

발효유



梁 容 寬
(大一乳業(株))

1. 머릿말

발칸지방, 중동, 동지중해연안의 장수자가 많은 것은 이 요구르트때문이라고 한테서부터 제품이 만들어져 왔었고 유산균에 의해서 장내에 타 세균의 발육 억제와 이상발효를 억제하고 소화를 돕는다. 우리 나라에서는 아직 요구르트는 생산되지 않으나 요구르트는 20세기 초부터 만들어져 왔는데 판매는 매년 상승일로에 있으며 시유처리장에 부설하여 설치하기가 좋은 장점이 있다.

뉴우질렌드의 생산 실적을 보면 1953년 49,000ton에서 1965년도엔 140,000ton이었으며 미국에서는 매년 20~25%신장세를 보여 왔다. 일본의 예를 보면 표 1과 같다.

표 1

종류별 년도	발효유		유산균음료 (살균)		유산균음료 (생균)	
	생산량 (萬本)	전년비 (%)	생산량 (Kl)	전년비 (%)	생산량 (Kl)	전년비 (%)
1960년	16,014	107.7	14,800	125	—	—
65년	25,857	114.5	40,000	125	189,942	122.7
79년	29,000	112	86,000	122.3	379,300	109.0
70년	30,200	102	115,000	133.7	424,800	112.0
71년	30,500	101	145,000	126.0	480,000	112.9

표 2

성분 원료 또는 제품	수분 (%)	단백질 (%)	지방 (%)	유당 (%)	회분 (%)	유산 (%)
배터밀크(산성)	96.67	3.30	0.50	3.4	0.65	0.50
배터밀크(중성)	90.98	3.51	0.35	4.42	0.73	
요구르트(합지)	85% 이하	3.0% 이상	2.0% 이상	5.0% 이상	0.5% 이하	0.50% 이상
요구르트(달지)	85% 이하	1.20% 이상	0.04% 이하	1.7% 이상	0.60% 이상	0.50% 이상

법적 기준을 살펴보면

축산물 가공 처리법 시행 규칙
(농수산부) 에선

◎ 발효유 생우유, 시유 또는 동등 이상의 무지고형분을 함유한 유를 유산균 또는 효모로 발효시켜 호상 또는 액상으로 한 것.

무지유고형분 : 3.0% 이상

유산균(생균) 또는 효모수 : 1ml당 1,000만 이상 다만 불가리커스 균, 아시도필스 균, 유산균균 및 싸모할스 균 이외의 균종을 사용하여 발효시킨 후 살균한 것은 농수산부장관의 승인을 얻어야 한다.

매장균균 : 음성. 이하 표 2 참조

제조기준 : 발효유 원료(유산균 및 효모 제외)는 혼합 후 63°C에서 30분간 가열 살균 또는 동등 이상의 살균 효과가 있는 가열 살균을 한다.

식품 위생법(보사부)

◎ 발효유

성상 : 유백색~황색의 균질한 호상 또는 액상으로 써 이미 이취가 없어야 한다.

무지유고형분 : 3.0% 이상

유산균수 또는 효모수 : 1ml당 10,000,000이상

대장균군 : 음성이어야 한다.

◎ 유제품

성상 : 고유의 선택과 텍미를 갖지 않고 이미, 이취가 없어야 한다.

세균수 : 표준평판 배양법으로 1ml당 30,000이하

대장균수 : 1ml당 10이하

◎ 유산균 음료

성상 : 고유의 향미를 가진 유백색~황색의 액체로써 이미 이취가 없어야 한다.

유산균수 또는 효모수 : 1ml당 1,000,000이상

대장균군 : 음성이어야 한다.

