

*Bifidobacterium bifidum*을 이용한 밀가루 brew가 반죽의 이화학적 성질에 미치는 영향

조남지 · 이시경* · 김성곤** · 주현규***

혜전대학 호텔제과제빵과, *건국대학교 응용생물화학과
단국대학교 식품영양학과, *선문대학교 식량자원식품가공학부

Effect of Wheat Flour Brew with *Bifidobacterium bifidum* on Rheological Properties of Wheat Flour Dough

Nam Ji Cho, Si Kyung Lee*, Sung-Kon Kim** and Hyun-Kyu Joo***

Department of Baking Technology, Hyejeon College

*Department of Applied Biology and Chemistry, Kon-Kuk University

**Department of Food Science and Nutrition, Dankook University

***Department of Food Resources and Technology, Sun-Moon University

Abstract

In order to economically utilize flour brew with *Bifidobacterium bifidum* as a bread improver, the effect of flour brew on the rheological properties of dough, growth curve and acid production, and symbiosis with yeast were investigated. Growth of bifidobacteria was not increased more than initial seed volume but was consistent during 24 hours of incubation. pH was decreased and T.T.A was increased up to 12 hours of incubation. Symbiosis between bifidobacteria and yeast was little. Bifidobacteria produced more lactic acid than acetic acid in flour brew and the opposite in skim milk broth. This result was inferred from *Lactobacillus* sp. inherent in flour. On rheological properties of dough, farinograms of flour showed progressively decreasing baking absorption, mixing time and stability as the amount of flour brew increased. The validation of extensograms showed that R/E ratio linearly increased with increment of flour brew, and nearly doubled in all treatments comparing to that of control, which suggest the reduction of actual fermentation time. On visco/amylograms, malt index increased with addition of flour brew, accordingly showing the decrease in viscosity. Break down and set back value decreased with increment of flour brew, suggesting that staling rate of bread can be delayed.

Key words : bifidobacteria, flour brew, rheological properties, fermentation time, staling rate

서 론

빵은 인류의 농경생활과 더불어 제조되기 시작하여, 기원전 5,000년 경 이집트에서 우연하게 발효된 최초의 빵이 만들어졌다. 그 당시에도 발효균 중에는 야생효모와 함께 젖산균도 존재했던 것으로 생각되며, 젖산균은 발효주체인 야생효모와 함께 빵에 풍미를 부여하여 기호성을 향상 시켰던 것으로 추측된다. 오늘날에도 젖산균을 이용하는 비전통적 발효법에 의한 빵제조가 특정지역에서 실시되고 있으며, 대표적인 제품으로는 이태리의 Panettone, Pandoro, 샌프란시

스코의 sour dough 빵 및 독일의 호밀빵 등이 알려져 있다⁽¹⁾. 샌프란시스코 사워도우에서 분리 동정한 젖산균은 이상발효균인 *Lactobacillus sanfrancisco*로서⁽²⁾, 빵에서 반죽물성과 소비자 기호에 가장 큰 영향을 미치는 휘발성 산인 락트산과 아세트산을 73.91:23.80의 비율로 생산한다^(3,4). 이 유기산들은 빵의 향미에 미치는 영향 이외에도 글루텐 단백질의 팽윤을 도와주므로써 가스 보유력을 높여 조직감이 좋고 체적이 큰 제품을 생산할 수 있는 천연 제빵 개량제로서의 역할이 가능하다고 알려져 있다⁽⁵⁾. 사람이나 가축에 있어서 가장 많이 관여하는 젖산균으로는 bifidobacteria와 *lactobacillus*가 있으며, 이 중 제빵에 이용되고 있는 젖산균은 배양이 용이하고 취급이 까다롭지 않은 *Lactobacillus* sp.이다. *Lactobacillus* sp.을 이용하여 빵종균(starter)을 만들고

Corresponding author: Hyun-kyu Joo, Department of Food Resources and Technology, Sun-Moon University, 100 Gansan-ri, Tamjung-myun, Asan-si, Chungnam 336-840, Korea

이것을 정기적으로 계대배양시켜 일정 기간 사용하는 데, 많은 종류의 젖산균이 관여함으로 해서 빵의 품질을 일정하게 유지시키는 것이 어렵기 때문에, 현재는 순수배양된 젖산균을 빵종균으로 이용한다. 그러나 최근에 혐기성균의 배양법이 발달하면서 장내 혐기성 젖산균인 bifidobacteria에 대한 연구가 활발해지게 되고, 1965년 경부터 bifidobacteria 균이 유아로부터 성인까지에 장내 microflora를 구성하는 젖산균으로써 *lactobacillus*보다 오히려 중요하다는 점이 밝혀지면서 식품가공과 인체 및 가축에 생균제로서 가치가 크게 평가되고 있다⁵⁾. Bifidobacteria를 이용한 식품으로는 시유, 호상요구르트, 조제분유 및 비피더스 샐러드 등이 있으며, 비피더스균을 이용한 새로운 유제품의 개발이 유럽 및 일본을 중심으로 활발히 진행되고 있다. 한편, 밀가루 brew에서 bifidobacteria가 성장할 수 있어서 제빵에 이용할 수 있다면 빵에서 소비자 기호에 가장 큰 영향을 미치는 아세트산과 락트산을 균일한 비율로 얻을 수 있게 되어, 빵의 향미를 크게 개선시킬 수 있을 것이다. 또한 비피더스균 발효산물의 의학적 효과와 함께 천연제빵 개량제로서의 효과가 예측되기 때문에 빵의 노화와 저장성을 개선시킬 수 있는 큰 경제적 장점이 있을 것으로 기대된다. 따라서 본 연구에서는 이상 젖산발효균인 bifidobacteria를 밀가루 brew에 접종한 후 배양시키면서 bifidobacteria의 밀가루 brew에서의 성장곡선, 아세트산과 락트산 생성량, 효모와의 공생관계 및 밀가루 brew에서 배양된 bifidobacteria의 형태적 특성을 검토하였고, bifidobacteria에 의해 발효된 밀가루 brew를 반죽에 첨가하여 반죽의 리올로지 성질에 미치는 영향을 분석하였다.

재료 및 방법

실험 재료

밀가루는 제일제당(주)에서 1996년 8월에 생산된 제빵용 밀가루(강력 1급)를 사용하였으며, 일반 성분은 수분 13.1%, 단백질 13.1% (N×5.7), 회분 0.38%이었다. 배지는 모두 Difco사 제품이고 실험에 사용한 시약 및 유기산 정량에 사용한 표준용액(아세트산 및 락트산)은 동경화성제(일본) 특급 시약이었다.

