

## *Lactobacillus helveticus* ATCC 55163과 *Propionibacterium acidipropionici* 5020로 배양한 유청발효물이 빵의 품질특성에 미치는 영향

윤미숙 · 이정훈<sup>1</sup> · 이시경<sup>1\*</sup>

을지대학교 보건산업대학 식품과학부, <sup>1</sup>건국대학교 응용생물화학과

### Effect of Whey Brew Cultured by *Lactobacillus helveticus* ATCC 55163 and *Propionibacterium acidipropionici* 5020 on Quality Characteristics of Bread

Mi-Sug Yun, Jeong-Hoon Lee<sup>1</sup>, and Si-Kyung Lee<sup>1\*</sup>

School of Natural Food Science, Eulji University, Seongnam 461-713, Korea

<sup>1</sup>Department of Applied Biology & Chemistry, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

#### Abstract

This study evaluated the effect of whey brew cultured by *Lactobacillus helveticus* ATCC 55163 and *Propionibacterium acidipropionici* 5020 on bread quality characteristics. Ten and 15% whey brew were added to flour-based bread, after which bread volume, pH, total titratable acidity (TTA), moisture content, water activity, texture, organic acid content, and sensory evaluation were analyzed. The bread volume and TTA of control were the largest among the samples, whereas pH was the lowest. Moisture content did not significantly differ depending on the amount of whey brew added, though water activity was highest in the bread with 10% whey brew. However, hardness was the lowest in bread with 10% whey brew. Propionic acid was not detected while succinic acid, lactic acid, and acetic acid were detected in small amounts in the control compared to the test samples. Succinic acid, acetic acid, and lactic acid content was high in bread with 15% whey brew, with propionic acid present at a very high amount. In terms of sensory evaluation, bread with 10% whey brew had the highest score. As a result, high quality characteristics were associated with the bread with 10% whey brew, whereas long preservation was a characteristic of the bread with 15% whey brew.

**Key words:** *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium acidipropionici*, whey brew, bread quality

#### 서 론

베이커리 산업에서 곰팡이 오염으로 인한 제품의 부패 방지를 위하여 화학적 보존제로 초산이나 젖산 등의 약산, 프로피온산·솔빈산·벤조산 같은 유기산이 이용되고 있으나(Brul and Coote, 1999) 소비자는 합성 보존료의 사용을 기피하고 있는 실정이다. 이에 미생물로 발효시킨 천연보존료에 대한 관심이 증가하고 있다. 유산균은 여러 가지 천연항균제 화합물로 낮은 pH 발효물, 초산, 젖산, 과산화수소, 개미산, 프로피온산, diacetyl 등을 생산하여(Lindgren and Dobrogosz, 1990), 천연 보존료로서의 이용 가능성이 매우 높다. 유산균이 생산하는 가장 중요한 대

사산물인 젖산은 pH를 낮추어 유해 미생물 증식을 억제한다(Eklund, 1989). 유산균은 인체에 해가 없고 인간이나 동물의 건강을 증진시켜 GRAS 품목으로 받아들여지고 있으며 유럽에서는 식사의 25%, 개발도상국가에서는 60%가 발효식품으로 구성되어 있다(Stiles, 1996).

프로피온산균은 식품가공 산업에서 중요한 미생물로 특히 스위스 치즈에서 특징적인 치즈 향과 눈(eye)을 형성한다. 제과제빵에 합성 보존료로 사용 가능한 프로피온산의 상업적 생산은 석유를 원료로 하기 때문에 경제적이지만 제조에 환경오염의 문제가 대두되고 있다. 프로피온산균에 의한 발효공정은 환경 친화적이고, 유청이나 옥수수 같은 값싼 원료를 이용하기 때문에 폐기물 처리 효과는 물론 가격적 생산 경쟁력도 있다(Huang *et al.*, 2002). 또한 발효공정으로 만들어진 프로피온산은 천연물질이기 때문에 석유화학적 방법으로 만든 것보다 식품이나 사료의 보존료로 선호되고 있다. 프로피온산은 pH 4.5 이하에서

\*Corresponding author: Si-Kyung Lee, Department of Applied Biology & Chemistry, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-450-3759, Fax:82-2-450-3726, E-mail: lesikyung@konkuk.ac.kr

곰팡이 증식 억제효과가 우수하고(Woolford, 1984), 그의 염인 프로피온산나트륨과 프로피온산칼슘도 낮은 pH에서 효모와 곰팡이 저해효과가 우수하다. 또한 프로피온산은 butyl rubber, 제초제, 향수 등을 만드는데 중요한 중간 생성물이다. Propionate esters는 대기오염을 일으키지 않는 유기용매로 xylenes, ketones 등과 같은 대기오염을 일으키는 유기용매를 대신할 수 있다. 프로피온산과 그의 유도체는 의약품, 인공 과일 향, 가소제 등의 생산에 이용하고(Boyaval and Corre, 1995), 의약용으로 프로피온산나트륨은 동물의 피부병, 상처 감염, 관절 치료제, 결막염 등의 치료에 이용하고 있다. 미생물 발효에 의한 프로피온산 생산시 유산균과 프로피온산균을 혼합배양하거나 2단계 배양법을 이용한다. 유산균과 프로피온산균의 혼합배양 시 *Lactobacillus lactis*는 *Propionibacterium petersonii*의 발효를 지연시키고, *L. lactis*, *L. acidophilus*는 특정한 프로피온산균의 증식을 저해한다. 그러나 *L. helveticus*는 대사물질로 biotin과 pantothenate 생산으로 프로피온산균의 증식을 촉진하여 배양물의 산 생성을 증가시킨다(Hunter and Frazier, 1961).

