

산업용 단백질분해효소로 처리한 분리대두단백과 혼합균주의 종류가 frozen soy yogurt의 품질특성에 미치는 영향

이숙영 · 박미정

중앙대학교 식품영양학과

The quality characteristics of frozen soy yogurt prepared with soy protein isolate, industrial proteases and commercial mixed cultures

Lee, Sook-Young, Park, Mi-Jung

Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University

Abstract

In order to develop and commercialize high quality frozen soy yogurt, the effects of industrial proteases and commercial mixed cultures were examined on the functional properties and the sensory attributes of frozen soy yogurt. For quality improvement, soy protein isolates were primarily hydrolyzed by either Flavourzyme or Neurtrase, industrial proteases, to reduce the beany flavor and increase the functional properties of the protein. The viable cell count of lactic acid bacteria was higher in the soy protein hydrolysates than when untreated. ABT-5 (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, and *S. thermophilus*) resulted in higher acid tolerance, bile acid tolerance and melt-down percent values than those with YC-X11 (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococci thermophilus*). The overrun of frozen soy yogurt was improved by both Flavourzyme (193.3%) and Neurtrase (156.7%) treatments. With regard to the sensory characteristics, Flavourzyme improved the beany flavor, astringency taste, mouth feel and overall quality of frozen soy yogurts fermented with ABT-5. Further studies on product formulation will be needed to commercialize the frozen soy yogurt for the market.

Key words: frozen soy yogurt, soy protein isolate, protease, mixed culture, quality characteristics

1. 서 론

요구르트는 현대인의 식생활에 깊이 뿌리내린 유제품의 하나이며, 건강과 영양을 중요하게 생각하는 현대인의 소비심리와 생활수준의 향상으로 꾸준히 소비가 증가되고 있는 식품이다. 최근 요구르트의 소비가 증가되면서 carbonated yogurt, frozen yogurt 등 새로운 개념의 요구르트가 개발되었다. 특히 아이스크림의 소비가 급격히 증가함과 동시에 건강에 대한 관심이 높아짐으로써, 발효유 특유의 영양적 특성과 풍미를 유지하면서 아이스크림의 부드럽고 시원한 특성을 가미한 frozen yogurt는 아이스크림보다 지방 함량이 적고 기호성이 높아 이미 상품화되어 있다^{1,2)}.

최근, 유단백인 카제인과 물리화학적 성질이 유사하고 가격이 저렴하므로 유단백의 대체식품 및 기호성이 우수한 콩가공 제품을 개발하는데 사용되고 있는데, 최근 풍족해진 삶과 함께 건강을 중요시함으로써, 동물성 단백질 식품보다는 식품성 단백질 식품을 선호하는 소비자들의 경향이 대두단백을 사용한 제품의 개발을 촉진시키고 있다. 그러나 frozen soy yogurt 제조시 분리대두단백 그대로 우유 고형분을 대체하여 사용하면 질감이 매우 거칠고 콩비린내가 감지되며 특히 frozen soy yogurt의 중요한 품질 특성인 오버런(overrun)이 잘 형성되지 않는 등의 문제점이 있다. 분리대두단백을 효소로 처리하면 수용성을 증가시키고, 기포 및 유화성 등의 기능성을 향상시킴으로써 이러한 문제점을 어느 정도 개선할 수 있다^{3,4)}.

대두단백의 콩비린내를 제거하고 기능적 성질을 향상시키기 위하여 사용되는 단백질분해효소들은 대부분 고가의 효소들로 비경제적이므로 frozen soy

Corresponding author: Lee, Sook-Young, Chung Ang University, 72-1 Nae-Ri Daedukmyun, Anseong-Si, Gyeonggi-Do 456-756, Korea
Tel: 82-31-670-3274
Fax: 82-31-676-8741
E-mail: syklee@car.ac.kr

yogurt를 산업적으로 생산 가능하게 하기 위해서는 저렴한 효소를 이용할 필요성이 있다. 한편, frozen yogurt의 품질에 영향을 미치는 주요한 요인은 젖산균의 종류인데, 이는 사용되는 균주의 종류에 따라서 생성되는 산미와 풍미가 달라지기 때문이며⁵⁾, 혼합균주는 단일균보다 균주간의 상호보완적인 상승작용이 있어 배양시간의 단축과 유용한 대사산물의 생성에도 유리하다.

따라서, 본 연구에서는 혼합균주인 YC-X11(*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*)과 ABT-5(*L. acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *S. thermophilus*)로 frozen soy yogurt를 발효시키고, 대두단백의 기능적 성질을 향상시키기 위해 저렴한 산업용 단백질분해 효소인 Flavourzyme과 Neutrase를 사용하여 제조한 frozen soy yogurt의 점도, 오버런, 생균수, 내산성, 담즙산내성 및 관능적 특성을 알아보려고 하였다.

II. 연구방법

1. 실험재료

분리대두단백(Supro[®] 500E, Purina Co., U.S.A.), 유화제(글리세린지방산에스테르), 안정제(xanthan gum)는 (주)광일에서 제공받은 것이다. 단백질분해효소인 Flavourzyme[™]과 Neutrase[®]는 Novo Nordisk Co. (Denmark)에서 제공받은 것이며, 효소활성은 각각 32,434unit/ μ g, 36,881unit/ μ g이다. Freeze-dried Direct Vet System pack으로 되어 있는 혼합균주인 YC-X11 (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*)과 ABT-5(*L. acidophilus*, *Bifidobacterim lactis*, *S. thermophilus*)는 Christian Hansen Co.(Denmark)의 제품으로 (주)송은통상에서 제공받아, -20℃에서 냉동보관하면서 사용하였다. 올리고당은 isomaltooligosaccharide로 (주)삼양제넥스에서 구입한 것을 사용하였다.

