

고압처리 원유로 제조한 발효유의 저장 중 유산균 수 변화와 이화학적 특성

안성일¹ · 정인애² · 정운시² · 주진우¹ · 김거유¹ · 전정태²

¹강원대학교 동물생명과학대학 동물응용과학부 축산식품과학전공
²삼양식품(주) 통합 R&D팀

Changes in Lactic Acid Bacteria and Physicochemical Properties of Yogurt Made with High Pressure Processing Treated Milk

Sung-Il Ahn¹, In-Ae Chung², Woon-Si Chung², Jin-Woo Jhoo¹,
Gur-Yoo Kim¹, and Jung-Tae Jeon²

¹Animal Products and Food Science Program, Division of Applied Animal Science,
College of Animal Life Sciences, Kangwon National University

²Integrated R&D Team, Samyang Foods Co.

ABSTRACT This study was carried out to investigate the physicochemical and fermentation properties of yogurt made from high pressure processing (HPP) treated milk. Raw milk and commercial yogurt starter were used to make yogurt. Raw milk was HPP treated at 350 or 450 MPa (HPP 350 or 450) for 15 min or heat treated at 80°C for 10 min. The numbers of lactic acid bacteria of the HPP treated group (HPP yogurt) rapidly increased during 2~4 h, whereas there was not significant difference from control ($P<0.05$). Titratable acidity of all samples increased, and pH decreased during storage from 0.99 to 1.24%, as well as from 4.59 to 4.20, respectively. It is confirmed that these values are in general ranges for yogurt. Control showed higher viscosity than HPP 350. Syneresis was significantly lower than that of the control ($P<0.05$). Based on the data obtained from the present study, HPP treatment was effective to enhance the quality of yogurt.

Key words: high pressure processing, yogurt, non-thermal treatment

서 론

최근 들어 많은 소비자가 건강에 관한 관심이 높아지면서 영양적으로 우수하고 다양한 기능성을 겸비한 식품들을 찾고 있다. 발효유 제품은 probiotic bacteria를 섭취함으로써 얻을 수 있는 체내 콜레스테롤 저하, 유당불내증의 완화, 면역 시스템의 개선 등과 같은 여러 효과 때문에 오래전부터 기능성이 있는 것으로 인식되어 왔다(1). 그중 발효유는 probiotics 제품 중에서 가장 대중적이고 세계에서 가장 많이 소비되고 있는 유제품이다(2). 발효유는 일반적으로 우유, 산양유, 마유 등과 같은 포유류의 유즙에 유산균이나 효모 또는 그 두 가지를 혼용하여 발효한 제품을 말하며, 여기에 향료, 과즙 등을 첨가하여 마시기 좋게 만들기도 한다(3).

한편, 최근 소비자들의 식품에 관한 관심은 건강과 더불어 안전이며, 가공적 천연의 상태, 첨가물이 들어있지 않은

안정적인 제품을 요구하고 있다. 식품의 보존성을 향상하기 위해서 전통적으로 가열, 냉장, 건조, 식품보존제 첨가와 같은 방법을 사용해왔다. 그러나 냉동, 건조 방법은 품질과 소비자의 기호도를 감소시킬 우려가 있으며, 식품보존제의 사용 또한 점차 소비자들이 피하고 있다. 널리 쓰이고 있는 가열공정은 열에 의한 영양성분의 파괴 및 변성, 향기 성분 손실 등의 품질저하를 초래한다(4). 이에 따라 여러 종류의 비가열처리 기술들이 연구, 개발되고 있다. 현재 식품의 비가열처리 방법에는 고압처리(HPP), 고전압 펄스 전기장, 진동 자기장, 방사선 조사법 등이 있다(5). 이들 중 HPP는 Hite(6)에 의해 처음 소개되었으며, 열처리의 장점을 유지하면서도 Maillard reaction, 비타민의 파괴, 맛의 손실, 물리화학적 변화 등과 같은 열처리 시 발생하는 단점을 최소화할 수 있는 장점이 있으며, Horie 등(7)이 과일 잼을 만들어 본 결과, 과일 특유의 색과 향을 보존할 수 있다는 연구 이후로 최근 주목을 받고 있다(4). 그동안 HPP 처리를 한 우유가 일반적인 저온살균 처리한 시유에 비해 관능적 특성이 우수하다(8)고 보고되는 등 그 우수성이 입증되고 있으나, HPP 처리한 유제품에 관한 연구는 HPP를 이용한 원유의 살균처

