

Trehalose와 당류가 냉동요구르트의 저장 중 유산균 생존율과 품질특성에 미치는 영향

우성호 · 주진우 · 윤원병¹ · 김거유*

강원대학교 동물생명과학대학 동물식품응용과학과
¹강원대학교 BT특성화대학 식품생명공학전공

Effect of Trehalose and Sugar Alcohol on the Viability of Lactic Acid Bacteria and Quality Characteristics during Frozen Storage of Yoghurt

Sung-Ho Woo, Jin-Woo Jhoo, Won-Byong Yoon¹, and Gur-Yoo Kim*

Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

Abstract

The objective of the current study was to determine the cryoprotective effects of trehalose on lactic acid bacteria in the frozen yoghurt during long-term frozen storage conditions. The frozen yoghurts were prepared using starter culture containing *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, as well as trehalose and sorbitol as a cryoprotectant. The viable cell numbers of lactic acid bacteria in frozen yoghurt did not significantly decreased during six weeks frozen storage conditions. The MRS broth, which contains either trehalose or sorbitol, cultured with *L. bulgaricus* and/or *S. thermophilus*, and then the cultured medium was kept in the frozen condition for six weeks. The results indicated that lactic acid bacteria viability significantly increased with trehalose addition (2 and 5%) in the media compared to those of control and sorbitol supplement groups. The lactic acid bacteria viability in the yoghurts was examined on the effects of repeated freeze and thaw events. The freeze-thaw resistance of lactic acid bacteria significantly increased with trehalose supplement in the yoghurt. The major volatile aroma compounds (acetaldehyde, acetone, ethanol, diacetyl, and acetoin) in yoghurt were separated and indentified by headspace GC-FID analysis. Distinct flavor components and their ratios are known as important quality factors for yoghurt notes. Trehalose addition to the yoghurt was not influenced these factors during lactic acid fermentation. The results in this study demonstrated that trehalose potentially can be applicable as an effective cryoprotectant for lactic acid bacteria in the frozen yoghurt products.

Key words: trehalose, lactic acid bacteria, frozen yoghurt

서 론

Trehalose는 두 분자의 포도당으로 구성되어 있는 이당류로서 자연계에 널리 분포되어 있으며, 대부분의 살아있는 생물체의 에너지원으로 사용된다. Trehalose는 박테리아, 곰팡이, 곤충, 식물, 무척추동물 등에서 발견되며 생물체의 여러 가지 스트레스 즉 건조, 냉동, 삼투압의 변화 등으로부터 생물체를 보호하는 기능을 가지고 있다. Trehalose는 열안정성이 높고 넓은 pH 영역을 가지고 있으며, 감미는 설

당의 45%에 불과하고 비환원당으로서 식품의 맛이나 냄새에 영향을 미치지 않는다(Takanobu, 2002). 또한 trehalose는 전분의 노화, 단백질의 변성, 지질의 변질 등을 방지하는 안정제 역할을 한다(Takanobu, 2002). 미생물을 보존하기 위한 가장 우수한 저장 상태는 동결이나 동결건조라고 할 수 있는데 미생물의 동결과 해동과정에서 미생물의 어느 정도 사멸이 발생하게 된다. 현미경 분석결과 사멸의 원인은 용해, 과열 등에 의한 세포막의 손상이 원인이라고 할 수 있다(Pringle & Chapman, 1981). 이당류는 동결과 건조과정에서 세포막을 안정화 시킬 수 있으며(Crowe et al., 1988), 두 분자의 포도당으로 구성된 trehalose가 특별히 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Miller et al., 1997). 냉동 요구르트는 발효유의 산미와 풍미를 가지며 아이스크림의 부드러움과 청량감 있는 맛이 어우러진 유제품으로(Knupp, 1979) 요구르트가 가지고 있는 특성과 함께 아이스크림의 관능적 특성

Corresponding author: Gur-Yoo Kim, Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, 192-1 Hoyoja-dong, Chuncheon-si, Gangwon-do 200-701, Republic of Korea
Tel: +82-33-250-8647; Fax: +82-33-251-7719

E-mail: gykim@kangwon.ac.kr

Received October 26, 2009; revised January 20, 2010; accepted January 25, 2010

도 가미되어야 한다(Guinard et al., 1994). 동결 요구르트 내의 유산균은 섭취 후 장내에서는 물론 제조 시 동결과정에서 약 1.5 log cycle이 감소한다(Thompson & Mistry, 1994). 이러한 생균수의 감소현상은 동결 시 전해질의 농도 변화와 빙결정의 형성이 원인이라 할 수 있다(Kirsop, 1991). 생균수의 감소를 방지하기 위해서는 동해방지제의 첨가가 필요한데 동해방지제는 동결저장 시 수분과 결합하고, 세포내외의 빙결정 형성을 억제시킴으로써 미생물의 생존율을 높게 된다(Kim et al., 1996). 유산균 균주 및 미생물의 동결저장에는 sorbitol, glycol, glycerol, mannitol 등의 당이 많이 이용되고 있다(Kim & Ko, 1993).