2. 분리대두단백의 효소처리

Kim(Lee) 등⁶⁾의 방법을 약간 변형하여 분리대두단백을 효소처리하였다. 즉 10% 분리대두단백 용액(w/v)에 Flavourzyme 또는 Neutrase를 0.5% (w/w) 첨가하여 20분(F20, N20) 또는 30분간(F30, N30) 반응시켰으며, 효소처리가 끝난 분리대두단백 용액을 Flavourzyme은 80℃에서 10분간, Neutrase는 87℃에서 5분간 열처리하여 효소를 불활성화시켰다.

3. Frozen soy yogurt의 제조

Tuitemwing 등⁷⁾과 이⁸⁾의 방법을 약간 변형하여

제조하였다. SPI 50g에 증류수 410ml를 가하여 분산시킨 후 효소처리 시켰으며, 이 분산액에 대두유, 안정제, 유화제를 첨가하여 frozen soy yogurt mix를 제조한 다음 121℃에서 15분간 멸균하였다. 또한 maillard 반응을 방지하기 위해서 isomaltooligosaccharide 40g에 나머지 증류수 40ml를 첨가하여 수용액으로 만든 다음 121℃에서 15분간 멸균하여 frozen soy yogurt mix와 잘 섞어 주었다. 이어서 37℃로 냉각시킨 다음 YC-X11 또는 ABT-5를 1ml 접종하여 pH가 5.4가 되도록 배양하였다. 배양이 완료된 soy yogurt를 4℃에서 24시간 동안 숙성시킨 후 점도, 보수력을 측정하였으며, soy yogurt에 aspartame 0.2g, vanilla essence 2ml를 넣은 다음 아이스크림 제조기(Model HR2305, 1,200ml, Philips Co., U.S.A.)로 20분간 작동시켜 frozen soy yogurt를 제조하였다. 오버런은 아이스크림 제조기로 20분간 작동시킨 직후에 그리고 생균수, 내산성, 담즙산 내성, 녹아내리는 정도 및 관능평가 등은 -70℃에서 24시간, -20℃에서 48시간 저장시킨 후 4℃에서 1시간 녹인 다음 측정하였다.

4. 점도 측정

Ioanna 등⁹⁾의 방법에 따라 Brookfield viscometer (LVDVE 230, Brookfield Eng., U.S.A.)를 사용하여 점도를 측정하였다. 4℃에서 24시간 숙성시킨 시료를 spindle No. 64를 사용하여 60rpm에서 1분간 작동시켜 측정하였다.

5. 오버런 측정

Ioanna 등⁹⁾의 방법에 따라 아이스크림 제조기에서 20분간 작동시킨 후 제조기에서 꺼낸 시료를 scooper로 담아 무게를 측정하여 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Overrun}(\%) = \frac{\text{Weight of mix} - \text{Weight of sample}}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

6. 생균수

제조직후의 soy yogurt와 frozen soy yogurt를 각각 1g씩 무균적으로 취하여 멸균 peptone 수에 의한 10배 희석법으로 희석하였다. *L. acidophilus* 및 *L. bulgaricus*는 Latobacilli MRS배지에 plating한 후 48시간 배양하였다. *B. lactis*는 MRS배지에 L-cystein을 0.05% 첨가한 후 plating한 후 anaerobic jar (Difco, Detroit, U.S.A.)를 사용하여 37℃로 고정된 배양기에

서 72시간 동안 혐기적으로 배양하여 colony 수가 25~250개가 나타나는 평판을 선택하여 산출하였다. *S. thermophilus*는 M-17 배지에 plating한 후 43°C에서 72시간 배양하였다.

7. 담즙산 내성

Jayne 등¹⁰⁾의 방법을 변형하여 frozen soy yogurt 1g을 무균적으로 취하여 멸균 peptone 수에 의한 10 배 희석법으로 희석하고 배지에 담즙산 성분인 oxgall (Difco, Detroit, U.S.A.)을 0.3% 첨가하여 plating한 다음 생균수 측정과 동일한 조건으로 배양하여 frozen soy yogurt의 담즙산 내성을 측정하였다.

8. 내산성

Berrada 등¹¹⁾의 방법에 따라 frozen soy yogurt에 1.25N HCl을 첨가하여 pH 2.5로 조정한 후 37°C로 고정된 배양기에서 90분간 배양시킨 다음 생균수 측정과 동일한 조건으로 배양하여 frozen soy yogurt의 내산성을 측정하였다.

9. 관능평가

중앙대학교 식품영양학과 학부생 및 대학원생 30 명을 대상으로 frozen soy yogurt에 대한 기호도를 알아보기 위하여, 콩비린내(1, 매우 강하게 난다; 5, 전혀 나지 않는다), 신맛의 정도(1, 매우 적당하지 않다; 5, 매우 적당하다), 쓴맛(1, 매우 쓰다; 5, 전혀 쓰지 않다), 짠맛(1, 매우 짠다; 5, 전혀 짠지 않다), 입안에서의 질감(1, 매우 거칠다; 5, 매우 부드럽다) 그리고 전반적인 바람직성(1, 매우 바람직하지 않다; 5, 매우 바람직하다)에 대해 5점 평점법으로 관능검사를 실시하였다. 시료는 -20°C 냉동고에서 꺼내어 4°C에서 1시간 동안 방치한 후, 흰색 접시에 담아 입안 행구기 물과 함께 제시하였다.

