

## 한국형 Koumiss 제조 특성에 관한 연구

이종익 · †송광영\* · 천정환\* · 현지연\* · 서건호\*  
건국대학교 동물생명과학대학 축산식품생물공학전공  
\*건국대학교 수의과대학 공중보건학전공

### Study on the Manufacturing Properties of Korean-type Koumiss

Jong-Ik Lee, †Kwang-Young Song\*, Jung-Whan Chon\*, Ji-Yeon Hyeon\* and Kun-Ho Seo\*

Dept. of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, College of Animal Bioscience & Technology,  
Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

\*Dept. of Public Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

#### Abstract

For this study, Korean-type Koumiss was made by the fermentation of mixed cultures, in which yeast, *Kuyveromyces*, and microflora, *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus bulgaricus*, were inoculated into 10% skimmed milk with added whey powder(control: A, 2%: B, 4%: C, 6%: D, and 8%: E). Fat, protein, lactose, titratable acidity, pH, the number of lactic acid bacteria, the number of yeast, alcohol content, volatile fatty acids, volatile free amino acids and minerals were measured in the products. The results were as follows: As the dosage of whey powder increased, fat increased from 0.74% in the control to 2.30% in sample E, protein increased from 2.95% in the control to 4.39% in sample E and lactose increased from 3.10% in the control to 7.43% in sample E. Titratable acidity and pH increased gradually. The number of lactic acid bacteria increased from  $10^9$  cfu/ml in the control to  $3.8 \times 10^9$  cfu/ml in sample E, and the number of yeast increased from  $6.1 \times 10^7$  cfu/ml in the control to  $1.65 \times 10^8$  cfu/ml in sample E, according to the increase of whey powder content. For alcohol content, the average values were 0.863%, 0.967%, 0.890%, 1.290%, and 1.313% for the control and samples B, C, D, and E, respectively. As the dosage of whey powder increased, alcohol content showed a tendency to gradually increase. The average alcohol content of E was 1.313 and this was higher than the alcohol content of Kazahstana-type Koumiss with 1.08%. Sixteen types of free amino acids were detected. Glycine was the lowest in the control at 0.38 mg/ml and sample E contained 0.64 mg/ml. Histidine was also low in the control at 0.42 mg/ml and sample E contained 0.65 mg/ml. On the other hand, glutamic acid was highest at 4.13 mg/ml in the control whereas sample E had 6.96 mg/ml. Proline was also high in the control at 1.71 mg/ml in control, but E contained 2.80 mg/ml. Aspartic acid and leucine were greater in sample E than in the control. For volatile free fatty acids, content generally had a tendency to increase in the control, and samples B, C, D, and E. Content of acetic acid gradually increased from 12,661  $\mu$ g/100 ml in the control to 37,140  $\mu$ g/ml in sample E. Butyric acid was not detected in the control and was measured as 1,950  $\mu$ g/100 ml in sample E. Caproic acid content was 177  $\mu$ g/100 ml in the control and 812  $\mu$ g/100 ml in sample E, and it increased according to the increase of whey powder content. Valeric acid was measured in a small amount in the control as 22  $\mu$ g/100 ml, but it was not detected in any other case. Mineral contents of Ca, P, and Mg increased from 1,042.38 ppm, 863.61 ppm, and 101.28 ppm in the control to 1,535.12 ppm, 1,336.71 ppm, and 162.44 ppm in sample E, respectively. Na content was increased from 447.19 ppm in the control to 1,001.57 ppm in sample E. The content of K was increased from 1,266.39 ppm in the control to

† Corresponding author: Kwang-Young Song, Dept. of Public Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: +82-2-450-4121, Fax: +82-2-3436-4128, E-mail: drkysong@gmail.com

2,613.93 ppm in E. Mineral content also increased with whey powder content. In sensory evaluations, the scores increased as whey powder content increased. Flavor was lowest in the control with 6.3 points and highest in E with 8.2 points. Body and texture were highest at 4.2 points in the control, which did not have added whey powder. In the case of appearance, there were no great differences among the samples.

Key words: Koumiss, yeast, alcohol, physicochemical properties, whey powder

## 서 론

오늘날 발효유의 형태는 원료유, 고형분 농도, 미생물의 종류, 지역 등에 따라 다양하게 분류할 수 있으며, 발효유의 근본인 최종 발효산물의 종류에 따라 분류하면 크게 두 가지로 나눌 수 있다(Baek YJ 1993; Zhang 등 2010). 순수하게 젖산발효에 의해서 만들어진 젖산발효유(lactic acid fermented milk)와 젖산균과 유당을 발효하는 yeast에 의해 부분적으로 알코올 발효를 일으켜 만들어지는 알코올 발효(lactic acid alcohol-fermented milk) 등으로 구분될 수 있으며, 이들에게는 Bulgarian butter milk, acidophilus milk, bifidus milk, yoghurt, cultured milk, cultured cream, Kefir, Koumiss 등이 있다(Lodder T 1970; Lee 등 2010). 알코올 발효유로는 Caucasean 산악지대에서 유래된 Kefir와 소련에서 주로 소비되는 Koumiss가 있다. 원료유로는 우유, 마유, 양유, buffalo milk, 낙타유 등이 사용되고 있다(Cha 등 1997; Ham 등 2000; Kucukcetin 등 2003; Zhang 등 2010).