최근 국내 발효유 시장은 신제품 및 기능성 발효유 제품의 개발이 활발하게 이루어지고 있으며 그 소비 또한 괄목할만한 증가를 나타내고 있다. 또한 요구르트의 소비확대와 함께 냉동 요구르트도 일종의 아이스크림 형태로 여러 가지 제품이 개발되고 있다. 냉동 요구르트는 요구르트가지고 있는 맛과 기능성을 아이스크림의 형태로 가공한 것이라 할 수 있으나, 제품의 제조과정에서 냉동에 의한 유산균의 사멸과 제품의 저장 중 유산균의 생존율 저하를 방지하는 것이 무엇보다 중요하다고 할 수 있다.

따라서 본 연구는 냉동, 건조 고삼투압 등의 가혹한 조건에서 생체막이나 막 단백질의 보호 효과가 뛰어난 trehalose가 냉동 요구르트의 유산균 생존율과 품질특성에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 탈지분유는 시판용(Seoul milk Co., Seoul, Korea)을 구입하여 사용하였으며, 당류는 trehalose (Treha™, Hayashibara Co., Okayama, Japan)와 D-sorbitol (Yakuri, Co., Osaka, Japan)을 사용하였다. Pepsin은 Sigma 사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

유산균주

실험에 사용한 유산균주는 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에서 분양 받은 *Lactobacillus bulgaricus* KCTC3635, *Streptococcus thermophilus* KCTC 3779와 상업용 유산균주 YC-X11(Chr. Hansen Lab., Horsholm, Denmark)을 사용하였다.

Trehalose 및 sorbitol 첨가 요구르트의 제조

단독균주를 이용한 trehalose 및 sorbitol 첨가 요구르트의 제조는 고형분 함량 10%인 환원탈지유에 trehalose 및 sorbitol을 각각 2% 첨가하여 총 고형분 함량이 12%가 되도록 하였다. 92°C에서 10분간 열처리 후 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus*를 환원탈지유에서 2회 계대배양하여 만든

각각의 bulk starter를 2% 접종한 다음 38°C에서 발효하였다. 혼합균주를 이용한 발효는 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus*를 2회 계대배양하여 만든 각각의 bulk starter를 1%씩 접종하여 발효하였다.

또한 발효가 완료된 요구르트에 trehalose 및 sorbitol의 첨가가 냉동저장 중 미치는 영향을 검토하기 위해 유고형분 함량이 10% 및 18%인 환원탈지유를 제조한 후 YC-X11 상업균주로 제조한 bulk starter 2%를 접종하여 38°C에서 발효시키면서 pH가 4.4가 되었을 때 발효를 중지하여 냉각시킨 후 trehalose 및 D-sorbitol을 각각 2% 첨가하여 총 고형분 함량이 12, 20%가 되도록 조제하였다.

Trehalose 및 sorbitol 첨가 요구르트의 냉동저장 시험

발효가 완료된 시료를 -20°C에서 동결한 다음 -40°C에서 냉동 저장하면서 1주일 간격으로 시료를 채취하여 15°C의 항온수조에서 20분간 해동시킨 후 1 mL를 취하여 유산균의 생균수를 측정하였다. 유산균수의 측정은 시료를 십진 희석법으로 희석하여 평판배양법으로 MRS한천 배지에 희석시료를 1 mL씩 분주하고 37°C에서 48시간 동안 배양한 다음 colony수를 측정하여 CFU(colony forming unit)/mL로 표시하였다.

Trehalose 및 sorbitol을 첨가한 유산균 MRS 배양액의 냉동저장 시험

상업용 균주로 2회 계대 배양한 MRS 배양액에 trehalose 및 sorbitol을 2%와 5% 첨가하여 -40°C에서 일정 간격으로 유산균의 생균수를 측정하였다.

요구르트의 동결저장과 해동

상업용 균주로 발효시킨 고형분 함량 12%인 요구르트에 trehalose 및 sorbitol을 각각 2%, 5% 첨가하여 완전히 용해시킨 후 50 g을 -40°C에 냉동저장하였다. 각각의 시료를 15°C 항온수조에서 20분 동안 해동시켜 생균수를 측정 후 시료를 -40°C에 재 동결하여 1일 저장 후 다시 해동하여 생균수를 측정하였다. 6일간 반복실험을 실시하여 생균수를 CFU/mL로 표시하였다.