유청은 우유로 치즈 또는 카제인 가공 시 얻는 부산물로 보통 우유 10에서 치즈 약 1과 액상유청 9가 얻어진다. 유청은 산업폐기물로 처리하였으나 고농도의 유당을 함유하고 있어 경제적 이용에 관심을 가지게 되었다(Litchfield, 1996). 유청을 한외여과하여 얻은 단백질은 식품산업에서 단백질 보강제로, 유청 permeate는 발효공업에서 탄소원으로 이용하고 있으며(De Boer and Hiddink, 1980), 유청 분말은 유제품, 제과제빵, 스낵, 영양제품 등에 이용하고 있다(Yun, 2004). 유당을 유산균으로 발효하여 얻는 젖산은 식품, 제약, 화장품, 미생물 분해 가능한 플라스틱 제조 등에 이용하고 있다(Hujanen and Linko, 1996).

따라서 본 연구에서는 치즈를 생산하고 남은 산업 부산물인 유청을 제빵 산업에 활용하기 위하여 이를 유산균과 프로피온산균으로 혼합 배양하여 주산물인 프로피온산과 젖산, 초산 등이 생성된 유청발효물을 일정량 빵 제조에 첨가하여 빵의 부피에 미치는 영향, 수분, 수분활성도, 조직감 등의 품질 특성을 조사하고, 빵의 유기산 함량 등을 분석하여 유청을 이용한 제품 개발의 기초 자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배지

*Lactobacillus helveticus* ATCC 55163은 한국미생물보존센터(Korea Culture Center of Microorganisms, Seoul, Korea)에서, *Propionibacterium acidipropionici* 5020은 한국생명공학원에서 분양 받았다. *L. helveticus* ATCC 55163은 MRS 배지에서 계대배양하고, MRS 배지에 한천 1.5%를 첨가하여 균수 측정용 배지로 하였다. *P. acidipropionici* 5020은 RCM(reinforced clostridial medium, Oxoid CM

149, Darmstadt, Germany)에서 계대배양하고 RCM에 한천 1.5%를 첨가하여 균수 측정용 배지로 하였다. 각각의 균주를 3회 계대배양하여 균수가  $1-2 \times 10^8$  cfu/mL되게 하였으며 예비실험을 하여 유청(Calpro Co., Ltd., Carona, USA) 12% 농도에 효모추출물을 1% 첨가하여 제조한 유청배지를 5 N NaOH로 pH를 6.5로 조절하여 1 L 삼각플라스크에 취하여 70°C에서 30분 간 저온살균하였다. 살균한 배양액을 냉각하여 *L. helveticus* ATCC 55163과 *P. acidipropionici* 5020을 각각 1%씩 접종하여 35°C 인큐베이터에서 85 rpm으로 6시간 단위로 pH를 6.5로 조절하면서 4일 간 혼합 배양하였다.

### 빵용 재료

빵용 재료인 밀가루는 단백질 13.0%, 회분 0.42%, 수분 13.5%의 강력 1등급(Daehan Flour Mills Co., Incheon, Korea), 설탕은 순도 99.0%의 정백당(Samyang Co., Ulsan, Korea), 소금은 순도 99%(Hanju Co., Ulsan, Korea), sodium stearoyl lactylate(SSL, American Ingredients Co., Kansas city, USA), 쇼트닝(Lottesamkang Co., Cheonan, Korea), 생효모(Choheung Co., Ansan, Korea) 등을 사용하였다.

### 빵 제조

빵 배합률은 Table 1과 같으며 AACC(10-10b)(1985) 방법을 수정하여 스펀지법(sponge and dough method)으로 제조하였다. 밀가루 70%, 물 42%, 효모 전량, 제빵개량제 등을 반죽기(Hobart A200, Troy, OH, USA)에 넣고 저속 3분, 중속 2분 간 믹싱으로 24°C의 스펀지를 제조하여 온도 27°C, 습도 75%의 1차 발효실에서 4시간 발효시켰다. 스펀지와 쇼트닝을 제외한 나머지 재료를 반죽기에 넣고 저속 3분, 중속 2분간 믹싱 후 쇼트닝을 넣고 저속으로 3분간 혼합하고 중속으로 5분간 글루텐이 100% 발전되도록 믹싱하였다. 제조한 반죽을 15분 간 상온에서 휴지시킨 후 540 g씩 분할하여 둥글리기·휴지·정형·패닝 후 온도 40°C, 습도 85%의 2차 발효실에서 50분 간 발효시킨 뒤 윗불 200°C, 밑불 200°C의 오븐(FAO-7103, DaeYung Co., Incheon, Korea)에서 30분 간 구웠다. 상온에서 2시간 냉각 후 폴리에틸렌 포장지에 포장하여 분석에 사용하였다.

### 빵의 부피 분석

빵의 부피는 빵을 냉각·포장하 25°C에 12시간 보존 후 종자치환법(Ronald, 1992)으로 각각의 시료 4개씩 측정하여 그 평균을 자료로 하였다.

### 빵의 pH 및 총산도 분석

빵의 pH는 시료 15 g을 취하여 증류수 100 mL에 균일하게 용해 후 pH meter(MP 220, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)로 측정하였다. 총 산도는 AACC(02-31)(1985)

Table 1. Formula for bread

Ingredient	%	Control		A		B	
		Sponge	Dough	Sponge	Dough	Sponge	Dough
Bread flour	100	70	30	70	30	70	30
Water	64	42	22	42	12	42	7
Fresh yeast	2	2		2		2	
Salt	2		2		2		2
Sugar	6		6		6		6
Shortening	5		5		5		5
Dough improver	1	1		1		1	
Whey brew	Variable		0		10		15
Total		1,800		1,800		1,800	

방법으로 측정하였으며 시료 15 g을 취하여 증류수 100 mL에 희석 후 10방울의 formaldehyde를 가하여 0.1 N NaOH(F=1.0)(DaeJung Chemical & Metals Co., Sihung, Korea) 용액으로 pH가 6.6이 될 때까지 적정하여 소모된 0.1 N NaOH의 mL를 총산도로 하였다.

