

Kefir에서 분리한 *Streptococcus thermophilus* LFG를 이용한 우유 및 산양유 요구르트의 품질 특성

임영순 · 이시경*

건국대학교 생명자원식품공학과

Characteristics of Cow Milk and Goat Milk Yogurts Fermented by *Streptococcus thermophilus* LFG Isolated from Kefir

Young-Soon Lim and Si-Kyung Lee*

Department of Bioresources and Food Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the characteristics of goat and cow milk yogurts containing high-exopolysaccharide fermented by *Streptococcus thermophilus* LFG isolated from kefir. The pH of cow milk yogurt was higher than that of goat milk yogurt. The contents of lactic acid was greater in goat milk yogurt (743.9-1043.8 mg/100 g) than in cow milk yogurt (441.6-709.9 mg/100 g). The numbers of survival lactic acid bacteria were the greatest in goat milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG. Viscosity was greater in cow and goat milk yogurts cultured by *Str. thermophilus* LFG than in yogurts by *Str. thermophilus* TH3. Syneresis of yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG was 9.6-16.1% and 28.2-31.8% in yogurt fermented by *Str. thermophilus* TH3 after 10 d storage at 4°C. Flavor compounds identified from goat milk were acetone, ethylbutanoate, ethyl-3-methylbutyrate, ethyl-2-butenate and ethylhexanoate, and those from cow milk were ethylbutanoate, acetone, 2-heptanone and acetoin. Flavor compounds detected from goat milk and cow milk yogurts were acetic acid, butanoic acid, butanol, diethylcarbinol, acetone, diacetyl, decane, 2-methyl-3-pentanone, hexanal, 2-heptanone, acetoin, benzaldehyde, dimethyldisulfide, and dimethyltrisulfide. In sensory evaluation, overall preference and texture values were higher in goat milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG than in cow milk yogurts and the yogurt fermented by mixed culture resulted in the highest score.

Key words: *Streptococcus thermophilus* LFG, goat milk, exopolysaccharide, yogurt characteristics

서 론

요구르트의 물성 중 유청분리 현상은 대표적인 외관적 품질저하 요인이다. 이러한 문제를 예방하기 위하여 증점제나 고형분 원료가 보충되고 있는 실정인데, 안정제 등을 사용하지 않은 천연제품을 선호하는 소비자 성향에 부합될 수 있는 개선책이 요구되고 있다. 유산균에 의해 생성된 exopolysaccharide(EPS)는 유제품의 점도, 안정성, 보습력 등에 작용하여(Duboc and Mollet, 2001), 발효유의 점도를 증가시키고 유산균과 유단백질을 결합시켜 발효유제품의 결점인 유청분리 현상을 완화시켜주며, 제품에 천연 타도를 주고, 제조공정 중에 초래되는 물리적 충격 등에 대한

물성변화를 최소화하여 안정하게 유지시켜 준다(Schellhaass, 1983). 또한 항암작용, 항 레양작용, 면역증강작용 및 콜레스테롤 저하의 활성을 높이는데 기여하거나 probiotics로서 인체건강에 유익한 가능성이 있다(Ruas-Madiedo *et al.*, 2002). 이와 같이 유산균이 생성하는 EPS가 식용다당류로서 다양한 용도의 가능성 때문에 EPS를 생성하는 유산균에 대한 관심이 점차 높아지고 있다(Dick *et al.*, 1995). Kang 등(2005)은 EPS를 생성하는 *Streptococcus thermophilus* St-Body 1로 stirred 요구르트를 제조하여 특성을 연구한 결과 40°C보다는 37°C에서 더 많은 EPS를 생성하였고, 가장 적은 syneresis와 우수한 관능특성을 보였다고 하였다. 이에 비하여 Lim 등(2008a)에 의해 kefir에서 분리된 고점성 균주인 *Str. thermophilus* LFG는 일반적으로 미생물의 증식속도가 빠른 고온조건인 40-45°C에서 최적 성장온도를 보였으며, 저온에서 보다 고온조건에서 다당체를 많이 생성하였다고 하였다(Lim and Lee, 2009).

*Corresponding author: Si-Kyung Lee, Department of Bioresources and Food Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-450-3759, Fax: 82-2-450-3726, E-mail: lesikyung@konkuk.ac.kr

산양유는 영양학적인 측면에서 단백질 구조가 모유의 단백질 구조와 가장 유사하여 우유 알러지를 유발하는 어린이에게 대체유제품으로 적합하고(Haenlein, 1995; Haenlein, 2004), 산성화에 의해서 만들어진 gel도 부드러우며, 응집 시 우유보다 연질 커드를 형성하여 케양식이 요법으로 유용하다. 이와 같은 특징들은 위 내 소화효소의 작용이 용이하여 소화 흡수율이 높다는 것을 의미한다. 또한 지방구의 입자 크기도 작아 소화가 용이한 특성을 가진다(Jenness, 1980). 하지만 산양유 특유의 가지사슬 구조를 가진 휘발성 지방산이 이취로 작용하여 소비자 기호도를 떨어뜨리기도 하며(Ha and Lindsay, 1993), lipase의 종류에 따라 저급 또는 고급 유리지방산의 증가율이 다르고 유리지방산 함량이 높을수록 산양유 이취가 증가된다(Lim *et al.*, 2008b).

따라서 본 연구에서는 EPS 생성량을 높인 고점성 요구르트를 개발할 목적으로 분리균인 *Str. thermophilus* LFG (Lim *et al.*, 2008a)와 상업균주 *Str. thermophilus* TH3 및 *Str. thermophilus* LFG와 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* BL12의 혼합균을 이용하여 산양유와 우유 요구르트를 제조하고, 요구르트의 유기산 정량, 저장 중 유산균 수 변화, 향기성분분석, 점도측정 및 관능평가 등을 통하여 요구르트의 품질특성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료 및 요구르트 제조

우유와 산양유 원유는 85°C에서 5분 동안 가열 살균하여 사용하였으며, starter는 산양유 kefir제품에서 분리한 *Str. thermophilus* LFG(Lim *et al.*, 2008a)와 상업용 DVS(direct vat set)로 *Str. thermophilus* TH3 및 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(Chr. Hansen, Denmark)를 사용하였으며, *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합은 4:1의 비율로 하였다. *Str. thermophilus* LFG는 MRS broth에서 활성을 높인 후 1%를 첨가하여, 이를 42°C에서 8시간 동안 배양시키면서 요구르트의 산도, pH, 유산균수를 측정하였으며, 또한 요구르트를 제조한 후 4°C에서 25일 동안 저장하면서 실험에 사용하였다.

