

소금의 종류에 따른 사과발효산물의 특성 연구

A Study on the Apple Fermentation According to Product Various Salt

이은숙¹, 박종민², 김종순², 이세용³, 최원식^{4*}

Eun-Suk Lee¹, Jong-Min Park², Jong-Soon Kim², Se-Yong Lee³, Won-Sik Choi^{4*}

〈Abstract〉

This study was conducted to investigate the characteristics of apple fermentation when different types of salt were used during apple fermentation, and when salt was added or not. The pH decreased in all experimental groups during the fermentation process, and the final pH was 4.72-3.31. The sugar content was 17.8-18.5 °Brix, the lowest in the sea salt (FAS), and the highest in the control group (FA). The acidity was measured as 0.48-0.56%, which was high in the control group (FA), and was 0.83-1.06% on the 7th day of final fermentation. The alcohol content was generated from the 5th day of fermentation, and the control group (FA) showed a distribution of 39.23-29.4%, and the alcohol content was higher in the control group than in the experimental group. As for the total polyphenol content and total DPPH content, it was confirmed that the purified salt (3.11 mg GAE/mL) showed the highest total polyphenol content than the control (2.25 mg GAE/mL). When salt was added, the fermentation progress was excellent, and when the salt concentration was high, it was confirmed that the possibility of apple fermentation was high.

Keywords : *Liquid Salt, Fermentation, Lactobacillus, Microbe, Antioxidant*

1 정회원, 부산대학교 바이오산업기계 공학과 박사수료 E-mail: suk099@hanmail.net	1 Author, Dept. of Bio-Industrial Machinery Engineering, Pusan National University, Ph. D. Candidate
2 정회원, 공동저자, 부산대학교 바이오산업기계공학과 교수	2 Dept. of Bio-Industrial Machinery Engineering, Pusan National University, professor
3 정회원, 공동저자, (주) 열우물 대표	3 Yeorumul Co. Ltd., Incheon, Korea
4* 정회원, 교신저자, 부산대학교 바이오산업기계공학과 교수 E-mail: choi@pusan.ac.kr	4* Corresponding Author, Dept. of Bio-Industrial Machinery Engineering, Pusan National University, Professor

1. 서론

사과(*Malus pumial Miller*)는 쌍떡잎식물 장미목 장미과 낙엽교목 식물이며 다년생 목본식물로 사과는 유기산과 수용성 펙틴과 같은 식이섬유, 폴리페놀, 비타민 C등 다양한 기능성 성분을 함유하고 있어 심혈관 질환 및 다이어트, 성인병 질환에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(1-2). 천연사과식초는 발효과정에서 초산이 총산함량을 좌우하여 다양한 유기산과 함께 식초의 산미를 형성하는 것으로 발효는 유용한 미생물인 probiotics가 당질을 이용하여 발효산물인 알코올, 유기산, CO₂ 등을 생성하는 것이다. 각 발효 미생물들은 그 기질에서 가장 적당한 온도, 습도, 수분, pH, 산소, 영양분 등의 환경을 요구한다. 발효에 관여하는 주요 미생물은 유산균, 비피더스균, 바실러스균 등을 들 수 있다. 발효에 참여하는 유산균 G+ 통성 혐기성균이며, 주로 probiotics균들이다. 발효에 있어서 소금은 제조 및 식품의 저장성과 밀접한 관계를 가지고 있으며, 염분농도를 변화시켜 유용한 미생물의 증식을 적당한 온도에서 조절하면 소금은 발효조정작용을 한다. 또한 소금은 인간을 포함한 모든 생명체의 필수적인 무기물로 체내 구성요소일 뿐만 아니라 신경이나 근육 흥분성을 유지하며 신진대사 및 세포의 삼투압을 조절하는 등 생체조절 물질로서도 중요한 역할을 한다(3-5). 한편 발효에서의 소금의 역할은 삼투압작용을 통해 유산균의 성장의 기질로 사용되며 바람직하지 않은 미생물의 성장을 저해한다. 현재까지 사과발효 및 사과식초에 대한 연구로는 발효가 사과와인 품질특성에 미치는 영향(6), 오디를 이용한 발효식초의 특성 및 향산화효과(7) 소금첨가에 따른 도라지 발효 특성과 미생물 변화 및 항비만 효능평가(8)등이 있다. 따라서 소금의 종류를 달리한 과일 발효 및 식초발효의 특성에 대한 연구는 전무한

실정이다. 발효 식초에 소금을 넣으면 내염 미생물 증식 조절을 하며, 감미를 증가시키며 갈변과 부패를 방지하기 위해 소금을 첨가하고 있다. 이에 본 연구에서는 소금의 무첨가와 첨가, 첨가소금의 종류 달리하여 발효과정 동안 이화학적 및 미생물학적, 향산화능에 대한 품질 특성에 대해 조사하였다.

