

곡류 첨가 우유에서 유산균의 생육과 산생성

김 경 희

덕성여자대학교 식품영양학과

Growth and Acid Production by Lactic Acid Bacteria in Cereal Added Milk

Kyung-Hee Kim

Department of Foods & Nutrition, Duksung Women's University

Abstract

A curd yogurt was prepared from milk added with skim milk powder or four kinds of cereal. The optimum fermentation temperature of *Lactobacillus acidophilus* (KCTC 2182) and changes in growth and acid production by *L. acidophilus* in milk added with cereal at 2%(W/V) level were investigated. The optimum fermentation temperature of *L. acidophilus* (KCTC 2182) was 39~41°C. The acidity significantly increased during fermentation by *L. acidophilus* for 30 hours while pH significantly decreased during fermentation. The number of viable cells markedly increased until the first 18 or 24 hours of fermentation by *L. acidophilus*.

I. 서 론

요구르트는 우유를 유산균으로 발효시켜 酸味와 香味를 강화시킨 것으로 주원료인 우유의 성분 이외에 유산균의 작용에 의해 만들어진 성분(유산, 펩톤, 펩타이드 등)과 유산균 균체가 포함되어 있으므로 영양학적으로 우유보다도 우수하다고 할 수 있다. 뿐만 아니라 유산균이 生菌으로서 장내에 도달하여 분열·증식하는 것이 있다면 腸内菌叢의 균형과 대사를 개선하여 整腸作用의 효과도 기대할 수 있다¹⁾. 우리나라의 1991년 발효유 생산량은 402,000톤으로 유제품 가운데 시유 다음으로 높은 생산 실적을 보였다²⁾. 수년 전부터는 종래의 액상요구르트보다 고형분 함량과 유산균수가 많은 호상요구르트(떠먹는 요구르트 또는 농후발효유라고도 함)가 시판되기 시작하였는데 최근 그 소비가 크게 증가하여 1992년 판매액은 1500억원을 넘어선 것으로 추정된다. 우리나라의 식품 성분규격에 따르면, 호상요구르트(농후발효유)의 무지유고형분(milk-solids-not-fat) 함량은 8% 이상으로 액상요구르트(발효유)의 3% 이상과 비교하였을 때 매우 높다. 호상요구르트의 유고형분 함량을 높이기 위하여 일반적으로 탈지분유, 전지분유, 버터밀크 분말, 유청 분말, 카제인 분말 등이 첨가되고 있다³⁾. 우리나라 유업회사에서는 우유에 3~4% 정도의 탈지분유를 첨가하여 호상요구르트의 유고형분 함량을 높이고 있다.

본 연구는 우유에 유고형분 대신에 여러가지 종류의 곡류를 첨가하여 종래의 요구르트보다 경제적이고, 맛이 다른 새로운 호상요구르트를 만드는 연구의 기초실험으

로서, 곡류 첨가 우유에서 유산균의 생육과 산생성을 조사하였다.

우유에 유고형분 이외의 성분을 첨가하여 요구르트 또는 이와 유사한 발효유제품을 만들고자 하는 연구를 살펴보면 다음과 같다. 우유에 대두 또는 대두단백질을 첨가한 연구⁴⁾, 우유에 쌀가루 등을 첨가한 연구^{5,6)}, 탈지유에 보리당화액을 첨가한 연구^{7,8)}, 물소젖에 밀호화액을 첨가한 연구⁹⁾ 등을 그 예로 들 수 있겠다.

이상의 문헌을 자세히 검토하여 보면 곡류 또는 이와 관련된 성분을 유제품 대신에 우유에 첨가하여 새로운 형태의 호상요구르트를 만들고자 하는 연구는 아직까지 체계적으로 이루어져 있지 않은 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 새로운 형태의 호상요구르트를 만드는 연구의 일환으로서 우유에 탈지분유 또는 4종의 곡류(쌀, 보리, 밀, 옥수수)를 각각 첨가하고 유산균(*Lactobacillus acidophilus* KCTC 2182)으로 발효하여, 곡류가 첨가된 우유에서 유산균의 최적 생육온도 및 생육과 산생성량의 경시적인 변화를 조사하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 사용균주

Lactobacillus acidophilus(KCTC 2182)를 선택하여 사용하였으며 유산균주의 보존용 배지로는 MRS 한천배지(Difco Lab.)를 사용하였다.

