

## *L. acidophilus* KCCM 32820과 *P. freudenreichii* KCCM 31227로 배양한 유청발효물을 첨가한 반죽 레올로지 및 식빵의 품질특성

이정훈 · 최미정 · 정구춘<sup>1</sup> · 이시경\*  
건국대학교 분자생명공학과, <sup>1</sup>건국대학교 화학과

### Rheological Properties of Dough and Quality Characteristics of Bread Containing Whey Ferment Cultured by *L. acidophilus* KCCM 32820 and *P. freudenreichii* KCCM 31227

Jeong-Hoon Lee, Mi-Jung Choi, Koo-Chun Chung<sup>1</sup>, and Si-Kyung Lee\*  
Department of Molecular Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea  
<sup>1</sup>Department of Chemistry, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

#### Abstract

This study was carried out to evaluate the effects of whey ferment containing *L. acidophilus* KCCM 32820 and *P. freudenreichii* KCCM 31227 on the quality characteristics of white pan bread. Instrumental analysis such as alveograph, gelatinization temperature, texture analysis, retrogradation rate was determined. In an alveograph test,  $P_{max}$  value in the treatment was higher than that in the control, but extensibility of dough in the control showed to be higher than in the treatment, so test dough showed more strength than the control. In terms of DSC analysis for gelatinization, temperature there were no significant differences of  $T_p$  and  $\Delta H$  between the control and the treatment. In hardness analysis by rheometer, dough containing whey ferment revealed lower values than the control. From the analysis of the organic acid contents, propionic acid was not detected in the control, however 1.13 mg/g of propionic acid was detected in the treatment. In the retrogradation analysis by DSC, the test delayed slightly compared to the control.

**Key words:** rheology, quality characteristics, white pan bread, *L. acidophilus* and *P. freudenreichii*, whey ferment

#### 서 론

유가공 산업에서 치즈나 카세인 생산시 부산물로 발생되는 유청은 산업폐기물로 처리하였으나 단백질과 고농도의 유당을 함유하고 있어 다양한 형태의 제품으로 만들어 식품산업에 이용하고 있다(Gallardo-Escamilla *et al.*, 2005). 유산균은 유청에 함유된 유당을 발효하여 젖산을 생성하는데 이는 식품, 화장품, 제약 등에 이용되고 있으며(Hujanen and Linko, 1996), 유청의 단백질을 한외여과로 회수하여 WPC(whey protein concentrates)를 제조(Indrani *et al.*, 2007)하거나 유청 자체를 음료에 이용하고 있다.

빵은 밀가루를 주원료로 하여 효모와 여러가지 재료를

혼합 후 발효시켜 만든다. 구워진 빵은 냉각하면서부터 노화되기 시작하며 미생물에 오염되어 부패하기 시작한다. 미생물 증식으로 부패되는 것을 연장하면서 품질향상을 목적으로 유산균을 제빵산업에 이용하고 있다. 유산균은 여러가지 유기산, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bacteriocin 등을 생산하여 병원성이나 부패미생물의 증식을 억제한다(Daeschel, 1989). 유산균을 이용한 사워도우는 호밀이나 밀가루 반죽에서 단백질을 분해하여 자유 아미노산 양을 증가시켜(Gobbetti *et al.*, 1994) 향 생성에 관여하기 때문에 효모로만 발효시킨 것에 비하여 독특한 향미를 갖는 빵이 된다. 또한 유산균은 diacetyl, acetoin, 2,3-butanediol, acetate, ethanol, formate, CO<sub>2</sub> 등을 생산하여 발효식품에서 맛과 조식을 개선한다(Cogan, 1995). *L. acidophilus*는 당을 발효하여 젖산을 생성하는데, pH 5.0 이하에서도 증식하며 증식 최적온도는 37°C이다. 장내세균으로 사람이나 동물의 장관과 구강 등에서 발견되며 어떤 종들은 probiotics로 작용하여 장내 병

\*Corresponding author: Si-Kyung Lee, Dept. of Molecular Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-450-3759, Fax: 82-450-3720, E-mail: lesikyung@konkuk

원성 미생물의 증식을 저해하고 면역체계를 강화한다 (Kamila *et al.*, 2008).

빵과 케이크에는 보존료로 프로피온산과 그 염을 사용하는데 대부분 화학적합성품으로 사용되고 있다. 그러나 천연 식품첨가물을 선호하는 소비자의 요구에 따라 *Propionibacterium*으로 우유나 유청과 같은 저가의 부산물을 발효시켜(Datta, 1981) 프로피온산과 그 염을 생산하는 연구가 다양하게 진행되어 오고 있다. 유청을 미생물로 발효하여 생산한 프로피온산을 그대로 사용하거나  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , NaOH, KOH 등으로 반응하여 얻은 프로피온산염인 calcium, sodium, potassium 염 등을 식품의 보존료로 이용하고 있다. 프로피온산을 생산하는 생물 공학적 방법은 부수적으로 bacteriocin을 생산하기 때문에 화학적 방법으로 생산하는 것보다 장점이 있으며 부산물인 유청의 처리 방법이기도 하다(Hettinga and Reinbold, 1972). Kenichi 등(2000)은 *P. freudenreichii*가 장내에서 증식하는 동안 생산하는 물질이 *Bifidobacterium adolescentis* 6003의 성장을 촉진한다고 보고하였다. 또한 프로피온산은 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추는 역할을 하고 칼슘 흡수를 촉진하며, *Propionibacterium*은 정장작용뿐만 아니라 면역력을 향상하고 항암효과가 있다고 Ara(2003)는 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 치즈 생산시 부산물로 발생하는 유청을 *L. acidophilus* KCCM 32820과 *P. freudenreichii* KCCM 31227로 2단계 배양하여 유기산이 생성된 유청발효액을 제조하였다. 유청발효액을 식빵을 만들 때 첨가하여 반죽의 레올로지 및 식빵 품질에 미치는 영향으로 수분함량, 유기산, 노화특성 등을 분석하여 제빵적성 검토와 제품의 품질을 개선하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배지

