

## 분무건조 기술을 이용한 젖산균 보존

### Application of Spray Drying for Preservation of Lactic Acid Bacteria

임상동 | 발효기능연구단

Sang-Dong Lim | Fermentation and Functionality Research Group

#### 서론

균주 순수분리 기술은 상업적 스타터 균주를 생산하는 전환점이 되었으며, 20세기 초 이래로 널리 확산되었다. 상업적 스타터 컬처는 초기에는 액상 형태로 공급되다가 농축 스타터 컬처를 생산하기 시작하였다. 바이오기술의 진보로 후에 식품배합에 직접 투입하는 냉동 및 동결건조형태로 적용하게 됨에 따라 장점이 많은 직접투입 방식이 산업적으로 대중화 되었다. 냉동 및 동결건조의 적용은 공장에서 계대 배양을 없애고 벌크 배양조제로 인한 비용을 줄이며 박테리오파지 감염의 위험을 낮추었다. 상업적 냉동 스타터 컬처의 단점은 수송과 저장 온도로써 해동의 위험 이외에도 높은 수송비용으로 거리가 먼 지역이나 국가에서 냉동 스타터 컬처를 사용하는데 제약이 되고 있다. 따라서 동결건조는 유통 중 동결건조가 요구되지 않음으로써 더 편리하고 다루기 쉬운 장점이 있다. 동결건조는 스타터 컬처 제조업체가 상업적으로 사용하는 보편적 건조

기술이지만 다른 건조공정보다 더 시간이 오래 걸리고 비용이 많이 드는 문제 때문에 저 비용 건조공정과 건조 후 세포생존율에 대한 시도가 많이 이루어져 왔다. 건조방법별 비용은 Table 1과 같다.

분무건조는 젖산 프로바이오틱 균주에 대한 좋은 장기보존법이다. 건조와 연속 생산능력 속도는 스타터 컬처의 대량 건조에 유용하다. 액상 보관균주를 다루고 관리하기 쉽게 하기 위해서 세포활성 손실없이 박테리아 분무건조에 관한 많은 연구가 진행되어 왔다. 분무건조의 낮은 생산비는 동결건조와 비교할 때 많은 에너지 효율이 있다(Table 1). 그럼에도 불구하고 다른 건조법(동결건조 등)과 비교할 때 미생물 균주의 분무건조는 상업적으로 덜 개발되어왔다. 이러한 이유는 균주건조 중 낮은 생존율, 저장 중 낮은 안정성과 제품 재수화의 어려움 때문이다. 그러나 분무건조는 살아 있는 미생물이 산업규모의 양을 생산하는 경제적 공정이다. 따라서 분무건조를 이용한 높은 수준의 생존성 스타터 컬처 생산 지식 제공과 젖산균 생존에 영향을 미치

는 분무건조 변수, 분무건조에 의한 젖산균 분말의 장단점을 기술하고자 한다.

### 분무건조 공정

분무건조는 입자가 건조되는 동시에 형성되는 유일한 공정이다. 용액, 유화액 및 현탁액과 같은 액체로부터 분말, 알갱이 또는 덩어리 형태로 고형물을 건조하는 연속생산에 매우 적합하다. 분무건조의 최종제품은 입자크기 분포, 잔류 수분함량, 벌크 밀도, 입자모양 등 엄격한 품질규격에 따라야 한다. 분무건조 공정에서 건조과립분말은 젖은 제품을 높은 속도로 미립자화시키고 작은 방울을 뜨거운 공기(150~200℃) 속으로 직접 분무하여 생산된다. 미립자화된 작은 방울은 10~200 μm 형태로 매우 큰 표면적을 갖게 되어 건조실 내부의 뜨거운 공기에 노출될 때 순간적으로 건조된다. 탈수된 효소, 세제, 커피추출물, 분리단백은 분무건조에 의해 생산된 제품들이다. 이 공정은 젖산균 및 탈수된 프로바이오틱 균을 생산하는데 널리 사용된다. 높은 세포 생존성을 얻기 위해 분무건조 공정을 최적화한 공정 설계, 설비, 건조조건 등 기본적 정보가 필요하다.

### 분무건조 설비

분무건조는 액상원료를 작은 방울 분무로의 미립자화와 건조실내의 뜨거운 공기·작은 방울이 접촉하는 것이다. 분무는 로타리 또는 노즐 아토마이저에 의해 생성된다. 작은 방울로부터 수분농축과 건조입자의 형성은 조절된 온도와 공기 흐름 조건 하에 진행된다. 작업조건과 건조기 디자인은 제품의 건조특성과 분말규격에 따라 선택된다. 분무건조기는 Fig. 1과 같이 구성되어 있다.

분무건조기의 미립자화 공정은 가장 중요한 공정이다. 미립자화 별로 액상벌크를 쪼개어 개개의 작은 방울로 만드는데 에너지가 필요하다. 분무입자를 생산하는데 사용되는 에너지 형태에 따라 아토마이저는 원심력, 압력, 운동, 초음파 등 4가지로 분류될 수 있다. 아토마이저의 분류는 Fig. 2로 요약된다.