Koumiss는 러시아와 서부 아시아에서 생산되는 전형적인 발효유로 *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, lactose 발효성 yeast인 *Torular koumiss*와 *Saccharomyces lactis*를 포함하고 있다(Oberman H 1985; Chen 등 2010). 이를 일반 분석하면 0.7~1.8%의 lactic acid, 0.1~1.3%의 ethanol, 0.5~0.88%의 CO<sub>2</sub>를 함유하고 있다(Olsson G 1981; Yoo & Kim 1982; Liu 등 2011). Koumiss는 단백질, 탄수화물, 유산, 무기물, vitamin B 등이 소화되지 쉬운 상태로 함유되어 있고, vitamin C도 우유보다 5배나 많이 포함하고 있다(Kosikowski F 1982). 반면에 지방은 우유보다 낮고, 유당 함유율은 높아 모유의 조성에 훨씬 가깝다. 또한 Koumiss는 청량미와 정장 효과뿐만 아니라 식욕의 증진과 폐결핵, 늑막염, 빈혈 등을 치료하는 효과를 가지고 있다(Lang & Lang 1970, 1973; Kim 1982; Fedechko 등 1995; Pan 등 2011). 그러나 이러한 효과에도 불구하고 마유의 생산량이 이를 충족시키지 못하고 있다. 이에 Urbanski Z(1966)는 whey champagne을, Roland & Alm(1975)은 whey wine을, Vajdi 등(1973)은 whey beer을, Schulz & Fackelmeir(1948)은 유청을 이용한 milone의 제조법을, Engel (1952, 1984)은 유청과 당의 혼합액에 효모를 배양시켜 11%의 알코올 농도를 가진 whey wine을 제조하였고, Holsinger 등 (1974)은 유청을 이용한 음료를 연구하였다. 이는 치즈부산물

의 대부분인 유청에는 영양생리적으로 중요한 유청단백질과 기타 유당, 여러 종류의 비타민과 당물질을 함유하고 있기 때문이다(Yoon 등 2010).

그리고 Lang & Lang(1973), Puhan & Gallman(1980)은 우유를 이용하여 2%의 알코올을 함유한 Koumiss를 제조했고, Ochi & Nakanishi(1976), Kim JW(1981) 그리고 Cho 등(1994)은 환원탈지유에 유당발효효모와 유산균을 혼합배양하여 알코올 발효음료 제조법을 연구했으며, Pastukhova & Gerbeda(1982)은 우유로 제조한 Koumiss와 마유의 지방산 조성 등을 보고했으나 아직은 미비한 상태에 있다.

따라서 본 연구는 장래에 훌륭한 발효유제품이 될 수 있는 Koumiss의 제조를 위한 기초자료를 얻고자, 다양한 농도의 유청 분말을 첨가한 후 유산균과 Yeast를 사용하여 알코올 발효유를 제조하여 이의 이화학적 성분-지방, 단백질, 유당, 적정산도, pH, 생균수, 알코올 함량, 휘발성 지방산, 휘발성 유리아미노산 및 무기물 함량을 분석하고, 제품의 다양한 관능검사를 실시하여 한국형 Koumiss 제품으로 연결될 수 있는 가능성을 마련하고자 연구가 진행되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시재료 및 균주

Koumiss 제조에 사용한 탈지분유는 지방 1.0% 탈지분유(Seoul Milk Co-op, Korea)를 사용하였고, Koumiss 제조에 사용한 유청 분말은 삼익유가공에서 제조한 수분 3%의 유청 분말을 사용하였다. 공시균주는 삼익유가공에서 *Streptococcus thermophiles* 및 *Lactobacillus bulgaricus*를 분양받아 사용했고, 효모(yeast)는 대영(주)과 동만도회사를 통해 Alma Ata에서 수입한 Koumiss에서 분리동정하여 사용하였다.

### 2. Starter 제조

Kosikowski F(1982) 방법에 따라, *Streptococcus thermophilus*와 *Lactobacillus bulgaricus*는 11% 환원탈지유배양액에 37°C에서 24시간 동안 2회 계대배양하여 활력을 증강시킨 후 사용하였고, Koumiss에서 분리한 *Kuyveromyces fragilis*는 YM broth(Difco, USA)에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 2회 배양하여 활력을 증강시킨 후 사용하였다.

### 3. Koumiss의 제조

Kosikowski F(1982) 방법을 응용하여, 10% 환원탈지유를 기준으로 하여 유청 분말을 2%, 4%, 6%, 8%를 각각 환원탈지유에 첨가하여 살균한 후, starter를 접종하여 30°C로 1일간 발효시킨 후, 효모를 접종하여 15°C에서 3일간 배양하였다. 효모 starter와 유산균 starter는 각각 1:1로 접종하여 Koumiss를 제조하였다(Kosikowski 1982).

### 4. 일반성분 분석

AOAC(1995) 방법에 따라 지방은 Babcock 방법, 단백질은 Kjeldahl 방법, 유당은 Somacount 300(Bentley Instrument Inc., USA) 분석기를 이용하여 측정하였다.

### 5. pH 측정

pH meter(HANA instruments, HI8418, Korea)를 사용하여 측정하였다.

### 6. 적정산도 측정

Koumiss의 적정산도는 A.P.H.A.(1993)에 따라 시료 9 g에 증류수 18 ml를 첨가하고, 페놀프탈레인 지시약 0.5 ml를 첨가한 후, 0.1N-NaOH 용액으로 적정하여 계산하였다.

$$\text{Titratable acidity(\%)} = \frac{\text{Volume(ml) of 0.1 N NaOH solution used for titration}}{10}$$

### 7. 유산균과 효모 측정

Kim JW(1982)의 방법을 변형하여 Koumiss에서 유산균(lactic acid bacteria)과 효모(yeast)는 각각 MRS 배지(Difco, USA)와 YPD 배지(Difco, USA)를 사용하여 형성된 집락을 계수한 후 CFU/ml로 표기하였다.

### 8. 알코올 측정

Amerine 등(1967)의 방법에 따라, 제조한 Koumiss 10 ml를 취한 후, steam distillation하여 취한 증류액을 gas chromatography (Hewlett Packard 5890 series II와 7673A autosampler, USA)로 측정하였다(Table 1).