2. 본론

2.1 실험재료

사과는 밀양 얼음골에서 재배된 것을 구입하였으며, 고농축액상천일염(20-22%), 천일염(80-85%)은 Y사, 정제염(99%)은 H사에서 구입하였다. 소금을 넣지 않은 무첨가균(FA), 첨가균은 천일염(FAS), 액상천일염(FAL), 정제염(FAR)로 분류하였다.

2.2 사과의 전처리 및 추출

사과는 수돗물로 충분히 세척하여 꼭지와 씨를 제거하고 3등분한 다음 사과500 g, 미네랄 500 mL의 물을 사용하여 사과는 1분간 3회 분쇄하고 설탕으로 효모의 영양원인 당분을 보충하였으며, 균주를 첨가하여 37°의 배양기에 넣어 3일간 발효 후 건더기를 여과 후 추출액만 사용하였다.

2.3 당도와 알코올

당도는 상온에서 24시간 마다 (pocket-refractometer(ATAGO, Japan)당도계를 이용하여 측정하였으며, 알코올 측정은 알코올 굴절계(PAL-1, ATAGO CO., Tokyo, Japan)이용하여 측정하였다.

2.4 총산도 및 pH

발효조건에 따른 사과식초의 산도는 0.1 N-NaOH를 이용하여 pH가 8.35가 될 때까지 중화 적정법을 이용하여 측정된 후 acetic acid로 환산하여 산출하였고, pH는 pH meter (pH-250L, NeoMet ISTEK)를 이용하여 측정하였다.

2.5 총 폴리페놀화합물 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-denis법을 일부 변형하여 비색 정량 하였다(guffinger T et al., 1981). 희석한 사과발효액 50 μ L에 증류수 500 μ L를 가하고 Folin-Ciocalteu 시약 100 μ L을 충분히 혼합한 후 5분간 암소에서 방치한다. 방치한 용액에 10% Na₂CO₃ 용액 100 μ L을 잘 혼합하여 암소에서 1시간 방치한 다음 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 페놀화합물 함량은 caffeic acid를 이용한 표준검량선에 의해 계산하였다.

2.6 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)소거능

사과발효액을 증류수를 이용하여 20배 희석한 뒤 항산화능 분석 시료로 이용하였다. 시료 희석액 100 μ m과 에탄올로 녹인 60 μ M 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 용액 (Officeahn, Co., Gyeonggi, Korea) 100 μ L을 96 well plate에 넣어 혼합한 뒤 차광하여 30분간 상온에서 방치시켰다. 반응이 끝난 후, 분광광도계 (Tecan Sunrise, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 540 μ m에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로 Ascorbic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며 DPPH radical 소거 활성은 실험구와 음성 대조구의 흡광도를 구하여 백분율

(%)로 표시하였다.

2.7 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였으며, 그 결과는 SAS(statistical analysis system)통계 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)과 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

사과발효에 대조군 및 처리군으로 소금의 무첨가와 첨가의 종류를 달리하여 7일간 발효를 진행하였다. 사과발효 시 소금의 종류 및 소금 첨가와 무첨가 시에 따른 역할에 대한 이화학적특성 및 항산화 기능에 따른 관능적 특성을 분석한 결과는 다음과 같다.

3.1 Brix, pH, 산도, 알코올

사과 발효를 위해서 가당, 소금, 효모 첨가가 필요하다는 것을 알 수 있었다. 초기 당도 24 Brix 수준으로 설탕을 넣어 35°C에서 발효시켰을 때 발효 과정 중의 당도와 알코올 함량 변화는 Fig. 1, 2와 같다. 소금 첨가구가 비첨가보다 약간 발효 속도가 빨랐으나 큰 차이는 없었다. 알코올은 발효 5일에 알코올 함량 5%에 도달하였으며 이후 알코올의 변화는 정제염에서 알코올 감소가 떨어질 뿐 알코올 함량에 큰 변화가 없었다. 발효 과정 중 pH와 총산은 거의 변화가 없었으나 pH는 초기 4.8-3.3 정도까지 감소하였으며 산도는 유기물의 활동에 따라 증가하였으며 총산 및 pH 변화는 Fig. 3, 4와 같다.