로타리 아토마이저나 원심력 노즐은 고속 회전휠 에너지를 사용하여 액상벌크를 작은 방울로 쪼개며 작업하고 관리하기가 용이하다. 로타리 아토마이저는 작업자 경계면 없이 오랫동안 운영할 수 있다. 이것은 주입압력이 낮은 상태에서 작동되나 액체가 수평적으로 분출되기 때문에 수평 건조기에는 사용

Table 1. Costs of drying processes referenced to that of freeze drying

건조공정	고정비용(%)	제조비용(%)
동결건조	100.0	100.0
진공건조	52.2	51.6
분무건조	12.0	20.0
드럼건조	9.3	24.1
유동층 건조	8.8	17.9
에어건조	5.3	17.9

(Santivarangkna *et al.*, Biotechnol Progress, 23, 302–315, 2007)

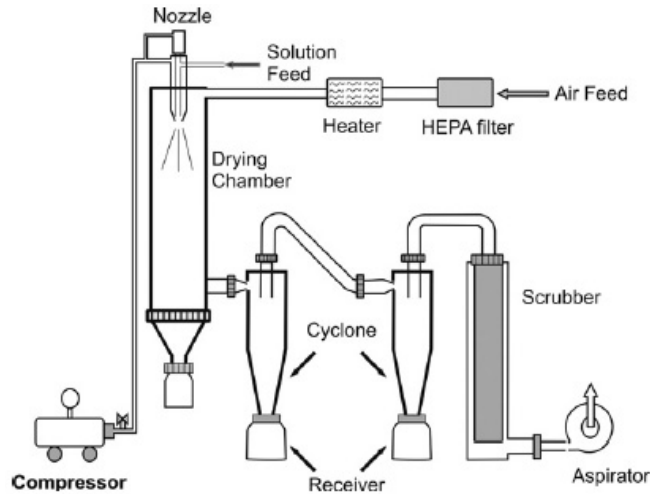


Fig. 1. Schematic of spray dryer (Devakate *et al.* Separation and Purification Technol, **64**, 259–264, 2009)

될 수 없다. 로타리 아토마이저는 많은 양의 미세 입자를 생산하나 오염에 문제가 있으며 다른 타입의 아토마이저와 비교할 때 가격이 비싸다. 압력노즐의 경우 원료가 압력 하에 구멍으로 통과시켜 쉽게 분해되어 분무된다. 압력노즐은 작고 관리하기가 간단하며 대체가 용이하고 비용이 저렴하나 점질성 액체에 부적합하며 막히는 문제가 있다. 운동

에너지 아토마이저의 경우 액체원료 및 압축공기는 노즐 머리 부분에 따로 통과되고 원료는 작은 방울로 쪼개진다. 높은 점질성 원료에 사용되며 소규모 건조실로도 가능함에 따라 실험실과 파이롯 플랜트 분무건조에 적용된다. 그러나 압력노즐에 비해 2~3배 에너지가 더 필요하고 작동하는데 비용이 많이 든다. 초음파 아토마이저의 경우 초음파 발생

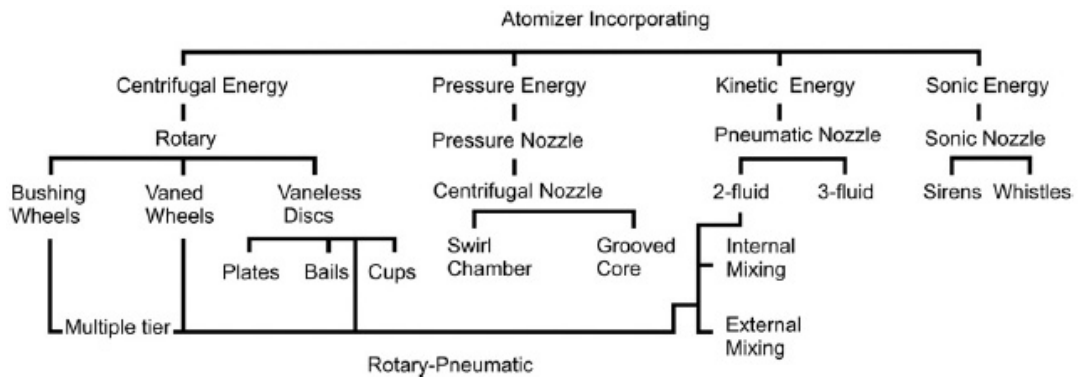


Fig. 2. Classification of atomizers (Vega-Mercado *et al.*, J Food Engin, **49**, 271–289, 2001)

기는 노즐 머리의 일부분으로 원료가 머리를 통과할 때 액체가 작은 방울로 쪼개어진다. 이것은 50 마이크론 이하 작은 방울에 적합하다. 단점은 작업 능력 제한, 저속, 소음 환경문제이다. 원료의 성질, 점성과 분말제품의 특성은 아토마이저 선택에 영향을 준다. 아토마이저는 건조실 내부에 위치해야 하고 분무건조기의 정상, 측면정상, 측면바닥, 중간 및 바닥에 위치해야 한다.

