

시판 막걸리로 제조한 전통발효유 타락의 발효 특성

정진경¹ · 고성희¹ · 오세욱² · 임지영² · 전태훈³ · 김수아⁴ · 명길선⁴ · 장성식⁴ · 허철성⁵ · 한영숙¹

¹성신여자대학교 식품영양학과, ²국민대학교 식품영양학과

³고려대학교 생명공학과, ⁴한국야쿠르트 중앙연구소

⁵서울대학교 국제농업기술대학원

Fermentation and Microbial Characteristics of Korean Traditional Fermented Milk, *Tarak*

Jin-Kyoung Jung¹, Seong-Hee Ko¹, Se-Wook Oh², Ji-Young Lim², Tae-Hoon Chun³, SooA Kim⁴, Kil-Sun Myoung⁴, Sung Seek Jang⁴, Chul-Sung Huh⁵, and Young-Sook Han¹

¹Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

²Department of Food and Nutrition, Kookmin University

³Division of Biotechnology, Korea University

⁴R&D Center, Korea Yakult Co. Ltd.

⁵Graduate School of International Agricultural Technology, Seoul National University

ABSTRACT In this study, for modernization of Korean traditional fermented milk, *Tarak* was made using four kinds of commercial *Makgeolli* based on the ancient cookbook *Suwoonjabbang*. Samples of *Tarak* were periodically collected during 24 h of fermentation at 37°C. After fermentation, changes in pH, titration acidity, and viscosity were analyzed. Fermentation metabolites, including organic acids and free sugars, were analyzed by HPLC. Numbers of yeast and lactic acid bacteria during 24 h of fermentation were measured. The pH of *Tarak* significantly decreased ($P<0.01$), whereas its acidity significantly increased ($P<0.01$) during fermentation. The viscosity increased during 8~24 h of fermentation until curd was separated in *Tarak*. The level of ethanol increased from 0.37~0.52 mg/mL to 0.51~0.71 mg/mL during 24 h of fermentation. Lactic acid and lactose were the major organic acid and free sugar in *Tarak*, respectively. The number of lactic acid bacteria increased from 5.23~6.25 log CFU/mL to 9.87~10.41 log CFU/mL at the beginning during 24 h of fermentation. The number of yeast increased from 5.14~6.47 log CFU/mL to 6.99~7.73 at the beginning during 24 h of fermentation at 37°C. The major strains of *Tarak* were *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus curvatus*, and *Saccharomyces cerevisiae*. Therefore, we concluded that *Tarak* was a fermented milk by both lactic acid bacteria and yeast, which was similar to koumiss or kefir.

Key words: *Tarak*, Korean traditional fermented milk, microbial characteristics, fermented milk

서 론

발효유는 일반적으로 우유, 산양유, 마유 등과 같은 포유 동물류의 젖을 원료로 하여 젖산균이나 효모 또는 이 두 가지 미생물을 스타터로 하여 발효시킨 것을 말한다(1). 발효유는 사용되는 미생물에 따라 순수하게 젖산균에 의해서만 발효된 젖산 발효유와 젖산균과 효모를 함께 발효시켜 만들어진 젖산-알코올 발효유로 구분할 수 있는데, yogurt, acidophilus milk, cultured buttermilk, cultured cream 등이 젖산 발효유에 속하며 kefir와 kumiss 등이 대표적인 젖산-알코올 발효유에 속한다(2). 여러 연구를 통하여 발효유의 우수성은 널리 밝혀지고 있는데 대사산물에 의한 영양 효과

이외에도 항균 효과 설사와 변비의 개선, 혈중 콜레스테롤 저하, 면역기능의 강화 및 항암 효과가 과학적으로 입증되었다(3-5).

우리나라에서의 발효유는 yogurt라고 통칭되어 서양에서 전래된 것으로만 인식되지만 문헌(6)을 통해서 우리나라에서도 유제품을 이용했다는 것을 알 수 있다. 현재까지 발견된 가장 오래된 한문필사본 조리서인 수운잡방(需雲雜方)(6)에는 '타락'이라 하여 우유에 탁주를 넣어 발효시킨 발효유의 제법이 자세히 나와 있다. 수운잡방에서의 타락의 제조법을 보면 "우유가 끓어서 익게 되거든 오지향아리에 담고 본타락 작은 잔 한잔을 섞어서 따뜻한 곳에 놓은 다음 두껍게 덮어둔다. 밤중에 나무 막대로 찢러 보아서 누린 물이 솟아오르면 그 그릇을 시원한 곳에 둔다. 본타락이 없으면 탁주 한 중바리를 넣어도 좋다. 본타락을 넣을 때 좋은 식초를 조금 같이 넣으면 더욱 좋다(若駝駱即沸 盛沙缸納本駝駱一小盞和之 置溫處厚 至夜半以木插之 黃水湧出即置其器於

Received 6 November 2014; Accepted 13 March 2015

Corresponding author: Young-Sook Han, Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 136-702, Korea
E-mail: yshan@sungshin.ac.kr, Phone: +82-2-920-7210

涼處 若無本駝駱則好濁酒一中中鍾亦可 本駝駱入時好醋少許并入甚良”라고 언급되어 있다. 이를 통해 우리나라에서도 1500년대 이전부터 막걸리를 발효원으로 사용한 발효유가 이용되어 왔음을 알 수 있었다(6).

