KOREAN J. SOC. FOOD SCI.
Vol. 14, No. 5, December, 1998

효소처리 분리대두단백의 요구르트 발효 중 비피더스균의 생육특성 및 유기산과 n-hexanal 함량에 관한 연구

이숙영 · 이정은 · 박미정 · 권영실
중앙대학교 생활과학대학 식품영양학과

Studies on the Growth Characteristics of *Bifidobacteria*, Organic Acids and n-hexanal Contents During the Fermentation of Enzyme Treated Soy Yogurt

Sook Young Lee, Jeong Eun Lee, Mi Jung Park and Young Sil Kwon
Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University

Abstract

This study was carried out to evaluate the quality attributes of soy yogurts prepared by different types of oligosaccharides (fructooligosaccharide, galactooligosaccharide, isomaltooligosaccharide) and *Bifidobacteria* (*B. bifidum, B. breve, B. infantis*) containing enzyme treated soy protein isolate in terms of pH, titratable acidity, total number of viable cells of *Bifidobacteria*, α-galactosidase activity, organic acids, volatile compounds. The pH values of soy yogurts fermented by *B. bifidum* showed the highest significantly but those fermented by *B. infantis* showed the lowest significantly, while the titratable acidity of soy yogurts were vice versa. The viable cells of *Bifidobacteria* of all soy yogurts showed more than 10^9 CFU/m*l* and soy yogurts fermented by *B. infantis* showing below pH 4.6 showed more than 10^9 CFU/m*l* after storage at 4°C for 7 days. The activity of α-galactosidase showed the highest in the culture of *B. infantis* among the *Bifidobacteria* tested. Among the *Bifidobacteria* tested, the contents of lactic acid and acetic acid showed the highest in soy yogurts fermented by *B. infantis* but citric acid and propionic acid were the lowest. Among the *Bifidobacteria* tested, the contents of n-hexanal showed the highest in soy yogurts fermented by *B. breve* and a little amounts of acetaldehyde were present in all soy yogurts.

Key words: α-chymotrypsin, soy protein isolate, *Bifidobacteria*, oligosaccharides, soy yogurt

I. 서 론

대두단백은 필수아미노산을 풍부히 함유하고 있는 식물성단백으로서 동물성단백에 비교해 가격이 저렴하므로 동물성단백의 대체식품으로 이용되고 있다. 특히 분리대두단백은 단백질을 90% 이상 함유하고 있어 다양한 식품에 첨가하여 제품의 물리적 성질을 향상시켜 주며 육제품의 증량제 및 조직감 개선, 냉동식품의 결착력 등을 증가시키고[1] 또한 유단백의 대체로써 단백질 음료, 아이스크림 등의 가공품에 그 이용이 확대되고 있다[2]. 대두단백을 식품에 이용할 경우 효소처리하므로써 콩비린내가 제거되고 유화력, 기포력 등의 기능적 성질을 향상시키며 단백질 분해물이 비피더스균의 생육인자이므로 생균수 증가에 영향을 준다. 또한 대두단백을 젖산균으로 발효하여 풍미를 증진시키므로써 두유를 젖산균으로 발효시키는 연구를 시작한 이후 이에 대한 연구가 국내외적으로 활발히 진행되었다. 김 등[3]의 연구에서는 대두, 탈지대두, 농축대두단백, 분리대두단백으로 각각 두유를 만들고 젖산균을 각각 접종하여 대두단백이 젖산균의 생육과 산생성에 미치는 영향을 살펴본 결과, 분리대두단백으로 제조한 두유에서 산생성이 가장 낮은 것으로 나타났으나 생육촉진인자인 yeast extract를 0.5% 첨가시 대두단백의 형태에 관계없이 모든 시료에서 산생성이 좋았다고 보고하였다. Matsuoka 등[4]은 젖산균 중에서 *S. themophilus*가 두유발효에서 산생성이 가장 왕성하였으며 *L. bulgaricus* 보다도 산생성력이 더 컸다고 보고하였다.

우리나라에서는 1970년에 액상 유산균음료가 도입된 이후 발효유제품에 대한 인식이 새로워졌으며 최

근에는 건강식품 및 저열량, 저지방식품으로서의 젖산균발효유의 가치가 재평가되고 있고 요구르트의 종류도 액상요구르트뿐만 아니라 고형상 요구르트, 과육을 포함한 요구르트 등 다양한 제품이 생산되고 있다. 요구르트는 우유를 젖산균으로 발효시켜 산미와 향미를 강화시킨 것으로 장내균총의 균형과 대사를 개선하여 정장작용의 효과를 기대할 수 있으며 유당불내증의 감소, 항암작용, 콜레스테롤혈증에 대한 방지효과, 비타민 B의 생성 등 건강의 향상 및 치료적인 효과[5]도 기대할 수 있다. 또한 비피더스균으로 발효시킨 발효유는 다른 발효유보다 쓴맛이 적고 저장기간 동안 산도의 상승이 적어 산미가 부드러우며 생리적으로 가치가 있는 L-(+)-Lactic acid 함유 등의 장점이 있으나[6] 영양요구가 복잡하고 혐기적 배양이 요구되는 까다로운 조건으로 인하여 식품제조 및 저장 중에 비피더스균의 생존이 어렵기 때문에 그 이용이 제한되고 있다.

