

## 마 첨가에 의한 유산균 생육에 미치는 효과

이삼빈<sup>†</sup> · 하영득 · 김혁일

계명대학교 식품가공학과

## Effect of Yam on the Growth of Lactic Acid Bacteria

Sam-Pin Lee<sup>†</sup>, Young-Duck Ha and Hyuk-Il Kim

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

### Abstract

The growth of *Lactobacillus casei* in milk was enhanced by adding yams. Addition of 1% yam(raw or dry) promoted the cell growth and acid production in fermented milk. The milk containing 1% yams formed the complete curd by lactic acid fermentation at 37°C for 19hr while the milk without yams showed the incomplete curd formation. The crude mucilage extracted from a raw yam also enhanced the cell growth as well as the acid production. Addition of mucilage(0.08%) showed the similar effects with adding heat-treated yam(1%). The milk fermented by adding various yams showed the high scores for sensory evaluation comparing with the milk fermented without yams. The fermenting ability of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus kefir* and *Leuconostoc mesenteroides* was evaluated by adding 1% of a dry yam in milk. A dry yam also enhanced the cell growth of *L. acidophilus* resulting in the high acid production. The viable cell counts of *L. casei*, *L. acidophilus* and *Leuc. mesenteroides* except *L. kefir* were increased by adding 1% of a dry yam.

**Key words:** yam, mucilage, lactic acid bacteria, fermented milk

### 서 론

발효유 제조에 관여하는 유산균들은 통기성 gram양성으로 다양한 영양요구성을 가지면서, 균종에 따라 여러 가지 vitamin과 무기물, 핵산류 및 질소원으로서 아미노산이나 peptide성분을 요구한다. 또한 energy원과 젖산생성을 위해서 발효 가능한 탄수화물을 필요로 하고 있다. 따라서 유산균들의 발효능은 배지의 선택에 좌우되는데 이에 관한 연구들로는 채소추출물의 첨가가 유산균의 생육을 촉진시켰다는 보고(1,2)가 있었으며, 특히 합성배지에서 토마토 즙의 첨가가 유산균의 생육을 촉진한다고 보고되었다(3). 양배추, 고추, 시금치에서의 유산균 생육인자에 의한 연구보고(4)를 비롯하여 인삼과 영지추출물에 의한 *L. casei*와 *S. thermophilus*의 생육 증진효과가 보고되었으며(5), chlorella 세포질에 의한 *L. acidophilus*의 생육 증진 효과(6) 및 구기자 추출물에 의한 *L. casei*의 생육 촉진 효과에 관한 보고가 있었다(7). 반면에 유산균 생육은 파, 마늘, 고추, 생강의 첨가에 의해서 효과적으로 저해되었으며(8,9), 김치발효 유산균의 생육이 솔잎 즙의 첨가에 의해서 억제됨으로서 김치숙성의 지연효과를 볼 수

있었다(10). 따라서 yoghurt 등의 발효식품 제조에서 중요한 유산균들의 생육과 제품의 품질에 영향을 미치는 새로운 기능성 소재들의 개발은 매우 의미 있는 연구로 사료된다.

다년생 덩굴 초본이며, 원주상의 비대한 생근 형태의 뿌리가 식용이나 약용으로 사용되는 마(yam)는 일반성분 이외에도 saponin, tannin, polyphenol, 비타민을 포함한 당류, 아미노산 및 uronic acid, chelidonic acid, sitosterol 등이 들어있어 동맥경화증에 좋다는 보고가 있다(11-13). 예로부터 마는 한약재로 사용되고 있을 뿐 아니라 최근에는 중요한 기능성 식품소재로 인식되어 건강식품 또는 기능성식품 제조에 첨가되면서 그 사용량이 증대되고 있다. 마의 기능성에 관한 최근 연구에서 마 점질물이 중금속 제거능과 ACE저해효과를 나타낸다는 보고(14)가 있었다. 그러나 마를 이용한 발효식품에 관한 연구는 극히 미미한 실정이며, 특정 발효식품에서 마의 효과적인 이용에 관한 연구가 필요하다고 본다. 따라서 본 연구에서는 유산균 발효유 제조시에 마를 첨가함으로써 유산균의 생육과 발효작용에 미치는 영향을 평가하였다.

