

단백분해효소와 starter culture의 종류에 따른 frozen soy yogurt의 저장성

이숙영 · 이정은
중앙대학교 생활과학대학 식품영양학과

Storage characteristics of frozen soy yogurt prepared with
different proteolytic enzymes and starter cultures

Sook-Young Lee, Jung-Eun Lee
Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University

Abstract

The storage characteristics of frozen soy yogurt prepared with hydrolyzed soy protein isolates were evaluated. In order to facilitate lactic fermentation bacteria grow and produce lactic acid as fast rate as possible, soy protein isolate(SPI) was hydrolyzed using two kinds of proteases; bromelain and α -chymotrypsin. The cultural systems employed thereafter for lactic fermentations were *Bifidobacterium bifidum* or *B. bifidum* and *Lactobacillus bulgaricus*. The viable cell counts, normal- and bile acid tolerances from the mixed cultures of *B. bifidum* and *L. bulgaricus* decreased sharply during the initial first 3 days of frozen storage and then showed a gradual decrease thereafter. Melt-down percent of the all frozen products have been favorably affected as was shown by less melting at raised testing temperature during 28 days of frozen storage except for the initial 3 days during which a minor change has been observed. Among the various volatile flavor components, the contents of acetaldehyde, acetone, diacetyl and methanol generally increased during the frozen storage. In sensory test, the frozen soy yogurt prepared with α -chymotrypsin and mixed culture of *B. bifidum* and *L. bulgaricus* was the most desirable, the highest scores in sourness, bitterness and mouthfeel.

Key words : frozen soy yogurt, soy protein isolate, protease, starter culture, storage

1. 서 론

Frozen soy yogurt는 frozen yogurt에 비해 포화지방산의 함량이 적고 콜레스테롤이 없으며 유당불내증 및 우유알레르기를 감소시킬 수 있는 유제품 대체식품이다. Frozen soy yogurt 제조시 원료가 되는 대두요구르트는 콩비린내를 감소시키고 젖산균의 생육을 촉진시키며, 질감 등 품질을 향상시키고자 단백질분해효소처

리가 필요하다. 파인애플에 함유되어 있는 효소인 bromelain은 두유의 풍미를 개선하였다고 보고되어 있으며(Fujimaki M et al 1968), 대두요구르트 제조시 α -chymotrypsin 처리는 산생성을 촉진하였다고 보고되어 있으므로(Lee SY & Oh GN 1999) 단백질분해효소의 활성도가 다른 두 종류의 효소로 처리한 frozen soy yogurt의 품질 및 저장성을 비교할 필요가 있다.

Frozen yogurt와 분리대두단백이 첨가된 frozen soy yogurt의 품질특성에 영향을 주는 중요한 요인들은 젖산균의 종류, 안정제, 당류, flavor 및 저장성 등이다. Hong SM et al(1995)은 *B. longum*, *L. acidophilus* 및 *S. thermophilus*로 혼합배양하여 혼합균주가 frozen yogurt

Corresponding author: Sook-young Lee, Chung-Ang University, 72-1 Nae-Ri Daedukmyun, Anseong-Si, Gyeonggi-Do 456-756, Korea
Tel : 031-670-3274
Fax : 031-670-8741
E-mail : syklec48@hanmail.net

의 조직과 풍미에 미치는 영향을 연구하였다.

Frozen yogurt의 저장성에 관한 연구로는 Larioa S & Matin JH(1991)이 *B. bifidum*과 *L. acidophilus*로 발효시켜 제조한 frozen yogurt의 pH와 냉동저장이 *B. bifidum*과 *L. acidophilus*의 생존율에 미치는 영향을 연구하였으며, Molder HW et al(1990)은 *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*를 접종하여 제조한 frozen yogurt를 -17°C에서 70일간 저장하는 동안 *bifidobacteria*의 생존율을 연구하였다. Kim ER(1995)는 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 혼합배양으로 제조한 frozen yogurt를 -20°C에서 80일 저장하는 동안 젖산균수의 변화를 연구하였다. 또한 Park MJ(2002)는 콩기름과 cyclodextrin을 첨가하여 분리대두단백으로 제조한 frozen soy yogurt의 저장성에 대해 연구하였다. 이와 같이 frozen yogurt의 냉동저장시에 일어나는 품질특성의 변화 및 젖산균의 생균수 등에 관한 연구는 국내외에서 몇 편 정도 발표되었으나 분리대두단백으로 제조된 frozen soy yogurt에 관한 저장성 연구는 거의 없는 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 젖산균 생육촉진, 콩비린내 감소, 또한 질감과 풍미 등의 품질을 향상시키고자 분리대두단백을 두 종류의 단백질분해효소(bromelain, α -chymotrypsin)로 처리한 다음 *B. bifidum* 단독배양 또는 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*와 혼합배양하여 frozen soy yogurt를 제조한 다음 -20°C에서 28일 동안 냉동저장하면서 frozen soy yogurt의 젖산균 생균수, 내산성, 담즙산 내성 변화, 녹아내리는 정도, 휘발성 향기성분의 변화, 관능적 특성 등의 변화를 연구하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에 사용된 분리대두단백(SPI)은 A.D.M. (Decatur, IL, USA)사의 Proten 972를 사용하였고, 안정제는 sodium alginate와 carrageenan의 혼합물인 monoice를 (주)광일에서 제공받아 사용하였다.