한편 올리고당은 비피더스균의 증식을 촉진하는 대표적인 비피더스 생육촉진인자로서 기존 당류가 가지고 있는 비만, 충치, 당뇨병, 콜레스테롤이나 중성지방 등을 감소 시키는 생리적 기능을 보완한 기능성 당류이다[7]. 올리고당은 또한 변비개선에 효과적이며 장내 부패물질을 감소시킨다고 하는데 이러한 건강 증진 효능은 대부분의 경우 올리고당이 비피더스균의 성장인자로서 작용하여 발효를 통해 이루어지는 것이다. 올리고당은 체내에서 거의 대사가 되지 않아서 칼로리가 적다.

이에 본 연구에서는 대두단백의 풍미와 기능성의 향상을 목적으로 효소처리한 분리대두단백에 fructooligosaccharide, galactooligosaccharide, isomaltooligosaccaride를 첨가하여 3종류의 비피더스균으로 각기 배양한 soy yogurts의 pH, 산도, 생균수, α-galactosidase의 활성, 유기산과 n-hexanal 및 acetaldehyde의 함량을 알아보았다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

분리대두단백(SPI)인 Supro E 500과 안정제로 사용된 monoice는 (주)광일에서 제공받았고 오의 연구[9]에서 분리대두단백을 효소처리한 결과 단백질의 기능적 성질 중 용해도와 유화력이 높았던 α-chymotrypsin(C-4120, activity: 40~60 units/mg protein, Sigma Co.)을 선택하여 사용하였다. 사용균주는 *Bifidobacterium bifidum*(ATCC 11863), *Bifidobacterium infantis*(ATCC 15697), *Bifidobacterium breve*(ATCC 15700)로 한국생명공학연구소에서 분양받았고 사용된 올리고당은 fructooligosaccharide(FOS), galactooligosaccharide(GOS), isomaltooligosaccharide(IOS)로써 (주)삼양 제넥스 연구소에서 제공받았다. 유기산과 휘발성 향기성분을 분석하기 위하여 사용된 표준물질은 (주)보락에서 제공받아 사용하였다.

2. 시료의 제조

(1) 균주의 배양 및 처리조건

비피더스균은 Lactobacillus MRS broth(Difco)에 0.05%의 L-cystein을 첨가한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 요구르트 접종시에는 4°C에서 2,000 rpm으로 20분간 원심분리시킨 후 상등액을 제거하고 균체만 회수하여 접종하였다.

(2) 분리대두단백의 효소처리

Kim(Lee) 등의 방법[8]에 의해 SPI를 효소처리하였다. 즉, 10% SPI 용액을 만들고 6 N NaOH을 이용하여 pH 7.8로 조정한 후 α-chymotrypsin(0.5%(w/w))을 가하여 천천히 저어 주면서 37°C에서 20분 동안 반응시켰다. 효소반응이 끝난 SPI 용액은 즉시 87°C에서 5분간 가열하여 효소를 불활성화시켜 반응을 정지시킨 후 6 N HCl를 이용하여 pH 7.0으로 조정하였다.

(3) Soy yogurt의 제조

오의 방법[9]을 약간 변형하여 Fig. 1과 같이 soy yogurt를 제조하였다. 효소처리한 10% SPI용액, soybean oil 4%, monoice 0.5%를 잘 혼합하여 만든 soy yogurt base와 3 종류의 올리고당(8%)을 각각 121°C에서 15분간 가압 멸균한 후 잘 섞어주었다. 이때 올리고당은 열분해를 방지하기 위하여 수용액 상태로 멸균시켰다. 그 후 37°C로 냉각되면 vitamin C를 0.02% 수준으로 첨가하고 3종류의 비피더스균을 각각 1%(v/v)씩 접종하여 37°C에서 16시간 동안 배양하여 soy yogurt를 제조하였다. 이때 초기에 접종된 균수는 1.6~2.2×10^8 CFU/m*l*였다.

3. Soy yogurts의 품질평가

(1) pH 측정

각 시료의 pH는 pH meter(Metrohm 635)를 사용하여 측정하였다.

(2) 산도 측정

시료 10 m*l*를 취한 후 동량의 증류수로 희석한 다음 지시약으로 phenolphtalein 용액을 0.5 m*l*씩 넣어 0.1 N NaOH 용액으로 분홍색이 될 때까지 중화적정하였다. 이때 소비된 0.1 N NaOH의 m*l* 수를 측정한 후 다음 식을 이용하여 lactic acid(LA)%로 환산하였다[10].