리 및 단백질의 변화(9-11) 또는 치즈 제조(12-15) 등에 국한되어 왔고, HPP 처리 원유를 이용한 발효유에 관한 연구는 상대적으로 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 HPP 처리한 원유를 이용하여 발효유를 제조하고, 이것의 발효특성과 저장 기간 이화학적 특성을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 원유는 (주)삼양식품(Seoul, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 발효유 제조에 이용한 균주는 *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus fermentum*과 *Lactobacillus delbrueckii* sub sp. *bulgaricus*가 혼합된 상업용 균주(FD-DVS Yo-Flex Harmony 1.0, Chr. Hansen, Hoersholm, Denmark)를 사용하였다. 이 균주는 점성이 높고 후발효가 거의 일어나지 않아 stirred type 발효유에 적합하며 동결 건조된 direct-in-vat-set 타입으로 특별한 전처리 없이 바로 투입하여 사용할 수 있다. 탈지분유는 (주)롯데푸드(Seoul, Korea)에서 수입한 skim milk powder 88%와 demineralized whey powder 12%가 혼합된 제품을 사용하였으며, 정백당은 (주)큐원(Seoul, Korea)에서 생산된 제품을 사용하였다.

발효유의 제조

Table 1에 제시된 배합비에 따라 starter를 제외한 나머지 원료들을 혼합한 후, 대조균은 85°C에서 10분간 살균 후 40°C로 냉각하여 starter를 0.005%(w/w) 접종하고 (Table 1) 43°C의 배양기(BOD Incubator, HB-103M, Han Baek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 pH가 4.6이 될 때까지 약 8시간 배양하였다. 실험균은 대조균과 동일하게 원료배합 후 HPP(NC Hiperbaric 420, Hiperbaric Co., Burgos, Spain) 처리를 각각 350, 450 MPa로 15분간 실시하였다. 이것을 40°C로 예열 후 동일하게 starter를 접종하여 8시간 배양하였다.

고압처리 발효유의 이화학적 특성

유산균 배양 중 발효유의 발효특성을 알아보기 위하여 실험균과 대조균 모두 starter를 접종한 후, 발효 8시간 동안 2시간 간격으로 유산균 수를 측정하였다. 또한, 발효가 완료된 발효유를 4°C의 항온기에 보관하면서 저장 기간에 따른 유산균 수, pH, 적정산도 및 색도의 변화를 4일 간격으로

15일까지 측정하였다.

유산균 수 측정

시료는 vortex를 이용하여 균질화한 후 일정량을 취하여 사용하였다. 준비된 시료 1 mL에 0.1% peptone 용액 9 mL를 혼합하여 10배 희석법으로 희석하였다. 각 희석액 1 mL를 멸균된 유산균 배지 Bromocresol purple count agar (BCP, Eiken Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan)에 접종하여, 37°C incubator에서 48시간 배양 후에 형성된 colony 수를 계측하고 여기에 희석배수를 곱하여 시료 mL당 CFU (colony forming unit)로 나타내었다.

pH 및 적정산도

발효유의 pH는 pH meter(FiveEasy™ Plus, Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 측정 전에 pH 4.0과 7.0의 표준 완충용액으로 기기를 보정한 후, 시료 50 mL를 비커에 담아 3회 측정하여 평균 pH 값을 얻었다. 적정산도는 시료 10 g을 취하여 증류수 10 mL를 가한 후 이를 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여, 이때 소비된 0.1 N NaOH를 lactic acid의 양으로 환산하였다.

$$\text{Lactic acid (\%)} = \frac{0.1 \text{ N NaOH 소비량(mL)}}{\text{Sample (g)}} \times 100$$

점도 분석

요구르트 200 mL를 250 mL 비커에 담아 4°C에서 24시간 저장 후 미생물의 활동을 중지시키고 충분히 점도를 회복시킨 후 8~9°C를 유지하며 Brookfield viscometer(Model LVDV2T, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA)의 4번 spindle을 사용하여 10 rpm, 4분에서 8분까지 1분 간격으로 점도를 측정하여 그 평균치를 data로 활용하였다.