### 분무유동 형태

건조기에서 제품-공기 유동 형태로는 병류형(並流型), 향류형(向流型), 혼류형(混流型)의 3가지 형태가 있다. 병류형 공정의 경우 작은 방울과 공기가 같은 방향으로 건조기를 통과한다. 작은 방울은 가장 높은 온도에서 공기를 만난다. 이는 신속히 표면 농축이 일어나지만 축축하여 열에 민감한 물질에 안전한 조건을 제공한다. 향류형 공정의 경우 작은 방울이 뜨거운 기류에 반대방향으로 분무하여 고온에 건조제품을 노출하게 된다. 이는 열에

민감하지 않은 재료에서만 사용할 수 있으며 병류형 공정보다 덜 사용된다. 혼류형의 경우 병류형과 향류형의 결합이다. 노즐은 건조실 바닥에 위치하여 위로 향하며 강제로 분무하고 건조매체는 아래로 향하게 한다. 혼류형은 분무가 건조실을 오래 통과하기 때문에 소생산, 작은 건조실에서 비교적 거친 작은 방울을 건조하는데 좋은 방법이다.

분무건조기의 전형적인 제품-기류(氣流)형태는 Fig. 3과 같다.

### 2단 분무건조기

2단 분무건조기에서 분무건조기는 건조기 바깥 부위에 진탕유동층과 결합되어 있다. 이 시스템은 건조온도를 줄이고 열변성을 제한하며 매우 낮은 수분함량을 갖는 분말제품을 생산한다. 1단 건조시스템에 비해 투자비용이 많이 드나 작동비용은 에너지 절감 때문에 저렴하다. 추가적으로 제품의 질은 훨씬 양호하며 건조제품은 응집되어 있어 재수화 중 흡습 분산성이 좋다.

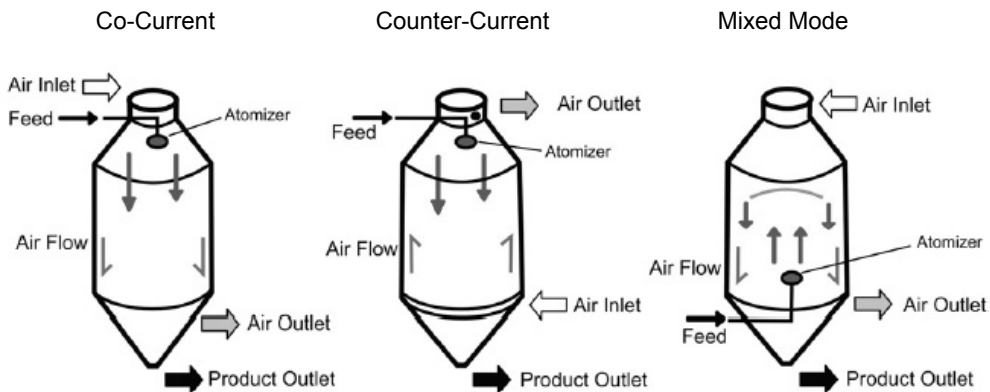


Fig. 3. Typical product-air flow patterns in spray dryers (Vega-Mercado *et al.*, J Food Engin, 49, 271-289, 2001)

## 분무건조 조건이 박테리아 생존에 미치는 영향

분무건조는 미생물 보존 및 젖산발효제품 제조에 사용되는 스타터 배양조제를 위해 일반적인 산업적, 경제적 공정이다. 미생물 쪼려 제조에 분무건조가 사용될 경우 젖산균의 생존은 중요한 이슈가 된다. 그러나 젖산균의 생물학적 활성 즉 세포 생존력과 생리적 상태를 포함하여 스타터 품질을 평가하는데 기준이 된다. 생물학적 활성은 배지를 산성화하는 젖산균 스타터의 능력으로 정의된다. 젖산균 활성시험은 2-5시간 동안 접종된 우유를 배양 중 적정산도의 증가나 pH 감소로 측정된다. 이들 시험은 오래 걸리고 노동력이 많이 들어 최근에는 impedimetric법과 같은 다른 방법이 개발되었다. 분말 스타터 쪼려 조제는 세포배양에서 시작하여 건조분말 저장까지 긴 공정이다. 분무건조 중 쪼려의 생존력에는 많은 요인이 내포되어 있다.

### 공정변수(유입 및 유출온도, 건조시간, 노출압력)

유입공기온도의 증가는 세포 생존력을 감소한다고 보고되고 있지만 온도가 더 높을수록 불활성화는 직접 관련이 없으며 약간 영향이 있을 뿐이다. 이는 분무건조 중 박테리아 불활성의 정도는 온도-시간 조합에 달려있기 때문이다. 여러 연구자들 역시 유출공기온도 증가는 분무건조 후 미생물 생존을 감소시킨다고 보고하고 있다. 입자의 온도-시간 관계는 두 기간으로 나누어진다. 일정한 항률건조기간(constant drying rate period)의 경우 제품의 온도와 열 불활성은 습구 온도에 한정된다. 이 기

간 중 농축 냉각 효과의 결과로써 박테리아 세포의 생존은 유출온도와 크게 서로 관련이 있다. 건조기의 유입온도는 미생물 생존에 간접적으로 영향을 미친다. 따라서 높은 농축률과 그에 따른 습구 온도가 세포를 건조기 내 더 높은 공기온도로부터 보호하기 때문에 열 불활성은 항률 건조기간 중으로 한정된다. 낙하속도시간 중 입자표면은 건조하게 되고 제품 온도는 건조기의 형태에 따라 증가한다. 이 기간 중 열 불활성 정도는 유출온도, 잔류시간과 원료 공급속도 등 건조변수에 좌우된다. 낙하속도기간(falling rate period)은 열 불활성에 중요하며, 최적 잔류시간은 분말제품의 온도를 최소로 증가시키고 완전 수분제거에 필요한 시간이다.