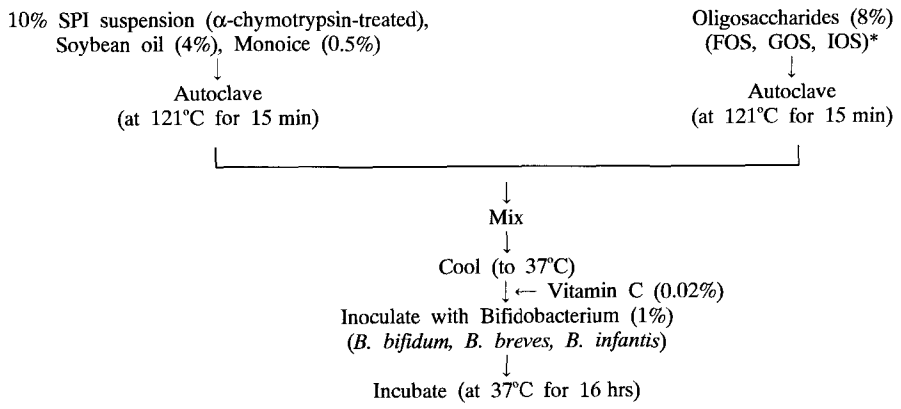

Fig. 1. Procedure for the preparation of soy yogurts. *FOS: fructooligosaccharide, GOS: galactooligosaccharide, IOS: isomaltooligosaccharide.

$$LA(\%) = \frac{\text{m}l \text{ of } 0.1 \text{ N NaOH} \times 0.009}{\text{m}l \text{ of sample}} \times 100$$

(3) 생균수 측정

시료 1 g을 무균적으로 취하여 멸균 peptone 수에 의한 10배 희석법으로 희석하였고 Latobacillus MRS 배지에 plating한 후 anaerobic jar(Difco)를 사용하여 37°C에서 48시간 동안 혐기적으로 배양한 후 군집수가 25~250개가 나타나는 평판을 선택하여 생균수를 산출하였다. 또한 *B. infantis*로 37°C에서 16시간 동안 발효시켜 pH가 4.6 이하였던 soy yogurts를 4°C에서 7일간 저장한 후의 생균수를 측정하여 초기 생균수와 비교하였다.

(4) α-Galactosidase 활성 측정

시험용 배지(MRS broth)에 3 종류의 비피더스균인 *B. bifidum, B. infantis, B. breve*를 10^8 CFU/m*l* 균액으로 접종하여 비피더스균에 존재하는 α-galactosidase 활성을 측정하기 위한 시료로 사용하였다. 10 mM PNPG(ρ-nitrophenyl-α-D-galactopyranoside) 800 μ*l*에 phosphate buffer를 800 μ*l* 첨가한 다음 김 등[11]의 방법을 변형하여 제조한 조효소액 200 μ*l*를 다시 첨가한 후 40°C에서 15분간 반응시켰다. 이 반응물에 냉각된 0.2 M Na_2CO_3 200 μ*l*를 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 PNPG로부터 유리되는 ρ-nitrophenol의 유리량을 표준곡선으로 산출하여 상대활성도(%)로 나타내었다.

(5) 유기산 측정

Marsili 등의 방법[12]을 변형하여 시료의 유기산을 분석하였다. 5 g의 시료에 5 m*l*의 deionized water, 20 m*l*의 acetonitril을 가하여 50 m*l*의 centrifuge tube에서 2분간 흔들어 준 후 7,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 상층액을 0.2 μm membrane filter로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. 표준물질으로는 lactic acid, acetic acid, citric acid, propionic acid를 사용하였으며 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating condition of HPLC analysis for organic acids

Instrument: Gilson 305 system (U.S.A.)
Column: Aminex™ HPX-87H (300 mm × 7.8 mm)
Detector: Gilson 119 UV detector (210 nm)
Mobile phase: 0.008 N H_2SO_4
Flow rate: 0.6 m*l*/min
Injection volume: 20 μ*l*
Column temp.: 65°C

(6) 휘발성 향기성분 측정

고 등[13]의 방법을 변형하여 30 g의 시료를 100 m*l*의 병에 넣고 35 g의 Na_2SO_4을 첨가하여 rubber septum으로 밀봉한 후 60°C의 water bath에서 20분간 교반하였다. 발생한 headspace gas를 5 m*l* gas tight syringe (Hamilton Co. U.S.A)로 0.5 m*l* 취하여 gas chromatograph(Varian 3400)로 분석하였으며 측정하고자 하는 시료의 휘발성 향기성분은 n-hexanal, acetaldehyde로 GC의 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operating condition for GC analysis volatile compounds

Instrument: Varian 3400
Column: DB-FFAP (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
Detector: FID
Inj. temp.: 200°C
Det. temp.: 220°C
Carrier gas: He
Injection volume: 0.5 m*l*
Column temp.: 45°C

4. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 평균치로 표시하였으며 실험결과는 SAS package를 사용하여 분산분석한 후 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's mutiple range test로 시료간의 유의차를 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. pH