휘발성 향기성분의 분석

Trehalose를 첨가한 발효유의 휘발성 향기성분의 변화를 측정할 실험은 Kim과 Ko(10)의 방법을 일부 변형하여 수행하였다. 50 mL serum bottle에 시료와 Na₂SO₄를 각각 10 g씩 넣고 50 ppm의 *n*-propanol을 넣은 후 aluminum cap과 teflon-coated rubber septum으로 밀봉하여 55°C 항온수조에서 30분간 교반 하였으며, 이때 발생한 headspace gas 1 mL를 gastight syringe(Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)로 취하여 gas chromatography(GC)에 주입 후 분석하였다. GC 분석 조건은 Table 1과 같다. 요구르트의 휘발

Table 1. GC analysis conditions of volatile aroma compounds in fermented yoghurt

Item	Conditions
Instrument	GC (ACME 6000, Young Lin Instruments Co., Gyeonggi, Korea)
Dectector	FID (Flame Ionization Detector)
Column	DB-FFAP (30 m×0.32 mm I.D.×0.25 µm film, Agilent Technologies, USA)
Flow rate	1.25 mL/min
Carrier gas	He
Oven	50°C (7 min hold) 50°C → 90°C (10°C/min) 90°C (6 min hold)
Injector	200°C
Detector	220°C
Injection	Headspace gas 1 mL, split 2:1

성 향기 성분 정량을 위한 표준시료는 lactic acid(Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchi, Spain)로 pH 4.05로 조정 한 탈지유 10 mL에 10 g의 Na₂SO₄와 acetaldehyde(GC용, 99.5%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchi, Switzerland), acetone(Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany), ethanol(HPLC용, 99.8%, Carlo Erba Reagenti S.p.A, Milan, Italy), diacetyl(Sigma Aldrich Inc., St. Louis, Mo., USA), butanol(Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, Mo., USA) 및 acetoin (Sigma Aldrich Inc., St. Louis, Mo., USA)을 각각 50 ppm 씩 첨가하였으며, 내부 표준물질로 *n*-propanol 50 ppm을 넣은 후 표준시료와 시료의 피크면적을 비교하여 계산하고 시료중의 *n*-propanol과 표준시료의 *n*-propanol의 면적비를 이용하여 회수율을 구하고 역수를 곱하여 정량하였다. 시료 함량 계산식은 다음과 같다.

$$\chi = 500\text{ppm} \times \frac{\text{Area of sample}}{\text{Area of standard sample}} \times \frac{1}{\text{Recovery ratio}}$$

$$\chi = \text{Volatile aroma compound in sample(ppm)}$$

통계분석

모든 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, SPSS 17.0판(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA로 분석하였고, 집단 간 비교를 위한 사후분석은 Tukey로 검증하여 $p < 0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

Trehalose 및 sorbitol 첨가가 발효 중 유산균수의 변화에 미치는 영향

Fig. 1A와 B는 각각 발효유 제조시 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus*를 접종하여 발효하는 동안 trehalose 및

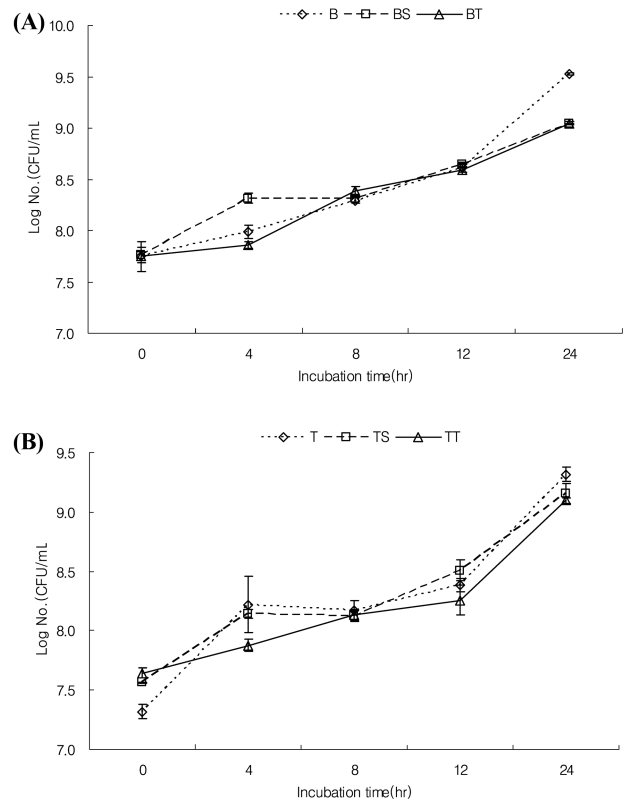


Fig. 1. Changes of viable lactic acid bacteria number during yogurt fermentation.

B: *L. bulgaricus*, BS: *L. bulgaricus* + 2% of sorbitol, BT: *L. bulgaricus* + 2% of trehalose, T: *S. thermophilus*, TS: *S. thermophilus* + 2% of sorbitol, TT: *S. thermophilus* + 2% of trehalose. All values were expressed as mean±SD (n=3).

sorbitol 첨가가 유산균의 생육에 미치는 영향을 검토한 결과이다. 특히 *L. bulgaricus*를 이용하여 제조한 발효유의 경우 발효 24시간 후 대조구(B), sorbitol첨가구(2%, BS), trehalose첨가구(2%, BT)의 생균수는 각각 9.53, 9.05, 9.04 Log CFU/mL로 분석되었다(Fig. 1A). 또한 *S. thermophilus*를 이용하여 제조한 발효유의 경우에는 대조구(T), sorbitol첨가구(2%, TS), trehalose첨가구(2%, TT)의 생균수는 각각 9.32, 9.16, 9.10 log CFU/mL로 나타났다. 유산균의 생육을 비교 검토한 결과 *L. bulgaricus*를 이용한 경우 trehalose 및 sorbitol을 첨가한 처리구의 유산균 생육이 유의적으로 낮게 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, *S. thermophilus*를 이용한 발효유의 경우 대조구에 비하여 trehalose 및 sorbitol을 첨가한 처리구의 유산균 생육이 낮게 나타나는 경향을 확인할 수 있었다. Trehalose 및 sorbitol을 첨가한 발효유의 유산균수가 낮은 것은 유산균이 trehalose 및 sorbitol을 에너지원으로 사용하지 못한 결과로 발효 중 균수의 증가에 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다.