막걸리는 제조일이나 사용된 누룩 등의 재료에 따라 서로 다른 유산균 효모가 존재하는데 이를 손쉽게 얻기 위해 시판 막걸리를 사용하여 우리나라 전통 발효유 타락을 제조하였으며 이 타락의 발효 중 pH, 산도, 점도, 당도 및 에탄올 등의 변화와 발효에 관여하는 미생물의 분석을 통하여 전통 발효유 타락 연구의 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료

주재료인 우유는 서울우유사(Seoul Milk, Seoul, Korea) 저지방우유(탄수화물 2%, 단백질 5%, 지방 2%, 세균수 기준 1급A)를 사용하였다. 수운잡방에 언급된 타락의 제조법은 우유를 노구술에 끓이며 막이 생기면 걷어내는 과정을 거치는데 이것은 살균 처리와 우유의 지방층을 걷어내기 위한 과정으로 보인다. 본 실험에서는 우유를 끓여서 사용하지 않고 고압증기멸균기를 이용하여 살균 처리하였으나 문헌(6) 속의 타락 제조과정을 재현하기 위하여 우유에서 지방의 함량이 저감된 저지방 우유를 사용하였다.

4종의 막걸리는 시판되어 구입할 수 있는 막걸리 중 지역적인 특성을 고려하여 옛날막걸리(Kooksoondang, Seoul, Korea), 금정산성막걸리(Gumjungsansung Tosanju, Busan, Korea), 느린마을막걸리(Beasangmyunjuga, Seoul, Korea), 덕산쌀막걸리(Sewangjujo, Chungbuk, Korea)를 구입하였다. 시료는 서울의 대형 마트 1곳, 백화점 2곳에서 구입하여 사용하였다.

타락의 제조 및 발효 특성 분석을 위해 사용한 시약은 ethanol(Daejung, Gyeonggi, Korea), acetic acid(Merck, Darmstadt, Germany), sodium hydroxide(Samchun Chemicals, Gyeonggi, Korea) 배지는 Lactobacilli MRS agar(MRS agar, Difco, Detroit, MI, USA), Potato dextrose agar(PDA agar, Merck)를 사용하였다. 기타 HPLC 분석용 시약은 분석급을 사용하였다.

타락의 제조

타락의 제조는 ‘수운잡방(6)’에 근거하여 재현하였다. 시판되는 우유는 살균되는 과정을 거치지만 본 실험에서는 문헌을 그대로 재현하기 위하여 살균과정을 거쳤으며 90°C 10분, 20분, 30분을 살균하여 MRS와 PDA 배지에 도말하여 콜로니가 검출되지 않는 최적의 살균온도를 선정하였다. 이를 통하여 우유는 autoclave를 이용하여 90°C에서 20분간 가열하였으며 미생물 접종 적정온도인 37°C까지 식혀서 6% acetic acid를 0.1% 첨가한 후 10%의 시판 막걸리를 첨가하고 37°C의 인큐베이터에서 배양하여 타락을 제조하였다. 제조한 타락은 0시간부터 4시간 간격으로 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24시간에 채취하여 실험에 사용하였다. 시판 막걸리로는 국순당 옛날막걸리(M1), 금정 산성막걸리(M2), 배상면주가 느린마을막걸리(M3), 덕산 쌀막걸리(M4)를 사용하였으며 이후 제조된 타락은 순서대로 T1, T2, T3, T4로 표기하였다. 발효원으로 사용된 막걸리의 품질 특성은 Table 1과 같다.

pH 및 산도

발효시간에 따른 타락 시료의 pH는 타락 10 mL씩을 취하여 상온에서 pH meter(ORION 3 STAR, Thermo, Bremen, Germany)를 사용하여 3회 반복 측정하고 평균값을 취하였으며, 산도는 0.1 N NaOH 수용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여 이때 소비된 0.1 N NaOH 용액의 양을 다음 식에 의하여 lactic acid 함량(%)으로 환산하였다(7). 적정산도는 3회 반복 측정하였다.

$$\text{Lactic acid (\%)} = \frac{0.009 \times \text{mL of N NaOH} \times F}{\text{Sample (mL)}} \times 100$$

F=factor of 0.1 N, NaOH=1.0

점도 및 당도

발효시간에 따른 타락의 점도는 점도계(LVDV-I+, Brookfield, Vermont, WI, USA)를 사용하여 측정하였으며, spindle No. 2(최대값은 2,500 cP)를 사용하여 60 rpm에서 그 값을 측정하였다. 단위는 cP로 나타내었으며 측정 시작 후 1분간 안정화시킨 뒤 20초 간격으로 3회 반복 측정하였다. 당도는 측정 범위가 Brix 0~32%인 당도계(PR-1,

Table 1. Characteristic of fermentation source *Makgeolli*

	Samples ¹⁾			
	M1	M2	M3	M4
pH	3.96±0.02 ²⁾	3.45±0.02	4.47±0.02	3.36±0.02
Acidity (%)	0.78±0.01	0.67±0.01	0.58±0.01	1.09±0.01
Alcohol (%) ³⁾	7.00	8.00	6.00	8.00
Lactic acid bacteria (log CFU/mL)	7.55±0.04	7.21±0.03	8.19±0.07	8.63±0.01
Yeast (log CFU/mL)	6.45±0.03	7.09±0.02	6.91±0.61	9.68±0.63

¹⁾M1: Yetnal *Makgeolli* (Kooksoondang), M2: Gumjungsansung *Makgeolli* (Gumjungsansung Tosanju), M3: Slow City *Makgeolli* (Beasangmyunjuga), M4: Deoksan Rice *Makgeolli* (Sewangjujo).

²⁾Mean±SD.

³⁾Alcohol contents was shown nutrition information in packaging.

ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 당도계에 타락 시료를 점적하여 3회 반복 측정하였다.