#### 빵의 수분함량 분석

빵을 냉각 후 포장하여 25°C에 보존하면서 1일 후부터 2일 단위로 7일 간 수분함량을 측정하였다. 건조감량법(Korean Food Code, 2002)으로 측정하여 “수분함량(%)=(b-c)/(b-a)×100(a: 칭량접시의 무게(g), b: 칭량접시와 검체의 무게(g), c: 건조 후 향량이 되었을 때의 무게(g))”에 따라 산출하였으며 각각의 시료를 5회 측정하여 자료로 하였다.

#### 빵의 수분활성도 분석

빵을 냉각 후 포장하여 25°C에 보존하면서 1일 후부터 2일 단위로 7일 간 수분활성도 측정기(AQS-2-TC, Nagy Co., Basserdorf, Swiss)로 수분활성도를 측정하였다. 시료를 믹서로 균일하게 갈아 측정기의 cell에 채운 후 미리 25°C로 조절하여 놓은 측정기의 chamber에 cell을 삽입하여 수분활성도 값이 변하지 않을 때까지 측정하였다. 각각의 시료를 5회 측정하여 자료로 하였다.

#### 빵의 조직감 분석

빵의 조직감은 Sun Rheometer(CR-200D, Sun Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 경도(hardness)를 측정하였다. 빵을 3 cm 두께로 잘라 개별 포장하여 25°C에 보존하면서 1일 후부터 2일 단위로 7일 간 측정하였다. Table speed 100 mm/min, chart speed 60 mm/min, load cell range 1 kg, sample size 60 mm×30 mm, critical area 314 mm<sup>2</sup>, % deformation 25 등의 조건에서 시료 당 6개를 측정하여 자료로 하였다.

#### 빵의 유기산 함량 분석

빵의 프로피온산, 젖산, 초산, 호박산 등의 유기산 함량

을 HPLC(LC1100 Series, Hewlett Packard Co., Ltd., California, USA)로 분석하였다. 5 g의 시료에 12% TCA 용액을 1 mL 첨가하고 원심분리기(Supra 21K, Hanil Co., Incheon, Korea)로 18,000 rpm에서 원심분리 후 상등액을 취하여 0.2 µm membrane filter(Sartorius AG, Goettingen, Germany)로 여과하여 분석에 사용하였다. 분석용 column은 Rezex RHM-Monosaccharide H+(8%)(Phenomenex, USA (300×7.80 mm), mobile phase는 0.1% phosphoric acid, flow rate은 0.5 mL/min, detector는 UV-Vis Detector 3002, column temperature는 40°C 등이며 분석 프로그램은 Autochro-Win 2.0 plus(Young Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Korea)를 사용하여 정량분석 하였으며 유기산의 표준물질은 Sigma-Aldrich Co.(Sigma Co., Ltd., St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

#### 관능검사

관능검사는 빵을 냉각 후 2 cm 두께로 잘라 비닐포장지에 2개씩 포장하여 25°C에서 24시간 보관 후 측정하였다. 미국제빵학교의 Bread Scoring에 따라 검사하였으며 Panel 요원은 5년 이상 제빵 경력이 있는 기술자 10명을 선정하여 관능검사에 필요한 사항을 주지 시키고 설문지에 개인별로 점수를 작성토록 하여 자료로 하였다.

#### 통계분석

모든 분석은 3회 반복실험 하였으며 통계분석은 Statistical Analysis System(SAS)(2007) 통계 프로그램을 사용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 각 시료 간의 유의성 검증은  $p < 0.05$  수준으로 던컨의 다중 범위시험법(Duncan's multiple range test)을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

#### 부피의 변화

유산균과 프로피온산균을 혼합배양한 유청발효물을 물의 10% 및 15%를 대체 첨가하여 제조한 빵의 부피를 분석한

결과는 Fig. 1과 같다. 그림에서와 같이 대조구가 2,460 mL, 유청발효물 10% 첨가한 시험구 A가 2,330 mL, 유청발효물 15% 첨가한 시험구 B가 2,020 mL로 유청발효물 첨가량이 많을수록 부피가 작아 유의적 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 이러한 현상은 유청발효물 중에 다량 함유되어 있는 프로피온산이 효모의 발효를 지연시켰기 때문으로 생각된다. 제과 제빵용 보존료인 프로피온산과 그 염인 프로피온산칼슘 및 프로피온산나트륨은 곰팡이에 강한 항균력이 있으나 효모의 증식에는 저해작용이 아주 약한 것으로(Christensen *et al.*, 1999) 알려져 있다. 그러나 Moon(1983)은 젖산, 초산, 프로피온산과 그 혼합물은 곰팡이뿐만 아니라 효모의 증식에도 저해를 준다고 하여 본 실험에서 유청발효물의 첨가량이 많을수록 효모 발효에 저해를 주어 부피가 작아진 것으로 생각된다. Lee(2005)는 YM 배지에 프로피온산나트륨 농도가 0%, 0.05%, 0.10%, 0.15% 되도록 첨가하여 제빵용 효모를 배양하였을 때 낮은 농도에서는 효모 생육에 영향이 없었으나 0.15% 첨가구에서는 생육에 저해를 주었다고 하여 프로피온산염이 제빵용 효모의 저해 효과를 보고하였다. 미생물에 대한 항균작용은 해리되지 않은 분자가 세균의 plasma membrane을 침투하기 때문이다. Sheila 등(2000)은 유제품을 빵 제조시 첨가하는 것은 칼슘, 단백질 및 lysine, methionine, tryptophan 같은 필수 아미노산 보충으로 영양강화뿐만 아니라 반죽의 취급성 및 품질(향, 겉질색, 토스트 특징, 내상, 조직 등) 향상 측면에서 장점이 있다고 하였으나, Main(1991)은 유청단백질이 빵의 부피를 감소시키고, 조직을 단단하게 하여 빵의 품질을 저하시키는 단점을 보고하였다. 본 실험에서 유청발효물의 첨가량이 증가함에 따라 부피가 작아진 것도 유청발효물 중의 유청단백질도 영향을 준 것으로 생각된다. 한편, Zadow(1981)는 반죽에 유청단백질을 첨가하면 빵의 부피가 작아진다고 하였으나, Erdogdu-Arnoczky 등(1996)은 반죽에 유청분말을 4% 첨가하여 만든 빵에서 부피가 오히려 증가하였다고