Syneresis

Keogh와 O'Kennedy(16)의 방법에 따라 요구르트 30 g을 50 mL conical tube에 취하고 4°C에서 0, 5, 15일 보관 후 1,500 rpm, 10분간 원심분리 하여 분리된 상등액 무게로 syneresis(%)를 계산하였다.

$$\text{Syneresis (\%)} = \frac{\text{분리된 상등액의 무게}}{\text{발효유의 무게}} \times 100$$

통계분석

본 연구에서 얻어진 실험결과에 대한 통계처리는 SAS package(Ver. 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하였다. 각 실험군 간의 유의성을 검증하기 위하여 ANOVA 분석을 하였으며, 사후검증으로 Duncan's multiple range test에 의해 5% 유의수준에서 검증하였다.

Table 1. Formula composition of the yogurt making

Ingredients	Recipes (%)
Milk	89.995
Powdered skim milk	5
Starter	0.005
Sugar	5
Total	100

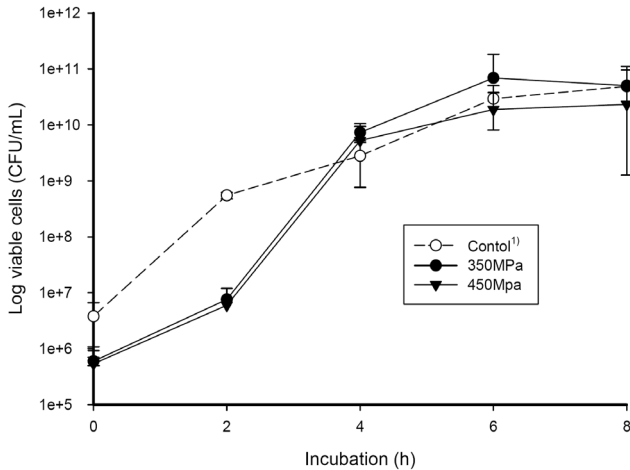


Fig. 1. Change of lactic acid bacteria in yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated at 350 and 450 MPa during incubation at 37°C. ¹⁾Control: sterilized at 80°C for 10 min.

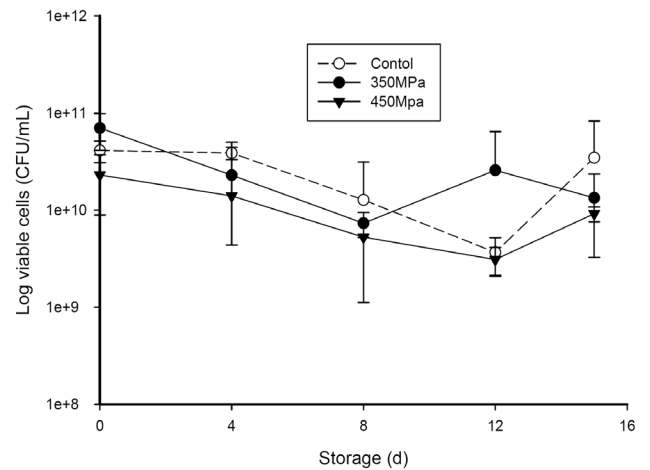


Fig. 2. Change of lactic acid bacteria in yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated at 350 and 450 MPa during storage at 4°C. Control: sterilized at 80°C for 10 min.