2. 요구르트의 제조

두산우유의 시유(전지우유)를 대리점으로부터 구입하여 요구르트 제조의 기질로 사용하였다. 우유를 그대로 기질로 사용하거나, 고형분 함량을 증가시키기 위하여 탈지분유(서울우유)나 쌀(1990년산 일반미, 평택미), 보리(남도함백, 경창산업), 밀가루(중력1등 다목적용, 무표백, 제일제당) 및 옥수수 그릿트(선일포도당)를 2%(W/V) 첨가한 우유를 기질로 사용하였다. 쌀, 보리, 옥수수는 분쇄기(대우전자 KMF-360)로 분쇄한 후 표준망체(42 mesh, 체눈의 크기 0.35 mm)를 통과한 분말을 실험에 사용하였다. 준비된 기질은 95°C 로 고정된 수조에서 10 분간 가열하여 곡류 전분의 호화 및 살균처리한 후 약 40°C 로 식히고 MRS액체배지에서 24시간 배양한 유산균 배양액을 3%(V/V)의 비율로 접종하여 일정 온도의 항온기(Model SLI-600D, Tokyo Rikakikai Co., Japan)에서 일정 시간 배양하였다.

3. 유산균의 생육과 산생성량 측정

우유와 2%의 탈지분유 또는 곡류를 첨가한 우유에서 유산균의 생육과 산생성량을 조사하기 위하여 24시간 발효된 요구르트로부터 시료를 무균적으로 취하여 생균수, 적정산도, pH를 측정하였다. 시료는 살균된 250 ml 삼각플라스크에 100 ml씩 준비하였으며, 발효가 완료된 요구르트는 시료의 채취를 용이하게 하기 위하여 같은 양의 멸균수로 희석하였다.

(1) 생균수

시료는 같은 양의 멸균수로 희석하고 일정량의 시료를 무균적으로 취하여 펨톤수에 의한 10배 희석법으로 희석하고 tomato juice agar(Difco Lab.)에서 40°C, 72시간 배양한 후, colony의 수가 30~300개인 평판을 선택하여

생균수를 측정하였다.

(2) 적정산도

시료 10 ml를 취하여 증류수로 희석한 후, 0.1 N-NaOH로 적정하여 산도를 산출하였다. 지시약으로는 페놀프탈레인(0.15% in 70% ethyl alcohol)을 사용하였다. 산도는 다음 식에 의하여 lactic acid의 percentage로 환산하였다.

$$\text{Lactic acid(\%)} = \frac{\text{ml of 0.1 N-NaOH} \times 0.009}{\text{Weight of sample(g)}} \times 100$$

(3) pH

동우메디칼 시스템의 pH meter(Model DP-215)를 사용하여 시료를 같은 양의 멸균수로 희석한 후 측정하였다.

4. 자료의 처리 및 분석

실험의 결과는 PC-STAT(University of Georgia, USA) software¹⁰⁾를 사용하여 분산분석(ANOVA)과 최소유의차 검정(LSD)으로 통계처리하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 생육온도가 *L. acidophilus*의 산생성에 미치는 영향
본 실험에서는 우유 또는 2%의 탈지분유나 4종의 곡류(쌀, 보리, 밀, 옥수수)가 첨가된 우유에 *L. acidophilus* (KCTC 2182)를 접종하여 일정한 범위의 온도(36~44°C)에서 24시간 발효한 후에 생육과 산생성을 관찰하였다. *L. acidophilus*를 사용하여 36°C에서 44°C까지의 온도 범위에서 발효시킨 결과를 Table 1과 Fig. 1에 표시하였

Table 1. Effect of fermentation temperature on acid production by *L. acidophilus* in milk