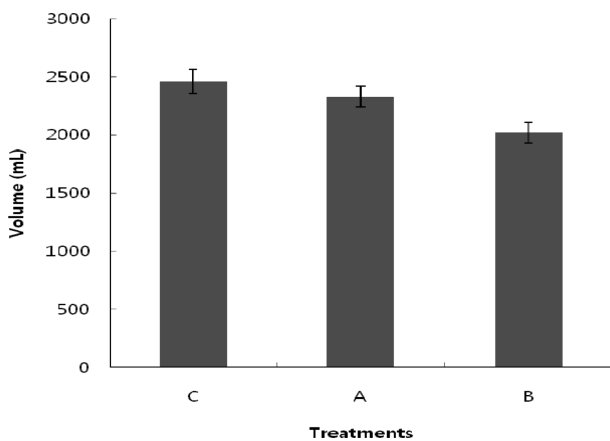


Fig. 1. Effect of whey brew on volume of breads. C, control; A, bread with 10% of whey brew; B, bread with 15% of whey brew.

하여 상반된 연구결과를 발표하였다.

### pH 및 총산도의 변화

유산균과 프로피온산균을 혼합 배양한 유청발효물을 첨가한 빵의 pH 및 총산도 분석 결과는 Fig. 2와 같다. pH는 대조구가 4.93, 시험구 A가 5.02, 시험구 B가 5.25로 대조구의 pH가 가장 낮았고 유청발효물 첨가량이 많을수록 pH가 높아 유의적 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 스펀지법으로 식빵을 제조할 때 pH 변화는 스펀지 믹싱 후 5.5, 스펀지 4시간 발효 후 4.6, 본 반죽 후 5.4, 2차발효 후 4.9-5.0, 완제품 5.7이라고 하였으나(Hong and Min, 1997) 본 실험에서의 식빵 pH는 다소 낮았다. 또한 유청발효물을 첨가한 제품의 pH가 대조구보다 높았다. 이상에서와 같이 유청발효물을 첨가한 제품의 pH가 대조구보다 다소 높게 나타난 것은 유청발효물에 함유되어 있는 단백질, 아미노산 등의 물질이 완충작용을 하는 효과에 기인하는 것으로 생각된다. Ronald(1992)는 제빵 시 우유의 단백질은 반죽을 강하게 하고 pH 완충작용을 한다고 하였다.

한편 총 산도는 대조구가 3.24 mL, 시험구 A가 3.15 mL, 시험구 B가 3.00 mL로 유청발효물 첨가량이 많을수록 낮아 pH와 반비례 하였다. pH는 수소이온농도를 마이너스(-)의 상용대수로 표시한 것(Kim *et al.*, 2004)으로 Pyler(1988)는 총산도에는 pH에 나타나지 않는 산까지 검출되기 때문에 빵 제조시 반죽의 pH보다 총산도가 품질에 더 영향을 미친다고 하였고, Vollmar와 Meuser(1992)는 빵 제조 시 반죽을 효모로만 발효시키는 것보다 효모와 유산균으로 혼합발효 시키는 sour dough에서 많은 유기산이 생성되어 풍미가 개선된다고 보고하였다.

### 수분함량의 변화

유청발효물을 첨가하여 제조한 빵을 7일 간 보존하면서

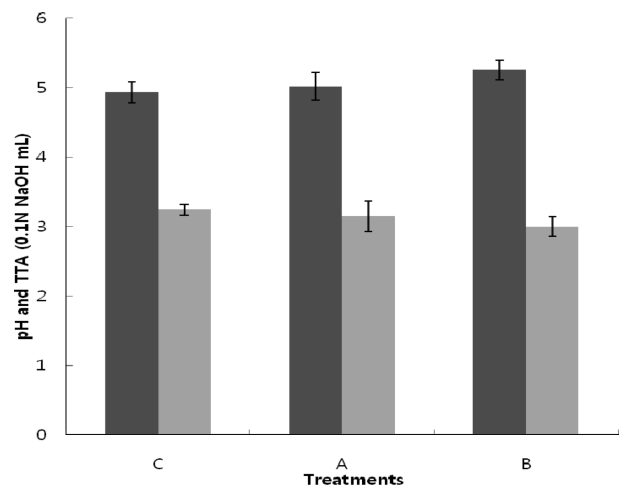


Fig. 2. Effect of whey brew on pH and total titratable acidity of breads. □, pH; ■, TTA; C, control; A, bread with 10% of whey brew; B, bread with 15% of whey brew.

2일 간격으로 수분함량을 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 보존 1일 째 수분함량은 대조구가 38.5%, 시험구 A가 38.8%, 시험구 B가 38.9%로 유청발효물 첨가량에 따라 수분함량에 유의적 차이가 없었다( $p < 0.05$ ). 보존 7일에 대조구가 37.4%, 시험구 A가 38.0%, 시험구 B가 37.6%로 보존기간이 경과하여도 같은 경향을 보였으며 일주일간 보존시 수분함량의 감소는 대조구에서 2.9%, 시험구 A에서 2.1%, 시험구 B에서 3.3%로 시험구 A에서 가장 적었다. Lee(2005)는 유청에 *Latobacillus acidophilus* KCCM 32820을 배양시킨 후 *Propionibacterium freudenreichii* KCCM 31227로 2단계 발효하여 얻은 유청발효물을 빵 제조시 물 대신 10% 첨가하여 만든 제품의 수분함량을 측정한 결과 보존기간의 경과에 따라 대조구와 같이 변화가 없었다고 하였고, Cha(2003)는 밀가루를 *L. acidophilus*로 발효시킨 발효물을 밀가루 대비 0%, 5%, 10%, 20% 첨가하여 제조한 면을 증숙하여 수분함량을 측정한 결과 발효물의 첨가량에 관계없이 거의 변화가 없었다고 하였는데, 본 실험에서도 유청발효물 첨가량에 따라 차이를 나타내지 않았다. 이것은 Erdogdu-Arnoczky 등(1996)이 반죽에 유청분말을 첨가하면 흡수율이 증가한다고 한 결과와 Maher 등(1978)이 반죽에 유기산을 첨가하면 흡수율이 증가하고, 흡수율이 증가하면 동일한 조건에서 구웠을 때 제품의 수분함량이 높았다고 한 결과와 차이가 있었다.

