

발효조건에 따른 청도 반시 발효 시 유산균 개체수의 특성

이은숙*, 양지웅*, 김원경*, 박현숙**, 최원식**
*부산대학교 바이오산업기계공학과, **햇살바이오(주)
e-mail:choi@pusan.ac.kr

Characteristics of Lactobacillus Population During Cheongdo Bansi Fermentation According to Fermentation Conditions

Eun-Suk Lee*, Ji-Ung Yang*, Won-Kyung Kim*, Hyun-Sook Park**
Won Sik Choi**#

*Dept. of Bio-Industrial Machinery Engineering, Pusan National University
**SUNSHINE BIO CO., LTD.

요약

조건에 따른 발효특성은 매우 다양함으로 온도, 당도, 수소이온농도 및 발효제품의 종류에 대한 특성을 조사하는 것은 식품개발에 있어 매우 중요하다. 청도 반시는 당도가 높고 피부미용과 피로회복에도 탁월한 효능이 있는 반시는 비타민 아미노산등 유익한 성분이 많으며 특히 다른 과일에 비해 비타민C가 월등히 많으며, 일반 비타민C와 달리 열이나 물공기에 쉽게 파괴되지 않고 노화방지, 감기예방에 탁월한 효능이 있다. 청도 반시의 발효과정은 감을 통째로, 갈아서, 즙, 감꼭지로 나누어 조건의 변화 특성을 관찰하고 12시간마다 3일간 Brix와 pH의 변화와, 미생물 증가와 감소에 대한 변화과정(유도기-대수기-정지기-사멸기)과 유산균 개체수의 변화를 알아보고자 하였으며, 감을 통째로 넣은 발효는 처음 배양 시 미생물, 유산균은 없었으며, 배양시간이 경과함에 따라 미생물, 유산균 개체수가 증가함을 알 수 있었다.

1. 서론

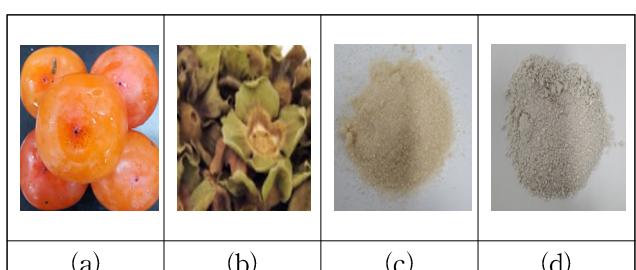
발효식품은 우리의 장내 환경을 건강하게 만들어 여러 병을 예방할 수 있도록 도와준다. 장 나이를 깊게 유지하고 세포의 대사율을 높여 아름다운 피부와 모발을 유지하는 등 안티에이징 효과를 볼 수 있다. 100세 시대를 앞둔 오늘 건강의 적신호를 발효로 통하여 치유하고 있으며, 발효의 접목사례는 다양한 연구 결과들이 있다. 감의 주성분은 당질로서 15~16%인데 포도당과 과당의 함유량이 많으며, 맵은맛의 성분은 디오스프린이라는 타닌 성분인데 디오스프린은 수용성이기 때문에 쉽게 맵은맛은 나타낸다. 아세트알데히드가 타닌성분과 결합하여 불용성이 되면 맵은맛이 사라진다. 과일의 색은 과피의 카로티노이드 색소에 의한 것인데, 짙은 주황색인 리코핀(lycopin)의 함유량은 가을의 일조조건과 관계가 있다. 청도반시는 우리나라 맵은 감을 대표하는 품종으로 상주, 영동, 등에 분포하는 곶감용의 길쭉한 모양의 동시에 달리 그 생진 모양이 납작하다고 하여 반시(盤柿)라고 한다. 본 연

구는 청도의 명물 반시(홍시)를 발효로 통하여 유산균 개체수 증식에 따른 특성을 알아보고자 하였다.

