

## Bifidobacterium에 의한 당근발효

박소영 · 고영태\* · 이주연\*\* · 목철균\*\* · 박종현\*\*\* · 지근억  
한림대학교 식품영양학과, 덕성여자대학교 식품영양학과\*,  
경원대학교 식품가공학과\*\*, 한국식품개발연구원\*\*\*

### Fermentation of Carrot Juice by *Bifidobacterium*

So-Young Park, Young-Tae Ko\*, Joo-Yeon Lee\*\*, Chulkyoon Mok\*\*,  
Jong-Hyun Park\*\*\* and Geun-Eog Ji

Department of Food Science and Nutrition, Hallym University

\*Department of Food Science and Nutrition, Duksung University

\*\*Department of Food Science and Technology, Kyungwon University

\*\*\*Korean Food Research Institute

#### Abstract

In the present study, characterization of fermented carrot juice by *Bifidobacterium* was performed. When inoculated at the level of  $10^6$  CFU/mL with various *Bifidobacterium* strains, cell growth of *B. longum*, *B. adolescentis* and *B. infantis* reached more than  $10^8$  CFU/mL. On the other hand, *B. bifidum* strains reached less than  $10^8$  CFU/mL. Compared with carrot, grape juice did not allow the growth of *Bifidobacterium*, while peach juice and orange juice were as good as carrot for the growth of *Bifidobacterium*. On mixed culture with *Lactobacillus*, growth of *Bifidobacterium* decreased and cell death rate increased considerably. On panel test, *Bifidobacterium* cultured-carrot juice showed high score on sensory test than non-fermented carrot. Therefore, fermentation may lead to the quality improvement of carrot juice by combining health-promoting effect of *Bifidobacterium* and high nutrition value of carrot.

Key words: fermentation, carrot, *Bifidobacterium*

#### 서 론

젖산균을 이용하여 식품을 발효시키는 기술은 오래 전부터 널리 행하여져 왔다. 특히, 요구르트 등의 유제품과 김치 등은 젖산 발효를 이용하는 대표적인 식품으로서 널리 식용되고 있으며, 젖산 발효는 식품의 저장기간을 연장시키거나 영양 및 풍미를 증진시키는 수단으로 여러 식품의 제조에 적용되고 있다. 당근은 각종 비타민과 무기물과 같은 영양소가 풍부한 채소로서, 당근에 6~10 mg%의 양으로 함유된 적색 또는 황색의 카로틴은 체내에 흡수되었을 때 약 30%가 비타민 A로 변하는 것으로 알려져 있다<sup>(1)</sup>. 그러나, 당근은 당도와 산미가 사과, 딸기, 포도와 같은 과일보다 낮기 때문에 관능적으로 우수하지 못하여 그 자체로서는 널리 식용되고 있지 않다. 이와 같은 단점을 보

완하고 당근의 식품적 가치를 향상시키는 한 방법으로서 당근을 재료로 젖산 발효를 시킴으로써 당근의 관능성을 개선하고 영양적 가치를 높인 발효식품을 얻기 위한 연구가 행하여져 왔다. 橋本光冬 등<sup>(2)</sup>은 당근을 마쇄한 주스를 농축한 후 젖산균과 효모로 발효 시킴으로써 관능성과 보존성을 향상시켰음을 발표하였다. 위와같이 대부분의 연구자들이 당근 발효균주로 *Lactobacillus*와 효모 등을 이용하였는데 비하여 본 연구에서는 최근에 활용범위가 넓어지고 있는 *Bifidobacterium*을 이용하여 당근발효에 관한 연구를 실시하였다. *Bifidobacterium*은 유아의 장내세균중 가장 우세한 균종이고 나이가 증가하며 점차 줄어들지만 *Lactobacillus*에 비하여 대장에서의 건강 생리에 미치는 영향이 매우 중요하다<sup>(3,5)</sup>. 특히, *Bifidobacterium*은 주요 발효 산물로 acetate와 lactate를 생산하여 유해 병원균의 장내증식을 제어하고, 암모니아, 페닐성 물질, 세균성 독소 등의 장내 생산을 감소시키는 것으로 알려져 있어 요구르트, 정장 캡슐, 젖산균 식품 등의