에탄올 함량

에탄올 함량을 측정하기 위해 발효시간에 따른 타락시료를 1 mL씩 취한 후 1,000×g에서 10분간 원심분리 하였다. 상정액 100 µL를 취한 후 3차 증류수로 10배 희석을 하여 ϕ 0.22 µm membrane filter를 여과한 후 HPLC(Ultimate 3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) 분석의 시료로 사용하였다. 이때 이용된 HPLC의 칼럼은 Aminex 87H 칼럼(300×7.8 mm, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하였으며 이동상은 0.01 N H₂SO₄를 이용하여 0.5 mL/min으로 흘려보냈다. 시료의 1회 주입량은 10 µL였으며 detector는 RI(Shodex RI-101, Tokyo, Japan), UV(210 nm)를 사용하여 검출하였다.

유기산 함량

타락의 발효에 따라 생성된 유기산을 측정하기 위해 발효 시간에 따른 타락시료를 1 mL씩 취한 후 1,000×g에서 10분간 원심분리 하여 사용하였다. 상정액 100 µL를 취한 후 3차 증류수로 10배 희석을 하여 0.22 µm membrane filter로 여과한 후 HPLC(Ultimate 3000) 분석의 시료로 사용하였다. HPLC 분석조건은 에탄올 함량 분석조건과 동일하다.

유리당 함량

발효시간에 따른 유리당의 변화를 측정하기 위하여 타락 시료 1 mL를 취해 1,000×g에서 10분간 원심분리 하였다. 상정액을 ϕ 0.22 µm membrane filter를 이용하여 칼럼에 주입하였다. 유리당 분석에 이용된 HPLC(Ultimate 3000)의 칼럼은 Waters Sugar-pak(300 mm×6.5 mm, 10 µm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며 이동상은 3차 증류수를 이용하여 0.5 mL/min으로 흘려보냈다. Detector는 RI(Shodex RI-101)를 사용하여 검출하였다.

젖산균 및 효모균 수 측정

발효시간에 따른 타락의 젖산균 및 효모 균수를 측정하기 위해 0시간부터 4시간 간격으로 채취한 시료를 1 g 취한 후 9 mL의 멸균수와 혼합하여 십진 희석법을 이용하여 희석하였다. 젖산균 수는 희석한 시료를 Lactobacilli MRS agar 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 유효숫자 범위 내의 콜로니 수를 계측하였다. 효모는 희석한 시료를 10% tartaric acid를 pH 3.5가 되도록 첨가하여 효모를 제외한다. 다른 미생물의 성장이 억제된 Potato dextrose agar 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하여 젖산균과 같은 방법으로 계측하였다.

균주 분리

타락제조에 관여하는 균주를 동정하기 위하여 제조된 타

락의 균주를 젖산균은 Lactobacilli MRS agar, 효모는 Potato dextrose agar 배지를 사용하여 단일균주를 분리하였다. 콜로니의 형태를 비교하여 서로 모양이 다른 콜로니를 시료별로 9~10 콜로니를 분리하였다. 희석 배양하여 균주를 분리 후 이를 3번 반복하여 순수 분리하였다. 분리된 균주는 (주)마크로젠(Seoul, Korea)에 의뢰하였다. PCR 반응을 통하여 젖산균은 16S rDNA 염기서열 분석을 하였으며, 효모균은 18S rDNA 염기서열 분석을 실시하여 균주를 동정하였다.

통계처리

본 연구의 결과는 3번 반복하여 평균(±표준편차)을 구한 값을 사용하였다. 각 항목에 따른 자료분석을 위하여 SPSS program(ver. 18.0, IBM Company, Armonk, NY, USA)을 이용하였다. 분산분석(ANOVA)을 실시하여 처리물질의 유의성을 검토한 후 유의성이 있는 경우의 차이 검증을 위해 Duncan's multiple range test로 각 시료 간의 사후검증을 하였다.

결과 및 고찰

pH 및 산도

시판 막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 pH와 산도 변화는 Table 2와 같다. 우유의 pH는 7.3이었으나 0.1% acetic acid와 발효 원인 막걸리를 첨가한 타락의 제조 직후 pH는 6.20~6.49를 나타내었다. 발효가 진행되며 점차 pH가 감소하는 것을 알 수 있는데 이는 막걸리의 종류에 따라 다소 차이가 있었다. T1의 경우 발효 4시간 이후 급격히 pH가 감소하면서 발효 16시간이 경과하였을 때는 pH 4.64의 범위를 나타내어 우유의 등전점에 도달하였다. 우유의 응고과정은 크게 산에 의한 응고, 열에 의한 응고, 단백분해효소에 의한 응고 등으로 나뉠 수 있는데 본 실험에서는 등전점에 도달하기 전에 겔을 형성하는 모습을 보여 다양한 유기산의 생성으로 인하여 pH가 등전점에 도달하는 산에 의한 응고 이외에 단백분해효소에 의한 소수기 간의 응고가 복합적으로 일어난 것으로 보인다. T2, T3은 발효 24시간 동안 완만하게 감소하여 24시간에도 등전점에 도달하지 못하였으나 각각 발효 8시간과 4시간째부터 겔을 형성하기 시작하였다(8). 이처럼 타락이 발효가 진행되면서 pH의 감소 양상이 다른 것은 발효를 주도하는 젖산균의 차이에 의하며, 우유에 함유된 당을 기질로 소비하여 lactic acid와 이외의 유기산을 생성하면서 pH가 감소되는 것으로 생각되었다(9). 적정산도는 발효시간에 따른 pH 변화의 결과와 반비례하여 발효가 진행됨과 동시에 증가하는 추세를 보였다. 가장 높은 산도를 보인 것은 T1로 발효 4시간 이후 급격한 산도의 증가를 보여 발효 24시간에는 0.73%의 값을 나타냈다.

