

## 비지에서 분리된 젖산균의 동정 및 발효특성

백요셉\* · 이인선 · 이삼빈<sup>†</sup>

계명대학교 식품가공학전공  
\*전통미생물자원개발 및 산업화연구센터

### Characterization and Fermentation Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Soybean Curd Residue (*Biji*)

Joseph Baek\*, In-Seon Lee and Sam-Pin Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food Science & Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea  
\*Traditional Microorganism Resources Center, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

#### Abstract

Two microorganisms isolated from soybean curd residue (*biji*) were identified as *Enterococcus faecium* (51% homology) and *Lactobacillus rhamnosus* (99.5% homology) by using gram positive identification (GPI) card and API 50 CHL kit, respectively. *Ent. faecium* grew well in micronized full-fat soyflour (MFS) milk, indicating pH 4.9, 0.38% acidity and  $1.8 \times 10^9$  CFU/mL of viable cell counts after fermentation for 20 hr. *L. rhamnosus* LL showed pH 6.5 and  $4.6 \times 10^8$  CFU/mL viable cell counts, but enhanced acid production in MFS milk mixture fortified with skim milk or by the addition of 1% of glucose and lactose. On the other hand, *Ent. faecium* LL did not show increased acid production in MFS/skim milk and MFS milk fortified with sugar. The MFS/skim milk fermented by *L. rhamnosus* LS and *Ent. faecium* LL showed 600 mg% and 350 mg% lactic acid, respectively.

**Key words:** lactic acid bacteria, soybean, soybean curd residue, full-fat soyflour

#### 서 론

대두는 양질의 식물성 단백질원으로 두부, 장류 등의 제조에 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 대두의 각종 기능성 및 생리활성 물질들이 보고되면서 기능성 건강 식품의 소재로서 다양하게 활용되고 있다(1). 대두를 이용하여 두부 및 두유를 제조하는 과정에서 얻어지는 부산물인 비지는 양질의 단백질과 풍부한 섬유소를 비롯한 많은 영양성분들을 포함하고 있으며(2,3), 특히 섬유소는 citrus 펙틴과는 다른 펙틴 다당류로 보고되었다(4). 전형적인 두부로부터 얻어지는 비지는 수분함량이 80% 정도이며, 일반성분은 건물량을 기준으로 할 때 단백질이 24%, 지방이 15%, 탄수화물이 50~60%, 회분이 4~5% 및 조섬유가 14% 정도로 함유되어 있다(5,6). 비지의 이러한 영양적 우수성에도 불구하고 상온에서 쉽게 부패되기 때문에 식품에 이용되기보다는, 사료로 이용되거나 폐기되어 왔다(7). 현재 국내 중견 두부제조업체가 두부제조를 위해 사용하는 콩 사용량 10톤에 대하여 부산물로 얻어지는 비지는 11~12톤 정도이며, 전국 550 여개소의 중·소규모 두부제조업체가 두부 생산을 위해 사용하는 원료 콩의 양은 연간 약 10만톤 정도로 추정되는데, 이러한 양의 콩을 이용하여 두부를 제조할 때 부산물로 남는 비지

의 양은 상당할 것으로 추정된다(8). 따라서 비지를 식품소재 및 생물산업의 원료로 활용할 수 있다면 부산물 이용이라는 측면에서 뿐만 아니라, 환경오염원의 처리비용 절감이라는 면에서도 중요한 연구과제라 하겠다(9,10).

비지를 식품가공소재로 활용하기 위한 많은 연구가 수행되어 왔으며(11-14), 미생물을 이용한 발효의 경우에는 고초균과 곰팡이의 배양을 위한 발효배지로서 활용되어 왔다(7,15). Lee 등(9)은 비지의 자연발효에 관여하는 미생물이 *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*임을 밝히고 발효비지의 pH, 아미노산 함량, 당 함량의 변화에 관하여 보고하였으며, Shin 등(16)은 두부 부패에 관여하는 주요 미생물을 분리동정한 결과 *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anita*와 *Klebsiella pneumoniae* subgroup *pneumoniae*임을 확인하였다. 반면에 생육 조건이 비교적 까다로운 젖산균을 이용한 비지의 젖산발효에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이며, probiotics로서 젖산균에 의한 비지의 발효는 비지의 저장성, 영양성 및 기능성을 증진시킴으로써 식품 및 생물소재로서 활용이 기대된다. 따라서 비지에 존재하는 미생물로부터 유용젖산균을 분리하여 이를 콩발효유 또는 비지의 발효에 이용한다면 산업적으로 유용할 것이다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: splee@kmu.ac.kr  
Phone: 82-53-580-5554. Fax: 82-53-580-5554

