

크림첨가 난백젖산균발효식품으로 만든 아이스크림의 휘발성향기성분

고영태 · 김태은 · 강정화
덕성여자대학교 식품영양학과

Volatile Aroma Compounds in Ice Cream Prepared from Lactic Fermented Egg White Food Added with Cream

Young-Tae Ko, Tae-Eun Kim and Jung-Hwa Kang
Department of Foods and Nutrition, Duksung Women's University

Egg white mix (EWM) added with different ratios of cream (10~50%,v/v) was fermented with *Lactobacillus acidophilus* (KCTC 2182) and changes of volatile aroma compounds during fermentation for 21 h were investigated. The amount of volatile aroma compounds between pre-fermented EWM, 15 h-fermented EWM, soft ice cream prepared from fermented EWM, and hard ice cream prepared from soft ice cream was compared. The results were as follows: (1) The amount of ethanol increased gradually until 9 h and increased rapidly to maximum value at 12 h and then decreased rapidly. The amount of acetone at 12 h was slightly higher, but it was not changed markedly during fermentation. Diacetyl was detected at 3 h and increased gradually to maximum value until 15 h and then decreased slightly. The amount of butanol was not changed markedly during fermentation. Acetoin was detected at 3 h and increased rapidly until 15 h and then increased gradually. (2) The amount of acetone, ethanol, diacetyl and butanol of pre-fermented sample, 15 h-fermented sample, soft ice cream and hard ice cream increased in proportion to the amount of cream added to EWM. However, the amount of butanol was relatively constant regardless of added cream ratio. The amount of volatile aroma compounds of soft ice cream was higher than that of other samples, while that of pre-fermented sample was lower than that of other samples. Diacetyl and acetoin were not detected in pre-fermented sample.

Key words : ice cream, lactic acid bacteria, egg white, volatile aroma compound, cream

서 론

냉동요구르트는 일반적으로 소프트, 하드, 무스(mouse)로 나누어진다⁽¹⁾. 냉동요구르트는 물리적으로는 아이스크림과 유사하지만 요구르트의 신맛과 아이스크림의 차가움을 지니고 있다는 점에서 다르며, 감미료의 첨가량이 높고, 냉동과정에서 공기거품을 포집하기 위하여 안정제 및 유허제를 첨가한다는 점에서 요구르트와도 다르다⁽¹⁾. 현재 냉동요구르트는 많은 나라에서 생산, 소비되고 있으나, 화학적 조성, 요구르트의 최저함량, 젖산균수에 대한 규격이나 기준은 아직 설정되어 있지 않다. 네덜란드에서 “요구르트 함량이 70% 이상, pH 5이하”라는 기준이 설정되어 있는 정도이다⁽²⁾.

본 연구의 목적은 전보⁽³⁾에서 개발한 “크림첨가 난백젖산균발효식품으로 만든 아이스크림”에 들어있는 휘발성향기성

분을 분석하여 냉동요구르트의 관능적특성을 개선하는데 도움을 주고자 하는 것이다.

크림이 첨가된 난백혼합액(egg white mix)에 *Lactobacillus acidophilus*(KCTC 2182)를 접종하고 21시간 발효시키면서 휘발성향기성분의 경시적인 변화를 관찰하고, 발효전 시료, 발효 후 시료, 소프트아이스크림, 하드아이스크림의 휘발성향기성분을 각각 비교분석하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

난백젖산균발효식품의 원료로 난백분말, 카제인(Sigma Chemical Co., USA)과 포도당(1급, Yakuri Pure Chemicals Co.)을 사용하였으며, 아이스크림 제조원료로는 휘핑크림(유지방 37% 이상 함유, 매일유업), 설탕(제일제당), 바닐라향(신진식품)을 사용하였다. 휘발성향기성분 분석의 표준물질로는 acetone, n-propanol, butanol(특급, Junsei Chemical Co., Japan), ethanol(GC용, 99.8%, Merck Co., F.R.Germany), diacetyl(GC용, 99%, BDH Chemicals Ltd., England) 및 acetoin(GC용, 98%, Fluka Chemie, Switzerland)을 사용하였다. GC 시료의