적정산도 및 유산균수 측정

요구르트의 적정산도는 APHA방법(1978)에 따라 측정하였으며, pH는 pH meter(Model 345, Mettler Co. Ltd., UK)를 사용하여 측정하였다. 유산균수는 채취한 시료를 멸균수에 십진 희석법으로 희석한 후 BCP agar(Eiken Chemical Co. Ltd., Japan)에 0.1 mL를 접종하고 37°C에서 48시간 동안 배양하여 colony수를 계측하였다.

발효유의 점도 및 syneresis 측정

점도는 APHA방법(1978)을 응용하여 측정하였으며, 배양

이 완료된 발효유를 300 rpm으로 1-2분간 교반하여 커드를 분쇄한 후, 4°C에서 12시간 동안 저장한 것을 시료로 사용하였다. 10°C의 시료 100 mL를 취하여 Brookfield viscometer(Model DV-II, Brookfield Engineering Lab. Inc., USA), spindle No. 3을 사용하여 6 rpm에서 1분 후의 점도를 측정하고 cp(g/100 cm²sec)값으로 나타내었다. Syneresis는 Keogh 등(1998)의 방법을 응용하여 실시하였으며, 배양이 완료된 발효유 curd를 300 rpm에서 1-2분간 교반하여 emulsion을 형성시켜 50 mL 원심분리관에 30 g을 취하고, 1일 및 10일 동안 냉장보관한 후 1,500 rpm으로 4°C에서 10분간 분리하여 수거된 상등액의 중량으로 syneresis(%)를 계산하였다.

요구르트의 유기산 분석

유기산 분석은 Saidi와 Warthesen(1989)의 방법을 응용하여 HPLC system (Nanospace SI-2, Shiseido, Japan)으로 분석하였다. 발효유 5 g의 시료에 12% TCA 용액을 1 mL 첨가하고 5,000 g에서 5분 동안 원심분리한 다음 상등액을 취한 후 0.2 µm membrane filter(Sartorius AG, Gottingen, Germany)로 여과하여 분석용 시료로 전처리 하였으며, 분석조건은 Rezex RHM-Monosaccharide H+(8%)(Phenomenex, USA) column에 시료 10 µL를 주입하여 분석하였다. 분석 프로그램은 Autochro-Win 2.0 plus(Young Lin Instrument Co. Ltd., Korea)를 사용하여 정량분석 하였으며, 유기산의 표준물질은 Sigma-Aldrich사(USA) 제품을 사용하였다.

향기성분 분석

향기성분의 추출은 유기용매를 사용하지 않고 휘발성 유기물만을 추출할 수 있는 SPME(solid phase micro-extraction, Supleco, USA)를 이용한 추출방법을 사용하였다. 균질화된 시료 10 g을 250 mL headspace vial에 넣고 aluminum cap을 밀폐시켰다. 30°C 오븐에서 30분 동안 시료의 휘발성분을 휘발시켰다. 상층부에 모아진 휘발성분을 SPME의 PDMS/DVB (polydimethylsiloxane/divinylbenzene, 65 µm) fiber에 10분 동안 흡착시킨 후 GC의 injection port에 주입하여 분석하였다.

분석기기는 GC 6890N(Agilent Technologies, USA)로서 split/splitless capillary inlet system에 single taper liner를 장착하여 사용하였다. 검출기는 Quattro micro GC(Micromass Ltd., UK)를 사용하였다. Total ion chromatogram을 통한 data를 해석하기 위해 MassLynx 4.0 software(MassLynx 4.0 SCN 474, Micromass Ltd., Manchester, UK)를 사용하였고, 정성분석에는 Wiley database(2002, John Wiley & Sons, Inc.)를 사용하였다. Mass spectrometer는 PFTBA(perfluorotributyl amine)를 이용하여 69 m/z, 219 m/z, 502 m/z 및 614 m/z의 이용과 그들의 동위원소비를 측정하여 최적상태의 분리능을 나타낼 수 있도록 각각의 parameter를 조절하였

다. 측정된 mass range는 33-250 m/z로 column에서 나오는 물질을 SCAN mode를 이용하여 측정하였다. 사용된 source는 EI positive source이며, 온도는 220°C로 설정하여 사용하였다.

관능검사

요구르트의 관능검사는 제조 후 저장 5일차 냉장 제품을 이용하여 20명의 패널에 의해 texture, flavor, taste, overall preference 등을 3반복 실시하였으며, 5점 직선척도법(5점: 매우 좋음, 4점: 좋음, 3점: 보통, 2점: 나쁨, 1점: 매우 나쁨)에 준하여 평가하였다.

통계분석

본 실험에서 얻어진 결과는 MYSTAT statistical analysis program(Ver 2.0, Korea)을 이용하였으며, Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

요구르트의 pH 및 산도 변화

산양유와 우유를 이용하여 Kefir에서 분리한 *Str. thermophilus* LFG와 상업 균주 *Str. thermophilus* TH3 및 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합 균주를 starter로 하여 42°C에서 8시간 배양하는 동안의 요구르트의 pH와 적정산도 변화는 Fig. 1 및 2와 같다. 요구르트의 pH 변화는 우유 발효유의 pH가 산양유보다 다소 높았으나, starter의 종류에 따라 차이를 보였다. 배양 8시간 동안에 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 이용한 발효유의 pH는 4.54-4.58로 비교적 높았으며, 상업균주인 *Str. thermophilus* TH3를 이용한 발효유의 pH는 4.19-4.23으로 나타나 분리균주를 이용한 발효유의 pH보다 다소 낮았다. 그러나 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12와 혼합 사용한 경우 발효유의 pH가 3.91-4.01로 가장 낮았다.