Corresponding author: Geun Eog Ji, Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

제조에 널리 이용되고 있다<sup>(6-8)</sup>. 본 연구에서는 당근쥬스에서 *Bifidobacterium*이 양호하게 성장하며 관능의 개선이 이루어지는 결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 배양

본 실험에 사용한 *B. longum* ATCC 15707, *B. adolescentis* ATCC 15703, *B. bifidum* ATCC 29521, *B. infantis* ATCC 15697, *L. acidophilus* ATCC 4356, *Streptococcus thermophilus* ATCC 19258 등은 ATCC (American Type Culture Collection)으로부터 분양받았고 *B. adolescentis* Int-57, *B. longum* BGN3, *B. bifidum* BGN4 등은 본 연구실에서 분리 보관되어 있는 균주이다. 보존용 배지는 일반적으로 Brain Heart Infusion (BHI) 배지를 사용하였고 혐기성 배양은 Microprocess-controlled anaerobic chamber (Lab-Line Instruments, Inc., USA)를 사용하여 수행하였다<sup>(10-12)</sup>.

### 야채와 과일의 발효용 쥬스 제조

당근, 사과, 포도, 오렌지, 복숭아, 배추, 오이 등을 수세하고 껍질을 벗긴후 분쇄기를 사용하여 마쇄하였다. 마쇄물을 100°C에서 1분간 중탕처리하여 블랜칭한 후 균질기를 이용하여 균질화하였다. 균질화물을 여과하여 고형분을 제거하고 얻어진 쥬스액을 NaOH 용액을 사용하여 pH 7.0으로 조정된 후 혼합가스(95% N<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>)를 분사시켜 혐기적 상태로 조정하였다. Press tube에 상기 쥬스액을 넣고 90°C에서 5분간 열처리 한 뒤 BHI배지에서 12시간 자란 *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* 등의 균주를 1~5×10<sup>6</sup> CFU/mL 수준으로 접종하고 37°C에서 배양하였다.

배양중의 생균수를 측정하기 위하여는 배양액 시료를 혐기성 용액에 십진적 희석을 한 후 비선택배지인 BL (Eiken, Japan)과 *Bifidobacterium* 계수용 TP, *Lac-*

*tobacillus* 계수용 LBS (Difco Co., Ltd., USA), *Streptococcus* 선택배지인 TATAC 배지(Eiken, Japan)에 각각 도말하여 37°C에서 혐기적으로 2일 배양한 뒤 계수하였다<sup>(9-11)</sup>.

### 총산도 및 pH측정

발효액 10 mL를 0.1 N NaOH로 중화적정하여 이때 소비된 NaOH용액의 mL수를 총산도로 표시하였다. pH는 Corning pH meter (Ionanalyzer model 255, USA)로 측정하였다.

### 관능검사

당근발효액의 관능검사는 관능검사원들의 기호 척도법에 따라 9점 평점법으로 (9=아주좋다, 5=보통이다, 1=아주나쁘다) 평가하여 1단계의 채점으로 하였다. 발효액의 향과 맛 그리고 종합적인 기호도를 배양시간별로 평가하였다.

## 결과 및 고찰

### *Bifidobacterium*의 종류별 배양

당근 쥬스액에 *B. longum* ATCC 15707, *B. adolescentis* ATCC 15703, *B. bifidum* ATCC 29521, *B. infantis* ATCC 15697 등의 표준 균주와 본 실험실에서 분리되어 보관중인 *B. longum* BGN3 및 *B. adolescentis* Int-57 균주를 접종하여 36시간까지 발효하였다 (Table 1). 본 실험조건에서 12시간 간격으로 조사하였을 때 24시간 배양에서 균의 생균수가 가장 높았고 36시간 배양에서는 생균수의 숫자가 일반적으로 줄어 들었다. 조사된 균주들 중 *B. longum*, *B. adolescentis* 및 *B. infantis* 등의 성장이 양호하였고 *B. bifidum* 균주는 성장이 저조하였다. 이는 *B. bifidum*의 발효성 당의 종류의 숫자가 적은 것에 기인한 것이라고 생각된다<sup>(9)</sup>. *Bifidobacterim*의 증식능력은 원료에 따라 다른 양상을