10. 통계처리

SAS package를 사용하여 실험 결과에서 얻어진 자료를 통계처리하였다. 분산분석한 결과 유의차가 있는 항목에 대해서 t-test 또는 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 점도

단백분해효소와 혼합균주의 종류를 달리하여 제조

한 soy yogurt의 점도는 Table 1에 보여지는 바와 같다. 점도는 YC-X11 배양균과 ABT-5 배양균 모두 비효소처리균의 점도가 각각 26,733cp, 24,220cp로 효소처리균(각각 4,600~6,363cp, 3417~6,190cp)보다 높았다. ABT-5 배양균의 경우에서, Flavourzyme 처리균의 점도(6,190~6,143cp)가 Neutrased 처리균(4,606~3,417cp)보다 높았다(p<0.001). 한편, YC-X11 배양균의 점도에 있어서 효소의 종류와 처리시간에 대한 유의차가 없었다.

이 등¹¹⁾은 분리대두단백이 효소에 의해 가수분해가 진행됨에 따라 고유점도가 감소되고, 고유점도는 분산질의 분자량 및 기하학적 분자구조와 깊은 관계가 있으며 분자량이 작을수록 또한 구조가 구형에 가까울수록 고유점도는 작아진다고 하였는데, 이것은 효소적 가수분해에 의하여 단백질 polypeptide chain이 절단됨으로써 나타난 결과라고 보고하였다. 한편, 비효소처리균의 점도가 현저히 높았던 것은 pH가 저하됨에 따라 soy yogurt의 커드가 분자량이 작은 효소처리균에 비해 더 거칠고 단단한 커드가 생성되었기 때문이라고 생각된다.

한편, 발효유 제조에 사용되는 균주는 성장조건이나 영양상태에 따라 점성량이 변화하여 점도에 영향을 준다고 하였는데⁹⁾, 본 연구에서는 전반적으로 YC-X11으로 배양한 경우가 ABT-5로 배양한 경우보다 점도가 약간 높은 경향을 나타내었다. Neutrased 처리균의 경우에 있어서는 YC-X11으로 배양한 경우가 ABT-5로 배양한 경우보다 점도가 높았다. 비효소처리균과 Flavourzyme 처리균에서는

Table 1. Apparent viscosity of enzyme-treated soy yogurts fermented with various starter cultures (unit: centipoise)

Enzyme treatment	Starter culture		T-value
	YC-X11	ABT-5	
Untreated	26733±729.6 ^{a*}	24220±706.4 ^a	8.4 ^{NS}
F20	6363±57.5 ^b	6190±67.0 ^b	0.2 ^{NS}
F30	6347±26.7 ^b	6143±41.63 ^b	1.7 ^{NS}
N20	5720±20.9 ^b	4606±43.4 ^c	57.8 ^{**}
N30	4600±33.4 ^b	3417±34.4 ^d	18.3 [*]
F-value	119.7 ^{***}	765.4 ^{***}	

^{a)} Mean±standard deviation, N.S : not significant,

*p <0.05, **p < 0.01, ***p <0.001

^{a-d)} Means with different superscripts in the same column differ significantly by Duncan's multiple range test (p<0.05).

YC-X11: Mixed culture of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*

ABT-5: Mixed culture of *L. acidophilus*, *B. lactis* and *S. thermophilus*

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min (F30); hydrolyzed SPI with Neutrased for 20min(N20) and 30min(N30).

YC-X11로 배양한 시료와 ABT-5로 배양한 시료간에 유의차가 없었다.

2. 생균수

Table 2와 3은 단백분해효소와 혼합균주의 종류를 달리하여 제조한 soy yogurt와 frozen soy yogurt의 생균수를 나타낸 결과이다. Soy yogurt와 frozen soy yogurt에서 YC-X11 배양균은 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 생균수는 비슷하였으나, ABT-5 배양균은 *S. thermophilus*의 생균수가 가장 많았고 *L. acidophilus*와 *B. lactis*의 순이었다.

허¹²⁾는 12% 멸균환원 탈지유에 상업용 발효유 중균에서 분리한 *Bifidobacterium sp.*와 *L. acidophilus*를 단독 또는 혼합배양한 결과 *L. acidophilus*의 생균수는 단독배양보다 혼합배양에서 증가하였으나 *Bifidobacterium sp.*의 생균수는 오히려 단독배양에서 많았는데, 이는 혼합배양 중에 급격한 산의 증가로

Table 2. Viable cell numbers of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* from enzyme-treated soy yogurts and frozen soy yogurts fermented with YC-X11

Enzyme treatment	Product	<i>L. bulgaricus</i> ($\times 10^8$ CFU/g)	<i>S. thermophilus</i> ($\times 10^8$ CFU/g)
Untreated	Frozen soy yogurt	1.2	1.7
	Soy yogurt	2.0	2.2
F20	Frozen soy yogurt	2.3	3.4
	Soy yogurt	3.1	4.0
F30	Frozen soy yogurt	2.7	4.1
	Soy yogurt	3.1	4.7
N20	Frozen soy yogurt	3.4	4.3
	Soy yogurt	3.6	4.8
N30	Frozen soy yogurt	3.8	4.9
	Soy yogurt	3.9	5.5

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min(F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20min(N20) and 30min(N30).