Corresponding author : Young-Tae Ko, Department of Foods & Nutrition Duksung Women's University, Ssangmun-Dong, Dobong-Ku, Seoul, 132-714
Tel: 82-2-901-8374
Fax: 82-2-901-8372
E-mail: ytko@center.duksung.ac.kr

headspace gas에 수분이 증발하는 것을 억제하기 위하여 sodium sulfate, anhydrous(특급, Yakuri Pure Chemicals Co., Japan)를 사용하였다.

사용균주

Lactobacillus acidophilus(KCTC 2182) 균주를 사용하였으며, 보존용 배지로는 MRS 한천배지(Difco Lab., USA)를 사용하였다.

크림첨가 난백젖산균발효식품의 제조

난백분말 3%(w/v), 카제인 3%(w/v)와 포도당 2%(w/v)를 살균된 증류수에 넣어 가열교반기(Corning, Model PC-320, USA)로 충분히 혼합시키고(이 혼합액을 Egg White Mix: EWM이라고 명명함), 이 혼합액을 63°C로 고정된 수조에서 20분간 가열처리한 후 40°C로 냉각하였다. 여기에 크림을 각각 다른 비율(10-50%, v/v)로 첨가하고, MRS 액체배지에서 24시간 배양한 젖산균 배양액을 3%(v/v)의 비율(약 10⁷ CFU/mL)로 접종하여 40°C의 항온기에서 21시간(경시적인 변화 관찰시료) 또는 15시간(발효시료, 소프트 및 하드아이스크림 제조시료) 발효시켰다.

아이스크림의 제조

15시간 발효한 크림첨가 난백젖산균발효식품 500g에 가루 설탕 100g, 바닐라향 10g을 첨가하고, Philips 아이스크림 제조기(Philips Electronics, Model 2304, Austria)에 넣어 20분간 교반하여 소프트아이스크림을 제조하였다. 아이스크림 제조기의 cooling disk는 -70°C의 초저온 냉동고(Forma Scientific, Inc., Model 917)에서 18시간 냉동시켰다. 제조된 아이스크림은 100mL의 삼각플라스크에 50g씩 넣은 후, magnetic bar, 50g의 sodium sulfate, anhydrous 및 n-propanol(내부표준물질) 50ppm을 가하고 rubber septum(24mm, Sigma Chemical Co., USA)으로 밀봉한 후 소프트아이스크림은 냉장고에 보관하고, 하드아이스크림은 -9°C의 냉동고(LG 전자, Model FC-B53CM, Micom 제어시스템 장착)에서 24시간 얼린 후 실험에 사용하였다.

휘발성향기성분 분석

휘발성향기성분은 Ko와 Kang⁽⁴⁾, Park⁽⁵⁾, GC workshop textbook(Young-In Scientific Co.)⁽⁶⁾을 참고로 하여 다음과 같이 분석하였다.

100mL의 삼각플라스크에 rubber septum으로 밀봉된 시료를 53°C의 pair stirrer(Eyela, PS-100, Japan)에서 20분간 교반하였다. 발생한 headspace gas를 5mL gas tight syringe(Hamilton Co., USA)로 1mL 취하여 HP 6890 Series gas chromatograph(Hewlett Packard Co., USA)로 분석하였다. 표준물질을 사용하여 retention time을 비교하여 피크를 확인하고(정성분석), HP ChemStation(Revision A.05.01, 1997)으로 계산된 표준시료와 시료에 들어있는 해당 향기성분의 피크 면적을 비교하여 정량하였다. 표준시료는 lactic acid로 pH를 4.15로 조정된 난백혼합액(egg white mix) 50mL에 magnetic bar와 50g의 sodium sulfate, anhydrous를 가하고 여기에 표준물질인 acetone, ethanol, diacetyl, butanol, acetoin을 각각