### 수분활성도의 변화

유청발효물을 첨가한 빵을 7일 간 보존하면서 2일 간격으로 수분활성도를 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. 보존 1일 째 대조구가 0.959, 시험구 A가 0.966, 시험구 B가 0.964로 대조구보다 유청발효물 첨가량이 많을수록 수분활성도가 높았다. 보존 5일째에도 유청발효물 10% 첨가한 시험구 A가 가장 높았고 이러한 경향은 보존 7일 째

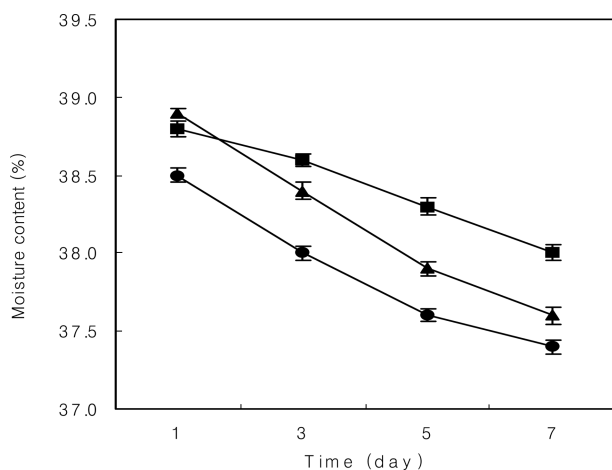


Fig. 3. Effect of whey brew on moisture content of breads. ●, control; ■, bread with 10% of whey brew; ▲, bread with 15% of whey brew.

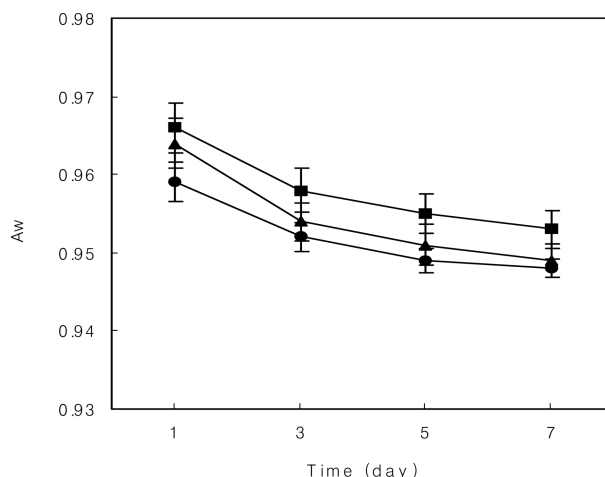


Fig. 4. Changes of the water activity in breads with whey brew. ●, control; ■, bread with 10% of whey brew; ▲, bread with 15% of whey brew.

도 동일하였으며 보존 7일 동안 수분활성도의 감소폭은 대조구가 1.35%, 시험구 A가 1.15%, 시험구 B가 1.56%로 시험구 A가 가장 적었다. 일반적으로 식빵의 수분활성도는 0.96 정도로(Erdogdu-Arnoczky et al., 1996) 수분증발에 의한 빵의 노화를 연장하기 위하여 수분보유제를 사용하는데 수분보유제는 제품의 수분활성도를 낮추어 곰팡이 증식을 억제하여 shelf-life를 연장시키고 빵을 부드럽게 만든다(Berkowitz and Oleksyk, 1991). 시험구 A가 대조구에 비하여 수분활성도가 높은 것은 유청발효물에 함유되어 있는 유당의 수분보유력 때문이나, 시험구 A보다 시험구 B의 수분활성도가 낮은 것은 유청발효물에 함유되어 있는 많은 프로피온산이 효모의 생육을 저해하여 발효 부피가 작아 오븐에서 구울 때 내부로의 열 침투가 빨리 일어나 많은 수분증발로 수분함량이 적어진 것으로 이는 제품의 저장 중 노화 지연에도 영향을 미칠 것으로 생각된다.

### 조직감의 변화

유청발효물을 첨가한 빵을 7일 간 보존하면서 2일 간격으로 조직감으로 경도(hardness)를 분석한 결과는 Fig. 5와 같다. 저장 1일 째는 대조구와 시험구 간에 거의 차이가 없었으나 저장기간이 경과할수록 시험구 A가 가장 낮았고 시험구 B가 가장 높았다. 저장기간이 경과함에 따라 시험구 A의 경도가 낮아, 빵이 부드럽고 노화가 느릴 것으로 예측이 가능한데 이는 유청발효물에 함유되어 있는 단백질에 의한 전분의 희석작용과 칼슘염의 노화지연 효과 때문인 것으로 생각된다. 또한 제품의 수분함량도 경도에 영향을 주어 수분함량이 높으면 경도가 낮아 부드러운 제품이 되는데 Fig. 3에서 시험구 A의 수분함량이 높은 결과와 일치하였다. Clarke 등(2002)은 젖산을 첨가하여 반죽의 pH를 낮춘 것, *Lactobacillus brevis* L-62와

