

유산균의 혼합배양에 의한 밤 발효음료의 제조

진효상 · 최영순 · 이경자[†]

전주대학교 자연과학부, *전주기전여자대학 식품영양계열

Development of a Fermented Food Product using Chestnut Broth and Mixed Cultures of Lactic Acid Bacteria

Hyo-Sang Jin, Young-Soon Choi, and Kyung-Ja Lee[†]

Division of Natural Science, Jeonju University, Jeonju 560-759, Korea

* Division of Food and Nutrition, Chonju Kijeon Women's College, Jeonju 560-701, Korea

Abstract

Fermentation conditions and product composition were tested to develop a fermented food product using chestnut broth fermented by *Lactobacillus* spp. PAP1 and *Lactobacillus* spp. MGG2. Viable counts and acidity of the fermented broth were best when phytone peptone, yeast extract and glucose were added at 0.4, 0.2, and 0.5%. Soybean meal and soywhey were as effective as phytone peptone. mushroom extracts were found to increase viable counts and acidity, but stabilizers to decrease. Sensory scores of the fermented broths were low. However, sourness, sweetness and body sense were improved a lot, when the broths were modified to have acidity of 0.54%, 10% of sugar, and 0.2% of sodium alginate.

Key words : *Lactobacillus*, chestnut, fermented food product.

서 론

우리나라는 전 국토의 75%가 임야로 구성되어 있는 삼림국가이며, 밤나무 재배면적은 79,155ha에 이르고 52,697가구가 밤을 재배하고 있어(1996년 기준), 우리나라의 밤 생산량은 세계 제2위로서, 연간 약 100,000톤이 생산되고 있다¹⁾. 그러나 현재 우리나라는 결실되는 밤을 모두 이용하지 못하고 있으며 수확하지 않고 방치되는 밤나무가 많은 실정에 있다. 그 주요 원인은 먼저 밤 수확 시 탈각 및 탈피 작업의 어려움 때문이고, 둘째 이유는 밤을 이용한 다양한 가공식품이 개발되지 못했기 때문이다. 이러한 문제를 해결하면 밤의 소비량은 크게 향상될 것으로 기대된다. 최근 탈피문제는 자동 탈피기가 개발되어 이의 실용화와 효율증대를 위한 연구가 활발히 진행되고 있는

상황에 있다¹⁾.

따라서 본 연구에서는 영양가가 높고 한약재료로 이용되고 있는 밤을 이용하여 국민들에게 고기능성으로 널리 인식되어 있는 유산 발효식품인 요구르트와 같은 기능성을 가진 유산 발효식품을 개발함으로써, 밤의 새로운 용도를 개발하고 이를 통하여 밤의 수확량 증대와 소비증대를 유도하고자 하였다.

그간 식물성 재료를 이용하여 발효음료를 제조하기 위한 연구는 당근²⁾, 야채³⁾, 토마토, 두유^{4,5)}, 감자⁶⁾, 쌀^{7,8)}, 사과박⁹⁾, 쌀과 두유 단백질¹⁰⁾ 등에서 시도되었으나 밤에 대해서는 아직 시도되지 못하였다. 본 논문에서는 전 연구에서 밤 발효제품의 제조에 적합한 균주 *Lactobacillus* spp. PAP1과 *Lactobacillus* spp. MGG2를 분리, 선정하였고 이들을 이용하여 밤 발효제품을 제조하기 위한 기본 조건을 검토하고자 하였다.

[†] Corresponding author : Kyung-Ja Lee

재료 및 방법

1. 시료 용액 제조 및 발효

밤용액은 밀폐용기에서 냉동시킨 삶은 밤과육을 60℃로 해동시킨 다음 균질기로 균질화시키고 LK tube에 넣어 멸균시켜 사용하였다.

사용균주는 성인 분변과 시판요구르트에서 분리한 10 균주 중에서 밤용액에서 가장 발효적성이 뛰어난 *Lactobacillus* spp. PAP1과 MGG2를 선정하고 이들을 혼합 사용하였다. 종균배양액은 PAP1과 MGG2 배양액을 각각 새 MRS배지에 1% 씩 배양하고 12~15시간 배양시켜 사용하였다.

발효는 멸균한 밤 현탁액(밤과육:물=8:100)에 12~15시간 배양된 PAP1과 MGG2배양액을 각각 2% 씩 접종하고 37℃에서 24시간 동안 정치 배양하였다.