Table 3. Viable cell numbers of *L. acidophilus*, *B. lactis* and *S. thermophilus* from enzyme-treated soy yogurts and frozen soy yogurts fermented with ABT-5

Enzyme treatment	Product	<i>L. acidophilus</i> ($\times 10^8$ CFU/g)	<i>B. lactis</i> ($\times 10^8$ CFU/g)	<i>S. thermophilus</i> ($\times 10^8$ CFU/g)
Untreated	Frozen soy yogurt	1.0	1.0	1.6
	Soy yogurt	1.8	1.0	2.3
F20	Frozen soy yogurt	1.0	1.0	1.8
	Soy yogurt	1.2	1.2	3.9
F30	Frozen soy yogurt	2.1	1.9	3.9
	Soy yogurt	2.9	2.6	4.9
N20	Frozen soy yogurt	2.4	1.6	8.7
	Soy yogurt	3.6	2.9	9.4
N30	Frozen soy yogurt	2.4	1.9	8.7
	Soy yogurt	3.5	2.5	9.2

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min(F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20min(N20) and 30min(N30).

pH가 5.0 이하로 저하되어 *Bifidobacterium sp.*의 생장을 억제하였다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 *B. lactis*의 생균수를 10^8 CFU/g으로 유지시킬 수 있었는데, 이것은 시료를 pH 5.4까지만 배양하여 *B. lactis*의 생장을 억제하지 않은 것으로 사료된다.

효소처리에 따라서는 가수분해도가 높을수록 생균수가 많아 분리대두단백의 효소처리가 젖산균의 생육에 긍정적인 효과를 주었다고 사료된다. 반면, 김¹³⁾은 젖산균에 의해 분해된 생성물질이 고분자에서 저분자화되면 젖산균의 생장을 저해한다고 보고하였으며, 이⁴⁾는 분리대두단백을 단백분해효소로 처리하여 frozen soy yogurt를 제조하였을 때, 효소처리군 중에서 가수분해도가 가장 높았던 α -chymotrypsin 처리군의 경우 효소처리에 의해 생성된 가수분해물 등으로 인하여 젖산균체내의 삼투압을 증가시켜 젖산균의 생장을 저해한다고 보고하였다.

Frozen yogurt는 요구르트로 분류되므로 생균수가 10^7 CFU/ml 이상이 되어야 요구르트의 성분 규격에 적합한데, 본 연구에서는 모든 시료의 생균수가 10^7 CFU/g 이상이었으므로 요구르트의 성분 규격을 만족시켰다.

3. 담즙산내성

Table 4와 5는 단백분해효소와 혼합균주의 종류에 따른 frozen soy yogurt의 *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* 및 *B. lactis*의 담즙산내성과 생존율을 나타낸 것이다. 배양방법과 효소처리에 따라 균주의 담즙산 내성에 차이가 나타났다. 비효소처리균의 YC-X11 배양균은 담즙산에 대한 내성이 저하되어 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 모두 10^2 CFU/g의 감소를 나타내었다. ABT-5 배양균의 경우에 있어서 *L. acidophilus*는 10^2 CFU/g의 감소를 나

타내었으나 *B. lactis*와 *S. thermophilus*는 10^1 CFU/g의 감소를 나타내었다. 효소처리균의 경우, YC-X11 배양시 비효소처리균과 같이 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 모두 10^2 CFU/g의 감소를 나타내었으며 가수분해도가 클수록 담즙산내성이 더 높아 N30 처리균이 3.7~3.8%로 가장 생존율이 높았다. 효소처리균의 ABT-5 배양균의 경우에 *B. lactis*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus*의 순으로 생존율이 높았으며, 모두 10^1 CFU/g의 감소를 나타내었다. 또한 Neutrase 처리균보다 Flavourzyme 처리균의 생존율이 더 높아 F30 처리균의 *L. acidophilus*가 23.3%, *B. lactis*가 34.4%, 그리고 *S. thermophilus*의 생존율이 20.5%로 가장 높게 나타났다.

젖산균이 인체의 소화장기 내에서 생존하여 증식하기 위해서는 내산성과 담즙산에 대한 내성이 있어야 하는데, 담즙은 담낭에서 십이지장으로 분비되는 일종의 계면활성제로 cholic acid, deoxycholic acid, chenodeoxycholic acid가 주성분이며, 젖산균이 생균제(probiotics)로서의 기능을 수행하려면 담즙산이 0.3% 함유된 배지에서 성장할 수 있을 정도의 내성을 갖고 있어야 한다^{14,15}.

Jayne 등⁹)은 soft-serve frozen yogurt에서 *B. bifidum*

과 *L. acidophilus*의 담즙산 내성을 연구한 결과, 두 종류의 균주에서 동결전후에 담즙산에 대한 강한 내성을 나타내어 생균수의 변화가 전혀 없었다고 보고하였다. 담즙산 내성은 젖산균 종류에 따라 그 정도가 다르며 같은 종(species)에 속한 미생물의 경우에도 차이가 있다고 알려져 있다¹⁵.

4. 내산성

Table 6과 7은 단백질분해효소와 혼합균주의 종류에 따른 frozen soy yogurt의 내산성을 측정하기 위하여 frozen soy yogurt에 1.25N HCl을 첨가하여 pH 2.5로 조정한 다음 37°C에서 90분간 배양시킨 후 *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *B. lactis* 및 *S. thermophilus*의 생균수와 생존율을 나타낸 것이다.

단백질분해효소와 혼합균주에 따른 내산성은 YC-X11 배양균의 *L. bulgaricus*는 $1.0 \sim 9.0 \times 10^5$ CFU/g를 나타내었으며 *S. thermophilus*는 $0.2 \sim 1.8 \times 10^6$ CFU/g를 나타내어 frozen soy yogurt의 생균수보다 10^3 CFU/g이 감소되었다. 또한 비효소처리균과 효소처리균 간에 내산성의 차이는 없었다. ABT-5 배양균은 YC-X11 배양균보다 내산성이 높았는데, 담즙산 내성과 같이 *B. lactis*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus*의 순으로 내산성이 높았으며 효소처리균 중에서는 F20 처리균의 내산성이 가장 높았다.