**Table 1. Operating conditions of alcohol analyzer**

Items	Conditions
Detector	Flame ionization detector(FID)
Column	FFAP capillary column(10 m×0.53 mm i.d., 10 μm film thickness, Hewlett Packard)
Temperature	Column oven, 75°C; Injector, 180°C; Detector, 220°C
Gas flow rate	Carrier (N <sub>2</sub> ) column 11 ml/min

### 9. 유리 아미노산의 분석

제조한 Koumiss에서 1 ml를 취한 다음, 여기에 6N-HCl 10 ml를 첨가한다. 이것을 20 ml wheaton vial에 넣고 질소 가스로 충전시킨 후 밀봉한다. 이것을 145°C에서 4시간 동안 산으로 가수분해시킨 후, 실온에서 냉각시켰다. 원형 플라스크에 방냉한 시료를 5 ml를 취한 후, 감압 증발시킨 후 건조시켰다. 그 후 loading buffer 5 ml로 mass up시킨 후, filter(GELMAN 0.45 μm, USA)로 여과시켰다. 이것을 Amino Acid Analyzer의 전처리 시료로 하였으며, Pharmacia LKB amino acid analyzer alpha plus(Series II, USA)와 integrator는 LKB Bromma 2221 integration(Pharmacia, USA)을 사용하여 분석하였다(Table 2).

### 10. 휘발성 유리지방산의 분석

휘발성 유리지방산의 측정을 위한 전처리는 Deeth 등(1983)의 방법으로 다음과 같이 실시하였다. 시료 5 g에 에틸에테르 5 ml를 첨가하고, 여기에 4N 황산 0.5 ml를 첨가한 후 잘 혼합

**Table 2. Operating conditions of amino acid analyzer**

Items	Conditions
Column	Cation exchanger pH 3.20 sodium citrate(0.2 N), pH 4.25 sodium citrate(0.2 N), pH 6.45 sodium citrate(1.2 N), pH 10.0 sodium citrate(0.4 N)
Mobile phase	
Buffer flow rate	35 ml/hr
Ninhydrin flow rate	25 ml/hr
Operating temp.	50~85°C
Chart speed	0.5 min/min
Reaction coil temp.	135°C

**Table 3. Operating conditions of gas liquid chromatography**

Items	Conditions
Column	Nukol(15 M×0.53×0.50 μm)
Carrier gas	N <sub>2</sub> , 2 ml/min
Auxillary gas	N <sub>2</sub> , 58 ml/min
H <sub>2</sub>	30 ml/min
Air	300 ml/min
Detector	HD (250°C)
Injector	250°C
Split ratio	10:1
Injection volume	1 μl
Purge on time	0.5 min
Oven temperature	110°C, 10°C/min heat up to 220°C
Calibration method	External standardization

하고 무수황산나트륨을 10 g을 첨가하고 2시간을 방치하였다. 여기에 5 ml의 핵산을 첨가한 후 2,000 g으로 5분간 원심 분리(JA-21, Beckman, USA)하여 유기용매층을 수집하였다. 이 용액을 1 g의 알루미늄이 들어 있는 칼럼에 통과시켜 지방산과 지방을 흡착시키고, 다시 5 ml의 핵산-에틸에테르(1:1, v/v) 용액으로 2번 세척하여 지방을 제거하였으며, 알루미늄층을 진공펌프로 건조시키고 알루미늄을 회수한 후 1 ml의 이소프로필에테르(6% 개미산을 함유)(Sigma, USA)를 첨가하여 지방산을 수집하였다. 지방산 측정을 위한 가스크로마토그래피의 조건은 Table 3과 같다.

### 11. 무기질의 분석

시료의 전처리에는 AOAC(1995)에 준하여 건식회화법으로 전처리를 하였다. 시료 10 g을 정확히 회화 용기에 취하여 탄화시킨 후 550°C의 온도에서 6시간 이상 가열아형 백색의 회분이 될 때까지 회화시켰다. 이 회분을 방냉 후, 주의하여 물로 적신 후 염산(중금속 측정용) 용액(1→2) 10 ml를 가해 수욕상에서 완전히 증발 건조시키고, 이 건조물에 염산용액(1→4) 10 ml를 가해 가열 후 100 ml volumetric flask의 100 ml 표선에 정확히 mass up하였다. 공 시험용액(blank)에 대해서도 3차 증류수로 같은 조작을 하여 시험용액을 보정하였다. 분석기기는 ICP(Inductively Coupled Plasma) Emission Spectro Analyzer(JY38 SISA, Jobin Yvon, France), Carrier gas는 Argon(순도 99.999%), 표준용액은 l 당 100 mg을 함유한 각 원소

의 ICP 분석용 표준원액을 증류수로 희석한 표준용액을 사용하였다(Table 4).

### 12. 관능검사

관능검사는 Bodyfelt FW(1988)의 방법을 이용하여, 풍미(flavor/taste), 조직(body/texture), 외관(appearance/color)의 3가지 항목을 설정하여 시료의 온도를 일정하게 유지시키면서 관능검사를 실시하였다. 이때 제품의 선택 시 가장 중요한 요소인 flavor/taste는 더 세분화해서 평가하기 위해서 최저 1점에서 최고 10점까지로 하였으며, 다른 평가항목인 body/texture와 appearance/color는 1점에서 최고 5점까지의 범위로 설정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 일반성분 분석

제조된 Koumiss의 지방, 단백질, 유당, 적정산도, pH의 함량은 Table 5와 같다. 지방 함량은 유청 분말의 농도가 많을수록 지방은 증가하는데, 이는 Cha 등(1997)의 보고와 일치하고, 단백질은 유청 분말을 첨가하지 않았을 때 3.08%, 2% 첨가시에는 3.64%, 4% 첨가시에는 3.88%, 6% 첨가시에는 4.21%, 8%첨가시에는 4.38%이며, 유당 함량은 3.08%, 4.73%, 5.75%, 6.55%, 7.42%로 유청 분말의 첨가 농도가 많을수록 증가하였다. 적정산도(TA)는 11.10~13.40%로 증가하며, pH 또한 3.76~3.89로 많은 차이는 나지 않았다.