산업부산물 중 순물은 그대로 사용하고, 대두박과 맥주 효모부산물의 경우는 건조시키고 유향에서 마쇄한 다음 열수로 추출하여 사용하였다.

동충하초와 영지 추출물은 각각의 재료를 7% 및 10%가 되게 증류수에 넣고 끓는 온도에서 5분간 추출

한 다음 여과하여 사용하였다.

2. 산도 및 생균수 측정

산도는 발효액 중 5ml를 취하여 증류수 5ml를 가한 후 phenolphthalein 용액을 2~3적 가한 다음 0.1N NaOH 용액으로 적가하여 분홍색이 나타날 때까지 중화적정하고 소비된 NaOH용액의 ml수를 측정하였다. 이 측정된 값에 환산 계수(적정치×0.009÷5×100)를 곱하여 유산의 농도로 나타내었다.

발효액의 생균수는 발효액을 혐기성 희석액에 10분의 1씩 순차 희석한 다음 TPY 평판배지에 도말하고 CO₂하에서 2~3일 배양하여 나타난 집락을 세고, 집락수에 희석배수를 곱하여 1ml 중 생균수를 계산하였다.

3. 관능검사

발효액의 관능검사는 사전 교육된 10명의 검사요원들에 의해 수행되었고 기호척도법에 따라 5점 평점법(매우 좋음 5점, 보통 3점, 매우 나쁨 1점)으로 평가하고 1단계 채점으로 하였다. 유의성 검정은 t-test로 하였다.

Table 1. Effect of phytone peptone, yeast extract and glucose on viable count and acidity of the fermented broth by mixed culture of PAP1 and MGG2

| Phytone peptone (%) | | Yeast extract (%) | | | | | | | | | |
|---------------------|----|-------------------|------|------|------|------|--------------|------|------|------|------|
| | | Glucose 0% | | | | | Glucose 0.5% | | | | |
| | | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.8 | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.8 |
| 0 | pH | 3.83 | 3.87 | 3.90 | 3.95 | 4.03 | 3.21 | 2.98 | 2.95 | 3.07 | 3.24 |
| | TA | 0.16 | 0.21 | 0.21 | 0.28 | 0.42 | 0.52 | 0.60 | 0.69 | 0.72 | 0.83 |
| | VC | 8.39 | 8.45 | 8.48 | 8.49 | 9.06 | 8.79 | 8.70 | 8.80 | 8.86 | 9.07 |
| 0.2 | pH | 4.04 | 3.99 | 3.97 | 4.05 | 4.06 | 3.01 | 3.07 | 3.14 | 3.23 | 3.24 |
| | TA | 0.19 | 0.22 | 0.25 | 0.47 | 0.37 | 0.67 | 0.69 | 0.72 | 0.73 | 0.76 |
| | VC | 8.85 | 8.38 | 8.51 | 8.53 | 8.54 | 8.69 | 8.93 | 8.71 | 8.90 | 8.81 |
| 0.4 | pH | 4.19 | 4.11 | 4.12 | 4.09 | 4.09 | 3.08 | 3.10 | 3.08 | 3.17 | 3.23 |
| | TA | 0.19 | 0.19 | 0.24 | 0.29 | 0.36 | 0.66 | 0.67 | 0.70 | 0.78 | 0.81 |
| | VC | 8.78 | 8.92 | 8.54 | 8.77 | 8.75 | 9.21 | 8.87 | 9.14 | 8.65 | 8.80 |
| 0.8 | pH | 4.45 | 4.39 | 4.30 | 4.29 | 4.29 | 3.25 | 3.32 | 3.33 | 3.36 | 3.48 |
| | TA | 0.26 | 0.26 | 0.28 | 0.30 | 0.43 | 0.65 | 0.72 | 0.71 | 0.74 | 0.92 |
| | VC | 8.86 | 8.68 | 8.53 | 8.56 | 8.93 | 9.10 | 9.05 | 8.99 | 9.35 | 9.42 |
| 1.6 | pH | 4.84 | 4.66 | 4.62 | 4.59 | 4.54 | 3.52 | 3.55 | 3.56 | 3.60 | 3.62 |
| | TA | 0.28 | 0.31 | 0.30 | 0.33 | 0.40 | 0.71 | 0.73 | 3.96 | 0.82 | 0.82 |
| | VC | 9.23 | 8.84 | 9.23 | 8.84 | 9.16 | 9.31 | 9.21 | 9.26 | 9.36 | 9.23 |