Table 1. Change of the viable cell numbers (CFU/mL) during fermentation of carrot juice with different *Bifidobacterium* strains

Strains	Fermentation Time (hr)			
	0	12	24	36
<i>B. longum</i> ATCC 15707	2.3×10 <sup>6</sup>	1.2×10 <sup>8</sup>	5.4×10 <sup>8</sup>	2.2×10 <sup>8</sup>
<i>B. longum</i> BGN3	1.5×10 <sup>6</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	4.5×10 <sup>8</sup>	3.0×10 <sup>8</sup>
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	3.0×10 <sup>6</sup>	1.0×10 <sup>8</sup>	4.7×10 <sup>8</sup>	3.7×10 <sup>8</sup>
<i>B. adolescentis</i> Int-57	1.9×10 <sup>6</sup>	2.1×10 <sup>8</sup>	4.3×10 <sup>8</sup>	2.3×10 <sup>8</sup>
<i>B. bifidum</i> ATCC 29521	3.2×10 <sup>6</sup>	1.5×10 <sup>7</sup>	7.7×10 <sup>7</sup>	4.0×10 <sup>6</sup>
<i>B. bifidum</i> BGN4	2.6×10 <sup>6</sup>	8.2×10 <sup>6</sup>	1.5×10 <sup>7</sup>	8.1×10 <sup>6</sup>
<i>B. infantis</i> ATCC 15697	2.0×10 <sup>6</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	2.1×10 <sup>8</sup>	1.5×10 <sup>8</sup>

보인다. 우유의 경우에는 *B. longum*, *B. bifidum*들의 증식이 양호하고 *B. adolescentis*의 증식은 저조한 것으로 알려져있다<sup>(12)</sup>. 본 실험에서 조사된 바에 의하여 당근에서의 증식이 양호한 *B. longum*과 *B. adolescentis* 중에서 현재 상업적 *Bifidobacterium* 균주로 널리 사용되는 *B. longum* 중에서 표준균주인 *B. longum* ATCC 15707을 이용하여 다음 실험을 진행하였다.

#### 과일과 채소의 종류에 따른 발효

*Bifidobacterium*의 배양을 당근이외에 다른 종류의 과일과 야채를 원료로 배양하여 조사하였다(Table 2). 당근, 복숭아, 오렌지 등에서 20시간 후 균수의 증가가  $5 \times 10^8$  수준으로 거의 동일하였다. 오이와 사과에서는 약  $10^8$ 수준으로 배양되었다. 배추에서는  $5 \times 10^7$ 수준으로 배양되었고 포도에서는 균의 성장이 관찰되지 않았다. *Bifidobacterium* 배양이 양호한 원료에서 산도가 많이 증가하였고 pH저하가 현저하였다. 포도에서는 배양후 pH가 6.5정도로 되었고 산도도 0.22에 불과하여 포도에서 *Bifidobacterium*이 증식하지 않아 pH와 산도의 변화가 미약한 것으로 생각된다. 배추와 오이에 *Bifidobacterium*을 배양한 경우는 풍미가 현저히 저하하여 불쾌한 냄새를 내었다(data not shown). 사과, 오렌지, 복숭아 등에서는 *Bifidobacterium*의 균수 증가는 있었지만 원래 원료의 좋은 관능성을 더 이상 증가시키지는 못하였다(data not shown). 특히, 이들 과일의 경우 *Bifidobacterium*의 배양을 위하여 NaOH를 이용하여 pH를 중성으로 조정한다는 것은 관능저하의 요인이 될 수 있으며 제조 과정의 복잡성이 증가되는 요인이 되기 때문에 바람직하지 않은 측면이 있다. 그러나 당근은 원료 자체가 거의 중성에 가깝기 때문에 pH의 조정이 불필요할 수 있고 발효에

의하여 산미가 가하여져 당근 자체보다 관능의 증진의 개선이 되고 또한 유익한 *Bifidobacterium* 균주를 보유하여 식품 기능성이 증진되어 조사된 원료중 *Bifidobacterium* 배양 원료로 가장 적합하다고 할 수 있다.