젖산균은 생육에 필요한 영양요구성 때문에 주로 skim milk를 스타터 배지로 활용하고 있는 실정이다. 최근에는 분체공학의 발전으로 콩으로부터 지방질과 조섬유를 비롯한 모든 영양 성분을 포함하는 미세분말의 제조가 가능하게 되었다. 콩미세분말은 전지활성생대두미세분말(micronized full-fat soyflour)로서 현재 일본에서 생산된 제품이 수입되어 전두부제조에 이용되고 있다. 대두미세분말의 가공적성의 여러 장점 때문에 식품가공에서 유용한 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 특히 콩발효식품의 제조시에 가격이 저렴한 대두미세분말을 젖산균 starter 배양배지로 활용한다면 경제적인 면에서도 매우 도움이 될 것으로 기대된다.

따라서 본 연구에서는 비지로부터 젖산균을 분리, 동정하고, 분리한 젖산균의 콩미세분말용액에서의 생육특성을 조사함으로써 비지의 젖산발효에 필요한 젖산균의 배양조건 확립 및 콩발효유 제조 가능성을 찾고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용한 비지는 (주)풀무원(경상남도 의령)으로부터 구입하여 500 g씩 비닐 pack에 개별 포장한 후 -20°C에서 냉동보관하면서 사용하였다. 발효유의 제조원료로는 skim milk(서울우유)와 전지활성생대두미세분말(micronized full-fat soyflour, MFS, Perican Co., Japan)을 혼합해가며 사용하였다. 젖산균으로는 *Streptococcus thermophilus*(KCTC 2185), *Lactobacillus bulgaricus*(KCTC 3188)를 한국생명공학연구소에서 분양 받아 37°C에서 20시간 동안 5%(w/v) 전지활성생대두미세분말용액(이하 대두미세분말용액)과 5%(w/v) skim milk 용액의 비율이 4:1이 되도록 조제한 액체배지에 2회 계대배양하여 사용하였다.

### 미생물의 분리 및 동정

비지를 살균증류수로 10<sup>5</sup>까지 희석한 후 MRS plate에 도말하여 30°C 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 형성된 colony의 크기를 기준으로 큰 colony(LL)와 작은 colony(LS)를 분리하였으며, 이를 MRS plate에서 streaking하여 순수분리하였다. 각각의 분리된 균주는 현미경으로 세균의 형태를 관찰하였으며, 그람염색을 실시하였다(17). 균주의 동정은 Gram Positive Identification(GPI) card와 Analytical Profile Index(API) 50 CHL kit를 사용하여 실시하였다. 또한 대두미세분말/skim milk 혼합액에서 30°C에서 20시간 배양된 LS균주는 Scanning Electron Microscope(S-4200, Hitachi, Japan)를 이용하여 균의 형태를 관찰하였다.

### 대두미세분말 발효유의 제조

대두미세분말 함량을 5%(w/v)로 조절하고 균질기(Model-AM, Nihonseiki Kaisha Ltd, Japan)로 10,000 rpm에서 1분 동안 균질화한 후 유리용기에 50 mL씩 분주하여 121°C에서

15분간 가압멸균하였다. 37°C로 냉각시킨 후 젖산균을 각각 1% (v/v) 접종하고 37°C에서 20시간 동안 발효시켰다. 대두미세분말/skim milk 혼합배지는 5%(w/v) 대두미세분말과 5% (w/v) skim milk를 9:1, 4:1, 2:1로 혼합한 후 위와 동일한 방법으로 살균하여 사용하였다.

### 대두미세분말 발효유의 분석

대두미세분말 발효유의 총 생균수(viable cell counts, CFU/mL)는 발효액을 멸균증류수로 10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup>으로 희석한 후 MRS plate에 도말하여 2회 측정된 평균값으로 구하였다. pH는 pH-meter(Digital pH meter 110, Wheaton)로 측정하였으며, 적정산도(% titratable acidity)는 발효유에 phenolphthalein 지시약을 2~3방울 떨어뜨린 후 0.1 N NaOH로 시료가 분홍색이 될 때까지 중화적정하였으며, 이때 소모된 NaOH의 양으로부터 적정산도를 젖산의 양(% w/v)으로 환산하였다(18).