TA: Titrable acidity(%), VC: Viable count(Log₁₀CFU/ml)

결과 및 고찰

1. 첨가물 농도의 선정

유산균들은 흔히 phytone peptone, yeast extract, 및 glucose 첨가에 의하여 유산생성과 생육이 촉진되므로, *Lactobacillus* spp. PAP1과 *Lactobacillus* spp. MGG2를 혼합균주로하여 밤을 유산발효시킬 때 생육과 산 생성 면에서 가장 좋은 phytone peptone, yeast extract 및 glucose의 첨가 농도를 구한 결과 Table 1에서와 같았다.

Yeast extract는 phytone peptone의 낮은 농도에서는 산도와 균수를 증가시켰지만 높은 농도에서는 그렇지 않았다. Yeast extract의 첨가보다는 phytone peptone 첨가가 더 큰 산 생성 능력과 생육 촉진효과를 나타내었다. 균수와 산도 면에서는 phytone peptone 0.8%, yeast extract 0.8%, glucose 0.5%의 혼합 첨가가 가장 좋은 것으로 나타났다. 그러나 peptone과 yeast extract는 밤용액의 이취를 형성시킬 것으로 예상되어 생균수를 1×10^9 이상을 얻을 수 있도록 glucose 0.5%, phytone peptone 0.4%, yeast extract 0.2%의 농도를 선택하였다.

2. 버섯 추출물 첨가의 영향

전 실험에서 얻은 영양물 보강 조건 즉 0.4% phytone peptone, 0.2% yeast extract, 0.5% glucose를 기

본으로 하고 여기에 최근 국내에서 건강보조제로 많이 이용되는 동충하초와 영지추출액을 보강하고 그

Table 3. Effect of mushroom extracts on chestnut fermentation

| Concentration (%) (v/v) | | <i>Cordiceps militaris</i> | <i>Gandermia lucidum</i> |
|-------------------------|----|----------------------------|--------------------------|
| 0 | pH | 3.41 | 3.22 |
| | TA | 0.60 | 0.65 |
| | VC | 8.89 | 8.99 |
| 5 | pH | 3.22 | 3.31 |
| | TA | 0.68 | 0.68 |
| | VC | 9.03 | 9.04 |
| 10 | pH | 3.29 | 3.34 |
| | TA | 0.67 | 0.66 |
| | VC | 9.03 | 9.04 |
| 20 | pH | 3.16 | 3.32 |
| | TA | 0.68 | 0.67 |
| | VC | 9.06 | 9.07 |
| 40 | pH | 3.29 | 3.34 |
| | TA | 0.72 | 0.72 |
| | VC | 9.11 | 9.14 |

TA: Titrable acidity(%), VC: Viable count(Log₁₀CFU/ml), *Cordiceps militaris*: 7% extract, *Gandermia lucidum*: 10% extract, Other supplements: phytone peptone 0.4%, yeast extract: 0.2%, glucose: 0.5%.

Table 2. Effect of industrial byproducts on chestnut fermentation

| | | DW | YE | YE+G | RY | RY+G |
|----|----|------|------|------|------|------|
| DW | pH | 3.89 | 3.95 | 3.33 | 3.96 | 3.24 |
| | TA | 0.19 | 0.27 | 0.63 | 0.20 | 0.59 |
| | VC | 8.66 | 8.98 | 8.99 | 8.56 | 9.05 |
| PP | pH | 4.60 | 4.49 | 3.70 | 4.57 | 3.65 |
| | TA | 0.24 | 0.37 | 0.73 | 0.28 | 0.67 |
| | VC | 8.93 | 8.91 | 9.46 | 8.93 | 9.18 |
| SW | pH | 4.24 | 4.21 | 3.49 | 4.26 | 3.41 |
| | TA | 0.25 | 0.69 | 0.66 | 0.21 | 0.60 |
| | VC | 9.00 | 8.92 | 9.01 | 8.84 | 8.91 |
| SM | pH | 4.12 | 4.12 | 3.45 | 4.16 | 3.36 |
| | TA | 0.02 | 0.29 | 0.66 | 0.21 | 0.60 |
| | VC | 8.98 | 8.85 | 9.08 | 8.92 | 9.21 |

TA: Titrable acidity(%), VC: Viable count(Log₁₀CFU/ml), DW: Distilled water, PP: Phytone peptone 0.8%, SW: Soy whey 25%(V/V), SM: Soybean meal 0.4%, YE: Yeast extract 0.3%, G: Glucose 0.6%, RY: Raw yeast from brewery(grinded powder after washing and drying) 1%

영향을 살펴보았다.