발효유의 적정산도는 우유 배양 8시간 후 우유 발효유는 1.01-1.49의 범위를 보인데 비하여 산양유 발효유는 1.09-1.62의 범위로 우유 발효유에 비하여 높은 경향을 보였다. Jenness(1980)는 산양유가 우유에 비하여 단쇄 지방산과 β -casein의 함량이 높으며, 발효 시 산 생성이 빠르다고 하였다.

또한 발효유의 적정산도는 starter의 종류에 따라서도 큰 차이를 보였다. 배양 8시간 후 starter를 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 이용한 경우는 산양유 발효유가 1.09이고 우유 발효유는 1.01을 나타내었으며, 상업균주인 *Str. thermophilus* TH3를 이용한 경우는 산양유 발효유가 1.31, 우유 발효유는 1.27을 나타내어 상업균주를 이용한 발효유의 산도가 다소 높았다.

또한 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 *L. delbrueckii*

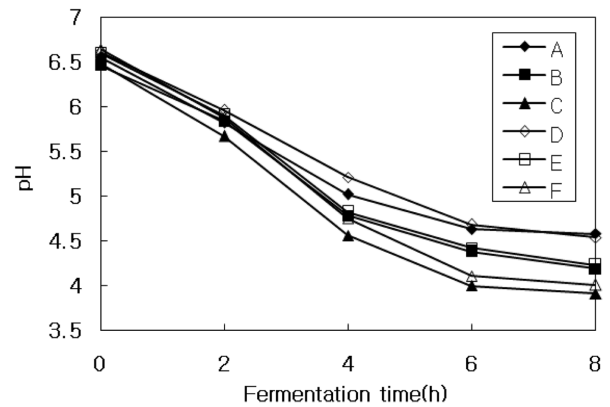


Fig. 1. pH changes of goat milk and cow milk yogurts during fermentation by different cultures. Goat milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(A), *Str. thermophilus* TH3(B), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(C). Cow milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(D), *Str. thermophilus* TH3(E), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12 (F).

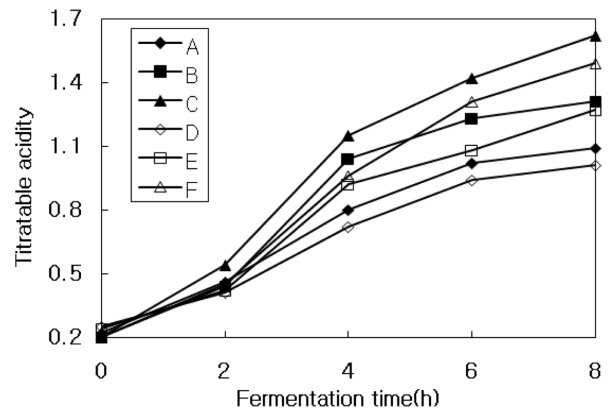


Fig. 2. Titratable acidity changes of goat milk and cow milk yogurts during fermentation by different cultures. Goat milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(A), *Str. thermophilus* TH3(B), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(C). Cow milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(D), *Str. thermophilus* TH3(E), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(F).

subsp. *bulgaricus* LB12과 병용한 경우 적정산도는 산양유 발효유가 1.62, 우유 발효유가 1.49로 나타나 혼합균주로 배양한 산양유 발효유의 산도가 가장 높았다.

요구르트 제조에 이용되는 *Str. thermophilus*와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 간에는 공생관계가 존재함이 알려져 있다. *Str. thermophilus*는 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*의 증식으로 발효물 중에 생성되는 아미노산과 peptide를 이용하여 생육이 촉진되며, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*는 *Str. thermophilus*가 생산하는 formic acid와 pyruvic acid 등에 의하여 생육이 촉진되는 공리 공생관계가 존재한다. Has-

san 등(1996)도 *Str. thermophilus* 단일 균주를 이용하여 37°C에서 16시간 발효시에 요구르트의 pH가 4.6이었으나, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*와의 복합균으로 발효한 요구르트의 경우 4.2의 결과를 보였다고 하였다. 그러나 Jeong (2004)은 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*(B5b, AY)와 *Str. thermophilus*(510, 9Y)균주를 2균주씩 선택하고 각각 조합하여 두 균종 간의 공생관계를 조사한 결과 대부분 생균수가 증가하는 공생관계가 확인되었으나, *Str. thermophilus* 510의 경우 혼합 배양시 상승효과가 없거나 오히려 생육이 저해되었다고 보고하고 조합하는 균주에 따라 적합성이 나쁜 경우도 있다고 하였다.

이상의 실험에서 우유 및 산양유를 이용하여 요구르트 제조 시에 kefir에서 분리한 *Str. thermophilus* LFG와 상업균주 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합발효가 *Str. thermophilus* LFG 균주의 단일 발효보다 빠른 산 생성을 보였다.

요구르트의 배양 및 저장 중 유산균 수 변화

원료유로 산양유와 우유를 이용하여 *Str. thermophilus* LFG, *Str. thermophilus* TH3 및 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합균주로 각각 발효시켜 제조한 요구르트의 배양중 유산균수의 변화는 Fig. 3과 같다. 스타터를 MRS broth에서 6시간 동안 배양시킨 후 1% 첨가하였으며 이때 발효유의 초기균수는 *Str. thermophilus* LFG가 1.6×10^6 CFU/mL, *Str. thermophilus* TH3는 1.1×10^6 CFU/mL이고 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12를 혼합한 복합균주는 1.8×10^6 CFU/mL였다. 그 후 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 단일균으로 이용한 경우는 발효 4시간 후에 산양유 발효유와 우유 발효유에서 각각 6.3×10^7 CFU/mL와 8.1×10^7 CFU/mL이었으며, *Str. thermophilus* TH3는 2.0×10^8 CFU/mL와 2.6×10^8 CFU/mL를, 그리고 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합균주는 6.3×10^8 CFU/mL와 8.7×10^8 CFU/mL의 범위를 보여 우유 발효유와 산양유 발효유에서 유산균수가 유사하였으나 혼합균주를 사용한 발효유에서 균의 증식이 다소 높았다. 이는 두 균주 간에 공생작용을 한 것에 기인하는 것으로 생각된다. 전체적으로는 배양 3.5-5시간 후에 1×10^8 CFU/mL 수준 이상을 보였으며, 대부분 배양 후 6시간까지 증식하였다. 배양 8시간에는 *Str. thermophilus* LFG와 *Str. thermophilus* TH3는 배양 6시간 후와 유사한 수준의 유산균수를 유지하였다.