한국미생물보존센터에서 분양 받은 *L. acidophilus* KCCM 32820과 *P. freudenreichii* KCCM 31227을 유청발효에 사용하였다. *L. acidophilus* KCCM 32820 계대배양용 배지는 MRS(BD Diagnostic Systems, USA)를, *P. freudenreichii* KCCM 31227 계대배양용 배지는 RCM(reinforced clostridial medium, Oxoid CM 149, Germany)을 사용하였다.

### 발효용 유청배지

2 L 삼각플라스크에 유청분말(Calpro Co., Ltd., USA) 120 g을 증류수에 희석하여 1 L로 조절하고 효모추출물을 1% 첨가하여 60°C에서 30분간 저온살균하여 발효용 유청배지로 하였다.

### 식빵 재료

식빵용 재료로 밀가루는 단백질 12.8%, 회분 0.44%, 수

분 13.5%의 강력분(대한제분, 한국), 생효모(조흥화학, 한국), 설탕은 순도 99.0%의 정백당(삼양사, 한국), 쇼트닝(롯데삼강, 한국), 소금은 순도 99%(한주소금, 한국), 제빵개량제(빵 sp-2, (주)에스엘식품, 한국) 등을 사용하였다.

### Starter culture 제조

유산균 배양용 MRS 배지 55 g을 증류수에 용해하여 1 L로 제조한 것을 약 10분간 균일하게 혼합 후 cap tube에 10 mL씩 분주하여 121°C의 고압증기멸균기에서 15분간 살균하여 냉각시켰다. 냉각한 MRS 배지 2 mL에 종균(*L. acidophilus* KCCM 32820)을 넣어 희석한 후 1 mL 취하여 cap tube에 접종하였다. 종균은 35°C의 인큐베이터에서 16시간 배양하여 균수가  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL 되도록 하여 본 배양에 사용하였다. *P. freudenreichii* KCCM 31227은 RCM 40 g을 증류수에 용해하여 1 L로 제조한 후 *L. acidophilus* KCCM 32820를 계대배양한 것과 같은 방법으로 배양하여 본 배양에 사용하였다. *P. freudenreichii* KCCM 31227은 48시간씩 계대배양하였다.

### 유청 발효용 배지

저온살균한 유청배지에 계대배양한 *L. acidophilus* KCCM 32820을 1%(v/v) 접종한 후 36시간 배양하여 젖산을 생성하였다. 배양액에 5 N-NaOH를 첨가하여 pH를 6.5로 조절한 후 다시 저온살균하여 냉각 후 *P. freudenreichii* KCCM 31227을 1% 접종하여 35°C의 인큐베이터에서 72시간 동안 12시간 단위로 5 N-NaOH로 pH를 6.5로 조절하면서 배양하였다.

### 유청발효물의 전처리

배양이 끝난 유청발효물을 농축기(Rotavapor R-114, Büchi, Swiss)에서 고형분 함량이 40%가 되도록 농축(프로피온산 함량 26-30 g/L)하여 반죽과 빵 제조에 급수량의 10%를 대체하여 첨가하였다.

### Alveograph 특성 분석

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가한 반죽과 첨가하지 않은 반죽의 alveograph 특성을 alveograph(NG, Societe Choipn S.A, France)를 이용하여 AACC방법(1985)에 따라 측정하였다. 밀가루 250 g에 유청발효물과 2.5%의 NaCl 용액을 넣고 반죽하여 반죽온도를 24°C로 하였고 이때 resting chamber 온도는 25°C로 조절하였다. 반죽판을 5개 준비하여 배합시작 8분 경과 후 초기반죽을 1 cm 잘라 반죽판 위에 직각으로 올려 놓고 롤러로 9-12회 정도 눌러 균일한 두께의 반죽이 되도록 하여 resting room에 반죽을 순서대로 놓았으며,  $P_{max}$  (반죽의 변형에 필요한 최대 저항력과 관계되는 압력),  $L(\text{mm})$ (팽창반죽이 터질 때까지의 신장성),  $G(2.22\sqrt{L})$ , 팽

창지표) 및  $W$ (반죽 탄력에 대한 저항성) 등을 측정하였다.