올리고당과 비피더스균의 종류를 달리하여 제조한 soy yogurt의 pH를 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증한 결과는 Table 3에 제시되어 있다. Soy yogurt의 pH는 균주의 종류에 따라 유의차가 뚜렷이 나타나, 올리고당의 종류와 관계없이 *B. bifidum* 배양군의 pH가 가장 높았고 *B. infantis* 배양군의 pH가 가장 낮았다. 이는 각각의 비피더스균의 성장속도가 다르기 때문에 탄소급원으로서 올리고당을 이용하여 생산하는 산의 비율에 있어서도 각기 다른 양상을 보였기 때문이다. Desjardins 등[14]은 탈지유 중에서 비피더스균의 생장능력을 시험한 결과 *B. bifidum* (ATCC 15696)이 가장 높은 성장율을 보였고 *B. adolescentis*(ATCC 15703)와 본 연구에서 사용된 *B. bifidum*(ATCC 11863) 및 *B. angulatum*(ATCC 27535)은 성장율이 떨어지는 것으로 보고한 바 있다. 또한 12종류의 비피더스균을 탈지유 12% 배지에서 성장율에 따라 분류한 결과 성장율이 빠른 균주(5균주), 중간정도인 균주(4균주), 느린 균주(3균주)로 구분하였는데 *B. breves*(ATCC 15700)은 중간 균주에 속하고 *B. bifidum*(ATCC 11863)은 느린 균주에 속하였다. 따라서 본 연구에서도 *B. breves* 배양군은 *B. bifidum* 배양군 보다 pH가 낮게 나타났다. 한편 *B. infantis* 배양군의 pH가 가장 낮은 것으로부터 *B. infantis*는 *B. breve* 보다 성장이 더 빠른 균주인 것으로 사료된다.

한편 올리고당의 종류에 따른 pH에 있어서는 유의차가 없었는데 이는 4가지 올리고당(FOS, IOS, soya-oligosaccarides, transgalactosylated oligosaccharides)을 첨가하여 *B. infantis*로 배양시킨 경우 시료간의 pH와 적정산도에 있어서 유의차가 없었다고 보고한 김의 연구[15]와 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 3. Effects of the different types of starter cultures and oligosaccharides on the pH of soy yogurts

Oligosaccharides / Starter cultures	FOS	GOS	IOS	F-value
B. bifidum	$5.26^{a}\pm0.14$	$5.30^{a}\pm0.17$	$5.26^{a}\pm0.27$	0.05^{NS}
B. breve	$4.86^{b}\pm0.10$	$4.78^{b}\pm0.04$	$4.76^{b}\pm0.02$	2.06^{NS}
B. infantis	$4.38^{c}\pm0.06$	$4.38^{c}\pm0.04$	$4.40^{c}\pm0.06$	0.15^{NS}
F-value	52.27***	61.89***	22.21**	

FOS: fructooligosaccharides, GOS: galactooligosaccharides, IOS: isomaltooligosaccharides.
*p< 0.05, **p<0.01, ***p< 0.001, NS: Not Significant.
[a-c]Means with different superscripts in the same column differ significantly by Duncan's mutiple range test (p<0.05).

2. 산도

올리고당과 비피더스균의 종류를 달리하여 제조한 soy yogurts의 산도를 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증한 결과는 Table 4에 제시되어 있다. 즉 균주의 종류에 따른 산도에서 유의차가 뚜렷이 나타나서 *B. infantis* 배양군의 산도가 가장 높았고 *B. bifidum* 배양군의 산도가 가장 낮았다. FOS 첨가시 *B. infantis* 배양군은 *B. breves* 배양군과 *B. bifidum* 배양군 보다 유의적으로($p<0.001$) 더 높은 산도를 나타내었으며 GOS와 IOS 첨가시에는 균주의 종류에 따라 모든 시료간에 유의차가 있었다. 반면 올리고당의 종류에 따른 산도에서는 유의차가 없었으므로 결과적으로 산도는 pH와 유사한 경향을 나타내었다.

요구르트의 적정산도는 두가지로 나뉘어지는데 mild yogurt는 산도가 0.6~0.9%이고 acid yogurt는 1.0~1.3%으로 본 연구에서는 *B. bifidum* 배양군이 mild yogurt에 속하였고 *B. breves* 배양군은 acid yogurt에 속하였다. 이외에 *B. infantis* 배양군의 산도는 acid yogurt의 범위 보다 더 높은 경향을 나타내었다.

시판 요구르트의 경우에 있어서 pH는 3.91~4.37이고 산도는 0.82~1.09%로 조사되었는데 본 연구에서의

Table 4. Effects of the different types of starter cultures and oligosaccharides on the titratable acidity of soy yogurts (unit: %)

Oligosaccharides / Starter cultures	FOS	GOS	IOS	F-value
B. bifidum	$0.84^{b}\pm0.48$	$0.81^{c}\pm0.06$	$0.82^{c}\pm0.18$	0.01^{NS}
B. breve	$0.97^{b}\pm0.06$	$1.03^{b}\pm0.02$	$1.04^{b}\pm0.01$	0.13^{NS}
B. infantis	$1.40^{a}\pm0.10$	$1.41^{a}\pm0.01$	$1.39^{a}\pm0.09$	0.07^{NS}
F-value	36.27***	174.35***	18.42**	

FOS: fructooligosaccharides, GOS: galactooligosaccharides, IOS: isomaltooligosaccharides.
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, NS: Not Significant.
[a-c]Means with different superscripts in the same column differ significantly by Duncan's mutiple range test (p<0.05).

pH는 4.38~5.30이고 산도는 0.82~1.41%였다. 따라서 pH가 시판 요구르트 보다 높았음에도 불구하고 산도가 더 높게 나타나는 경향이 있었는데 이는 본 연구에서 비피더스균의 혐기적 상태를 유지하기 위한 강력한 환원제로서의 vitamin C의 첨가가 산도에 영향을 준 것으로 사료된다. 김[15]은 배양원액에 *B. infantis* (10%)를 접종하고 10시간 동안 배양시켰을 때 대조구는 pH 6.38, 산도 0.21%이었으나 0.2% vitamin C 처리구는 pH 5.98, 산도 0.29%로서 약간의 촉진효과를 나타내었다고 하였고 馬田[16]는 vitamin C가 *B. breves*에도 약간의 생육촉진효과를 나타내었다고 하였다.