Fig. 2는 *L. bulgaricus* 및 *S. thermophilus* 혼합균주를 이용하여 발효유 제조시 trehalose 및 sorbitol 첨가가 유산

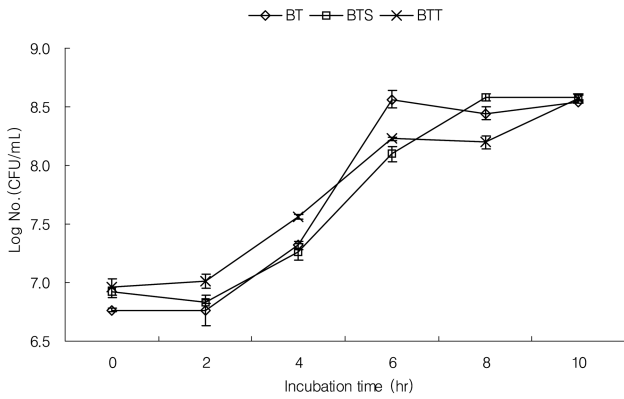


Fig. 2. Change in viable cell number of mixed culture (*L. bulgaricus* + *S. thermophilus*) during fermentation of yoghurt. BT: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus*, BTS: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + 2% of sorbitol, BTT: *L. bulgaricus* + *S. thermophilus* + 2% of trehalose. All values were expressed as mean±SD (n=3).

균수의 변화에 미치는 영향을 나타낸 결과이다. 혼합균주 사용의 경우도 단독 균주의 결과와 동일하게 발효 중 trehalose 및 sorbitol 첨가가 유산균수의 증가에는 효과가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 유산균 종류에 따라서 sorbitol의 이용능력에 차이가 있으며(Ku et al., 1999), 우유 속에는 유산균이 이용하기에 충분한 양의 유당이 함유되어 있으므로 유산균이 유당을 먼저 이용하여 첨가된 trehalose 및 sorbitol이 유산균의 증식에는 영향을 미치지 못한 것으로 사료된다.

Trehalose 및 sorbitol 첨가가 요구르트의 냉동저장 중 유산균의 생존율에 미치는 영향

냉동요구르트에 함유되어 있는 유산균의 동결저장 과정 중 생존수의 감소를 방지하기 위해서는 동결변성방지제의 첨가가 필요하며, 이는 동결 저장시 세포내외의 빙결정 형성을 억제시킴으로써 미생물의 생존율을 높이게 된다. 냉동요구르트에 있어서 trehalose 및 sorbitol의 동결변성방지 효과에 대해 검토하고자 발효유의 냉동저장 중 유산균수의 변화를 분석하였다. 우선 동결변성방지제의 유산균에 대한 보호효과를 검토하기 위해 MRS 배지에 유산균주를 접종하여 배양시킨 후 trehalose와 sorbitol을 각각 2%, 5% 첨가하여 6주간 냉동 저장하면서 유산균수의 변화를 조사하였다(Fig. 3). 무첨가 대조구는 저장기간이 경과함에 따라 균수가 8.35 log CFU/mL에서 6주 이후 4.6 log CFU/mL로 감소하였으나 trehalose와 sorbitol 첨가구는 무첨가구에 비해 냉동저장 중 높은 유산균 생존율을 나타냈으며, 저장 6주 이후 첨가농도(2%, 5%)에 비례하여 유의적으로 높은 생존수를 유지하는 것으로 나타났다. 특히 trehalose 첨가는 sorbitol 첨가에 비하여 우수한 동결변성방지 효능을 가지는 것으로 나타났다.

Fig. 4A 및 4B는 trehalose 및 sorbitol을 2% 첨가하여 제

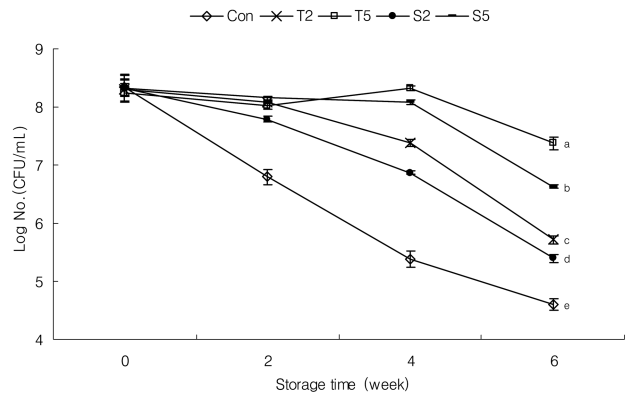


Fig. 3. Changes in viable cell numbers in trehalose and sorbitol added MRS broths using *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* during frozen storage at -40°C.