#### 부원료 첨가에 의한 당근 발효

당근 주스에 ascorbic acid (0.05%), L-cysteine·HCl (0.05%), yeast extract (0.2%), 두유(10%), 탈지분유(10%), 사과 주스(10%) 등을 첨가한 상태에서 *Bifidobacterium* 발효를 실시하였다(Table 3). 첨가된 재료 모두 *Bifidobacterium* 균수의 증가에 기여하였는데 발효 12시간만에 균의 수가  $10^8$ 까지 되는 좋은 생육을 보여 주었다. 이들 재료 중에서 ascorbic acid 및 cysteine을 첨가한 경우에 ascorbic acid 보다는 cysteine을 첨가한 경우에 균체수의 증가가 더 잘 되었고 균의 성장 개시를 앞당기는 것으로 나타났다. 두유나 탈지분유를 첨가한 경우에는 발효액의 물성이 더욱 안정화되었고 사과를 첨가한 경우에는 관능성의 증진이 관찰되었다(data not shown).

#### *Bifidobacterium* 배양에 의한 관능의 변화

향은 발효가 진행되면서 발효하지 않은 대조구의 당근액보다 훨씬 향상되었다. 단냄새는 약간의 감소 경향을 보여 주었지만 신냄새는 향상된 현상을 보여 주었다. *B. longum* ATCC15707은 대수기 중기 이후에 많이 개선되어 신냄새가 미발효 당근액의 2.0에서 6.7로 높아졌고 *B. longum* BGN3도 같은 경향을 보여 주었다. *B. bifidum* BGN4의 발효액 향도 많이 개선되었으나 대수기 후기에 주로 이루어졌다. 그리고 발효되지 않은 당근액보다 발효가 진행되면서 맛향상이 이루어졌는데 특히 *B. longum* BGN3은 대수기 후기에 신맛에 대한 관능평가가 점수가 5.7을 보이는 좋은 효과를 보였다. 전체적인 기호도는 발효하지 않은 당근액보다 3종의 bifidobacteria에 의한 발효액이 더 좋은 점

**Table 2. Growth of *B. longum* ATCC 15707 during fermentation of various fruits and vegetables**

Raw materials	Viable cell counts <sup>1)</sup>	pH <sup>2)</sup>	Titrateable acidity <sup>2)</sup>
Carrot	$4.7 \times 10^8$	4.3	1.0
Grape	$1.5 \times 10^6$	6.5	0.2
Apple	$2.5 \times 10^7$	5.0	0.3
Orange	$5.2 \times 10^8$	4.3	1.0
Peach	$6.5 \times 10^8$	4.2	1.0
Chinese cabbage	$6.2 \times 10^7$	5.4	0.3
Cucumber	$1.9 \times 10^8$	4.6	0.9

<sup>1)</sup>Cells were inoculated with  $3 \times 10^6$  CFU/mL and incubated for 24 hrs. Then, viable cell numbers were counted as described in the Materials and Methods.

<sup>2)</sup>pH and titrateable acidity were measured after 30 hour fermentation as described in the Materials and Methods.

**Table 3. Effect of adding various ingredients on the growth (CFU/mL) of *B. longum* ATCC 15707 during fermentation of carrot juice**

Materials added	Fermentation time (hr)			
	0	12	24	36
Control (carrot only)	$3 \times 10^6$	$3.9 \times 10^8$	$5.2 \times 10^8$	$2.5 \times 10^8$
+0.05% ascorbic acid	$3 \times 10^6$	$5.4 \times 10^8$	$6.8 \times 10^8$	$2.2 \times 10^8$
+0.05% L-cysteine.HCl	$3 \times 10^6$	$7.8 \times 10^8$	$4.9 \times 10^8$	$1.5 \times 10^8$
+0.2% yeast extract	$3 \times 10^6$	$4.9 \times 10^8$	$7.0 \times 10^8$	$3.7 \times 10^8$
+10% soy milk	$3 \times 10^6$	$5.7 \times 10^8$	$7.5 \times 10^8$	$4.5 \times 10^8$
+10% skim milk	$3 \times 10^6$	$5.2 \times 10^8$	$9.0 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$
+10% apple juice	$3 \times 10^6$	$3.2 \times 10^8$	$2.5 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$