Shan 등¹⁶)은 상업적으로 판매된 요구르트에서 *L. acidophilus* 및 *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*를 분리하여 요구르트를 제조한 다음 pH 2.5로 조정하여 37°C에서 2시간 배양시킨 후 내산성을 측정한 결과, *L. acidophilus*의 내산성이 *L. bulgaricus*보다 더 높았다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다.

신 등¹⁷)은 pH 2.5로 조정된 시판요구르트를 37°C에서 2시간까지 배양시킨 후 젖산균의 생존율을 측정한 결과, 배양시간이 경과함에 따라 서서히 감소하는 경향을 나타내었으며, 젖산균의 생존율은 0.04~0.36%을 나타내었다고 보고하였다.

Table 4. Viable cell numbers and survival rates of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* of frozen soy yogurts fermented with YC-X11 after incubating in agar containing 0.3% oxgall

Enzyme treatment	<i>L. bulgaricus</i>		<i>S. thermophilus</i>	
	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)
Untreated	1.2×10^6	1.0	2.5×10^6	1.5
F20	3.2×10^6	1.4	3.1×10^6	0.9
F30	3.7×10^6	1.4	4.2×10^6	1.0
N20	7.2×10^6	2.1	8.6×10^6	2.0
N30	1.5×10^7	3.8	1.8×10^7	3.7

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min(F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20min(N20) and 30min(N30).

Table 5. Viable cell numbers and survival rates of *L. acidophilus*, *B. lactis* and *S. thermophilus* of frozen soy yogurts fermented with ABT-5 after incubating in agar containing 0.3% oxgall

Enzyme treatment	<i>L. acidophilus</i>		<i>B. lactis</i>		<i>S. thermophilus</i>	
	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)
Untreated	1.0×10^7	1.2	1.5×10^7	19.5	2.4×10^7	14.9
F20	1.8×10^7	20.2	2.0×10^7	23.3	2.6×10^7	14.2
F30	4.9×10^7	23.3	6.5×10^7	34.4	7.9×10^7	20.5
N20	5.6×10^7	23.1	5.0×10^7	31.3	1.5×10^8	17.4
N30	5.4×10^7	22.8	5.9×10^7	31.9	1.3×10^8	15.1

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min(F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20min(N20) and 30min(N30).

젖산균이 살아 있는 상태로 장내에 도달하기 위해서는 먼저 위산과 각종 효소가 존재하는 위를 통과해야 하는데 위산의 pH 범위는 2~3이며, 특히 음식물을 섭취하였을 때는 위산이 분비되어 pH가 크게 저하되므로 섭취된 젖산균은 위산에 노출되어 그 중 많은 수가 사멸하게 된다¹⁸⁾. 따라서 요구르트에서 균주에 의한 효과를 나타내기 위하여 선행되어야 할 조건으로는 위를 통과하는 동안 생존할 수 있는 산성환경에서 생존 능력이다.

본 연구에 사용된 혼합균주 중 YC-X11의 경우는 frozen soy yogurt에 비하여 생균수가 10³CFU/g 정도 감소되어 0.01~0.4%의 생존율을 나타내었으나, ABT-5의 경우는 10²CFU/g 정도의 감소를 나타내어 생존율이 0.1~3.2%로 나타나 frozen soy yogurt 제조 시 YC-X11보다 ABT-5를 사용하는 것이 더 효과적이라고 사료된다.

5. 오버런

Fig. 1은 단백질분해효소와 혼합균주의 종류를 달리 하여 제조한 frozen soy yogurt의 오버런을 측정한 결과이다. Frozen soy yogurt의 오버런은 혼합균주의 종류에 따른 유의차는 없었으나 단백질분해효소에 따른

Table 6. Viable cell numbers and survival rate of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* of frozen soy yogurts fermented with YC-X11 after incubating for 90 min at pH 2.5 (unit : 10⁶ CFU/g)

Enzyme treatment	<i>L. bulgaricus</i>		<i>S. thermophilus</i>	
	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)
Untreated	1.1×10 ⁵	0.1	2.0×10 ⁵	0.01
F20	4.2×10 ⁵	0.2	4.5×10 ⁵	0.2
F30	5.0×10 ⁵	0.2	8.4×10 ⁵	0.2
N20	9.0×10 ⁵	0.3	1.1×10 ⁶	0.3
N30	8.1×10 ⁵	0.2	1.8×10 ⁶	0.4

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min (F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20 min (N20) and 30 min (N30).

Table 7. Viable cell numbers and survival rate of *L. acidophilus*, *B. lactis* and *S. thermophilus* of frozen soy yogurts fermented with ABT-5 after incubating for 90 min at pH 2.5

Enzyme treatment	<i>L. acidophilus</i>		<i>B. lactis</i>		<i>S. thermophilus</i>	
	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)	Cell number (CFU/g)	Survival rate (%)
Untreated	1.8×10 ⁶	2.2	1.3×10 ⁶	1.7	1.1×10 ⁶	0.7
F20	2.6×10 ⁶	2.9	2.8×10 ⁶	3.3	1.8×10 ⁶	1.0
F30	2.7×10 ⁶	1.3	5.1×10 ⁶	1.7	4.5×10 ⁶	1.2
N20	3.3×10 ⁶	1.4	2.9×10 ⁶	1.8	2.5×10 ⁶	0.3
N30	1.5×10 ⁶	0.6	1.2×10 ⁶	0.7	1.1×10 ⁶	0.1

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20min(F20) and 30min(F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20min(N20) and 30min (N30).