사용 균주

본 연구에 사용한 균주는 *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 11863)으로 (주)한국 요구르트에서 분양 받아, 마 혈액을 제거시킨 MBL 배지(Table 1)에 보호용액(Table 2)을 첨가하여 균주를 접종시킨 후 37°C에서

Table 1. Composition of MBL media

| Ingredients | Amounts (g) |
|----------------------------------|-------------|
| Glucose | 10.0 |
| Lab lemco power (oxid) | 3.0 |
| Liver extract soln ¹⁾ | 150.0 mL |
| Phytone (BBL) | 3.0 |
| Preteose pepton No.3 (Difco) | 10.0 |
| Soluble starch | 0.5 |
| Tween 80 | 1.0 |
| Trypticase (BBL) | 5.0 |
| Yeast extract (Difco) | 5.0 |
| L-Cysteine·HCl | 0.5 |
| Solution A ²⁾ | 10.0 mL |
| Solution B ³⁾ | 5.0 mL |
| Distilled water | 815.0 mL |
| Agar | 15.0 |
| pH | 7.2 |

¹⁾Mix 10 g liver powder with D.W. 170 mL and warm up in a boiler for 1hr to 50-60°C and filtered after 10 min boiling

²⁾Solution A: KH₂PO₄ 25.0 g, K₂HPO₄ 25.0 g, D.W. 250 mL

³⁾Solution B: FeSO₄·7H₂O 0.5 g, MgSO₄·7H₂O 10.0 g, MnSO₄·4H₂O 0.337 g, NaCl 0.5 g, D.W. 250 mL

Table 2. Composition of protecting solution

| Ingredients | % |
|----------------------|------|
| Skim milk | 10.0 |
| Sodium glutamic acid | 1.0 |
| Ascorbic acid | 1.0 |
| L-Cysteine·HCl | 0.05 |
| Arginine·HCl | 1.0 |
| pH | 7.0 |

48시간 배양시키고, 10 mL 시험관에 분주한 후 4°C 냉장고에 보관하면서 종균으로 사용하였다. 실험시에는 37°C에서 2회 이상 계대하여 활력을 충분히 유지시킨 후 사용하였다. 또한 *Saccharomyces cerevisiae* (KTCC 1199)는 제일유니버설에서 제공 받아 사용하였다.

균 증식 배양 배지 및 균 측정용 배지

밀가루 brew와 환원탈지유에서의 균생장을 비교하기 위하여 밀가루 brew는 500 mL 플라스틱 용기에 밀가루 100 g과 증류수 100 mL를 혼합한 후 종균 10⁷ cfu/g을 접종하고 다시 혼합한 후 뚜껑을 닫고 37°C의 인큐베이터에서 24시간 동안 배양하면서 일정기간 별로 균의 생장을 관찰하였다. 12% 환원 탈지유(100 mL)배지는 고압살균(121°C, 15분)한 후 종균 10⁷ cfu/g을 접종하고 500 mL 삼각 플라스크에 넣어, 37°C에서 24시간 진탕 배양(120 rpm)하면서 균의 생장을 관찰하였다. 효모와의 공생효과를 측정하기 위하여 밀가루 brew에 *B. bifidum*과 *S. cerevisiae*를 각각 10⁷

cfu/g씩 첨가하여 pH, 산도 및 생균수를 비교하였다. Bifidobacteria 이외의 균의 성장을 억제시키기 위해 MBL배지 1,000 mL에 BS용액 50 mL을 혼합한 배지를 균 측정용으로 사용하였다. BS 용액은 sodium propionate 30.0 g, paromomycin sulfate 100 mg, neomycin sulfate 400 mg, lithium chloride 6.0 g, distilled water 100 mL를 사용하여 제조하였다.

생균수 측정

멸균한 희석액(Table 3)으로 시료를 단계적으로 희석한 다음 BS agar배지에 도말하고, 혐기조(Hiryayama, Japan)에 gas pak (BBL), indicator (BBL), 환원액(Table 3)에 환원시킨 steel wool과 같이 넣은 후, 이산화탄소를 2회 치환 충전시킨 다음 37°C에서 24시간 배양한 후 콜로니수가 30~300개가 나타나는 평판을 선택하여 균수를 계수하였다.

균 형태 관찰

밀가루 brew에서 24시간 배양한 bifidobacteria를 염수로 희석한 후 MBL agar배지에 도말하여 37°C에서 24시간 혐기 배양하고 염색한 후 광학현미경(Jenaval, 15×100) 및 주사전자현미경(Hitachi S-570, Japan)으로 관찰하였다.

pH 및 산도 측정

Bifidobacteria를 밀가루 brew와 12% 환원 탈지유 배지에서 24시간 배양 (37°C)하면서, 4시간 마다 배양액 10 g 취하여 250 mL 비이커에 넣고 100 mL 증류수를 가한 다음 균일하게 혼합하고, 25°C에서 30분 방치 후 pH meter (Beckmann model 34, Germany)로 측정하였으며, 산도의 측정은 AACC방법 02-31⁽⁶⁾에 따라서 1.0% (w/v) phenolphthalein-50% ethanol 5방울을 넣어 혼합하고 1시간 방치 후 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1 N NaOH용액으로 적정하여 산도(락트산%)를 구하였다.

Table 3. Composition of diluent and reducing solution

| Diluent | | Reducing solution | |
|----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|
| Ingredients | g | Ingredients | g |
| K ₂ HPO ₄ | 4.5 | CuSO ₄ | 60 |
| Na ₂ HPO ₄ | 6.0 | Tween 80 | 2 |
| L-Cysteine · HCl | 0.5 | 2N-H ₂ SO ₄ | 90 mL |
| Tween 80 | 0.05 | Distilled water | 6 mL |
| Agar | 1.0 | | |
| Distilled water | 1.0 L | | |

아세트산과 락트산 측정

밀가루 brew에서 bifidobacteria를 37°C에서 24시간 정지 배양한 배양액을 50 mL 용량 플라스크에 5.1356 g씩 취한 다음 0.01 N 황산용액 5 mL를 넣고, 5분 동안 균질화시켰다. 실온에서 방치후 상등액을 여과지로 걸러 20 µL를 HPLC (Waters, USA)로 분석하였으며, 이때 표준 용액은 0.02 M 아세트산과 0.0133 M 락트산을 사용하였다. 분석조건은 Aminex 87H (Biorad, 300×7.8 mm) 컬럼을 사용하였으며, 이동상은 40°C에서 0.01 N 황산용액을 0.5 mL/min의 속도로 흘려서 RI detector로 산을 검출하였다.