### 유기산 분석

발효유 시료를 탈이온수로 2배 희석하여 1분간 혼합한 후 0.45 µm membrane filter(GelmanSciences)로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. 표준 유기산으로는 oxalic acid, tartaric acid, lactic acid, acetic acid를 사용하였다. 분석용 column은 µBondapak C<sub>18</sub>(300 mm×3.9 mm)을 사용하였고, 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 3.22 with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)를 이동상으로 하여 0.6 µL/min의 속도로 흘렸다. 시료 10 µL를 주입하고 20°C에서 UV detector(Waters 2487)를 이용하여 210 nm에서 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 미생물의 분리 및 동정

비지를 희석하여 MRS plate상에 도말하여 30°C에서 배양하였을 때, 점질물 생성균주, 오염균 및 large colony(LL)와 small colony(LS)가 존재하였다. MRS plate에서 생육된 유산균(LL, LS)만 순수 분리하여, MRS plate 및 MRS 액체배지에서 활성 화시켰다. MRS plate에서 LL과 LS균의 온도에 따른 생육 정도는 Table 1과 같다. LL과 LS 모두 37°C에서 성장이 제일 양호하였으며, LL균은 50°C에서도 생육이 가능하였다. 반면에 LS균은 40°C에서는 생육이 가능하였지만 45°C에서는 LL균과는 달리 생육하지 못하였다.

Gram염색 후에 현미경으로 관찰한 결과 LL과 LS균 모두 그람양성을 나타내었다. 분리된 균들의 생화학적 발효특성을

**Table 1. Growth temperature of LL and LS strain on MRS plate**

Temp. (°C)	LL	LS
10	+	+
30	+++	++
37	++++	++++
40	+++	+
45	+++	-
50	+	-

++++: excellent, +++: very good, ++: good, +: poor, -: negative.

측정하기 위하여 Vitek(Bio Merieux, France)과 GPI card를 이용하여 분석하였다. LL균의 생화학적 특성은 Table 2와 같다. LL균은 Gram 양성을 나타내었으며, *Enterococcus faecium* 과 51% 동질성이 있는 것으로 동정되었다. LS균 경우에는 GPI card에 의한 생화학적 반응으로부터 동질성이 있는 그람양성 균주를 결정할 수 없었다. 따라서 젖산균의 동정을 위해서 API 50 CHL kit에 의한 생화학적 특성조사를 하였으며 결과는 Table 3과 같다. LS균은 *Lactobacillus rhamnosus*와 99.5%의 동질성을 갖는 것으로 동정되었다. SEM에 의해 확인된 LS균은 길이가 1.5 µm 정도로 간균의 형태를 보였다(Fig. 1). 이상의 생화학

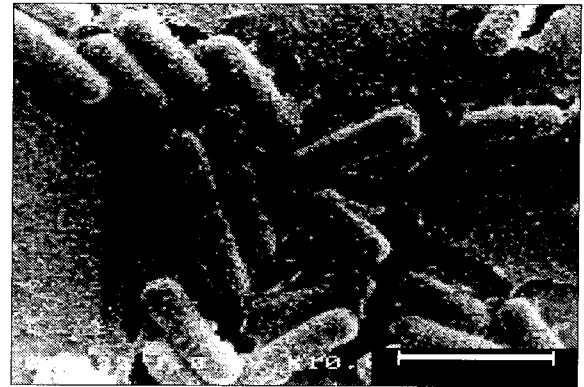


Fig. 1. Scanning electron microscope photograph of *L. rhamnosus* LS strain isolated from soybean curd residue. Bar size: 1.8 µm.