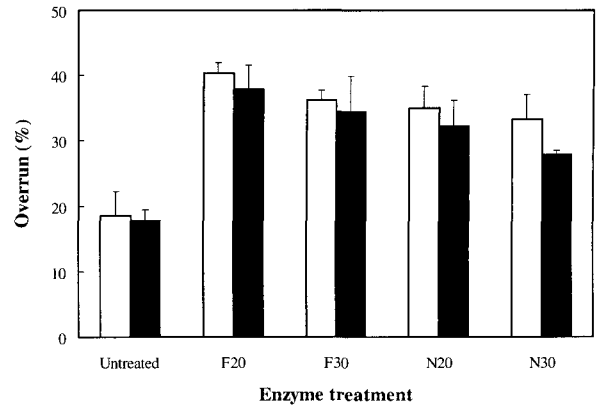


Fig. 1. Effects of enzyme treatments and starter cultures on the overrun of frozen soy yogurts.

□: YC-X11(Mixed culture of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*), ■: ABT-5 (Mixed culture of *L. acidophilus*, *B. lactis* and *S. thermophilus*).

Hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20 min (F20) and 30 min (F30); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20 min (N20) and 30 min (N30).

유의차는 있었다.

효소처리에 따른 오버런의 변화를 보면 YC-X11 배양균과 ABT-5 배양균 모두 비효소처리균의 오버런이 가장 낮았으며, 효소처리에 의하여 오버런이 증가되었다. 효소처리균 중에는 점도가 높았던 YC-X11 배양균의 F20 처리균이 40.3%로 가장 높았으며, 점도가 낮았던 ABT-5 배양균의 N30 처리균이 27.88%로 가장 낮았다(p<0.001).

권의 연구³⁾에서는 점도와 보수력이 오버런에 영향을 준다고 보고하였는데, 점도와 보수력이 클수록 빙결되는 자유수의 함량이 감소되므로 상대적으로 공기의 주입량이 증가되어 오버런이 증가한다고 하였다. 신⁹⁾은 원유와 탈지분유로 제조한 frozen yogurt의 오버런을 측정한 결과, 안정제의 종류에 따라 달랐으나 아이스크림 제조기에서 50분 작동시에 34~50%의 오버런이 형성되었다고 보고하였다. Mitten²⁰⁾

은 frozen yogurt의 오버런이 50~60%일 때 질감과 수용도가 좋았다고 보고하였다. 또한 Rajor 등²¹⁾은 대두고형분과 버터밀크 고형분의 비율을 달리하여 제조한 소프트 아이스크림의 오버런을 측정된 결과, 우유로만 제조된 시료군에서는 오버런이 52.8%가 형성되었으나 대두고형분의 비율이 높을수록 오버런이 낮아지는 경향을 나타내었다고 보고하였다.

이와 같이, 본 연구에서 제조한 frozen soy yogurt의 오버런이 우유로 제조된 frozen yogurt의 오버런에 비하여 낮은 경향을 나타내었는데, 이는 오버런의 형성에 영향을 미치는 요인들, 즉 요구르트 mix의 총 고형분의 함량 및 조성, 단백질의 whipping ability, 교반기의 회전속도 등의 차이에 의한 것으로 생각된다.

6. 녹아 내리는 정도

Fig. 2는 frozen soy yogurt의 녹아 내리는 정도를 20°C의 실온에서 10분 간격으로 측정된 것이다. 초기 10분 동안은 대부분 시료군의 녹아 내리는 정도가 0~0.8%로 매우 낮았으나 30분이 경과함에 따라 녹아 내리는 정도가 증가하여 60분에는 YC-X11 배양균의 경우는 6.5~24.8%로 증가하였으며, ABT-5 배양균의 경우는 7.09~55.8%로 증가하였다. 즉, 배양방법에 따라 녹아 내리는 정도는 ABT-5 배양균

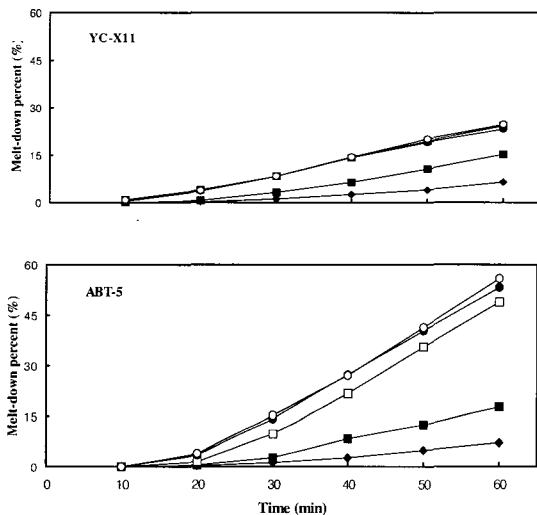


Fig. 2. Effects of enzyme treatments and starter cultures on the melt-down percent of frozen soy yogurts.

Untreated (◆—◆), hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20 min (■—■) and 30 min (□—□), hydrolyzed SPI with Neutrase for 20 min (●—●) and 30 min (○—○). YC-X11: Mixed culture of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*, ABT-5: Mixed culture of *L. acidophilus*, *B. lactis* and *S. thermophilus*

이 YC-X11 배양균보다 더 컸다.