Con: control, T2: MRS broth + 2% of trehalose, T5: MRS broth + 5% of trehalose, S2: MRS broth + 2% of sorbitol, S5: MRS broth + 5% of sorbitol. All values were expressed as mean±SD (n=3). Means at the same storage time with different letters were significantly different (p<0.05).

조한 발효유(총 고형분 12%)의 동결저장 중 유산균수의 변화를 검토한 결과로 냉동저장 기간 6주 동안 생존수의

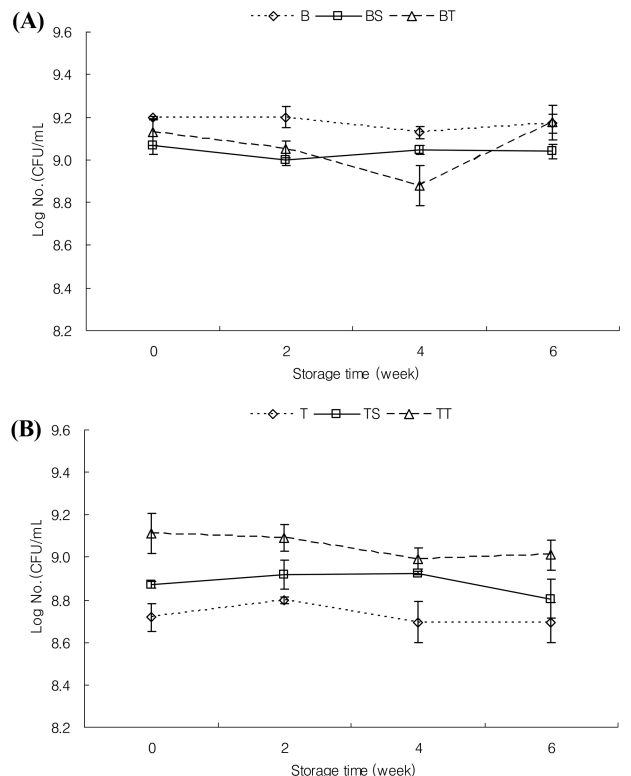


Fig. 4. Changes in viable cell numbers in trehalose and sorbitol added yoghurts fermented using *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* during frozen storage at -40°C.

B: *L. bulgaricus*, BS: *L. bulgaricus* + sorbitol, BT: *L. bulgaricus* + trehalose, T: *S. thermophilus*, TS: *S. thermophilus* + sorbitol, TT: *S. thermophilus* + trehalose. All values were expressed as mean±SD (n=3).

변화는 큰 차이가 나타나지 않았으며, 또한 유고형분 함량을 각각 10%, 18%로 조정 한 환원탈지유에 trehalose 및 sorbitol을 2% 첨가하여 제조한 발효유를 6주간 냉동보관 하면서 생균수의 변화를 측정 한 결과에서도 냉동저장 중 생균수의 감소는 크게 나타나지 않았다(Fig. 5A, 5B). MRS 배지에서 trehalose의 동결완충능력은 우수하였으나, 발효유에 첨가하였을 경우 큰 차이가 나타나지 않은 것은 MRS 배지의 경우 dextrose의 함량이 2%에 총 고형분 함량은 5.5%로서 당 함량 및 고형분 함량이 낮아 동결완충 효과가 떨어지는 반면 요구르트는 유당함량이 약 5%로서 당 함량이 높기 때문에 trehalose의 동결완충능력이 나타나지 않는 것으로 사료된다. 동결 요구르트는 요구르트의 영양적 특성(low fat, active enzyme culture)과 더불어 아이스크림의 관능적 특성(low acidity)이 가미되어야 하며 생균을 포함하여야 한다(Guinard et al., 1994). 생균수의 감소현상은 동결시 전해질의 농도가 바뀌고, 손상세포를 그대로 유지시키는 빙결정을 형성하기 때문으로 알려져 있다(Kirsop, 1991). 동결변성방지제의 첨가는 동결저장 시 수분과 결합하고, 세포 내외의 빙결정 형성을 억제시킴으로