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

## 재료 및 방법

### 재료

마(yam)는 경북 영주시 평은 농협협동조합에서 구입하였으며, 생마(raw yam)는 4°C 냉장고에, 건마(dry yam)는 실온에서 보관하면서 사용하였다. 건마와 생마의 수분 함량은 각각 10%와 75%였다.

### 균주

*Lactobacillus casei* YIT9018은 한국 야쿠르트에서, *Lactobacillus acidophilus* CH5, *Leuconostoc mesenteroides* ATCC27258, *Lactobacillus kefir* ATCC35411은 한국미생물 보존센터(KCCM)로부터 분양 받았다.

### Starter 제조

10% 환원 탈지유(skim milk, 서울우유)액을 121°C에서 15분간 autoclave(MLS-3000, Sanyo electric co., Japan)에서 살균한 후에 유산균들의 활성을 유지시키기 위한 배양액으로 사용하였다. *L. casei*와 *L. acidophilus*는 37°C에서 배양하였으며, *L. mesenteroides*와 *L. kefir*는 30°C에서 38시간 동안 배양된 것을 starter로 사용하였다.

### 마의 처리 및 발효유 제조

우유에 첨가되는 마의 전처리 과정을 포함한 발효유(yoghurt) 제조방법을 Fig. 1에 나타내었다. 생마로부터 불용성 고형분이 제거된 조점질물을 분리하기 위하여 50 g의 생마를 증류수 200ml에 혼합한 후 균질기(AM, Nihonseiki Kaisha Ltd., Japan)를 이용하여 10,000 rpm에서 5분간 균질화하였다. 균질화된 점질물용액을 gauze에 통

과시킨 후에 여액을 원심분리기(Super 21K, Hanil, Korea)를 이용하여 4,000×g에서 20분간 원심분리한 후 점질물 상등액을 얻었다(14).

생마 및 건마를 고형분 함량을 기준으로 하여 1%(w/v)을 우유에 첨가한 후 10,000rpm에서 1분간 균질화하여 200ml를 만들었다. 시료를 250ml 삼각flask에 넣고 85°C에서 30분간 가열 처리하고 냉각한 후에 탈지유에서 배양된 *L. casei* starter를 0.5% 접종하여 37°C 항온배양기에서 19시간 발효시켰다. 또한 열처리된 우유에 생마 1%를 첨가하여 동일조건에서 발효시켰으며, 점질물액을 고형분 함량으로 0.03% 또는 0.08% 수준으로 우유에 첨가한 후 동일한 방법으로 발효율을 제조하였다. 발효유는 4°C에서 24시간 보관한 후에 분석하였다.

여러 유산균들의 마의 첨가에 따른 생육촉진효과를 평가하기 위해서 건마를 1% 수준으로 첨가한 우유배지를 85°C에서 30분간 열처리하여 냉각한 후에 각각의 유산균들의 starter를 0.5% 접종하여 발효율을 제조하였다.

### pH, 총산도 및 생균수 측정

냉장 보관된 발효유는 5,000rpm에서 20초간 균질화시킨 후에 pH, 총산도 및 생균수를 측정하였다. pH측정은 pH meter(110, Wheaton, USA)를 사용하였으며, 총산도(total acidity)는 발효유 10ml를 취하여 증류수 10ml로 희석한 후 0.1%-phenolphthalein 용액을 4~5방울 가하고 0.1N NaOH 용액으로 적정하였으며, 적정에 소모된 0.1N NaOH로부터 젖산 함량(%)을 계산하였다. 생균수는 발효액을 살균된 증류수로 10<sup>6</sup>까지 희석한 액을 MRS 한천 배지에 접종한 후 37°C에서 3일간 배양시킨 후에 생균수를 측정하였다.

### Curd 형성능과 유청분리 측정

발효유의 curd 형성능 및 유청분리 현상은 *L. casei* starter를 접종하여 37°C 항온배양기에서 19시간 배양한 발효유 200ml를 4°C 냉장고에 1일간 보관한 후 육안으로 관찰 또는 사진촬영을 하였다.