Table 2. Biological assimilation test by LL strain isolated from soybean curd residue

Strain LL		Strain LL		
1	Peptone base	+	16 Raffinose	+
2	Bacitracin	+	17 Salicin	+
3	Optochin	+	18 Sorbitol	-
4	Hemicellulase	+	19 Sucrose	+
5	6% Sodium chloride	+	20 Trehalose	-
6	10% bile	+	21 Arabinose	-
7	40% bile	+	22 Pyruvate	-
8	Esculin	+	23 Pullulans	-
9	Arginine dehydrolase	+	24 Inuline	-
10	Urease	-	25 Melibiose	+
11	Tetrazolium red	+	26 Melezitose	-
12	Novobiocin	+	27 Cellubiose	+
13	Dextrose	+	28 Ribose	+
14	Lactose	+	29 Xylose	-
15	Mannitol	+	30 Catalase	-

Table 3. Biological assimilation test by LS strain isolated from soybean curd residue

Strain LS		Strain LS		
0	Control	-	25 Esculine	+
1	Glycerol	-	26 Salicine	+
2	Erythritol	-	27 Cellobiose	+
3	D-Arabinose	-	28 Maltose	+
4	L-Araninose	-	29 Lactose	+
5	Ribose	+	30 Melibiose	-
6	D-Xylose	-	31 Sacchrose	+
7	L-Xylose	-	32 Trehalose	+
8	Adonitol	-	33 Inuline	-
9	β-Methyl-xyloside	-	34 Melezitose	+
10	Galactose	+	35 D-Raffinose	-
11	D-Glucose	+	36 Amidon	-
12	D-Fructose	+	37 Glycogene	-
13	D-Mannose	+	38 Xylitol	-
14	L-Sorbose	+	39 β-Gentiobiose	-
15	Rhamnose	+	40 D-Turanose	+
16	Dulcitol	+	41 D-Lyxose	-
17	Inositol	-	42 D-Tagatose	+
18	Mannitol	+	43 D-Fucose	-
19	Sorbitol	+	44 L-Fucose	-
20	α-Methyl-D-mannoside	-	45 D-Arabitol	-
21	α-Methyl-D-glucoside	+	46 L-Arabitol	-
22	N-Acetyl glucosamine	+	47 Gluconate	-
23	Amygdaline	+	48 2-Keto-gluconate	-
24	Arbutine	+	49 5-Keto-gluconate	-

적 분석결과로부터 LL균을 *Ent. faecium* LL로, LS균을 *L. rhamnosus* LS로 명명하였다. 하지만 보다 확실한 균주의 동정을 위해서는 16S ribosomal RNA분석 등의 추가적인 분석이 필요하다고 사료된다. Lee 등(9)은 비지의 자연발효 과정 중에 관여하는 주요미생물이 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* 라 하였는데, 이와 같은 차이는 비지에 존재하는 미생물들의 발효온도가 다른데 기인하는 것으로 사료되며, 재래식 콩 발효법에 의해 55°C에서 48시간 이상 발효한 경우에 고초균이 주로 관여하는 것으로 판단된다. 그러나 본 실험에서는 비지의 현탁액을 30°C 또는 37°C에서 20시간동안 발효시켰기 때문에 비교적 고온에서 생육하는 고초균보다는 젖산균의 생육을 촉진시킬 수 있었고, 따라서 젖산균주의 분리가 용이했던 것으로 본다. 그러나 오염균 중에는 점질물질 생성균을 포함한 고초균과 유사한 균들이 발견되었다. 비지를 고초균에 의해서 띄우는 방법으로는 자연발효를 시키는데 2~3일이 소요되므로 고초균에 의한 자연발효로서는 하루에 생산되는 수많은 양의 비지를 처리하기가 어려우며 독특한 발효냄새 때문에 이용이 제한적이다. 앞으로 비지에서 분리된 젖산균(*Ent. faecium* LL, *L. rhamnosus* LS)을 대두유 발효와 비지 발효에 이용함으로써 일정량의 젖산과 젖산균을 포함하는 대두발효유 및 발효비지의 생산이 기대되며, 비지의 저장성의 향상은 물론 probiotics를 포함하는 기능성소재로서도 활용이 기대된다.