효소처리에 사용된 bromelain(B-4882, activity; 6.1 units/mg protein)과 α -chymotrypsin(C-4129, activity; 54 units/mg protein)은 Sigma사의 제품을 사용하였다. 사용균주는 *Bifidobacterium bifidum*(KCTC 3176)

및 *Lactobacillus bulgaricus*(KCTC 3188)로서 한국생명공학연구소에서 분양받았으며 사용된 올리고당은 isomaltooligosaccharide로 (주)삼양제넥스연구소에서 제공받았다.

2. 균주의 배양

*L. bulgaricus*는 *Lactobacilli* MRS(Difco, Detroit, MI, USA) broth로 배양하였고 *Bifidobacterium bifidum*은 0.05%의 L-cystein이 첨가된 *Lactobacilli* MRS broth로 배양하여 사용하였다. *B. bifidum* 및 *L. bulgaricus*는 37°C 배양기(SLI 600, Eylea Co., Japan)에서 24시간 배양하여 frozen soy yogurt를 제조하기 위한 soy yogurt 제조에 이용하였다. 요구르트 접종 시에는 4°C에서 1,770×g로 20분간 원심분리(Model SR 2022, Jouan Co., France)시킨 다음 상등액을 제거하고 균체만 회수하여 접종하였다.

3. 분리대두단백의 효소처리

분리대두단백의 효소처리는 Lee SY et al(1992)의 방법을 약간 변형하여 시행하였다. 즉 10% 분리대두단백 용액(w/v)을 만들고 6 N NaOH를 이용하여 각각 pH 7.0 (bromelain) 및 7.8(α -chymotrypsin)로 조정된 다음 항온수조에서 시료의 온도가 37°C가 되게 하여 조단백질 함량의 0.5%(w/w)의 효소를 각각 첨가한 후 20분간 교반하면서 반응시켰다. 효소반응이 끝난 분리대두단백 용액은 즉시 87°C에서 5분간 가열하여 효소를 불활성화시켜 반응을 정지시킨 다음 6 N HCl을 이용하여 pH 7.0으로 조정하였다.

4. 시료의 제조

Frozen soy yogurt를 제조하기 위한 전 단계로써 soy yogurt는 Lee SY & Oh(1999)의 방법을 약간 변형하여 제조하였다. 즉 효소처리(bromelain, α -chymotrypsin)된 분리대두단백 용액(분리대두단백 45 g + 증류수 450 mL)에 soybean oil 20 g, 안정제 2.5 g을 첨가하여 soy yogurt mix를 제조한 다음 121°C에서 15분간 멸균하였다. 또한 Maillard 반응을 방지하기 위해서 isomalto-oligosaccharide 40 g에 증류수 40 mL를 첨가하여 수용액으로 만든 다음 121°C에서 15분간 멸균하여 soy yogurt mix와 잘 섞어 주었다. 그 후 37°C로 냉각되면 *B. bifidum* 및 *L. bulgaricus*

배양액을 *B. bifidum* 단독배양에서는 2%(v/v) 접종하였고 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*와의 혼합배양에서는 각각 1%(v/v)씩 접종하여 37°C에서 14시간 동안 배양하였다. 배양이 완료된 soy yogurt를 4°C에서 24시간 동안 저장시킨 후 aspartame 0.2 g을 넣고 아이스크림 제조기(Model HR2305, Philips Co., USA)로 30분간 교반하여 soft type의 frozen soy yogurt를 제조한 다음 28일 동안 -20°C에서 냉동저장하면서 0, 3, 7, 14, 21, 28일의 저장 중에 일어나는 frozen soy yogurt의 젖산균 생균수 변화, 내산성, 담즙산 내성 변화 및 녹아내리는 정도, 휘발성 향기성분 함량의 변화를 측정하기 위한 시료로 사용되었다.

5. 생균수, 내산성 및 담즙산 내성 측정

Starter cultures의 생균수, 내산성 및 담즙산 내성은 냉동저장된 frozen soy yogurt를 20°C로 고정된 배양기(SLI 600, Eylea Co., Japan)에서 1시간 동안 해동시킨 다음 측정하였다. 생균수는 해동된 frozen soy yogurt를 0, 3, 7, 14, 21, 28일의 저장일에 1 g씩 무균적으로 취하여 멸균 peptone 수에 의한 10배 희석법으로 희석하고 *Latobacilli* MRS 배지에 plating한 후 *B. bifidum*은 anaerobic jar(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하여 37°C 배양기에서 48~72시간 동안 혐기적으로 배양하였고 *L. bulgaricus*는 호기적으로 배양하여 colony 수가 25~250개가 나타나는 평판을 선택하여 산출하였다. 내산성 측정은 Berrada N et al (1991)의 방법에 따라 frozen soy yogurt에 1.25 N HCl을 첨가하여 pH 2.5로 조정 후 37°C 배양기에서 90분간 배양시킨 다음 생균수 측정과 동일한 조건으로 배양하여 frozen soy yogurt의 젖산균 내산성을 측정하였다. 담즙산 내성은 Jayne EH & Joseph (1991) 방법을 변형하여 실시하였다. *Latobacilli* MRS 배지에 담즙산 성분인 oxgall(Difco, Detroit, MI, USA)를 0.3% 첨가하여 plating한 다음 생균수 측정과 동일한 조건으로 배양하여 starter cultures의 담즙산 내성을 측정하였다.