결과 및 고찰

발효유 배양 중 유산균 수 변화

Fig. 1은 발효유의 유산균 발효 중 유산균 수의 변화를 나타낸 것이다. 고압처리 원유로 제조한 발효유(HPP 350, 450)의 경우 HPP 처리군 모두 배양 2~4시간에서 유산균이 급격히 증식됨을 알 수 있었고, 그 이후에는 완만한 증가 추이를 보였다. 80°C로 살균한 원유로 만든 발효유(대조군)의 경우 발효 초반(0~2 h)에 유산균 수의 비교적 가파른 증가 추이를 보였으나, 전체적으로 배양시간 동안 일정한 비율로 증가함을 알 수 있었다. da Cruz 등(2)은 원유의 HPP 처리는 발효 유제품 제조 시 probiotic bacteria의 생육을 증진한다고 보고하였다. 본 실험에서는 고압처리군에서 발효 초반에 유산균이 급격히 증가하였으나, 발효 완료 시점인 배양 8시간에서의 유산균 수는 대조군과 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 da Cruz 등(2)의 보고와는 다소 차이가 있으며, 원유의 HPP 처리가 발효유 제조 시 유산균 생육에 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

발효유 저장 중 유산균 수 변화

고압처리 및 열처리한 원유로 제조한 발효유를 4°C에서 15일간 저장하면서 유산균 수의 변화를 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 실험군과 대조군 모두 저장 기간 유산균 수가 감소하는 경향을 나타내었으나, 저장 15일차에서 군별 유산균 수에서는 큰 차이가 나타나지 않았다. Patrignani 등(17)은 고압처리 한 원유를 이용하여 발효유를 제조하고, 4°C에서 저장하는 동안 유산균 수의 변화를 관찰하였다. 그 결과 저장 14일차에서는 HPP 처리군과 열처리군 모두에서 유의적 차이가 나타나지 않았으나, 저장 35일차에서는 HPP 처리군의 유산균 생존율이 더 높은 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 저장 기간을 15일까지로 한정하여 실험하였는데, Pa-

trignani 등(17)과 같이 저장 기간을 늘려 실험한다면 저장 기간의 유산균 수 생존율에서 확연한 차이가 드러날 것으로 기대된다.

저장 기간에 발효유의 산도 및 pH 변화

Fig. 3과 4는 저장 기간 발효유의 산도 및 pH 변화를 나타낸 것이다. 저장 15일 동안 발효유의 산도는 증가하는 경향을 보였고, 이에 따라 pH는 감소하는 경향을 나타내었다. 산도는 350, 450 MPa로 처리한 군과 대조군이 각각 1.01에서 1.15, 1.04에서 1.24, 그리고 0.99에서 1.06%로 증가하였다. 모든 처리군에서 0.99~1.24%의 산도를 나타내었는데, 이는 정상적인 발효유의 적정산도가 0.7~1.20%라는 Davis(18)의 보고와 유사하였다. pH는 350, 450 MPa로 처리한 군과 대조군이 각각 4.52에서 4.37, 4.49에서 4.34,

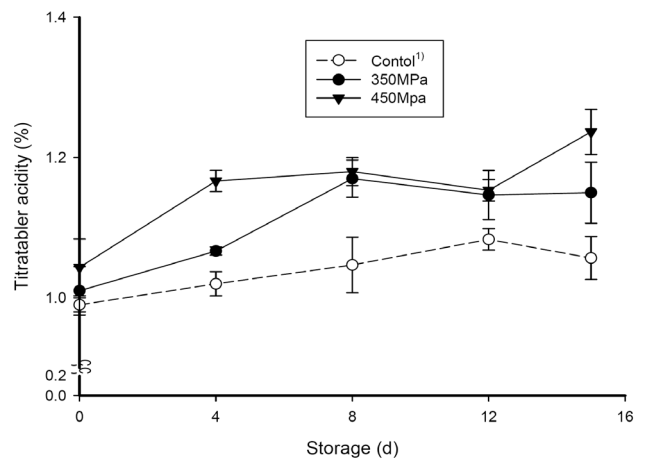


Fig. 3. Change of titratable acidity in yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated at 350 and 450 MPa during storage at 4°C. ¹⁾Control: sterilized at 80°C for 10 min.