대두미세분말 발효유의 산도 및 생균수

대두미세분말을 5%(w/v) 고형분으로 하는 배지에 젖산균을 접종한 후 37°C에서 20시간 동안 배양하여 pH와 산도를 측정하였다. 대두미세분말용액의 초기 pH는 6.65이며, *Ent. faecium* LL, *L. rhamnosus* LS, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*에 의해 발효되었을 때 Table 4와 같이 대두미세분말용액의 pH가 각각 4.90, 6.53, 6.47, 6.24를 나타내었다. 대두미세분말용액 발효시 *Ent. faecium* LL을 제외한 나머지 젖산균들은 거의 pH의 변화를 일으키지 않았으며 산생성은 미비하였다. 반면에 *Ent. faecium* LL에 의해 발효된 대두미세분말용액만이 산도 0.38%의 산을 생성하면서 발효액은 pH 4.9를 나타내었다. Kim 등(19)

**Table 4. Growth and acid production by various lactic acid bacteria in micronized full-fat soyflour milk**

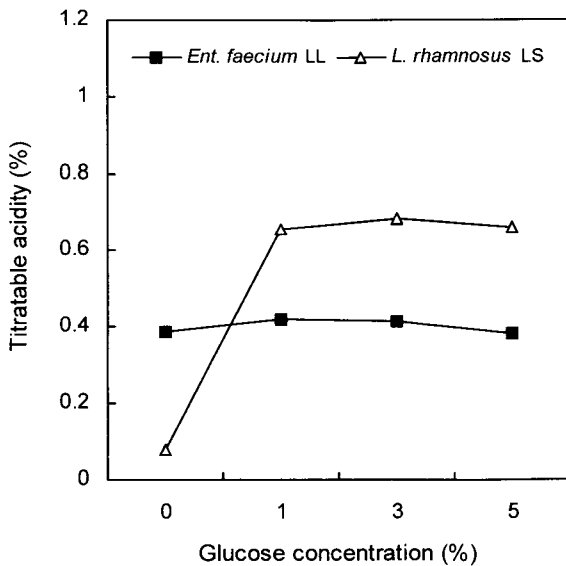
	pH	Titratable acidity (%)	Lactic acid bacteria (CFU/mL)
<i>L. rhamnosus</i> LS	6.53	0.13	$4.6 \times 10^8$
<i>Ent. faecium</i> LL	4.90	0.38	$1.8 \times 10^9$
<i>S. thermophilus</i>	6.47	0.13	$1.3 \times 10^9$
<i>L. bulgaricus</i>	6.24	0.15	$1.9 \times 10^8$

이 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*를 두유에 접종하여 배양시켰을 때 산 생성이 거의 없었다는 결과와 본 실험의 경우는 일치하였다. 두유에서 효과적인 산생성이 잘 이루어지기 위해서는 각종 첨가물(단백질 가수분해물, yeast extract, 발효성 당, 우유, 탈지유, 유당, 아미노산, 무기질 혼합물, 인산염 등)이 요구된다(20).

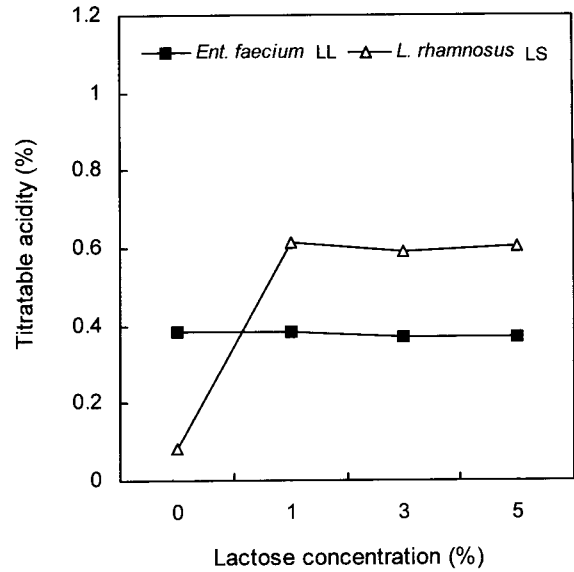
대두미세분말 발효유에서 생균수는 4가지 균주중 *Ent. faecium* LL이  $1.8 \times 10^9$  CFU/mL로 가장 우수하였으며 *S. thermophilus*는  $1.3 \times 10^9$  CFU/mL, *L. rhamnosus* LS는  $4.6 \times 10^8$  CFU/mL, *L. bulgaricus*는  $1.9 \times 10^8$  CFU/mL의 생균수를 보였다. 요구르트의 성분 규격에 의하면 신선한 액상 및 호상 요구르트의 유산균수를 각각  $10^7 \sim 10^8$  CFU/mL 이상으로 규정하고 있는데 본 실험의 결과 그 이상의 생균수를 보였다. 특히 비지에서 분리된 *Ent. faecium* LL이 두유발효에서 가장 높은 생균수와 산생성능력을 나타냄으로 앞으로 더 많은 연구가 필요할 것으로 본다.