반죽의 파리노그래프 측정

파리노그래프(Brabender Co., Germany)는 AACC방법 54-21⁽⁶⁾에 따라 constant dough weight 법으로 분석하였으며, 300 g 밀가루(12% 건량기준)를 사용하고, 보울(bowl)의 온도가 30±0.2°C를 유지하도록 하였다. 밀가루를 1분 동안 1단으로 혼합하면서 밀가루 brew를 넣고 5분간 혼합한 후 25초 동안 물을 가하였다. 혼합하는 동안 벽면에 붙은 반죽을 긁어 내려 주면서 커브의 중앙이 500 B.U.에 도달할 때까지 흡수량을 조절하였다. 밀가루 brew는 37°C에서 16시간 배양한 것을 사용하였으며, 밀가루 brew의 첨가량은 10%, 20% 및 30%로 하였다.

반죽의 익스텐소그래프 측정

익스텐소그래프(Brabender Co., Germany)는 AACC방법 54-10⁽⁶⁾에 따라 분석하였으며, 300 g 밀가루와 6 g의 식염을 사용하였고, 물의 양은 파리노그래프 흡수량보다 2% 적게 하였다. 밀가루 brew를 첨가하여 5분간 혼합한 후 물을 넣은 다음 1분간 다시 혼합하였다. 혼합된 반죽을 5분간 방치하고, 다시 혼합하면서 커브의 중앙이 500 B.U.에 도달하도록 필요에 따라 흡수량을 조절하였다. 밀가루 brew첨가량은 앞에서와 같이 10%, 20% 및 30% 이었고, 반죽량은 constant dough weight로 하였다. 익스텐소그람은 반죽을 150±0.1 g으로 분할한 후, 라운더에서 20회 둥글리기를 하고 원통형으로 성형하여 30±2°C의 발효조에서 45분, 90분 및 135분 발효시킨 후 측정하였다. 신장도에 대한 저항도는 5 cm에서의 높이(B.U.)로 그리고 신장도는 커브의 전체길이(cm)로 표시하였다.

호화 특성

시료의 호화 양상은 Brabender Visco/amylo Graph (Brabender Co., Germany)를 이용하여 AACC 22-10의

방법⁶⁾으로 그 특성치를 분석하였으며, 시료(12%, 건량기준)를 증류수와 잘 혼합한 다음 30°C에서 95°C까지 1분간 1.5°C씩 승온시키고, 95°C에서 15분간 유지시킨 다음 다시 1분당 1.5°C의 속도로 50°C까지 냉각시키면서 점도 변화를 측정하였다. 밀가루 brew가 밀가루의 물리적 특성에 미치는 영향을 분석하기 위해 37°C에서 16시간 배양한 밀가루 brew를 10%, 20% 및 30% 씩 대체하였다. 아밀로그래프으로부터 호화 개시 온도(°C), 최고 점도(B.U.), 95°C에서의 점도 및 95°C에서 15분후의 점도를 구하였다. 호화 개시 온도는 초기 점도가 10 B.U.에 도달하는 온도로 나타내었다. 점도 붕괴도(break down)는 최고 점도와 15분 후의 점도 차이, set back은 냉각 점도(50°C에서의 점도)와 95°C에서의 점도와의 차이로부터 구하였다.

결과 및 고찰

밀가루 brew에서 bifidobacteria의 성장 곡선

밀가루 brew와 탈지분유배지에서 배양 중 생균수의 변화는 Fig. 1과 같다. 탈지 분유 배지에서 생균수는 초기 6.9×10^6 cfu/g에서 배양 8시간 까지 지속적으로 증가하여 1.3×10^8 cfu/g로 최대값을 보였고 그 후 배양시간이 길어짐에 따라 서서히 감소하여 배양 20시간 후에는 5.9×10^7 cfu/g로 변화가 없었다. 밀가루 brew에서는 초기 생균수는 1.8×10^6 cfu/g를 나타냈으며, 배양 12시간과 24시간에 각각 3.9×10^6 cfu/g와

2.1×10^6 cfu/g의 생균수를 보여 배양 24시간 동안 bifidobacteria균이 일정하게 유지되어 사멸되지 않는 것으로 나타났다.

bifidobacteria를 배양한 밀가루 brew의 pH 변화

Bifidobacteria의 배양 중 pH변화를 보면 탈지분유 배지의 경우 초기 6.5에서 배양 8시간까지 직선적으로 낮아졌으며, 그 이후에는 완만한 감소를 보여 배양 12시간에 4.13, 배양 24시간 후에는 3.81을 나타내었다. 밀가루 brew의 경우 pH는 초기 5.80에서 배양 4시간 후 5.51로 약간 감소하였으나, 배양 8시간 후에는 4.15로 급격히 낮아졌으며, 그 이후의 변화는 탈지분유 배지와 비슷한 경향을 보여 배양 12시간 후에 3.60, 배양 24시간 후에는 3.48를 나타내었다. 탈지분유 배지의 경우 pH감소는 생균수의 변화와 밀접한 관계를 보였다(Fig. 2). 즉, 생균수가 지수함수적으로 증가하는 배양 8시간까지 pH는 직선적으로 감소하였고, 그 이후 생균수가 서서히 감소하면서 pH도 완만히 낮아지는 경향을 보였다. 밀가루 brew의 경우 배양 12시간까지 생균수의 증가가 완만함에도 불구하고, pH는 배양 12시간까지 계속 낮아지고 그 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다. Bifidobacteria의 생균수는 배양 8시간에서 탈지분유배지에서 밀가루 brew보다 100 배정도 컸으나, pH는 오히려 탈지분유 배지가 높았다. 이러한 결과는 밀가루 brew보다 탈지분유 배지가 pH저하에

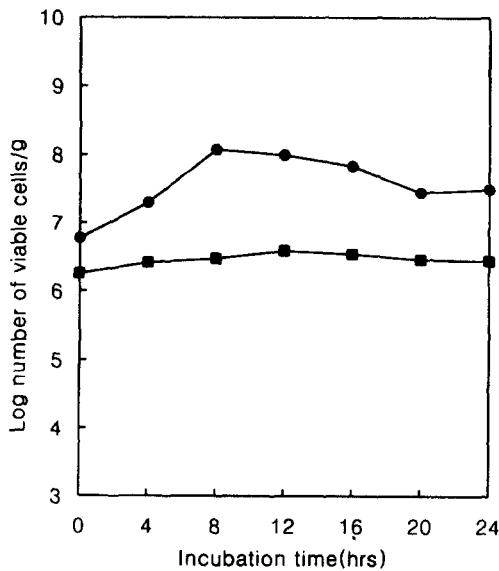


Fig. 1. Growth of *B. bifidum* in skim milk (●) and flour brew (■) at 37°C.