Table 4. Operating conditions of ICP emission spectro analyzer

Items	Ca	P	Mg	Na	K	Fe
Wavelength spectrum(nm)	393.4	213.6	279.6	589.0	766.5	238.2
Line gas pressure(psi)	75	75	75	75	75	75
Coolant gas flow rate( l /min)	12	12	12	12	12	12
Nebulizer						
Sample gas pressure(bar)	3.35	3.35	3.35	3.35	3.35	3.35
Carrier gas flow rate( l /min)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Pump rate(ml/min)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Integration period(sec)	10	10	10	10	10	10

Table 5. The composition of Korean-type Koumiss manufactured at different addition level of whey powder (Unit: %)

	A	B	C	D	E
Fat	0.74 <sup>e</sup>	1.14 <sup>d</sup>	1.57 <sup>c</sup>	2.00 <sup>b</sup>	2.30 <sup>a</sup>
Protein	2.95 <sup>c</sup>	3.66 <sup>d</sup>	3.87 <sup>c</sup>	4.22 <sup>b</sup>	4.39 <sup>a</sup>
Lactose	3.10 <sup>c</sup>	4.74 <sup>d</sup>	5.78 <sup>c</sup>	6.59 <sup>b</sup>	7.43 <sup>a</sup>
Titrate acidity	11.10 <sup>c</sup>	12.43 <sup>b</sup>	12.26 <sup>b</sup>	13.20 <sup>ab</sup>	13.40 <sup>a</sup>
pH	3.76 <sup>c</sup>	3.78 <sup>b</sup>	3.81 <sup>b</sup>	3.83 <sup>b</sup>	3.91 <sup>a</sup>

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%, <sup>a-c</sup> Different superscripts in row are significantly different( $p < 0.05$ ).

**Table 6. The lactic acid bacteria and yeast of Korean-type Koumiss manufactured at different addition level of whey powder**

	A	B	C	D	E
Lactic acid bacteria( $10^9$ cfu/ml)	2.4 <sup>a</sup>	2.7 <sup>b</sup>	3.1 <sup>c</sup>	3.4 <sup>d</sup>	3.8 <sup>e</sup>
Yeast( $10^7$ cfu/ml)	6.1 <sup>a</sup>	8.6 <sup>b</sup>	10.8 <sup>c</sup>	12.7 <sup>d</sup>	16.5 <sup>e</sup>

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%, <sup>a-e</sup> Different superscripts in row are significantly different( $p < 0.05$ ).

**2. 유산균수 및 효모수의 측정**

유청 분말의 첨가량에 따라 제조한 Koumiss에서 측정된 유산균수 및 효모수는 Table 6과 같다. 유산균수는 유청 분말의 농도가 증가할수록 점진적으로 증가하였는데, 0%는  $2.4 \times 10^9$  cfu/ml, 2%는  $2.7 \times 10^9$  cfu/ml, 4%는  $3.1 \times 10^9$  cfu/ml, 6%는  $3.4 \times 10^9$  cfu/ml, 8%는  $3.8 \times 10^9$  cfu/ml로 나타났으며, 효모수는 0%는  $6.1 \times 10^7$  cfu/ml, 2%는  $8.6 \times 10^7$  cfu/ml, 4%는  $1.08 \times 10^8$  cfu/ml, 6%는  $1.27 \times 10^8$  cfu/ml, 8%는  $1.65 \times 10^8$  cfu/ml로 유산균수 보다는 대체적으로 적었지만, 유청 분말의 농도가 증가할수록 유산균수에 비해 더 높은 증가율을 나타냈다(Table 6).

**3. 알코올 측정**

Cha 등(1997)은 Alma Ata에서 수입한 Koumiss의 알코올 함량을 평균 1.08%로 보고하였다. 본 실험에서 측정된 알코올 함량은 유청 분말 8% 첨가시에 평균 1.313%로 높게 나타났다(Table 7, Fig. 1). 그러나 Nakanishi T(1967)가 보고한 평균치인 1.66%보다는 약간 낮은 것으로 나타났다. 본 실험의 결과 유청 분말 농도에 따른 알코올의 함량은 점진적으로 증가하였으나, 단 유청 분말 4% 첨가시에는 알코올 함량이 약간 감소하는 경향을 보였지만 대조구와 비교해서는 증가의 추세를 보였다(Table 7).

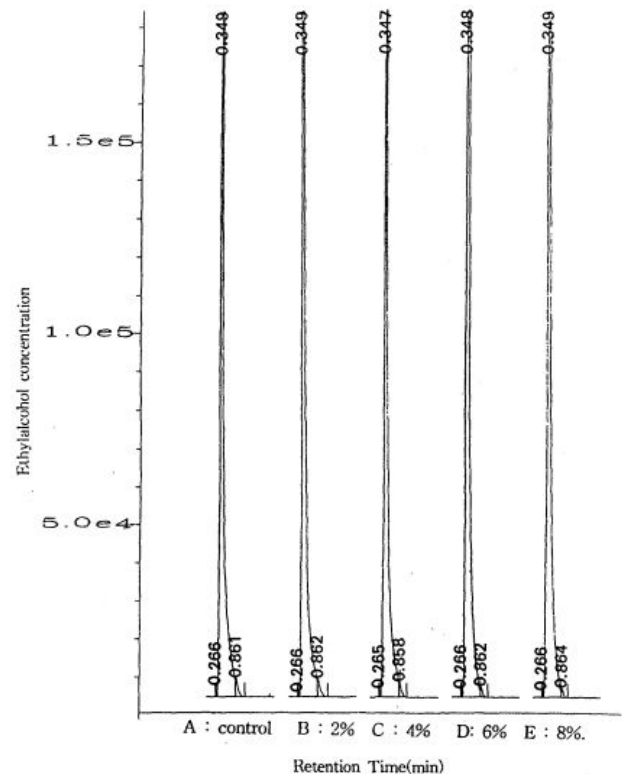
**4. 유리 아미노산의 분석**

Koumiss의 유리아미노산을 분석해 본 결과, 모두 16종의 아미노산이 검출되었다(Table 8). 검출된 16개의 아미노산 중에서 glycine, histidine은 낮은 수치를 나타냈으며, 반면에 glutamic acid, proline, aspartic acid, leucine은 비교적 높은 함량이었다. 또한 유청 분말의 농도가 높아짐에 따라 유리아미노산의 함량은 점진적인 증가를 보였다(Table 8).