열에 민감한 제품은 낮은 건조공기온도가 요구되므로 잔류시간을 길게 하기 위하여 큰 높이의 건조탑과 건조된 공기가 필요하다.

온도 반응속도는 수분 증발의 반응속도만큼 중요하다. 질량전달 반응속도와 최종 수분함량은 온도-시간 조합에 좌우된다. 수분함량과 온도는 미생물의 불활성 조절변수이다. 분무건조 시 수분제거는 매우 빨리 일어나고 온도변화, 수분농도 변화 및 불활성 공정 역시 빠르다. 불활성 속도는 수분함량이 감소하는 만큼 감소한다. 미생물 불활성 속도와 상관계는 건조속도가 높을수록 또한 건조 초기단계 중에 커진다. 유출공기온도는 분무건조된 스타터 배양액의 생존성에 영향을 미치는 주요 건조변수이다. 이 변수는 유입공기온도, 기류속도, 제품 공급 속도, 배지성분 및 아토마이저된 유적크기에 좌우된다. 많은 연구자들은 유출공기 온도를 더 낮출 때 미생물 생존성이 더 높았다고 보고하고 있다.

미생물 쪼려 건조 중 생존성 악화는 탈수에 기인한 불활성과 온도에 기인한 불활성 때문이다. 이들

은 동시에 일어나기 때문에 어떤 것이 더 손상을 입히게 하는지는 명확하지 않다. 분무건조 시 젖산균 스타터 컬처는 뜨거운 기류 속으로 분무된다. 따라서 높은 온도에 기인한 세포의 불활성은 탈수 불활성이외에도 일어날 수 있다. 열 불활성에 대한 이론은 열이 결정적 성분을 불활성하게 하는 반면 동시에 다른 성분을 파괴하는 것으로 추측되고 있다. 열 결정적 성분의 손실은 세포의 수가 감소하거나 세포가 추가적 스트레스를 받지 않을 때까지는 죽지 않는다. 일부 거대분자(DNA, RNA, 단백질 등)와 막, 리보솜은 열 작용으로 손상을 받지만 리보솜은 열 불활성의 결정적 성분이다. 리보솜 외에 결정적 성분은 세포외피, DNA와 RNA polymerase가 있다. 치사는 1개 이상의 결정성분의 파괴에 기인된다. 젖산균 스타터 컬처의 탈수 불활성은 세포건조 중 생리적 온도이거나 세포건조 중 극히 낮거나 높은 온도에서 열 또는 냉동 불활성과 협력하여 일어난다. 물분자는 단백질, DNA와 지질의 안정성에 기여하기 때문에 물 제거는 세포에 생리적 제한을 부과한다. 세포가 낮은 물 함량으로 건조될 때 많은 세포성분은 영향을 받는다. 세포질 막은 탈수과정에서 막이 손상받을 때 일부 세포내 성분의 손실 때문에 가장 민감한 성분이다. 막지질 이중구조는 열역학으로 불안정하므로 지질막은 탈수에 의해 손상을 받는 주 표적이다. 이외에도 분무건조 중 세포는 많은 양의 공기와 접촉하여 계속해서 지방산화가 일어난다.

분무건조기의 형태는 젖산균 생존에 영향을 끼친다. 분무건조기 형태의 3가지 요소인 노즐, 기류 방향 및 공급재료 미립자화, 건조실 양을 개선하고 2단 노즐을 로타리 아토마이저 대신 사용할 경우 미생물 생존이 약간 개선되었다. 건조실 양을 늘리

는 것은 박테리아 생존에 유의있는 감소를 일으키지 않는다. 일정한 유입 및 유출온도일 경우 분무건조기 형태는 이동물질의 형태와 비교할 때 저장 중 Bifidobacteria 생존에 별로 영향이 크지 않아 병류형이 더 바람직하다. *Lactococcus lactis*를 아토마이저에서 고온 노출할 때와 분무건조기에서 작은 방울건조 중에 세포 손상이 일어난다. 미세립화 압력이 박테리아 생존력에 미치는 영향에 대한 보고에서 세포에 부정적 스트레스 효과를 일으켜 세포 손상이 된다.

*Lactobacillus acidophilus* 생존력은 분무압을 100에서 50 kPa로 낮출때 증가한다고 보고되고 있다. 건조 후 세포 생존력은 노즐압이 100과 50 kPa에서 각각 8.62와 9.48 log cfu/g이었다. 분무압이 200에서 100 kPa로 감소될 때 *Lactobacillus bulgaricus*의 생존력은 0.8~1.5%로 증가하였다. 이와 같은 결과는 저압 노즐에서 생긴 낮은 전단력을 받을 때 박테리아는 스트레스를 적게 받기 때문으로 해석된다.