Table 2. Changes of pH, titratable acidity (%), viscosity (cP), and Brix (%) in *Tarak* made with various *Makgeolli* at 37°C for 24 h

Type of <i>Makgeolli</i> ¹⁾	Fermentation time (h)								F-value
	0	4	8	12	16	20	24		
pH	T1	6.28±0.03 ^{a2)3)}	6.16±0.02 ^b	5.75±0.06 ^c	4.95±0.02 ^d	4.64±0.04 ^e	4.69±0.02 ^e	4.69±0.04 ^e	1,220.736 ^{***}
	T2	6.20±0.03 ^{ab}	6.15±0.01 ^{bc}	6.11±0.04 ^c	6.00±0.07 ^d	5.74±0.01 ^e	5.14±0.03 ^f	4.94±0.04 ^g	599.631 ^{***}
	T3	6.21±0.03 ^a	5.82±0.02 ^b	5.45±0.03 ^c	5.33±0.01 ^d	5.20±0.02 ^e	5.06±0.05 ^f	5.03±0.02 ^a	823.378 ^{***}
	T4	6.49±0.02 ^a	6.34±0.03 ^b	6.33±0.03 ^c	6.40±0.04 ^c	6.34±0.01 ^c	6.02±0.03 ^d	5.56±0.03 ^e	437.629 ^{***}
Titratable acidity (%)	T1	0.20±0.00 ^g	0.23±0.00 ^f	0.28±0.00 ^e	0.49±0.00 ^d	0.58±0.00 ^c	0.60±0.00 ^b	0.73±0.00 ^a	9,182.778 ^{***}
	T2	0.21±0.00 ^e	0.23±0.00 ^d	0.24±0.01 ^d	0.25±0.02 ^c	0.26±0.00 ^c	0.34±0.00 ^b	0.53±0.00 ^a	582.385 ^{***}
	T3	0.22±0.00 ^g	0.32±0.00 ^f	0.33±0.00 ^e	0.45±0.01 ^d	0.47±0.01 ^c	0.49±0.00 ^b	0.56±0.00 ^a	1,757.333 ^{***}
	T4	0.17±0.00 ^d	0.19±0.00 ^c	0.19±0.00 ^c	0.17±0.02 ^d	0.18±0.00 ^{cd}	0.23±0.01 ^b	0.40±0.01 ^a	315.310 ^{***}
Viscosity (cP)	T1	12.50±6.61 ^f	385.83±5.77 ^c	844.17±37.86 ^a	625.67±29.01 ^b	NM ⁴⁾	NM	NM	161.650 ^{***}
	T2	15.00±2.50 ^d	355.17±32.52 ^c	547.47±45.84 ^b	1,058.83±79.15 ^a	NM	NM	NM	84.301 ^{***}
	T3	10.00±2.50 ^c	255.83±21.84 ^b	1,017.33±58.62 ^a	NM	NM	NM	NM	346.916 ^{***}
	T4	7.50±0.00 ^c	10.17±2.52 ^c	10.83±2.89 ^c	26.67±3.82 ^c	67.50±2.50 ^c	550.00±98.49 ^b	861.83±4.04 ^a	256.409 ^{***}
Brix (%)	T1	10.17±0.29 ^a	7.20±0.29 ^d	7.67±0.29 ^c	8.00±0.00 ^{bc}	8.00±0.00 ^{bc}	8.20±0.25 ^b	8.30±0.29 ^b	46.896 ^{***}
	T2	9.83±0.29 ^a	7.00±0.50 ^b	6.83±0.29 ^b	7.07±0.12 ^b	6.77±0.25 ^b	6.77±0.06 ^b	6.86±0.12 ^b	51.721 ^{***}
	T3	10.50±0.50 ^a	7.33±0.29 ^{de}	7.13±0.12 ^c	7.07±0.12 ^e	7.67±0.29 ^{cd}	8.00±0.00 ^{bc}	8.20±0.00 ^b	66.840 ^{***}
	T4	10.67±0.58 ^a	10.67±0.29 ^a	10.50±0.00 ^a	10.50±0.00 ^a	10.17±0.29 ^a	6.80±0.00 ^b	6.93±0.12 ^b	129.779 ^{***}

¹⁾T1: *Tarak* made with Yetnal *Makgeolli* (Kooksoondang), T2: *Tarak* made with Gumjungsansung *Makgeolli* (Gumjungsansung Tosanju), T3: *Tarak* made with Slow City *Makgeolli* (Beasangmyunju), T4: *Tarak* made with Deoksan Rice *Makgeolli* (Sewangjujo).

²⁾Mean±SD.

³⁾Means with different letters (a-f) in a row are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

⁴⁾NM: not measured.

^{***} $P<0.001$.