**호화특성 분석**

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg 당 2.5 g 되는 양을 첨가한 반죽과 첨가하지 않은 반죽의 호화특성을 Differential Scanning Calorimeter(DSC 6100, Seiko Instrument Co., Ltd., Japan)로 측정하였으며, indium과 수은을 사용하여 온도와 엔탈피 값을 보정하였다. 밀가루 300 g에 유청발효물과 물을 합하여 180 mL를 넣고 반죽기에서 5분간 반죽 후 시료 10 g을 알루미늄 밀봉 팬에 넣고 피크온도( $T_p$ )와 용융 흡열반응 피크의 엔탈피  $\Delta H(J/g)$ 를 측정하였다. Reference는 빈 pan을 사용하였으며 5 °C/min의 가열속도로 0°C에서 170°C까지 가열하였다.

**식빵의 제조**

식빵 배합률은 Table 1과 같으며 AACCB방법(10-10b)(1985)을 수정하여 스펀지법(sponge and dough method)으로 제조하였다. 스펀지 반죽은 밀가루 700 g, 물은 밀가루 양의 60%인 420 g, 효모 전량, 제빵개량제 등을 반죽기(Hobart A200, USA)에 넣고 저속 3분, 중속 2분간 반죽 후 믹싱 볼에서 꺼내어(반죽온도 24°C) 온도 27°C, 습도 75%의 1차 발효실에서 4시간 발효시켰다. 발효가 끝난 스펀지 반죽과 도우 재료 중 쇼트닝을 제외한 전 재료를 믹싱볼에 넣고 저속 3분 중속 2분간 믹싱 한 후 쇼트닝을 넣고 저속으로 3분간 믹싱하고 중속으로 5분간 믹싱하여 반죽을 완료하였다. 이때 반죽온도는 27°C로 맞추었다. 반죽을 15분간 상온에서 휴지시킨 후 540 g씩 분할하여 둥글리기·휴지·정형하여 식빵팬(21×9×8.5 cm)에 패닝하여 온도 38°C, 습도 85%의 2차 발효실에서 50분간 발효시킨 뒤 윗불 200°C, 밑불 200°C의 오븐(FAO-7103, DaeYung Co., Ltd., Korea)에서 30분간 구웠다.

**식빵의 수분함량 분석**

수분함량은 제품을 냉각 후 포장하여 25°C에 보존하면서 12시간 이후부터 24시간 단위로 5일간 측정하였다. 수

분함량은 건조감량법(Korean Food Code, 2002)으로 측정하여 아래의 공식에 따라 산출하였으며 각각의 시료 6개씩 측정하여 자료로 하였다.

$$\text{수분(\%)} = b/a \times 100$$

a, 검체의 무게(g); b, 건조 후 항량이 되었을 때의 무게(g)

**식빵의 조직감 분석**

제품의 조직감은 Rheometer(CR-200D, Sun Co., Ltd., Japan)를 사용하여 측정하였다. 제품을 3 cm 두께로 잘라 개별 포장하여 25°C에 보존하면서 12시간 이후부터 24시간 간격으로 5일간 측정하였다. 제품의 조직감은 Rheometer를 이용하여 Table speed 100 mm/min, Chart speed 60 mm/min, Load cell range 1 kg, Probe size 20 mm, Sample size L 60×H 30 mm, Critical area 314 mm<sup>2</sup>, % Deformation 25 등의 조건에서 경도(hardness)를 측정하였다. 측정하여 얻은 max weight, distance, strength를 아래 공식에 따라 계산하여 구한 값을 경도로 하였다.

$$\text{Strength (dyne/cm}^2\text{)} = (\text{최대중량} \times \text{중력가속도})/\text{Cell 면적}$$

$$\text{Hardness (dyne/cm}^2\text{)} = (\text{strength} \times \text{샘플의 높이})/\text{측정거리}$$

**식빵의 유기산 함량 분석**

제품의 propionic acid, lactic acid, acetic acid, malic acid, succinic acid 등의 유기산 함량을 HPLC(LC1100 Series, Hewlett Packard Co., Ltd., USA)로 측정하였다. 채취한 시료를 8,000 g의 원심분리기(Supra21K, Hanil Co., Korea)에서 원심분리 후 상등액을 취하여 Millipore (USA) membrane filter(pore size 0.45 μm)로 여과하여 분석에 사용하였다. 분석은 Aminex HPX-87H ion exclusion type (L300 mm×7.8 mm, Bio-Rad Co., Ltd., USA)의 column을 사용하였으며 이동상은 35°C에서 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액으로 0.6 mL/min의 속도로 흘러서 215 nm에서 ADC(RI Detector)로 검출하였다. 유기산 표준용액은 각각을 1 mL 평량하여 100 mL 메스플라스크에 채우고 증류수를 넣어 100 mL로 한 후 magnetic stirrer로 10분간 용해하고 0.45 μm membrane 필터로 여과하여 제조하였다.

**식빵의 노화 특성 분석**

식빵의 노화특성은 Differential Scanning Calorimeter (DSC 6100, Seiko Instrument Co., Ltd., Japan)로 측정하였으며, indium과 수은을 사용하여 온도와 엔탈피 값을 보정하였다. 식빵을 폴리에틸렌 포장지로 밀봉하여 4°C에서 7일간 저장하면서 2일 간격으로 시료를 10 g 취하여 알루미늄 팬에 넣고 피크온도( $T_p$ )와 용융 흡열반응 피크의 엔탈피  $\Delta H(J/g)$ 를 측정하였다. Reference는 빈 pan을 사용하였으며 5 °C/min의 가열속도로 0°C에서 170°C까지 가열하였다.