**Table 7. Alcohol content of Korean-type Koumiss manufactured at different addition level of whey powder**

	A	B	C	D	E
Alcohol	0.863 <sup>c</sup>	0.967 <sup>c</sup>	0.890 <sup>d</sup>	1.290 <sup>b</sup>	1.313 <sup>a</sup>

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%, <sup>a-e</sup> Different superscripts in row are significantly different( $p < 0.05$ ).



**Fig. 1. Alcohol content of Korean-type Koumiss manufacture at different addition level of whey powder. A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%.**

**5. 휘발성 유리지방산의 분석**

대조구와 2%, 4%, 6% 및 8% 유청 분말을 첨가하여 제조된 한국형 Koumiss의 휘발성 유리지방산의 변화는 Table 9와 같다. 유청 분말의 첨가에 따른 유리지방산의 함량은 대체로 증가하는 경향을 보였다. 그리고 분석된 유리지방산의 조성은 초산이 가장 많이 함유되어 있었으며, 전반적으로 유청 분말의 첨가가 증가됨에 따라 생성되는 휘발성 지방산의 함량도 증가되었다. 프로피온산은 분석에서 측정되지 않아 본 연구의 시료에서는 존재하지 않는 것으로 사료되었고, 낙산과 카프론산은 유청 분말의 첨가가 증가됨에 따라 함량이 증가하였다. 발레린산은 대조구에서 미량 측정되었으나, 다른 시험구에서는 측정되지 않았다(Table 9).

Table 8. Free amino acid content of Korean-type Koumiss manufactured at different addition level of whey powder

(Unit: mg/ml)

	A	B	C	D	E
Aspartic acid	1.49 <sup>e</sup>	2.01 <sup>d</sup>	2.31 <sup>c</sup>	2.43 <sup>b</sup>	2.66 <sup>a</sup>
Threonine	0.73 <sup>e</sup>	0.98 <sup>d</sup>	1.15 <sup>c</sup>	1.26 <sup>b</sup>	1.33 <sup>a</sup>
Serine	0.99 <sup>e</sup>	1.27 <sup>d</sup>	1.44 <sup>c</sup>	1.54 <sup>b</sup>	1.63 <sup>a</sup>
Glutamic acid	4.13 <sup>e</sup>	5.45 <sup>d</sup>	6.29 <sup>c</sup>	6.50 <sup>b</sup>	6.96 <sup>a</sup>
Proline	1.71 <sup>e</sup>	2.25 <sup>d</sup>	2.55 <sup>c</sup>	2.58 <sup>b</sup>	2.80 <sup>a</sup>
Glycine	0.38 <sup>e</sup>	0.44 <sup>d</sup>	0.55 <sup>c</sup>	0.59 <sup>b</sup>	0.64 <sup>a</sup>
Alanine	0.66 <sup>e</sup>	0.78 <sup>d</sup>	0.99 <sup>c</sup>	1.06 <sup>b</sup>	1.14 <sup>a</sup>
Valine	0.82 <sup>d</sup>	1.03 <sup>c</sup>	1.21 <sup>b</sup>	1.44 <sup>a</sup>	1.43 <sup>a</sup>
Methionine	0.52 <sup>d</sup>	0.62 <sup>c</sup>	0.74 <sup>b</sup>	0.75 <sup>b</sup>	0.80 <sup>a</sup>
Isoleucine	0.56 <sup>d</sup>	0.68 <sup>c</sup>	0.99 <sup>b</sup>	1.10 <sup>a</sup>	0.97 <sup>b</sup>
Leucine	1.51 <sup>e</sup>	1.98 <sup>d</sup>	2.47 <sup>c</sup>	2.26 <sup>b</sup>	2.62 <sup>a</sup>
Tyrosine	0.71 <sup>e</sup>	1.01 <sup>d</sup>	1.29 <sup>c</sup>	1.12 <sup>b</sup>	1.03 <sup>a</sup>
Phenylalanine	0.81 <sup>d</sup>	1.07 <sup>c</sup>	1.27 <sup>b</sup>	1.30 <sup>a</sup>	1.32 <sup>a</sup>
Histidine	0.42 <sup>d</sup>	0.52 <sup>c</sup>	0.62 <sup>b</sup>	0.67 <sup>a</sup>	0.65 <sup>a</sup>
Lysine	1.38 <sup>d</sup>	1.74 <sup>c</sup>	2.07 <sup>b</sup>	2.31 <sup>a</sup>	2.31 <sup>a</sup>
Arginine	0.55 <sup>e</sup>	0.71 <sup>d</sup>	0.84 <sup>c</sup>	0.92 <sup>b</sup>	0.87 <sup>a</sup>

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%, <sup>a-c</sup> Different superscripts in row are significantly different( $p < 0.05$ ).

Table 9. The volatile free fatty acid contents of Korean-type Koumiss manufactured at different addition level of whey powder

(Unit:  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ )

Sample	A	B	C	D	E
Fatty acid					
Acetic acid	12,661	13,566	14,157	15,321	37,140
Propionic acid	-	-	-	-	-
Butyric acid	-	519	1,193	1,321	1,950
Valeric acid	22	-	-	-	-
Capronic acid	177	436	580	454	812

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%.

## 6. 무기물의 분석

### 1) Calcium(Ca)

Ca은 인체 내에 가장 많이 존재하는 무기질로서 99%가 인산칼슘, 탄산칼슘으로 골격 및 치아의 경조직 중에 있고, 나머지 1%는 혈액, 근육 중에 존재한다. Ca은 골격을 형성하고 혈액응고에 관여하며, 근육의 수축 작용, 신경의 흥분 및 자극 전달 등의 중요한 생리적 기능을 유지, 수행한다(Ascherio 등 1998; Iso 등 1999). Ca을 아무리 많이 섭취한다고 할지라도 유기물질과 결합하여 흡수되지 못하는 형태로 존재하는 경우는 그 흡수율이 좋지 않으나 유제품 중의 Ca은 그 함유량이 많을 뿐만 아니라 흡수되기 쉬운 형태로 존재한다(Chung 1988). Koumiss

내에 Ca의 함량 또한 유청 분말의 농도에 따라서 점진적으로 증가를 보이는데, 이는 요구르트의 평균 함량인 546.4 ppm(Park SO 1994)보다 2~3배 정도나 많은 1,042.38~1,535.12 ppm이다(Table 10).