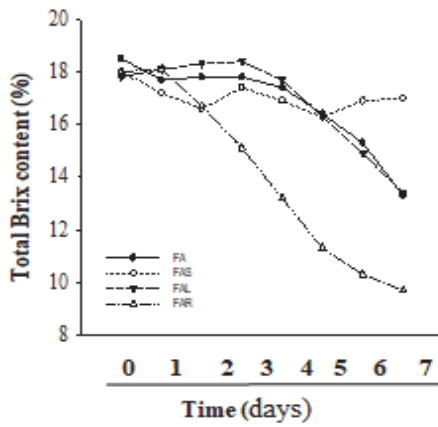


Fig. 1 The variation of Brix content

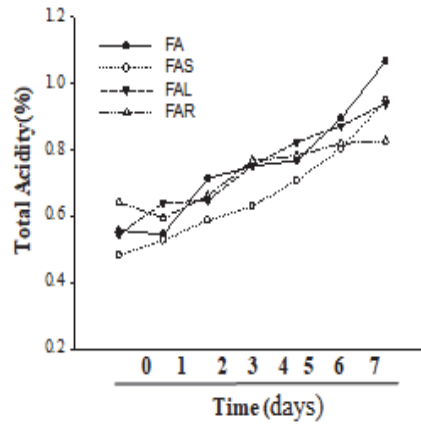


Fig. 4 The variation of Acidity content

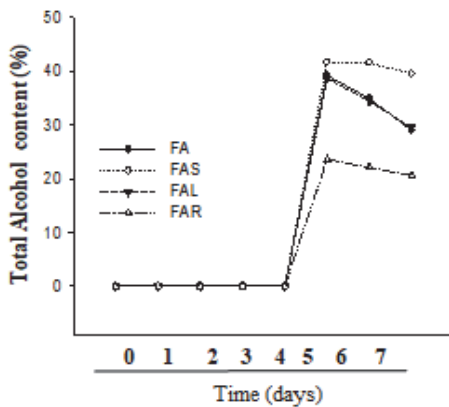


Fig. 2 The variation of Alcohol content

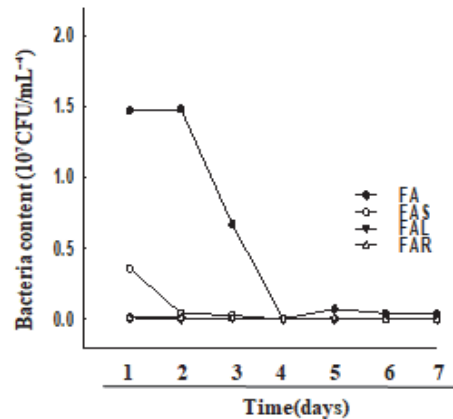


Fig. 5 The variation of microbe content(CFU/mL)

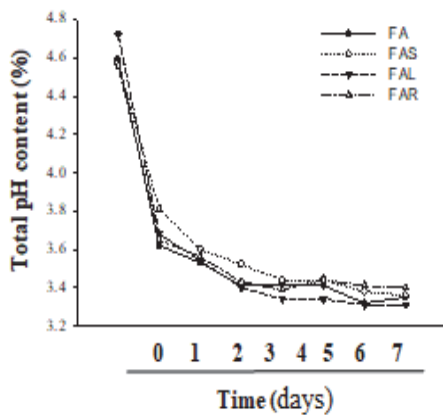


Fig. 3 The variation of pH content

3.2 유산균 측정분석

소금의 종류를 달리하여 제조한 사과 발효 과정에서 총 균수의 변화를 측정한 결과는 Fig. 5 와 같다. 발효 1일 차에 비해 7일차에 유산균수가 감소한 결과를 확인할 수 있었으며 이는 과일 발효액에서 발효기간이 경과될수록 유산균수가 감소하는 경향과 유사하다(9). 이러한 결과는 발효 초기에 비해 발효 말기에는 pH가 낮아지고, 산도가 높아지므로 산에 의해 유산균 증식이 억제되거나 사멸되는 것이 원인으로 사료된다(10). 액상