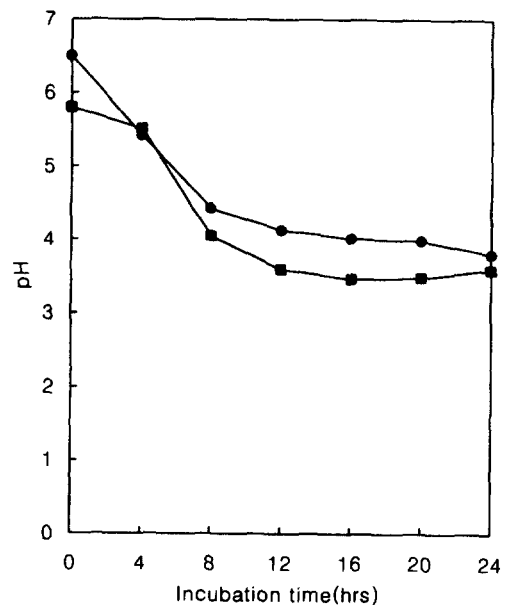


Fig. 2. Changes of pH by *B. bifidum* in skim milk broth (●) and flour brew (■) at 37°C.

대한 완충효과가 크기 때문으로 여겨진다. 김 등⁽⁷⁾은 젖산균을 이용하여 두유 제조시 대두분의 조성에 따라 pH에 차이가 생기는 것은 완충효과에 의한 것이라고 보고하였다.

bifidobacteria를 배양한 밀가루 brew의 적정산도 변화

탈지분유 배지의 경우 적정 산도 변화를 보면 초기 0.09에서 배양 12시간에 0.52로 큰 폭으로 증가하였으며, 그 이후에는 완만한 증량을 보여 배양 16시간에 0.53, 배양 24시간 후에는 0.59를 나타내었다(Table 4). 밀가루 brew 경우 적정산도는 초기 0.14에서 배양 12시간에 0.56, 배양 24시간 후에는 0.67을 나타내었다. Fig. 2에서와 같이 pH 감소 폭이 가장 컸던 12시간 배양에서 적정산도의 변화폭도 가장 컸으며, 그 이후는 완만한 증가를 나타내었다. 따라서, 이와 같은 pH 저하와 적정산도 증가경향으로 볼 때, 반유동체 배지인 밀가루 brew에서는 bifidobacteria가 공기와 접촉하고 있는 표층부에서는 생육이 어려우나 표층부 내부에서는 계속 성장하여 발효산물을 생성하는 것으로 예측된다. 한편 밀가루 brew에서 배양된 bifidobacteria의 생육을 확인하기 위하여 밀가루 brew에서 배양된 bifidobacteria를 광학현미경과 주사전자현미경으로 관찰한 결과 bifidobacteria의 전형적인 Y자, 돌출형, 간산형 등이 관찰되었다.(자료생략)

밀가루 brew에서 bifidobacteria와 효모와의 공생 효과

*B. bifidum*과 *S. cerevisiae*와의 공생 관계(symbiosis)를 검토하기 위하여 bifidobacteria와 효모를 1:1 (10^7 cfu/mL) 비율로 혼합하여 밀가루 brew에서 37°C, 24시간 배양시켰다. 생균수는 bifidobacteria를 단독 배양한 시험구와 *S. cerevisiae*와 혼합 배양한 시험구에서 배양 12시간까지는 단독배양구의 생균수가 약간 많아서, 혼

Table 4. Changes of titratable acidity in skim milk broth and flour brew

| Incubation at 37°C (hrs) | Titratable acidity (%) ¹⁾ | |
|-----------------------------|--------------------------------------|------------|
| | Skim milk broth | Flour brew |
| 0 | 0.09 | 0.14 |
| 4 | 0.15 | 0.16 |
| 8 | 0.32 | 0.35 |
| 12 | 0.52 | 0.56 |
| 16 | 0.53 | 0.59 |
| 20 | 0.55 | 0.66 |
| 24 | 0.59 | 0.67 |

¹⁾Titratable acidity in terms of lactic acid

합배양시 *B. bifidum*증식의 증가가 다소 억제되는 경향을 보였으나, 배양시간이 길어짐에 따라 *B. bifidum*을 단독 배양한 시험구와 *B. bifidum* 및 *S. cerevisiae*를 혼합 배양한 시험구 사이에 생균수의 차이가 없었다(Fig. 3). 이와 같은 현상은 배양초기에 밀가루에 내재되어 있는 단당류(포도당)의 양이 한정되어 있어 영양원에 대한 경합현상이 한시적으로 발생하나 배양시간이 길어짐에 따라(12시간 이상 배양) 전분 분해 효소의 활성이 증가되고, 단당류의 공급이 충분해지면서 이 현상이 극복되어 배양 16시간 이후에는 *B. bifidum* 단독 배양구와 생균수가 같아지는 것으로 추정된다. 따라서, 두 균을 혼합배양시 초기에는 영양원에 대한 경합이 한시적으로 발생하나 단독 배양시나 혼합 배양시에 산 생성량에는 큰 차이가 없음을 고려할 때(Fig. 4), 서로의 생육을 저해하는 길항작용은 적은 것으로 보여진다. 일반적으로 호기성균과 편성 혐기성균이 공존하면 전자가 먼저 생육하여 배지중의 용존 산소를 소비하기 때문에 산화 환원 전위가 낮아지고 이와 동시에 아미노산, 비타민 등을 생산하여 후자의 생육을 돕는다고 알려져 있다⁽⁸⁾.