당도 및 점도

시판 막걸리 4종을 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 점도와 당도를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 발효 초반 발효 원인 시판 막걸리를 첨가하였을 때는 우유의 물성과 같은 액상을 나타내며 점도는 7.50~15.00 cP를 나타내었다. 이후 발효가 시작되면서 점점 높은 점도값을 나타내는데 T1과 T3의 경우 0시간부터 증가하여 발효 8시간에는 각각 844.17 cP, 1,017.33 cP로 최고값을 나타내었다. 이러한 결과는 발효의 경과와 더불어 일어나는 pH, 산도 변화와 관계가 있는 것으로 보였다. 최고점도를 보인 이후 응고되었던 타락에서 형성된 커드가 유청과 분리되면서 점도는 감소하는 현상을 보였기에 점도는 최고점도를 보인 시점까지 측정을 진행하였다. Kim 등(10)은 시판 요구르트의 점도가 7,850~21,000 cP로 제품들 간에 차이가 있고 첨가한 증점제에 따라서도 차이가 있다고 하였는데, 본 실험에서 최고 발효시점에서의 점도는 844.17~1,058.83 cP로 시판 요구르트보다 다소 낮은 점도값을 가지는 것은 요구르트에 탈지분유 같은 고형분을 첨가하지 않았기 때문으로 생각된다. Rasic과 Kurmann(11)은 발효유의 점도는 발효유 혼합액의 전고형분, 단백질, 염 함량, 산도, 균질화 및 사용균주의 단백질 분해력 등에 의한 요인에 의한다고 보고하였는데 본 연구에서는 발효 원인 시판 막걸리 함유 균주의 젖산균 및 효모의 함량과 단백질 분해력에 따른 점도의 차이가 나타난 것으로 보인다.

발효 0시간 타락의 당도는 각각 9.83~10.67%로 모든 실

험군에서 비슷한 수준을 나타내었다. 이는 초기 제조 원료로 사용하였던 우유의 탄수화물 함량인 2%와는 차이를 보이는 데, 실험에서 사용한 Brix 당도계의 경우 수용액 속에 녹아 있는 당, 아미노산 등이 굴절에 간섭을 일으키는 것으로 알려져 있어 이로 인하여 HPLC로 측정값과의 차이를 보이는 것으로 나타났다. 이후 T1, T2, T3의 경우에는 발효 4시간까지 당도가 급격히 감소하여 각각 T1은 7.20%, T2는 7.00%, T3은 7.30%의 당도를 나타냈으며, T4의 경우에는 발효 20시간이 되어서야 6.80%로 감소하였다. 이는 pH가 감소하고 산도가 증가하는 결과와 일치하여 타락의 발효가 시작되며 당도가 감소하는 것으로 생각된다. T2, T4의 경우에는 당도가 감소한 이후 일정한 당도값을 유지하는 것을 확인할 수 있었는데 Jeong 등(12)의 연구에 따르면 이와 같은 결과는 발효원으로 사용된 젖산균이 우유에 있는 lactose를 분해하여 glucose를 생육하는 데 사용하기 때문에 당도가 감소하고, galactose는 계속 잔존하기 때문에 당도가 유지되는 것으로 생각된다.

에탄올 함량

시판 막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 에탄올의 함량은 Fig. 1과 같다. 발효 0시간 에탄올 함량은 0.37~0.52 mg/mL 범위를 나타내었으며 이것은 발효 원인 막걸리에서 유래한 에탄올 함량이라 여겨진다. T4를 제외한 T1, T2, T3에서 발효시간에 따라 에탄올 함량이 증가하는 것을 알 수 있는데 T1의 경우 증가의 폭이 가장 커서 발효

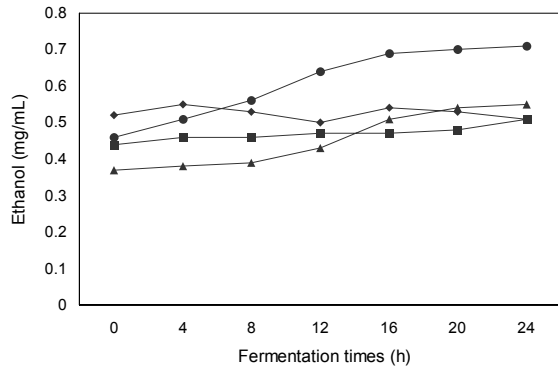


Fig. 1. Changes of ethanol (mg/mL) in *Tarak* made with various *Makgeolli* at 37°C for 24 h.

16시간까지 꾸준한 증가를 보여 0.69 mg/mL를 나타내었고 이후 완만한 증가를 보여 발효 24시간에는 0.71 mg/mL로 나타났다. T3의 경우 또한 발효 20시간까지 꾸준한 증가를 보여 0.54 mg/mL를 나타내며 이후 24시간에는 0.55 mg/mL로 나타났다. 이러한 타락에서의 에탄올 생성은 Table 3의 균주 동정 결과에 따라 막걸리 유래 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*와 이상젖산 발효균인 *Leuconostoc mesenteroides* 등의 영향으로 생각된다. 알코올 발효능이 뛰어난 *S. cerevisiae*가 초기의 당류와 이어지는 대사산물 등을 탄소원으로 알코올 발효를 주도하며 이상젖산 발효균도 소량의 에탄올을 생성하는 것으로 생각된다.

유기산 및 유리당 함량

시판 막걸리를 이용해 제조한 타락에서의 발효시간에 따른 유기산의 변화는 Table 4, 유리당의 변화는 Table 5에 제시하였다. 타락 발효 시 생성되는 유기산은 주로 lactic acid임을 알 수 있다. 젖산균에 의한 lactose 대사과정 중 생성되는 glucose는 약 95%가 lactic acid로 전환되며, 이 lactic acid는 발효유제품의 풍미, 조직 및 영양 면에서 중요한 역할을 담당하게 된다(13). 생성된 lactic acid는 4개의 실험군 모두에서 전체 유기산 생성량의 80% 이상을 차지하였다. Citric acid는 원료에서 유래하여 발효 0시간에 가장 높게 검출되었다. 이후 T1의 경우 완만히 증가하였지만 T2, T3, T4의 경우 발효가 진행되며 citric acid가 감소하였다. 이는 T2, T3, T4에서 공통적으로 존재하는 *Leu. mesenteroides*의 영향(Table 3)으로 이 균주는 우유에서 citric acid를 소비하여 diacetyl을 생성할 수 있는 것으로 알려져 있다(13,14). 또한 초반 acetic acid를 0.1% 첨가한 것에서 유래한 것으로 여겨지는 acetic acid가 발효 0시간부터 소량 검출되었으며 이후 완만히 증가되었다. 제조된 타락에서 분리된 균주들은 *Lactobacillus* sp.와 *Leuconostoc* sp. 등의 젖산균이 분리되었으나 분리된 균주들 외에도 막걸리에서 유래한 다양한 젖산균이 존재할 것으로 보인다. 이 중에 이형젖산 발효균이 미량의 acetic acid를 생성하는 것으로 여겨진다. 이외에 succinic acid도 소량 생성되었다. 이를 통하여 타락은 정상젖산 발효균과 이상젖산 발효균이 혼재하는 발효유임을 알 수 있고 이때의 발효를 이끄는 균주에