6. 녹아내리는 정도 측정

녹아내리는 정도는 Shin WS & Yoon(1996)의 방법에 따라 실온(20~22°C)에서 시료를 30분 동안 방치한 후 메스실린더 위에 영글게 짜인 철망을 얹은 다음 60분 동안 10분 간격으로 메스실린더 바닥으로 녹아 떨어지는

양을 시료의 중량당 백분율로 계산하였고 녹아내리는 양상을 관찰하였다.

7. 휘발성 향기성분 분석

휘발성 향기성분 측정은 Lee JS et al(1985)의 방법을 변형하여 30 g의 시료를 100 mL의 병에 넣고 35 g의 Na₂SO₄를 첨가하여 rubber septum으로 밀봉한 후 60°C의 항온수조에서 20분간 교반하였다. 발생한 headspace gas를 5 mL gas-tight syringe(Hamilton Co. USA)로 1 mL를 취하여 gas chromatograph(Model 3400, Varian Co., USA)로 분석하였다. 컬럼은 DB-FFAP (30 m×0.25 mm×0.25 μm)를 사용하였으며 검출기는 flame ionization detector를 사용하였고 주입구의 온도는 200°C, 검출기의 온도는 220°C로 하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였다.

8. 관능검사

관능검사원은 중앙대학교 식품영양학과 대학원생 30명으로 구성하여 실험목적과 관능평가방법을 설명한 다음 콩비린내, 신맛의 정도, 쓴맛, 짠맛, 입안에서의 질감, 전반적인 바람직성 등의 기호도에 대하여 5점 평점법으로 관능검사를 실시하였다. Frozen soy yogurt에 대한 평가항목과 척도는 콩비린내(1=매우 강하게 난다, 5=전혀 나지 않는다), 신맛의 정도(1=매우 좋지 않다, 5=매우 좋다), 쓴맛(1=매우 쓰다, 5=전혀 쓰지 않다), 짠맛(1=매우 짠다, 5=전혀 짠지 않다), 입안에서의 질감(1=매우 거칠다, 5=매우 부드럽다) 그리고 전반적인 바람직성(1=매우 바람직하지 않다, 5=매우 바람직하다)으로 하였다.

9. 통계처리

시료의 녹아내리는 정도와 관능검사 측정결과 얻어진 자료에 대한 통계처리는 SAS package를 사용하였으며 분산분석한 결과 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 냉동저장에 따른 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*의 생균수 변화

-20°C에서 28일간 냉동저장하면서 측정한 frozen

soy yogurt의 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus* 생균수(Fig. 1)는 냉동저장기간 동안 감소하여 저장초기 3일간에 $10^8 \sim 10^9$ CFU/g의 감소를 나타내었으나 저장 28일에는 제조직후에 비해 $10^2 \sim 10^4$ CFU/g의 급격한 감소를 나타내었다. Frozen soy yogurt는 냉동저장하는 동안 배양방법과 효소처리에 따라 생균수 변화의 차이가 나타났는데, 혼합배양(*B. bifidum*과 *L. bulgaricus*의 혼합배양)시에 단독배양(*B. bifidum* 단독배양)보다 냉동저장기간 동안 생균수의 감소가 적었다. 효소처리에 따라서는 α -chymotrypsin 처리군의 경우 bromelain 처리군보다 냉동저장동안 *B. bifidum*, *L. bulgaricus* 생균수의 감소가 적었다.

이와 같이 frozen soy yogurt를 냉동저장하는 동안 *B. bifidum*, *L. bulgaricus*의 생균수가 감소하는 것은 동결에 의해 균체내의 전해질의 농도가 바뀌고 얼음 결정이 형성되어 균체의 세포를 손상시키기 때문이다(Kim ER 1995). Molder HW et al(1990)은 *B. longum*, *B. breve* 및 *B. infantis*를 접종하여 제조한

아이스크림을 -17°C 에서 70일간 저장하는 동안 *bifidobacteria*의 생존율이 90%를 나타내었다고 보고하였으며, Kim ER (1995)은 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 혼합배양으로 제조한 frozen yogurt를 -20°C 에서 80일 저장하는 동안 젖산균의 생균수가 1.5 log cycle이 감소되었다고 보고하였다. 또한 Shin WS & Yoon(1996)에 의하면 frozen yogurt의 동결 시 유성분이 균주의 동해 방지역할을 하였다고 보고하였다. Shin WS & Yoon(1996)에 의하면 동결에 의해 물의 얼음결정화 등으로 단백질의 소수결합이 파괴되고 결합수의 수화상태의 혼란에 의해 균체의 단백질 세포막이 변성되어 활성을 상실하므로 각종 무기염, 아미노산, 당 등을 첨가하면 이 변성이 억제될 수 있다고 하였다.