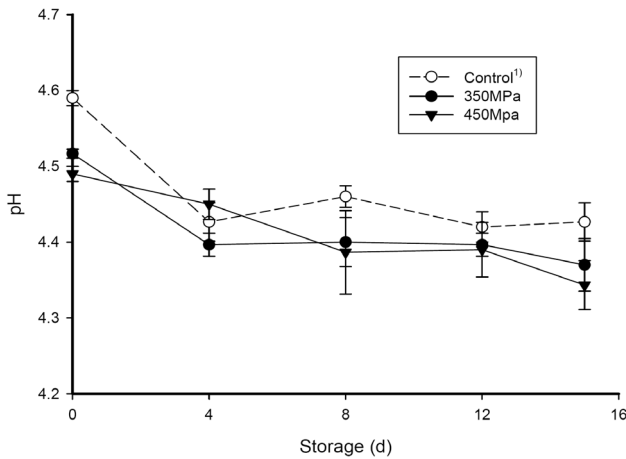


Fig. 4. Change of pH in yogurt made with milk sterilized at 80°C or sterilized with high pressure processing during storage at 4°C. ¹⁾Control: sterilized at 80°C for 10 min.

그리고 4.59에서 4.43으로 감소하였으며, 실험군이 대조군보다 pH가 더 낮은 것으로 나타났고 그중 450 MPa로 처리한 군의 pH가 더 낮았다. 일반적으로 요구르트의 바람직한 pH 범위는 pH 3.27~4.53이라고 알려져 있는데(19-21), 본 연구에서 제조한 요구르트의 pH는 약 4.34~4.59로 대체로 위의 보고들과 일치하는 경향을 나타내었다.

저장 기간에 발효유의 점도 변화

Fig. 5에서 보는 바와 같이 저장 기간 중 발효유의 점도를 관찰한 결과, 대조군이 실험군보다 점도가 높게 나타났으며 실험군 내에서도 450 MPa 처리한 군의 점도가 더 높게 나타났다. 이는 Udabage 등(22)의 보고와 일치하였다. Udabage 등(22)은 각각 100, 250, 400 MPa로 처리한 원유로 발효유를 제조하여 열처리만을 시행한 원유로 제조한 발효유와 점

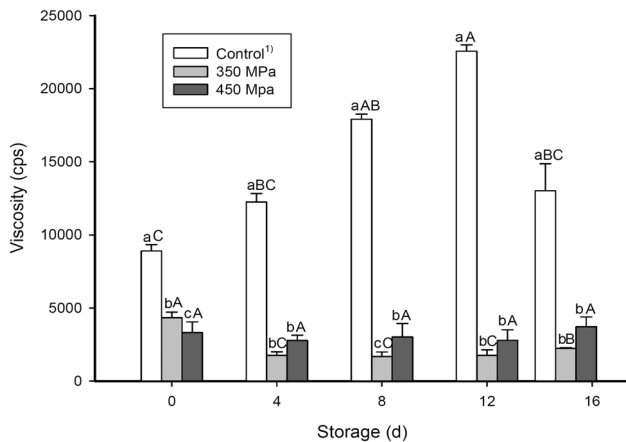


Fig. 5. Change of viscosity in yogurt made with milk sterilized at 80°C or sterilized with high pressure processing at 350 and 450 MPa during storage at 4°C. ¹⁾Control: sterilized at 80°C for 10 min. Values with different letters in whole storage (A-C) and the same day (a-c) are significant at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Syneresis of yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated milk at 350 and 450 MPa during storage at 4°C for 15 days

Treatment	Storage (d)		
	0	5	15
Control ¹⁾	2.328±0.286 ^{aA}	0.007±0.005 ^{aB}	0.066±0.003 ^{aB}
350 Mpa	0.000±0.000 ^{bb}	0.008±0.001 ^{aA}	0.003±0.003 ^{bb}
450 Mpa	0.383±0.671 ^{bA}	0.002±0.003 ^{bA}	0.001±0.001 ^{bA}