### 2) Phosphorous(P)

인체에 함유된 P의 약 85%는 Ca과 결합하여 골격을 형성한다. P는 Ca과 더불어 인체에 뼈대를 구성하는 주요성분으로 뼈와 치아를 형성하고, 혈액 응고, 심장 박동 유지 등의 기능을 담당하며, 부족한 경우에는 뼈의 연화증을 유발한다(Iso 등 1999). Koumiss에서 P의 함량 또한 유청 분말의 농도가 높을수록 증가했다. 보통 우유 중 P의 함량이 800~1,000 ppm(Park SO 1994) 정도인데 비해, Koumiss는 863.61~1,336.71 ppm으로 우유보다

**Table 10. The mineral contents of Korean-type Koumiss manufactured at different level addition of whey powder**  
(Unit: ppm)

	A	B	C	D	E
Ca	1,042.38 <sup>c</sup>	1,160.46 <sup>bc</sup>	1,141.35 <sup>bc</sup>	1,395.50 <sup>ab</sup>	1,535.12 <sup>a</sup>
P	863.51 <sup>c</sup>	935.21 <sup>c</sup>	961.84 <sup>c</sup>	1,143.20 <sup>b</sup>	1,336.71 <sup>a</sup>
Mg	101.28 <sup>c</sup>	107.61 <sup>c</sup>	110.93 <sup>c</sup>	137.60 <sup>b</sup>	162.44 <sup>a</sup>
Na	447.19 <sup>e</sup>	522.34 <sup>d</sup>	641.17 <sup>c</sup>	836.25 <sup>b</sup>	1,001.57 <sup>a</sup>
K	1,266.39 <sup>e</sup>	1,521.56 <sup>d</sup>	1,707.74 <sup>c</sup>	2,109.71 <sup>b</sup>	2,109.71 <sup>a</sup>

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%, <sup>a-c</sup> Different superscripts in row are significantly different( $p < 0.05$ ).

는 약간 높았으며, 시판 중인 요구르트의 P 함량 306.6~337.1 ppm (Park SO 1994)보다는 최고 4배 이상 높게 나타났다(Table 10).

### 3) Magnesium(Mg)

Mg의 주요기능은 체내의 뼈나 조직에서 호르몬, 효소 등의 일부분이 되거나 이것들과 결합하여 광범위한 역할을 한다. 인체 내 함유된 Mg은 골격조직 중에 존재하며, 나머지 30~40%는 연조직 및 체액에 존재한다(Ascherio 등 1998; Iso 등 1999). 특히, 연조직은 신경근육자극, 인산염 전달반응을 비롯하여 각종 효소의 활성화에 관여할 뿐만 아니라 지방과 단백질 대사에도 핵심적인 역할을 하는 것으로 알려져 연조직의 구성요소로서 매우 중요하다. Koumiss 내 Mg 함량은 101.28~162.44 ppm으로 우유 101.7 ppm과 거의 비슷한 수준이며, 요구르트의 평균값 45.5 ppm(Park SO 1994)보다는 최고 3.5배 이상 높게 나타났다(Table 10).

### 4) Sodium(Na)

Na는 NaCl의 형태로 인체 내에 섭취되고 있으며, 그 양이 과다하면 배설이 증가하고, 적으면 감소한다. 이러한 작용으로 체내의 보유량은 일정량으로 유지되어 있다. Na은 대부분이 세포외액 중에 있으며, 산, 알칼리 평형 및 세포의 삼투압을 유지하는 역할을 한다. 조직에 Na이 이상하게 증가하면 삼투압 관계로 수분도 증가하고 수종상태가 되어 심장병이 되기도 한다. 그러나 식염을 너무 제한하면 식욕의 감퇴와 두통 및 작업 의욕의 저하 등이 일어난다(Kang SJ 1987). Koumiss의 Na 또한 유청 분말의 농도가 증가할수록 점차적으로 증가하였는데, 0%는 447.19 ppm, 2%는 522.34 ppm, 4%는 641.17

ppm, 6%는 836.25 ppm, 8%는 1,001.57 ppm으로 나타났다. 이는 시유의 평균값인 703.5 ppm과 비슷하였고, 요구르트의 평균값 234.9 ppm(Park SO 1994)보다는 월등히 높았다(Table 10).

### 5) Potassium(K)

K은 Na과 대조적으로 세포내액에 존재하며, Na과 같이 산, 알칼리 평형과 세포의 삼투압을 조절하고, 근육의 수축과 신경의 자극전달에 관여한다(Kang SJ 1987). Koumiss의 K의 경우도 유청 분말의 농도에 비례하여 증가하였는데, 1,266.39에서 2,613.93 ppm으로 0%에서 보다 8%에서 2배 이상 증가하였다. 이는 시유(market milk)의 평균값 1,023.7 ppm보다 훨씬 높았고, 치즈의 평균값 1,202.5 ppm보다도 높았으며, 요구르트의 평균값 312 ppm (Park 1994)보다도 최고 8배 이상 높게 나타났다(Table 10).

### 7. 관능검사

본 실험에서 실시한 Scoring test를 이용한 관능검사 결과는 Table 11과 같았다. 관능검사 결과, E가 가장 높은 점수를 얻었으며, 다음으로 D, C, B, A 순으로 나타났다. 즉, 유청 분말의 농도가 증가함에 따라 전체적인 관능검사의 평가는 점차적으로 높아지는 경향을 나타냈다. 풍미에서는 유청 분말의 농도가 증가함에 따라 점수가 높아졌고, 반면, 조직에서는 유청 분말을 첨가하지 않은 것이 높은 점수를 얻었다. 외관은 각 시료 간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다(Table 11).