50ppm 첨가하였다. 한편 내부표준물질로 n-propanol을 넣은 후 rubber septum으로 밀봉한 후 53°C의 pair stirrer(Eyela, PS-100, Japan)에서 20분간 교반하였다. 표준시료로부터 발생한 headspace gas를 1mL 주입시켜 얻어진 피크의 면적과 시료의 해당 향기성분의 피크면적을 비교하여 계산하고, 여기에 표준시료 중의 n-propanol의 면적과 시료 중의 n-propanol의 면적비인 회수율의 역수를 곱하여 정량하였다.

실험은 2회 반복 실시하고 매회 12회 이상 주입하였으며 gas chromatograph의 분석조건은 Ko와 Kang⁽⁴⁾의 방법과 같으나, split ratio는 25.0:1로 변경하였다.

자료의 처리 및 분석

실험 결과는 PC-STAT software⁽⁷⁾를 사용하여 F-test(ANOVA와 최소유의차 검정)로 통계처리하였다.

결과 및 고찰

크림첨가 난백혼합액에서 휘발성향기성분의 경시적인 변화

전보⁽³⁾의 결과를 보면 관능성이 가장 우수한 크림 첨가비율은 40%(Formula 4)였다. 따라서 본 실험에서는 크림이 40% 첨가된 난백혼합액(EWM)을 *L. acidophilus*(KCTC 2182)의 생육기질로 하고 21시간 발효시키면서 휘발성향기성분의 변화를 조사하였다. 본 실험에서 확인된 휘발성향기성분은 acetone(retention time 2.299 min), ethanol(3.410 min), diacetyl(4.235 min), butanol(9.337 min) 및 acetoin(13.614 min)이었다.

Fig. 1은 ethanol의 경시적인 변화를 나타내는 것으로서 0시간(발효 직후)에는 6.72ppm이던 것이 완만하게 증가하여 9시간에는 11.23ppm에 이르렀다가 12시간에는 80.17ppm으로 급격하게 증가하였으며, 그 후에는 다시 급격하게 감소하여 21시간에는 13.92ppm이 되었다. Fig. 2는 acetone, diacetyl, butanol, acetoin의 경시적인 변화를 나타내는 것으로서, 먼저 acetone을 보면 0시간(발효 직후)에는 0.87ppm이던 것이 12시간에는 1.32ppm으로 다소 증가하였다가 21시간에는 0.86ppm으로 0시간과 차이가 없었다. Diacetyl은 0시간에는 검지되지 않았고, 3시간에 2.08ppm이던 것이 완만하게 증가하여 15시간에 3.15ppm에 이른 후, 다시 감소하여 21시간에는 2.68ppm이 되었다. Butanol은 21시간 발효 중에 뚜렷한 증가 또는 감소 경향을 보이지 않고 2.46ppm(0시간)~2.83ppm(21시간)의 수준을 유지하였다. 한편 acetoin은 3시간에 검지되어 3.98ppm의 수치를 나타냈으며 그 후에는 15시간까지 급격히 증가하여 11.62ppm에 이르렀고 18시간 이후에는 큰 차이가 없었다.

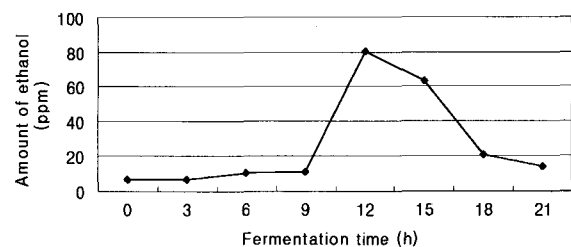


Fig. 1. Changes in amount of ethanol during fermentation by *L. acidophilus* in egg white mix added with cream