전반적으로 효소처리균의 경우는 녹아 내리는 양상이 고형분과 수분이 함께 녹아 내리는 경향을 나타내었으나, 비효소처리균의 경우 수분만이 분리되어 녹아 내리는 양상을 나타내어 고형분과 수분이 함께 녹아 내리는 효소처리균보다 녹아 내리는 정도가 매우 낮은 경향을 나타내었다. 아이스크림의 질감이 지나치게 수분이 많거나 끈적끈적한(gummy) 경우에는 상온에서 제모양을 그대로 유지할 뿐 녹지 않는 결함을 가지고 있는데^{22, 23)}, 신의 연구¹⁹⁾에서는 frozen yogurt mix의 점도가 높았고 관능적으로 입안에서 끈끈한 느낌이 가장 높았던 frozen yogurt가 녹아 내리는 정도가 가장 느렸고 녹아 내리는 양상이 고형분과 수분이 분리되는 현상을 나타내었다고 보고하였다. 즉 본 연구에서도 점도가 가장 높았고 오버런의 형성이 잘 이루어지지 않아 끈적끈적한 양상을 나타내었던 비효소처리균의 경우 녹아 내리는 정도가 가장 적었으며 고형분과 수분이 분리되는 양상을 나타내었다.

7. 관능적 특성

위의 결과에서 보수력, 오버런 등에서는 차이가 없었으나 생균수, 당즙산 내성, 내산성이 더 우수하였던 ABT-5로 배양하여 제조한 frozen soy yogurt가 YC-X11로 배양한 경우보다 더 바람직하다고 생각되어 ABT-5로 배양한 frozen soy yogurt 만으로 관능검사를 실시하였다. 따라서 단백질효소의 종류를 달리하여 제조한 frozen soy yogurt의 관능적 특성을 평가한 결과는 Fig. 3과 같다.

콩비린내는 시료간에 유의차를 나타내어 효소처리균이 비효소처리균보다 감소되었으며 이는 효소처리에 의해 콩비린내 성분인 hexanal이 감소된 것으로 생각된다. 모든 시료군 중에서 F30 처리균이 가장 콩비린내가 나지 않는 것으로 평가되었으며 비효소처리균이 가장 콩비린내가 나는 것으로 평가되었다. 또한 전반적으로 30분간 효소처리한 시료가 20분간 효소처리한 시료보다 콩비린내가 나지 않는 것으로 평가되었다.

쓴맛에 있어서는 모든 시료군 중에서 F30 처리균이 가장 쓰지 않다고 평가되었으며($p < 0.05$), 비효소처리균, F20 처리균 및 N20 처리균은 유의차가 없었으며 N30 처리균의 경우가 쓰다고 평가되었다.

신맛의 정도는 기호도로 평가한 결과 시료간에 유의차를 나타내어 모든 시료군 중에서 N20 처리균의 신맛이 좋게 평가되었다. 이⁴⁾는 frozen soy yogurt의

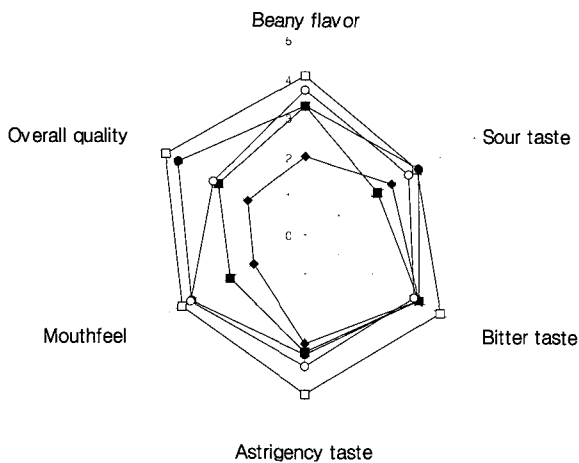


Fig. 3. The sensory characteristics of frozen soy yogurt.
 Untreated (◆—◆); hydrolyzed SPI with Flavourzyme for 20 min (■—■), 30 min (□—□); hydrolyzed SPI with Neutrase for 20 min (●—●), 30 min (○—○).

신맛에 대한 기호도를 pH 및 산도와 상관계수로 분석한 결과 신맛의 기호도와 pH는 양의 상관계수를 나타내어 pH가 높을수록 신맛에 대한 기호도는 좋았으며, 신맛의 기호도와 산도와는 음의 상관계수를 나타내어 산도가 낮을수록 신맛의 기호도는 좋은 것으로 나타났다고 보고하였다.

뽀은맛은 비효소처리군이 효소처리군보다 더 짧다고 평가되었으며 Flavourzyme과 Neutrase 처리군 모두, 30분 처리군이 20분 처리군보다 짧지 않다고 평가되었다. 입안에서의 질감은 비효소처리군이 거칠다고 평가되었으나, F30 처리군과 Neutrase 처리군은 부드럽다고 평가되었다.

전반적인 바람직성은 비효소처리군이 바람직하지 않다고 평가되었고 모든 시료군 중에서 F30 처리군이 가장 바람직하다고 평가되었으며(p<0.001), Neutrase 처리군에 있어서는 N20 처리군이 N30 처리군보다 더 바람직하다고 평가되었다.

IV. 결론 및 요약

단백분해효소인 Flavourzyme 또는 Neutrase로 처리한 분리대두단백의 기능적 성질과 혼합균주인 YC-X11 또는 ABT-5를 이용하여 제조한 frozen soy yogurt의 품질 특성을 연구한 결과는 다음과 같다.

Frozen soy yogurt mix의 점도는 비효소 처리군에서 가장 높았으며, 효소처리군에 있어서는 F20 처리군의 점도가 가장 높았고 N30 처리군이 가장 낮았다. Frozen soy yogurt의 오버런은 효소처리에 의해

향상되었는데, Flavourzyme으로 20분간 처리하여 YC-X11으로 배양한 시료의 오버런이 40.27%로 가장 높았다.