2. 본론

2.1. 실험재료 및 기기

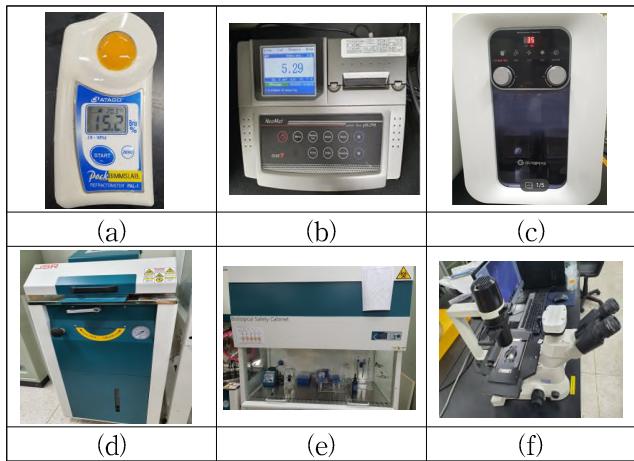
홍시는 경북 청도에 소재한 농장에서 재배된 것으로 2020년 10월에 수확한 반시를 사용하였으며, 물은 정제수, 당은 국내 생산되는 B사, 미네랄은 천일염을 사용하였으며, 발효 균주로는 유인균을 사용하였다. 발효용기는 1L에서 판매하고 있



는 숨 쉬는 유리용기 1.5L를 구입하여 용기에 발효하였다.

[그림 1] 실험(발효)재료 (a)반시(홍시), (b)감꽃지, (c)설탕, (d)소금

실험기구는 휴대용디지털 당도계 ATAGO (Japan), pH - 250Lmeter(U.S.A) 발효기(챔버), 현미경(Nikon Eclpse Ts-100), 멸균기, 클린벤치(무균대)을 사용하였다.



[그림 2] 실험(발효)재료 및 기기 (a)당도계 (b)pH메타,(c)발효기
(d)멸균기 (e)클린벤치 (f)현미경

2.2 사용균주

사용된 유산균은 *Lactobacillus bulgaricus*(KCTC3635)를 사용하였으며 동결 건조된 균주를 MRS agar(Difco, U.S.A)에 접종하여 37°C에서 24h 배양 후 생성된 접액을 MRS broth에 접종 후 다시 37°C에서 24h 동안 배양하여 발효 균주로 사용하였다.

2.3. 반시(홍시) 및 유산균 발효처리

본 연구에서는 홍시의 양이 발효조건에 미치는 pH와 Brix 영향 및 미생물, 유산균의 개체수를 알기 위하여 당도는 25 Brix로 하여 조건을 통째로 반시 500g을 반으로 나눈 뒤 물 500ml에 넣고 설탕80g, 소금, 유인균1ts 넣어 Brix와 pH를 측정한 후 발효기계(챔버)의 온도를 35°C로 설정하여 72h동안 발효 하였다. 아세트산 발효과정에서 살아있는 유산균수를 측정하기 위하여 유도기, 대수기, 정지기, 사멸기로 구분하였고, 현미경을 사용하여 유산균의 흐름을 관찰하고 유산균배양을 통하여 유산균수를 측정하였다.

2.4. Brix와 pH의 변화

반시(홍시)추출물 및 유산균 발효 Brix와 pH는 유도기 0h ~48h시간에 따라 Brix와 pH는 Table 1과 같다. Brix와 pH의 측정은 매 12시간마다 측정하였다.

[표 1] Fermentation Brix & pH change

	0	After12	After24	After36	After48
Brix	15.2	12.3	11.6	10.4	10.2
pH	5.29	3.33	3.28	3.17	3.15

2.5. 미생물 개체 수

발효액을 1m를 글라스에 옮겨 넣고 글라스 덮개를 씌운 후 4x0.13배율~40x0.55배율까지 미생물의 변화량 12h~72h의 미생물 개체수 변화를 현미경관찰로 통해 알 수 있었다.

