및 탈산소 조작을 위하여 100 °C에서 10분간 가열하고, 냉각한 후 *Bifidobacterium* sp. FBD-22를 2% 접종하여 37 °C에서 42시간 발효한 후 pH, 산도, *Bifidobacterium* 수를 측정하고 관능검사를 실시하였다. pH 측정결과는 Fig. 5와 같이 환원제를 첨가하지 않은 경우 3.42였고 ascorbic acid 0.04% 첨가시 pH 3.07로 가장 낮았고 첨가량이 많아질수록 pH는 점점 높아져 0.1% 첨가시에는 대조구와 큰 차이

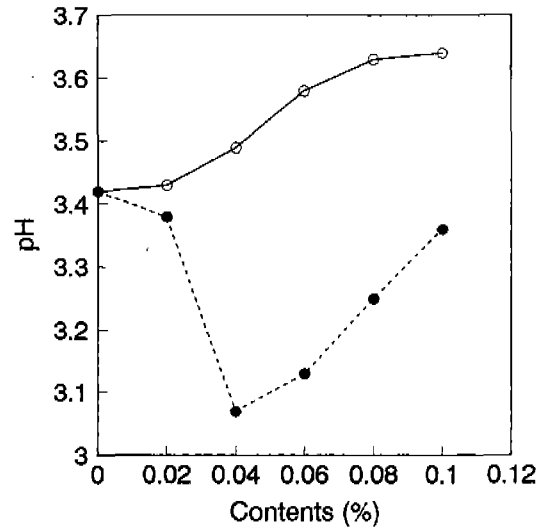


Fig. 5. Effects of reducing agent according to content during fermentation on pH of saccharified rice solution. —○—: Cysteine, ···●···: Ascorbic acid

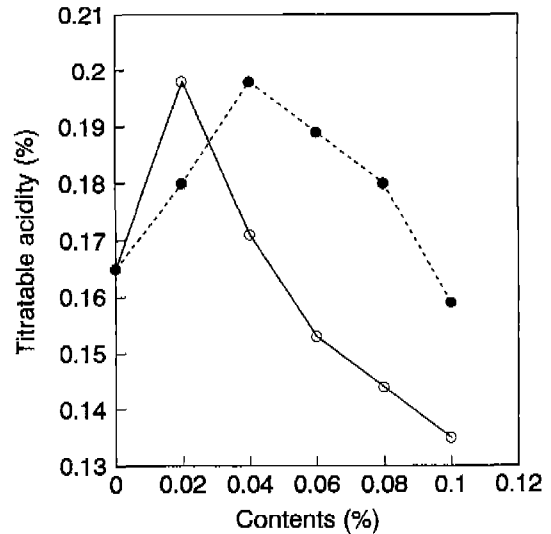


Fig. 6. Effects of reducing agent according to content during fermentation on titratable acidity of saccharified rice solution. —○—: Cysteine, ···●···: Ascorbic acid

가 없었다. Cysteine를 첨가한 경우는 첨가량이 증가할수록 pH가 높아져서 일반적인 발효특성과는 다른 양상을 보였다.

산도는 Fig. 6과 같이 환원제를 첨가하지 않은 대조구가 0.165%였고 cysteine 첨가구는 0.02% 첨가시 0.199%, ascorbic acid는 0.04%첨가시 0.199%로 가장 높았다. 그러나 그 이상 첨가하는 경우 오히려 산도가 감소하여 과도한 환원제의 첨가는 *Bifidobacterium* 성장을 저해하는 것으로 나타났다.

Ascorbic acid 첨가시 0.1% 첨가구를 제외한 모든 실험구에서 대조구보다 높은 산도를 나타내어 ascorbic acid는 *Bifi-*

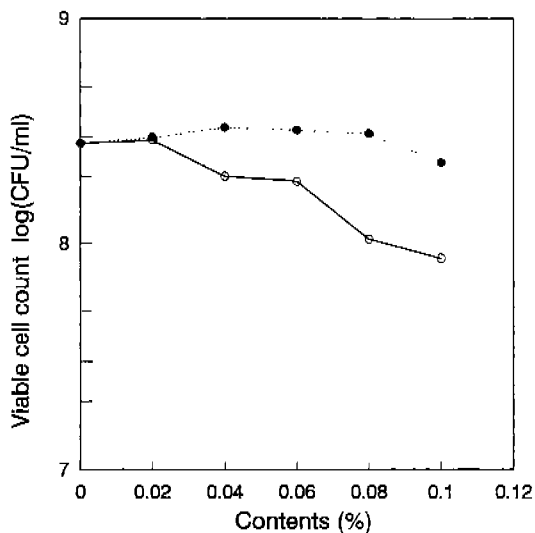


Fig. 7. Effect of reducing agent according to content on viable cell count in *Bifidobacterium* fermentation of saccharified rice solution.