그 결과 Table 3과 같이 동충하초와 영지추출액을 40% 첨가하였을 때 산도와 균수는 각각 0.72와 9.11 및 0.72과 9.14로 첨가하지 않았을 때의 0.60과 8.89 및 0.65과 8.99에 비해 거의 차이가 없었다. 따라서 동충하초와 영지추출액은 그 기능이 요구되는 경우에는 산 생성과 균주의 생육에 영향을 주지 않고 첨가될 수 있음을 알 수 있었다.

이 결과는 Table 1의 peptone, yeast extract의 첨가에 의하여 산도와 균수가 크게 증가하는 결과와 대비된다. 이는 yeast extract가 growth factor를 제공하고 peptone이 발효액에 부족한 질소원을 보완해 주는 반면 동충하초와 영지추출액은 이러한 성분들이 상대적으로 적기 때문으로 생각된다.

3. 안정제 첨가의 영향

시중에 이용되는 두 가지의 안정제 즉 pectin과 sodium alginate를 0.5%의 범위 안에서 여러 농도로 첨가하고 그 영향을 검토하였다. 그 결과는 Table 4와 같이 두 가지가 약간 다른 영향을 보였다. Pectin은 낮은 농도에서 발효액의 산도와 생균수를 감소시킨 반면,

Table 4. Effect of stabilizers on chestnut fermentation

| Concentration(%) | | Alginate Na | Pectin |
|------------------|----|-------------|--------|
| 0.00 | pH | 3.32 | 3.32 |
| | TA | 0.63 | 0.63 |
| | VC | 8.99 | 8.99 |
| 0.10 | pH | 3.10 | 3.35 |
| | TA | 0.63 | 0.55 |
| | VC | 9.01 | 8.63 |
| 0.20 | pH | 3.12 | 3.34 |
| | TA | 0.64 | 0.59 |
| | VC | 8.19 | 7.94 |
| 0.30 | pH | 3.20 | 3.44 |
| | TA | 0.69 | 0.61 |
| | VC | 9.12 | 7.85 |
| 0.40 | pH | 3.23 | 3.41 |
| | TA | 0.69 | 0.65 |
| | VC | 8.86 | 8.18 |
| 0.50 | pH | 3.21 | 3.39 |
| | TA | 0.70 | 0.70 |
| | VC | 8.85 | 8.21 |

TA: Titrable acidity(%), VC: Viable count (Log₁₀CFU/ml)

Table 5. Improvement of sensory value of fermented chestnut broth

| | Control | Supplemented broth |
|--|---------|--------------------|
| Sugar (%) | <0.50 | >10.00 |
| Titrable acidity (%) | 0.70 | 0.54 |
| Composition | | |
| Viable counts (Log ₁₀ CFU/ml) | 9.14 | 9.14 |
| Sodium alginate (%) | 0.00 | 0.20 |
| Sensory scores | | |
| Sourness | 1.4 | 3.8*** |
| Flavor | 1.6 | 2.6* |
| Sweetness | 1.8 | 4.2*** |
| Body sense | 2.1 | 4.0*** |

* : p<0.05, *** : p<0.001.

alginate는 산도와 균수는 별 차이가 없거나 감소를 보였다. 이러한 결과는 발효액의 생균수는 발효액의 산도에 의해 영향을 받으며 낮은 산도는 생균수를 감소시키는 경향을 고려할 때 모순이었다. 이것은 alginate가 높은 산도에서도 생균수의 생존을 더욱 보호하는 polymer로서의 작용이 더 우수한 것으로 짐작된다.