Table 3. Isolated strains from *Tarak* made with various *Makgeolli* at 37°C for 24 h

		Description	Colony / Total isolated
T1 ¹⁾	Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 / 3
	Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus brevis</i>	2 / 7
		<i>Pediococcus acidilactici</i>	4 / 7
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1 / 7
T2	Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 / 3
	Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus fermentum</i>	2 / 7
		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1 / 7
		<i>Lactobacillus crustorum</i>	1 / 7
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1 / 7
		<i>Enterococcus faecalis</i>	1 / 7
		<i>Lactobacillus plantarum</i>	1 / 7
T3	Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 / 3
	Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus curvatus</i>	3 / 6
		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1 / 6
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1 / 6
T4	Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 / 3
	Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus fermentum</i>	3 / 7
		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1 / 7
		<i>Lactobacillus plantarum</i>	1 / 7
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1 / 7
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1 / 7

¹⁾Samples are the same as Table 2.

Table 4. Changes of organic acid in *Tarak* made with various *Makgeolli* at 37°C for 24 h

	Fermentation time (h)	Organic acid (mg/mL)			
		Citric acid	Lactic acid	Succinic acid	Acetic acid
T1 ¹⁾	0	1.42	0.25	0	0.22
	4	1.63	0.33	0	0.25
	8	1.58	0.33	0	0.26
	12	1.71	0.51	0	0.29
	16	1.82	1.84	0.07	0.39
	20	1.88	2.64	0.06	0.52
	24	1.89	3.01	0.08	0.64
T2	0	1.61	0.23	0	0.33
	4	1.66	0.26	0	0.23
	8	1.66	0.28	0	0.21
	12	1.66	0.32	0	0.25
	16	1.75	0.53	0.07	0.38
	20	1.43	1.03	0.09	0.70
	24	0.66	1.91	0.15	1.23
T3	0	1.66	0	0	0.19
	4	1.66	0.03	0	0.27
	8	1.64	0.04	0	0.30
	12	1.57	0.72	0	0.38
	16	1.07	2.64	0	0.65
	20	0.44	4	0.04	1.08
	24	0.27	4.48	0.04	1.25
T4	0	1.64	0.02	0	0.18
	4	1.62	0.03	0	0.26
	8	1.64	0.03	0	0.24
	12	1.63	0.07	0.07	0.26
	16	1.57	0.21	0.09	0.32
	20	1.13	0.39	0.09	0.64
	24	0.80	0.44	0.09	0.80

¹⁾Samples are the same as Table 2.

따라서 유기산의 생성량이 달라지는 것으로 생각되었다.

타락에서 검출된 주된 당은 lactose였으며 T1의 경우 발효 0시간 타락에서는 lactose 이외에 4.95 mg/mL glucose, 1.30 mg/mL galactose가 검출되었다. 이후 발효 4시간까지의 lactose, glucose, fructose 함량은 다소 증가하지만 이후 glucose와 fructose의 양은 감소하여 발효 20시간에는 검출되지 않았다. T3의 경우 lactose 이외에 7.58 mg/mL glucose가 검출되었지만 이 또한 점차 감소하여 발효 20시간부터는 검출되지 않았다. 검출된 glucose와 fructose는 원료 중 발효 원인 막걸리에서 유래된 것으로 보이며 이를 발효 중 젖산균과 효모가 당당류인 glucose와 fructose를 초기 발효원으로 사용하여 16시간 이후에는 검출되지 않은 것으로 생각된다. 쌀의 품종 및 누룩에 따른 막걸리의 품질 특성에 관한 Lee 등(15)의 연구에서는 원료를 달리 하여 담근 막걸리에서 49.46~87.43 mg/mL의 glucose가 검출되었으며 이외에 fructose, maltose, lactose 등이 검출되었다고 보고하였다. 또한 본 실험에서 사용된 시판 막걸리의 경우 검출된 유리당 외에 다양한 감미료와 aspartame

Table 5. Changes of free sugar in *Tarak* made with various *Makgeolli* at 37°C for 24 h

	Fermentation time (h)	Free sugar (mg/mL)		
		Lactose	Glucose	Fructose
T1 ¹⁾	0	40.93	4.95	1.30
	4	45.84	5.40	1.40
	8	45.45	4.48	1.19
	12	44.97	2.89	0.92
	16	44.91	0.92	0.41
	20	44.23	0	0
	24	43.82	0	0
T2	0	45.75	0	0
	4	46.23	0	0
	8	46.21	0	0
	12	46.06	0	0
	16	46.16	0	0
	20	45.59	0	0
	24	44.34	0	0
T3	0	45.39	7.58	0
	4	45.81	7.41	0
	8	45.17	7.23	0
	12	46.12	6.01	0
	16	44.19	2.41	0
	20	43.27	0	0
	24	45.42	0	0
T4	0	40.19	0	0
	4	38.75	0	0
	8	41.89	0	0
	12	43.28	0	0
	16	44.97	0	0
	20	44.10	0	0
	24	41.30	0	0

¹⁾Samples are the same as Table 2.