밀가루 brew에서의 아세트산과 락트산 함량

*B. bifidum*을 각각 10^7 cfu/g로 접종한 각 배지에서 락트산 및 아세트산의 생성량은 Table 5와 같다. 일반

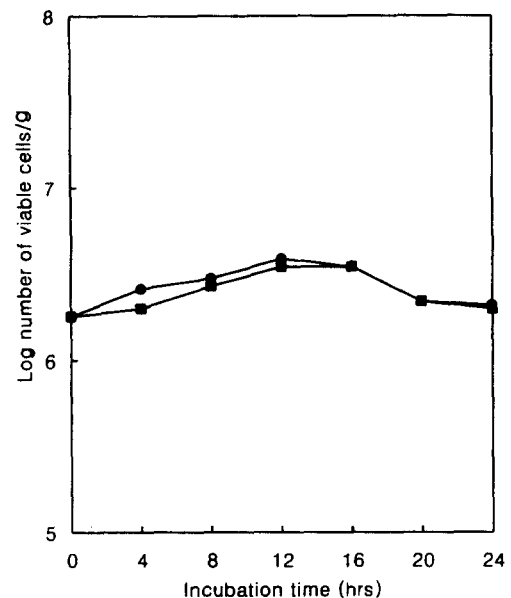


Fig. 3. Changes of viable cell count of *B. bifidum* during incubation with (■) and without (●) *S. cerevisiae* in flour brew at 37°C.

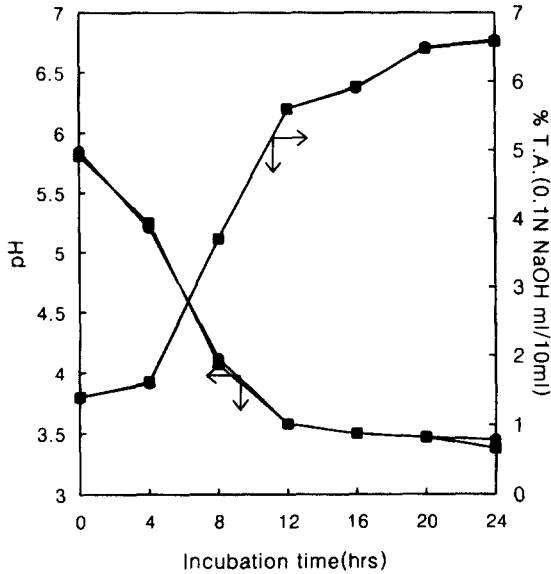


Fig. 4. Changes of pH and titratable acidity during incubation with (■) and without (●) *S. cerevisiae* in flour brew at 37°C.

Table 5. Acetic acid and lactic acid production by *B. bifidum* at various medium during 24 hrs incubation at 37°C

| Medium | Acetic acid (mg/g) | Lactic acid (mg/g) |
|---|--------------------|--------------------|
| Flour brew | 0.53 | 0.77 |
| Flour brew ¹⁾ + <i>S. cerevisiae</i> | 0.52 | 0.75 |
| Skim milk broth | 0.77 | 0.55 |

¹⁾10⁷ cfu/mL of *S. cerevisiae* is added to flour brew

적으로 bifidobacteria의 경우 포도당을 분해하여 아세트산:락트산의 몰비가 3:2가 되도록 유기산을 생성하는 것으로 알려져 있으며 이 유기산들은 배양시간에 따라 증가한다. 본 실험에서도 탈지분유배지에서 배양한 경우는 아세트산:락트산의 몰비가 약 3:2정도 되는 것으로 밝혀졌다(Table 5). 밀가루 brew는 탈지분유 배지에 비해 락트산의 함량이 높는데, 이것은 bifidobacteria의 발효 이외에 밀가루 속에 내재되어 있는 정상발효 및 이상발효 젖산균인 *Lactobacillus* sp.의 존재 때문으로 보고 되고 있는데⁹⁾, 본 실험에서도 밀가루 brew는 탈지분유 배지의 락트산 함량보다 약 1.4 배의 락트산이 더 생성되어 유사한 결과를 보였다. 한편, 밀가루 brew와 밀가루 brew에 *S. cerevisiae*를 동량 혼합한 시험구의 아세트산 및 락트산 생성량을 비교해 보면 전자의 경우 아세트산 생성량이 0.53 mg/g, 락트산 생성량이 0.77 mg/g이었고, 후자의 경우는 아세트산 생성량이 0.52 mg/g, 락트산 생성량이 0.75

mg/g로 나타나 큰 차이가 없음을 보였다. 이 결과는 두 균 사이에 공생효과가 없었다(Fig. 3)는 실험결과와 pH 및 적정산도(Fig. 4)에서 차이가 없었다는 결과와 비슷한 경향을 나타내고 있다.

밀가루 brew 첨가가 반죽의 리올로지 성질에 미치는 영향

파리노그램 특성: 밀가루 brew의 첨가량에 따른 파리노그램은 Fig. 5와 같고, 흡수율 안정도 및 반죽시간의 변화는 Fig. 6과 같다. 원료 밀가루의 흡수율은 68.8% 이었으나 밀가루 brew를 10% 첨가한 경우는 68.0%, 20%인 경우는 66.5%, 그리고 30%인 경우는 59.0%로 흡수율은 첨가 비율이 증가함에 따라 감소하였다. 안정도는 원료밀가루의 경우 24.5분에서 밀가루 brew 10% 첨가시에 22분에서, 20% 첨가시에는 16분, 그리고 30% 첨가시에 8분을 나타내어 급격한 변화를

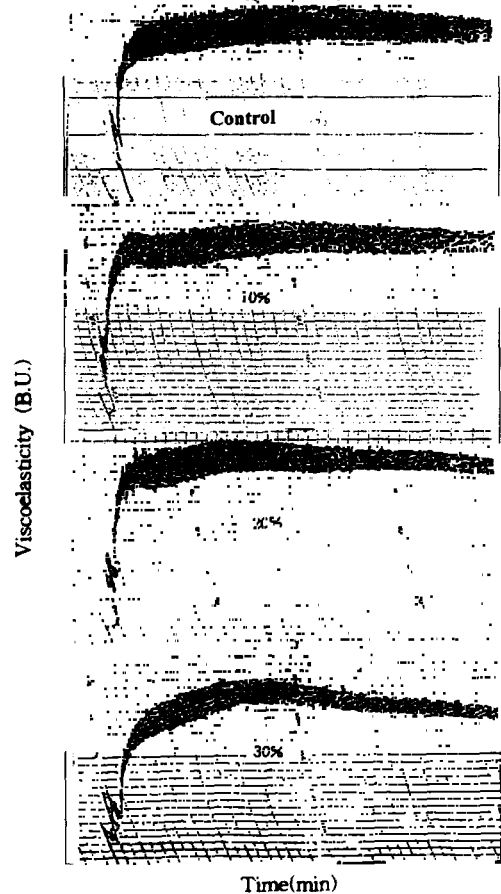


Fig. 5. Farinograms of wheat flour at various added levels of flour brew.