○ : Cysteine, ● : Ascorbic acid

*dobacterium* 발효에 적합한 환원효과를 가지고 있음이 확인되었다.

발효 후 *Bifidobacterium* 수를 측정된 결과는 Fig. 7과 같이 0.02% 수준으로 ascorbic acid와 cysteine을 첨가한 경우 *Bifidobacterium* 수는 유사하였으나, 0.04% 첨가구에서는 ascorbic acid의 경우  $3.4 \times 10^8$  CFU/ml, cysteine 첨가구가  $2.2 \times 10^8$  CFU/ml이었다. Ascorbic acid 0.1% 첨가시는  $2.2 \times 10^8$  CFU/ml였으며, cysteine 0.1% 첨가시는  $8.0 \times 10^7$  CFU/ml로 환원제가 적정량 이상 첨가되면 *Bifidobacterium* 성장을 저해하며 그 정도는 cysteine이 ascorbic acid에 비해 크게 나타났다.

환원제를 첨가한 비피더스 음료의 관능 특성

적정 첨가수준으로 확인된 0.04%의 환원제를 첨가하여 발효한 음료의 관능성과 유의성을 조사한 결과 Table 1과 같이 색깔과 입안에서의 촉감은 유의적인 차이가 없었으나 ascorbic acid를 첨가한 경우가 cysteine을 첨가한 경우에 비하여 향, 맛, 기호도에 있어서 유의하게 우수한 것으로 나타났다. 전체적인 기호도는 ascorbic acid를 첨가한 경우가 cysteine첨가구에 비하여 월등히 양호하였다.

Table 1. Influence on the sensory evaluation of the *Bifidobacterium* fermented rice solution by 0.04% addition of ascorbic acid or cysteine

Reducing agents	Sensory items*				
	color	flavor	taste	mouthfeel	overall
ascorbic acid	6.1a	5.8a	5.8a	6.0a	6.7a
L - cysteine	6.4a	4.8b	4.7b	6.0a	4.6b

\*Means with the same letter are not significantly different ( $\alpha=0.05$ )

박 등[12]의 *Bifidobacterium*에 의한 당근발효 연구결과 ascorbic acid보다는 cysteine을 첨가한 경우에 균체수가 더 증가하며 *Bifidobacterium*의 성장을 촉진하는 것으로 본 실험의 결과와 차이가 있었다.

그러나 정 등[2]의 연구에 따르면 2%의 MRS broth를 첨가한 12% 환원 멸균 탈지유에 환원제로서 cysteine과 ascorbic acid를 첨가하고 분리주의 배양액을 5% 접종하여 37 °C에서 호기적으로 배양하면서 생균수와 pH, 적정산도의 경시적 변화를 측정하였다. 그 결과 환원제로서 cysteine을 사용하였을 때 ascorbic acid보다도 산생성과 초기의 생균수가 훨씬 양호하였다. 그러나 시간이 경과함에 따라 균의 사멸 속도가 빨라지며 냉장조건에서의 생존성도 훨씬 낮았다. 이는 초기의 과도한 산생성 및 균의 증식으로 균이 빨리 사멸기에 들어가기 때문인 것으로 추정하였다. 반면에 ascorbic acid 첨가구는 초기의 산생성과 생균수 그리고 생존성 면에서 가장 양호하게 나타나 본 실험의 결과와 유사하였다.

박 등[10]의 L-cysteine을 농도별로 첨가하여 각 농도에서의 증식과 각각의 환경에서 증식한 *Bif. breve*의 산소에 대한 내성 정도를 조사한 연구 결과 0.05~0.10% L-cysteine을 첨가하였을 때 증식도 우수하고 과산화수소에 대한 내성도 우수한 결과를 나타내어 0.05~0.10% L-cysteine을 첨가하여 배양하였을 때 증식이나 저장시 산소에 대한 저해를 줄일 수 있는 배양조건임을 밝히고 있다. 그러나 본 연구 결과 *Bifidobacterium* 배양조건에 환원제로 사용하기 위한 L-cysteine의 첨가는 관능적 열화로 인하여 식품에 적용하기 어려울 뿐만 아니라, 발효특성도 부적절한 것으로 확인되었으며 환원력과 관능특성을 종합하였을 때 ascorbic acid가 더욱 우수한 환원제로 확인되었다.