### 제품변수(보호물질, 농도)

여러 보호물질로 Bifidobacteria를 분무건조시켰을 때 10%(w/w) 젤라틴, 아라비아검 또는 가용 녹말이 가장 높은 박테리아 컬처 생존을 보였다. Bifidobacteria의 생존력은 보호물질 종류에 좌우되며 균주마다 다르다. 보호물질의 농도는 분무건조 후 박테리아 생존에 영향을 끼칠 수 있다. 젤라틴, 아라비아검 또는 가용 녹말의 농도를 10~20%(w/w)로 증가시켰더니 Bifidobacteria의 생존이 감소되었다. 25% 무지유 고형분으로 분무건조된 *Lactobacillus acidophilus*가 40% 무지유 고형분과 비교한 결과 더 높은 생존력을 보였다. 더 높은 고형분 함량의 보

호물질은 더 긴 건조시간을 필요로 하는 커다란 입자가 되어 입자에 둘러싸인 미생물이 더 많은 손상을 입게 되고 박테리아 껍질의 생존력이 떨어진다. 보호물질의 고형분 함량 증가는 입자크기가 증가되고 결국 더운 공기와 물질 간 접촉시간 증가로 열 불활성을 일으킨다. *Lactobacillus rhamnosus* GG를 분무건조하기 위해 환원 탈지유를 20% 농도로 분무건조기를 80℃의 유출온도에서 사용한 결과 생존율이 60%이었다. 탈지분유에 raftilose와 polydextrose와 같은 상업적 prebiotics와의 결합은 높은 생존율을 보였다. 그럼에도 불구하고 분유의 저장 안정성은 보호물질의 탈지유 고형분의 양이 낮을수록 감소한다. 20% 농도의 환원 탈지유는 다른 젖산균 균주의 높은 잔류 생존력을 확보하기 위한 최적 고형분 함량으로 간주되고 있다.

### 생물학적 변수(균주종류, 성장배지, 성장단계, 본질 스트레스 내성)

특정 genus의 다른 species나 특정 species의 다른 strains의 생존력은 같은 건조법이나 저장조건에서도 다르게 나타난다. 일부 starter cultures의 생존율 감소는 species나 보존방법에 따라 좌우된다는 연구결과가 있다. 분무건조 후 미생물의 생존력은 *Streptococcus thermophilus*가 가장 뛰어나고 *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *L. lactis* ssp. *cremoris*는 내성이 적다. 3종 probiotic lactobacilli를 대상으로 열에 대한 내성을 55~61℃의 환원 탈지유를 이용해 비교해 본 결과 *Lactobacillus rhamnosus* E800은 가장 큰 열 저항성을 가지고 있었고 *L. salivarius* UCC 500, *L. rhamnosus* GG 순이었다. 비록 *L. rhamnosus* GG가 3종 Lactobacilli 중 가장

열에 대해 민감했지만 건조 분무 중의 생존력은 가장 우수했다. 이것은 열 내성 단독으로는 분무 건조 중 성과에 대한 정확한 변수가 되지 않는다는 것을 나타낸다. 다른 현상으로는 건조 중의 세포 생존력에 영향을 미치는 탈수현상 같은 것이 있다. 따라서 젖산균 스타터 껍질들 사이의 탈수에 대한 감수성은 다르며 이것은 독립적인 특성이다.

성장조건과 배지는 젖산균 스타터 껍질의 분무 건조 중이나 그 후 저장 기간 중의 생존력에 영향을 줄 수 있다. 예를 들면, medium 안의 아미노산, 4기 아민류(glycine, betaine, carnitine 등), 당과 같은 호환성 용질은 건조과정 중 lactic acid starter culture의 생존력을 높여준다. 건조 중 미생물은 수분 활성도가 감소되는 것을 겪게 된다. 이러한 환경에서 일부 미생물은 고도로 농축된 세포 밖 삼투압 균형을 유지하기 위해서 호환성 용질을 모으지만 젖산균은 호환성 용질을 합성하지 않는다. 그러므로 이러한 용질을 받아들이는 것은 환경에 의존하게 된다. 따라서 이러한 용질들은 microbial cultures가 건조 공정 중에 낮아진 수분활성도에 의해 생긴 삼투압 스트레스 조건 중 단백질과 세포막을 안정화시키는데 도움을 줄 수 있다. 성장 배지 내 여러 당기질이 *Lactobacillus bulgaricus*의 동결건조 후 저장 중 열내성과 생존력에 미치는 역할에 대해 연구되었는데, lactose를 보충한 성장배지는 높은 열 저항성을 가진 cell을 만들어낸다. 건조 배지 속의 glucose, fructose, lactose, mannose 또는 sorbitol의 존재는 대부분 저장 중 보호가 향상된다. 성장 조건과 건조 배지 조성, 건조상태의 젖산균 생존에 미치는 영향은 균주에 따라 분명하게 차이를 보여준다. 동결건조된 *Lactobacillus bulgaricus*의 사멸과 저장기간 동안 동결건조 탈지유의 용해성 사이

의 관계는 생존력의 정도가 상층액의 흡광도 제공 근에 비례한다는 것을 보여준다. 스타터 컬처 생산을 위한 세포의 최적 성장단계는 특정한 미생물에 좌우된다. 일반적으로 젖산균은 대수 말기나 정체 초기 중 하나에서 회수된다. 이것은 정체기에서 얻어진 박테리아 cell이 분무건조 후 생존력이 향상된다는 것을 보여준다. 성장 정체기에서 생기는 bacteria cells의 영양결핍과 glucose 결핍은 cell의 삼투압이나 열 스트레스와 같은 많은 스트레스에 대한 저항성을 야기시키는 환경을 제공하게 된다. *Lactobacillus rhamnosus* GG가 다른 prebiotic 물질내에서 유도기, 대수초기와 정체기의 시간차를 두고 분무건조 되었을 때 정체기에서 얻어진 cell의 경우 50% 이상이 생존한 반면, 대수초기에서 얻어진 cell은 14% 밖에 생존하지 못했다. 다른 연구결과 또한 대수기에서 얻어진 *L. bulgaricus*의 생존력이 가장 크게 소실된 것으로 나타났다. 정체기 컬처는 분무건조 공정에 더 강한 저항력을 가지는 것으로 나타났다.