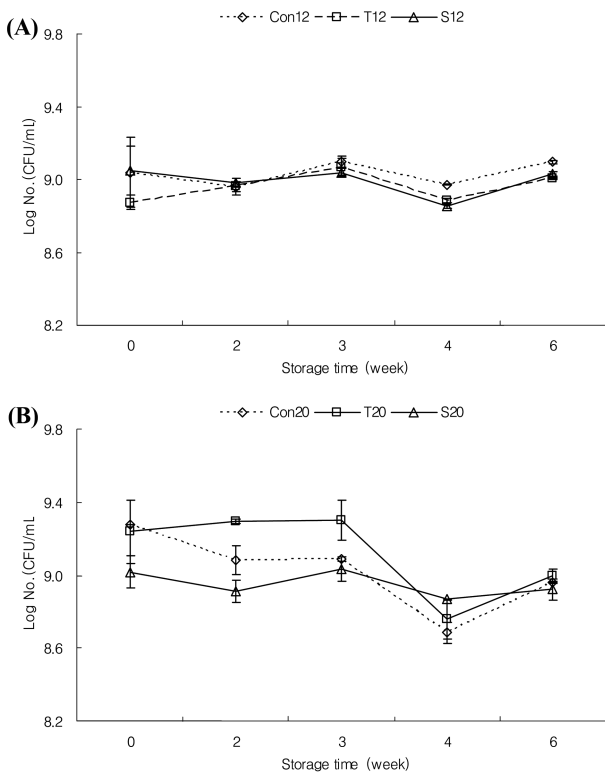


Fig. 5. Changes of viable cell numbers in trehalose and sorbitol added yoghurts fermented using industrial starter culture during frozen storage at -40°C. Con 12: 12% of skim milk, T12: 10% of skim milk + 2% of trehalose, S12: 10% of skim milk + 2% of sorbitol, Con 20: 20% of skim milk, T20: 18% of skim milk + 2% of trehalose, S20: 18% of skim milk + 2% of sorbitol. All values were expressed as mean±SD (n=3).

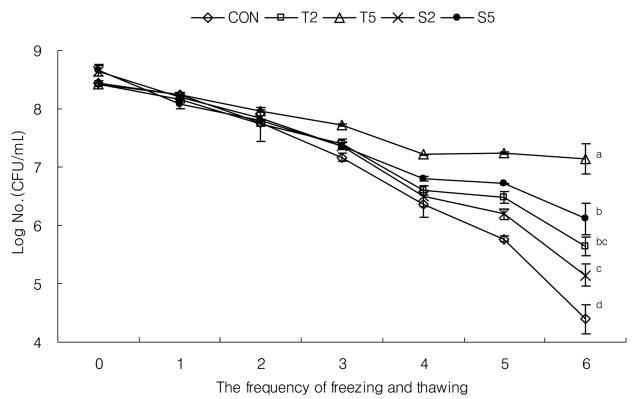


Fig. 6. Changes of viable cell numbers in trehalose and sorbitol added yoghurts as a function of frequency of freezing and subsequent thawing. Con: 12% skim milk, T2: 12% skim milk + 2% of trehalose, T5: 12% skim milk + 5% trehalose, S2: 12% skim milk + 2% sorbitol, S5: 12% skim milk + 5% sorbitol. All values were expressed as mean±SD (n=3). Means at the same frequency of freezing and thawing with different letters were significantly different (p<0.05).

써 생존률을 높이게 된다(Loyd, 1975). Sorbitol은 glycol, glycerol, mannitol 등과 같이 균주 동결저장에 보존제로서 많이 이용되고 있다(Kirsop, 1991). Trehalose의 기능적 특성으로는 설탕의 약 45% 정도의 감미도를 가지며, 내열성 및 내산성, 비충치성, 전분노화 방지, 단백질 변성 방지, 비착색성, 불쾌취의 제거 등이 알려져 있다(Roser, 1991).

요구르트의 동결과 해동 반복 시 생균수의 변화

Fig. 6은 고형분 함량 12%인 요구르트에 trehalose 및 sorbitol을 각각 2%, 5% 첨가하여 동결과 해동을 반복하였을 때 유산균의 생존수를 나타낸 것으로, 요구르트를 동결과 해동을 반복함에 따라 유산균의 생균수가 감소하는 경향을 확인할 수 있었다. Trehalose와 sorbitol을 첨가한 요구르트는 동결-해동에 따른 유산균의 사멸을 감소시키는 것으로 나타났으며, 이는 첨가농도가 높아짐에 따라 유산균의 사멸이 억제되어 우수한 유산균 보호능력을 가지는 것으로 분석되었다. 특히 동결과 해동을 6회 반복하였을 때 trehalose의 유산균 보호능력은 sorbitol에 비하여 우수한 것으로 나타났으며, trehalose를 5% 첨가한 첨가구가 유의적으로 가장 뛰어난 동결변성방지 효과가 있는 것으로 나타났다.

Trehalose 첨가 요구르트의 냉동저장 중 휘발성 향기성분의 변화

요구르트의 품질평가 기준이 되는 고유의 향미는 비휘발성산, 휘발성 향기성분, 아미노산, 지방산 등에 기인하며 (Kang, et al., 1988), 특히 요구르트의 제조과정에서 생성되는 acetaldehyde, diacetyl, acetoin, acetone 및 2-butanone 등의 휘발성 향기성분이 가장 중요한 영향을 미치는 것으

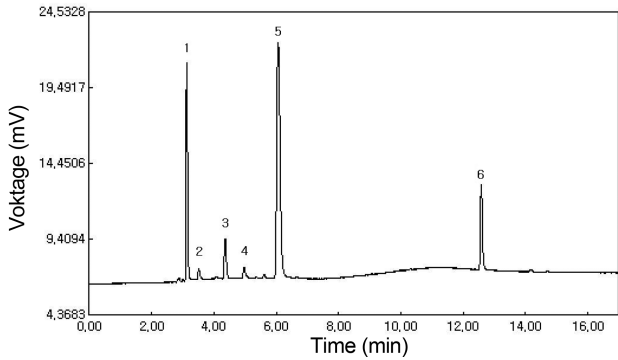


Fig. 7. GC-FID chromatogram of volatile aroma compounds in fermented yoghurt.