**Table 1. Formulas for white pan bread** (unit : g)

Ingredients	%	Control		Treatment	
		Sponge	Dough	Sponge	Dough
Bread flour	100	700	300	700	300
Water	63	420	210	420	110
Fresh yeast	20	20		20	
Salt	20		20		20
Sugar	60		60		60
Shortening	50		50		50
Dough improver	10	10	0	10	0
Whey ferment	Variable		0		100
Total		1,790		1,790	

### 통계처리

통계분석은 Statistical Analysis System(SAS)(2007) 통계 프로그램을 사용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 각 시료 간의 유의성 검증은  $p < 0.05$  수준으로 던컨의 다중 범위시험법(Duncan's multiple range test)을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### Alveograph 특성

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가한 반죽과 첨가하지 않은 반죽의 Alveograph 특성을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 반죽의 변형에 필요한 최대 저항력과 관계되는 압력  $P_{max}$ 는 대조구가 113 mm, 시험구가 123 mm로 유의적 차이가 있어( $p < 0.05$ ) 시험구의 반죽강도가 강한 것으로 나타났다. Alveograph는 밀가루의 단백질 특히 글루텐의 강도를 측정하는 기기로 Bettge 등(1989)은 반죽을 alveograph로 측정하여 나타나는  $P_{max}$ ,  $L$ ,  $W$  등으로 빵의 부피를 예측할 수 있다고 하였다. 팽창된 반죽이 터질 때까지의 신장성을 나타내는  $L$ 은 대조구가 91 mm, 시험구가 87 mm로 대조구의 신장성이 큰 것으로 나타났다. 팽창지표인  $G$ 는 대조구가 21.2 mm, 시험구가 20.8 mm로 대조구가 다소 높았으나 유의적 차이는 없었다. 반죽의 탄력에 대한 저항성인  $W$ 는 대조구가  $369 \times 10^{-4} \cdot J$ , 시험구가  $406 \times 10^{-4} \cdot J$ 로 시험구가 높았다. 본 실험에서 대조구보다 시험구의 반죽이 강하게 나타난 것은 유청발효물에 함유되어 있는 칼슘이 단백질과의 작용에 기인하는 것으로 생각된다. 칼슘은 반죽 중 밀가루의 단백질과 작용하여 글루텐을 강하게 하는 기능이 있다(Lee *et al.*, 2010). 또한 유청발효시 생성된 산은 단백질을 변성시켜 단단하게 하였기 때문에 반죽강도가 높아진 것으로 생각된다.

### 반죽의 호화 특성

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가한 반죽과 첨가하지 않은 반죽의 호화특성을 DSC(differential scanning calorimeter)를 이용하여 측정한 결과는 Table 3과 같다. 피크온도( $T_p$ )는 대조구가 74.7°C

**Table 2. Alveogram characteristics of wheat flour doughs**

Characteristics	Control	Treatment <sup>2)</sup>
Overpressure $P_{max}$ (mm)	113±3.00 <sup>b1)</sup>	123±2.31 <sup>a</sup>
Extensibility $L$ (mm)	91±2.31 <sup>a</sup>	87±2.65 <sup>a</sup>
Swelling index $G$ (mm)	21.2±0.29 <sup>a</sup>	20.8±0.40 <sup>a</sup>
Deformation energy $W$ ( $\times 10^{-4} \cdot J$ )	369±13.65 <sup>b</sup>	406±3.06 <sup>a</sup>
P/L	1.25±0.04 <sup>b</sup>	1.4±0.07 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SD based on 4 samples.

<sup>2)</sup>Wheat flour dough containing 10% of whey ferment

<sup>a,b</sup>Means with different superscripts in row are significantly different at  $p < 0.05$

**Table 3. Gelatinization characteristics of wheat flour doughs analyzed by DSC**

	$T_p$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
Control	74.7±0.6 <sup>a1)</sup>	11.86±0.2 <sup>a</sup>
Test <sup>2)</sup>	74.6±0.4 <sup>a</sup>	11.74±0.3 <sup>a</sup>

$T_p$ , Peak temperature,  $\Delta H$ , Enthalpy

<sup>1)</sup>Values are Mean±SD, n=3.

<sup>2)</sup>Wheat flour dough containing 10% of whey ferment

<sup>a</sup>Means with the same letter in column are not significantly different by duncan's range test ( $p < 0.05$ ).

이고 시험구가 74.6°C로 유의적 차이가 없었고( $p < 0.05$ ), 호화엔탈피  $\Delta H$ (J/g)는 대조구가 11.86 J/g이었고 시험구가 11.74 J/g로 유의적 차이가 없었다. 전분질 식품은 산을 함유하여 pH가 4-7정도인데 이러한 산 농도는 전분의 팽윤이나 호화에 거의 영향을 미치지 않는다고 하였다(Owen, 1985). 전분의 호화에 영향을 주는 인자는 전분의 종류, 전분의 수분함량, 전분 현탁액의 pH, 현탁액에 존재하는 염류의 종류 및 농도 등(Song and Park, 1998)이며, 본 실험의 반죽은 약산성으로 유청발효물이 호화특성에 영향을 미치지 않았다. Alummoottil 등(2005)은 카사바 전분에 초산을 1%까지 첨가하여 호화특성을 측정한 결과 호화온도는 70°C 정도로 영향을 미치지 않았다고 하였고, 염화알루미늄과 이황산나트륨을 1%까지 첨가하였을 때 호화엔탈피가 약간 증가하였으나 변화는 크지 않았다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