### 관능검사

계명대학교 식품가공학과 대학원 및 재학생 남녀 10명으로 구성된 panel요원으로 관능검사를 실시하였다. 제시된 5가지 발효유들의 신맛과 버터향 등을 종합적으로 평가하여 순위시험을 실시하였으며, 관능검사의 결과는 분산분석과 Duncan 다범위검정으로 시료간의 유의차를 확인하였다(15).

## 결과 및 고찰

마 첨가에 따른 *L. casei*의 생육에 미치는 영향 *L. casei*의 생육에 대한 마의 첨가효과를 관찰하기 위

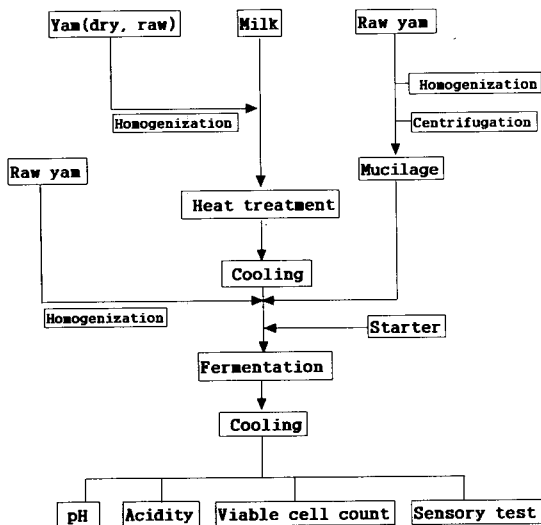


Fig. 1. Flow diagram for analysis and manufacture of yoghurt.

하여 건마와 생마의 농도를 0.5%, 1%, 2%, 3% 수준으로 첨가시킨 후에 발효유의 pH, 총산도, 생균수 및 관능평가를 통하여 비교 검토하였다. 마가 첨가된 우유배지는 첨가되지 않은 우유배지에 비해서 19시간 동안 발효시킨 후에 완전한 curd형성을 보였으며 총산도 및 균의 생육에 있어서 차이를 나타내었다. Fig. 2에서 보는 것처럼 발효유의 총산도는 생마의 첨가량이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였으며 건마 1% 이상의 농도에서는 산도의 변화가 거의 없었다. 1% 수준의 생마와 건마를 첨가시에는 각각 0.62%와 0.82%의 산도를 보여, 우유만을 발효시킨 발효유의 산도 0.37%보다 높은 값을 나타내었다. 이때 발효유의 pH변화를 보면 우유만으로 발효된 시료가 pH 5.6으로 가장 높았으며, 생마와 건마가 각각 1% 첨가된 발효유의 pH는 4.8 또는 pH 4.5까지 감소하는 경향을 보였다.

생균수의 변화를 보면 우유배지보다 마가 첨가된 발효유에서 생균수가 증가됨을 알 수 있었으며, 우유배지의 발효유에 균수가  $1.8 \times 10^9$  cell/ml인데 반하여 1% 수준의 건마와 생마를 첨가한 경우에는 각각  $8.5 \times 10^9$  cell/ml과  $5.9 \times 10^9$  cell/ml으로 3배 이상 균수가 증가했음을 알 수 있었다(Fig. 2). 반면에 2% 이상 생마와 건마를 첨가했을 때는 생균수의 감소를 관찰할 수 있었다. 또한 이들 발효제품들의 관능검사를 통한 품질평가에서 1% 수준의 마의 첨가는 발효유의 맛과 풍미면에서 우수했으며, 유청분리의 억제현상을 보여주었다(Fig. 3). 발효유의 유청분리 현상은 초기 접종된 균수와 이들의 산생성능 등에 의해서 좌우될 수 있지만, 특히 발효유 제조시에 첨가된 생마의 경우에는 존재하는 점질물에 의해서 유청분리 현상의 억제가 예측되었다. 반면에 2% 이상의 생마와 건마를 첨가한 발효유제품의 관능평가가 비교적 낮게 평가됨으로서 마의 첨가에 따른 유산균의 생육촉진효과를 평가할 때의