본 연구결과 frozen soy yogurt는 frozen yogurt에 비해 냉동저장동안 균수의 감소가 컸으므로 저장 중 젖산균의 생균수를 유지하기 위해서는 동해방지제를 첨가하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

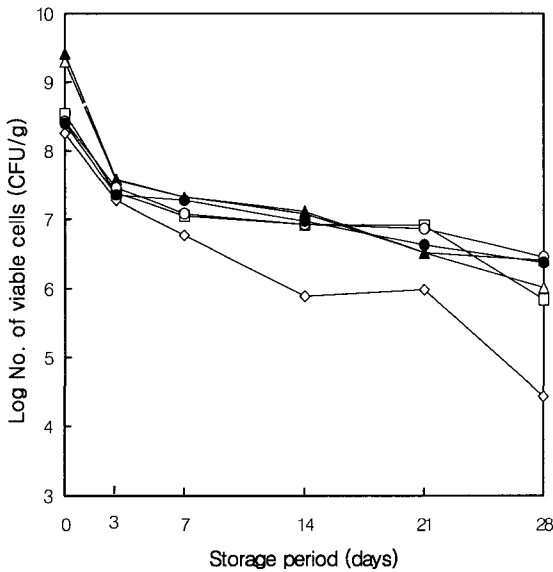


Fig. 1. Changes in viable cell numbers of starter cultures of frozen soy yogurts during frozen storage.

- ◇—◇: B-Bb (Bromelain+*B. bifidum*),
- : C-Bb (α -Chymotrypsin+*B. bifidum*),
- △—△: B-BbLb-*B. bifidum* (Bromelain+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*),
- ▲—▲: B-BbLb-*L. bulgaricus* (Bromelain+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*),
- : C-BbLb-*B. bifidum* (α -Chymotrypsin+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*),
- : C-BbLb-*L. bulgaricus* (α -Chymotrypsin+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*).

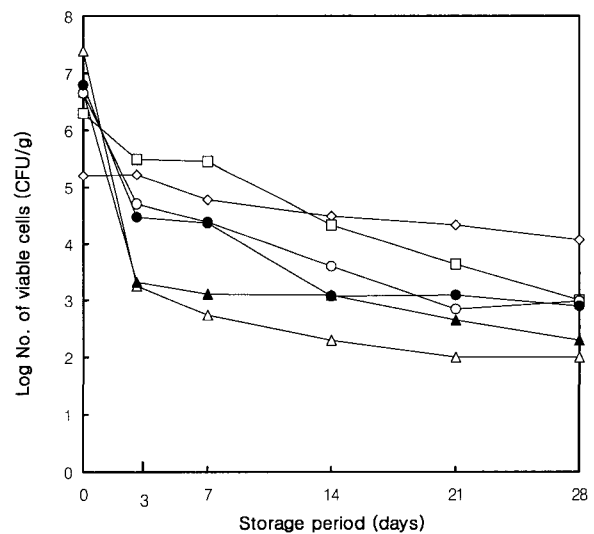


Fig. 2. Changes in viable cell numbers of starter cultures of frozen soy yogurts after incubation for 90 min at pH 2.5 and 37°C during frozen storage.

- ◇—◇: B-Bb (Bromelain+*B. bifidum*),
- : C-Bb (α -Chymotrypsin+*B. bifidum*),
- △—△: B-BbLb-*B. bifidum* (Bromelain+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*),
- ▲—▲: B-BbLb-*L. bulgaricus* (Bromelain+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*),
- : C-BbLb-*B. bifidum* (α -Chymotrypsin+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*),
- : C-BbLb-*L. bulgaricus* (α -Chymotrypsin+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*).

2. 냉동저장에 따른 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*의 내산성의 변화

-20℃에서 28일간 냉동저장하면서 측정된 frozen soy yogurt의 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus* 내산성(Fig. 2)은 냉동저장하는 동안 급격하게 감소하였으며 단독배양의 경우 혼합배양보다 내산성이 우수하였다. 또한 효소처리에 따라서는 혼합배양시 뚜렷하게 α-chymotrypsin 처리군의 내산성이 bromelain 처리군보다 우수하였다.

단독배양시 bromelain 처리군의 내산성은 냉동저장하는 동안 완만하게 감소하였으며, 제조직후에 1.7×10^5 CFU/g에서 저장 28일에 1.2×10^4 CFU/g을 나타내어 내산성이 가장 우수하였다. α-Chymotrypsin 처리군의 내산성은 저장 7일까지 제조직후에 비해 10 CFU/g이 감소하였으며, 저장 7일 이후부터는 지속적으로 저하되어 저장 28일에 1.0×10^3 CFU/g을 나타내었다.

혼합배양의 경우는 내산성이 단독배양에 비해 크게 저하되어 28일 냉동저장기간 동안 $10^4 \sim 10^5$ CFU/g의 감소를 나타내었다. Bromelain 처리군의 내산성은 저장 초기 3일간 급격하게 저하되어 각각 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g이

감소하였으며 *L. bulgaricus*의 경우 저장 3일 후부터는 10^3 CFU/g으로 일정한 수준을 유지하여 내산성의 변화는 거의 없었다. α-Chymotrypsin 처리군의 경우도 저장 초기 3일간 내산성이 저하되어 10^2 CFU/g이 감소하여 5.6×10^4 (*B. bifidum*), 3.0×10^4 (*L. bulgaricus*) CFU/g이었으며 저장 7일 이후에도 지속적으로 저하되어 저장 28일에는 10^3 CFU/g을 나타내었다.