또한 발효유의 저장기간 중(4°C) 생존하는 유산균 수를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 전체적으로 저장 5일 동안은 산양유와 우유 발효유간에는 큰 차이를 보이지 않았으며, 각 시료들은 저장 15일까지 2.0×10^8 - 8.8×10^8 CFU/mL 수준을 보여 모두 저장성이 우수하였으며, 그 중 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 단일균주로 이용한 발효유가

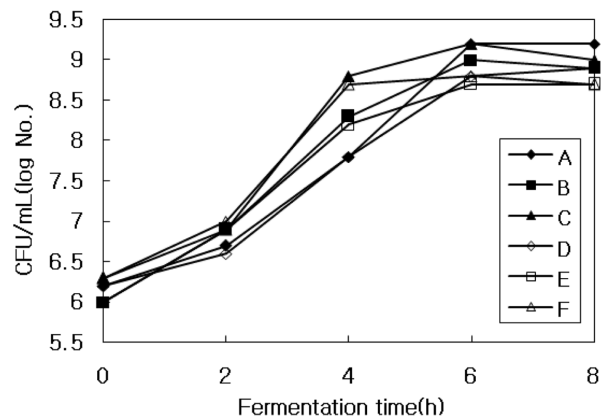


Fig. 3. Changes of lactic acid bacteria in goat milk and cow milk yogurts fermented by different cultures during fermentation at 42°C for 8 h. Goat milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(A), *Str. thermophilus* TH3(B), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(C). Cow milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(D), *Str. thermophilus* TH3(E), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(F).

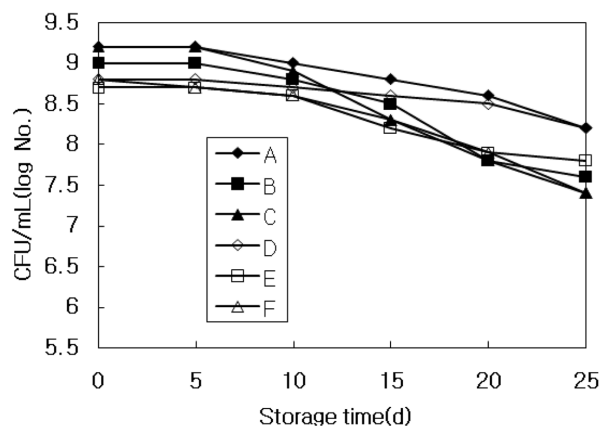


Fig. 4. Changes in viable cell counts in goat milk and cow milk yogurts fermented by different cultures during storage at 4°C. Goat milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG(A), *Str. thermophilus* TH3(B), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12 (C). Cow milk yogurt fermented by *Str. thermophilus* LFG (D), *Str. thermophilus* TH3(E), *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12(F).

가장 높은 수준의 유산균 수(8.8×10^8 CFU/mL)를 유지하였다. 이는 *Str. thermophilus* LFG에 의해 생성된 다당체가 세포 보호기능을 하는 것에 기인하는 것으로 생각된다. Ruas-Madico 등(2002)과 De Vuyst 등(2001)은 미생물에 의해 생성된 EPS는 에너지원으로 이용되는 것은 아니지만 식균작용, 항체, 독성화합물 및 삼투압스트레스 등으로부터 자신을 보호하는 작용을 한다고 하였다.

이러한 고점성 균주인 *Str. thermophilus* LFG(Lim, et al., 2008a)를 이용한 발효유의 특성은 제품 유통 시에 유산균

이 생성하는 점질 물질에 의해 유산균의 높은 생존력을 유지할 수 있어 소비자로부터 선호 받을 수 있는 제품가치의 상승이 기대된다.

발효유의 유기산 생성

생산 균주를 달리하여 산양유와 우유를 이용하여 42°C에서 8시간 동안 배양시킨 후 HPLC를 이용하여 젖산, 초산, 구연산 등의 유기산 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 표에서와 같이 산양유 발효유에서 젖산은 배양 후와 배양 전을 비교하였을 때, 그 함량이 크게 증가하여 발효 전에 118.6 mg/100 g이었으나 배양 후 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG를 사용한 발효유에서 743.9 mg/100 g, *Str. thermophilus* TH3를 사용한 발효유에서는 784.4 mg/100 g을 함유하였으며, *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12로 구성된 혼합 균주를 이용 시에는 1043.8 mg/100 g으로 8.8배의 가장 높은 생산량 증가를 보였다. 이는 두 균주의 공생작용에 의한 촉진 작용에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 우유 발효유에서도 젖산이 *Str. thermophilus* LFG를 사용한 발효유에서 441.6 mg/100 g, *Str. thermophilus* TH3를 사용한 발효유에서는 611.2 mg/100 g을 함유하였으며, 혼합균주를 이용 시에는 709.9 mg/100 g으로 4.5배의 생산량 증가를 나타내었다. 이러한 젖산의 함량은 발효유종의 젖산함량을 876 mg/100 g (Fernandez-Garcia and McGregor, 1994)과 1,455 mg/100 g (Marsili *et al.*, 1981)으로 보고한 결과들과 유사한 경향을 보였다.