2. 사용균주

표 3

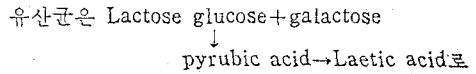
종	칭	아시도필라 라	불가리아 (高酸型)	불가리아 (低酸型)	씨들보람	싸부후리라스	디아세티락스 터	락구더스	크레모리스
학 명	L. Acidophilus	L. Jugurti	L. Bulgaricus	Leuc. Cremoris	Str. thermophilus	S. diacetilactis	S. Lactis	S. Cremoris	
형 태	桿	桿	桿	球	球	球	球	球	
배양온도 (°C)	37~40	37~40	37~40	20~25	37~40	30	30	20~25	
최 적 PH	3.7~4.0	3.2~3.4	3.5~3.7	변 화	4.1~4.2	4.1~4.2	4.1~4.2	4.1~4.2	
우유중의산도(%)	0.8~1.0	2.5~2.7	1.5~1.7	산 생성	0.7~0.8	0.7~0.8	0.7~0.8	0.7~0.8	
가 스 발생	-	-	-	+	-	±	-	-	
용 도	乳酸菌飲料	乳酸菌飲料 치즈酸酵乳	乳酸菌飲料 酸酵乳	酸酵乳 비터·마가린	酸酵乳	비터·마가린	酸酵乳 치즈·비터	치즈·비터	

발효유에선 2종의 유산균주를 사용하는데 2종의 균주를 비교한 표 4를 참조하여 보면 알 수 있다.

표 4

내용	균주 Streptococcus thermophilus	Lactobacillus bulgaricus
Morphology	Short chains-rather small cells	Long chains-long straight side rods
Colony type in Lab. medium	Smooth	Rough
Temperature range of growth °C	20~50	23~53
Growth in litmus milk	Good-litmus not reduced before clotting	Good-strong acidity and strong reduction

일반적으로 유산균은 운동성이 없고 흑간 운동이 있는 새균이 있으며 G(+) 성속하면서 산의가에 따라 G(-)로 된다. 영양요구성으로는 아미노산 펩타이드 핵산유도체 비타민, 지방산, 지방산 스테르, 발효할 수 있는 탄수화물, (실제적으로 Species에 따라 다르다) 주요한 낙농 유산균의 성상표 3과 같다.



효시키면 이 발효는 Homo-fermentation이다. Homo-fermentation은 C₆H₁₂O₆ → CH₃CHOH COOH (Lactic acid)로 발효시키는 것을 말하며 Hetero fermentation은 C₆H₁₂O₆ → CH₃CHOH COOH + C₂H₅OH + CO₂로 발효시키는 것을 일컫는다.

Laetobacillus bulgaricus의 단독 당분해 시험은 Amigdalín-, Arabinere-, Cellobiose-, Fructo-

Final acidity in litmus milk as % lactic acid	0.6	1.7 (2~2.7)
Growth in bile salt lactose broth	-	-
Fermentation of Syrup.		
Aesculin	-	-
Arabinose	-	-
Maltose	Varies	-
Mannital	-	-
Sucrose	Varies	-
Salicin	-	-

e+, Galactose+, Glucose(acid)+, Glucose(gas) Gluconate-, Laetose+, Maltose-, Marmit-

al-, Maunose-, Melezitose-, Melibiose-, Rabinose-, Rannose-, Rifose-, Salicin-, Sorbital-, Sucrose-, Trehalose-, Xylose-, Esculin-, 당분해 시험은 선택적이다. 균주의 활력시험 방법을 기술해 보면 그림 1과 같다.

그림 1

균주의 활력 시험

탈지유(무지유 고형분 10%)
↓
시험관에 위 용액 10ml 취함
↓
항온조에서 180°F 30분간 살균
+ 1ml 접종
(멸균탈지유 5ml에 스타터 배양액 5ml를 첨가 잘 혼합할 것)

↓ 배양
71~72°F에선 6시간
88~90°F 항온조에선 4시간

↓ 배양액
+ 10ml 증류수
+ phenolphthalin 0.5ml

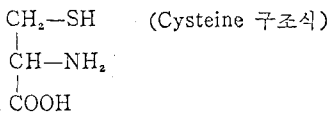
↓ 0.1N NaOH로 측정

판정

71~72°F에서 6시간 배양액 → 6.5~7.0ml
88~90°F에서 4시간 배양액 → 5.5ml 이 측정치 (0.1N NaOH의 ml수)가 넘는 것은 활성이 있다.

3. 배지조성

살균온도 : 아주 신선한 원유나 탈지유를 사용해야 하며 열 처리전에 물에 녹지 않는 가루, 먼지, 상피 세포, 적혈구 등을 청정한 후 멸균하는데 이 멸균 목적은 타세균의 발육저지와 배양축진물질 형성 발효유의 점도와 경도를 개선시키며 멸균 온도가 80°C 이상시 우유의 산소량의 감소를 초래하고 SH radical의 형성을 초래하므로 Casein에서 polypeptide chain을 cysteine 구조식에서 탈락시키면 SH radical이 형성되므로 72°C에서 30분간 살균이 적당하다고 한다.