### 식빵의 수분함량 분석

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가한 식빵과 첨가하지 않은 식빵의 수분함량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 식빵을 제조하여 1일 후에 측정한 수분함량은 대조구가 38.6%이었고, 시험구가 39.0%로 시험구의 수분함량이 다소 높았다. 측정 5일 동안 대조구의 수분함량 변화는 최저 38.4%에서 최고 38.6%로 0.2%의 차이를 나타냈고, 시험구도 39.0%에서 최고 38.7%로 0.3%의 차이가 있어 유청발효물 첨가가 식빵의 수분함량에 영향을 주지 않았다. Cha(2003)는 *L. acidophilus*로 밀가루를 발효하여 생산한 발효물을 밀가루 양에 대하여 0, 5, 10, 20% 첨가하여 만든 면을 증숙하여 수분함량을 측정한 결과 변화가 거의 없다고 하였는데, 이는 본 실험의 결과와 유사하였다. Zeleznak과 Hosney(1986)은 빵에 노화방지제를 첨가하면 수분손실을 줄일 수 있다고 하였고, 당이나 유지 등은 수분보유제로 작용하여 제품을 오랫동안 부드럽게 유지한다고 하였다. 또한 계면활성제인 SSL(sodium stearyl lactylate)이나 monoglyceride 등은 반죽에서 흡수율을 증가시키고 발효 동안 가스보유력을 개선시킬 뿐만 아니라 완제품에서 부피 및 조직개선의 효과가 있다고 하였다.

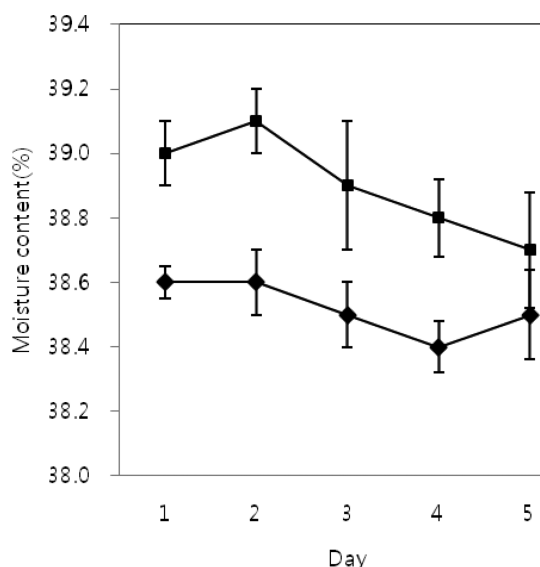


Fig. 1. Effects of whey ferment on moisture content of white pan breads. ◆, control; ■, treatment, White pan bread containing 10% of whey ferment.

식빵의 조직감 특성

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가하여 만든 식빵과 첨가하지 않고 만든 식빵의 조직감을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 저장 1일째 대조구의 경도가 135 dyne/cm<sup>2</sup>이었고 시험구가 102 dyne/cm<sup>2</sup>로 시험구의 경도가 낮아 유의적 차이가 있으며(p<0.05) 부드러운 것으로 나타났다. 저장기간이 경과하여도 시험구의 경도가 낮았으나 그 차이가 적어지는 경향을 나타내 저장 5일째에 대조구가 225 dyne/cm<sup>2</sup>이었고 시험구가 218 dyne/cm<sup>2</sup>이었다. 유청발효물의 첨가로 저장 3일째까지는

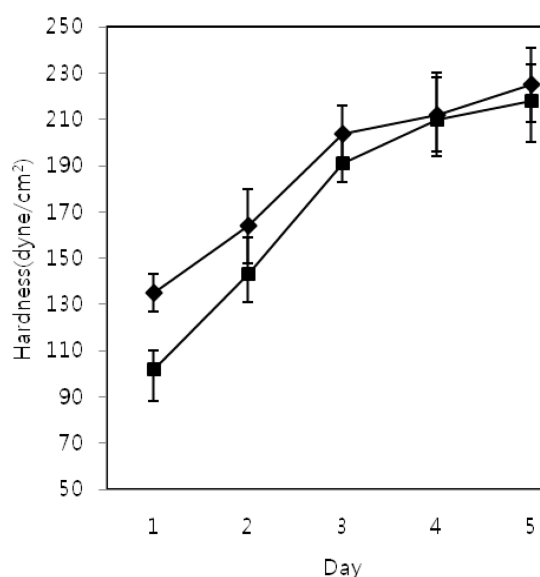


Fig. 2. Effects of whey ferment on hardness of white pan breads. ◆, control; ■, treatment, White pan bread containing 10% of whey ferment.