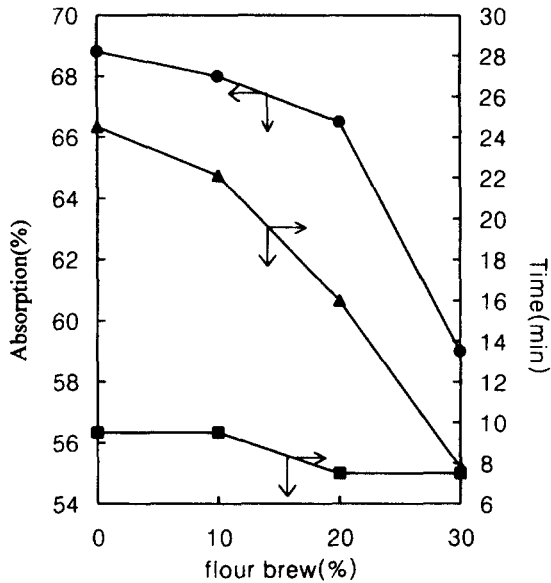


Fig. 6. Effect of various added levels of flour brew on absorption (■), stability (▲) and peak time (●) of wheat flour.

보였다. 반죽시간은 10% 첨가시에 원료밀가루와 같은 9분을 나타냈으나, 20% 첨가시에는 7.5분을 나타내어 감소하였고, 그 이후 첨가량에서는 변화를 보이지 않았다. Tanaka 등⁽¹⁰⁾은 산과 소금은 밀가루 반죽의 신장에 대한 저항도를 증가시켜 밀가루의 흡수율을 감소시키며, pH가 감소함에 따라 반죽은 불완전해지며 혼합시간이 짧아지는 데, 이는 용해성 단백질량이 증가되기 때문이라고 하였다. 본 실험에서도 대조구와 30% 첨가구를 비교할 때 안정도와 반죽시간이 급격히 감소한 것은 pH가 각각 5.6과 5.1로 차이를 보여 안정도 및 반죽시간에 영향을 미친 것으로 생각된다. 이러한 결과는 pH 증가에 따라 믹소그래프의 반죽시간과 안정도는 증가한다고 보고한 Hoseney 등⁽¹¹⁾의 결과와도 유사하였다. 한편, Tsen 등⁽¹²⁾에 의하면 밀가루는 큰 단백질 입자로 구성되어 있으며 수화(hydration)되면서 연속상의 글루텐필름을 형성할 수 있는 작은 단위의 단백질로 나누어지게 된다. 이와 같은 단백질의 분

Table 6. Farinogram data on wheat flour at various added levels of flour brew

| | Flour brew (%) | | | |
|-------------------------|----------------|------|------|------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 |
| Tolerance index (B.U.) | 20 | 20 | 30 | 60 |
| Valorimeter value | 80 | 80 | 74 | 68 |
| Arrival time (min) | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 3.0 |
| Departure time (min) | 27.0 | 24.5 | 19.5 | 12.0 |
| Time to breakdown (min) | 21.5 | 21.0 | 18.5 | 12.0 |

리 현상은 믹서에서 형성되는 전단효과와 같은 물리적 작용이나 시스테인, 글루타치온 등과 같은 환원성 물질에 의해 -SS-결합을 -SH 기와 상호 교환함으로써 일어난다고 하였다. 한편, 파리노그램의 다른 특성 값들도 밀가루 brew의 첨가량이 증가함에 따라 감소하였다(Table 6). Tolerance Index의 경우는 대조구 및 10% 첨가구에서 각각 20을, 20% 첨가구에서 30을 나타내어 밀가루의 강도가 강력분의 범위안에 들어갔으나, 30% 첨가구에서는 60을 나타내어 준강력분에 가까운 성질을 보였으며, 이와 같은 경향은 파리노그램 형태에서도 잘 나타나 있다. 출발시간의 경우에도 대조구는 27분을 나타냈으나 밀가루 brew의 첨가량이 10%, 20% 및 30%로 증가함에 따라 24.5분, 19.5분 및 12.0분을 나타내어 밀가루 강도가 급속히 감소함을 보여주었다. 이와 같은 밀가루의 물리적 성질의 변화는 반죽시간이나 발효시간을 단축하기 위해 사용하는 제빵개량제와 비슷한 특성을 나타내었다.

익스텐소 그람 특성

원료 밀가루의 익스텐소 그람에 대한 data 및 R/E 값은 Table 7 및 Fig. 7과 같다. 대체로 밀가루 brew의 첨가량이 증가함에 따라 저항성은 증가하였으며, 신장성은 감소하였다. 한편 10% 첨가량에서는 거의 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으며, 이는 파리노그램의 결과와 일치하였다. 또한, 저항성의 증가와 신장성이 감소한 반죽의 물성 변화는 발효 시간을 단축할 수 있음을 의미하며, 이는 실제 제빵시에 양호한 결과를 줄 것으로 예상된다. 발효 중에 일어나는 반죽의

Table 7. Extensogram data on wheat flour at various added levels of flour brew

| Flour brew (%) | Resistance (B.U) | | | Extensibility (cm) | | |
|----------------|------------------|--------|---------|--------------------|--------|---------|
| | 45 min | 90 min | 135 min | 45 min | 90 min | 135 min |
| 0 | 190 | 210 | 265 | 18.0 | 18.3 | 17.9 |
| 10 | 200 | 240 | 290 | 17.9 | 18.0 | 16.3 |
| 20 | 245 | 340 | 355 | 16.7 | 16.0 | 14.9 |
| 30 | 290 | 350 | 350 | 15.9 | 14.0 | 13.2 |