Table 1. Contents of organic acids in goat milk and cow milk yogurts fermented with different lactic acid bacteria
(Unit: mg/100 g)

Treatments		Lactic acid	Acetic acid	Citric acid
Goat milk yogurt	Milk	118.6	607.1	264.8
	LFG ¹⁾	743.9	481.4	184.3
	TH3 ²⁾	784.4	440.2	175.5
	Mixed ³⁾	1043.8	558.5	136.7
Cow milk yogurt	Milk	160.5	615.0	371.2
	LFG	441.6	485.0	332.6
	TH3	611.2	346.7	489.4
	Mixed	709.9	596.9	353.8

¹⁾*Streptococcus thermophilus* LFG.

²⁾*Streptococcus thermophilus* TH3.

³⁾*Streptococcus thermophilus* LFG and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12.

이상의 실험에서 우유 발효유보다 산양유 발효유중에 젖산 함량이 높았다. 또한 starter로 혼합균주를 이용한 발효유에서 젖산의 생산이 가장 높았다.

구연산은 우유 발효유에서는 큰 변화를 보이지 않았으며, 초산의 생성도 우유 발효유 및 산양유 발효유 간에는 큰 차이가 없었다. 그러나 혼합균주를 이용한 발효유에서 *Str. thermophilus* LFG와 *Str. thermophilus* TH3를 각각 단일 균주로 사용한 경우보다 초산의 함량이 높았다. Jeong(2004)은 치즈에서 공생관계를 보이는 *Leuc. cremoris*와 *Lac. diacetylactis*는 구연산을 대사하여 CO₂, 초산과 diacetyl 등의 향미물질을 생성하고, citric acid의 대사는 배지의 pH가 낮

Table 2. Volatile compounds detected in goat milk and yogurt

(Unit: area%)

RT	Identified compound	Goat milk	Yogurt		
			LFG ¹⁾	TH3 ²⁾	Mixed ³⁾
1.92	Acetone	1.65	2.91	2.85	1.05
3.44	Diacetyl	- ⁴⁾	5.86	3.53	2.07
3.65	Decane	-	0.58	0.32	0.62
4.46	Ethylbutanoate	57.47	-	-	-
5.09	2-methyl-3-pentanone	-	7.72	12.88	22.08
5.17	Ethyl-3-methylbutyrate	8.62	-	-	-
5.27	Dimethyldisulfide	-	0.89	5.15	8.60
5.56	Hexanal	-	-	-	1.02
7.63	Butanol	-	2.88	7.11	1.81
8.31	Ethyl-2-butenate	6.68	-	-	-
9.05	2-heptanone	-	2.61	2.06	7.98
11.42	Ethylhexanoate	25.59	-	-	-
13.87	Acetoin	-	68.00	55.37	56.45
16.86	Diethylcarbinol	-	3.51	2.90	4.95
18.56	Dimethyltrisulfide	-	-	0.53	3.30
23.66	Acetic acid	-	2.58	4.77	3.84
25.47	Benzaldehyde	-	0.23	-	0.52
27.94	Butanoic acid	-	2.21	2.71	5.72

¹⁾Goat milk yogurt produced by *Str. thermophilus* LFG.

²⁾*Str. thermophilus* TH3.

³⁾*Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12.

⁴⁾Not detected.

아지면 활성화된다고 하였다.

요구르트의 향기성분 비교

산양유와 우유를 이용하여 균주를 달리하였을 때 이를 발효시킨 각 요구르트에 존재하는 향기성분을 GC로 분석한 결과는 Table 2 및 3과 같다.

산양유 원유에서는 아세톤과 esters로서 ethylbutanoate, ethyl-3-methylbutyrate, ethyl-2-butenate 및 ethylhexanoate 성분이 검출되었다. 이들 중 acetone은 우유 및 발효유에서도 분리되었고 ethylbutanoate는 우유 및 산양유 원유에서 검출되었다. 그러나 ethyl-3-methylbutyrate, ethyl-2-butenate와 ethylhexanoate는 산양유 원유에서만 분리되었다. 이들 성분 중 acetone을 제외한 나머지 성분들은 발효유에서는 분리되지 않은 것으로 보아 산양유 고유의 향기성분을 형성하는 물질들이며, 발효과정 중에 다른 물질로 변환된 것으로 생각한다.

우유 원유에서는 esters로서는 ethylbutanoate만이 검출되었으며, 카보닐 화합물로 acetone, 2-heptanone과 acetoin이 검출되어 산양유와 차이를 보였다. 이들 중 acetone은 발효유에서도 검출되었으나, ethylbutanoate는 발효유에서는 검출되지 않았고 2-heptanone은 크게 감소하였으며, acetoin은 발효과정을 통해 10배 이상 크게 증가하였다.

발효유의 경우 전체적으로 초산과 butanoic acid 등의 산류와 butanol과 diethylcarbinol 등의 알콜류, 카보닐 화합물로서 acetone, diacetyl, decane, 2-methyl-3-pentanone, hexanal, 2-heptanone, acetoin, benzaldehyde 등이 그리고 sulfur compounds로 dimethyldisulfide, dimethyltrisulfide 등 14개의 성분이 분리되었다. 이중 hexanal 성분은 산양유 및 우유 발

효유에서 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합균주로 배양한 발효유에서만 검출되었으며, dimethyltrisulfide는 산양유 및 우유 발효유 모두에서 *Str. thermophilus* LFG로 배양한 발효유와 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합균주로 배양한 발효유에서만 검출되었고, benzaldehyde는 산양유 발효유의 경우 *Str. thermophilus* LFG로 배양한 발효유와 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합균주로 배양한 발효유에서 검출된 것에 비하여 우유 발효유에서는 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12로 구성된 혼합균주로 배양한 발효유에서만 검출되었다.