제품의 경도에 영향을 주어 더 부드러운 것으로 나타난 것은 유청발효물에 함유되어 있는 여러가지 유기산이 단백질에 연화작용을 하여 식빵의 경도에 영향을 미친 것으로 생각된다. Corsetti 등(2000)은 사워도우 발효는 전분의 노화를 지연시키는 효과가 있고 빵의 견고성을 저하시킨다고 하였다. Erdogdu-Arnoczky 등(1996)은 반죽에 acid whey protein을 4% 첨가하여 제조한 빵을 DSC로 측정된 결과 노화율이 감소되었다고 하였으며, Kim 등(1999)은 케이크에 우유를 많이 사용하면 유당의 수분보유력 때문에 조직감은 부드럽고 촉촉하다고 하였는데, 본 실험의 식빵 제조에 유청발효물의 첨가가 제품의 경도에 영향을 주어 노화가 지연되는 것으로 나타났다. 한편, Lee(2003)는 효모, 유산균으로 *L. brevis* L-62, 혼합유산균(CHN-22) 등으로 만든 발효액종을 냉동빵 제조에 첨가하여 경도를 측정된 결과 첨가하지 않은 제품보다 경도 값이 낮아 부드럽다고 하였는데, 본 실험에서도 유청발효물을 첨가한 반죽은 프로피온산, 젖산 등이 효모와 함께 반죽을 생화학적으로 변성시켜 경도 값이 낮아진 것으로 생각된다.

식빵의 유기산 분석

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가한 식빵과 첨가하지 않은 식빵의 유기산 함량을 HPLC로 측정된 결과는 Table 4 및 Fig. 3과 같다. 대조구에서 프로피온산은 검출되지 않았으나 젖산이 0.057 mg/g, 초산이 0.0234 mg/g, 호박산이 0.033 mg/g이 검출되었고, 시험구에서는 프로피온산이 1.13 mg/g, 젖산이 0.199 mg/g, 초산이 0.224 mg/g 검출되었다. 대조구에서 곰팡이나 세균에 정균작용이 있는 프로피온산이 검출되지 않은 것은 이것을 생산하는 미생물이나 별도의 첨가가 없었기 때문이고, 젖산과 초산은 반죽의 발효 중에 존재하는 다양한 유산균(Corsetti et al., 2000)과 효모에 의한 것으로 생각된다. 또한 시험구에서 프로피온산이 1.13 mg/g 검출된 것은 유청발효물에 프로피온산균에 의하여 생산된 프로피온산이 함유되었기 때문인 것에 기인한다고 생각된다. Vaughan(1986)은 *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*의 aspartate 대사가 lactate 발효에 미치는 영향에 관한 연구에서 pyruvate,

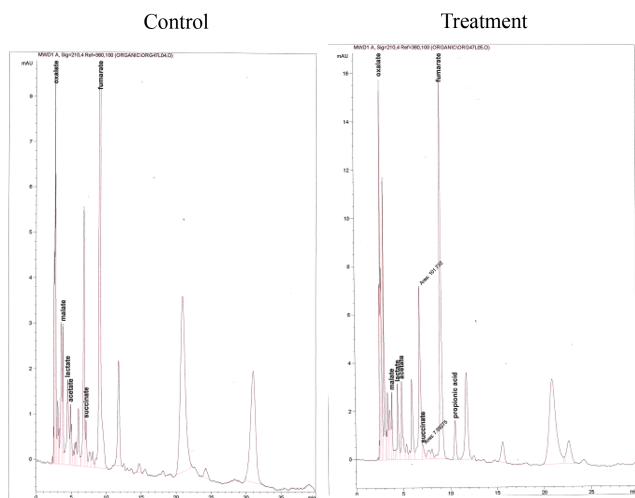
Table 4. Amount of organic acids in white pan breads (unit : mg/g)

Organic acids	Control	Treatment <sup>2)</sup>
Lactic acid	0.057±0.002 <sup>b1)</sup>	0.199±0.004 <sup>a</sup>
Propionic acid	0±0.000 <sup>b</sup>	1.13±0.003 <sup>a</sup>
Acetic acid	0.0234±0.002 <sup>ab</sup>	0.224±0.006 <sup>ab</sup>
Malic acid	0.052±0.001 <sup>b</sup>	0.077±0.003 <sup>a</sup>
Succinic acid	0.033±0.002 <sup>b</sup>	0.042±0.004 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are Mean±SD, n=3.

<sup>2)</sup>White pan bread containing 10% of whey ferment

<sup>a,b</sup>Means with the same letter in row are not significantly different by duncan's range test (p<0.05).



**Fig. 3. HPLC chromatogram of organic acids in white pan bread.** Control, White pan bread without whey ferment. Treatment, White pan bread with whey ferment

malate, fumarate, succinate 등은 프로피온산 생성을 위한 중간 발효물이라 하였는데, 이는 본 실험에서 시험구가 대조구보다 많이 검출된 결과와 일치하였다. *Propionibacterium*에 의한 glucose와 lactate를 기질로 한 프로피온산 발효에서 glucose는 EMP 경로에 따라 pyruvate로 전환되고, lactate는 lactate dehydrogenase에 의하여 pyruvate로 전환된다. Pyruvate는 최종적으로 프로피온산으로 전환되는데(Paul and Diana, 1987), 본 실험의 시험구에서 각종 유기산이 대조구보다 많이 검출되는 것은 이러한 경로 때문으로 생각된다.