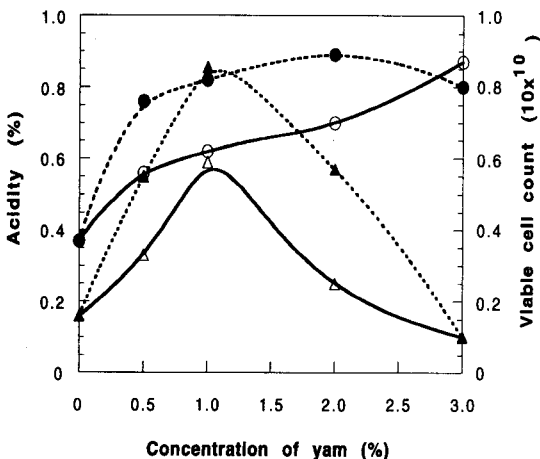


Fig. 2. Effect of yams on the growth of *L. casei* in fermented milk.

○: Acidity(raw yam), △: Cell(raw yam), ●: Acidity (dry yam), ▲: Cell(dry yam)

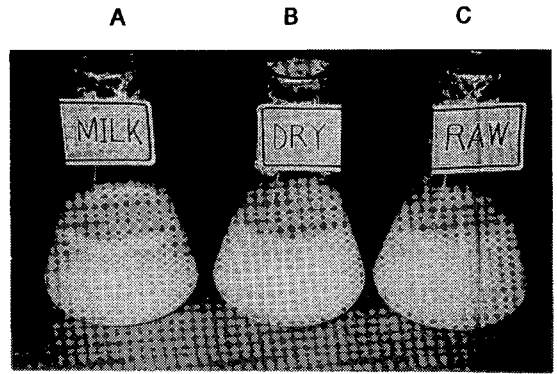


Fig. 3. Comparison of whey separation in set-type yogurt by adding heated yams.

A: milk only, B: milk with 1% dry yam, C: milk with 1% raw yam

마의 농도는 1% 수준으로 결정하였다.

#### *L. casei*의 생육에 미치는 생마의 첨가효과

생마와 열처리된 생마의 첨가시에 발효유의 *L. casei* 생육에 미치는 영향과 curd형성을 비교하였다. Fig. 4에서 1% 수준의 생마를 첨가한 후에 총산도 및 생균수의 변화를 측정된 결과를 나타내고 있다. 생마는 열처리에 관계없이 1% 수준으로 첨가시에 총산도가 0.83%로 마가 첨가되지 않은 발효유에서보다 2배 정도의 높은 값을 나타내었다. 또한 생균수에 있어서는 생마와 열처리된 생마를 첨가할 경우에 각각  $10.3 \times 10^9$  cell/ml 및  $10.0 \times 10^9$  cell/ml으로, 우유만으로 제조된 발효유의 생균수  $3.0 \times 10^9$  cell/ml보다 3배 이상 높은 값을 보였다(Fig. 4). 또한 발효유의 pH 변화는 우유배지가 5.3인 반면에 생마와 열처리된 생마의 경우에는 각각 4.5와 4.4를 나타내었다. 따라서 발효유 제조시에 우유에 1% 수준의 생마를 열처리

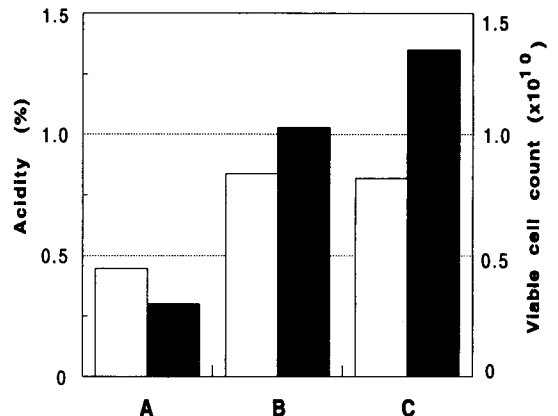


Fig. 4. Effect of a raw yam on the growth and acid production of *L. casei* in fermented milk.