또한 모든 발효유에서 acetoin이 diacetyl에 비해 높게 검출되었다. Homo형 젖산 발효에서 유산균은 당분으로부터 분해된 pyruvic acid를 사용하여 acetoin synthetase에 의해 발효유의 중요한 방향물질인 acetoin을 형성할 수 있으며, 또한 *Lac. diacetylactis*와 *Leuc. cremoris* 등은 pyruvic acid와 구연산 등을 이용하여 초산과 diacetyl 등 주요 방향물질을 생산한다(Kim *et al.*, 2000). 본 실험에서 diacetyl, acetoin 등 발효유의 대표적인 방향성분들의 생성량은 우유 발효유보다 산양유를 이용한 발효유에서 높았다. 또한 diacetyl과 acetoin의 함량은 *Str. thermophilus* TH3 균주로 배양한 발효유에서 보다 *Str. thermophilus* LFG로 배양한 발효유에서 높게 검출되었다.

Rysstad와 Abrahamsen(1987)과 Kwak 등(1995)은 향기성분인 diacetyl 함량은 요구르트 제조시 사용된 원료유의 조성이나 균주에 따라 차이가 있었다고 하였으며, Kim과 Ko(1993)도 요구르트의 향기성분 중 acetoin의 함량이 diacetyl

Table 3. Volatile compounds detected in cow milk and yogurt

(Unit: area%)

RT	Identified compound	Cow milk	Yogurt		
			LFG ¹⁾	TH3 ²⁾	Mixed ³⁾
1.92	Acetone	10.97	2.10	1.42	1.30
3.44	Diacetyl	- ⁴⁾	4.71	2.58	1.65
3.65	Decane	-	0.44	0.41	0.29
4.46	Ethylbutanoate	16.82	-	-	-
5.09	2-methyl-3-pentanone	-	3.51	7.88	10.66
5.27	Dimethyldisulfide	-	0.95	4.73	2.98
5.56	Hexanal	-	-	-	0.77
7.63	Butanol	-	4.83	3.99	2.67
9.05	2-heptanone	42.72	2.95	2.64	4.03
13.87	Acetoin	29.49	62.79	51.57	52.68
16.86	Diethylcarbinol	-	1.15	1.57	1.92
18.56	Dimethyltrisulfide	-	-	2.02	2.10
23.66	Acetic acid	-	5.60	6.40	4.41
25.47	Benzaldehyde	-	-	-	0.57
27.94	Butanoic acid	-	10.97	14.79	13.98

¹⁾Cow milk yogurt produced by *Str. thermophilus* LFG.

²⁾*Str. thermophilus* TH3.

³⁾*Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12

⁴⁾Not detected.

함량보다 현저히 높았다고 하여 본 실험의 결과와 일치하였다. 또한 Kim 등(1993)은 gas chromatography를 이용하여 우유 요구르트의 휘발성 향기 성분을 분석한 결과 acetaldehyde, acetone, ethanol, diacetyl, butanol, acetoin의 6가지 휘발성분이 검출되었다고 하였다. 한편 Ko와 Kyung(1995)은 휘발성 향기성분인 diacetyl은 배양 초기에는 존재하지 않았으나, 배양 6시간 후에 처음으로 검출되어 배양 30시간 까지 증가하였다고 하였다. 이는 본 실험에서 산양유와 우유 원료에서 diacetyl이 검출되지 않았으나, 균주를 달리한 이들 요구르트에서 검출된 결과와 일치하였다.

이상의 실험결과 산양유 원유중에 함유되어 있던 휘발성 향기성분들 중 acetoin을 제외한 ethylbutanoate, ethyl-3-methylbutyrate, ethyl-2-butenate 및 ethylhexanoate 성분들은 발효 이후 소실되는 것으로 나타나, 산양유를 이용한 발효유의 제조에서 배양균주의 선택이 풍미를 개선시키는데 효과적일 수 있다고 생각된다.

요구르트의 점도 및 syneresis

Kefir에서 분리한 *Str. thermophilus* LFG와 상업균주인 *Str. thermophilus* TH3 및 분리균과 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 혼합균주를 이용하여 산양유 발효유와 우유 발효유를 제조하여 점도와 syneresis를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 표에서와 같이 점도는 우유 발효유가 산양유 발효유에 비하여 모든 starter조건에서 높게 나타났다. 또한 starter 종류에 따라서는 우유 발효유와 산양유 발효유에서 같은 경향을 보였고 *Str. thermophilus* LFG 단일균으로 배양시켰을 경우가 복합균으로 배양시킨 경우보다 약 12% 높게 나타났으며, *Str. thermophilus* TH3균을 이용한 발효유에서 점도가 가장 낮았다. 산양유 발효유와 우유 발효유간의 점도차이는 구성 단백질의 구조적 차이 즉, 우유 단백질은 α_s -casein 함량이 높아 비교적 단단한 커드를 형성(Jenness, 1980)하는 것과 발효중 생성되는 다당체와 단백질 등의 분해산물 차이에 기인하는 것으로 생각된다. Ruas-

Madiedo 등(2002)도 점도는 단순히 EPS의 함량만으로 결정되는 것은 아니며, 발효액내의 단백질 함량 및 EPS와 단백질 응고물과의 상호작용에 영향을 받는다고 하였다.

발효유의 syneresis는 우유 발효유와 산양유 발효유간에는 큰 차이를 보이지 않은 반면 starter의 종류에 따라 즉, 발효유의 점도에 따라 크게 영향을 받았다. *Str. thermophilus* TH3로 배양한 발효유의 syneresis는 저장 1일(10일)에 우유 발효유가 $21.3\% \pm 1.5(31.8 \pm 1.0\%)$, 산양유 발효유는 $17.9 \pm 0.7\%(28.2 \pm 1.9\%)$ 의 syneresis를 보였다. 그러나 분리균인 *Str. thermophilus* LFG를 이용한 발효유의 경우는 산양유 발효유 및 우유 발효유 모두 저장 1일차에는 syneresis를 확인할 수 없었으며, 저장 10일차에 산양유 발효유는 11.3-13.2%, 우유 발효유는 9.6-16.1%의 syneresis를 보여 *Str. thermophilus* TH3로 배양시킨 발효유(28.2-31.8%)에 비해 매우 낮았다. 발효유의 경우 저장 초기에는 다당류가 유화안정성에 기여하지만, 저장일수의 증가에 따라 pH가 저하되면서 유단백질의 구조에 영향을 주어 유청분리가 용이하게 일어나는 것으로 생각한다(Bouzar *et al.*, 1997). 발효유의 점도와 syneresis는 제품의 물성 및 외관에 영향을 주기 때문에 중요한 품질특성으로 볼 수 있다. 점도의 높고 낮음은 제품 유형별로 요구되는 특성에 따라 선호도가 결정될 수 있으며, syneresis는 plain type의 stirred yogurt에서 유청분리 현상을 의미하므로 그 값이 높을 경우 품질저하 요인으로 볼 수 있다. 이상의 실험에서 분리 균주인 *Str. thermophilus* LFG를 이용하여 제조한 산양유 및 우유 발효유 제품에서 syneresis가 가장 낮게 나타났으며, 이는 품질 특성에 좋은 영향을 줄 것으로 생각된다.