3. 생균수

올리고당과 비피더스균의 종류를 달리하여 제조한 soy yogurts의 균수는 Table 5에 제시되어 있다. 즉 균주의 종류에 따른 생균수에서는 약간의 차이가 있었으나 올리고당의 종류에 따른 생균수에서는 대체적으로 근사한 수치를 나타내었다. Driessen과 Boer[17]는 장내미생물을 선별하여 발효유 제조에 사용할 경우 인체에 유용한 효과를 나타내려면 사용 젖산균이 인체에서 유래한 균주이어야 하며 최소한 10^6 CFU/m*l* 이상을 섭취해야 한다고 하였고 김[15]은 배양원액에서 가능한 단시간에 pH의 저하가 이루어지는 것과 동시에 10^9 CFU/m*l* 정도의 생균수를 확보하는 것이 바람직하다고 하였다. 또한 요구르트의 성분 규격에 의하면 생균수는 10^8 CFU/m*l* 이상이 되어야 하는데 본 연구에서는 접종초기의 생균수가 10^8 CFU/m*l*에서 배양 16시간 후에는 10^9 CFU/m*l*로 증가하였으므로 모든 시료가 성분 규격에 적합하였다. 한편 Laroid 등[18]은 비피더스균이 다른 젖산균에 비해 특히 산에 약하여 pH 4.6 이하에서는 급속히 사멸한다고 하였으므로 본 연구에서는 발효 후의 최종 pH가 4.38~4.40으로 나타난 *B. infantis* 배양균을 7일 동안 냉장저장시킨 후 pH와 생존율의 변화를 측정하였다. 그 결과 pH는 변화가 거의 없었고 생균수는 약간의 감소경향을 나타내었지만 초기 생균수와 거의 유사하였으므로 Laroid 등의 연구결과와는 상이하게 나타났다. 그러나 1°C에서 20일간 냉장저장된 요구르트의 경우 pH와 젖산균수에서 큰 차이가 없었다고 보고한 Speck과 Geoffrion[19]의 연구와는 유사한 경향을 나타내었다.

4. α-Galactosidase 활성 측정

3종류의 비피더스균(*B. bifidum, B. breve, B. infantis*)의 α-galactosidase 활성은 Fig. 2와 같다. α-Galactosidase는 탄수화물 중에서 melibiose, raffinose, stachyose와 guar gum 등의 oligosaccharides를 분해하는 효소로서 Fig. 2에서 보는 바와 같이 α-galactosidase 활성은 *B. infantis, B. bifidum, B. breve* 순으로 높았으며 활성이 가장 높았던 *B. infantis*의 활성을 100%로 하였을 경우 *B. bifidum, B. breve*의 활성은 각각 32.7, 26.0%였다. David 등[20]에 의하면 10% reconstituted NDM이 함유된 탈지우유를 *B. bifidum, B. breve, B. longum, B. angulatum, L. acidophilus*로 배양한 후 측정한 α-galactosidase의 활성은 *B. bifidum*이 *B. breve* 보다 더 높았다고 보고하여 본 연구와 비슷한 경향을 나타내었다. 본 연구에서 α-galactosidase 활성이 가장 높았던 *B. infantis*의 경우 soy yogurts 발효과정에서 α-galactosidase의 기질이 되는 oligosaccharides를 *B. bifidum, B. breve* 보다 단당류로 더 많이 분해하여 pH를 더 크게 저하시키고 산도를 더욱 증가시켰다고 사료된다.

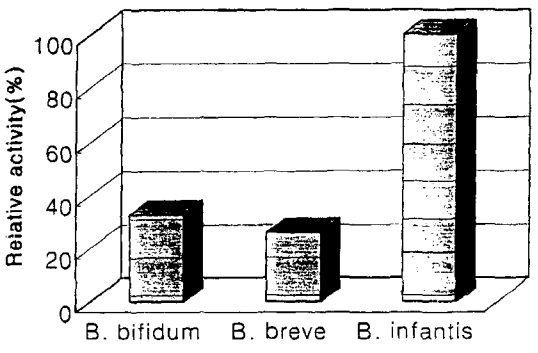

Fig. 2. The α-galactosidase activities on the different types of starter cultures.