등이 사용되었다. 이를 통하여 발효 24시간까지의 타락에서는 당당류인 glucose와 fructose 등의 당당류 및 막걸리에서 유래한 감미료를 우선적으로 기질로 사용하여 발효를 하는 것으로 생각되었으며 이로 인하여 발효기간에 따른 lactose의 변화는 크지 않았다.

젖산균 및 효모균 수

시판 막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 젖산균 수는 Fig. 2와 같다. 타락을 처음 제조한 0시간은 각각 발효 원인 시판 막걸리 함유 젖산균으로 인해 T1, T3은 5 log CFU/mL 수준의 젖산균이, T2, T4의 경우에는 6 log CFU/mL 정도의 젖산균이 존재함을 알 수 있었다. 이 중 T1과 T3의 타락이 가장 빠른 젖산균의 성장을 보였는데 T1은 발효 12시간에 9.47 log CFU/mL의 젖산균 수를 나타내었다. 우리나라 축산물의 가공 기준 및 성분 규격(16)에 따르면 발효유의 총 젖산균 수 기준은 10⁷ CFU/mL, 농후 발효유는 10⁸ CFU/mL 이상으로 규정되어 있어 4개의 실험군 모두 젖산균 수 기준에 적합한 농후발효유가 제조됨을 알 수 있다.

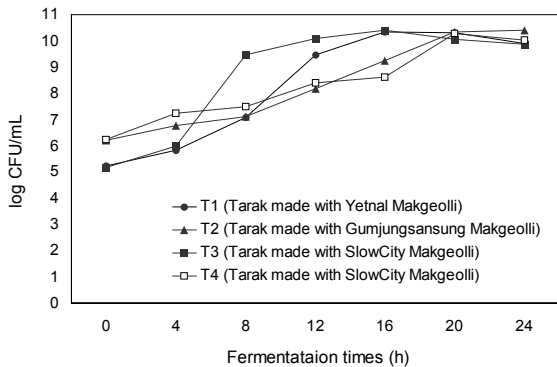


Fig. 2. Changes of lactic acid bacteria in Tarak made with various Makgeolli at 37°C for 24 h.

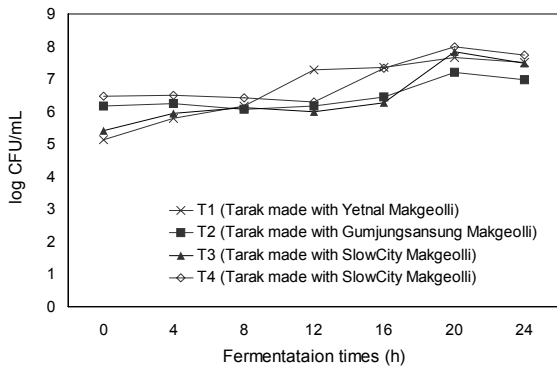


Fig. 3. Changes of yeast in Tarak made with various Makgeolli at 37°C for 24 h.

발효 0시간의 효모수는 T1과 T3의 경우 각각 5.14, 5.40 log CFU/mL의 값을 나타내며 T2, T4는 각각 6.16, 6.47 log CFU/mL의 값을 나타내었다(Fig. 3). T1과 T3의 경우는 발효 초기 함유 효모의 수가 적었지만 비교적 빠른 효모의 성장이 일어나면서 최종 효모의 수는 7 log CFU/mL 범위를 나타내었다. T2, T4 효모의 성장은 발효 12시간까지는 큰 차이를 보이지 않다가 이후 증가를 하여 T1보다 효모의 알코올 발효가 늦게 일어남을 알 수 있었다. 효모는 알코올 발효를 통하여 특유의 향이 나게 하는 원인이 되며 따라서 관능검사를 실시하지는 않았으나 타락의 향기성분을 주도하는 것으로 생각되었다(17).

균주 분리 및 동정

발효 24시간의 타락에서 젖산균과 효모수를 순수 분리하여 각기 16s rRNA, 18s rRNA 분석을 통해 동정한 결과는 Table 3과 같다. 분리된 효모는 모두 *S. cerevisiae*로 알코올 발효력이 강한 것으로 알려진 이 효모는 막걸리 제조 시 발효 원인 누룩으로부터 유래된 것으로 타락 발효 시 에탄올을 생성하여 알코올 발효를 주도하였으리라 생각된다(18). 그러나 *S. cerevisiae*는 lactose 분해능이 없으므로 Table 5에서와 같이 발효시간별 타락의 유리당 함량 변화에서

lactose는 거의 소비되지 않았고 초기에 원재료 유래 glucose, fructose를 이용하여 알코올 발효를 하였음을 알 수 있다. 타락에서 분리된 젖산균은 첨가된 막걸리에 따라 조금씩 달라 T1에서는 *Pediococcus acidilactici*와 *Lactobacillus brevis*, T2에서는 *Lactobacillus fermentum*, T3에서는 *Lactobacillus curvatus*, T4에서는 *Lac. fermentum*이 주된 젖산균으로 나타났다. Kihal 등(14)의 선행 연구 결과에 따르면 젖산균과 효모의 혼합 배양 시 젖산균의 순수 배양 시보다 lactic acid 및 에탄올의 생성량이 증가하는 것을 알 수 있다. 또한 혼합 배양 시 젖산균의 순수 배양 시보다 균수가 증가함을 알 수 있어 본 실험에서도 이와 같은 효과를 가져왔을 것이라 여겨졌다. 이를 통하여 타락발효에 관여하는 미생물은 효모와 다양한 젖산균이 공존하는 형태임을 알 수 있다. 이러한 발효유는 몽골, 터키, 러시아 지방에서 즐겨 마시는 kefir, koumiss 등이 있으며 최근에는 이들의 다양한 기능성이 밝혀져 흥미를 모으고 있다(20).