A: milk only, B: milk with 1% heated raw yam, C: milk with 1% raw yam, □: Acidity, ■: Viable cell count

에 관계없이 첨가함으로써 유산균 *L. casei*의 생육촉진 효과를 볼 수 있었다. 마의 첨가에 따른 발효유의 유청분리 억제효과에서는 열처리 안한 생마를 첨가한 경우에서 우유단백질의 침전이 생기면서 심한 유청분리 현상을 보였는데, 이는 생마에 존재하는 단백질분해 효소들의 부분 가수분해작용에 기인한 불완전한 단백질응고 현상으로 사료된다. 따라서 고품 발효유를 제조하기 위해서는 열처리된 생마를 1% 수준으로 첨가함으로써 유청분리를 최소화할 수 있는 방법으로 기대된다.

#### 생마의 점질물이 *L. casei*의 생육에 미치는 영향

생마로부터 과쇄, 여과 및 원심분리의 공정을 거처서 마의 전분과 불용성 물질들이 제거된 점질물용액의 고품 분함량은 3.2%였으며, 점질물의 농도에 의한 *L. casei*의 생육에 미치는 영향을 평가하였다. 점질물용액을 0.08% 수준에서 우유에 첨가는 열처리된 생마 및 건마 1%를 첨가한 경우와 총산도 및 생균수에 있어서 유사한 값을 나타내었다. Fig. 5에서 보는 것처럼 우유배지의 발효유에서 생균수는  $2 \times 10^9$  cell/ml, 1% 열처리된 생마와 건마를 첨가한 것은 각각  $8.3 \times 10^9$  cell/ml와  $1.0 \times 10^{10}$  cell/ml였으며, 점질물을 0.08% 수준으로 첨가한 것이  $1.1 \times 10^{10}$  cell/ml로 가장 높았다. 또한 총산도에서는 1% 생마와 건마의 경우에 0.79%였으며, 점질물 0.08%를 첨가의 경우에는 0.76%를 나타내었다. 따라서 0.08% 수준의 생마 점질물액의 첨가는 열처리된 1% 수준의 마를 첨가한 경우와 유사한 유산균 생육촉진효과를 나타내었다.

#### 유산균들의 생육에 대한 건마의 효과

저장성과 원료 확보면에서 유리한 건마를 사용하여 여

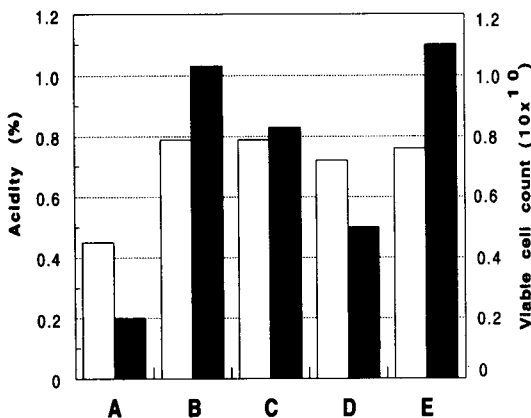


Fig. 5. Effect of yams on the growth and acid production of *L. casei* in fermented milk.

A: milk only, B: milk with 1% dry yam, C: milk with 1% heated raw yam, D: milk with 0.03% mucilage, E: milk with 0.08% mucilage, □: Acidity, ■: viable cell count

러 유산균들의 생육촉진 효과를 pH, 총산도 및 생균수를 측정하여 비교하였다. 건마 1%를 우유에 첨가시에 *L. acidophilus*와 *L. casei*군들에 의해서 제조된 발효유들의 pH는 4.5 이하를 나타내었으며, 총산도에서는 *L. acidophilus*와 *L. casei*가 각각 0.94% 및 0.95%로 가장 높은 값을 나타내었다. 반면에 *Leuc. mesenteroides*는 *L. acidophilus*에 비해서 산생성능이 약했으며, *L. kefir*는 마 첨가에 의한 효과가 없었다. 생균수에서는 *L. casei*, *L. acidophilus* 및 *Leuc. mesenteroides*가 각각  $6.9 \times 10^9$  cell/ml,  $1.5 \times 10^9$  cell/ml 및  $1.6 \times 10^9$  cell/ml였으며, 특히 우유배지를 기준으로 하여 마 첨가에 의한 생균수의 증가비율은 *L. casei*, *L. acidophilus*, *Leuc. mesenteroides*에서 각각 2배, 2.5배 및 1.7배를 나타내었다(Table 1). 반면에 *L. kefir*는 우유배지와 마가 첨가된 배지에서 각각 0.46%과 0.45%의 총산도를 보이면서 마의 첨가가 *L. kefir*유산균의 촉진 효과를 나타내지 않았다.