소금은 발효 6-7일차에 FAS, FAR보다 높은 유산균수를 나타냈다. 이와 같은 결과는 천일염이 정제염보다 NaCl, K, Mg 및 Ca 등의 미네랄 성분 함량이 높아 유산균의 생육 저해를 감소시켜 나타난 것으로 보인다(11). 염 농도가 너무 높을 경우는 유익한 유산균의 성장이 저해되고(12) 반대로 염 농도가 너무 낮을 경우에는 병원성 미생물의 성장을 저해 할 수 없어 부패(12)와 연부현상(13)이 일어날 수 있다. 소금의 농도에 따라 유산균의 종의 종류가 달라진다. 이는 소금을 첨가한 사과발효액을 제조할 시 천일염과 정제염보다 액상소금을 첨가하는 것이 발효 시간이 경과될수록 사과발효액의 유산균수 감소를 최소화하는 방안으로 볼 수 있다.

3.3 총 폴리페놀 측정분석

소금의 종류를 달리하여 제조한 사과발효 중 총 폴리페놀 변화를 측정된 결과는 Table 1, Fig. 6

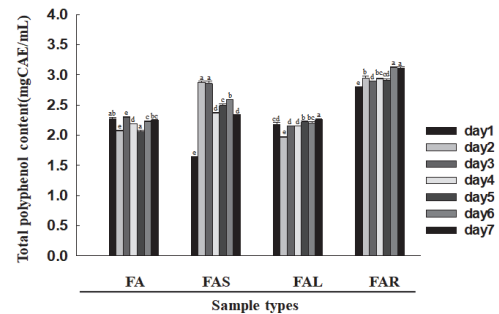


Fig. 6. Contents of total polyphenol compound of fermented apple juice

Table 1. Contents of total compounds during fermentation

Fermentation Period(day)	Total polyphenol contents (mg GAE/mL)			
	FA	FAS	FAL	FAR
1day	2.27 ± 0.03 ^{Bab}	1.63 ± 0.01 ^{De}	2.18 ± 0.03 ^{Ccc}	2.80 ± 0.01 ^{Ae}
2day	2.07 ± 0.01 ^{Ce}	2.88 ± 0.02 ^{Ba}	1.96 ± 0.01 ^{De}	2.95 ± 0.03 ^{Ab}
3day	2.29 ± 0.02 ^{Ba}	2.86 ± 0.04 ^{Aa}	2.15 ± 0.01 ^{Cd}	2.89 ± 0.00 ^{Ad}
4day	2.19 ± 0.01 ^{Cd}	2.36 ± 0.01 ^{Bd}	2.15 ± 0.00 ^{Cd}	2.94 ± 0.01 ^{Abc}
5day	2.06 ± 0.02 ^{De}	2.49 ± 0.03 ^{Bc}	2.22 ± 0.01 ^{Cb}	2.90 ± 0.02 ^{Acc}
6day	2.22 ± 0.01 ^{Cc}	2.58 ± 0.01 ^{Bb}	2.20 ± 0.03 ^{Cbc}	3.12 ± 0.02 ^{Aa}
7day	2.25 ± 0.01 ^{Cbc}	2.26 ± 0.01 ^{Bd}	2.26 ± 0.01 ^{Ca}	3.11 ± 0.02 ^{Aa}

Values are mean ± S.D.

¹⁾ GAE: Caffeic acid equivalents

^{a-e}Values with different letters within the same row are significantly different at p<0.05 based on Duncan's multiple range test.

^{A-D}Values with different letters within the same column are significantly different at p<0.05 based on Duncan's multiple range test.

^{*}FA(Fermented apple without salt), FAS(Fermented apple with Sea salt), FAL(Fermented apple with Liquid salt), FAR(Fermented apple with Refined salt)

과 같다. 폴리페놀 화합물은 과채류, 견과류와 같은 식물에 널리 분포하는 2차 대사산물 중의 하나로서 1개 이상의 hydroxyl기가 부착된 방향족 고리를 가진 구조이며 free radical과 환원반응을 일으킨다(14). 첨가한 소금에 따른 사과발효액의 총 폴리페놀 함량은 발효진행 7일차는 FA, FAS, FAL, FAR순으로 2.250, 2.338, 2.258, 3.112 mg GAE/mL로 Fig. 6에 따른 사과발효액 간의 비교 결과는 FAR의 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다.

3.4 DPPH 측정분석

소금의 종류를 달리하여 제조한 사과발효 중 총 DPPH 변화를 측정된 결과는 Table 2, Fig. 7과 같다.