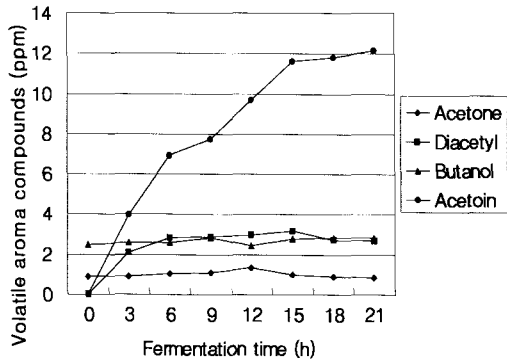


Fig. 2. Changes in amount of acetone, diacetyl, butanol and acetoin during fermentation by *L. acidophilus* in egg white mix added with cream

이상의 결과를 요약하면 다음과 같다. 즉, 21시간 발효 중에 ethanol은 9시간까지는 완만하게 증가하다가 12시간에 급격히 증가하여 최대치에 도달한 후 다시 급격히 감소하였으며, acetone은 12시간에 다소 높았으나 전반적으로 큰 차이가 없었으며, diacetyl은 3시간에 처음 탐지되어 완만하게 증가하고 15시간에 최대치에 도달한 후 다소 감소하였으며, butanol은 발효 중에 비교적 일정한 수치를 유지하였고, acetoin은 3시간에 처음 탐지되어 15시간까지 급격히 증가하고 그 후에는 완만한 증가를 보였다.

본 실험의 시료에서 탐지된 휘발성분 가운데 butanol은 젖산균의 배지로 사용된 MRS 액체배지에서 유래된 것이고, acetone은 일부는 크림에서 유래되었으나 일부는 발효로 생성된 것이다. Ethanol의 일부는 크림에서 유래되었으나 대부분이 발효과정에 생성된 것이다. 이와 같은 결과는 blank test의 결과로 확인하였다. 따라서 순수하게 젖산균발효로 생성된 향기성분은 diacetyl과 acetoin이다.

전보⁽³⁾에서 40%의 크림이 첨가된 난백혼합액(EWM)에서 *L. acidophilus*(KCTC 2182)의 생육 pattern은 대략 9시간까지가 log phase이며 21시간까지 stationary phase가 지속된다고 보고하였다. 따라서 젖산균의 대사산물인 향기성분 함량이 최대치에 이르는 시간은 log phase 즉, 생균수가 최대치에 이르는 9시간보다 다소 늦은 12시간이나 15시간일 것으로 예상하였다. 실제로 ethanol은 12시간에, diacetyl은 15시간에 최대치에 이르렀으며, acetoin은 15시간에 거의 최대치에 이르렀다. Ethanol이 9시간 후에 급격히 감소한 것은 휘발성이 높아서 stationary phase에서는 생성되는 양보다 휘발되는 양이 많았던 것으로 설명되며, diacetyl이 15시간 이후에 서서히 감소한 것은 휘발성이 중간 정도라는 점, acetoin이 15시간 이후에 감소하지 않은 것은 휘발성이 낮다는 것으로 설명할 수 있다. 한편 젖산균에 의하여 일부 생성되는 acetone은 휘발성이 높기 때문에 12시간에 다소 높은 수치를 보인 후 다시 감소하였으며, MRS 액체배지에서 유래된 butanol은 휘발성이 낮기 때문에 실험기간 중에 비교적 일정한 수치를 유지하였다.

발효전 시료, 15시간-발효시료, 소프트아이스크림 및 하드 아이스크림의 휘발성향기성분의 변화

전보⁽³⁾의 결과를 보면 15시간 발효시킨 난백혼합액(EWM)

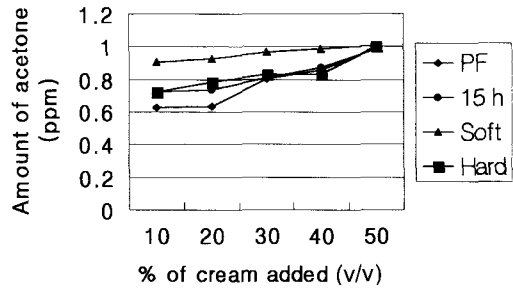


Fig. 3. Changes in amount of acetone in pre-fermented EWM(PF), 15 h-fermented EWM(15 h), soft ice cream and hard ice cream