Table 5. The total number of viable cells of soy yogurts prepared by different types of starter cultures and oligosaccharides after incubation at 37°C for 16 hrs (unit: CFU/m*l*)

Starter cultures	Storage time (day)	Oligosaccharides		
		FOS	GOS	IOS
B. bifidum	0	$1.91\times10^9\pm5.0\times10^7$	$1.83\times10^9\pm5.0\times10^7$	$1.87\times10^9\pm1.6\times10^8$
B. breve	0	$2.84\times10^9\pm1.2\times10^8$	$2.95\times10^9\pm1.6\times10^8$	$3.12\times10^9\pm9.0\times10^7$
B. infantis	0	$3.17\times10^9\pm1.3\times10^8$	$3.21\times10^9\pm8.0\times10^7$	$3.17\times10^9\pm4.0\times10^7$
	7	$1.52\times10^9\pm1.2\times10^8$	$1.45\times10^9\pm4.2\times10^8$	$1.48\times10^9\pm3.1\times10^8$

5. 유기산

올리고당과 비피더스균의 종류를 달리하여 제조한 soy yogurts의 유기산을 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증한 결과는 Table 6과 같다. 즉 균주의 종류에 따른 lactic acid 농도는 IOS 첨가시에 *B. infantis* 배양군, *B. breve* 배양군, *B. bifidum* 배양군 순으로 유의적으로($p<0.05$) 높았고 각각 710.6, 415.0, 141.4 ppm이었으며 이는 적정산도의 측정결과와 유사한 경향을 나타내었으나 올리고당의 종류에 따른 유의차는 없었다. Acetic acid의 농도는 균주의 종류에 따라 GOS 첨가시에는 유의적인 차이가 없었으나 FOS와 IOS 첨가시에는 lactic acid와 마찬가지로 *B. infantis* 배양군, *B. breve* 배양군, *B. bifidum* 배양군 순으로 높았으며, 올리고당의 종류에 따른 유의차는 없었다. Desjardins 등[14]은 성장이 빠른 균주는 느린 균주보다 lactic acid와 acetic acid를 많이 생성한다고 하였는데 본 실험에서도 성장이 빠른 *B. infantis* 배양군이 lactic acid와 acetic acid를 가장 많이 생성하여 pH를 가장 저하시키는 것으로 사료된다.

Citric acid는 균주의 종류에 따라 IOS 첨가시 *B. breve* 배양군이 101.2 ppm으로 *B. infantis* 배양군의 51.0 ppm 보다 유의적으로($p<0.05$) 높았던 반면, 올리고당의 종류에 따른 유의차는 없었다. Propionic acid의 농도는 균주의 종류에 따라 FOS와 IOS 첨가시에는 *B. bifidum* 배양군이 *B. infantis* 배양군 보다 유의적으로($p<0.05$) 높았는데 이것은 lactic acid와 acetic acid의 결과와 반대의 경향을 나타내었다. 한편 올리고당의 종류에 따른 propionic acid의 농도는 다른 유기산과 마찬가지로 유의차가 없었으나 FOS 첨가시에 높은 수준을 나타내었다.

Table 6. Effects of the different types of starter cultures and oligosaccharides on the organic acid contents of soy yogurts (unit: ppm)

Organic acids / Starter cultures	Oligosaccharides		
	FOS	GOS	IOS
Lactic acid			
B. bifidum	348.8±60.20	397.9±307.42	141.4^{a}±37.46
B. breve	420.5±140.35	336.0±60.93	415.0^{b}±118.54
B. infantis	809.3±485.60	568.5±178.73	710.6^{c}±136.72
Acetic acid			
B. bifidum	323.4^{a}±206.50	526.9±339.81	264.2^{a}±65.92
B. breve	630.2^{ab}±223.40	509.5±100.16	585.0^{b}±81.86
B. infantis	973.7^{b}±334.00	742.8±153.57	930.4^{c}±197.53
Citric acid			
B. bifidum	88.1±18.08	82.2±13.94	71.4^{ab}±14.25
B. breve	97.9±16.33	77.8±30.70	101.2^{b}±37.72
B. infantis	98.3±60.16	39.5±25.27	0.0^{a}±0.00
Propionic acid			
B. bifidum	187.3^{a}±2.65	32.0±123.23	199.7^{a}±42.32
B. breve	72.1^{b}±14.98	29.4±26.80	33.0^{b}±31.80
B. infantis	71.1^{b}±68.07	0.0±0.00	0.0^{b}±0.00

FOS: fructooligosaccharides, GOS: galactooligosaccharides, IOS: isomaltooligosaccharides.
[a-c]Means with different superscripts in the same column differ significantly by Duncan's mutiple range test ($p<0.05$).

6. n-hexanal과 acetaldehyde의 함량

올리고당과 비피더스균의 종류를 달리하여 제조한 soy yogurts의 휘발성 향기성분함량을 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증한 결과는 Table 7에 제시되어 있다. 콩비린내를 발생시키는 성분인 n-hexanal은 yogurts의 관능성을 저하시키는 인자로서 *B. breve* 배양군이 *B. bifidum*과 *B. infantis* 배양군 보다 n-hexanal 농도가 더 높았으며 GOS 첨가시에는 *B. breve* 배양군의 n-hexanal 농도가 32.9 ppm으로 유의적으로($p<0.01$) 가장 높았고 올리고당 종류에 따라서는 유의차가 없었다.