3. 냉동저장에 따른 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*의 담즙산 내성의 변화

-20℃에서 28일간 냉동저장하면서 측정된 frozen soy yogurt의 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*의 담즙산 내성(Fig. 3)은 생균수 및 내산성과 마찬가지로 저장 초기 3일간 급격하게 저하되었으며 28일 냉동저장동안 제조직후에 비해 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g이 감소하였다. 특히 배양방법에 따라서는 혼합배양의 경우 단독배양보다 냉동저장동안 담즙산 내성이 우수하였으나 효소처리에 따라서는 큰 차이를 나타내지 않았다.

단독배양의 경우 bromelain 처리군의 담즙산 내성이

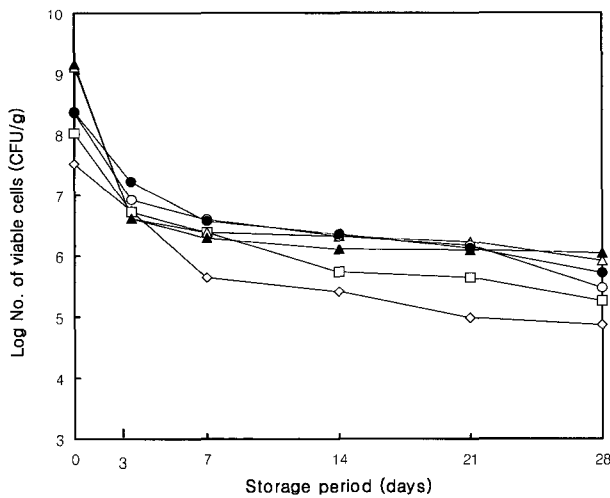


Fig. 3. Changes in viable cell numbers of starter culture of frozen soy yogurts in MRS broth containing 0.3% oxgall after incubation at 37℃ during frozen storage.

- ◇—◇: B-Bb (Bromelain+B. bifidum),
- : C-Bb (α-Chymotrypsin+B. bifidum),
- △—△: B-BbLb-B. bifidum (Bromelain+B. bifidum+L. bulgaricus),
- ▲—▲: B-BbLb-L. bulgaricus (Bromelain+B. bifidum+L. bulgaricus),
- : C-BbLb-B. bifidum (α-Chymotrypsin+B. bifidum+L. bulgaricus),
- : C-BbLb-L. bulgaricus (α-Chymotrypsin+B. bifidum+L. bulgaricus).

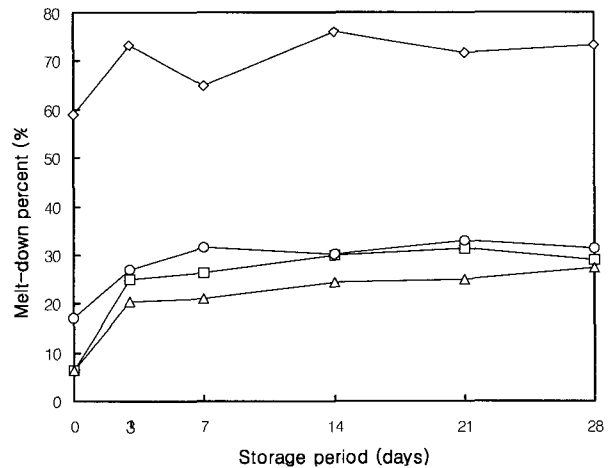


Fig. 4. Changes in the melt-down percent of frozen soy yogurts during frozen storage.

- ◇—◇: B-Bb (Bromelain+B. bifidum),
- : C-Bb (α-Chymotrypsin+B. bifidum),
- △—△: B-BbLb (Bromelain+B. bifidum+L. bulgaricus),
- : C-BbLb (α-Chymotrypsin+B. bifidum+L. bulgaricus)

냉동저장함에 따라 저하되어 제조직후 5.6×10^7 CFU/g이었으나 저장 7일에는 5.7×10^5 CFU/g으로 감소하였으며 저장 28일에는 7.6×10^4 CFU/g이었다. α -Chymotrypsin 처리군의 담즙산 내성은 저장초기 3일간 저하되어 제조직후에 비해 10^2 CFU/g의 감소를 나타내어 2.9×10^6 CFU/g이었으나 저장 7일 이후부터는 완만하게 저하되었다.

혼합배양의 경우 bromelain 처리군의 담즙산 내성이 저장초기 3일간 급격하게 저하되어 제조직후에 비해 10^3 CFU/g이 감소하여 4.6×10^6 (*B. bifidum*), 4.2×10^6 (*L. bulgaricus*) CFU/g이었다. α -Chymotrypsin 처리군의 담즙산 내성은 단독배양시와 마찬가지로 저장 7일까지는 변화가 컸으나 그 이후에는 완만하게 감소하였다.