## 요 약

본 연구는 효모 *Kluyveromyces fragilis*와 유산균 *Streptococcus*

**Table 11. The sensory evaluation of Korean-type Koumiss manufactured at different addition level of whey powder**

	A	B	C	D	E
Flavor and taste(1 to 10)	6.3	6.9	7.1	7.7	8.2
Body and texture(1 to 5)	4.2	3.9	3.8	3.8	3.7
Appearance and color(1 to 5)	3.9	4.0	3.8	3.9	3.9

A: 0% addition of whey powder, B: 2%, C: 4%, D: 6%, and E: 8%.

*thermophiles*, *Lactobacillus bulgaricus*의 starter를 유청 분말(대조구: A, 2%; B, 4%; C, 6%; D, 8%; E)이 첨가된 탈지분유에 혼합 접종하여 한국형 Koumiss를 제조하였다. 이 제품의 지방, 단백질, 유당, 적정산도, pH, 생균수, 알코올 함량, 휘발성 지방산, 휘발성 유리아미노산 및 무기물을 측정하였다. 그 결과는 다음과 같았다. 유청 분말의 농도에 따라 지방 함량은 대조구 0.74%, B는 1.14%, C는 1.57%, D는 2.00%, E는 2.30%로 증가하였고, 단백질함량은 대조구 2.95%, B는 3.66%, C는 3.87%, D는 4.22%, E는 4.39%로 증가했으며, 유당 함량은 대조구 3.10%, B는 4.74%, C는 5.78%, D는 6.59%, E는 7.43%로 증가하였다. 농도에 따라 적정산도 및 pH도 점진적인 증가를 보였다. 유산균의 경우 유청 분말의 농도가 높을수록 증가하였는데, 대조구는  $2.4 \times 10^9$  cfu/ml, B는  $2.7 \times 10^9$  cfu/ml, C는  $3.1 \times 10^9$  cfu/ml, D는  $3.4 \times 10^9$  cfu/ml, E는  $3.8 \times 10^9$  cfu/ml로 검출되었고, 효모수는 유청 분말의 농도에 따라 대조구는  $6.1 \times 10^7$  cfu/ml, B는  $8.6 \times 10^7$  cfu/ml, C는  $1.08 \times 10^8$  cfu/ml, D는  $1.27 \times 10^8$  cfu/ml, E는  $1.65 \times 10^8$  cfu/ml로 역시 증가하였다. 알코올 함량은 대조구의 평균이 0.863%, B의 평균은 0.963%, C의 평균은 0.890%, D의 평균은 1.290%, E의 평균은 1.313%로 유청 분말의 농도가 높을수록 알코올 함량도 점진적으로 증가하는 경향을 보여주었다. E에서 알코올 함량 평균 1.313%는 카자흐스탄 Koumiss의 알코올 함량 평균 1.08%보다 높게 나타났다. 유리아미노산은 모두 16종의 아미노산이 검출되었다. Glycine은 대조구에서 0.38 mg/ml로 E에서는 0.64 mg/ml로 유청 분말 농도에 따라 높아졌으며, histidine도 대조구가 0.42 mg/ml에서 E는 0.65 mg/ml로 높아졌다. 반면에 glutamic acid는 대조구가 4.13 mg/ml에서 E가 6.96 mg/ml로 함량이 높아졌으며, proline도 대조구가 1.71 mg/ml에서 E가 2.80 mg/ml로 높아졌다. Aspartic acid, leucine도 대조구보다 E가 더 많이 함유된 것으로 나타났다. 휘발성 유리지방산의 경우에서도 대조구와 B, C, D, E의 휘발성 유리지방산의 함량이 대체로 증가하는 경향을 보여주었고, 초산은 대조구의 함량이 12,661  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 이었고, E에서는 37,140  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 로 증가하였다. 낙산은 대조구에서는 측정되지 않았고, E에서 1,950  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 로 측정되었으며, 가프른산에서는 대조구가 177  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 이었고, E에서는 812  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 로 함량이 증가하였다. 발레린산은 대조구에서 22  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 로 미량 측정되었으나, 다른 시험구에서는 측정되지 않았다. 무기물 Ca, P, Mg, Na, K의 각각의 성분은 Ca의 경우 대조구가 1,042.38 ppm에서 E는 1,535.12 ppm으로, P의 경우 대조구가 863.61 ppm에서 E는 1,336.71 ppm으로, Mg의 경우 대조구가 101.28 ppm에서 E는 162.44 ppm으로, Na의 경우 대조구가 447.19 ppm에서 E는 1,001.57 ppm으로, K의 경우 대조구가 1,266.39 ppm에서 E는 2,613.93 ppm으로 유청 분말의 함량이 높을수록 무기물 또한 증가하는 것으로 나타났

다. 관능검사는 유청 분말의 첨가가 많을수록 전반적으로 점수가 높음을 보여주었다. 풍미는 대조구가 6.3점으로 가장 낮았고, E는 8.2점으로 가장 높았다. 조직은 유청 분말을 첨가하지 않은 대조구가 4.2점으로 가장 높게 나타났고, 외관은 시험구들 사이에 별 차이를 보이지 않았다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007195) 지원에 의해 이루어졌으며, 천정환과 현지연은 2010년도 두 뇌한국 21사업의 지원을 받아 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- Amerine, MA, Berg HW, Cruess WW. 1967. The Technology of Wine Making. 3rd ed. p.76. AVI Company Inc.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 13th ed. pp.125-132. The Association of Official Analytical Chemists
- APHA. 1993. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. pp.100-105. American Public Health Association
- Ascherio A, Rimm EB, Hernán MA, Giovannucci EL, Kawachi I, Stampfer MJ, Willett WC. 1998. Intake of potassium, magnesium, calcium, and fiber and risk of stroke among US men. *Circulation* 98:1198-1204
- Baek YJ. 1993. Lactic acid bacteria and human health. *Korean J Food & Nutrition* 6:53-65
- Bodyfelt FW, Tobias J, Trout GM. 1988. The Sensory Evaluation of Dairy Products. p.598. Van Nortand Reinhold
- Cha KJ, Kim YS, Li YK, Song JO, Jo HC, Lee KB, Kim YH, Lee JL, Lee KY, Yu JH. 1997. Studies on the characteristics of Koumiss made from skim milk powder by yeast isolated from Kazakhstan Koumiss. *Korean J Food Sci Ani Resour* 17:155-161
- Chen Y, Wang Z, Chen X, Liu Y, Zhang H, Sun T. 2010. Identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from Koumiss, a traditional fermented mare's milk. *J Dairy Sci* 93:884-892.
- Cho CH, Lee MS, Ko MS, Kim CH, Han SH. 1994. Studies on the characteristics of alcohol fermented milk from whey. *Korean J Food Sci Resour* 14:41-46
- Chung SY. 1988. Nutrient function and metabolism of calcium. *Food & Nutr* 9:12-16
- Deeth HC, Fitz-Gerald CH, Snow AJ, 1983. A gas chromatographic