**Table 4. Comparison of sensory scores of fermentation product of carrot juice by *Bifidobacterium* spp. at each culture time**

	non-fermentation	<i>B. longum</i> <sup>2)</sup>	<i>Bif. BGN3</i> <sup>3)</sup>	<i>Bif. BNG4</i> <sup>4)</sup>	
pH	6.79	4.98	4.85	4.78	
Brix	11.0	10.9	10.8	10.8	
Total acidity	0.075	0.310	0.344	0.381	
CFU/mL	0	$3.6 \times 10^8$	$1.2 \times 10^9$	$2.9 \times 10^8$	
Sensory scores <sup>1)</sup>	Sour aroma	2.0	6.7	4.7	3.7
	Sweat aroma	6.7	3.3	4.7	4.7
	Sour taste	2.3	5.7	4.3	4.0
	Sweat taste	6.3	5.3	5.7	5.7
	Overall	4.3	5.0	5.7	5.3

<sup>1)</sup>Each value represented the mean of 5 observations

Culture time was adjusted for maximum growth of each strain as 24 hour<sup>2)</sup>, 12 hour<sup>3)</sup>, 36 hour<sup>4)</sup>.

**Table 5. Growth of *Bifidobacterium* ATCC15707 during the fermentation of the carrot juice by mixed culture with *L. acidophilus* ATCC4356 and *S. thermophilus* ATCC19258**

Combination of the strains	Bacteria counted	Fermentation time (hr)		
		0	12	24
<i>B. longum</i> (only)	<i>B. longum</i>	$3 \times 10^6$	$4.2 \times 10^8$	$5.4 \times 10^8$
<i>L. acidophilus</i> (only)	<i>L. acidophilus</i>	$3 \times 10^6$	$6.7 \times 10^8$	$6.9 \times 10^8$
<i>S. thermophilus</i> (only)	<i>S. thermophilus</i>	$3 \times 10^6$	$6.4 \times 10^8$	$5.9 \times 10^8$
<i>B. longum</i> : <i>L. acidophilus</i> (3:1)	<i>B. longum</i>	$3 \times 10^6$	$3.8 \times 10^8$	$2.2 \times 10^7$
	<i>L. acidophilus</i>	$1 \times 10^6$	$5.0 \times 10^8$	$6.5 \times 10^8$
<i>B. longum</i> : <i>S. thermophilus</i> (3:1)	<i>B. longum</i>	$3 \times 10^6$	$7.5 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$
	<i>S. thermophilus</i>	$1 \times 10^6$	$4.7 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$
<i>B. longum</i> : <i>L. acidophilus</i> : <i>S. thermophilus</i> (3:1:1)	<i>B. longum</i>	$3 \times 10^6$	$8.4 \times 10^7$	$1.9 \times 10^7$
	<i>L. acidophilus</i>	$1 \times 10^6$	$5.4 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$
	<i>S. thermophilus</i>	$1 \times 10^6$	$2.9 \times 10^8$	$1.2 \times 10^8$

수를 보여 주었는데 그중 *B. longum* BGN3이 가장 높은 점수를 보여 미발효 당근액의 4.3보다 높은 5.7을 보였다(Table 4).

#### *L. acidophilus* 또는 *Str. thermophilus*와의 혼합배양

*Bifidobacterium*과 *L. acidophilus* 또는 *S. thermophilus* 균주를 혼합 배양하며 발효의 진행에 따라 0, 12, 24 시간 경과 후 각각의 균체수를 측정하여 그 결과를 Table 5에 나타내었다. Table에서 알 수 있는 바와 같이 혼합배양에서는 *Bifidobacterium*의 균수가 적어지는 경향이 있다. 특히, 배양시간이 경과함에 따라 *L. acidophilus*와의 혼합배양에서 *Bifidobacterium*이 현저히 사멸하는 것으로 나타났다. 이러한 점에서 *Bifidobacterium*을 *Lactobacillus*와 혼합 배양하여 높은 *Bifidobacterium* 균수를 유지하려면 내산성이 강한 *Bifidobacterium* 균주를 선발하여 사용할 필요가 있을 것이다. *L. acidophilus*가 첨가되지 않은 *Bifidobacterium* 단독배양에서 상대적으로 높은 수준의 *Bifidobacterium* 균수가 유지되어 *Bifidobacterium* 단일 배양이 바람직하다고 할 수 있다. 이와같은 경우에도