Pinthong 등[21]은 두유에 *L. bulgaricus*와 *S. thermopilus*의 단독 및 혼합균주로 배양하여 휘발성 향기성분들을 조사한 결과 acetaldehyde, acetone, methanol, n-hexanal 등을 검출하였으며 특히 n-hexanal 등과 같은 콩비린내 성분의 농도가 높을 때 대두요구르트의 관능성이 저하되었다고 보고하였다. 또한 문 등[22]의 연구에서는 농축대두단백에 *L. acidophilus, L. bulgaricus, L. casei* 등의 젖산균을 발효시켜 대두젖산균음료를 제조한 다음 젖산균의 산생성 및 휘발성 성분 등을 조사한 결과 두유에서 생육과 산생성이 우수한 젖산균은 산생성이

Table 7. Effects of the different types of starter cultures and oligosaccharides on the n-hexanal and acetaldehyde contents of soy yogurts (unit: ppm)

Volatile compounds / Starter cultures	Oligosaccharides		
	FOS	GOS	IOS
n-Hexanal			
B. bifidum	6.1^{a}±5.39	9.9^{a}±5.92	8.9±6.28
B. breve	27.0^{b}±3.46	32.9^{b}±4.04	18.5±23.84
B. infantis	14.1^{ab}±11.9	5.8^{a}±7.96	7.6±4.29
Acetaldehyde			
B. bifidum	0.05±0.09	0.02±0.04	0.06±0.07
B. breve	0.07±0.03	0.08±0.00	0.09±0.01
B. infantis	0.52±0.62	0.06±0.03	0.02±0.02

FOS: fructooligosaccharides, GOS: galactooligosaccharides, IOS: isomaltooligosaccharides.
[a,b]Means with different superscripts in the same column differ significantly by Duncan's mutiple range test ($p<0.05$).

저조한 젖산균 보다 n-hexanal의 양이 적었다고 보고하여 본 연구결과에서도 비피더스균 중에서 산생성이 가장 우수하였던 *B. infantis* 배양군의 n-hexanal 농도가 IOS와 GOS 첨가시 *B. bifidum*과 *B. breve* 배양군보다 낮게 분석되어 문 등[19]의 연구와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러므로 콩비린내가 감소된 soy yogurts를 제조하기 위해서는 n-haxanal 농도가 가장 낮게 분석된 GOS 또는 IOS를 첨가하여 *B. infantis*로 배양하는 것이 바람직하다고 사료된다.

Acetaldehyde는 Table 7에서 보는 바와 같이 0.02~0.52 ppm으로 극미량이 검출되었으며 올리고당과 비피더스균에 따라서는 유의적인 차가 없었으나 FOS 첨가시 *B. infantis* 배양군이 *B. bifidum*과 *B. breve* 배양군보다 acetaldehyde의 농도가 높았고 GOS와 IOS 첨가시에는 *B. breve* 배양군의 acetaldehyde의 농도가 *B. bifidum*과 *B. infantis* 배양군 보다 약간 높았다. Rasic과 Kurmann[23]에 의하면 요구르트의 휘발성 향기성분은 젖산균 중에서도 종(species) 또는 균주(strains)에 따라 생성대사 산물에 따라 차이가 있으며 배양조건, 저장조건, 젖산균의 발효기질 등에 따라서도 달라진다고 하였는데, 본 연구의 시료는 우유가 아닌 효소처리된 분리대두단백이며 젖산균 중에서도 비피더스균으로 발효되었으므로 문헌에 보고된 요구르트의 acetaldehyde의 농도와는 다소 차이가 있었다.

IV. 요 약

본 연구는 대두단백질의 풍미와 기능성의 향상을 목적으로 효소처리한 분리대두단백에 fructooligosaccaride, galactooligosaccaride, isomaltooligosaccaride를 첨가하여 3종류의 비피더스균으로 각기 배양시킨 soy yogurts의 pH, 산도, 생균수, α-galactosidase의 활성, 유기산과 n-hexanal 및 acetaldehyde의 함량을 연구하였다.

pH에 있어서 올리고당의 종류에 따라서는 유의차가 없었으나 균주의 종류에 따라서는 유의차가 있었다. 따라서 *B. bifidum* 배양군의 pH가 5.26~5.30로 가장 높았고 *B. breve* 배양군은 4.76~4.86이었으며, *B. infantis* 배양군은 4.38~4.40로서 가장 낮았다. 적정산도는 pH와 유사한 경향을 나타내어 올리고당의 종류에 따라서는 유의차가 없었으나 균주의 종류에 따라서는 유의차가 있었다. 따라서 *B. bifidum* 배양군의 산도가 0.81~0.84%로 가장 낮았고 *B. breve* 배양군은 0.97~1.04%였으며, *B. infantis* 배양군은 1.39~1.41%로 가장 높았다. 생균수는 올리고당의 종류에 따라서는 대체로 근사한 수치를 나타내었으나 균주의 종류에 따라서는 경시적인 차이가 있었으며 모든 시료들이 10^9 CFU/m*l* 이상의 생균수를 포함하는 것으로 나타났다. 한편 *B. infantis*로 배양한 soy yogurts를 4°C에서 7일간 저장한 후 생균수를 측정한 결과 10^9 CFU/m*l*를 나타내어 초기생균수를 거의 유지하였다. α-Galactosidase 활성은 *B. infantis, B. bifidum, B. breve* 순으로 높았으며 활성이 가장 높았던 *B. infantis*의 활성을 100%로 하였을 경우 *B. bifidum, B. breve*의 활성은 각각 32.7, 26.0%이었다.