120°C 이상에서는 저지를 받는 것이 분명하고 SH radical의 형성은 원유의 조작과 처리에 따라 이루어진다고 한다. PH:PH가 정상보다 높을 때에는 정상 성장을 달성하는 시간이 길며 열처리에서 일어난다. PH의 변화는 다양하며, PH에 영향을 주는 인

자는 CO₂의 제거와 Ca와 P의 용해의 감소이다.

웨이단백질 : 웨이단백질은 우유를 열처리시 변성되는 차이에 따라 변이를 나타내며 80°C 30분 처리시 웨이단백질의 대부분이 변이를 일으킨다. 이 때 SH radical이 주로 B-Lacto-globulin에서 유리된다.

방해 물질의 제거 : Lactenin은 원유에서 발견되는 방해 물질로써 성질은 단백질과 비슷하며 멸균에서도 파괴되지 않고 74°C, 20분 후에 변성된다. Cooked flavor와 Browning은 열처리와 관계가 깊으며 SH radical이 cooked flavor을 일으킨다. Browning은 Amino acid와 Sugar와의 상호작용에 의하여 일어나고 유고형분, 유당, PH의 증가는 Browning에 영향을 준다. 그러므로 정상적인 균주의 배양에서는 72°C 30분의 열처리에 의한다.

경도 : 우유단백질에 대한 열처리와 밀접한 관계가 있으며 웨이단백질과 Casein의 안정도에 영향을 줄 뿐아니라. 처음엔 열처리에 의해 응고에 따른 점도의 증가가 이루어지나 열처리는 PH, Salt balance 웨이단백질에 영향을 주며 정상보다 높은 열처리시 Casein의 안정도가 감소한다. 80°C 20분간 살균은 99%의 Casein이 변성되며 변성된 Casein에 의해 조식의 경도를 이끈다.

균질 : 합지 발효유를 재조식 때 버터지방의 분리를 막고, 지용성 비타민을 안정시키고, 커드 텐션(Curd tension)의 저하, 연한 커드의 형성을 초래한다. 균질 압력은 175~200kg/cm², 균질 온도는 65°C 정도가 적당하다. 균질을 하면 카제인의 분산도도 높아지고 점도가 적당해지며 제품의 소화율을 어느 정도 높인다. 지방구와 균질 압력과의 관계는 표 5와 같다.

표 5

지방구의 크기 압력	범 위 (ng)	평 균
None	1~8	3.71
500	1~14	2.39
1,000	1~7	1.68
1,500	1~4	1.40
2,000	1~3	1.08
2,500	1~3	0.99
3,000	0.5~2	0.76

무지유고형분 : 실제적으로 요구르트에 대하여원

유에다 탈지분유를 강화하여 무지유 고형분 10~15%가 적당하며, 량이 과다할시 Saltiness, powder flavor, 완제품에선 coarseness를 나타내고, 배지의 필요량에서 정상 무지유 고형분보다 더 많은 량을 첨가하는 산숙성을 증가시키고 응고를 촉진시킨다. 통상 무지유 고형분의 1~4% 첨가로 배양시간을 1~21/2시간 단축시키며 사용된 우유에 1~5%탈지분유 첨가도 응고 시간을 단축시킨다.

첨가제 : 안정제는 웨이퍼분을 막고 경도를 맞추기 위하여 각 제품마다 넣는 량이 다르나 일상 제조시 0.2%정도로 한다. Vitamin은 유산균의 증식을 하는데 필요하며 탈지분유를 첨가하는데도 Vitamin을 보충해 주는 의의가 있다.