4. 냉동저장에 따른 시료의 녹아내리는 정도 변화

-20℃에서 28일간 냉동저장하면서 측정된 frozen soy yogurt의 녹아내리는 정도(Fig. 4)는 저장기간

이 길어질수록 증가하였으며, bromelain 처리군의 경우 단독배양시 녹아내리는 정도가 가장 높았으나 ($p < 0.001$) 혼합배양시에 가장 낮았다.

단독배양의 경우 bromelain 처리군의 녹아내리는 양상은 고형분과 수분이 함께 녹아내렸으며, 녹아내리는 정도는 제조직후에 58.93%에서 저장 14일에 76.12%로 증가하여 최고조를 이루다가 그 후 약간 감소하여 저장 28일에는 73.34%이었다.

α -Chymotrypsin 처리군의 경우는 녹아내리는 정도가 저장 7일간 크게 증가하다가 그 이후는 변화가 적었다.

Bromelain 처리군에 있어서 단독배양과 혼합배양 등 배양방법에 따라 시료의 녹아내리는 정도의 차이가 컸으나, α -chymotrypsin 처리군의 경우는 배양방법에 따른 시료의 녹아내리는 정도의 차이가 적었다.

5. 냉동저장에 따른 시료의 휘발성 향기성분 변화

Table 1은 -20℃에서 28일간 냉동저장하면서 측정된

Table 1. Changes in the volatile flavor components of frozen soy yogurts during frozen storage (unit: $\mu\text{g}/100$ g sample)

Storage period (day)	Product ¹⁾	Acet-aldehyde	Acetone	Methanol	Ethanol	Diacetyl	Hexanal	Butyl alcohol
0	B-Bb	0.26	1.27	0.31	0.26	1.04	0.01	0.04
	C-Bb	0.24	0.56	0.12	0.07	0.42	0.01	0.03
	B-BbLb	0.07	0.46	0.19	0.16	0.42	ND ²⁾	ND
	C-BbLb	0.12	1.59	0.72	0.14	1.52	Tr ³⁾	0.03
3	B-Bb	0.20	0.74	0.07	0.17	0.49	Tr	ND
	C-Bb	0.20	0.82	0.17	0.11	0.49	Tr	ND
	B-BbLb	0.22	1.33	0.25	0.18	1.18	Tr	0.01
	C-BbLb	0.20	1.52	0.29	0.25	1.33	0.01	0.02
7	B-Bb	0.29	1.22	0.16	0.19	1.01	0.01	ND
	C-Bb	0.21	1.39	0.19	0.11	1.03	0.01	0.13
	B-BbLb	0.19	1.32	0.23	0.19	1.19	Tr	0.05
	C-BbLb	0.11	1.78	0.81	0.13	1.62	0.01	0.05
14	B-Bb	0.31	1.40	0.24	0.22	1.47	0.01	ND
	C-Bb	0.25	1.14	0.18	0.10	1.05	0.01	ND
	B-BbLb	0.25	1.47	0.26	0.18	1.39	0.01	ND
	C-BbLb	0.23	1.48	0.23	0.20	1.34	0.01	0.01
21	B-Bb	0.38	2.22	0.24	0.61	2.24	0.01	ND
	C-Bb	0.18	1.90	0.20	0.14	1.79	0.05	ND
	B-BbLb	0.04	1.45	0.06	0.08	1.22	0.01	ND
	C-BbLb	0.10	1.60	0.16	0.11	1.54	0.06	ND
28	B-Bb	0.26	1.52	0.84	0.65	2.09	0.03	ND
	C-Bb	0.38	1.76	0.30	0.15	1.70	0.01	ND
	B-BbLb	0.43	2.38	0.57	0.50	3.22	0.06	ND
	C-BbLb	0.58	1.89	0.73	0.09	2.37	0.01	ND

¹⁾B-Bb: Bromelain+*B. bifidum*, C-Bb: α -Chymotrypsin+*B. bifidum*, B-BbLb: Bromelain+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*, C-BbLb: α -Chymotrypsin+*B. bifidum*+*L. bulgaricus*

²⁾ND: Non-detectable, ³⁾Tr: Trace.

frozen soy yogurt의 휘발성 향기성분을 분석한 결과이다. 요구르트의 향미를 결정하는 중요한 성분인 acetaldehyde의 함량은 제조직후 단독배양시 혼합배양보다 더 많았으나 저장 3일에는 함량이 비슷하여졌고 저장 28일에는 혼합배양이 단독배양보다 acetaldehyde의 함량이 더 많아졌다. Park MJ(2002)는 콩기름과 cyclodextrin의 첨가량을 달리하여 frozen soy yogurt를 제조한 다음 제조직후와 -20℃에서 30일간 냉동저장하면서 휘발성 향기성분 변화를 측정된 결과 acetaldehyde의 함량이 냉동저장 기간이 길어짐에 따라 약간 증가하는 경향을 나타내었다고 보고하여 본 연구결과와 일치하였다.