· 당첨가에 따른 대두미세분말 발효유의 산도변화

Fig. 2와 Fig. 3에서 보듯이 *Ent. faecium* LL의 대두미세분말발효유에서 glucose 및 lactose 첨가가 산생성에 미치는 영향은 관찰되지 않았다. 그러나 *L. rhamnosus* LS의 경우는 1% 당(glucose, lactose) 첨가에 의해서 산생성이 크게 증가되면서



**Fig. 2. Effects of glucose on the acidity of micronized full-fat soyflour milk fermented by *Ent. faecium* LL and *L. rhamnosus* LS.**



**Fig. 3. Effects of lactose on the acidity of micronized full-fat soyflour milk fermented by *Ent. faecium* LL and *L. rhamnosus* LS.**

20시간 안에 0.6% 이상의 산도를 나타내었다. 그러나 1% 이상의 당 첨가에 따른 산생성의 변화가 없었다. 따라서 1% 수준의 당 첨가가 산생성의 최적조건으로 사료된다. *L. rhamnosus*는 *Streptococcus sorbrinus*, *E. coli*, *Sal. pullorum*, *Sta. aureus* 등에 대하여 생육저해효과가 있는 probiotics 생산균주로 알려지면서 다양한 연구들이 진행되고 있다(21-23). 따라서 비지에서 분리된 *L. rhamnosus* LS의 probiotics 및 기능성 다당류의 생산균주로서의 연구가 필요하며, 앞으로 콩 소재를 이용한 젖산발효에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

· 혼합발효유의 산도 및 생균수

대두미세분말용액 발효실험에서 *Ent. faecium* LL이 두유발효에 우수한 능력이 있음을 확인한 후 비지로부터 분리한 유산균 *Ent. faecium* LL과 *L. rhamnosus* LS를 5%(w/v) 대두미세분말용액과 5%(w/v) skim milk용액을 9:1, 4:1, 2:1로 혼합한 용액에 접종하여 37°C에서 20시간 동안 배양시켰다. Fig. 4에서 볼 수 있듯이 *L. rhamnosus* LS의 경우에 대두미세분말용액에서는 산을 생성하지 못하였지만 skim milk를 첨가한 용액에서는 skim milk의 첨가비율이 증가할수록 산도가 증가하여 대두미세분말과 skim milk의 비율이 2:1인 배지에서 1.05%로 가장높은 산도값을 보였다. 한편 5% 대두미세분말과 5% skim milk를 4:1로 혼합한 용액에서도 산도 0.77%와  $1.2 \times 10^9$  CFU/mL의 높은 생균수를 보여, 이 혼합용액을 발효유 및 젖산균스타터 제조에 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 기대된다. *Ent. faecium* LL은 대두미세분말용액에서 배양시에 대체로 높은 산도값을 보였으나 skim milk의 첨가는 산생성에 효과가 없었다. 이는 Fig. 2와 Fig. 3에서 대두미세분말용액 발효시 당첨가에 따른 산생성 효과가 없는 것과 같은 결과로 *Ent. faecium* LL은 대두의 발효성 당을 비교적 잘 이용하면서, 첨

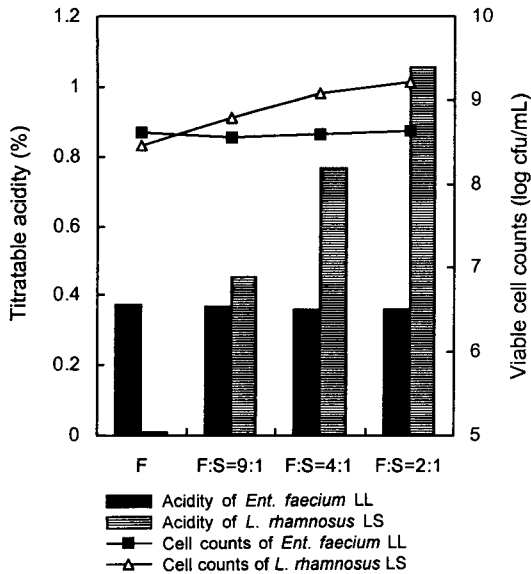


Fig. 4. Comparison of acidity and viable cell counts in micronized full-fat soyflour milk fermented by *Ent. faecium* LL and *L. rhamnosus* LS according to the addition of skim milk for 20hr at 37°C.