1: acetaldehyde, 2: acetone, 3: ethanol, 4: diacetyl, 5: n-propanol (internal standard), 6: acetoin.

로 알려져 있다(Rasic & Kurmann, 1978). 이들 성분의 함량은 starter culture의 종류, 원유의 질, 배양 조건, 저장 조건 등에 의해 변화될 수 있는 것으로 보고되고 있다(Rasic & Kurmann, 1978). 본 연구에서는 trehalose 및 sorbitol을 첨가하여 제조한 요구르트의 휘발성 향기성분 함량의 변화를 Headspace-GC/FID로 분석하였다.

Fig. 7은 발효 요구르트의 휘발성 향기성분들의 Headspace-GC/FID 분석결과를 나타낸 것으로, 주요한 휘발성 화합물로 acetaldehyde, acetone, ethanol, diacetyl 및 acetoin이 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었다. Trehalose와 sorbitol을 2% 첨가하여 제조한 요구르트의 휘발성 향기성분의 함량을 측정된 결과(Table 2) *L. bulgaricus* 균주를 이용하여 제조한 요구르트의 경우 대조구(B)의 acetaldehyde 함량은 28.32 ppm으로 분석되어 trehalose(14.97 ppm)와 sorbitol(10.21 ppm)을 첨가하여 제조한 요구르트 보다 높은 것으로 나타났으며, acetone, ethanol, diacetyl, acetoin의 함량 또한 trehalose와 sorbitol 첨가구보다 높은 것으로 분석되었다. 이러한 함량의 차이가 나타나는 것은 대조구의 유고형분 함량은 12%인 반면에 trehalose와 sorbitol 첨가구의 유고형분 함량은 10%로서 유당의 함량이 대조구보다 낮으며, 특히 trehalose와 sorbitol이 젖산발효에 이용되지 못하였기 때문인 것으로 사료된다. *S. thermophilus* 균주를 사용하여 요구르트를 제조하였을 경우 acetaldehyde 함량은 대조구(T)가

28.45 ppm이었으며 trehalose 첨가구는 41.59 ppm, sorbitol 첨가구는 23.78 ppm으로 trehalose 첨가구의 acetaldehyde 함량이 가장 높게 나타났다. Trehalose첨가구(TT)의 acetaldehyde 함량이 높게 나타난 이유는 *S. thermophilus* 균주가 trehalose를 이용하여 acetaldehyde를 생성했기 때문인 것으로 보인다. 본 실험에서 trehalose와 sorbitol을 첨가하여 요구르트를 제조하였을 acetaldehyde의 함량은 10-41 ppm 범위로 분석되어 Kwak(1995)의 연구보고에서 제시하고 있는 18-29 ppm의 acetaldehyde 함량과 유사한 수준으로 나타났다. Badings & Neeter(1980)는 13-16 ppm 정도의 acetaldehyde를 함유하는 발효유는 향미를 가진 것이라 하였으며, 본 실험에서 acetaldehyde 함량이 10-41 ppm 범위를 나타낸다는 것은 trehalose를 첨가하여 발효시킨 요구르트가 정상적인 젖산 발효과정을 통하여 충분한 향미를 가지는 것으로 볼 수 있다. 모든 처리구에서 휘발성 향기성분의 함량에는 큰 차이가 없었으며, 따라서 trehalose를 첨가하여 요구르트를 제조하였을 때 요구르트의 향미에 미치는 영향은 일반적인 요구르트와 비교하여 큰 차이가 없으므로 냉동요구르트의 냉동 변성방지제로서의 사용이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 냉동요구르트 제조 시 trehalose와 sorbitol 첨가가 유산균의 동결변성방지 및 향기성분의 변화에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다.

요구르트를 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 단독균주 및 혼합균주로 발효시켰을 때 처리구 모두 trehalose와 sorbitol 첨가에 의한 발효과정 중 유산균의 증식효과는 나타나지 않았다. 요구르트를 6주간 냉동저장하는 동안 trehalose와 sorbitol 첨가에 의한 모든 처리구에서 유산균수의 차이가 없었으며, MRS 액상배지에 trehalose와 sorbitol을 각각 2%, 5% 첨가하여 6주간 냉동저장하였을 때는 5% trehalose 처리구의 동결변성방지 효과가 가장 우수한 것으로 나타났다. 냉동저장 기간 동안 고형분 함량이 12%인 처리구와 20%인 처리구의 생균수는 큰 차이가 나타나지 않아 고형분 함량 차이에 의한 trehalose와 sorbitol 효과에는 차이가 없는 결과를 나타내었다.