Additive	Titratable acidity(%) ¹⁾								
	Fermentation temperature(°C)								
	36	37	38	39	40	41	42	43	44
None	0.823 ^g ± 0.019	0.879 ^d ± 0.007	0.882 ^{cd} ± 0.020	0.921 ^a ± 0.008	0.913 ^a ± 0.009	0.907 ^{ab} ± 0.008	0.895 ^{bc} ± 0.009	0.864 ^e ± 0.016	0.843 ^f ± 0.012
SMP ²⁾	0.940 ^d ± 0.026	1.032 ^b ± 0.012	1.029 ^b ± 0.008	1.072 ^a ± 0.012	1.071 ^a ± 0.010	1.069 ^a ± 0.006	1.059 ^a ± 0.009	1.033 ^b ± 0.008	0.994 ^c ± 0.030
Rice	0.899 ^f ± 0.030	0.972 ^{cd} ± 0.028	0.981 ^{bcd} ± 0.011	1.007 ^a ± 0.017	0.996 ^{ab} ± 0.014	0.995 ^{ab} ± 0.007	0.993 ^{abc} ± 0.014	0.960 ^d ± 0.012	0.935 ^e ± 0.018
Barley	0.920 ^e ± 0.028	0.964 ^c ± 0.014	0.962 ^c ± 0.015	0.998 ^a ± 0.014	0.995 ^a ± 0.010	0.988 ^a ± 0.005	0.985 ^{ab} ± 0.020	0.968 ^{bc} ± 0.004	0.944 ^d ± 0.010
Wheat	0.864 ^d ± 0.018	0.907 ^{bc} ± 0.015	0.915 ^b ± 0.025	0.951 ^a ± 0.010	0.945 ^a ± 0.013	0.951 ^a ± 0.010	0.949 ^a ± 0.017	0.919 ^b ± 0.019	0.891 ^c ± 0.009
Corn	0.862 ^d ± 0.007	0.898 ^c ± 0.014	0.906 ^c ± 0.018	0.943 ^a ± 0.019	0.945 ^a ± 0.013	0.945 ^a ± 0.004	0.925 ^b ± 0.007	0.912 ^{bc} ± 0.012	0.879 ^d ± 0.020

¹⁾% Titratable acidity as lactic acid. Values reported represent the difference between titratable acidity of an incubated sample and that of an identically treated, but unincubated sample.

Mean values and standard deviations of six replications.

Any two means in a row not followed by the same letter are significantly different at the 5% level.

²⁾SMP: skim milk powder

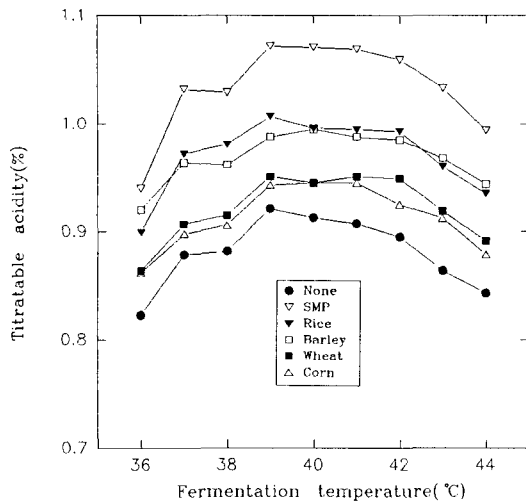


Fig. 1. Effect of fermentation temperature on acid production by *L. acidophilus* in milk

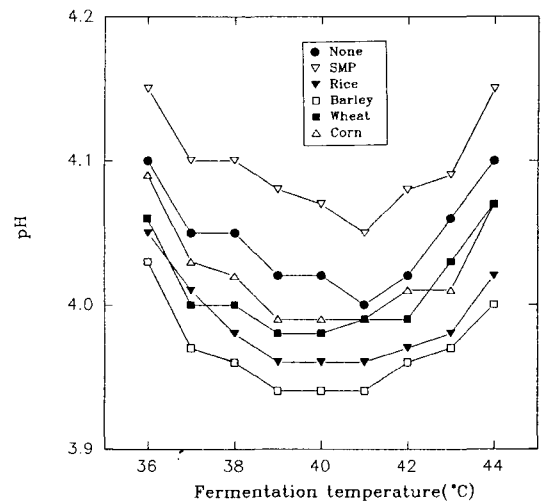


Fig. 2. Effect of fermentation temperature on pH change by *L. acidophilus* in milk

Table 2. Changes in pH during fermentation by *L. acidophilus* in milk

Additive	pH ¹⁾								
	Fermentation temperature(°C)								
	36	37	38	39	40	41	42	43	44
None	4.10	4.05	4.05	4.02	4.02	4.00	4.02	4.06	4.10
SMP ²⁾	4.15	4.10	4.10	4.08	4.07	4.05	4.08	4.09	4.15
Rice	4.05	4.01	3.98	3.96	3.96	3.96	3.97	3.98	4.02
Barley	4.03	3.97	3.96	3.94	3.94	3.94	3.96	3.97	4.00
Wheat	4.06	4.00	4.00	3.98	3.98	3.99	3.99	4.03	4.07
Corn	4.09	4.03	4.02	3.99	3.99	3.99	4.01	4.01	4.07