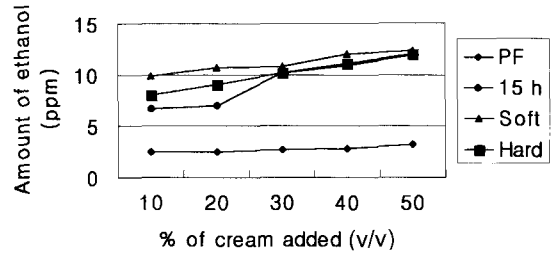


Fig. 4. Changes in amount of ethanol in pre-fermented EWM(PF), 15 h-fermented EWM(15 h), soft ice cream and hard ice cream

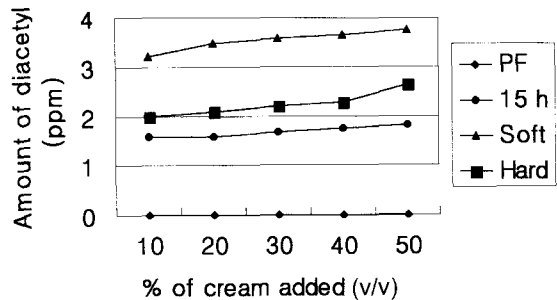


Fig. 5. Changes in amount of diacetyl in pre-fermented EWM(PF), 15 h-fermented EWM(15 h), soft ice cream and hard ice cream

으로 만든 아이스크림의 관능성이 가장 우수하였다. 따라서 본 실험에서는 “크림 첨가 난백혼합액(EWM)에 3%(v/v)의 젖산균 스타터를 가한 것”을 시료 1로 하고, “시료 1을 15시간 발효시켜 크림 첨가 난백젖산균발효식품을 만든 것”을 시료 2로 하고, “시료 2로 만든 소프트아이스크림”을 시료 3으로 하고, “시료 3을 얼린 하드아이스크림”을 시료4로 하여 각 시료에 들어있는 휘발성향기성분을 비교분석하였다.

Fig. 3은 시료 1, 2, 3, 4에서 탐지된 acetone의 함량변화를 보여주는 것으로서, 시료 1, 2, 3, 4 어느 경우나 크림의 첨가비율이 증가할수록 acetone의 함량도 완만하게 증가하였으나, 크림 50% 첨가시료에서는 4개 시료의 acetone 함량이 거의 동일하였으며, 시료 3(소프트아이스크림)의 경우 크림 10~40% 첨가시료의 acetone 함량이 다른 시료보다 다소 높았고 시료 1의 경우 크림 10%와 20% 첨가시료의 acetone 함량은 다소 낮았다.

Fig. 4는 ethanol의 함량변화를 보여주는 것으로서, 시료별로 다소 차이는 있지만 모든시료가 크림의 첨가비율이 증가

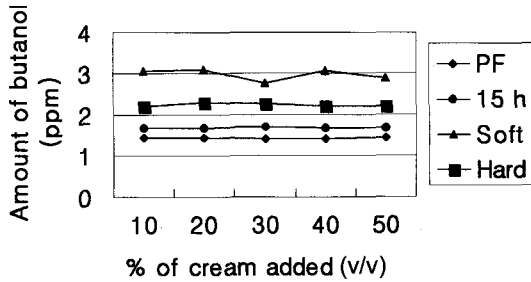


Fig. 6. Changes in amount of butanol in pre-fermented EWM(PF), 15 h-fermented EWM(15 h), soft ice cream and hard ice cream