Table 2. Composition of volatile aroma compounds in fermented yoghurt (unit: ppm)

	Acetaldehyde	Acetone	Ethanol	Diacetyl	Acetoin
B	28.32±8.83	0.55±0.11	11.91±2.20	1.02±0.03	52.28±16.63
BS	10.21±7.17	0.25±0.15	3.18±0.29	0.42±0.22	18.25±5.51
BT	14.97±3.58	0.44±0.09	3.81±0.15	0.53±0.01	10.15±4.56
T	28.45±1.23	0.47±0.00	4.12±0.48	0.38±0.00	6.63±5.78
TS	23.78±0.64	0.39±0.05	5.44±0.28	0.62±0.01	14.40±4.47
TT	41.59±14.68	0.55±0.18	6.09±2.21	0.50±0.33	11.81±5.99

B: *L. bulgaricus*, BS: *L. bulgaricus*+sorbitol, BT: *L. bulgaricus*+trehalose, T: *S. thermophilus*, TS: *S. thermophilus*+sorbitol, TT: *S. thermophilus*+trehalose. All values were expressed as mean of duplicated experiments.

요구르트의 동결과 해동을 반복하였을 경우 trehalose와 sorbitol 모두 2% 첨가구보다 5% 첨가구가 우수한 동결변성방지 효과를 나타내었다. 전반적으로 Trehalose 첨가구가 sorbitol 첨가구보다 2%, 5% 모두 동결변성방지 효과가 좋은 결과를 나타내었다.

Trehalose와 sorbitol을 첨가하여 요구르트를 제조하였을 때 향미성분의 함량은 대조구와 유사하였으며 일반적인 요구르트의 향미를 나타내었다. 냉동저장 중 요구르트 향미 성분은 손실되거나, 함량비율의 변화가 발생하지 않았다. 이상의 결과로부터 요구르트의 풍미에는 영향을 미치지 않으면서 냉동저장에 의한 유산균의 동결변성방지제로서의 trehalose첨가가 냉동요구르트의 유산균 안정화에 효과가 있다고 하겠다.

감사의 글

본 연구는 2005년 강원대학교 학술연구조성비(3005057-1-1)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Badings HT, Neeter R. 1980. Recent advances in the study of aroma compounds of milk and dairy products. *Neth. Milk Dairy J.* 34: 9-13.
- Crowe JH, Crowe LM, Carpenter JF, Rudolph AS, Wistrom CA, Spargo BJ, Anchordoguy TJ. 1988. Interactions of sugars with membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 947: 367-384.
- Guinard JX, Little C, Marty C, Palchak TR. 1994. Effect of frozen yoghurt to a student population. *J. Dairy Sci.* 77: 1232-1238.
- Guinard JX, Little C, Marty C, Palchak TR. 1994. Effect of sugar and acid on the acceptability of frozen yoghurt to a student population. *J. Dairy Sci.* 77: 1232-1238.
- Kang YJ, Frank JF, Lillard DA. 1988. Gas chromatographic detection of yoghurt flavor compounds and changes during refrigerated storage. *Cult. Dairy Prod. J.* 4: 6-9.
- Kim ER, Kim YS, Lee YG, Ju GS, Lee GI, Baick SC, Lee GI, Yu JH. 1996. Effect of sorbitol on the texture and the survival of lactic acid bacteria of frozen yoghurt. *Korean Dairy Technol.* 14: 71-84.
- Kim KH, Ko YT. 1993. Volatile aroma compounds of yoghurt from milk and cereals. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 136-141.
- Kirsop BE. 1991. General introduction to maintenance methods. In: *Maintenance of microorganism and cultured cells.* Kirsop BE, Doyle A (eds). Academic Press, London, UK, pp. 21-30.
- Knupp JR. 1979. Frozen yoghurt. *Cult. Dairy Prod. J.* 14: 16-19.
- Ku KY, Cho JS, Park WS, Nam YJ. 1999. Effects of sorbitol and sugar sources on the fermentation and sensory properties of baechu kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31:794-801.
- Kwak HS. 1995. Effect of volatile flavor compound on yoghurt during refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 939-943.
- Lloyd GT. 1975. The production of concentrated starters by batch culture: II. Studies on the optimum storage temperature. *Aust. J. Dairy Technol.* 107-108.
- Miller DP, de Pablo JJ, Corti HR. 1997. Thermo-physical properties of trehalose and its concentrated aqueous solutions. *Pharm. Res.* 14: 578-590.
- Pringle MJ, Chapman D. 1981. Biomembrane structure and effects of temperature. In: *Effects of low temperature on biological systems.* Morris GJ, Clarke A (eds). Academic Press, New York, USA, pp. 21-25.
- Rasic JL, Kurmann JA. 1978. Yoghurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparation. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark, p. 90.
- Roser B. 1991. Trehalose, a new approach to premium dried foods. *Trends Food Sci. Tech.* 2: 166-169.
- Takanobu H. 2002. Novel functions and applications of trehalose. *Pure Appl. Chem.* 74: 1263-1269.
- Thompson LD, Mistry AN. 1994. Compositional changes in frozen yogurt during fermentation, frozen storage, and soft serve freezing. *Cult. Dairy Prod. J.* 29: 12-17.