요 약

본 연구에서는 혐기적 환경에서 생육하는 *Bifidobacterium*의 활성을 촉진하기 위한 탈산소제로 환원제인 ascorbic acid와 cysteine을 첨가한 *Bifidobacterium* 음료의 발효특성과 관능특성을 조사하였다. 쌀당화액을 발효시키기 전 환원제를 넣고 가열함으로써 당화액을 혐기적인 상태로 만드는 능력을 조사하기 위해 resazulin을 지시약으로 사용하여 가열 중 색의 변화를 측정하였다. Ascorbic acid와 cysteine의 탈산소능을 비교한 결과, ascorbic acid가 cysteine보다 L 값의 증가 및 a 값의 감소가 두드러져 환원력이 우수하였다. 환원제를 첨가한 비피더스발효물의 이화학적인 변화는 ascorbic acid를 첨가한 경우가 cysteine을 첨가한 경우보다 낮은 pH와 높은 산생성능을 보였다. 발효 후 *Bifidobacterium* 수의 변화는 ascorbic acid 첨가구가  $2.2 \times 10^8 \sim 3.4 \times 10^8$  CFU/ml인데 반해 cysteine첨가구는  $8.0 \times 10^7 \sim 2.8 \times 10^8$  CFU/ml로 ascorbic acid를 첨가한 경우 *Bifidobacterium*의 생육이 활성화되었다. 관능검사 결과

향, 맛과 전체적 기호도에서 ascorbic acid가 cysteine에 비하여 좋은 기호성을 보여 쌀당화액의 *Bifidobacterium* 발효시 0.04% ascorbic acid를 첨가하여 100 °C에서 10분간 가열하는 것이 최적조건으로 확인되었다.

### 감사의 말

본 연구는 농림수산특정연구사업으로 수행된 연구 결과의 일부로서 지원에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Collins, E. B. and B. J. Hall. 1984. Growth of bifidobacteria in milk and preparation of *Bifidobacterium infantis* for their dairy adjunct. *J. Dairy Sci.* **64**: 1376-1380.
- Jung, H. G. 1993. Study on growth properties and characterization of factors affecting the aerobiosis of aerotolerant *Bifidobacterium*. *Ph. D. Thesis*, Sungkyunkwan University, Korea.
- Kim, S. H. and K.-H. Kang. 1984. Distribution of *Bifidobacterium* in Korean infant excrements(in Korean). *Kor. J. Dairy Sci.* **6**: 126-134.
- Kisza, J. and S. Ziajka. 1973. *Milchwiss.* **28**: 696-699.
- Lee, J.-Y., C. Mok, J.-H. Park, H.-G. Chang, and D.-J. Koo. 1998. Optimal preparation of saccharified rice solution for *Bifidobacterium* fermentation. *Agric. Chem. Biotech.* vol. 41. **7**: 527-532.
- Lee, K.-Y., I.-B. Hwang, and T.-R. Heo. 1997. Enhancement of cultivation efficiency of *Bifidobacterium longum* using calcium carbonate buffer system(in Korean). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 126-132.
- Lee, Y. C. and K. O. Kim. 1994. *Sensory Test of Foods*. Hak-Yeon Publishing Co., Korea.
- Lim, K. S., C. S. Huh, and Y. J. Back. 1990. Studies on the growth of *Bifidobacterium bifidum* HY-8108 in Milk(in Korean). *Kor. J. Dairy Sci.* **12**: 172-180.
- Oishi, Y. 1969. Studies of infant nutrition with special reference to fat responsible for the growth of *Lactobacillus bifidus*. *Bull. Kobe Med. Coll.* **28**: 48-56.
- Park, H. K. and T. R. Heo. 1996. Effect of culture conditions on the growth characteristics and survival of *Bifidobacterium breve* (in Korean) *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**: 451-471.
- Park, J. H., H. K. Song, J.-B. Ahn, G.-E. Ji, and C. Mok. 1997. Rice fermentation by Korean amyolytic *Bifidobacterium* spp. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 581-587.
- Park, S.-Y., Y.-T. Ko, J. Y. Lee, C. Mok, J. H. Park, and G.-E. Ji. 1997. Fermentation of carrot juice by *Bifidobacterium*(in Korean). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 571-575.
- SAS Institute, Inc. 1985. *SAS User's Guide: Statistics*, 5ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.
- Shimamura, S., F. Abe, N. Ishibashi, H. Miakawa, T. Yaeshima, T. Araya, and M. Momita, 1992. Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species. *J. Dairy Sci.* **75**: 3296-3302.

(Received March 15, 1999)