¹⁾Median values of six replications

²⁾SMP: skim milk powder

다. Table 1에 표시한 적정산도는 24시간 발효 후에 측정된 산도에서 접종 직후의 산도를 뺀 수치이다. 우유 요구르트의 경우 39°C, 40°C, 41°C에서의 적정산도가 각각 0.921%, 0.913%, 0.907%로 40±1°C에서 산생성이 가장 높았으며 그 전후의 온도에서는 적정산도가 점차로 감소하는 경향을 보였다. 39°C, 40°C, 41°C 사이에서는 통계적인 유의차를 보이지 않았으나(p<0.05), 다른 온도에서는 온도가 달라짐에 따라 대체적으로 유의차를 보였다. 조사한 36~44°C의 온도 범위에서는 36°C에서 산생성이 가장 저조하였다. 첨가물이 함유된 5종의 시료의 경우도 우유요구르트와 마찬가지로 40±1°C에서 산생성이 가장 높았으며 그 전후의 온도에서는 점차로 감소하였다.

한편 pH는 Table 2와 Fig. 2에 나타난 바와 같이 40±1°C에서 가장 낮은 수치를 보였으며 그 전후의 온도에서는

점차로 증가하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 앞에서 기술한 적정산도의 결과와 그 경향이 일치하는 것이었다.

이상의 결과로 미루어 보아 *L. acidophilus*(KCTC 2182)의 최적 생육 온도는 39~41°C인 것으로 판단된다.

유산균의 생육온도에 관한 문헌¹¹⁻¹³⁾을 보면 *L. acidophilus*의 최적 생육 온도는 35~38°C로 알려져 있는데, 이것은 본 연구에서 관찰된 *L. acidophilus*(KCTC 2182)의 최적 생육온도, 즉 39~41°C와 차이가 있는 것이며 이와 같은 차이는 *L. acidophilus*라는 종(species)은 같지만 문헌에 보고된 종들과 본 연구에서 사용된 *L. acidophilus*의菌株(strain)가 서로 다르기 때문이라고 생각된다.

2. 곡류 첨가 우유에서 *L. acidophilus*의 생육과 산생성의 經時的인 변화

본 실험에서는 대조군(우유)과 탈지분유 또는 4종의 곡류를 첨가한 우유에 *L. acidophilus*(KCTC 2182)를 접종하고 40°C에서 30시간까지 발효하면서 일정시간마다 유산균의 생육과 산생성을 조사하였다. Table 3의 적정산도는 접종 직후 측정된 시료의 산도를 0으로 하여 보정한 수치이다.

Table 3과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 대조군을 포함한 모든 실험군에서 시간이 경과함에 따라 산도가 현저하게 증가하였으며 각 시간별 시료사이에 5% 수준에서 유의차가 있었다. Fig. 3을 보면 0시간부터 6시간까지는 산도가 완만하게 증가하였으나 6시간부터 18시간 사이에는 급격하게 증가하였으며 18시간 이후에도 30시간까지 계속 증가하는 것을 알 수 있다. 대조군의 경우는 모든 시간에 걸쳐 산생성이 가장 저조하였고, 18시간 이후부

Table 3. Changes in growth and acid production during fermentation by *L. acidophilus* in milk