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)소거능 측정법은 DPPH에 있는 질소 원자의 홀수 전자가 항산화 물질로부터 수소 원자를 받아 diphenyl-1-picrylhydrazin로 환원되며 색이 변화하는 원리를 이용하여 시료의 항산화능을 신속하게 평가하는 방법이다(14). 소금의 종류를 다르게 첨가한

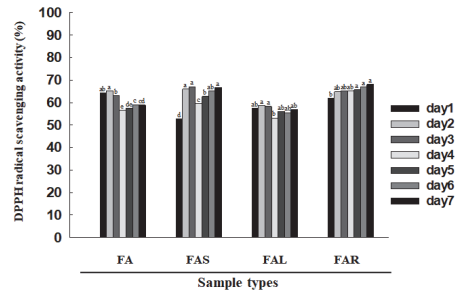


Fig. 7. DPPH radical scavenging activities of fermented apple juice

Table 2. DPPH radical scavenging activities of fermentation apple juice

Fermentation Period(day)	Total DPPH radical scavenging(%)			
	FA	FAS	FAL	FAR
1day	64.29 ± 0.00 ^{Aab}	52.74 ± 0.01 ^{Cd}	57.38 ± 0.00 ^{Bab}	61.88 ± 0.01 ^{Ab}
2day	65.19 ± 0.00 ^{Aa}	65.96 ± 0.00 ^{Aa}	58.79 ± 0.00 ^{Ba}	64.84 ± 0.00 ^{Aab}
3day	6.12 ± 0.00 ^{Bb}	67.09 ± 0.00 ^{Aa}	58.23 ± 0.00 ^{Ca}	65.12 ± 0.00 ^{Aab}
4day	56.49 ± 0.00 ^{Be}	59.63 ± 0.00 ^{Bc}	53.16 ± 0.01 ^{Cb}	65.12 ± 0.00 ^{Aab}
5day	57.53 ± 0.00 ^{Bcde}	62.73 ± 0.01 ^{ABb}	55.98 ± 0.01 ^{Cab}	65.68 ± 0.00 ^{Aa}
6day	59.09 ± 0.00 ^{Bc}	65.12 ± 0.00 ^{Aab}	55.27 ± 0.03 ^{Cbc}	66.95 ± 0.00 ^{Aa}
7day	58.83 ± 0.01 ^{Ccd}	66.67 ± 0.00 ^{Ba}	56.82 ± 0.00 ^{Dab}	68.07 ± 0.00 ^{Aa}

Values are mean ± S.D.

¹⁾ Ascorbic acid(positive control) was 50 µg/mL

^{a-e}Values with different letters within the same column are significantly different at p<0.05 based on Duncan's multiple range test.

^{A-D}Values with different letters within the same row are significantly different at p<0.05 based on Duncan's multiple range test.

사과발효액의 발효 기간에 따른 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능 결과는 무첨가(FA)군의 경우 56.94-65.20%의 범위로 DPPH 라디칼 소거능이 나타났으며 첨가군 FAS, FAL, FAR은 52.74-67.09, 53.17-58.79, 61.89-68.07%의 범위에서 각각 소거능을 확인할 수 있었다. 첨가군의 DPPH라디칼 소거능은 positive control인 Ascorbic acid(50 μ g/mL)보다 낮게 측정되었지만 무첨가(FA)군보다 첨가군 FAS, FAR의 측정 결과가 높게 나타났다.

4. 결론

사과발효 조건에는 재료, 온도, 산소, 습도, pH, Brix, 빛, 발효방법의 조건이 있다. 발효 시 발효를 촉진하기 위해 당과 소금을 넣고 있지만 발효 시 소금의 역할에 대하여 이화학적 특성 및 향산화기능에 따른 관능적 특성을 조사하였다. pH는 발효 과정 중 모든 실험 군에서 감소하여 발효 6일에는 현저히 낮아지는 경향을 보였으며 최종 pH는 4.72-3.31로 발효기간이 경과 할수록 pH가 낮아짐을 알 수 있었다. 당도는 담금 직후에는 17.8-18.5 °Brix로 천일염(FAS)이 가장 낮았으며, 무첨가(FA)군이 높게 측정되었다. 산도는 담금 직후 0.48-0.56%로 무첨가군(FA)에서 높게 측정되어 발효 7일까지 급격히 증가하였으며 첨가군에 비해서 무첨가군에서 산도가 증가되었고, 발효기간이 지날수록 pH가 낮아지고 유기물의 작용으로 산도가 증가하였다. 알코올 함량은 발효 5일차부터 생성이 되었으며 최종 발효 7일까지 무첨가군(FA) 39.23-29.4%의 분포를 나타내었으며, 첨가군보다 무첨가군에서 알코올 함량이 높았다. 총균수와 효모 수는 모든 첨가군이 발효 5일째 최대값을 나타내었고 이후 급격히 감소하였다. 총 폴리페놀함