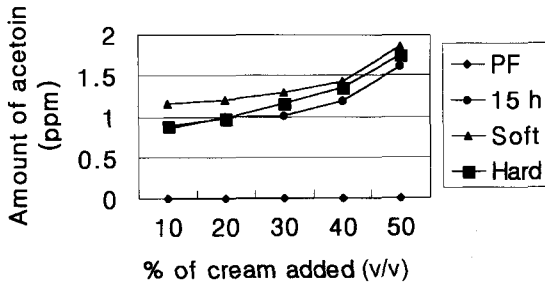


Fig. 7. Changes in amount of acetoin in pre-fermented EWM(PF), 15 h-fermented EWM(15 h), soft ice cream and hard ice cream

할수록 ethanol의 함량도 완만하게 증가하였다. 시료 1의 ethanol 함량은 다른 시료에 비하여 현저하게 낮았으며, 시료 3의 ethanol 함량은 시료 2와 4보다 다소 높았다.

Fig. 5는 diacetyl의 함량변화를 보여주는 것으로서, 시료 1에서는 diacetyl이 검지되지 않았고 나머지 시료는 크림의 첨가비율이 증가함에 따라 diacetyl 함량도 완만하게 증가하였는데 시료 3의 diacetyl 함량이 가장 높았다.

Fig. 6은 butanol의 함량변화를 보여주는 것으로서, 모든 시료가 크림의 첨가비율에 관계없이 비교적 일정한 수치를 유지하였으며 시료 3의 butanol 함량이 가장 높고 시료 1의 함량이 가장 낮았다.

Fig. 7은 acetoin의 함량 변화를 보여주는 것으로서, diacetyl의 경우와 마찬가지로 시료 1에서는 acetoin이 검지되지 않았다. 크림의 첨가비율이 증가할수록 acetoin의 함량도 증가하였으며 시료 3의 acetoin함량은 다른 시료보다 다소 높고, 시료 2는 다소 낮았다.

Fig. 3~7에서 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다. 즉, acetone, ethanol, diacetyl, acetoin은 크림의 첨가비율이 증가할수록 휘발성향기성분의 함량도 증가하는 경향을 보였으며, butanol은 크림의 첨가비율에 관계없이 비교적 일정한 수치를 유지하였다. 휘발성 향기성분의 함량은 소프트아이스크림이 가장 높고, 발효전 시료가 가장 낮은 경향을 보였으며, diacetyl과 acetoin은 발효전 시료에서는 탐지되지 않았다.

시료 2(15시간-발효 시료)의 휘발성향기성분 함량이 시료 1(발효전 시료)보다 높은 것은 예상했던 결과이지만, 시료 2에 설탕과 바닐라향을 넣어 만든 시료 3(소프트아이스크림)의 휘발성향기성분 함량이 높은 것은 예상과는 다소 다른 결과이다. 그 이유는 시료 2는 EWM을 15시간 발효시켜 만든

발효유 형태의 시료이고, 시료 3은 이것에 설탕과 바닐라향을 넣어 아이스크림 제조기에서 냉동 및 공기주입(over-run)을 시켜 만든 아이스크림 형태의 시료이므로, 두 시료의 성상(예: 시료의 점도, 향기성분의 포집상태 등)이 달라서 향기성분의 휘발성도 달라진 것으로 생각된다. 시료 4(하드아이스크림)의 향기성분 함량이 시료 3보다 낮은 이유는 동결상태인 하드아이스크림과 유체상태인 소프트아이스크림의 성상이 다르다는 점과 하드아이스크림을 만들기 위하여 냉동고에서 열리는 동안에 향기성분의 일부가 휘발되었을 가능성 등을 생각해 볼 수 있다.

발효유의 주요한 휘발성향기성분은 acetaldehyde, acetone, diacetyl, acetoin과 같은 carbonyl화합물과 formic acid, acetic acid, propionic acid, butyric acid와 같은 휘발성유기산이라고 알려져있다⁽¹⁾.