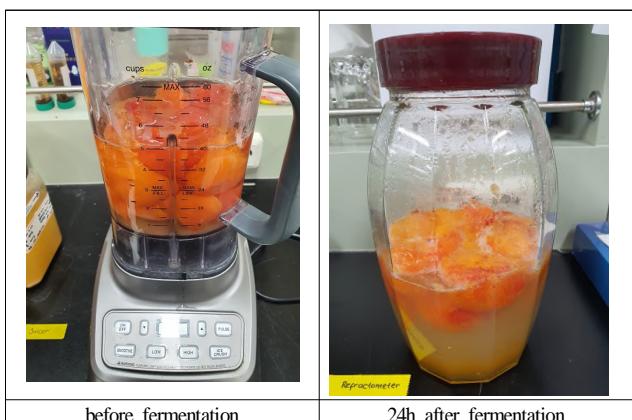
2.6. 유산균 배양수

반시(홍시)발효는 12시간, 24시간마다 반시 발효 육즙 0.1ml를 0.9ml의 중류수에 분주하여 10^5 으로 회석하였다. 알코올로 소독된 건식봉으로 MRS배지에 샘플을 접종하여 35°C에서 48시간 동안 배양 후 유산균의 수를 측정 할 수 있었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 반시(홍시)의 유산균 발효처리

유산균 발효에 따른 반시(홍시)의 12h~48h의 변화과정은 그림 3과 같이 시간이 지남에 따라 물과 분리가 되었으며 무거운 것이 위로 올라와 탄산의 함량이 많음을 알 수 있었다.

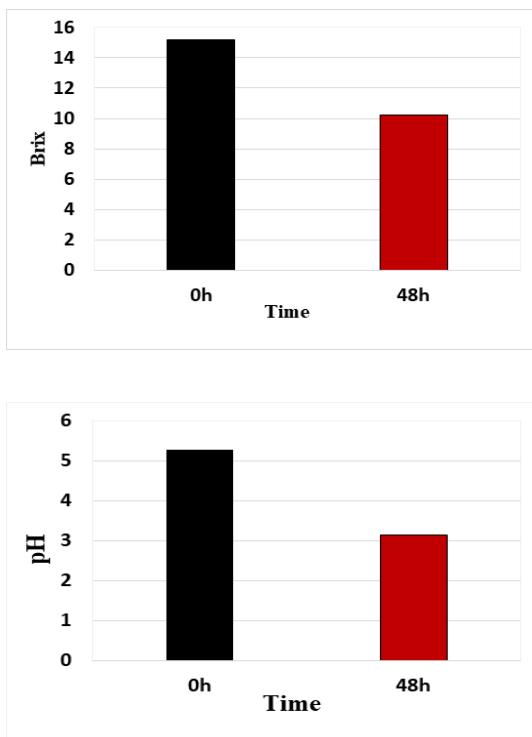


[그림 3] Comparison before and after fermentation

3.2.Brix와 pH의 change

유산균 발효에 따른 반시(홍시)의 추출물의 Brix와 pH의 변화는 그림 4와 같이 초기의 Brix는 15.2에서

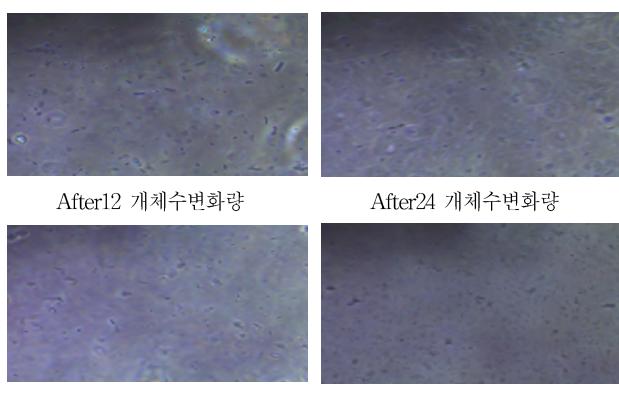
12시간 이후 Brix는 10.2의 변화값을 보였으며, 초기 pH의 값은 5.29에서 시작하여 48시간이후 pH는 3.15로 산성에 가까워짐을 알 수 있었다.