Acetone과 methanol의 함량은 28일 냉동저장기간 동안 대체적으로 증가하여 저장 28일에 높은 수치를 보였다. Kwak HS(1995)에 의하면 우유에 ABT-4(*L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*)를 접종하여 6시간 발효시킨 다음 10℃에서 15일간 저장동안 acetone의 함량변화를 측정된 결과, 저장기간 동안 지속적인 증가를 나타내었다고 보고하여 본 연구와 일치하는 경향을 나타내었다.

Ethanol의 함량은 bromelain 처리군에 있어서 단독배양시 제조직후 0.26 μg에서 저장 21일에 0.61 μg으로 크게 증가하였다. 혼합배양시에는 저장 28일에 크게 증가하여 0.50 μg이 되었다.

유제품의 대표적인 풍미성분인 diacetyl은 α-chymotrypsin 처리군의 경우 단독배양보다 혼합배양시 그 함량이 더 많았으며 bromelain 처리군은 α-chymotrypsin 처리군보다 저장 14일 이후부터는 diacetyl 함량이 더 많이 증가되었다. Diacetyl의 함량은 대체적으로 28일 냉동저장하는 동안 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었는데 이와 같은 경향은 McGregor JU & Whate(1987)의 연구결과와 일치하였다. McGregor JU & Whate(1987)은 요구르트를 4℃에서 0, 12, 24일간 저장하는 동안 diacetyl 함량이 증가하여 저장 24일에는 제조직후보다 높았다고 보고하였다.

콩비린내의 주성분인 hexanal은 모든 시료군에서 저장 14일까지는 거의 변화가 없었으나 α-chymotrypsin 처리군의 단독배양과 혼합배양에서는 hexanal의 함량이 저장 14일 이후부터 증가하여 저장 21일에는 각각 0.05, 0.06 μg이었다. Bromelain 처리군의 혼합배양에서는 저장 7일까지는 hexanal이 검출되지 않았다가 7일 이후 증가하여 14일에 0.01 μg으로 증가하였고 28일에

는 0.06 μg으로 증가되었다. Bromelain 처리군의 단독 배양의 경우는 hexanal 함량의 변화가 없었으나 28일에 0.03 μg으로 증가되었다. Butyl alcohol 함량은 저장 초기보다 저장 7일에 약간 증가하였으나 그 이후에는 거의 검출되지 않았다.

6. 관능적 특성

Table 2는 배양방법과 효소처리를 달리하여 제조한 frozen soy yogurt를 -20℃에서 14일간 냉동저장한 다음 관능적 특성을 평가한 결과를 나타낸 것이며 제조직후에 평가한 관능적 특성(Lee JE & Lee SY 2001)과 비교하였다.

콩비린내, 신맛, 쓴맛 등 평가된 관능적 특성은 배양 방법에 따라서는 혼합배양시 단독배양보다 콩비린내와 쓴맛은 적었고 신맛은 더 좋았으며 입안에서의 질감도 더 부드러운 것으로 평가되었다. 특히 전반적인 바람직성은 혼합배양시 단독배양보다 유의적으로 더 바람직한 것으로 평가되었다(**p< 0.001).

효소처리에 따라서는 α-chymotrypsin 처리군이 bromelain 처리군보다 모든 관능평가 항목에서 더 높게 평가되었으며 특히 α-chymotrypsin으로 효소처리하여 혼합배양한 시료가 신맛이 좋았고 쓰지 않았으며 뽀지 않았다고 평가되어 가장 바람직하다고 평가되었다(**p<0.001).

또한 -20℃에서 14일간 냉동저장한 시료와 제조직후 시료의 관능적 특성을 비교해 보면 두 시료간에 콩비린내, 신맛의 정도, 전반적인 바람직성 등 관능적 특성의 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 즉 Frozen soy yogurt를 제조하여 14일간 냉동저장하여도 관능적 특성은 저하되지 않았다.

Table 2. Sensory characteristics of frozen soy yogurts after 14 days of frozen storage

Item Product ¹⁾	Beany flavor	Sour taste	Bitter taste	Astringency taste	Mouth feel	Overall quality
B-Bb	3.33 ^b	2.17 ^c	2.46 ^d	3.18 ^c	3.17 ^c	2.58 ^c
B-BbLb	3.75 ^{ab}	2.32 ^c	2.91 ^{cd}	3.25 ^c	3.75 ^d	3.41 ^d
C-Bb	3.65 ^{ab}	3.68 ^b	3.94 ^{ab}	3.84 ^b	4.16 ^{ab}	3.76 ^b
C-BbLb	4.08 ^a	4.50 ^a	4.15 ^a	4.41 ^a	4.41 ^a	4.45 ^a
F-value	17.65 ^{***}	24.16 ^{***}	5.53 ^{**}	24.00 ^{***}	29.87 ^{***}	45.20 ^{***}

¹⁾B-Bb: Bromelain+B. bifidum, C-Bb: α-Chymotrypsin+B. bifidum, B-BbLb: Bromelain+B. bifidum+L. bulgaricus, C-BbLb: α-Chymotrypsin+B. bifidum+L. bulgaricus

** p<0.01 *** p<0.001.

^{a-d}Means with different superscripts in the same column differ significantly by Duncan's multiple range test (p<0.05).