관능적 특성

Str. thermophilus LFG, *Str. thermophilus* TH3 그리고 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12로 구성된 혼합균주를 이용하여 산양유 발효유와 우유 발효유를 제조하고, 5일간 저장 한 후 관능검사를 실시한 결

Table 4. Viscosity and syneresis of goat milk and cow milk yogurts fermented with *Str. thermophilus* LFG, *Str. thermophilus* TH3, and *Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12

Treatments	Viscosity (cP)	Syneresis (%)		
		1 d storage at 4°C	10 d storage at 4°C	
Goat milk yogurt	LFG ¹⁾	*13,300±410 ^a	- ⁴⁾	11.3±0.5 ^b
	TH3 ²⁾	7,810±104 ^c	17.9±0.7 ^a	28.2±1.9 ^a
	Mixed ³⁾	11,700±325 ^b	-	13.2±0.6 ^b
Cow milk yogurt	LFG	14,550±435 ^a	-	9.6±0.4 ^c
	TH3	8,620±121 ^c	21.3±1.5 ^a	31.8±1.0 ^a
	Mixed	12,800±270 ^b	-	16.1±0.7 ^b

¹⁾*Str. thermophilus* LFG.

²⁾*Str. thermophilus* TH3.

³⁾*Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12.

⁴⁾Not detected.

*Average±SD.

^{a-c}Means with the same letter in a column are not significantly different at $p < 0.05$.

Table 5. Sensory evaluation of goat milk and cow milk yogurts fermented by different cultures

Samples		Texture	Flavor	Taste	Overall Preference
Goat milk yogurt	LFG ¹⁾	*4.25±0.56 ^a	3.06±0.75 ^a	3.31±0.58 ^a	3.44±0.61 ^a
	TH3 ²⁾	2.56±0.70 ^b	3.63±0.48 ^a	2.94±0.66 ^a	3.13±0.60 ^b
	Mixed ³⁾	4.06±0.56 ^a	3.88±0.60 ^a	3.81±0.53 ^a	4.03±0.48 ^a
Cow milk yogurt	LFG	3.56±0.61 ^a	3.19±0.63 ^a	3.00±0.50 ^a	3.38±0.48 ^b
	TH3	2.63±0.48 ^b	3.75±0.43 ^a	2.88±0.60 ^a	3.25±0.66 ^b
	Mixed	3.81±0.53 ^a	3.79±0.46 ^a	3.50±0.50 ^a	3.94±0.56 ^a

As the values increase from 1 to 5, the intensity of sensory characteristics increases.

*Mean±SD.

^{a-c}Means with the same letter in a column are not significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾*Streptococcus thermophilus* LFG.

²⁾*Streptococcus thermophilus* TH3.

³⁾*Str. thermophilus* LFG and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12.

과는 Table 5와 같다. 전체적인 기호도에서 *Str. thermophilus* TH3로 제조한 발효유에서는 우유 발효유(3.25±0.66)가 산양유 발효유(3.13±0.60)보다 높은 평가를 얻었으나 분리균주인 *Str. thermophilus* LFG 및 혼합균으로 제조한 발효유는 산양유 발효유(3.44±0.61, 4.03±0.48)가 우유 발효유(3.38±0.48, 3.94±0.56)보다 높은 평가를 얻었다. 이는 산양유와 우유의 차이보다는 starter의 차이에 따른 제품특성이 기호도 평가에 더 큰 영향을 주는 요인임을 확인할 수 있었다. 한편 조직감에 대한 평가에서는 우유 및 산양유를 이용한 *Str. thermophilus* TH3로 발효시킨 발효유(2.56±0.70, 2.63±0.48)보다 *Str. thermophilus* LFG로 제조한 발효유(4.25±0.56, 3.56±0.61)에 대한 기호도가 크게 높았으며, *Str. thermophilus* LFG 단일균으로 제조한 발효유보다 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12를 혼합한 복합균으로 제조한 발효유가 대부분의 항목에서 높은 평가를 받았다. 이는 *Str. thermophilus* LFG의 점질 생성 특성과 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12의 풍미 생성 특성이 제품 품질에 긍정적인 영향을 준 것으로 생각한다. 이러한 결과는 Shin 등(1995)이 aloe vera를 첨가한 발효유에서 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*와 *Str. thermophilus*의 혼합균주로 제조한 시료의 기호도가 가장 우수했다는 결과와 유사하였다.

요 약

Kefir제품으로부터 slime생성력이 우수한 *Str. thermophilus* LFG를 분리하여 이 유산균과 상업균주인 *Str. thermophilus* TH3 및 *Str. thermophilus* LFG와 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB12 혼합균주로 산양유 및 우유를 이용하여 발효유를 제조하고 제품특성을 조사하였다. 젓산 함량은 산양유 발효유(743.9-1043.8 mg/100 g)가 우유 발효유(441.6-709.9 mg/100 g)보다 높았다. 저장 중 발효유의 생균수는 *Str. thermophilus* LFG로 배양한 발효유에서 가장 높았다. 점도는 우유 및 산양유 발효유에서 *Str. thermophilus* LFG 균주를 사용한 발효유에서 가장 높았으며 *Str. thermophilus* TH3를