[그림 4] Brix and pH change

3.3. 미생물의 개체수의 변화

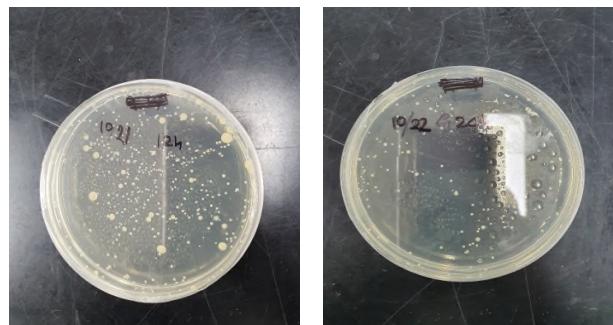
미생물의 개체 수 변화량은 배율 4×0.13 에서는 미생물이 흐릿하게 보였으나, 배율 40×0.55 에서는 미생물의 활동량이 육안으로 보일만큼 유산균 유속이 빨랐으며, 활동량의 증가와 함께 동그란 모양의 효모세포들이 흩어져 있고 한쪽에는 효모균들이 밀집해 있었으며, 여러개가 한꺼번에 줄을 지어 구 형태로 길게 늘어선 구근충도 확인할 수 있었다. 그림 5과 같이 After24 이 지남에 따라 개체 수 변화량이 가장 활발하게 움직임을 알 수 있었다.



[그림 5] 시간의경과에 따른 미생물 개체 수

3.4. 유산균 개체수의 변화

유산균의 개체수는 발효시간을 달리하여 12h, 24h, 36h, 48h이 지날 때마다 발효액을 MRS배지 접종 후 결과는 그림 6과 같이 접종 후 12h일 때 유산균수가 많음을 알 수 있었다.



[그림 6] 시간의경과에 따른 유산균 개체 수

3. 결론

본 연구에서는 당도의 조건을 변화시키지 않고 시간이 지나감에 따라 Brix는 초기의 값에 비해 일정한 변화의 값을 보였으며 pH는 3.15의 값으로 초산발효에 적합한 값으로 72시간 이후 변화를 나타나지 않았다. 미생물 개체수의 변화는 24시간이 지남에 따라 개체 수 변화량이 가장 활발하게 움직임을 알 수 있었고, 여러 가지 미생물이 공존하는 것을 알 수 있었다. 유산균은 MRS배지 접종 후 12시간 후 유산균수가 가장 많음을 알 수 있었다.

4. 향후계획

이번 실험은 감을 통째로 발효를 한 후 결과치를 알 수 있었으나, 다음 실험은 감을 믹서에 갈아서, 감을 즙으로 짜서, 감꼭지만 발효를 하여 미생물의 형태가 기준의 효모, 구균들로 이루어진 것과 달리 다른 미생물의 형태가 나타나는지를 관찰하고 다른 시료들을 발효 하였을 때 유산균 종식의 형태의 변화과정을 관찰 하고 싶습니다.

참고문헌

- [1] 오미자량에 따른 문경 오미자의 발효 특성 2018
- [2] Hwang, Se, Ran, 유익하게 인체에 작용하는 균(유인균)을 이용한 인삼발효식초 제조과정에 대한 특성 연구 2017.20,(4):345-350
- [3] Hwang, Se, Ran, Characteristic on the Ginseng(Panax Ginseng) Fermentation System Using "Uinkin" 부산대학교대학원 2018 학위논문
- [4] 식품미생물학 문운당