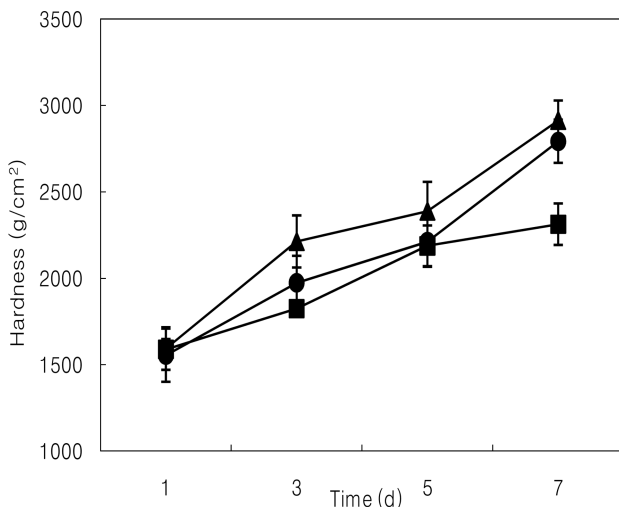


Fig. 5. Effect of whey brew on crumb hardness of breads. ●, control; ■, bread with 10% of whey brew; ▲, bread with 15% of whey brew.

*Lactobacillus plantarum* L2-1로 배양하여 만든 starter culture를 반죽에 넣고 만든 빵을 74시간 보존하면서 제조 후 2시간 및 이후 24시간 간격으로 빵의 견고성을 측정할 결과 대조구에 비하여 젖산을 첨가한 것, *L. brevis* L-62로 만든 starter culture를 첨가한 것, *L. plantarum* L2-1로 만든 starter culture를 첨가하여 만든 것 순으로 부드러워지고 하여 본 실험에서도 시험구 A가 대조구보다 부드러운 것과 일치하는 결과였다. Al-Eid 등(1999)은 빵 제조 시 물 대신 발효시킨 유청 permeate를 첨가하였을 때 제품이 더 부드러워진다고 하였으며, Gujral과 Singh(1999)도 빵 제조 시 젖산을 0.05%에서 0.2%까지 첨가는 첨가량이 증가함에 따라 조직이 부드러워졌다고 하였고, 젖산을 0.1% 첨가하였을 때는 부피가 작았으나 0.2% 첨가하였을 때는 컸다고 하였다.

#### 유기산 함량의 변화

유청발효물을 첨가한 빵의 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 대조구에서 호박산은 193.73 mg/kg, 젖산은 111.96 mg/kg, 초산은 329.83 mg/kg 검출되었고 시험구에서 대조구보다 많은 양이 검출되어 유의적 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 프로피온산은 대조구에서 검출되지 않았으며 시험구 A는 1,117.21 mg/kg, 시험구 B는 1,713.55 mg/kg 검출되어 유청발효물 첨가량이 많을수록 검출량이 많았다. 치즈 숙성 시 프로피온산균은 탄소원으로 젖산을 이용하여 프로피온산, 초산, 이산화탄소 등을 생성하여 맛과 향을 증진시킨다. 프로피온산균으로 탄소원을 기질로 한 프로피온산과 초산의 생산비율은 일반적으로 2:1이나 발효 조건에 따라 2.1에서 14.7까지 다양하고 당밀을 *Propionibacterium shermanii*로 발효 시 발효온도를 높이면 프로피온산과 초산의 비율은 감소하는데 이것은 효소 반

Table 2. Amount of acids in breads with whey brew

Organic acid	Treatments (mg/kg) <sup>1)</sup>		
	C	A	B
Succinic acid	193.73±2.5 <sup>a2)</sup>	229.96±10.2 <sup>b</sup>	255.27±22.5 <sup>c</sup>
Lactic acid	111.96±3.2 <sup>a</sup>	139.87± 2.6 <sup>b</sup>	148.5 ± 4.8 <sup>c</sup>
Acetic acid	329.83±5.8 <sup>a</sup>	349.46± 3.6 <sup>b</sup>	380.65± 6.2 <sup>c</sup>
Propionic acid	0 ±0.0 <sup>a</sup>	1,117.21±12.5 <sup>b</sup>	1,713.55± 6.4 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>C, control; A, bread with 10% of whey brew; B, bread with 15% of whey brew.

<sup>2)</sup>Values are Mean±SD, n=3.

<sup>a-c</sup>Means with the same letter in row are not significantly different by Duncan's range test ( $p < 0.05$ ).

응, 세포 투과성, 세포 대사 등에 영향을 주기 때문이다. Jennifer와 Nancy(1982)는 homo형 유산균인 *L. acidophilus*와 *P. shermanii*의 혼합배양은 프로피온산균이 유당보다 lactate를 선호하여 보다 빠르게 발효시키기 때문에 *P. shermanii*를 단독으로 배양할 때보다 유산균으로 혼합배양 시 발효시간이 단축되고 프로피온산 생산수율이 높아진다고 하였다. 프로피온산균은 3 mol의 calcium lactate를 2 mol propionate, 1 mol acetate, 1 mol CO<sub>2</sub>, 1 mol H<sub>2</sub>O로 전환한다(Mukhopadhyay et al., 1979). 이상의 실험에서 치즈 제조 시 부산물로 생산되는 유청의 소비를 위하여 유청에 유산균과 프로피온산균을 혼합 발효시킨 유청발효물을 제빵 산업에 응용하고자 유청발효물을 첨가한 빵의 특성에 관한 연구에서 유청발효물을 10% 첨가 시 제품의 경도가 낮게 나타났으며, 젖산 등 다양한 유기산이 다량 검출되어 이는 빵의 노화와 저장성에도 영향을 미칠 것으로 생각된다.