유기산 중에서 lactic acid와 acetic acid은 적정산도의 결과와 유사한 경향을 나타내어 *B. infantis* 배양군, *B. breve* 배양군, *B. bifidum* 배양군 순으로 높았으며 propionic acid는 반대경향을 나타내었고 올리고당 종류에 따라서는 모든 시료에서 유의차가 없었다. 휘발성 향기성분 중에서 콩비린내를 발생시키는 성분인 n-hexanal은 *B. breve* 배양군이 *B. bifidum*과 *B. infantis* 배양군 보다 농도가 높았으며 acetaldehyde는 0.02~0.52 ppm으로 극미량이 검출되었고 올리고당 종류에 따라서는 모든 시료에서 유의차가 없었다.

감사의 글

본 연구는 1997년 한국과학재단 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 김언현: 육가공에 있어서 분리대두단백의 이용방안. 한국콩연구회지, **9**(2): 31 (1992).
2. Dean, M.W.: Vegetable protein application in whey soy drink mix and ice cream. *J. AOCS.*, **56**: 392 (1979).
3. 김영희, 고영태: 두유에서 젖산균의 생육과 산생성에 관한 연구. 한국식품과학회지, **19**(2): 151 (1987).
4. Matsuoka, H., Sasago, K. and Sekiguchi, M.: Manufacturing of cheese-like product of soybean milk. *J. Food Sci. Technol., Tokyo,* **15**(3): 103 (1967).
5. David, B.H. and Dallas, G.H.: *Bifidobacteria*, Their potential for use in American dairy products. *Food Technol.*, **44**(4): 74 (1991).
6. Kurman, J.A. and Rasic, J.L.: The potential of products containing *bifidobacteria*, Therapeutic properties of fermented milks. 117 (1991).
7. 이현수: 올리고당의 기능성 및 식품에의 이용. 식품기술, **7**: 3 (1994).
8. Kim(Lee), S.Y., Park, P.S.W. and Rhee, K.C.: Textural properties of cheese analogs containing proteolytic enzyme modified soy protein isolate. *J. AOCS,* **69**: 755 (1992).

9. 오경남: 당의 첨가와 효소처리가 분리대두단백으로 제조한 대두요구르트의 품질특성에 미치는 영향. 중앙대학교 석사학위논문 (1998).
10. 유주현: 식품공학실험서 I, 탐구당, 449 (1995).
11. 김영만, 이정치, 정필근, 최용진, 양한철: *Lactobacillus sporogenes*에 의한 β-galactosidase 생산에 관한 연구 (I). 한국미생물학회지, **11**(1): 59 (1983).
12. Marsili, R.T., Ostapenko, H., Simmons, R.E. and Green, D.E.: High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. *J. Food Sci.*, **46**(1): 52 (1981).
13. 고영태, 강정화: 우유와 과즙으로 만든 발효유의 휘발성 향기성분. 한국식품과학회지, **30**(1): 184 (1998).
14. Desjardins, M.L., Roy, D. and Goulet, J.: Growth of *bifidobacteria* and their enzyme profiles. *J. Dairy Sci.*, **73**(2): 299 (1990).
15. 김영주: *Bifidobacterium*에 의한 yogurt 제조시 올리고당 및 생육촉진 물질이 그 활성에 미치는 영향에 관한 연구. 건국대학교 석사학위논문 (1992).
16. 馬田三夫. ワイス菌の科學. ヤクルト本社 (1988).
17. Driessen, F.M. and DeBoer, R.: Fermented milks with selected intestinal bacteria: a healthy trend in new products. *Neth. Milk Dairy J.*, **43**: 367 (1989).
18. Laroid, S. and Martin, J.H.: Effect of pH on survival of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in frozen fermented dairy dessert. *Cult. Dairy Prod. J.*, **26**(4): 13 (1991).
19. Speck, K.E. and Geoffrion, J.W.: Lactase and starter culture survival in heated and frozen yogurts. *J. Food Protection.*, **43**(1): 26 (1980).
20. David, B.H. and Dallas, G.H.: Viability and enzymatic activity of *Bifidobacteria* in milk. *J. Dairy Sci.*, **78**: 268 (1995).
21. Pinthong, R., Macrae. R. and Rothwell, J.: The development of a soya-based yoghurt II. Sensory evaluation and analysis of volatiles. *J. Food Technol.*, **15**: 653 (1980).
22. 문승애, 김영배, 고영태: 두유에서 젖산균의 생육과 대두 요구르트의 향미. 한국식품과학회지, **18**(2): 118 (1986).
23. Rasic, J.L. and Kurmann, J.A.: Yogurt, scientific grounds, technology, manufacture and preparations. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark, 90 (1978).

(1998년 11월 27일 접수)