4. 접종

스타터로써는 *Lactobacillus bulgaricus*: *Streptococcus thermophilus* = 1 : 1의 비율로 혼합하여 최량의 결과가 나오며 혼합 스타터를 배지에 접종시 최초 구균이 (*Streptococcus thermophilus*) 발육하고 (최적 PH : 6.5~6.8 배양온도 37°C) 다음엔 간균에 의하여 압도당하고 (*Lactobacillus bulgaricus* 최적 PH : 5.5~6.0 배양온도 44°C) 후에 간균에 의하여 생성되는 과산도에 의하여 구균이 사멸한다. *Streptococcus thermophilus*는 acidity가 0.85~0.95% 반면 *Lactobacillus bulgaricus*는 산도가 1.20~1.5%에 달한다. 혼합 스타터를 사용하는 이유로는 배지 중에서의 발육 개시가 불확실하고 또한 왕성한 발육이 일어났을 때는 스타터의 芳臭이 약하고 산미가 강하다. *Streptococcus thermophilus*의 첨가는 산도를 소비하고 단백질 분해에 의하여 *Lact. bulgaricus*가 신속히 동화하고 얻어진 질소를 공급하여 발육 개시를 준비하고 芳香風味를 산생한다.

Starter의 제조법

- ① 필요한 종류 이외의 미생물 함유되지 않는다.
- ② 異味 異臭가 없고 組織色澤良好.
- ③ 활성이 높고 신속 확실한 비율로 산을산성.

스타터로써는 량에 따라서 seed culture, mother starter, Bulk starter의 3종류로 나눈다. seed culture는 mother culture를, mother starter는 Bulk

starter를 만들기 위하여 사용한다.

A. Seed culture

1) 배지로는 litmus milk를 사용하고 탈지유를 로 사용 脫粉을 補助의에 이용 유고형분은 8.5%도가 좋으며 litmus의 粒狀을 이용 3~5%를 물 용해 여과 후 그의 litmus액을 탈지유에 가하여 litmus milk를 작성한다. 5%의 litmus액이라면 100ml의 탈지유에 약 5ml정도 가한다. 이 litmus milk 시험관에 10~15ml씩 분주 autoclave로 1kg/cm² 분간 멸균 litmus milk는 37°C 부란기에 3일간 어 잠균의 유무를 확인해야 한다. 접종에 사용되 기구 외부를 알코올로 분무 수 분후에 배양 조작 시작 litmus milk에 seed culture 2 drops를 넣 線控하고 37°C 부란기에 넣어 배양한다. 익일 꺼 어 이상이 없으면 seed culture로써 사용한다. 보 은 5°C 전후로 2~3주간 보존한다. 균의 활성이 한 것은 색소 환원 작용에 의해서 백색 부분이 많. 활성이 약한 것은 적색부가 많다.

Mother Starter

탈지유는 seed culture와 同様이나 litmus는 첨 치 않는다. 200ml의 삼각후라스크에 150ml(필요 따라 증감한다) 넣어 線控하고 autoclave로 1kg, m², 15분간 멸균 탈지유중의 유당이 갈색을 나타 는 정도가 좋다. 멸균 후 냉각한다. 후에 seed cu ture에서 멸균 pipette로 Curd를 1ml채취 접종 교 후 37°C에 보존 응고 상태의 유무를 확인 후 10° 이하의 陰暗所에 보존한다. 사용 시의 산도는 0.8~1.5%의 범위에 따라 배양시간을 조절한다.

C. Bulk starter

고형분이 적을 때는 whey-off가 많이 일어나 st rter의 조성이 불량하고 파다시는 산도가 높아 균. 활력이 약하게 되므로 8.5~10%정도로 한다. 탈. 유를 autoclave로 1kg/cm² 15분간 멸균하고 멸균. 정도는 mother starter와 동일하게 멸균 후에는. 색 정도가 좋다. 전히 착색이 되지 않을 때는 멸. 불충분으로 고려된다. 냉각 후 mother starter를. 접시 조작중에 공기중의 잠균이나 Bacterio-phage. 오염에 신속히 실시하지 않으면 않된다. starter

첨가량은 1%로 하고 잘 교반하여 섞는다. 접종 후 37~40°C에서 배양하고 적당시는 12시간 정도에서 산도가 1%전후가 되며 Bulk starter는 산도가 0.8~1.5%의 범위가 되도록 하고, 그 산도로써 대략 균은 $10^8/1\text{ml}$ 이상이 된다. 관계식은 $\log y = -1.33(x-1.20)^2 + 9.20$ y : 균수 x : 산도

5. 제조과정

요구르트: 제조법은 국가에 따라 종류도 다르다.

A. 원료

1) 원료유: 탈지유를 과다하게 사용하면 유고형분을 증가하기 위하여 탈지분유를 가하여 10~15%의 유고형분이 되도록하여 풍미의 개선 정도를 유연하게 하고 whey-off를 억제한다.