- method for the quantitative determination of free fatty acid in milk and milk products. *New Zealand J Dairy Sci Technol* 18:13-20
- Engel ER. 1952. Improvements in or relating to a process of producing an alcoholic beverage and a solid residuum from whey. British Patent 669894
- Engel ER. 1984. Fermenting whey. US Patent 2449064
- Fedechko IM, Hrytsko RIu, Herasun BA. 1995. The anti-immuno-depressive action of koumiss made from cow's milk. *Lik Sprava* Sep-Dec:104-106
- Ham JS, In YM, Jeong SG, Kim DW, Kim HB, Kim YK, Ahn YT, Kim HU. 2000. Goat milk Koumiss and lactic acid production of Candida Kefir. *J Korean Dairy Technol Sci* 18:151-163
- Holsinger VH, Posati LP, Devilbuss ED. 1974. Whey beverages, A review. *J Dairy Sci* 57:849-859
- Iso H, Meir J, Stampfer MJ, Manson JE, Rexrode K, Hennekens CH, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC. 1999. Prospective study of calcium, potassium, and magnesium intake and risk of stroke in women. *Stroke* 30:1772-1779
- Kang SJ. 1987. Nutrition. pp.151-171. Hyungsul Publishing Co. LTD
- Kim DS. 1982. Effects of Koumiss for pulmonary tuberculosis. *Korean J Dairy Sci* 4:197-201
- Kim JW. 1981. Studies on the manufacturing of alcohol fermented milk beverage. *Research Reports of Agricultural Science and Technology-Chungnam University* 8:171-178
- Kosikowski F. 1982. Cheese and Fermented Milk Food. 2nd ed. pp.42-46. Edwards Brothers Inc.
- Kucukcetin A, Yaygin H, Hinrichs J, Kulozik U. 2003. Adaptation of bovine milk towards mares' milk composition by means of membrane technology for Koumiss manufacture. *Int'l Dairy J* 13:945-951
- Lang F, Lang A. 1970. A study of Koumiss manufacture as a potential new outlet for milk. *The Milk Industry* 67:22-25
- Lang F, Lang A. 1973. Cultured milk products. *Food Manuf* 48:23-28
- Lee JK, Song KY, Chon JW, Hyeon JY, Seo KH. 2010. Physicochemical properties of Kefir as dietary supplementary for curing the diabetic mouse. *Korean J Food & Nutrition* 23:462-469
- Liu SN, Han Y, Zhou ZJ. 2011. Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese food. *Rood Research Int'l* 44:643-651
- Lodder T. 1970. The Yeasts. 1<sup>st</sup> ed. North-Holland Publishing Co.
- Nakanishi T. 1967. The Microbiology of Milk and Milk Products. pp.156-157. Earth Publishing Co. LTD.
- Oberman H. 1985. Microbiology of Fermented Foods. pp.167-195. Elsevier Applied Science Publishers
- Ochi T, Nakanishi T. 1976. Basic research on the manufacture of ethanol-fermented milk beverages. VI. Volatile carbonyl compounds in the various alcohol fermented skim-milk. *Jpn J Dairy Sci* 24:A121-A126
- Ollson G. 1981. Kefir a miracle of nature. *Lives medelsteknik* 23:428-429
- Pan DD, Zeng XQ, Yan YT. 2011. Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *J Sci Food Agric* 91:512-518
- Park SO. 1994. Studies on the content of minerals and heavy metals in milk and milk products. Master degree thesis, Konkuk University
- Pastukhova ZM, Gerbeda VV. 1982. Comparative lipid composition of mare's milk and a Koumiss mixture prepared with cow's milk. *Vopr Pitan* Jan-Feb:34-36
- Puhan Z, Gallman P. 1980. Ultrafiltration in the manufacture of Koumiss and Quark. *Cult Dairy Prod J* 15:12-16
- Roland JF, Alm WL. 1975. Wine fermentations using mimbane processed hydrolyzed whey. *Biotechnol Bioeng* 17:1443-1453
- Schulz ME, Fackelmeier K. 1948. Fermented beverages from plant extracts and whey. *Milchwissenschaft* 3:165-174
- Urbanski Z. 1966. Manufacture of milk beverages. *Dairy Sci Abst* 33:3940
- Vajdi M, Pereira RR. 1973. The feasibility of whey utilization for the production of various drinks. *Mod Dairy* 52:14
- Yoo JT, Kim TA. 1982. Studies on the production of alcohol fermented milk. *J Food Sci Technol* 10:337-343
- Yoon, CH, An SI, Jeong AR, Han SE, Kim MH, Lee CW. 2010. Characteristics of whey protein(WPC-30) hydrolysate from cheese whey. *Korean J Ani Sci Technol* 52:435-440
- Zhang W, Yu D, Sun Z, Wu R, Chen X, Chen W, Meng H, Hu S, Zhang H. 2010. Complete genome sequence of *Lactobacillus casei* Zhang, a new probiotic strain isolated from traditional homemade Koumiss in Inner Mongolia, China. *J Bacteriol* 192:5268-5269