#### 관능평가

우유 또는 우유에 열처리된 생마와 건마 및 생마의 점질물들을 첨가하여 발효시킨 후 4°C에서 1일간 숙성시킨 발효유들의 신맛과 버터향 등의 종합적인 맛을 순위시험에 의해서 분석하였다. 생마 점질물용액 0.03% 첨가한 것이 가장 좋은 결과를 나타냈으며, 건마 1%, 생마점질물액 0.08% 및 열처리된 생마 1%를 첨가하여 제조한 발효유들의 순서로 순위가 결정되었으며, 우유만을 발효시킨 발효유는 가장 낮은 순위를 나타내었다. 시료의 자유도, 평방계 및 평방평균을 이용하여 얻어진 분산비 F값 4.84는 1% 유의수준에서 유의성을 위한 F값 3.83을 초과함으로써 시료들 사이의 맛과 풍미의 차이는 1% 수준에서 유의성이 인정되었다. Duncan 다범위검정에 의한 시료간의 차이는 우유만의 발효유와 마가 첨가된 발효유들 사이에서 5% 수준에서 유의적인 차이가 있었으며, 마가 첨가된 발효유들 사이에서는 유의적인 차이가 없었다(Table 2). 우유만을 19시간 동안 발효시킨 경우에는 완전한 curd형성이 이루어지지 않았으며 발효유 특유의 신맛 등이 적고 우유

Table 1. Effect of a dry yam on the growth of lactic acid bacteria

Strains		pH	Acidity (%)	Viable cell count <sup>3)</sup>
<i>L. casei</i>	M <sup>1)</sup>	5.2	0.47	30.0
	Y <sup>2)</sup>	4.4	0.94	69.0
<i>L. acidophilus</i>	M	5.7	0.35	6.3
	Y	4.4	0.95	15.0
<i>Leuc. mesenteroides</i>	M	6.0	0.29	9.0
	Y	5.6	0.52	16.0
<i>L. kefir</i>	M	5.5	0.46	1.8
	Y	5.9	0.45	1.0

<sup>1)</sup>Milk only, <sup>2)</sup>Milk with 1% dry yam, <sup>3)</sup>cfu/ml( $\times 10^8$ )

**Table 2. Result of Duncan's multiple range test for the overall flavor acceptability of the yoghurt fermented with various yams by *L. casei***

Overall flavor acceptability by ranking test				
(A) <sup>1)</sup>	(B)	(C)	(D)	(E)

<sup>1)</sup>Yoghurt fermented with (A): 1% of heated day yam, (B): 0.08% crude mucilage, (C): 1% heated raw yam, (D): 0.03% crude mucilage, (E): milk only(level of significance p<0.05)

차체의 맛이 강했다. 반면에 마가 첨가된 경우에서는 완전한 curd의 생성 뿐만 아니라 발효유 특유의 신맛과 점질물 등에 기인한 부드러운 조직감이 부여됨으로서 관능검사에서 높은 순위를 얻은 것으로 사료된다.