#### 관능검사

유청발효물을 첨가한 빵의 관능검사를 분석한 결과는 Table 3과 같다. 외부평가 항목 중 부피는 대조구가 가장 컸고, 유청발효물 첨가량이 많을수록 작아 종자치환법으로 측정한 부피와 같은 결과였다. 겉질색은 시험구 A가 가장 좋았고, Break & shred는 시험구 B가 가장 작아 오븐스프링이 좋지 않은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 유청발효물내의 발효산물이 반죽의 2차발효에 저해를 주었기 때문으로 생각된다. 외부 종합평가에서 시험구 B가 23.6점으로 가장 낮은 점수를 얻었다. 내부평가에서 기공은 대조구와 시험구 A에서 유의적 차이가 없었고( $p < 0.05$ ), 내부색상·향기·맛 등은 시험구 A가 가장 좋아 유의적 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 씹는 맛이나 조직은 대조구와 시험구 A에서 유의적 차이가 없었다. 내부 종합평가에서 시험구 A가 66.2점으로 가장 높았다. 종합평가에서 시험구 A가 93점으로 가장 높아 유의적 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 이상의 실험에서 유청발효물을 10% 첨가한 빵의 부피는 다소 작았으나 향, 색 등에서 대조구보다 좋은 평가를 얻었다.

**Table 3. Quality evaluation of white pan breads with whey ferment**

Portion	Perfect Score	Treatments <sup>1)</sup>		
		C	A	B
External				
Volume	10	9.4±0.4 <sup>a2)</sup>	8.6±0.4 <sup>b</sup>	7.4±0.6 <sup>c</sup>
Color of crust	8	7.0±0.2 <sup>bc</sup>	7.6±0.2 <sup>a</sup>	6.6±0.4 <sup>bc</sup>
Symmetry	3	2.8±0.2 <sup>a</sup>	2.6±0.2 <sup>bc</sup>	2.4±0.4 <sup>bc</sup>
Evenness of bake	3	2.6±0.2 <sup>bc</sup>	2.8±0.2 <sup>a</sup>	2.4±0.4 <sup>bc</sup>
Character of crust	3	2.6±0.4 <sup>a</sup>	2.4±0.4 <sup>bc</sup>	2.4±0.2 <sup>bc</sup>
Break & shred	3	2.8±0.2 <sup>ab</sup>	2.8±0.2 <sup>ab</sup>	2.4±0.2 <sup>c</sup>
External subtotal	30	27.2±0.6 <sup>ab</sup>	26.8±0.4 <sup>ab</sup>	23.6±0.4 <sup>c</sup>
Internal				
Grain	10	9.0±0.4 <sup>ab</sup>	9.0±0.6 <sup>ab</sup>	7.6±0.6 <sup>c</sup>
Color of crumb	10	8.6±0.2 <sup>ab</sup>	9.0±0.4 <sup>ab</sup>	8.2±0.2 <sup>c</sup>
Aroma	10	8.6±0.2 <sup>ab</sup>	9.2±0.2 <sup>ab</sup>	7.8±0.4 <sup>c</sup>
Taste	15	13.2±0.2 <sup>b</sup>	13.8±0.2 <sup>a</sup>	12.4±0.4 <sup>c</sup>
Mastication	10	9.4±0.2 <sup>ab</sup>	9.4±0.4 <sup>ab</sup>	8.6±0.4 <sup>c</sup>
Texture	15	14.4±0.2 <sup>a</sup>	14.2±0.4 <sup>bc</sup>	13.8±0.4 <sup>bc</sup>
Internal subtotal	70	65.2±0.2 <sup>b</sup>	66.2±0.2 <sup>a</sup>	59 ±0.6 <sup>c</sup>
Total score	100	91.8±0.6 <sup>b</sup>	93 ±0.2 <sup>a</sup>	83 ±0.6 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>C, control; A, bread with 10% of whey brew; B, bread with 15% of whey brew.

<sup>2)</sup>Values are Mean±SD, n=3.

<sup>a-c</sup>Means with the same letter in row are not significantly different by duncan's range test ( $p<0.05$ ).

Al-Eid 등(1999)은 물 대신 발효시킨 유청 permeate를 50% 대체하였을 때 껍질색이 개선되었으나 발효시키지 않은 유청 permeate를 첨가하였을 때는 개선되지 않았다고 하였는데, 이것은 유청에 있는 많은 유당의 갈변반응 때문이라고 하였다. 또한 발효시킨 유청 permeate를 첨가하였을 때 향, 맛 등이 개선되었다고 한 연구 결과는 본 실험의 관능검사 결과와 일치하였다. 유산균으로 발효한 sourdough를 빵에 이용하는 것은 제품의 향기 증가, 곰팡이에 대한 항균작용 등으로 품질을 개선하기 위한 것이다 (Magnusson and Schnurer, 2001).

## 요 약

유청농도 12% 용액에 *Lactobacillus helveticus* ATCC 55163과 *Propionibacterium acidipropionici* 5020을 혼합 배양하여 프로피온산, 초산, 젖산 등이 생성된 유청발효물을 빵 제조 시 물의 10%, 15% 대체하여 제조한 빵의 부피, pH 및 총산도, 수분함량, 수분활성도, 조직감, 유기산, 관능검사 등을 분석하였다. 부피는 대조구가 가장 컸고, pH 및 총산도에서 pH는 대조구가 가장 낮았고 총산도는 대조구가 가장 높았다. 수분은 유청발효물 함량에 따라 차이가 없었고 수분활성도는 저장기간이 길어질수록 유청발효물 10% 첨가한 것에서 가장 높았다. 조직감은 저장기

간이 길어질수록 유청발효물 10% 첨가한 것의 정도 (hardness)가 가장 낮아 부드러웠다. 유기산 함량 분석에서 대조구에서는 프로피온산이 검출되지 않았고, 호박산·젖산·초산 등도 시험구보다 낮게 검출되었다. 시험구 중에는 유청발효물을 15% 첨가한 것에서 호박산, 초산, 젖산 등이 높게 검출되었고 특히 프로피온산 검출량이 높았다. 관능검사에서 유청발효물을 10% 첨가한 것이 가장 높은 점수를 얻었다. 제품의 품질 면에서 유청발효물 10%, 보존성 면에서 유청발효물 15%를 첨가하는 것이 효과가 있을 것으로 기대된다.