사용시에 가장 낮았다. 우유 및 산양유 발효유의 syneresis는 *Str. thermophilus* LFG를 이용한 발효유가 9.6-16.1%이었으나 *Str. thermophilus* TH3를 발효시킨 발효유는 28.2-31.8%이었다. 산양유의 향기성분으로 acetone, ethylbutanoate, ethyl-3-methyl butyrate, ethyl-2-butenate, ethylhexanoate 등이 분리되었으며, 우유의 향기성분으로는 ethylbutanoate, acetone, 2-heptanone, acetoin 등이 분리되었다. 산양유 및 우유 발효유에서 acetic acid, butanoic acid, butanol, diethylcarbinol, acetone, diacetyl, decane, 2-methyl-3-pentanone, hexanal, 2-heptanone, acetoin, benzaldehyde, dimethyldisulfide, dimethyltrisulfide 등 14개의 성분이 검출되었다. 관능평가에서 *Str. thermophilus* LFG로 발효시킨 산양유 발효유가 우유 발효유보다 전반적인 기호도와 조직감에서 높은 평가를 받았다. 특히 혼합균주를 사용한 발효유에서 가장 높았으며 풍미특성도 향상 시키는 효과를 보였다.

참고문헌

1. APHA. (1978) Standard methods for the examination of dairy products. 14th ed., American Public Health Association, Washington, DC, p. 355.
2. Bouzar, F., Cerning, J., and Desmazeaud, M. (1997) Exopolysaccharide producing and texture promoting abilities of mixed strain starter cultures in yogurt producing. *J. Dairy Sci.* **80**, 2310-2317.
3. DeVuyst, L., DeVin, F., Vaningelgem, F., and Degeest, B. (2001) Recent development in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* **11**, 687-707.
4. Dick, J. C., Robijn, G. W., Janssen, A. C., Giuseppin, M. L. F., Vreeker, R., Kamerling, J. P., Vliegthart, J. F. G., Ledebøer, A. M., and Verrips, C. T. (1995) Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 2840-2844.
5. Duboc, P. and Mollet, B. (2001) Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *Int. Dairy J.* **11**, 759-768.

6. Fernandez-Garcia, E. and McGregor, J. U. (1994) Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *J. Dairy Sci.* **77**, 2934-2939.
7. Ha, J. K. and Lindsay, R. C. (1993) Release of volatile branched-chain and other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases. *J. Dairy Sci.* **76**, 677-690.
8. Haenlein, G. F. W. (1995) Status and prospects of the dairy goat industry in the United States. *J. Anim. Sci.* **74**, 1173-1181.
9. Haenlein, G. F. W. (2004) Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Res.* **51**, 155-163.
10. Hassan, A. N., Frank, J. F., Schmidt, K. A., and Shalabi, S. I. (1996) Rheological properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. *J. Dairy Sci.* **79**, 2091-2097.
11. Jenness, R. (1980) Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. *J. Dairy Sci.* **63**, 1605-1630.
12. Jeong, D. H. (2004) Science of lactic acid bacteria. Shin Il Books, Seoul, Korea, pp.120-136.
13. Kang, H. J., Baick, S. C., and Yu, J. H. (2005) Studies on the properties of the stirred yogurt manufactured by exopolysaccharide producing lactic acid bacteria. *Korean J. Food Sci. An.* **25**, 84-91.
14. Keogh, M. K. and O'Kennedy, B. T. (1998) Rheology of stirred yogurt as affected by added milks fat, protein and hydrocolloids. *J. Food Sci.* **63**, 108-112.
15. Kim, K. H. and Ko, Y. T. (1993) Volatile aroma compounds of yogurt from milk and cereals. *Korean J. Food Sci. Technol.* **25**, 136-141.
16. Kim, Y. K., Kim, Y. J., and Kim, H. W. (2000) Science of milk and its products. Sun Jin Mun Hwa Sa, Seoul, Korea, pp. 29.
17. Ko, Y. T. and Kyung, H. M. (1995) Changes in acid production, sensory properties of yogurt and volatile aroma compounds during lactic fermentation in milk. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 612-617.
18. Kwak, H. S. (1995) Effect of volatile flavor compound on yogurt during refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 939-943.
19. Lim, Y. S., Kim, S. Y., and Lee, S. K. (2008a) Characteristics of lactic acid bacteria isolated from kefir made of goat milk. *Korean J. Food Sci. An.* **28**, 82-90.
20. Lim, Y. S., Ham, J. S. Jeong, S. G. Ahn, J. N., and Choi, S. H. (2008b) Effects of lipolysis and fatty acid composition on off-flavor in goat milk. *J. Anim. Sci. Technol.* **50**, 111-120.
21. Lim, Y. S. and Lee, S. K. (2009) Characteristics of exopolysaccharide produced in goat milk yogurt cultured with *Streptococcus thermophilus* LFG isolated from kefir. *Korean J. Food Sci. An.* **29**, 143-150.
22. Marsili, R. T., Ostapenko, H., Simmons, R. E., and Green, D. E. (1981) High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. *J. Food Sci.* **46**, 52-57.
23. Ruas-Madiedo, P., Tuinier, R., Kanning, M., and Zoon, P. (2002) Role of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on the viscosity of fermented milks. *Int. Dairy J.* **12**, 689-695.
24. Rysstad, G. and Abrahamsen, R. K. (1987) Formation of volatile aroma compounds and carbon dioxide in yogurt starter grown in cow's and goat's milk. *J. Dairy Res.* **54**, 257-266.
25. Saidi, B. and Warthesen, J. J. (1989) Analysis and stability of organic acid in milk. *J. Dairy Sci.* **72**, 2900-2905.
26. Schellhaass, S. M. (1983) Characterization of exocellular slime produced by bacterial starter cultures used in the manufacture of fermented dairy products. Ph. D. Thesis, Univ. of Minnesota, St. Paul, USA.
27. Shin, Y. S., Lee, G. S., Lee, J. S., and Lee, C. H. (1995) Preparation of yogurt added with Aloe vera and its quality characteristics. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **24**, 254-260.

(Received 2013.6.25/Revised 2013.10.28/Accepted 2013.11.26)