**요 약**

생마, 건마 및 생마 점질물의 첨가에 따른 발효유 제조 시에 유산균들의 생육촉진 효과를 발효유의 pH, 총산도, 생균수 및 관능검사에 의해서 평가하였다. 우유에 생마와 건마의 첨가는 *L. casei* 균의 생육을 현저하게 촉진시켰다. 1% 수준의 생마와 건마가 첨가된 우유는 37°C에서 19 시간 발효시켰을 때 완전한 curd형성을 나타냈으며, 반면에 마가 첨가되지 않은 우유는 불완전한 curd 형성을 보였다. 1% 이상의 농도에서 생마와 건마의 첨가는 생균수의 감소와 발효유제품의 관능적인 면에서 나쁜 영향을 주었다. 열처리하지 않은 1% 수준의 생마를 첨가시에는 총산도 및 생균수에서는 열처리된 마의 첨가와 유사한 경향을 보였지만, 유청분리가 매우 심하였다. 생마에서 추출된 점질물을 열처리된 우유배지에 첨가한 경우에 총산도 및 생균수에 있어서 현저한 효과를 보였으며, 특히 0.08% 수준으로 첨가했을 때는 1% 수준의 열처리된 마를 첨가한 경우와 유사한 효과를 보였다. 1% 수준의 건마를 첨가한 우유배지에서 *L. acidophilus*는 *L. casei*와 유사하게 균의 생육촉진 효과를 보였으며, 비교적 낮은 생균수에 비해서 높은 총산도 값을 나타내었다. 우유만을 발효시켜 얻은 발효유와 비교할 때 마의 첨가에 의한 생균수의 증가비율은 *L. casei*, *L. acidophilus*, *Leuc. mesenteroides*에서 각각 2배, 2.5배 및 1.7배를 나타냈다. 반면에 *L. kefir*는 마의 첨가에 의한 생육촉진 효과가 관찰되지 않았다.

**문 헌**

- Mickle, F. L. : *Lactobacillus lycopersicin* sp., the causative organism of the gaseous fermentation of tomato pulp and related products. *Abstract Bacteriol.*, **8**, 403-404(1924)
- Kulp, W. L. : Scientific apparatus and laboratory methods an agar medium for plating *L. acidophilus* and *L. bulgaricus*. *Science*, **66**, 512-513(1927)
- Kuiken, K. A., Norman, W. H., Lyman, C. M., Hale, F. and Blotter, L. : The microbiological determination of amino acids. *J. Biol. Chem.*, **151**, 615-625(1943)
- Metcalf, D., Hucker, G. J. and Carpenter, D. C. : A growth factor in certain vegetable juices. *J. Bacteriol.*, **51**, 381-384(1946)
- Koo, H. H. and Chung, S. H. : Effects of *Panas ginseng* and *Ganoderma lucidum* extract on the growth of lactic acid bacteria. *Korean J. Food Nutr.*, **7**, 45-50(1994)
- Yun, D. H. : Effect of chlorella cellular powder on the growth of lactic acid bacteria. *M.S. Thesis*, Korea Univ. (1980)
- Joo, I. S., Sung, C. K., Oh, M. and Kim C. J. : The influence of *Lycii fructus* extracts on the growth and physiology of microorganism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 625-631(1997)
- Park, S. O., Yun, O. H. and Kim, H. O. : Studies on the effects of several spices on the growth of *Lactobacillus casei* YIT9018. *Korean J. Anim. Sci.*, **22**, 301-309(1980)
- Yoo, J. Y., Min, B. Y., Suh, K. B. and Hah, D. M. : Effects of spices on the growth of lactic acid bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **10**, 124-135(1978)
- Choi, M. Y., Choi, E. J., Lee, E., Cha, B. C., Park, H. J. and Rhim, T. J. : Effect of pine needle(*Pinus densiflora* Seib. et Zucc.) sap on kimchi fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**, 899-906(1996)
- 이정일, 계봉명 : 약용식물의 이용과 신채배 기술. 선진문화사, 서울, p.161(1994)
- Chung, H. Y. : Carbohydrates analyses of Korean yam (dioscorea) tubers. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 36-40(1995)
- Hironaka, K., Takada, K. and Ishibashi, K. : Chemical composition of mucilage of Chinese yam. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **37**, 48-52(1990)
- Ha, Y. D., Lee, S. P. and Kwak, Y. G. : Removal of heavy metal and ACE inhibition of yam mucilage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 751-755(1998)
- 이철호, 채수규, 이신환, 박봉상 : 식품공업품질관리론. 유림문화사, 서울, p.97(1984)

(1999년 2월 24일 접수)