IV. 요약 및 결론

본 연구는 분리대두단백을 bromelain과 α -chymotrypsin으로 효소처리하였고 *B. bifidum* 단독배양 및 *B. bifidum*과 *L. bulgaricus*와 혼합배양하여 frozen soy yogurt를 제조한 다음 -20°C 에서 28일간 냉동저장하면서 frozen soy yogurt의 *B. bifidum* 및 *L. bulgaricus* 생균수, 내산성, 담즙산 내성, 녹아내리는 정도, 휘발성 향기성분 및 관능검사 등을 연구하였다.

냉동저장기간 동안 frozen soy yogurt의 *B. bifidum* 또는 *L. bulgaricus*의 생균수, 내산성 및 담즙산 내성은 저장초기 3일간 급격히 감소하였으며 그 이후에는 서서히 감소하였다. 효소처리에 따라서는 α -chymotrypsin 처리군의 경우 bromelain 처리군보다 냉동저장하는 동안 생균수의 감소가 적었으며 bromelain 처리군을 단독배양한 경우는 내산성의 감소가 가장 적었다. 즉 혼합배양으로 제조한 frozen soy yogurt의 *B. bifidum* 또는 *L. bulgaricus*의 생균수 및 담즙산 내성은 단독배양으로 제조하였을 때보다 더 우수하였으나 내산성은 단독배양에서 더 우수하였다.

또한 시료의 녹아내리는 정도는 냉동저장기간 동안 약간 증가하였으며 특히 bromelain으로 효소처리하여 단독배양한 경우 녹아내리는 정도가 가장 높았다 (** $p < 0.001$). Frozen soy yogurt를 28일간 냉동저장기간 동안 acetaldehyde, acetone, diacetyl, methanol의 함량은 전반적으로 지속적인 증가를 나타내었으며 특히 유제품의 풍미성분인 diacetyl의 함량은 α -chymotrypsin 처리군의 경우 단독배양보다 혼합배양시 더 많았다. 시료의 관능평가 결과 α -chymotrypsin으로 효소처리하여 혼합배양한 시료가 신맛이 좋았고 쓰지 않았으며 째지 않았다고 평가되어 가장 바람직하다고 평가되었으며 frozen soy yogurt를 제조하여 14일간 냉동저장하여도 제조직후에 비해 관능적 특성은 저하되지 않았다.

참고문헌

- Fujimaki M, Kato H, Arai S, Tamaki E (1968) : Applying proteolytic enzymes on soybean. 1. Proteolytic enzyme treatment of soybean protein and its effect on the flavor. Food Tech., 22(1):77-81
- Lee SY, Oh GN (1999) : Effects of sweeteners and enzyme treatment on the quality characteristics of soy yogurts prepared with soy protein isolates. Korean J. Soc. Food Cookery Sci., 15(1):73-80
- Hong SM, Shin JH, Kim ER, Lee JI, Yu JH. (1995) : Effect on the texture and flavor of frozen yogurt by mixed strain culture. Korean J. Dairy Sci. 7(3):203-213
- Larioa, S, Matin, JH (1991) : Effect of pH on survival of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in frozen fermented dairy desserts. Cult. Dairy Prod. J., November 13-21
- Molder HW, Mckeller RC, Goff HD, Meckie DA (1990) : Using ice cream as a mechanism to incorporate *bifidobacteria* and fructooligosaccharides into the human diet. Cult. Dairy Prod. J., August 4-9
- Kim ER (1995) : Effect of sorbitol on the texture and the survival of lactic acid bacteria of frozen yogurt. M.S. thesis. The Kon-kun University of Korea.
- Park MJ (2002) : The quality attributes of soy protein hydrolysates for the preparation of frozen soy yogurt, Doctoral thesis, The Chung-ang University of Korea.
- Lee SY, Park SW, Rhee KC (1992) : Textural properties of cheese analogs containing proteolytic enzyme modified soy protein isolate. J. Am. Oil Chem. Soc., 69(2):755-759
- Berrada N, Lemeland JF, Laroche PT, Piaia M (1991) : *Bifidobacterium* from fermented milks : Survival during gastric transit. J. Dairy Sci., 74(2): 409-413
- Jayne EH, Joseph FF (1991) : Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in soft-serve frozen yogurt. Cult. Dairy Prod. J., August 4-5
- Shin WS, Yoon S (1996) : Effect of stabilizers on the texture of frozen yogurt. Korean J. Soc. Food Cookery Sci., 12(1):20-26
- Lee JS, Kim YB, Ko YT (1985) : Flavor and volatile compounds of soy yogurt. Korean J. Food Sci. Technol. 17(1):51-53
- Kwak HS (1995) : Effect of volatile flavor compound on yogurt during refrigerated storage. Korean J. Food Sci. Technol. 27(6):939-943
- McGregor JU, Whate CH (1987) : Effect of sweeteners on major volatile compounds and flavor of yogurt. J. Dairy Sci., 70(9):1828-1834
- Lee JE, Lee SY (2001) : Quality characteristics of frozen soy yogurt prepared with different proteolytic enzymes and starter culture. Korean J. Food Sci. Technol. 33(6):676-681

(2005년 2월 21일 접수, 2005년 3월 15일 채택)