2) 감미제: Sugar를 8~10 정도로 하고 제품의 산도가 높을 시는 첨가량을 증가할 필요가 있다.

3) 경화제: Curd의 경화는 유고형분을 증가하는 것이 최대이나 한천 0.2% 겐라틴 0.2% 진분 0.3% 이하 정도로가하여 경도를 높이는 편이 경제적이다.

4) 향료: 요구르트 특유의 풍미가 좋으나 여러 가지 향료나 인공착색료를 첨가한다.

B. 배합

위 첨가물을 배합하여 50~60°C로 하여 여과후 72°C, 30분간 살균 37~40°C정도로 식힌다. 여기에 사용한 물은 水道水 以外的의 경우 음용에 적합한 물로 5분이상 저불하든가 동등 이상의 효력을 요하는 살균하고 이온 교환수지로 통파이온을 제거한다.

C. 스타터의 첨가

Bulk starter를 잘 진탕후 여과, 완전히 균질후 2% 첨가가 좋으며 이 때 향료를 가하여 진탕한다.

D. 발효

혼합균의 경우 38~43°C에서 5~6시간 배양시 산도가 0.7~0.8%가 되며 냉장고에서 냉각까지 0.8~0.85%의 산도상승이 보통이며 산성화와 배양 시간의 지연은 스타터의 불량, 접종량의 감소, 유온의 저하의 외적 인자가 그의 원인이 된다. 산성화가 빠른 것은 풍미적 결합이 일어나고 whey-off가 생긴다

E. 異常醱酵

1) 잡균의 混入

주로 단일균종의 잡균이 오염되는 경우가 많고 스타터의 배양에 쓰여진 탈지유가 멸균 불충분할 적에 스타터의 여과에 사용한 여과포의 오염의 경우, (이 때 대개 대장균과 枯草菌 기타의 球菌 따위의 種菌의 잡균에 의하여 오염된다.) 잡균이 혼입되었을 시는 육안적인 관찰이나 풍미검사를 행하는 간단한 방법도 있으나 현미경 검사가 제일 적당하다. 시험방법으로는 Catalase test가 있으며 잡균이 번식하기에 적은 수라면 잡균이 번식하기 이전에 유산균이 먼저 번식하여 배지의 산도가 상승하기 때문이다. 잡균의 발육이 저지된다. 체대배양시 잡균이 시험관에 혼입되었을시는 사용 불능이다.

2) Bacterio phage

생균의 균체세포를 용해하는 능력있는 물질을 말하는데 유산균의 박테리오파지는 일반적으로 구균에 감수성이 있고 간균의 경우에는 문제가 되지 않는다. 오염원인으로는 불완전하게 용기 및 기구의 살균 제조조작의 비위생적인 취급, 공기중에서의 오염원이 되어 있었으나 통상 크로린수 농도 100ppm정도면 사멸한다. phage의 추정시험으로써는 멸균 탈지유 10ml에 스타터 3drops를 가하여 적온에서 24시간 배양하여 우유의 응고 여부를 확인하는 것이다.

3) 항생물질의 영향

원료유에 Penicillin Aureomycin Chloromycetion. Streptomycine이 함유되었을시는 유산균은 이에 대하여 감수성이 있다. 구균과 간균에서는 구균의 편이 더 민감하다. (표 6 참조).

표 6

Critical levels of penicillin effecting Lactic acid and Organisms

Organism	Penicillin Concentration Significantly Inhibiting Growth (Iu/mg)
Streptococcus thermophilus	0.01~0.05
Streptococcus lactis	0.10~0.30
Streptococcus cremoris	0.05~0.10
Lacto bacilus bulgaricus	0~0.360
Lectobacilus-acipophilus	0.30~0.60
Leuconostic citrovorum	0.05~0.10

4) 기타 異常醱酵

whey-off, 산도 상승 지연,

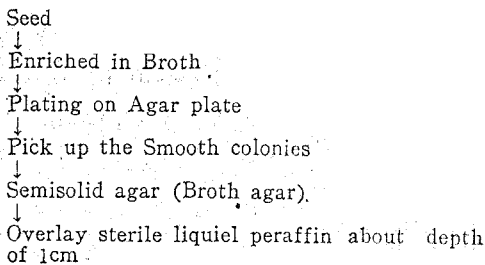
whey-off의 원인으로서는 배양중의 온도 불균일, 배양중의 진동, 스타터 첨가시의 교반 불충분, 배양 온도가 높았을시에 일어나며 산도 상승 지연의 원인으로서는 증진시의 milk온도의 저하, 배양실의 온도 관리의 불충분, 스타터의 활력, 산도, 잠균 혼입의 유무로 판단된다.