4. 관능 성적의 개선

위에서 검토한 조건(밤 8%, 대두박 0.4%, 효모추출물 0.2%, 포도당 0.5%)에서 종균배양액을 각각 2%씩 접종한 다음 37°C에서 약 24시간 배양한 발효액의 관능성적을 평가하고 이를 개선한 후의 관능성적은 Table 5와 같았다. 발효액의 발효제품은 산미, 맛, 향, 음용감 등의 기호도면에서 좋지 않은 것으로 나타났다. 이러한 이유는 발효액의 산미가 너무 강하여 자극적이고, 점도가 낮아 진한 맛이 떨어졌기 때문으로 생각되었다.

이를 보완하기 위하여 당을 10%로 보강하고, 자극적인 산미를 줄이기 위해 발효액의 산도를 0.54으로 조정하고, 음용감을 증진시키기 위해 sodium alginate를 0.2%를 보강하였을 때의 산미, 향, 감미, 및 음용감의 관능성적이 모두 유의적으로 개선되었다.

요 약

Lactobacillus spp. PAP1과 *Lactobacillus* spp. MG-G2를 혼합 균주로 사용하여 밤 발효제품을 제조하기 위한 제반 조건을 조사하였다. 밤 발효액은 phytone peptone, yeast extract, glucose를 각각 0.4, 0.2, 0.5%

이상으로 첨가할 때 산도와 생균수가 가장 컸다. 첨가물 중 phytone peptone은 대두박이나 순물로 대체해도 같은 효과가 관찰되었다. 버섯추출물의 첨가는 산도와 생육을 약간 촉진하였으나 안정제는 약간의 감소를 가져왔다. 기본 발효액은 관능성적이 나빴으나 산도를 0.54%로 낮추고, 당을 10%로 보강하고, sodium alginate를 0.2% 첨가하였을 때, 산미, 감미, 음용감이 크게 개선되었다.

감사의 글

이 연구는 농림부 연구비(1999년 농림특정연구과제)에 의해 수행된 연구의 일부이며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. 산림청: 자료G147-0759, 밤박피 기계개발에 관한 연구, 연구기관 한국식품개발연구원 (1998).
2. 박소영, 고영태, 이주연, 목철균, 박종현, 지근역: *Bifidobacterium*에 의한 당근발효, *한국식품과학회지*, 29, 571~575 (1997).
3. 김기현, 여익현, 구영조, 유진영: 야채 발효음료 제조방법, 특허공보 제1653호 (1989).
4. 고영태: 미생물 protease 또는 papain으로 처리된 두유에서 젖산균의 산생성과 대두요구르트의 제조, *한국식품과학회지*, 21, 379~386 (1989).
5. 유주현, 유인택, 진효상: *Lactobacillus acidophilus*와 *Saccharomyces uvarum*의 혼합배양에 의한 두유의 발효 중 당 이용에 미치는 상호작용, *한국산업미생물학회지*, 17(6), 533~538 (1989).
6. 신용서, 성현주, 김동환, 이갑상: 감자를 이용한 요구르트의 제조와 특성, *한국식품과학회지*, 26, 266~271 (1994).
7. 박종현, 송혜경, 안준배, 지근역, 목철균: 한국인 유래의 amylolytic *Bifidobacterium*에 의한 쌀발효, *한국식품과학회지*, 29, 581~587 (1997).
8. Tomimaga, M. and Sato, K.: Lactic acid fermentation of saccharified solution from rice flour, *J. Food Technol.*, 61, 627-631 (1996).
9. 이주현, 박종현, 장학길, 목철균: 쌀과 사과박 혼합물을 이용한 *Bifidobacterium* 발효제품의 개발, *한국산업미생물학회지*, 27, 333-338 (1999).
10. Mok, C. K., Han, J. S., Kim, Y. J., Kim, N. S., Kwon, D. Y. and Nam, Y. J.: Risogurt, a mixture of lactic acid fermented rice and soybean protein: Development and properties, *Kor. J. Food Technol.*, 23, 745-749 (1991).
11. 고영태: 미생물 protease 또는 papain으로 처리된 두유에서 젖산균의 산생성과 대두요구르트의 제조, *한국식품과학회지*, 21, 379~386 (1989).
12. 김경희, 방일령, 고영태: 두유의 단백질 분해효소 처리가 젖산균의 산생성 및 대두요구르트의 품질에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, 21, 92~99 (1989).
13. 한명주, 배은아, 이경영, 김동현: 버섯의 장내유산균 증식 효과, *한국식품과학회지*, 28, 947~952 (1996).

(2001년 4월 28일 접수)