본 실험에서 사용한 *L. acidophilus*(KCTC 2182)는 발효과정에서 acetone, ethanol, diacetyl 및 acetoin을 생성하였는데, 이 가운데서 acetone, diacetyl, acetoin은 발효유의 중요한 휘발성향기성분이고, ethanol은 농도는 비교적 높으나 발효유의 향기성분으로 앞의 3성분만큼 중요하지는 않은 것 같다. MRS 액체배지에서 유래된 butanol은 요구르트의 향기에 도움이 되지 않는다고 생각된다. Acetaldehyde와 휘발성유기산은 발효유의 향기에 도움이 된다고 알려져 있으나⁽¹⁾, 본 실험에서는 탐지되지 않았다. 그 이유는 휘발성향기성분이 발효유 제조에 사용된 젖산균 균주의 종류, 시료의 채취 및 분석방법, 시료의 조성 및 유고형분 함량, 시료의 가열처리 정도 등에 따라 다른 결과가 나올 수 있기 때문이다⁽¹⁾. 따라서 향기성분의 채취방법을 달리하고, Gas Chromatograph의 분석조건, 즉 오븐의 programming을 달리하거나 칼럼을 바꾸면 이번 실험에서 나타나지 않은 휘발성분들도 탐지될 가능성이 있으며 앞으로 이 부분에 대한 실험이 필요하다고 생각된다.

요 약

본 연구에서는 크림이 첨가된 난백혼합액(egg white mix)에 *Lactobacillus acidophilus*(KCTC 2182)를 접종하고 21시간 발효시키면서 휘발성향기성분의 경시적인 변화를 관찰하고, 발효전 시료, 15시간-발효시료, 소프트아이스크림, 하드아이스크림의 휘발성 향기성분의 함량을 각각 비교분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 발효 21시간동안 휘발성향기성분의 경시적인 변화를 보면, ethanol은 9시간까지는 완만하게 증가하다가 12시간에 급격히 증가하여 최대치에 도달한 후 다시 급격히 감소하였으며, acetone은 12시간에 다소 높았으나 전반적으로 큰 차이가 없었으며, diacetyl은 3시간에 처음 검지되어 완만하게 증가하고 15시간에 최대치에 도달한 후 다소 감소하였으며, butanol은 발효 중에 비교적 일정한 수치를 유지하였고, acetoin은 3시간에 처음 검지되어 15시간까지 급격히 증가하고 그 후에는 완만한 증가를 보였다. 시료별로 휘발성향기성분의 함량의 차이를 보면, acetone, ethanol, diacetyl, acetoin은 크림의 첨가비율이 증가할수록 휘발성향기성분의 함량도 증가하였으며, butanol은 크림의 첨가비율에 관계없이 비교적 일정한 수치를 유지하였다. 휘발성향기성분의 함량은 소프트아이스크림이 가장 높고, 발효전 시료가 가

장 낮았으며, diacetyl과 acetoin은 발효전 시료에서는 탐지되지 않았다.

문 헌

1. Tamine, A.Y. and Robinson, R.K. Yoghurt: Science and Technology. pp. 344-349, pp. 443-447. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England (1999)
2. Westerbeck, J.M.M. Dairy Science Abstracts 58: 206 (1996)
3. Ko, Y.T. and Kim, T.E. Development of ice cream prepared from lactic fermented egg white food added with cream. Kor. J. Food Sci. Technol. 32: 1173-1178 (2000)
4. Ko, Y.T. and Kang, J.H. Volatile aroma compounds of fermented milk prepared from milk and fruit juices. Kor. J. Food Sci. Technol. 30: 184-191 (1998)
5. Park, S.K. The review of flavor analysis: Part I. The analysis of food flavor. Food Sci. Ind. 24: 88-94 (1991)
6. Young-In Scientific Co. Textbook of GC workshop. Young-In Scientific Co., Seoul (1991)
7. Rao, M. and Blane, K. PC-STAT. University of Georgia, Athens, USA(1985)

(2001년 2월 13일 접수)