### 전처리(스트레스 반응, 보호물질)

미생물 성장과정 중의 불리한 조건이나 스트레스는 내성반응을 생기게 한다. 열과 산 쇼크와 같은 다양한 스트레스는 분무건조에 대한 젖산균의 저항성을 더 크게 만든다. 지수성장기에서의 열 쇼크는 분무건조 중 *Lactobacillus bulgaricus*의 생존율을 증가시킬 수 있다. 세포성장 정체기에서는 내성반응이 나타나지 않는다. 초기 정체기에서는 스트레스를 받지 않은 cell이 열 스트레스 cell과 비교했을 때 더 높은 생존력을 나타낸다. 산을 처리하면 박테리아 컬처가 다양한 다른 스트레스에 대해 저항성을

갖게 된다는 연구결과가 보고되었다. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* cells의 pH 6.5 조건과 그렇지 않은 조건에서의 성장에 대해 연구한 결과 pH를 조정하지 않은 조건에서의 컬처는 가열과 건조 중에 높은 생존력을 보였지만, 건조상태로 저장 중에는 그렇지 않았다. 이러한 높은 저항성은 열 쇼크 단백질의 생산 증가와 연관성이 있는 것으로 보고되었다. Salt adaptation stress는 분무건조 중 박테리아 컬처의 생존을 향상시킬 수 있다. 지수성장 *Lactobacillus paracasei* NFBC 338의 cell이 미리 열이나 NaCl 처리(30분 동안 0.3 M NaCl에서 배양)되었을 때 분무건조 중 컬처의 기술적 성과는 개선되는 것으로 나타났다. 스트레스의 지속은 때때로 박테리아 컬처의 내성반응에 영향을 미친다. 예를 들면, *Enterococcus faecalis*의 경우 glucose 결핍 지속은 분무건조 중 박테리아 cell의 열과 산화적 내성을 점진적으로 증가시킨다.

보호물질의 첨가는 건조와 저장 중 스타터 컬처를 보호하기 위한 일반적인 방법이며 보호물질은 단일 또는 복합 성분이다. 여러 당(glucose, fructose, lactose, mannose, sucrose, sorbitol, adonitol, trehalose 등)과 탈지유, 아카시아검, MSG, 전분, 올리고당과 같은 물질이 건조 중 박테리아 cell의 보호 특성에 대해서 연구가 진행되었는데, 당은 비교적 가격이 싸고 화학적으로 무해하며 식품산업에서 흔하게 사용된다는 점에서 가장 선호되는 보호 물질이다. 성장 배지 내의 다른 발효용 당이 존재하게 되면 만니톨과 같은 대사산물을 생성하며 건조 중 박테리아 컬처의 생존력을 높일 수 있다. 비발효당은 cell에 고삼투압 스트레스를 가하게 된다. 이것은 호환성 용질의 축적을 유발하고 건조 중 삼투압 스트레스에 대한 cell 저항성을 가지게 한다. 당류 특히 이



당류들은 물분자를 대신할 수 있고 세포막 구조를 보호할 수 있다. 또한 단백질과의 수소결합을 형성함으로써 단백질 변성(세포구조 보호)을 지연시킨다. 두 가지 가설, 소위 물 치환과 유리화는 당에 의한 세포막 안정화의 메커니즘을 설명하기 위해 제시되는데 유리화 가설은 당에 의한 건조과정에서의 유리 형성에 기초한다. 물 치환 가설에 의하면 인지질과 당 간 특이적이고 특별한 상호작용이 보호 효과를 위해 요구된다. 상호작용은 당의 hydroxyl기와 이중층 표면에 있는 인산염기 간 수소결합을 거쳐 발생한다.

비록 sorbitol과 MSG 첨가 후 동결건조 중 생존에 대한 유의적 차이는 없었지만 sorbitol과 MSG가 동결건조된 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Enterococcus faecalis*와 *Enterococcus durans*의 저장 중 높은 생존력을 유지하는데 효과적이라는 연구결과가 보고되었다. Sucrose와 NaCl을 건조와 배양배지에 첨가하는 것이 동결건조된 *Lactobacillus bulgaricus*의 생존을 증가시킨다는 또 다른 연구결과도 있다. 그러나 성장과 건조 배지성분의 적합한 선택이 동결건조된 세포를 저장 중 보호하는데 필수적이다. 서로 다른 보호제의 조합은 분무건조된 probiotics의 생존을 개선하는데 사용될 수 있다. 대두단백과 말토데스트린 또는 탈지유와 아라빅검의 조합은 분무건조된 *Bifidobacterium lactis* BB12의 생존율을 높이는데 가장 적합하며 아카시아검을 분무건조, 저장 그리고 위장 통과 중 *Lactobacillus paracasei* NFBC 338의 probiotic culture를 보호하는데 사용된다. 아카시아 함유 culture는 대조군에 비해 분무건조 중 10배 더 생존한 것으로 나타났다. 환원 탈지유, polydextrose(PD), inulin 물질을 다양하게