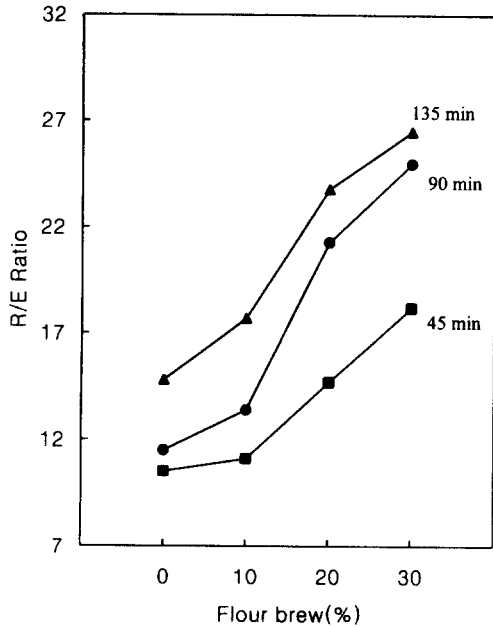


Fig. 7. Effect of various added levels of flour brew on R/E ratio.

리올로지 성질의 변화는 단백질 분해 효소, 발효 부산물 및 수소이온 농도와 관련이 있으며, 이 중에서도 수소이온 농도의 역할이 크다. 즉, pH의 감소는 글루텐의 수화와 팽윤, 효소 반응 속도 및 유기산이 관여하는 여러 화학반응에 상당히 큰 영향을 미친다⁹⁾. Elkassabany 등⁽¹³⁾은 아스코르브산 등과 같은 산화제는 반죽의 R/E를 증가시킨다고 보고하였고, 발효 과정 중 효모가 반죽의 리올로지에 미치는 영향을 여러 측면에서 산화제의 역할과 비슷하다고 알려져 있다. 본 실험에서도 밀가루 brew의 첨가량이 증가 할수록 저항성이 증가되고 신장성이 감소되어 R/E비율이 대조구에 비해 30% 첨가구에서 발효 45분, 90분 및 135분에서 모두 약 2배 이상 큰 폭으로 증가되었다(Fig. 7).

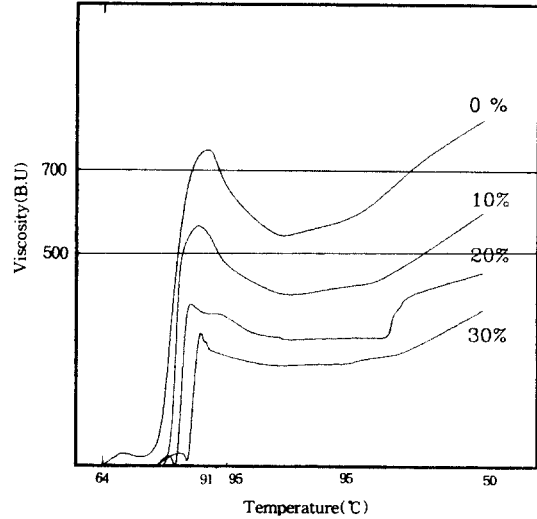


Fig. 8. Effect of the addition of flour brew to wheat flour on amylograms.

호화 특성

밀가루 brew의 첨가량에 따른 아밀로그람은 Fig. 8과 같고 이들로 부터 해석한 각 파라미터의 값은 Table 8과 같다. 호화 개시 온도는 첨가량에 따라 상이하여 대조구에서 64.0°C, 10% 첨가량에서 71.5°C, 20% 첨가량에서 76.0°C로 증가하다가 30% 첨가량에서는 76°C로 변화가 없었으며, 최고 점도는 10% 첨가량에서 89.0°C, 20% 이상 첨가량에서는 90.0°C를 나타내어 대조구의 91.0°C보다 감소하였다. 밀가루 속에 내재되어 있는 α-아밀라아제의 활성 정도를 나타내는 최고점도는 원료 밀가루 보다 첨가량에 따라 낮아져서 아밀라제의 활성이 다소 증가함을 시사하였다. Silberstein의 연구^(14,15)에 의하면 α-아밀라아제가 최대 활성을 나타내는 산도는 곡물 α-아밀라아제의 경우 4.75~5.4 정도 라고 하는데, 밀가루 brew의 첨가량이 증가함에 따라 반죽의 pH가 10%첨가시에 5.5, 20% 첨가시에 5.4, 그

Table 8. Amylogram data on wheat flour at various added levels of flour brew

| Characteristics | Flour brew (%) | | | |
|---|----------------|------|------|------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 |
| Gelatinization temp. (°C) | 64.0 | 71.5 | 76.0 | 76.0 |
| Temp. at peak height (°C) | 91.0 | 89.0 | 90.0 | 90.0 |
| Max. viscosity [P] | 760 | 585 | 405 | 310 |
| Viscosity at 95°C (B.U) | 710 | 530 | 400 | 300 |
| Viscosity at 95°C after 15 min. (B.U) [H] | 580 | 435 | 320 | 250 |
| Viscosity at 50°C [C] (B.U) | 870 | 640 | 480 | 380 |
| Break down (B.U) [P-H] | 180 | 150 | 75 | 60 |
| Set back (B.U) [C-P] | 110 | 75 | 75 | 70 |

리고 30% 첨가시에 5.2로 감소하여 α -아밀라아제가 최대 활성을 나타낼 수 있는 pH 범위에 들어가므로서, α -아밀라아제의 활성이 극대화 되고 이에 따라 최고 점도가 감소 한 것으로 예측된다. 최고 점도[P]와 hot paste viscosity [H]는 전분 입자의 팽윤 정도나 열이나 전단(shear force)에 대한 팽윤된 입자의 저항정도를 나타내며, 그 차이인 break down[P-H]은 팽윤된 입자가 붕괴되기 쉬운 정도를 나타낸 것인데, 첨가량이 증가할수록 이 break down값이 감소하여 팽윤된 입자의 붕괴가 어려워지는 것으로 나타났다⁽¹⁶⁾. 그리고 냉각점도[C]와 set back [C-P]값은 전분의 노화 정도를 반영하여 큰 값일수록 노화되기 쉬운 경향을 보인다고 하는데⁽¹⁷⁾, 냉각점도와 set back값은 밀가루 brew의 첨가량이 증가하면서 감소하는 경향을 보여 밀가루 brew의 사용으로 인해 노화가 지연될 수 있음을 시사하였다. 아밀로그람의 점도는 전분입자의 팽윤도와 팽윤된 전분 입자의 열과 전단에 대한 저항도^(18,19), 가열된 입자로부터 용출된 가용성 전분의 존재^(20,21), 그리고 팽윤된 입자끼리의 상호 작용 또는 응집성 등⁽²²⁾에 따라 좌우된다. 특히 전분 입자의 팽윤 정도는 전분 현탁액의 pH에 의해서 크게 영향을 받으므로서 호화 개시 온도는 크게 지연된다는 보고는 본 실험결과와 유사하였다⁽²³⁾(Table 8).