## 참고문헌

- Al-Eid, S. M., Al-Neshawy, A. A., and Al-Shaikh Ahmad, S. S. (1999) Influence of substituting water with ultrafiltered milk permeate on dough properties and baking quality of white pan bread. *J. Cereal Sci.* **30**, 79-82.
- AACC (American Association of Cereal Chemists) (1985) Approved methods of AACC. Saint Paul, Minnesota, USA, **02-31**, 10-10b.
- Berkowitz, D. and Oleksyk, L. E. (1991) Leavened breads with extended shelf-life. US Patent 5,059,432.
- Boyaval, P. and Corre, C. (1995) Production of propionic acid. *Lait* **75**, 453-461.
- Brul, S. and Coote, P. (1999) Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanism. *Int. J. Food Microbiol.* **50**, 1-17.
- Cha, U. J. (2003) A study on properties of the flour-ferment with *Lactobacillus acidophilus* and the quality of noodles using the ferment. Ph. D. thesis, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
- Christensen, J. F., Dudley, E. G., Pederson, J. A., and Steele, J. L. (1999) Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* **76**, 217-246.
- Clarke, C. I., Schober, T. J., and Arendt, E. K. (2002) Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. *Cereal Chem.* **79**, 640-647.
- De Boer, R. and Hiddink, J. (1980) Membrane process in the dairy industry: State of the art. *Desalination* **35**, 169-192.
- Eklund, T. (1989) Organic acids and esters. In GW. Gould (Ed), Mechanism of action of food preservation procedures, New York, Elsevier Co., pp. 161-200.
- Erdogdu-Arnoczky, N., Czuchajowska, Z., and Pomeranz, Y. (1996) Functionary of whey band casein in fermentation and in bread baking by fixed and optimized procedures. *Cereal Chem.* **73**, 309-316.
- Gujral, H. S. and Singh, N. (1999) Effect of additives on dough development gaseous release and bread making properties. *Food Res. Int.* **32**, 691-697.
- Hong, H. H. and Min, K. C. (1997) Test of bread and cake. Kwangmoongag, Seoul, Korea, pp. 108.
- Huang, Y. L., Zhang, W. Z., Cheung, C. M., and Yang S. T. (2002) Production of carboxylic acids from hydrolyzed corn

- meal by immobilized cell fermentation in a fibrous-bed bioreactor. *Bioresource Technol.* **82**, 51-59.
15. Hujanen, M. and Linko, Y. Y. (1996) Effect of temperature and various nitrogen sources on L-lactic acid production by *Lactobacillus casei*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 307-313.
  16. Hunter, J. E. and Frazier, W. C. (1961) Gas production by associated swiss cheese bacteria. Department of Bacteriology, University of Wisconsin Press Co., Madison, pp. 2176-2186.
  17. Jennifer, A. P. L. and Nancy, J. M. (1982) Commensalistic interaction between *L. acidophilus* and *P. shermanii*. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**, 715-722.
  18. Kim, D. J., Kim, Y. W., Kim, J. S., Paik, T. J., Choi, H. T., Hyun, J. S., and Whong, J. M. (2004) Food processing and preservation. Gigumunwhasa, Seoul, Korea, pp. 36.
  19. Korean Food Code. (2002) Korean Food & Drug Administration. Seoul, Korea, pp. 3-4.
  20. Lee, J. H. (2005) Effects of whey ferment cultured by *Propionibacterium freudenreichii* KCCM 31227 on rheological properties of dough and quality characteristics of white pan bread. Ph. D. thesis, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
  21. Lindgren, S. E. and Dobrogosz, W. J. (1990) Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation. *FEMS Microbiol. Reviews* **87**, 149-164.
  22. Litchfield, J. H. (1996) Microbiological production of lactic acid. *Adv. Appl. Microbiol.* **42**, 45-95.
  23. Magnusson, J. and Schnrer, J. (2001) *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 1-5.
  24. Main, A. (1991) Fermented dairy products as food ingredients. *Food Res.* **51**, 120-125.
  25. Maher, G. A., Varriano-Marston, E., and Jonhson, J. A. (1978) Rheological dough properties as affected by organic acids and salt. *Cereal Chem.* **55**, 683-691.
  26. Moon, N. J. (1983) Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate, and their synergistic mixtures. *J. Appl. Bacteriol.* **55**, 53-460.
  27. Mukhopadhyay, S. N., Ghose, T. K., and Fiechter, A. (1979) Effect of fermentation variables on cellulose production by *Trichoderma* sp. *Biotechnol. Lett.* **1**, 205.
  28. Pylar, E. J. (1988) Baking science and technology, 3rd ed. Vol. II. Sosland Publishing Company, USA, pp. 889-890.
  29. Ronald, H. Z. (1992) Bread lecture. American Institute of Baking, USA, pp. 1311, 1404-1405
  30. SAS. (2007) User's guide. SAS Institute: Cary, NC, USA.
  31. Sheila, K., Karina, W., Catherine, S., and Elke, K. A. (2000) Incorporation of dairy ingredients into wheat bread. *Eur. Food Res. Technol.* **210**, 391-396.
  32. Stiles, M. E. (1996) Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* **70**, 331-345.
  33. Vollmar, A. and Meuser, F. (1992) Influence of starter cultures consisting of lactic acid bacteria and yeasts on the performance of a continuous sour dough fermenter. *Cereal Chem.* **69**, 20-27.
  34. Woolford, M. K. (1984) The antimicrobial spectra of organic compounds with respect to their potential as hay preservatives. *Grass and Forage Sci.* **39**, 75-79.
  35. Yun, M. S. (2004) New practical bread and cake. Jigumunh-wasa, Seoul, Korea, pp. 41.
  36. Zadow, J. G. (1981) Measurement of the effect of whey protein concentrates on fermenting doughs by the Instron tester. *Aust. J. Dairy Technol.* **36**, 56-59.

---

(Received 2010.1.16/Revised 1st 2010.4.14, 2nd 2010.5.11/  
Accepted 2010.5.14)