**식빵의 노화특성**

유청발효물의 sodium propionate 양이 밀가루 kg당 2.5 g 되는 양을 첨가한 식빵과 첨가하지 않은 식빵의 노화특성을 DSC(differential scanning calorimeter)로 측정된 결과를 Table 5 및 Fig. 4와 같다. 2일 간격으로 7일간 측정된 결과 대조구보다 시험구의 피크온도( $T_p$ )가 2-3°C 높았다. 엔탈피  $\Delta H(J/g)$ 는 저장 7일 동안 대조구에 비하여 시험구에

**Table 5. Retrogradation properties of white pan breads analyzed by DSC**

		Control	Treatment <sup>2)</sup>
1 day	$T_p$ (°C)	52.0±0.2 <sup>b1)</sup>	55.5±0.4 <sup>a</sup>
	$\Delta H$ (J/g)	3.347±0.04 <sup>a</sup>	2.103±0.02 <sup>b</sup>
3 day	$T_p$ (°C)	52.5±0.6 <sup>b</sup>	55.8±0.5 <sup>a</sup>
	$\Delta H$ (J/g)	5.845±0.03 <sup>a</sup>	4.208±0.05 <sup>b</sup>
5 day	$T_p$ (°C)	53.0±0.4 <sup>b</sup>	55.4±0.8 <sup>a</sup>
	$\Delta H$ (J/g)	6.586±0.04 <sup>a</sup>	5.348±0.06 <sup>b</sup>
7 day	$T_p$ (°C)	53.4±0.4 <sup>b</sup>	55.3±0.6 <sup>a</sup>
	$\Delta H$ (J/g)	7.268±0.02 <sup>a</sup>	6.126±0.04 <sup>b</sup>

$T_p$ , Peak temperature,  $\Delta H$ , Enthalpy

<sup>1)</sup>Values are Mean±SD, n=3.

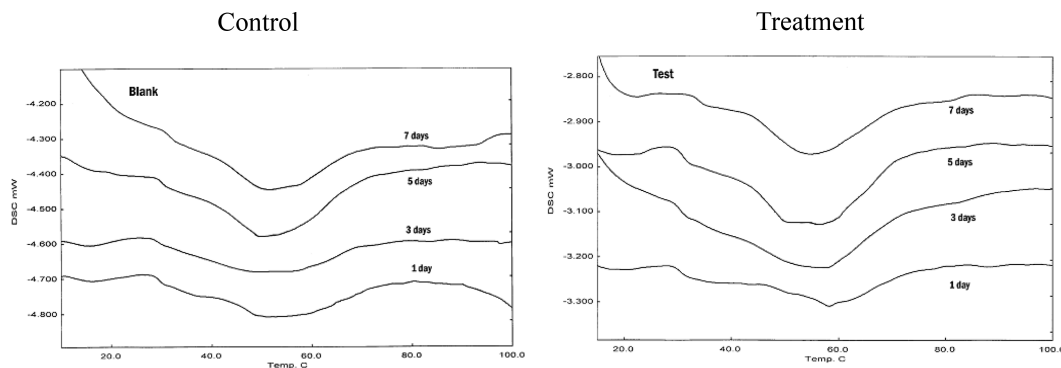
<sup>2)</sup>White pan bread containing 10% of whey ferment

<sup>a,b</sup>Means with the same letter in low are not significantly different by duncan's range test ( $p<0.05$ ).

서 낮아 노화가 느린 것으로 나타났다. 이는 발효 중 효모가 생성한 알코올과 각종 유기산이 유청발효물에 함유된 유기산과 함께 반죽의 글루텐을 연하게 하는 연화효과(mellowing effect)(Lee *et al.*, 2010)에 기인된 것이라 생각된다. 이러한 결과는 Rheometer로 경도(hardness)를 측정하였을 때 시험구의 경도 값이 대조구보다 낮아 부드러웠던 결과와 일치하였다. Maleki 등(1980)은 빵의 수분함량이 높을수록 노화가 느리다고 하였는데 본 연구에서 수분함량 측정결과 대조구보다 시험구에서 다소 높아 노화가 지연되는데 영향을 주었고, Russell과 Oliver(1989)는 pH가 밀전분의 노화에 미치는 영향에서 DSC로 측정된 노화도는 pH 5.6에서 최대가 되고 pH 4.4, 7.8, 9.8에서 낮았다고 하였는데, 본 실험에서 유청발효물을 첨가한 시험구의 pH가 다소 낮은 것도 노화가 지연되는데 영향을 준 것으로 생각된다.

**요 약**

본 실험은 유청을 *L. acidophilus* KCCM 32820과 *P. freudenreichii* KCCM 31227로 2단계 발효하여 만든 유청



**Fig. 4. DSC thermograms of retrogradation in white pan breads.** Control, White pan bread without whey ferment. Treatment, White pan bread with whey ferment

발효물을 식빵 반죽에 첨가하여 반죽의 레올로지 및 품질 특성에 미치는 영향을 분석하여 제품의 품질을 개선하고자 하였다. 레올로지 분석 중 Alveograph에서  $P_{max}$ 는 시험구가 높았고, 신장성은 대조구가 높아 시험구의 반죽 강도가 강한 것으로 나타났다. DSC에 의한 호화특성은 피크온도( $T_p$ )와 엔탈피(H)에서 대조구와 시험구에서 차이가 없어 유청발효물이 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 제품의 수분함량은 시험구가 다소 높았으나 유의적 차이가 없었다. 조직감은 저장 3일째까지 시험구가 부드러웠으나 4일 이후에는 두 시료간에 차이가 없었다. 유기산 분석 결과 대조구에서는 프로피온산이 검출되지 않았으나 시험구에서는 1.13 mg/g이 검출되었고 젖산은 대조구보다 시험구에서 높게 검출되었다. 노화특성은 대조구에 비하여 엔탈피  $\Delta H(J/g)$ 가 낮은 시험구에서 느린 것으로 나타났다.