F: micronized full-fat soyflour milk, S: skim milk.

가된 skim milk의 유당에 의한 산생성 촉진효과가 없는 것은 앞으로 자세한 연구가 요구된다.

유기산 분석

젖산발효유의 대사산물인 유기산은 천연 보존제로서의 역할뿐 아니라 발효유의 품질과 맛에 영향을 주는 중요한 인자이다(24). 고형분을 5%(w/v)로 한 대두미세분말용액과 skim milk 4:1 혼합배지에 *Ent. faecium* LL과 *L. rhamnosus* LS를 접종한 후 37°C에서 20시간 동안 배양하여 측정된 유기산 함량 결과는 Table 5와 같다. 젖산이 주된 대사산물로서 젖산농도는 *L. rhamnosus* LS가 600 mg%로 *Ent. faecium* LL의 350 mg%보다 높게 나타났으며, citric acid의 농도는 *Ent. faecium* LL이 102 mg%로 *L. rhamnosus* LS의 14mg%보다 높게 나타났다. Fig. 3에서 대두미세분말과 skim milk 4:1 혼합발효유에서 *L. rhamnosus* LS가 *Ent. faecium*보다 높은 산도값을 보이고 있는데, HPLC에 의한 유기산 측정결과도 비슷한 값을 보였다. 대두미세분말은 300 mesh의 콩 미세분말로서 현재는 전두부의 제조에 주로 활용되고 있다. *L. rhamnosus* LS는 발효배지로서 5% 대두미세분말용액을 이용하는 경우에 산생성 능력은 미미하였지만 생균수는 높은 값을 보였다(Fig. 4). 또한 배지에 1% 수준의 glucose 또는 lactose의 첨가로 발효유의 산생성이 급격하게 증가되면서 전형적인 curd를 형성하면서 대두 요구

Table 5. Organic acid composition of soy-yoghurt fermented by *L. rhamnosus* LS and *Ent. faecium* LL at 37°C for 20 hr (mg%)

	Oxalic acid	Tartaric acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid
<i>L. rhamnosus</i> LS	10	28	600	30	14
<i>Ent. faecium</i> LL	10	32	350	No	102

르트 제조에 활용될 수 있는 가능성을 보였다. 특히 5% 수준의 대두미세분말용액은 살균시킨 후에 대두발효유 제조를 위한 젖산균 스타터의 배양배지로서 적합함을 알 수 있었다. 앞으로 대두미세분말용액에서 배양시킨 젖산균을 콩 관련 발효유 제품의 스타터로서 이용 가능성이 기대된다.

요 약

비지로부터 두 균주를 순수분리하여 동정한 결과 *Ent. faecium* LL과 *L. rhamnosus* LS로 확인되었다. 분리된 균을 대두미세분말용액에서 발효정도를 알아보기 위하여 pH, 산도, 생균수 및 유기산 함량을 측정하였다. *Ent. faecium* LL은 대두미세분말 용액에서 발효시 pH 4.9, 산도 0.38%, 생균수  $1.8 \times 10^9$  CFU/mL로 젖산생성 및 높은 생균수를 나타내었다. *L. rhamnosus* LS는 대두미세분말 용액에서는  $4.6 \times 10^8$  CFU/mL의 생균수를 나타냈지만 젖산의 생성은 매우 미흡하였다. 그러나 대두미세분말 용액에 당을 첨가하거나 skim milk를 첨가할 때 산생성이 급격히 증가되었다. 대두미세분말과 skim milk 4:1 혼합액에서 *Ent. faecium* LL과 *L. rhamnosus* LS에 의한 젖산발효는 37°C에서 20시간 안에 curd를 형성하였으며, 각각 0.33% 및 0.77%의 산도와  $10^8 \sim 10^9$  CFU/mL 정도의 생균수를 보였다. HPLC 분석에서 생성된 젖산의 농도는 *L. rhamnosus* LS가 600 mg%로 *Ent. faecium* LL의 350 mg%보다 높았다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단지정 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것이며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Stephen H. 1999. *The soy revolution*. Sung-Ha public, Seoul, Korea. p 48-82.
- Van der Reit WB, Wight AW, Clillierers KR, Datel JM. 1989. Food chemical investigation of *Tofu* and its byproduct *Okara*. *Food Chem* 34: 193-202.
- Zee J, Boudreau A, Bourgeois M, Breton R. 1988. Chemical composition and nutritional quality of *Faba bean* (*Vicia fada* L. Minor) based *Tofu*. *J Food Sci* 53: 1772-1774.
- Yamaguchi F, Ota Y, Hatanaka C. 1996. Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean *Okara* and enzymatic analysis of their structures. *Carbohydr Polym* 30: 265-273.
- Hackler LR, Hand DB, Steinkraus KH, Van Buren JP. 1963. A comparison of the nutritional value of protein from several soybean fractions. *J Nutr* 80: 205-210.
- Hackler LR, Stillings BR, Polimeni RJ Jr. 1967. Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean factions. *Cereal Chem* 44: 638-644.
- O'Toole DK. 1999. Characteristics and use of *Okara*, the soybean residue from soy milk production, a review. *J Agric Food Chem* 47: 363-371.