Frozen soy yogurt의 생균수는 soy yogurt의 생균수와 유사하였다. 따라서 동결에 의한 생균수의 감소는 거의 나타나지 않았으며 비효소처리군보다 효소처리군에서 생균수가 증가하였으며 가수분해도가 높을수록 생균수가 증가하는 경향이였다.

내산성을 측정된 결과, ABT-5로 배양한 시료들의 경우 생존율이 0.1~3.2%였으나 YC-X11으로 배양한 경우는 0.01~0.4%로 생존율이 매우 낮았다. 담즙산 내성을 측정된 결과 또한 ABT-5로 배양한 경우의 생존율이 1.2~34.4%로 YC-X11으로 배양한 경우(생존율 0.9~3.8%)보다 더 컸다. 관능평가 결과, 효소처리에 의해 콩비린내, 뽀은맛, 입안에서의 질감은 향상되었으나 쓴맛에 있어서는 가수분해도가 가장 높았던 N30 처리군이 약간 쓰다고 평가되었다. 전반적인 바람직성에 있어서는 비효소처리군의 경우 바람직하지 않다고 평가되었으나 F30 처리군은 바람직하다고 평가되었다.

Literature cited

1. Tamime, AY, Mashall, VM and Robinson, RK : Microbiological and technological aspects of milk fermented by *bifidobacteria*. J. Dairy Res., 62:151, 1995
2. Back, YJ : 발효유산업의 연구개발 현황과 전망. Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng. 8(2):2026, 1995b
3. Kwon, YS : Effects of *Bifidobacteria* and oligosaccharides on the quality attributes of frozen soy yogurts containing enzyme treated soy protein isolate. M. S. thesis, Chung Ang Univ. Seoul, Korea, 1998
4. Lee, JE and Lee, SY : Quality characteristics of frozen soy yogurt prepared with different proteolytic enzymes and starter culture. Korean J. Food Sci. Technol., 33(6):676, 2001
5. Rasic, JL and Kurmann, JA : Yoghurt. Technical dairy publishing house, Copenhagen, Denmark, p.85, 1978
6. Kim(Lee), SY, Park, SW and Rhee, KC : Textural properties of cheese analogs containing proteolytic enzyme modified soy protein isolate. J. Am. Oil Chem. Soc., 6:755, 1992
7. Tuitemwong, P, Erickson, LE, Fung, DYC, Setser, CS and Perng, SK : Sensory analysis of soy yogurt and frozen soy yogurt produced from rapid hydration hydrothermal cooked soy milk. J. Food Quality, 16:223, 1993
8. Ioanna, S, Martinou, V and Gregory, KZ : Effect of some stabilizer on textural and sensory characteristics of yogurt ice cream from sheep milk. J. Food Sci., 55(3):703, 1990
9. Jayne, EH and Joseph, FF : Viability of *Lactobacillus*

- acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in soft-serve frozen yogurt. *Cult. Dairy Prod. J.*, August, p.4, 1991
10. Berrada, N, Lemeland, JF, Laroche, PT and Piaia, M : *Bifidobacterium* from fermented milks, Survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.*, 74(2):409, 1991
 11. Lee, CH, Kim, CS and Lee, SP : Studies on the enzymatic partial hydrolysis of soybean protein isolates. *Korean J. of Food Sci. Technol.* 16(2):228, 1984
 12. Heo, KC and Yoon, YH : Associative growth of *Bifidobacterium sp.* and *Lactobacillus acidophilus* in skim milk. *Korean J. Dairy Sci.* 18(3):185, 1996
 13. Kim, HJ and Ko, YT : Study on preparation of yogurt from milk and soy protein. *Korean J. of Food Sci. Technol.* 22(6):700, 1990
 14. Floch, MH, Henry, MS and Binder, MD : The effect of bile acids on intestinal microflora. *Am. J. Clin. Nutri.*, 25:1418, 1972
 15. Gilliland, SE, Staley, TE and Bush, LJ : Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.*, 67:3045, 1984
 16. Shan, N and Jelen, P : Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *J. Food Sci.*, 55(2):506, 1990
 17. Shin, YS, Sung, HJ, Kim, DH and Lee, KS : Survival rate of lactic acid bacteria and the change of β -galactosidase activity of commercial yogurts under the acidic condition. *Agricultural Chemistry and Biotechnology.* 37(3):143, 1994b
 18. Hood, SK and Zottola, EA : Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J. Food Sci.*, 53(5):1514, 1988
 19. Shin, WS and Yoon, S : Effect of stabilizers on the texture of frozen yogurt. *Korean J. Soc. Food Sci.*, 12:20, 1996
 20. Mitten, HL : Hard freezing yogurt mixes. *Am. Dairy Rev.*, 39(6):23, 1977
 21. Rajor, RB and Gupta, SK : Soft-serve ice cream from soybean and butter milk I. Method of manufacture. *Indian J. Dairy Sci.*, 35(4):454, 1982
 22. Mahdi, SR and Bradley, RL : Fat destabilization in frozen yogurt dessert containing low dextrose equivalent corn sweetener. *J. Dairy Sci.*, 52(11):1738, 1969
 23. Lee, CH, Kim, CS and Lee, SP : Studies on the enzymatic partial hydrolysis of soybean protein isolates. *Korean J. of Food Sci. Technol.* 16(2):228, 1984

(2004년 11월 26일 접수, 2004년 12월 24일 채택)