혼합했을 때 분무건조 중 probiotic *Lactobacilli*의 생존력에 미치는 영향에 대해 연구한 결과 PD와 inulin은 건조나 저장기간 중 culture의 생존력을 증가시키지 못하는 것으로 나타났다. 그러나 환원 탈지유와 PD는 환원 탈지유/inulin 조합에 비해 저장기간 중 probiotic *Lactobacilli*를 탁월하게 보호할 수 있는 것으로 나타났다. 이것은 건조과정 중 최상의 보호제는 저장 중 microbial cell의 보호에 최적이지 아니라는 것을 인식하는 것이 중요하다.

### 건조조건 이후(재수화, 포장 및 저장)

재수화는 분무건조된 젓산균 스타터 컬처의 회복에 결정적 단계이다. 재수화 사용액 및 재수화 조건은 건조된 미생물 컬처의 생존율에 영향을 미친다. *Lactobacillus bulgaricus*를 소생시키는데 4개의 다른 재수화 배지(20°C에서)인 탈지유, MRS broth, 이온수, 인산염 완충액간 세포생존에 유의차( $p < 0.05$ )가 없는 것으로 밝혀졌다. 재수화 온도 역시 분무건조 후 세포 회복에 영향을 끼칠 수 있다. 4-50°C간 온도 증가는 *L. bulgaricus*의 생존력을 연속적으로 증가시킨다. *S. thermophilus*와 *B. longum*에서도 비슷한 결과를 보였다. 재수화 온도의 영향은 유동층 건조로 건조된 *Lactobacillus plantarum*과 *Lactobacillus bulgaricus*에서는 다른 결과를 보였다. *Lactobacillus plantarum*의 경우 재수화 온도(30°C 또는 37°C)는 최종 박테리아 농도에 유의성 있는 결과를 보이지 않았다. *Lactobacillus bulgaricus*의 최종 농도는 온도에 의해 크게 영향을 받았다. 즉 온도가 높을수록 생존력이 더 컸다. 재수화 속도는 또 다른 인자이다. 고속(2분) 또는 완만(30분) 재수화는 *Lactobacillus bulgaricus*의 생존력에 유의차가 있다. 완만 재수화

는 세포 생존력을 높이는데 이는 담금법이 삼투 충격의 정도를 줄이기 때문이다. 그러나 재수화 후 일정온도에서 세포막 유동성 감소는 포화지방산 비율을 증가시켜 막 누출을 증가시키고 컬처 생존력 손실을 야기시킨다.

저장 및 포장 조건은 건조 후 세포 생존력에 영향을 끼친다. 온도는 저장 중 미생물 생존에 중요 변수이다. 예상될 수 있는 것처럼 분무건조 제품의 안정성은 저장 중 감소하고 낮은 저장온도는 미생물 생존율을 더 높인다. 막 지방산의 지질산화는 저장 중 세포사멸의 가능성 메커니즘으로 보고되고 있다. 저장 중 지질산화의 증가로 인해 세포막의 지질성분이 변한다. 아스코르빈산과 글루탐산나트륨과 같은 항산화물질의 첨가는 4°C 저장 중 *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*를 보호하는 것으로 보고되고 있다. 컬처의 치사율(20°C 저장온도에서)은 대조구에서 보다 이들 성분이 존재할 때 더 높다. 이는 아스코르빈산이 높은 온도에서 세포산화제로 작용하는 특성 때문이다. 일부 당류(솔비톨, 말토스 및 만니톨) 역시 산화손상에 대한 효과적인 스타터 컬처용 보호제이다. 당류에 의한 보호제 및 항산화 역할에 내포된 메커니즘은 유리 라디칼 scavenging, 금속 킬레이트, 과산화수소와의 복합체 형성 및 산소 확산의 점성 제한으로 보고되고 있다. 컬처 저장용 포장은 중요하다. 진공이나 질소 치환 포장은 *Bifidobacteria*와 같은 혐기성 프로바이오틱을 저장하는데 적합하다. 진공저장은 질소와 공기보다 더 우수하다. 포장재가 세포 생존력에 미치는 영향에 관한 정보는 거의 없다. 분무건조된 *Streptococcus thermophilus*와 *Bifidobacterium longum*은 라미네이트된 파우치한 유리병과 polyethylene terphthalate 병에 더 잘 생존한다.