요 약

한국 전통 발효유인 타락을 제조하기 위하여 4종의 시판 막걸리와 시판 우유를 사용한 '타락'을 제조하여 발효 특성을 분석하였으며 관여 미생물을 분석하였다. 제조된 타락에서의 pH는 발효시간에 따라 유의적으로($P < 0.001$) 감소되어 pH 5.56~6.49를 나타내고 산도는 유의적으로($P < 0.001$) 증가하여 0.17~0.40%의 값을 나타내었다. 점도는 유청이 분리되기 전까지 유의적으로($P < 0.001$) 증가하였다. 당도는 유의적으로($P < 0.001$) 감소하였다. 에탄올 함량은 시간에 따라 증가하여 발효 24시간에 0.51~0.71 mg/mL를 나타내었다. 발효산물로는 주된 유기산이 lactic acid로 발효시간에 따라 점차 증가하여 발효 24시간에서는 모든 시료에서 전체 유기산 생성량의 80% 이상을 차지하였으며 이외에 미량의 acetic acid, citric acid, succinic acid도 검출되었다. 발효와 더불어 검출된 주된 유리당은 lactose였고 소량의 glucose가 나타났다. 타락의 젖산균 수는 발효시간에 따라 증가하여 발효 24시간에는 9.87~10.41 log CFU/mL로 나타났다으며 효모 수는 6.99~7.73 log CFU/mL였다. 타락에서의 분리된 균주는 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*와 다양한 *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* 등의 다양한 젖산균이 나타났다. 따라서 타락은 효모와 젖산균이 공존하는 효모-젖산균 발효유임을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 한식재단 한식세계화사업(11-1541000-001749-01)과 고부가가치기술개발사업(112113-03-2-HD020)의 일환으로 수행된 연구이며 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lim KS. 2007. Current market trends and prospects of functional fermented milk products in Korea. *Food Industry and Nutrition* 12(2): 20-28.
2. Han YS, Park IS, Bum BS, Kang MH, Yoon JA. 2012. *Fermented food*. Power Book, Gyeonggi, Korea. p 135-136.
3. Jaspers DA, Massey LK, Luedecke LO. 1984. Effect of consuming yogurts prepared with three culture strains on human serum lipoproteins. *J Food Sci* 49: 1178-1181.
4. Grunewald KK. 1982. Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus Acidophilus*. *J Food Sci* 47: 2078-2079.
5. Kiyosawa H, Sugawara C, Sugawara N, Miyake H. 1984. Effect of skim milk and yogurt on serum lipids and development of sudanophilic lesions in cholesterol-fed rabbits. *Am J Clin Nutr* 40: 479-484.
6. Sueunjabang Research Institute. 2011. *Sueunjabang*. Company Mayo, Andong, Korea. p 30-31.
7. Ahn CS, Yuh CS, Bang IS. 2009. Physicochemical characteristics of fermented milk containing mulberry leaf extract. *Korean J Food & Nutr* 22: 272-278.
8. Kwon HY, Lee BO, Kwon YJ. 1989. Factor to increase the yield of cheese. *Korean J Dairy Sci* 11: 232-242.
9. Park WP, Kim ZU. 1991. Effect of salt concentration on kimchi fermentation. *J Korean Agric Chem Soc* 14: 295-297.
10. Kim MS, Ahn ES, Shin DH. 1993. Physico-chemical properties of commercial yogurt in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 25: 340-344.
11. Rasic JL, Kurmann JA. 1978. *Yogurt*. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark. p 215-218.
12. Jeong KH, Choi JH, Lee JM, Lee JH, Jang SY, Jeong YJ. 2002. Fermentation characteristic of kefir beverage added fruit juice. *Food Industry and Nutrition* 7(3): 35-38.
13. Østlie HM, Helland MH, Narvhus JA. 2003. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. *Int J Food Microbiol* 87: 17-27.
14. Kihal M, Prevost H, Henni DE, Benmechene Z, Diviès C. 2007. Carbon dioxide production by *Leuconostoc mesenteroides* grown in single and mixed culture with *Lactococcus lactis* in skimmed milk. *World J Dairy & Food Sciences* 2: 62-68.
15. Lee YJ, Yi HC, Hwang KT, Lim DH, Kim HJ, Jung CM, Choi YH. 2012. The qualities of makgeolli (Korean rice wine) made with different rice cultivars, milling degrees of rice, and nuruks. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1785-1791.
16. Ministry of Food and Drug Safety. 2013. *Livestock Processing Standards and Compositional Specifications*. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea. p 25-26.
17. Park JK, Jeong JS. 2004. A study on the fermentation of Takju prepared by using *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria. *Journal of Industry Science and Technology* 12: 1-16.
18. Kedia G, Wang R, Patel H, Pandiella SS. 2007. Use of mixed cultures for the fermentation of cereal-based substrates with potential probiotic properties. *Process Biochem* 42: 65-70.
19. Chon JW, Kim HS, Song KY, Kim DH, Kim HS, Yim JH, Choi D, Hwang DG, Kim YJ, Lee SK, Seo KH. 2013. Functional characteristics of kefir as a fermented dairy product: a review. *Korean J Dairy Sci Technol* 31: 99-108.