	Additive	Fermentation time(hr)						
		0	6	9	12	18	24	30
Titratable acidity (%) ¹⁾	None	0 ^g	0.056 ^f ± 0.000	0.221 ^e ± 0.012	0.407 ^d ± 0.030	0.731 ^c ± 0.026	0.907 ^b ± 0.021	1.037 ^a ± 0.014
	SMP ²⁾	0 ^g	0.064 ^f ± 0.005	0.248 ^e ± 0.011	0.466 ^d ± 0.032	0.865 ^c ± 0.030	1.051 ^b ± 0.025	1.193 ^a ± 0.011
	Rice	0 ^g	0.079 ^f ± 0.000	0.284 ^e ± 0.014	0.496 ^d ± 0.028	0.817 ^c ± 0.016	0.993 ^b ± 0.024	1.108 ^a ± 0.015
	Barley	0 ^g	0.104 ^f ± 0.009	0.316 ^e ± 0.005	0.523 ^d ± 0.029	0.815 ^c ± 0.019	0.995 ^b ± 0.023	1.096 ^a ± 0.015
	Wheat	0 ^g	0.083 ^f ± 0.007	0.292 ^e ± 0.017	0.506 ^d ± 0.032	0.821 ^c ± 0.015	0.990 ^b ± 0.030	1.113 ^a ± 0.016
	Corn	0 ^g	0.075 ^f ± 0.009	0.277 ^e ± 0.019	0.478 ^d ± 0.020	0.780 ^c ± 0.019	0.943 ^b ± 0.013	1.074 ^a ± 0.017
	pH ³⁾	None	6.57	6.30	5.62	4.92	4.25	4.02
	SMP	6.60	6.30	5.66	5.01	4.30	4.06	3.95
	Rice	6.57	6.10	5.32	4.60	4.13	3.93	3.81
	Barley	6.56	6.05	5.22	4.53	4.09	3.94	3.85
	Wheat	6.58	6.14	5.38	4.61	4.14	4.00	3.85
	Corn	6.56	6.10	5.43	4.68	4.18	3.99	3.88
Viable cell count ⁴⁾ (CFU/ml)	None	8.0×10^7	4.4×10^8	1.2×10^9	2.1×10^9	5.1×10^9	9.4×10^9	1.1×10^{10}
	SMP	9.4×10^7	4.7×10^8	1.3×10^9	2.4×10^9	7.8×10^9	1.5×10^{10}	1.4×10^{10}
	Rice	9.3×10^7	5.4×10^8	1.3×10^9	2.4×10^9	7.9×10^9	1.7×10^{10}	1.8×10^{10}
	Barley	8.8×10^7	5.5×10^8	1.3×10^9	2.2×10^9	1.7×10^{10}	1.7×10^{10}	1.1×10^{10}
	Wheat	1.1×10^8	6.4×10^8	1.2×10^9	2.7×10^9	1.5×10^{10}	1.0×10^{10}	1.3×10^{10}
	Corn	8.1×10^7	4.5×10^8	1.3×10^9	2.8×10^9	1.0×10^{10}	1.0×10^{10}	1.0×10^{10}

¹⁾See footnote in Table 1.

Mean values and standard deviations of four replications

²⁾SMP: skim milk powder

³⁾Median values of four replications

⁴⁾Mean values of four replications

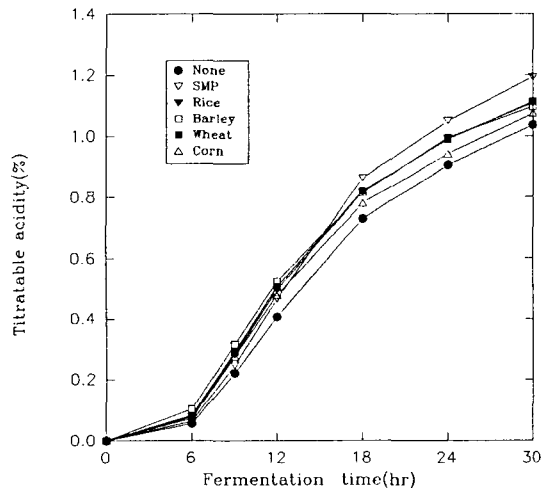


Fig. 3. Changes in acid production during fermentation by *L. acidophilus* in milk