당근에서의 배양 적성이 우수하고 내산성이 우수하며 유통보관 중에도 균수의 사멸이 적은 균주의 사용은 제품의 질적인 측면에서 바람직 할 것이다. 본 연구의 결과는 기본적으로 당근을 원료로하여 *Bifidobacterium* 균주를 배양하였을 때 *Bifidobacterium*의 배양이 양호하게 일어나고 산도의 적절한 증가에 의하여 당근의 관능의 개선이 일어남을 조사한 것이다.

#### 요 약

본 연구에서는 당근을 원료로하여 *Bifidobacterium*을 배양하여 발효하며 *Bifidobacterium*의 배양특성을 살펴 보았다. *Bifidobacterium*의 다양한 균주를  $10^6$  CFU/mL 수준으로 접종하여 배양하였을 때 *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* 균주들은  $10^8$  CFU/mL 이상으로 자랐고 *B. bifidum* 균주들은 약간 성장이 저조하여  $10^8$  CFU/mL 이하 수준으로 자랐다. 당근 이외의 다른 원료로서 포도, 사과, 오렌지, 복숭아, 배추, 오이 등에 배양하였을 때 복숭아, 오렌지 등에서는 배양이 양호하였으나 포도에서는 *Bifidobacterium*의 성장이 일어나지

않았다. *L. acidophilus*와 혼합 배양시 *Bifidobacterium* 단독 배양시보다 균의 증식이 저하되었고 배양 24시간 후부터 *Bifidobacterium*의 사멸이 현저하게 일어났다. *Bifidobacterium* 배양에 의하여 당근의 산미가 증가되며 관능성이 개선되는 것으로 나타났다. 따라서 *Bifidobacterium*을 이용한 당근 발효식품 개발은 *Bifidobacterium*균주의 증식에 의한 기능성 증가와 당근의 관능성 개선에 도움이 될 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 농수산부의 첨단 특정 연구비(1995) 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

### 문헌

1. 유태종 : 식품보감. 문운당, p.84 (1988)
2. 橋本光冬, 今井正武, 小宮啓佑 : 당근을 이용한 식품용 소재의 제조법. 일본 특허 공고 번호 5-42905 (1993)
3. Goldin, B.R., Lichtenstein, A.H. and Gorbach, S.L.: The roles of the intestinal flora in *Modern Nutrition in Health and Disease*, Shils, M.E. and Young, V.R. (Ed.), p.500 (1988)
4. Homma, N.: *Bifidobacteria* as a residence factor in human beings. *Bifidobact. Microfl.*, 7, 35 (1988)
5. Mitsuoka, T.: Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobact. Microfl.*, 1, 3 (1992)
6. Wytske, V. and Stouthamer, A.H.: Fermentation of glucose, lactose, galactose, mannitol, and xylose by *Bifidobacteria*. *J. Bacteriol.*, 96, 472 (1986)
7. Hughes, D.B. and Hoover D.G.: *Bifidobacteria*: their potential for use in American Dairy Products. *Food Technol.*, 4, 74 (1991)
8. Ishibashi, N. and Shimamura S.: *Bifidobacteria*: research and development in Japan. *Food Technol.*, 6, 126 (1993)
9. Mitsuoka, T.: *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria*, 2nd ed., 東京 (1984)
10. 지근역, 이세경, 김인희 : 개량된 *Bifidobacterium*의 선택 배지 개발. *한국식품과학회지*, 26, 526 (1994)
11. 지근역 : 한국인의 장내 균총 조성 및 분포. *한국산업미생물학회지*, 22, 453 (1994)

(1997년 2월 13일 접수)