¹⁾Control: sterilized at 80°C for 10 min
²⁾Values with different superscripts in a column (a,b) and row (A,B) are significant at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

도를 비교하였는데, 처리 압력이 높아질수록 점성이 증가하는 양상을 보였으나 열처리를 한 대조군에 비해 점성이 모두 떨어지는 결과를 보였고, 이는 250 MPa 이상의 원유 고압처리가 casein micelle 간의 network를 약화하기 때문이라고 보고하였다. 한편, Johnston 등(23)은 600 MPa에서 1시간 동안 HPP 처리한 원유로 발효유를 제조하였을 때 점도가 증가했다고 하여 본 연구와는 다른 결과를 보였는데, 이는 오랜 시간 동안 원유를 HPP 처리하여 점도에 영향을 줄 만큼 충분히 casein micelle의 변성을 초래했기 때문으로 생각된다.

저장 기간 중 발효유의 syneresis 변화

저장 기간 중 발효유의 syneresis를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 대체로 시간이 지남에 따라 350 MPa 처리군을 제외한 대부분의 군에서 syneresis가 줄어드는 경향을 보였으며, 450 MPa 처리군에서 대조군보다 syneresis가 유의적으로 적게 나타나는 것을 확인할 수 있었다($P < 0.05$). 발효유에서 syneresis는 제품의 물성 및 외관에 영향을 주기 때문에 중요한 품질 특성으로 볼 수 있다. Syneresis는 plain 타입의 stirred yogurt에서 유청 분리 현상을 의미하므로 그 값이 높을 경우 품질저하 요인으로 볼 수 있다(24). da Cruz 등(2)은 HPP 처리가 발효유의 syneresis를 감소시켜 stabilizer의 첨가를 줄일 수 있다고 보고하였다. Goyal 등(9)은 300 MPa 이상의 압력으로 우유를 처리하면 비가역적으로 casein micelle의 크기가 줄어들게 된다고 보고하였다. 또한 Loveday 등(25)은 고압처리에 의한 casein micelle의 크기 변화로 인해 발효유의 curd가 수분을 holding하는 능력이 높아진다고 보고하였다. 따라서 발효유 제조공정에서 원유를 적절한 압력으로 처리하는 것은 발효유의 물성을 개선하는 데 효과가 있다고 할 수 있다.

요 약

본 연구에서는 고압처리(high pressure processing) 한 원유를 이용하여 발효유를 제조하고, 발효특성 및 저장 기간 물리 화학적 특성의 변화를 살펴보았다. 고압처리 한 원유를 이용하여 발효유 제조 시 발효 초반에 유산균이 급격히 증식