수분함량은 건조된 컬처의 안정성에 중요 변수이다. 최적 잔류수분함량은 박테리아가 건조되는 액체의 성분, 저장 공기 및 박테리아 종에 좌우된다. 건조된 프로바이오틱 컬처의 수분함량과 수분활성도는 장기간 저장 안정성을 위해 일정하게 유지되어야 한다. 이러한 경우 수분활성도와 수분함량은 각각 0.25와 5%이하여야 한다. 건조된 유제품에서 더 좋게 미생물을 보존하기 위해서는 잔류수분함량이 4% 또는 수분활성도가 0.2이어야 한다고 보고되고 있다. 분말성분, 산소함량 및 유리이동은 도 역시 분말내 프로바이오틱의 생존에 유의성있게 영향을 끼친다. Trehalose, 유당·trehalose와 유당·말토스 내 냉동건조된 *Lactobacillus rhamnosus* GG의 높은 생존력은 높은 이동온도와 관련이 있다고 보고되고 있다. 물질이동속도는 유리재질이 더 느려 해로운 공정에 더 안정적이어서 분말은 유리 재질 상태에 있어야 한다. 언급했듯이 상대습도는 저장 중 분말 스타터 컬처 생존에 크게 영향을 끼치는데 높은 상대습도는 분말에 케이킹 현상을 일으킨다. 케이킹은 프로바이오틱 생존에 가장 좋지 못한 조건 중 하나이다. 따라서 주변 상대습도는 유리·고무 이동과 일치하는 임계평형값 하에 유지되는 것이 필수적이다. 진공포장 역시 공기습도를 제거하기 때문에 진공 건조된 프로바이오틱 포장이 권장되고 있다.

## 건조된 스타터 컬처의 필요조건

스타터 컬처의 생존력과 안정성을 유지하는 것 외에도 분무건조 공정에 따르는 대사활성을 유지하는 것이 중요하다. 일부 젖산균은 생존력과 활성이

커다란 손실 없이 분무건조될 수 있음이 입증되고 있다. 분무건조 공정은 *L. sakei*와 *L. salivarius* 균주가 선발 병원균에 대한 항균활성에 영향을 끼치지 않는다. 분무건조는 *Lactobacillus acidophilus*에 의한 과산화물 생성에 영향을 끼치지 않으며 고유성, 형태 또는 프로바이오틱 특성 등의 중요한 변화를 일으키지 않는다. 그러나 동결 및 동결건조와 비교했을 때 *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* D11, *Streptococcus thermophilus* CH3TH와 *Lactobacillus casei* ssp. *pseudoplantarum* UL137에 의한 젖산 생성이 상당히 지연됨에 따라 분무건조 스타터 컬처는 우유를 발효하는데 직접 적용용으로 사용될 수 없음을 보고하였는데 이는 성장시작 전 유도기가 크게 증가하기 때문이다.

## 결 론

분무건조는 젖산균 보존을 위한 기대되는 공정이다. 이 공정은 발효식품 생산에 있어 통상적 액상 벌크 스타터를 대체할 수 있다. 일반적으로 분무건조 컬처는 성장시작 전 긴 유도기와 비교적 낮은 생존력을 갖는다. 그러므로 건조공정 중 젖산균 보존 및 건조 컬처 생존력 개선은 발효식품 산업과 스타터 균주생산업자에 중요하다. 여러 변수와 조건들은 성장에서 저장까지 컬처의 생존력에 영향을 끼칠 수 있다. 건조 컬처의 생존력은 균주 본래의 내성과 공정조건에 좌우된다. 따라서 공정조건이 조절되고 적당한 보호제가 건조 및 저장 중 높은 생존력을 얻는데 추가되어야 한다. 정체기 초기단계에서의 젖산균 회수, 50℃에서 건조 컬처의 완만 재수화, 적절한 포장재 사용

및 조건은 젖산균 스타터 컬처의 높은 생존력을 보증한다.

박테리아 컬처는 5% 이하로 건조하고 저온에서 저장되어야 한다. 건조컬처는 열, 산소, 빛과 수분으로부터 보호되어야 하며 적당한 포장재가 선정되어야 한다. 혐기성 프로바이오틱의 경우 진공밀봉 알루미늄 코팅소재가 권장된다. 젖산균의 분무건조는 많은 도전이 제시되고 있다. 도전으로는 적당한 보호물질과 이동배지의 선택 및 건조기술의 최적화이다. 앞에서 언급했듯이 중요한 도전은 건조 및 저장 시 젖산균의 생존력을 개선하는 것이다. 고온에서 안정한 상업적 젖산균주는 없다. 따라서 자연적으로 열에 안정한 새로운 젖산균 발견이나 유전적 변형 젖산균이 중요하다. 새로운 캡슐화 시스템 개발은 젖산균의 열 안정성을 개선한다. 또 다른 중요한 도전은 분무건조에 따른 스타터 컬처 특성을 유지하고 기능성 식품개발에 건조 컬처의 적합성을 평가하는 것이다.

## ● 참고문헌 ●

1. Devakate RV, Patil VV, Waje SS, Thorat BN, Purification and drying of bromelain, Separation and Purification Technol, **64**, 259-264, 2009
2. Peighambardoust SH, Golshan Tafti A, Hesari J, Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures : a review, Trends in Food Sci & Technol, **22**, 215-224, 2011
3. Santivarangkna C, Kulozik U, Foerst P, Alternative drying processes for the industrial preservation of lactic acid starter cultures, Bio-

- technol Progress, **23**, 302-315, 2007
4. Vega-Mercado H, Marcela Gongora-Nieto M, Barbosa-Canovas GV, Advances in dehydration of foods, J Food Engin, **49**, 271-289, 2001

**임 상 동** 농학박사

소 속 : 한국식품연구원 발효기능연구단  
전문분야 : 기능성 젖산균 분리 및 이용기술,  
유가공

E-mail : limsd@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9082