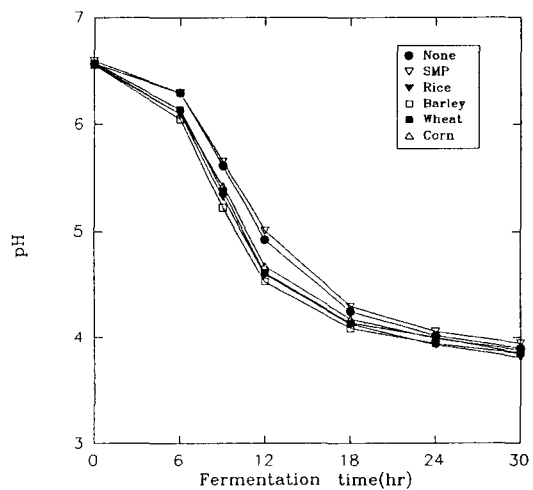


Fig. 4. Changes in pH during fermentation by *L. acidophilus* in milk

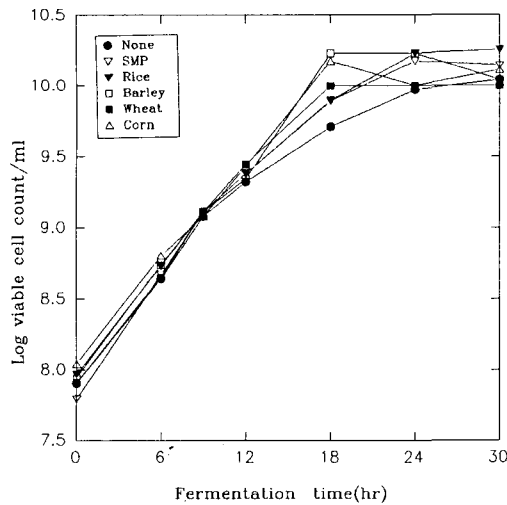


Fig. 5. Changes in viable cell count during fermentation by *L. acidophilus* in milk

터는 탈지분유 첨가균의 산생성이 가장 높았고 그 다음은 곡류 첨가균이었다.

pH는 Table 3과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 0시간부터 6시간까지는 완만하게 감소하였으며 6시간부터 18시간 사이에 급격하게 감소하였고 18시간 이후에도 30시간까지 계속 감소하였다. 이것은 적정산도의 경시적인 변화와 일치하는 결과이다.

*L. acidophilus*의 생균수의 경시적인 변화를 보면, Table 3과 Fig. 5에 나타난 바와 같이, 실험을 시작한 후 6시간이 경과하기 전에 log phase가 시작되어 보리, 밀, 옥수수 첨가균은 18시간까지, 대조군과 탈지분유 또는 쌀 첨가균은 24시간까지 log phase가 지속된 후 그 후 30시간까지 stationary phase가 계속되었다. 한편 대조군의 생균수가 다른 실험군보다 다소 낮았다.

IV. 요약

본 연구에서는 우유에 탈지분유 또는 4종의 곡류(쌀,

보리, 밀, 옥수수)를 각각 2%(W/V) 첨가하고 *Lactobacillus acidophilus*(KCTC 2182)로 발효하여 커드상의 요구르트를 만든 후, 곡류 첨가 우유에서 유산균의 최적 생육온도 및 생육과 산생성의 경시적인 변화를 조사하였다. 본 실험에서 사용한 *L. acidophilus*(KCTC 2182)의 생육온도는 39~41°C가 적합하였다. *L. acidophilus*를 접종하여 30시간까지 발효하면서 적정산도와 pH, 생균수를 관찰하였는데, 발효시간이 경과함에 따라 산생성이 현저히 증가하였고 pH는 저하하였으며 생균수는 18시간 또는 24시간까지 현저히 증가하였다.

참고문헌

1. 이재영, 유제현, 강국희, 신제 유가공학, 향문사, p.277 (1981).
2. 한국유가공협회 편집부, 유업통계, 우유, 통권 제 49호, 61(1992).
3. Tamime, A.Y. and Robinson, R.K., *Yoghurt: Science and Technology*, Pergamon Press, p.17(1985).
4. 김혜정, 고영태, 우유와 대두단백질을 이용한 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 22(6): 700 (1990).
5. 홍외숙, 고영태, 우유와 쌀을 이용한 요구르트의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 23(5): 587 (1991).
6. 백지혜, 고영태, 쌀의 저장기간이 쌀첨가요구르트의 품질에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 24(5): 470(1992).
7. 이성갑, 김기철, *Lactobacillus acidophilus*에 의한 보리 당화액의 젖산발효, 한국농화학회지, 31(3): 255(1988).
8. 유태종, 이주원, 맥아당화액을 이용한 유산균음료의 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 14(1): 57(1982).
9. Hamzawi, L.F. and Kamaly, K.M., The Quality of Stirred Yoghurt Enriched with Wheat Grains, *Cultured Dairy Products J.*, 27(3): 26(1992).
10. University of Georgia, PC-STAT (1985).
11. Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E., *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, The Williams and Wilkins Co, Baltimore, p.576(1974).
12. Gilmour, A. and Rowe, M.T., Microorganisms associated with milk, In *Dairy Microbiology: Volume 1, The Microbiology of Milk*, Robinson, R.K.(ed), Applied Science Publishers, London, p.58(1981).
13. ATCC, *The American Type Culture Collection Catalogue of Strains I*, ATCC, p.95(1980).