량과 총 DPPH 함량은 담금 직후부터 최종 발효 시까지 증가하였으며, 발효진행 1-7일차 동안에 첨가한 소금의 종류에 따른 사과발효액 간의 비교 결과는 무첨가군(2.25 mg GAE/mL)보다 첨가군 FAR(3.11 mg GAE/mL)이 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다. DPPH 함량은 무첨가(FA)군보다 천일염(66.67%), 정제염(68.07%)에서 높게 나타났다. 소금의 종류를 달리 하여 이화학적 관능적인 품질특성은 무첨가(FA)군과 첨가(FAS, FAL, FAR)군의 차이는 소금을 넣었을 때 발효가 빠르게 진행되었으며, 무첨가(FA)군에서 당도는 13.3 °Brix로 단맛이 높았고, 첨가군 FAS는 풍미가 있는 감칠맛을 느낄 수 있었다. 액상소금 즉 저염일 때 유산균 증식은 높고, 염 농도가 높은 천일염, 정제염 일 때 향산화기능이 대체로 높았다. 따라서 적당한 소금의 양을 첨가하는 것이 발효식초의 부패와 품질보존에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 부산대학교 기본 연구지원 사업(2년)에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- [1] Kroon P, Williamson G, "Polyphenol: dietary components with established benefits to health," J Sci Food Agric., 85, pp.1239-1240, (2005).
- [2] Knekt P, Järvinen R, Seppänen R, Hellövaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A, "Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms," American Journal epidemiology, 146(3), pp.223-230, (1997).

- [3] Park Jw, Kim SJ, Kim BH, Kang SG, Nam SH, Jung S, "Determination of mineral and heavy metal contents of various salts," *Korean J Food Sci Technol*, 32, pp.1442-1445, (2000).
- [4] Jo EJ, Shin DH, "Study on the chemical compositions of sun-dried, refined and processed salt produced in Chonbuk area," *J Fd Hyg safty*, 13, pp.360-364, (1998).
- [5] Ha JO, Park KY, "Comparison of mineral contents and external structure of various salts," *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 27, pp. 413-418, (1998).
- [6] 곽한섭, 서재순, 배혜정, 이화정, 이영승, 정윤화, 김미숙, "발효온도가 사과와인 품질 특성에 미치는 영향," *한국식품영양과학회지*, 45(1), pp.155-159, (2016).
- [7] 이대훈, 홍주현, "오디 유산균 발효물의 이화학적 특성 및 향산화 활성," *한국식품영양과학회지*, 45(2), pp.202-208, (2016).
- [8] 신나래, 임수경, 김호준, "소금 첨가에 따른 도라지 발효 특성과 미생물 변화 및 항비만 효능 평가," *한방비만학회지*, 18(2), pp.64-73, (2018).
- [9] Baik KY, Kim DH, "The qualities and functionalities of the fermentation broth of fruits, vegetables and medicinal herbs," *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 20(2), pp.195-201, (2007).
- [10] Kim YS, Shin DH, "Hygienic superiority of kimchi," *Journal of Food Hygiene and Safety*, 23(2), pp.91-97, (2008).
- [11] Hahn YS, "Effect of salt type and concentration on the growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi," *Korean Journal of Food Science and Technology*, 35(4), pp.743-747, (2003).
- [12] Zubaidah E., Susanti I., Yuwono SS., Rahayu Ap., Srianta I., Blanc PJ., "Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures in lower salt concentration fermentation on the sauerkraut quality," *Food Res*, 4(4), pp.1038-1044, (2020).
- [13] Park S, Ji Y, Park H, Lee K, Park H, Beck BR, Shin H, Holzappel WH, "Evaluation of functional properties of *Lactobacilli* isolated from Korean white kimchi," *Food control*, 69, pp.5-12, (2016).
- [14] Kedate, S.B., Singh, R.P., "Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay," *Journal of food science and technology*, 48(4), pp.412-422, (2011).