6. 균의 보존방법

유산균 보존배지로서는 Tomato juice Agar, Tomato juice Agar Special, Trypsin Digest Agar, Skim milk, peptonized milk, Bacto-Yeast Dextrose Agar, Bacto-Brilliant Green Biles 5%, Bacto-Lactose peptone Bile, Bacto-purple Bile Salt Agar, Bacto-Gention Violet Lactose Bile, Bacto-Galactose whey Agar, Bacto-whey Agar, Bacto peptonized milk Agar, Bacto-Galactose Peptonized Milk, Bacto-whey Broth, Bacto-purple Milk, Bacto-Neutral Red Medium, Bacto-Cooledge Broth, 등이 있다.

보존방법으로써 계대배양 보존법, 파라핀 봉입법, 동결건조 보존법, 냉동보존법이 있는데 계대배양법은 옛부터 이용된 방법이였으나 기업에서는 너무 번거로운 작업이므로 파라핀 주입법과 동결건조법이 병용되고 있다. 이상에서는 손쉽게 실험실내에서 사용할 수 있는 파라핀 주입법에 대해서 설명을 하면
a) 배지~BCP Broth b) 보존방법은 그림 2와 같다.

그림 2



보존온도로서는 5~10°C

유동 파라핀의 조제 : 파라핀은 양질의 것을 써야 하며 線檢을 한 후라스크에 넣고 121°C온도에서 120분간 증기압 살균하고 다시 170°C에서 60분간 건조 후 사용한다. 이 방법은 세포의 증식이 지나치지 않

게 하고 새로 증식된 세포를 그냥 휴식 상태로 옮겨 고 물질대사를 억제하여 세포의 노화를 지연시키기도 또 배지의 건조를 방지하므로 수년간 보존할수 있다.

7. 품질관리

1) 물리적 검사

Highacid flavor: 과도한 배양, 고온 저장, 과다 스타터의 집중에 의해서
Flat flavor: 너무 낮은 온도에서 단시간 배양, 박테리오파지, 항생제의 잔류
Bitter flaver: 지정의 균주 배양, 혐막형성 균주, Salt-Unbalance (stabilizer)의 과도한 이용, Unclear flavor: 제조시 위생적인 원유 수급.

A poor taste in Yogurt flavor : 부적합한 원료 혹은 불안정한 물질의 선택.

Gassiness: 첨가된 과실에서 효모의 존재.

2) 화학적 검사

Titration acidity, PH determination, fat, Titrable content. 원유의 단백질 농도는 요구르트의 final flavor에 영양을 주는데 4.0~4.5% 단백질을 함유한 우유에선 high acid flavor을 일으키기 쉽고 6.0~8.0% 단백질함유는 쓴맛과 cheesy flavor가 난다. 원유보다 요구르트에선 유리아미노산의 양이 훨씬 많아지고 특히 proline농도는 높다. 요구르트제조시에는 Vitamin의 손실이 20~30% 정도라고 한다.

3) 세균학적 검사

요구르트에서 Coliform검출에 대해서는 배지로서 Violet Red bile Agar를 사용하고 Lactose-fermenting Yeasts에 오염되었을시는 그 검출에 대하여 formate ricinaleate Broth를 이용한다.

8. 요구르트의 영양성 (표 7 참조)

표 7

Nutritional Values of Milk and Yogurt(per 100gr)

	Skim-milk	Whole-milk	Natural-yogurt (3.6% fat)	Cow fat yogurt (1.8% fat)	Fruit yogurt
Calories	36	66	84	69	90
Milk SNF(%)	8.9	8.7	13.1	13.1	14.0
Protein (%)	3.3	3.2	4.8	4.9	5.2
Riboflavin(mg)	0.15	0.15	0.22	0.22	0.2
Calcium (mg)	122	120	180	181	192