8. Kim DM, Baek HH, Jin JS, Lee SE, Kim KH. 1992. Physico-chemical properties of soybean curd whey concentrated by reverse osmosis. *Korean J Food Sci Technol* 24: 311-314.
9. Lee MS, Kim KH, Lee GJ. 1987. Microbiological studies and biochemical changes in fermenting soybean curd residue during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 19: 520-527.
10. Ben-gera I, Kramer A. 1969. The utilization of food industry wastes. *Adv Food Res* 17: 77-152.
11. Chung SS, Chang HN, Park MY. 1978. Dehydration of soybean residue by hot-air in conjunction with filter pressing. *Korean J Food Sci Technol* 10: 1-7.
12. Cho MK, Lee WJ. 1996. Preparation of high-fiber bread with soybean curd residue and Makkolli (rice wine) residue. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 632-636.
13. Sohn JW, Kim WJ, Kim SS. 1985. Equations for water sorption isotherms of the mixture of dried soymilk residue and wheat flour. *Korean J Food Sci Technol* 17: 101-106.
14. Sohn JW, Kim WJ. 1985. Some quality changes in soybean curd by addition of dried soymilk residue. *Korean J Food Sci Technol* 24: 522-525.
15. Ohno A, Ano T, Shoda M. 1996. Use of soybean curd residue, Okara, for the solid state substrate in the production of a lipopeptide antibiotic, Iturin A, by *Bacillus subtilis* NB22. *Process Biochem* 31: 801-806.
16. Shin DH, Kim MS, Bae KS, Ko YH. 1992. Identification of putrefactive bacteria related to soybean curd. *Korean J Food Sci Technol* 24: 29-30.
17. Cappuccino JG, Sherman N. 1983. *A laboratory manual*. Addison-wesley publishing company, London. p 31.
18. Amerine MA, Ough CS. 1979. *Methods for analysis of musts and wines*. A wiley-interscience publication, John Wiley & Sons, New York. p 46-47.
19. Kim KH, Bang IR, Ko YT. 1989. Effects of protease treatment of soy milk on acid production by lactic acid bacteria and quality of soy yogurt. *Korean J Food Sci Technol* 21: 92-99.
20. Angeles A, Marth E. 1971. Growth and activity of lactic acid bacteria in soy-milk, part 1. *J Milk and Food Technol* 34: 30-36.
21. Meurman JH, Antila H, Korhonen A, Salminen S. 1995. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC53103) on the growth of *Streptococcus sobrinus* in vitro. *Eur J Oral Sci* 103: 253-258.
22. Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS. 2001. In vitro adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol* 67: 207-216.
23. Kang KG, Ma CS. 1993. Characteristics of the antibacterial substances produced by *Lactobacillus casei* subsp. and *Streptococcus faecium*. *Korean J Vet Res* 33: 393-406.
24. Fernandez-garc E, McGregor JU. 1994. Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *J Dairy Sci* 77: 2934-2939.

(2002년 6월 14일 접수; 2002년 8월 8일 채택)