### 참고문헌

- Alummoottil, N. J., Korappatti, S., Moothandasseri, S. S., Revammab, R., and Subramoney N. M. (2005) Gelatinisation properties of Cassava starch in the presence of salts, acids and oxidising agents. *Starch* **57**, 547-555.
- American Association of Cereal Chemists. (1985) Approved methods of AACCC. Methods 10-10b, 54-30.
- Ara, K. (2003) Science of propionic acid bacteria. *New Food Indust.* **45**, 58-63.
- Bettge, A., Rubenthaler, G. L., and Pomeranz, Y. (1989) Alveograph algorithms to predict functional properties of wheat in bread and cookie baking. *Cereal Chem.* **66**, 81-86.
- Cha, U. J. (2003) A study on properties of the flour-ferment with *Lactobacillus acidophilus* and the quality of noodles using the ferment. Ph. D. thesis, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
- Cogan, T. M. (1995) Flavour production by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.*, Symposium Supplement. **79**, 49S-64S.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., De Marco, B., Balestrieri, F., Russi, L., and Rossi, J. (2000) Combined effect of sour dough lactic acid bacteria and additives on bread firmness and staling. *J. Agri. Food Chem.* **48**, 3044-3051.
- Daeschel, M. A. (1989) Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol.* **43**, 164-166.
- Datta, R. (1981) Acidogenic fermentation of corn stover. *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 61-77.
- Erdogdu-Arnoczky, N., Czuchajowska, Z., and Pomeranz, Y. (1996) Functionality of whey and casein in fermentation and in breadmaking by fixed and optimized procedures. *Cereal Chem.* **73**, 309-316.
- Gallardo-Escamilla, F. J., Kelly, A. L., and Delahunty, C. M. (2005) Sensory characteristics and related volatile flavor compound profiles of different types of whey. *Dairy Sci.* **88**, 2689-2699.
- Gobbetti, M., Simonetti, M. S., Rossi, J., Cossignani, L., Corsetti, A., and Damiani, P. (1994) Free D- and L-amino acid evolution during sour dough fermentation and baking. *J. Food Sci.* **59**, 881-884.
- Hettinga, D. H. and Reinbold, G. W. (1972) The propionic acid bacteria-A review II. Metabolism. *J. Milk Food Technol.* **35**, 358-372.
- Hujanen, M. and Linko, Y. Y. (1996) Effect of temperature and various nitrogen sources on L-lactic acid production by *Lactobacillus casei*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 307-313.
- Indrani, D., Prabhasankar, P., Pjyotsna, R. G., and Venkateswara, R. (2007) Influence of whey protein concentrate on the rheological characteristics of dough, microstructure and quality of unleavened flat bread (parotta). *Food Res. Int.* **40**, 1254-1260.
- Kamila, G., Jacek, N., and Zbigniew, C. (2008) Comparison of the growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including probiotics. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* **7**, 5-20.
- Kenichi, H., Nobuo, Y., and Naoki, T. (2000) Bifidogenic growth stimulator produced by propionic acid bacteria. *Milk Sci.* **49**, 161-167.
- Kim, S. G., Cho, N. J., and Kim, Y. H. (1999) Science of bread and cake. B & C world Co., Ltd., Seoul, p. 219.
- Korean Food Code. (2002) Korean Food & Drug Administration. pp. 3-4.
- Lee, J. H., Yun, M. S., Bog, G. H., An, H. G., Woo, H. S., and Lee, J. J. (2010) New Principle of Bread and Cake. Gigu-moonwhasa Co., Seoul, pp. 56, 110.
- Lee, M. G. (2003) Quality characteristics of frozen dough bread prepared with flour ferments containing wheat flour Koji and lactic acid bacteria. Ph. D. dissertation, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
- Maleki, M., Hosene, R. C., and Mattern, P. J. (1980) Effect of loaf volume, moisture content, and protein quality on the softness and staling rate of bread. *Cereal Chem.* **57**, 138-140.
- Owen, R. F. (1985) Food chemistry. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, USA. pp. 664-665.
- Paul, S. and Diana, S. (1987) Dictionary of microbiology and molecular biology, 2nd ed. A Wiley Interscience Publication Co. Ltd., USA. p. 991.
- Russell, P. L. and Oliver, G. (1989) The effect of pH and NaCl content on starch gel aging. A study by differential scanning calorimetry and rheology. *J. Cereal Sci.* **10**, 123-125.
- SAS (2007) User's guide. SAS Institute: Cary, NC, USA.
- Song, J. C. and Park, H. J. (1998) New food processing and storage. Hyoilmunwhasa Co., Seoul, p. 136.
- Vaughan, L. C. (1986) Metabolism of aspartate by *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*: Effect on lactate fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* **52**, 359-365.
- Zeleznek, K. J. and Hosene, R. C. (1986) The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chem.* **63**, 407-411.

(Received 2012.7.5/Revised 2012.10.26/Accepted 2012.11.6)