요 약

*Bifidobacterium bifidum*을 빵에 첨가하므로서 경제적으로 빵의 품질을 향상시킬 목적으로 밀가루 brew에 접종한 후 배양시키면서 반죽의 리올로지 성질, 성장곡선, 산 생성량 및 효모와의 공생관계에 미치는 영향을 검토하였다. 밀가루 brew에서의 bifidobacteria 성장은 초기접종량 이상 증가되지 않고, 배양 24시간 동안 일정하게 유지되었다. 밀가루 brew에서 pH는 배양 12시간까지 계속 감소되었고 적정산도는 증가하였다. 밀가루 brew에서 배양된 bifidobacteria와 효모와의 공생효과는 적은 것으로 나타났다. 한편, 밀가루 brew에서 탈지분유 배지와는 달리 아세트산 보다 락트산이 더 많이 생성되었다. 밀가루 brew첨가가 반죽의 리올로지 성질에 미치는 영향을 보면, 파리노그램에서 밀가루 brew의 첨가량이 증가 할수록 원료 밀가루의 흡수율, 안정도 및 반죽시간이 감소하였다. 익스텐소그램에서도 첨가량이 증가함에 따라 저항성이 증가되고 신장성이 감소하여 R/E 비율이 증가되었으며, 동일 발효시간에서 약 2배의 증가율을 보였다. 이와 같은 반죽의 물성 변화는 발효시간을 단축할 수 있음을 의미

한다. 호화특성에서는 밀가루 brew의 첨가량이 증가할수록 최고 점도는 급격히 낮아졌으며, 전분의 결정성과 관련이 있는 break down값 및 set back 값이 감소하여 첨가량이 증가함에 따라 노화가 지연될 수 있음을 시사하였다.

문 헌

1. Rhee, S.K.: The effect of lactic ferments(barm) for bread making (in Korean). *Ansung National University*, 27, 311-326 (1995)
2. Sugihara, T.F. and Kline, L.: Microorganism of the San Francisco sour dough process. I. yeast responsible for the leavening action. *Appl. Microbiol.*, 21, 456-458 (1971)
3. Galal, A.M., Johnson, J.A. and Varriano-Marston, E.: Lactic acid volatile (C_2 - C_5) organic acids of Sanfrancisco sourdough french bread. *Cereal Chem.*, 55, 461-468 (1977)
4. Hunter, I.R., Walden, M.K. and Kline, L.: The acetic acid content of sour French bread and dough as determined by gas chromatography. *Cereal Chem.*, 47, 189-194 (1970)
5. Kang, K.H.: Foods of lactic acid bacteria. In utilization of Bifidobacteria, Sungkyunkwan University Press, Seoul, p. 256-257 (1990)
6. A.A.C.C.: Approved Method of the AACC, 8th ed., American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, U.S.A. (1983)
7. Kim, K.H. and Ko, Y.T.: Study on growth and acid production by lactic acid bacteria (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 19, 151-155 (1987)
8. Kimuko, M., Murami, S. and Takahashi, K.: The effect of Bifidobacterium U-17 on the production of H_2O_2 and on its growth (in Japanese). *Japanese Agro. livestock chem.*, 59, 589-594 (1985)
9. Pyler, E.J.: Baking Science and Technology. In physical and chemical test methods, Sosland Publishing Co., Merrian Kansas, Vol. 2, p. 891-895 (1979)
10. Tanaka, K., Furukawa, K. and Matsumoto, H.: The effect of acid and salt on the farinogram and extensogram of dough. *Cereal Chem.*, 44, 678-683 (1967)
11. Hoseney, R.C. and Brown R.A.: Mixograph studies. V. Effect of pH. *Cereal Chem.*, 60, 124-129 (1983)
12. Tsen, C.C.: Effects of oxidizing and reducing agents on change of flour during mixing. *Cereal Chem.*, 46, 435-437 (1969)
13. Elkassabany, M. and Hoseney, R.C.: Ascorbic acid as an oxidant in wheat flour dough. II. rheological effects. *Cereal Chem.*, 57, 88-92 (1980)
14. Silberstein, O.: Heat-stable bacterial α -amylase in baking. *Bakers Digest.*, 38, 66-69 (1964)
15. Silberstein, O.: Enzymes in the baking industry. *Bakers Digest.*, 35, 44-50 (1961)
16. Bhattacharya, K.R. and Sowbhagya, C.M.: Pasting behavior of rice, a new method of viscosography. *J. Food Sci.*, 44, 797-800 (1979)
17. Leelavath, K. and Indiani, D.: Amylograph pasting behavior of cereal and tuber starches. *Stärke*, 39, 378-385 (1987)

18. El Faki, H.A., Desikachar, H.S.R., Paramahans, S.V. and Tharanathan, R.N.: Physicochemical characteristics of starches from chick pea, cow pea and horse gram. *Stärke*, **35**, 118-124 (1983)
 19. Schoch, T.J. and Maywald, E.C.: Preparation and properties of various legume starches. *Cereal Chem.*, **45**, 564-570 (1968)
 20. Miller, B.S., Derby, R.I. and Trimbo, H.B.: A pictorial explanation for the increase in viscosity of a heated wheat starch-water suspension. *Cereal Chem.*, **50**, 271-278 (1973)
 21. Allen, J.E., Hood, L.F. and Chabot, J.F.: Effect of heating on the freeze-etch ultrastructure of hydroxy propyl distarch phosphate and unmodified tapioca starches. *Cereal Chem.*, **54**, 783-787 (1977)
 22. Leach, H.W.: Starch chemistry and technology. In gelatinization of starch, Academic Press, New York, Vol. 1, p. 289-294 (1969)
 23. Kim, D. H.: Food Chemistry. In gelatinization, staling and dextrinization of starch, Tam Ku Dang, Seoul, p. 289-294 (1988)
-

(1998년 3월 13일 접수)