됨을 확인하였으나, 발효 완료 후 총 유산균 수는 대조군과 크게 차이가 나지 않았다. 저장 기간 중 실험군과 대조군 모두 유산균 수가 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 산도 및 pH는 각 군 모두 정상적인 발효유의 범위를 나타내었다. 각 군의 점도를 대조해 본 결과 대조군이 실험군보다 점도가 높게 나타났으나, syneresis는 450 MPa 처리군이 대조군보다 유의적으로 적게 발생한 것으로 나타났다($P < 0.05$). 따라서 적절한 압력을 이용한 원유의 고압처리는 발효유의 물성을 개선하는 데 효과가 있다고 할 수 있으며, 이 분야에 관한 연구가 좀 더 이루어져야 할 필요가 있다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 114028-02) 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Hekmat S, Reid G. 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutr Res* 26: 163-166.
- da Cruz AG, Faria JSF, Saad SMI, Bolini HMA, Sant'Ana AS, Cristianini M. 2010. High pressure processing and pulsed electric fields: potential use in probiotic dairy foods processing. *Trends Food Sci Technol* 21: 483-493.
- Lee JL, Huh CS, Baek YJ. 1999. Utilization of fermented milk and its health promotion. *Korean J Dairy Sci Technol* 17: 58-71.
- Park J, Na S, Lee Y. 2010. Present and future of non-thermal food processing technology. *Food Science and Industry* 43(1): 2-20.
- Smelt JPPM. 1998. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends Food Sci Technol* 9: 152-158.
- Hite BH. 1899. The effect of pressure in the preservation of milk. *Bull West Virg Univ Agric Exp Stat* 58: 15-35.
- Horie Y, Kimura K, Ida M, Yosida Y, Ohki K. 1991. Jam preparation by pressurization. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 65: 975-980.
- Lim CM, Joo TW, Hong SH, Park SY, Park JH, Jeon GY, Jung WS, Kim JT, Kim GY, Jhoo JW. 2015. Effect of high pressure processing on quality characteristics of grass-fed cow's milk. *Ann Anim Resour Sci* 26: 29-41.
- Goyal A, Sharma V, Upadhyay N, Sihag M, Kaushik R. 2013. High pressure processing and its impact on milk proteins: a review. *Res Rev J Dairy Sci Technol* 2: 12-20.
- Gola S, Mutti P, Manganelli E, Squarcina N, Rovere P. 2000. Behaviour of *E. coli* O157:H7 strains in model system and in raw meat by HPP: microbial and technological aspects. *High Pressure Res* 19: 91-97.
- Gao YL, Wang YX, Jiang HH. 2005. Effect of high pressure and mild heat on *Staphylococcus aureus* in milk using response surface methodology. *Process Biochem* 40: 1849-1854.
- Saldo J, Sendra E, Guamis B. 2000. High hydrostatic pressure for accelerating ripening of goat's milk cheese: proteolysis and texture. *J Food Sci* 65: 636-640.
- Malone AS, Wick C, Shellhammer TH, Courtney PD. 2003. High pressure effects on proteolytic and glycolytic enzymes involved in cheese manufacturing. *J Dairy Sci* 86: 1139-1146.
- Okpala COR, Piggott JR, Schaschke CJ. 2010. Influence of high-pressure processing (HPP) on physico-chemical properties of fresh cheese. *Innovative Food Sci Emerging Technol* 11: 61-67.
- Sandra S, Stanford MA, Goddik LM. 2004. The use of high-pressure processing in the production of Queso Fresco cheese. *J Food Sci* 69: FEP153-FEP158.
- Keogh MK, O'Kennedy BT. 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *J Food Sci* 63: 108-112.
- Patrignani F, Burns P, Serrazanetti D, Vinderola G, Reinheimer J, Lanciotti R, Guerzoni ME. 2009. Suitability of high pressure-homogenized milk for the production of probiotic fermented milk containing *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus acidophilus*. *J Dairy Res* 76: 74-82.
- Davis JG. 1970. Laboratory control of yogurt. *Dairy Ind* 35: 139-144.
- Kroger M, Weaver JC. 1973. Confusion about yogurt-compositional and otherwise. *J Milk Food Technol* 36: 388-391.
- Chambers JV. 1979. Culture and processing techniques important to the manufacture of good quality yoghurt. *Cult Dairy Prod J* 14: 28-33.
- Duitschaever CL, Arnott DR, Bullock DH. 1972. Quality evaluation of yogurt produced commercially in Ontario. *J Milk Food Technol* 35: 173-175.
- Udabage P, Augustin MA, Versteeg C, Puvanenthiran A, Yoo JA, Allen N, McKinnon I, Smiddy M, Kelly AL. 2010. Properties of low-fat stirred yoghurts made from high-pressure-processed skim milk. *Innov Food Sci Emerg Technol* 11: 32-38.
- Johnston DE, Murphy RJ, Birksl AW. 1994. Stirred-style yoghurt-type product prepared from pressure treated skim-milk. *High Pressure Res* 12: 215-219.
- Lim YS, Lee SK. 2009. Characteristics of exopolysaccharide produced in goat milk yogurt cultured with *Streptococcus thermophilus* LFG isolated from Kefir. *Korean J Food Sci Ani Resour* 29: 143-150.
- Loveday SM, Sarkar A, Singh H. 2013. Innovative yoghurts: novel processing technologies for improving acid milk gel texture. *Trends Food Sci Technol* 33: 5-20.